

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อการผลิตเมวาสเตตินจาก
Monascus sp. ที่เจริญในแหล่งอาหารมันสำปะหลังเส้น

OPTIMIZATION FOR MEVASTATIN PRODUCTION
BY MONASCUS SP. CULTIVATED
IN CASSAVA CHIP AS MEDIUM SOURCE



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อการผลิตเมวาสเตตินจาก
Monascus sp. ที่เจริญในแหล่งอาหารมันสำปะหลังเส้น

OPTIMIZATION FOR MEVASTATIN PRODUCTION
BY *MONASCUS* SP. CULTIVATED
IN CASSAVA CHIP AS MEDIUM SOURCE



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OPTIMIZATION FOR MEVASTATIN PRODUCTION
BY *MONASCUS* SP. CULTIVATED
IN CASSAVA CHIP AS MEDIUM SOURCE



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

ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อการผลิตเมวาสเตตินจาก *Monascus* sp.
ในแหล่งอาหารมันสำปะหลังเส้น

Optimization for Mevastatin Production by *Monascus* sp.

Cultivated in Cassava Chip as Medium Source

ชื่อนักศึกษา นางสาว จันจิรา มิดำ รหัส 55051246

นางสาว ตัสนีม ศุมนานท์ รหัส 55051284

นางสาว นันทา อาดัม รหัส 55051309

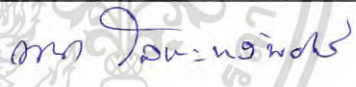
ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2558

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมชาย ไกรรักษ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยา
อุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2558

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

ลิขสิทธิของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อการผลิตเมवासเตตินจาก <i>Monascus</i> sp. ในแหล่งอาหารมันสำปะหลังเส้น	
ชื่อนักศึกษา	นางสาว จันจิรา มิคำ	รหัส 55051246
	นางสาว ตัสนีม ศุมนานท์	รหัส 55051284
	นางสาว นัทชา อาดัม	รหัส 55051309
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)	
ภาควิชา	ชีววิทยา	
ปีการศึกษา	2558	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมชาย ไกรรักษ์	

บทคัดย่อ

การเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 (สายพันธุ์ดั้งเดิม) และ 6M และ C2M6 (สายพันธุ์กลาย) เพื่อผลิตเมวาสเตตินในอาหารเหลวที่ใช้มันสำปะหลังเส้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน และเขย่าฟลาสก์ 200 รอบต่อนาที (จนถึงสิ้นสุดการเลี้ยงเชื้อ) โดยแปรผันปริมาณ tween 80 (สารลดแรงตึงผิว) พบว่าเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 และ C2M6 ให้การผลิตเมวาสเตตินสูงสุด (0.0478 และ 0.0192 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, ตามลำดับ) ที่ปริมาณ tween 80 ปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ขณะที่เชื้อรา *Monascus* sp. 6M ให้การผลิตเมวาสเตตินสูงสุด (0.0305 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ปริมาณ tween 80 ปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อลิตร เมื่อนำมาศึกษาผลของการแปรผันการเขย่าฟลาสก์ในระหว่างการเลี้ยงเชื้อแบบ 3 ระยะ (150 250 และ 200 รอบต่อนาที ในวัน 0-3 4-7 และ 8-21 ของการเลี้ยงเชื้อ ตามลำดับ) พบว่าการเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 และ 6M ให้การผลิตเมวาสเตตินสูงสุด 0.0062 และ 0.0039 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 21 (ตามลำดับ) ขณะที่เชื้อรา *Monascus* sp. C2M6 ให้การผลิตเมวาสเตตินได้ดีที่สุด 0.0068 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 14 การผลิตเมวาสเตตินที่ลดลงอาจสัมพันธ์กับปริมาณซิทรีนิน ซึ่งจำเป็นต้องวิเคราะห์ในครั้งต่อไป

คำสำคัญ : เมวาสเตติน มันสำปะหลัง สารลดแรงตึงผิว *Monascus* sp.

Title	Optimization for Mevastatin Production by <i>Monascus</i> sp. Cultivated in Cassava Chip as Medium Source		
Student	Miss Junjira	Midam	Student ID 55051246
	Miss Tusneem	Sumanont	Student ID 55051284
	Miss Natcha	Adam	Student ID 55051309
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)		
Department	Biology		
Academic Year	2015		
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Somchai Krairak		

Abstract

The submerged cultivation of *Monascus* sp. SS14 (wild type) and 6M and C2M6 (mutants) by using 20% cassava chip as a carbon source and 200 rpm of shaking flask with various amount of tween 80 (surfactant) were studied. It was found that *Monascus* sp. SS14 and C2M6 gave maximal mevastatin (0.0478 and 0.0192 mg/mL, respectively) at 5 mL/L of tween 80. While, *Monascus* sp. 6M showed maximum mevastatin production (0.0305 mg/mL) at 10 mL/L of tween 80. Then, The various shaking speed during cultivation was observed by 3 stages with 150 250 and 200 rpm at 0-3 day, 4-7 day and 8-20 day of cultivation period, respectively. The result showed that *Monascus* sp. SS14 and 6M presented maximum mevastatin production (0.0062 and 0.0039 mg/mL, respectively) on 21-day cultivation. Whereas, *Monascus* sp. C2M6 gave maximum mevastatin production (0.0068 mg/mL) on 14-day of cultivation. The decreasing of mevastatin might relate to the citrinin production which should be analyzed and presented in the future.

Keywords : mevastatin, cassava, surfactant, *Monascus* sp.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากผู้จัดทำได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลผู้มีพระคุณหลายท่าน ดังนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ อาจารย์ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างดำเนินการ ให้คำปรึกษาอย่างใกล้ชิด และเสนอแนะแนวทางแก้ปัญหา รวมทั้งตรวจแก้โครงการพิเศษฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พุกษ์ ประธานกรรมการสอบปริญญานิพนธ์ ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี และผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ กรรมการสอบปริญญานิพนธ์ ซึ่งตรวจสอบและให้คำแนะนำ ชี้แนะในการแก้ไขโครงการพิเศษให้มีความเรียบร้อย และสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความร่วมมืออำนวยความสะดวก ในการทำโครงการพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณนางสาวภริตา ทองสุขนอก และพี่ๆ นักศึกษาปริญญานิพนธ์ และปริญญานิพนธ์ทุกท่าน ที่ให้คำปรึกษา และคำแนะนำตลอดมา รวมถึงให้ความช่วยเหลือในการทดลอง อีกทั้งให้ยืมอุปกรณ์ และสารเคมีต่างๆ ในการทดลอง และให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน ในการทำวิจัย นอกจากนี้ ขอขอบคุณเพื่อนๆ ในห้องปฏิบัติการโครงการพิเศษทุกคนที่เป็นกำลังใจ และให้ความช่วยเหลือในการทำโครงการพิเศษเรื่องนี้

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และบุคคลในครอบครัว ซึ่งเปิดโอกาสให้ได้รับการศึกษาเล่าเรียน ที่ให้ความช่วยเหลือ และกำลังใจตลอดในการทำโครงการพิเศษจนได้รับความสำเร็จครั้งนี้

จันจิรา มิคำ

ตัสนิม คุมานนท์

นัทชา อาดัม

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ซ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ลิขิต.....	4
2.2 ไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride).....	4
2.3 ฟอสโฟลิพิด (phospholipids).....	5
2.4 คอเลสเตอรอล.....	7
2.4.1 การสังเคราะห์คอเลสเตอรอล.....	8
2.4.2 คอเลสเตอรอลที่อยู่ภายในร่างกาย.....	9
2.4.3 หน้าที่สำคัญของคอเลสเตอรอลในร่างกาย.....	9
2.4.4 ชนิดของคอเลสเตอรอลในเลือด.....	10
2.5 โรคไขมันในเลือดสูง (Dyslipidemia).....	11
2.5.1 สาเหตุของคอเลสเตอรอลสูงในเลือด.....	11
2.5.2 วิธีตรวจเช็คคอเลสเตอรอลสูงในเลือด.....	12
2.5.3 ผลเสียของการมีคอเลสเตอรอลสูงในเลือด.....	13
2.6 โรคหลอดเลือดหัวใจ.....	14
2.6.1 ปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ.....	15
2.6.2 อาการโรคหลอดเลือดหัวใจ.....	15
2.6.3 วิธีการช่วยลดอัตราการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด.....	15
2.7 สเตติน.....	16
2.8 เมวาสเตติน.....	21

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.9 เอนไซม์ HMG-CoA reductase	22
2.10 เชื้อรา <i>Monascus</i> sp.....	23
2.10.1 ลักษณะของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp.	24
2.10.2 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp.....	25
2.10.3 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp.....	25
2.10.4 สายพันธุ์ของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp.	27
2.10.5 สารเมแทบอไลต์ที่เป็นประโยชน์จากเชื้อรา <i>Monascus</i> sp.....	28
2.10.6 การเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus</i> sp.....	29
2.11 มันสำปะหลัง.....	30
2.11.1 ต้นกำเนิดของมันสำปะหลัง.....	30
2.11.2 ลักษณะของมันสำปะหลัง	31
2.11.3 ชนิดและพันธุ์ของมันสำปะหลัง	32
2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	32
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	35
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	35
3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	35
3.3 เชื้อจุลินทรีย์.....	35
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	36
3.5 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp.....	36
3.6 การเตรียมหัวเชื้อ.....	36
3.7 การเตรียมวัสดุหมัก	36
3.8 กระบวนการเลี้ยงเชื้อ.....	37
3.8.1 การศึกษาผลกระทบของปริมาณสารลดแรงตึงผิว (Tween 80) ต่อการผลิตเมวาสเตดินจากเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6.....	37
3.8.2 การศึกษาผลกระทบของอัตราการใช้ (รอบต่อนาที) ต่อการผลิต สารเมวาสเตดินจากเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6	37
3.9 การเก็บตัวอย่าง	37
3.10 การวิเคราะห์ผลการทดลอง.....	38

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.10.1 วิเคราะห์การเจริญของเชื้อรา.....	38
3.10.2 วิเคราะห์สารเมवासเตติน ด้วยเครื่องแยกสารในสถานะ ของเหลวที่มีประสิทธิภาพสูง (High Performance Liquid Chromatography).....	38
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	39
4.1 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6	39
4.2 ศึกษาผลกระทบของปริมาณสารลดแรงตึงผิว (Tween 80) ต่อการผลิตเมวาสเตติน จากเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6	41
4.3 ศึกษาผลกระทบของอัตราการเขย่า (รอบต่อนาที) ต่อการผลิตสารเมวาสเตตินจากเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6	45
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	51
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	51
5.2 ข้อเสนอแนะ	51
เอกสารอ้างอิง	53
ภาคผนวก.....	57
ภาคผนวก ก.....	58
ภาคผนวก ข	61
ภาคผนวก ค.....	66

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ปริมาณของคอเลสเตอรอลในอาหารบางชนิด	12
2.2 ลักษณะโครงสร้าง และสูตรเคมีของยากลุ่มสเตติน	17
2.3 ผลข้างเคียงของยากลุ่มสเตติน	20
2.4 สายพันธุ์ของเชื้อรา <i>Monascus</i>	28
2.5 กิจกรรมเอนไซม์ที่แตกต่างกันของเชื้อรา <i>Monascus</i> สายพันธุ์ต่างๆ	28
2.6 สารเมแทบอลิท์ที่มีประโยชน์จากเชื้อรา <i>Monascus</i> sp.	29
2.7 ส่วนประกอบหลักในหัวมันสำปะหลัง	31
4.1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. สายพันธุ์ SS14, 6M, C2M6 และลักษณะเส้นใยของเชื้อราที่ส่องภายในกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยายภาพ 400 เท่า	40
4.2 ปริมาณสารเมวาสเตตินจากเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6	41
4.3 การผลิตเมวาสเตตินจากเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 โดยการให้อัตราการเขย่า 3 ระยะ เปรียบเทียบกับ การให้อัตราการเขย่า 1 ระยะ	45

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างส่วนประกอบของฟอสโฟลิพิด.....	5
2.2 โครงสร้างของ Phosphatidyl choline.....	6
2.3 โครงสร้างของ Phosphatidyl ethanolamine.....	6
2.4 โครงสร้างของ Phosphatidyl inositol.....	6
2.5 โครงสร้างของ Phosphatidyl serine	7
2.6 โครงสร้างของ Diposphatidyl glycerol	7
2.7 ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของคอเลสเตอรอล	8
2.8 กระบวนการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล (Cholesterol biosynthesis).....	9
2.9 ลักษณะภายในหลอดเลือดที่ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจตีบตัน	11
2.10 ลักษณะการเกิดอาการจากโรคหัวใจขาดเลือด.....	14
2.11 วิถีเมวาโลเนต (mevalonate pathway).....	22
2.12 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. บนอาหารแข็ง.....	24
2.13 ลักษณะแอสโคคาร์ปของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp.	26
2.14 วงจรชีวิตของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp.	26
2.15 ลักษณะของ แอสโคคาร์ป ชนิดต่างๆในกลุ่ม (Class) <i>Ascomycetes</i> Apothecium (a), Cleistothecium (b) Perithecium (c), Pseudothecium (d)	27
4.1 การผลิตเมวาสเตดินจากเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. SS14 (a), <i>Monascus</i> sp. 6M (b) และ <i>Monascus</i> sp. C2M6 (c)เมื่อเจริญในอาหารเหลวที่ไขมันสำปะหลัง 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอนและแปรรูปสารลดแรงตึงผิว (tween 80) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาตร 0 mL/L (ควบคุม)(○) 1.0 mL/L (●) 5.0 mL/L (□) 10.0 mL/L (■) และ 20.0 mL/L (▲) ตามลำดับ.....	42
4.2 เปรียบเทียบการเจริญ (▣) การสร้างสารเมวาสเตดิน (▢) และความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส (■) ในอาหารเหลว ที่ไขมันสำปะหลัง 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน ของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. SS14 เติม 5 mL/L ของ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (a) <i>Monascus</i> sp. SS14 เติมน้ำตาลกลูโคส 20 mL/L ของ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (b) <i>Monascus</i> sp. 6M เติมน้ำตาลกลูโคส 10 mL/L ของ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (c) <i>Monascus</i> sp. 6M ไม่เติมน้ำตาลกลูโคส (d) <i>Monascus</i> sp. C2M6 เติมน้ำตาลกลูโคส 5 mL/L ของ tween 80	

- ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (e) *Monascus* sp. C2M6 เติม 20 mL/L ของ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (f)..... 44
- 4.3 อัตราการเขย่า 1 ระยะ (200 รอบต่อนาทีตลอดการเลี้ยงเชื้อ) และ อัตราการเขย่า 3 ระยะ คือ ระยะเริ่มต้นการเจริญ (วันที่ 0-3) จะให้อัตราการเขย่าที่ 150 รอบต่อ นาที ระยะระหว่างการเจริญ (วันที่ 4-7) ให้อัตราการเขย่า 250 รอบต่อ นาที และ ระยะการสร้างผลิตภัณฑ์ (วันที่ 8-21) ให้อัตราการเขย่าที่ 200 รอบต่อ นาที..... 45
- 4.4 การผลิตเมวาสเตดินจากเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14 (—□—) *Monascus* sp. สายพันธุ์ 6M (—■—) และ *Monascus* sp. สายพันธุ์ C2M6 (···□···) เลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว ที่ไขมันสำปะหลัง 20 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งคาร์บอน โดยการให้อัตราการเขย่า 3 ระยะ ที่ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5, 10 และ 0 mL/L ตามลำดับ..... 46
- 4.5 เปรียบเทียบการเจริญ (☐) การสร้างสารเมวาสเตดิน (▣) และความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส (■) ในอาหารเหลว ที่ไขมันสำปะหลัง 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน ของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 (a) *Monascus* sp. 6M (b) *Monascus* sp. C2M6 (c) โดยการให้อัตราการเขย่า 3 ระยะ ที่ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5, 10 และ 0 mL/L ตามลำดับ 48
- 4.6 เปรียบเทียบค่าพีเอช (a), สารสี (b), ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส (c) และความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด (d) ของเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14 (—□—) *Monascus* sp. สายพันธุ์ 6M (—■—) และ *Monascus* sp. สายพันธุ์ C2M6 (···□···) เลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวที่ใช้ ไขมันสำปะหลัง 20 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งคาร์บอน โดยการให้อัตราการเขย่า 3 ระยะ ที่ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5, 10 และ 0 mL/L ตามลำดับ 50

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคหัวใจและหลอดเลือดถือเป็น 1 ใน 3 ของสาเหตุการเสียชีวิต เช่นเดียวกับการเกิดอุบัติเหตุและ โรคมะเร็ง ซึ่งพบว่า ผู้ที่อายุเกิน 40 ปี จะมีความเสี่ยงเพิ่มขึ้น 50 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุที่สำคัญของโรคนี้เกิดจาก ภาวะหลอดเลือดแดงแข็งและตีบตัน หากเกิดบริเวณหลอดเลือดหัวใจ ส่งผลให้กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด หรือ กล้ามเนื้อหัวใจตายอย่างเฉียบพลัน หากเกิดบริเวณหลอดเลือดสมอง ส่งผลให้เกิดอาการอัมพฤกษ์ อัมพาต หรือหากเกิดบริเวณหลอดเลือดแดงส่วนปลาย ส่งผลให้อวัยวะต่างๆ ขาดเลือดได้ต้นเหตุแห่งการตีบตันของหลอดเลือดแดงมีหลายปัจจัย ได้แก่ การสูบบุหรี่ ภาวะอินซูลินสูงเรื้อรัง ขาดการออกกำลังกาย ขาดสารต้านอนุมูลอิสระ ไขมันในเลือดสูงหรือคอเลสเตอรอลสูง โดยปกติภายในหลอดเลือดแดงจะมีผิวเรียบลื่นสม่ำเสมอ แต่เมื่อมีคอเลสเตอรอลสูง จะเกิดการจับและพอกหนาเป็นตะกรันไขมันที่ผนังหลอดเลือด การสะสมของตะกรันไขมันจึงเป็นสาเหตุให้หลอดเลือดค่อยๆ ตีบลง ดังนั้นหัวใจจึงต้องทำงานหนักขึ้นเพื่อดันให้เลือดเคลื่อนที่ผ่านไปได้ ตะกรันไขมันสามารถขวางกั้นระบบไหลเวียนเลือดในหลอดเลือดใหญ่ที่ไปเลี้ยงหัวใจหรือสมองทำให้อวัยวะขาดเลือด เกิดกล้ามเนื้อหัวใจวาย หรือหลอดเลือดในสมองตีบได้

คอเลสเตอรอล เป็นสารที่เรียกว่า ลิโปโปรตีน ประมาณ 60-70 เปอร์เซ็นต์ จะถูกสร้างขึ้นที่ตับ อีก 30-40 เปอร์เซ็นต์ จะได้รับจากการรับประทานอาหารที่มีไขมัน และ คอเลสเตอรอลสูง หากมีคอเลสเตอรอลมากเกินไป จะเกิดการสะสมตามผนังหลอดเลือด ทำให้หลอดเลือดแข็งตัว คอเลสเตอรอลในร่างกายมีทั้งชนิดที่ก่อให้เกิดประโยชน์ (high density lipoprotein cholesterol : HDL) และชนิดที่ก่อให้เกิดโทษ (low density lipoprotein cholesterol : LDL) การมีไขมันชนิด LDL ไม่เพียงพอ จะส่งผลให้ผนังหลอดเลือดบางลง การผลิตฮอร์โมนต่างๆลดลง แต่หากมีมากเกินไป จะเกิดการสะสมตามผนังหลอดเลือดแดง ทำให้หลอดเลือดแดงแข็งตัวมากขึ้นเรื่อยๆ ส่งผลกระทบที่ร้ายแรงต่ออวัยวะต่างๆ เช่น สมอง (อัมพาต) หัวใจ (โรคหัวใจขาดเลือด) ไต (ไตวาย) เป็นต้น ส่วนไขมันชนิด HDL ทำหน้าที่นำคอเลสเตอรอลส่วนเกิน และ ไขมันที่สะสมตามผนังหลอดเลือดกลับไปยังตับขับออกทางน้ำดีลงสู่ลำไส้ และขับถ่ายออกนอกร่างกายทางอุจจาระ ผู้ที่มีไขมัน HDL ต่ำจึงเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด จากการศึกษาพบว่า เมวาสเตติน (mevastatin) มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ออกฤทธิ์และสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในตับ จึงเหมาะสำหรับกลุ่มผู้มีภาวะคอเลสเตอรอลสูง อีกทั้งการใช้สารเมวาสเตตินยังส่งผลดีต่อดัชนี (ไม่เกิดการสะสมในตับ) เนื่องจากการทำงาน

ต่างจากยาลดไขมันทั่วไป ยาลดไขมันทั่วไปนั้นจะกักเก็บไขมันบริเวณตับไม่ให้ถูกปล่อยสู่กระแสเลือด ส่งผลให้เกิดปัญหาไขมันพอกตับ และ เกิดอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรง โดยพบว่า ยากลุ่มสแตตินออกฤทธิ์โดยการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งควบคุมการสร้างคอเลสเตอรอลในร่างกาย ทำให้การสร้างคอเลสเตอรอลหยุดชะงักลง ยากลุ่มสแตตินยังเพิ่มขีดความสามารถของร่างกายในการขจัดไขมันชนิด LDL จากกระแสเลือด และนำกลับไปสู่ตับ ซึ่งตับจะทำให้ไขมันชนิด LDL แตกตัวเล็กลง และจะถูกขจัดออกจากร่างกายได้ในที่สุด

เมवासเตติน เป็นยาลดไขมันในเส้นเลือดชนิดหนึ่งที่อยู่ในกลุ่มสแตติน แยกได้ครั้งแรกจาก *Penicillium citrinum* โดย Akira Endo ในปี 1970 เป็นกลุ่มสแตตินที่มีคุณสมบัติออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase จัดเป็นหนึ่งในสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่ผลิตได้จากเชื้อรา *Monascus* จึงมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเภสัชกรรมอย่างกว้างขวาง เนื่องจากในระหว่างการศึกษาของเชื้อรานี้ มีการสร้างสารทุติยภูมิหลายชนิดที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เป็นสารออกฤทธิ์ที่น่าสนใจ มีคุณค่าทางโภชนาการ ใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ หรือแม้กระทั่งใช้เป็นยารักษาโรค และมีศักยภาพเชิงพาณิชย์ นอกจากนี้สามารถสร้างสารสีแดง ส้ม เหลือง ซึ่งเป็นสีที่เกิดจากธรรมชาติ ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และสภาวะในการเลี้ยงเชื้อ จากหลายงานวิจัยพบว่า เชื้อรา *Monascus* ให้ผลผลิตเป็นเมवासเตตินสูง ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเมवासเตตินจาก *Monascus* sp. สายพันธุ์ดั้งเดิม และสายพันธุ์กลาย โดยใช้มันสำปะหลังเส้นเป็นวัตถุดิบในการเลี้ยงแบบอาหารเหลว เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเมवासเตติน ที่ใช้เป็นยาสำหรับลดคอเลสเตอรอล และนำไปสู่การรักษาโรคหัวใจและหลอดเลือดในที่สุด

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการผลิตสารเมวาสเตตินจากเชื้อรา *Monascus* sp. โดยการเลี้ยงในอาหารเหลว และไขมันสำปะหลังเส้นเป็นแหล่งคาร์บอน
2. เพื่อศึกษาบทบาทของสารลดแรงตึงผิว (tween 80) ต่อการผลิตสารเมวาสเตตินจากเชื้อรา *Monascus* sp.
3. เพื่อศึกษาถึงอัตราการเขย่าที่เหมาะสม (รอบต่อนาที) ต่อการผลิตสารเมวาสเตตินจากเชื้อรา *Monascus* sp.

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาข้อมูลการผลิตสารเมวาสเตตินจากเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ดั้งเดิม และสายพันธุ์กลาย โดยเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่ไขมันสำปะหลังเส้น (cassava chip) เป็นแหล่งคาร์บอน ร่วมกับการแปรผันความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว (tween 80) และอัตราการเขย่า (รอบต่อนาที) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารเมวาสเตติน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อทราบถึงประสิทธิภาพของการใช้ไขมันสำปะหลังเส้นเป็นแหล่งคาร์บอนในด้านการเจริญ และการผลิตสารเมวาสเตตินจากเชื้อรา *Monascus* sp.
2. เพื่อทราบถึงความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมต่อการผลิตสารเมวาสเตตินจากเชื้อรา *Monascus* sp. โดยการเลี้ยงในอาหารเหลว
3. ทราบถึงอัตราการเขย่าที่เหมาะสมต่อการผลิตสารเมวาสเตตินของเชื้อรา *Monascus* sp.

