

ผลของแหล่งไนโตรเจนที่มีต่อการผลิตสารสีโดยเชื้อรา

Monascus purpureus บนอาหารแข็ง

EFFECT OF NITROGEN SOURCES ON PIGMENT PRODUCTION BY
MONASCUS PURPUREUS ON SOLID STATE FERMENTATION



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2556

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของแหล่งไนโตรเจนที่มีต่อการผลิตสารสีโดยเชื้อรา

Monascus purpureus บนอาหารแข็ง

EFFECT OF NITROGEN SOURCES ON PIGMENT PRODUCTION BY
MONASCUS PURPUREUS ON SOLID STATE FERMENTATION



T133350



เลขหมู่.....133350
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี..... 6 ต.ค. 2557

b. 12640967
i.....

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2556

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECT OF NITROGEN SOURCES ON PIGMENT PRODUCTION BY
MONASCUS PURPUREUS ON SOLID STATE FERMENTATION



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2013

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ ผลของแหล่งไนโตรเจนที่มีต่อการผลิตสารสีโดยเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็ง
Effect of nitrogen sources on pigment production by *Monascus purpureus* on solid state fermentation




ชื่อนักศึกษา นายเมธาวัฒน์ งานแข็ง
นางสาวสุจิตรา อภิเมธีอารัง
นางสาวสุดารัตน์ แก้วประดับ

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.นवलพรรณ ณ ระนอง

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2556

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ	
กรรมการ ดร.สุทธีจิต ศรีวัชรกุล	
กรรมการ รศ.ดร.นवलพรรณ ณ ระนอง	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	ผลของแหล่งไนโตรเจนที่มีต่อการผลิตสารสีโดยเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนอาหารแข็ง
ชื่อนักศึกษา	นายเมธาวัฒน์ งานแข็ง นางสาวสุจิตรา อภิเมธีอำรง นางสาวสุดารัตน์ แก้วประดับ
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.นवलพรรณ ณ ระนอง

บทคัดย่อ

เชื้อราโมแนสคัสเป็นเชื้อราที่มีความสามารถในการผลิตสารสี ตั้งแต่สีเหลืองจนถึงสีแดง ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* โดยใช้ข้าว 4 ชนิดเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน ได้แก่ ปลายข้าวหอมมะลิ ข้าวหอมมะลิปทุม ข้าวเสาไห้ และข้าวเหลืองอ่อน โดยใช้ความชื้นเริ่มต้น 40% โดยน้ำหนัก ค่าพีเอช 6 แหล่งไนโตรเจนที่ใช้ประกอบด้วยแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ ได้แก่ รำละเอียดและกากถั่วเหลือง แหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ ได้แก่ โซเดียมไนเตรทและแอมโมเนียมซัลเฟตในเข้มข้นที่ต่างกัน คือ 3% 4.5% และ 6% พบว่าเมื่อใช้ปลายข้าวหอมมะลิเป็นแหล่งคาร์บอน เชื้อผลิตสารสีแดงได้สูงสุดเท่ากับ 2432.89 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ผลิตสารสีเหลืองสูงสุดเท่ากับ 2799.90 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยง เมื่อศึกษาแหล่งไนโตรเจนพบว่า ปลายข้าวหอมมะลิเติมกากถั่วเหลืองความเข้มข้น 3% ให้สารสีแดงและสารสีเหลืองสูงสุดเท่ากับ 2699.47 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง และ 3141.94 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับเมื่อเพาะเลี้ยงได้ 12 วัน จากนั้นทำการศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อรา *M. purpureus* พบว่า การเพาะเลี้ยงเชื้อบนปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองความเข้มข้น 3% นาน 15 วัน เชื้อจะผลิตสารสีสูงสุดในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยง โดยผลิตสารสีแดงเท่ากับ 3054.13 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง และสารสีเหลืองเท่ากับ 3753.49 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง

คำสำคัญ: การผลิตสารสี, ปลายข้าวหอมมะลิ, ข้าวหอมมะลิ, ข้าวเหลืองอ่อน, ข้าวเสาไห้, กากถั่วเหลือง, *Monascus purpureus*

Title	Effect of nitrogen sources on pigment production by <i>Monascus purpureus</i> on solid state fermentation
Students	Mr. Methawat Ngankhaeng Ms. Suchitra Aphimeteetamrong Ms. Sudarat Kaewpradub
Degree	Bachelor of Science
Major Program	Industrial Microbiology
Academic Year	2556
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Nuanphan NaRanong

Abstract

Monascus spp. have the ability to produce natural color, ranging from yellow to red. The purpose of this present work was to investigate the production of pigments by *Monascus purpureus* in solid state fermentation. Four kinds of rice were used as the Carbon sources; broken Jasmine rice, Jasmine rice, Sao hai rice and Leuang awn rice. The solid state fermentation was carried out at an initial moisture contain of 40% and pH 6.0. The nitrogen sources both Organic nitrogen – rice bran and soybean residues and Inorganic nitrogen – Sodium nitrate and Ammonium sulfate were also studied at concentration of 3%, 4.5% and 6%. The results showed that broken Jasmine rice was the best substrate for pigment production, the amount of red and yellow as follows: 2432.89 units/g dry weight and 2799.90 units/g dry weight at 12 days fermentation. For variable nitrogen sources, the maximum red and yellow pigment concentrations: 2699.47 units/g dry weight and 3141.94 units/g dry weight, respectively, were obtained at day 12 from broken Jasmine rice supplemented with 3% soybean residues. The pigment production was observed in broken Jasmine rice supplemented with 3% soybean residues for 15 days. It was found that the maximum red and yellow pigments were: 3054.13 units/g dry weight and 3753.49 units/g dry weight, respectively, at 12 days fermentation.

Keywords: pigment production, broken Jasmine rice, Jasmine rice, Sao hai rice, Leuang awn rice, soybean residues, *Monascus purpureus*

กิตติกรรมประกาศ

ผู้จัดทำโครงการพิเศษฉบับนี้ ต้องขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. นवलพรรณ ฤณ ระนอง อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ที่ให้คำปรึกษา แนะนำและช่วยเหลือในการทำโครงการพิเศษด้วยความเอาใจใส่ตลอดมา ทำให้โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ มงคล เพ็ญสายใจ กรรมการสอบโครงการพิเศษ ที่ให้คำแนะนำ ตรวจสอบ ตลอดจนถึงแนะนำแก้ไขโครงการพิเศษให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้สนับสนุนทุนในการทำโครงการพิเศษ

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ อันนำไปสู่กระบวนการความคิด วางแผน และแก้ไขในการทำโครงการพิเศษให้สำเร็จได้ด้วยดี ตลอดจนถึงเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำต่างๆในระหว่างการทำโครงการพิเศษ

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา เพื่อนๆ สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรมทุกคน รวมไปถึงคุณป้าแม่บ้าน และลุงยามที่เป็นกำลังใจและสนับสนุนช่วยเหลือมาโดยตลอด

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงการพิเศษฉบับนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อผู้สนใจหรือผู้ที่ต้องการค้นคว้าและศึกษางานวิจัยทางด้านนี้ไม่มากนักน้อย

นายเมธาวัฒน์ งานแข็ง

นางสาวสุจิตรา อภิเมธีอำรง

นางสาวสุดารัตน์ แก้วประดับ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญรูป	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 เชื้อราโมแนสคัส	4
2.2 สารที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส	7
2.2.1 สารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส	7
2.2.2 ซิตรีนิน	12
2.2.3 เมวินอลิน	14
2.3 การใช้ประโยชน์จากสารสีโมแนสคัส	14
2.4 ข้าวแดง	16
2.4.1 ขั้นตอนการผลิตข้าวแดง	16
2.4.2 การผลิตแปรรูปผงสี	17
2.4.3 ขั้นตอนการสกัดข้าวแดง	17
2.4.4 ประโยชน์ข้าวแดง	20

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักสารสีโมแนสค์สบนอาหารแข็ง	20
2.5.1 สายพันธุ์เชื้อราโมแนสค์ส	20
2.5.2 แหล่งคาร์บอน	21
2.5.3 แหล่งไนโตรเจน	23
2.5.4 พีเอช	24
2.5.5 อุณหภูมิ	25
2.5.6 ความชื้นเริ่มต้น	25
2.5.7 อัตราส่วนของก๊าซ	25
2.6 ข้าว	26
2.6.1 องค์ประกอบของข้าว	26
2.6.2 สายพันธุ์ข้าวในประเทศไทย	28
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	30
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	33
3.1 จุลินทรีย์และอาหารเลี้ยงเชื้อ	33
3.1.1 จุลินทรีย์	33
3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ	33
3.2 วัสดุดิบและสารเคมี	33
3.2.1 วัสดุดิบ	33
3.2.2 สารเคมี	34
3.3 อุปกรณ์	34
3.4 วิธีการทดลอง	35
3.4.1 การเตรียมหัวเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i>	35
3.4.2 การศึกษาชนิดของข้าวที่มีผลต่อการผลิตสารสีจากเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i>	35

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4.3 การศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตสารสีจากเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i>	36
3.4.4 การศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i>	36
3.4.5 วิธีวิเคราะห์ค่าพีเอชของข้าว	37
3.4.6 การสกัดสารสี	37
3.4.7 การวัดค่าสารสี	37
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	38
4.1 ผลการศึกษาชนิดของข้าวที่มีผลต่อการผลิตสารสีจากเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i>	38
4.2 ผลการศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตสารสีจากเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i>	42
4.3 ผลการศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i>	53
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ	55
5.1 สรุปผลการวิจัย	55
5.2 ข้อเสนอแนะ	56
เอกสารอ้างอิง	57
ภาคผนวก	65
ภาคผนวก ก	65
ภาคผนวก ข	67

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สายพันธุ์ต่างๆของเชื้อราโมแนสคัส	7
2.2 สายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส สารที่ผลิตได้และแหล่งคาร์บอนที่ใช้เป็นสับสเตรท	21
2.3 การจัดแบ่งชนิดของข้าวตามปริมาณอะไมโลส	27
2.4 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของข้าวเปลือกและส่วนที่ได้จากขัดสีที่ความชื้น 14%	27
2.5 ตัวอย่างสายพันธุ์ข้าวชนิดต่างๆในประเทศไทย	28
4.1 ปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนข้าวชนิดต่างๆ	38
4.2 ปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนปลายข้าวหอมมะลิผสมรำละเอียด	42
4.3 ปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลือง	45
4.4 ปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนปลายข้าวหอมมะลิผสมโซเดียมไนเตรท	47
4.5 ปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนปลายข้าวหอมมะลิผสมแอมโมเนียมซัลเฟต	48
4.6 ปริมาณสารสีแดง สารสีเหลืองและค่าพีเอชที่วัดได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลือง 3%	53

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp.	4
2.2 การเจริญของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYS	5
2.3 วงจรชีวิตของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp.	6
2.4 โครงสร้างเคมีของสารสีโมนาสโคฟลาวิน	7
2.5 โครงสร้างเคมีของสารสีอังกักฟลาวิน	8
2.6 โครงสร้างเคมีของสารสีรูโบรฟังกาทิน	8
2.7 โครงสร้างเคมีของสารสีโมนาสโครูบริน	9
2.8 โครงสร้างเคมีของสารสีรูโบรฟังกามิน	9
2.9 โครงสร้างเคมีของสารสีโมนาสโครูบรามิน	10
2.10 โครงสร้างทางเคมีของซีตรินิน	13
2.11 รูปแบบของการสังเคราะห์ซีตรินินจากเชื้อ <i>Monascus ruber</i>	13
2.12 โครงสร้างของ Mevinolin และ HMG – COA	14
2.13 การผลิตข้าวแดงในระดับอุตสาหกรรม	18
2.14 การแยกสีจากผงข้าวแดงให้บริสุทธิ์	19
4.1 ปริมาณสารสีแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนข้าว 4 ชนิด	40
4.2 ปริมาณสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนข้าว 4 ชนิด	40
4.3 ปริมาณสารสีแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิสมร่าละเอียดที่ความเข้มข้นต่างๆกัน	44
4.4 ปริมาณสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิสมร่าละเอียดที่ความเข้มข้นต่างๆกัน	44

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.5 ปริมาณสารสีแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้นต่างๆกัน	46
4.6 ปริมาณสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้นต่างๆกัน	46
4.7 ปริมาณสารสีแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมโซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้นต่างๆกัน	49
4.8 ปริมาณสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมโซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้นต่างๆกัน	49
4.9 ปริมาณสารสีแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆกัน	51
4.10 ปริมาณสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆกัน	51
4.11 ปริมาณสารสีแดง สารสีเหลืองและค่าพีเอชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus purpureus</i> บนปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 3%	54

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

เชื้อราโมแนสคัส (*Monascus sp.*) จัดอยู่ในคลาสแอสโคไมซีตัส (Ascomycetes) เส้นใยมีผนังกัน (septate) และมีการแตกกิ่งก้านสาขามากมาย มักเจริญแบบซิดเกาะแน่นบนผิวอาหารแข็ง เส้นใยเมื่ออายุน้อยมีสีขาว แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีแดงหรือสีแดงม่วง สามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ มีการใช้ประโยชน์จากเชื้อราโมแนสคัสในอาหารและยาพื้นบ้านในประเทศแถบตะวันออกมานานหลายร้อยปีแล้ว (บุษบา, 2542) โดยมีการใช้สารสีจากเชื้อราโมแนสคัสในการผลิตสีผสมอาหาร ยาสามัญพื้นบ้าน ไวน์และอาหารหมักดองต่างๆ (Kim *et al.*, 2008) โดยเชื้อราโมแนสคัสนี้สามารถเจริญบนเมล็ดข้าวหนึ่งได้และเมื่อปมที่อุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสมจะสามารถย่อยข้าวให้นุ่ม ในขณะที่เดียวกันก็สร้างสารสีแดงเข้มขึ้นด้วย เรียกว่า ข้าวแดง จากงานวิจัยของ Jeun *et al.* (2008) พบว่าสามารถแยกสารสี (pigment) ที่ผลิตได้จากเชื้อราโมแนสคัสได้ถึง 6 ชนิด ได้แก่ monascoflavin, ankaflavin (สารสีเหลือง) monascorubrin, rubropunctatin (สารสีส้ม) monocorubramine และ rubropunctamine (สารสีแดง) นอกจากนี้เชื้อราโมแนสคัสสามารถผลิตสารเมตาบอไลต์ได้หลายชนิด ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ที่น่าสนใจ มีคุณค่าทางโภชนาการ ใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพหรือแม้กระทั่งใช้เป็นยารักษาโรคและมีศักยภาพเชิงพาณิชย์ เช่น วิตามินบี 2 ที่เป็นสารเมตาบอไลต์ปฐมภูมิ (primary metabolite) เมวิโลนินและซีตรินินซึ่งเป็นสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) (Endo, 1979) โดยมีการนำสารที่ผลิตได้ดังกล่าวมาใช้เป็นสีผสมอาหาร ยาฆ่าเชื้อโรคและใช้ในการรักษาโรคต่างๆ สารสีที่เชื้อราโมแนสคัสผลิตขึ้นมานั้นถือว่าเป็นสีผสมอาหารที่มีความปลอดภัย

เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม จึงมีการผลิตข้าวและธัญพืชอื่นๆเพื่อใช้ในการบริโภคและส่งออกนอกประเทศ ข้าวเป็นวัตถุดิบที่นิยมนำมาผลิตข้าวแดงซึ่งใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท โดยสารสีที่ผลิตได้จากเชื้อราโมแนสคัสนั้นมีทั้งสีแดง สีส้มและสีเหลือง ในการศึกษานี้ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* ในข้าวสายพันธุ์ต่างๆ รวมทั้งเติมแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์และอนินทรีย์ในการผลิตสารสีบนอาหารแข็ง เพื่อพัฒนามาใช้ในการผลิตสารสีในระดับอุตสาหกรรมและเพิ่มคุณค่าของข้าวให้สูงขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่ใช้ข้าวเป็นแหล่งคาร์บอน
- 1.2.2 เพื่อศึกษาแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนและแหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจนบางชนิดที่มีผลต่อการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็ง
- 1.2.3 เพื่อศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็ง

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 ศึกษาชนิดของข้าว 4 ชนิดได้แก่ ปลายข้าวหอมมะลิ ข้าวหอมมะลิปทุม ข้าวเสาไห้และข้าวเหลืองอ่อนเป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็ง
- 1.3.2 ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* โดยเติมแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกันในความเข้มข้นต่างๆ
- 1.3.3 ศึกษาการผลิตสารสีที่เกิดขึ้นในช่วงเวลาต่างๆของการเจริญของเชื้อราบนอาหารแข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบชนิดของข้าวที่มีผลต่อการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็ง

1.4.2 ทราบแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็ง

1.4.3 ทราบถึงปริมาณของสารสีแดงและสารสีเหลืองที่เชื้อรา *Monascus purpureus* ผลิตได้ในอาหารแต่ละสูตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เชื้อราโมนาสคัส

เชื้อราโมนาสคัสเคยจัดอยู่ในวงศ์ (Family) Monascaceae กลุ่ม (Class) Ascomycetes กลุ่มย่อย (Subclass) Plectomycetidae อันดับ (Order) Eurotiales Eurotiales (Alexopoulos and Mims, 1979; Hawksworth *et al.*, 1995) เส้นใยมีผนังกัน (septate) มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual) และไม่อาศัยเพศ (asexual) เส้นใยมีการแตกกิ่งก้านมากมาย (รูปที่ 2.1) และมักจะเจริญบนผิวของอาหารแข็ง เส้นใยเมื่ออายุน้อยจะมีสีขาว แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีแดงหรือแดงม่วง (รูปที่ 2.2)



รูปที่ 2.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Monascus* sp.

