อิทธิพลของอาหารเหลว 3 ชนิด ต่อการผลิตสารสี ของเชื้อรา *Monascus purpureus* SS14

EFFECT OF 3 DIFFERENT LIQUID MEDIA TO PIGMENT PRODUCTION OF *Monascus purpureus* SS14

รดา สอาดเอี่ยม

รัตนาวดี เสือส่าน

ราดูวา แอลมาบรู๊ค

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECT OF 3 DIFFERENT LIQUID MEDIA TO PIGMENT PRODUCTION OF *Monascus purpureus* SS14

RADA SA-ARDEIAM
RUTTANAWADEE SUEASARN
RADUWA AL-MABRUK

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินของ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือจำหน่ายเพื่อการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	อิทธิพลของอาหารเหลว 3 ชนิด ต่อการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* ss14 Effect of 3 Different Liquid Media to Pigment Production of *Monascus purpureus* ss14
ชื่อนักศึกษา	นางสาวรดา สอาดเอี่ยม 56050892 นางสาวรัตนาวดี เสือส่าน 56050894 นางสาวราดูวา แอลมาบรู๊ค 56050895
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชา	ชีววิทยา
สาขา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ประจำปีการศึกษา 2559

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ	อิทธิพลของอาหารเหลว 3 ชนิด ต่อการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* ss14 Effect of 3 Different Liquid Media to Pigment Production of *Monascus purpureus* ss14
ชื่อนักศึกษา	นางสาวรดา สอาดเอี่ยม รหัส 56050892 นางสาวรัตนาวดี เสือส่าน รหัส 56050894 นางสาวราดูวา แอลมาบรู๊ค รหัส 56050895
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชา	ชีววิทยา
สาขา	เทคโนโลยีชีวภาพ
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์

บทคัดย่อ

การผลิตสารสีโดยเชื้อรา *Monascus purpureus.* กำลังได้รับความสนใจเนื่องจากสามารถใช้เป็น สีผสมอาหาร สีผสมในเครื่องสำอาง และสิ่งทอ องค์ประกอบของอาหารมีผลต่อการผลิตสารสีของเชื้อรา ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้ เพื่อวัดผลการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัสต่ออาหารเหลวที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ในอาหารเหลวสูตร MYS เชื้อราโมแนสคัสมีการเจริญเติบโต 6.4 กรัมต่อลิตร และมีการผลิตสารสีแดง (ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 480 นาโนเมตร เท่ากับ 28.2) ภายในระยะเวลา 6 วัน ในอาหารเหลวสูตร MS เชื้อราโมแนสคัสมีการเจริญเติบโต 11.18 กรัมต่อลิตร และมีการผลิตสารสีส้ม (ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400นาโนเมตร เท่ากับ 18.12) ภายในระยะเวลา 6 วัน ในอาหารเหลวสูตร TAP เชื้อราโมแนสคัสมีการเจริญเติบโต 4.6 กรัมต่อลิตร และมีการผลิตสารสีแดง (ค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตร เท่ากับ 7.6) ภายในระยะเวลา 6 วัน

คำสำคัญ : *Monascus purpureus*, สารสี, อาหารเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Effect of 3 Different Liquid Media to Pigment Production of *Monascus purpureus*
Students	Miss RADA SA-ARDEIAM
	Miss RUTTANAWADEE SUEASARN
	Miss RADUWA AL-MABRUK
Degree	Bachelor of Science
Major Program	Biotechnology
Academic Year	2016
Advisor	Asst. Prof. Dr. Pana Lohasapthawee
Co-advisor	Asst. Prof. Dr. Somchai Krairak

Abstract

Production of pigments by *Monascus purpureus* fungi is gaining interest owing to their use as food colorants, in cosmetics and textiles. Fungal pigment production was influenced by medium composition so the objectives of this study was to evaluate the growth and pigment production of *M. purpureus* on three different media in liquid culture. In MYS (Malt yeast extract starch medium), growth of *M. purpureus* was 6.4 g/l and produced red pigment (Absorbance units at 480 nm =28.2) in 6 days. In MS (Murashige and Skoog medium), growth of *M. purpureus* was 11.8 g/l and produced orange pigment (Absorbance units at 400 nm = 18.12) in 6 days. In TAP (Tris-Acetate-Phosphate medium), growth of *M. purpureus* was 4.6 g/l and produced red pigment (Absorbance units at 480 nm = 7.6) in 6 days.

Keywords : *Monascus purpureus*, pigment, cultuer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี โดยได้รับความอนุเคราะห์ คำแนะนำและการช่วยเหลือจากผู้มีพระคุณหลายๆท่าน ดังนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี ที่เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่สละเวลาเพื่อให้คำปรึกษา ความรู้ คำแนะนำ ข้อเสนอแนะข้อแก้ไขปัญหาข้อบกพร่องต่างๆที่เกิดขึ้นในการทดลอง รวมไปถึงการการตรวจแก้ไขจนโครงงานพิเศษนี้ถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ เป็นอย่างยิ่งที่ได้ให้คำปรึกษาสำหรับการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส รวมไปถึง เชื้อราที่ใช้ในการทดลองนี้ จนโครงงานพิเศษนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้คำปรึกษาและช่วยอำนวยความสะดวกจัดสรรห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ ระหว่างการทำงานจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ธุรการทุกท่านที่เอื้อเฟื้อทำเรื่องการขอให้ห้องปฏิบัติการนอกเวลาราชการตลอดจนอำนวยความสะดวกต่างๆระหว่างทำงานวิจัย

ขอขอบพระคุณพี่ๆ นักศึกษาปริญญาโททุกท่าน ที่ให้คำแนะนำคำปรึกษาและให้ความช่วยเหลือตลอดจนงานวิจัยสำร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่ได้ช่วยเหลือและช่วยกันแก้ไขปัญหา และฝ่าฟันอุปสรรคจนผ่านพ้นไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และบุคคลในครอบครัว ของทางคณะผู้จัดทำ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์เลี้ยงดู ให้ได้รับความรู้ความสามารถ และให้คำปรึกษาตลอดจนสมทบทุนในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้ จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี คุณความดีหรือประโยชน์ที่ได้รับจากการทำโครงงานพิเศษนี้ ผู้จัดทำขอมอบให้แก่ บุพการี ผู้มีพระคุณและครูอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาให้แก่คณะผู้จัดทำตั้งแต่อดีต จนถึงปัจจุบัน

รดา สอาดเอี่ยม
รัตนาวดี เสือส่าน
ราดูวา แอลมาบรู๊ค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ฉ
สารบัญรูป ..... ช
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ 1
1.3 ขอบเขต 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 แหล่งกำเนิดของเชื้อราโมแนสคัส 3
2.2 ลักษณะรูปร่างของเชื้อราโมแนสคัส 3
2.3 สายพันธุ์ต่างๆของเชื้อราโมแนสคัส 5
2.4 การสังเคราะห์สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส 6
2.4.1 สารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส 8
2.4.2 การปล่อยสารสีออกจากเส้นใยของเชื้อราโมแนสคัส 11
2.4.3 การแยกสารสีโมแนสคัส 11
2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตเมแทบอไลต์ของเชื้อราโมแนสคัส 12
2.5.1 ชนิดของเชื้อราโมแนสคัส 12
2.5.2 สภาพการเลี้ยงเชื้อและองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ 12
2.5.2.1 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็ง 12
2.5.2.2 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว 14
2.6 การศึกษาสภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตสีในการหมักแบบเปียก (submerged) ของเชื้อราโมแนสคัส 17
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 21
3.1 เชื้อจุลินทรีย์ 21
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ 21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี 22
3.4 วิธีการทดลอง 23
3.4.1 การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับใช้ในการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส 23
3.4.1.1 **การเก็บรักษากล้าเชื้อ** 23
3.4.2 การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส 23
3.4.2.1 การเตรียมอาหารเหลวสูตร MYS 23
3.4.2.2 การเตรียมอาหารเหลวสูตร MS 23
3.4.2.3 การเตรียมอาหารเหลวสูตร TAP 23
3.4.2.4 การเตรียมอาหารเหลวสูตร TAP เติมน้ำตาลซูโครส 23
3.4.3 การเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในสูตรอาหารต่างๆ 24
3.4.4 การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง 24
3.4.5 การหาค่าพีเอช 24
3.4.6 การหาปริมาณสารสีที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์ 24
3.4.7 การหาปริมาณสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ 25
3.4.8 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคโคมาโตกราฟี 25
3.4.8.1 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคคอลัมน์โคมาโตกราฟี 25
3.4.8.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสีด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โคมาโตกราฟี 25
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 26
4.1 ผลการเตรียมกล้าเชื้อสำหรับใช้ในการผลิตสีจากเชื้อราโมแนสคัส 26
4.2 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัส 29
4.2.1 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในสูตรอาหารเหลว MYS 29
4.2.2 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในสูตรอาหารเหลว MS 34
4.2.3 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในสูตรอาหารเหลว TAP 39
4.2.4 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในสูตรอาหารเหลว TAPเติมน้ำตาลซูโครส 43
4.3 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารทั้งสามชนิด 49
4.4 ผลการวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี 55
4.4.1 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี 55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.4.2 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี 55
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 57
5.1 สรุปผลการวิจัย 57
5.1.1 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี 57
5.1.2 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี 57
5.1.3 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี 57
5.1.4 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี 57
5.1.5 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี 58
5.1.6 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี 58
5.2 ข้อเสนอแนะ 58
เอกสารอ้างอิง 59
ภาคผนวก 69
ภาคผนวก ก 70
ภาคผนวก ข 76
ภาคผนวก ค 78
ภาคผนวก ง 89

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 สายพันธุ์ต่างๆของเชื้อราโมแนสคัส 6

4.1 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง,ค่าเฉลี่ยของ pH ที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อและ ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตร ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MYS ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 14 วัน 32

4.2 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง,ค่าเฉลี่ยของ pH ที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อและค่าเฉลี่ยOD480กับ OD400ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์และสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน 37

4.3 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง,ค่าเฉลี่ยของ pH ที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อและค่าเฉลี่ยOD480กับ OD400ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์และสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน 42

4.4 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง,ค่าเฉลี่ยของpHที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ,ค่าเฉลี่ยOD400, ค่าเฉลี่ย OD500และค่าเฉลี่ยOD480 ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์และค่าเฉลี่ยของ OD400กับOD480ของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหาร TAP เติมน้ำตาลซูโครส 47

4.5 เปรียบเทียบชนิดของอาหารที่มีผลต่อค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง 53

4.6 เปรียบเทียบชนิดของอาหารที่มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตรของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ลักษณะเชื้อรา *Monascus* spp.	4
2.2 วงจรชีวิตของ *Monascus* spp.	5
2.3 เส้นทางชีวภาพสังเคราะห์สารสีของเชื้อราโมแนสคัส	7
2.4 โครงสร้างของสารสีแดง monascorubramine	8
2.5 โครงสร้างของสารสีแดง rubropunctamine	9
2.6 โครงสร้างของสารสีส้ม monascorubrin	9
2.7 โครงสร้างของสารสีส้ม rubropunctatin	9
2.8 โครงสร้างของสารสีเหลือง ankaflavin	9
2.9 โครงสร้างของสารสีเหลือง monascin	10
4.1 เชื้อรา *Monascus purpureus* SS14 บนอาหารแข็ง MYS	26
4.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว MYS ที่มีความเจือจางอาหารต่อน้ำในอัตราส่วน 25:75 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	27
4.3 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว MYS ที่มีความเจือจางอาหารต่อน้ำในอัตราส่วน 25:75 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน	27
4.4 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว MYS ที่มีความเจือจางอาหารต่อน้ำในอัตราส่วน 25:75 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน	28
4.5 ลักษณะสีของกล้าเชื้อปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ในอาหารเหลวสูตร MYS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	28
4.6 ลักษณะของสีอาหารเหลวสูตร MYS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ก่อนการลงกล้าเชื้อ	29
4.7 ลักษณะสีของอาหารเหลวสูตร MYS หลังจากที่ได้ลงกล้าเชื้อปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร	29
4.8 ลักษณะสีและเซลล์ของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MYS 100 มิลลิลิตรในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน	30
4.9 ลักษณะสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MYS 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้ง, พีเอช, และค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ที่480 นาโนเมตรต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MYS ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาทีเป็นระยะเวลา 14 วัน 33
4.11 ลักษณะของอาหารสูตร MS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ก่อนการลงกล้าเชื้อ 34
4.12 ลักษณะสีของอาหารเหลวสูตร MS หลังจากที่ได้ลงกล้าเชื้อปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร 34
4.13 ลักษณะสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MS 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน 35
4.14 ลักษณะสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MS 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน 35
4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้ง, พีเอช, และค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ที่ 400 และ 480 นาโนเมตรและค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ที่ 400 และ 480 นาโนเมตร ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MS ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 14 วัน 38
4.16 ลักษณะของอาหารสูตร TAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ก่อนการลงกล้าเชื้อ 39
4.17 ลักษณะของอาหารสูตร TAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร หลังเติมกล้าเชื้อปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร 39
4.18 ลักษณะสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารสูตร TAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน 40
4.19 ลักษณะสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารสูตร TAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน 40
4.20 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง,ค่าเฉลี่ยของpHที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ,ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 480 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 14 วัน 43
4.21 ลักษณะของอาหาร TAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ก่อนการลงกล้าเชื้อ 44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.22 ลักษณะของอาหาร TAP เติมน้ำตาล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร หลังเติมกล้าเชื้อ ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร..... 44

4.23 ลักษณะสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร TAP เติมน้ำตาลซูโครส ปริมาตร100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน..... 45

4.24 ลักษณะสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร TAP เติมน้ำตาลซูโครส ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน..... 45

4.25 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง,ค่าเฉลี่ยของ pHที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ,ค่าเฉลี่ยOD_{400}, ค่าเฉลี่ย OD_{500}และค่าเฉลี่ยOD480 ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ และค่าเฉลี่ยของ OD_{400}กับOD_{480}ของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร TAP เติมน้ำตาลซูโครส..... 48

4.26 การเปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง(การเจริญเติบโต)ของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารแต่ละชนิด..... 50

4.27 การเปรียบค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ผลิตและหลั่งออกมานอกเซลล์ที่ 480 นาโนเมตร ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง ของอาหารชนิดต่างๆ..... 51

4.28 การเปรียบค่าพีเอชที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง... 52

4.29 สารสกัดรงควัตถุที่ผ่านการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี..... 55

Fraction 1: ใช้เอทิลอะซิเตท เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase)

Fraction 2: ใช้เมทานอล เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase)

4.30 สารสกัดรงควัตถุที่ผ่านการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี จุดบนแผ่นTLC Silica gel สังเกตด้วยตาเปล่าภายใต้แสงธรรมชาติ..... 56

ก : สารสกัดจากเอทิลอะซิเตท (Fraction 1)

ข : สารสกัดจากเมทานอล (Fraction 2)

4.31 สารสกัดรงควัตถุที่ผ่านการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี จุดบนแผ่นTLC Silica gel ไปส่องดูภายใต้ UV light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร..... 56

ก : สารสกัดที่ใช้เอทิลอะซิเตท (Fraction 1)

ข : สารสกัดที่ใช้เมทานอล (Fraction 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้ความสำคัญกับสุขภาพมากยิ่งขึ้นจึงมีความนิยมที่ใช้สิ่งของหรือสารที่ได้รับจากธรรมชาติแม้กระทั่งสารสีที่ใช้ในชีวิตประจำวันไม่ว่าจะเป็นสารสีที่ผสมในอาหาร เครื่องสำอาง และอื่นอีกมากมาย ทำให้มีความสนใจที่จะศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับสารสีที่มีอยู่ในธรรมชาติ เพื่อที่จะนำไปปรับใช้กับสีในอาหาร เครื่องสำอาง และอื่นอีกมากมาย เนื่องจากสารสีจากธรรมชาติเป็นสารสีที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษแก่ร่างกาย ไม่ก่อให้เกิดสารพิษตกค้างในร่างกาย และยังมีคุณประโยชน์ ซึ่งจุลินทรีย์ก็เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่ผู้บริโภคให้ความสนใจเนื่องจาก จุลิทรีย์มีขนาดเล็ก เจริญได้เร็ว ใช้พื้นที่เพาะเลี้ยงน้อย ผลิตสารสีได้ปริมาณมาก มีต้นทุนในการผลิตค่อนข้างต่ำ ทำให้สารสีจากเชื้อจุลินทรีย์เป็นที่สนใจเนื่องจากเหมาะที่จะผลิตในอุตสาหกรรม

เชื้อราโมแนสคัสเป็นเชื้อราที่สามารถเจริญได้ดีในรูปของข้าวแดง (อังคัก) เพื่อใช้ในการปรุงแต่งสีไวท์ เต้าหู้ยี้ ใช้ถนอมอาหารประเภทเนื้อสัตว์ ใช้รักษาโรค รวมทั้งใช้เป็นสีผสมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง เชื้อราโมแนสแคสเป็นเชื้อราที่มีที่มีรงควัตถุหลายชนิด ซึ่งสามารถแบ่งสีของเชื้อราโมแนสคัสได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่สารสีแดง (Monacin และ Rubropunctamine)สารสีส้ม (Monascorubrin และ Rubropunctatin) สารสีเหลือง (Monascin และ Ankaflamine) ซึ่งส่วนมากนิยมเลี้ยงในอาหารแข็ง เช่น ข้าว เนื่องจากสามารถที่จะผลิตสารสีได้เป็นจำนวนมาก ได้มีการพัฒนาในการเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว เนื่องจากสีสามารถละลายน้ำได้ดีและได้ปริมาณที่ค่อนข้างมาก ต่อมาได้มีการแยกสีจากเชื้อราโมแนสคัส พบว่าสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นสารทุติยภูมิประเภท polyketide มีสารอะซิเตทเป็นหน่วยเริ่มต้น ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส นั้นมีหลายปัจจัยด้วยกัน ได้แก่ อุณหภูมิ อัตราการเขย่า ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณหัวเชื้อ ความชื้น และ พีเอช

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Monascus purpureus* ในอาหารเหลวสูตร MYS, MS และอาหารสูตร TAP ที่เติมน้ำตาลและไม่เติมน้ำตาลซูโครส

2) เพื่อศึกษาปริมาณสารสีที่ผลิตได้ในอาหารเหลวสูตร MYS, MS และอาหารสูตร TAP ที่เติมน้ำตาลและไม่เติมน้ำตาลซูโครส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาการเจริญและการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* ในอาหารเหลวสูตร MYS MS และอาหารสูตร TAP ที่เติมน้ำตาลและไม่เติมน้ำตาลซูโครส ในสภาวะที่เหมาะสม ศึกษาความแตกต่างของสีที่ได้จากการเลี้ยงในแต่ละสูตรอาหาร จากนั้นนำมาสกัดสารสีและนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ได้ความรู้ที่เกี่ยวกับเชื้อรา *Monascus purpureus* ในการผลิตสีที่แตกต่างกันในแต่ละสูตรอาหาร

2) นำความรู้ที่ได้มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเนื่องจากสีจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นสีจากธรรมชาติและสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้หลายอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แหล่งกำเนิดของเชื้อราโมแนสคัส (มณชัยและสาโรจน์, 2555)

เชื้อราโมแนสคัส ได้ถูกค้นพบและได้รับการตั้งชื่อเป็นสกุลโมแนสคัส (*Monascus* sp.) อย่างเป็นทางการเมื่อ ค.ศ. 1884 โดย Van Tieghem (Carels and Shepherd,1975) แต่การใช้ประโยชน์จากเชื้อราโมแนสคัสนั้น ได้มีมาเป็นระยะเวลานานแล้ว โดยเฉพาะในประเทศจีน การผลิตเป็นข้าวแดง (red rice) (Church,1920) ได้จากการหมักที่ข้าวนึ่งแล้วบ่มด้วยเชื้อราโมแนสคัสที่อุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสม เชื้อนี้ก็จะสามารถเจริญและผลิตสีแดงบนเมล็ดข้าว นอกจากนี้ยังมีประเทศไต้หวัน ญี่ปุ่น อินโดเนเซีย และฟิลิปปินส์ ที่รู้จักใช้ประโยชน์จากเชื้อราโมแนสคัส โดยนำมาทำสีผสมอาหาร เครื่องดื่ม และทำยารักษาโรคพื้นบ้าน (Wong and Koehler,1981) ในขณะที่ประเทศแถบซีกโลกตะวันตกรู้จักเชื้อราโมแนสคัสในฐานะเป็นเชื้อราที่ปะปนอยู่ในเมล็ด ธัญพืช แป้ง ไซเลจ (Lizuka and Lin,1981) ซึ่งข้าวแดงยังมีชื่อเรียกอื่นๆ อีกได้แก่ ข้าวแดงจีน (Chinese red rice) อังคัก (ang-kak) แอนคัก (ankak) แองคา (anka) อังคเวค (angquac) เบนิ-โคจิ (beni-koji) และอะกา-โคจิ (aka-koji) (Hesseltine,1965)

ดังนั้นบทบาทส่วนใหญ่ของเชื้อราโมแนสคัสนั้นมาจากคุณสมบัติพิเศษที่สามารถผลิตสีในโทนสีแดง ส้ม และเหลืองได้ โดย Palo *et al.* (1960) ได้ทดลองใช้เชื้อข้าวแดงนี้ทำข้าวแดงจนได้ข้าวแดงที่มีคุณภาพ สามารถนำเอาข้าวแดงมาเจือสีในอาหารได้โดยตรง ในเวลาต่อมาได้มีการศึกษาเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในสภาพหมักเปียก (submerged culture) ครั้งแรกโดย Lin (1973) จนกระทั่งปัจจุบันก็ยังมีการศึกษาและพัฒนาเกี่ยวกับการผลิตสีทั้งในสภาพหมักแห้งและหมักเปียกเรื่อยมา เนื่องจากการหันมาให้ความสำคัญกับการใช้สีผสมอาหารจากธรรมชาติเพิ่มมากขึ้นรวมทั้งสารเมแทบอไลท์อื่นๆ อีกด้วย

2.2 ลักษณะรูปร่างของเชื้อราโมแนสคัส (มณชัยและสาโรจน์, 2555)

เชื้อรา *Monascus* spp. สามารถผลิตสารสีได้ตั้งแต่สีเหลืองส้มไปถึงสีแดง ปัจจุบันมีการพัฒนาไปสู่อุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอางค์จากการใช้ประโยชน์ของเชื้อราตัวนี้ เชื้อรา *Monascus* spp.จัดอยู่ในวงศ์ (Family) Monascaceae กลุ่ม (Class) Ascomycetes กลุ่มย่อย (Subclass) Plectomycetidae อันดับ (Order) Eurotiales เส้นใยมีผนังกั้น (Septate) มีการสืบพันธุ์แบบมีเพศและไม่มีเพศ เส้นใยมีการแตกกิ่งก้านสาขามากมายและมักเจริญแบบชิดเกาะแน่นบนผิวของอาหารแข็ง เส้นใยเมื่ออายุอ่อนมีสีขาว แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีแดงหรือแดงม่วงดังแสดงในรูปที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

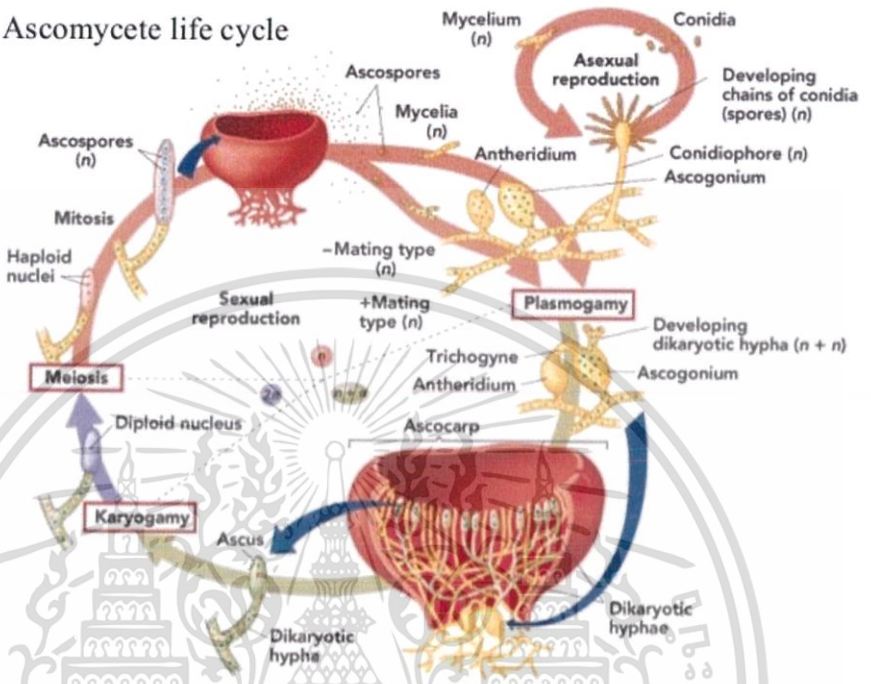
รูปที่ 2.1 ลักษณะเชื้อรา *Monascus* spp.
(**ที่มา** : www.quynhphansite.wordpress.com)

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ การสร้างโคนิเดียจะเจริญมาจากโคนิดิโอฟอร์ (conidiophore) มีลักษณะกลม หรือรูปไข่ อาจมีอันเดียวหรือเกิดติดต่อกันเป็นลูกโซ่ (Hawksworth and Pitt,1983) โคนิเดียมักจะไม่มีสี แต่เมื่ออายุมากจะเกิดสีแดงขึ้นได้มาก โคนิดิโอฟอร์มีขนาดสั้น อาจมีผนังกั้น หรือเซพเตด 0-1 ด้าน ถ้ามีขนาดยาวอาจมีผนังกั้น 2-6 ด้าน เป็นสายตรงหรือขดเป็นเกลียว และเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่ออายุแก่ขึ้น การงอกของโคนิเดียจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่สูตรอาหาร เช่น C medium (Hiroi และคณะ, 1979) เหมาะสำหรับการเกิดโคนิเดียของโมแนสคัส นอกจากนั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นอีก เช่น อายุสปอร์ความหนาของสปอร์ ความเป็นกรดด่าง แสงและอุณหภูมิ เช่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35 เซลเซียส โดยทั่วไปโคนิเดียจะงอกภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อมีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมด้วยการสร้าง germ tube ขึ้นมา 1-2 อัน หรือบางทีอาจมีถึง 6 ซึ่งการงอกของโคนิเดียกระตุ้นได้ด้วยคาร์โบไฮเดรตหลายชนิด (Wong และ Bau,1987)

ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อรา *Monascus* spp. จะคล้ายๆกับเชื้อราอื่นใน Class Ascomycetes ซึ่งจะมีการสร้างเพอริทีเซียม (Perithecium) บางรายงานใช้คลิสโททีเซียม (Cleistothecium)ซึ่งเป็นแอสโคคาร์ป (Ascocarp) มีรูปร่างกลม โดยจะเกิดบนก้าน(Stalk) (Kolotila และคณะ1978,Smith,1969; Arx Von, 1974) ที่มีหรือไม่มีผนังกั้นก็ได้แอสโคคาร์ปเกิดขึ้นบนเส้นใยซึ่งเป็นแบบโฮโมแทลลิก (Homothallic) โดยมีการสร้างโครงสร้างออกมา 2 ชนิดคือ แอนทอริเดียม (Antheridium) และแอสโคโกเนียม (Ascogonium)เกิดการฟิวชัน (Fusion) ที่ปลายแอสโคโกเนียมกับส่วนฐานหรือส่วนกลางของแอนเทอริเดียมแล้วจึงจะมีการวิวัฒนาการต่อไปอีกคือแบ่งเซลล์แบบไมโอซีสตามมาด้วยไมโตซีสมี Daughter nuclei จากการแบ่งตัวมีการขยายผนังเซลล์รวมออกเรียกว่า การสร้างแอสโคคาร์ปขึ้นในที่สุดภายในเพอริทีเซียมมีแอสโคสปอร์ (Ascospores)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากมายโดยแอสโคสปอร์จำนวน 2-8 รวมอยู่ภายในแอสคัส (Ascus)แอสโคสปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่ อาจมีสีน้ำตาล สีแดง สีส้ม หรือไม่มีสี เมื่อผนังแอสโคคาร์ปแตกออกก็จะปล่อยแอสโคสปอร์งอกเป็นเส้นใหม่ขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 วงจรชีวิตของ *Monascus* spp.
(**ที่มา** : www.quynhphansite.wordpress.com)

2.3 สายพันธุ์ต่างๆของเชื้อราโมแนสคัส (บุษบา, 2542)

Van 1184 (Stchigel et al. 2004) ได้แยกสารและให้ชื่อเชื้อราโมแนสคัส และแบ่งได้เป็น 2 สายพันธุ์ คือ *M.mucoroides* และ *M. ruber* ต่อมา Went (1895) ได้แยกสายพันธุ์ที่สำคัญ คือ *M. purpureus* จากข้าวแดงหรืออังคัก ปัจจุบันมีการรวบรวมเชื้อราโมแนสคัสนี้กว่า 20 สายพันธุ์ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.1 ซึ่งมีวิธีการจัดแบ่งสายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัสโดยนักวิจัยหลายกลุ่ม แต่ละกลุ่มก็ใช้หลักการแตกต่างกันในการแบ่งสายพันธุ์ เช่น โดยอาศัยสมบัติสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา (Lizuka และLin,1981) ใช้เฉพาะสัณฐานวิทยา (Hawkseorth และ Pitt,1983) การใช้สมบัติวิทยาเอนไซม์โปรตีเอสรูปแบบต่างๆ (Nishikawa และคณะ,1988) ดังแสดงในตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่2.1 สายพันธุ์ต่างๆของเชื้อราโมแนสคัส

M. albidus	*M. albus*	*M. anka*	*M. araneosus*	*M. barkeri*
M. bisporus	*M. floridanus*	*M. fuliginosus*	*M. kaoliang*	*M. major*
M. mocoroides	*M. olei*	*M. paxii*	*M. pallens*	*M. pilosus*
M. pubigerus	*M. purpureus*	*M. purpureescens*	*M. ruber*	*M. rubiginosus*
M. rubropunctatus	*M. Sanguineus*	*M. serorubercens*	*M. serorubercens*	*M. vitreus*

ที่มา : บุษบา (2542)

นอกจากจะแตกต่างกันทางลักษณะทางชีววิทยาแล้ว ทางด้านเอนไซม์ยังต่างอีกด้วยโดยเชื้อราในกลุ่ม *M. pilosus* พบกิจกรรมเอนไซม์ β-galactosidase และ α – glucosidase *M. purpureus* พบในเอนไซม์ Polypectase and Crystine arylamidase และพบเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสใน *M. rubber* (Bridge และ Hawksworth, 1985) ส่วน *M. floridanus* เป็นสายพันธุ์เดียวที่พบกิจกรรมเอนไซม์ Trysinase แต่ไม่พบเอนไซม์ Valine arylamidase เหมือนสายพันธุ์อื่น (Bridge และ Hawksworth, 1985;Bamard และ cannon, 1987) ส่วน Nishikawa และคณะ (1988) ได้พบว่าเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ต่างๆ ส่วนใหญ่จะมีเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสมากกว่าแอดซิสโปรตีเอสและน้อยชนิดที่มีเอนไซม์โปรตีเอสทั้ง 2 แบบ

