การผลิตสารสีแดงจาก *Monascus* sp. เพื่อใช้ในลิปบาล์ม

Red Pigment Production from *Monascus* sp. For Lip Balm

ศิรประภา ศิริธานันท์

สมิดารัญชน์ ศรีช่วย

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Red Pigment Production from *Monascus* sp.
For Lip Balm

SIRAPRAPHA SIRITHANAN
SAMIDARUN SRICHUAY

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(Biotechnology)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตสารสีแดงจาก *Monascus* sp. เพื่อใช้ในลิปบาล์ม

Red Pigment Production from *Monascus* sp.

For Lip Balm

ชื่อนักศึกษา นางสาวศิรประภา ศิริธานันท์ รหัสนักศึกษา 62050541

นางสาวสมิดารัญชน์ ศรีช่วย รหัสนักศึกษา 62050545

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (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	การผลิตสารสีแดงจาก *Monascus* sp. เพื่อใช้ในลิปบาล์ม Red Pigment Production from *Monascus* sp. For Lip Balm
ชื่อนักศึกษา	นางสาวศิรประภา ศิริธานันท์ รหัสนักศึกษา 62050541 นางสาวสมิดารัญชน์ ศรีช่วย รหัสนักศึกษา 62050545
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์

บทคัดย่อ

การผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 ในอาหารเหลว SS เป็นเวลา 10 วัน พบการสร้างสารสีเหลือง สารสีส้ม และสารสีแดง 9.46 12.38 และ 13.98 Unit/ml ซึ่งให้ค่าสีที่ปรากฏ L* a* b* เท่ากับ +12.42 +5.52 +8.62 จากนั้นจึงคัดแยกสารสีที่มีโมเลกุลเล็กโดยทดสอบการเคลื่อนที่ของสารสีผ่านเมมเบรน พบว่าเมมเบรนขนาด 3.5 kDa สามารถคัดแยกสารสีได้ดี แต่การใช้เมมเบรนขนาด 10.0 kDa และเซลโลเฟน พบสารสีโมเลกุลใหญ่เคลื่อนที่ผ่านเมมเบรนได้มากขึ้น โมเลกุลสารสีมักจับตัวร่วมกับสารประกอบโปรตีน จึงนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนพร้อมคัดแยกสารสีขนาดเล็กด้วย Ultrafiltration พบว่าการใช้เวลาย่อยสารสี 300 นาที สามารถคัดแยกสารสีเหลืองได้มากที่สุด (0.59 Unit/ml) และได้สารสีส้ม และสารสีแดงใกล้เคียงกัน (0.24 Unit/ml) การผลิตลิปบาล์มโดยมีองค์ประกอบของสารสีเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 ปริมาณ 3.7 กรัม ร่วมกับน้ำมันมะพร้าว 7 กรัม เนยโกโก้ 0.5 กรัม ผลึกแว็กซ์ 0.5 กรัม และขี้ผึ้ง 1.5 กรัม ได้เป็นลิปบาล์มมีค่าสีที่ปรากฏ L* a* b* เท่ากับ +35.47 +27.80 และ +14.32 ตามลำดับ มีพีเอช 6.82 และความแข็ง 1.94 นิวตัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ทำการแก้ไขเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำสำคัญ : เชื้อราโมแนสคัส สารสี ลิปบาล์ม

Title	Red Pigment Production from *Monascus* sp. For Lip Balm
Students	Miss Siraprapha Sirithanan Student ID 62050541 Miss Samidarun srichuay Student ID 62050545
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 pigment production from *Monascus* sp. U6V1 by cultivating on SS broth for 10 days presented the yellow pigment, orange pigment and red pigment at 9.46 12.38 and 13.98 Unit/ml, respectively. The appearance color of L* a* b* was +12.42 +5.52 +8.62. The separation of small pigments molecule was examined by dialysis membrane. It was found that dialysis membrane of 3.5 kDa showed the appropriate separation. However, the large pigments molecule was observed by using the 10.0 kDa dialysis membrane and cellophane. The pigments molecule was found in the complex structure with protein compound. The enzymatic digestion of protein compound was studied by using papain. Then, the small pigments molecule was separated by ultrafiltration, simultaneously. It was found that the digestion time of 300 presented the maximum yellow pigment separation (0.59 Unit/ml). Meanwhile, the orange pigment and red pigment were separated at the same amount of 0.24 Unit/ml. The lip balm was prepared by using *Monascus* sp. U6V1 pigment, coconut oil, coco butter, wax, and beeswax at 3.7 g, 7 g, 0.5 g, 0.5 g and 1.5 g, respectively. The lip balm sample showed the appearance color of L* a* b* at +35.47 +27.80 +14.32, 6.82 of pH and 1.94 N of hardness.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ทั้งนี้ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Keyword: *Monascus* sp., Pigment, Lip Balm

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่ได้ให้ความกรุณา อุปกรณ์ เครื่องมือและสถานที่ในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ให้คำแนะนำ ชี้แนะ ตรวจทานและแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ ตลอดจนให้ความรู้ ทักษะ ประสบการณ์และข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ต่อโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี ประธานกรรมการโครงงานพิเศษ และ ผศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ กรรมการโครงงานพิเศษ ผู้ตรวจสอบและเสนอแนะข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ต่อโครงงานฉบับนี้ ส่งผลให้โครงงานฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความช่วยเหลือในด้าน เครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมีต่างๆและเกร็ดความรู้นอกเหนือห้องเรียน

ท้ายนี้ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ได้ให้การสนับสนุน ให้กำลังใจและส่งเสริมการศึกษาเป็นอย่างดีตลอดมา

ศิรประภา ศิริธานันท์

สมิดารัญชน์ ศรีช่วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 สี (Color)	3
2.1.1 สีสังเคราะห์	3
2.1.2 สีธรรมชาติ	4
2.1.3 สีจากจุลินทรีย์	4
2.1.4 การประยุกต์ใช้สารสีจากจุลินทรีย์ในระดับอุตสาหกรรม	6
2.1.5 ข้อดีข้อเสียของการใช้จุลินทรีย์ในการผลิตสารสี	6
2.2 เชื้อรา *Monascus* sp.	7
2.2.1 ประวัติและความสำคัญของเชื้อรา *Monascus* sp.	7
2.2.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาและการสืบพันธุ์ของเชื้อรา *Monascus* sp.	8
2.2.3 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเชื้อรา *Monascus* sp.	9
2.2.3.1 สารสีจากเชื้อรา *Monascus* sp.	10
2.2.3.2 โมนาโคลิน เค (Monacolin K)	12
2.2.3.3 ซิตรินิน (Citrinin)	12
2.2.4 การใช้ประโยชน์จากสี *Monascus* sp.	13
2.3 เครื่องสำอาง	14
2.3.1 ลิปสติก	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.3.2 ลักษณะลิปสติกที่ดี 15
2.3.3 คุณลักษณะของลิปสติก ลิปบาล์มที่ต้องการ 15
2.3.4 การระคายเคืองการแพ้ลิปสติก 15
2.4 การใช้เอนไซม์ปาเปนย่อยโปรตีน 15
2.5 การทำแห้งแบบการแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) 16
2.5.1 หลักการทำแห้งแบบการแช่เยือกแข็งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน........ 16
2.5.2 ข้อดีของการทำแห้งแบบการแช่เยือกแข็ง 18
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 18
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 19
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ในการทดลอง 19
3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์ 19
3.1.2 สารเคมี 19
3.1.3 เครื่องมือ 19
3.1.4 อุปกรณ์ 20
3.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ 20
3.2 ขั้นตอนการทำงานวิจัย 20
3.2.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1
ในอาหารแข็งและอาหารเหลว 20
3.2.2 การวิเคราะห์ 21
3.2.2.1 การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง 21
3.2.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารสี........ 21
3.2.3 การทดสอบการแพร่ของสารสีผ่านเมมเบรน
(Dialysis, Bradford’s method) 21
3.2.3.1 เมมเบรนเลือกผ่าน (Dialysis membrane)........ 21
3.2.3.2 การวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี Bradford’s method........ 22
3.2.3.3 การย่อยสารสีด้วยเอนไซม์ปาเปนและคัดแยกสีด้วยเครื่อง
Ultrafiltration 22
3.2.4 วิธีทำลิปบาล์ม........ 23
3.2.5 การทดสอบลิปบาล์ม 23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.5.1 ลักษณะทางกายภาพเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่ขายตามท้องตลาด 23
3.2.5.2 ทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้น 23
3.2.5.3 ทดสอบความคงตัวต่อรังสี UV 24
3.2.5.4 ทดสอบความคงตัวต่ออุณหภูมิสูงและต่ำ 24
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 25
4.1 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 25
4.2 ผลระยะเวลาการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่ส่งผลต่อค่า pH และน้ำหนักเซลล์แห้ง 26
4.2.1 น้ำหนักเซลล์แห้ง 26
4.2.2 ผลของระยะเวลาการเพาะเลี้ยง *Monascus* sp. U6V1 ที่เหมาะสมต่อการผลิตสารสีแดง 27
4.3 การคัดแยกสีด้วยเมมเบรนและย่อยสลายสารสีด้วยเอนไซม์ปาเปน 30
4.3.1 ผลการทดสอบการแพร่ของสารสีผ่านเมมเบรน (Dialysis membrane)..... 30
4.3.2 ผลการวิเคราะห์โปรตีน 32
4.3.3 ผลของการย่อยสารสีด้วยเอนไซม์ปาเปนและคัดแยกสีด้วยเครื่อง Ultrafiltration 33
4.4 ผลการทำลิปบาล์มโดยใช้สารสีจากเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 34
4.4.1 การทดสอบลิปบาล์ม 35
4.4.1.1 ผลการศึกษาการทดสอบลักษณะทางกายภาพ 35
4.4.1.2 การศึกษาการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นโดยผู้ทดลอง 36
4.4.1.3 ผลการทดสอบความคงตัวของลิปบาล์มต่อรังสี UV 37
4.4.1.4 ผลการทดสอบความคงตัวของลิปบาล์มต่ออุณหภูมิสูงและต่ำ 38
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 39
5.1 สรุปผลการวิจัย 39
5.2 ข้อเสนอแนะ 40
เอกสารอ้างอิง 41
ภาคผนวก 45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ก 46
ภาคผนวก ข 47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 2.1 ประเภทของสารสีจากเชื้อรา *Monascus* sp.. 10
ตารางที่ 2.2 ความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงและสูตรโครงสร้างของสารสี *Monascus* sp...... 11
ตารางที่ 2.3 การใช้ประโยชน์จากสี *Monascus* sp. 13
ตารางที่ 3.1 หลักเกณฑ์การให้คะแนนความแดงของผิวหนัง 23
ตารางที่ 3.2 หลักเกณฑ์การให้คะแนนการบวมของผิวหนัง 23
ตารางที่ 3.3 เกณฑ์การตัดสิน... 24
ตารางที่ 4.1 ค่าเฉลี่ยของการเปลี่ยนแปลงของ pH และน้ำหนักเซลล์แห้งที่เปลี่ยนแปลง ระหว่างการเลี้ยงเชื้อ *Monascus* sp. ในวันที่ 7, 10, 13, และ 14 วันที่อุณภูมิ 30 °C บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 rpm 26
ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณสารสีเหลือง (OD370), สารสีส้ม (OD480), สารสีแดง (OD500) เมื่อบ่มในจำนวนวันต่างๆ 28
ตารางที่ 4.3 จำนวนวันที่เพาะเลี้ยงและการวัดค่าสี L*, a*, b* 29
ตารางที่ 4.4 แสดงค่าความแข็งเฉลี่ยเปรียบเทียบกันระหว่างลิปบาล์มตัวอย่าง (ยี่ห้อ A) และ ลิปบาล์มที่ได้จากการทดลอง.. 36
ตารางที่ 4.5 ผลการให้คะแนนระดับการระคายเคืองของผิวหนังเมื่อเวลาผ่านไป 1, 3, 5, 7 และ 24 ชั่วโมง.. 37
ตารางที่ 4.6 การเปรียบเทียบค่า pH ค่าความแข็งและค่าสี ระหว่างก่อนและหลังทดสอบ ความคงตัวของลิปบาล์มต่อรังสี UV 38
ตารางที่ 4.7 การเปรียบเทียบค่า pH ค่าความแข็งและค่าสี ระหว่างก่อนและหลังทำ Cycle test 38
ตารางที่ ข.1 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate Buffer) ที่พีเอชต่างๆ....... 47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

รูปที่ 2.1 สัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Monascus* sp. 8

ก) ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Monascus* sp. อายุ 3 วัน บนอาหาร MYS agar

ข) ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Monascus* sp. อายุ 7 วัน บนอาหาร MYS agar

รูปที่ 2.2 แสดงวงจรชีวิตของเชื้อรา *Monascus* sp 9

รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของซิตรินิน 13

รูปที่ 2.4 โครงสร้างแบบริบบิ้นของปาเปน 16

รูปที่ 2.5 Phase diagram ของน้ำ 17

รูปที่ 2.6 แสดงการเปลี่ยนแปลงของน้ำแข็งในแต่ละขั้นตอน 17

รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการแพร่ของสารสีผ่านเมมเบรน (Dialysis tube) 22

รูปที่ 4.1 สีของเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งเป็นเวลา 7-10 วัน...... 25

รูปที่ 4.2 ก) สีของเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว 7 วัน

ข) สีของเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว 10 วัน........ 26

รูปที่ 4.3 การเจริญและ pH ที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการเลี้ยงเชื้อ *Monascus* sp. ในวันที่ 7, 10, 13 และ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °C บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 rpm 27

รูปที่ 4.4 ปริมาณสารสีเหลือง (OD370), สารสีส้ม (OD480), สารสีแดง (OD500) ในแต่ละขวด 28

รูปที่ 4.5 กราฟการเปรียบเทียบปริมาณการแพร่ของสารสีที่แพร่ผ่านเมมเบรนขนาด 3.5 kDa (A), 10 kDa (B) และ Cellophane (C) ที่ระยะเวลาต่างๆ โดยวัดด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ 370, 480 และ 500 nm........ 31

รูปที่ 4.6 ปริมาณโปรตีนในสารละลายที่ผ่านการคัดแยกด้วยเมมเบรนขนาด 3.5 kDa , 10 kDa และ Cellophane 32

รูปที่ 4.7 ปริมาณสารสีต่อระยะเวลา(นาที)ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ OD 370, 480 และ 500 nm 33

รูปที่ 4.8 ผลิตภัณฑ์ลิปบาล์ม 34

รูปที่ ข.1 กราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย Bovine serum albumin (BSA) และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ลิปสติก เป็นเครื่องสำอางที่นิยมใช้สำหรับทาบริเวณริมฝีปาก เพื่อความชุ่มชื่น ช่วยปกป้องริมฝีปาก ช่วยเติมแต่งให้ริมฝีปากแลดูสวยงาม เนื่องจากลิปสติกเป็นเครื่องสำอางที่สัมผัสและอาจเข้าสู่ร่างกายได้โดยตรง ดังนั้นผู้บริโภคต้องพิจารณาเลือกซื้อและใช้ลิปสติกด้วยความระมัดระวัง เพราะหากลิปสติกไม่ได้มาตรฐานก็จะเป็นอันตรายต่อร่างกาย ส่วนประกอบต่างๆของลิปสติกทั้งสารให้ความชุ่มชื้นแก่ริมฝีปากและส่วนประกอบเสริมที่ทำให้ลิปสติกมีรูปแบบตามความชอบของผู้บริโภคหรือเพื่อเพิ่มความคงตัวดีขึ้น เช่น น้ำหอม สารเติมแต่งสี วัตถุกันเสีย สารแต่งกลิ่นแต่งรสและสารป้องกันแสงแดด

ลิปสติกประเภทลิปบาล์มเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับบำรุงริมฝีปาก ช่วยให้ริมฝีปากมีความชุ่มชื่น เรียบเนียน ลดการแตกแห้ง ลิปบาล์มที่ดีควรมีสัมผัสนุ่ม เกลี่ยง่าย ลิปบาล์มอุดมไปด้วยน้ำมันมะพร้าวสกัดเย็นออร์แกนิคที่มีคุณสมบัติเป็นกรดไขมันจำเป็นและสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยบำรุงริมฝีปากให้นุ่มชุ่มชื่น ลดปากแห้งแตก

ปัจจุบันมีการใช้สีสังเคราะห์ในผลิตภัณฑ์ลิปสติก อาจทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะการเติมสีสังเคราะห์ในลิปสติกที่อาจเข้าสู่ร่างกายได้โดยตรงจากการทาลงบนบริเวณริมฝีปาก การใช้เป็นเวลานานสารพิษอาจสะสมในร่างกายหรือมีการใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพต่ำหรือมีโลหะหนักเกินที่กฎหมายกำหนดปนเปื้อนอยู่

เชื้อรา *Monascus* เป็นเชื้อราที่นิยมใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหารพื้นบ้านมาเป็นระยะเวลานานมากกว่า 1,000 ปี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศแถบเอเชียเช่น ประเทศจีน อินโดนีเซีย และไทย เชื้อรา *Monascus* สามารถสร้างสารสีได้ในระหว่างการหมักโดยจะให้สีใน กลุ่มสีเหลือง-สีแดง นอกจากสารสีแล้ว เชื้อรา *Monascus* ยังสามารถสร้างสารต่างๆ ได้เช่น สารโมนาโคลิน เค (Monacolin K) สารกาบา (Gamma Amino Butyric Acid; GABA) กรดไดเมอรูมิก (Dimeramic acid) ซึ่งสารต่างๆ ที่เชื้อรา *Monascus* สร้างขึ้นนี้ มีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น เป็นสารสามารถลดระดับคลอเลสเตอรอล (Antihypercholestemic agent) สารลดระดับความดันเลือด (Antihypertensive agent) สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Antioxidant agent) หรือแม้กระทั่งเป็นสารป้องกันการเกิดมะเร็งได้ (Anticancer agent) (สุนีย์, 2557) ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจในการศึกษาสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ... ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีจากธรรมชาติที่มีความปลอดภัยมากกว่าสีสังเคราะห์ โดยเลือกใช้สารสีจากเชื้อรา *Monascus* sp. ซึ่งมีความสามารถในการผลิตสารสีแดงและคุณสมบัติดังกล่าว ใช้ผสมในลิปสติกให้เกิดสี นอกจากนี้ สารสีที่ได้จากจุลินทรีย์มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและไม่เป็นพิษสามารถย่อยสลายได้ในสิ่งแวดล้อม การเติมสารสีแดงที่ได้ลงในลิปสติกโดยเลือกทำลิปสติกประเภทลิปบาล์ม เนื่องจากสามารถช่วยบำรุงและป้องกันริมฝีปากจากมลภาวะต่างๆได้ดี

