การศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14

STUDY ON EFFECT OF THE SUBMERGED CULTURE FOR PIGMENT PRODUCTION BY *Monascus* sp. SS14

กุลธิดา ปลื้มจิตรอมร
วณิชยา ก้านลำใย
สุพัตรา กุละคำแสง

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

STUDY ON EFFECT OF THE SUBMERGED CULTURE FOR PIGMENT PRODUCTION BY *Monascus* sp. SS14

KUNTHIDA PLUEMCHITAMORN
WANICHAYA KANLUMYAI
SUPATTRA KURAKAMSANG

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 Study on Effect of The Submerged Culture for Pigment Production by *Monascus* sp. SS14
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกุลธิดา ปลื้มจิตรอมร รหัส 58050864 นางสาววณิชยา ก้านลำใย รหัส 58050965 นางสาวสุพัตรา กุละคำแสง รหัส 58050999
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ประจำปีการศึกษา 2561

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

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14

ชื่อนักศึกษา นางสาวกุลธิดา ปลื้มจิตรอมร รหัส 58050864
นางสาววณิชยา ก้านลำใย รหัส 58050965
นางสาวสุพัตรา กุละคำแสง รหัส 58050999

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี

บทคัดย่อ

องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อมีอิทธิพลต่อการผลิตสารสีของเชื้อรา ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกันทั้ง 8 ชนิด โดยพบว่า เชื้อราจะสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารที่มี แป้งข้าวโพด 1%, เปปโตน 0.5%, สารสกัดมอลต์ 0.3%, สารสกัดยีสต์ 0.3%, โปแตสเซียมไนเตรต 1.9% ซึ่งสามารถผลิตสารสีส้มได้มากที่สุดในวันที่ 6 ส่วนในอาหารที่มี แป้งมันสำปะหลัง1%, เปปโตน 0.5%, สารสกัดมอลต์ 0.3%, สารสกัดยีสต์ 0.3%, จะสามารถผลิตสารสีแดงได้มากที่สุดในวันที่4 และในการศึกษาครั้งนี้พบว่ากรดกลูตามิคมีผลกระตุ้นการผลิตสารสีเหลือง

คำสำคัญ : สารสี , *Monascus purpureus*, อาหารเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Study on Effect of The Submerged Culture for Pigment Production by *Monascus* sp. SS14
Students	Miss Kunthida Pluemchitamone Student ID 58050864 Miss Wanichaya Kanlumyai Student ID 58050965 Miss Suattra Kurakamsang Student ID 58050999
Degree	Bachelor of Science (Industrial microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2018
Advisor	Asst.Prof.Dr. Pana Lohasuthawee

Abstract

Fungal pigment production was influenced by medium composition so the objectives of this study was to evaluate the growth and pigment production of *Monascus* sp. SS14 on eight different media in submerged culture. The highest increase in fungal growth was observed in the medium containing corn starch 1%, peptone 0.5%, malt extract 0.3%, yeast extract 0.3% and KNO_3 1.9%, and produced orange pigment in 6 days. In the medium containing tapioca starch 1%, peptone 0.5%, malt extract 0.3%, yeast extract 0.3% , the highest red pigment production was observed in 4 days. In this study we also found that glutamic acid could stimulate yellow pigment production.

Keywords : Pigment ,*Monascus purpureus*,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีโดยได้รับการอนุเคราะห์จากอาจารย์หลายๆท่าน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี อาจารย์ที่ปรึกษา

ขอขอบคุณ นางสาวเขมิกา แสงโนราช ที่ได้แบ่งปันห้องในการทำการทดลอง

ขอขอบคุณ นางสาวศศิธร เสิรฐศรี ที่ได้ให้คำแนะนำและให้ความรู้เกี่ยวกับสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่ได้ช่วยกันแก้ปัญหาและช่วยกันทำงานให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีมาตลอด

และนอกจากนี้ผู้จัดทำต้องขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่แผนกยืม-คืน ภาควิชาชีววิทยา ที่อนุญาตให้เบิกของและคอยให้ความช่วยเหลือเกี่ยวกับอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการทำการทดลอง

สุดท้ายนี้ คณะผู้จัดทำ ขอขอบคุณ บิดามารดา และครอบครัว ของผู้จัดทำ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์เลี้ยงดูให้ได้รับความรู้และความสามารถ ให้การช่วยเหลือและสนับสนุนในการทำการทดลองจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี จึงขอขอบคุณทุกท่านไว้ ณ ที่นี้ด้วย

กุลธิดา ปลื้มจิตรอมร

วณิชยา ก้านลำใย

สุพัตรา กุละคำแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....ข
กิตติกรรมประกาศ.....ค
สารบัญ.....ง
สารบัญตาราง.....ช
สารบัญรูป.....ซ
บทที่ 1 บทนำ.....1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....1
1.2 วัตถุประสงค์.....2
1.3 ขอบเขต.....2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....3
2.1 ความเป็นมาของเชื้อราโมแนสคัส.....3
2.2 ลักษณะรูปร่างของเชื้อราโมแนสคัส.....3
2.3 สายพันธุ์ต่างๆของเชื้อราโมแนสคัส.....5
2.4 สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส.....6
2.4.1 การผลิตสารโพลีคีไทด์เมเทบอไลต์หรือการสังเคราะห์สารสีของเชื้อราโมแนสคัส.....6
2.4.2 สมบัติของสีจากเชื้อราโมเนสคัสและการสังเคราะห์สี.....8
2.5 การปล่อยสารสีออกจากเส้นใยเชื้อราโมแนสคัส.....10
2.6 การแยกและวัดค่าสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส.....11
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....11
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....18
3.1 เชื้อจุลินทรีย์.....18
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์.....18
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี.....19
3.4 วิธีการทดลอง.....20
3.4.1 การเตรียมเชื้อ.....20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.1.1 การเก็บรักษากล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับใช้ในการผลิตสารสีจากเชื้อรา
โมแนสคัส....20
3.4.2 การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส....20
3.4.2.1 การเตรียมอาหารเหลวสูตร1....20
3.4.2.2 การเตรียมอาหารเหลวสูตร 2....20
3.4.2.3 การเตรียมอาหารเหลวสูตร 3....21
3.4.2.4 การเตรียมอาหารเหลวสูตร 4....21
3.4.2.5 การเตรียมอาหารเหลวสูตร 5....21
3.4.2.6 การเตรียมอาหารสูตร 6 ,7 และ8....21
3.4.3 การเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในสูตรอาหารต่างๆ....21
3.4.4 การวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง....22
3.4.5 การหาค่าพีเอช....22
3.4.6 การหาปริมาณสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์....22
3.4.7 การหาปริมาณสารสีที่อยู่ภายในเซลล์....22
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล....23
4.1 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14
ในอาหารเหลวสูตร 1....24
4.2 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14
ในอาหารเหลวสูตร 2....28
4.3 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14
ในอาหารเหลวสูตร 3....32
4.4 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14
ในอาหารเหลวสูตร 4....36
4.5 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14
ในอาหารเหลวสูตร 5....40
4.6 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14
ในอาหารเหลว สูตร 6....44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.7 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ในอาหารเหลวสูตร 7 48
4.8 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ในอาหารเหลวสูตร 8 52
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 56
5.1 สรุปผลการวิจัย 56
5.1.1 การศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ในอาหารเหลวสูตรต่างๆ 56
5.1.2 การศึกษาการผลิตสารสีทั้งหมดของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ในอาหารเหลวต่างๆ 58
5.2 ข้อเสนอแนะ 62
เอกสารอ้างอิง 63
ภาคผนวก 67
ภาคผนวก ก 68
ภาคผนวก ข 72
ภาคผนวก ค 74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 สายพันธุ์ต่างๆของเชื้อราโมแนสคัส.....5

5.1 แสดงผลรวมของน้ำหนักเซลล์แห้งตามระยะเวลา 10 วัน ในอาหารชนิดต่างๆ.....57

5.2 แสดงผลรวมของสารสีเหลืองทั้งหมด (วัดที่ 400 นาโนเมตรทั้งภายในและภายนอกเซลล์) ตามระยะเวลา 10 วัน ในอาหารชนิดต่างๆ.....59

5.3 แสดงผลรวมของสารสีส้มทั้งหมด (วัดที่ 470 นาโนเมตรทั้งภายในและภายนอกเซลล์) ตามระยะเวลา 10 วัน ในอาหารชนิดต่างๆ.....60

5.4 แสดงผลรวมของสารสีแดงทั้งหมด (วัดที่ 500 นาโนเมตรทั้งภายในและภายนอกเซลล์) ตามระยะเวลา 10 วัน ในอาหารชนิดต่างๆ.....61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า
2.1 เส้นทางชีวสังเคราะห์สารสีของเชื้อราโมแนสคัส....7
2.2 โครงสร้างเคมีของรงควัตถุที่แยกได้จาก *Monascus* sp. 9
2.3 สีที่ถูกดูดกลืนและสะท้อนให้เห็นในช่วงความยาวคลื่นต่างๆ....11
4.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ในสูตรอาหาร PDA เป็นเวลา 10 วัน....23
4.2 การเพาะเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 1 ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน....25
4.3 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอชและค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลวสูตร1....26
4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400, 470 และ500 นาโนเมตร ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 1 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 วัน....27
4.5 การเพาะเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 2 ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 7 วัน....29
4.6 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอช และค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลวสูตร2....30
4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400, 470 และ500 นาโนเมตร ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 2 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 วัน....31
4.8 การเพาะเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 3 ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 7 วัน....33
4.9 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอช และค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลวสูตร3....34
4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400, 470 และ500 นาโนเมตร ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 3 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 วัน....35
4.11 การเพาะเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 4 ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน....37
4.12 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอช และค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลวสูตร4....38
4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400, 470 และ500 นาโนเมตร ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 4 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 วัน....39
4.14 การเพาะเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 5 ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน....41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า
4.15 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอชและค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลวสูตร5.....42
4.16 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400, 470 และ500 นาโนเมตร ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 5 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 วัน.....43
4.17 การเพาะเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 6 ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน.....45
4.18 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอชและค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลวสูตร6.....46
4.19 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400, 470 และ500 นาโนเมตร ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 6 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 วัน.....47
4.20 การเพาะเชื้อราในอาหารเหลวสูตร7 ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน.....49
4.21 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอชและค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลวสูตร7.....50
4.22 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400, 470 และ500 นาโนเมตร ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 6 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 วัน.....51
4.23 การเพาะเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 8 ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน.....53
4.24 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอชและค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลวสูตร8.....54
4.25 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400, 470 และ500 นาโนเมตร ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 8 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 วัน.....55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สีจัดเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยดึงดูดให้ผู้บริโภคสนใจไม่ว่าจะเป็นสีของเสื้อผ้า เครื่องนุ่งห่ม ตลอดจนอุปกรณ์เครื่องใช้ต่างๆ หรือแม้แต่อาหารก็ตาม ผู้ผลิตจึงต้องพยายามปรับให้ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นมีสีเป็นที่ถูกใจผู้บริโภค สีที่ใช้มีทั้งสีสังเคราะห์และสีธรรมชาติ สีจากจุลินทรีย์จัดเป็นสีที่ได้จากธรรมชาติชนิดหนึ่งที่นิยมใช้กัน โดยจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการผลิตสารสีเป็นเชื้อราซึ่งมีหลายสายพันธุ์ด้วยกัน ได้แก่ *Monascus* spp.

เชื้อรา *Monascus purpureus* หรือ *Monascus* sp. SS14 เป็นเชื้อราที่สามารถผลิตสารสีธรรมชาติได้ในกลุ่มสีเหลืองถึงแดง ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ อาหาร และสภาวะการเพาะเลี้ยง ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวได้แก่ แหล่งคาร์บอน และไนโตรเจน สารที่จำเป็นต่อการเจริญ พีเอช อุณหภูมิ การให้อากาศ และระยะเวลาการเจริญ เชื้อราโมแนสคัสสามารถผลิตสารแบ่งได้เป็น 3 สี คือ สีแดง (monascorubramine และrubropunctamine) สีส้ม (monascorubrin และ rubropunctatin) สีเหลือง (ankaflavin และ monascin) โดยพัฒนาสู่อุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอางค์ เนื่องจากสารสีที่ได้จากธรรมชาติ เป็นสารสีที่ไม่ก่อความเป็นพิษต่อร่างกาย ซึ่งจุลินทรีย์เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ได้รับความสนใจ และนับว่ามีความปลอดภัยมากกว่าสีที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีเพราะหากได้รับสีที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีเข้าสู่ร่างกายในปริมาณมากจะทำให้เกิดโทษต่อร่างกาย รวมทั้งอาจเป็นสารก่อโรคมะเร็งได้อีกด้วย สีที่ได้จากธรรมชาติจึงมีข้อดีคือไม่ก่อให้เกิดโทษต่อร่างกายและไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันจึงมีการนำสีที่ผลิตได้จากราโมแนสคัสมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะด้านอุตสาหกรรมอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *Monascus* sp. SS14 ในอาหารเหลว 8 ชนิด
2. เพื่อศึกษาปริมาณสารสีที่ผลิตได้ในอาหารแต่ละชนิด
3. เพื่อนำสารสีสกัดที่ได้จากเชื้อรามาประยุกต์ใช้เป็นสารสีปรุงแต่งจากธรรมชาติ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาเกี่ยวกับการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ในการผลิตสารสี
2. เพื่อเรียนรู้การเพาะเลี้ยงและการสกัดสารสีจากเชื้อรา *Monascus* sp. SS14
3. ศึกษาความแตกต่างของสารสีที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในแต่ละสูตรอาหาร

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ความรู้เกี่ยวกับการเจริญองเชื้อรา *Monascus sp. SS14* ในการผลิตสารสี
2. เพื่อเรียนรู้เพาะเลี้ยงและการสกัดสารสีจากเชื้อรา *Monascus* sp. SS14
3. เพื่อเรียนรู้การนำผลผลิตทางธรรมชาติมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความเป็นมาของเชื้อราโมแนสคัส (บุษบา, 2542)

การใช้เชื้อรา *Monascus* spp. ในอาหารและเครื่องยาพื้นบ้านในประเทศตะวันออกมีมานานแล้วเป็นเวลาหลายร้อยปี (Wong,1982) มีการใช้ชื่อสกุลโมแนสคัส (*Monascus*) มานานกว่าร้อยปีแล้วในทวีปยุโรป (Van Tieghem, 1884) และในประเทศอินโดนีเซีย แต่สำหรับชาวตะวันตก สปีชีต่างๆของเชื้อราโมแนสคัส เป็นเชื้อราที่ปะปนอยู่ในธัญพืช, แป้ง, ไซเลจ และสารอื่นๆ (Lin และ Iizuka, 1981; Young, 1930) เชื้อรานี้สามารถเจริญได้บนข้าวนึ่งเมื่อบ่มที่อุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสม โดยย่อยข้าวจนข้าวนิ่มและระหว่างนั้นก็สร้างสีแดงเข้มขึ้นด้วย (Wong และ Kochler, 1981) ข้าวแดงมีชื่อเรียกอีกหลายชื่อ คือ ข้าวแดงจากจีน (Chinese red rice) อังคัก (ang-kak) แอนแคก (ankak) แองคา (anka) อังคเวค (angquac) เบนนิ-โคจิ (beni-koji) และอกา-โคจิ (aka-koji) (Hesseltine, 1965)

Church (1920) รายงานว่าการผลิตข้าวแดงมีมานานแล้วในประเทศจีนและได้ทดลองแยกเชื้อที่ได้จากประเทศจีน จนในที่สุดก็ทราบว่าเชื้อราที่ให้สีแดงคือ *Monascus purpureus* ต่อมา Palo และคณะ (1960) นักวิทยาศาสตร์ชาวฟิลิปปินส์ได้ทดลองใช้เชื้อ *Monascus purpureus* ทำข้าวแดงจนได้ข้าวแดงที่มีคุณภาพดี แล้วยังสามารถนำเอาข้าวแดงมาใช้เจือสีอาหารได้โดยตรง (Wong และ Kochler, 1981) หลังจากนั้นได้มีการสนใจที่จะศึกษาสายพันธุ์ราที่เหมาะสมสำหรับใช้ในสภาพหมักเปียก (submerged culture) ซึ่งริเริ่มโดย Lin (1973) ต่อมาก็มีการผลิตสีในอาหารเหลวจนประสบความสำเร็จ (Shepherd และ Carels, 1983; บุษบา และ วรรณภา, 2527)

2.2 ลักษณะรูปร่างของเชื้อราโมแนสคัส (บุษบา, 2542)

เชื้อราโมแนสคัส (*Monascus* spp.) เดิมเคยจัดอยู่ในวงศ์ (Family) Aspergillaceae (Order) Plectascales (Van Tieghem, 1884) แต่ปัจจุบันจัดอยู่ในวงศ์ Monascaceae กลุ่ม (Class) Ascomycetes กลุ่มย่อย (Subclass) Plectomycetidae อันดับ (Order) Eurotiales

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Hawksworth และ Pit, 1983) เส้นใยมีผนังกั้น (septate) มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (Sexual) และไม่อาศัยเพศ (asexual) โดยเส้นใยมีการแตกกิ่งก้านมากมาย และมักเจริญแบบเกาะชิดแน่นบนผิวของอาหารแข็ง เส้นใยเมื่ออายุอ่อนจะมีสีขาว แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีแดงหรือแดงอมม่วง

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการสร้างโคนิเดีย (conidia) ที่เจริญมาจากโคนิดีโอฟอร์ (condiophore) โดยโคนิเดียมีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ อาจมีอันเดียวหรือเรียงกันเป็นลูกโซ่ (Hawksworth และ Pit, 1983) โคนิเดียส่วนใหญ่มักไม่มีสี แต่เมื่อมีอายุมากขึ้นสามารถเกิดสีแดงได้ โคนิดีโอฟอร์มีขนาดสั้นมีเซพเตท (septate) หรือผนังกั้น มีลักษณะเป็นสายตรงหรือขดเป็นเกลียว และเปลี่ยนเป็นสีแดง เมื่อมีอายุมากขึ้น การงอกของโคนิเดียจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสูตรอาหาร เช่น C Medium (Hiroi และคณะ, 1979) เหมาะสมสำหรับการเกิดโคนิเดียของโมแนสคัส นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆเช่น ความเป็นกรดเป็นด่าง อายุของสปอร์ ความหนาแน่นของสปอร์ แสงและอุณหภูมิ เช่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปโคนิเดียจะงอกภายใน 4 ชั่วโมง เมื่อมีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมด้วยการสร้าง germ-tube ขึ้นมา 1 อันหรือ 2 อันหรือบางทีอาจมีได้ถึง 6 อันซึ่งการงอกของโคนิเดียกระตุ้นได้ด้วยคาร์โบไฮเดรตหลายชนิด (Wong และ Bau, 1987)

ส่วนการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของเชื้อราโมแนสคัสคล้ายกับเชื้อราชนิดอื่นใน Class Ascomycetes มีการสร้างเพอริทีเซียม (perithecium) (บางรายงานใช้คลิสโทที่เซียม, cleistothecium) ซึ่งเป็นแอสโคคาร์ป (ascocarp) มีรูปร่างค่อนข้างกลม โดยจะเกิดบนก้านที่มีหรือไม่มีผนังกันก็ได้ (stalk) แอสโคคาร์ปเกิดขึ้นบนเส้นใยซึ่งเป็นแบบโฮโมแทลลิก (homothalic) โดยการสร้างโครงสร้างออกมา 2 ชนิดคือแอนเทอริเดียม (antheridium) และแอสโคโกเนียม (ascogonium) เกิดการรวมกัน ที่ปลายแอสโคโกเนียมกับส่วนฐาน หรือส่วนกลางของแอนเทอริเดียมแล้ว จึงจะมีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีสและไมโตซีสตามมา มี daughter nuclei จากการแบ่งตัว มีการขยายผนังเซลล์รวมออกเรียกว่าการสร้างแอสโคคาร์ปขึ้นในที่สุด (Carels และ Shepherd, 1975) ภายในเพอริที่เซียมมีแอสโคสปอร์ (ascospores) มากมาย โดยแอสโคสปอร์จำนวน 2-8 รวมอยู่ภายในแอสคัส (ascus) แอสโคสปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่ อาจมีสีน้ำตาล สีแดง สีส้มหรือไม่มีสี เมื่อผนังแอสโคคาร์ปแตกออกก็จะปล่อยแอสโคสปอร์งอกเป็นเส้นใหม่ขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 สายพันธุ์ต่างๆของเชื้อราโมแนสคัส

ปี ค.ศ. 1884 Van Tieghem ได้แยกและให้ชื่อเชื้อราโมแนสคัสและแบ่งได้เป็น 2 สายพันธุ์ คือ *M. mucoroides* และ *M. ruber* ต่อมาปี ค.ศ. 1895 Went ได้แยกสายพันธุ์สำคัญคือ *M. purpureus* จากข้าวแดง หรือ อังคัก ปี ค.ศ. 1920 Church รายงานว่าการผลิตข้าวแดงมีมานานแล้วในประเทศจีนและได้ทดลองแยกเชื้อที่ได้จากประเทศจีน จนในที่สุดก็ทราบว่าเชื้อราที่ให้สีแดงคือ *Monascus purpureus* ต่อมา Hawksworth and Pitt (1983) ได้จัดจำแนกรา *Monascus* ในระดับสปีชีส์โดยอาศัยชนิดของอาหาร เลี้ยงเชื้อ และลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แต่อย่างไรก็ตามยังพบว่า Monasces มีความผันแปรทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นเสมอภายในเซลล์ และสปอร์มีการเกิด recombination ของดีเอ็นเอในกระบวนการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศด้วยเช่นกัน จากการ แยก *M. purpureus* จากข้าวแดง ทำให้รู้จักการใช้ประโยชน์ของเชื้อรานี้กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น และปัจจุบันมีการรวบรวมเชื้อรานี้ 20 กว่าสายพันธุ์ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 สายพันธุ์ต่างๆของเชื้อราโมแนสคัส

M.albidus	*M.albus*	*M.anka*	*M.araneosus*	*M.barkeri*
M.bisporus	*M.floridanus*	*M.fuliginosus*	*M.kaoliang*	
M.major	*M.mucoroides*	*M.olei*		
M.paxii	*M.pilosus*	*M.pubiferus*	*M.purpureus*	*M.ruber*
M.rubiginosus	*M.rubropunctatus*	*M.serorubercems*	*M.vini*	*M.vitreus*

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

นอกจากความแตกต่างทางลักษณะทางชีววิทยาแล้ว ยังมีความแตกต่างทางด้านเอนไซม์อีกด้วยโดยเชื้อราในกลุ่ม *M. pilosus* พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ beta-galactosidase และ alpha-glucosidase ใน *M. purpureus* พบเอนไซม์ Polypectase and Crystine arylamidase และพบเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสใน *M. rubber* (Bridge และ Hawksworth, 1985) ส่วน *M. floridanus* เป็นสายพันธุ์เดียวที่พบกิจกรรมเอนไซม์ Tyrosinase แต่ไม่พบเอนไซม์ Valine arylamidase เหมือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สายพันธุ์อื่น (Bridge และ HawksWorth, 1985; Bamard และ Cannon, 1987) ส่วน Nishikawa และคณะ (1988) พบว่าเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ส่วนใหญ่จะมีเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสมากกว่าแอดซิสโปรตีเอส และน้อยชนิดที่มีการพบเอนไซม์โปรตีเอสทั้ง 2 แบบ

2.4 สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

2.4.1 การผลิตสารโพลีคีไทด์เมเทบอไลต์หรือการสังเคราะห์สารสีของเชื้อราโมแนสคัส

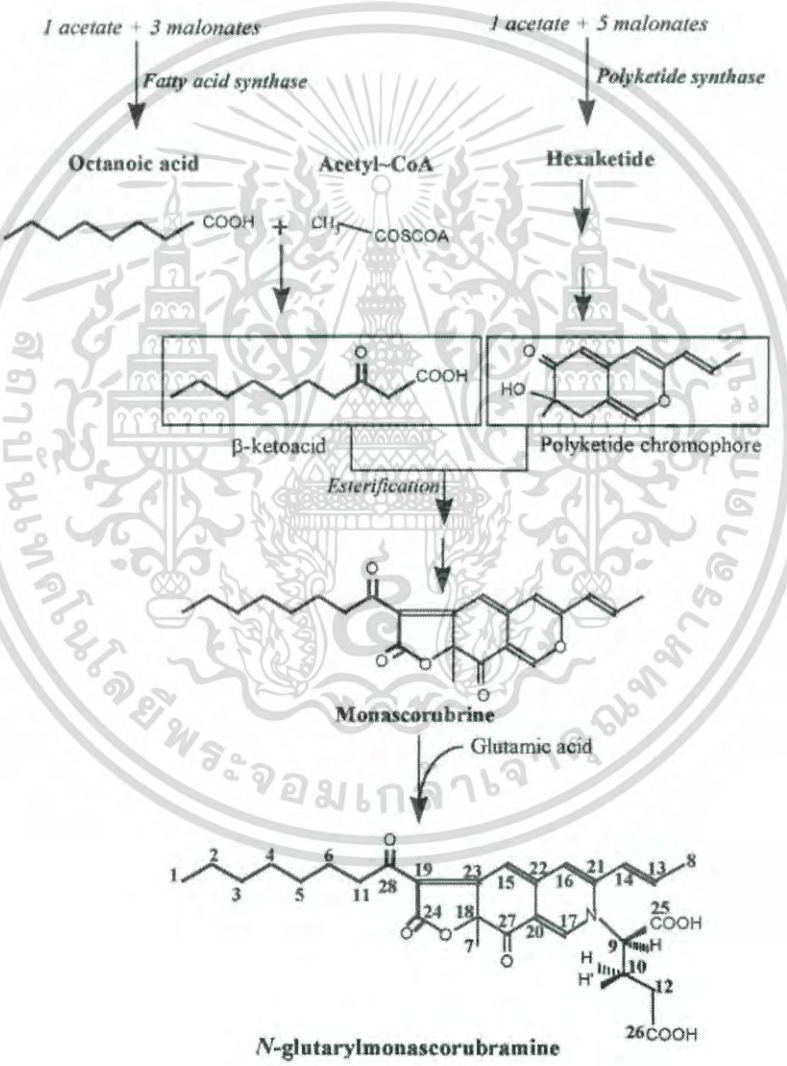
เชื้อราโมแนสคัสสามารถผลิตสารทุติยภูมิเมเทบอไลต์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ ประกอบไปด้วยสารสี และ โมนาโคลิน ซึ่งสังเคราะห์ได้จากวิถีโพลีคีไทด์ในเชื้อราโมแนสคัสสปีรี่ส์

สีจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นสารประเภท polyketide ซึ่งเกิดจากการรวมกันระหว่าง อะซีเตต (acetate) 1 โมเลกุลกับมาโลเนต (malonate) 5 โมเลกุล โดยเอนไซม์ polyketide synthase เกิดเป็น hexaketide chromophore โดยทำปฏิกิริยาต่อไปเรื่อยๆจนได้ polyketide chromophore ซึ่งจะมารวมกับกรดไขมันขนาดกลาง (medium-chain fatty acid) เช่น octanoic acid ที่ถูกสร้างขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน (faty acid biosynthetic pathway) โดยปฏิกิริยา trans-csterification เกิดเป็นสารสีส้ม คือ monascorubrin (หรือได้ rubropunctatin ถ้ากรดไขมัน ที่ทำ ปฏิกิริยา trans-esterification กับ polyketide chromophore เป็น hexanoic acid) จากนั้นสารสีส้ม monascorubrin จะเกิดปฏิกิริยารีดักชัน (reduction) แล้วได้เป็นสารสีเหลือง คือ ankaflavin (หรือ ได้ สารสีเหลือง monascin จากสารสีส้ม rubropunctatin) ในขณะที่สารสีแดงซึ่งได้แก่ monascorubramine และ rubropunctamine เกิดจากสารสีส้มทำปฏิกิริยากับ amination กับ NH_3 units (Kurono และคณะ, 1963; Turner, 1971; Manchand และ Whalley, 1973; Hajjaj และคณะ, 2000) แสดงในรูปที่ 2.1

Carels และ Shepherd (1977) ทำการศึกษาการสังเคราะห์สารสีของเชื้อราโมแนสคัส พบว่าเชื้อราสามารถสังเคราะห์สารสีส้ม monascorubrin หรือ rubropunctatin ได้เท่านั้น ส่วนสีอื่นเกิดจากปฏิกิริยาทางเคมี ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยการเลี้ยงเชื้อ โดยสารสีแดงจะเกิดจากสารสีส้มที่เชื้อสังเคราะห์ได้ แล้วทำปฏิกิริยากับหมู่ $-NH_2$ ของกรดอะมิโน ได้เป็น monascorubramine หรือ rubropunctamine ส่วนสีเหลือง สมมุติฐานว่าเกิดจากปฏิกิริยารีดักชันของสารสีส้มจนกลายเป็น monascin หรือ ankaiflavin แต่ Feilding และคณะ (1961) พบว่าเชื้อราโมเนสคัสสร้างได้เฉพาะสีส้มและสีเหลืองเท่านั้น โดยสีแดงเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสีส้มและสีเหลือง ดังนั้นเมื่อนำ

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น โดยไม่ได้รับอนุญาตจากผู้เขียนก่อน

สีมาสกัดตรวจดูด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ได้ multi-peaks ที่ 400 และ 500 นาโนเมตร โดยทั่วไป แต่จากการทดลองของ Yongsmith และคณะ (1990) และสมชาย (2530) พบว่าเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ KB20M10.2 ซึ่งเป็นมิวแตนท์ที่ผลิตสีเหลืองที่ single peak ที่ 370 นาโนเมตร สามารถผลิตสีเหลืองออกมาได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชเป็นกลางและมีหมู่เอมีนจากกรดอะมิโนมากเกินพอในการทำปฏิกิริยา ดังนั้นอสรุปได้กว่ากลไกการผลิตสีอาจมีปัจจัยอื่นๆเกี่ยวข้องได้แก่ สายพันธุ์ของเชื้อองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ และสภาวะที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น



ภาพที่ 2.1 เส้นทางชีวสังเคราะห์สารสีของเชื้อราโมแนสคัส

ที่มา: Hajjaj และคณะ (2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 สมบัติของสีจากเชื้อราโมแนสคัสและการสังเคราะห์สี

สีที่ผลิตจากเชื้อราโมแนสกัสจัดเป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งไม่จำเป็นต่อการเจริญและการสืบพันธุ์ของเชื้อรา โดยมีการสร้างควบคู่ไปกับการเจริญ (Lin, 1973) และสร้างหลังจากที่เชื้อราหยุดการเจริญ (วรรณภา, 2529) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อรา ส่วนประกอบของอาหาร และสภาพการเลี้ยงเชื้อ จึงทำให้สีดังกล่าวมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับสารในกลุ่ม azaphilone เช่น sclerotiorin และ rotiorin