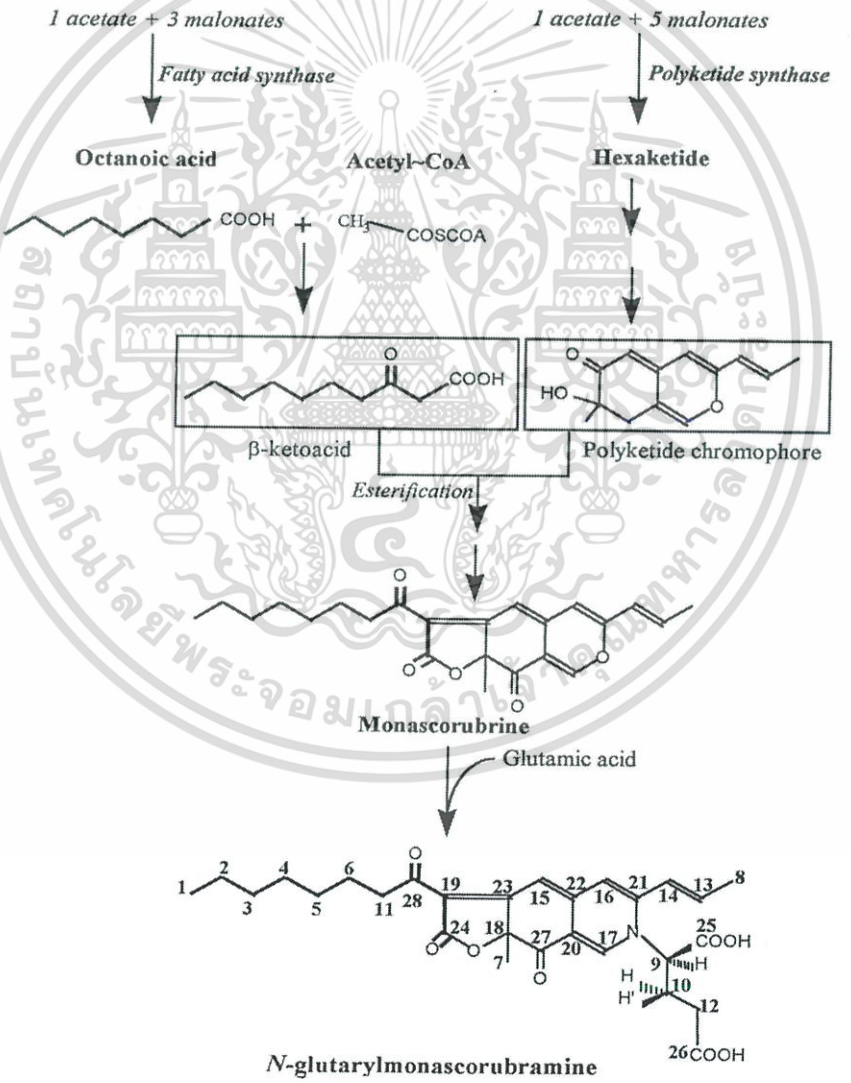
ต่อมา Nisdikawa and Lizuku (1993) ได้เสนอความสัมพันธุ์ของสายพันธุ์ต่างๆของเชื้อราโมแนสคัสโดยใช้หลักการวิเคราะห์อะครีลามายเจลอิเล็กโตรฟอรีซีส (acrylamide gelelectropholysis) สามารถแบ่งเชื้อราเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่ม1 และกลุ่ม2 โดยอาศัยความเหมือนกันทางวิทยาเอนไซม์ต่างๆ เช่นเอนไซม์เอสเทอเรสแลคเตตดีไฮโดรจีเนส แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสและกลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส ส่วนในประเทศอิรักมีรายงานพบสายพันธุ์ใหม่ของเชื้อราโมแนสคัส คือ *M. pallens* และ *M. sanguineus* (Cannon และคณะ 1995) ล่าสุด Udagawa และ Baba (1998) รายงานพบสายพันธุ์ใหม่ *M.* lunnisporus เทคนิคทางพันธุกรรมได้ถูกนำมาใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อราข้าวแดง ริเริ่มโดยคณะวิจัยของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ชุลี,2536; กมลนันท์ และคณะ,2541;เสาวนีย์ และคณะ 2540;กมลนันท์และคณะ,2541:เสาวนีย์ และคณะ 2540; Chaisrisook, 1998)

2.4 การสังเคราะห์สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส (วรวรรณ, 2550)

สีจากเชื้อราแนสคัสเป็นสารประเภท โพลีคีไทด์(polyketide)ที่เกิดจากการรวมตัวของ acetate 1 โมเลกุล กับ malonate 5 โมเลกุลโดยเอนไซม์ polyketide synthase เกิดเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

hexaketide chromophore โดยกระบวนการจะดำเนินต่อไปเรื่อยๆจนได้ polyketide chromophore ซึ่งมารวมตัวกับกรดไขมันกลาง (medium-chain fatty acid) เช่น octanoic acid ที่ถูกสร้างขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน (fatty acid biosynthetic pathway) โดยปฏิกิริยา trans-esterification เกิดเป็นสารสีส้มคือ monascotubin (หรือได้ rubropunctatin ถ้ากรดไขมันที่ทำปฏิกิริยา trans-esterification กับ polyketide chromophore เป็น hexanoic acid) จากนั้นสารสีส้ม monascorubrin จะเกิดปฏิกิริยารีดักชั่น (reduction)แล้วสารสีเหลือง คือ ankkaflavin (หรือได้สารสีเหลือง monascin จากสารสีส้ม rubropunctatin) ในขณะที่สารสีแดงได้แก่ monascorubramine และ rubropunctamine เกิดจากสารสีส้มทำปฏิกิริยา amiation กับ NH_3 unit (Kurono et al., 1963; Turner, 1971; Machand and Whalley, 1973; Hajaj et al., 2000 ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 เส้นทางชีวภาพสังเคราะห์สารสีของเชื้อราโมแนสคัส (**ที่มา** : Hajjaj *et al.* 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

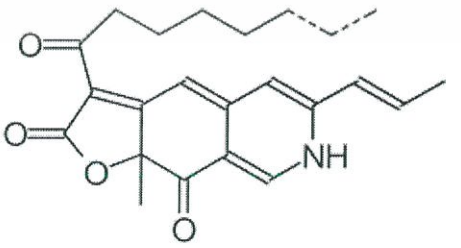
เมื่อได้สารเริ่มต้นแล้วปฏิกิริยาที่จะเกิดขึ้นต่อไปขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์นั้นๆ เช่น อาจมีการเติม หรือดึงออกซิเจนออกจากโครงสร้างของสาร เกิดปฏิกิริยา decarboxylation มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างรูปหรือยักย้ายหมู่ต่างๆ ภายในโมเลกุลของสารเกิด intra-หรือ intermolecular oxidative coupling หรือให้เกิดพันธะระหว่าง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

สารสีที่ได้จาก *Monascus sp.* เช่น rubropunctatin จาก M.rubropunctatus monascorbin จาก *Monascus purpureus* และ monascin (monascoflavin) จาก *Monascus sp.* เป็นสารประกอบโพลีคีไทด์ซึ่งเป็นเมทาบอไลท์ทุติยภูมิ โดยผลิตขึ้นมาคล้ายกับกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน

เชื่อว่าเอนไซม์โพลีคีไทด์เป็นเอนไซม์ที่ใช้สังเคราะห์สารโพลีคีไทด์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับยีนที่สังเคราะห์เอนไซม์ fatty acid synthase อย่างใกล้ชิด จากการจำลองตัวเองที่ผิดพลาดของยีนสูญเสียขั้นตอนรีดักชั่นไปทำให้เอนไซม์ polyketide synthase ทำหน้าที่สังเคราะห์โพลีคีไทด์ แทนที่จะเป็น fatty acid synthase ซึ่งมีหน้าที่สังเคราะห์กรดไขมัน ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองแสดงการสังเคราะห์โพลีคีไทด์ถูกยับยั้งด้วยแสงสีน้ำเงิน โดยพบว่าแสงสีน้ำเงินจะกระตุ้นให้เชื้อราสร้างโคนิเดีย เบต้าแคโรทีนและกรดไขมัน แทนสารโพลีคีไทด์ โดยไปมีผลต่อเอนไซม์ที่ใช้สังเคราะห์หรือควบคุมวิถีการสร้างโพลีคีไทด์ การได้รับแสงสีน้ำเงินเวลาเพียง 2 นาที ก็สามารถยับยั้งการสังเคราะห์สารตโพลีคีไทด์ได้แล้ว

2.4.1 สารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส

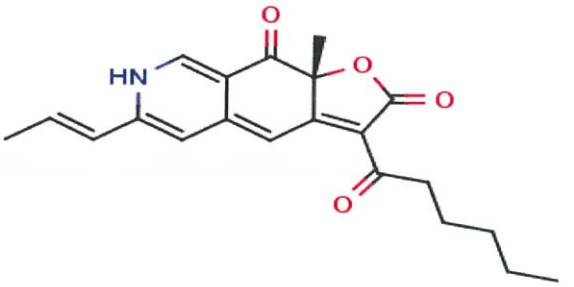
สารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสแบ่งได้เป็น 3 สี คือสารสีแดง ได้แก่ โมนาสโครูบรามีน (monascorubramine) และรูโบรพังทามีน (rubropunctamine) ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2.4 และ 2.5 ตามลำดับ สารสีส้มได้แก่ โมนาสโครูบริน (monascorubrin) และรูโบรพังทาทิน (rubropunctatin) ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2.6 และ 2.7 ตามลำดับ ส่วนสารสีเหลืองได้แก่ อังคักฟลาวิน (ankkaflavin) และโมแนสซิน (monascin) ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2.8 และ 2.9 ตามลำดับ (Sweeny et al.,1981)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของสารสีแดง monascorubramine

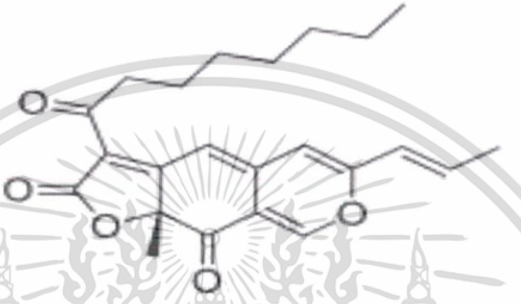
(**ที่มา** : http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132005000800004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 โครงสร้างของสารสีแดง rubropunctamine

(**ที่มา** : https://www.clearsynth.com/en/AllProducts.asp?stock=&val=R&page=65)

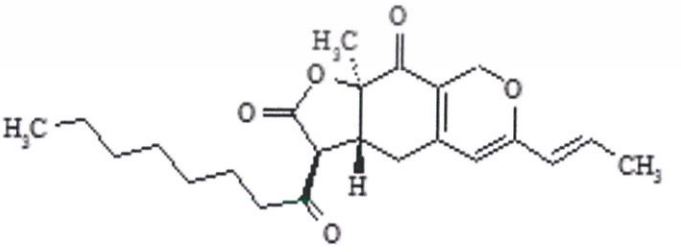


รูปที่ 2.6 โครงสร้างของสารสีส้ม Monascorubrin

(**ที่มา** : https://www.scienceopen.com/document?vid=30d06-e8d-4307-b565-78f6a)

รูปที่ 2.7 โครงสร้างของสารสีส้ม rubropunctatin

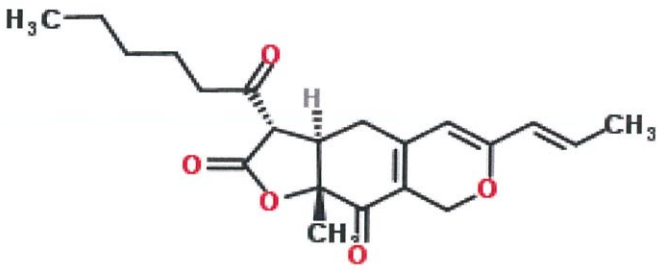
(**ที่มา** : http://www.guidechem.com/cas-514/514-67-0.html)



รูปที่ 2.8 โครงสร้างของสารสีเหลือง ankaflavin

(**ที่มา** : http://tlcstandards.com/ProdDetail.aspx?ID=M-135004&name=MONASCORUBRAMIN)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 โครงสร้างของสารสีเหลือง monascin

(**ที่มา** : http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.25043813.html)

เชื้อราโมแนสคัส ผลิตสารสีชนิดต่างๆดังนี้

1. โมนาสโคฟลาวิน (monascoflavin) แยกได้เป็นครั้งแรกพร้อมกับสารโมนาสโครูยรินจากเชื้อรา *M. purpureus* Wentii เป็นสารสีในกลุ่มสีเหลือง สูตรโมเลกุลคือ $C_{21}H_{26}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 358 ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปีดังนี้ λ^{MeOH}_{max} 225 228 385 mμ มีจุดหลอมเหลว 143 ถึง 155 องศาเซลเซียส สารสีโมนาสโคฟลาวินเป็นตัวเดียวกันกับสารโมนาสซิน (*monascin*) ซึ่งแยกได้จากเชื้อรา *M. rubiginousus*

2. อังคักฟลาวิน (ankaflavin) เป็นสารสีในกลุ่มสีเหลือง สูตรโมเลกุลคือ $C_{23}H_{30}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 386 มีจุดหลอมเหลว 120-121 องศาเซลเซียส ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปีดังนี้ λ^{dioxan}_{max} 212 228 382 mμ สารสีอังคักฟลาวินมีสูตรโครงสร้างสัมพันธ์กับสารโมนาสซิน เช่นเดียวกับสารสีรูโบรพังทาพินที่มีสูตรสัมพันธ์กับสารสีโมนาสโครูบริน

3. รูโบรพังทาทิน (rubropunctatin) เป็นสารสีในกลุ่มสีส้มสูตรโมเลกุลคือ $C_{21}H_{22}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 354 สารสีรูโบรพังทาทินสามารถทำปฏิกิริยาต่อได้กับสังกะสีและกรดอะซิติกได้อะโปรูโบรพังทาทิน (aporrubropunctamine) สารสีนี้มีผลึกรูปแข็งสีแดง มีจุดหลอมเหลว 156 ถึง 157 องศาเซลเซียส

4. โมนาสโครูบิน (monascorubin) เป็นสารสีในกลุ่มสีส้ม สูตรโมเลกุลคือ $C_{23}H_{26}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 382 ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปีดังนี้ λ^{BtOH}_{max} 253 302 352 mμ มีจุดหลอมเหลว134 ถึง 136 องศาเซลเซียส

5. รูโบรพังทามีน (rubropunctamine) เป็นสารสีในกลุ่มสีแดง สูตรโมเลกุลคือ $C_{21}H_{23}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 353 สารรูโบรพังทามีนเกิดจากสารรูโบรพังทาทินทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. โมนาสโครูบรามีน (monascorubramine) เป็นสารสีในกลุ่มสีแดง สูตรโมเลกุลคือ $C_{23}H_{27}O_4$ และน้ำหนักโมเลกุล 381 มีจุดหลอมเหลว 207 ถึง 208 องศาเซลเซียส สารโมนาสโครูบรามีน เกิดจากสารโมนาสโครูบรินทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนีย ดังรูปที่ 2.3

โดยสารเหล่านี้เป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) เรียกว่า azaphilones (Babitha และ คณะ,2007) ซึ่งเชื้อราจะสร้างขึ้นพร้อมๆกับการเจริญหรือสร้างหลังจากการเจริญหยุดลงแล้ว

2.4.2 การปล่อยสารสีออกจากเส้นใยเชื้อราโมแนสคัส (ชนาพร และคณะ 2552)

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

Lin and Lizuka (1981) ทดลองเลี้ยงเชื้อรา *M. Haoliang* R-10847 บนอาหารแข็ง Mantou-meal เพื่อศึกษาการสร้างสารสีนอกเซลล์ พบว่าเชื้อราเริ่มต้นสร้างสารสีและปล่อยออกมาในวันที่ 2 ของการเจริญพร้อมกับสารสีที่มีลักษณะหนืดชนิดหนึ่ง (viscous substance) ทำให้สารสีเกาะติดกับเส้นใย และสะสมเพิ่มมากขึ้น จนกระทั่งเส้นใยแตกจึงหลุดออกมา ไม่พบการสะสมสารสีภายในเส้นใย

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

2.4.3 การแยกสารสีโมแนสคัส

วิธีสกัดออกจากเส้นใยจะแตกต่างกันไป ทั้งทางด้านการใช้ตัวทำละลายเป็นตัวสกัดและปริมาณความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ใช้สกัด โดยได้มีการทดลองใช้เมทานอล คลอโรฟอร์ม เอทานอลและอะซิโตน ในการสกัดสีออกจากเส้นใย พบว่าสารสีที่สกัดได้ดีที่สุดคือ เมทานอล ซึ่งสีที่สกัดได้จะมีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ที่ 2 สี ที่ความยาวคลื่น 390 นาโนเมตร (สีเหลือง) และ 500 นาโนเมตร (สีแดง)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตเมแทบอไลต์ของเชื้อราโมแนสคัส

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตสีของเชื้อราโมแนสคัสขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา สภาพการเลี้ยงเชื้อ และองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ (Carels and Shepherd, 1977)

2.5.1 ชนิดของเชื้อราโมแนสคัส

Bridge and Hawsworth (1985) ได้จำแนกเชื้อราโมแนสคัสออกเป็น 4 ชนิด ได้แก่ M. *pilosus, M. puurpureus, M. ruber* และ *M. floridanus* โดยอาศัยความแตกต่างทางด้านสรีรวิทยาและการผลิตเอนไซม์ที่แตกตางกัน ซึ่งในปัจจุบันได้มีการรวบรวมสายพันธุ์ของเชื้อราชนิดนี้กว่า 20 สายพันธุ์แล้ว (บุษบา, 2542)

ราข้าวแดงที่ใช้กันสมัยก่อนเป็นเชื้อราแนสคัสสายพันธุ์ป่า (wild type) ต่อมาทำการแยกเชื้อ จัดจำแนก และคัดเลือกสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสีได้ดี โดยราข้าวแดงที่แยกได้ครั้งแรกจาก Chinese anka นั้นเป็น *M. purpureus* ต่อมาได้จัดจำแนกราข้าวแดงจากหลายประเทศแถบเอเชียตามระบบใหม่ โดยเน้นที่ละกษณะทางสัณฐานวิยาและลักษณะทางชีวเคมีได้เป็น 12 สายพันธุ์ (Lizuka and Lin, 1981) จนในปัจจุบันมีสายพันธุ์ของเชื้อรามากกว่า 20 สายพันธุ์แล้ว ซึ่งแต่ละสายพันธุ์ก็จะแตกต่างกันไป เชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ที่นิยมใช้หมักข้าวแดงคือ *M. purpureus* และ *M. anka* (บุษบา, 2542) งานวิจัยในระยะต่อมาเป็นการปรับปรุงสายพันธุ์เพื่อเพิ่มการเจริญและเพิ่มความสามารถในการผลิตสี ตลอดจนการได้สีที่ต่างออกไปจากสายพันธุ์เดิมโดยใช้วิธีชักนำให้เกิดมิวเตชั่น (สุภาพร, 2531; Lin and Suen,1973; Hiroi et al.,1979; Lin and Lizuka, 1981: Yongsmith et al., 1990) นอกจากนี้ Kiyohara et al. (1990) มีการใช้เทคนิคขั้นสูงคือ โพรโพทพลาสต์ฟิวชั่นระหว่างเชื้อรา *M. anka* กับ *Aspergillus oryzae* ซึ่งเป็นการปรับปรุงสายพันธุ์อีกวิธีหนึ่ง

2.5.2 สภาพการเลี้ยงเชื้อและองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.5.2.1 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็ง (Solid cultivation)

การเลี้ยงเชื้อราโมเนสคัสโดยการหมักแบบอาหารแข็ง เป็นวิธีดั้งเดิมที่ใช้ในการผลิตสี โดยเฉพาะประเทศจีน ไต้หวัน ญี่ปุ่น อินโดเนเซีย และฟิลิปปินส์ โดยปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของข้าวที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อราโมเนสคัส ได้แก่ สับสเตรต ความชื้น อุณหภูมิ พีเอช และอากาศ เป็นต้น สับสเตรตที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสที่ใช้ทั่วไปและทำเป็นการค้าได้แก่ ข้าว

ซึ่ง Palo *et al.* (1960) ได้ปรับปรุงคุณภาพของข้าวแดงโดยทดลองใช้สายพันธุ์และสับสเตรตที่เหมาะสมจนได้ข้าวแดงที่มีคุณภาพ สามารถนำข้าวแดงนั้นมาเจือสีในอาหารได้ นอกจากนี้ยังมีสับสเตรตอื่นๆอีกเช่น ขนมปัง ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ถั่วเขียว ถั่วเหลือง มันฝรั่ง มันเทศ และมันสำปะหลัง (พลายแก้ว และ บุษบา,2534ก) ความชื้นเริ่มต้นในการเลี้ยงนั้นมีความสำคัญมากต่อการเจริญ ชนิดและปริมาณ ของสารสีของเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่ง Palo *et al.* (1960) ได้ปรับปรุงคุณภาพของข้าวแดงโดยทดลองใช้สายพันธุ์และสับสเตรตที่เหมาะสมจนได้ข้าวแดงที่มีคุณภาพ สามารถนำข้าวแดงนั้นมาเจือสีในอาหารได้ นอกจากนี้ยังมีสับสเตรตอื่นๆอีกเช่น ขนมปัง ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ถั่วเขียว ถั่วเหลือง มันฝรั่ง มันเทศ และมันสำปะหลัง (พลายแก้ว และบุษบา, 2534ก) ความชื้นเริ่มต้นในการเลี้ยงนั้นมีความสำคัญมากต่อการเจริญ ชนิดและปริมาณ ของสารสีของเชื้อรา

Palo *et al.* (1960) พบว่าที่ความชื้นต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ได้การผลิตสีของข้าวแดงที่ดี ต่อมาเชิดชัย และคณะ (2519) พบว่าความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตสีแดง *M. purpureus* K001 บนเมล็ดข้าวคือ 60 เปอร์เซ็นต์ Lotong and Suwannarit (1990) ทดลองเลี้ยง *Monascus* sp. NP1 เพื่อศึกษาความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตสีของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวนึ่ง พบว่าที่ความชื้น 32.6 เปอร์เซ็นต์ในถุงพลาสติก สามารถทำให้เชื้อราโมแนสคัสผลิตข้าวแดงได้ดีที่สุด เนื่องจากที่เปอร์เซ็นต์ความชื้นต่ำเกินไปเชื้อจะเจริญได้น้อยและผลิตสีลดลง แต่ถ้าความชื้นเริ่มต้นสูงเกินไปจะไปเพิ่มการทำงานของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสทำให้เกิดผลิตภัณฑ์เป็นกลูโคสมากขึ้น ซึ่งกลูโคสนี้จะถูกใช้ในการผลิตเอทานอลแทนสี ดังนั้นถ้าปริมาณกลูโคสสูงเกินไปก็จะไปยับยั้งการผลิตสี

Han (1990) ได้ทำการคัดเลือก *Monascus* sp. จำนวน 13 สายพันธุ์จากจำนวนทั้งหมด 125 สายพันธุ์ เพื่อศึกษาการผลิตสีบนเมล็ดข้าว พบว่า *M. purpureus* ATCC 16365 ผลิตสีแดงได้ดีเมื่อความชื้นเริ่มต้น 50 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ส่วน Johns and Stuart (1991) พบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 56 เปอร์เซ็นต์ *M. purpureus* FRR 2190 สามารถผลิตสีแดงออกสู่ภายนอกเซลล์ได้มากที่สุด ขณะที่พลายแก้ว และบุษบา (2534ข) พบว่าความชื้นเริ่มต้นประมาณ 41 เปอร์เซ็นต์เหมาะสมต่อการผลิตสีแดงของ M. kaoliang และ M. barkari ส่วนนิสา (2537) ศึกษาการเลี้ยงเชื้อ *Monascus* sp. KB11304 และ KB10M16 ที่ผลิตสีแดง และ KB20M10.2 ที่ผลิตสีเหลืองบนปลายข้าวหอมมะลิพบว่าเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์ผลิตสีได้ดีที่ความชื้นเริ่มต้น 38 เปอร์เซ็นต์

ส่วนพีเอชในการเลี้ยงเชื้อรานั้นส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วงพีเอชค่อนข้างไปทางกรดโดย Palo et al. (1960) รายงานว่า *M. purpureus* สามารถผลิตสีแดงได้ดีที่พีเอชเริ่มต้น 5-6 ซึ่งใกล้เคียงกับ Johns and Stuart (1991) ที่พบว่าพีเอชเริ่มต้น 6.0 เหมาะสมต่อการผลิตสีแดงของ *M. purpureus* FRR 2190

ส่วนการให้อากาศ เชิดชัย และคณะ (2519) พบว่าการเลี้ยง *M. purpureus* K001 โดยมีการเขย่าหรือให้อากาศจะช่วยให้เชื้อราผลิตสีแดงได้ดีและเร็วขึ้นเช่นเดียวกับ Chiu and Chan (1992) ศึกษาผลของการให้อากาศที่มีต่อการผลิตสีของเชื้อรา *M. purpureus* บนชานอ้อยซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้ทางเกษตร โดยเปรียบเทียบการเลี้ยงแบบตั้งทิ้งไว้กับการเลี้ยงแบบให้มีการกมุนของภาชนะ ซึ่งในการทดลองใช้ขวดเป็นภาชนะ พบว่าการเลี้ยงแบบให้มีการหมุนขวดนั้นเชื้อจะผลิตสีได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดีกว่าการเลี้ยงแบบตั้งทิ้งไว้ธรรมดา 2-3 เท่า การให้อากาศนั้นเป็นการระบายความร้อนและรักษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับออกซิเจน

2.5.2.2 การเลี้ยงเชื้อโมแนสคัสในอาหารเหลว (Submerged cultivation)

มีการศึกษาเชื้อราโมแนสคัสโดยการเลี้ยงในอาหารเหลวอย่างกว้างขวาง เนื่องจากสามารถควบคุมสภาวะต่างๆในการเลี้ยง ควบคุมการปนเปื้อน ประหยัดพื้นที่ในการทำงานและขยายขนาดการหมัก (scale-up) ได้ง่ายกว่าการหมักบนอาหารแข็ง (Carels and Shepherd, 1977,1978, 1979; Broder and Koehler, 1980) จึงมีการพัฒนาระบบการเลี้ยงเพื่อการเจริญและการผลิตสีได้ดียิ่งขึ้น ปัจจัยที่มีผลต่อการเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว ได้แก่ แหล่งคาร์บอนและแหล่งให้พลังงานแหล่งไนโตรเจน สารที่จำเป็นต่อการเจริญ อุณหภูมิ พีเอช การให้อากาศ (aeration) และการกวน (agitation) เป็นต้น

Lin (1973) ได้ทำการคัดเลือกเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญได้ดีในอาหารเหลวจากหัวเชื้อที่ใช้ทำเหล้าเกาเหลียง พบว่าแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการสร้างสีของ *Monascus* sp. F-2 คือ แป้งข้าวเจ้า มอลโตส และกาแลคโตส ตามลำดับ

ค.ศ. 1980 Broder and Koehler พบว่า *M. purpureus* NRRL2897 ผลิตสีแดงได้ดีที่สุดในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำตาลมอลโตสเข้มข้น 1. เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นน้ำตาลฟรุคโตสเข้มข้น 15.0 และ 8.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในปีต่อมา

Wong et al. (1981) ศึกษาอัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนแหละแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตสีของ *M. purpureus* N11S พบว่าเมื่อใช้กลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ใช้แอมโมเนียมไนเตรท 0.5 กรัมต่อลิตร การเจริญในสภาพที่มีความเข้มข้นของกลูโคสสูงเพียงอย่างเดียวจะทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีสภาพเป็นกรดซึ่งไม่เหมาะต่อการผลิตสี เนื่องจากเชื้อราต้องการอัตราส่วนของคาร์บอนและไนโตรเจน เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต

Lin and Demain (1991) พบการสร้างสีแดงของ *Monascus* sp. TTWMB6042 ดีที่สุด ในอาหารเหลว เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนเป็นเด็กตริน (dextrin) รองลงมาคือ แป้ง กลูโคส มอลโตส และฟรุคโตสตามลำดับ ส่วนบุษบา และ วรรณภา (2529) ได้ศึกษาการใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน โดยใช้เชื้อราโมแนสคัส 15 สายพันธุ์ในการทดลองพบว่า *Monascus* sp. KB11304 ผลิตสีแดงได้ดีที่สุดในอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง 2 เปอร์เซ็นต์ พีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 7.0 และได้ศึกษาความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม ต่อการผลิตสีของ *Monascus* sp. KB11304, KB21035 และ KB20322 โดยใช้แป้งมันสำปะหลังเป็น แหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน พบว่าความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลังที่เหมาะสมต่อการผลิต สีของ *Monascus* sp. KB11304 KB21035 และ KB20322 คือ 3.0 2.0 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ โดยวัด ค่าสีแดงได้ 98 70 และ 51 หน่วยต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมชาย (2536) พบว่า *Monascus* sp. KB20M10.2 ที่ผลิตสีเหลือง สามารถเจริญได้ดี ที่สุดในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่คือ แลคโตส และซูโครส แต่สามารถผลิตสีได้ดีในน้ำตาลหลายโมเลกุล เช่น แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวเจ้า soluble starch และแป้งมันสำปะหลังเป็นต้น เมื่อเลือกใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการผลิตสีเหลือง คือ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ที่พีเอชเป็นกลาง และนิสา (2537) พบว่าเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์พ่อแม่ KB11304 สามารถเจริญและผลิตสีแดงได้ดีที่สุดในแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานที่เป็นน้ำตาลกลูโคส ส่วนมิวแตนทสีขาว KB20M1 สามารถเจริญได้ดีที่สุดในแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน ที่เป็นกลูโคส และมอลโตส ในอาหาร defined medium ที่พีเอช 7.0

ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับแหล่งไนโตรเจนนั้น Lin (1973) พบว่า *Monascus* sp. F-2 สามารถใช้แหล่งไนโตรเจนได้หลายชนิดในการผลิตสีแดง ได้แก่ โมโนโซเดียมกลตูาเมต แอมโมเนียมซัลเฟต โพแทสเซียมไนเตรต และโซเดียมไนเตรต ส่วนเปปโตนและยีสต์เอกซ์แทรค ไม่เหมาะสมในการใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน เพื่อให้เชื้อผลิตสีแดง เช่นเดียวกับการทดลองของ Su and Huang (1980) ที่พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตสีแดงของ *M. anka* V-204 คือ โมโนโซเดียมกลตูาเมต เช่นเดียวกับ Lin and Demain (1991) ที่พบว่า โมโนโซเดียมกลตูาเมต เป็น แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตสีแดงของ *Monascus* sp. TTWMB6042 ส่วน แอมโมเนียมคลอไรดุเหมาะสมต่อการเจริญ ขณะที่ Broder and Koehler (1980) พบว่าเมื่อใช้ ยีสต์เอกซ์แทรคเข้มข้น 1.6 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจนให้กับ *M. purpureus* NRRL2897 โดย เชื้อจะผลิตสีส้มแดงที่มีความบริสุทธิ์ของสี 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 611 นาโนเมตรได้ดีที่สุด ส่วนWong *et al.* (1981) พบว่าโซเดียมไนเตรตหรือโพแทสเซียมไนเตรต เข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตรนั้นเหมาะสมต่อการผลิตสีมากที่สุด แต่ถ้าความเข้มข้นสูงกว่า 10 กรัมต่อ ลิตรจะก่อให้เกิดพิษต่อเซลล์และยังยั้งการผลิตสีแดงของเชื้อรา วรรณภา (2529) พบว่า แป้งถั่วเหลืองความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมต่อการผลิตสีแดงของ *Monascus* sp. KB11304 ขณะที่เปปโตนที่ความเข้มข้นเดียวกันจะมีผลต่อการเจริญ ส่วนยีสต์เอกซ์แทรคจะมีผลต่อการเจริญ และการผลิตสี เช่นเดียวกับสุภาพร (2531) ที่พบว่าแป้งถั่วเหลืองเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ เหมาะต่อ การผลิตสีแดงของเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์พ่อแม่ KB11304 และมิวแตนท์ KBU2069 ส่วน แป้งถั่วเหลืองเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์เหมาะกับการผลิตสีแดงของมิวแตนท์ KBN4069 สำหรับแหล่ง ไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ เปปโตน ยีสต์เอกซ์แทรค แอมโมเนียมซัลเฟต และโมโนโซเดียมกลตูาเมตตามลำดับ สมชาย (2536) ศึกษา แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตสีเหลืองของเชื้อราโมแนสคัสมิวแตนท์ KB20M10.2 พบว่า แหล่งไนโตรเจนประเภทสารอนินทรียท์ให้สีเหลืองได้ดีที่สุดคือ โพแทสเซียมไนเตรต แคลเซียมไนเตรต แอมโมเนียมไนเตรต และโซเดียมไนเตรต ตามลำดับ ส่วนแหล่งไนโตรเจน ประเภทสารอินทรียท์ให้สีเหลืองสูงสุดได้แก่ แป้งถั่วเหลือง รองลงมาคือ เปปโตน บีฟเอกซ์แทรค ยีสต์แอกซ์แทรค และ มอลท์เอกซ์แทรค ตามลำดับ ขณะที่นิสา (2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่ เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตสีแดงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ของเชื้อราโมแนสคัส สายพันธุ์พ่อแม่ KB11304 คือ แอมโมเนียมอะซิเตต ส่วนมิวแตนทสีขาว KB20M1 จะสามารถเจริญ ได้ดีในแหล่งไนโตรเจนที่เป็น แอมโมเนียมซัลเฟต โซเดียมไนเตรต และโมโนโซเดียมกลูตาเมตได้ใกล้เคียงกัน ต่อมา Yongsmith et al. (1993) ศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนใน *Monascus* sp. KB10 พบว่าเปปโตนมีผลต่อการผลิตสี ส่วนยีสต์เอกซ์แทรคมีผลต่อการเจริญมากกว่าการผลิตสี และ มอลท์เอกซ์แทรคมีผลต่อการเจริญและการผลิตสีน้อยกว่าแหล่งไนโตรเจนอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อใช้เปปโตนเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์รวมกับกรดกลูตามิกเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์จะสามารถเพิ่ม การผลิตสีเหลืองได้สูงกว่า 2 เท่าของการใช้เปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจนเพียงอย่างเดียว

ในส่วนผลของสารที่จำเป็นต่อการเจริญ (growth facter) McHan and Johnson (1970) พบว่าการเติมวิตามิน 5 ชนิดคือ ไพริดอกซิน (pyridoxin) ไบโอติน (biotin) ไธอะมีน (thiamine) ไนอะซีน (niacin) และไรโบฟลาวิน (riboflavin) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Czapek Dox นั้นไม่มีผล กระตุ้นการเจริญของเชื้อราโมแนสคัส แต่การเติมกรดอะมิโนและเกลือแร่จะช่วยให้การเจริญเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยสังกะสี 800 ไมโครกรัมต่อลิตรจะให้การเจริญดีกว่าแคลเซียม โมลิบดีนัม ทองแดง และแมงกานีส นอกจากนี้เชื้อราจะเจริญได้ดี ยิ่งขึ้นเมื่อเติมสังกะสี 800 ไมโครกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดอะมิโน ได้แก่ ทริปโตเฟน 0.086 กรัมต่อลิตร ลิวซีน 0.53 กรัมต่อลิตร กรดแอสปาติก 0.845 กรัมต่อลิตร ไทโรซีน 0.26 กรัมต่อลิตร ไกลซีน 2.42 กรัมต่อลิตร และฮิสตามีน 0.143 กรัมต่อลิตร แต่ขณะเดียวกันถ้าเติมสังกะสีความเข้มข้นสูงเกินไปจะเป็นพิษต่อเซลล์ (Bau and Wong, 1979) Lin and Demain (1991) พบว่าฟอสเฟตความเข้มข้น 70 มิลลิโมลาร์ขึ้นไป มีผลยับยั้ง การเจริญและการผลิตสีของเชื้อราโมแนสคัส ส่วนแมกนีเซียมซัลเฟตเข้มข้น 16 มิลลิโมลาร์ จะทำให้การผลิตสีเพิ่มขึ้น สำหรับแมงกานีสซัลเฟตและเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.018 และ 0.036 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับจะช่วยส่งเสริมการเจริญและการผลิตสี