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลิพิด (Lipid) (มนตรี และคณะ, 2530)

ไขมันหรือลิพิด เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ได้จากสิ่งมีชีวิต มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น Chloroform, Benzene, Ether เป็นต้น ลิพิดทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของเนื้อเยื่อเซลล์ เป็นสารสะสมพลังงาน และหน้าที่อื่นๆที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิต วิตามินที่ละลายในไขมัน คือ วิตามิน A D E และ K และฮอร์โมนบางประเภท เช่น Prostaglandin และ Steroid ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของลิพิด ลิพิดบางชนิดรวมตัวอยู่กับโปรตีน เช่น Lipoprotein Blood plasma ซึ่งทำหน้าที่ขนส่งลิพิดไปยังส่วนต่างๆของร่างกายผ่านทางกระแสเลือด ลิพิดบางชนิดมีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบ เช่น Glycolipid

ประเภทของลิพิด (อุษณีย์, 2547) (ประดิษฐ์, 2547)

จำแนกตามองค์ประกอบในโครงสร้างได้ 2 ประเภท คือ

1. ลิพิดที่มีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบ เช่น Monoglyceride, Diglyceride, Triglyceride, Glycerophospholipid, Glycosphingolipids
2. ลิพิดที่ประกอบจาก isoprene unit เช่น Cholesterol, Sterol, Steroid, สารประกอบ Terpenes

จำแนกตามผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ได้ 4 ประเภทใหญ่ๆ คือ

1. ไขมันอย่างง่าย คือ พวงสารประกอบเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ ได้แก่ Glyceride และ Wax
2. ไขมันประกอบ คือ ประกอบด้วยไขมันอย่างง่ายรวมกับสารประกอบตัวอื่น ได้แก่ Phospholipid, Glycolipid, Lipoproteine
3. อนุพันธ์ของไขมัน คือ อนุพันธ์ต่างๆที่เกิดจากการสลายตัวของไขมันอย่างง่าย หรือ ไขมันประกอบ ได้แก่ Fatty acid, Glycerol, Alcohol เป็นต้น
4. ไขมันเบ็ดเตล็ด คือ สารอื่นในธรรมชาติที่มีสมบัติคล้ายลิพิด และ ละลายในตัวทำละลายลิพิด ได้แก่ Steroid และ Terpenes

2.2 ไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) (วันทนี, 2548)

ร่างกายสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ขึ้นในตับ ซึ่งเป็นโมเลกุลไขมันชนิดหนึ่ง มีขนาดเบาบางและเล็กมาก แต่ไขมันชนิดนี้สามารถเพิ่มขึ้นได้จากอาหารที่เรากินเข้าไป อาหารประเภทไขมันโดยส่วนใหญ่จะมีไขมันไตรกลีเซอไรด์ ไม่ว่าจะเป็นน้ำมันพืช ไขมันสัตว์ หรือไขมันที่ซ่อนอยู่ในเนื้อ นม เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรืออาหารอื่นๆ เมื่อเรากินเข้าไป ร่างกายจะดูดซึมแล้วก็ขนส่งไตรกลีเซอไรด์ผ่านเลือดส่งไปยังเซลล์ต่างๆ ที่ต้องการพลังงาน ไตรกลีเซอไรด์ส่วนเกินจะถูกส่งไปเก็บไว้ที่เนื้อเยื่อไขมัน (body fat) แล้วพอกพูนตามส่วนต่างๆ ของร่างกายจนร่างกายอ้วนขึ้น

ปกติร่างกายขจัดไตรกลีเซอไรด์ออกจากเลือดได้ภายใน 2-3 ชั่วโมงหลังจากการกินอาหาร คนทั่วไปจะมีไขมันไตรกลีเซอไรด์ในเลือดประมาณ 50-150 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร แต่ถ้าตรวจเลือดหลังอดอาหารมาแล้ว 8-12 ชั่วโมง พบว่าไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกว่า 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ขึ้นไป แสดงว่าร่างกายมีปัญหาในการขจัดไตรกลีเซอไรด์

การสะสมของไตรกลีเซอไรด์ในกระแสเลือดที่มากผิดปกติ มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจขาดเลือด อัมพฤกษ์ อัมพาต เช่นเดียวกับการมีคอเลสเตอรอลในเลือดสูง เพราะหากมีปริมาณสูงจะส่งผลให้เลือดข้นเหนียวขึ้น เกิดการจับตัวกันเป็นลิ่มและอุดตันหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของร่างกายโดยเฉพาะที่หัวใจและสมอง ถ้ามีภาวะไตรกลีเซอไรด์สูงเป็นเวลานาน จะส่งผลให้ระดับ HDL ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลที่ดีในเลือดลดต่ำลง

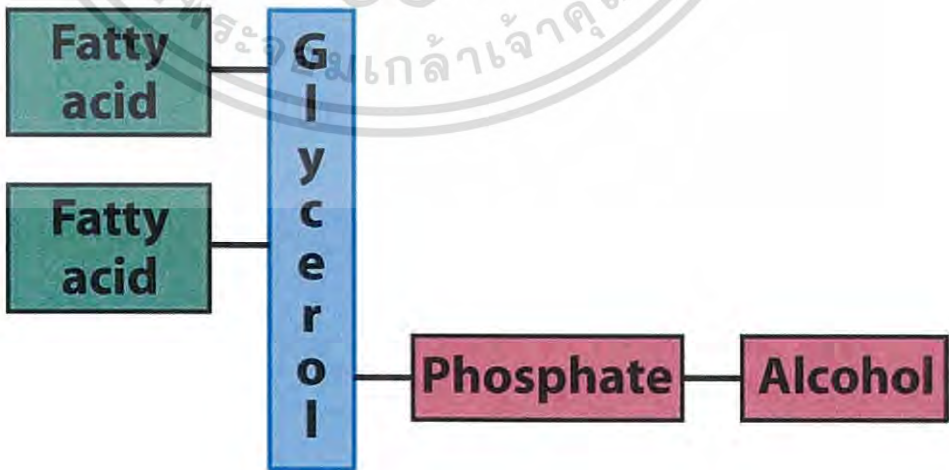
2.3 ฟอสโฟลิพิด (Phospholipids) (Berg และคณะ, 2002)

ฟอสโฟลิพิด เป็นโมเลกุลที่เกิดจาก 4 ส่วนประกอบ คือ กรดไขมัน ประจุลบของฟอสเฟต กรุป แอลกอฮอล์ และส่วนที่เป็นแกนกลาง (backbone) ดังแสดงในรูปที่ 2.1

ฟอสโฟลิพิดที่มีแกนกลางเป็น Glycerol เรียกว่า glycerophospholipid หรือ Phosphoglycerides

ฟอสโฟลิพิดที่มีแกนกลางเป็น sphingosine เรียกว่า sphingomyelin

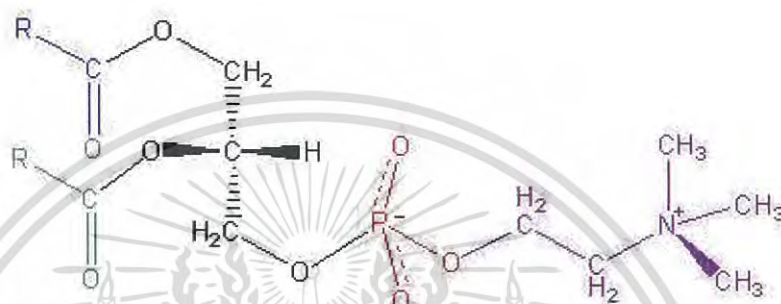
ฟอสโฟลิพิดเป็นส่วนประกอบหลักของเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งก็คือ ไกลโคลิพิด และ คอเลสเตอรอล



รูปที่ 2.1 โครงสร้างส่วนประกอบของฟอสโฟลิพิด

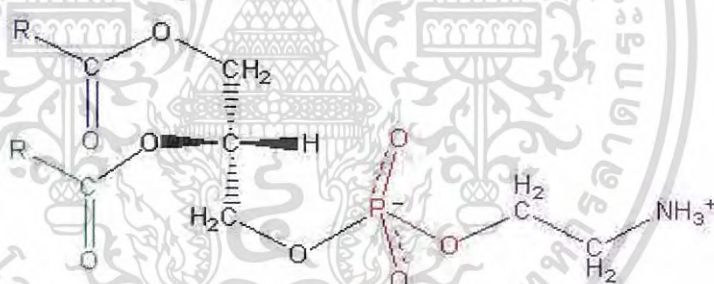
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเท่านั้น : Berg และคณะ (2002) ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟอสโฟลิเซอไรด์ หมู่ -OH หมู่ที่ 3 ของกลีเซอรอล จะมีพันธะเอสเทอร์กับกรดฟอสฟอริก ซึ่งส่วนใหญ่จะต่อกับแอลกอฮอล์ชนิดอื่นๆ ส่วนชนิดที่ไม่มีหมู่แอลกอฮอล์ คือ Phosphatidic acid พบเพียงเล็กน้อยในเซลล์ (มนตรี และคณะ, 2530) ทำหน้าที่เป็นสารตัวกลางในการสังเคราะห์ ฟอสโฟลิเซอไรด์อื่นๆ ส่วนใหญ่จะพบเป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อเซลล์ เช่น Phosphatidyl choline, Phosphatidyl ethanolamine, Phosphatidyl inositol, Phosphatidyl serine, diphosphatidyl glycerol ดังแสดงในรูปที่ 2.2 – 2.6



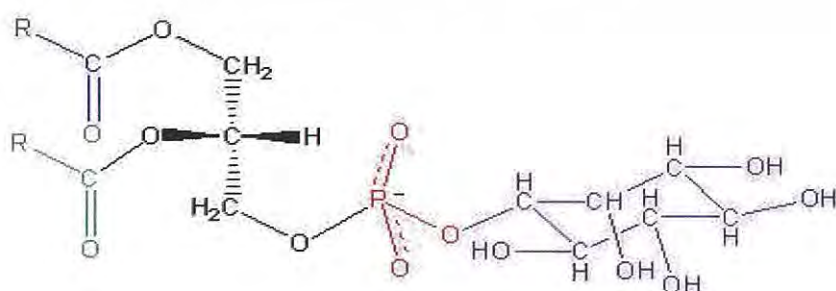
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของ Phosphatidyl choline

ที่มา : Berg และคณะ (2002)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของ Phosphatidyl ethanolamine

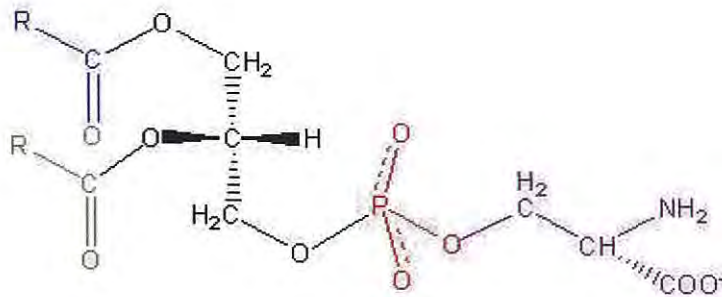
ที่มา : Berg และคณะ (2002)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของ Phosphatidyl inositol

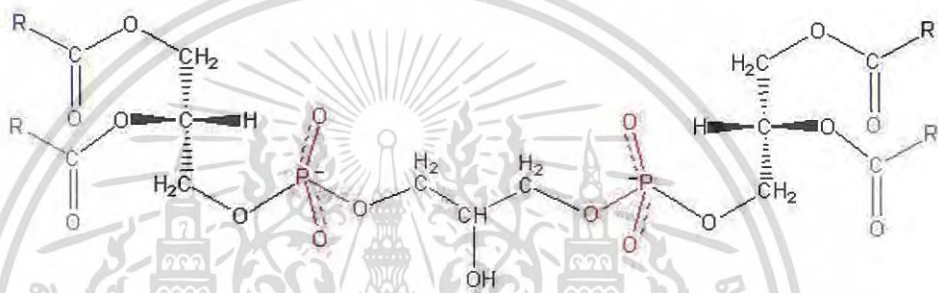
ที่มา : Berg และคณะ (2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในห้องสมุดเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 โครงสร้างของ Phosphatidyl serine

ที่มา : Berg และคณะ (2002)



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของ Diphosphatidyl glycerol

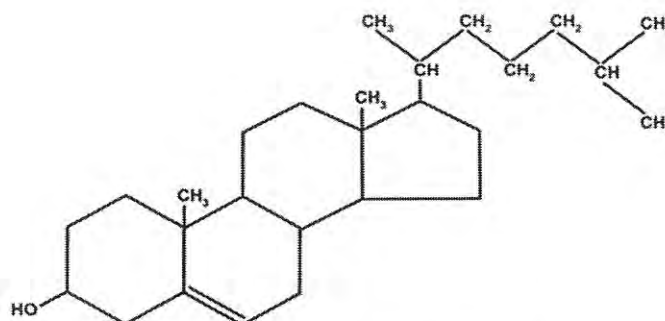
ที่มา : Berg และคณะ (2002)

2.4 คอเลสเตอรอล (Dinh และ Thompson, 2015)

คอเลสเตอรอลมีขนาดเล็ก ประกอบด้วยโครงสร้างวงแหวน 4 วง ที่เรียงตัวต่อกันอย่างซับซ้อน ดังแสดงในรูปที่ 2.7 มีบทบาททางชีวภาพที่สำคัญสำหรับเป็นเยื่อหุ้มเซลล์ยูคาริโอต (eukaryotic) แม้ว่าคอเลสเตอรอลเป็นสารตั้งต้นของฮอร์โมนที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโต การพัฒนา และการสืบพันธุ์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่ผลกระทบของคอเลสเตอรอลในเลือดก็ร้ายแรงมากเช่นกัน แหล่งที่มาหลักของคอเลสเตอรอลได้แก่

- 1) การได้รับสารอาหารจำพวก เนื้อสัตว์ สัตว์ปีก ไข่ นม อาหารทะเล
- 2) การสร้างในร่างกาย

กระบวนการทำอาหารส่วนใหญ่ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคอเลสเตอรอล เนื่องจากเกิดการสูญเสียความชื้นและเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ผลิตภัณฑ์ที่เกิดการออกซิเดชันของคอเลสเตอรอล แม้ว่าจะเกิดขึ้นในระยะเวลาสั้นๆ แต่เมื่อเทียบกับจำนวนคอเลสเตอรอลที่เกิดขึ้น อาจก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพอย่างมาก



The structure of Cholesterol

This figure copyright 2009, Steve Blake

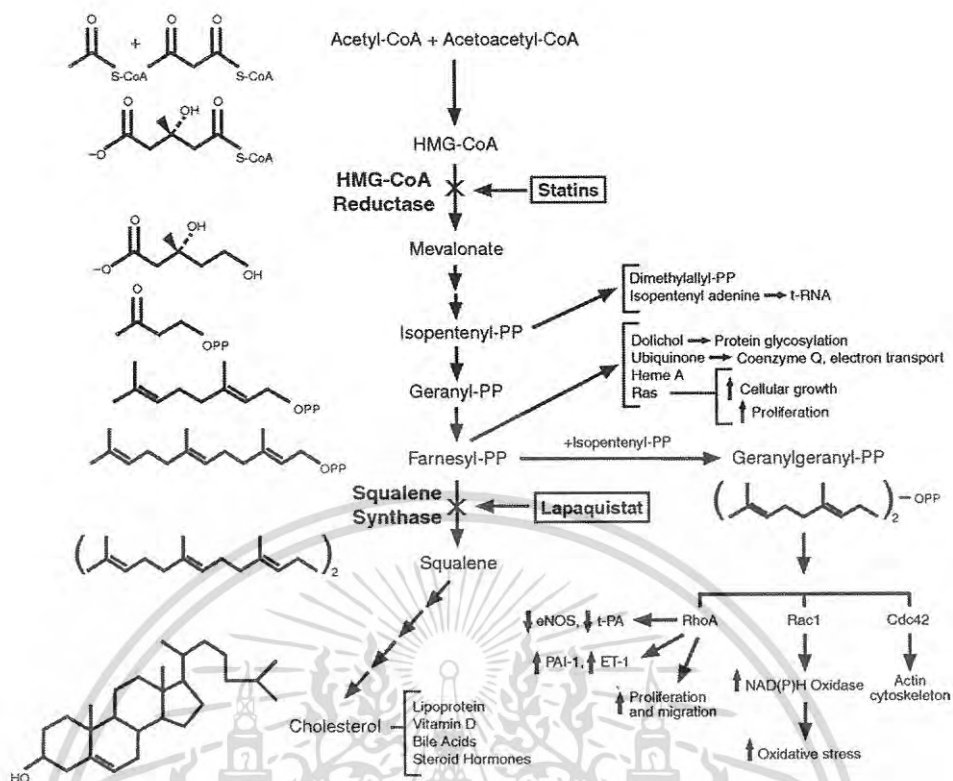
รูปที่ 2.7 ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของคอเลสเตอรอล
ที่มา : Blake (2010)

คอเลสเตอรอลเป็นโมเลกุลทางชีวภาพที่สำคัญมาก เป็นองค์ประกอบพื้นฐานของเยื่อหุ้มเซลล์ และเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการผลิต กรดน้ำดี สเตียรอยด์ ฮอโมน และวิตามินดี การขนส่งคอเลสเตอรอลที่ไปยังเซลล์ต่างๆ เป็นกลไกในร่างกายที่ซับซ้อนและมีความสำคัญทางการแพทย์ ในขณะที่ยาของคอเลสเตอรอลทางสรีรวิทยาของมนุษย์และพยาธิวิทยา ยังมีการศึกษาอย่างต่อเนื่องเพื่อสร้างความเข้าใจของกลไกการทำงานเหล่านี้มากขึ้น และเข้าถึงโรคที่เกี่ยวข้องกับคอเลสเตอรอลเพื่อหาวิธีการรักษาอย่างถูกต้อง (Sitaula และ Burris, 2015)

2.4.1 การสังเคราะห์คอเลสเตอรอล (ศุภศิษฐ์, 2552)

คอเลสเตอรอลจะพบได้ในสัตว์เท่านั้น โดยจะพบในเซลล์ทุกเซลล์โดยเฉพาะสมองและประสาท การสร้างคอเลสเตอรอลส่วนใหญ่ เกิดขึ้นในตับ และเซลล์อื่นๆเช่น ผิวหนัง หลอดเลือดแดงใหญ่ และลำไส้ โดยปฏิกิริยาเริ่มจาก acetyl CoA จำนวน 3 โมเลกุลรวมกัน เป็น 3-Hydroxyl-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) และเปลี่ยนเป็น L-mevalonic acid โดยเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เป็นจุดที่ควบคุมอัตราเร็วของการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล ต่อจากนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงอีกหลายปฏิกิริยาจนได้เป็นคอเลสเตอรอลในที่สุด

การทำความเข้าใจวิธีการสังเคราะห์ คอเลสเตอรอล นำมาใช้ในการควบคุมเพื่อให้เกิดภาวะสมดุลของอวัยวะต่างๆ และเป็นพื้นฐานของการรักษาโดยเฉพาะยากลุ่มสเตติน ที่มีความจำเพาะกับเอนไซม์ HMG-CoA reductase (Brown and Sharpe, 2015) ดังแสดงในภาพที่ 2.8



รูปที่ 2.8 กระบวนการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล (Cholesterol biosynthesis)
ที่มา : Liao (2011)

2.4.2 คอเลสเตอรอลที่อยู่ภายในร่างกาย (วิชัย, 2531)

ปริมาณคอเลสเตอรอล มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นหรือลดลง เป็นผลมาจากปัจจัย 2 ประการ ได้แก่

1. การรับประทานอาหาร ได้แก่ อาหารที่มาจากสัตว์ต่าง ๆ โดยเฉพาะอาหารพวกเครื่องในสัตว์ ไข่แดง สัตว์ที่มีกระดูกหรือเปลือก เช่น ปู กุ้ง หอย เป็นต้น จะมีคอเลสเตอรอลมาก ส่วนอาหารที่มาจากพืชนั้นจะไม่มีคอเลสเตอรอล
2. เมแทบอลิซึมในร่างกาย โดยร่างกายคนเราสามารถสร้างคอเลสเตอรอลขึ้นเองได้จากการเผาผลาญอาหาร ประเภทคาร์โบไฮเดรต โปรตีน หรือไขมัน โดยมีตับและลำไส้เป็นอวัยวะสำคัญ

2.4.3 หน้าที่สำคัญของคอเลสเตอรอลในร่างกาย (วิชัย, 2531)

1. เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ ซึ่งเป็นหน่วยที่เล็กที่สุดของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะเซลล์ของระบบประสาท จะมีคอเลสเตอรอลอยู่มาก

2. นำไปสร้างฮอร์โมนเพศ จำพวกเอสโตรเจน (estrogen) แอนโดรเจน (androgen) และ โปรเจสเตอโรน (progesterone) ตลอดจนฮอร์โมนของต่อมหมวกไตเกือบทุกชนิด เช่น สเตียรอยด์ ก็ล้วนแล้วแต่มีแหล่งกำเนิดจากคอเลสเตอรอล

3. เมื่อคอเลสเตอรอลถูกเผาผลาญโดยตับภายในร่างกายแล้ว จะมีเกลือน้ำดี ซึ่งมีความสำคัญต่อการดูดซึมไขมันในอาหารภายในลำไส้

4. ผิวหนังของคนเรา มีสารจำพวกคอเลสเตอรอล เมื่อถูกแสงอัลตราไวโอเลต (ultraviolet) จะเปลี่ยนเป็นวิตามิน ดี ได้

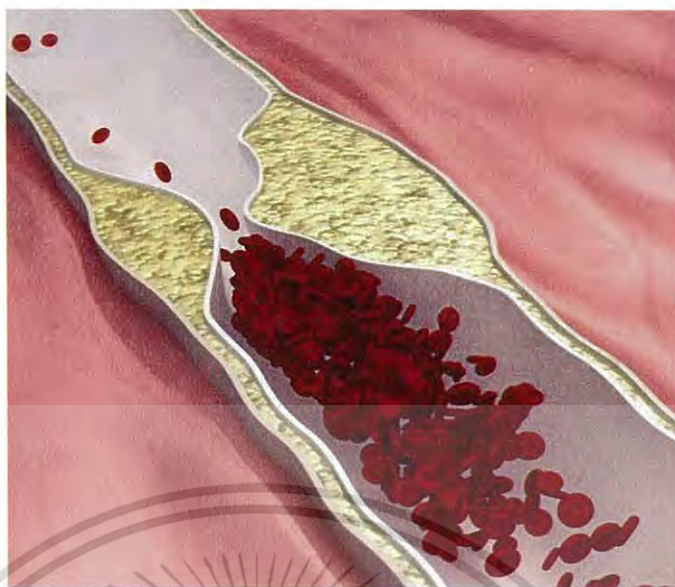
2.4.4 ชนิดของคอเลสเตอรอลในเลือด (วิชัย, 2531)

การขนส่งคอเลสเตอรอลในร่างกายจะอยู่ในสภาพของลิโปโปรตีนที่สำคัญมีอยู่ 3 ชนิด คือ VLDL (very low density lipoprotein) LDL (low density lipoprotein) และ HDL (high density lipoprotein) ซึ่งตับจะทำหน้าที่สร้างทั้ง VLDL และ HDL และปลดปล่อยเข้าสู่กระแสเลือด ส่วน LDL นั้น เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของ VLDL ในกระแสเลือด

ปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดที่ตรวจวัดได้นั้น เป็นผลรวมของคอเลสเตอรอลที่ได้มาจากลิโปโปรตีนทั้ง 3 ชนิด โดยในคนปกติ ค่าคอเลสเตอรอลที่วัดได้มาจาก VLDL ร้อยละ 13 LDL ร้อยละ 70 และ HDL ร้อยละ 17

1. HDL หรือชื่อเต็มว่า HDL- Cholesterol เป็นไขมันที่ร่างกายสร้างขึ้นเอง ไม่สามารถทานอาหารเพื่อเพิ่ม HDL ในเลือดให้สูงขึ้นได้ ดังนั้นจึงไม่มีอาหารเสริมที่ทานแล้วสามารถเพิ่มไขมัน HDL โดยหน้าที่ของ HDL คือไปนำเอาคอเลสเตอรอลส่วนเกินที่ร่างกายใช้ไม่หมด ไปสะสมตามอวัยวะต่างๆ และผ่านหลอดเลือดแดงไปที่ตับ จากนั้นจะขับออกมาในรูปของ น้ำดี ลงสู่ลำไส้ และออกจากร่างกายทางอุจจาระ การมี HDL มาก จึงช่วยป้องกันไม่ให้มี LDL - Cholesterol มากเกินไปจนเกิดการสะสมในหลอดเลือด (สมเกียรติ, 2552)

2. LDL หรือชื่อเต็มว่า LDL - Cholesterol ทำหน้าที่ขนส่ง คอเลสเตอรอลไปเก็บไว้ตามเซลล์ต่าง ๆ เพื่อนำไปผลิตฮอร์โมน หรือไปสร้างผนังเซลล์ สำหรับคอเลสเตอรอลส่วนที่เกินความต้องการ LDL จะนำไปเกาะไว้ตามผนังเส้นเลือดแดง และเมื่อมีการสะสมเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จะทำให้เส้นเลือดแดงตีบลง ในที่สุดจะเกิดการอุดตันของเส้นเลือดแดง ทำให้เซลล์บริเวณนั้นขาดเลือดไปหล่อเลี้ยงทำให้เซลล์ตาย จึงเรียก LDL ว่า คอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี ดังแสดงในรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 ลักษณะภายในหลอดเลือดที่ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจตีบตัน
ที่มา : Tassana (2558)

2.5 โรคไขมันในเลือดสูง (Dyslipidemia) (วิชัย, 2531)

โรคไขมันในเลือดสูง คือโรคที่มีระดับไขมันในเลือดสูงกว่าข้อมูลทางสถิติของระดับไขมันในเลือดของคนทั่วไป ซึ่งหากมีค่าเกินก็จะเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ และอาจลุกลามเป็นโรคหัวใจขาดเลือด หรือกล้ามเนื้อหัวใจตาย

โดยรวมโรคนี้นับเป็นชาติตะวันตกมากกว่าเอเชีย และพบในคนที่อาศัยในเขตเมืองมากกว่าในเขตชนบท แต่อย่างไรก็ตาม สำหรับประเทศไทย มีแนวโน้มที่โรคนี้จะพบมากขึ้นเรื่อย ๆ ซึ่งสาเหตุสำคัญมาจากการเปลี่ยนแปลงการดำเนินชีวิตและการบริโภค

2.5.1 สาเหตุของคอเลสเตอรอลสูงในเลือด

1. จากการกินอาหารไม่ถูกต้อง คือชอบทานอาหารที่มีคอเลสเตอรอลมาก และไขมันจากสัตว์มาก ๆ เป็นประจำ ตัวอย่างคอเลสเตอรอลในอาหารบางชนิดดังแสดงในตารางที่ 2.1
2. กรรมพันธุ์ ความผิดปกติในด้านกรรมพันธุ์ก็มีส่วนทำให้เกิดโรคคอเลสเตอรอลสูงในเลือดได้
3. โรคบางชนิด เช่น โรคไต โรคเบาหวาน โรคต่อมไทรอยด์ทำงานน้อย และโรคตับ เป็นต้น อาจทำให้เกิดคอเลสเตอรอลในเลือดสูงได้เช่นกัน

ตารางที่ 2.1 ปริมาณของคอเลสเตอรอลในอาหารบางชนิด

อาหาร	คอเลสเตอรอล
	มก./100 กรัม
เนื้อวัว (ไม่ติดมัน)	91
เนื้อหมู (ไม่ติดมัน)	89
เนื้อไก่	80
หอยแครง	50
หอยนางรม	> 200
เนื้อปู	101
เนื้อกุ้ง	150
ไข่	
ไข่ขาว	0
ไข่แดง	1480
ไข่ขาวและไข่แดง	504
ไข่ปลา	>300
ตับ วัว , ลูกแกะ , หมู	438
ตับไก่	746
ไต	375
ตับอ่อน	466
สมอง	>2000
เนยแข็ง	90- 113
เนยเหลว	250
ไอศกรีม (ไขมัน 10 %)	40
น้ำมันหมู	95
น้ำมัน	14
มาการีน (ไขมันจากพืช)	0

ที่มา : วิชัย (2531)

2.5.2 วิธีตรวจเช็คคอเลสเตอรอลสูงในเลือด (วิชัย, 2531)

ผู้ที่มีคอเลสเตอรอลสูงมาก ๆ คอเลสเตอรอลอาจมาพอกที่ผิวหนัง ทำให้เกิดเป็นปื้นเหลืองบริเวณผิวหนัง (xanthoma) ขึ้นตามข้อศอก ฝ่ามือ ตามเอ็นต่าง ๆ หรืออาจจะเกิดขึ้นบริเวณ

หนังตา และบริเวณข้อบนนอกกระดูกตาดำ ปกติตาดำจะเห็นเป็นสีดำซึ่งบริเวณข้อบนนอกของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการสงวนเพื่อการใช้งานเฉพาะเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในทางค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระจกตาของผู้ที่มีคอเลสเตอรอลสูงจะเห็นเป็นวงสีขาว เนื่องจากคอเลสเตอรอลมาจับอยู่บริเวณเนื้อเยื่อดังกล่าว แต่วิธีที่แน่นอนนั้นต้องเจาะเลือดตรวจเพื่อวัดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด เป็นวิธีเดียวที่จะวัดได้ และควรงดอาหารทุกชนิดก่อนการเจาะเลือด 12 ชั่วโมง หากกินยาบางชนิดต้องแจ้งให้แพทย์ทราบก่อน เพราะอาจต้องหยุดยาบางชนิดก่อนเจาะเลือด

หากมีค่าคอเลสเตอรอลในเลือดสูงกว่า 200 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร (มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์) ควรได้รับการตรวจเพื่อหาสาเหตุต่อไป เพราะบุคคลเหล่านี้มีโอกาสเป็นโรคหัวใจขาดเลือดสูงถึง 3-5 เท่าของคนที่มีระดับคอเลสเตอรอลในเลือดต่ำกว่านี้

การตรวจความผิดปกติของไขมัน โดยการเจาะเลือดส่งไปตรวจระดับไขมันในเลือด 3 ชนิด คือ คอเลสเตอรอลรวม ไตรกลีเซอไรด์ และ HDL- Cholesterol จากนั้นนำค่าไขมันทั้ง 3 ไปคำนวณหาค่า LDL- Cholesterol ถ้าค่าไตรกลีเซอไรด์ไม่สูงเกิน 400 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (mg/dL) สถานพยาบาลหรือห้องปฏิบัติการบางแห่งสามารถตรวจค่า LDL ได้โดยตรง (direct LDL-C) และไม่ต้องตรวจคอเลสเตอรอลรวม (สมเกียรติ, 2552)

2.5.3 ผลเสียของการมีคอเลสเตอรอลสูงในเลือด

โรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด จากการที่มีคอเลสเตอรอลสูงมาก ๆ พบว่า เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญที่จะทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง หากมีคอเลสเตอรอลพอกอยู่ ผนังด้านในของหลอดเลือดจะเริ่มขรุขระ โดยเฉพาะเกล็ดเลือด สามารถไปจับตัวเป็นก้อนได้ การจับตัวเป็นก้อนทำให้เกิดเป็นก้อนเลือดอุดตันตามหลอดเลือดแดง และทำให้เลือดไหลเวียนไม่สะดวก

การอุดตันของหลอดเลือดแดง หากเกิดที่เส้นเลือดแดงที่ไปเลี้ยงหัวใจ ก็จะทำให้เกิดภาวะหัวใจขาดเลือดได้ ถ้าเกิดที่เส้นเลือดแดงไปเลี้ยงสมอง ก็จะทำให้พิการถึงขั้นอัมพาต ถ้าเป็นบริเวณเส้นเลือดแดงที่ไปเลี้ยงแขนและขา ก็อาจทำให้เกิดแผล หรือ เนื้อตายได้ และถ้าเกิดขึ้นบริเวณหลอดเลือดแดงที่ไปเลี้ยงไต อาจเกิดความดันเลือดสูงได้