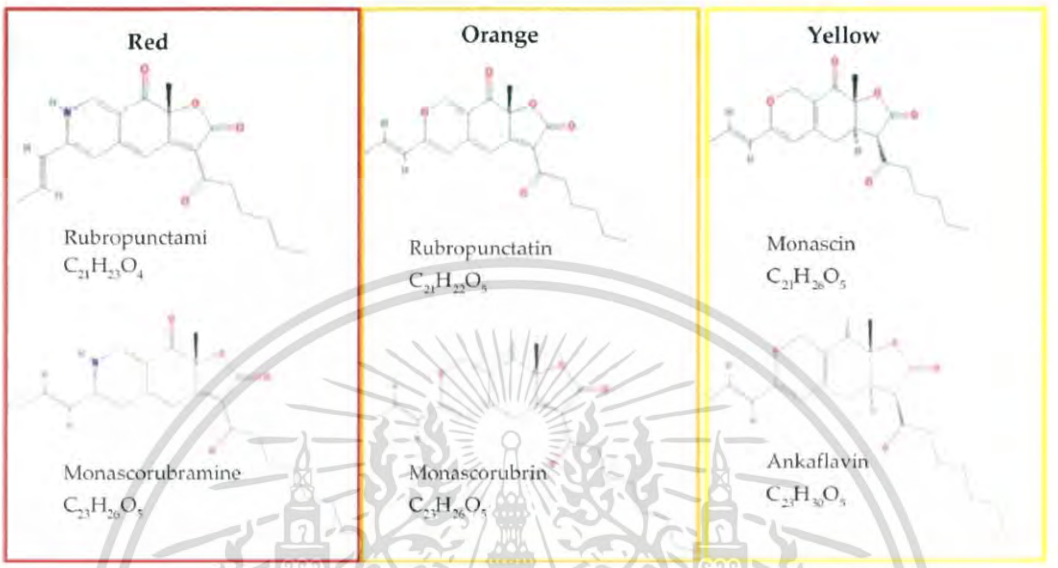
Haws และคณะ (1959) พบว่าสีแดงจากเชื้อรา *Monascus rubropunctatus* ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Czapek Dox เมื่อนำมาสกัดด้วย light petroleum และอีเทอร์ (ether) จะได้สารสีส้มของ rubropunctatin ($C_{21}H_{22}O$) ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับสารละลายแอมโมเนียแล้วได้ สารสีแดงม่วงของ rubropunctaminc ($C_{21}H_{23}O_4$) นอกจากนี้ยังพบสารสีเหลืองของ monascin ($C_{21}H_{26}O_5$) Nakanishi และคณะ (1959) ทำการศึกษาโครงสร้างของสาร monascorubrin ($C_{23}H_{26}O_5$) แยกได้จาก *M. purpureus* โดยนำมาทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียจะได้สาร monascamine ($C_{23}H_{27}O_4N$) และเมื่อรวมกับสังกะสีจะเปลี่ยนเป็น monascaminone

Fielding และคณะ (1961) ทำการศึกษาโครงสร้างสีจากเชื้อราโมแนสคัส พบว่า สารสีเหลืองที่เชื้อสร้างคือ monascin หรือ monascoflavin นอกจากนี้ยังสามารถแยก monascin และ rubropunctatin ได้จาก *M. rubropunctatus* แยก monascin และ monascorubrin ได้จาก *M. purpuveus* และแยก monascin ได้จาก *M. rubiginosus* นอกจากนี้ Manchand และ Whalley (1973) ทำการแยกสีจาก *M. anka* พบสารสีเหลืองคือ ankaflvin ซึ่งมีโครงสร้างใกล้เกียงกับ monascin

Sweeny และคณะ (1981) ได้แบ่งชนิดของสีบริสุทธิ์ที่เชื้อราผลิตออกมาได้เป็น 3 กลุ่ม ที่ได้จากการสกัดสีของ M. *anka* จากข้าวแดงที่ถูกทำให้บริสุทธิ์ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ คือ สารสีแดงประกอบด้วย rubropunctaminc และ monascorubramine สารสีส้ม ประกอบด้วย rubropunctatin และ monascorubrin และสารสีเหลือง ประกอบด้วย monascin และ ankaflavin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Monascus* sp. สามารถผลิตสารสีได้เป็น 3 สี คือ สีแดง (monascorubramine และ rubropunctamine) สีส้ม (monascorubrin และ rubropunctatin) สีเหลือง (ankaflavin และ monascin) ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีดังภาพที่ 2.2 ตามลำดับ (Daehwan และ Seockmo, 2018)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างเคมีของรงควัตถุที่แยกได้จาก *Monascus* sp.
ที่มา : Daehwan และ Seockmo (2018)

เชื้อราโมแนสคัส ผลิตสารสีชนิดต่างๆดังนี้

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

2.อังคักฟลาวิน (ankaflavin) เป็นสารสีในกลุ่มสีเหลืองสูตรโมเลกุลคือ $C_{23}H_{30}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 386 มีจุดหลอมเหลว 120-121 องศาเซลเซียสซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปีดังนี้ λ^{dioxan}max 212 228 382 mμ สารสีอังคักฟลาวินมีสูตรโครงสร้างสัมพันธ์กับสารโมนาสซินเช่นเดียวกับสารสีรูโบรพังทาพินที่มีสูตรสัมพันธ์กับสารสีโมนาสโครูบริน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

4. โมนาสโครูบิน (monascorubin) เป็นสารสีในกลุ่มสีส้มสูตรโมเลกุลคือ $C_{23}H_{26}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 382 ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปีดังนี้ λ^{BtOH}max 253 302 352 mμ มีจุดหลอมเหลว 134ถึง 136 องศาเซลเซียส

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

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

2.5 การปล่อยสารสีออกจากเส้นใยเชื้อราโมแนสคัส (ชนาพร และคณะ 2552)

Su และ Huang (1980) พบว่ามีการปล่อยสารสีจากเส้นใยเชื้อราโมแนสคัสจะมีลักษณะเป็น granular fluid ซึ่งจะถูกขับออกมาตามช่องหรือรอยแตกของผนังเส้นใยในบางครั้ง เมื่อขับออกมาแล้วสารสียังคงติดอยู่กับปลายเส้นใยและจะสะสมจนมีจำนวนมากก่อนหลุดออกจากเส้นใยซึ่งสารสีบางส่วนก็สะสมอยู่ภายในเส้นใยด้วย

Lin และ Lizuka (1981) ทดลองเลี้ยงเชื้อรา *M. Hooliang* R-10847 บนอาหารแข็ง Mantou-meal เพื่อศึกษาการสร้างสารสีนอกเซลล์ พบว่าเชื้อราเริ่มต้นจะสร้างสารสีและปล่อยออกมาในวันที่ 2 ของการเจริญพร้อมกับสารสีที่มีลักษณะหนืดชนิดหนึ่ง (viscous substance) ทำให้สารสีเกาะติดกับเส้นใย และจะสะสมเพิ่มมากขึ้นจนกระทั่งเส้นใยแตกจึงหลุดออกมาทำให้ไม่พบการสะสมสารสีภายในเส้นใย

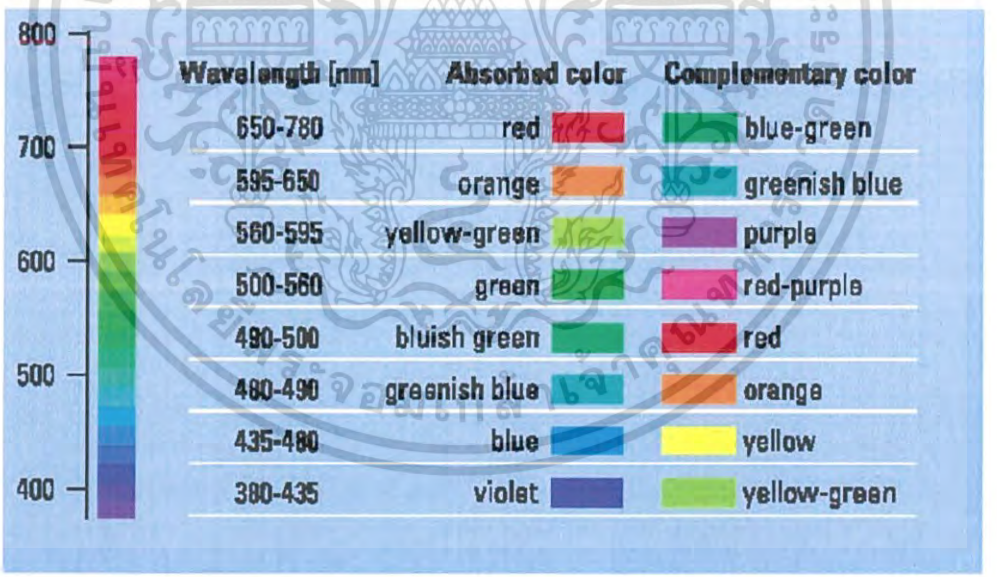
Lin และ Lizuka (1982) พบว่าการชักนำให้เชื้อราเกิดการกลายพันธุ์เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีช่องว่าง (leakage) ของผนังเส้นใยมากขึ้นส่งผลให้เชื้อราสร้างสารสีได้ดีขึ้นเนื่องจากมีความสมดุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระหว่างการสังเคราะห์สีและการปล่อยสีออกจากเส้นใยด้วยการเติมทวิน 80 (Tween 80) ในปริมาณที่เหมาะสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อก็เป็นอีกวิธีที่ช่วยในการปล่อยสารสีออกจากเส้นใย

2.6 การแยกและวัดค่าสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

วิธีสกัดสารสีออกจากเส้นใยจะแตกต่างกันไปทั้งชนิดและความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ซึ่งเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารสีออกมาได้ดีที่สุด แต่สารสีที่ได้มีความคงทนต่ำ (Brader และ Kockler, 1980) ดังนั้นจึงนิยมใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารสีออกจากเส้นใยของเชื้อราแล้วนำสารสีที่ได้ไปกรอง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร 470 นาโนเมตรและ 500 นาโนเมตร (Sweery และคณะ, 1981) ซึ่งจากข้อมูลสีที่ถูกดูดกลืนและสะท้อนให้เห็นในช่วงความยาวคลื่นต่างๆดังแสดงในรูปที่ 2.3 จะพบว่าความยาวคลื่นดังกล่าวเป็นช่วงที่เหมาะสมในการวัดค่าสีเหลืองส้มและแดงตามลำดับ



รูปที่ 2.3 สีที่ถูกดูดกลืนและสะท้อนให้เห็นในช่วงความยาวคลื่นต่างๆ

(ที่มา:https://raypeatforum.com/community/threads/colors-light-and-pigments.12763)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัสขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆปัจจัยที่ทำให้เชื้อราเจริญเติบโตและสามารถผลิตสารสีออกมา โดยมีปัจจัยดังนี้

1.แหล่งคาร์บอน

Lin (1973) รายงานการหมักแบบเปียกของเชื้อรา *Monascus* sp. F-2 ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ พบว่า น้ำแป้ง (soluble starch) กาแลคโตส และมอลโตส เหมาะสมกับการผลิตสารสีตามลำดับ และการเติมสังกะสีประมาณ 800 ไมโครกรัมต่อลิตรมีส่วนช่วยเพิ่มการเจริญของเส้นใย และเพิ่มความสามารถใช้แหล่งคาร์บอนต่าง ๆ ดังต่อไปนี้ เช่น อะราบิโนส ไซโลส กลูโคส ฟรุคโตส แมนโนส ซูโครส มอลโตส แป้งซอร์บิทอล เอทานอล

Su และ Huang (1980), Yongsmith และคณะ (1994) รายงานว่าแป้งข้าวเจ้าสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนผลิตสีโมแนสคัสได้ดีเช่นกัน ส่วน Lin และ Demain (1991) รายงานว่าเมื่อใช้ defined medium เป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าเหมาะสมต่อการสร้างสีแดงของ *Monascus* sp. TTWMB6042 ได้ดีที่สุดในอาหารเหลวที่เป็นเด็กตริน (dextrin) รองลงมาคือ แป้ง กลูโคส มอลโตส และฟรุกโตสตามลำดับ ส่วนมอลโตส กลูโคสและฟรุคโตส ไม่พบการเจริญในกาแลคโตส แลคโตส และซูโครส

บุษบา และ วรรณภา (2528) ได้ทำการศึกษาการใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน โดยใช้เชื้อราโมแนสคัสจำนวน 5 สายพันธุ์ การทดลองพบว่า *Monascus* sp. KB11304 ผลิตสีแดงได้ดีที่สุดในอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง 2 เปอร์เซ็นต์ พีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 7.0 และได้ศึกษาความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตสีของ *Monascus* sp. KB11304, KB21035 และ KB20322 โดยใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของแป้งมันสำปะหลังต่อการผลิตสีของ *Monascus* sp. KB11304 KB21035 และ KB20322 คือ 3.0 2.0 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ โดยวัดค่าสีแดงได้ 98 70 และ 51 หน่วยต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

สมชาย (2536) พบว่า *Monascus* sp. KB20M10.2 ที่ผลิตสีเหลืองสามารถเจริญได้ดีที่สุดในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่คือ แลคโตส และซูโครส และสามารถผลิตสีได้ดีในน้ำตาลหลายโมเลกุล เช่น แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวเจ้า soluble starch และแป้งมันสำปะหลังเป็นต้น เมื่อเลือกใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการผลิตสีเหลือง คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.0 เปอร์เซ็นต์ ที่พีเอชเป็นกลาง และนิสา (2537) พบว่าเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์พ่อแม่ KBI1304 สามารถเจริญและผลิตสีแดงได้ดีที่สุดในแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานที่เป็นน้ำตาลกลูโคส ส่วนมิวเตนท์สีขาว KB20M1 สามารถเจริญได้ดีที่สุดในแหล่งคาร์บอนเละแหล่งพลังงานที่เป็นกลูโคส และมอลโตส ในอาหาร defined medium ที่พีเอช 7.0

2. แหล่งไนโตรเจน

Lin (1973) พบว่า *Monascus* sp. F-2 สามารถผลิตสีได้ดีในแหล่งไนโตรเจนที่เป็น สารไนเตรต และ กลูตาเมต ส่วนแหล่งสารอินทรีย์ที่ไม่เหมาะสมสำหรับการผลิตสี เช่น เปปโตน และ สารสกัดยีสต์ แต่รายงานของ Carels และ Shepherd (1977) พบว่าเมื่อแหล่งไนโตรเจนเป็นสารสกัดยีสต์จะผลิตสีแดงอย่างเดียว เนื่องจากอาหารชนิดนี้มีกรดอะมิโนมากพอ ภายหลังจากที่เชื้อเจริญทำให้พีเอชสูงขึ้น สารสีสามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนอิสระและกรดอะมิโนหรือ NH-group ภายในเส้นใย เปลี่ยนเป็นสารอนุพันธุ์เอมีนได้และไม่พบสีส้มหรือสีเหลือง ส่วนอาหารที่มีไนโตรเจนเป็นโซเดียมไนเตรตจะได้สารสีแดงและสีส้ม อาหารชนิดนี้จะไม่มีกรดอะมิโนอิสระ ถึงแม้พีเอชจะสูงขึ้นสารสีก็จะสามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนหรือ NH-group ภายในเส้นใยได้เท่านั้น จึงทำให้สารสีส้มยังเหลืออยู่ ขณะที่อาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมคลอไรด์และแอมโมเนียมไนเตรตจะทำให้พีเอชลดลงอย่างรวดเร็วเป็นผลทำให้สารสีที่ผลิตได้ไม่สามารถทำปฏิกิริยา NH-group ภายในเส้นใยได้คือจะมีการสะสมของ monascorubrin และ rubropunctatin ได้เป็นสีส้ม การเจริญของราแดงบางสายพันธุ์ในอาหารนี้ได้สารสีเหลือง ซึ่งสามารถเกิดในโดยการเกิด Oxidation ของ monascorubrin หรือ rubropunctatin กับ hydrogen peroxide ได้เป็น monascinin หรือ ankaftan ส่วนสารสีส้ม (monascorubrin และ rubropunctatin) สังเคราะห์ขึ้นโดยวิธีทางชีวภาพ ส่วนสีอื่นๆ เช่น สีแดง สีเหลือง เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีโดยขึ้นกับสภาพการเพาะเลี้ยงเชื้อ

การเติมกรดอะมิโนในรูปของสารสกัดยีสต์ ในอาหารที่มีโซเดียมไนเตรตและแอมโมเนียมคลอโรค์ จะมีผลทำให้เพิ่มการสร้างเส้นใยหรือมวลชีวภาพ อาจเนื่องมาจากในสารสกัดยีสต์มีวิตามินอยู่ด้วยส่วนการเติมกรดอะมิโนทั้งหมดที่พบในสารสกัดยีสต์ลงในอาหารที่มีไนเตรตหรือแอมโมเนียมจะเป็นการลดการสร้างสารสี แต่จะกระตุ้นการสร้างโคนิเดีย (Shepherd และ Carels, 1983)

Wong และคณะ (1981) พบว่าอัตราส่วนของคาร์บอนและไนโตรเจนสำคัญต่อการสร้างสีโดยกลูโคสที่ความเข้มข้นระหว่าง 40-200 กรัมต่อลิตรและแอมโมเนียมไนเตรตที่มีความเข้มข้น 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 10 กรัมต่อลิตรทำให้ *M. purpureus* ผลิตสีแดงได้ดี แต่ถ้าความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรต สูงมากกว่า 50 กรัมต่อลิตรจะยับยั้งการเจริญการผลิตสี

วรรณภา (2529) ได้ศึกษาแหล่งในโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีแดงของเชื้อโมแนสคัสกลุ่มที่ใช้มันสำปะหลังได้ดีเช่นสายพันธุ์ *Monascus* sp. KB20135 KB11304 และ KB20322 พบว่าเปปโตนให้สารสีแดงสูงสุด โปแตสเซียมไนเตรตให้สารสีแดงพอสมควร ส่วนโซเดียมไนเตรต แอมโมเนียมไนเตรต แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรียให้สารสีแดงน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบการสร้างสารสีแดงในแหล่งในโตรเจนที่เป็นเปปโตน และแป้งถั่วเหลืองที่ความเข้มข้นต่างๆพบว่า สายพันธุ์ KB21035 และ KB20322 ใช้แป้งถั่วเหลืองในการสร้างสารสีแดงได้น้อยกว่าเปปโตน ขณะที่สายพันธุ์ KB11304 สร้างสารสีแดงได้ดีในอาหารที่มีแป้งถั่วเหลืองมากกว่าเปปโตน และเป็นรายงานแรกที่มีการใช้ถั่วเหลืองไขมันเต็ม (full fat soy flour) เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ให้ผลดีต่อการสร้างสีโมแนสคัส

Lin และ Dermain (1991) ศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. TTWMB 6042 พบว่าแอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมไนเตรต และโมโนโซเดียมกลูตาเมต เหมาะสมต่อการเจริญกับเชื้อราชนิดนี้ ส่วนแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีคือโมโนโซเดียมกลูตาเมตที่ความเข้มข้น 1.26 เปอร์เซ็นต์เมื่อใช้ร่วมกับมอลโตสความเข้มข้น 10.0 เปอร์เซ็นต์

Yongsmith และคณะ (1993) ศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจน 3 ชนิด คือ สารสกัดยีสต์ เปปโตน และสารสกัดมอลท์ ต่อการเจริญและการสร้างสารสีเหลืองของเชื้อราสายพันธุ์ป่า *Monascus* sp KB10 พบว่าเปปโตนมีผลกระตุ้นการสร้างสารสีโดยตรง แต่สารสกัดยีสต์สามารถส่งเสริมการเจริญมากกว่าการสร้างสารสีส่วนสารสกัดมอลท์มีผลต่อการเจริญและการสร้างสารสีน้อยกว่าแหล่งไนโตรเจนอื่น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ วรรณภา (2529) และสมชาย (2536) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อใช้เปปโตนความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับกรดกลูตามิกความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ จะให้สีเหลืองสูงสุดเมื่อพีเอชเป็นกรด

สมชาย (2536) ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีเหลืองของเชื้อราสายพันธุ์กลาย *Monascus* sp. KB20M10.2 พบว่าแหล่งไนโตรเจนประเภทสารอนินทรีย์ที่ให้สารสีเหลืองได้ดีที่สุดคือ โปแตสเซียมไนเตรตโดยจะให้สารสีเหลือง 216 หน่วยต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ แคลเซียมไนเตรต แอมโมเนียมไนเตรตและโซเดียมไนเตรตตามลำดับ ส่วนแหล่งไนโตรเจนประเภทสารอินทรีย์ที่ให้สารสีเหลืองสูงที่สุดคือแป้งถั่วเหลืองเท่ากับ 674.2 หน่วยต่อมิลลิลิตร รองลงมาเป็นเปปโตน สารสกัดเนื้อ สารสกัดยีสต์และสารสกัดมอลท์ได้ปริมาณสารสีเหลือง 434.7, 392.5, 211.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 20.7 หน่วยต่อมิลลิลิตรตามลำดับและเมื่อศึกษาความเข้มข้นของแป้งถั่วเหลืองที่เหมาะสมพบว่าที่ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ให้สารสีเหลืองสูงที่สุดรองลงมาคือ 4.0 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

3. อุณหภูมิ

Manandher และ Apinis (1971) ศึกษาอัตราการเจริญของ *Monascus* spp. 37 สายพันธุ์ บนอาหาร MYS malt extract agar พบว่า *Monascus* sp. ส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25, 30, 37 และ 40 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 หรือ 37 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้ คือ 45 องศาเซลเซียส การเจริญของ *Monascus* sp. ส่วนใหญ่ที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส ไม่แตกต่างกัน แต่อัตราการเจริญโดยทั่วไปที่ 25 และ 40 องศาเซลเซียส จะช้า ส่วนที่อุณหภูมิ 45 และ 18 องศาเซลเซียส การเจริญจะช้ามาก การสร้างสีดีที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส

Lin (1973) ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. F-2 ลงในอาหารเหลวโดยนำไปเขย่าด้วยความรอบ 160 ต่อนาทีที่อุณหภูมิ 27, 32, 37 และ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสร้างสีได้ดีที่สุดคือ 32 องศาเซลเซียส รองลงมาคือ 27 องศาเซลเซียสและถ้าอุณหภูมิมากกว่า 32 องศาเซลเซียส จะทำให้การผลิตสีลดลงอย่างรวดเร็ว

4.ระยะเวลากับการผลิตสีและการเจริญของเซลล์

การสร้างสีโมแนสคัสในอาหารเหลวสูงสุดไม่เกิน 7 วัน ทั้งนี้ตัวอย่างงานวิจัยของ Lin (1973) ศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. F-2 ในอาหารเหลวที่มีองค์ประกอบแป้งข้าวเจ้า (rice powder) 5 เปอร์เซ็นต์ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ KH_2PO_4 0.2 เปอร์เซ็นต์ บรรจุอาหาร 75 มิลลิลิตรในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตรเขย่าด้วยความเร็ว 160 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วันพบว่าการผลิตสีมีความสัมพันธ์กับการเจริญ

5.พีเอชอาหาร

Lin (1973) ทดลองปรับพีเอชเริ่มต้นของอาหารเป็น 2 ถึง 10 เมื่อบ่มเป็นเวลา 3 วัน *Monascus* sp. F-2 จะให้การผลิตสีสูงสุดในอาหารที่ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 6.0 และพีเอชสุดท้ายของอาหารภายหลังการบ่มลดลงเป็น 5.8 ส่วนการทดลองของ Wong และคณะ (1981) ศึกษาพีเอชเริ่มต้นของอาหารที่เหมาะสมเป็น 5.5 ส่วนใหญ่จะผลิตสีแดงได้มากกว่าที่มีพีเอชต่ำกว่า 6.0 เมื่อบ่มเป็นเวลานาน 17 วันโดยเชื้อรา *M. purpureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สายพันธุ์ป่า *M. barkari* KB10 สามารถสร้างสีเหลืองได้ดีในอาหารที่มีพีเอชต่ำ 2.5-4.0 (Yongsmith และคณะ, 1993) ในขณะที่สายพันธุ์กลาย 20M10.2 ของ M. kaoliang สามารถสร้างสีเหลืองได้ทั้งในสภาพเป็นกรดกลางและด่าง

Manandhar และ Apinis (1971) พบว่าเชื้อราจะเจริญได้ดีที่ช่วงอุณหภูมิช่วง 30-37 องศาเซลเซียส การเปลี่ยนแปลงของพีเอชขณะที่เลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสจะมีผลต่อการผลิตสีในอาหารเหลว ถ้าพีเอชเป็นกลางเชื้อจะผลิตสีแดง แต่ถ้าพีเอชเป็นกรด เชื้อจะผลิตสีส้ม นอกจากนี้ที่พีเอชเป็นกรดจะทำให้การสร้างโดนิเดียลดลง แต่การผลิตสีจะสูงขึ้น เนื่องจากที่พีเอชต่ำกลูโคสและฟอตเฟสจะถูกนำไปใช้ในการสร้างเซลล์ จึงเหลือเพียงเล็กน้อย สำหรับสร้างโคนิเดีย (Carels และ Shepherd, 1975,1977 และ 1978)

Su และ Huang (1980) ศึกษาปัจจัยที่ทำให้ *M. anka* V-204 ผลิตสีได้ดีที่สุด พบว่าอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส พีเอชเริ่มต้น 6.0 เชื้อจะผลิตสีได้ดีที่สุด Yongsmith et al. (1993) รายงานเป็นครั้งแรกว่า *Monascus* sp. KB10 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ป่า (wild type) และการสร้างสีแดงในสภาวะปกตินั้น สามารถผลิตสีเหลืองที่สามารถดูดกลืนแสงสูงสุด ที่ความยาวกลื่น 330 หรือ 370 นาโนเมตร ได้ที่พีเอชเริ่มต้น 2.5 หรือ 4.5 ตามคำดับ ผลิตสีเหลือง ได้สูงสุดในอาหารเหลวพีเอชเริ่มต้น 2.5 ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิและพีเอช ที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 40 องศาเซลเซียส พีเอช 4.0 ตามลำดับ

Hamndi และคณะ (1996) ศึกษาการให้อากาศในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *M. purpureas* CBS10907 โดยน้ำลูกแพรเจือจาง ที่พีเอชเริ่มต้น 5.5 พบว่าการให้อากาศในถังหมักจะมีผลต่อการใช้น้ำตาล ทำให้เกิดการผลิตเอทานอลและการผลิตสีของเชื้อรา

6.ชนิดของเชื้อราโมแนสคัส

Bridge และ Hawksworth (1995) ทำการจำแนกเชื้อราโมแนสคัสออกเป็น 4 ชนิด ได้แก่ *M. pilosus, M. purpureus, M. ruber* และ *M. floridamus* โดยอาศัยด้านความแตกต่างทางด้านสรีรวิทยาและ การผลิตเอนไซม์ที่แตกต่างกัน ซึ่งในปัจจุบันได้มีการรวบรวมสายพันธุ์ของเชื้อราชนิดนี้กว่า 20 สายพันธุ์แล้ว (บุษบา, 2542)

สมัยก่อนราข้าวแดงที่ใช้กันเป็นเชื้อราโมแนสกัสสายพันธุ์ป่า ต่อมาได้ทำการแยกเชื้อ เพื่อจัดจำแนกและคัดเลือกสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสีได้ดี ราข้าวแดงที่แยก ได้ครั้งแรกจาก Chinese anka

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นั้นเป็น *M. purpureus* ต่อมาได้ทำการจัดจำแนกราข้าวแดงจากหลายประเทศแถบเอเชีย โดยเน้นลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางชีวเคมีได้เป็น 12 สายพันธุ์ (Lin และ lizuka, 1981) ในปัจจุบันมีสายพันธุ์ของเชื้อรา โมแนสคัสมากกว่า 20 สายพันธุ์ แต่ละสายพันธุ์ก็จะให้เฉดสีที่แตกต่างกันออกไป โดยสายพันธุ์เชื้อราโมเนสคัสที่นิยม ใช้หมักข้าวแดง คือ *M. purpureus* และ *M. anka* (บุษบา, 2542) งานวิจัยต่อมาจะเป็นการปรับปรุงสายพันธุ์เพื่อเพิ่มการเจริญและเพิ่มความสามารถในการผลิตสี รวมทั้งการได้สีที่ต่างกันออกไปจากสายพันธุ์เดิมโดยการใช้วิธีชักนำให้เกิดการมิวเตชัน (Hiroi และคณะ, 1979; Lin และ lizuka, 1981)

สมชาย (2530) นำเชื้อ *Monascus* sp. KB 11304 มาปรับปรุงพันธุ์โดยการฉายแสงอัลตราไวโอเลตเป็นเวลา 10 นาที เพื่อชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ KB10M16 สามารถผลิตสีแดงได้สูงขึ้น และเมื่อนำสายพันธุ์นี้มาชักนำทำให้เกิดกลายพันธุ์อีกครั้งโดยฉายแสงอัลตราไวโอเลต เป็นเวลา 20 นาที ได้เชื้อราสายพันธุ์ใหม่คือ *Monascus* sp. KB20M10.2 สามารถสร้างสีเหลือง (ค่าดูดกลืนแสงสูงสุด 370 นาโนเมตร) แทนที่จะสร้างสีแดง (ค่าดูดกลืนแสงสูงสุด 420 และ 500 นาโนเมตร) ในอาหารที่มี pH เป็นกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1 เชื้อรา *Monascus* sp. SS14 จาก ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 จานเพาะเลี้ยง (Petri dish)

3.2.2 เข็มเขี่ยเชื้อ (Needel)

3.2.3 ลวดเขี่ยเชื้อ (Loop)

3.2.4 Cook borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 mm.

3.2.5 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.2.6 ฟลาสก์ (Erlynmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.2.7 บีกเกอร์ (Beaker)

3.2.8 กระบอกตวง (Cylinder)

3.2.9 เครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave)

3.2.10 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3.2.11 ตู้อบลมร้อน (Hot air Oven)

3.2.12 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)

3.2.13 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaker)

3.2.14 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectophotometer)

3.2.15 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

3.2.16 ขาตั้ง (Stand)

3.2.17 ตู้บ่ม (Incubator)

3.2.18 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.19 กรวยกรองบุชเนอร์ (Buchner Funnel)

3.2.20 ขวดกรองสาร (Suction flask)

3.2.21 แหวนรองกรวย (Ring Support)

3.2.22 ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum Pump)

3.2.23 ชุดกรองสารและแผ่นกรอง whatmen number 1

3.2.24 คีมคีบ (Forcep)

3.2.25 หลอดหยดสาร (Dropper)

3.2.26 แท่งแก้วคนสาร

3.2.27 แผ่นพาราฟิล์ม

3.2.28 ปิเปต (Pipette)

3.2.29 ช้อนตักสาร

3.2.30 จุกสำลี

3.2.31 ขวดแก้วใส่สาร

3.2.32 ไมโครเวฟ (Microwave)

3.2.33 ถุงพลาสติก

3.2.34 หนังยาง

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.3.1 แป้งมันสำปะหลัง

3.3.2 สารสกัดยีสต์ (Yearst extract)

3.3.3 เปปโตน (Peptone)

3.3.4 มอลสกัด (Malt extract)

3.3.5 เอทานอล 95% (CH_3CH_2COOH)

3.3.6 กรดกลูตามิก (Glutamic acid)

3.3.7 โพแทกเซียมไนเตรท

3.3.8 อาหารสูตร MS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ผลิตซ้ำ ดัดแปลง ทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.9 อาหารสูตร PDB

3.3.10 วุ้น (Agar)

3.3.11 Citric acid

3.3.12 Sodium citrate

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมเชื้อ

นำเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 จากหลอดอาหารที่ถูกจัดเก็บเชื้อไว้ โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อแล้วมาวางบนอาหารแข็ง PDA จากนั้นนำจานเพาะเชื้อบ่มที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

3.4.1.1 การเก็บรักษากล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับใช้ในการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

นำเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ที่เลี้ยงในอาหารแข็ง PDA นำ Cork borer ขนาด 7 มิลลิเมตรตัดบริเวณปลายของโคโลนีจำนวน 4 ชิ้นลงในอาหาร PDA ด้วยวิธีการปลอดเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเชื้อบ่มที่ตู้บ่ม (Incubator) อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับการทดลองต่อไป

3.4.2 การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส

3.4.2.1 การเตรียมอาหารเหลวสูตร 1

ชั่งผสมต่างๆจากภาคผนวก ก. จากนั้นนำไปปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร ทำการปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 6.8-7.2 ตวงใส่ฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ปริมาณฟลาสก์ละ 100 มิลลิลิตร นำฟลาสก์ทั้งหมดใส่ในเครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