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. เพื่อผลิตสารสีแดง

2) ศึกษาการย่อยโปรตีนในสารสีแดงด้วยเอนไซม์ปาเปน

3) นำสารสีแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. มาทำลิปบาล์ม

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1) เพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. โดยใช้อาหาร MYS medium และ SS medium เพื่อผลิตสารสีแดง กรองเพื่อให้ได้ extracellular pigment จากนั้นทำการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ปาเปน

2) ทำสารสีให้เป็นผงโดยใช้การทำแห้งแบบการแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) และนำสารสีมาใช้ผสมกับส่วนผสมในการทำลิปบาล์มเพื่อให้เกิดสี

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ทราบวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อราโดยใช้อาหาร MYS medium และ SS medium

2) ทราบวิธีการย่อยสารสีด้วยเอนไซม์ปาเปน

3) ได้ผลิตภัณฑ์ลิปบาล์มที่ใช้สีจากธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สี (Color)

สี หมายถึง สิ่งที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า อาจเกิดจากธรรมชาติ หรือเป็นสิ่งที่มนุษย์ปรุงแต่งขึ้น โดยในช่วงชีวิตคนปกติจะมองเห็นสีได้หลายสี ดังนั้นสีจึงถือเป็นประสบการณ์ส่วนบุคคลด้วยเนื่องจากสีแต่ละสีมีเฉดที่ต่างออกไปหลายร้อยหลายพันเฉดสี บางครั้งจึงมีสีที่อาจไม่เคยพบมาก่อน สีเป็นสิ่งที่เสพความงามได้ทางตา ดังนั้น ในอาหารจึงนับเป็นความงามอย่างหนึ่ง

การใช้สีผสมอาหาร เป็นกลวิธีหนึ่งในการเพิ่มและเปลี่ยนสีสันของอาหาร โดยสีผสมอาหารจะถูกใช้เพื่อทำให้สีสันในจานอาหารโดดเด่นขึ้น นอกจากสีผสมอาหารจะใส่ในอาหารก่อนการปรุงแล้ว บางครั้งสีผสมอาหารก็อยู่ในเครื่องปรุงรสเพื่อให้มีสีสันน่ารับประทานยิ่งขึ้น โดยที่สีผสมอาหารจะแบ่งออกเป็นสีสังเคราะห์หรือสีเคมีและสีธรรมชาติ

2.1.1 สีสังเคราะห์

สีสังเคราะห์ หมายถึง สีที่เป็นสารอินทรีย์ที่ได้จากการสังเคราะห์ที่ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (Food additive) ในกลุ่มสีผสมอาหาร (Food color) ซึ่งมีลักษณะถูกต้องตามข้อกำหนดและปลอดภัยต่อการบริโภค สีสังเคราะห์มีราคาถูกกว่าสีธรรมชาติให้สีสดและสม่ำเสมอและให้สีในช่วงที่กว้างกว่าสีธรรมชาตินอกจากนี้ยังมีขายทั้งในรูปแม่สีและสีผสมในรูปผง สารละลายและสารละลายแขวนลอย ซึ่งสะดวกต่อการเลือกใช้กับอาหารชนิดต่างๆ โดยที่คุณลักษณะของสีสังเคราะห์ที่ใช้เป็นสีผสมอาหารที่ได้มาตรฐานมีดังนี้

ก. ไม่มีสารที่ทำให้เกิดพิษและตัวสีเองไม่ก่อให้เกิดอันตรายแก่ร่างกายของผู้บริโภค

ข. มีโครเมียม แคดเมียม ปรอทหรือซีลีเนียมไม่เกิน 1 ส่วนในล้านส่วนโดยน้ำหนัก

ค. มีสารหนู ไม่เกิน 5 ส่วนในล้านส่วนโดยน้ำหนัก

ง. มีตะกั่วไม่เกิน 20 ส่วนในล้านส่วนโดยน้ำหนัก

จ. มีโลหะหนักชนิดต่างๆ นอกจากตะกั่ว รวมกันไม่เกิน 20 ส่วนในล้านส่วนโดยน้ำหนัก

จากข้อกำหนดต่างๆจะเห็นว่ามีแต่สารจำพวกโลหะหนักที่มาจากการปนเปื้อนในกระบวนการผลิตสี ซึ่งมีความเป็นพิษสูง ในปัจจุบันผู้บริโภคเล็งเห็นถึงการดูแลสุขภาพมากขึ้น สีที่ได้จากธรรมชาติจึงได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น โดยสีผสมอาหารที่นำมาใช้มีทั้งสีที่ได้จากพืช สัตว์รวมถึงสีที่ได้จากจุลินทรีย์โดยสารสีที่มาจากจุลินทรีย์นั้นมีความน่าสนใจตรงที่จุลินทรีย์มีขนาดเล็กใช้เนื้อที่ในการผลิตเพาะเลี้ยงน้อย (นภัสสร และคณะ, 2563)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 สีธรรมชาติ

สีธรรมชาติ คือ สีที่สกัดได้จากวัตถุดิบจากแหล่งธรรมชาติเช่น พืช สัตว์และแร่ธาตุต่างๆ ซึ่งเกิดขึ้นมาจากกระบวนการตามธรรมชาติ สีธรรมชาติมีบทบาทเกี่ยวข้องกับวิถีการดำรงชีวิตของมนุษย์มายาวนานนับตั้งแต่สมัยโบราณ มนุษย์ได้เรียนรู้ที่จะนำสีจากวัสดุธรรมชาติมาใช้ในกิจกรรมต่างๆ เช่น สีของภาชนะเครื่องปั้นดินเผา ย้อมสิ่งทอ เครื่องใช้ เครื่องนุ่งห่ม

สีจากธรรมชาติที่ใช้โดยทั่วไป ได้แก่

- สีเขียวจากใบเตยหอม พริกเขียว ใบย่านาง คะน้า
- สีเหลือง จากขมิ้นอ้อย ขมิ้นชัน ฟักทอง ดอกคำฝอย ดอกโสน
- สีแดง จากครั่ง กระเจี๊ยบ มะเขือเทศ มะละกอ ถั่วแดง ข้าวแดง
- สีน้ำเงิน จากดอกอัญชัน
- สีดำ จากกาบมะพร้าวเผา ถั่วดำ ดอกดิน
- สีน้ำตาล จากน้ำตาลเคี่ยวไหม้

2.1.3 สีจากจุลินทรีย์

จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถสร้างสารสีหรือรงควัตถุได้มากและปลอดภัยพอที่จะนำ ใช้เป็นสีผสมอาหารได้และจุลินทรีย์บางชนิดสามารถสร้างสารสีที่มีคุณสมบัติเป็นสารเร่งการ เจริญหรือเป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น มีคุณสมบัติเป็นวิตามิน

ลักษณะของจุลินทรีย์ที่เป็นแหล่งสารสี ได้แก่

- สามารถเจริญได้เร็ว ขยายพันธุ์ได้ดี
- มีความสามารถผลิตผลิตภัณฑ์ได้สูง ได้ผลสม่ำเสมอ และไม่ควรให้ผลพลอยได้ที่ไม่จำเป็น
- ควรเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถใช้วัตถุดิบหาง่ายและราคาถูกที่มีอยู่แล้วในท้องถิ่นได้ดี
- มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดีมีช่วง pH และอุณหภูมิที่เหมาะต่อการเจริญเติบโตกว้าง
- เป็นจุลินทรีย์ที่มีลักษณะทางด้านพันธุกรรมที่คงที่ไม่เปลี่ยนแปลงง่าย
- ควรเป็นเชื้อที่เลี้ยงง่าย ตายยากและเก็บได้นาน
- ควรเป็นเชื้อบริสุทธิ์ปราศจากฟาจ (phage) หรือทนต่อการทำลายของฟาจ (phage) หรือ จุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น แบคทีเรียควรเป็นพันธุ์ต้านทานฟาจ (phage) สาหร่ายก็ควรทนต่อการเข้าทำลายของแบคทีเรียหรือรา
- ต้องเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรคในคนและไม่สร้างสารพิษให้กับผลิตภัณฑ์นั้นๆ

ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารสี

A. **แบคทีเรีย** แบคทีเรียที่สามารถผลิตสีได้อาจจำแนกตามลักษณะของสีที่ผลิต ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- **กลุ่มแคโรตินอยด์** จะมีสีเหลือง ส้ม หรือแดงส้ม ตัวอย่างของแบคทีเรียที่ผลิตสีในกลุ่มนี้

  - *Streptomyces chrestomyceticus* ผลิต Lycopene
  - *Flavobacterium* sp. ผลิต Lutein
  - *Mycobacterium pheli* ผลิต Unidentified xanthophylls
  - *Mycobacterium lacticola* ผลิต Astaxantin
  - *Rhodococcus maris* ผลิต Canthaxanthin

- **วิตามิน B12** จะมีสีแดงคล้ำ ตัวอย่างของแบคทีเรียที่ผลิตสีในกลุ่มนี้ เช่น

  - *Pseudomonas* sp.
  - *Streptomyces* sp.
  - *Proteus* sp.

- **เหลืองเขียวเรืองแสง** ตัวอย่างของแบคทีเรียที่ผลิตสีในกลุ่มนี้ เช่น

  - *Clostridium butylticum* (เป็นจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตวิตามิน B12 ในอุตสาหกรรม)
  - *Clostridium acetobutylicum*
  - *Lactobacillus* spp.
  - *Acetobacter* sp.

- **Prodigiosin** สีแดงเลือดนก ผลิตโดย *Serratia marcescens*
- **Indigoids** สีคราม ผลิตโดย *Pseudomonas putida*

B. **รา** ที่สามารถผลิตสีได้อาจจำแนกตามลักษณะของสีที่ผลิต ดังนี้

- **Monascorubin (สีแดง) และ Monascoflavin (สีเหลือง)** ผลิตจาก *Monascus purpureus*
- **แคโรตินอยด์**

  - *Mucor Macedo* ผลิต carotene
  - *Rhodosporidium* ผลิต torelene
  - *Dacrymyces deliquescens* ผลิต lutein

- **วิตามิน B2**

  - *Ashbya gossypii*
  - *Eremothecium ashbyli*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

C. **ยีสต์** ยีสต์ที่สามารถผลิตสีได้อาจจำแนกตามลักษณะของสีที่ผลิต ดังนี้

- **วิตามิน B2**

  - *Candida urborea*
  - *Candida flareri*
  - *Rhodoturula* sp. ผลิต torelene
  - *Phaffia rhodozyma* ผลิต astaxanthin

D. **สาหร่าย**

  - *Rhodophyta* sp. (สาหร่ายสีแดง) ผลิต ไฟโดอิริทริน (สีแดง)
  - *Spirulina* sp. ผลิต คลอโรฟิลล์ เอ, แคโรตินอยด์

2.1.4 การประยุกต์ใช้สารสีจากจุลินทรีย์ในระดับอุตสาหกรรม

- **อุตสาหกรรมอาหาร**

  - ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม เช่น *Spirulina* sp. ซึ่งสร้างรงควัตถุ 3 ชนิด ได้แก่ คลอโรฟิลล์ เอ. แคโรตินอยด์และไฟโคไซยานิน
  - สีผสมอาหารหรือขนม เช่น เจือสีปูเทียม เนื้อเทียมและลุกชุบ เป็นต้น
  - เพิ่มสีเนื้อและหนังสัตว์ เช่น สารสีกลุ่มแคโรตินอยด์ผสมในอาหารสัตว์ที่ใช้เลี้ยงปู กุ้ง หอย ปลาแซลมอนและไก่ เป็นต้น
  - เพิ่มสีของไข่แดงในสัตว์ปีก

- **อุตสาหกรรมยา**

  - เจือสียาเม็ดหรือยาน้ำ
  - วิตามิน เช่น วิตามิน B2 วิตามิน B12

- **อุตสาหกรรมสิ่งทอ**

  - สีย้อมผ้า เช่น ใช้สีน้ำเงินจากเชื้อแบคทีเรีย *Janthinobacterium lividium* ซึ่งเลี้ยงในอาหาร TSA medium เมื่อนำไปย้อมสีฝ้ายพบว่าให้โทนสีที่ดีและมีความคงทน

- **อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง**

  - เจือสีในลิปสติก อายแชโดว์ เป็นต้น

2.1.5 ข้อดีข้อเสียของการใช้จุลินทรีย์ในการผลิตสารสี

ข้อดีการใช้จุลินทรีย์ในการผลิตสารสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กระบวนการหมักเพื่อสร้างสีของจุลินทรีย์เกิดได้รวดเร็วและมีประสิทธิภาพดีกว่าการผลิตสารจากพืชและสัตว์
- การปรับปรุงพันธุกรรมของจุลินทรีย์ทำได้ง่ายเพื่อทำให้จุลินทรีย์ผลิตสีได้มากขึ้นหรือมีคุณภาพดีขึ้น
- การเพิ่มหรือลดขนาดการผลิตทำได้ง่าย
- ใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อย
- สารสีที่ได้จากจุลินทรีย์มีความปลอดภัยต่อการบริโภค
- ไม่เป็นพิษและสามารถย่อยสลายได้ในสิ่งแวดล้อม

ข้อเสียของการใช้จุลินทรีย์ในการผลิตสารสี

- ใช้เงินลงทุนสูงเนื่องจากต้องมีอุปกรณ์และการควบคุมสภาวะการเจริญของจุลินทรีย์ให้เหมาะสม
- กระบวนการการสกัดและทำบริสุทธิ์สารสีอาจมีความซับซ้อนซึ่งต้องอาศัยความรู้ความชำนาญในการทำ
- ต้องคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความคงตัวทางพันธุกรรมซึ่งอาจต้องใช้เวลานาน
- มีปัญหาการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ
- เมื่อทำเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เป็นเวลานาน เชื้ออาจเกิดการสายพันธุ์ทำให้ปริมาณสารสีที่ผลิตได้ลดลงหรืออาจทำให้คุณสมบัติของสีเปลี่ยนแปลงไป (จารุวรรณ, 2554)

2.2 เชื้อรา *Monascus* sp.

2.2.1 ประวัติและความสำคัญของเชื้อรา *Monascus* sp.

เชื้อรา *Monascus* ถูกพบเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1884 โดย Van Tieghem นักวิทยาศาสตร์ชาวฝรั่งเศสที่ได้แยกเชื้อราที่เจริญในอาหารที่มีส่วนผสมของมันฝรั่งและเมล็ดลินสีด ต่อมาในปี ค.ศ. 1895 ได้ค้นพบเชื้อรา *Monascus* sp. อีกสายพันธุ์คือ *Monascus purpureus* จากผลิตภัณฑ์ข้าวแดงในหมู่เกาะชวา ประเทศอินโดนีเซีย (สุนีย์, 2557) ได้มีการใช้ *Monascus* sp. ในการแปรรูปอาหารพื้นบ้านมามากกว่า 1,000 ปี โดยพบมากในประเทศแถบเอเชีย เช่น จีน อินโดนีเซีย ญี่ปุ่นและไทย แต่สำหรับชาวยุโรป เชื้อรา *Monascus* sp. เป็นที่รู้จักในฐานะที่เป็นเชื้อราที่ปนเปื้อนในธัญพืชแป้งและสารอื่นๆ (นภัสสร และคณะ, 2563)

Lin (1973) ได้เริ่มมีการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. ในอาหารเหลว ได้แยกเชื้อราจากข้าวแดงจากประเทศต่างๆ ในแถบเอเชียใต้และพบว่าเชื้อราเหล่านี้สร้างสารสีในอาหารเหลวได้ดีเช่นกัน ต่อมามีการปรับปรุงสายพันธุ์ของเชื้อราเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสร้างสาร โดยใช้วิธีการต่างๆ เช่น ใช้สารก่อการกลายพันธุ์ (Mutagen) หรือใช้รังสีต่างๆ การใช้เทคนิคโปรโตรพลาสต์ฟิวชั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

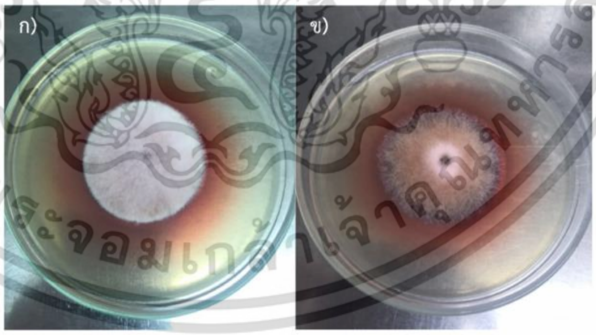
การปรับปรุงกรรมวิธีในการเลี้ยงเชื้อทั้งแบบครั้งคราว (Batch culturel แบบป้อน (Fed-batch culture) และการใช้วิธีการตรึงเซลล์

เชื้อรา *Monascus* sp. นอกจากจะสามารถสร้าง สารสีได้แล้วยังสร้างสารอื่นที่เป็นประโยชน์อีกหลายชนิด (Wong and Bau, 1977) ได้รายงานเป็นครั้งแรกจากเชื้อรา *M. purpurus* ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียของอาหารเช่น *Bacillus* sp. *Streptococcus* sp. และ *Pseudmonas* sp. เป็นต้น (รัตติกูล และคณะ, 2559) ในแถบเอเชียได้มีการใช้ข้าวแดงมาเป็นสารให้สีใน ผลิตภัณฑ์ปลา เนยแข็ง ไวน์แดง เต้าหู้ยี้และผลิตภัณฑ์ไส้กรอก เป็นต้น และถูกนำมาใช้ผลิตยาลดระดับคอเลสเตอรอลในกระแสเลือด เนื่องจากสารในข้าวแดง ที่เรียกว่า mevinolin ที่สามารถยับยั้งการผลิตคอเลสเตอรอล (อำพรรณ และธีระดา, 2554)

2.2.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาและการสืบพันธุ์ของเชื้อรา *Monascus* sp.

