สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตสารโมนาโคลินจากเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งที่บรรจุในฟลาสก์และขวดอาหารขนาด 500 มิลลิลิตร

The Monacolin production by *Monascus purpureus* in solid state fermentation using large scale container

T111927

อรวรรณ อรรถโสภา

คะนึงนิจ กลิ่นหอม

นุชศรา สงวนศิลป

ปพ.
อ372ก
2552

เลขหมู่.......
เลขทะเบียน 111927
วัน,เดือน,ปี 24 S.A. 2553

b. 1229813X
i.......

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE MONACOLIN PRODUCTION BY *MONASCUS PURPUREUS* IN SOLID STATE FERMENTION USING LARGE SCALE CONTAINER

ORAWAN ATTHASOPA

KANUNGNIT KLINHOM

NUCHSARA SANGUANSIL

A SPECAIL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUDE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การผลิตสารโมนาโคลินจากเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งที่บรรจุในฟลาสก์และขวดอาหารขนาด 500 มิลลิลิตร
	The Monacolin production by *Monascus purpureus* in solid state fermentation using large scale container
ชื่อนักศึกษา	นาวสาวอรวรรณ อรรถโสภา
	นางสาวคะนึงนิจ กลิ่นหอม
	นางสาวนุชศรา สงวนศิลป
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2552

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.อารี ฤทธิบูรณ์	[signature]
ผศ.ดร.สรัญญา พันธุ์พฤกษ์	[signature]
ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์	[signature]

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การผลิตสารโมนาโคลินจากเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งที่บรรจุในฟลาสก์และขวดอาหารขนาด 500 มิลลิลิตร
ชื่อนักศึกษา	นาวสาวอรวรรณ อรรถโสภา
	นางสาวคะนึงนิจ กลิ่นหอม
	นางสาวนุชศรา สงวนศิลป
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์

บทคัดย่อ

การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็งโดยทดลองใช้วัตถุดิบทางการเกษตร 10 ชนิด ได้แก่ ข้าวเหนียว ข้าวเจ้า ข้าวโอ้ต ข้าวบาร์เล่ย์ ถั่วแดง มันฝรั่ง มันแกว แคนตาลูป แห้ว และมันสำปะหลังเส้น พบว่าข้าวเจ้าเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมต่อการผลิตโมนาโคลิน รองลงมาคือ มันเส้น และแห้ว ตามลำดับ จากนั้นจึงทดสอบปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตโมนาโคลิน ได้แก่ ความชื้นเริ่มต้น และการเตรียมวัตถุดิบ ผลการทดลองพบว่าการทำให้ข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร ส่งผลให้เชื้อราเจริญและผลิตโมนาโคลินได้ดีที่สุด ส่วนการใช้มันสำปะหลังเส้น และแห้ว พบว่าลักษณะวัตถุดิบเปลี่ยนไประหว่างเลี้ยงเชื้อ ส่งผลให้การเจริญและการผลิตสารโมนาโคลินน้อยกว่าการใช้ข้าวเจ้า ต่อมาจึงทดลองเลี้ยงเชื้อในขวดที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 50 กรัม และ 500 กรัม แล้วนำไปบ่มบนเครื่องหมุน พบว่าข้าวเจ้าที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยการอบที่ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง แล้วจึงเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อลงไป 10.0 และ 100.0 มิลลิลิตร (ตามลำดับ) ให้ผลการสร้างโมนาโคลินได้มากที่สุดอยู่ที่ 173.4343 และ 83.1655 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง (ตามลำดับ) ดังนั้นการผลิตโมนาโคลินในระดับปริมาณอาหารเพิ่มขึ้นจำเป็นต้องศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title The Monacolin production by *Monascus purpureus* in solid state fermentation using large scale container

Student Orawan Atthasopa

Kanungnit Klinhom

Nuchsara Sanguansil

Degree Bachelor of Science

Major Program Industrial Microbiology

Academic Year 2009

Advisor Asst. Dr. Somchai Krairak

ABSTRACT

10 raw materials from agricultural cereal (sticky rice, rice, oat, barley, red bean, potato, yam, cantaloupe, water chestnut and cassava chip, respectively) were examined for monacolin production by *Monascus purpureus* cultivated solid state fermentation. The results showed that rice was suitable for monacolin production while cassava chip and water chestnut gave the lower level one. Furthermore, the effects of initial moisture and raw material treatment were testified for monacolin production. It was found that the sterilization of rice by autoclave at 121 C for 15 min and then addition of 10-ml of sterilized distill water gave the maximum growth and monacolin production. The cultivation was, then, carried out in 50 g and 500 g of raw material experimentation. The results showed that the sterilization by dry-heat at 180 C for 2 hr. and addition of 50-ml and 100-ml of distilled water (respectively) gave the maximum monacolin production about 173.4343 and 83.1655 $U_{238\ nm}$/g-dry sample weight, respectively. Therefore, the monacolin production in large scale should be observed for the optimal conditions.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยโครงงานพิเศษนี้ ผู้ศึกษาขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ และช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องของโครงงานพิเศษนี้ ตลอดจนให้ความรู้ และข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อโครงงานพิเศษนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.อารี ฤทธิบูรณ์ ประธานกรรมการโครงงานพิเศษ และ ผศ.ดร. สรัญญา พันพฤกษ์ กรรมการโครงงานพิเศษ ผู้ตรวจสอบและให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อโครงงานพิเศษฉบับนี้

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ในภาควิชาชีววิทยาที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษนี้

ท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การเลี้ยงดูอบรมและส่งเสริมการศึกษาเป็นอย่างดีตลอดมา จนทำให้ผู้ศึกษาประสบความสำเร็จในชีวิตตลอดมา

อรวรรณ อรรถโสภา

คะนึงนิจ กลิ่นหอม

นุชศรา สงวนศิลป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญรูป	VII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.5 ขั้นตอนในการดำเนินงาน	2
1.6 การวิเคราะห์	3
บทที่ 2 ทฤษฎี และหลักการ	4
2.1 ประวัติความเป็นมาของข้าวแดง	4
2.2 ลักษณะรูปร่างของเชื้อรา *Monascus* spp.	5
2.3 สายพันธุ์ต่างๆ ของเชื้อราโมแนสคัส	7
2.4 คุณสมบัติและโครงสร้างของรงควัตถุจากเชื้อราโมแนสคัส	8
2.5 ประโยชน์ของสารที่สร้างจากเชื้อราโมแนสคัส	13
2.6 ซิตรินิน	22
2.7 ผลิตภัณฑ์อื่นที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส	27
2.8 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็ง	28
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	31
3.1 เชื้อจุลินทรีย์	31
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ	31
3.3 อุปกรณ์	31
3.4 สารเคมี	31
3.5 การเตรียมเชื้อเริ่มต้น (starter)	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 วิธีการทดลอง 32

3.7 การวิเคราะห์ผล 35

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 37

4.1 การผลิตโมนาโคลินจากเชื้อราโมแนสคัสบนวัตถุดิบทางการเกษตร 37

4.2 ปริมาณความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตโมนาโคลิน 39

4.3 การผลิตโมนาโคลิน โดยเลี้ยงเชื้อบนข้าวเจ้าปริมาณ 50 กรัม 56

4.4 การผลิตโมนาโคลิน โดยเลี้ยงเชื้อบนข้าวเจ้าปริมาณ 500 กรัม 61

บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ 68

5.1 สรุปผลการทดลอง 68

5.2 ข้อแสนอแนะ 69

เอกสารอ้างอิง 70

ภาคผนวก ก 77

ภาคผนวก ข 78

ภาคผนวก ค 82

ภาคผนวก ง 84

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 สายพันธุ์ต่างๆ ของเชื้อราโมแนสคัส	7
ตารางที่ 2.2 สารเมแทบอไลต์ที่มีประโยชน์จากเชื้อราโมแนสคัส	13
ตารางที่ 2.3 ค่าทางเภสัชพลศาสตร์ของยาในกลุ่มสแตติน	20
ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณความชื้น สารสี และสารโมนาโคลิน ของวัตถุดิบทางการเกษตรชนิดต่างๆ	37
ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสี และโมนาโคลินผลิตโดยเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที	41
ตารางที่ 4.3 ปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสี และโมนาโคลินผลิตโดยเชื้อราโมแนสคัส ที่เจริญบนข้าวเจ้าที่ฆ่าเชื้อที่ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง	45
ตารางที่ 4.4 ปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสี และโมนาโคลินผลิตโดยเชื้อราโมแนสคัส ที่เจริญบนมันสำปะหลังเส้น	49
ตารางที่ 4.5 ปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสี และโมนาโคลินผลิตโดยเชื้อราโมแนสคัส ที่เจริญบนแห้ว	53
ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสีและสารโมนาโคลิน ของข้าวปลอดเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที	57
ตารางที่ 4.7 แสดงปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสีและสารโมนาโคลินของข้าวปลอดเชื้อ ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง	58
ตารางที่ 4.8 แสดงปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสีและสารโมนาโคลินของข้าวเจ้าแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที ทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที	60
ตารางที่ 4.9 แสดงปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสีและสารโมนาโคลิน ของข้าวเจ้าปลอดเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที	62
ตารางที่4.10แสดงปริมาณความชื้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ปริมาณสารสีและสารโมนาโคลิน ของข้าวเจ้า 500 กรัมนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง	63
ตารางที่ 4.11แสดงปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสีและสารโมนาโคลินของข้าวเจ้าแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที ทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที	65
ตารางที่ 5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตรกับความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส	82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 2.1	วงจรชีวิตของเชื้อรา *Monascus* sp.	6
รูปที่ 2.2	โครงสร้างเคมีของรงควัตถุหรือ pigment ที่แยกได้จาก *Monascus* sp.	9
รูปที่ 2.3	กลไกการสังเคราะห์รงควัตถุสีแดงที่ละลายน้ำได้ โดยเชื้อรา *Monascus ruber*	10
รูปที่ 2.4	โครงสร้างของโมนาโคลิน เค หรือโลวาสแตติน	14
รูปที่ 2.5	โครงสร้างของสาร Lovastatin (A) และ Compactin (B)	15
รูปที่ 2.6	กระบวนการสังเคราะห์สารโลวาสแตติน	17
รูปที่ 2.7	กระบวนการในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล เมื่อ HMG-CoA ทำปฏิกิริยายับยั้งการเกิดคอเลสเตอรอล	18
รูปที่ 2.8	โครงสร้างของ โลวาสแตตินและ HMG-CoA	19
รูปที่ 2.9	โครงสร้างของซิตรินิน	23
รูปที่ 2.10	กลไกการสังเคราะห์ซิตรินิน โดยเชื้อรา *Monascus ruber*	25
รูปที่ 2.11	กลไกการสังเคราะห์ซิตรินินและรงควัตถุสีแดง โดนเชื้อรา *Monascus ruber* (เส้นประ แสดงกลไกการสังเคราะห์ซิตรินิน โดยเชื้อราสกุล *Penicillium* และ *Aspergillus*)	26
รูปที่ 4.1	กราฟแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณความชื้น สารสี และ สารโมนาโคลิน ของเชื้อราโมแนสคัสบนวัตถุดิบทางการเกษตร	38
รูปที่ 4.2	กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนบนอาหารแข็งข้าวเจ้าที่นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที	43
รูปที่ 4.3	กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนข้าวเจ้าที่ฆ่าเชื้อที่ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง	47
รูปที่ 4.4	กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนมันสำปะหลังเส้น	51
รูปที่ 4.5	กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนแห้ว	55
รูปที่ 4.6	กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนข้าวปลอดเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที	57
รูปที่ 4.7	กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนข้าวเจ้าที่นึ่ง59 ฆ่าเชื้อที่ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง	
รูปที่ 4.8	กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนข้าวเจ้าแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ30 นาที แล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.9 กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสข้าวเจ้า 500 กรัมนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที 62
รูปที่ 4.10 กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสข้าวเจ้า 500 กรัมนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที 64
รูปที่ 4.11 กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนข้าวเจ้า 500 กรัม แช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที 66
รูปที่ 5 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส 83
รูปที่ 6 เชื้อรา *M. purpureus* อายุ 7 วันบนอาหาร MYS และ SS 84
รูปที่ 7 เชื้อรา *M. purpureus* อายุ 14 วันบนอาหาร MYS 84
รูปที่ 7 เชื้อรา *M. purpureus* ในอาหาร SS broth เขย่าที่ 200 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิห้อง 84
รูปที่ 8 ตัวอย่างที่อบแห้งนำมาหาปริมาณความชื้น 85
รูปที่ 9 ข้าวเจ้า 500 กรัมอบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง 85
รูปที่ 10 ข้าวเจ้า 500 กรัมแช่น้ำเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 30 นาที นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที 85
รูปที่ 11 ข้าวเจ้าที่นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที 86
รูปที่ 12 ข้าวเจ้า 500 กรัม บ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิห้อง 86
รูปที่ 13 แสดงขั้นตอนการสกัดสารสีและสารโมนาโคลิน 86

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

ในปัจจุบันนี้โรคหลอดเลือดเลี้ยงหัวใจตีบตันเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับหนึ่งของประเทศไทย เนื่องจากมีภาวะระดับไขมันในเลือดผิดปกติ (Dyslipidemia) เป็นปัจจัยการเสี่ยงโรค (Risk factor) อย่างหนึ่งของการเกิดโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดหัวใจ การมีระดับไขมันสูงในเลือดจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผนังหลอดเลือด ทำให้มีความยืดหยุ่นน้อย และหนาขึ้นจนเกิดสภาพของหลอดเลือดแข็ง และตีบ (Atherosclerosis) เป็นผลให้เกิดลิ่มเลือดขึ้นในหลอดเลือดหรือในหัวใจ (Thrombosis) และเกิดเนื้อตายเนื่องจากขาดการไหลเวียนของโลหิต (Infarction) ตามมา (จันทนี, 2545) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตที่สำคัญในปัจจุบัน

ไขมันในโลหิตสูงเป็นปัจจัยเสี่ยงข้อหนึ่งของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ การเปลี่ยนแปลงอาหาร และการออกกำลังกายสามารถลดระดับไขมันในเลือดได้ ถ้าหากคลอเลสเตอรอล (Cholesterol) ในเลือดสูง ไขมันเกาะติดผนังหลอดเลือดแดงมีลักษณะเป็นคราบ (Plaque) ทำให้หลอดเลือดแดงแคบลงส่งผลให้หลอดเลือดแข็ง และตีบ (Atherosclerosis) โดยก่อให้เกิดอาการเจ็บหน้าอกเนื่องจากหัวใจขาดเลือด หรือ อัมพฤกษ์ หากคราบไขมันหลุดจากผนังหลอดเลือดแล้วไปอุดตันในเส้นเลือด จะทำให้เกิดอาการหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน (Stroke) เพื่อแก้ปัญหาการเกิดโรคดังกล่าว จึงมีการศึกษาผลิตยาลดระดับไขมันในเลือดซึ่งนับวันจะมีความสำคัญ และมีความจำเป็นมากขึ้น ซึ่งยาที่ลดระดับไขมันในเลือดมีหลายชนิด เช่น Niasin Bezafibrate Gemfibrozil และกลุ่มสแตติน (Statins) เป็นต้น โดยยากลุ่มสแตตินมีความสำคัญในการออกฤทธิ์โดยยับยั้งการสร้างคลอเลสเตอรอลในตับ โดยยับยั้งการทำงานของตัวควบคุมการสร้างคลอเลสเตอรอล (Rate controlling enzyme) ให้ลดลง ทำให้ไขมันบางชนิดในเลือด คือ Low-density lipoproteins (LDL) ซึ่งเป็นไขมันชนิดไม่ดี ถ้ามีมากจะทำให้เกิดหลอดเลือดแดงตีบได้ โดยพาคลอเลสเตอรอลจากตับไปสู่ร่างกาย ถ้ามีคลอเลสเตอรอล และไขมันไปเกาะอยู่ตามผนังของหลอดเลือดจะส่งผลให้ลดการไหลเวียนของเลือดในร่างกาย ทำให้ออกซิเจนที่ไปเลี้ยงหัวใจ สมอง และส่วนต่างๆ ของร่างกายลดลงตามไปด้วย แต่ถ้ามีคลอเลสเตอรอล และไขมันในเลือดต่ำจะเป็นการช่วยป้องกันการเกิดโรคหัวใจ การไหลเวียนโลหิตในหลอดเลือด ปวดเค้นอก สมองขาดเลือด และหัวใจวายได้ จึงศึกษาการผลิตยาให้ได้มากที่สุด ในเวลาที่รวดเร็ว และลงทุนต่ำ โดยสกัดยากลุ่มนี้ได้จากเชื้อรา เช่น *Aspergillus terreus* ,*Penicillium citrinum* (Merck และ Co, 1976) และ *Monascus* sp. (Endo, 1992) เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อราโมแนสคัสเป็นเชื้อราชนิดหนึ่งที่สามารถผลิตสารยับยั้งการสร้างคลอเลสเตอรอล เช่น *M.ruber* ผลิตสารซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างคลอเลสเตอรอลโดยมีชื่อเรียกต่างกันไป ได้แก่ monacolin J monacolin K monacolin L monacolin M และ monacolin X เป็นต้น (Endo และคณะ, 1985; Endo และคณะ, 1986; Komagata และคณะ, 1989) ในทางการค้าจะเรียกสารนี้ว่าโลวาสแตติน (Lovastatin) มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 3 – hydroxyl – 3 – Mehylglutareylcoenzyme A (HMG-CoA) reductase ซึ่งเป็นตัวควบคุมการสร้างคลอเลสเตอรอลในกระบวนการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอล ดังนั้นคุณสมบัติการออกฤทธิ์จึงส่งผลโดยตรงต่อการลดปริมาณคลอเลสเตอรอล ในผู้ป่วยที่มีปริมาณคลอเลสเตอรอลชนิด LDL ในเลือดสูง

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 ศึกษาวัตถุดิบทางการเกษตรที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตสารโมนาโคลินจากเชื้อราโมแนสคัส

1.2.2 ศึกษาปริมาณความชื้นที่เหมาะสมผลต่อการผลิตสาร โมนาโคลินจากเชื้อราโมแนสคัส

1.2.3 ศึกษาการปริมาณสารโมนาโคลินที่ผลิตได้ในระดับฟลาสก์และระดับการเพิ่มกำลังการผลิต

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาการเจริญ และการผลิตสาร โมนาโคลินบนอาหารแข็งและทราบปริมาตรน้ำกลั่นที่เติมที่เหมาะสมต่อการผลิตสารโมนาโคลิน และสภาวะต่างที่เกี่ยวข้องได้แก่ ปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส และสารสีที่ผลิตได้จากเชื้อราโมแนสคัส

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารแข็ง

1.4.2 เข้าใจความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความชื้นและการผลิตสารโมนาโคลิน

1.4.3 เป็นการตรวจหาสภาวะเบื้องต้นในการผลิตโมนาโคลินเพื่อให้ไวต่อการศึกษาต่อไป

1.5 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

1.5.1 การเตรียมเชื้อเริ่มต้น

นำเชื้อ *M.purpureus* มาเลี้ยงบนอาหาร MYS ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 – 14 วัน เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับการศึกษาต่อไป โดยเจาะชิ้นวุ้นด้วยที่เจาะวุ้น นำชิ้นวุ้น 4 ชิ้นเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเหลว SS ปริมาตร 75 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปบ่มบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 วันซึ่งเหมาะแก่การนำมาใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น

1.5.2 วัตถุดิบทางการเกษตรที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตสารโมนาโคลิน

วัตถุดิบทางการเกษตร 10 ชนิดมาเลี้ยงเพื่อหาวัตถุดิบที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตโมนาโคลิน นำวัตถุดิบที่ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ลงเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 3 ของน้ำหนักวัตถุดิบ บ่มที่สภาวะตั้งนิ่งอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่สัปดาห์ที่ 4

1.5.3 ปริมาณความชื้นที่เหมาะสมต่อการผลิตโมนาโคลิน

นำวัตถุดิบที่ได้คัดเลือกมาซึ่งเหมาะต่อการผลิตโมนาโคลินคือ ข้าวเจ้า มันสำปะหลังเส้น และแห้ว ซึ่งปลอดเชื้อที่สภาวะต่างๆแล้วมาเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ปริมาตร 0.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 มิลลิลิตร นำไปลงเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 3 ของน้ำหนักวัตถุดิบ ไปบ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างทุก 1 สัปดาห์นาน 5 สัปดาห์

1.5.4 การผลิตสารโมนาโคลินบนข้าวเจ้าปริมาณ 50 กรัม

เตรียมข้าวเจ้าต่างกัน 3 แบบ คือ ข้าวเจ้า 50 กรัมปลอดเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 10.0 มิลลิลิตร ข้าวเจ้า 50 กรัมปลอดเชื้อที่ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 10.0 มิลลิลิตร และ ข้าวเจ้า 50 กรัมแช่น้ำกลั่น 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาทีทำให้ปลอดเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที นำทั้ง 3 แบบไปลงเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 3 บ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างทุกสัปดาห์จนถึงสัปดาห์ที่ 5

1.5.5 การเพิ่มกำลังการผลิตสารโมนาโคลินโดยใช้ข้าวเจ้า 500 กรัม

เตรียมข้าวเจ้าต่างกัน 3 แบบคือ ข้าวเจ้า 500 กรัม ปลอดเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาทีเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 100.0 มิลลิลิตร ข้าวเจ้า 500 กรัม ปลอดเชื้อที่ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมงเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ100.0 มิลลิลิตร และ ข้าวเจ้า 500 กรัม แช่น้ำกลั่น 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาทีทำให้ปลอดเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที นำทั้ง 3 แบบไปลงเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 3 บ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างทุกสัปดาห์จนถึงสัปดาห์ที่ 5

1.6 การวิเคราะห์

จากการเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ นำไปวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น และวิเคราะห์หาน้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลิน จากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎี และหลักการ

2.1 ประวัติความเป็นมาของข้าวแดง

ข้าวแดงเป็นผลิตภัณฑ์สารสี ที่ได้จากการเลี้ยงเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวนึ่ง ที่รู้จักกันมาช้านานในแถบตะวันออก เช่น ประเทศจีน ประเทศแถบเอเชียใต้ เช่น ได้หวัน มาเลเซีย ฮ่องกง ไทย กัมพูชา ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย เป็นต้น (Johns and Stuart, 1991) โดยกำเนิดของข้าวแดงมาจากประเทศจีนเชื่อว่าในตำบลหนึ่งมีดินเป็นสีแดงและเมื่อใช้ดินนี้พอกข้าวนึ่งไว้ในระยะเวลาหนึ่งจะทำให้ข้าวนึ่งเป็นสีแดงได้

ในสมัยราชวงศ์ถัง (800 AD) ได้ใช้ข้าวแดงมาเป็นสารเติมแต่งสีและรสชาติในปลาและเนื้อ (Stuart, 1979) สมัยราชวงค์หมิงค์ (1368-1644) ได้มีการนำข้าวแดงมาใช้เพื่อปรุงยาจีนโบราณซึ่งได้มีการบันทึกไว้ในตำรายาชื่อ Ben Cao Gang Mu-Dan Shi Bu Yi ข้าวแดงจะออกฤทธิ์ช่วยทำให้ระบบหมุนเวียนโลหิตในร่างกายดีขึ้น (Wu et al.,1966)

ในประเทศแถบตะวันออก มีการใช้เชื้อรา *Monascus* spp. ในอาหารและเครื่องยาพื้นบ้านมานานแล้ว มีการให้ชื่อสกุลโมแนสคัส (*Monascus*) มานานกว่าร้อยปีแล้วในยุโรป และในอินโดนีเซีย แต่สำหรับชาวตะวันตกเองสปีชีต่างๆ ของเชื้อราโมแนสคัสกลับเป็นที่รู้จักกันในฐานะเชื้อราปะปนในธัญพืช แป้ง ไซเลจ และสารอื่นๆ เชื้อรานี้สามารถเจริญบนข้าวนึ่งเมื่อบ่มที่อุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสม โดยย่อยข้าวจนนุ่ม และขณะเดียวกันก็สร้างสีแดงเข้มขึ้น ข้าวแดงมีชื่อเรียกต่างๆ กัน เช่นข้าวแดง (red rice) ข้าวแดงจากจีน (Chinese red rice) อังคัก (ang-kak), แอนแคก (ankak) อังคเวก(angquac) เบนนิ-โคจิ(beni-koji)และอกา-โคจิ(aka-koji) (Hesseltine,1965)

ในปี 1920 Church (อ้างอิงโดยบุษบา ยงสมิทธ์, 2542) รายงานว่าการผลิตข้าวแดงมีกันมานานแล้วในสาธารณรัฐประชาชนจีนและได้ทดลองแยกเชื้อที่ได้จากประเทศจีน จนในที่สุดก็ทราบว่าเชื้อราที่ให้สีแดง คือ *Monascus purpurescens* มีชื่อเดิมว่า *Monascus purpureus* (Alexopolous *et al.*, 1996) ต่อมา Palo *et al.*, (1960) นักวิทยาศาสตร์ชาวฟิลิปปินส์ได้ทดลองใช้เชื้อข้าวแดงนี้ทำข้าวแดง จนได้ข้าวแดงที่มีคุณภาพดีพอควร สามารถนำข้าวแดงมาใช้เจือสีอาหารได้โดยตรง (Su and Wong, 1983) ภายหลังได้มีการสนใจที่จะศึกษาสายพันธุ์ราที่เหมาะสมสำหรับใช้ในสภาพหมักเหลว (submerged culture) ซึ่งริเริ่มโดย Lin (1973) ต่อมาก็มีผู้ประสบความสำเร็จในการศึกษาการผลิตสีในอาหารเหลว (Shepherd and Carels, 1983; Yoshimura *et al.*, 1975; บุษบา และ วรรณา, 2527)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเทศจีนได้มีการศึกษาการบริโภคข้าวแดงในคนและสัตว์ พบว่าการบริโภคข้าวแดงในปริมาณ 14-55 กรัมต่อคนต่อวัน สามารถลดความเข้มข้นของคลอเลสเตอรอลได้ร้อยละ 11-32 และลดความเข้มข้นของ Triacylglycerol ได้ร้อยละ 12-19 (Heber et al.,1999) ในปี 1979 Endo ได้แยกสารโมนาโคลิน เค (Monacolin K) ที่ผลิตได้จาก *Monascus* spp. สารดังกล่าวมีจุดหลอมเหลวที่ 157 – 159 องศาเซลเซียส มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{24}H_{36}O_5$ (MW 404) มีค่า LD_{50} ในหนูเท่ากับ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัวต่อฤทธิ์ของสารโมนาโคลิน เค จะเป็นตัวยับยั้งการสร้างเอนไซม์ HMG CoA reductase (3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในตับ และเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลในร่างกาย

2.2 ลักษณะรูปร่างของเชื้อรา *Monascus* spp.