3.4.2.2 การเตรียมอาหารเหลวสูตร 2

ชั่งผสมต่างๆจากภาคผนวก ก. จากนั้นนำไปปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร ทำการปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 3.4-3.6 ตวงใส่ฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ปริมาณฟลาสก์ละ 100 มิลลิลิตร นำฟลาสก์ทั้งหมดใส่ในเครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2.3 การเตรียมอาหารเหลวสูตร 3

ชั่งผสมต่างๆจากภาคผนวก ก. จากนั้นนำไปปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร ทำการปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 3.0-3.2 ตวงใส่ฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ปริมาณฟลาสก์ละ 100 มิลลิลิตร นำฟลาสก์ทั้งหมดใส่ในเครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

3.4.2.4 การเตรียมอาหารเหลวสูตร 4

ชั่งผสมต่างๆจากภาคผนวก ก. จากนั้นนำไปปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร ทำการปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 3.4-3.6 ตวงใส่ฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ปริมาณฟลาสก์ละ 100 มิลลิลิตร นำฟลาสก์ทั้งหมดใส่ในเครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

3.4.2.5 การเตรียมอาหารเหลวสูตร 5

ชั่งผสมต่างๆจากภาคผนวก ก. จากนั้นนำไปปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร ทำการปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 5.6-5.8 ตวงใส่ฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ปริมาณฟลาสก์ละ 100 มิลลิลิตร นำฟลาสก์ทั้งหมดใส่ในเครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

3.4.2.6 การเตรียมอาหารสูตร 6, 7 และ8

ชั่งผสมต่างๆและทำการปรับความเข้มข้นของกรดกลูตามิคจากภาคผนวก ก. จากนั้นนำไปปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร จากนั้นทำการปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 3.2-4.0 ตวงใส่ฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ปริมาณฟลาสก์ละ 100 มิลลิลิตร นำฟลาสก์ทั้งหมดใส่ในเครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

3.4.3 การเพาะเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในสูตรอาหารต่างๆ

นำ Cork borer ขนาด 7 มิลลิเมตรตัดชิ้นเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ที่เลี้ยงในอาหารแข็ง PDA จำนวน 4 ชิ้นลงในอาหารเหลวทั้ง 8 สูตรด้วยวิธีการปลอดเชื้อ บรรจุลงฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรปริมาตร 100 มิลลิลิตรบ่มที่เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaker) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 วัน ทำการเก็บผลค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 470 และ 500 นาโนเมตรของสารสีที่ผลิตออกมาทั้งนอกเซลล์และภายในเซลล์ โดยทำการเก็บผลครั้งละ 2 ซ้ำตั้งแต่ในวันที่ 0 ถึงวันที่ 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4 การวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง

นำกระดาษกรอง whatman number 1 ไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้น้ำหนักที่คงที่ ทำการเก็บผลในแต่ละครั้งจากข้อ 3.4.3 นำมากรองด้วยชุดกรองบุชเนอร์ผ่านกระดาษกรอง นำเซลล์ที่ติดอยู่ที่กระดาษกรองชะล้างด้วยน้ำกลั่น นำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นนำไปวางที่โถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก โดยน้ำหนักเซลล์แห้งคำนวณได้จากสูตร

น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/ flask) = น้ำหนักเซลล์แห้งบนกระดาษกรอง(g) – น้ำหนักกระดาษกรอง(g)

3.4.5 การหาค่าพีเอช

นำกระดาษกรอง whatman number 1 ไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้น้ำหนักที่คงที่ จากนั้นเก็บผลในแต่ละครั้งจากข้อ 3.4.3 นำมากรองผ่านกระดาษกรองโดยนำสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์ไปวัดค่าพีเอชด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH meter)

3.4.6 การหาปริมาณสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์

นำสารสีที่หลั่งออกมานอกเซลล์จากข้อ 3.4.4 ฆ่าเชื้อที่เครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที พักไว้จนเย็น นำมาวัดปริมาณสารสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 470 และ 500 นาโนเมตร

3.4.7 การหาปริมาณสารสีที่อยู่ภายในเซลล์

นำเซลล์ที่ติดอยู่ที่กระดาษกรองจากข้อ 3.4.4 แช่ด้วยแอลกอฮอร์ 95% ปริมาตร 50 มิลลิลิตรในบีกเกอร์ทำการปิดด้วยกระดาษฟอยด์ ตั้งที่อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมงทำการเขย่าเป็นระยะ จากนั้นนำไปกรองด้วยชุดกรองบุชเนอร์ผ่านกระดาษกรอง whatman number 1 นำของเหลวที่กรองได้วัดปริมาตรสารสีด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตรมิเตอร์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 470 และ 500 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับใช้ในการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ที่เลี้ยงในอาหารแข็ง PDA บ่มอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน พบว่าเส้นใยมีสีขาวฟู สีแดงหรือส้มแดง แผ่ขยายมีขอบโคโลนีชัดเจนและเปลี่ยนสีอาหารจากสีใสเป็นสีแดง ดังในรูปที่ 4.1 นำ Cork borer ขนาด 7 มิลลิเมตรตัดบริเวณปลายเชื้อราหรือขอบโคโลนี จำนวน 4 ชิ้นลงในอาหารเหลวสูตรต่างๆ

รูปที่ 4.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ในสูตรอาหาร PDA เป็นเวลา 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 1

ทำการตัดชิ้นวุ้นของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 โดยใช้ Cork borer ขนาด 7 มิลลิเมตร จำนวน 4 ชิ้นลงในอาหารเหลวสูตร 1 จากนั้นนำไปบ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ทำการเก็บผลค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีที่ผลิตออกมาทั้งนอกเซลล์และภายในเซลล์เป็นเวลา 10 วัน โดยค่าเฉลี่ยของผลการทดลองจะแสดงในภาคผนวก ค. ตาราง ค.1 เมื่อทำการสังเกตอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยตาเปล่าพบว่า สีของอาหารเลี้ยงเชื้อจะเริ่มเปลี่ยนแปลงไปเป็นสีแดงในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง ดังแสดงในรูปที่ 4.2 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Carels และ Shepherd (1977) พบว่าเมื่ออาหารมีแหล่งไนโตรเจนเป็นสารสกัดยีสต์จะทำให้ผลิตสีแดงเนื่องจากอาหารนี้มีกรดอะมิโนมากพอ และเมื่อทำการเก็บผลการทดลองได้ผลดังนี้

- ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีค่าเท่ากับ 6.89 และค่าพีเอชสุดท้ายจะมีค่าเท่ากับ 8.39 ดังแสดงในรูปที่ 4.3

- ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งพบว่าเข้าสู่ช่วง stationary ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยงและมีค่าสูงสุดในวันที่ 8 โดยมีค่าเท่ากับ 0.305 g/flask ดังแสดงในรูปที่ 4.3

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 5 มีค่าเท่ากับ 3.964 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 4 มีค่าเท่ากับ 2.644 unit/flask

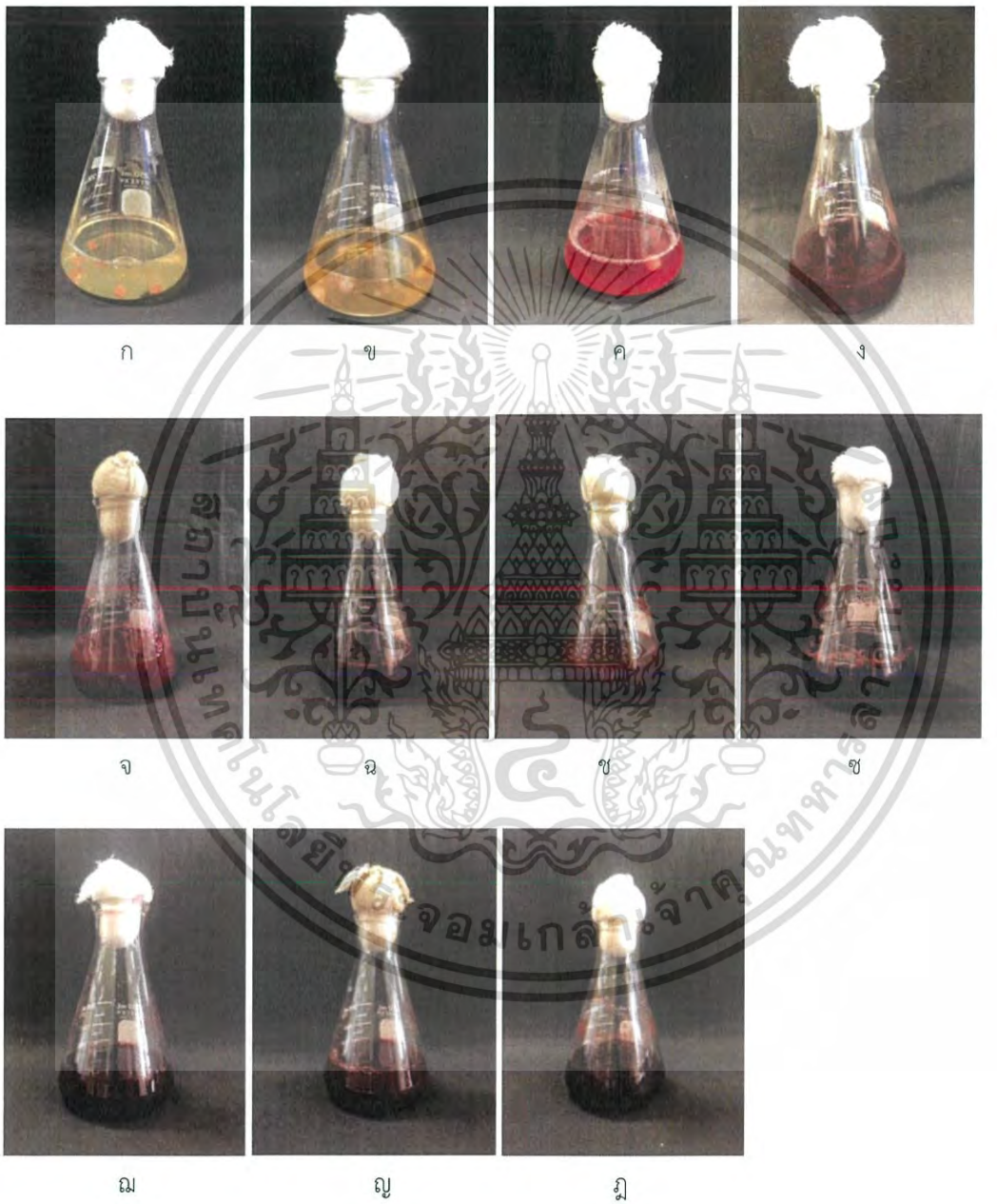
- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 4 มีค่าเท่ากับ 3.067 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 4 มีค่าเท่ากับ 1.897 unit/flask

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 6 มีค่าเท่ากับ 3.480 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 4 มีค่าเท่ากับ 2.246 unit/flask

จากค่าการดูดกลืนแสงของทั้งสามความยาวคลื่นที่แสดงในรูปที่ 4.4 จะเห็นว่าปริมาณสารสีภายนอกเซลล์มากกว่าสารสีภายในเซลล์ ซึ่งอาจเป็นเพราะมีการปล่อยสารสีที่อยู่ในเส้นใยออกมานอกเซลล์มากกว่าที่สะสมภายในเส้นใย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Su และ Huang (1980) พบว่ามีการปล่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

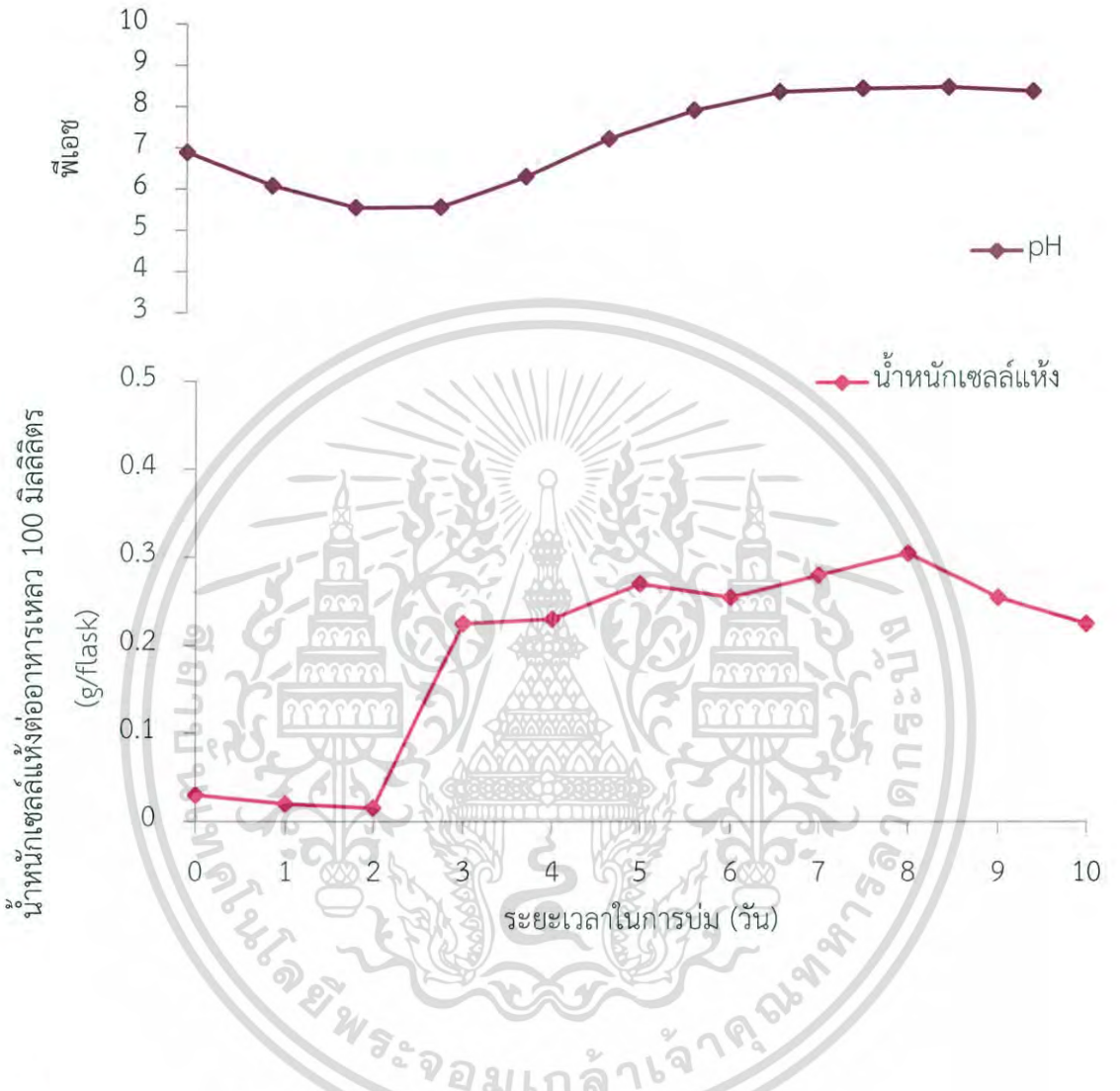
สารสีจากเส้นใยเชื้อราโมแนสคัส ซึ่งจะถูกขับออกมาตามช่องหรือรอยแตกของผนังเส้นใยในบางครั้ง เมื่อขับออกมาแล้วสารสียังคงติดอยู่กับปลายเส้นใยและจะสะสมจนมีจำนวนมากก่อนหลุดจากเส้นใย สารสีบางส่วนสะสมอยู่ภายในเส้นใยด้วย



รูปที่ 4.2 การเพาะเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 1 ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน : วันที่ 0 (ภาพ ก.) วันที่ 1 (ภาพ ข.) วันที่ 2 (ภาพ ค.) วันที่ 3 (ภาพ ง.) วันที่ 4 (ภาพ จ.) วันที่ 5 (ภาพ ฉ.) วันที่ 6 (ภาพ ช.) วันที่ 7 (ภาพ ซ.) วันที่ 8 (ภาพ ฌ.) วันที่ 9 (ภาพ ญ.) วันที่ 10 (ภาพ ฎ.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือแสวงหาผลประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ทำซ้ำดัดแปลงเนื้อหาและข้อความส่วนใดส่วนหนึ่งของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

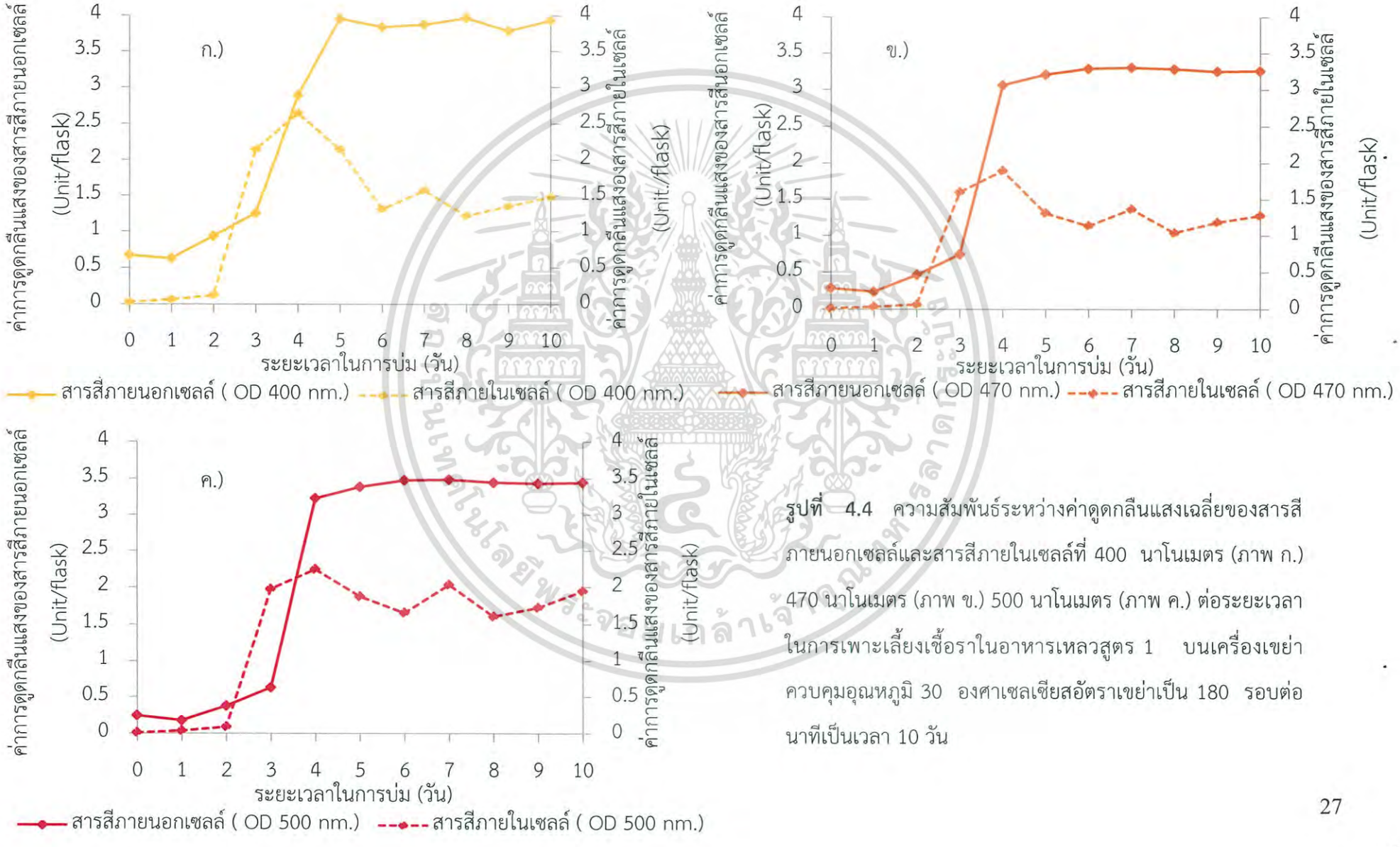
ผลของการวัดค่าพีเอช และค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน แสดงในรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอชและค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลวสูตร1

การวัดค่าสารสีเหลืองที่ค่าการดูดกลืนแสง 400 นาโนเมตร สารสีส้มที่ค่าการดูดกลืนแสง 470 นาโนเมตร และสารสีแดงที่ค่าการดูดกลืนแสง 500 นาโนเมตร ทั้งภายนอกเซลล์และภายในเซลล์ แสดงในรูปที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400 นาโนเมตร (ภาพ ก.) 470 นาโนเมตร (ภาพ ข.) 500 นาโนเมตร (ภาพ ค.) ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 1 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 วัน

4.2 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 2

ทำการตัดชิ้นวุ้นของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 โดยใช้ Cork borer ขนาด 7 มิลลิเมตรตัดบริเวณปลายเชื้อราหรือขอบโคโลนี จำนวน 4 ชิ้นลงในอาหารเหลว บ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ทำการเก็บผลค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 470 500 นาโนเมตรของสารสีที่ผลิตออกมาทั้งนอกเซลล์และภายในเซลล์เป็นเวลา 7 วัน โดยค่าเฉลี่ยของผลการทดลองจะแสดงในภาคผนวก ค. ตาราง ค.2 และเมื่อสังเกตอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยตาเปล่าพบว่าในวันที่ 2 สีของอาหารเริ่มมีการเปลี่ยนไปเป็นสีเหลือง จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นสีส้มและสีแดงในวันถัดไป ดังแสดงในรูปที่ 4.5 และเมื่อทำการเก็บผลการทดลองได้ผลดังนี้

- ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีค่าเท่ากับ 3.50 และค่าพีเอชสุดท้ายจะมีค่าเท่ากับ 5.37 ดังแสดงในรูปที่ 4.6

- ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งพบว่ามีค่าสูงสุดในวันที่ 7 โดยมีค่าเท่ากับ 3.10 g/flask ดังแสดงในรูปที่ 4.6

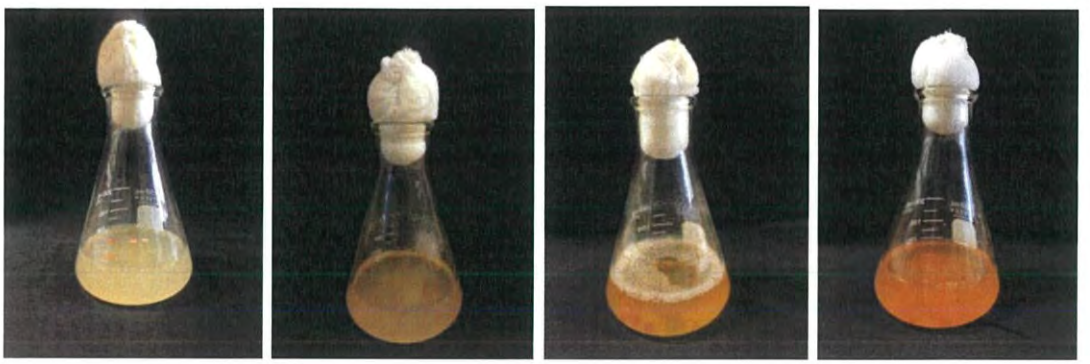
- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ 2.951 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ 2.881 unit/flask

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ 2.816 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ 1.693 unit/flask

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ 2.635 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ 2.122 unit/flask

จากค่าการดูดกลืนแสงทั้งสามความยาวคลื่นที่แสดงในรูปที่ 4.7 จะเห็นว่าปริมาณสารสีภายในเซลล์มากกว่าสารสีภายนอกเซลล์อาจเป็นเพราะมีการสะสมสารสีภายในเส้นใยอยู่เป็นจำนวนมากกว่าสารสีที่ปล่อยออกจากเส้นใย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Su และ Huang (1980) พบว่ามีการปล่อยสารสีจากเส้นใยเชื้อราโมแนสคัส ซึ่งจะถูกขับออกมาตามช่องหรือรอยแตกของผนังเส้นใยในบางครั้ง เมื่อขับออกมาแล้วสารสียังคงติดอยู่กับปลายเส้นใยและจะสะสมจนมีจำนวนมากก่อนหลุดจากเส้นใยสารสีบางส่วนสะสมอยู่ภายในเส้นใยด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



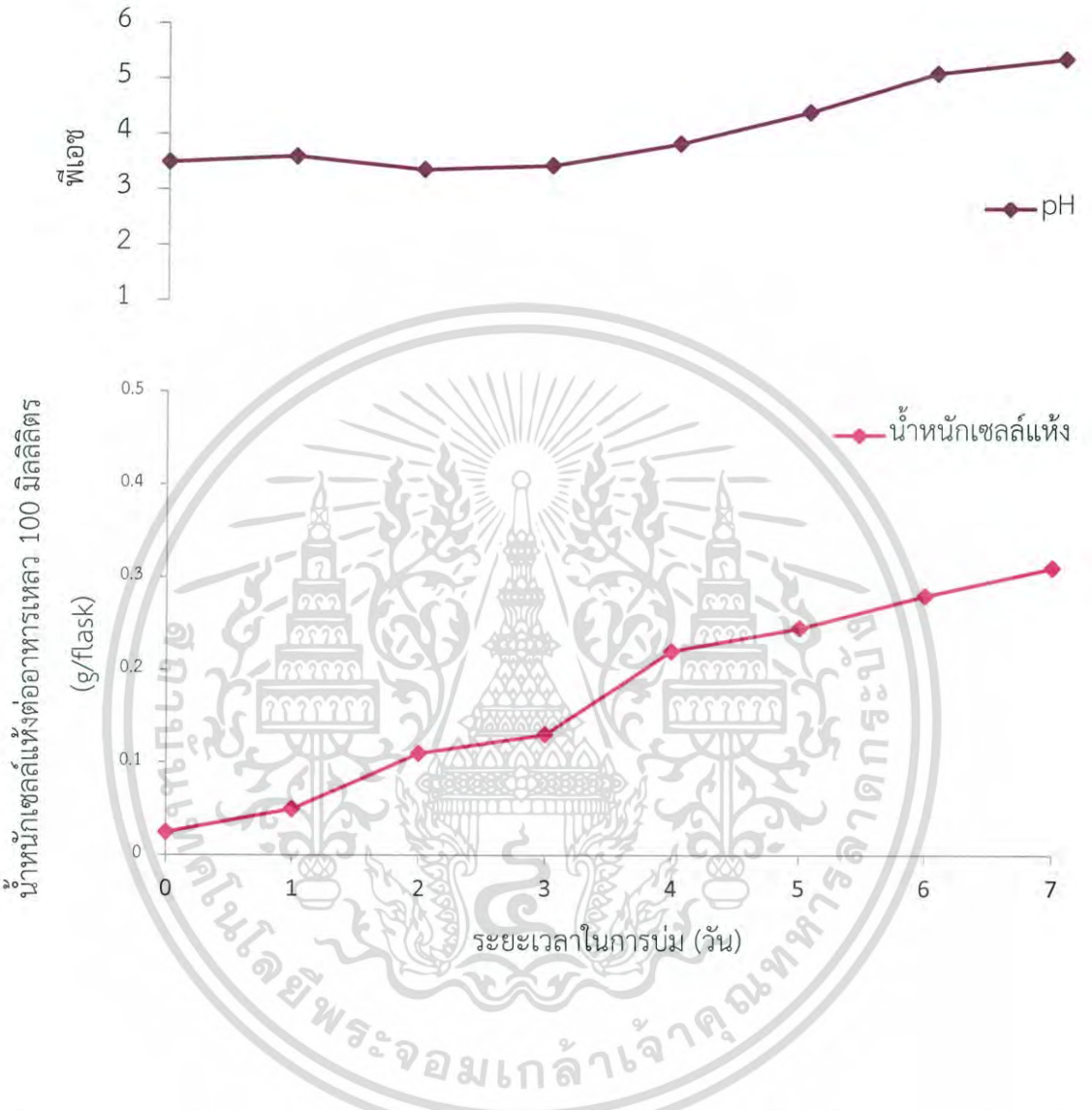
ก ข ค ง

จ ฉ ช ซ

รูปที่ 4.5 การเพาะเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 2 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 7 วัน : วันที่ 0 (ภาพ ก.) วันที่ 1 (ภาพ ข.) วันที่ 2 (ภาพ ค.) วันที่ 3 (ภาพ ง.) วันที่ 4 (ภาพ จ.) วันที่ 5 (ภาพ ฉ.) วันที่ 6 (ภาพ ช.) วันที่ 7 (ภาพ ซ.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

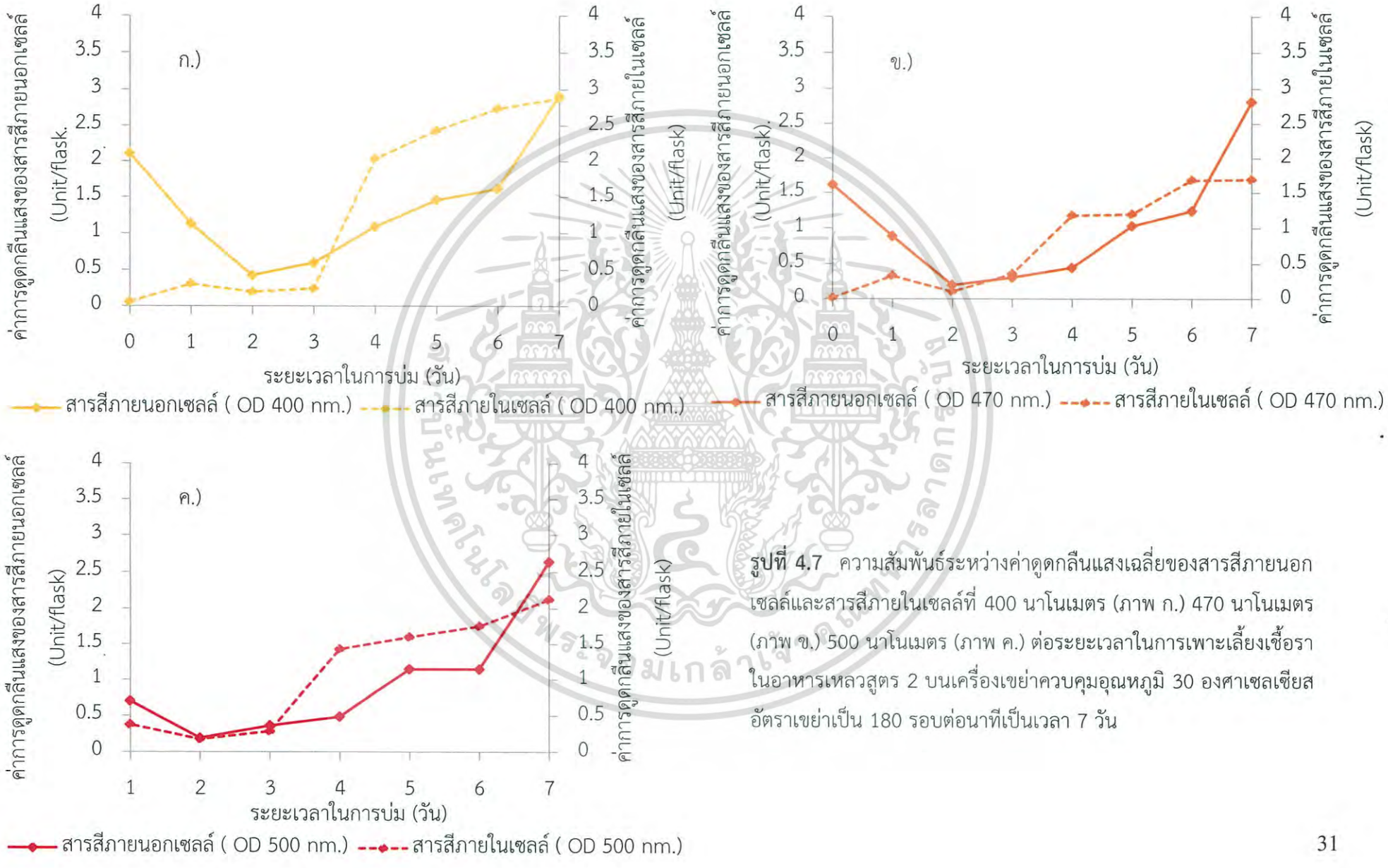
ผลของการวัดค่าพีเอช และค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 7 วัน แสดงในรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอช และค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลวสูตร 2