ที่มา : http://db.21tcm.com/jjzj/Show_1218.shtml



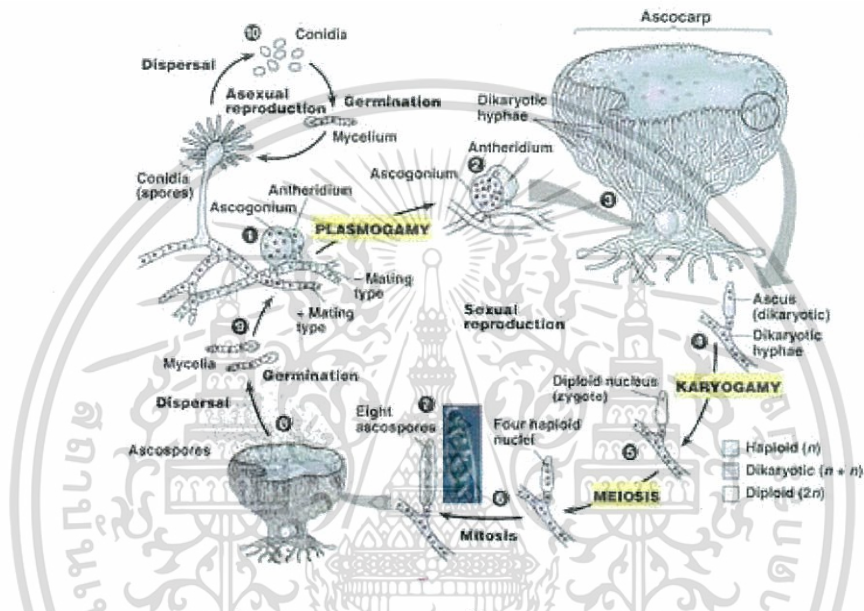
รูปที่ 2.2 การเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYS

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ มีการสร้างโคนิเดีย (conidia) เจริญมาจากโคตินิโอฟอร์ (codiniophore) โคตินิเียมีลักษณะกลมหรือรูปไข่ อาจมีอันเดียวหรือติดต่อกันเป็นลูกโซ่ (Hawksworth and Pitt, 1983) โคนิเดียมักไม่มีสี แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะเกิดสีแดงได้บ้าง โคตินิโอฟอร์มีขนาดสั้นอาจมีผนังกันหรือเซพเตต (septate) 0-1 ถ้ามีขนาดยาวจะมีผนังกัน 2-6 เป็นสายตรงหรือขดเป็นเกลียว และเปลี่ยนเป็นสีแดง เมื่ออายุแก่ขึ้น การงอกของโคนิเดียจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสูตรอาหาร เช่น C Medium (Hiroi *et al.*, 1979) เหมาะสำหรับการเกิดโคนิเดียของโมแนสคัส นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับอิทธิพลหลายๆประการ เช่น อายุสปอร์ ความหนาแน่นของสปอร์ ความเป็นกรดเป็นด่าง แสงและอุณหภูมิ เช่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35 องศาเซลเซียส โคตินิเียจะงอกภายใน 4 ชั่วโมง เมื่อมีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมด้วยการสร้าง germ-tube ขึ้นมา 1 อัน หรือ 2 อัน หรือบางทีอาจมีได้ถึง 6 อัน ซึ่งการงอกของโคนิเดียกระตุ้นได้ด้วยคาร์โบไฮเดรตหลายชนิด (Wong and Bau, 1978)

ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อราโมแนสคัสมีลักษณะคล้ายๆกับเชื้อราชนิดอื่นๆใน Class Ascomycetes มีการสร้างเพอริทีเซียม (perithecium) ซึ่งเป็นแอสโคคาร์ป (ascocarp) มีรูปร่างกลม โดยจะเกิดบนก้าน (stalk) (Smith, 1969; Von Arx, 1970) ที่มีหรือไม่มีผนังกันก็ได้ แอสโคคาร์ปเกิดขึ้นบนเส้นใยซึ่งเป็นแบบโฮโมแทลลิก (homotallic) โดยการสร้างโครงสร้างออกมา 2 ชนิด คือ แอนเทอริเดียม (antheridium) แอสโคโกเนียม (ascogonium) เกิดการฟิวชั่น (fusion) ที่ปลายแอสโคโกเนียมกับส่วนฐานหรือส่วนกลางของแอนเทอริเดียม แล้วจึงจะมีการวิวัฒนาการต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบ่งแบบไมโอซิส และไมโทซิสตามมา มี daughter nuclei จากการแบ่งตัวมีการขยายผนังเซลล์รวม ออกเรียกว่า การสร้างแอสโคคาร์ปขึ้นในที่สุด (Carels and Shepherd, 1975; Kolotila *et al.*, 1978) ภายในเพอริทีเซียมีแอสโคสปอร์ (ascospore) มากมาย โดยแอสโคสปอร์ 2-8 รวมอยู่ภายในแอสคัส (ascus) แอสโคสปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่ อาจมีสีน้ำตาล สีส้ม หรือไม่มีสี เมื่อผนังแอสโคคาร์ปแตกออกก็จะปล่อยแอสโคสปอร์รอกเป็นเส้นใหม่ขึ้น วงจรชีวิตของเชื้อรานี้แสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 วงจรชีวิตของเชื้อรา *Monascus* sp.

ที่มา : <http://www.student.chula.ac.th/~53370869/asco.html>

ปี ค.ศ.1884 ได้มีการแยกและให้ชื่อเชื้อราโมแนสคัสและแบ่งได้เป็น 2 สายพันธุ์ คือ *Monascus mucoroides* และ *Monascus ruber* (Van Tieghem, 1884) ต่อมาปี ค.ศ. 1895 ได้แยกสายพันธุ์สำคัญคือ *M. purpureus* จากข้าวแดง หรืออังกัก

ปัจจุบันมีการรวบรวมเชื้อราโมแนสคัส 25 สายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 2.1 โดยอาศัยคุณสมบัติสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาในการจัดแบ่งสายพันธุ์ (Iizuka and Lin, 1981; Hawksworth and Pitt, 1983) และยังมีการใช้ความสามารถในการผลิตเอนไซม์ต่างๆ (Bridge and Hawksworth, 1985) ในการแบ่งชนิดของเชื้อราอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 สายพันธุ์ต่างๆของเชื้อราโมแนสคัส

<i>M. albidus</i>	<i>M. albus</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. rubber</i>	<i>M. rubiginosus</i>	<i>M. purpurescens</i>
<i>M. sanguineus</i>	<i>M. vini</i>	<i>M. vitreus</i>	<i>M. rubropunctatus</i>	<i>M. serorubercens</i>

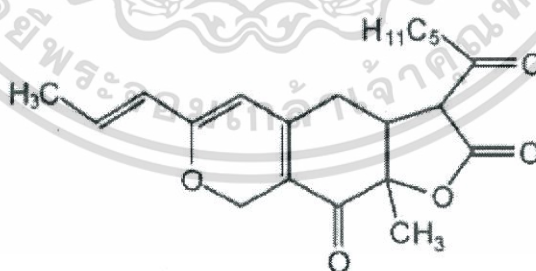
ที่มา : Iizuka and Lin (1981); Hawksworth and Pitt (1983); Nishikawa *et al.* (1998)

2.2 สารที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส

2.2.1 สารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส

1. โมแนสโคฟลาวิน (monascoflavin) มีโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2.4

แยกได้เป็นครั้งแรกพร้อมกับสารสีโมนาสโครูบรินจากเชื้อรา *Monascus purpureus Wentii* เป็นสารสีในกลุ่มสีเหลือง สูตรโมเลกุลคือ $C_{21}H_{26}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 358 ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปกโตรสโคปีดังนี้ $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 225, 228, 385 nm มีจุดหลอมเหลว 143 -155 องศาเซลเซียส สารสีโมนาสโคฟลาวินเป็นตัวเดียวกันกับสารสีโมนาสซิน (monascin) ซึ่งแยกได้จากเชื้อรา *M. rubiginosus* (Fielding *et al.*, 1961; Sweeny *et al.*, 1981)

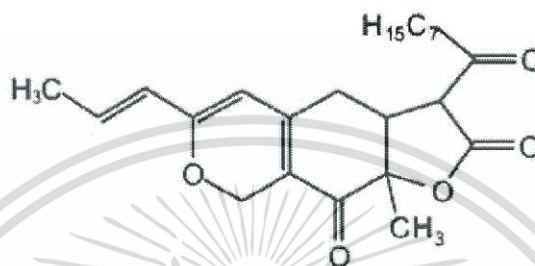


รูปที่ 2.4 โครงสร้างเคมีของสารสีโมนาสโคฟลาวิน

ที่มา : <http://flipper.diff.org/app/items/5975>

2. อังกักฟลาวิน (ankaflavin) มีโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2.5

เป็นสารสีในกลุ่มสีเหลือง สูตรโมเลกุลคือ $C_{23}H_{30}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 386 จุดหลอมเหลว 120 - 121 องศาเซลเซียส ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปกโตรสโกปีดังนี้ $\lambda_{\text{max}}^{\text{dioxan}}$ 212, 228, 328 nm สารสีอังกักฟลาวินมีสูตรโครงสร้างสัมพันธ์กับสารสีโมนาสซินเช่นเดียวกับสารสีรูโบรพังกาทินที่สัมพันธ์กับสารสีโมนาสโครบิน (Munchand *et al.*, 1973; Sweeny *et al.*, 1981)

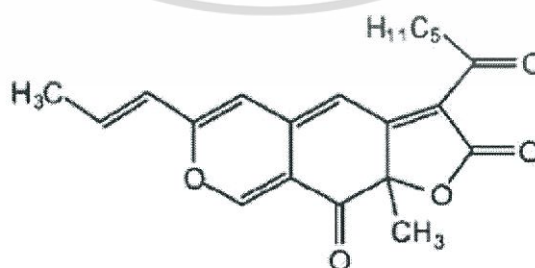


รูปที่ 2.5 โครงสร้างเคมีของสารสีอังกักฟลาวิน

ที่มา : <http://flipper.diff.org/app/items/5975>

3. รูโบรพังกาทิน (rubropunctatin) มีโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2.6

เป็นสารสีในกลุ่มสีส้ม สูตรโมเลกุลคือ $C_{21}H_{22}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 354 สารสีรูโบรพังกาทินสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนียมในอาหารเลี้ยงเชื้อได้สารรูโบรพังกาทามีน ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยาต่อได้อีกกับสังกะสีและกรดแอซิดิกได้สารอะโปรรูโบรพังกาทามีน (aporubropunctamine) สารนี้มีผลลึกรูปเข็มสีแดง มีจุดหลอมเหลว 156-157 องศาเซลเซียส (Haws *et al.*, 1959; Sweeny *et al.*, 1981)



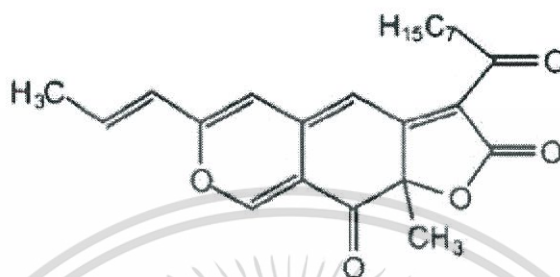
รูปที่ 2.6 โครงสร้างเคมีของสารสีรูโบรพังกาทิน

ที่มา : <http://flipper.diff.org/app/items/5975>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. โมนาสโครูบริน (monascorubrin) มีโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2.7

เป็นสารสีในกลุ่มสีส้ม สูตรโมเลกุลคือ $C_{23}H_{26}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 382 ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปกโตรสโคปีดังนี้ $\lambda_{\text{max}}^{\text{BtOH}}$ 253, 302, 352 m μ มีจุดหลอมเหลว 134 – 136 องศาเซลเซียส (Nakanishi *et al.*, 1959; Sweeny *et al.*, 1981)

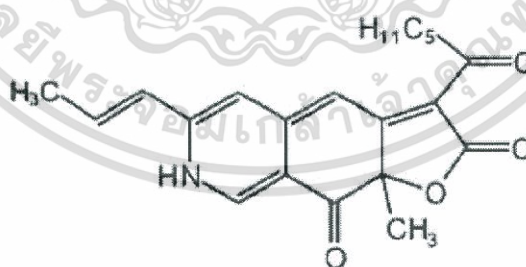


รูปที่ 2.7 โครงสร้างเคมีของสารสีโมนาสโครูบริน

ที่มา : <http://flipper.diff.org/app/items/5975>

5. รูโบรพังกามีน (rubropunctamine) มีโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2.8

เป็นสารสีในกลุ่มสีแดง สูตรโมเลกุลคือ $C_{21}H_{23}O_4N$ และน้ำหนักโมเลกุล 353 สารรูโบรพังกามีนเกิดจากสารรูโบรพังกาทินทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนียม (Nakanishi *et al.*, 1959; Sweeny *et al.*, 1981)

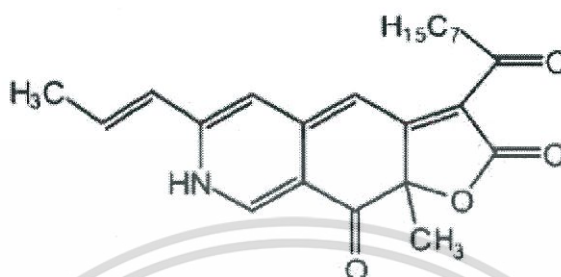


รูปที่ 2.8 โครงสร้างเคมีของสารสีรูโบรพังกามีน

ที่มา : <http://flipper.diff.org/app/items/5975>

6. โมนาสโครูบรามิน (monascorubramine) มีโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2.9

เป็นสารสีในกลุ่มสีแดง สูตรโมเลกุลคือ $C_{23}H_{27}O_4N$ และน้ำหนักโมเลกุล 381 มีจุดหลอมเหลว 207 – 208 องศาเซลเซียส สารโมนาสโครูบรามินเกิดจากสารโมนาสโครูบรินทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนียม (Nakanishi *et al.*, 1959; Sweeny *et al.*, 1981)



รูปที่ 2.9 โครงสร้างเคมีของสารสีโมนาสโครูบรามิน

ที่มา : <http://flipper.diff.org/app/items/5975>

Carels and Shepherd (1977) ศึกษาการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัส พบว่า เชื้อราสามารถสังเคราะห์สารสีส้ม monascorubrin หรือ rubropunctatin ได้เท่านั้น ส่วนสีอื่นเกิดจากปฏิกิริยาทางเคมี ซึ่งขึ้นอยู่กับสภาพการเลี้ยงเชื้อ โดยสีแดงเกิดจากสีส้มที่เชื้อสังเคราะห์ได้แล้วทำปฏิกิริยากับ $-NH_2$ group ของกรดอะมิโน ได้เป็น monascorubramine หรือ rubropunctamine ส่วนสีเหลืองนั้น สันนิษฐานว่าเกิดจากปฏิกิริยารีดักชันของสารสีส้มกลายเป็น monascin หรือ ankaflavin แต่ Feilding *et al.* (1961) พบว่าเชื้อราโมแนสคัสสร้างได้เฉพาะสีส้มและสีเหลืองเท่านั้น ขณะที่สีแดงเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสีส้มและสีเหลือง