จากสถิติของการเป็นโรคหัวใจ และหลอดเลือดในประเทศไทย จากกระทรวงสาธารณสุข พบว่ามีอัตราสูงเป็นอันดับหนึ่ง แต่ทั้งสองโรคนี้ ก็มีสาเหตุมากมาย แต่สาเหตุหนึ่งที่สำคัญคือ โรคหัวใจขาดเลือด

จากการวิจัยพบว่า ผู้ที่มีระดับคอเลสเตอรอล สูงกว่า 240 mg/dL จะมีความเสี่ยงโรคหัวใจสูง แต่ยังมีปัจจัยอื่นๆ ร่วมด้วย เช่น

1. ชาย อายุ 45 และหญิง อายุ 55 ปีขึ้นไป โดยเฉพาะสตรีที่รอบเดือนหมดก่อนอายุ 45 ปี และไม่ได้รับฮอร์โมนทดแทน
2. ความดันโลหิตสูง (สูงกว่า 140/90)
3. สูบบุหรี่
4. HDL ต่ำกว่า 35 mg/dL
5. โรคเบาหวาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษานี้เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ครอบครัวมีประวัติโรคหัวใจ

7. ความอ้วน

ผู้ที่อยู่ในเกณฑ์เสี่ยงเหล่านี้ ควรควบคุมคอเลสเตอรอล ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม โดยการ ออกกำลังกายสม่ำเสมอ งดสูบบุหรี่ ถ้าไม่ได้ผล อาจต้องฉายา



รูปที่ 2.10 ลักษณะการเกิดอาการจากโรคหัวใจขาดเลือด
ที่มา : วิชัย (2531)

2.6 โรคหลอดเลือดหัวใจ (อภัย, 2557)

โรคหัวใจ (Heart disease) หรือโรคที่เกิดกับหัวใจ ซึ่งมีได้หลายโรค แต่ที่พบบ่อยที่สุดเป็นปัญหาทางสาธารณสุขและเป็นสาเหตุการเสียชีวิตได้สูงติด 1 ใน 4 ของสาเหตุการเสียชีวิตของประชาชนส่วนใหญ่ทั่วโลก รวมทั้งในประเทศไทยคือ โรคหัวใจที่เกิดจากโรคของหลอดเลือดหัวใจ หรือที่เรียกว่า โรคหลอดเลือดหัวใจ (Coronary artery disease หรือ Coronary heart disease)

โรคหลอดเลือดหัวใจคือ โรคที่เกิดจากหลอดเลือดหล่อเลี้ยงหัวใจซึ่งมีชื่อเรียกว่า Coronary artery ตีบแคบ เล็กกลง หรือตีบตัน จึงส่งผลให้กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดหรือกล้ามเนื้อหัวใจตาย หัวใจจึงทำงานผิดปกติส่งผลถึงอวัยวะต่างๆ ขาดเลือดไปด้วย จึงเกิดมีอาการต่างๆ ได้มากมาย

โรคหลอดเลือดหัวใจเป็นโรคที่เกิดตั้งแต่วัยหนุ่มสาวไปจนถึงวัยผู้สูงอายุ โดยพบได้สูงตั้งแต่อายุ 40 ปีขึ้นไป ในช่วงวัยเจริญพันธุ์จะพบโรคหลอดเลือดหัวใจในผู้ชายได้สูงกว่าในผู้หญิง

แต่หลังจากวัยหมดประจำเดือนถาวรแล้ว ทั้งผู้หญิงและผู้ชายมีโอกาสเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจได้ใกล้เคียงกัน

2.6.1 ปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (พวงทอง, 2557ก)

1. มีไขมันในเลือดสูง
2. โรคความดันโลหิตสูง
3. สูบบุหรี่
4. โรคเบาหวาน
5. มีน้ำหนักตัวเกินหรือโรคอ้วน
6. ขาดการออกกำลังกาย
7. กินอาหารไม่มีประโยชน์ กินอาหารไขมันและคาร์โบไฮเดรตสูง
8. กินอาหารเค็มเป็นประจำ
9. อายุ พบโรคได้สูงขึ้นเมื่ออายุสูงขึ้น ในผู้ชายเมื่ออายุมากกว่า 45 ปี และในผู้หญิงเมื่ออายุมากกว่า 55 ปี
10. พันธุกรรม พบโรคได้สูงขึ้นในคนมีประวัติครอบครัวเป็นโรคนี้

2.6.2 อาการโรคหลอดเลือดหัวใจ (พวงทอง, 2557ข)

1. ไม่มีอาการเมื่อเริ่มเป็นโรคหรือเมื่อหลอดเลือดยังตีบไม่มาก
 2. เหนื่อยง่ายเมื่อออกกำลังกายหรือออกกำลังกาย
 3. เจ็บแน่นหน้าอกเมื่อใช้กำลังเพิ่มขึ้นหรือเมื่อมีความเครียด มักเกิดกับผู้ชาย
- อาการอาจร้าวไปที่ขากรรไกร ไหล่ และ/หรือ แขนด้านใดด้านหนึ่งก็ได้ แต่มักจะเป็นที่แขนด้านซ้าย ดังแสดงในรูปที่ 2.10
4. อาการของโรคหัวใจล้มเหลว เช่น เหนื่อยง่าย หัวใจเต้นเร็ว มีอาการบวมของหน้า แขน และขา
 5. ความดันโลหิตสูง
 6. ไขมันในเลือดสูง

2.6.3 วิธีการช่วยลดอัตราการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด (World Health Organization, 2015)

ตามที่ได้รับแจ้งจากองค์การอนามัยโลก ในการเพิ่มประสิทธิภาพการดำเนินการป้องกันและควบคุมโรคหัวใจและหลอดเลือด ตามแผนการลดอัตราการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด โดยใช้กับทั้งคนส่วนใหญ่ และบุคคลที่เป็นกลุ่มเสี่ยง เพื่อนำมาใช้ในการร่วมกันลดอัตราการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดที่เป็นปัญหาใหญ่ที่สุดในเวลานี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การร่วมกันลดอัตราการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดของคนทั่วไป จะรวมถึง

- นโยบายการควบคุมยาสูบที่ครอบคลุม
- เก็บภาษีเพื่อลดการบริโภคอาหารที่มีไขมัน น้ำตาล และเกลือสูง
- สร้างทางเดินเท้าและเส้นทางที่จะเพิ่มการออกกำลังกาย
- กลยุทธ์ในการลดการใช้เครื่องดื่มแอลกอฮอล์
- ให้อาหารที่มีประโยชน์เพื่อสุขภาพดีของเด็ก

สำหรับบุคคลที่เป็นกลุ่มเสี่ยง การป้องกันการเกิดอาการหัวใจล้มเหลวและกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน ทำได้โดยการดูแลสุขภาพของแต่ละบุคคล ซึ่งผู้ที่มีความเสี่ยงโรคหัวใจและหลอดเลือดสูง หรือผู้ที่มีระดับความเสี่ยงจากปัจจัยดังกล่าวข้างต้น เช่น ความดันโลหิตสูง และไขมันในเลือดสูง โดยถ้าป้องกันไม่ให้เกิดโรคดังกล่าวก็จะมีศักยภาพที่จะลดการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ

สำหรับการป้องกันขั้นที่สอง ของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ ในผู้ที่มีโรคดังกล่าว รวมทั้งโรคเบาหวาน จำเป็นต้องรักษาด้วยยาดังต่อไปนี้

- แอสไพริน
- Beta blocker
- Angiotensin-Converting Enzyme (ยาลดความดันโลหิตกลุ่ม ACE inhibitors)
- ยากลุ่ม statin

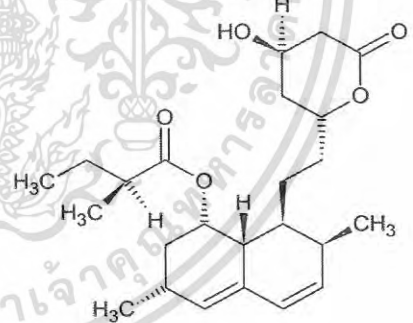
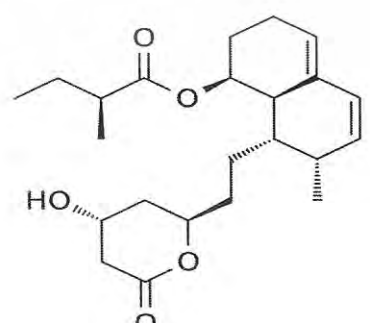
นอกจากนี้ค่าใช้จ่ายในการผ่าตัดเพื่อรักษาโรคหัวใจและหลอดเลือดยังรวมถึง การทำบายพาสหลอดเลือดหัวใจ การทำ balloon angioplasty การซ่อมและเปลี่ยนลิ้นหัวใจ การปลูกถ่ายหัวใจ การเปลี่ยนหัวใจเทียม และรวมถึงอุปกรณ์ทางการแพทย์ที่จำเป็นต้องใช้ในการรักษาเช่น เครื่องกระตุ้นหัวใจ ลิ้นหัวใจเทียม และ ผังหัวใจเทียม

2.7 สเตติน

สเตติน เป็นยาในกลุ่มหนึ่งที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในการรักษาโรคไขมันในเลือดสูง (hypercholesterolemia) (Mulder และคณะ, 2015) และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase โดยไปขัดขวางการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล สเตตินชนิดแรกที่ค้นพบคือ คอมเพคติน (compactin) ซึ่งภายหลังเปลี่ยนชื่อเป็น เมวาสเตติน ถูกค้นพบในปี 1970 โดยนักวิทยาศาสตร์ที่มีชื่อว่า Akira Endo ประเทศญี่ปุ่น การค้นพบทำให้นำไปสู่การพัฒนาสารที่ใช้ในการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ชนิดอื่นๆ (Grover และคณะ, 2014)

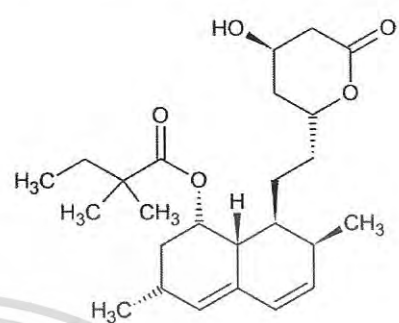
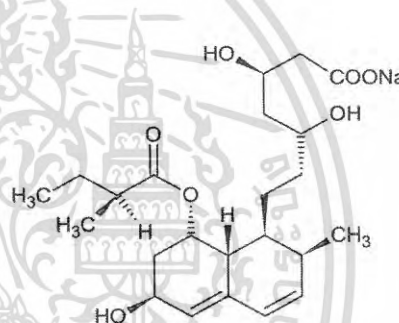
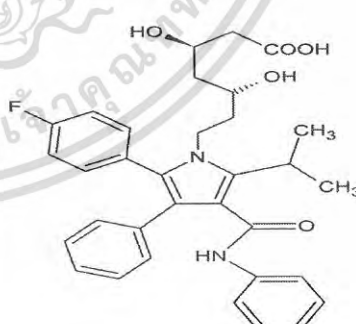
ปัจจุบันสเตตินแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือสเตตินที่ผลิตได้โดยตรงจากกระบวนการหมักผ่านทางจุลินทรีย์ จัดเป็นสเตตินที่เกิดจากธรรมชาติ ได้แก่ lovastatin, mevastatin, simvastatin และ pravastatin (Grover และคณะ, 2014) โดยเกิดจากสกุลและสายพันธุ์ของเชื้อราที่แตกต่างกัน (Syed และ Rajasimman, 2015) และอีกกลุ่มคือ สเตตินที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี ได้แก่ atorvastatin, cerivastatin, fluvastatin, pitavastatin, และ rosuvastatin (Grover และคณะ, 2014) (ตารางที่ 2.2) โดยทั่วไป สเตตินส่วนใหญ่สังเคราะห์ได้จาก *Aspergillus terreus* การออกฤทธิ์ของสเตตินจะไปรบกวนกระบวนการสร้างกระดูก และไปขัดขวางการเจริญของเซลล์มะเร็ง (tumor cell) เมื่อเร็วๆ นี้ได้มีการค้นพบว่า สเตตินสามารถเป็นสารต้านมะเร็ง (anti-cancer) ซึ่งอยู่ในขั้นตอนของการพิสูจน์ในระดับพรีคลินิก ถึงการยับยั้งการเจริญ (antiproliferative) ทำให้เกิดการตาย (pro-apoptotic) ป้องกันการบุกรุก (anti-invasive) ของเซลล์มะเร็ง และคุณสมบัติที่ไวต่อแสง ทำให้อาจเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งด้วยการฉายแสง (Syed และ Rajasimman, 2015)

ตารางที่ 2.2 ลักษณะโครงสร้าง และสูตรเคมีของยากลุ่มสเตติน

ยากลุ่มสเตติน	สูตรเคมี	สูตรโครงสร้าง
lovastatin	$C_{24}H_{36}O_5$	
mevastatin	$C_{23}H_{34}O_5$	

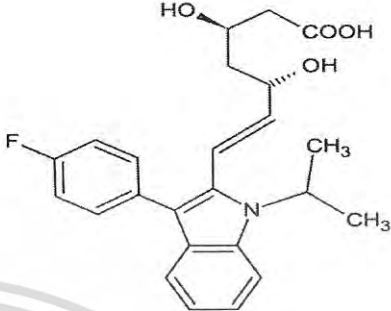
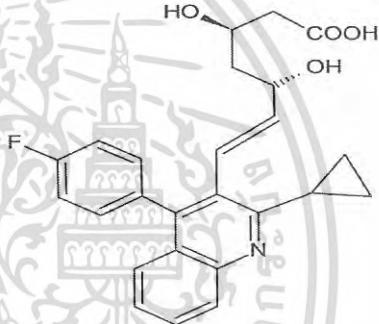
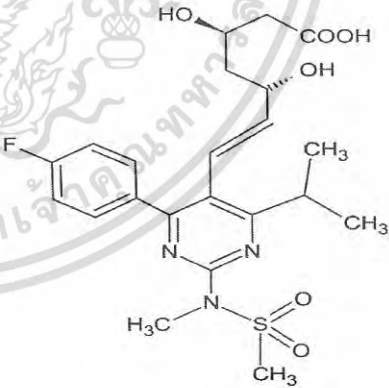
ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

ลักษณะโครงสร้าง และสูตรเคมีของยากลุ่มสแตติน

ยากลุ่มสแตติน	สูตรเคมี	สูตรโครงสร้าง
simvastatin	$C_{25}H_{38}O_5$	
pravastatin	$C_{23}H_{36}O_7$	
atorvastatin	$C_{33}H_{34}FN_2O_5$	
cerivastatin	$C_{26}H_{34}FNO_5$	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) ลักษณะโครงสร้าง และสูตรเคมีของยากลุ่มสแตติน

ยากลุ่มสแตติน	สูตรเคมี	สูตรโครงสร้าง
fluvastatin	$C_{24}H_{26}FNO_4$	
pitavastatin	$C_{25}H_{24}FNO_4$	
rosuvastatin	$C_{22}H_{28}FN_3O_6S$	

ที่มา : “สแตติน” (2559)

การทดลองจาก The Scandinavian Simvastatin Survival Study ในปี 1994 ได้แสดงให้เห็นว่า ยากลุ่มสแตติน ช่วยป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจ (cardiovascular) ซึ่งเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของไขมันในเลือด และการอุดตันของไขมัน (atherosclerotic lesions) เนื่องจากโรคหลอดเลือดหัวใจ เป็นหนึ่งในสาเหตุที่พบบ่อยที่สุดของการเสียชีวิตทั่วโลก การลดลงของไขมันไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากยาสเตติน ทำให้ยีนหลายชนิดเกิดการกลายพันธุ์ (pleiotropic) ทำให้เกิดการตอบสนองต่างๆ ในร่างกาย เช่น ด้านการอักเสบ (anti-inflammation) สร้างภูมิคุ้มกัน (immunomodulatory) ด้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้านการแข็งตัวของเลือด (antithrombotic) plaque มีความเสถียร (plaque stability) ส่งเสริมการสร้างเส้นเลือดใหม่ (angiogenesis) และช่วยสร้างกระดูก ในปี 2008 Golomb และ Evans ได้เขียนบทความกว่า 900 งานวิจัยเกี่ยวกับผลข้างเคียงของยากลุ่ม สเตติน (adverse effects : AEs) ซึ่งส่งผลกระทบตั้งแต่กล้ามเนื้อจนถึงความเสี่ยงต่อการ เป็นมะเร็ง (Grover และคณะ, 2014) ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ผลข้างเคียงของยากลุ่มสเตติน

ผลข้างเคียงของยากลุ่มสเตติน	คำอธิบาย
อาการผิดปกติที่เกิดกับกล้ามเนื้อ (myopathy)	กล้ามเนื้อมีอาการอ่อนแรง อ่อนเพลีย ปวด เกิดภาวะ กล้ามเนื้อสลายตัว (rhabdomyolysis)
ความเป็นพิษต่อตับ (hepatotoxicity)	- ยากลุ่มสเตตินจะทำให้เอนไซม์ caspase เกิดการ กระตุ้น และทำให้การเพาะเลี้ยงเซลล์ตับ (hepatocytes) ในมนุษย์เกิดการตาย (apoptosis) - ลดระดับ CoQ10 - เหนียวน้ำให้เกิดภาวะ oxidative stress ในตับ
ความเป็นพิษต่อไต (nephrotoxicity)	- เกิดการสะสมของโปรตีนในปัสสาวะ เนื่องจาก การเสื่อมสภาพของท่อไต - เกิดภาวะที่มีการขับอัลบูมิน(microalbuminuria) ซึ่งอาจนำไปสู่โรคหลอดเลือดหัวใจ และโรคไต
โรคเบาหวาน (diabetes mellitus)	
กลุ่มอาการเกี่ยวกับระบบประสาท (neurological manifestations)	เกิดความรู้สึกรบกวนผิดปกติ (paresthesias) อาการชา (sensory loss) ความรู้สึกแขนขาไว (hyperesthesia) ปฏิกริยาตอบสนองหายไป (areflexia) กล้ามเนื้ออ่อนแรง และความจำ สูญหายอย่างรุนแรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 (ต่อ) ผลข้างเคียงของยากลุ่มสเตติน

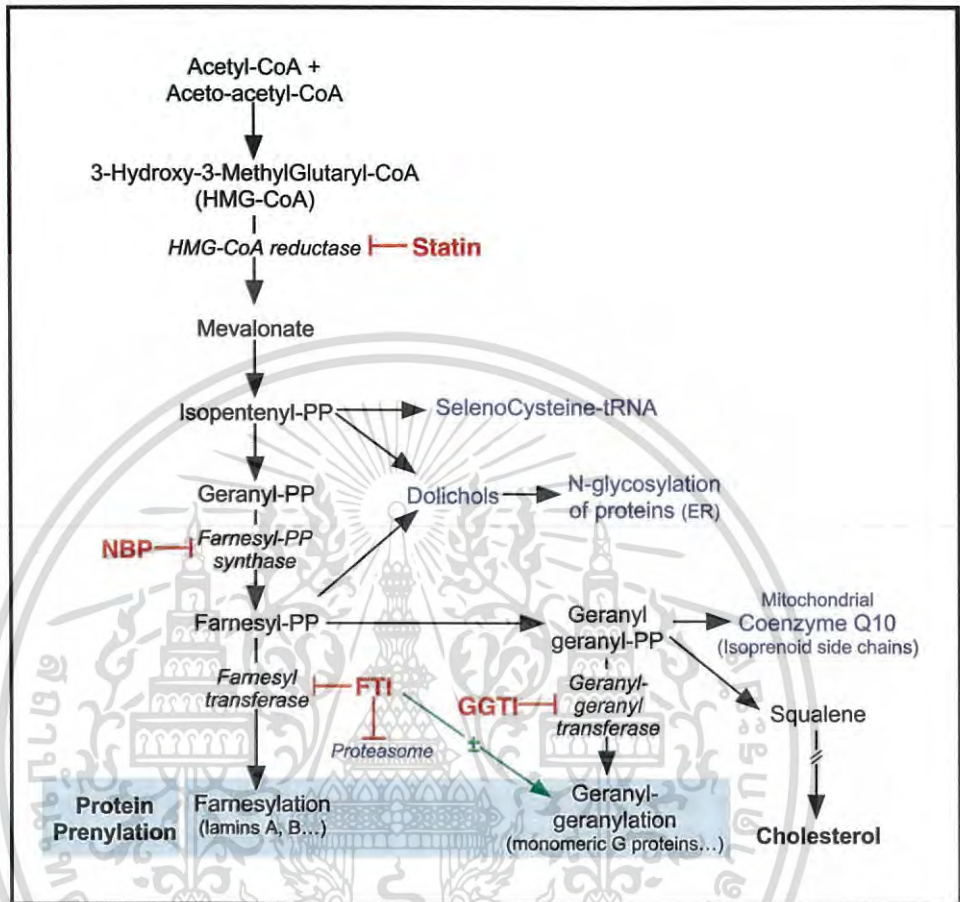
ผลข้างเคียงของยากลุ่มสเตติน	คำอธิบาย
อาการเกี่ยวกับปอด (pulmonary)	- โรคเนื้อเยื่อปอดอักเสบ (interstitial lung disease : ILD)
อาการทางจักษุวิทยา (ophthalmological)	เห็นภาพซ้อน (diplopia) หนังตาตก (ptosis) หรือ กล้ามเนื้อกลอกตาเป็นอัมพาต (ophthalmoplegia) โดยอาจเกิดจากการอักเสบของ กล้ามเนื้อลิ้นตา (levator palpebrae superioris) หรือกล้ามเนื้ออกลูกตา (extraocular muscles) หรือทั้งสองอย่าง
ความเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็ง (cancer)	เพิ่มอัตราการเป็นมะเร็งต่อมลูกหมาก (prostate cancer) ในเพศชาย
สมรรถภาพทางเพศมีความหย่อนยาน	ยากลุ่มสเตตินสามารถเข้าไปขัดขวางการทำงานของต่อมหมวกไตชั้นนอก (adrenocortical) หรือ การสังเคราะห์สเตียรอยด์ (steroidogenesis) โดย ปิดกั้นการผลิตคอเลสเตอรอล
อาการในช่องปาก	คอแห้ง คันท่อ ขมคอ และไอ

ที่มา : Grover และคณะ (2014)

2.8 เมวาสเตติน

เมวาสเตติน เป็น compactin สายยาว อยู่ในกลุ่มยาสเตติน (Dinesh และคณะ, 2015) และอยู่ในกลุ่ม polyketides ซึ่งเป็นกลุ่มที่อุดมไปด้วยเอสซิกแซนธ์ ยาปฏิชีวนะ ยาต้านมะเร็ง ยาลดคอเลสเตอรอล และยาที่ใช้บำบัดรักษาโรคอื่นๆ (Harsha และคณะ, 2013) เมวาสเตตินเป็นสารที่ใช้ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase มีรายงานว่า เมวาสเตตินเป็นสารตัวแรกในยากลุ่มสเตติน ที่สามารถยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล แยกได้จากเชื้อรา *Penicillium citrinum* โดยสามารถยับยั้งการสังเคราะห์เมวาโลเนตในวิถีเมวาโลเนต (mevalonate pathway) ซึ่งนำไปสู่การสังเคราะห์คอเลสเตอรอล ดังแสดงในรูปที่ 2.11 และจากรายงานของ Shipman และคณะ ในปี 1998 กล่าวว่า การที่เมวาสเตตินสามารถยับยั้งวิถีเมวาโลเนต จะทำให้ออกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

myeloma cell line ในมนุษย์ตายลง ซึ่งตั้งแต่มีการค้นพบเมวาสแตตินในปี 1976 บริษัทต่างๆ จึงได้มีการพัฒนาสารตัวอื่นๆในกลุ่มสเตตินมากขึ้น (Dinesh และคณะ, 2015)



รูปที่ 2.11 วิธีเมวาโลเนต (mevalonate pathway)

ที่มา : Navarro และคณะ (2006)

2.9 เอนไซม์ HMG-CoA reductase

เอนไซม์ HMG-CoA reductase เป็นเอนไซม์ที่กระตุ้นการเปลี่ยนแปลง HMG-CoA ให้เป็น mevalonate เป็นเอนไซม์ตัวที่ 3 ใน mevalonate pathway หรือในวิธีการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล โดยจะเร่งปฏิกิริยารีดักชัน เปลี่ยน HMG-CoA ให้เป็น mevalonate พร้อมกับเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสองโมเลกุลของ NADPH และปล่อย CoA-SH ออกมา ดังนั้น สเตตินจึงทำหน้าที่เป็นตัวแข่งขันกับ HMG-CoA เพื่อแย่งจับบริเวณ active site ของ HMG-CoA reductase (Mulder และคณะ, 2015) เอนไซม์นี้พบในสิ่งมีชีวิตทั้งยูคาริโอต และโพรคาริโอต โดยสายวิวัฒนาการของเอนไซม์ HMG-CoA reductase มี 2 ระดับด้วยกัน คือ เอนไซม์ระดับที่ 1 พบในสิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอต และอาร์เคีย (archaea) บางชนิด เอนไซม์ระดับที่ 2 พบในสิ่งมีชีวิตพวกยูแบคทีเรีย (eubacteria) และอาร์เคียอื่นๆบางชนิด มนุษย์ใช้ปฏิกิริยาของเอนไซม์ HMG-CoA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

reductase มาใช้เป็นยาด้านไขมันในเลือดสูง (ยาในกลุ่มสแตติน) ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อลดระดับคอเลสเตอรอลในน้ำเลือด (serum) (Friesen และ Rodwell, 2004)

2.10 เชื้อรา *Monascus* sp.

เชื้อรา *Monascus* sp. เป็นเชื้อราที่สร้างสารเมแทบอลิท์มากมาย เช่น สารสี เมวาสเตติน กรดแกมมา-อะมิโนบิวทีริก (γ -aminobutyric acid : GABA) กรดไดเมอร์มิก (dimerumic acid) โมนาสโคดีลอน (monascodilon) และซิทรินิน (citrinin) เป็นต้น สารเมแทบอลิท์ของเชื้อราชนิดนี้ได้รับการตรวจสอบว่ามีการทำงานที่หลากหลาย เช่น สามารถลดความดันโลหิต ลดไขมันและมีความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรีย (Cheng และคณะ, 2011)

รงควัตถุหรือสารสีจากเชื้อรา *Monascus* เป็นโครงสร้างที่จัดอยู่ในกลุ่ม อะมิโนฟิลอนส์ (aminophilones) หรือ อะซาฟิลอนส์ (azaphilones) ซึ่งกลไกการผลิตสารสีนั้นเป็นแบบที่ผลิตพร้อมกับการเจริญ และผลิตไม่พร้อมกับการเจริญ เชื้อรา *Monascus* สามารถผลิตสารสีได้ 6 ชนิด และแบ่งตามลักษณะการปรากฏของสีได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่ monascin, ankaflavin (สารสีเหลือง) monascorubin, rubropunctatin (สารสีส้ม) corubramine, rubropunctamine (สารสีแดง) นอกจากนี้สารเมแทบอลิท์จากเชื้อรา *Monascus* หลายชนิดยังเป็นที่น่าสนใจและมีคุณค่าทางเศรษฐศาสตร์ในส่วนของการเสริมสุขภาพ เช่น วิตามินบี 2 เมวาสเตติน และซิทรินิน โดยเมวาสเตติน จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล นอกจากนี้ยังมีการนำ ซิทรินิน มาใช้เป็นสารปฏิชีวนะ สารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เชื้อรา และโปรโตซัว (กรกต และคณะ, 2555) แต่ในขณะเดียวกัน ซิทรินินยังก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ต่างๆที่อยู่ภายในไต (nephrotoxicity) ของสัตว์ รวมทั้งยังรบกวนระบบการขนส่งอิเล็กตรอน (electron transport system) การเปลี่ยนแปลงสถานะสมดุลของแคลเซียมไอออน และการเกิดภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุล (oxidative stress) (Liu และคณะ, 2005)

ในปี 1920 มีรายงานว่า ได้มีการผลิตข้าวแดงในประเทศจีนเป็นระยะเวลาที่นานแล้ว อีกทั้งยังได้ทดลองแยกสายพันธุ์ที่ได้จากข้าวแดงที่ผลิตในประเทศจีน พบว่าเชื้อราที่ให้สารสีแดงนั้นคือเชื้อรา *Monascus purpureus* (บุษบา, 2542) ซึ่งประเทศจีน และประเทศไทย ใช้เชื้อรา *Monascus* ในการเตรียม อังคัก หรือ ข้าวสีแดงเข้ม สามารถนำไปใช้ได้หลากหลาย เช่น ให้สีในผลิตภัณฑ์จำพวกไวน์ ชีส และเนื้อสัตว์ รวมทั้งใช้เป็นสารกันบูดในการเก็บรักษาเนื้อสัตว์ นอกจากนี้สารสีจากเชื้อรา *Monascus* ยังนำไปใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การผลิตไส้กรอกจีน บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป และผลิตภัณฑ์นม และยังใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อโดยใช้แทนเกลือไนตริก (Meinicke และคณะ, 2012) และในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ ไต้หวัน ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์

เกาหี และอินโดนีเซีย ก็ได้มีการนำเชื้อรา *Monascus* มาใช้เพื่อการผลิตเครื่องต้มแอลกอฮอล์ที่มีสีแดง และ เต้าหู้ยี้แดง (Choe และคณะ, 2012)

2.10.1 ลักษณะของเชื้อรา *Monascus* sp.

