

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจาก “สาหร่ายเห็ดลาบ”

(*Nostoc commune*, Cyanophyta)

รหัสโครงการ BRT R_646005



โดย

อาภารัตน์ มหาจันทร์
มยุรี ตั้งชนานูวัฒน์
วัชร กัลยาลัง
พรภัทรา ศรีนรคุตร
เกศรา แซ่ไคว่
วัลลภา อรุณไพโรจน์

อุษา กลิ่นหอม
เจษฎา ทิพย์สุขศรี
วิวัฒน์ ปฐมโยธิน
ปณณภา บุญยะภักดี
สุวรรณา ศรีสวัสดิ์
เสียงทอง นุตาลัย

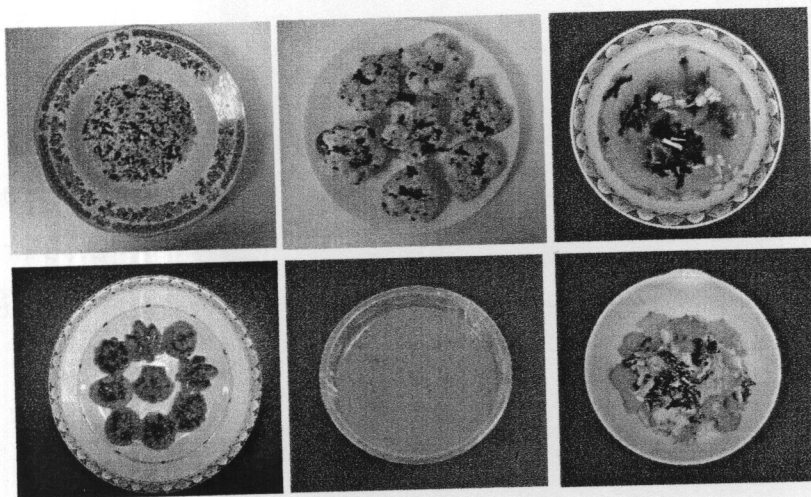
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม (มมส.)

โครงการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจาก “สาหร่ายเห็ดลาบ”

(*Nostoc commune*, Cyanophyta)

รหัสโครงการ BRT R_646005



โดย

อาภารัตน์ มหาจันทร์

มยุรี ตั้งชนานุวัฒน์

วัชร กัลยาลัง

พรภัทรา ศรีนรคุตร

เกศรา แซ่ไคว่

วัลลภา อรุณไพโรจน์

อุษา กลิ่นหอม

เจษฎา ทิพย์สุขศรี

วิวัฒน์ ปฐมโยธิน

ปณณภา บุญยะภักดิ์

สุวรรณา ศรีสวัสดิ์

เสียงทอง นุตาลัย

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม (มมส.)

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	ก
สารบัญตาราง	ข
สารบัญรูป	ง
ABSTRACT	1
บทคัดย่อ	3
1. บทนำ	5
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	10
3. ผลการดำเนินงาน	18
4. เอกสารอ้างอิง	68
ภาคผนวก	71

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1. สาหร่ายน้ำจืดจากแหล่งธรรมชาติที่มีการบริโภคเป็นอาหารในประเทศ/พื้นที่ต่างๆ	7
ตารางที่ 2. ผลิตภัณฑ์อาหารที่พัฒนาจากสาหร่ายเห็ดคลาบ	17
ตารางที่ 3. คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของดินที่สำรวจพบว่ามีสาหร่ายเห็ดคลาบเจริญเติบโต	20
ตารางที่ 4. คุณค่าทางอาหารของสาหร่ายเห็ดคลาบและสกุล <i>Nostoc</i> จากแหล่งต่างๆ	24
ตารางที่ 5. ผลวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาของสาหร่ายเห็ดคลาบจากแหล่งธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยง	25
ตารางที่ 6. เปรียบเทียบปริมาณสารปนเปื้อนอินทรีย์ในสาหร่ายเห็ดคลาบจากแหล่งธรรมชาติ	26
ตารางที่ 7. อัตราการตายของหนูตลอดการทดลองนาน 14 วัน	26
ตารางที่ 8. น้ำหนักตัวของหนูเมื่อเริ่มต้นในระหว่างการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	27
ตารางที่ 9. อัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวของหนูในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม	27
ตารางที่ 10. ผลการชันสูตรอวัยวะภายในของหนูกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม	28
ตารางที่ 11. ประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายเห็ดคลาบในการยับยั้งจุลินทรีย์	30
ตารางที่ 12. ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารแขวนลอยสาหร่ายเห็ดคลาบจากธรรมชาติ	31
ตารางที่ 13. ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารแขวนลอยสาหร่ายเห็ดคลาบจากการเพาะเลี้ยง	32
ตารางที่ 14. ผลของปริมาณ NaCl ในระดับต่างๆ บนอาหารแข็งสูตร BGA ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบ	35
ตารางที่ 15. ผลของปริมาณ K_2HPO_4 ที่ระดับต่างๆ ในอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบ	37
ตารางที่ 16. ผลของปริมาณ $CaCl_2$ ที่ระดับต่างๆ ในอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบ	39

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 17. ผลของปริมาณ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ที่ระดับต่างๆ ในอาหารเชิงสูตร BGA คัดแปลง ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบ	41
ตารางที่ 18. ผลของสภาพความเป็นกรด-ด่างที่ระดับต่างๆ ในอาหารเชิงสูตร BGA คัดแปลง ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบ	43
ตารางที่ 19. เปรียบเทียบการผลิตชีวมวลสาหร่ายเห็ดคลาบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเชิงสูตรพื้นฐาน (BGA) และสูตรอาหารที่เหมาะสม (BGA) คัดแปลง	46
ตารางที่ 20. ผลิตภัณฑ์อาหารที่พัฒนาจากสาหร่ายเห็ดคลาบ	47

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1. ลักษณะของสาหร่าย <i>Nostoc</i> และผลิตภัณฑ์	10
รูปที่ 2. บริเวณที่สำรวจพบสาหร่ายเห็ดคลาบ	19
รูปที่ 3. ลักษณะของสาหร่ายเห็ดคลาบสด	22
รูปที่ 4. ลักษณะของสาหร่ายเห็ดคลาบแห้ง	22
รูปที่ 5. สันฐานวิทยาของสาหร่ายเห็ดคลาบภายใต้กล้องจุลทรรศน์	22
รูปที่ 6. การปนเปื้อนของแบคทีเรีย (สีเหลือง) ในอาหารวันสูตรต่างๆ	34
รูปที่ 7. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบบนอาหารแข็งสูตร BGA ที่เติม NaCl ในระดับต่างๆ	35
รูปที่ 8. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบที่เพิ่มขึ้นบนอาหารแข็งสูตร BGA ที่ความเข้มข้นของ NaCl ในระดับต่างๆ	36
รูปที่ 9. ลักษณะของเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดยสาหร่ายเห็ดคลาบบนอาหารวันที่ไม่เติม NaCl ในสภาพของเหลว (ก) และเมื่อผ่านการระเหิดแห้ง (freeze-dried) (ข)	36
รูปที่ 10. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงที่เติม K_2HPO_4 ในระดับต่างๆ	38
รูปที่ 11. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบที่เพิ่มขึ้นบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงที่ความเข้มข้นของ K_2HPO_4 ในระดับต่างๆ	38
รูปที่ 12. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงที่เติม $CaCl_2$ ในระดับต่างๆ	40
รูปที่ 13. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบที่เพิ่มขึ้นบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงที่ความเข้มข้นของ $CaCl_2$ ในระดับต่างๆ	40
รูปที่ 14. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงที่เติม $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ในระดับต่างๆ	42
รูปที่ 15. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบที่เพิ่มขึ้นบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงที่ความเข้มข้นของ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ในระดับต่างๆ	42
รูปที่ 16. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงที่ปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นในระดับต่างๆ	44

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 17. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดปลาที่เพิ่มขึ้นบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงที่ปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นในระดับต่างๆ	44
รูปที่ 18. ผลึกภัณฑ์ต้นแบบผงโรยข้าวจากสาหร่ายเห็ดปลา (ก) และข้าวปั้นที่ผสมกับผงโรยข้าว (ข)	48
รูปที่ 19. ปลาที่ปรุงจากผลึกภัณฑ์ต้นแบบเห็ดปลาถึงสำเร็จรูป	49
รูปที่ 20. ผลึกภัณฑ์ต้นแบบประเภทซูปรูจากสาหร่ายเห็ดปลา ซูปรูใส (ก) ซูปรูเต้าหู้ (ข) และซูปรูที่เติมน้ำร้อนแล้ว (ค)	50
รูปที่ 21. ผลึกภัณฑ์ต้นแบบสาหร่ายเห็ดปลาแผ่นดองเปรี้ยว-เค็ม	51
รูปที่ 22. ผลึกภัณฑ์ต้นแบบวุ้นสาหร่ายรสชาเขียว	51
รูปที่ 23. ผลึกภัณฑ์ต้นแบบเจลลี่สาหร่ายรสผลไม้ (รสสับปะรด)	52
รูปที่ 24. ผลึกภัณฑ์ต้นแบบทองแผ่นสาหร่ายรสหวาน และรสเค็ม	52
รูปที่ 25. ผลึกภัณฑ์ต้นแบบสาหร่ายปรุงรสจากสาหร่ายเห็ดปลา	53
รูปที่ 26. ผลึกภัณฑ์ต้นแบบเครื่องคั้นน้ำข้าวผสมสาหร่ายรสผลไม้ รสสับปะรด (ซ้าย) และรสมะนาว (ขวา)	53
รูปที่ 27. ผลึกภัณฑ์ต้นแบบสาหร่ายอบแห้ง ซึ่งใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารถึงสำเร็จรูปได้หลายชนิด	54

Research and development on food products from “Hed Lap” alga (*Nostoc commune*, Cyanophyta)

A. Mahakhant, U. Klinhom, M. Tungthananuwat, C. Thippayasuksri,
W. Kunlayalung, W. Pathomyothin, P. Srinorakutara, P. Boonyaphak,
K. Sae-khow, S. Srisawat, V. Arunpairojana and S. Nutalai¹

ABSTRACT

“Hed Lap” alga (HLA, *Nostoc commune* Voucher, Cyanophyta) is an edible blue-green alga (cyanobacterium). It was discovered on saline soil of a unique “Dun Lampan Forest” (DLF), Na Chuak district, Maha Sarakham province. In rainy season, the only season for growth and propagation, the HLA are picked and cooked as a popular dish among the local people. Thus the HLA is a vulnerable species. The objective of this study is to investigate on basal data, optimal cultivation medium and development of various food products from HLA.

Analysis of the characteristics of 3 soils land that the HLA can be found: the DLF, and the areas at the north and south of the DLF indicated that all of them are sandy-loam soil. The pH, salinity and conductivity are 7.8-8.4, 0.3 g/l and 7.2 micro Siemen/cm, respectively. The concentrations of K, Ca, S and Na are almost similar. While the concentrations of N and P are widely different within the range of 76-352 mg/kg and 185-809 mg/kg, respectively. Analysis of nutritional values of HLA, indicated that the natural HLA contained 20% protein, 0.02% fat and up to 43% of dietary fiber. In the case of cultivated HLA, vitamin A and essential amino acids—methionine and tryptophan increased 9, 5 and 3 – folds higher than the natural ones. On the contrary, the dietary fiber reduced to only 1/16 of the natural ones. From the analysis of microbial contamination of HLA comparing to the Thai standard for instant food (volume 210, B.E. 2543), it is found that the microbes that can grow at 37°C and the number of yeast and fungi of natural HLA exceeded that of the standard. In the case of the cultivated HLA, only the number of the microbes is over the standard. Analysis of heavy metal contaminated in both natural and cultivated HLA indicated that the concentration of Hg, Pb and As in HLA were not exceed the standard of the Ministry of Health (volume 98, B.E. 2529). The acute oral toxicity test of the HLA in rat according to OECD Guidelines for Testing of Chemical 1993 showed no lethality and no adverse effect on all visereal organs. The bioactivities of HLA were also conducted. It is shown that the crude extract from cells and cultivation broth of HLA expressed a good inhibition on the growth of a gram+ bacteria, *Bacillus subtilis* TISTR 008 but no inhibition was shown among the gram-, *Escherichia coli* TISTR 780 and *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, including the filamentous fungi *Aspergillus niger* TISTR 3245. Besides, no anti-inflammatory effect was shown in the model of rats paw edema. The optimal cultivation medium of HLA was modified from agar BGA medium by no adding of NaCl, increasing the concentrations of K₂HPO₄ and MgSO₄·7H₂O to 0.9 and 0.095 mg/l, respectively and using the initial pH of 7.5-8. The modified medium increased the final biomass up to 34.05-fold from the initial while only 12.35-fold was obtained from the basal BGA medium. Various food products were developed as followed : the meal --- Thai

dancing (furikake), lap (spicy salad), clear soup, tofu soup, salt & sour algal sheet ; sweet --- agar (green tea and coconut flavors) and jelly (fruit flavors); snack --- gold sheet (sweet and salty taste) and testy-crispy sheet; beverage --- fruit-flavor rice drink (pineapple, rossel and lemon flavors). Long-term preservation of HLA can be done by cryopreservation technique at -85°C using 3% dimethyl sulfoxide as a cryoprotectant.

วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่าย “เห็ดปลาบ”

(*Nostoc commune*, Cyanophyta)

อาภารัตน์ มหาจันทร์¹, อุษา กลิ่นหอม², มยุรี ตั้งธนาคุณ¹, เจษฎา ทิพย์สุขศรี², วชิร กัลยาณัง¹,
วิวัฒน์ ปฐมโยธิน¹, พรภัทรา ศรีนรบุตร¹, ปุณณภา บุญยะภักดี¹, เกศรา แซ่โล้ว¹, สุวรรณมา ศรีสวัสดิ¹
วัลลภา อรุณไพโรจน์¹ และ เสียงทอง นุตาลัย¹

บทคัดย่อ

“สาหร่ายเห็ดปลาบ” (*Nostoc commune* Voucher, Cyanophyta) เป็นสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวที่รับประทานได้ สํารวจพบในพื้นที่ดินเค็มของป่าเอกลักษณ์ “ดูลำพัน” อำเภอนาเชือก จังหวัดมหาสารคาม ในฤดูฝนชาวบ้านนิยมเก็บมาบริโภคทำให้เสี่ยงต่อการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้จะแพร่และขยายพันธุ์ต่อได้เฉพาะในฤดูฝนเท่านั้น โครงการนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะทำการศึกษาข้อมูลพื้นฐาน, อาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดปลาบและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อเพิ่มมูลค่าอันจะนำมาซึ่งการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรสาหร่ายเห็ดปลาบอย่างยั่งยืน

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างดินที่สำรวจพบสาหร่ายเห็ดปลาบ 3 แห่ง คือ ป่าดูลำพัน และที่ดินด้านทิศเหนือและใต้ของป่า พบว่า เป็นดินร่วนปนทราย มีค่าความเป็นกรด-ด่างในช่วง 7.8-8.4 มีความเค็ม และค่าการนำไฟฟ้าที่เท่ากัน คือ 0.3 กรัมต่อลิตร และ 7.2 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตรตามลำดับ มีปริมาณธาตุอาหารโปแตสเซียม แคลเซียม ซัลเฟอร์ และโซเดียมในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน แต่มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน และฟอสฟอรัส แตกต่างกันในช่วงกว้าง คือ 76-352 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 185-809 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ผลวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของสาหร่ายเห็ดปลาบจากแหล่งธรรมชาติ พบว่า มีโปรตีน 20% โดยมีกรดอะมิโนจำเป็นอยู่ครบถ้วน มีไขมันต่ำเพียง 0.02% และมีใยอาหารสูงถึง 43% ส่วนสาหร่ายเห็ดปลาบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วยสูตรอาหารที่เหมาะสม (BGA คัดแปลง) พบว่ามีวิตามินเอเพิ่มเป็น 9 เท่า มีกรดอะมิโนจำเป็น เมไทโอนีน และทริปโตเฟน เพิ่มขึ้นประมาณ 5 และ 3 เท่า ตามลำดับ ในขณะที่มีใยอาหารเพียง 1 ใน 16 ส่วนของตัวอย่างจากแหล่งธรรมชาติ ผลวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาของสาหร่ายเห็ดปลาบเปรียบเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารกึ่งสำเร็จรูป ฉบับที่ 210 พ.ศ. 2543 พบว่าสาหร่ายเห็ดปลาบจากแหล่งธรรมชาติแม้จะมีการทำความสะอาดแล้ว แต่ยังมีปริมาณจุลินทรีย์ที่

¹ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

² คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

เจริญเติบโตที่ 37 องศาเซลเซียส และปริมาณยีสต์และราเกินกว่าข้อกำหนดของมาตรฐานฯ โดยไม่พบว่าการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ก่อโรคแต่อย่างใด ในขณะที่สาหร่ายเห็ดคลาจากการเพาะเลี้ยงมีปริมาณจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตที่ 37 องศาเซลเซียส เกินกว่าที่กำหนด ผลการวิเคราะห์สารปนเปื้อนอินทรีย์ พบว่า สาหร่ายเห็ดคลาจากแหล่งธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยง แม้จะมีการปนเปื้อนจากโลหะหนัก โปรท ตะกั่ว และสารหนู แต่ไม่เกินค่าตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) ผลทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของสาหร่ายเห็ดคลาในหนูทดลองตามวิธีมาตรฐานของ OECD Guidelines for Testing of Chemical 1993 พบว่า หนูทุกตัวแสดงอาการปกติ และตรวจไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายในจากการชันสูตรซากหนูทุกตัวเมื่อสิ้นสุดการทดสอบ ผลทดสอบการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า สารสกัดหยาบจากเซลล์และอาหารเพาะเลี้ยงเหลวจากสาหร่ายเห็ดคลาสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก *Bacillus subtilis* TISTR 008 ได้ดี แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แกรมลบ คือ *Escherichia coli* TISTR 780 และ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 รวมทั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* TISTR 3245 ที่ใช้ทดสอบได้ รวมทั้งไม่ออกฤทธิ์ด้านการอักเสบที่อุ้งเท้าหนู การศึกษาอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมในการผลิตชีวมวลของสาหร่ายเห็ดคลา คือ สูตรอาหาร BGA ซึ่งดัดแปลงโดยไม่เติม NaCl เติม K_2HPO_4 และ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ เพิ่มขึ้น 0.9 และ 0.095 กรัมต่อลิตร และปรับความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเป็น 7.5-8.0 ทำให้ได้ชีวมวลของสาหร่ายคิดเป็นน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นจากสูตร BGA ดั้งเดิม จาก 12.35 เท่า เป็น 34.05 เท่าของน้ำหนักสดเริ่มต้น ทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายเห็ดคลา อาหารคาว ได้แก่ ผงโรยข้าว (Thai dancing, furikake), ลาบ, ซุปใส, ซุปเต้าหู้ และสาหร่ายแผ่นดองเปรี้ยว-เค็ม อาหารหวาน ได้แก่ วุ้นสาหร่าย (รสชาเขียว และรสกะทิ) และเจลลี่สาหร่ายรสผลไม้ อาหารขบเคี้ยว ได้แก่ ทองแผ่นสาหร่าย (รสหวาน และรสเค็ม) และสาหร่ายแผ่นปรุงรส เครื่องดื่ม ได้แก่ น้ำข้าวผสมสาหร่ายรสผลไม้ (สับปะรด, กระจับ และมะนาว) การอนุรักษ์สาหร่ายเห็ดคลาในระยะยาวทำได้โดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -85 องศาเซลเซียส โดยใช้ไดเมทิลซัลโฟลไซด์ 3% เป็นสารป้องกันเซลล์

1. บทนำ

ด้วยคำขวัญประจำถิ่นของ “ป่าดูลำพัน” ที่ว่า

ถิ่นปูแสนสวย	กล้วยไม้แสนงาม	บ่อน้ำลือไกล
สมุนไพรมากมี	พื้นที่ชุ่มน้ำ	งามพร้อมพืชพรรณ
สีสนั่นกเหี้ยว	เจ็วเจ๊วนกกลิ้งโครง	พฤษภ “เห็ดลาบ”

เป็นเครื่องยืนยันอย่างดี ถึงความสมบูรณ์ของความหลากหลายทางชีวภาพของป่าดูลำพัน ประกอบเข้ากับสภาพพื้นที่เป็นระบบนิเวศที่มีเอกลักษณ์เฉพาะตัว ซึ่งเป็นถิ่นที่อยู่อาศัยถิ่นเดียวของ “ปูทูลกระหม่อม” (*Thaipotamon chulabhorn Naiyetr*) ซึ่งสามารถแพร่พันธุ์ และดำรงชีวิตอยู่ได้ เฉพาะในพื้นที่เท่านั้น ด้วยเหตุนี้ “ป่าดูลำพัน” ในเขตอำเภอนาเชือก จังหวัดมหาสารคาม ซึ่งมีพื้นที่เล็กๆ เพียง 300 ไร่ จึงได้รับการประกาศเป็นเขตห้ามล่าสัตว์ป่าและพื้นที่คุ้มครอง ทรัพยากรธรรมชาติ ตาม พ.ร.บ. สิ่งแวดล้อมแห่งชาติ 2535 เมื่อวันที่ 20 มกราคม 2541

นอกจาก “ปูทูลกระหม่อม” ซึ่งเป็นปูที่สวยงามมากชนิดใหม่ของโลกที่สร้างชื่อเสียงให้กับท้องถิ่นและประเทศไทยแล้ว ยังมีของดีในป่าดูลำพันอีกอย่างหนึ่ง ที่น้อยคนจะได้รับทราบ นั่นก็คือ “เห็ดลาบ” ที่ในความเป็นจริง คือ สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว (blue-green alga, cyanobacterium) ที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน (N_2 -fixation) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Nostoc commune* Vaucher แต่เนื่องจากสาหร่ายนี้มีลักษณะเป็นแผ่นวุ้นแบนบางคล้ายเห็ดหนูสีเขียวที่ขึ้นบนดิน และชาวบ้านนิยมเก็บไปทำลาบ จึงได้ชื่อประจำท้องถิ่นว่า “เห็ดลาบ” อย่างไรก็ตาม เพื่อให้เกิดความเข้าใจที่ถูกต้องรายงานฉบับนี้จึงใช้ชื่อ “สาหร่ายเห็ดลาบ” แทน “เห็ดลาบ” เพื่อเป็นการให้เกียรติแก่ภูมิปัญญาท้องถิ่นในการนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์ และสร้างความเข้าใจที่ถูกต้องต่อไป

สาหร่ายน้ำจืดในสกุล *Nostoc* เป็นอาหารท้องถิ่นที่นิยมรับประทานในหลายประเทศทั่วโลก นอกจากจะมีการรายงานในต่างประเทศแล้ว ศรีเป่ง (2525) เคยรายงานถึงสาหร่ายที่รับประทานได้ในสกุลนี้ในชื่อ “ไข่หิน” หรือ “คอกหิน” ในปัจจุบันได้สูญหายไปจากท้องถิ่นจนไม่เป็นที่รู้จัก ซึ่งต่างจากสาหร่าย “เทา” หรือ “เตาน้ำ” (*Spirogyra* spp.) และสาหร่าย “ไก่อ” (*Cladophora* spp.) ที่ยังเป็นที่นิยมบริโภคในหลายพื้นที่ในแถบจังหวัดภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ

ถึงแม้ว่าสาหร่ายเห็ดคลาเบรียจะเจริญเติบโตบนดินเค็มในพื้นที่คุ้มครองทรัพยากรธรรมชาติ ป่าดงลำพัน แต่เนื่องจากในฤดูฝน เมื่อเกิดฝนตกจะทำให้สาหร่ายที่ในหน้าร้อนจะหดตัวเป็นแผ่น บางกรอบ คล้ายกระดาษ (ซึ่งเป็นระยะพักตัว, resting stage) ดูดซับน้ำฝนและขยายตัวเป็นแผ่นวุ้น บางไม่มีรสชาติ มีเนื้อนิ่มหยุ่นแต่กรอบ คล้ายสาหร่ายทะเล “วากาเหมะ” (Wakame, *Undaria pinnatifida*) ที่นิยมบริโภคในญี่ปุ่น อย่างไรก็ตามสาหร่ายเห็ดคลาเบรียมีคุณสมบัติที่ดีกว่า คือ ไม่มีกลิ่นคาว ทำให้ชาวบ้านนิยมเก็บไปบริโภคเป็นประจำทุกปีในฤดูฝนซึ่งเป็นเพียงฤดูกาลเดียวเท่านั้นที่สาหร่ายชนิดนี้จะแพร่และขยายพันธุ์ได้ จนเป็นที่น่าเกรงว่าความนิยมบริโภค “เห็ดคลาเบรีย” ของชาวบ้านในท้องถิ่นจะเป็นสาเหตุให้สาหร่ายเห็ดคลาเบรียสูญหายไปจากพื้นที่ในที่สุด

จากการที่ยังไม่มีผู้ทำการศึกษาวิจัยถึงความสัมพันธ์ระหว่างนิเวศวิทยาของป่าดงลำพันกับการเกิดขึ้นของสาหร่าย ประกอบกับการเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ของสาหร่ายเห็ดคลาเบรีย ดังนั้นการวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงและผลิตผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายเห็ดคลาเบรียจึงเป็นแนวทางที่สำคัญเร่งด่วนในการพัฒนาองค์ความรู้เพื่อการอนุรักษ์สาหร่ายเห็ดคลาเบรียให้คงอยู่คู่กับท้องถิ่นตลอดไป พร้อมทั้งมีการพัฒนาการใช้ประโยชน์ให้เกิดมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจระดับชุมชน/ระดับประเทศอย่างยั่งยืน โดยการถ่ายทอดเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงและการผลิตผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายเห็ดคลาเบรีย ให้แก่มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ชุมชนท้องถิ่นผู้สนใจในจังหวัดมหาสารคาม รวมทั้งภาคเอกชนที่สนใจจะลงทุนในระดับอุตสาหกรรม ซึ่งในส่วนของการถ่ายทอดเทคโนโลยีนี้จะมีการพิจารณาความเหมาะสมในการดำเนินโครงการต่อเนื่องในระยะที่ 2

บททวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

นอสตอค (*Nostoc commune* ; “ไข่มหิน”, “ดอกหิน”, “เห็ดคลาเบรีย” (ไทย), “Koxianmi” (จีน) “Ishikurage” (ญี่ปุ่น) ; *N. flagelliforme*; “Fat tsai”, “Facai”, “Shi” (จีน) ; *Nostoc* spp., “Star shot”, “Star jelly”, “Witches’ butter”, “Fairies’ butter” (ยุโรป) เป็นสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวที่มีการเจริญเติบโตแบบเป็นเส้นสายมีเมือกห่อหุ้ม บางชนิดดูดกลืนก้อนเซลล์ ชนิดที่นิยมบริโภคมาก คือ *N. commune* มีการบริโภคในหลายประเทศทั่วโลก เช่น โบลิเวีย, เอกวาดอร์, ฟิจิ, อินโดนีเซีย, ญี่ปุ่น, เม็กซิโก, มองโกเลีย และจีน โดยชาวจีนนิยมนำมาทำเป็นขนมหวาน ส่วน *N. flagelliforme* เป็นอาหารที่มีราคาแพงซึ่งชาวจีนนิยมบริโภคเพื่อความเป็นสิริมงคลในวันขึ้นปีใหม่ สำหรับประเทศไทยในอดีตเคยมีการบริโภคนอสตอคโดยรู้จักกันในชื่อ “ไข่มหิน” หรือ “ดอกหิน” แล้ว ยังมีสาหร่ายที่มีลักษณะเป็นเซลล์คล้ายนอสตอค แต่เมื่อดูใต้กล้องจุลทรรศน์จะพบว่าเป็นเส้นสายที่มีการแตกแขนง ชาวบ้านในจังหวัดน่านนิยมนำมาบริโภคเพื่อแก้อาการร้อนใน โดยเรียกสาหร่ายชนิดนี้ว่า “ลอน” (*Nostochopsis* sp.)

