

การสกัดสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส (*Monascus purpureus*)

และกระเจียบแดง (*Hibiscus sabdariffa*) เพื่อประยุกต์ใช้ในการทำลิปสติก

EXTRACTION OF PIGMENTS FROM *Monascus purpureus*

AND *Hibiscus sabdariffa* FOR MAKING LIPSTICK



T133099

นางสาวกนิษฐา เสงฆ์เจริญ  
นางสาวณิชาภัทร สอนชา  
นางสาวมยุรา เกียรติสุระยานนท์

เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน 133099  
วัน,เดือน,ปี 18 ก.ย. 2557

b. 1863169x  
i.....

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2556

**EXTRACTION OF PIGMENTS FROM *Monascus purpureus*  
AND *Hibiscus sabdariffa* FOR MAKING LIPSTICK**



**KANITTHA HENGPHUCHAROEN  
NICHAPAT SORNCHA  
MAYURA KIATSURAYANON**

**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE  
IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY  
FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

หัวข้อโครงการพิเศษ การสกัดสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส (*Monascus purpureus*) และ  
กระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa*) เพื่อประยุกต์ใช้ในการทำลิปสติก  
Extraction of pigments from *Monascus purpureus* and  
*Hibiscus sabdariffa* for making lipstick

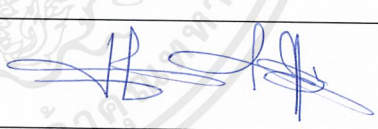
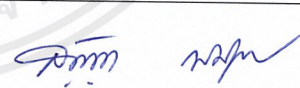
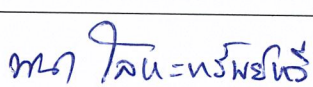
ชื่อนักศึกษา นางสาวกนิษฐา เฮงภูเจริญ รหัสนักศึกษา 53051319  
นางสาวณิชาภัทร สอนชา รหัสนักศึกษา 53051364  
นางสาวมยุรา เกียรติสุระยานนท์ รหัสนักศึกษา 53051425

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้  
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชา  
จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2556

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

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**หัวข้อโครงการพิเศษ** การสกัดสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส (*Monascus purpureus*) และ  
กระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa*) เพื่อประยุกต์ใช้ในการทำลิปสติก  
Extraction of pigments from *Monascus purpureus* and  
*Hibiscus sabdariffa* for making lipstick

<b>ชื่อนักศึกษา</b>	นางสาวกนิษฐา	เฮงภูเจริญ	รหัสนักศึกษา 53051319
	นางสาวณิชาภัทร	สอนชา	รหัสนักศึกษา 53051364
	นางสาวมยุรา	เกียรติสุระยานนท์	รหัสนักศึกษา 53051425
<b>ปริญญา</b>	วิทยาศาสตรบัณฑิต		
<b>สาขาวิชา</b>	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม		
<b>อาจารย์ที่ปรึกษา</b>	ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี		

### บทคัดย่อ

สารสกัดสีแดงจากเชื้อรา *Monascus purpureus* ผลิตโดยวิธีการหมักบนอาหารแข็ง ซึ่งใช้  
ข้าว(ข้าวหอมมะลิ) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากการหมักเป็นระยะเวลา 25 วัน แล้วทำการสกัดสาร  
สีโดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที  
หลังจากการทำสารสีให้เข้มข้นขึ้น นำไปผ่านการทำโครมาโตกราฟีทั้งแบบคอลัมน์ และแบบแผ่น  
บาง เพื่อวิเคราะห์หาชนิดของสี จากการทดลองพบว่า ไม่พบชนิดสีในสารสกัดสี

สารสกัดสีแดงจากกระเจี๊ยบ ผลิตโดยการต้มด้วยน้ำกลั่น เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปทำให้  
แห้งด้วยเครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและสุญญากาศ จากนั้นนำสารสกัดสีจากเชื้อราโมแนสคัส  
และกระเจี๊ยบแดงมาใช้เป็นส่วนผสมในสูตรลิปสติก โดยมีส่วนประกอบอื่นๆที่ใช้สำหรับทำ  
ลิปสติก ได้แก่ ขี้ผึ้ง, ไขมันโกโก้, น้ำมันละหุ่ง, น้ำมันมะพร้าว และส่วนผสมอื่นๆจากธรรมชาติ  
พบว่าต้องทาลิปสติกซ้ำมากกว่าหนึ่งครั้ง จึงจะเห็นสีชัดเจน ดังนั้นจึงเพิ่มส่วนผสมอาหารลงไป 0.05  
เปอร์เซ็นต์ ทำให้ลิปสติกมีการติดสีดีขึ้น

**คำสำคัญ** : กระเจี๊ยบ โครมาโตกราฟี เชื้อราโมแนสคัส ชนิดสี ลิปสติก

<b>Title</b>	Extraction of pigments from <i>Monascus purpureus</i> and <i>Hibiscus sabdariffa</i> for making lipstick		
<b>Students</b>	Kanittha	Hengphucharoen	ID 53051319
	Nichapat	Sorncha	ID 53051364
	Mayura	Kiatsurayanon	ID 53051425
<b>Degree</b>	Bachelor of Science		
<b>Major Program</b>	Industrial microbiology		
<b>Academic Year</b>	2013		
<b>Advisor</b>	Asst. Prof. Dr. Pana Lohasupthawee		

### 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 minutes. After concentration of the crude pigment, it was analysed for citrinin by using column chromatography and thin layer chromatography. The result showed that there was no citrinin in the crude pigment.

Red pigment was extracted from *Hibiscus sabdariffa* by boiling in distilled water for 20 minutes and concentrated the crude pigment by freeze dryer. The crude pigment from *Monascus purpureus* and *Hibiscus sabdariffa* were used in the lipstick formulation. The other ingredients used for making lipstick were beeswax, cocoa butter, castor oil, coconut oil and other natural ingredients. The result showed that the lipstick had to be applied more than once to really see the colour effect. Food colorants were mixed in the lipstick formulation at 0.05% in order to gain more colour effect.

**Keywords :** Chromatography, Citrinin, *Hibiscus sabdariffa*, Lipstick, *Monascus purpureus*

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้จะไม่สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี หากไม่ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี อาจารย์ผู้ควบคุมโครงการพิเศษที่ได้ให้ความช่วยเหลือ ชี้แนะ และแนะนำแนวทาง จนทำให้โครงการพิเศษนี้เสร็จสมบูรณ์ไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ ซึ่งเป็นคณะกรรมการในการสอบโครงการพิเศษที่ได้ให้ความรู้ และคำแนะนำในส่วนของการวิเคราะห์กรณีศึกษาในเชิงรามานีสถิต ทำให้โครงการพิเศษมีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พุกภัย ซึ่งเป็นคณะกรรมการในการสอบโครงการพิเศษ ที่ได้กรุณาสละเวลา มาชี้แนะแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ลิปสติกให้ดียิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คุณปราณี บุญวัฒน์ นักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเคมีประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในด้านสารเคมีและอุปกรณ์ต่างๆ

ขอขอบพระคุณ นางสาวกรिता ทองสุขนอก นักศึกษาปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและคำปรึกษาเป็นอย่างดี

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วม ทำให้โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงการเล่มนี้จะมีประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจไม่มากก็น้อย

กนิษฐา เสงฆ์เจริญ

ณิชภัทร สอนชา

มยุรา เกียรติสุระยานนท์

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VIII
สารบัญรูป	IX
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	5
2.1 เชื้อราโมแนสคัส	5
2.2.1 ลักษณะรูปร่างของเชื้อราโมแนสคัส	5
2.1.2 สายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส	7
2.1.3 สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส	8
2.1.4 การใช้ประโยชน์จากสีของเชื้อราโมแนสคัส	11
2.1.5 ซิตรีนินในเชื้อราโมแนสคัส	12
2.2 สารสีจากพืช	15
2.2.1 กระเจี๊ยบแดง	15
2.2.2 บีทรูท	17
2.3 ลิปสติก	20
2.3.1 ประวัติและความเป็นมา	20
2.3.2 ชนิดของลิปสติก	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและข้อมูลอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.3.3 คุณสมบัติที่ดีของลิปสติก	22
2.3.4 ส่วนประกอบของลิปสติก	22
2.3.4.1 สี	22
2.3.4.2 เนื้อลิปสติก	23
2.3.4.2.1 น้ำมันเหลว	23
2.3.4.2.2 ไขมัน	24
2.3.4.2.3 ไบแซ็ง	25
2.3.4.3 สารแต่งกลิ่นและรส	28
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย</b>	29
3.1 เชื้อจุลินทรีย์	29
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	29
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี	30
3.4 วิธีการทดลอง	32
3.4.1 การเก็บรักษาเชื้อราโมแนสคัส	32
3.4.1.1 การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส ในอาหารเหลว	32
3.4.2 ศึกษาการเจริญและระยะเวลาในการสร้างรงควัตถุของเชื้อราโมแนสคัส บนข้าวหอมมะลิ	32
3.4.2.1 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสเพื่อผลิตสารสีบน อาหารแข็ง ข้าวหอมมะลิ	32
3.4.3 ศึกษาวิธีการสกัดรงควัตถุของเชื้อราโมแนสคัส	33
3.4.3.1 การสกัดสารสีเพื่อเตรียมสำหรับการใช้วิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิค โครมาโตกราฟี	33
3.4.3.2 การวิเคราะห์ค่าสีโดยระบบ Hunter lab ด้วยเครื่อง Chroma Meter	33
3.4.4 การวิเคราะห์สารสีโดยเทคนิคโครมาโตกราฟี	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4.4.1 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี	34
3.4.4.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของสีด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี	34
3.4.4.3 การวิเคราะห์ซิติรีนินที่เป็นองค์ประกอบในสารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสโดยดัดแปลงจากวิธีของ Bao-jun Xu และคณะ, 2004	35
3.4.5 ศึกษาวิธีการสกัดรงควัตถุที่เหมาะสมของกระเจี๊ยบและบิทูท	36
3.4.5.1 ศึกษาเปรียบเทียบสภาวะการสกัดรงควัตถุระหว่างเอทานอลและน้ำกลั่นที่เวลาเท่ากัน	36
3.4.5.2 การสกัดสีจากกระเจี๊ยบแห้งและบิทูทสดด้วยวิธีการต้ม	36
3.4.6 การสกัดสารสีเพื่อนำไปใช้ในการทำลิปสติกจากกระเจี๊ยบและบิทูทด้วยวิธี Freeze dry	36
3.4.7 การทำลิปสติกที่มีส่วนผสมจากเชื้อราโมแนสคัสและกระเจี๊ยบ	37
3.4.8 การทำลิปสติกเหลวที่มีส่วนผสมของสีจากบิทูท	39
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล</b>	42
4.1 ศึกษาวิธีการสกัดสารสีจากเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i>	42
4.1.1 ผลจากการสกัดสารสีจากเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i>	42
4.1.2 การวิเคราะห์รงควัตถุของสีด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี	43
4.1.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบของสีด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี	44
4.1.4 การวิเคราะห์ซิติรีนินที่เป็นองค์ประกอบในสารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสโดยดัดแปลงจากวิธีของ Bao-jun Xu และคณะ, 2004	46
4.2 ศึกษาวิธีการสกัดรงควัตถุที่เหมาะสมของกระเจี๊ยบและบิทูท	48
4.3 การทำลิปสติกที่มีส่วนผสมจากเชื้อราโมแนสคัสและกระเจี๊ยบ	50
4.3.1 เนื้อสัมผัสของลิปสติก	50
4.3.2 ความปลอดภัยของลิปสติก	51
4.3.3 สีของลิปสติก	51

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.4 การทำลิปสติกเหลวที่มีส่วนผสมจากบิทูท	53
<b>บทที่ 5</b> สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	54
5.1 สรุปผลการวิจัย	54
5.1.1 ศึกษาการสกัดสารสี เพื่อเตรียมสำหรับการใช้วิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี	54
5.1.2 ศึกษาเปรียบเทียบสภาวะการสกัดรงควัตถุระหว่างเอทานอล และน้ำกลั่นที่เวลาเท่ากัน	54
5.1.3 การสกัดรงควัตถุเพื่อนำไปใช้ในการทำลิปสติกจากกระเจี๊ยบ และบิทูทด้วยวิธี Freeze dry	54
5.1.4 ศึกษาขั้นตอนการผลิตลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อรา โมแนสคัส และกระเจี๊ยบเพื่อพัฒนาสูตรลิปสติกที่ใช้สีจากธรรมชาติ	54
5.1.5 ศึกษาขั้นตอนการผลิตลิปสติกเหลวที่มีส่วนผสมสีจากบิทูท เพื่อพัฒนาสูตรลิปสติกเหลวที่ใช้สีจากธรรมชาติ	55
5.2 ปัญหาที่พบ	55
เอกสารอ้างอิง	56
ภาคผนวก	61
ภาคผนวก ก	62
ภาคผนวก ข	64

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 สายพันธุ์ต่างๆ ของเชื้อราโมแนสคัส	7
ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของสูตรลิปสติก (Lipstick)	38
ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบสูตรลิปสติกเหลว	39
ตารางที่ 4.1 แสดงผลการวัดค่าสีที่สกัดได้จากเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> ด้วยเครื่องวัดค่าสี Chroma meter ในระบบ Hunter Lab	42
ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสีที่สกัดได้จากเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> (Optical density, O.D) โดยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400 470 และ 500 นาโนเมตร	43
ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง (Optical density , O.D) โดยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตรของบิทรูทและกระเจี๊ยบ จากการสกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95 % เป็นเวลา 20 นาที	48
ตารางที่ 4.4 ตารางแสดงน้ำหนักเปรียบเทียบปริมาณผงสีที่ได้จากกระเจี๊ยบและบิทรูท โดยใช้เครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและสุญญากาศ (Freeze dry)	49

# สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 การเจริญของเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนอาหารแข็ง MYS	5
รูปที่ 2.2 วงจรชีวิตของ <i>Monascus</i> spp.	6
รูปที่ 2.3 โครงสร้างของสารสีจาก <i>Monascus</i>	8
รูปที่ 2.4 กลไกการสังเคราะห์ซีทรินินและสารสีแดงของ <i>M. ruber</i>	13
รูปที่ 2.5 โครงสร้างของซีทรินิน	14
รูปที่ 2.6 ลักษณะของดอกกระเจียบแดง	15
รูปที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานิน	17
รูปที่ 2.8 ลักษณะของบีทรูท	18
รูปที่ 2.9 โครงสร้างทางเคมีของบีตาเลน	19
รูปที่ 2.10 โครงสร้างทางเคมีของบีตาไซยานินและบีตาแซนทิน	19
รูปที่ 2.11 โครงสร้างทางเคมีของบีตานิติน	20
รูปที่ 3.1 ส่วนผสมที่ใช้ในการทำลิปสติก และลิปสติกเหลว	40
รูปที่ 3.2 ส่วนผสมที่ใช้ในการทำลิปสติก และลิปสติกเหลว	41
รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะสารสี (Crude pigment) ที่สกัดได้จากเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i>	42
รูปที่ 4.2 สารสกัดรงควัตถุที่ผ่านการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี	44
รูปที่ 4.3 สารสกัดรงควัตถุที่ผ่านการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีจุดบนแผ่น TLC Silica gel สังเกตด้วยตาเปล่าภายใต้แสงธรรมชาติ	45
รูปที่ 4.4 สารสกัดรงควัตถุที่ผ่านการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีจุดบนแผ่น TLC Silica gel ที่ส่องดูภายใต้ Uv light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร	45
รูปที่ 4.5 สารสกัดรงควัตถุที่ผ่านการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีครั้งที่ 2 โดยใช้คลอโรฟอร์มต่ออะซิโตน(9:1) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ทั้งหมด 12 fraction จุดเทียบกับสารละลายซีทรินิน บนแผ่น TLC Silica gel ส่องดูภายใต้ Uv light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร	46

## สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.6 สารละลายซิทรีนินจุดเทียบกับ fraction 3 (กลอโรฟอร์มต่ออะซิโตน อัตราส่วน 9:1) บนแผ่น TLC Silica gel ที่ส่องดูภายใต้ Uv light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร	47
รูปที่ 4.7 สารละลาย ซิทรีนิน จุดเทียบกับ fraction 3 (กลอโรฟอร์มต่ออะซิโตน อัตราส่วน 9:1) บนแผ่น TLC Silica gel ที่ส่องดูภายใต้ Uv light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร หลังจากยืนยันผลการวิเคราะห์ซิทรีนิน โดยการพ่นสารละลาย อลูมิเนียมคลอไรด์	47
รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะของผงสีจากกระเจี๊ยบ โดยใช้เครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและ สุญญากาศ	49
รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะของผงสีจากบีทรูทโดยใช้เครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและ สุญญากาศ	49
รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะของลิปสติกที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสและลิปสติกที่ได้จาก กระเจี๊ยบ	50
รูปที่ 4.11 แสดงลักษณะของลิปสติกที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสผสมกับสีผสมอาหาร (สีส้มแดง) 0.05 % และลิปสติกที่ได้จากกระเจี๊ยบผสมกับสีผสม อาหาร(สีแดงคิงคอลล) 0.05 %	52
รูปที่ 4.12 แสดงการติดสีของลิปสติกเมื่อทดสอบทาลงบนผิวหนัง	52
รูปที่ 4.13 แสดงลักษณะลิปสติกเหลวที่มีส่วนผสมจากผงสีบีทรูทที่เติมสีผสมอาหาร สีส้มแดง 0.05 % และลิปสติกเหลวที่มีส่วนผสมจากผงสีบีทรูทที่มีสีเปลี่ยนไป หลังเก็บไว้เป็น เวลา 3 วัน ที่ไม่ได้เติมสีผสมอาหาร	53
รูปที่ 4.14 แสดงการติดสีของลิปสติกเหลวเมื่อทดสอบทาลงบนผิวหนัง	53

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ลิปสติก คือ เครื่องสำอางที่ใช้แต่งริมฝีปากมักมีสีแดงหรือชมพู ทำให้ริมฝีปากสวยงามและปกปิดความบกพร่องของริมฝีปาก (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, 2549) ลิปสติกแต่ละประเภทมีวัตถุประสงค์ในการใช้งานที่แตกต่างกัน โดยแบ่งออกเป็น 2 ประเภท โดยประเภทแรกคือ ลิปกลอส (Lip gloss) เป็นลิปสติกไม่มีสี หรือสีอ่อนมากใช้ป้องกันริมฝีปากแห้งแตก เพื่อให้เกิดความมันวาว นุ่มเนียน และประเภทที่สองคือ ลิปสติกแต่งริมฝีปาก โดยแบ่งออกเป็น ลิปสติกชนิดสติติดทน ลิปสติกโปร่งใส ลิปสติกเหลว และลิปสติกครีม ส่วนประกอบหลักของลิปสติกรูปแบบแท่ง คือ น้ำมัน(oil) ไขมัน(fat) ไขแข็ง(wax) และมีส่วนประกอบอื่นๆอีกหลายชนิด เช่น สี สารต้านจุลินทรีย์ ซึ่งส่วนประกอบเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นสารที่ไม่สลายตัวทางธรรมชาติ หรือสารจากธรรมชาติที่มีความคงตัวต่ำ ปัจจุบันผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติกำลังเป็นที่นิยมทั้งในและต่างประเทศ เนื่องจากผู้บริโภคเริ่มตระหนักได้ว่า สารที่ไม่สลายตัวทางธรรมชาติอาจก่อให้เกิดอันตรายในระยะยาวได้ สำหรับในประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศเกษตรกรรมมีพืชพรรณต่างๆ มากมาย โดยเป็นแหล่งของน้ำมัน และสีจากธรรมชาติ สามารถนำมาเตรียมเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ลิปสติกได้ (จิตราวดี และสุเชาวน์, 2542)

สี เป็นปัจจัยสำคัญสำหรับกระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรม สีทำให้เกิดความดึงดูดใจในผลิตภัณฑ์ต่างๆ สร้างความพึงพอใจให้แก่ผู้บริโภค พร้อมทั้งยังแสดงลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์นั้นๆ โดยสีที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิตอาจได้จากธรรมชาติ จุลินทรีย์ หรือการสังเคราะห์ ซึ่งการใช้สีสังเคราะห์นั้น ถึงแม้ว่าจะมีความสะดวกในการผลิต แต่อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ และอาจเป็นต้นเหตุของการเกิดมะเร็ง หรือการกลายพันธุ์ได้ ดังนั้นจึงมีการกำหนดให้ลดการใช้สีสังเคราะห์ เมื่อมีการกำหนดให้ลดการใช้สีสังเคราะห์ ประกอบกับปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสนใจในการดูแลสุขภาพมากขึ้น มีการศึกษาข้อมูลทางด้านโภชนาการของผลิตภัณฑ์มากขึ้น ผู้บริโภคจึงหันมามุ่งเน้นเลือกผลิตภัณฑ์ที่มาจากธรรมชาติ ทำให้สีที่ได้จากธรรมชาติ และจุลินทรีย์ได้รับความสนใจมากขึ้น โดยสีที่ได้จากธรรมชาตินอกจากหาได้ง่าย

ใช้ต้นทุนในการผลิตต่ำกว่าการใช้สีสังเคราะห์แล้ว ยังไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายอีกด้วย ในปัจจุบันเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีที่ได้จากจุลินทรีย์มีความน่าสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากจุลินทรีย์มีขนาดเล็ก จึงประหยัดพื้นที่ในการเพาะเลี้ยง และเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลายอีกด้วย

เชื้อราโมแนสคัส เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างรงควัตถุหลายระดับ ตั้งแต่สีเหลืองถึงสีแดง มีมานานเป็นเวลาหลายร้อยปี ในแถบประเทศตะวันตกมักใช้ในเรื่องอาหาร และยาพื้นบ้าน ส่วนในแถบประเทศตะวันออก เช่น ประเทศจีน มักรู้จักกันในรูปข้าวแดง หรืออังกัก เป็นผลิตภัณฑ์สารสีที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหนึ่ง และแพร่หลายไปยังประเทศใกล้เคียง เช่น ประเทศญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ ไทย และอินโดนีเซีย เป็นต้น (บุษบา, 2542) เชื้อราสายพันธุ์ที่นิยมใช้ผลิตรงควัตถุ คือ *Monascus purpureus* ในการเพาะเลี้ยงเชื้อราชนิดนี้ เพื่อผลิตรงควัตถุนั้นสามารถเพาะเลี้ยงได้ในหลายสภาวะ ทั้งเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง (Solid state fermentation) และการหมักในอาหารเหลว (Submerge fermentation) โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งจะมีประสิทธิภาพดีกว่าอาหารเหลว เนื่องจากวัตถุดิบที่นำมาเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อมีหลากหลาย สามารถหาได้ง่ายเนื่องจากสามารถใช้ของเหลือทางการเกษตรได้ เช่น กากมันสำปะหลัง กากถั่วเหลือง และของเหลือทางการเกษตรต่างๆ ที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบ เชื้อราโมแนสคัสนอกจากการใช้ประโยชน์ทางการผลิตรงควัตถุแล้ว ยังมีประโยชน์อย่างหลากหลายในด้านอื่นๆ ทั้งด้านเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมอาหาร และเครื่องดื่ม เช่น น้ำผลไม้ เหล้าจีน เต้าหู้ยี้ แสม ซอสมะเขือเทศ และประโยชน์ในด้านอื่นๆ อีกมากมาย กล่าวได้ว่าเชื้อราโมแนสคัส เป็นเชื้อราที่มีประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมอย่างหลากหลาย