Monascus spp. เป็นเชื้อราที่ Alexopoulos และ Mims (1979) จัดอนุกรมวิธานไว้ดังนี้

Division Asmastigomycota

Subdivision Ascomycotina

Class Ascomycetes

Subclass Plectomycetidae

Order Eurtials

Family Monascaceae

Genus *Monascus*

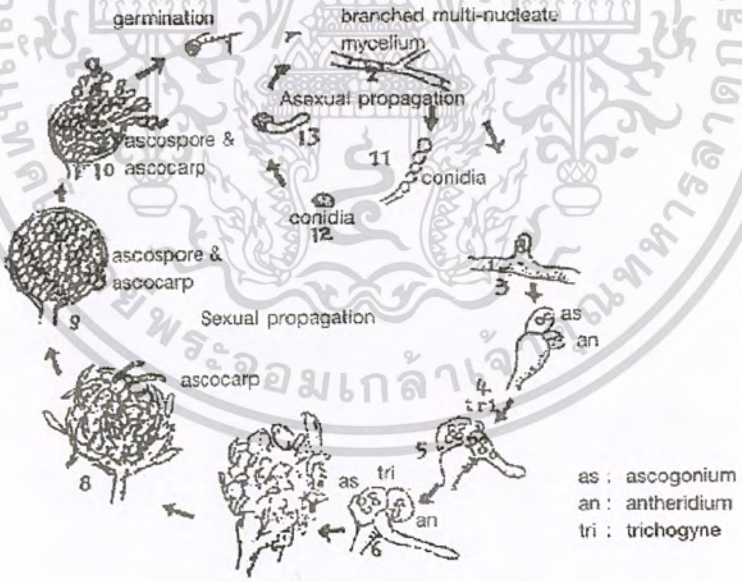
เส้นใยมีผนังกั้น (septate hypha) มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศ เส้นใยมีการแตกกิ่งก้านสาขามากมาย และมักเจริญแบบชิดเกาะแน่นบนผิวของอาหารแข็งเส้นใย เมื่ออายุอ่อนมีสีขาว แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีแดงม่วง

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ มีการสร้างโคนิเดีย (Conidia) เจริญมากจากโคนิดิโอฟอร์ (condiophore) โคนิเดียมีลักษณะกลมหรือรูปไข่ อาจมีอันเดียวหรือเกิดติดต่อกันเป็นลูกโซ่ โคนิเดียมักไม่มีสี แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะเกิดสีแดงได้บ้าง โคนิดิโอฟอร์มีขนาดสั้นอาจมีผนังกั้น 0 - 1 ถ้ามีขนาดยาวจะมีผนังกั้น 2-6 เป็นสายตรงหรือขดเป็นเกลียว และเปลี่ยนเป็นสีแดง เมื่ออายุแก่ขึ้น การงอกของโคนิเดียจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสูตรอาหาร เช่น C medium ที่เหมาะสมสำหรับการเกิดโคนิเดียของ *Monascus* spp. คือ ซูโครส 10 กรัม สารสกัดยีสต์ 0.3 กรัม กรดคาสอะมิโน 0.5 กรัม KH_2PO_4 0.1 กรัม $NANO_3$ 0.2 กรัม $MgSO_4.7H_2O$ 0.05 กรัม $FeSO_4.7H_2O$ 0.001 กรัม KCl 0.05 กรัม วุ้น 2.0 กรัม และน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นอกจากนั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ อีกหลายประการ เช่น อายุสปอร์ ความหนาแน่นของสปอร์ ความเป็นกรดเป็นด่าง แสง และอุณหภูมิ เช่น อุณหภูมิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่เหมาะสมคือ 35 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปโคนิเดียจะงอกภายในเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อมีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมด้วยการสร้าง germ-tube ขึ้นมา 1 อัน หรือ 2 อัน หรือบางทีอาจมีได้ถึง 6 อัน การงอกของโคนิเดียกระตุ้นด้วยคาร์โบไฮเดรตหลายชนิด

ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะคล้ายคลึงกับเชื้อราอื่นใน Class Ascomycetes คือมีการสร้างเพอริทีเซียม (perithecium) (บางรายงานใช้คลิสโททีเซียม (cleistothecium)) ซึ่งเป็นแอสโคคาร์ป (ascocarp) มีรูปร่างกลม โดยจะเกิดบนก้าน (stalk) ที่มีหรือไม่มีผนังกั้นก็ได้ แอสโคคาร์ปเกิดขึ้นบนเส้นใยที่เป็นแบบโฮโมแทลลิก (homothallic) โดยการสร้างโครงสร้างออกมา 2 ชนิด คือ แอนเทอริเดียม (antheridium) แอสโคโกเนียม (ascogonium) ซึ่งจะเกิดการรวมตัว (fusion) ที่ปลายแอสโคโกเนียมกับส่วนฐานหรือส่วนกลางของแอนเทอริเดียม แล้วจึงมีวิวัฒนาการต่อไป คือ แบ่งเซลล์แบบไมโอซิส และไมโตซีส มี daughter nuclei จากการแบ่งตัวมีการขยายผนังเซลล์รวมออกสร้างแอสโคคาร์ปขึ้นในที่สุด ภายในเพอริทีเซียมมีแอสโคสปอร์มากมาย โดยแอสโคสปอร์จำนวน 2-8 อันจะรวมตัวอยู่ในแอสคัส (ascus) แอสโคสปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่ อาจมีสีน้ำตาล สีแดง สีส้มหรือไม่มีสี เมื่อผนังแอสโคคาร์ปแตกออกมาก็จะปล่อยแอสโคสปอร์ออกมาเพื่อให้งอกเป็นเส้นใหม่ขึ้น ดังวัฏจักรของเชื้อราชนิดนี้แสดงดังรูป 2.1



รูปที่ 2.1 วงจรชีวิตของเชื้อรา *Monascus* sp.

ที่มา : บุษบา ยงสมิทธ์ (2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 สายพันธุ์ต่างๆ ของเชื้อราโมแนสคัส (บุษบา, 2542)

ปี ค.ศ. 1884 Van Tieghem ได้แยกและให้ชื่อเชื้อราโมแนสคัสและแบ่งได้เป็น 2 สายพันธุ์ คือ *M. mucoroides* และ *M. ruber* ต่อมาปี ค.ศ. 1895 Went ได้แยกชนิดสำคัญคือ *M. purpureus* จากข้าวแดง หรือ อังคัก ในปี ค.ศ. 1930 ได้มีการแยกเชื้อและจัดจำแนกสปีชีส์อย่างชัดเจนรวมเป็น 5 สปีชีส์ดังนี้ *M.purpureus, M.barkeri* Dangeard, *M.olei* Piedallu, *M.mucoroides* และ *M.rubber* van Tieghem ปัจจุบันมีการรวบรวมเชื้อรานี้กว่า 20 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2.1 จัดแบ่งสายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส ตามสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา

ตารางที่ 2.1 สายพันธุ์ต่างๆ ของเชื้อราโมแนสคัส

M. albidus	*M. albus*	*M. anka*	*M. araneosus*
M. barkeri	*M. bisporus*	*M. floridanus*	*M. fuliginosus*
M. kaoliang	*M. major*	*M. mucoroides*	*M. olei*
M. paxii	*M. pallens*	*M. pilosus*	*M. pubigerus*
M. purpureus	*M. purpurescens*	*M . rubber*	*M. rubiginosus*
M. sanguineus	*M. rubropunctatus*	*M. serorubercens*	*M. vini*
M.vitreus			

ที่มา : Iizuka and Lin (1981) ; Hawksworth and Pitt (1983) ; Nishikawa *et al.* (1998)

เชื้อราโมแนสคัสทั้ง 4 ชนิด คือ *M. pilosus, M. purpureus, M. ruber* และ *M. floridanus* นอกจากจะแตกต่างกันด้านลักษณะทางสรีรวิทยาแล้ว ทางด้านวิทยาเอนไซม์ยังต่างกันอีกด้วย โดยเชื้อราในกลุ่ม *M. pilosus* พบกิจกรรมเอนไซม์ β-galactosidase และ α-glucosidase *M. purpureus* พบกิจกรรมเอนไซม์โพลีเปคเตส (polypectase) และพบเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสใน *M. ruber* (Bridge และ Hawksworth, 1985) ส่วน *M. floridanus* เป็นชนิดเดียวที่พบกิจกรรมเอนไซม์ trypsinase แต่ไม่พบเอนไซม์ valine arylamidase เหมือนชนิดอื่น (Bridge and Hawksworth,1985 ; Barnard and Cannon, 1987) ส่วน Nishikawa (1988) ได้พบว่าเชื้อราโมแนสคัสชนิดต่างๆ ส่วนใหญ่จะมีเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสมากกว่าแอซิดโปรตีเอส และมีน้อยชนิดที่มีเอนไซม์โปรตีเอสทั้ง 2 แบบ ต่อมา Nishikawa and Iizuka (1993) ได้เสนอความสัมพันธ์ของเชื้อราโมแนสคัสชนิดต่างๆ โดยใช้หลักการวิเคราะห์โดยวิธี acrylamide gel electrophoresis สามารถแบ่งเชื้อรานี้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ และชนิดที่เกี่ยวข้องโดยอาศัยความเหมือนกันของวิทยาเอนไซม์ต่างๆ เช่น เอนไซม์เอสเทอเรส แลคเตตดีไฮโดรจีเนส แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสและกลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส ส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในประเทศอิรักมีรายงานพบชนิดใหม่ของเชื้อราโมแนสคัส คือ *M. pallens* และ *M. sangueneus* (Cannon *et al.*, 1995) เทคนิคทางพันธุกรรมได้ถูกนำมาใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อราข้าวแดง ริเริ่มโดยคณะวิจัยของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ชุลี, 2536; กมลนันท์ และ คณะ, 2540; เสาวนิตย์ และคณะ, 2540

ต่อมาในปี ค.ศ. 1993 Nishikawa และ Lizuka ได้เสนอความสัมพันธ์ของสายพันธุ์ต่างๆ ของเชื้อราโมแนสคัส โดยใช้หลักการวิเคราะห์ acrylamide gel electrophoresis สามารถแบ่งเชื้อรานี้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือกลุ่มที่ 1 ได้แก่ *M. anka, M. rubiginosus, M. kaoliang, M. anka var. rubellus, M. purpureus, M. albidus var. glaber, M. major, M. ruber, M. albidu* และ *M. araneosus* และกลุ่มที่ 2 ได้แก่ *M. pubigerus, M. fuliginoosus, M. vitreus, M. serorubescen* และ *M. pilosus* และชนิดที่เกี่ยวข้องโดยอาศัยความเหมือนกันของวิทยาเอนไซม์ต่างๆ เช่น เอนไซม์เอสเทอเรส แลคเตตดีไฮโดรจีเนส แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส และกลูโคส-6-ฟอสเฟตไฮโดรจีเนส

ในปี 1920 Church รายงานถึงการทดลองแยกสายพันธุ์ที่ได้จากข้าวแดงของประเทศจีน จนในที่สุดก็ทราบว่าเชื้อราที่สร้างสารสีแดงคือ *M. purpureus* ต่อมา Palo และคณะ (1960) ได้ทดลองใช้เชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ผลิตข้าวแดงที่มีคุณภาพดีพอสมควร และสามารถนำข้าวแดงมาใช้เป็นสีผสมอาหารได้โดยตรง ภายหลังจึงมุ่งความสนใจไปที่การผลิตสารต่าง ๆ โดยการเจริญบนอาหารเหลว (Submerged cultivation) (Lin ,1973) ทำให้มีรายงานการผลิตสีในอาหารเหลวต่าง ๆ มากมาย (Shephed และ Carels , 1983 ; Yoshimaru และคณะ , 1975 ; Shin และคณะ, 1998 ; บุษบา และ วรรณภา , 2527 ; Lee และคณะ , 1992)

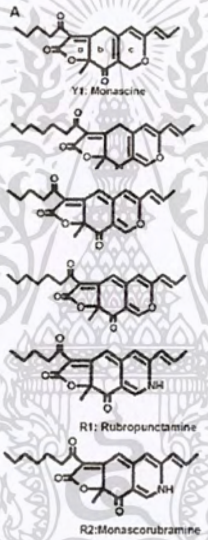
เชื้อราโมแนสคัสนอกจากสร้างสารสีแล้ว ยังสร้างสารอื่นที่เป็นประโยชน์อีกหลายชนิด สาร monascidin A จากเชื้อรา *M. purpureus* (Wong และ Bau , 1977) มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียของอาหาร ได้แก่ *Bacillus* sp. *Streptococcus* sp. และ *Pseudomonas* sp. เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบการสร้างเอนไซม์ โคเอนไซม์ เอทธานอล สารโมนาโคลิน ที่ใช้ยับยั้งการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอล สารลดความดันโลหิต และสารช่วยในการตกตะกอน (Flocculants) อีกด้วย (Fink-Gremmels และ Leistner, 1989)

2.4 คุณสมบัติและโครงสร้างของรงควัตถุจากเชื้อราโมแนสคัส (อรัญและคณะ, 2530)

การสร้างรงควัตถุโดยเชื้อรา *M. purpureus* พบว่าการสร้างสารสีเกิดภายในเส้นใย เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร เช่น Potato Dextrose Agar (PDA) หรือ Sabouraud Agar (SA) จะสังเกตเห็นหลังจากการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 40 – 48 ชั่วโมง และถูกขับออกมาภายนอกในรูปรงควัตถุที่เป็นของเหลวทางรูเปิดทางปลายเส้นใย ทำให้เห็นเป็นโคโลนีสีแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อราโมแนสคัสสามารถสร้างรงควัตถุ ประกอบด้วยสีส้ม 2 ชนิด คือ โมนาสโครูบริน (monascorubrin) และรูโบรพังตาติน (rubropunctatin) สีเหลือง 2 ชนิด คือ โมนาสซิน (monascin) และรูโบรพังตามีน (rubropunctamine) โครงสร้างของรงควัตถุเหล่านี้ดังแสดงในรูปที่ 2.2 โดยเชื่อว่าโมนาสโครูบรามีนและรูโบรพังตามีน เป็นสารอนุพันธุ์ของโมนาสโครูบรินและรูโบรพังตามีนตามลำดับ ซึ่งทำปฏิกิริยากับสารประกอบที่มีเอมีน (amine) สีส้มที่ผลิตโดยเชื้อราโมแนสคัสละลายน้ำได้ยาก แต่เมื่อทำปฏิกิริยากับสารประกอบที่มีกลุ่มอะมิโน ผ่านทาง ring – opening และ Schiff rearrangement จะได้เป็นสารที่ละลายน้ำได้ดีขึ้น นอกจากสามารถละลายน้ำ ยังละลายในน้ำมัน ทนต่อกานทำละลายด้วยความร้อนและใความคงตัวในค่าพีเอช 2 – 10

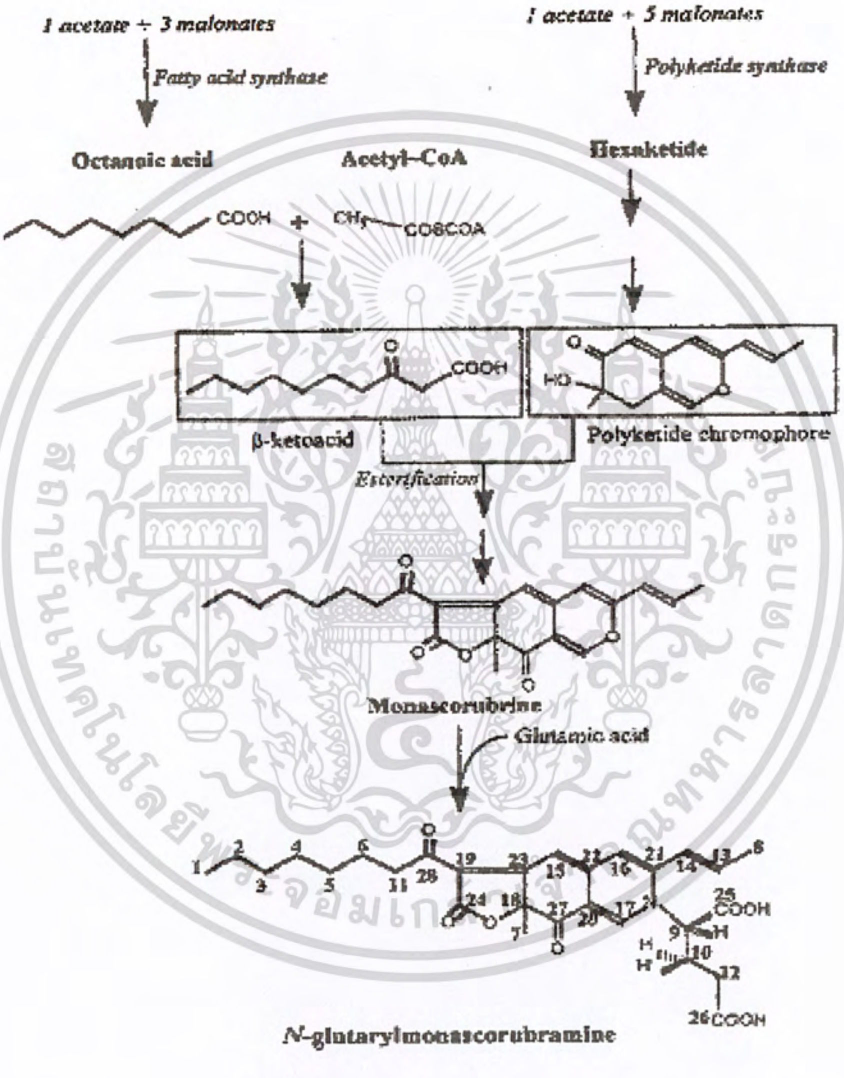
Yellow	**R**		**สูตรเคมี**	**MW**
1.Monascin	n-C_5H_{11}		$C_{21}H_{26}O_5$	358
2.Ankaflavin	n-C_7H_{15}		$C_{23}H_{30}O_5$	386
Orange	R			
3.Rubropunctatin	n-C_5H_{11}		$C_{21}H_{22}O_5$	354
4.Monascorubrin	n-C_7H_{15}		$C_{23}H_{26}O_5$	382
Red	R			
5.Rubropunctamine	n-C_5H_{11}		$C_{21}H_{23}O_4$	353
6.Monascorubramine	n-C_7H_{15}		$C_{23}H_{27}O_4$	381

รูปที่ 2.2 โครงสร้างเคมีของรงควัตถุหรือ pigment ที่แยกได้จาก *Monascus* sp.
ที่มา : บุษบา ยงสมิทธ์ (2542)

กลไกการสังเคราะห์ทางชีวภาพของรงควัตถุสีต่างๆ จากเชื้อราโมแนสคัส เกิดจากการรวมตัวของอะซิเตต (acetate) 1 โมล กับ มาโลเนต (malonate) 5 โมล เป็นสารประกอบ hexaketide chromophore ผ่านวิถีโพลีคีไทด์ เมื่อกรดไขมันสายขนาดกลาง (medium-chain fatty acids, C_6-C_{18}) ที่สังเคราะห์จากวิถีการสังเคราะห์กรดไขมัน เช่น กรดออกตาโนอิก (octonoic acid) ทำปฏิกิริยาทรานส์ – เอสเทอริฟิเคชัน (trans-esterification) กับ โครโมฟอร์ (chromophore) ได้เป็นรงควัตถุสีส้มโมนาสโครุบริน (หรือ รูโบรพังตาติน เกิดจากปฏิกิริยากับกรดเฮกซาโนอิก) เมื่อสีส้มถูกรีดิวซ์ จะได้สีเหลือง ในขณะที่สีแดงเกิดปฏิกิริยา amination ของสีส้มกับ NH_3 รงควัตถุยังคง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อยู่ภายในเซลล์เชื้อราเพราะมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ (hydrophobicity) และถูกขับออกมานอกเซลล์ เมื่อเกิดปฏิกิริยากับหมู่ NH_2 ของกรดอะมิโน ทำให้ละลายน้ำได้ เช่น โมนาสโครูบรินทำปฏิกิริยากับกรดกลูตามิก เกิดเป็นสารประกอบ *N*-glutarylmonascorubramine แสดงดังรูปที่ 2.3 (Hajjaj และคณะ, 2000)



รูปที่ 2.3 กลไกการสังเคราะห์รงควัตถุสีแดงที่ละลายน้ำได้ โดยเชื้อรา *Monascus ruber*
ที่มา : Hajjaj และคณะ (2000)

อรัญและคณะ (2530) ได้ศึกษาปัจจัยที่มีต่อการผลิตข้าวแดง โดยใช้เชื้อรา *M. purpureus* CMU – KU เป็นสายพันธุ์ที่สร้างสีได้ดีที่สุด โดยใช้ข้าวต่อน้ำในอัตราส่วน 1:1 หรือ 3:4 จะช่วยให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อราสร้างสีได้ดีที่สุด ข้าวพันธุ์เหลือง 148 เหมาะสมต่อการผลิตข้าวแดงมากที่สุด การสีข้าวก็มีผลต่อการผลิตข้าวแดง โดยข้าวที่สีแล้วขัด 3 นาที จะให้สีดีที่สุด ปริมาณธาตุอาหารต่างๆ ที่มีในข้าวมีเพียงพอต่อการเจริญและการสร้างสีโดยเชื้อรา *M. purpureus* ควรใช้อุณหภูมิระหว่าง 30-35 องศาเซลเซียส ควรใช้ข้าวโดยไม่ปรับค่าพีเอช และควรมีความชื้นของบรรยากาศสูงกว่าร้อยละ 74

บุษบาและคณะ (1994) ศึกษาการผลิตรงควัตถุสีเหลืองในอาหารเหลวโดยเชื้อรา *Monascus* sp. ที่กลายพันธุ์ โดยวัดปริมาณสีเหลืองด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 370 นาโนเมตรแทน 420 และ 500 นาโนเมตร ซึ่งใช้สำหรับการวัดปริมาณสีแดงที่ได้จากสายพันธุ์พ่อแม่ ส่วนสภาวะในการผลิตสีเหลืองสูงสุดเป็นสภาวะเดียวกับสายพันธุ์พ่อแม่ ผลคือปริมาณสีเหลืองและเอนไซม์อะมิไลติค (amilolytic enzyme) เพิ่มขึ้นถึง 10 เท่า

Joy Dussa และคณะ (1998) ศึกษาการสร้างรงควัตถุจากเชื้อรา *M. purpureus* DSM 1379 จากการวัดปริมาณกรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) โดยหาความสัมพันธ์ของรงควัตถุที่เชื้อผลิตได้ คือ โมนาสโครูบรามิน (monascorubramin) และรูโบรพังตาติน (rubropunctatin) กับปริมาณกรดอะมิโนอิสระในข้าว วัดปริมาณสีแดงที่ค่าการดูดกลืนแสง 500 นาโนเมตร เทียบกับระยะเวลาการหมัก 11 วัน ใน 5 วันแรกสีแดงเกิดน้อย และค่อยๆ เพิ่มจนสูงสุดในวันที่ 9 ของการทดลอง จากนั้นค่อยๆ ลดลง การวัดปริมาณกรดอะมิโน 6 ชนิดเทียบกับเวลา ได้แก่ วาลีน (valine) เมไทโอนีน (methionine) ไอโซลูซีน (isoleusine) ไกลซีน (glycine) กรดกลูตามิก(glutamic acid) และ อะลานีน (alanine) พบว่าปริมาณกรดอะมิโนเริ่มเพิ่มขึ้นจนสูงสุดในวันที่ 5 และมีแนวโน้มลดลงแบบเอกโพเนนเชียลจนต่ำสุดในวันที่ 9 และค่อยๆ สูงขึ้นจนถึงวันที่ 11 สรุปได้ว่ากรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับสร้างรงควัตถุสีแดง ในกระบวนการเมตาโบลิซึมครั้งที่สองของเชื้อ *M. purpureus* ปฏิกิริยา shift base formation เพราะปริมาณรงควัตถุสีแดงเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณกรดอะมิโนอิสระในข้าวลดลง

S – S Teng และ W Feldheim (2001) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของข้าวระหว่างกระบวนการหมักโดยเชื้อรา *Monascus purpureus* เพื่อผลิตอังคักและรงควัตถุ การวัดการเจริญของเชื้อราไม่สามารถทำได้โดยตรง จึงต้องใช้วิธีทางอ้อม โดยวัดปริมาณสตาร์ทที่เหลือ ปริมาณโปรตีนทั้งหมดและการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช จากการทดลองพบว่า ช่วง 5 วันแรกปริมาณสตาร์ทโปรตีนทั้งหมดและค่าพีเอชลดลง เพราะมีการเมตาโบไลท์และเชื้อเจริญอย่างรวดเร็ว ช่วงนี้ปริมาณสีมีน้อยมากจากนั้นระหว่างที่ 5 – 15 ของการหมัก ปริมาณสตาร์ทยังคงลดลงเรื่อยๆ ค่าพีเอชลดลงต่ำสุดเพราะสตาร์ทเป็นองค์ประกอบหลักในข้าวและค่าพีเอชลดลงยืนยันในกระบวนการเมตาโบไลท์ของเชื้อรา ส่วนปริมาณโปรตีนทั้งหมด (มาจากโปรตีนที่มีอยู่ในข้าวและโปรตีนที่มาจากเซลล์เชื้อรา) เพิ่มขึ้นเพราะโปรตีนในข้าวลดลงและจำนวนเซลล์เพิ่มมากขึ้น ช่วงนี้มีการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รงควัตถุเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการหมักมากกว่า 15 วัน ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญของเชื้อเริ่มหมด เชื้อหยุดการเจริญและหยุดการสร้างสี ปริมาณรงควัตถุสีเหลืองคงที่ ในขณะที่ปริมาณรงควัตถุสีส้มลดลงในอัตรา 3.6 มิลลิลิตรต่อกรัมต่อวัน

Hee Young Jung และคณะ (2003) ได้ศึกษาผลของการผลิตรงควัตถุ โดยเชื้อโมแนสคัสในอาหารเหลวที่เติมกรดอะมิโน 20 ชนิด เปรียบเทียบกับ NH_4NO_3 วัดค่าสี L a b chroma และ hue พบว่าการเติมกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการเกิดอนุพันธุ์ของรงควัตถุสีแดงทำให้สีแดงจากโมแนสคัสมีเฉดสีแตกต่างกัน สีแดงที่ได้จะมีเฉดสีส้มไปจนถึงม่วงแดง ซึ่งแตกต่างกันตามชนิดของกรดอะมิโน ส่วนค่าสีเหลืองและสีส้มไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อมีการเติมกรดอะมิแตกต่างกัน

เรณูและคณะ (2543) ได้ทดลองเติมอังคักเพื่อเพิ่มสีในไส้กรอกหมูพบว่าปริมาณอังคักที่เหมาะสมในสูตรไส้กรอกเท่ากับร้อยละ 15 และการเติมโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองอาจช่วยเพิ่มคุณลักษณะด้านความเป็นเนื้อเดียวกันและความฉ่ำน้ำในไส้กรอกให้สูงขึ้น

พัชรีย์ (2545) ได้ศึกษาการผลิตอังคักจากข้าวสายพันธุ์ต่างกัน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวซ้อมมือ ข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท ข้าวหอมมะลิแม่จัน และข้าวหอมมะลิสุรินทร์ พบว่าพันธุ์ข้าวมีผลต่อค่าสี b (yellowness) และค่า h (hue) value การพิจารณาเลือกพันธุ์ข้าวเพื่อใช้ในการผลิตอังคักจะใช้ค่า h value เป็นเกณฑ์ ค่า h value ที่ต่ำสุดจะให้ค่าสีแดงสูงที่สุด จากการทดลองข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาทจะให้ค่า h value ต่ำสุดหรือให้สีแดงสูงสุด

เชื้อราโมแนสคัสหลายสายพันธุ์สามารถผลิตสีได้ แต่สายพันธุ์ที่สำคัญคือ *M. purpureus* จึงมีการศึกษาอย่างแพร่หลายในประเทศไต้หวัน ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และฝรั่งเศส เพื่อแยกสีให้ได้ปริมาณมากและมีคุณภาพ ประเทศญี่ปุ่นเป็นเพียงประเทศเดียวที่ได้อนุญาตให้ใช้สีจากเชื้อรา *M. purpureus* ได้ถูกต้องตามกฎหมาย แต่ยังมีหลายประเทศในแถบเอเชียใช้สีจากเชื้อรา *M. purpureus* เป็นสีผสมอาหาร ถึงแม้ว่ายังไม่มีการอนุญาตให้ใช้ได้ตามกฎหมายก็ตาม M. Sabater-Vilar และคณะ (1999) ได้ศึกษาการใช้สีจากเชื้อรา *M. purpureus* เพื่อเพิ่มสีให้กับผลิตภัณฑ์เนื้อแทนการใช้วัตถุเจือปนที่มีใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ E-249 (เกลือไนไตรท์) E-252 (โพแตสเซียมไนเตรท) และ E-120 (โคชินีล) นอกจากนั้นยังได้มีการใช้สีจากเชื้อราโมแนสคัสเพื่อเพิ่มสีให้กับเครื่องมือและลูกกวาด