เชื้อรา *Monascus* เคยจัดอยู่ในวงศ์ (Family) Aspergillaceae อันดับ Plectascales แต่ปัจจุบันจัดอยู่ในวงศ์ Monascaceae กลุ่ม Ascomycetes กลุ่มย่อย Plectomycetidae อันดับ Eurotiales เส้นใยมีผนังกั้น (septate) (สุนีย์, 2557) เส้นผ่านศูนย์กลาง 2-5 ไมโครเมตร

ระบุแนวทางในการบ่งชี้ชนิดของเชื้อรา *Monascus* ที่คัดแยกได้โดยเริ่มจากการสังเกตุลักษณะผิวหน้าโคโลนีบนอาหาร Potato Dextrose Agar ซึ่งช่วงแรกของการเจริญสีของเส้นใยเป็น สีขาวและเมื่อเชื้อรามีอายุมากขึ้นเส้นใยจะเปลี่ยนเป็นสีส้มหรือสีแดง (รูปที่ 2.1) (เกตุการ และหทัยทิพย์, 2559)



รูปที่ 2.1 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Monascus* sp. อายุ 3 วัน บนอาหาร MYS agar

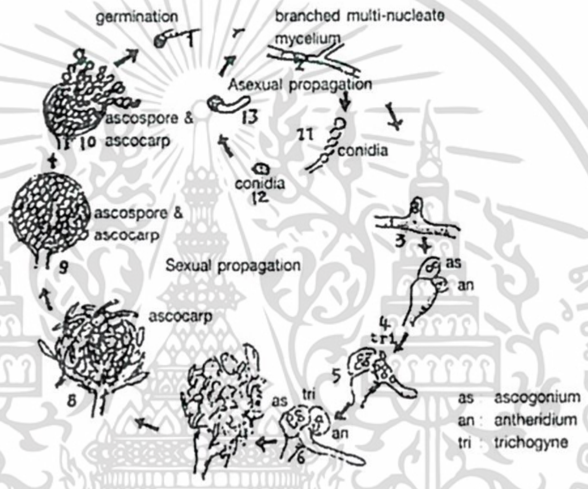
ก) ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14

ข) ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 (นภัสสร และคณะ, 2563)

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะคล้ายกับเชื้อราอื่นใน Class Ascomycetes คือมีการสร้างเพอร์ทีเซียม (Perithecium) ซึ่งเป็นแอสโคคาร์ป (Ascocarp) ที่มีรูปร่างกลม โดยจะเกิดบนก้าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Stalk) ที่มีหรือไม่มีผนังกั้นก็ได้ แอสโคคาร์ปเกิดขึ้นบนเส้นใยซึ่งเป็นแบบโฮโมแทลลิก (Homothallic) โดยสร้างโครงสร้างออกมา 2 ชนิดคือ แอนเทอริเดียม (Antheridium) และแอสโคโกเนียม (Ascogonium) ซึ่งจะเกิดการรวมตัว (Fusion) ที่ปลายของแอสโคโกเนียมกับส่วนฐานหรือส่วนกลางของแอนเทอริเดียมแล้วจึงวิวัฒนาการต่อไปคือ แบ่งเซลล์แบบไมโอซิสและไมโอซิส มี Daughter nuclei จากการแบ่งตัว มีการขยายผนังเซลล์รวมออกเรียกว่า การสร้างแอสโคคาร์ปภายในเพอริทีเซียมมีแอสโคสปอร์ (Ascospores) มากมาย โดยแอสโคสปอร์จำนวน 2-8 อันจะรวมตัวอยู่ในแอสคัส (Ascus) แอสโคสปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่ อาจมีสีน้ำตาล สีแดง สีส้มหรือไม่มีสีเมื่อผนังแอสโคคาร์ปแตกออกก็จะปล่อยแอสโคสปอร์ออกมาเพื่อให้งอกเป็นเส้นใหม่ขึ้น



รูปที่ 2.2 แสดงวงจรชีวิตของเชื้อรา *Monascus* sp.
ที่มา : บุษบา, 2542

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ มีการสร้างโคนิเดีย (Conidia) เจริญมาจากโคนิดิโอพอร์ (Conidiophore) มีลักษณะกลมหรือรูปไข่ อาจมีอันเดียวหรือเกิดติดต่อกันเป็นลูกโซ่ โคนิเดียมักจะไม่มีสี แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะเกิดสีแดงได้บ้าง โคนิดีโอฟอร์มีขนาดสั้นอาจมีผนังกั้น 1 ด้าน ถ้ามีขนาดยาวจะมีผนังกั้น 2-6 ด้าน งอกขดเป็นเกลียวและเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่ออายุมากขึ้น การงอกของโคนิเดียจะมากน้อยขึ้นกับอายุของสปอร์ ความหนาแน่นของ สปอร์ความเป็นกรดด่าง แสง อุณหภูมิและสารอาหาร (รัตติกูล และคณะ, 2559)

2.2.3 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเชื้อรา *Monascus* sp.

เชื้อรา *Monascus* sp. มีความสามารถในการผลิตสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ได้หลายชนิดที่มีโครงสร้างของ Polyketide ประเภท Antihypercholesterolemic agents เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร ได้แก่ Statin สารประเภท Hypotensive agent ได้แก่ V- aminobutyric acid (GABA) และสารประเภท anti-bacterial compound ได้แก่ Pigments และ Citrinin (อำพรรณ และธีระดา, 2554)

2.2.3.1 สารสีจากเชื้อรา *Monascus* sp.

สารสีจากเชื้อรา *Monascus* sp. ที่เกิดจากการรวมตัวของ acetyl 1หน่วย กับ Malonyl 3 หน่วยขึ้นไป ได้เป็น ไพรเมอร์ (Primer) และปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา วิถีการสังเคราะห์สารโพลีคีไทด์ (Polyketde) เหมือนกับกรดไขมัน แต่จะไม่พบสารตัวกลางที่เกิดจากปฏิกิริยารีดักชั่น (รัตติกูล และคณะ, 2559)

งานวิจัยของ Jeun *et al.* (2008) พบว่า สามารถแยกสารให้สี (Pigment) ที่ผลิตจากราโมแนสคัส ได้ถึง 6 ชนิด นอกจากนี้รา *Monascus* sp. ยังสามารถผลิตสารเมทาบอไลต์(Metabolite) ได้หลายชนิดซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ที่น่าสนใจ มีคุณค่าทางโภชนาการ ใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ หรือแม้กระทั่งใช้เป็นยารักษาโรคและมีศักยภาพเชิงพาณิชย์ (กรกต และคณะ, 2553)

ตารางที่ 2.1 ประเภทของสารสีจากเชื้อรา *Monascus* sp.

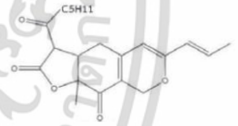
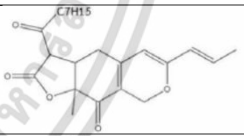
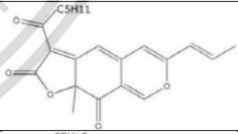
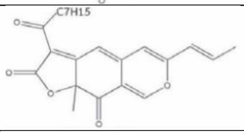
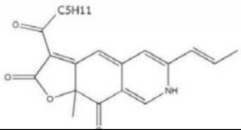
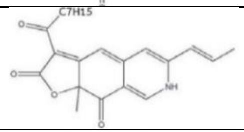
เชื้อรา *Monascus* sp. ผลิตสาร ดังนี้	**สูตรโมเลกุล**
1) โมนาสโคฟลาวิน (Monascoflavin) แยกได้เป็นครั้งแรกพร้อมกับสารสีโมนาสโครูบรินจากเชื้อรา *M. purpureus wenti* เป็นสารสีในกลุ่มสีเหลือง ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปีดังนี้ มีจุดหลอมเหลว 143-155 °C สารสีโมนาสโคฟลาวินเป็นตัวเดียวกันกับ สารสีโมนาสซิน (Monascin) ซึ่งแยกได้จากเชื้อรา *M. rubignousus* Sato อยู่ในกลุ่มสารสีเหลือง	$C_{21}H_{26}O_5$ น้ำหนักโมเลกุล 358
2) อังคักฟลาวิน (Ankaflavin) เป็นสารสีในกลุ่มสีเหลือง มีจุดหลอมเหลว 120-121 °C ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปี ดังนี้ สารสีอังคักฟลาวินมีสูตรโครงสร้างสัมพันธุ์กับสารสีโมนาสซิน เช่นเดียวกับสารสีรูโบรพังทาทินที่มีสูตรสัมพันธ์กับสารสีโมนาสโครูบริน	$C_{23}H_{30}O_5$ น้ำหนักโมเลกุล 386
3) รูโบรพังทาทิน (Robrepunctatin) เป็นสารในกลุ่มสีส้ม สารรูโบรพังทาทินสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนียมในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ สารรูโบรพังทามีน (Robropunctamine) ซึ่งสามารถท่าปฏิกิริยาต่อได้อีกกับสังกะสีและกรดแอซีติได้สาร อะโปรูโปรพังทามีน(Aponbrogunctamine) สารนี้มีผลึกเป็นรูปเข็มสีแดงมีจุดหลอมเหลว 156-157 °C	$C_{21}H_{22}O_5$ น้ำหนักโมเลกุล 354

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) โมนาสโครูบิน (Monsoontorn) เป็นสารสีในกลุ่มสีส้ม ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปีดังนี้ มีจุดหลอมเหลว 134-136 °C	$C_{23}H_{26}O_5$ น้ำหนักโมเลกุล 253
5) รูโบรพังทามีน (Robropunctamine) เป็นสารสีในกลุ่มสีแดง สารรูโบรพังทามันเกิดจากสารรูโบรพังทาทินทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนียม	$C_{23}H_{26}O_3N$ น้ำหนักโมเลกุล 353
6) โมนาสโครูบรามีน (Monascornbramine) เป็นสารสีในกลุ่มสีแดง มีจุดหลอมเหลว 207-208 °C	$C_{23}H_{27}O_4N$ น้ำหนักโมเลกุล 381

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก รัตติกูล และคณะ, 2559

ตารางที่ 2.2 ความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงและสูตรโครงสร้างของสารสี *Monascus* sp.

ชื่อ	ความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง (nm)	สูตรโครงสร้าง
โมนาสโคฟลาวิน (Monascoflavin)	370	
อังคักฟลาวิน (Ankaflavin)	370	
รูโบรพังทาทิน (Robrepunctatin)	470	
โมนาสโครูบิน (Monsoontorn)	470	
รูโบรพังทามีน (Robropunctamine)	500	
โมนาสโครูบรามีน (Monascornbramine)	500	

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก สุนีย์, 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3.2 โมนาโคลิน เค (Monacolin K)

สารโมนาโคลิน ประกอบด้วยโพลีคีไทด์ 2 สายจากอนุพันธ์ของอะซีเตต โดยโพลีคีไทด์สายแรก อะซิเตตมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็น Dihydrornonacolin L Monacolin L และ Monacolin J ตามลำดับ ส่วนโพลีคีไทด์สายที่สองอะซิเตตมีการเปลี่ยนแปลงไอโซเมอร์แล้วเชื่อมต่อกับโพลีคีไทด์สายแรกในรูป Monacolin J โดยพันธะเอสเทอร์แล้วได้สารโลวาสแตตินในรูปกรด (Acid form) สารประกอบนี้สร้างโดย *A. terreus* (กนกพร และคณะ, 2558)

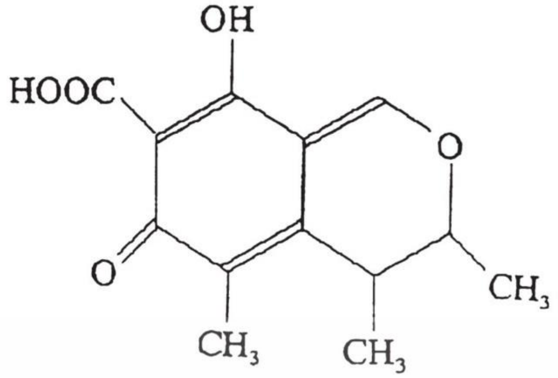
การสกัดสารโมนาโคลิน เค ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. เกิดขึ้นเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1971 โดยนักวิทยาศาสตร์ได้สกัดแยกสารโมนาโคลิน เค จากการเลี้ยงเชื้อรา สายพันธุ์ *M. ruber* (Shi and Pan, 2011) ซึ่งสารโมนาโคลิน เค เป็นสารเมแทบอไลต์ในกลุ่มสแตติน ที่เชื้อรา *Monascus* sp. สร้างขึ้นระหว่างการเลี้ยงเชื้อ นอกจากเชื้อราสกุล *Monascus* แล้ว เชื้อราหลายสกุลก็สามารถสร้างสารโมนาโคลิน เค ได้ เช่น Aspergillus, Penicillium, Paecilomyces, Trichoderma, Hypomyces และ Pleurotus เป็นต้น (Chakravarti and Sahai, 2004; Praveen and Savitha, 2012)

สารโมนาโคลิน เค มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 404.55 g/mol และมีชื่อเรียกหลายชื่อ เช่น เมวิโนลิน (Mevinotin) เมวาคอร์ (Mevacor) เมวิมาคอร์ (Mevinacor) หรือโลวาสสแตติน (Lovastatin) สารโมนาโคลิน เค มีสมบัติลดระดับคลอเลสเตอรอลในเลือด โดยยับยั้งเอนไซม์ 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase) ในกระบวนการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอล เนื่องจากมีโครงสร้างคล้าย hydroxyl-methylglutarate (Kuo *et al.*, 2009, Venkateswaran and Vijayalakshmi, 2010) ดังนั้นการได้รับสารโมนาโคลิน เค เข้าสู่ร่างกายจึงทำให้ระดับคลอเลสเตอรอลในเลือดลดลงได้ (นภัสสร และคณะ, 2563)

2.2.3.3 ซิตรินิน (citrinin)

ซิตรินิน ($C_{13}H_{14}O_5$) มีโครงสร้างทางเคมี ดังแสดงใน รูปที่ 2.3 โดยมีการนำสารชนิดนี้มาใช้เพื่อเป็นสารปฏิชีวนะ สารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เชื้อราและโปรโตซัว แต่อย่างไรก็ตามพบว่าซิตรินินในปริมาณสูงมีผลต่อตับและไตของมนุษย์ด้วย โดยมีรายงานว่า ซิตรินินที่ความเข้มข้น 1.8-4.7 mg/ml สามารถทำลายเซลล์ตัวอ่อนของไตมนุษย์ (Human embryonic kidney cell) ได้ถึง MV 50% ดังนั้นการผลิตและการนำผลผลิต ที่ผลิตได้จากเชื้อรา *Monascus* มาใช้ ควรมีการตรวจหาปริมาณซิตรินินเพื่อควบคุมให้มีอยู่ในปริมาณที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคด้วย (กรกต และคณะ, 2553) ปริมาณซิตรินิน ในอาหารที่องค์กรอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา กำหนดให้มีได้ไม่เกิน 20 ppb ในขณะที่สหภาพยุโรปและประเทศ ญี่ปุ่นกำหนดให้มีปริมาณซิตรินิน ได้ไม่เกิน 100 และ 200 ppb ตามลำดับ (Japan Food Additives Association (JAFA), 2000, World Health Organization (WHO), 2001 อ้างถึงใน (Chung *et al.*, 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของซิตรินิน
ที่มา : Dubravka and Maja, 2009

2.2.4 การใช้ประโยชน์จากสี *Monascus* sp.

สีที่ใช้ผสมอาหารมีทั้งสีสังเคราะห์และสีธรรมชาติ แต่สีที่นิยมใช้กันคือสีธรรมชาติ เพราะให้ความปลอดภัยต่อผู้บริโภคดีกว่า ตั้งแต่ปี 1969 - 1984 ทั่วโลกมีการจดลิขสิทธิ์เกี่ยวกับแหล่งสี (Colorant Sources) 127 ฉบับ โดยเป็นแหล่งส ธรรมชาติถึง 356 ฉบับ ขณะที่เป็นแหล่งสีสังเคราะห์เพียง 7 ฉบับ และในแหล่งสีธรรมชาติมีการ จดลิขสิทธิ์ของแหล่งสีจากโมแนสคัสมากที่สุด (บุษบา, 2542)

ตารางที่ 2.3 การใช้ประโยชน์จากสี *Monascus* sp.