กระเจี๊ยบแดง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hibiscus sabdariffa* เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก เจริญเติบโตได้ดีในเขตกึ่งร้อน จึงเป็นพืชที่นิยมปลูกในประเทศไทย และเป็นพืชที่สำคัญในระดับอุตสาหกรรม นิยมส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศ มักใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง และยาต่างๆ โดยมีการนำรงควัตถุที่ได้จากกระเจี๊ยบแดง ไปใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ เพื่อให้ผลิตภัณฑ์นั้นมีสีที่สวยงาม และดึงดูดใจ เช่น เยลลี่ แยม ซอส ไวน์ น้ำหวาน ลิปสติก เป็นต้น เนื่องจากในกระเจี๊ยบแดงมีรงควัตถุที่เรียกว่า Anthocyanin ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ให้สีแดง ม่วง และน้ำเงิน โดยขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดต่าง นอกจากนี้ประโยชน์ในการให้สีแล้ว กระเจี๊ยบแดงยังประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นผลดีต่อร่างกายอีกด้วย (นันทน์ภัส, 2551)

บีทรูท มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Beta vulgaris* L. หรือมีชื่อเรียกภาษาไทยว่า ผักกาดฝรั่ง ผักกาดแดง บีทรูทเป็นพืชหัวผักกาดที่อยู่ใต้ดินชนิดหนึ่ง ซึ่งหัวที่อยู่ใต้ดินนั้นมีลักษณะเล็ก ทรงป้อม และเปลือกมีสีดำ เนื้อของบีทรูทมีลักษณะฉ่ำน้ำเป็นชั้นๆ สีแดงเลือดหมู หรือม่วงแดง นิยมปลูกในแถบภาคเหนือของไทย ในหัวของบีทรูทนั้นมีสารที่สามารถให้รงควัตถุได้เรียกว่า Betalain ซึ่งเป็นสารพวกกรดอะมิโนที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอก และมะเร็ง ทั้งยังช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันแก่ร่างกายอีกด้วย โดย Betalain นั้นจะให้รงควัตถุสีแดง ม่วง และน้ำเงิน โดยขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดด่าง ซึ่งรงควัตถุนี้สามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมในอุตสาหกรรมการผลิตด้านต่างๆ (นิธิยา, 2549ก)

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus*

1.2.2 เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสารสีจากกระเจี๊ยบ และบีทรูท

1.2.3 เพื่อศึกษาการแยกซิทรีนินออกจากสีของเชื้อราโมแนสคัสโดยใช้วิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี

1.2.4 เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ลิปสติกโดยใช้สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส และสีจากกระเจี๊ยบ

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาวิธีการสกัดรงควัตถุจากเชื้อราโมแนสคัส ศึกษาวิธีการสกัดรงควัตถุจากกระเจี๊ยบ และบีทรูท ศึกษาวิธีการวิเคราะห์สารซิทรีนิน และการแยกซิทรีนินด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี ก่อนนำสารสีไปประยุกต์ใช้ในการทำลิปสติกที่มีส่วนผสมของรงควัตถุจากเชื้อราโมแนสคัส และกระเจี๊ยบเป็นองค์ประกอบ

## 1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน

1.4.1 การเตรียมเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็ง MYS อาหารเหลว SS และข้าวหอมมะลิ เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการสกัดรงควัตถุ

1.4.2 การสกัดรงควัตถุจากเชื้อราโมแนสคัส

1.4.3 การวิเคราะห์รงควัตถุ และสารซิทรีนินในเชื้อราโมแนสคัสโดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี และทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี

1.4.4 ศึกษาวิธีการสกัดรงควัตถุจากกระเจี๊ยบ และบีทรูท เพื่อนำสารสีที่ได้ไป

ประยุกต์ใช้ในการทำลิปสติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4.5 ศึกษาขั้นตอนการทำลิปสติกที่มีส่วนผสมของสีจากเชื้อราโมแนสคัส และกระเจี๊ยบ เพื่อพัฒนาสูตรลิปสติกโดยใช้สีจากธรรมชาติ

## 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.5.1 เพื่อเรียนรู้การเพาะเลี้ยง และการผลิตรงควัตถุจากเชื้อราโมแนสคัส
- 1.5.2 เพื่อเรียนรู้วิธีการสกัดรงควัตถุจากบีทรูท และกระเจี๊ยบ
- 1.5.3 สามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการสกัดรงควัตถุชนิดอื่นๆ
- 1.5.4 เป็นแนวทางในการนำรงควัตถุที่สกัดได้จากธรรมชาติ มาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เพื่อลดการใช้สีที่ได้จากการสังเคราะห์ ซึ่งเป็นอันตรายต่อร่างกาย
- 1.5.5 เพื่อเรียนรู้การนำผลผลิตทางธรรมชาติ มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง



## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 เชื้อราโมแนสคัส

#### 2.2.1 ลักษณะรูปร่างของเชื้อราโมแนสคัส

*Monascus* spp. เป็นเชื้อราเส้นสายที่สามารถสร้างสารสีได้หลายชนิดตั้งแต่สีเหลืองจนถึงสีแดง และสามารถดำรงชีวิตโดยการสืบพันธุ์แบบครบวงจรได้ด้วยตัวเอง (homothallic fungus) *Monascus* spp. จัดอยู่ในวงศ์ (Family) *Monascaceae* กลุ่ม (Class) *Ascomycetes* กลุ่มย่อย (Subclass) *Plectomycetidae* อันดับ (Order) *Eurotiales* ชาวจีนรู้จักเชื้อรานี้มาช้านานมากกว่าพันปีว่าสามารถใช้เป็นยารักษาโรค ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหมัก เช่น ไวน์แดง บรันดี เกาเหลียง อาหารหมักพื้นบ้านจำพวก เต้าหู้ยี้ ปลาแป็งแดง มิโซะ และสีผสมอาหารตามธรรมชาติ (บุษบา, 2540)

*Monascus* spp. เป็นเชื้อราที่เส้นใยมีผนังกัน และมีการแตกกิ่งก้านสาขามากมาย เส้นใยเมื่ออายุอ่อนจะมีสีขาว (แสดงดังรูปที่ 2.1) แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีแดง หรือแดงม่วง และมักเจริญแบบชิดเกาะแน่นบนผิวของอาหารแข็ง การสืบพันธุ์มีทั้งแบบมีเพศ และ ไม่มีเพศ

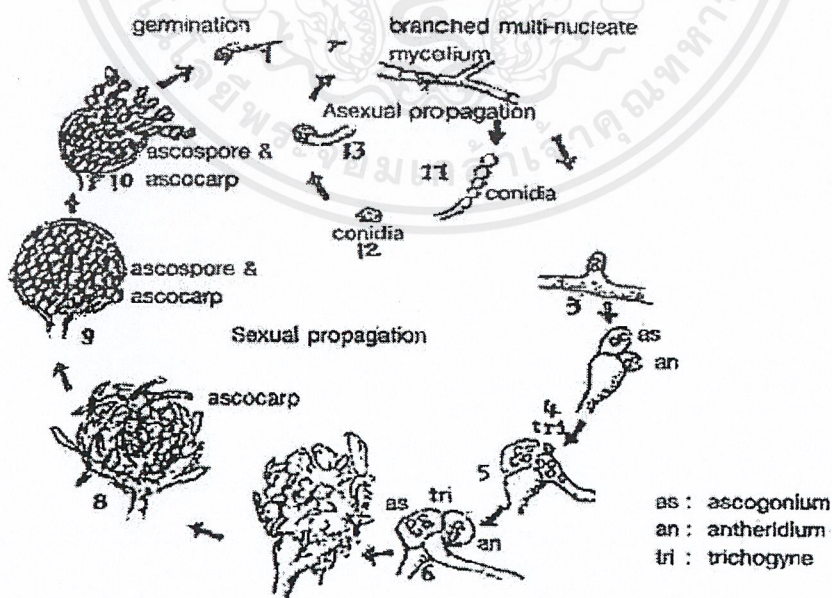


#### รูปที่ 2.1 การเจริญของเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็ง MYS

การสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ มีการสร้าง โคนิเดีย (Conidia) ซึ่งเจริญมาจาก โคนิดิโอฟอร์ (condiophore) โดย โคนิเดียมีลักษณะกลม หรือรูปไข่ อาจมีอันเดียว หรือเกิดติดต่อกันเป็นลูกโซ่ (Hawksworth and Pitt, 1983) โคนิเดียมักไม่มีสี แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะเกิดสีแดงได้บ้าง โคนิดิโอฟอร์ มีขนาดสั้นอาจมีผนังกัน หรือเซพเตต (septate) เป็นเส้นตรง หรือขดเป็นเกลียว และเปลี่ยนเป็นสีแดง เมื่ออายุแก่ขึ้น การงอกของ โคนิเดียจะมาก หรือน้อยขึ้นอยู่กับสูตรอาหาร เช่น C Medium เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Hiroi และคณะ, 1979) เหมาะสมสำหรับการเกิดโคนิเดียของเชื้อราโมแนสคัส นอกจากนั้นยังขึ้นอยู่กับอิทธิพลหลายๆประการ เช่น อายุของสปอร์ ความหนาแน่นของสปอร์ ความเป็นกรดด่าง แสง และอุณหภูมิ เช่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปโคนิเดียจะงอกภายใน 4 ชั่วโมง เมื่อมีความชื้น และอุณหภูมิที่เหมาะสมด้วยการสร้าง germ-tube ขึ้นมา 1 อัน หรือ 2 อัน หรือบางครั้งอาจมีได้ถึง 6 อันซึ่งการงอกของโคนิเดียกระตุ้นได้ด้วยคาร์โบไฮเดรตหลายชนิด (Wong และ Bau, 1978)

การสืบพันธุ์แบบมีเพศจะคล้ายกับเชื้อราใน Class *Ascomycetes* คือมีการสร้างเพอริทีเซียม (perithecium) ซึ่งเป็นแอสโคคาร์ป (ascocarp) ที่มีรูปร่างค่อนข้างกลม โดยจะเกิดบนก้อนที่มีหรือไม่มีผนังก็ได้ แอสโคคาร์ปเกิดขึ้นบนเส้นใยซึ่งเป็นแบบโฮโมแทลลิก (homothallic) โดยสร้างโครงสร้างออกมา 2 ชนิดคือ แอนเทอริเดียม (antheridium) และแอสโคโกเนียม (ascogonium) ซึ่งเกิดจากการรวมตัวของปลายของแอสโคโกเนียมกับส่วนฐาน หรือส่วนกลางของแอนเทอริเดียมแล้วจึงมีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส และไมโทซิส ภายในเพอริทีเซียมมีแอสโคสปอร์ (ascospores) มากมาย โดยแอสโคสปอร์จำนวน 2-8 อันจะรวมตัวอยู่ในแอสคัส (ascus) แอสโคสปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่อาจมีสีน้ำตาลซีดใสหรือไม่มีสี เมื่อผนังแอสคาร์ปแตกออกก็จะปล่อยแอสโคสปอร์ออกมาเพื่อให้งอกใหม่ได้ วงจรชีวิตของ *Monascus* spp. แสดงดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 วงจรชีวิตของ *Monascus* spp. (บุษบา, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.2 สายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส

ราข้าวแดงที่แยกได้ครั้งแรกจาก Chinese Anka (Ang-quac) เป็น *Monascus purpureus* (Went, 1895) ซึ่งต่อมาได้จัดจำแนกราข้าวแดงที่ได้จากหลายประเทศแถบเอเชียตามระบบใหม่ ออกได้เป็น 12 สปีชีส์ และ 2 วาไรตี้ (Lizuka and Lin, 1981) โดยเน้นที่ลักษณะภายนอก หรือสัณฐานวิทยาเป็นสำคัญ ซึ่งมักมีการเปลี่ยนแปลงตามสภาวะแวดล้อมที่มันเจริญอยู่ เช่น อุณหภูมิ ชนิดของอาหาร แสง ความชื้น และอื่นๆ ส่วนลักษณะทางกายภาพ และทางชีวเคมีของ *Monascus* นั้นจะมีความคงตัวมากกว่า ดังนั้นในการจัดจำแนก *Monascus* จึงมักใช้ลักษณะทั้งสองควบคู่กันไป ต่อมา Hawksworth and Pitt (1983) ได้จัดจำแนกรา *Monascus* ในระดับสปีชีส์โดยอาศัยชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ และลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แต่อย่างไรก็ตามยังพบว่า *Monascus* มีความผันแปรทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นเสมอภายในเซลล์ และสปอร์มีการเกิด recombination ของดีเอ็นเอในกระบวนการสืบพันธุ์ทั้งแบบมีเพศ และไม่มีเพศด้วยเช่นกัน จากการแยก *M. purpureus* จากข้าวแดงหรืออังกักทำให้รู้จักประโยชน์ของเชื้อรานี้กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น และปัจจุบันได้รวบรวมเชื้อราโมแนสคัส 25 สายพันธุ์ ดังตารางที่ 2.1

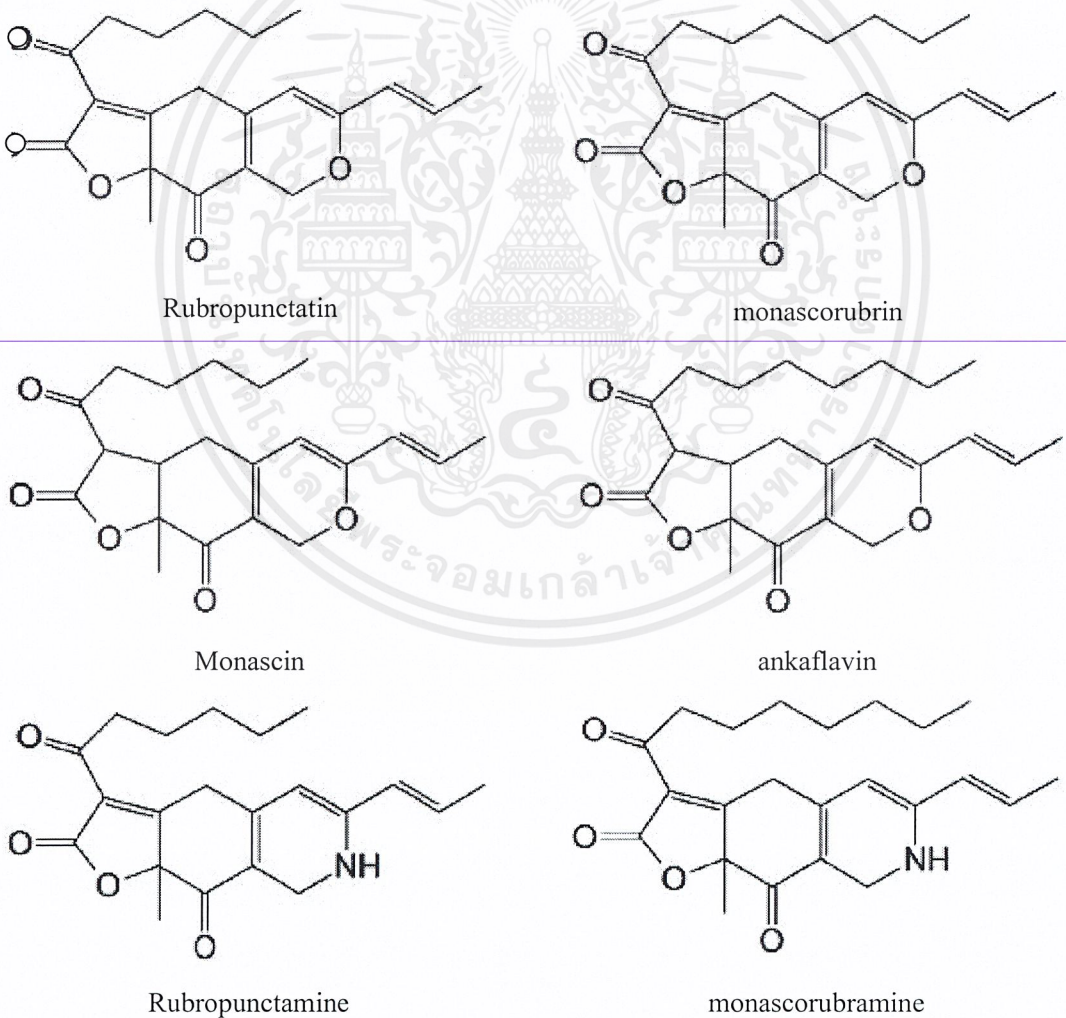
ตารางที่ 2.1 สายพันธุ์ต่างๆ ของเชื้อราโมแนสคัส

<i>M.albidus</i>	<i>M.albus</i>	<i>M.anka</i>	<i>M.araneosus</i>	<i>M.barkeri</i>
<i>M.bisporus</i>	<i>M.floridanus</i>	<i>M.fuliginosus</i>	<i>M.kaoliang</i>	
<i>M.major</i>	<i>M.mucoroides</i>	<i>M.olei</i>		
<i>M.pazii</i>	<i>M.pilosus</i>	<i>M.pubigerus</i>	<i>M.purpureus</i>	<i>M.ruber</i>
<i>M.rubiginosus</i>	<i>M.rubropunctatus</i>	<i>M.serorubercens</i>	<i>M.vini</i>	<i>M.vitreus</i>

ที่มา: รวบรวมจาก lizuka และ Lin (1981); Hawksworth และ Pitt (1983) Nishikawa และคณะ, (1988); Nishikawa และ lizuka (1993)

### 2.1.3 สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส (รัชชัย และคณะ, 2555)

เมื่อทำการเพาะเลี้ยง *M. purpureus* บนอาหารแข็ง potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะพบว่ามีการสร้างสีภายในเส้นใย หลังจากนั้นอาหารเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีส้ม และสีแดง เนื่องจากมีการขับสารสีในรูปของเหลวออกมาภายนอก ทางรูเปิดของปลายเส้นใย โดยเชื้อราโมแนสคัสจะสามารถสร้างสารสี ประกอบด้วยสีส้ม 2 ชนิด ได้แก่ rubropunctatin และ monascorubrin สีเหลือง 2 ชนิด ได้แก่ monascin และ ankaflavin และสารสีแดงอีก 2 ชนิด ได้แก่ monascorubramine และ rubropunctamine โดย monascorubramine และ rubropunctamine ที่เป็นสารสีแดงจะเปลี่ยนมาจาก monascorubrin และ rubropunctatin ตามลำดับ โครงสร้างของสารสีเหล่านี้ ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของสารสีจาก *Monascus* (Lin et al., 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Monascus* spp. ผลิตสารสีชนิดต่างๆดังต่อไปนี้ (กรูณา และคณะ, 2546)

1. โมนาสโคฟลาวิน (Monascoflavin) แยกได้เป็นครั้งแรกพร้อมกับสารสีโมนาสโครูบริน จากเชื้อรา *M.purpureus wentii* เป็นสารสีในกลุ่มสีเหลือง สูตรโมเลกุลคือ  $C_{21}H_{26}O_5$  และน้ำหนักโมเลกุล 358 ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปกโตรสโคปีดังนี้  $\lambda_{max}^{MeOH}$  225 228 385 m $\mu$  มีจุดหลอมเหลว 145-155 องศาเซลเซียส สารสีโมนาสโคฟลาวินเป็นตัวเดียวกับสารสีโมนาสซิน (monascin) ซึ่งแยกได้จากเชื้อรา *M. ribiginosus Sato* อยู่ในกลุ่มสีเหลือง

2. อังกักฟลาวิน (Ankaflavin) เป็นสารสีในกลุ่มสีเหลือง สูตรโมเลกุลคือ  $C_{23}H_{30}O_5$  และน้ำหนักโมเลกุล 386 มีจุดหลอมเหลว 120 -121 องศาเซลเซียส ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปกโตรสโคปีดังนี้  $\lambda_{max}^{MeOH}$  212 228 386 m $\mu$  สารสีอังกักฟลาวินมีสูตรโครงสร้างสัมพันธ์กับสารสีโมนาสซิน เช่นเดียวกับสารสีรูโบพังทาทินที่มีสูตรสัมพันธ์กับสารสีโมนาสโครูบริน

3. รูโบพังทาทิน (Rubropunctain) เป็นสารสีในกลุ่มสีส้ม สูตรโมเลกุลคือ  $C_{21}H_{22}O_5$  และน้ำหนักโมเลกุล 354 สารสีรูโบพังทาทินสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนียมในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ สารรูโบพังทามีน ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยาต่อได้อีกกับสังกะสี และกรดแอซิดิกได้สารอะโปรรูโบพังทามีน (aporubopunctamine) สารนี้มีผลึกรูปเข็มสีแดง มีจุดหลอมเหลว 156-157 องศาเซลเซียส

4. โมนาสโครูบริน (Monascorubrin) เป็นสารสีในกลุ่มสีแดง สูตรโมเลกุลคือ  $C_{23}H_{26}O_5$  และน้ำหนักโมเลกุล 382 ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปกโตรสโคปีดังนี้  $\lambda_{max}^{MeOH}$  253 302 352 m $\mu$  มีจุดหลอมเหลว 134 -136 องศาเซลเซียส

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

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

สารสีที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัส เช่น สารสี rubropunctatin จาก *M. Rubropunctatus* สารสี monascorubrin จาก *M. purpureus* และสารสี monascin จาก *Monascus* sp. เป็นสารประเภท โพลีคีไทด์ ซึ่งเป็นสารเมแทบอลิต์ทุติยภูมิ โดยสารประเภทโพลีคีไทด์จะมีกระบวนการสังเคราะห์ คล้ายกรดไขมัน แต่มีสารตั้งต้นที่แตกต่างกัน

Martinkova et al. (1995) รายงานระดับความเป็นพิษของสารสีที่แยกได้จากเส้นใยของ *M.purpureus* พบว่าระดับความเป็นพิษต่อตัวอ่อนไก่จากมากไปน้อย คือ monascorubrin rubropunctatin monascin และankaflovin ตามลำดับ โดยสารสี monascorubrin และ rubropunctatin สามารถสร้างยาปฏิชีวนะต่อ *Bacillus subtilis* และ *Candida pseudotropicalis* เมื่อทำการเติมไกลซีน ในการบ่มเพื่อเลี้ยงเชื้อราพบว่า monascorubrin และrubropunctatin จะเปลี่ยนเป็น rubropunctamine และmonascorubramine ซึ่งให้สีม่วงแดง เนื่องจากเกิดการแทนที่ของอะตอมออกซิเจนด้วยหมู่ อะมิโน นอกจากนี้สารสีที่ได้ทั้ง 6 ชนิด ไม่มีผลกระทบต่อการทำงานของตับ เมื่อทดสอบในหนู ทดลอง ต่อมาในปี ค.ศ.1999 Martinkova และคณะ ได้ทำการแยกสารสีเหลืองชนิดใหม่ที่เรียกว่า xanthomonasin A จาก *M. anka* สายพันธุ์กลาย และได้มีการค้นพบสารประกอบใหม่สองชนิดคือ monascopyridines A และB ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบสีแดง แต่มีการเติมหมู่ไฮโดรเจน (Wild et al., 2003) นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติด้านอื่นๆ พบว่าสารสีเหลือง monascin และ ankaflovin มีคุณสมบัติเป็นสารกดภูมิคุ้มกันต่อเซลล์ม้ามในหนู Yasukawa et al.(1996) รายงานว่า สารสีของเชื้อราโมแนสคัสที่สกัดจาก *M. Anka* สามารถยับยั้งสาร 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) ซึ่งเป็นสารชักนำการเกิดมะเร็งในหนูและยังพบว่าสารสี monascorubrin มีคุณสมบัติ ในการเป็นสารต้านการอักเสบ (anti-inflammatory activity)