ส่วน “เห็ดลาบ” เป็นสาหร่าย *N. commune* ที่บริโภคได้ของประเทศที่เพิ่งมีการเปิดตัวโดยพบในเขตห้ามล่าสัตว์ป่าดงพญาเย็นซึ่งเป็นระบบนิเวศป่าที่มีลักษณะเฉพาะตัวของอำเภอนาเชือก จังหวัดมหาสารคาม โดยการสำรวจของ ดร. อุษา กลิ่นหอม มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พบว่าประชาชนในพื้นที่เก็บเห็ดลาบซึ่งเจริญเติบโตได้รวดเร็วในช่วงฤดูฝนมาบริโภค ส่วนชื่อ “เห็ดลาบ” นั้น ได้มาจากลักษณะของสาหร่ายที่เป็นแผ่นวุ้นสีเขียวคล้ายเห็ดหูหนู และการที่ชาวบ้านนิยมนำมาบริโภคโดยการทำเป็นลาบ

ความนิยมบริโภคสาหร่ายน้ำจืด สกุล *Nostoc* เปรียบเทียบกับสกุลอื่นๆ ในประเทศต่างๆ แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สาหร่ายน้ำจืดจากแหล่งธรรมชาติที่มีการบริโภคเป็นอาหารในประเทศ/พื้นที่ต่างๆ

ประเทศ/พื้นที่	สาหร่าย
Bolivia	<i>Nostoc commune</i>
Burma	<i>Spirogyra</i> spp.
Chad	<i>Arthrospira platensis</i>
China	<i>Nostoc commune</i> var. <i>flagelliforme</i> <i>Nostoc edule</i> , <i>Prasiola yunnanica</i>
Ecuador	<i>Nostoc commune</i> , <i>Nostoc ellipsosporum</i>
Fiji	<i>Nostoc</i> spp.
“Himalayas”	<i>Prasiola</i> spp.
India	<i>Lemanea mamilliosa</i> , <i>Oedogonium</i> spp., <i>Spirogyra</i> spp.
“Indochina”	<i>Spirogyra</i> spp.
Indonesia (Java)	<i>Nostoc commune</i>
Japan	<i>Aphanothece sacrum</i> , <i>Nostoc commune</i> , <i>Nostoc verrucosum</i> , <i>Prasiola japonica</i>
Mexico	<i>Chroococcus turgidus</i> , <i>Nostoc commune</i> , <i>Phormidium tenue</i> , <i>Spirulina</i> spp.
Mongolia	<i>Nostoc commune</i> , <i>Nostoc edule</i>
Okinawa	<i>Nostoc</i> sp.
Peru	<i>Nostoc pruniforme</i>
Thailand	<i>Nostoc verrucosum</i> , <i>Spirogyra</i> spp., <i>Cladophora</i> spp., <i>Nostochopsis</i> sp.
US (Hawaii)	<i>Enteromorpha</i> spp.
USSR (Siberia)	<i>Nostoc edule</i>

ที่มา : Lembi & Waaland (1988)

การวิจัยในต่างประเทศค้นพบมาเป็นเวลานานแล้วว่า สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวที่ตรึงไนโตรเจนได้มีบทบาทอย่างสูงในการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ชุ่มน้ำและนาข้าว (Sinha and Hader, 1996) โดยพบว่าสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวที่สามารถเจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ได้ดีในพื้นที่แห้งแล้ง หรือกึ่งแห้งแล้ง จะเป็นสาหร่ายที่สามารถสร้างเมือกหนา หรือมีแคปซูลเจล (capsular jelly) ห่อหุ้ม เช่น สาหร่ายสกุล *Nostoc* ซึ่งเมือกนี้จะมีความสำคัญในการก่อให้เกิดโครงสร้างของอนุภาคดินที่ดี รวมทั้งช่วยในการรักษาความชื้นไว้ในดินได้เป็นเวลานาน (Flaibani *et al.* 1989) นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่ายชนิดที่สายเซลล์ฝังตัวในแผ่นเมือกที่ห่อหุ้ม เช่น *N. commune* จะมีความทนทานต่อรังสีอุลตราไวโอเลตสูงกว่าสกุล/ชนิดอื่นที่ไม่มีเมือกห่อหุ้ม เช่น *Anabaena* sp. (Sinha *et al.* 1995)

สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวบางชนิดสามารถคงความมีชีวิตได้เป็นเวลานานหลายปี และสามารถกลับมาเจริญเติบโตและสร้างกระบวนการเมแทบอลิซึมได้ภายหลังการคืนสภาพ โดยการดูดน้ำกลับเข้าไปในเซลล์ (rehydration) (Dodds *et al.* 1995) และยังมีรายงานว่า *N. commune* ที่แกะจากเฮอรับาเรียม (herbarium) อายุ 107 ปี ยังคงความมีชีวิตอยู่รอดได้ (Lund and Lund 1995) ทั้งนี้สันนิษฐานว่าคุณสมบัติดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับสารพอลิแซ็กคาไรด์ หรือสารไกลโคคอนจูเกต (glycoconjugates) ที่ผลิตโดยสาหร่าย เช่นเดียวกับในกรณีของจุลินทรีย์ชนิดอื่น (Huang *et al.* 1998)

Nostoc เป็นสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวที่มีลักษณะเส้นสายคล้าย *Anabaena* แต่มีเส้นสายที่พันกันยุ่งเหยิง และฝังตัวอยู่ในเมือกหุ้ม ซึ่งเมือกที่ห่อหุ้มอาจมีลักษณะนุ่มหรือแน่น ทำให้มีลักษณะผิวคล้ายแผ่นหนังสามารถสร้างกลุ่มเซลล์ได้ทั้งขนาดเล็กและใหญ่ สาหร่ายในสกุล *Nostoc* สามารถแพร่กระจายอยู่ทั่วไปทั้งในที่แห้งแล้ง เช่น ทะเลทรายโกเบ หรือที่หนาวเย็น เช่น สถานที่ที่เรียกว่า “Polar Deserts” ในขั้วโลกใต้ นอกจากนี้ยังเคยมีผู้สำรวจพบก้อนวุ้นของ *Nostoc* ขนาดใหญ่ น้ำหนักถึง 2.6 กิโลกรัม ในประเทศสหรัฐอเมริกา (Lund and Lund 1995) Lazaroff 1973 และ Abdelahad and Bazzichelli 1989 ได้ทำการศึกษาวงจรชีวิต, การสร้างกลุ่มเซลล์, ตลอดจนคุณลักษณะสัณฐานวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงรูปสัณฐานในวงจรชีวิตของ *Nostoc* (polymorphic life cycle)

ในส่วนของการใช้ประโยชน์จาก *Nostoc* มีรายงานโดยสมาชิกของคณะนักสำรวจขั้วโลกใต้ของเครือจักรภพอังกฤษ (Commonwealth Transantarctic Expedition) ระหว่างปี 1955-1958 พบว่ามี *Nostoc* แพร่กระจายอย่างกว้างขวางตั้งแต่เหนือเส้นรุ้งที่ 60° ได้ ขึ้นมา รวมทั้งมีการทดลอง

บริโภคเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหาร (Lund and Lund 1995) Chu and Tsang 1988 รายงานว่ามีการใช้ *Nostoc* เป็นอาหารในประเทศจีนมาเป็นเวลานานมาก *Nostoc* บางชนิดยังใช้เป็นยารักษาโรคมะเร็งและเกิด ในขณะ ที่ Hoppe 1979, Bloor and England 1989, de Caire *et al.* 1987, 1990 รายงานการค้นพบสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์อย่างกว้างขวางทั้งจากสารสกัดเซลล์และจากอาหารเหลวที่ใช้เพาะเลี้ยง มีรายงานว่า *N. commune* สามารถลดโคเลสเตอรอลในซีรัมได้อย่างมีนัยสำคัญในหนูทดลอง โดยคาดว่าความสามารถในการลดโคเลสเตอรอลนี้น่าจะมาจาก “ใยอาหาร” (dietary fiber) (Hori *et al.* 1994) ในตำรับแพทย์แผนจีนมีการนำ *N. commune* และ *N. spiroides* มาใช้ในการบำบัดโรคตาบอดในเวลากลางคืน (night blindness), แผลไฟไหม้น้ำร้อนลวก ตลอดจนอาการเจ็บป่วยที่ไม่รุนแรงต่างๆ มีการวิจัยพบว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนของ *N. flagelliforme* มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอก (antitumor) ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นผลมาจากองค์ประกอบของสารพอลิแซ็กคาไรด์ (Takenaka *et al.* 1997) Huang *et al.* 1998 ศึกษาองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์จาก *Nostoc* 3 ชนิด ที่รับประทานได้ ได้แก่ *N. commune*, *N. flagelliforme*, *N. sphaeroides* ที่เจริญเติบโตในธรรมชาติ และที่ได้จากการเพาะเลี้ยง พบว่าองค์ประกอบหลักของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากตัวอย่างกลุ่มเซลล์ของ *Nostoc* ทั้ง 3 ชนิด ที่เก็บจากแหล่งธรรมชาติ ได้แก่ กลูโคส, ไซโรส และกาแลคโตส ในสัดส่วน 2 : 1 : 1 โดยประมาณ ทั้งยังพบว่ามีแมนโนสในระดับต่ำและมีความแปรปรวนระหว่างชนิด และพบว่าเฉพาะใน *N. flagelliforme* เท่านั้นที่มีอาราบินอส ส่วนองค์ประกอบของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากอาหารเหลวที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายและจากเซลล์สาหร่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยง พบว่ามีความซับซ้อนมากกว่าตัวอย่างที่เก็บจากธรรมชาติ และมีความแปรปรวนระหว่างชนิด

ในปัจจุบันในประเทศญี่ปุ่น มีผลิตภัณฑ์เซลล์แห้งของ *N. flagelliforme* ซึ่งมีสรรพคุณในการยับยั้งการเกิดเนื้องอกในลำไส้และลดโคเลสเตอรอล ที่ผลิตโดยบริษัท Micro-algae Corporation ออกวางจำหน่ายตั้งแต่ปี 1999

ตัวอย่างของ *Nostoc* และผลิตภัณฑ์ดังแสดงในรูปที่ 1



“จิ” (Shi, *Nostoc flagelliforme*) ตากแห้งนิยมรับประทานช่วงปีใหม่ในประเทศจีน



ผลิตภัณฑ์จาก *Nostoc flagelliforme* ป้องกันการเกิดเนื้องอกในลำไส้และลดโคเลสเตอรอล ที่วางจำหน่าย ในประเทศญี่ปุ่น

รูปที่ 1. ลักษณะของสาหร่าย *Nostoc* และผลิตภัณฑ์

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

2.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างสาหร่ายเห็ดฉาบ และตัวอย่างดิน

ทำการสำรวจพื้นที่ป่าดงลำพัน และพื้นที่ข้างเคียง ที่พบว่ามีสาหร่ายเห็ดฉาบเจริญเติบโตอยู่บนดิน เมื่อวันที่ 9 มกราคม 2546 เก็บแผ่นสาหร่าย (algal mat) แห้งเย็น (0 องศาเซลเซียส) เพื่อนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ รวมทั้งแยกสายพันธุ์สาหร่ายในห้องปฏิบัติการของศูนย์จุลินทรีย์ (ศจล.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) สำหรับตัวอย่างดินทำการเก็บเฉพาะผิวหน้าดินที่ความลึกประมาณ 5 เซนติเมตร เพื่อทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของดิน ณ ห้องปฏิบัติการของคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

2.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติของดิน

วิเคราะห์คุณสมบัติของดินตามวิธีมาตรฐาน AOAC (1995) (Official Method of Analysis of AOAC 16th Edition volume 1.)

2.2.1 N โดยวิธี Kjeldahl method 955.04

2.2.2 P โดย spectrophotometric molybdovanadophosphate method 958.01

- 2.2.3 K, Ca, Mg, Mn, Zn, Pu, Mo, Fe, Na ใช้วิธี wet digestion ด้วยกรดไนตริก และวัดด้วย atomic absorption ยกเว้น K และ Na ใช้วิธี spectrometer method และวัดด้วย flame photometric method
- 2.2.4 Cl วิเคราะห์โดยการไตเตรตด้วย silver nitrate ตามวิธี 928.02
- 2.2.5 S วิเคราะห์โดย Gravimetric method 980.02

2.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติของสาหร่ายเห็ดฉาบ

นำสาหร่ายเห็ดฉาบสดที่เก็บจากธรรมชาติมาล้างด้วยน้ำเกลือจนปราศจากดิน/ทรายและล้างครั้งสุดท้ายด้วยน้ำกลั่น แล้วไปทำการวิเคราะห์ในด้านต่างๆ ดังนี้

- 2.3.1 การวิเคราะห์คุณสมบัติทั่วไป ตรวจสอบคุณสมบัติทั่วไปของสาหร่ายเห็ดฉาบจากแหล่งธรรมชาติด้านสัณฐานวิทยา โดยใช้คู่มือการจัดอนุกรมวิธานของ Desikachary 1959 ในส่วนของการปนเปื้อนจากสาหร่ายชนิดอื่นในแผ่นสาหร่ายเห็ดฉาบทำการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Olympus BH-2)
- 2.3.2 การวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร วิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของสาหร่ายเห็ดฉาบตามวิธีมาตรฐาน AOAC 1990 ในด้านต่างๆ ได้แก่ ความชื้น, โปรตีน, ไขมันทั้งหมด, โยอาหาร, วิตามินเอ, วิตามินบี 1 และ บี 2, วิตามินซี, กรดอะมิโน 18 ชนิด, แคลเซียม และเหล็ก โดยใช้บริการวิเคราะห์ของศูนย์ทดสอบและมาตรฐาน (ศทม.) วว. ซึ่งได้รับการรับรองระบบคุณภาพมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ISO 17025
- 2.3.3 การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา ทำการวิเคราะห์ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารกึ่งสำเร็จรูปฉบับที่ 210 ของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (พ.ศ. 2543) ได้แก่ จุลินทรีย์ทั้งหมด (ที่เจริญเติบโตที่ 37 องศาเซลเซียส และ 55 องศาเซลเซียส), ยีสต์และรา, *Escherichia coli*, จุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, และ *Bacillus cereus* โดยใช้บริการวิเคราะห์ของ ศทม. วว.
- 2.3.4 การวิเคราะห์การปนเปื้อนอนินทรีย์ (non-biogenic toxins) ทำการวิเคราะห์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) กำหนดให้อาหารในภาชนะที่ปิดสนิทมีสารปนเปื้อนจำพวกสารหนู, ปรอท และตะกั่ว ได้ในปริมาณจำกัด โดยใช้บริการวิเคราะห์ของ ศทม. วว.

2.3.5 การวิเคราะห์ความเป็นพิษ (toxicity) โดยการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก (acute oral toxicity test) ในหนูทดลอง ตามวิธีมาตรฐานของ OECD Guidelines for Testing of Chemicals 1993 โดยใช้บริการวิเคราะห์ของฝ่ายเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (ฟกผ.) วว.

2.4 การแยกสายพันธุ์ (isolation) และการอนุรักษ์สายพันธุ์สาหร่ายเห็ดลาบนอกถิ่นกำเนิด (*ex situ* conservation)

นำตัวอย่างแผ่นสาหร่ายเห็ดลาบที่ล้างด้วยน้ำเกลือและน้ำกลั่นจนสะอาดปราศจากการปนเปื้อนของดิน/ทรายมาทำให้แตกเป็นชิ้นละเอียดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasonic bath, Sonicor) แล้วทำการแยกให้ได้สายพันธุ์เดี่ยว (unialgal culture) ด้วยวิธีไมโครปิเปต (micropipetting method, Hoshow and Rosowski 1979) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (inverted microscope, Olympus CK-2) เพื่อนำมาอนุรักษ์สายพันธุ์และใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้นสำหรับการดำเนินงานวิจัยในลำดับต่อไป

การอนุรักษ์สาหร่ายเห็ดลาบที่แยกได้จากตัวอย่างธรรมชาตินอกถิ่นกำเนิด ณ วว. ดำเนินการใน 2 วิธี คือ

2.4.1 การเก็บรักษาระยะสั้น (short-term preservation) เป็นการเก็บรักษาให้คงความมีชีวิต โดยการต่อเชื้อ (subculture) ในช่วงเวลาที่เหมาะสม โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BGA (Antarikanonda *et al.* 1980) ซึ่งเป็นอาหารที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน เนื่องจากสาหร่ายเห็ดลาบเป็นสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวที่ตรึงไนโตรเจนได้ บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง (cool-white fluorescent lamp) ที่ความเข้ม 20 ไมโครไอสไตร์ต่อตารางเมตร ต่อวินาที

2.4.2 การเก็บรักษาระยะยาว (long-term preservation) ศึกษาความสามารถในการเก็บรักษาสายพันธุ์สาหร่ายเห็ดลาบระยะยาวด้วยวิธีเยือกแข็ง (cryopreservation) ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Watanabe *et al.* 1992 โดยใช้สารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide) 3% (ความเข้มข้นสุดท้าย) เป็นสารป้องกันเซลล์ (cryoprotectant) และทำการเก็บเซลล์โดยแช่แข็งที่อุณหภูมิ -85 องศาเซลเซียส และทำการตรวจสอบความสามารถในการอยู่รอด (survival) โดยการนำเซลล์ที่ผ่านการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ มา เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BGA ทำการบ่มในสภาวะ เช่นเดียวกับ 2.4.1 ตรวจสอบการอยู่รอด และการเจริญเติบโตของสาหร่ายภายหลังการบ่มเชื้อ 1, 2 และ 4 สัปดาห์ ด้วยตาเปล่า และภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อสังเกตความสมบูรณ์ของเซลล์ทั้งในแง่ของสี และสัณฐานวิทยา

2.5 การศึกษาการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายเห็ดคลาบ

2.5.1 การผลิตสารออกฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดคลาบในอาหารเหลว BGA ปริมาตร 10 ลิตร ในถังเพาะเลี้ยง (carboy, Nalgene) บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ภายใต้น้ำแสง 60 ไมโครไฮสไดน์ต่อตารางเมตรต่อวินาที (cool-white fluorescent lamp) และทำการศึกษาการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตโดยสาหร่ายเห็ดคลาบ ทั้งจากน้ำเลี้ยง (nutrient broth) และจากเซลล์ดังนี้

เตรียมสารทดสอบจากน้ำเลี้ยง (nutrient broth) โดยนำน้ำเลี้ยงจากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดคลาบที่มีอายุ 15 และ 30 วัน มาผ่านซี₁₈ คาร์ทริดจ์ (C₁₈ cartridge, Waters) จากนั้นชะด้วยเมทานอล 100% ปริมาตร 4 มิลลิลิตร นำไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศ (rotary evaporator, Büchi) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

เตรียมสารสกัดจากเซลล์สาหร่ายเห็ดคลาบ โดยนำเซลล์สาหร่ายเห็ดคลาบ อายุ 15 และ 30 วัน ไปทำการสกัดด้วยตัวทำละลายผสม เอทิลอะซิเตต : เอทานอล : น้ำ อัตราส่วน 1 : 2 : 1 นำสารสกัดที่ได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยนำสารที่เตรียมได้เจือจางให้มีความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อแผ่นทดสอบ (BLL blank paper disc) มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก *Bacillus subtilis* TISTR 008 แบคทีเรียแกรมลบ *Escherichia coli* TISTR 780, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 และรา *Aspergillus niger* TISTR 3245 โดยวิธี agar diffusion (Chmel and Louria 1980; Keneman *et al.* 1979) ตรวจสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารออกฤทธิ์จากขนาดของโซนยับยั้ง (inhibition zone) โดยใช้เจนตามิซิน (gentamicine) และนิสตาติน (nystatin) เป็นปฏิชีวนะมาตรฐานเป็นตัวควบคุมบวก, (positive control) และน้ำกลั่นเป็นตัวควบคุมลบ (negative control) เพื่อเปรียบเทียบ

2.5.2 การผลิตสารออกฤทธิ์ด้านการอักเสบ

เตรียมสาหร่ายเห็ดคลาบแห้ง (freeze-dried) จากธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยงให้อยู่ในรูปสารแขวนลอย โดยใช้ทราคาแคนท์ (tragacanth) และน้ำมันพืช ให้มีความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้ในการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบที่อุ้งเท้าหนู (model rat paw edema) โดยใช้การจีแนน (carrageenan) เป็นสารเหนียวทำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าหนู นำมาเตรียมให้อยู่ในรูปสารละลาย โดยละลายในน้ำเกลือ 0.9% (normal saline) ที่ขนาด 1% น้ำหนักต่อปริมาตร และใช้

เฟนิลบูตาโซน (phenylbutazone) ซึ่งเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มด้านการอักเสบที่มีไม่ใช่สเตอรอยด์ (non-steroidal anti-inflammatory drug) มาเตรียมให้อยู่ในรูปสารแขวนลอย โดยใช้ทราคาแคนท์และน้ำมันพีช ให้มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้ในการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบที่อุ้งเท้าหนู ปรับสภาพหนูทดลองโดยนำหนูทดลองมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการก่อนการทดสอบนาน 1 สัปดาห์ เพื่อให้หนูปรับตัวคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อม ซึ่งมีอุณหภูมิระหว่าง 24 ± 10 องศาเซลเซียส อดอาหารหนูอย่างน้อย 16 ชั่วโมงก่อนทำการทดสอบ แต่ให้ได้รับน้ำตามปกติ

ทำการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบที่อุ้งเท้าหนู โดยประยุกต์ใช้วิธีของ Winter *et al.* (1962) ใช้หนูทดลอง น้ำหนัก 100-150 กรัม แบ่งเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว วัดปริมาตรเท้าข้างขวาของหนูทุกตัวด้วยเครื่อง Plethysmometer บันทึกไว้ แล้วให้สารทดสอบทางปากแก่หนูแต่ละกลุ่มดังนี้