Su and Huang (1980) ศึกษาคุณสมบัติของสารสีจากเชื้อรา *Monascus anka* V-204 พบว่าละลายได้ดีในเอทานอลแต่ละลายได้เล็กน้อยในน้ำ สารสีในตัวทำละลายที่เอชต่างกันจะได้เฉดสีแตกต่างกันดังนี้ ที่พีเอช 3.0-4.0 จะเป็นสีส้ม พีเอช 5.0-6.0 เป็นสีแดง และที่พีเอช 7.0-9.0 จะเป็นสีม่วงแดง เมื่อแยกสารสีออกจากเส้นใยมาทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่ได้จากแป้งถั่วเหลือง จะได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงเข้มละลายในน้ำได้ดี สารสีจะไวต่อแสงเมื่อละลายในน้ำแต่จะทนต่อแสงมากขึ้นเมื่อละลายในเอทานอล และทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสได้ดีเมื่ออยู่ในตัวทำละลายพีเอชเป็นกลางหรือเบส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sweeny *et al.* (1981) ทดสอบคุณสมบัติของสารสีโดยเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ดีขึ้น คือ N-glucosylribropunctamine และ N-glucosylmonascorunramine พบว่าสารทั้งสองคงสภาพต่อแสงแดดได้ดีขึ้นเมื่อเติมสาร quercetin-5-sulfonic acid สำหรับพีเอช 2.8 6-hydroxy-1, 4-naphthoquinone สำหรับพีเอช 6.0 และ 1, 4, 6-trihydroxynaphthalene ใช้ได้ดีทั้งพีเอช 2.8 และ 6.0 เป็นสารป้องกันการสลายตัวของสารสีจากแดด

Wong and Koehler (1983) นำสารสีแดงจากเชื้อราโมแนสคัสมาทำปฏิกิริยากับสารที่ไม่เป็นอันตราย มีราคาถูกเพื่อให้ละลายน้ำได้ดี พบว่าสาร aminoacetic acid และ aminobenzoic acid ใช้กับสารสีแดงได้ดี สารเชิงซ้อนที่ได้คงตัวที่พีเอช 9.2 และพีเอช 7.0 มากกว่าพีเอช 3.0 เมื่ออยู่ในตัวทำละลายพีเอชเป็นกลางหรือด่างจะทนความร้อนและแสงอัลตราไวโอเล็ตได้ดี โดยเหลือสารสีมากกว่า 80% เมื่อได้รับแสงอัลตราไวโอเล็ตนาน 30 ชั่วโมง ส่วนวรรณภา (2529) พบว่าสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสโดยผ่านกระบวนการใดๆคงตัวได้ดีที่พีเอชเป็นกลางถึงด่างเช่นกัน ทนต่ออุณหภูมิน้ำเดือดนาน 15 นาที และคงตัวได้ดีในสารละลายโซเดียมเบนโซเอท กลีเซอรอล น้ำ และกรดอะซิติก

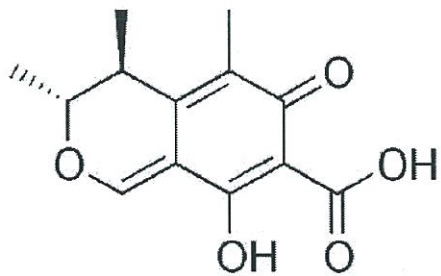
Su and Huang (1980) พบว่า สารสีจาก *Monascus anka* V-204 จะมีความไวต่อแสงเมื่อละลายในน้ำ แต่ถ้าละลายในเอทานอลจะสามารถคงตัวต่อแสงได้มากขึ้น และสามารถคงตัวต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ได้เมื่ออยู่ในตัวทำละลายที่มีค่าพีเอชเป็นกลางหรือเบส ขณะที่ Sweeny *et al.* (1981) ได้ค้นพบว่า สาร quercetin-5'-sulfonic acid ที่พีเอช 2.8 สาร 6-hydroxy-1, 4-naphtho quinone ที่พีเอช 6.0 และ สาร 1, 4, 6-trihydroxynaphthalene ที่พีเอช 2.8 และ 6.0 สามารถใช้เป็นสารป้องกันการสลายตัวของสีแดงจากแสงแดดได้

นิสา (2537) ศึกษาความคงตัวของสีแดงที่ได้จากโมแนสคัสสายพันธุ์พ่อแม่ KB11304 และ มิวแตนท์ KB10M16 และสีเหลืองที่ได้จากโมแนสคัสมิวแตนท์ KB20M10.2 ในอาหารเหลว SS พบว่าสีแดงนั้นคงตัวได้ดีที่พีเอช 5-10 คงตัวได้ดีในสารละลายเอทานอล น้ำกลั่น และกลีเซอรอล และสูญเสียความคงตัวเกือบทั้งหมดในสารละลายกรด นอกจากนี้สีแดงที่ละลายอยู่ในสารละลายเบสจะคงตัวอย่างมากต่ออุณหภูมิต่างๆได้ดีกว่าอยู่ในสารละลายกรด ส่วนสีเหลืองนั้นคงตัวได้ดีในช่วงพีเอช 3-12 คงตัวได้ดีในน้ำกลั่น สารละลายเอทานอล และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ คงตัวได้ดีพอสมควรในสารละลายกรด แต่คงตัวในสารละลายเบสได้ต่ำกว่าสีแดง

2.2.2 ซิตรีนิน (Citrinin)

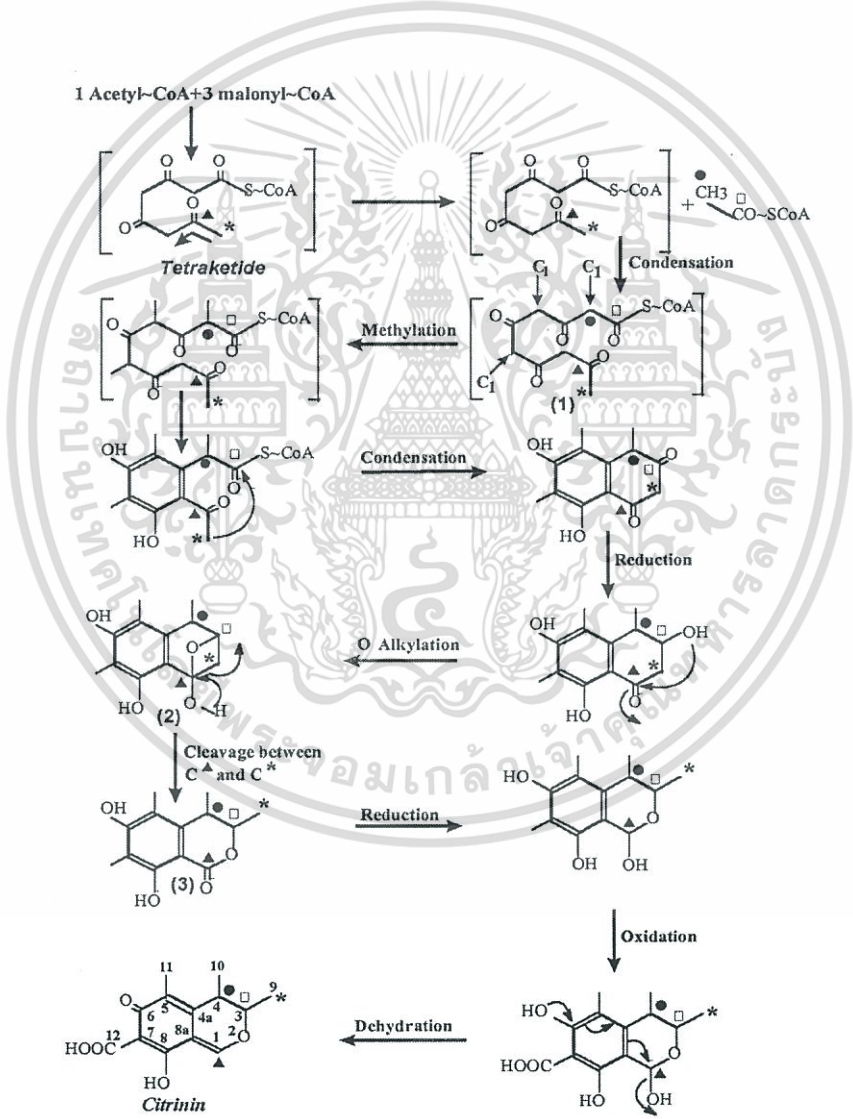
ซิตรีนินพบครั้งแรกโดยการแยกจากเชื้อรา *Penicillium citrinum* ในปี 1931 ต่อมาในปี 1951 พบปัญหาข้าวเหลือง “yellow rice problem” ในข้าวที่ประเทศไทยส่งออกไปยังประเทศญี่ปุ่น เพราะมีการปนเปื้อนจากเชื้อรา *P. citrinum* และตรวจพบซิตรีนิน เชื้อรา *Penicillium* สายพันธุ์อื่น เช่น เชื้อรา *P. verrucosum* สามารถสร้างซิตรีนิน เนื่องจากเชื้อราสายพันธุ์นี้สามารถสร้างสารพิษ ชื่อ โอคราโทอกซิน เอ (Ochratoxin A, OTA) พบทั่วไปในธัญพืช เช่น ข้าวสาลี และข้าวบาร์เลย์ โดยทั่วไปจะพบทั้งโอคราโทอกซิน เอ และซิตรีนินพร้อมกัน แต่มีการศึกษาเกี่ยวกับซิตรีนินน้อยกว่า อาจเป็นเพราะไม่สามารถตรวจพบซิตรีนินได้ง่าย เนื่องจากอาจสลายไปในระหว่างขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ นอกจากนี้ยังมีเชื้อราสกุลอื่นที่สร้างซิตรีนิน เช่น *Aspergillus terreus*, *A. carneus* และ *A. niveus* ช่วงแรกของการศึกษาพบว่าซิตรีนินมีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (antibacteria) แต่ยังมีผลกระทบต่อไตของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (European Mycotoxin Network, 2002)

ซิตรีนิน มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 250.25 กรัมต่อโมล มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{13}H_{14}O_5$ และมีโครงสร้างดังรูปที่ 2.10 มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีเหลืองเลมอน มีจุดหลอมเหลว 175 องศาเซลเซียส ละลายน้ำได้น้อย แต่ละลายได้ในโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง โซเดียมคาร์บอเนต โซเดียมอะซิเตต เมทานอล อะซิโตน ไตรโทล เอทานอล และ สารละลายอินทรีย์ที่มีขี้ มีกานำสารชนิดนี้มาใช้เพื่อเป็นสารปฏิชีวนะสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เชื้อราและโปรโตซัว แต่อย่างไรก็ตามพบว่า ซิตรีนินในปริมาณสูงมีผลต่อดับและไตของมนุษย์ด้วย โดยมีรายงานว่า ซิตรีนินที่ความเข้มข้น 1.8-4.7 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถทำลายเซลล์ตัวอ่อนของไตมนุษย์ (human embryonic kidney cell) ได้ถึง 50% (Li *et al.*, 2003) ดังนั้นการผลิตและการนำผลผลิตที่ผลิตได้จากราโมแนสค์สมาใช้ ควรมีการตรวจหาปริมาณซิตรีนินเพื่อควบคุมให้มีอยู่ในปริมาณที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคด้วย รูปแบบของการสังเคราะห์ซิตรีนินแสดงดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.10 โครงสร้างทางเคมีของซิตรีนิน

ที่มา : <http://www.answers.com/topic/citrinin>



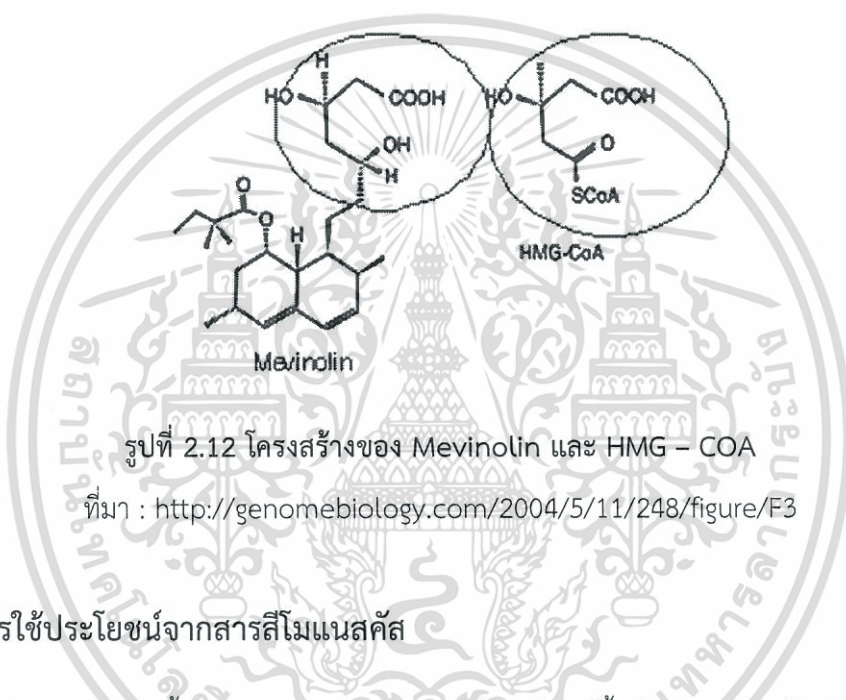
รูปที่ 2.11 รูปแบบของการสังเคราะห์ซิตรีนินจากเชื้อ *Monascus ruber*

ที่มา : Hajjaj *et al.* (1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 เมวินอลิน (Mevinolin)

เมวินอลิน ($C_{24}H_{36}O_5$) หรือ lovastatin, monacolin, mevacor มีโครงสร้างที่คล้ายกับ HMG-CoA (3-hydroxy-3-methyl-glutaryl CoA) ดังแสดงในวงกลมของรูปที่ 2.12 และด้วยโครงสร้างที่คล้ายกันดังกล่าว ทำให้เมวินอลินมีคุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMGCoA reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในวิถีการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล เมื่อเอนไซม์ HMG-CoA reductase ไม่สามารถทำงานได้ การสังเคราะห์คอเลสเตอรอลก็จะไม่เกิดขึ้น ทำให้สามารถควบคุมระดับคอเลสเตอรอลในกระแสโลหิตได้ (กรกต และคณะ, 2553)



รูปที่ 2.12 โครงสร้างของ Mevinolin และ HMG - CoA

ที่มา : <http://genomebiology.com/2004/5/11/248/figure/F3>

2.3 การใช้ประโยชน์จากสารสีโมแนสคัส

สำหรับการนำเชื้อรา *Monascus* spp. มาใช้ประโยชน์นั้นมีมานานหลายร้อยปีแล้ว โดยในประเทศจีนได้มีหลักฐานบันทึกว่าตั้งแต่สมัยราชวงศ์ถังและราชวงศ์หมิง นิยมใช้เป็นสีผสมอาหารในไวน์ เนื้อปลา และเนื้อสัตว์อื่นๆ อีกทั้งใช้เป็นยารักษาโรคด้วย (Ying *et al.*, 1987) ช่วยในเรื่องของการไหลเวียนของโลหิตการย่อยอาหาร รักษาอาการท้องเสียและใช้เป็นยาบำรุง ซึ่งปัจจุบันในจีนก็ยังนิยมใช้ *Monascus* spp. เป็นส่วนประกอบของยาจีนอยู่ (Sung, 1966)