การใช้ประโยชน์	ชนิด
เครื่องดื่มแอลกอฮอล์	-สาเก (sake หรือ rice wine) -ไวน์แดง -เหล้าจีน
เครื่องดื่มไม่มีแอลกอฮอล์	-น้ำหวาน -น้ำนม, นมเปรี้ยว -น้ำผลไม้
อาหาร	-แยมถั่วเหลือง -เต้าหู้ยี้ -ไส้กรอก -แฮม -ซอสมะเขือเทศ -ขนมลูกชุบทำจากถั่ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงแหล่งที่มาของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	-เนื้อเทียม(artificial meat product)
อื่นๆ	-โคจิ ซีอิ๊ว -ยาเม็ด, ยาน้ำ -เครื่องยาจีน -เครื่องสำอาง -ผ้าไหม รังไหม -Aperitifs ขนมต่างๆ

ที่มา : ดัดแปลงจากบุษบา, 2542

2.3 เครื่องสำอาง

เครื่องสำอาง ตามที่บัญญัติไว้ในพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2558 หมายถึง วัตถุที่มุ่งหมายสำหรับใช้ทา ถู นวด โรย พ่น หยอด ใส่ อบ หรือกระทำด้วยวิธีอื่นใดกับส่วนภายนอกของร่างกายมนุษย์และให้หมายความรวมถึงการใช้กับฟันและเยื่อบุในช่องปาก โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อความสะอาด ความสวยงาม หรือเปลี่ยนแปลงลักษณะที่ปรากฏ หรือระงับกลิ่นกาย หรือปกป้อง ดูแลส่วนต่าง ๆ นั้น ให้อยู่ในสภาพดีและรวมตลอดทั้งเครื่องประทินต่าง ๆ สำหรับผิวด้วย แต่ไม่รวมถึงเครื่องประดับและเครื่องแต่งตัวซึ่งเป็นอุปกรณ์ภายนอกร่างกาย (พรเทพ, 2559)

ประเภทเครื่องสำอาง ตามวัตถุประสงค์การใช้งาน

- ประเภทเสริมความงาม (Make up) เป็นเครื่องสำอางที่ใช้แต่งเติมสีสันต่างๆเพื่อเสริมความงาม เช่น แป้งแต่งหน้า ลิปสติก
- ประเภทบำรุงรักษา (Skin care) เป็นเครื่องสำอางที่ใช้ทำความสะอาดและบำรุงรักษาผิวพรรณ เช่น ครีมกันแดด
- ประเภทเครื่องหอม (Perfume) ได้แก่ หัวน้ำหอมน้ำหอม

2.3.1 ลิปสติก

ลิปสติก หมายถึง เครื่องสำอางชนิดหนึ่งสำหรับทาริมฝีปากให้เป็นสีต่างๆมักเป็นสีแดงหรือชมพู เป็นผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยเม็ดสีกระจายตัวในเบส เบสนี้ประกอบด้วย น้ำมัน ไขมันและแว็กซ์ ในปริมาณต่างๆ ที่จะให้สีแก่ริมฝีปากตลอดจนความชุ่มชื้นริมฝีปาก (ศรินทร์ และปนัดดา, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 ลักษณะลิปสติกที่ดี

(1) มีเนื้อเรียบ นุ่มนวล มีความชุ่มชื้นและความมันพอเหมาะ ไม่มีเหงื่อแตกร่วนหรือแข็งเป็นก้อน คงสภาพทั้งเมื่อเก็บไว้และขณะใช้ ทนต่อสภาวะต่างๆ ได้ดี

(2) หลอมละลายได้ทันทีเมื่อสัมผัสกับริมฝีปาก

(3) ไม่มีอันตรายต่อผิวหนัง ให้สีติดทนแต่สามารถล้างออกได้ง่ายเมื่อต้องการและมีกลิ่นที่ดี

2.3.3 คุณลักษณะของลิปสติก ลิปบาล์มที่ต้องการ

คุณลักษณะทั่วไป

มาตรฐานอุตสาหกรรมเอส (17-2561) ลิปสติกและลิปบาล์มต้องมีลักษณะกึ่งแข็ง หรือเหลว มีเนื้อเรียบ เป็นมัน สีสม่ำเสมอ ไม่มีสิ่งแปลกปลอมและกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับและกลิ่นบูด การระคายเคืองต่อผิวหนัง คะแนนรวมที่ได้ต้องไม่เกิน 1

2.3.4 การระเคืองและการแพ้ลิปสติก

การใช้ลิปสติกทาบนริมฝีปากซึ่งเป็นเนื้อเยื่ออ่อนวันละหลายครั้ง และสัมผัสริมฝีปากเป็นเวลานาน อาจทำให้เกิดการแพ้ได้ง่ายกว่าผิวหนังบริเวณอื่น สาเหตุของการแพ้ลิปสติกอาจมาจากสิ่งต่อไปนี้

(1) น้ำหอมในลิปสติก อาจมีสารบางชนิดกระตุ้นให้เกิดการแพ้

(2) สีในลิปสติกอาจมีสารปนเปื้อนทำให้แพ้ได้และสีบางชนิดทำให้ริมฝีปากไวต่อแสงแดด

(3) ลิปสติกที่มีไขมันและน้ำมันน้อย อาจทำให้ริมฝีปากแห้งแตก ทำให้แพ้ง่าย

(4) สารตัวเติมอื่นๆ บางตัวมีฤทธิ์เป็นตัวเร่งการแพ้

การแพ้ลิปสติกส่วนใหญ่มาจากการแพ้น้ำหอมโดยจะต้องเลือกน้ำหอมที่ส่วนประกอบเหมาะกับเบสของลิปสติก ควรเลือกกลิ่นที่ดีกลมกลืนหรือกลบกลิ่นเฉพาะตัวของไข่และน้ำมันได้ ควรเป็นกลิ่นและรสดีไม่ เปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บไว้อีกด้วย ไม่ทำให้เกิดการแพ้หรือทำให้ริมฝีปากเห่อบวมคัน โดยปกติน้ำหอมที่ใช้ไม่ควรมี กลิ่นน้ำมัน ควรเป็นกลิ่นดอกไม้อ่อนๆ กลิ่นผลไม้หรือขนมหรือกลิ่นเครื่องเทศ ซึ่งสามารถเข้าได้ดีกับไขและน้ำมันของลิปสติก ดังนั้นการเลือกใช้น้ำหอมในลิปสติกจะต้องให้เป็นที่ยอมรับของผู้ใช้และปราศจากส่วนประกอบที่ท่าให้เกิดการระคายเคืองหรือเป็นพิษ นอกจากนี้ควรจะต้องมีกลิ่นที่ดีสามารถกลบกลิ่นของเบสที่ใช้ได้หมด ตามปกติถ้า 1% ก็ให้ผลเป็นที่น่าพอใจและโอกาสที่จะเกิดการระคายเคืองก็ลดลงด้วย (ศรินทร์ และปนัดดา, 2556)

2.4 การใช้เอนไซม์ปาเปนย่อยโปรตีน

Balls *et al.* (1937) ได้ทำการแยกและตกผลึกปาเป็นจากยางมะละกอดิบ (fresh latex) ได้เป็นครั้งแรกและต่อมาได้มีการปรับปรุงจนสามารถแยกและตกผลึกปาเปนจากยางมะละกอแห้ง (Dried latex) ได้ (เอกสิทธิ์, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปาเปน (Papain) จากยางมะละกอ มีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนได้ดีในสภาวะที่เป็นกลาง ในช่วง pH 6.0-7.5 เมื่อมีการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซ์ในโปรตีนหรือย่อยสลายโปรตีนที่มีโพลิเปปไทด์ขนาดเล็กและมีกรดอะมิโนอิสระเป็นจำนวนมาก เอนไซม์ปาเปนได้มาจากจากพืชด้วยการสกัดจากยางมะละกอ (*Carica papaya* L.) ซึ่งมีในส่วนของใบ ก้านใบ ลำต้นและผลดิบจัดอยู่ในกลุ่มของซีสเตอีนโปร ตีเอส (Cystiene protease) ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีน (ดวงทิพย์ และสารนิติ, 2564) และกรดอะมิโน โดยปกติปาเปนจะใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาปฏิชีวนะ ยาต้านเชื้อราในการผลิตปศุสัตว์และยังมีการใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การทำให้เนื้อนุ่ม (Rao *et al.*, 2022)

รูปที่ 2.4 โครงสร้างแบบริบบิ้นของปาเปน
ที่มา : วิราสิณี และนพพล, 2557

2.5 การทำแห้งแบบการแช่เยือกแข็ง (Freeze dry)

เครื่อง Freeze dryer คือเครื่องที่ทำให้ตัวอย่างแห้งด้วยหลักการแช่เยือกแข็ง โดยจะเปลี่ยนน้ำที่อยู่ในตัวอย่างซึ่งเป็นของเหลวให้อยู่ในรูปผลึกน้ำแข็งที่อยู่สถานะของแข็ง หลังจากนั้นจะทำการลดความดันของสภาพแวดล้อมให้ต่ำกว่าจุดร่วมสาม (Triple point) ของน้ำ ซึ่งเป็นจุดที่น้ำทั้ง 3 สถานะ คือ ของแข็ง ของเหลวและก๊าซอยู่ร่วมกัน เพื่อให้ผลึกน้ำแข็งเกิดการระเหิด (Sublimation)

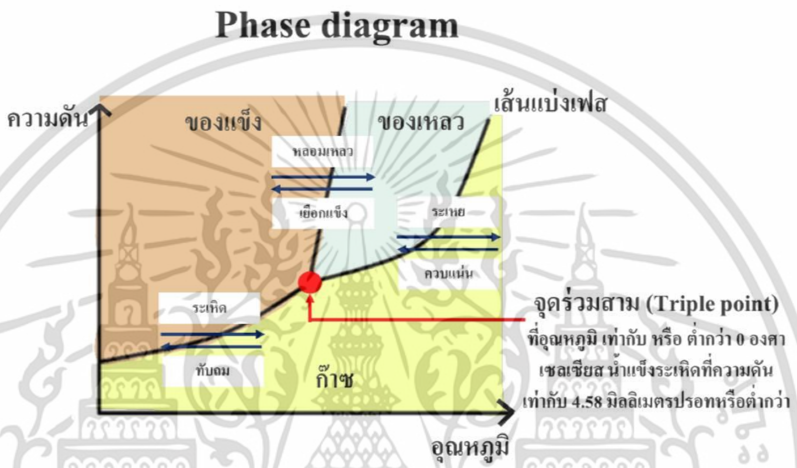
2.5.1 หลักการทำแห้งแบบการแช่เยือกแข็งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน

(1) การแช่เยือกแข็ง (Freezing) เป็นกระบวนการลดอุณหภูมิของตัวอย่างให้ต่ำกว่าจุดเยือกแข็งอย่างรวดเร็ว เพื่อทำให้น้ำที่อยู่ในตัวอย่างเกิดเป็นผลึกน้ำแข็งที่มีขนาดเล็กและสม่ำเสมอ กระจายตัวทั้งภายในและภายนอกเซลล์ แต่ถ้าใช้ระยะเวลาในการแช่เยือกแข็งนาน ผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นจะมีขนาดใหญ่และเกิดบริเวณภายนอกเซลล์ ซึ่งจะไปดันให้ผนังเซลล์เกิดความเสียหาย โดยการแช่เยือกแข็ง นิยมใช้สารให้ความเย็น ได้แก่ ไนโตรเจนเหลว (-196 $^{\circ}$C) หรือคาร์บอนไดออกไซด์เหลว (-78.5 $^{\circ}$C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2) การทำแห้งขั้นปฐมภูมิ (Primary drying) เป็นกระบวนการการลดปริมาณน้ำในตัวอย่างด้วยการระเหิดผลึกน้ำแข็งในเซลล์ให้กลายเป็นไอด้วยการลดความดันบรรยากาศโดยรอบให้ต่ำกว่าจุดร่วมสามในขั้นตอนนี้ประมาณ 95% ของน้ำในตัวอย่างจะถูกระเหิด

(3) การทำแห้งขั้นทุติยภูมิ (Secondary drying) เป็นการเพิ่มอุณหภูมิในระบบให้สูงขึ้นอย่างช้าๆ เพื่อทำลายปฏิกิริยาทางเคมี - ฟิสิกส์ใด ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลของน้ำและตัวอย่างและเพื่อดึงความชื้นที่ตกค้างอยู่ออกจากตัวอย่างภายหลังการทำแห้งขั้นปฐมภูมิ ซึ่งเมื่อสิ้นสุดการทำงานปริมาณน้ำที่เหลืออยู่ในตัวอย่างจะต่ำมากประมาณ 1-4%



รูปที่ 2.5 Phase diagram ของน้ำ

ที่มา : ดลฤดี, 2564

รูปที่ 2.6 แสดงการเปลี่ยนแปลงของน้ำแข็งในแต่ละขั้นตอน

ที่มา : สุกิจ, 2566

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 ข้อดีของการทำแห้งแบบการแช่เยือกแข็ง

ทำให้สามารถรักษาคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ได้ดี เนื่องจากกระบวนการทำให้แห้งโดยใช้อุณหภูมิต่ำทำให้เกิดการเสียคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ที่น้อย รวมถึงการเพิ่มอุณหภูมิในขั้นทุติยภูมิความร้อนที่เกิดขึ้นทำให้เนื้อเยื่อและโครงสร้างของเซลล์เสียหายได้น้อยมากและทำให้ได้ผลิตภัณฑ์แห้งที่มีคุณภาพสูงและสามารถคืนตัวได้ดี (Rehydration) โดยยังคงรักษา สี กลิ่น รสชาติ และลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารเอาไว้ได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับการเก็บรักษาด้วยวิธีการทำแห้งรูปแบบอื่น (สุกิจ, 2566)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นฤมล (2548) ได้ทำการศึกษาภาชนะชนิดต่างๆ ที่แปรผันตามปริมาณปลายข้าวอุณหภูมิและระยะเวลาของการอบแห้งเพื่อให้ได้วิธีการผลิตสารสีแดงบนปลายข้าวจ้าวของ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ในระดับการค้า โดยได้อุณหภูมิและระยะเวลาการอบแห้งข้าวแดงที่เหมาสม คือ 90 °C 20 นาที แล้วนำมาย้อมสี ผลคือบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมคือ บรรจุผงข้าวแดงในถุงพลาสติกปิดผนึกด้วยเครื่องปิดผนึก

สุนีย์ (2557) ได้ทำการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อราโมแนสคัส สารต่างๆที่เชื้อราโมแนสคัสสร้างขึ้นระหว่างการเพาะเลี้ยง การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยการหมักด้วยเชื้อราโมแนสคัส รวมถึงการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร

Darwesh *et al.* (2020) ได้ทำการศึกษาการแยกและเพิ่มประสิทธิภาพของ *Monascus ruber* OMNRC45 สำหรับผลิตเม็ดสีแดงและประเมินเม็ดสีเป็นสีผสมอาหาร โดยเพาะเลี้ยงเชื้อราที่สร้างเม็ดสีที่แยกจากตัวอย่างดินและเลือกตามประสิทธิภาพในการผลิตเม็ดสีแดง ได้รับการปรับสภาวะให้เหมาสมภายใต้การหมักในอาหารเหลวพบว่า อุณหภูมิและค่า pH ที่เหมาะสมที่สุดได้แก่ 30 °C และ 6.5 ตามลำดับ แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมคือ ข้าวและเปปโทน ตามลำดับ ประเมินเม็ดสีเป็นสีผสมอาหารไม่มีการผลิตซิตรินินและผลประเมินทางประสาทสัมผัสความปลอดภัยทางชีวภาพบ่งชี้ว่ามีความเหมาะสมที่จะใช้ผสมในอาหาร

Pawar *et al.* (2021) ได้ทำการทดลองใช้ส่วนผสมจากธรรมชาติ ได้แก่ บีทรูท ผงโกโก้ น้ำมัน อัลมอนด์และวิตามินอี ในการทำลิปบาล์มและศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น สี กลิ่น ความสม่ำเสมอของสี ค่า pHและความคงตัว พบว่าสีของบีทรูทมีความสม่ำเสมอและกระจายตัวได้ดี จุดหลอมเหลวและค่า pH ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิเย็น อยู่ที่ 58-60 ℃ ±0.62 และ 6.9±0.25 ตามลำดับ การศึกษาความคงตัวระบุว่าสูตรลิปบาล์มมีความเสถียรที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิเย็น สรุปได้ว่าสูตรลิปบาล์มนั้นประสบความสำเร็จในการเตรียมโดยใช้สารเติมแต่งจากธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์ในการทดลอง

3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

1. *Monascus* sp. U6V1

3.1.2 สารเคมี

1. Yeast extract
2. Peptone
3. Agar
4. Cassava starch
5. Soybean flour
6. Papaya extract (บริษัท กรุงเทพเคมี จำกัด)
7. Alcohol (50%, 70%, 95%,)
8. Beeswax (Germany A, บริษัท เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด)
9. Coco butter (บริษัท ช็อกโกเลเซีย จำกัด)
10. น้ำมันมะพร้าวสกัดเย็นออร์แกนิค (ตรา ทรอปิคานา, บริษัท ทรอปิคานา ออยล์ จำกัด)
11. Microcrystalline Wax (บริษัท บีฟอร์ แอนด์ อาฟเตอร์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด)
12. Bradford Reagent (Sigma Aldrich Fine Chemicals Biosciences)
13. di-Sodium hydrogen phosphate-2-hydrate ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$)
14. di-Sodium hydrogen phosphate dodecahydrates ($NaH_2PO_4 \cdot 12H_2O$)

3.1.3 เครื่องมือ

1. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV Spectrophotometer) (SHIMADZU, Bara Scientific Co., Ltd.)
2. pH meter
3. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
4. เครื่องอบนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)
5. เครื่องวัดสี (Color meter) (Color Global Co., Ltd)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งต้องมีการอ้างอิงถึงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. เครื่องปั่นแยกสาร (Centrifuge)
7. Freeze dry
8. ตู้เย็น (4 °C และ -80 °C)
9. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)
10. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
11. เครื่องผสมสาร (Vortex Mixture)
12. เครื่องบ่มเชื้อแบบเขย่า (Shaking Incubator)
13. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
14. Ultrafiltration
15. เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analyzer)

3.1.4 อุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อแก้ว (Plate)
2. ขวด Duran
3. ตะเกียงแอลกอฮอล์
4. Cork borer
5. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
6. ลูปเขี่ยเชื้อ (Inoculation Loop)
7. บีกเกอร์
8. สำลี
9. กระดาษฟอล์ย
10. Dialysis tube 3.5 kDa และ 10 kDa
11. กระดาษเซลโลเฟน (Cellophane)
12. Pipette
13. Needle

3.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. MYS (Malt extract yeast extract starch) (ภาคผนวก ก.1.1)
2. SS (Starch soybean medium) (ภาคผนวก ก.1.2)

3.2 ขั้นตอนการวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 ในอาหารแข็งและอาหารเหลว