การวัดค่าสารสีเหลืองที่ค่าการดูดกลืนแสง 400 นาโนเมตร สารสีส้มที่ค่าการดูดกลืนแสง 470 นาโนเมตร และสารสีแดงที่ค่าการดูดกลืนแสง 500 นาโนเมตร ทั้งภายนอกเซลล์และภายในเซลล์แสดงดังรูปที่ 4.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400 นาโนเมตร (ภาพ ก.) 470 นาโนเมตร (ภาพ ข.) 500 นาโนเมตร (ภาพ ค.) ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 2 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 7 วัน

4.3 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อรา ในอาหารเหลวสูตร 3

ทำการตัดชิ้นวุ้นของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 โดยใช้ Cork borer ขนาด 7 มิลลิเมตรตัดบริเวณปลายเชื้อราหรือขอบโคโลนี จำนวน 4 ชิ้นลงในอาหารเหลว บ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ทำการเก็บผลค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 470 และ 500 นาโนเมตรของสารสีที่ผลิตออกมาทั้งนอกเซลล์และภายในเซลล์เป็นเวลา 7 วัน โดยค่าเฉลี่ยของผลการทดลองจะแสดงในภาคผนวก ค. ตาราง ค.3 เมื่อสังเกตอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยตาเปล่าพบว่าในวันที่ 2 สีของอาหารจะเปลี่ยนไปเป็นสีเหลืองและเป็นสีแดงในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง ดังแสดงในรูปที่ 4.8 และเมื่อทำการเก็บผลการทดลองได้ผลดังนี้

- ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีค่าเท่ากับ 3.05 และค่าพีเอชสุดท้ายจะมีค่าเท่ากับ 7.77 ดังแสดงในรูปที่ 4.9

- ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งพบว่ามีค่าสูงสุดในวันที่ 6 โดยมีค่าเท่ากับ 0.110 g/flask ดังแสดงในรูปที่ 4.9

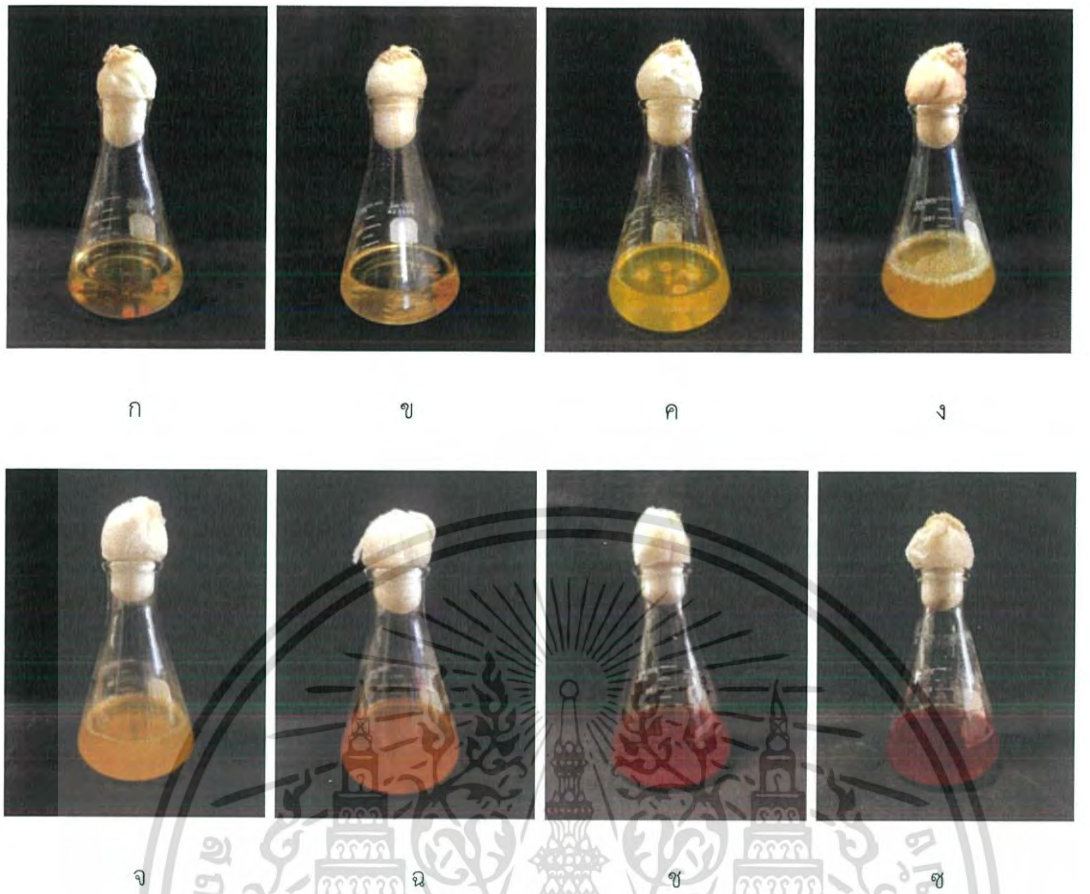
- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 4 มีค่าเท่ากับ 0.765 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 2 มีค่าเท่ากับ 0.373 unit/flask

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 4 มีค่าเท่ากับ 0.669 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ 0.192 unit/flask

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 5 มีค่าเท่ากับ 0.529 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ 0.192 unit/flask

จากค่าการดูดกลืนแสงของทั้งสามความยาวคลื่นที่แสดงในรูปที่ 4.10 จะเห็นว่าจากตารางที่ 5.3 มีการสร้างสารสีเหลืองมากที่สุดโดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 สอดคล้องกับงานวิจัยของสมชาย (2536) ที่ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีเหลือง พบว่าแหล่งไนโตรเจนประเภทสารอนินทรีย์ที่ให้สารสีเหลืองได้ดีที่สุดคือ โปแตสเซียมไนเตรต

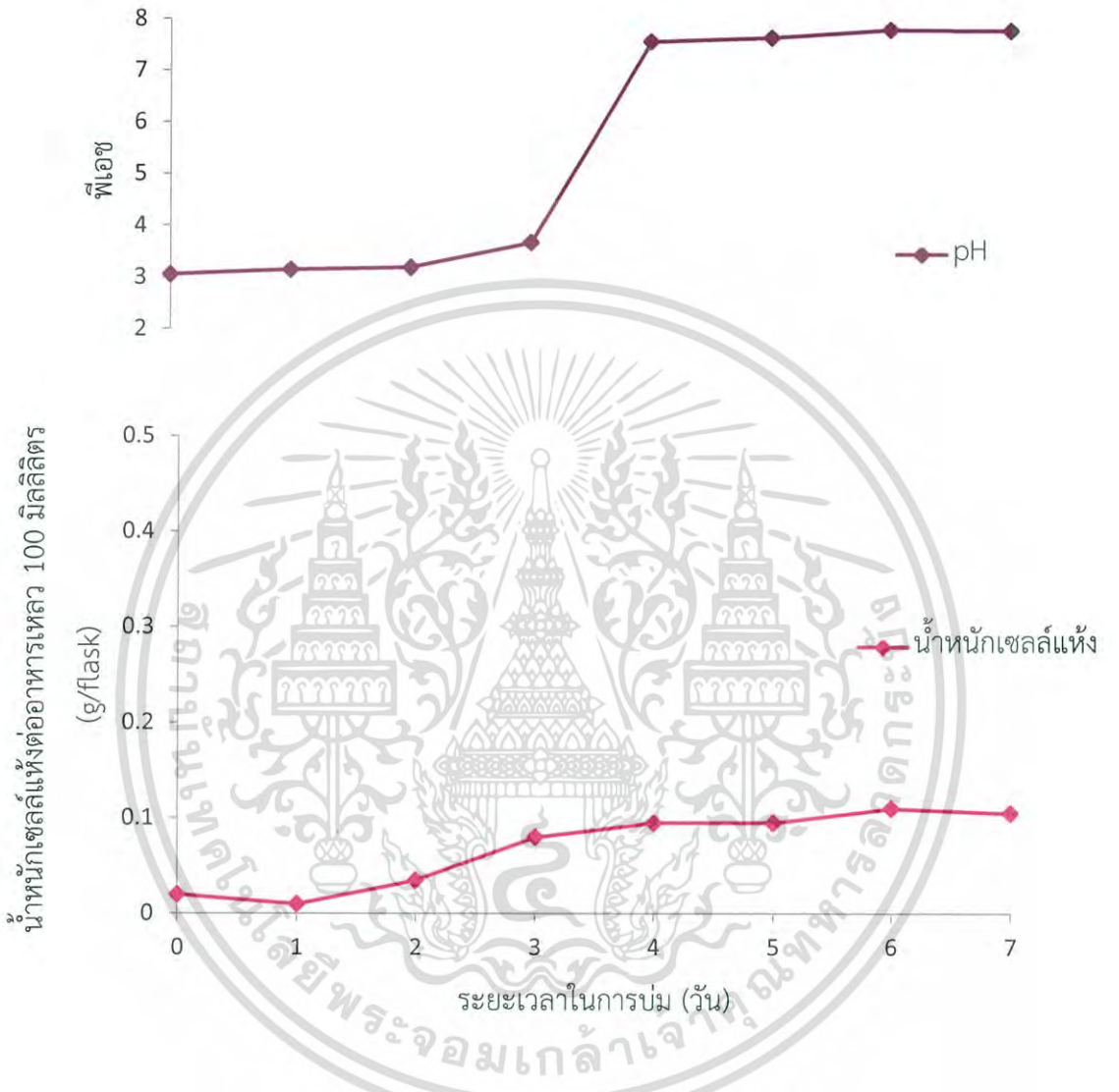
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 3 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 7 วัน : วันที่ 0 (ภาพ ก.) วันที่ 1 (ภาพ ข.) วันที่ 2 (ภาพ ค.) วันที่ 3 (ภาพ ง.) วันที่ 4 (ภาพ จ.) วันที่ 5 (ภาพ ฉ.) วันที่ 6 (ภาพ ช.) วันที่ 7 (ภาพ ซ.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

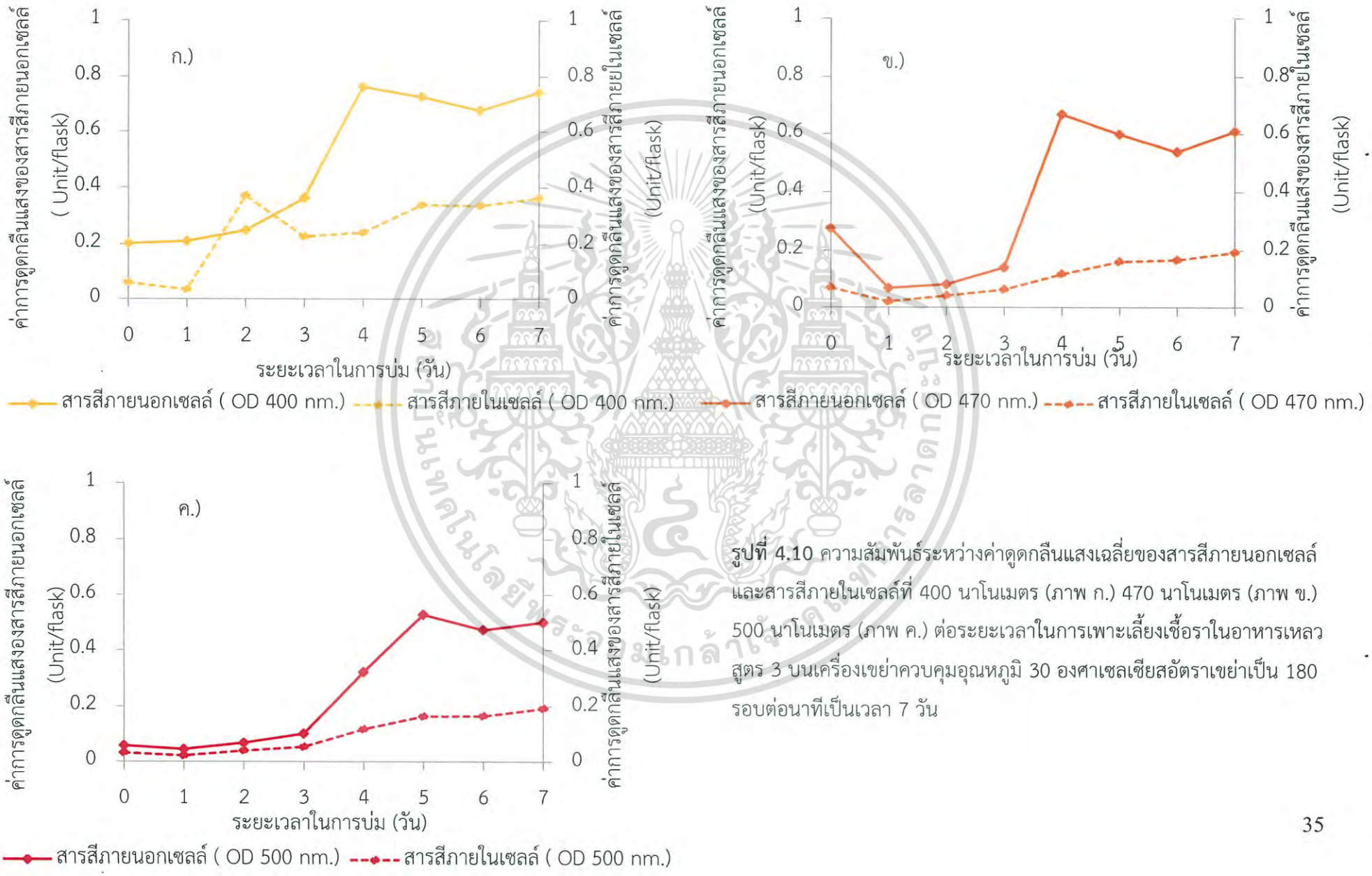
ผลของการวัดค่าพีเอช และค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 7 วัน แสดงในรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอช และค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลวสูตร 3

การวัดค่าสารสีเหลืองที่ค่าการดูดกลืนแสง 400 นาโนเมตร สารสีส้มที่ค่าการดูดกลืนแสง 470 นาโนเมตร และสารสีแดงที่ค่าการดูดกลืนแสง 500 นาโนเมตร ทั้งภายนอกเซลล์และภายในเซลล์แสดงดังรูปที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400 นาโนเมตร (ภาพ ก.) 470 นาโนเมตร (ภาพ ข.) 500 นาโนเมตร (ภาพ ค.) ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 3 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 7 วัน

4.4 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 4

ทำการตัดชิ้นวุ้นของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 โดยใช้ Cork borer ขนาด 7 มิลลิเมตรตัดบริเวณปลายเชื้อราหรือขอบโคโลนี จำนวน 4 ชิ้นลงในอาหารเหลว บ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ทำการเก็บผลค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 470 และ 500 นาโนเมตรของสารสีที่ผลิตออกมาทั้งนอกเซลล์และภายในเซลล์เป็นเวลา 10 วัน โดยค่าเฉลี่ยของผลการทดลองจะแสดงในภาคผนวก ค. ตาราง ค.4 เมื่อสังเกตอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยตาเปล่าพบว่าในวันที่ 3 จะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารไปเป็นสีส้มอ่อนและมีสีแดงในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง ดังแสดงในรูปที่ 4.11 โดยเมื่อทำการเก็บผลการทดลองได้ผลดังนี้

- ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีค่าเท่ากับ 3.55 และค่าพีเอชสุดท้ายจะมีค่าเท่ากับ 7.56 ดังแสดงในรูปที่ 4.12

- ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งพบว่ามีค่าสูงสุดในวันที่ 6 โดยมีค่าเท่ากับ 0.110 g/flask ดังแสดงในรูปที่ 4.12

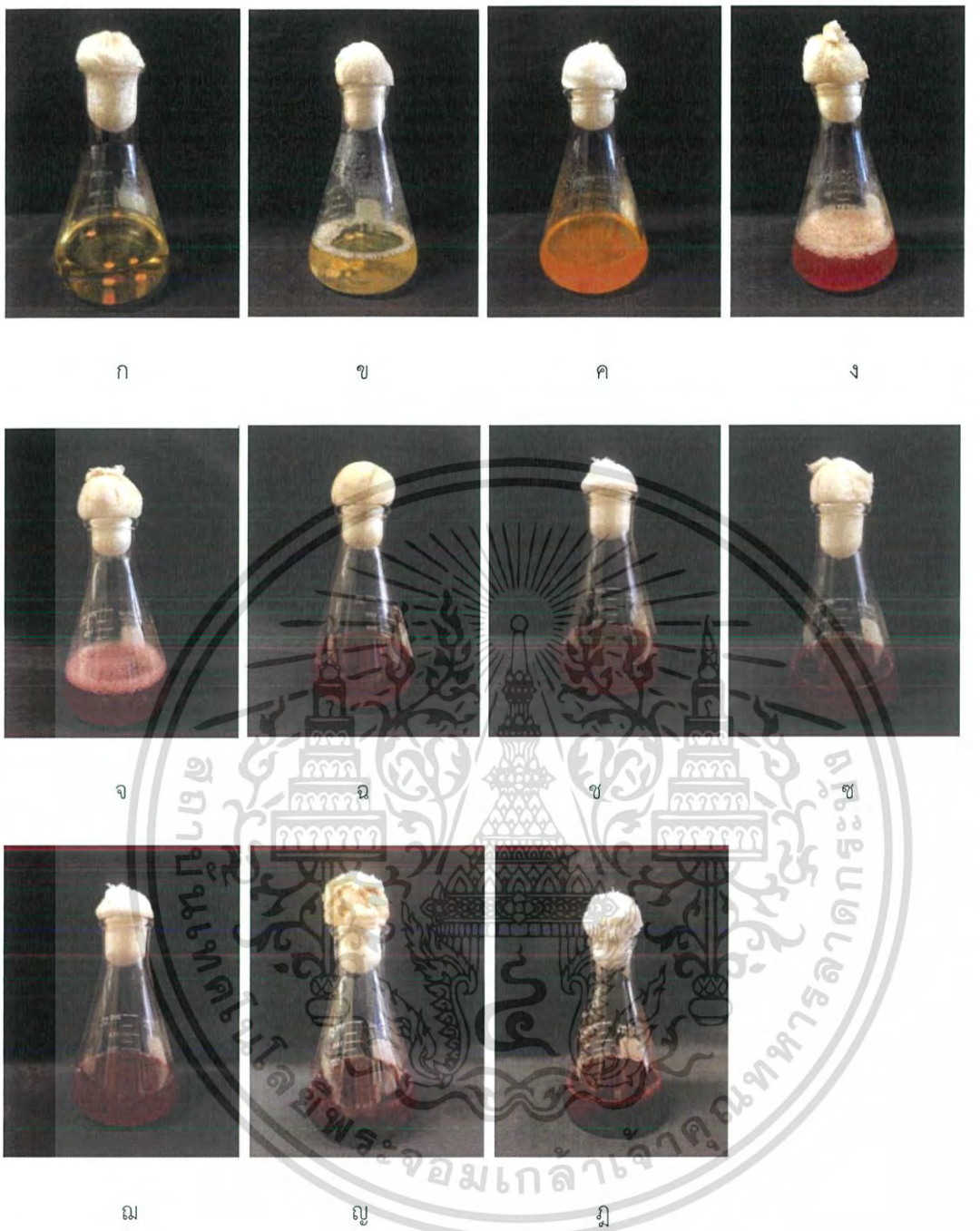
- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 9 มีค่าเท่ากับ 1.991 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 3 มีค่าเท่ากับ 0.736 unit/flask

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 9 มีค่าเท่ากับ 1.713 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 3 มีค่าเท่ากับ 0.736 unit/flask

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 9 มีค่าเท่ากับ 1.572 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 3 มีค่าเท่ากับ 0.743 unit/flask

จากค่าการดูดกลืนแสงของทั้งสามความยาวคลื่นที่แสดงในรูปที่4.13 จะเห็นว่าเชื้อรามีการเจริญเติบโตในช่วงวันที่ 1-6 และเข้าสู่ช่วง Stationary phase ในวันที่ 4

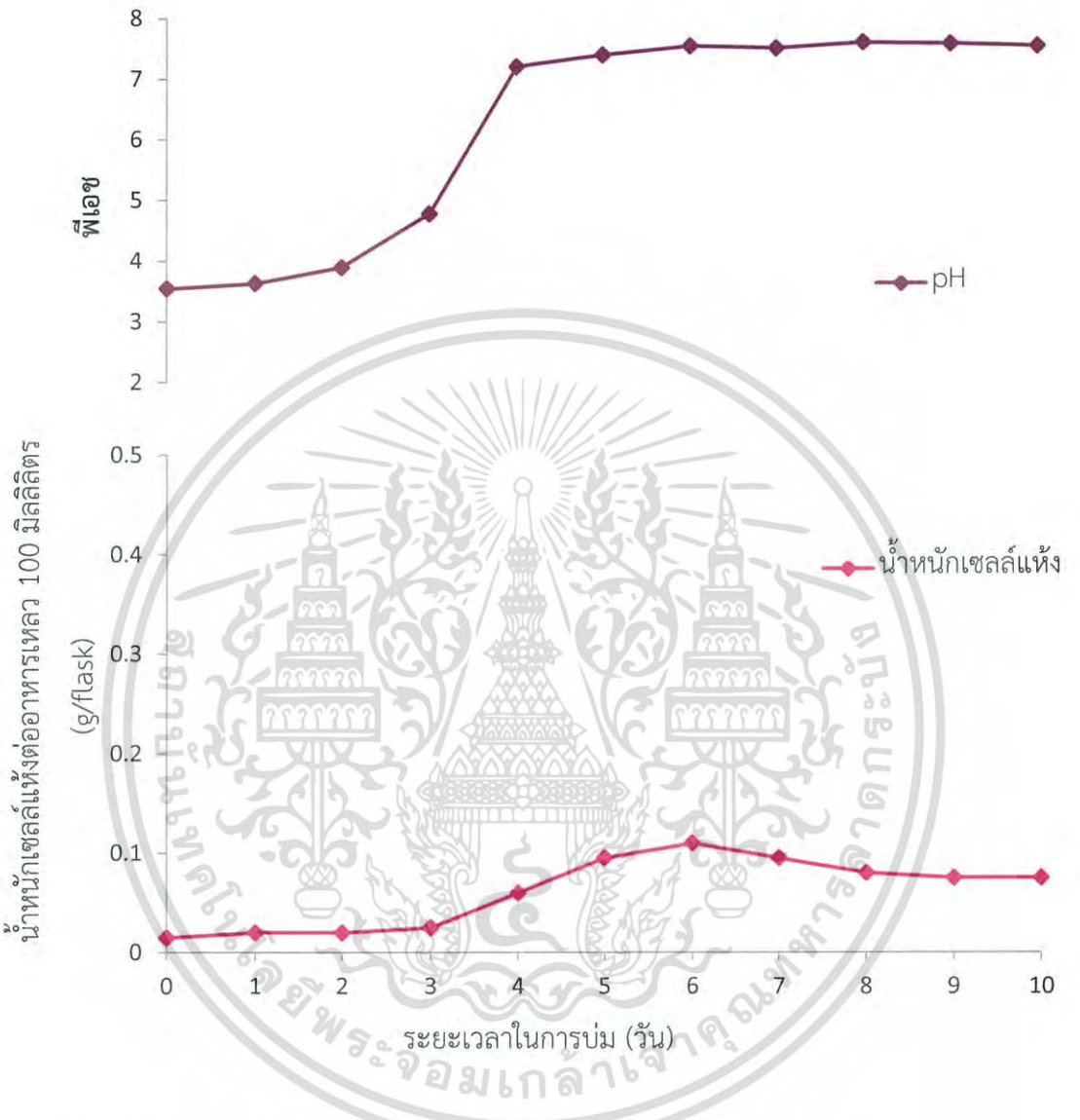
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร4 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน : วันที่ 0 (ภาพ ก.) วันที่ 1 (ภาพ ข.) วันที่ 2 (ภาพ ค.) วันที่ 3 (ภาพ ง.) วันที่ 4 (ภาพ จ.) วันที่ 5 (ภาพ ฉ.) วันที่ 6 (ภาพ ช.) วันที่ 7 (ภาพ ซ.) วันที่ 8 (ภาพ ฌ.) วันที่ 9 (ภาพ ญ.) วันที่ 10 (ภาพ ฎ.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

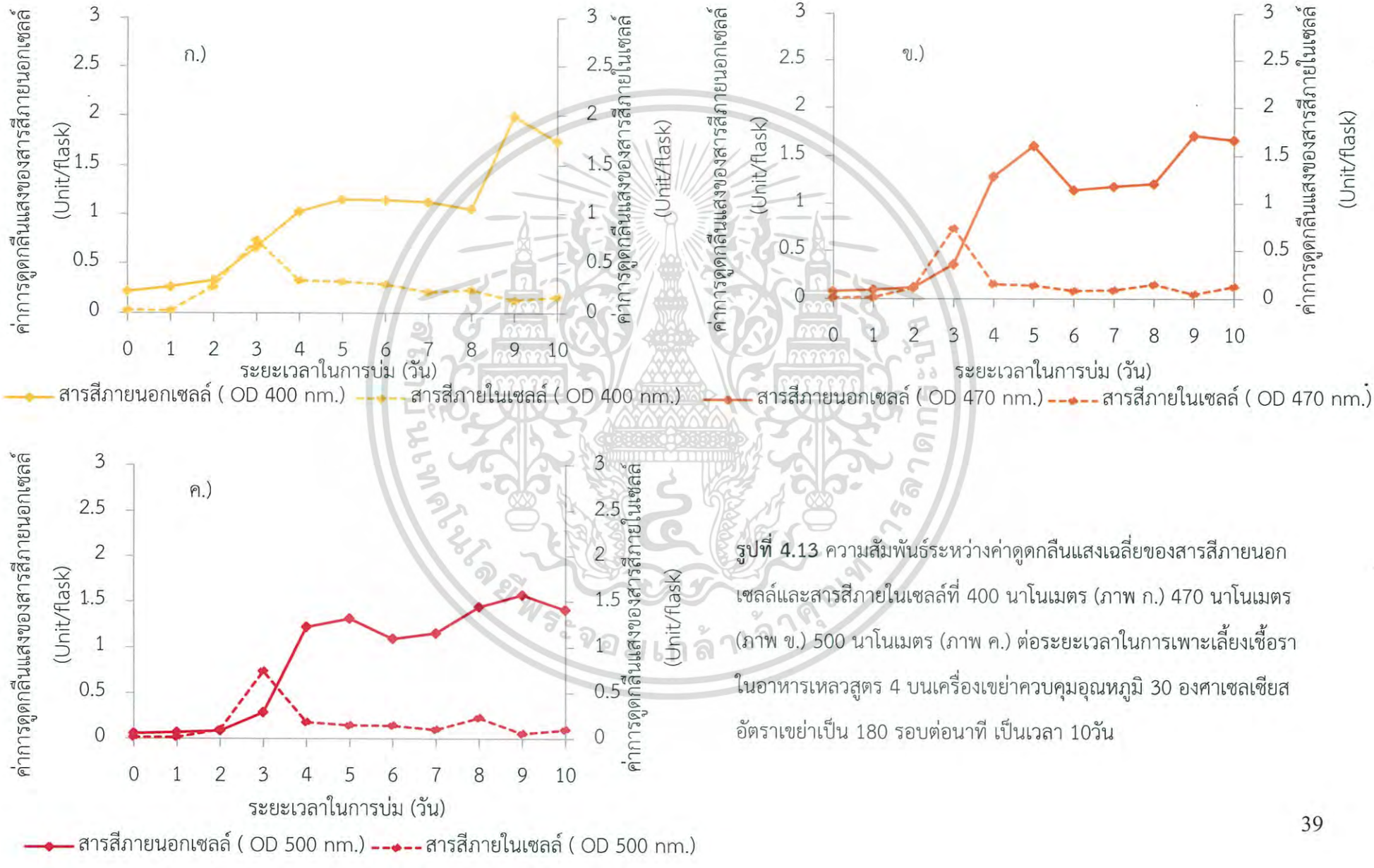
ผลของการวัดค่าพีเอช และค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน แสดงในรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.12 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอช และค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลวสูตร 4

การวัดค่าสารสีเหลืองที่ค่าการดูดกลืนแสง 400 นาโนเมตร สารสีส้มที่ค่าการดูดกลืนแสง 470 นาโนเมตร และสารสีแดงที่ค่าการดูดกลืนแสง 500 นาโนเมตร ทั้งภายนอกเซลล์และภายในเซลล์แสดงดังรูปที่ 4.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400 นาโนเมตร (ภาพ ก.) 470 นาโนเมตร (ภาพ ข.) 500 นาโนเมตร (ภาพ ค.) ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 4 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10วัน

4.5 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อรา ในอาหารเหลวสูตร 5

ทำการตัดชิ้นวุ้นของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 โดยใช้ Cork borer ขนาด 7 มิลลิเมตรตัดบริเวณปลายเชื้อราหรือขอบโคโลนี จำนวน 4 ชิ้นลงในอาหารเหลว บ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ทำการเก็บผลค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 470 500 นาโนเมตรของสารสีที่ผลิตออกมาทั้งนอกเซลล์และภายในเซลล์เป็นเวลา 10 วัน โดยค่าเฉลี่ยของผลการทดลองจะแสดงในภาคผนวก ค. ตาราง ค.5 เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่าในวันที่ 2 สีของอาหารมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยเป็นสีส้มอ่อนและจะค่อยๆเป็นสีส้มที่เข้มขึ้นในวันถัดไป ดังแสดงในรูปที่ 4.14 โดยเมื่อทำการเก็บผลการทดลองได้ผลดังนี้

- ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีค่าเท่ากับ 5.11 และค่าพีเอชสุดท้ายจะมีค่าเท่ากับ 3.77 ดังแสดงในรูปที่ 4.15

- ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งพบว่าเริ่มเข้าช่วง satationary ในวันที่ 3 และมีค่าสูงสุดในวันที่ 6 โดยมีค่าเท่ากับ 0.140 g/flask ดังแสดงในรูปที่ 4.15

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 5 มีค่าเท่ากับ 0.538 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 10 มีค่าเท่ากับ 3.770 unit/flask