- 1) กลุ่มควบคุมได้รับสารแขวนลอยพื้นฐานของทราคาแคนท์และน้ำมันพีช ปริมาตรเทียบเท่ากับกลุ่มที่ 5
- 2) กลุ่มสารมาตรฐานได้รับสารแขวนลอยเฟนิลบูตาโซน ขนาด 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักหนู
- 3) กลุ่มทดสอบได้รับสารแขวนลอยของสาหร่ายเห็ดฉาบในขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักหนู
- 4) กลุ่มทดสอบได้รับสารแขวนลอยของสาหร่ายเห็ดฉาบในขนาด 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักหนู
- 5) กลุ่มทดสอบได้รับสารแขวนลอยของสาหร่ายเห็ดฉาบในขนาด 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักหนู

หลังจากให้สารทดสอบแก่หนูแต่ละกลุ่ม 1 ชั่วโมง ฉีดสารละลายคาราจีแนน 1% ที่อุ้งเท้าหนูข้างขวาในขนาด 0.1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นวัดความเปลี่ยนแปลงของปริมาตรอุ้งเท้าหนูที่เวลา 1 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง และ 3 ชั่วโมง ตามลำดับ แล้วจึงทำการเปรียบเทียบความแตกต่าง โดยการคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการอักเสบ (% inhibition) ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบทางสถิติ โดยใช้ ANOVA $p \leq 0.05$

$$\text{การยับยั้งการอักเสบ (\%)} = \frac{\text{ปริมาตรอุ้งเท้าหนูก่อนให้สารทดสอบ} - \text{ปริมาตรอุ้งเท้าหนูหลังให้สารทดสอบ}}{\text{ปริมาตรอุ้งเท้าหนูก่อนให้สารทดสอบ}} \times 100$$

2.6 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสม (optimal conditions) ในการผลิตชีวมวลสาหร่าย เห็ดฉาบในระดับห้องปฏิบัติการ

เตรียมหัวเชื้อ (inoculum) โดยนำสาหร่ายเห็ดฉาบซึ่งเป็นสายพันธุ์เดียวกันมาขยายปริมาณการผลิตในถังเพาะเลี้ยง บรรจุอาหารสูตร BGA (ใช้สารเคมี analytical grade ของ Fluka, Sigma และ Merck) ปริมาตร 10 ลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงไฟที่ระดับความเข้มแสง 60 ไมโครไฮสไนด์ต่อตารางเมตรต่อวินาที ตลอด 24 ชั่วโมง ระหว่างการเพาะเลี้ยงพ่นอากาศผสมแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรด้วยอัตราการไหลของอากาศ 1,000 มิลลิลิตรต่อนาที ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วันก่อนทำการเก็บเกี่ยวด้วยตาข่ายกรองแพลงก์ตอนขนาดรู 100 ไมครอน เพื่อนำไปใช้เป็นหัวเชื้อในการทดลอง

2.6.1 การศึกษาชนิดและสถานะของอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยง

ทำการศึกษานิสัยและสถานะของอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดฉาบ โดยศึกษาอาหาร 3 สูตร ได้แก่ BG-11 (Steiner *et al.* 1971), BGA และ BGA+N ซึ่งดัดแปลงโดยเติม NaNO_3 0.5 กรัมต่อลิตร ใน 3 สถานะ คือ อาหารวุ้นแข็ง (agar medium) อาหารเหลว (liquid medium) และบนเม็ดเวอร์มิคูไลท์ (vermiculite bead) ที่ชุ่ม (soak) ด้วยอาหารเหลวบ่มที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 60 ไมโครไฮสไนด์ต่อตารางเมตรต่อวินาที

2.6.2 การศึกษาระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่เหมาะสมในอาหารแข็ง

ทำการเปรียบเทียบในอาหารแข็งสูตร BGA โดยใช้สาหร่ายเห็ดฉาบเริ่มต้นหนัก 0.50 ± 0.01 กรัม น้ำหนักสด ในจานเพาะเชื้อที่ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ดังนี้ 0.00, 0.07 (สูตรปกติ), 0.14, 0.21, 0.35, 0.70, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 60 ไมโครไฮสไนด์ต่อ ตารางเมตรต่อวินาที ตลอด 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 30 วัน และชั่งน้ำหนักสดทุกๆ 3 วัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ (triplicate) วัดอัตราการเจริญเติบโตสาหร่ายทำได้โดยนำสาหร่ายมาทำการปั่นเหวี่ยง ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge, Hettich Zentrifugen รุ่น Universal 16) ด้วยความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ทำการล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งน้ำเชื้อ 2 ครั้ง กรองสาหร่ายและนำมาชั่งน้ำหนักสดด้วยเครื่องชั่งวิเคราะห์ (analytical balance, Satorius รุ่น LA 230S) โดยคือน้ำหนักสดเป็นกรัม (ต่อปริมาตรอาหาร 10 มิลลิลิตร) นำผลที่ได้มาวิเคราะห์โดยการสร้างกราฟ เพื่อดูแนวโน้มการเจริญเติบโต คำนวณอัตราการเจริญเติบโต ($\mu\%$ วัน⁻¹) (Gao 1998) ได้ดังนี้

$$\mu = (100 \ln(Dt/Do))/t$$

เมื่อ Do = น้ำหนักแห้งเมื่อเวลาเริ่มต้น

Dt = น้ำหนักแห้งเมื่อเสร็จสิ้นการทดลอง

t = จำนวนวัน

2.6.3 ศึกษาระดับความเข้มข้นของไดโปแตสเซียมไฮโดรฟอสเฟต (K_2HPO_4) ที่เหมาะสมในอาหารแ่งสูตร BGA

ทำการเปรียบเทียบในอาหารแ่งสูตร BGA ดัดแปลง โดยใช้ NaCl ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ซึ่งได้จากการทดลองในข้อ 2.6.2 ใช้สาหร่ายเริ่มต้นหนัก 0.20 ± 0.01 กรัม น้ำหนักสดในงานเพาะเชื้อ ที่ความเข้มข้นของ K_2HPO_4 ในระดับต่างๆ ดังนี้ 0, 0.15, 0.30, 0.60 (สูตรปกติ), 0.90, 1.20 กรัมต่อลิตร ทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 60 ไมโครไอสไดน์ต่อตารางเมตรต่อวินาที ตลอด 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 30 วัน และชั่งน้ำหนักสดทุกๆ 3 วัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และวัดอัตราการเจริญเติบโตเช่นเดียวกับในข้อ 2.6.2

2.6.4 ศึกษาระดับความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ที่เหมาะสมในอาหารแ่งสูตร BGA

ทำการเปรียบเทียบในอาหารแ่งสูตร BGA ดัดแปลง โดยใช้ NaCl และ K_2HPO_4 ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ซึ่งได้จากการทดลองในข้อ 2.6.2 และ 2.6.3 ใช้สาหร่ายเริ่มต้นหนัก 0.20 ± 0.01 กรัม น้ำหนักสดในงานเพาะเชื้อ ที่ความเข้มข้นของ $CaCl_2$ ในระดับต่างๆ ดังนี้ 0, 0.02, 0.04, 0.08 (สูตรปกติ), 0.12, 0.16 กรัมต่อลิตร ทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 60 ไมโครไอสไดน์ต่อตารางเมตรต่อวินาที ตลอด 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 30 วัน และชั่งน้ำหนักสดทุกๆ 3 วัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และวัดอัตราการเจริญเติบโตเช่นเดียวกับในข้อ 2.6.2

2.6.5 ศึกษาระดับความเข้มข้นของแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) ที่เหมาะสมในอาหารแ่งสูตร BGA

ทำการเปรียบเทียบในอาหารแ่งสูตร BGA ดัดแปลง โดยใช้ NaCl, K_2HPO_4 และ $CaCl_2$ ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ซึ่งได้จากการทดลองในข้อ 2.6.2-2.6.4 ใช้สาหร่ายเริ่มต้นหนัก 0.20 ± 0.01 กรัม น้ำหนักสดในงานเพาะเชื้อ ที่ความเข้มข้นของ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ในระดับต่างๆ ดังนี้ 0, 0.095, 0.19, 0.38 (สูตรปกติ), 0.57, 0.76 กรัมต่อลิตร ทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 60 ไมโครไอสไดน์ต่อตารางเมตรต่อวินาที ตลอด 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 30

วัน และชั่งน้ำหนักสดทุกๆ 3 วัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และวัดอัตราการเจริญเติบโตเช่นเดียวกับในข้อ 2.6.2

2.6.6 ศึกษาการแปรผันสภาพความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในอาหารเชิงสูตร BGA

ทำการเปรียบเทียบในอาหารเชิงสูตร BGA ดัดแปลง โดยใช้ NaCl, K₂HPO₄, CaCl₂ และ MgSO₄·7H₂O ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ซึ่งได้จากการทดลองในข้อ 2.6.2-2.6.5 ใช้สาหร่ายเริ่มต้นหนัก 0.20±0.01 กรัม/น้ำหนักสดในจานเพาะเชื้อปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างที่ระดับต่างๆ ดังนี้ 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 ทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28±1 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 60 ไมโครไอสไดน์ต่อตารางเมตรต่อวินาที ตลอด 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 30 วัน และชั่งน้ำหนักสดทุกๆ 3 วัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และวัดอัตราการเจริญเติบโตเช่นเดียวกับในข้อ 2.6.2

2.7 การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายเห็ดฉาบ

พัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายเห็ดฉาบทั้งจากแหล่งธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยง
ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2. ผลิตภัณฑ์อาหารที่พัฒนาจากสาหร่ายเห็ดฉาบ

ประเภทอาหาร	ชนิดของอาหาร
คาว	ผงโรยข้าว (Thai dancing, furikake)
	ฉาบ
	ซูชิไส
	ซูชิเต้าหู้
	สาหร่ายแผ่นคองเปรี๊ยะ-เค็ม
หวาน	วุ้นสาหร่าย (รสชาเขียว, รสกะทิ)
	เจลลี่สาหร่ายรสผลไม้
ขบเคี้ยว	ทองแผ่นสาหร่าย (รสหวาน, รสเค็ม)
	สาหร่ายแผ่นปรุงรส
เครื่องดื่ม	น้ำข้าวผสมสาหร่ายรสผลไม้ (สับปะรด, กระเจียบ, มะนาว)

ผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่พัฒนาขึ้นจะทำการทดสอบโดยการชิมด้วยผู้ทดสอบ 20-30 คน และตอบแบบสอบถาม โดยให้คะแนนประเมินทางประสาทสัมผัสด้วยระบบ Hedonic Scale Test ในการประเมินผลเรื่อง สี กลิ่น รส ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับ แล้ววิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี analysis of variance (ANOVA) และ means multiple range test

3. ผลการดำเนินงาน

3.1 การสำรวจสาหร่ายเห็ดฉาบบริเวณป่าดูลำพันและพื้นที่ข้างเคียง

บริเวณที่สำรวจพบสาหร่ายเห็ดฉาบ (รูปที่ 2)

3.1.1 ในเขตห้ามล่าสัตว์ป่าดูลำพัน

สามารถพบสาหร่ายเห็ดฉาบได้บริเวณพื้นที่เสื่อมโทรมของบริเวณเขตห้ามล่าสัตว์ป่าดูลำพันติดกับที่ทำการ ลักษณะดินเป็นดินทราย พบพรรณไม้ที่ขึ้น คือ หญ้าหางหมาจอก, หญ้าแฝกใหม่ และหญ้าหว่าบ่อ ได้ค้นพบไซ

3.1.2 บริเวณทิศเหนือติดกับเขตห้ามล่าสัตว์ป่าดูลำพัน

เป็นที่เสื่อมโทรม ดินเป็นดินทรายผสมกับดินลูกรัง พบสาเกลือขึ้นใกล้เคียงกับบริเวณที่เก็บตัวอย่าง พืชที่ขึ้นเป็นพืชตระกูลหญ้า

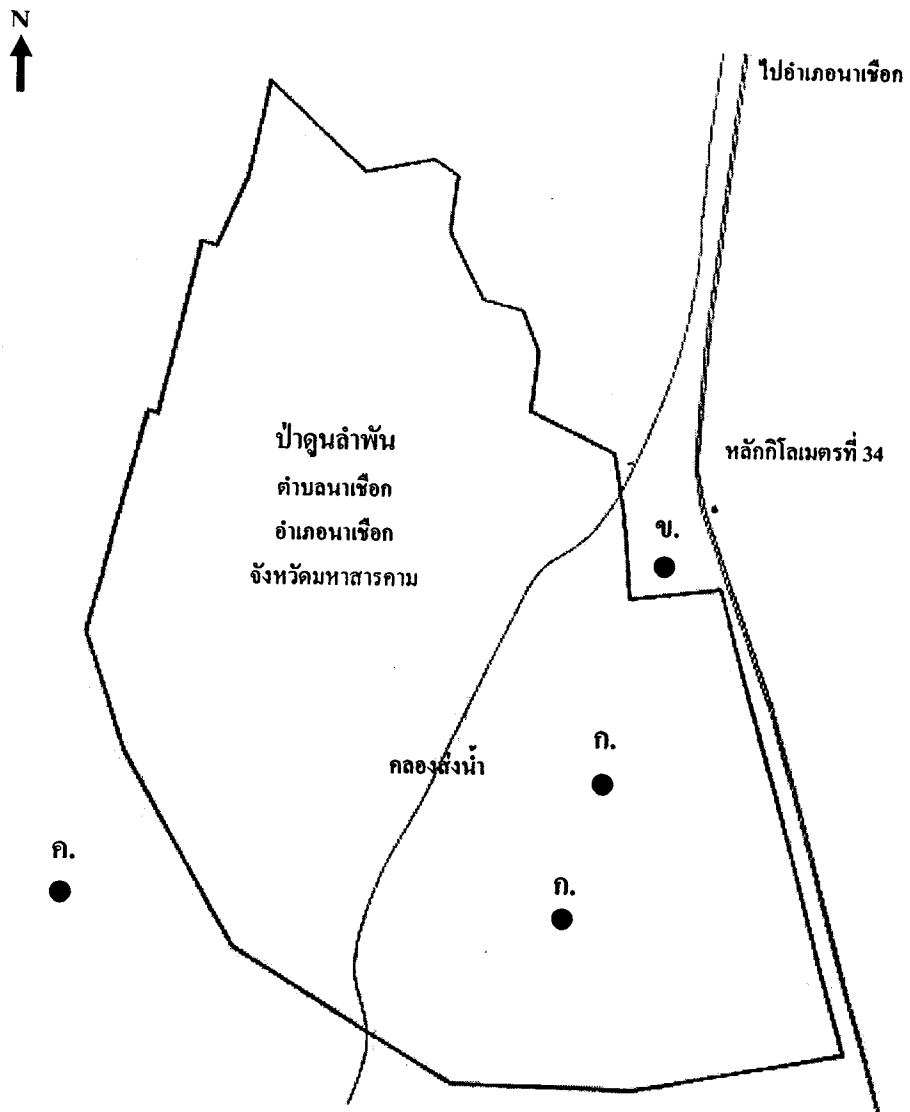
3.1.3 บริเวณทางด้านทิศใต้ของเขตห้ามล่าสัตว์ป่าดูลำพัน

เป็นที่ของเกษตรกร พบสาหร่ายเห็ดฉาบขึ้นในบริเวณที่ไม่ได้มีการทำนา ดินลักษณะเป็นดินร่วนปนทราย

3.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติของดิน

ผลวิเคราะห์คุณสมบัติของดิน บริเวณที่สำรวจพบสาหร่ายเห็ดฉาบ แสดงในตารางที่ 3 ซึ่งแสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติของดินทางกายภาพและเคมีในแง่ของปริมาณธาตุอาหาร พบว่า ดินที่สำรวจพบสาหร่ายเห็ดฉาบทั้ง 3 แห่ง มีคุณสมบัติเป็นดินร่วนปนทราย มีอินทรีย์วัตถุอยู่ระหว่าง 0.4-0.8% ความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 7.81-8.36 ความเค็มและค่าการนำไฟฟ้าที่เท่ากัน คือ 0.3 กรัมต่อลิตร และ 7.2 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร ตามลำดับ ในส่วนของธาตุอาหารในดิน พบว่าโปแตสเซียม, แคลเซียม, ซัลเฟอร์ และโซเดียม ในทั้ง 3 แห่ง มีค่าใกล้เคียงกันมาก ส่วนธาตุสังกะสี, มังกานีส และทองแดง ตรวจไม่พบในตัวอย่างดินจากเขตห้ามล่าสัตว์ป่าดูลำพัน สำหรับธาตุอาหารหลักของสาหร่าย คือ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส พบว่า ทั้ง 3 ตัวอย่างมีปริมาณแตกต่างกันในช่วงกว้าง โดยไนโตรเจนพบในช่วง 76-352 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ฟอสฟอรัสพบใน

ช่วง 185-809 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยตัวอย่างดินในเขตห้ามล่าสัตว์ป่าดูลำพันจะมีปริมาณไนโตรเจนต่ำที่สุด ในขณะที่มีปริมาณฟอสฟอรัสสูงที่สุดเช่นกัน ส่วนธาตุอาหารรอง พบว่าปริมาณแมกนีเซียมมีความแตกต่างในช่วงกว้างระหว่าง 22-165 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ข้อมูลธาตุอาหารบ่งชี้ว่า สาหร่ายเห็ด लाभสามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินที่มีความแตกต่างของธาตุอาหารที่สำคัญในช่วงกว้างได้



รูปที่ 2. บริเวณที่สำรวจพบสาหร่ายเห็ด लाभ

- ก. ในพื้นที่เขตห้ามล่าสัตว์ป่าดูลำพัน
- ข. พื้นที่ด้านทิศเหนือของป่าดูลำพัน
- ค. พื้นที่ด้านทิศใต้ของป่าดูลำพัน

ตารางที่ 3. คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของดินที่สำรวจพบว่ามีความเหมาะสมต่อ

จุดที่เก็บ	เนื้อดิน	อินทรีย์ วัตถุ	ความ เป็น	ความเค็ม (กรัมต่อลิตร)	ค่าการนำไฟฟ้า (ไมโครซีเมนส์ ต่อเซนติเมตร)	ธาตุอาหารที่พบในดิน (มก./กก.)											
						N	P	K	Ca	Mg	S	Na	Cl	Zn	Fe	Mn	Cu
1. ดินในเขตห้ามล่า	ร่วนปนทราย	0.4	7.89	0.3	7.26	76	809	13	0.07	22	36	91	32	ND	1.624	ND	N
2. ดินด้านทิศเหนือ	ร่วนปนทราย	0.6	7.81	0.3	7.27	352	322	13	0.09	88	36	86	326	0.37	2.214	10	0.00
3. ดินด้านทิศใต้	ร่วนปนทราย	0.8	8.36	0.3	7.28	291	185	14	0.79	165	36	71	84	0.63	0.744	17	0.00

3.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติสาหร่ายเห็ดคลาบ

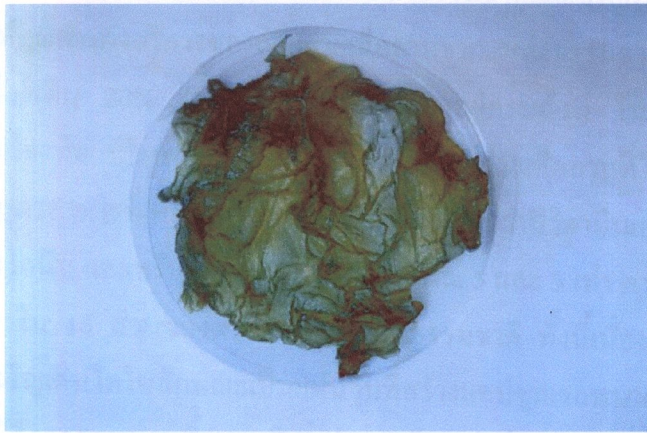
3.3.1 คุณสมบัติทั่วไป

สาหร่ายเห็ดคลาบสด (รูปที่ 3) มีลักษณะเป็นแผ่นแบนบางหนาประมาณ 1.0 มิลลิเมตร มีสีตั้งแต่สีน้ำเงินแกมเขียวจนถึงสีเหลือง ขนาดของแผ่นจะแตกต่างกันไปขึ้นกับสถานที่ที่พบ หากเป็นพื้นที่ที่มีน้ำขังและเป็นเวลานานสาหร่ายที่พบจะมีลักษณะเป็นแผ่นขนาดใหญ่ ส่วนสาหร่ายเห็ดคลาบแห้งจะมีลักษณะหดตัวเป็นแผ่นแข็ง สีน้ำตาลถึงดำ มีลักษณะขรุขระ (รูปที่ 4)

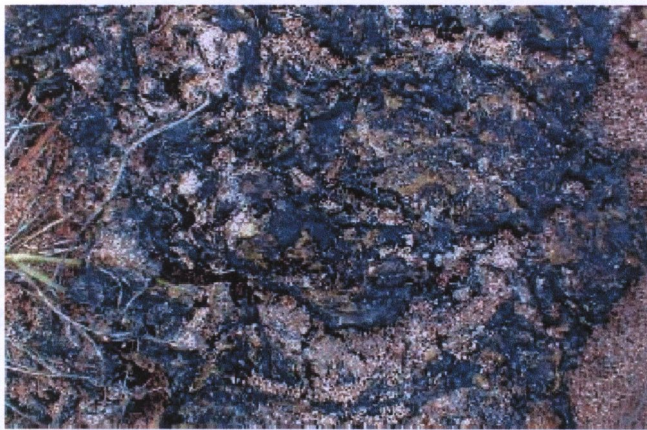
การตรวจสอบลักษณะทางวิทยาของสาหร่ายเห็ดคลาบได้กล้องจุลทรรศน์ (รูปที่ 5) และจัดอนุกรมวิธานตามคู่มือของ Desikachary 1959 พบว่าเป็นสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ ชนิด *Nostoc commune* voucher มีลักษณะของทาลัส (thallus) ประกอบด้วยเซลล์ที่มีแคปซูลเจลใส (hyaline capsular jelly) เป็นเมือกห่อหุ้มรวมตัวกันอย่างหนาแน่น (firm) และพันกันยุ่งเหยิง (entangled) ทริคโอมมีความกว้าง 5-7 ไมครอน เซลล์รูปถัง (barrel-shaped) ถึงค่อนข้างกลม ขนาดกว้าง 6.69 ไมครอน ยาว 8.05 ไมครอน เฮเทอโรซิสต์ (heterocyst-เซลล์พิเศษทำหน้าที่ตรึงไนโตรเจน) รูปร่างค่อนข้างกลม กว้างประมาณ 7.25 ไมครอน

การตรวจสอบการปนเปื้อนของแผ่นสาหร่ายเห็ดคลาบจากแหล่งธรรมชาติ พบว่ามีการปนเปื้อนบนผิวของแผ่นสาหร่ายเห็ดคลาบจากสาหร่ายอื่นๆ คือ กลุ่มสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว ได้แก่ *Phormidium* sp., *Oscillatoria* sp. และ *Scytonema* sp. และกลุ่มไดอะตอม ได้แก่ *Navicula* sp., *Achnanthes* sp. และ *Fragilaria* sp. โดยพบการปนเปื้อนต่ำกว่า 10% ของพื้นที่ของแผ่นสาหร่ายเห็ดคลาบ และสามารถลดการปนเปื้อนจากสาหร่ายได้ง่าย โดยการล้างด้วยน้ำและใช้มือถู

การศึกษาปริมาณน้ำในแผ่นสาหร่ายเห็ดคลาบสดจากแหล่งธรรมชาติ และจากการเพาะเลี้ยงโดยการอบแห้ง (55 องศาเซลเซียส), ฝืนแดด และระเหิดแห้ง (freeze-dried) พบว่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายเห็ดคลาบจากแหล่งธรรมชาติคิดเป็น 4.45 ± 0.03 , 4.94 ± 0.12 และ $4.10 \pm 0.02\%$ ของน้ำหนักสด ตามลำดับ หรือสาหร่ายเห็ดคลาบสดจากแหล่งธรรมชาติจะมีความชื้นประมาณ 95-96% ในขณะที่น้ำหนักแห้งของสาหร่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจะมีน้ำหนักแห้งคิดเป็น 2.65 ± 0.03 , 2.34 ± 0.11 และ $2.03 \pm 0.02\%$ ตามลำดับ หรือสาหร่ายเห็ดคลาบสดจากการเพาะเลี้ยงจะมีความชื้นประมาณ 97-98% เมื่อนำสาหร่ายเห็ดคลาบแห้งจากทั้ง 2 แหล่งไปคืนสภาพโดยการแช่ในน้ำกลั่น พบว่าสาหร่ายเห็ดคลาบสามารถคืนสภาพ และคงลักษณะไว้ได้เช่นเดิมภายในเวลาประมาณ 10 นาที