นำเชื้อ *Monascus* ที่เก็บไว้ในตู้เย็น มาทำให้เจริญ (Active mycelium) โดยลงในอาหารใหม่หรือ Fresh medium (MYS medium) ในตู้ laminar ใช้ Cork borer ขนาด 4 mm. เจาะบริเวณปลายเส้นใยเชื้อรา ใช้ needle นำส่วนที่เจาะด้วย Cork borer วางลงบนอาหารใหม่จำนวน 1 ชิ้น วางไว้กลางเพลท โดยวางคว่ำให้ฝั่งที่มีเส้นใยสัมผัสกับผิวหน้าอาหาร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 ℃ เป็นเวลา 7-10 วัน เส้นใยที่อยู่ตรงขอบจะเจริญบนอาหารใหม่จนเชื้อเจริญเต็มเพลท จากนั้น ใช้ Cork borer ขนาด 4 mm. เผาไฟแล้วเจาะบริเวณเส้นใยที่เจริญได้ดีบริเวณโคโลนีรอบนอก (Active mycelium) ใส่ในอาหารเหลว (SS medium) ฟลาสก์ละ 4 ชิ้น แล้วนำฟลาสก์ไปบ่มเขย่าที่อุณหภูมิ 30 ℃ ความเร็ว 200 rpm เป็นเวลา 4 วัน แล้วบ่มเขย่าต่ออีก 7-10 วัน เพื่อให้ผลิตสารสี เมื่อครบตามจำนวนวันที่ต้องการนำเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเหลวมาวัดค่า pH และเก็บแช่ตู้เย็นเพื่อป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ตัวที่ไม่ต้องการ

3.2.2 การวิเคราะห์

นำเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารเหลวครบตามจำนวนวันที่ต้องการไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ ความเร็วรอบ 5000 rpm อุณหภูมิ 20 °C เป็นเวลา 25-30 นาที จะได้ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นตะกอนและส่วนที่เป็นของเหลว (Supernatant) นำส่วนที่เป็นของเหลวไปทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry)

3.2.2.1 การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง

วิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง ด้วยวิธี Gravimetric method นำตะกอนเซลล์ไปอบที่ตู้อบลมร้อน 70 °C เป็นเวลา 3 วัน จนน้ำหนักคงที่ โดยจะชั่งน้ำหนักฟอล์ย, น้ำหนักฟอล์ยที่มีตะกอนเซลล์ก่อนนำไปอบที่ตู้อบลมและน้ำหนักฟอล์ยที่มีตะกอนเซลล์หลังนำไปอบที่ตู้อบลมแล้วคำนวณนำหนักตะกอนเซลล์ที่ได้ (ภาคผนวก ข.2)

3.2.2.2 วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารสี

ดัดแปลงจาก Johns and Stuart (1991) นำส่วนที่เป็น supernatant มาวิเคราะห์โดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ที่ λ 370 nm (Yellow pigment), 480 nm (Orange pigment) และ 500 nm (Red pigment) คำนวณปริมาณสารสี (ภาคผนวก ข.4)

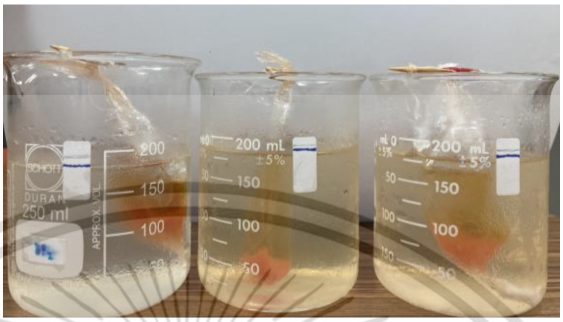
3.2.3 การทดสอบการแพร่ของสารสีผ่านเมมเบรน (Dialysis, Bradford's method)

3.2.3.1 เมมเบรนเลือกผ่าน (Dialysis membrane)

เตรียมบีกเกอร์ 3 ใบ โดยแต่ละใบผูกถุง Dialysis membrane 3.5, 10 kDa และกระดาษเซลโลเฟน ปิเปตน้ำสีใส่ลงไปในถุงทั้ง 3 ขนาด ถุงละ 10 ml ผูกปลายถุงให้แน่นเพื่อไม่ให้น้ำสีรั่ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและข้อความใดๆ ของเอกสารทุกกรณีที่มีการนำไปใช้

ออกมา ในบีกเกอร์แต่ละใบใส่แอลกอฮอล์ 50% ปริมาตร 200 ml เท่ากันทุกบีกเกอร์ ปิดด้านบนของบีกเกอร์ให้สนิทด้วยกระดาษฟอล์ยเพื่อไม่ให้แอลกอฮอล์ระเหย นำไปแช่ตู้เย็น วัดค่า OD ที่ λ 370 nm (Yellow pigment), 480 nm (Orange pigment) และ 500 nm (Red pigment) ทุกๆ 16, 24, 72, 96 ชั่วโมง



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการแพร่ของสารสีผ่านเมมเบรน (Dialysis tube)

3.2.3.2 การวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี Bradford's method

ปิเปต Bradford reagent 5 ml ลงในหลอดทดลอง หลังจากนั้นเติมสารสี 0.1 ml ตามลงในหลอดทดลอง Vortex ให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้ 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 nm ใช้ BSA เป็นสารละลายมาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 0.1-1.0 g/L โดยใช้ BSA 0.1 g ผสมกับน้ำกลั่น เป็น Stock solution ปิเปตใส่หลอดทดลอง 10 หลอด หลอดละ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0 ml ตามลำดับ หลังจากนั้น ปิเปต BSA ที่เจือจางแล้ว ปริมาตร 100 µL มาใส่ในหลอดที่มี Bradford reagent 5 ml ให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 15 นาทีที่อุณหภูมิห้องและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 nm (ภาคผนวก ข.4)

3.2.3.3 การย่อยสารสีด้วยเอนไซม์ปาเปนและคัดแยกสีด้วย Ultrafiltration

เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) ตามวิธีของ (Gomori, 1955 อ้างอิงโดย สุวัฒน์ศักดิ์, 2524) โดยผสมสารละลาย $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ ความเข้มข้น 50 mM 1.95 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 250 ml และ สารละลาย $NaH_2PO_4 \cdot 12H_2O$ ความเข้มข้น 50 mM 4.79 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 250 ml จากนั้นเทสารละลายทั้งสองรวมกัน แล้วปรับ pH เป็น 6.5 g แล้วนำ Papaya extract ปริมาตร 5 ml และสารสีที่ได้จากการ Freeze dry ปริมาตร 5 ml ผสมลงในบัฟเฟอร์ ปริมาตร 40 ml แล้วนำไปเข้าสู่กระบวนการย่อยโปรตีนออกจากสารสีด้วย Ultrafiltration membrane (ภาคผนวก ข.6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4 วิธีทำลิปบาล์ม

ผสมส่วนประกอบลิปบาล์ม (ภาคผนวก ก.2) ให้เข้าด้วยกันโดยใช้ความร้อน แล้วเทใส่ภาชนะที่สามารถปิดได้ เพื่อรอให้เนื้อลิปบาล์มเซ็ตตัว

3.2.5 การทดสอบลิปบาล์ม

3.2.5.1 ลักษณะทางกายภาพเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่ขายตามท้องตลาด

เก็บผลิตภัณฑ์ไว้ในอุณหภูมิห้องและสังเกตการเปลี่ยนแปลงสี, pH, Textureและการตกตะกอน(ด้วยตาเปล่า)ของผลิตภัณฑ์

3.2.5.2 ทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้น (ดัดแปลงจาก มอก.เอส 17-2561) ทาผลิตภัณฑ์ที่ผิวหนัง บันทึกคะแนน เมื่อครบเวลา 1, 3, 5, 24 ชั่วโมง

หลักเกณฑ์การให้คะแนนและเกณฑ์การตัดสิน

ก) ความแดงของผิวหนัง

ตารางที่ 3.1 หลักเกณฑ์การให้คะแนนความแดงของผิวหนัง

ลักษณะ	คะแนน
ไม่มีผื่นแดง	0
มีผื่นแดงเล็กน้อยเห็นได้ไม่ชัด	1
มีผื่นแดงเห็นได้ชัด	2
มีผื่นแดงปานกลางถึงรุนแรง	3
มีผื่นแดงปานกลางถึงรุนแรงผิวหนังตกสะเก็ด	4

ข) การบวมของผิวหนัง

ตารางที่ 3.2 หลักเกณฑ์การให้คะแนนการบวมของผิวหนัง

ลักษณะ	คะแนน
ไม่มีการบวม	0
มีการบวมเล็กน้อย	1
มีการบวมเล็กน้อย เห็นขอบบริเวณบวมชัดเจน	2
มีการบวมปานกลาง	3
มีอาการบวมรุนแรง	4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก) เกณฑ์การตัดสิน

ตารางที่ 3.3 เกณฑ์การตัดสิน

ผลรวมคะแนน	ระดับการระคายเคือง
0-1	ไม่ระคายเคือง
มากกว่า 1-2	ระคายเคืองเล็กน้อย
มากกว่า 2-5	ระคายเคืองปานกลาง
มากกว่า 5-8	ระคายเคืองรุนแรง

3.2.5.3 ทดสอบความคงตัวต่อรังสี UV

นำผลิตภัณฑ์ไปวางกลางแดดวันละ 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 วัน สังเกตการเปลี่ยนแปลง

3.2.5.4 ทดสอบความคงตัวต่ออุณหภูมิสูงและต่ำ

โดยการทำ Cycle Test โดย 1 cycle ไปวางที่ความร้อน 45 °C 24 ชั่วโมงและนำไปให้ความเย็นที่ - 4 °C 24 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนแปลง (ดัดแปลงจาก พลอยชมพู, 2561)

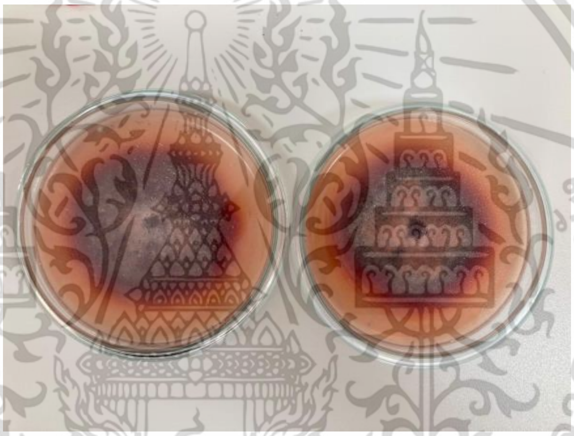
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1

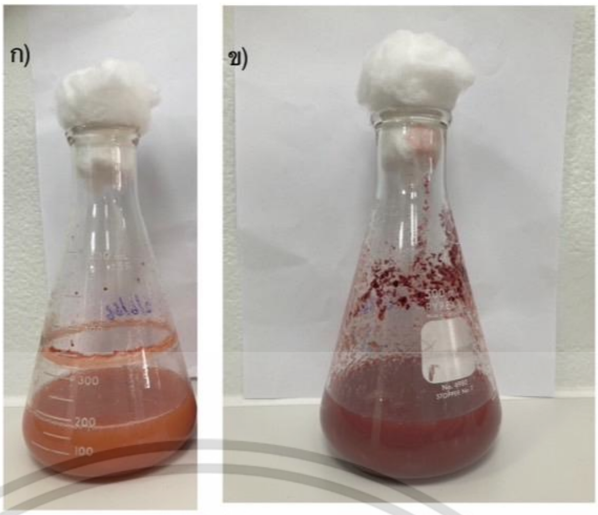
จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 โดยนำเชื้อที่เจริญรอบนอกมาวางบนผิวหน้าอาหารแข็ง (MYS medium) และเมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 7-10 วัน ได้ผลเป็นโคโลนีสีแดงเข้มนูนขึ้นเล็กน้อยมีรอยหยักย่น มีสปอร์สีแดงรอบๆโคโลนี มีเส้นใยสีขาว (ดังรูปที่ 4.1) ซึ่งเส้นใยแตกกิ่งก้านจำนวนมาก มักจะแนบสนิทกับผิวหน้าของอาหารแข็ง ในระยะแรกจะเห็นเป็นสีขาวเมื่อนานขึ้นจะมีสีส้มหรือแดง ลักษณะดังกล่าวสนับสนุนโดยรายงานของ (บุษบา, 2542)



รูปที่ 4.1 สีของเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งเป็นเวลา 7-10 วัน

ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 ในอาหารเหลว (SS medium) โดยแบ่งใส่ฟลาสก์ๆละ 100 ml โดยใส่เชื้อรา 4 ชิ้น เมื่อเพาะเลี้ยงแบบเขย่าเป็นเวลา 7 และ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °C ความเร็ว 200 rpm ผลการทดลองพบว่ามีการสร้างสารสีขึ้นในฟลาสก์เมื่อเพาะเลี้ยงในจำนวนวันที่มากขึ้นสีแดงจะเข้มมากขึ้น ดังรูปที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 ก) สีของเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว 7 วัน
ข) สีของเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว 10 วัน

4.2 ผลระยะเวลาการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่ส่งผลต่อค่า pH และน้ำหนักเซลล์แห้ง

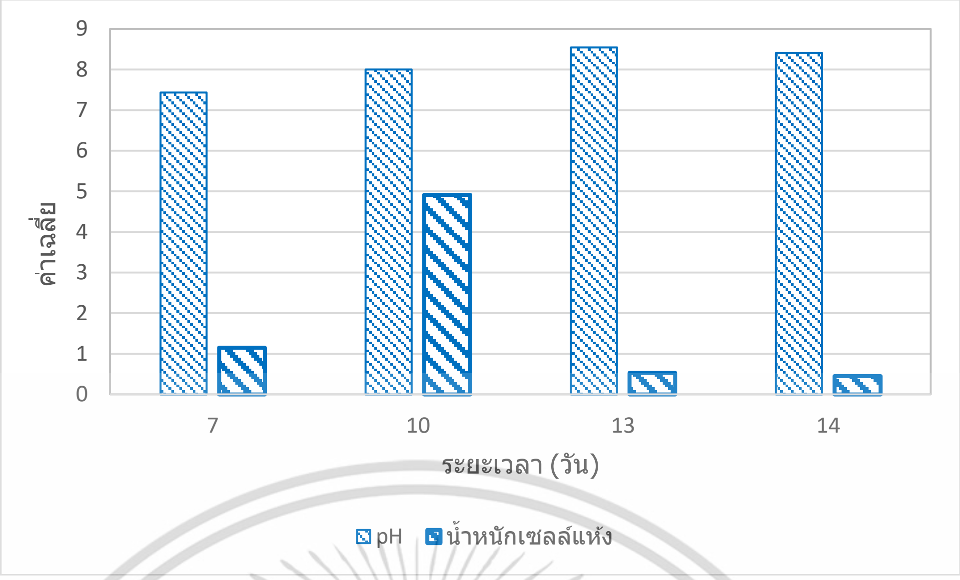
นำเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารเหลวครบตามจำนวนวันที่ต้องการไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ ความเร็วรอบ 5000 rpm อุณหภูมิ 20 °C เป็นเวลา 25-30 นาที จะได้ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นตะกอนและส่วนที่เป็นสารละลาย (Supernatant)

4.2.1 น้ำหนักเซลล์แห้ง

ตารางที่ 4.1 ค่าเฉลี่ยของการเปลี่ยนแปลงของ pH และน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการเลี้ยงเชื้อ *Monascus* sp. ในวันที่ 7, 10, 13 และ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °C บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 rpm

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	**pH**	**น้ำหนักเซลล์แห้ง (g)**
7	7.43±0.24	1.1515±0.168
10	7.999±0.802	4.91125±4.335
13	8.54±0.014	0.53±0.027
14	8.41±0.057	0.454±0.037

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 การเจริญและ pH ที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการเลี้ยงเชื้อ *Monascus* sp. ในวันที่ 7, 10, 13 และ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °C บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 rpm

จากรูปที่ 4.3 ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 10 วัน ค่า pH 7.999±0.802 น้ำมีหนักตะกอนสูงสุด 4.91125±4.335 g แสดงว่าการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน ทำให้เซลล์เจริญเติบโตมากที่สุดและการเติบโตค่อยๆลดลง เมื่อเวลาการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับ Secondary metabolite เมื่อเลี้ยงเชื้อราไประยะหนึ่ง สารอาหารที่จำเป็น จะลดลงจนคลาดแคลน การเจริญเติบโตจะหยุด Metabolism จะลดลง Intermediates ที่สร้างขึ้นระหว่างกระบวนการ Metabolism จึงสะสมอยู่ในเซลล์ ส่งผลต่อการควบคุม Metabolism ดังนั้นเชื้อราจึงต้องกำจัด Intermediates ออก โดยเปลี่ยนให้เป็นสารอินทรีย์หรือ Secondary metabolite (Thongkrachang *et al*., 2016) ก็คือสารสีจากเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 โดยสร้างสารสีในช่วงท้ายของการเจริญ ซึ่งอาหารนำไปใช้เพื่อการเจริญเป็นจำนวนมาก จึงเหลืออาหารเพียงเล็กน้อยที่เชื้อนำไปใช้ในกระบวนการสร้างสารสี

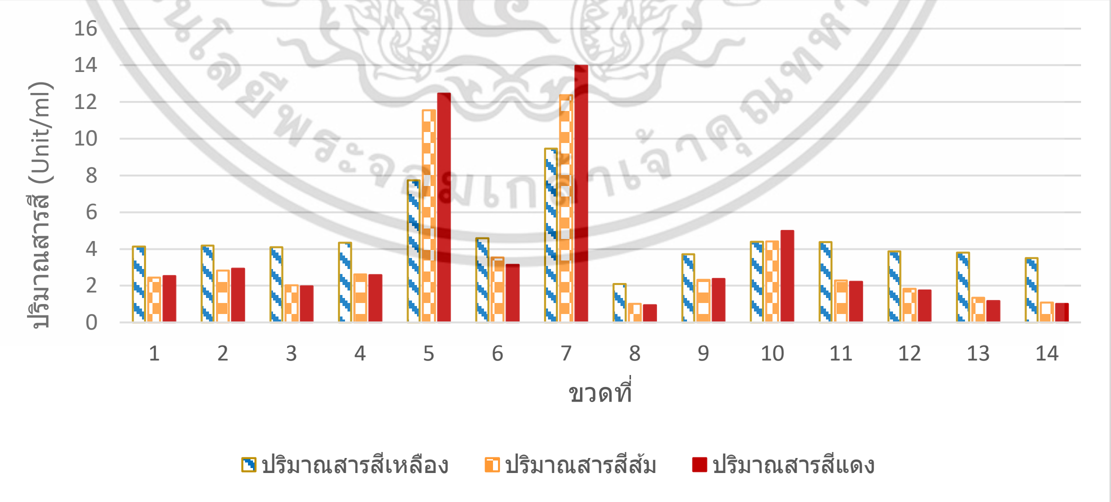
4.2.2 ผลของระยะเวลาการเพาะเลี้ยง *Monascus* sp. U6V1 ที่เหมาะสมต่อการผลิตสารสีแดง

