สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตสารสีจาก *Monascus purpureus* และการประยุกต์ใช้ในการทำลิปสติก

ธวัชชัย พิกากัน

ธัญพิชชา สมสืบ

วีรยุทธ ทิมครองธรรม

วพ.
ส394ก
2555

เลขหมู่ 130338
เลขทะเบียน
วัน,เดือน,ปี 4 เม.ย. 2557

b 12581938
i

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2555

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PRODUCTION OF PIGMENT FROM *Monascus purpureus* AND ITS APPLICATION IN LIPSTICK MAKING

THAWATCHAI PIKAKAN
THANPITCHA SOMSUEB
WEERAYOOT THIMKRONGTHUM

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2012

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตสารสีจาก *Monascus purpureus* และการประยุกต์ใช้ในการทำลิปสติก

Production of pigment from *Monascus purpureus* and its application in lipstick making

ชื่อนักศึกษา นายธวัชชัย พิกากัน รหัส 52050324

นางสาวธัญพิชชา สมสืบ รหัส 52050326

นายวีรยุทธ ทิมครองธรรม รหัส 52050378

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2555

คณะกรรมการสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	ผศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์	
กรรมการ	ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี	
กรรมการ	ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตสารสีจาก *Monascus purpureus* และการประยุกต์ใช้ในการทำลิปสติก

ชื่อนักศึกษา นายธวัชชัย พิกากัน รหัส 52050324
นางสาวธัญพิชชา สมสืบ รหัส 52050326
นายวีรยุทธ ทิมครองธรรม รหัส 52050378

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2555

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์

บทคัดย่อ

สารสกัดสีแดงจากเชื้อรา *Monascus purpureus* ผลิตโดยวิธีการหมักบนอาหารแข็ง ซึ่งใช้ข้าว (ข้าวหอมมะลิ) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากการหมักเป็นระยะเวลา 25 วัน แล้วทำการสกัดสารสีโดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นนำสารสกัดสีปริมาณ 2.5 เปอร์เซ็นต์, 5 เปอร์เซ็นต์, และ 10 เปอร์เซ็นต์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) มาใช้เป็นส่วนผสมในสูตรลิปสติก โดยมีส่วนประกอบอื่นๆ ที่ใช้สำหรับทำลิปสติก ได้แก่ ขี้ผึ้ง, ไขมันโกโก้, น้ำมันอัลมอนด์, น้ำมันแม็คคาดิเมีย, และส่วนผสมอื่นๆ จากธรรมชาติ แล้วนำลิปสติกที่ได้มาทำการทดสอบในด้านต่างๆ เพื่อประเมินคุณสมบัติของลิปสติก ยกตัวอย่างเช่น จุดหยด, จุดโค้งงอ, ค่าสี และการทดสอบการระคายเคืองต่อผิว ซึ่งผลการทดสอบลิปสติกดังกล่าวผ่านเกณฑ์การทดสอบ

คำสำคัญ : *Monascus purpureus*, สารสี, ลิปสติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Production of pigment from *Monascus purpureus* and its application in lipstick making
Students	Mr. Thawatchai Pikakan ID 52050324
	Miss Thanpitcha Somsueb ID 52050326
	Mr. Weerayoot Thimkrongthum ID 52050378
Degree	Bachelor of Science
Major Program	Biotechnology
Academic Year	2012
Advisor	Asst. Prof. Dr. Pana Lohasapthawee
Co-Advisor	Asst. Prof. Dr. Somchai Krairak

ABSTRACT

Red pigment from *Monascus purpureus* was produced by solid state fermentation using rice (khao hom mali) as the substrate. After 25 days of culture, the pigment was extracted by using ethanol 95% at 50 °C for 60 min. 2.5%, 5% and 10% (% w/w) of crude pigment were used in the lipstick formulation. The other ingredients used for making lipstick were beeswax, cocoa butter, almond oil, macadamia oil and other natural ingredients. Several tests were evaluated for the performance of the lipstick such as dropping point, bending point, color values and skin irritation which the lipstick passed the test.

Keywords : *Monascus purpureus*, pigments, lipstick

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากคณะผู้จัดทำได้รับคำแนะนำและความช่วยเหลือจากผู้มีพระคุณ ดังนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. พนาโลหะทรัพย์ทวี อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่เสียสละเวลา เพื่อให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ และเสนอแนวทางแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในการทดลอง ตลอดจนกรุณาตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ และ ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ ที่ได้สละเวลาให้ความรู้ คำแนะนำที่ดี รวมทั้งกรุณาตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้คำปรึกษาและช่วยอำนวยความสะดวกและจัดสรรเรื่องห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีต่าง ๆ ระหว่างการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ธุรการทุกท่านที่เอื้อเฟื้อทำเรื่องการขอใช้ห้องปฏิบัติการนอกเวลาราชการตลอดจนอำนวยความสะดวกต่าง ๆ ระหว่างทำงานวิจัย

ขอขอบพระคุณพี่ ๆ นักศึกษาปริญญาโททุกท่าน ที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษา และให้ความช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำ ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และบุคคลในครอบครัว รวมทั้งเพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจที่ดีตลอดการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้ คุณความดีหรือประโยชน์ที่ได้รับจากการทำโครงงานพิเศษนี้ ผู้จัดทำขอมอบแด่บุพการี ผู้มีพระคุณและครูอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ผู้จัดทำตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน

ธวัชชัย พิกากัน
ธัญพิชชา สมสืบ
วีรยุทธ ทิมครองธรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญรูป	IX
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราโมแนสคัส	4
2.1.1 สายพันธุ์ต่างๆของเชื้อราโมแนสคัส	6
2.2 การผลิตข้าวแดงเชื้อราโมแนสคัส	8
2.3 สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส	10
2.3.1 สารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส	11
2.4 การปล่อยสารสีออกจากเส้นใยของเชื้อราโมแนสคัส	15
2.4.1 การแยกสารสีโมแนสคัส	16
2.5 คุณสมบัติของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส	18
2.6 การใช้ประโยชน์จากสารสีโมแนสคัส	19
2.7 เมแทบอไลต์ประเภทต่างๆ จากเชื้อราโมแนสคัส	21
2.8 ความปลอดภัยของสารสีโมแนสคัส	22
2.9 ลิปสติก	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.9.1 ชนิดของลิปสติก	24
9.2.2 คุณสมบัติของลิปสติก, ลิปบาล์ม และลิปกลอสทั่วไป	25
2.9.3 ส่วนประกอบของลิปสติก	26
2.9.4 คุณสมบัติของส่วนประกอบบางชนิดในผลิตภัณฑ์ลิปสติก	26
2.10 สาเหตุของการแพ้ลิปสติก	31
2.11 การผลิตลิปสติก	32
2.12 การประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์ลิปสติก	34
2.13 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	35
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1 เชื้อจุลินทรีย์	36
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ	36
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี	37
3.4 วิธีการทดลอง	38
3.4.1 การเก็บรักษาเชื้อราโมแนสคัส	38
3.4.2 ศึกษาการเจริญและระยะเวลาในการสร้างรงควัตถุของเชื้อราโมแนสคัส บนข้าว หอมมะลิ	38
3.4.3 ศึกษาวิธีการสกัดรงควัตถุที่เหมาะสมของเชื้อราโมแนสคัส	40
3.4.4 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี	41
3.4.5 ศึกษาขั้นตอนการผลิตลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นองค์ประกอบ	42
3.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ	46
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	
4.1 ผลการเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับใช้ในการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส	47
4.2 ผลศึกษาการเจริญและระยะเวลาในการสร้างรงควัตถุของเชื้อราโมแนสคัส บนข้าวหอมมะลิ	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 ผลศึกษาวิธีการสกัดรงควัตถุที่เหมาะสมของเชื้อราโมแนสคัส	55
4.4 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคโครมาโตรกราฟี	60
4.5 ผลการศึกษาขั้นตอนการผลิตลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัส เป็นองค์ประกอบ	63
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการวิจัย	70
5.2 ข้อเสนอแนะ	71
เอกสารอ้างอิง	72
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก. อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี	82
ภาคผนวก ข. วิธีวิเคราะห์	84
ภาคผนวก ค. ข้อมูลผลการทดลอง	91
ภาคผนวก ง. ตารางวิเคราะห์ทางสถิติ	107

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สายพันธุ์ต่างๆ ของเชื้อราโมแนสคัส	6
2.2 กิจกรรมเอนไซม์ที่แตกต่างกันในเชื้อราโมแนสคัสแต่ละสายพันธุ์	6
2.3 แสดงความสัมพันธ์ของการแบ่งกลุ่มการสร้างเอนไซม์โปรตีเนสแบบต่างๆ ของเชื้อราสกุลโมแนสคัสสายพันธุ์ต่างๆ	7
2.4 สมบัติสารสีโมแนสคัส	18
2.5 ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณแร่ธาตุและวิตามินในข้าวสารพันธุ์ข้าวมะลิและข้าวแดงที่ผลิตได้	19
2.6 สารเมแทบอไลต์ที่มีประโยชน์จากเชื้อราโมแนสคัส	21
2.7 แสดงเปอร์เซ็นต์การฟักตัวไข่ไก่ เมื่อฉีดด้วยน้ำสีเหลือง และน้ำสีแดงจาก *M. barkeri* และ *M. kaoliang* ตามลำดับ	23
3.1 ส่วนประกอบของสูตรลิปสติกทั้ง 3 สูตร	43
4.1 ปริมาณรงควัตถุสีเหลือง (OD400 nm) สีส้ม (OD 470 nm) และสีแดง (OD 500 nm) ของเชื้อราโมแนสคัสเลี้ยงบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่างๆ กัน มีการผสมคลุกเคล้าอาหารทุกวัน	51
4.2 ค่าพีเอชและเปอร์เซ็นต์ความชื้นสัมพัทธ์ของข้าวแดงในระหว่างการหมักเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่างๆ กันมีการผสมคลุกเคล้าอาหารทุกวัน	52
4.3 เปรียบเทียบปริมาณรงควัตถุสีเหลือง (OD 400 nm) ที่ได้จากการสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ทางสถิติ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ ($P<0.05$)	57
4.4 เปรียบเทียบปริมาณรงควัตถุสีส้ม (OD 470 nm) ที่ได้จากการสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ทางสถิติ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ ($P<0.05$)	57
4.5 เปรียบเทียบปริมาณรงควัตถุสีแดง (OD 500 nm) ที่ได้จากการสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ทางสถิติ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ ($P<0.05$)	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.6 ค่าการวัดสีที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัส ด้วยเครื่อง Chroma meter	59
4.7 ระยะทางการเคลื่อนที่ของสารประกอบที่แยกได้จากน้ำสกัดสารสีด้วยวิธี Thin Layer Chromatography	62
4.8 ค่าการทดสอบคุณภาพทางกายภาพของลิปสติก	64
4.9 ผลการทดสอบความพึงพอใจสีลิปสติกของอาสาสมัคร 20 คน	67
4.10 ผลการทดสอบความพึงพอใจของลิปสติกสูตรที่ 1	67
4.11 ผลการทดสอบความพึงพอใจของลิปสติกสูตรที่ 2	68
4.12 ผลการทดสอบความพึงพอใจของลิปสติกสูตรที่ 3	68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แสดงวัฏจักรชีวิตเชื้อรา *Monascus* spp.	5
2.2	ข้าวแดง	8
2.3	แสดงโครงสร้างของสารสี จาก *Monascus* spp.	10
2.4	แสดงการเกิดสาร 6-methylsalicylic acid และ orsellinic acid จาก acetyl และ malony unit	11
2.5	แสดงการเปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ fatty acid synthase กับ polyketide synthase	12
2.6	แสดงปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสารสีที่สร้างจากเชื้อรา *Monascus* spp.	15
2.7	การแยกสารสีเชื้อราโมแนสคัสให้บริสุทธิ์	17
2.8	ลิปสติก	24
3.1	แผนภาพขั้นตอนการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ	39
3.2	ส่วนผสมในสูตรลิปสติก	44
3.3	ขั้นตอนวิธีการทำลิปสติก	45
4.1	ลักษณะของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนอาหาร MYS บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน (รูป ก), 7 วัน (รูป ข), 10 วัน (รูป ค) และ 14 วัน (รูป ง)	47
4.2	อาหารเหลว SS สำหรับเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในการผลิตสารสีบนข้าวหอมมะลิ	48
4.3	ลักษณะของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนอาหารเหลว SS สภาวะการเขย่า 200 รอบ/นาทีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในการผลิตสารสีบนข้าวหอมมะลิ	48
4.4	การเตรียมข้าวหอมมะลิ (ซับสเตรต) สำหรับเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส โดยใช้ข้าวจำนวน 50 กรัม ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว	49
4.5	ลักษณะการเจริญและการสร้างสีของเชื้อราโมแนสคัสโดยใช้กล้าเชื้อเริ่มต้น 5 มิลลิลิตร เลี้ยงบนซับสเตรตข้าวหอมมะลิ 50 กรัม ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.6	ปริมาณรงควัตถุสีเหลือง (OD 400 nm) รงควัตถุสีส้ม (OD 470 nm) และรงควัตถุสีแดง (OD 500 nm) ของเชื้อราโมแนสคัสที่เลี้ยงบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในเวลาต่างๆ กัน และมีการผสมคลุกเคล้าอาหารทุกวัน ที่ระยะเวลาต่างๆ	50
4.7	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชและเปอร์เซ็นต์ความชื้นกับระยะในการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และทำการผสมคลุกเคล้าอาหารระหว่างการหมักทุกวัน เป็นระยะเวลา 30 วัน	52
4.8	ลักษณะการเจริญและการสร้างสีของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน (รูป ก), 1 วัน (รูป ข), 2 วัน (รูป ค), 5 วัน (รูป ง), 10 วัน(รูป จ), 15 วัน (รูป ฉ), 20 วัน (รูป ช), 25 วัน (รูป ซ) และ 30 วัน (รูป ฌ) ตามลำดับ	53
4.9	สารละลายสีข้าวแดงที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 วัน ตามลำดับ (จากซ้ายไปขวา) สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ 50 มิลลิลิตรต่อข้าวแดง 0.5 กรัม (น้ำหนักสด) เพื่อนำไปวัดปริมาณสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์	54
4.10	แสดงปริมาณรงควัตถุสีเหลือง (OD 400 nm) รงควัตถุสีส้ม (OD 470 nm) และรงควัตถุสีแดง (OD 500 nm) ของเชื้อราโมแนสคัสที่สร้างบนข้าวหอมมะลิ บรรจุใส่ฟลาส์กขนาด 500 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และทำการผสมคลุกเคล้าอาหารระหว่างการหมักทุกวัน เป็นระยะเวลา 25 วัน และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่สภาวะอุณหภูมิและเวลาแตกต่างกัน	56
4.11	แสดงสารสีที่สกัดจากเชื้อราโมแนสคัสสำหรับนำไปใช้ทำลิปสติก	58
4.12	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40X ของสารสกัดสีจากเชื้อราโมแนสคัสที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ใช้อุณหภูมิการสกัด 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 นาที	58
4.13	ลักษณะแยกของสี (crude pigment) ที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัสบนแผ่น Thin Layer Chromatography ที่ดูภายใต้แสงต่างๆ (รูป ก) ภายใต้แสงปกติ (รูป ข) ภายใต้แสง UV 254 nm (รูป ค) ภายใต้แสง UV 365 nm	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.14	ระยะทางการเคลื่อนที่ของสารประกอบที่แยกได้จากน้ำสกัดสี (crude pigment) ด้วยวิธี TLC (Thin Layer Chromatography)	61
4.15	สารสีที่ผ่านการแยกด้วยวิธี Column Chromatography	62
4.16	แสดงผลิตภัณฑ์ลิปสติกสูตรที่ 1 ที่มีปริมาณส่วนผสมของสี 2.5 เปอร์เซ็นต์	63
4.17	แสดงผลิตภัณฑ์ลิปสติกสูตรที่ 2 ที่มีปริมาณส่วนผสมของสี 5 เปอร์เซ็นต์	63
4.18	แสดงผลิตภัณฑ์ลิปสติกสูตรที่ 3 ที่มีปริมาณส่วนผสมของสี 10 เปอร์เซ็นต์	64
4.19	แสดงค่า L* a* b* C* และ Hue ของลิปสติกที่ใช้สีในระดับต่างๆ กัน	65
4.20	การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังโดยการทำ patch test ขณะใช้ผลิตภัณฑ์	66
4.21	การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังโดยการทำ patch test หลังใช้ผลิตภัณฑ์	66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ในปัจจุบันลิปสติกเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทหนึ่งที่มีการใช้อย่างกว้างขวาง ส่วนใหญ่ผู้ใช้จะทาริมฝีปาก เพื่อช่วยให้ชุ่มชื้นไม่แห้ง ช่วยปกป้องผิวริมฝีปากจากสิ่งกระทบภายนอก ช่วยแต่งเติมรูปปากให้สวยงามขึ้น แต่งสีให้เด่นสะดุดตาและดูงดงาม ดึงดูดความสนใจจากผู้พบเห็น เป็นต้น แต่เนื่องจากลิปสติกเป็นเครื่องสำอางที่มักจะกลืนกินเข้าไปในร่างกายได้ ดังนั้นจึงต้องเลือกซื้อและใช้ลิปสติกด้วยความระมัดระวังอย่างยิ่ง เพราะถ้าหากลิปสติกที่เลือกซื้อและใช้ไม่ได้มาตรฐานก็อาจจะเป็นอันตรายต่อร่างกาย โดยส่วนประกอบต่างๆของลิปสติก จะมีสารให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวริมฝีปาก และช่วยให้ลิปสติกนั้นคงรูปอยู่ได้ สีที่ใช้ต้องเป็นสีที่กระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้ใช้ในลิปสติก (สุพัตรา, 2554)

สีมีความสำคัญสำหรับกระบวนการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรม สีของอาหารแสดงลักษณะปรากฏของอาหารและสำคัญในการผลิตอาหาร สีผสมอาหารอาจได้มาจากธรรมชาติหรือถูกสังเคราะห์ขึ้น สีจากธรรมชาติโดยทั่วไปได้มาจากพืชหรือผลิตภัณฑ์จากพืช หรือจากจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ จนกระทั่งการอนุญาตให้ใช้สีสังเคราะห์ลดลง เนื่องจากอาจก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenicity) และการเกิดมะเร็ง (carcinogenicity) (กัญญุมา, 2546 อ้างถึง M. Sabater-Vilar และคณะ, 2542)

ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสำคัญและเอาใจใส่ดูแลสุขภาพ และสนใจศึกษาค้นคว้าหาความรู้ทางด้านโภชนาการเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ผู้บริโภคเลือกอาหารที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เนื่องจากมีความเป็นพิษต่อร่างกายน้อย สีผสมอาหารที่นำมาใช้ผสมอาหาร นอกจากจะได้จากผักและผลไม้แล้ว สีธรรมชาติที่ได้จากจุลินทรีย์ก็เป็นสิ่งที่น่าสนใจ เพราะจุลินทรีย์มีขนาดเล็ก เจริญรวดเร็ว ใช้พื้นที่เพาะเลี้ยงน้อย รวมทั้งอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มีความหลากหลายซึ่งนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายชนิด

เชื้อราโมแนสคัสเป็นเชื้อราที่สร้างรงควัตถุหลายชนิดตั้งแต่สีเหลืองถึงสีแดง ชาวเอเชียตะวันออกรู้จักใช้ในการผสมอาหารมานานนับหลายร้อยปี โดยเชื่อว่ามีแหล่งกำเนิดมาจากประเทศจีนซึ่งผลิตในรูปข้าวแดงเรียกว่าอังคัก (Ankak) ใช้ผสมในไวน์ข้าว เต้าหู้ยี้ ผลิตภัณฑ์เนื้อและปลา และยังมีสรรพคุณเป็นยารักษาโรค จากสารโมนาโคลิน เค (monakolin K) นอกจากนี้มีการใช้ข้าวแดงแพร่หลายในประเทศญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย และไทย (นฤมล, 2548 อ้างถึง อรัญ และคณะ, 2530)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจุบันการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* เพื่อผลิตรงควัตถุ (Pigment) นั้นสามารถเพาะเลี้ยงในสภาวะที่แตกต่างกัน กระบวนการผลิตสามารถทำได้ทั้งวิธีการหมักบนอาหารแข็ง (Solid state fermentation) และการหมักในอาหารเหลว (Submerge fermentation) มีรายงานว่าการผลิตรงควัตถุของ *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งดีกว่าในการหมักอาหารเหลว เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อมีหลากหลาย รวมถึงของเหลือจากอุตสาหกรรมการเกษตร เช่น กากมันสำปะหลัง กากถั่วเหลือง ซึ่งมีราคาถูกกว่าการใช้สารอาหารสังเคราะห์ที่มีราคาแพง และการหมักบนอาหารแข็งมีสภาวะที่คล้ายกับการเจริญของเชื้อราในธรรมชาติ (Timotins, 1998)

สำหรับเชื้อราโมแนสคัส (*Monascus purpureus*) ได้นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและทางการแพทย์เป็นเวลานับศตวรรษ (Lin,1973) ในอุตสาหกรรมอาหารใช้สีโมแนสคัสเป็นสีผสมในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่ม เช่น ไส้กรอก แฮม (Hajjaj *et al.*,1997) เต้าหู้ยี้ (Red soybean cheese) ไวน์ข้าวแดง (Red rice wine) เหล้าเชี่ยงชุนหรือเหล้าแดง (Red Sho-Hsing wine) นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในการผสมในอาหารสัตว์ (Lin และ Demain, 1991) เครื่องสำอาง (Lin และ Demain, 1993) ในด้านการแพทย์ได้นำ *Monascus purpureus* มาใช้รักษาโรค Hyperlipidemia (Hai, 1998; Wang *et al.*, 2002)

งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาการประยุกต์ใช้สารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* ในการทำลิปสติก โดยศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส ซึ่งเป็นสารสีจากธรรมชาติโดยนำไปประยุกต์ใช้ในการทำลิปสติก

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส ซึ่งเป็นสารสีที่ได้มาจากธรรมชาติโดยนำไปประยุกต์ใช้ในการทำลิปสติก

1.2.2 เพื่อศึกษาและพัฒนาผลิตภัณฑ์ลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นองค์ประกอบ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาการเจริญ ระยะเวลาในการสร้างรงควัตถุ วิธีการสกัดที่เหมาะสม และการทำลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นองค์ประกอบ จากนั้นนำลิปสติกดังกล่าวมาทำการวิเคราะห์คุณภาพและนำมาทดสอบความพึงพอใจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน

การดำเนินงานวิจัย แบ่งเป็นขั้นตอนดังนี้

1.4.1 การเตรียมเชื้อราโมแนสคัส นำเชื้อรา *Monascus purpureus* มาเลี้ยงบนอาหารแข็ง MYS บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-10 วัน เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อสำหรับการศึกษาต่อไป

1.4.2 ศึกษาการเจริญและระยะเวลาในการสร้างรงควัตถุของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ เพื่อให้ทราบลักษณะการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ และระยะเวลาที่เชื้อราสร้างรงควัตถุได้สูงสุด

1.4.3 ศึกษาวิธีการสกัดรงควัตถุที่เหมาะสมของเชื้อราโมแนสคัส เพื่อหาวิธีสกัดรงควัตถุที่เหมาะสม และให้ปริมาณรงควัตถุสูงสุดเพื่อนำไปใช้เป็นส่วนผสมในลิปสติกต่อไป

1.4.4 ศึกษาขั้นตอนการผลิตลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นองค์ประกอบ เพื่อพัฒนาสูตรลิปสติกที่ใช้สีจากธรรมชาติคือสีจากเชื้อราโมแนสคัส จำนวน 3 สูตร โดยทำการทดสอบทางกายภาพของลิปสติก ทดสอบการระคายเคือง และทดสอบความพึงพอใจด้านสี และอื่นๆ ของผลิตภัณฑ์ลิปสติกกับอาสาสมัครเพศหญิง 20 คน เพื่อเลือกสูตรลิปสติกพึงพอใจมากที่สุด

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 เพื่อเรียนรู้และฝึกทักษะในการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

1.4.2 สามารถผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส ที่มีความปลอดภัยและเหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ

1.4.3 เป็นแนวทางในการนำสารสีที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัสไปใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ลิปสติก เพื่อลดความเสี่ยงจากอันตรายจากการใช้สีสังเคราะห์หรือสีทางเคมี

1.4.4 สามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่ต้องการใช้สีที่ได้มาจากธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราโมแนสคัส

Monascus เป็นเชื้อราเส้นสายที่สามารถสร้างสารสีได้หลายชนิดตั้งแต่สีเหลืองจนถึงสีแดง และจัดเป็นเชื้อราเส้นสายใน Class *Ascomycetes* ที่สามารถดำรงชีวิตโดยการสืบพันธุ์แบบครบวงจรได้ด้วยตัวเอง (homothallic fungus) ชาวจีนรู้จักเชื้อรานี้มายาวนานมากกว่าพันปีว่าสามารถใช้เป็นยารักษาโรค (Lizuka and Lin, 1981) ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหมัก เช่น ไวน์แดง บรั่นดี เกาเหลียง (Hesseltine, 1965) และอาหารหมักพื้นบ้านจำพวก เต้าหู้ยี้ ปลาแป้งแดง มิโซะ และสีผสมอาหารตามธรรมชาติ (Su *et al.*, 1973)

Alexopoulos *et al.* (1996) และ Hawksworth *et al.* (1995) ได้ทำการจัดอนุกรมวิธานของ *Monascus* spp. ไว้ดังนี้

Kingdom : Fungi

Division : *Ascomycota*

Class : *Ascomycetes*

Order : *Eurotiales*

Family : *Monascaceae*

Genus : *Monascus*

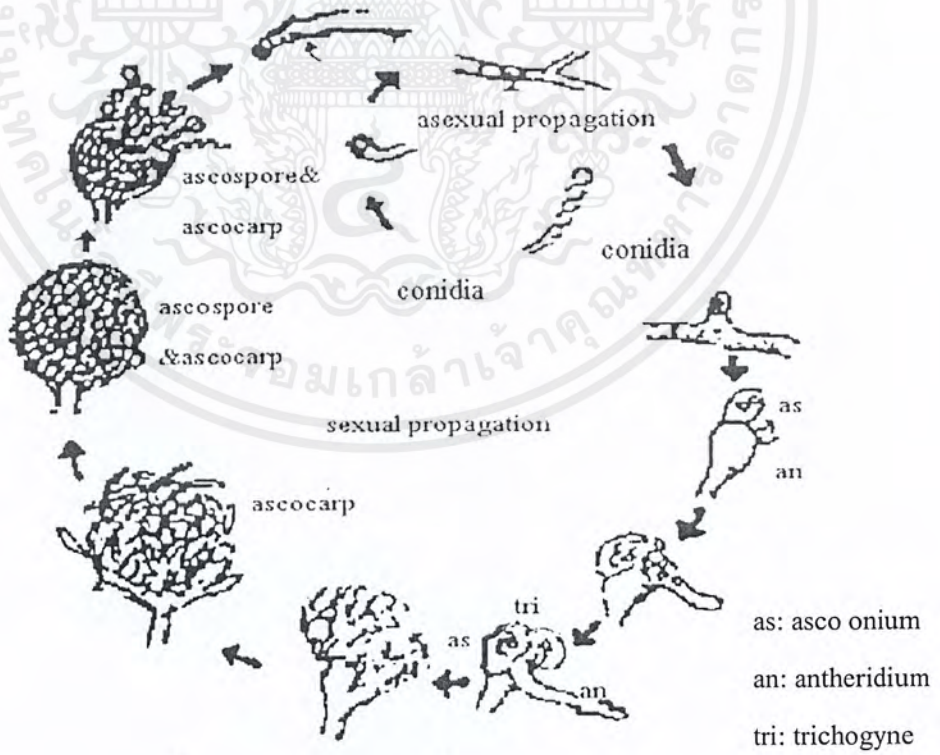
เชื้อรา *M. purpureus* เป็นเชื้อราที่เส้นใยมีผนังกั้น (septate) และมีการแตกกิ่งก้านสาขามากมาย และมักเจริญแบบชิดเกาะแน่นบนผิวของอาหารแข็ง เส้นใยเมื่ออายุอ่อนมีสีขาว แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีแดงหรือสีแดงม่วง สามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศ คือสร้างสปอร์ และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างโคนิเดีย (conidia) รูปร่างกลมหรือรูปไข่อาจมี 1 หรือหลายโคนิเดียต่อกันเป็นลูกโซ่อยู่ที่ปลายเส้นใย โคนิเดียมักไม่มีสี แต่เมื่ออายุมากขึ้นอาจมีสีแดงหรือสีน้ำตาลอ่อน

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อรา *Monascus* spp. มีการสร้างเพอริทีเซียม (perithecium) หรือ คลิสโททีเซียม (cleistothecium) ซึ่งเป็นแอสโคคาร์ป (ascocarp) มีรูปร่างกลม โดยจะเกิดบนก้านชู (stalk) ที่มีหรือไม่มีผนังกั้นก็ได้ แอสโคคาร์ปเกิดขึ้นบนเส้นใย ซึ่งเป็นแบบโฮโมแทลลิก (homothallic) เริ่มจากเส้นใยเจริญและพัฒนาเป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (antheridium) และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (ascogonium) ซึ่งเจริญอยู่ใต้เส้นใยแอนเทอริเดียม เส้นใยบริเวณส่วนบนของแอสโคโกเนียม จะพัฒนาไปเป็นไตรโคจีน (trichogyne) เชื่อมต่อกับแอนทริเดียม เพื่อให้นิวเคลียสผ่านเข้าไปผสมนิวเคลียสของแอสโคโกเนียม หลังจากผสมแล้วแอสโคโกเนียมมีขนาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใหญ่ขึ้นเนื่องจากมีการสร้างผนังขึ้นมาล้อมรอบ 1-2 ชั้น ก่อนจะพัฒนาไปเป็นเพอริทิเซียม มีแอสโคสปอร์ (ascospores) มากมาย โดยแอสโคสปอร์จำนวน 2-8 รวมอยู่ภายในแอสคัส (ascus) และแอสโคสปอร์มีลักษณะรูปไข่ อาจมีสีน้ำตาล สีแดง สีส้ม หรือไม่มีสี เมื่อผนังแอสโคสปอร์แตกออกก็จะปล่อยแอสโคสปอร์งอกเป็นเส้นใยใหม่ขึ้น ระยะเวลาในการเกิดแอสโคสปอร์ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของอาหาร และสภาวะที่ใช้เลี้ยงเชื้อด้วย การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสังเกตจากโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเชื้อรา *M. purpureus* ทำให้ทราบถึงขั้นตอนอย่างละเอียดและพบว่าแอสโคสปอร์ของเชื้อรา *M. purpureus* มีลักษณะเรียบ รูปร่างกลม หรือรี และยังมีการศึกษาการพัฒนาการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) ของเชื้อรา *M. purpureus* ในอาหารเหลว โดยศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ มีการสร้างโคนิเดียเจริญมาจากโคนิดิฟอร์ (conidiophore) โคนิเดียมีลักษณะกลมหรือรูปไข่ อาจมีอันเดียวหรือเกิดติดต่อกันเป็นลูกโซ่ (Hawksworth and Pitt, 1983) โคนิเดียมักจะไม่มีสี แต่เมื่ออายุมากจะเกิดสีแดงขึ้นได้บ้างแต่โคนิดิฟอร์มีขนาดสั้นอาจมีผนังกั้น 0-1ด้าน ถ้ามีขนาดยาวจะมีผนังกั้น 2-6 ด้านเป็นสาย การงอกขดเป็นเกลียวและเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่ออายุแก่ขึ้น การงอกของโคนิเดียจะมากน้อยขึ้นอยู่กับอายุของสปอร์ ความเป็นกรดด่าง แสง และอุณหภูมิ เช่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปโคนิเดียจะงอกภายใน 4 ชั่วโมง เมื่อมีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสม ดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 แสดงวัฏจักรชีวิตเชื้อรา *Monascus* spp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 สายพันธุ์ต่างๆ ของเชื้อราโมแนสคัส

Monascus spp. เป็นเชื้อราที่พบครั้งแรกที่แยกได้จากมันฝรั่งต้มในประเทศฝรั่งเศสและแบ่งได้เป็น 2 สายพันธุ์ คือ *M. ruber* และ *M. mucoroides* ต่อมา Went (1895) ได้แยกสายพันธุ์สำคัญคือ *M. purpureus* ที่ได้จากข้าวแดง หรืออังคัก ทำให้รู้จักประโยชน์ของเชื้อนี้กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น ปัจจุบันได้รวบรวมเชื้อราโมแนสคัส 25 สายพันธุ์ ดังตารางที่ 2.1 ซึ่งวิธีการจัดแบ่งสายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัสโดยคณะนักวิจัยหลายกลุ่ม แต่ละกลุ่มก็ใช้หลักการแตกต่างกันในการแบ่งสายพันธุ์ เช่น โดยอาศัยสมบัติสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา (Lizuka and Lin, 1981) ใช้เฉพาะสัณฐานวิทยา (Hawksworth and Pitt, 1983) การใช้สมบัติวิทยาเอนไซม์เข้าช่วย เช่น การใช้สมบัติเอนไซม์ชนิดต่างๆ (Bridge and Hawksworth, 1985) หรือเฉพาะเอนไซม์โปรติเอสรูปแบบต่างๆ (Nishikawa *et al.*, 1988) (ตารางที่ 2.2)

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. rubropunctatus	*M. sanguineus*	*M. serorubercens*	*M. vini*	*M. vitreus*

ที่มา : (Lizuka and Lin, 1981; Hawksworth and Pitt, 1983; Nishikawa and Lizuka, 1993)

ตารางที่ 2.2 กิจกรรมเอนไซม์ที่แตกต่างกันในเชื้อราโมแนสคัสแต่ละสายพันธุ์

Enzyme Activity	***M. floridanus***	***M. pilosus***	***M. purpureus***	***M. ruber***
Valine arylamidase•	-	+	+	+
Cystine arylamidase•	-	-	+	-
Trypsinase•	+	-	-	-
α- galactosidase•	-	+	-	+
β-galactosidase•	-	+	-	-
α-glucosidase•	-	+	-	-
Cellulose hydrolysis	-	-	-	+

• ใช้ API ZYM strip tests ทดสอบกับเชื้อราที่มีอายุ 14 วัน

ที่มา : Bridge and Hawksworth (1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากจะแตกต่างกันด้านลักษณะทางสรีรวิทยาแล้ว ทางด้านวิทยาเอนไซม์ยังต่างกันอีกด้วย โดยเชื้อราในกลุ่ม *M. piolosus* พบกิจกรรมเอนไซม์ β-galactosidase และ α-glucosidase *M. purpureus* พบเอนไซม์ Polypectase และ Cystine arylamidase พบเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสใน *M. Rubber* (Bridge and Hawksworth, 1985) ส่วน M. *floridanus* เป็นสายพันธุ์เดียวที่พบกิจกรรมเอนไซม์ Trypsinase แต่ไม่พบเอนไซม์ Valine arylamidase เหมือนกับสายพันธุ์อื่น (Bridge and Hawksworth, 1985; Barnard and Connon, 1987) ส่วน Nishikawa *et al.* (1988) ได้พบว่าเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ต่างๆ ส่วนใหญ่จะมีเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสมากกว่าแอซิดโปรตีเอสและน้อยชนิดที่มีเอนไซม์โปรตีเอสทั้ง 2 แบบ ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แสดงความสัมพันธ์ของการแบ่งกลุ่มการสร้างเอนไซม์โปรตีเอสแบบต่างๆ ของเชื้อราสกุลโมแนสคัสสายพันธุ์ต่างๆ

สายพันธุ์	ชนิดเอนไซม์[1/]			รวมชนิดเอนไซม์
	A	B	C	
M. albidus		1		1
M. albidusvar.glaber		1		1
M. anka		2		2
M. ankavar.rubellus		1		1
M. araneosus	1	4		5
M. fuliginosus	1			1
M. kaoliang	3	9	3	15
M. major		1		1
M. pilosus	1			1
M.pubigerus	1			1
M. purpureus		1		1
M. vitreus	1			1
M. rubber		2		2
M. rubiginosus		1		1
M. serorubercens		1		1

[1/] A แอซิดโปรตีเอส (พีเอช 3), B แอคาไลน์โปรตีเอส (พีเอช 8-9), C ทั้งแบบ A และ B

ที่มา : Nishikawa *et al.* (1988)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อมา Nishikawa and Lizuka (1993) ได้เสนอความสัมพันธ์ของสายพันธุ์ต่างๆ ของเชื้อราโมแนสคัสโดยใช้หลักการวิเคราะห์ด้วยวิธีอะครีลาไมด์เจลอีเล็กโตรฟอรีซีส (acrylamide gel electrophoresis) สามารถแบ่งเชื้อรานี้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่ I และกลุ่มที่ II โดยอาศัยความเหมือนกันของวิทยาเอนไซม์ต่างๆ เช่นเอนไซม์เอสทอเรสแลคเตตดีไฮโดรจีเนส แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส และกลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส ส่วนในประเทศอิรักมีรายงานพบสายพันธุ์ใหม่ของเชื้อราโมแนสคัส คือ *M. pallens* และ *M. sanguineus* (Cannon *et al,* 1995) ล่าสุด Udagawa และ Baba (1998) รายงานพบสายพันธุ์ใหม่ *M. lunisporus* เทคนิคทางพันธุกรรมได้ถูกนำมาใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อราจากข้าวแดง ริเริ่มโดยคณะวิจัยของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ชุลี, 2536, 2542; กมลนันท์ และคณะ, 2540; เสาวนิตย์ และคณะ, 2540; กมลนันท์ และคณะ, 2541; เสาวนิตย์ และคณะ, 2542; Chaisrisook, 1998)

2.2 การผลิตข้าวแดงเชื้อราโมแนสคัส

ข้าวแดงเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักข้าวกับเชื้อราที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Monascus purpureus* โดยเชื้อรานี้จะเจริญและย่อยข้าว ขณะเดียวกันก็สร้างรงควัตถุสีแดง ทำให้ข้าวมีลักษณะสีแดงเข้มและมีกลิ่นเฉพาะ เมื่อนำไปอบแห้งก็จะได้เป็นข้าวแดง ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีชื่อเรียกต่างกันตามท้องถิ่น เช่น ชาวจีนเรียกว่า อังคัก (Angkak, Angkhak) หรืออังคา (Anka) ชาวญี่ปุ่นเรียก เบนิ-โคจิ (Beni-koji) หรืออังคา-โคจิ (Anka-koji) แสดงดังรูปที่ 2.2

รูปที่ 2.2 ข้าวแดง

ที่มา : http://www.ist.cmu.ac.th/riseat/nl/2004/03/06.php

การผลิตข้าวแดงทำได้โดยการนำข้าวมานึ่งให้สุกปล่อยให้เย็นแล้วเติมเชื้อรา *Monascus purpureus* ลงไป ปล่อยให้เชื้อราเจริญที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส ประมาณ 3 สัปดาห์ก็จะได้ข้าวแดงควรใช้ข้าวเจ้าไม่ควรใช้ข้าวเหนียวในการผลิตเพราะข้าวเหนียวจะเกาะแน่นติดกัน หรืออาจใช้วิธีแช่ข้าวไว้ 24 ชั่วโมง ปล่อยให้สะเด็ดน้ำแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่อเย็นได้ที่ใหเติมเชื้อเริ่มต้นที่ประกอบด้วย แอสโคสปอร์ (ascospores) ของเชื้อรา *M. purpureus* 5 มิลลิลิตร ซึ่งเจริญอาหาร SA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25 วัน ผสมเชื้อเริ่มต้นกับข้าวให้เข้ากัน นำไปบ่มที่ 25-32 องศาเซลเซียส โดยระวังอย่าให้ข้าวเปียกหรือเละ ข้าวจะเริ่มแดงภายใน 3 วัน และมีความร้อนเกิดขึ้น ให้เขย่าข้าวเพื่อให้เกิดการกระจายความชื้นและความร้อนอย่างสม่ำเสมอ ภายใน 3 สัปดาห์ ข้าวที่ได้ควรมีสีแดงเข้ม เมล็ดข้าวไม่เกาะกันและมีสีแดงตลอดทั้งเมล็ด นำข้าวนี้ไปอบที่ 40 องศาเซลเซียส ก็จะได้ข้าวแดงตามต้องการ

การผลิตอังคักในไต้หวันซึ่งมีการผลิตในระดับอุตสาหกรรมนั้นทำโดยนำข้าวมา 1,450 กิโลกรัม ล้างแล้วนึ่งนาน 60 นาที แล้วฉีดด้วยน้ำ 180 ลิตร นำไปนึ่งอีกครั้งนาน 30 นาทีเมื่อเย็นได้ที่ให้ผสมกับเชื้อเริ่มต้น 32 ลิตร ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *M. purpureus* ในข้าวที่ผ่านการนึ่ง 60 นาที มีพีเอช 3.3 เป็นเวลา 4 วัน โดยมีการคนอย่างสม่ำเสมอ นำข้าวทั้งหมดไปกองไว้ในกระบะไม้ไผ่ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 42 องศาเซลเซียส จึงนำไปเกลี่ยใส่ในถาดแล้ววางตามชั้นในห้องบ่ม ระหว่างการหมักมีการเติมน้ำ 3 ครั้ง เพื่อรักษาความชื้น ระวังอย่าเติมน้ำมากเกินไป ควรรักษาความชื้นอยู่ประมาณ 85±5% หมักเป็นเวลา 8 วัน แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ก็จะได้ข้าวแดงหมัก 700 กิโลกรัม

กรมวิทยาศาสตร์ (2518) ได้ทดลองทำข้าวแดงในขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุข้าว 50 กรัม ปิดด้วยจุกสำลีเติมน้ำครั้งแรกไม่เกิน 10 มิลลิลิตร หรือใช้ขวดแก้วขนาด 2,800 มิลลิลิตร ที่บรรจุข้าว 200 กรัม เติมน้ำครั้งแรกไม่เกิน 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้ออัดความดันใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นโดยใส่น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าให้น้ำทั่วเมล็ดข้าว เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตรลงในหลอดเชื้อรา แล้วเขย่าให้สปอร์ของเชื้อราลอยอยู่ในน้ำกลั่น เทลงในข้าวที่เตรียมไว้ เคล้าให้ทั่ว นำไปเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 25 ถึง 27 องศาเซลเซียส จนกว่าข้าวจะมีสีแดงทั่วกันทุกเมล็ดจึงนำออกมาผึ่งแดดให้แห้ง หรืออบที่อุณหภูมิประมาณ 55 ถึง 60 องศาเซลเซียส ระหว่างการเพราะเชื้อถ้าข้าวแดงแห้งมาก จะทำการพรมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อลงไปหลังเพาะเชื้อไปได้ 3 ถึง 5 วัน ข้าวจะเปลี่ยนเป็นข้าวแดงเมื่อบ่มอย่างน้อย 15 วัน ขึ้นกับสายพันธุ์ข้าว

John และ Stuart (1991) ได้ทำข้าวแดงโดยใช้ข้าวพันธุ์ออสเตรเลีย ซึ่งมีลักษณะเมล็ดสั้น สีขาว นำมา 40 กรัม แช่น้ำ 5 ชั่วโมง จากนั้นปรับพีเอชตามต้องการด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 M แล้วบรรจุข้าวลงไปฟลาสก์ๆ ละ 2 กรัม นำไปฆ่าเชื้อแล้วเติมซัสเปนชัน 2.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 วัน

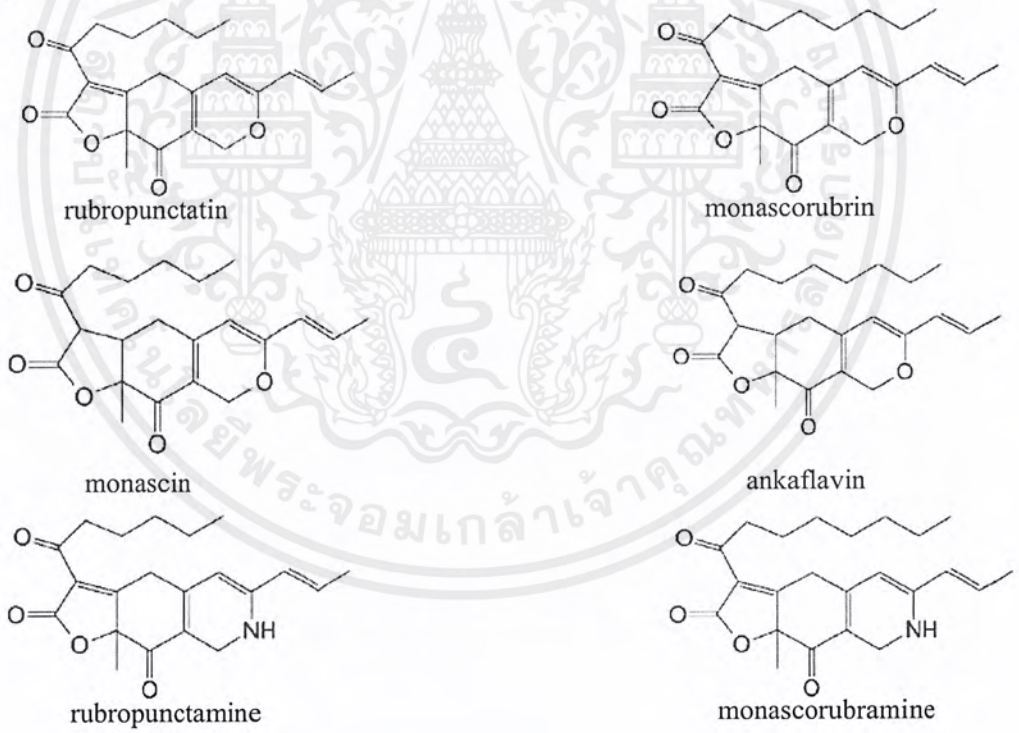
Han และ Mudgett (1992) ผลิตข้าวแดงโดยเตรียมข้าวสาร 120 กรัม แช่ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตรในสารละลายที่ประกอบด้วยน้ำกลั่น 68 มิลลิลิตรและซิงค์ซัลเฟต (zinc sulphate) 0.128 โมล ปริมาตร 12 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อแล้วใส่กล้าเชื้อลงในข้าวนึ่งปริมาตร 8 มิลลิลิตรนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ให้อยู่ระหว่าง 90-97 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงย้ายไปเลี้ยงในคอลัมน์แก้วที่หล่อด้วยน้ำอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และมีอุปกรณ์ควบคุมปริมาณก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ตลอดระยะเวลาการบ่ม 7.5 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผลิตสีแดงจากเชื้อราโมแนสคัส โดยวิธีการหมักแห้งนอกจากจะผลิตจากข้าวแล้ว ยังสามารถผลิตได้จากข้าวโพด ข้าวฟ่าง ขนมปัง ถั่วเหลือง ชานอ้อย ถั่วเขียว มันสำปะหลัง มันเทศ และมันฝรั่ง เป็นต้น และยังสามารถพัฒนาเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวได้ออกมาในรูปสีผสมอาหารที่สามารถละลายน้ำได้มากขึ้น

2.3 สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *M. purpurescens* บนอาหารแข็ง potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะพบว่ามีการสร้างสีภายในเส้นใย หลังจากนั้นอาหารเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีส้มและสีแดง เนื่องจากมีการขับสารสีในรูปของเหลวออกมาภายนอกทางรูเปิดของปลายเส้นใย เชื้อราโมแนสคัสสามารถสร้างสารสีได้หลายชนิด ประกอบด้วยสีส้ม 2 ชนิด คือ rubropunctatin และ monascorubrin สีเหลือง 2 ชนิด คือ monascin และ ankaflavin และสีแดง 2 ชนิด คือ monascorubramine และ rubropunctamine โครงสร้างของสารสีเหล่านี้ ดังแสดงในรูป 2.3 โดย monascorubramine และ rubropunctamine ที่เป็นสารสีแดงจะเปลี่ยนมาจาก monascorubrin และ rubropunctatin ตามลำดับ



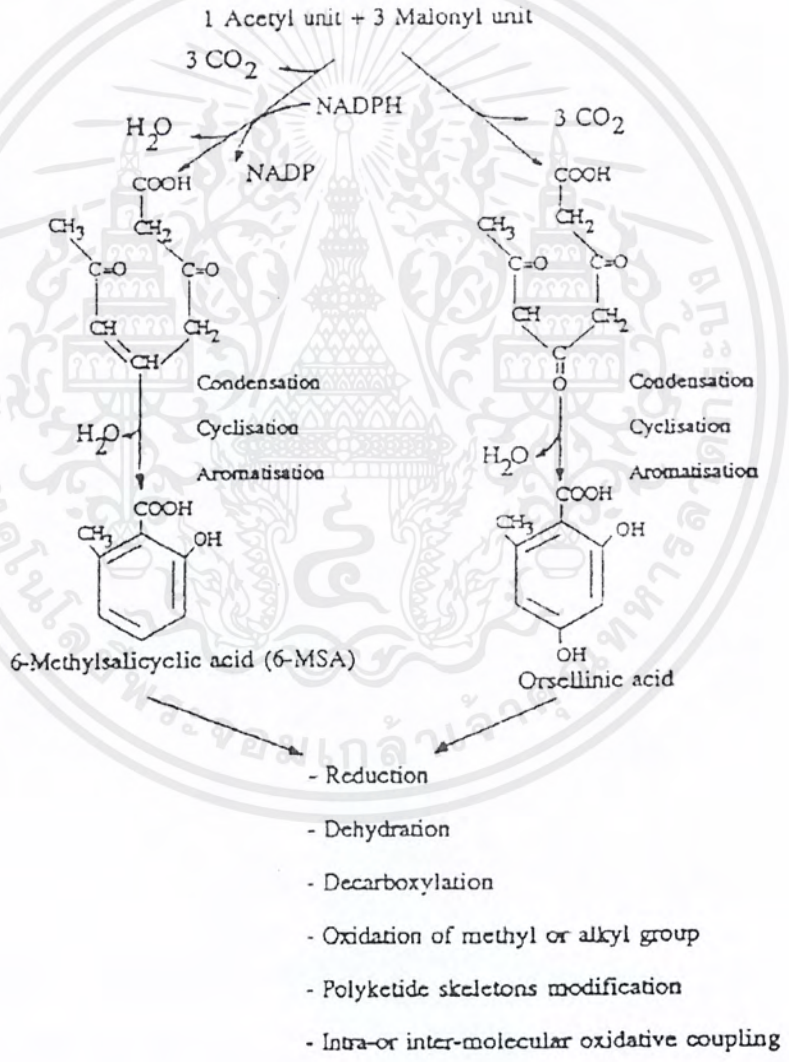
รูปที่ 2.3 แสดงโครงสร้างของสารสี จาก *Monascus* spp.

ที่มา : Lin *et al.* (2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 สารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส

เป็นสารประเภทโพลีคีไทด์ (polyketide) ที่เกิดจากการรวมตัวของ acetyl unit 1 หน่วยกับ malony unit 3 หน่วยขึ้นไปเป็นไพร์เมอร์ (primer) และปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา วิถีการสังเคราะห์สารโพลีคีไทด์เหมือนกับกรดไขมัน แต่จะไม่พบสารตัวกลางที่เกิดจากปฏิกิริยารีดักชั่นในการสังเคราะห์สารโพลีคีไทด์นั้นสายของโพลีคีไทด์จะยาวขึ้นตามจำนวนของคาร์บอน 2 หน่วยที่มาจาก malony unit ที่ถูกเติมเข้าไปในสายไพร์เมอร์แล้วเกิดเป็น tetraketide pentaketide และ polyketide ตามลำดับ ต่อจากนั้นก็จะเกิดปฏิกิริยา cyclisation และ aromatization ได้เป็นสาร 6-methylsalicylic acid หรือ orsellinic acid ซึ่งเป็นสาร tetraketide เริ่มต้นที่จะนำไปสู่การสังเคราะห์สารโพลีคีไทด์อื่นๆ ต่อไปนี้ ดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงการเกิดสาร 6-methylsalicylic acid และ orsellinic acid จาก acetyl และ malony unit

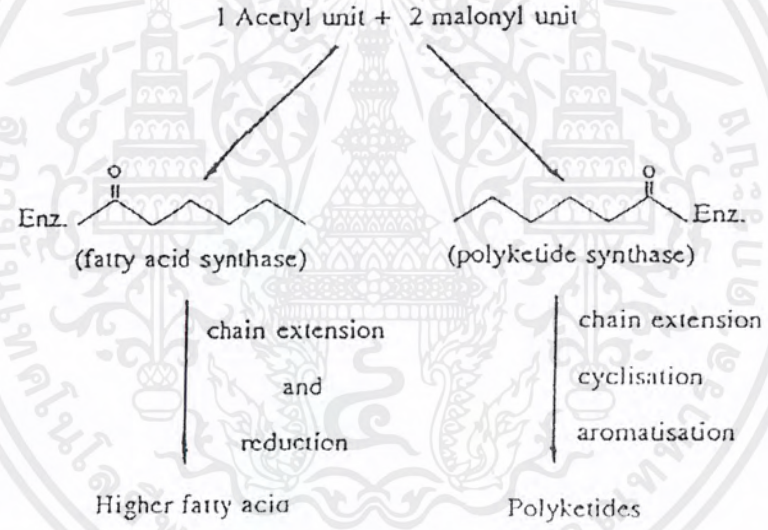
ที่มา : นิสา (2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อได้สารเริ่มต้นแล้วปฏิกิริยาที่จะเกิดขึ้นต่อไปขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์นั้นๆ เช่น อาจมีการเติม หรือดึงออกซิเจนออกจากโครงสร้างของสาร เกิดปฏิกิริยา decarboxylation ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างรูปหรือการยักย้ายหมู่ต่างๆ ภายในโมเลกุลของสารเกิด intra- หรือ intermolecular oxidative coupling หรือให้เกิดพันธะระหว่าง C-C หรือ C=O เป็นต้น

สารสีที่สกัดได้เช่น rubropunctain จาก*M. Rubropunctatus* monascorbin จาก *M. purpureus* และ monascin (monascoflavin) จาก *Monascus* spp. เป็นสารประเภทโพลีคีไทด์ ซึ่งเป็นเมทาบอไลท์ทุติยภูมิ โดยผลิตขึ้นมาคล้ายกับกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน

เชื่อว่าเอนไซม์โพลีคีไทด์เป็นเอนไซม์ที่ใช้สังเคราะห์สารโพลีคีไทด์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับยีนที่สังเคราะห์เอนไซม์ fatty acid synthase อย่างใกล้ชิด จากการจำลองตัวเองที่ผิดพลาดของยีนที่ให้สูญเสียขั้นตอนรีดักชั่น ทำให้เอนไซม์ polyketide synthase ทำหน้าที่สังเคราะห์โพลีคีไทด์แทนที่จะเป็น fatty acid synthase ซึ่งมีหน้าที่สังเคราะห์กรดไขมัน ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองแสดงดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 แสดงการเปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ fatty acid synthase กับ polyketide synthase
ที่มา : นิสา (2537)

การสังเคราะห์สารโพลีคีไทด์ถูกยับยั้งด้วยแสงสีน้ำเงินจะกระตุ้นให้เชื้อราสร้างโคนิเดียเบต้าแคโรทีนและกรดไขมัน แทนสารโพลีคีไทด์ โดยไปมีผลต่อเอนไซม์ที่ใช้สังเคราะห์หรือควบคุมวิถีการสร้างโพลีคีไทด์ การได้รับแสงสีน้ำเงินเวลาเพียง 2 นาที ก็สามารถยับยั้งการสังเคราะห์สารโพลีคีไทด์ได้แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Monascus* spp. ผลิตสารสีชนิดต่างๆ ดังนี้ (กรุณา และคณะ, 2546)

1. โมนาสโคฟลาวิน (monascoflavin) แยกได้เป็นครั้งแรกพร้อมกับสารสีโมนาสโครูบรินจากเชื้อรา *M. purpureus Wentii* เป็นสารสีในกลุ่มสีเหลือง สูตรโมเลกุลคือ $C_{21}H_{26}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 358 ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปีดังนี้ λ^{MeOH}_{max} 225 228 385 mμ มีจุดหลอมเหลว 143-155 องศาเซลเซียส สารสีโมนาสโคฟลาวินเป็นตัวเดียวกับสารสีโมนาสซิน (monascin) ซึ่งแยกได้จากเชื้อรา *M. rubiginosus Sato* อยู่ในกลุ่มสีเหลือง

2. อังคักฟลาวิน (ankaflavin) เป็นสารสีในกลุ่มสีเหลือง สูตรโมเลกุลคือ $C_{23}H_{30}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 386 มีจุดหลอมเหลว 120-121 องศาเซลเซียส ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปีดังนี้ λ^{dioxan}_{max} 212 228 328 mμ สารสีอังคักฟลาวินมีสูตรโครงสร้างสัมพันธ์กับสารสีโมนาสซินเช่นเดียวกับสารสีรูโบรพังทาทินที่มีสูตรสัมพันธ์กับสารสีโมนาสโครูบริน

3. รูโบพังทาทิน (rubropunctain) เป็นสารสีในกลุ่มสีส้ม สูตรโมเลกุลคือ $C_{21}H_{22}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 354 สารสีรูโบพังทาทินสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนียมในอาหารเลี้ยงเชื้อได้สารรูโบพังทามีนซึ่งสามารถทำปฏิกิริยาต่อไดอีกกับสังกะสีและกรดแอซิติกได้สารอะโปรูโบพังทามีน (aporubropunctamine) สารนี้มีผลึกรูปเข็มสีแดง มีจุดหลอมเหลว 156-157 องศาเซลเซียส

4. โมนาสโครูบริน (monascorubrin) เป็นสารสีในกลุ่มสีแดง สูตรโมเลกุลคือ $C_{23}H_{26}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 382 ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปีดังนี้ λ^{BtOH}_{max} 253 302 352 mμ มีจุดหลอมเหลว 134-136 องศาเซลเซียส

5. รูโบพังทามีน (rubropunctamine) เป็นสารสีในกลุ่มสีแดง สูตรโมเลกุลคือ $C_{21}H_{23}O_4$ และน้ำหนักโมเลกุล 353 สารสีรูโบพังทามีนนั้นเกิดจากสารรูโบพังทาทินทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนียม

6. โมนาสโครูบรามีน (monascorubramine) เป็นสารสีในกลุ่มสีแดง สูตรโมเลกุลคือ $C_{23}H_{27}O_4$ และน้ำหนักโมเลกุล 381 มีจุดหลอมเหลว 207-208 องศาเซลเซียส สารโมนาสโครูบรามีนเกิดจากสารโมนาสโครูบรินทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนียม

โดยสารเหล่านี้เป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่เชื้อราสร้างขึ้นพร้อมๆ กับการเจริญหรือสร้างหลังจากการเจริญหยุดลงแล้ว มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับสารในกลุ่ม Azaphiloner เช่น sclerotiorin และ rotiorin

Haws *et al.* (1959) พบว่าเมื่อนำเส้นใยที่ได้จากการเจริญของเชื้อรา *M. purpureus Sato* ในอาหารเหลว czapak dox อายุ 14-20 วัน มาสกัดด้วย light petroleum และอีเทอร์จะได้สีส้มของ rubropunctain ($C_{21}H_{22}O_5$) และสารสีเหลืองของ monascin ($C_{21}H_{26}O_5$) สารสีส้ม rubropunctain ละลายได้ในสารอินทรีย์เกือบทุกชนิด แต่ไม่ละลายในโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 นอร์-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มอล ที่อุณหภูมิต่ำและเมื่อนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลายแอมโมนียจะได้สารสีม่วงของ rubropunctatamine ที่ละลายในแอลกอฮอล์ได้ดีที่สภาวะเป็นด่างแต่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ที่สภาวะเป็นกรดและไม่ละลายในน้ำ เมื่อนำมาทำให้เกิดการรีดักชั่นด้วยผงสังกะสีจะได้สารไม่มีสี

สารสี rubropunctain ถูกค้นพบครั้งแรกใน *M. rubropunctatus* โดย Sato ซึ่งแยกมาจาก *M. purpureus* Carels (1977) พบว่าถ้ามีแอมโมเนียมไนเตรทในปริมาณ 5-10 กรัมต่อลิตร จะทำให้เชื้อราสร้างสีค่อนข้างแดง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไนโตรเจนมากขึ้นสารสีแดงจะเพิ่มขึ้นยกเว้นการเพิ่มในปริมาณมากๆ ที่จะไปยับยั้งการเจริญและการสร้างสารสี เนื่องจากสีแดงส่วนมากได้มาจากอาหารที่มีกลูโคสอยู่น้อย เนื่องจากการเจริญของเส้นใยที่มีความเข้มข้นของกลูโคสสูงอาหารจะมีความเป็นกรดมากซึ่งจะไม่ผลิตสารสีแดงออกมา ดังนั้นที่ความเข้มข้นของกลูโคสสูงๆ เส้นใยอาจจะต้องการสารประกอบไนโตรเจนเพื่อเป็นองค์ประกอบโครงสร้างของเส้นใยในการเจริญเติบโต

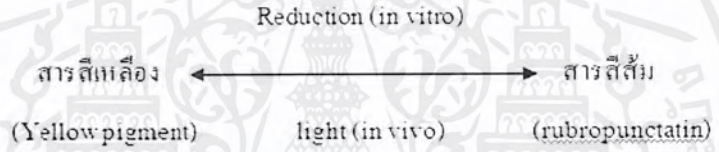
Carels and Shepherd (1977) พบว่าการสร้างสารสีของเชื้อราโมแนสคัส ขึ้นอยู่กับชนิดของแหล่งไนโตรเจน และพีเอชเริ่มต้นในการเลี้ยงเชื้อ เมื่อแหล่งไนโตรเจนเป็นยีสต์เอกซ์แทรคหรือไนเตรทที่พีเอช 6.5 จะสร้างสีแดง และจะสร้างสารสีส้มในอาหารแอมโมเนียมหรือแอมโมเนียมไนเตรทที่พีเอช 2.5 โดยปรับให้มีพีเอชในอาหารเริ่มต้นเท่ากับ 5.5 แต่พีเอชสุดท้ายจะแตกต่างกันไปตามชนิดของอาหารนั้นๆ พบว่าเชื้อราจะสร้างสารสีแดง ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างหมู่เอมีน (NH-group) ของกรดอะมิโนในอาหารเลี้ยงเชื้อและในเซลล์กับสารสีส้ม monascorubrin หรือ rubropunctain ที่เชื้อราสังเคราะห์ขึ้น ปฏิกิริยานี้ไม่เกิดขึ้นที่พีเอชของการเลี้ยงเชื้อเป็นกรด จึงพบเฉพาะสารสีส้มที่เชื้อราสังเคราะห์ขึ้นเท่านั้น แต่ถ้าพีเอชสุดท้ายของอาหารเลี้ยงเชื้อมากกว่า 6 สารสีจะเปลี่ยนเป็นอนุพันธุ์เอมีนของสารสีแดง โดยทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียในน้ำพบว่าถ้ามีความเข้มข้นแอมโมเนียมไนเตรท 5-10 กรัมต่อลิตร อาจจะมีแอมโมเนียมไอออนอิสระมากกว่าหรือมีอะมิโนกลุ่มอิสระภายในหรือภายนอกเซลล์มากกว่า ซึ่งสามารถที่จะทำปฏิกิริยากับสารสีส้มทำให้เปลี่ยนอนุพันธุ์ของเอมีนของสารสีแดง ส่วนสารสีเหลือง monascin และ ankaflavin นั้นสันนิษฐานว่าได้มากจากการถูกออกซิไดซ์ของสารสีส้ม Fielding และคณะ (1961) รายงานว่าเชื้อราโมแนสคัสสังเคราะห์ได้ทั้งสารสีส้มและสีเหลือง เฉพาะสารสีแดงเท่านั้นที่เกิดจากปฏิกิริยาทางเคมี ข้อสันนิษฐานดังกล่าวต่างจากการทดลองของ Yongsmith *et al.* (1990) และสมชาย (2536) ที่พบเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์กลายพันธุ์ KB20M10.2 สร้างสารสีเหลืองได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชเป็นกลาง และมีหมู่เอมีนจากกรดอะมิโนเหลือเพียงพอต่อการทำปฏิกิริยา ดังนั้นการสร้างสารสีเหลืองจึงน่าจะมีปัจจัยอื่นๆ เกี่ยวข้องนอกเหนือจากไนโตรเจนและพีเอชเริ่มต้น

Manchand *et al.* (1973) พบว่าเชื้อโมแนสคัสในแต่ละสายพันธุ์นั้นจะให้สารสีแตกต่างกันออกไป *M. rubropunctatus Sato* สามารถสร้างสาร rubropunctain และ monascin *M. purpureus* สร้างสาร monascroubrin และ monascin ส่วน *M. rubiginosus* สร้างเฉพาะสาร monascin เท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และพบว่าการสร้างสีเหลืองตัวใหม่จากเชื้อรา *M. anka* มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับ monascin มีชื่อว่า ankaflavin ($C_{23}H_{30}O_5$) ต่อมาในปี 1981 Sween *et al.* ได้ใช้ตัวทำละลายหลายชนิดต่างๆ เพื่อสกัดสารสีออกจากข้าวแดงซึ่งเกิดจากการเจริญของเชื้อรา *M. anka* พบว่ามีสารสีอยู่ทั้งหมด 3 กลุ่มด้วยกัน คือ สารสีแดงประกอบด้วย rubropunctamine และ monascorubramine สารสีส้มประกอบด้วย rubropunctain และ monascorubrin และสารสีเหลืองประกอบด้วย monascin และ ankaflavin

Wong and Bau (1978) ศึกษาผลของแสงที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงสารสีที่สร้างจากเชื้อราโมแนสคัสพบว่าแสงอุลตราไวโอเลต และสารบางอย่างที่ได้จากเชื้อ *Bacillus sp.* กระตุ้นให้เชื้อราสายพันธุ์ที่มีการสร้างสารสีได้น้อย หรือไม่สร้างสารสีเลย (albino mutant) สร้างสารสีได้ดีขึ้น ในขณะเดียวกันก็ยับยั้งการสร้างสารสีในสายพันธุ์ที่สร้างสารสีได้สูง แสงสีขาว แสงสีน้ำเงินและแสงสีแดง กระตุ้นการสร้างสารสีเหลืองแต่ไม่มีผลต่อการสร้างสารสีแดง ทั้งนี้สารสีเหลืองเป็นตัวรับแสง (photoreceptor) ซึ่งอาจเป็นสารเริ่มต้นหรือสารตัวกลางในกระบวนการสังเคราะห์สารสีก็เป็นได้ สารสีเหลืองนี้สามารถถูกออกซิไดซ์ไปเป็นสารสีส้ม คือ rubropunctain ได้ในหลอดทดลอง และปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถเกิดย้อนกลับได้เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสง ดังแสดงดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 แสดงปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสารสีที่สร้างจากเชื้อรา *Monascus* spp.
ที่มา : Wong and Bau (1978)

2.4 การปล่อยสารสีออกจากเส้นใยของเชื้อราโมแนสคัส

Su and Huang (1980) พบว่ามีการปล่อยสารสีของจากเส้นใยราโมแนสคัสสร้างขึ้นจะมีลักษณะเป็น granular fluid ซึ่งจะถูกขับออกมาตามช่องหรือรอยแตกของผนังเส้นใยในบางครั้งเมื่อขับออกมาแล้วสารสียังคงติดอยู่กับปลายเส้นใย และจะสะสมจนมีจำนวนมากก่อนหลุดจากเส้นใย สารสีบางส่วนสะสมอยู่ภายในเส้นใยด้วย

Lin and Lizuka (1982) ทดลองเลี้ยงเชื้อรา *M. Haoliang* R-10847 บนอาหารแข็ง Mantou-meal เพื่อศึกษาการสร้างสารสีนอกเซลล์ พบว่าเชื้อราจะเริ่มต้นสร้างสารสีและปล่อยออกมาในวันที่ 2 ของการเจริญพร้อมกับสารสีที่มีลักษณะหนืดชนิดหนึ่ง (viscous substance) ทำให้สารสีเกาะติดกับเส้นใย และสะสมเพิ่มมากขึ้น จนกระทั่งเส้นใยแตกจึงหลุดออกมา ไม่พบการสะสมสารสีภายในเส้นใย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lin and Lizuka (1982) พบว่าการชักนำให้เชื้อราเกิดการผ่าเหล่าเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีรอยรั่ว (leakage) ของผนังเส้นใยมากขึ้นส่งผลให้เชื้อราสร้างสารสีได้ดีขึ้นเนื่องจากมีความสมดุลระหว่างการสังเคราะห์สี และการปล่อยสีออกจากเส้นใย การเติมทวิน 80 (Tween 80) ปริมาณที่เหมาะสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ก็เป็นอีกวิธีที่ช่วยการปล่อยสารสีออกจากเส้นใย

2.4.1 การแยกสารสีโมแนสคัส

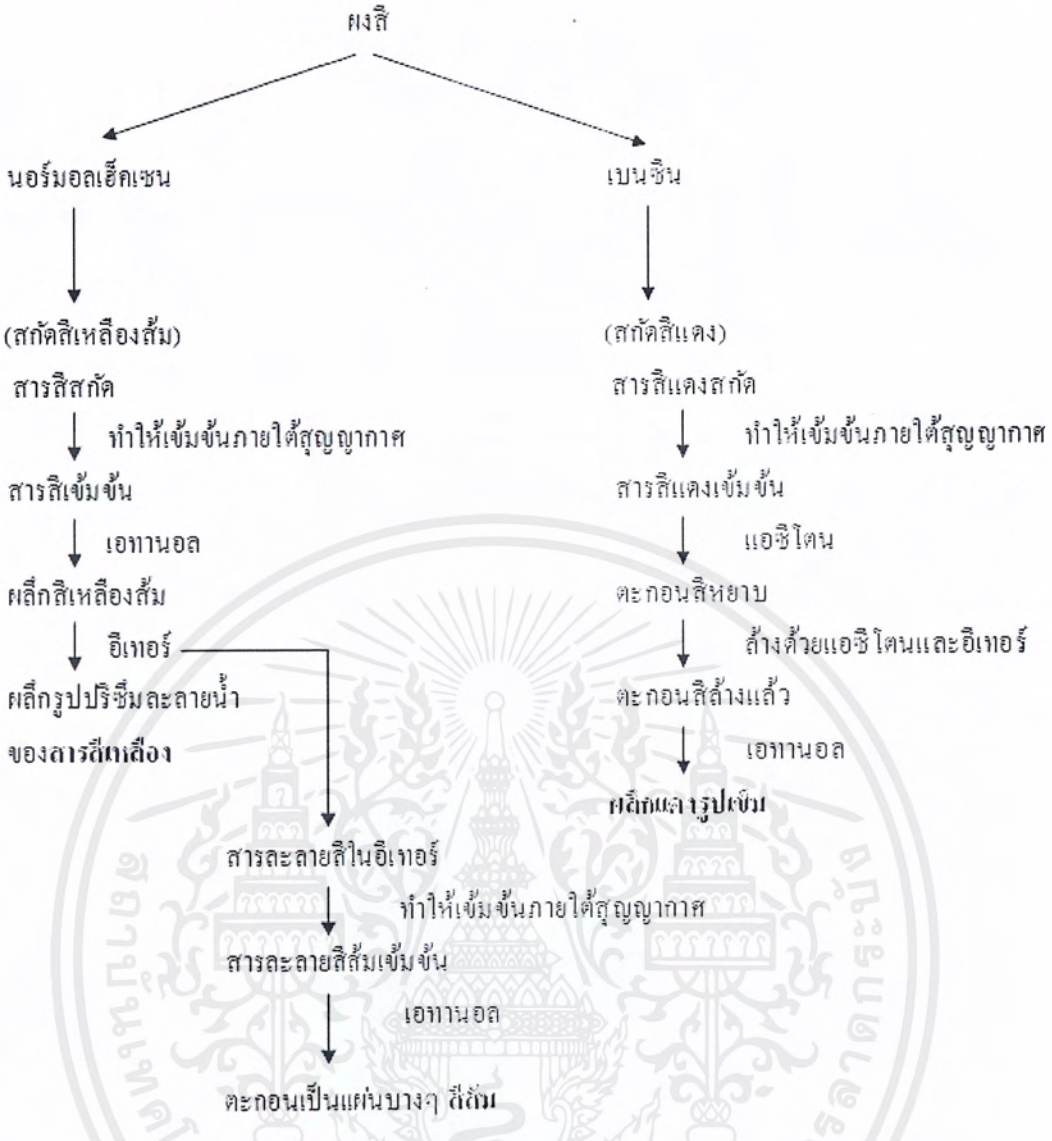
วิธีสกัดออกจากเส้นใยจะแตกต่างกันไป ทั้งทางด้านการใช้ตัวทำละลายเป็นตัวสกัด และปริมาณความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ใช้สกัด โดยได้มีการทดลองใช้เมทานอล คลอโรฟอร์ม เอทานอลและอะซีโตน ในการสกัดสีออกจากเส้นใย พบว่าสารสีที่สกัดได้ดีที่สุดคือ เมทานอล ซึ่งสีที่สกัดได้จะมีค่าการดูดกลืนแสงเด่นอยู่ที่ 2 สี ที่ความยาวคลื่น 390 นาโนเมตร (สีเหลือง) และ 500 นาโนเมตร (สีแดง)

การใช้เอทานอลร้อยละ 50 ในการสกัดสีออกจากเส้นใยนำเอาส่วนใสที่กรองได้ไปวัดค่าสีด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร นอกจากนี้ยังสามารถวัดค่าสีที่ละลายน้ำได้และสีที่ละลายได้ทั้งในน้ำและละลายในเอทานอลร้อยละ 95 ได้ด้วย นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร และ 500 นาโนเมตร

ทำการแยกสีบริสุทธิ์ชนิดต่างๆ จากข้าวแดง และแบ่งชนิดของสารสีออกเป็น 3 กลุ่ม ประกอบด้วยสีแดง คือ รูโบพังทามีน และโมนาสโครูบรามีน สีส้ม คือ รูโบรพังทาทิน และโมนาสโครูบริน และสีเหลือง คือ โมนาสซิน และอังคักฟลาวิน ดังรูปที่ 2.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