Carvalho et al. (2006) รายงานเกี่ยวกับสารสีที่ผลิตจากเชื้อราโมแนสคัส โดยชี้ให้เห็นว่า สารสีดังกล่าวมีความปลอดภัยเมื่อทำการทดสอบในเชิงปริมาณ โดยสารสีเหล่านี้มีความเป็นพิษต่ำ หรือมีความเป็นพิษที่ไม่ชัดเจน ความเป็นพิษดังกล่าวยังเป็นคุณสมบัติด้านการเจริญของจุลินทรีย์ ด้วย ซึ่งพบมากในสารสีส้ม แต่พบน้อยในสารสีแดง เมื่อศึกษาเชื้อราโมแนสคัสอย่างเป็นระบบมากขึ้น จึงพบว่าสารสีเหล่านี้มีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะด้วย ต่อมาพบว่าผลในการต้านการเจริญของ จุลินทรีย์นี้เป็นผลมาจากสารอื่นที่มีชื่อว่า monascidin A หรือซิทรินินนั่นเอง แต่ไม่ใช่ทุกสายพันธุ์ ของเชื้อราโมแนสคัสที่ผลิตซิทรินิน

#### 2.1.4 การใช้ประโยชน์จากสีของเชื้อราโมแนสคัส

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าสีผสมอาหารที่ปลอดภัยควรได้มาจากธรรมชาติ เช่น จากพืช สัตว์ หรือเชื้อราแดง เชื้อราโมแนสคัสหลายสายพันธุ์สามารถผลิตสีได้ แต่สายพันธุ์ที่สำคัญ คือ *M. purpurescens* จึงมีการศึกษาอย่างแพร่หลายในประเทศได้หวัน ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และฝรั่งเศส แต่มีเพียงประเทศญี่ปุ่นที่อนุญาตให้ใช้สีจาก *M. purpurescens* ได้ถูกต้องตามกฎหมาย แต่ยังมีหลายประเทศในแถบเอเชียใช้สีจากเชื้อรานี้เป็นสีผสมอาหาร ถึงแม้ว่ายังไม่มีการอนุญาตให้ใช้ได้ตามกฎหมายก็ตาม *Monascus* มีบทบาทสำคัญอย่างมากต่ออุตสาหกรรมอาหาร โดยใช้เป็นสารให้สี (colorant) ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น สาเก ไวน์แดง เต้าหู้ยี้ มิโอะ และผลิตภัณฑ์เนื้อ

นอกจากนี้ยังมีการใช้ประโยชน์ของ *Monascus* ในเครื่องดื่มไม่มีแอลกอฮอล์จำพวก น้ำหวาน น้ำนม นมเปรี้ยว น้ำผลไม้ และอาหารประเภทโปรตีนจำพวกปลาแป็งแดง ไข่กรอก แสม เนื้อเทียม ซอสมะเขือเทศ ผลิตภัณฑ์อาหารทะเล ขนนมลูกซุบ ฟูเทียม และอื่นๆ (บุษบา, 2540) นอกจากนี้การใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารแล้วยังพบว่า *Monascus* สามารถสร้างสารเมแทบอลิต์ได้หลายชนิดที่น่าสนใจ และมีคุณค่าทางเศรษฐกิจจำพวกสารกลุ่มเมแทบอลิต์ปฐมภูมิ คือ เอทิลแอลกอฮอล์ กรดอินทรีย์ วิตามินบี2 ไชมัน และกรดไชมัน สารกลุ่มเมแทบอลิต์ทุติยภูมิ คือ สารปฏิชีวนะ โมนาโคลิน สารตกตะกอน ยาลดความดันโลหิต ยาพื้นบ้านของจีน รักษาโรคอาหารไม่ย่อย คูมาริน รักษาโรคคางขาว โคเอนไซม์ Q10 สารให้กลิ่นหอม สารแองคาแลคโตน และสารยับยั้งการกลายพันธุ์ อีกทั้งยังสามารถผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิด คือ กลูโคอะมิเลส โปรติเอส แอลฟา-กาแลคโตซิเดส แอลฟา-อะมิเลส และโรโบนิวคลีเอส ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวจึงมีการศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อราโมแนสคัสในอาหารมากขึ้น (บุษบา, 2540)

ในปีค.ศ.1992 มีรายงานการใช้สารสีโมแนสคัสจำนวนมากกว่า 600 ตันในประเทศญี่ปุ่น ซึ่งนับเป็นมูลค่าถึง 1,440 ล้านเยน Fabre et al., (1993) ได้รายงานว่าการใช้สารสีจาก *M. Ruber* สำหรับผลิตภัณฑ์ไข่กรอก Strasbourgan sausages ทำให้มีลักษณะสีแดง มีความเป็นเนื้อเดียวกัน และกลิ่นเครื่องเทศในไข่กรอกดีขึ้นด้วย Shehata et al. (1998) ศึกษาการเติมสารสีจากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์ไข่กรอกแบบ Egyptian fresh beef sausages พบว่าการใช้ข้าวแดงผสมกับไนไตรท์ร่วมกันให้รสชาติที่ดี และสีที่ได้มีความเสถียรมากกว่าใช้ในไตรท์เพียงอย่างเดียวในผลิตภัณฑ์ไข่กรอก Andrea et al. (2001) ทดลองใช้สีจาก *M. purpureus* ทดแทนการใช้เกลือไนไตรท์กับผลิตภัณฑ์สัตว์ปีก พบว่าการเติมเกลือไนไตรท์ 10 กรัม/กิโลกรัม ผสมกับสีจากโมแนสคัส 0.5

กรัม/กิโลกรัม ในแฮมไก่ให้ผลเป็นที่น่าพอใจทั้งในด้านสีรสชาติ และลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pattanagul (2002) ศึกษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ทำจากน้ำมันพืชโดยใช้สีจาก *Monascus* ช่วยเพิ่มสีแดง พบว่าไส้กรอกที่พัฒนาได้มีปริมาณคอเลสเตอรอลต่ำกว่าไส้กรอกที่ขายตามท้องตลาด ในปีค.ศ. 2003 งานวิจัยของ Koehler ได้ทดลองใช้สีจาก *M. purpureus* ผสมในโยเกิร์ตรสผลไม้ และเปรียบเทียบกับสีผสมอาหารที่ใช้อย่างแพร่หลายในทางการค้า โดยวัดค่าสีจาก *M. purpureus* ในโยเกิร์ตระหว่างการบ่มนมจนเป็นโยเกิร์ต พบว่าให้ค่าใกล้เคียงกับสีของโยเกิร์ตสตรอเบอร์รี่ ในทางการค้า และไม่มีการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในระหว่างการเก็บ 21 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนปริมาณ *Lactobacillus* และ *Streptococcus* เท่ากับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสี ดังนั้นจึงสามารถใช้สารสีจาก *M. purpureus* เป็นสีผสมในโยเกิร์ตสตรอเบอร์รี่ได้ (บุษบา และคณะ, 2531)

นอกจากการใช้สีแดงจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นสีผสมอาหารแล้ว ยังพบว่าสีเหลืองที่มาจากเชื้อราโมแนสคัสนั้นจะมีราคาแพงกว่าสีแดงถึง 5 เท่า ที่ความเข้มข้นระดับเดียวกัน แต่ยังมีความกังวลเกี่ยวกับความปลอดภัยมากกว่าสีแดง สีของเชื้อราโมแนสคัสสามารถใช้สารเคมี เช่น นอร์เมล เอ็คเซน หรือคลอโรฟอร์มสกัดสีเหลืองออกจากสารสีหมักได้ แต่อันตรายถ้ามีสารเคมีที่ใช้สกัดตกค้าง ดังนั้นจึงมีนักวิจัยได้ศึกษาสายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัสสีเหลือง ที่สามารถใช้สกัดราคาถูกที่หาได้ในท้องถิ่น เช่น แป้งมันสำปะหลัง เศษมันฝรั่งที่เหลือจากการแปรรูปแป้งหัวเหลือง หรือข้าว นำมาใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในสภาพหมักแห้ง หรือในอาหารเหลว ทำให้เกิดประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพัฒนาวิชาการ และได้ความรู้การหมักผลิตภัณฑ์จากเชื้อราเพื่อประโยชน์ของอุตสาหกรรมหมักในประเทศ

### 2.1.5 ซิตรินินในเชื้อราโมแนสคัส (European Mycotoxin Network, 2002)

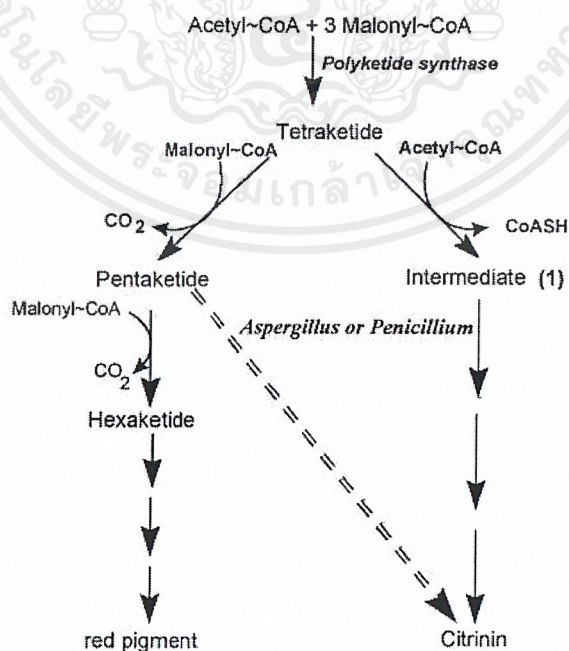
ซิตรินินจัดเป็นสารพิษจากเชื้อรา (mycotoxin) ส่วนใหญ่จะพบจาก *Penicillium* และ *Aspergillus* ที่ปนเปื้อนอยู่ในธัญพืช ผลไม้ และถั่ว คนจะได้รับซิตรินินจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อน พบครั้งแรกในปี ค.ศ.1931 จากการแยกสารจาก *Penicillium citrinum* ต่อมาในปี ค.ศ. 1951 พบปัญหาข้าวเหลือง “yellow rice problem” ในข้าวที่ประเทศไทยส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น เพราะมีการปนเปื้อนจาก *P.citrinum* และตรวจพบซิตรินิน นอกจากนี้ยังมีเชื้อราสกุลอื่นที่สามารถสร้างซิตรินิน ได้เช่น *A. terreus* *A. carneus* และ *A. niveus* เป็นต้น จากรายงานการปนเปื้อนซิตรินินในอาหารประเภทต่างๆ โดยเฉพาะอาหารประเภทเมล็ดธัญพืช และอาหารสัตว์

Sabater-Villar et al. (1999) ได้ศึกษาในห้องปฏิบัติการ พบว่าซิตรินินมีผลต่อการทำงานของไต และโครงสร้างระดับจุลภาค ซิตรินินจะไปสะสมในไมโทคอนเดรีย และรบกวนระบบการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนในเซลล์ แต่ไม่มีผลต่อผนังเซลล์ นอกจากนี้ยังมีผลในการยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ การเรียงลำดับของโปรตีน และอาร์เอ็นเอ เมื่อการทำงานของไมโทคอนเดรียผิดปกติไป ทำให้ระดับของไกลโคเจนในตับลดลง และยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอรอลในตับ จากการศึกษาคุณสมบัติของซิตรีนิน พบว่าซิตรีนินสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ แต่มีผลกระทบต่อไตของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จึงไม่มีการนำสารนี้มาใช้ประโยชน์

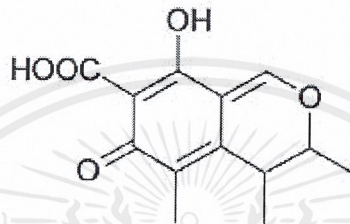
นอกจากคุณสมบัติการรักษาโรคของข้าวแดงจากโมนาโคลินเค ได้มีงานวิจัยเกี่ยวกับซิตรีนินที่สร้างมาจาก *Monascus* พร้อมกับการสร้างสารสี Wong and Koehler (1981) แสดงให้เห็นว่าสารสีที่ได้สกัดมาจากเชื้อราโมแนสคัสมีการสร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์ ต่อมาได้แยกสารประกอบ 2 ตัวจาก *M. purpureus* ที่มีผลยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* คือ สารสีเหลือง (monascidin A) และสารสีเหลืองเรืองแสง Blanc et al. (1995) ได้แยกสารโมนาสซิน เอ จาก *Monascus* หลายสายพันธุ์ และพิสูจน์ได้ว่าเป็นสารชนิดเดียวกับซิตรีนิน โดยใช้วิธี Mass Spectroscopy เพื่อยืนยันโครงสร้างสารดังกล่าว ต่อมา Hajjaj et al. (1999) ศึกษากลไกการสังเคราะห์ทางชีวภาพของซิตรีนิน จาก *M. ruber* ATCC 96218 โดยวัดจาก  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic Resonance พบว่าการสังเคราะห์ซิตรีนินเกิดจาก tetraketide แทนที่จะสังเคราะห์จาก pentaketide เหมือนกับเชื้อราสกุล *Penicillium* และ *Aspergillus* ที่สามารถสร้างซิตรีนินเช่นเดียวกับกลไกการสังเคราะห์ซิตรีนินจากเชื้อราโมแนสคัส แสดงดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 กลไกการสังเคราะห์ซิตรีนิน และสารสีแดงของ *M. ruber*

เส้นประ แสดงกลไกการสังเคราะห์ซิตรีนิน โดย *Aspergillus* และ *Penicillium* (Hajjaj et al., 1999) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซีทรินินมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 250.25 กรัมต่อโมล มีสูตรโมเลกุลคือ  $C_{13}H_{14}O_5$  มีโครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.5 และมีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีเหลืองเลมอน มีจุดหลอมเหลว 175 องศาเซลเซียส ละลายน้ำได้น้อย แต่ละลายได้ในโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง โซเดียมคาร์บอเนต โซเดียมอะซิเตต เมทานอล อะซิโตน ไตรโทล เอทานอล และสารละลายอินทรีย์ที่มีขี้ สลายตัวได้ด้วยแสง (photodecomposition) สารละลายกรดต่าง หรือจากความร้อน มีปฏิกิริยาการเปลี่ยนสี โดยเมื่อทำปฏิกิริยากับเฟอริกคลอไรด์ ไททาเนียมคลอไรด์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล สีเขียว และสีแดงเข้ม ตามลำดับ



รูปที่ 2.5 โครงสร้างของซีทรินิน (Lin et al., 2008)

มีการศึกษาเกี่ยวกับความเป็นพิษของซีทรินิน เมื่อทดสอบกับสัตว์ทดลองได้ค่า  $LD_{50}$  เท่ากับ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (สำหรับหนูทดลอง) และ 19 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (สำหรับกระต่าย) ซีทรินินทำให้ไตถูกทำลาย และมีฤทธิ์อ่อนแอกับตับ เพราะความสามารถรองไขมันลดลง ผลกระทบอื่น คือทำให้เกิดการขยายตัวของเส้นเลือดก่อให้เกิดการไหลเวียนโลหิตผิดปกติ และทำให้หลอดลมหดตัว Blanc et al. (1995) พบว่าสายพันธุ์ของ *Monascus* มีผลต่อการผลิตซีทรินิน โดย *M. ruber* (wild) จะสามารถผลิตซีทรินินได้มากกว่า *M. purpureus* (wild) เมื่อใช้ข้าวเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ศศิธร (2546) ศึกษาผลของ monosodium glutamate และ L-histidine ต่อการผลิตสารสีแดงและซีทรินินในข้าวแดงจากการเพาะเลี้ยง *M. purpureus* FTCMU โดยมีการทดลองผลิตข้าวแดง 3 วิธี ดังนี้ วิธีที่ 1 เติมนอนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัมต่อกิโลกรัม วิธีที่ 2 เติมนอนโซเดียม L-histidine 12.5 กรัมต่อกิโลกรัม และวิธีที่ 3 ไม่มีการเติมกรดอะมิโนใดๆ พบว่าข้าวแดงที่มีการเติมนอนโซเดียมกลูตาเมต ให้ปริมาณสีแดง 126 ยูนิตต่อกรัม และซีทรินิน 900 ppm ส่วนข้าวแดงที่มีการเติมนอนโซเดียม L-histidine ให้ปริมาณสีแดง 150.45 ยูนิตต่อกรัม และซีทรินิน 450 ppm และข้าวแดงที่ไม่ได้มีการเติมกรดอะมิโนให้ปริมาณสีแดง 207.85 ยูนิตต่อกรัม และซีทรินิน 1,119 ppm ดังนั้นการเติมนอนโซเดียมกลูตาเมต และ L-histidine ลงในข้าวแดง มีผลต่อการลดทั้งปริมาณซีทรินิน และสารสีแดงที่สร้างโดย *M. purpureus* FTCMU

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2 สารสีจากพืช

ในปัจจุบันทั้งภาคอุตสาหกรรมอาหาร และผู้บริโภคมักให้ความนิยมในการใช้สารสีจากธรรมชาติแทนการใช้สารสีที่ได้จากการสังเคราะห์ เนื่องจากความกังวลในเรื่องของสุขภาพ (Mobhammer et al., 2005) ส่วนใหญ่สารสีประเภทนี้มักได้จากพืช และผลไม้ต่างๆ เช่น สีเขียวจากคลอโรฟิลล์ สีเหลือง สีส้ม และสีแดง จากแคโรทีนอยด์ รวมถึงบีตาเลน (betalain) ซึ่งเป็นกลุ่มของรงควัตถุที่ให้สีแดง และสีเหลืองคล้ายแอนโทไซยานิน และฟลาโวนอยด์ ซึ่งพบได้ในพืชจำพวกหัวบีทรูท ผลแก้วมังกร ผลพืชกลุ่มกระบองเพชรทั้งหมด และดอกเฟื่องฟ้า (แล้ลม และคณะ, 2556)

### 2.2.1 กระเจี๊ยบแดง

กระเจี๊ยบแดง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hibiscus sabdariffa* var. *sabdariffa* Linn. เป็นพืชในวงศ์ *Malvaceae* มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Roselle, Rosella Red sorrel หรือ Jamaica sorrel เป็นพืชสมุนไพรที่ใช้ทำเครื่องดื่ม สีผสมอาหาร และยารักษาโรค ลักษณะของดอกกระเจี๊ยบแดง แสดงดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 ลักษณะของดอกกระเจี๊ยบแดง

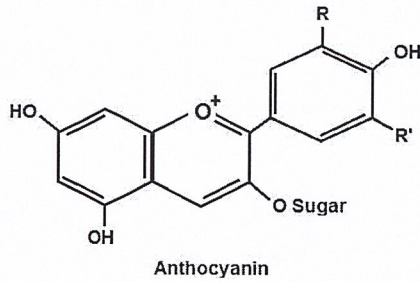
ที่มา: <http://www.imarm.com/กระเจี๊ยบแดง-สมุนไพรลด>

กระเจี๊ยบแดงเป็นสมุนไพรที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศต่างๆ มีสรรพคุณเพื่อช่วยลดไขมันในเส้นเลือด ลดความดันโลหิต ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ขับปัสสาวะ แก้ไอ ขับเสมหะ และป้องกันการเกิดนิ่วในกระเพาะปัสสาวะ เป็นต้น ในกลีบกระเจี๊ยบแดงมีสารประกอบฟีนอลิก สาร anthocyanin และมีกรดอินทรีย์หลายชนิด เช่น ascorbic acid, citric acid, malic acid และ tartaric acid กรดเหล่านี้ทำให้กระเจี๊ยบมีรสเปรี้ยว นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งรวมสารอาหารที่สำคัญ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อร่างกายหลายชนิด โดยเฉพาะแคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม เหล็ก และวิตามิน เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิก สารแอนโทไซยานิน และวิตามินซี จะมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

กระเจี๊ยบแดงเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด ทั้งสารแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซีในปริมาณมาก นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณในทางยาด้วย เช่น ในแอฟริกาได้มีการนำเมล็ดกระเจี๊ยบมาต้มกิน เป็นยาขับปัสสาวะ เป็นยาบำรุง และใช้น้ำมันจากเมล็ดกระเจี๊ยบรักษาแผลให้จู่ ในแอฟริกาตะวันออกมีการนำไปของกระเจี๊ยบมาต้มน้ำกินแก้ไอ ลดความดันโลหิตสูง ขับปัสสาวะ ลดคอเลสเตอรอล ลดความหนืดของเลือด ขับพยาธิ ในอียิปต์มีการใช้กลีบเลี้ยงของกระเจี๊ยบมาต้มน้ำกับน้ำตาลวันละสามเวลา ใช้รักษาความดันโลหิตสูง หรือใช้ทั้งต้นมาต้มน้ำรักษาโรคหัวใจ และโรคประสาท กินเป็นยาลดน้ำหนักเนื่องจากช่วยระบาย และยังเป็นยาช่วยฆ่าเชื้อในลำไส้ ในประเทศไทยใช้ใบสด กลีบเลี้ยง ฟักทิ้งสด และแห้งของกระเจี๊ยบต้มน้ำกินแก้ไอ แก่นิว ทดไข้ ขับน้ำดี ใช้ใบสดต้ม หรือแกงกิน ใช้กลีบเลี้ยงแห้งต้มน้ำ หรือชงน้ำร้อนกิน (ແລ້ມ ມາສາວຽນາ ແລະຄຸນະ, 2556)

แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ (water-soluble pigments) โดยจัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรดด่าง โดยมีสีน้ำเงินเข้มในสภาวะที่เป็นด่าง (pH มากกว่า 7) มีสีม่วงเมื่อเป็นกลาง (pH7) และจะเปลี่ยนเป็นสีแดงส้มในสภาวะที่เป็นกรด (pH น้อยกว่า 7) สามารถพบแอนโทไซยานินทั่วไปในแควิวโอลและเซลล์เนื้อเยื่อชั้นนอกของดอก ผล และใบของพืชดอก (angiosperms) แต่ยกเว้นในพืชพวกตะบองเพชร ฟักกาดหัว ฟักโคม และพืชจำพวกสาหร่าย บางครั้งปรากฏในส่วนเนื้อเยื่อพืช (plant tissue) ได้แก่ รากหัวใต้ดินของพืช ลำต้น หน่ออ่อน และพืชเมล็ดเปลือย (gymnosperms) ต่างๆ เช่น เฟิร์น ไบโอฟิต (bryophytes) นอกจากแอนโทไซยานินจะทำให้ดอกไม้ไม่มีสีอันสวยงามแล้วยังช่วยป้องกันพืชไม่ให้เกิดอันตรายจากสิ่งแวดล้อม และแมลงต่างๆ แอนโทไซยานินจากธรรมชาติสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้หลายชนิด แต่ที่ได้รับความสนใจมากในปัจจุบันคือ คุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) จึงมีแนวโน้มนำมาประยุกต์ใช้ในด้านสุขภาพ และความงาม โดยช่วยลดการเกิดริ้วรอยของผิวจากรังสียูวี และมลภาวะ อีกทั้งช่วยป้องกันเซลล์เส้นผมไม่ให้อ่อนแอ (สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2553) โครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานินแสดงดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานิน

### 2.2.2 บีทรูท

บีทรูท หรืออาจเรียกว่า ผักกาดฝรั่ง ผักกาดแดง เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ *Chenopodiaceae* ชื่อสามัญคือ Chard Beetroot Sugar beet, Mangel-wurzel และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Beta vulgaris* (Hanelt et al., 2001) ลำต้นอยู่ใต้ดิน รากอวบน้ำ มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 4-5 เซนติเมตร ลักษณะของใบเป็นใบเดี่ยวเรียงตัวสลับกัน มีก้านยาว ดอกเป็นดอกเดี่ยวออกเป็นช่อมีสีเขียวอ่อน ผลมีขนาดเล็กเป็นพืชใช้กินหัว มีรูปทรงกลมป้อม เปลือกสีดำ เนื้อสีแดงเลือดหมู หรือม่วงแดง ลักษณะของบีทรูทแสดงดังรูปที่ 2.8 เป็นผักเมืองหนาว มีต้นกำเนิดอยู่ในแถบเมดิเตอร์เรเนียน ปัจจุบันนี้บีทรูทสามารถปลูกได้ในแถบภาคเหนือของไทย (น้ำชาติ, 2552) โดยปลูกได้ตลอดปีในระดับความสูงกว่า 1,000 เมตร เป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูง รองมาจากมันฝรั่ง (เจตนิพัทธ์ และจักราวุธ, 2555) ให้วิตามินซี วิตามินเอ บี1 บี2 แคลเซียม ฟอสฟอรัส และเหล็ก (น้ำชาติ, 2552) นอกจากนี้บีทรูทยังมีสรรพคุณทางยาด้วยเพราะน้ำบีทรูทสามารถช่วยลดความดันเลือด โดยมีรายงานในวารสารโรคหัวใจของอเมริกา (American heart association journal hypertension) แสดงให้เห็นว่า การดื่มน้ำบีทรูท 500 มิลลิลิตร จะช่วยลดความดันเลือดได้ภายใน 1 ชั่วโมง (Webb et al, 2008) บีทรูทยังมีคุณสมบัติในการช่วยรักษาโรคมะเร็ง ชะลอการเกิดเนื้องอก และมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ อีกทั้งบีทรูทยังสามารถใช้เป็นสีผสมอาหารจากธรรมชาติได้อย่างปลอดภัย โดยเติมลงในผลิตภัณฑ์ขนมหวาน แยม เยลลี่ ซีเรียล (cereals) และซอสมะเขือเทศ เพื่อให้สีเข้มขึ้น เป็นต้น (Grubben and Denton, 2004)