เชื้อรา *Monascus* spp. แต่เดิมนั้นเคยจัดอยู่ในวงศ์ (Family) *Aspergillaceae* อันดับ (Order) *Plectscales* แต่ปัจจุบัน *Monascus* spp. จัดอยู่ในวงศ์ (Family) *Monascaceae* กลุ่ม (Class) *Ascomycetes* กลุ่มย่อย (Subclass) *Plectomycetidae* อันดับ (Order) *Eurotiales* เส้นใยมีผนังกัน (Septate) เส้นใยมีการแตกกิ่งก้านสาขามากมาย และมักเจริญแบบชิดเกาะแน่นบนผิวของอาหารแข็ง เส้นใยของเชื้อรา *Monascus* sp. เมื่ออายุน้อยมีสีขาว แต่เมื่ออายุมากขึ้น โคลนินจะมีสีแดงหรือสีแดงม่วง ดังแสดงลักษณะโคลนินของเชื้อรา ดังแสดงในรูปที่ 2.12 เชื้อรา *Monascus* sp. มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ (มีชัย, 2551)



รูปที่ 2.12 ลักษณะโคลนินของเชื้อรา *Monascus* sp. บนอาหารแข็ง

การได้รับอาหารของเชื้อราเป็นแบบที่เรียกว่า heterotrophic ซึ่งต่างไปจากพืชชั้นสูงที่มีการรับอาหารแบบ autotrophic โดยที่เชื้อราไม่มีคลอโรฟิลล์ดังนั้นจึงไม่สามารถสังเคราะห์แสง หรือสร้างอาหารพวกสารประกอบคาร์บอน หรือน้ำตาลเองได้ จึงต้องอาศัยอาหารจากแหล่งภายนอก ซึ่งเชื้อราในอันดับ *Eurotiales* นี้ จะพบเป็น saprobe ได้ทั่วไปบนเศษซากพืชและสัตว์ (การเป็น saprobe คือการได้รับสารอาหารจากอินทรีย์วัตถุที่ตายแล้ว) ผนังเซลล์ของเส้นใยในราประกอบด้วยไคติน (chitin) ซึ่งโครงสร้างของไคติน คือ N-acetyl D-glucosamine เรียงต่อกันเป็นพอลิเมอร์ (วิชัย, 2551)

2.10.2 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของเชื้อรา *Monascus* sp. (บุษบา, 2542)

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศมีการสร้างโคนิเดีย (conidia) เจริญมาจาก โคนิดิโอฟอร์ (conidiophore) โคนิเดียมีลักษณะกลม หรือรูปไข่ อาจเป็นสปอร์เดี่ยว หรือต่อกันเป็นสายสั้นๆ มี 2-6 สปอร์ โคนิเดียขณะอ่อนมักไม่มีสี แต่เมื่ออายุมากขึ้นอาจเกิดสีแดงได้ โคนิดิโอฟอร์ที่มีขนาดสั้นอาจมีผนังกัน 0-1 ด้าน แต่หากโคนิดิโอฟอร์มีขนาดยาว จะมีผนังกัน 2-6 ด้าน มีลักษณะขดเป็นเกลียวหรือเป็นแบบเส้นตรง และจะเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่อมีอายุมากขึ้น การออกของโคนิเดียจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเกิดโคนิเดียของเชื้อรา *Monascus* และยังขึ้นกับปัจจัยอื่นๆ อีก เช่น อายุสปอร์ ความหนาแน่นของสปอร์ ค่าพีเอช แสง และอุณหภูมิ เช่นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดโคนิเดียคือ 35 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปโคนิเดียจะงอกภายใน 4 ชั่วโมง เมื่อมีความชื้น และอุณหภูมิที่เหมาะสมโดยการสร้าง germ-tube ขึ้นมา 1 หรือ 2 อัน หรือในบางครั้งอาจมีได้ถึง 6 อัน แต่อย่างไรก็ตามการงอกของโคนิเดียนั้นสามารถกระตุ้นได้ด้วยคาร์โบไฮเดรตหลากหลายชนิด

2.10.3 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อรา *Monascus* sp.

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อรา *Monascus* sp. คล้ายกับเชื้อราอื่นๆ ในกลุ่ม (Class) *Ascomycetes* ซึ่งจะมีการสร้าง เพอริทีเซียม (perithecium) (บางรายงานบอกว่าเป็น cleistothecium) แอสโคคาร์ป (ascocarp) ที่มีรูปร่างกลม ดังแสดงในรูปที่ 2.13 โดยจะเกิดบนก้าน (Stalk) ที่มีหรือไม่มีผนังกันก็ได้ แอสโคคาร์ปเกิดขึ้นบนเส้นใยซึ่งเป็นแบบโฮโมแทลลิก (homothallic) โดยมีการสร้างโครงสร้างออกมา 2 ชนิดคือ แอนเทอริเดียม (antheridium) และแอสโคโกเนียม (ascogonium) และเกิดการฟิวชัน (fusion) ที่ปลาย ascogonium กับส่วนฐานหรือส่วนกลางของ antheridium จากนั้นจึงเกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสตามมาด้วยการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส มี daughter nuclei จากการแบ่งตัวมีการขยายผนังเซลล์ออกเรียกว่า การสร้างแอสโคคาร์ป ขึ้นในที่สุด ภายในเพอริทีเซียม (แอสโคคาร์ป) มีแอสโคสปอร์ (Ascospores) มากมาย โดยใน 1 แอสคัส (Ascus) ประกอบด้วย แอสโคสปอร์จำนวน 2-8 เซลล์ แอสโคสปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่ อาจมีสีแดง สีส้ม สีนํ้าตาล รวมไปถึงไม่มีสี เมื่อผนังแอสโคคาร์ปแตกออกก็จะปล่อยแอสโคสปอร์งอกเป็นเส้นใหม่ขึ้นต่อไป โดยวงจรชีวิตของเชื้อรา *Monascus* sp. แสดงได้ดังรูปที่ 2.14



รูปที่ 2.13 ลักษณะแอสโคคาร์ปของเชื้อรา *Monascus sp.*



รูปที่ 2.14 วงจรชีวิตของเชื้อรา *Monascus sp.*

ที่มา : บุขบา (2542)

แอสโคคาร์ปของเชื้อราในกลุ่ม (Class) *Ascomycetes* มีอยู่ 4 ประเภทด้วยกัน ดังแสดงในรูป 2.15 ได้แก่

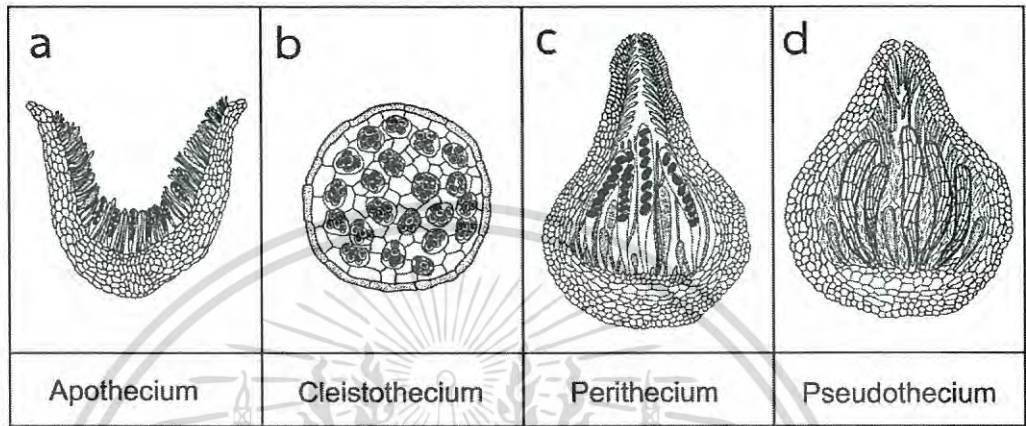
Apothecium มีลักษณะกว้าง ทรงเปิด รูปร่างคล้ายจานรองหรือถ้วย โดยโครงสร้างของ apothecium ส่วนใหญ่ ประกอบด้วย 3 ส่วนคือ hymenium (ส่วนพื้นที่ผิวเว้าด้านบน) hypothecium และ excipulum ซึ่งแอสคัสนั้นจะอยู่ในชั้นของ hymenium และจะออกมาอย่างอิสระ ณ เวลาที่สมบูรณ์ มีฝาปิดเปิดช่องทางการปล่อยแอสโคสปอร์ (operculate asci)

Cleistothecium มีลักษณะทรงกลม แอสโคคาร์ปปิดสนิท ไม่มีรูเปิด ผนังของแอสโคคาร์ป เรียกว่า peridium ประกอบด้วยเส้นใยที่ผสมผสานกันอย่างหนาแน่น หรือเรียกว่า เซลล์เนื้อเยื่อพืชเทียม (pseudoparenchyma cells)

Perithecium เป็นแอสโคคาร์ปที่มีรูปร่างคล้ายขวดน้ำ ลักษณะโครงสร้างปิดเกือบเอกสารทั้งหมด แต่มีรูเล็กๆ เรียกว่า ออสติโอล (ostiole) ช่องออสติโอล มีโครงสร้างที่เป็นเส้นขนแนวตรง ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรียกว่า periphyses แอสคัสมีผนังชั้นเดียว (unitunicate) หนึ่งแอสคัสสามารถปล่อยแอสโคสปอร์ได้เพียงหนึ่งครั้ง ไม่มีฝาปิดที่เป็นช่องทางในการปล่อยแอสโคสปอร์

Pseudothecium มีลักษณะคล้าย Perithecium แอสโคคาร์ปเปิดเกือบทั้งหมด แต่มีรูเล็กๆ เรียกว่า ออสติโอล (ostiole) แอสคัสมีผนังชั้น 2 ชั้น (bitunicate) (จำไพ, 2559)



รูปที่ 2.15 ลักษณะของ แอสโคคาร์ป ชนิดต่างๆในกลุ่ม (Class) *Ascomycetes*

Apothecium (a), Cleistothecium (b), Perithecium (c), Pseudothecium (d)

ที่มา : Pöggeler และคณะ (2006)

2.10.4 สายพันธุ์ของเชื้อรา *Monascus* sp. (มีชัย, 2551)

เชื้อรา *Monascus* spp. เป็นเชื้อราที่พบครั้งแรกแยกได้จากมันฝรั่งต้มในประเทศฝรั่งเศสและแบ่งได้เป็น 2 สายพันธุ์ คือ *M. rubber* และ *M. mucoroides* ต่อมาได้มีการแยกสายพันธุ์ที่สำคัญคือ *M. purpureus* จากข้าวแดงหรืออังกักทำให้รู้จักประโยชน์ของเชื้อนี้กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น

ในปี 1930 มีการแยกเชื้อรา และจัดจำแนกสปีชีส์อย่างชัดเจนรวมเป็น 5 สปีชีส์ ดังนี้

- *M. purpureus*
- *M. barkeri* Dangeard
- *M. olei* Piedallu
- *M. mucoroides*
- *M. rubber* van Tieghem

ปัจจุบันมีการรวบรวมเชื้อรา *Monascus* 25 สายพันธุ์ โดยมีวิธีการจัดแบ่ง

สายพันธุ์ของเชื้อรา *Monascus* แตกต่างกัน เช่น อาศัยสมบัติสัณฐานวิทยา และสรีระวิทยา โดยใช้เอกสารเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมบัติทางสัณฐานวิทยาในการจัดแบ่งสายพันธุ์ การใช้สมบัติทางเอนไซม์วิทยา ดังแสดงตารางที่ 2.5 เช่น การใช้สมบัติเอนไซม์ชนิดต่างๆ หรือใช้เอนไซม์โปรตีเอสรูปแบบต่างๆ ได้สายพันธุ์ของเชื้อรา *Monascus* ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 สายพันธุ์ของเชื้อรา *Monascus*

<i>M. albidu</i>	<i>M. albu</i>	<i>M. anka</i>	<i>M. araneosus</i>
<i>M. barkeri</i>	<i>M. bisporus</i>	<i>M. floridanus</i>	<i>M. fuliginosus</i>
<i>M. kaoliang</i>	<i>M. major</i>	<i>M. mucoroides</i>	<i>M. olei</i>
<i>M. paxii</i>	<i>M. pallens</i>	<i>M. pilosus</i>	<i>M. pubigerus</i>
<i>M. purpureus</i>	<i>M. ruber</i>	<i>M. rubiginosus</i>	<i>M. purpurescens</i>
<i>M. sanguineus</i>	<i>M. vitreus</i>	<i>M. serorubercens</i>	<i>M. vini</i>
<i>M. rubropunctatus</i>			

ที่มา : มีชัย (2551)

ตารางที่ 2.5 กิจกรรมเอนไซม์ที่แตกต่างกันของเชื้อรา *Monascus* สายพันธุ์ต่างๆ

Enzyme Activity	<i>M. floridanus</i>	<i>M. pilosus</i>	<i>M. purpureus</i>	<i>M. ruber</i>
Valine arylamidase	-	+	+	+
Cystine arylamidase	-	-	+	-
Trypsinase	+	-	-	-
α -galactosidase	-	+	-	+
β -galactosidase	-	+	-	-
α -gucosidase	-	+	-	-
Polypectase pH 6.0	-	-	+	-
Cellulose hydrolysis	-	-	-	+

ที่มา : บุชบา (2542)

2.10.5 สารเมแทบอลิท์ที่เป็นประโยชน์จากเชื้อรา *Monascus* sp.

มีการศึกษาต่อๆ กันมาซึ่งพบสารเมแทบอลิท์หลายชนิดที่น่าสนใจ และมีค่าทางเศรษฐกิจสูงจากเชื้อรา *Monascus* ดังแสดงในตารางที่ 2.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.6 สารเมแทบอลิท์ที่มีประโยชน์จากเชื้อรา *Monascus* sp.

เมแทบอลิท์	ชนิด
1. เอนไซม์	- กลูโคอะไมเลส - โปรติเอส - แอลฟา กาแลกโตซิเดส - แอลฟา-อะไมเลส - ไรโบ นิวคลีเอส
2. สารเมแทบอลิท์ปฐมภูมิ (primary metabolites)	- เอทิล แอลกอฮอล์ - กรดอินทรีย์ - วิตามินบี 2 - ไขมัน - กรดไขมัน
3. สารเมแทบอลิท์ทุติยภูมิ (secondary metabolites)	- รงควัตถุ (แดง เหลือง ส้ม) - สารปฏิชีวนะ - สารลดคอเลสเตอรอล - สารตกตะกอน - ยาลดความดันโลหิต - ยาพื้นบ้านของจีน รักษาโรคอาหารไม่ย่อย โรคบิด - กล้ามเนื้อฟกช้ำ - คูมาริน (coumarin) รักษาโรคต่างขา - โคเอนไซม์คิวเทน - สารให้กลิ่นหอม (methyl ketone) - สารแอนคาแลคโตน (ankalactone) - สารยับยั้งการกลายพันธุ์

ที่มา : บุชา (2542)

2.10.6 การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp.

แต่เดิมชาวตะวันตกรู้จักเชื้อรา *Monascus* ในรูปแบบที่เป็นเชื้อราปะปนในธัญพืชต่างๆ แต่สำหรับชาวตะวันออกนั้นจะใช้เชื้อรา *Monascus* ในอาหารและยาพื้นบ้าน ซึ่งชาวจีนนั้นจะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* บนข้าวหนึ่ง โดยบ่มที่อุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสม และเรียกข้าวที่มี *Monascus* เจริญว่า ข้าวแดง (red rice) หรือ อังคัก (ang-kak) ซึ่งนับว่ามีประโยชน์มากมาย

เนื่องจากเชื้อราจะย่อยข้าว และสร้างสารสีออกมาภายนอกเซลล์ ทำให้ข้าวที่ได้มีสีแดง

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และนอกจากนี้ ยังสามารถผลิตสีเหลือง และสีส้มได้ และนำสีนั้นมาใช้เป็นสีผสมอาหารที่ได้จากธรรมชาติ ซึ่งปัจจุบันก็มีการนำสารสีจากเชื้อรา *Monascus* มาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะด้านอุตสาหกรรมอาหาร

นอกจากการหมักบนอาหารแข็งที่ใช้สารตั้งต้นเป็นข้าวแล้วก็ยังสามารถใช้วัสดุหมักอื่นๆได้อีกเช่น ลูกเดือย มันเทศ มันสำปะหลัง เป็นต้น แต่ในขณะเดียวกันการหมักบนอาหารแข็งก็ยังมีข้อจำกัดหากมีการขยายขนาดไปสู่อุตสาหกรรมขนาดใหญ่อาจจะก่อให้เกิดปัญหา เช่นการควบคุมสภาวะการเลี้ยงที่ยากขึ้น รวมทั้งเกิดปัญหาการปนเปื้อนได้ง่ายอีกด้วย ดังนั้นการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* ในอาหารเหลวจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ที่จะมาแก้ไขข้อจำกัดต่างๆในการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* บนอาหารแข็งได้ (สิริพร และคณะ, 2556)

Mohan และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาเรื่องการปรับสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารโมนาโคลิน เค โดยเชื้อรา *Monascus* ในการหมักแบบอาหารเหลว (Submerged Fermentation) และได้วิเคราะห์ถึงผลกระทบของการใช้แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน พีเอช อุณหภูมิ ต่อการผลิตสาร โมนาโคลิน เค ได้ผลดังนี้ คือแหล่งคาร์บอนที่สำคัญพบว่า โมลโทส ให้ผลได้ (Yield) ของโมนาโคลิน เค มากกว่า กลูโคส สำหรับแหล่งไนโตรเจน พบว่า เปปโตน สามารถผลิต โมนาโคลิน เค สูงที่สุด อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 28 องศาเซลเซียส และพีเอชที่เหมาะสมคือ พีเอช 5

ดังนั้นในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงทำการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* ในอาหารเหลว โดยใช้มันสำปะหลัง (Cassava ship) เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งเป็นวัสดุที่หาง่าย ราคาถูก อีกทั้งยังมีสารอาหารที่เพียงพอต่อความต้องการของเชื้อรา *Monascus* อีกด้วย

2.11 มันสำปะหลัง (กรมพัฒนาที่ดิน, 2558)

2.11.1 ต้นกำเนิดของมันสำปะหลัง

ต้นกำเนิดของมันสำปะหลังอยู่แถบทวีปอเมริกาใต้บริเวณประเทศเม็กซิโก เปรู กัวเตมาลา และประเทศฮอนดูรัส ซึ่งสันนิษฐานว่ามีการปลูกมันสำปะหลังในประเทศเม็กซิโกเมื่อประมาณ 2,100 ปีมาแล้วและจากนั้นชาวอินเดียได้แพร่ขยายมันสำปะหลังไปยังอเมริกาแถบเขตร้อน และขยายไปสู่แหล่งอื่นๆของโลกโดยชาวโปรตุเกสและชาวสเปน จากนั้นก็เข้ามาสู่ทวีปเอเชีย โดยนำเข้ามาในประเทศอินเดีย อินโดนีเซีย ศรีลังกา มาเลเซีย ประมาณคริสต์ศตวรรษที่ 17

สำหรับในประเทศไทย ยังไม่มีหลักฐานที่แน่ชัดว่านำมันสำปะหลังมาปลูกในช่วงเวลาใด คาดว่านำเข้ามาในช่วงปี พ.ศ. 2329-2383 ซึ่งเป็นระยะเดียวกับที่เข้ามาในประเทศศรีลังกา และฟิลิปปินส์ แต่เดิมจะเรียกมันสำปะหลังว่า “มันสำโรง” “มันไม้” และ “มันสำปะหลัง” ซึ่งคำว่าสำปะหลัง นั้นภาษามลายูและอินโดนีเซียเรียกว่า Ubikayu แปลว่า พืชที่มีรากขยายใหญ่ และคล้ายกับภาษาชาวตะวันตกว่า “ส้มเปอ (Sampeu)” ซึ่งคำว่า สำปะหลัง อาจจะมาจากคำว่า

“ส้มเปอ” ของชาวชาวตะวันตกก็เป็นได้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.2 ลักษณะของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังมีชื่อสามัญเรียกหลายชื่อตามภาษาต่างๆ ซึ่งในภาษาอังกฤษจะเรียกว่า Cassava ภาษาสเปนจะเรียกว่า yucca ภาษาในประเทศบราซิล ปารากวัย และอาร์เจนติน่า เรียกว่า mandioca แถบประเทศอัฟริกาที่พูดภาษาฝรั่งเศส เรียกว่า manioc และประเทศแถบทวีปเอเชียเรียกว่า tapioca เป็นต้น สำหรับคนไทยจะเรียกว่า มันไม้ มันสำโรง คนภาคตะวันออกเฉียงเหนือจะเรียกว่า มันต้นเตี้ย ภาคใต้จะเรียก มันเทศ (แล้วเรียกมันเทศว่า มันทลา) แต่ปัจจุบันคนส่วนใหญ่จะเรียกว่า มันสำปะหลัง ซึ่งมีการจัดมันสำปะหลังไว้เป็นหมวดหมู่ดังต่อไปนี้



พืชจำพวกมันสำปะหลังในจีนัส *Manihot* มีอยู่หลายสปีชีส์ บางสปีชีส์ก็สามารถนำมาใช้เป็นอาหารได้ มันสำปะหลังที่นิยมปลูกในปัจจุบันมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *M. palmata* Crang มันสำปะหลังนั้นจัดเป็นพืชชนิดหัว ใช้เป็นอาหารของคนและสัตว์ ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่างๆที่มีการแปรรูปอาหารจากแป้งมันสำปะหลัง และในอุตสาหกรรมอีกหลายชนิดที่ใช้มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบ มันสำปะหลังจัดเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญที่สุด แสดงส่วนประกอบหลักของหัวมันสำปะหลัง ดังตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 ส่วนประกอบหลักในหัวมันสำปะหลัง

องค์ประกอบในหัวมัน	ปริมาณ (ต่อ 100 กรัมน้ำหนักหัวมัน)
น้ำ	60.21-75.32
เปลือก	4.08-14.08
เนื้อ (แป้ง)	25.87-41.88
ไซยาไนด์ (ppm)	2.85-39.27

ตารางที่ 2.7 (ต่อ) ส่วนประกอบหลักในหัวมันสำปะหลัง

องค์ประกอบในหัวมัน	ปริมาณ (ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งเนื้อมัน)
แป้ง	71.9-85.0
โปรตีน	1.57-5.78
เยื่อใย	1.77-3.95
เถ้า	1.20-2.80
ไขมัน	0.06-0.43
คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่แป้ง	3.59-8.66

ที่มา : กรมพัฒนาที่ดิน (2558)

2.11.3 ชนิดและพันธุ์ของมันสำปะหลัง (พิมพ์เพ็ญ, 2558)

มันสำปะหลังที่ปลูกกันทั่วโลกและในประเทศไทย แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

- ชนิดหวาน (sweet type) เป็นมันสำปะหลังที่ไม่มีรสขม มีปริมาณสารไซยาไนด์ต่ำ ใช้เพื่อการบริโภคของมนุษย์ มีทั้งชนิดเนื้อเหนียวแน่นและร่วนนุ่ม ไม่มีการปลูกเป็นพื้นที่ใหญ่ๆเนื่องจากมีตลาดจำกัด ในประเทศไทยมี 3 พันธุ์ ได้แก่ มันสวน มันห่านาที่ หรือก้านแดง และระยอง 2 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่กรมวิชาการเกษตรปรับปรุงขึ้น

- ชนิดขม (bitter type) เป็นมันสำปะหลังที่มีรสขมและเป็นพิษ มีปริมาณไซยาไนด์สูง ไม่เหมาะสำหรับการบริโภคของมนุษย์หรือใช้หัวมันสดเลี้ยงสัตว์โดยตรง แต่เนื่องจากมีปริมาณแป้งสูง จึงนิยมใช้ในอุตสาหกรรมแปรรูปต่างๆเช่น แป้งมัน มันเส้น มันอัดเม็ด และแอลกอฮอล์ นอกจากนี้การแปรรูปเป็นอาหารโดยใช้ความร้อน เช่น ตากแดด เผา และต้ม จะทำให้สารไซยาไนด์แตกตัวหมดไป สามารถทำให้รสขมลดลงหรือหมดไปด้วย พันธุ์มันสำปะหลังชนิดขม ได้แก่ ระยอง 1 ระยอง 2 ระยอง 3 ระยอง 5 ระยอง 60 ระยอง 72 ระยอง 90 เกษตรศาสตร์ 50 ศรีราชา 1 และห้วยบง 60

2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Feng และคณะ (2015) ได้ทำการศึกษาผลของการเติมกลีเซอรอลต่อการผลิตสารสีและโมนาโคลิน เค โดยเชื้อรา *Monascus pilosus* สายพันธุ์ MS-1 พบว่ากลีเซอรอลสามารถลดค่าพีเอชของน้ำหมัก แต่ทำให้น้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้น กลีเซอรอลสามารถปรับปรุงการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus* ได้ โดยค่าสีที่สูงที่สุดที่ได้จากการเติมกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร การเติมกลีเซอรอลสามารถเพิ่มสารสีแดงในน้ำหมักและในเซลล์แห้งได้ด้วย ผลของกลีเซอรอลต่อการผลิตโมนาโคลิน เค

นั้นแตกต่างกับการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus* ค่าผลได้ของโมนาโคลิน เค ในน้ำหมักลดลงอย่าง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีนัยสำคัญ เมื่อเติมกลีเซอรอลจนถึง 10 กรัมต่อลิตร ($p < 0.05$) ขณะที่ค่าผลได้ของโมนาโคลิน เค ในเซลล์แห้งสามารถเพิ่มขึ้นได้เมื่อเติมกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น และโมนาโคลิน เค ในน้ำหมักลดลงเมื่อเติมกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น ซึ่งตรงข้ามกับเซลล์แห้งที่จะเพิ่มขึ้นเมื่อเติมกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น ผลจากการทำ real-time PCR พบว่า กลีเซอรอลสามารถเพิ่มการแสดงออกของยีนควบคุมและยีนโครงสร้างสำหรับการสังเคราะห์สารสีจาก เชื้อรา *Monascus* ได้ ขณะที่จะไปลดการแสดงออกของยีนควบคุมและยีนโครงสร้างสำหรับการผลิต โมนาโคลิน เค กล่าวได้ว่า เชื้อรา *Monascus pilosus* สายพันธุ์ MS-1 สามารถนำกลีเซอรอลมาใช้ในการเพิ่มการผลิตสารสี และการผลิตโมนาโคลิน เค โดยปราศจากชิตรินิน

Mohan และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาเรื่องการปรับสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต โมนาโคลิน โดยเชื้อรา *Monascus purpureus* สายพันธุ์ MTTC 410 ในการหมักแบบอาหารเหลว (Submerged Fermentation) และได้วิเคราะห์ถึงผลกระทบของการใช้แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน พีเอช อุณหภูมิ ต่อการผลิตสาร โมนาโคลิน เค โดยแหล่งคาร์บอนที่ใช้คือ กลูโคส มอลโทส ฟรุคโทส แล็กโทส และซูโครส แหล่งไนโตรเจนที่ใช้คือ เปปโตन ยีสต์สกัด แอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมซัลเฟต และ แอมโมเนียมไนเตรท แปรผันค่าพีเอชที่ 3, 5, 7, 9, 11, 13 (ในแหล่งอาหารที่ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน) และแปรผันการให้อุณหภูมิที่ 20, 25, 28, 30, 35 องศาเซลเซียส ซึ่งในการทดลองได้ผลดังนี้ คือแหล่งคาร์บอนที่สำคัญพบว่า มอลโทส ให้ผลได้ (Yield) ของ โมนาโคลิน เค มากกว่า กลูโคส สำหรับแหล่งไนโตรเจน พบว่า เปปโตน สามารถผลิตโมนาโคลิน เค สูงที่สุด อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 28 องศาเซลเซียส และพีเอชที่เหมาะสมคือ ที่พีเอช 5