นำส่วนที่เป็น supernatant มาวิเคราะห์โดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น (λ) 370 nm (Yellow pigment), 480 nm (Orange pigment) และ 500 nm (Red pigment) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คูณด้วยค่า dilution factor ได้ผลดังตารางที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารสีเหลือง (OD370), สารสีส้ม (OD480), สารสีแดง (OD500) เมื่อเพาะเลี้ยงในจำนวนวันต่างๆ

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	ขวดที่	ปริมาณสารสีเหลือง (OD370)(Unit/ml)	ปริมาณสารสีส้ม (OD480)(Unit/ml)	ปริมาณสารสีแดง (OD500)(Unit/ml)
7	1	4.13	2.44	2.53
	2	4.19	2.83	2.93
10	3	4.10	2.03	1.98
	4	4.34	2.62	2.59
	5	7.73	11.56	12.46
	6	4.59	3.54	3.14
	7	9.46	12.38	13.98
	8	2.10	1.01	0.94
	9	3.72	2.32	2.38
	10	4.39	4.41	4.98
13	11	4.37	2.28	2.22
	12	3.87	1.83	1.75
14	13	3.81	1.34	1.18
	14	3.50	1.09	1.01



รูปที่ 4.4 ปริมาณสารสีเหลือง (OD370), สารสีส้ม (OD480), สารสีแดง (OD500) ในแต่ละขวด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.4 ปริมาณสารสีเหลืองจะมีปริมาณสารสีมากที่สุดในขวดที่ 7 (9.46 Unit/ml) ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน รองลงมา ได้แก่ขวดที่ 5 (7.73 Unit/ml) ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน ปริมาณสารสีส้ม มีปริมาณสารสีมากที่สุดในขวดที่ 7 (12.38 Unit/ml) ซึ่งเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน รองลงมา ได้แก่ขวดที่ 5 (11.56 Unit/ml) ซึ่งพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วันและปริมาณของสารสีแดง มีปริมาณสีมากที่สุดในขวดที่ 7 (13.98 Unit/ml) ซึ่งพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน รองลงมา ได้แก่ขวดที่ 5 (12.46 Unit/ml) ซึ่งพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วันเช่นเดียวกัน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า การเลี้ยงเชื้อราใน SS medium ควรเก็บสารสีในช่วง 10 วัน เพราะจะทำให้ได้สารสีมากที่สุด แสดงว่าสารสีมีการหลั่งออกนอกเซลล์ ดังนั้นจึงเลือกนำสารสีในแต่ละขวดไปวัดค่าสี ดังตารางที่ 4.3 เพื่อรวมสีที่มีค่า L*, a*, b* ใกล้เคียงกันไว้ในขวดเดียวกัน

ตารางที่ 4.3 จำนวนวันที่เพาะเลี้ยงและการวัดค่าสี L*, a*, b*

จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง	ขวดที่	L*	a*	b*
7	1	+15.85±0.02	+19.98±0.03	+22.96±0.19
	2	+16.37±0.62	+22.27±0.41	+25.36±1.01
10	3	+17.47±0.56	+18.13±0.23	+25.98±1.00
	4	+15.86±0.52	+17.93±0.27	+23.76±1.04
	5	+11.99±0.04	+15.75±0.06	+16.61±0.23
	6	+5.66±0.09	+5.05±0.15	+8.78±0.12
	7	+12.42±0.21	+5.52±0.06	+8.62±0.11
	8	+24.94±0.20	+15.50±0.10	+37.67±0.70
	9	+17.52±0.14	+19.66±0.06	+22.59±0.23
	10	+10.95±0.47	+17.55±0.50	+15.88±0.23
13	11	+16.92±0.50	+17.87±0.30	+26.02±0.86
	12	+18.51±0.47	+18.35±0.20	+28.51±1.01
14	13	+22.52±0.35	+12.70±0.01	+33.01±1.22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	14	+23.26±0.33	+11.03±0.05	+33.25±1.25

ผลการวัดค่าสี L* a* b* รวมขวดที่ค่าสีใกล้เคียงกันไว้ด้วยกัน โดย

ขวด A รวมสีที่เพาะเลี้ยง 7 วัน ขวดที่ 1, 2 สีที่เพาะเลี้ยง 10 วัน ขวดที่ 3, 4 และสีที่เพาะเลี้ยง 13 วัน ขวดที่ 11, 12

ขวด B รวมสีที่เพาะเลี้ยง 14 วัน ขวดที่ 13, 14

ขวด C สีที่เพาะเลี้ยง 10 วัน ขวดที่ 5

ขวด D สีที่เพาะเลี้ยง 10 วัน ขวดที่ 6

ขวด E สีที่เพาะเลี้ยง 10 วัน ขวดที่ 7

ขวด F สีที่เพาะเลี้ยง 10 วัน ขวดที่ 8

ขวด G สีที่เพาะเลี้ยง 10 วัน ขวดที่ 9

ขวด H สีที่เพาะเลี้ยง 10 วัน ขวดที่ 10

เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน มีปริมาณสารสีแดงมากกว่าการเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลาอื่นๆ จึงเลือกขวดที่ C และ D นำไปใช้ในการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dry)

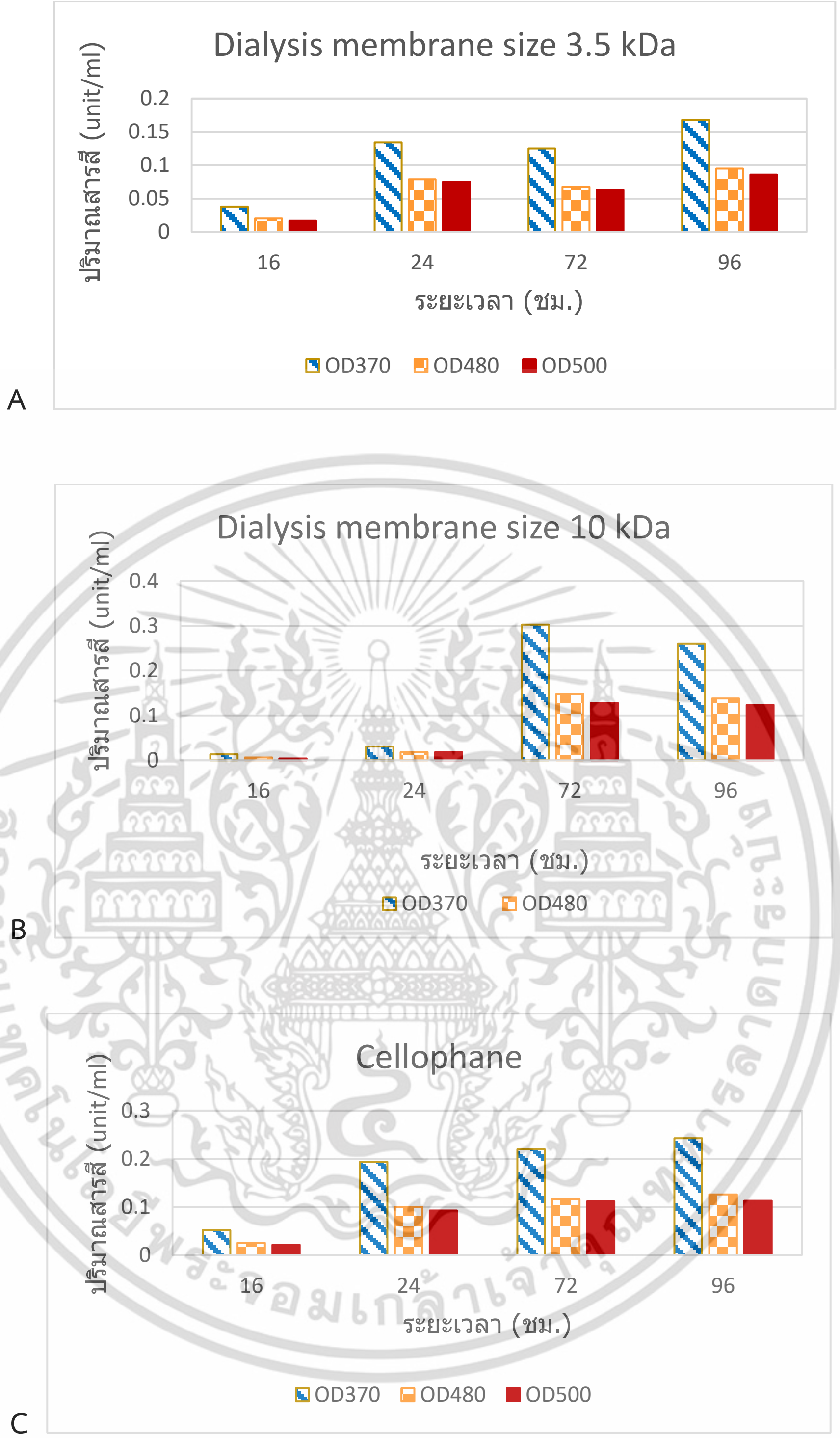
4.3 การคัดแยกสีด้วยเมมเบรนและย่อยสลายสารสีด้วยเอนไซม์ปาเปน

4.3.1 ผลการศึกษาการทดสอบการแพร่ของสารสีผ่านเมมเบรน (Dialysis membrane)

สารละลายที่แยกได้จากการปั่นเหวี่ยง (supernatant) เป็นสารสีที่มีกรดอะมิโนเกาะอยู่ จึงนำสารสีที่มีกรดอะมิโนเกาะมาทดสอบการแพร่ด้วยไดอะไลซิสเมมเบรน (Dialysis membrane)

จากการทดสอบการแพร่ของสารสี โดยวัดค่า OD ที่ 370, 480 และ 500 nm เมื่อเวลาผ่านไป 16, 24, 72 และ 96 ชม. ดังรูปที่ 4.5 พบว่าเมมเบรนขนาด 3.5 kDa มีการแพร่ของสารสีน้อยที่สุด ส่วนการแพร่ของสารสีผ่านเมมเบรนขนาด 10.0 kDa และ cellophane มีค่าสีมากกว่า แสดงให้เห็นว่าสารสีที่มีขนาดเล็ก เนื่องจากมีโปรตีนล้อมรอบน้อย สามารถแพร่ผ่านเมมเบรนขนาด 3.5 kDa เมื่อใช้เมมเบรนขนาด 10 kDa และ cellophane พบว่ามีสารสีแพร่ผ่านมากกว่า เนื่องจากเมมเบรนมี ขนาดใหญ่ ซึ่งในการทดลองนี้ต้องการสารสีบริสุทธิ์ หรือมีโปรตีล้อมรอบโมเลกุลสีน้อยที่สุดนำมาใช้ขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์ เพื่อให้มีผลกระทบจากความไม่บริสุทธิ์ของสารสีในระดับต่ำ นอกจากนี้ยังสังเกตุได้ว่าที่ระยะเวลา 72 และ 96 ชม. ยังคงมีการแพร่ของสารสีผ่านเมมเบรนในปริมาณมากและยังพบว่ามีปริมาณสารสีเหลืองแพร่ออกมามากกว่าสารสีส้มและสารสีแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

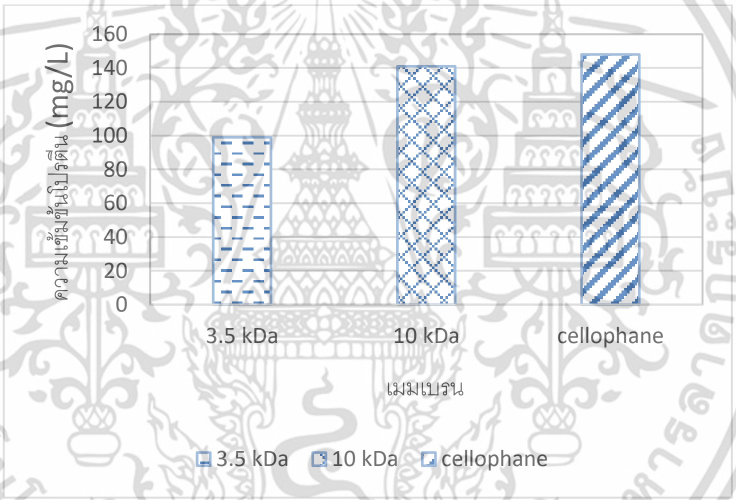


รูปที่ 4.5 กราฟการเปรียบเทียบปริมาณการแพร่ของสารสีที่แพร่ผ่านเมมเบรนขนาด 3.5 kDa (A), 10 kDa (B) และ Cellophane (C) ที่ระยะเวลาต่างๆ โดยวัดด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ 370, 480 และ 500 nm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ผลการวิเคราะห์โปรตีน

จากการทดสอบการหาปริมาณโปรตีนโดยใช้ Bradford's method พบว่าเมมเบรนขนาด 3.5 kDa, 10 kDa และ Cellophane มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 nm เท่ากับ 0.506, 0.523 และ 0.526 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงที่ความเข้มข้นของสารละลาย BSA (ภาคผนวก ข) ระหว่าง 0.1 และ 0.2 g/L (ค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 nm เท่ากับ 0.507 และ 0.539 ตามลำดับ) ดังนั้นจึงคำนวณหาความเข้มข้นโปรตีนที่ผ่านการคัดแยกด้วยเมมเบรนขนาด 3.5 kDa, 10 kDa และ Cellophane โดยใช้สมการจาก Standard curve (ภาคผนวก ข.3) $y = 0.4099x + 0.4653$ ได้เท่ากับ 99, 141 และ 148 mg/L ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 4.6 แสดงว่าสารสีที่ผ่านการคัดแยกแล้วด้วยเมมเบรนขนาด 3.5 kDa (99 mg/L) มีสารประกอบโปรตีนจับตัวร่วมกับโมเลกุลสารสีน้อยที่สุด จึงเลือกเมมเบรนขนาด 3.5 kDa มาใช้ในการทดลองต่อไป



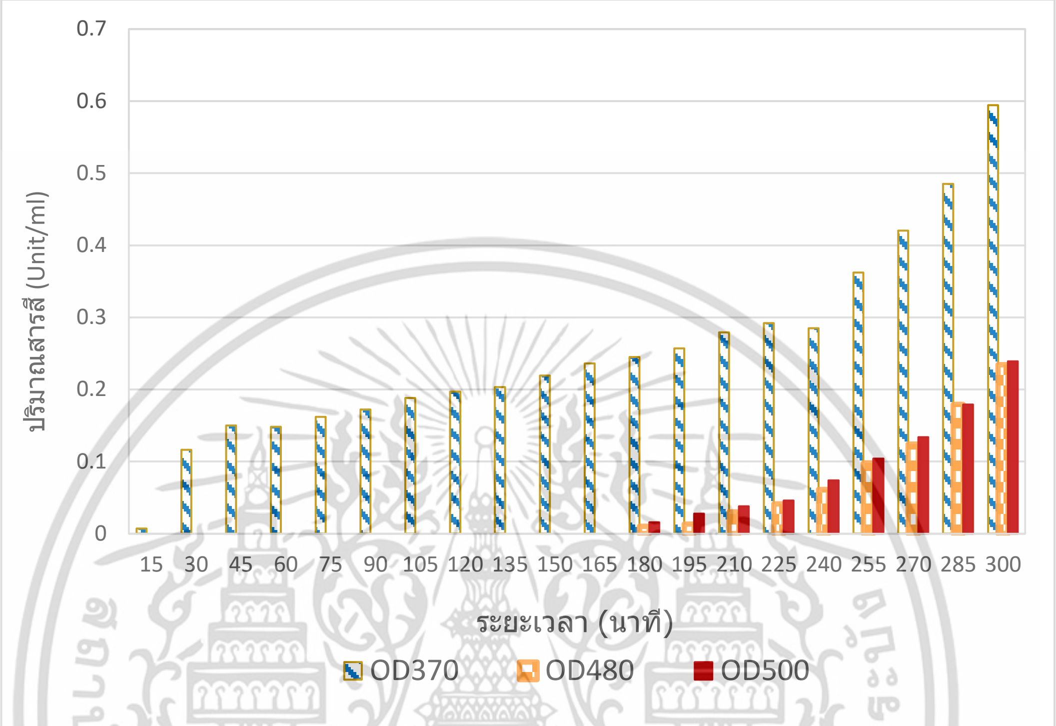
รูปที่ 4.6 ปริมาณโปรตีนในสารละลายที่ผ่านการคัดแยกด้วยเมมเบรนขนาด 3.5 kDa , 10 kDa และ Cellophane

4.3.3 ผลของการย่อยสารสีด้วยเอนไซม์ปาเปนและคัดแยกสีด้วยเครื่อง Ultrafiltration

การทดลองที่ 1 ผสมเอนไซม์ 5 ml กับสารสี 20 ml ใน Buffer 100ml pH 6.5 แล้วเก็บตัวอย่างที่ผ่านการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ปาเปนซึ่งผ่านการคัดแยกด้วย Ultrafiltration membrane หลอดละ 5 ml จำนวน 20 หลอด แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 370, 480 และ 500 nm ใช้ blank เป็น Buffer pH 6.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการทดลองที่ 1 พบว่า สารสีที่ได้จากการย่อยโปรตีนแล้ว มีปริมาณสารสีแดงและสารสีส้มน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณสารสีเหลือง ดังรูปที่ 4.7 ซึ่งผลที่ได้ไม่เป็นไปตามความต้องการ ผู้วิจัยจึงทำการศึกษาอีกครั้งด้วยวิธีการใหม่ในการทดลองที่ 2