133099



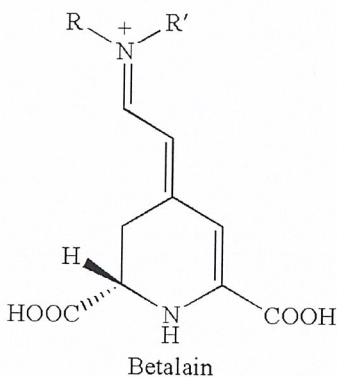
### รูปที่ 2.8 ลักษณะของบีทรูท

ที่มา: <http://www.fitho.in/guide/vegetables/beetroot>

สีม่วงแดงของบีทรูท เนื่องมาจากรงควัตถุบีตาเลน บีตาเลนเป็นกลุ่มของรงควัตถุที่ให้สีแดง และสีเหลืองคล้ายแอนโทไซยานิน และฟลาโวนอยด์ สมัยก่อนเรียกว่า nitrogenous anthocyanins แอนโทไซยานิน และบีตาเลน มีโครงสร้างทางเคมีไม่เหมือนกัน จึงบอกถึงความแตกต่างกันได้ง่าย เพราะมีช่วงการดูดกลืนแสงแตกต่างกันด้วย แอนโทไซยานินสามารถสกัดออกจากพืชได้ง่ายด้วย เมทานอล แต่สกัดออกได้เพียงเล็กน้อยด้วยน้ำ และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 270 นาโนเมตร ซึ่งต่างจากบีตาเลนที่ละลายได้ดีในน้ำ บีตาไซยานินดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และ บีตาแซนทินดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร (นิธิยา, 2549ก)

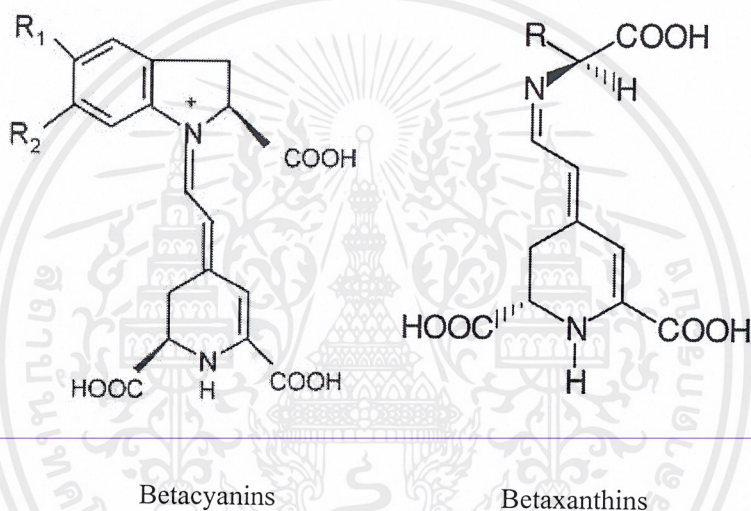
การสกัดสารให้สีบีตาเลนทำได้โดยการคั้นเอาน้ำจากหัวบีทรูท มาทำให้เข้มข้นภายใต้สภาวะสุญญากาศให้มีปริมาณของแข็งร้อยละ 40-60 ก่อนนำไปทำเป็นผงละเอียด โดยการทำให้แห้งแบบพ่นฝอย บีตาเลนละลายได้ดีในน้ำ และผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ ส่วนใหญ่บีตาเลนสลายตัวได้ง่ายเมื่อได้รับแสง ความร้อน และพีเอชสูง (สุทศน์, 2548) สามารถเก็บรักษาบีตาเลนในรูปผงได้ดีที่สุดคือ ภาวะที่มี  $a_w$  0.12 หรือมีความชื้น 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง (นิธิยา, 2549ก)

บีตาเลนประกอบไปด้วยส่วนของบีตาไซยานิน (betacyanins) โครงสร้างทางเคมีของบีตาเลนแสดงดังรูปที่ 2.9 (นิธิยา, 2549ก) ซึ่งให้สีแดง และบีตาแซนทิน (betaxanthins) ที่ให้สีเหลือง นั่นคือ ถ้าหมู่ R' และ R ถูกแทนที่ด้วยแอลคิล (alkyl) หรือเบนซิล (benzyl) โดยพันธะคู่มี resonance สารประกอบที่ได้จะมีสีแดง เรียกว่า บีตาไซยานิน แต่ถ้าพันธะคู่ไม่มี resonance สารประกอบที่ได้จะมีสีเหลือง เรียกว่า บีตาแซนทิน โครงสร้างทางเคมีของบีตาไซยานิน และบีตาแซนทิน แสดงดังรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.9 โครงสร้างทางเคมีของบีตาเลน

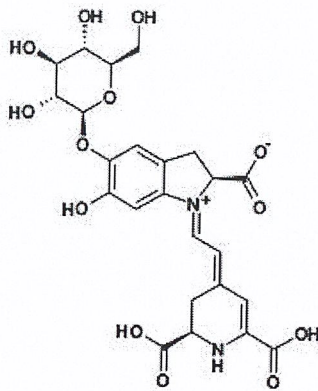
ที่มา: นิธิยา (2549)



รูปที่ 2.10 โครงสร้างทางเคมีของบีตาไซยานินและบีตาแซนทิน

ที่มา: Zryd and Christinet (2003)

บีตาไซยานินทุกชนิดจะเป็นอนุพันธ์ของอะไกลโคโคนเพียง 2 ชนิดเท่านั้น คือ บีตานิดิน และ ไอโซบีตานิดิน ซึ่งเป็นอิพิเมอร์ของบีตานิดินที่คาร์บอนตำแหน่ง 15 สำหรับอะไกลโคโคนของบีตาไซยานินที่พบในพืชคือ บีตานิดิน และเมื่อรวมกับน้ำตาลกลูโคสโดยหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 จะได้เป็นบีตานิน (นิธิยา, 2549ก) โครงสร้างทางเคมีแสดงดังรูปที่ 2.11



Betanin

### รูปที่ 2.11 โครงสร้างทางเคมีของบีตานิน

ที่มา: Zryd and Christi net (2003)

ความเข้มข้นของบีตานินในบีทรูทแดงมีปริมาณถึง 300-600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เนื่องจากบีตานินสามารถสลายตัวได้เมื่อได้รับแสง ความร้อน และออกซิเจน ดังนั้นบีตานินจึงมักถูกใช้ในอาหารแช่แข็ง อาหารที่มีอายุการเก็บรักษาสั้น อาหารอบแห้งต่างๆ อีกทั้งในไอศกรีม เครื่องดื่มผง และอุตสาหกรรมลูกกวาดก็มักใช้บีตานินเป็นสารให้สีอีกด้วย (Starovicova, 2009) สารสีบีตาเลนสามารถคงตัวอยู่ได้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบสูง และสถานะที่อาหารมีปริมาณน้ำอิสระ ( $a_w$ ) ต่ำ (Herbach et al, 2006) และจะมีความคงตัวที่พีเอช 4-6 จึงสามารถที่จะนำสี ที่สกัดได้จากบีทรูทมาใช้เป็นสีผสมอาหารจากธรรมชาติได้ (นิธิยา, 2459ก) จากคุณสมบัติของสารสีในบีทรูทที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ อีกทั้งยังไม่มีรายงานการวิจัยแสดงถึงความเป็นพิษของบีทรูท จึงเกิดแนวคิดที่จะนำบีทรูทมาเป็นแหล่งของสารสีธรรมชาติเพื่อนำมาใช้ในงานวิจัย

## 2.3 ลิปสติก

### 2.3.1 ประวัติและความเป็นมา (อรุณญา, 2533)

ในสมัยโบราณ การตกแต่งริมฝีปากในประเทศไทยเกิดจากการกินหมาก ซึ่งให้สารแทนนิน โดยผลของหมาก หรือสีเสียด ซึ่งมีข้อเสียคือจะทำให้ริมฝีปากแตก และแห้ง สำหรับในประเทศอื่นๆ เช่น ผู้หญิงอียิปต์โบราณจะใช้สี carmine ละลายใน ammonia ทาริมฝีปาก ซึ่ง carmine จะเป็นสีจากธรรมชาติที่ได้จากแมลงแห้ง ส่วนในญี่ปุ่นจะใช้สีที่ได้จากดอก carthame ทาแก้ม และริม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฝึปาก นอกจากนี้ในศตวรรษที่ 18 ได้มีการใช้สีชนิดใหม่ๆที่ได้จากแร่ในยุโรป และในศตวรรษที่ 19 Liebig ได้ค้นพบสาร alloxane ซึ่งเป็นผงสีขาวละลายได้ดีในน้ำ และจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูเข้มเมื่อนำมาทาที่ผิวหนังหรือริมฝีปาก หรือเมื่อสัมผัสกับอากาศ แต่เนื่องจากเป็นสารพิษจึงหยุดใช้ ในช่วงต้นศตวรรษที่ 19 จึงเริ่มมีการผลิตลิปสติกเกิดขึ้น โดยในระยะแรกเป็น cocoa butter stick และใช้สาร liquid carmine red แต่เนื่องจาก carmine เป็นเม็ดสีที่ไม่ละลาย และให้สีที่ไม่ติดทนกับริมฝีปาก ลิปสติกที่เตรียมโดยการแต่งสีใช้เฉพาะเม็ดสี pigment อย่างเดียวจะสามารถลบออกได้ง่าย เหลือสีติดที่ริมฝีปากเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงมีการผสมสีละลายน้ำร่วมกับ carmine แล้วผสมลงไปในเบสที่มีส่วนผสมของไข และน้ำมัน เพื่อให้ได้สีที่ติดทนทาน ซึ่งก่อนทาลิปสติกจะต้องทำให้ริมฝีปากชุ่มชื้นเสียก่อนเพื่อให้สี dye ละลาย สีจะได้ติดริมฝีปากดี หลังจากนั้นบริษัทต่างๆก็ได้มีการแข่งขันในการพัฒนาปรับปรุงเรื่อยมา ทั้งในด้านส่วนผสมต่างๆโดยเฉพาะอย่างยิ่งสีที่ใช้ เนื่องจากเป็นครั้งแรกที่ทำให้เกิดความประทับใจในบรรดาเครื่องสำอางทั้งหมด ลิปสติกเป็นเครื่องสำอางที่ดัดแปลงได้ง่ายที่สุด เนื่องจากสูตรไม่ยุ่งยากซับซ้อนเหมือนเครื่องสำอางอื่นๆ การดัดแปลงเพียงแค่เปลี่ยนสีก็จะได้ลิปสติกแห่งใหม่ขึ้น

### 2.3.2 ชนิดของลิปสติก (วิรัชชัย และคณะ, 2555)

#### 1. ลิปทรีทเม้นท์ (Lip treatment)

คือ ลิปสติกที่ช่วยให้ความชุ่มชื้น หรือลดอาการแตกลอกของริมฝีปาก มักมีส่วนผสมของสารบำรุง เพื่อเพิ่มความนุ่มนวล ปัจจุบันลิปทรีทเม้นท์มีหลายรูปแบบ ทั้งลิปบาล์มชนิดใส่ที่ให้ความชุ่มชื้น และลิปบาล์มชนิดเข้มข้นเหมาะสำหรับริมฝีปากที่แห้ง หรือแตกลอกเป็นขุย

#### 2. ลิปครีม (Cream)

คือ ลิปสติกที่มีเนื้อสีเข้มข้นมากเป็นพิเศษ มักมีส่วนผสมของมอยส์เจอไรเซอร์ต่างๆ เช่น วิตามินซี วิตามินอี ทำให้ลิปสติกมีความเนียนลื่นทาได้ง่าย ไม่มีคราบติดตามร่องริมฝีปาก และยังให้ความชุ่มชื้นแกริมฝีปาก

#### 3. ลิปฟรอสท์ (Frost)

เป็นลิปสติกที่มีเนื้อสีเข้มข้น ซึ่งจะมีเนื้อสีที่เข้มข้นมากกว่าเนื้อเชียร์ แต่จะเข้มข้นใกล้เคียงกับชนิดครีม แต่จะแตกต่างจากเนื้อครีมตรงที่มีกลิตเตอร์ ช่วยทำให้ริมฝีปากเปล่งปลั่ง และสดใส

#### 4. ลิปแมทท์ (Matte)

เป็นลิปสติกที่มีความเข้มข้นของเนื้อสีมากที่สุด ปราศจากส่วนผสมของน้ำมัน โดยสีที่ได้จะเป็นสีด้าน ไม่มันเงา ทาแล้วจะติดทนทาน ไม่ลบเลือนง่าย แต่จะมีข้อเสียคือทำให้ปากแห้ง จึงไม่เหมาะสำหรับผู้ที่ริมฝีปากแห้ง

#### 5. ลิปกอส (Gloss)

คือ ลิปสติกที่ไม่มีสีหรือสีอ่อนมาก ใช้ป้องกันริมฝีปากแห้งแตก มันวาว และทำให้เกิดความนุ่มเนียน อาจมีส่วนผสมของกลิตเตอร์ ช่วยทำให้ริมฝีปากดูอวบอิ่ม

#### 6. ลิปเชียร์ (Sheer)

คือ ลิปสติกที่มีเนื้อสีบางเบา ทำให้ริมฝีปากดูเนียนสวยเป็นธรรมชาติ ไม่มันเยิ้ม มักจะมีส่วนผสมของสารที่ให้ความชื้นสูง เช่น อโลเวรา กลีเซอริน ซึ่งจะช่วยให้ริมฝีปากมีสุขภาพดี

### 2.3.3 คุณสมบัติที่ดีของลิปสติก

ลิปสติกที่ดีควรมีเนื้อเรียบ ให้สีที่ดึงดูดใจ คงสภาพเมื่อเก็บไว้ และขณะใช้ไม่เป็นพิษ หรือเป็นอันตรายต่อผิวหนัง จะต้องให้สีที่ติดทน แต่สามารถล้างได้ง่ายเมื่อต้องการ จะต้องมีรสชาติ ไม่มีรสที่ชวนคลื่นเหียน จะต้องมีความแข็งแรงพอที่จะคงรูปเป็นแท่งอยู่ได้ มีความหนืดพอเหมาะในการบรรจุในรูปกระปุก แต่อ่อนนุ่มพอที่จะหลอมได้ทันทีที่สัมผัสกับริมฝีปาก และสามารถคงรูปอยู่ได้โดยไม่เหลวเยิ้มเมื่อเก็บไว้ในกระปุก หรือสภาวะใดก็ตาม โดยลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ดีจะต้องไม่มีเหงื่อ แครก รวน แข็งเป็นก้อน หรือปูดพองเมื่อเก็บไว้ ง่ายต่อการทาบนปากและที่สำคัญจะต้องไม่เป็นพิษเมื่อใช้ (อรัญญา, 2533)

### 2.3.4 ส่วนประกอบของลิปสติก

#### 2.3.4.1 สี

นิยมใช้สีโทนแดง แต่อาจเป็นสีโทนอื่นก็ได้ ซึ่งปัจจุบันมีสีมากมาย หรือแบบไม่มีสีคือลิปมัน วัตถุประสงค์ของการใช้สีในลิปสติก เพื่อให้สีติดทนบนริมฝีปาก สวยงาม และปกปิดส่วนของผิวที่หยาบ ให้ดูเรียบสวยขึ้น หรือแต่งสีให้แท่งลิปสติกดูน่าใช้ขึ้น สารที่ทำให้เกิดสีในลิปสติกมี 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ staining dye และ pigment (จิตราวดี และสุเชาวน์, 2542)

#### 1. Staining dye (จิตราวดี และสุเชาวน์, 2542)

มี 2 ชนิดคือ eosin ที่ละลายน้ำ และ bromo acid ที่เป็น halogenated derivatives ของ fluorescein ซึ่งทั้ง 2 ชนิดมีปัญหาในการใช้คือ อาจทำให้เกิดการแพ้ ซึ่งเกิดจากสารเจือปน หรือตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเองก็ได้ นอกจากนี้ยังมีปัญหาการกระจายตัว สีติดไม่ทน และทำให้สีเปลี่ยนแปลงอีกด้วย แต่เมื่อนำมาผสมกับ pigment จะทำให้สีติดทน

## 2. Pigment (จิตราวดี และสุเชาวน์, 2542)

เดิมเป็นเม็ดสีจากธรรมชาติที่ไม่ละลายน้ำ ได้จากพืช หรือสัตว์ เช่น carmine แต่เนื่องจากความเข้มของสีไม่เพียงพอ จึงมีการนำ dye มาเปลี่ยนสภาพเป็นไม่ละลายน้ำ และต้องไม่เป็นอันตรายเมื่อใช้กับริมฝีปาก ซึ่งต่อมามีการผลิตสีชนิดนี้จำนวนมาก แบ่งย่อยได้เป็น 3 ชนิดคือ

1. Inorganic pigments ได้แก่  $\text{TiO}_2$
2. Organic pigments เป็น pigment ที่ไม่ละลายทั้งในน้ำ และน้ำมัน
3. Metallic pigments ได้แก่ D&C color ของ Al , Ba และ Ca

### 2.3.4.2 เนื้อลิปสติก

ในส่วนเนื้อลิปสติกนี้ จะประกอบด้วยส่วนประกอบ อาจจะเป็นน้ำมันจากพืช (vegetable oil) น้ำมันแร่ (mineral oil) หรือน้ำมันสังเคราะห์ (synthetic oil) ก็ได้ วัตถุประสงค์ของการใช้เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมเมื่อทาลิปสติกบนริมฝีปาก และยังทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสม สัดส่วนที่เหมาะสมของน้ำมันเหลวในผลิตภัณฑ์ที่กระจายตัวได้ง่าย และเกิดฟิล์มบางๆ บนริมฝีปาก (อรัญญา, 2533)

#### 2.3.4.2.1 น้ำมันเหลว

อาจเป็นน้ำมันจากพืช น้ำมันแร่ หรือน้ำมันสังเคราะห์ก็ได้ วัตถุประสงค์ของการใช้น้ำมันเพื่อให้ได้เนื้อลิปสติกที่มีจุดหลอมเหลวตามต้องการ (จิตราวดี และสุเชาวน์, 2542)

##### 1. น้ำมันละหุ่ง (castor oil) (จิตราวดี และสุเชาวน์, 2542)

เป็นน้ำมันจากพืช ซึ่งเดิมมีการใช้น้ำมันมะกอก และน้ำมันงามาแต่โบราณ แต่มีข้อเสียคือเหม็นหืนง่าย และเป็นตัวทำละลายที่ไม่ดีสำหรับสีจึงไม่นิยม จึงหันมาใช้น้ำมันละหุ่งแทน ซึ่งเป็นน้ำมันที่มีความหนืดสูง ไม่ทำให้เม็ดสีตกตะกอนเร็วในระยะหลอมเหลว และระยะหล่อเป็นแท่ง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีติดทน ไม่ไหลเยิ้ม แต่ต้องใช้น้ำมันละหุ่งที่บริสุทธิ์ เพื่อไม่ให้เกิดปัญหาเรื่องสีกลิ่น รส น้ำมันละหุ่งทำหน้าที่เป็นสารหล่อลื่น แต่ถ้าใช้มากเกินไปจะเกิดฟิล์ม และมันเยิ้ม น้ำมันละหุ่งมีปริมาณของ ricinoleic acid สูง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัวของน้ำมันที่ได้จากธรรมชาติ สามารถใช้ได้ปริมาณ 25-50% ข้อเสียของน้ำมันละหุ่งคือ รสไม่ดี หืนง่าย

## 2. น้ำมันแร่ (mineral oil)

เป็นผลผลิตที่ได้จากอุตสาหกรรมกลั่นน้ำมัน ได้แก่ liquid paraffin หรือ white mineral oil เคยนิยมใช้อยู่ระยะหนึ่ง เนื่องจากมีข้อดี คือไม่เหม็นหืน แต่ไม่ควรใช้เกิน 5% เนื่องจากมีข้อเสีย คือ ละลายสีไม่ดี ทำให้ลิปสติกไม่เรียบ ทำให้ริมฝีปากเลอะเทอะ ไหลเยิ้ม ไม่สลายตัวในธรรมชาติ มักใช้ในปริมาณเล็กน้อยเพื่อให้เกิดความมันเงา (gloss) (จิตราวดี และสุเชาวน์, 2542)

## 3. น้ำมันสังเคราะห์ (synthetic oil)

มี Fatty ester ของ lower alcohol เช่น butyl stearate นิยมใช้เป็นน้ำมันเหลวในลิปสติก เหมือนกัน แต่ละลายสี bromo acid ได้น้อยเพียงร้อยละ 0.2 เป็นน้ำมันเหลวที่สามารถรวมกับเม็ดสี (pigment) ได้ดี ไม่เหนียวข้นเหมือน castor oil สำหรับ isopropyl myristate และ isopropyl palmitate ใช้กันกว้างขวางในการเตรียมลิปสติกเหมือนกัน โดยมีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับ butyl stearate แต่ isopropyl myristate จะทำให้เกิดเหงื่อ (sweat) ได้น้อยกว่า butyl stearate เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ส่วน Fatty alcohol อื่น ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายสีต่างๆ เช่น lauryl , muristyl , stearyl , oleyl และ cetyl alcohol ในบางสูตรจะใช้แทน castor oil แต่จะใช้เฉพาะ refined grade เท่านั้น Oleyl oil เป็นตัวทำละลายสีของ eosin ได้ดีกว่า castor oil จึงมักใช้ในลิปสติกที่ต้องการให้ติดสีผิวสูง (จิตรสมร, 2548)

### 2.3.4.2.2 ไขมัน (ธวัชชัย และคณะ, 2555)

ได้แก่ น้ำมันหมู (lard) ไขวัว (tallow) น้ำมันจากเมล็ดโกโก้ (cocoa butter), lanolin, lecithin, hydrogenated vegetable oil, petrolatum vaseline และอื่นๆ โดยนิยมใช้ hydrogenated vegetable oil เนื่องจากไม่เหม็นหืน ให้ลิปสติกที่แข็งดี และ lanolin ซึ่งช่วยให้สีกระจายตัวดี และผิวริมฝีปากอ่อนนุ่ม สำหรับรายละเอียดของไขมันต่างๆ มีดังนี้

1. ไขมันสัตว์ เช่น น้ำมันหมู (lard) หรือไขวัว (tallow) และไขมันจากสัตว์ต่างๆ เคยนิยมใช้กันอย่างกว้างขวางอยู่ระยะหนึ่ง และปัจจุบันนี้ไม่ได้ใช้ในลิปสติกสมัยใหม่ เนื่องจากเหม็นหืนง่าย