รูปที่ 3. ลักษณะของสาหร่ายเห็ดลาบสด



รูปที่ 4. ลักษณะของสาหร่ายเห็ดลาบแห้ง



รูปที่ 5. สัณฐานวิทยาของสาหร่ายเห็ดลาบภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.3.2 คุณค่าทางอาหารของสาหร่ายเห็ดคลาบจากแหล่งธรรมชาติและการเพาะเลี้ยง

ผลวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของสาหร่ายเห็ดคลาบจากแหล่งธรรมชาติ แสดงในตารางที่ 4 สาหร่ายเห็ดคลาบมีโปรตีน 20% โดยมีกรดอะมิโนจำเป็นอยู่ครบถ้วน ในขณะที่มีไขมันต่ำเพียง 0.02% และที่น่าสนใจ คือ มีใยอาหารสูงถึง 43% ส่วนสาหร่ายเห็ดคลาบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วยสูตรอาหารที่เหมาะสม (BGA ดัดแปลง) พบว่ามีวิตามินเอเพิ่มเป็น 9 เท่า มีกรดอะมิโนจำเป็น เมไทโอนีน และทริปโตเฟน เพิ่มขึ้นประมาณ 5 และ 3 เท่า ตามลำดับ ในขณะที่มีใยอาหารเหลือเพียง 1 ใน 16 ส่วนของตัวอย่างจากแหล่งธรรมชาติ ทั้งนี้เนื่องจากตัวอย่างจากแหล่งธรรมชาติจะมีการเจริญเติบโตในลักษณะเป็นแผ่นวุ้นที่สร้างแคปซูลเจลหนาแน่นล้อมรอบเส้นสาย ในขณะที่ตัวอย่างที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจะเป็นกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กที่มีการหลั่งสารพอลิแซ็กคาไรด์ (ซึ่งเป็นใยอาหารรูปแบบหนึ่ง) ออกสู่ภายนอก เมื่อเก็บเกี่ยวเฉพาะเซลล์จึงมีปริมาณใยอาหารน้อยกว่าจากแหล่งธรรมชาติ

เมื่อพิจารณาคุณค่าทางอาหารของสาหร่ายเห็ดคลาบเปรียบเทียบกับสกุล *Nostoc* ทั้งชนิด *N. commune* และ *N. flagelliforme* ที่มีการศึกษาจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ ปักกิ่ง เจียงซู และ닝เซี่ย (Gao 1998; Chu and Tsang 1988) ในประเทศจีนแล้ว พบว่า มีปริมาณโปรตีนที่ค่อนข้างใกล้เคียงกัน คือ ประมาณ 20% อย่างไรก็ตามสาหร่ายเห็ดคลาบจากแหล่งธรรมชาติของประเทศไทยมีปริมาณใยอาหารสูงกว่า 10-20 เท่า

3.3.3 การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาของสาหร่ายเห็ดคลาบจากแหล่งธรรมชาติ

ผลวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาของสาหร่ายเห็ดคลาบเปรียบเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารกึ่งสำเร็จรูป (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารกึ่งสำเร็จรูป ฉบับที่ 210 พ.ศ. 2543) พบว่า สาหร่ายเห็ดคลาบจากแหล่งธรรมชาติแม้จะมีการทำความสะอาดแล้ว แต่ยังมีปริมาณจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตที่ 37 องศาเซลเซียส และปริมาณยีสต์และราเกินกว่าข้อกำหนดของมาตรฐานฯ โดยไม่พบว่ามี การปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ก่อโรคแต่อย่างใด ในขณะที่สาหร่ายเห็ดคลาบจากการเพาะเลี้ยงมีปริมาณจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตที่ 37 องศาเซลเซียส เกินกว่าที่กำหนด (ตารางที่ 5) อย่างไรก็ตามการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ มีกระบวนการฆ่าเชื้อที่สามารถทำลายจุลินทรีย์เหล่านี้ ซึ่งไม่ได้เป็นจุลินทรีย์ก่อโรคได้

ตารางที่ 4. คุณค่าทางอาหารของสาหร่ายเห็ดสาบและสกุล *Nostoc* จากแหล่งต่างๆ

รายการ (หน่วย)	<i>Nostoc commune</i>				<i>Nostoc flagelliforme</i>		
	แหล่งธรรมชาติ	เพาะเลี้ยง	แหล่งธรรมชาติ		แหล่งธรรมชาติ		
	(ดุนดำพัน)	(วว.)	(Peijing)	(Jiangsu)	(Peijing)	(Jiangsu)	(Ningxia)
ความชื้น (กรัม/100 กรัม)	10.19	12.97	8.40	14.90	13.80	13.10	12.10
โปรตีน (กรัม/100 กรัม)	20.26	20.84	18.50	14.60	20.30	20.00	21.30
เถ้า (กรัม/100 กรัม)	16.20	11.40	13.70	15.20	0.60	8.00	5.38
ไขมันทั้งหมด (กรัม/100 กรัม)	0.02	1.56	0.10	0.20	0.00	0.30	¹
ใยอาหาร (กรัม/100 กรัม)	43.00	2.70	1.00	3.90	3.90	2.00	-
วิตามินเอ (ไมโครกรัม/100 กรัม)	2.31	21.40	-	-	-	-	-
วิตามินบี 1 (มิลลิกรัม/100 กรัม)	0.02	0.43	-	-	-	-	-
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม/100 กรัม)	0.01	0.13	-	-	-	-	-
วิตามินซี (มิลลิกรัม/100 กรัม)	ND ²	ND	-	-	-	-	3.18
แคลเซียม (กรัม/100 กรัม)	3.55	1.54	ND	0.41	2.56	0.77	1.83
เหล็ก (กรัม/100 กรัม)	0.28	0.37	ND	0.29	0.20	0.12	0.03
กรดอะมิโน (มิลลิกรัม/100 กรัม)							
Alanine	1658.27	1810.43	-	-	-	-	-
Arginine	1015.52	998.85	-	-	-	-	-
Aspartic acid	3166.21	2656.94	-	-	-	-	-
Cystine	ND	ND	-	-	-	-	-
Glutamic acid	2064.97	2613.46	-	-	-	-	-
Glycine	1044.10	1107.41	-	-	-	-	-
Histidine ³	886.22	360.45	-	-	-	-	-
Isoleucine ³	797.14	660.09	-	-	-	-	-
Leucine ³	1374.11	1573.84	-	-	-	-	-
Lysine ³	450.09	810.98	-	-	-	-	-
Methionine ³	49.33	258.47	-	-	-	-	-
Phenylalanine ³	1000.05	915.99	-	-	-	-	-
Proline	486.36	745.09	-	-	-	-	-
Serine	1186.14	1217.37	-	-	-	-	-
Threonine ³	1193.92	1149.20	-	-	-	-	-
Tryptophan ³	35.62	113.87	-	-	-	-	-
Tyrosine	446.47	660.68	-	-	-	-	-
Valine ³	1220.93	853.87	-	-	-	-	-

¹ ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

² วิเคราะห์ไม่พบ

³ เป็นกรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acid)

ตารางที่ 5. ผลวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาของสาหร่ายเห็ดฉาบจากแหล่งธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยง

รายการ	แหล่งธรรมชาติ		เพาะเลี้ยง	มาตรฐานผลิตภัณฑ์
	สาหร่ายสด	สาหร่ายแห้ง*	สาหร่ายแห้ง*	อาหารกึ่งสำเร็จรูป
จุลินทรีย์ทั้งหมด				
- จุลินทรีย์ที่เติบโตที่ 37°C (หน่วยต่อกรัม)	4.7x10 ⁷	3.5x10 ⁵	7.6x10 ⁵	≤1x10 ⁵
- จุลินทรีย์ที่เติบโตที่ 55°C (หน่วยต่อกรัม)	1x10 ³	1x10 ³	ตรวจไม่พบ	≤1x10 ⁵
ยีสต์ รา และแบคทีเรีย				
- รา (หน่วยต่อกรัม)	1.4x10 ⁴	1.4x10 ⁴	ตรวจไม่พบ	≤1x10 ²
- <i>Escherichia coli</i> (หน่วยต่อกรัม)	>1,100	240	ตรวจไม่พบ	<3
จุลินทรีย์ก่อโรค				
- <i>Salmonella</i> (/25 กรัม)	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ
- <i>Staphylococcus aureus</i> (/1 กรัม)	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ
- <i>Clostridium perfringens</i> (/1 กรัม)	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ
- <i>Bacillus cereus</i> (/0.1 กรัม)	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ

*หลังทำความสะอาดสาหร่ายโดยการล้างด้วยน้ำเกลือ และน้ำเปล่าแล้ว จึงทำการอบสาหร่ายที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสจนน้ำหนักคงที่

3.3.4 การวิเคราะห์หาสารปนเปื้อนอินทรีย์ในสาหร่ายเห็ดฉาบจากแหล่งธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยง

ทำการวิเคราะห์สารปนเปื้อนอินทรีย์ โดยยึดหลักตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) ที่กำหนดให้อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท มีสารปนเปื้อนจำพวก โปรท ตะกั่ว สารหนู ได้ในปริมาณจำกัด ผลการวิเคราะห์การปนเปื้อนในสาหร่ายเห็ดฉาบ เปรียบเทียบกับปริมาณสารปนเปื้อนตามพิกัดที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้ แสดงในตารางที่ 6 ซึ่งพบว่าสาหร่ายเห็ดฉาบจากแหล่งธรรมชาติ แม้จะมีการปนเปื้อนจากโลหะหนัก แต่ไม่เกินค่ามาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุข อย่างไรก็ตามการบริโภคสาหร่ายเห็ดฉาบจะบริโภคในลักษณะของสาหร่ายเห็ดฉาบสด หรือผลิตภัณฑ์แปรรูปที่มีการคั้นตัวโดยการดูดซับน้ำเข้าสู่เซลล์ ทำให้ค่าการปนเปื้อนของโลหะหนักในสาหร่ายเห็ดฉาบเมื่อคิดเป็นต่อกิโลกรัมสดแล้ว จะลดต่ำลงเป็นอย่างมากเนื่องจากสาหร่ายเห็ดฉาบสดจากแหล่งธรรมชาติ และจากการเพาะเลี้ยงมีความชื้นอยู่สูงถึง 95-96% และ 97-98% ตามลำดับ (รายละเอียดดังแสดงในข้อ 3.3.1)

ตารางที่ 6. เปรียบเทียบปริมาณสารปนเปื้อนอินทรีย์ในสาหร่ายเห็ดปลาจากแหล่งธรรมชาติ

	(มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม)		
	ปรอท	ตะกั่ว	สารหนู
ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529)	0.50	1.0	2.00
สาหร่ายเห็ดปลา (แห้ง) จากแหล่งธรรมชาติ	0.02	1.0	0.38
สาหร่ายเห็ดปลา (แห้ง) จากการเพาะเลี้ยง	0.05	1.0	0.05

3.3.5 ความเป็นพิษของสาหร่ายเห็ดปลาจากแหล่งธรรมชาติ

ผลทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของสาหร่ายเห็ดปลาในหนูทดลองตามวิธีมาตรฐานของ OECD Guidelines for Testing of Chemical 1993 พบว่าหลังจากป้อนตัวอย่างทดสอบให้หนู หนูทุกตัวแสดงอาการปกติ โดยในสัปดาห์แรกของการทดสอบหนูเพศผู้ในกลุ่มทดลองมีอัตราการเจริญเติบโตช้ากว่ากลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามหนูในกลุ่มดังกล่าวสามารถเจริญเติบโตเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 2 นอกจากนี้ยังตรวจไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายในจากการชันสูตรซากหนูทุกตัวเมื่อสิ้นสุดการทดสอบ

อัตราการตายของหนูแสดงในตารางที่ 7 น้ำหนักตัวของหนูในระหว่างการทดลอง และสิ้นสุดการทดลองแสดงในตารางที่ 8 น้ำหนักของหนูที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองแสดงในตารางที่ 9 ผลการชันสูตรซากหนู (gross pathology) เมื่อสิ้นสุดการทดลองแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 7. อัตราการตายของหนูตลอดการทดลองนาน 14 วัน

ตัวอย่างทดสอบ/ขนาด	อัตราการตาย		รวม
	เพศผู้	เพศเมีย	
น้ำกลั่น	0/3 ¹	0/3	0/6
ปริมาณเทียบเท่ากับในกลุ่มทดลอง			
สาหร่ายเห็ดปลา	0/5	0/5	0/10
อบแห้ง 2,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว			

¹จำนวนหนูที่ตาย/จำนวนหนูที่ใช้ในการทดสอบ

ตารางที่ 8. น้ำหนักตัวของหนูเมื่อเริ่มต้น ในระหว่างการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ตัวอย่างทดสอบ/ขนาด	เบอร์สัตว์ทดลอง	เพศ	น้ำหนักตัว (กรัม)		
			วันที่ 1 ¹	วันที่ 8	วันที่ 15
น้ำกลั่น	1	ผู้	227	292	316
ปริมาตรเทียบเท่าในกลุ่มทดลอง	2	ผู้	220	274	307
	3	ผู้	222	284	317
	4	เมีย	165	198	208
	5	เมีย	210	242	265
	6	เมีย	172	202	211
	17	ผู้	285	348	386
สารละลายเคตาบ อบแห้ง 2,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว	18	ผู้	264	317	356
	19	ผู้	245	290	322
	20	ผู้	259	303	328
	21	ผู้	267	314	348
	22	เมีย	180	212	228
สารละลายเคตาบอบแห้ง 2,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว	23	เมีย	173	207	217
	24	เมีย	183	217	228
	25	เมีย	175	208	218
	26	เมีย	199	236	248

¹ น้ำหนักตัวหนูหลังอดอาหาร 16 ชั่วโมง ก่อนป้อนตัวอย่างทดสอบ

ตารางที่ 9. อัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวของหนูในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม

เพศ	ตัวอย่างทดสอบ/ขนาด	ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ¹ (กรัม)	
		วันที่ 8	วันที่ 15
ผู้	น้ำกลั่น	60.33±3.29	90.33±2.41
	ปริมาตรเทียบเท่าในกลุ่มทดลอง		
	สารละลายเคตาบ	50.40±3.51 ²	84.00±5.63
	อบแห้ง 2,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว		
เมีย	น้ำกลั่น	31.67±0.88	45.67±4.84
	ปริมาตรเทียบเท่าในกลุ่มทดลอง		
	สารละลายเคตาบ	34.00±0.84	45.80±1.16
	อบแห้ง 2,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว		

¹ น้ำหนักหนูที่เพิ่มขึ้น Mean±SEM

² แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 10. ผลการชันสูตรอวัยวะภายในของหนูกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างทดสอบ/ขนาด	เบอร์สัตว์ทดลอง	เพศ	ผลการชันสูตรอวัยวะภายใน
น้ำกลั่น ปริมาตรเทียบเท่าในกลุ่มทดลอง	1	ผู้	ปกติ
	2	ผู้	ปกติ
	3	ผู้	ปกติ
	4	เมีย	ปกติ
	5	เมีย	ปกติ
	6	เมีย	ปกติ
สาหร่ายเห็ดลาบ อบแห้ง 2,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว	17	ผู้	ปกติ
	18	ผู้	ปกติ
	19	ผู้	ปกติ
	20	ผู้	ปกติ
	21	ผู้	ปกติ
	22	เมีย	ปกติ
	23	เมีย	ปกติ
	24	เมีย	ปกติ
	25	เมีย	ปกติ
	26	เมีย	ปกติ

การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากตามวิธี Acute oral toxicity (Limit test) ของ OECD Guidelines for Testing of Chemicals (1993) เป็นการทดสอบเพื่อหาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับขนาด (dosage) และความเป็นพิษของสารทดสอบนั้นๆ สำหรับใช้เป็นข้อมูลในการวางแผนการทดสอบความเป็นพิษระยะกึ่งเรื้อรังและเรื้อรังต่อไป การป้อนสารทดสอบแก่สัตว์ทดลองในขนาด 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว จัดว่าเป็นขนาดที่สูงและหากสัตว์ทดลองไม่ตายหรือไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆ ภายหลังได้รับสารทดสอบ ไม่จำเป็นที่ต้องทำการทดสอบต่อโดยใช้ขนาดที่สูงกว่านี้ (EPA 1998; Auletta, 1995) เนื่องจากผลการทดสอบโดยให้หนูทดลองได้รับตัวอย่างทดสอบสาหร่ายเห็ดลาบอบแห้ง ขนาด 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในการศึกษานี้ไม่ก่อให้เกิดอาการผิดปกติในหนู ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องทำการทดสอบต่อไปในขนาดที่สูงขึ้นกว่านี้

3.4 การแยกและการอนุรักษ์สายพันธุ์สาหร่ายเห็ดคลาบ

สามารถแยกได้สาหร่ายเห็ดคลาบสายพันธุ์เดี่ยว และเก็บรักษาไว้โดยวิธีการถ่ายเชื้อลงบนอาหารแข็ง และอาหารเหลว BGA เพื่อใช้ในการทดลองในขั้นตอนต่างๆ สำหรับการเก็บรักษาสาหร่ายเห็ดคลาบแบบถาวร โดยวิธี cryopreservation ผลทดสอบความสามารถในการอยู่รอด หลังจากการเก็บรักษาในเดือนที่ 15 พบว่า สาหร่ายเห็ดคลาบยังคงความมีชีวิต อยู่รอดและเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี

3.5 การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายเห็ดคลาบ

3.5.1 การผลิตสารออกฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์

ผลการทดลองพบว่า สาหร่ายเห็ดคลาบสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก คือ *Bacillus subtilis* TISTR 008 ได้ดี ทั้งนี้การออกฤทธิ์โดยสารที่ได้จากน้ำเลี้ยงจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงกว่าการออกฤทธิ์โดยสารสกัดจากเซลล์ ซึ่งแสดงลักษณะการยับยั้งที่ไม่สมบูรณ์ (hazy zone) และสารที่ได้จากน้ำเลี้ยงที่อายุ 30 วัน มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์สูงกว่าสารที่ได้จากน้ำเลี้ยงที่อายุ 15 วัน อย่างไรก็ตามสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตโดยสาหร่ายเห็ดคลาบนี้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แกรมลบ (*Escherichia coli* TISTR 780 และ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781) รวมทั้งเชื้อรา (*Aspergillus niger* TISTR 3245) ที่ใช้ทดสอบได้ ในขณะที่ตัวควบคุมบวก คือ เจนตามิซินและนิสตาตินสามารถควบคุมได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ และเชื้อรา ได้ตามลำดับ ส่วนน้ำกลั่นซึ่งเป็นตัวควบคุมลบไม่เกิดโซนยับยั้งในจุลินทรีย์ทุกสายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ ดังแสดงในตารางที่ 11 จะเห็นว่าสาหร่ายเห็ดคลาบสร้างสารออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ในวงแคบ คือ เฉพาะแกรมบวกเท่านั้น ในขณะที่การศึกษาการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายในสกุล *Nostoc* ที่ผ่านมา มีรายงานว่า *N. muscorum* สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์อย่างกว้างขวาง (broad spectrum) (Bloor and England 1989; Piccardi et al. 2000) รวมทั้งออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเน่า (damping-off) ในพืชด้วย (de Caire et al. 1990)

ตารางที่ 11. ประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายเห็ดปลาในการยับยั้งจุลินทรีย์

ตัวอย่างสาร	ขนาดของโซนยับยั้ง (มิลลิเมตร)			
	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. niger</i>
น้ำเลี้ยง อายุ 15 วัน	12.79	- ¹	-	-
น้ำเลี้ยง อายุ 30 วัน	21.94	-	-	-
เซลล์สกัด อายุ 15 วัน	8.95 ²	-	-	-
เซลล์สกัด อายุ 30 วัน	10.99 ²	-	-	-
Gentamicin (5 ไมโครกรัม)	11.52	12.00	8.72	ND
Nystatin (5 ไมโครกรัม)	ND ³	ND	ND	13.67

¹ ไม่เกิดโซนยับยั้ง
² ยับยั้งไม่สมบูรณ์ (hazy zone)
³ ไม่ได้ทำการทดสอบ

3.5.2 การผลิตสารออกฤทธิ์ด้านการอักเสบ

หลังจากฉีดสารเหนียวน้ำให้เกิดการอักเสบแบบเฉียบพลัน (คาราจีแนน 1%) ที่อุ้งเท้าข้างขวาของหนูทุกกลุ่ม แล้ววัดความเปลี่ยนแปลงของปริมาตรของเท้าหนูที่เวลา 1 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง และ 3 ชั่วโมง พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารละลายมาตรฐานเฟนิลบูตาโซนขนาด 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักหนู มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการอักเสบเป็น -2.56, 85.7 และ 73.7 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ชั่วโมงที่ 2 และชั่วโมงที่ 3 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนหนูที่ได้รับสาหร่ายเห็ดปลาจากธรรมชาติพบว่ากลุ่มที่ได้รับสาหร่ายเห็ดปลาจากธรรมชาติในขนาด 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักหนู มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการอักเสบที่ 1 ชั่วโมง เป็น -20.5, -15.4 และ -21.4 ตามลำดับ ที่ 2 ชั่วโมง เป็น 34.0, 13.9 และ 12.7 ตามลำดับ ที่ 3 ชั่วโมง เป็น 12.6, -11.8 และ -1.6 ตามลำดับ (ดังแสดงในตารางที่ 12) และเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนหนูที่ได้รับสาหร่ายเห็ดปลาจากการเพาะเลี้ยงพบว่ากลุ่มที่ได้รับสาหร่ายเห็ดปลาจากการเพาะเลี้ยงในขนาด 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักหนู มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการอักเสบที่ 1 ชั่วโมง เป็น -114.0, -214.0 และ -233.3 ตามลำดับ ที่ 2 ชั่วโมง เป็น 31.4, 25.0 และ 31.1 ตามลำดับ ที่ 3 ชั่วโมง เป็น 9.3, 18.2 และ 31.1 ตามลำดับ (ดังแสดงในตารางที่ 13) และเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นจากผลการทดลองนี้พบว่าสาหร่ายเห็ดปลาทั้งจากแหล่งธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยงที่ขนาด 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักหนู ไม่สามารถยับยั้งการอักเสบที่อุ้งเท้าของหนูในชั่วโมงที่ 2 และชั่วโมงที่ 3 ในขณะที่สารด้านการอักเสบมาตรฐาน

ตารางที่ 12. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารแวนิลอยสำหรับเห็ดลาบจากธรรมชาติ

กลุ่มสารทดสอบ	จำนวนหนู/ กลุ่ม	ปริมาณการบวม			การยับยั้งการอักเสบ (%)		
		1 ชม.	2 ชม.	3 ชม.	1 ชม.	2 ชม.	3 ชม.
กลุ่มควบคุม	6	19.5 ± 17.2	55.3 ± 27.7	60.8 ± 24.9	-	-	-
กลุ่มมาตรฐาน	6	20.0 ± 5.6	8.2 ± 12.5	16.0 ± 11.9	-2.56	85.2*	73.7*
กลุ่มสารเห็ดลาบจากธรรมชาติ 100 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัมน้ำหนักหนู	6	23.5 ± 5.2	36.5 ± 4.6	53.2 ± 16.0	-20.5	34.0	12.6
กลุ่มสารเห็ดลาบจากธรรมชาติ 250 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัมน้ำหนักหนู	6	22.5 ± 11.7	47.7 ± 14.2	68.0 ± 15.0	-15.4	13.9	-11.8
กลุ่มสารเห็ดลาบจากธรรมชาติ 500 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัมน้ำหนักหนู	6	23.7 ± 12.4	48.3 ± 18.9	61.8 ± 15.0	-21.4	12.7	-1.6

*p < 0.05

ตารางที่ 13. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารแขวนลอยสาหร่ายเห็ดปลาจากการเพาะเลี้ยง

กลุ่มสารทดสอบ	จำนวนหนู/ กลุ่ม	ปริมาณการบวม			การยับยั้งการอักเสบ (%)		
		1 ซม.	2 ซม.	3 ซม.	1 ซม.	2 ซม.	3 ซม.
กลุ่มควบคุม	6	9.5 ± 13.3	49.3 ± 14.9	96.3 ± 27.3	-	-	-
กลุ่มมาตรฐาน	6	27.0 ± 8.5	21.2 ± 9.4	29.0 ± 15.1	-184.2	57.0*	69.9*
กลุ่มสาหร่ายเห็ดปลาจากการเพาะเลี้ยง 100 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัมน้ำหนักหนู	6	20.3 ± 8.7	33.8 ± 19.1	87.3 ± 32.8	-114.0	31.4	9.3
กลุ่มสาหร่ายเห็ดปลาจากเพาะเลี้ยง 250 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัมน้ำหนักหนู	6	29.8 ± 12.6	37.0 ± 17.0	78.8 ± 13.3	-214.0	25.0	18.2
กลุ่มสาหร่ายเห็ดปลาจากเพาะเลี้ยง 500 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัมน้ำหนักหนู	6	31.7 ± 9.0	34.0 ± 18.8	66.3 ± 15.2	-233.3	31.1	31.1