Singgih และคณะ (2013) ได้ทำการวิเคราะห์ หาปริมาณ Monacolin K ด้วยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) คอลัมน์ที่ใช้เป็น Nucleosil C-18 ตรวจวัดโดยเครื่องตรวจจับรังสียูวีที่ความยาวคลื่น 238 นาโนเมตร ตัวอย่างจะถูกละลายใน methanol และนำไปกรองก่อนที่จะทำการฉีด เฟสเคลื่อนที่สำหรับการวิเคราะห์จะใช้ acetonitrile : น้ำ(ปรับพีเอชให้ได้ 2.5 ด้วย H_3PO_4) ในอัตราส่วน 45:55 (โดยปริมาตร) และอัตราการไหลเป็น 1.0 มิลลิลิตร/นาที ใช้ mevinolin จาก Sigma เป็น standard

Yang และคณะ (2015) ได้ศึกษาถึงผลกระทบของการให้ออกซิเจนที่มีผลต่อการผลิตสารสี และชิตรินิน โดยใช้เชื้อรา *Monascus ruber* สายพันธุ์ HS4000 ในการหมักแบบอาหารเหลว โดยทำการเลี้ยงเพื่อให้ผลิตสารสีในปริมาณที่สูง และผลิตชิตรินินในปริมาณที่ต่ำ โดยการแปรอัตราการเขย่า และอัตราการให้ออกซิเจน ที่ระยะเริ่มต้นของการเจริญ ระยะระหว่างการเจริญ และระยะการสร้างผลิตภัณฑ์ โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมัก มีการควบคุมอัตราการเขย่า 3 ขั้นตอน คือ (ชั่วโมงที่ 0-48 เขย่าที่ 150 รอบต่อนาที , ชั่วโมงที่ 48-108 เขย่าที่ 250 รอบต่อนาที, ชั่วโมงที่ 108-120 เขย่าที่ 200 รอบต่อนาที) ใช้ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับ การเลี้ยงโดยให้อัตราการเขย่า 1 ระยะและคงที่ ใช้ปริมาณอาหาร 100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาณสารสีที่ได้ลดลง 40.4 เปอร์เซ็นต์ แต่ปริมาณ
 ซิทรินิน ลดลงถึง 64.2 เปอร์เซ็นต์ และสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับกระบวนการหมักในถังหมัก
 ขนาด 10 ลิตร คือกระบวนการให้อากาศ 3 ระยะ (ชั่วโมงที่ 0-48 ให้อากาศ 300 ลิตรต่อชั่วโมง,
 ชั่วโมงที่ 48-96 ให้อากาศ 500 ลิตรต่อชั่วโมง, ชั่วโมงที่ 96-120 ให้อากาศ 200 ลิตรต่อชั่วโมง)
 ปั่นกวนที่ 300 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง โดยสร้างสารสี
 237.3 ± 5.7 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ใน 120 ชั่วโมง และสร้าง ซิทรินิน 6.05 ± 0.19 กรัมต่อลิตร ใน
 ถังหมักขนาด 10 ลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับผลการเลี้ยงเชื้อโดยมีการให้อากาศคงที่ ที่ 500 ลิตรต่อชั่วโมง
 สารสีผลิตเพิ่มขึ้น 29.6 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นของซิทรินิน ลดลง 79.5 เปอร์เซ็นต์



บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- 3.1.1 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)
- 3.1.2 เครื่องวัดความเข้มของแสง (Spectrophotometer)
- 3.1.3 เครื่องเขย่า (Shaker)
- 3.1.4 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
- 3.1.5 หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
- 3.1.6 เครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter)
- 3.1.7 คอลัมน์ Luna 5U C18 ขนาด 250 x 4.60 มิลลิเมตร 5 ไมครอน

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- 3.2.1 เปปโตน
- 3.2.2 มอลต์สกัด
- 3.2.3 ยีสต์สกัด
- 3.2.4 แป้งมันสำปะหลัง
- 3.2.5 แป้งข้าวเหนียว
- 3.2.6 สารมาตรฐานโมโนโคลีน
- 3.2.7 สารมาตรฐานกลูโคส
- 3.2.8 สารละลาย Somogyi reagent (ภาคผนวก ก.)
- 3.2.9 สารละลาย Nelson's reagent (ภาคผนวก ก.)
- 3.2.10 กรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์มอล (ภาคผนวก ก.)
- 3.2.11 สารละลายกรดซัลฟิวริก 95.5 เปอร์เซ็นต์
- 3.2.12 สารละลายฟีนอล 5 เปอร์เซ็นต์ (ภาคผนวก ก.)
- 3.2.13 สารละลายโพแทสเซียมบอร์เรตบัฟเฟอร์ พีเอช 9.1 (ภาคผนวก ก.)
- 3.2.14 สารละลายพารา-ไดเมทิลอะมีโนเบนซอลดีไฮด์ (ภาคผนวก ก.)
- 3.2.15 Tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์
- 3.2.16 สารละลายเอทิล-แอลกอฮอล์ 99.5 เปอร์เซ็นต์
- 3.2.17 สารละลายเอทิล-แอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์

3.3 เชื้อจุลินทรีย์

- 3.3.1 เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

3.4.1 Malt yeast extract agar (MYS) (ภาคผนวก ก.)

3.4.2 Soybean starch agar (SS) (ภาคผนวก ก.)

3.4.3 แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ มันสำปะหลัง พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50

3.5 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Monascus* sp.

การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 บนอาหาร MYS agar ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน บันทึกลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *Monascus* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ และเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 บนสไลด์ (Slide culture) (ภาคผนวก ข.) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน นำสไลด์ที่มีการเจริญของเส้นใยมาหยดแอลกอฮอล์ 1 หยด ทิ้งไว้จนแห้ง จากนั้นหยดสีย้อม lactophenol cotton blue ลงบนสไลด์ นำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายภาพ 400 เท่า บันทึกลักษณะของเชื้อรา ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.6 การเตรียมหัวเชื้อ

การเลี้ยงเชื้อ *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 บนอาหาร MYS agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นทำการเจาะเส้นใยที่เจริญบนอาหาร MYS agar 2 ชิ้นลงอาหารเหลว SS บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 3-4 วัน ได้หัวเชื้อ *Monascus* เริ่มต้นสำหรับกระบวนการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตสารเมวาสเตติน

3.7 การเตรียมวัสดุหมัก

การเตรียมวัสดุหมักโดย นำหัวมันสำปะหลังสด มาปอกเปลือก และล้างทำความสะอาด จากนั้นนำมาหั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ ขนาด กว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 1x1x1 เซนติเมตร นำมันสำปะหลังที่หั่นเรียบร้อยแล้วมาชั่งน้ำหนักตามการทดลอง

3.8 กระบวนการเลี้ยงเชื้อ

3.8.1 การศึกษาผลกระทบของปริมาณสารลดแรงตึงผิว (Tween 80) ต่อการผลิตสารเมवासเตตินจากเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6

การเลี้ยงเชื้อ *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 โดยทำการแปรผันสารลดแรงตึงผิว (tween 80) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาตร 1.0, 5.0, 10.0 และ 20.0 มิลลิลิตรต่อลิตร เปรียบเทียบกับการเลี้ยงเชื้อโดยไม่เติม tween 80 ทดลองในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับพีเอช เท่ากับ 3 ด้วย กรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์มอล แหล่งคาร์บอนที่ใช้คือ มันสำปะหลัง 20 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการลงหัวเชื้อ 3 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 21 วัน โดยเก็บตัวอย่าง วันที่ 7, 10, 14, 21 เพื่อทำการวิเคราะห์หาสารเมวาสเตติน

3.8.2 การศึกษาผลกระทบของอัตราการเขย่า (รอบต่อนาที) ต่อการผลิตสารเมวาสเตตินจากเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6

นำสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารเมวาสเตติน จากการทดลองการแปรผันสารลดแรงตึงผิว (Tween 80) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ มาดำเนินการทดลองต่อโดยการแปรผันอัตราการเขย่า (รอบต่อนาที) โดยทำการให้อัตราการเขย่า 3 ระยะ ได้แก่ ระยะเริ่มต้นการเจริญ (วันที่ 0-3) ให้อัตราการเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ระยะระหว่างการเจริญ (วันที่ 4-7) ให้อัตราการเขย่า 250 รอบต่อนาที และระยะการสร้างผลิตภัณฑ์ (วันที่ 8-21) ให้อัตราการเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างวันที่ 7, 10, 14, 21 เพื่อทำการวิเคราะห์หาสารเมวาสเตติน

3.9 การเก็บตัวอย่าง

การแยกส่วนของเส้นใยออกจากน้ำหมักโดยวิธีการกรองด้วยผ้าลินิน จากนั้นทำการล้างเส้นใยที่ผ้าลินินด้วยน้ำกลั่นประมาณ 2-3 ครั้ง หรือสังเกตได้ว่าน้ำกลั่นที่ล้างผ่านเส้นใยมีความใสขึ้น จากนั้นนำเส้นใยที่ได้ใส่กระตุงอลูมิเนียมที่ผ่านการอบแห้งและชั่งน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว เพื่อทำการวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งต่อไป สำหรับน้ำหมักที่ผ่านการกรองแล้วจะนำมาใส่หลอดทดลอง ปิดฝาพันด้วยแผ่นพาราฟิล์ม และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อทำการวิเคราะห์หาสารเมวาสเตติน

3.10 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

3.10.1 วิเคราะห์การเจริญของเชื้อรา

วิเคราะห์หา ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ภาคผนวก ข) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ภาคผนวก ข) ค่าพีเอช (ภาคผนวก ข) น้ำหนักเซลล์แห้ง (ภาคผนวก ข) ปริมาณสารสี (ภาคผนวก ข) และปริมาณ เอน-อะซีติลกลูโคซามีน (ภาคผนวก ข)

3.10.2 วิเคราะห์สารเมवासเตติน ด้วยเครื่องแยกสารในสถานะของเหลวที่มี

ประสิทธิภาพสูง (High Performance Liquid Chromatography)

การเตรียมสารละลายมาตรฐานเมवासเตติน โดยนำสารเมवासเตตินมาตรฐานละลายใน เอทานอล 99 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.5, 0.05, 0.01, 0.005 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร นำสารละลายมาตรฐานเมवासเตตินแต่ละความเข้มข้นมาผสมกับสารละลาย อะซีโตไนไตรท์ อัตราส่วนสารละลายอะซีโตไนไตรท์ต่อสารละลายมาตรฐานเมवासเตติน (55:45) จากนั้นนำไปกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร และนำไปวิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง โดยนำสารละลายตัวอย่างผสมกับสารละลายอะซีโตไนไตรท์ ในอัตราส่วน สารละลายอะซีโตไนไตรท์ต่อสารละลายตัวอย่าง (55:45) และนำไปกรองผ่านกระดาษ กรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์ผ่านเครื่อง HPLC และทำการคำนวณหาพื้นที่ ได้กราฟที่เวลาเดียวกับกราฟมาตรฐานเพื่อทำการเปรียบเทียบหาปริมาณเมवासเตติน

การวิเคราะห์ HPLC ของตัวอย่าง ผ่านคอลัมน์ C18 เฟสเคลื่อนที่ ที่ใช้ได้แก่ น้ำบริสุทธิ์ และ อะซีโตไนไตรท์ในอัตราส่วน สารละลายอะซีโตไนไตรท์ต่อน้ำบริสุทธิ์ (55:45) วัดค่า การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 238 นาโนเมตร วิเคราะห์หาปริมาณสารเมवासเตติน โดยเทียบ กราฟมาตรฐานเมवासเตติน (ภาคผนวก ข)

บทที่ 4

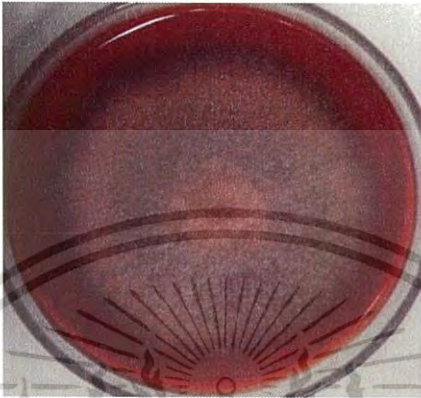
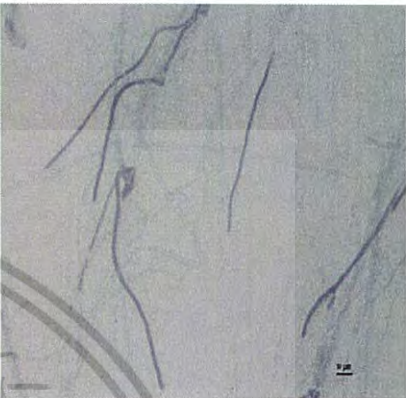
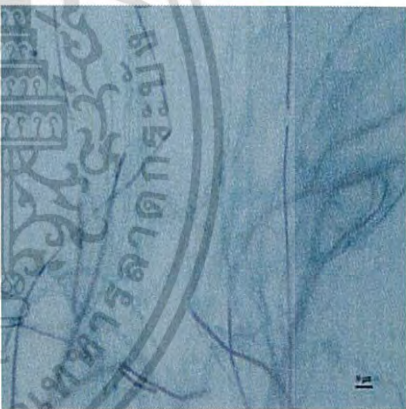
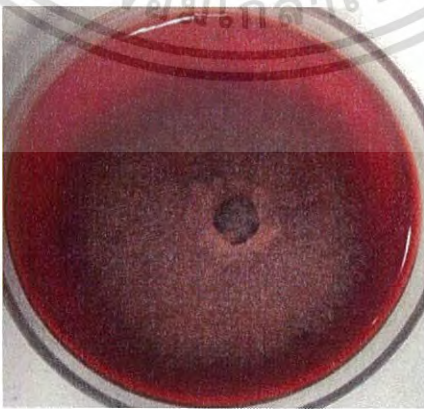
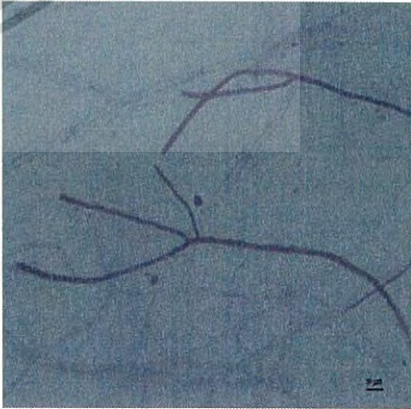
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6

ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 โดยการเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร MYS agar เป็นระยะเวลา 14 วัน ให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 มีความใกล้เคียงกัน โคโลนีมีสีแดงอ่อน เส้นใยมีลักษณะคล้ายสำลี เรียบ ไม่ฟู เจริญบนผิวหน้าอาหาร บริเวณอาหารเลี้ยงเชื้อรอบๆโคโลนี มีสีแดงเข้มเนื่องจากเชื้อรามีการผลิตสารสีแดง และหลังสารสีออกนอกเซลล์ หากสังเกตจะเห็นว่าเส้นใยที่อยู่ขอบนอกของโคโลนีเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 มีลักษณะสีแดงเข้มขึ้น เนื่องจากเส้นใยมีอายุมาก การเจริญของเส้นใยเริ่มเข้าใกล้ขอบจานเพาะเชื้อ และสารอาหารภายในจานเพาะเชื้อเริ่มหมดลง ทำให้เชื้อราเริ่มเข้าสู่สภาวะการสร้างผลิตภัณฑ์มากกว่าการเจริญจึงไม่เห็นเส้นใยที่มีสีขาว (อายุน้อย) ซึ่งสังเกตได้ชัดเจนในโคโลนีของเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14 และ C2M6

เมื่อนำเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 มาเพาะเลี้ยงบนสไลด์เพื่อทำการส่องดูลักษณะของเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 มีลักษณะที่ใกล้เคียงกัน โดยเส้นใยของเชื้อรามีผนังกัน ปลายเส้นใยมีลักษณะมน บางเส้นใยมีปลายแหลมซึ่งเห็นได้ชัดเจนในเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ C2M6 เส้นใยมีลักษณะแตกกิ่งก้านสาขาออกไปมากมาย บางเส้นใยมีลักษณะใส แต่บางเส้นใยมีลักษณะสีแดงเข้ม เนื่องจากมีการสะสมของเม็ดสีแดงไว้ในเซลล์

ตารางที่ 4.1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M, C2M6 และลักษณะเส้นใยของเชื้อราที่ส่องภายในกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยายภาพ 400 เท่า

<i>Monascus</i> sp.	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะเส้นใย
สายพันธุ์ SS14		
สายพันธุ์ 6M		
สายพันธุ์ C2M6		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ศึกษาผลกระทบของปริมาณสารลดแรงตึงผิว (tween 80) ต่อการผลิตสารเมवासเตติน จากเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6

จากการทดลอง การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 ในสภาวะอาหารเหลว เป็นเวลา 21 วัน โดยแปรผันปริมาณ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับ 1.0, 5.0, 10.0, 20.0 มิลลิลิตรต่อลิตร เปรียบเทียบกับการเลี้ยงเชื้อโดยไม่เติม tween 80 ทำการเพาะเลี้ยงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ใช้มันสำปะหลัง 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.0 ด้วย กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1.0 นอร์มอล ให้ผลการทดลอง ดังรูปที่ 4.1 พบว่าเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 ผลิตสารเมวาสเตติน มากที่สุดในวันที่ 7 ของการเจริญ จากนั้นการผลิตสารเมวาสเตติน จะลดลงและเพิ่มขึ้นไม่สม่ำเสมอ และพบว่าปริมาณของ tween 80 ที่เติมลงไปในการเลี้ยงเชื้อนั้น ส่งผลต่อการผลิตสารเมวาสเตตินของเชื้อรา *Monascus* ทั้ง 3 สายพันธุ์ที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกระบวนการเมแทบอลิซึมของเชื้อราแต่ละสายพันธุ์ โดยปริมาณของ tween 80 ที่ส่งผลให้เชื้อรา *Monascus* sp. SS14, 6M และ C2M6 ผลิตสารเมวาสเตตินมากที่สุดคือ 5.0, 10.0 และ 5.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งผลิตสารเมวาสเตตินได้ 0.0478 (วันที่ 7), 0.0305 (วันที่ 7) และ 0.0192 (วันที่ 7) มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ที่อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารเมวาสเตตินจากเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6

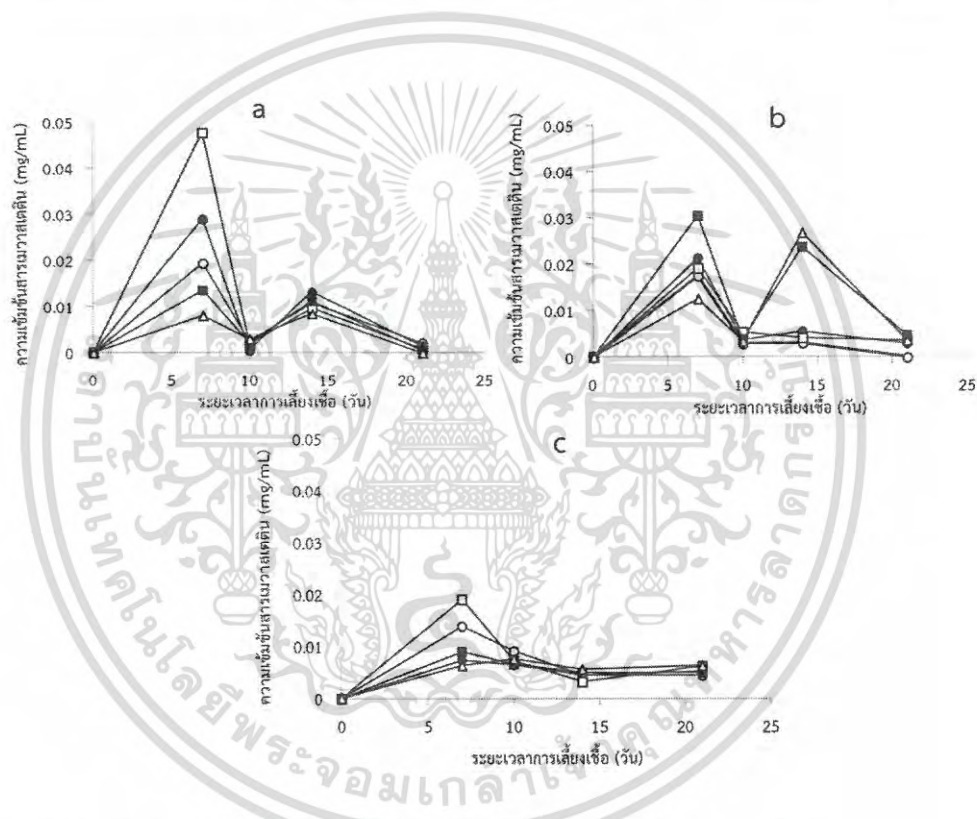
<i>Monascus</i> sp.	วันที่	ปริมาณสารเมวาสเตติน (mg/mL) จากการแปรผันความ เข้มข้น tween 80 0.1 เปอร์เซ็นต์				
		0 mL/L	1.0 mL/L	5.0 mL/L	10.0 mL/L	20.0 mL/L
SS14	7	0.0195	0.0290	<u>0.0478</u>	0.0135	0.0080
6M		0.0175	0.0213	0.0192	<u>0.0305</u>	0.0126
C2M6		0.0139	0.0074	<u>0.0192</u>	0.0091	0.0064
SS14	10	0.0025	0.0066	0.0019	0.0022	0.0030
6M		0.0029	0.0037	0.0054	0.0039	0.0035
C2M6		0.0091	0.0065	0.0073	0.0067	0.0076
SS14	14	0.0107	0.0132	0.0096	0.0111	0.0085
6M		0.0032	0.0056	0.0042	0.0237	0.0268
C2M6		0.0046	0.0045	0.0033	0.0052	0.0056

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ) ปริมาณสารเมวาสเตตินจากเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6

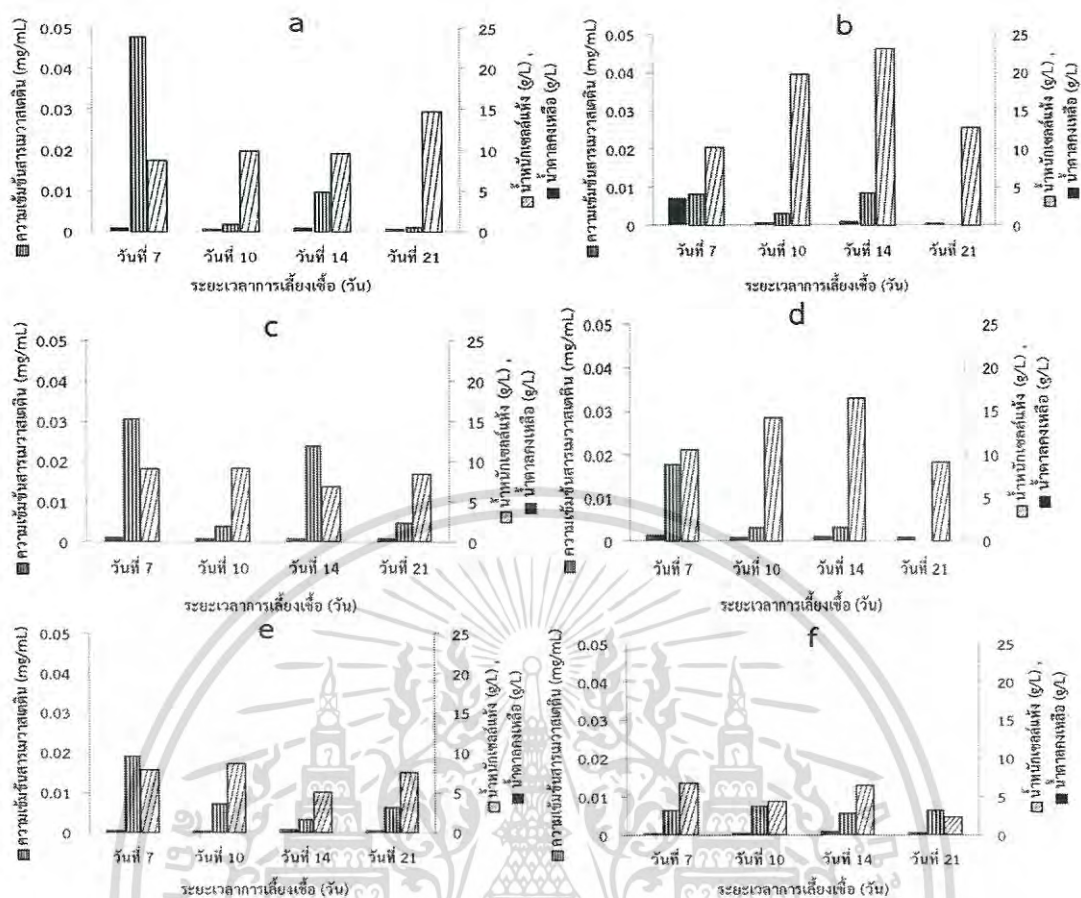
<i>Monascus</i> sp.	วันที่	ปริมาณสารเมวาสเตติน (mg/mL) จากการแปรผันความเข้มข้น tween 80 0.1 เปอร์เซ็นต์				
		0 mL/L	1.0 mL/L	5.0 mL/L	10.0 mL/L	20.0 mL/L
SS14	21	0.0022	0.0015	0.0010	0.0005	0
6M		0	0.0028	0.0036	0.0047	0.0036
C2M6		0.0045	0.0052	0.0063	0.0050	0.0064



รูปที่ 4.1 การผลิตเมวาสเตตินจากเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 (a) *Monascus* sp. 6M (b) และ *Monascus* sp. C2M6 (c) เมื่อเจริญในอาหารเหลวที่ใช้มันสำปะหลัง 20 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งคาร์บอน และแปรผันสารลดแรงตึงผิว (tween 80) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาตร 0 mL/L (ควบคุม)(○) 1.0 mL/L (●) 5.0 mL/L (□) 10.0 mL/L (■) และ 20.0 mL/L (Δ) ตามลำดับ

ผลกระทบของ tween 80 ต่อการผลิตสารเมวาสเตติน เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ การเจริญและความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส ของเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 ดังแสดงในรูปที่ 4.2 พิจารณวันที่ 7 ของการเจริญ พบว่า tween 80 ที่ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้เชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ใช้น้ำตาลเพื่อผลิตสารเมวาสเตตินได้มากกว่าการเจริญ โดยผลผลิตสารเอกลสารนี้เป็นเอกลสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกลสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมवासเตดินมากที่สุด (0.0478 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แต่มีการเจริญของเส้นใยในปริมาณน้อย (8.7255 กรัมต่อลิตร) ในทางกลับกัน tween 80 ที่ 20 มิลลิลิตรต่อลิตร ส่งผลให้ เชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ใช้น้ำตาลเพื่อผลิตสารเมวาสเตดินได้ต่ำที่สุด (0.0080 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แต่การเจริญของเส้นใยมีมาก (10.1618 กรัมต่อลิตร) เชื้อรา *Monascus* sp. 6M ก็เป็นไปในทางเดียวกันคือ เชลล์สามารถใช้น้ำตาลเพื่อการผลิตสารเมวาสเตดินได้สูงที่สุด (0.0305 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ tween 80 ปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อลิตร แต่มีการเจริญของเส้นใยในปริมาณที่น้อย (9.0732 กรัมต่อลิตร) ในขณะที่ไม่เติม tween 80 ส่งผลให้เชลล์ใช้น้ำตาลเพื่อผลิตสารเมวาสเตดินได้น้อย (0.0175 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แต่มีการเจริญของเส้นใยมาก (10.5297 กรัมต่อลิตร) นั่นหมายถึง หากเชื้อรามีการผลิตสารเมวาสเตดินในปริมาณน้อยจะส่งผลให้การเจริญของเส้นใยมีมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากในการเพาะเลี้ยงเชื้อรา สับสเตรทส่วนหนึ่งจะถูกนำมาสร้างผลิตภัณฑ์ และอีกส่วนหนึ่งจะถูกนำมาสร้างเชลล์เพื่อการเจริญเติบโต โดยเชลล์ยังต้องการพลังงานไปใช้ในการบำรุงรักษา และซ่อมแซมองค์ประกอบของเชลล์ ขนถ่ายสารอาหารรวมทั้งผลิตภัณฑ์เข้าและออกนอกเชลล์ เป็นต้น แต่สำหรับเชื้อรา *Monascus* sp. C2M6 ผลิตสารเมวาสเตดินได้มากที่สุด (0.0192 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ tween 80 ปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อลิตร และยังมีการเจริญของเส้นใยน้อยกว่าเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14 และ 6M (7.8582 กรัมต่อลิตร) เนื่องจากเมแทบอลิซึมของเชื้อราแต่ละสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน ส่งผลให้การเจริญและการผลิตสารเมวาสเตดินมากหรือน้อยต่างกัน และผลผลิตที่เชื้อราสร้างขึ้นนั้นจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณของเชลล์ ปฏิกริยาเฉพาะเจาะจงของเชลล์ และความสามารถในการผลิตของเชลล์ (คุชณี, 2555)