รูปที่ 4.7 ปริมาณสารสีต่อระยะเวลา (นาที) ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ OD 370, 480 และ 500 nm

การทดลองที่ 2 เก็บตัวอย่างปริมาณ 5 ml 3 หลอด 3 ครั้ง จะได้ทั้งหมด 9 หลอด โดยผสมเอนไซม์ปาเปน 5 ml สารสี 25 ml และ Buffer 100 ml pH 6.5 ทิ้งไว้ 30 นาที แล้วเก็บตัวอย่างที่ผ่านการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ปาเปนซึ่งผ่านการคัดแยกด้วย Ultrafiltration membrane เป็นครั้งที่ 1 จากนั้นพักทิ้งไว้อีก 60 นาที แล้วทำการเก็บตัวอย่างด้วยวิธีข้างต้นเป็นครั้งที่ 2 จากนั้นเติม Buffer 15 ml pH 6.5 พักทิ้งไว้ 2 ชม. แล้วทำการเก็บตัวอย่างด้วยวิธีเดิมเป็นครั้งที่ 3 แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 nm

ในการทดลองที่ 2 พบว่าสารสีเหลืองมีโปรตีนล้อมรอบโมเลกุลของสารสีในปริมาณน้อย ขณะที่สารสีแดงซึ่งมีโปรตีนล้อมรอบโมเลกุลในปริมาณมากกว่า เมื่อผ่านการย่อยโดยเอนไซม์ ทำให้โปรตีนที่ล้อมรอบโครงสร้างสีย่อยสลาย สารสีจึงมีขนาดลดลงตามระยะเวลาการย่อยสลายที่นานขึ้น ทำให้มีขนาดโมเลกุลเล็กพอที่จะเคลื่อนที่ผ่านเมมเบรนออกมาได้ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าสารสีเหลืองมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดเล็กสามารถเคลื่อนที่ผ่านเมมเบรนได้ดีกว่าสีแดง ดังนั้นสารสีที่ได้จากการย่อยโปรตีนแล้วในการทดลองที่ 2 จึงยังคงพบสารสีเหลืองในปริมาณมากกว่าสารสีแดง

4.4 ผลของการทำลิปบาล์มโดยใช้สารสีจากเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1

ส่วนผสมลิปบาล์มประกอบด้วย น้ำมันมะพร้าวสกัดเย็นออร์แกนิค 7 g, Coco butter 0.5 g, Microcrystalline Wax 0.5 g, Beeswax 1.5 g และสารสีที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 ที่ผ่านการ Freeze dry แล้ว ปริมาณ 3.7 g คิดเป็นปริมาณสารสี 28.03 % ผสมให้เข้าด้วยกันโดยใช้ความร้อน เทใส่ภาชนะที่สามารถปิดได้ เพื่อขึ้นรูป ได้ผลิตภัณฑ์ลิปบาล์มที่มีค่าสี L* +35.47±0.48 a* +27.80±0.22 b* +14.32±0.39 ดังรูปที่ 4.8

รูปที่ 4.8 ผลิตภัณฑ์ลิปบาล์ม

ผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นรูปแล้วมีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว มีเนื้อเรียบ เป็นมัน ไม่มีสิ่งแปลกปลอมและกลิ่นอับหรือกลิ่นบูด สีมีความสม่ำเสมอ ขั้นตอนการผสมจะต้องใช้ความร้อนและระยะเวลาในการกวนส่วนผสมให้เข้ากัน การกวนใช้ระยะเวลานานในการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันอาจจะเนื่องมาจากสีที่ผสม *Monascus* sp. U6V1 ที่ผ่านการ Freeze dry แล้วแต่ยังไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ นอกจากนี้สารสียังมี โปรตีนหรือกรดอะมิโน, N-glutaryl-rubropunctamine, N-glutaryl-monascorubramine, N-glucosylrubropunctamine และ N-glucosyl-monasco-rubramine (สุนีย์, 2557) ล้อมรอบโมเลกุลอยู่ด้วยซึ่งอาจทำให้สีละลายได้ยากขึ้นในน้ำมันมะพร้าวสกัดเย็นออร์แกนิค, Coco butter, Microcrystalline Wax และ Beeswax จากนั้นนำลิปบาล์มไปทดสอบเบื้องต้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1 การทดสอบลิปบาล์ม

4.4.1.1 ผลการศึกษาการทดสอบลักษณะทางกายภาพ

ผลิตภัณฑ์ลิปบาล์มในท้องตลาดโดยเลือกใช้ยี่ห้อเภสัช วัดค่า pH ได้ 7.58 ซึ่งมีค่าสูงกว่า 7 แสดงความเป็นเบสหรือด่าง ผลิตภัณฑ์ลิปบาล์มที่ผู้เขียนได้ทำขึ้นวัดค่า pH ได้ 6.82

Jayshri *et al.* (2021) กล่าวว่า pH 6.9±0.25 บ่งชี้ว่าค่า pH มีความเป็นกลาง และมาตรฐานอุตสาหกรรม เอส (17-2561) ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของลิปสติก ลิปบาล์ม ต้องอยู่ระหว่าง 5.5-8.0 แสดงว่า ผลิตภัณฑ์ลิปบาล์มที่ผู้เขียนได้ทำ pH 6.82 มีค่าใกล้เคียงกับค่า pH ของผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดและยังอยู่ในเกณฑ์ค่ามาตรฐานแสดงให้เห็นว่าสูตรลิปบาล์มนี้มีความปลอดภัยในการทาบริเวณริมฝีปาก

ผลการทดสอบค่าความแข็ง (Hardness) ด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analyzer) นำผลิตภัณฑ์ลิปบาล์มในท้องตลาดโดยเลือกใช้ยี่ห้อ A ทดสอบเปรียบเทียบค่าความแข็ง (Hardness) กับผลิตภัณฑ์ลิปบาล์มที่ได้จากการทดลอง โดยทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง พบว่าลิปบาล์มตัวอย่างยี่ห้อ A มีค่าความแข็งเฉลี่ยเท่ากับ 4.71 ลิปบาล์มที่ได้จากการทดลองมีค่าความแข็งเฉลี่ยเท่ากับ 1.94 (ตารางที่ 4.4) ซึ่งค่าความแข็งที่วัดได้เมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์ตัวอย่างยี่ห้อ A แล้วมีความแตกต่างกันอยู่ 2.23 N อาจเนื่องมาจากกรรมวิธีการอัดเนื้อผลิตภัณฑ์เข้าแม่พิมพ์ซึ่งลิปบาล์มที่ได้จากการทดลองใส่เนื้อผลิตภัณฑ์ด้วยมือแต่ผลิตภัณฑ์ตัวอย่างใช้เครื่องกด เนื่องด้วยมาตรฐานอุตสาหกรรม เอส (17-2561) ไม่ได้กำหนดค่าความแข็งของลิปบาล์มไว้ ดังนั้น ค่าความแข็ง 1.94 N เป็นไปตามความต้องการ

ผลของค่าสีและการตกตะกอนไม่ได้กำหนดไว้อย่างชัดเจนในมาตรฐานอุตสาหกรรม เอส (17-2561) เพียงแต่สังเกตด้วยตา ไม่พบการตกตะกอน

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าความแข็งเฉลี่ยเปรียบเทียบกันระหว่างลิปบาล์มตัวอย่าง (ยี่ห้อ A) และลิปบาล์มที่ได้จากการทดลอง

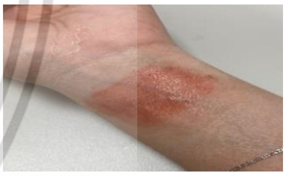
ลิปบาล์ม	**ค่าความแข็ง (Hardness, N)**			
	ซ้ำครั้งที่ 1	ซ้ำครั้งที่ 2	ซ้ำครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
ลิปบาล์มตัวอย่าง (ยี่ห้อ A)	5.15	4.04	4.95	4.71
ลิปบาล์มที่ได้จากการทดลอง	2.32	1.74	1.77	1.94

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.2 ผลการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นโดยผู้ทดลอง

ทาผลิตภัณฑ์บริเวณข้อมือด้านใน สังเกตการณ์ระคายเคืองผิวหนัง แล้วบันทึกผลเมื่อทาทิ้งไว้เป็นเวลา 1, 3, 5 และ 24 ชั่วโมง จากการทดสอบผลคะแนนรวมแล้วพบว่าไม่เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังตามมาตรฐานอุตสาหกรรม เอส (17-2561) แสดงให้เห็นว่าลิปบาล์มสูตรนี้มีความปลอดภัยต่อผิวหนังในเบื้องต้น

ตารางที่ 4.5 ผลการให้คะแนนระดับการระคายเคืองของผิวหนังเมื่อเวลาผ่านไป 1, 3, 5, 7 และ 24 ชั่วโมง

เวลา (ชม.)	การให้คะแนน		ผมรวมคะแนน	ระดับการระคายเคือง	รูปประกอบ
	ความแดงของผิวหนัง	การบวมของผิวหนัง			
1	0	0	0	ไม่ระคายเคือง	
3	0	0	0	ไม่ระคายเคือง	
5	0	0	0	ไม่ระคายเคือง	
24	0	0	0	ไม่ระคายเคือง	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.3 ผลการทดสอบความคงตัวของลิปบาล์มต่อรังสี UV

นำผลิตภัณฑ์ไปวางกลางแดดวันละ 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 วัน ผลการวัดค่า pH ก่อนการตากแดดและหลังการตากแดดแตกต่างกันเพียง 0.01 ซึ่งยังอยู่ในมาตรฐานอุตสาหกรรม เอส (17-2561) กำหนด pH อยู่ระหว่าง 5.5-8.0 ถือว่าเป็นไปตามค่ามาตรฐาน ค่าความแข็งหลังจากตากแดดลดลง 0.18 N อาจเนื่องมาจากการวางกลางแดดเป็นเวลานานทำให้ผิวหน้าของลิปบาล์มละลายจากความร้อน เมื่อวัดค่าความแข็งทำให้ค่าที่ได้ลดลง ค่าสีเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยและไม่มีการตกตะกอนเมื่อสังเกตด้วยตา

ตารางที่ 4.6 การเปรียบเทียบค่า pH ค่าความแข็งและค่าสี ระหว่างก่อนและหลังทดสอบความคงตัวของลิปบาล์มต่อรังสี UV

	ค่า pH	ค่าความแข็ง (Hardness, N)	Color L* a* b*	ภาพประกอบ
ก่อนตากแดด	6.82	1.94	L*35.47±0.48 a*27.80±0.22 b*14.32±0.39	
หลังตากแดด 8 ชั่วโมง 2 วัน	6.83	1.76	L*37.61±0.59 a*23.72±0.54 b*14.50±0.57	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.4 ผลการทดสอบความคงตัวของลิปบาล์มต่ออุณหภูมิสูงและต่ำ

โดยการทำ Cycle Test โดย 1 cycle ไปวางที่ความร้อน 45 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงและนำไปให้ความเย็นที่ - 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าหลังการทำ Cycle test ค่า pH เพิ่มขึ้น 0.39 แต่ยังอยู่ในมาตรฐานอุตสาหกรรม เอส (17-2561) pH ระหว่าง 5.5-8.0 ถือว่าได้เป็นไปตามค่ามาตรฐานและค่าความแข็งที่เพิ่มขึ้นมา 0.05 N อาจเนื่องมาจากเมื่อนำไปให้ความเย็นผิวหน้าของลิปบาล์มมีความแข็งขึ้นเล็กน้อยทำให้แรงกดเพิ่มขึ้น ค่าสีมีความแตกต่างเพียงเล็กน้อยและไม่มีการตกตะกอนเมื่อสังเกตด้วยตา

ตารางที่ 4.7 การเปรียบเทียบค่า pH ค่าความแข็งและค่าสี ระหว่างก่อนและหลังทำ Cycle test

	ค่า pH	ค่าความแข็ง (Hardness, N)	Color L* a* b*	ภาพประกอบ
ก่อน Cycle test	6.82	1.94	L*35.47±0.48 a*27.80±0.22 b*14.32±0.39	
หลังการทำ Cycle test	7.21	1.99	L*33.90±0.04 a*31.03±0.06 b*17.86±0.08	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 เพื่อผลิตสารสีแดง พบว่าระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงมีผลต่อค่า pH, น้ำหนักตะกอนเซลล์และการผลิตสารสี พบว่าการเลี้ยงเชื้อราใน SS medium ควรเก็บสารสีในช่วง 10 วัน เพราะจะทำให้ได้สารสีมากที่สุด ซึ่งปริมาณสารสีและความเข้มสีในแต่ละขวดมีความแตกต่างกัน ดังนั้นจึงเลือกสารสีที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน ขวดที่ 3 และ 4 นำไปทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) พบว่าผงสีที่ได้หลังการ Freeze dry มีความเข้มข้นมากขึ้น

จากการศึกษาการศึกษาการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ปาเปนโดยใช้เครื่อง Ultrafiltration พบว่าสารสีที่ได้จากการย่อยโปรตีนแล้ว มีความเข้มข้นของสารสีเหลืองในปริมาณมากและมีความเข้มข้นของสารสีแดงในปริมาณน้อยอย่างมาก ซึ่งผลที่ได้ไม่เป็นไปตามความต้องการ ผู้วิจัยจึงเลือกผงสีไม่ผ่านกิจกรรมการย่อยโปรตีนออกจากสารสีด้วยเอนไซม์ปาเปน นำไปใช้สำหรับการศึกษาการทำลิปบาล์มต่อไป เนื่องจากผงสีที่ได้หลังการ Freeze dry มีความเข้มข้นของสารสีแดงและสารสีส้มที่มากกว่า

จากการศึกษาการทำลิปบาล์มโดยใช้สารสีจากเชื้อรา *Monascus* sp. U6V1 พบว่า ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นรูปแล้วมีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว มีเนื้อเรียบ เป็นมัน ไม่มีสิ่งแปลกปลอมและกลิ่นอับหรือกลิ่นบูด สีมีความสม่ำเสมอ โดยลิปบาล์มยี่ห้อ A มีค่าความแข็งเฉลี่ยเท่ากับ 4.71 N ลิปบาล์มที่ได้จากการทดลองมีค่าความแข็งเฉลี่ยเท่ากับ 1.94 N โดยขั้นตอนการผสมจะต้องใช้ความร้อนและระยะเวลาในการคนส่วนผสมให้เข้ากันนั้นต้องใช้ระยะเวลานานประมาณหนึ่ง อาจเนื่องมาจากสีที่ผสม *Monascus* sp. U6V1 ที่ผ่านการ Freeze dry แล้วแต่ยังไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ สารสีไม่ได้มีแค่ตัวสารสีแต่มี โปรตีนหรือกรดอะมิโน, N-glutaryl-rubropunctamine, N-glutaryl-monascorubramine, N-glucosylrubropunctamine และ N-glucosyl-monasco-rubramine (สุนีย์, 2557) เกาะอยู่ด้วย ซึ่งอาจทำให้สีละลายได้ยากขึ้นใน น้ำมันมะพร้าวสกัดเย็นออร์แกนิค, Coco butter, Microcrystalline Wax และ Beeswax. จากการศึกษาการทดสอบความคงตัวต่อรังสี UV พบว่าหลังตากแดดนาน 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 วัน ค่า pH มีค่าใกล้เคียงกันอยู่ที่ pH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.82 และ 6.83 ค่าความแข็งลดลงเล็กน้อยจาก 1.94 N เป็น 1.76 N ค่าสีมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย จากการศึกษาการทดสอบความคงตัวต่ออุณหภูมิสูงและต่ำพบว่าค่า pH จาก pH 6.72 เพิ่มขึ้นเป็น 7.21, ค่าความแข็งใกล้เคียงกันโดยเพิ่มจาก 1.94 N เป็น 1.99 N และค่าสีมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เพื่อให้มั่นใจได้ว่าผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัย ไม่มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์อันตรายที่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

5.2.2 ควรใช้สารสีที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์นำมาใช้ในการทำผลิตภัณฑ์ เนื่องจากสารสีที่ยังไม่ผ่านการย่อย อาจมีกรดอะมิโนเกาะอยู่เป็นสายยาว ซึ่งอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพการผสมสารสีกับส่วนผสมอื่นที่ใช้ทำลิปบาล์ม

5.2.3 ผลการทดสอบค่าความแข็ง (Hardness) ด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analyzer) หากต้องการให้ลิปบาล์มที่ได้จากการทดลองมีค่าความแข็งมากขึ้น ควรใส่สารที่ทำให้แข็งมากขึ้น เช่น Wax

5.2.4 การทดสอบความคงตัวของลิปบาล์มต่อรังสี UV ควรใช้ระยะเวลาในการศึกษามากขึ้น

5.2.5 ในการทดสอบลิปบาล์มควรศึกษาเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ยี่ห้ออื่นในท้องตลาดมากกว่าหนึ่งยี่ห้อ

5.2.6 ในการการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ปาเปนโดยใช้เครื่อง Ultrafiltration เนื่องจาก Ultrafiltration membrane size 3.5 kDa เกิดการอุดตันไม่สามารถนำมาใช้ในการศึกษาได้ จึงเลือกใช้ Ultrafiltration membrane size 5 kDa

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกพร เกตุแก้ว, กฤษณุ สุขดี และณัฏฐริกา กอนมณี. 2558. THE CULTIVATION OF *MONASCUS* SP. ON SOLID STATE FERMENTATION WITH RAW MATERIAL ADDITION. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรกต สุนทรกุล, สุกานดา วิชิตพันธ์ และ คณิต วิชิตพันธุ์. 2553. โมแนสคัส : ราแดงที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ. วารสารศูนย์บริการวิชาการมหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีที่ 18 ฉบับที่ 3-4 กรกฎาคม – ธันวาคม

เกตุการ ดาจันทา และ หทัยทิพย์ ร้องคำ. 2559. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา การสร้างสารพิษและรงควัตถุของราโมแนสคัสที่คัดแยกจากอังคัก. วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) ปีที่ 8 ฉบับที่ 16 กรกฎาคม – ธันวาคม.