Andrea B. และคณะ (2001) ศึกษาการใช้สีจากเชื้อรา *M. purpureus* ทดแทนการใช้เกลือไนเตรทกับผลิตภัณฑ์สัตว์ปีก โดยทดลองเติมสีจากเชื้อรา *M. purpureus* 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมและ 0.75 กรัมต่อกิโลกรัม เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (เกลือไนไตรท์ 20 กรัมต่อกิโลกรัม) ผลการทดลองพบว่า การเติมเกลือไนไตรท์ 10 กรัมต่อกิโลกรัม ผสมกับสีจากโมแนสคัส 0.5 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อกิโลกรัมในแฮมไก่ ให้ผลเป็นที่น่าพอใจทั้งในด้านสี รสชาติ และลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์

Febre C.E. และคณะ (2002) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการผลิตรงควัตถุสีแดงจากเชื้อรา *M. purpureus* ในอาหารเหลวและนำไปเป็นัตถุเจือปนในอาหาร โดยใช้แอลกอฮอล์ 20 กรัมต่อกิโลกรัม และกลูตาเมท 5 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน ตามลำดับ ภายหลังจากการสกัดและทำให้บริสุทธิ์จึงนำสีไปละลายน้ำ ยังได้ศึกษาถึงความคงตัวของสีในสารละลายและใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อ (ไส้กรอกและ pats) โดยจะเก็บที่ 40 องศาเซลเซียส นาน 3 เดือน พบว่ามีความเสถียรร้อยละ 92-98 และยังมีการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส เพื่อจะใช้สีจากโมแนสคัสทดแทนสีที่เกิดจากการใช้เกลือไนไตรท์ หรือโคชินีล

2.5 ประโยชน์ของสารที่สร้างจากเชื้อราโมแนสคัส

การศึกษาต่อๆ มาได้พบสารเมตาบอไลต์หลายชนิดที่น่าสนใจ และมีค่าทางเศรษฐศาสตร์จากเชื้อราโมแนสคัสดังรวบรวมในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2,2 สารเมแทบอไลต์ที่มีประโยชน์จากเชื้อราโมแนสคัส

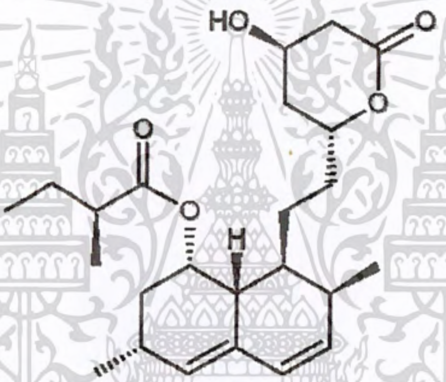
เอนไซม์	เมแทบอไลต์ปฐมภูมิ (Primary metabolites)	เมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary metabolites)
1. กลูโคอะมิเลส	1. แอทิลแอลกอฮอล์	1. สารสี (แดง, เหลือง, ส้ม)
2. โปรตีเอส	2. กรดอินทรีย์	2. สารปฏิชีวนะ
3. แอลฟา กาแลคโตซิเดส	3. วิตามินบี 2	3. สารลดโคเลสเตอรอล หรือ monacolins
4. แอลฟา – อะมิเลส	4. ไขมัน	4. สารตกตะกอน (fllocculants)
5. ไรโบนิวคลีเอส	5. กรดไขมัน	5. ยาลดความดันโลหิต
		6. ยาพื้นบ้านของจีนโรคอาหารไม่ย่อย, โรคบิด, กล้ามเนื้อฟกช้ำ
		7. คูราริน (coumarin) รักษาโรคด่างขาว
		8. สารถนอมอาหารประเภทเนื้อ
		9. โคเอนไซม์ Q_{10}
		10. สารให้กลิ่นหอม (methyl ketones)
		11. สารยับยั้งการกลายพันธุ์

ที่มา: ดัดแปลงมาจากบุษบา ยงสมิทธ์ (2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 โมนาโคลิน เค (Monacolin K)

โมนาโคลิน เค เป็นสารกลุ่มสแตตินได้จากเชื้อราที่มีฟิลาเมนต์ (filament) เกิดโดยกระบวนการเมตาโบไลท์ครั้งที่ 2 ได้สารประกอบที่มีโครงสร้างซับซ้อนผ่านวิถีโพลีคีไทด์ (polyketide pathway) เชื้อรา *M. ruber*, *P. brevicompactum* และ *A. terreus* สามารถผลิตโลวาสแตติน (Lovastatin) โมนาโคลิน เจ (Monacolin J) โมนาโคลิน แอล (Monacolin L) และเมวาสแตติน (Mevastatin) พบว่า สารกลุ่มนี้เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ไฮดรอกซีเมทิลกลูตาริลโคเอนไซม์ เอ (HMG-CoA reductase) : mevalonate:NADP + oxidoreductase ซึ่งเป็นเอนไซม์กระตุ้นการเปลี่ยน HMG-CoA ให้เป็นเมวาโลเนต (mevalonate) เพื่อใช้ในกระบวนการสร้างโคเลสเตอรอล (Hajjaj และคณะ, 2001)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของโมนาโคลิน เค หรือโลวาสแตติน
ที่มา : M.A. Dhale และคณะ , 2007

โมนาโคลินหรือที่รู้จักทั่วไปในทางการค้าว่า โลวาสแตติน มีระบบการเรียกชื่อ (IUPAC) ว่า [8-[2-(4-hydroxy-6-oxo-oxan-2-yl)ethyl]-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalen- 1-yl] 2-methylbutanoate ($C_{24}H_{36}O_5$) มวลโมเลกุล 404.54 กรัมต่อโมล นำมาตรวจสอบคุณสมบัติทางยา ดังนี้ ชีวปริมาณออกฤทธิ์ (Bioavailability) น้อยกว่าร้อยละ 5 การจับโปรตีนในกระแสเลือด (Binding protein) มีมากกว่าร้อยละ 95 กระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) ยาออกฤทธิ์ต่อตับ (CYP3A substrate) ส่วนค่าครึ่งชีวิต (Half life) 1.1-1.7 ชั่วโมง เมื่อรับประทานยาไม่มีผลกระทบ(negligible) ต่อการขับถ่าย (Excretion) ซึ่งตรวจพบเพียงร้อยละ 10 ของUrine และร้อยละ 83 ของfeces ในการขับถ่าย

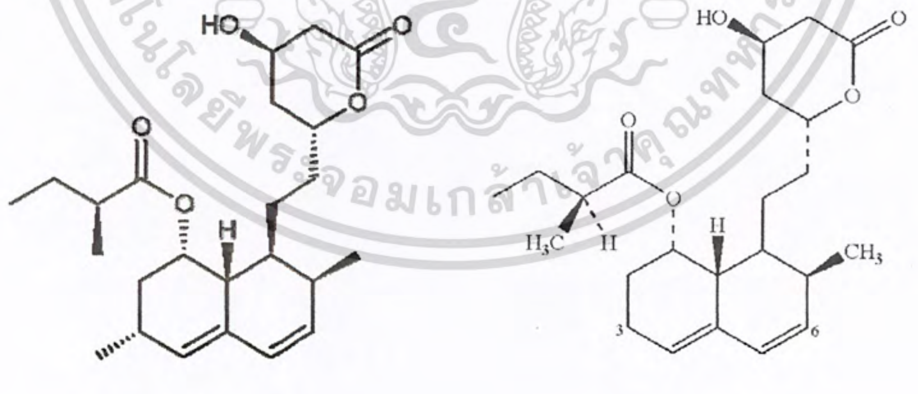
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 ประวัติในการศึกษาสารโลวาสแตติน

โลวาสแตติน สกัดแยกได้จากเชื้อรา *Aspergillus terreus* และจัดเป็นสแตตินตัวแรกที่ได้รับอนุญาตโดยองค์การอาหารและยา ของสหรัฐอเมริกา (Food and Drug Administration หรือ FDA) และเป็นผลผลิตทางธรรมชาติ ที่ได้ปริมาณสูง จากเชื้อรา เช่น *Pleurotus ostreatus* และ *Pleurotus* spp. (Bobek และคณะ , 1998)

ในปี 1970 ค้นพบว่า สารคอมแพคติน (Compactin) และโลวาสแตติน เป็นผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 3-hydroxy-3methylglutaryl-coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase) ซึ่งเป็นสารตัวกลางในการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอล และใช้คุณสมบัตินี้มาพัฒนาศักยภาพของยาสำหรับลดคลอเลสเตอรอลชนิดแอลดีแอล (Vederas และคณะ , 1985)

ในปี 1976 Endo ได้พบสารคอมแพคตินหรือในทางการค้าเรียกว่า เมวาสแตติน (Mevastatin) ซึ่งแยกได้จากเชื้อรา *P. citrium* ได้ทำการวิจัยพบว่ามีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์เป้าหมาย และลดการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอล จึงเป็นผู้เริ่มทำให้มีการค้นคว้า และศึกษาหาสารที่สามารถยับยั้ง HMG CoA reductase ในธรรมชาติจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ และค้นพบเมแทบอลิซึมของ สาร โลวาสตินที่แยกได้จากเชื้อราในเวลาต่อมา โครงสร้างสาร โลวาสแตตินเสถียรและคงตัว แตกต่างกับ สารคอมแพคติน ที่ปรากฏในลักษณะ 6 alphamethyl group ในรูปของ hexahydronaphthalene ring



รูปที่ 2.5 โครงสร้างของสาร Lovastatin (A) และ Compactin (B)

ที่มา : M.A. Dhale1 และคณะ , 2007 : Belo และคณะ , 1993

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตาม ในปี 1980 พบว่าสารคอมแพคติน มีความเป็นพิษในสัตว์ เพราะโครงสร้างที่คล้ายคลึงกันระหว่าง คอมแพคติน และโมนาโคลิน ยากต่อการตรวจสอบ การศึกษาทางแพทย์ในเรื่องสารโลวาสแตติน ได้ระงับชั่วคราว จึงเปลี่ยนไปศึกษาเรื่องผลกระทบของสารที่มีต่อสัตว์ทดลอง

ในปี 1982 ในระดับห้องปฏิบัติการได้มีการสำรวจคุณสมบัติเกี่ยวกับสารโลวาสแตติน ซึ่งแยกได้จากเชื้อรา *A. terreus* พบว่าในคนไข้ภาวะเสี่ยง สารโมนาโคลินนี้สามารถลดคลอเลสเตออลชนิดแอลดีแอ ได้ และเมื่อมีการสนับสนุนการศึกษาความเป็นพิษของสารต่อสัตว์ทดลอง ปรากฏว่าไม่มีฤทธิ์เป็นพิษ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการศึกษาสารคอมแพคติน ดังนั้นจึงได้ดำเนินงานวิจัยทางการแพทย์ต่อ

สารนี้ได้รับรองประสิทธิภาพโดย US FDA ในปี 1987 พบว่าปริมาณของสารโมนาโคลินที่อยู่ในแต่ละผลิตภัณฑ์ปริมาณ 80 มิลลิกรัม สามารถลดแอลดีแอลได้ถึงร้อยละ 40 ซึ่งมีระดับการออกฤทธิ์ดีกว่ายาลดคลอเลสเตอรอลชนิดอื่นๆ คุณสมบัติทางยามีผลกระทบน้อยมาก ง่ายต่อการรักษาคนไข้จึงเป็นที่ยอมรับอย่างรวดเร็ว แต่มีผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ทรานอะมิเนส (Transaminase) ในตับ และมีผลต่อกล้ามเนื้อด้วย

ในปี 1998 FDA ในประเทศสหรัฐอเมริกา สั่งห้ามขายอาหารเสริมที่มีส่วนผสมของข้าวแดงจากการหมักโดยใช้ยีสต์เป็นหัวเชื้อ ภายหลังพบว่ามีส่วนประกอบของโมนาโคลินในอาหารเสริม จึงมีข้อโต้แย้งว่าอาหารเสริม มีสาระสำคัญที่มีคุณสมบัติทางยา

2.5.3 การค้นพบทางชีวเคมีและทางชีววิทยา

ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่าปัจจัยเสี่ยงหลักของโรคหลอดเลือดหัวใจ คือ การมีระดับไขมันสูงในเลือดทำให้ไขมันเกาะติดผนังหลอดเลือดจึงมีความยืดหยุ่นน้อยและหนาขึ้นจนเกิดสภาพของหลอดเลือดแข็งและตีบ ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดหลอดเลือดแข็ง เกี่ยวข้องกับตัวพาไขมันไปตามเส้นเลือดซึ่งเรียกว่า ไลโพโปรตีน (Lipoprotein) มี 2 ชนิดคือ

-Low-density lipoproteins (LDL) ซึ่งจะพาคลอเลสเตอรอล จากตับไปสู่ร่างกาย LDL เป็นไขมันที่ก่อให้เกิดพิษหากมีมากจะทำให้เกิดหลอดเลือดแดงตีบได้ง่าย

-High-density lipoproteins (HDL) ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีประโยชน์ โดยพาคลอเลสเตอรอล จากร่างกายเข้าสู่ตับ หากมี HDL ในปริมาณสูงส่งผลให้เกิดโรคหลอดเลือดน้อยลง

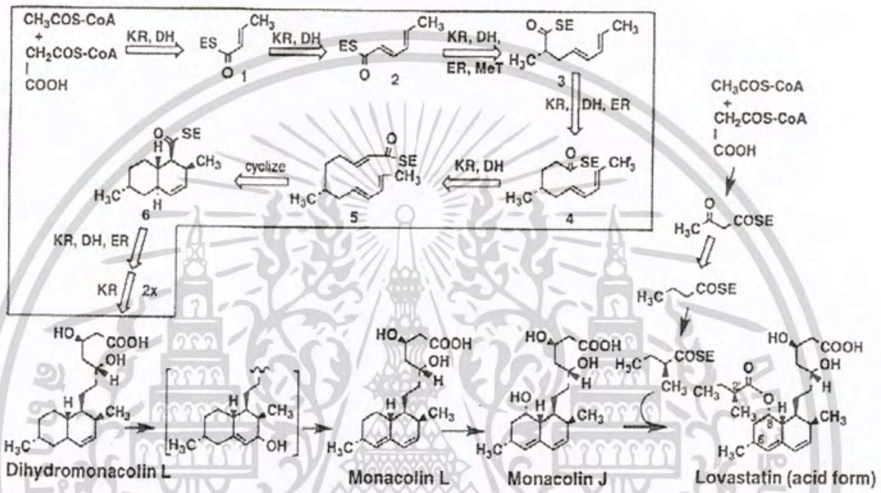
โดยเฉพาะอย่างยิ่งคือ LDL -C (Low density lipoprotein cholresterol) ซึ่งเป็นไลโพโปรตีน ชนิดหนึ่งที่มีในตับมากถึงร้อยละ 70 ทำหน้าที่พาคลอเลสเตอรอลจากตับไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ เมื่อเนื้อเยื่อต้องการใช้คลอเลสเตอรอล ซึ่งเป็นจุดที่สำคัญที่ต้องลดระดับคลอเลสเตอรอลส่วนเกินในร่างกาย โดยรักษาให้ร่างกายทำงานเป็นปกติอยู่เสมอ (Alberts และคณะ , 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.5.4 กระบวนการสังเคราะห์สารโลวาสแตติน

สารโลวาสแตตินประกอบด้วยโพลีคีไทด์ 2 สายจากอนุพันธ์ของอะซีเตต โดยโพลีคีไทด์สายแรกอะซิเตตมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็น Dihydromonacolin L monacolin L และ monacolin J ตามลำดับ ส่วนโพลีคีไทด์สายที่สองอะซิเตตมีการเปลี่ยนแปลงไอโซเมอร์แล้วเชื่อมต่อกับโพลีคีไทด์สายแรกในรูป monacolin J โดยพันธะเอสเทอร์แล้วได้สารโลวาสแตตินในรูปกรด (acid form) สารประกอบนี้สร้างโดย *A. terreus* (Hendrickson , 1999)

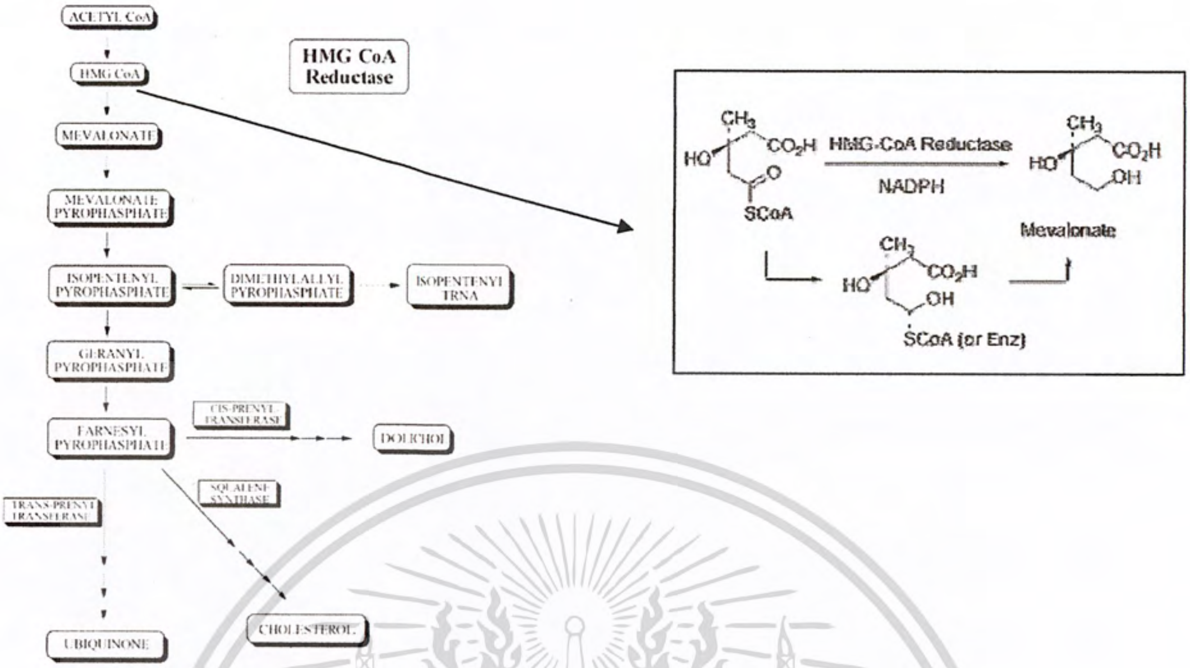


รูปที่ 2.6 กระบวนการสังเคราะห์สารโลวาสแตติน
ที่มา : Hirama , 1982 : Hirama , 1983

2.5.5 กลไกการทำงานของโลวาสแตติน (จันทนี , 2545)

สารโลวาสแตตินสามารถยับยั้ง HMG-CoA reductase อย่างจำเพาะ โดยที่เอนไซม์ HMG-CoA reductase จะใช้เป็นตัวกลางในการเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นเมวาโลเนต (Mevalonate) และสังเคราะห์เป็นคลอเลสเตอรอลต่อไป (Alberts , 1998) สารโลวาแตตินจะขัดขวางการสร้างคลอเลสเตอรอล โดยการไปแย่งจับบริเวณเร่ง (Active site) ของเอนไซม์ HMG-CoA reductase จึงทำให้เกิดการยับยั้งการสร้างคลอเลสเตอรอลดังรูปที่ 2.7 สารโลวาสแตตินไม่แสดงฤทธิ์ทางยาในรูปโครงสร้างปกติ แต่เมื่อโครงสร้างถูกสลายด้วยน้ำ (Hydrolysis) เป็น β-hydroxy acid จะทำให้สารออกฤทธิ์ได้ในร่างกาย

111927
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 กระบวนการในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล เมื่อ HMG-CoA ทำปฏิกิริยายับยั้งการเกิดคอเลสเตอรอล

ที่มา : A Goldstein JL และคณะ , 1990

2.5.6 คุณสมบัติทางเภสัชวิทยา (จันทนี , 2545)

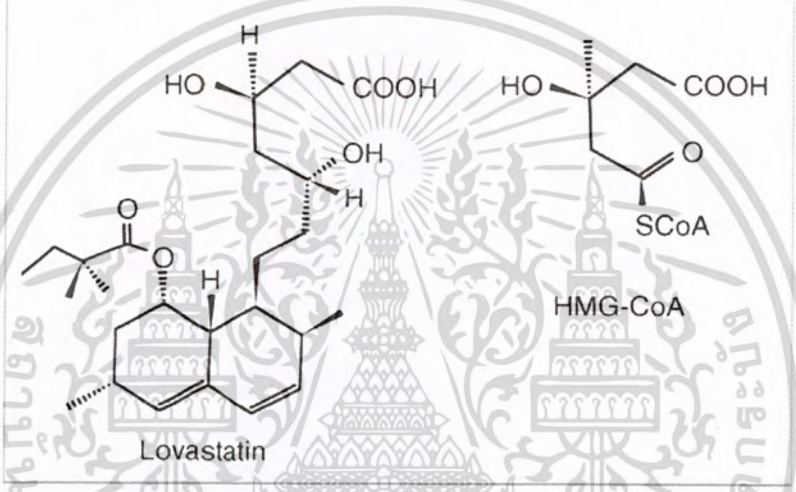
สารประกอบไขมันในเลือดจะประกอบด้วย ไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) คลอเลสเตอรอลอิสระ (Free cholresterol) คลอเลสเตอรอลเอสเทอร์ (Cholresterol ester) และฟอสโฟลิปิด (Phospholipid) ซึ่งไขมันเหล่านี้ไม่สามารถรวมกับน้ำได้ จึงต้องรวมกับโปรตีน (Apoprotein) และไหลเวียนตามกระแสเลือดในรูปของไลโพโปรตีน เมื่อในเลือดมีสารเหล่านี้ในความเข้มข้นสูง จำเป็นต้องใช้ยาลดไขมันมาควบคุมระดับไขมันในเลือด

ยาลดไขมันในเส้นเลือด (Antihyperlipidaemic drug) มีอยู่หลายชนิด แต่ละชนิดมีคุณสมบัติและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่แตกต่างกัน ได้แก่

1. nicotinic acid ได้แก่ niacin (Vitamin B_3)
2. fibric acid derivative หรือ fibrate ได้แก่ bezafibrate , gemfibrozil , fenofibrate
3. bile acid sequestrants ได้แก่ cholestyramine และ cholestipol
4. statin (hydroxy-methylglutaryl-coenzymeA(HMG-CoA)reductase inhibitor)
5. miscellaneous ได้แก่ probucol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารโลวาสแตติน เป็นยาในกลุ่มสแตติน ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase (HMG-CoA reductase inhibitor) ยากลุ่มนี้มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับ HMG-CoA ดังรูปที่ 2.8 จะออกฤทธิ์ยับยั้งแบบผันกลับได้โดยไปแย่งจับบริเวณเร่ง (Reversible competitive inhibitor) ของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ตัวอย่างยากลุ่มสแตติน ได้แก่ Pravastatin , Fluvastatin และ Atorvastatin เป็นต้น ปัจจุบันอาจกล่าวได้ว่ายาในกลุ่มสแตตินนี้มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลด LDL- C



รูปที่ 2.8 โครงสร้างของโลวาสแตตินและ HMG-CoA
ที่มา : Ryan TJ และคณะ , 1999

2.5.7 กลไกการออกฤทธิ์

ยากลุ่มสแตตินออกฤทธิ์โดยยับยั้งการสร้างคลอเลสเตอรอลในตับ โดยเป็นสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase (3-hydroxyl 3-methylglutaryl-coenzyme A) ซึ่งเป็นตัวควบคุมการสร้างคลอเลสเตอรอล (Rate controlling enzyme) ให้ลดลง ผลที่ตามมา คือ ทำให้มีการเพิ่มปริมาณของตัวรับไลโพโปรตีน (LDL receptor) ที่ผนังเซลล์ของตับ เพื่อที่จะเพิ่มการจับ LDL จากเลือดทำให้ LDL-C ลดลง

โดยในทางคุณสมบัติทางเภสัชจลศาสตร์ พบว่าสารโลวาสแตตินไม่สามารถแสดงฤทธิ์ได้ในรูปปกติ (Prodrugs) จำเป็นต้องเปลี่ยนเป็นยาในรูปแบบที่ออกฤทธิ์ได้ (Active drugs) ยาในกลุ่มนี้จะเกิดกระบวนการภายหลังจากที่รับประทานยาเข้าสู่ร่างกาย และมีการขจัดผ่านทางตับ ก่อนที่ยาจะเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตและออกฤทธิ์ (First-pass metabolism) สูง พบว่าปริมาณยาเพียง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อยละ 5-20 ของขนาดยาที่เข้ากระแสเลือด และจับกับโปรตีนในเลือดสูงถึงร้อยละ 95 ระดับยาในเลือดจะออกฤทธิ์สูงสุดภายในเวลา 1-4 ชั่วโมง หลังการรับประทานอาหารร้อยละ 70 ของยากลุ่มนี้จะถูกเปลี่ยนแปลงแล้วถูกขับออกทางตับ คุณสมบัติในการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา มีดังนี้

1. สามารถลด LDL-C ได้ร้อยละ 20 - 55 ขึ้นกับขนาดของยาที่ใช้ ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อคลอเลสเตอรอลในเลือด ซึ่งจะเกิดขึ้น 4 - 6 สัปดาห์ภายหลังการรับประทานยา

2. สามารถลดระดับไตรกลีเซอไรด์ในผู้ป่วยที่มีระดับของไตรกลีเซอไรด์ ในเลือดสูงกว่า 250 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ได้ร้อยละ 20-40โดยเฉพาะการใช้ขนาดยาที่มีความเข้มข้นสูง (High potency statins) ซึ่งได้แก่ simvastatin และ atovastatin ดังนั้นอัตราการลดไตรกลีเซอไรด์จึงขึ้นกับขนาดของยาเช่นกัน

3. สามารถเพิ่มระดับ HDL-C (High density lipoprotein - cholresterol) ได้ร้อยละ 5-10

โดยแสดงความสามารถในการออกฤทธิ์ยาในกลุ่มสแตติน ได้ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ค่าทางเภสัชพลศาสตร์ของยาในกลุ่มสแตติน

Drug	Absolute Bioavailability(%)	Excretion	Half- life (t1/2 hr)	Protein binding (%)	Cytochome(CYP) P450 substate
Atorvastatin	14	<2%(urine)	14	≥ 98	CYP3A4
Cerivastatin	60	24% (urine) 70% (feces)	2-3	> 99	CYP3A4
Fluvastatin	24	<6% (urine) 90% (feces)	<1	98	CYP2C9
Lovastatin	< 5	10% (urine) 83% (feces)	3-4	> 95	CYP3A4
Pravastatin	17	20% (urine) 70% (feces)	1.8	50	-
Simvastatin	< 5	13% (urine) 60% (feces)	3	95	CYP3A4

ที่มา : (จันทนี , 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.8 ผลกระทบจากการใช้ยากลุ่มสแตติน

2.5.8.1. ผลกระทบต่อตับทำให้เอนไซม์ทรานอะมิเนส ในกระแสเลือดมีการทำงานเพิ่มขึ้นราว3 เท่าของค่าปกติ พบได้ประมาณร้อยละ 1 ซึ่งมักจะเป็นแบบชั่วคราว และไม่ทำให้เกิดพิษต่อตับ ดังนั้นจึงควรวัดการทำงานของเอนไซม์อะมิโนทรานสเฟอเรส(Aminotransferase) ก่อนให้ยาและทุก 2-4 เดือน และควรหยุดใช้ยาเมื่อกิจกรรมของเอนไซม์อะมิโนทรานสเฟอเรสเพิ่มสูงขึ้นมากกว่า 3 เท่าของค่าปกติ