เชื้อรา *Monascus* spp. สามารถเจริญบนข้าวหนึ่งและสร้างสารสีขึ้นในเส้นใยซึ่งจะมีบางส่วนถูกปลดปล่อยออกมาจากเส้นใยทำให้เมล็ดข้าวมีสีแดงเข้มซึ่งจะมีชื่อเรียกต่างๆ กัน เช่น ข้าวแดง (red rice) อังคัก (ang-kak) แองคา (anka) แอนแคก (ankak) (บุษบา, 2542) โดยข้าวแดงมีการใช้อย่างแพร่หลายในประเทศแถบเอเชีย ได้แก่ ไทย ฟิลิปปินส์ จีน ไต้หวัน ญี่ปุ่น อินโดนีเซีย เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยใช้แต่งสีอาหาร ธนอมอาหาร สีที่ผลิตได้จากเชื้อราโมแนสคัสมีความสำคัญสำหรับกระบวนการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรม สีของอาหารแสดงลักษณะปรากฏของอาหาร สีผสมอาหารอาจได้มาจากธรรมชาติหรือถูกสังเคราะห์ขึ้น การใช้สีสังเคราะห์อาจก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenicity) และเกิดมะเร็ง (carcinogenicity) สีจากธรรมชาติโดยทั่วไปได้มาจากพืชหรือผลิตภัณฑ์จากพืช หรือจากจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ จึงได้มีการพัฒนาสีผสมอาหารจากธรรมชาติเพิ่มมากขึ้น (Sabater-Vilar *et al.*, 1999) ตัวอย่างอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มที่ใช้สารสีจากเชื้อรา *Monascus* spp. ได้แก่ เต้าหู้ยี้ เต้าเจี้ยว ซีอิ๊ว ปลาแห้งแดง กะปิ ข้าวเกรียบกุ้ง แยม ผลิตภัณฑ์นม เค้ก ไวน์แดง สาเก เหล้าเกาเหลียง น้ำหวาน น้ำผลไม้ ขนมห ผิดภัณฑ์เนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์ซูริมิ (บุษบา, 2542) ตัวอย่างการประยุกต์ใช้ข้าวแดงมาผลิตเครื่องดื่มเป็นรายงานการวิจัยของ Kim *et al.* (2008) ได้ศึกษาการใช้ข้าวแดง (Monascal rice) ที่ผลิตจากราโมแนสคัสในการผลิตเครื่องดื่มผลการทดลองพบว่าเครื่องดื่มที่ผลิตจากข้าวแดง 100% มีปริมาณสารฟีนอลิก (phenolic compound) และสารแอนติออกซิแดนซ์ (antioxidant) สูงที่สุดซึ่งเหมาะต่อการผลิตเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่มีความสามารถในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายได้ซึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชันนั้นจะส่งผลเสียต่อสุขภาพ เช่น ทำให้เกิดโรคแห่งความเสื่อมของร่างกายทั้งโรคหลอดเลือดโรคหัวใจและต่อกระดูก เป็นต้น นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดเซลล์มะเร็งอีกด้วย ตัวอย่างการนำสารที่ผลิตได้จากราโมแนสคัสไปใช้เป็นสารลดคอเลสเตอรอล ซึ่งมีการได้ศึกษาการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล โดยใช้สารสีเหลืองที่ผลิตจากราโมแนสคัส ผลการทดลองพบว่าสารสีเหลืองสามารถยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลได้ 36% ซึ่งสารสีเหลืองนี้สามารถใช้ประโยชน์ในการควบคุมหรือลดระดับคอเลสเตอรอลในกระแสโลหิตของผู้ป่วยได้ (Jeun *et al.*, 2008) รวมถึงใช้แต่งสีในพวกผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น ไส้กรอก ชีส แฮม เนื้อปลาต่างๆ ฯลฯ (Patakova-Juzlova *et al.*, 1998) และยังมีการศึกษาที่จะนำสีที่ได้จาก เชื้อรา *Monascus* spp. มาใช้แทนสีสังเคราะห์ (Juzlova *et al.*, 1996)

การศึกษาผลของการใช้ข้าวแดง (red yeast rice: RYR) ที่ผลิตได้จากราโมแนสคัสต่อการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่โดยใช้ความเข้มข้นของ ข้าวแดง 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรเป็นเวลา 48 ชั่วโมง สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ชนิด HCT-116 ได้ 41% และสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ชนิด HT-29 ได้ 32% ซึ่งผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าข้าวแดงมีสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ทั้งสองชนิดได้ (Hong *et al.*, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้ประโยชน์จากราแดงสายพันธุ์โมแนสคัส (*Monascus sp.*) โดยนำมาผลิตสารให้สีและสารสำคัญที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพเช่น เมวินอลิน (mevinolin) และซิตรีนิน (citrinin) โดยมีการนำสารที่ผลิตได้ ดังกล่าวมาใช้เป็นสีผสมอาหารยาฆ่าเชื้อโรคและใช้ในการรักษาโรคต่างๆสารให้สีที่ราโมแนสคัสผลิตขึ้นมานั้นถือว่าเป็นสีผสมอาหารที่มีความปลอดภัยนอกจากประโยชน์จากสารให้สีแล้วสารเมวินอลินที่ผลิตได้มีคุณสมบัติในการลดระดับคอเลสเตอรอล (cholesterol) ในกระแสโลหิต ส่วนซิตรีนินนั้นมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ข้าวแดงยังใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องยาจีน เนื่องจากมีสารโมนาโคลินเค (monacolin K) โดยสารนี้ยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 3-hydroxyl-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase ที่ใช้ในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล ทำให้มีคุณสมบัติในการลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดได้ ใช้ในผู้ป่วยที่มีปริมาณไขมันในเลือดสูงและเนื้องอกในหนู เนื่องจากสารสีสามารถยับยั้งกระบวนการอักเสบ อันเกิดจากสารทีพีเอ (TPA :12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) ซึ่งเป็นสารที่ส่งเสริมการเกิดเนื้องอก (ที่มา: <http://www.kuredyeastrice.com/>)

2.4 ข้าวแดง

ข้าวแดงเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักข้าวกับเชื้อรา *Monascus purpureus* โดยเชื้อราจะเจริญและย่อยข้าว ขณะเดียวกันก็สร้างรงควัตถุสีแดง ทำให้ข้าวมีลักษณะสีแดงเข้มและมีกลิ่นเฉพาะเมื่อนำไปบดแห้งก็จะได้เป็นข้าวแดง ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีชื่อเรียกต่างกันตามท้องถิ่น เช่น ชาวจีนเรียกว่า อังกัก (Angkak, Ankhak) หรือ อังกา (Anka) ชาวญี่ปุ่นเรียก เบนิ-โคจิ (Beni-koji) หรือ อังกา-โคจิ (Angka-koji) (อรัญ และคณะ, 2530)

2.4.1 ขั้นตอนการผลิตข้าวแดง (<http://www.agro.kmutnb.ac.th/e-learning/521302/8.php>)

ขั้นตอนการผลิตข้าวแดง ประกอบด้วย การเตรียมกล้าเชื้อและการหมักข้าวแดง ซึ่งแสดงดังรูป 2.13

วิธีการเตรียมกล้าเชื้อทำโดย แช่ข้าวในน้ำเป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง นึ่งให้สุก ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปใส่ในบ่อหมัก ทำการเพาะเชื้อโดยใช้กล้าเชื้อเจริญบนเมล็ดข้าว ใช้ปริมาณประมาณครึ่งหนึ่งของข้าวที่นึ่งไว้เติมลงในบ่อหมัก และเติมน้ำลงในบ่อหมักประมาณหนึ่งเท่าโดยน้ำหนักของวัสดุหมัก

และกวนเป็นครั้งคราวเพื่อลดอุณหภูมิ เมื่อครบ 4 วันข้าวจะเปลี่ยนเป็นสีแดง ข้าวที่หมักได้ส่วนนี้จะใช้เป็นกล้าเชื้อสำหรับการผลิตขั้นต่อไป โดยมีประสิทธิภาพในการหมักข้าวแดงถึง 30 เท่าของกล้าเชื้อที่ผลิตตามขั้นตอน

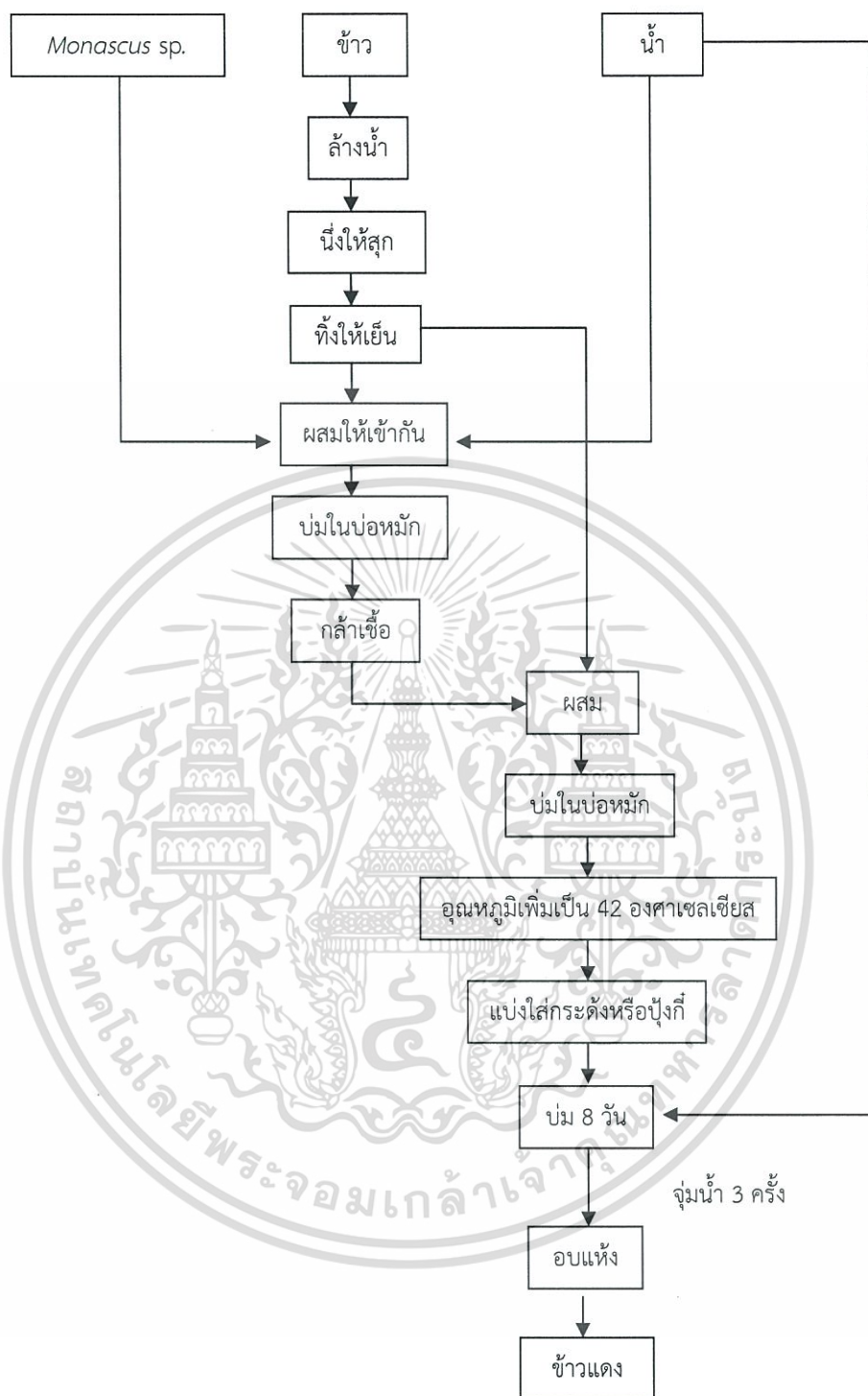
การหมักข้าวแดงทำโดย นึ่งข้าวโดยใช้ความดันไอน้ำ 0.2 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อลดอุณหภูมิให้ต่ำถึงระดับ 40 องศาเซลเซียส พ่นน้ำประมาณ 2% บนเมล็ดข้าวหนึ่งแล้วนำไปนึ่งต่ออีก 30 นาที เมื่ออุณหภูมิลดลงถึง 36 องศาเซลเซียส ทำการเพาะกล้าเชื้อโดยในระยะแรกของการหมัก อุณหภูมิจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นถึง 42 องศาเซลเซียส จึงทำการแบ่งข้าว ออกมาใส่พลาสติกแล้วจึงบ่มต่ออีก 8 วัน ในระหว่างการบ่ม มีการเพิ่มความชื้นโดยนำน้ำมาใส่พลาสติกเชื้อทำเช่นนี้ประมาณ 3 ครั้งตลอดระยะเวลาการบ่ม เพื่อให้เมล็ดข้าวชุ่มชื้นเหมาะสมต่อการเจริญและขนไยของเส้นใย และป้องกันการเกาะติดระหว่างเมล็ดข้าว หลังจากการบ่มข้าวจะเปลี่ยนเป็นสีแดงทั่วทั้งเมล็ดภายในและภายนอก

2.4.2 การผลิตแปรรูปผงสี

เริ่มจากการนำเม็ดข้าวที่ปกคลุมด้วยสารสีจากขั้นตอนการหมักไปทำการฆ่าเชื้อในหม้อนึ่ง ความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และนำไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง แล้วนำมาบดละเอียดจะได้ผงสีจากจุลินทรีย์ตามต้องการ

2.4.3 ขั้นตอนการสกัดข้าวแดง

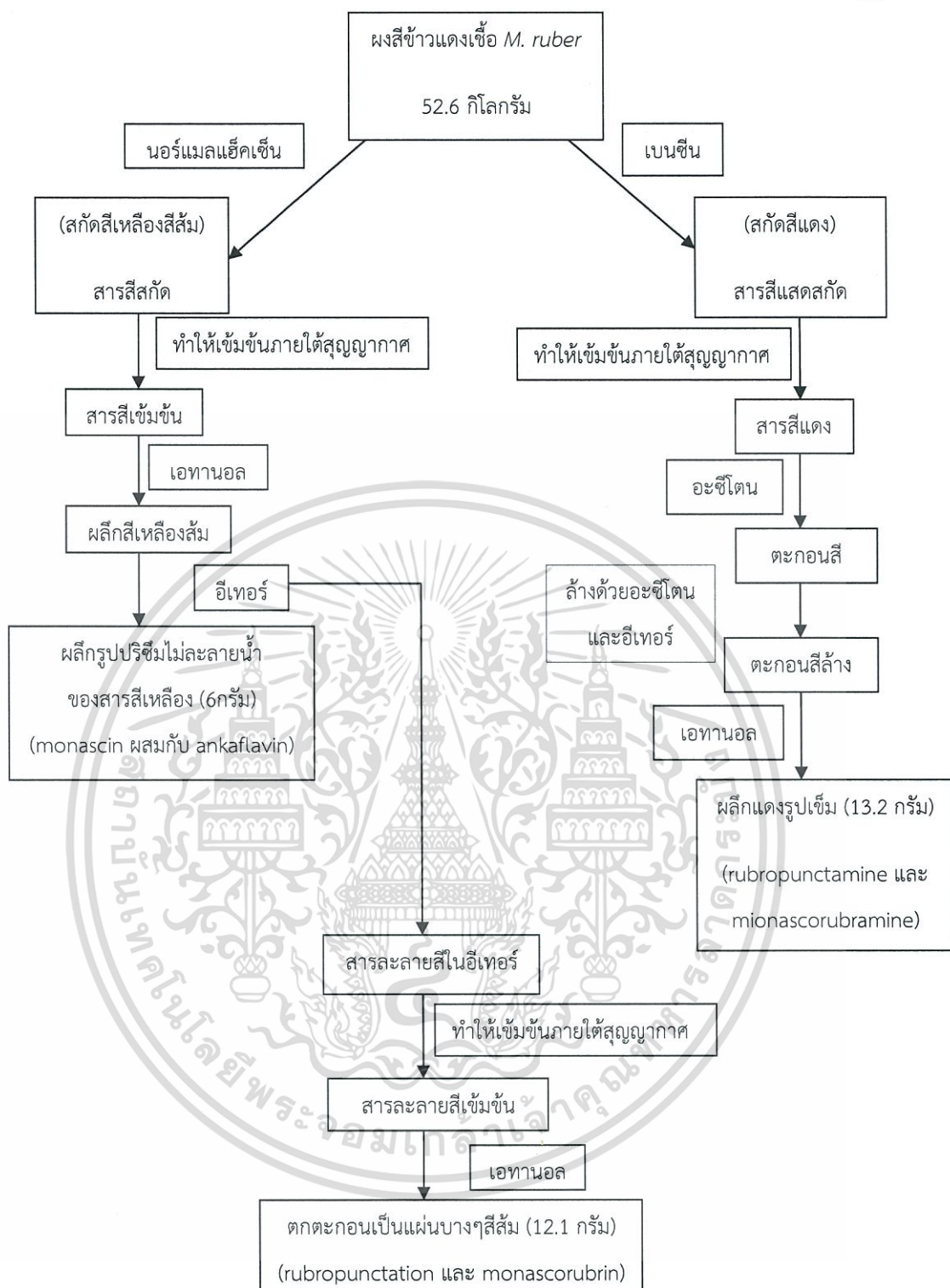
วิธีสกัดสีออกจากเส้นใยจะแตกต่างกันไปทั้งทางด้านการใช้สารตัวทำละลาย (solvent) เป็นตัวสกัดและปริมาณความเข้มข้นของสารตัวทำละลายที่ใช้สกัด Broder and Koehler (1980) ทดลองใช้เมทานอล (methanol) คลอโรฟอร์ม (chloroform) เอทานอล (ethanol) และอะซิโตน (acetone) ในการสกัดสีออกจากเส้นใย พบว่าสารที่สกัดได้ดีที่สุดคือ เมทานอล ซึ่งสีที่สกัดได้จะมีค่าดูดกลืนแสงเด่นอยู่ 2 สี ที่ความยาวคลื่น 390 นาโนเมตร (สีเหลือง) และ 500 นาโนเมตร (สีแดง) Lin (1973) ใช้เอทานอล 50% ในการสกัดสีออกจากเส้นใย นำส่วนที่กรองได้ไปวัดค่าสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร Lin and Lizuka (1982) มีการวัดค่าสีที่ละลายน้ำได้ (water soluble) และสีที่ละลายน้ำรวมทั้งละลายในเอทานอล 95% ได้ด้วย นำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตรและ 500 นาโนเมตร ส่วน Sweeny et al. (1981) ประสิทธิภาพความสำเร็จจากการแยกสีบริสุทธิ์ชนิดต่างๆจากข้าวแดง ขึ้นตอนต่างๆ แสดงในรูปที่ 2.14



