แบบฟอร์มหน้าปกข้อเสนอโครงการ

รหัสโครงการ Y19IPLC323

ข้อเสนอโครงการ

การประกวดโครงงานของนักวิทยาศาสตร์รุ่นเยาว์

ชือโครงการ (ภาษาไทย) การศึกษาสภาวะทีเหมาะสมต่อการสร้าง fruiting body และการผลิตสาร cordycepin ของถังเช่าสีทอง

(ภาษาอังกฤษ) Study of optimization for fruiting body growth and cordycepin production by *Cordyceps military*

ประเภทโปรแกรมทีเสนอ วิทยาศาสตร์พืช

ทีมพัฒนา หัวหน้าโครงการ

1. ชือ-นามสกุล นาย ปญนกฤช ลาภบริสุทธิ์ (ชาย)

วัน/เดือน/ปีเกิด 18 เมษายน 2543 16 ปี 6 เดือน ระดับการศึกษา มัธยมศึกษา

สถานศึกษา โรงเรียนสวนกุหลาบวิทยาลัย(รังสิต)

ทีอยู่ตามทะเบียนบ้าน เลขที่ 68/533 ม.1 ต.หันตรา อ.พระนครศรีอยุธยา จ.พระนครศรีอยุธยา 13000

สถานทีติดต่อ เลขที่2/617 ม.1 ต.คลองสี่ อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

โทรศัพท์ 025498047 มือถือ 0830793806 e-mail tgs.associate@hotmail.com

อาจารย์ทีปรึกษาโครงการ

ชือ-นามสกุล นางสาว ธีรวัฒนา ภาระมาตย์ (หญิง)

ระดับการศึกษา ปริญญาเอก ตาแหน่งทางวิชาการ อาจารย์ ดร.

สังกัด/สถาบัน มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

สถานทีติดต่อ เลขที99 ต.คลองหนึง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120 ่

โทรศัพท์ 026133333 มือถือ 0843871722 e-mail ptmong@gmail.com

คำรับรอง “โครงการนี้เป็นความคิดริเริมของนักพัฒนาโครงการและไม่ได้ลอกเลียนแบบมาจากผู้อืนผู้ใด้ ข้าพเจ้าขอรับรองว่าจะให้คาแนะนาและสนับสนุนให้นักพัฒนาในความดูแลของข้าพเจ้าดาเนินการศึกษา/วิจัย/พัฒนา ตามหัวข้อทีเสนอและจะทาหน้าทีประเมินผลงานดังกล่าวให้กับโครงการฯ ด้วย” ่ หัวหน้าสถาบัน (อธิการบดี/คณบดี/หัวหน้าภาควิชา/ผู้อานวยการ/อาจารย์ใหญ่/หัวหน้าหมวด)

ชือ-นามสกุล่ นาย ฤทธิรงค์ สวากัลป ์ (ชาย)

ตำแหน่งทางวิชาการ ครู/อาจารย์ ตาแหน่งทางบริหาร หัวหน้า/ประธาน หมวด/สาขาวิชา

สังกัด/สถาบัน โรงเรียนสวนกุหลาบวิทยาลัย(รังสิต)

สถานทีติดต่อ่ เลขที2/617 ต.คลองสี อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120 ่

โทรศัพท์ 025498047 คารับรอง “ข้าพเจ้าขอรับรองว่าผู้พัฒนามีสิทธิขอรับทุนสนับสนุนตามเงือนไขทีโครงการฯกาหนดและอนุญาต ์ ให้ดาเนินการศึกษา/วิจัย/พัฒนาตามหัวข้อทีได้เสนอมานีในสถาบันได้ภายใต้การบังคับบัญชาของข้าพเจ้า