ส่วนสภาวะอื่นๆนอกเหนือจากองค์ประกอบของอาหารมีการศึกษาโดย Lin (1973) ทำการศึกษาการผลิตสีของ *Monascus* sp. F-2 ในอาหารเหลวที่มีแป้งข้าวเจ้า (rice powder) เป็นองค์ประกอบ แล้วเขย่าด้วยความเร็ว 160 รอบต่อนาที ในฟลาสก์โดยทดสอบที่อุณหภูมิช่วง 27 – 40 องศาเซลเซียส พีเอชเริ่มต้นตั้งแต่ 2-10 พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตสีได้แก่ 32 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงเกิน 37 องศาเซลเซียสการผลิตสีจะลดลง ส่วนค่าพีเอชที่เหมาะสมคือ พีเอช 6.0 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Manandhar and Apinis (1971) ที่เชื้อราจะเจริญได้ดี ที่ช่วงอุณหภูมิช่วง 30 - 37 องศาเซลเซียส การเปลี่ยนแปลงของพีเอชขณะที่เลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส จะไปมีผลต่อการผลิตสีในอาหารเหลว ถ้าพีเอชเป็นกลางเชื้อจะผลิตสีแดง แต่ถ้าพีเอชเป็นกรด เชื้อจะผลิตสีส้ม นอกจากนี้ที่พีเอชเป็นกรดจะทำให้การสร้างโคนิเดียลดลง แต่การผลิตสีจะสูงขึ้น เนื่องจากที่พีเอชต่ำกลูโคสและฟอตเฟสจะถูกนำไปใช้ในการสร้างเซลล์ จึงเหลือเพียงเล็กน้อย สำหรับสร้างโคนิเดีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Carels and Shepherd, 1977, 1978, 1979) Su and Huang (1980) ศึกษาปัจจัยที่ทำให้ *M. anka* V-204 ผลิตสีได้ดีที่สุด พบว่าอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส พีเอชเริ่มต้น 6.0 เชื้อจะ ผลิตสีได้ดีที่สุด Yongsmith *et al.* (1993) รายงานเป็นครั้งแรกว่า *Monascus* sp. KB10 ซึ่งเป็น สายพันธุ์ป่าและสร้างสีแดงในสภาวะปกตินั้น สามารถผลิตสีเหลืองที่สามารถดูดกลืนแสงสูงสุด ที่ความยาวคลื่น 330 หรือ 370 นาโนเมตรได้ที่พีเอชเริ่มต้น 2.5 หรือ 4.5 ตามลำดับ ผลิตสีเหลือง ได้สูงสุดในอาหารเหลวพีเอชเริ่มต้น 2.5 ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิและพีเอช ที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 40 องศาเซลเซียส พีเอช 4.0 ตามลำดับ

2.6 การศึกษาสภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตสีในการหมักแบบเปียก (submerged fermentation) ของเชื้อราโมแนสคัส

วรรณภา (2529) ได้ศึกษาสภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตสีแดงของเชื้อราแดง ในการหมักแบบเปียก พบว่า *Monascus* sp. KB201035 ผลิตสีแดงได้สูงสุด วัดสีได้ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร มีค่า O.D. เท่ากับ 86.7 หน่วย เมื่อเลี้ยงในอาหารซึ่งประกอบด้วย แป้งมันสำปะหลัง 2 เปอร์เซ็นต์เปปโตน 0.5 เปอร์เซ็นต์โปแตสเซียมไนเตรต 0.2 เปอร์เซ็นต์ tween 80 4× 10-4 มิลลิลิตรต่อลิตร บรรจุอาหาร 25 มิลลิลิตรในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10 วัน จำนวน 4 ชิ้น จากอาหาร MY agar บ่มบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 300 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน ส่วน *Monascus* sp. 11304 ผลิตสีแดงได้สูงสุด ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตรมีค่า O.D. 118 หน่วย เมื่อเลี้ยงในอาหารซึ่งประกอบด้วย แป้งมันสำปะหลัง 3 เปอร์เซ็นต์ แป้งถั่วเหลือง 4 เปอร์เซ็นต์ พีเอชเริ่มต้น 7.0 tween 80 1.3× 10-2 มิลลิลิตรต่อลิตร บรรจุอาหาร 75 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น อายุ 10 วัน จำนวน 4 ชิ้น จากอาหาร MYS agar บ่มบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 300 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน *Monascus* sp. KB20322 ผลิตสีแดงได้สูงสุด ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร มีค่า O.D. เท่ากับ 77.2 หน่วย เมื่อเลี้ยงในอาหารซึ่งประกอบด้วย แป้งมันสำปะหลัง 2.5 เปอร์เซ็นต์เปปโตน 0.5 เปอร์เซ็นต์ยีสต์แอกซ์แทรค 0.5 เปอร์เซ็นต์ โปแตสเซียมไนเตรต 0.1 เปอร์เซ็นต์ พีเอชเริ่มต้น 7.0 tween 80 2× 10-4 มิลลิลิตรต่อลิตร บรรจุ อาหาร 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นอายุ 10 วัน จำนวน 4 ชิ้น จากอาหาร MYS agar บ่มบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน

สุภาพร (2531) ได้ศึกษาสภาพการหมักเพื่อการผลิตสีของมิวแตนท์เปรียบเทียบกับ สายพันธุ์เดิมในเฟอร์เมนเตอร์ และในฟลาสก์โดยใช้ข้าวแดง 3 เปอร์เซ็นต์เป็นกล้าเชื้อ ปรับพีเอชเริ่มต้นใน optimized medium เป็น 4.5 การหมักในเฟอร์เมนเตอร์มีอัตราการกวนเป็น 300 รอบต่อ นาที ในวันแรก และปรับเป็น 500 รอบต่อนาที ในวันที่ 2,3 การให้อากาศเป็น 0.75 vvm อุณหภูมิ ในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมัก 30 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 7 วัน ส่วนการหมักฟลาสก์เขย่าบนเครื่องเขย่า ความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที ที่ 28 องศาเซลเซียส นาน 7 วันเช่นกันการหมักในเฟอร์เมนเตอร์ พบว่าสายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ KB11304 สามารถผลิตสีแดงนอกเซลล์ได้สูงสุด 106.8 หน่วยต่อ มิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อได้ 6 วัน ส่วนสายพันธุ์ KBU 2069 และ KBN 4069 ผลิตสีแดงนอกเซลล์ได้ สูงสุด 118.8 และ 145.4 หน่วยต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อได้ 4 และ 7 วันตามลำดับ และสำหรับการหมักในฟลาสก์โดยใช้ข้าวแดง 3 เปอร์เซ็นต์เป็นกล้าเชื้อ พบว่าสายพันธุ์ KBN 4069 มีการผลิตสี ได้ดีที่สุด เมื่อเลี้ยงเชื้อได้ 7 วัน วัดค่าสีได้ 138.4 หน่วยต่อมิลลิลิตร ขณะที่สายพันธุ์ KB 11304 ผลิตสีได้สูงสุด 62.6 หน่วยต่อมิลลิลิตร และสายพันธุ์ KBU 2069 ผลิตสีแดงได้สูงสุด 62.0 หน่วย มิลลิลิตร

ในการศึกษาการผลิตสารสีเหลืองจากเชื้อราโมแนสคัส วรรณภา (2529) พบว่า *Monascus* sp. KB 21035 ผลิตสีเหลืองได้สูงสุด ในอาหาร optimized medium ของการผลิตสีแดง แต่ปรับพีเอชเริ่มต้น 2.5 สามารถวัดปริมาณสีเหลืองที่ความยาวคลื่น 370 นาโนเมตร มีค่า O.D. เท่ากับ 33.5 หน่วย เมื่อบ่มครบ 7 วัน ส่วน *Monascus* sp. KB11304 ผลิตสีเหลืองได้สูงเมื่อเลี้ยง ในอาหารเหลวสูตร MYS โดยปรับสภาพอื่นๆ เหมือน optimized medium ยกเว้นพีเอชเริ่มต้น มีค่า 3.0 จะได้ปริมาณสีเหลืองที่ความยาวคลื่น 370 นาโนเมตา มีค่า O.D. เท่ากับ 14.03 หน่วย และ *Monascus* sp. KB20322 ผลิตสีเหลืองได้พอควรในอาหารเหลว MYS โดยปรับสภาพอื่นๆ เหมือน optimized medium ยกเว้นพีเอชเริ่มต้น 2.0 ได้ปริมาณสีเหลืองที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร มีค่า O.D. เท่ากับ 6.06 หน่วย

สมชาย (2536) และ Somchai (2000) ได้ศึกษาการสร้างสีเหลืองเชื้อรา Monascus sp. KB20M10.2 ในสภาวะอาหารที่เป็นกรดในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับปรุงที่เหมาะสมต่อการสร้าง สารสีเหลืองประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง 3.0 แป้งถั่วเหลือง 5.0 เปอร์เซ็นต์และปริมาณ Tween 80 เท่ากับ 13.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นเชื้ออายุ 3 วัน ปริมาณ 3.0 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) จากเดิมที่เคยใช้โคจิขาวเหลืองอายุ 4 สัปดาห์ ปริมาณ 3.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และ พบว่าเชื้อราเจริญเป็น pellet ลักษณะรูปเข็มให้การสร้างสีดีกว่ารูปทรงกลมและรูป thread like การ เลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. KB20M10.2 แบบให้อาหาร (fed batch cultivation) จะให้การสร้างสีเหลืองสูงกว่าการเลี้ยงเชื้อแบบเบ็ดเสร็จ (batch cultivation) โดยการเลี้ยงเชื้อใช้อาหารสูตรปรับปรุง ที่มีปริมาตรเริ่มต้น 2 ใน 3 เมื่อเชื้อราเจริญได้ 2 วัน จึงให้อาหารอีก 1 ใน 3 ทำให้เชื้อสร้างสีเพิ่มขึ้น เป็น 959 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 9 ของการเจริญการผลิตสีในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้ใบ กวนแบบ propeller ร่วมกับ draft tube พบลักษณะการไหลของของเหลวเป็นแบบ axial flow มีผล ให้เชื้อราเจริญเป็น wall growth ลดลงทำให้การสร้างสีเพิ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พงศ์พงา (2547) นำเชื้อรา *Monascus* sp. KB20M10.2 มาศึกษาพบว่าการใช้อาหาร เลี้ยงเชื้อ CPMY และเติมต้นเชื้อ 3 เปอร์เซ็นต์ทำให้การเจริญและการผลิตสีเหลืองดีที่สุด สำหรับ อาหาร CPMY นี้ประกอบด้วยเปปโตน ยีสต์เอกซ์แทรค และ มอลล์เอกซ์แทรค อย่างละ 20 กรัมต่อ ลิตร และมีแป้งมันสำปะหลัง 30 กรัมต่อลิตร และเมื่อทดลองโดยวิธีการเพาะเลี้ยงแบบเบ็ดเสร็จด้วย อาหาร CPMY 3.5 ลิตร ในถังหมักขนาด 7.5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส อัตราการให้อากาศ 1 vvm และ อัตราการกวน 300 – 800 รอบต่อนาที พบว่าลักษณะการเจริญจะอยู่ในช่วงเพิ่มจำนวน (logarithmic phase) ประมาณ 42 ชั่วโมง และอัตราการผลิตสีจะเพิ่มขึ้นมาก เมื่อเหลือปริมาณสับสเตรทในน้ำหมักต่ำซึ่งจะอยู่ในช่วงที่การเจริญคงที่ (stationary phase) โดยมีอัตราการเจริญ จำเพาะ 0.168 ต่อชั่วโมง มีอัตราการผลิตสีจำเพาะ 398.24 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้งเซลล์ต่อชั่วโมง และผลิตสีได้สูงสุด 274.80 หน่วยต่อมิลลิลิตร เมื่อสิ้นสุดการหมักในชั่วโมงที่ 93 และเมื่อทดลองเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราว พบว่าการเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราวด้วยวิธี constantly fed-batch เป็นวิธีที่ เหมาะสมสำหรับการผลิตสีเหลืองจากเชื้อรา *Monascus* sp. KB20M10.2 เนื่องจากสามารถควบคุม อัตราการเจริญจำเพาะให้ใกล้เคียงกับค่าที่ต้องการได้ง่าย โดยขั้นแรกจะเพาะเลี้ยงแบบเบ็ดเสร็จใน อาหาร CPMY แล้วจึงเติมอาหารชนิดเดียวอัตราการการเติมอาหารคงที่ และติดตามการเจริญ ระหว่างเพาะเลี้ยงด้วยพารามิเตอร์ 2 ค่า ที่ทดลองแล้วว่ามีความสัมพันธ์กันโดยตรง คือความเข้มข้น ของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เชื้อผลิตขึ้นและน้ำหนักเซลล์แห้ง นอกจากนี้ยังได้ทดลองเพาะเลี้ยง ด้วยวิธีนี้โดยควบคุมอัตราการเจริญจำเพาะที่ค่าต่างๆ กัน พบว่าเชื้อที่มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.024 ต่อชั่วโมง จะมีอัตราการผลิตสีจำเพาะ 675.74 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้งเซลล์ต่อชั่วโมง และผลิตสี ได้สูงสุด 362.40 หน่วยต่อมิลลิลิตร ซึ่งสูงกว่าค่าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบเบ็ดเสร็จประมาณ 1.5 เท่า

ฉัตรมณี (2549) ทำการทดลองศึกษาปริมาณแป้งมันสำปะหลังที่เหมาะสมสำหรับ การเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. KB20M10.2 และการผลิตสี คือ 3 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อ ปริมาตร) นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลาย (DO) ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ เหมาะสมสำหรับการเจริญและการผลิตสี คือ 70 เปอร์เซ็นต์ ของสภาวะอากาศอิ่มตัว ดังนั้นจึง มีการทดลองหมักแบบเบ็ดเสร็จเพื่อหาอัตราส่วนที่ดีที่สุดขององค์ประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อที่ เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงทั้งในฟลาสก์และถังหมัก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วย แป้งมันสำปะหลัง (C) เปปโตน (P) มอลท์เอกซ์แทรค (M) และยีสต์เอกซ์แทรค (Y) ในปริมาณต่างๆ กัน ผลการทดลองพบว่า สูตรอาหาร CPMY7 (30:7:10:10) เหมาะสมสำหรับการสร้างสี ในขณะที่สูตรอาหาร CPMY14 (30:20:20:20) เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อรา ดังนั้นจึงทำการศึกษาเพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตสีในขั้นต่อไป โดยการเพาะเลี้ยงแบบ constantly fed-batch ซึ่งการหมักจะต้องเพิ่มจำนวนเซลล์ โดยใช้อาหาร CPMY14 และหมักด้วยวิธีเบ็ดเสร็จเป็นขั้นตอน แรกและมีสารอาหารใกล้หมดจึงเติมอาหาร CPMY7 ลงไปด้วยอัตราการเจือจาง (D) เท่ากับ 0.03 ต่อชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งวิธีนี้สามารถผลิตสีได้ 5411.52 หน่วยต่อกรัมกลูโคส หรือประมาณ 5953 หน่วยต่อ กรัมของแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งการผลิตสีเพิ่มขึ้นประมาณ 3 เท่าของการเลี้ยงเชื้อโดยอาหาร CPMY14 แต่เพียงชนิดเดียว และการเติมอาหารด้วยอัตราการเจือจางที่ดีที่สุดคือ 0.03 ต่อชั่วโมง และได้ศึกษาเบื้องต้นเพื่อพิสูจน์สมมติฐานเกี่ยวกับผลของ C/N ratio ต่อการหมักของเชื้อรา สายพันธุ์นี้พบว่า ที่อัตราส่วนต่ำเช่นที่ 75 จะทำให้ชะลอการเจริญและการผลิตสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1 เชื้อรา *Monascus purpures.* จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectophotometer)

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 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaker)

3.2.7 คอลัมน์โครมาโตกราฟี (Column chromatography)

3.2.8 UV box

3.2.9 ขาตั้ง (Stand)

3.2.10 แชมเบอร์แบบมีฝาปิด

3.2.11 แผ่น TLC Silica gel

3.2.12 หลอดแคพพิลลารี (Capillary tube)

3.2.13 ขวดแก้วใส่สาร

3.2.14 ฟลาสก์ (Erlynmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.2.15 บีกเกอร์ (Beaker)

3.2.16 กระบอกตวง (Cylinder)

3.2.17 ปิเปต (Pipette)

3.2.18 จุกยาง

3.2.19 ช้อนตักสาร

3.2.20 จานเพาะเลี้ยง (Petri dish)

3.2.21 เข็มเขี่ยเชื้อ (Needel)

3.2.22 ลวดเขี่ยเชื้อ (Loop)

3.2.23 Cook borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 mm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.24 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.2.25 ชุดกรองสารและแผ่นกรอง whatmen number 1

3.2.26 คีมคีบ (Forcep)

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.3.1 แปปโตน (Peptone)

3.3.2 มอลต์สกัด (Malt exteact)

3.3.3 สารสกัดยีสต์ (Yeast extracy)

3.3.4 แป้งมันสำปะหลัง

3.3.5 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสำเร็จรูป

3.3.6 เมทานอล (CH_3OH)

3.3.7 เอทิล อะซิเตท

3.3.8 ซิลิกาเจล (Silica gel)

3.3.9 แอมโมเนียมคอไลน์ (NH_4Cl)

3.3.10 แม็กนิเซียมซัลเฟส ($MgSO_4$)

3.3.11 แคลเซียมคอไลด์ ($CaCl_2$)

3.3.12 EDTA (Ethylene diamine tetraacetic acid)

3.3.13 ซิงค์ ซัลเฟส ($ZnSO_4$)

3.3.14 กรดบอริก (H_3BO_3)

3.3.15 แมงกานิสคอไรด์ ($MnCl_2$)

3.3.16 เฟอรัส ซัลเฟต ($FeSo_4$)

3.3.17 โคบอลคลอไรด์ ($CoCl_2$)

3.3.18 คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$)

3.3.19 โซเดียมโมลิเบต $(NH_4)_6 MoO_3$

3.3.20 ไดโพเทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)

3.3.21 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอนเฟส (KH_4PO_4)

3.3.22 Tris base

3.3.23 Acetic acid

3.3.24 น้ำตาลซูโครส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับใช้ในการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

นำเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เลี้ยงในอาหารแข็ง MYS นำมา cork borer ขนาด 7 มิลลิเมตร จำนวน 3-4 ชิ้นลงในอาหารเหลว MYS ที่มีความเจือจางอาหารต่อน้ำ ในอันตราส่วน 25:75 บรรจุลงฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 วัน

3.4.1.1 การเก็บรักษากล้าเชื้อ

ปิเปตเชื้อจากข้อ 3.4.1 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ที่มีอาหารเหลว MYS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับการทดลองต่อไป

3.4.2 การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส

3.4.2.1 การเตรียมอาหารเหลวสูตร MYS

ชั่งส่วนผสมต่างๆจากภาคผนวก ก. ผสมรวมกันกับน้ำกลั่นเพียงเล็กน้อย ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 6.8-7.2 จากนั้นนำไปปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นนำไปตวงใส่ฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ฟลาสก์ละ 100 มิลลิลิตร นำฟลาสก์ทั้งหมดใส่ในเครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.4.2.2 การเตรียมอาหารเหลวสูตร MS

ชั่งส่วนผสมต่างๆจากภาคผนวก ก. ผสมกับน้ำกลั่นเล็กน้อย นำไปปรับพีเอช ให้อยู่ในช่วง 5.6 – 5.8 จากนั้นนำไปปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร นำไปตวงใส่ฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ฟลาสก์ละ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำฟลาสก์ทั้งหมดใส่ในเครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.4.2.3 การเตรียมอาหารเหลวสูตร TAP

ชั่งส่วนผสมต่างๆจากภาคผนวก ก. ผสมให้เข้ากันและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร นำไปตวงใส่ฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ฟลาสก์ละ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำฟลาสก์ทั้งหมดใส่ในเครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.4.2.4 การเตรียมอาหารเหลวสูตร TAP เติมน้ำตาลซูโครส

ชั่งส่วนผสมและปิเปตส่วนผสมต่างๆ ตามตาราง ภาคผนวก ก. ผสมให้เข้ากัน ปรับพีเอชให้อยู่ในช่วง 5.6 – 5.8 และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร นำไปตวงใส่ฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ฟลาสก์ละ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำฟลาสก์ทั้งหมดใส่ในเครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3. การเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในสูตรอาหารต่างๆ

ปิเปตกล้าเชื้อจากข้อ 3.4.1.1 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลวสูตร MYS MS TAP ที่เติมน้ำตาลและไม่เติมน้ำตาลซูโครส โดยทำการบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ซึ่งจะเก็บผลครั้งละ 3 ซ้ำ โดยจะเก็บผลในวันที่ 0 2 4 6 8 10 12 และ14 วัน

3.4.4. การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี

นำกระดาษกรอง whatman number 1 ไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้น้ำหนักที่คงที่ จากนั้นเก็บผลในแต่ครั้งจากข้อ 3.4.3 นำมากรองผ่านกระดาษกรอง นำเซลล์ที่ติดอยู่ที่กระดาษกรองไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก

ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง = ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ติดอยู่บนกระดาษกรอง – ค่ากระดาษกรอง

3.4.5. การหาค่าพีเอช

นำกระดาษกรอง whatman number 1 ไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้น้ำหนักที่คงที่ จากนั้นเก็บผลในแต่ครั้งจากข้อ 3.4.3 นำมากรองผ่านกระดาษกรอง โดยนำสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ไปวัดค่าพีเอชด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH meter)

3.4.6. การหาปริมาณสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์

นำสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์จากข้อ 3.4.4 มาวัดปริมาณสารสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยที่อาหารเหลวสูตร MYS วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตร อาหารเหลวสูตร MS วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 และ 480 นาโนเมตร อาหารสูตร TAP วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 และ 500 นาโนเมตร และอาหารสูตร TAP เติมน้ำตาลซูโครส วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 480 และ 500 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.7. การหาปริมาณสารสีที่อยู่ภายในเซลล์

นำเซลล์ที่ติดอยู่ที่กระดาษกรองจากข้อ 3.4.4 มาแช่ด้วยเมทานอลปริมาตร 50 มิลลิลิตรเป็นเวลา 10 – 15 นาที วัดปริมาตรสารสีด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตรมิเตอร์ โดยที่อาหารเหลวสูตร MS และอาหารสูตร TAP ที่เติมน้ำตาลซูโครส วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 และ 480 นาโนเมตร

3.4.8 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี

3.4.8.1 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี

บรรจุคอลัมน์โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ (Stationary phase) นำซิลิกาเจลมาผสมกับ เมทานอลเพื่อให้อยู่ในรูปของสารแขวนลอยที่มีลักษณะข้นเหลว จากนั้นค่อยๆบรรจุลงในคอลัมน์ที่มีแผ่นสำลีกั้นอยู่ที่ปลายด้านใน รอจนซิลิกานอนก้น แล้วจึงปล่อยตัวทำละลายให้ไหลออกไป โดยรักษาระดับให้อยู่เหนือซิลิกาเจลเล็กน้อย ควรทำให้ตัวผิวหน้าของซิลิกาเจลเรียบ เพื่อให้สารสีที่ต้องการแยกไหลลงมาเป็นระนาบเดียวกัน

บรรจุสารสี (Crude pigment) ที่สกัดได้จากข้อ 3.4.7 ลงในคอลัมน์ปริมาตร 5-10 มิลลิลิตร แล้วปล่อยให้สารสีไหลลงมาจนผิวหน้าเกือบแห้ง ค่อยๆเติมเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เอทิลอะซิเตท เกือบๆเต็มคอลัมน์ ทำการเก็บสารสีที่ผ่านคอลัมน์ลงในหลอด เมื่อสารที่ออกมาเป็นสีใสปล่อยให้เฟสเคลื่อนที่ไหลลงมาจนผิวหน้าของซิลิกาเกือบแห้ง จากนั้นทำการชะสารในคอลัมน์ด้วยการเปลี่ยนชนิดของเฟสเคลื่อนที่เป็นเมทานอล เก็บสารที่ได้ลงให้หลอดเช่นเดียวกับตอนแรก เก็บตัวอย่างจนกระทั่งสารที่ออกมาเป็นสีใสอีกครั้ง สารที่แยกได้จะแบ่งออกเป็น 2 fraction โดย fraction ที่ 1 คือ เอทิลอะซิเตท และfraction ที่ 2 คือ เมทานอล เพื่อนำไปทดสอบต่อไป

3.4.8.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสีด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี

นำสารสีที่ได้จากทั้ง 2 fraction ที่ผ่านคอลัมน์โครมาโทรกราฟีโดยเลือกขวดที่มีสีที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนทั้ง 2 fraction มาจุดสารสีลงบนแผ่น TLC silica gel ที่มีความหนา 0.50 มิลลิเมตร แผ่นเดียวกัน โดยใช้ capillary tube ใช้เอทิลอะซิเตทต่อเมทานอล ในอันตราส่วน 9:1 เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) รอจนกระทั่งตัวทำละลายเคลื่อนที่จนถึง Solvent front จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้ง ก่อนนำไปส่องดูภายใต้ UV light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร เพื่อสังเกตโครมาโตแกรมที่เกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

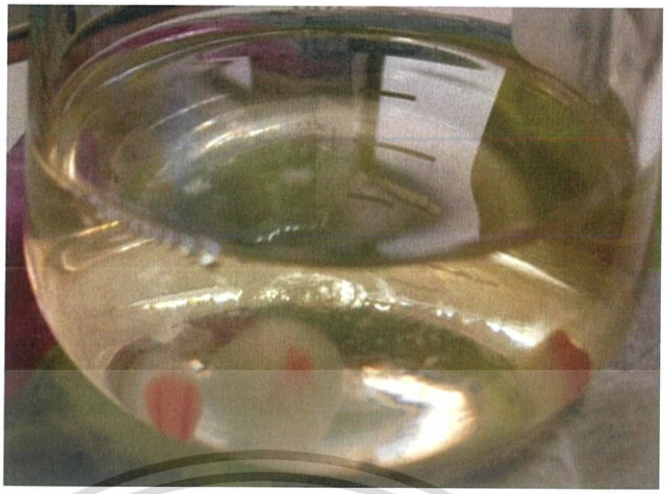
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการเตรียมกล้าเชื้อสำหรับใช้ในการผลิตสีจากเชื้อราโมแนสคัส

จากการนำเชื้อราโมแนสคัสที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง MYS ดังแสดงในรูปที่ 4.1 จากนั้นทำการตัดบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญอยู่บนอาหารแข็ง MYS ด้วย cork boker จำนวน 3-4 ชิ้น ลงในอาหารเหลว MYS ที่มีอัตราความเจือจางของอาหารต่อน้ำเป็น 25:75 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน จะสังเกตเห็นได้ว่าบริเวณรอบๆ ชิ้นของเชื้อราที่ได้ cork ลงไปเกิดเส้นใยสีขาวห่อหุ้มอยู่โดยรอบดังแสดงในรูปที่ 4.2 และเมื่อเพาะเลี้ยงไปได้ 6 วัน พบว่ามีการเจริญของเส้นใยเพิ่มมากขึ้นและเริ่มมีการหลั่งสารสีออกมานอกเซลล์ปริมาณเล็กน้อยทำให้อาหารเปลี่ยนสีเป็นสีส้มอมดังแสดงในรูปที่ 4.3 และหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน จะสังเกตเห็นเชื้อราโมแนสคัสมีการผลิตสารสีหลั่งออกมาปริมาณมากขึ้นทำให้อาหารเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้มอย่างเห็นได้ชัด ดังแสดงในรูปที่ 4.4

รูปที่ 4.1 เชื้อรา *Monascus purpureus* SS14 บนอาหารแข็ง MYS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว MYS ที่มีความเจือจางอาหารต่อน้ำ ในอัตราส่วน 25:75 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

รูปที่ 4.3 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว MYS ที่มีความเจือจางอาหารต่อน้ำ ในอัตราส่วน 25:75 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.4 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว MYS ที่มีความเจือจางอาหารต่อน้ำ ในอัตราส่วน 25:75 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

จากนั้นปิเปตกล้าเชื้อข้างต้น ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว MYS ปริมาตร 100 มิลลิลิตรในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วนำมาเพาะเลี้ยง บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5วันเพื่อนำมาเป็นต้นเชื้อในการทดลองเพาะเลี้ยงในอาหารชนิดต่างๆต่อไปโดยมีลักษณะสีของกล้าเชื้อดังแสดงในรูปที่ 4.5

รูปที่ 4.5 ลักษณะสีของกล้าเชื้อปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ในอาหารเหลวสูตร MYS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

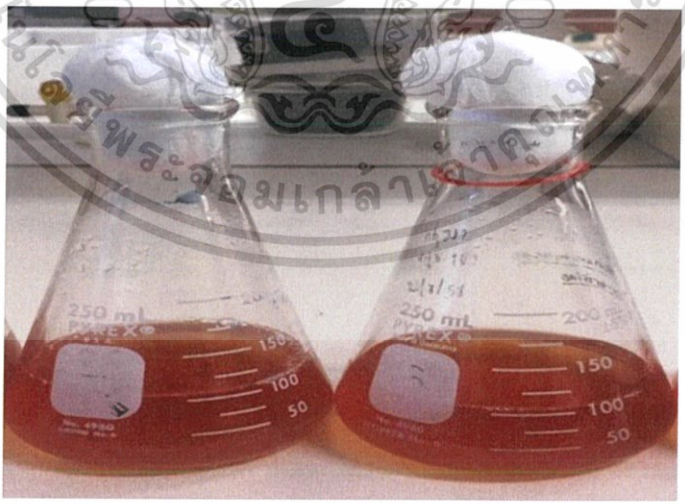
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัส

4.2.1 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MYS

จากผลการทดลองการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MYS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรที่ได้ทำการเติมเชื้อกล้าปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว ซึ่งลักษณะอาหารก่อนลงเชื้อมีลักษณะเป็นเหลืองอมน้ำตาล ดังแสดงในรูปที่ 4.6 หลังจากที่ปิเปตกล้าเชื้อปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร สีของอาหารมีการเปลี่ยนสีเป็นสีส้มอมน้ำตาลดังแสดงในรูปที่ 4.7

รูปที่ 4.6 ลักษณะของสีอาหารเหลวสูตร MYS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ก่อนการลงกล้าเชื้อ

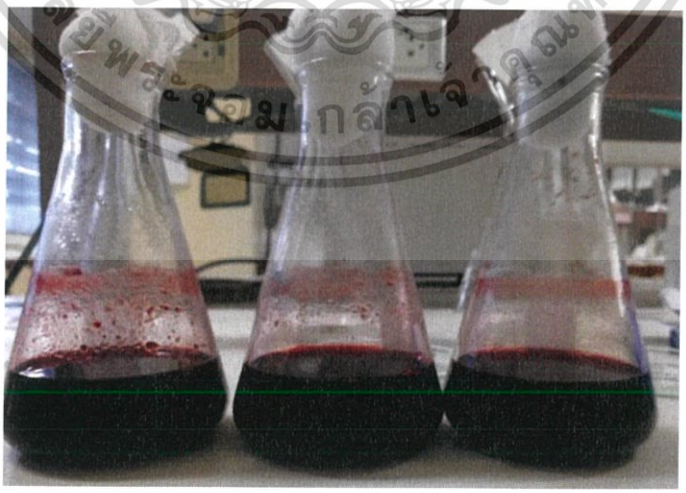


รูปที่ 4.7 ลักษณะสีของอาหารเหลวสูตร MYS หลังจากที่ได้ลงกล้าเชื้อปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MYS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จะสังเกตเห็นปริมาตรของเซลล์เพิ่มขึ้นและมีการผลิตสีแดงหลั่งออกมาดังที่แสดงในรูปที่ 4.8 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงได้ระยะเวลา 14 วัน ลักษณะสีอาหารเหลวสูตร MYS เป็นสีแดงเข้ม (คล้ายสีน้ำกระเจี๊ยบ) แต่มีปริมาณเซลล์เริ่มลดน้อยลง ดังที่แสดงในรูปที่ 4.9 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย Yoshimura และคณะ (1975) ทดลองพบว่า ยีสต์เอกซ์แทรค เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตสำหรับการผลิตสีแดงจาก *Monascus* sp. No.2 และการทดลองของ Broder และ Kochler (1980) ก็พบว่ายีสต์เอกซ์แทรค มีผลต่อการผลิตสารสีแดงออกมานอกเซลล์เพิ่มมากขึ้น

รูปที่ 4.8 ลักษณะสีและเซลล์ของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MYS 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน



รูปที่ 4.9 ลักษณะสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MYS 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MYS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะทำการเก็บผลค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตรของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน ซึ่งจะแสดงผลดังตารางที่ 4.1 โดยผลการศึกษาการเจริญของเชื้อราที่ระยะเวลาต่างๆจะเห็นเชื้อรามีการเจริญได้สูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 วัน โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งเป็น 0.6458 กรัมต่อ100 มิลลิลิตร จากการศึกษาค่าพีเอชจะเห็นว่าค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงมีการเพิ่มสูงขึ้นจากพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อโดยมีพีเอชสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงเป็น 8.76

และจากการศึกษาสารสีที่ผลิตได้ในอาหารเหลว MYS จะเห็นว่าเชื้อราที่เพาะเลี้ยงในอาหารชนิดนี้มีการผลิตสารสีแดงเกิดขึ้นเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าและเมื่อนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตร โดยมีค่าการดูดกลืนแสดงสูงสุดเป็น 28.26 ซึ่งสอดคล้องกับ Carels and Shepherd (1977) และ Shepherd (1977) พบว่าเมื่อแหล่งไนโตรเจนเป็นยีสต์เอกซ์แทรคจะผลิตสีแดงอย่างเดียว เนื่องจากอาหารนี้มีกรดอะมิโนมากเพียงพอ เมื่อเชื้อเจริญจะทำให้พีเอชสูงขึ้น สารสีจึงสามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนอิสระ (NH group) ที่อยู่ภายในเส้นใย เปลี่ยนเป็นสารอนุพันธุ์เอมีนทำให้เห็นเป็นสารสีแดงเกิดขึ้นจากการทดลองนี้จะแสดงให้เห็นแนวโน้มในการเจริญเติบโตละการผลิตสารสีได้ง่ายขึ้นด้วยกราฟดังที่แสดงในภาพ 4.10 ซึ่งจะเห็นเส้นน้ำหนักเซลล์แห้งค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นจนถึงวันที่ 14 และค่อยๆลดต่ำลงหลังจากนั้นเช่นเดียวกับค่าการดูกลืนแสง ส่วนค่าพีเอชจะเห็นว่าสูงขึ้นจากพีเอชเริ่มต้นอย่างเห็นได้ชัด

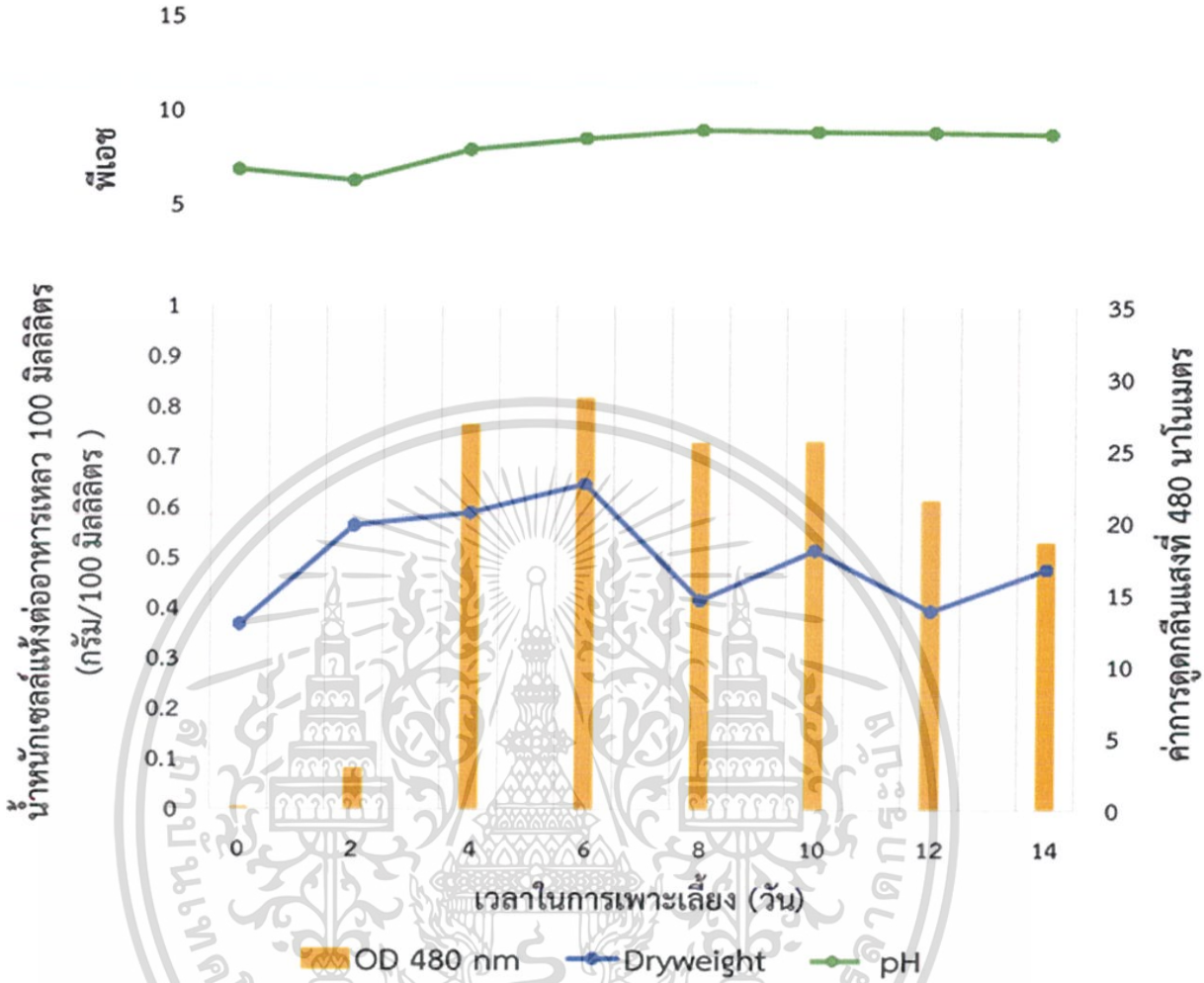
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าเฉลี่ยของพีเอชที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตร ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MYS ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 14 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/100 มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ย pH	ค่าเฉลี่ยOD_{480} ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์
0	0.3666^{b}	6.83	0.186^{f}
2	0.5635^{ab}	6.27	2.8543^{e}
4	0.5884^{ab}	7.9	26.76^{ab}
6	0.6458^{a}	8.49	28.26^{a}
8	0.4147^{ab}	8.95	25.5^{bc}
10	0.5145^{ab}	8.87	25.6^{b}
12	0.3942^{ab}	8.84	21.5^{c}
14	0.4775^{ab}	8.76	18.62^{d}

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือคือค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหาร MYS ที่มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตรในแต่ละวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



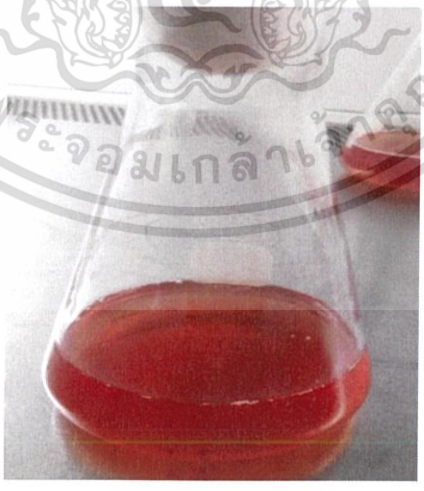
รูปที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้ง,พีเอช,และค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ที่480 นาโนเมตรต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MYS ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MS

จากผลการทดลองการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารเหลวสูตร MS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสโดยทำการเติมเชื้อกล้า ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลวสูตร MS ซึ่งลักษณะสีอาหารก่อนลงเชื้อมีลักษณะเป็นสีใส ดังที่แสดงในรูปที่ 4.11 หลังจากที่ทำการปิเปตกล้าเชื้อปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรลงในอาหาร ส่งผลให้สีของอาหารมีการเปลี่ยนสีเป็นสีส้ม ดังที่แสดงในรูป 4.12

รูปที่ 4.11 ลักษณะของอาหารสูตร MS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ก่อนการลงกล้าเชื้อ



รูปที่ 4.12 ลักษณะสีของอาหารเหลวสูตร MS หลังจากที่ได้ลงกล้าเชื้อปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเลี้ยงเชื้อราโมแนสนัสในอาหารเหลว MS 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จะเห็นว่าลักษณะของสีมีการเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อยจากสีส้มอ่อนเป็นสีส้มเข้มขึ้น และจะเห็นว่าปริมาตรของเซลล์ เพิ่มขึ้นจากเซลล์เริ่มต้นดังแสดงในรูปที่ 4.13 และเมื่อเลี้ยงไปได้ระยะเวลา 14 วัน ลักษณะสีอาหารเหลว MS เป็นสีส้มขุ่นๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.14 ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Carels and Shepherd (1977) แอมโมเนียมคลอไรด์และแอมโมเนียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน จะทำให้พีเอชลดลงอย่างรวดเร็ว เป็นผลให้สารสีไม่สามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนอิสระภายในเส้นใยได้ จึงมีการสะสมของ monascorubrin และ rubropunctatin ได้เป็น สารสีส้ม

รูปที่ 4.13 ลักษณะสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MS 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน

รูปที่ 4.14 ลักษณะสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MS 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลจากการทดลองการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว MS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งแสดงผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าเฉลี่ยของพีเอชที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ และค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 และ 480 นาโนเมตร ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์และสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS แสดงผลออกมาให้เห็นว่า ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งนั้นค่อยๆเพิ่มขึ้นและสูงสุดในวันที่ 10 เป็น 1.1.834 กรัมต่ออาหาร 100มิลลิลิตร หลังจากนั้นค่อยๆลดลงโดยค่าการเจริญเติบโตของเชื้อโมแนสคัสในอาหารชนิดนี้มีปริมาณสูงมากกว่าในอาหารชนิดอื่นเนื่องจากมีแหล่งคาร์บอนเป็น น้ำตาลซูโครสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย ของสมชาย (2536) คัดเลือกเชื้อรา *Monascus sp* KBM10.2 ที่สร้างสารสีเหลืองในพีเอชที่เป็นกลาง พบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ดีในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ เช่น แลคโตสหรือซูโครส ในส่วนของค่าพีเอชที่วัดได้จากการทดลองนั้นมีค่าพีเอชเริ่มต้นเป็น 5.6 หลังจากเพาะเลี้ยงได้เป็นเวลา 14วันมีค่าพีเอชเป็น 2.55 ซึ่งจะเห็นได้ว่ามีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆจากพีเอชเริ่มต้นโดยพีเอชเริ่มต้น ค่าการดูดแสงกลืนที่ 400 และ 480 นาโนเมตร ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์จะเห็นว่าค่าการดูดกลืนแสงทั้งสองความยาวคลื่นมีปริมาณสูงสุดที่วันที่ 14 โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 มีค่าเป็น 5.27 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 มีค่าเป็น 2.675 ในส่วนสารสีที่อยู่ภายในเซลล์นั้นมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆในแต่ละครั้งที่เก็บผลแต่เนื่องจากเกิดความผิดพลาดในการเก็บผลการทดลองของ

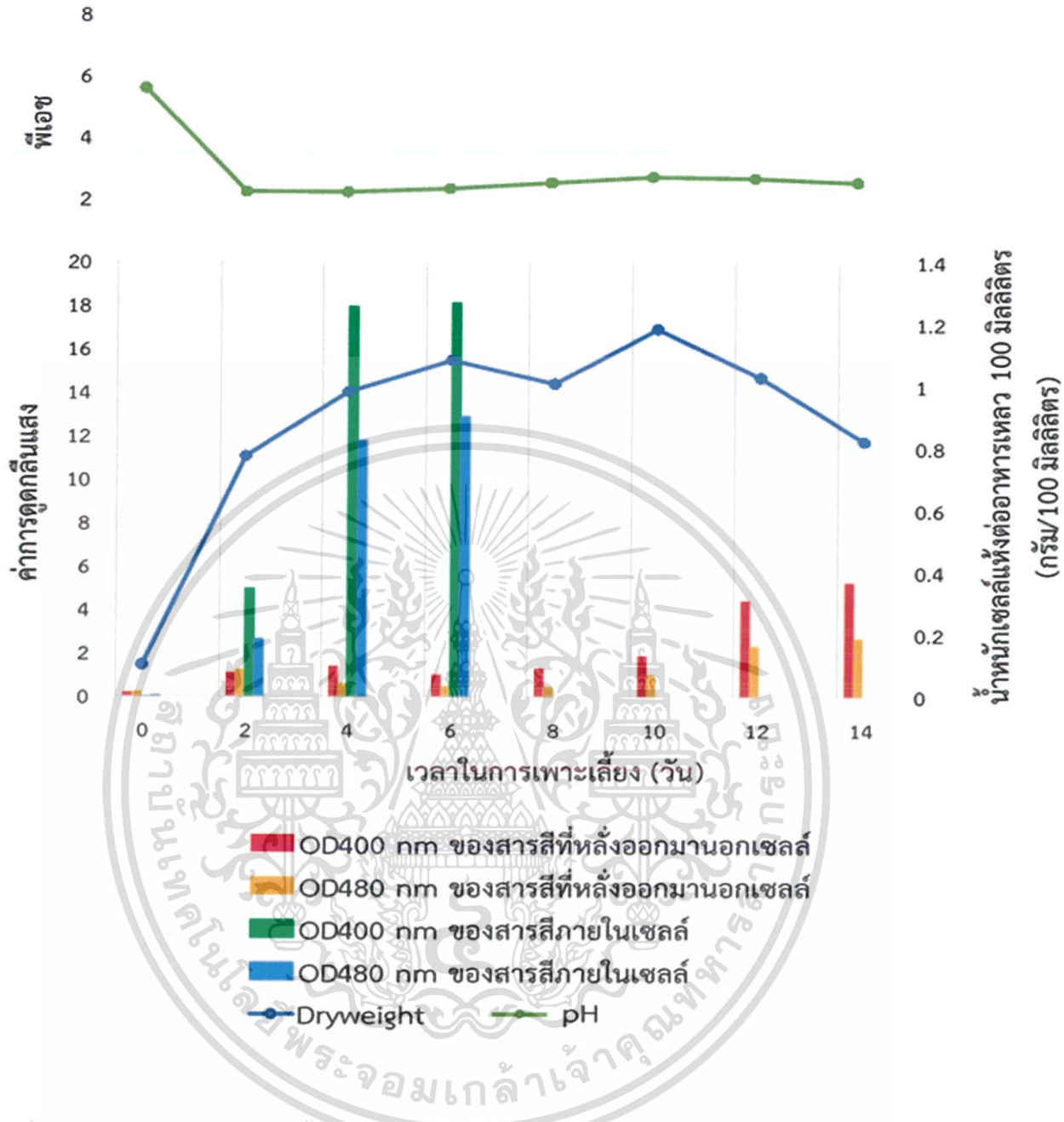
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 และ 480 นาโนเมตร ของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ทำให้สังเกตได้แต่เพียงแนวโน้มในการผลิตสารสีของอย่ภายในเซลล์ของเชื้อราชนิดนี้แต่สามารถเปรียบเทียบปริมาณสารสีของเชื้อราโมแนสคัสที่หลั่งออกมานอกเซลล์และที่อยู่ในเซลล์ทำให้เห็นว่าปริมาณสารสีที่อยู่ภายในเซลล์มีปริมาณสูงกว่าสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์อย่างเห็นได้ชัดโดยเมื่อเทียบผลของวันที่ 6 จะเห็นว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่อยู่ในเซลล์สูงกว่าสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์โดย สามารถสังเกตจากกราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง,ค่าเฉลี่ยของ pH ที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400 และ 480 นาโนเมตร ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์และสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ ดังแสดงในรูปที่ 4.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง,ค่าเฉลี่ยของพีเอช ที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อและค่าเฉลี่ย OD_{480} กับ OD_{400}ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์และสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ย pH	ค่าเฉลี่ยOD_{400}ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์	ค่าเฉลี่ยOD_{480}ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{480} ของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์
0	0.1036^{d}	5.6	0.217	0.251^{d}	0.009	0.06
2	0.7747^{c}	2.24	1.115	1.275^{b}	4.97	2.65
4	0.9819^{abc}	2.23	1.417	0.635^{bc}	17.95	11.78
6	1.0828^{ab}	2.34	1.031	0.495^{bc}	18.12	12.89
8	1.0080^{abc}	2.53	1.320	0.466^{bc}	-	-
10	1.1834^{a}	2.72	1.895	1.035^{b}	-	-
12	1.0280^{abc}	2.68	4.43	2.34^{a}	-	-
14	0.8209^{b}	2.55	5.27	2.675^{a}	-	-

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือคือค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหาร MS ที่มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตรในแต่ละวัน



รูปที่ 4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้ง พีเอชและค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่หลั่งออกมากนอกเซลล์ที่ 400 และ 480 นาโนเมตรและค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ที่ 400 และ 480 นาโนเมตร ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวสูตร MS ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารสูตร TAP

จากผลการทดลองการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารสูตร TAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ได้ทำการเติมกล้าเชื้อปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ลงในอาหาร TAP ซึ่งลักษณะอาหารก่อนลงเชื้อมีลักษณะเป็นสีใส ดังแสดงในรูปที่ 4.16 โดยหลังจากที่ทำการปิเปตกล้าเชื้อปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร สีของอาหารมีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีส้มอมแดง ดังแสดงในรูปที่ 4.17 และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ลักษณะสีเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนจากสีใสเปลี่ยนเป็นสีม่วงอมแดง ดังแสดงในรูปที่ 4.18 และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 14 วัน จะสังเกตเห็นลักษณะสีอาหารเหลว MS เป็นสีชมพูอ่อนๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.19 โดยสีของอาหารเลี้ยงเชื้อค่อยๆจางลงอาจเกิดจากการที่เซลล์ไม่มีการเจริญเติบโตและไม่การผลิตสารสีเกิดขึ้น

รูปที่ 4.16 ลักษณะของอาหารสูตร TAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ก่อนการลงกล้าเชื้อ

รูปที่ 4.17 ลักษณะของอาหารสูตร TAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
หลังเติมกล้าเชื้อปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.18 ลักษณะสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารสูตร TAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน

รูปที่ 4.19 ลักษณะสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารสูตร TAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

ผลจากการทดลองการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร TAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งคือตารางแสดงผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าเฉลี่ยของพีเอชที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร TAP โดยจะเห็นจากตารางว่าค่าน้ำหนักเซลล์เริ่มต้นมีค่าเป็น 0.0314 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ส่วนค่าน้ำหนักเซลล์แห้งหลังจากเพาะเลี้ยงได้ 14 วัน เป็น 0.0457 กรัมต่อ 100 มิลลิตรจะเห็นได้ว่าในอาหารชนิดนี้มีน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเนื่องจากในอาหาร TAP มีส่วนประกอบของสารจำพวกฟอสเฟตปริมาณมากส่งผลไปยับยั้งการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lin และ Demain (1991) พบว่าฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 70 มิลลิโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขึ้นไปมีผลยับยั้งการเจริญและการสร้างสีของเชื้อราโมแนสคัส และ อีกสาเหตุหนึ่งที่เชื้อราโมแนสคัสเจริญเติบโตได้ปริมาณต่ำหรือไม่เจริญเนื่องจากแหล่งคาร์บอนในอาหาร TAP ซึ่งคือ อะซิติคแอซิด ซึ่งไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อราโมแนสคัส ซึ่งจะสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lin and Demain (1991) พบว่าแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการสร้างสีของ *Monascus* sp. TTWMB 6042 คือ มอลโทส กลูโคส และฟรุคโตส ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อรานี้จะเจริญได้ดีในแป้ง กลูโคส และมอลโทส ในส่วนของค่าเฉลี่ยของพีเอชนั้นมีค่าพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.14และมีค่าพีเอสสุดท้ายเป็น 8.89 ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่าพีเอชในแต่ละวันจะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยจากค่าพีเอชเริ่มต้นและไม่แตกต่างกันในแต่ละวัน ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 480 และ 500 นาโนเมตร นั้นมีปริมาณสารสีสูงในวันที่ 2 หลังจากนั้นก็มีการผลิตปริมาณสารสีลดลงเรื่อยๆ ซึ่งสามารถสังเกตความสัมพันธ์ของค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง พีเอช และค่าการดูกลืนแสงได้จากกราฟดังแสดงในรูปที่ 4.20

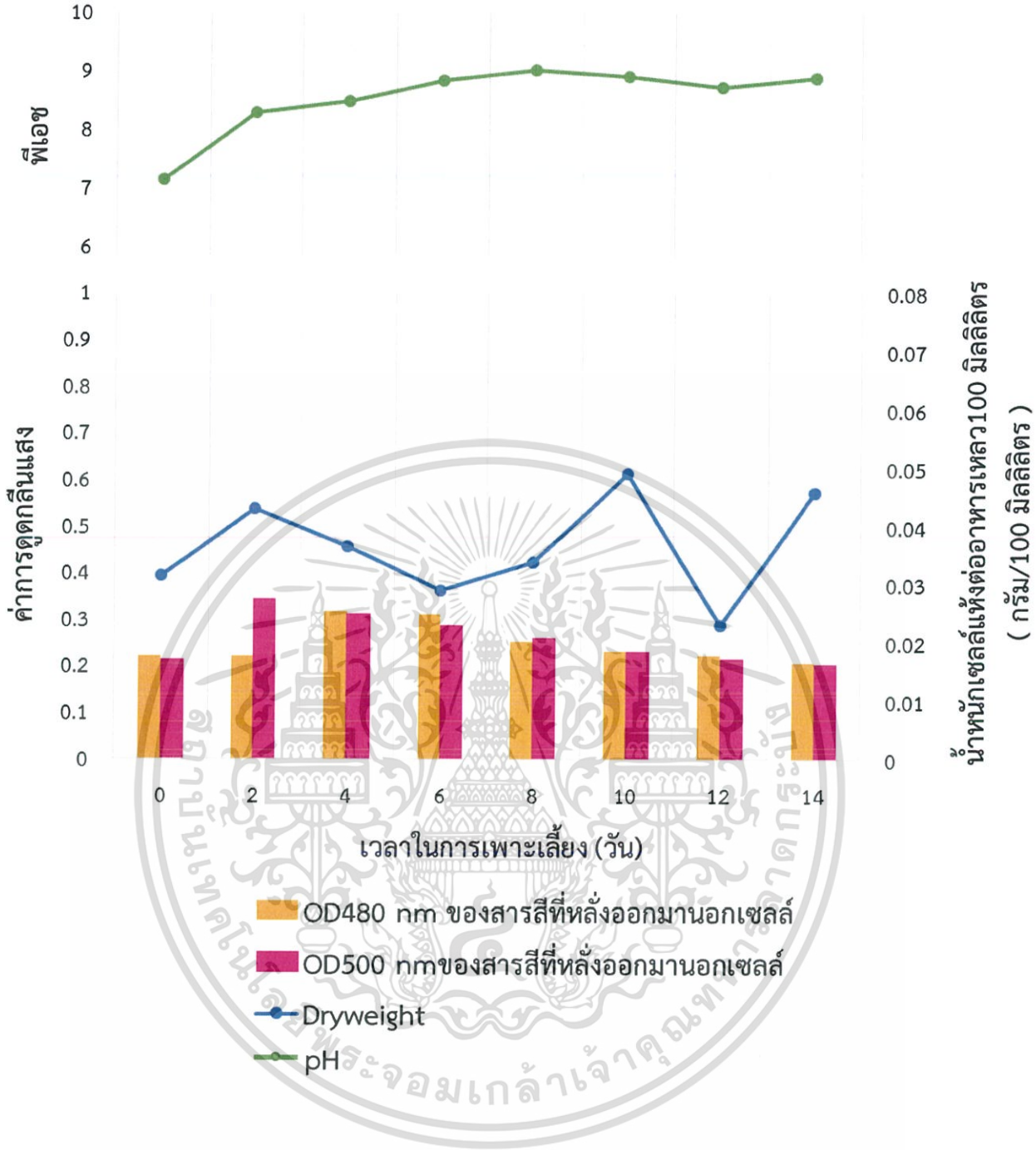
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง,ค่าเฉลี่ยของพีเอช ที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ,ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 480 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 14 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อ 100มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ย pH	ค่าเฉลี่ยOD_{480} ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์	ค่าเฉลี่ยงOD_{500}ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์
0	0.0314^{bcd}	7.14	0.221^{c}	0.213
2	0.0429^{ab}	8.28	0.315^{a}	0.343
4	0.0365^{bc}	8.47	0.311^{a}	0.311
6	0.0290^{cd}	8.83	0.274^{b}	0.286
8	0.0338^{bcd}	9.01	0.253^{b}	0.259
10	0.0490^{a}	8.91	0.231^{c}	0.231
12	0.0230^{d}	8.72	0.222^{c}	0.215
14	0.0457^{ab}	8.89	0.207^{c}	0.204

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือคือค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหาร TAP ที่มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตรในแต่ละวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.20 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง,ค่าเฉลี่ยของpHที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ,ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 480 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหาร TAP ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

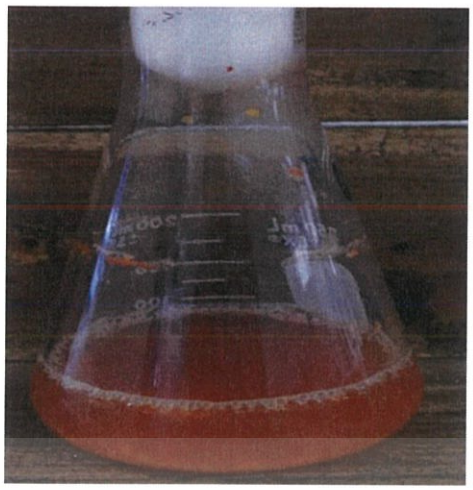
4.2.4 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารสูตร TAP เติมน้ำตาลซูโครส

จากผลการทดลองการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารสูตร TAP เติมน้ำตาลซูโครสปริมาตร 100 มิลลิลิตรในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ทำการเติมกล้าเชื้อปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ลงในอาหาร TAP เติมน้ำตาลซึ่งลักษณะอาหารก่อนลงกล้าเชื้อมีลักษณะเป็นสีใส ดังแสดงในรูปที่ 4.21 หลังจากที่ทำการปิเปตกล้าเชื้อปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรลงไปสีของอาหารจะมีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีส้มอมแดง ดังแสดงในรูปที่ 4.22 และเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ลักษณะสีเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน จากสีใสเปลี่ยนเป็นสีส้มใส ดังแสดงในรูปที่ 4.23 และเมื่อเลี้ยงไปได้ระยะเวลา 14 วัน ลักษณะสีอาหาร TAP เป็นสีส้ม ดังแสดงในรูปที่ 4.24 เนื่องจากอาหาร TAP มีแหล่งไนโตรเจนเป็น NH_4Cl ส่งผลให้เกิดการสะสมของสารสีส้ม ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Carels and Shepherd (1977) ถ้ามีแอมโมเนียมคลอไรด์และแอมโมเนียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน จะทำให้พีเอชลดลงอย่างรวดเร็ว เป็นผลให้สารสีไม่สามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน อิสระภายในเส้นใยได้ จึงมีการสะสมของ monascorubrin และrubropunctatin ได้เป็น สารสีส้ม

รูปที่ 4.21 ลักษณะของอาหาร TAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ก่อนการลงกล้าเชื้อ

รูปที่ 4.22 ลักษณะของอาหาร TAP เติมน้ำตาล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร หลังเติมกล้าเชื้อปริมาณ 1.5มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.23 ลักษณะสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร TAP เติมน้ำตาลซูโครส ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน

รูปที่ 4.24 ลักษณะสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร TAP เติมน้ำตาลซูโครส ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

จากการเก็บผลการทดลองและผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร TAP เติมน้ำตาลซูโครส ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ดังแสดงในตารางที่ 4.3 ซึ่งแสดงผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง,ค่าเฉลี่ยของพีเอชที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ,ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400 480 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ และค่าเฉลี่ยของการดูดกลืนแสงที่ 400 และ 480 นาโนเมตร ของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ที่ได้รับจากการเพาะเลี้ยงในอาหาร TAP เติมน้ำตาลซูโครส โดยจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เห็นว่าของผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งนั้นมีค่าที่เพิ่มขึ้นเรื่อยๆและสูงสุดที่วันที่ 14 มีค่าเป็น 0.4636 กรัมต่อ100 มิลลิลิตร ส่วนค่าพีเอชที่วัดได้นั้นมีค่าพีเอชเริ่มต้นเป็น 6.22 และ มีค่าพีเอชหลังเพาะเลี้ยงได้ 14 วัน เป็น 1.81ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่าพีเอชนั้นลดลงอย่างมากจากค่าพีเอชเริ่มต้น เนื่องจากมีแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโนเนียมคลอไรด์ ในส่วนของค่าเฉลี่ยการดูกลืนแสงที่ 400 480 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์นั้นมีปริมาณสารสีเพิ่มสูงขึ้นและมีปริมาณสูงสุดที่วันที่ 14 ทั้งสามความยาวคลื่นโดย ที่ 400 นาโนเมตร มีค่าเป็น 0.83 ที่ 480 นาโนเมตรมีค่าเป็น 0.329 และที่ 500 นาโนเมตรมีค่าเป็น 0.277 และในค่าเฉลี่ยของการดูดกลืนแสงที่ 400 และ 480 นาโนเมตร ของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ มีปริมาณสารสีที่อยู่ภายในเซลล์เพิ่มขึ้นเรื่อยๆเช่นกันโดยจะสูงสุดที่วัน 8 ซึ่งที่ 400 นาโนเมตรมีค่าเป็น 7.32และที่ 480มีค่าเป็น 7.60 ซึ่งจะสามารถสังเกตความสัมพันธ์ของการเจริญเติบโตและการหลั่งสารสีได้จากกราฟ ดังแสดงในรูป 4.25

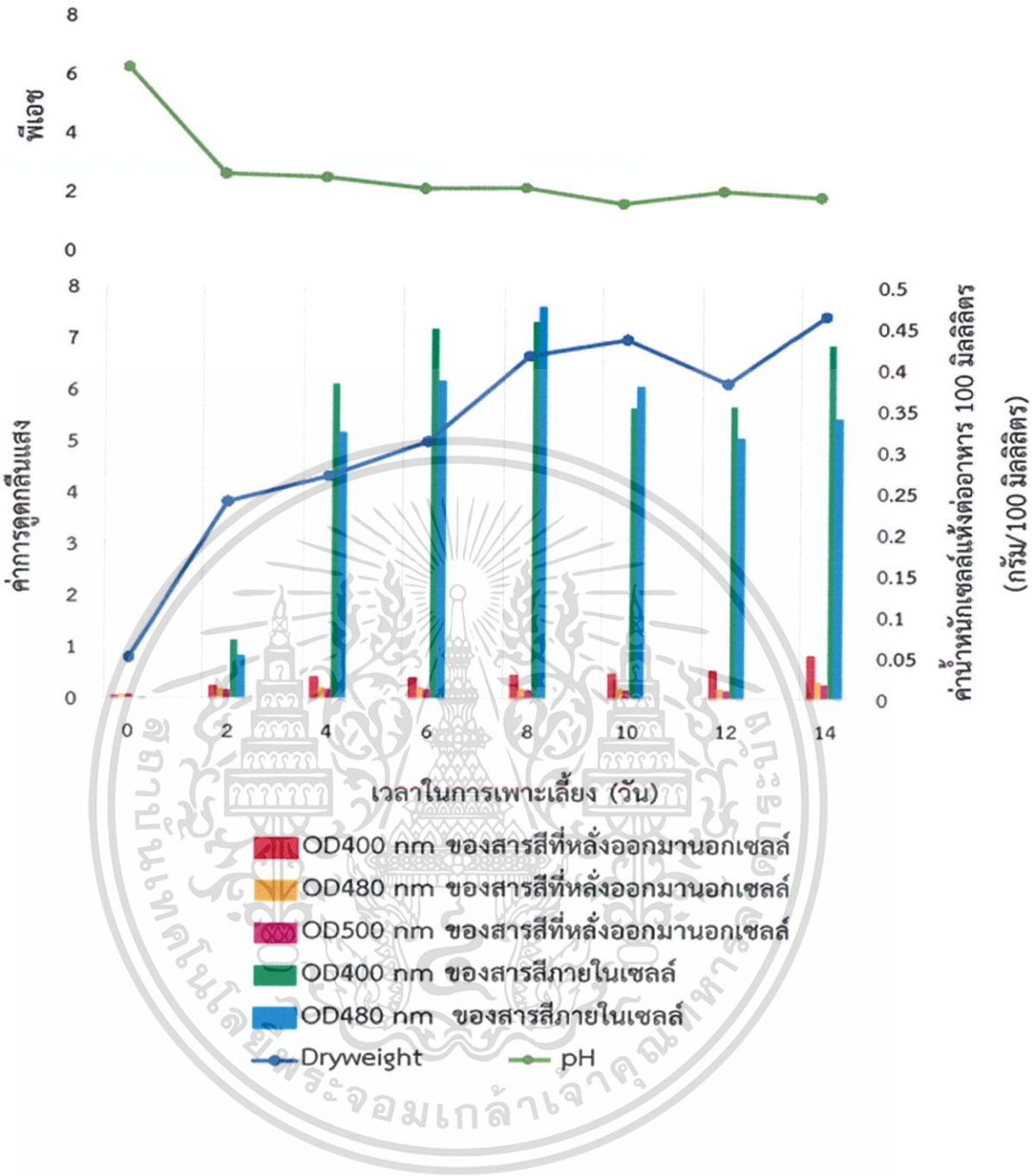
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง,ค่าเฉลี่ยของพีเอช ที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ ,ค่าเฉลี่ยOD_{400},ค่าเฉลี่ย OD_{500}และค่าเฉลี่ยOD480 ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ และค่าเฉลี่ยของOD_{400}กับOD_{480}ของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหาร TAP เติมน้ำตาลซูโครส