รูปที่ 2.13 การผลิตข้าวแดงในระดับอุตสาหกรรม

ที่มา : Su and Huang (1980)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.14 การแยกสีจากผงข้าวแดงให้บริสุทธิ์

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก Sweeny *et al.* (1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4 ประโยชน์ข้าวแดง (สืบค้นจาก <http://www.doctor.or.th/article/detail/3505>)

ข้าวแดงใช้แต่งสีอาหารต่างๆ เช่น เต้าหู้ยี้ ข้าวได้ห้วนใช้ข้าวแดงเป็นส่วนประกอบในการทำ เหล้าแดงที่มีชื่อว่า อันจู (Anchu) หรือสามซู (Samsu) ซึ่งเป็นเหล้าที่มีชื่อเสียงมากของไต้หวัน ชาวญี่ปุ่น นิยมใช้ข้าวแดงทำเหล้าแดงเช่นเดียวกัน ชาวฟิลิปปินส์จะใช้ข้าวแดงที่บดละเอียดแล้วผสมลงในกะปิ ใช้ย้อมไข่ ปลาเค็ม และใช้ผสมในปลาเจ่า เพื่อให้มีสีสวย และมีกลิ่นที่น่ารับประทาน สำหรับคนไทยนิยมใช้ข้าวแดงผสมในยาจีนกันมาก เพราะข้าวแดงมีธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และไวตามินบีอยู่ด้วย ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวสารขาวแล้วข้าวแดงมีปริมาณวิตามินบีสองสูงกว่าข้าวสารถึง 185 เท่า นอกจากนี้คนไทยยังใช้ข้าวแดงทำเต้าหู้ยี้ชนิดแดง เป็นจำนวนมาก บางคนใช้ในการทำหมูแดงอีกด้วย

2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักสารสีโมแนสคัสบนอาหารแข็ง

2.5.1 สายพันธุ์เชื้อราโมแนสคัส

โดยทั่วไปเชื้อราโมแนสคัส เมื่อเจริญบนเมล็ดข้าวโดยการงอกของเส้นใยทั้งผิวหน้า และแทรกทะลุเข้าไปในเมล็ดข้าวนั้นก็จะมีการสร้างสารสีได้ภายหลังจากการบ่มไปได้นาน 3 วัน สารสีเหล่านี้เมื่อนำมาสกัดด้วยสารละลายเอทานอล พบว่าสารสีแดงทั่วไปจะมีค่าดูดกลืนแสงสูงสุด 2 จุด ที่ 420 และ 500 นาโนเมตร บางสายพันธุ์ที่ให้ข้าวแดง หรือ อังคักเป็นสีแดงสวย หรือแดงชมพูแก่ จะมีความโด่ง (peakedness) ของจุด 500 นาโนเมตร สูงกว่า 420 นาโนเมตร เช่นพบในสายพันธุ์ของ *Monascus purpureus* หรือ *M. anka* แต่บางสายพันธุ์อาจให้สีแดงเข้มคล้ำ โดยมีค่าความโด่งที่ 420 สูงกว่า 500 นาโนเมตร หรือค่าความโด่งที่ 370 สูงกว่า 500 นาโนเมตร เป็นต้น เช่น สายพันธุ์ *M. barkari* (พลายแก้ว และบุษบา, 2534ข) หรือ *M. kaoliang* (บุษบา และวรรณภา, 2528)

เชื้อรา *Monascus* spp. ที่มีการทำมาวิจัยในด้านต่างๆ ทั้งในและต่างประเทศ งานวิจัยในประเทศ เช่น ศศิธร และเรณู (2546) ได้นำเชื้อรา *Monascus purpureus* FTCCU มาทดลองกับข้าวรวม 3 สูตร โดย ข้าวสูตร 1 เต็มโมโนโซเดียมกลูตาเมต ข้าวสูตร 2 เต็มฮีสติติน และข้าวสูตร 3 ไม่ได้เติมกรดอะมิโนใดๆ เพื่อหาปริมาณซิทรินินและรงควัตถุสีแดงที่สร้างโดย *Monascus purpureus* FTCCU เรณู และจุลยุทธ (2546) โดยทำการศึกษาเชื้อรา *Monascus purpureus* ATCC 16365, *M. purpureus* DMKU, *M. purpureus* FTCCU และ *M. purpureus* BCC 6131 บ่มกับข้าวที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือข้าวหอมมะลิ ข้าวเจ้าพันธุ์พิจิตร และข้าวซ้อมมือ เพื่อศึกษาผล

ของสายพันธุ์เชื้อราโมแนสคัส และชนิดของข้าว ต่อปริมาณซิติรีนินในข้าวแดง กมลวรรณ และดวงใจ (2554) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยในสภาวะอาหารแข็ง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ และงานวิจัยในต่างประเทศ เช่น Babitha *et al.*, (2007) ได้นำเชื้อรา *Monascus purpureus* มาบ่มในสภาวะอาหารแข็ง โดยมีเมล็ดขนุนเป็นสับสเตรท เพื่อทดสอบหาผลผลิตที่ได้จากเชื้อ Velmurugan *et al.*, (2011) ทำการวิจัยโดยบ่มเชื้อรา *Monascus purpureus* KACC 42430 ในสภาวะอาหารแข็งโดยมีซังข้าวโพดเป็นสับสเตรท เพื่อศึกษาผลผลิตที่ได้จากเชื้อ

2.5.2 แหล่งคาร์บอน

เชื้อราโมแนสคัสมีความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนหลายชนิด เช่น แป้ง น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลซูโครส ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 สายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส สารที่ผลิตได้และแหล่งคาร์บอนที่ใช้เป็นสับสเตรท

สายพันธุ์	สารที่ผลิต	แหล่งคาร์บอน	อ้างอิง
<i>Monascus purpureus</i> FTCMU	สีแดง ซิติรีนิน	ข้าว	ศศิธร และเรณู (2546)
<i>Monascus purpureus</i> TISTR 3090	สีแดง	ข้าวหอมมะลิ ข้าวเจ้าพันธุ์เหลืองอ่อน ปลายข้าวเจ้าพันธุ์เหลืองอ่อน ข้าวฟ่างทำขนม ข้าวฟ่างอาหารนก ลูกเดือย รำข้าว มันแกว มันเทศ มันสำปะหลัง มันฝรั่งฝ่อก ฝรั่ง กล้วยห้ามหัวไชเท้า กากมะพร้าวคั้นกะทิ เต้าหู้ขาว ขนம்பึง	นฤมล (2548)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 สายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส สารที่ผลิตได้และแหล่งคาร์บอนที่ใช้เป็นสับสเตรท (ต่อ)

สายพันธุ์	สารที่ผลิต	แหล่งคาร์บอน	อ้างอิง
<i>Monascus</i>	สีแดง	รำข้าว รำข้าวสาลี	Babitha <i>et al.</i> , (2007)
<i>purpureus</i> LPB 97	สีเหลือง	กากมะพร้าว กากงา กากปาล์มน้ำมัน กากถั่วลิสง แป้งมันสำปะหลัง spent brewing grain ผงเมล็ดขนุน	
<i>Monascus</i> sp. LC1	สีแดง	ข้าว	นฤมล และคณะ (2553)
<i>Monascus purpureus</i> TISTR 3090	เอนอะซิติลกลูโค- ซามีน สีแดง	ลูกเดือย	กมลวรรณ และดวงใจ (2554)
<i>Monascus purpureus</i>	สีเหลือง สีแดง ซีทรินิน	ข้าวกล้อง แป้งมันสำปะหลัง แป้งบัววิท ผีอก	Dikshit and Padmavathi (2011)
<i>Monascus purpureus</i> KACC 42430	สีแดง สีเหลือง	ซังข้าวโพดอบ	Velmurugan <i>et al.</i> , (2011)
<i>Monascus purpureus</i> TISTR 3615	สีแดง	กากถั่วเหลือง	สุนีย์ และคณะ (2555)
<i>Monascus</i> sp. KJR2	สีเหลือง สีส้ม สีแดง	เมล็ดทุเรียน	Srianta <i>et al.</i> , (2012)

Johnson and McHan (1975) พบ *Monascus purpureus* ATCC 6405 สามารถเจริญได้ดีขึ้นในอาหารที่มีความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน 20 กรัมต่อลิตร ได้แก่ อะราบีโนส ไฮโลส กลูโคส ฟรุคโตส แมนโนส ซูโครส มอลโตส แป้ง ซอร์บิทอล และเอทานอล ที่มีการเติมสังกะสีปริมาณ 800 ไมโครกรัมต่อลิตรด้วย และกล่าวว่าการเติมสังกะสีและกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ได้แก่ ไกลซีน แอล-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิวซิน และแอล-ทริฟโทเฟน ทำให้การเจริญและการใช้แหล่งคาร์บอนของ *Monascus* spp. เพิ่มมากกว่าการเติมเพียงอย่างเดียวอย่างหนึ่ง

บุษบา (2518) ได้ทดลองการสร้างสีของ *Monascus purpureus* โดยใช้สภาวะต่อการผลิตข้าวแดงได้แก่ ความชื้นไม่เกิน 50% พีเอชระหว่าง 3.0-7.5 อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส มาทดลองกับข้าวพันธุ์ต่างๆของไทย พบว่าข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยววง และข้าวพันธุ์หอมมะลิให้สีเข้มใกล้เคียงกัน แต่ข้าวเหนียวกลับให้กลิ่นหอมมากกว่าข้าวหอมมะลิ กลิ่นหอมดังกล่าวคือกลิ่นเอสเทอร์และแอลกอฮอล์ปนกัน ทั้งนี้ข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยววง และข้าวเจ้าพันธุ์หอมมะลิให้ผลความเข้มของสีใกล้เคียงกับข้าวพันธุ์ญี่ปุ่น ในขณะที่ข้าวสายพันธุ์อื่นๆของไทย คือ พันธุ์เส้าไห้ พันธุ์ธรรมดา ฯลฯ นั้นล้วนแต่ให้สีและความหอมน้อยกว่ามาก

Lin and Iizuka (1982) ทดลองใช้ธัญพืช เช่น ข้าวขัดสี (polished rice), ข้าวไม่ขัดสี (de-hulled rice), bread meal, corn meal, kaoliang meal, manton meal และ wheat meal สำหรับใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของเชื้อรา *Monascus kaoliang* F-2 และ *M. kaoliang* R-10847 เพื่อผลิตสีในสภาพหมักแข็ง พบว่า manton meal เป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดสำหรับผลิตสีแดง

อรัญ และคณะ (2531) รายงานว่าปริมาณอะไมโลสในเมล็ดข้าวที่แตกต่างกัน จะมีผลต่อการผลิตข้าวแดงแตกต่างกันไปด้วย โดยพบว่าพันธุ์ข้าวที่มีอะไมโลสสูงมากกว่า 24% เช่น พันธุ์เหลือง 148 กข 23 กข 25 เหมาะสมต่อการผลิตข้าวแดงมากกว่าพันธุ์ กข 4 และขาวดอกมะลิ 105

พลายแก้ว และบุษบา (2534ก) ได้ศึกษาแหล่งสับสเตรตชนิดต่างๆต่อการผลิตสีโมแนสคัส เปรียบเทียบกับการผลิตบนข้าว โดยใช้เมล็ดข้าวโพด มันเทศ มันสำปะหลัง มันฝรั่ง ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ข้าวฟ่าง ขนมปังต่อการเจริญ การสร้างสี และการสร้างสปอร์ของ *Monascus kaoliang* พบว่าขนมปังให้ค่าสีแดงมากที่สุด รองลงมาคือมันฝรั่ง และปลายข้าวหอมมะลิ นอกนั้นให้สีไม่ดึ้นัก ส่วนการสร้างสปอร์ของ *M. kaoliang* พบว่าถั่วเหลืองให้ปริมาณสปอร์สูงสุด รองลงมาคือ ถั่วเขียว ขนมปัง และปลายข้าวหอมมะลิตามลำดับ

2.5.3 แหล่งไนโตรเจน

Lin (1973) และ Lin and Suen (1973) พบว่าโมโนโซเดียมกลูตาเมต แอมโมเนียมซัลเฟต โปตัสเซียมไนเตรท และโซเดียมไนเตรท เป็นแหล่งไนโตรเจนความเข้มข้น 0.026% เหมาะสำหรับ

สร้างสี กรณีที่ใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าเชื้อราสร้างสีแดงชนิดเดียว เนื่องจากมีกรดอะมิโนมาก เมื่อเชื้อเจริญทำให้อาหารมีพีเอชสูงขึ้นทำให้สีทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนอิสระในเส้นใยแล้วเปลี่ยนเป็นสารพวก amine derivative จึงไม่พบสีเหลืองหรือสีส้ม แต่ในกรณีใช้โซเดียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจน ให้การเจริญของเชื้อเป็นไปอย่างปกติอาหารมีพีเอชสูงขึ้น แต่พบการสร้างสีแดงและสีส้ม เนื่องจากไม่มีกรดอะมิโนอิสระมากพอที่จะทำปฏิกิริยากับสีส้มทั้งหมดจึงยังคงเหลือสีส้มอยู่ แต่ถ้าใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมคลอไรด์หรือแอมโมเนียมไนเตรท พบว่าในการเลี้ยงเชื้อจะทำให้พีเอชลดลงอย่างรวดเร็วจึงไม่ทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนอิสระภายในเส้นใยจึงมีการสะสมสีประเภท monascorubrin และ rubropunctatin ซึ่งให้สีส้ม ถ้าหากสารสะสมทั้งสองชนิดเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะได้สาร monascin หรือ ankaflavin ซึ่งให้สีเหลือง (Carels and Shepherd, 1977)

Yoshimura *et al.* (1975) ทดลองพบว่ายีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับผลิตสีแดงจาก *Monascus* sp. No. 2 และการทดลองของ Broder and Kochler (1980) ก็พบว่ายีสต์สกัดมีผลต่อการผลิตสีแดงนอกเซลล์เพิ่มขึ้นในการเติมแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ลงในข้าวเพื่อผลิตข้าวแดงพบว่า แหล่งไนโตรเจนที่จำเป็นต่อการผลิตข้าวแดงในวัตถุดิบข้าวมีเพียงพอ จึงไม่จำเป็นต้องเติมสารต่างๆ เช่น แอมโมเนียมไนเตรท แอมโมเนียมซัลเฟต โซเดียมไนเตรท โมโนโซเดียมไนเตรท

2.5.4 พีเอช

Palo (1960) รายงานว่า *Monascus purpureus* สร้างสีแดงได้ในพีเอชระหว่าง 3.0-7.5 Lin (1973) พบว่า พีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการสร้างสีของเชื้อรา คือ พีเอช 6.0 โดยให้พีเอชสุดท้ายหลังจากการหมักเป็น 5.8 Carels and Shepherd (1977, 1978) พบว่า พีเอชต่ำมีการสะสมสีส้ม เนื่องจากสีส้ม monacorubrin และ rubropunctatin ที่เชื้อสังเคราะห์ขึ้นไม่สามารถทำปฏิกิริยากับ NH group ได้ แต่ พีเอชสูง ปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถเกิดขึ้นได้จึงให้สีแดงออกมา