**เนื้อหาโครงงาน**

**1.บทนำ** : เห็ดจัดเป็นอาหารในกลุ่มพืชผักที่มีคุณค่าทางอาหารสูง เหมาะกับคนทุกเพศทุกวัย และมีสรรพคุณทางยามากมาย เช่น ในสาธารณรัฐประชาชนจีนมีการใช้เห็ดเป็นยาพื้นบ้านมากกว่า 100 ชนิด สาธารณรัฐโปแลนด์นิยมใช้เห็ดตับเต่าขนมปังกะโหลก (*Boletus edulis*) เป็นส่วนผสมของเครื่องประทินผิว เห็ด Black birch bracket (*Inonotus obliquus*) เป็นสารต้านมะเร็ง เป็นต้น จากมูลค่าทางการค้าที่เพิ่มขึ้นของเห็ดที่มีฤทธิ์เป็นยา การรอเก็บแต่เห็ดที่ขึ้นตามธรรมชาติจึงไม่เพียงพอตอความต้องการของผู้บริโภค นักวิทยาศาสตร์จึงได้พยายามเรียนรู้ ค้นคว้าทำการทดลองวิจัยถึงลักษณะการเจริญเติบโตของเห็ดแต่ละชนิด เพื่อนำมาเพาะให้เกิดดอกขึ้นภายในโรงเรือน มีการนำเทคโนโลยีด้านต่างๆ มาช่วยในการผลิต เช่น การคัดเลือกสายพันธุ์ การแยกเชื้อบริสุทธิ์ การปรับปรุงพันธุ์ เป็นต้น จากความพยายามของนักวิชาการด้านการเพาะเห็ดทำให้สามารถทำการผลิตเห็ดหลากหลายชนิดเป็นการค้า ทั้งในรูปเห็ดสด เห็ดแห้ง และผลิตภัณฑ์อาหารจากเห็ด แต่อย่างไรก็ตามยังมีเห็ดอีกมากมายที่รอการศึกษาวิจัยเพื่อการนำมาใช้ประโยชน์

ราแมลงเป็นราที่เจริญเติบโตในแมลง อาจจะอยู่ร่วมกับแมลงที่มีชีวิต หรือทำให้เกิดโรคและสามารถฆ่าแมลงได้ (สิริฉัตร,2546) โดยราที่เจริญเติบโตในแมลงที่มีชีวิตนั้นจะอยู่ในรูปของเซลล์ยีสต์ซึ่งเรียกว่า Yeast-Like Endosymbionts (YLSs) และจะสามารถเปลี่ยนรูปเป็นลักษณะที่มีเส้นใย (Filamentous) ได้ ซึ่งจะเป็นลักษณะที่ทำให้เกิดโรคในแมลง (Entomopathogenic) แต่ในขณะที่อยู่ในรูปของ YLSs นั้นจำเป็นที่แมลงต้องมีชีวิต เนื่องจากปัจจัยสำคัญในการเจริญของ YLSs คือ สารอินทรีย์และแหล่งไนโตรเจนที่ได้จากตัวแมลง ซึ่ง YLSs จะมีความจำเพาะต่อชนิดของแมลงที่อาศัย (Suh *et al*., 2001)

ราแมลงที่มีสรรพคุณทางยานั้นมีอยู่ไม่น้อย โดยเฉพาะยาเพนนิซิลินก็มีราแมลงผสมอยู่ และอีกตัวที่เป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายมานานแล้ว คือ ถังเช่า โดยเชื้อราเข้าทำลายหนอนผีเสื้อ ถังเช่าเป็นยาสมุนไพรที่มีราคาแพงและหายาก การวิจัยค้นคว้าทางเภสัชวิทยาพบว่าเห็ดถังเช่าอุดมไปด้วยสาระสำคัญหลายชนิดที่มีผลทางชีวภาพ เช่น โนโนแซคคาไรด์ ไดแซคคาไรด์ โพลีแซคคาไรด์ (เบต้า-กลูแคน) แมนนิทอล กาแล็กโทส

อะดีโนซีน คอร์ไดเซปิน กรดคอร์เซปิก กรดอะมิโน ฯลฯ (Bhandari Iet al.*,* 2010)

เห็ดถังเช่าประกอบไปด้วยนิวคลีโอไซด์ (Neuclosides) มากกว่า 10 ชนิด ซึ่งเกี่ยวข้องกับกลไกและการทำงานของกลไกในขบวนการสรีรศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทส่วนกลาง (Schmidt Iet al*.,* 2003) และต้านการเกิดเนื้องอก (Wu *et al*., 2007) แต่อย่างไรก็ตามเห็ดถังเช่าสดในธรรมชาติมีปริมาณนิวคลีโอไซด์อยู่น้อยกว่าอันที่แห้งและแปรรูปแล้ว เห็ดถังเช่าถูกใช้ในการป้องกันและรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคหอบหืด วัณโรค โรคหลอดลมอับเสบเรื้อรัง โรงไต โรคหัวใจ ฯลฯ ซึ่งถังเช่านั้นก็มีสายพันธุ์ต่างๆอยู่มากมาย ซึ่งหนึ่งในสายพันธุ์ที่เราจะมุ่งเน้นคือสายพันธุ์ของถังเช่าสีทอง