2. Cocoa butter ครั้งหนึ่งเคยถือว่าเป็นส่วนประกอบอุดมคติในลิปสติก เพราะมีความแข็งดี แต่มีจุดหลอมเหลวต่ำโดยหลอมเหลวที่อุณหภูมิร่างกาย และมีคุณสมบัติเป็น emollient ที่ดี ในสมัยโบราณเคยใช้ทาแก้ปากแตก แต่มีข้อเสียคือจะมีเนื้องอกเมื่อทิงไว้ ทำให้

ไม่น่าดูจึงมีข้อจำกัดในการใช้ Cocoa butter มีจุดหลอมเหลวแต่ต่ำกว่า 37 องศาเซลเซียส มักใช้ Cocoa butter ร่วมกับไขมันตัวอื่นๆ

3. Hydrogenated vegetable oil เป็นประเภทเดียวกับที่ใช้ในอาหารซึ่งคงตัว และไม่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จะให้ลิปสติกที่มีเนื้อดี เป็นไขมัน (fat) ที่มีคุณลักษณะเหมือนไขแข็ง (wax) มีลักษณะเป็นไขแข็งมากกว่า oil ได้แก่ hydrogenated castor oil ซึ่งมีคุณสมบัติในการละลายสี eosin ดีอีกด้วย

4. Petrolatum ใช้ในปริมาณน้อย มีความคงตัวดี จะช่วยให้ลิปสติกเกิดความมันวาว สามารถใช้แทนด้วย paraffin oil ที่ขึ้น ส่วนประกอบนี้ยังใช้เป็นสารช่วยปรับความหนืด (consistency) ช่วยในการหล่อลื่น (lubricant) ช่วยให้คุณสมบัติในการกระจายตัวของสีดีขึ้น (spreading properties) แต่การใช้ในปริมาณมากเกินไปจะทำให้เกิดปัญหาในการผสมเข้าด้วยกันกับส่วนผสมอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้ามีส่วนประกอบที่มีขี้วมาร่วมด้วยเช่น castor oil เป็นต้น

5. Acetoglycerides สารตัวนี้มีคุณสมบัติต่างจากไขมันอื่น ทำให้เกิดคุณสมบัติยืดหยุ่นมากขึ้น และทำให้ท่าง่ายขึ้นที่อุณหภูมิต่ำๆ ไม่ทำให้ลิปสติกแข็ง และทำให้เกิดฟิล์มที่ไม่เป็นมัน แต่ทำให้ริมฝีปากอ่อนนุ่ม ป้องกันไม่ให้ลิปสติกกรวนแตกง่าย คุณสมบัติเหล่านี้เหมาะที่จะนำมาใช้ทำลิปสติก

6. Lecithin จะใช้ในปริมาณน้อย ทำให้เนื้อเรียบนุ่มเนียน และทำให้การเตรียมลิปสติกเตรียมได้ง่ายขึ้น Lecithin มีคุณสมบัติช่วยในการกระจายเม็ดสี ช่วยในการทา และเพิ่มการติดสีบนริมฝีปากอีกด้วย

7. Branched-chain hydrocarbon alcohol และ esters เป็นไขมันที่ใช้ในลิปสติก และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางอื่นๆ ที่ทาแล้วไม่เกิดเป็นแผ่นฟิล์มบนผิวหนัง และทำให้น้ำระเหยออกจากผิวหนังในอัตราปกติมากกว่าไขมันที่เป็น straight-chain

8. Lanolin เป็นไขมันที่ได้จากขนแกะ มีคุณสมบัติให้ความชุ่มชื้นดี ใช้ในปริมาณ 2-20% ในการใช้ในปริมาณสูง จะทำให้เกิดผลหล่อลื่น แต่จะเกิดฟิล์มเหนียวมัน เมื่อเก็บไว้นานก็จะเกิดกลิ่นหืน แต่จะช่วยทำให้ยืดหยุ่นดี มันเงา ลดการเกิดเห้งื่อ และการแตกของแท่งลิปสติก (จิตราวดี และสุเชาว์, 2542)

#### 2.3.4.2.3 ไขแข็ง (อรัญญา, 2533)

เป็นส่วนประกอบใน Base ของแท่งลิปสติกที่มีจุดหลอมเหลวสูง และให้ความแข็งดีคือมีคุณสมบัติในการหล่อเป็นแท่งได้ง่าย สามารถเอาออกจากพิมพ์ได้สะดวก เพิ่มความมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เงา เพิ่มความแข็งให้แท่งลิปสติก และทำให้ลิปสติกคงรูปแม้ในอากาศร้อน ไขแข็งแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน แต่ไขแข็งที่ดี เมื่อนำมาผสมกันแล้วจะต้องเป็นรูปแท่งได้ในอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จะต้องคงรูป และยึดส่วนน้ำมันต่างๆ ไม่ให้ไหลเยิ้ม หรือเกิดเหงื่อ (sweat) ต้องทำให้มีเนื้อเรียบ ทำได้ง่าย สีกระจายได้ทั่ว แม้เพียงกดลิปสติกเบาๆ ก็ให้สีออกมาได้ ไขแข็งต่างๆ ที่ใช้ในการเตรียมแท่งลิปสติกมีหลายชนิดแบ่งได้ดังนี้

1. ไขจากสัตว์ (animal Waxes) ได้แก่ beeswax ซึ่งมีจุดหลอมเหลวที่ 62-64 องศาเซลเซียส ในการผลิตลิปสติกจะใช้ bees wax ที่ฟอกสีแล้ว ประกอบด้วย hydrocarbon 11-13 % และ free fatty acid 13% เป็นสารเก่าแก่ที่ใช้ในการทำลิปสติกที่แข็ง (Stiffening agent) ของ castor oil แต่มีข้อเสียคือถ้าใช้ในปริมาณมากเกินไป จะทำให้ลิปสติกที่เนื้อไม่เนียน เนื้อด้านไม่เป็นเงามัน และแตกร่วนระหว่างใช้ได้ ปกติจะใช้ในปริมาณ 3-10 %

Spermaceti เป็นไขแข็งจากสัตว์ที่นิยมใช้ในการเตรียมลิปสติกเหมือนกัน โดยมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ cetylpalmitate และ cetylmyristate ในปริมาณน้อย ช่วยให้คุณสมบัติ thixotropic properties ของแท่งลิปสติกคือในขณะที่ใช้แท่งลิปสติกทาริมฝีปาก เนื้อของลิปสติกจะอ่อนนุ่ม แต่หลังจากทาแล้วยังคงรูปแข็งเป็นแท่งอยู่ได้

2. ไขแข็งจากพืช (Vegetable Waxes) ได้แก่ carnauba wax เป็นไขแข็งจากธรรมชาติที่มีความแข็งมากที่สุด มีจุดหลอมเหลว 85 องศาเซลเซียส ได้มาจากส่วนใบของต้น carnaubapalm ซึ่งพบในประเทศบราซิล โดยทั่วไปใช้เป็นส่วนประกอบช่วยเพิ่มจุดหลอมเหลวของ candelilla wax ใช้เพียงปริมาณเล็กน้อย จะสามารถทำให้จุดหลอมเหลวสูงขึ้น และทำให้แท่งลิปสติกแข็งแรงได้ ปริมาณที่ใช้ตั้งแต่ 1 ถึง 20 % ตามแต่ในสูตรต้องการ

Candelilla wax เป็นไขแข็งจากพืชที่แข็ง แต่เปราะ มีสีน้ำตาล แต่ฟอกสีเป็นสีขาวก่อนนำมาใช้ในการเตรียมแท่งลิปสติก มีจุดหลอมเหลวที่ 65-69 องศาเซลเซียส ไขแข็งนี้จะทำให้แท่งลิปสติกมีเนื้อเรียบ เป็นมัน และทำให้แท่งลิปสติกคงรูปอยู่ได้ นิยมใช้ตั้งแต่ 5-10 % มักใช้ร่วมกับ carnauba wax เพื่อเพิ่มจุดหลอมเหลวของแท่งลิปสติก

3. ไขแข็งจากแร่ (Mineral or Hydrocarbon Waxes) ได้แก่ ozokerites ซึ่งเป็น hydrocarbon wax จากธรรมชาติ เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากน้ำมันดิน มีหลายเกรด และมีจุดหลอมเหลวต่างกัน ประเภทที่มีความแข็งไม่มากนักจะมีปริมาณ mineral oil ผสมอยู่มาก เป็นไขแข็งที่มีรูปร่างไม่แน่นอน อาจมีสีขาว เหลือง หรือน้ำตาลเข้ม ใช้เป็นสารเพิ่มจุดหลอมเหลวของ

แท่งลิปสติก ปกติใช้ในปริมาณ 3-10% ถ้าใช้ในปริมาณมากกว่า 10% จะทำให้แตกร่วนได้ง่ายในระหว่างใช้

Paraffin wax จะมีจุดหลอมเหลวอยู่ในช่วงระหว่าง 50-65 องศาเซลเซียส ประกอบด้วย purified solid hydrocarbon ให้ความแข็งดีแต่เปราะง่าย นอกจากนี้ถ้าใช้ในปริมาณน้อยๆ จะทำให้เป็นมันดี

Cetyl alcohol และ cetostearyl alcohol โดยส่วนของ Cetyl alcohol จะมีจุดหลอมเหลว 45-50 องศาเซลเซียส ส่วน cetostearyl alcohol มีจุดหลอมเหลว 43 องศาเซลเซียส สารทั้งสองตัวนี้มีคุณสมบัติในการเป็น emollient หรือให้ความชุ่มชื้นดีกับผิวหนัง จะใช้ในปริมาณ 2-3% ถ้าใช้ในปริมาณมากกว่า 5% จะทำให้ผิวลิปสติกด้าน และอาจปวดพองได้เมื่อเก็บไว้ ถ้าใช้ในปริมาณมากอาจทำให้เกิดการตกผลึกเล็กๆ ขึ้นที่ผิวลิปสติกเมื่อเก็บไว้ (จิตราวดี และสุเชาวน์, 2542)

Ceresin wax เป็นไขแข็งที่มีจุดหลอมเหลว 60-75 องศาเซลเซียส ใช้เป็นสารเพิ่มจุดหลอมเหลวของลิปสติกคล้าย ozokerite ในส่วนผสมของ ceresin wax กับ carnauba wax และหรือ ozokerite บางครั้งอาจใช้แทน beeswax ได้

Amorphous hydrocarbon waxes in mineral oil เช่น ozokerite wax ใน mineral oil จะให้คุณลักษณะเป็น short fibered texture แก่แท่งลิปสติก

Petroleum-based waxes เช่น microcrystalline wax ใช้ในการปรับความเหนียวของผลิตภัณฑ์

นอกจากนี้ยังมีสารไขแข็งบางชนิด ซึ่งได้แก่ hydrogenated castor oil ซึ่งเป็นไขที่เปราะง่ายทำให้เกิดความมันวาว แต่เนื้อลิปสติกไม่ค่อยดี จะใช้ได้ปริมาณ 15-20% ยังมีไขแข็งสังเคราะห์ของบริษัทต่างๆ ที่ผลิตขึ้น ซึ่งเป็นไขแข็งที่มีคุณสมบัติสม่ำเสมอ และไม่เปลี่ยนแปลงมากเหมือนจากธรรมชาติ แต่มักมีราคาแพง สำหรับสูตรสามารถทราบได้จากเอกสารของบริษัทต่างๆ ในบางครั้งมีของผสมไขแข็งตามท้องตลาดสำเร็จรูป เช่น silicone wax จะประกอบด้วยส่วนผสมไขแข็งต่างๆ พร้อมด้วยตัวทำละลายสีและสีต่างๆ โดยสารตัวนี้ไม่ละลายทั้งในน้ำ และในแอลกอฮอล์ หรือในน้ำมันอินทรีย์ ใช้เป็นตัวเพิ่มความเหนียว มีความคงตัว มีจุดหลอมเหลวชัดเจน และไม่ละลายตัวเมื่อเก็บไว้นานๆ นิยมใช้ในลิปสติกเช่นกัน

### 2.3.4.3 สารแต่งกลิ่นและรส (อรัญญา, 2533)

ในการแต่งกลิ่นลิปสติกเป็นสิ่งที่สำคัญมาก ควรจะต้องคุ้นเคยกับลิปสติกต่างๆ โดยจะต้องเลือกหัวน้ำหอมที่มีส่วนประกอบเหมาะสมกับ Base ของลิปสติก และจะต้องมีประสมการณ์เกี่ยวกับน้ำหอมมากพอสมควรอีกด้วย กลิ่นของลิปสติกมีความสำคัญในการสร้างความนิยมจากผู้ซื้อ ควรเลือกกลิ่นที่ติดลมกล่อม หรือกลบกลิ่นเฉพาะตัวของไข และน้ำมันได้ ควรเป็นกลิ่น และรสดีไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บไว้อีกด้วย ไม่ทำให้เกิดอาการแพ้ หรือทำให้ริมฝีปากเห่อบวมคัน โดยปกติ น้ำหอมที่ใช้ไม่ควรมีกลิ่นน้ำมันควรเป็นกลิ่นดอกไม้อ่อนๆ กลิ่นผลไม้หรือขนม หรือกลิ่นเครื่องเทศ ซึ่งสามารถเข้าได้กับไข และน้ำมันของลิปสติก ไม่ควรใช้หัวน้ำหอมที่มีส่วนผสมของ methyl heptene, carbonate benzyldene และ acetone เนื่องจากอาจจะทำให้เกิดอาการแพ้ หรือ oil of bergamote จะทำให้เกิดอาการผิวคล้ำ ริมฝีปากดำเมื่อใช้นานๆ ปริมาณที่ใช้มักใช้ในปริมาณ 2-4% กลิ่นที่ใช้ดี ได้แก่ Rose, Aniseed, Cinnamon, Clove, Lemon, Orange และ Tangerine ส่วนกลิ่นที่ไม่ใช่ คือ Geranium, Patchouly และ Petitgrain oil เป็นต้น

สำหรับน้ำหอมบางชนิดที่มีข้อขัดแย้ง โดยบางคนกล่าวว่าใช้ได้กับลิปสติก แต่บางคนกล่าวว่าไม่เหมาะสมที่จะใช้ในลิปสติก ได้แก่ Cloves Geranium Phenyl ethyl alcohol Patchouly Sandalwood Vetiver และ YlangYlang

การใช้สารที่เป็นผลึกในการแต่งกลิ่นลิปสติก เช่น coumarin หรือ vanillin จะต้องใช้ด้วยความระมัดระวัง และใช้ในจำนวนน้อย เพื่อหลีกเลี่ยงการตกผลึกซึ่งจะทำให้เนื้อลิปสติกไม่เรียบ

การระคายเคืองซึ่งเกิดจากลิปสติกนั้นยังเป็นข้อขัดแย้งกันอยู่ ทั้งนี้เพราะเนื่องจากการที่ร่างกายมีปฏิกิริยาตอบโต้ต่อสารผิดไปจากคนอื่นๆ (personal idiosyncrasy) หรือเป็นอาการแพ้ที่เกิดขึ้น โดยเฉพาะของแต่ละบุคคล ซึ่งอาจเกิดจากส่วนประกอบบางอย่างของลิปสติก โดยเฉพาะสี นอกจากนี้การทำ lip gloss โดยการใช้นิ้วมือก็อาจเป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้เกิดการติดเชื้อที่ผิวหนังได้ ถึงแม้ว่าทางผู้ผลิตจะได้ใส่ preservative ที่มีประสิทธิภาพและปริมาณน้ำในผลิตภัณฑ์เกือบจะไม่มีก็ตาม

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1 เชื้อรา *Monascus purpureus* จากภาคชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

#### 3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.2.1 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
- 3.2.2 เครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave)
- 3.2.3 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 3.2.4 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- 3.2.5 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)
- 3.2.6 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
- 3.2.7 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaker)
- 3.2.8 เครื่องวัดค่าสีระบบ CIE L\*a\*b\* (Color spectrometer)
- 3.2.9 Uv light
- 3.2.10 ตู้บ่ม (Incubator)
- 3.2.11 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
- 3.2.12 ไมโครเวฟ (Microwave)
- 3.2.13 คอลัมน์โครมาโตกราฟี (Column chromatography)
- 3.2.14 เครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและสุญญากาศ (Freeze dryer)
- 3.2.15 ขาตั้ง (Stand)
- 3.2.16 แหมเบอร์แบบมีฝาปิด
- 3.2.17 แผ่น TLC Silica gel
- 3.2.18 หลอดคาพิลลารี (Capillary tube)
- 3.2.19 ขวดแก้วใส่สาร
- 3.2.20 ฟลasks (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.2.21 บีกเกอร์ (Beaker)
- 3.2.22 กระบอกตวง (Cylinder)
- 3.2.23 ปิเปต (Pipette)
- 3.2.24 จุกยาง
- 3.2.25 ออโต้ปิเปตขนาด 20-200 ไมโครลิตร
- 3.2.26 ทิป (Tips)
- 3.2.27 ซ้อนตักสาร
- 3.2.28 แคลมป์ (Clamp)
- 3.2.29 จานเพาะเลี้ยง (Petri dish)
- 3.2.30 เข็มเย็บเยื่อ (Needle)
- 3.2.31 ลวดเย็บเยื่อ (Loop)
- 3.2.32 Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 mm.
- 3.2.33 แท่งแก้วคนสาร
- 3.2.34 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 3.2.35 ตะแกรงกรอง
- 3.2.36 แผ่นพาราฟิล์ม
- 3.2.37 ชุดกรองสารและแผ่นกรอง whatman number 1
- 3.2.38 หลอดหยดสาร (Dropper)
- 3.2.39 โกร่งบดสาร
- 3.2.40 โหมคพิมพ์ลิปสติก (Lipstick Mold)
- 3.2.41 ปลูกลิปสติก (Lipstick case )
- 3.2.42 ขวดลิปกลอส
- 3.2.43 คีมคีบ (Forcep)

### 3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

- 3.3.1 สารสกัดยีสต์ (Yeast extract)
- 3.3.2 เปปโตน (Peptone)
- 3.3.3 มอลต์สกัด (Malt extract)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.4 แป้งมันสำปะหลัง
- 3.3.5 ผงถั่วเหลือง 100% (ตราคอกยคำ)
- 3.3.6 เอทานอล 95% ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$ )
- 3.3.7 เมทานอล ( $\text{CH}_3\text{OH}$ )
- 3.3.8 คลอโรฟอร์ม ( $\text{CHCl}_3$ )
- 3.3.9 อะซีโตน ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ )
- 3.3.10 ซิลิกาเจล (Silica gel)
- 3.3.11 อลูมิเนียมคลอไรด์ ( $\text{AlCl}_3$ )
- 3.3.12 Lanolin anhydrous บริษัท วันรัต (หน้าเขียน) จำกัด
- 3.3.13 Organic virgin coconut oil บริษัท มูนวิสเปอร์ฟาร์ม จำกัด
- 3.3.14 Propylene glycol บริษัท วันรัต (หน้าเขียน) จำกัด
- 3.3.15 Refined shea butter บริษัท ทรอปีคอลลไลฟ์ จำกัด
- 3.3.16 Soy lecithin บริษัท Myskinrecipes
- 3.3.17 Vassaline petroleum jelly บริษัท Myskinrecipes
- 3.3.18 UV sprese บริษัท วันรัต (หน้าเขียน) จำกัด
- 3.3.19 Cocoa butter บริษัท ทรอปีคอลลไลฟ์ จำกัด
- 3.3.20 น้ำมันละหุ่งหวาน บริษัท วิทยาศาสตร์ จำกัด
- 3.3.21 สารกันเสีย (Germaben II) บริษัท วันรัต (หน้าเขียน) จำกัด
- 3.3.22 Prime yellow carnuba wax บริษัท วันรัต (หน้าเขียน) จำกัด
- 3.3.23 Ozokerite wax บริษัท วันรัต (หน้าเขียน) จำกัด
- 3.3.24 Refined candellila wax บริษัท วันรัต (หน้าเขียน) จำกัด
- 3.3.25 ทานาคา บริษัท ไทยเนเชอรัลเอสเซนส์ จำกัด
- 3.3.26 สีส้มอาหาร บริษัท ห้างหุ้นส่วนจำกัด เททฮิลล์
- 3.3.27 ข้าวหอมมะลิ ตราทอปส์
- 3.3.28 Beeswax บริษัท วันรัต (หน้าเขียน) จำกัด

### 3.4 วิธีการทดลอง

#### 3.4.1 การเก็บรักษาเชื้อราโมแนสคัส

เตรียมกล้าเชื้อรา *Monascus purpureus* โดยใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 mm. ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว กดลงไปบริเวณขอบโคโลนีที่มีเส้นใยของเชื้อรา และไม่มีการสร้างสปอร์ โดยชิ้นวุ้นจะมีลักษณะกลม จากนั้นใช้เข็มเย็บเชื้อเกี่ยวชิ้นวุ้นที่ได้มาวางลงบนอาหารแข็ง MYS โดยคว่ำให้ด้านที่มีเส้นใยของเชื้อราสัมผัสกับพื้นผิวของอาหารจำนวน 1 ชิ้น ใช้แผ่นพาราฟิล์มมาพันบริเวณรอบเพลาเพื่อป้องกันการปนเปื้อน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-14 วัน และทำการถ่ายเชื้อลงในอาหารใหม่ทุกๆเดือน เพื่อเป็นการเก็บรักษาเชื้อ

##### 3.4.1.1 การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว

นำอาหารเหลว SS (ภาคผนวก ก) บรรจุลงในพลาสติกขนาด 250 มล. ปริมาตร 100 มล. จากนั้นถ่ายเชื้อราที่ได้จากข้อ 3.4.1 โดยใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 mm. กดลงไปบริเวณขอบโคโลนีที่มีเส้นใยของเชื้อรา และไม่มีการสร้างสปอร์ จากนั้นใช้เข็มเย็บเชื้อเกี่ยววุ้นลงในอาหารเหลว SS จำนวน 2 ชิ้น ปิดพลาสติกด้วยจุกสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ก่อนนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่า (Shaker) ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 วัน

#### 3.4.2 ศึกษาการเจริญและระยะเวลาในการสร้างรงควัตถุของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิ

การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวหอมมะลิเพื่อผลิตสารสีโดยดัดแปลงจากวิธีการทำข้าวแดงของบุษบา, 2542

##### 3.4.2.1 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสเพื่อผลิตสารสีบนอาหารแข็งข้าวหอมมะลิ

เตรียมข้าวโดยใช้ข้าวสารหอมมะลิต่อน้ำในอัตราส่วน 1:1 (เตรียมโดยชั่งข้าวหอมมะลิ 50 กรัม เติมน้ำ 50 กรัม) นำไปแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชม. ฝั้่งให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลาประมาณ 30 นาที จากนั้นบรรจุข้าวลงในพลาสติกขนาด 500 มล. ปริมาตร 100 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายกล้าเชื้อราโมแนสคัสที่เลี้ยงในอาหารเหลว SS ดังข้อ 3.4.1.1 ลงในข้าวที่เตรียมไว้ ปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อ

พลาสติก ปิดพลาสติกด้วยจุกสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในระหว่างการบ่มต้องทำการเขย่าพลาสติกทุกวัน เพื่อป้องกันไม่ให้ขี้ขาวจับตัวกันเป็นก้อน

### 3.4.3 ศึกษาวิธีการสกัดรงควัตถุของเชื้อราโมแนสคัส

3.4.3.1 การสกัดสารสีเพื่อเตรียมสำหรับการใช้วิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี

นำขี้ขาวแดงที่ได้จากการหมักของเชื้อราโมแนสคัสจากข้อ 3.4.2.1 มาหนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นบรรจุขี้ขาวแดงที่ได้ลงในพลาสติกขนาด 500 มล. จำนวน 50 กรัม สกัดรงควัตถุโดยใช้เอทานอล 95% ปริมาตร 250 มล. ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นปิดพลาสติกด้วยแผ่นพาราฟิล์ม ก่อนปิดทับด้วยกระดาษฟอยล์อีกชั้นหนึ่ง ทำการเขย่าด้วยเครื่องเขย่า ที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 นาที เมื่อครบเวลาแล้วนำของเหลวที่สกัดได้มากรองด้วยชุดกรอง โดยใช้กระดาษกรอง whatman number 1 จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จนได้สารสีที่เข้มข้น (Crude pigment) โดยเหลือเอทานอลอยู่ประมาณ 20-30 มล. นำสารสีที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 470 และ 500 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer บันทึกผลการทดลอง