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ย pH	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{480} ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์	ค่าเฉลี่ยง OD_{500} ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{480} ของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์
0	0.0493^{d}	6.22	0.064	0.03^{c}	0.061	0.011	0.007
2	0.2389^{c}	2.6	0.229	0.184^{b}	0.163	1.132	0.818
4	0.2700^{c}	2.49	0.415	0.218^{b}	0.179	6.11	5.16
6	0.3118^{bc}	2.11	0.404	0.219^{b}	0.181	7.18	6.16
8	0.4158^{a}	2.13	0.453	0.202^{b}	0.165	7.32	7.60
10	0.4356^{a}	1.59	0.48	0.197^{b}	0.161	5.65	6.05
12	0.3823^{ab}	2.02	0.54	0.194^{b}	0.156	5.68	5.06
14	0.4636^{a}	1.81	0.83	0.329^{a}	0.277	6.87	5.44

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือคือค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหาร TAP+Sucrose ที่มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตรในแต่ละวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.25 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง,ค่าเฉลี่ยของpHที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ,ค่าเฉลี่ยOD_{40} ค่าเฉลี่ย OD_{500}และค่าเฉลี่ยOD480 ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ และค่าเฉลี่ยของ OD_{400}กับ OD_{480}ของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร TAP เติมน้ำตาลซูโครส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อในอาหารทั้งสามชนิด

จากกราฟเปรียบเทียบการเจริญเติบของเชื้อราโมแนสคัส ดังที่แสดงในรูป 4.26 และตารางที่ 4.5 จะเห็นว่าการเจริญเติบโตของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารสูตร MS อัตราการเจริญสูงสุดเนื่องจากอาหาร MSมีแหล่งคาร์บอนเป็นแหล่งน้ำตาลซูโครส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สมชาย (2536) คัดเลือกเชื้อรา *Monascus sp* KBM10.2 ที่สร้างสารสีเหลืองในพีเอชที่เป็นกลาง พบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ดีในแหล่ง คาร์บอนที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ เช่น แลคโตสหรือซูโคสแต่ในอาหาร TAP เติมน้ำตาลซูโครส มีปริมาณเซลล์ต่ำกว่าเนื่องจากในอาหาร TAP นั้นมีสารจำพวกฟอสเฟสอยู่ปริมาณมาก ซึ่งส่งผลไปยับยั้งการเจริญทำให้มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ต่ำกว่า ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย Lin และ Demain (1991) พบว่าฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 70 มิลลิโมลาร์ ขึ้นไปมีผลยับยั้งการเจริญและการสร้างสีของเชื้อราโมแนสคัส ส่วนในอาหาร MYS ที่มีปริมาณเซลล์ต่ำกว่าเนื่องจากมีแหล่งคาร์บอนเป็นสารจำพวกพอลิแซคคาร์ไรด์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของสมชาย (2536) คัดเลือกเชื้อรา *Monascus sp* KBM10.2 ที่สร้างสารสีเหลืองในพีเอชที่เป็นกลาง พบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ดีในแหล่ง คาร์บอนที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ เช่น แลคโตสหรือซูโคส แต่สร้างสารสีเหลืองได้ดีในพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น แป้งมันสำปันหลัง แป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวเหนียวเป็นต้น และในส่วนของการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสดงของสารสีที่ผลิตออกมานอกเซลล์โดยสังเกตได้จากกราฟเปรียบเทียบปริมาณสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ที่ 480 นาโนเมตร ดังแสดงรูป 4.27 และตารางที่ 4.6 จะเห็นว่าอาหารเหลว MYS นั้นมีการหลั่งของสารสีออกมานอกเซลล์ปริมาณมากเนื่องจากในอาหารเหลว MYS นั้นมีแหล่งไนโตรเจนเป็น ยีสแอกซ์แทรค ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Broder และ Kochler (1980) ก็พบว่ายีสต์เอกซ์แทรค มีผลต่อการผลิตสารสีแดงออกมานอกเซลล์เพิ่มมากขึ้น และงานวิจัยของ Carels and Shepherd (1977) พบว่าเมื่อแหล่งไนโตรเจนเป็นยีสต์เอกซ์แทรคจะผลิตสีแดงอย่างเดียว เนื่องจากอาหารนี้มีกรดอะมิโนมากเพียงพอ เมื่อเชื้อเจริญจะทำให้พีเอชสูงขึ้น สารสีจึงสามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนอิสระ (NH group) ที่อยู่ภายในเส้นใย เปลี่ยนเป็นสารอนุพันธุ์เอมีนได้ และไม่พบสีส้มหรือสีเหลือง และจากกราฟเปรียบเทียบค่าพีเอส ดังที่แสดงในรูป 4.28 และตารางที่4.7 จะเห็นว่าค่าพีเอช ของอาหารเหลว MS และ อาหาร TAPเติมน้ำตาลซูโครส มีแนวโน้มการลดลงที่คล้ายคลึงกันเนื่องจากในอาหารทั้งสองชนิดมีส่วนประกอบคล้ายกันคือมีสารจำพวกแอมโมเนียมคลอไรด์และแอมโนเนียมไนเตรท เป็นแหล่งไนโตรเจนส่งผลให้เกิดการลดลงอย่างรวดเร็วของพีเอช ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Carels and Shepherd (1977) ที่ว่าอาหารที่มีแอมโมเนียมคลอไรด์และแอมโมเนียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนจะส่งผลให้ค่าพีเอช ลดลงอย่างรวดเร็ว และในส่วนของค่าพีเอชของอาหารเหลว MYS นั้นจะสูงขึ้นเนื่องจากในอาหารเหลว MYS มียีสต์เอกซ์แทรคซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Carels and Shepherd (1977) พบว่าเมื่อแหล่งไนโตรเจนเป็นยีสต์เอกซ์แทรคจะผลิตสีแดงอย่างเดียว เนื่องจากอาหารนี้มีกรดอะมิโนมากเพียงพอ เมื่อเชื้อเจริญจะทำให้พีเอชสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 ศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว MYS

เพื่อให้ทราบถึงการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีจองเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว MYS จากผลการทดลองพบว่าเชื้อราโมแนสคัสที่เลี้ยงในอาหารชนิดนี้มีสีแดงหลั่งออกมานอกเซลล์แล้วจากผลการวิเคราะห์พบว่าระยะเวลาที่เชื้อราเจริญได้สูงสุดคือวันที่ 6 โดยมีการผลิตสารสีหลั่งออกมานอกเซลล์สูงสุดที่วันที่ 6 เช่นกันโดยในส่วนค่าพีเอชนั้นมีแนวโน้มที่จะค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นจากค่าพีเอชเริ่มต้นอย่างเห็นได้ชัด

5.1.2 ศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร MS

เพื่อให้ทราบถึงการเจริญเติบและการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัสในในอาหาร MS จากผลการทดลองเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าจะพบว่าเชื้อราโมแนสคัสมีการผลิตสารสีส้มและสารสีส้มที่ผลิตได้นั้นมีการหลั่งออกมานอกเซลล์ปริมาณต่ำส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ที่ทำการเก็บผลได้ในแต่ละครั้งไม่แตกต่างกันมากนักแต่จะสูงสุดที่วันที่ 14 และเมื่อนำเซลล์แห้งมาสกัดสารสีด้วยเมทานอลพบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์นั้นมีปริมาณมากกว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์อย่างเห็นได้ชัด ในส่วนการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของเชื้อราโมแนสคัสโดยวัดค่าน้ำหนักเซลล์แห้งพบว่าอาหารชนิดนี้มีการเจริญเติบโตของเซลล์สูงสุดโดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่วันที่ 10 และในส่วนของค่าพีเอชนั้นมีการลดต่ำลงจากพีเอชเริ่มต้น

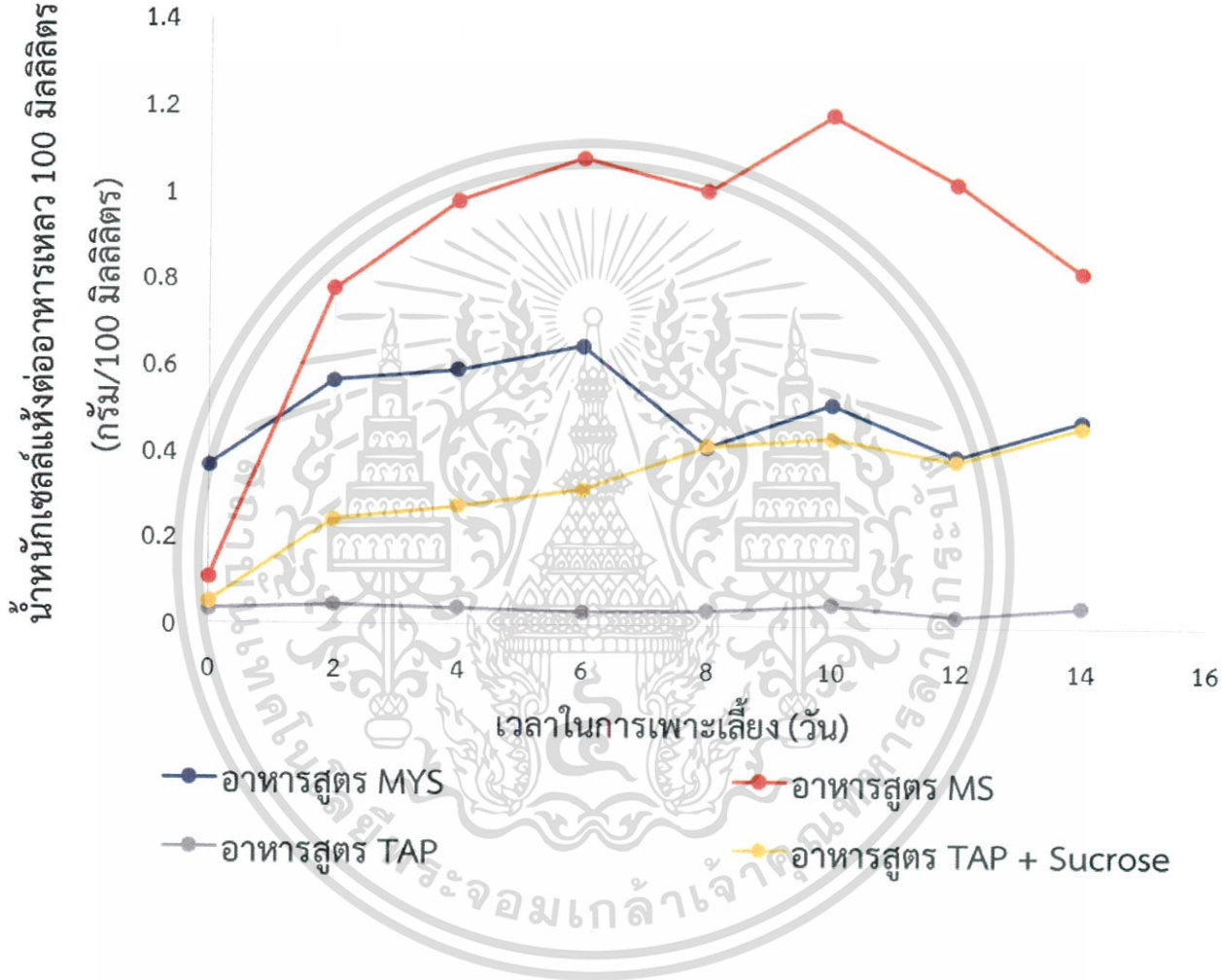
5.1.3 ศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร TAP

เพื่อให้ทราบถึงการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร TAP จากผลการทดลองเมื่อสังเกตด้วยตาจะพบว่าการเจริญเติบโตของเชื้อราและสารสีไม่ค่อยมีการเปลี่ยนแปลงไปในแต่ละวันโดยเมื่อเทียบปริมาณสารสีและค่าน้ำหนักเซลล์แห้งในแต่ละวันไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากค่าเริ่มต้น

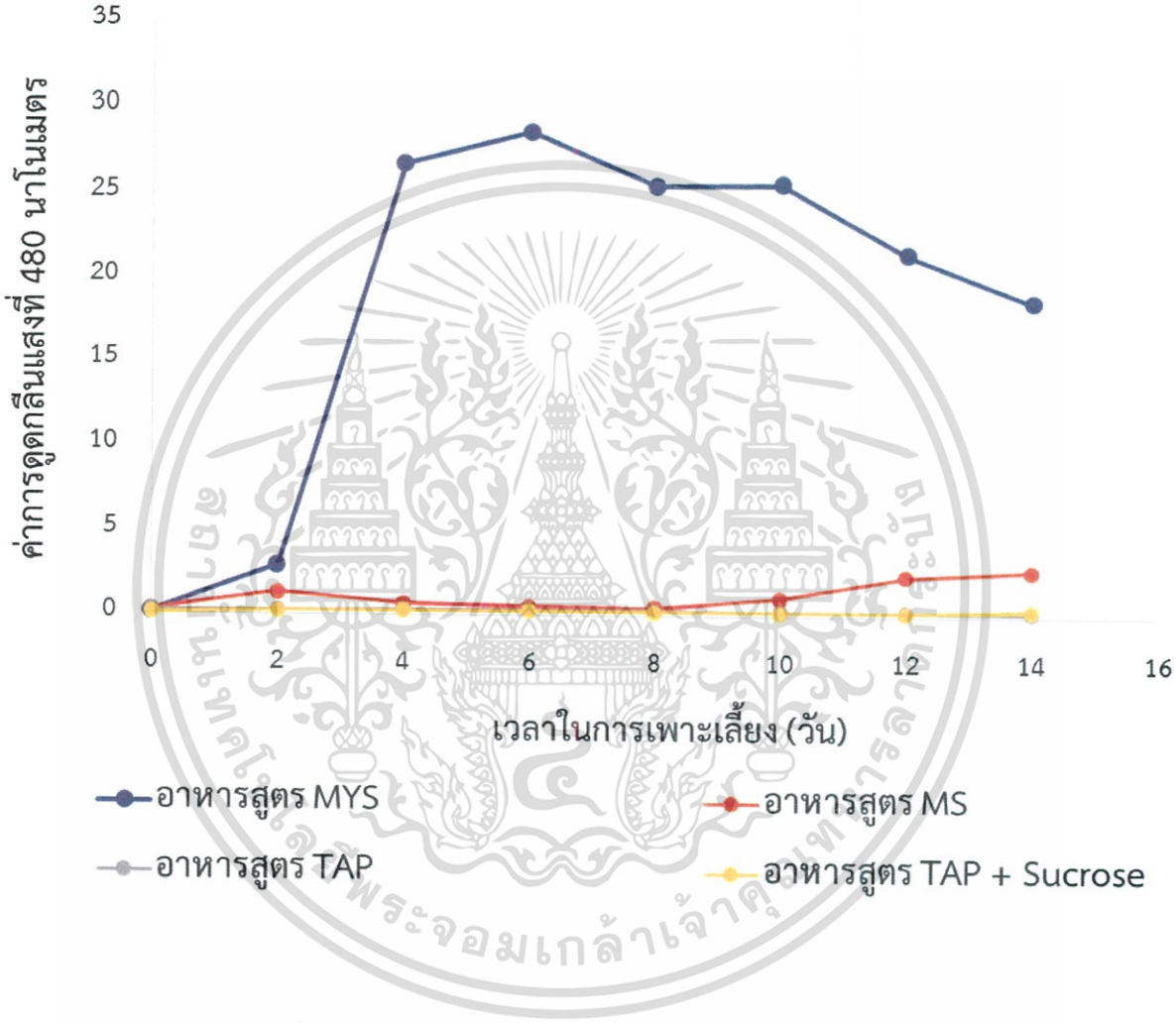
5.1.4 ศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร TAP

เติมน้ำตาลซูโครส เพื่อให้ทราบถึงการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร TAPเติมน้ำตาลซูโครส จากผลการทดลองเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าจะพบว่าเชื้อราโมแนสคัสมีการผลิตสารสีส้มและสารสีส้มที่ผลิตได้นั้นมีการหลั่งออกมานอกเซลล์ปริมาณต่ำส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ที่ทำการเก็บผลได้ในแต่ละครั้งไม่แตกต่างกันมากนักแต่จะสูงสุดที่วันที่ 14 และเมื่อนำเซลล์แห้งมาสกัดสารสีด้วยเมทานอลพบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์นั้นมีปริมาณมากกว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์อย่างเห็นได้

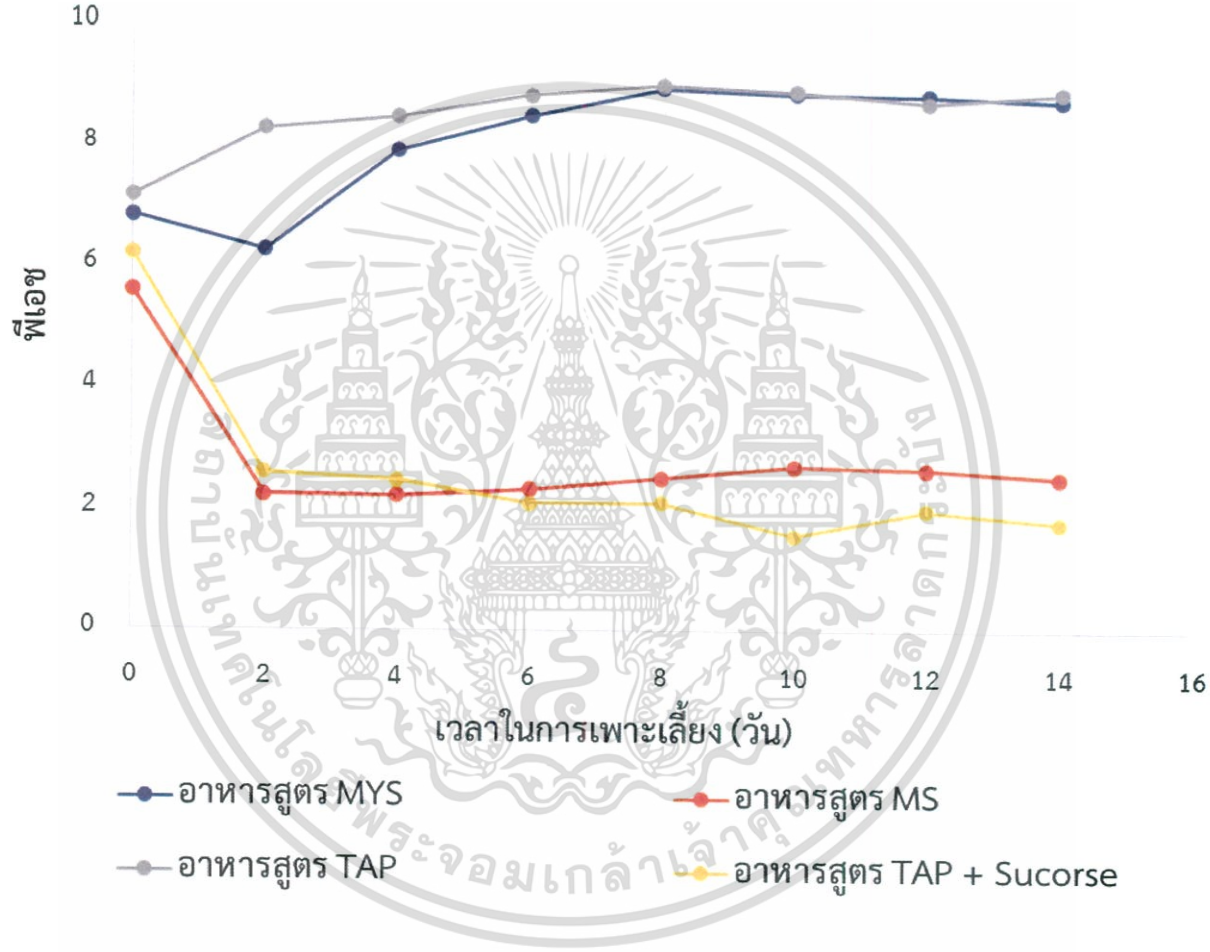
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.26 การเปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง(การเจริญเติบโต)ของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารแต่ละชนิด



รูปที่ 4.27 การเปรียบค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ผลิตและหลั่งออกมานอกเซลล์ที่ 480 นาโนเมตรต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง ของอาหารชนิดต่างๆ



รูปที่ 4.28 การเปรียบค่าพีเอชที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง

ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบชนิดของอาหารที่มีผลต่อค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง

	เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ชนิดอาหาร			
		อาหารสูตร MYS[b]	อาหารสูตร MS[a]	อาหารสูตร TAP[d]	อาหารสูตร TAP+Sucrose[c]
ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อ100 มิลลิลิตร)	0	0.3666	0.1036	0.0314	0.0493
	2	0.5635	0.7747	0.0429	0.2389
	4	0.5884	0.9819	0.0365	0.2700
	6	0.6458	1.0828	0.0290	0.3118
	8	0.4147	1.0080	0.0338	0.4158
	10	0.5145	1.1834	0.0490	0.4356
	12	0.3942	1.0280	0.0230	0.3823
	14	0.4775	0.8209	0.0457	0.4636

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ [a,b,c] คือคือค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหารแต่ละชนิดที่มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

ตารางที่ 4.6 เปรียบเทียบชนิดของอาหารที่มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตรของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์

	เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ชนิดอาหาร			
		อาหารสูตร MYS[a]	อาหารสูตร MS[b]	อาหารสูตร TAP[d]	อาหารสูตร TAP+Sucrose[c]
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตร	0	0.186	0.251	0.221	0.03
	2	2.8543	1.275	0.315	0.184
	4	26.76	0.635	0.311	0.218
	6	28.26	0.495	0.274	0.219
	8	25.5	0.466	0.253	0.202
	10	25.6	1.035	0.231	0.197
	12	21.5	2.34	0.222	0.194
	14	18.6	2.67	0.207	0.329

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ [a,b,c] คือคือค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหารแต่ละชนิดที่มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตร

4.4 ผลการวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี

4.4.1 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี

จากผลการทดลองนำรงควัตถุมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟีจากข้อ 3.4.8.1 พบว่าแยกสารสกัดรงควัตถุออกมาได้ จำนวน 2 fraction โดยนำส่วนที่แยกด้วยตัวทำละลายเดียวกันมารวมกัน ซึ่งสามารถจำแนกได้เป็นสารสกัด 2 fraction ดังแสดงในรูปที่ 4.29

Fraction 1 Fraction 2

รูปที่ 4.29 สารสกัดรงควัตถุที่ผ่านการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี
Fraction 1: ใช้เอทิลอะซิเตท เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase)
Fraction 2: ใช้เมทานอล เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase)

4.4.2 การวิเคราะห์สารสีด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี

นำสารสกัดสีทั้งสองส่วนจากข้อ 4.3.1 มาจุดสารสีลงบนแผ่น TLC Silica gel ในแผ่นเดียวกัน โดยใช้เอทิลอะซิเตทต่อเมทานอล ในอันตราส่วน 9:1 เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) พบว่าเมื่อมองด้วยตาเปล่าภายใต้แสงธรรมชาติ สารสกัดจาก fraction 1 นั้นมีค่า R_f กว่า fraction 2 จึงทำให้สารสีเหลืองจาก fraction 1 นั้นเคลื่อนที่ไปได้ไกลกว่าสารสีแดงจาก fraction 2 ดังแสดงในรูปที่ 4.30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก ข

รูปที่ 4.30 สารสกัดรงควัตถุที่ผ่านการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี จุดบนแผ่น TLC Silica gel สังเกตด้วยตาเปล่าภายใต้แสงธรรมชาติ

ก : สารสกัดจากเอทิลอะซิเตท (Fraction 1)

ข : สารสกัดจากเมทานอล (Fraction 2)

เมื่อนำแผ่น TLC Silica gel ไปส่องดูภายใต้ UV light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร พบว่าโครมาโตรแกรมของสารสกัดจาก fraction 1 นั้นมีค่า R_f กว่า fraction 2 จึงทำให้สารสีเหลืองจาก fraction 1 นั้นเคลื่อนที่ไปได้ไกลกว่าสารสีแดงจาก fraction 2 ดังแสดงในรูปที่ 4.31

ก ข

รูปที่ 4.31 สารสกัดรงควัตถุที่ผ่านการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี จุดบนแผ่น TLC Silica gel ไปส่องดูภายใต้ UV light ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร

ก : สารสกัดที่ใช้เอทิลอะซิเตท (Fraction 1)

ข : สารสกัดที่ใช้เมทานอล (Fraction 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชัดโดยค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์จะสูงสุดที่วันที่ 8 ในส่วนการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของ เชื้อราโมแนสคัสโดยวัดน้ำหนักเซลล์แห้งเซลล์มีการเจริญเติบโตสูงสุดที่วันที่ 14 และในส่วนของค่าพีเอชมีการลดต่ำลงจากพีเอชเริ่มต้น

5.1.5 ศึกษาการวิเคราห์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตรกราฟี

สามารถแยกออกได้ 2 facetion คือ facetion 1 เอทิลอะซิเตท สังเกตสีที่ออกมาส่วนใหญ่เป็นสีเหลืองสีส้ม และ facrtion 2 เมทานอล สังเกตเห็นเป็นสีแดงเคลื่อนที่ออกมา

5.1.6 ศึกษาเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตรกราฟี

พบว่าเมื่อมองด้วยตาเปล่าภายใต้แสงธรรมชาติโดยใช้เอทิลอะซิเตทต่อเมทานอล ในอันตราส่วน 9:1 เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) นำไปส่องดูไปภายใต้แสง UV light 365 นาโนเมตร พบว่า fraction 1 นั้นมีค่า Rf มากกว่า fraction 2 จึงทำให้สารสีเหลืองจาก fraction 1 นั้นเคลื่อนที่ไปได้ไกลกว่าสารสีแดงจาก fraction2

5.2 ข้อเสนอแนะ

1.การวัดปริมาณสารสีที่อยู่ภายในเซลล์โดยน้ำเซลล์ที่ติดอยู่ที่กระดาษกรองมาสกัดเอาสารสีออกมาแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสดงอาจจะให้ข้อมูลที่ผิดพลาดได้เนื่องจากในขณะที่กรองอาจมีสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ติดค้างอยู่บนกระดาษกรองบางส่วนและเมื่อนำไปสกัดสารสีจึงไม่ได้เป็นผลของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์เพียงอย่างเดียวอาจมีการปนเปื้อนของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ดังนั้นจึงควรปรับเปลี่ยนวิธีในการเก็บผลสารสีที่อยู่ภายในเซลล์โดยควรนำเซลล์ที่กรองได้มาล้างเอาสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ที่ติดอยู่ออกก่อนจากนั้นจึงนำมาสกัดเอาสารสีที่อยู่ภายในเซลล์เพื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงต่อไป

2.ในการเพาะเลี้ยงในอาหารชนิดต่างๆอาหารบางชนิดจะมีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นได้ง่ายเนื่องจากมีแหล่งอาหารที่อุดมสมบูรณ์จึงอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียซึ่งส่งผลให้การเก็บที่ผลผิดพลาดดังนั้นจึงควรตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อราก่อนทำการเก็บผลอาจทำโดยการนำตัวอย่างไป streak plate ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ หรือวิธีอื่นๆตามความเหมาะสมเพื่อตรวจสอบการปนเปื้อน

3.ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาอิทธิพลของอาหารทั้งสามชนิดที่มีผลต่อการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัสซึ่งเป็นการศึกษาในภาพรวมดังนั้นจึงควรนำมาพัฒนาต่ายอดในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารในอาหารชนิดต่างๆว่ามีผลต่อการเจริญและผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัสอย่างไรเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงและผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กมลนันท์ หลักรอด. 2541. **การวิเคราะห์ยีโนมของราข้าวแดง (*Monascus spp.*) โดยใช้เทคนิคการสุ่มขยายชิ้นดีเอ็นเอ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กมลวรรณ ตันโสภณ และดวงใจ โอชัยกุล. 2554. **การผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR3090 บนลูกเดือยในภาพอาหารแข็ง**. ในการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ. วันที่ 1-4 ก.พ. 2554. P 320-338.

ฉัตรมณี จอมคำสิงห์. 2547. **การผลิตสีเหลืองของเชื้อรา *Monascus sp.* KB20M10.2 จากแป้งมันสำปะหลังโดยการหมักแบบ Constantly fed-batch culture**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชนาพร เชียรวิจิตร,ปรีดา จันทนิยม และ สุภารัตน์ อินทศร. 2552. **การการยับยั้งการหืนของผลิตภัณฑ์กุนเชียงโดยใช้เมล็ดขนุนที่หมักด้วยเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090**. วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีวอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

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

เชิดชัย เชี่ยวธีรกุล, ประสิทธิ์ แซ่ลี้ และ ปนัดดา แซ่อึ้ง.2519. **สีแดงจากข้าว(อั้งคัก)**. วารสารอาหาร. 8(1) : 51-55

ธวัชชัย พิการัน, ธัญพิชชา สมสืบ และ วีรยุทธ ทิมครองธรรม. 2555. **การผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* และการประยุกต์ใช้ในการทำลิปสติก** . วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีวอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

นิสา บุตรดา. 2537. **การกลายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส กบ.11304 ให้กลายเป็นไม่สร้างสีและเปรียบเทียบสมบัติบางประการกับสายพันธุ์พ่อแม่ สายพันธุ์กลายพันธุ์สีแดงและสีเหลือง.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขา จุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุษบา ยงสมิทธ์ และ วรรณภา ทาบโลกา. 2527. **การใช้ประโยชน์แป้งมันสำปะหลังในการผลิตสีผสมอาหาร และเอนไซม์ย่อยแป้ง โดยเชื้อราโมแนสคัสในสภาพหมักเปียก**, น. 451-452. ใน รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 22. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

บุษบา ยงสมิทธ์. 2540. **หลักการพื้นฐานการหมักของจุลินทรีย์**. กรุงเทพ : สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุษบา ยงสมิทธ์. 2542 **จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี**. กรุงเทพ : ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พลายแก้ว ไชยเบญจรงค์ และ บุษบา ยงสมิทธ์. 2534ก. **การศึกษาเบื้องต้นการผลิตโคจิสีแดงของโมแนสคัสเตรียมจากวัตถุดิบชนิดต่างๆ**, น. 277-282. ใน รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พงศ์พะงา จางบัว. 2547. **การเจริญและการผลิตสีเหลืองของเชื้อรา *Monascus sp.* KB20M10.2 จากแป้งมันสำ ปะหลัง โดยวิธีการหมักแบบครั้งคราว.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มณชัย เดชสังกรานนท์ และสาโรจน์ ศิริศันสนียกุล. 2555. **โมแนสคัส มหัศจรรย์ราข้าวแดงผู้พิชิคลอเลสเตอรอล**. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร ม.เกษตรศาสตร์ :กรุงเทพฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

วรวรรณ กลิ่นสุภา. 2550. **การปรับปรุงการเจริญและการผลิตสีเหลืองโดยใช้เทคนิคโปรโตพลาสต์มิวเตชันและฟิวชันของมวิเตนท์สีเหลืองและมิวเตนท์สีขาวของ *Monascus sp.* KB11304**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วรรณภา ทาบโลกา. 2529. **ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตสีของโมแนสคัสที่เจริญบนอาหารแป้งมันสำปะหลังในสภาพหมักเปียก**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมชาย ไกรรักษ์. 2536. **ศักยภาพของเชื้อราโมแมสคัสกลายพันธุ์ชนิดใหม่ ในการผลิตสีเหลืองธรรมชาติ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุภาพร จันทร์ศิริโพธา. 2531. **การปรับปรุงสายพันธุ์เชื้อราแดงเพื่อเพิ่มความสามารถการผลิตสีโดยวิธีการกลายพันธุ์**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เสาวนีย์ ชอบบุญ ชุลี ชัยศรีสุข และบุษบา ยงสมิทธ์. 2540 **การวิเคราะห์ยีโนมของรำข้าวแดงโดยการตรวจนับจำนวนและขนาดของโครโมโซมด้วยกระแสไฟฟ้าสลับทิศทาง**. บทคัดย่อการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 น. 212

Arx JA von. 1974. **The genera of fungi sporulating in pure culture**. Second edition Cramer, Vaduz:

Babitha, S., C. R. Soccol, and A. Pandey. 2007. **Solid-state fermentation for the production of Monascus pigments from jackfruit seed**. Bioresource Technol.98(8): 1554-1560.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Bau, Y. S. and H.C. Wong. 1979. **Zinc effects on growth, pigmentation and antibacterial activity of *Monascus purpureus.*** Physiologia Plantarum 46: 63-67.

Bridege, P.D. and D.L. Hawksworth. 1985. **Biochemical tests as an aid to the identification of *Monascus species*.** Letters in Appl. Microbiol. 1: 25-29.

Broder, C. U. and P.E. Koehler. 1980. **Pigment production by *Monascus purpureous.* with regard to quality and quantity.** J. Food. Sci. 45: 567-569.

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

Carels, M. and D. Shepherd. 1975. **Sexual reproduction cycle of *Monascus sp.* in submerged shaken culture.** J. Bacteriol. 122(1): 288-294.