ถังเช่าสีทองนั้นเป็นหนึ่งในราแมลงที่ได้มีการเพาะกันเป็นการค้ามานานหมายสิบปีแล้วที่ประเทศจีนโดยใช้ตัวหนอนเพาะ หรือใช้อาหารสังเคราะห์ สามารถชักนำให้เป็นดอกเห็ดได้โดยใช้อากาศเย็น เห็ดถังเช่าแคปซูลที่วางขายทั่งไปในขณะนี้โดยมากเป็นเห็ดถังเช่าสีทอง มีรายงานหลายฉบับยืนยันว่า เห็ดถังเช่าสีทองมีคุณสมบัติเทียบเท่าถังเช่าทิเบต (Das *et al*., 2010) และมีสารคอร์ไดเซปิน และอะดีโนซีนสูงกว่าเห็ดถังเช่าทิเบต การเพาะเลี้ยงง่ายกว่าถัง่เช่าทิเบตเพราะขึ้นได้ในแมลงหลายชนิด มีการผลิตเป็นอุตสาหกรรมอยู่แล้วและสามารถนำเอาธัญพืชมาใช้เพาะแทนตัวแมลงได้ ในประเทศไทยมีการผลิตถังเช่าสีทองอยู่บ้างแต่ไม่มากเนื่องจาก อาจมีปัญหาทางด้านการชักนำให้เกิดดอกเห็ด ปัญหาทางด้านอุตสาหกรรมและสีของถังเช่าสีทองนั้นไม่ได้เป็นสีทองทั้งหมดซึ่งแสดงให้เห็นว่าถังเช่าสีทองนั้นมีปริมาณคอร์ไดเซปินซึ่งจะแสดงออกมาให้เห็นในลักษณะสรของถังเช่านั้นมีอยู่น้องซึ่งจะทำให้สรรพคุณทางยานั้นลดลง

งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาสภาวะที่เหามะสมในการชักนำให้เกิดดอกของถังเช่าสีทองและหาสภาวะที่ถังเช่าสีทองนั้นสามารถผลิตสารคอร์ไดเซปินได้ปริมาณมากที่สุด

**2.ปัญหา** : การศึกษาว่าปัจจัยใดบ้างที่มีผลต่อการชักนำของดอกเห็ดและการผลิตสารคอร์ไดเซปิน

: การเปรียบเทียบระหว่างการใช้ธัญพืชต่างชนิดกันและสูตรอาหารที่ต่างกัน

**3.สมมติฐาน** : ปัจจัยหลักที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดดอกเห็ดและผลิตสารคอร์ไดเซปินได้มากนั้นจะต้องเป็น แหล่งอาหารที่มีไนโตรเจนสูงและมีโภชนาการครบท้วน

**4.กระบวนการหรือขั้นตอนในการทำโครงงานอย่างละเอียด** :

4.1 การขยายพันธุ์หัวเชื้อ ขั้นตอนนี้จะเป็นการขยายหัวพันธุ์เชื้อเห็ดถังเช่าที่ได้รับมาจาก ภาคเทคโนโลยีชีวภาพ ของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต โดยขั้นแรกจะทำการเตรียมอาหาร PDA ซึ่งขั้นตอนการเตรียม PDA เป็นดังนี้

1.ขั้นแรกทำการหั่นมันฝรั่งให้เป็นชิ้นเล็กๆประมาณ 1\*1 เซนติเมตร ปริมาณ 200 กรัม และหั่นข้าวโพดอ่อนเป็นชิ้นเล็กๆ ปริมาณ 50 กรัม

2.นำมันฝรั่งและข้าวโพดอ่อนที่หั่นแล้วไปต้มโดยใส่น้ำกลั่นประมาณ 1 ลิตร จากนั้นต้มเป็นเวลา 30 นาที

3.กรองน้ำที่ได้จากการต้มแล้วนำไปผสมกับ Yeast extract ปริมาณ 10 กรัม Peptone ปริมาณ 10 กรัม