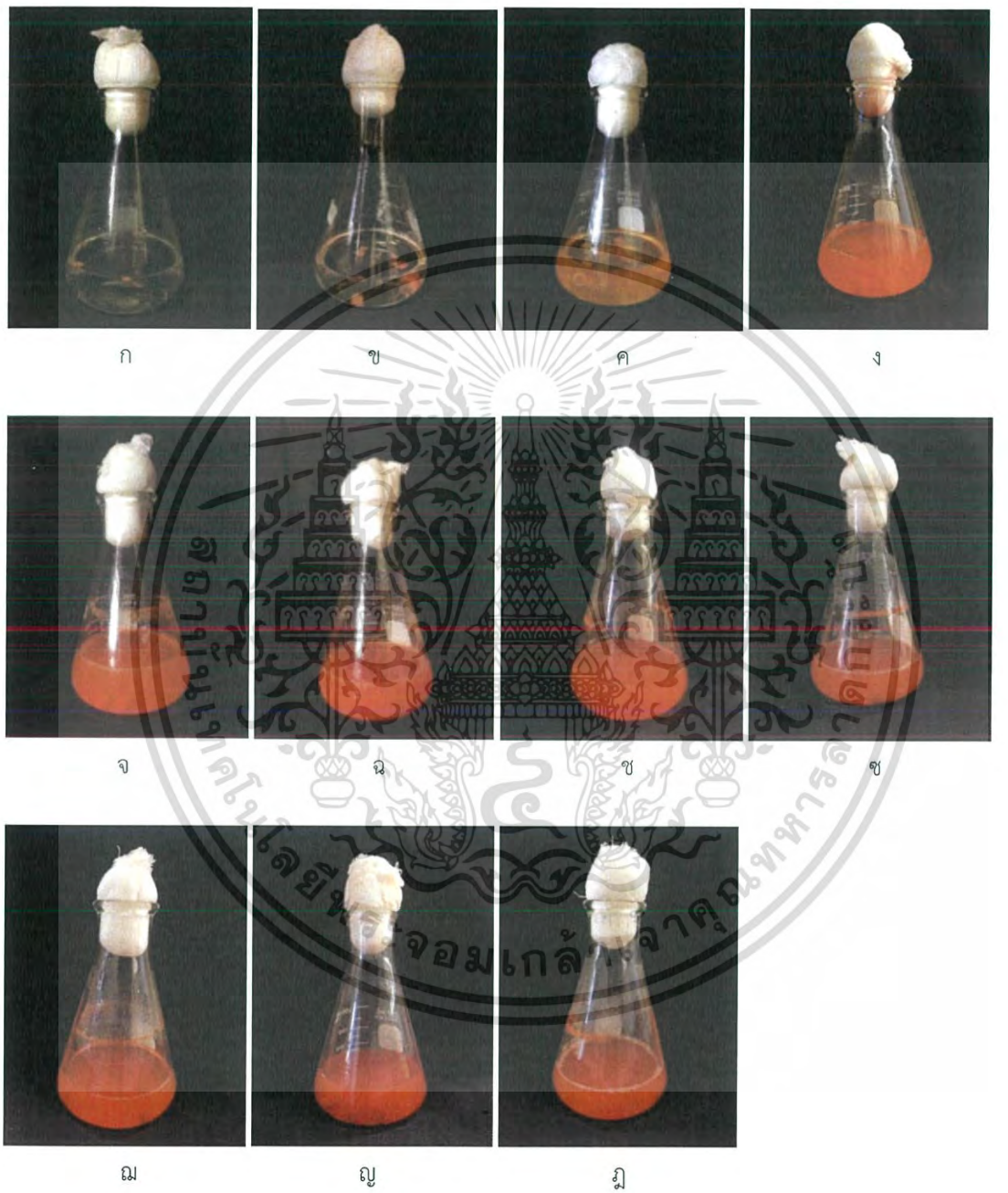
- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 5 มีค่าเท่ากับ 0.164 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 3 มีค่าเท่ากับ 3.095 unit/flask

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 5 มีค่าเท่ากับ 0.115 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 3 มีค่าเท่ากับ 3.245 unit/flask

จากค่าการดูดกลืนแสงของทั้งสามความยาวคลื่นที่แสดงในรูปที่ 4.16 จะเห็นว่าตั้งแต่วันที่ 3 จนถึงวันที่ 10 ค่าการดูดกลืนแสงจะมีค่าที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าเชื้อราเจริญเติบโตเต็มที่และผลิตสารสีในวันที่ 3 และอาหารชนิดนี้สามารถผลิตสารสีเหลืองมากที่สุดโดยวัดจากค่าการดูดกลืนแสง 400 นาโนเมตรในพีเอชที่เป็นกรดสอดคล้องกับงานวิจัยของ Manandhar และ Apinis (1971) ว่าการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

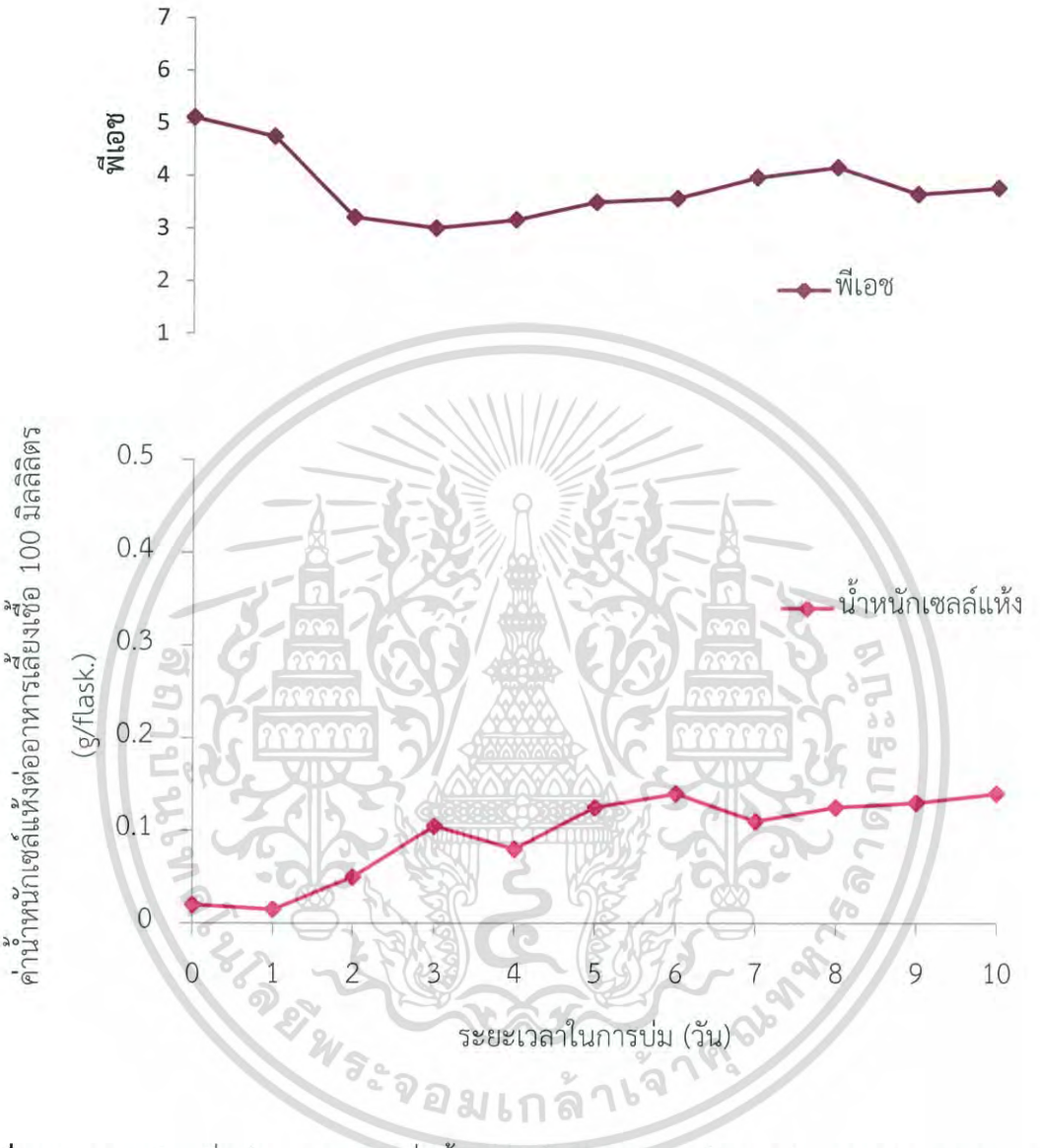
เปลี่ยนแปลงของพีเอชขณะที่เลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสจะไปมีผลต่อการผลิตสีในอาหารเหลว ถ้าพีเอชเป็นกลางเชื้อจะผลิตสีแดง แต่ถ้าพีเอชเป็นกรด เชื้อจะผลิตเหลืองและสีส้ม



รูปที่ 4.14 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 5 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน : วันที่ 0 (ภาพ ก.) วันที่ 1 (ภาพ ข.) วันที่ 2 (ภาพ ค.) วันที่ 3 (ภาพ ง.) วันที่ 4 (ภาพ จ.) วันที่ 5 (ภาพ ฉ.) วันที่ 6 (ภาพ ช.) วันที่ 7 (ภาพ ซ.) วันที่ 8 (ภาพ ฌ.) วันที่ 9 (ภาพ ญ.) วันที่ 10 (ภาพ ฎ.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

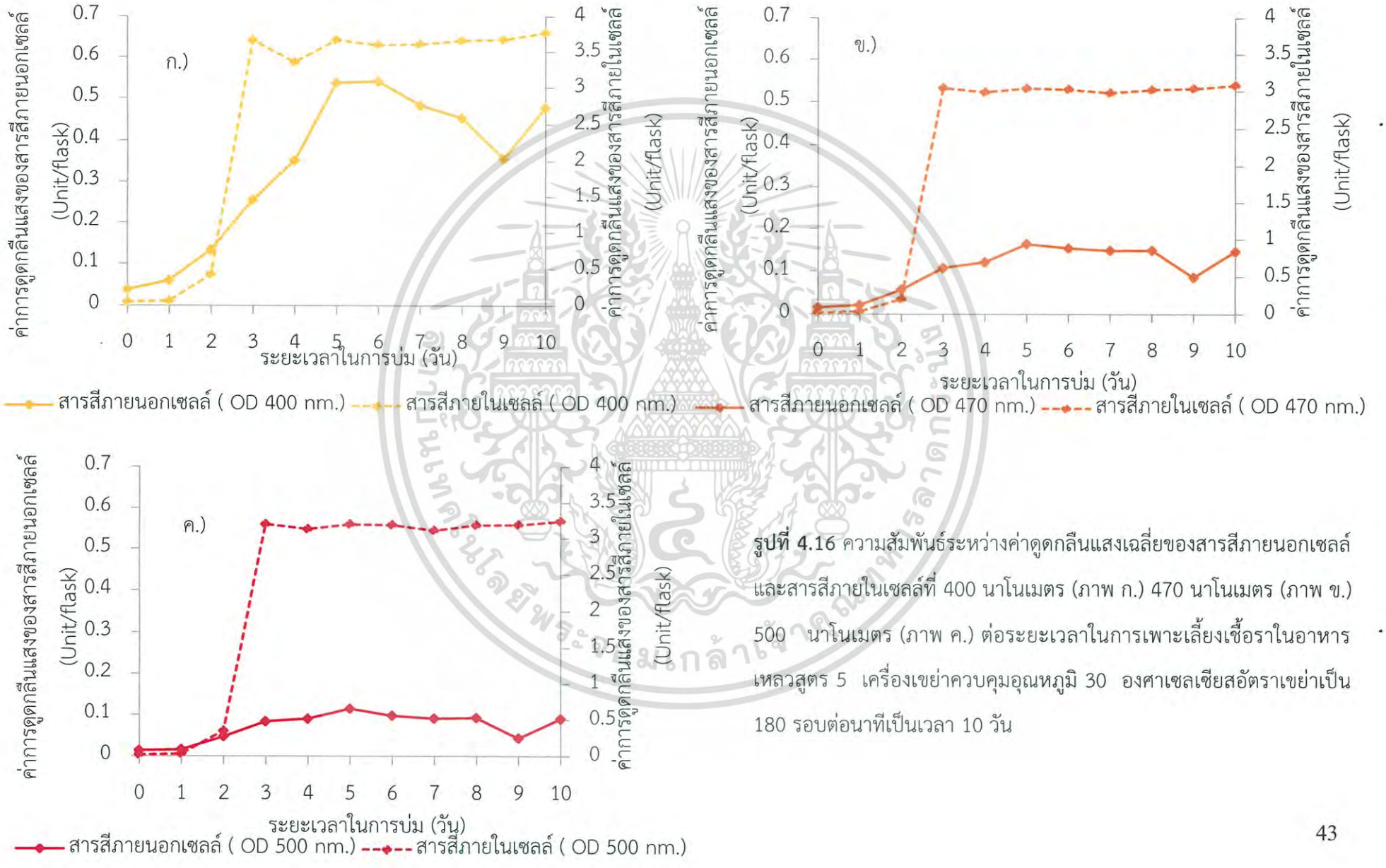
ผลของการวัดค่าพีเอช และค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน แสดงดังรูป 4.15



รูปที่ 4.15 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอช และค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลวสูตร 5

การวัดค่าสารสีเหลืองที่ค่าการดูดกลืนแสง 400 นาโนเมตร สารสีส้มที่ค่าการดูดกลืนแสง 470 นาโนเมตร และสารสีแดงที่ค่าการดูดกลืนแสง 500 นาโนเมตร ทั้งภายนอกเซลล์และภายในเซลล์แสดงดังรูปที่ 4.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400 นาโนเมตร (ภาพ ก.) 470 นาโนเมตร (ภาพ ข.) 500 นาโนเมตร (ภาพ ค.) ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 5 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 วัน

4.6 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อรา ในอาหารเหลว สูตร 6

ทำการตัดชิ้นวุ้นของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 โดยใช้ Cork borer ขนาด 7 มิลลิเมตรตัดบริเวณปลายเชื้อราหรือขอบโคโลนี จำนวน 4 ชิ้นลงในอาหารเหลว บ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ทำการเก็บผลค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 470 500 นาโนเมตรของสารสีที่ผลิตออกมาทั้งนอกเซลล์และภายในเซลล์เป็นเวลา 10 วัน โดยค่าเฉลี่ยของผลการทดลองจะแสดงในภาคผนวก ค. ตาราง ค.6 เมื่อสังเกตอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยตาเปล่าพบว่า ในวันที่ 2 สีของอาหารเปลี่ยนไปเป็นสีส้มใสจากนั้นจึงเริ่มเปลี่ยนเป็นสีแดง ดังแสดงในรูปที่ 4.17 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Carels และ Shepherd (1977) ที่ว่าสารสีแดงจะเกิดจากสารสีส้มที่เชื้อสังเคราะห์ได้ แล้วทำปฏิกิริยากับหมู่ -NH_2 ของกรดอะมิโน โดยเมื่อทำการเก็บผลการทดลองได้ผลดังนี้

- ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีค่าเท่ากับ 3.93 และค่าพีเอชสุดท้ายจะมีค่าเท่ากับ 4.18 ดังแสดงในรูปที่ 4.18

- ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งพบว่ามีค่าสูงสุดในวันที่ 10 โดยมีค่าเท่ากับ 0.140 g/flask ดังแสดงในรูปที่ 4.18

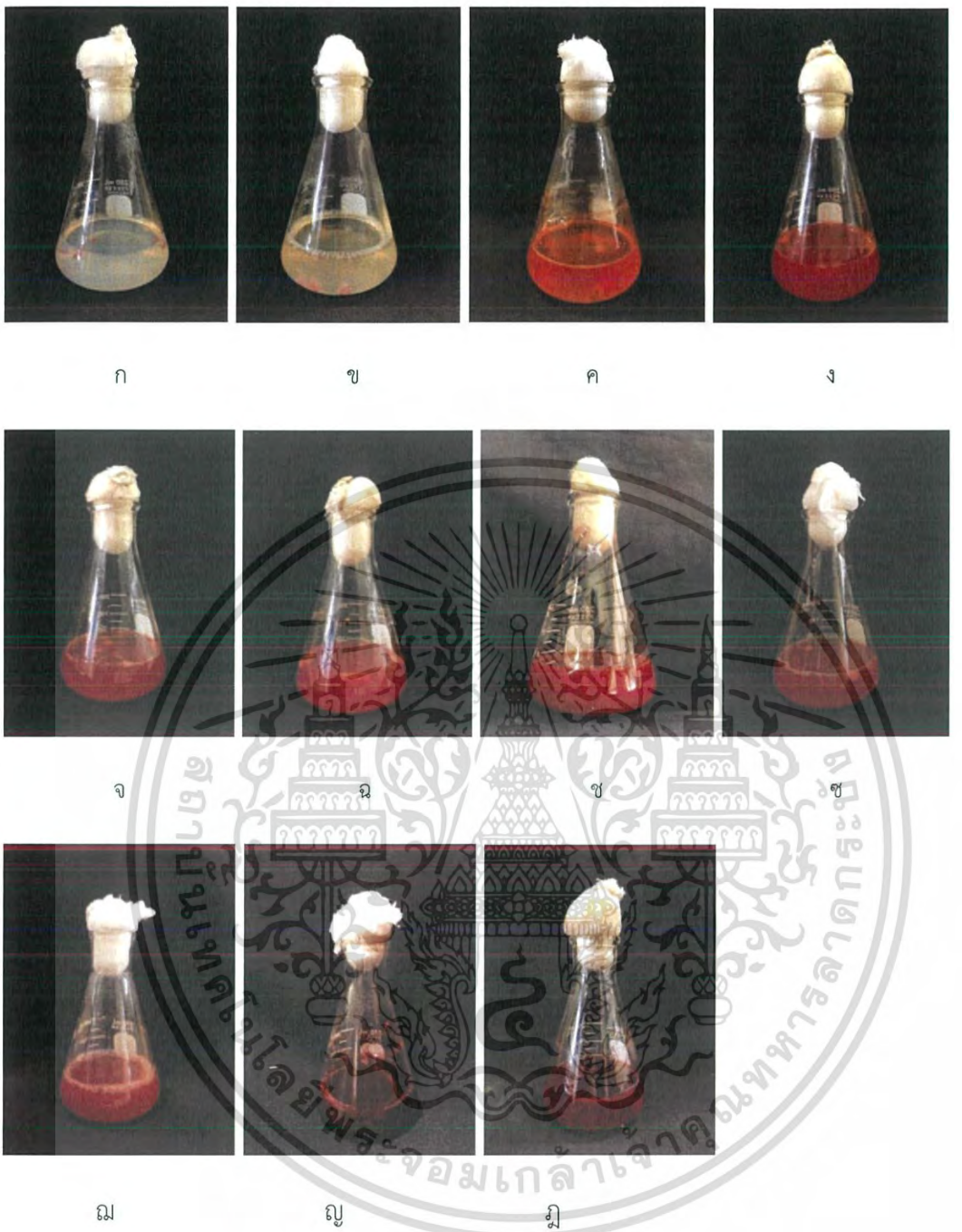
- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 9 มีค่าเท่ากับ 2.125 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ 3.877 unit/flask

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 9 มีค่าเท่ากับ 1.510 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 8 มีค่าเท่ากับ 3.094 unit/flask

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 9 มีค่าเท่ากับ 0.998 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 8 มีค่าเท่ากับ 3.117 unit/flask

โดยค่าการดูดกลืนแสงของทั้งสามความยาวคลื่นที่แสดงในรูปที่ 4.19

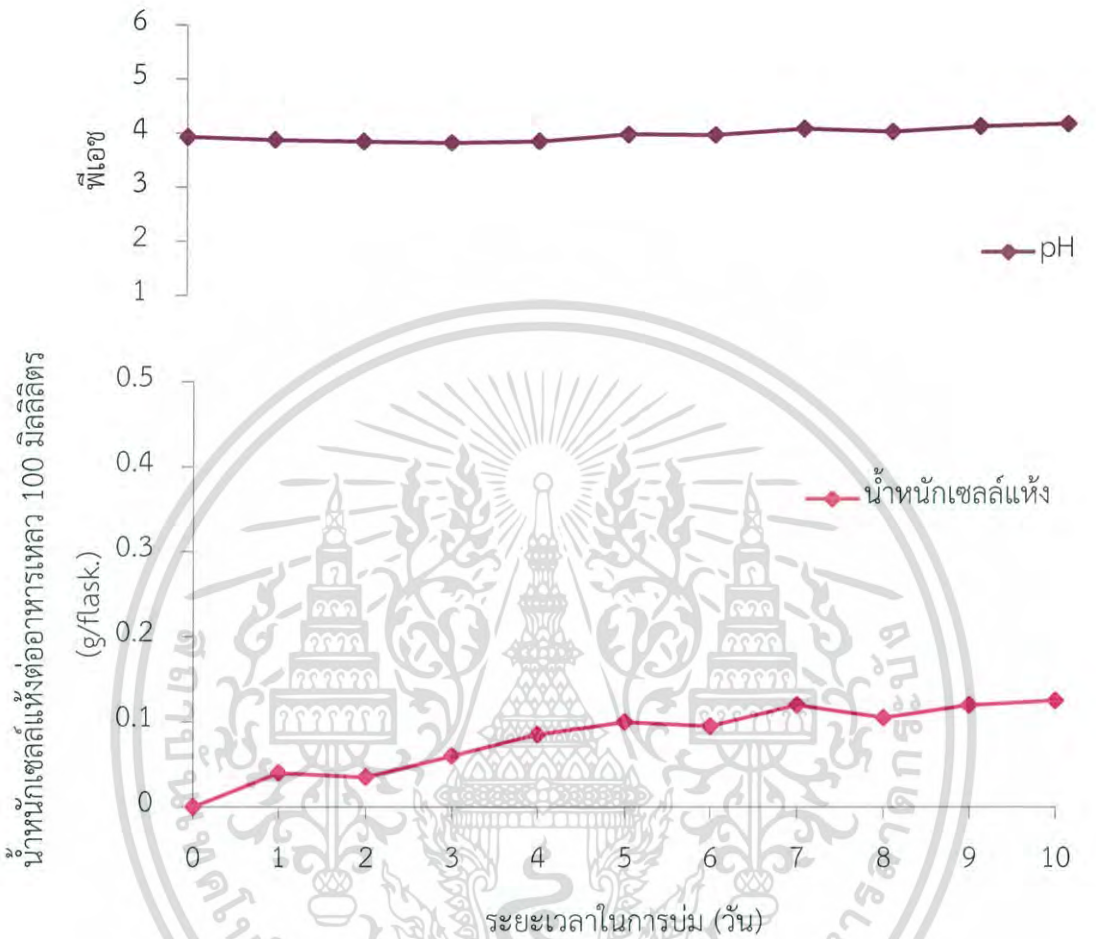
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.17 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 6 ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน : วันที่ 0 (ภาพ ก.) วันที่ 1 (ภาพ ข.) วันที่ 2 (ภาพ ค.) วันที่ 3 (ภาพ ง.) วันที่ 4 (ภาพ จ.) วันที่ 5 (ภาพ ฉ.) วันที่ 6 (ภาพ ช.) วันที่ 7 (ภาพ ซ.) วันที่ 8 (ภาพ ฌ.) วันที่ 9 (ภาพ ญ.) วันที่ 10 (ภาพ ฎ.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

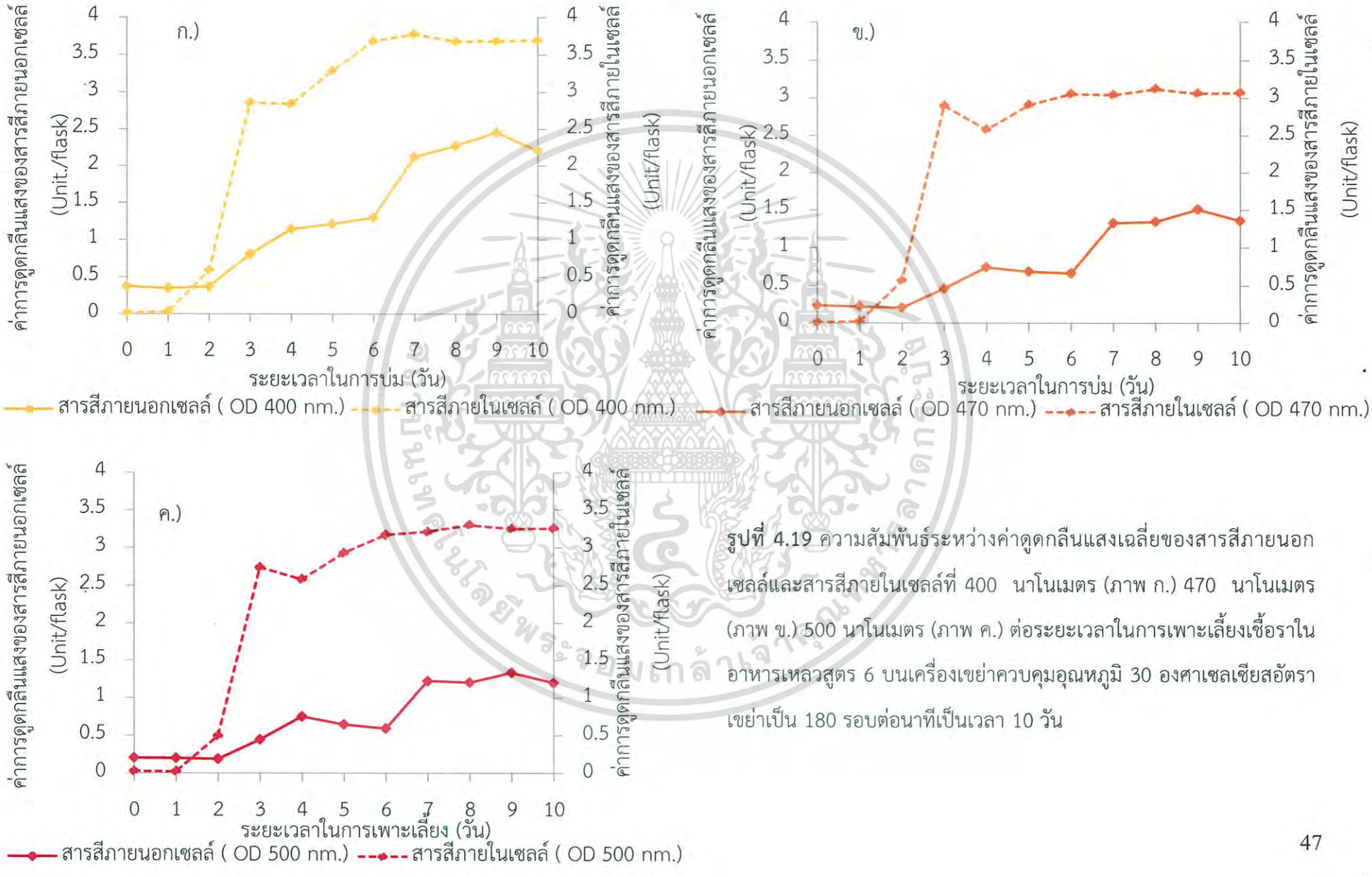
ผลของการวัดค่าพีเอช และค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน แสดดังรูป 4.18



รูปที่ 4.18 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอช และค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลว 6

การวัดค่าสารสีเหลืองที่ค่าการดูดกลืนแสง 400 นาโนเมตร สารสีส้มที่ค่าการดูดกลืนแสง 470 นาโนเมตร และสารสีแดงที่ค่าการดูดกลืนแสง 500 นาโนเมตร ทั้งภายนอกเซลล์และภายในเซลล์แสดงดังรูปที่ 4.19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.19 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400 นาโนเมตร (ภาพ ก.) 470 นาโนเมตร (ภาพ ข.) 500 นาโนเมตร (ภาพ ค.) ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 6 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 วัน

4.7 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 7

ทำการตัดชิ้นวุ้นของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 โดยใช้ Cork borer ขนาด 7 มิลลิเมตรตัดบริเวณปลายเชื้อราหรือขอบโคโลนี จำนวน 4 ชิ้นลงในอาหารเหลว บ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ทำการเก็บผลค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 470 500 นาโนเมตรของสารสีที่ผลิตออกมาทั้งนอกเซลล์และภายในเซลล์เป็นเวลา 10 วัน โดยค่าเฉลี่ยของผลการทดลองจะแสดงในภาคผนวก ค. ตาราง ค.7 เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่าในวันที่ 3 จะเห็นว่าสีของอาหารจะเปลี่ยนไปเป็นสีส้มอ่อนจนถึงสีส้มแดง ดังแสดงในรูปที่ 4.20 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Carels และ Shepherd (1977) ที่ว่าสารสีแดงจะเกิดจากสารสีส้มที่เชื้อสังเคราะห์ได้ แล้วทำปฏิกิริยากับหมู่ $-NH_2$ ของกรดอะมิโน โดยเมื่อทำการเก็บผลการทดลองได้ผลดังนี้

- ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีค่าเท่ากับ 3.05 และค่าพีเอชสุดท้ายจะมีค่าเท่ากับ 3.28 ดังแสดงในรูปที่ 4.21

- ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งพบว่ามีค่าสูงสุดในวันที่ 7 โดยมีค่าเท่ากับ 0.130 g/flask ดังแสดงในรูปที่ 4.21

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 9 มีค่าเท่ากับ 2.433 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 8 มีค่าเท่ากับ 3.779 unit/flask

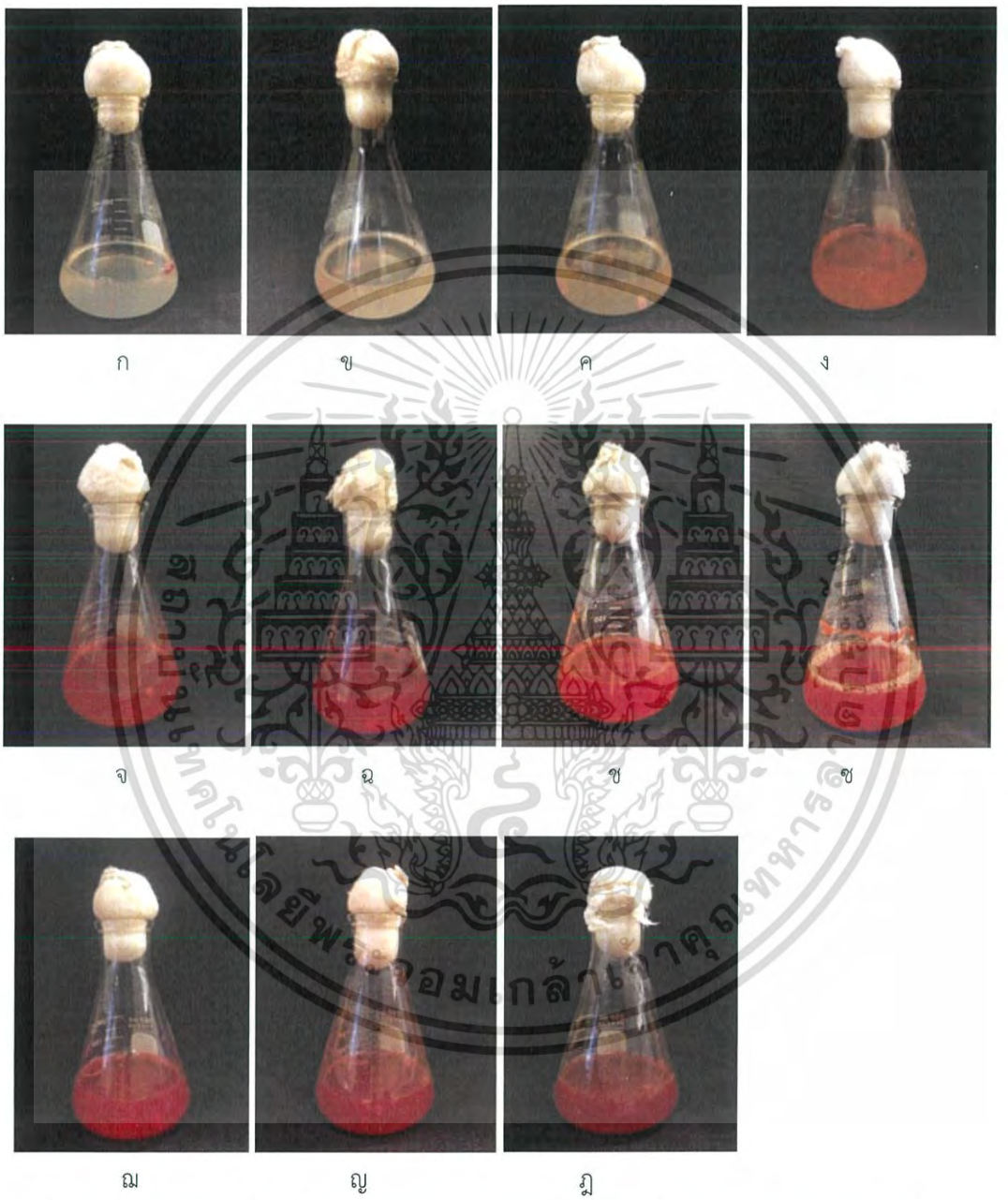
- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 9 มีค่าเท่ากับ 1.057 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 6 มีค่าเท่ากับ 3.095 unit/flask

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 9 มีค่าเท่ากับ 0.722 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 8 มีค่าเท่ากับ 3.258 unit/flask