Han (1990) พบว่า พีเอชเหมาะสมในการผลิตข้าวแดงของเชื้อรา *Monascus purpureus* ATCC 16365 เริ่มต้น 5.0 ถึง 6.0 ในปีต่อมา Johns and Stuart (1991) ได้ทำการทดลองปรับพีเอชของน้ำให้ได้ 3.4 6.0 และ 7.0 ด้วย สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ก่อนนำไปแช่ข้าวเป็นเวลา 5 ชั่วโมง พบว่า พีเอช 6.0 เป็นค่าที่เหมาะสมในการสร้างสารสี

2.5.5 อุณหภูมิ

การศึกษา linear growth rate ของ *Monascus* spp. 37 สายพันธุ์ บนอาหาร MEA พบว่า *Monascus* spp. ส่วนใหญ่เจริญได้ที่อุณหภูมิ 25 30 37 และ 40 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 30 หรือ 37 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้คือ 45 องศาเซลเซียส การเจริญของ *Monascus* spp. ที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส ไม่ต่างกัน แต่อัตราการเจริญโดยทั่วไปจะช้าที่ 25 และ 40 องศาเซลเซียส (Manandhar and Apinis, 1971)

Lin (1973) พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสม ในการสร้างสีของ *Monascus* sp. F-2 คือ 32 องศาเซลเซียส ถ้าสูงกว่านี้จะลดการสร้างสี

Dizon and Sanchez (1984) ได้ทดลองทำข้าวแดงที่อุณหภูมิ 20 25 30 และ 35 องศาเซลเซียส พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 และ 400 นาโนเมตร ของสีที่สกัดจากข้าวแดงบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส มีค่าสูงกว่าเมื่อบ่มที่ 20 25 และ 35 องศาเซลเซียส

2.5.6 ความชื้นเริ่มต้น

Palo *et al.* (1960) เป็นคนแรกที่รายงานว่าความชื้นต่ำกว่า 50% ให้ผลดีต่อการสร้างสีของอังกัก *Monascus purpureus*

Lotong and Suwanarit (1990) พบว่าความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตข้าวแดงในถุงพลาสติกของเชื้อรา *Monascus* sp. NP 1 คือ 32.6% แต่ความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 39.6% นั้น อัตราการสร้างสารสีจะลดลง ความชื้นต่ำเกินไปทำให้เชื้อราเจริญได้ไม่ดี ส่งผลให้การสร้างสีไม่ดีด้วยความชื้นสูงเกินไปเกิดการเจริญและการสร้างเอนไซม์กลูโคสอะไมเลสมาก เกิดการสะสมกลูโคสยับยั้งการสร้างสีได้ จึงได้พัฒนาสายพันธุ์กลายที่ทนกลูโคสได้สูง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวแดง

Han (1990) และ Johns and Stuart (1991) พบว่าถ้าความชื้นเริ่มต้นต่ำกว่า 40% จะได้สีน้อย แต่ถ้าความชื้นเริ่มต้นที่ 50-56% จะทำให้สีสูงสุดภายใน 8 วัน

2.5.7 อัตราส่วนของก๊าซ

เนื่องจากเชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญ การทดลองทำข้าวแดงจำเป็นต้องให้อากาศ ซึ่งได้แก่ การเขย่าภาชนะบรรจุหรือการให้อากาศช่วยให้การสร้างสารสีได้ดีและเร็วขึ้น (เชิดชัย และคณะ, 2519)

Han and Mudgett (1992) ได้ศึกษาพบว่า ก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์มีผลต่อการสร้างสารสีและการเจริญของ *Monascus* spp. โดยพบว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูงทำให้การสร้างสารสีและการเจริญลดลงและไม่สามารถสร้างสารสีและเจริญได้เมื่อมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ตั้งแต่ 1.0 atm ขึ้นไป ส่วนก๊าซออกซิเจนตั้งแต่ 0.2 atm ทำให้การสร้างสารสีและการเจริญเพิ่มขึ้น และเพิ่มสูงสุดเมื่อมีก๊าซออกซิเจน 0.5 atm จากนั้นจะค่อยๆ ลดลงและไม่สามารถสร้างสารสีและเจริญได้เมื่อมีก๊าซออกซิเจนมากกว่า 2.1 atm สภาพที่มีก๊าซออกซิเจนคงที่ที่ 0.21 atm และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่ำๆ เป็นสภาพที่ให้การผลิตสารสีสูงสุด

2.6 ข้าว

2.6.1 องค์ประกอบของข้าว (วรรณดี, ม.ป.ป.)

ข้าว (rice) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza sativa* L. มีองค์ประกอบแป้งชนิดอะไมโลส (amylose) และอะไมโลเพคติน (amylopectin) ในปริมาณที่ต่างกัน โดยปกติข้าวเจ้ามีแป้งอะไมโลส 15-30% ส่วนข้าวเหนียวประกอบด้วยแป้งอะไมโลเพคตินเป็นส่วนใหญ่ และมีแป้งอะไมโลสเพียงประมาณ 1-2% ข้าวเจ้าสายพันธุ์ที่ต่างกัน จะมีปริมาณอะไมโลสที่ต่างกัน ข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำ เช่น ข้าวหอมมะลิมีอะไมโลส 16-18% มีลักษณะ เนื้อข้าวนุ่ม แต่ถ้าเป็นข้าวพันธุ์เสาไห้ พบว่ามีอะไมโลสสูงถึง 26% เมล็ดข้าวเมื่อหุงสุกจะมีลักษณะแข็งร่วน

ส่วนประกอบหลักของข้าว คือ สตาร์ช ซึ่งประกอบด้วย อะไมโลส และอะไมโลเพคติน ซึ่งมีผลต่อเนื้อสัมผัสของข้าวหุงสุก และใช้จำแนกชนิดของข้าว นอกจากรับประทานเป็นข้าวหุงสุกแล้วยังใช้เป็นวัตถุดิบ เพื่อการแปรรูป (food processing) เพื่อการถนอมอาหาร และเพิ่มมูลค่า เป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น แป้งข้าว ข้าวกระป๋อง ข้าวเหนียว ขนมจีน เส้นหมี่ ก๋วยจั๊บ และนำมาหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ (alcoholic fermentation) เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น สาเก (sake) สาโท อุ เป็นต้น

เนื่องจากพันธุ์ข้าวของไทย แม้จะมีรูปร่างใกล้เคียงกัน แต่มีคุณภาพเมื่อเป็นข้าวสุกแตกต่างกัน ความแตกต่างด้านคุณภาพข้าวสุกนี้ เกิดขึ้นจากองค์ประกอบของแป้งในเมล็ดข้าว ที่แบ่งออกเป็น 2 ชนิดปนกันอยู่ คือ อะไมโลเพคติน (amylopectin) และอะไมโลส (amylose) แป้งอะไมโลเพคตินเป็นส่วนที่ทำให้ข้าวสุกเหนียวและนุ่ม ในขณะที่แป้งอะไมโลสจะลดความเหนียวและความนุ่ม

ของข้าว ทำให้ข้าวสุกร่วนและแข็งมากขึ้น การจัดแบ่งชนิดข้าวตามปริมาณอะไมโลส สามารถแบ่งเป็น 4 ประเภท ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 การจัดแบ่งชนิดของข้าวตามปริมาณอะไมโลส

ชนิดของข้าว	ปริมาณอะไมโลส (%)	ลักษณะข้าวสุก
ข้าวเหนียว	0 - 2	เหนียวมาก
ข้าวหอมมะลิ	10 - 20	เหนียวนุ่ม
ข้าวขาวตาแห้ง	20 - 25	ค่อนข้างร่วน ไม่แข็ง
ข้าวเสาไห้	25 - 34	ร่วนแข็ง

ที่มา : <http://www.cmualumniusa.org/hommali.htm>

ตารางที่ 2.4 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของข้าวเปลือกและส่วนที่ได้จากขัดสีที่ความชื้น 14%

ชนิดของข้าว	โปรตีน (กรัม)	ไขมัน (กรัม)	เส้นใย (กรัม)	เถ้า (กรัม)	คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	เส้นใยอาหาร (กรัม)
ข้าวเปลือก	5.8-7.7	1.5-2.3	7.2-10.4	2.9-5.2	64-73	16.4-19.2
ข้าวกล้อง	7.1-8.3	1.6-2.8	0.6-1.0	1.0-1.5	73-87	2.9-3.9
ข้าวสาร	6.3-7.1	0.3-0.5	0.2-0.5	0.3-0.8	77-89	0.7-2.3
รำข้าว	11.3-14.9	15.0-19.7	7.0-11.4	6.6-9.9	34-62	24-29
แกลบ	2.0-2.8	0.3-0.8	34.5-45.9	13.2-21.0	22-34	66-74

ที่มา : http://www.riceproduct.org/index.php?option=com_content&task

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 สายพันธุ์ข้าวในประเทศไทย (<http://www.cmualumniusa.org/hommali.htm>)

ในอดีตพันธุ์ข้าวไทยมีฐานพันธุกรรมที่ให้ผลผลิตต่ำ คือ มีต้นสูง ไม่ต้านทานโรคและแมลง มีลักษณะไวต่อช่วงแสง เป็นพันธุ์ที่ปลูกได้เฉพาะข้าวนาปี โครงการแลกเปลี่ยนเชื้อพันธุ์ข้าวของ IRRI ช่วยให้ประเทศไทยได้รับเชื้อพันธุ์ข้าวต่างๆ ที่มีฐานพันธุกรรมหลากหลาย มาใช้ในโครงการวิจัยและพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ข้าวของไทยให้มีผลผลิตสูงและต้านทานต่อโรคแมลงที่สำคัญ จากการเข้าร่วมโครงการดังกล่าว ประเทศไทยจึงประสบความสำเร็จในการวิจัยและพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ข้าวของไทย ตั้งแต่ระยะเริ่มแรกมาจนถึงปัจจุบันมีพันธุ์ข้าวของไทยที่ให้ผลผลิตสูงอยู่ถึง 33 พันธุ์ ที่มีการพัฒนาพันธุ์โดยใช้เชื้อพันธุ์ข้าวจากโครงการแลกเปลี่ยนเชื้อพันธุ์ข้าวของ IRRI ดังกล่าว ทำให้ประเทศไทยมีผลผลิตข้าวที่เพิ่มขึ้น สามารถครองอันดับหนึ่งของโลกในการส่งออกสินค้าข้าวได้จนถึงปัจจุบัน ตัวอย่างของพันธุ์ข้าวไทยพันธุ์เด่นๆ ที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างสูงจากเกษตรกรไทยและผู้ประกอบการค้าข้าว ได้แก่ พันธุ์กข 1 กข 23 ชัยนาท 1 ปทุมธานี 1 เป็นต้น (ตารางที่ 2.5) ข้าวหอมมะลิไทยเป็นหนึ่งในพันธุ์ข้าวที่ดีที่สุดในโลกและเป็นพันธุ์ข้าวที่ส่งออกและได้รับความนิยมแพร่หลายมากที่สุดในโลก

ตารางที่ 2.5 ตัวอย่างสายพันธุ์ข้าวชนิดต่างๆในประเทศไทย

ชื่อพันธุ์	ประเภท	ชนิด	ข้าวสุก	ลักษณะพิเศษ
ขาวกอเดียว	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	ร่วน	ใช้ทำผลิตภัณฑ์เส้นได้ดี
ข้าวกำ	ข้าวนาสวน	ข้าวเหนียว	เหนียวนุ่ม	เยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ
ขาวดอกมะลิ	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่ม	กลิ่นหอม
ขาวตาแห้ง	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่ม ร่วน	รสชาติดี
ขาวทดลอง	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	ร่วน	-
ขาวหลวง	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่ม	รสชาติดี
ขาวห้าร้อย	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่ม ร่วน	-
ซีตมใหญ่	ข้าวนาสวน	ข้าวเหนียว	เหนียวนุ่ม	-
เขี้ยวงู	ข้าวนาสวน	ข้าวเหนียว	เหนียวนุ่ม	เมล็ดเรียวยาว
ไข่มดรีน	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่มร่วน	รสชาติดี
แจ็กเชย กาบเขียว	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	ร่วน ไม่แข็ง	หุงขึ้นหม้อ
เจ็ดรวง	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่ม	-
เจ้าแดง	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่ม	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 แสดงตัวอย่างสายพันธุ์ข้าวชนิดต่างๆในประเทศไทย (ต่อ)

ชื่อพันธุ์	ประเภท	ชนิด	ข้าวสุก	ลักษณะพิเศษ
ชีวมัจฉิน	ข้าวไร่	ข้าวเหนียว	เหนียวนุ่ม	คุณภาพการสีดี
ทองมาเอง	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	ค่อนข้างแข็ง	-
นางพญา	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	ร่วน	-
นางมล	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่ม	กลิ่นหอม
นางลอย	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่ม	-
น้ำสะกุก	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	ร่วน	รวงแน่น
เนียงคะเมา	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่ม	-
ปลาชิว	ข้าวนาสวน	ข้าวเหนียว	เหนียวนุ่ม	-
ปิ่นแก้ว	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	ร่วน	คุณภาพการสีดี
พวงเงิน	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่ม	-
พวงนาค	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	ค่อนข้างร่วน	คุณภาพการสีดี
มะลิแดง	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่ม	รสชาติดี
มะลิอ่อน	ข้าวขึ้นน้ำ	ข้าวเจ้า	ร่วน	-
รากแห้ง	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่ม	กลิ่นหอม
ละอองกษัตริย์	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่ม	-
เล็บนก	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่ม	เมล็ดเล็ก
เล่าแตก	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	ร่วน	ผลผลิตดี
สังข์หยด	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่ม	เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง
หลวงประทาน	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	ร่วน แข็ง	หุงขึ้นหม้อ
หอมจันทร์	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	นุ่มร่วน	-
หอมทุ่ง	ข้าวขึ้นน้ำ	ข้าวเจ้า	ร่วนแข็ง	-
หอมนางนวล	ข้าวนาสวน	ข้าวเหนียว	เหนียวนุ่ม	กลิ่นหอม
หางยี	ข้าวนาสวน	ข้าวเหนียว	เหนียวนุ่ม	ต้านทานโรคไหม้
เหนียวดำ	ข้าวนาสวน	ข้าวเหนียว	เหนียวนุ่ม	เยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ
เหมยหนอง	ข้าวนาสวน	ข้าวเหนียว	เหนียวนุ่ม	ค่อนข้างต้านทานแมลงบั่ว
เหลืองประทิว	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	ร่วน แข็ง	คุณภาพการสีดี
เหลืองอ่อน	ข้าวนาสวน	ข้าวเจ้า	ค่อนข้างนุ่ม	รสชาติดี

ที่มา : http://www.toyota.co.th/rrc/download/The%20Rice%20Book02_optimize1-2.pdf

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาการผลิตสารสีได้มีการทดลองทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ ซึ่งนักวิจัยแต่ละกลุ่มมีการวิจัยเกี่ยวกับการผลิตสารสี ดังนี้

บุษบา และวรรณภา (2527) ได้ศึกษาและคัดเลือกได้สายพันธุ์ *Monascus* spp. ซึ่งใช้มันสำปะหลังและแป้งถั่วเหลืองได้ดี มีเอนไซม์กลูโคอะมิเลสสูง โดยสามารถแยกได้สายพันธุ์ *Monascus* spp. KB11304 จากข้าวแดง (วรรณภา, 2529) และทำการปรับปรุงสายพันธุ์โดยการกลายพันธุ์ด้วยรังสีอัลตราไวโอเล็ตทำให้ได้สายพันธุ์กลายสีแดง เหลือง และขาว (Yongsmith *et al.*, 1994)