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

Carels, M. and D. Shepherd. 1978. **The effect of pH and amino acid on condition And pigment production of *Monascus* major ATCC 16362 and *Monascus rubiginosus* ATCC 16367 in submerged shaken culture.** Can. J. Microbiol. 24: 1346-1357.

Carels, M. and D. Shepherd. 1979. **The effect of change in pH on phosphate and Potassium uptake by *Monascus rubiginosus* ATCC 16367 in submerged shaken culture.** Can. J. Microbiol. 25: 1484-1488.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Chaisrisook C 2002. **Mycelial reactions and Mycelial compatibility groups of red rice mould (Monascus purpureus.)** Mycol Res 106:298-304

Chiu, S.W. and S.M. Chan. 1992. **Production of pigments by *Monascus purpureus.* using sugar- cane bagasse in roller bottle cultures.** World J. Microbiol. Biotechnol. 8: 68-70.

Church, M.B. 1920. **Laboratory experiments on the manufacture of Chinese ang-kak in the United States.** J. Indust. Eng. Chem. 12: 45-46.

Hajjaj, H., A. Klaebe, G. Goma, P.J. Blanc, E. Barbier and J. Francois. 2000. Medium-chain fatty acids affect citrinin production in the filamentous fungus *Monascus ruber.* Appl. Environ. Microbiol. 66(3): 1120-1125.

Hamdi, M., P.J. Blanc and G. Goma. 1996. **Effect of aeration conditions on the production of red pigments by *Monascus purpureus* growth on prickly pear juice.** Process Biochem. 31(6): 543-547.

Han, O.H. 1990. **Optimization of *Monascus* pigment production in solid-state fermentation,** pp. 260-263. In G.A.F. Hendry and J.D. Houghton (eds). Natural Food Colourants. Blackie and Son., New York. 280 p.

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

Hesseltine, C. W. 1965. **A millenium of fungi, food and Fermentation.** Mycologia 57: 179-181.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

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: 1975.

Johnson, G.T. and F. McHan. 1975. **Some effect of zinc on the utilization of Carbon source by *Monascus purpureus*.** Mycologia 67: 806-816.

Johns, M.R. and D.M. Stuart. 1991. **Production of pigments by *Monascus purpureus* In solid culture.** J. Indust. Microbiol. 8: 23-28.

Kiyohara, H., Watanabe, T., Imai, J., Takizawa, N., Hatta, T., Nagao,K. & Yamamoto, A. 1990 **Intergeneric hybridization between *Monascus anka.* And *Aspergillus oryzae.* by protoplast fusion.** Applied and Microbiological Biotechnology 33, 671-676.

Kolitila, M.P., P.J. Hollingsworth and P.A. Volz. 1978. **Surface featurs of *Monascus ruber* van Tieghem cleistothecia**. Bot. Gaz. 139(2): 256-260

Kurono, M., K. Nakanishi, K. Shindo, and M. Tada. 1963. **Biosynthesis of monascorubrin and monascoflavin.** Chem. Pharm. Bull. Tokyo 11: 359-362

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

Lin, and A.L. Demain. 1991. **Effect of nutrition of *Monascus sp.* on formation of red pigments.** Appl. Microb. Biotechnol., 36:70 – 75.

Lin CF, lizuka H, 1981. **Production of extracellular pigment by a mutant of *Monascus kaoliang sp.* nov.** Appl. Environ. Microbiol. 43(3): 671-676.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Lin CF, Iizuka H 1982. **Production of extracellular pigment by a mutant of *Monascus kaoliang* sp.** nov. Appl Environ Microbiol 43:671–676

Lin CF and S.J.T. Suen. 1973. **Isolation of hyperpigment-productive mutants of Monascus spF-2.** J Ferment Technol . 51:757–759.

Lotong, N., P. Suwanarit. 1990. **Fermentation of angkak in plastic bags and regulation of pigmentation by initial moisture content.** J. Applied Micro. 68 (6), 565–570.

Machand, P.S. and W.B. Whally. 1973. **Isolation and structure of ankaflavin: a new pigment from Monascus anka.** Phytochemistry. 12: 2531-2532.

Manandhar, K.L., and A.E. Apinis. 1971. **Temperature relation in *Monascus* .** Trans Br. Mycol. Soc. 57 (3): 465-472

McHan, F. and G.T. Johnson. 1970. **Zinc and amino acids : Important components of a medium promoting growth of Monascus purpureus.** Mycologia. 62(5): 1018-1031.

Moll, H.R. and D.R. Farr. 1978. **Preparation of Red Coloring Agent.** Swiss Patent 606433.

Nakanishi, K., M. Ohashi, S. Kumasaki and S. Yamamura. 1959. **Structure of monascorubrin and monascamine.** J. Am. Chem. Soc. 81: 6339-6340.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

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

Pola Chemical Industries Inc. 1984. **Cosmetics Containing Natural Coloring Materials.** Japanese Patent 82140948 (820816)

Palo, M.A., L. Vidal-Adeva and M.M. Leticia. 1960. **Study on ang-kak and its production.** Philipp. J. Sci. 89: 1-22.

Smith, G. 1969. **Introduction to Industrial Mycology.** Edward Arnold Ltd., London.

Somchai Krairak, Kouji Yamamura. MikioNakajima, Hiroshi Shimizu, Patoomporn Chim-Anage, BusabaYongsmith and Suteaki Shioya. 2000. **Maximizing yellow pigment production in fed-batch culture of *Monascus* sp.** Biosci Bioeng. 2000; 90:363–7

Stchigel AM, Cano J, Abdullah SK, Guarro J. (2004). **New and interesting species of *Monascus* from soil, with a key to the known species.** *Studies in Mycology* 50: 299–306

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

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

Turner, W.B. 1971. **Fungal Metabolites.** Academic press, London. 466 p.

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ที่ได้ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Udagawa, S.-I. and H. Baba. 1998. **Monascus lunisporas: a new species isolated from mouldy feeds.** Cryptogamie Mycol. 19: 269-276.

Wong H.C. and P.E. Koehler. 1981. **Production and isolation of an antibiotic from *Monascus purpureus.* and its relationship to pigment production.** J. Food Sci. 46:589–592.

Wong, H. C. 1982. **Antibiotic and Pigment Production by *Monascus purpureus*.** Ph.D.Thesis, University of Georgia, Athen.97

Wong, H. 1983. **Production of red water-soluble monascus pigments.** J. Food. Sci. 48: 1200-1203

Wong, H. C.A. Hu, H.L. Yeh, W. Su, H.C. Lu and C.F. Lin. 1986. **Production, purification and characterization of α-galactosidase from *Monascus pilosus*.** App. Environ. Microbiol.52(5): 1147-1152.

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

Yongsmith, B. 1993. **Potentials of *Monascus* molds on production of yellow pigments,** pp. 155-163. *In* International Symposium of the 20th Anniversary of International Post-Graduate University Course in Microbiology. Osaka, Japan.

Yongsmith, C. Chaisrisook, P. Chim-anage and S. Krairak. 1998. **Production of yellow pigments by *Monascus* molds growing on cassava substrates.** *In* The Symposium on Monascus Culture and Applications. Centre Pour L'Unesco, Toulouse, France.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Yongsmith, W. Yongmanitchai and R. Bavavoda. 1993. **Culture conditions for yellow pigment formation by *Monascus sp.*** KB10 grown on cassava medium.World J. Microbiol. Biotechnol. 9: 85-90.

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

Yongsmith, S. Krairak and R. Bavavoda. 1994. **Production of yellow pigments in submerged culture of a mutant of *Monascus* spp.** J. Ferment. Bioen. 78(3): 223-228.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเชื้อราโมแนสคัส

1.1 ส่วนประกอบของอาหารเหลว MYS (Malt yeast extract starch medium)

ตารางที่1 ส่วนประกอบของอาหารเหลว MYS

ส่วนประกอบของอาหาร MYS	ปริมาณ (กรัม/1 ลิตร)
แป้งมันสัมปะหลัง	10
peptone	5
Malt extract	3
Yeast extract	3

1.2 ส่วนประกอบของอาหารเหลว MS (Murashige and Skoog)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบแต่ละ Stock ในสูตรอาหาร MS ดัดแปลง

สูตรอาหาร MS	ชื่อสารเคมี	ความเข้มข้น (เท่า)	จำนวนที่ใช้ (กรัม)	ปริมาณที่เตรียม (มิลลิลิตร)
Stock 1	NH_4NO_3	100X	165	1000
	KNO_3		190	
	$MgSO_4.7H_2O$		37	
	KH_2PO_4		17	
Stock 2	$CaCl_2.2H_2O$	100X	44	1000
Stock 3	H_3BO_3	1000X	3.1	500
	KI		0.415	
	$Na_2MoO_4.2H_2O$		0.125	
	$CoCl_2.6H_2O$		0.0125	
Stock 4	$MnSO_4.4H_2O$	100X	2.23	1000
	$ZnSO_4.7H_2O$		0.86	
	$CuSO_4.5H_2O$		0.0025	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Stock 5	Na_2EDTA	100X	3.73	1000
	$FeSO_4.7H_2O$		2.78	
Stock 6	Inositol	100X	5	500
	Nicotinic acid		0.025	
	Pyridoxine HCL		0.025	
	Thiamine HCL		0.005	
	Glycine		0.1	

ตารางที่ 3 สูตรอาหาร MS ที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อโมแนสคัส

สูตรอาหาร MS	ปริมาณ (กรัม /1 ลิตร)
อาหาร MS ดัดแปลง	4.43
น้ำตาลซูโครส	30

1.3 อาหาร TAP

วิธีการ ชั่งส่วนผสมดังตารางที่ 4 และค่อยๆละลายสารเคมีทีละตัว หลังจากนั้นก็นำมาผสมกันเป็นส่วนๆซึ่งแบบส่วนที่ต้องผสมกันออกเป็น 3 ส่วน

ส่วน Filner ประกอบไปด้วย NH_4Cl , $MgSO_4.7H_2O$ และ $CaCl_2.2H_2O$ ค่อยๆละลายทีละตัว แล้วนำมาปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

ส่วน Trace element ประกอบไปด้วย $Na_2EDTA.2H_2O$, $ZnSO_4.7H_2O$, H_3BO_3 , $MnSO_4.4H_2O$, $FeSO_4.7H_2O$, $CoCl_2.6H_2O$, $CuSO_4.5H_2O$ และ $Na_2MoO_4.2H_2O$ ค่อยๆละลายทีละตัว ส่วน $Na_2EDTA.2H_2O$ เมื่อละลายเรียบร้อยร้อยต้องนำมาปรับ pH ให้ได้ 6.5 ด้วย NaOH หลังจากนั้นนำทั้งหมดมาผสมกัน และปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

ส่วน Phophate solution ประกอบไปด้วย KH_2PO_4 และ K_2HPO_4 ค่อยๆละลายทีละตัว แล้วนำมาผสมกัน จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

เมื่อทำ Stock ทั้งสามส่วนเรียบร้อย จากนั้นก็ทำตามสูตรดังตารางที่ 3.5 ผสมให้เข้ากันและปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร เพื่อใช่เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 Stock ของอาหาร TAP

สูตรอาหาร TAP	ชื่อสารเคมี	จำนวนที่ใช้ (กรัม)	ปริมาณที่เตรียม (มิลลิลิตร)
Filner	NH_4Cl	15	1000
	$MgSO_4.7H_2O$	4	
	$CaCl_2.2H_2O$	2	
Trace element	$Na_2EDTA\ .2H_2O$	5	100
	$ZnSO_4.7H_2O$	2.20	
	H_3BO_3	1.14	
	$MnSO_4.4H_2O$	0.5	
	$FeSO_4.7H_2O$	0.5	
	$CoCl_2.6H_2O$	0.16	
	$CuSO_4.5H_2O$	0.16	
	$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.1055	
Phosephate solution	KH_2PO_4	14.4	100
	K_2HPO_4	28.8	
Tris base	$H_2NC(CH_2OH)_3$	2.42	-
Acetic acid	CH_3COOH	1 มิลลิลิตร	-

ตารางที่ 5 สูตรอาหาร TAP สำหรับเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส

อาหารสูตร TAP	ปริมาณ / 1 ลิตร
Filner	25 มิลลิลิตร
Trace element	1 มิลลิลิตร
Phosphate solution	1 มิลลิลิตร
Acetic acid	1 มิลลิลิตร
Tris base	2.4 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 สูตรอาหาร TAP เติมน้ำตาลซูโครส

ชั่งส่วนผสมดังตารางที่ 3.6 และค่อยๆละลายสารเคมีทีละตัว หลังจากนั้นก็นำมาผสมกันเป็นส่วนๆซึ่งแบบส่วนที่ต้องผสมกันออกเป็น 3 ส่วน

ส่วน Filner ประกอบไปด้วย NH_4Cl , $MgSO_4.7H_2O$ และ $CaCl_2.2H_2O$ ค่อยๆละลายทีละตัว แล้วนำมาปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

ส่วน Trace element ประกอบไปด้วย $Na_2EDTA\ .2H_2O$, $ZnSO_4.7H_2O$, H_3BO_3 , $MnSO_4.4H_2O$, $FeSO_4.7H_2O$, $CoCl_2.6H_2O$, $CuSO_4.5H_2O$ และ $Na_2MoO_4.2H_2O$ ค่อยๆละลายทีละตัว ส่วน $Na_2EDTA\ .2H_2O$ เมื่อละลายเรียบร้อยร้อยต้องนำมาปรับ pH ให้ได้ 6.5 ด้วย NaOH หลังจากนั้นนำทั้งหมดมาผสมกัน และปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

ส่วน Phosphate solution ประกอบไปด้วย KH_2PO_4 และ K_2HPO_4 ค่อยๆละลายทีละตัว แล้วนำมาผสมกัน จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

เมื่อทำ Stock ทั้งสามส่วนเรียบร้อย จากนั้นก็ทำตามสูตรดังตารางที่ 7 ผสมให้เข้ากันและปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร เพื่อใช่เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส

ตารางที่ 6 Stock อาหาร TAP เติมน้ำตาลซูโครส

สูตรอาหาร TAP เติมน้ำตาล	ชื่อสารเคมี	จำนวนที่ใช้ (กรัม)	ปริมาณที่เตรียม (มิลลิลิตร)
Filner	NH_4Cl	15	1000
	$MgSO_4.7H_2O$	4	
	$CaCl_2.2H_2O$	2	
Trace element	$Na_2EDTA\ .2H_2O$	5	100
	$ZnSO_4.7H_2O$	2.20	
	H_3BO_3	1.14	
	$MnSO_4.4H_2O$	0.5	
	$FeSO_4.7H_2O$	0.5	
	$CoCl_2.6H_2O$	0.16	
	$CuSO_4.5H_2O$	0.16	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.1055	
Phosphate solution	KH_2PO_4	14.4	100
	K_2HPO_4	28.8	
Tris base	$H_2NC(CH_2OH)_3$	2.42	-
น้ำตาลซูโครส		15	-

ตารางที่ 7 สูตรอาหารสาหร่ายเติมน้ำตาลซูโครส

สูตรอาหารสาหร่าย	ปริมาณ / 1 ลิตร
Filner	25 มิลลิลิตร
Trace element	1 มิลลิลิตร
Phosphate solution	1 มิลลิลิตร
น้ำตาลซูโครส	15 กรัม
Tris base	2.4 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง

นำกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 มาทำการอบแห้ง ที่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสจน น้ำหนัก คงที่ จดค่าน้ำหนักกระดาษกรอง

นำตัวอย่างมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์1 ที่เตรียมไว้

นำกระดาษกรองที่มีเซลล์ติดอยู่ไปอบที่ 70 องศาเซลเซียสจนน้ำหนักคงที่จดบันทักค่าน้ำหนักที่ได้

น้ำหนักกระดาษกรองหลังกรอง – น้ำหนักกระดาษกรองก่อนกรอง จะได้ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์

2.1 นำตัวอย่างมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1

2.2 นำของเหลวที่ได้จากการกรองมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ข้อมูลผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.1 แสดงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าพีเอชที่วัดได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว MYS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิตร ทำการเพาะเลี้ยงแบบเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บผลทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน

		เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)							
		0	2	4	6	8	10	12	14
น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/100ml)	ฟลาสก์ 1	0.1051	0.6011	0.595	0.6166	0.4644	0.5161	0.3236	0.467
	ฟลาสก์ 2	0.8548	0.5859	0.6207	0.6954	0.3299	0.5339	0.4999	0.5116
	ฟลาสก์ 3	0.1400	0.5036	0.5497	0.6255	0.4499	0.4936	0.3592	0.454
	ค่าเฉลี่ย	0.3666	0.5635	0.6458	0.6458	0.4147	0.5145	0.3942	0.4775
ค่าพีเอช	ฟลาสก์ 1	6.78	6.28	7.90	8.50	8.92	8.87	8.85	8.27
	ฟลาสก์ 2	6.90	6.26	7.80	8.48	8.97	8.85	8.83	8.75
	ฟลาสก์ 3	6.81	6.27	7.90	8.49	8.93	8.89	8.84	8.28
	ค่าเฉลี่ย	6.83	6.27	7.87	8.49	8.94	8.87	8.84	8.43

ตารางที่ ค.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตร ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว MYS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ทำการเพาะเลี้ยงแบบเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บผลทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน

		เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)							
		0	2	4	6	8	10	12	14
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 nm	ฟลาสก์ 1	0.135	2.457	24.32	30.48	21.8	30.30	17.65	0.0493
	ฟลาสก์ 2	0.32	2.489	27.14	26.46	23.6	28.00	24.70	0.0428
	ฟลาสก์ 3	0.103	3.617	28.82	27.84	31.15	18.60	22.20	0.0451
	ค่าเฉลี่ย	0.186	2.8543	26.76	28.26	25.5	25.6	21.5	0.0457

ตารางที่ ค.3 แสดงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าพีเอชที่วัดได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร MS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิตร ทำการเพาะเลี้ยงแบบเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บผลทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน

		เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)							
		0	2	4	6	8	10	12	14
น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/100ml)	ฟลาสก์ 1	0.1005	0.9536	0.723	0.9651	0.7302	1.1644	1.0135	0.8151
	ฟลาสก์ 2	0.1046	0.6457	1.1405	1.0685	1.2522	1.211	0.9989	0.8744
	ฟลาสก์ 3	0.1059	0.725	1.0823	1.2148	1.0418	1.1748	1.0717	0.7734
	ค่าเฉลี่ย	0.136	0.7747	0.9819	1.0828	1.0080	1.1834	1.0280	0.8209
ค่าพีเอช	ฟลาสก์ 1	5.18	2.14	2.43	2.32	2.53	2.76	2.67	2.54
	ฟลาสก์ 2	5.81	2.29	2.23	2.36	2.53	2.7	2.70	2.55
	ฟลาสก์ 3	5.82	2.29	2.26	2.36	2.53	2.7	2.66	2.57
	ค่าเฉลี่ย	5.60	2.24	2.23	2.34	2.53	2.72	2.68	2.55

ตารางที่ ค.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 400และ480 นาโนเมตร ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร MS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิตร ทำการเพาะเลี้ยงแบบเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บผลทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน

		เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)							
		0	2	4	6	8	10	12	14
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 nm	ฟลาสก์ 1	0.290	1.105	0.658	0.937	1.145	2.235	5.300	4.080
	ฟลาสก์ 2	0.164	0.895	1.607	1.029	1.237	1.275	3.180	5.390
	ฟลาสก์ 3	0.199	1.345	1.987	1.127	1.579	2.185	4.810	6.350
	ค่าเฉลี่ย	0.217	1.115	1.417	1.031	1.320	1.895	4.43	5.27
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 nm	ฟลาสก์ 1	0.276	0.980	0.390	0.500	0.490	1.285	2.855	2.055
	ฟลาสก์ 2	0.214	1.380	0.652	0.550	0.431	0.515	1.595	2.635
	ฟลาสก์ 3	0.264	1.465	0.865	0.435	0.479	1.315	2.580	3.335
	ค่าเฉลี่ย	0.251	1.275	0.635	0.495	0.466	1.035	2.34	2.675

ตารางที่ ค.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 400และ480 นาโนเมตร ของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์(ได้จากการสกัดด้วยเมทานอล 50 มิลลิตร) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร MS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิตร โดยทำการเพาะเลี้ยงแบบเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บผลทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน

		เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)							
		0	2	4	6	8	10	12	14
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 nm	ฟลาสก์ 1	0.011	6.980	10.04	18.64	-	-	-	-
	ฟลาสก์ 2	0.007	4.800	20.75	21.56	-	-	-	-
	ฟลาสก์ 3	0.008	3.140	23.07	14.16	-	-	-	-
	ค่าเฉลี่ย	0.009	4.970	17.95	18.12	-	-	-	-
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 nm	ฟลาสก์ 1	0.007	3.140	9.020	14.03	-	-	-	-
	ฟลาสก์ 2	0.005	2.436	12.30	14.04	-	-	-	-
	ฟลาสก์ 3	0.006	2.375	14.02	10.61	-	-	-	-
	ค่าเฉลี่ย	0.006	2.650	11.78	12.89	-	-	-	-

ตารางที่ ค.6 แสดงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าพีเอชที่วัดได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารTAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิตร ทำการเพาะเลี้ยงแบบเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บผลทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน

		เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)							
		0	2	4	6	8	10	12	14
น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/100ml)	ฟลาสก์ 1	0.0436	0.0397	0.0332	0.0315	0.0304	0.0480	0.0238	0.0493
	ฟลาสก์ 2	0.0214	0.0463	0.0317	0.0280	0.0370	0.0597	0.0227	0.0428
	ฟลาสก์ 3	0.0293	0.0428	0.0446	0.0275	0.0340	0.0395	0.0226	0.0451
	ค่าเฉลี่ย	0.0314	0.0429	0.0365	0.0290	0.0338	0.0490	0.0230	0.0457
ค่าพีเอช	ฟลาสก์ 1	7.15	8.29	8.50	8.72	9.08	8.92	8.70	8.84
	ฟลาสก์ 2	7.14	8.27	8.47	8.94	8.98	8.89	8.73	8.92
	ฟลาสก์ 3	7.13	8.28	8.48	8.83	8.99	8.90	8.72	8.91
	ค่าเฉลี่ย	7.14	8.28	8.47	8.83	9.01	8.91	8.72	8.89

ตารางที่ ค.7 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 และ500 นาโนเมตร ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร TAP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิตร ทำการเพาะเลี้ยงแบบเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บผลทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน

		เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)							
		0	2	4	6	8	10	12	14
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 nm	ฟลาสก์ 1	0.244	0.313	0.311	0.255	0.258	0.217	0.226	0.203
	ฟลาสก์ 2	0.208	0.332	0.314	0.285	0.250	0.224	0.224	0.211
	ฟลาสก์ 3	0.213	0.300	0.308	0.284	0.252	0.249	0.216	0.209
	ค่าเฉลี่ย	0.221	0.315	0.311	0.274	0.253	0.231	0.222	0.207
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 nm	ฟลาสก์ 1	0.216	0.341	0.332	0.265	0.264	0.218	0.218	0.200
	ฟลาสก์ 2	0.209	0.363	0.335	0.297	0.255	0.224	0.218	0.208
	ฟลาสก์ 3	0.214	0.325	0.327	0.296	0.257	0.252	0.209	0.206
	ค่าเฉลี่ย	0.213	0.343	0.331	0.286	0.259	0.231	0.215	0.204

ตารางที่ ค.8 แสดงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าพีเอชที่วัดได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร TAP+Sucrose ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ทำการเพาะเลี้ยงแบบเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บผลทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน

		เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)							
		0	2	4	6	8	10	12	14
น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/100ml)	ฟลาสก์ 1	0.0396	0.2412	0.2743	0.3242	0.3854	0.3720	0.4017	0.5562
	ฟลาสก์ 2	0.0598	0.2321	0.2521	0.3078	0.3937	0.3814	0.3710	0.3982
	ฟลาสก์ 3	0.0485	0.2428	0.2838	0.3035	0.4683	0.5536	0.3744	0.4366
	ค่าเฉลี่ย	0.0493	0.2389	0.2700	0.3118	0.4158	0.4356	0.3823	0.4636
ค่าพีเอช	ฟลาสก์ 1	6.24	2.64	2.47	2.10	2.14	1.58	1.99	1.82
	ฟลาสก์ 2	6.22	2.61	2.52	2.12	2.18	1.57	2.06	1.82
	ฟลาสก์ 3	6.21	2.57	2.49	2.11	2.08	1.64	2.02	1.81
	ค่าเฉลี่ย	6.22	2.60	2.49	2.11	2.13	1.59	2.02	1.81

ตารางที่ ค.9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 400,480และ500 นาโนเมตร ของสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร TAP เติมน้ำตาลซูโครส ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิตร ทำการเพาะเลี้ยงแบบเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บผลทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน

		เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)							
		0	2	4	6	8	10	12	14
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 nm	ฟลาสก์ 1	0.066	0.199	0.403	0.413	0.530	0.528	0.582	0.686
	ฟลาสก์ 2	0.063	0.271	0.388	0.405	0.406	0.585	0.516	0.934
	ฟลาสก์ 3	0.064	0.217	0.456	0.395	0.424	0.329	0.523	0.871
	ค่าเฉลี่ย	0.064	0.229	0.415	0.404	0.453	0.480	0.540	0.830
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 nm	ฟลาสก์ 1	0.004	0.163	0.212	0.232	0.194	0.195	0.200	0.239
	ฟลาสก์ 2	0.002	0.218	0.214	0.216	0.200	0.206	0.185	0.361
	ฟลาสก์ 3	0.003	0.173	0.230	0.210	0.212	0.190	0.197	0.387
	ค่าเฉลี่ย	0.003	0.184	0.218	0.219	0.202	0.197	0.194	0.329
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 nm	ฟลาสก์ 1	0.063	0.143	0.174	0.192	0.156	0.158	0.161	0.210
	ฟลาสก์ 2	0.060	0.191	0.177	0.178	0.165	0.166	0.150	0.299
	ฟลาสก์ 3	0.061	0.155	0.188	0.175	0.175	0.160	0.157	0.324
	เฉลี่ย	0.061	0.163	0.179	0.181	0.165	0.161	0.156	0.277

ตารางที่ ค.10 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 400และ480 นาโนเมตร ของสารสีที่อยู่ภายในเซลล์(ได้จากการสกัดด้วยเมทานอล 50 มิลลิตร) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร TAP เติมน้ำตาลซูโครส ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิตร โดยทำการเพาะเลี้ยงแบบเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บผลทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน

		เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)							
		0	2	4	6	8	10	12	14
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 nm	ฟลาสก์ 1	0.014	1.104	6.74	7.53	8.73	7.32	6.23	6.34
	ฟลาสก์ 2	0.010	1.234	5.17	6.75	6.92	6.79	5.81	8.00
	ฟลาสก์ 3	0.008	1.060	6.43	7.26	6.33	2.84	5.00	6.28
	ค่าเฉลี่ย	0.011	1.132	6.11	7.18	7.32	5.65	5.68	6.87
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 nm	ฟลาสก์ 1	0.009	0.876	5.93	6.34	9.98	8.13	5.00	4.67
	ฟลาสก์ 2	0.007	0.804	4.08	5.53	7.58	7.21	6.17	6.65
	ฟลาสก์ 3	0.005	0.778	5.49	6.63	5.26	2.82	4.03	5.02
	ค่าเฉลี่ย	0.007	0.818	5.16	6.16	7.60	6.05	5.06	5.44

ภาคผนวก ง
ตารางวิเคราะห์ทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.1 ตารางเปรียบเทียบค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง,พีเอชและค่าการดูดกลืนแสงของสารที่หลั่งออกมานอกเซลล์ที่ความยาวคลื่นแสงเป็น 480 นาโนเมตรที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวที่แตกต่างกัน 3 ชนิด

Descriptives : ชนิดอาหาร

ชนิดอาหาร			N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
							Lower Bound	Upper Bound			
น้ำหนักแห้ง	MYS		24	.4958	.16298	.03327	.4270	.5646	.11	.86	
	MS		24	.8730	.34436	.07029	.7276	1.0185	.10	1.25	
	TAP		24	.0370	.00989	.00202	.0328	.0411	.02	.06	
	TAP+Sucrose		24	.3210	.13646	.02785	.2633	.3786	.04	.56	
	Total		96	.4317	.36384	.03713	.3580	.5054	.02	1.25	
	Model	Fixed Effects			.20240	.02066	.3907	.4727			
		Random Effects				.17487	-.1248	.9882			.12062
ค่าpH	MYS		24	8.0675	.96727	.19744	7.6591	8.4759	6.26	8.97	
	MS		24	2.9971	1.51470	.30919	2.3575	3.6367	2.14	8.81	
	TAP		24	8.5325	.58674	.11977	8.2847	8.7803	7.13	9.08	
	TAP+Sucrose		24	2.7921	1.64319	.33541	2.0982	3.4859	1.57	6.64	
	Total		96	5.5973	2.98884	.30505	4.9917	6.2029	1.57	9.08	
	Model	Fixed Effects			1.25242	.12782	5.3434	5.8512			
		Random Effects				1.56385	.6204	10.5742			9.71719

Descriptives : ชนิดอาหาร (ต่อ)

ชนิดอาหาร			N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
							Lower Bound	Upper Bound			
ค่าการดูดกลืนแสง	MYS		24	9.0675	.96727	.19744	8.6591	9.4759	7.26	9.97	
	MS		24	3.9971	1.51470	.30919	3.3575	4.6367	3.14	9.81	
	TAP		24	9.5325	.58674	.11977	9.2847	9.7803	8.13	10.08	
	TAP+Sucrose		24	3.7921	1.64319	.33541	3.0982	4.4859	2.57	7.64	
	Total		96	6.5973	2.98884	.30505	5.9917	7.2029	2.57	10.08	
	Model	Fixed Effects			1.25242	.12782	6.3434	6.8512			
		Random Effects				1.56385	1.6204	11.5742			9.71719

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
น้ำหนักแห้ง	15.427	3	92	.000
ค่าpH	3.010	3	92	.034
ค่าการดูดกลืนแสง	3.010	3	92	.034

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
น้ำหนักแห้ง	Between Groups	8.807	3	2.936	71.663	.000
	Within Groups	3.769	92	.041		
	Total	12.576	95			
ค่าpH	Between Groups	704.344	3	234.781	149.679	.000
	Within Groups	144.308	92	1.569		
	Total	848.651	95			
ค่าการดูดกลืนแสง	Between Groups	704.344	3	234.781	149.679	.000
	Within Groups	144.308	92	1.569		
	Total	848.651	95			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I) ชนิดอาหาร	(J) ชนิดอาหาร	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
น้ำหนักแห้ง	LSD	MYS	MS	-.37725*	.05843	.000	-.4933	-.2612
			TAP	.45883*	.05843	.000	.3428	.5749
			TAP+Sucros	.17483*	.05843	.004	.0588	.2909
		MS	MYS	.37725*	.05843	.000	.2612	.4933
			TAP	.83608*	.05843	.000	.7200	.9521
			TAP+Sucros	.55208*	.05843	.000	.4360	.6681
		TAP	MYS	-.45883*	.05843	.000	-.5749	-.3428
			MS	-.83608*	.05843	.000	-.9521	-.7200
			TAP+Sucros	-.28400*	.05843	.000	-.4000	-.1680
		TAP+Sucros	MYS	-.17483*	.05843	.004	-.2909	-.0588
			MS	-.55208*	.05843	.000	-.6681	-.4360
			TAP	.28400*	.05843	.000	.1680	.4000

Post Hoc Tests (ต่อ)

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I) ชนิดอาหาร	(J) ชนิดอาหาร	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
ค่าpH	LSD	MYS	MS	5.07042*	.36154	.000	4.3524	5.7885
			TAP	-.46500	.36154	.202	-1.1831	.2531
			TAP+Sucros	5.27542*	.36154	.000	4.5574	5.9935
		MS	MYS	-5.07042*	.36154	.000	-5.7885	-4.3524
			TAP	-5.53542*	.36154	.000	-6.2535	-4.8174
			TAP+Sucros	.20500	.36154	.572	-.5131	.9231
		TAP	MYS	.46500	.36154	.202	-.2531	1.1831
			MS	5.53542*	.36154	.000	4.8174	6.2535
			TAP+Sucros	5.74042*	.36154	.000	5.0224	6.4585
		TAP+Sucros	MYS	-5.27542*	.36154	.000	-5.9935	-4.5574
			MS	-.20500	.36154	.572	-.9231	.5131
			TAP	-5.74042*	.36154	.000	-6.4585	-5.0224

Post Hoc Tests (ต่อ)

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I) ชนิดอาหาร	(J) ชนิดอาหาร	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
ค่าการดูดกลืนแสง	LSD	MYS	MS	5.07042*	.36154	.000	4.3524	5.7885
			TAP	-.46500	.36154	.202	-1.1831	.2531
			TAP+Sucros	5.27542*	.36154	.000	4.5574	5.9935
		MS	MYS	-5.07042*	.36154	.000	-5.7885	-4.3524
			TAP	-5.53542*	.36154	.000	-6.2535	-4.8174
			TAP+Sucros	.20500	.36154	.572	-.5131	.9231
		TAP	MYS	.46500	.36154	.202	-.2531	1.1831
			MS	5.53542*	.36154	.000	4.8174	6.2535
			TAP+Sucros	5.74042*	.36154	.000	5.0224	6.4585
		TAP+Sucros	1.00	-5.27542*	.36154	.000	-5.9935	-4.5574
			2.00	-.20500	.36154	.572	-.9231	.5131
			3.00	-5.74042*	.36154	.000	-6.4585	-5.0224

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

น้ำหนักแห้ง

	ชนิดอาหาร	N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Duncan[a]	TAP	24	.0370[d]			
	TAP+Sucros	24		.3210[c]		
	MYS	24			.4958[b]	
	MS	24				.8730[a]
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 24.000

ค่าpH

	ชนิดอาหาร	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan[a]	TAP+Sucros	24	2.7921[b]	
	MS	24	2.9971[b]	
	MYS	24		8.0675[a]
	TAP	24		8.5325[a]
	Sig.		.572	.202

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 24.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าการดูดกลืนแสง

	ชนิดอาหาร	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan[a]	TAP+Sucrose	24	3.7921[b]	
	MS	24	3.9971[b]	
	MYS	24		9.0675[a]
	TAP	24		9.5325[a]
	Sig.		.572	.202

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 24.000.