Dextrose ปริมาณ 30 กรัม Vitamin B1 ปริมาณ 1 กรัม Agar ปริมาณ 15 กรัม แล้วทำการปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 ลิตร

4.นำ PDA ที่ผสมแล้วแบ่งบรรจุลงขวดแก้ว จากนั้นปิดจุกนำไปเข้าหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

5.นำ PDA ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจับนอนในลักษณะนอนตะแคงประมาณ 25 องศา แล้วทึ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว

6.จากนั้นนำ PDA ไปทำการเพาะเชื้อที่เตรียมมาในตู้ปลอดเชื้อแล้วเลี้ยงในที่มืดที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ก็จะได้เชื้อเห็ดถังเช่าในปริมาณที่เพิ่มขึ้นเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

4.2 การเตรียมอาหารที่จะใช้ในการทดสอบ ในการทดลองครั้งนี้เราได้ทำการทดสอบเปรียบเทียบธัญพืชที่ใช้เพาะเลี้ยงระหว่างข้าวสังข์หยดกับถั่วเหลืองในการทดสอบและการเปรียบเทียบสูตรอาหารระหว่างเพิ่มมอลต์กับไม่เพิ่มมอลต์โดยขั้นตอนการเตรียมการทดลองเป็นดังนี้

1.นำมันฝรั่งมาหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆขนาดประมาณ 1\*1 เซนติเมตร ปริมาณ 400 กรัม

2.นำมันฝรั่งที่หั่นแล้วไปต้มโดยใส่น้ำกลั่นประมาณ 2 ลิตร จากนั้นต้มเป็นเวลา 30 นาที

3.กรองเอาน้ำที่ได้จากการต้มแบ่งเป็นสองส่วนเท่าๆกัน

4.นำส่วนหนึ่งผสมกับ Glucose ปริมาณ 10 กรัม Yeast extract ปริมาณ 10 กรัม หนอนไหมบดละเอียด ปริมาณ 30 กรัม Vitamin B1 ปริมาณ 2 กรัม ไข่ 1 ฟอง จากนั้นทำการปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 ลิตร อีกส่วนหนึ่งผสมเหมือนกับส่วนที่แล้วแต่เพิ่ม Malt extract ปริมาณ 10 กรัม ลงไปด้วยแล้วทำการปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 ลิตร เช่นกัน

5.นำส่วนที่ใส่มอลต์และไม่ใส่มอลต์แบ่งใส่ในขวดแก้วพร้อมใส่ข้าวสังข์หยดหรือถั่วเหลืองอย่างใดอย่างหนึ่งในอัตราส่วน 1:1 โดยใช้ปริมาตร 25 กรัม/มิลลิลิตร โดยทำทั้งหมดตัวอย่างละ10ตัวอย่าง

6.นำตัวอย่างที่เตรียมแล้วปิดฝาแล้วในเข้าหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

7.ทึ้งตัวอย่างให้เย็นลงเพื่อใช้ในขั้นตอนต่อไป

4.3 การบ่มเชื้อ จากขั้นตอนแรกที่ได้ทำการขยายเชื้อเห็ดถังเช่าแล้วขั้นตอนนี้จะเป็นการนำเชื้อถังเช่ามาบ่มในอาหารเหลวเพื่อให้ง่ายต่อการกระจากตัวของเชื้อในอาหารตัวอย่างโดยการบ่มเชื้อจะทำดังนี้

1.ทำการเตรียมอาหารเหลว PDB โดยการ นำมันฝรั่งมาหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆขนาดประมาณ 1\*1 เซนติเมตร ปริมาณ 200 กรัม และหั่นข้าวโพดอ่อนให้เป็นชิ้นเล็กๆ ปริมาณ 50 กรัม

2.นำมันฝรั่งและข้าวโพดอ่อนไปต้มโดยใส่น้ำกลั่นประมาณ 1 ลิตร ต้มเป็นเวลา 30 นาที

3.กรองเอาน้ำที่ได้จากการต้มจากนั้นนำไปผสมกับ Yeast extract ปริมาณ 10 กรัม Peptone ปริมาณ 10 กรัม Dextrose ปริมาณ 30 กรัม Vitamin B1 ปริมาณ 1 กรัม ไข่ไก่ 1 ฟอง หนอนไหมบด 100 กรัม จากนั้นปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 ลิตร