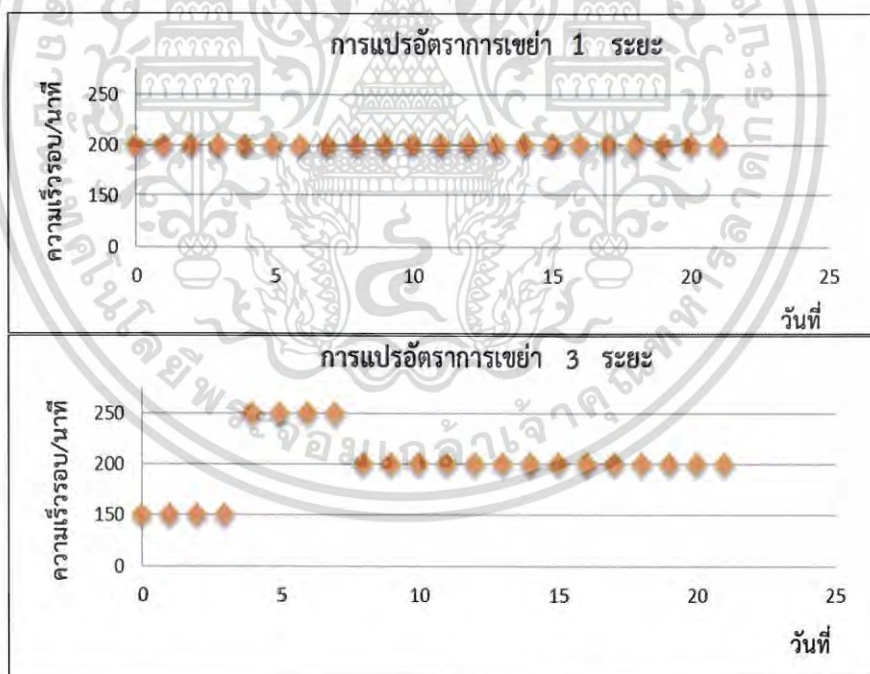
รูปที่ 4.2 เปรียบเทียบการเจริญ (▨) การสร้างสารเมตาบอไลต์ (▤) และความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส (■) ในอาหารเหลว ที่ใช้มันสำปะหลัง 20 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งคาร์บอน ของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 เติม 5 mL/L ของ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (a) *Monascus* sp. SS14 เติม 20 mL/L ของ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (b) *Monascus* sp. 6M เติม 10 mL/L ของ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (c) *Monascus* sp. 6M ไม่เติม tween 80 (d) *Monascus* sp. C2M6 เติม 5 mL/L ของ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (e) *Monascus* sp. C2M6 เติม 20 mL/L ของ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (f)

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณสารลดแรงตึงผิว (tween 80) ที่แตกต่างกัน ส่งผลให้เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 มีการเจริญและผลิตสารเมตาบอไลต์ที่แตกต่างกัน โดยสารละลาย tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14 และ C2M6 ผลิตเมตาบอไลต์มากที่สุด (วันที่ 7) ที่ 0.0478 และ 0.0192 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ และ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ 6M ผลิตเมตาบอไลต์มากที่สุด (วันที่ 7) ที่ 0.0305 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม ที่อัตราความเร็ว 200 รอบต่อนาที ตลอดการเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ศึกษาผลกระทบของอัตราการใช้ยา (รอบต่อนาฬิกา) ต่อการผลิตสารเมวาสเตติน จากเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6

จากการทดลองการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 โดยนำสถานะของสารลดแรงตึงผิว (tween 80) ที่เหมาะสมต่อการผลิตสารเมวาสเตติน จากเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14 (tween 80 ที่ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร), *Monascus* sp. สายพันธุ์ 6M (tween 80 ที่ 10 มิลลิลิตรต่อลิตร) และ *Monascus* sp. สายพันธุ์ C2M6 (ไม่เติม tween 80) ที่อัตราการใช้ยา 200 รอบต่อนาฬิกา มาทำการทดลอง โดยให้อัตราการใช้ยา 3 ระยะ ดังแสดงในรูปที่ 4.3 ได้แก่ ระยะเริ่มต้นการเจริญ (วันที่ 0-3) จะให้อัตราการใช้ยาที่ 150 รอบต่อนาฬิกา ระยะระหว่างการเจริญ (วันที่ 4-7) ให้อัตราการใช้ยา 250 รอบต่อนาฬิกา และระยะการสร้างผลิตภัณฑ์ (วันที่ 8-21) ให้อัตราการใช้ยาที่ 200 รอบต่อนาฬิกา ซึ่งเปรียบเทียบกับอัตราการใช้ยา 1 ระยะ คือการใช้ยาที่ 200 รอบต่อนาฬิกาตลอดการเลี้ยงเชื้อ โดยปริมาณสารเมวาสเตตินจากเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 แสดงดังตารางที่ 4.3 และ รูปที่ 4.4



รูปที่ 4.3 อัตราการใช้ยา 1 ระยะ (200 รอบต่อนาฬิกาตลอดการเลี้ยงเชื้อ) และอัตราการใช้ยา 3 ระยะ คือ ระยะเริ่มต้นการเจริญ (วันที่ 0-3) จะให้อัตราการใช้ยาที่ 150 รอบต่อนาฬิกา ระยะระหว่างการเจริญ (วันที่ 4-7) ให้อัตราการใช้ยา 250 รอบต่อนาฬิกา และระยะการสร้างผลิตภัณฑ์ (วันที่ 8-21) ให้อัตราการใช้ยาที่ 200 รอบต่อนาฬิกา

ตารางที่ 4.3 การผลิตเมवासเตตินจากเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 โดยการให้อัตราการเขย่า 3 ระยะ เปรียบเทียบกับการให้อัตราการเขย่า 1 ระยะ

<i>Monascus</i> sp.	Tween 80 0.1 เปอร์เซ็นต์	ปริมาณสารเมวาสเตติน (mg/mL)			
		วันที่ 7	วันที่ 10	วันที่ 14	วันที่ 21
SS14	5 mL/L	0.0032	0.0028	0.0037	0.0062
SS14 (1 ระยะ)		0.0478	0.0019	0.0096	0.0010
6M	10 mL/L	0.0017	0.0024	0.0031	0.0039
6M (1 ระยะ)		0.0305	0.0039	0.0237	0.0047
C2M6	0 mL/L	0.0043	0.0066	0.0068	0.0051
C2M6 (1 ระยะ)		0.0139	0.0091	0.0046	0.0045



รูปที่ 4.4 การผลิตเมวาสเตตินจากเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14 (-□-) *Monascus* sp. สายพันธุ์ 6M (—■—) และ *Monascus* sp. สายพันธุ์ C2M6 (...○...) เลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวที่ใช้มันสำปะหลัง 20 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งคาร์บอน โดยการให้อัตราการเขย่า 3 ระยะ ที่ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5, 10 และ 0 mL/L ตามลำดับ

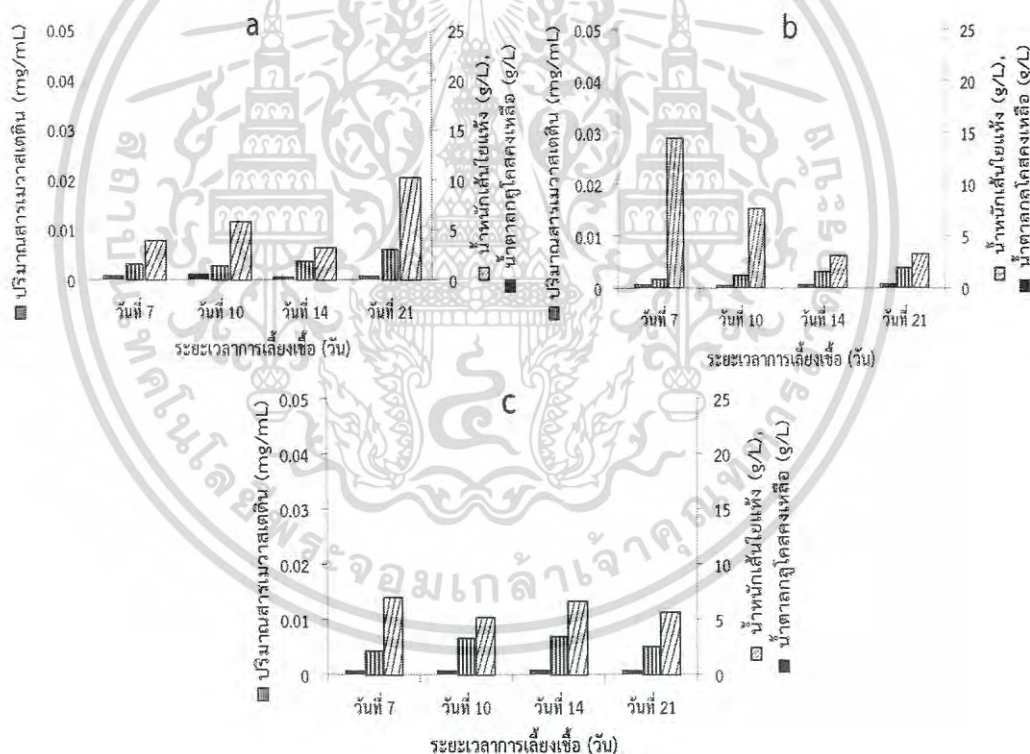
จากตารางที่ 4.3 และ รูปที่ 4.4 พบว่า เมื่อให้อัตราการเขย่าที่แตกต่างกันในการเลี้ยงเชื้อ 3 ระยะ ส่งผลให้มีการผลิตสารเมวาสเตตินต่ำกว่าการทดลองที่ให้อัตราการเขย่าเพียง 1 ระยะ (20 รอบต่อนาที ตลอดการเลี้ยงเชื้อ 21 วัน) โดยเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ C2M6 มีการผลิตสารเมวาสเตตินมากที่สุดในวันที่ 14 (0.0068 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) จากนั้นการผลิตสารเมวาสเตตินเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะลดลง เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14 ผลิตสารเมวาสเตดินมากที่สุดในวันที่ 21 (0.0062 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ 6M ผลิตสารเมวาสเตดินมากที่สุดในวันที่ 21 (0.0039 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ทั้งนี้หากพิจารณาถึงอัตราการเขย่า 3 ระยะ พบว่าในช่วงเริ่มต้นการเจริญ (วันที่ 0-3) จะให้อัตราการเขย่าต่ำ (150 รอบต่อนาที) เนื่องจากเป็นช่วงที่เชื้อรามีการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมใหม่ เมื่อเติมหัวเชื้อในรูปของ pellet จะต้องใช้เวลาให้ pellet กระจายออกทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ การให้อัตราการเขย่าที่ต่ำก่อนเพื่อไม่ให้ pellet เกิดความเสียหายจนส่งผลต่อการเจริญของเซลล์ จากนั้นเมื่อเข้าสู่ระยะของการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว (วันที่ 4-7) จะทำการให้อัตราการเขย่าที่สูง (250 รอบต่อนาที) เนื่องจากมีการเจริญของเส้นใยที่หนาแน่นจึงต้องให้อัตราการเขย่าที่สูงขึ้นเพื่อให้มีออกซิเจนละลายในอาหารเพียงพอ เพื่อให้เชื้อราเจริญและผลิตสารเมวาสเตดินได้สูงขึ้น และเมื่อเชื้อราเจริญเข้าสู่สภาวะการสร้างผลิตภัณฑ์ (วันที่ 8-21) จึงให้อัตราการเขย่าปกติ (200 รอบต่อนาที) เพื่อไม่ให้เชื้อราเข้าสู่ระยะการตายเร็วขึ้น และมีระยะการสร้างผลิตภัณฑ์ที่นานขึ้น ซึ่งการผลิตสารเมวาสเตดินค่อยเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ต่างจากผลการทดลองที่ 4.2 ที่ให้อัตราการเขย่าเพียง 1 ระยะ (200 รอบต่อนาที ตลอดการเลี้ยงเชื้อ) การผลิตสารเมวาสเตดินจากเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 จะมีปริมาณสูงในวันที่ 7 แต่หลังจากนั้นจะลดลงและเพิ่มขึ้นไม่สม่ำเสมอ

ในขณะเดียวกันงานวิจัยของ Yang และคณะ (2015) ที่ได้ศึกษาถึงผลกระทบของการให้ออกซิเจนที่มีผลต่อการผลิตสารสี และซิทรินิน ซึ่งทำการเลี้ยงเพื่อให้ผลิตสารสีในปริมาณที่สูง และผลิตซิทรินินในปริมาณที่ต่ำ โดยการแปรอัตราการเขย่า พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ การให้อัตราการเขย่า 3 ระยะ (ระยะเริ่มต้นของการเจริญเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที, ระยะระหว่างการเจริญ เขย่าที่ 250 รอบต่อนาที, และระยะการสร้างผลิตภัณฑ์ 200 รอบต่อนาที) เมื่อเปรียบเทียบกับ การเลี้ยงโดยให้อัตราการเขย่า 1 ระยะ (250 รอบต่อนาที ตลอดการเลี้ยงเชื้อ) ปริมาณสารสีที่ได้ลดลง 40.4 เปอร์เซ็นต์ แต่ปริมาณซิทรินินลดลงถึง 64.2 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการให้ออกซิเจนปริมาณต่ำในระยะการสร้างผลิตภัณฑ์ ส่งผลให้มีการสะสมสารสี และสังเคราะห์ซิทรินินในปริมาณต่ำ แต่สารสีที่เกิดขึ้นนั้นก็ มีระดับที่สูงกว่า จึงสรุปว่า กระบวนการให้ออกซิเจน 3 ระยะ แสดงให้เห็นถึงความสำเร็จในการปรับสภาวะที่เหมาะสม สำหรับการผลิตสารสีให้ได้ในปริมาณสูงและมีการผลิตซิทรินินในปริมาณต่ำ ในการเลี้ยงเชื้อที่มีการเขย่าในฟลาสก์ และการเลี้ยงเชื้อในถังหมัก

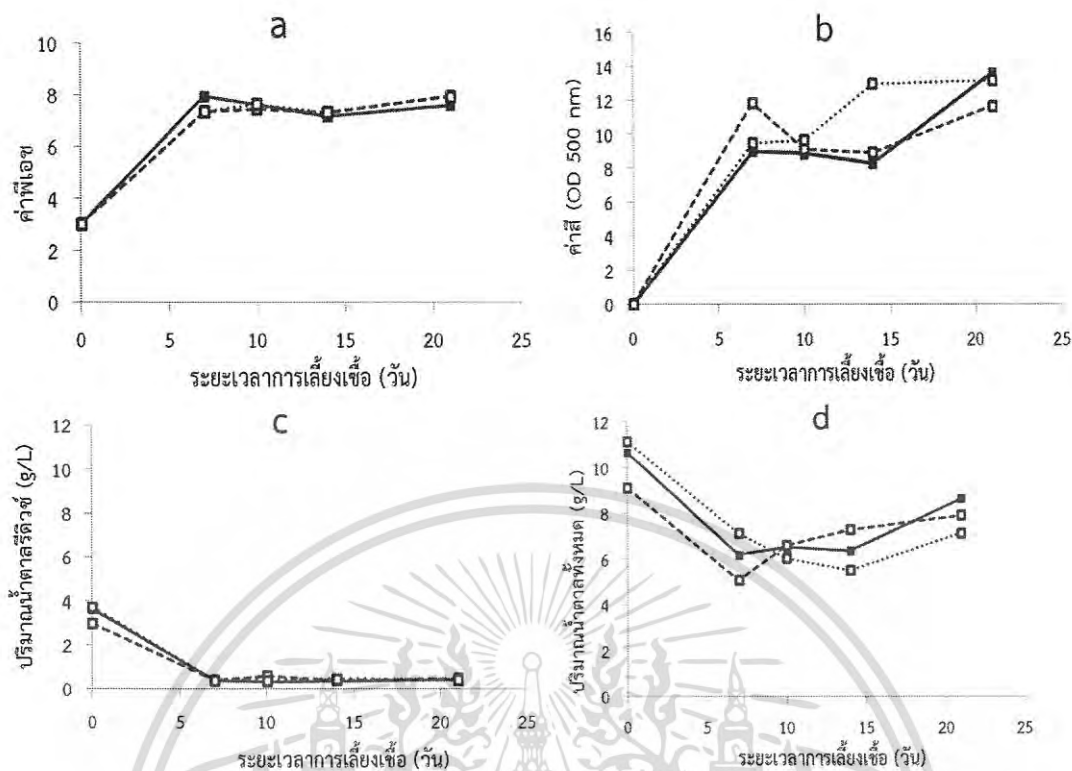
เมื่อวิเคราะห์การเจริญ การสร้างสารเมวาสเตดิน และความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสคงเหลือ ในการเลี้ยง เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 โดยให้อัตราการเขย่า 3 ระยะ (150, 250, 200 รอบต่อนาที) ให้ผลดังแสดงในรูป 4.5 พบว่า เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ 6M ไม่ว่การณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีการเจริญของเส้นใยมากที่สุดในวันที่ 7 (14.4897 กรัมต่อลิตร) และการเจริญของเส้นใยก่อยๆลดลง ในขณะที่มีการผลิตสารเมวาสเตตินที่เพิ่มมากขึ้น เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14 ผลิตสารเมวาสเตตินที่มากขึ้น แต่ในขณะเดียวกันก็มีการเจริญของเส้นใยที่มากขึ้นเรื่อยๆเช่นกัน ซึ่งมีการเจริญของเส้นใยสูงที่สุดในวันที่ 21 (10.2397 กรัมต่อลิตร) และเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ C2M6 มีการเจริญของเส้นใยมากที่สุดในวันที่ 7 (7.0061 กรัมต่อลิตร) หลังจากนั้นการเจริญของเส้นใยก็ตกลงและเพิ่มขึ้นไม่สม่ำเสมอ ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า การให้อัตราการเขย่าที่สูงมากเกินไป (250 รอบต่อนาที) ในระยะที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. ที่แตกต่างกันไป อาจทำให้เส้นใยของ เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14 มีการฉีกขาด การเจริญของเส้นใยจึงมีปริมาณน้อยในช่วงวันที่ 7 หรือการให้อัตราการเขย่าที่สูงมากเกินไป (250 รอบต่อนาที) ส่งผลให้เส้นใยของ เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ 6M มีการเจริญได้ดี มีออกซิเจนที่เพียงพอต่อการเจริญ ทำให้มีปริมาณเส้นใยสูงที่สุดในวันที่ 7



รูปที่ 4.5 เปรียบเทียบการเจริญ (▨) การสร้างสารเมวาสเตติน (■) และความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส (■) ในอาหารเหลว ที่ใช้มันสำปะหลัง 20 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งคาร์บอน ของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 (a) *Monascus* sp. 6M (b) *Monascus* sp. C2M6 (c) โดยการให้อัตราการเขย่า 3 ระยะ ที่ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5, 10 และ 0 mL/L ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาค่าพีเอช การผลิตสารสี ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส และความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด จากการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 โดยให้อัตราการเขย่า 3 ระยะ ดังแสดงในรูปที่ 4.6 พบว่าในระหว่างการเจริญเติบโตของเชื้อรานั้น ค่าพีเอชจะค่อยๆ เพิ่มขึ้น จนกระทั่งมีพีเอชเป็นกลางเนื่องจากสารเมแทบอลิต์ของเชื้อราที่สร้างขึ้น จึงทำให้มีค่าพีเอชเปลี่ยนไป อีกทั้งน้ำตาลกลูโคสในระบบค่อยๆ ลดลง เนื่องจากเชื้อราใช้น้ำตาลเพื่อการสร้างเซลล์และสร้างสารเมวาสเตดิน แต่ทั้งนี้แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเจริญของเชื้อราคือ มันสำปะหลัง เป็นพืชชนิดหัวที่มีการสะสมของแป้ง ซึ่งเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่เกิดจากการเชื่อมต่อกันของกลูโคสหลายพันโมเลกุล ดังนั้นเชื้อราจึงต้องสร้างเอนไซม์หลายชนิดเพื่อย่อยแป้งให้กลายเป็นน้ำตาลมอลโทส และกลูโคสตามลำดับ และนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์ จึงต้องทำการวัดน้ำตาลทั้งหมดในระบบพบว่าเชื้อราสามารถเจริญเติบโตและสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยแป้งได้อย่างไรบ้าง และพบว่าน้ำตาลทั้งหมดในระบบลดลงและเพิ่มขึ้นไม่สม่ำเสมอขึ้นกับการสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยมันสำปะหลังที่แตกต่างกันของเชื้อรา *Monascus* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ และเมื่อพิจารณาค่าสารสีที่เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 สร้างขึ้น พบว่า เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14 สร้างสารสีมากที่สุดในวันที่ 7 (11.82 หน่วย) จากนั้นการสร้างสารสีจะลดลง เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ 6M สร้างสารสีมากที่สุดในวันที่ 21 (13.62 หน่วย) และเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ C2M6 สร้างสารสีสูงที่สุดในวันที่ 21 (13.14 หน่วย) ซึ่งการสร้างสารสีของเชื้อราที่แตกต่างกันนั้นขึ้นกับการเจริญของเชื้อรา และ เมแทบอลิซึมของเชื้อราแต่ละสายพันธุ์ที่ต่างกัน



รูปที่ 4.6 เปรียบเทียบค่าพีเอช (a), สารสี (b), ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส (c) และความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด (d) ของเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14 (---□---) *Monascus* sp. สายพันธุ์ 6M (—■—) และ *Monascus* sp. สายพันธุ์ C2M6 (····□····) เลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวที่ใช้มันสำปะหลัง 20 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งคาร์บอน โดยการให้อัตราการเขย่า 3 ระยะที่ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5, 10 และ 0 mL/L ตามลำดับ

จากผลการทดลองพบว่า ที่อัตราการเขย่า 3 ระยะ ได้แก่ ระยะเริ่มต้นการเจริญ (วันที่ 0-3) จะให้อัตราการเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ระยะระหว่างการเจริญ (วันที่ 4-7) ให้อัตราการเขย่า 250 รอบต่อนาที และระยะการสร้างผลิตภัณฑ์ (วันที่ 8-21) ให้อัตราการเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที ส่งผลให้เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14 ผลิตสารเมวาสเตดินมากที่สุดในวันที่ 21 (0.0062 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ 6M ผลิตสารเมวาสเตดินมากที่สุดในวันที่ 21 (0.0039 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และ เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ C2M6 สามารถผลิตสารเมวาสเตดินได้มากที่สุดในวันที่ 14 (0.0068 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5, 10 และ 0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสามารถผลิตเมวาสเตดินได้น้อยกว่าการให้อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาทีตลอดการเลี้ยงเชื้อ

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาผลกระทบของสารลดแรงตึงผิว (tween 80) ต่อการผลิตสารเมवासเตตินจากเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 ในสภาวะอาหารเหลวโดยใช้น้ำมันรำปะหลัง 20 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งคาร์บอน ที่อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาทีตลอดการเลี้ยงเชื้อ จากผลการทดลองพบว่าปริมาณสารลดแรงตึงผิว (tween 80) ที่แตกต่างกัน ส่งผลให้เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ดั้งเดิม SS14 และสายพันธุ์กลาย 6M และ C2M6 มีการเจริญและผลิตสารเมวาสเตตินที่แตกต่างกัน โดยสารละลาย tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ส่งผลให้เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14 และ C2M6 ผลิตเมวาสเตตินมากที่สุด (วันที่ 7) ที่ 0.0478 และ 0.0192 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ 10 มิลลิลิตรต่อลิตร ส่งผลให้เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ 6M ผลิตเมวาสเตตินมากที่สุด (วันที่ 7) ที่ 0.0305 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากนั้นนำสภาวะที่เหมาะสมของความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว มาศึกษาผลกระทบของอัตราการเขย่า (รอบต่อนาที) ต่อการผลิตสารเมวาสเตติน ในเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14, 6M และ C2M6 จากผลการทดลองพบว่า ที่อัตราการเขย่า 3 ระยะ ได้แก่ ระยะเริ่มต้นการเจริญ (วันที่ 0-3) จะให้อัตราการเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ระยะระหว่างการเจริญ (วันที่ 4-7) ให้อัตราการเขย่า 250 รอบต่อนาที และระยะการสร้างผลิตภัณฑ์ (วันที่ 8-21) ให้อัตราการเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที ส่งผลให้เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ SS14 ผลิตสารเมวาสเตตินมากที่สุดในวันที่ 21 (0.0062 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ 6M ผลิตสารเมวาสเตตินมากที่สุดในวันที่ 21 (0.0039 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ C2M6 สามารถผลิตสารเมวาสเตตินได้มากที่สุดในวันที่ 14 (0.0068 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5, 10 และ 0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสามารถผลิตเมวาสเตตินได้น้อยกว่าการให้อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ตลอดการเลี้ยงเชื้อ แต่อย่างไรก็ตามการผลิตเมวาสเตตินลดลง อาจสัมพันธ์กับการผลิตซิทรินินที่ลดลงด้วยเช่นกัน ซึ่งผลดังกล่าวจำเป็นต้องศึกษาทดลองต่อไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรทำการวัดซิทรินินซึ่งเป็นสารพิษที่เชื้อราสร้างขึ้น เนื่องจากการศึกษาผลกระทบของอัตราการเขย่าต่อการผลิตเมวาสเตติน ที่อัตราการให้อากาศ 3 ระยะ ส่งผลให้มีการผลิตเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมवासเตตินน้อยลง ซึ่งจากงานวิจัยของ Yang และคณะ (2015) พบว่าที่อัตราการเรียนรู้ 3 ระยะ คือ สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารสีในปริมาณมากและมีซีทรินินในปริมาณน้อย โดยหากทำการวัด ปริมาณซีทรินิน จะทำให้ทราบว่าในการทดลองนี้มีปริมาณซีทรินินลดลงเล็กน้อยเพียงใด ซึ่งเป็น ประโยชน์ต่อการศึกษาต่อไป

5.2.2 ควรทำการทดลอง 2-3 ซ้ำ และนำผลที่ได้จากการทดลองเข้าโปรแกรมทางสถิติ เพื่อ ช่วยให้ข้อมูลมีความน่าเชื่อถือ แม่นยำ และเป็นประโยชน์ในการนำข้อมูลไปทำการวิจัยในลำดับต่อไป



เอกสารอ้างอิง

- กรกต สุนทรกุล, สุกานดา วิจิตพันธ์ และคณิต วิจิตพันธ์. 2555. ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคของสาโทแดง ที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3002. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://gsbooks.gs.kku.ac.th/55/cdgrc13/files/bmo2.pdf>.
- กรมพัฒนาที่ดิน. 2558. มันสำปะหลัง. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.ddd.go.th/Lddwebsite/web_ord/Technical/pdf/P_Technical06013.pdf
- ดุชนี ธนะบริพัฒน์. 2555. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. เล่มที่ 1. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร : หจก. วี. เจ.พรินติ้ง
- บุษบา ยงสมิทธิ. 2542. จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- ประดิษฐ์ มีสุข. 2547. ชีวเคมีเบื้องต้น (เคมีชีวิต). พิมพ์ครั้งที่ 4. สงขลา : มหาวิทยาลัยทักษิณ
- พวงทอง ไกรพิบูลย์. 2557ก. ปัจจัยเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจ (Risk for Coronary heart disease). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://haamor.com/th/ปัจจัยเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจ>
- พวงทอง ไกรพิบูลย์. 2557ข. โรคหัวใจ: โรคหลอดเลือดหัวใจ (Coronary artery disease). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://haamor.com/th/โรคหัวใจ>
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. 2558. Cassava/มันสำปะหลัง. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2927/cassava>
- มนตรี จุฬาววัฒนทล, ยงยุทธ ยุทธวงศ์, ชัยณัฐ สวัสดิวัฒน์, ประหยัด โกมารทัต, ประพนธ์ วิไลรัตน์, สกล พันธุ์ยิ้ม และ ภิญญา พานิชพันธ์. 2530. ชีวเคมี. กรุงเทพมหานคร. มหาวิทยาลัยมหิดล
- มีชัย ลัดดี. 2551. การผลิตสารสีจากจุลินทรีย์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.agro.kmutnb.ac.th/e-learning/521302/8.php>
- ราไฟ โภฏสืบ. 2559. Phylum Ascomycota ไฟลัม แอสโคไมยโคตา. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://science.psru.ac.th/teaching/data/bio/Phylum_Ascomycota.pdf
- ลลิตวดี ต้นตำ, วนิตา เขียวจันทร์ และ วรางคณา รัตนะกรี. 2557. การปรับปรุงสายพันธุ์เชื้อรา *Monascus* sp. SS14 เพื่อเพิ่มผลผลิต Monacolin. ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขา ชีววิทยา, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- วิชัย รักวิทยาศาสตร์. 2551. ราวิทยาเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร. จามจุรีโปรดักท์
- วิชัย ต้นไพจิตร. 2531. มารูจักโคเลสเตอรอลกันเถอะ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.doctor.or.th/article/detail/6553>

- วันทนี เกริญสินยศ. 2548. กินอย่างไร เมื่อไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.doctor.or.th/article/detail/1331>
- สมเกียรติ แสงวัฒนาโรจน์. 2552. ไตรกลีเซอไรด์และเอชดีแอล. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.student.chula.ac.th/~54373208/cholesterol.html>
- สแตติน. 2559. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://th.wikipedia.org/wiki/สแตติน>.
- สิริพร อักษร, วงเดือน บุตรห่าน และ ปาริยา ณ นคร. 2556. ความคงตัวของสีแดงที่สกัดได้จากการเลี้ยงเชื้อราที่คัดแยกได้จากอาหารเหลือ. Thai Journal of Science and Technology. ฉบับที่ 3. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
- ศุภศิษฐ์ อรุณรุ่งสวัสดิ์. 2552. ชีวเคมีพื้นฐาน. กรุงเทพมหานคร: ทอปป. หน้า 198-199
- อภัย ราชภูริวิจิตร. 2557. โรคหัวใจ (Heart disease). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://haamor.com/th/%E0%B9%82%E0%B8%A3%E0%B8%84%E0%B8%AB%E0%B8%B1%E0%B8%A7%E0%B9%83%E0%B8%88/>
- อุษณีย์ วินิจเขตคำนวน. 2547. ชีวเคมีของลิพิดและไลโปโปรตีน, พิมพ์ครั้งที่ 2. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- Ascocarp. 2016. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://en.wikipedia.org/wiki/Ascocarp>.
- Berg, J.M. Tymoczko, J.L. and Stryer, L. 2002. *Biochemistry*. 5 ed. New York. : W.H. Freeman
- Blake, S.S. 2010. Understanding Dietary Fats and Oils A Scientific Guide to their Health Effects. [online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.naturalhealthwizards.com/Understanding.htm>
- Brown, A.J. and Sharpe, L.J. 2015. " Chapter 11 – Cholesterol Synthesis." *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes (Sixth Edition)* 2016, Pages 327–358
- Cheng, M.J. Wu, M.D. Che, I. Tseng, M. and Yuan, G.F. 2011. "Chemical constituents from the fungus *Monascus purpureus* and their antifungal activity." *Phytochemistry Letters*. 2011(4) : 372–376
- Choe, D. Lee, J. Woo, S. Shin, C.S. 2012. " Evaluation of the amine derivatives of *Monascus* pigment with anti-obesity activities" *Food Chemistry*. 2012(134) : 315- 323
- Dinesh, N. Soumya, N. and Singh, S. 2015. " Antileishmanial effect of mevastatin is due to interference with sterol metabolism." *Parasitol Res*. 2015(114) : 3873–3883.