*p < 0.05

เพนิลนดาโซนสามารถยับยั้งการอักเสบบริเวณอุ้งเท้าหนูได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3.6 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตชีวมวลสาหร่ายเห็ดคลาปในระดับห้องปฏิบัติการ

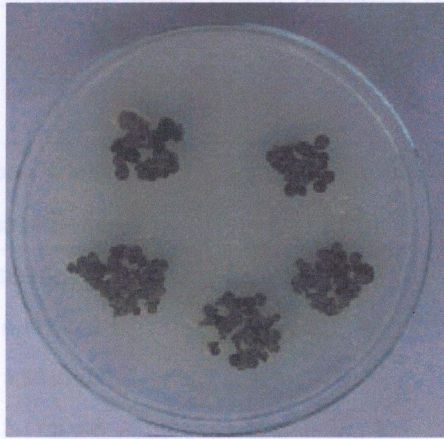
3.6.1 การศึกษาชนิดและสถานะของอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยง

ผลการทดลองในอาหารเหลว 3 สูตร คือ BG-11, BGA และ BGA+N ให้ผลการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน (ผลการศึกษากการผลิตชีวมวลของสาหร่ายเห็ดคลาปในอาหารเหลวโดยละเอียดจะรายงานในวิทยานิพนธ์ของนายเจษฎา ทิพย์สุขศรี นักศึกษาปริญญาโท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม เรื่อง การศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดคลาป (*Nostoc commune*, Cyanophyta) ในระดับห้องปฏิบัติการ และการผลิตชีวมวลกลางแจ้ง รหัสโครงการ BRT T_647001) ในขณะที่การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดคลาปบนเม็ดเวอร์มิคูไลท์พบว่าการเจริญเติบโตช้ามาก ส่วนการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง พบว่า อาหารที่มีแหล่งไนโตรเจน (BG-11 และ BGA+N) จะให้ผลผลิตในแง่คุณภาพของสาหร่ายเห็ดคลาปได้ไม่ดีเท่าอาหารแข็งที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน เนื่องจากมีการปนเปื้อนจากแบคทีเรียปริมาณมาก (รูปที่ 6) จึงได้เลือกอาหารแข็ง BGA มาใช้ในการศึกษาในลำดับต่อไป

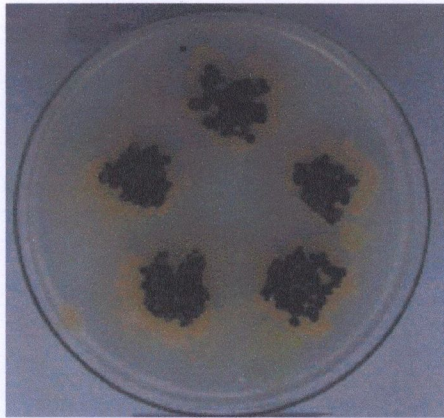
3.6.2 การศึกษาระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่เหมาะสมในอาหารแข็ง

ผลการศึกษาระดับความเข้มข้นของ NaCl ที่เหมาะสมที่ 11 ระดับความเข้มข้น คือ 0.00, 0.07 (สูตรปกติของ BGA), 0.14, 0.21, 0.35, 0.70, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร พบว่าสาหร่ายเห็ดคลาปสามารถเจริญเติบโตได้ในสูตรอาหารที่มีความเข้มข้น ≤ 10.0 กรัมต่อลิตร (1%) โดยที่ความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร สาหร่ายไม่สามารถเจริญเติบโต และมีสีซีดเหลือง สูตรอาหารที่ไม่เติม NaCl จะได้ชีวมวลสาหร่ายเห็ดคลาปสูงสุด 20.76 เท่า โดยมีน้ำหนักสดเพิ่มจาก 0.5 กรัม เป็น 10.38 กรัม ในเวลา 30 วัน ในขณะที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ 0.07 กรัมต่อลิตร (สูตรปกติ) ให้น้ำหนักสด 6.17 กรัมต่อลิตร เมื่อนำมาเปรียบเทียบ พบว่า อาหารแข็งสูตร BGA ที่ไม่เติม NaCl มีปริมาณสาหร่ายเพิ่มขึ้นจากสูตรปกติถึง 1.68 เท่า (ตารางที่ 14 รูปที่ 7 และ 8) รวมทั้งมีความแตกต่างกันกับระดับความเข้มข้นอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p = 0.05$)

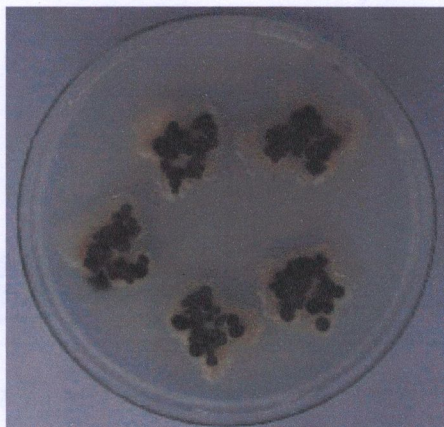
นอกจากนี้ยังเป็นที่น่าสนใจว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเห็ดคลาปในสูตรที่ไม่เติม NaCl นั้นสาหร่ายเห็ดคลาปยังผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ (exopolysaccharide) ออกมานอกเซลล์ในปริมาณมากอีกด้วย (รูปที่ 9) ซึ่งสารดังกล่าวมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นสารเพิ่มความข้นเหนียว



ก. BGA



ข. BGA+N



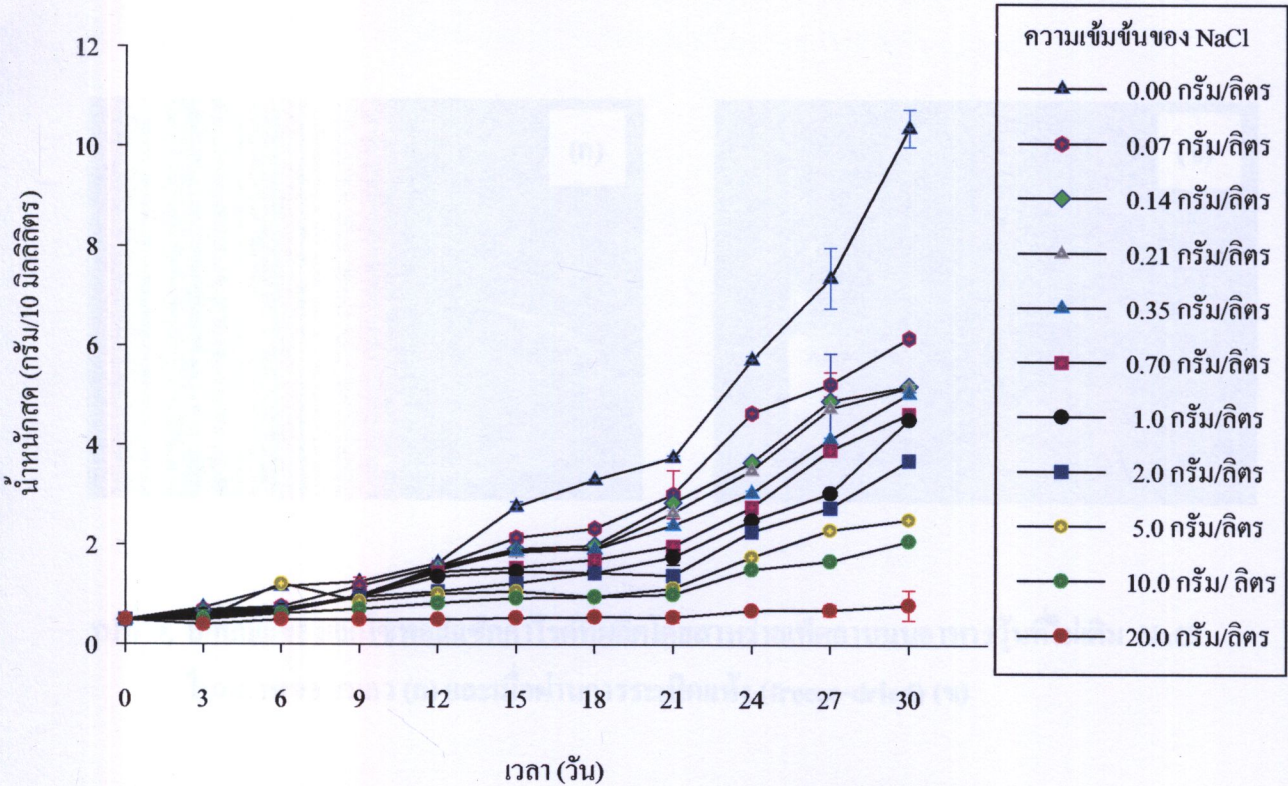
ค. BG-11

รูปที่ 6. การปนเปื้อนของแบคทีเรีย (สีเหลือง) ในอาหารฐานสูตรต่างๆ

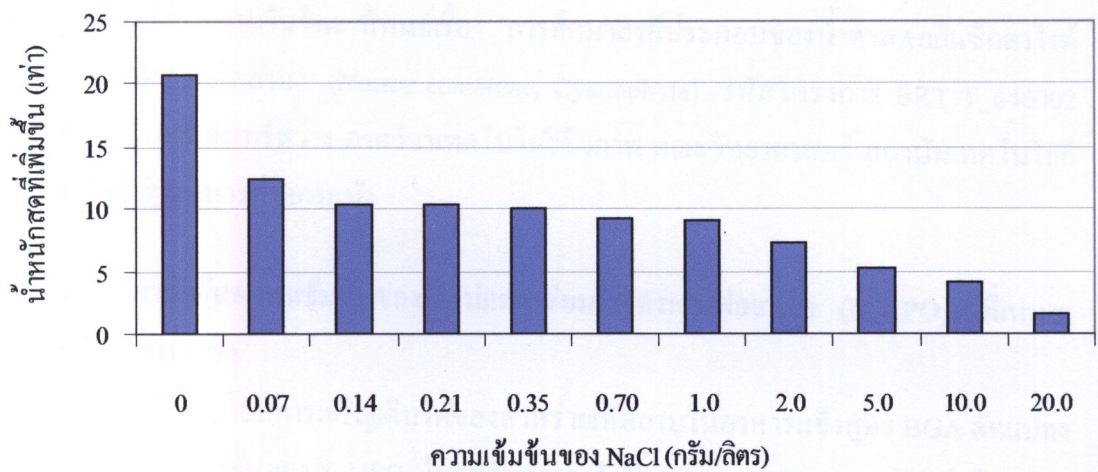
ตารางที่ 14. ผลของปริมาณ NaCl ที่ระดับต่างๆ ในอาหารเชิงสูตร BGA ต่อการเจริญเติบโตของ
 สาหร่ายเห็ดคลาบ

ความเข้มข้นของ NaCl (กรัม/ลิตร)	ค่าเฉลี่ยของ น.น.สดสุดท้าย (กรัม/10 มิลลิกรัม)	ปริมาณ น.น.สดที่เพิ่มขึ้น (เท่า)	อัตราการเจริญเติบโต (μ) ¹ (%ต่อวัน)
0.00	10.38±0.38	20.76	10.11±0.12
0.07	6.17±0.01	12.35	8.37±0.01
0.14	5.20±0.03	10.9	7.81±0.02
0.21	5.17±0.08	10.35	7.79±0.05
0.35	5.05±0.04	10.10	7.71±0.03
0.70	4.64±0.04	9.27	7.43±0.03
1.0	4.52±0.04	9.04	7.34±0.03
2.0	3.70±0.01	7.40	6.67±0.01
5.0	2.52±0.07	5.18	5.39±0.09
10.0	2.08±0.04	4.17	4.76±0.06
20.0	0.80±0.31	1.61	1.57±1.33

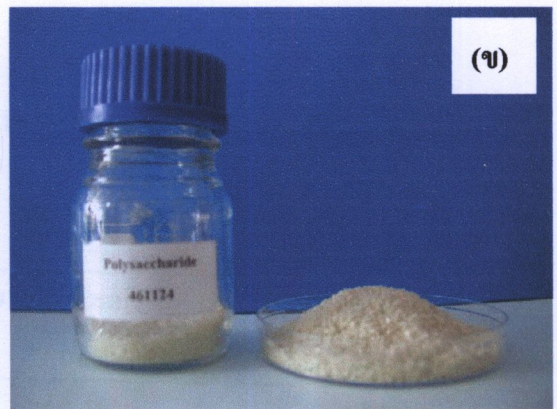
¹ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดเริ่มต้น 0.50±0.01



รูปที่ 7. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบบนอาหารเชิงสูตร BGA ที่เติม NaCl ในระดับต่างๆ



รูปที่ 8. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดลาบที่เพิ่มขึ้นบนอาหารแข็งสูตร BGA ที่ความเข้มข้นของ NaCl ในระดับต่างๆ



รูปที่ 9. ลักษณะของเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดยสาหร่ายเห็ดลาบบนอาหารรุ่นที่ไม่เติม NaCl ในสภาพของเหลว (ก) และเมื่อผ่านการระเหิดแห้ง (freeze-dried) (ข)

(thickening agent, binding agent) ในอุตสาหกรรมอาหาร หรือสารปรับปรุงโครงสร้างดิน (soil conditioner) ในการเกษตร ผลการศึกษาองค์ประกอบของน้ำตาลในพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดยสาหร่ายเห็ดถาบได้รายงานในวิทยานิพนธ์เรื่อง การศึกษาองค์ประกอบของน้ำตาลพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดย “สาหร่ายเห็ดถาบ” (*Nostoc commune*, Cyanophyta) รหัสโครงการ BRT T_646002 โดย น.ส. นารินทร์ จันทรสว่าง ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

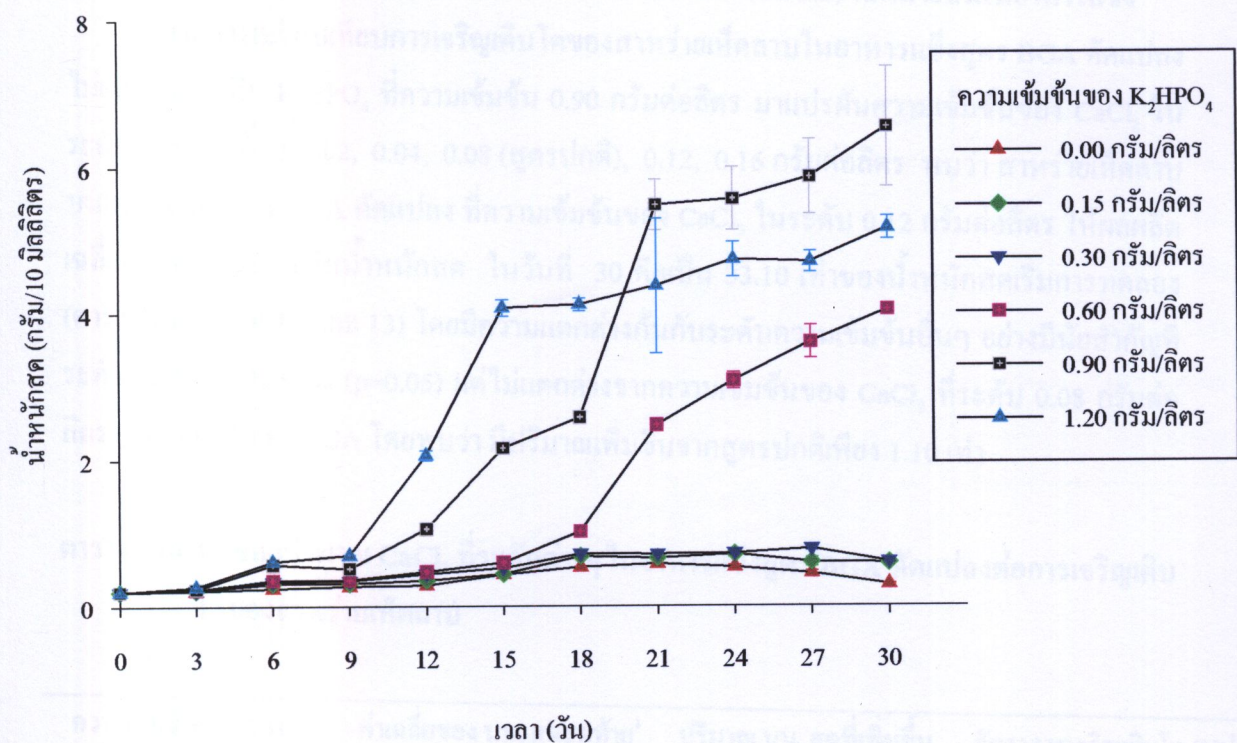
3.6.3 การศึกษาระดับความเข้มข้นของไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) ที่เหมาะสมในอาหารแข็ง

จากการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดถาบในอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงไม่เติม NaCl ที่ความเข้มข้นของ K_2HPO_4 ในระดับต่างๆ ดังนี้ 0, 0.15, 0.30, 0.60 (สูตรปกติ), 0.90, 1.20 กรัมต่อลิตร พบว่า อาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงที่ความเข้มข้นของ K_2HPO_4 ในระดับ 0.90 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้สาหร่ายเห็ดถาบเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อทำการเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของฟอสเฟตในระดับอื่นๆ โดยให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุด 6.53 กรัม/น้ำหนักสด คิดเป็น 32.65 เท่าของน้ำหนักสดเริ่มต้นการทดลอง โดยมีความแตกต่างกันกับระดับความเข้มข้นอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p=0.05$) เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของฟอสเฟตที่ระดับ 0.60 กรัมต่อลิตร (สูตรปกติ) พบว่า มีปริมาณเพิ่มขึ้นจากสูตรปกติถึง 1.62 เท่า (ตารางที่ 15 รูปที่ 10 และ 11)

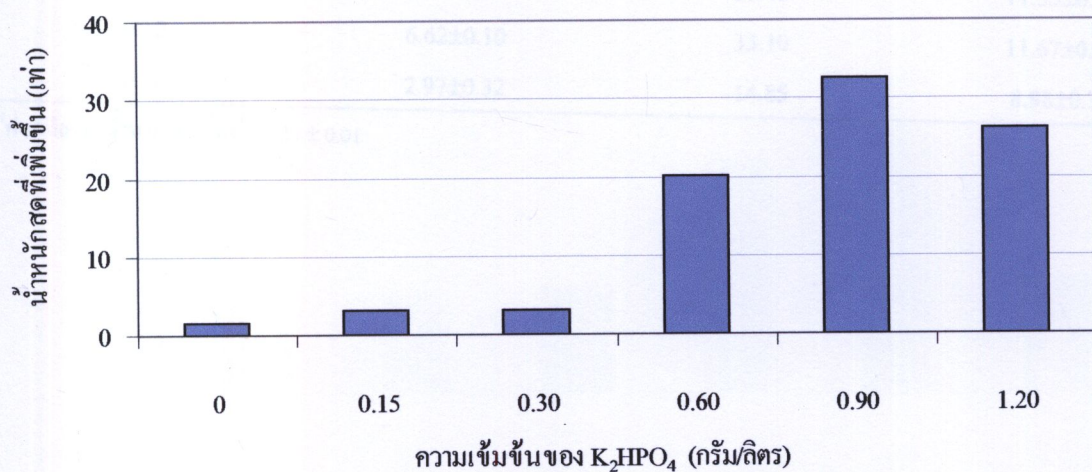
ตารางที่ 15. ผลของปริมาณ K_2HPO_4 ที่ระดับต่างๆ ในอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลง ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดถาบ

ความเข้มข้นของ K_2HPO_4 (กรัม/ลิตร)	ค่าเฉลี่ยของ น.น.สดสุดท้าย ¹ (กรัม/10 มิลลิลิตร)	ปริมาณ น.น.สดที่เพิ่มขึ้น (เท่า)	อัตราการเจริญเติบโต (μ) ¹ (%ต่อวัน)
0.00	0.29±0.01	1.45	1.24±0.11
0.15	0.59±0.02	2.95	3.59±0.12
0.30	0.60±0.02	3.00	3.66±0.11
0.60	4.04±0.03	20.20	6.58±0.08
0.90	6.53±0.81	32.65	11.62±0.40
1.20	5.24±0.49	26.20	11.47±0.27

¹ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดเริ่มต้น 0.20 ± 0.01



รูปที่ 10. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดลาบบนอาหารแข็งสูตร BGA คัดแปลงที่เติม K_2HPO_4 ในระดับต่างๆ



รูปที่ 11. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดลาบบนอาหารแข็งสูตร BGA คัดแปลงที่ความเข้มข้นของ K_2HPO_4 ในระดับต่างๆ

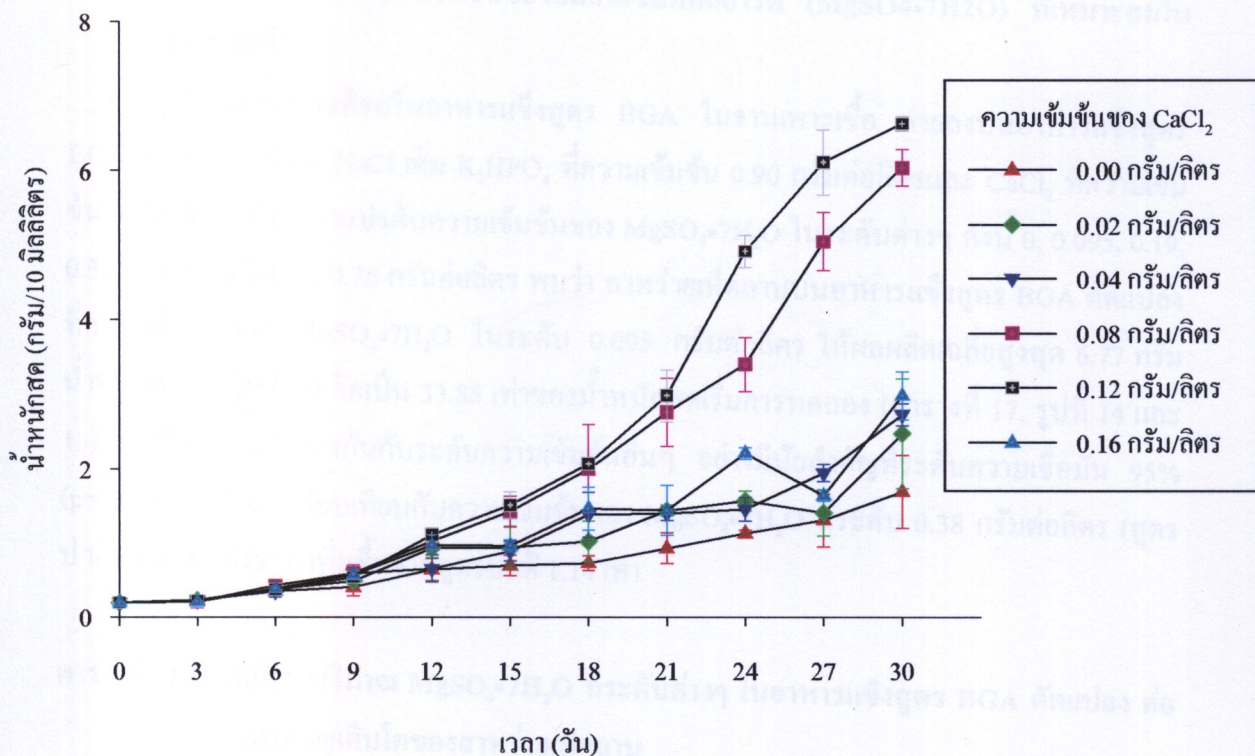
3.6.4 การศึกษา ระดับความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂) ที่เหมาะสมในอาหารแข็ง

จากการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดฉาบในอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลง ไม่เติม NaCl เติม K₂HPO₄ ที่ความเข้มข้น 0.90 กรัมต่อลิตร มาแปรผันความเข้มข้นของ CaCl₂ ในระดับต่างๆ ดังนี้ 0, 0.02, 0.04, 0.08 (สูตรปกติ), 0.12, 0.16 กรัมต่อลิตร พบว่า สาหร่ายเห็ดฉาบบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลง ที่ความเข้มข้นของ CaCl₂ ในระดับ 0.12 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุด 6.62 กรัม/น้ำหนักสด ในวันที่ 30 คิดเป็น 33.10 เท่าของน้ำหนักสดเริ่มการทดลอง (ตารางที่ 16, รูปที่ 12 และ 13) โดยมีความแตกต่างกันกับระดับความเข้มข้นอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p=0.05) แต่ไม่แตกต่างจากความเข้มข้นของ CaCl₂ ที่ระดับ 0.08 กรัมต่อลิตร (สูตรปกติ) ของ BGA โดยพบว่า มีปริมาณเพิ่มขึ้นจากสูตรปกติเพียง 1.10 เท่า