2.5.8.2. ผลกระทบต่อกล้ามเนื้อ อาการที่ไม่พึงประสงค์ที่พบรองลงมาคือ กิจกรรม creatine kinase (CK) สูงขึ้น โดยเอนไซม์ตัวนี้เร่งการขนย้ายหมู่ฟอสเฟตจาก creatine phosphate ไปยัง Adenosine diphosphate (ADP) และในขั้นสุดท้ายได้ Adenosine triphosphate (ATP) ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญ เอนไซม์ CK มีเฉพาะในกล้ามเนื้อ และพบได้บ้างในเนื้อเยื่อสมอง กระบวนการอิเล็คโตรโฟลิซิสสามารถแยกเอนไซม์ CK ได้อย่างน้อย 3 ตัว โดยที่ CK จากกล้ามเนื้อลายและสมองมีเพียงกลุ่มเดียวแต่ต่างตำแหน่งกัน ส่วน CK จากกล้ามเนื้อหัวใจจะให้ 2 กลุ่มโดยที่กลุ่มหนึ่งคล้ายกับของกล้ามเนื้อลาย ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งอยู่ระหว่าง CK ของกล้ามเนื้อลายและของเนื้อเยื่อสมอง เมื่อพบว่ากิจกรรมของ CK ในซีรั่มสูงกว่าปกติ โดยจะเริ่มเพิ่มสูงขึ้นในช่วง 3 – 6 ชั่วโมง และจะเพิ่มขึ้นสูงสุดใน 24 - 36 ชั่วโมง มีผลทำให้หัวใจวายได้ จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ตรวจภาวะของหัวใจวาย เมื่อเริ่มรู้สึกว่ามีการเจ็บหน้าอก แต่เอนไซม์ตัวนี้จะถูกกำจัดออกจากพลาสม่าได้โดยเร็ว จึงพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์นี้กลับสู่สภาวะปกติได้ภายในเวลาเพียง 3 วัน โดยเมื่อเทียบกับเอ็มไซม์ตัวอื่น เช่น SGOT LDH เป็นต้น และอาจทำให้เกิดความผิดปกติของกล้ามเนื้อ (Myopathy) โดยเฉพาะเมื่อใช้ยากลุ่มนี้ร่วมกับยาลดไขมันในเลือดกลุ่ม fibric acid derivatime และ nicotinic acid ส่วนยาอื่นๆ ที่จะมีผลทำให้อาการไม่พึงประสงค์ต่อกล้ามเนื้อถ้าให้ร่วมกับยาในกลุ่มสแตติน ได้แก่ ยาที่ถูกเมทาบอไลส์โดย Cytochrome P450 family 3 subfamily A และ polypeptide 4 (CYP3A4) เช่นเดียวกับสแตติน ได้แก่ erythromycin itraconazole ดังนั้นจึง ควรวัดกิจกรรมของเอนไซม์นี้ และโดยเฉพาะผู้ป่วยที่รับประทานยาสแตตินร่วมกับยาเหล่านี้จะต้องลดขนาดยาสแตตินลง ไม่ให้ยามากกว่าร้อยละ 25 ของขนาดสูงสุดที่ใช้ในการรักษา

ขนาดยาและการจัดเตรียมยา

โมนาโคลิน เป็นยาเม็ด 10 20 และ 40 มิลลิกรัม รับประทาน วันละ 1-2 ครั้ง ถ้ารับประทานวันละ 1 ครั้งให้รับประทานยาก่อนอาหารเย็น ถ้าหากรับประทานยา 2 ครั้ง ก็ให้รับประทานก่อนอาหารมื้อเช้า และมื้อเย็น ขนาดการใช้ยาขึ้นกับแพทย์สั่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ในการรักษา

ใช้กับผู้ป่วยที่มีคลอเลสเตอรอลสูงทุกชนิดซึ่งอาจใช้ตัวยับยั้งรีดักเตสเพียงชนิดเดียวหรือใช้ร่วมกับยาอื่น ได้แก่ bile acid-binding resins หรือ nicotinic acid ซึ่งจะต้องระมัดระวังเรื่องของปฏิกิริยาสัมพันธ์ของยาที่อาจทำให้เกิดกล้ามเนื้อผิดปกติได้ ยาในกลุ่มสแตติน สามารถลดอัตราของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ และ อัตราการตายในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจที่มีระดับไขมันสูงขณะเดียวกันยากลุ่มนี้ยังมีบทบาทในป้องกันปฐมภูมิ (Primary prevention)สำหรับผู้ป่วยที่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการเป็นโรคเลือดหัวใจ ได้แก่ ผู้ที่มีไขมันในเลือดสูงกับการมีโรคความดันโลหิตสูงหรือเบาหวาน เป็นต้น

2.6 ซิตรินิน (Citrinin) (European Mycotoxin Network, 2002)

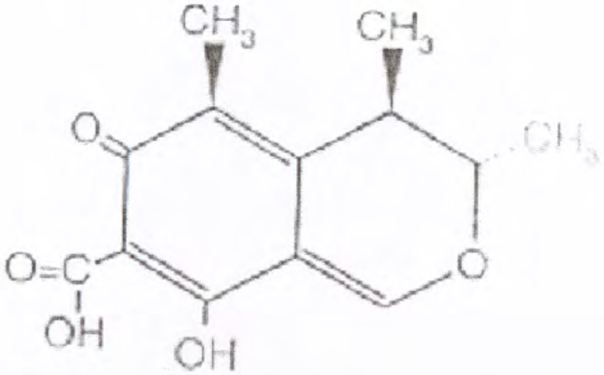
ซิตรินิน เป็นสารพิษจากเชื้อรา ส่วนใหญ่จะพบจากเชื้อราสกุล *Penicilium* และ *Aspergillus* ที่ปนเปื้อนในอาหาร ประเภทธัญพืช ผลไม้ และถั่ว คนจะได้รับซิตรินินจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนเข้าไป

ซิตรินินพบครั้งแรกโดยการแยกจากเชื้อรา *Penicilium citrinum* ในปี 1931 ต่อมาในปี 1951 พบปัญหาข้าวเหลือง “yellow rice problem” ในข้าวที่ประเทศไทยส่งออกไปยังประเทศญี่ปุ่น เพราะมีการปนเปื้อนจากเชื้อรา *Penicilium citrinum* และตรวจพบซิตรินิน จากนั้นพบว่าเชื้อรา *Penicilium* สายพันธุ์อื่นสามารถสร้างซิตรินิน เนื่องจากเชื้อราสายพันธุ์นี้สามารถสร้างสารพิษชื่อ โอคราท๊อกซิน เอ (Ochratoxin A, OTA) พบในธัญพืชทั่วไป เช่น ข้าวสาลี และข้าวบาร์เลย์ จึงไม่ใช่เรื่องแปลกที่พบทั้ง โอคราท๊อกซิน เอ และซิตรินินพร้อมกัน แต่มีการศึกษาเกี่ยวกับซิตรินิน น้อยกว่า ซึ่งอาจเป็นเพราะไม่บ่อยครั้งที่สามารถตรวจพบซิตรินิน เนื่องจากอาจสลายไปในระหว่างขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ นอกจากนี้ยังมีเชื้อราสกุลอื่นที่สร้างซิตรินิน เช่น *A. terreus* *A. carnues* และ *A. niveus* ช่วงแรกของการศึกษาพบว่าซิตรินินมีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (antibacterial) แต่ยังมีผลกระทบต่อไตของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จึงไม่ได้มีการนำสารนี้มาใช้ประโยชน์

2.6.1 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

ซิตรินิน มีชื่อเรียกตามระบบ IUPAC คือ (3R, 4S) – 4, 6-dihydro – 8 – hydroxyl – 3, 4, 5 – trimetyl – 6 – 3*H*- 2- benzopyran – 7 –carboxylic acid มีโครงสร้างดังรูปที่ 2.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 โครงสร้างของซิตรินิน

ที่มา : M. Sabater- Vilar และคณะ (1999)

ซิตรินิน มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 250 กรัม มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{13}H_{14}O_5$ มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีเหลืองเลมอน มีจุดหลอมเหลว 172 องศาเซลเซียส ละลายน้ำได้น้อย แต่ละลายได้ในโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง โซเดียมคาร์บอเนต โซเดียมอะซิเตต เมทานอล อะซิโตไนไตร์ท เอทานอล และสารละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว สารละลายตัวได้ด้วยแสง (photodecomposition) สารละลายกรดหรือด่างหรือความร้อนสามารถเกิดสีน้ำตาลเมื่อทำปฏิกิริยากับเฟอริคคลอไรด์ สีเขียวกับไททาเนียมคลอไรด์ สีแดงคล้ำกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และด่าง ในระหว่างการเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์สามารถทำให้เกิดคีเลต (chelate) กับ โมโนอะซิเตต (mono - acetate) ไดเอทิล (diethyl) เมทิลเอสเทอร์ (methyl ester) และอนุพันธ์ไดไฮโดร (dihydro derivatives)

2.6.2 การศึกษาเกี่ยวกับความเป็นพิษ

ซิตรินินเมื่อทดสอบกับสัตว์ทดลอง ได้ค่า LD_{50} 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (สำหรับกระต่าย) ซิตรินินทำให้ไตถูกทำลายและมีฤทธิ์อย่างอ่อนกับตับ เพราะความสามารถกรองไขมัน (fatty filtration) ลดลง ผลกระทบอื่นคือ ทำให้เกิดการขยายตัวของเส้นเลือดก่อให้เกิดการไหลเวียนโลหิตผิดปกติ และทำให้หลอดลมหดตัว

ซิตรินินจะเสริมฤทธิ์กับโอคราท๊อกซิน เอ และเป็นพิษกับระบบประสาทของหมู เกิดในประเทศเดนมาร์ค สวีเดน นอร์เวย์ และไอร์แลนด์ ซิตรินินเป็นสารพาต่อตับและไต (hepatonephrotoxin) พบในเชื้อราสายพันธุ์ทั่วไป และยังเกี่ยวข้องกับสาเหตุของการเกิด endemic Balkan nephropathy ในคนเหมือนกับโอคราท๊อกซิน เอ และสารพิษอื่นๆ ที่มีลักษณะคล้ายกัน แต่อย่างไรก็ตามซิตรินินไม่อันตรายรุนแรงต่อคน เพราะความไม่เสถียรในระหว่างกระบวนการแปรรูป แต่จะมีผลโดยตรงต่อสัตว์ที่บริโภคธัญพืชที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการแปรรูปใดเลย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีรายงานการปนเปื้อนลงในอาหารประเภทต่างๆ โดยเฉพาะอาหารประเภทเมล็ดธัญพืช และอาหารสัตว์ M. Sabater-Vilar และคณะ (1999) ได้ศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าซิตรินินมีผลต่อการทำงานของไตและ ultra-structure ซิตรินินจะไปสะสมในไมโตคอนเดรียและรบกวนระบบการแลกเปลี่ยนอิเล็คตรอนในเซลล์ โดยขึ้นกับค่าพีเอช แต่ไม่มีผลกระทบต่อผนังเซลล์ นอกจากนี้ยังมีผลในการยับยั้งการสังเคราะห์ DNA การเรียงลำดับของโปรตีนและ RNA เมื่อการำงานของไมโตรคอนเดรียผิดปกติไป ทำให้ระดับไกลโคเจนในตับลดลง และยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอรอลในตับ

2.6.3 ความเสถียร (stability)

ซิตรินิน สลายตัวได้ที่อุณหภูมิ 175 องศาเซลเซียส ในสภาวะปราศจากน้ำ (anhydrous) แต่จะสลายที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส ในสภาวะชื้นปานกลาง (semi-moist) ดังนั้นความเป็นพิษจะลดลงเมื่อได้รับความร้อนรวมกับความชื้น จากการศึกษายังพบอีกว่า ซิตรินินสลายได้ในขั้นตอนการทำเบียร์ ถึงร้อยละ 90 โดยผ่านกระบวนการการงอก (germination) การผสม (mash) และการทำน้ำเบียร์ (wort) และยังมีการใช้กรดโพรพิโอนิค (propionic acid) กับข้าวบาร์เลย์เพื่อทำลายซิตรินินในระหว่างการเก็บรักษา

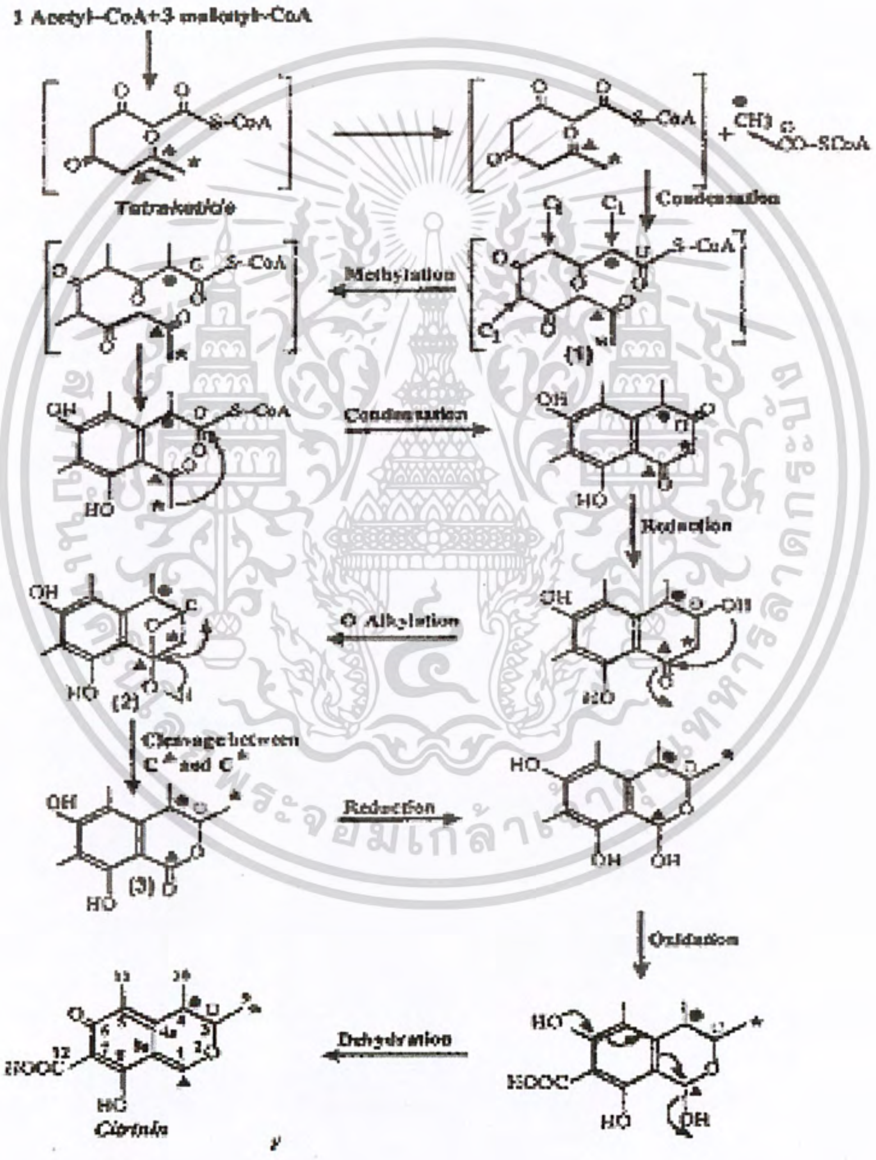
2.6.4 ซิตรินินจากเชื้อราโมแนสคัส

นอกจากคุณสมบัติในการรักษาโรคของข้าวแดงจากโมนาโคลิน เค ได้มีผลงานวิจัยหลายฉบับ ได้ศึกษาเกี่ยวกับซิตรินินที่สร้างจากเชื้อราสกุลโมแนสคัส พร้อมกับสร้างรงควัตถุ Wong และ Bau (1977) Wong และ Koehler (1981) Fink-Gremmels และคณะ (1991) แสดงให้เห็นว่ามีการสร้างสารที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ในสีที่สกัดได้จากโมแนสคัสซึ่งสนับสนุนงานวิจัยของ Ober และ Kunz (1989) ได้ศึกษาเกี่ยวกับเชื้อราบางสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ จากนั้นได้มีการแยกเอาโมนาสซิดิน เอ จากโมแนสคัสหลายสายพันธุ์ และบ่งชี้ได้ว่าเป็นสารตัวเดียวกับซิตรีนิน (Blanc และคณะ, 1995 inpress) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดอาการไตอักเสบและผลิตจากเชื้อราหลายๆ ชนิด (Wu และคณะ, 1974, M. Sabater-Vilar และคณะ, 1999)

คุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ในรงควัตถุจากเชื้อราโมแนสคัส ได้ถูกศึกษาจากนักวิจัยหลายคน เช่น Wong และ Koehler (1981) ได้แยกสารประกอบ 2 ตัวจากเชื้อรา *M. purpureus* ที่มีผลยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ได้แก่ สารสีเหลืองซีด คือ โมนาสซิดิน เอ และ สารสีเหลืองเรืองแสงที่ยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างของสารประกอบดังกล่าว ต่อมา Blanc P.J. และคณะ (1995b) ได้แยกสารโมนาสซิดิน เอ คือซิตรินิน โดยใช้วิธี Mass Spectroscopy เพื่อยืนยันและอธิบายโครงสร้างของสารดังกล่าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

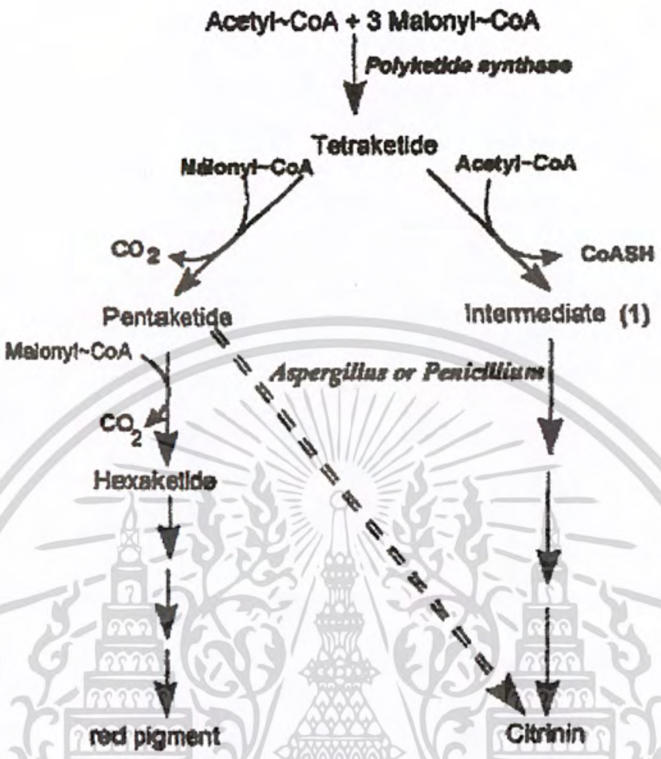
Hajjaj และคณะ (1999) ได้ศึกษากลไกการสังเคราะห์ทางชีวภาพของซิตรินิน จาก *Monascus ruber* ATCC 96218 โดยวัดจาก ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance ทดลองโดยวัด [^{13}C]acetate] ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าการสังเคราะห์ซิตรินินเกิดจาก tetraketide แทนที่จะสังเคราะห์จาก pentaketide เหมือนกับเชื้อราสกุล *Penicillium* และ *Aspergillus* ที่สามารถสร้างซิตรินินเช่นเดียวกัน กลไกการสังเคราะห์ซิตรินินจากโมแนสคัส แสดงในรูป 2.10 และ 2.11



รูป 2.10 กลไกการสังเคราะห์ซิตรินินโดยเชื้อรา *Monascus ruber*

ที่มา : Hajjaj และคณะ (1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป 2.11 กลไกการสังเคราะห์ซิตรินินและรงควัตถุสีแดง โดนเชื้อรา *Monascus ruber*
(เส้นประ แสดงกลไกการสังเคราะห์ซิตรินิน โดยเชื้อราสกุล *Penicillium* และ *Aspergillus*)
ที่มา : Hajjaj และคณะ (1999)

การใช้สีที่ผลิตจากโมแนสคัสเป็นวัตถุเจือปนในอาหาร พบว่าอาจมีปนเปื้อนของซิตรินินอยู่ด้วย M. Sabater-Vilar และคณะ (1999) ได้ศึกษาดังนี้ 1) ตรวจพบซิตรินินในผลิตภัณฑ์จากโมแนสคัสในทางการค้าหรือไม่ 2) ซิตรินิน และหรือ สารสกัดจากโมแนสคัส มีคุณสมบัติทำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenic) และปลอดภัยสำหรับใช้ในอาหารหรือไม่ และได้ศึกษาสารสกัดจากโมแนสคัส โดย HPLC การทดสอบ mutagenicity assay ของซิตรินินบริสุทธิ์เปรียบเทียบกับสารสกัดจากโมแนสคัส รวมทั้งศึกษาเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ที่ไม่มีการสร้างซิตรินิน สภาวะการเลี้ยงเชื้อที่ไม่ทำให้เชื้อราโมแนสคัสสร้างซิตรินิน หรือกำจัดซิตรินินออกจากสีของโมแนสคัส

Blanc P.J. และคณะ (1995a) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการการสร้างซิตรินินจากเชื้อราโมแนสคัสหลายสายพันธุ์ โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะการเลี้ยงต่างกัน ทดลองดังนี้ 1) ศึกษาสายพันธุ์เชื้อราที่ไม่สร้างซิตรินิน พบว่า ซิตรินินที่ได้จากเชื้อรา *M. purpureus* CBS 109.07 (wild)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตซิตรินินเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในข้าว ส่วนเชื้อรา *Monascus ruber* ATCC 96218 ผลิตซิตรินิน มากถึง 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 2) ศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตซิตรินิน โดยเติมยูเรีย แอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) โมโนโซเดียมกลูตาเมท และเมไทโอนีน โดยใช้เอทานอลเป็นแหล่งคาร์บอน หมักโดย *Monascus ruber* พบว่าอาหารที่เติมโมโนโซเดียมกลูตาเมท ตรวจพบปริมาณซิตรินินสูงสุด เท่ากับ 120 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนการเติมยูเรียและเมไทโอนีน พบซิตรินินน้อย เท่ากับ 17 และ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่ปริมาณสีแดงที่ได้น้อยเช่นกัน การศึกษานี้ยังไม่ได้ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมต่อการผลิตรงควัตถุและไม่ผลิตซิตรินิน 3) ได้ศึกษาผลของความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน โดยเปรียบเทียบระหว่างเอทานอลและกลูโคส พบว่าอาหารที่เติมกลูโคส 45 กรัมต่อลิตร และเติมเอทานอล 28 กรัมต่อลิตรมีการผลิตซตรินินเท่ากับ 226 และ 136 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับและยังพบว่าถ้าในอาหารมีเอทานอลมากกว่า 45 กรัมต่อลิตร จะไปยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Monascus ruber*

2.7 ผลิตภัณฑ์อื่นที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส

Kranz และคณะ (1992) พบว่าเชื้อรา *M. purpureus* สร้าง methyl ketone ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นรสใน blue cheese ได้ดีใกล้เคียงกับ *P. roquefortii* เมื่อใช้สารตั้งต้นเป็นกรดไขมันสายสั้น ๆ ข้าวหมักสีแดง (red fermented rice :RFR) เป็นที่รู้จักในด้านยาสำหรับการรักษาการย่อยอาหารและการหมุนเวียนโลหิตในประเทศจีน และมีการบริโภคเป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพกันอย่างมาก (Sung , 1966 ; Chen , 1982 ; Hu , 1997; Wang และคณะ , 1999) Haws และคณะ (1959) พบโครงสร้างของรูโบรพังตาติน (Rubropunctatin , $C_{21}H_{22}O_5$) ซึ่งเป็นสารสีส้ม และสารสีเหลืองโมนาสซิน (Monascin, $C_{21}H_{26}O_5$) ที่แยกได้จากเชื้อรา *M. rubropunctatus* Sâto Fielding และคณะ (1960, 1961) ศึกษาการสร้างสารสีที่ Nishikawa แยกได้จาก *M. purpureus* Went คือ โมนาสโครูบริน (Monascorubrin, $C_{23}H_{23}O_5$) และ โมนาสโคฟลาวิน (Monascoflavin) หรือ โมนาสซิน Nakanishi (1959) แสดงให้เห็นว่าโมนาสโครูบรามีน (Monascorubramine) และรูโบรพังเตตามีนเปลี่ยนมาจากโมนาสโครูบริน และรูโบรพังตาติน (สีส้ม) ตามลำดับ Hiroi และคณะ (1975) ศึกษาโครงสร้างของสารสี 2 ชนิด คือ โมนาสโครู- บริน (สีส้ม) และรูโบพังเตตามีน (สีม่วง) Manchand และคณะ (1973) พบว่าเชื้อราโมแนสคัสแต่ละสายพันธุ์ให้สารสีแตกต่างกันออกไปและพบการสร้างสารสีเหลืองตัวใหม่จากเชื้อรา *M. anka* Sweeny และคณะ (1981) สามารถสกัดสารสีจากโคจิของ *M. anka*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็ง (บุษบา, 2542)

เชื้อราที่เจริญบนข้าวสามารถปล่อยสารสีออกมานอกเซลล์ได้มาก ทำให้ไม่เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์สารสี จึงสร้างสารสีได้สูงกว่าการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว เชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ที่นิยมใช้หมักข้าวแดง ได้แก่ *M. purpureus* และ *M. anka* ซึ่งการผลิตข้าวแดงให้ได้คุณภาพดีขึ้นอยู่กับปัจจัยสำคัญหลายประการที่มีผลต่อการสร้างสารสีของเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็ง ได้แก่ สายพันธุ์ข้าว สายพันธุ์เชื้อรา สภาวะเลี้ยงเชื้อ เช่น ความชื้น อุณหภูมิ และค่าพีเอช เป็นต้น

2.8.1 สายพันธุ์เชื้อราโมแนสคัส

โดยทั่วไปเชื้อราโมแนสคัส เมื่อเจริญบนเม็ดข้าวโดยการงอกของเส้นใยทั่วทั้งผิวหน้าและทะลุเข้าไปภายในเมล็ดข้าวนั้นก็จะมีการสร้างสารสีได้ภายหลังจากการบ่มได้นาน 3 วัน สารสีเหล่านี้เมื่อมีการนำมาสกัดด้วยสารละลายเอทานอล พบว่าสารสีแดงทั่วไปจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 420 และ 500 นาโนเมตร บางสายพันธุ์ที่ให้สีข้าวแดงหรือ อังคัก เป็นสีแดงสด หรือแดงเข้ม จะมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร สูงกว่าที่ 420 นาโนเมตร เช่น ที่พบในสายพันธุ์ของ *M. purpureus* หรือ *M. anka* แต่บางสายพันธุ์อาจให้สีแดงเข้มคล้ำ โดยมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 สูงกว่าที่ 500 นาโนเมตร หรือค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 370 สูงกว่าที่ 500 นาโนเมตร เป็นต้น เช่น สายพันธุ์ *M. barkeri* หรือ *M. kaoliamg*

2.8.2 สับสเตรท

สับสเตรทที่ใช้ในการหมักสีโมแนสคัสแบบแห้งนั้นปกติจะเป็นข้าว หรือเมล็ด ธัญพืชอื่นๆ ได้แก่

2.8.2.1 ข้าว Polo และคณะ (1960) ได้ศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการสร้างสารสีของ *M. purpureus* และพบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตอังคัก มีดังต่อไปนี้ ความชื้นไม่เกินร้อยละ 50 พีเอชระหว่าง 3.0-7.5 อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส แต่สายพันธุ์ข้าวเหนียวให้ผลไม่ดีนัก บุษบา (2518) ได้ทดลองการสร้างสารสีของ *M. purpureus* โดยใช้สภาวะการผลิต ข้าวแดงของ Palo และคณะ (1960) มาทดสอบกับข้าวพันธุ์ต่างๆของไทย พบว่าข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยวงู และข้าวพันธุ์หอมมะลิให้สีเข้มใกล้เคียงกัน แต่ข้าวเหนียวกลับให้กลิ่นหอมมากกว่าข้าวหอมมะลิ กลิ่นหอมดังกล่าวคือกลิ่นเอสเทอร์และแอลกอฮอล์ปนกัน ทั้งนี้ข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยวงู และข้าวพันธุ์หอมมะลิให้ผลความเข้มข้นของสีใกล้เคียงกับข้าวพันธุ์ญี่ปุ่น ในขณะที่ข้าวพันธุ์อื่นๆของไทยนั้นล้วนแต่ให้สีและความหอมน้อยกว่ามาก