4.นำ PDB ที่ได้ใส่ในขวดรูปชมพู่จากนั้นปิดจุกแล้วในไปเข้าหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 15 นาที

5.รอให้ PDB เย็นตัวจากนั้นในส่วนของเชื้อที่ได้จาก PDA ใส่ลงใน PDB ในที่ปลอดเชื้อจากนั้นทำการบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ก็จะได้เชื้อที่กระจายตัวเตรียมใช้ในขั้นต่อไป

4.4 การลงเชื้อ ขั้นตอนนี้จะเป็นการทำเชื้อที่บ่มได้ที่แล้วมาใส่ลงในตัวอย่างที่เตรียมไว้แล้วในมราปลอดเชื้อจากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในที่ๆให้แสงความเข้ม 1000 ลักซ์ วันละ 12 ชั่วโมง/วัน ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียสเป็นเวลาประมาณ 2 เดือน ก็จะได้ลักษณะดอกเห็ดของถังเช่ามา

**5.การวิเคราะห์ข้อมูลการทดลอง** : การวิเคราะห์ข้อมูลจะทำการวิเคราะห์จากสีของถังเช่าที่ได้ น้ำหนักสด/แห้งที่ได้ ปริมาณสารที่มีอยู่ภายใน (หากเป็นไปได้) โดยจะทำการเก็บข้อมูลในรูปแบบเฉลี่ยแล้วทำการเปรียบเทียบข้อมูลที่ได้และจากการสมมติฐานในเบื้องต้น

**6.ประโยชน์และผลที่คาดว่าจะได้รับ** : สามารถหาสภาวะที่เหมาะสมในการชักจุงให้เกิดดอกเห็ดของถังเช่าได้

: สามารถเพิ่มปริมาณการผลิตสารคอร์ไดเซปินของถังเช่าสีทองได้

: สามารถนำการทดลองนี้ไปต่อยอดเพื่อเพื่มรายได้ของสินค้าทางการเกษตรหรือสามารถนำไปต่อยอดทางด้านงานวิจัยทางด้านอื่นๆได้

**7.บรรณรนุกรม :**

Ting-chi Wen, Guang-rong Li, Ji-chuan Kang, Chao Kang and Kevin, Optimization of Solid-state Fermentation for Fruiting Body Growth and Cordycepin Production by *Cordyceps militaris*

Cunningham K.G., Hutchinson S.A., Manson W. and Spring F.S., Cordycepin, a metabolic product from cultures of *Cordyceps militaris*, *Korean. J. Pbysiol. Pbarmacol.,* 2009; 13: 49-54

Zhu P., Zhu H.B., Zhu H.X., Zhang L., He H.X and Wang Q., *China Pat. No* 200310101650 (2006)

Xie C.Y., Gu Z.X., Fan G.J., Gu F.R., Han Y.B., and Chen Z.G., Production of cordycepin and mycelia by submerged fermentation of *Cordyceps militaris*  in mixture natural culture, *Appl. Biochem. Biotechnol.,* 2009; 158: 483-492

หนังสือ การเพาะเห็ดถังเช่าเป็นอาชีพ Cordyceps Mushroom Cultivation ดรใ ธัญญา ทะพิงค์แก คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราภัฎเชียงใหม่

**ประวัติผู้พัฒนา**

1. หัวหน้าโครงการ นาย ปัญนกฤช ลาภบริสุทธิ์

ระดับการศึกษาปัจจุบัน มัธยมศึกษาปีที่ 5 โรงเรียนสวนกุหลาบวิทยาลัย รังสิต จ.ปทุมธานี

ที่อยู่ที่สะดวกติดต่อ 68/533 หมู่ 1 ต.หันตรา อ.พระนครศรีอยุธยา จ.พระนครศรีอยุธยา 13000

E-mail [tgs.associate@hotmail.com](mailto:tgs.associate@hotmail.com)

**ประวัติอาจารย์ที่ปรึกษา**

1. อาจารย์ที่ปรึกษาหลักโครงงาน นางสาว ธีรวัฒนา ภาระมาตย์

ตำแหน่ง อาจารย์ ดร.

สังกัด คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

สถานที่ติดต่อ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

ต. คลองหนึ่ง อ. คลองหลวง จ. ปทุมธานี 12120 โทรศัพท์มือถือ 0843871722

E-mail [ptmong@gmail.com](mailto:ptmong@gmail.com)