- Dinh, T. and Thompson, L. 2015. "Cholesterol: Properties, Processing Effects, and Determination ". Module in Food Science, Encyclopedia of Food and Health 2016, Pages 60–69
- Feng, Y. Shao, Y. Zhou, Y. and Chen, F. 2015. "Effects of Glycerol on Pigments and Monacolin K Production by the High-Monacolin K-Producing but Citrinin-Free Strain, *Monascus pilosus* MS-1." *Eur Food Res Technol.* n.d.(240) : 635-643.
- Friesen, J.A. and Rodwell, V.W. 2004. "The 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A (HMG-CoA) reductases." *Genome Biology.* 5(248).
- Golomb, B.A. and Evans, M.A. 2008. "Statin adverse effects: a review of the literature and evidence for a mitochondrial mechanism." *Am J Cardiovasc Drugs.* 8(6) : 373-418
- Grover, H. S. Luthra, S. and Maroo, S. 2014. "Are statins really wonder drugs?" *Journal of the Formosan Medical Association.* 2014(113) : 892-898.
- Harsha, N. Rao, S.S. Sridevi, V. Lakshmi, MV C. Kiran, T.K. 2013. "Optimization of Physico Chemical and Nutritional Parameters for the Production of Mevastatin Using *Penicillium citrinum* MTCC 1256." *IOSR Journal of Pharmacy.* 3(1) : 40-45
- Liao, J.K.. MD. 2011. "Squalene Synthase Inhibitor Lapaquistat Acetate Could Anything Be Better Than Statins?." *Circulation* ,May 10, 2011,Pages 1925-1928
- Liu, B.H. Wu, T.S. Su, M.C. Chung, C.P. and Yu, F.Y. 2005. "Evaluation of citrinin occurrence and cytotoxicity in *Monascus* fermentation products." *J. Agric. Food Chem.* 2005(53) : 170-175
- Meinicke, R.M. Vendruscolo, F. and Moritz, D. E. 2012. "Potential use of glycerol as substrate for the production of red pigments by *Monascus ruber* in submerged fermentation." *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology.* 1(3) : 238–242
- Mohan, K. H. P. Mohan, A. D. and Govindaswamy, V. 2012. "Optimization Of Monacolin K Production by *Monascus purpureus* MTTC 410 in Submerged Fermentation." *International Journal of Food Engineering.* 8(3) : 39
- Mulder, K.C.L. Mulinari, F. Iávia Franco, O.L. Soares, M.S.F. Magalhães, B.S. and Parachin, N.S. 2015. "Lovastatin production: From molecular basis to

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- industrial process optimization.” *Biotechnology Advances*. 2015(33) : 648–665.
- Navarro, C.L. Cau, P. and Le´vy, N. 2006. “Molecular bases of progeroid syndromes.” *Human Molecular Genetics*. 2006(15) : 151-161.
- Pöggeler, S. Nowrousian, M. and Kück, U. 2006. “Fruiting-Body Development in Ascomycetes.” *The Mycota I. Springer-Verlag Berlin Heidelberg* : 325-355
- Shipman, C.M. Croucher, P.I. Russell, R.G. Helfrich, M.H. and Rogers, M.J. 1998. “The bisphosphonate incadronate (YM175) causes apoptosis of human myeloma cells in vitro by inhibiting the mevalonate pathway.” *Cancer Res*. 58(23) : 5294–5297
- Singgih,M. Saraswaty,V. Ratnaningrum,D. Priatni,S. and Damayanti,S. 2013. " The Influence of Temperature and Ethanol Concentration in Monacolin K Extraction from Monascus Fermented Rice." Indonesia. *Procedia Chemistry* 9 (2014) , Pages 242 – 247
- Sitaula, S. and Burris, T.P. 2015. “Cholesterol and Other Steroids”. *Module in Biomedical Sciences Encyclopedia of Cell Biology*. 2016 : 173–179
- Syed, M.B. and Rajasimman, M. 2015. “Fermentative production and optimization of mevastatin in submerged fermentation using *Aspergillus terreus*. ” *Biotechnology Reports*. 2015(6) : 124–128.
- Tassana Narak. 2558. มัจจุราชเจียบ! หลอดเลือดหัวใจตีบ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://healthybeautyroom.blogspot.com/2015/10/blog-post_19.html
- World Health Organization. 2015. **Cardiovascular diseases (CVDs)**. [Online]. Available : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>
- Yang, J. Chen, Q. Wang, W. Hu, J. and Hu, C. 2015. “Effect of oxygen supply on *Monascus* pigments and citrinin production in submerged fermentation.” *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2015(119) : 564-569



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

1. Malt yeast extract agar (MYS)

เปปโตน	5	กรัม
ยีสต์สกัด	3	กรัม
มอลต์สกัด	3	กรัม
แป้งมันสำปะหลัง	10	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

นำส่วนผสมใส่ลงในปิกเกอร์หรือในภาชนะที่จะผสม แล้วใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน ในกรณีที่สารละลายยาก สามารถนำไปต้มซึ่งความร้อนจะทำให้ละลายได้ง่ายขึ้น นำส่วนผสมที่ได้ เทลงใส่ในฟลาสก์

นำสำลีมารีด แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ ความร้อนสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2. SS medium

แป้งมันสำปะหลัง	30	กรัม
แป้งข้าวเหลือง	40	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

นำส่วนผสมใส่ลงในปิกเกอร์หรือในภาชนะที่จะผสม แล้วใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน ในกรณีที่สารละลายยาก สามารถนำไปต้มซึ่งความร้อนจะทำให้ละลายได้ง่ายขึ้น นำส่วนผสมที่ได้ เทลงใส่ในฟลาสก์

นำสำลีมารีด แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ ความร้อนสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

3. สารละลาย Somogyi reagent

Solution I ประกอบด้วย

Sodium potassium tartrate	12	กรัม
Na_2CO_3 (anhydrous)	24	กรัม
NaHCO_3	16	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Na_2SO_4	144	กรัม
น้ำกลั่น		
ละลายสารแต่ละตัวด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเติมน้ำกลั่น จนได้ปริมาตร 800 มิลลิลิตร		
Solution II ประกอบด้วย		
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	14	กรัม
Na_2SO_4	36	กรัม
น้ำกลั่น	200	มิลลิลิตร
ผสม Solution I และ Solution II เข้าด้วยกัน		

4. สารละลาย Nelson reagent

$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	50	กรัม
กรดซัลฟูริกเข้มข้น	21	มิลลิลิตร
$\text{Na}_2\text{NaSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	6	กรัม
น้ำกลั่น		

ละลาย $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น ผสมให้เข้ากัน ละลาย $\text{Na}_2\text{NaSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นเติมลงในสารละลายผสมระหว่าง $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ และกรดซัลฟูริกเข้มข้น ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แล้วเก็บในขวดสีชา

5. สารละลายมาตรฐานกลูโคส

สารละลายมาตรฐานกลูโคส	1	กรัม
น้ำกลั่น		

ชั่งสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่อบจนแห้ง 1 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เขย่าจนละลายหมด จาก stock solution นำมาเจือจางให้ได้สารละลายมาตรฐานที่มีกลูโคส ความเข้มข้น 0-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

6. สารละลายมาตรฐานน้ำตาลทั้งหมด

แป้งมันสำปะหลัง	1	กรัม
น้ำกลั่น		

ชั่งแป้งมันสำปะหลัง 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นนำไปต้มจนน้ำแป้งละลาย ใส่ขึ้น จากนั้นนำมาปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร นำมาเจือจางให้อยู่ในช่วง 0-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. สารโมโนโคลินมาตรฐาน

สารโมโนโคลินมาตรฐาน

เอทานอล 99.9 เปอร์เซ็นต์

นำโมโนโคลินมาตรฐานมาละลายในเอทานอล 99.9 เปอร์เซ็นต์ นำมาเจือจางเป็นความเข้มข้น 0.5, 0.05, 0.01, 0.005 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

8. สารละลายโพแทสเซียมบอร์เรตบัฟเฟอร์

กรดบอริก 0.8 M	49.464	กรัม
----------------	--------	------

โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์	56.11	กรัม
----------------------	-------	------

น้ำกลั่น	2000	มิลลิลิตร
----------	------	-----------

เตรียมกรดบอริก เข้มข้น 0.8 โมลาร์ โดยละลายกรดบอริก ด้วยน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร เตรียมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1.0 โมลาร์ โดยละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ด้วยน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร นำสารละลายกรดบอริก เข้มข้น 0.8 โมลาร์ ผสมกับสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1.0 โมลาร์ จนได้พีเอช 9.1

9. สารละลายพารา-ไดเมทิลอะมิโนเบนซอลดีไฮด์

พารา-ไดเมทิลอะมิโนเบนซอลดีไฮด์	10	กรัม
--------------------------------	----	------

กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	10	มิลลิลิตร
-----------------------	----	-----------

กรดอะซิติกเข้มข้น (Glacial acetic acid)

ละลาย p-DMAB ในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยกรดอะซิติกเข้มข้น (Glacial acetic acid) ในขวดปรับปริมาตร จนได้ปริมาตรสุทธิ 100 มิลลิลิตร

10. สารละลายมาตรฐานกลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์

สารละลายมาตรฐานกลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์	1	กรัม
--	---	------

น้ำกลั่น

ชั่งสารละลายมาตรฐานกลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์ที่อบจนแห้ง ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เขย่าจนละลายหมด จาก stock solution นำมาเจือจางให้ได้สารละลายมาตรฐานที่มีกลูโคซามีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 20-180 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ภาคผนวก ข

1. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคส โดยวิธี Somogyi-Nelson

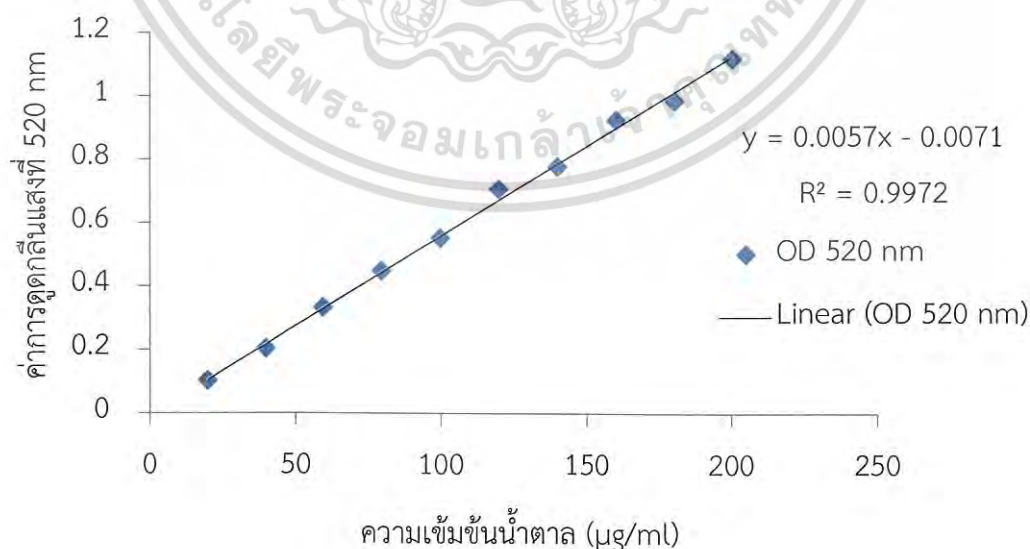
เตรียมสารละลาย Somogyi reagent และ Nelson reagent (ภาคผนวก ก)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส โดยชั่งสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่อบแห้ง 1 กรัม ทำการละลายและปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร จากนั้นนำมาเจือจางจนได้สารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ทำการวิเคราะห์โดยนำสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร มาทำการเติมสารละลาย Somogyi reagent 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปต้มในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที นำมาทำให้เย็นลงจากนั้นเติมสารละลาย Nelson reaction 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ให้ทำปฏิกิริยา 15 นาที และเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตรทันที เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยมีน้ำกลั่นที่ทำปฏิกิริยาเช่นเดียวกับสารละลายตัวอย่างเป็น แบลงค์ จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในตัวอย่างโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส

กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสโดยวิธี Somogyi-Nelson

กราฟมาตรฐานกลูโคส

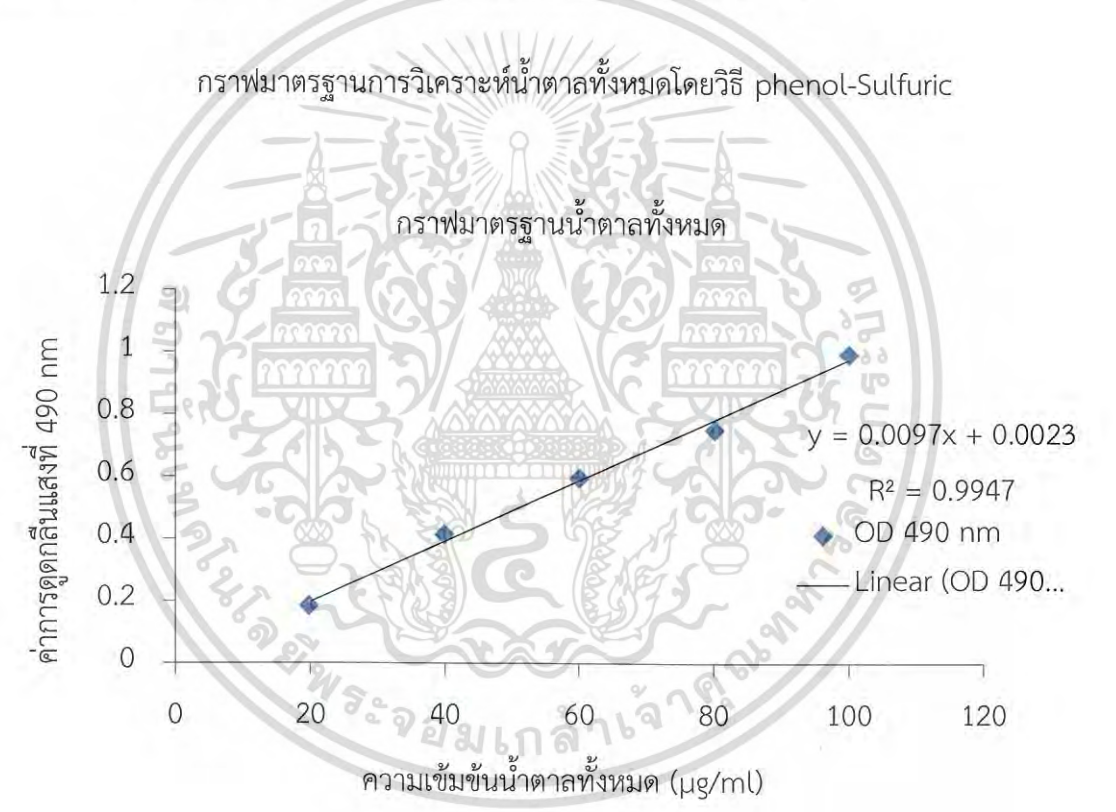


2. การวิเคราะห์หาน้ำตาลทั้งหมด(Total sugar) โดยวิธี Phenol-Sulfuric

เตรียมสารละลาย กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 98 และ สารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 (ภาคผนวก ก)

ทำการทดลองโดยนำสารละลายตัวอย่าง 500 ไมโครลิตรใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันและเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 98 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

ทำการหาค่ากราฟมาตรฐานโดยใช้น้ำแป้งมันเป็นสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และทำการทดลองเช่นเดียวกับสารละลายตัวอย่าง



3. การวิเคราะห์สารเมวาสเตติน ด้วยเครื่องแยกสารในสถานะของเหลวที่มีประสิทธิภาพสูง (High Performance Liquid Chromatography)

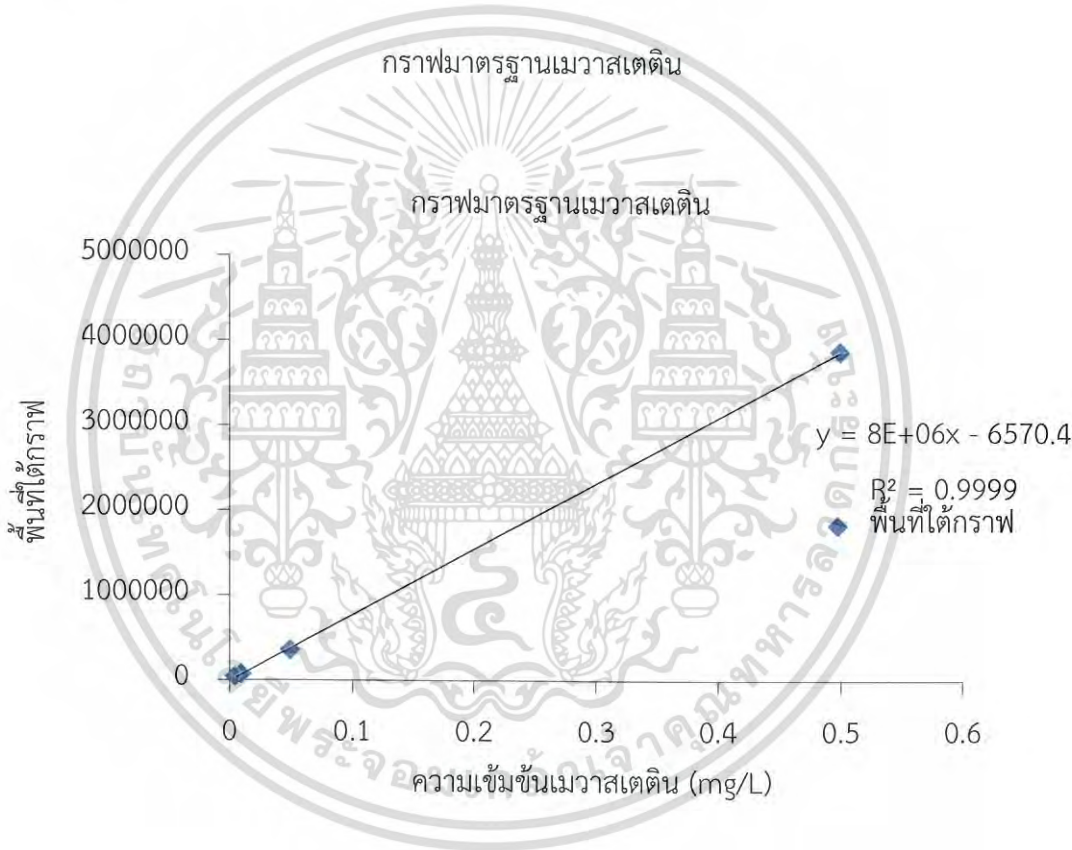
ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานเมวาสเตติน โดยนำเมวาสเตตินมาตรฐานมาละลายในเอทานอล 99 % จากนั้นนำมาทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.5, 0.05, 0.01, 0.005 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายมาตรฐานเมวาสเตตินแต่ละความเข้มข้นมาผสมกับ สารละลายอะซีโตไนโตร์ ในอัตราส่วนสารละลายอะซีโตไนโตร์ต่อสารละลายมาตรฐานเมวาสเตติน (55:45)

จากนั้นนำไปกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร และนำไปวิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์การเชิง ในเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการเตรียมสารละลายตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างมาผสมกับสารละลายอะซิโตนไตรท์ ในอัตราส่วน สารละลายอะซิโตนไตรท์ต่อสารละลายตัวอย่าง (55:45) และนำไปกรองผ่านกระดาษ กรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์ผ่านเครื่อง HPLC และทำการคำนวณหาพื้นที่ ได้กราฟที่เวลาเดียวกับกราฟมาตรฐานเพื่อทำการเปรียบเทียบหาปริมาณเมवासเตติน

นำตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์ HPLC ด้วยคอลัมน์ C18 เฟสเคลื่อนที่ ที่ใช้น้ำบริสุทธิ์ผสม อะซิโตนไตรท์ในอัตราส่วน สารละลายอะซิโตนไตรท์ต่อน้ำบริสุทธิ์ (55:45) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 238 nm วิเคราะห์หาปริมาณสารเมवासเตติน โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน เมवासเตติน



4. การวิเคราะห์หาปริมาณสารสีแดง

นำสารละลายตัวอย่างมาทำการเจือจางด้วย 50 เปอร์เซ็นต์เอทานอล จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

5. การวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง

ทำการพักกระทงอสุมิเนียม และนำมาอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทิ้งให้เย็นในโถอบแห้ง (desiccator) เป็นเวลา 30 นาที และนำมาชั่งหาน้ำหนักเอกสารที่แน่นอนที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำตัวอย่างเส้นใยที่ผ่านการกรองแล้วมาใส่ในกระตุมิเนียมที่เตรียมไว้ และนำเข้าตูบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวางในโถอบแห้งเป็นเวลา 30 นาที และชั่งน้ำหนักแห้งของเส้นใยจนมีน้ำหนักคงที่

6. การวิเคราะห์หาปริมาณเอน-อะซีทิลกลูโคซามีน

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมบอร์เรตบัฟเฟอร์ พีเอช 9.1 และสารละลายเออห์ริชส์ (ภาคผนวก ก)

ทำการย่อยสลายเส้นใยของเชื้อรา โดยนำตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งแล้ว มาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน และนำมาใส่หลอดทดลอง จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 4 มิลลิลิตร และเติมน้ำ 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทำให้เย็นลง จากนั้นนำไปปรับพีเอชให้อยู่ในช่วง 6.8-7.2 และนำมาวัดปริมาตรที่แน่นอน

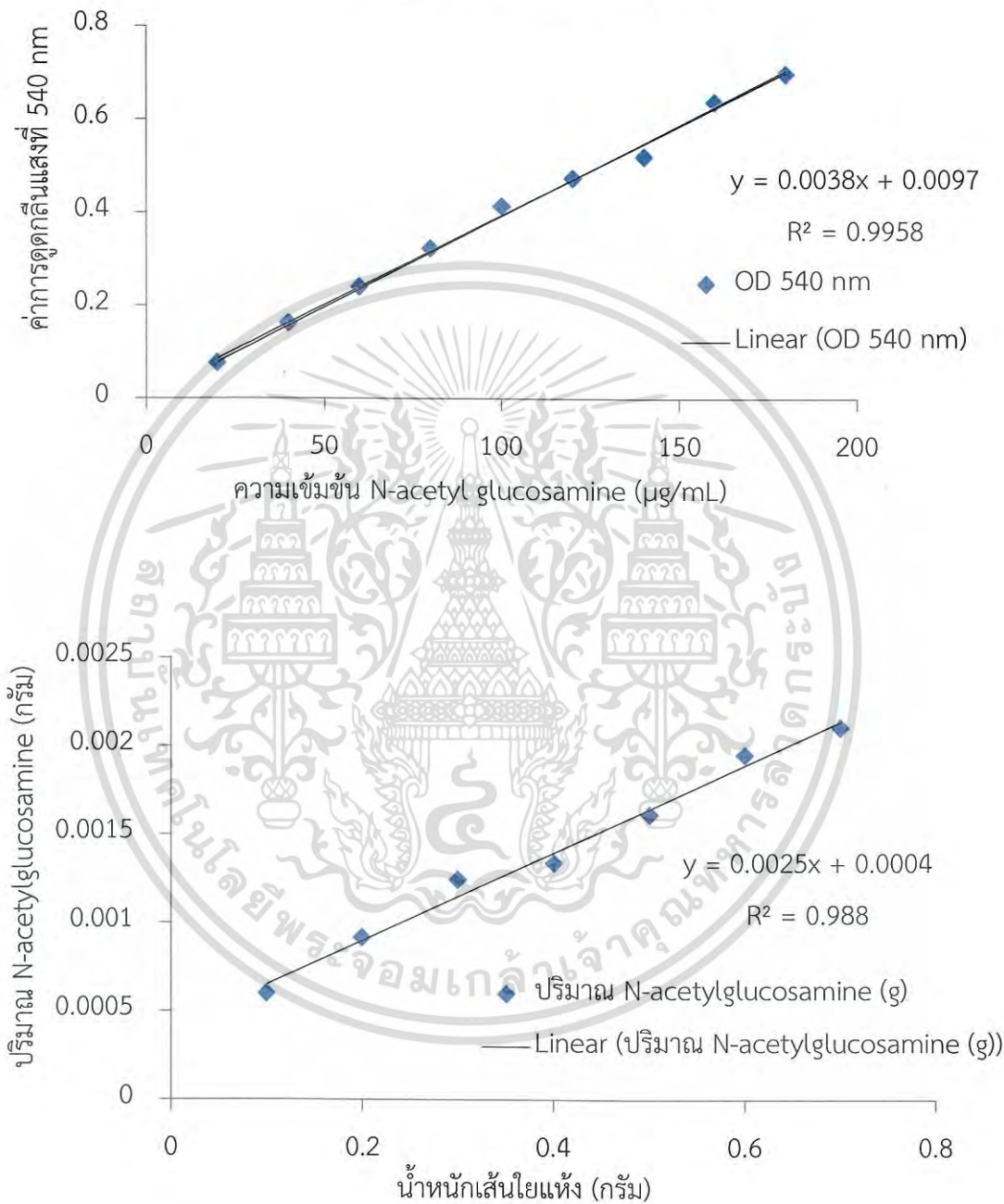
ทำการวิเคราะห์ปริมาณ เอน-อะซีทิลกลูโคซามีน โดยนำตัวอย่างที่ผ่านการย่อยแล้ว ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติม โพแทสเซียมบอร์เรตบัฟเฟอร์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันและนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 3 นาที ทำให้เย็นลง และเติมสารละลายเออห์ริชส์ (Ehrlich's reagent) 1.5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37-38 องศาเซลเซียส ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 20 นาที และทำให้เย็นลง จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