จากค่าการดูดกลืนแสงของทั้งสามความยาวคลื่นที่แสดงในรูปที่ 4.22 จะเห็นว่าเชื้อรามีการผลิตสารสีที่ภายนอกเซลล์สูงสุดในวันที่ 8 และสารสีสะสมในเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 9 ซึ่งเมื่อเทียบกับค่าน้ำหนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

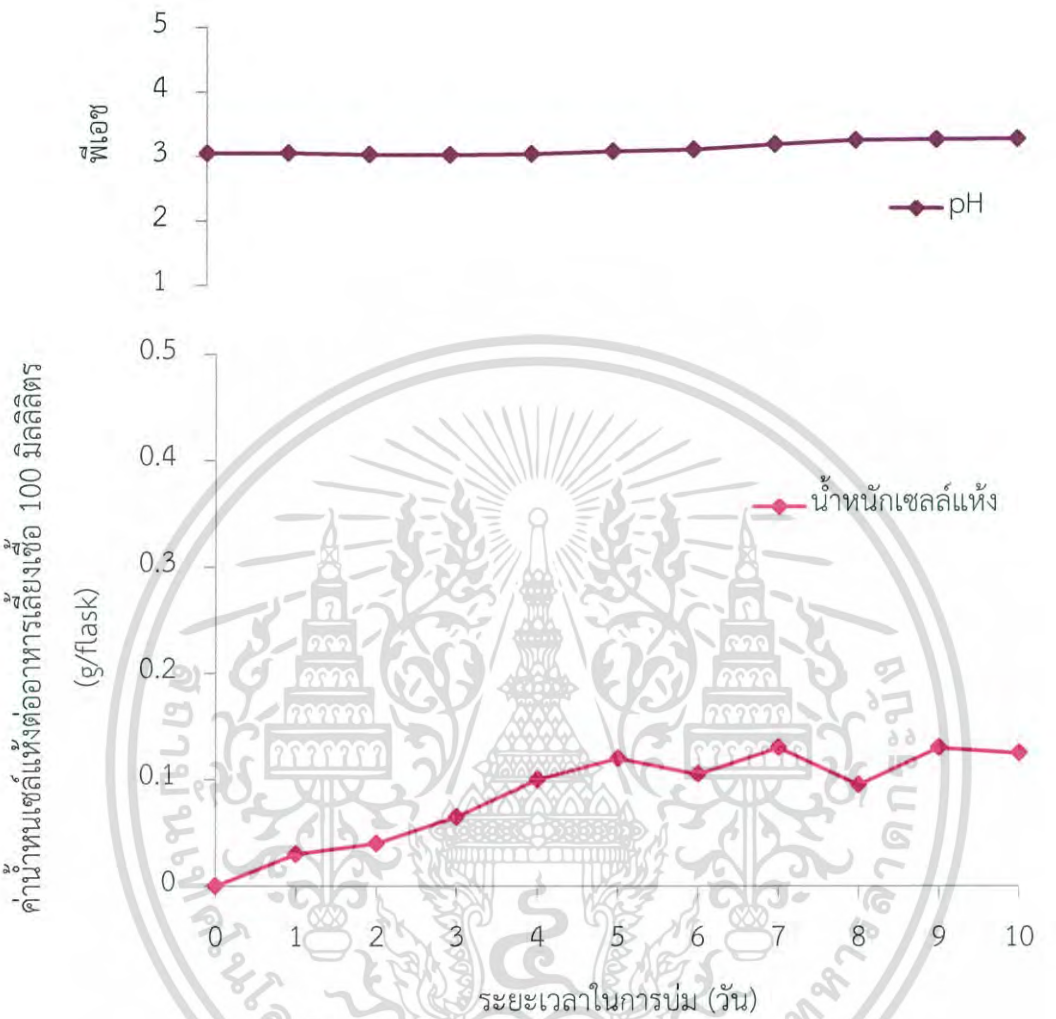
เซลล์แห้งของเชื้อราที่มีค่าสูงสุดในวันที่ 7 และคงที่ไปจนถึงวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงกับค่าการดูดกลืนแสงพบว่า การเจริญเติบโตของเชื้อราสัมพันธ์กับสารสีที่ผลิตออกมา



รูปที่ 4.20 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 7 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน : วันที่ 0 (ภาพ ก.) วันที่ 1 (ภาพ ข.) วันที่ 2 (ภาพ ค.) วันที่ 3 (ภาพ ง.) วันที่ 4 (ภาพ จ.) วันที่ 5 (ภาพ ฉ.) วันที่ 6 (ภาพ ช.) วันที่ 7 (ภาพ ซ.) วันที่ 8 (ภาพ ฌ.) วันที่ 9 (ภาพ ญ.) วันที่ 10 (ภาพ ฎ.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

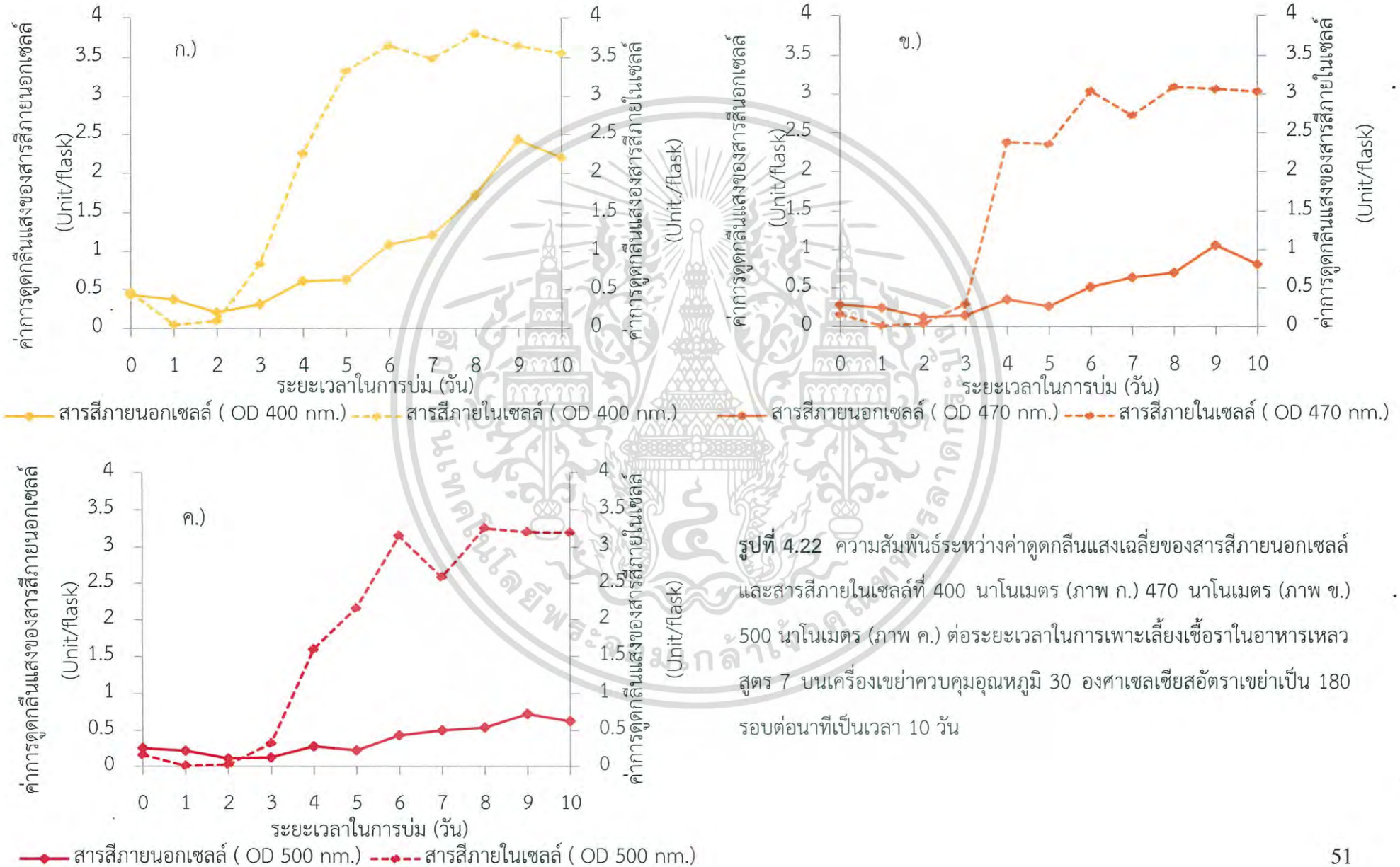
ผลของการวัดค่าพีเอช และค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วันแสดงดังรูปที่ 4.21



รูปที่ 4.21 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอชและค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลวสูตร 7

การวัดค่าสารสีเหลืองที่ค่าการดูดกลืนแสง 400 นาโนเมตร สารสีส้มที่ค่าการดูดกลืนแสง 470 นาโนเมตร และสารสีแดงที่ค่าการดูดกลืนแสง 500 นาโนเมตร ทั้งภายนอกเซลล์และภายในเซลล์แสดงดังรูปที่ 4.22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.22 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400 นาโนเมตร (ภาพ ก.) 470 นาโนเมตร (ภาพ ข.) 500 นาโนเมตร (ภาพ ค.) ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 7 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 วัน

4.8 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 8

ทำการตัดชิ้นวุ้นของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 โดยใช้ Cork borer ขนาด 7 มิลลิเมตรตัดบริเวณปลายเชื้อราหรือขอบโคโลนี จำนวน 4 ชิ้นลงในอาหารเหลว บ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ทำการเก็บผลค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 470 500 นาโนเมตรของสารสีที่ผลิตออกมาทั้งนอกเซลล์และภายในเซลล์เป็นเวลา 10 วัน โดยค่าเฉลี่ยของผลการทดลองจะแสดงในภาคผนวก ค. ตาราง ค.8 และเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่าในวันที่ 3 สีของอาหารจะเปลี่ยนไปเป็นสีส้มอ่อนจนถึงสีแดง ดังแสดงในรูปที่ 4.23 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Carels และ Shepherd (1977) ที่ว่าสารสีแดงจะเกิดจากสารสีส้มที่เชื้อสังเคราะห์ได้ แล้วทำปฏิกิริยากับหมู่ $-NH_2$ ของกรดอะมิโน โดยเมื่อทำการเก็บผลการทดลองได้ผลดังนี้

- ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีค่าเท่ากับ 3.26 และค่าพีเอชสุดท้ายจะมีค่าเท่ากับ 3.39 ดังแสดงในรูปที่ 4.24

- ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งพบว่ามีค่าสูงสุดในวันที่ 7 โดยมีค่าเท่ากับ 0.125 g/flask ดังแสดงในรูปที่ 4.24

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 9 มีค่าเท่ากับ 2.496 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 8 มีค่าเท่ากับ 3.805 unit/flask

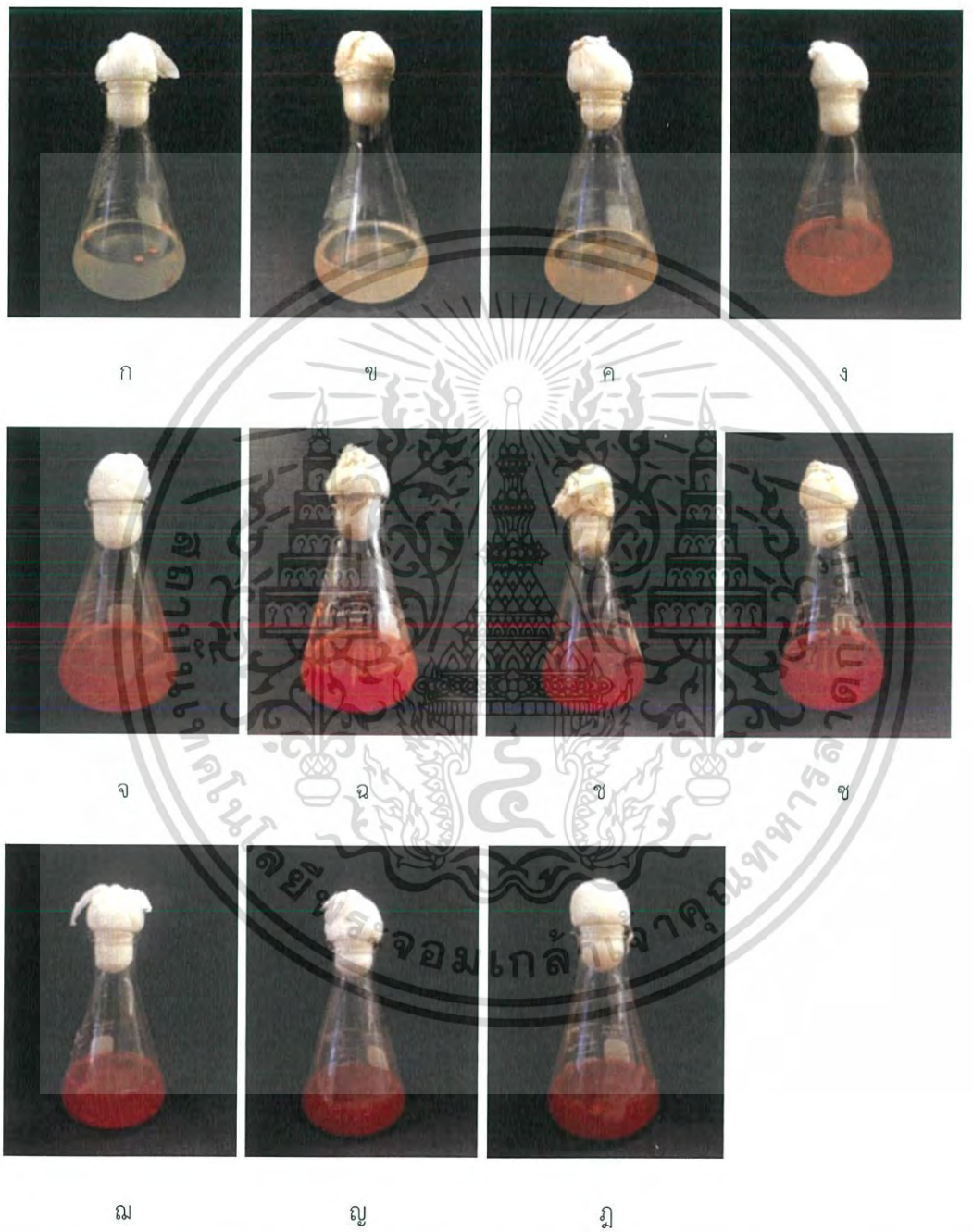
- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 9 มีค่าเท่ากับ 1.083 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 5 มีค่าเท่ากับ 3.090 unit/flask

- เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสีภายนอกเซลล์สูงที่สุดในวันที่ 9 มีค่าเท่ากับ 0.759 unit/flask และสารสีภายในเซลล์มีค่าการดูกลืนแสงสูงที่สุดในวันที่ 8 มีค่าเท่ากับ 3.269 unit/flask

จากค่าการดูดกลืนแสงของทั้งสามความยาวคลื่นที่แสดงในรูปที่ 4.25 จะเห็นว่าจากตารางที่ 5.8 พบว่ามีผลิตสีเหลืองมากที่สุด โดยวัดจากค่าดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

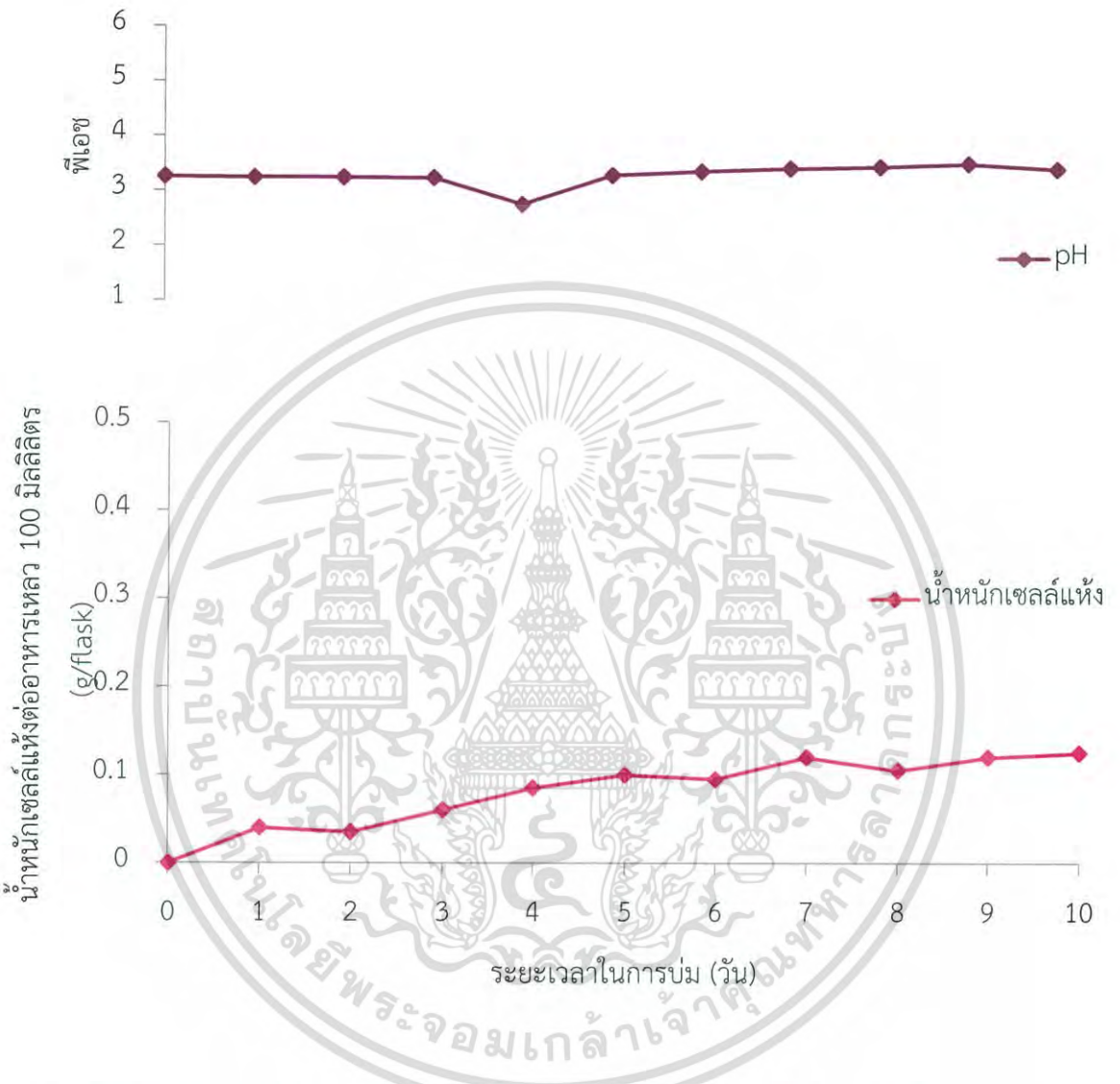
สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yongsmith และคณะ (1993) สามารถผลิตสีเหลืองได้สูงสุดในอาหารเหลวพีเอชเป็นกรด



รูปที่ 4.23 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 8 ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วัน : วันที่ 0 (ภาพ ก.) วันที่ 1 (ภาพ ข.) วันที่ 2 (ภาพ ค.) วันที่ 3 (ภาพ ง.) วันที่ 4 (ภาพ จ.) วันที่ 5 (ภาพ ฉ.) วันที่ 6 (ภาพ ช.) วันที่ 7 (ภาพ ซ.) วันที่ 8 (ภาพ ฌ.) วันที่ 9 (ภาพ ญ.) วันที่ 10 (ภาพ ฎ.)

เอกสารนี้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ใช้เพื่อการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

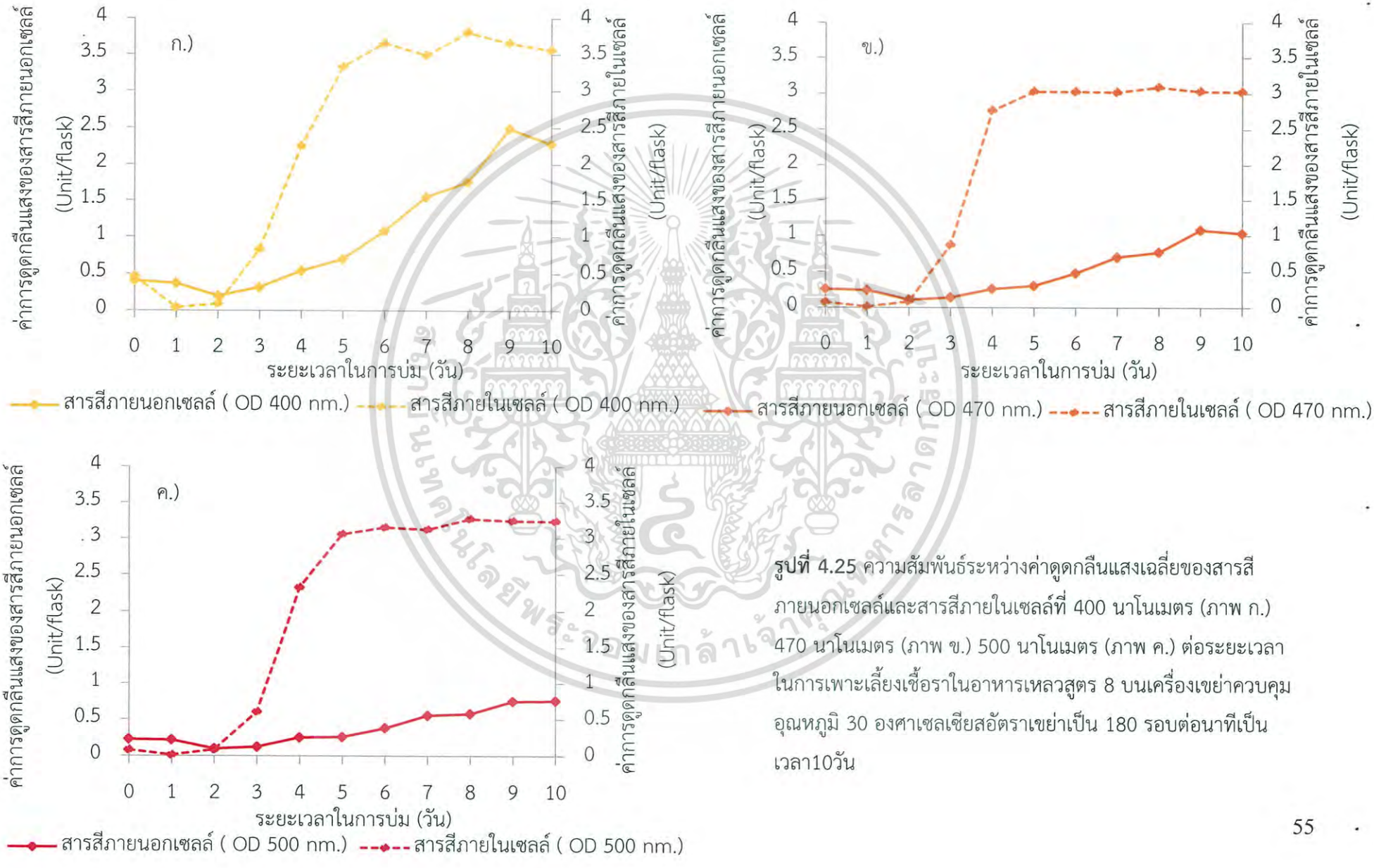
ผลของการวัดค่าพีเอช และค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ทำการเก็บผลการทดลองเป็นเวลา 10 วันแสดงดังรูปที่ 4.24



รูปที่ 4.24 แสดงค่าเฉลี่ยพีเอชและค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่อระยะเวลาในการบ่มของอาหารเหลวสูตร 8

การวัดค่าสารสีเหลืองที่ค่าการดูดกลืนแสง 400 นาโนเมตร สารสีส้มที่ค่าการดูดกลืนแสง 470 นาโนเมตร และสารสีแดงที่ค่าการดูดกลืนแสง 500 นาโนเมตร ทั้งภายนอกเซลล์และภายในเซลล์แสดงดังรูปที่ 4.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.25 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสีภายนอกเซลล์และสารสีภายในเซลล์ที่ 400 นาโนเมตร (ภาพ ก.) 470 นาโนเมตร (ภาพ ข.) 500 นาโนเมตร (ภาพ ค.) ต่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร 8 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอัตราเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา10วัน

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 การศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ในอาหารเหลวสูตรต่างๆ

ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการนำอาหารเลี้ยงเชื้อมากรองแล้วนำไปทำการอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเพื่อให้ได้ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง จากตารางที่ 5.1 พบว่า ในอาหารเหลวที่ 2 มีค่าที่ 0.310 g/flask ให้ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุด รองลงมาคืออาหารเหลวสูตรที่ 1 มีค่าที่ 0.305 g/flask เนื่องจากอาหารทั้งสองสูตรนี้มีสารอาหารที่จำเป็นในการเจริญของเชื้อรามากเพียงพอจึงทำให้เชื้อราโมแนสคัสเจริญเติบโตดีทำให้มีการปล่อยสารสีออกมามากขึ้นด้วย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Su และ Huang (1980) พบว่ามีการปล่อยสารสีจากเส้นใยเชื้อราโมแนสคัสสร้างขึ้นจะถูกขับออกมาตามช่องหรือรอยแตกของผนังเส้นใยในบางครั้ง เมื่อขับออกมาแล้วสารสียังคงติดอยู่กับปลายเส้นใยและจะสะสมจนมีจำนวนมากก่อนหลุดจากเส้นใยสารสีบางส่วนสะสมอยู่ภายในเส้นใยด้วย เมื่อมีเซลล์แห้งจำนวนมากก็ผลิตสารสีที่มีปริมาณมาก และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yongsmith และคณะ (1993) ที่ศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจน 3 ชนิด คือ สารสกัดยีสต์ เปปโตน และสารสกัดมอลท์ ต่อการเจริญและการสร้างสารสีเหลืองของเชื้อราสายพันธุ์ป่า *Monascus* sp KB10 พบว่าเปปโตนมีผลกระตุ้นการสร้างสารสีโดยตรง แต่สารสกัดยีสต์สามารถส่งเสริมการเจริญมากกว่าการสร้างสารสีส่วนสารสกัดมอลท์มีผลต่อการเจริญและการสร้างสารสีน้อยกว่าแหล่งไนโตรเจนอื่น และในอาหารเหลวสูตรที่ 3 และ 4 ให้ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งต่ำที่สุดเนื่องจากองค์ประกอบของอาหารมีแหล่งคาร์บอนน้อยจึงทำให้เชื้อราโมแนสคัสมีการเจริญเติบโตได้ไม่เต็มที่ทำให้น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้มีค่าค่อนข้างต่ำ ส่วนในอาหารสูตรที่ 5 6 7 และ 8 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้มีค่าใกล้เคียงกันและเมื่อนำมาเทียบกับอาหารสูตร 1 และ 2 พบว่าในอาหารสูตรที่ 5 6 7 และ 8 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งต่ำกว่าอาหารเหลวสูตร 1 และ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.1 แสดงผลรวมของน้ำหนักเซลล์แห้งตามระยะเวลา 10 วัน ในอาหารชนิดต่างๆ

	เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ชนิดอาหาร							
		สูตร1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6	สูตร 7	สูตร 8
ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	0	0.030	0.025	0.020	0.015	0.020	0.000	0.000	0.000
	1	0.020	0.050	0.010	0.020	0.015	0.030	0.030	0.04
	2	0.016	0.110	0.035	0.020	0.050	0.050	0.040	0.035
	3	0.225	0.130	0.080	0.025	0.105	0.065	0.065	0.06
	4	0.230	0.220	0.095	0.060	0.080	0.090	0.100	0.085
	5	0.270	0.245	0.095	0.095	0.125	0.065	0.120	0.100
	6	0.255	0.280	0.110^{b}	0.110^{a}	0.140^{c}	0.080	0.105	0.095
	7	0.280	0.310^{d}	0.105	0.095	0.110	0.115	0.130^{bc}	0.120
	8	0.305^{d}	-	-	0.080	0.125	0.140^{c}	0.095	0.105
	9	0.255	-	-	0.075	0.130	0.140^{c}	0.130^{bc}	0.120
	10	0.225	-	-	0.075	0.140^{c}	0.105	0.125	0.125^{bc}

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งที่มากที่สุดของอาหารแต่ละชนิด

5.1.2 การศึกษาการผลิตสารสีทั้งหมดของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ในอาหารเหลวต่างๆ

ผลรวมทั้งหมดผลิตสารสีเหลือง ส้มและแดง หาได้จากค่าการดูดกลืนแสงทั้งภายนอกเซลล์และภายในเซลล์รวมกันในแต่ละความยาวคลื่น โดยสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

-สารสีเหลืองที่ค่าการดูดกลืนแสง 400 นาโนเมตร อาหารเหลวสูตร8 มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 6.153 ในวันที่ 9 และอาหารเหลวสูตร6, สูตร7 ตามลำดับโดยมีค่าไม่ต่างกัน แสดงในตารางที่ 5.2 มีการผลิตสารสีเหลืองภายนอกและสารสีภายในเซลล์มากกว่าอาหารชนิดอื่น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวรรณภา (2529) และสมชาย (2536) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อใช้เปปโตนความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับกรดกลูตามิกจะให้สีเหลืองสูงสุดเมื่อพีเอชเป็นกรด

-สารสีส้มที่ค่าการดูดกลืนแสง 470 นาโนเมตร อาหารเหลวสูตร1 มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 4.963 ในวันที่ 4 แสดงในตารางที่ 5.3

- สีแดงที่การดูดกลืนแสง 500 นาโนเมตร อาหารเหลวสูตร1 มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 5.524 ในวันที่ 7 แสดงในตารางที่ 5.4 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Broder และ Kochler (1980) พบว่ายีสต์เอกซ์แทรคมีผลต่อการผลิตสารสีแดงและงานวิจัยของ Carels และ Shepherd (1977) พบว่าเมื่อแหล่งไนโตรเจนเป็นยีสต์เอกซ์แทรคจะผลิตสีแดง เนื่องจากอาหารมีกรดอะมิโนมากเพียงพอ เมื่อเชื้อเจริญจะทำให้พีเอชสูงขึ้นสารสีจึงสามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนอิสระ (NH_2 group) ที่อยู่ภายในเส้นใยเปลี่ยนเป็นสารอนุพันธ์เอมีนได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.2 แสดงผลรวมของสารสีเหลืองทั้งหมด (วัดที่ 400 นาโนเมตรทั้งภายในและภายนอกเซลล์) ตามระยะเวลา 10 วัน ในอาหารชนิดต่างๆ

	เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ชนิดอาหาร							
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6	สูตร 7	สูตร 8
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 นาโนเมตร	0	0.693	2.1685	0.261	0.248	0.087	0.395	0.610	0.874
	1	0.684	1.4445	0.245	0.293	0.123	0.393	0.510	0.417
	2	1.050	0.6295	0.623	0.594	0.555	0.966	0.256	0.295
	3	3.402	0.851	0.592	1.399	3.925	3.672	0.867	1.154
	4	5.531	3.1265	1.006	1.358	3.709	3.983	2.390	2.797
	5	6.1133^{d}	3.8925	1.069	1.473	4.207	4.501	2.875	4.033
	6	5.152	4.352	1.016	1.437	4.143	4.982	4.762	4.744
	7	5.452	5.7955^{d}	1.109^{a}	1.342	4.095	5.902	4.000	5.040
	8	5.192	-	-	1.288	4.117	5.958	5.504	5.565
	9	5.143	-	-	2.123^{b}	4.033	6.142^{d}	6.119^{d}	6.153^{d}
	10	5.423	-	-	1.906	4.249^{c}	5.910	5.775	5.849

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหารแต่ละชนิดที่มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 นาโนเมตร

ตารางที่ 5.3 แสดงผลรวมของสารสีส้มทั้งหมด (วัดที่ 470 นาโนเมตรทั้งภายในและภายนอกเซลล์) ตามระยะเวลา 10 วัน ในอาหารชนิดต่างๆ

	เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ชนิดอาหาร							
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6	สูตร 7	สูตร 8
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 470 นาโนเมตร	0	0.293	1.636	0.345	0.096	0.036	0.249	0.434	0.337
	1	0.268	1.221	0.086	0.113	0.054	0.251	0.253	0.256
	2	0.524	0.314	0.120	0.237	0.256	0.783	0.160	0.199
	3	2.341	0.668	0.202	1.096	3.150	3.367	0.432	1.017
	4	4.963[f]	1.627	0.785	1.445	3.107	3.325	2.724	3.029
	5	4.520	2.229	0.758	1.750	3.202	3.596	2.609	3.334
	6	4.428	2.928	0.703	1.230	3.179	3.720	3.555	3.509
	7	4.674	4.508[e]	0.801[a]	1.275	3.126	4.370	3.356	3.726
	8	4.322	-	-	1.364	3.169	4.462	3.793	3.863
	9	4.436	-	-	1.764	3.123	4.571[e]	4.126[d]	4.114[d]
	10	4.541	-	-	1.794[b]	3.226[c]	4.427	3.842	4.062

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ [a,b,c] คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหารแต่ละชนิดที่มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ 470 นาโนเมตร

ตารางที่ 5.4 แสดงผลรวมของสารสีแดงทั้งหมด (วัดที่ 500 นาโนเมตรทั้งภายในและภายนอกเซลล์) ตามระยะเวลา 10 วัน ในอาหารชนิดต่างๆ

	เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ชนิดอาหาร							
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6	สูตร 7	สูตร 8
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร	0	0.252	1.501	0.087	0.073	0.030	0.229	0.411	0.307
	1	0.212	1.075	0.065	0.083	0.045	0.222	0.225	0.229
	2	0.467	0.366	0.106	0.187	0.394	0.681	0.132	0.185
	3	2.610	0.647	0.154	1.032	3.286	3.183	0.443	0.728
	4	5.477	1.915	0.439	1.405	3.224	3.334	1.872	2.579
	5	5.266	2.746	0.692[a]	1.462	3.315	3.572	2.380	3.313
	6	5.139	2.897	0.638	1.242	3.288	3.761	3.584	3.532
	7	5.524[f]	4.757[e]	0.692[a]	1.258	3.207	4.432	3.087	3.677
	8	5.060	-	-	1.671[b]	3.283	4.500	3.795	3.849
	9	5.164	-	-	1.629	3.237	4.584[e]	3.929[d]	3.993[d]
	10	5.398	-	-	1.505	3.335[c]	4.452	3.823	3.993[d]

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ [a,b,c] คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหารแต่ละชนิดที่มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร

5.2 ข้อเสนอแนะ

1.การทำอาหารเลี้ยงเชื้ออาจใช้แป้งสาลีแทนแป้งมันสำปะหลัง เพราะเมื่อใช้แป้งสาลีเป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่ามีการผลิตสารสีที่สูง โดยมีค่าการดูดกลืนแสงมากเกินที่จะวัดค่าในแต่ละช่วงความยาวคลื่นได้จึงควรทำการเจือจางสารละลายก่อนทำการวัดค่า แต่การใช้แป้งสาลีนั้นมีผลกับการหาค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเนื่องจากมีปริมาณแป้งตกค้างที่กระดาษกรองเป็นจำนวนมาก

2.อาจใส่กรดกลูตามิกลงในอาหารสูตรที่ต้องการผลิตสารสีเหลือง โดยจากการทดลองพบว่าในสูตรอาหารที่ใส่กรดกลูตามิกลงในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ค่าพีเอชตั้งแต่เริ่มเลี้ยงเชื้อจนสิ้นสุดการเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนไปไม่มากและยังสามารถผลิตสารสีเหลืองได้ปริมาณมาก

3.การปรับค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อควรทำหลังจากฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งความดันไอโดยนำสารที่ใช้ปรับค่าพีเอชไปฆ่าเชื้อด้วย อาจทำทีละฟลาก์โดยวัดค่าพีเอช หาปริมาตรสารที่ปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วงที่ต้องการ เมื่อทราบปริมาตรแล้วนำสารที่ใช้ปรับค่าพีเอชใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อในฟลาส์กที่เหลือด้วยวิธีการปลอดเชื้อ เพราะถ้าปรับพีเอชก่อนเมื่อค่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งความดันไอแล้วอาจทำให้ค่าพีเอชมีการเปลี่ยนแปลงได้

4. ในขั้นตอนการหาปริมาณสารสีภายนอกเซลล์ ภายหลังจากที่ฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งความดันไอมักพบเศษอาหารเลี้ยงเชื้อหรือเศษฝุ่นผงปนเปื้อน และการหาปริมาณสารสีภายในเซลล์ มักมีเศษกระดาษกรองหรือเศษเส้นใยอยู่ ดังนั้นก่อนนำมาวัดปริมาณสารสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ควรทำการกรองหรือการหมุนเหวี่ยงก่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ชนาพร และคณะ. 2552. **การยับยั้งการหืนของผลิตภัณฑ์กุนเชียงโดยใช้เมล็ดขนุนที่หมักด้วยเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090.** วิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ชยุต ขรุรัมย์. 2557. **การสร้างสารสีและสารลดคอเลสเตอรอลบนมนสำปะหลังโดยเชื้อราโมแนสคัสด้วยวิธีหมักแบบแข็ง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธวัชชัย และคณะ. 2555. **การผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* และการประยุกต์ใช้ในการทำลิปสติก**. วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีวอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

บุษบา ยงสมิทธ์. 2542. **จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี**. กรุงเทพฯ : ภาควิชาจุลชีววิทยาคณะวิทยาศาสตร์สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุษบา ยงสมิทธ์ และ วรณภา ทาบโลกา. 2527. **การใช้ประโยชน์มันสำปะหลังในการผลิตสีผสมอาหารและเอนไซม์ย่อยแป้งโตยเชื้อราโมแนสคัสในสภาพหมักเปียก.** การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 22. กรุงเทพฯ. 451-452 น.

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

รดา และคณะ. 2559. **อิทธิพลของอาหารเหลว 3 ต่อการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureous* SS14**. วิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะ วิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระ จอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สมชาย ไกรรักษ์. 2536. **ศักยภาพของเชื้อราโมแมสคัสกลายพันธุ์ชนิดใหม่ในการผลิตสีเหลืองธรรมชาติ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

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

Bridge, 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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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.

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

Daehwan K. and Seockmo K. 2018. **Beneficial Effects of *Monascus* sp. KCCM 10093 Pigments and Derivatives.** Molecules 2018, 23(1), 98

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.

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 millennium of fungi, food and Fermentation.** Mycologia 57: 179-181

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.

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 conditions of *Monascus* sp. for the production of pigment in a submerged culture.** J. Ferment. Technol.51(6) : 407– 414.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 Eviron. Microbiol. 43 (3) : 671-676

Lin C.F. and lizuka H. 1982. **Production of extracellular pigment by a mutant of *Monascus kaoliang* sp.** nov. Appl. Environ. Microbiol. 43 : 671–676.

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) : 467-472

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

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

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

Shepherd D, Carels M. 1983. **Product formation and differentiation in fungi. I n: Smith JE (ed) Fungal differentiation.** Dekker, New York, pp 515–535

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

Sweery, 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 1,4,6 tridioxynapthalean,** J. Agric. Food chem.. 29 (6) : 1189-1193

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

Van Tiegham 1884. ***Monascus* genre nouveau de l'ordre des Ascomycetes.** Bulletin de la Société Botanique de France. 31:226-231.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

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

Young, E. M. 1930. **Physiological studies in relation to the taxonomy of *Monascus* spp.** Transactions of the Wisconsin Academy of Sciences, Arts and Letters Vol.25 pp.227-244

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทร์

1.1ส่วนประกอบของอาหารแข็ง PDA (Potato dextrose agar)

อาหารสูตร Potato dextrose broth	24 กรัมต่อลิตร
วุ้น	17 กรัมต่อลิตร

วิธีการ ทำการต้มน้ำกลั่น ใส่อาหารสูตร Potato dextrose broth ทำการละลายวุ้นในน้ำกลั่นก่อน จากนั้นผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ต้มจนวุ้นละลาย เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่เครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

1.2 ส่วนประกอบของอาหารเหลวสูตร 1

แป้งมันสำปะหลัง	1.0%
Peptone	0.5%
Malt extract	0.3%
Yearst extract	0.3%

1.3 ส่วนประกอบของอาหารเหลวสูตร 2

แป้งข้าวโพด	1.0%
Peptone	0.5%
Malt extract	0.3%
Yearst extract	0.3%
โปแตสเซียมไนเตรต	1.9%

1.4 ส่วนประกอบของอาหารเหลวสูตร 3

Peptone	0.5%
Malt extract	0.3%
Yearst extract	0.3 %
โปแตสเซียมไนเตรต	1.9%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ นำส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันยกเว้นแป้ง ทำการให้ความร้อน จากนั้นทำการละลายแป้งในน้ำกลั่น แล้วผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่เครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

1.5 ส่วนประกอบของอาหารเหลวสูตร 4

Peptone	0.5%
Malt extract	0.3 %
Yearst extract	0.3 %
โปแตสเซียมไนเตรต	1.9 %

วิธีการ เตรียมสารละลายโซเดียมซิเตรทบัฟเฟอร์ (sodium citrate buffer) ปริมาณ 1000 มิลลิลิตรนำส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันยกเว้นแป้งทำการให้ความร้อน จากนั้นทำการละลายแป้งในน้ำกลั่น แล้วผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่เครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

1.6 ส่วนประกอบของอาหารเหลวสูตร 5

อาหาร MS ดัดแปลง	0.443%
น้ำตาลซูโครส	1.5 %
ปรับพีเอชระหว่าง	5.6-5.8

1.7 ส่วนประกอบของอาหารเหลวสูตร 6

แป้งมันสำปะหลัง	2%
Peptone	0.4%
กรดกลูตามิค	0.25%

1.7 ส่วนประกอบของอาหารเหลวสูตร 7

แป้งมันสำปะหลัง	2%
Peptone	0.4%
กรดกลูตามิค	0.5%

1.7 ส่วนประกอบของอาหารเหลวสูตร 8

แป้งมันสำปะหลัง	2%
Peptone	0.4%
กรดกลูตามิค	1.0%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ นำส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ทำการให้ความร้อน จากนั้นทำการละลายแป้งในน้ำกลั่น แล้วผสมเข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่เครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมสารละลายโซเดียมซิเตรทบัฟเฟอร์ (sodium citrete buffer)

เตรียมโดยผสมสารละลาย A และ B เพื่อปรับพีเอชให้เท่ากับ 3 และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

สารละลาย A : 0.05 M citric acid (C_2H_8O $7H_2O$ 10.51 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร)

สารละลาย B : 0.05 M sodium citrate ($Na_3C_6H_5O_7$ $2H_2O$ 147 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร)

วิธีการ ทำการดูดสารละลายA ปริมาตร 46.5 มิลลิลิตร และดูดสารละลาย B 3.5 มิลลิลิตร ผสมเข้าด้วยกัน ใช้น้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

วิธีวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง

1.1 นำตัวอย่างมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ที่เตรียมไว้

1.2 นำกระดาษกรองที่มีเซลล์ติดอยู่ไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสจนน้ำหนักคงที่ จดบันทึกค่าน้ำหนักที่ได้

1.3 การหาค่าน้ำหนักเซลล์แห้งจะเท่ากับ ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ติดอยู่บนกระดาษกรอง(g) - ค่ากระดาษกรอง(g)

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารสีภายนอกเซลล์

2.1 นำตัวอย่างมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1

2.2 นำของเหลวที่ได้จากการกรองมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วเครื่องสเปกโตโฟโตรมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร 470 นาโนเมตร และ 500 นาโนเมตร

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารสีที่สะสมภายในเซลล์

3.1 นำเซลล์แห้งที่อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสมาแช่ด้วยแอลกอฮอร์ 95% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ทำการปิดด้วยกระดาษฟอยด์ ตั้งที่อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมงทำการเขย่าเป็นระยะ

3.2 นำไปกรองด้วยชุดกรองบุชเนอร์ผ่านกระดาษกรอง whatman number 1

3.3 นำของเหลวที่กรองได้วัดปริมาตรสารสีด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตรมิเตอร์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง 400 นาโนเมตร 470 นาโนเมตร และ 500 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.
ข้อมูลผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.1 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าเฉลี่ยของพีเอชที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 1 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่าเฉลี่ย pH	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	0.030^{a}	6.89	0.668^{a}	0.026^{a}	0.285^{ab}	0.009^{a}	0.245^{a}	0.008^{a}
1	0.020^{a}	6.09	0.624^{a}	0.061^{a}	0.236^{a}	0.032^{a}	0.178^{a}	0.035^{a}
2	0.016^{a}	5.55	0.930^{a}	0.120^{a}	0.464^{b}	0.061^{a}	0.378^{a}	0.089^{a}
3	0.225^{b}	5.57	1.255^{b}	2.147^{bc}	0.740^{c}	1.602^{b}	0.633^{b}	1.978^{b}
4	0.230^{b}	6.31	2.887^{c}	2.644^{c}	3.067^{d}	1.897^{b}	3.231^{c}	2.246^{b}
5	0.270^{bcd}	7.22	3.964^{d}	2.150^{bc}	3.213^{d}	1.307^{b}	3.389^{cd}	1.877^{b}
6	0.255^{bc}	7.92	3.843^{d}	1.310^{b}	3.295^{d}	1.133^{b}	3.480^{d}	1.659^{b}
7	0.280^{cd}	8.36	3.879^{d}	1.574^{b}	3.308^{d}	1.366^{b}	3.490^{d}	2.035^{b}
8	0.305^{d}	8.45	3.974^{d}	1.218^{b}	3.288^{d}	1.035^{b}	3.450^{cd}	1.610^{b}
9	0.255^{bc}	8.49	3.789^{d}	1.354^{b}	3.255^{d}	1.181^{b}	3.436^{cd}	1.729^{b}
10	0.225^{b}	8.39	3.939^{d}	1.484^{b}	3.264^{d}	1.277^{b}	3.449^{cd}	1.950^{b}

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหารสูตร 1 ที่มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตรในแต่ละวัน

ตารางที่ ค.2 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าเฉลี่ยของพีเอชที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 2 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 7 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่าเฉลี่ย pH	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	0.025^{a}	3.50	2.109^{d}	0.060^{a}	1.618^{d}	0.018^{a}	1.427^{c}	0.074^{a}
1	0.050^{a}	3.60	1.133^{b}	0.312^{b}	0.888^{b}	0.333^{b}	0.701^{b}	0.374^{a}
2	0.110^{b}	3.36	0.430^{a}	0.200^{ab}	0.204^{a}	0.110^{ab}	0.190^{a}	0.176^{a}
3	0.130^{b}	3.43	0.604^{a}	0.248^{b}	0.310^{a}	0.358^{b}	0.364^{ab}	0.283^{a}
4	0.220^{c}	3.82	1.093^{b}	2.034^{c}	0.447^{a}	1.180^{c}	0.489^{ab}	1.426^{b}
5	0.245^{c}	4.40	1.459^{c}	2.434^{d}	1.032^{bc}	1.197^{c}	1.148^{c}	1.599^{bc}
6	0.280^{d}	5.10	1.615^{c}	2.737^{e}	1.245^{c}	1.683^{d}	1.146^{c}	1.751^{c}
7	0.310^{e}	5.37	2.915^{e}	2.881^{e}	2.816^{e}	1.693^{d}	2.635^{d}	2.122^{d}

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหารสูตร 2 ที่มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตรในแต่ละวัน

ตารางที่ ค.3 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าเฉลี่ยของพีเอชที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 3 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 7 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่าเฉลี่ย pH	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	0.020^{a}	3.05	0.202^{a}	0.059^{a}	0.277^{a}	0.068^{ab}	0.057^{a}	0.031^{a}
1	0.010^{a}	3.15	0.211^{a}	0.034^{a}	0.067^{a}	0.019^{a}	0.044^{a}	0.021^{a}
2	0.035^{a}	3.19	0.250^{a}	0.373^{a}	0.080^{a}	0.040^{a}	0.067^{a}	0.039^{a}
3	0.080^{b}	3.68	0.365^{b}	0.228^{a}	0.140^{a}	0.062^{ab}	0.101^{a}	0.053^{a}
4	0.095^{b}	7.56	0.765^{c}	0.242^{a}	0.669^{b}	0.116^{bc}	0.322^{ab}	0.117^{b}
5	0.095^{b}	7.64	0.728^{c}	0.341^{a}	0.599^{b}	0.160^{cd}	0.529^{b}	0.163^{bc}
6	0.110^{b}	7.79	0.678^{c}	0.338^{a}	0.538^{b}	0.166^{cd}	0.473^{b}	0.165^{bc}
7	0.105^{b}	7.77	0.744^{c}	0.365^{a}	0.609^{b}	0.192^{d}	0.501^{b}	0.192^{c}

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหารสูตร 3 ที่มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตรในแต่ละวัน

ตารางที่ ค.4 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าเฉลี่ยของพีเอชที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 4 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่าเฉลี่ย pH	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	0.015^{a}	3.55	0.219^{a}	0.030^{a}	0.081^{a}	0.015^{a}	0.058^{a}	0.015^{a}
1	0.020^{ab}	3.64	0.265^{a}	0.029^{a}	0.096^{a}	0.017^{a}	0.068^{a}	0.015^{a}
2	0.020^{c}	3.90	0.330^{a}	0.265^{cd}	0.122^{ab}	0.115^{bc}	0.088^{a}	0.099^{bc}
3	0.025^{d}	4.79	0.663^{b}	0.736^{e}	0.360^{b}	0.736^{d}	0.289^{b}	0.743^{f}
4	0.060^{cd}	7.21	1.030^{c}	0.328^{d}	1.290^{c}	0.155^{c}	1.224^{cd}	0.182^{de}
5	0.095^{bc}	7.40	1.155^{c}	0.318^{d}	1.609^{d}	0.141^{bc}	1.315^{de}	0.147^{cd}
6	0.110^{cd}	7.55	1.146^{c}	0.291^{cd}	1.144^{c}	0.086^{abc}	1.098^{c}	0.144^{cd}
7	0.095^{cd}	7.51	1.129^{c}	0.214^{bcd}	1.183^{c}	0.092^{abc}	1.159^{cd}	0.099^{bc}
8	0.080^{cd}	7.61	1.054^{c}	0.235^{bcd}	1.212^{c}	0.152^{c}	1.440^{ef}	0.231^{e}
9	0.075^{c}	7.59	1.991^{e}	0.132^{ab}	1.713^{d}	0.051^{ab}	1.572^{f}	0.057^{ab}
10	0.065^{c}	7.56	1.743^{d}	0.163^{bc}	1.666^{d}	0.128^{bc}	1.408^{ef}	0.097^{bc}

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหารสูตร 4 ที่มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตรในแต่ละวัน

ตารางที่ ค.5 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าเฉลี่ยของพีเอชที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่าเฉลี่ย pH	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	0.020^{a}	5.11	0.038^{a}	0.049^{a}	0.015^{a}	0.021^{a}	0.013^{a}	0.017^{a}
1	0.015^{a}	4.74	0.060^{a}	0.063^{a}	0.021^{a}	0.033^{a}	0.016^{a}	0.030^{a}
2	0.050^{b}	3.21	0.133^{b}	0.422^{b}	0.057^{ab}	0.199^{b}	0.047^{ab}	0.347^{b}
3	0.105^{cd}	3.01	0.255^{cd}	3.670^{cd}	0.108^{bcd}	3.042^{c}	0.084^{bc}	3.203^{c}
4	0.080^{c}	3.16	0.353^{c}	3.357^{c}	0.121^{cd}	2.986^{c}	0.090^{bc}	3.134^{c}
5	0.125^{de}	3.50	0.538^{cd}	3.670^{cd}	0.164^{d}	3.038^{c}	0.115^{c}	3.200^{c}
6	0.140^{e}	3.57	0.541^{cd}	3.602^{cd}	0.154^{d}	3.025^{c}	0.098^{bc}	3.191^{c}
7	0.110^{cde}	3.97	0.484^{cd}	3.611^{cd}	0.149^{d}	2.977^{c}	0.091^{bc}	3.116^{c}
8	0.125^{de}	4.16	0.454^{cd}	3.663^{cd}	0.149^{d}	3.020^{c}	0.093^{bc}	3.190^{c}
9	0.130^{de}	3.65	0.357^{cd}	3.676^{cd}	0.086^{bc}	3.037^{c}	0.043^{ab}	3.194^{c}
10	0.140^{e}	3.77	0.479^{d}	3.770^{d}	0.146^{d}	3.080^{c}	0.090^{bc}	3.245^{c}

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหาร 5 ที่มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตรในแต่ละวัน

ตารางที่ ค.6 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าเฉลี่ยของพีเอชที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 6 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่าเฉลี่ย pH	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	0.000^{a}	3.93	0.380^{a}	0.015^{a}	0.242^{ab}	0.007^{a}	0.202^{a}	0.027^{a}
1	0.030^{ab}	3.88	0.355^{a}	0.038^{a}	0.226^{ab}	0.025^{a}	0.200^{a}	0.022^{a}
2	0.050^{bc}	3.85	0.375^{a}	0.591^{a}	0.211^{a}	0.572^{b}	0.188^{a}	0.493^{a}
3	0.065^{cd}	3.82	$0.810a^{b}$	2.862^{bc}	0.468^{abc}	2.899^{d}	0.445^{ab}	2.738^{c}
4	0.090^{def}	3.85	1.143^{b}	2.341^{b}	0.747^{c}	2.578^{c}	0.753^{b}	1.831^{b}
5	0.065^{cd}	3.99	1.214^{b}	3.288^{cd}	0.690^{c}	2.906^{d}	0.596^{ab}	2.927^{c}
6	0.080^{cde}	3.97	1.299^{b}	3.683^{d}	0.667^{bc}	3.053^{d}	0.550^{ab}	3.168^{c}
7	0.115^{fg}	4.09	2.125^{c}	3.877^{d}	1.329^{d}	3.041^{d}	1.223^{c}	3.209^{c}
8	0.140^{g}	4.04	2.279^{c}	3.680^{d}	1.345^{d}	3.117^{d}	1.204^{c}	3.297^{c}
9	0.140^{g}	4.14	2.459^{c}	3.683^{d}	1.510^{d}	3.061^{d}	1.336^{c}	3.249^{c}
10	0.105^{ef}	4.18	2.216^{c}	3.695^{d}	1.358^{d}	3.069^{d}	1.200^{c}	3.252^{c}

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหารสูตร 6 ที่มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตรในแต่ละวัน

ตารางที่ ค.7 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าเฉลี่ยของพีเอชที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 7 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่าเฉลี่ย pH	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	0.000^{a}	3.05	0.431^{b}	0.179^{ab}	0.280^{ab}	0.154^{a}	0.252^{c}	0.159^{a}
1	0.030^{ab}	3.06	0.371^{b}	0.140^{ab}	0.242^{ab}	0.011^{a}	0.216^{abc}	0.009^{a}
2	0.040^{bc}	3.03	0.204^{a}	0.053^{a}	0.121^{a}	0.039^{a}	0.108^{a}	0.024^{a}
3	0.065^{cd}	3.03	0.309^{ab}	0.558^{b}	0.143^{a}	0.289^{a}	0.125^{ab}	0.318^{a}
4	0.100^{ef}	3.04	0.610^{c}	1.780^{c}	0.349^{b}	2.375^{b}	0.279^{c}	1.594^{b}
5	0.120^{ef}	3.08	0.629^{c}	2.247^{d}	0.260^{ab}	2.349^{b}	0.223^{bc}	2.157^{bc}
6	0.105^{ef}	3.11	1.090^{d}	3.672^{f}	0.513^{c}	3.042^{c}	0.429^{d}	3.155^{de}
7	0.130^{f}	3.20	1.208^{d}	2.793^{e}	0.635^{cd}	2.722^{bc}	0.499^{d}	2.588^{cd}
8	0.095^{de}	3.26	1.725^{e}	3.779^{f}	0.698^{de}	3.095^{c}	0.537^{de}	3.258^{e}
9	0.130^{f}	3.27	2.433^{g}	3.686^{f}	1.057^{f}	3.069^{c}	0.722^{f}	3.207^{de}
10	0.125^{ef}	3.28	2.201^{f}	3.574^{f}	0.807^{e}	3.035^{c}	0.624^{ef}	3.200^{de}

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหารสูตร 7 ที่มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตรในแต่ละวัน

ตารางที่ ค.8 ผลค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าเฉลี่ยของพีเอชที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 8 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่าเฉลี่ย pH	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	ค่าเฉลี่ย OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	0.000^{a}	3.26	0.408^{bc}	0.466^{ab}	0.261^{b}	0.077^{a}	0.227^{b}	0.080^{a}
1	0.040^{bc}	3.24	0.374^{b}	0.044^{a}	0.244^{b}	0.012^{a}	0.218^{b}	0.011^{a}
2	0.035^{b}	3.24	0.201^{a}	0.094^{a}	0.113^{a}	0.087^{a}	0.098^{a}	0.087^{a}
3	0.060^{c}	3.23	0.321^{ab}	0.833^{b}	0.144^{a}	0.873^{b}	0.124^{a}	0.605^{b}
4	0.085^{d}	2.75	0.544^{d}	2.253^{c}	0.264^{b}	2.765^{c}	0.253^{b}	2.326^{c}
5	0.100^{de}	3.28	0.704^{d}	3.329^{d}	0.306^{b}	3.028^{d}	0.259^{b}	3.055^{d}
6	0.095^{d}	3.35	1.086^{e}	3.658^{de}	0.483^{c}	3.027^{d}	0.382^{c}	3.150^{d}
7	0.120^{ef}	3.40	1.552^{f}	3.488^{de}	0.706^{d}	3.021^{d}	0.557^{d}	3.12^{d}
8	0.105^{def}	3.43	1.760^{g}	3.805^{e}	0.773^{d}	3.090^{d}	0.580^{d}	3.269^{d}
9	0.120^{ef}	3.49	2.496^{i}	3.657^{de}	1.083^{e}	3.031^{d}	0.753^{e}	3.240^{d}
10	0.125^{f}	3.39	2.289^{h}	3.560^{de}	1.038^{e}	3.025^{d}	0.759^{e}	3.234^{d}

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหาร 8 ที่มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตรในแต่ละวัน

ตารางที่ ค.9 แสดงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง, ค่าพีเอชและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 1 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	ฟลาสก์ที่1	0.030	6.890	0.652	0.025	0.274	0.009	0.235	0.008
	ฟลาสก์ที่2	0.030	6.890	0.683	0.026	0.295	0.008	0.254	0.007
	ค่าเฉลี่ย	0.030	6.890	0.668	0.026	0.285	0.009	0.245	0.008
1	ฟลาสก์ที่1	0.020	6.210	0.633	0.058	0.242	0.039	0.184	0.043
	ฟลาสก์ที่2	0.020	5.960	0.614	0.063	0.229	0.025	0.171	0.026
	ค่าเฉลี่ย	0.020	6.085	0.624	0.061	0.236	0.032	0.178	0.035
2	ฟลาสก์ที่1	0.016	5.600	0.736	0.082	0.340	0.039	0.273	0.055
	ฟลาสก์ที่2	0.015	5.500	1.124	0.158	0.587	0.082	0.483	0.122
	ค่าเฉลี่ย	0.016	5.550	0.930	0.120	0.464	0.061	0.378	0.089
3	ฟลาสก์ที่1	0.200	5.590	1.284	2.666	0.753	2.155	0.640	2.562
	ฟลาสก์ที่2	0.250	5.550	1.226	1.627	0.726	1.048	0.625	1.393

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
	ค่าเฉลี่ย	0.225	5.570	1.255	2.147	0.740	1.602	0.633	1.978
4	ฟลาสก์ที่1	0.250	6.390	2.672	2.660	3.012	2.009	3.165	2.275
	ฟลาสก์ที่2	0.210	6.220	3.101	2.628	3.121	1.784	3.297	2.216
	ค่าเฉลี่ย	0.230	6.305	2.887	2.644	3.067	1.897	3.231	2.246
5	ฟลาสก์ที่1	0.280	7.610	3.931	2.103	3.227	1.152	3.394	1.647
	ฟลาสก์ที่2	0.260	6.830	3.996	2.196	3.198	1.462	3.384	2.107
	ค่าเฉลี่ย	0.270	7.220	3.964	2.150	3.213	1.307	3.389	1.877
6	ฟลาสก์ที่1	0.240	8.070	3.954	1.589	3.424	1.362	3.611	1.998
	ฟลาสก์ที่2	0.270	7.760	3.731	1.030	3.165	0.904	3.349	1.320
	ค่าเฉลี่ย	0.255	7.915	3.843	1.310	3.295	1.133	3.480	1.659
7	ฟลาสก์ที่1	0.270	8.380	3.907	1.263	3.298	1.097	3.477	1.639
	ฟลาสก์ที่2	0.290	8.340	3.850	1.884	3.318	1.634	3.502	2.430
	ค่าเฉลี่ย	0.280	8.360	3.879	1.574	3.308	1.366	3.490	2.035

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
8	ฟลาสก์ที่1	0.310	8.510	3.948	0.825	3.157	0.706	3.327	1.075
	ฟลาสก์ที่2	0.300	8.380	4.000	1.611	3.418	1.363	3.573	2.144
	ค่าเฉลี่ย	0.305	8.445	3.974	1.218	3.288	1.035	3.450	1.610
9	ฟลาสก์ที่1	0.240	8.440	3.847	0.908	3.287	0.807	3.469	1.128
	ฟลาสก์ที่2	0.270	8.540	3.730	1.800	3.222	1.555	3.402	2.329
	ค่าเฉลี่ย	0.255	8.490	3.789	1.354	3.255	1.181	3.436	1.729
10	ฟลาสก์ที่1	0.240	8.450	3.910	1.402	3.259	1.200	3.445	1.814
	ฟลาสก์ที่2	0.210	8.330	3.968	1.565	3.268	1.354	3.452	2.085
	ค่าเฉลี่ย	0.225	8.390	3.939	1.484	3.264	1.277	3.449	1.950

ตารางที่ ค.10 แสดงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง, ค่าพีเอชและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 2 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 7 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	ฟลาสก์ที่1	0.020	3.52	2.105	0.061	1.691	0.024	1.524	0.020
	ฟลาสก์ที่2	0.030	3.47	2.113	0.058	1.545	0.012	1.330	0.127
	ค่าเฉลี่ย	0.0250	3.50	2.109	0.060	1.618	0.018	1.427	0.074
1	ฟลาสก์ที่1	0.050	3.58	1.061	0.325	0.783	0.288	0.692	0.305
	ฟลาสก์ที่2	0.050	3.62	1.204	0.299	0.993	0.377	0.709	0.443
	ค่าเฉลี่ย	0.050	3.60	1.133	0.312	0.888	0.333	0.701	0.374
2	ฟลาสก์ที่1	0.120	3.40	0.361	0.165	0.190	0.078	0.158	0.093
	ฟลาสก์ที่2	0.100	3.31	0.498	0.235	0.217	0.142	0.222	0.258
	ค่าเฉลี่ย	0.110	3.36	0.430	0.200	0.204	0.110	0.190	0.176
3	ฟลาสก์ที่1	0.120	3.37	0.533	0.251	0.279	0.221	0.242	0.231
	ฟลาสก์ที่2	0.140	3.49	0.674	0.244	0.341	0.495	0.485	0.335