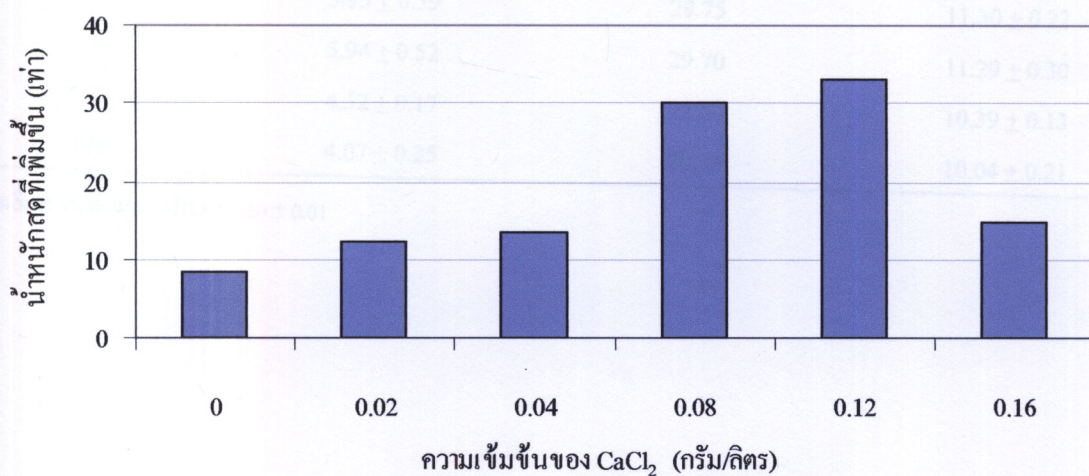
ตารางที่ 16. ผลของปริมาณ CaCl₂ ที่ระดับต่างๆ ในอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดฉาบ

ความเข้มข้นของ CaCl ₂ (กรัม/ลิตร)	ค่าเฉลี่ยของ นน. สดสุดท้าย ¹ (กรัม/10 มิลลิลิตร)	ปริมาณ นน. สดที่เพิ่มขึ้น (เท่า)	อัตราการเจริญเติบโต (μ) ¹ (% ต่อวัน)
0	1.68±0.49	8.40	7.00±1.03
0.02	2.46±0.73	12.30	8.28±0.94
0.04	2.71±0.15	13.55	8.69±0.18
0.08	6.03±0.24	30.15	11.35±0.14
0.12	6.62±0.10	33.10	11.67±0.05
0.16	2.97±0.32	14.85	8.98±0.36

¹ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดเริ่มต้น 0.20 ± 0.01



รูปที่ 12. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดลาบบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงที่เติม CaCl_2 ในระดับต่างๆ



รูปที่ 13. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดลาบบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงที่ความเข้มข้นของ CaCl_2 ในระดับต่างๆ

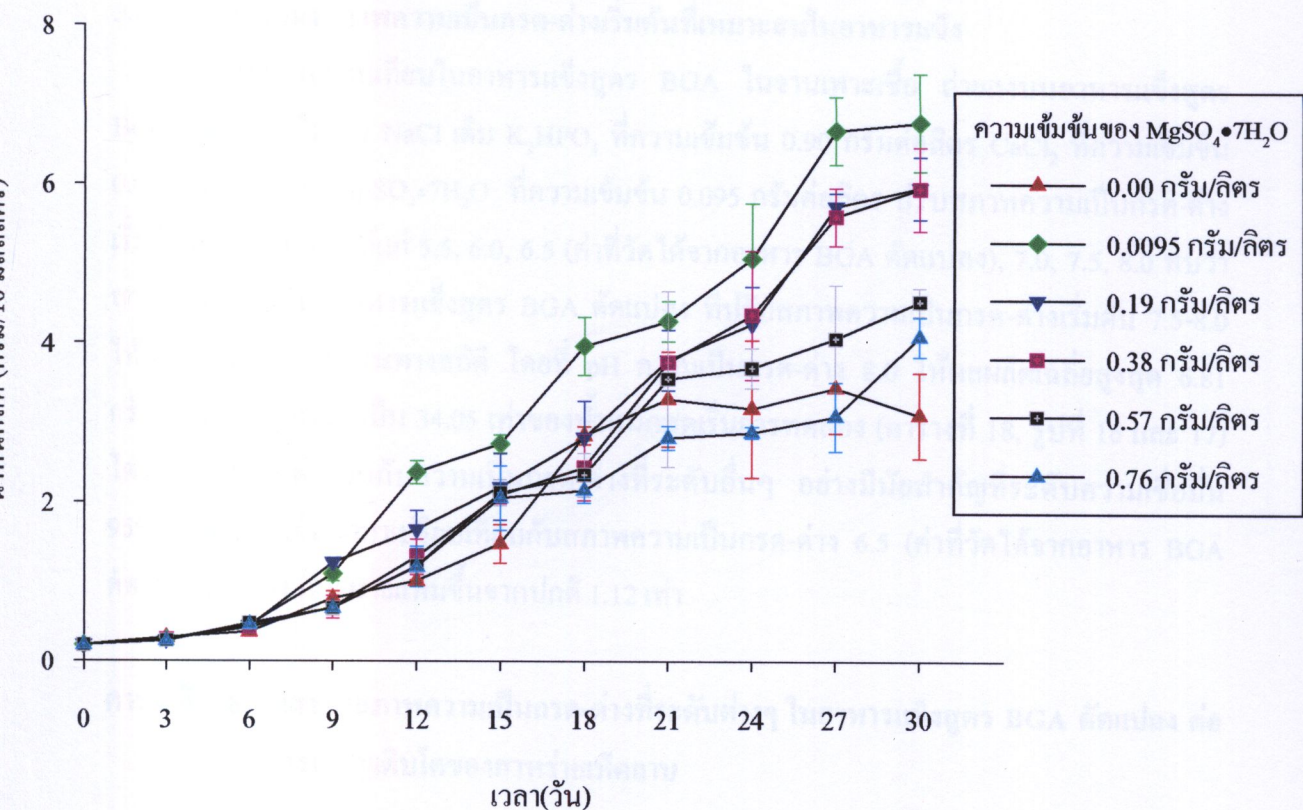
3.6.5 การศึกษาระดับความเข้มข้นของแมกนีเซียมคลอไรด์ ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ที่เหมาะสมในอาหารแข็ง

จากการเปรียบเทียบในอาหารแข็งสูตร BGA ในงานเพาะเชื้อ ถ้ายกลงบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลง ไม่เติม NaCl เติม K_2HPO_4 ที่ความเข้มข้น 0.90 กรัมต่อลิตรและ CaCl_2 ที่ความเข้มข้น 0.08 กรัมต่อลิตร มาแปรผันความเข้มข้นของ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ในระดับต่างๆ ดังนี้ 0, 0.095, 0.19, 0.38 (สูตรปกติ), 0.57, 0.76 กรัมต่อลิตร พบว่า สาหร่ายเห็ดคลาบบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลง ที่ความเข้มข้นของ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ในระดับ 0.095 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุด 6.77 กรัม น้ำหนักสด ในวันที่ 30 คิดเป็น 33.85 เท่าของน้ำหนักสดเริ่มการทดลอง (ตารางที่ 17, รูปที่ 14 และ 15) โดยมีความแตกต่างกันกับระดับความเข้มข้นอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p=0.05$) เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ที่ระดับ 0.38 กรัมต่อลิตร (สูตรปกติ) พบว่า มีปริมาณเพิ่มขึ้นจากสูตรปกติ 1.14 เท่า

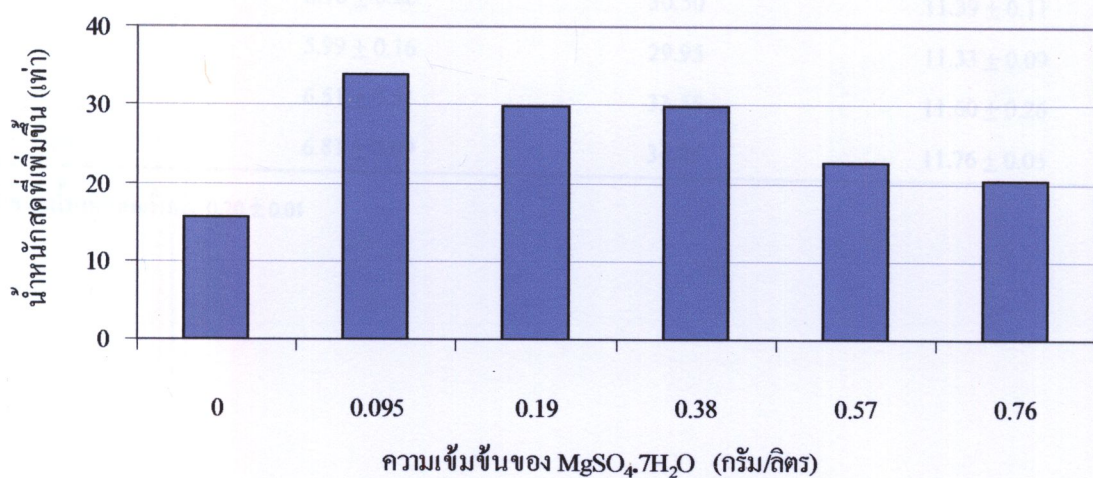
ตารางที่ 17. ผลของปริมาณ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ที่ระดับต่างๆ ในอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลง ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดคลาบบ

ความเข้มข้นของ NaCl (กรัม/ลิตร)	ค่าเฉลี่ยของ นน.สดสุดท้าย ¹ (กรัม/10 มิลลิลิตร)	ปริมาณ นน.สดที่เพิ่มขึ้น (เท่า)	อัตราการเจริญเติบโต (μ) ¹ (% ต่อวัน)
0.00	3.09 ± 0.53	15.45	9.09 ± 0.56
0.095	6.77 ± 0.61	33.85	11.73 ± 0.30
0.19	5.95 ± 0.39	29.75	11.30 ± 0.22
0.38	5.94 ± 0.52	29.70	11.29 ± 0.30
0.57	4.52 ± 0.17	22.60	10.39 ± 0.13
0.76	4.07 ± 0.25	20.35	10.04 ± 0.21

¹ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดเริ่มต้น 0.20 ± 0.01



รูปที่ 14. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดฉาบบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงที่เติม $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ในระดับต่างๆ



รูปที่ 15. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดฉาบที่เพิ่มขึ้นบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงที่ความเข้มข้นของ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ในระดับต่างๆ

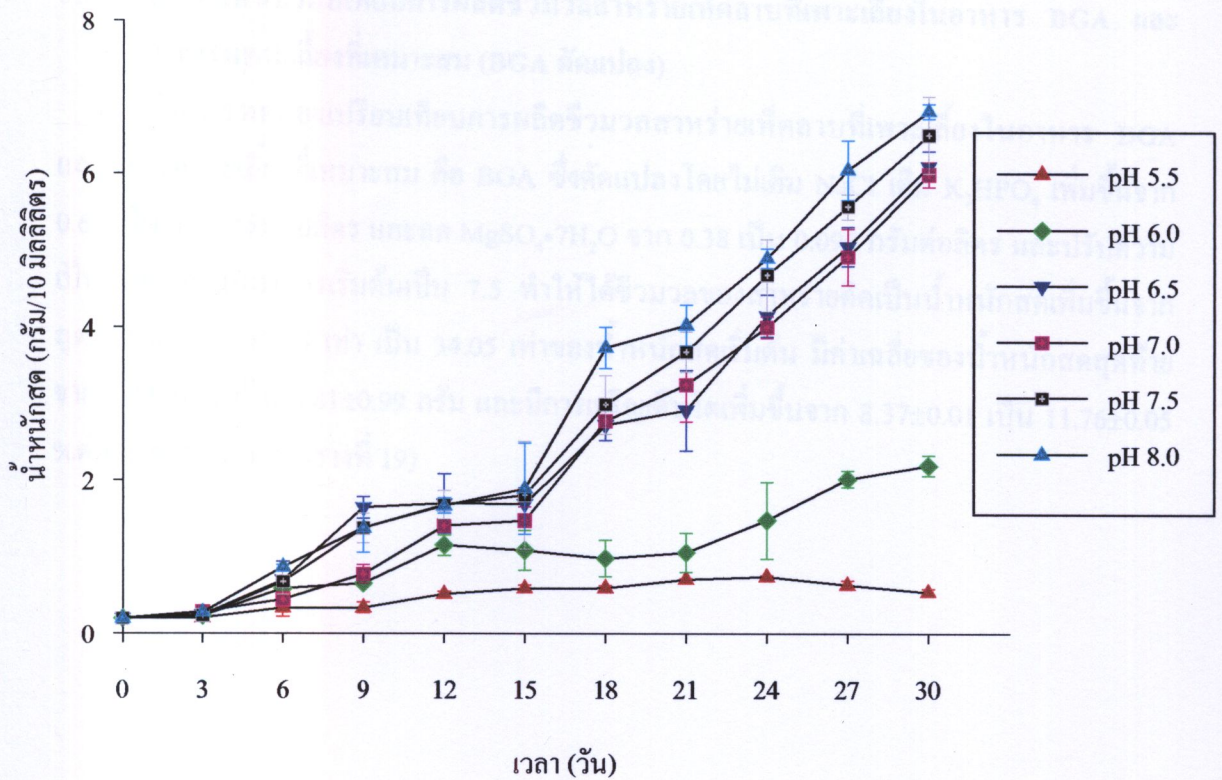
3.6.6 การศึกษาสภาพความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่เหมาะสมในอาหารแข็ง

จากการเปรียบเทียบในอาหารแข็งสูตร BGA ในงานเพาะเชื้อ ถ้ายกลงบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลง ไม่เติม NaCl เติม K_2HPO_4 ที่ความเข้มข้น 0.90 กรัมต่อลิตร $CaCl_2$ ที่ความเข้มข้น 0.08 กรัมต่อลิตร $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ที่ความเข้มข้น 0.095 กรัมต่อลิตร ปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่ระดับต่างๆ ได้แก่ 5.5, 6.0, 6.5 (ค่าที่วัดได้จากอาหาร BGA ดัดแปลง), 7.0, 7.5, 8.0 พบว่า สาหร่ายเห็ดลาบบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลง ที่ปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น 7.5-8.0 ให้ผลที่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยที่ pH ความเป็นกรด-ด่าง 8.0 ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุด 6.81 กรัมต่อน้ำหนักสด คิดเป็น 34.05 เท่าของน้ำหนักสดเริ่มการทดลอง (ตารางที่ 18, รูปที่ 16 และ 17) โดยมีความแตกต่างกันกับความเป็นกรด-ด่างที่ระดับอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p=0.05$) เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสภาพความเป็นกรด-ด่าง 6.5 (ค่าที่วัดได้จากอาหาร BGA ดัดแปลง) พบว่า มีปริมาณเพิ่มขึ้นจากปกติ 1.12 เท่า

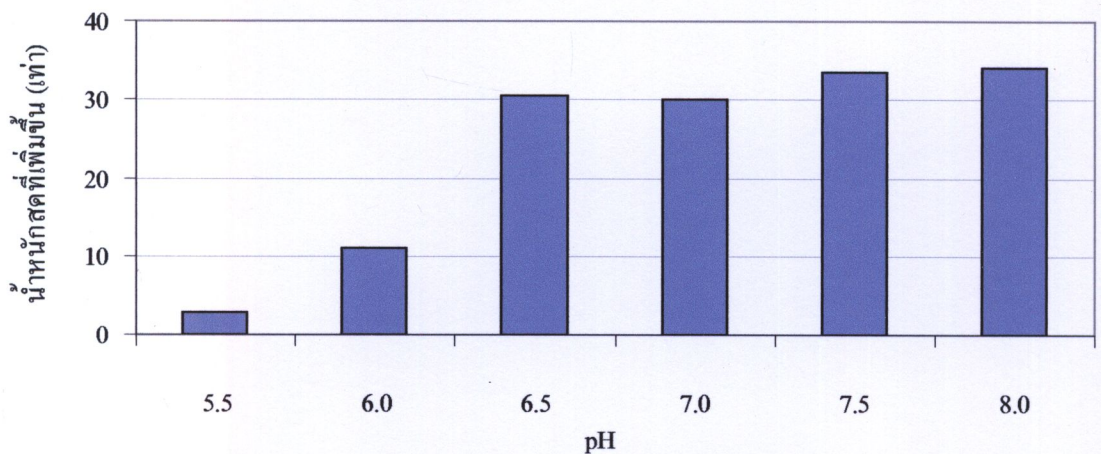
ตารางที่ 18. ผลของสภาพความเป็นกรด-ด่างที่ระดับต่างๆ ในอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลง ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดลาบ

ความเป็นกรด-ด่าง	ค่าเฉลี่ยของ นน.สดสุดท้าย ¹ (กรัม/10 มิลลิลิตร)	ปริมาณ นน.สดที่เพิ่มขึ้น (เท่า)	อัตราการเจริญเติบโต (μ) ¹ (% ต่อวัน)
5.5	0.54 ± 0.05	2.70	3.32 ± 0.28
6.0	2.19 ± 0.14	10.95	7.98 ± 0.20
6.5	6.10 ± 0.20	30.50	11.39 ± 0.11
7.0	5.99 ± 0.16	29.95	11.33 ± 0.09
7.5	6.51 ± 0.51	33.55	11.60 ± 0.26
8.0	6.81 ± 0.09	34.05	11.76 ± 0.05

¹ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดเริ่มต้น 0.20 ± 0.01



รูปที่ 16. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดلابบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงที่ปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น ในระดับต่างๆ



รูปที่ 17. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเห็ดلابที่เพิ่มขึ้นบนอาหารแข็งสูตร BGA ดัดแปลงที่ปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นในระดับต่างๆ

3.6.7 การศึกษาเปรียบเทียบการผลิตชีวมวลสาหร่ายเห็ดฉาบที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BGA และอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม (BGA ดัดแปลง)

ในการทดลองเปรียบเทียบการผลิตชีวมวลสาหร่ายเห็ดฉาบที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BGA และอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม คือ BGA ซึ่งดัดแปลงโดยไม่เติม NaCl เติม K_2HPO_4 เพิ่มขึ้นจาก 0.60 เป็น 0.90 กรัมต่อลิตร และลด $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ จาก 0.38 เป็น 0.095 กรัมต่อลิตร และปรับความเป็นกรด-ด่างของอาหารเริ่มต้นเป็น 7.5 ทำให้ได้ชีวมวลของสาหร่ายคิดเป็นน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นจากสูตร BGA จาก 12.35 เท่า เป็น 34.05 เท่าของน้ำหนักสดเริ่มต้น มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสุดท้ายจาก 2.47 ± 0.01 เป็น 6.81 ± 0.99 กรัม และมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นจาก 8.37 ± 0.01 เป็น 11.76 ± 0.05 %ต่อวัน ตามลำดับ (ตารางที่ 19)

ตารางที่ 19. เปรียบเทียบการผลิตชีวมวลสาหร่ายที่ผลิตจากพืชเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรอาหารที่เหมาะสม (BGA) และสูตรอาหารที่เหมาะสม (BGA) ดัดแปลง

อาหารเลี้ยงสาหร่าย	NaCl (กรัมต่อลิตร)	K ₂ HPO ₄ (กรัมต่อลิตร)	MgSO ₄ · 7H ₂ O (กรัมต่อลิตร)	ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น	ค่าเฉลี่ย นน. สดสุดท้าย ¹ (กรัม)	ปริมาณ นน.สดที่เพิ่มขึ้น (เท่า)	อัตราการเจริญเติบโต(μ) (% ต่อวัน)
อาหารพื้นฐาน (Basal-BGA)	0.07	0.60	0.38	7.5	2.47 ± 0.01	12.35	8.37 ± 0.01
อาหารที่เหมาะสม (BGA ดัดแปลง)	0.00	0.90	0.095	7.5-8.0	6.81 ± 0.09	34.05	11.76 ± 0.05

¹ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดเริ่มต้น 0.20 ± 0.01 กรัม

3.7 การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารต้นแบบจากสาหร่ายเห็ดلاب

พัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารต้นแบบจากสาหร่ายเห็ดلابทั้งจากแหล่งธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยง โดยพัฒนาอาหารทั้งสิ้น 4 ประเภท ได้แก่ อาหารคาว, อาหารหวาน, อาหารขบเคี้ยว และเครื่องดื่ม อาหารคาว 5 ชนิด ประกอบด้วย ผงโรยข้าว, ลาบ, ซุปใส, ซุปเต้าหู้ และสาหร่ายแผ่นคองเปี้ยว-เค็ม อาหารหวาน 2 ชนิด ประกอบด้วย รุ้นสาหร่าย (รสชาเขียวและรสกะทิ) และเจลลี่สาหร่ายรสผลไม้ อาหารขบเคี้ยว 2 ชนิด ประกอบด้วย ทองแผ่นสาหร่าย (รสหวานและรสเค็ม) และสาหร่ายปรุงรส เครื่องดื่ม 1 ชนิด ได้แก่ น้ำข้าวผสมสาหร่ายรสผลไม้ ดังแสดงในตารางที่ 20 และรูปที่ 18-27

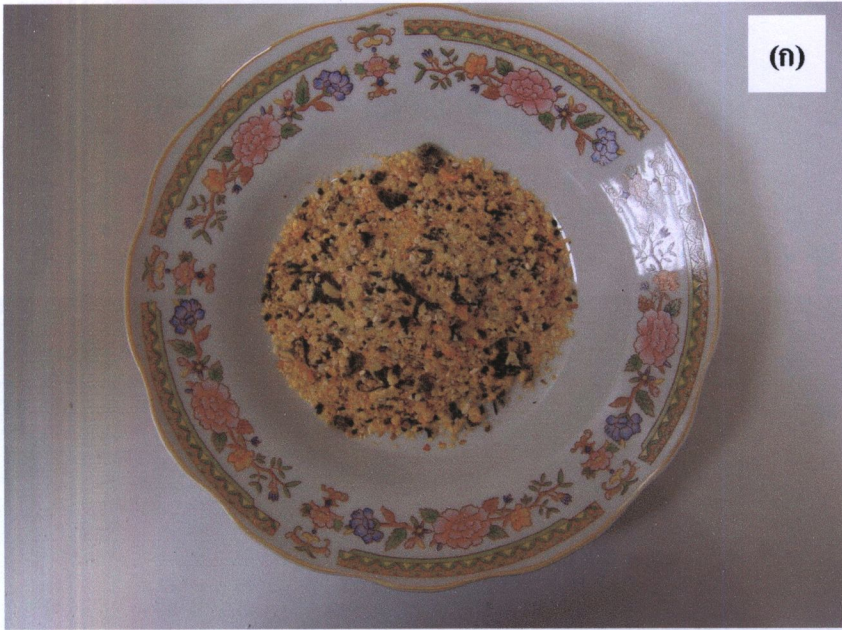
ตารางที่ 20. ผลิตภัณฑ์อาหารที่พัฒนาจากสาหร่ายเห็ดلاب

ประเภทอาหาร	ชนิดของอาหาร	รูปแบบ	สาหร่ายเห็ดلاب	
			ธรรมชาติ ¹	เพาะเลี้ยง ²
คาว	ผงโรยข้าว (Thai dancing, furikake)	สำเร็จรูป	✓	✓
	ลาบ	กึ่งสำเร็จรูป	✓	-
	ซุปใส	กึ่งสำเร็จรูป	✓	✓
	ซุปเต้าหู้	กึ่งสำเร็จรูป	✓	✓
	สาหร่ายแผ่นคองเปี้ยว-เค็ม	สำเร็จรูป	✓	-
หวาน	รุ้นสาหร่าย (รสชาเขียว รสกะทิ)	สำเร็จรูป	✓	✓
	เจลลี่สาหร่ายรสผลไม้	สำเร็จรูป	✓	✓
ขบเคี้ยว	ทองแผ่นสาหร่าย (รสหวาน รสเค็ม)	สำเร็จรูป	✓	✓
	สาหร่ายแผ่นปรุงรส	สำเร็จรูป	✓	-
เครื่องดื่ม	น้ำข้าวผสมสาหร่ายรสผลไม้ (สับปะรด กระเจี๊ยบ มะนาว)	สำเร็จรูป	✓	✓

¹ ลักษณะเป็นแผ่นแบนบาง

² ลักษณะเป็นเม็ดกลม

ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยการทดสอบกับผู้บริโภคจำนวน 20-30 คน โดยใช้รายงานผลการทดสอบ Hedonic Scale Test ในการเรียงลำดับความชอบของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดที่พัฒนาขึ้น และวิเคราะห์ผลโดยวิธี analysis of variance (ANOVA) และ means multiple range test สูตรอาหารที่นำเสนอนี้เป็นสูตรอาหารที่ผู้ทดสอบมีความชอบต่อผลิตภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p=0.05)