เรณู และจุลยุทธ (2546) ศึกษาถึงผลกระทบของสายพันธุ์เชื้อรา *Monascus purpureus* และชนิดของข้าวต่อค่าสีแดง และปริมาณซีทรินิน พบว่าสายพันธุ์เชื้อรา *M. purpureus* และ ชนิดของข้าว มีผลต่อค่าสีแดง และปริมาณซีทรินิน ในข้าวแดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยลำดับการสร้างสีแดงของสายพันธุ์เชื้อราจากสูงไปต่ำคือ *M. purpureus* ATCC 16365, *M. purpureus* DMKU, *M. purpureus* FTCMU และ *M. purpureus* BCC 6131 ตามลำดับ ในขณะที่ลำดับการสร้างซีทรินินของสายพันธุ์เชื้อราจากสูงไปต่ำคือ *M. purpureus* FTCMU, *M. purpureus* ATCC 16365, *M. purpureus* DMKU และ *M. purpureus* BCC 6131 ตามลำดับ ซึ่งข้าวแดงที่หมักโดยเชื้อรา *M. purpureus* ATCC 16365 ในข้าวหอมมะลิ ให้ค่าสีแดงสูงสุดที่ 632 ยูนิต/กรัม ขณะที่ข้าวแดงที่หมักโดยเชื้อรา *M. purpureus* FTCMU ในข้าวซ้อมมือให้ปริมาณซีทรินินสูงสุด เท่ากับ 4400 ppm รองลงมาคือข้าวพิจิตร 2200 ppm และข้าวหอมมะลิ 950 ppm

ศศิธร และเรณู (2546) ศึกษาผลของโมโนโซเดียมกลูตาเมต (monosodium glutamate) และ ฮีสติดีน (L-histidine) ต่อการผลิตรงควัตถุสีแดงและซีทรินินในข้าว โดยเชื้อรา *Monascus purpureus* FTCMU การทดลองใช้ข้าวรวม 3 สูตร โดยข้าวสูตร 1 เติมโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/กิโลกรัม ข้าวสูตร 2 เติม ฮีสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัม และข้าวสูตร 3 ไม่ได้เติมกรดอะมิโนใดๆ พบว่าค่าพีเอชและปริมาณคาร์โบไฮเดรตมีแนวโน้มลดลงในข้าวทุกสูตร ส่วนปริมาณไนโตรเจนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและสัมพันธ์กับปริมาณรงควัตถุสีแดงที่เพิ่มสูงขึ้น ข้าวที่เติมโมโนโซเดียมกลูตาเมต ให้ปริมาณสีแดง 126.00 ยูนิต/กรัม และซีทรินิน 900 ppm ข้าวที่เติมฮีสติดีนให้ปริมาณสีแดง 150.45 ยูนิต/กรัม และซีทรินิน 450 ppm และข้าวที่ไม่ได้เติมกรดอะมิโน ให้ปริมาณสีแดง เท่ากับ 207.85 ยูนิต/กรัม และซีทรินิน เท่ากับ 1190 ppm ดังนั้นการเติมโมโนโซเดียมกลูตาเมตหรือฮีสติดีนลงในข้าวมีผลต่อการลดทั้งปริมาณซีทรินินและรงควัตถุสีแดงที่สร้างโดย *Monascus purpureus* FTCMU

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Babitha *et al.* (2007) ได้ศึกษาอาหารหมักในสภาวะอาหารแข็ง เพื่อผลิตสารสีจาก *Monascus* โดยใช้เมล็ดขนุนซึ่งเป็นวัตถุดิบเหลือใช้ทางการเกษตรชนิดหนึ่ง พบว่าเมื่อใช้เมล็ดขนุนเป็นสับสเตรทในการผลิตสารสีจาก *Monascus purpureus* ในสภาวะอาหารแข็ง ปริมาณสารสีที่ได้คือ 25 OD Units/กรัม น้ำหนักแห้งเมล็ดขนุน โดยสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้คือ ความชื้นเริ่มต้น 50% ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 9×10^4 สปอร์/กรัม น้ำหนักแห้ง ระยะเวลาบ่ม 7 วัน

กมลวรรณ และดวงใจ (2554) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 บนลูกเต๋อยในสภาวะอาหารแข็งโดยออกแบบการทดลองโดยใช้ Central Composite Design (CCD) โดยมีปัจจัยที่ศึกษา 3 ปัจจัยคือ ความชื้น 50% 60% และ 70% พีเอช 5.5 6.0 และ 6.5 และอุณหภูมิ 25 30 และ 35 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่า ปัจจัยที่มีความสำคัญและมีผลต่อการผลิตสารสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ พีเอชและอุณหภูมิ สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารสีคือ ความชื้น 58 - 63% พีเอช 5.95 - 6.25 และอุณหภูมิ 28-31 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณสารสี 105 OD units/กรัม น้ำหนักแห้งในวันที่ 10 ของการหมัก

Rashmi and Padmavathi (2011) ทำการศึกษาเกี่ยวกับรูปแบบการเจริญเติบโต (growth pattern) อุณหภูมิ (temperature) และค่าพีเอช (pH) ที่มีผลต่อการผลิตสารสี และการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เลี้ยงในอาหารเหลว (submerged culture) โดยพบว่า อัตราการผลิตสารสีแดงสูงสุดเกิดขึ้นในวันที่ 16 ของการบ่มเชื้อ (11 CVU/ml at 510 nm) อุณหภูมิ และค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อและการผลิตสารสี คือ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และพีเอช 5.5 รวมไปถึงการศึกษาเกี่ยวกับสับสเตรท (substrate) แหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจน ที่มีผลต่อการผลิตสารสีด้วย จากการทดลองพบว่า ข้าวไม่ขัดสี (local unpolished rice) เป็นสับสเตรทที่ดีที่สุด (11.5 CVU/ml) สำหรับการหมักบนอาหารแข็ง (solid-state) และเมื่อเติมกลูโคส ลงไปไม่พบว่า มีผลกระทบต่ออัตราการผลิตสารสี นอกจากนั้นยังพบว่าอัตราการผลิตจะเพิ่มขึ้นเมื่อทำการเติม ยีสต์สกัด ความเข้มข้น 1% (25 CVU/gds) และ 5% (29.9 CVU/gds) และเติมโมโนโซเดียมกลูตาเมต 1% (18.1 CVU/gds) และ 5% (25.2 CVU/gds) ตามลำดับ สำหรับการตรวจหาค่าการผลิตของสารซิทรินิน (citrinin) ทำการทดสอบด้วย เครื่องลิกวิดโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุนีย์ และคณะ (2555) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา *Monascus purpureus* และปริมาณการใช้กากถั่วเหลืองหมักทดแทนเนื้อหมูในการผลิตกุนเชียงจากการใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งอาหารของเชื้อ *M. purpureus* ในการหมักโดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน และสังเกตการเจริญของเชื้อโดยวัดค่าสีในระบบ CIE $L^* a^* b^*$ พบว่า การใช้กากถั่วเหลืองเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอต่อการเจริญของเชื้อ *M. purpureus* ในสภาวะดังกล่าว จึงจำเป็นต้องเติมน้ำตาลซูโครส โดยศึกษา 2 ปัจจัย คือ ความชื้นเริ่มต้น (ที่ระดับ 31-39%) และปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เติมลงในกากถั่วเหลือง (ที่ระดับ 4-10% ของน้ำหนักกากถั่วเหลืองแห้ง) ผลการทดลองพบว่า ความชื้นไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *M. purpureus* แต่ปริมาณน้ำตาลซูโครสมีผลต่อการเจริญของเชื้อ และสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อคือที่ระดับความชื้นเริ่มต้น 33% และระดับการเติมน้ำตาล 8% เมื่อนำกากถั่วเหลืองที่ได้จากการหมักไปทดแทนเนื้อหมูและเกลือไนไตรท์ในการผลิตกุนเชียง พบว่าผู้บริโภคยอมรับกุนเชียงที่ผลิตจากกากถั่วเหลืองหมักทดแทนเนื้อหมู 18% เมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์กุนเชียงสุดท้าย (ทดแทนเนื้อหมู 18%) และกุนเชียงสูตรพื้นฐาน (ใช้เนื้อหมูล้วน) พบว่ากุนเชียงที่ใช้กากถั่วเหลืองหมักทดแทนเนื้อหมูมีค่าสีแดง (a^*) อ่อนกว่า (13.44 เปรียบเทียบกับ 14.85) และมีความแข็งมากกว่า (155.14 เปรียบเทียบกับ 106.42 นิวตัน) โดยที่ความชอบรวมของผลิตภัณฑ์ทั้งสองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ การทดแทนด้วยกากถั่วเหลืองหมักสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนและลดปริมาณไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียงได้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 จุลินทรีย์และอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.1 จุลินทรีย์

- เชื้อ *Monascus purpureus* จากสาขาวิชาชีววิทยา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เลี้ยงบนอาหาร Malt yeast extract starch agar slant (MYS) เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและทำการถ่ายเชื้อทุก 1 เดือน

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Malt yeast extract starch agar (MYS)

3.2 วัตถุดิบและสารเคมี

3.2.1 วัตถุดิบ

- 3.2.1.1 ปลายข้าวหอมมะลิซื้อจากร้านขายข้าวสาร ถนนค้อมเกล้า จังหวัดกรุงเทพฯ
- 3.2.1.2 ข้าวหอมมะลิปทุมซื้อจากร้านขายข้าวสาร ถนนค้อมเกล้า จังหวัดกรุงเทพฯ
- 3.2.1.3 ข้าวเสาไห้ซื้อจากร้านขายข้าวสาร ถนนค้อมเกล้า จังหวัดกรุงเทพฯ
- 3.2.1.4 ข้าวเหลืองอ่อนซื้อจากร้านขายข้าวสาร ถนนค้อมเกล้า จังหวัดกรุงเทพฯ
- 3.2.1.5 รำข้าวละเอียดซื้อจากรองสีวัฒนาสีข้าว จังหวัดฉะเชิงเทรา
- 3.2.1.6 กากถั่วเหลืองซื้อจากร้านขายน้ำเต้าหู้ ถนนค้อมเกล้า จังหวัดกรุงเทพฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 สารเคมี

3.2.2.1 แอมโมเนียมซัลเฟต ((NH₄)₂SO₄); UNIVAR

3.2.2.2 โซเดียมไนเตรท (NaNO₃); UNIVAR

3.2.2.3 เอทานอล (C₂H₅OH) 95%

3.3 อุปกรณ์

3.3.1 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (Autoclave); Hirayama รุ่น HA-300 MIV

3.3.2 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator); Memmert รุ่น BKE-30

3.3.3 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven); รุ่น ED 53

3.3.4 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์; Thermo Scientific รุ่น Helios alpha

3.3.5 เครื่องเขย่า (Shaker); Oskon รุ่น SK-71

3.3.6 เครื่องวัดค่า pH; Denver Instrument รุ่น 215

3.3.7 เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง; Shimadzu รุ่น Libror EB-4000H

3.3.8 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง; Adventurer OHAUS รุ่น AR2140

3.3.9 เครื่องเขย่าผสม (Vortex mixer); Vortex Genie 2 รุ่น G-560E

3.3.10 ปั๊ม (Pump); GE Motors รุ่น G21DX

3.3.11 โถดูดความชื้น (Desiccator)

3.3.12 ภาชนะอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิด (Moisture can)

3.3.13 Cork Borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

3.3.14 ซ้อนสแตนเลส

3.3.15 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.16 เข็มเขี่ยเชื้อและลวดเขี่ยเชื้อ

3.3.17 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.3.18 จานเพาะเชื้อ

3.3.19 กระซอน

3.3.20 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ

3.4 วิธีทดลอง

3.4.1 การเตรียมหัวเชื้อรา *Monascus purpureus*

ถ่ายเชื้อรา *Monascus purpureus* อายุ 10 วัน ที่เจริญในอาหาร MYS ผิวเอียง ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร MYS โดยใช้วิธี point inoculation และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส 10 วัน เมื่อเชื้อเจริญเต็มที่ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เจาะเส้นใยของเชื้อราบริเวณขอบโคโลนีที่เจริญบนอาหารแข็ง MYS เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักในสับสเตรท

3.4.2 การศึกษาชนิดของข้าวที่มีผลต่อการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus*

นำข้าวทั้ง 4 ชนิดได้แก่ ปลายข้าวหอมมะลิ ข้าวหอมมะลิปทุม ข้าวเสาไห้และข้าวเหลืองอ่อน แช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งให้สะเด็ดน้ำในกระซอน 5 นาที ซึ่งข้าวแต่ละชนิดปริมาณ 25 กรัมใส่ลงในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ชนิดละ 9 ฟลาสก์ ปรับความชื้นให้ได้ 40% โดยน้ำหนักและปรับค่าพีเอชเท่ากับ 6 โดยใช้ 0.1 N HCl หรือ 0.1 N NaOH นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเย็น ใช้ช้อนสแตนเลสที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วคลุกข้าวให้เม็ดข้าวกระจายทั่วฟลาสก์ ไม่จับติดเป็นก้อน จากนั้นทำการใส่หัวเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 3.4.1 จำนวน 3 ชิ้นต่อ 1 ฟลาสก์ นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 วัน ทำการเขย่าข้าวทุกวันเพื่อให้เชื้อเจริญทั่วฟลาสก์ เมื่อครบ 7 10 และ 12 วัน ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาสกัดสารสีและวิเคราะห์หาปริมาณสารสีแดงและสีเหลือง โดยเลือกชนิดของข้าวที่ให้ปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลืองสูงที่สุดเพื่อนำมาศึกษาในขั้นต่อไป

3.4.3 การศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus*

นำข้าวชนิดที่ให้ปริมาณสารสีสูงสุดจากข้อ 3.4.2 มาแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งให้สะเด็ดน้ำในกระชอน 5 นาที ผสมข้าวกับแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ ได้แก่ รำละเอียดและกากถั่วเหลือง และแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ ได้แก่ โซเดียมไนเตรทและแอมโมเนียมซัลเฟต โดยแปรผันความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนแต่ละชนิดที่ 3% 4.5% และ 6% บรรจุลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร พลาสติกละ 25 กรัม

แหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ โซเดียมไนเตรทและแอมโมเนียมซัลเฟต ชั่งน้ำหนักตามความเข้มข้น 3% (0.75 กรัม) 4.5% (1.125 กรัม) และ 6% (1.50 กรัม) จากนั้นละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปผสมกับข้าว แบ่งใส่พลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร พลาสติกละ 25 กรัม

แหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ รำละเอียดและกากถั่วเหลือง ชั่งน้ำหนักตามความเข้มข้น 3% (0.75 กรัม) 4.5% (1.125 กรัม) และ 6% (1.50 กรัม) ผสมกับข้าว และแบ่งใส่พลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร พลาสติกละ 25 กรัม นำแหล่งไนโตรเจนทั้งสองชนิดมาปรับความชื้นของข้าวให้ได้ 40% โดยน้ำหนักและปรับค่าพีเอชเท่ากับ 6 โดยใช้ 0.1 N HCl หรือ 0.1 N NaOH จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเย็น ใช้ช้อนสแตนเลสที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วคลุกข้าวให้เม็ดข้าวกระจายทั่วพลาสติก ไม่จับติดเป็นก้อน จากนั้นทำการใส่หัวเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 3.4.1 จำนวน 3 ชิ้นต่อ 1 พลาสติก นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 12 วัน ทำการเขย่าข้าวทุกวันเพื่อให้เชื้อเจริญทั่วพลาสติก เมื่อครบ 7 10 และ 12 วัน ทำการเก็บตัวอย่างมาสกัดสารสีและวิเคราะห์หาปริมาณสารสีแดงและสีเหลือง เพื่อเปรียบเทียบค่าสารสีที่ได้จากแหล่งไนโตรเจน 4 ชนิดว่าแหล่งไนโตรเจนใดสามารถผลิตสารสีได้สูงที่สุด

3.4.4 การศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus*

นำข้าวชนิดที่ให้สารสีสูงที่สุดจากข้อ 3.4.2 มาแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งให้สะเด็ดน้ำในกระชอน 5 นาที นำข้าวไปผสมกับแหล่งไนโตรเจนที่ให้สารสีสูงที่สุดจากข้อ 3.4.3 ปรับความชื้นให้ได้ 40% โดยน้ำหนักและปรับค่าพีเอชเท่ากับ 6 โดยใช้ 0.1 N HCl หรือ 0.1 N NaOH นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเย็น ใช้ช้อนสแตนเลสที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วคลุกข้าวให้เม็ดข้าวกระจายทั่วพลาสติก ไม่จับติดเป็นก้อน จากนั้นทำการใส่หัวเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 3.4.1 จำนวน 3 ชิ้นต่อ 1 พลาสติก นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง

ทำการเขย่าขวดทุกวันเพื่อให้เชื้อเจริญทั่วพลาสติก จากนั้นนำมาสกัดสารสี วิเคราะห์หาปริมาณสารสีแดงและสีเหลืองและวัดค่าพีเอชทุกๆ 3 วันเป็นเวลา 15 วัน เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของพีเอชและค่าสารสีที่ผลิตได้จากเชื้อ *Monascus purpureus*