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
	ค่าเฉลี่ย	0.130	3.43	0.604	0.248	0.310	0.358	0.364	0.283
4	ฟลาสก์ที่1	0.230	3.74	1.066	2.022	0.462	1.136	0.365	1.305
	ฟลาสก์ที่2	0.210	3.90	1.119	2.046	0.432	1.223	0.612	1.547
	ค่าเฉลี่ย	0.220	3.82	1.093	2.034	0.447	1.180	0.489	1.426
5	ฟลาสก์ที่1	0.230	4.48	1.507	2.364	0.969	1.085	0.905	1.528
	ฟลาสก์ที่2	0.260	4.32	1.411	2.503	1.094	1.309	1.390	1.669
	ค่าเฉลี่ย	0.245	4.40	1.459	2.434	1.032	1.197	1.148	1.599
6	ฟลาสก์ที่1	0.280	5.05	1.527	2.773	1.111	1.788	1.037	1.854
	ฟลาสก์ที่2	0.280	5.15	1.703	2.701	1.379	1.578	1.254	1.648
	ค่าเฉลี่ย	0.280	5.10	1.615	2.737	1.245	1.683	1.146	1.751
7	ฟลาสก์ที่1	0.320	5.31	2.956	2.981	2.730	1.663	2.726	1.983
	ฟลาสก์ที่2	0.300	5.42	2.874	2.780	2.901	1.722	2.544	2.260
	ค่าเฉลี่ย	0.310	5.37	2.915	2.881	2.816	1.693	2.635	2.122

ตารางที่ ค.11 แสดงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง, ค่าพีเอชและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 3 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 7 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	ฟลาสก์ที่1	0.04	3.05	0.203	0.084	0.277	0.065	0.058	0.048
	ฟลาสก์ที่2	0.00	3.05	0.200	0.034	0.277	0.071	0.055	0.013
	ค่าเฉลี่ย	0.02	3.05	0.202	0.059	0.277	0.068	0.057	0.031
1	ฟลาสก์ที่1	0.01	3.15	0.214	0.042	0.071	0.025	0.048	0.023
	ฟลาสก์ที่2	0.01	3.15	0.207	0.026	0.063	0.013	0.040	0.018
	ค่าเฉลี่ย	0.01	3.15	0.211	0.034	0.067	0.019	0.044	0.021
2	ฟลาสก์ที่1	0.01	3.17	0.250	0.056	0.069	0.049	0.071	0.044
	ฟลาสก์ที่2	0.06	3.21	0.249	0.690	0.091	0.031	0.063	0.033
	ค่าเฉลี่ย	0.035	3.19	0.250	0.373	0.080	0.040	0.067	0.039
3	ฟลาสก์ที่1	0.08	3.69	0.375	0.167	0.151	0.032	0.110	0.027
	ฟลาสก์ที่2	0.08	3.66	0.354	0.288	0.129	0.091	0.092	0.078

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
	ค่าเฉลี่ย	0.08	3.675	0.365	0.228	0.140	0.062	0.101	0.053
4	ฟลาสก์ที่1	0.1	7.58	0.748	0.257	0.667	0.098	0.585	0.104
	ฟลาสก์ที่2	0.09	7.53	0.781	0.226	0.671	0.134	0.058	0.130
	ค่าเฉลี่ย	0.095	7.555	0.765	0.242	0.669	0.116	0.322	0.117
5	ฟลาสก์ที่1	0.08	7.68	0.657	0.396	0.429	0.186	0.376	0.182
	ฟลาสก์ที่2	0.11	7.59	0.798	0.286	0.768	0.133	0.681	0.145
	ค่าเฉลี่ย	0.095	7.635	0.728	0.341	0.599	0.160	0.529	0.163
6	ฟลาสก์ที่1	0.1	7.74	0.710	0.331	0.582	0.159	0.519	0.158
	ฟลาสก์ที่2	0.12	7.83	0.646	0.345	0.493	0.172	0.427	0.172
	ค่าเฉลี่ย	0.11	7.785	0.678	0.338	0.538	0.166	0.473	0.165
7	ฟลาสก์ที่1	0.11	7.75	0.756	0.358	0.620	0.186	0.523	0.185
	ฟลาสก์ที่2	0.1	7.79	0.732	0.372	0.597	0.199	0.478	0.199
	ค่าเฉลี่ย	0.105	7.77	0.744	0.365	0.609	0.192	0.501	0.192

ตารางที่ ค. 12 แสดงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง, ค่าพีเอชและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรกลูตามิค 4 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	ฟลาสก์ที่1	0.020	3.55	0.180	0.030	0.051	0.020	0.029	0.019
	ฟลาสก์ที่2	0.010	3.54	0.257	0.029	0.111	0.009	0.087	0.011
	ค่าเฉลี่ย	0.015	3.55	0.219	0.030	0.081	0.015	0.058	0.015
1	ฟลาสก์ที่1	0.030	3.60	0.260	0.024	0.093	0.015	0.066	0.014
	ฟลาสก์ที่2	0.010	3.67	0.269	0.033	0.099	0.019	0.070	0.016
	ค่าเฉลี่ย	0.020	3.64	0.265	0.029	0.096	0.017	0.068	0.015
2	ฟลาสก์ที่1	0.040	3.90	0.313	0.281	0.109	0.148	0.074	0.131
	ฟลาสก์ที่2	0.080	3.89	0.346	0.248	0.134	0.082	0.101	0.067
	ค่าเฉลี่ย	0.020	3.90	0.330	0.265	0.122	0.115	0.088	0.099
3	ฟลาสก์ที่1	0.110	4.70	0.617	0.733	0.315	0.733	0.248	0.722
	ฟลาสก์ที่2	0.110	4.87	0.709	0.739	0.404	0.739	0.330	0.763

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
	ค่าเฉลี่ย	0.025	4.79	0.663	0.736	0.360	0.736	0.289	0.743
4	ฟลาสก์ที่1	0.080	7.25	0.976	0.278	1.257	0.144	1.196	0.178
	ฟลาสก์ที่2	0.080	7.17	1.084	0.377	1.322	0.166	1.251	0.185
	ค่าเฉลี่ย	0.060	7.21	1.030	0.328	1.290	0.155	1.224	0.182
5	ฟลาสก์ที่1	0.070	7.39	1.111	0.277	1.767	0.122	1.317	0.129
	ฟลาสก์ที่2	0.040	7.41	1.198	0.359	1.451	0.160	1.313	0.165
	ค่าเฉลี่ย	0.095	7.40	1.155	0.318	1.609	0.141	1.315	0.147
6	ฟลาสก์ที่1	0.080	7.56	1.141	0.315	1.106	0.160	1.059	0.169
	ฟลาสก์ที่2	0.080	7.54	1.151	0.267	1.182	0.011	1.136	0.119
	ค่าเฉลี่ย	0.110	7.55	1.146	0.291	1.144	0.086	1.098	0.144
7	ฟลาสก์ที่1	0.090	7.46	1.214	0.147	1.323	0.066	1.302	0.073
	ฟลาสก์ที่2	0.060	7.56	1.043	0.280	1.042	0.118	1.015	0.125
	ค่าเฉลี่ย	0.095	7.51	1.129	0.214	1.183	0.092	1.159	0.099

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
8	ฟลาสก์ที่1	0.070	7.63	1.050	0.311	1.213	0.141	1.440	0.184
	ฟลาสก์ที่2	0.080	7.59	1.057	0.158	1.211	0.162	1.440	0.277
	ค่าเฉลี่ย	0.080	7.61	1.054	0.235	1.212	0.152	1.440	0.231
9	ฟลาสก์ที่1	0.090	7.60	2.088	0.153	1.815	0.054	1.653	0.052
	ฟลาสก์ที่2	0.050	7.58	1.894	0.111	1.611	0.047	1.491	0.061
	ค่าเฉลี่ย	0.075	7.59	1.991	0.132	1.713	0.051	1.572	0.057
10	ฟลาสก์ที่1	0.070	7.51	1.752	0.162	1.739	0.129	1.411	0.100
	ฟลาสก์ที่2	0.080	7.60	1.733	0.164	1.593	0.126	1.405	0.094
	ค่าเฉลี่ย	0.075	7.56	1.743	0.163	1.666	0.128	1.408	0.097

ตารางที่ ค. 13 แสดงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง, ค่าพีเอชและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	ฟลาสก์ที่1	0.020	4.87	0.036	0.036	0.009	0.010	0.006	0.011
	ฟลาสก์ที่2	0.020	5.35	0.062	0.040	0.032	0.020	0.027	0.015
	ค่าเฉลี่ย	0.020	5.110	0.049	0.038	0.021	0.015	0.017	0.013
1	ฟลาสก์ที่1	0.020	4.69	0.071	0.057	0.038	0.019	0.034	0.014
	ฟลาสก์ที่2	0.010	4.79	0.054	0.063	0.028	0.023	0.025	0.017
	ค่าเฉลี่ย	0.015	4.740	0.063	0.060	0.033	0.021	0.030	0.016
2	ฟลาสก์ที่1	0.050	3.08	0.547	0.135	0.097	0.064	0.485	0.054
	ฟลาสก์ที่2	0.050	3.34	0.297	0.131	0.301	0.050	0.209	0.040
	ค่าเฉลี่ย	0.050	3.210	0.422	0.133	0.199	0.057	0.347	0.047
3	ฟลาสก์ที่1	0.090	3.1	3.636	0.262	3.023	0.106	3.191	0.085
	ฟลาสก์ที่2	0.120	2.91	3.703	0.248	3.061	0.109	3.214	0.082

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
	ค่าเฉลี่ย	0.105	3.005	3.670	0.255	3.042	0.108	3.203	0.084
4	ฟลาสก์ที่1	0.07	3.17	3.097	0.302	2.998	0.087	3.127	0.060
	ฟลาสก์ที่2	0.09	3.15	3.616	0.403	2.974	0.155	3.140	0.120
	ค่าเฉลี่ย	0.08	3.160	3.357	0.353	2.986	0.121	3.134	0.090
5	ฟลาสก์ที่1	0.120	3.67	3.722	0.492	3.021	0.183	3.175	0.136
	ฟลาสก์ที่2	0.130	3.33	3.617	0.583	3.055	0.145	3.225	0.093
	ค่าเฉลี่ย	0.125	3.500	3.670	0.538	3.038	0.164	3.200	0.115
6	ฟลาสก์ที่1	0.150	3.72	3.617	0.569	3.014	0.173	3.175	0.114
	ฟลาสก์ที่2	0.130	3.42	3.587	0.513	3.035	0.135	3.206	0.081
	ค่าเฉลี่ย	0.140	3.570	3.602	0.541	3.025	0.154	3.191	0.098
7	ฟลาสก์ที่1	0.110	4.16	3.596	0.552	2.970	0.177	3.096	0.106
	ฟลาสก์ที่2	0.110	3.77	3.625	0.416	2.984	0.120	3.135	0.076
	ค่าเฉลี่ย	0.110	3.965	3.611	0.484	2.977	0.149	3.116	0.091

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
8	ฟลาสก์ที่1	0.130	4.43	3.775	0.442	3.022	0.157	3.185	0.104
	ฟลาสก์ที่2	0.120	3.89	3.551	0.466	3.018	0.141	3.195	0.081
	ค่าเฉลี่ย	0.125	4.160	3.663	0.454	3.020	0.149	3.190	0.093
9	ฟลาสก์ที่1	0.120	3.77	3.729	0.305	3.029	0.069	3.187	0.028
	ฟลาสก์ที่2	0.140	3.53	3.623	0.409	3.044	0.103	3.200	0.058
	ค่าเฉลี่ย	0.130	3.650	3.676	0.357	3.037	0.086	3.194	0.043
10	ฟลาสก์ที่1	0.160	3.57	3.727	0.513	3.129	0.166	3.301	0.115
	ฟลาสก์ที่2	0.120	3.96	3.813	0.444	3.030	0.126	3.188	0.065
	ค่าเฉลี่ย	0.140	3.765	3.770	0.479	3.080	0.146	3.245	0.090

มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ค. 14 แสดงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง, ค่าพีเอชและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 6 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	ฟลาสก์ที่1	0.000	3.93	0.381	0.014	0.241	0.006	0.204	0.004
	ฟลาสก์ที่2	0.000	3.93	0.379	0.016	0.243	0.008	0.200	0.050
	ค่าเฉลี่ย	0.000	3.93	0.380	0.015	0.242	0.007	0.202	0.027
1	ฟลาสก์ที่1	0.020	3.87	0.354	0.040	0.225	0.027	0.199	0.023
	ฟลาสก์ที่2	0.040	3.88	0.356	0.035	0.227	0.023	0.201	0.021
	ค่าเฉลี่ย	0.030	3.88	0.355	0.038	0.226	0.025	0.200	0.022
2	ฟลาสก์ที่1	0.040	3.86	0.353	0.408	0.195	0.381	0.170	0.335
	ฟลาสก์ที่2	0.060	3.84	0.397	0.773	0.227	0.762	0.206	0.651
	ค่าเฉลี่ย	0.050	3.85	0.375	0.591	0.211	0.572	0.188	0.493
3	ฟลาสก์ที่1	0.050	3.82	0.877	3.155	0.511	2.992	0.486	2.994
	ฟลาสก์ที่2	0.080	3.82	0.743	2.568	0.425	2.805	0.404	2.481

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
	ค่าเฉลี่ย	0.065	3.82	0.810	2.862	0.468	2.899	0.445	2.738
4	ฟลาสก์ที่1	0.090	3.89	0.915	2.946	0.581	2.371	0.586	2.654
	ฟลาสก์ที่2	0.090	3.81	1.370	2.735	0.913	2.785	0.920	2.507
	ค่าเฉลี่ย	0.090	3.85	1.143	2.841	0.747	2.578	0.753	2.581
5	ฟลาสก์ที่1	0.080	3.99	1.166	3.574	0.647	3.022	0.583	3.115
	ฟลาสก์ที่2	0.050	3.98	1.261	3.001	0.732	2.790	0.708	2.738
	ค่าเฉลี่ย	0.065	3.99	1.214	3.288	0.690	2.906	0.646	2.927
6	ฟลาสก์ที่1	0.080	3.95	1.314	3.700	0.687	3.055	0.657	3.169
	ฟลาสก์ที่2	0.080	3.99	1.284	3.665	0.647	3.051	0.529	3.167
	ค่าเฉลี่ย	0.080	3.97	1.299	3.683	0.667	3.053	0.593	3.168
7	ฟลาสก์ที่1	0.100	4.09	1.785	3.731	0.994	3.042	0.873	3.204
	ฟลาสก์ที่2	0.130	4.09	2.465	3.822	1.663	3.040	1.573	3.214
	ค่าเฉลี่ย	0.115	4.09	2.125	3.777	1.329	3.041	1.223	3.209

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
8	ฟลาสก์ที่1	0.140	4.05	2.109	3.697	1.331	3.115	1.259	3.298
	ฟลาสก์ที่2	0.140	4.02	2.448	3.662	1.358	3.119	1.148	3.295
	ค่าเฉลี่ย	0.140	4.04	2.279	3.680	1.345	3.117	1.204	3.297
9	ฟลาสก์ที่1	0.150	4.16	2.142	3.643	1.291	3.054	1.140	3.237
	ฟลาสก์ที่2	0.130	4.11	2.776	3.722	1.729	3.067	1.531	3.260
	ค่าเฉลี่ย	0.140	4.14	2.459	3.683	1.510	3.061	1.336	3.249
10	ฟลาสก์ที่1	0.090	4.18	2.164	3.665	1.315	3.075	1.202	3.254
	ฟลาสก์ที่2	0.120	4.18	2.267	3.724	1.401	3.063	1.198	3.250
	ค่าเฉลี่ย	0.105	4.18	2.216	3.695	1.358	3.069	1.200	3.252

มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ค.15 แสดงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง, ค่าพีเอชและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 7 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	ฟลาสก์ที่1	0.000	3.05	0.437	0.176	0.284	0.155	0.246	0.160
	ฟลาสก์ที่2	0.000	3.05	0.425	0.182	0.276	0.152	0.258	0.157
	ค่าเฉลี่ย	0.000	3.05	0.431	0.179	0.280	0.154	0.252	0.159
1	ฟลาสก์ที่1	0.020	3.07	0.315	0.049	0.200	0.007	0.177	0.002
	ฟลาสก์ที่2	0.040	3.04	0.426	0.230	0.284	0.014	0.255	0.015
	ค่าเฉลี่ย	0.030	3.06	0.371	0.140	0.242	0.011	0.216	0.009
2	ฟลาสก์ที่1	0.040	3.02	0.199	0.033	0.122	0.027	0.110	0.014
	ฟลาสก์ที่2	0.040	3.04	0.208	0.072	0.120	0.051	0.106	0.033
	ค่าเฉลี่ย	0.040	3.03	0.204	0.053	0.121	0.039	0.108	0.024
3	ฟลาสก์ที่1	0.080	3.02	0.323	0.506	0.152	0.049	0.133	0.271
	ฟลาสก์ที่2	0.050	3.03	0.295	0.610	0.134	0.528	0.116	0.365

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
	ค่าเฉลี่ย	0.065	3.03	0.309	0.558	0.143	0.289	0.125	0.318
4	ฟลาสก์ที่1	0.110	3.05	0.651	1.715	0.327	2.224	0.305	1.177
	ฟลาสก์ที่2	0.090	3.03	0.568	1.845	0.371	2.527	0.252	2.010
	ค่าเฉลี่ย	0.100	3.04	0.610	1.780	0.349	2.375	0.279	1.594
5	ฟลาสก์ที่1	0.120	3.08	0.575	2.070	0.218	2.106	0.179	1.964
	ฟลาสก์ที่2	0.120	3.08	0.682	2.423	0.301	2.592	0.267	2.350
	ค่าเฉลี่ย	0.120	3.08	0.629	2.247	0.260	2.349	0.223	2.157
6	ฟลาสก์ที่1	0.090	3.11	1.164	3.605	0.531	3.024	0.440	3.123
	ฟลาสก์ที่2	0.120	3.11	1.016	3.739	0.495	3.060	0.417	3.187
	ค่าเฉลี่ย	0.105	3.11	1.090	3.672	0.513	3.042	0.429	3.155
7	ฟลาสก์ที่1	0.120	3.20	1.229	3.167	0.740	2.969	0.579	3.025
	ฟลาสก์ที่2	0.140	3.19	1.186	2.418	0.529	2.474	0.418	2.151
	ค่าเฉลี่ย	0.130	3.20	1.208	2.793	0.635	2.722	0.499	2.588

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
8	ฟลาสก์ที่1	0.080	3.26	1.694	3.785	0.711	3.076	0.506	3.245
	ฟลาสก์ที่2	0.110	3.25	1.756	3.772	0.685	3.114	0.568	3.271
	ค่าเฉลี่ย	0.095	3.26	1.725	3.779	0.698	3.095	0.537	3.258
9	ฟลาสก์ที่1	0.140	3.28	2.495	3.732	1.035	3.026	0.720	3.216
	ฟลาสก์ที่2	0.120	3.26	2.371	3.640	1.079	3.111	0.724	3.198
	ค่าเฉลี่ย	0.130	3.27	2.433	3.686	1.057	3.069	0.722	3.207
10	ฟลาสก์ที่1	0.120	3.28	2.161	3.597	0.899	3.027	0.650	3.211
	ฟลาสก์ที่2	0.130	3.28	2.241	3.550	0.715	3.043	0.597	3.188
	ค่าเฉลี่ย	0.125	3.28	2.201	3.574	0.807	3.035	0.624	3.200

มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ค.16 แสดงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง, ค่าพีเอชและค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ 400, 470 และ 500 นาโนเมตร ของสารสีทั้งภายในและภายนอกเซลล์ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 8 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าเป็น 180 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 วัน

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
0	ฟลาสก์ที่1	0.000	3.26	0.431	0.122	0.276	0.085	0.234	0.083
	ฟลาสก์ที่2	0.000	3.26	0.385	0.810	0.245	0.068	0.220	0.076
	ค่าเฉลี่ย	0.000	3.26	0.408	0.466	0.261	0.077	0.227	0.080
1	ฟลาสก์ที่1	0.040	3.24	0.357	0.063	0.231	0.006	0.204	0.003
	ฟลาสก์ที่2	0.040	3.24	0.390	0.024	0.257	0.018	0.231	0.019
	ค่าเฉลี่ย	0.040	3.24	0.374	0.044	0.244	0.012	0.218	0.011
2	ฟลาสก์ที่1	0.050	3.23	0.189	0.137	0.101	0.116	0.086	0.097
	ฟลาสก์ที่2	0.020	3.25	0.213	0.051	0.124	0.057	0.110	0.076
	ค่าเฉลี่ย	0.035	3.24	0.201	0.094	0.113	0.087	0.098	0.087
3	ฟลาสก์ที่1	0.050	3.23	0.292	0.763	0.121	0.750	0.101	0.514
	ฟลาสก์ที่2	0.070	3.23	0.349	0.903	0.167	0.995	0.146	0.695

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
	ค่าเฉลี่ย	0.060	3.23	0.321	0.833	0.144	0.873	0.124	0.605
4	ฟลาสก์ที่1	0.090	2.25	0.433	2.176	0.186	2.711	0.180	2.235
	ฟลาสก์ที่2	0.080	3.24	0.654	2.330	0.342	2.819	0.325	2.417
	ค่าเฉลี่ย	0.085	2.75	0.544	2.253	0.264	2.765	0.253	2.326
5	ฟลาสก์ที่1	0.110	3.28	0.683	3.523	0.278	3.035	0.222	3.178
	ฟลาสก์ที่2	0.090	3.28	0.725	3.135	0.334	3.020	0.295	2.931
	ค่าเฉลี่ย	0.100	3.28	0.704	3.329	0.306	3.028	0.259	3.055
6	ฟลาสก์ที่1	0.100	3.34	1.021	3.577	0.456	3.026	0.364	3.103
	ฟลาสก์ที่2	0.090	3.35	1.151	3.739	0.509	3.027	0.400	3.196
	ค่าเฉลี่ย	0.095	3.35	1.086	3.658	0.483	3.027	0.382	3.150
7	ฟลาสก์ที่1	0.120	3.40	1.515	3.639	0.709	3.061	0.555	3.225
	ฟลาสก์ที่2	0.120	3.40	1.589	3.337	0.702	2.980	0.559	3.014
	ค่าเฉลี่ย	0.120	3.40	1.552	3.488	0.706	3.021	0.557	3.120

เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)		น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	ค่า pH	ค่าการดูดกลืนแสง					
				OD_{400} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{400} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{470} ของสารสีภายในเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายนอกเซลล์	OD_{500} ของสารสีภายในเซลล์
8	ฟลาสก์ที่1	0.100	3.43	1.757	3.829	0.763	3.088	0.556	3.279
	ฟลาสก์ที่2	0.110	3.43	1.762	3.781	0.783	3.091	0.604	3.258
	ค่าเฉลี่ย	0.105	3.43	1.760	3.805	0.773	3.090	0.580	3.269
9	ฟลาสก์ที่1	0.120	3.49	2.540	3.654	1.072	3.045	0.762	3.247
	ฟลาสก์ที่2	0.120	3.48	2.451	3.660	1.093	3.017	0.744	3.233
	ค่าเฉลี่ย	0.120	3.49	2.496	3.657	1.083	3.031	0.753	3.240
10	ฟลาสก์ที่1	0.130	3.39	2.287	3.567	1.004	3.035	0.751	3.228
	ฟลาสก์ที่2	0.120	3.38	2.290	3.553	1.071	3.014	0.766	3.240
	ค่าเฉลี่ย	0.125	3.39	2.289	3.560	1.038	3.025	0.759	3.234

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ค.17 แสดงผลรวมของน้ำหนักเซลล์แห้งตามระยะเวลา 10 วัน ในอาหารชนิดต่างๆ

	เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ชนิดอาหาร							
		สูตร1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6	สูตร 7	สูตร 8
ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (g/flask)	0	0.030^{a}	0.025^{a}	0.020^{a}	0.015^{a}	0.020^{a}	0.000^{a}	0.000^{a}	0.000^{a}
	1	0.020^{a}	0.050^{a}	0.010^{a}	0.020^{ab}	0.015^{a}	0.030^{ab}	0.030^{ab}	0.04^{bc}
	2	0.016^{a}	0.110^{b}	0.035^{a}	0.020^{c}	0.050^{b}	0.050^{bc}	0.040^{bc}	0.035^{b}
	3	0.225^{b}	0.130^{b}	0.080^{b}	0.025^{d}	0.105^{cd}	0.065^{cd}	0.065^{cd}	0.06^{c}
	4	0.230^{b}	0.220^{c}	0.095^{b}	0.060^{cd}	0.080^{c}	0.090^{def}	0.100^{ef}	0.085^{d}
	5	0.270^{bcd}	0.245^{c}	0.095^{b}	0.095^{bc}	0.125^{de}	0.065^{cd}	0.120^{ef}	0.100^{de}
	6	0.255^{bc}	0.280^{d}	0.110^{b}	0.110^{cd}	0.140^{e}	0.080^{cde}	0.105^{rf}	0.095^{d}
	7	0.280^{cd}	0.310^{e}	0.105^{b}	0.095^{cd}	0.110^{cde}	0.115^{fg}	0.130^{f}	0.120^{ef}
	8	0.305^{d}	-	-	0.080^{cd}	0.125^{de}	0.140^{g}	0.095^{de}	0.105^{def}
	9	0.255^{bc}	-	-	0.075^{c}	0.130^{de}	0.140^{g}	0.130^{f}	0.120^{ef}
	10	0.225^{b}	-	-	0.075^{cd}	0.140^{e}	0.105^{ef}	0.125^{ef}	0.125^{f}

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหารแต่ละชนิดที่มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

ตารางที่ ค.18 แสดงผลรวมของสารสีเหลืองทั้งหมด (วัดที่ 400 นาโนเมตรทั้งภายในและภายนอกเซลล์) ตามระยะเวลา 10 วัน ในอาหารชนิดต่างๆ

	เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ชนิดอาหาร							
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6	สูตร 7	สูตร 8
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 นาโนเมตร	0	0.693^{a}	2.1685^{c}	0.261^{a}	0.248^{a}	0.087^{a}	0.395^{a}	0.610^{ab}	0.874^{b}
	1	0.684^{a}	1.4445^{b}	0.245^{a}	0.293^{a}	0.123^{a}	0.393^{a}	0.510^{ab}	0.417^{a}
	2	1.050^{a}	0.6295^{a}	0.623^{a}	0.594^{b}	0.555^{b}	0.966^{a}	0.256^{a}	0.295^{a}
	3	3.402^{b}	0.851^{a}	0.592^{a}	1.399^{c}	3.925^{cd}	3.672^{b}	0.867^{b}	1.154^{b}
	4	5.531^{c}	3.1265^{d}	1.006^{b}	1.358^{c}	3.709^{c}	3.983^{bc}	2.390^{c}	2.797^{c}
	5	6.1133^{c}	3.8925^{e}	1.069^{b}	1.473^{c}	4.207^{d}	4.501^{cd}	2.875^{d}	4.033^{d}
	6	5.152^{c}	4.352^{f}	1.016^{b}	1.437^{c}	4.143^{d}	4.982^{d}	4.762^{f}	4.744^{e}
	7	5.452^{c}	5.7955^{g}	1.109^{b}	1.342^{c}	4.095^{d}	5.902^{e}	4.000^{e}	5.040^{e}
	8	5.192^{c}	-	-	1.288^{c}	4.117^{d}	5.958^{e}	5.504^{g}	5.565^{e}
	9	5.143^{c}	-	-	2.123^{e}	4.033^{cd}	6.142^{e}	6.119^{h}	6.153^{f}
	10	5.423^{c}	-	-	1.906^{d}	4.249^{d}	5.910^{e}	5.775^{gh}	5.849^{ef}

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหารแต่ละชนิดที่มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 นาโนเมตร

ตารางที่ ค.19 แสดงผลรวมของสารสีส้มทั้งหมด (วัดที่ 470 นาโนเมตรทั้งภายในและภายนอกเซลล์) ตามระยะเวลา 10 วัน ในอาหารชนิดต่างๆ

	เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ชนิดอาหาร							
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6	สูตร 7	สูตร 8
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 470 นาโนเมตร	0	0.293^{a}	1.63^{c}	0.345^{b}	0.096^{a}	0.036^{a}	0.249^{a}	0.434^{a}	0.337^{a}
	1	0.268^{a}	1.221^{b}	0.086^{a}	0.113^{a}	0.054^{a}	0.251^{a}	0.253^{a}	0.256^{a}
	2	0.524^{a}	0.314^{a}	0.120^{a}	0.237^{a}	0.256^{b}	0.783^{a}	0.160^{a}	0.199^{a}
	3	2.341^{b}	0.668^{a}	0.202^{ab}	1.096^{b}	3.150^{c}	3.367^{b}	0.432^{a}	1.017^{b}
	4	4.963^{c}	1.627^{c}	0.785^{c}	1.445^{c}	3.107^{c}	3.325^{b}	2.724^{b}	3.029^{c}
	5	4.520^{c}	2.229^{d}	0.758^{c}	1.750^{d}	3.202^{c}	3.596^{b}	2.609^{b}	3.334^{d}
	6	4.428^{c}	2.928^{e}	0.703^{c}	1.230^{bc}	3.179^{c}	3.720^{b}	3.555^{c}	3.509^{d}
	7	4.674^{c}	4.508^{f}	0.801^{c}	1.275^{bc}	3.126^{c}	4.370^{c}	3.356^{c}	3.726^{e}
	8	4.322^{c}	-	-	1.364^{c}	3.169^{c}	4.462^{c}	3.793^{cd}	3.863^{e}
	9	4.436^{c}	-	-	1.764^{d}	3.123^{c}	4.571^{c}	4.126^{d}	4.114^{f}
	10	4.541^{c}	-	-	1.794^{d}	3.226^{c}	4.427^{c}	3.842^{cd}	4.062^{f}

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหารแต่ละชนิดที่มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ 470 นาโนเมตร

ตารางที่ ค.20 แสดงผลรวมของสารสีแดงทั้งหมด (วัดที่ 500 นาโนเมตรทั้งภายในและภายนอกเซลล์) ตามระยะเวลา 10 วัน ในอาหารชนิดต่างๆ

	เวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	ชนิดอาหาร							
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6	สูตร 7	สูตร 8
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร	0	0.252^{a}	1.501^{cd}	0.087^{ab}	0.073^{a}	0.030^{a}	0.229^{a}	0.411^{a}	0.307^{a}
	1	0.212^{a}	1.075^{bc}	0.065^{a}	0.083^{a}	0.045^{a}	0.222^{a}	0.225^{a}	0.229^{a}
	2	0.467^{a}	0.366^{a}	0.106^{ab}	0.187^{a}	0.394^{b}	0.681^{a}	0.132^{a}	0.185^{a}
	3	2.610^{b}	0.647^{a}	0.154^{ab}	1.032^{b}	3.286^{c}	3.183^{b}	0.443^{a}	0.728^{b}
	4	5.477^{c}	1.915^{d}	0.439^{bc}	1.405^{cd}	3.224^{c}	3.334^{bc}	1.872^{b}	2.579^{c}
	5	5.266^{c}	2.746^{e}	0.692^{c}	1.462^{d}	3.315^{c}	3.572^{bc}	2.380^{b}	3.313^{d}
	6	5.139^{c}	2.897^{e}	0.638^{c}	1.242^{c}	3.288^{c}	3.761^{c}	3.584^{cd}	3.532^{de}
	7	5.524^{c}	4.757^{f}	0.692^{c}	1.258^{c}	3.207^{c}	4.432^{d}	3.087^{c}	3.677^{ef}
	8	5.060^{c}	-	-	1.671^{f}	3.283^{c}	4.500^{d}	3.795^{d}	3.849^{fg}
	9	5.164^{c}	-	-	1.629^{ef}	3.237^{c}	4.584^{d}	3.929^{d}	3.993^{g}
	10	5.398^{c}	-	-	1.505^{de}	3.335^{c}	4.452^{d}	3.823^{d}	3.993^{g}

ผลของการทดสอบแสดงค่า Mean±SD และ ^{a,b,c} คือ ค่าเฉลี่ยที่บ่งบอกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P \leq 0.05$) ของอาหารแต่ละชนิดที่มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร