ศึกษาการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. ในการผลิตสารสีสำหรับทำเยลลี่

THE APPLICATION OF *Monascus* sp. FOR JELLY MAKING

นาย รัฐไท เตชพัฒน์ไพบูลย์

นาย อภิวัฒน์ พรเจริญโรจน์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE APPLICATION OF *Monascus* sp. FOR JELLY MAKING

RUTTHAI TACHAPATPIBOON

APIWAT PRONCHAROENROJ

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE(BIOTECHNOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ศึกษาการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. ในการผลิตสีสำหรับทำเยลลี่
ชื่อนักศึกษา	นายรัฐไท เตชพัฒน์ไพบูลย์ รหัสนักศึกษา 62050533 นายอภิวัฒน์ พรเจริญโรจน์ รหัสนักศึกษา 62050558
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2565

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

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ศึกษาการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus pupureus* ในการผลิตสีสำหรับทำเยลลี่

ชื่อนักศึกษา นายรัฐไท เตชพัฒน์ไพบูลย์ รหัสนักศึกษา 62050533
นายอภิวัฒน์ พรเจริญโรจน์ รหัสนักศึกษา 62050588

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2565

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์

บทคัดย่อ

การเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 (Wild type) ในอาหาร SS medium ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบปริมาณเซลล์ 5.475 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร และสารสี 5.73 หน่วยต่อมิลลิลิตร นำสารสีมาคัดแยกด้วยเยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 KDa และ 10.0 KDa และเซลโลเฟน พบว่าการเคลื่อนที่ของสารสีผ่านเยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 KDa ที่เวลา 24 ชั่วโมงให้ค่าสีสูงที่สุด 0.295 หน่วยต่อมิลลิลิตร และมีปริมาณโปรตีนหลังผ่านเยื่อเลือกผ่านแผ่น Cellophane เยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 และ 10 kDa มีปริมาณโปรตีน 4.370 4.579 และ5.096 กรัมต่อลิตร ตามลำดับจากนั้นนำสารสีมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ปาเปนในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ที่พีเอช 6.5 อุณหภูมิ 37 องศาเป็นเวลา 1 และ 2 ชั่วโมง แล้วนำสารสีที่ย่อยแล้วไปผ่านเยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 KDa วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร พบว่าได้ปริมาณสารสี 0.256 และ 0.295 หน่วยต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การทำเยลลี่ตัวอย่างด้วยสารสีจากเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ผสมกับเจลาติน 30 กรัม น้ำตาลทราย 50 กรัม กลิ่นสตอเบอร์รี่ 10 มิลลิลิตร และน้ำ 87 มิลลิลิตร พบว่าเนื้อสัมผัสของเยลลี่ตัวอย่างให้ค่าความแข็ง 81.84±1.45 นิวตัน ความทนต่อการเคี้ยว 0.434±0.07 นิวตัน แรงยึดเหนี่ยว 0.76±0.09 ความยืดหยุ่น 6.931±0.28 และความเหนียว 62.37±8.68 นิวตัน

คำสำคัญ : เชื้อราโมแนสคัส, เอนไซม์ปาเปน, ไดอะไลซิส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title Application of *Monascus* sp. for jelly making

Students Mr.Rutthai Tachapatpiboon Student lD 62050533

Mr.Apiwat Proncharoenroj Student ID 62050558

Degree Bachelor of Science (Biotechnology)

Department Biology

School Science

University King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)

Academic Year 2022

Advisor Asst Prof. Dr. Somchai Krairak

Abstract

The cultivation of *Monascus* sp. SS14 in SS medium at 30°C for 14 days presented cell and pigment concentration of 5.475 g-DCW/L and 5.73 U/ml, respectively. The pigments separation was examined by dialysis membrane of 3.5 kDa, 10 kDa and cellophane, respectively. It was found that the maximum pigments separation (0.295 U/ml) was observed by using 3.5 kDa of dialysis membrane for 24 h. with protein concentration at 0.1976 g/L. Then, papain was applied for the enzymatic digestion on pigments solution. The enzymatic digestion was carried on 50 mM Na-phosphate buffer, pH 6.5 at 37°C for 1 and 2 h. After that, the digested sample was separated by 3.5 kDa of dialysis membrane. The result showed that pigments concentration in the permeation phase was 0.256 U/ml and 0.295 U/ml at 1 h and 2 h of digesting time, respectively. The jelly sample was prepared by using 20 ml of *Monascus* pigments, 30 g of gelatin, 50 g of sucrose, 10 ml of strawberry ascent and 87 ml of water. The texture characteristic of jelly sample was found at 81.84±1.45 N of hardness, 0.434±0.07 N of chewiness, 0.76±0.09 N of cohesiveness, 6.931±0.28 N of springiness and 62.37±8.68 N of gumminess.

Keywords *:* *M*onascus *p*upureus, Enzyme papain, Dialysis

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเรื่อง “ศึกษาการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. ในการผลิตสีสำหรับทำเยลลี่” ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จากอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์ ที่ช่วยให้ความรู้ คำแนะนำ และถ่ายทอดประสบการณ์ ตลอดจนให้คำแนะนำในเรื่องต่างๆ อีกทั้งยังทำการช่วยเหลือและสนับสนุนในทุกด้านในกับคณะผู้จัดทำ จนโครงงานสำเร็จลุล่วงมาได้ด้วยดีจึงขอกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณขอบคุณ ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวีและ รศ.ดร.สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ ที่สละเวลามาเป็นประธานกรรมการและกรรมการสำหรับสอบโครงงานพิเศษนี้ และคอยให้คำแนะนำ ให้คำปรึกษาและแนวทางในการแก้ไขปัญหา จุดบกพร่องต่างๆ ทำให้โครงงานพิเศษเล่มนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้นขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ช่วยอำนวยความสะดวกให้คำปรึกษาในการใช้อุปกรณ์ให้กับทางคณะผู้จัดทำและขอขอบคุณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการทำโครงงานพิเศษสุดท้ายนี้ขอขอบคุณครอบครัวที่คอยช่วยเหลือสนับสนุนในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี รวมถึงเพื่อนๆในห้องปฏิบัติการที่คอยช่วยเหลือให้คำแนะนำและให้กำลังใจในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้มาตลอด ทำให้งานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ด้วยดี

คณะผู้จัดทำหวังอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษเล่มนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่นำไปศึกษาข้อมูลไม่มากก็น้อย หากมีข้อผิดพลาดประการใดขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

รัฐไท เตชพัฒน์ไพบูลย์
อภิวัฒน์ พรเจริญโรจน์

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 ประวัติและความสำคัญของเชื้อราโมแนสคัส 3

2.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาและการสืบพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส 4

2.3 สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส 5

2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างเมตาบอลิซึมปฐมภูมิและเมตาบอลิซึมทุติยภูมิ 7

2.5 การปล่อยสารออกจากเส้นใยของเชื้อราโมแนสคัส 8

2.6 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส 9

2.7 การเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง (Solid state fermentation) 9

2.8 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็ง 9

2.8.1 สายพันธุ์เชื้อราโมแนสคัส 10

2.8.2 ซับสเตรท 10

2.8.2.1 ข้าว 10

2.8.2.2 เมล็ดธัญพืช 10

2.8.2.3 พีเอช 11

2.8.2.4 อุณหภูมิ 11

2.8.2.5 อัตราส่วนของก๊าซ 11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 ถังหมักที่ใช้ในการะบวนการเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง 12
2.9.1 ถังหมักทรงกระบอกหมุนได้ 12
2.9.2 ถังหมักแบบถาด 12
2.9.3 ถังหมักแบบคอลัมน์ 12
2.9.4 ถังหมักชนิด fluidized bed 12
2.10 คุณลักษณะของจุลินทรีย์ที่เป็นแหล่งวิตามินหรือสารสี 13
2.11 คุณสมบัติและมาตรฐานสีผสมอาหาร 13
2.11.1 ประเภทของสีผสมอาหาร 14
2.11.2 พิษจากการใช้สีผสมอาหาร 15
2.12 กฎหมายด้านการบริโภค 16
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 18
3.1 เชื้อจุลินทรีย์ 18
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ 18
3.3 วัตถุประสงค์ 18
3.4 ส่วนผสมสำหรับทำเยลลี่ 18
3.5 สารเคมี 19
3.6 วิธีการดำเนินงานวิจัย 19
3.6.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MYS medium 19
3.6.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ SS medium 19
3.6.3 การเลี้ยงเชื้อราโมแนนสคัสบนอาหารแข็ง MYS 19
3.6.4 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารเหลว SS 19
3.6.5 การวิเคราะห์ 20
3.6.5.1 การหาค่าเปอร์เซนต์ความชื้น 20
3.6.5.2 การคำนวณหาสารสี 20
3.7 การแพร่ของสีผ่านเมมเบรน 20
3.8 การวัดปริมาณแอลกอฮอล์ 20
3.9 การย่อยโปรตีน 21
3.10 การนำผงสีมาใช้ 21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.11 ขั้นตอนการทำเยลลี่ 21
3.12 การประเมินคุณภาพของเยลลี่ 21
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 22
4.1 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. SS 14 22
4.1.1 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. SS 14 ในอาหารแข็ง 22
4.1.2 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. SS 14 ในอาหารเหลว 22
4.2 การวิเคราะห์ความชื้นและปริมาณสารสี 23
4.3 การแยกเม็ดสีผ่านเยื่อเลือกผ่านเมมเบรน 24
4.4 การวัดปริมาณโปรตีน 26
4.5 การย่อยโปรตีน 26
4.6 การเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพและการประเมินค่าเนื้อสัมผัสของเยลลี่ 27
4.6.1 ลักษณะทางกายภาพ 27
4.6.2 การประเมินค่าเนื้อสัมผัส 28
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผล 30
5.1 สรุปผลการวิจัย 30
5.2 ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม 31
5.3 วิจารณ์ผลการทดลอง 31
เอกสารอ้างอิง 32-37
ภาคผนวก 38
ภาคผนวก ก 39
ภาคผนวก ข 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 4.1 แสดงน้ำหนักแห้งของเชื้อรา *Monascus* sp. ในวันที่ 7 และ 14	23
ตารางที่ 4.2 แสดงค่าดูดกลืนแสงของเยื่อเลือกผ่านเซลโลเฟน	24
ตารางที่ 4.3 แสดงค่าดูดกลืนแสงของเยื่อเลือกผ่านเมมเบรนขนาด 3.5 kDa	25
ตารางที่ 4.4 แสดงค่าดูดกลืนแสงของเยื่อเลือกผ่านเมมเบรนขนาด 10 kDa	25
ตารางที่ 4.5 แสดงการวัดค่าเนื้อสัมผัสของเยลลี่ที่ได้จากการทดลองโดยทำการวัด 3 ซ้ำ	28
ตารางที่ 4.6 แสดงการวัดค่าเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์จากท้องตลาดยี่ห้อที่ 1 โดยทำการวัดตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ 3 ซ้ำ	29
ตารางที่ 4.7 แสดงการวัดค่าเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์จากท้องตลาดยี่ห้อที่ 2 โดยทำการวัดตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ 3 ซ้ำ	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
รูปที่ 2.1 เชื้อโมแนสคัสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA วันที่ 7	5
รูปที่ 2.2 ข้าวแดงที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส	6
รูปที่ 2.3 แสดงโครงสร้างสีต่างๆของ *Monascus* sp.(A) สีเหลือง (B) สีแดง (C) สีส้ม	7
รูปที่ 2.4 ลักษณะเส้นใยของเชื้อราโมแนสคัสที่ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	8
รูปที่ 4.1 การเจริญเติบโตของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารแข็ง 3 วัน (ก) และ 7 วัน (ข)	22
รูปที่ 4.2 การเจริญเติบโตของเชื้อโมแนสคัสในอาหารเหลว 3 วัน (ก) และ 7 วัน (ข)	23
รูปที่ 4.3 กราฟแสดงปริมาณการผ่านของสารสีที่ค่าดูดกลืนแสง 370 480 และ 500 นาโนเมตร ของเยื่อเลือกผ่านเซลโลเฟนที่ 24 48 และ 72 ชั่วโมง	25
รูปที่ 4.4 กราฟแสดงปริมาณการผ่านของสารสีที่ค่าดูดกลืนแสง 370 480 และ 500 นาโนเมตร ของเยื่อเลือกผ่านเมมเบรนขนาด 3.5 kDa ที่ 24 48 และ 72 ชั่วโมง	25
รูปที่ 4.5 กราฟแสดงปริมาณการผ่านของสารสีที่ค่าดูดกลืนแสง 370 480 และ 500 นาโนเมตร ของเยื่อเลือกผ่านเมมเบรนขนาด 10 kDa ที่ 24 48 และ 72 ชั่วโมง	26
รูปที่ 4.6 แสดงปริมาณโปรตีนผ่านเยื่อเลือกผ่านเซลโลเฟน เยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 และ 10 kDa ตามลำดับ	27
รูปที่ 4.7 ลักษณะของเยลลี่ที่ใช้สีจากเชื้อรา *Monascus* sp. เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์จากท้องตลาดยี่ห้อ (A) และผลิตภัณฑ์จากท้องตลาดยี่ห้อ (B)	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงงาน

ปัจจุบันสีผสมอาหารเป็นวัตถุเจือปนอาหารชนิดหนึ่ง ซึ่งใช้ผสมลงไปในอาหารเพื่อปรุงแต่งอาหารให้มีสีสันสวยงามให้คล้ายสีของอาหารตามธรรมชาติ ส่วนใหญ่สีผสมอาหารที่ใช้ในปัจจุบันได้มาจากการสังเคราะห์ทางเคมี เนื่องจากหาซื้อได้ง่ายและสะดวกในการใช้งาน อย่างไรก็ตามสีสังเคราะห์หากบริโภคในปริมาณที่มาก จะก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค

จากเหตุผลดังกล่าวทำให้การศึกษาสีผสมอาหารจากธรรมชาติมีความปลอดภัยมากกว่าสีผสมอาหารที่ได้จากการสังเคราะห์ เพราะการใช้สีสังเคราะห์อาจก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenicity) และเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogenicity) (Sabater-Vilar *et al.*,1999) แหล่งที่มาของสีธรรมชาติที่สำคัญ ได้แก่ พืช สัตว์ และจุลินทรีย์ สีธรรมชาติจากพืชหรือสัตว์เป็นสที่สามารถหาได้ทั่วไปและการสกัดสีมีวิธีการไม่ซับซ้อน แต่มีข้อเสียคือปริมาณสีจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับฤดูกาล ภูมิประเทศ ภูมิอากาศ ความคงทนต่อแสนต่ำ ไม่สามารถผลิตได้ในปริมาณที่มาก ซึ่งเป็นปัจจัยที่ไม่สามารถควบคุมได้ ซึ่งมีการนำสีธรรมชาติที่ได้จากจุลินทรีย์มาใช้ในการทดแทนสีสังเคราะห์ เนื่องจากสามารถเพิ่มผลผลิตได้รวดเร็วและสามารถพัฒนาคุณภาพได้ง่าย และสามารถควบคุมปัจจัยที่ใช้ในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ สามารถนำไปปรุงแต่งอาหารได้อย่างปลอดภัย นอกจากนี้ยังมีการนำไปใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องดื่ม เครื่องสำอาง และยารักษาโรคได้อีกด้วย

การใช้เชื้อราโมแนสคัสในอาหารและเครื่องยาในประเทศแถบตะวันออกมีมานานเป็นเวลาหลายร้อยปี (Wong,1982) โดยการเลี้ยงเชื้อราบนข้าวนึ่งแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิละความชื้นที่เหมาะสม เชื้อราจะเจริญไปพร้อมกับการย่อยข้าวและจะสร้างสารีแดงเข้มขึ้น(Su และ Wong,1983) เชื้อราสามารถเจริญและสร้างสีได้ดีที่อุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส เจริญในช่วงพีเอชระหว่าง 2.5-8.0 แต่มีช่วงพีเอชที่เหมาะต่อการสร้างสารสีระหว่าง 4.0 – 7.0 (Yongsmith *et al.*,1993) ข้าวที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อมีชื่อเรียกต่างๆ มากมาย ได้แก่ ข้าวแดง (red rice) ข้าวแดงจากจีน (Chinese red rice) อังคัก (ankak) แองคา (anka) อังคเว (angquac) เบบนิ-โคจิ (beni-koji) และอะกา-โคจิ (aka-koji) (Hesseltine,1965)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์เยลลี่เป็นผลิตภัณฑ์ลูกกวาด (Confectionery products) ที่ได้รับความนิยมประเภทหนึ่ง มีส่วนแบ่งการตลาดของตลาดลูกกวาดในประเทศไทยที่สูง ลักษณะเฉพาะของเยลลี่ คือ เป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นเจล มีความใส เนื้อสัมผัสเนียน ไม่หยาบสาก เหนียวนุ่ม และมีความยืดหยุ่น (สุวรรณา, 2543; สายสนม และ สิริ, 2439) มีส่วนประกอบหลัก ได้แก่ น้ำ น้ำตาล สารก่อเจล และกรด (กรมวิชาการเกษตร, 2543) สารก่อเจลที่ใช้ในการผลิตเยลลี่ ได้แก่ เจลาติน คาราจีแนน เพกทิน และอะการ์ เป็นต้น (นราธิป, 2556) โดยสารก่อเจลทำหน้าที่ในการขึ้นรูปและปรับปรุงโครงสร้างเนื้อสัมผัส ทั้งนี้ชนิดของสารก่อเจลและปริมาณสารก่อเจลที่แตกต่าง จะทำให้ได้เนื้อสัมผัสของเยลลี่แตกต่างและเกิดความหลากหลายของผลิตภัณฑ์

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อแบบ MYS และ SS

1.2.2 ศึกษาสีที่ได้จากเชื้อโมแนสคัสไปประยุกต์ใช้ในการทำเยลลี่

1.2.3 ศึกษาเยลลี่ที่ใช้สีจากเชื้อโมแนสคัสไปเปรียบเทียบกับเยลลี่ในท้องตลาด

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

ศึกษาการเลี้ยงเชื้อที่ได้เม็ดสีแดงมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบ MYS และการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว หลังจากนั้นทำการสกัดเม็ดสี และทำการย่อยโปรตีนที่ติดกับเม็ดสีด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ได้จากมะละกอ และทำให้แห้งด้วยเครื่อง Spray dry จากนั้นนำสีที่ได้มาใช้เป็นสีผสมอาหารในการทำเป็นเยลลี่

1.4 ประโยชน์ของการศึกษา

1.4.1 ทราบถึงขั้นตอนการเลี้ยงเชื้อโมแนสคัสที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MYS

1.4.2 ได้สีจากธรรมชาติที่มีความปลอดภัย

1.4.3 รู้ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ค่า pH ที่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ประวัติและความสำคัญของเชื้อราโมแนสคัส

เชื้อราโมแนสคัส จัดอยู่ใน Class Ascomycetes Subclass Plectomycetidae Order Eurtials (Alexopoulos and Mims, 1979) แบ่งเป็น 4 กลุ่ม โดยอาศัยลักษณะทางสรีรวิทยาและความสามารถในการสร้างเอนไซม์ ได้แก่ *Monascus pilosus Monascus purpureus Monascus rubber* (Hawksworth and Pitt, 1983) และ *Monascus floridanus* (Bridge and Hawksworth, 1985 : Barnard and Cannon, 1987) เจริญได้ดีบนอาหารแข็งในรูปข้าวแดง (นั่งตัก) เพื่อใช้ปรุงแต่งสีใน ไวน์ เต้าหู้ ใช้ถนอมอาหารประเภทเนื้อ ใช้รักษาโรครวมทั้งใช้เป็นสีผสมในอาหาร ยา และเครื่องสำอาง ต่อมาผลิตเป็นการค้าในประเทศญี่ปุ่น ไต้หวัน จีน (Hendry and Houghton, 1992) และเยอรมัน

Church (1920) รายงานถึงการทดลองแยกสายพันธุ์ที่ได้จากข้าวแดงของประเทศจีน จนในที่สุดก็ทราบว่าเชื้อราที่ให้สีแดงคือ *Monascus purpureus* ต่อมา Palo *et al.*(1960) นักวิทยาศาสตร์ชาวฟิลิปปินส์ได้ทดลองใช้เชื้อราโมแนสคัสนี้ทำข้าวแดงจนได้ข้าวแดงที่มีคุณภาพดีพอสมควร สามารถนำเอาข้าวแดงมาใช้เจือสีอาหารได้โดยตรง ภายหลังได้มีความสนใจที่จะศึกษาสายพันธุ์เชื้อราโมแนสคัสที่เหมาะสมสำหรับใช้ในสภาพหมักเปียก (Submerged cultivation) ริเริ่มโดย Lin (1973) ต่อมาก็มีผู้ประสบความสำเร็จในการศึกษาการผลิตสี ในอาหารเหลว (Shephed and Carels, 1983 ; Yoshimura *et al.,* 1975 : Shin *et al.*, 1998 ; วรรณภา และ บุษบา, 2527)

เชื้อราโมแนสคัสนอกจากสร้างสารสีแล้ว ยังสร้างสารอื่นที่เป็นประโยชน์อีกหลายชนิด Wong and Bau (1977) รายงานเป็นครั้งแรกถึงการค้นพบสารต่อต้านแบคทีเรียจากเชื้อรา *H. parasrinus* ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียของอาหาร เช่น *Bacillus sp. Streptococcus sp.* และ *Pseudomonas sp.* เป็นต้น สารนี้มีชื่อว่า monascidin A นอก จากนี้ยังพบการสร้างเอนไซม์ โคเอนไซม์ เอทธานอล สาร โมนาโคลิน (monacolins) ที่ใช้ยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล สารลดความดันโลหิต และสารช่วยในการตกตะกอน (flocculants) อีกด้วย (Fink-Gremunels and Leistner, 1989)

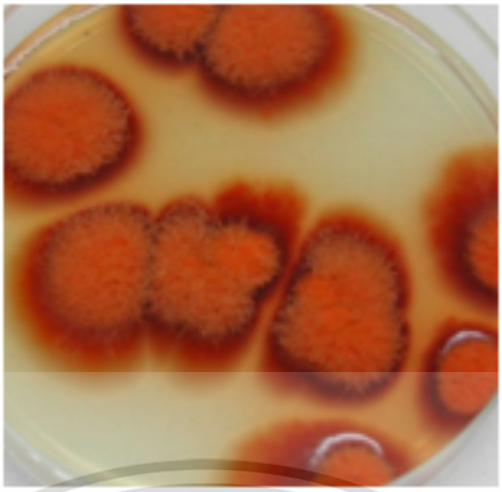
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ลักษณะสันฐานวิทยาและการสืบพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส

เชื้อราโมแนสคัส (*Monascus spp.*) เคยจัดอยู่ใน Family Aspergillaceae Order Plectuscales แต่ปัจจุบันอยู่ใน Family Monascaceae Class Ascomycetes Subclass Plectomycetidae Order Eurotiales เส้นใยมีผนังกั้น มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ เส้นใยมีการแตกกิ่ง ก้านสาขามากมายและมักเจริญแบบชิดเกาะแน่นบนผิวของอาหารแข็ง เส้นใยเมื่ออายุอ่อนมีสีขาว แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีแดงหรือม่วง

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ มีการสร้างโคนีเดีย (conidia) เจริญมาจากโคนิดิโอฟอร์ (conidiophore) โดยจะสร้างโคนิเดียรูปร่างกลมหรือรูปไข่ อาจมีอันเดียวหรือหลายโคนิเดียต่อกันเป็นลูกโซ่งปลา เส้นใยโคนิเดียฝังนักไม่มีสี แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีแดงหรือสีน้ำตาลอ่อน (Ainswarth *et al.*, 1973 ; Hawksworth and Pitt, 1983) โคนิดิโอฟอร์มีขนาดสั้นอาจมีผนังกั้นหรือไม่มีผนังกั้นก็ได้ ถ้ามีขนาดยาวจะมีผนังกั้น 2 - 6 อัน เป็นสายตรงหรือขดเป็นเกลียวและเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่ออายุมากขึ้น การงอกของโคนีเซียจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสูตรอาหาร เช่น C medium เหมาะสมสำหรับการเกิดโคนิเดียของโมแนสคัส นอกจากนั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นอีกหลายๆ ประการ เช่น อายุสปอร์ ความหนาแน่นของสปอร์ ค่าพีเอช แสงและอุณหภูมิ เช่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปโคนิเดียจะงอกภายใน 4 ชั่วโมง เมื่อมีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสม ด้วยการสร้าง germ-tube ขึ้นมา 1 เส้น หรือ 2 เส้น หรือบางครั้ง อาจมีได้ถึง 6 เส้น ซึ่งการงอกของโคนิเดียกระตุ้นได้ด้วยคาร์โบไฮเดรตหลายชนิด การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อราโมแนสคัสคล้าย ๆ กับเชื้อราอื่นใน Class Ascomycetes มีการสร้างเพอริทีเซียม (perithecium) หรือคลิสโททีเซียม (cleistothecium) ซึ่งเป็นแอสโคคาร์ป (ascocarp) มีรูปร่างกลม โดยจะเกิดบนก้าน (stalk) (Von Arx, 1974) ที่มีหรือไม่มีผนังกั้นก็ได้ แอสโคคาร์ปเกิดขึ้นบนเส้นใยซึ่งเป็นแบบโฮโมแทลลิก (homothalic) โดยการสร้าง โครงสร้างออกมา 2 ชนิด คือ แอนเทอริเดียม (antheridium) แอสโคโกเนียม (ascogonium) เกิดการฟิวชั่น (fusion) ที่ปลายแอสโคโกเนียมกับส่วนฐานหรือส่วนกลางของแอนเทอริเดียม แล้วจึงจะมีการขยายผนังเซลล์รวมออกและสร้างแอสโคคาร์ปขึ้นในที่สุด ภายในแอสโคคาร์ปมีแอสโคสปอร์ (ascospores) มากมาย โดยแอสโคสปอร์จำนวน 2 - 8 แอสโคสปอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 เชื้อโมแนสคัสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA วันที่ 7
(ที่มา:https://www.semanticscholar.org/paper/The-Morphology-and-Structure-of-Red-PigmentFungusAMananMohamad/figure/1)

2.3 สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส (บุษบา, 2542 : นิสา, 2537)

สารสีจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นสารประเภท polyketide ซึ่งเป็นสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ที่เชื้อราสร้างขึ้นพร้อมๆกับการเจริญ (growth associated) หรือสร้างหลังจากการเจริญหยุดลงแล้ว (non-growth associated) มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับสารในกลุ่ม azaphilones เช่น sclerotiorin and rotiorin

Haws *et al.* (1959) พบโครงสร้างของรูโบรพังตาติน (rubropunctatin, $C_{21}H_{22}O_5$) ซึ่งเป็นสารสีส้มและสารสีเหลืองโมนาสชิน (monascin, $C_{21}H_{26}O_5$) ที่แยกได้จากเชื้อรา *Monascus ruhropunctatus* Sato สารสีส้มรูโบรพังตาตินละลายในสารละลายอินทรีย์เกือบทุกชนิด แต่ไม่ละลายในโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ที่อุณหภูมิต่ำ และเมื่อนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลายแอมโมเนียจะได้สารสีม่วงของรูโบรพังเตตามีน (rubropunctatamine, $C_{21}H_{26}O_4N$)

Fielding *et al.* (1961) ศึกษาการสร้างสารสีที่ Nishikawa แยกได้จาก *M. purpureus* Went. คือ โมนาสโครูบริน (monascorubrin, $C_{23}H_{23}O_5$) และโมนาสโคฟลาวิน (monascoflavin) หรือโมนาสชินNakanishi(1959)แสดงให้เห็นว่าโมนาสโครูบรามีน(monascorubramine) และรูโบรพังเตตามีนเปลี่ยนมาจากโมนาสโครูบริน และรูโบรพังตาติน (สีส้ม) ตามลำดับ Hiroi *et al.* (1975) ศึกษาโครงสร้างของสารสี 2 ชนิด คือ โมนาสโครูบริน (สีส้ม) และ รูโบพังเตตามีน (สีม่วง)

Manchand *et al.* (1973) พบว่าเชื้อราโมแนสคัสแต่ละสายพันธุ์ให้สารสีแตกต่างกัน ออกไป และพบการสร้างสารสีเหลืองตัวใหม่จากเชื้อรา *M. anka* มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับโมนาสชิน (monascin) มีชื่อว่าอังคาฟลาวิน (ankaflavin, $C_{23}H_{30}O_5$) ต่อมา Sweeny *et al*. (1981) สามารถสกัดสารสีจากโคจิของ *M. anka* พบสารสี 3 กลุ่ม คือ สารสีแดงประกอบด้วย รูโบรพังตามีน และโม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

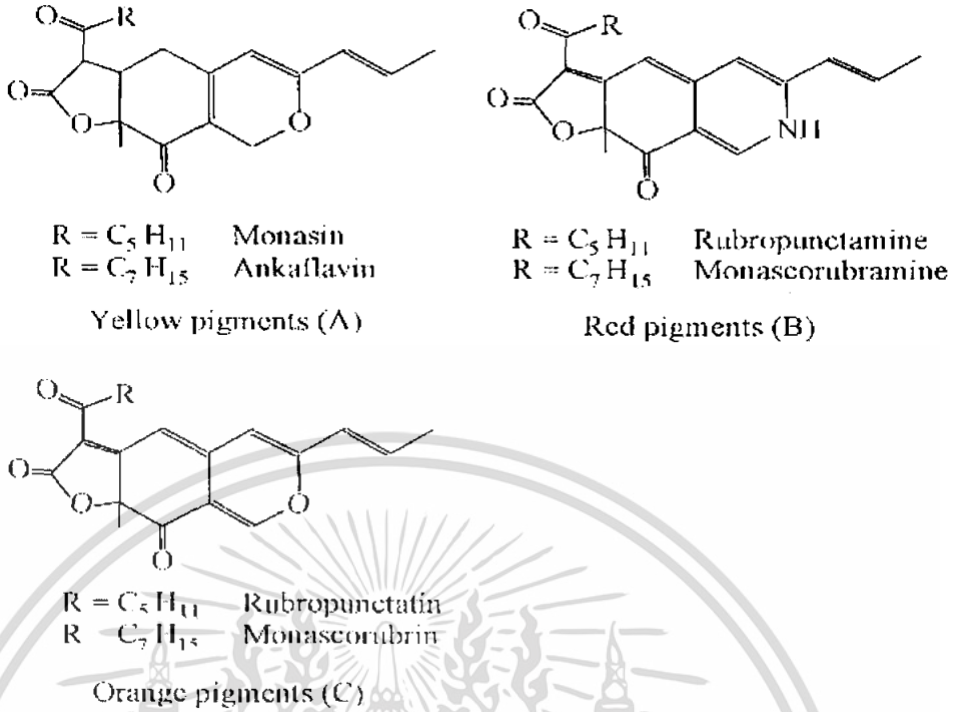
นาสโครูบรามีน สารสีส้มประกอบด้วย รูโบรพังตาดินและโมนาสโครูบริน สารสีเหลือง ประกอบด้วย โมนาสซินและอังคาฟลาวิน

Carels and Shepherd (1977) เสนอว่าสารสีส้มถูกสังเคราะห์เป็นสีแรก และสารสีเหลืองที่เกิดขึ้นกับสีส้มนั้นๆ

Yongsmith *et al.* (1993) รายงานสารสีเหลืองที่มีโครงสร้างเคมีใหม่ต่างจากโมนาสซิน และอังคาฟลาวินที่มีผู้รายงานก่อนหน้านี้ โดยให้ชื่อว่า yellow pigment II ซึ่งมีโครงสร้างเคมีที่มีอนุมูลไฮดรอกซิล (OH) แทนที่หมู่พันธะคู่ออกซิเจน (O) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 10

รูปที่ 2.2 ข้าวแดงที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส
(ที่มา:https://www.nccih.nih.gov/health/red-yeast-rice)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 แสดงโครงสร้างสีต่างๆของ *Monascus sp.* (A) สีเหลือง (B) สีแดง (C) สีส้ม (ที่มา : Nakanishi *et al.* (1959); Sweeny et al. (1981))

2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างเมตาบอลิซึมปฐมภูมิ และเมตาบอลิซึมทุติยภูมิ (สมชาย, 2536)

สีธรรมชาติจากเชื้อราโมแนสคัสจัดเป็นสารเมตาบอไลท์ประเภททุติยภูมิซึ่งไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับหน้าที่เมตาบอลิซึมที่สำคัญๆของสิ่งมีชีวิตที่สร้างขึ้นมา ลักษณะประการหนึ่งของสารประกอบชนิดนี้คือการสร้างสารหลังจากช่วงการเจริญผ่านไปแล้ว การแยกจากกันระหว่างการเจริญของเซลล์กับการสร้างสารทุติยภูมิ ในบางครั้งก็ใช้เป็นคำจำกัดความของสารทุติยภูมิ แต่กลไกการสร้างดังกล่าวไม่สามารถยึดเป็นหลักในการจัดจำแนกได้ เพราะว่าในบางกรณีสารทุติยภูมิสามารถสังเคราะห์ในระหว่างการเจริญ Bu'lock *et al.* (1974) จัดสารประกอบที่เรียกว่าสารทุติยภูมิอยู่ในผลิตภัณฑ์หลักประเภท 3 ตามการแบ่งประเภทของ ผลิตภัณฑ์หลักจากกระบวนการหมัก ดังนี้คือ

1. ผลิตภัณฑ์หลักจากเมตาบอลิซึมแบบปฐมภูมิโดยตรง
2. ผลิตภัณฑ์หลักจากเมตาบอลิซึมแบบปฐมภูมิโดยอ้อม
3. ผลิตภัณฑ์หลักที่ไม่เกี่ยวกับการเมตาบอลิซึม

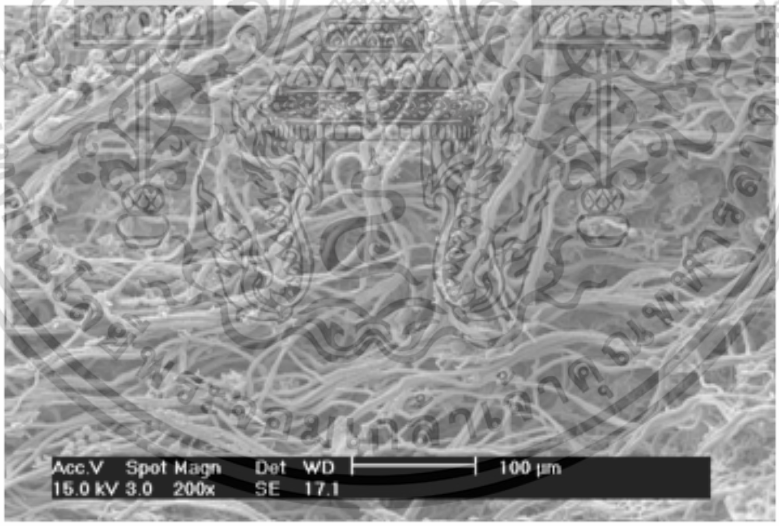
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 การปล่อยสารออกจากเส้นใยของเชื้อราโมแนสคัส

Su and Huang (1980) กล่าวว่าสารสีที่เชื้อราโมแนสคัสสร้างขึ้นจะมีลักษณะเป็น granular fluid ซึ่งจะถูกขับออกมาตามช่องหรือรอยแตกของผนังเส้นใย ในบางครั้งเมื่อขับออกมาแล้วสารสียังคงติดอยู่กับปลายเส้นใย และสะสมจนมีจำนวนมากก่อนหลุดจากเส้นใย สารสีบางส่วนจะสะสมอยู่ภายในเส้นใยด้วย

Lin and Lizuka (1982) ทดลองเลี้ยงเชื้อรา *M. Kaoliang* R-10847 บนอาหารแข็ง mantou - meal เพื่อศึกษาการสร้างสารสีนอกเซลล์ พบว่าเชื้อราจะเริ่มต้นสร้างสารสีและปล่อยออกมาในวันที่ 2 ของการเจริญพร้อมกับสารที่มีลักษณะหนืดชนิดหนึ่ง (viscous substance) ทำให้สารสีเกาะติดอยู่กับเส้นใยและสะสมเพิ่มมากขึ้นจนกระทั่งเส้นใยแตกจึงหลุดออกมา ไม่พบการสะสมสารสีภายในเส้นใย

Lin and Lizuka (1982) พบว่าการชักนำให้เชื้อราเกิดการผ่าเหล่าเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มี รอยรั่ว (kosage) ของผนังเส้นไรมากขึ้น ส่งผลให้เชื้อราสร้างสารสีได้ดีขึ้น เนื่องจากมีความสมดุลระหว่างการสังเคราะห์สารสีและการปล่อยออกจากเส้นใย การเติม Tween 80 ปริมาณที่เหมาะสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (วรรณภา, 2529 : สมชาย, 2536 : Chiu and Poon, 1993) หรือปรับปรุงสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (วรรณภา, 2529) ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยให้การปล่อยสารสีออกจากเส้นใยเพิ่มขึ้น



รูปที่ 2.4 ลักษณะเส้นใยของเชื้อราโมแนสคัสที่ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (ที่มา:https://medcraveonline.com/JMEN/the-morphology-and-structure-of-red-pigment-producing-fungus-monascus-purpureus.html)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 ผลิตภัณฑ์อื่นที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส

Kranz *et al.* (1992) พบว่าเชื้อรา *M. purpureus* สร้าง methyl ketone ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นรสใน blue cheese ได้ดีใกล้เคียงกับ *Penicillium roqueforti* เมื่อใช้สารตั้งต้นเป็นกรดไขมันสายสั้น ๆ ข้าวหมักสีแดง (red fermented rice) เป็นที่รู้จักในด้านยาสำหรับการรักษาการย่อยอาหารและการหมุนเวียนโลหิต ในประเทศจีนมีการบริโภคเป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพกันอย่างมาก (Julio *et al*. 2006 ; Wang *et al.*, 1997) ซึ่งมีโครงสร้างสำคัญเป็น องค์ประกอบ เช่น โมนาโคลิน เค (Monacolin K) มีชื่อทางการค้าว่า เมวากอร์ (Mevacor) คอเลสติน (Cholestin) หรือ โลวาสเตทิน (Lovastatin) และอื่นๆ ซึ่งจะช่วยรักษาระดับไขมันในเลือดโดยการลดการผลิตคอเลสเตอรอลในร่างกาย (Endo, 1979; Bach, 1986, Endo and Hasumi, 1997; Wang *et al.*, 1997, Li *et al.*, 1998; Kennedy *et al.* 1999; Heber *et al.*, 2001)

2.7 การเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง (Solid state fermentation) (ดุษณี, 2546)

การเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็งส่วนใหญ่จะใช้กับเชื้อราที่สร้างใยราและยีสต์บางชนิด แบคทีเรียบางชนิด เช่น พวก Actinomycetes และพวก Bacillus บางสายพันธุ์ เนื่องจากแบคทีเรียส่วนใหญ่จะเจริญได้ดีในอาหารเหลวหรืออย่างน้อยอาหารนั้นจะต้องมีน้ำอยู่ในรูปอิสระ ด้วยเหตุนี้กระบวนการหมักของเชื้อแบคทีเรียทั่วๆไปจึงใช้อาหารเหลวหรืออาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว ซึ่งต่างจากเชื้อราที่สามารถเจริญได้ดีในอาหารแข็งที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เช่น ท่อนไม้ ราก ลำต้น ใบและเมล็ดของพืช บริเวณที่แห้งของสัตว์ เช่น หนัง กระดูก และมูลสัตว์ที่มีความชื้นต่ำ ตัวอย่างเช่น *Eurotium halophilicum* จะเจริญได้บนข้าวสาลีที่มีความชื้นเพียงร้อยละ 13-14 ถึงแม้ว่าจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถเจริญได้ในอาหารแข็งแต่มีจุลินทรีย์บางชนิดเท่านั้นที่นำมาใช้ในการผลิตเพื่อเป็นการค้าตัว อย่างเช่น อาหารหมักพื้นเมืองในแถบตะวันออกไกล จะใช้เชื้อราพวก *Mucor, Rhizopus, Amylomyces, Aspergillus, Monascus* และ *Neurospora* การผลิตเนยแข็งจะใช้เชื้อต่างๆ เป็นตัวให้กลิ่นรสในระหว่างการบ่มเนยแข็งการผลิตเซลล์จุลินทรีย์ให้ได้ปริมาณมากโดยการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสของเชื้อ*Phanerochaete, Trichoderma* และ *Chaetomium* และการผลิตเห็ดโดยเชื้อ *Agaricus, Lentinus uaz Volvariella*

2.8 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็ง (บุษบา, 2542)

เชื้อราที่เจริญบนข้าวสามารถปล่อยสารสีออกมานอกเซลล์ได้มาก ทำให้ไม่เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์สารสี จึงสร้างสารสีได้สูงกว่าการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว เชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ที่นิยมใช้หมักข้าวแดง ได้แก่ *M. purpureus* และ *M. anka* ซึ่งการผลิตข้าวแดงให้ได้คุณภาพดี ขึ้นอยู่กับปัจจัยสำคัญหลายประการที่มีผลต่อการสร้างสารสีของเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็ง ได้แก่ สายพันธุ์ข้าว สายพันธุ์เชื้อรา สภาวะเลี้ยงเชื้อ เช่น ความชื้น อุณหภูมิ ค่าพีเอช เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.1 สายพันธุ์เชื้อราโมแนสคัส

โดยทั่วไปเชื้อราโมแนสคัส เมื่อเจริญบนเม็ดข้าวโดยการงอกของเส้นใยทั่วทั้งผิวหน้าและทะลุเข้าไปภายในเมล็ดข้าวนั้นก็จะมีการสร้างสารสีได้ภายหลังจากการบ่มได้นาน 3 วัน สารสีเหล่านี้เมื่อมีการนำมาสกัดด้วยสารละลายเอทานอล พบว่าสารสีแดงทั่วไปจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 2 ความยาวคลื่น ได้แก่ 420 และ 500 นาโนเมตร บางสายพันธุ์ที่ให้สีข้าวแดง หรือ อังคัก เป็นสีแดงสด หรือแดงเข้ม จะมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร สูงกว่าที่ 420 นาโนเมตร เช่น ที่พบในสายพันธุ์ของ *M. purpureus* หรือ *M. anka* แต่บางสายพันธุ์อาจให้สีแดงเข้มคล้ำ โดยมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 สูงกว่าที่ 500 นาโนเมตร หรือค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 370 สูงกว่าที่ 500 นาโนเมตร เป็นต้น เช่น สายพันธุ์ M. barkeri หรือ M. kaoliang

2.8.2 สับสเตรท

สับสเตรทที่ใช้ในการหมักสีโมแนสคัสแบบแห้งนั้นปกติจะเป็นข้าว หรือเมล็ด ธัญพืชอื่นๆ ได้แก่

2.8.2.1 ข้าว

ข้าว Palo *et al.* (1960) ได้ศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการสร้างสารสีของ *M. purpureus* และพบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตอังคักมีดังต่อไปนี้ ความชื้นไม่เกิน 50 เปอร์เซ็นต์ พีเอชระหว่าง 3.0-7.5 อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส แต่สายพันธุ์ข้าวเหนียวให้ผลไม่ดีนัก บุษบา (2518) ได้ทดลองการสร้างสารสีของ *M. purpureus* โดยใช้สภาวะการผลิตข้าวแดงของ Palo *et al.* (1960) มาทดสอบกับข้าวพันธุ์ต่างๆ ของไทย พบว่าข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยวงู และข้าวพันธุ์หอมมะลิให้สีเข้มใกล้เคียงกัน แต่ข้าวเหนียวกลับให้กลิ่นหอมมากกว่าข้าวหอมมะลิ กลิ่นหอมดังกล่าวคือกลิ่นเอสเทอร์และแอลกอฮอล์ปนกัน ทั้งนี้ข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยวงูและข้าวพันธุ์หอมมะลิให้ผลความเข้มข้นของสีใกล้เคียงกับข้าวพันธุ์ญี่ปุ่น ในขณะที่ข้าวพันธุ์อื่นๆ ของไทยนั้นล้วนแต่ให้สีและความหอมน้อยกว่ามาก

2.8.2.2 เมล็ดธัญพืช

เมล็ดธัญพืชและอื่นๆ ศิววรรณ และคณะ (2550) ได้ศึกษาแหล่งสับสเตรทชนิดต่าง ๆ ต่อการผลิตสีโมแนสคัสเปรียบเทียบกับการผลิตบนเมล็ดข้าวโดยใช้ข้าวโพด มันเทศ มันสำปะหลัง มันฝรั่ง ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ข้าวฟ่าง ขนมปังแทนเมล็ดข้าวต่อการเจริญการสร้างสีและการสร้างสปอร์ของ *M. kaoliang* พบว่าขนมปังให้ค่าสีแดงมากที่สุด ซึ่งตรงกับผลการทดลองของ Lin and lizuka (1982) รองลงมา ได้แก่ มันฝรั่ง และปลายข้าวหอมมะลิ นอกนั้นสีไม่ดีนัก ส่วนการสร้างสปอร์ของ *M. kaoliang* พบว่าถั่วเหลืองให้ปริมาณสปอร์สูงสุด รองลงมา ได้แก่ ถั่วเขียว ขนมปัง และปลายข้าวหอมมะลิ ตามลำดับ ส่วนธัญพืชอื่นๆให้ผลการสร้างสีไม่มีนัก Rashbaum and Yuch (1983) ทดลองใช้ข้าวโอ๊ต ข้าวสาลี และข้าวบาร์เล่ เป็นเบสเตรทแทนข้าวพบว่าได้ผลดีเช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.3 พีเอช

Palo *et al.* (1960) รายงานว่า *M. purpureus* สร้างสีแดงได้ดีที่พีเอชระหว่าง 3.0-7.5 บุษบา (2534) พบว่าสภาวะเป็นกรดไม่มีผลต่อการสร้างสีเหลืองของ *M. barkeri*

2.8.4 อุณหภูมิ

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

2.8.5 อัตราส่วนของก๊าซ

Han and Mudgett (1992) รายงานเป็นครั้งแรกของสัดส่วนระหว่างก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ มีผลต่อการผลิตข้าวแดงด้วย โดยพบว่าความดันก๊าซออกซิเจนต่อความดันคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับ 0.50 ต่อ 0.02 บรรยากาศ (atm) จะมีผลดีต่อการสร้างสีแดงของอังคักมากที่สุด

2.8.6 ความชื้น

Palo *et al.* (1960) รายงานเป็นครั้งแรกว่าความชื้นต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลต่อการสร้างสีของ *M. purpureus* เชิดชัย และคณะ (2519) พบว่าความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีแดงของ *M. purpureus* K001 บนเมล็ดข้าว คือ 60.0 เปอร์เซ็นต์ การเขย่าหรือ ให้อากาศช่วยให้เชื้อราสร้างสารสีแดงได้ดีและเร็วขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณโปรตีนในเมล็ดข้าวมีเพียงพอต่อการสร้างสารสีอยู่แล้ว เชิดชัย และคณะ (2519) พบว่าการหมักข้าวแดงในสภาพที่มีความชื้นสูงมากไปนั้น เชื้อราโมแนสคัสจะสร้างเอนไซม์กลูโคอะไมเลสสูง เกิดการสะสมกลูโคส ยับยั้งการสร้างสารสีได้

Johns Stuart (1991) พบว่าเชื้อรา *M. purpureus* จะสร้างสารสีได้น้อยเมื่อเลี้ยงเชื้อที่ความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 38.0-39.0 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าความชื้นเริ่มต้นสูงขึ้นเป็น 56.0 เปอร์เซ็นต์ และพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.0 การสร้างสารสีจะเป็นไปได้ดี

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

Chiu and Chan (1992) ศึกษาการสร้างสารสีของเชื้อรา *M. purpureus* บนวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร คือ ชานอ้อย โดยเปรียบเทียบระหว่างการเลี้ยงเชื้อบนขวดหมุน (roller bottle) ความเร็ว 2 รอบต่อนาที กับตั้งทิ้งไว้เฉยๆ พบว่าการใช้ระบบขวดหมุน เชื้อราจะสร้างสารสีแดงและสารสีเหลืองได้ดีกว่าตั้งทิ้งไว้เฉยๆ ประมาณ 2-3 เท่า แต่ก็ยังให้สารสีน้อยกว่าในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยกลูโคส เปปโตนและยีสต์เอกซ์แทรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 ถังหมักที่ใช้ในกระบวนการเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง

การหมักในอาหารแข็งโดยทั่วไปจะใช้ถังหมักที่มีโครงสร้างและการควบคุมที่ง่าย ซึ่งต่างจากระบบการควบคุมที่ใช้สำหรับการหมักในอาหารเหลว การหมักในอาหารแข็งแบ่งออกเป็นการหมักที่ไม่มีการกวนอาหาร การหมักที่มีการกวนอาหารเป็นครั้งคราว และการหมักที่มีการกวนอาหารตลอดเวลา ซึ่งการหมักในอาหารแข็งแบบที่อาศัยการกวนเพิ่มอากาศให้กับเชื้อจุลินทรีย์จะมีความสำคัญต่อการผลิตในระดับอุตสาหกรรม ซึ่งการหมักในอาหารแข็งแบบมีการกวนแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด คือ

- การหมักที่มีการกวนหรือการหมุนถังหมักเป็นครั้งคราว โดยไม่มีการให้อากาศ
- การหมักที่มีการกวนอย่างต่อเนื่อง โดยไม่มีการให้อากาศ
- การหมักที่มีการกวนเป็นครั้งคราว และมีการให้อากาศ

ถังหมักที่ใช้สำหรับการหมักในอาหารแข็งจะออกแบบให้การเจริญของเชื้อใกล้เคียงกับสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติ และใช้ระบบการหมักแบบครั้งคราวมากกว่าระบบการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องหรือต่อเนื่อง ถังหมักชนิดต่างๆที่ใช้ในกระบวนการหมักในอาหารแข็ง ได้แก่

2.9.1 ถังหมักทรงกระบอกหมุนได้ (rotating drum bioreactor)

ประกอบด้วยภาชนะบรรจุรูปทรงกระบอกติดอยู่บนลูกกลิ้งที่ทำหน้าที่เป็นตัวยึดถังหมักและเป็นเครื่องมือใช้ในการหมุนถังหมัก ข้อเสียเปรียบของถังหมักชนิดนี้คือ บริเวณที่ใช้ในการหมักมีเพียง 30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรทั้งหมดของถังหมัก ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการหมักโดยใช้ถังหมักชนิดนี้ ได้แก่ เอนไซม์ เซลล์จุลินทรีย์ และอาหารสัตว์

2.9.2 ถังหมักแบบถาด (tray fermentation)

เป็นถังหมักที่ใช้ได้ง่ายและให้ผลผลิตที่สม่ำเสมอ ถังหมักชนิดนี้ช่วยให้ปฏิกิริยาของเอนไซม์สูงขึ้นในระหว่างการหมัก แต่ข้อเสียคือ ต้องใช้พื้นที่การหมักเป็นบริเวณมาก ถังหมักชนิดนี้ใช้กันมากในการผลิตอาหารหมักเอนไซม์ เห็ด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแถบตะวันออกไกลในการผลิตโคจิ ถังหมักชนิดนี้ทำงานโดยอาศัยการเป่าลมผ่านบริเวณด้านล่างของอาหารแข็ง มีการควบคุมความร้อนและความชื้นภายในถังหมักระหว่างกระบวนการหมัก

2.9.3 ถังหมักแบบคอลัมน์ (column bioreactor)

ประกอบด้วยคอลัมน์พลาสติกหรือแก้วที่เปิดได้ทั้งหัวและท้าย อุณหภูมิของถังหมักจะถูกควบคุมโดยนำถังหมักมาไว้ในสภาพแวดล้อมที่มีการควบคุมอุณหภูมิ หรือโดยการผ่านน้ำไปยังกระบอกเสื้อสูบที่อยู่รอบๆคอลัมน์ ถังหมักชนิดนี้ใช้ในการผลิตเอทิลแอลกอฮอล์และเซลล์จุลินทรีย์

2.9.4 ถังหมักชนิด fluidized bed

ถังหมักชนิดนี้ใช้ในการผลิตเซลล์จุลินทรีย์ ซึ่งในระหว่างการหมักจะมีการกระเพื่อมเพื่อป้องกันการเกาะของของแข็งที่ผนังของถังหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10 คุณลักษณะของจุลินทรีย์ที่เป็นแหล่งวิตามินหรือสารสี

จุลินทรีย์เป็นกุญแจแห่งความสำเร็จ หรือความล้มเหลวของกระบวนการ ฉะนั้นหลักการทั่วไปในการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในการผลิตและวิตามิน ควรมีข้อพิจารณาดังนี้

1. สามารถเจริญได้เร็ว ขยายพันธุ์ได้ดี

2. มีความสามารถผลิตผลิตภัณฑ์ เช่น วิตามินหรือสารสีได้สูง ได้ผลสม่ำเสมอ และไม่ควรให้ผลพลอยได้ที่ไม่จำเป็นหรือไม่ต้องการ

3. ควรเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถใช้วัตถุดิบที่หาง่าย ราคาถูก ที่มีอยู่แล้วในท้องถิ่นได้ดี (ข้อนี้สำคัญมากในทางปฏิบัติ)

4. มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดี มีช่วงพีเอช และช่วง อุณหภูมิที่เหมาะต่อการเจริญเติบโตกว้าง

5. เป็นจุลินทรีย์ที่มีลักษณะทางด้านพันธุกรรมที่คงที่ไม่เปลี่ยนแปลงง่าย

6. เป็นจุลินทรีย์ที่เลี้ยงง่าย ตายยาก เก็บได้นาน

7. ควรเป็นจุลินทรีย์บริสุทธิ์ปราศจากแบคทีริโอฟาจ (bacteriophage) หรือทนต่อการทำลายของแบคทีริโอฟาจหรือของจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น แบคทีเรียควรเป็นสายพันธุ์ต้านทาน แบคทีริโอฟาจ สาหร่ายก็ควรทนต่อการเข้าทำลายของแบคทีเรีย หรือรา เป็นต้น

8.ต้องไม่เป็นจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคต่อคน และไม่สร้างสารพิษให้กับผลผลิตนั้นๆ ข้อปลีกย่อยจุลินทรีย์ที่ต้องการควรมีความสามารถป้องกันตนเองจากการปนเปื้อนของเชื้ออื่น (contamination) เช่น สามารถเจริญที่พีเอช หรือที่อุณหภูมิสูงได้ และควรเป็นจุลินทรีย์ที่นำมาปรับปรุงพันธุ์ได้ง่าย เช่น การกลายพันธุ์ (mutation)

2.11 คุณสมบัติและมาตรฐานสีผสมอาหาร

สีผสมอาหารมีวัตถุประสงค์ในการใช้เพื่อเพิ่มความดึงดูดใจ แต่งแต้มสีสัน ทำให้อาหารน่ารับประทานมากยิ่งขึ้น การใช้สีผสมอาหารช่วยให้การผลิตอาหารหรือผลิตภัณฑ์อาหารเป็นที่พอใจของผู้บริโภคเกี่ยวกับคุณค่าของอาหาร และเป็นการหาจุดเด่นของผลิตภัณฑ์อาหารในทุกๆ สถานการณ์ NAS ได้สรุปความสำคัญของการใช้สีผสมอาหาร ดังนี้

1. ช่วยในการแก้ไขปัญหาอันเกิดจากการแปรเปลี่ยนสีตามธรรมชาติ หรือการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารในขณะแปรรูปและเก็บรักษา

2. เป็นการเน้นหรือรักษาเอกลักษณ์ของกลิ่นรส ซึ่งโดยปกติเกี่ยวข้องกับสีของอาหารหรือสีผสมอาหาร

3. เป็นการแก้ไขปัญหาอันเกิดจากผลกระทบของการแปรรูปอาหาร การบรรจุหีบห่อ การจัดจำหน่าย เพื่อประกันคุณภาพอาหาร

4. ช่วยในการถนอมเอกลักษณ์หรือรูปลักษณ์ที่ทำให้เป็นที่รู้จักกันอย่างกว้างขวาง ปัจจุบันสหรัฐอเมริกาได้แบ่งสีผสมอาหารอกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.) สีผสมอาหารยกเว้นการควบคุมหรือไม่ประกาศควบคุม ได้แก่ สีที่ได้จาก พืชผัก ผลไม้ สัตว์ สีเหล่านี้จึงถูกเรียกว่า “สีผสมอาหารตามธรรมชาติ” ตัวอย่างสีผสมอาหารตามธรรมชาติ เช่น คลอโรฟิล ไรโบฟลาวิน เป็นต้น

ข.) สีผสมอาหารที่ถูกบังคับให้ประกาศควบคุม ได้แก่ สีสังเคราะห์ทางเคมีที่เลียนแบบโครงสร้างสีจากธรรมชาติ เช่น เบต้า-แคโรทีน ถูกใช้ทำสีของเนยเทียม, เนยเหลว, เนยแข็ง, ไอศกรีม น้ำผลไม้คั้น และเครื่องดื่ม

2.11.1 ประเภทของสีผสมอาหาร

สีผสมอาหารเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 21 (พ.ศ.2522) ซึ่งได้แบ่งสีผสมอาหารที่กระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้ใช้ผสมอาหารได้ 3 ประเภทดังนี้

1. สีอินทรีย์ที่ได้จากการสังเคราะห์ ได้แก่

1.1 จำพวกสีแดง ได้แก่ ปองโซ 4 อาร์ (Ponceau-4 R) เออร์โธรซั่น (Erythrosine) คาร์โมอีซีนหรือเอโซรูบีน (Carmoisine or Azorubine)

1.2 จำพวกสีเหลือง ได้แก่ ตาร์ตราซีน (Tartrazine) ซันเซต เยลโลว์ เอฟซี เอฟ (Sunset yellow FCF) ไรโบฟลาวิน (Riboflavin)

1.3 จำพวกสีเขียว ได้แก่ ฟาสต์กรีน เอฟซีเอฟ (Fast green FCF)

1.4 จำพวกสีน้ำเงิน ไดแก่ อินดิโกคาร์บิน หรืออินดิโกทีน (Indigocarmine or indigotine) บริลเลียนต์บลู เอฟซีเอฟ (Brilliant blue FCF)

2. สีอนินทรีย์ ได้แก่

2.1 ผงถ่านที่ได้จากเผาพืช (Vegetable charcoal)

2.2 ไทเทเนียมไดออกไซด์ (Titanium dioxide)

3. สีที่ได้จากธรรมชาติ โดยการสกัดพืช ผัก ผลไม้ และสัตว์ที่ใช้บริโภคได้โดยไม่ เกิดอันตราย และสีชนิดเดียวกันที่ได้จากการสังเคราะห์

3.1 สีธรรมชาติ ที่สกัดจากพืช ผัก ผลไม้ และสัตว์ ได้แก่

- **สีเหลือง** จากขมิ้นชัน ขมิ้นอ้อย, ดอกโสน, ฟักทอง, ดอกคำฝอย ดอกกรรณิการ์ และลูกพุด
- **สีแดง** จากครั่ง เป็นแมลงตัวเล็ก ๆ ชอบอาศัยอยู่ตามต้นก้ามปู ต้นโพธิ์ ต้นทองกวาว, ข้าวแดง, มะเขือเทศสุก, กระเจี๊ยบ มะละกอ ถั่วแดง และพริกแดง
- **สีม่วง** จากดอกอัญชันสีน้ำเงินผสมมะนาว, ข้าวเหนียวดำ และถั่วดำ
- **สีเขียว** จากใบเตย, ใบย่านาง, พริกเขียว และใบคะน้า
- **สีน้ำตาล** จากน้ำตาลไหม้
- **สีน้ำเงิน** จากดอกอัญชัน
- **สีดำ** จากใบยอ ถ่าน กาบหรือกะลามะพร้าวเผาไฟ หรือใบจาก หรือรวงตาลเผาไฟ ถั่วค่า ดอกดิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- **สีแสด** จากเมล็ดของผลแสด

3.2 สีชนิดเดียวกันที่ได้จากการสังเคราะห์

- โคชินิล (Cochineal)
- สีจากคาโรทีนอยด์ (Carotenoide) ได้แก่
- แคนธาแธนธีน (Canthaxanthine)
- คาโรทีน (Carotenes, natural)
- เบตา-คาโรทีน (Beta-carotene)
- เบตา-อะโป-8-คาโรทีนาล (Beta-apo-8,-carotenal)
- เบตา-อะโป-8-คาโรทีโนอิก แอซิด (Beta-apo-8,-carotenoic acid)
- เอทิลเอสเตอร์ของเบตา-อะโป-8-คาโรทีโนอิก แอซิด (Ethyl ester of Beta-apo-8,7 กรดแคโรทีโนอิก)
- เมทิลเอสเตอร์ของท เบตา-อะโป-8-คาโรทีโนอิก แอซิด (Methyl ester of beta-apo-8- กรดแคโรทีโนอิก)
- คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll)
- คลอโรฟิลล์คอปเปอร์คอมเพลกซ์ (Chlorophyll copper complex)

2.11.2 พิษจากการใช้สีผสมอาหาร

สีผสมอาหารที่สังเคราะห์จากกระบวนการทางเคมี เมื่อนำมาผสมอาหารและรับประทานเข้าไปในร่างกาย อาจทำให้เกิดอันตรายได้จากเหตุ 2 ประการ ได้แก่

1. อันตรายจากสีสังเคราะห์ ถึงแม้จะเป็นสีสังเคราะห์ที่อนุญาตให้ใช้ในอาหารได้ หากบริโภคในปริมาณที่มากหรือบ่อยครั้ง จะก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค คือ สีจะไปเคลือบเยื่อบุกระเพาะอาหาร และลำไส้ทำให้น้ำย่อยอาหารออกมาไม่สะดวก อาหารย่อยยาก เกิดอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ และขัดขวางการดูดซึมอาหาร น้ำหนักลด อ่อนเพลีย อาจมีอาการของตับ และไตอักเสบ ซึ่งจะเป็นสาเหตุของโรคมะเร็ง

2. อันตรายจากสารอื่นที่ปะปนมา เนื่องจากแยกสารออกไม่หมด ยังคงมีตกค้างในปริมาณที่มากเกินไป ได้แก่ โลหะหนักต่าง ๆ เช่น แคดเมียม ตะกั่ว สารหนู ปรอท พลวง โครเมียม เป็นต้น ซึ่งเป็นส่วนประกอบของสีทาบ้านและสีย้อมผ้า แม้ได้รับในปริมาณเล็กน้อยก็สามารถสะสมอยู่ในร่างกาย และทำให้เกิดอันตรายขึ้นได้ เช่น พิษจากสารหนูนั้นเมื่อเข้าไปในร่างกาย จะสะสมอยู่ตามกล้ามเนื้อ กระดูก ผิวหนัง ตับและไต จะเกิดอาการอ่อนเพลีย กล้ามเนื้ออ่อนแรง เกิดความผิดปกติของระบบทางเดินอาหาร โลหิตจาง และหากได้รับสารหนูปริมาณมากในครั้งเดียวจะเกิดพิษต่อร่างกายทันที โดยปากและโพรงจมูกไหม้เกรียมแห้ง ทางเดิน อาหารผิดปกติ กล้ามเนื้อเกร็งเพ้อคลั่ง และยังอาจมีอาการหน้าบวม หนังตาบวมด้วย ส่วนตะกั่วนั้นจะมีพิษต่อระบบประสาททั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรังอาจทำให้ถึงกับชีวิตใน 1 - 2 วัน ส่วนอาการมีพิษเรื้อรังนั้นจะพบเส้นตะกั่วสีม่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คล้ำที่เหงือก มือตก เท้าตก เป็นอัมพาต เกิดอาการผิดปกติของทางเดินอาหาร คลื่นไส้ อาเจียน และอาจพบอาการทางระบบประสาทได้

2.12 กฎหมายด้านการบริโภค

ในมาตรา 5 และมาตรา 6 (10) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ 1 ให้วุ้นสำเร็จรูปและขนมเยลลี่ในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทเป็นอาหารที่ต้องมีฉลาก

ข้อ 2 ในประกาศนี้

วุ้นสำเร็จรูป หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะนุ่มและยืดหยุ่นเป็นวุ้นทำจากน้ำตาลเป็นส่วนประกอบ และมีน้ำผลไม้ผสมอยู่หรือปรุงแต่งด้วยสีหรือสารแต่งกลิ่นรสอีกด้วย และให้ความหมายรวมถึงวุ้นสำเร็จรูปที่เป็นชนิดแห้งด้วย

ขนมเยลลี่ หมายความว่า วุ้นสำเร็จรูปที่มีน้ำผลไม้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 10 ของน้ำหนักและไม่เกินร้อยละ 20 ของน้ำหนัก ให้ความหมายรวมถึงขนมเยลลี่ที่เป็นชนิดแห้งด้วย

น้ำผลไม้ หมายความว่า น้ำผลไม้ล้วนที่ได้จากการคั้นหรือสกัดจากผลไม้ หรือทำจากน้ำผลไม้ที่ผ่านกรรมวิธีหรือทำให้เข้มข้นหรือแช่แข็ง และผ่านการกรองแล้ว รวมถึงผักที่เหมาะสมในการทำวุ้นสำเร็จรูป และขนมเยลลี่ด้วย

ข้อ 3 การแสดงฉลากของวุ้นสำเร็จรูปและขนมเยลลี่ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรว’สาธารณสุข

ฉบับที่ 68 (พ.ศ.2525) เรื่องฉลากลงวันที่ 29 เมษายน พ.ศ. 2525 ยกเว้นข้อ 3 ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับนี้

ข้อ 4 ฉลากของวุ้นสำเร็จรูปและขนมเยลลี่ที่จำหน่ายโดยตรงต่อผู้บริโภคต้องมีข้อความเป็นภาษาไทย และจะต้องมีข้อความแสดงรายละเอียด ดังต่อไปนี้

(1) ชื่ออาหาร

(2) เลขทะเบียนต้นตำหรับ

(3) ชื่อของวัตถุดิบที่เป็นตัวทำให้เกิดความนุ่ม กำกับไว้ในวงเล็บเพื่อกำกับชื่ออาหาร

(4) ปริมาณเป็นร้อยละของน้ำหนักของน้ำผลไม้ที่เป็นส่วนประกอบกำกับชื่อไว้ในกรณีที่เป็นเยลลี่

(5) ชื่อและที่ตั้งของสถานที่ผลิตหรือของผู้แบ่งบรรจุเพื่อจำหน่ายแล้วแต่กรณีวุ้นสำเร็จรูปและขนมเยลลี่ที่ผลิตในประเทศอาจแสดงสำนักงานใหญ่ของผู้ผลิตหรือของผู้แบ่งบรรจุก็ได้สำหรับวุ้นสำเร็จรูปและขนมเยลลี่ที่นำเข้าให้แสดงประเทศผู้ผลิตด้วย

(6) ปริมาณสุทธิเป็นระบบเมตริก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก) อาหารผงหรือแห้งให้แสดงน้ำหนักสุทธิ

(ข) อาหารที่มีลักษณะครึ่งแข็งครึ่งเหลวแสดงเป็นน้ำหนักสุทธิหรือปริมาตรสุทธิก็ได้

(7) ส่วนประกอบที่สำคัญเป็นร้อยละของน้ำหนักโดยประมาณ

(8) วัน เดือน และปีที่หมดอายุโดยมีคำว่า “หมดอายุ” กำกับไว้ด้วย เว้นแต่ขนมเยลลี่และวุ้น
สำเร็จรูปชนิดแห้ง อาจแสดงถึงวัน เดือน และปีที่ผลิต หรือเดือน และปีที่หมดอายุ โดยมีคำว่า “ผลิต”
หรือ “หมดอายุ” กำกับไว้ด้วย แล้วแต่กรณี

(9) วิธีปรุงแต่งรับประทาน

(10) คำเตือนในการบริโภค

(11) คำแนะนำในการเก็บรักษา

(12) ข้อความ “เจือสีธรรมชาติ” หรือ “เจือสีสังเคราะห์” ถ้ามีการใช้ แล้วแต่กรณี

(13) ข้อความว่า “แต่งกลิ่นธรรมชาติ” “แต่งกลิ่นเลียนธรรมชาติ” “แต่งกลิ่นสังเคราะห์” “แต่งรสธรรมชาติ” หรือ “แต่งรสเลียนธรรมชาติ” ถ้ามีการใช้ แล้วแต่กรณี

(14) ข้อความว่า “ใช้วัตถุกันเสีย” ถ้ามีการใช้

(15) ข้อความว่า “เด็กควรบริโภคแต่น้อย” ด้วยตัวอักษรสีแดงขนาด 5 มิลลิเมตร ในกรอบพื้นสีขาว

ข้อ 5 ประกาศฉบับนี้

(1) ให้บังคับใช้เมื่อพ้นกำหนด 19 วัน นับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้น

(2) ให้ผู้ผลิต ผู้นำเข้า ซึ่งวุ้นสำเร็จรูปและขนมเยลลี่ที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ฉลากไว้แล้ว หรือที่ได้จัดทำฉลากไว้ใช้ก่อนวันที่ประกาศฉบับที่ใช้บังคับยื่นคำขอแก้ไขเปลี่ยนแปลงให้ถูกต้องหรือขอใช้ฉลากภายในหกสิบวันนับตั้งแต่วันที่ประกาศฉบับนี้ใช้บังคับ และเมื่อได้ยื่นคำขอดังกล่าวแล้วให้คงใช้ฉลากนั้นไปพลางๆก่อนได้จนกว่าจะได้รับอนุญาตหรือถึงวันที่ผู้อนุญาตได้แจ้งให้ทราบถึงการไม่อนุญาตให้ใช้ฉลากนั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

Monascus sp. SS14 (Wild type)

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1 MYS medium (Malt yeast extract starch medium)

3.2.2 SS medium (Soybean starch medium)

3.3 วัสดุอุปกรณ์

3.3.1 ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.3.2 ขวดเตรียมอาหาร

3.3.3 หม้อนึ่งความดัน

3.3.4 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ

3.3.5 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

3.3.6 เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง

3.3.7 เครื่องวัดสี

3.3.8 สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)

3.3.9 เครื่องแช่เยือกแข็ง (Freeze dry)

3.3.10 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

3.3.11 หลอดทดลอง

3.3.12 เพลท

3.3.13 เซลโลเฟน

3.3.14 เยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 และ 10 kDa

3.4 ส่วนผสมสำหรับทำเยลลี่

3.4.1 สารละลายเจลาติน (น้ำ 50 มิลลิลิตร ผสมกับ เจลลาติน 40 กรัม)

3.4.2 สารละลายน้ำตาล (น้ำ 170 มิลลิลิตร ผสมกับ น้ำตาลทราย 465 กรัม)

3.4.3 กลิ่นสตอเบอรี่ 5 มิลลิลิตร

3.4.4 สีผสมอาหารที่ได้จาก *Monascus* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5 น้ำตาลละเอียด

3.5 สารเคมี

3.5.1 Bradford's reagent

3.5.2 แอลกอฮอล์เจือจาง 50 เปอร์เซ็นต์

3.5.3 Bovine Serum Albumin (BSA)

3.5.4 เอนไซม์ปาเปน (บริษัทกรุงเทพเคมีภัณฑ์ จำกัด)

3.6 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.6.1 การเตรียมอาหารแข็ง (MYS medium)

ชั่งผงวุ้น 15 กรัม, Yeast extract 3 กรัม, Peptone 5 กรัมและแป้งมันสำปะหลัง 10 กรัม จากนั้นเติมน้ำกลั่นและผสมส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันจนได้ปริมาตรรวม 1000 มิลลิลิตร ปรับ pH ด้วยเครื่องวัดพีเอชให้อยู่ในช่วง 6.8-7.2 และนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.6.2 การเตรียมอาหารเหลว (SS medium)

ชั่ง Peptone 40 กรัมและแป้งมันสำปะหลัง 30 กรัม จากนั้นเติมน้ำกลั่นและผสมส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันจนได้ปริมาตรรวม 1000 มิลลิลิตร ปรับ pH ด้วยเครื่องวัดพีเอชให้อยู่ในช่วง 6.8-7.2 จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.6.3 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็ง MYS medium

นำเชื้อรา *Monascus* sp.ที่เลี้ยงบนอาหารวุ้นเอียงมาเลี้ยงต่อบนอาหารแข็ง (MYS medium) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว

3.6.4 การเลี้ยงเชื้อโมแนสคัสในอาหารเหลว SS medium

ทำการตัดวุ้นเชื้อรา *Monascus* sp. ที่เจริญบนอาหารแข็ง (MYS medium) ด้วย cork borror ขนาด 4 มิลลิเมตร จำนวน 4 ชิ้น ใส่ลงในอาหารเหลว (SS medium) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บรรจุในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน เก็บตัวอย่างที่เวลา 7 และ 14 วัน เพื่อนำไปวิเคราะห์การเจริญเติบโตของเชื้อและปริมาณของสารสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.5 การวิเคราะห์

นำเชื้อรา *Monascus* sp. ที่เลี้ยงในอาหารเหลว (SS medium) 7-14 วัน ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 นาที แยกส่วนใสและส่วนที่เป็นตะกอนออกจากกัน และนำไปวิเคราะห์ในกระบวนการถัดไป

3.6.5.1 การหาค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น

ทำการชั่งน้ำหนักฟอยล์ก่อนและหลังใส่ตะกอนที่เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง จากนั้นนำฟอยล์ที่ใส่ตะกอนเข้าตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นความชื้น

3.6.5.2 การคำนวณหาสารสี

นำส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงจากการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. มาทำการเจือจางที่ 1, 3, 5 และ 10 เท่า จากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 370, 480 และ 500 นาโนเมตร โดยใช้แอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็น เป็นแบลงก์ ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสีโดยการนำค่าการเจือจางคูณด้วยค่าดูดกลืนแสงจะได้ปริมาณสารสี

3.7 การแพร่ของสารสีผ่านเมมเบรน (dialysis membrane)

ทำการแยกเม็ดสีด้วยเยื่อเลือกผ่านเป็นเซลโลเฟน, เยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 และ 10 kDa โดยเตรียมบีกเกอร์ 3 ใบ ปิเปตสารสีใส่ในถุงทั้ง 3 ชนิด ถุงละ 20 มิลลิลิตร มัดปลายถุงทั้งสองข้างให้แน่นเพื่อให้สารสีไม่รั่ว และให้ผ่านเมมเบรนได้อย่างเดียว จากนั้นเติมแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ที่มีถุงเมมเบรนที่บรรจุสารสีอยู่ด้านใน ปิดบีกเกอร์ด้วยกระดาษฟอยล์เพื่อป้องกันการระเหยของแอลกอฮอล์ และนำไปใส่ตู้เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการวัดค่าดูดกลืนแสงทุก 24 48 และ 72 ชั่วโมง ที่ความยาวคลื่น 370, 480 และ 500 นาโนเมตร โดยใช้แอลกอฮอลล์ 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นแบลงก์

3.8 การวัดปริมาณโปรตีน

ปิเปต Bradford’s reagent 5 มิลลิลิตร และสารสี 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้า โดยใช้ BSA เป็นมาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 0.1-1.0 กรัมต่อลิตร ใช้ BSA ผสมกับน้ำ 0.1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น เพื่อใช้เป็น stock solution จากนั้นปิเปตใส่หลอดทดลอง 10 หลอด หลอดละ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 มิลลิลิตร นำสารละลาย BSA ที่เจือจางแล้ว ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับ Bradford’reagent 5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.9 การย่อยโปรตีน

ใช้เอนไซม์ปาเปนจากมะละกอในการย่อยโปรตีนในสารสี โดยเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ที่ผสมสารละลาย $Na_2HPO_4.2H_2O$ ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ 1.95 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 250 มิลลิลิตร และสารละลาย $NaH_2PO_4.12H_2O$ ความเข้มข้น 50 mM 4.79 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม 250 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกัน ปรับ pH 6.5 จากนั้นนำเอนไซม์ปาเปนและสารสีอย่างละ 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในบัฟเฟอร์ปริมาตร 40 มิลลิลิตร

3.10 การนำผงสีมาใช้

นำสารสีที่ผ่านการย่อยโปรตีนทำให้แห้งด้วยเครื่องแช่เยือกแข็ง (freeze dry) ที่อุณหภูมิ -20 ถึง -50 องศาเซลเซียส

3.11 ขั้นตอนการทำเยลลี่

3.11.1 ผสมเจลาตินกับน้ำดื่มผสมส่วนผสมให้เข้ากัน พักทิ้งไว้ 15 นาที

3.11.2 เทน้ำดื่มลงในภาชนะต้ม ใส่น้ำตาลทรายลงไปผสม จากนั้นต้มด้วยไฟอ่อนจนน้ำตาลละลาย พอสารละลายน้ำตาลเดือดต้มต่ออีก 5 นาที

3.11.3 เทสารละลายน้ำตาลลงในชามเจลาติน คนจนเจลาตินละลาย

3.11.4 ใส่สีที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อที่สกัดแล้วและใส่กลิ่นสตอเบอร์รี่

3.11.5 หลอดลงแม่พิมพ์ที่เตรียมไว้ นำไปแช่ตู้เย็น 20 นาที หรือจนกว่าเยลลี่จะเซ็ตตัว

3.11.6 ทำการแกะเยลลี่ออกจากแม่พิมพ์ นำไปคลุกน้ำตาลละเอียด

3.12 การประเมินคุณภาพของเยลลี่

ทำการเปรียบเทียบเยลลี่ที่ใช้สีจากเชื้อรา *Monascus* sp. และตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากท้องตลาด 2 ยี่ห้อ เพื่อประเมินค่าเนื้อสัมผัส โดยตัวอย่างเยลลี่จากการทดลองมีความสูง 10 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 20 มิลลิเมตร และตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากท้องตลาดมีความสูงที่ 8 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร วัดค่าเนื้อสัมผัสโดยวิธี Texture Profile Analysis (TPA) ด้วยเครื่อง texture analyzer ใช้หัววัดชนิด cylinder probe 20 มิลลิเมตร กำหนดความเร็วในการวัด (test speed) 1 มิลลิเมตรต่อวินาที และระยะทางในการกด (deformation) ร้อยละ 75 ทำการกดทับ 2 รอบ โดยทำการทดสอบความแข็ง (hardness) ความทนต่อการเคี้ยว (chewiness) แรงยึดเหนี่ยว (cohesiveness) ความยืดหยุ่น (springiness) และ ความเหนียว (Gumminess)

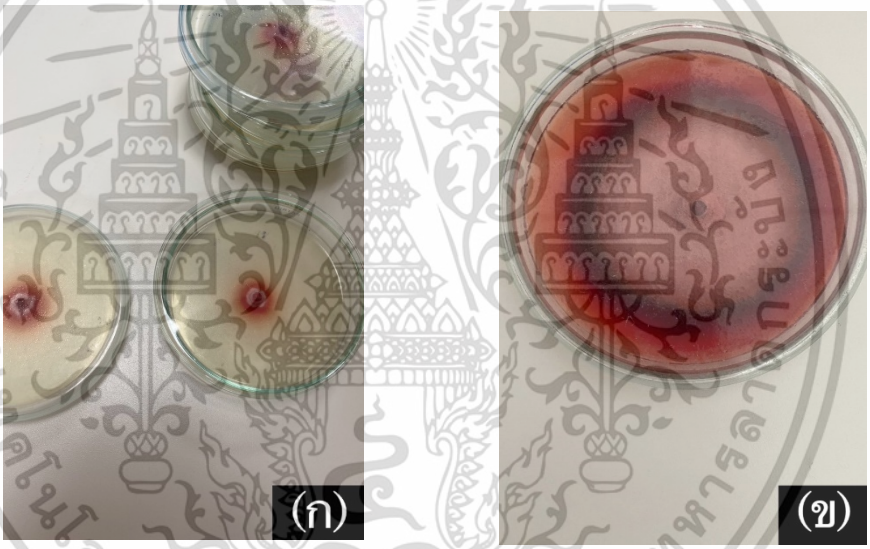
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. SS14

4.1.1ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ในอาหารแข็ง

จากการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 บนอาหารแข็ง (MYS medium) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ในวันที่ 3 ของการเจริญเติบโต สีของเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีจะเป็นสีขาว ถัดเข้าไปจะเป็นเส้นใยที่มีส้มแดง เมื่อเชื้อมีอายุมากขึ้นสีของเส้นใยจะเปลี่ยนเป็นสีแดงหรือส้มตลอดทั้งโคโลนี (รูปที่ 4.1 ก) ในวันที่ 7 สีของโคโลนีบริเวณรอบนอกจะมีสีแดงเข้ม ถัดเข้ามาด้านในโคโลนีจะมีสีแดงอ่อน (รูปที่ 4.1 ข)

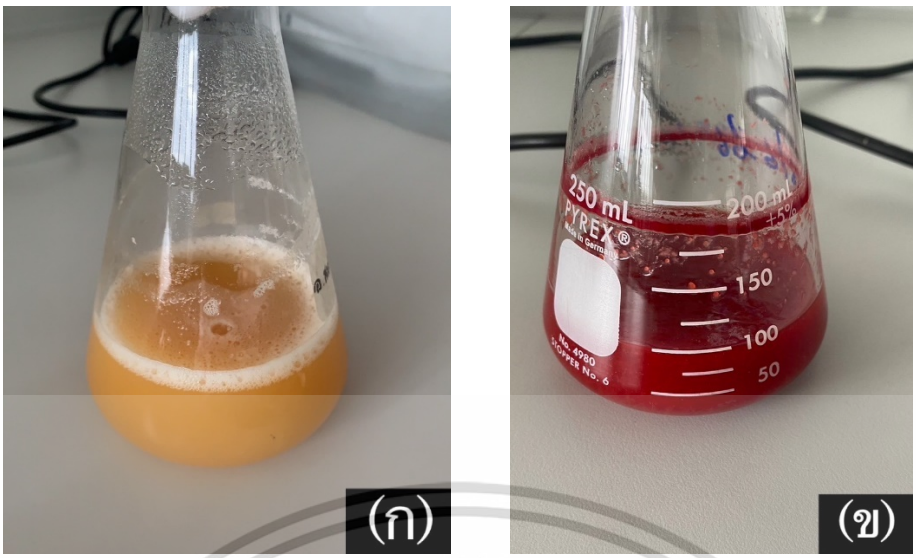


รูปที่ 4.1 การเจริญเติบโตของเชื้อราโมแนสคัสในอาหารแข็ง 3 วัน (ก) และ 7 วัน (ข)

4.1.2 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว

ผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. ในอาหารเหลว (SS medium) เป็นเวลา 7-14 วัน พบว่าวันที่ 1 ถึงวันที่ 3 เชื้อจะยังไม่มีการการเจริญเติบโต จะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงวันที่ 4 และวันที่ 5 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยสีจะเริ่มเปลี่ยนจากสีเหลืองของอาหารเหลว (SS medium) เป็นสีแดงและมีสีเข้มขึ้นเรื่อยๆจนครบ 14 วัน หลังจากนั้นจึงนำเชื้อออกจากเครื่องเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 การเจริญเติบโตของเชื้อโมแนสคัสในอาหารเหลว 3 วัน (ก) และ 7 วัน (ข)

4.2 การวิเคราะห์ความชื้นและปริมาณสารสี

การวิเคราะห์ค่าความชื้นและปริมาณสารหลังการเลี้ยงเชื้อ *Monascus* sp. เป็นเวลา 7 และ 14 วัน ได้ผลน้ำหนักแห้งดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงน้ำหนักแห้งของเชื้อรา *Monascus* sp. ในวันที่ 7 และ 14

จำนวนวันที่บ่ม	ขวดที่	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม)
7	1	1.123
	2	1.039
14	1	0.672
	2	0.423

ทำการวิเคราะห์ค่าความชื้นด้วยการนำน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและน้ำหนักแห้งมาวิเคราะห์เพื่อหาค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น ในวันที่ 7 มีค่าความชื้นเฉลี่ย 47.13 เปอร์เซ็นต์และปริมาณสารสี 5.42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

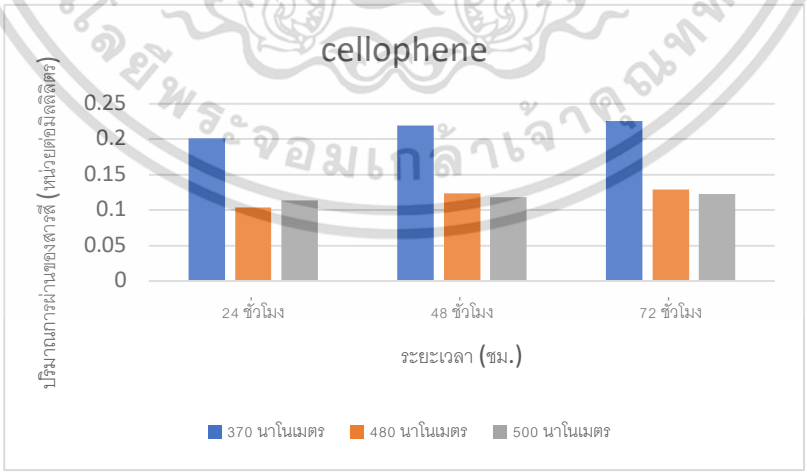
หน่วยต่อมิลลิลิตร วันที่ 14 มีค่าความชื้นเฉลี่ย 41.53 เปอร์เซ็นต์และมีปริมาณสารสี 5.73 หน่วยต่อมิลลิลิตร

4.3 การแยกเม็ดสีผ่านเยื่อเลือกผ่านเมมเบรน

จากการทดลองพบว่า ที่เวลา 24 ชั่วโมง เม็ดสีแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านเซลโลเฟนมีค่ามากที่สุด เมื่อเทียบกับเยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 และ 10 kDa และที่เวลา 48 และ72 ชั่วโมง เม็ดสีแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 kDa ได้ค่ามากที่สุด โดยเม็ดสีแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านขนาด 10 kDa และเซลโลเฟน ให้ค่าน้อยที่สุดในการแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านทั้ง 3 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบค่าที่ได้หลังจากทำการแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านทั้ง 3 ชนิด จะมีปริมาณสารสีเหลืองแพร่ออกมามากกว่าสารสีส้มและสารสีแดง เพราะสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กจะสามารถแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านเมมเบรนได้ดีกว่าสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ ทำให้สารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ไม่สามารถแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านเมมเบรนออกมาได้

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าดูดกลืนแสงของเยื่อเลือกผ่านเซลโลเฟน

สี	ความยาวคลื่น (nm)	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
สีเหลือง	370	0.201	0.219	0.226
สีส้ม	480	0.104	0.124	0.129
สีแดง	500	0.114	0.118	0.123

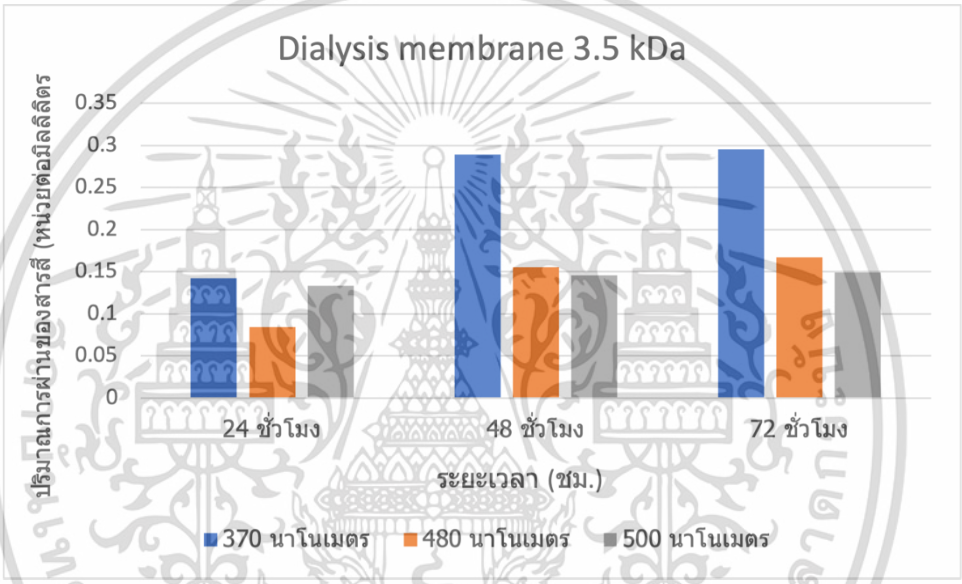


รูปที่ 4.3 แสดงปริมาณการผ่านของสารสีที่ค่าดูดกลืนแสง 370 480 และ 500 นาโนเมตร ของเยื่อเลือกผ่านเซลโลเฟนที่ 24 48 และ 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าดูดกลืนแสงของเยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 kDa

สี	ความยาวคลื่น (nm)	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
สีเหลือง	370	0.142	0.289	0.295
สีส้ม	480	0.084	0.155	0.167
สีแดง	500	0.133	0.146	0.149

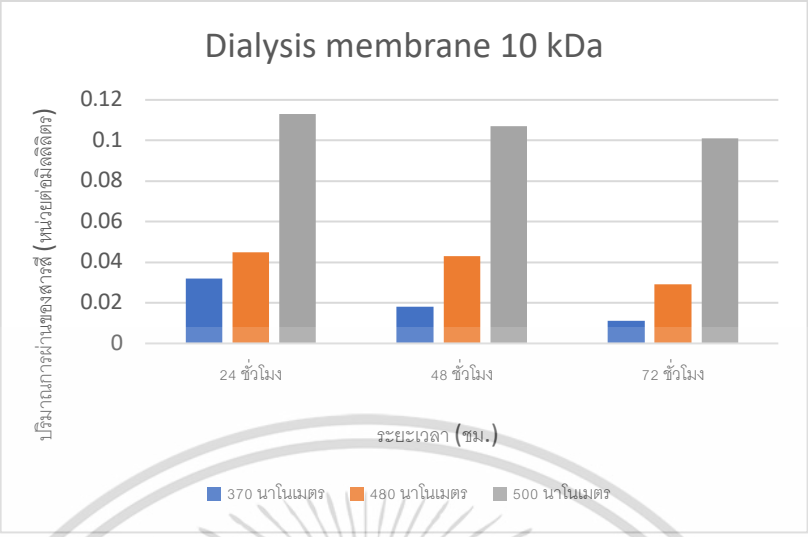


รูปที่ 4.4 แสดงปริมาณการผ่านของสารสีที่ค่าดูดกลืนแสง 370 480 และ 500 นาโนเมตร ของเยื่อเลือกผ่านขนาด3.5 kDa ที่ 24 48 และ 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าดูดกลืนแสงของเยื่อเลือกผ่านขนาด 10 kDa

สี	ความยาวคลื่น (nm)	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
สีเหลือง	370	0.032	0.045	0.113
สีส้ม	480	0.018	0.043	0.107
สีแดง	500	0.011	0.029	0.101

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

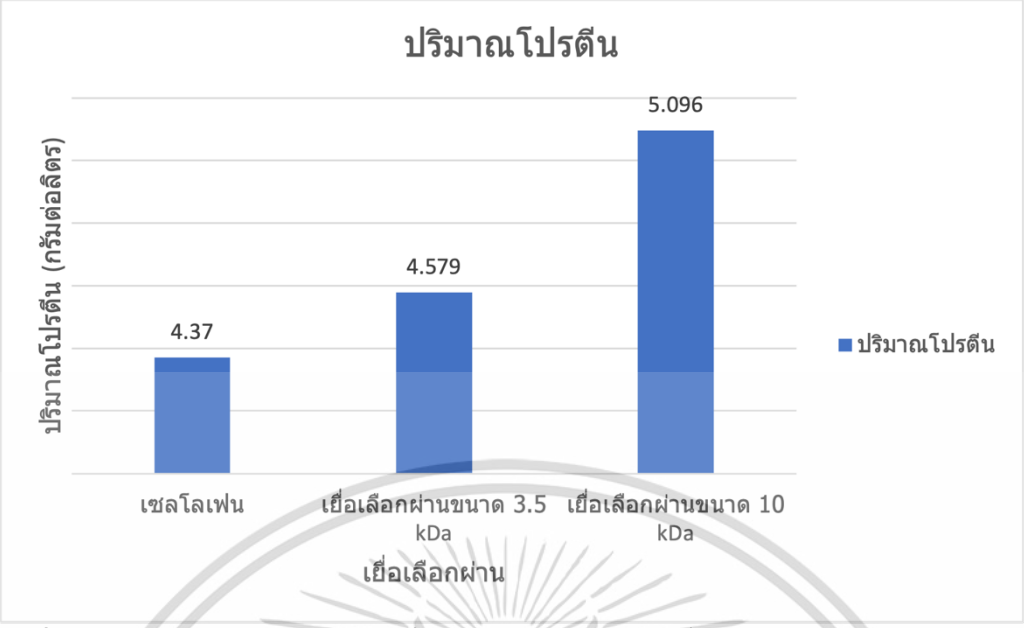


รูปที่ 4.5 แสดงปริมาณการผ่านของสารสีที่ค่าดูดกลืนแสง 370 480 และ 500 นาโนเมตร ของเยื่อเลือกผ่านขนาด 10 kDa ที่ 24 48 และ 72 ชั่วโมง

4.4 การวัดปริมาณโปรตีน

ทำการวัดปริมาณโปรตีนโดยใช้ Bradford's reagent โดยใช้ Bovine Serum Albumin เป็นเป็นสารละลายมาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 0.1-1.0 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ข) จากนั้นนำสารสีในสารละลายแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ จากขั้นตอนการแยกเม็ดสีผ่านเยื่อเลือกผ่านเซลโลเฟน เยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 และ 10 kDa เพื่อวัดปริมาณโปรตีนในสารสีหลังทำการแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่าน โดยใส่สารละลายตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ลงใน Bradford's reagent ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร พบว่า สารสีที่ผ่านเยื่อเลือกผ่านเซลโลเฟน เยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 และ 10 kDa มีปริมาณโปรตีน 4.370 4.579 และ 5.096 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 แสดงปริมาณโปรตีนผ่านเยื่อเลือกผ่านเซลโลเฟน เยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 และ 10 kDa ตามลำดับ

4.5 การย่อยโปรตีน

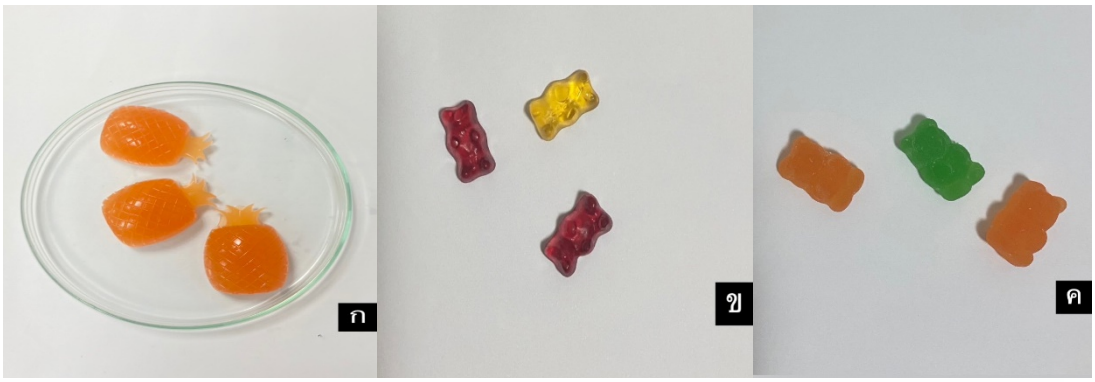
ใช้เอนไซม์ปาเปนจากมะละกอในการย่อยโปรตีนที่ติดกับเม็ดสี โดยผสมเอนไซม์ 1 มิลลิตร กับสารสี 4 มิลลิลิตร และบัฟเฟอร์ 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 และ 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร โดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์เป็นแบลงก์ จากทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ได้ค่าดูดกลืนแสง 0.256 และ 0.295หน่วยต่อมิลลิลิตร หลังผ่านไป 1 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่ามีปริมาณสารสีแดงจำนวนน้อย เนื่องจากมีสารสีในปริมาณที่น้อย จึงไม่ได้ทำการวัดสารสีที่ความยาวคลื่นสีเหลืองและสีส้ม

4.6 การเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพและการประเมินค่าเนื้อสัมผัสของเยลลี่

4.6.1 ลักษณะทางกายภาพ

ลักษณะของเยลลี่ที่ใช้สีจากเชื้อรา *Monascus* sp. มีลักษณะใส มีความคงรูปสูงเมื่อบีบหรือกด (ใช้นิ้วมือกด) มีความหวาน ไม่มีสิ่งแปลกปลอมในเยลลี่ มีกลิ่นสตอร์เบอร์รี่จากการใส่สารแต่งกลิ่นที่ไม่ชัด เมื่อเปรียบเทียบลักษณะความใสของเยลลี่ที่ใช้สีจากเชื้อรา *Monascus* sp. กับเยลลี่ตัวอย่างทั้ง 2 ยี่ห้อ เยลลี่ที่ใช้สีจากเชื้อรามีความใสและความหวานน้อยกว่าผลิตภัณฑ์เยลลี่จากท้องตลาดทั้ง 2 ยี่ห้อ และผลิตภัณฑ์เยลลี่จากท้องตลาดทั้ง 2 ยี่ห้อยังมีกลิ่นที่ชัดเจนกว่าเยลลี่ที่ใช้สีจากเชื้อรา *Monascus* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 ลักษณะของเยลลี่ที่ใช้สีจากเชื้อรา *Monascus* sp. เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์เยลลี่ยี่ห้อ (A) และผลิตภัณฑ์เยลลี่ยี่ห้อ (B)

4.6.2 การประเมินค่าเนื้อสัมผัส

เตรียมตัวอย่างจากการทดลอง แสดงผลดังตารางที่ 4.6-4.8 โดยเยลลี่จากการทดลองมีความสูง 10 มิลลิเมตรและผลิตภัณฑ์จากท้องตลาดทั้งสองยี่ห้อมีความสูงที่เท่ากัน 8 มิลลิเมตร ทดสอบ3 ซ้ำจากนั้นวัดค่าเนื้อสัมผัสโดยวิธี Texture Profile Analysis (TPA) ทำการทดสอบความแข็ง (hardness) ความทนต่อการเคี้ยว (chewiness) แรงยึดเหนี่ยว (cohesiveness) ความยืดหยุ่น (springiness) และความเหนียว (Gumminess) ด้วยเครื่อง texture analyzer ใช้หัววัดชนิด cylinder probe 20 มิลลิเมตร กำหนดความเร็วในการวัด (test speed) 1 มิลลิเมตรต่อวินาที และระยะทางในการกด (deformation) ร้อยละ 75 จากผลการทดลองพบว่าเยลลี่ที่ใช้สีจากเชื้อรา *Monascus* sp. มีค่าเฉลี่ยความแข็ง 81.84±1.45 นิวตัน ความทนต่อการเคี้ยว 0.434±0.07 นิวตัน แรงยึดเหนี่ยว 0.76±0.09 ความยืดหยุ่น 6.931±0.28 ความเหนียว 62.37±8.68 นิวตัน โดยมีค่าเฉลี่ยมากกว่าเยลลี่ผลิตภัณฑ์จากท้องตลาดทั้งหมด

ตารางที่ 4.5 แสดงการวัดค่าเนื้อสัมผัสของเยลลี่ที่ได้จากการทดลองโดยทำการวัด 3 ซ้ำ

ครั้งที่	ความแข็ง 1 (Hardness 1)	ความแข็ง 2 (Hardness 2)	ความเหนียว (Gumminess)	ความทนต่อการเคี้ยว (Chewiness)	แรงยึดเหนี่ยว (Cohesiveness)	ความยืดหยุ่น (Springiness)
ครั้งที่ 1	83.424	77.433	71.742	0.514	0.86	7.159
ครั้งที่ 2	81.505	73.488	54.586	0.361	0.67	6.606
ครั้งที่ 3	80.580	73.763	60.787	0.427	0.755	7.028

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงการวัดค่าเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์จากท้องตลาดยี่ห้อที่ 1 โดยทำการวัด 3 ซ้ำ

ครั้งที่	ความแข็ง 1 (Hardness 1)	ความแข็ง 2 (Hardness 2)	ความเหนียว (Gumminess)	ความทนต่อการเคี้ยว (Chewiness)	แรงยึดเหนี่ยว (Cohesiveness)	ความยืดหยุ่น (Springiness)
ครั้งที่ 1	56.548	47.287	36.048	0.167	0.637	4.637
ครั้งที่ 2	51.959	42.589	37.255	0.186	0.717	4.98
ครั้งที่ 3	49.100	40.772	32.629	0.164	0.665	5.038

ตารางที่ 4.7 แสดงการวัดค่าเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์จากท้องตลาดยี่ห้อที่ 2 โดยทำการวัด 3 ซ้ำ

ครั้งที่	ความแข็ง 1 (Hardness 1)	ความแข็ง 2 (Hardness 2)	ความเหนียว (Gumminess)	ความทนต่อการเคี้ยว (Chewiness)	แรงยึดเหนี่ยว (Cohesiveness)	ความยืดหยุ่น (Springiness)
ครั้งที่ 1	19.587	17.319	13.354	0.067	0.682	5.026
ครั้งที่ 2	19.552	17.085	12.607	0.062	0.645	4.908
ครั้งที่ 3	23.698	21.017	17.430	0.089	0.736	5.122

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Monascus pupureus* SS13 (wildtype) จากการศึกษาพบว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง MYS ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่าเชื้อเริ่มมีการเจริญเติบโตและเริ่มมีการสร้างเส้นใยสีขาวในวันวันที่ 3 และเลี้ยงต่อจนเชื้อมีอายุ 14 วัน เมื่อเชื้ออายุ 14 วันมีลักษณะสีแดงและนำไปเลี้ยงต่อในอาหารเหลว SS Medium เป็นเวลา 14 วัน หลังเลี้ยงเชื้อครบ 14 วัน พบว่าเชื้อมีลักษณะสีแดง นำน้ำสีที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวไปคำนวณค่าสีอยู่ที่ 5.73 หน่วยต่อมิลลิลิตร โดยปริมาณเซลล์อยู่ที่ 5.475 กรัมต่อน้ำหนักแห้ง จากนั้นทำการวิเคราะห์การแพร่ของสารสีด้วยเยื่อเลือกผ่านเซลโลเฟน เยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 และ 10 kDa พบว่าการแพร่ด้วยเยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 kDa ให้ค่าได้มากที่สุด เพราะสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กจะสามารถแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านได้ดีกว่าสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ ทำให้สารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ไม่สามารถแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านออกมาได้ จากนั้นทำการวัดปริมาณโปรตีนที่ติดกับเม็ดสีโดยใช้ Bradford reagent ที่เตรียมสารละลายมาตรฐาน Bovine serum albumin (BSA) ที่ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตร ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงใน Bradford reagent 5 ml จากนั้นนำสารสีที่แพร่อยู่ในแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ มาทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร โดยผ่านเยื่อเลือกผ่านเซลโลเฟน เยื่อเลือกผ่านขนาด 3.5 และ 10 kDa ได้ปริมาณโปรตีนอยู่ที่ 4.370 4.579 และ 5.096 กรัมต่อลิตร การย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ปาเปน เนื่องด้วยปริมาณสารสีจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Monascus* sp. ของกลุ่มผู้วิจัยมีปริมาณที่น้อย จึงใช้เอนไซม์ปาเปนย่อยสารสีโดยไม่ผ่านกระบวนการย่อยสารสีด้วยเครื่อง Ultra filtration จากผลพบว่า หลังการย่อยมีปริมาณและความเข้มสารสีเหลืองมากกว่าสีส้มและสีแดง ผู้วัยจัยจึงเลือกผงสีที่ไม่ผ่านการย่อยไปใช้ในกระบวนการทำเยลลี่จากการศึกษาการทำเยลลี่โดยใช้สีจากเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 พบว่า เยลลี่มีสีส้ม มีความใส มีความคงรูปเมื่อใช้นิ้วมือกดพับ มีความหวานเล็กน้อย แต่มีกลิ่นที่ไม่ค่อยชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบค่าเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์เยลลี่ตัวอย่าง เยลลี่ที่ใช้สีจากเชื้อรา *Monascus* sp. มีค่าเฉลี่ยความแข็ง 81.84±1.45 นิวตัน ความทนต่อการเคี้ยว 0.434±0.07 นิวตัน แรงยึดเหนี่ยว 0.76±0.09 ความยืดหยุ่น 6.931±0.28 ความเหนียว 62.37±8.68 นิวตัน ซึ่งมีค่ามากกว่าเยลลี่ผลิตภัณฑ์ตัวอย่างทั้ง 2 ยี่ห้อ อาจเป็นเพราะการใช้สัดส่วนน้ำและเจลลาตินที่มากทำให้มีค่าเนื้อสัมผัสที่มาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

นอกจากนี้แล้วการใช้เชื้อรา *Monascus pupureus* ในการผลิตข้าวแดงยังสามารถเพิ่มมูลค่าของข้าวได้อีกทางหนึ่งแต่ปัญหาที่พบคืออาจมีการปนเปื้อนของสารซิตรินินซึ่งเป็นพิษต่อไตแต่ปริมาณของสารซิตรินินนั้นจะมากหรือจะน้อยก็ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อรา *Monascus pupureus* เช่นเดียวกัน ซึ่งการลดปริมาณของสารซิตรินินนั้นทำได้โดยการเติม Monosodium glutamate ลงไป

5.3 วิจารณ์ผลการทดลอง

เนื่องจากปริมาณตัวอย่างไม่เพียงพอต่อการนำมาศึกษาการแยกสารสีด้วยเครื่อง ultramembrane filtration

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. เยลลี่มะม่วง. วารสารสถาบันอาหาร 2543; 3(14) : 41-42.