3.4.3.2 การวิเคราะห์ค่าสีโดยระบบ Hunter lab ด้วยเครื่อง Chroma Meter

นำสารสีเข้มข้น (Crude pigment) ที่ได้จากข้อ 3.4.3.1 มาวิเคราะห์ค่าสีโดยระบบ Hunter lab การวัดสีด้วยเครื่องวัดสี Minolta Camera ในระบบ Hunter Lab จะให้ค่าสี L เป็นค่าความสว่าง (Lightness) ค่าสี a เป็นค่าสีแดง และสีเขียว (Redness/Greeness) ค่าสี b เป็นค่าสีเหลือง และสีน้ำเงิน (Yellowness/Blueness) โดยที่ ค่าสี L\* คือ ค่าแสดงความสว่างของสี มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100 กรณีถ้า L\* มีค่าเป็น 0 หมายถึง มีด (darkness) แต่ถ้ามีค่าเป็น 100 หมายถึง สว่าง (lightness) ค่าสี a\* คือ แสดงความเป็นสีแดง และเขียว (redness/greeness) กรณีถ้า a\* มีค่าเป็นบวก หมายถึง สีแดง และกรณี ถ้า a\* มีค่าเป็นลบ หมายถึง สีเขียว ค่าสี b\* คือ แสดงความเป็นสีเหลือง และน้ำเงิน (yellowness/blueness) กรณีถ้า b\* มีค่าเป็นบวก หมายถึง สีเหลือง และกรณีถ้า b\* มีค่าเป็นลบ หมายถึง สีน้ำเงิน

เริ่มจากการปรับมาตรฐานเครื่องด้วยแผ่นสีขาวมาตรฐาน (White blank) ให้  $L = 97.67$ ,  $a = -0.18$ ,  $b = +1.84$  จากนั้นใส่ตัวอย่างสีของเราลงในถ้วยพลาสติกขาว 25-30 มล. นำหัววัดของเครื่องวัดสีจุ่มลงในตัวอย่าง โดยวัด 3 ซ้ำ บันทึกค่าสี  $L, a^*, b^*$  นำมาหาค่าเฉลี่ย และวิเคราะห์เฉดสี

### 3.4.4 การวิเคราะห์สารสีโดยเทคนิคโครมาโตกราฟี

#### 3.4.4.1 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี

บรรจุคอลัมน์โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ (Stationary phase) ชั้นแรกนำซิลิกาเจลมาผสมกับเมทานอลเพื่อให้อยู่ในรูปของสารแขวนลอยที่มีลักษณะข้นเหลว (Slurry) จากนั้นค่อยๆบรรจุลงในคอลัมน์ที่มีแผ่นเมมเบรนกั้นอยู่ที่ปลายด้านใน รอจนซิลิกานอนกั้น แล้วจึงปล่อยตัวทำละลายให้ไหลออกไปโดยรักษาระดับให้อยู่เหนือซิลิกาเจลเล็กน้อย ควรทำให้ผิวหน้าของตัวดูดซับเรียบเพื่อให้สารสีที่ต้องการแยกไหลลงมาเป็นระนาบเดียวกัน

บรรจุสารสี (Crude pigment) ที่สกัดได้จากข้อ 3.4.3.1 ลงในคอลัมน์ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วปล่อยให้สารสีไหลลงมาจากผิวหน้าเกือบแห้ง ค่อยๆเติมเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่มีส่วนผสมระหว่างคลอโรฟอร์ม ( $\text{CHCl}_3$ ) ต่อเมทานอล ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) ในอัตราส่วน 9:1 ปริมาตร 600 มิลลิลิตร ทำการเก็บสารสีที่ผ่านคอลัมน์ลงในหลอด เก็บหลอดละ 20 มิลลิลิตร เมื่อสารที่ออกมาเปลี่ยนเป็นสีใส ปล่อยให้เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ไหลลงมาจากผิวหน้าของซิลิกาเกือบแห้ง จากนั้นทำการชะสารในคอลัมน์ด้วยการเปลี่ยนชนิดของเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เป็นเมทานอล ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) เก็บสารที่ได้ลงในหลอดเช่นเดียวกับตอนแรก เก็บตัวอย่างจนกระทั่งสารที่ออกมาเปลี่ยนเป็นสีใสอีกครั้ง สารที่เราแยกได้จะแบ่งออกเป็น 2 fraction โดย fraction ที่ 1 คือเมทานอล fraction ที่ 2 คือ ส่วนของคลอโรฟอร์ม ( $\text{CHCl}_3$ ) ต่อเมทานอล ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) ในอัตราส่วน 9:1 จากนั้นนำไปประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) ซึ่งสุดท้ายแล้วจะได้สารสีที่เข้มข้น (Crude pigment) จำนวน 2 fraction เพื่อนำไปใช้ทดสอบต่อไป

#### 3.4.4.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของสีด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี

นำสารสีทั้งสอง fraction ที่ผ่านคอลัมน์โครมาโตกราฟี มาจุดสารสี ลงบนแผ่น TLC silica gel ที่มีความหนา 0.50 มิลลิเมตร แผ่นเดียวกัน โดยใช้ capillary tube ใช้คลอโรฟอร์ม ( $\text{CHCl}_3$ ) ต่อเมทานอล ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) ในอัตราส่วน 9:1 เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) รอจนกระทั่งตัวทำละลาย

เคลื่อนที่จนถึง Solvent front จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้ง ก้อนนำไปส่องดูภายใต้ UV light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร เพื่อสังเกตโครมาโตแกรมที่เกิดขึ้น

3.4.4.3 การวิเคราะห์ซีทรินินที่เป็นองค์ประกอบในสารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสโดยดัดแปลงจากวิธีของ Bao-jun Xu และคณะ, 2004

ทำการทดสอบสารสี (fraction ที่ 2) ที่ได้จากข้อ 3.4.4.1 ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีอีกครั้ง โดยใช้คลอโรฟอร์ม ( $\text{CHCl}_3$ ) ต่ออะซีโตน ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ ) ในอัตราส่วน 9:1 เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เพื่อแยกส่วนสีที่คาดว่าจะเป็ยซีทรินินออก ซึ่งเก็บได้ทั้งหมด 12 fraction แล้วนำมาจุดลงบนแผ่น TLC silica gel พร้อมทั้งจุดสารละลายซีทรินินที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยใช้คลอโรฟอร์ม ( $\text{CHCl}_3$ ) ต่ออะซีโตน ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ ) อัตราส่วน 9:1 เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) รอนจนจนกระทั่งเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เคลื่อนที่จนถึง Solvent front จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งนำไปส่องดูภายใต้ UV light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร สังเกตการเกิดโครมาโตแกรมของสารทั้ง 12 fraction พบว่ามีลักษณะโครมาโตแกรมที่เหมือนกัน จึงได้นำสารทั้ง 12 fraction มารวมกันนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evedporator) ซึ่งสุดท้ายแล้วจะได้สารสีเข้มข้น (Crude pigment) เป็น fraction ที่ 3 (คลอโรฟอร์มต่ออะซีโตน อัตราส่วน 9:1)

จุดสารละลายซีทรินินที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร และ Fraction 3 ลงบนแผ่น TLC silica gel โดยใช้คลอโรฟอร์มต่ออะซีโตน (9:1) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เพื่อเปรียบเทียบระหว่างการเกิดโครมาโตแกรมของซีทรินินกับ fraction 3 จากนั้นนำไปส่องดูภายใต้ UV light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร สังเกตการเกิดโครมาโตแกรม พบว่าสารละลายซีทรินินเป็นสีเหลืองเรืองแสง ทำการทดสอบซ้ำเพื่อยืนยันผลการวิเคราะห์ซีทรินิน โดยการพ่นสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  2 กรัม ต่อ  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  100 มล.) บนแผ่น TLC silica gel ก่อนนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วส่องดูภายใต้ UV light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร หากเป็นซีทรินิน สีเหลืองเรืองแสงจะเปลี่ยนเป็นสีฟ้าเรืองแสง

### 3.4.5 ศึกษาวิธีการสกัดตรงควัตถุที่เหมาะสมของกระเจี๊ยบและบิทูท

3.4.5.1 ศึกษาเปรียบเทียบสภาวะการสกัดตรงควัตถุระหว่างเอทานอลและน้ำกลั่น ที่เวลาเท่ากัน

เตรียมกระเจี๊ยบแห้งเพื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดโดยใช้เอทานอล 95 % กับวิธีการสกัดโดยใช้น้ำกลั่น วิธีที่ 1 ชั่งกระเจี๊ยบแห้ง 50 กรัม เติมน้ำเอทานอล 95 % ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปิดภาชนะที่บรรจุให้สนิท ทิ้งไว้ 20 นาที วิธีที่ 2 ต้มน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เมื่อน้ำเดือดใส่กระเจี๊ยบแห้งลงไป 50 กรัม หลังจากนั้นใช้ไฟอ่อนต้มเป็นเวลา 20 นาที นำตัวอย่างที่ได้จากวิธีที่ 1 และ 2 ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

เตรียมบิทูทสดที่ผ่านการปอกเปลือกแล้ว หั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกเต๋า เพื่อทำการสกัดโดยใช้เอทานอล 95 % ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปิดภาชนะที่บรรจุ รอจนครบเวลา 20 นาที วิธีที่ 2 ต้มน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร เมื่อน้ำเดือดใส่บิทูทลงไป 50 กรัม หลังจากนั้นใช้ไฟอ่อนต้มเป็นเวลา 20 นาที นำตัวอย่างที่ได้จากวิธีที่ 1 และ 2 ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

#### 3.4.5.2 การสกัดสีจากกระเจี๊ยบและบิทูทด้วยวิธีการต้ม

ใช้สภาวะการสกัดตรงควัตถุด้วยน้ำกลั่น โดยนำกระเจี๊ยบแห้งใส่ลงในน้ำกลั่นเดือดในสัดส่วน 1:10 (กระเจี๊ยบแห้ง 50 กรัมต่อน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร) ต้มเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำน้ำกระเจี๊ยบที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman number 1 นำบิทูทสดปอกเปลือกหั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกเต๋า ใส่ลงในน้ำกลั่นขณะเดือดโดยใช้สัดส่วนเดียวกับกระเจี๊ยบแห้ง ต้มเป็นเวลา 20 นาที นำน้ำบิทูทที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman number 1 เก็บสารสกัดที่ได้ในตู้เย็นเพื่อนำไป Freeze dry ในขั้นตอนต่อไป

### 3.4.6 การสกัดสารสีเพื่อนำไปใช้ในการทำลิปสติกจากกระเจี๊ยบและบิทูทด้วยวิธี Freeze dry

ตรวจเช็ค ethanol ในอ่าง cooling ให้อยู่ในระดับที่ใช้งานได้ เปิดเครื่องไว้กระทั่งอุณหภูมิอ่าง cooling ลงถึงอย่างน้อย  $-40^{\circ}\text{C}$  จึงจะเริ่มใช้งานได้ นำตัวอย่างที่ได้จากข้อ 3.4.5.2 เติมนลงในพลาสติกไม่เกิน 50% ของพลาสติก นำพลาสติกตัวอย่างมาหมุนเข้ากับแท่นวางที่ตั้งอยู่เหนืออ่าง cooling เปิดเครื่องหมุน และปรับระดับความเร็วในการหมุน เมื่อตัวอย่างเปลี่ยนเป็นของแข็ง และเคลือบจนทั่วพลาสติกแล้ว นำพลาสติกออกเพื่อต่อเข้ากับเครื่อง Freeze dry ที่เปิดเครื่องไว้ก่อนการใช้งาน 15-30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาที่ นำพลาสติกบรรจุตัวอย่าง ที่ผ่านการ freeze แล้วมาต่อเข้ากับวาล์วโดยค่อยๆ หมุนวาล์วขึ้น ด้านบน 180 องศา ทำการ Freeze dry เป็นเวลา 2 วัน ตัวอย่างที่ได้จะมีลักษณะแห้งเป็นผง เพื่อนำไปใช้ทำลิปสติกในขั้นตอนต่อไป

### 3.4.7 การทำลิปสติกที่มีส่วนผสมจากเชื้อราโมแนสคัสและกระเจี๊ยบ

ล้างแม่พิมพ์ลิปสติกให้สะอาด เช็ดให้แห้งจากนั้นหล่อแม่พิมพ์ด้วยสารหล่อลื่น เพื่อป้องกันไม่ให้ลิปสติกติดกับแม่พิมพ์ และถอดได้ง่าย เตรียมส่วนผสมโดยชั่งส่วนผสมต่างๆ ตามสูตร โดยแบ่งส่วนผสมออกเป็น 3 ส่วน ส่วนแรก คือ

ส่วน A เป็นส่วนผสมของ Beeswax, Refined candellila wax, Prime yellow carnuba wax และ Cocoa butter แล้วนำส่วนผสมทั้งหมดมาละลายรวมกัน โดยใช้ water bath ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส จนส่วนผสมทั้งหมดละลายเป็นของเหลว

ส่วน B คือส่วนผสมของน้ำมันมะพร้าว, น้ำมันละหุ่ง, Lanolin anhydrous, Vassaline petroleum jelly, Propylene glycol, Soy lecithin, ฟงทานาคา และ Shea butter นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ลงในบีกเกอร์ ทำการผสมให้เข้ากัน

ส่วน C คือส่วนผสมของสี ได้แก่ สีที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัส และผงสีผสมอาหาร (สีส้มแดง) หรือเป็นผงสีที่สกัดได้จากกระเจี๊ยบและผงสีผสมอาหาร (สีแดงคิงคอต) โดยชั่งผงสีที่สกัดได้จากกระเจี๊ยบ 1 กรัม นำมาผสมกับน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำมากรองด้วยตะแกรงกรอง เพื่อแยกตะกอนของผงสีกระเจี๊ยบออก เดิมผงสีผสมอาหาร แล้วผสมให้เข้ากัน นำส่วนผสม C เทใส่ลงไปในส่วนผสม B แล้วคนให้เข้ากัน จากนั้นเทส่วนผสมทั้งหมดนี้ ลงในส่วนผสม A คนให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยทำการรักษาอุณหภูมิไว้ที่ 80-85 องศาเซลเซียส นำส่วนผสมที่ได้เทบรรจุลงในแม่พิมพ์ลิปสติก รอให้ส่วนผสมแข็งตัว แกะแม่พิมพ์ลิปสติกออกแล้วประกอบเข้ากับฐานลิปสติก จากนั้นจึงได้เป็นลิปสติก

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของสูตรลิปสติก (Lipstick)

ส่วน A : วัตถุดิบและสารเคมี	ปริมาณ	ร้อยละโดยน้ำหนัก
Beeswax	1.4 กรัม	3.90
Prime yellow carnuba wax	0.6 กรัม	1.70
Refined candellila wax	0.8 กรัม	2.26
Cocoa butter	0.8 กรัม	2.26
<b>ส่วน B : วัตถุดิบและสารเคมี</b>		
Lanolin anhydrous	0.7 กรัม	1.98
Vassaline petroleum jelly	4.0 กรัม	11.34
Propylene glycol	1.2 กรัม	3.40
Organic virgin coconut oil	6.0 กรัม	17.01
น้ำมันละหุ่ง	5.0 กรัม	14.17
Soy lecithin	1.5 กรัม	4.25
ผงทานาคา	0.5 กรัม	1.41
Shea butter	1.0 กรัม	2.83
UV sprese	0.75 กรัม	2.12
<b>ส่วน C : วัตถุดิบและสารเคมี</b>		
สีผสมอาหาร	0.02 กรัม	0.05
สีโมแนสคัส	10.0 มล.	28.35
ผงสีกระเจี๊ยบ	1.0 กรัม	2.83

หมายเหตุ เลือกใช้สีผสมอาหารสีส้มแดง ผสมกับสีโมแนสคัส

เลือกใช้สีผสมอาหารสีแดงคิงคอลล ผสมกับผงสีกระเจี๊ยบ

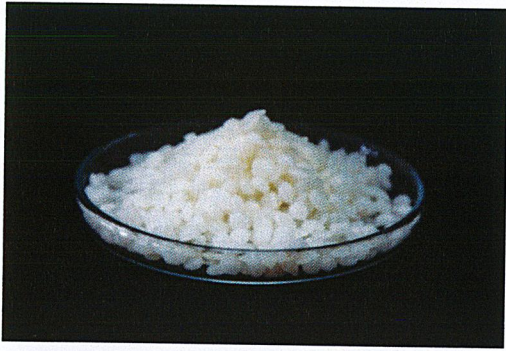
### 3.4.8 การทำลิปสติกเหลวที่มีส่วนผสมของสีจากบีทรูท

ซึ่งส่วนผสมต่างๆตามสูตรดังตารางที่ 3.2 แบ่งส่วนผสมออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรก คือ ส่วน A เป็นส่วนผสมของน้ำมัน คือ Organic virgin coconut oil, น้ำมันละหุ่ง, Lanolin anhydrous, Vaseline petroleum jelly, Propylene glycol, Soy lecithin และแป้งทานาคา นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ลงในบีกเกอร์ ผสมให้เข้ากันที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส ใน water bath

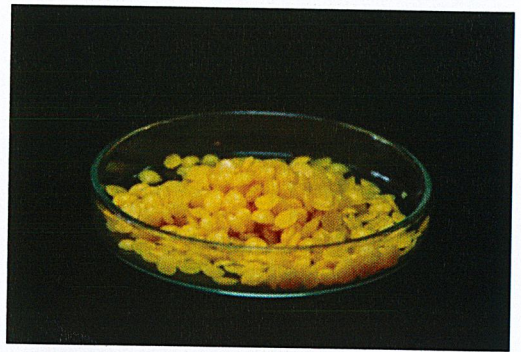
ส่วน B คือส่วนผสมของสี ได้แก่ ผงสีที่สกัดได้จากบีทรูท และสีผสมอาหาร โดยทั้งผงสีที่ได้จากบีทรูท 1 กรัม และสีผสมอาหาร 0.02 กรัม นำมาผสมกับน้ำกลั่น 3 มล. ผสมให้เข้ากันที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส จากนั้นนำส่วนผสม A ผสมลงไปในส่วนผสม B คนให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยรักษาสภาวะไว้ที่อุณหภูมิเดิม จากนั้นเติม Beeswax และ Refined candellila wax ลงในส่วนผสมทั้งหมด ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน ก่อนบรรจุลงในขวดลิปกลอส

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบสูตรลิปสติกเหลว

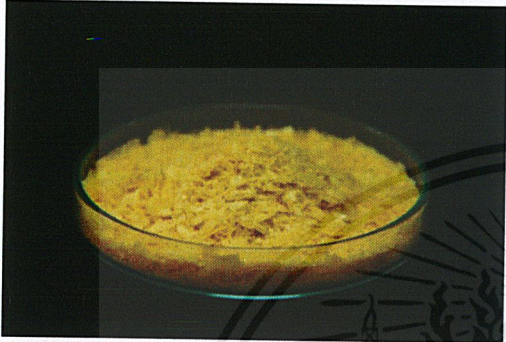
ส่วน A : วัตถุดิบและสารเคมี	ปริมาณ	ร้อยละโดยน้ำหนัก
Lanolin anhydrous	0.5 กรัม	3.44
Vaseline petroleum jelly	0.2 กรัม	1.37
Propylene glycol	0.6 กรัม	4.13
Organic virgin coconut oil	5.0 กรัม	34.43
น้ำมันละหุ่ง	5.0 กรัม	34.43
Soy lecithin	1.0 กรัม	6.88
ผงทานาคา	0.5 กรัม	3.44
UV sprese	0.1 กรัม	0.68
<b>ส่วน B : วัตถุดิบและสารเคมี</b>		
ผงสีบีทรูท	1.0 กรัม	6.88
Beeswax	0.3 กรัม	2.06
Refined candellila wax	0.3 กรัม	2.06
สีผสมอาหาร (สีส้มแดง)	0.02 กรัม	0.13



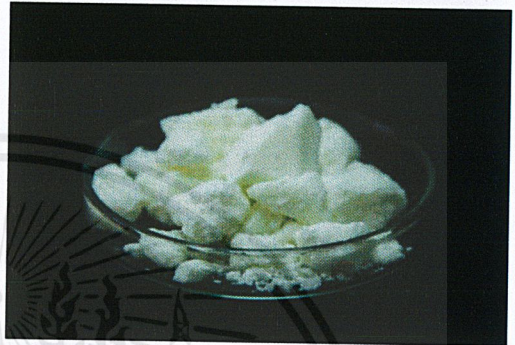
ก.



ข.



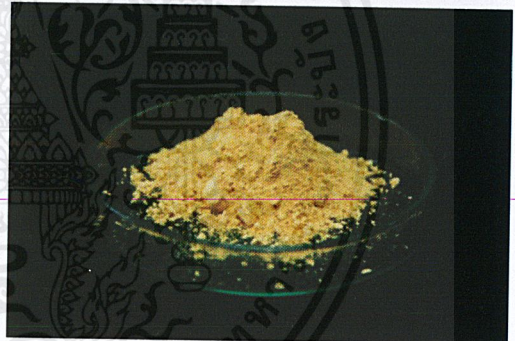
ค.



ง.



จ.



ฉ.

รูปที่ 3.1 ส่วนผสมที่ใช้ในการทำลิปสติก และลิปสติกเหลว

รูป ก. Beeswax

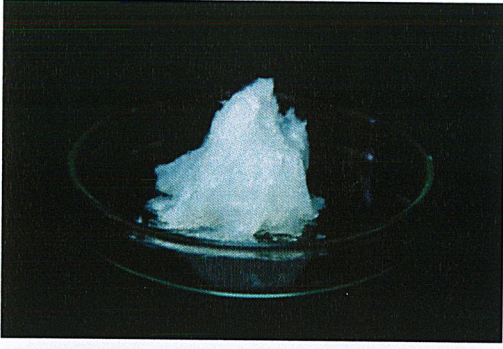
รูป ข. Refined candellila wax

รูป ค. Prime yellow carnuba wax

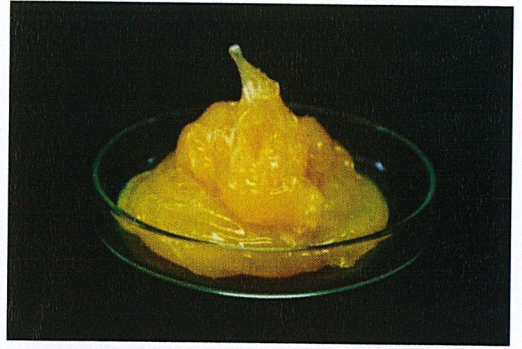
รูป ง. Cocoa butter

รูป จ. Shea butter

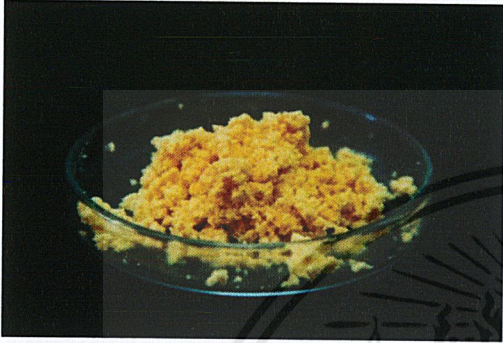
รูป ฉ. ผงทานาคา



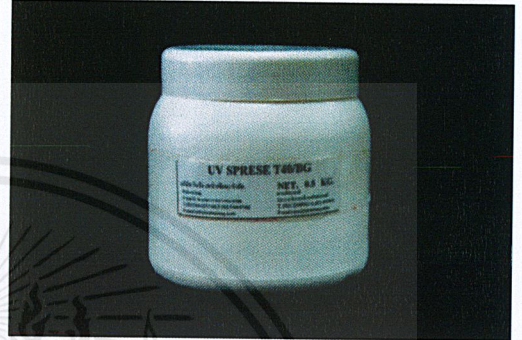
ช.