2.8.2.2 เมล็ดธัญพืชและอื่นๆ พลายแก้วและบุษบา (2534) ได้ศึกษาแหล่งสับสเตรทชนิดต่าง ๆ ต่อการผลิตสีโมแนสคัสเปรียบเทียบกับการผลิตสีบนเมล็ดข้าวโดยใช้ข้าวโพด มันเทศ มันสำปะหลัง มันฝรั่ง ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ข้าวฟ่าง ขนมปังแทนเมล็ดข้าวต่อการเจริญ การสร้างสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และการสร้างสปอร์ของ *M. kaoliamg* พบว่าขนมปังให้ค่าสีแดงมากที่สุด ซึ่งตรงกับผลการทดลองของ Lin และ Iizuka (1982) รองลงมาได้แก่ มันฝรั่ง และปลายข้าวหอมมะลิ นอกนั้นสีไม่ดีนัก ส่วนการสร้างสปอร์ของ *M. kaoliamg* พบว่าถั่วเหลืองให้ปริมาณสปอร์สูงสุด รองลงมาได้แก่ ถั่วเขียว ขนมปัง และปลายข้าวหอมมะลิ ตามลำดับ ส่วนธัญพืชอื่นๆ ให้ผลการสร้างสีไม่ดีนัก Rashbaum และ Yueh (1983) ทดลองใช้ข้าวโอ๊ต ข้าวสาลี และข้าวบาร์เลย์เป็นสับสเตรทแทนข้าว พบว่าได้ผลดีเช่นกัน

2.8.3 พีเอช

Palo (1960) รายงานว่า *M. purpureus* สร้างสีแดงได้ดีที่พีเอชระหว่าง 3.0-7.5 พลายแก้ว และบุษบา (2534) พบว่าสภาวะเป็นกรดไม่มีผลต่อการสร้างสีเหลืองของ *M. barkeri*

2.8.4 อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีอยู่ที่ระหว่าง 27-30 องศาเซลเซียส โดย บุษบา (2518) พบว่าอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียสเหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างเอนไซม์กลูโคอะไมเลส แต่ไม่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีของเชื้อราโมแนสคัส

2.8.5 อัตราส่วนของก๊าซ

Han และ Mudgett (1992) รายงานเป็นครั้งแรกของสัดส่วนระหว่างก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ มีผลต่อการผลิตข้าวแดงด้วย โดยพบว่าความดันก๊าซออกซิเจนต่อ ความดันคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับ 0.50 ต่อ 0.02 บรรยากาศ (atm) จะมีผลดีต่อการสร้างสีแดงของอังคักมากที่สุด

2.8.6 ความชื้น

Palo และคณะ (1960) รายงานเป็นครั้งแรกว่าความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 50 ส่งผลต่อการสร้างสีของ *M. purpureus* เชิดชัย และคณะ (2519) พบว่าความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีแดงของ *M. purpureus* K001 บนเมล็ดข้าว คือร้อยละ 60.0 การเขย่าหรือให้อากาศช่วยให้เชื้อราสร้างสารสีแดงได้ดีและเร็วขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณโปรตีนในเมล็ดข้าวมีเพียงพอต่อการสร้างสารสีอยู่แล้ว รัตนา (2528) พบว่าการหมักข้าวแดงในสภาพที่มีความชื้นสูงมากไป เชื้อราโมแนสคัสจะสร้างเอนไซม์กลูโคอะไมเลสสูง เกิดการสะสมกลูโคสยับยั้งการสร้างสารสีได้

Johns และ Stuart (1991) พบว่าเชื้อรา *M. purpureus* จะสร้างสารสีได้น้อยเมื่อเลี้ยงเชื้อที่ความชื้นเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 38.0-39.0 แต่ถ้าความชื้นเริ่มต้นสูงขึ้นเป็นร้อยละ 56.0 และพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.0 การสร้างสารสีจะเป็นไปได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Han (1990) คัดเลือกเชื้อรา *Monascus* sp. จำนวน 13 สายพันธุ์ จากทั้งหมด 125 สายพันธุ์ เพื่อศึกษาการสร้างสารสีบนข้าว พบว่า *M. purpureus* ATCC 16365 สร้างสารสีดีที่สุดเมื่อเลี้ยงเชื้อที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 พีเอชเริ่มต้น 5.0-6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

Chiu และ Chan (1992) ศึกษาการสร้างสารสีของเชื้อรา *M. purpureus* บนวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร คือชานอ้อย โดยเปรียบเทียบระหว่างการเลี้ยงเชื้อบนขวดหมุน (Roller bottle) ความเร็ว 200 รอบต่อนาที กับตั้งทิ้งไว้เฉย ๆ พบว่าการใช้ระบบขวดหมุน เชื้อราจะสร้างสารสีแดงและสารสีเหลืองได้ดีกว่าตั้งทิ้งไว้เฉย ๆ ประมาณ 2-3 เท่า แต่ก็ยังให้สารสีน้อยกว่าในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยกลูโคส เปปโตน และยีสต์เอกซ์แทรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1 *Monascus purpureus*

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1 MYS (Malt yeast starch)

3.2.2 SS (Soybean starch)

3.2.3 วัตถุดิบทางการเกษตร ได้แก่ ข้าวเหนียว ข้าวเจ้า ข้าวบาร์เล่ย์ ข้าวโอ๊ต มันฝรั่ง มันแกว ถั่วแดง แคนตาลูป แห้ว และมันสำปะหลังเส้น

3.3 อุปกรณ์

3.3.1 ฟลาสก์ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร

3.3.2 บีกเกอร์แก้วขนาด 500 มิลลิลิตร

3.3.3 ปิเปตขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร

3.3.4 ขวดเตรียมอาหาร

3.3.5 ขวดฝาเกลียวขนาด 500 มิลลิลิตร

3.3.6 ที่เจาะวุ้น(cork borer) เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร

3.3.7 จานเพาะเชื้อ

3.3.8 ตะเกียงบุนเสน

3.3.9 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)

3.3.10 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ

3.3.11 เครื่องหมุนขวด

3.3.12 เครื่องชั่งสารพิกัด 4 ตำแหน่ง

3.3.13 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

3.3.14 เตาอบลมร้อน (Hot air oven)

3.3.15 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Helios Gamma

3.4 สารเคมี

3.4.1 เอทานอล (Ethanol)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 การเตรียมเชื้อเริ่มต้น (starter)

นำข้าวแดงที่มีเชื้อ *M.purpureus* เจริญอยู่ มาวางเลี้ยงบนอาหาร MYS ในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับการทดลอง ใช้ที่เจาะชิ้นวุ้น เจาะเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำชิ้นเชื้อจำนวน 4 ชิ้นใส่ลงในอาหารเหลว SS ปริมาตร 75 มิลลิลิตร บรรจุในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน จึงเหมาะที่จะใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น

3.6 วิธีการทดลอง

3.6.1 การผลิตโมนาโคลินจากเชื้อราโมแนสคัสบนวัตถุดิบทางการเกษตร

เพื่อทำการศึกษาว่าวัตถุดิบทางการเกษตรชนิดใดมีความเหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตสารโมนาโคลินของเชื้อรา *M.purpureus* จึงได้นำเอาวัตถุดิบทางการเกษตร 10 ชนิดได้แก่ ข้าวเหนียว ข้าวเจ้า ข้าวบาร์เล่ย์ ข้าวโอ๊ต มันฝรั่ง มันแกว ถั่วแดง แคนตาลูป แห้ว และมันสำปะหลังเส้น มาใช้เป็นอาหารแข็ง ซึ่งการเตรียมวัตถุดิบแบ่งออกเป็น 2 ประเภท วัตถุดิบประเภทของแห้ง ได้แก่ ข้าวเหนียว ข้าวเจ้า ข้าวบาร์เล่ย์ ข้าวโอ๊ต และถั่วแดง ชั่งน้ำหนักชนิดละ 150 กรัมใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี ส่วนวัตถุดิบประเภทของสดได้แก่ มันฝรั่ง มันแกว แคนตาลูป แห้ว และมันสำปะหลังเส้น นำมาหั่นให้มีขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร และชั่งน้ำหนักชนิดละ 150 กรัมใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลีแล้วนำวัตถุดิบทั้งหมดทำให้ปลอดเชื้อด้วยการเข้าเครื่องนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 30 มิลลิลิตร นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็ว 100 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำซึมเข้าไปในวัตถุดิบ แล้วนำไปลงเชื้อโดยใช้เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 3 ของน้ำหนักวัตถุดิบ เลี้ยงในสภาวะตั้งนิ่งที่ตู้บ่มอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างในสัปดาห์ที่ 4 นำไปวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น สารสี และสารโมนาโคลิน

3.6.2 ปริมาณความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตโมนาโคลิน

จากการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนอาหารแข็งที่เป็นวัตถุดิบทางการเกษตรที่ได้รับการคัดเลือก 3 ชนิด ได้แก่ ข้าวเจ้า มันสำปะหลังเส้น และแห้ว โดยต้องการหาปริมาณความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตโมนาโคลินบนวัตถุดิบปริมาณ 50 กรัม ในขวดหมุนขนาด 200 มิลลิลิตร จำนวน 4 ชุด ๆ ละ 5 ขวดและเติมน้ำที่ปริมาตรต่างๆ โดยใช้วิธีการเตรียมวัตถุดิบต่างกัน ดังต่อไปนี้

3.6.2.1 การเตรียมข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ชั่งน้ำหนักข้าวเจ้า 50 กรัม ใส่ลงในขวดขนาด 200 มิลลิลิตร ทั้งหมด 5 ขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้อง จากนั้นเติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อในปริมาตรต่างๆ คือ 0.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วนำไปหมุน 12 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำซึมเข้าไปในเมล็ดข้าวเจ้า แล้วทำการลงเชื้อใช้เชื้อเริ่มต้นอายุ 3 วัน ปริมาณร้อยละ 3 ของน้ำหนักข้าว แล้วนำไปบ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างข้าวเจ้าสัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 5 สัปดาห์ เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินที่เวลาต่างๆ

3.6.2.2 การเตรียมข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

ชั่งน้ำหนักข้าวเจ้า 50 กรัม ใส่ลงในขวดขนาด 200 มิลลิลิตร ทั้งหมด 5 ขวด นำไปอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อในปริมาตรต่างๆ คือ 0.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วนำไปหมุน 12 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำซึมเข้าไปในเมล็ดข้าว แล้วทำการลงเชื้อใช้เชื้อเริ่มต้นอายุ 3 วัน ปริมาณร้อยละ 3 ของน้ำหนักข้าว แล้วนำไปบ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างข้าวเจ้าสัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 5 สัปดาห์ เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินที่เวลาต่างๆ

3.6.2.3 การเตรียมมันสำปะหลังเส้นปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ชั่งน้ำหนักมันสำปะหลังเส้นที่หั่นขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรปริมาณ 50 กรัม ใส่ลงในขวดขนาด 200 มิลลิลิตร ทั้งหมด 5 ขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อในปริมาตรต่างๆ คือ 0.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วนำไปหมุน 12 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำซึมเข้าไปในชิ้นวัตถุดิบ แล้วทำการลงเชื้อใช้เชื้อเริ่มต้นอายุ 3 วัน ปริมาณร้อยละ 3 ของน้ำหนักข้าว แล้วนำไปบ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 5 สัปดาห์ เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินที่เวลาต่างๆ

3.6.2.4 การเตรียมมันแห้วปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ชั่งน้ำหนักแห้วที่หั่นขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรปริมาณ 50 กรัม ใส่ลงในขวดขนาด 200 มิลลิลิตร ทั้งหมด 5 ขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อในปริมาตรต่างๆ คือ 0.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วนำไปหมุน 12 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำซึมเข้าไปในชิ้นวัตถุดิบ แล้วทำการลงเชื้อใช้เชื้อเริ่มต้นอายุ 3 วัน ปริมาณร้อยละ 3 ของน้ำหนักข้าว แล้วนำไปบ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 5 สัปดาห์ เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินที่เวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.3 การผลิตโมนาโคลินโดยเลี้ยงเชื้อบนข้าวเจ้าปริมาณ 50 กรัม

จากการศึกษาปริมาณความชื้นที่เหมาะต่อการเจริญและการผลิตโมนาโคลิน ทำให้ทราบว่า วัตถุดิบที่เหมาะสมในการนำมาเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส คือ ข้าวเจ้า และปริมาตรของน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตสารโมนาโคลิน คือ 10 มิลลิลิตร ต่อ ข้าวเจ้า 50 กรัมซึ่งเป็นการทดลองในระดับฟลาสก์ ทำการทดลองโดยการเตรียมข้าวเจ้าที่แตกต่างกัน 3 แบบดังนี้

3.6.3.1 เตรียมข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

นำข้าวเจ้าปริมาณ 50 กรัม ไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปหมุน 12 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำซึมเข้าไปในเมล็ดข้าว ลงเชื้อโดยใช้เชื้อเริ่มต้นอายุ 3 วัน ปริมาณร้อยละ 3 ของน้ำหนักข้าว แล้วนำไปบ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างข้าวเจ้าสัปดาห์ละ 1 ครั้ง 5 สัปดาห์ เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินที่เวลาต่างๆ

3.6.3.2 เตรียมข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

นำข้าวเจ้าปริมาณ 50 กรัม อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปหมุน 12 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำซึมเข้าไปในวัตถุดิบ ลงเชื้อโดยใช้เชื้อเริ่มต้นอายุ 3 วัน ปริมาณร้อยละ 3 ของน้ำหนักข้าว แล้วนำไปบ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างข้าวสัปดาห์ละ 1 ครั้ง นาน 5 สัปดาห์ เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลิน

3.6.3.3 เตรียมข้าวเจ้าแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที แล้วทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

นำข้าวเจ้าปริมาณ 50 กรัม แช่น้ำเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 30 นาทีนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้อง ลงเชื้อโดยใช้เชื้อเริ่มต้นอายุ 3 วัน ปริมาณร้อยละ 3 ของน้ำหนักข้าว แล้วนำไปบ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างข้าวสัปดาห์ละ 1 ครั้งนาน 5 สัปดาห์ เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินที่เวลาต่างๆ

3.6.4 การผลิตโมนาโคลินโดยเลี้ยงเชื้อบนข้าวเจ้าปริมาณ 500 กรัม

เพื่อเป็นการศึกษาการเพิ่มผลผลิตสารโมนาโคลินที่มีปริมาณมากยิ่งขึ้น จึงมีการเพิ่มกำลังการผลิตโดยเพิ่มปริมาณวัตถุดิบทำให้อัตราการผลิตสูงขึ้นคือ เพิ่มปริมาณข้าวเจ้าเป็น 500 กรัม และปริมาตรน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่เติมคือ 100 มิลลิลิตร เพื่อทำผลิตสารโมนาโคลินเพื่อให้ได้ผลผลิตมากยิ่งขึ้นโดยเตรียมข้าวเจ้าต่างกัน 3 แบบดังนี้

3.6.4.1 เตรียมข้าวเจ้าที่นึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

นำข้าวเจ้าปริมาณ 500 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปหมุน 12 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำซึมเข้าไปในเมล็ดข้าว ลงเชื้อโดยใช้เชื้อเริ่มต้นอายุ 3 วัน ปริมาณร้อยละ 3 ของน้ำหนักข้าว แล้วนำไปบ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างข้าวสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินที่เวลาต่างๆ

3.6.4.2 เตรียมข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

นำข้าวเจ้าปริมาณ 500 กรัม อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปหมุน 12 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำซึมเข้าไปในเมล็ดข้าว ลงเชื้อโดยใช้เชื้อเริ่มต้นอายุ 3 วัน ปริมาณร้อยละ 3 ของน้ำหนักข้าว แล้วนำไปบ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างข้าวสัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 5 สัปดาห์ เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินที่เวลาต่างๆ

3.6.4.3 เตรียมข้าวแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

นำข้าวเจ้าปริมาณ 500 กรัม แช่น้ำเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 30 นาทีนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้อง ลงเชื้อโดยใช้เชื้อเริ่มต้นอายุ 3 วัน ปริมาณร้อยละ 3 ของน้ำหนักข้าว แล้วนำไปบ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างข้าวสัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 5 สัปดาห์ เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินที่เวลาต่างๆ

3.7 การวิเคราะห์ผล

3.7.1 การหาปริมาณความชื้นของตัวอย่างวัตถุดิบ

เก็บตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ใส่ในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ได้อบแห้งและชั่งน้ำหนักแล้ว นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำออกมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วจึงนำไปชั่งหาน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง และคำนวณหาปริมาณความชื้น(ร้อยละ) ของวัตถุดิบ

3.7.2 การวิเคราะห์กลูโคส

นำตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ใส่ลงในฟลาสก์จากนั้นเติมน้ำกลั่นพีเอช 7.0 ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 ชั่วโมงนำสารละลายที่ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาทีเวลา 2 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์หาน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธี Somogyi-Nelson, 1954

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7.3 การสกัดสารสี

สกัดสารสีที่ได้จากการหมักของเชื้อราโมแนสคัสด้วยเอทานอลร้อยละ 99.99 ปิดปากฟลาสก์ให้สนิทแล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 – 3 ชั่วโมง แล้วจึงนำสารละลายที่ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาทีเวลา 2 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของสารสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร วิธีวิเคราะห์ดังแสดงในภาคผนวก ข

3.7.4 การวิเคราะห์สารโมนาโคลิน

โดยนำตัวอย่างข้าวใส่ในหลอดทดลองจากนั้นเติมเอทานอลร้อยละ 99.99 ลงไป แล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 2 – 3 ชั่วโมง แล้วนำสารละลายที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาทีเวลา 2 นาที แล้วนำส่วนใสไปวัดด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 238 นาโนเมตร ดังแสดงในภาคผนวก ข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

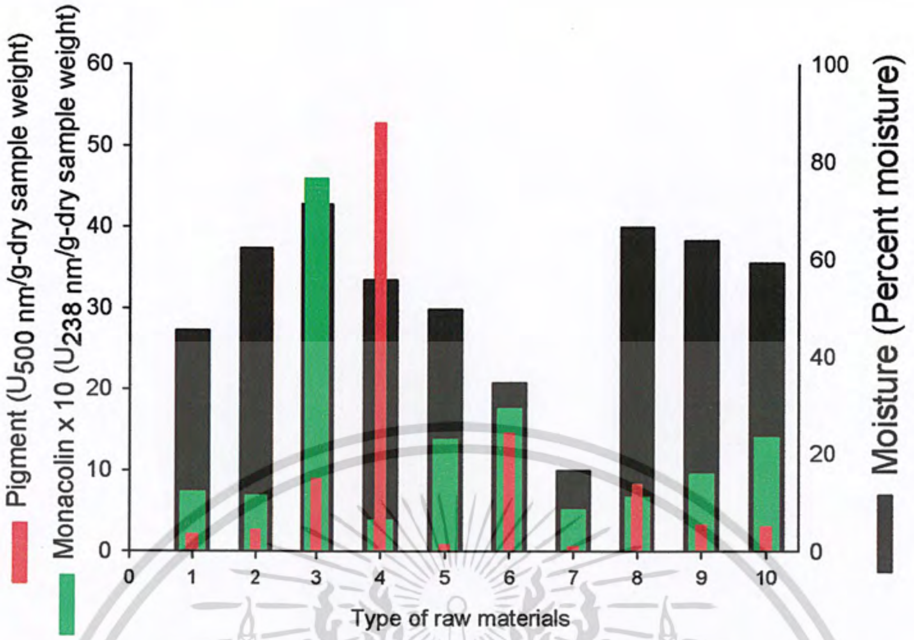
4.1 การผลิตโมนาโคลินจากเชื้อราโมแนสคัสบนวัตถุดิบทางการเกษตร

ศึกษาการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็งโดยใช้วัตถุดิบทางการเกษตรทั้งหมด จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ แคนตาลูป แห้ว มันฝรั่ง มันเส้น มันแกว ข้าวเหนียว ข้าวบาร์เล่ย์ ข้าวโอ๊ต ข้าวเจ้า และถั่วแดง หลังจากทำให้วัตถุดิบปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาทีแล้ว จึงใส่เชื้อเริ่มต้นปริมาณร้อยละ 3.0 ลงในวัตถุดิบทางการเกษตรทั้ง 10 ชนิด นำไปบ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิที่กำหนด แล้วจึงเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น สารสี และสารโมนาโคลินที่เชื้อราโมแนสคัสผลิตได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.1 และตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณความชื้น สารสี และสารโมนาโคลินของวัตถุดิบทางการเกษตรชนิดต่างๆ

ชนิดที่	วัตถุดิบทางการเกษตร	ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์ความชื้น)	ปริมาณสารสี ($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight)	ปริมาณสารโมนาโคลิน ($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)
1	ข้าวเหนียว	45.5200	2.0501	73.8975
2	มันฝรั่ง	62.3800	2.6083	68.6229
3	ข้าวเจ้า	71.4500	8.9323	460.277
4	มันแกว	55.8500	52.789	39.184
5	ข้าวบาร์เล่ย์	49.8000	0.8026	138.633
6	ข้าวโอ้ต	34.6900	14.5582	176.41
7	ถั่วแดง	16.6500	0.5415	51.702
8	แคนตาลูป	66.6900	8.2923	67.429
9	แห้ว	64.0100	3.2390	95.7136
10	มันสำปะหลังเส้น	59.3100	2.9817	141.1738

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณความชื้น สารสี และ สารโมนาโคลินของเชื้อราโมแนสคัสบนวัตถุดิบทางการเกษตรดังนี้ 1. ข้าวเหนียว 2. มันฝรั่ง 3. ข้าวเจ้า 4. มันแกว 5.ข้าวบาร์เล่ย์ 6. ข้าวโอ๊ต 7. ถั่วแดง 8. แคนตาลูป 9. แห้ว และ 10.มันสำปะหลังเส้น

ปริมาณความชื้น(เปอร์เซ็นต์ความชื้น) ปริมาณสารโมนาโคลินx10 ($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight) ปริมาณสารสี ($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight)

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณความชื้นในวัตถุดิบข้าวเจ้ามีค่าสูงสุดที่ร้อยละ 71.4500 รองลงมาได้แก่ แคนตาลูป แห้ว มันฝรั่ง มันสำปะหลังเส้น มันแกว ข้าวเหนียว ข้าวบาร์เล่ย์ ข้าวโอ๊ต และถั่วแดงซึ่งมีความชื้นต่ำที่สุดที่ร้อยละ 16.6500 ส่วนผลการสร้างสี พบว่ามันแกวให้การสร้างสีสูงสุด 52.7890 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง รองลงมาเป็นข้าวโอ๊ต และข้าวเจ้า 14.5582 และ 8.9323 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ ขณะที่การสร้างสารโมนาโคลิน พบว่าในข้าวเจ้าเป็นวัตถุดิบที่ให้โมนาโคลินสูงสุด และรองลงมาเป็นมันสำปะหลังเส้น และแห้ว ให้ผลผลิตเท่ากับ 460.277 141.1738 และ 95.7136 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ แต่วัตถุดิบทางการเกษตรชนิดอื่นให้การสร้างสารโมนาโคลินน้อยมากอีกทั้งยังมีการเสียรูปลักษณะไปมาก ทำให้การเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ทำได้ยากขึ้น จากผลการทดลองพบว่าปริมาณความชื้นในวัตถุดิบทางการเกษตรมีความสัมพันธ์กับการเจริญและสร้างสารโมนาโคลิน ซึ่งจากการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้างต้นจึงคัดเลือกวัตถุดิบทางการเกษตรคือ แห้ว มันสำปะหลังเส้น และข้าวเจ้า มาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตโมนาโคลิน โดยศึกษาวิธีการเตรียมวัตถุดิบ และปริมาณความชื้น ต่อไป

4.2 ปริมาณความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตโมนาโคลิน

จากการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนอาหารแข็งที่เป็นวัตถุดิบทางการเกษตรที่ได้รับการคัดเลือก 3 ชนิด ได้แก่ ข้าวเจ้า มันสำปะหลังเส้น และแห้ว โดยทดสอบการเจริญ และการผลิตโมนาโคลินบนวัตถุดิบปริมาณ 50 กรัม ในขวดหมุนขนาด 200 มิลลิลิตร จำนวน 4 ชุด ๆ ละ 5 ขวด โดยใช้วิธีการเตรียมวัตถุดิบแตกต่างกันดังต่อไปนี้

4.2.1 เตรียมข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

หลังจากทำให้ข้าวเจ้าปลอดเชื้อแล้ว จึงเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตรต่างๆ แล้วนำไปหมุนต่อเนื่องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้เมล็ดข้าวเจ้าดูดซับน้ำอย่างทั่วถึง แล้วจึงใส่เชื้อเริ่มต้นปริมาณร้อยละ 3.0 นำไปบ่มบนเครื่องหมุนตามเวลาที่กำหนด และเก็บตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์เพื่อมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น สารสี และสารโมนาโคลินที่เชื้อราโมแนสคัสผลิตได้ผลดังแสดงตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2

หลังจากเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 0.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 มิลลิลิตร พบว่าปริมาณความชื้นสัปดาห์ที่ 0 (ความชื้นเริ่มต้น) มีค่าประมาณร้อยละ 8.1806 12.3288 17.8224 21.8385 และ 24.7885 และเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงเชื้อในสัปดาห์ที่ 5 เป็น 40.1238 52.1452 78.2500 79.4197 และ 81.5583 ตามลำดับ ซึ่งให้ผลการสร้างสารสีเท่ากับ 6.7630 7.6555 16.4740 13.3550 และ 15.9468 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการสร้างสารสีมากที่สุดเมื่อมีปริมาณความชื้นเริ่มต้นหลังจากเติมน้ำปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยให้ปริมาณการผลิตสารสีเท่ากับ 16.4740 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ในขณะที่เมื่อไม่มีการเติมน้ำลงในวัตถุดิบพบว่ามีปริมาณการผลิตสารสีน้อยที่สุดเท่ากับ 6.7630 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ส่วนปริมาณกลูโคสที่พบในข้าวเจ้าเมื่อเริ่มต้นการเลี้ยงเชื้อมีค่าวัดปริมาณกลูโคสได้ 0.0005 0.0004 0.0004 0.0004 และ 0.0003 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง และมีการเปลี่ยนแปลงจนกระทั่งถึงสัปดาห์ที่ 5 ซึ่งมีปริมาณกลูโคสเท่ากับ 0.0164 0.0182 0.0439 0.0188 และ 0.0300 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ

การผลิตสารโมนาโคลินระหว่างการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์ที่ 5 ให้ปริมาณสารโมนาโคลินมากที่สุดเท่ากับ 17.1893 19.4578 41.8715 39.7527 และ 31.112 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ จากการทดลองจะเห็นได้ว่าปริมาณสารโมนาโคลินจะเพิ่มขึ้นเมื่อเชื้อราอายุเพิ่มขึ้นตามลำดับ โดยที่การเติมน้ำที่ 10 มิลลิลิตรพบว่ามีการผลิตสารโมนา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โคลินจากเชื้อราโมแนสคัสได้ดีที่สุดที่ 41.8715 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสีกับความชื้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสี และโมนาโคลินผลิตโดยเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที

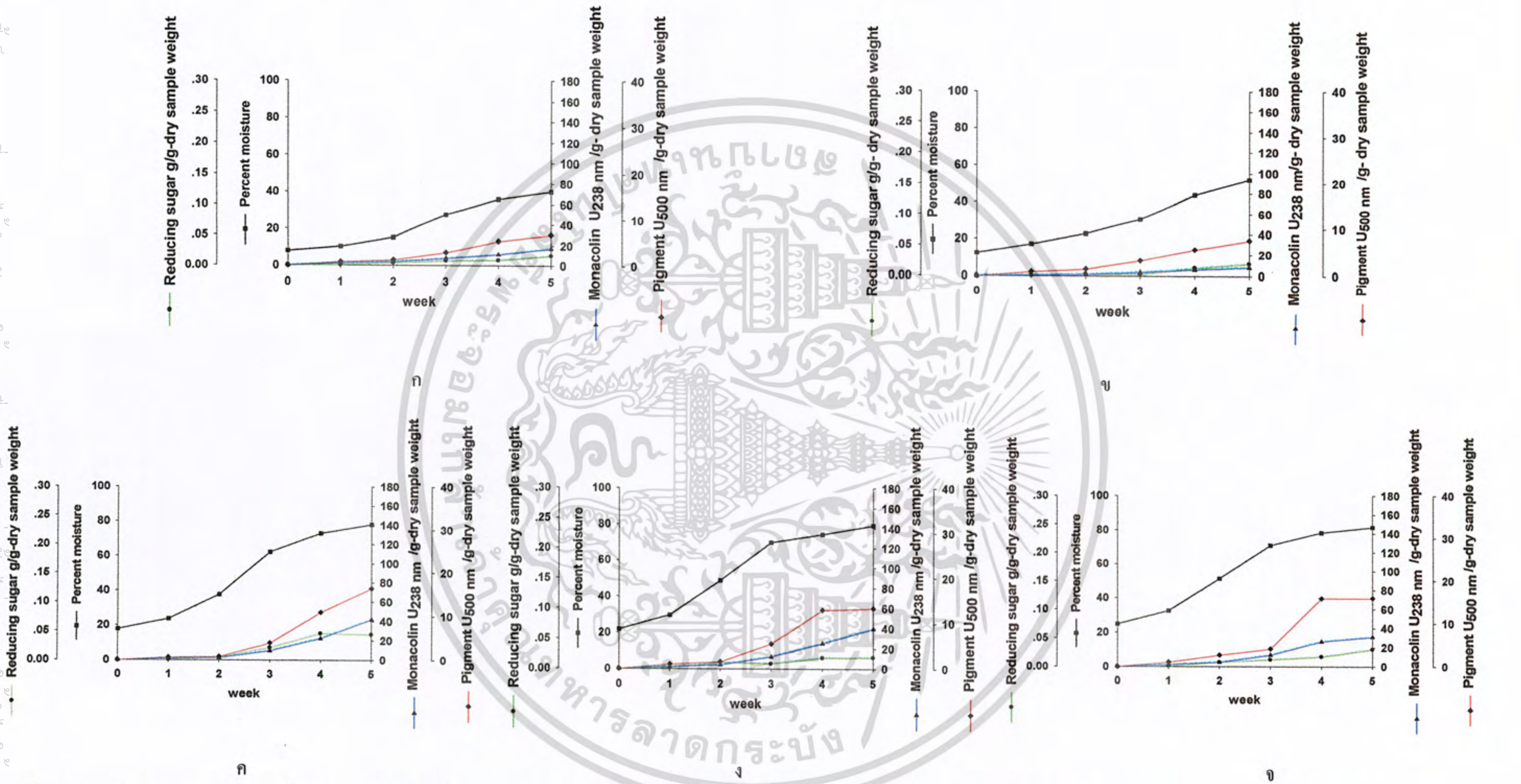
สัปดาห์ที่	ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์ความชื้น)					ปริมาณสารโมนาโคลิน($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)				
	ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)					ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)				
	0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
0	8.1806	12.3288	17.8224	21.8385	24.7885	0	0	0	0	0
1	10.6211	17.1223	23.6529	29.6277	32.4792	2.1872	2.2907	1.7528	2.1570	2.2416
2	15.4311	22.6591	37.6623	48.6906	51.2598	3.8186	4.1182	2.4377	3.9349	4.6325
3	27.8866	30.5198	62.3408	69.7821	70.8413	7.1626	7.8320	9.6106	12.1329	12.1845
4	36.1232	43.5700	73.1404	74.3917	78.3511	11.1854	11.6094	22.4818	25.3084	26.2278
5	40.1238	52.1452	78.2500	79.4197	81.5583	17.1893	19.4578	41.8715	39.7527	31.1142

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

สัปดาห์ที่	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/g-dry sample weight)					ปริมาณสารสี ($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight)				
	ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)					ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)				
	0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
0	0.0005	0.0004	0.0004	0.0004	0.0003	0	0	0	0	0
1	0.0005	0.0009	0.0005	0.0012	0.0009	0.8011	0.8390	0.6420	1.0362	1.0878
2	0.0040	0.0024	0.0050	0.0109	0.0077	1.2557	1.3542	0.8016	1.6080	2.7386
3	0.0079	0.0025	0.0212	0.0085	0.0121	2.9328	3.2069	3.9352	5.5657	4.1561
4	0.0089	0.0116	0.0458	0.0183	0.0173	5.4608	5.6678	10.9758	12.9690	15.8867
5	0.0164	0.0182	0.0439	0.0188	0.0300	6.7630	7.6555	16.4740	13.3550	15.9468

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนบนอาหารแข็งข้าวเจ้าที่นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียสนาน15 นาที โดยได้รับการเติมน้ำคือ (ก) 0 มิลลิลิตร (ข) 5 มิลลิลิตร (ค) 10 มิลลิลิตร (ง) 15 มิลลิลิตร และ (จ) 20 มิลลิลิตร ตามลำดับ ■ ปริมาณความชื้น(เปอร์เซ็นต์ความชื้น) ● ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(g/g-dry sample weight) ◆ ปริมาณสารสี ($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight) ▲ ปริมาณสารโมนาโคลิน ($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 เตรียมข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

หลังจากทำให้ข้าวเจ้าปลอดเชื้อแล้ว จึงเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตรต่างๆ แล้วนำไปหมุนต่อเนื่องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้เมล็ดข้าวเจ้าดูดซับน้ำอย่างทั่วถึง แล้วจึงใส่เชื้อเริ่มต้นปริมาณร้อยละ 3.0 นำไปบ่มบนเครื่องหมุนตามเวลาที่กำหนด และเก็บตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์เพื่อมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น สารสี และสารโมนาโคลินที่เชื้อราโมแนสคัสผลิตได้ ผลดังแสดงตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3

หลังจากเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 0.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 มิลลิลิตร พบว่าปริมาณความชื้นสัปดาห์ที่ 0 (ความชื้นเริ่มต้น) มีค่าประมาณร้อยละ 1.4440 8.9478 18.5597 20.3815 และ 24.7480 ตามลำดับ และเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงเชื้อในสัปดาห์ที่ 5 เป็นร้อยละ 8.9508 42.7784 63.8211 70.5409 และ 74.8507 ตามลำดับ ซึ่งให้ผลการสร้างสารสีเท่ากับ เท่ากับ 4.6952 6.6520 10.6965 13.6706 และ 13.1700 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการสร้างสารสีมากที่สุดเมื่อมีปริมาณความชื้นเริ่มต้นหลังจากเติมน้ำปริมาตร 15 มิลลิลิตร โดยให้ปริมาณการผลิตสารสีเท่ากับ 13.6706 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ในขณะที่เมื่อไม่มีการเติมน้ำลงในวัตถุดิบพบว่ามีปริมาณการผลิตสารสีน้อยที่สุดเท่ากับ 4.6952 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ส่วนปริมาณกลูโคสที่พบในข้าวเจ้าเมื่อเริ่มต้นการเลี้ยงเชื้อมีค่าวัดปริมาณกลูโคสได้ 0.0004 0.0004 0.0006 0.0003 และ 0.0006 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง และมีการเปลี่ยนแปลงจนกระทั่งถึงสัปดาห์ที่ 5 ซึ่งมีปริมาณกลูโคสเท่ากับ ได้ 0.0114 0.0085 0.0448 0.0282 และ 0.0231 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ

การผลิตสารโมนาโคลินระหว่างการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์ที่ 5 ให้ปริมาณสารโมนาโคลินมากที่สุดเท่ากับ 11.9336 14.6522 29.7649 19.1780 และ 22.7096 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ จากการทดลองจะเห็นได้ว่าปริมาณสารโมนาโคลินจะเพิ่มขึ้นเมื่อเชื้อราอายุเพิ่มขึ้นตามลำดับ โดยที่การเติมน้ำที่ 10 มิลลิลิตรพบว่ามีการผลิตสารโมนาโคลินจากเชื้อราโมแนสคัสได้ดีที่สุดที่ 29.7649 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสีกับความชื้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสี และโมนาโคลินผลิตโดยเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนข้าวเจ้าที่ฆ่าเชื้อที่ 180 องศาเซลเซียสนาน 2 ชั่วโมง

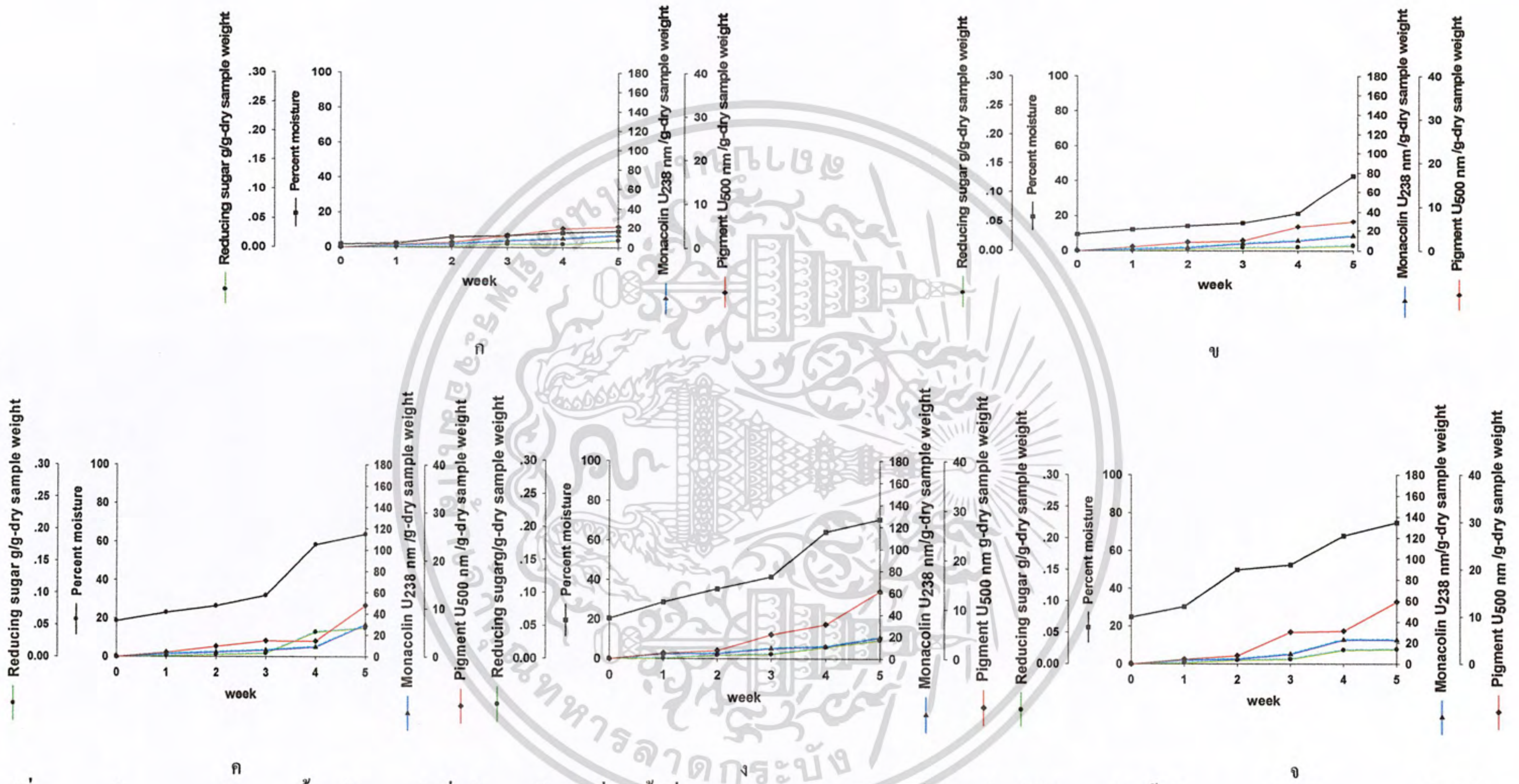
สัปดาห์ที่	ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์ความชื้น)					ปริมาณสารโมนาโคลิน($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)				
	ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)					ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)				
	0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
0	1.4440	8.9478	18.5597	20.3815	24.7480	0	0	0	0	0
1	2.1391	11.7215	22.9708	28.6395	30.2896	2.0377	1.8516	2.5364	4.3804	3.5253
2	5.5537	13.8388	26.3704	35.4095	49.8666	3.4877	3.1993	4.1701	4.7828	4.4870
3	6.3488	15.6909	31.8485	41.5188	52.4306	6.4135	7.0187	6.0435	9.3780	9.2047
4	7.9906	21.3768	58.4192	64.2298	67.8816	8.6130	9.7705	8.9761	11.1253	22.8756
5	8.9508	42.7784	63.8211	70.5409	74.8507	11.9336	14.6522	29.7649	19.1780	22.7096

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ต่อ

สัปดาห์ที่	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/g-dry sample weight)					ปริมาณสารสี ($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight)				
	ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)					ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)				
	0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
0	0.0004	0.0004	0.0006	0.0003	0.0006	0	0	0	0	0
1	0.0005	0.0006	0.0010	0.0007	0.0017	0.7463	0.9258	0.8987	1.1626	1.0214
2	0.0025	0.0031	0.0031	0.0056	0.0059	1.1469	1.9071	2.1655	1.7017	1.7684
3	0.0052	0.0054	0.0051	0.0068	0.0075	2.6261	2.2364	3.3163	4.9108	6.7409
4	0.0051	0.0058	0.0384	0.0176	0.0219	4.2049	5.3817	3.2443	6.9777	6.9786
5	0.0114	0.0085	0.0448	0.0282	0.0231	4.6952	6.6520	10.6965	13.6706	13.1700

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนข้าวเจ้าที่ฆ่าเชื้อที่ 180 องศาเซลเซียสนาน 2 ชั่วโมง โดยได้รับการเติมน้ำคือ (ก) 0 มิลลิลิตร (ข) 5 มิลลิลิตร(ค) 10 มิลลิลิตร (ง) 15 มิลลิลิตร และ (จ) 20 มิลลิลิตร ตามลำดับ ■ ปริมาณความชื้น(เปอร์เซ็นต์ความชื้น) ● ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(g/g-dry sample weight) ◆ ปริมาณสารสี($U_{500\,nm}$/g-dry sample weight) ▲ ปริมาณสารโมนาโคลิน ($U_{238\,nm}$/g-dry sample weight)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 เตรียมมันสำปะหลังเส้นปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

หลังจากทำให้มันสำปะหลังเส้นปลอดเชื้อแล้ว จึงเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตรต่างๆ แล้วนำไปหมุนต่อเนื่องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้ชิ้นมันสำปะหลังเส้นดูดซับน้ำอย่างทั่วถึง แล้วจึงใส่เชื้อเริ่มต้นปริมาณร้อยละ 3.0 นำไปบ่มบนเครื่องหมุนตามเวลาที่กำหนด และเก็บตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์เพื่อมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น สารสี และสารโมนาโคลินที่เชื้อราโมแนสคัสผลิตได้ ผลดังแสดงตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.4

หลังจากเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 0.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 มิลลิลิตร พบว่าปริมาณความชื้นสัปดาห์ที่ 0 (ความชื้นเริ่มต้น) มีค่าประมาณร้อยละ 24.1307 35.2690 38.9305 47.6090 และ 55.3415 ตามลำดับ และเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงเชื้อในสัปดาห์ที่ 5 เป็น 68.1105 54.0794 68.1964 78.2737 และ 90.4362 ตามลำดับ ซึ่งให้ผลการสร้างสารสีเท่ากับ เท่ากับ 36.3342 28.1006 38.1572 25.2915 และ 34.7917 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการสร้างสารสีมากที่สุดเมื่อมีปริมาณความชื้นเริ่มต้นหลังจากเติมน้ำปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยให้ปริมาณการผลิตสารสีเท่ากับ 38.1572 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ในขณะที่เมื่อเติมน้ำลงในวัตถุดิบปริมาตร 15 มิลลิลิตรพบว่ามีปริมาณการผลิตสารสีน้อยที่สุดเท่ากับ 25.2915 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ส่วนปริมาณกลูโคสที่พบในมันสำปะหลังเส้นเมื่อเริ่มต้นการเลี้ยงเชื้อมีค่าวัดปริมาณกลูโคสได้ ได้ 0.0010 0.0016 0.0015 0.0013 และ 0.0009กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง และมีการเปลี่ยนแปลงจนกระทั่งถึงสัปดาห์ที่ 5 ซึ่งมีปริมาณกลูโคสเท่ากับ ได้ 0.0531 0.0372 0.0541 0.2169 และ 0.1839 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ

การผลิตสารโมนาโคลินระหว่างการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์ที่ 5 ที่ระดับน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 0.0 5.0 10.0 และ 15.0 มิลลิลิตร ให้ปริมาณสารโมนาโคลินมากที่สุดเท่ากับ 2.5095 6.2686 6.8392 และ 9.3885 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ แต่การเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ที่สัปดาห์ที่ 3 ให้ปริมาณสารโมนาโคลินมากที่สุดคือ 15.9083 จากการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสีกับความชื้น จะพบว่าเชื้อที่เจริญบนมันสำปะหลังเส้นสามารถผลิตสารสีได้ดีกว่าสารโมนาโคลิน โดยผลิตสารสีได้มากที่สุดในสัปดาห์ที่ 5 เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ความชื้นเท่ากับ ร้อยละ 68.1964 พบปริมาณสารสี 38.152 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสี และโมนาโคลินผลิตโดยเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนมันสำปะหลังเส้น

สัปดาห์ที่	ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์ความชื้น)					ปริมาณสารโมนาโคลิน($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)				
	ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)					ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)				
	0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
0	24.1307	35.2690	38.9305	47.6090	55.3415	0	0	0	0	0
1	23.2696	39.0078	48.1010	57.1195	61.8173	0.5600	1.4709	1.8032	3.4292	1.5082
2	31.6404	40.2500	47.1524	58.4296	69.1161	0.6333	1.5550	3.3758	5.2537	3.9847
3	33.1503	40.2756	38.3355	72.8257	75.6059	1.0259	2.5950	4.7591	4.2709	15.9083
4	62.1709	41.2790	59.3096	72.8295	80.1188	1.8519	2.0939	5.2853	7.2809	10.4919
5	68.1105	54.0794	68.1964	78.2737	90.4362	2.5095	6.2686	6.8392	9.3885	7.9098

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ต่อ

สัปดาห์ที่	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/g-dry sample weight)					ปริมาณสารสี ($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight)				
	ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)					ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)				
	0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
0	0.0010	0.0016	0.0015	0.0013	0.0009	0	0	0	0	0
1	0.0008	0.0017	0.0019	0.0020	0.0019	1.2233	3.5498	4.6818	4.0763	2.5233
2	0.0063	0.0104	0.0163	0.0161	0.0237	5.5872	7.5158	13.5778	5.8828	12.8932
3	0.0147	0.0215	0.0279	0.0316	0.0563	11.7068	10.8780	33.4543	14.6831	24.3505
4	0.0309	0.0319	0.0443	0.0334	0.1288	25.3599	22.7436	30.2221	22.4978	30.2652
5	0.0531	0.0372	0.0541	0.2169	0.1839	36.3342	28.1006	38.1572	25.2915	34.7917

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.4 กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนมันสำปะหลังเส้น โดยได้รับการเติมน้ำคือ (ก) 0 มิลลิลิตร (ข) 5 มิลลิลิตร (ค) 10 มิลลิลิตร (ง) 15 มิลลิลิตร และ (จ) 20 มิลลิลิตร ตามลำดับ ■ ปริมาณความชื้น(เปอร์เซ็นต์ความชื้น) ● ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(g/g-dry sample weight) ◆ ปริมาณสารสี($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight) ▲ ปริมาณสารโมนาโคลิน ($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 เตรียมแห้วปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

หลังจากทำให้แห้วปลอดเชื้อแล้ว จึงเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตรต่างๆ แล้วนำไปหมุนต่อเนื่องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้ชิ้นแห้วดูดซับน้ำอย่างทั่วถึง แล้วจึงใส่เชื้อเริ่มต้นปริมาณร้อยละ 3.0 นำไปบ่มบนเครื่องหมุนตามเวลาที่กำหนด และเก็บตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์เพื่อมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น สารสี และสารโมนาโคลินที่เชื้อราโมแนสคัสผลิตได้ ผลดังแสดงตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.5

หลังจากเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 0.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 มิลลิลิตร พบว่าปริมาณความชื้นสัปดาห์ที่ 0 (ความชื้นเริ่มต้น) มีค่าประมาณร้อยละ 27.2406 31.3324 41.7682 50.2204 และ 58.8914 และเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงเชื้อในสัปดาห์ที่ 5 เป็น 61.7892 64.1298 65.2814 72.1307 และ 80.0079 ตามลำดับ ซึ่งให้ผลการสร้างสารสีเท่ากับ 10.8086 11.7640 8.4621 10.4863 และ 7.7186 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการสร้างสารสีมากที่สุดเมื่อมีปริมาณความชื้นเริ่มต้นหลังจากเติมน้ำปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยให้ปริมาณการผลิตสารสีเท่ากับ 11.7640 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ในขณะที่มีการเติมน้ำลงในวัตถุดิบปริมาตร 20 มิลลิลิตรพบว่ามีปริมาณการผลิตสารสีน้อยที่สุดเท่ากับ 7.7186 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ส่วนปริมาณกลูโคสที่พบในแห้วเมื่อเริ่มต้นการเลี้ยงเชื้อมีค่าวัดปริมาณกลูโคสได้ 0.0005 0.0005 0.0006 0.0005 และ 0.0006 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง และมีการเปลี่ยนแปลงจนกระทั่งถึงสัปดาห์ที่ 5 ซึ่งมีปริมาณกลูโคสเท่ากับ 0.0236 0.0234 0.0250 0.0197 และ 0.0232 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ

การผลิตสารโมนาโคลินระหว่างการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์ที่ 5 ให้ปริมาณสารโมนาโคลินมากที่สุดเท่ากับ 27.4717 11.3283 15.4872 64.1596 และ 15.4372 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ จากการทดลองจะเห็นได้ว่าปริมาณสารโมนาโคลินจะเพิ่มขึ้นเมื่อเชื้อราอายุเพิ่มขึ้นตามลำดับ โดยที่การเติมน้ำที่ 15 มิลลิลิตรพบว่ามีการผลิตสารโมนาโคลินจากเชื้อราโมแนสคัสได้ดีที่สุดที่ 64.1596 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสีกับความชื้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสี และ โมนาโคลินผลิตโดยเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนแห้ว

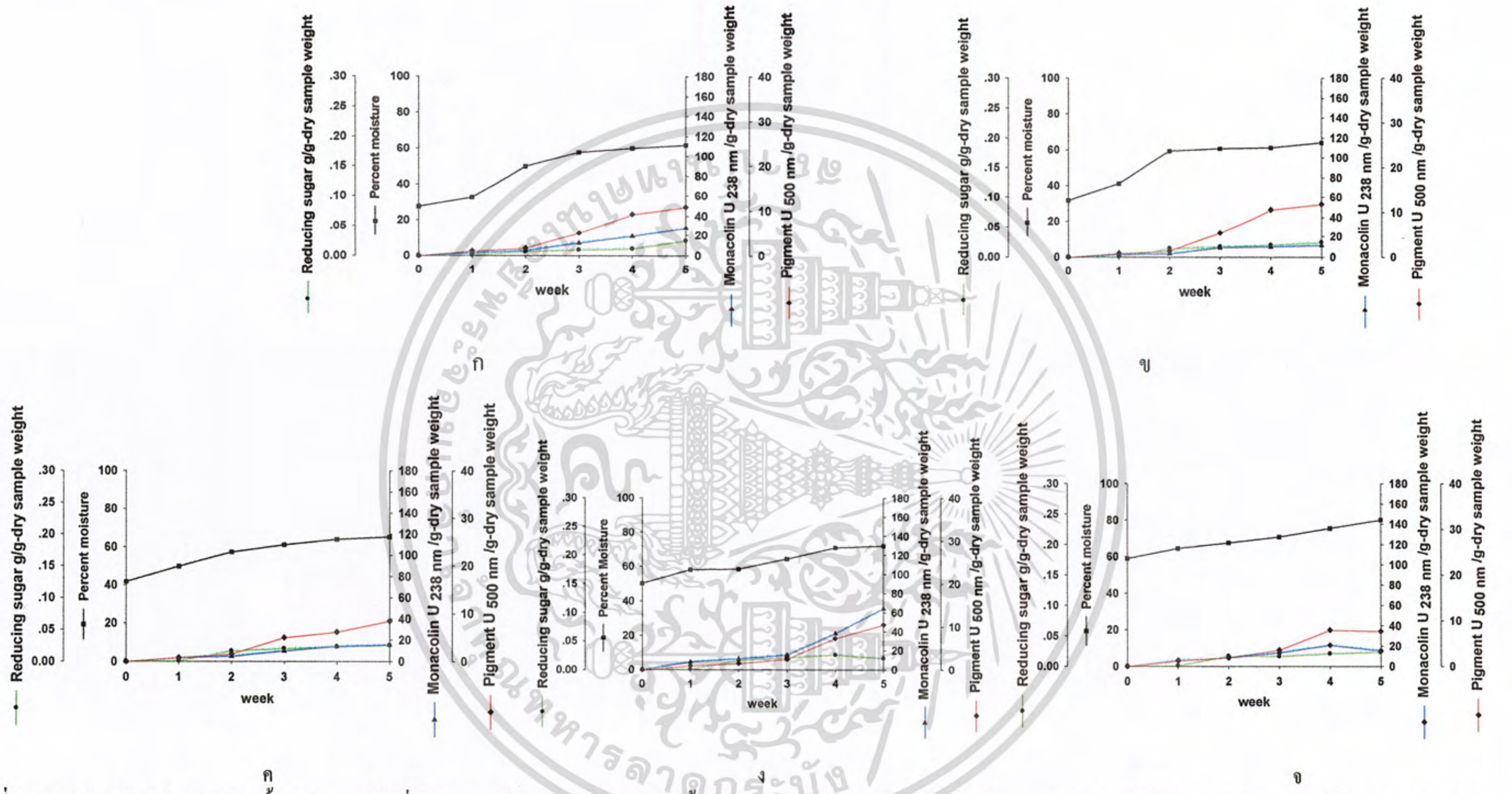
สัปดาห์ที่	ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์ความชื้น)					ปริมาณสารโมนาโคลิน($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)				
	ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)					ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)				
	0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
0	27.2406	31.3324	41.7682	50.2204	58.8914	0	0	0	0	0
1	32.3491	41.2273	49.7109	58.1603	64.5324	2.7601	2.7115	3.5433	8.2975	5.9656
2	49.8095	59.3116	57.2285	58.4914	67.5820	5.0451	3.4267	4.7618	11.4845	8.4202
3	57.6286	60.7107	61.1285	64.3532	70.8414	12.0686	9.2032	9.7495	15.4404	13.2937
4	60.0317	61.2155	64.0078	71.0590	75.4777	19.0369	9.9920	14.0468	38.0385	20.7636
5	61.7892	64.1298	65.2814	72.1307	80.0079	27.4717	11.3283	15.4872	64.1596	15.4372

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ต่อ

สัปดาห์ที่	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/g-dry sample weight)					ปริมาณสารสี ($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight)				
	ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)					ปริมาตรของน้ำที่เติม(มิลลิลิตร)				
	0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
0	0.0005	0.0005	0.0006	0.0005	0.0006	0	0	0	0	0
1	0.0006	0.0008	0.0009	0.0008	0.0009	1.0109	0.8572	0.8034	0.9547	1.2058
2	0.0067	0.0137	0.0160	0.0163	0.0166	1.6590	1.3838	1.5292	1.4704	1.9448
3	0.0094	0.0165	0.0199	0.0211	0.0163	4.9416	5.2870	4.9800	2.5004	3.5575
4	0.0110	0.0191	0.0229	0.0261	0.0207	9.2940	10.5885	6.1713	7.3474	7.9806
5	0.0236	0.0234	0.0250	0.0197	0.0232	10.8086	11.7640	8.4621	10.4863	7.7186