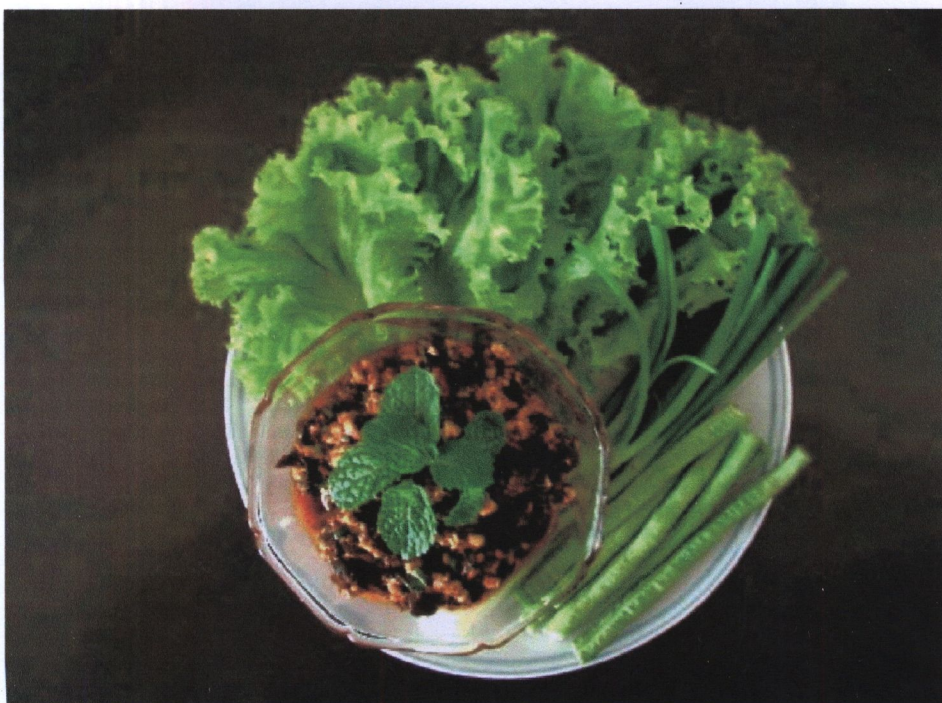


(ก)

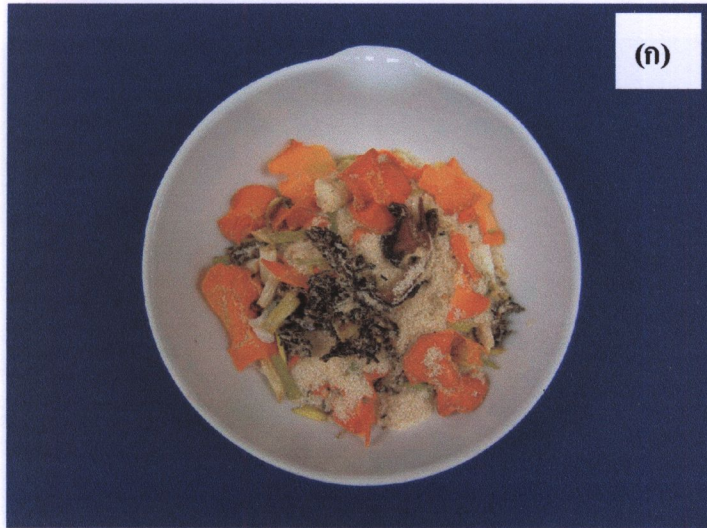


(ข)

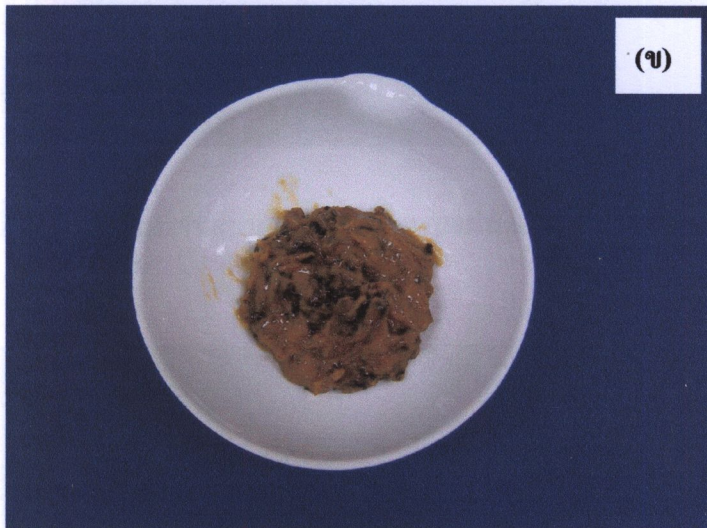
รูปที่ 18. ผลิตภัณฑ์ต้นแบบผงโรยข้าวจากสาหร่ายเห็ดตาบ (ก) และข้าวปั้นที่ผสมกับผงโรยข้าว (ข)



รูปที่ 19. ลาบที่ปรุงจากผลิตภัณฑ์ต้นแบบเห็ดลาบถึงสำเร็จรูป



(ก)



(ข)



(ค)

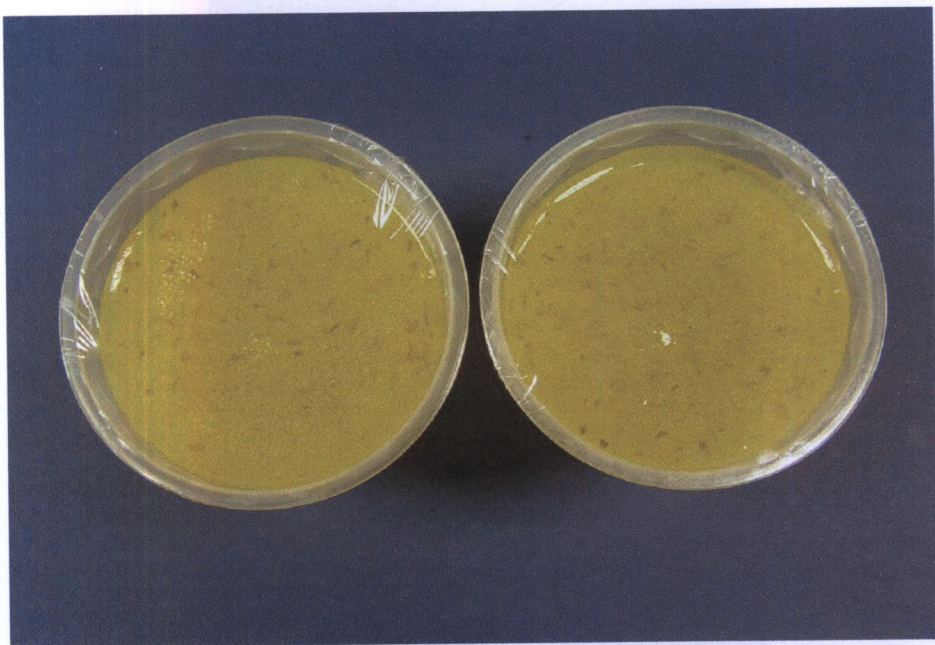
รูปที่ 20. ผลิตภัณฑ์ต้นแบบประเภทซุปรจากสาหร่ายเห็ดถอบ ซุปใส (ก) ซุปเต้าหู้ (ข) และซุปที่เติมน้ำร้อนแล้ว (ค)



รูปที่ 21. ผลิตภัณฑ์ต้นแบบสำหรับเห็ดลาบแผ่นดองเปรี้ยว-เค็ม



รูปที่ 22. ผลิตภัณฑ์ต้นแบบวุ้นสำหรับยารักษาเห็ด



รูปที่ 23. ผลิตภัณฑ์ต้นแบบเจลลี่สำหรับรสชาติผลไม้ (รสสับปะรด)



รูปที่ 24. ผลิตภัณฑ์ต้นแบบทองแผ่นสำหรับรสหวาน และรสเค็ม



รูปที่ 25. ผลิตภัณฑ์ต้นแบบสาหร่ายปรุงรสจากสาหร่ายเห็ดลาบ



รูปที่ 26. ผลิตภัณฑ์ต้นแบบเครื่องดื่มน้ำข้าวผสมสาหร่ายรสผลไม้ รสสับปะรด (ซ้าย) และรส
มะนาว (ขวา)



รูปที่ 27. ผลิตภัณฑ์ต้นแบบสาหร่ายยอบแห้ง ซึ่งใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารถึงสำเร็จรูปได้หลายชนิด

3.7.1 ผงโรยข้าว (Thai dancing, Furikake)

ส่วนผสม

กุ้งแห้งปิ้งรสอบแห้ง	37%
สาหร่ายปิ้งรสอบแห้ง	34%
ไข่ปิ้งรสอบแห้ง	10%
แครอทอบแห้ง	8%
งาขาวคั่ว	6%
งาคั่ว	2%
พริกป่น	2%
เกลือป่น	1%

วิธีทำ

1. นำส่วนผสมทั้งหมดมาผสมให้เข้ากัน
2. เก็บในภาชนะที่แห้ง สะอาด และปิดสนิท หรือบรรจุใส่ซองอลูมิเนียมฟอยล์ ผนึกด้วยระบบสุญญากาศ
3. สามารถนำมาโรยข้าวหรือทำเป็นข้าวปั้นรับประทานกับอาหารต่างๆ

กุ้งแห้งปิ้งรสอบแห้ง มีส่วนผสมดังนี้

กุ้งแห้ง	50	กรัม
แป้งมัน	1	กรัม
แป้งข้าวโพดหรือแป้งข้าวเจ้า	1	กรัม
น้ำตาลทรายละเอียด	2	กรัม
น้ำอุ่น	3	ช้อนโต๊ะ

วิธีทำ

1. นำกุ้งแห้งมาปั่นด้วยเครื่องปั่น (ปั่นหยาบๆ)
2. นำส่วนผสมทั้งหมดมาผสมให้เข้ากัน
3. นำไปอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วเอาออกมาพลิกกลับ อบต่ออีก 15 นาที
4. นำไปอบต่อที่อุณหภูมิร้อน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง
5. รอให้เย็น เก็บในภาชนะที่สะอาด และปิดสนิท

สาหร่ายปรุรงรส มีส่วนผสมดังนี้

สาหร่ายสด	50	กรัม
แป้งมัน	1	กรัม
แป้งข้าวโพดหรือแป้งข้าวเจ้า	1	กรัม
น้ำตาลทรายละเอียด	2.5	กรัม
เกลือ	1	กรัม
พริกไทย	0.2	กรัม
ซอสเปรี้ยว	4.5	กรัม

วิธีทำ

1. นำสาหร่ายแห้งแช่น้ำนาน 5-10 นาที แล้วผึ่งให้สะเด็ดน้ำ 5 นาที
2. นำส่วนผสมทั้งหมดมาผสมให้เข้ากัน แล้วหมักส่วนผสมทิ้งไว้ 20 นาที
3. นำไปอบในเตาอบอุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วเอาออกมาพลิกกลับ อบต่ออีก 15 นาที
4. รอให้เย็น เก็บในภาชนะที่สะอาดและปิดสนิท

ไข่อบแห้งปรุรงรส มีส่วนผสมดังนี้

ไข่แดง	60	กรัม
ไข่ขาว	20	กรัม
แป้งข้าวโพดหรือแป้งข้าวเจ้า	20	กรัม
ชีอิ้วขาว	4-5	หยด

วิธีทำ

1. นำไข่แดงและไข่ขาวมาตีให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียว
2. นำส่วนผสมทั้งหมดมาผสมให้เข้ากัน
3. นำไปอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง
4. แวะออกจากถาดแล้วนำไปบด เก็บในภาชนะที่สะอาดและปิดสนิท

แครอทอบแห้ง มีส่วนผสมดังนี้

แครอทพันธุ์ออสเตรเลีย	50	กรัม
แป้งข้าวโพดหรือแป้งข้าวเจ้า	5	กรัม
น้ำอุ่น	1	ช้อนโต๊ะ
สีผสมอาหาร (สีส้ม)	1-2	หยด

วิธีทำ

- 1. นำแครอทมาปั่นด้วยเครื่องปั่น (ปั่นหยาบๆ)
- 2. นำส่วนผสมทั้งหมดมาผสมให้เข้ากัน
- 3. นำไปอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที แล้วเอาออกมาพลิกกลับ อบต่ออีก 20 นาที
- 4. รอให้เย็น เก็บในภาชนะที่สะอาดและปิดสนิท

3.7.2 ลาบกึ่งสำเร็จรูป

ส่วนผสมผงบลาบ

น้ำตาลทราย	2	กรัม
กรดมะนาว	3	กรัม
เกลือป่น	2	กรัม
พริกป่น	4	กรัม
ข้าวคั่ว	4	กรัม

(ในการปรุงลาบอาจใช้ส่วนผสมผงบลาบสำเร็จรูปที่ผสมให้เข้ากัน แล้วบรรจุของอูมามิเนียมฟอสเฟต ผักด้วยระบบสุญญากาศ หรืออาจใช้น้ำมะนาว และน้ำปลา แทนกรดมะนาว และเกลือป่น ในการปรุงรสและปรุงรสได้ตามใจชอบ)

สาหร่ายแห้ง	72	กรัม
เนื้อหมูบด	14	กรัม
น้ำซุปล (ได้จากการลวกเนื้อหมูบด)	55	กรัม
หัวหอมแดง (ซอยบางๆ)	9	กรัม
ผักชีฝรั่ง (หั่นฝอย)	9	กรัม
ต้นหอม (หั่นฝอย)	9	กรัม

วิธีทำ

- 1. นำสาหร่ายแห้งมาแช่น้ำนาน 5-10 นาที ผึ่งให้สะเด็ดน้ำนำไปลวกในน้ำเดือดนาน 45 วินาที นำขึ้นผ่านน้ำเย็นแล้วผึ่งให้สะเด็ดน้ำนาน 5 นาที
- 2. นำเนื้อหมูบดมาลวกให้สุกแล้วแยกน้ำและเนื้อไว้ น้ำซุปลที่ได้แบ่งมาผสมกับผงบลาบตามอัตราส่วนที่ได้ หรืออาจปรุงรสได้ตามชอบ
- 3. นำสาหร่ายและเนื้อหมูสุกคลุกให้เข้ากันโดยใส่ผงบลาบที่ปรุงรสและเครื่องที่เตรียมไว้คลุกให้เข้ากัน เสิร์ฟพร้อมผักสด เช่น ถั่วงอกขาว กะหล่ำปลีสด และผักบุ้งไทย

3.7.3 ชุปใส

ส่วนผสม

ผงรสดี (รสไก่)	79	กรัม
แครอทอบแห้ง	1	กรัม
สาหร่ายปรุงรส	1	กรัม
เห็ดหอมอบแห้ง	1	กรัม
ต้นหอมอบแห้ง	1	กรัม
พริกไทย	1/2	ช้อนชา

วิธีทำ

นำส่วนผสมทั้งหมดมาผสมรวมกัน เก็บในภาชนะที่แห้ง สะอาด และปิดสนิท หรือ บรรจุใส่ซองอลูมิเนียมฟอยล์ ผนึกด้วยระบบสุญญากาศ ซองละ 4 กรัม (เสิร์ฟ 1 ที่)

วิธีปรุง เทผงชุป 1 ซอง (4 กรัม) ใส่ในภาชนะเติมน้ำร้อน 200 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน พร้อมบริโภคภายใน 5 นาที

วิธีทำผักอบแห้ง (แครอท, เห็ดหอม, ต้นหอมอบแห้ง มีขั้นตอนในการทำเช่นเดียวกัน)

นำผักต่าง ตัดหรือหั่นเป็นชิ้นขนาดตามต้องการ ล้างด้วยกรดซิตริก 0.2% แล้วนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 1-2 นาที ขกกลงใส่ในน้ำเปล่าหรือน้ำเย็น แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อน 60 องศาเซลเซียส นาน 7 ชั่วโมง

วิธีทำสาหร่ายปรุงรส

1. นำสาหร่ายแห้งมาแช่น้ำนานประมาณ 5-10 นาที
2. ผสมน้ำปรุงรส (ดูข้อ 3.7.5) แล้วนำสาหร่ายลงแช่ทิ้งไว้นาน 2-3 ชั่วโมง เพื่อให้ น้ำปรุงรสซึมเข้าในเนื้อสาหร่าย
3. เมื่อครบเวลาแล้วบีบน้ำปรุงรสออกจากสาหร่ายให้พอหมาด นำไปเกลี่ยตะแกรงแล้วนำเข้าตู้อบลมร้อน อบที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นานประมาณ 8 ชั่วโมง

3.7.4 ชุปเต้าเจี้ยว (มิโซชุป)

ส่วนผสม

เต้าหู้ยี้สำเร็จรูปบด	1	ขวดเล็ก (132 กรัม)
น้ำเปล่า	60	กรัม
น้ำตาลทราย	1	ช้อนโต๊ะ
เกลือป่น	1	ช้อนชา
ซีอิ๊วขาว	5	ช้อนโต๊ะ
สาหร่ายแห้ง	1	กรัม

วิธีทำ

1. นำเต้าหู้ยี้เติมน้ำปั่นให้ละเอียด
2. ผสมน้ำตาลทราย เกลือ ซีอิ๊วขาว และสาหร่าย
3. ใส่ในหม้อตุ๋นที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส คนนานประมาณ 15-20 นาที
4. บรรจุลงในภาชนะหรือซองที่ฆ่าเชื้อแล้ว ผึ่งด้วยระบบสุญญากาศ ซองละ 50 กรัม (เสิร์ฟ 1 ที่)
5. เมื่อต้องการรับประทานให้ฉีกซองเทชุปขึ้นใส่ถ้วยเติมน้ำร้อนประมาณ 150 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันพร้อมบริโภคภายใน 5 นาที

3.7.5 สาหร่ายแผ่นดองเปรี้ยว-เค็ม หรือสาหร่ายปรุงรส

ส่วนผสมน้ำปรุงรสสาหร่าย

ซอสเปรี้ยวจิ๊กโหลว	50	กรัม
น้ำตาลทราย	40	กรัม
เกลือป่น	2	กรัม
แป้งข้าวเจ้า	2	กรัม
สาหร่ายสด	200	กรัม

วิธีทำ

1. นำสาหร่ายแห้งมาแช่น้ำนานประมาณ 5-10 นาที
2. ผสมน้ำปรุงรสแล้วนำสาหร่ายลงแช่ทิ้งไว้นาน 2-3 ชั่วโมง เพื่อให้ น้ำปรุงรสซึมเข้าในเนื้อสาหร่าย
3. เมื่อครบเวลาแล้วบีบน้ำปรุงรสออกจากสาหร่ายให้พอหมาด รับประทานสดเป็นสาหร่ายแผ่นดองเปรี้ยว-เค็ม หรือนำไปเกลี่ยตะแกรงแล้วนำเข้าตู้อบลมร้อน อบที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นานประมาณ 8 ชั่วโมง เป็นสาหร่ายปรุงรส

4. เมื่ออบสาหร่ายปรุงรสแห้งแล้วเก็บใส่ภาชนะที่สะอาดและปิดสนิท หรือใส่ของ อลูมิเนียมฟอยล์ฉนวนกับด้วยระบบสุญญากาศ เพื่อให้กลิ่นและรสชาติคงอยู่ได้เป็นระยะเวลานาน

3.7.6 รุ้นสาหร่าย

รุ้นชาเขียวสาหร่าย

ส่วนผสม

รุ้นผง	16.00	กรัม
น้ำ	1,156.00	กรัม หรือ ประมาณ 5 1/2 ถ้วย
น้ำตาลทราย	232.00	กรัม หรือ ประมาณ 1 1/4 ถ้วย
สาหร่ายสด	40.00	กรัม
กลิ่นชาเขียว	5.00	กรัม หรือ ประมาณ 1 1/4 ช้อนชา
สีเขียวขี้ม้า	0.60	กรัม

วิธีทำ

1. นำรุ้นผง น้ำตาลทราย และสี ละลายน้ำ ยกขึ้นตั้งไฟที่อุณหภูมิประมาณ 80-85 องศาเซลเซียส (สังเกตได้จากมีไอน้ำลอยขึ้น ไม่ร้อนถึงกับเดือดเป็นฟองอากาศฟูๆ) ใช้ทัพพีคนให้รุ้นละลาย นานประมาณ 5 นาที หรือจนกระทั่งสังเกตเห็นว่าผงรุ้นละลายหมดแล้ว คือไม่มีเม็ดรุ้นติดที่ ทัพพีเมื่อยกทัพพีขึ้น
2. ยกลงทิ้งไว้สักพัก จึงเติมสาหร่ายเม็ด หรือสาหร่ายแผ่นปั่นละเอียด และกลิ่นชาเขียว แล้วคนให้ทั่ว
3. ตักหยอดใส่พิมพ์รุ้น แล้วตั้งทิ้งไว้รอให้รุ้นแข็งตัว หรือนำไปแช่เย็นจะทำให้รุ้นแข็งตัวเร็วขึ้น

รุ้นสาหร่ายหน้ากะทิ

ส่วนผสมตัวรุ้น

รุ้นผง	16.00	กรัม
น้ำ	1,156.00	กรัม หรือ ประมาณ 5 1/2 ถ้วย
น้ำตาลทราย	232.00	กรัม หรือ ประมาณ 1 1/4 ถ้วย
สาหร่าย	40.00	กรัม
กลิ่นใบเตย	5.00	กรัม หรือ ประมาณ 1 1/4 ช้อนชา
สีเขียวขี้ม้า	0.60	กรัม

วิธีทำ

1. นำวุ้นผง, น้ำตาลทราย และสี ละลายน้ำ ยกขึ้นตั้งไฟที่อุณหภูมิประมาณ 80-85 องศาเซลเซียส (สังเกตได้จากมีไอน้ำลอยขึ้น ไม่ร้อนถึงกับเดือดเป็นฟองอากาศผุด) ใช้ทัพพีคนให้วุ้นละลาย นานประมาณ 5 นาที หรือจนกระทั่งสังเกตเห็นว่าผงวุ้นละลายหมดแล้ว คือไม่มีเม็ดวุ้นติดที่ ทัพพีเมื่อยกทัพพีขึ้น
2. ต้มน้ำใส่ภาชนะใหญ่ ให้มีอุณหภูมิประมาณ 80-85 องศาเซลเซียส จากนั้นวางหม้อส่วนผสมตัว วุ้นจากข้อ 1 บนน้ำร้อน เพื่อให้ร้อนอยู่ตลอดเวลา เดิมสำหรับเม็ดหรือสำหรับแผ่นปั้นละเอียด ในระหว่างนี้การเตรียมส่วนของหน้าวุ้นควรทำควบคู่ไปด้วยอย่างรวดเร็ว เพื่อที่จะได้ไม่ต้องแช่ ส่วนผสมในน้ำร้อนไว้นานเกินไป
3. เมื่อส่วนผสมหน้าวุ้นใกล้เสร็จแล้วให้ยกลง ตั้งไว้สักพัก จึงเติมสำหรับเม็ด และกลั่นใบเตยคน ให้ทั่ว

ส่วนผสมหน้าวุ้น

วุ้นผง	13.50	กรัม
น้ำ	525.00	กรัม หรือ ประมาณ 2 1/2 ถ้วย
หัวกะทิ	460.00	กรัม หรือ ประมาณ 2 ถ้วย
เกลือ	10.00	กรัม หรือ ประมาณ 2 ช้อนชา
น้ำตาลทราย	24.00	กรัม หรือ ประมาณ 2 ช้อนโต๊ะ

วิธีทำ

นำวุ้นผง, เกลือ, น้ำตาลทราย และหัวกะทิ ผสมและละลายน้ำ ยกขึ้นตั้งไฟที่อุณหภูมิ ประมาณ 80-85 องศาเซลเซียส (สังเกตได้จากมีไอน้ำลอยขึ้น ไม่ร้อนถึงกับเดือดเป็นฟองอากาศผุด) ใช้ทัพพีคนให้วุ้นละลายนานประมาณ 4 นาที หรือจนกระทั่งสังเกตเห็นว่าผงวุ้นละลายหมดแล้ว คือ ไม่มีเม็ดวุ้นติดที่ทัพพี เมื่อยกทัพพีขึ้น

การหยอดวุ้น

หยอดส่วนหน้าวุ้นที่เป็นกะทิลงไปในถาดวุ้นก่อน เมื่อสังเกตเห็นว่าวุ้นตึงๆ แล้วค่อยๆ เท ส่วนตัววุ้นลงไป จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้วุ้นแข็งตัว หรือนำไปแช่เย็นจะทำให้วุ้นแข็งตัวเร็วขึ้น

3.7.7 เจลลีสาหร่าย

ส่วนผสม

น้ำหรือน้ำผลไม้ตามชอบ	500.0	กรัม
น้ำตาลทราย	175.0	กรัม
คาราจีแนน (TIMBA-2)	3.0	กรัม
โปแตสเซียมซิเตรท	1.0	กรัม
กรดซิตริก	4.0	กรัม
กลิ่น (ตามชอบ)	2.5	กรัม
สี (ตามชอบ)	0.5	กรัม
สาหร่ายสด	15.0	กรัม