ซ.



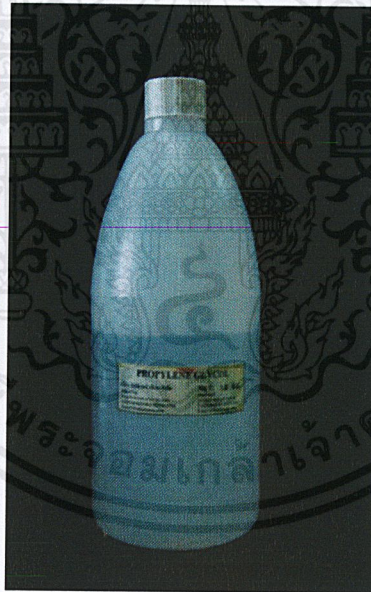
ฅ.



ญ.



ฎ.



ฏ.



ฐ.

### รูปที่ 3.2 ส่วนผสมที่ใช้ในการทำลิปสติก และลิปสติกเหลว

รูป ช. Vaseline petroleum jelly

รูป ซ. Lanolin anhydrous

รูป ฅ. Soy lecithin

รูป ญ. UV sprese

รูป ฎ. Organic virgin coconut oil

รูป ฏ. Propylene glycol

รูป ฐ. น้ำมันละหุ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

#### 4.1 ศึกษาวิธีการสกัดสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus*

##### 4.1.1 ผลจากการสกัดสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus*

จากการทดลอง ในการสกัดสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* โดยใช้เอทานอล 95 % อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 นาที นำของเหลวที่สกัดได้มากรองด้วยชุดกรองโดยใช้กระดาษกรอง Whatman number 1 จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) จนได้สารสีเข้มข้น (Crude pigment) มีสีแดงเข้ม ดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะสารสี (Crude pigment) ที่สกัดได้จากเชื้อรา *Monascus purpureus*

จากนั้นนำสารสีเข้มข้น (Crude pigment) ไปวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดค่าสี Chroma meter และวัดค่าการดูดกลืนแสง (Optical density, O.D) โดยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400, 470 และ 500 นาโนเมตร โดยเครื่อง Spectrophotometer ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.1 และ 4.2

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการวัดค่าสีที่สกัดได้จากเชื้อรา *Monascus purpureus* ด้วยเครื่องวัดค่าสี

Chroma meter ในระบบ Hunter Lab

ตัวอย่าง	L*	a*	b*	เฉดสี
สีจากเชื้อราโมแนสคัส	11.68	15.35	-3.86	ม่วงแดง

การวัดสีด้วยเครื่องวัดสี Minolta Camera ในระบบ Hunter Lab จะให้ค่าสี L เป็นค่าความสว่าง (Lightness) ค่าสี a เป็นค่าสีแดง และสีเขียว (Redness/Greenness) ค่าสี b เป็นค่าสีเหลือง และสีน้ำเงิน (Yellowness/Blueness) โดยที่ ค่าสี  $L^*$  คือ ค่าแสดงความสว่างของสี มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100 กรณีถ้า  $L^*$  มีค่าเป็น 0 หมายถึง มืด (darkness) แต่ถ้ามีค่าเป็น 100 หมายถึง สว่าง (lightness) ค่าสี  $a^*$  คือ แสดงความเป็นสีแดง และเขียว (redness/greenness) กรณีถ้า  $a^*$  มีค่าเป็นบวก หมายถึง สีแดง และกรณี ถ้า  $a^*$  มีค่าเป็นลบ หมายถึง สีเขียว ค่าสี  $b^*$  คือ แสดงความเป็นสีเหลือง และน้ำเงิน (yellowness/blueness) กรณีถ้า  $b^*$  มีค่าเป็นบวก หมายถึง สีเหลือง และกรณี ถ้า  $b^*$  มีค่าเป็นลบ หมายถึง สีน้ำเงิน

#### ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสีที่สกัดได้จากเชื้อรา *Monascus purpureus*

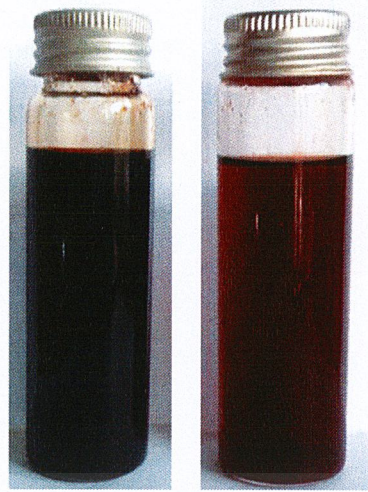
(Optical density , O.D) โดยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400 470 และ 500 นาโนเมตร

ตัวอย่าง	ความยาวคลื่น (nm.)	ค่าการดูดกลืนแสง (O.D)
สีจากเชื้อราโมแนสคัส	400	3.113
	470	4.276
	500	3.947

#### 4.1.2 การวิเคราะห์รังควัตถุของสีด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี

ผลการทดลองจากการนำรังควัตถุมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟีจากข้อ

3.4.4.1 พบว่าแยกสารสกัดรังควัตถุออกมาได้ (fraction) จำนวน 2 fraction โดยนำส่วนที่แยกด้วยตัวทำละลายเดียวกันมารวมกัน แล้วระเหยตัวทำละลายออก ซึ่งสามารถจำแนกได้เป็นสารสกัด 2 fraction ดังรูปที่ 4.2



Fraction 1

Fraction 2

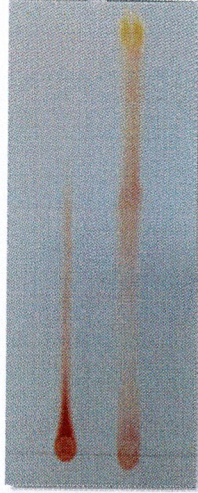
#### รูปที่ 4.2 สารสกัดรงควัตถุที่ผ่านการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี

Fraction 1 : ใช้เมทานอลเป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase)

Fraction 2 : ใช้คลอโรฟอร์มต่อเมทานอล (9:1) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase)

#### 4.1.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบของสีด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี

นำสารสกัดสีทั้งสองส่วนจากข้อ 4.1.2 มาจุดสารสีลงบนแผ่น TLC Silica gel ในแผ่นเดียวกัน โดยใช้คลอโรฟอร์มต่อเมทานอล ในอัตราส่วน 9:1 เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) พบว่า หากมองด้วยตาเปล่าภายใต้แสงธรรมชาติ สารสกัดสีที่ใช้เมทานอลเป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) จะเห็นเป็นสีแดงอิฐที่เข้มกว่าสารสกัดสีที่ใช้คลอโรฟอร์มต่อเมทานอล อัตราส่วน 9:1 เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) แสดงดังรูปที่ 4.3



ก ข

**รูปที่ 4.3** สารสกัดตรงควัตถุที่ผ่านการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีจุดบนแผ่น

TLC Silica gel สังกัดด้วยตาเปล่าภายใต้แสงธรรมชาติ

ก : สารสกัดสีที่ใช้เมทานอลเป็นเฟสเคลื่อนที่ (Fraction 1)

ข : สารสกัดสีที่ใช้คลอโรฟอร์มต่อเมทานอล (9:1) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Fraction 2)

เมื่อนำแผ่น TLC Silica gel ไปส่องดูภายใต้ UV light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร พบว่าโครมาโตแกรมของ fraction 2 มีองค์ประกอบของสารต่างๆมากกว่า fraction 1 ดังรูปที่ 4.4



ก ข

**รูปที่ 4.4** สารสกัดตรงควัตถุที่ผ่านการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีจุดบนแผ่น

TLC Silica gel ที่ส่องดูภายใต้ Uv light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร

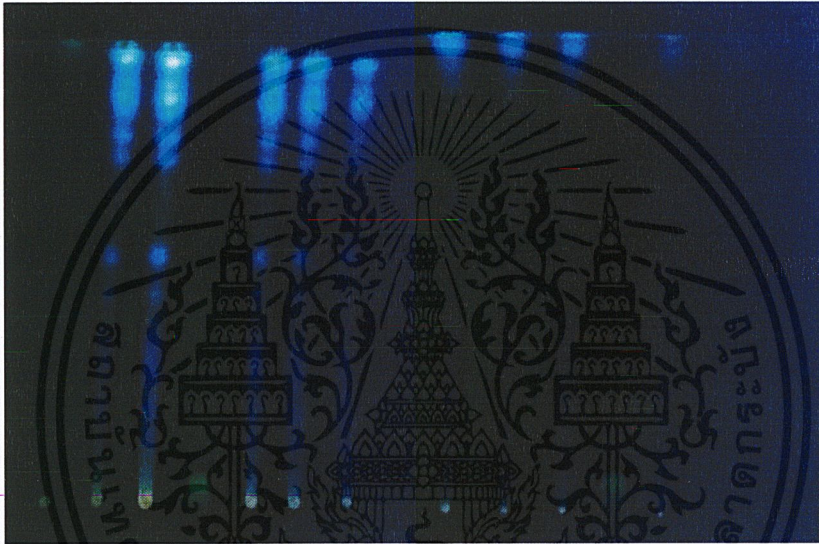
ก : สารสกัดสีที่ใช้เมทานอลเป็นเฟสเคลื่อนที่ (Fraction 1)

ข : สารสกัดสีที่ใช้คลอโรฟอร์มต่อเมทานอล (9:1) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Fraction 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

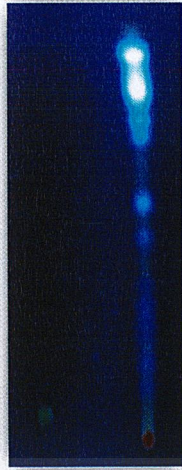
#### 4.1.4 การวิเคราะห์ซีทรินินที่เป็นองค์ประกอบในสารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสโดยดัดแปลงจากวิธีของ Bao-jun Xu และคณะ, 2004

นำ Fraction 2 ซึ่งคาดว่าจะมีซีทรินินไปทำคอลัมน์โครมาโตกราฟีอีกครั้ง โดยใช้คลอโรฟอร์ม:อะซิโตน ในอัตราส่วน 9:1 เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ซึ่งเก็บได้ทั้งหมด 12 fraction จากนั้นทำการจุดสารละลายทั้ง 12 fraction บนแผ่น TLC silica gel เปรียบเทียบกับสารละลาย ซีทรินิน โดยใช้คลอโรฟอร์ม:อะซิโตน(9:1) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ก่อนส่องดูภายใต้ Uv light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตรได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.5



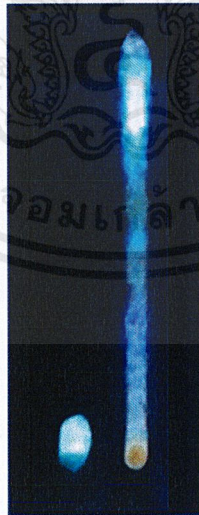
**รูปที่ 4.5** สารสกัดรงควัตถุที่ผ่านการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีครั้งที่ 2 โดยใช้คลอโรฟอร์มต่ออะซิโตน(9:1) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ทั้งหมด 12 fraction จุดเทียบกับสารละลายซีทรินินบนแผ่น TLC Silica gel ที่ส่องดูภายใต้ Uv light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร

จากรูปที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าโครมาโตแกรมทั้ง 12 fraction มีลักษณะคล้ายคลึงกัน จึงได้รวมสารละลายทั้ง 12 fraction เป็นขวดเดียวกันก่อนนำไปประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศได้เป็น fraction ที่ 3 (คลอโรฟอร์มต่ออะซิโตน อัตราส่วน 9:1) จุดสารละลายซีทรินินที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร และ Fraction 3 บนแผ่น TLC silica gel โดยใช้คลอโรฟอร์มต่ออะซิโตน (9:1) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เปรียบเทียบการเกิดโครมาโตแกรมของซีทรินินกับ fraction 3 นำไปส่องดูภายใต้ UV light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร ได้ผลดังรูปที่ 4.6



**รูปที่ 4.6** สารละลายซิดรีนินจุดเทียบกับ fraction 3 (คลอโรฟอร์มต่ออะซิโตน อัตราส่วน 9:1) บนแผ่น TLC Silica gel ที่ส่องดูภายใต้ Uv light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร

สังเกตการเกิดโครมาโตแกรมจากรูปที่ 4.6 จะเห็นว่าสารละลายซิดรีนินเป็นสีเหลืองเรืองแสง ทำการทดสอบซ้ำเพื่อยืนยันผลการวิเคราะห์ซิดรีนิน โดยการพ่นสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  2 กรัม ต่อ  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  100 มล.) บนแผ่น TLC silica gel ก่อนนำไปอบที่อุณหภูมิ  $100^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 5 นาที ส่องดูภายใต้ UV light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร หากเป็นซิดรีนินสีเหลืองเรืองแสงจะเปลี่ยนเป็นสีฟ้าเรืองแสง ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.7



**รูปที่ 4.7** สารละลายซิดรีนิน จุดเทียบกับ fraction 3 (คลอโรฟอร์มต่ออะซิโตน อัตราส่วน 9:1) บนแผ่น TLC Silica gel ที่ส่องดูภายใต้ Uv light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร หลังจากยืนยันผลการวิเคราะห์ซิดรีนิน โดยการพ่นสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์

## 4.2 ศึกษาวิธีการสกัดตรงควัตถุที่เหมาะสมของกระเจี๊ยบและบิทรูท

เพื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดโดยใช้เอทานอล 95 % กับการสกัดโดยใช้น้ำกลั่น วิธีที่ 1 ชั่งกระเจี๊ยบแห้ง 50 กรัม เติมเอทานอล 95 % ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปิดภาชนะที่บรรจุ ทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที วิธีที่ 2 ต้มน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เมื่อน้ำเดือดใส่กระเจี๊ยบแห้งลงไป 50 กรัม หลังจากนั้นใช้ไฟอ่อนต้มเป็นเวลา 20 นาที ก่อนนำตัวอย่างที่ได้จากบิทรูทและกระเจี๊ยบไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ผลการทดลองเป็นไปตามตารางที่ 4.3

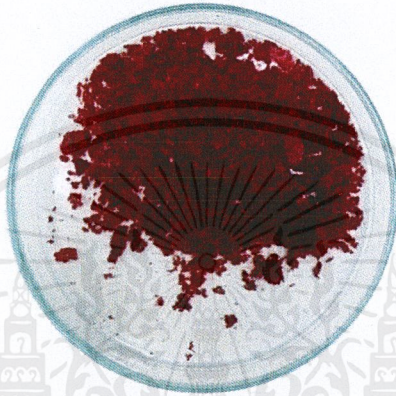
**ตารางที่ 4.3** ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง (Optical density, O.D) โดยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตรของกระเจี๊ยบ และบิทรูทจากการสกัดด้วยน้ำกลั่น และเอทานอล 95 % เป็นเวลา 20 นาที

ชนิดของตัวอย่าง	วิธีการสกัด	ค่าการดูดกลืนแสง (O.D.)
กระเจี๊ยบ	สกัดด้วยเอทานอล 95 %	0.657
	สกัดด้วยน้ำกลั่น	2.931
บิทรูท	สกัดด้วยเอทานอล 95 %	0.097
	สกัดด้วยน้ำกลั่น	2.884

ผลจากการทดลองดังตารางที่ 4.3 เพื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดโดยใช้เอทานอล 95 % กับการสกัดโดยใช้น้ำกลั่น เมื่อสังเกตจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร พบว่าวิธีการสกัดที่ดีที่สุดคือ วิธีการสกัดด้วยน้ำกลั่น จึงใช้วิธีนี้ในการสกัดตรงควัตถุจากกระเจี๊ยบ และบิทรูท จากนั้นนำรงควัตถุที่ได้ไปทำให้แห้งเป็นผง โดยใช้เครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและสุญญากาศ (Freeze dry) แล้วชั่งน้ำหนักเปรียบเทียบปริมาณผงสีที่ได้จากตัวอย่างทั้งสองชนิด โดยผลการทดลองเป็นไปตามตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ตารางแสดงน้ำหนักเปรียบเทียบปริมาณผงสีที่ได้จากกระเจี๊ยบและบี่ทрутโดยใช้เครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและสุญญากาศ (Freeze dryer)

ชนิดของตัวอย่าง	ปริมาณผงสีที่ได้ (กรัม)/ตัวอย่าง 50 กรัม
กระเจี๊ยบ	15.41
บี่ทрут	12.40



รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะของผงสีจากกระเจี๊ยบโดยใช้เครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและสุญญากาศ



รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะของผงสีจากบี่ทрутโดยใช้เครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและสุญญากาศ

## 4.3 การทำลิปสติกที่มีส่วนผสมจากเชื้อราโม่แนสคัสและกระเจียบ

### 4.3.1 เนื้อสัมผัสของลิปสติก

ในส่วนของเนื้อลิปสติก ส่วนประกอบที่ทำให้ลิปสติกสามารถคงรูปอยู่ได้เป็นแท่งคือ ส่วนของไขแข็ง (wax) โดยในการทดลองทำลิปสติก เริ่มแรกมีการใช้ไขแข็ง (wax) ถึง 4 ชนิด ได้แก่ Beeswax, Prime yellow carnuba wax, Refined candellila wax และ Ozokerite wax พบว่าแท่งลิปสติกแข็งมากเกินไป เนื้อด้าน มีลักษณะสัมผัสคล้ายเทียน จึงได้มีการปรับปรุงโดยการลดปริมาณไขแข็ง (wax) ลงเหลือเพียง 3 ชนิด คือ Beeswax, Prime yellow carnuba wax และ Refined candellila wax เนื่องจาก Ozokerite wax มีส่วนทำให้เนื้อลิปสติกแตกร่วนได้ง่าย นอกจากนี้ยังได้ทำการทดลองลดปริมาณไขแข็ง (wax) ที่ใช้ทั้ง 3 ชนิดลง ผลปรากฏว่า เนื้อลิปสติกเหลวจนไม่สามารถขึ้นรูปเป็นแท่งลิปสติกได้ การใช้ไขแข็ง (wax) มากเกินไป จะทำให้เนื้อลิปสติกแข็งเกินไป และมีเนื้อด้าน ไม่ดีดสี แต่หากใส่น้อยจนเกินไป จะทำให้เนื้อลิปสติกนิ่มจนไม่สามารถขึ้นรูปเป็นแท่งลิปสติกได้ จึงได้ทำการปรับปรุงปริมาณของการใช้ไขแข็ง (wax) ให้อยู่ในอัตราส่วนที่เหมาะสม ดังสูตรในตารางที่ 3.1 เนื้อสัมผัสของลิปสติกที่ได้ มีความนุ่มเนียน ไม่แข็งหรือด้าน สามารถคงรูปเป็นแท่งลิปสติกได้ ไม่เกิดเหงื่อ (sweat) บนผิวของแท่งลิปสติกไม่แตกหักง่าย ให้ความชุ่มชื้นกับริมฝีปากได้ดี รสและกลิ่นดี รสชาติไม่ขมติดลิ้น ไม่เกิดกลิ่นเหม็นหืนให้เนื้อสัมผัสที่เรียบเนียน แสดง

ดังรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะของลิปสติกที่ได้จากเชื้อราโม่แนสคัส(ก) และลิปสติกที่ได้จากกระเจียบ(ข)

### 4.3.2 ความปลอดภัยของลิปสติก

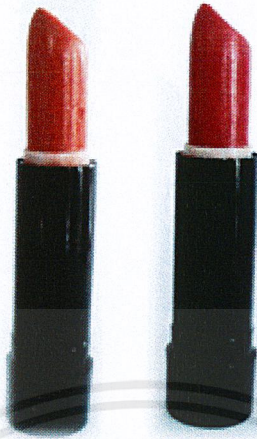
ในส่วนสีของลิปสติกจากการศึกษาพบว่า ในส่วนประกอบของสารสีที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัส มีส่วนประกอบของซีทรินินอยู่ ซึ่งเป็นสารอันตรายที่อาจก่อให้เกิดมะเร็งได้ จึงได้ทำการทดลองแยกสารที่คาดว่าจะเป็นซีทรินินออก ดังข้อ 4.1.4 ผลจากการทดสอบการแยกซีทรินินในสารสีที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัส พบว่าสามารถแยกซีทรินินออกจากสารสกัดสีได้ สารสกัดสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส ที่นำมาใช้เป็นส่วนประกอบในการทำลิปสติก จึงมีความปลอดภัย และไม่มีซีทรินินปะปนอยู่

### 4.3.3 สีของลิปสติก

นำสารสกัดสีจากเชื้อราโมแนสคัสที่ได้จากข้อ 4.1.4 มาผสมกับส่วนประกอบอื่นๆ ในลิปสติก พบว่าลิปสติกที่ได้ เนื้อลิปสติกให้สีส้มอิฐ แต่เมื่อทดลองทาลงบนริมฝีปาก กลับไม่ติดสี จึงมีการแก้ไขโดยทดลองเพิ่มปริมาณสารสีที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัส จากเดิมใส่ปริมาณ 8 มิลลิลิตร เพิ่มปริมาณเป็น 10 มิลลิลิตร เมื่อหล่อเป็นแท่งลิปสติก และนำมาทาบนริมฝีปาก ยังคงไม่ติดสีเช่นเดิม จึงได้มีการนำ Soy lecithin มาเพิ่มในส่วนผสมของลิปสติก เนื่องจาก Soy lecithin มีคุณสมบัติในการช่วยกระจายเม็ดสี และเพิ่มการติดสีบนริมฝีปาก พบว่ามีการติดสีมากขึ้น

ทดลองทำลิปสติก โดยใช้สารสีที่สกัดได้จากกระเจี๊ยบ นำผงสีที่สกัดได้จากกระเจี๊ยบ ด้วยวิธี Freeze dry ดังข้อ 3.4.6 มาผสมกับส่วนประกอบอื่นๆ ของลิปสติก แล้วคนส่วนผสมให้เข้ากัน กลับพบว่าผงสีที่สกัดได้ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับส่วนประกอบอื่นๆ ได้แก่ ส่วนของไขแข็ง (wax) และส่วนของน้ำมัน จึงปรับปรุงโดยการแยกผงสีที่สกัดได้จากกระเจี๊ยบมาละลายน้ำก่อน พบว่าผงสีสามารถละลายได้ แต่ก็ยังมีตะกอนหลงเหลืออยู่เล็กน้อย ซึ่งคาดว่าเป็นกากของกระเจี๊ยบ จึงทำการกรองด้วยตะแกรงกรอง ก่อนที่จะนำไปผสมกับส่วนผสมอื่น แต่พบปัญหาการแยกชั้นของส่วนผสมที่เป็นน้ำ กับส่วนผสมที่เป็นน้ำมัน จึงได้ทำการเติม Soy lecithin เนื่องจากสามารถทำให้ส่วนผสมเป็นอิมัลซิไฟเออร์ ส่วนผสมจึงสามารถรวมเป็นเนื้อเดียวกันได้ (นิธิยา, 2549ข) จากนั้นนำมาขึ้นรูปลิปสติก เมื่อแกะออกจากพิมพ์ พบว่าเนื้อลิปสติกที่ได้มีเนื้อเนียน ไม่ปรากฏเม็ดสีบนแท่งลิปสติก สีลิปสติกให้สีแดงอมม่วง คล้ายสีของผลเบอร์รี่ แต่ยังคงพบว่าไม่ค่อยติดสีเมื่อทาบบนริมฝีปาก เช่นเดียวกับลิปสติกที่ใช้สารสกัดสีจากเชื้อราโมแนสคัส จึงปรับปรุงสีของลิปสติกให้มีสีที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้น ด้วยการเพิ่มสีผสมอาหารลงไปในลิปสติก ดังสูตรในตารางที่ 3.1

โดยใช้วิธีการนี้กับทั้งลิปสติกที่ใช้สารสกัดสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส และลิปสติกที่ใช้สารสกัดสีที่ได้จากกระเจี๊ยบ



ก ข

**รูปที่ 4.11** แสดงลักษณะของลิปสติกที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสผสมกับสีผสมอาหาร(สีส้มแดง)

0.05 % (ก) และลิปสติกที่ได้จากกระเจี๊ยบผสมกับสีผสมอาหาร(สีแดงคิงคอด) 0.05 % (ข)

เมื่อทำการทาลงบนผิวหนัง (swatch) พบว่าหลังจากเติมสีผสมอาหารลงไป ลิปสติกที่ได้มีการติดสีที่ดีและชัดเจนมากยิ่งขึ้น แสดงดังรูปที่ 4.13



ก

ข

**รูปที่ 4.12** แสดงการติดสีของลิปสติกเมื่อทดสอบทาลงบนผิวหนัง

ก : ก่อนเติมสีผสมอาหาร

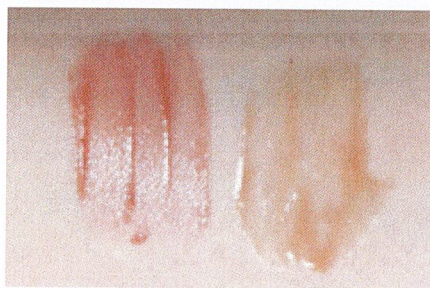
ข : หลังเติมสีผสมอาหาร

#### 4.4 การทำลิปสติกเหลวที่มีส่วนผสมจากบีทรูท

นำสารสกัดสีที่ได้จากบีทรูท มาผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:3 แล้วนำไปผสมกับส่วนผสมอื่นๆ คือ ส่วนของน้ำมัน และไขแข็ง (wax) แล้วคนส่วนผสมให้เข้ากัน จากนั้นบรรจุลงในขวดลิปสติกเหลว โดยสีของลิปสติกเหลวได้เป็นสีส้มพีช เมื่อทาลงบนริมฝีปากให้ความชุ่มชื้น และเรียบเนียน แต่เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 3 วัน พบว่าสีของลิปสติกเหลวเปลี่ยนไป มีสีซีดลง จนเปลี่ยนเป็นสีเนื้อ จึงปรับปรุงโดยการเติมสีผสมอาหาร(สีส้มแดง) ดังสูตรในตารางที่ 3.2 พบว่าสีของลิปสติกเหลวที่ได้เป็นสีส้มพีช แต่มีความชัดเจนขึ้นเมื่อทาลงบนริมฝีปาก มีความคงตัว และไม่เกิดการเปลี่ยนสี ลิปสติกเหลวที่ได้มีลักษณะเป็นมันเงา แวววาว เนื้อเนียน ไม่คร่องริมฝีปาก ให้ความชุ่มชื้นได้ดี กลิ่น และรสชาติ โดยแสดงดังรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.13 แสดงลักษณะลิปสติกเหลวที่มีส่วนผสมจากผงสีบีทรูทที่เติมสีผสมอาหารสีส้มแดง 0.05 % (ก) และลิปสติกเหลวที่มีส่วนผสมจากผงสีบีทรูทที่มีสีเปลี่ยนไป หลังเก็บไว้เป็นเวลา 3 วัน ที่ไม่ได้เติมสีผสมอาหาร (ข)



รูปที่ 4.14 แสดงการติดสีของลิปสติกเหลวเมื่อทดสอบทาลงบนผิวหนัง ลิปสติกเหลวหลังเติมสีผสมอาหาร (ก) ลิปสติกเหลวก่อนเติมสีผสมอาหาร หลังเก็บไว้เป็นเวลา 3 วัน (ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

# สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุปผลการวิจัย

#### 5.1.1 ศึกษาการสกัดสารสี เพื่อเตรียมสำหรับการใช้วิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี

เพื่อให้ทราบองค์ประกอบของสารสี และวิเคราะห์โครมาโตแกรมที่ได้กับสารละลายซีตรินินที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร พบว่าในการทดสอบเพื่อยืนยันผล สารละลายซีตรินินจะให้สีฟ้าเรืองแสง แต่สารสกัดสีที่นำมาทดสอบให้สีเหลืองเรืองแสงไม่เปลี่ยนเป็นสีฟ้าเรืองแสง ซึ่งสรุปได้ว่า ในสารสกัดสีจากเชื้อราโมแนสคัสที่นำมาทดสอบไม่พบซีตรินิน

#### 5.1.2 ศึกษาเปรียบเทียบสภาวะการสกัดรงควัตถุระหว่างเอทานอล และน้ำกลั่นที่เวลาเท่ากัน

หาวิธีการสกัดรงควัตถุที่เหมาะสม และให้ปริมาณรงควัตถุสูงที่สุด เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการทำลิปสติก พบว่าการสกัดรงควัตถุด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 20 นาที ให้ปริมาณรงควัตถุมากกว่าวิธีการสกัดโดยใช้เอทานอล 95% ในเวลาเท่ากัน จึงเลือกสภาวะการสกัดนี้ไปใช้ในการสกัดรงควัตถุจากกระเจี๊ยบ และบิทูท เพื่อใช้เป็นส่วนผสมในการทำลิปสติก

#### 5.1.3 การสกัดรงควัตถุเพื่อนำไปใช้ในการทำลิปสติกจากกระเจี๊ยบ และบิทูทด้วยวิธี Freeze dry

หลังจากนำกระเจี๊ยบ และบิทูทที่สกัดด้วยน้ำกลั่น มาทำให้เป็นผงโดยใช้เครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็น และสุญญากาศ พบว่าปริมาณผงสีที่ได้(กรัม) ของกระเจี๊ยบมีปริมาณมากกว่าบิทูท

#### 5.1.4 ศึกษาขั้นตอนการผลิตลิปสติกที่มีส่วนผสมสีจากเชื้อราโมแนสคัส และกระเจี๊ยบ เพื่อพัฒนาสูตรลิปสติกที่ใช้สีจากธรรมชาติ

ลักษณะเนื้อลิปสติกที่มีส่วนผสมของเชื้อราโมแนสคัส มีเนื้อสัมผัสที่ดี เนียนนุ่ม ให้ความชุ่มชื้นกับริมฝีปากได้ดี ไม่ขมติดลิ้น แต่การใช้สีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสเพียงอย่างเดียว เมื่อ

ทดลองบนผิวหนัง ให้สีที่ไม่ชัดเจน จึงได้ทำการผสมกับสีผสมอาหาร ดังในสูตรลิปสติก (ตารางที่ 3.1) เมื่อผสมกับสีผสมอาหารแล้ว จึงได้สีที่ชัดเจน เป็นสีส้มอิฐ ลักษณะเนื้อลิปสติกที่มี ส่วนประกอบของผงสีที่สกัดได้จากกระเจี๊ยบ มีเนื้อสัมผัสเหมือนกับลิปสติกที่มีส่วนประกอบจาก เชื้อราโมแนสคัส แต่เนื้อลิปสติกมีลักษณะเป็นเม็ดสี ไม่กระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกับลิปสติก ซึ่งเป็น ตะกอนของผงสีที่สกัดได้จากกระเจี๊ยบ จึงได้ทำการกรองผงสีที่ทำการละลายแล้ว ก่อนนำมาใช้ในการ ทำลิปสติก ทำให้ไม่มีตะกอนของเม็ดสีติดอยู่บนแท่งลิปสติกอีก นอกจากนี้ลิปสติกที่มี ส่วนประกอบของผงสีที่สกัดได้จากกระเจี๊ยบ เมื่อทดลองบนผิวหนัง ให้สีที่ไม่ชัดเจน เช่นเดียวกับ ลิปสติกที่มีส่วนประกอบของเชื้อราโมแนสคัส จึงได้ทำการผสมกับสีผสมอาหาร ดังในสูตร ลิปสติก (ตารางที่ 3.1) ได้เป็นสีแดงอมม่วง

#### 5.1.5 ศึกษาขั้นตอนการผลิตลิปสติกเหลวที่มีส่วนผสมจากบีทรูท เพื่อพัฒนาสูตรลิปสติก เหลวที่ใช้สีจากธรรมชาติ

ลักษณะเนื้อลิปสติกเหลวที่มีส่วนประกอบของผงสีที่ได้จากบีทรูท มีเนื้อเป็นมันเงา แฉว วาว ไม่ตกร่องริมฝีปาก ให้ความชุ่มชื้นดี ได้เป็นสีส้มพีช แต่สีที่ได้ไม่คงตัว เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 3 วันสีเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน มีสีซีดลง

## 5.2 ปัญหาที่พบ

1. สีของผลิตภัณฑ์ลิปสติกที่ใช้สารสกัดสีจากเชื้อราโมแนสคัส กระเจี๊ยบ และสีของ ผลิตภัณฑ์ลิปสติกเหลว ที่ใช้สารสกัดสีจากบีทรูท ให้สีที่ไม่ชัดเจน
2. สารสกัดสีจากบีทรูท เมื่อนำไปผสมกับส่วนประกอบของลิปสติกที่เป็นส่วนของไขแข็ง (wax) มีลักษณะจับตัวกันเป็นก้อน สีไม่กระจายตัว จึงได้นำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ลิปสติกเหลว

## เอกสารอ้างอิง

- กรรณา โชติฤทธิไกร และคณะ. 2546. การหมักเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ร่วมกับแบคทีเรียเซลลูโลส และการคงตัวของสีในผลิตภัณฑ์ที่ได้. วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- กรกต สุนทรกุล, สุกานดา วิจิตพันธ์ และคณิต วิจิตพันธ์. 2553. การประยุกต์ใช้สารให้สี และสารเมทาบอลิต์จากราโมแนสคัส. วารสารศูนย์บริการวิชาการ. 18 (3-4), 4-8.
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2549. ลิปสติก. ค้นเมื่อ 9 เมษายน 2557, [Online]. Available : [http://webdb.dmssc.moph.go.th/ifc\\_cosmetic/applications/pics/new/ลิปสติก.htm](http://webdb.dmssc.moph.go.th/ifc_cosmetic/applications/pics/new/ลิปสติก.htm) .
- จิตราวดี เย็นสุขใจ และสุเชาวน์ กำบุญทรัพย์. 2542. การพัฒนาตำรับลิปสติกจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ. ปริญาเกศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- เจตนิพัทธ์ บุญยสวัสดิ์ และจักรวาล ภูเสม. 2555. อร่อยกับเมนูเสริมวิตามินจากบีทรูท. M&C แม่และเด็ก, 35 (484).
- แจ่ม มาสุวรรณ และคณะ. 2556. ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในกลีบกระเจี๊ยบแดง 29 พันธุ์. ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น สถาบันวิจัยพืชไร่ และพืชพลังงานทดแทน.
- ฉัตรสมร จิตรวิโรจน์. 2548. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ลิปกลอสที่มีส่วนผสมของไขรำข้าว และน้ำมันรำข้าว. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชัชชัย พิการัน และคณะ. 2555. การผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* และการประยุกต์ใช้ในการทำลิปสติก. วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- น้ำชาติ ประชาชื่น. (2552, 27 พฤษภาคม). บีทรูท. ข้าวสด, หน้า 24.
- นิธิยา รัตนานนท์. 2549ก. เคมีอาหาร. (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
- นิธิยา รัตนานนท์. 2549ข. วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมัน และน้ำมัน. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- นันทน์ภัส เต็มวงศ์. 2551. ปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกส์ และ วิตามินซีในผัก และสมุนไพร. คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิม พระเกียรติ.
- บุษบา ยงสมิทธิ์, วิเชียร ยงมานิตชัย, สันทนา แสงจันทร์ และชุลี ชัยศรีสุข. 2531. การผลิตสีผสม อาหาร จากมันสำปะหลังเพื่ออุตสาหกรรมหมัก. กรุงเทพฯ: รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ เสนอต่อสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, หน้า 225.
- บุษบา ยงสมิทธิ์. 2540. หลักการพื้นฐานขบวนการหมักของจุลินทรีย์. กรุงเทพฯ: ภาควิชา จุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- บุษบา ยงสมิทธิ์. 2542. จุลชีววิทยาการหมักวิตามิน และสารสี. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พิมพ์ร ลีลาพรพิสิฐ. 2532. เครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง. ภาควิชาเทคโนโลยีเกษตรกรรม คณะเกษตรกรรม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- มีชัย ถัดดี. 2551. การผลิตสารสีจากจุลินทรีย์. เอกสารประกอบการเรียนบทปฏิบัติการ จุลชีววิทยาสำหรับอุตสาหกรรมเกษตร, ปรารจันบุรี : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้า พระนครเหนือ.
- ศราวุฒิ เศรษฐบุตร และสุพัฒน์ ไพบุลย์สีสกุล. 2551. การผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* บนวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร และนำสารสีที่ได้มาประยุกต์ใช้ใน กุณเชียง. วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบัน เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ศศิธร ใบพ่อง. 2546. การผลิตรงควัตถุสีแดงและซีทรินิน โดยเชื้อรา *Monascus purpureus* ในข้าว และอาหารเหลือสังเคราะห์. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี การอาหาร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- สุทัศน์ สุระวัง. 2548. เทคโนโลยีสารให้กลิ่นรสและสารให้สี. เทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร. ใน นิธิยา รัตนานพนท์ และไพโรจน์ วิริยจารี (บรรณาธิการ), เชียงใหม่ : TRIO Advertising & Media Co., Ltd.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- สำนักหอสมุด และศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2553. แอนโทไซยานิน .  
 เพิ่มประมวลสารสนเทศพร้อมใช้. กรุงเทพฯ : กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวง  
 วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.
- อรัญญา มโนสร้อย. 2527. เครื่องสำอาง เล่มที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์  
 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- อรัญญา มโนสร้อย. 2533. เครื่องสำอางใช้แต่งปาก. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์  
 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Andrea, B., Dionyz, M., Anna, L. and Monika, P. 2001. Utilization of *Monascus purpureus* in  
 the Production of Foods of Animal Origin, *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 45, 111-116.
- Bao-jun Xu, Xiao-qin Jia, Li-juan Gu and Chang-keun Sung. 2004. Review on the qualitative  
 and quantitative analysis of the mycotoxin citrinin. *Food Control*, 17, 271-285.
- Blanc, P., Loret, M., Goma, G. 1995. Production of citrinin by various species of *Monascus*.  
*Biotech. Letters*, 17 (3), 291-294.
- Carvalho, J.C., Babitha, Soccol, C.R. 2003. Production of *Monascus* biopigments: *An overview*,  
*Agro Food Industry Hi-trch*, 14, 37-42.
- European Mycotoxins Awareness Network. 2002. *Citrinin* . Retrieved March 28, 2014, from  
 [Online]. Available : <http://services.leatherheadfood.com/eman/FactSheet.aspx?ID=14> .
- 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.
- Grubben, G.J.H. & Denton, O.A. 2004. Plant Resources of Tropical Africa 2. Vegetables.  
 PROTA Foundation, Wageningen; Backhuys, Leiden; CTA, Wageningen.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Hajjaj, H., Klábé, A., Loret, M.O., Tzedakis, 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.
- Hanelt, Peter, Büttner, R., Mansfeld, Rudolf and Kilian, Ruth. 2001. *Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops*, Springer, pp. 235-241.
- 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.
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., & Carle, R.. 2006. Betalain stability and degradation e structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science*, 71, R41-R50.
- Hiroi, T., T. Shima, T. Susuki, M. Tsukioka and N. Ogasawara. 1979. Hyperpigment productive mutant of *Monascus anka* for solid culture. *Agri. Biol. Chem.* 43.
- Koehler, P. E. 2003. Improving Quality, Nutritional content and value of Georgia agricultural products. Food science and technology. [online] Available : <http://www.reeis.usda.gov/web/crisprojectpages/0191610-improving-quality-nutritional-content-and-value-of-georgia-agricultural-products.html>
- Lizuka, H and Lin, C.F. 1981. On the genus *Monascus* of Asia and its specific characteristics. *Advances Biochem* 2, 555-561.
- Martínková, 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.
- Martínková, L., Júzlová, P., Kren, V. & other authors. 1999. Biological Activity of oligoketide pigments of *Monascus purpureus*. *Food Additives and Contaminants*, 16, 15-24.
- Markus R. Mobhammer et al. 2005. Development of a process for the production of a betalain-based colouring foodstuff from cactus pear. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 6, 221-231.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Pattanagul, P., 2002. *Using of Vegetable Oil, Angkak, Soy Protein Isolate and Tapioca Starch to Improve the Quality of Sausages(Thai)*. Thesis for Master of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand.
- Sabater-Vilar, M., Maas, R., Fink-Gremmels, J. 1999. Mutagenicity of commercial *Monascus* fermentation products and the role of citrinin contamination. *Mutat. Res.*444, 7–16.
- Starovicová, M. 2009. *Beetroot colours (betalains)*. Retrieved April 22, 2009, from [Online]. Available : <http://www.food-info.net/uk/colour/beetroot.htm>
- Shehata H.A., Buckenhueskes H. J., and El-Zoghbi M.S. 1998. Color optimization of Egyptian fresh beef sausage by natural colorants, *Fleischwirtschaft*, 78(1), 68-71.
- Webb AJ, Patel N, Loukogeorgakis S, Okorie M, Aboud Z, Misra S, et al. 2008. Acute blood pressure lowering, vasoprotective, and antiplatelet properties of dietary nitrate via bioconversion to nitrite. *Hypertension*, 51(3), 784–790
- Went, F.A.F.C. 1895. *Monascus purpureus* le champignon de l' ang quacune nouvelle thele bole. *Annales Des Sciences Naturelles-Botanique*, 8(1), 1-17.
- Wild D., Tóth G. and Humpf HU. 2003. New *Monascus* Metabolites with a Pyridine Structure in Red Fermented Rice. *J Agric Food Chem*, 51(18), 5493-6.
- Wong, H.C. and Bau, V.S. 1978. A comparison of conidial and ascospore Germination of *Monascus purpureus*. *Transactions of the British Mycological Society*, 70(2), 277-282.
- Wong, H.C. and Koehler, P.E. 1981. Production and Isolation of an antibiotic from *Monascus purpureus* and its relationship to pigment production. *J.Food Sci*, 46, 589-592.
- Yasukawa K., Takahashi M., Yamanouchi S. and Takido M. 1996. Inhibitory Effect of Oral Administration of *Monascus* Pigment on Tumor Promotion in Two-Stage Carcinogenesis in Mouse Skin. College of Pharmacy, Nihon University, Chiba, Japan. *Oncology*, 53 , 247–249 .



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ก  
อาหารเลี้ยงเชือกและสารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์

### 1.1 ส่วนประกอบอาหารแข็ง MYS (Malt yeast extract sucrose agar)

1. เปปโตน	3.75	กรัมต่อลิตร
2. ยีสต์สกัด	2.25	กรัมต่อลิตร
3. มอลท์สกัด	2.25	กรัมต่อลิตร
4. แป้งมันสำปะหลัง	7.5	กรัมต่อลิตร
5. ู้น	11.25	กรัมต่อลิตร

วิธีการ ชั่งส่วนผสมทั้งหมดตามสูตร ผสมเข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่นปริมาตร 750 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

### 1.2 ส่วนประกอบอาหารเหลว SS (Soy bean starch)

1. แป้งมันสำปะหลัง	2.25	กรัมต่อลิตร
2. ผงถั่วเหลือง	3.0	กรัมต่อลิตร

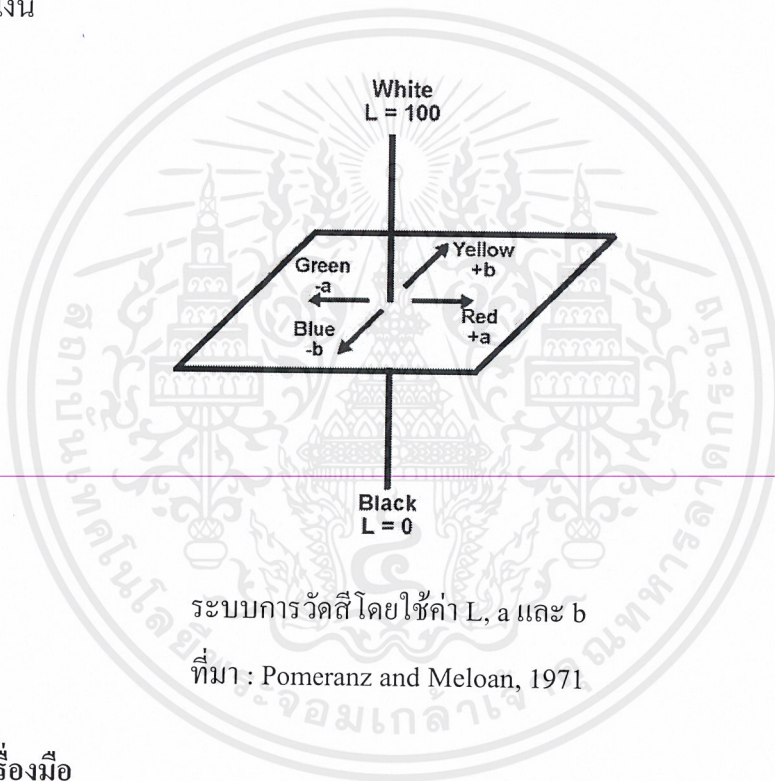
วิธีการ ชั่งส่วนผสมทั้งหมดตามสูตร ผสมเข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่นปริมาตร 75 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที



ภาคผนวก ข  
วิธีการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

## การวัดสีระบบ Hunter Lab โดยเครื่องวัดสี Minolta Camera

การวัดสีด้วยเครื่องวัดสี Minolta Camera ในระบบ Hunter Lab จะให้ค่าสี L เป็นค่าความสว่าง (Lightness) ค่าสี a เป็นค่าสีแดงและสีเขียว (Redness/Greeness) และค่าสี b เป็นค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (Yellowness/Blueness) โดยที่ ค่าสี L\* คือ ค่าแสดงความสว่างของสี มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100 กรณีถ้า L\* มีค่าเป็น 0 หมายถึงมืด (darkness) แต่ถ้ามีค่าเป็น 100 หมายถึง สว่าง (lightness) ค่าสี a\* คือ แสดงความเป็นสีแดงและเขียว (redness/greeness) กรณีถ้า a\* มีค่าเป็นบวก หมายถึง สีแดง และกรณี ถ้า a\* มีค่าเป็นลบ หมายถึง สีเขียว ค่าสี b\* คือ แสดงความเป็นสีเหลืองและน้ำเงิน (yellowness/blueness) กรณีถ้า b\* มีค่าเป็นบวก หมายถึง สีเหลือง และกรณี ถ้า b\* มีค่าเป็นลบ หมายถึง สีน้ำเงิน



### อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องวัดสี (Minolta Camera ; Chroma Meter : CR-310, Japan)

### วิธีการวัด

ก่อนการวัดทุกครั้งต้องทำการปรับมาตรฐานเครื่องด้วยแผ่นสีขาวมาตรฐาน (White blank;  $L = 97.67$ ,  $a = -0.18$ ,  $b = +1.84$ ) แล้วจึงทำการวัดสีตัวอย่าง ในกรณีที่เป็นกล้วยน้ำว้าให้นำตัวอย่างกล้วยวางบน Petri dish รองพื้นด้วยกระดาษสีขาว ส่วนถ้าเป็นซอสพริก และซอสพริกผสมกล้วยน้ำว้าให้บรรจุตัวอย่างซอสประมาณ 25-30 มิลลิลิตร ลงในถ้วยพลาสติกสีขาว และจึงนำหัววัดของเครื่องวัดสีจุ่มลงในซอสที่ต้องการวัด โดยวัด 3 จุด บันทึกค่าสี L\*, a\*, b\* นำมาหาค่าเฉลี่ย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้