การวิเคราะห์ผลทางสถิติของอาหารเหลวสูตร MYS ที่ส่งผลต่อน้ำหนักแห้งที่ระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซ็นต์

Between-Subjects Factors

		N
อาหารMYS	1.00	24
เวลา	.00	3
	2.00	3
	4.00	3
	6.00	3
	8.00	3
	10.00	3
	12.00	3
	14.00	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptive Statistics

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MYS

อาหารMYS	เวลา	Mean	Std. Deviation	N
1.00	.00	.3667	.42327	3
	2.00	.5637	.05221	3
	4.00	.5887	.03592	3
	6.00	.6460	.04267	3
	8.00	.4147	.07366	3
	10.00	.5147	.02003	3
	12.00	.3943	.09317	3
	14.00	.4777	.03044	3
	Total	.4958	.16298	24
Total	.00	.3667	.42327	3
	2.00	.5637	.05221	3
	4.00	.5887	.03592	3
	6.00	.6460	.04267	3
	8.00	.4147	.07366	3
	10.00	.5147	.02003	3
	12.00	.3943	.09317	3
	14.00	.4777	.03044	3
	Total	.4958	.16298	24

Levene's Test of Equality of Error Variances[a]

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MYS

F	df1	df2	Sig.
11.097	7	16	.000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + อาหารเหลวสูตร MYS + เวลา + อาหารเหลวสูตร MYS * เวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MYS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	.210[a]	7	.030	1.198	.358	.344
Intercept	5.899	1	5.899	235.472	.000	.936
อาหารMYS	.000	0	.	.	.	.000
เวลา	.210	7	.030	1.198	.358	.344
อาหารMYS * เวลา	.000	0	.	.	.	.000
Error	.401	16	.025			
Total	6.510	24				
Corrected Total	.611	23				

a. R Squared = .344 (Adjusted R Squared = .057)

Estimated Marginal Means

Grand Mean

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MYS

Mean	Std. Error	90% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
.496	.032	.439	.552

2. อาหารเหลวสูตร MYS

Estimates

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MYS

อาหารMYS	Mean	Std. Error	90% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1.00	.496	.032	.439	.552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Univariate Tests

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MYS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Contrast	.000	0	.	.	.	.000
Error	.401	16	.025			

The F tests the effect of อาหารMYS. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. เวลา

Estimates

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MYS

เวลา	Mean	Std. Error	90% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
.00	.367	.091	.207	.526
2.00	.564	.091	.404	.723
4.00	.589	.091	.429	.748
6.00	.646	.091	.486	.806
8.00	.415	.091	.255	.574
10.00	.515	.091	.355	.674
12.00	.394	.091	.235	.554
14.00	.478	.091	.318	.637

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MYS

(I) เวลา	(J) เวลา	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[b]	90% Confidence Interval for Difference[b]	
					Lower Bound	Upper Bound
.00	2.00	-.197	.129	.147	-.423	.029
	4.00	-.222	.129	.105	-.448	.004

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	6.00	-.279*	.129	.046	-.505	-.054
	8.00	-.048	.129	.715	-.274	.178
	10.00	-.148	.129	.269	-.374	.078
	12.00	-.028	.129	.833	-.253	.198
	14.00	-.111	.129	.403	-.337	.115

(I) เวลา	(J) เวลา	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[b]	90% Confidence Interval for Difference[b]	
					Lower Bound	Upper Bound
2.00	.00	.197	.129	.147	-.029	.423
	4.00	-.025	.129	.849	-.251	.201
	6.00	-.082	.129	.533	-.308	.143
	8.00	.149	.129	.266	-.077	.375
	10.00	.049	.129	.710	-.177	.275
	12.00	.169	.129	.209	-.056	.395
	14.00	.086	.129	.515	-.140	.312
4.00	.00	.222	.129	.105	-.004	.448
	2.00	.025	.129	.849	-.201	.251

	6.00	-.057	.129	.663	-.283	.168
	8.00	.174	.129	.197	-.052	.400
	10.00	.074	.129	.575	-.152	.300
	12.00	.194	.129	.152	-.031	.420
	14.00	.111	.129	.403	-.115	.337
6.00	.00	.279*	.129	.046	.054	.505
	2.00	.082	.129	.533	-.143	.308
	4.00	.057	.129	.663	-.168	.283
	8.00	.231*	.129	.092	.006	.457
	10.00	.131	.129	.325	-.094	.357
	12.00	.252*	.129	.069	.026	.477
	14.00	.168	.129	.211	-.057	.394

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8.00	.00	.048	.129	.715	-.178	.274
	2.00	-.149	.129	.266	-.375	.077
	4.00	-.174	.129	.197	-.400	.052
	6.00	-.231*	.129	.092	-.457	-.006
	10.00	-.100	.129	.450	-.326	.126
	12.00	.020	.129	.877	-.205	.246
	14.00	-.063	.129	.633	-.289	.163

(I) เวลา	(J) เวลา	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[b]	90% Confidence Interval for Difference[b]	
					Lower Bound	Upper Bound
10.00	.00	.148	.129	.269	-.078	.374
	2.00	-.049	.129	.710	-.275	.177
	4.00	-.074	.129	.575	-.300	.152
	6.00	-.131	.129	.325	-.357	.094
	8.00	.100	.129	.450	-.126	.326
	12.00	.120	.129	.366	-.105	.346
	14.00	.037	.129	.778	-.189	.263
12.00	.00	.028	.129	.833	-.198	.253
	2.00	-.169	.129	.209	-.395	.056
	4.00	-.194	.129	.152	-.420	.031
	6.00	-.252*	.129	.069	-.477	-.026
	8.00	-.020	.129	.877	-.246	.205
	10.00	-.120	.129	.366	-.346	.105
	14.00	-.083	.129	.528	-.309	.142
14.00	.00	.111	.129	.403	-.115	.337
	2.00	-.086	.129	.515	-.312	.140
	4.00	-.111	.129	.403	-.337	.115

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	6.00	-.168	.129	.211	-.394	.057
	8.00	.063	.129	.633	-.163	.289
	10.00	-.037	.129	.778	-.263	.189
	12.00	.083	.129	.528	-.142	.309

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .1 level.

b. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Univariate Tests

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารสูตร MYS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Contrast	.210	7	.030	1.198	.358	.344
Error	.401	16	.025			

The F tests the effect of เวลา. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

Post Hoc Tests

เวลา

Multiple Comparisons

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหาร MYS

	(I) เวลา	(J) เวลา	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	90% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	.00	2.00	-.1970	.12924	.147	-.4226	.0286
		4.00	-.2220	.12924	.105	-.4476	.0036
		6.00	-.2793*	.12924	.046	-.5050	-.0537
		8.00	-.0480	.12924	.715	-.2736	.1776
		10.00	-.1480	.12924	.269	-.3736	.0776
		12.00	-.0277	.12924	.833	-.2533	.1980
		14.00	-.1110	.12924	.403	-.3366	.1146
	2.00	.00	.1970	.12924	.147	-.0286	.4226
		4.00	-.0250	.12924	.849	-.2506	.2006
		6.00	-.0823	.12924	.533	-.3080	.1433
		8.00	.1490	.12924	.266	-.0766	.3746
		10.00	.0490	.12924	.710	-.1766	.2746
		12.00	.1693	.12924	.209	-.0563	.3950

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		14.00	.0860	.12924	.515	-.1396	.3116

	4.00	.00	.2220	.12924	.105	-.0036	.4476
		2.00	.0250	.12924	.849	-.2006	.2506
		6.00	-.0573	.12924	.663	-.2830	.1683
		8.00	.1740	.12924	.197	-.0516	.3996
		10.00	.0740	.12924	.575	-.1516	.2996
		12.00	.1943	.12924	.152	-.0313	.4200
		14.00	.1110	.12924	.403	-.1146	.3366

	(I) เวลา	(J) เวลา	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	90% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
	6.00	.00	.2793*	.12924	.046	.0537	.5050
		2.00	.0823	.12924	.533	-.1433	.3080
		4.00	.0573	.12924	.663	-.1683	.2830
		8.00	.2313*	.12924	.092	.0057	.4570
		10.00	.1313	.12924	.325	-.0943	.3570
		12.00	.2517*	.12924	.069	.0260	.4773
		14.00	.1683	.12924	.211	-.0573	.3940
	8.00	.00	.0480	.12924	.715	-.1776	.2736
		2.00	-.1490	.12924	.266	-.3746	.0766
		4.00	-.1740	.12924	.197	-.3996	.0516
		6.00	-.2313*	.12924	.092	-.4570	-.0057
		10.00	-.1000	.12924	.450	-.3256	.1256
		12.00	.0203	.12924	.877	-.2053	.2460
		14.00	-.0630	.12924	.633	-.2886	.1626
	10.00	.00	.1480	.12924	.269	-.0776	.3736
		2.00	-.0490	.12924	.710	-.2746	.1766
		4.00	-.0740	.12924	.575	-.2996	.1516
		6.00	-.1313	.12924	.325	-.3570	.0943
		8.00	.1000	.12924	.450	-.1256	.3256

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		12.00	.1203	.12924	.366	-.1053	.3460
		14.00	.0370	.12924	.778	-.1886	.2626
	12.00	.00	.0277	.12924	.833	-.1980	.2533
		2.00	-.1693	.12924	.209	-.3950	.0563
		4.00	-.1943	.12924	.152	-.4200	.0313
		6.00	-.2517*	.12924	.069	-.4773	-.0260
		8.00	-.0203	.12924	.877	-.2460	.2053
		10.00	-.1203	.12924	.366	-.3460	.1053
		14.00	-.0833	.12924	.528	-.3090	.1423
	14.00	.00	.1110	.12924	.403	-.1146	.3366
		2.00	-.0860	.12924	.515	-.3116	.1396
		4.00	-.1110	.12924	.403	-.3366	.1146
		6.00	-.1683	.12924	.211	-.3940	.0573
		8.00	.0630	.12924	.633	-.1626	.2886
		10.00	-.0370	.12924	.778	-.2626	.1886
		12.00	.0833	.12924	.528	-.1423	.3090

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .025.

*. The mean difference is significant at the .1 level.

Homogeneous Subsets

น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MYS

	เวลา	N	Subset	
			1	2
Duncan[a,b]	.00	3	.3667[b]	
	12.00	3	.3943[ab]	.3943[ab]
	8.00	3	.4147[ab]	.4147[ab]
	14.00	3	.4777[ab]	.4777[ab]
	10.00	3	.5147[ab]	.5147[ab]
	2.00	3	.5637[ab]	.5637[ab]
	4.00	3	.5887+ab	.5887[ab]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	6.00	3		.6460[a]
	Sig.		.147	.103

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .025

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .1.

การวิเคราะห์ผลทางสถิติของอาหารเหลวสูตร MS ที่ส่งผลต่อน้ำหนักแห้งที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

Univariate Analysis of Variance

Warnings

Between-Subjects Factors

		N
MS	2.00	24
time2	.00	3
	2.00	3
	4.00	3
	6.00	3
	8.00	3
	10.00	3
	12.00	3
	14.00	3

Descriptive Statistics

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MS

MS	time2	Mean	Std. Deviation	N
2.00	.00	.1040	.00265	3
	2.00	.7750	.15997	3
	4.00	.9820	.22623	3
	6.00	1.0830	.12559	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	8.00	1.0080	.26266	3
	10.00	1.1833	.02458	3
	12.00	1.0283	.03855	3
	14.00	.8207	.05074	3
	Total	.8730	.34436	24
Total	.00	.1040	.00265	3
	2.00	.7750	.15997	3
	4.00	.9820	.22623	3

	6.00	1.0830	.12559	3
	8.00	1.0080	.26266	3
	10.00	1.1833	.02458	3
	12.00	1.0283	.03855	3
	14.00	.8207	.05074	3
	Total	.8730	.34436	24

Levene's Test of Equality of Error Variances[a]

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MS

F	df1	df2	Sig.
3.677	7	16	.015

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + MS + time2 + MS * time2

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	2.395[a]	7	.342	16.469	.000	.878
Intercept	18.293	1	18.293	880.501	.000	.982
MS	.000	0	.	.	.	.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

time2	2.395	7	.342	16.469	.000	.878
MS * time2	.000	0	.	.	.	.000
Error	.332	16	.021			
Total	21.020	24				
Corrected Total	2.727	23				

a. R Squared = .878 (Adjusted R Squared = .825)

Estimated Marginal Means

1. Grand Mean

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MS

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
.873	.029	.811	.935

1. Grand Mean

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MS

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
.873	.029	.811	.935

Univariate Tests

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Contrast	.000	0	.	.	.	.000
Error	.332	16	.021			

The F tests the effect of MS. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.เวลา

Estimates

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MS

time2	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
.00	.104	.083	-.072	.280
2.00	.775	.083	.599	.951
4.00	.982	.083	.806	1.158
6.00	1.083	.083	.907	1.259
8.00	1.008	.083	.832	1.184
10.00	1.183	.083	1.007	1.360
12.00	1.028	.083	.852	1.205
14.00	.821	.083	.644	.997

2.00	.00	.671*	.118	.000	.422	.920
	4.00	-.207	.118	.098	-.456	.042
	6.00	-.308*	.118	.019	-.557	-.059
	8.00	-.233	.118	.065	-.482	.016
	10.00	-.408*	.118	.003	-.658	-.159
	12.00	-.253*	.118	.047	-.503	-.004
	14.00	-.046	.118	.703	-.295	.204
4.00	.00	.878*	.118	.000	.629	1.127
	2.00	.207	.118	.098	-.042	.456
	6.00	-.101	.118	.403	-.350	.148
	8.00	-.026	.118	.828	-.275	.223
	10.00	-.201	.118	.106	-.451	.048
	12.00	-.046	.118	.699	-.296	.203
	14.00	.161	.118	.189	-.088	.411
6.00	.00	.979*	.118	.000	.730	1.228
	2.00	.308*	.118	.019	.059	.557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	4.00	.101	.118	.403	-.148	.350
	8.00	.075	.118	.533	-.174	.324
	10.00	-.100	.118	.406	-.350	.149
	12.00	.055	.118	.649	-.195	.304
	14.00	.262*	.118	.040	.013	.512
8.00	.00	.904*	.118	.000	.655	1.153
	2.00	.233	.118	.065	-.016	.482
	4.00	.026	.118	.828	-.223	.275
	6.00	-.075	.118	.533	-.324	.174
	10.00	-.175	.118	.156	-.425	.074

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MS

(I) เวลา	(J) เวลา	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[b]	95% Confidence Interval for Difference[b]	
					Lower Bound	Upper Bound
.00	2.00	-.671*	.118	.000	-.920	-.422
	4.00	-.878*	.118	.000	-1.127	-.629
	6.00	-.979*	.118	.000	-1.228	-.730
	8.00	-.904*	.118	.000	-1.153	-.655
	10.00	-1.079*	.118	.000	-1.329	-.830
	12.00	-.924*	.118	.000	-1.174	-.675
	14.00	-.717*	.118	.000	-.966	-.467
	12.00	-.020	.118	.865	-.270	.229
	14.00	.187	.118	.131	-.062	.437

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(I) เวลา	(J) เวลา	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[b]	95% Confidence Interval for Difference[b]	
					Lower Bound	Upper Bound
10.00	.00	1.079*	.118	.000	.830	1.329
	2.00	.408*	.118	.003	.159	.658
	4.00	.201	.118	.106	-.048	.451
	6.00	.100	.118	.406	-.149	.350
	8.00	.175	.118	.156	-.074	.425
	12.00	.155	.118	.206	-.094	.404
	14.00	.363*	.118	.007	.113	.612
12.00	.00	.924*	.118	.000	.675	1.174
	2.00	.253*	.118	.047	.004	.503
	4.00	.046	.118	.699	-.203	.296
	6.00	-.055	.118	.649	-.304	.195
	8.00	.020	.118	.865	-.229	.270
	10.00	-.155	.118	.206	-.404	.094
	14.00	.208	.118	.097	-.042	.457
14.00	.00	.717*	.118	.000	.467	.966
	2.00	.046	.118	.703	-.204	.295
	4.00	-.161	.118	.189	-.411	.088
	6.00	-.262*	.118	.040	-.512	-.013
	8.00	-.187	.118	.131	-.437	.062
	10.00	-.363*	.118	.007	-.612	-.113
	12.00	-.208	.118	.097	-.457	.042

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

b. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Univariate Tests

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Contrast	2.395	7	.342	16.469	.000	.878
Error	.332	16	.021			

The F tests the effect of time2. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means

Multiple Comparisons

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MS

	(I) เวลา	(J) เวลา	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	.00	2.00	-.6710*	.11769	.000	-.9205	-.4215
		4.00	-.8780*	.11769	.000	-1.1275	-.6285
		6.00	-.9790*	.11769	.000	-1.2285	-.7295
		8.00	-.9040*	.11769	.000	-1.1535	-.6545
		10.00	-1.0793*	.11769	.000	-1.3288	-.8298
		12.00	-.9243*	.11769	.000	-1.1738	-.6748
		14.00	-.7167*	.11769	.000	-.9662	-.4672
	2.00	.00	.6710*	.11769	.000	.4215	.9205
		4.00	-.2070	.11769	.098	-.4565	.0425
		6.00	-.3080*	.11769	.019	-.5575	-.0585
		8.00	-.2330	.11769	.065	-.4825	.0165
		10.00	-.4083*	.11769	.003	-.6578	-.1588
		12.00	-.2533*	.11769	.047	-.5028	-.0038
		14.00	-.0457	.11769	.703	-.2952	.2038
	4.00	.00	.8780*	.11769	.000	.6285	1.1275
		2.00	.2070	.11769	.098	-.0425	.4565
		6.00	-.1010	.11769	.403	-.3505	.1485
		8.00	-.0260	.11769	.828	-.2755	.2235

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		10.00	-.2013	.11769	.106	-.4508	.0482
		12.00	-.0463	.11769	.699	-.2958	.2032
		14.00	.1613	.11769	.189	-.0882	.4108

	(I) เวลา	(J) เวลา	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	6.00	.00	.9790*	.11769	.000	.7295	1.2285
		2.00	.3080*	.11769	.019	.0585	.5575
		4.00	.1010	.11769	.403	-.1485	.3505
		8.00	.0750	.11769	.533	-.1745	.3245
		10.00	-.1003	.11769	.406	-.3498	.1492
		12.00	.0547	.11769	.649	-.1948	.3042
		14.00	.2623*	.11769	.040	.0128	.5118
	8.00	.00	.9040*	.11769	.000	.6545	1.1535
		2.00	.2330	.11769	.065	-.0165	.4825
		4.00	.0260	.11769	.828	-.2235	.2755
		6.00	-.0750	.11769	.533	-.3245	.1745
		10.00	-.1753	.11769	.156	-.4248	.0742
		12.00	-.0203	.11769	.865	-.2698	.2292
		14.00	.1873	.11769	.131	-.0622	.4368
	10.00	.00	1.0793*	.11769	.000	.8298	1.3288
		2.00	.4083*	.11769	.003	.1588	.6578
		4.00	.2013	.11769	.106	-.0482	.4508
		6.00	.1003	.11769	.406	-.1492	.3498
		8.00	.1753	.11769	.156	-.0742	.4248
		12.00	.1550	.11769	.206	-.0945	.4045
		14.00	.3627*	.11769	.007	.1132	.6122
	12.00	.00	.9243*	.11769	.000	.6748	1.1738
		2.00	.2533*	.11769	.047	.0038	.5028
		4.00	.0463	.11769	.699	-.2032	.2958

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		6.00	-.0547	.11769	.649	-.3042	.1948
		8.00	.0203	.11769	.865	-.2292	.2698
		10.00	-.1550	.11769	.206	-.4045	.0945
		14.00	.2077	.11769	.097	-.0418	.4572
	14.00	.00	.7167*	.11769	.000	.4672	.9662
		2.00	.0457	.11769	.703	-.2038	.2952
		4.00	-.1613	.11769	.189	-.4108	.0882
		6.00	-.2623*	.11769	.040	-.5118	-.0128
		8.00	-.1873	.11769	.131	-.4368	.0622
		10.00	-.3627*	.11769	.007	-.6122	-.1132
		12.00	-.2077	.11769	.097	-.4572	.0418

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .021.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารเหลวสูตร MS

	เวลา	N	Subset			
			1	2	3	4
Duncan[a,b]	.00	3	.1040[d]			
	2.00	3		.7750[c]		
	14.00	3		.8207[bc]	.8207[b]	
	4.00	3		.9820[bc]	.9820[ab]	.9820[ab]
	8.00	3		1.0080[bc]	1.0080[ab]	1.0080[ab]
	12.00	3		1.0283[bc]	1.0283[ab]	1.0283[ab]
	6.00	3			1.0830[ab]	1.0830[ab]
	10.00	3				1.1833[a]
	Sig.		1.000	.068	.060	.141

The error term is Mean Square(Error) = .021.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ผลทางสถิติของอาหารสูตร TAP ที่ส่งผลต่อน้ำหนักแห้งที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
TAP	3.00	24
เวลา	.00	3
	2.00	3
	4.00	3
	6.00	3
	8.00	3
	10.00	3
	12.00	3
	14.00	3

Descriptive Statistics

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งอาหารสูตร TAP

PAT	time	Mean	Std. Deviation	N
3.00	.00	.0347	.01210	3
	2.00	.0430	.00300	3
	4.00	.0367	.00723	3
	6.00	.0293	.00231	3
	8.00	.0337	.00351	3
	10.00	.0493	.01007	3
	12.00	.0233	.00058	3
	14.00	.0457	.00306	3
	Total	.0370	.00989	24
Total	.00	.0347	.01210	3
	2.00	.0430	.00300	3
	4.00	.0367	.00723	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	6.00	.0293	.00231	3
	8.00	.0337	.00351	3
	10.00	.0493	.01007	3
	12.00	.0233	.00058	3
	14.00	.0457	.00306	3
	Total	.0370	.00989	24

Levene's Test of Equality of Error Variances[a]

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งอาหารสูตร TAP

F	df1	df2	Sig.
3.588	7	16	.016

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + อาหารสูตร TAP + เวลา + อาหารสูตร TAP * เวลา

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งอาหารสูตร TAP

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	.002[a]	7	.000	5.356	.003	.701
Intercept	.033	1	.033	779.751	.000	.980
TAP	.000	0	.	.	.	.000
time	.002	7	.000	5.356	.003	.701
TAP * time	.000	0	.	.	.	.000
Error	.001	16	4.204E-5			
Total	.035	24				
Corrected Total	.002	23				

a. R Squared = .701 (Adjusted R Squared = .570)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Estimated Marginal Means

อาหารสูตร TAP

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งอาหารสูตร TAP

TAP	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
3.00	.037	.001	.034	.040

Post Hoc Tests

เวลา

Multiple Comparisons

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งอาหารสูตร TAP

	(I) เวลา	(J) เวลา	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	.00	2.00	-.0083	.00529	.135	-.0196	.0029
		4.00	-.0020	.00529	.711	-.0132	.0092
		6.00	.0053	.00529	.329	-.0059	.0166
		8.00	.0010	.00529	.853	-.0102	.0122
		10.00	-.0147*	.00529	.014	-.0259	-.0034
		12.00	.0113*	.00529	.048	.0001	.0226
		14.00	-.0110	.00529	.054	-.0222	.0002
	2.00	.00	.0083	.00529	.135	-.0029	.0196
		4.00	.0063	.00529	.249	-.0049	.0176
		6.00	.0137*	.00529	.020	.0024	.0249
		8.00	.0093	.00529	.097	-.0019	.0206
		10.00	-.0063	.00529	.249	-.0176	.0049
		12.00	.0197*	.00529	.002	.0084	.0309
		14.00	-.0027	.00529	.621	-.0139	.0086
	4.00	.00	.0020	.00529	.711	-.0092	.0132
		2.00	-.0063	.00529	.249	-.0176	.0049
		6.00	.0073	.00529	.185	-.0039	.0186

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		8.00	.0030	.00529	.579	-.0082	.0142
		10.00	-.0127*	.00529	.029	-.0239	-.0014
		12.00	.0133*	.00529	.023	.0021	.0246
		14.00	-.0090	.00529	.108	-.0202	.0022
	6.00	.00	-.0053	.00529	.329	-.0166	.0059
		2.00	-.0137*	.00529	.020	-.0249	-.0024
		4.00	-.0073	.00529	.185	-.0186	.0039
		8.00	-.0043	.00529	.425	-.0156	.0069
		10.00	-.0200*	.00529	.002	-.0312	-.0088
		12.00	.0060	.00529	.274	-.0052	.0172
		14.00	-.0163*	.00529	.007	-.0276	-.0051

	(I) เวลา	(J) เวลา	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
	8.00	.00	-.0010	.00529	.853	-.0122	.0102
		2.00	-.0093	.00529	.097	-.0206	.0019
		4.00	-.0030	.00529	.579	-.0142	.0082
		6.00	.0043	.00529	.425	-.0069	.0156
		10.00	-.0157*	.00529	.009	-.0269	-.0044
		12.00	.0103	.00529	.069	-.0009	.0216
		14.00	-.0120*	.00529	.038	-.0232	-.0008
	10.00	.00	.0147*	.00529	.014	.0034	.0259
		2.00	.0063	.00529	.249	-.0049	.0176
		4.00	.0127*	.00529	.029	.0014	.0239
		6.00	.0200*	.00529	.002	.0088	.0312
		8.00	.0157*	.00529	.009	.0044	.0269
		12.00	.0260*	.00529	.000	.0148	.0372
		14.00	.0037	.00529	.498	-.0076	.0149
	12.00	.00	-.0113*	.00529	.048	-.0226	-.0001
		2.00	-.0197*	.00529	.002	-.0309	-.0084

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		4.00	-.0133*	.00529	.023	-.0246	-.0021
		6.00	-.0060	.00529	.274	-.0172	.0052
		8.00	-.0103	.00529	.069	-.0216	.0009
		10.00	-.0260*	.00529	.000	-.0372	-.0148
		14.00	-.0223*	.00529	.001	-.0336	-.0111
	14.00	.00	.0110	.00529	.054	-.0002	.0222
		2.00	.0027	.00529	.621	-.0086	.0139
		4.00	.0090	.00529	.108	-.0022	.0202
		6.00	.0163*	.00529	.007	.0051	.0276
		8.00	.0120*	.00529	.038	.0008	.0232
		10.00	-.0037	.00529	.498	-.0149	.0076
		12.00	.0223*	.00529	.001	.0111	.0336

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 4.20E-005.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

น้ำหนักเซลล์แห้งอาหารสูตร TAP

	เวลา	N	Subset			
			1	2	3	4
Duncan[a,b]	12.00	3	.0233[d]			
	6.00	3	.0293[cd]	.0293[c]		
	8.00	3	.0337[cd]	.0337[cb]	.0337[b]	
	.00	3	.0347[cd]	.0347[cb]	.0347[b]	
	4.00	3		.0367[cb]	.0367[b]	
	2.00	3			.0430[ab]	.0430[a]
	14.00	3			.0457[ab]	.0457[a]
	10.00	3				.0493[a]
	Sig.		.065	.220	.056	.274

The error term is Mean Square(Error) = 4.20E-005.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000. b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ผลทางสถิติของอาหารสูตร TAP เติมน้ำตาลซูโครส ที่ส่งผลต่อน้ำหนักแห้งที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
เวลา	.00	3
	2.00	3
	4.00	3
	6.00	3
	8.00	3
	10.00	3
	12.00	3
	14.00	3
TAP + sucrose	4.00	24

Descriptive Statistics

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารสูตร TAP เติมน้ำตาลซูโครส

เวลา	Tap +sucrose	Mean	Std. Deviation	N
.00	4.00	.0497	.01002	3
	Total	.0497	.01002	3
2.00	4.00	.2387	.00586	3
	Total	.2387	.00586	3
4.00	4.00	.2700	.01637	3
	Total	.2700	.01637	3
6.00	4.00	.3120	.01058	3
	Total	.3120	.01058	3
8.00	4.00	.4157	.04554	3
	Total	.4157	.04554	3
10.00	4.00	.4357	.10258	3
	Total	.4357	.10258	3

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ เอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12.00	4.00	.3823	.01710	3
	Total	.3823	.01710	3
14.00	4.00	.4637	.08231	3
	Total	.4637	.08231	3
Total	4.00	.3210	.13646	24
	Total	.3210	.13646	24

Levene's Test of Equality of Error Variances[a]

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารสูตร TAP เติมน้ำตาลซูโครส

F	df1	df2	Sig.
7.261	7	16	.001

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + เวลา + อาหารสูตร TAP เติมน้ำตาลซูโครส + อาหารสูตร TAP เติมน้ำตาลซูโครส * เวลา

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารสูตร TAP เติมน้ำตาลซูโครส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	.388[a]	7	.055	21.972	.000	.906
Intercept	2.472	1	2.472	980.213	.000	.984
time	.388	7	.055	21.972	.000	.906
TAP +sucrose	.000	0	.	.	.	.000
time * TAP + sucrose	.000	0	.	.	.	.000
Error	.040	16	.003			
Total	2.901	24				
Corrected Total	.428	23				

a. R Squared = .906 (Adjusted R Squared = .865)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

เวลา

Multiple Comparisons

Dependent Variable: น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารสูตร TAP เติมน้ำตาลซูโครส

	(I) เวลา	(J) เวลา	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	.00	2.00	-.1890*	.04101	.000	-.2759	-.1021
		4.00	-.2203*	.04101	.000	-.3073	-.1334
		6.00	-.2623*	.04101	.000	-.3493	-.1754
		8.00	-.3660*	.04101	.000	-.4529	-.2791
		10.00	-.3860*	.04101	.000	-.4729	-.2991
		12.00	-.3327*	.04101	.000	-.4196	-.2457
		14.00	-.4140*	.04101	.000	-.5009	-.3271
	2.00	.00	.1890*	.04101	.000	.1021	.2759
		4.00	-.0313	.04101	.456	-.1183	.0556
		6.00	-.0733	.04101	.093	-.1603	.0136
		8.00	-.1770*	.04101	.001	-.2639	-.0901
		10.00	-.1970*	.04101	.000	-.2839	-.1101
		12.00	-.1437*	.04101	.003	-.2306	-.0567
		14.00	-.2250*	.04101	.000	-.3119	-.1381
	4.00	.00	.2203*	.04101	.000	.1334	.3073
		2.00	.0313	.04101	.456	-.0556	.1183
		6.00	-.0420	.04101	.321	-.1289	.0449
		8.00	-.1457*	.04101	.003	-.2326	-.0587
		10.00	-.1657*	.04101	.001	-.2526	-.0787
		12.00	-.1123*	.04101	.015	-.1993	-.0254
		14.00	-.1937*	.04101	.000	-.2806	-.1067
	6.00	.00	.2623*	.04101	.000	.1754	.3493
		2.00	.0733	.04101	.093	-.0136	.1603

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		4.00	.0420	.04101	.321	-.0449	.1289
		8.00	-.1037*	.04101	.022	-.1906	-.0167
		10.00	-.1237*	.04101	.008	-.2106	-.0367
		12.00	-.0703	.04101	.106	-.1573	.0166
		14.00	-.1517*	.04101	.002	-.2386	-.0647

	(I) เวลา	(J) เวลา	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
	8.00	.00	.3660*	.04101	.000	.2791	.4529
		2.00	.1770*	.04101	.001	.0901	.2639
		4.00	.1457*	.04101	.003	.0587	.2326
		6.00	.1037*	.04101	.022	.0167	.1906
		10.00	-.0200	.04101	.632	-.1069	.0669
		12.00	.0333	.04101	.428	-.0536	.1203
		14.00	-.0480	.04101	.259	-.1349	.0389
	10.00	.00	.3860*	.04101	.000	.2991	.4729
		2.00	.1970*	.04101	.000	.1101	.2839
		4.00	.1657*	.04101	.001	.0787	.2526
		6.00	.1237*	.04101	.008	.0367	.2106
		8.00	.0200	.04101	.632	-.0669	.1069
		12.00	.0533	.04101	.212	-.0336	.1403
		14.00	-.0280	.04101	.504	-.1149	.0589
	12.00	.00	.3327*	.04101	.000	.2457	.4196
		2.00	.1437*	.04101	.003	.0567	.2306
		4.00	.1123*	.04101	.015	.0254	.1993
		6.00	.0703	.04101	.106	-.0166	.1573
		8.00	-.0333	.04101	.428	-.1203	.0536
		10.00	-.0533	.04101	.212	-.1403	.0336
		14.00	-.0813	.04101	.065	-.1683	.0056
	14.00	.00	.4140*	.04101	.000	.3271	.5009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		2.00	.2250*	.04101	.000	.1381	.3119
		4.00	.1937*	.04101	.000	.1067	.2806
		6.00	.1517*	.04101	.002	.0647	.2386
		8.00	.0480	.04101	.259	-.0389	.1349
		10.00	.0280	.04101	.504	-.0589	.1149
		12.00	.0813	.04101	.065	-.0056	.1683

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .003.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Homogeneous Subsets

น้ำหนักเซลล์แห้งของอาหารสูตร TAP เติมน้ำตาลซูโครส

	เวลา	N	Subset			
			1	2	3	4
Duncan[a,b]	.00	3	.0497[d]			
	2.00	3		.2387[c]		
	4.00	3		.2700[c]		
	6.00	3		.3120[cb]	.3120[b]	
	12.00	3			.3823[ba]	.3823[a]
	8.00	3				.4157[a]
	10.00	3				.4357[a]
	14.00	3				.4637[a]
	Sig.		1.000	.108	.106	.085

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .003.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

b. Alpha = .05..