วิธีทำ

1. นำสาหร่ายแห้งมาแช่น้ำนานประมาณ 5-10 นาที ผึ่งให้สะเด็ดน้ำ หากเป็นสาหร่ายแผ่นให้นำไปปั่นให้ละเอียด
2. ผสมคาราจีแนน น้ำตาลทราย และโปแตสเซียมซิเตรท ให้เข้ากัน
3. เทใส่น้ำที่เตรียมไว้ คนให้ส่วนผสมกระจายตัวประมาณ 1 นาที
4. นำไปให้ความร้อน ไฟอ่อนๆ คนเรื่อยๆ จนได้อุณหภูมิประมาณ 85-90 องศาเซลเซียส จนกระทั่งคาราจีแนนละลายจนหมดแล้ว (สังเกตได้จากไม่มีเหลือติดอุปกรณ์ที่ใช้คน)
5. ยกตั้งไว้จนอุณหภูมิลดลงถึง 75-80 องศาเซลเซียส แล้วจึงเติมกรดซิตริก กลิ่น สี และสาหร่าย คนให้เข้ากัน
6. แบ่งใส่ภาชนะบรรจุที่เตรียมไว้ แล้วตั้งทิ้งไว้หรือนำไปแช่ไว้ในตู้เย็น เพื่อให้เกิดเจล

หมายเหตุ :

1. ถ้าต้องการเนื้อนุ่มให้ลดปริมาณของผงคาราจีแนน ในทางกลับกันหากต้องการเนื้อเจลที่แข็งให้เพิ่มปริมาณของผงคาราจีแนนในส่วนผสม
2. ควรระวังไม่ให้สารละลายร้อนจนเดือด และต้องไม่นานเกินไป เพราะจะทำให้คาราจีแนนเกิดเจลได้ไม่ดีเท่าที่ควร
3. คาราจีแนน TIMBA-2 ที่ใช้ ได้จากบริษัทไทยฟู้ดแอนด์เคมีคอล จำกัด หากใช้ส่วนผสมคาราจีแนนจากแหล่งอื่น อาจต้องทดลองปรับเปลี่ยนปริมาณคาราจีแนนในส่วนผสมใหม่ เพื่อให้ได้เจลที่มีลักษณะตามที่ต้องการ

3.7.8 ทองแผ่นสาหร่าย

ทองแผ่นสาหร่ายรสหวาน

ส่วนผสม

แป้งมันสำปะหลังตราปลามังกร	1/2	ถ้วยตวง
แป้งสตาร์เอนกประสงค์	1/4	ถ้วยตวง
หัวกะทิ	3/4	ถ้วยตวง
ไข่ไก่ (เบอร์ 1) ทั้งฟอง	1/2	ฟอง
น้ำตาลทราย	3	ช้อนโต๊ะ
น้ำตาลปี๊บ	1/4	ถ้วยตวง
เกลือป่น	3/4	ช้อนชา
สาหร่ายสด	1/2	ถ้วยตวง
สีเขียว	1/4	ช้อนชา

วิธีทำ

1. นำสาหร่ายแห้งแช่น้ำสะอาดนาน 5-10 นาที แล้วผึ่งให้สะเด็ดน้ำประมาณ 5 นาที หากเป็นสาหร่ายแผ่นนำไปปั่นให้ละเอียด
2. ผสมแป้งมันและแป้งสตาร์เอนกประสงค์ ใส่น้ำตาลทราย, เกลือป่น, น้ำตาลปี๊บ, ไข่ไก่ และสาหร่ายที่เตรียมไว้ในข้อ 1 แล้วคลุกเคล้าให้เข้ากัน
3. ใส่หัวกะทิทีละน้อย นวดให้ส่วนผสมเข้ากัน เติมสีเขียว ใส่หัวกะทิที่เหลือลงผสมจนหมด อาจใช้เครื่องตีไข่ตีให้ส่วนผสมทั้งหมดเข้ากันดี โดยที่แป้งต้องไม่เป็นก้อน จากนั้นนำไปกรองผ่านตะแกรงกรอง 1 รอบ
4. เตรียมพิมพ์ทองม้วนให้ร้อน (ประมาณ 165-175 องศาเซลเซียส ในกรณีที่เครื่องตั้งอุณหภูมิได้) ทาพิมพ์ด้วยน้ำมันพืชบางๆ
5. หยอดส่วนผสมน้ำแป้งทองแผ่นลงตรงกลางพิมพ์ แล้ววางพิมพ์ลงทับไว้ให้ขนมสุก (ทับพิมพ์ไว้ประมาณ 30-40 วินาที กรณีที่ใช้เครื่องทำทองม้วนที่ตั้งอุณหภูมิได้) แซะออกจากพิมพ์ ทิ้งให้ขนมเย็น เก็บใส่ภาชนะปิดสนิท

ทองแผ่นสำหรับยารสเค็ม

ส่วนผสม

แป้งข้าวเจ้าตราช้างสามเศียร	45	กรัม
แป้งสาลีเอนกประสงค์	15	กรัม
หัวกะทิ	85	กรัม
ไข่แดงของไข่ไก่ (เบอร์ 1)	1	ฟอง
น้ำปูนใส	100	กรัม
น้ำตาลทราย	$\frac{1}{4}$	ถ้วยตวง
เกลือป่น	$\frac{1}{2}$	ช้อนโต๊ะ
พริกไทย	1	ช้อนชา
สาหร่ายสด	$\frac{1}{2}$	ถ้วยตวง

วิธีทำ

1. นำสาหร่ายแห้งแช่น้ำสะอาดนาน 5-10 นาที แล้วผึ่งให้สะเด็ดน้ำประมาณ 5 นาที หากเป็นสาหร่ายแผ่นนำไปปั่นให้ละเอียด
2. ผสมแป้งข้าวเจ้าและแป้งสาลีเข้าด้วยกัน ใส่น้ำตาลทราย, เกลือป่น, พริกไทย, ไข่แดง และสาหร่ายที่เตรียมไว้ในข้อ 1 แล้วคลุกเคล้าให้เข้ากัน
3. ใส่หัวกะทิทีละน้อย นวดให้ส่วนผสมเข้ากัน ใส่หัวกะทิที่เหลือลงผสมจนหมด เติมน้ำปูนใส อาจใช้เครื่องตีไข่ตีให้ส่วนผสมทั้งหมดเข้ากันดี โดยที่แป้งต้องไม่เป็นก้อน จากนั้นนำไปกรองผ่านตะแกรงกรอง 1 รอบ
4. เตรียมพิมพ์ทองม้วนให้ร้อน (ประมาณ 165-175 องศาเซลเซียส ในกรณีที่เครื่องตั้งอุณหภูมิได้) ทาพิมพ์ด้วยน้ำมันพืชบางๆ
5. หยอดส่วนผสมน้ำแป้งทองแผ่นลงตรงกลางพิมพ์ แล้ววางพิมพ์ลงทับไว้ให้ขนมสุก (ทับพิมพ์ไว้ประมาณ 30-40 วินาที กรณีที่ใช้เครื่องทำทองม้วนที่ตั้งอุณหภูมิได้) แซะออกจากพิมพ์ ทิ้งให้ขนมเย็น เก็บใส่ภาชนะปิดสนิท

3.7.9 เครื่องคั้นน้ำข้าวผสมสาหร่ายรสผลไม้

วิธีการเตรียมน้ำข้าว

1. ชั่งน้ำหนักข้าวตามที่ต้องการ ล้างด้วยน้ำจนสะอาดด้วยเครื่องบด (blender, Kenwood) ความเร็วรอบที่สเกล 1 นาน 15 วินาที
2. ผสมข้าวบดกับน้ำในสัดส่วน ข้าวเจ้า 25 กรัม ต่อน้ำ 1 ลิตร ปิดฝาแล้วนำไปตั้งไฟจนเดือด (ที่ 100 องศาเซลเซียส) เปิดฝาจับเวลาต่อไปอีก 20 นาที แล้วจึงปิดไฟกรองน้ำข้าวที่คั้นแล้วโดยใช้ตะแกรงตาถี่
3. ตั้งน้ำข้าวทิ้งไว้จนเย็นจึงวัดองศาบริกซ์ ($^{\circ}\text{Brix}$) ด้วยแฮนด์รีแฟรคโตมิเตอร์ (hand refractometer, Atago) วัดองศาบริกซ์ของน้ำข้าวได้ 1

วิธีการเตรียมสาหร่าย

เนื่องจากต้องการผลิตเครื่องคั้นจากสาหร่ายในรูปของอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ (low acid food) ความเป็นกรด-ด่างไม่เกิน 4.6 เพื่อให้สามารถทำการฆ่าเชื้อแบบพาสเจอไรซ์ (pasteurized) ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และประหยัดพลังงานได้ แต่สาหร่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการและมีการเจริญเติบโตในลักษณะเป็นเม็ดกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 มิลลิเมตร มีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 6.7 (เป็นกลาง) จึงต้องทำการเตรียมสาหร่ายโดยการแช่ในกรดซิตริก ก่อน ซึ่งเมื่อผ่านกระบวนการแล้ว ความเป็นกรด-ด่างของสาหร่ายจะมีค่าประมาณ 2.65

เตรียมสาหร่ายเพื่อผสมในเครื่องโดยนำสาหร่ายมาแช่ในสารละลายกรดซิตริก (food grade) เข้มข้น 1% เป็นเวลา 30 นาที เพื่อปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็นกรด แล้วจึงกรองเอาสาหร่ายออกและล้างด้วยน้ำกลั่น

วิธีการทำเครื่องคั้นน้ำข้าวผสมสาหร่ายรสสับปะรด

1. นำสับปะรดมาปอกเปลือกแล้วปั่นด้วยเครื่องบดความเร็วรอบที่สเกล 8 นาน 20 วินาที แล้วจึงกรองด้วยตะแกรงและผ้าขาวบางเพื่อแยกเนื้อออกจากน้ำ วัดองศาบริกซ์น้ำสับปะรดได้ 16
2. เตรียมน้ำเชื่อม 40% วัดองศาบริกซ์น้ำเชื่อมได้ 29
3. ผสมน้ำสับปะรดกับน้ำเชื่อม อัตราส่วนน้ำสับปะรด : น้ำเชื่อม = 6 : 3 เพื่อปรับให้ได้องศาบริกซ์ได้ 20
4. เติมน้ำข้าวลงไปเพื่อปรับองศาบริกซ์ได้ 14 โดยใช้อัตราส่วนน้ำสับปะรด : น้ำเชื่อม : น้ำข้าว = 6 : 3 : 4
5. เติมนิโอดีฟายด์สตาร์ช (modified starch) 1% ของปริมาตรทั้งหมด
6. เติมเกลือ 0.5% ของปริมาตรทั้งหมดคนให้ละลาย

7. เติมสาหร่าย 5% ของปริมาณทั้งหมด นำไปฆ่าเชื้อโดยวิธีพาสเจอร์ไรซ์ในอ่างน้ำร้อน (water bath) ที่ 85 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทำให้เย็นโดยการแช่ด้วยน้ำเย็น วัดคุณภาพความหวานองศา บริกซ์ได้ 15, ความเป็นกรด-ด่าง = 3.82

วิธีการทำเครื่องดื่มน้ำข้าวผสมสาหร่ายรสกระเจี๊ยบ

1. ชั่งดอกกระเจี๊ยบแห้ง ใช้สัดส่วนดอกกระเจี๊ยบแห้ง 10 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร นำดอกกระเจี๊ยบมาล้างให้สะอาดและนำไปใส่ในหม้อ เติมน้ำลงไปตามปริมาณที่กำหนด แช่ไว้เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้ดอกกระเจี๊ยบนุ่ม
2. นำไปตั้งไฟโดยปิดฝาหม้อทิ้งไว้จนเดือด (ที่ 100 องศาเซลเซียส) เปิดฝาและจับเวลาต่อ 20 นาที
3. กรองเอาดอกกระเจี๊ยบออก ตั้งน้ำกระเจี๊ยบทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง วัดองศาบริกซ์ได้ 1
4. เติมน้ำตาลลงไปเพื่อเพิ่มความหวานจนได้องศาบริกซ์ = 20 (ใช้น้ำตาล 23.6%)
5. นำมาผสมน้ำข้าวจนได้องศาบริกซ์ = 14 ใช้น้ำข้าวคิดเป็น 46.67% ของน้ำกระเจี๊ยบ 20 องศาบริกซ์
6. เติมโมดิฟายด์สตาร์ช 1% ของปริมาณทั้งหมด
7. เติมเกลือ 0.5% ของปริมาณทั้งหมด คนให้ละลาย
8. เติมสาหร่าย 5% ของปริมาณทั้งหมด
9. นำไปฆ่าเชื้อในอ่างน้ำร้อนที่ 85 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
10. ทำให้เย็นโดยการแช่ด้วยน้ำเย็น
11. วัดคุณภาพได้ความหวานองศาบริกซ์ = 14, ความเป็นกรด-ด่าง = 2.72

วิธีการทำเครื่องดื่มน้ำข้าวผสมสาหร่ายรสมะนาว

1. คั้นน้ำมะนาวจากผลสด วัดองศาบริกซ์ได้ 8 ความเป็นกรด-ด่าง = 2.37 กรองเมล็ดและเนื้อออก
2. เตรียมน้ำเชื่อม 40% วัดองศาบริกซ์ได้ 29
3. เตรียมน้ำข้าว วัดองศาบริกซ์ได้ 1
4. นำน้ำมะนาว น้ำเชื่อม และน้ำข้าวมาผสมในอัตราส่วนน้ำมะนาว : น้ำเชื่อม : น้ำข้าว = 1 : 6 : 6
5. เติมโมดิฟายด์สตาร์ช 1% ของปริมาณทั้งหมด
6. เติมเกลือ 0.5% ของปริมาณทั้งหมด คนให้ละลาย
7. เติมสืผสมอาหารสีเขียวแอปเปิ้ล 0.01% ของปริมาณทั้งหมด
8. เติมสาหร่าย 5% ของปริมาณทั้งหมด นำไปฆ่าเชื้อในอ่างน้ำร้อน ที่ 85 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทำให้เย็นโดยแช่ด้วยน้ำเย็น
9. วัดคุณภาพได้ความหวานองศาบริกซ์ = 16, ความเป็นกรด-ด่าง = 2.18

ขั้นตอนการบรรจุขวดและฆ่าเชื้อ

ปริมาตรที่บรรจุขวด คือ 300 มิลลิลิตร ต้องการใส่สาหร่าย 5% (15 กรัม น้ำหนักสดต่อ 1 ขวด) มีขั้นตอนการบรรจุขวด และฆ่าเชื้อ ดังนี้

1. ชั่งสาหร่ายสดสำหรับแต่ละขวด (15 กรัม)
2. ตวงน้ำข้าวสาลีที่ไม่จะบรรจุแต่ละขวดปริมาตรขวดละ 300 มิลลิลิตร นำมาผสมกันในบีกเกอร์ แล้วเทใส่ขวดโดยใช้กรวยกรอง
3. นำไปฆ่าเชื้อในอ่างน้ำร้อนที่ 85 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที โดยยังไม่ปิดฝาขวด เพื่อไล่ฟองอากาศ และอากาศด้านบนของขวดออก เพื่อให้ภายในขวดเป็นสุญญากาศ
4. นำขวดออกมาปิดฝาระยะที่ยังร้อน ฆ่าเชื้อต่อไปอีก 10 นาที
5. ทำให้เย็นโดยการหล่อด้วยน้ำเย็น

เครื่องคั้นน้ำข้าวผสมสาหร่ายรสต่างๆ ที่ได้ มีวิธีในการควบคุมกระบวนการ โดยใช้ องศาบริกซ์และความเป็นกรด-ด่างเป็นตัวควบคุมในแต่ละขั้นตอน ในการวัดผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้ ซึ่งความเป็นกรด-ด่างต้องไม่เกิน 4.6 เพื่อให้สามารถฆ่าเชื้อแบบพาสเจอไรซ์ได้ และใช้ รีแฟรกโตมิเตอร์ ในการวัดองศาบริกซ์ ซึ่งองศาบริกซ์ที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วง 14-16 เนื่องจากเป็นองศาบริกซ์ทั่วไปของเครื่องคั้นพร้อมดื่ม

สรุปอัตราส่วนที่ใช้ในการทำเครื่องคั้นน้ำข้าวผสมสาหร่ายรสผลไม้ต่างๆ ได้ดังนี้ คือ

น้ำสับปะรดคั้นสด : น้ำเชื่อม : น้ำข้าว = 6 : 3 : 4

น้ำกระเจี๊ยบ : น้ำตาล : น้ำข้าว = 5 : 1.18 : 2.88

น้ำมะนาวสด : น้ำเชื่อม : น้ำข้าว = 1 : 6 : 6

เติมสาหร่าย 5%

4. เอกสารอ้างอิง

- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. 2529. ฉบับที่ 98.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2543. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารกึ่งสำเร็จรูป ฉบับที่ 210.
- ศรีเป็ล่ง, อักษร. 2525. สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Abdelahad, N. and Bazzichelli, G. 1989. Ultrastructure and development of "coccoid cells" of *Nostoc commune* (Cyanophyta). *Br. J. Phycol.* 24:217-22.
- Antarikanonda, P., Berndt, H. and Mayer, F. 1980. Hydrogen a new inhibitor of photosynthesis in the blue-green alga (cyanobacterium) *Anabaena* sp. TA. 1. *J. Arch. Microbiol.* 145:1-10.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists . Association of Official Analytical Chemists, INC. USA. 383p.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1995. Official Method of Analysis of AOAC 16th Edition volume 1.
- Auletta, C.S. 1995. Acute, subchronic and chronic toxicity. In: CRC Handbook of Toxicology. Michael J. Derelanko and Mannfred A. Holinger, (eds.), CRC Press, pp. 51-104.
- Bloor, S. and England, R.R. 1989. Antibiotic production by the cyanobacterium *Nostoc muscorum*. *J. appl. Phycol.* 1: 367-372.
- Chmel, H. and Louria, D.B. 1980. Antifungal antibiotic : mechanism of action, resistance, susceptibility testing, and assays of activity in biological fluids. in Lorian, V. Antibiotic in Laboratory Medicine. New York : Academic Press.
- Chu, H-J. and Tsang, C-T. 1988. Research and utilization of cyanobacteria in China: a report. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 80:1-4.
- de Caire, G. Z., de Cano, M. S., Mulé, M. C. Z., de Halperin, D. R. and Galvagno, M. 1987. Action of cell-free extracts and extracellular products of *Nostoc muscorum* on growth of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phyton* 47:43-6.
- de Caire, G. Z., de Cano, M. S., Mulé, M. C. Z. and de Halperin, D. R. 1990. Antimycotic products from the cyanobacterium *Nostoc muscorum* against *Rhizoctonia solani*. *Phyton* 51:1-4.

- Desikachary, T. V. 1959. Cyanophyta. Botany Department, University of Madras., Indian Council of Agricultural Research, New Delhi, p. 686.
- Dodds, W. K., Gudder, D. A. and Mollenhauer, D. 1995. The ecology of *Nostoc*. *J. Phycol.* 31:2-18.
- Flaibani, A., Olsen, Y. and Painter, T. J. 1989. Polysaccharides in desert reclamation: compositions of exocellular proteoglycan complexes produced by filamentous blue-green and unicellular green edaphic algae. *Carbohydr. Res.* 190:235-8.
- Hoppe, H. A. 1979. Marine algae and their products and constituents in pharmacy. In Hoppe, H. A., Levring, T. and Tanaka, Y. (Eds.) *Marine Algae in Pharmaceutical Science*, Vol. 1. Walter de Gruyter, Berlin, p. 25-119.
- Gao, K. 1998. Chinese studies on the edible blue-green alga, *Nostoc flagelliforme*: a review. *J. appl. Phycol.* 10: 37-49.
- Hori, K., Ishibashi, G. and Okita, T. 1994. Hypocholesterolemic effect of blue-green alga, ishikurage (*Nostoc commune*) in rats fed atherogenic diet. *Plant Foods Hum. Nutr.* 45: 63-70.
- Hoshaw, R. W. and Rosowski, J. R. 1979. Methods for microscopic algae, In Stein, I. R. (Ed.) *Handbook of Phycological Methods*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Huang, Z., Liu, Y., Paulsen, B. S. and Klaveness, D. 1998. Studies on polysaccharides from three edible species of *Nostoc* (cyanobacteria) with different colony morphologies: comparison of monosaccharide compositions and viscosities of polysaccharides from field colonies and suspension cultures. *J. phycol.* 34: 962-968.
- Keneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, V.R. and Sommess, H.M. 1979. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Philadelphia : J.B. Lippincott Company.
- Lazaroff, N. 1973. Photomorphogenesis and nostocacean development In Carr, N. G. and Whitton, B. A. (Eds.) *The Biology of Blue-Green Algae*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, p. 279-319.
- Lembi, C.A. and Waaland, J.B. 1988. *Algae and Human Affairs*. Cambridge University Press. New York. 590 pp.
- Lund, H. C. and Lund, J. W. G. 1995. *Freshwater algae their microscopic world explored*. Biopress Limited. England. p. 234-237.

- Organization for Economic Co-operation and Development. 1993. OECD Guidelines for testing of chemicals. Volume 2, Section 4: Health Effects, 401. Acute Oral Toxicity.
- Piccardi, R., Frosini, A., Tredici, M.R. and Margheri, M.C. 2000. Bioactivity in free-living and symbiotic cyanobacteria of the genus *Nostoc*. *J. appl. Phycol.* 12: 543-547.
- Sinha, R. P., Kumar, H. D., Kumar, A. and Häder, D-P. 1995. Effects of UV-B irradiation on growth, survival, pigmentation and nitrogen metabolism enzymes in cyanobacteria. *Acta Protozool.* 34:187-92.
- Sinha, R. P. and Häder, D-P. 1996. Photobiology and ecophysiology of rice field cyanobacteria. *Photochem. Photobiol.* 64: 887-96.
- Steiner, R. Y., Kunisawa, R., Mandel, M. and Cohen-Bazire, G. 1971. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chlorococcales). *Bact. Rev.* 35: 171-205.
- Takenaka, H., Sumiya, T. and Ito, H. 1997. Effects of hot water extract prepared from *Nostoc flagelliforme* on macrophage activities in tumor-bearing mice. *Med. Biol.* 135: 231-4. (In Japanese)
- United State Environmental Protection Agency (EPA). 1998. Prevention, pesticides and toxic substances (7101). Health effect test guidelines, OPPTS 870.1100 Acute oral toxicity, EPA 712-6-96-190.
- Watanabe, M. M., Shimizu, A. and Satake, K. N. 1992. NIES-Microbial Collection at the National Institute for Environmental Studies: cryopreservation and database of culture strains of microalgae. In Watanabe, M. M. (ed.), Proceedings of the Symposium on Culture Collection of Algae. National Institute for Environmental Studies, Environment Agency, Tsukuba. p. 33-42.
- Winter, C.A., Edwin, A., Risley, G.W. and Nuss, G.W. 1962. Carrageenan-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol.* 111: 544-547.

ภาคผนวก

1. สูตรอาหาร BGA (Antarikanonda, 1980)

NaCl	0.070	กรัม
MgSO ₄ •7H ₂ O	0.380	กรัม
CaCl ₂	0.080	กรัม
K ₂ HPO ₄	0.600	กรัม
Fe(SO ₄) ₅ •6H ₂ O	0.010	กรัม
Tritriplex III	0.027	กรัม
H ₃ BO ₃	0.003	กรัม
MnSO ₄ •4H ₂ O	0.002	กรัม
Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O	0.008	กรัม
ZnSO ₄ •7H ₂ O	0.0003	กรัม
CuSO ₄ •5H ₂ O	0.00008	กรัม
CoCl ₂	0.00002	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

หมายเหตุ กรณี่ที่เป็นอาหารแข็งให้เติมน้ำ 1.5%

2. สูตรอาหาร BG-11 (Steiner *et al.* 1971)

NaNO ₃	1.500	กรัม
K ₂ HPO ₄ •3H ₂ O	0.040	กรัม
MgSO ₄ •7H ₂ O	0.075	กรัม
CaCl ₂ •2H ₂ O	0.036	กรัม
Citric acid	0.006	กรัม
Ferric ammonium citrate	0.006	กรัม
Ethylenediaminetetraacetic acid	0.001	กรัม
(EDTA), disodium magnesium salt Na ₂ CO ₃	0.020	กรัม
Trace metal mix A5	1.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1	ลิตร
Trace metal mix A5:		
H ₃ BO ₃	2.8600	มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
MnCl ₂ •4H ₂ O	1.8100	มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
ZnSO ₄ •7H ₂ O	0.2220	มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O	0.3900	มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
CuSO ₄ •5H ₂ O	0.0790	มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
Co(NO ₃) ₂ •6H ₂ O	0.0494	มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

หมายเหตุ กรดที่เป็นอาหารแข็งให้เติมวัน 1.5%