เชิดชัย เชียวธีรกุล ประสิทธิ์ แซ่ลี้ และปนัดดา แซ่อึ้ง 2519. สีแดงจากข้าว (อังคัก). วารสารอาหาร,8, 51-55

ดุษณี ธนะบริพัฒน์ . 2546 . จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ครั้งที่ 3 กรุงเทพฯ : โครงการตำรา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

นราธิป ปุณเกษม. 2556. การพัฒนาผลิตภัณฑ์กัมมี่สมุนไพรไทยแคลอรี่ต่ำ : ขิง. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต;

นิสา บุตรดา . 2537. การกลายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส กบ. 11304 ให้เป็นสายพันธุ์ไม่สร้างสีและเปรียบเทียบสมบัติบางประการกับสายพันธุ์พ่อแม่ สายพันธุ์กลายพันธุ์สีแดง และสี เหลือง . วิยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา จุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บุษบา ยงสมิทธ์ . 2534. การปรับปรุงด้านปริมาณและคุณภาพของการผลิตสีผสมอาหารจากมันสำปะหลัง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บุษบา ยงสมิทธ์ 2518. การศึกษาปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการผลิตข้าวแดง โดยเชื้อรา *M.* purpurcus เอกสารประกอบการปฏิบัติการวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

บุษบา ยงสมิทธ์ 2542. จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วรรณภา ทาบ โลกา, บุษบา ยงสมิทธ์ 2527. การศึกษาการใช้แป้งมันสำปะหลังในการผลิตสีผสมอาหารและเอนไซม์ย่อยแป้งโดยราโมแนสคัส ในสภาพ submerged culture. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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

ศิววรรณ พูลพันธุ์, เกษณี ชุมพล, ศิราภรณ์ แก้วปรารถนาและอาภรณ์ วงษ์วิจารณ์ 2550. การสร้างสารสีของราโมแนสคัสบนตะกอนแป้ง. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 33. มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

สมชาย ไกรรักษ์. 2536. ศักยภาพของเชื้อราโมแนสคัสกลายพันธุ์ชนิดใหม่ ในการผลิตสีเหลืองธรรมชาติ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สายสนม ประดิษฐ์ดวง และ สิริ ชัยเสรี. 2439 ลูกกวาดและช็อกโกแลต. กรุงเทพฯ:

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุวรรณา สุกิมารส. 2543 เทคโนโลยีการผลิตลูกกวาดและช็อกโกแลต. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Ainswarth, G.C., F.K. Sparrow and A.S. Sussman. 1973. The Fungi, Vol. IV A. Academic Press, Inc., New York. 621 p.

Alexopoulos, C.J. and C.W. Mims. 1979. Introductory Mycology. John Wiley & Son, Inc., New York. 632 p.

Bach TJ. 1986. Hydroxymethylglutaryl-CoA reductase, a key enzyme in phytosterol synthesis? Lipids 21: 82-88.

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

Bridge, P.D. and D.I.. Hacksworth. 1985. Biochemical tests as an aid to the identification of Monascus species. Letters in Appl. Microbiol. 1: 25-29.

Bu'lock JD, Detroy RW, Hostalek Z, Munim-Al-Shakarchi A (1974) Regulationof secondary biosynthesis in Gibberella fujikuroi. Trans Br Mycol Soc

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

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

Chiu, S.W. and Y.K. Poon. 1993. Submerged production of Monascus pigments. Mycologia 85(2): 214-218.

Church, M.B. 1920. Laboratory experiments on the manufacture of ChineseAng-khak in the United States, J, Indus. and Engineer. Chem,, 12, 45-46.

Endo A. 1979. Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species. J Antibiot (Tokyo). Aug; 32(8):852-854.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Endo, A. & Hasumi, K. 1997. Mevinic acids. In Fungal Biotechnology, pp. 162-172. Edited by T. Anke. Weinheim: Chapman & Hall.

Fielding, B.C., J.S.E. Holker, D.F. Jone, A.D.G. Powell, K.W. Richman, A. Robertson and W.B. Whalley. 1961. The Chemistry of fungal, part XXXIX. The structure of monascin. J. Chem. Soc. 1961: 4579-4589.

Fink-Gremmels, J. and L. Leistner. 1989. Monascus product, pp. 260-263. In G.A.F. Hendry and J.D. Houghton (eds.). Natural Food Colorants. Blackie and Son., New York. 280 p.

Han Ohantaek, and Richard E. Mudgett 1992. effect of oxygen and carbon dioxide Partical Pressure on *Monascus* growth and pigment production in solid-state-fermentation

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

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

Haws, E.J., J.S.E. Holker., A. Kelly, A.D.G. Powell and A. Robertson. 1959. The chemistry of fungi part XXXVII. The structure of rubropunctatin. J. Chem. Soc. 1959: 3598-3610.

Heber, D., 1. Yip, J.M. Ashley, D.A. Elashoff, R.M. Elashoff and V.L.W. Go. 2001. Cholesterol-loweringeffects of a proprietary Chinese red-yeast-rice dietary supplement'-. Am J Clin Nutr 69: 231-236.

Hendry, G.A.F. and J.D. Houghton. 1992. Natural Food Colorants. Blackie and Son., New York. 280 p.

Hesseltine, C.W. 1965. A millenium of fungi, food and fermentation. Mycologia, 57, 149- 179.

Hiroi T., T. Shima, T. Suzuki, M. Tsukioka, and O. Naghir. 1975. Hyperpigment-productive mutant of Monascus anka for solid culture Agr. Biol. Chem. 43, 1975-1976

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hwan, C.H. and C.C. Chou. 1999. Volatile components of the Chinese fermented soya bean curd as affected by the addition of ethanol in ageing solution. J. Sci. Food. Agric. 79: 243- 248.

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

Julio C. Carvalho; O.Oishi; Bruno; L. Woiciechowski; Adenise; A. Pandey; Babitha 2006 Sumanthy; Socco R. Carlas. Indian Journal of Biotechnology, 2006, 6,194-199.

Kennedy, J.,Auclair, K., Kendrew, S. G., Park, C., Vederas,J. C. and Hutchinson,C. R. 1999. Modulation of polyketide synthase activity by accessory proteins during lovastatin biosynthesis. Science 284 (5418) :1368-1372.

Kranz, C., C. Panitz and B. Kunz. 1992. Biotransformation of free fatty acid in mixtures to methyl ketones by Monascus purpureus. Appl. Micro. Biotechnol. 36: 436-439.

LI C, ZHU Y, WANG Y, ZHU J S, CHANG J, KRITCHEVSKY D 1998 Monascus purpureus-fermented rice (red yeast rice): A natural foodproduct that lowers blood cholesterol in animal models of hypercholesterolemia. Nutr Res 18: 71-81.

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.

Lin, C.F. and H. Lizuka. 1982. Production of extracellular pigment by a mutant of Monascus kaoliang sp. nov. Appl. Environ. Microbiol. 43(3): 671-676.nts of tofunyu. Nippon Nogeikagaku Kaishi 62: 1201-1205.

Lin, C.W. and W.L. Chou. 1998. Strain screening of Monascus sp. on oriental type cheese manufacturing and its mycological profile. Journal of Chinese Animal Science 27, 143- 162.

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Palo, M.A.L., Vidal-Adeva and M.M. Leticia, 1960. A study on angkak and its production. Philippenes J. Sci. 89:1-19

Rashbaum SA and EMY Barrington. 1983. Natural red coloring prepared from an oat substrate. US Patent 4418081.102

Sabater-Vilar M., Roel F.M. and Fink-Gremmels J. 1999. Mutagenicity of commercial fermentation products and the role of citrinin contamination. Mutation Research 444; 7-16.

Shephed, D. and M. Carels. 1983. Product formation and differentiation in fungi, pp. 315-535. In J.E. Smith (ed.). Fungal Differentation. Marcel Dekker, Inc., New York.

Shin, C.-S., H.-J. Kim, M.-J. Kim, and J.-Y. Ju. 1998. Morphological change and enhanced pigment production of Monascus when coclutured with Saccharomyces cerevisiae or Aspergillus oryzae. Biotechnol. Bioeng. 59, 576-581

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

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

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

Von Arx, J.A. 1974. The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture. J. Crammer, Verlag. 315 p.

Wang, X. S., Diener, K., Manthey, C. L., Wang, S., Rosenzweig, B., Bray, J., Delaney, J., Cole, C. N., Chan-Hui, P. Y., Mantlo, N., et al. (1997) J. Biol. Chem. 272, 23668-23674.

Wong, H.C. 1982. Antibiotic and pigment production by Monascus purpureus. Cited by T.F. Lin and A.L. Demain. Effect of nutrition of Monascus sp. on formation of red pigment. Appl. Microbiol. Biotechnol. 36: 70-75.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yongsmith B., Tabloka W., Yongmanichai W. and Bavavoda R.. 1993 Culture conditions for yellow pigment formation by Monascus sp. KB 10 grown on cassava medium, World J. Microbiol. Biotechnol. 9: 85-90.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางที่ 1 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ MYS

ส่วนประกอบ	ปริมาตร (กรัม)
Agar powder	15กรัม
Yeast extract	3 กรัม
Peptone	5 กรัม
แป้งมันสำปะหลัง	10 กรัม

ตารางที่ 2 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ SS

ส่วนประกอบ	ปริมาตร (กรัม)
Peptone	40 กรัม
แป้งมันสำปะหลัง	30 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีการหาค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ - น้ำหนักแห้ง} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}}$$

ปริมาตรแอลกอฮอลล์ 50 เปอร์เซ็นต์ เริ่มต้นของการวัดทั้งหมด 100 มิลลิลิตร

ปริมาตรแอลกอฮอลล์ 50 เปอร์เซ็นต์ หลังผ่านไป 24 ชั่วโมง

- เซลโลเฟน 97 มิลลิลิตร
- Dialysis tube 3.5K 97 มิลลิลิตร
- Dialysis tube 10K 97 มิลลิลิตร

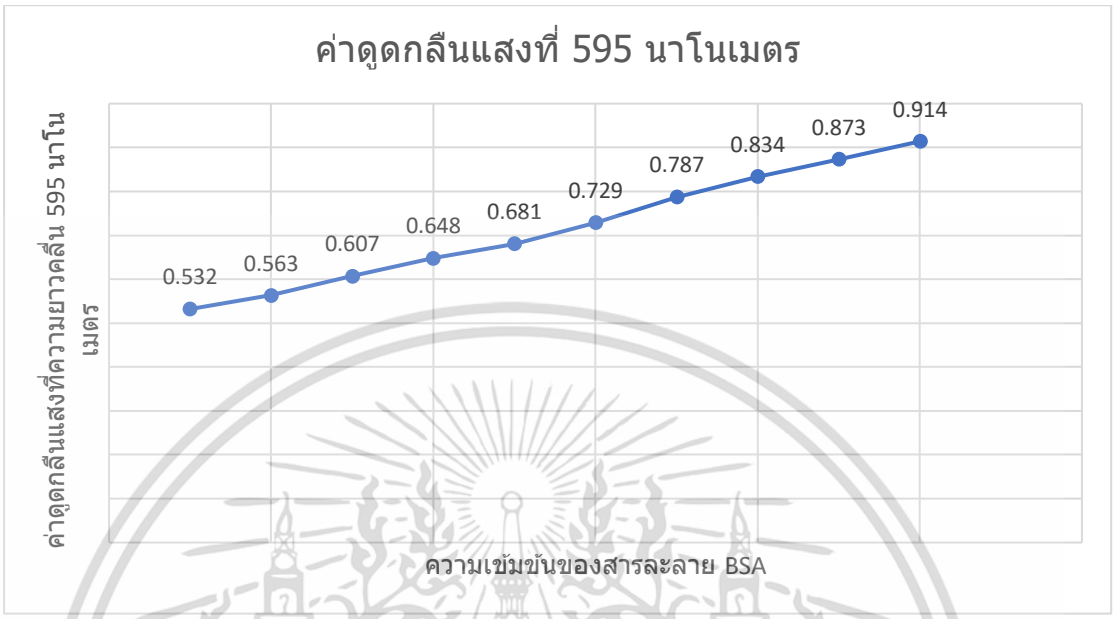
ปริมาตรแอลกอฮอลล์ 50 เปอร์เซ็นต์ หลังผ่านไป 48 ชม.

- เซลโลเฟน 90 มิลลิลิตร
- Dialysis tube 3.5K 91 มิลลิลิตร
- Dialysis tube 10K 91 มิลลิลิตร

ปริมาตรแอลกอฮอลล์ 50 เปอร์เซ็นต์ หลังผ่าน 72 ชั่วโมง

- เซลโลเฟน 86 มิลลิลิตร
- Dialysis tube 3.5K 84 มิลลิลิตร
- Dialysis tube 10K 83 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 29 เดือน มิถุนายน พ.ศ 2566

ข้าพเจ้า นายรัฐไท เตชพัฒน์ไพบูลย์ รหัสประจำตัว 62050533
นายอภิวัฒน์ พรเจริญโรจน์ รหัสประจำตัว 62050558
นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชีชีววิทยา ขอรับรองว่า
โครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา เรื่อง
ชื่อภาษาไทย ศึกษาการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. ในการผลิตสีสำหรับทำเยลลี่
ชื่อภาษาอังกฤษ THE APPLICATION OF *Monascus* sp. FOR JELLY MAKING
ปีการศึกษา 2565
เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อน
เรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่ม
โครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว
โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 9.98 %

ลงชื่อ.....
(นายรัฐไท เตชพัฒน์ไพบูลย์)
นักศึกษา

ลงชื่อ.....
(นายอภิวัฒน์ พรเจริญโรจน์)
นักศึกษา

ข้าพเจ้า ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....
(ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์)
อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้