ทำการหาปริมาณ เอน-อะซีทิลกลูโคซามีน โดยนำสารละลายมาตรฐาน เอน-อะซีทิลกลูโคซามีน มาเจือจางที่ความเข้มข้น 20-180 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยาเช่นเดียวกับตัวอย่าง และทำค่าที่ได้ว่าทำการหาปริมาณ เอน-อะซีทิลกลูโคซามีน

ทำการหาปริมาณเส้นใยโดย เตรียมการเลี้ยงเส้นใยของเชื้อราในอาหารเหลว Yeast extract-Malt extract agar (YM) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นทำการกรองเส้นใยและนำเส้นใยมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเส้นใยที่ผ่านการอบแห้งแล้วมาชั่งน้ำหนักให้ได้ 0.1-0.7 กรัม ทำการย่อยเส้นใย และวิเคราะห์หาปริมาณ เอน-อะซีทิลกลูโคซามีน เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ในตัวอย่าง จากนั้นคำนวณหาปริมาณ เอน-อะซีทิลกลูโคซามีน ต่อ 1 กรัม น้ำหนักเส้นใยอบแห้งและนำมาทำการหาปริมาณ

กราฟมาตรฐาน เอน-อะซีทิลกลูโคซามีน

กราฟมาตรฐาน N-acetyl glucosamine



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค



รูปภาคผนวก ค 1 วัสดุหมักธัญพืชแห้งแบบลูกเต๋า (มันสำปะหลัง)



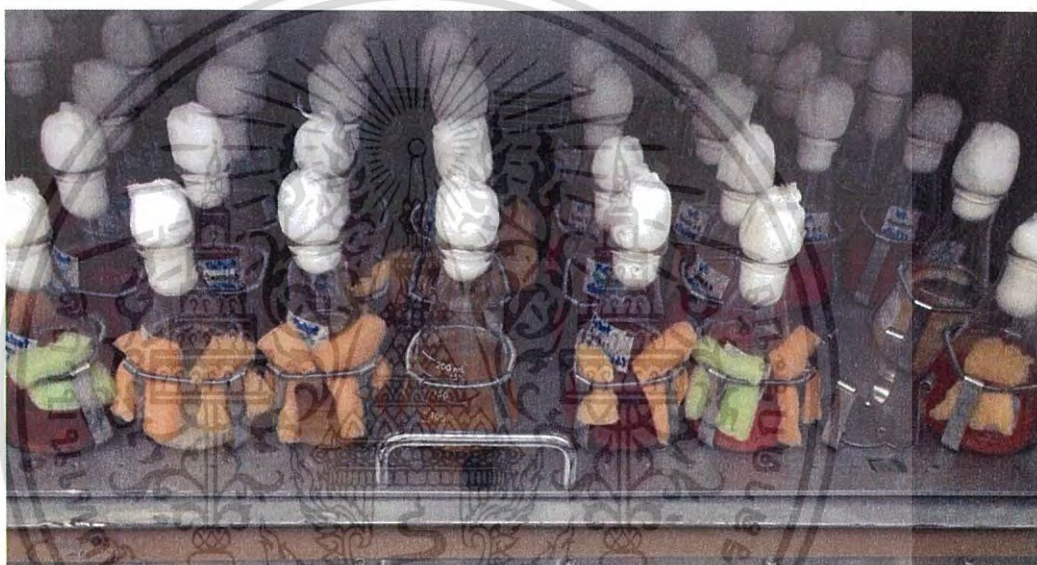
ก

ข

รูปภาคผนวก ค 2 วัสดุหมัก (ก) ก่อน และ (ข) หลัง จากการนึ่งฆ่าเชื้อในสภาวะที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว โดยใช้ระยะเวลาหนึ่ง 15 นาที

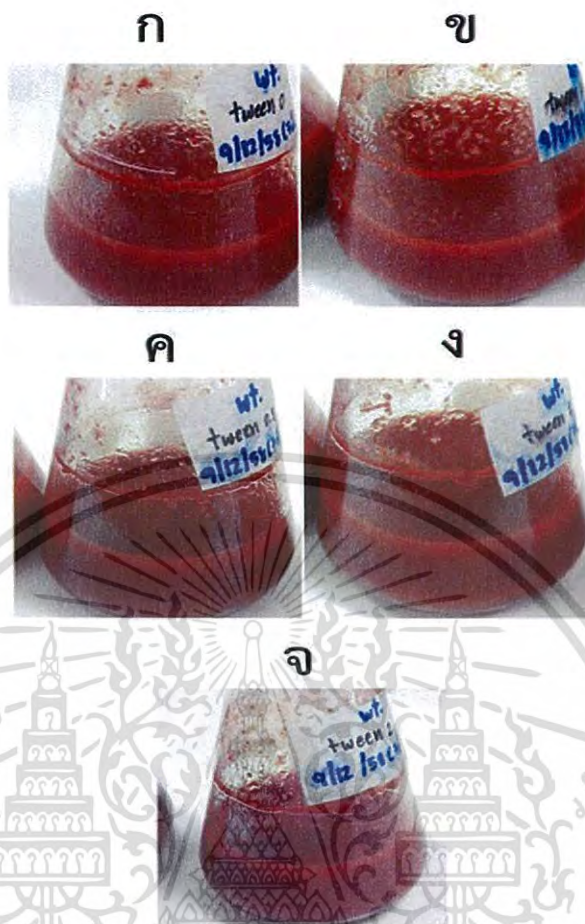


รูปภาคผนวก ค 3 หัวเชื้อ อายุ 3-4 วัน สำหรับใช้ในการทดลอง



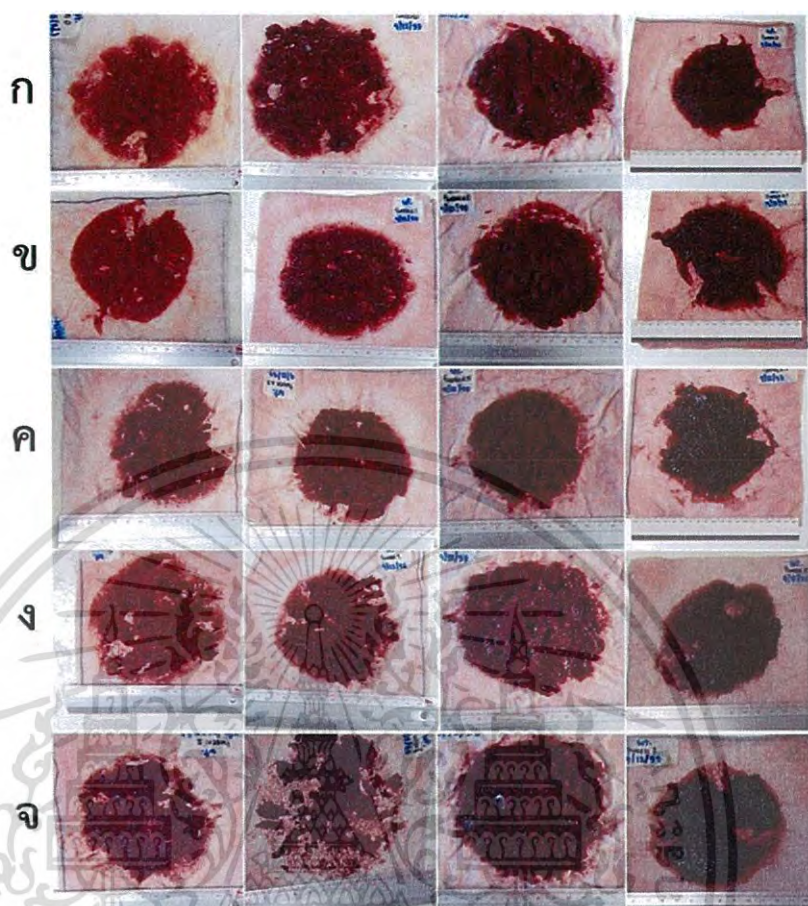
รูปภาคผนวก ค 4 การเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. ในอาหารเหลว โดยสภาวะเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ค 5 แสดงการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. C2M6 สายพันธุ์กลาย ในอาหารเหลว อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ความเข้มข้นวัสดุหมัก 20 เปอร์เซ็นต์ และแปรผันความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80

- (ก) ไม่เติม 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ตัวอย่างวันที่ 7
- (ข) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 1 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7
- (ค) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 5 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7
- (ง) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 10 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7
- (จ) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 20 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7



รูปภาคผนวก ค 6 แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Monascus* sp. C2M6 สายพันธุ์กลาย ในอาหารเหลว อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ความเข้มข้นวัสดุหมัก 20 เปอร์เซ็นต์ และแปรผันความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80

(ก) ไม่เติม 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 21 ตามลำดับ

(ข) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 1 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 21 ตามลำดับ

(ค) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 5 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 21 ตามลำดับ

(ง) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 10 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 21 ตามลำดับ

(จ) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 20 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 21 ตามลำดับ



รูปภาคผนวก ค 7 แสดงการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. M6 สายพันธุ์กลาย ในอาหารเหลว อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ความเข้มข้นวัสดุหมัก 20 เปอร์เซ็นต์ และแปรผันความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80

(ก) ไม่เติม 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

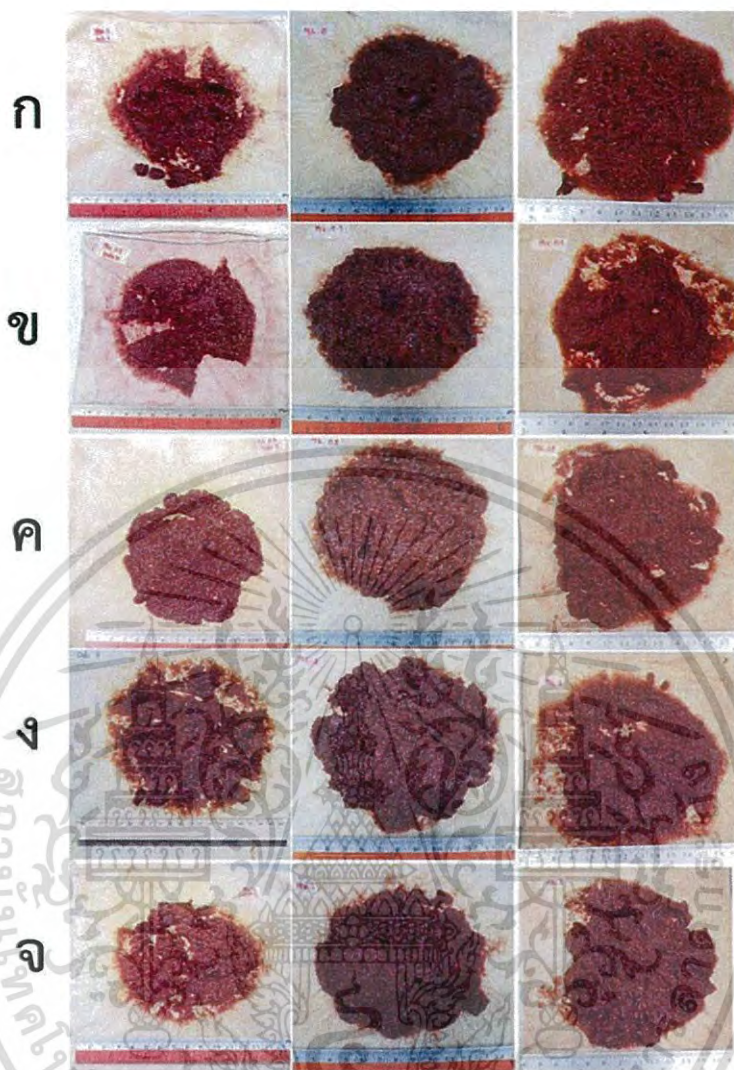
(ข) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 1 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

(ค) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 5 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

(ง) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 10 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

(จ) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 20 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14

เอกสารนี้เป็นเอกสารตามลำดับไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ค 8 แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Monascus* sp. M6 สายพันธุ์กลาย ในอาหารเหลว อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ความเข้มข้นวัสดุหมัก 20 เปอร์เซ็นต์ และแปรผันความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80

(ก) ไม่เติม 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

(ข) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 1 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

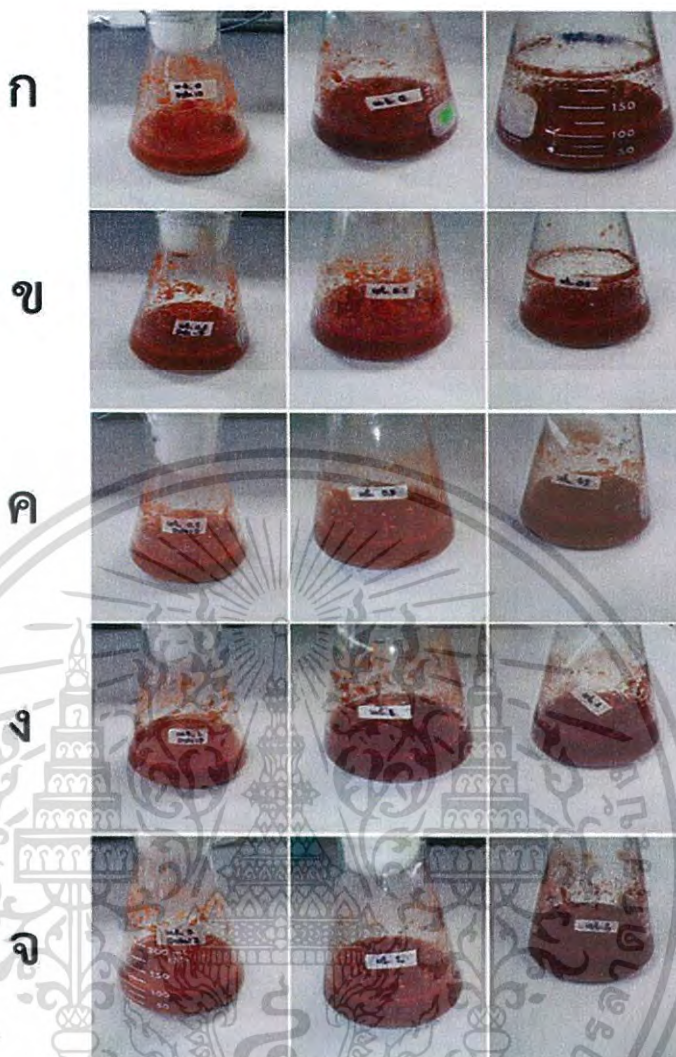
(ค) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 5 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

(ง) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 10 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

(จ) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 20 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ค 9 แสดงการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 สายพันธุ์เดิม ในอาหารเหลว อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ความเข้มข้นวัสดุหมัก 20 เปอร์เซ็นต์ และแปรผันความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80

(ก) ไม่เติม 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

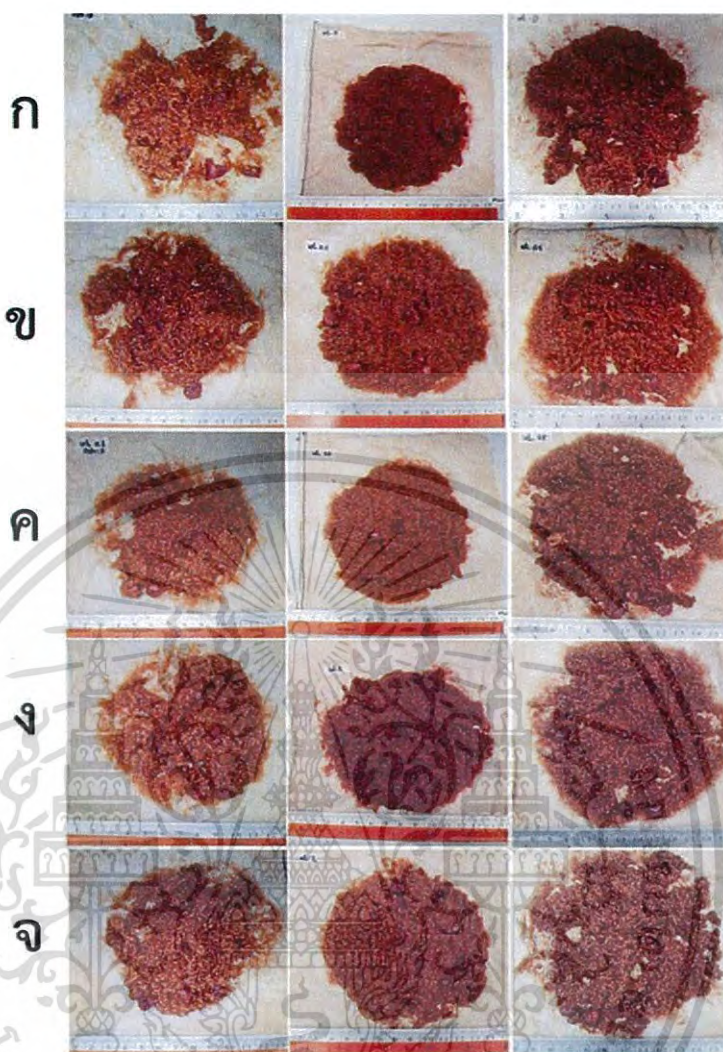
(ข) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 1 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

(ค) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 5 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

(ง) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 10 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

(จ) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 20 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาพผนวก ค 10 แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 สายพันธุ์เดิม ในอาหารเหลว อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ความเข้มข้นวัสดุหมัก 20 เปอร์เซ็นต์ และแปรผันความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80

(ก) ไม่เติม 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

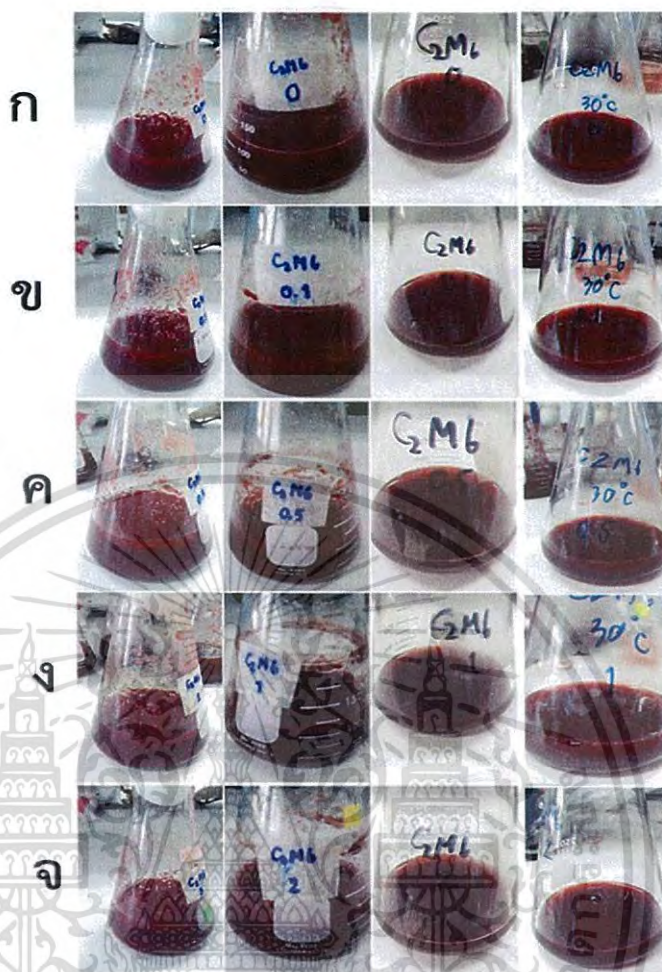
(ข) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 1 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

(ค) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 5 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

(ง) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 10 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

(จ) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 20 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ค 11 แสดงการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. C2M6 สายพันธุ์กลาย ในอาหารเหลว อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ความเข้มข้นวัสดุหมัก 20 เปอร์เซ็นต์ และแปรผันความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80

(ก) ไม่เติม 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 21 ตามลำดับ

(ข) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 1 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 21 ตามลำดับ

(ค) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 5 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 21 ตามลำดับ

(ง) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 10 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 21 ตามลำดับ

(จ) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 20 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 21 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ค 12 แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Monascus* sp. C2M6 สายพันธุ์กลายในอาหารเหลว อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ความเข้มข้นวัสดุหมัก 20 เปอร์เซ็นต์ และแปรผันความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80

(ก) ไม่เติม 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 21 ตามลำดับ

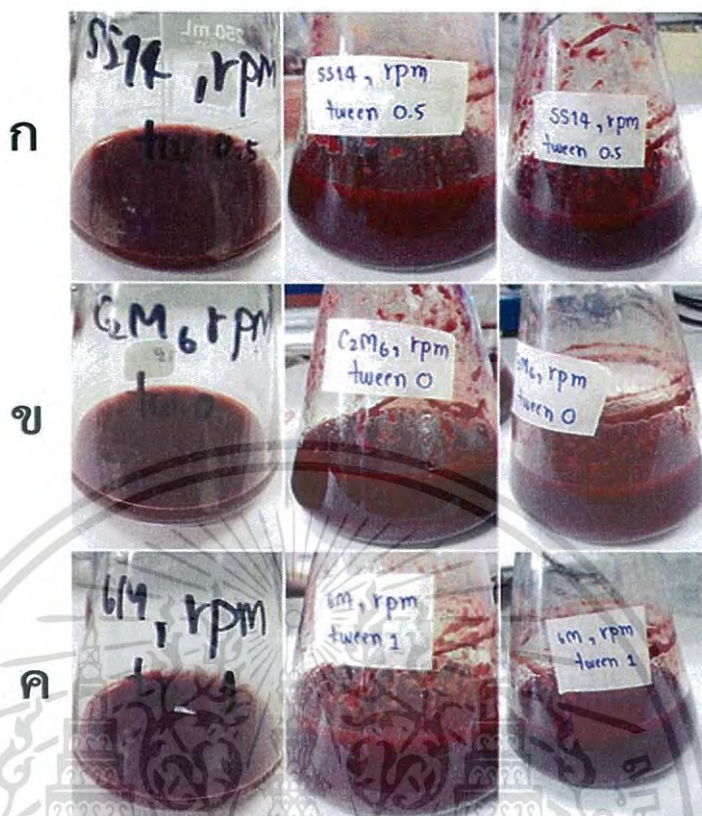
(ข) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 1 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 21 ตามลำดับ

(ค) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 5 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 21 ตามลำดับ

(ง) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 10 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 21 ตามลำดับ

(จ) เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 20 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 10 14 21 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

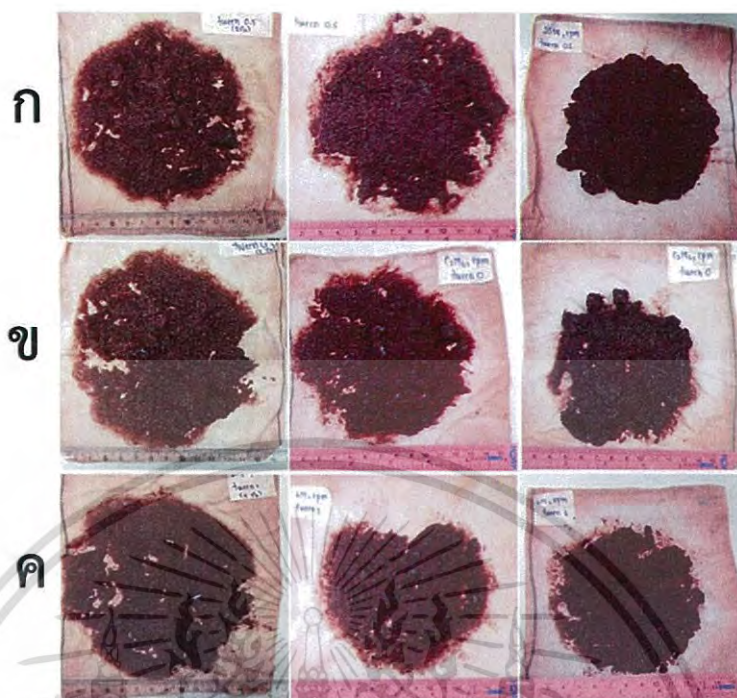


รูปภาคผนวก ค 13 แสดงการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. ในอาหารเหลว อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ความเข้มข้นวัสดุหมัก 20 เปอร์เซ็นต์

(ก) เชื้อรา *Monascus* sp. SS14 สายพันธุ์ดั้งเดิม เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 5 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 14 21 ตามลำดับ

(ข) เชื้อรา *Monascus* sp. C2M6 สายพันธุ์กลาย ไม่เติม 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ตัวอย่างวันที่ 7 14 21 ตามลำดับ

(ค) เชื้อรา *Monascus* sp. M6 สายพันธุ์กลาย เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 10 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 14 21 ตามลำดับ



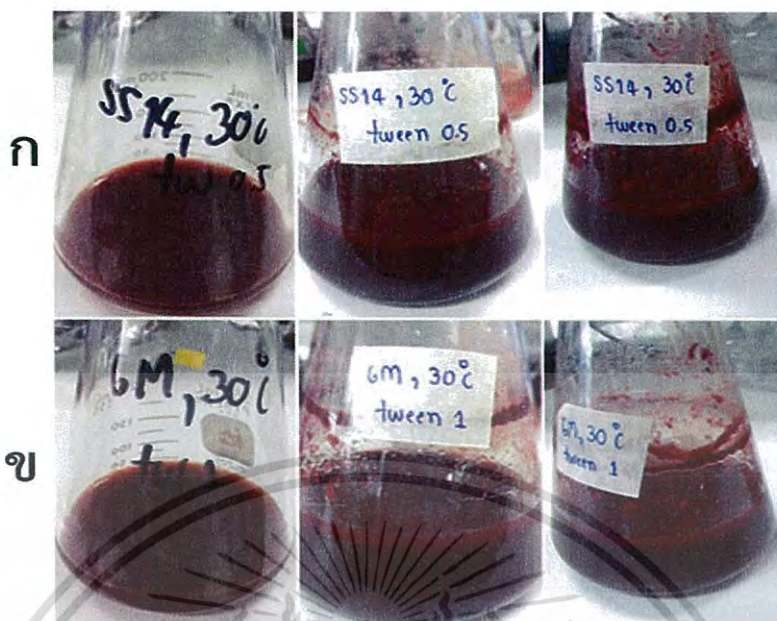
รูปภาคผนวก ค 14 แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Monascus* sp. ในอาหารเหลว อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ความเข้มข้นวัสดุหมัก 20 เปอร์เซ็นต์

(ก) เชื้อรา *Monascus* sp. SS14 สายพันธุ์ดั้งเดิม เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 5 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 14 21 ตามลำดับ

(ข) เชื้อรา *Monascus* sp. C2M6 สายพันธุ์กลาย ไม่เติม 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ตัวอย่างวันที่ 7 14 21 ตามลำดับ

(ค) เชื้อรา *Monascus* sp. M6 สายพันธุ์กลาย เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 10 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 14 21 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ค 15 แสดงการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. ในอาหารเหลือ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นวัสดุหมัก 20 เปอร์เซ็นต์ แปรอัตราการใช้ที่ 150 200 และ 250 รอบต่อนาที

(ก) เชื้อรา *Monascus* sp. SS14 สายพันธุ์ดั้งเดิม เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 5 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 14 21 ตามลำดับ

(ข) เชื้อรา *Monascus* sp. M6 สายพันธุ์กลาย เติมความเข้มข้นของ 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 ที่ 10 mL/L ตัวอย่างวันที่ 7 14 21 ตามลำดับ



รูปภาคผนวก ค 16 กรองอาหารเหลือด้วยกรวยแก้ว โดยใช้ผ้าลินิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้