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนแห้ว โดยได้รับการเติมน้ำคือ (ก) 0 มิลลิลิตร (ข) 5 มิลลิลิตร (ค) 10 มิลลิลิตร, (ง) 15 มิลลิลิตร และ (จ) 20 มิลลิลิตร ตามลำดับ ■ ปริมาณความชื้น(เปอร์เซ็นต์ความชื้น) ● ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(g/g-dry sample weight) ◆ ปริมาณสารสี($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight) ▲ ปริมาณสารโมนาโคลิน ($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบผลการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสพบว่าเมื่อเพื่อศึกษาความเหมาะสมต่อการสร้างสารต่างๆ จากสารตั้งต้นทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ข้าว มันเส้น และแห้ว พบว่าที่ความชื้นแตกต่างเชื้อราโมแนสคัสมีการผลิตสารต่างๆ ที่แตกต่างกัน ดังจะเห็นได้ว่าปริมาณความชื้นมีความสัมพันธ์ต่อการผลิตสารสี และสารโมนาโคลินของเชื้อราโมแนสคัส โดยที่ข้าวนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาทีที่การเติมน้ำ 10 มิลลิลิตรมีอัตราการผลิตสารโมนาโคลินได้มากที่สุด ข้าวที่อบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าที่การเติมน้ำ 10 มิลลิลิตรมีอัตราการผลิตสารโมนาโคลินได้มากที่สุด มันสำปะหลังเส้นพบว่าที่การเติมน้ำ 20 มิลลิลิตรมีอัตราการผลิตสารโมนาโคลินได้มากที่สุด และแห้วพบว่าที่การเติมน้ำ 15 มิลลิลิตรมีอัตราการผลิตสารโมนาโคลินได้มากที่สุด เมื่อทำการคัดเลือกจากคุณสมบัติของวัตถุดิบจะเห็นได้ว่า มันสำปะหลังเส้นมีอัตราการผลิตสารสีได้ดีกว่าสารโมนาโคลิน รวมทั้งมันสำปะหลังเส้นและแห้วยังมีประสิทธิภาพความคงตัวในรูปร่างต่ำ ทำให้พื้นที่ผิวสัมผัสเสียไปเมื่อเลี้ยงเชื้อโมนาโคลินในระยะเวลานานมากขึ้น ส่วนข้าวนั้นมีความคงตัวของรูปร่างที่ดีกว่า ข้าวจึงเป็นวัตถุดิบที่น่าสนใจในการนำมาศึกษาในขั้นต่อไป

4.3 การผลิตโมนาโคลินโดยเลี้ยงเชื้อบนข้าวเจ้าปริมาณ 50 กรัม

จากการทดลอง 4.1 และ 4.2 เพื่อคัดเลือกหาวัตถุดิบที่มีความเหมาะสมในการผลิตสารโมนาโคลินที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส และหาปริมาณความชื้นที่เหมาะสม พบว่าวัตถุดิบที่เหมาะสมในการนำมาเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส คือ ข้าวเจ้า และปริมาตรของน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตสารโมนาโคลิน คือ 10 มิลลิลิตร ต่อ ข้าวเจ้า 50 กรัม จึงการทดลองโดยการเตรียมข้าวเจ้าที่แตกต่างกัน 3 แบบ คือ ข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที ข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และข้าวเจ้าแช่น้ำเป็นเวลา 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที แล้วทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

4.3.1 เตรียมข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

หลังจากทำให้ข้าวปลอดเชื้อแล้ว จึงเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปหมุนต่อเนื่องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้เมล็ดข้าวดูดซับน้ำอย่างทั่วถึง แล้วจึงใส่เชื้อเริ่มต้นปริมาณร้อยละ 3.0 นำไปบ่มบนเครื่องหมุนตามเวลาที่กำหนด และเก็บตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์เพื่อมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินที่เชื้อราโมแนสคัสผลิตได้ ผลดังแสดงตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าปริมาณความชื้นสัปดาห์ที่ 0 (ความชื้นเริ่มต้น) มีค่าประมาณร้อยละ 15.6795 มีปริมาณกลูโคสเท่ากับ 0.0009 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ในระหว่างการเลี้ยงเชื้อพบว่าปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินมีเปลี่ยนแปลงเพิ่มมากขึ้นจนกระทั่งสิ้นสุดระยะเวลาการเลี้ยงในสัปดาห์ที่ 5 พบปริมาณความชื้นประมาณร้อยละ 78.2411 ซึ่งให้ผลการสร้างสารโมนาโคลินอยู่ที่ 79.0912 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง มีปริมาณกลูโคสเท่ากับ 0.1159 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง และผลิตสารสีได้ 15.0691 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง

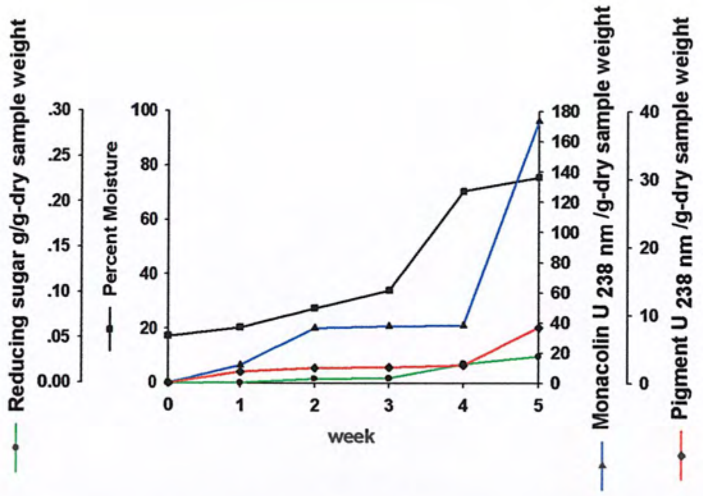
4.3.2 เตรียมข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

หลังจากทำให้ข้าวปลอดเชื้อแล้ว จึงเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปหมุนต่อเนื่องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้ข้าวเจ้าดูดซับน้ำอย่างทั่วถึง แล้วจึงใส่เชื้อเริ่มต้นปริมาณร้อยละ 3.0 นำไปบ่มบนเครื่องหมุนตามเวลาที่กำหนด และเก็บตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์เพื่อมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินที่เชื้อราโมแนสคัสผลิตได้ ผลดังแสดงตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 แสดงปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสีและสารโมนาโคลินของข้าวปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ข้าวปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง				
ระยะเวลา (สัปดาห์)	ปริมาณความชื้น (%)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/g-dry sample weight)	สารสี ($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight)	สารโมนาโคลิน ($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)
0	17.3082	0.0003	0	0
1	20.5806	0.0005	1.7237	11.7411
2	27.6406	0.0049	2.2570	36.61859
3	34.3319	0.0055	2.415479	37.7488
4	70.7276	0.0216	2.6471	38.0673
5	75.8301	0.0296	8.1636	173.4343

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนข้าวเจ้าที่นึ่งฆ่าเชื้อที่ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ปริมาณความชื้น(เปอร์เซ็นต์ความชื้น) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(g/g-dry sample weight) ปริมาณสารสี($U_{500\,nm}$/g-dry sample weight) ปริมาณสารโมนาโคลิน ($U_{238\,nm}$/g-dry sample weight)

จากการทดลองเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าปริมาณความชื้นสัปดาห์ที่ 0 (ความชื้นเริ่มต้น) มีค่าประมาณร้อยละ 17.3082 มีปริมาณกลูโคสเท่ากับ 0.0003 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ในระหว่างการเลี้ยงเชื้อพบว่าปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินมีเปลี่ยนแปลงเพิ่มมากขึ้นจนกระทั่งสิ้นสุดระยะเวลาการเลี้ยงในสัปดาห์ที่ 5 พบปริมาณความชื้นประมาณร้อยละ 75.8301 ซึ่งให้ผลการสร้างสารโมนาโคลินอยู่มากที่สุดคือ 173.4343 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง มีปริมาณกลูโคสเท่ากับ 0.0296 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง และผลิตสารสีได้ 8.1636 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง

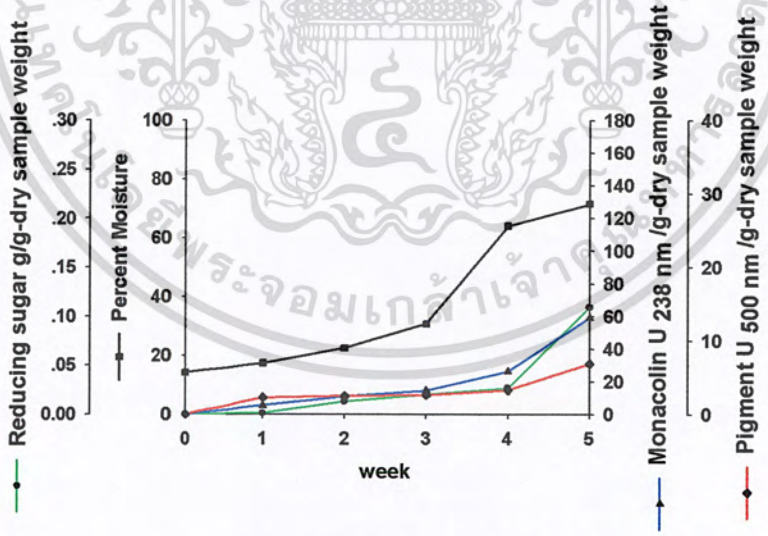
4.3.3 เตรียมข้าวเจ้าแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที แล้วทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

หลังจากทำให้ข้าวปลอดเชื้อแล้ว ใส่เชื้อเริ่มต้นปริมาณร้อยละ 3.0 นำไปบ่มบนเครื่องหมุนตามเวลาที่กำหนดและเก็บตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์เพื่อมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินที่เชื้อราโมแนสคัสผลิตได้ ผลดังแสดงในตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสีและสารโมนาโคลินของข้าวเจ้าแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที ทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที

ข้าวเจ้าแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที ทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที				
ระยะเวลา (สัปดาห์)	ปริมาณความชื้น (%)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/g-dry sample weight)	สารสี ($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight)	สารโมนาโคลิน ($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)
0	14.2591	0.0006	0	0
1	17.4385	0.0011	2.3015	5.3003
2	22.5083	0.0129	2.5014	10.8914
3	30.7795	0.0204	2.6396	14.5470
4	64.2219	0.0268	3.2824	26.3154
5	71.6615	0.1090	6.8821	59.0851



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนข้าวเจ้าแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที แล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ■ ปริมาณความชื้น(เปอร์เซ็นต์ความชื้น) ● ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(g/g-dry sample weight) ◆ ปริมาณสารสี($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight) ▲ ปริมาณสารโมนาโคลิน ($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าปริมาณความชื้นสัปดาห์ที่ 0 (ความชื้นเริ่มต้น) มีค่าประมาณร้อยละ 14.25 มีปริมาณกลูโคสเท่ากับ 0.0006 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ในระหว่างการเลี้ยงเชื้อพบว่าปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินมีเปลี่ยนแปลงเพิ่มมากขึ้นจนกระทั่งสิ้นสุดระยะเวลาการเลี้ยงในสัปดาห์ที่ 5 พบปริมาณความชื้นประมาณร้อยละ 71.66 ซึ่งให้ผลการสร้างสารโมนาโคลินมากสุดอยู่ที่ 59.0851 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง มีปริมาณกลูโคสเท่ากับ 0.1090 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง และผลิตสารสีได้ 6.8821 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง

เมื่อทำการทดลองโดยใช้ข้าวเจ้าปริมาณ 50 กรัมมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตสารโมนาโคลินที่การเตรียมตัวอย่างต่างกันพบว่าข้าวเจ้าปลอดเชื้ออุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงให้โมนาโคลินสูงที่สุด รองลงมาเป็นข้าวเจ้าปลอดเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และน้อยที่สุดคือ ข้าวเจ้าแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที ทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ได้ผลดังนี้ 173.4343 79.0912 และ 59.0851 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ จึงได้ทำการทดลองเพิ่มกำลังการผลิตโดยใช้ข้าวเจ้าปริมาณ 500 กรัม

4.3 การผลิตโมนาโคลินโดยเลี้ยงเชื้อบนข้าวเจ้าปริมาณ 500 กรัม

เพื่อเป็นการศึกษาการเพิ่มผลผลิตสารโมนาโคลินที่มีปริมาณมากยิ่งขึ้น จึงมีการพัฒนาศักยภาพ เพิ่มปริมาณวัตถุดิบทำให้อัตราการผลิตสูงขึ้นคือ มีการเพิ่มปริมาณของข้าวเจ้าเป็น 500 กรัม และปริมาตรน้ำที่เติมคือ 100 มิลลิลิตร เพื่อทำการศึกษาวิธีการผลิตสารโมนาโคลินเพื่อให้ได้ผลผลิตมากยิ่งขึ้น

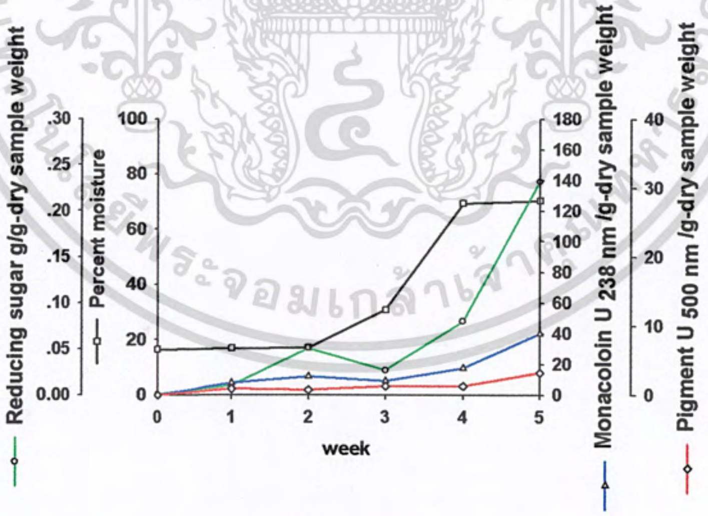
4.4.1 เตรียมข้าวเจ้าที่นึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

หลังจากทำให้ข้าวปลอดเชื้อแล้ว จึงเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปหมุนต่อเนื่องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้เมล็ดข้าวดูดซับน้ำอย่างทั่วถึง แล้วจึงใส่เชื้อเริ่มต้นปริมาณร้อยละ 3.0 นำไปบ่มบนเครื่องหมุนตามเวลาที่กำหนด และเก็บตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์เพื่อมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินที่เชื้อราโมแนสคัสผลิตได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.9 และรูปที่ 4.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 แสดงปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสีและสารโมนาโคลินของข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที				
ระยะเวลา (สัปดาห์)	ปริมาณความชื้น (%)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/g-dry sample weight)	สารสี ($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight)	สารโมนาโคลิน ($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)
0	16.4835	0.0002	0	0
1	16.8635	0.0099	0.8505	7.9134
2	17.0793	0.0508	0.7335	11.9935
3	30.9058	0.0267	1.2662	9.1855
4	69.4163	0.0800	1.2656	17.4374
5	70.2845	0.2316	3.1858	39.9010



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสข้าวเจ้า 500 กรัมนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปริมาณความชื้น(เปอร์เซ็นต์ความชื้น) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(g/g-dry sample weight) ปริมาณสารสี($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight) ปริมาณสารโมนาโคลิน ($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าปริมาณความชื้นสัปดาห์ที่ 0 (ความชื้นเริ่มต้น) มีค่าประมาณร้อยละ 16.4835 มีปริมาณกลูโคสเท่ากับ 0.0002 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ในระหว่างการเลี้ยงเชื้อพบว่าปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินมีเปลี่ยนแปลงเพิ่มมากขึ้นจนกระทั่งสิ้นสุดระยะเวลาการเลี้ยงในสัปดาห์ที่ 5 พบปริมาณความชื้นประมาณร้อยละ 70.2845 ซึ่งให้ผลการสร้างสารโมนาโคลินมากสุดอยู่ที่ 39.9010 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง มีปริมาณกลูโคสเท่ากับ 0.2316 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง และผลิตสารสีได้ 3.1858 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง

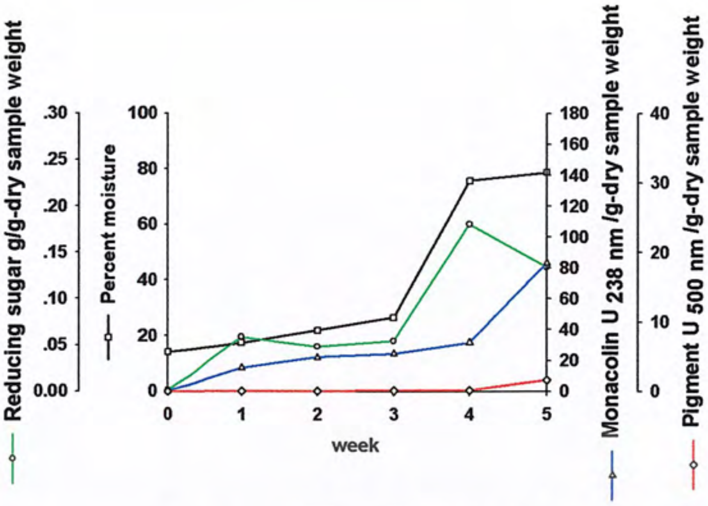
4.4.2 เตรียมข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

หลังจากทำให้ข้าวปลอดเชื้อแล้ว จึงเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปหมุนต่อเนื่องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้เมล็ดข้าวดูดซับน้ำอย่างทั่วถึง แล้วจึงใส่เชื้อเริ่มต้นปริมาณร้อยละ 3.0 นำไปบ่มบนเครื่องหมุนตามเวลาที่กำหนด และเก็บตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์เพื่อมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินที่เชื้อราโมแนสคัสผลิตได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4. 10 และรูปที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 แสดงปริมาณความชื้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณสารสีและสารโมนาโคลินของข้าวเจ้า 500 กรัมนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ข้าวอบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง				
ระยะเวลา (สัปดาห์)	ปริมาณความชื้น (%)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/g-dry sample weight)	สารสี ($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight)	สารโมนาโคลิน ($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)
0	14.0940	0.0008	0	0
1	17.6238	0.0590	0.0755	15.4755
2	22.0557	0.0484	0.1079	22.1447
3	26.6494	0.0544	0.1353	24.4235
4	75.9145	0.1806	0.1999	31.7071
5	78.7271	0.1341	1.6620	83.1654

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสข้าวเจ้า 500 กรัมนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปริมาณความชื้น(เปอร์เซ็นต์ความชื้น) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(g/g-dry sample weight) ปริมาณสารสี($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight) ปริมาณสารโมนาโคลิน ($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)

จากการทดลองเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าปริมาณความชื้นสัปดาห์ที่ 0 (ความชื้นเริ่มต้น) มีค่าประมาณร้อยละ 14.0940 มีปริมาณกลูโคสเท่ากับ 0.0008 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ในระหว่างการเลี้ยงเชื้อพบว่าปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินมีเปลี่ยนแปลงเพิ่มมากขึ้นจนกระทั่งสิ้นสุดระยะเวลาการเลี้ยงในสัปดาห์ที่ 5 พบปริมาณความชื้นประมาณร้อยละ 78.7271 ซึ่งให้ผลการสร้างสารโมนาโคลินมากสุดอยู่ที่ 83.1654 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง มีปริมาณกลูโคสเท่ากับ 0.1341 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง และผลิตสารสีได้ 1.6620 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง

4.4.3 เตรียมข้าวแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที แล้วทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

หลังจากทำให้ข้าวปลอดเชื้อแล้ว จึงเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปหมุนต่อเนื่องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้เมล็ดข้าวดูดซับน้ำอย่างทั่วถึง แล้วจึงใส่เชื้อเริ่มต้นปริมาณร้อยละ 3.0 นำไปบ่มบนเครื่องหมุนตามเวลาที่กำหนด และเก็บตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์เพื่อมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินที่เชื้อราโมแนสคัสผลิตได้ผล ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.11

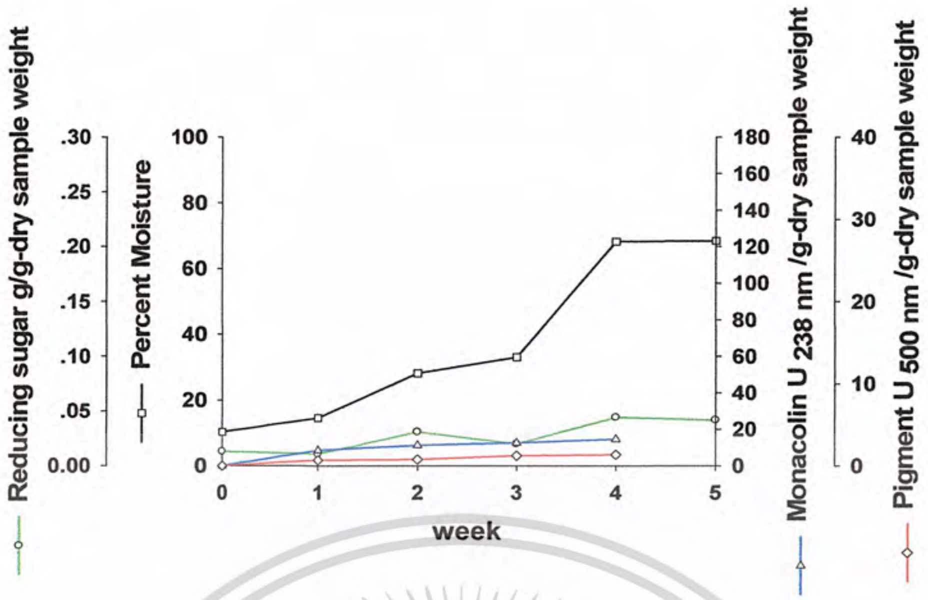
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 แสดงปริมาณความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสีและสารโมนาโคลินของข้าวเจ้าแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที ทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

ข้าวเจ้าแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที ทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที				
ระยะเวลา (สัปดาห์)	ปริมาณความชื้น (%)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/g-dry sample weight)	สารสี ($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight)	สารโมนาโคลิน ($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)
0	10.2804	0.0129	0	0
1	14.5985	0.0107	0.6908	8.5315
2	28.1923	0.0309	0.7782	11.2906
3	33.0635	0.0201	1.2306	12.6387
4	68.2152	0.0443	1.3650	14.6564
5	68.4101	0.0418	0	0

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 กราฟแสดงการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนข้าวเจ้า 500 กรัมแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที ปริมาณความชื้น(เปอร์เซ็นต์ความชื้น) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(g/g-dry sample weight) ปริมาณสารสี($U_{500\ nm}$/g-dry sample weight) ปริมาณสารโมนาโคลิน ($U_{238\ nm}$/g-dry sample weight)

จากการทดลองเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าปริมาณความชื้นสัปดาห์ที่ 0 (ความชื้นเริ่มต้น) มีค่าประมาณร้อยละ 10.2804 มีปริมาณกลูโคสเท่ากับ 0.0129 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ในระหว่างการเลี้ยงเชื้อพบว่าปริมาณความชื้น น้ำตาลกลูโคส สารสี และสารโมนาโคลินมีเปลี่ยนแปลงเพิ่มมากขึ้นจนกระทั่งสัปดาห์ที่ 4 พบปริมาณความชื้นประมาณร้อยละ 68.2152 ซึ่งให้ผลการสร้างสารโมนาโคลินอยู่ที่ 14.6564 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง มีปริมาณกลูโคสเท่ากับ 0.0443 กรัมต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง และผลิตสารสีได้ 1.3650 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ส่วนในสัปดาห์ที่ 5 เกิดการเก็บตัวอย่างที่ไม่ดีทำให้ข้อมูลของสารสีและโมนาโคลินผิดพลาด

ในการทดลองเพิ่มกำลังการผลิตโดยใช้ข้าวเจ้าปริมาณ 500 กรัมมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตสารโมนาโคลินที่การเตรียมตัวอย่างต่างกันพบว่าที่สัปดาห์ที่ 5 ข้าวเจ้าปลอดเชื้ออุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงให้โมนาโคลินสูงที่สุดอยู่ที่ 83.1654 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง และข้าวเจ้าปลอดเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีที่สัปดาห์ที่ 5 ให้สารโมนาโคลินสูงสุดอยู่ที่ 39.9010 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง และสัปดาห์ที่ 4 ข้าวเจ้าแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาทีทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ได้ผลดังนี้ 14.6565 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างข้าวเจ้า 50 กรัมกับ ข้าวเจ้า 500 กรัม พบว่าที่สัปดาห์ที่ 5 ของข้าวเจ้า ปลอดเชื้ออุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้สารโมนาโคลินสูงที่สุดคือ 173.4343 และ 83.1654 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง จะเห็นได้ว่าเมื่อทำการเพิ่มกำลังการผลิตแล้วเชื้อผลิตสารโมนาโคลินได้ลดลง ทั้งนี้เป็นเพราะในขณะหมุนขวด ทำให้เกิดการคลุกเคล้าของเชื้อรากับข้าวเจ้า อาจทำให้เกิดแรงเฉือนซึ่งส่งผลให้เส้นใยของเชื้อราโมแนสคัสถูกทำลาย ทำให้เชื้อเจริญบนวัตถุดิบได้ไม่ดีได้เท่ากับการใช้ข้าวเจ้า 50 กรัม ในขวดอาหารขนาด 200 มิลลิลิตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการผลิตโมนาโคลิน โดยเชื้อรา *Monascus purpureus* ในขั้นแรกได้ทำการทดลองเพื่อคัดเลือกวัตถุดิบทางการเกษตรที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญและผลิตโมนาโคลิน ซึ่งได้วัตถุดิบ 3 ชนิดได้แก่ แห้ว มันสำปะหลังเส้น และข้าวเจ้า จากวัตถุดิบ 10 ชนิดด้วยกัน

ในขั้นต่อมานำวัตถุดิบทั้ง 3 ชนิดมาหาปริมาณความชื้นที่เหมาะสมต่อการผลิตโมนาโคลิน ด้วยวิธีการเติมน้ำที่ปริมาตรต่างๆ ซึ่งข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เติมน้ำปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร มีปริมาณความชื้นร้อยละ 78.25 สามารถผลิตสารโมนาโคลินได้ 41.8715 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ส่วนข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เติมน้ำปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร จะมีความชื้นร้อยละ 63.8211 สามารถผลิตสารโมนาโคลินได้ 22.7096 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ในส่วนของมันสำปะหลังเส้นและแห้วเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อราในเวลาที่นานขึ้น ทำให้ความคงตัวและลักษณะเนื้อสัมผัสของวัตถุดิบทั้ง 2 ชนิดเสียสภาพไป จึงไม่เหมาะสมต่อการผลิตโมนาโคลิน

ในลำดับต่อไปนำข้าวเจ้ามาผลิตโมนาโคลินโดยการเตรียมข้าวเจ้าต่างกัน 3 แบบ ได้แก่ ข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เติมน้ำปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร ข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เติมน้ำปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร และ ข้าวเจ้าแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาทีทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ซึ่งข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เติมน้ำปริมาตร 10.0 มิลลิลิตรมีปริมาณสารโมนาโคลินมากที่สุดคือ 173.4343 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง

และในขั้นสุดท้ายได้ทำการเพิ่มกำลังการผลิตจากเดิมใช้ข้าวเจ้า 50 กรัมเป็น 500 กรัม เพื่อต้องการให้ผลิตโมนาโคลินได้มากขึ้น โดยการเตรียมข้าวเจ้าต่างกันออกไป 3 แบบ ซึ่งข้าวเจ้าปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เติมน้ำปริมาตร 100.0 มิลลิลิตร มีสารโมนาโคลินมากที่สุดคือ 83.1655 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มกำลังการผลิตแล้วสารโมนาโคลินมีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวเจ้า 50 กรัม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก พื้นที่ผิวสัมผัสของขวดกับข้าวเจ้าขณะหมุนขวดอาจทำให้เกิดแรงเฉือน ซึ่งทำให้เส้นใยของเชื้อราเสียหาย ทำให้เชื้อราเจริญได้ไม่ดีเท่าที่ควร จึงส่งผลให้การผลิตสารโมนาโคลินลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1.ควรเพิ่มระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์เพื่อให้ผลการทดลองที่ได้ทราบเวลาที่เชื้อรา *Monascus purpureus* ผลิตสารโมนาโคลินมีปริมาณมากที่สุดอย่างแท้จริง

2.ควรเพิ่มวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารโมนาโคลินด้วยวิธีอื่นร่วมด้วยเช่น HPLC (High Performance Liquid Chromatography) เพื่อยืนยันปริมาณสารโมนาโคลินได้ถูกต้องและแม่นยำมากยิ่งขึ้น

3.ควรเลือกภาชนะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อรา ให้มีความเหมาะสมและทำให้เส้นใยของเชื้อราซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเสียหายน้อยที่สุด

4. ควรมีการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโมนาโคลินเพิ่มเติม เช่น pH

5.ในระหว่างการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* มีการผลิตแอลกอฮอล์ขึ้นดังนั้นควรศึกษาเพิ่มเติมว่า แอลกอฮอล์ที่เชื้อผลิตขึ้นนั้นจะส่งผลต่อการผลิตสารโมนาโคลินหรือไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กมลนันท์ หลักรอด ชุลี ชัยศรีสุข และ บุษบา ยงสมิทธ์. 2540. การวิเคราะห์ยีโนมของราข้าวแดง (*Monascus* spp.) โดยการใช้เทคนิคการสุ่มขยายชิ้นดีเอนเอ (RAPD) บทคัดย่อ การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 หน้า 212.

กังสดาลย์ บุญปราบ. 2538. การคัดเลือกเชื้อกลายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัสเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตข้าวแดง. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

กังสดาลย์ บุญปราบ พูลพิไล สุวรรณฤทธิ์ และ นภา โล่ห์ทอง. 2539. การคัดเลือก Glucose derepression mutants เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตข้าวแดงและกลไกควบคุมการสร้างสีของเชื้อกลายพันธุ์. รายงานเรื่องเต็ม การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 34. สาขาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 37-45.

กิ่งจันทน์ จูมพลหล้า. 2544. การผลิตไคติเนสของเชื้อราที่ทนอุณหภูมิสูงโดยวิธีการหมักในสภาพอาหารแข็ง. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

กำเนิด สุภัณวงษ์, จงจินต์ ศิวะศิลป, ฉัตรชัย กิติพรชัย, มรกต สุกโชติรัตน์, วัณชัย สนธิไชย, อภิญญา ผลิโกมล และ อุราภรณ์ สอาดสุด. 2523. คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

ชุลี ชัยศรีสุข. 2536 การเตรียมโปรโตพลาสต์จากเส้นใยของราข้าวแดง *Monascus* sp. KB6SR, เพื่อใช้เป็นแหล่งโครโมโซมที่คงสภาพ. วารสารวิทยาศาสตร์ มก. 11 (3) : 122-129.

เชิดชัย เชียวธีรกุล ประสิทธิ์ แซ่ลี้ และ ปนัดดา แซ่อึ้ง. 2519. สีแดงจากข้าว (อังคัก) วารสารอาหาร. 8 : 55.

นพกาญจน์ รัตนกิจ. 2543. การผลิตไคติเนสจากเชื้อราด้วยวิธีการหมักในสภาพของแข็งโดยใช้เปลือกกุ้งและข้าวโพดหมัก.วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

บุษบา ยงสมิทธ์. 2518. ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการผลิตข้าวแดงโดยเชื้อราโมแนสคัส. บทปฏิบัติการในวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 2.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บุษบา ยงสมิทธ์ และ วรรณภา ลาบโลภา. 2527. การใช้ประโยชน์แป้งมันสำปะหลังในการผลิตสีผสมอาหาร และเอนไซม์ย่อยแป้ง โดยเชื้อราโมแนสคัสในสภาพหมักเปียก รายงานการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 22 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ หน้า 451-452.

บุษบา ยงสมิทธ์ และ วรรณภา ลาบโลภา. 2528. สีผสมอาหารจากมันสำปะหลังโดยเชื้อราโมแนสคัส. วิทยาสารเกษตรศาสตร์ (วิทย์.). 19 (1) : 45-50.

บุษบา ยงสมิทธ์. 2540. จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

พลายแก้ว ไชยเบญจรงค์ และ บุษบา ยงสมิทธ์. 2534. การศึกษาเบื้องต้นการผลิตโคจิสีแดงของโมแนสคัส เตรียมจากวัตถุดิบชนิดต่างๆ. รายงานการประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 29 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ หน้า 283-292.

รัตนา สุขสรรค์. 2524. ข้าวแดงสีธรรมชาติสำหรับใช้ผสมอาหาร วารสารวิทยาศาสตร์. 35:336-337.

ศุลิเชษฐ์ ทองกล่ำ. 2538. ความเข้มข้นของกากมันสำปะหลังและ avicel จำนวนเซลล์เริ่มต้นของ *Candida* sp. และระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส. ปัญหาทางชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

สมบัติ ใจคำ. 2550. เทคนิคและวิธีการทางจุลชีววิทยา 1. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เสาวนิตย์ ชอบบุญ ชุลี ชัยศรีสุข และ บุษบา ยงสมิทธ์. 2540. การวิเคราะห์ยีโนมของราข้าวแดง โดยการตรวจจำนวนและขนาดของโครโมโซมด้วยกระแสไฟฟ้าสลับทิศทาง. บทคัดย่อการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 หน้า 212.

อรัญ หันพงศ์กิตติกุล เมธินี เหว่าเจริญ และ เรณู ปิ่นทอง. 2531. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตข้าวแดง โดย *Monascus purpureus*. วารสารเกษตร. 4 (2) : 125-128.

Alexopolous, C.J. and C.W. Mims. 1979. Introductory Mycology. John Wiley and Sons, Inc., New York.

Alexopolous, C.J., C.W. Mims, and M. Blackwell. 1996. Introductory Mycology. Fourth Edition. John Willy and Sons, Inc., United State of America.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bajracharya, R., and R.E. Mudgett. 1980. Effect of controlled gas environments in solid state fermentations. Biotechnol. Bioeng. 22: 2219-2235.

Barnard, E.L. and P.F. Cannon. 1987. A new species of *Monascus* from pine tissues in Florida. Mycologia. 79 (3): 479-484.

Bridge. P.D. and D.L. Hawksworth. 1985. Biochemical tests as an aid to the identification of *Monascus* species. Letters in Applied Microbiology. 1: 25-29.

Cannon, P.F., S.K. Abdullah, and B.A. Abbas, 1995. Two new species of *Monascus* from Irag with a key to known species of the Genus. Mycol. Res. 99 (6): 659-662.

Carels, M. and D. Shepherd. 1977. The Effect of different nitrogen source on pigment production and sporulation on *Monascus* sp. in submerged shaken culture. Can. J. Microbiol. 23: 1360-1372.

Church, M.B. 1920. Laboratory experiments on the manufacture of Chinese ang-kak in the United States. The Journal of Industrial and Engineering Chemistry. 12: 45-46.

Davey, C.L., W. Penaloza, D.B. Kell and J.N. Hedger. 1991. Real-time momitoring of the accretion of *Rhizopus oligosporus* biomass during the solid substrate temperature fermentation. World J. Microbiol. Biotechnol. 7: 248-289.

Felding, B.C., E.J. Haws, J.S.E. Holker, A.D.G. Powell, A. Robertson, and D.N. Stanway and W.B. Whalley. 1960. Monascorubrin. Tetrahedron Letters. 5: 24-27.

Han, O. 1990. Optimization of *Monascus* pigment production in solid-state fermentation. Ph.D. Thesis, University of Massachusetts, Amherst.

Haws, EJ., J.S.E. Holker, A. Kelly, A.D.G. Pwell and A. Robertson. 1959. The Chemistry of Fungi. Part XXXVIl. The Structure of Rubropunctatin. J. Chem. Soc. 1959: 3598-3610.

Hawksworth, D.L. and J.I. Pitt. 1983. A new taxonomy for *Monascus* sp. based on cultural and microscopical characters. Aust. J. Bot. 31: 51-61.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hawksworth. D.L., P.M. Kirk, B.C. Sutton and D.N. Pegler. 1995. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi. 8th ed. CAB International. P.290.

Hiroi, T., T. Shima, A. Isobe and S. Kimura. 1975. Studies of the structure of two pigments obtained from *Monascus* sp. J. of the Jap. Soc. of Food and Nutrition. 28 (9): 497-501.

Iizuka, H. and C.F. Lin. 1981. On the genus *Monascus* of Asia and its specific characteristics, pp. 555-561 *In* M. Moo Young, C.W. Robinson and C. Vezina (eds.). Advances in Biotechnology Vol. 2. Pergamon Press, Toronto.

Johns, M.R. and D.M. Stuart. 1991. Production of pigment by *Monascus purpureus* in solid culture. J. of Industrial Microbiology. 8: 23-28.

Lee B.K., H.Y. Piao and W.J. Chung. 2002. Production of red pigments by *Monascus purpureus* in solid-state culture. Biotechnol. Bioeng. 7: 21-25.

Lin, C.F. 1973. Isolation and culture condition of *Monascus* sp. for the production of pigment in submerged culture. J. Ferment. Technol. 51 (6): 407-414.

Lin, C.F. and H. lizuka. 1982. Production of extracelluar pigment by a mutant of *Monascus kaoliang* sp. nov. Appl. Environ. Microbiol. 43 (3): 671-676.

Lotong, N. and P. Suwannarit. 1990. Fermentation of ang-kak in plastic bags and regulation of pigmentation by initial moisture content. J. Appl. Bacteriol. 68: 565-570.

Manchand, P.S., W.B. Whally and F.H. Chen. 1973. Isolation and structure of ankaflavin: a new pigment from *Monascus anka*. Phytochem. 12: 2531-2532.

Michael R.J. and M.S. Deidre. 1991. Production of pigments by *Monascus purpureus* in solid culture. J. Industrial Microbiol. 8: 23-28.

Nishikawa, J., Y. Watanabe, J. Kashimura, K. Aso and H. Lizuka. 1988. Characteriszation of extracellular proteinnases of the genus *Monascus* by their pH-activity profiles. J. Gen. Appl. Microbiol. 34: 467-473.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nishikawa, J. and H. lizuka. 1993. Taxonomical studies of *Monascus* sp. J. Basic Microbiol. 33: 331-342.

Palo, M.A., L. Vidal-Adeva and L.M. Maceda. 1960. "A study on ang-kak and its production," The Philippine Journal of Science. 89 (1): 1-28.

Pandey, A. 1991. Effect of particle size on enzyme production in solid state fermentation. Biores. Techol., 37: 169-172.

Papagianni, M., S.E. Nokes and K. Filer. 1999. Production of phytase by *Aspergillus niger* in submerged and solid-state fermentation. Process Biochem. 35: 397-402.

Pitt, J.I., A.D. Hocking. 1997. Fungi and food spoilage. Second edition. J.I. Pitt and A.D. Hocking, Inc., Cambridge of London.

Rashbaum, S.A. and M. Yueh. 1983. Natural red coloring prepared from wheat and barley substrates. U.S. Patent. 4,418,081.

Rattanakit, N., A. Plikomol, S. Yano, M. Wakayama and T. Tachiki. 2002. Utilization of Shellfish waste as a substrate for solid-state cultivation of *Aspergillus* sp. S1-13: evaluation of a culture based on chitinase formation which is necessary for chitin-assimilation. J. Biosci. Bioeng., 93: 550-556.

Sandra F., O. Bilbao and V. K. Beatriz. 2008. Effect of pH on citrinin and red pigments production by *Monascus purpureus* CCT3802. World J. Microbiol. Biotechnol. 24: 263-268.

Shepherd, D. and M. Carels. 1983. Product formation and differentiation in fungi. pp. 515-535. In J. E. Smith (ed.). Fungal Differentiation, Marcel Dekker, inc., New York.

Sweeny, J.G., M.C. Estrada-Valdes, G.A. Lacobucci, H. Sato and S. Sakamura. 1981. Photoprotection of the red pigments of *Monascus anka* in aqueous media by 1,4,6-trihydroxynaphthalene, J. Agric. Food Chem. 29 (6): 1189-1193.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Solis-Pereyra, S., F.E. Torres, G.M. Rojas, S. Roussus, G.S. Castaneda, P. Gunasekaran and G.V. Gonzalez. 1996. Production of Pectinase by *Aspergillus niger* in Solid state fermentation at high initial glucose concentrations. World J. Microbiol. Biotechnol. 12: 257-260.

Su, Y.C. and W.H. Wong. 1983. Chinese red rice: Anka, pp.547-553 *In* K.H. Steinkraus, R.E. Cullen, C.S. Pederson, L.F. Nellis and B.K. Gavitt (eds.). Handbook of Indigenous Fermented Foods, Marcel Dekker, New York.

Suresh, P.V. and M. Chandrasekaran. 1999. Impact of process parameters on chitinase production by an alkalophilic marine *Beauveria bassiana* in solid state fermentation. Process Biochem. 34: 257-267.

Tieghem, P. 1884. *Monascus,* genre nouvau de l' order des Ascomycetes. Bull. Soc. Bot. France, 31: 226-231.

Turner, W.B. 1971. Fungal Metabolites. Acadamic Press, London.

Went, F.A.F.C. 1895. *Monascus purpureus* le champignon de I' order ang-quacune nouvelle thele bolee. Ann. Sc. Nat. Bot. 8 (1): 1-17.

Yang, S.S. and W.J. Swei. 1996. Oxytetracycline production by *Streptomyces rimosus* in solid state fermentation of corn cob. World J. Microbiol Biotechnol. 12: 43-46.

Yoshimura, M., S. Yamanaka, K. Mitsugi and Y. Hirose. 1975. Production of *Monascus* pigment in submerged culture. Agri. Biol. Chem. 39: 1789-1795.

http://www.mycoclinic.com [2009, June 23]

http://www.ist.cmu.ac.th/riseat/nl/2004/03/06.php [2009, November 25]

http://www.bcrc.firdi.org.tw/genome_project/index.jsp [2009, November 25]

http://www.technoinhome.com/vspcite/front/board.show [2009, November 25]

http://www.vitaminworld.exteen.com [2009, November 25]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

http://www.trueplookpanya.com/true/knowledge_detail [2009, November 25]

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext [2009, November 25]

http://www.nia.or.th/2009/project/product.php?pid=289 [2009, November 25]

http://www.th.wikipedia.org/wiki/มันฝรั่ง [2009, November 25]

http://www.fineli.fi/food-php?foodid=162&lang=en [2009, November 25]

http://www.alro.go.th/.../newpaper_1.jsp?provCode=05 [2009, November 25]

http://www.lays.co.th [2009, November 25]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

สูตรอาหาร

1. MYS medium (Malt yeast extract starch agar)

เปปโตน	5.0	กรัม
ยีสต์สกัด	3.0	กรัม
มอลต์สกัด	3.0	กรัม
แป้งมันสำปะหลัง	20.0	กรัม
วุ้น	12-15	กรัม

ผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. SS medium (Soy bran starch)

แป้งมันสำปะหลัง	30	กรัม
แป้งถั่วเหลือง	40	กรัม

ผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

สารเคมี และวิธีวิเคราะห์ทางเคมี

1. การหาน้ำหนักแห้ง (dry cell weight)

1.1 นำจานเพาะเชื้ออบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสนาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถอบแห้ง (desiccators) แล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอน

1.2 นำตัวอย่างข้าวประมาณ 1 – 2 กรัม ใส่จานเพาะเชื้อที่อบไว้แล้ว

1.3 นำเข้าตู้อบอุฯหภูมิ 70 องศาเซลเซียส อบจนได้น้ำหนักคงที่ใช้เวลาประมาณ 12 – 24 ชั่วโมง

1.4 นำออกมาใส่โถอบแห้ง 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก

1.5 นำไปอบซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่ นำค่าน้ำหนักจานเพาะเชื้อมาหักออกเป็นค่าน้ำหนักแห้ง

2. การหาปริมาณความชื้น

ใช้วิธีการเดียวกับการหาน้ำหนักแห้ง โดยเมื่อได้น้ำหนักแห้งแล้ว ให้นำมาหักออกจากน้ำหนักตัวอย่างก่อนบอบ ก็จะได้ค่าความชื้นของตัวอย่าง นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นได้ดังนี้

$$\text{ปริมาณความชื้น(ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักแห้ง}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

<u>ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณความชื้น</u>

น้ำหนักจานเพาะเชื้อ 87.9164 กรัม

น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ= 1.8764 กรัม

หลังจากอบแล้วนำมาชั่ง = 89.6393 กรัม

ดังนั้น น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ = 1.7229 กรัม

$$\text{จากสูตร ปริมาณความชื้น(ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักแห้ง}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

$$= \frac{1.8764 - 1.7229}{1.8764} \times 100$$

$$= 8.1806$$

ดังนั้น ตัวอย่างมีปริมาณความชื้นร้อยละ 8.1806

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กลูโคส) โดยดัดแปลงวิธีวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ของ Somogyi -Nelson (1954)

3.1 สารเคมี

3.1.1 Copper reagent

เตรียมสารละลายละลาย $Na_2HPO_4.12H_2O$ 71 กรัม และโซเดียมโปรแทสเซียมทาร์เทรต 40 กรัม ในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 นอมอล จำนวน 100 มิลลิลิตร ตามด้วยสารละลาย $CuSO_4.5H_2O$ 10.0 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 80 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ทำให้ร้อน เติมโซเดียมซัลเฟต 180 กรัม ละลายให้เข้ากันแล้วเติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 1.0 ลิตร เก็บในขวดสีน้ำตาล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ถ้ามีตะกอนกรองออกก่อนนำไปใช้

3.1.2 Nelson reagent

เตรียมโดยละลาย $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ 50 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 21 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน เติม $Na_2AsO_4.7H_2O$ 6 กรัม ซึ่งละลายในน้ำกลั่นลงไป คนให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดสีน้ำตาลที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้ามีตะกอนกรองออกก่อนนำไปใช้

3.2 วิธีการวิเคราะห์

3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส

เตรียมสารละลายกลูโคส (analytical grade glucose) โดยอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง ก่อนนำมาทำเป็นสารละลาย ความเข้มข้น 20 40 60 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อลิตร ด้วยน้ำกลั่น บรรจุสารละลายแต่ละความเข้มข้นในหลอดทดสอบหลอดละ 1 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ เติม Copper reagent 1.0 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นทันทีโดยใช้น้ำเย็นจัด เติม Nelson reagent 1.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าความขุ่นด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำตาลกลูโคสและค่าความขุ่น ได้เป็นกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสดังภาคผนวก ค

3.2.2 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่มีน้ำตาลกลูโคส 10 ถึง 100 ไมโครกรัม จำนวน 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดสอบ นำไปวิเคราะห์ตามวิธีการเตรียมกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสข้างต้น คำนวณปริมาณน้ำตาลกลูโคสของตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. วิธีวิเคราะห์สารสี

สกัดสารสีที่ได้จากการหมักข้าวของเชื้อราโมแนสคัสด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 99.99 ปิดปากฟลาสก์ให้สนิทแล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 – 3 ชั่วโมง แล้วจึงนำสารสีที่สกัดได้ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที 2-3 นาทีนำส่วนใสไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของสารสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร สามารถคำนวณได้ดังนี้

<u>ตัวอย่างคำนวณหาสารสี</u>

ตัวอย่างข้าวเจ้า 500 กรัม แช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที ทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาทีในสัปดาห์ที่ 1

เก็บตัวอย่างข้าวประมาณ 1 กรัม สกัดสารสีเอททานอลร้อยละ 99.99 ปริมาณ 10 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร วัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 0.063 ABS ส่วนตัวอย่างข้าวที่นำสกัดสีคิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 0.9119 กรัม สามารถนำมาคำนวณปริมาณสารสีได้ดังนี้

ปริมาณสี 0.063 x 1 = 0.063 unit/ml.

ปริมาณสารสีทั้งหมด 10 X 0.063 unit.ml./ml. = 0.63 unit

ตัวอย่างแห้งหนัก 0.9119 กรัม ได้สารสี 0.63 unit

ในข้าว 1 กรัมน้ำหนักแห้งมีสารสีทั้งหมด = 0.6909 $U_{500\ nm}$/g-dry sample weight

5. การวิเคราะห์สารโมนาโคลิน

สกัดสารสีที่ได้จากการหมักข้าวของเชื้อราโมแนสคัสด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 99.99 ปิดปากฟลาสก์ให้สนิทแล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำสารสีที่สกัดได้ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที 2-3 นาทีนำส่วนใสไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของสารสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 238 นาโนเมตร สามารถคำนวณได้ดังนี้

<u>ตัวอย่างคำนวณหาสาร โมนาโคลิน เค</u>

ตัวอย่างข้าวเจ้า 500 กรัมแช่น้ำ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำ 30 นาที ทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาทีน้ำในสัปดาห์ที่ 1

นำตัวอย่างข้าวประมาณ 50 มิลลิกรัมใส่ในหลอดทดลองจากนั้นเติมเอทานอลร้อยละ 99.99 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาทีเวลา 2 นาที แล้วนำส่วนใสไปวัดด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 238 นาโนเมตร ที่ค่าการเจือจาง 2 เท่า วัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 0.389 ABS ส่วนตัวอย่างข้าวคิดเป็นน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.9119 กรัมสามารถนำมาคำนวณปริมาณสารโมนาโคลินได้ดังนี้

ปริมาณสารโมนาโคลิน 0.389 x 2 = 0.778 unit/ml.

ปริมาณสารโมนาโคลินทั้งหมด 10 X 0.778 unit.ml./ml. = 7.78 unit

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างแห้งหนัก 0.9119 กรัม ได้สารโมนาโคลิน 7.78 unit

ในข้าว 1 กรัมน้ำหนักแห้งมีสารโมนาโคลินทั้งหมด = 8.5315 $U_{238\ nm}$/g-dry weight

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

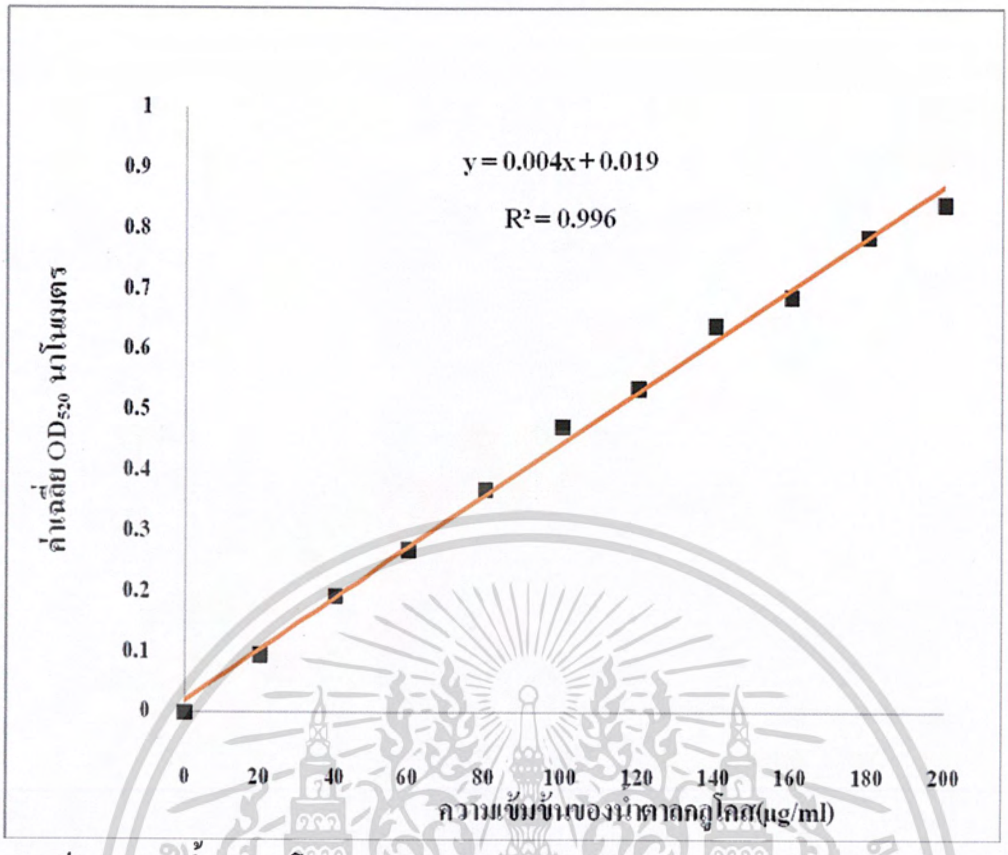
กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

ตารางที่ 5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตรกับความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส

ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส(μg/ml)	ค่า OD_{520} ครั้งที่ 1	ค่า OD_{520} ครั้งที่ 2	ค่า OD_{520} เฉลี่ย
0	Blank	Blank	Blank
20	0.096	0.096	0.096
40	0.196	0.191	0.194
60	0.271	0.270	0.271
80	0.371	0.369	0.370
100	0.480	0.468	0.474
120	0.502	0.573	0.538
140	0.649	0.632	0.641
160	0.676	0.701	0.689
180	0.812	0.764	0.788
200	0.832	0.851	0.842

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

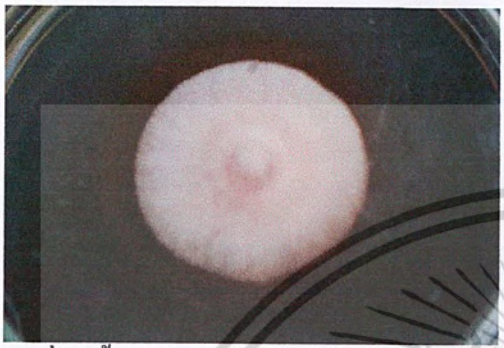


รูปที่ 5 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

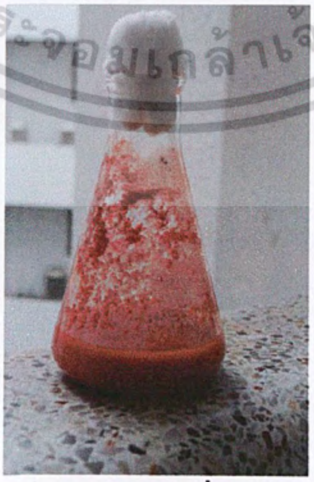
ภาคผนวก ง

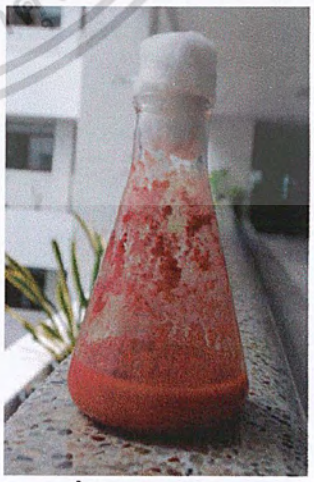
รูปภาพแสดงการทดลอง



รูปที่ 6 เชื้อรา *M. purpureus* อายุ 7 วันบนอาหาร MYS และ SS ตามลำดับ

รูปที่ 7 เชื้อรา *M. purpureus* อายุ 14 วันบนอาหาร MYS





รูปที่ 7 เชื้อรา *M. purpureus* ในอาหาร SS broth เขย่าที่ 200 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 2 3 และ 4 วันตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 8 ตัวอย่างที่อบแห้งนำมาหาปริมาณความชื้น

รูปที่ 9 ข้าว 500 กรัมอบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

รูปที่ 10 ข้าว 500 กรัมแช่น้ำเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 30 นาทีนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 11 ข้าวที่นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

รูปที่ 12 ข้าว 500 กรัม บ่มบนเครื่องหมุนขวดที่อุณหภูมิห้อง

รูปที่ 13 แสดงขั้นตอนการสกัดสารสีและสารโมนาโคลิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้