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลวิเคราะห์ทางสถิติของอาหารMYSที่มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่480 นาโนเมตรระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
MYS	1.00	24
time	.00	3
	2.00	3
	4.00	3
	6.00	3
	8.00	3
	10.00	3
	12.00	3
	14.00	3

Descriptive Statistics

Dependent Variable: OD

MYS	time	Mean	Std. Deviation	N
1.00	.00	.1860	.11715	3
	2.00	3.1500	1.22049	3
	4.00	26.7600	2.27394	3
	6.00	28.2600	2.04265	3
	8.00	24.3667	1.82179	3
	10.00	24.7667	1.33822	3
	12.00	21.5833	2.04598	3
	14.00	18.6267	1.10564	3
	Total	18.4624	10.41709	24
Total	.00	.1860	.11715	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	2.00	3.1500	1.22049	3
	4.00	26.7600	2.27394	3
	6.00	28.2600	2.04265	3
	8.00	24.3667	1.82179	3
	10.00	24.7667	1.33822	3
	12.00	21.5833	2.04598	3
	14.00	18.6267	1.10564	3
	Total	18.4624	10.41709	24

Levene's Test of Equality of Error Variances[a]

Dependent Variable: OD

F	df1	df2	Sig.
1.652	7	16	.192

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups

a. Design: Intercept + MYS + time + MYS * time

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: OD

	(I) time	(J) time	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	.00	2.00	-2.9640*	1.33431	.041	-5.7926	-.1354
		4.00	-26.5740*	1.33431	.000	-29.4026	-23.7454
		6.00	-28.0740*	1.33431	.000	-30.9026	-25.2454
		8.00	-24.1807*	1.33431	.000	-27.0093	-21.3520
		10.00	-24.5807*	1.33431	.000	-27.4093	-21.7520
		12.00	-21.3973*	1.33431	.000	-24.2260	-18.5687
		14.00	-18.4407*	1.33431	.000	-21.2693	-15.6120

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	2.00	.00	2.9640*	1.33431	.041	.1354	5.7926
		4.00	-23.6100*	1.33431	.000	-26.4386	-20.7814
		6.00	-25.1100*	1.33431	.000	-27.9386	-22.2814
		8.00	-21.2167*	1.33431	.000	-24.0453	-18.3880
		10.00	-21.6167*	1.33431	.000	-24.4453	-18.7880
		12.00	-18.4333*	1.33431	.000	-21.2620	-15.6047
		14.00	-15.4767*	1.33431	.000	-18.3053	-12.6480
	4.00	.00	26.5740*	1.33431	.000	23.7454	29.4026
		2.00	23.6100*	1.33431	.000	20.7814	26.4386
		6.00	-1.5000	1.33431	.278	-4.3286	1.3286
		8.00	2.3933	1.33431	.092	-.4353	5.2220
		10.00	1.9933	1.33431	.155	-.8353	4.8220
		12.00	5.1767*	1.33431	.001	2.3480	8.0053
		14.00	8.1333*	1.33431	.000	5.3047	10.9620
	6.00	.00	28.0740*	1.33431	.000	25.2454	30.9026
		2.00	25.1100*	1.33431	.000	22.2814	27.9386
		4.00	1.5000	1.33431	.278	-1.3286	4.3286
		8.00	3.8933*	1.33431	.010	1.0647	6.7220
		10.00	3.4933*	1.33431	.019	.6647	6.3220
		12.00	6.6767*	1.33431	.000	3.8480	9.5053
		14.00	9.6333*	1.33431	.000	6.8047	12.4620
	8.00	.00	24.1807*	1.33431	.000	21.3520	27.0093
		2.00	21.2167*	1.33431	.000	18.3880	24.0453
		4.00	-2.3933	1.33431	.092	-5.2220	.4353
		6.00	-3.8933*	1.33431	.010	-6.7220	-1.0647
		10.00	-.4000	1.33431	.768	-3.2286	2.4286
		12.00	2.7833	1.33431	.053	-.0453	5.6120
		14.00	5.7400*	1.33431	.001	2.9114	8.5686
	10.00	.00	24.5807*	1.33431	.000	21.7520	27.4093
		2.00	21.6167*	1.33431	.000	18.7880	24.4453
		4.00	-1.9933	1.33431	.155	-4.8220	.8353

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		6.00	-3.4933*	1.33431	.019	-6.3220	-.6647
		8.00	.4000	1.33431	.768	-2.4286	3.2286
		12.00	3.1833*	1.33431	.030	.3547	6.0120
		14.00	6.1400*	1.33431	.000	3.3114	8.9686
	12.00	.00	21.3973*	1.33431	.000	18.5687	24.2260
		2.00	18.4333*	1.33431	.000	15.6047	21.2620
		4.00	-5.1767*	1.33431	.001	-8.0053	-2.3480
		6.00	-6.6767*	1.33431	.000	-9.5053	-3.8480
		8.00	-2.7833	1.33431	.053	-5.6120	.0453
		10.00	-3.1833*	1.33431	.030	-6.0120	-.3547
		14.00	2.9567*	1.33431	.042	.1280	5.7853
	14.00	.00	18.4407*	1.33431	.000	15.6120	21.2693
		2.00	15.4767*	1.33431	.000	12.6480	18.3053
		4.00	-8.1333*	1.33431	.000	-10.9620	-5.3047
		6.00	-9.6333*	1.33431	.000	-12.4620	-6.8047
		8.00	-5.7400*	1.33431	.001	-8.5686	-2.9114
		10.00	-6.1400*	1.33431	.000	-8.9686	-3.3114
		12.00	-2.9567*	1.33431	.042	-5.7853	-.1280

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 2.671.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Homogeneous Subsets

	time	N	Subset					
			1	2	3	4	5	6
Duncan[a,b]	.00	3	.1860[e]					
	2.00	3		3.1500[e]				
	14.00	3			18.6267[e]			
	12.00	3				21.5833[c]		
	8.00	3				24.3667[bc]	24.3667[b]	
	10.00	3					24.7667[b]	
	4.00	3					26.7600[ab]	26.7600[a]
	6.00	3						28.2600[a]
	Sig.		1.000	1.000	1.000	.053	.107	.278

OD

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 2.671.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลวิเคราะห์ทางสถิติของอาหาร MS ที่มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่480 นาโนเมตรระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
MS	2.00	24
time	.00	3
	2.00	3
	4.00	3
	6.00	3
	8.00	3
	10.00	3
	12.00	3
	14.00	3

Descriptive Statistics

Dependent Variable: OD2

MS	time	Mean	Std. Deviation	N
2.00	.00	.2513	.03288	3
	2.00	1.0127	.30940	3
	4.00	.6357	.23792	3
	6.00	.4950	.05766	3
	8.00	.4667	.03137	3
	10.00	.9677	.43099	3
	12.00	2.0647	.53348	3
	14.00	2.1567	.54843	3
	Total	1.0063	.75102	24
Total	.00	.2513	.03288	3
	2.00	1.0127	.30940	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	4.00	.6357	.23792	3
	6.00	.4950	.05766	3
	8.00	.4667	.03137	3
	10.00	.9677	.43099	3
	12.00	2.0647	.53348	3
	14.00	2.1567	.54843	3
	Total	1.0063	.75102	24

Levene's Test of Equality of Error Variances[a]

Dependent Variable: OD2

F	df1	df2	Sig.
3.264	7	16	.024

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + MS + time + MS * time

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: OD2

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	11.115[a]	7	1.588	13.676	.000	.857
Intercept	24.303	1	24.303	209.315	.000	.929
MS	.000	0	.	.	.	.000
time	11.115	7	1.588	13.676	.000	.857
MS * time	.000	0	.	.	.	.000
Error	1.858	16	.116			
Total	37.276	24				
Corrected Total	12.973	23				

a. R Squared = .857 (Adjusted R Squared = .794)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Estimated Marginal Means

1. MS

Dependent Variable: OD2

MS	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
2.00	1.006	.070	.859	1.154

2. time

Dependent Variable: OD2

time	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
.00	.251	.197	-.166	.668
2.00	1.013	.197	.596	1.430
4.00	.636	.197	.219	1.053
6.00	.495	.197	.078	.912
8.00	.467	.197	.050	.884
10.00	.968	.197	.551	1.385
12.00	2.065	.197	1.648	2.482
14.00	2.157	.197	1.740	2.574

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

time

Multiple Comparisons

Dependent Variable: OD2

	(I) time	(J) time	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	.00	2.00	-.7613*	.27822	.015	-1.3511	-.1715
		4.00	-.3843	.27822	.186	-.9741	.2055
		6.00	-.2437	.27822	.394	-.8335	.3461
		8.00	-.2153	.27822	.450	-.8051	.3745
		10.00	-.7163*	.27822	.020	-1.3061	-.1265
		12.00	-1.8133*	.27822	.000	-2.4031	-1.2235
		14.00	-1.9053*	.27822	.000	-2.4951	-1.3155
	2.00	.00	.7613*	.27822	.015	.1715	1.3511
		4.00	.3770	.27822	.194	-.2128	.9668
		6.00	.5177	.27822	.081	-.0721	1.1075
		8.00	.5460	.27822	.067	-.0438	1.1358
		10.00	.0450	.27822	.874	-.5448	.6348
		12.00	-1.0520*	.27822	.002	-1.6418	-.4622
		14.00	-1.1440*	.27822	.001	-1.7338	-.5542
	4.00	.00	.3843	.27822	.186	-.2055	.9741
		2.00	-.3770	.27822	.194	-.9668	.2128
		6.00	.1407	.27822	.620	-.4491	.7305
		8.00	.1690	.27822	.552	-.4208	.7588
		10.00	-.3320	.27822	.250	-.9218	.2578
		12.00	-1.4290*	.27822	.000	-2.0188	-.8392

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		14.00	-1.5210*	.27822	.000	-2.1108	-.9312
	6.00	.00	.2437	.27822	.394	-.3461	.8335
		2.00	-.5177	.27822	.081	-1.1075	.0721
		4.00	-.1407	.27822	.620	-.7305	.4491
		8.00	.0283	.27822	.920	-.5615	.6181
		10.00	-.4727	.27822	.109	-1.0625	.1171
		12.00	-1.5697*	.27822	.000	-2.1595	-.9799
		14.00	-1.6617*	.27822	.000	-2.2515	-1.0719
	8.00	.00	.2153	.27822	.450	-.3745	.8051
		2.00	-.5460	.27822	.067	-1.1358	.0438
		4.00	-.1690	.27822	.552	-.7588	.4208
		6.00	-.0283	.27822	.920	-.6181	.5615
		10.00	-.5010	.27822	.091	-1.0908	.0888
		12.00	-1.5980*	.27822	.000	-2.1878	-1.0082
		14.00	-1.6900*	.27822	.000	-2.2798	-1.1002
	10.00	.00	.7163*	.27822	.020	.1265	1.3061
		2.00	-.0450	.27822	.874	-.6348	.5448
		4.00	.3320	.27822	.250	-.2578	.9218
		6.00	.4727	.27822	.109	-.1171	1.0625
		8.00	.5010	.27822	.091	-.0888	1.0908
		12.00	-1.0970*	.27822	.001	-1.6868	-.5072
		14.00	-1.1890*	.27822	.001	-1.7788	-.5992
	12.00	.00	1.8133*	.27822	.000	1.2235	2.4031
		2.00	1.0520*	.27822	.002	.4622	1.6418
		4.00	1.4290*	.27822	.000	.8392	2.0188
		6.00	1.5697*	.27822	.000	.9799	2.1595
		8.00	1.5980*	.27822	.000	1.0082	2.1878
		10.00	1.0970*	.27822	.001	.5072	1.6868

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		14.00	-.0920	.27822	.745	-.6818	.4978
	14.00	.00	1.9053*	.27822	.000	1.3155	2.4951
		2.00	1.1440*	.27822	.001	.5542	1.7338
		4.00	1.5210*	.27822	.000	.9312	2.1108
		6.00	1.6617*	.27822	.000	1.0719	2.2515
		8.00	1.6900*	.27822	.000	1.1002	2.2798
		10.00	1.1890*	.27822	.001	.5992	1.7788
		12.00	.0920	.27822	.745	-.4978	.6818

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .116.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

OD2

	time	N	Subset		
			1	2	3
Duncan[a,b]	.00	3	.2513[c]		
	8.00	3	.4667[bc]	.4667[b]	
	6.00	3	.4950[bc]	.4950[b]	
	4.00	3	.6357[bc]	.6357[b]	
	10.00	3		.9677[b]	
	2.00	3		1.0127[b]	
	12.00	3			2.0647[a]
	14.00	3			2.1567[a]
	Sig.		.221	.094	.745

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .116.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลวิเคราะห์ทางสถิติของอาหาร TAP ที่มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่480 นาโนเมตรระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
PAT	3.00	24
time	.00	3
	2.00	3
	4.00	3
	6.00	3
	8.00	3
	10.00	3
	12.00	3
	14.00	3

Descriptive Statistics

Dependent Variable: OD3

PAT	time	Mean	Std. Deviation	N
3.00	.00	.2217	.01950	3
	2.00	.3150	.01609	3
	4.00	.3110	.00300	3
	6.00	.2747	.01704	3
	8.00	.2533	.00416	3
	10.00	.2300	.01682	3
	12.00	.2220	.00529	3
	14.00	.2077	.00416	3
	Total	.2544	.04125	24
Total	.00	.2217	.01950	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	2.00	.3150	.01609	3
	4.00	.3110	.00300	3
	6.00	.2747	.01704	3
	8.00	.2533	.00416	3
	10.00	.2300	.01682	3
	12.00	.2220	.00529	3
	14.00	.2077	.00416	3
	Total	.2544	.04125	24

Levene's Test of Equality of Error Variances[a]

Dependent Variable: OD3

F	df1	df2	Sig.
3.508	7	16	.018

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + PAT + time + PAT * time

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: OD3

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	.037[a]	7	.005	32.537	.000	.934
Intercept	1.553	1	1.553	9676.417	.000	.998
PAT	.000	0	.	.	.	.000
time	.037	7	.005	32.537	.000	.934
PAT * time	.000	0	.	.	.	.000
Error	.003	16	.000			
Total	1.593	24				
Corrected Total	.039	23				

a. R Squared = .934 (Adjusted R Squared = .906)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Estimated Marginal Means

1. Grand Mean

Dependent Variable: OD3

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
.254	.003	.249	.260

2. PAT

Univariate Tests

Dependent Variable: OD3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Contrast	.000	0	.	.	.	.000
Error	.003	16	.000			

The F tests the effect of PAT. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. time

Estimates

Dependent Variable: OD3

time	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
.00	.222	.007	.206	.237
2.00	.315	.007	.299	.331
4.00	.311	.007	.295	.327
6.00	.275	.007	.259	.290
8.00	.253	.007	.238	.269
10.00	.230	.007	.214	.246
12.00	.222	.007	.206	.238
14.00	.208	.007	.192	.223

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: OD3

(I) time	(J) time	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[b]	95% Confidence Interval for Difference[b]	
					Lower Bound	Upper Bound
.00	2.00	-.093*	.010	.000	-.115	-.071
	4.00	-.089*	.010	.000	-.111	-.067
	6.00	-.053*	.010	.000	-.075	-.031
	8.00	-.032*	.010	.007	-.054	-.010
	10.00	-.008	.010	.432	-.030	.014
	12.00	.000	.010	.975	-.022	.022
	14.00	.014	.010	.195	-.008	.036
2.00	.00	.093*	.010	.000	.071	.115
	4.00	.004	.010	.704	-.018	.026
	6.00	.040*	.010	.001	.018	.062
	8.00	.062*	.010	.000	.040	.084
	10.00	.085*	.010	.000	.063	.107
	12.00	.093*	.010	.000	.071	.115
	14.00	.107*	.010	.000	.085	.129
4.00	.00	.089*	.010	.000	.067	.111
	2.00	-.004	.010	.704	-.026	.018
	6.00	.036*	.010	.003	.014	.058
	8.00	.058*	.010	.000	.036	.080
	10.00	.081*	.010	.000	.059	.103
	12.00	.089*	.010	.000	.067	.111
	14.00	.103*	.010	.000	.081	.125
6.00	.00	.053*	.010	.000	.031	.075
	2.00	-.040*	.010	.001	-.062	-.018
	4.00	-.036*	.010	.003	-.058	-.014
	8.00	.021	.010	.056	-.001	.043
	10.00	.045*	.010	.001	.023	.067

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	12.00	.053*	.010	.000	.031	.075
	14.00	.067*	.010	.000	.045	.089
8.00	.00	.032*	.010	.007	.010	.054
	2.00	-.062*	.010	.000	-.084	-.040
	4.00	-.058*	.010	.000	-.080	-.036
	6.00	-.021	.010	.056	-.043	.001
	10.00	.023*	.010	.038	.001	.045
	12.00	.031*	.010	.008	.009	.053
	14.00	.046*	.010	.000	.024	.068
10.00	.00	.008	.010	.432	-.014	.030
	2.00	-.085*	.010	.000	-.107	-.063
	4.00	-.081*	.010	.000	-.103	-.059
	6.00	-.045*	.010	.001	-.067	-.023
	8.00	-.023*	.010	.038	-.045	-.001
	12.00	.008	.010	.451	-.014	.030
	14.00	.022*	.010	.046	.000	.044
12.00	.00	.000	.010	.975	-.022	.022
	2.00	-.093*	.010	.000	-.115	-.071
	4.00	-.089*	.010	.000	-.111	-.067
	6.00	-.053*	.010	.000	-.075	-.031
	8.00	-.031*	.010	.008	-.053	-.009
	10.00	-.008	.010	.451	-.030	.014
	14.00	.014	.010	.185	-.008	.036
14.00	.00	-.014	.010	.195	-.036	.008
	2.00	-.107*	.010	.000	-.129	-.085
	4.00	-.103*	.010	.000	-.125	-.081
	6.00	-.067*	.010	.000	-.089	-.045
	8.00	-.046*	.010	.000	-.068	-.024
	10.00	-.022*	.010	.046	-.044	.000
	12.00	-.014	.010	.185	-.036	.008

*. The mean difference is significant at the .05 level.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Univariate Tests

Dependent Variable: OD3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Contrast	.037	7	.005	32.537	.000	.934
Error	.003	16	.000			

The F tests the effect of time. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

4. PAT * time

Dependent Variable: OD3

PAT	time	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
3.00	.00	.222	.007	.206	.237
	2.00	.315	.007	.299	.331
	4.00	.311	.007	.295	.327
	6.00	.275	.007	.259	.290
	8.00	.253	.007	.238	.269
	10.00	.230	.007	.214	.246
	12.00	.222	.007	.206	.238
	14.00	.208	.007	.192	.223

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Time

Multiple Comparisons

Dependent Variable: OD3

	(I) time	(J) time	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	.00	2.00	-.0933*	.01035	.000	-.1153	-.0714
		4.00	-.0893*	.01035	.000	-.1113	-.0674
		6.00	-.0530*	.01035	.000	-.0749	-.0311
		8.00	-.0317*	.01035	.007	-.0536	-.0097
		10.00	-.0083	.01035	.432	-.0303	.0136
		12.00	-.0003	.01035	.975	-.0223	.0216
		14.00	.0140	.01035	.195	-.0079	.0359
	2.00	.00	.0933*	.01035	.000	.0714	.1153
		4.00	.0040	.01035	.704	-.0179	.0259
		6.00	.0403*	.01035	.001	.0184	.0623
		8.00	.0617*	.01035	.000	.0397	.0836
		10.00	.0850*	.01035	.000	.0631	.1069
		12.00	.0930*	.01035	.000	.0711	.1149
		14.00	.1073*	.01035	.000	.0854	.1293
	4.00	.00	.0893*	.01035	.000	.0674	.1113
		2.00	-.0040	.01035	.704	-.0259	.0179
		6.00	.0363*	.01035	.003	.0144	.0583
		8.00	.0577*	.01035	.000	.0357	.0796
		10.00	.0810*	.01035	.000	.0591	.1029
		12.00	.0890*	.01035	.000	.0671	.1109
		14.00	.1033*	.01035	.000	.0814	.1253
	6.00	.00	.0530*	.01035	.000	.0311	.0749
		2.00	-.0403*	.01035	.001	-.0623	-.0184

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		4.00	-.0363*	.01035	.003	-.0583	-.0144
		8.00	.0213	.01035	.056	-.0006	.0433
		10.00	.0447*	.01035	.001	.0227	.0666
		12.00	.0527*	.01035	.000	.0307	.0746
		14.00	.0670*	.01035	.000	.0451	.0889
	8.00	.00	.0317*	.01035	.007	.0097	.0536
		2.00	-.0617*	.01035	.000	-.0836	-.0397
		4.00	-.0577*	.01035	.000	-.0796	-.0357
		6.00	-.0213	.01035	.056	-.0433	.0006
		10.00	.0233*	.01035	.038	.0014	.0453
		12.00	.0313*	.01035	.008	.0094	.0533
		14.00	.0457*	.01035	.000	.0237	.0676
	10.00	.00	.0083	.01035	.432	-.0136	.0303
		2.00	-.0850*	.01035	.000	-.1069	-.0631
		4.00	-.0810*	.01035	.000	-.1029	-.0591
		6.00	-.0447*	.01035	.001	-.0666	-.0227
		8.00	-.0233*	.01035	.038	-.0453	-.0014
		12.00	.0080	.01035	.451	-.0139	.0299
		14.00	.0223*	.01035	.046	.0004	.0443
	12.00	.00	.0003	.01035	.975	-.0216	.0223
		2.00	-.0930*	.01035	.000	-.1149	-.0711
		4.00	-.0890*	.01035	.000	-.1109	-.0671
		6.00	-.0527*	.01035	.000	-.0746	-.0307
		8.00	-.0313*	.01035	.008	-.0533	-.0094
		10.00	-.0080	.01035	.451	-.0299	.0139
		14.00	.0143	.01035	.185	-.0076	.0363
	14.00	.00	-.0140	.01035	.195	-.0359	.0079
		2.00	-.1073*	.01035	.000	-.1293	-.0854
		4.00	-.1033*	.01035	.000	-.1253	-.0814
		6.00	-.0670*	.01035	.000	-.0889	-.0451
		8.00	-.0457*	.01035	.000	-.0676	-.0237

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		10.00	-.0223*	.01035	.046	-.0443	-.0004
		12.00	-.0143	.01035	.185	-.0363	.0076

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .000.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

OD3

	time	N	Subset		
			1	2	3
Duncan[a,b]	14.00	3	.2077[c]		
	.00	3	.2217[c]		
	12.00	3	.2220[c]		
	10.00	3	.2300[c]		
	8.00	3		.2533[b]	
	6.00	3		.2747[b]	
	4.00	3			.3110[a]
	2.00	3			.3150[a]
	Sig.		.063	.056	.704

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .000.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลวิเคราะห์ทางสถิติของอาหารTAPเติมน้ำตาลซูโครสที่มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตรระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
PATsucrose	4.00	24
time	.00	3
	2.00	3
	4.00	3
	6.00	3
	8.00	3
	10.00	3
	12.00	3
	14.00	3

Descriptive Statistics

Dependent Variable: OD4

PATsucrose	time	Mean	Std. Deviation	N
4.00	.00	.0643	.00987	3
	2.00	.1847	.02930	3
	4.00	.2187	.00987	3
	6.00	.2193	.01137	3
	8.00	.2020	.00917	3
	10.00	.1970	.00819	3
	12.00	.1940	.00794	3
	14.00	.3290	.07902	3
	Total	.2011	.07325	24
Total	.00	.0643	.00987	3
	2.00	.1847	.02930	3
	4.00	.2187	.00987	3
	6.00	.2193	.01137	3
	8.00	.2020	.00917	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	10.00	.1970	.00819	3
	12.00	.1940	.00794	3
	14.00	.3290	.07902	3
	Total	.2011	.07325	24

Levene's Test of Equality of Error Variances[a]

Dependent Variable: OD4

F	df1	df2	Sig.
8.058	7	16	.000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + PATsucrose + time + PATsucrose * time

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: OD4

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	.108[a]	7	.015	16.174	.000	.876
Intercept	.971	1	.971	1016.532	.000	.985
PATsucrose	.000	0	.	.	.	.000
time	.108	7	.015	16.174	.000	.876
PATsucrose * time	.000	0	.	.	.	.000
Error	.015	16	.001			
Total	1.094	24				
Corrected Total	.123	23				

a. R Squared = .876 (Adjusted R Squared = .822)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Estimated Marginal Means

1. PATsucrose

Estimates

Dependent Variable: OD4

PATsucrose	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
4.00	.201	.006	.188	.214

Univariate Tests

Dependent Variable: OD4

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Contrast	.000	0	.	.	.	.000
Error	.015	16	.001			

The F tests the effect of PATsucrose. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

2. time

Estimates

Dependent Variable: OD4

time	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
.00	.064	.018	.027	.102
2.00	.185	.018	.147	.222
4.00	.219	.018	.181	.256
6.00	.219	.018	.182	.257
8.00	.202	.018	.164	.240
10.00	.197	.018	.159	.235
12.00	.194	.018	.156	.232
14.00	.329	.018	.291	.367

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: OD4

(I) time	(J) time	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[b]	95% Confidence Interval for Difference[b]	
					Lower Bound	Upper Bound
.00	2.00	-.120*	.025	.000	-.174	-.067
	4.00	-.154*	.025	.000	-.208	-.101
	6.00	-.155*	.025	.000	-.208	-.102
	8.00	-.138*	.025	.000	-.191	-.084
	10.00	-.133*	.025	.000	-.186	-.079
	12.00	-.130*	.025	.000	-.183	-.076
	14.00	-.265*	.025	.000	-.318	-.211
2.00	.00	.120*	.025	.000	.067	.174
	4.00	-.034	.025	.197	-.087	.019
	6.00	-.035	.025	.188	-.088	.019
	8.00	-.017	.025	.502	-.071	.036
	10.00	-.012	.025	.632	-.066	.041
	12.00	-.009	.025	.716	-.063	.044
	14.00	-.144*	.025	.000	-.198	-.091
4.00	.00	.154*	.025	.000	.101	.208
	2.00	.034	.025	.197	-.019	.087
	6.00	-.001	.025	.979	-.054	.053
	8.00	.017	.025	.518	-.037	.070
	10.00	.022	.025	.403	-.032	.075
	12.00	.025	.025	.343	-.029	.078
	14.00	-.110*	.025	.000	-.164	-.057
6.00	.00	.155*	.025	.000	.102	.208
	2.00	.035	.025	.188	-.019	.088
	4.00	.001	.025	.979	-.053	.054
	8.00	.017	.025	.502	-.036	.071
	10.00	.022	.025	.389	-.031	.076

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	12.00	.025	.025	.330	-.028	.079
	14.00	-.110*	.025	.001	-.163	-.056
8.00	.00	.138*	.025	.000	.084	.191
	2.00	.017	.025	.502	-.036	.071
	4.00	-.017	.025	.518	-.070	.037
	6.00	-.017	.025	.502	-.071	.036
	10.00	.005	.025	.845	-.048	.058
	12.00	.008	.025	.755	-.045	.061
	14.00	-.127*	.025	.000	-.180	-.074
10.00	.00	.133*	.025	.000	.079	.186
	2.00	.012	.025	.632	-.041	.066
	4.00	-.022	.025	.403	-.075	.032
	6.00	-.022	.025	.389	-.076	.031
	8.00	-.005	.025	.845	-.058	.048
	12.00	.003	.025	.907	-.050	.056
	14.00	-.132*	.025	.000	-.185	-.079
12.00	.00	.130*	.025	.000	.076	.183
	2.00	.009	.025	.716	-.044	.063
	4.00	-.025	.025	.343	-.078	.029
	6.00	-.025	.025	.330	-.079	.028
	8.00	-.008	.025	.755	-.061	.045
	10.00	-.003	.025	.907	-.056	.050
	14.00	-.135*	.025	.000	-.188	-.082
14.00	.00	.265*	.025	.000	.211	.318
	2.00	.144*	.025	.000	.091	.198
	4.00	.110*	.025	.000	.057	.164
	6.00	.110*	.025	.001	.056	.163
	8.00	.127*	.025	.000	.074	.180
	10.00	.132*	.025	.000	.079	.185
	12.00	.135*	.025	.000	.082	.188

*. The mean difference is significant at the .05 level.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Univariate Tests

Dependent Variable: OD4

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Contrast	.108	7	.015	16.174	.000	.876
Error	.015	16	.001			

The F tests the effect of time. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

2. PATsucrose * time

Dependent Variable: OD4

PATsucrose	time	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
4.00	.00	.064	.018	.027	.102
	2.00	.185	.018	.147	.222
	4.00	.219	.018	.181	.256
	6.00	.219	.018	.182	.257
	8.00	.202	.018	.164	.240
	10.00	.197	.018	.159	.235
	12.00	.194	.018	.156	.232
	14.00	.329	.018	.291	.367

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

time

Multiple Comparisons

Dependent Variable: OD4

	(I) time	(J) time	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	.00	2.00	-.1203*	.02523	.000	-.1738	-.0668
		4.00	-.1543*	.02523	.000	-.2078	-.1008
		6.00	-.1550*	.02523	.000	-.2085	-.1015
		8.00	-.1377*	.02523	.000	-.1912	-.0842
		10.00	-.1327*	.02523	.000	-.1862	-.0792
		12.00	-.1297*	.02523	.000	-.1832	-.0762
		14.00	-.2647*	.02523	.000	-.3182	-.2112
	2.00	.00	.1203*	.02523	.000	.0668	.1738
		4.00	-.0340	.02523	.197	-.0875	.0195
		6.00	-.0347	.02523	.188	-.0882	.0188
		8.00	-.0173	.02523	.502	-.0708	.0362
		10.00	-.0123	.02523	.632	-.0658	.0412
		12.00	-.0093	.02523	.716	-.0628	.0442
		14.00	-.1443*	.02523	.000	-.1978	-.0908
	4.00	.00	.1543*	.02523	.000	.1008	.2078
		2.00	.0340	.02523	.197	-.0195	.0875
		6.00	-.0007	.02523	.979	-.0542	.0528
		8.00	.0167	.02523	.518	-.0368	.0702
		10.00	.0217	.02523	.403	-.0318	.0752
		12.00	.0247	.02523	.343	-.0288	.0782
		14.00	-.1103*	.02523	.000	-.1638	-.0568
	6.00	.00	.1550*	.02523	.000	.1015	.2085
		2.00	.0347	.02523	.188	-.0188	.0882

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		4.00	.0007	.02523	.979	-.0528	.0542
		8.00	.0173	.02523	.502	-.0362	.0708
		10.00	.0223	.02523	.389	-.0312	.0758
		12.00	.0253	.02523	.330	-.0282	.0788
		14.00	-.1097*	.02523	.001	-.1632	-.0562
	8.00	.00	.1377*	.02523	.000	.0842	.1912
		2.00	.0173	.02523	.502	-.0362	.0708
		4.00	-.0167	.02523	.518	-.0702	.0368
		6.00	-.0173	.02523	.502	-.0708	.0362
		10.00	.0050	.02523	.845	-.0485	.0585
		12.00	.0080	.02523	.755	-.0455	.0615
		14.00	-.1270*	.02523	.000	-.1805	-.0735
	10.00	.00	.1327*	.02523	.000	.0792	.1862
		2.00	.0123	.02523	.632	-.0412	.0658
		4.00	-.0217	.02523	.403	-.0752	.0318
		6.00	-.0223	.02523	.389	-.0758	.0312
		8.00	-.0050	.02523	.845	-.0585	.0485
		12.00	.0030	.02523	.907	-.0505	.0565
		14.00	-.1320*	.02523	.000	-.1855	-.0785
	12.00	.00	.1297*	.02523	.000	.0762	.1832
		2.00	.0093	.02523	.716	-.0442	.0628
		4.00	-.0247	.02523	.343	-.0782	.0288
		6.00	-.0253	.02523	.330	-.0788	.0282
		8.00	-.0080	.02523	.755	-.0615	.0455
		10.00	-.0030	.02523	.907	-.0565	.0505
		14.00	-.1350*	.02523	.000	-.1885	-.0815
	14.00	.00	.2647*	.02523	.000	.2112	.3182
		2.00	.1443*	.02523	.000	.0908	.1978
		4.00	.1103*	.02523	.000	.0568	.1638
		6.00	.1097*	.02523	.001	.0562	.1632
		8.00	.1270*	.02523	.000	.0735	.1805

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		10.00	.1320*	.02523	.000	.0785	.1855
		12.00	.1350*	.02523	.000	.0815	.1885

*. The Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .001.mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

OD4

	time	N	Subset		
			1	2	3
Duncan[a,b]	.00	3	.0643[c]		
	2.00	3		.1847[b]	
	12.00	3		.1940[b]	
	10.00	3		.1970[b]	
	8.00	3		.2020[b]	
	4.00	3		.2187[b]	
	6.00	3		.2193[b]	
	14.00	3			.3290[a]
	Sig.		1.000	.237	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .001.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้