จารุวรรณ ฉัตรทอง. 2554. “การสกัดสีจาก *Neurospora* sp." รายงานการวิจัย คณะ วิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

ดลฤดี โตเย็น. 2564. หลักการทำตัวอย่างให้แห้งด้วยเทคนิค Freeze-drying. [online]. เข้าถึงได้จาก www3.rdi.ku.ac.th

ดวงทิพย์ ไข่แก้ว และ สารนิติ บุญประสพ. 2564. Protein Digestion Efficiency of Papain Enzyme Crude Extract from Papaya Byproduct. คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ. วิทยาลัยพยาบาลบรมราชชนนี จังหวัดนนทบุรี

นฤมล เถื่อนกูล. 2548. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารสีแดงบนปลายข้าวเจ้าของ *Monascus purpureus* TISTR 3090 เพื่อนำไปสู่การผลิตในระดับการค้า. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.

นภัสสร ขิมโคกกรวด, พิมพ์ประภา หงส์เวียงจันทร์ และ พิรินะ ศรีพรรณเพ็ญ. 2563. การเลี้ยง *Monascus* sp. ด้วย ถังหมัก airlift ขนาด 5 ลิตร เพื่อผลิตสารสี. ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม). สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บุษบา ยงสมิทธิ์. 2542. จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พรเทพ ทิพยพรกุล. 2559. ปัจจัยที่มีผลต่อการซื้อเครื่องสำอางในระบบออนไลน์ของผู้บริโภคในเขต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรุงเทพมหานคร. ปริญญาบริหารธุรกิจมหาบัณฑิต หลักสูตรบริหารธุรกิจมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยศิลปากร

พลอยชมพู ยุวรรณศรี. 2561. การศึกษาความเป็นไปได้ของแนวคิดธุรกิจผลิตภัณฑ์ลิปแคร์จากสารสกัดพืชธรรมชาติชนิดแท่งบาล์มสำหรับเด็ก. ปริญญาการจัดการมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยมหิดล

รัตติกูล ศรีอุบล, สุพัชลิตา จงจำ และ ไอริณ อุดมพูนสิน. 2559. การเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. บนอาหารแข็งในถังหมักขนาด 20 ลิตร. ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม). สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วิราสิณี จันทร์เป็ง และ นพพล เล็กสวัสดิ์. 2557. ปาเปน (Papain). สาขาวิศวกรรมกระบวนการบริหาร สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ศรินทร์ ทองธรรมชาติ และ ปนัดดา แทนสุโพธิ์. 2556. การวิเคราะห์หาตะกั่วปริมาณน้อยๆในลิปสติก. มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มาตรฐานอุตสาหกรรม เอส). 2561. ผลิตภัณฑ์บำรุงริมฝีปากผสมสมุนไพร. [Online]. เข้าถึงได้จาก https://www.tisi.go.th

สุวัฒน์ศักดิ์ ด่านศักดิ์ดา. 2524. วิทยาศาสตร์บัณฑิต(เทคโนโลยีชีวภาพ). มหาวิทยาลัยแม่โจ้

สุกิจ ลิติกรณ์. 2566. การทำ Freeze dry. [online]. เข้าถึงได้จาก https://www.harn.co.th/articles/getting-to-know-freeze-dry/

สุนีย์ เอียดมุสิก. 2557. “การใช้ประโยชน์วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจากการหมักด้วยเชื้อราโมแนสคัส KKU Res. J. 19(1) 92-106

เอกสิทธิ์ ดิษฐ์แก้ว. 2551. การผลิตเอนไซม์ปาเปนสำหรับใช้ในอาหารไก่. ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาการผลิตสัตว์. มหาวิทยาลัยแม่โจ้

อำพรรณ ชัยกุลเสรีวัฒน์ และ ธีระดา ตั้งประเสริฐพงศ์. 2554. “การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสีแดงของ *Monascus* spp. ที่คัดแยก จากข้าวแดง” วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม, 6(1): 44-54

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72(1), 248-254.

Balls, A.K., H. Lineweaver and R.R. Thomson. 1937. Papain enzyme. Industrial & Engineering Chemistry Research 28(1): 1220-1227.

Chung, C.C. Huang, T.C. and Chen, H.H. 2009. The optimization of Monascus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

fermentation process for pigments increment and citrinin reduction. 9th ed. Taichung, Taiwan: IEEE Press.

Chakravarti, R. and Sahai, V. 2004. "Compactin-A review." Applied Microbiology and Biotechnology. 64(5): 618-624.

Dubravka, F. and Maja P. 2009. TOXICOLOGICAL PROPERTIES OF CITRININ. Institute for Medical Research and Occupational Health, Zagreb, Croatia World Health

Darwesh, O., Ibrahim A. Matter, Hesham S. Almoallim, Sulaiman A. Alharbi and You- Kwan Oh, (2020). Isolation and Optimization of *Monascus ruber* OMNRC45 for Red Pigment Production and Evaluation of the Pigment as a Food Colorant. Department of Agricultural Microbiology, National Research Centre. Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, King Saud University. Department of Botany & Microbiology, College of Science, King Saud University. Department of Chemical & Biomolecular Engineering, Pusan National University

Japan Food Additives Association (JAFA) 2000. Japan Specification and Standard for Food Additives. Japan, Tokyo.

Jayshri, P., Ujjwala, K., Vijaya, V. and Pranali, G. 2021. Production and Analysis of Lip Balm using Herbal Resources. Journal of Pharmaceutical Research International. 33(59A): 540-546

Kuo, C.F. Hou, M.H. Wang, T.S. Chyau, C.C. and Chen, Y.T. 2009. "Enhanced antioxidant activity of Monascus pilosus fermented products by addition of ginger to the medium. Food Chemistry. 116(4):915-922.

Lin, C.F. 1973. "Isolation and cultural conditions of Monascus sp. for the production of pigment in a submerged culture." Journal of Fermentation Technology. 51(6) : 407-414.

Organization (WHO). 2007. Food Additives Series. [Online]. Available: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v35je 15, 2001. USA

Pawar, J., Kandekar, U., Vichare, V. and Ghavane, P. 2021. Production and Analysis of Lip Balm using Herbal Resources. Journal of Pharmaceutical Research International. 33(59A): 540-546.

Praveen, V.K. and Savitha, J. 2012. "Solid state fermentation: An effective method for

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

lovastatin production by fungi-A mini review." The Open Tropical Medicine Journal. 5:1-5.

Rao, R., Raju, J., Srilatha, T., Nagalakshmi, D., Raju, M., Paul, S and B. Prakash. 2022. Effect of supplementing papaya (Carica papaya) latex on performance, carcass traits and nutrient digestibility in broiler chicken fed recommended and sub-optimal levels of dietary protein. Animal Feed Science and Technology. 285: 115226.

Shi, Y.C. and Pan, T.M. 2011. "Beneficial effects of *Monascus purpureus* NTU 568-fermented products: A review." Applied Microbiology and Biotechnology. 90(4): 1207-1217.

Thongkrachang, N., Chanama, S., and Chanama, M., 2016. Inhibitory activity against pathogenic bacteria of streptomycetes isolated from natural soil resources. Journal of Public Health and Development Vol. 14 No. 3: 59-68.

Venkateswaran, V. and Vijayalakshmi, G. 2010. "Finger millet (Eleusine caracana)-Aneconomically viable Source for antihypercholesterolemic metabolites production by Monascus purpureus." Journal of Food Science and Technology. 47(4): 426-431.

Wong, H.C. and Y.S. Bau. 1977. Pigmentation and Antibacterual Activity of Fast-Neutron and X-ray Induced Strains of M. purpureus, Wert. Plant Physicl. 60: 578.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก.1 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก.1.1 Malt yeast extract agar (MYS)

Cassava starch	10.0	g/L
Peptone	5.0	g/L
Yeast extract	3.0	g/L
Agar	12.0	g/L

อาหารแข็ง (MYS medium) ปริมาตร 1 L ให้ละลาย Cassava starch 10 g/L, Peptone 5 g/L, Yeast extract 3 g/Lและ Agar 12 g/L ในน้ำกลั่น 200 ml นำไปวัด pH ปรับ ให้มีค่า 6.8 - 7.2 และนำน้ำกลั่นปริมาตร 500 ml เข้าไมโครเวฟรอจนเดือด (วุ้นละลายทั้งหมด) จึงใส่สารละลายที่ปรับ pH แล้ว คนตลอดเวลา rinse ด้วยน้ำกลั่น 100 ml เพื่อให้อาหารผสมกันได้ทั้งหมด และมีปริมาตร 1 L แบ่งใส่ขวดแก้วและหลอด test tube แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

ก.1.2 SS (starch soybean) medium

Cassava starch	30.0	g/L
Soybean flour	40.0	g/L

อาหารเหลว (SS medium) ทำเช่นเดียวกับอาหารแข็งแต่ไม่ต้องใส่วุ้น หลังจากเข้าไมโครเวฟจนแป้งละลายแล้ว แบ่งใส่ฟลาสก์ๆละ 100 ml ปิดสำลีหุ้มด้วยกระดาษแล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

ก.2 ส่วนประกอบที่ใช้ทำลิปบาล์ม

น้ำมันมะพร้าวสกัดเย็นออร์แกนิค	53.03	%
Coco butter	3.79	%
Microcrystalline Wax	3.79	%
Beeswax	11.36	%
สารสีจากเชื้อรา *Monascus* U6V1	28.03	%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์

ข.1 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) (Gomori, 1955 อ้างอิงโดย สุวัฒน์ศักดิ์, 2524)

สารละลาย A : 0.05 M di-sodium hydrogen phosphate 2-hydrate (ละลาย $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ 7.80 g ในน้ำกลั่น 1 L)

สารละลาย B : 0.05 M monosodium phosphate (ละลาย $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 7.80 g ในน้ำกลั่น 1 L)

เตรียมสารละลาย A และ B ตาม pH ที่ต้องการ และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

ตารางที่ ข.1 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate Buffer) ที่พีเอชต่างๆ

pH	A (ml)	B (ml)
5.8	4.00	46.00
6.0	6.15	43.85
6.2	9.25	40.75
6.4	13.25	36.75
6.6	18.75	31.25
6.8	24.50	25.50
7.0	30.50	19.50
7.2	36.00	14.00
7.4	40.50	9.50
7.6	43.50	6.50
7.8	45.75	4.25
8.0	47.35	2.65

ที่มา : สุวัฒน์ศักดิ์, 2524

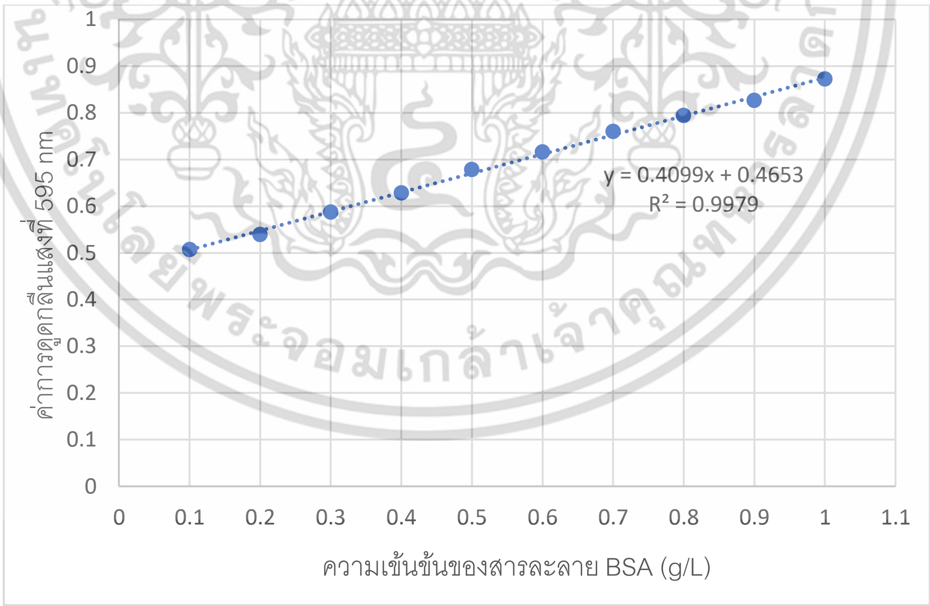
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.2 การวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง

นำตะกอนเซลล์ไปอบที่ตู้อบลมร้อน 70 °C เป็นเวลา 3 วัน จนน้ำหนักคงที่ โดยจะชั่งน้ำหนักฟอล์ย, น้ำหนักฟอล์ยที่มีตะกอนเซลล์ก่อนนำไปอบและน้ำหนักฟอล์ยที่มีตะกอนเซลล์หลังนำไปอบที่ตู้อบลมแล้วคำนวณนำหนักตะกอนเซลล์ที่ได้ แล้วคำนวณหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ข.3 การวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี Bradford

เตรียมสารละลาย Bovine serum albumin (BSA) 0.1 g ผสมกับน้ำกลั่น 10 ml เป็น Stock solution ปิเปตใส่หลอดทดลอง 10 หลอดจากนั้นทำการเจือจางให้มีความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 และ 1000 µg/ml ปิเปต Bradford reagent 5 ml ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลาย BSA เติมสารสี 0.1 ml ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex Mixer ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 nm และสร้างกราฟมาตรฐาน BSA (Standrad curve) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ BSA และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ดังแสดงในรูปที่ ข.1 จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นโปรตีนโดยแทนค่าในสมการ Y= 0.4099x + 0.4653



รูปที่ ข.1 กราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย Bovine serum albumin (BSA) และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.4 วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารสี

ดัดแปลงจาก Johns and Stuart (1991) นำส่วนที่เป็น supernatant มาวิเคราะห์โดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 370 nm (Yellow pigment), 480 nm (Orange pigment) และ 500 nm (Red pigment) ทำ dilution ด้วยแอลกอฮอล์ 50% ที่ความเจือจางระดับต่างๆ โดยใช้สมการ

$C_1V_1=C_2V_2$

C_1=ความเข้มข้นเริ่มต้น

C_2=ความเข้มข้นที่ต้องการ

V_1=ปริมาตรเริ่มต้น

V_2=ปริมาตรที่ต้องการ

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คูณด้วยค่า dilution factor ซึ่งจะได้เป็นค่าจะเป็นค่าสารสี

ข.5 วิธีวิเคราะห์ค่าสี L*, a*, b*

นำส่วนที่เป็น Supernatant มาวิเคราะห์โดยใช้เครื่องวัดค่าสี L*, a*, b* ด้วยเครื่องวัดสี (Color meter) วัดค่าสีตัวอย่างละ 3 ซ้ำ บันทึกค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ข.6 การย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ปาเปนโดยใช้เครื่อง Ultra filtration

เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) ดังหัวข้อที่ ข.1 โดยผสมสารละลาย $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ ความเข้มข้น 50 mM 1.95 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 250 ml และสารละลาย $NaH_2PO_4 \cdot 12H_2O$ ความเข้มข้น 50 mM 4.79 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 250 ml จากนั้นผสมสารละลายทั้งสองรวมกัน แล้วปรับ pH เป็น 6.5 g แล้วนำ Papaya extract ปริมาตร 5 ml และสารสีที่ผ่านการ Freeze dry ปริมาตร 5 ml ผสมลงในบัฟเฟอร์ ปริมาตร 40 ml แล้วนำไปเข้าสู่กระบวนการย่อยโปรตีนออกจากสารสีด้วยเครื่อง Ultra filtration โดยใช้ Ultra filtration membrane size 5 kDa แบ่งออกเป็น 2 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 ผสมเอนไซม์ ปริมาตร 5 ml สารสี ปริมาตร 20 ml ในสารละลายบัฟเฟอร์ ปริมาตร 100 ml (pH 6.5) แล้วเก็บตัวอย่างที่ผ่านการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ปาเปนซึ่งไหลผ่าน Ultra filtration membrane size 5 kDa หลอดละ 5 ml จำนวน 20 หลอด แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 370, 480 และ 500 nm ใช้ blank เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ pH 6.5

การทดลองที่ 2 เก็บตัวอย่างปริมาณ 5 ml จำนวน 3 หลอด 3 ครั้ง จะได้ทั้งหมด 9 หลอด โดยผสมเอนไซม์ปาเปน ปริมาตร 5 ml สารสี ปริมาตร 25 ml และในสารละลายบัฟเฟอร์ ปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

100 ml (pH 6.5) วางไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เกิดการทำปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนเป็นเวลา 30 นาที ก่อนทำการเก็บตัวอย่างที่ผ่านการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ปาเปนซึ่งไหลผ่าน Ultra filtration membrane size 5 kDa เป็นครั้งที่ 1 จากนั้นวางไว้ที่อุณหภูมิห้องอีก 60 นาที แล้วทำการเก็บตัวอย่างด้วยวิธีข้างต้นเป็นครั้งที่ 2 จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 15 ml pH 6.5 วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 ชม. แล้วทำการเก็บตัวอย่างด้วยวิธีเดิมเป็นครั้งที่ 3 แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 nm โดยใช้ blank เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ pH 6.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 12 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2566

ข้าพเจ้า นางสาวศิรประภา ศิริธานันท์ รหัสประจำตัว 62050541

นางสาวสมิดารัญชน์ ศรีช่วย รหัสประจำตัว 62050545

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์ ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การผลิตสารสีแดงจาก *Monascus* sp. เพื่อใช้ในลิปบาล์ม

ชื่อภาษาอังกฤษ Red Pigment from *Monascus* sp. For Lip Balm

ปีการศึกษา 2565

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 10.65 %

ลงชื่อ ศิรประภา ศิริธานันท์
(นางสาวศิรประภา ศิริธานันท์)
นักศึกษา

ลงชื่อ สมิดารัญชน์
(นางสาวสมิดารัญชน์ ศรีช่วย)
นักศึกษา

ข้าพเจ้า ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษ ศึกษาของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ..

อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้