รูปที่ 2.7 การแยกสารสีเชื้อราโมแนสคัสให้บริสุทธิ์

ที่มา : บุษบา และคณะ (2531)

130338
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 คุณสมบัติของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

Su and Huang (1980) ศึกษาคุณสมบัติของสารสีจากเชื้อรา *M.anka* V-204 พบว่าละลายได้ดีในเอทานอลแต่ละลายได้น้อยในน้ำ สารสีในตัวทำละลายพีเอชต่างกันจะได้เฉดสีที่แตกต่างกัน ดังนี้ ที่พีเอช 3.0-4.0 จะเป็นสีส้ม ที่พีเอช 5.0-6.0 เป็นสีแดง และที่พีเอช 7.0-9.0 จะเป็นสีม่วงแดง เมื่อแยกสารสีจากเส้นใยมาทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่ได้จากแป้งถั่วเหลืองจะได้เป็นส่วนประกอบเชิงซ้อนสีแดงเข้มละลายในน้ำได้ดี สารสีจะมีความไวต่อแสงเมื่อละลายในน้ำแต่จะทนต่อแสงมากขึ้นเมื่อละลายในเอทานอล และทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสได้ดีเมื่ออยู่ในตัวทำละลายพีเอชเป็นกลางหรือเบส

Sweeny *et al.* (1981) ทดสอบคุณสมบัติของสารสีโดยเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ดีขึ้นคือ N-glucosylrubropunctamine และ N-glucosylmonascorunramine พบว่าสารทั้งสองคงสภาพต่อแสงแดดได้ดีขึ้นเมื่อเติมสาร quercetin-5-sulfonic acid สำหรับพีเอชที่ 2.8 6-hydroxy-1,4-naphthoquinone สำหรับพีเอชที่ 6.0 1,4,6-trihyhydroxynaphthalene ใช้ได้ดีทั้งพีเอช 2.8 และ 6.0 เป็นสารป้องกันการสลายตัวของสารสีจากแดด

Wong and Koehler (1983) นำสารสีแดงจากเชื้อราโมแนสคัสมาทำปฏิกิริยากับสารที่ไม่เป็นอันตรายและมีราคาถูกเพื่อให้ละลายน้ำได้ดี พบว่าสาร aminoacetic acid และ aminobenzoic acid ใช้กับสารสีแดงได้ดีสารประกอบเชิงซ้อนที่ได้คงตัวที่พีเอช 3.0 เมื่ออยู่ในตัวทำละลายพีเอชเป็นกลางหรือด่างจะทนความร้อนและแสงอัลตราไวโอเลตได้ดี โดยเหลือสารสีมากกว่าร้อยละ 80 เมื่อไม่ได้รับแสงอัลตราไวโอเลต 30 ชั่วโมง ส่วนวรรณภา (2528) พบว่าน้ำสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสที่ผ่านกระบวนการใดๆ คงตัวได้ดีที่พีเอชเป็นกลางถึงด่างเช่นกัน ทนต่ออุณหภูมิน้ำเดือดนาน 15 นาที และคงตัวได้ดีในสารละลายโซเดียมเบนโซเอท กลีเซอรอล น้ำและกรดอะซิตริก ซึ่งคุณสมบัติของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสบางประการ ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 สมบัติสารสีโมแนสคัส

สมบัติ	สีแดง	สีเหลือง
ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด	420 และ 500	330 และ 370
ค่าคงทนต่อ pH	4-11	2-11
สารละลาย	เอทานอล น้ำ เมทานอล	เอทานอล น้ำ แอซีโตน
ความคงทนต่อความร้อน	ดีพอใช้	ดีกว่าสีแดง
ความคงทนต่อแสง	พอใช้	ดี
ความปลอดภัย	ดี	ดี

ที่มา : บุษบา และคณะ (2531)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 การใช้ประโยชน์จากสารสีโมแนสคัส

ในแถบเอเชียได้มีการใช้เชื้อรา *Monascus* spp. ผลิตอาหารหมัก เช่น ข้าวแดง ไวน์ขาว (rice wine) สุราเกาเหลียง (kaoliang brandy) และเต้าหู้ยี้ (tofuyo) ซึ่งก่อให้เกิดสีสันและกลิ่นเฉพาะ นอกจากนี้ยังใช้ข้าวแดงผสมในตำหรับยาจีนเพื่อรักษาโรค

ข้าวแดงจะมีคุณค่าทางโภชนาการเพิ่มขึ้นเนื่องจากมีธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และวิตามินบีอยู่สูง จากการวิเคราะห์ของกรมวิทยาศาสตร์บริการ (2581) พบว่าในข้าวแดงมีปริมาณแร่ธาตุและวิตามินสูงกว่าข้าวสารมาก ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกันแล้วเห็นได้ว่าข้าวแดงมีปริมาณวิตามินบี 2 สูงกว่าข้าวสารถึง 180 เท่า (ตารางที่ 2.5)

ตารางที่ 2.5 ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณแร่ธาตุและวิตามินในข้าวสารพันธุ์ขาวมะลิและข้าวแดงที่ผลิตได้

รายการ	ข้าวพันธุ์ขาวมะลิ (มิลลิกรัมต่อ 100กรัม)	ข้าวแดงที่ผลิตได้ (มิลลิกรัมต่อ 10กรัม)
แคลเซียม	4.30	18.70
ฟอสฟอรัส	86.70	326.00
วิตามินบี 1	0.12	0.54
วิตามินบี2	0.04	9.28

ที่มา : กรมวิทยาศาสตร์บริการ (2581)

เชื้อรา *Monascus* spp. บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* spp. *Bacillus* spp. และ *Pseudomonas* spp. ซึ่งทั้งสามสกุลพบว่าเป็นเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษและก่อให้เกิดอาหารเน่าเสีย ซึ่งอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อตัวนี้คือ ยีสต์เอกซ์แทรกอาการ์ (Yeast extract Agar,YEA) (Wong and Koehler, 1981) ซึ่งได้แยกสารปฏิชีวนะจากเชื้อรา *M. purpureus* N11S แล้วนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ด้วยวิธีเปเปอร์แอสเซย์ดิสก์ (paper assay disc) พบว่าต้องใช้ปริมาณอย่างน้อยที่สุด 1.5 ไมโครกรัมต่อ 6 มิลลิลิตร

ข้าวแดงได้ถูกใช้เป็นสารเจือสีในอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งเป็นสารสีจากธรรมชาติที่มีความปลอดภัย ราคาถูก โดยใช้ในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ น้ำหวาน น้ำนม นมเปรี้ยว น้ำผลไม้ แยม ขนม ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ซูริมิ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ข้าวแดงยังใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องยาจีน เนื่องจากมีสารโมนาโคลิน เค (monocolin K) โดยสารนี้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 3-hydroxy-3methylglutareyl coenzyme A (HMG-CoA) reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลทำให้มีคุณสมบัติในการลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดได้ ใช้ในผู้ป่วยที่มีปริมาณไขมันในเลือดสูงและยังพบว่า สารสีโมนาสโครูบินจากเชื้อรา *M.anka* สามรถยับยั้งการส่งเสริมเนื้องอกในหนู เนื่องจากสารสีสามารถยับยั้งกระบวนการอักเสบ อันเกิดจากสารทีพีเอ (TPA: 12-O-tatradecanoylphorbol-13-acetate) ซึ่งเป็นสารที่ส่งเสริมการเกิดเนื้องอก

สารโมนาโคลิน เค (monocolin K) มีผลต่อปริมาณคอเลสเตอรอล (total cholesterol) ไตร-กลีเซอร์ไรด์ (triglyceride) ไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำ (low density lipoprotein cholesterol ;LDL-C) เป็นคอเลสเตอรอลที่ไม่ดี (bad cholesterol) ทำให้เลือดตกตะกอนเป็นลิ่มแล้วเกาะผนังเส้นเลือดเป็นสาเหตุใหญ่ที่ทำให้ผนังเส้นเลือดภายในหนาขึ้น การไหลเวียนของเลือดไม่สะดวกก่อให้เกิดการอุดตันของเส้นเลือด ส่วน HDL-C เป็นคอเลสเตอรอลที่ดี (good cholesterol) เนื่องจากนำคอเลสเตอรอลที่ไม่จำเป็นต่อร่างกายกลับไปสู่ตับแล้วขับถ่ายออกกระบวนการนี้เรียกว่า Reverse Transportation of cholesterol ถ้าในร่างกายมีระดับ HDL-C ต่ำกว่า 35 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร จะมีความเสี่ยงที่จะเป็นโรคเส้นเลือดในสมองและหัวใจอุดตัน

Wang และ คณะ (2000) ได้มีการทดลองในหนูได้รับข้าวแดงเป็นเวลา 6 เดือน หลังจากนั้นวัดปริมาณไขมันในเลือดและตับพบว่ามีความเข้มข้นของซีรัมไตรกลีเซอร์ไรด์ คอเลสเตอรอล VLDL-C (very-low-density lipoprotein cholesterol) และ LDL-C จะลดลง ส่วน HDL-C จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากข้าวแดงจะมีสารในกลุ่มโมนาโคลินซึ่งเป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล

Moll และ Farr (1976) ทดลองใช้สารสีจาก *M. rubiginosus* เจือสีในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว โดยเติมสารสีในปริมาณต่างๆ กัน 3 ระดับ คือร้อยละ 0.2, 0.5 และ 1 และได้นำมาเปรียบเทียบกับนมเปรี้ยวรสธรรมชาติ นมเปรี้ยวที่เติมสารสีร้อยละ 0.2 จะมีสีแดงอ่อนและนมเปรี้ยวที่เติมสารสีร้อยละ 1 จะมีสีแดงเข้ม

Fink-Gremmels และคณะ (1991) ได้สกัดสารสีโมแนสคัสจาก *M. purpureus* DSM 1397 ด้วยเมทานอลแล้วเติมลงในไส้กรอกแฟรงเฟอเตอร์เพื่อลดปริมาณไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งพบว่าสารสีสกัดจะทำให้เกิดสีน้ำตาลแดง ซึ่งเป็นสีที่ผู้บริโภคต้องการในผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีไนเตรท์และเมื่อนำไปให้แสงเป็นเวลา 30 นาที และ 2.5 ชั่วโมง สีของไส้กรอกที่เติมสารสีโมแนสคัสจะมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย

Farbe และคณะ (1993) ศึกษาคุณสมบัติของสารสีจาก *M. rubber* ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้เอทานอลและกลูตาเมตเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน หลังจากการสกัดและการทำให้บริสุทธิ์ก็ได้ตรวจสอบคุณสมบัติของสารสีที่อยู่ในสารละลาย โดยทดสอบความคงตัวของสารสีทั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในสารละลายและเมื่อเติมลงในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ พบว่าสารที่เติมลงในผลิตภัณฑ์จะยังคงอยู่ได้เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลาถึง 3 เดือน จะคงตัวอยู่ระหว่างร้อยละ 92-98 จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสปรากฏว่าผลิตภัณฑ์ที่มีการเติมสารสีจาก *M. rubber* จะช่วยเพิ่มกลิ่นรสเนื่องจากสารสีรวมตัวกับกลูตาเมต

Lee และคณะ (1995) ได้มีการศึกษาการใช้ประโยชน์จากสารสีเพื่อผลิตเหล้าสาเกโดยทำโปรโตพลาสฟิวชันระหว่างเชื้อรา *M. anka* กับเชื้อรา *Aspergillus oryzae* การเลี้ยงโดยใช้เทคนิคกึ่งการหมักแห้งและหมักเปียก (solid-liquid culture method)

ทศพร นามโฮ่ง (2544) ศึกษาการใช้ข้าวแดงเพื่อปรับปรุงสีในไส้กรอกอิมัลชั่นโดยเปรียบเทียบด้วยการประเมินผลทางประสาทสัมผัสกับไส้กรอกที่ใช้ผงเพรคร้อยละ 0.3 พบว่าข้าวแดงบดละเอียดในระดับร้อยละ 0.6 ของน้ำหนักเนื้อ ผู้ชิมให้รับการยอมรับมากที่สุด ส่วนการใช้สีที่สกัดจากข้าวแดงบดละเอียด พบว่าไส้กรอกจากการใช้สีสกัดจากข้าวแดงบดละเอียดในระดับร้อยละ 0.3, 0.6 และ 0.9 ไม่มีความแตกต่างกันในเรื่องนี้และการยอมรับโดยรวมและเมื่อเก็บไส้กรอกที่ปรับปรุงสีโดยใช้ข้าวแดงบดละเอียดพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าสี

2.7 เมแทบอไลต์ประเภทต่างๆ จากเชื้อราโมแนสคัส

การศึกษาต่อๆ มาได้พบสารเมแทบอไลต์หลายๆ ชนิดที่น่าสนใจและมีค่าทางเศรษฐศาสตร์จากเชื้อราโมแนสคัสดังรวบรวมในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 สารเมแทบอไลต์ที่มีประโยชน์จากเชื้อราโมแนสคัส

สารเมแทบอไลต์	เอกสารอ้างอิง
ก. เอนไซม์	
1. กลูโคอะมิเลส	Lizuka and Mineki (1977, 1978) Yongsmith *et al.* (1990) บุษบา และ วรรณภา (2528)
2. โปรตีเอส	Nishikawa *et al.* (1988) Tsai *et al.* (1978)
3. แอลฟา กาแลคโตซิเดส	Wong *et al.* (1993)
4. แอลฟา-อะมิเลส	Yongsmith *et al.* (1990)
5. ไรโบนิวคลีเอส	Yasuda *et al.* (1995)
ข. เมแทบอไลต์ปฐมภูมิ (primary metabolites)	
1. เอทิลแอลกอฮอล์	Fink-Gremmels and Leistner (1989)
2. กรดอินทรีย์	Lumyong *et al.* (1990); Lumyong and Tomita

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	(1990, 1993)
3. วิตามินบี 2	รัตนา (2524, 2528)
4. ไขมัน	Rasheva *et al.* (1997)
5. กรดไขมัน	Juzlova *et al.* (1996)
ค. เมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites)	
1. สารสี (แดง , เหลือง , ส้ม)	Chen and Jonn (1993,1994); Faber *et al.* (1993) Sweeny *et al.* (1981); Yongsmith *et al.* (1990, 1994)
2. สารปฏิชีวนะ	นิสา (2537); บุษบาและนิสา (2540) Martinkova *et al.* (1995) Wong and Bau (1977); Wong *et al.* (1981, 1983)
3. สารลดคอเลสเตอรอล หรือ monacolin	Endo (1985, 1986), Fink-Gremmels and Leistner (1989)
4. ยาลดความดันโลหิต (antihypertensives)	Juzlova *et al.* (1996)
5. ยาพื้นบ้านของจีนรักษาโรคอาหารไม่ย่อย, โรคบิด, กล้ามเนื้อฟกช้ำ	Lin and Lizuka (1982), Wong *et al.* (1981)
6. สารให้กลิ่นหอม (methyl ketones)	Kranz *et al.* (1992)
7. สารแองคาแลคโตน (ankalactone)	Juzlova *et al.* (1996)

ที่มา : บุษบา (2537)

2.8 ความปลอดภัยของสารสีโมแนสคัส

เชื้อราโมแนสคัสมีประวัติใช้เป็นแหล่งเอนไซม์เพื่อผลิตอาหารหมักพื้นบ้านในประเทศจีนและแถบเอเชียมาเป็นเวลานานหลายร้อยปีแล้ว สีธรรมชาติจากเชื้อราโมแนสคัสถูกนำมาใช้เป็นสีผสมอาหารแทนสีสังเคราะห์ที่ผลิตโดยวิธีทางเคมี เพราะมีราคาถูก ความปลอดภัยสูง อีกทั้งยังไม่พบว่าเป็นสารก่อมะเร็งเหมือนในสีผสมอาหารประเภทสังเคราะห์ที่มีองค์ประกอบพวก coal tar dyes

บุษบา และคณะ (2531) ทดสอบความเป็นพิษของสารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสต่อการฟักตัวของไข่ไก่ (ตารางที่ 2.7) ต่อการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมของเม็ดเลือดขาวและต่อหนู พบว่าสารสีไม่มีพิษต่อการฟักตัวของไข่ไก่ ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครโมโซมของเม็ดเลือดขาว และไม่พบความผิดปกติใดๆ ในหนูทดลอง ซึ่งตรงกับการทดสอบความเป็นพิษของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสในหนูของ Kaio และคณะ (1978)

ตารางที่ 2.7 แสดงเปอร์เซ็นต์การฟักตัวไขไก่ เมื่อฉีดด้วยน้ำสีเหลือง และน้ำสีแดงจาก *M. barkeri* และ *M. kaoliang* ตามลำดับ

ตัวอย่างน้ำสีที่ฉีดไข่	จำนวนไข่ (ฟอง)	จำนวนไข่ที่ฟักเป็นตัวทั้งหมด (ฟอง)	เปอร์เซ็นต์การฟักเป็นตัว
Control			
ไม่ฉีดน้ำกลั่น	10	6	77.50
ฉีดน้ำกลั่น	30	25	83.30
M. barkeri (35.55 หน่วยต่อมิลลิลิตร)			
สีเหลืองเจือจาง 2 เท่า	10	9	90.00
เจือจาง 5 เท่า	25	21	84.00
M. kaoliang (67.90 หน่วยต่อมิลลิลิตร)			
สีเหลืองเจือจาง 2 เท่า	30	23	76.67
เจือจาง 5 เท่า	30	25	83.33

ที่มา : บุษบา และคณะ (2531)

2.9 ลิปสติก

การใช้ลิปสติกมีมาตั้งแต่สมัยโบราณย้อนกลับไปเมื่อ 5,000 ปีที่แล้ว สาวชาวอียิปต์จะนำแมลงปีกแข็งสีแดงนำมาบดผสมกับไข่ และนำมาทาปาก ต่อมาพระราชินีอลิซาเบ็ธที่ 1 ทรงโปรดให้ผลิตลิปสติกขึ้นมา โดยทำสีแดงผสมกับขี้ผึ้ง หลายศตวรรษต่อมาได้มีการนำปรอทมาผสมในลิปสติกเพื่อให้ลิปสติกมีสีแดงมากยิ่งขึ้น ในทศวรรษ 1920 ได้มีการพัฒนาลิปสติกให้ทาแล้วติดทนนานด้วย ลิปสติกในปัจจุบันนอกจากจะให้สีสันสวยงามแล้วยังให้ความชุ่มชื้นช่วยลดการแห้งแตกของริมฝีปาก อีกทั้งยังช่วยป้องกันริมฝีปากจากแสงแดด ลม และอุณหภูมิที่เย็นได้อีกด้วย

ลิปสติกเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทหนึ่งที่มีการใช้อย่างกว้างขวาง ส่วนใหญ่ผู้ใช้จะทาริมฝีปาก เพื่อช่วยให้ชุ่มชื้นไม่แห้ง ช่วยปกป้องผิวของริมฝีปากจากสิ่งกระทบภายนอก ช่วยแต่งเติมรูปปากให้สวยงามยิ่งขึ้น แต่งสีให้เด่นสะดุดตาแลดูงดงาม ดึงดูดความสนใจจากผู้พบเห็น เป็นต้น แต่เนื่องจากลิปสติกเป็นเครื่องสำอางที่มักจะมีการกลืนกินเข้าไปในร่างกายได้ ดังนั้นจึงต้องเลือกซื้อและใช้ลิปสติกด้วยความระมัดระวังอย่างยิ่ง เพราะถ้าหากลิปสติกที่เลือกซื้อและใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่ได้มาตรฐานก็อาจจะเป็นอันตรายต่อร่างกาย โดยส่วนประกอบต่างๆของลิปสติก จะมีสารให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวริมฝีปาก และช่วยให้ลิปสติกนั้นคงรูปอยู่ได้ สีที่ต้องใช้เป็นสีที่กระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้ใช้ในลิปสติก ส่วนประกอบเสริมจะมีสารที่ทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ดีขึ้น เช่น น้ำหอม สารแต่งกลิ่นแต่งรส วัตถุที่ใช้กันเสียและสารป้องกันแสงแดด และลิปสติกที่ดีควรมีเนื้อเรียบเนียน สีสวยสม่ำเสมอ ให้สีที่ติดทนและล้างออกง่ายเมื่อต้องการ มีความแข็งพอที่จะคงรูปเป็นแท่งอยู่ได้ แต่ก็มีความอ่อนนุ่มพอที่จะหลอมได้ทันทีเมื่อสัมผัสริมฝีปาก ทาง่าย และที่สำคัญคือไม่ก่อให้เกิดการแพ้หรือการระคายเคือง (รูปที่ 2.8)

ลิปสติกรุ่นเก่านิยมใช้น้ำมันสัตว์ (แทนที่จะใช้น้ำมันสังเคราะห์) สูตรที่ทำมักเน้นให้ลิปสติกติดทนได้นานแต่ไม่คงความชุ่มชื้นจึงขาดความนุ่มเนียนในการทา การทาต้องอาศัยแปรงทาปากเพื่อช่วยให้ทาง่ายขึ้น ปัจจุบันลิปสติกมีสูตรที่ได้รับการพัฒนาขึ้นมา มีส่วนผสมที่เป็นแว็กซ์ที่ออกแบบมาให้ละลายเมื่อสัมผัสกับริมฝีปาก ลิปสติกจึงทาได้ง่ายขึ้นและสม่ำเสมอ นอกจากนี้ยังมีส่วนผสมที่เป็นมอยส์เจอไรเซอร์ ซึ่งทำให้ริมฝีปากดูฉ่ำอย่างเป็นธรรมชาติ ให้ความรู้สึกบางเบาบนริมฝีปากและมักให้คุณค่าในการบำรุง

รูปที่ 2.8 ลิปสติก

ที่มา : http://www.buzzle.com/articles/lipstick-colors-for-black-women.html

2.9.1 ชนิดของลิปสติก

2.9.1.1 ลิปทรีทเม้นท์ (lip treatment) คือ ลิปสติกที่ช่วยให้ความชุ่มชื้น หรือลดอาการแตกลอกของเรียวปาก มักมีส่วนผสมของสารบำรุงเพื่อเพิ่มความนุ่มนวล ปัจจุบันลิปทรีทเม้นท์มีหลายรูปแบบ ทั้งลิปบาล์มชนิดใสให้ความชุ่มชื้นแต่บาง ลิปบาล์มชนิดเข้มข้น (lipconditioner) สำหรับริมฝีปากแห้งหรือแตกลอกเป็นขุย

2.9.1.2 ครีม (cream) คือ ลิปสติกที่มีเนื้อสีเข้มข้นมากเป็นพิเศษ มักมีส่วนผสมของมอยส์เจอไรเซอร์ชนิดต่างๆ เช่น emollient วิตามินซี และวิตามินอี ช่วยให้เนื้อลิปสติกมีความเนียนลื่นทาได้ง่าย ไม่มีคราบติดตามร่องริมฝีปาก ทั้งยังให้ความชุ่มชื้นกับริมฝีปากอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.1.3 ฟอสท์ (frost) คือ ลิปสติกอีกชนิดหนึ่งที่มีเนื้อสีเข้มข้น แต่จะแตกต่างจะลิปสติกชนิดครีม ตรงจะมีส่วนของกริทเตอร์ (glitter) ซึ่งเมื่อสะท้อนกับแสงจะเกิดเป็นประกายระยิบระยับ ทำให้ริมฝีปากดูเปล่งปลั่ง

2.9.1.4 แมท (matt) คือ ลิปสติกที่มีของเนื้อสีมากที่สุด ปราศจากความเงามัน มีส่วนผสมที่ช่วยให้เนื้อลิปสติกแห้งไม่ลบเลือนง่าย ปัจจุบันลิปสติกชนิดนี้มีด้วยกันหลายรูปแบบทั้งเนื้อแมท ปกติ และกริทเตอร์แมท (glitter matt) ที่เพิ่มประกายระยิบระยับเล็กน้อยให้ริมฝีปากมันเงา ช่วยให้เรียวปากดูอวบอิ่มยิ่งขึ้น

2.9.1.5 ลิปกลอส (lip gloss) เป็น ลิปสติกไม่มีสี หรือสีอ่อนมาก ใช้ป้องกันริมฝีปากแห้งแตก เพื่อให้เกิดความมัน นุ่มเนียน ลิปกลอสเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ใช้ทาบนปาก ทำให้ริมฝีปากเงาวาว และบางชนิดทำให้ริมฝีปากมีสีอ่อนๆ เจือจาง มีการจัดจำหน่ายเป็นแบบเหลวหรือแบบก้อนในตลับ (เป็นสินค้าคนละประเภทกับลิปบาล์ม ซึ่งโดยทั่วไปมีวัตถุประสงค์มีการใช้ในการรักษาด้านการแพทย์) ลักษณะทั่วไปจะเป็นแบบใส ด้าน หรือหลากหลายสีแบบทึบ รวมไปถึงประกายชิมเมอร์แวววาว และเมทาลิค

ลิปกลอสผลิตจำหน่ายขึ้นเป็นครั้งแรกเมื่อปี 1932 โดยบริษัท แม็กซ์แฟกเตอร์ ในชื่อการค้าว่า X-Rated สูตรดั้งเดิมได้ขายและผลิตจนถึงปี 2003 หลังจากนั้นพร็อกเตอร์ แอนด์ แกม เบิลที่เข้าซื้อกิจการของแม็กซ์แฟกเตอร์ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1991 และได้ยกเลิกการผลิต แม็กซ์แฟกเตอร์ X-Rated สูตรดั้งเดิมในปี 2003

ลิปกลอสเหมือนลิปสติกซึ่งมีหลากหลายรูปแบบ และสามารถใช้ในลักษณะต่างๆ เช่น สามารถบรรจุในขวดทรงกระบอกขนาดเล็กและใช้กับแอปลิคาเทอร์ (applicator) แบบกลมหรือแบบลาดเอียง (เรียกว่า applicatordoefoot) ใช้กับแปรงที่อยู่ในตัวของลิปหรือหลอดเล็กที่ออกแบบมาสำหรับใช้กับปลายนิ้ว ส่วน ลิปแบบเหลว (solid glosses) มีทั้งแบบตลับและแบบแท่งซึ่งบางครั้งทำให้เกิดความสับสนกับความแตกต่างระหว่างลิปกลอสและลิปบาล์ม

ลิปกลอสแบบชนิดใหม่ ที่เรียกว่า ปั้มปิ้ง (plumping) มีส่วนผสมที่ทำให้ริมฝีปากนุ่มขึ้นและอิ่มเอิบ ซึ่งเป็นทางเลือกอีกทางที่ราคาถูกสะดวกและไม่เป็นอันตราย (มาธวี รัสมีกิจกรรม, 2553)

2.9.2 คุณสมบัติของลิปสติก, ลิปบาล์ม และลิปกลอสทั่วไป

ลิปสติกที่ดีควรมีเนื้อเรียบ ให้สีที่ดึงดูดใจและคงสภาพทั้งเมื่อเก็บไว้และในขณะใช้ ไม่เป็นพิษและไม่เป็นอันตรายต่อผิวหนัง จะต้องให้สีที่ติดทนแต่สามารถล้างออกได้ง่ายเมื่อต้องการ จะต้องมีรสดี ไม่มีรสที่ชวนคลื่นเหียน จะต้องมีความแข็งแรงพอที่จะคงรูปเป็นแท่งอยู่ได้ และมีความหนืดพอเหมาะในการบรรจุในกระปุก แต่มีความอ่อนนุ่มพอที่จะหลอมได้ทันทีเมื่อสัมผัสกับริมฝีปาก และสามารถคงรูปอยู่ได้โดยไม่เหลวเยิ้มเมื่อเก็บไว้ในกระเป๋าถือไม่ว่าจะอยู่ในสภาวะใดก็

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ดีจะต้องไม่มีเหงื่อ แตกร่วนหรือแข็งเป็นก้อน หรือปูดพองเมื่อเก็บไว้ ง่ายแก่การทาบนปากและที่สำคัญจะต้องไม่เป็นพิษเมื่อใช้

2.9.3 ส่วนประกอบของลิปสติก

ส่วนประกอบของลิปสติก มีดังนี้คือ

- เนื้อลิปสติก หรือ base ประกอบด้วยส่วนของน้ำมันเหลว (oils) ไขมัน (fats) และไขแข็ง (waxes) ชนิดต่างๆ ที่ไม่เป็นอันตราย ที่ได้จากธรรมชาติหรือการสังเคราะห์ เช่น mineral oil, petrolatum, lanolin, beeswax, carnauba wax, candelila wax

ส่วนประกอบที่อาจมีได้

- สารช่วยให้ผิวนุ่ม (emollient) เช่น stearyl alcohol, cetyl alcohol, hydrogenated vegetable oils, petrolatum, castor oil

- สารให้ความชุ่มชื้น (humectants) เช่น propylene glycol, pyrollidone carboxy acid, polyethylene glycol, sorbitol

- สารช่วยการกระจายตัวของสี (dispersing agents) เช่น lecithin, lanolin

- หัวน้ำมันหอม (perfume oil) สารแต่งกลิ่น (perfumery compound)

- สารกันเสีย (preservative) และสารกันหืน (antioxidant) เช่น BHA, BHT, propyl paraben, methyl paraben และ tocopherol

- สารแต่งสี (pigments)

2.9.4 คุณสมบัติของส่วนประกอบบางชนิดในผลิตภัณฑ์ลิปสติก (อรัญญา, 2533)

2.9.4.1 น้ำมันเหลว (oils) อาจเป็นน้ำมันจากพืช (vegetable oil) น้ำมันแร่ (mineral oil) หรือน้ำมันสังเคราะห์ (synthetic oil) ก็ได้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ให้ฟิลม์ที่เหมาะสมเมื่อทาบนริมฝีปาก และยังทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสม และสัดส่วนที่เหมาะสมของน้ำมันเหลวในผลิตภัณฑ์ จะได้ผลิตภัณฑ์ที่กระจายตัวได้ง่ายและเกิดฟิล์มบางๆ บนริมฝีปาก

1) น้ำมันจากพืช (Vegetable oil) น้ำมันพืชมีหลายตัว ได้พบว่ามีการใช้ olive oil และน้ำมันงา (sesame oil) ในลิปสติกตั้งแต่โบราณแต่เหม็นง่าย และเป็นตัวทำละลายที่ไม่ดีสำหรับสี จึงไม่นิยมใช้ น้ำมันพืชที่นิยมใช้จนถึงปัจจุบันคือน้ำมันละหุ่ง (castor oil) เนื่องจากเป็นน้ำมันที่มีความหนืดสูง ถือว่าเป็น vehicle ที่ดีในลิปสติกเนื่องจากไม่ทำให้เม็ดสีตกตะกอนเร็วในระยะหลอม และหล่อเป็นแท่ง จะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีติด และไม่ไหลเยิ้ม แต่อย่างไรก็ตามการใช้ castor oil ยังมีข้อเสียเนื่องจากจะต้องใช้ castor oil ที่บริสุทธิ์ หรือ refined grades เพื่อมิให้เกิดปัญหาสีกลิ่นและรส นอกจากนี้ castor oil ยังมี hydroxyl group ในโมเลกุลที่สามารถทำปฏิกิริยากับกรดได้ และอาจมีปัญหาทำให้เม็ดสีกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวลำบาก โดยปกติจะใช้ในปริมาณร้อยละ 50 แต่มักให้ผลิตภัณฑ์ที่ดีเมื่อใช้ในปริมาณร้อยละ 25 มีข้อเสีย คือ รสไม่ดีและหืนง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- น้ำมันแมคคาดาเมีย (Macadamia oil) ได้จากผลของต้น *Macadamia ternifolia* ประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวถึง 80 % มีกรด oleic และ palmitoleic ปริมาณสูงถึง 22 % ซึ่งทนต่อการหืน ให้ความชุ่มชื้นที่ดีมาก กระจายตัวได้ดีบนผิว มีส่วนประกอบของกรดไขมันที่คล้ายคลึงกับไขผิวหนัง จึงสามารถทดแทนไขมันผิวหนังได้ดี

- น้ำมันอัลมอนด์ (Almond oil) น้ำมันที่ได้จากเมล็ดของต้น *Prunus amygduls* วงศ์ Rosaceae เป็นของเหลวใสไม่มีกลิ่นไม่ระคายเคืองผิวหรือทำให้แพ้ ซึ่งประกอบด้วย oleic 66-72 % linoleic 18-22 % และ palmitic acid 5.7-7.9 % มีการใช้กันมานาน ในผลิตภัณฑ์ถนอมผิว บำรุงเส้นผมและกันแดด ในทางยาได้รับการยอมรับให้ใช้ในเภสัชตำรับของสหรัฐอเมริกา สามารถดูดซึมสู่ผิวได้ดี

2) น้ำมันแร่ (Mineral oil) ได้แก่ liquid paraffin หรือ white mineral oil เคยนิยม ใช้อยู่ระยะหนึ่ง เนื่องจากมีข้อดีคือไม่เหม็นหืน แต่มีข้อเสียคือละลายสีไม่ดี ทำให้ลิปสติกไม่เรียบ ทำให้ริมฝีปากไม่เรียบและไหลเยิ้ม มักใช้ในปริมาณเล็กน้อยเพื่อให้เกิดความมันวาว (gloss) โดยในสูตรควรใช่ไม่เกินร้อยละ 5 อย่างไรก็ตามการใช้ isopropyl palminate ก็ให้ความเป็นมันเงาได้เท่ากัน

3) น้ำมันสังเคราะห์ (synthetic oil) มี Fatty ester ของ lower alcohol เช่น butyl stearate นิยมใช้เป็นน้ำมันเหลวในลิปสติกเหมือนกันแต่ละลายสี bromo acid ได้น้อยเพียงร้อยละ 0.2 เป็นน้ำมันเหลวที่สามารถรวมกับเม็ดสี pigment ได้ดี ไม่เหนียวข้นเหมือน castor oil สำหรับ isopropyl myristrate and isopropyl palmitate ใช้กันกว้างขวางในการเตรียมลิปสติกเหมือนกัน โดยมีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับ butyl stearate but isopropyl myristrate จะทำให้เกิดเหงื่อได้น้อยกว่า butyl stearate เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ส่วน Fatty alcohols ต่างๆ ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายสีต่างๆ เช่น lauryl, myristyl, stearyl, oleyl, and cetyl alcohol ในบางตำรับจะใช้แทน cator oil แต่จะใช้เฉพาะ refined grade เท่านั้น Oleyl oil เป็นตัวทำละลายสีของ eosin ได้กว่า castor oil จึงมักใช้ในลิปสติกที่ต้องการติดสีผิวสูง

2.9.4.2 ไขมัน (fats) ได้แก่ น้ำมันหมู (lard), ไขวัว (tallow), น้ำมันจากเม็ดโกโก้ (cocoa butter), hydrogenated vegetable oil, petrolatum หรือ vaselin, lanolin และ lecithin และอื่นๆ โดยไขมันที่นิยมใช้ คือ hydrogenated vegetable oil เนื่องจากไม่เหม็นหืนและให้ลิปสติกที่แข็งดี และ lanolin ซึ่งช่วยให้ริมฝีปากอ่อนนุ่ม สำหรับรายละเอียดของไขมันต่างๆ มี ดังนี้

1) ไขมันสัตว์ เช่น น้ำมันหมู (lard) หรือไขวัว (tallow) และไขมันจากสัตว์ต่างๆ เคยนิยมใช้กันอย่างกว้างขวางอยู่ระยะหนึ่ง และปัจจุบันนี้ไม่ได้ใช้ในลิปสติกสมัยใหม่แล้ว

2) Cocoa butter ครั้งหนึ่งเคยถือว่าเป็นส่วนประกอบอุดมคติในลิปสติก เพราะมีความแข็งดี แต่มีจุดหลอมเหลวต่ำโดยหลอมเหลวที่อุณหภูมิของร่างกาย และมีคุณสมบัติเป็น emollient ที่ดี ในสมัยโบราณเคยใช้ทากันปากแตก แต่มีข้อเสีย คือ จะมีเนื้อปูดพองเมื่อทิ้งไว้ ทำให้ไม่น่าดูจึงมีข้อจำกัดใช้ มักใช้ Cocoa butter ร่วมกับไขมันตัวอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) Hydrogenated vegetable oils เป็นประเภทเดียวกับที่ใช้ในอาหารซึ่งคงตัว และไม่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จะให้ลิปสติกที่มีเนื้อดี เป็นไขมัน (fat) ที่มีคุณลักษณะเหมือนไขแข็ง (wax) มีลักษณะเป็นของแข็งมากกว่า oil ที่ไม่แข็ง ได้แก่ hydrogenated castor oil

4) Petrolatum ใช้ในปริมาณน้อย มีความคงตัวดี จะช่วยให้ลิปสติกเกิดความมันวาว ซึ่งสามารถใช้แทนด้วย paraffin oil ที่ข้น ส่วนประกอบนี้ยังใช้เป็นสารช่วยปรับความหนืด (consistency) ช่วยในการหล่อลื่น (lubricant) ช่วยคุณสมบัติในการกระจายตัวของสีดีขึ้น (spreading properties) แต่การใช้ในปริมาณมากเกินไปจะทำให้เกิดปัญหาในการผสมเข้าด้วยกันกับส่วนผสมอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้ามีส่วนประกอบที่มีขั้วมากร่วมด้วย เช่น castor oil เป็นต้น

5) Lanolin และ Anhydrous lanolin นิยมใช้เป็นส่วนประกอบในลิปสติก มีคุณสมบัติในการให้ความชุ่มชื้นดี (Tooley, 1971) ปริมาณที่ใช้ตั้งแต่ 2-20 % ในการใช้ในปริมาณสูงจะทำให้เกิดผล emollient แต่จะเกิดลักษณะเป็นฟิล์มเหนียวมัน และเมื่อเก็บไว้นานๆ จะเกิดกลิ่นไม่ดี การใช้ lanolin จะช่วยลดการเกิดเหงื่อ (sweating) และการแตกของแท่งลิปสติกและทำให้เกิดความยืดหยุ่นดี ปกติจะใช้ในปริมาณ 5-7 % ทำให้เกิดความชุ่มชื้นเกิดความวาว

6) Lanolin absorption base ได้ถูกนำมาใช้แทน lanolin เพื่อลดความเหนียวเหนอะหนะ ส่วนคุณสมบัติอื่นๆ และปริมาณเหมือน lanolin

7) Glyceryl monostearate (non emulsifying) ใช้เป็นส่วนประกอบในลิปสติกดี และคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายสีที่ดีอีกด้วย

8) Acetoglycerides สารตัวนี้มีคุณสมบัติต่างจากไขมันอื่น ทำให้เกิดคุณสมบัติยืดหยุ่นมากขึ้น และทำให้การทำง่ายขึ้นที่อุณหภูมิต่ำๆ ไม่ทำให้ลิปสติกแห้งและทำให้เกิดฟิล์มที่ไม่เป็นมัน แต่ทำให้ริมฝีปากอ่อนนุ่ม ป้องกันไม่ให้ลิปสติกร่วนแตกง่าย คุณสมบัติเหล่านี้เหมาะที่จะนำมาใช้ทาลิปสติก

9) Lecithin จะใช้ในปริมาณน้อย ทำให้เนื้อเรียบนุ่มเนียน และทำให้การเตรียมลิปสติกทำได้ง่ายขึ้น Lecithin มีคุณสมบัติช่วยในการกระจายเม็ดสี ช่วยในการทำและเพิ่มการติดสีบนริมฝีปากอีกด้วย

10) Branched-chain hydrocarbons, alcohol และ esters เป็นไขมันที่ใช้ใน ลิปสติกและผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางอื่นๆ ที่ทาแล้วไม่เกิดเป็นฟิล์มบนผิวหนัง และทำให้น้ำระเหยออกจากผิวหนังในอัตราปกติมากกว่าไขมันที่เป็น straight-chain

2.9.4.3 ไขแข็ง (wax) เป็นส่วนประกอบในส่วน base ของแท่งลิปสติกที่มีจุดหลอมเหลวสูง และให้ความแข็งดี คือ มีคุณสมบัติในการหล่อเป็นแท่งได้ง่ายดี สามารถเอาออกจากเบ้าพิมพ์ได้สะดวก และเพิ่มความมันเงา เพิ่มความแข็งให้แท่งลิปสติก และทำให้ลิปสติกคงรูปแม้ในอากาศร้อน ไขแข็งแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน แต่ไขแข็งที่ดีเมื่อนำมาผสมกันแล้วจะต้องเป็นรูปแท่งได้ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จะต้องคงรูปและยึดส่วนน้ำมันต่างๆ ไม่ให้ไหลเยิ้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือเกิดเหงื่อ (sweat) ต้องทำให้มีเนื้อเรียบ ทาได้ง่าย ไขแข็งต่างๆ ที่ใช้ในการเตรียมแท่งลิปสติก มีหลายชนิดแบ่งได้ดังนี้

1) ไขจากสัตว์ (Animal Waxes) ได้แก่ beeswax ซึ่งมีจุดหลอมเหลว 62-64 องศาเซลเซียสในการผลิตลิปสติกจะใช้ beeswax ที่ฟอกสีแล้ว beeswax ประกอบด้วย hydrocarbon 11-13% และ free fatty acid 13% เป็นสารเก่าแก่ที่ใช้ในการทำให้ผลิตภัณฑ์แข็ง(Stiffening agent) ของ castor oil แต่มีข้อเสีย คือ ถ้าใช้ในปริมาณมากเกินไป จะทำให้ได้ลิปสติกที่เนื้อไม่เนียน ด้านไม่เป็นเงามัน และแตกร่วนระหว่างใช้ได้ ปกติจะใช้ในปริมาณ 3-10 %

Spermaceti เป็นไขแข็งจากสัตว์ซึ่งมีความนิยมใช้ในการเตรียมลิปสติกเหมือนกัน โดยมีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ cetyl palmitate และ cetyl myristate ในปริมาณน้อย spermaceti ช่วยคุณสมบัติ thixotropic properties ของแท่งลิปสติก คือ ในขณะใช้แท่งลิปสติกทาริมฝีปากจะอ่อนนุ่ม แต่หลังจากทาแล้วยังคงรูปแข็งเป็นแท่งอยู่ได้

2) ไขแข็งจากพืช (Vegetable Waxes) ได้แก่ carnauba wax เป็นไขแข็งจากธรรมชาติที่มีความแข็งมากที่สุด มีจุดหลอมเหลว 85 องศาเซลเซียส ได้มาจากส่วนใบของต้น carnauba palm ซึ่งพบในประเทศบราซิล โดยทั่วไปใช้เป็นส่วนประกอบช่วยเพิ่มจุดหลอมเหลวของ candelilla wax ใช้เพียงประมาณเล็กน้อย จะสามารถทำให้จุดหลอมเหลวสูงขึ้น โดย Tooley (1971) กล่าวว่า candelilla wax และ carnauba wax จะช่วยปรับความมันวาว (gloss) และทำให้แท่งลิปสติกแข็งแรงได้ ปริมาณที่ใช้ตั้งแต่ 1-20 % ตามแต่ในสูตรต้องการ

- Candelilla wax เป็นไขแข็งจากพืชที่แข็ง แต่เปราะ มีสีน้ำตาล แต่ฟอกสี เป็นสีขาวก่อนนำมาใช้ในการเตรียมแท่งลิปสติก มีจุดหลอมเหลว 65-69 องศาเซลเซียส ไขแข็งนี้จะทำให้แท่งลิปสติกมีเนื้อเรียบและเป็นมัน และทำให้แท่งลิปสติกคงรูปอยู่ได้ ใช้ได้ตั้งแต่ 5-10 % และมักใช้ร่วมกับ carnauba wax เพื่อเพิ่มจุดหลอมเหลวของแท่งลิปสติก

3) ไขแข็งจากแร่ (Mineral or Hydrocarbon Waxes) ได้แก่ ozokerites ซึ่งเป็น hydrocarbon wax ที่ได้จากธรรมชาติ เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากน้ำมันดิน มีหลายเกรด และมีจุดหลอมเหลวต่างๆ กัน ประเภทที่มีความแข็งไม่มากนักจะมีปริมาณ mineral oil ผสมอยู่มาก เป็นไขแข็งที่มีรูปร่างไม่แน่นอน อาจมีสีขาว เหลือง หรือน้ำตาลเข้ม ใช้เป็นสารเพิ่มจุดหลอมเหลวของแท่งลิปสติก ปกติใช้ในปริมาณ 3-10 % ถ้าใช้ในปริมาณมากกว่า 10 % จะทำให้แตกร่วนได้ง่ายในระหว่างใช้

- Paraffin wax มีจุดหลอมเหลวอยู่ในช่วง 50-65 องศาเซลเซียส ประกอบด้วย purified solid hydrocarbon ให้ความแข็งดีแต่เปราะง่าย นอกจากนี้ถ้าใช้ในปริมาณน้อย ๆ จะทำให้เป็นมันดี

- Cetyl alcohol และ cetostearyl alcohol โดย cetyl alcohol มีจุดหลอมเหลว 45-50 องศาเซลเซียส ส่วน cetostearyl alcohol มีจุดหลอมเหลว 43 องศาเซลเซียส สารทั้งสองตัวนี้มีคุณสมบัติในการเป็น emollient หรือให้ความชุ่มชื้นดีกับผิวหนัง จะใช้ในปริมาณ 2-3 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Ceresin wax เป็นไขแข็งที่มีจุดหลอมเหลว 60-75 องศาเซลเซียสใช้เป็นสารเพิ่มจุดหลอมเหลวของลิปสติกคล้าย ozokerite ในสวนผสมของ ceresin กับcarbauba wax และหรือ ozokerite บางครั้งอาจใช้แทน beeswax ได้

นอกจากนี้ยังมีสารไขแข็งบางชนิด ซึ่งได้แก่ hydrogenated castor oil ซึ่งเป็นไขที่เปราะง่าย ทำให้เกิดความมันวาว แต่เนื้อลิปสติกไม่ค่อยดี จะใช้ได้ในปริมาณ 15-20 % ยังมีไขแข็งสังเคราะห์ของบริษัทต่างๆ ที่ผลิตขึ้น ซึ่งเป็นไขแข็งที่มีคุณสมบัติสม่ำเสมอกว่า และไม่เปลี่ยนแปลงมากเหมือนจากธรรมชาติ แต่มักมีราคาแพง

2.9.4.4 สารแต่งกลิ่นและสี

ริมฝีปากเป็นพื้นที่ที่อยู่ระหว่างผิวหนังบริเวณคางและเนื้อเยื่อ สารแต่งกลิ่น และ สี อาจจะซึมผ่านเข้าชั้น horny layer ของ epidermis ได้ลึกประมาณ 2/5 การทาลิปสติกครั้งหนึ่งที่ริมฝีปากจะใช้ลิปสติกประมาณ 0.006 กรัม และพบว่ามี 1 คนใน 5 ล้านคนที่มีปฏิกิริยาเกิดขึ้นเนื่องจากลิปสติก ถ้าเกิดการแพ้จะทำให้ริมฝีปากแห้งและลอกโดยเฉพาะอย่างยิ่งตรงบริเวณขอบริมฝีปากที่จรดกันจะเกิดการลอกเป็นแผ่นๆ ผู้ที่แพ้ส่วนมากมักจะนึกว่าปากแห้ง แต่กลับไม่นึกถึงการแพ้ ผู้แพ้จึงทาลิปสติกมากยิ่งขึ้นบ่อยยิ่งขึ้น เพื่อไม่ให้ริมฝีปากแห้ง ซึ่งจะทำให้ริมฝีปากลอกมากยิ่งขึ้น บางรายจะมีอาการรุนแรงจนเกิดการอักเสบและมีน้ำเหลืองไหล ในรายที่ใช้ลิปสติกที่มีสีติดทน สีอาจเกิดปฏิกิริยากับริมฝีปากเมื่อโดนแสงแดด ทำให้เกิดอาการแพ้มากได้ เป็นการแพ้เครื่องสำอางที่พบบ่อยอย่างหนึ่ง บางครั้งผู้ป่วยจะบอกได้เองว่าแพ้ลิปสติก ผู้ป่วยจะมีอาการปวดแสบปวดร้อน คัน และระคายเคืองที่ริมฝีปาก และบางครั้งอาจเกิดที่เยื่อบุช่องปาก การที่สีติดดีที่ริมฝีปากนานๆ จะทำให้มีโอกาสแพ้ได้มากขึ้น การแพ้ลิปสติกส่วนมากจะเกิดจากการแพ้สีซึ่งผู้ผลิตใช้สีที่ไม่บริสุทธิ์ และถ้าทำให้สีบริสุทธิ์แล้วจะช่วยลดการแพ้ลิปสติกลงไปได้

การแต่งกลิ่นลิปสติกเป็นสิ่งที่สำคัญมาก Tooley (1971) กล่าวว่า การแพ้ลิปสติกส่วนใหญ่มาจากการแพ้น้ำหอมโดยจะต้องเลือกน้ำหอมที่ส่วนประกอบเหมาะกับ base ของลิปสติก ควรเลือกกลิ่นที่ดึกลมกลืนหรือกลบกลิ่นเฉพาะตัวของไขและน้ำมันได้ ควรเป็นกลิ่นและรสดีไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บไว้อีกด้วย ไม่ทำให้เกิดการแพ้ หรือทำให้ริมฝีปากเห่อบวมคัน โดยปกติน้ำหอมที่ใช้ไม่ควรมีกลิ่นน้ำมัน ควรเป็นกลิ่นดอกไม้อ่อนๆ กลิ่นผลไม้หรือขนม หรือกลิ่นเครื่องเทศ ซึ่งสามารถเข้าได้ดีกับไขและน้ำมันของลิปสติก

ดังนั้นการเลือกใช้น้ำหอมในลิปสติกจะต้องให้เป็นที่ยอมรับของผู้ใช้และปราศจากส่วนประกอบที่ทำให้เกิดการระคายเคืองหรือเป็นพิษ นอกจากนี้ควรจะต้องมีกลิ่นที่ดีสามารถกลบกลิ่นของ base ที่ใช้ได้หมด ตามปกติถ้า 1 % ก็ให้ผลเป็นที่น่าพอใจ และโอกาสที่จะเกิดการระคายเคืองก็ลดลงด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.4.5 สารตัวเติมอื่นๆ

สารเหล่านี้ที่เพิ่มเติมในลิปสติกเพื่อปรับปรุงคุณภาพของแท่งลิปสติกให้ดีขึ้น ซึ่งอาจปรับปรุงในด้านความคงตัว เช่น การเติม antioxidants หรือ preservatives หรือการปรับปรุงในด้านประสิทธิภาพของลิปสติก เช่น การเติมสารช่วยกรองแสง เป็นต้น

1) สารกันหืน (Antioxidants) เพื่อป้องกันการเกิดกลิ่นเหม็นหืนที่อาจเกิดขึ้นระหว่างเก็บไว้ ทั้งนี้เพราะส่วนประกอบหลายอย่างในตำรับเป็นน้ำมัน ซึ่งสามารถเกิดออกซิเดชันได้ง่ายในอากาศ และอาจทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืนได้ สารที่มักนิยมใช้เป็นสาร antioxidants คือ butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) 0.0002-0.5% (Taylor and Francis, 2002) และ propylgallate อาจใช้รวมกันเพื่อเสริมฤทธิ์, propyl paraben, methyl paraben ช่วยป้องกันกลิ่นเหม็นหืนได้ (Coggshall and Morse, 1984) และ vitamin E

2) สารกันเสีย (Preservatives) สามารถใช้สารนี้เพื่อป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น propyl-p-hydroxy benzoate 0.1 % แต่ถ้าใช้ในความเข้มข้น 0.2 % อาจทำให้เกิด burning sensation ได้เล็กน้อย และใช้เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นได้ เช่น propyl paraben และ methyl paraben

3) สารป้องกันแสงแดด (Oil-soluble sunscreen) ใช้เพื่อป้องกันไม่ให้ริมฝีปากพอง เนื่องจากแสงแดด (sun blisters) เช่น ไทเทเนียมไดออกไซด์

2.10 สาเหตุของการแพ้ลิปสติก

ลิปสติกประกอบด้วยส่วนผสมหลายชนิด เช่น ไขมัน สี สารแต่งกลิ่น รส สารกันเสีย สารป้องกันแสงแดด สีที่ใช้เป็นส่วนผสมในลิปสติกต้องเป็นสีที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย ส่วนน้ำหอมนั้นอาจใช้เพื่อกลบกลิ่นของส่วนผสมประเภทไขมัน หรือแต่งกลิ่นให้ผลิตภัณฑ์นั้นน่าใช้ มักจะใช้ในปริมาณไม่มาก แต่ก็อาจก่อให้เกิดอาการแพ้ได้ เพราะการแพ้เป็นเรื่องเฉพาะบุคคล และน้ำหอมนั้นเป็นสารที่รับรายงานว่าก่อให้เกิดการแพ้บ่อยเป็นอันดับหนึ่ง ดังนั้นการเลือกซื้อลิปสติกควรซื้อจากแหล่งที่เชื่อถือได้ สภาพของผลิตภัณฑ์ปกติเรียบร้อย และที่สำคัญมีฉลากภาษาไทยที่ระบุสาระสำคัญไว้อย่างครบถ้วน ได้แก่ ชื่อเครื่องสำอาง ประเภทหรือชนิดส่วนประกอบสำคัญชื่อและที่ตั้งของผู้ผลิต วันเดือนปีที่ผลิต วิธีใช้ และปริมาณสุทธิ ที่สำคัญสังเกตข้อมูลเกี่ยวกับชื่อและที่ตั้งของผู้ผลิต และวันเดือนปีที่ผลิตให้ดีเพราะเครื่องสำอางที่ไม่ปลอดภัยมักไม่ให้ข้อมูลที่ชัดเจนในส่วนนี้ (กระทรวงสาธารณสุข, 2535)

การแพ้ลิปสติกนั้นมักจะทำให้ริมฝีปากแห้งและลอก โดยเฉพาะบริเวณขอบริมฝีปากที่จรดกันอาจเกิดการลอกเป็นแผ่นๆ ผู้ที่แพ้อาจคิดว่าริมฝีปากแห้งตามธรรมชาติ จึงทาลิปสติกบ่อยยิ่งขึ้น ทำให้อาการรุนแรงยิ่งขึ้นได้ ในบางรายอาการแพ้จะเกิดขึ้นเมื่อถูกกระตุ้นจากแสงแดด อาจก่อให้เกิดอาหารปวดแสบปวดร้อน คัน ระคายเคืองร่วมด้วย ความผิดปกติเหล่านี้ผู้บริโภคต้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สังเกตเอง เมื่อใช้ผลิตภัณฑ์ใดแล้วมีความผิดปกติเกิดขึ้น ต้องหยุดใช้ทันที ถ้าอาการยังไม่ดีขึ้นให้รีบไปปรึกษาแพทย์หรือเภสัชกร เพื่อหาวิธีรักษาที่ถูกต้องเหมาะสมต่อไป ดังนั้น เมื่อจะใช้ผลิตภัณฑ์ใดเป็นครั้งแรกควรทดสอบการแพ้ก่อนใช้ ด้วยการทาผลิตภัณฑ์นั้นปริมาณเล็กน้อยบริเวณท้องแขน แล้วทิ้งไว้ 24-48 ชั่วโมง หากไม่มีความผิดปกติใดๆ เกิดขึ้นแสดงว่าใช้ได้

สาเหตุของการแพ้ลิปสติกอาจมากจากสิ่งต่อไปนี้

1) น้ำหอมในลิปสติก อาจมีสารบางชนิดกระตุ้นให้เกิดการแพ้

2) สีในลิปสติกอาจมีสารปนเปื้อน ทำให้แพ้ได้และสีบางชนิดทำให้ริมฝีปากไวต่อแสงแดด

3) ลิปสติกที่มีไขมันและน้ำมันน้อย อาจทำให้ริมฝีปากแห้งแตกทำให้แพ้ง่าย

4) สารตัวเติมอื่นๆ บางตัวมีฤทธิ์เป็นตัวเร่งการแพ้

ลิปสติกเป็นเครื่องสำอางที่ใช้แต่งริมฝีปาก เพื่อให้ความชุ่มชื้น ทำให้ริมฝีปากสวยงามและปกปิดความบกพร่องของริมฝีปาก หากลิปสติกมีส่วนผสมของสารต้องห้าม เช่น สารนิเกิล โลหะหรือสารตะกั่ว ซึ่งจะอยู่ในสีที่ใช้ในภาคอุตสาหกรรม ก็จะก่อให้เกิดอาการระคายเคืองอย่างรุนแรง เกิดพิษรุนแรง และพิษดูดซึมเข้าระบบทางเดินอาหาร ทำให้คลื่นไส้ อาเจียน ตาพร่ามัว หรือทำให้ริมฝีปากปวดแสบปวดร้อน คัน เห่อแดง บวม หรือลอกเป็นขุย แม้จะเป็นลิปสติกที่ได้มาตรฐานทั่วไป แต่การใช้ลิปสติกทาบนริมฝีปาก ซึ่งเป็นเนื้อเยื่ออ่อนวันละหลายครั้ง และสัมผัสริมฝีปากเป็นเวลานานๆ ก็อาจก่อให้เกิดการแพ้ได้ง่ายกว่าผิวหนังบริเวณอื่น โดยสาเหตุของการแพ้นั้น มาจากน้ำหอมที่เป็นส่วนผสมในลิปสติก หรืออาจมีสารบางชนิดกระตุ้นให้เกิดการแพ้ สีในลิปสติกบางชนิดอาจทำปฏิกิริยากับแสงแดด ทำให้เกิดผื่นผิวหนังอักเสบ ส่วนลิปสติกที่มีไขมันและน้ำมันน้อยอาจทำให้ริมฝีปากแห้งแตก ทำให้แพ้ง่าย เป็นต้น โดยระยะในการแพ้จะอยู่ในช่วง 7-10 วันที่ผ่านมาพบว่าสีลิปสติกทำให้ผู้ใช้แพ้มากที่สุด ได้แก่ กลุ่มที่ใช้สีสด คือ สีส้ม สีชมพูและสีแดง แต่การแพ้นั้นไม่ได้เกิดขึ้นทุกคน

พอสรุปได้ว่าการแพ้ลิปสติกนั้น ส่วนใหญ่เกิดจากสารปนเปื้อนในน้ำหอมและสี แต่แนวโน้มการแพ้ลิปสติกได้ลดลงมาเป็นลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากผู้ผลิตใช้วัตถุดิบที่บริสุทธิ์ขึ้น มีสารปนเปื้อนน้อยในการผลิตลิปสติก นอกจากนี้การทาลิปสติกโดยใช้นิ้วมือ อาจทำให้เกิดการติดเชื้อที่ริมฝีปากได้

2.11 การผลิตลิปสติก

การผลิตลิปสติกมี 3 ขั้นตอนใหญ่ๆ คือ การผสม (Mixing) การเข้าเบ้าพิมพ์ (Moulding) และการอังไฟ (Flaming)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.1 การผสม (Mixing) ในขั้นตอนนี้จะทำการหลอมไขแข็งทั้งหมดและน้ำมัน เข้าด้วยกันบน steam jacket vassel หรือ water bath โดยใช้ความร้อนสูงกว่าจุดหลอมเหลวของไขแข็งประมาณ 2-3 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงนำไปผสมกับส่วนผสมของสี bromo acid ที่อุณหภูมิเดียวกัน แล้วนำไปผ่านเครื่อง roller หรือ colloid mill อีกจนกระทั่งได้เนื้อเรียบสม่ำเสมอเข้ากันดี เมื่ออุณหภูมิของของผสมต่ำกว่า 70 องศาเซลเซียส จึงเติมกลิ่นหรือน้ำหอมแล้วคนเบาๆ ไม่ควรคนเร็วแต่ควรคนให้สม่ำเสมอ เพราะหากคนเร็วจนเกินไปจะทำให้เกิดฟองอากาศได้ อาจนำไปกรองผ่าน screen หรือผ้าขาวบางที่สะอาดแล้วนำไปอุ่นคนเบาๆ เพื่อไม่ให้สีนอนก้น

2.11.2 การเข้าเบ้าพิมพ์ (Moulding) การหล่อลิปสติกเป็นแท่งจะใช้เบ้าพิมพ์ลิปสติกที่ทำด้วยทองเหลือง อลูมิเนียมหรือโลหะผสม (alloy) เป็นเบ้าพิมพ์ ก่อนการใช้เบ้าพิมพ์ต้องทำความสะอาดแล้วหล่อลื่น (lubricate) ด้วย liquid paraffin หรือ isopropyl myristate

ก่อนเข้าเบ้าพิมพ์ จะต้องหลอมเนื้อลิปสติกใน small jacketed pan เสียก่อน และคนช้าๆ เบาๆ เป็นเวลา 30 นาที เพื่อไล่อากาศออกและเพื่อป้องกันรูเล็กๆ (pin hole) ที่เกิดขึ้นหลังจากหล่อเป็นแท่งลิปสติกแล้ว ในการเติมเนื้อลิปสติกจะเติมในปริมาณที่เกินไว้เล็กน้อย เพื่อป้องกันการบุ๋มตรงกลางแท่งลิปสติกซึ่งเกิดจากการหดตัว ทำให้ตรงกลางเป็นโพรง การเทต้องสม่ำเสมอเป็นสาย แล้วต้องตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแข็งตัว หรือในตู้เย็นแต่ไม่เย็นมากเกินไปหรือเร็วเกินไป (overcooling) อาจทำให้เย็นโดยใช้วิธีให้น้ำเย็นผ่านเบ้าพิมพ์ก็ได้

เบ้าพิมพ์ที่ใช้ที่ทำด้วยทองแดงหรืออลูมิเนียมอาจเป็นแบบแยกตามแนวตั้งหรือแบบปล่อยอัตโนมัติ (automatic ejection) ก็ได้ โดยปกติควรอุ่นเบ้าพิมพ์ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ก่อนเพื่อป้องกันการอุดตันเนื่องจากเนื้อลิปสติกแข็งตัวในเบ้าพิมพ์แบบปล่อยอัตโนมัติ (automatic ejection) เบ้าพิมพ์แบบนี้จะไม่ใช้ใน cooling cabinet หรือในห้องเย็น เนื่องจากจะต้องอุ่นเบาพิมพ์ดังกล่าว ในการทำให้เย็นจะใช้วิธีให้น้ำเย็นผ่านไปที่เบ้าพิมพ์ แล้วแท่งลิปสติกจะถูกแกะออกมาได้โดยเครื่องปล่อยออกมาอัตโนมัติ หรือถ้าไม่อัตโนมัติก็โดยสวมถุงมือยางแกะออก สำหรับเบ้าพิมพ์ลิปสติกแบบปล่อยออกอัตโนมัติเหมาะสำหรับการเตรียมลิปสติกรูปรอยปาดข้างเดียว (edge shaped lipstick) แต่ไม่เหมาะสมสำหรับลิปสติกทรงกระสุนปืน ลิปสติกที่ได้จะนำไปใส่ปลอกลิปสติก (lipstick case)

2.11.3 การอังไฟ (Flaming) หลังจากที่ได้แท่งลิปสติกแล้วควรเก็บไว้หนึ่งสัปดาห์ก่อนนำมาอังไฟ หรือ flaming process ซึ่งคือกระบวนการที่นำแท่งลิปสติกผ่านไปมาบนเปลวไฟเล็กๆ โดยเร็ว เพื่อหลอมผิวของแท่งลิปสติก เพื่อขจัดรอยตำหนิเล็กๆ น้อยๆ บนผิวลิปสติกให้หมดไป จะได้ผิวลิปสติกที่เนียนเรียบเป็นมันวาว ให้หมุนแท่งลิปสติกออกจากปลอกลิปสติกจนสุดแล้วนำไปอังไฟ โดยใช้มือถือแท่งลิปสติกผ่านเปลวไฟ โดยพลิกไปมาโดยเร็ว จะทำให้ผิวนอกของลิปสติกหลอมตัวและประสานเนื้อกันดีทำให้มีผิวเรียบ มันวาว และไม่มีรอยขูดขีดหรือตำหนิต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.12 การประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์ลิปสติก

2.12.1 การทดสอบหาจุดหลอมเหลว (melting point) (Carames , 1978; AOAC, 1995)

เป็นคุณสมบัติทางกายภาพที่ผู้ผลิตกำหนดขึ้นเองตามความต้องการ โดยหลักการว่าถ้าลิปสติกมีจุดหลอมเหลวต่ำจะลื่นทาง่าย แต่มีความคงตัวต่ออุณหภูมิต่ำ ถ้าลิปสติกมีจุดหลอมเหลวสูง จะมีผลให้ความแข็งของลิปสติกเพิ่มขึ้น ทำให้ทายาก แต่ลิปสติกจะมีความคงตัวต่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น

2.12.2 การทดสอบจุดโค้งงอ (Bending point) (มอก.234-2541)

ลิปสติกที่ดีควรคงรูปอยู่ได้ในสภาวะต่างๆ เช่น ในกระเป๋าของผู้บริโภค ดังนั้นลิปสติกต้องสามารถทนต่ออุณหภูมิต่างๆ ที่เปลี่ยนไป เพื่อให้สะดวกต่อการพกพาทั้งที่มีอุณหภูมิต่ำและสูง การทดสอบนี้ใช้เพื่อศึกษาความคงสภาพของลิปสติกเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ วิธีการทดสอบดังแสดงในภาคผนวก ข

2.12.3 การทดสอบจุดหยด (Drooping point) (มอก.234-2541)

จุดหยด คือ อุณหภูมิที่ทำให้ลิปสติกเปลี่ยนแปลงจากสถานะกึ่งของแข็งเป็นของเหลว โดยลิปสติกที่มีส่วนผสมของ thickener ที่แตกต่างกัน จะมีอุณหภูมิการเปลี่ยนแปลงสถานะที่แตกต่างกัน ดังนั้นจุดหยดของลิปสติกสามารถใช้จำแนกประเภทของลิปสติกได้ มีประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพของลิปสติก วิธีการทดสอบดังแสดงในภาคผนวก ข

2.12.4 การทดสอบผลต่อร่างกาย (Physiological test)

เป็นการทดสอบว่าผลิตภัณฑ์มีผลเสียหรืออันตรายต่อร่างกายหรือไม่ โดยทำการทดสอบผื่นแพ้ที่เกิดจากการสัมผัส (Patch test) และการทดสอบการแพ้ (sensitization test) ทำให้เกิดความเป็นพิษหรือไม่ โดยการทำ ทดสอบความเป็นพิษ (toxicity test) เป็นต้น การทดสอบในข้อนี้เป็นสิ่งสำคัญที่ควรคำนึงถึงเพราะสารที่ใช้ผลิตอิมัลชัน โดยเฉพาะสารลดแรงตึงผิว น้ำหอมบางชนิดอาจทำให้เกิดอันตรายกับร่างกายได้ ทำให้ผลิตภัณฑ์ไม่ปลอดภัยในการใช้ แต่โดยทั่วไปแล้วผู้ผลิตควรเลือกใช้สารที่ได้มีข้อมูลยืนยันด้านความปลอดภัย จากผู้ผลิตวัตถุดิบจะดีกว่าเพื่อลดอัตราเสี่ยง

2.12.5 การทดสอบคุณภาพด้วยการใช้ผลิตภัณฑ์ (Performance test)

การตรวจสอบผลิตภัณฑ์นั้นให้ผลใช้ตามวัตถุประสงค์ โดยการใช้อาสาสมัครทดสอบใช้ผลิตภัณฑ์ ทาแล้วรู้สึกพอใจหรือไม่ อาจให้คำตอบในแบบสอบถามตามเกณฑ์ที่ผู้ผลิตตั้งเอาไว้ เช่น ความเหนอะหนะผิว การซึมซาบ หรือการกระจายตัวของครีม ความชุ่มชื้นของผิวภายหลังใช้ ความพอใจในสี กลิ่น รส เป็นต้น แล้วนำมาประเมินผล ถ้าเป็นผลิตภัณฑ์เฉพาะเจาะจงอาจต้องมีการทดสอบพิเศษ เช่น ครีมหรือโลชั่นป้องกันแสงแดด จะต้องมีการทดสอบประสิทธิภาพป้องกันแสงแดด โดยหาค่า SPF ของผลิตภัณฑ์ โดยใช้อาสาสมัครมาทดสอบแล้วประเมินผลออกมาเป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.13 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Fabre *et al.*, (1993) ได้ศึกษาการผลิตและการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารของสารสีแดงที่ได้จากเชื้อรา *Monascus rubber* พบว่าการศึกษาคุณสมบัติของสารสีแดงที่ผลิตได้จากเชื้อรา *Monascus rubber* ในสภาวะอาหารเหลว โดยใช้เอทานอล และกลูตาเมทเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนตามลำดับ ภายหลังการสกัดและการทำให้บริสุทธิ์ โดยนำสารสีเหล่านั้นมาละลายน้ำเพื่อทำการวิเคราะห์ค่าต่างๆ ความคงตัวของสารสี ทำการทดลองในสภาพเป็นสารละลายและในสภาพที่อยู่ในไส้กรอกพบว่าสารสีเหล่านี้มีความคงตัว เมื่อเก็บไส้กรอกไว้เป็นเวลา 3 เดือนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสโดยจะมีความคงตัวของสารสีที่ 12 %

Lin, Kuo-Wei and Chao, Jen-Yu (2001) ศึกษาคุณภาพของกุนเชียงลดไขมันโดยไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน คือ 150KDa 600 KDa และ 1,250 KDa พบว่ากุนเชียงที่มีไคโตซานเป็นองค์ประกอบจะมี pH ต่ำกว่ากุนเชียงสูตรควบคุมที่ไม่ใช้ไคโตซาน เมื่อทำการนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียแลคติกในกุนเชียงพบว่าจุลินทรีย์เหล่านี้มีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในกุนเชียงทุกสูตร โดยที่กุนเชียงที่ใช้ไคโตซาน 150 KDa นั้นจะมีค่าปริมาณจุลินทรีย์เหล่านี้ต่ำสุด จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่ากุนเชียงที่ใช้ไคโตซาน 50 KDa และ 600 KDa ได้รับการยอมรับสูงซึ่งทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้ไคโตซานเพื่อมาแทนไขมันในกุนเชียง ไม่ทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของกุนเชียงเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

Babitha *et al.*, (2007) ศึกษาการหมักในสภาวะอาหารแข็ง เพื่อผลิตสารสีจาก *Monascus* โดยใช้เมล็ดขนุนซึ่งเป็นวัตถุดิบเหลือใช้ทางการเกษตรชนิดหนึ่ง พบว่าจากการใช้เมล็ดขนุนเป็นวัตถุดิบในการผลิตสารสีจาก *Monascus purpureus* ในสภาวะอาหารแข็ง ปริมาณสารสีที่พบ 25 ODUnit/กรัมน้ำหนักแห้งของเมล็ดขนุน โดยมีสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสีจากวัตถุดิบชนิดนี้ ดังนี้ ความชื้นเริ่มต้น 50 % อุณหภูมิในการบ่ม 30 องศาเซลเซียส ซึ่งปริมาณเชื้อเริ่มต้น 9×10^4 สปอร์/กรัมน้ำหนักแห้ง และระยะเวลาการบ่ม 7 วัน ความคงตัวของ pH ของสารสีที่ได้ค่อนข้างกว้าง จึงเหมาะที่จะนำสารสีที่ได้จากเมล็ดขนุนมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1 เชื้อรา *Monascus purpureus* จากภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.2.1 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ของบริษัท HACH รุ่น DR/400

3.2.2 เครื่องนึ่งความดันไอ (autoclave)

3.2.3 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ของบริษัท Sartorius analytic รุ่น HA-300 HIV

3.2.4 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporators) ของบริษัท BUCHI รุ่น R-200

3.2.5 เครื่องวัดพีเอช (pH meter) ของบริษัท Denver instrument รุ่น LIBROR EB- 4000H

3.2.6 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (shaker) ของบริษัท MEMMERT

3.2.7 เครื่องวัดสี ของบริษัท Minolta รุ่น CR-300

3.2.8 เครื่อง UV Box

3.2.9 ตู้อบลมร้อน (hot air oven) ของบริษัท Binder

3.2.10 ตู้บ่ม (incubator) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ของบริษัท MEMMERT

3.2.11 ตู้เขี่ยเชื้อ (lamina air flow) ของบริษัท ISSCO รุ่น BVT123

3.2.12 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ของบริษัท MEMMERT

3.2.13 คอลัมน์โครมาโตกราฟี

3.2.14 แผ่น TLC

3.2.15 TLC แทงค์

3.2.16 ปั๊ม (Peristaltic pump)

3.2.17 ไมโครเวฟ ของบริษัท Samsung

3.2.18 เบ้าพิมพ์ลิปสติก

3.2.19 เคสลิปสติก

3.2.20 เทอร์โมมิเตอร์

3.2.21 ขวดแก้วใส่สาร ของบริษัท DURAN®

3.2.22 ฟลาสก์ (Erlenmeyer flask) ของบริษัท PYREX®

3.2.23 บีกเกอร์ (beaker) ของบริษัท PYREX®

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.24 กระบอกตวง (cylinder) ของบริษัท PYREX®

3.2.25 หลอดทดลอง (test tube) ของบริษัท PYREX®

3.2.26 ปิเปต (pipette) ของบริษัท PYREX®

3.2.27 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (petri dish)

3.2.28 คิวเวต (cuvette)

3.2.29 เข็มเขี่ยเชื้อ (needle)

3.2.30 ลวดเขี่ยเชื้อ (loop)

3.2.31 cork borer

3.2.32 แท่งแก้ว

3.2.33 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.2.34 ผ้าขาวบาง

3.2.35 กรวยกรอง

3.2.36 กระดาษกรอง Whatman number 1

3.2.37 ขวดแก้วใส่สาร

3.2.38 หลอดหยด

3.2.39 หลอดคาพิลลารี

3.2.40 โกร่ง

3.2.41 ฟอล์ย

3.2.42 ขาตั้ง

3.2.43 แคลมป์

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.3.1 สารสกัดยีสต์ (yeast extract)

3.3.2 เปปโตน (peptone)

3.3.3 มอล์ตสกัด (malt extract)

3.3.4 แป้งมันสำปะหลัง

3.3.5 Soybean (ยี่ห้อ ดอยคำ)

3.3.6 วุ้น (agar)

3.3.7 เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (CH_3CH_2COOH)

3.3.8 เมทานอล (CH_3OH)

3.3.9 เอทิลอะซิเตต ($C_4H_8O_2$)

3.3.10 ซิลิกา เจล (Silica gel)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.11 โพรไพลีน ไกลคอล ($C_3H_8O_2$) (บริษัท วันรัต (หน่ำเซียน) จำกัด)

3.3.12 ไทเทเนียมไดออกไซด์ (TiO_2) (บริษัท วันรัต (หน่ำเซียน) จำกัด)

3.3.13 ขี้ผึ้ง (beeswax) (บริษัท ทรอปปิก้าไลฟ์ จำกัด)

3.3.14 ไขมันโกโก้ (cocoa butter) (บริษัท ทรอปปิก้าไลฟ์ จำกัด)

3.3.15 น้ำมันแม็คคาดิเมีย (macadamia oil) (บริษัท ทรอปปิก้าไลฟ์ จำกัด)

3.3.15 น้ำมันอัลมอนด์ (almond oil) (บริษัท ทรอปปิก้าไลฟ์ จำกัด)

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเก็บรักษาเชื้อราโมแนสคัส

เตรียมกล้าเชื้อรา *Monascus purpureus* โดยใช้ลวดเขี่ยเชื้อแล้วลาก (streak) ลงบนอาหารแข็ง MYS (ภาคผนวก ก) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-10 วัน แล้วเก็บรักษาเชื้อโดยทำการพันปิดขอบจานเพาะเลี้ยงราให้แน่นด้วยพาราฟิล์ม เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และถ่ายเชื้อลงในอาหารใหม่ (subculture) ทุกๆ เดือน โดยการตัดตรงบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญอยู่บนอาหารแข็ง MYS ด้วย cork borer ขนาด 0.5 เซนติเมตร จำนวน 1 ชิ้น ใส่ลงในอาหารแข็ง MYS ที่ทำการเตรียมขึ้นมาใหม่

3.4.1.1 การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับใช้ในการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

ถ่ายเชื้อราโมแนสคัสที่ได้จากข้อ 3.4.1 ลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารแข็ง MYS แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-14 วัน เมื่อครบกำหนดให้ใช้ cork borer ตัดตรงบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญอยู่บนอาหารแข็ง MYS จำนวน 2 ชิ้น ใส่ลงในอาหารเหลว SS (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 75 มิลลิลิตร บรรจุลงฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 วัน เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับการทดลองต่อไป

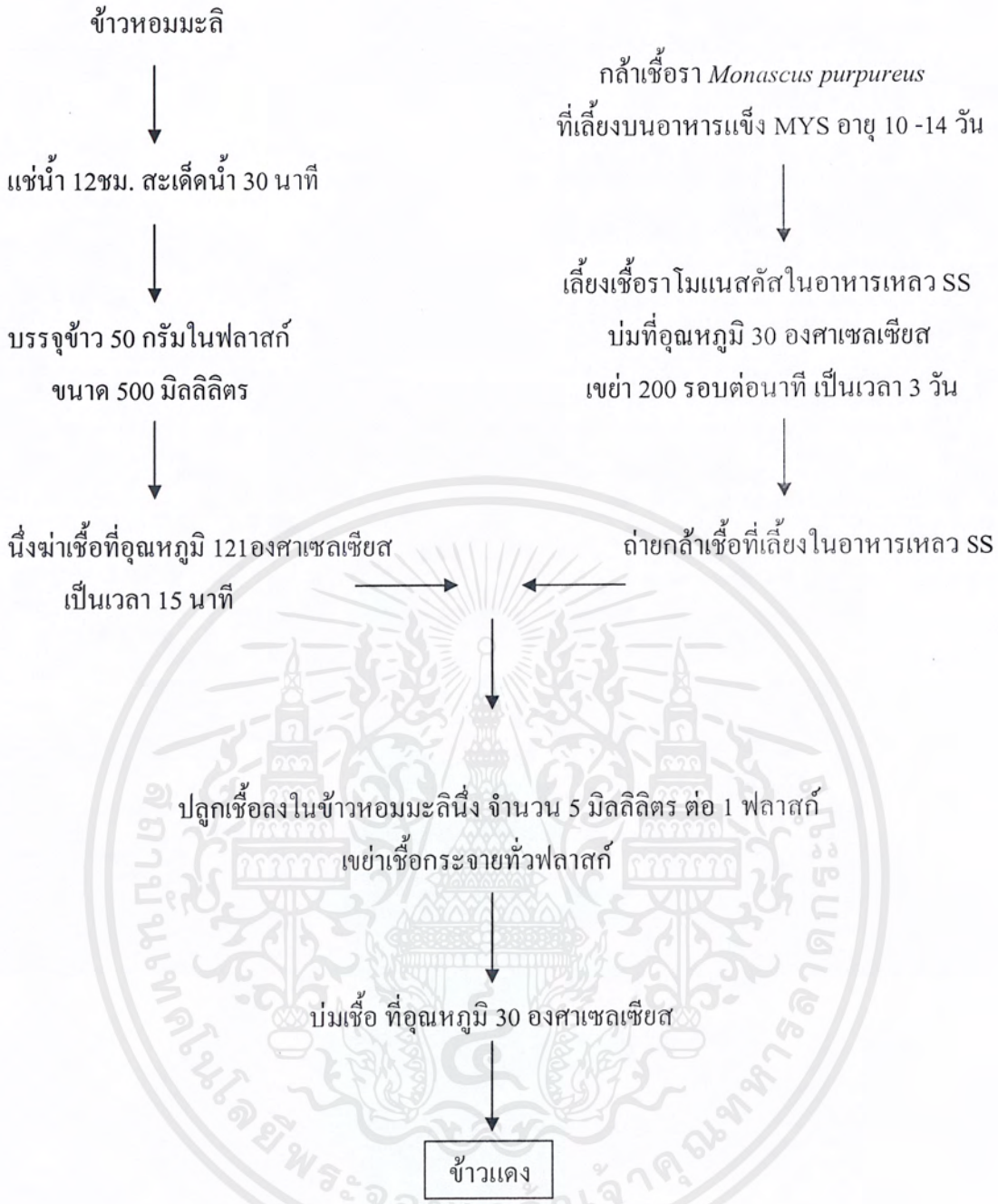
3.4.2 ศึกษาการเจริญและระยะเวลาในการสร้างรงควัตถุของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ

การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิเพื่อผลิตสารสี ดัดแปลงจากวิธีการทำข้าวแดงของบุษบา (2542) มีขั้นตอนดังแสดงในรูปที่ 3.1

3.4.2.1 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสเพื่อผลิตสารสีบนอาหารแข็งข้าวหอมมะลิ

เตรียมข้าวโดยใช้ข้าวสารหอมมะลิต่อน้ำในอัตราส่วน 1 : 1 (โดยเตรียมจากชั่งข้าวสารหอมมะลิ 50 กรัม เติมน้ำ 50 กรัม) นำไปแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ผึ่งสะเด็ดน้ำประมาณ 30 นาที จากนั้นนำข้าวบรรจุลงฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที วางทิ้งให้เย็น ถ่ายกล้าเชื้อโมแนสคัสที่เลี้ยงในอาหารเหลว SS เป็นเวลา 3 วัน จากข้อ 3.4.1.1 จำนวน 5 มิลลิลิตร ลงในข้าวที่เตรียมไว้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.1 แผนภาพขั้นตอนการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ

ที่มา : ดัดแปลงจากบุษบา (2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2.2 การศึกษาระยะเวลาการสร้างรงควัตถุของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ

จากข้อ 3.4.2.1 หลังจากถ่ายเชื้อราโมแนสคัสลงในข้าวหอมมะลิที่เตรียมไว้แล้ว ให้นำฟลาสก์ไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยมีการผสมคลุกเคล้าอาหารในฟลาสก์ทุกวัน ด้วยวิธีการเขย่าฟลาสก์ เมื่อเลี้ยงเชื้อราจนครบในแต่ละระยะเวลาให้ทำการเก็บตัวอย่างข้าว (ข้าวแดง) ที่เวลา 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 วัน เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุ เปอร์เซ็นต์ความชื้น และพีเอช

การวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุมีวิธีการตรวจสอบ ดังนี้ นำข้าวแดงที่เก็บผลมาชั่งน้ำหนัก 0.5 กรัม ไปสกัดด้วยเอทธานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยใช้สภาวะการสกัดรงควัตถุที่อุณหภูมิห้อง เขย่าด้วยความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำไปกรองของเหลวด้วยกระดาษกรอง Whatman number 1 นำส่วนของเหลวที่กรองได้วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 400, 470 และ 500 nm ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าดูดกลืนแสงของรงควัตถุสีเหลือง สีส้ม และสีแดง ตามลำดับ คำนวณปริมาณรงควัตถุ เพื่อหาระยะเวลาที่เชื้อราโมแนสคัส ผลิตรงควัตถุได้สูงสุด ดังนี้

1 หน่วย (Unit) คือ สารเมตาบอไลท์จากเชื้อราโมแนสคัส เมื่อนำมาประมาณค่าด้วยวิธีการสกัดเอารงควัตถุตามวิธีการข้างต้น จะมีค่าดูดกลืนความยาวคลื่นแสงเท่ากับ 1.00 โดยคำนวณได้จาก

$$\text{หน่วย (Unit)} = \frac{\text{ค่า OD ที่วัดได้} \times \text{ระดับการเจือจาง} \times \text{ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ใช้สกัด}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

(Crude pigment/g of substrate)

3.4.3 ศึกษาวิธีการสกัดรงควัตถุที่เหมาะสมของเชื้อราโมแนสคัส

3.4.3.1 ศึกษาเปรียบเทียบสภาวะการสกัดรงควัตถุด้วยเอทธานอลที่อุณหภูมิและเวลาแตกต่างกัน

นำข้าวแดงที่เชื้อราโมแนสคัสสร้างรงควัตถุสูงสุดจากข้อ 3.4.2.2 มาทำการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำข้าวแดงมาสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ที่อุ่นไว้ในเครื่อง Shaking Bath ที่อุณหภูมิต่างๆ ดังนี้ 30, 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส เติมเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีข้าวแดงที่ได้จากการหมักเชื้อราโมแนสคัส 0.5 กรัม จากนั้นปิดด้วยแผ่นพาราฟิลม์ และปิดด้วยฟอล์ยอีกทีหนึ่ง ทำการเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ทำวิธีการเดียวกันเพื่อทำการเปรียบเทียบอุณหภูมิการสกัดรงควัตถุ โดยใช้อุณหภูมิของการอุ่นเอทา-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ เป็น 30, 40, 50, 60 องศาเซลเซียส กำหนดระยะเวลาการสกัดรงควัตถุในแต่ละอุณหภูมิเป็นเวลาเดียวกัน คือ 5, 30, 60 และ 90 นาที เมื่อครบแวลานำขวดสกัดไปแช่ในอ่างน้ำเย็นทันที กรองของเหลวด้วยกระดาษกรอง Whatman number 1 นำของเหลวไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400, 470, และ 500 nm ตามลำดับ คำนวณปริมาณรงควัตถุ เช่นเดียวกับการทดลอง 3.4.2.2 จากนั้นทำการวิเคราะห์ผลเพื่อหาสภาวะที่สกัดได้รงควัตถุสูงสุด เพื่อนำสภาวะการสกัดนั้นไปใช้ในการสกัดสารสีเพื่อใช้ทำลิปสติกต่อไป

3.4.3.2 การสกัดสารสีเพื่อนำไปใช้ในการทำลิปสติก

นำข้าวแดงที่เชื้อราโมแนสคัสสร้างรงควัตถุสูงสุดจากข้อ 3.4.2.2 จำนวน 50 กรัม นำมานึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave มาสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซนต์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 1000 มิลลิลิตร โดยเลือกสภาวะการสกัดตามข้อ 3.4.3.1 ซึ่งเป็นสภาวะที่สกัดได้รงควัตถุสูงสุด เมื่อสกัดจนครบเวลาแล้ว กรองของเหลวด้วยกระดาษกรอง Whatman number 1 นำของเหลวไประเหยตัวทำละลายด้วย เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporators) จนได้สารสี (crude pigment) เข้มข้นโดยเหลือเอทานอลอยู่ประมาณ 20-30 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารสีที่ได้บรรจุใส่ขวดที่สะอาด เก็บสารสีไว้เพื่อไปใช้ในการทำลิปสติกต่อไป

3.4.4 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี

3.4.4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบของสี (crude pigment) ด้วยเทคนิค Thin layer Chromatography

นำสารสกัดสี (crude pigment) จากข้อ 3.4.3.2 ใช้ capillary tube ดูดสารละลายสีมาจุด (spot) ลงบนแผ่น Silica Gel ที่มีความหนา 0.50 มิลลิเมตร โดยมีเอทิลอะซิเตต ($C_4H_8O_2$) และเมทานอล (CH_3OH) ในอัตราส่วน 9 : 1 เป็นตัวทำละลาย (mobile phase) สังเกตการแยกของสีชนิดต่างๆ จนกระทั่งสารละลายที่เป็น mobile phase เคลื่อนที่ถึง solvent front วิเคราะห์ผลโดยการบันทึกค่า Rate of flow ของแถบสีต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบในสารสี (crude pigment)

อัตราการเคลื่อนที่ของสาร (R_f= Retention Factor) คือ อัตราส่วนเปรียบเทียบระหว่างระยะทางที่สารเคลื่อนที่ได้กับระยะทาง ที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ คำนวณค่า R_f ได้จาก

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4.2 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิค Column Chromatography

วิธีการบรรจุคอลัมน์ เตรียมตัวดูดซับ (stationary phase) คือ ซิลิกา เจล เป็นลักษณะสารแขวนลอยที่มีลักษณะข้นเหลว (slurry) ด้วยการเติมตัวทำละลาย (Mobile phase) ที่มีส่วนผสมระหว่างเอทิลอะซิเตต ($C_4H_8O_2$) และ เมทานอล (CH_3OH) ในอัตราส่วน 9 : 1 จากนั้นค่อยๆ เทลงในคอลัมน์ที่มีสาลีอุดอยู่ที่ปลายด้านในโดยระวังมิให้ตัวทำละลายไหลออกไปจนแห้ง ควรเคาะคอลัมน์เบาๆ เพื่อไล่ฟองอากาศ หรือใช้แท่งแก้วคนกวนเบาๆ เพื่อไล่ฟองอากาศออกให้หมดปล่อยให้ซิลิกาเจลนิ่งนอนก้น แล้วจึงเปิดให้ตัวทำละลายไหลออกไปบ้างจนมีระดับอยู่เหนือซิลิกาเจลเล็กน้อย ควรพยายามทำให้ผิวหน้าของตัวดูดซับเรียบ เพื่อการแยกจะได้แถบสารที่อยู่ในแนวตั้งฉากขวางคอลัมน์

บรรจุสารสี (crude pigment) ที่สกัดสีจากข้อ 3.4.3.2 ใส่ลงคอลัมน์ประมาณ 5 มิลลิลิตร แล้วเปิดให้สารสีไหลลงจนผิวหน้าเกือบแห้ง แล้วชะล้างคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเพียงเล็กน้อย แล้วจึงค่อยๆ เติมตัวทำละลายที่มีส่วนผสมระหว่างเอทิลอะซิเตต ($C_4H_8O_2$) และ เมทานอล (CH_3OH) ในอัตราส่วน 9 : 1 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

ทำการเก็บสารที่ออกมาโดยการเก็บแยกเป็นหลอดๆ เรียกว่าส่วนแยก (fraction) โดยเก็บหลอดละประมาณ 10-15 มิลลิลิตร แล้วจึงค่อยๆ เปลี่ยนหลอดใหม่ไปเรื่อยๆ จนตัวทำละลายแรกหมด จากนั้นทำการชะสารในคอลัมน์ด้วยการเปลี่ยนชนิดตัวทำละลายใหม่คือเมทานอล (CH_3OH) 90 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นก็จะเป็นขั้นตอนของการนำเอาสารในหลอดต่างๆ ไปทดสอบดูว่าหลอดใดมีสารใดอยู่บ้าง โดยทดสอบแต่ละส่วนแยก (สารในแต่ละหลอด) ด้วยวิธีทินแลร์โครมาโตกราฟี (Thin layer Chromatography) จากนั้นเมื่อทราบว่าสารใดอยู่ที่หลอดไหนบ้าง จึงนำหลอดที่มีสารชนิดเดียวกันมารวมกันแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกไป

3.4.5 ศึกษาขั้นตอนการผลิตลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นองค์ประกอบ

ลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นองค์ประกอบมีทั้งหมด 3 สูตร โดยมีปริมาณส่วนผสมของสีแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 2.5 เปอร์เซ็นต์, 5 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักลิปสติก อัตราส่วนผสมของลิปสติกแต่ละสูตร แสดงดังตารางที่ 3.1 ซึ่งส่วนผสมในสูตรลิปสติกประกอบด้วย ขี้ผึ้ง (Beeswax) (รูป 3.2ก), ไขมันโกโก้ (Cocoa butter) (รูป 3.2ข), ไทเทเนียมไดออกไซด์ (TiO_2) (รูป 3.2ค), โพรไพลีน ไกลคอล ($C_3H_8O_2$) (รูป 3.2ง), น้ำมันแม็คคาดิเมีย (macadamia oil) (รูป 3.2จ), น้ำมันอัลมอนด์ (almond oil) (รูป 3.2ฉ), วิตามินอี (รูป 3.2ช), กลิ่น (รูป 3.2ซ) และสารสีที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัส (รูป 3.2ฌ) แสดงดังรูป 3.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของสูตรลิปสติกทั้ง 3 สูตร

ส่วนประกอบ	ร้อยละ (%โดยน้ำหนัก)		
	สูตรที่ 1 (สีร้อยละ 2.5)	สูตรที่ 2 (สีร้อยละ 5)	สูตรที่ 3 (สีร้อยละ 10)
น้ำมันแม็คคาดิเมีย	22.5	20.0	15.0
น้ำมันอัลมอนด์	15.0	15.0	15.0
ไทเทเนียมไดออกไซด์	15.0	15.0	15.0
โพรไพลีน ไกลคอล	5.0	5.0	5.0
ขี้ผึ้ง	20.0	20.0	20.0
ไขมันโกโก้	20.0	20.0	20.0
สีจากเชื้อราโมแนสคัส	2.5	5.0	10.0
วิตามินอี	q.s.	q.s.	q.s.
กลิ่น	q.s.	q.s.	q.s.

3.4.5.1 การทำลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัส

วิธีการทำลิปสติกมีขั้นตอน 6 ขั้นตอน ดังนี้

1) การผสม (Mixing) แยกส่วนผสมออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วน A เป็นส่วนผสมของน้ำมันแม็คคาดิเมีย, น้ำมันอัลมอนด์, ไทเทเนียมไดออกไซด์, โพรไพลีน ไกลคอล และสารแต่งสี โดยสารแต่งสี ณ ที่นี้ คือสารสกัดสีที่ได้จากการสกัดจากเชื้อราโมแนสคัส โดยนำส่วนผสมทั้งหมดใส่ในบีกเกอร์ แล้วทำการผสมให้เข้ากันจนของเหลวเป็นเนื้อเดียวกัน ดังรูปที่ 3.3ก

ส่วน B คือส่วนผสมของขี้ผึ้ง และไขมันโกโก้ ใส่ส่วนผสมทั้งหมดลงในบีกเกอร์ แล้วนำมาตั้งบน water bath โดยให้ร้อนที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส จนละลายเป็นของเหลว ดังรูปที่ 3.3ข

2) จากนั้นนำของเหลว A ผสมกับของเหลว B แล้วคนให้เข้ากัน โดยทำการรักษาอุณหภูมิให้คงที่ 70-80 องศาเซลเซียส จนส่วนผสมละลายเป็นเนื้อเดียวกันจะเรียกว่า "สารกึ่งสำเร็จรูป" เมื่อได้เป็นสารกึ่งสำเร็จรูปแล้วรอให้อุณหภูมิเย็นตัวลง ทำการแต่งกลิ่นและเติมวิตามินอี ดังรูปที่ 3.3ค

3) นำสารกึ่งสำเร็จรูปที่ผสมเข้ากันดีแล้วเทบรรจุในเบ้าพิมพ์ลิปสติก ดังรูปที่ 3.3ง

4) นำไปใส่ในตู้เย็น รอให้อุณหภูมิลดลงถึง 10-20 องศาเซลเซียส ดังรูปที่ 3.3จ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) นำออกจากตู้เย็นแกะแม่แบบออก แล้วประกอบเข้ากับฐานลิปสติก และจะได้แท่งลิปสติก ดังรูปที่ 3.3ฉ

ก ข ค

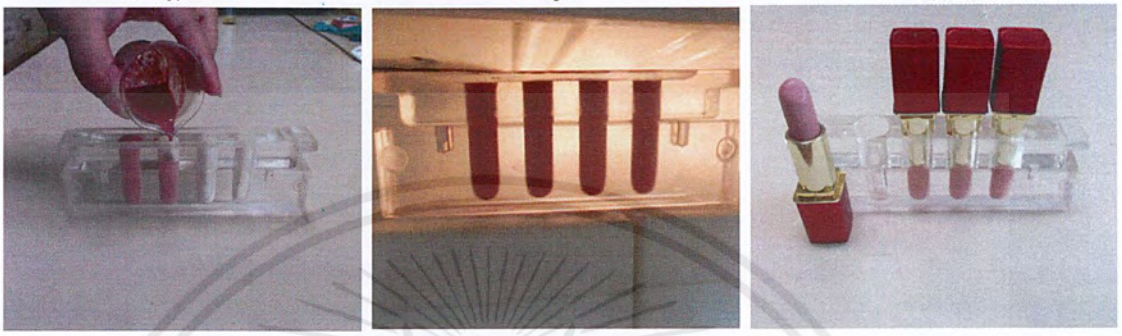
ง จ ฉ

ช ซ ฌ

รูปที่ 3.2 ส่วนผสมในสูตรลิปสติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก ข ค



ง จ ฉ

รูปที่ 3.3 ขั้นตอนวิธีการทำลิปสติก

3.4.5.2 ทดสอบลักษณะทางกายภาพของลิปสติก

ทำการตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์ลิปสติกจากข้อ 3.4.5.1 โดยตรวจสอบทางกายภาพดังนี้

1) ค่าสี L* a* b* C* และ ค่า Hue (angle of rotation) โดยใช้เครื่องวัดสี Chroma meter (Minolta, CR-300) (ภาคผนวก ข)

2) จุดโค้งงอ (bending point) โดยวิธีของ มอก. 234-2541 (ภาคผนวก ข)

3) การทดสอบจุดหยด (drooping point) โดยวิธีของ มอก. 234-2541 (ภาคผนวก ข)

3.4.5.3 ทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังของลิปสติก

ทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังกับอาสาสมัครจำนวน 20 คน โดยการทำ patch test ทาลิปสติกทั้ง 3 สูตรบริเวณท้องแขนเป็นเวลา 12- 24 ชั่วโมง แล้วทำการสังเกตความระคายเคือง (ภาคผนวก ข)

3.4.5.4 ทดสอบความพึงพอใจของลิปสติก

การทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 20 คน โดยเปรียบเทียบระหว่างลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัสทั้ง 3 สูตร ในหัวข้อต่อไปนี้ คือ สี กลิ่น ความลื่นขณะทา ความมันขณะทา ความชุ่มชื้นหลังทา รูปแบบของผลิตภัณฑ์ เป็นต้น (ภาคผนวก ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

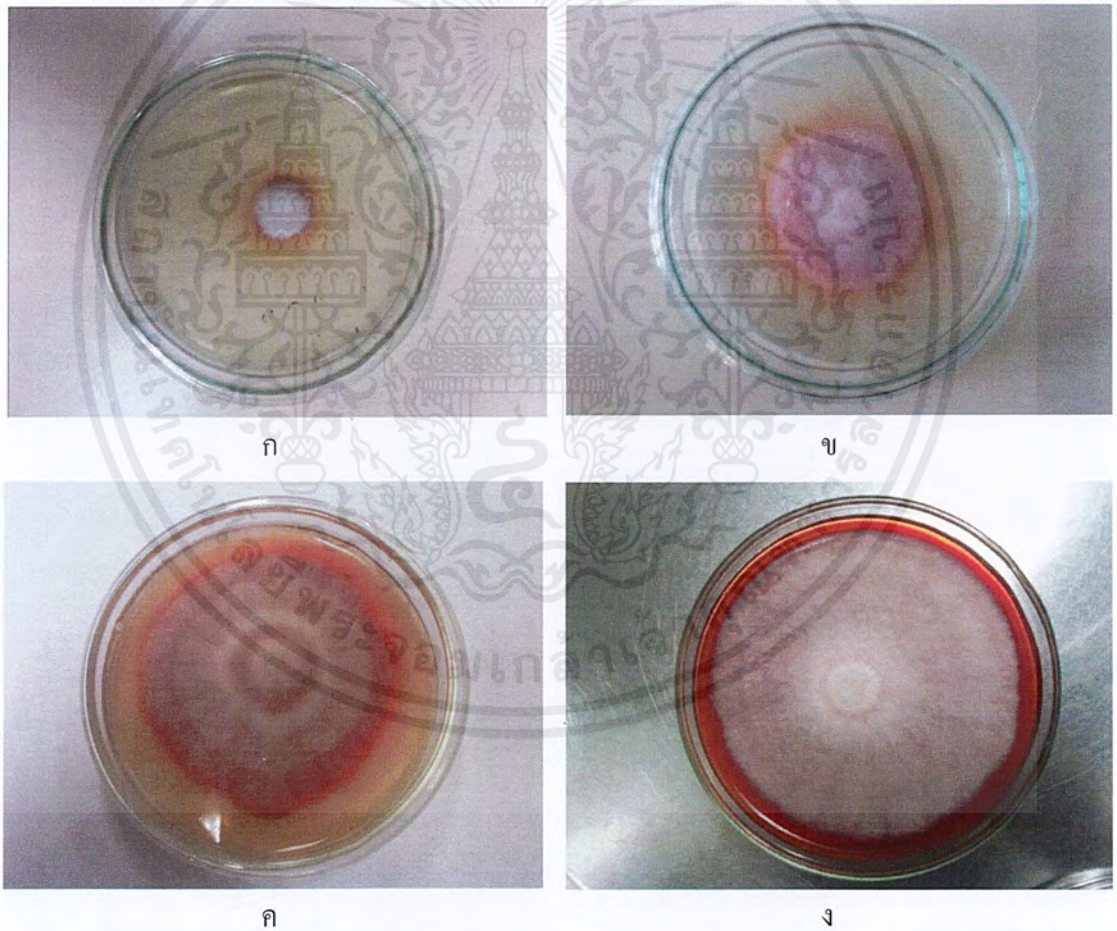
การทดลองข้อ 3.4.2.2 และ 3.4.3.1 วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติโดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวแปรที่ทำการศึกษาด้วยวิธี Duncan new multiple rang test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับใช้ในการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

การเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* จากการสังเกตลักษณะสัณฐานการเจริญของเชื้อรา บนอาหารแข็ง MYS พบว่าเชื้อราสร้างเส้นใยสีขาวฟู และเมื่ออายุมากขึ้นสีของเส้นใยจะเปลี่ยนเป็นสีส้ม หรือสีแดงทั่วโคโลนี แสดงดังรูปที่ 4.1 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว ทำการตัดบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญอยู่บนอาหารแข็ง MYS ด้วย cork borer จำนวน 2 ชิ้น ใส่ลงในอาหารเหลว SS เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับผลิตสารสี แสดงดังรูป 4.2 จำนวน 2 ชิ้น



ก ข ค ง

รูปที่ 4.1 ลักษณะของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนอาหาร MYS บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน (รูป ก), 7 วัน (รูป ข), 10 วัน (รูป ค) และ 14 วัน (รูป ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลศึกษาการเจริญและระยะเวลาในการสร้างรงควัตถุของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ

4.2.1 ผลการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสเพื่อผลิตสารสีบนอาหารแข็งข้าวหอมมะลิ

การทดลองพบว่าเชื้อราโมแนสคัสสามารถเจริญและสร้างสีได้ทั้งอาหารเหลวและอาหารแข็ง การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว SS medium (รูปที่ 4.2) ซึ่งใช้เป็นกล้าเชื้อสำหรับการผลิตสารสีบนอาหารแข็งที่ใช้ข้าวหอมมะลิเป็นซับสเตรท เป็นสูตรอาหารที่ให้อัตราการเจริญเร็วพอสมควร ประกอบด้วยแป้งถั่วเหลือง และแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และแหล่งพลังงาน ลักษณะการเจริญของเชื้อราบนอาหารเหลว SS มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีลักษณะเป็นก้อน (pellet) แสดงดังรูปที่ 4.3

รูปที่ 4.2 อาหารเหลว SS สำหรับเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในการผลิตสารสีบนข้าวหอมมะลิ

รูปที่ 4.3 ลักษณะของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนอาหารเหลว SS สภาวะการเขย่า 200 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในการผลิตสารสีบนข้าวหอมมะลิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมข้าวหอมมะลิสำหรับใช้เลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส หลังนำข้าวไปแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ข้าวมีลักษณะกึ่งแข็ง แสดงดังรูปที่ 4.4 จากนั้นใช้กล้าเชื้อราโมแนสคัสที่เลี้ยงในอาหารเหลว SS medium มาใส่ จำนวน 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าลักษณะการเจริญและการสร้างสีของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ เชื้อราจะสร้างเส้นใยและสีขึ้นภายในเส้นใยโดยเห็นเป็นสีแดงเข้มเมื่อมองด้วยตาเปล่า และเชื้อราจะเริ่มเจริญแทรกอยู่ทั่วเมล็ดข้าวเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น แสดงดังรูป 4.5 เก็บตัวอย่างข้าวทุกๆ 5 วัน เป็นเวลา 30 วัน เพื่อนำไปวิเคราะห์รงควัตถุ พีเอช และเปอร์เซ็นต์ความชื้น

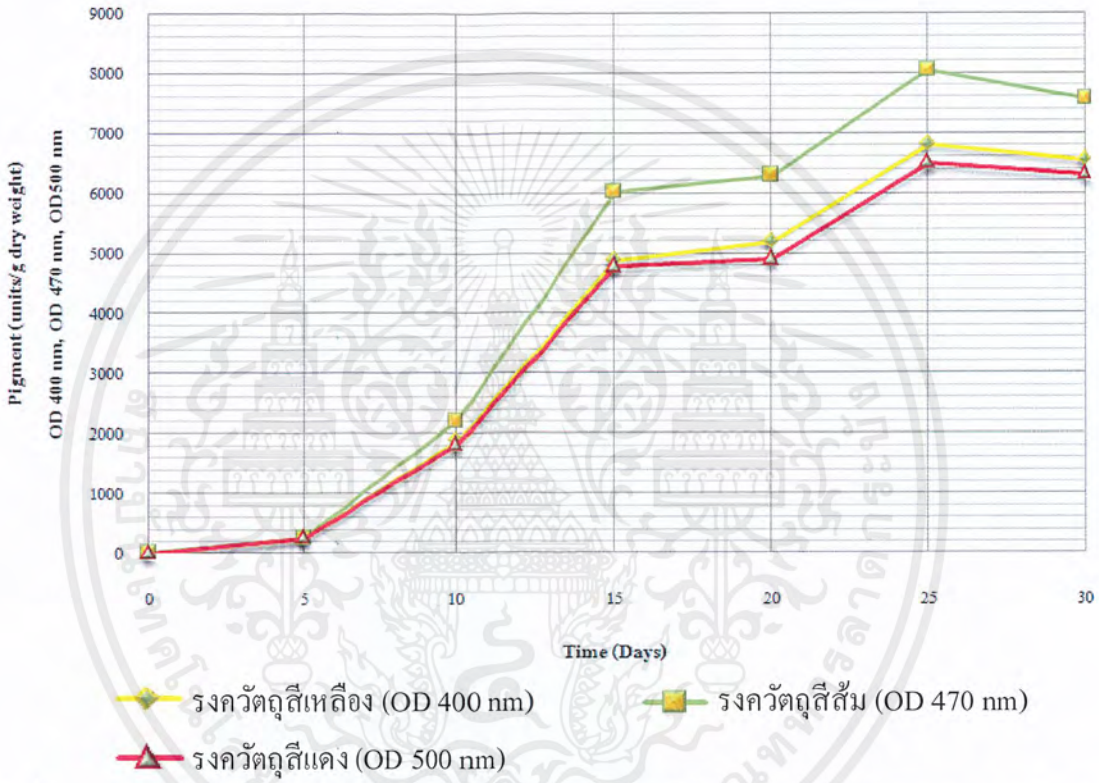
รูปที่ 4.4 การเตรียมข้าวหอมมะลิ (ซับสเตรต) สำหรับเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส โดยใช้ข้าวจำนวน 50 กรัม ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

รูปที่ 4.5 ลักษณะการเจริญและการสร้างสีของเชื้อราโมแนสคัสโดยใช้กล้าเชื้อเริ่มต้น 5 มิลลิลิตร เลี้ยงบนซับสเตรตข้าวหอมมะลิ 50 กรัม ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การศึกษาระยะเวลาการสร้างรงควัตถุของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ

เชื้อราโมแนสคัสสามารถผลิตรงควัตถุได้หลายชนิด ซึ่งการทดลองนี้ได้วัดปริมาณสีแดง สีส้ม และสีเหลือง ผลการวิเคราะห์ระยะเวลาในการสร้างปริมาณรงควัตถุของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และมีการผสมคลุกเคล้าอาหารทุกวัน ด้วยการนำข้าวแดงที่หมักได้ในแต่ละระยะเวลาไปสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ นำของเหลวที่สกัดได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าดูดกลืนแสงสีเหลือง สีส้ม และสีแดง ตามลำดับ แล้วทำการคำนวณผลแสดงดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 ปริมาณรงควัตถุสีเหลือง (OD 400 nm) รงควัตถุสีส้ม (OD 470 nm) และรงควัตถุสีแดง (OD 500 nm) ของเชื้อราโมแนสคัสที่เลี้ยงบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในเวลาต่างๆ กัน และมีการผสมคลุกเคล้าอาหารทุกวัน ที่ระยะเวลาต่างๆ

ผลจากการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิแล้วทำการเปรียบเทียบปริมาณและสัดส่วนการสร้างรงควัตถุสีทั้ง 3 ชนิด (ตารางที่ 4.1) พบว่าในช่วงแรกของการหมักมีสัดส่วนสีเหลืองและสีแดงใกล้เคียงกัน และมากกว่าสีส้ม หลังวันที่ 10 ของการหมักจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก มีสัดส่วนสีส้มเพิ่มขึ้น และมากกว่าสีเหลืองและสีแดงที่มีสัดส่วนใกล้เคียงกัน แสดงดังตารางที่ 4.1 และพบว่าในวันที่ 25 ของการหมัก เชื้อราโมแนสคัสให้ปริมาณสารสีเหลือง สีส้ม และสีแดง มากกว่าระยะเวลาการหมักอื่นๆ (รูปที่ 4.6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ปริมาณรงควัตถุสีเหลือง (OD 400 nm) สีส้ม (OD 470 nm) และสีแดง (OD 500 nm) ของเชื้อราโมแนสคัสเลี้ยงบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่างๆ กัน และมีการผสมคลุกเคล้าอาหารทุกวัน

ระยะเวลา (วัน)	รงควัตถุ (units/ g dry weight)			อัตราส่วนการสร้างสี เหลือง : ส้ม : แดง		
	สีเหลือง (400 นาโนเมตร)	สีส้ม (470 นาโนเมตร)	สีแดง (500 นาโนเมตร)			
5	256.4366[d]	239.5363[d]	264.6353[d]	0.34	0.31	0.35
10	1886.0826[c]	2198.4327[c]	1822.2494[c]	0.32	0.37	0.31
15	4876.3452[b]	6015.1779[b]	4790.3113[b]	0.31	0.38	0.31
20	5188.7688[b]	6289.2178[b]	4906.4404[b]	0.32	0.38	0.30
25	6814.8167[a]	8043.5751[a]	6513.3813[a]	0.32	0.38	0.30
30	6557.5371[a]	7566.7817[a]	6323.1024[a]	0.32	0.37	0.31

หมายเหตุ 1. ตัวเลขที่แสดงหมายถึงค่าเฉลี่ยของข้อมูล

2. ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

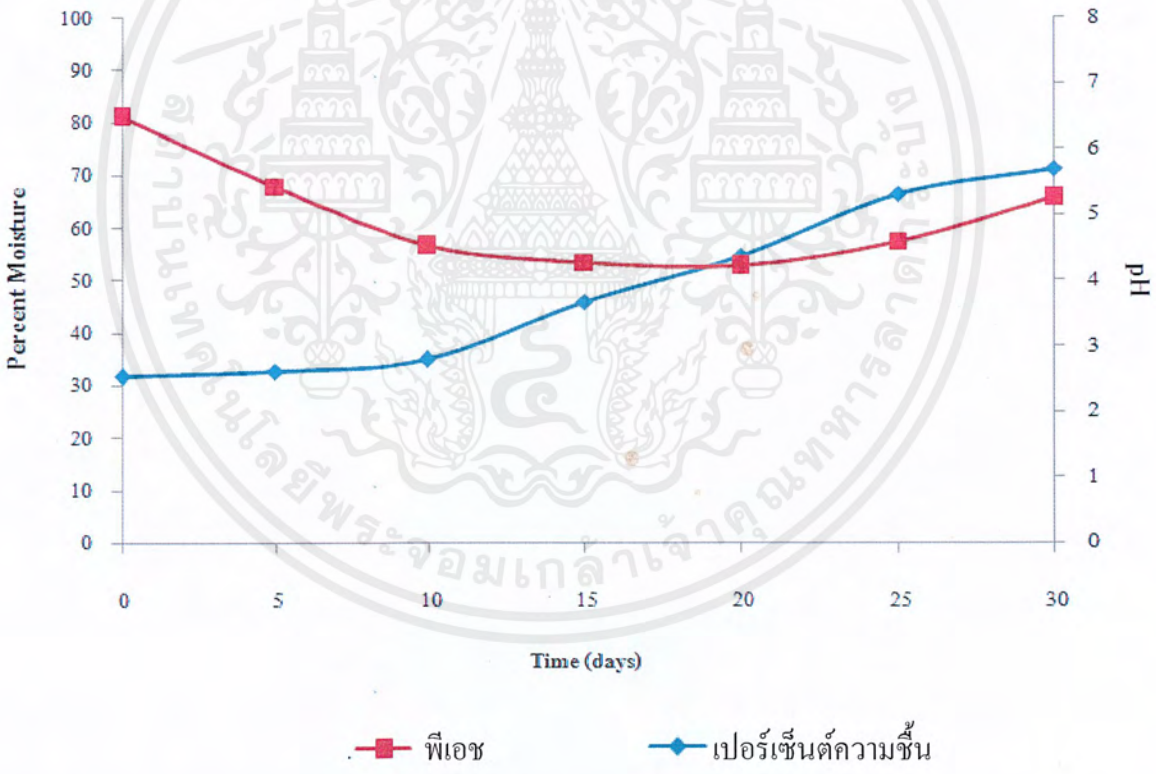
จากรูปที่ 4.6 พบว่าระยะการหมักเชื้อราโมแนสคัสเป็นเวลา 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 วัน เชื้อราสามารถผลิตรงควัตถุได้สูงขึ้นตามระยะเวลาหมักที่เพิ่มขึ้น และเมื่อหมักนานขึ้นสารอาหารเริ่มลดลง ส่งผลต่อเชื้อราที่จะนำสารอาหารมาใช้เพื่อสร้างรงควัตถุและการเจริญ สอดคล้องกับ Teng และ Feldeheim (2001) เมื่อเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสเป็นเวลา 25 วัน จะเห็นได้ว่ามีปริมาณรงควัตถุทั้ง 3 สีมากที่สุดเมื่อเทียบกับระยะเวลาการหมักอื่น เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) มีค่าสีเหลือง สีส้ม และสีแดงเท่ากับ 6814, 8043 และ 6513 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.1 ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสเป็นเวลา 25 วัน

ค่าพีเอชระหว่างการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิอยู่ในช่วง 4.22-6.48 เมื่อนำไปวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ความชื้นประมาณ 31-71 เปอร์เซ็นต์ ตลอดระยะเวลาการหมักพบว่าผลการวิเคราะห์แนวโน้มค่าพีเอชจะลดลงเมื่อเชื้อมีอายุเพิ่มขึ้น ส่วนค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น รงควัตถุจะเพิ่มขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น ผลค่าพีเอชและเปอร์เซ็นต์ความชื้น แสดงดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ค่าพีเอชและเปอร์เซ็นต์ความชื้นสัมพัทธ์ของข้าวแดงในระหว่างการหมักเชื้อรา โมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และมีการผสมคลุกเคล้าอาหารทุกวัน

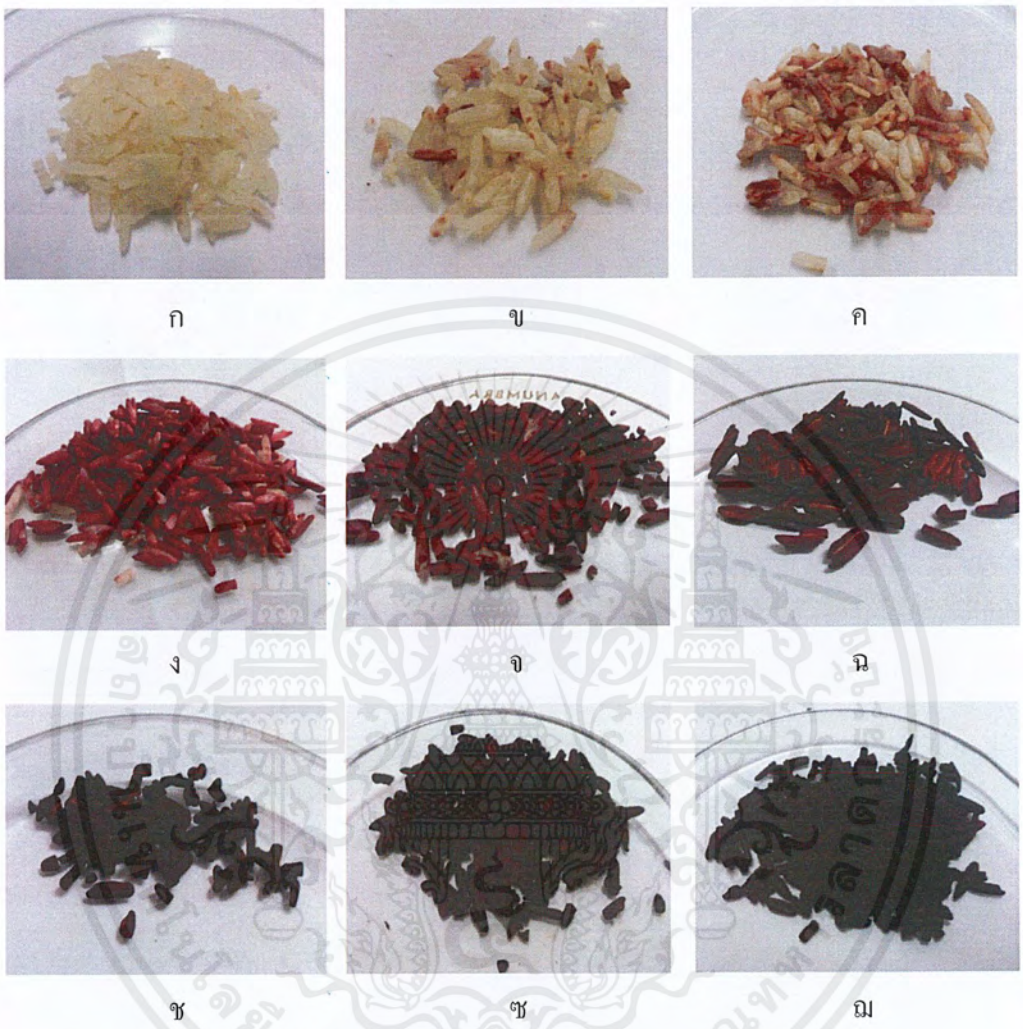
ระยะเวลา (วัน)	ค่าพีเอช	เปอร์เซ็นต์ความชื้น
0	6.4833	31.6421
5	5.4367	32.7255
10	4.5333	34.9566
15	4.2733	45.9566
20	4.2200	54.6339
25	4.5867	66.4800
30	5.2533	71.1741



รูปที่ 4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชและเปอร์เซ็นต์ความชื้นกับระยะในการเลี้ยงเชื้อรา โมแนสคัสที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และมีการผสมคลุกเค้าอาหารระหว่างการหมักทุกวัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะการเจริญและการสร้างสีของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ แสดงดังรูป 4.8 และลักษณะของสารละลายสีที่สกัดด้วยเอทานอลที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ แสดงดังรูป 4.9



รูปที่ 4.8 ลักษณะการเจริญและการสร้างสีของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน (รูป ก), 1 วัน (รูป ข), 2 วัน (รูป ค), 5 วัน (รูป ง), 10 วัน (รูป จ), 15 วัน (รูป ฉ), 20 วัน (รูป ช), 25 วัน (รูป ซ) และ 30 วัน (รูป ฌ) ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.9 สารละลายสีข้าวแดงที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 วัน ตามลำดับ (จากซ้ายไปขวา) สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ 50 มิลลิลิตรต่อข้าวแดง 0.5 กรัม (น้ำหนักสด) เพื่อนำไปวัดปริมาณสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

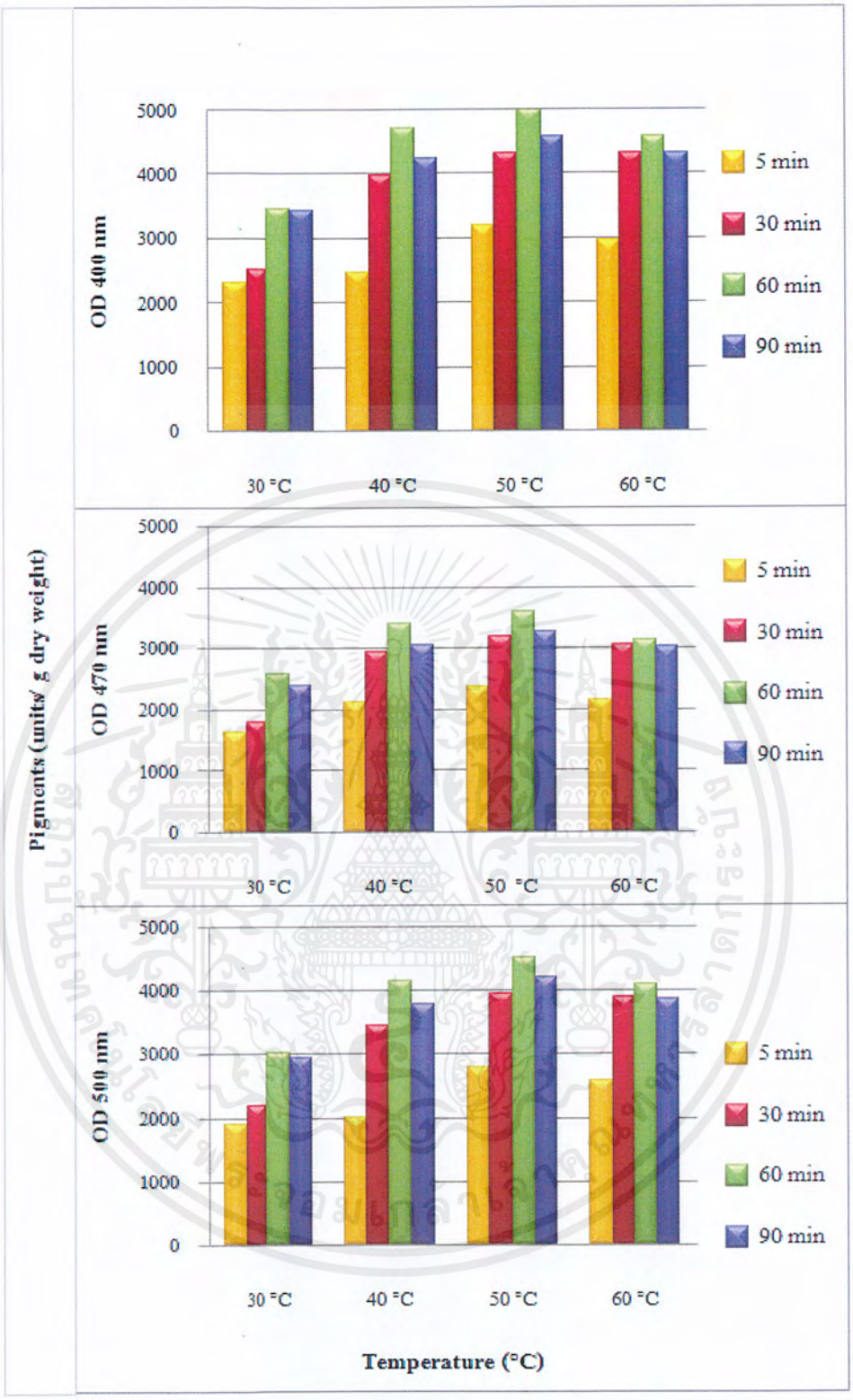
4.3 ศึกษาวิธีการสกัดรงควัตถุที่เหมาะสมของเชื้อราโมแนสคัส

4.3.1 ผลศึกษาเปรียบเทียบสภาวะการสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลที่อุณหภูมิและเวลาแตกต่างกัน

จากผลการทดลองข้อ 4.2.2 เมื่อเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสเป็นระยะเวลาการหมัก 25 วัน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และมีการผสมคลุกเคล้าอาหารทุกวัน พบว่าให้ปริมาณรงควัตถุสูงสุด จึงนำข้าวแดงที่ได้มาศึกษาเรื่องการสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเพื่อหาสภาวะที่สกัดได้รงควัตถุสูงสุด โดยนำข้าวแดงมานึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave เพื่อลดกิจกรรมของเชื้อรา จากนั้นนำไปสกัดรงควัตถุของเชื้อราด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธีการทดลอง ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.10

จากการวิเคราะห์หาปริมาณรงควัตถุสีเหลือง สีส้ม และสีแดง ของเชื้อราโมแนสคัส (รูปที่ 4.10) พบว่าสภาวะการสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เขย่าความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 นาที ให้ปริมาณรงควัตถุได้ดี ปริมาณรงควัตถุสีเหลือง สีส้ม และสีแดง เท่ากับ 4995, 3578 และ 4514 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งการสกัดรงควัตถุด้วยอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ให้ปริมาณสีมากกว่าสภาวะการสกัดอุณหภูมิและเวลาอื่นๆ เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P<0.05$) ผลแสดงดังตารางที่ 4.3, 4.4 และ 4.5 เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดนานขึ้นและใช้อุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้น ปริมาณรงควัตถุทั้ง 3 ชนิด กลับลดต่ำลง เนื่องจากรงควัตถุถูกทำลายได้เมื่อมีความร้อนสูงขึ้น (Yongsmith *et al.*, 1988)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 แสดงปริมาณรงควัตถุสีเหลือง (OD 400 nm) รงควัตถุสีส้ม (OD 470 nm) และรงควัตถุสีแดง (OD 500 nm) ของเชื้อราโมแนสคัสที่สร้างบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และทำการผสมคลุกเค้าอาหารระหว่างการหมักทุกวัน เป็นระยะเวลา 25 วัน และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่สภาวะอุณหภูมิและเวลาแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบปริมาณรงควัตถุสีเหลือง (OD 400 nm) ที่ได้จากการสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ทางสถิติ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ (P<0.05)

	Pigment (units/ g of substrate)			
อุณหภูมิ (°C) / เวลา (นาที)	30	40	50	60
5min	2303.6469^{j}	2462.7607i	3188.5475^{g}	2960.7804^{h}
30 min	2528.3454^{i}	3978.0898^{e}	4328.4857^{d}	4316.8653^{d}
60 min	3470.7419^{f}	4715.8790^{b}	4995.4254^{a}	4575.9777^{c}
90 min	3427.7005^{f}	4249.5339^{d}	4590.6687^{c}	4329.0804^{d}

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบปริมาณรงควัตถุสีส้ม (OD 470 nm) ที่ได้จากการสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ทางสถิติ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ (P<0.05)

	Pigment (units/ g of substrate)			
อุณหภูมิ (°C) / เวลา (นาที)	30	40	50	60
5min	1617.4057^{l}	2118.9910^{j}	2361.3911^{i}	2146.1069^{j}
30 min	1789.5478^{k}	2928.0546^{g}	3163.3343^{d}	3033.2131^{efg}
60 min	2572.4647^{h}	3403.1772^{b}	3578.6355^{a}	3121.3277^{de}
90 min	2393.7883^{i}	3039.7520^{ef}	3264.6337^{c}	3000.2801^{fg}

ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบปริมาณรงควัตถุสีแดง (OD 500 nm) ที่ได้จากการสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ทางสถิติ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ (P<0.05)

	Pigment (units/ g of substrate)			
อุณหภูมิ (°C) / เวลา (นาที)	30	40	50	60
5min	1898.6882^{j}	2009.7049^{j}	2793.0294^{g}	2573.1272^{h}
30 min	2190.7106^{i}	3442.6065^{e}	3920.2531^{c}	3868.3192^{cd}
60 min	3003.9769^{f}	4137.0955^{b}	4514.9643^{a}	4084.6874^{b}
90 min	2948.4769^{f}	3769.9873^{d}	4195.5143^{b}	3850.4218^{cd}

หมายเหตุ 1. ตัวเลขที่แสดงหมายถึงค่าเฉลี่ยของข้อมูล

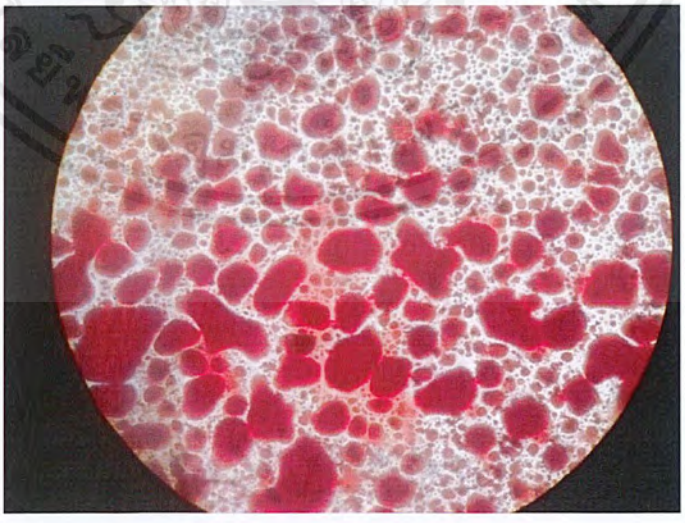
2. ตัวอักษรที่ต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ผลการสกัดสารสีเพื่อนำไปใช้ในการทำลิปสติก

จากการทดลองข้อที่ 4.3.1 เราจึงเลือกใช้เอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ สกัดรงควัตถุโดยใช้สภาวะการสกัด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเขย่าด้วยความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 นาที ซึ่งเป็นสภาวะการสกัดที่ได้รงควัตถุสูงสุด เมื่อสกัดจนครบเวลาแล้ว กรองของเหลวด้วยกระดาษกรอง Whatman number 1 นำของเหลวไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporators) จนได้สารสีเข้มข้นโดยเหลือเอทานอลอยู่ประมาณ 30 มิลลิลิตร ทำการวัดค่าสีด้วยเครื่อง Chroma meter (Minolta, CR-300) และเก็บสารสีไว้ในขวดแก้วที่สะอาดเพื่อนำไปใช้ในการทำลิปสติกต่อไป แสดงดังรูปที่ 4.11 เมื่อนำสารสีดังกล่าวไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็นลักษณะกลุ่มสารละลายสีแดง ดังรูปที่ 4.12

รูปที่ 4.11 แสดงสารสีที่สกัดจากเชื้อราโมแนสคัสสำหรับนำไปใช้ทำลิปสติก



รูปที่ 4.12 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40X ของสารสกัดสีจากเชื้อราโมแนสคัสที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ใช้อุณหภูมิการสกัด 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวัดค่าสีที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัส ด้วยเครื่อง Chroma meter (Minolta, CR-300) พบว่าสีที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัสมีเฉดสีแดงม่วง แสดงดังตารางที่ 4.6 โดยวัดค่าสี L* a* b* Chroma และ Hue ซึ่งค่า L* แสดงถึงค่าความสว่าง, ค่า a* แสดงค่าความเป็นสีแดง-เขียว, ค่า b* แสดงค่าความเป็นสีเหลือง-น้ำเงิน, ค่า Chroma แสดงค่าความสดของสี และค่าสี Hue เป็นค่าที่บ่งบอกถึงสีหลักของตัวอย่าง โดยมีค่าตั้งแต่ 0 องศา ถึง 360 องศา โดยในช่วง 0 ถึง 30 องศา (สีแดง-สีแดงส้ม) ช่วง 30-60 องศา (สีแดงส้ม-สีเหลืองส้ม) และช่วง 60-90 องศา (สีเหลืองส้ม-สีเหลือง) เป็นต้น แสดงดังรูปที่ ค-1 ในภาคผนวก ข

ตารางที่ 4.6 ค่าการวัดสีที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัส ด้วยเครื่อง Chroma meter

ตัวอย่าง	L*	a*	b*	C	Hue	เฉดสี
สีที่สกัดจากเชื้อราโมแนสคัส	18.45	+1.70	-0.45	1.74	343.0	RP*

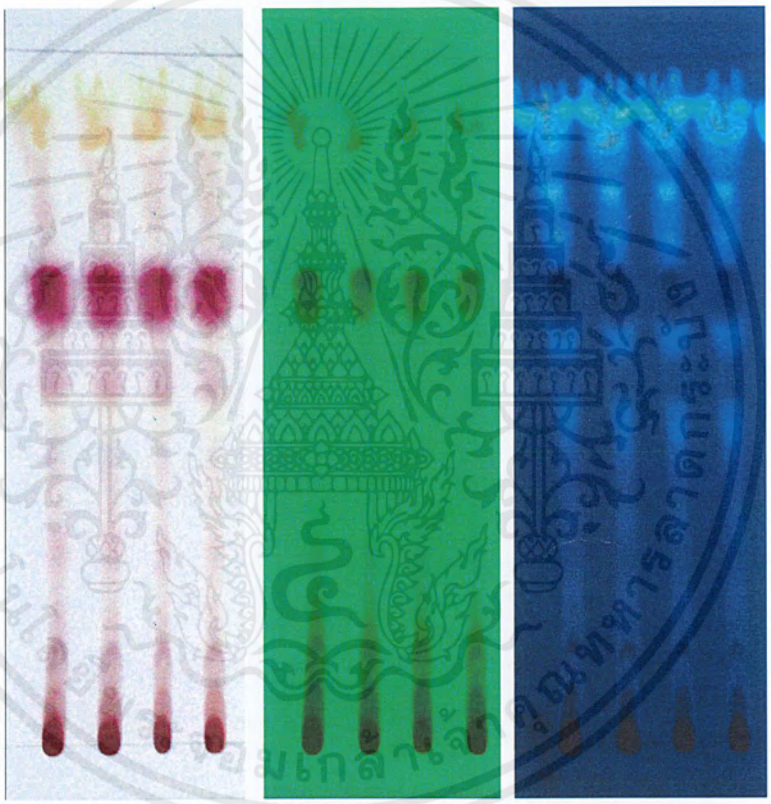
หมายเหตุ *เฉดสีม่วงแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี

4.4.1 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิค Thin layer Chromatography

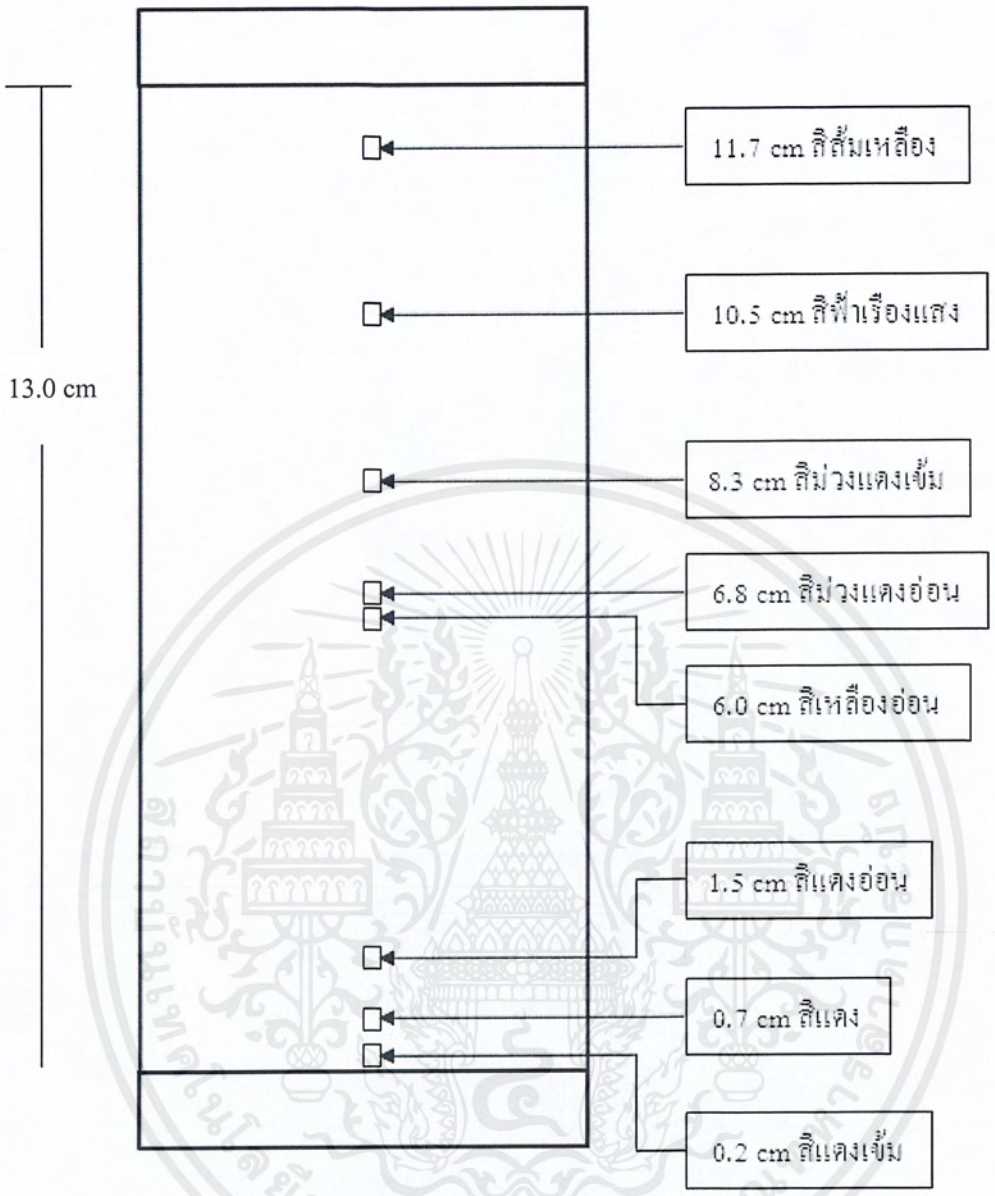
TLC (Thin Layer Chromatography) ที่ใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างเอทิลอะซิเตต ($C_4H_8O_2$) และเมทานอล (CH_3OH) ในอัตราส่วน 9 ต่อ 1 เป็น mobile phase จะสังเกตเห็นได้ว่าสารสีที่สกัดได้ถ้ามองด้วยตาเปล่าจะเห็นเป็นสีแดงเข้ม แต่เมื่อนำสีที่สกัดได้ (crude pigment) มาแยกโดยวิธี Thin-Layer Chromatography พบว่ามีทั้งสีเหลือง สีส้ม สีแดง และสีม่วง เมื่อนำแผ่น TLC ไปวางภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลต พบว่ายังมีสารประกอบอื่นๆ ที่สามารถเรืองแสงและให้สีต่างกัน แสดงดังรูปที่ 4.13 และ 4.14 และระยะทางการเคลื่อนที่ของสารประกอบที่แยกได้จากน้ำสกัดสี แสดงดังตารางที่ 4.7



ก ข ค

รูปที่ 4.13 ลักษณะแยกของสี (crude pigment) ที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัสบนแผ่น Thin Layer Chromatography ที่ดูภายใต้แสงต่างๆ (รูป ก) ภายใต้แสงปกติ
(รูป ข) ภายใต้แสง UV 254 nm
(รูป ค) ภายใต้แสง UV 365 nm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 ระยะทางการเคลื่อนที่ของสารประกอบที่แยกได้จากน้ำสกัดสี (crude pigment) ด้วยวิธี TLC (Thin Layer Chromatography)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ระยะทางการเคลื่อนที่ของสารประกอบที่แยกได้จากน้ำสกัดสารสีด้วยวิธี Thin Layer Chromatography

ลักษณะของสี	Retention Factor
สีเหลืองส้ม	0.900
สีฟ้าเรืองแสง	0.808
สีม่วงแดงเข้ม	0.638
สีม่วงแดงอ่อน	0.523
สีเหลืองอ่อน	0.462
สีแดงอ่อน	0.115
สีแดง	0.054
สีแดงเข้ม	0.015

4.4.2 การแยกสารสีด้วยเทคนิค Column Chromatography

ผลการทดลองโดยนำน้ำสกัดสารสีมาแยกสารสีด้วยเทคนิค Column Chromatography พบว่าน้ำสกัดสารสีที่แยกออกมาได้ (Fraction) จำนวน 53 Fraction จากนั้นเมื่อทราบว่าสารสีใดอยู่ที่ Fraction ไหนบ้างด้วยวิธี Thin Layer Chromatography จึงนำหลอดที่มีระยะการเคลื่อนที่เดียวกันมารวมกันแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกไป โดยสามารถจำแนกออกมาได้เป็นสาร 5 กลุ่มใหญ่ ดังรูปที่ 4.15

รูปที่ 4.15 สารสีที่ผ่านการแยกด้วยวิธี Column Chromatography

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลการศึกษาขั้นตอนการผลิตลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นองค์ประกอบ

4.5.1 ผลการทำลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัส

ลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นองค์ประกอบมีทั้งหมด 3 สูตร ที่มีปริมาณส่วนผสมของสีแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 2.5 เปอร์เซ็นต์, 5 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักลิปสติก ดังรูปที่ 4.16, 4.17 และ 4.18

รูปที่ 4.16 แสดงผลิตภัณฑ์ลิปสติกสูตรที่ 1 ที่มีปริมาณส่วนผสมของสี 2.5 เปอร์เซ็นต์

รูปที่ 4.17 แสดงผลิตภัณฑ์ลิปสติกสูตรที่ 2 ที่มีปริมาณส่วนผสมของสี 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.18 แสดงผลิตภัณฑ์ลิปสติกสูตรที่ 3 ที่มีปริมาณส่วนผสมของสี 10 เปอร์เซ็นต์

4.5.2 ผลทดสอบลักษณะทางกายภาพของลิปสติก

ผลิตภัณฑ์ลิปสติกทั้ง 3 สูตร ได้เป็นไปตามเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม คือ ผ่านการทดสอบจุดโค้งงอไม่เกิน 5 มิลลิเมตร และจุดหยดไม่ต่ำกว่า 60 องศาเซลเซียส โดยวัดค่าสี L*, a*, b*, C และ Hue จากการวัดสีลิปสติกทั้ง 3 สูตร พบว่าสูตรที่ 1 มีค่าเท่ากับ 54.43, 20.44, 4.40, 20.82 และ 12.07 ตามลำดับ สูตรที่ 2 มีค่าเท่ากับ 47.80, 21.25, 3.81, 21.59 และ 10.10 ตามลำดับ สูตรที่ 3 มีค่าเท่ากับ 44.12, 19.17, 3.33, 19.41 และ 9.83 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ค่าการทดสอบคุณภาพทางกายภาพของลิปสติก

สูตร	สีที่ใช้ (%)	ค่าการทดสอบคุณภาพทางกายภาพ							
		จุดหยด (C°)	จุดโค้งงอ	L*	a*	b*	C	Hue	เฉดสี
1	2.5	60	ผ่าน	54.43	20.44	4.40	20.89	12.07	RP*
2	5.0	61	ผ่าน	47.80	21.25	3.81	21.59	10.10	RP*
3	10.0	61	ผ่าน	44.12	19.17	3.33	19.41	9.83	RP*

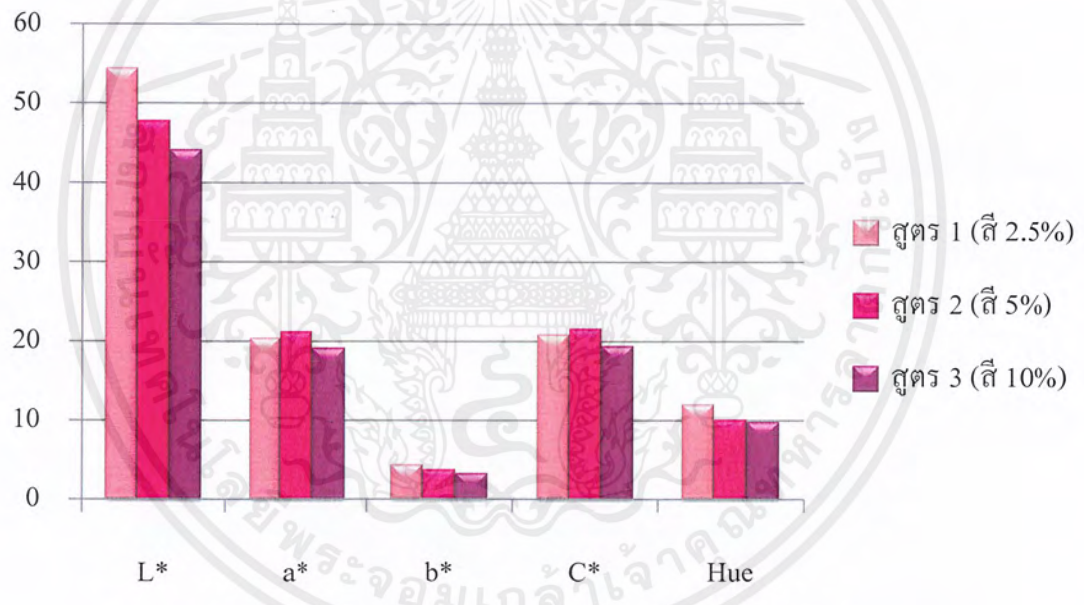
หมายเหตุ *เฉดสีม่วงแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับค่าสีของผลิตภัณฑ์ลิปสติกที่วัดได้ ดังตารางที่ 4.8 พบว่าค่า L* คือความสว่าง จะพบว่าลิปสติกสูตรที่ 1 (สี 2.5 เปอร์เซ็นต์) จะมีค่า L* มากกว่าลิปสติกสูตรที่ 2 (สี 5 เปอร์เซ็นต์) และสูตรที่ 3 (สี 10 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งหมายความว่าลิปสติกสูตรที่ 1 มีความสว่างมากกว่าลิปสติกสูตรที่ 2 และ 3 ตามลำดับ

ส่วนค่า a* เป็นค่าที่บ่งบอกความเป็นสีแดงและสีเขียว ถ้าค่า a* มีค่าเป็นบวก แสดงว่าผลิตภัณฑ์มีสีแดง แต่หากค่า a* มีค่าเป็นลบ แสดงว่าผลิตภัณฑ์มีสีเขียว พบว่าลิปสติกทั้ง 3 สูตรมีค่าสีแดงใกล้เคียงกัน และค่า b* แสดงค่าความเป็นสีเหลืองและน้ำเงินก็เช่นกันเขียว ถ้าค่า b* มีค่าเป็นบวก แสดงว่าผลิตภัณฑ์มีสีเหลือง แต่หากค่า b* มีค่าเป็นลบแสดงว่าผลิตภัณฑ์มีสีน้ำเงิน จะเห็นว่าลิปสติกสูตรที่ 1 จะมีค่า b* มากที่สุด รองลงมาคือสูตรที่ 2 และ 3 ตามลำดับ

ค่า Hue แสดงถึงค่าสีหลัก พบว่าลิปสติกทั้ง 3 สูตรมีเฉดสีเดียวกันคือสีแดงม่วง แต่มีความเข้มที่แตกต่างกันตามระดับสีที่ใช้เป็นส่วนผสมในลิปสติก ถ้าใช้สีมากก็จะมีความเข้มของสีลิปสติกมาก ดังแสดงรูปที่ 4.19



รูปที่ 4.19 แสดงค่า L* a* b* C* และ Hue ของลิปสติกที่ใช้สีในระดับต่างๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.3 ทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังของลิปสติก

จากการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังโดยการทำ patch test โดยการใช้ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มอาสาสมัครเพศหญิงจำนวน 20 คน ที่มีอายุระหว่าง 21-25 ปี พบว่าผลิตภัณฑ์ลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัสไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองในกลุ่มอาสาสมัครทั้ง 20 คน ที่ทำการทดสอบด้วยวิธี patch test เป็นระยะเวลา 12-24 ชั่วโมงแสดงดังรูปที่ 4.20 และรูปที่ 4.21

รูปที่ 4.20 การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังโดยการทำ patch test ขณะใช้ผลิตภัณฑ์

รูปที่ 4.21 การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังโดยการทำ patch test หลังใช้ผลิตภัณฑ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.4 การทดสอบความพึงพอใจของลิปสติก

4.5.4.1 ความพึงพอใจด้านสีของลิปสติก

การทดสอบความพึงพอใจสีลิปสติกของอาสาสมัคร 20 คน ที่มีอายุระหว่าง 21-25 ปี เพื่อเลือกสูตรลิปสติกที่มีสีพึงพอใจมากที่สุด แสดงดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบความพึงพอใจสีลิปสติกของอาสาสมัคร 20 คน

สูตรที่	สี (%)	จำนวนคนที่เลือกสูตร	ผลการทดสอบความพึงพอใจ (ร้อยละ)
1	2.5	5	25
2	5.0	9	45
3	10.0	6	30

จากตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบความพึงพอใจในสีลิปสติกทั้ง 3 สูตร พบว่าอาสาสมัครมีความพึงพอใจสีลิปสติกสูตรที่ 2 มากที่สุด คือ 9 คน จากอาสาสมัคร 20 คน คิดเป็นร้อยละ 45

4.5.4.2 ความพึงพอใจของลิปสติกในด้านต่างๆ

การทดสอบความพึงพอใจของลิปสติก ได้ทำการสอบถามจากอาสาสมัครหญิงจำนวน 20 คน ที่มีอายุระหว่าง 21-25 ปี โดยให้ทดสอบการใช้ผลิตภัณฑ์บริเวณริมฝีปากหรือท้องแขน และให้คะแนนความพึงพอใจในด้านต่างๆ ของลิปสติกทั้ง 3 สูตร ดังตารางที่ 4.10, 4.11, 4.12 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.10 ผลการทดสอบความพึงพอใจของลิปสติกสูตรที่ 1

หัวข้อ	สูตรที่ 1 (สี 2.5 เปอร์เซ็นต์)				
	ชอบมากที่สุด (5)	ชอบมาก (4)	เฉยๆ (3)	ชอบน้อย (2)	ชอบน้อยที่สุด (1)
1.กลิ่นของผลิตภัณฑ์	25	40	30	5	
2.ความลื่นขณะทา	20	50	30		
3.ความมันขณะทา	20	60	15	5	
4.ความชุ่มชื้นหลังทา	10	40	45		
5.รูปแบบของผลิตภัณฑ์	40	40	10	5	
6.ด้านความรู้สึกพึงพอใจโดยรวม	15	65	20		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 ผลการทดสอบความพึงพอใจของลิปสติกสูตรที่ 2

หัวข้อ	สูตรที่ 2 (สี 5 เปอร์เซ็นต์)				
	ชอบมากที่สุด (5)	ชอบมาก (4)	เฉยๆ (3)	ชอบน้อย (2)	ชอบน้อยที่สุด (1)
1.กลิ่นของผลิตภัณฑ์	10	55	30	5	
2.ความลื่นขณะทา	20	55	30		
3.ความมันขณะทา	10	70	20		
4.ความชุ่มชื้นหลังทา	5	40	40	10	
5.รูปแบบของผลิตภัณฑ์	25	65	5	5	
6.ด้านความรู้สึกพึงพอใจโดยรวม	20	75	5		

ตารางที่ 4.12 ผลการทดสอบความพึงพอใจของลิปสติกสูตรที่ 3

หัวข้อ	สูตรที่ 3 (สี 10 เปอร์เซ็นต์)				
	ชอบมากที่สุด (5)	ชอบมาก (4)	เฉยๆ (3)	ชอบน้อย (2)	ชอบน้อยที่สุด (1)
1.กลิ่นของผลิตภัณฑ์	20	40	25	15	
2.ความลื่นขณะทา	25	45	20	10	
3.ความมันขณะทา	5	50	45		
4.ความชุ่มชื้นหลังทา	5	55	30	10	
5.รูปแบบของผลิตภัณฑ์	25	45	20	5	5
6.ด้านความรู้สึกพึงพอใจโดยรวม	20	65	10	5	

จากตารางที่ 4.10 ผลการทดสอบความพึงพอใจของลิปสติกสูตรที่ 1 ผลการประเมินความพึงพอใจหลังจากการใช้ลิปสติก ด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์ พบว่าอาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 40 ด้านความลื่นขณะทา อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 50 ด้านความมันขณะทา อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 60 ด้านความชุ่มชื้นหลังทา อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับเฉยๆ คิดเป็นร้อยละ 45 ด้านรูปแบบของผลิตภัณฑ์ อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมากและชอบมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 40 ส่วนด้านความรู้สึกพึงพอใจโดยรวม อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.11 ผลการทดสอบความพึงพอใจของลิปสติกสูตรที่ 2 ผลการประเมินความพึงพอใจหลังจากการใช้ลิปสติก ด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์ พบว่าอาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 55 ด้านความลื่นขณะทา อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 55 ด้านความมันขณะทา อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 70 ด้านความชุ่มชื้นหลังทา อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับเฉยๆ และชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 40 ด้านรูปแบบของผลิตภัณฑ์ อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 65 ส่วนด้านความรู้สึกพึงพอใจโดยรวม อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 75

จากตารางที่ 4.12 ผลการทดสอบความพึงพอใจของลิปสติกสูตรที่ 3 ผลการประเมินความพึงพอใจหลังจากการใช้ลิปสติก ด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์ พบว่าอาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 40 ด้านความลื่นขณะทา อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 45 ด้านความมันขณะทา อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 50 ด้านความชุ่มชื้นหลังทา อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 55 ด้านรูปแบบของผลิตภัณฑ์ อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 45 ส่วนด้านความรู้สึกพึงพอใจโดยรวม อาสาสมัครมีความพึงพอใจในระดับชอบมาก คิดเป็นร้อยละ 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับใช้ในการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสการผลิตสารสี โดยลักษณะสัณฐานของการเจริญบนอาหารแข็ง MYS พบว่าเชื้อราสร้างเส้นใยสีขาวฟู และเมื่ออายุมากขึ้นสีของเส้นใยจะเปลี่ยนเป็นสีส้ม หรือสีแดงทั่วโคโลนี จากการทดลองพบว่าเชื้อราโมแนสคัสสามารถเจริญ และสร้างสีได้ทั้งอาหารเหลวและอาหารแข็ง เมื่อเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว SS medium ลักษณะการเจริญของเชื้อราบนอาหารเหลว SS มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีลักษณะเป็นก้อน (pellet) ลักษณะของข้าวหอมมะลิที่เตรียมเพื่อใช้เลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส มีลักษณะกึ่งแข็ง จากนั้นใช้กล้าเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเหลว SS medium มาใส่ในข้าว เชื้อราจะสร้างเส้นใยและสีขึ้นภายในเส้นใยโดยเห็นเป็นสีแดงเข้มเมื่อมองด้วยตาเปล่า และเชื้อราจะเริ่มเจริญแทรกอยู่ทั่วเมล็ดข้าวเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น

5.1.2 ศึกษาการเจริญและระยะเวลาในการสร้างรงควัตถุของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิเพื่อให้ทราบลักษณะการเจริญของเชื้อโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ และระยะเวลาที่เชื้อสร้างรงควัตถุได้สูงสุดพบว่าที่ระยะเวลาการเลี้ยงที่ 25 วัน ให้ปริมาณรงควัตถุสีเหลือง สีส้ม สีแดงสูงสุดทั้ง 3 สี และผลการวิเคราะห์แนวโน้มค่าพีเอชพบว่าจะลดลงเมื่อเชื้อมีอายุเพิ่มขึ้น ส่วนปริมาณรงควัตถุ เปอร์เซ็นต์ความชื้นจะเพิ่มขึ้นเมื่อเชื้ออายุมากขึ้น

5.1.3 ศึกษาวิธีการสกัดรงควัตถุที่เหมาะสมของเชื้อราโมแนสคัส เพื่อหาวิธีการสกัดรงควัตถุที่เหมาะสม และให้ปริมาณรงควัตถุสูงสุดเพื่อนำไปใช้เป็นสีในลิปสติก พบว่าสภาวะการสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้อุณหภูมิและเวลาที่ต่างกัน สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ให้ปริมาณปริมาณรงควัตถุสีเหลือง สีส้ม และสีแดงสูงสุดทั้ง 3 สี ซึ่งมีความแตกต่างกับสภาวะการสกัดที่อุณหภูมิและเวลาอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P<0.05$) จึงเลือกสภาวะการสกัดนี้ไปใช้ในการสกัดสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสสำหรับทำลิปสติก

5.1.4 ศึกษาขั้นตอนการผลิตลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัส เพื่อพัฒนาสูตรลิปสติกที่ใช้สีจากธรรมชาติ คือ สีจากเชื้อราโมแนสคัสจำนวน 3 สูตร

การทดสอบทางกายภาพของลิปสติก พบว่าผ่านมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.) ในคุณสมบัติทางกายภาพของลิปสติกคือ จุดหยด และจุดโค้งงอ ส่วนการวัดค่าสี L* a* b*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

C* Hue ของผลิตภัณฑ์ลิปสติกทั้ง 3 สูตร มีเฉดสีม่วงแดงทั้ง 3 สูตร แต่มีความเข้มของสีที่แตกต่างกันตามปริมาณของสีที่ใช้

การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังของลิปสติก โดยการทำ patch test เป็นระยะเวลา 12-24 ชั่วโมง กับกลุ่มอาสาสมัครเพศหญิง 20 คน ที่มีช่วงอายุระหว่าง 21-25 ปี พบว่าผลิตภัณฑ์ลิปสติกทั้ง 3 สูตร ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองในกลุ่มอาสาสมัครทั้ง 20 คน

การทดสอบความพึงพอใจของลิปสติกกับอาสาสมัครกลุ่มเดิมจำนวน 20 คน เพื่อหาผลิตภัณฑ์ลิปสติกที่อาสาสมัครพึงพอใจในด้านสีของผลิตภัณฑ์ และด้านอื่นๆ พบว่าอาสาสมัครจำนวน 9 คน จาก 20 คน คิดเป็น 45 เปอร์เซ็นต์ ชอบสีของลิปสติกสูตรที่ 2 มากที่สุด คือสูตรลิปสติกที่ใช้สีจากเชื้อราโมแนสคัสปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักลิปสติก รองลงมาคือสูตรที่ 3 และสูตรที่ 1 ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส ควรศึกษาปัจจัยอื่นๆ ที่หลายหลายมากขึ้น เพื่อให้ได้ปริมาณสารสีที่สูงขึ้น และประหยัดต้นทุน

2. การพัฒนาสีของผลิตภัณฑ์ลิปสติกที่ใช้สีจากเชื้อราโมแนสคัสให้มีสีที่หลากหลายมากขึ้น โดยนำสีจากเชื้อราโมแนสคัสที่ได้จากการสกัดข้างต้น มาทำการสกัดเพื่อแยกสีต่างๆ ออกมาเป็นเฉดสีที่หลากหลาย เพราะโมแนสคัสสามารถสร้างสีได้หลายสี ทั้งสีเหลือง สีส้ม สีแดง และสีม่วง ดังแสดงในผลการทดลอง เพื่อให้เป็นทางเลือกแก่ผู้บริโภคมากยิ่งขึ้น

3. การศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ลิปสติกที่ใช้สีจากเชื้อราโมแนสคัส เพื่อที่จะสามารถทำนายอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ในช่วงเวลาระหว่างเก็บรักษา เช่น ความคงตัวของสี เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กัญญุมา มุทุวงศ์. 2546.การผลิตรงควัตถุของเชื้อราโมแนสคัสโดยการหมักสภาพแห้ง. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

กรุณา โชติฤทธิไกร, จิราพร จันทรา และ สินิทธ์ วุฒิกรสมบัติกุล. 2546. การหมักเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ร่วมกับแบคทีเรียเซลลูโลสและการคงตัวของสีในผลิตภัณฑ์ที่ได้. วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

กรมวิทยาศาสตร์บริการ. 2518. การศึกษาการทดลองผลิตข้าวแดงระดับห้องปฏิบัติการ. รายงานกิจกรรม กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม.

ขนิษฐา ธนานุวงศ์. 2539. การศึกษาสมบัติทางกายภาพและเคมีของแป้งเมล็ดขนุน. เทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จินตนา ลิขิตโสตถิวงศ์. 2545. พฤติกรรมผู้บริโภคผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากในกรุงเทพมหานคร. ปริญญาบริหารธุรกิจมหาบัณฑิต สาขาบริหารธุรกิจ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ฉัตรสมร จิตรวิโรจน์. 2548. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ลิปกลอสที่มีส่วนผสมของไขรำข้าวและน้ำมันรำข้าว. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชุตินันท์ คงรัตนไพศาล. 2554. การผลิตสารสีจาก *Monascus purpurescens* NK1 ด้วยวิธีหมักในสภาพของแข็งโดยใช้เศษข้าวอบกรอบ. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ทศพร นามโส่ง. 2544. การใช้ข้าวแดงเพื่อปรับปรุงสีในไส้กรอกอิมัลชั่น. คณะเทคโนโลยีการอาหาร วิทยาเขตพระนครศรีอยุธยา หันตรา สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล, อยุธยา.

นิสา บุตรดา. 2537. การกลายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส กบ.11304 ให้กลายเป็นไม่สร้างสีและเปรียบเทียบสมบัติบางประการกับสายพันธุ์พ่อแม่ สายพันธุ์กลายพันธ์สีแดง และสีเหลือง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชา จุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

นฤมล เถื่อนกูล. 2548. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารสีแดงบนปลายข้าว *Monascus purpureus* TISTR 3090 เพื่อนำไปสู่การผลิตในระดับการค้า. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม, พิษณุโลก.

บุษบา ยงสมิทธิ์ และวรรณภา ทาบโลกา. 2528. สีผสมอาหารจากมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อรา โมแนสคัส. วิทยาสารเกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์, ปีที่ 19, ฉบับที่ 1, หน้า 45-50.

บุษบา ยงสมิทธ์ วิเชียร ยงมานิตชัย สนทนา แสงจันทร์ และชุลี ชัยศรีสุข. 2531. การผลิตสีผสมอาหารจากมันสำปะหลังเพื่ออุตสาหกรรมหมัก. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์เสนอต่อสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ หน้า 225.

บุษบา ยงสมิทธ์. 2540.หลักการพื้นฐานขบวนการหมักของจุลินทรีย์ จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ หน้า 79-116.

บุษบา ยงสมิทธ์. 2542.จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี. ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. 2532. เครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง. พิมพ์ครั้งที่1. ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชกรรม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

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

วรรณภา ทาบโลก. 2529. ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตสีของโมแนสคัสที่เจริญบนอาหารแป้งมันสำปะหลังในสภาพหมักเปียก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศราวุฒิ เศรษฐบุตร และ สุพัฒน์ ไพบูลย์สีสกุล. 2551. การผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* บนวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและนำสารสีที่ได้มาประยุกต์ใช้ในกุนเชียง. วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

ศศิธร ใบผ่อง. 2546. การผลิตรงควัตถุสีแดงและซิตรินินโดยเชื้อรา *Monascus purpureus* ในข้าวและอาหารเหลวสังเคราะห์. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

การอาหาร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2545. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง. มอก. 234-2541.

สุพัตรา ฤทธิ์หมี. 2554. พัฒนาตำรับลิปกลอสชนิดเหลวที่มีน้ำมันมะพร้าวเป็นองค์ประกอบ. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, เชียงราย.

สุภานันท์ รัตนพงศ์อำไพ. 2554. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ลิปสติกเหลวชนิดติดทน. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, เชียงราย.

สุถาวดี อินทร์เขียว. การใช้สารสีโมแนสคัส(อังคัก)ทดแทนไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกรมควันและกุนเชียง. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สมใจ ศิริโภค.2545. ไคเนติกส์ของการหมัก. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. บริษัทพิมพ์ดีจำกัด กรุงเทพฯ. หน้า 159-178.

สมชาย ไกรรักษ์. 2536. ศักยภาพของเชื้อราโมแนสคัสกลายพันธุ์ชนิดใหม่ ในการผลิตสีเหลืองธรรมชาติ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สิรินาถ ตัณเกษม. 2542. สมบัติของแป้งเมล็ดทุเรียนและการนำไปใช้ประโยชน์. สาขาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย.

อภิญญา ผลยังส่ง และ อัจฉราพรรณ สุธิราธิกุล. 2551. การผลิตสารสีผสมอาหารโดยเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งเมล็ดข้าวเสาไห้ในขวดหมุน. โครงงานพิเศษ. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อรัญญา มโนน้อยสร้อย. 2533. เครื่องสำอาง เล่มที่2. พิมพ์ครั้งที่1. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

Alexopoulos, C.J., Mims, C.M., Blackwell M. 1996. Introductory Mycology. Fourth Edition.John Willy & Sons Inc, United State of American.

AOAC.1995. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Association of

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

official Analytical Chemists. Gaithersburg, Md.

Babitha, S., Soccol, C.R. and Pandey, A. 2007. Solid-state fermentation for the production of *Monascus* pigments from jackfruit seed , Bioresource Technology. 98: 1554-1560.

Bernfield, P. 1995. Amylase alpha and beta. In: S.P. Colowick and N.O. Kaplan, Editors, Methods in enzymology vol.1, Academic Press, New York. 149-151.

Bobbio, F.O., El-Dash, A.A., Bobbio, P.A., L.R., Rodrigues. 1978. Isolation and characterization of the physicochemical properties of the starch of Jachfruit seeds (*Atrocarpus heterophyllus*), Cereal Chem. 55: 505-511.

Bridge, P.D. and Hawksworth, D.L. 1985. Biochemical tests as an aid to the identification of *Monascus* species. Letter in Applied Microbiology. 1: 862-865

Cannon, P.F., Abdullah, S.K., Abbas, B.A. 1995. Two new species of *Monascus* from Iraq, with a key to known species of the genus, Mycological Research, 99(6): 659-662.

Carames, M. 1978. Development of a lipstick base. Cosmet Toilet; 93(1): 15-26.

Carels, M. and Shepherd, D. 1977. The effect of different nitrogen sources on pigment production and sporulation of *Monascus* species in submerged shaken culture. Canad. J. Microbiol. 23: 1360-1372.

Carrizales, V., Rodrigues, H. 1981. Determination of specific growth rate of moulds in semi solid cultures, Bioeng.23:321-333.

Carvalho, J.C., Babitha, Soccol, C.R. 2003 production of *Monascus* biopigments: An Overview, Agro Food Industry Hi-trch. 14: 37-42.

Chen, M.H. and Johns, M.R., 1993. Effect of pH and Nitrogen Source on Pigment Production by *Monascus purpureus*. Applied and Microbiology Biotechnology. 11(40): 132-138.

Chen, M-H. and Johns, M.R., 1994. Effect of Carbon Source on Ethanol and Pigment Production by *Monascus purpureus*. Enzyme and Microbial Technology. 16(7): 584-590.

Endo, A., D. Komagata and H. Shimada. 1986. Monacolin M a new inhibitor of cholesterol biosynthesis. J. Antibiot. Tokyo, 39(12): 1679-1673.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Endo, A., K. Hasumi., T. Nakamura., M. Kunishima and M. Masuda. 1985. Dihydromonacolin L and monacolin X new metabolites that inhibit cholesterol biosynthesis. J. Antibiot. Tokyo, 38(3): 321- 327

Fabre, C.E., Santerre, A.L., Loret, M.O., Baberian, R., Pareilleux, A., Goma, G., Blanc, P.J. 1993. Production and food application of the red pigments of *Monascus ruber*. Journal of Food Science 58: 1099-1110.

Fa-Jui Tan, Fang-Yi Liao, Ya-Jing Jhan and Deng-Cheng Liu. 2007. Effect of replacing pork backfat with yams (*Dioscorea alata*) on quality characteristics of Chinese sausage, Journal of Food Engineering, 79: 858-863.

Fink-Gremmels, J., Dresel, J. and Leistner, L. 1991. Use of *Monascus* extracts as an alternatiove to nitrite in meat products. Fleischwrtsch. 71: 1187-1186

Fink-Gremmels, J. and L. Leistner. 1989. *Monascus* product. pp. 260-269. In G.A.F. and J.D. Houghton (eds.). Natural Food Colorants. Blackie and Son., New York, 280.

Goode, S.1977. Lip glosses. Cosmet Toilet; 92(7): 28-38.

Hai, Z. 1998. Production of Monascolin by *Monascus purpureus* on Rice Solid State Fermentation [Online], Available: http ://www.allow.com [2000, January 14].

Hajjaj, H., Klaébé, A., Loret, M.O., Tzédakis, T., Goma, G. and Blanc, P.1997. Production and Identification of N-Glucosylrubropunctamine and N-Glucosylmonascorubramine from *Monascus ruber* and Occurrence of Electron Donor-Acceptor Complexes in These Red Pigments. Applied and Environmental Microbiology.63(7): 2671-2678.

Han, O., Mudgett, R E. 1992. Effects of oxygen and carbondioxide partial pressure on *Monascus* growth and pigment production in solis-state fermentation. Biotechnology Progress 8: 5-10.

Hawksworth, D.L., Pitt, J.I. 1983. A new taxonomy for *Monascus* species based on cultural and microscopical characters. Australian Journal of Botany 31: 51-61.

Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, B.C., Pegler, D.N. 1995. Ainsworth and Bisby's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Dictionary of the fungi. 8th ed. Kew: CAB International, 290.

Hesseltine, C.W. 1965. A millienium of fungi, food and fermentation. Mycologai. 57: 179-181.

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

Johnson, R.1999. what's that stuff?. Available Source: http://pubs.ace.org/cen/ whatstuff/stuff/7728scit2.html.

Júzlová, P., Martinkova, L. and Kren, V. 1996. Secondary Metabolites of the Fungus *Monascus* : a Review. Journal of Industrial Microbiology . 16(1): 163-170.

Júzlová, P., Rezanka,T., Martínková, L. and Kren, V. 1996. Long-Chain Fatty acids from *Monascus purpureus*. Phytochemistry. 43(1): 151-153.

Kranz, C., Panitx,C. and Kunz, B. 1992. Biotransformation of the Fatty Acids in Mixtures to Methyl Ketone *by Monascus purpureus*. Applied Microbiology and Biotechnology. 36(6): 436-439.

Lee, Y.K., Chen, D.C., Chauvatcharin, S., Seki, T., Yoshida, T. 1995. Production of *Monascus* pigments by solid-state culture method. Journal of Fermetation. Bioeng. 79(5): 516-518.

Lin, C.F. 1973. Isolation and Cultural Condition of *Monascu sp.* for the Production of Pigment in a Submerged Culture. Journal of Fermentation and Technology. 51(6): 407-417.

Lin, C.F and Lizuka, H. 1982. Production of extracellular pigment by a mutant of *Monascus kaoliang* sp. Nov. Applied and Environmental Microbiology 43(3): 671-676.

Lin, K.W. and Chao, J.Y.2001. Quality characteristics of reduced-fat Chinese-style sausage as related to chitosan's molecular weight, Meat Science, 59: 343-351.

Lin, T.F. and Demain, A.L. 1991. Effect of Nutrition of *Monascus sp.* of Fermentation of Red Pigments. Applied and Microbiology Biotechnology. 36(1): 70-75.

Lin, T.F. and Demain, A.L. 1993.Resting Cell Studies on Formation of Water-Soluble R Pigments by *Monascus sp.* Journal of Industrial Microbiology. 12(6): 361-367.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Lin, Y.L., Wang, T.H., Lee, M.H., Su, N.W. 2008. Biologically active components and nutraceuticals in the *Monascus*-fermented rice : a review. Applied Microbiology and Biotechnology 77: 965-973.

Lizuka, H and Lin, C.F. 1981. On the genus *Monascus* of Asia and its specific characteristics. Advances Biochem 2: 555-561.

Lizaka, H. and S. Mineki. 1977. Studies on the genus *Monascus,* I. purification and properties of two forms of glucoamylase from *Monascus kaoliang* NOV. SP.Fl. J. Gen. Appl. Microbiol. 23: 217-230.

Lizaka, H. and S. Mineki. 1978. Studies on the genus *Monascus,* II. Substrate specificity of two glucoamylase obtained *Monascus kaoliang* F-1. J. Gen. Appl. Microbiol. 24: 185-192.

Lumyong, S. and Tomita , F. 1993.L-Malic Acid Production by an Albino Strain of *Monascus Araneosus*. World Journal of Microbiology and Biotechnology . 9(3): 385-384.

Lumyong, S., S. Takao amd F. Tomita. 1990. Organic acid production by *Monascus araneosus* AHU 9087. Microbiol. Utilization of Renewable Resources 7: 354-367.

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

Martínkova, L., Júzlová, P. and Veselý, D. 1995. Biological Activity of Polyketide Pigments Produced by the Fungus *Monascus*. Journal of Applied Bacteriology. 79(6): 609-616.

Moll, H.R. and Farr, D.R. Red pigment and process. US. Patent no. 3993789, November 1976.

Nishikawa, J and Lizuka H. 1993. Taxonomical studies of *Monascus* sp. Journal of Basic Microbiology 33: 331-342.

Nishikawa, J., Watanabe, Y., Kashimura, J., Aso, K. and Iizuka, H. 1988. Characterization of extracellular proteinases of the genus *Monascus* by their pH activity profile. J. Gen. Apple. Microbiol. 34: 467-473.

Rasheva, T., Kujumdzieva, A. and Hllet, N.J. 1997. Lipid Production by *Monascus purpureus* Albino Strain. Journal of Biotechnology. 56(3): 217-224.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Su, Y.C. and Huang, J.H. 1980 Fermentative production of anka-pigment (*Monascus* pigment). Proc. Natl. Sci. Counc. ROC. 4(2) 201:215.

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

Taylor and Francis. 2002. Final Report on the Safety Assessment of BHT. Internation Journal of Toxicology. 21(5)

Teng, S. and Feldheim, W., 2001, Anka and Anka Pigment Production, Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 26(5): 280-282.

Timotins, K. 1998. Production of *Monascus* Pigments using Soy-Soaking Water as Substrate [Online], Available: http ://www.allok.com [2000, January 14].

Tooley, P. 1971. Chemistry in Industry: Fats,Oils and Waxes. John Murray Albemarle Steet London, 182.

Tsai., M. S., T. H. Hseu and Y.S. Shen. 1978. Purification and characterization of an acid protease from *Monascus kaoliang*. Int. J. Pept. Protein Res. 12: 293-302.

Went, F.A.F.C. 1985. *Monascus purpureus* le champignon de l' ang quacune nouvelle thele bole. Annales Des Sciences Naturelles-Botaniqe, 8(1): 1-17.

Wong, C.H. and Bau, S.H., 1977. Pigmentation and Antibacterial Activity of Fast Neutron- and X-Ray-Induced Strains of *Monascus purpureus* Went. Plant Physiology. 60(4): 578-581.

Wong, H.C. and Bau, V.S. 1987. A comparison of conidial and ascospore Germination of *Monascus purpureus.* Transactions of the British Mycological Society, 70(2): 277-282.

Wong, H.C., Hu, C.N., Yeh, H.L., Su, W., Lu, H.C. and Lin, C.F.1986. Production Purification and Characterization of α- Galactosidase from *Monascus pilosus*. Applied and Environmenta Microbiology. 52(5): 1147-1152.

Wong, H.C. and Koehler, P.E. 1981. Production and Isolation of an antibiotic from

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Monascus purpureus. and its relationship to pigment production, J.Food Sci. 46: 589-592.

Wong, H.C. and Koehler, P.E. 1983. Production of water solble *Monascus* pigments Production. J. Food Sci. 48: 1200-1203.

Wong, I.K., Lin-Shiau, S.Y., Chen, P.C. and Lin, J.K. 2000. Hypertriglyceridemic effect of anka (a fermented rice product of *Monascus* spp.) in rat. J. Agric. Food Chem. 48: 3183-3189.

Wong-Leung, L., Fong, F.W. and Lam, L.W.1993. Production of α-Galactosidase by *Monascus* Grown on Soybean and Sugarcane Waste. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 9(5): 529-533.

Wang, S-L., Hsiao, W-J. and Chang, W-T. 2002. Purification and Characterization of an Antimicrobial Chitinase Extracellularly Produced by *Monascus purpureus* CCRC31499 in a Shrimp and Crab Shell Powder Medium. Journal of Agricultural and Food Chemistry.50(8): 2249-2255.

Yasuda, M., K. Ikehara, S. Tawata, N. Kobamoto and S. Toyama. 1995. Purification and properties of a ribonuclease from species of the genus *Monascus*. Biosci. Biotechnol. Bioc Hem. 59(2): 327-328.

Yongsmith, B., L. Chitradon, S. Krairak, W. Tabloka and R. Bavavodo. 1990. Cassava fermentation of yellow pigments and amylolytic enzymes of a mutant of *Monascus spp.* In submerge cultivation. Microbiol. Utilization of Renewable Resources 7: 354-363.

Available[online]: http://www.buzzle.com/articles/lipstick-colors-for-black-women.html

Available[online]: http://www.ist.cmu.ac.th/riseat/nl/2004/03/06.php

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์

1.1 ส่วนประกอบอาหารแข็ง MYS (Malt yeast extract sucrose agar)

1. เปปโตน	5.0 กรัมต่อลิตร
2. ยีสต์สกัด	3.0 กรัมต่อลิตร
3. มอลท์สกัด	3.0 กรัมต่อลิตร
4. แป้งมันสำปะหลัง	10.0 กรัมต่อลิตร
5. วุ้น	1.5 เปอร์เซ็นต์

วิธีการ ผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.2 ส่วนประกอบอาหารเหลว SS (Soy bean starch)

1. แป้งมันสำปะหลัง	30 กรัมต่อลิตร
2. แป้งถั่วเหลือง	40 กรัมต่อลิตร

วิธีการ ผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การหาน้ำหนักแห้ง (dry cell weight)

นำกระทงฟอล์ยอะลูมิเนียมอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) แล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอน นำตัวอย่างข้าวประมาณ 0.5 กรัม ใส่ในกระทงฟอล์ยอะลูมิเนียมที่อบไว้แล้ว นำเข้าตู้อบอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส อบจนได้น้ำหนักคงที่ใช้เวลาประมาณ 12-24 ชั่วโมง นำออกใส่โถดูดความชื้นประมาณ 30-60 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก นำไปอบซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่ นำค่าน้ำหนักกระทงฟอล์ยอะลูมิเนียมมาลบออกจะเป็นค่าน้ำหนักแห้ง

2. การวิเคราะห์ความชื้น (A.O.A.C, 1990)

นำกระทงฟอล์ยไปอบใน Oven ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนแห้ง และทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) นำไปชั่งน้ำหนักอบซ้ำวิธีการเดิมจนน้ำหนักของกระทงฟอล์ยคงที่ จากนั้นชั่งข้าวแดงปริมาณ 0.5 กรัม ใส่ในกระทงฟอล์ยที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนแห้ง นำออกจากตู้อบและปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักข้าวแดง อบซ้ำขั้นตอนเดิมจนได้น้ำหนักคงที่และคำนวณหาปริมาณความชื้น

$$\text{ปริมาณความชื้น(\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ})}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

3. การวิเคราะห์สารสี

สกัดสารสีที่ได้จากการหมักข้าวจากเชื้อราโมแนสคัสด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปิดปากฟลาสก์ให้สนิทแล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำสารสีที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของสารสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าดูดกลืนแสงของรงควัตถุสีเหลือง สีส้ม และสีแดง ตามลำดับ สามารถคำนวณได้ดังนี้

ตัวอย่างคำนวณหาสารสี

เก็บตัวอย่างข้าวประมาณ 0.5 กรัม สกัดสารสีเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ที่ค่าการเจือจาง 20 เท่า วัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 0.693 ABS ส่วนข้าวที่สกัดสีแล้วนำไปอบแห้งและชั่งน้ำหนักแห้งได้ 0.4749 กรัม สามารถนำมาคำนวณปริมาณสารสีได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณสี	20 × 0.693	= 13.86 unit/ml.
ปริมาณสารสีทั้งหมด	50 × 13.86 unit.ml/ml.	= 693.0 unit
น้ำหนักแห้ง 0.4749 กรัม		ได้สารสี 693.0 unit
ในข้าว 1 กรัมมีสารทั้งหมด		= 1459.2546 Unit/g-dry weight

4. การวิเคราะห์ค่าพีเอช

นำตัวอย่างข้าวแดงประมาณ 1-2 กรัม บดในโกร่งให้ละเอียด ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่อง Shaker ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1ชั่วโมง และนำไปวัดค่าพีเอช ทำการวัดค่าพีเอชตัวอย่างละ 2 ครั้งแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

5. การวิเคราะห์การยภาพของลิปสติกลิปสติกที่ใช้สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

5.1 การทดสอบ ค่าสี L* a* b*

เตรียมลิปสติกตัวอย่างโดยหั่นลิปสติกตามแนวขวางของแท่งให้มีขนาดเท่ากันประมาณ 0.5 เซนติเมตร แล้วนำไปวัดค่าสีโดยใช้เครื่อง Chroma meter ยี่ห้อ Minolta รุ่น CR-300

ทำการวัดค่า

L= lightness (0 = black, 100 = white)

a = redness / greenness (+ = red, - = green)

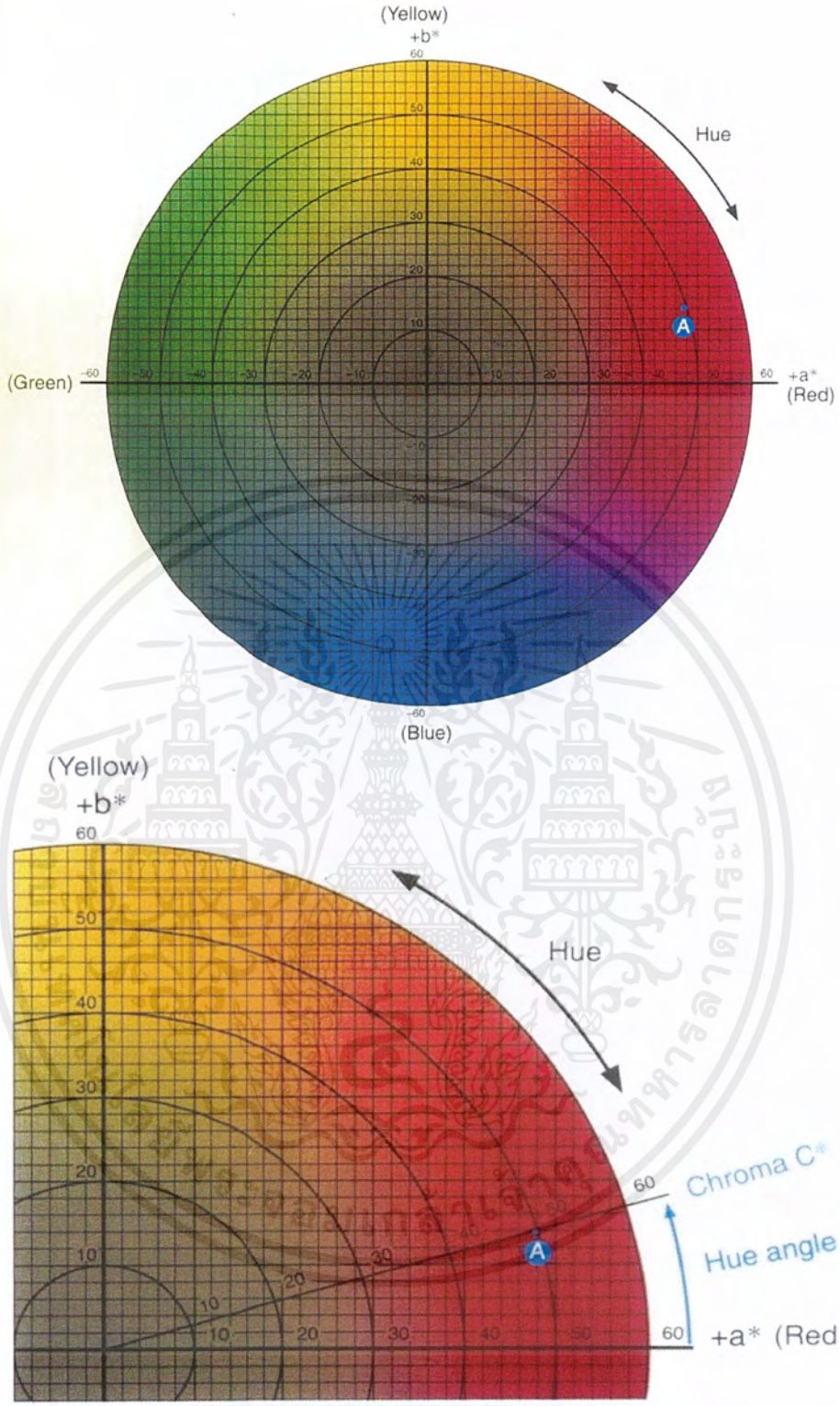
b = yellowness / blueness (+ = yellow, - = blue)

นำมาคำนวณค่า Hue (angle of rotation) ได้จากสูตร

$$(\text{Hue} = \tan^{-1} b/a)$$

H = 0 degree	red	H = 90 degree	yellow
H = 180 degree	green	H = 270 degree	blue

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค-1 a* b* chromaticity diagram

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 การทดสอบค่าความโค้งงอ (bending point) (เฉพาะลิปสติกแท่ง) (มอก. 234, 2541)

หมุนหรือดันลิปสติกตัวอย่างออกมาจากภาชนะบรรจุให้สุด แล้วนำไปวางในแนวนอนในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ± 1 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง โดยให้ส่วนของแท่งลิปสติกตัวอย่างขนานกับพื้นมากที่สุดเท่าที่จะเป็นได้ วัดระยะลิปสติกตัวอย่างที่โค้งงอลงมาจากระดับเดิมเป็นมิลลิเมตร แล้วหาค่าเฉลี่ย ทดสอบซ้ำกับลิปสติกตัวอย่างแท่งใหม่ เกณฑ์ที่กำหนดคือจะโค้งงอได้ไม่เกิน 5 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

5.3 การทดสอบค่าจุดหยด (dropping point) (เฉพาะลิปสติกแท่ง) (มอก. 234, 2541)

หลอมลิปสติกตัวอย่างในครูซิเบิล จุ่มกระเปาะเทอร์โมมิเตอร์ลงในลิปสติกตัวอย่าง แล้วนำออกมาทำให้เย็น นำเทอร์โมมิเตอร์ใส่ลงในหลอดทดลองให้กระเปาะเทอร์โมมิเตอร์อยู่เหนือก้นหลอดทดลอง ปิดจุกแล้วนำไปแช่อ่างน้ำร้อน บันทึกอุณหภูมิที่ตัวอย่างหลอมละลายหยดลงมา ทำซ้ำ 3ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย เกณฑ์ที่กำหนดคือ จุดหยดต้องไม่ต่ำกว่า 60 องศาเซลเซียส

5.4 ทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังของลิปสติก

ทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังโดยการทำ patch test บริเวณท้องแขนเป็นเวลา 12- 24 ชั่วโมง โดยให้อาสาสมัครอายุระหว่าง 21-60 ปี เพศหญิงจำนวน 20 คน ทดสอบโดยสังเกตการระคายเคืองหลังจากครบเวลา แล้วทำการตอบแบบสอบถาม ถ้าไม่เกิดการระคายเคือง (ไม่มีรอยบวมแดง) จึงสามารถใช้ลิปสติกทาที่ริมฝีปากได้

5.5 ทดสอบความพึงพอใจของลิปสติก

การทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครอายุระหว่าง 21-60 ปี เพศหญิงจำนวน 20 คน โดยเปรียบเทียบระหว่างลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัสทั้ง 3 สูตร ในหัวข้อต่อไปนี้ คือ สีของผลิตภัณฑ์ กลิ่นของผลิตภัณฑ์ ความลื่นขณะทา ความมันขณะทา ความชุ่มชื้นหลังทา รูปแบบของผลิตภัณฑ์ และด้านความรู้สึกพึงพอใจโดนรวม แล้วทำการตอบแบบสอบถาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบสอบถามความพึงพอใจของผู้ใช้ผลิตภัณฑ์ลิปสติกที่ใช้สารสีธรรมชาติที่สกัดจาก *Monascus purpureus*

คำชี้แจง วัตถุประสงค์ของแบบสอบถามนี้เพื่อศึกษาความพึงพอใจของผู้ใช้ผลิตภัณฑ์ลิปสติกที่ใช้สารสีธรรมชาติสกัดจาก *Monascus purpureus* ทั้งนี้ การวิเคราะห์ข้อมูลและวิเคราะห์ในภาพรวม ซึ่งจะไม่กระทบต่อท่าน ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม

1. ชื่อ .....นามสกุล.....
2. เบอร์โทรศัพท์.....
3. อายุ

☐ 21-25 ปี ☐ 26-30 ปี ☐ 31-35 ปี

☐ 36-40 ปี ☐ 41-45 ปี ☐ 46-50 ปี

☐ 51-55 ปี

4. อาชีพ

☐ ธุรกิจส่วนตัว ☐ แม่บ้าน

☐ รับราชการ ☐ นักเรียน/นักศึกษา

☐ พนักงานบริษัท ☐ อื่นๆ(ระบุ) .....

ส่วนที่ 2 การประเมินความพึงพอใจ

คำชี้แจง กรุณากรอกเครื่องหมาย (/) และกรอกตัวเลขคะแนนตามความรู้สึกชอบของท่านลงในตาราง

วิธีใช้ ใช้ทาบริเวณท้องแขน หรือ ริมฝีปาก

1. ความพึงพอใจด้านสีของลิปสติกที่ชอบมากที่สุด

☐ สูตรที่ 1 ☐ สูตรที่ 2 ☐ สูตรที่ 3

2. ความพึงพอใจของลิปสติกในด้านต่างๆ

คะแนนความชอบ

1 = น้อยที่สุด 2 = ชอบน้อย 3 = เฉยๆ

4 = ชอบมาก 5 = ชอบมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อ	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3
1.กลิ่นของผลิตภัณฑ์			
2.ความลื่นขณะทา			
3.ความมันหลังทา			
4.ความชุ่มชื้นหลังทา			
5.รูปแบบของผลิตภัณฑ์			
6.ด้านความรู้สึกพึงพอใจโดนรวม			

ส่วนที่ 3 **การทดสอบการระคายเคือง (Patch Test)**

จากการทดสอบการแพ้ (Irritation test) การใช้ผลิตภัณฑ์โดยใช้วิธีการ Patch test โดยให้อาสาสมัครทำความสะอาดบริเวณต้นแขน แล้วนำผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 สูตรมาทาบริเวณท้องแขน เป็นระยะเวลาประมาณ 12-24 ชั่วโมง

1. เกณฑ์การประเมินการแพ้สูตรที่ 1
   ☐ ไม่มีการระคายเคือง (ไม่มีรอยบวมแดง) ☐ ระคายเคือง (มีรอยบวมแดง)

2. เกณฑ์การประเมินการแพ้สูตรที่ 2
   ☐ ไม่มีการระคายเคือง (ไม่มีรอยบวมแดง) ☐ ระคายเคือง (มีรอยบวมแดง)

3. เกณฑ์การประเมินการแพ้สูตรที่ 3
   ☐ ไม่มีการระคายเคือง (ไม่มีรอยบวมแดง) ☐ ระคายเคือง (มีรอยบวมแดง)

ข้อคิดเห็นเพิ่มเติม

.....

.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ข้อมูลผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อมูลผลการทดลอง

ตารางที่ ค.1 แสดงปริมาณรงควัตถุสีเหลือง (OD 400 nm) ของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ 50 กรัม ในฟลาส์กขนาด 500 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการผสมคลุกเคล้าอาหารระหว่างการหมักทุกวัน เก็บผลทุกๆ 5 วัน เป็นเวลา 30 วัน และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ เพื่อวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

ระยะเวลา(วัน)	ปริมาณรงควัตถุสีเหลือง 400 นาโนเมตร (units/g dry weight)							
	ฟลาสก์ที่ 1	ฟลาสก์ที่ 2	ฟลาสก์ที่ 3	ฟลาสก์ที่ 4	ฟลาสก์ที่ 5	ฟลาสก์ที่ 6	ฟลาสก์ที่ 7	เฉลี่ย
5	274.4767	250.2498	244.9822	258.4646	293.8278	224.4036	248.6516	256.4366
10	2144.4910	2091.6852	1473.9354	1288.6786	2292.4388	1833.8214	2077.5277	1886.0826
15	4733.3530	5848.5026	4952.2569	3373.2679	5388.8566	4146.4104	5691.7688	4876.3452
20	5467.3351	5511.6959	4596.6229	4210.2804	6063.8298	4857.4144	5614.2035	5188.7688
25	5834.5921	7652.1412	7070.7831	6313.4328	7505.5351	6352.6752	6974.5575	6814.8167
30	6589.4176	7275.5611	6355.5195	4949.3927	7258.2645	7193.1260	6281.4785	6557.5371

ตารางที่ ค.2 แสดงปริมาณรงควัตถุสีส้ม (OD 470 nm) ของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ 50 กรัม ในฟลาส์กขนาด 500 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการผสมคลุกเคล้าอาหารระหว่างการหมักทุกวัน เก็บผลทุกๆ 5 วัน เป็นเวลา 30 วัน และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ เพื่อวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

ระยะเวลา(วัน)	ปริมาณรงควัตถุสีส้ม 470 นาโนเมตร (units/g dry weight)							
	ฟลาสก์ที่ 1	ฟลาสก์ที่ 2	ฟลาสก์ที่ 3	ฟลาสก์ที่ 4	ฟลาสก์ที่ 5	ฟลาสก์ที่ 6	ฟลาสก์ที่ 7	เฉลี่ย
5	261.0567	227.7722	226.2868	258.2132	269.9689	216.4513	217.0051	239.5363
10	2531.4525	2357.0898	1629.9559	1368.7659	2846.5530	2163.2504	2491.9614	2198.4327
15	5661.4614	7235.7604	6380.2083	4005.4850	6834.0104	5040.9836	6948.3363	6015.1779
20	6714.1009	7002.9240	5670.7317	4864.4860	7147.0019	5945.8175	6679.4626	6289.2178
25	5987.5378	8998.8730	8629.5181	7399.2537	9215.8672	7545.2148	8528.7611	8043.5751
30	7869.1550	8266.8329	7353.8961	5605.2632	8256.1983	8439.0344	7177.0918	7566.7817

ตารางที่ ค.3 แสดงปริมาณรงควัตถุสีแดง (OD 500 nm) ของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ 50 กรัม ในฟลาส์กขนาด 500 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการผสมคลุกเคล้าอาหารระหว่างการหมักทุกวัน เก็บผลทุกๆ 5 วัน เป็นเวลา 30 วัน และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ เพื่อวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

ระยะเวลา(วัน)	ปริมาณรงควัตถุสีแดง 500 นาโนเมตร (units/g dry weight)							
	ฟลาสก์ที่ 1	ฟลาสก์ที่ 2	ฟลาสก์ที่ 3	ฟลาสก์ที่ 4	ฟลาสก์ที่ 5	ฟลาสก์ที่ 6	ฟลาสก์ที่ 7	เฉลี่ย
5	282.8325	258.7413	256.1509	267.0131	309.1286	225.6461	252.9346	264.6353
10	2094.9295	2010.0223	1415.1982	1164.9072	2255.3744	1777.0864	2038.2279	1822.2494
15	4538.8922	5800.0587	4934.8958	3161.0855	5454.1497	4087.0548	5556.0420	4790.3113
20	5263.5834	5448.3431	4352.7205	3724.2991	5681.8182	4596.0076	5278.3109	4906.4404
25	5217.1450	7409.8422	6839.2319	5865.6716	7422.5092	6036.1718	6803.0973	6513.3813
30	6570.9598	7051.1222	6057.2240	4554.6559	7128.0992	6886.2520	6013.4037	6323.1024

ตารางที่ ค.4 ปริมาณรงควัตถุสีเหลือง (OD 400 nm) ของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน โดยนำข้าวแดงที่ได้ ไปผ่านการลดกิจกรรมของเชื้อราโดยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Auto clave ที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับการเจือจาง 20 (สกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส)

เวลาที่ใช้ในการสกัดข้าวแดง (นาที)	สีเหลือง ที่ความยาวคลื่น 400 nm												
	จำนวนซ้ำในการทดลอง			ค่า OD*เจือจาง			น้ำหนักแห้งข้าวแดงหลังสกัด (g)			ในข้าว 1 กรัม มีสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)			ค่าเฉลี่ยสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
5	0.323	0.312	0.315	6.4600	6.2400	6.3000	0.1372	0.1368	0.1384	2354.2274	2280.7018	2276.0116	2303.6469
30	0.332	0.330	0.327	6.6400	6.6000	6.5400	0.1291	0.1309	0.1312	2571.6499	2521.0084	2492.3780	2528.3454
60	0.434	0.422	0.423	8.6800	8.4400	8.4600	0.1234	0.1221	0.1230	3517.0178	3456.1835	3439.0244	3470.7419
90	0.408	0.417	0.412	8.1600	8.3400	8.2400	0.1204	0.1196	0.1209	3388.7043	3486.6221	3407.7750	3427.7005

ตารางที่ ค.5 ปริมาณรงควัตถุสีส้ม (OD 470 nm) ของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน โดยนำข้าวแดงที่ได้ ไปผ่านการลดกิจกรรมของเชื้อราโดยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Auto clave ที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับการเจือจาง 20 (สกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส)

เวลาที่ใช้ในการสกัดข้าวแดง (นาที)	สีส้ม ที่ความยาวคลื่น 470 nm												
	จำนวนซ้ำในการทดลอง			ค่า OD*เจือจาง			น้ำหนักแห้งข้าวแดงหลังสกัด (g)			ในข้าว 1 กรัม มีสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)			ค่าเฉลี่ยสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
5	0.227	0.219	0.221	4.5400	4.3800	4.4200	0.1372	0.1368	0.1384	1654.5190	1600.8772	1596.8208	1617.4057
30	0.236	0.230	0.234	4.7200	4.6000	4.6800	0.1291	0.1309	0.1312	1828.0403	1757.0665	1783.5366	1789.5478
60	0.318	0.308	0.322	6.3600	6.1600	6.4400	0.1234	0.1221	0.1230	2576.9854	2522.5225	2617.8862	2572.4647
90	0.285	0.280	0.299	5.7000	5.6000	5.9800	0.1204	0.1196	0.1209	2367.1096	2341.1371	2473.1183	2393.7883

ตารางที่ ค.6 ปริมาณรงควัตถุสีแดง (OD 500 nm) ของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน โดยนำข้าวแดงที่ได้ ไปผ่านการลดกิจกรรมของเชื้อราโดยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Auto clave ที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับการเจือจาง 20 (สกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส)

เวลาที่ใช้ในการสกัดข้าวแดง (นาที)	สีแดง ที่ความยาวคลื่น 500 nm												
	จำนวนซ้ำในการทดลอง			ค่า OD*เจือจาง			น้ำหนักแห้งข้าวแดงหลังสกัด (g)			ในข้าว 1 กรัม มีสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)			ค่าเฉลี่ยสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
5	0.265	0.258	0.260	5.3000	5.1600	5.2000	0.1372	0.1368	0.1384	1931.4869	1885.9649	1878.6127	1898.6882
30	0.284	0.281	0.292	5.6800	5.6200	5.8400	0.1291	0.1309	0.1312	2199.8451	2146.6769	2225.6098	2190.7106
60	0.375	0.364	0.368	7.5000	7.2800	7.3600	0.1234	0.1221	0.1230	3038.8979	2981.1630	2991.8699	3003.9769
90	0.348	0.365	0.351	6.9600	7.3000	7.0200	0.1204	0.1196	0.1209	2890.3654	3051.8395	2903.2258	2948.4769

ตารางที่ ค.7 ปริมาณรงควัตถุสีเหลือง (OD 400 nm) ของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน โดยนำข้าวแดงที่ได้ ไปผ่านการลดกิจกรรมของเชื้อราโดยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Auto clave 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับการเจือจาง 20 (สกัดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส)

เวลาที่ใช้ในการสกัดข้าวแดง (นาที)	สีเหลือง ที่ความยาวคลื่น 400 nm												
	จำนวนซ้ำในการทดลอง			ค่า OD*เจือจาง			น้ำหนักแห้งข้าวแดงหลังสกัด (g)			ในข้าว 1 กรัม มีสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)			ค่าเฉลี่ยสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
5	0.308	0.309	0.307	6.1600	6.1800	6.1400	0.1249	0.1245	0.1258	2465.9728	2481.9277	2440.3816	2462.7607
30	0.443	0.452	0.450	8.8600	9.0400	9.0000	0.1116	0.1137	0.1128	3969.5341	3975.3738	3989.3617	3978.0898
60	0.505	0.508	0.511	10.1000	10.1600	10.2200	0.1066	0.1094	0.1072	4737.3358	4643.5101	4766.7910	4715.8790
90	0.452	0.455	0.449	9.0400	9.1000	8.9800	0.1057	0.1074	0.1060	4276.2535	4236.4991	4235.8491	4249.5339

ตารางที่ ค.8 ปริมาณรงควัตถุสีส้ม (OD 470 nm) ของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน โดยนำข้าวแดงที่ได้ ไปผ่านการลดกิจกรรมของเชื้อราโดยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Auto clave 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับการเจือจาง 20 (สกัดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส)

เวลาที่ใช้ในการสกัดข้าวแดง (นาที)	สีส้ม ที่ความยาวคลื่น 470 nm												
	จำนวนซ้ำในการทดลอง			ค่า OD*เจือจาง			น้ำหนักแห้งข้าวแดงหลังสกัด (g)			ในข้าว 1 กรัม มีสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)			ค่าเฉลี่ยสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
5	0.262	0.270	0.263	5.2400	5.4000	5.2600	0.1249	0.1245	0.1258	2097.6781	2168.6747	2090.6200	2118.9910
30	0.326	0.335	0.329	6.5200	6.7000	6.5800	0.1116	0.1137	0.1128	2921.1470	2946.3500	2916.6667	2928.0546
60	0.363	0.377	0.360	7.2600	7.5400	7.2000	0.1066	0.1094	0.1072	3405.2533	3446.0695	3358.2090	3403.1772
90	0.323	0.328	0.319	6.4600	6.5600	6.3800	0.1057	0.1074	0.1060	3055.8184	3054.0037	3009.4340	3039.7520

ตารางที่ ค.9 ปริมาณรงควัตถุสีแดง (OD 500 nm) ของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน โดยนำข้าวแดงที่ได้ ไปผ่านการลดกิจกรรมของเชื้อราโดยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Auto clave 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับการเจือจาง 20 (สกัดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส)

เวลาที่ใช้ในการสกัดข้าวแดง (นาที)	สีแดง ที่ความยาวคลื่น 500 nm												
	จำนวนซ้ำในการทดลอง			ค่า OD*เจือจาง			น้ำหนักแห้งข้าวแดงหลังสกัด (g)			ในข้าว 1 กรัม มีสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)			ค่าเฉลี่ยสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
5	0.244	0.259	0.251	4.8800	5.1800	5.0200	0.1249	0.1245	0.1258	1953.5629	2080.3213	1995.2305	2009.7049
30	0.381	0.394	0.389	7.6200	7.8800	7.7800	0.1116	0.1137	0.1128	3413.9785	3465.2595	3448.5816	3442.6065
60	0.444	0.448	0.445	8.8800	8.9600	8.9000	0.1066	0.1094	0.1072	4165.1032	4095.0640	4151.1194	4137.0955
90	0.400	0.405	0.398	8.0000	8.1000	7.9600	0.1057	0.1074	0.1060	3784.2952	3770.9497	3754.7170	3769.9873

ตารางที่ ค.10 ปริมาณรงควัตถุสีเหลือง (OD 400 nm) ของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน โดยนำข้าวแดงที่ได้ ไปผ่านการลดกิจกรรมของเชื้อราโดยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Auto clave 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับการเจือจาง 20 (สกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส)

เวลาที่ใช้ในการสกัดข้าวแดง (นาที)	สีเหลือง ที่ความยาวคลื่น 400 nm												
	จำนวนซ้ำในการทดลอง			ค่า OD*เจือจาง			น้ำหนักแห้งข้าวแดงหลังสกัด (g)			ในข้าว 1 กรัม มีสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)			ค่าเฉลี่ยสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
5	0.382	0.385	0.378	7.6400	7.7000	7.5600	0.1191	0.1202	0.1198	3207.3887	3202.9950	3155.2588	3188.5475
30	0.472	0.468	0.461	9.4400	9.3600	9.2200	0.1081	0.1096	0.1060	4366.3275	4270.0730	4349.0566	4328.4857
60	0.530	0.526	0.534	10.6000	10.5200	10.6800	0.1070	0.1054	0.1059	4953.2710	4990.5123	5042.4929	4995.4254
90	0.508	0.511	0.504	10.1600	10.2200	10.0800	0.1120	0.1093	0.1105	4535.7143	4675.2059	4561.0860	4590.6687

ตารางที่ ค.11 ปริมาณรงควัตถุสีส้ม (OD 470 nm) ของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน โดยนำข้าวแดงที่ได้ ไปผ่านการลดกิจกรรมของเชื้อราโดยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Auto clave 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับการเจือจาง 20 (สกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส)

เวลาที่ใช้ในการสกัดข้าวแดง (นาที)	สีส้ม ที่ความยาวคลื่น 470 nm												
	จำนวนซ้ำในการทดลอง			ค่า OD*เจือจาง			น้ำหนักแห้งข้าวแดงหลังสกัด (g)			ในข้าว 1 กรัม มีสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)			ค่าเฉลี่ยสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
5	0.280	0.289	0.279	5.6000	5.7800	5.5800	0.1191	0.1202	0.1198	2350.9656	2404.3261	2328.8815	2361.3911
30	0.348	0.344	0.332	6.9600	6.8800	6.6400	0.1081	0.1096	0.1060	3219.2414	3138.6861	3132.0755	3163.3343
60	0.376	0.379	0.384	7.5200	7.5800	7.6800	0.1070	0.1054	0.1059	3514.0187	3595.8254	3626.0623	3578.6355
90	0.357	0.365	0.361	7.1400	7.3000	7.2200	0.1120	0.1093	0.1105	3187.5000	3339.4328	3266.9683	3264.6337

ตารางที่ ค.12 ปริมาณรงควัตถุสีแดง (OD 500 nm) ของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน โดยนำข้าวแดงที่ได้ ไปผ่านการลดกิจกรรมของเชื้อราโดยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Auto clave 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับการเจือจาง 20 (สกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส)

เวลาที่ใช้ในการสกัดข้าวแดง (นาที)	สีแดง ที่ความยาวคลื่น 500 nm												
	จำนวนซ้ำในการทดลอง			ค่า OD*เจือจาง			น้ำหนักแห้งข้าวแดงหลังสกัด (g)			ในข้าว 1 กรัม มีสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)			ค่าเฉลี่ยสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
5	0.330	0.338	0.335	6.6000	6.7600	6.7000	0.1191	0.1202	0.1198	2770.7809	2811.9800	2796.3272	2793.0294
30	0.429	0.427	0.413	8.5800	8.5400	8.2600	0.1081	0.1096	0.1060	3968.5476	3895.9854	3896.2264	3920.2532
60	0.474	0.480	0.483	9.4800	9.6000	9.6600	0.1070	0.1054	0.1059	4429.9065	4554.0797	4560.9065	4514.9643
90	0.469	0.464	0.459	9.3800	9.2800	9.1800	0.1120	0.1093	0.1105	4187.5000	4245.1967	4153.8462	4195.5143

ตารางที่ ค.13 ปริมาณรงควัตถุสีเหลือง (OD 400 nm) ของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน โดยนำข้าวแดงที่ได้ ไปผ่านการลดกิจกรรมของเชื้อราโดยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Auto clave 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับการเจือจาง 20 (สกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส)

เวลาที่ใช้ในการสกัดข้าวแดง (นาที)	สีเหลือง ที่ความยาวคลื่น 400 nm												
	จำนวนซ้ำในการทดลอง			ค่า OD*เจือจาง			น้ำหนักแห้งข้าวแดงหลังสกัด (g)			ในข้าว 1 กรัม มีสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)			ค่าเฉลี่ยสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
5	0.362	0.339	0.353	7.2400	6.7800	7.0600	0.1188	0.1190	0.1182	3047.1380	2848.7395	2986.4636	2960.7804
30	0.469	0.472	0.465	9.3800	9.4400	9.3000	0.1081	0.1091	0.1085	4338.5754	4326.3061	4285.7143	4316.8653
60	0.482	0.474	0.469	9.6400	9.4800	9.3800	0.1043	0.1038	0.1033	4621.2848	4566.4740	4540.1742	4575.9777
90	0.443	0.451	0.445	8.8600	9.0200	8.9000	0.1029	0.1034	0.1030	4305.1506	4361.7021	4320.3883	4329.0804

ตารางที่ ค.14 ปริมาณรงควัตถุสีส้ม (OD 470 nm) ของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน โดยนำข้าวแดงที่ได้ ไปผ่านการลดกิจกรรมของเชื้อราโดยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Auto clave 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับการเจือจาง 20 (สกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส)

เวลาที่ใช้ในการสกัดข้าวแดง (นาที)	สีส้ม ที่ความยาวคลื่น 470 nm												
	จำนวนซ้ำในการทดลอง			ค่า OD*เจือจาง			น้ำหนักแห้งข้าวแดงหลังสกัด (g)			ในข้าว 1 กรัม มีสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)			ค่าเฉลี่ยสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
5	0.266	0.245	0.253	5.3200	4.9000	5.0600	0.1188	0.1190	0.1182	2239.0572	2058.8235	2140.4399	2146.1069
30	0.328	0.346	0.314	6.5600	6.9200	6.2800	0.1081	0.1091	0.1085	3034.2276	3171.4024	2894.0092	3033.2131
60	0.330	0.319	0.323	6.6000	6.3800	6.4600	0.1043	0.1038	0.1033	3163.9501	3073.2177	3126.8151	3121.3277
90	0.310	0.314	0.304	6.2000	6.2800	6.0800	0.1029	0.1034	0.1030	3012.6336	3036.7505	2951.4563	3000.2801

ตารางที่ ค.15 ปริมาณรงควัตถุสีแดง (OD 500 nm) ของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญบนข้าวหอมมะลิ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน โดยนำข้าวแดงที่ ได้ ไปผ่านการลดกิจกรรมของเชื้อราโดยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Auto clave 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และสกัดรงควัตถุด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับการเจือจาง 20 (สกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส)

เวลาที่ใช้ในการสกัดข้าวแดง (นาที)	สีแดง ที่ความยาวคลื่น 500 nm												
	จำนวนซ้ำในการทดลอง			ค่า OD*เจือจาง			น้ำหนักแห้งข้าวแดงหลังสกัด (g)			ในข้าว 1 กรัม มีสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)			ค่าเฉลี่ยสารสีทั้งหมด (Units/g-dry weight)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
5	0.318	0.292	0.306	6.3600	5.8400	6.1200	0.1188	0.1190	0.1182	2676.7677	2453.7815	2588.8325	2573.1272
30	0.418	0.438	0.404	8.3600	8.7600	8.0800	0.1081	0.1091	0.1085	3866.7900	4014.6654	3723.5023	3868.3193
60	0.432	0.418	0.422	8.6400	8.3600	8.4400	0.1043	0.1038	0.1033	4141.8984	4026.9750	4085.1888	4084.6874
90	0.385	0.412	0.394	7.7000	8.2400	7.8800	0.1029	0.1034	0.1030	3741.4966	3984.5261	3825.2427	3850.4218

ภาคผนวก ง

ตารางวิเคราะห์ทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.1 ผลการศึกษาระยะเวลาการสร้างปริมาณรงควัตถุสีเหลือง (OD 400 nm) เป็นระยะเวลา 30 วัน โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 5 วัน

Descriptives

Pigment

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
.00	7	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
5.00	7	256.4366	22.30044	8.42878	235.8121	277.0611	224.40	293.83
10.00	7	1886.0826	374.23522	141.44762	1539.9727	2232.1924	1288.68	2292.44
15.00	7	4876.3452	884.20672	334.19873	4058.5903	5694.1000	3373.27	5848.50
20.00	7	5188.7689	651.47008	246.23255	4586.2595	5791.2782	4210.28	6063.83
25.00	7	6814.8167	670.20407	253.31333	6194.9813	7434.6521	5834.59	7652.14
30.00	7	6557.5371	828.12186	313.00064	5791.6522	7323.4221	4949.39	7275.56
Total	49	3654.2839	2764.85301	394.97900	2860.1254	4448.4424	.00	7652.14

ANOVA

Pigment

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	352041323.906	6	58673553.984	165.494	.000
Within Groups	14890460.419	42	354534.772		
Total	366931784.325	48			

Pigment

Duncan

Days	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
.00	7	.0000			
5.00	7	256.4366			
10.00	7		1886.0826		
15.00	7			4876.3452	
20.00	7			5188.7689	
30.00	7				6557.5371
25.00	7				6814.8167
Sig.		.425	1.000	.332	.423

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.2 ผลการศึกษาระยะเวลาการสร้างปริมาณรงควัตถุสีส้ม (OD 470 nm) เป็นระยะเวลา 30 วัน โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 5 วัน

Descriptives

Pigment

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
.00	7	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
5.00	7	239.5363	22.70320	8.58100	218.5394	260.5333	216.45	269.97
10.00	7	2198.4327	525.20535	198.50896	1712.6988	2684.1666	1368.77	2846.55
15.00	7	6015.1779	1174.54782	443.93735	4928.9024	7101.4535	4005.49	7235.76
20.00	7	6289.2178	827.47571	312.75642	5523.9304	7054.5052	4864.49	7147.00
25.00	7	8043.5751	1136.98431	429.73968	6992.0400	9095.1102	5987.54	9215.87
30.00	7	7566.7817	988.46300	373.60390	6652.6059	8480.9575	5605.26	8439.03
Total	49	4336.1031	3305.46147	472.20878	3386.6637	5285.5425	.00	9215.87

ANOVA

Pigment

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	496789063.321	6	82798177.220	125.712	.000
Within Groups	27662562.956	42	658632.451		
Total	524451626.277	48			

Pigment

Duncan

Days	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
.00	7	.0000			
5.00	7	239.5363			
10.00	7		2198.4327		
15.00	7			6015.1779	
20.00	7			6289.2178	
30.00	7				7566.7817
25.00	7				8043.5751
Sig.		.584	1.000	.531	.278

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.3 ผลการศึกษาระยะเวลาการสร้างปริมาณรงควัตถุสีแดง (OD 500 nm) เป็นระยะเวลา 30 วัน โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 5 วัน

Descriptives

Pigment

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
.00	7	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
5.00	7	264.6353	26.07756	9.85639	240.5176	288.7530	225.65	309.13
10.00	7	1822.2494	396.58673	149.89570	1455.4679	2189.0310	1164.91	2255.37
15.00	7	4790.3112	938.05449	354.55127	3922.7555	5657.8670	3161.09	5800.06
20.00	7	4906.4404	702.51220	265.52465	4256.7250	5556.1558	3724.30	5681.82
25.00	7	6513.3813	831.44001	314.25479	5744.4275	7282.3350	5217.15	7422.51
30.00	7	6323.1024	899.13023	339.83929	5491.5456	7154.6592	4554.66	7128.10
Total	49	3517.1600	2668.30551	381.18650	2750.7332	4283.5868	.00	7422.51

ANOVA

Pigment

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	323566055.018	6	53927675.836	124.538	.000
Within Groups	18186950.249	42	433022.625		
Total	341753005.266	48			

Pigment

Duncan

Days	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
.00	7	.0000			
5.00	7	264.6353			
10.00	7		1822.2494		
15.00	7			4790.3112	
20.00	7			4906.4404	
30.00	7				6323.1024
25.00	7				6513.3813
Sig.		.456	1.000	.743	.591

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.4 การสกัดรงควัตถุสีเหลือง (OD 400 nm) ด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 30, 40, 50 และ60 องศาเซลเซียส ในแต่ละอุณหภูมิ เวลาเดียวกัน คือ 5, 30, 60 และ 90 นาที

Between-Subjects Factors

		N
Tem.Time	30.05	3
	30.30	3
	30.60	3
	30.90	3
	40.05	3
	40.30	3
	40.60	3
	40.90	3
	50.05	3
	50.30	3
	50.60	3
	50.90	3
	60.05	3
	60.30	3
	60.60	3
	60.90	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Pigment

Tem.Time	Mean	Std. Deviation	N
30.05	2303.6469	43.86670	3
30.30	2528.3454	40.14203	3
30.60	3470.7419	40.98418	3
30.90	3427.7005	51.91090	3
40.05	2462.7607	20.95848	3
40.30	3978.0899	10.18902	3
40.60	4715.8790	64.38045	3
40.90	4249.5339	23.14213	3
50.05	3188.5475	28.91244	3
50.30	4328.4857	51.31865	3
50.60	4995.4254	44.81340	3
50.90	4590.6687	74.30229	3
60.05	2960.7804	101.66225	3
60.30	4316.8653	27.66624	3
60.60	4575.9777	41.38203	3
60.90	4329.0803	29.26058	3
Total	3776.4081	858.29649	48

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Pigment

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	34548021.683[a]	15	2303201.446	974.862	.000
Intercept	684540380.038	1	684540380.038	289741.196	.000
Tem.Time	34548021.683	15	2303201.446	974.862	.000
Error	75602.960	32	2362.593		
Total	719164004.681	48			
Corrected Total	34623624.644	47			

Grand Mean

Dependent Variable: Pigment

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
3776.408	7.016	3762.117	3790.699

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pigment

Duncan

Tem.Time	N	Subset									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
30.05	3	2303.6469									
40.05	3		2462.7607								
30.30	3		2528.3454								
60.05	3			2960.7804							
50.05	3				3188.5475						
30.90	3					3427.7005					
30.60	3					3470.7419					
40.30	3						3978.0899				
40.90	3							4249.5339			
60.30	3							4316.8653			
50.30	3							4328.4857			
60.90	3							4329.0803			
60.60	3								4575.9777		
50.90	3								4590.6687		
40.60	3									4715.8790	
50.60	3										4995.4254
Sig.		1.000	.108	1.000	1.000	.286	1.000	.075	.714	1.000	1.000

ตารางที่ ง.5 การสกัดรงควัตถุสีส้ม (OD 470 nm) ด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 30, 40, 50 และ60 องศาเซลเซียส ในแต่ละอุณหภูมิ เวลาเดียวกัน คือ 5, 30, 60 และ 90 นาที

Between-Subjects Factors

		N
Tem.Time	30.05	3
	30.30	3
	30.60	3
	30.90	3
	40.05	3
	40.30	3
	40.60	3
	40.90	3
	50.05	3
	50.30	3
	50.60	3
	50.90	3
	60.05	3
	60.30	3
	60.60	3
	60.90	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Pigment

Tem.Time	Mean	Std. Deviation	N
30.05	1617.4057	32.20502	3
30.30	1789.5478	35.86671	3
30.60	2572.4647	47.84231	3
30.90	2393.7883	69.91835	3
40.05	2118.9909	43.17189	3
40.30	2928.0546	16.00189	3
40.60	3403.1773	43.96703	3
40.90	3039.7520	26.27186	3
50.05	2361.3911	38.78775	3
50.30	3163.3343	48.52963	3
50.60	3578.6355	57.96605	3
50.90	3264.6337	75.99330	3
60.05	2146.1069	90.25039	3
60.30	3033.2131	138.69938	3
60.60	3121.3276	45.61443	3
60.90	3000.2801	43.96853	3
Total	2720.7565	578.78954	48

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Pigment

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	15627603.804[a]	15	1041840.254	284.290	.000
Intercept	355320757.676	1	355320757.676	96957.259	.000
Tem.Time	15627603.804	15	1041840.254	284.290	.000
Error	117270.892	32	3664.715		
Total	371065632.372	48			
Corrected Total	15744874.696	47			

Grand Mean

Dependent Variable: Pigment

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
2720.756	8.738	2702.958	2738.555

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pigment

Duncan

Tem.Time	N	Subset											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
30.05	3	1617.4057											
30.30	3		1789.5478										
40.05	3			2118.9909									
60.05	3			2146.1069									
50.05	3				2361.3911								
30.90	3				2393.7883								
30.60	3					2572.4647							
40.30	3						2928.0546						
60.90	3						3000.2801	3000.2801					
60.30	3						3033.2131	3033.2131	3033.2131				
40.90	3							3039.7520	3039.7520				
60.60	3								3121.3276	3121.3276			
50.30	3									3163.3343			
50.90	3										3264.6337		
40.60	3											3403.1773	
50.60	3												3578.6355
Sig.		1.000	1.000	.587	.517	1.000	.051	.458	.101	.402	1.000	1.000	1.000

ตารางที่ ง.6 การสกัดรงควัตถุสีแดง (OD 500 nm) ด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 30, 40, 50 และ60 องศาเซลเซียส ในแต่ละอุณหภูมิ เวลาเดียวกัน คือ 5, 30, 60 และ 90 นาที

Between-Subjects Factors

		N
Tem.Time	30.05	3
	30.30	3
	30.60	3
	30.90	3
	40.05	3
	40.30	3
	40.60	3
	40.90	3
	50.05	3
	50.30	3
	50.60	3
	50.90	3
	60.05	3
	60.30	3
	60.60	3
	60.90	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Pigment

Tem.Time	Mean	Std. Deviation	N
30.05	1898.6882	28.64143	3
30.30	2190.7106	40.25146	3
30.60	3003.9769	30.71262	3
30.90	2948.4769	89.74529	3
40.05	2009.7049	64.60692	3
40.30	3442.6065	26.15743	3
40.60	4137.0955	37.06581	3
40.90	3769.9873	14.81257	3
50.05	2793.0294	20.79659	3
50.30	3920.2531	41.82441	3
50.60	4514.9642	73.74120	3
50.90	4195.5143	46.19957	3
60.05	2573.1272	112.31965	3
60.30	3868.3192	145.58757	3
60.60	4084.6874	57.46334	3
60.90	3850.4218	123.45576	3
Total	3325.0977	828.17325	48

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Pigment

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	32075937.211[a]	15	2138395.814	427.688	.000
Intercept	530701193.613	1	530701193.613	106142.501	.000
Tem.Time	32075937.211	15	2138395.814	427.688	.000
Error	159996.590	32	4999.893		
Total	562937127.414	48			
Corrected Total	32235933.800	47			

Grand Mean

Dependent Variable: Pigment

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
3325.098	10.206	3304.309	3345.887

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pigment

Duncan

Tem.Time	N	Subset									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
30.05	3	1898.6882									
40.05	3	2009.7049									
30.30	3		2190.7106								
60.05	3			2573.1272							
50.05	3				2793.0294						
30.90	3					2948.4769					
30.60	3					3003.9769					
40.30	3						3442.6065				
40.90	3							3769.9873			
60.90	3							3850.4218	3850.4218		
60.30	3							3868.3192	3868.3192		
50.30	3								3920.2531		
60.60	3									4084.6874	
40.60	3									4137.0955	
50.90	3									4195.5143	
50.60	3										4514.9642
Sig.		.063	1.000	1.000	1.000	.344	1.000	.117	.263	.078	1.000