3.4.5 วิธีวิเคราะห์ค่าพีเอชของข้าว

นำตัวอย่างข้าวมาเติมน้ำกลั่นพีเอช 7 ในอัตราส่วน 1:10 ผสมในเข้ก้น ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง ผสมให้เข้ก้นก่อนนำไปวัดค่าพีเอชด้วยเครื่องวัดพีเอช (pH meter) (ดัดแปลงจาก Pattanagul *et al.*, 2008)

3.4.6 การสกัดสารสี

การสกัดสารสี (ดัดแปลงจาก Babitha *et al.*, 2007) ทำโดยนำตัวอย่างข้าว 20 กรัม มาเติมเอทานอลเข้มข้น 95% ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ลงในพลาสติก จากนั้นนำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และสกัดซ้ำอีกครั้งโดยใช้เอทานอล ปริมาตร 60 มิลลิลิตร นำปริมาตรเอทานอลที่มีสารสีละลายอยู่มารวมกันและจดปริมาตรที่แน่นอน นำไปวัดค่าสารสี

3.4.7 การวัดค่าสารสี

นำส่วนใสที่ได้จากการกรองมาวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยทำการเจือจางสีโดยใช้เอทานอลเข้มข้น 95% และใช้เอทานอลเข้มข้น 95% เป็นแบลนด์ วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตรสำหรับสารสีแดงและความยาวคลื่น 410 นาโนเมตรสำหรับสารสีเหลือง ทำการเจือจางตัวอย่างสีที่ได้ให้อยู่ในช่วง 0.2-0.8 ASB ค่าที่ได้นำไปคำนวณหาปริมาณสารสี (Wang *et al.*, 2013) ดังนี้

$$\text{ค่าสารสี (หน่วยต่อกรัม)} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสง} \times \text{dilution factor} \times \text{ปริมาตรสารสีที่สกัดได้}}{\text{น้ำหนักแห้ง}}$$

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาชนิดของข้าวที่มีผลต่อการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus*

จากการทดลองการศึกษานิตของข้าว 4 ชนิด ได้แก่ ปลายข้าวหอมมะลิ ข้าวหอมมะลิปทุม ข้าวเสาไห้และข้าวเหลืองอ่อน เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* โดยใช้ความชื้นเริ่มต้นที่ 40% โดยน้ำหนัก และพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6 ทำการเก็บผลในวันที่ 7 10 และ 12 ของการเพาะเลี้ยง โดยนำมาสกัดสารสีด้วยเอทานอล 95% และนำส่วนใสที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร (สีแดง) และ 410 นาโนเมตร (สีเหลือง) นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลืองของข้าวแต่ละชนิด แสดงค่าดังตารางที่ 4.1 รูปที่ 4.1 และ รูปที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนข้าวชนิดต่างๆ

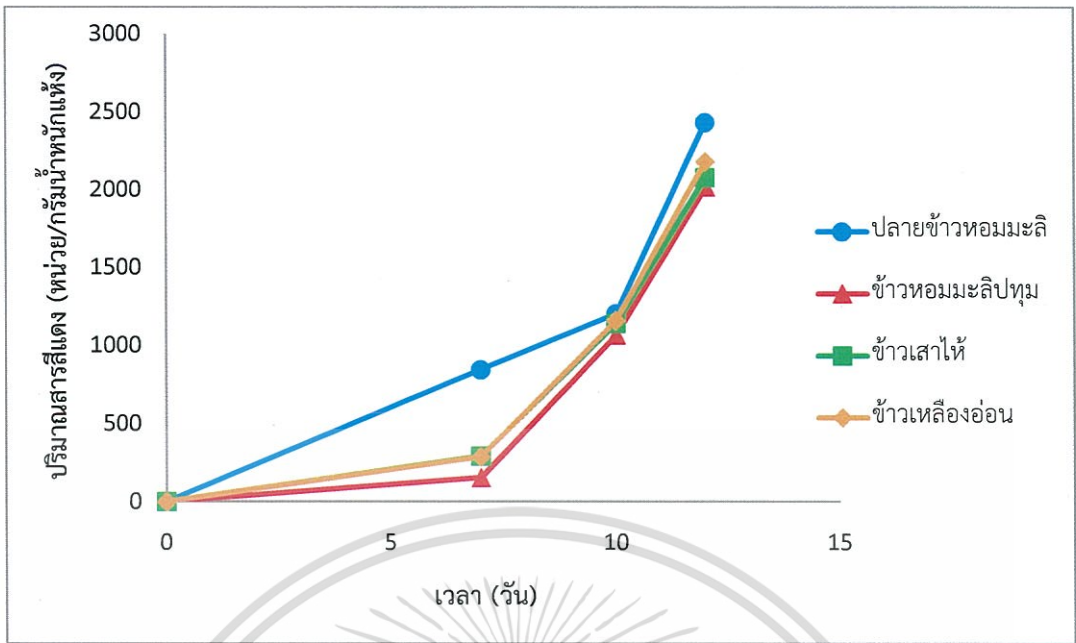
ชนิดของข้าว	ปริมาณสารสีแดง (หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง)			ปริมาณสารสีเหลือง (หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง)		
	7วัน	10วัน	12วัน	7วัน	10วัน	12วัน
ปลายข้าวหอมมะลิ	846.26	1204.11	2432.89	993.36	1285.10	2799.90
ข้าวหอมมะลิปทุม	153.59	1068.19	2018.77	192.18	1033.61	2208.75
ข้าวเสาไห้	292.07	1139.80	2077.11	322.80	1106.72	2511.22
ข้าวเหลืองอ่อน	287.79	1159.89	2179.11	325.52	1283.28	2578.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

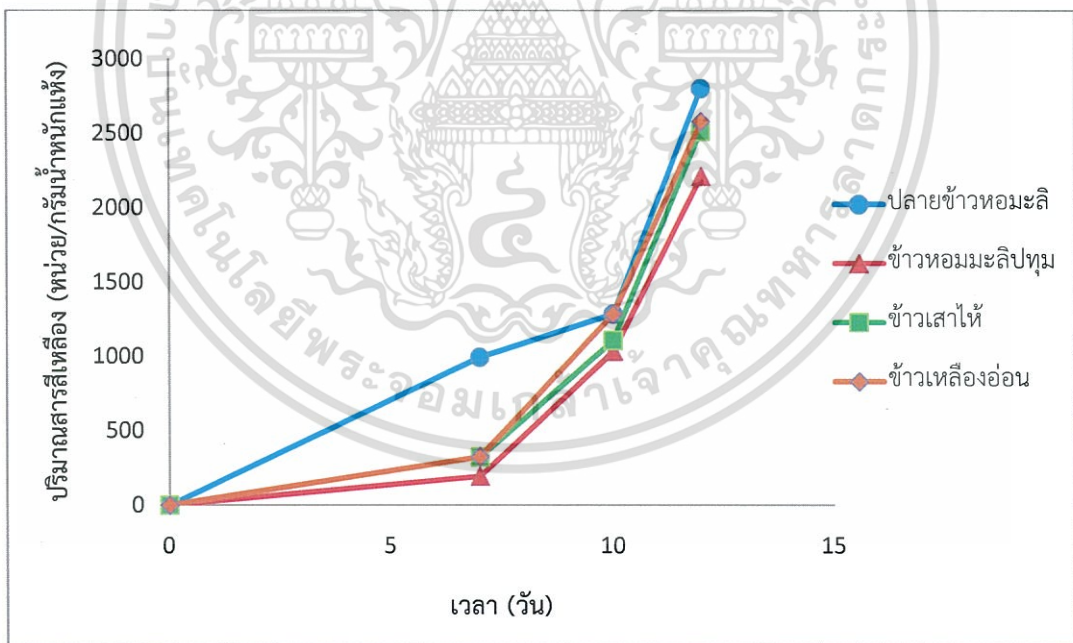
จากตารางที่ 4.1 พบว่าในวันที่ 7 ปลายข้าวหอมมะลิมีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้สูงที่สุดคือ 846.26 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 993.36 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ รองลงมาคือข้าวเสาไห้ซึ่งผลิตสารสีแดงได้ 292.07 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ในขณะที่ข้าวเหลืองอ่อนผลิตสารสีเหลืองได้ 325.52 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง และข้าวหอมมะลิปทุมผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้น้อยที่สุด คือ 153.59 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 192.18 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ และพบว่าปลายข้าวหอมมะลิสามารถผลิตสารสีแดงได้มากกว่าข้าวหอมมะลิปทุม ข้าวเสาไห้ และข้าวเหลืองอ่อนถึง 5.51 เท่า 2.90 เท่า และ 2.94 เท่าตามลำดับ และสามารถผลิตสารสีเหลืองได้มากกว่าข้าวหอมมะลิปทุม ข้าวเสาไห้ และข้าวเหลืองอ่อน 5.17 เท่า 3.98 เท่า และ 3.05 เท่าตามลำดับ

ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยงพบว่า ปลายข้าวหอมมะลิมีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้สูงที่สุดคือ 1204.11 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง และ 1285.10 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ รองลงมาคือข้าวเหลืองอ่อน โดยผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้เท่ากับ 1159.89 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง และ 1283.28 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนข้าวหอมมะลิปทุมผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้น้อยที่สุดคือ 1068.19 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้งและ 1033.61 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ปลายข้าวหอมมะลิสามารถผลิตสารสีแดงได้มากกว่าข้าวหอมมะลิปทุม ข้าวเสาไห้ และข้าวเหลืองอ่อนถึง 0.96 เท่า 0.90 เท่า และ 0.88 เท่าตามลำดับ และสามารถผลิตสารสีเหลืองได้มากกว่าข้าวหอมมะลิปทุม ข้าวเสาไห้ และข้าวเหลืองอ่อน 1.24 เท่า 1.16 เท่า และ 1.00 เท่าตามลำดับ

และเมื่อทำการบ่มถึงวันที่ 12 พบว่าปลายข้าวหอมมะลิมีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้สูงที่สุดคือ 2432.89 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง และ 2799.90 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ข้าวเสาไห้เป็นข้าวที่ให้ผลผลิตของสารสีแดงรองลงมา คือ 2077.11 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง ข้าวเหลืองอ่อนมีการผลิตสารสีเหลืองได้เท่ากับ 2578.16 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง ส่วนข้าวหอมมะลิปทุมผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้น้อยที่สุดคือ 2018.77 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง และ 2208.75 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ทั้งนี้ปลายข้าวหอมมะลิยังสามารถผลิตสารสีแดงได้มากกว่าข้าวหอมมะลิปทุม ข้าวเสาไห้ และข้าวเหลืองอ่อน 1.21 เท่า 1.17 เท่า และ 1.12 เท่าตามลำดับ และสามารถผลิตสารสีเหลืองได้มากกว่าข้าวหอมมะลิปทุม ข้าวเสาไห้ และข้าวเหลืองอ่อน 1.27 เท่า 1.11 เท่า และ 1.10 เท่าตามลำดับ



รูปที่ 4.1 ปริมาณสารสีแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนข้าว 4 ชนิด



รูปที่ 4.2 ปริมาณสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนข้าว 4 ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Monascus purpureus* บนข้าวทั้ง 4 ชนิด พบว่าข้าวเสาไห้ และข้าวเหลืองอ่อนเชื้อสามารถเจริญและผลิตสารสีได้ทั่วทุกเมล็ดของข้าว ข้าวมีลักษณะร่วนแข็ง ไม่จับตัวเป็นก้อน ทำให้เขย่าเพื่อให้เชื้อกระจายทั่วพลาสกี้ได้ง่าย เนื่องจากข้าวทั้ง 2 ชนิดนี้มีปริมาณของแป้งอะไมโลสสูงซึ่งมีส่วนในการลดความเหนียวและความนุ่มของข้าว ทำให้ข้าวสุกร่วนและแข็งมากขึ้น

ข้าวหอมมะลิปทุมเชื้อสามารถเจริญและผลิตสารสีได้ดีแต่ไม่ทั่วเท่ากับข้าว 2 ชนิดข้างต้น เพราะข้าวมีความเหนียวมีการจับตัวเป็นก้อนบ้างเล็กน้อย ทำให้ไม่สามารถเขย่าให้เชื้อกระจายได้ทั่วทุกเมล็ด เนื่องจากข้าวหอมมะลิมิปริมาณของอะไมโลเพคตินสูงซึ่งทำให้ข้าวสุกเหนียวและนุ่ม

ปลายข้าวหอมมะลิเชื้อสามารถเจริญและผลิตสารสีได้ทั่วทุกเมล็ดของข้าว เนื่องจากเมล็ดของข้าวมีขนาดเล็กจึงง่ายต่อการเจริญของเส้นใยรา ลักษณะของปลายข้าวมีความเหนียวเล็กน้อยแต่ไม่เท่ากับข้าวหอมมะลิปทุม ปลายข้าวจึงไม่จับตัวเป็นก้อนทำให้เขย่าเพื่อให้เชื้อกระจายทั่วพลาสกี้ได้ง่าย

จากผลการศึกษาพบว่า ปลายข้าวหอมมะลิสามารถผลิตสารสีได้สูงที่สุด โดยผลิตสารสีแดงและสีเหลืองได้เท่ากับ 2432.89 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 2799.90 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ ซึ่งให้ปริมาณสารสีสูงสุดในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยง ดังนั้นปลายข้าวหอมมะลิจึงเป็นข้าวที่สามารถผลิตสารสีได้สูงสุดในข้าว 4 ชนิดที่ทำการศึกษา ในขณะที่งานวิจัยของนฤมล (2548) รายงานว่าข้าวเจ้าหอมมะลิเป็นสับสเตรทที่ดีที่สุดโดยให้ค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือข้าวเจ้าพันธุ์เหลืองอ่อนและปลายข้าวเจ้าพันธุ์เหลืองอ่อน ตามลำดับ ส่วนพลาสแก้ว และบุษบา (2534ก) ได้ทำการศึกษาแหล่งสับสเตรทชนิดต่างๆ ต่อการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัสเปรียบเทียบกับการผลิตบนข้าว โดยใช้เมล็ดข้าวโพด มันเทศ มันสำปะหลัง มันฝรั่ง ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ข้าวฟ่าง ขนம்பึง ในการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus kaoliang* เมื่อบ่มเป็นเวลา 12 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส พบว่าขนம்பึง เชื้อสามารถผลิตสารสีได้สูงที่สุด รองลงมาคือมันฝรั่ง และปลายข้าวหอมมะลิ ส่วนสับสเตรทชนิดอื่นเชื้อจะผลิตสารสีได้น้อย

4.2 ผลการศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus*

จากการศึกษาชนิดของข้าวที่มีผลต่อการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* ในข้อ 4.1 นำชนิดของข้าวที่ให้สารสีสูงที่สุด ได้แก่ ปลายข้าวหอมมะลิ มาศึกษาหาชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* ซึ่งแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย แหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ ได้แก่ รำละเอียดและกากถั่วเหลือง แหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ ได้แก่ โซเดียมไนเตรทและแอมโมเนียมซัลเฟต โดยใช้แหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 3% 4.5% และ 6% ใช้ความชื้นเริ่มต้นที่ 40% โดยน้ำหนักและพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6 ให้ผลการทดลองดังนี้

ปลายข้าวหอมมะลิผสมกับรำละเอียดที่ความเข้มข้น 3% 4.5% และ 6% ทำการเก็บผลในวันที่ 7 10 และ 12 ของการเพาะเลี้ยงเชื้อราโดยนำมาสกัดสารสีด้วยเอทานอล 95% และนำส่วนใสที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร (สีแดง) และ 410 นาโนเมตร (สีเหลือง) นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลือง แสดงค่าดังตารางที่ 4.2 รูปที่ 4.3 และ รูปที่ 4.4

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนปลายข้าวหอมมะลิผสมรำละเอียด

รำละเอียด (%)	ปริมาณสารสีแดง (หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง)			ปริมาณสารสีเหลือง (หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง)		
	7วัน	10วัน	12วัน	7วัน	10วัน	12วัน
3	326.38	1508.74	2002.70	417.57	1928.80	2660.29
4.5	243.61	1210.06	1955.61	349.80	1466.34	2210.48
6	161.54	1141.06	1500.63	270.11	1451.97	1810.42

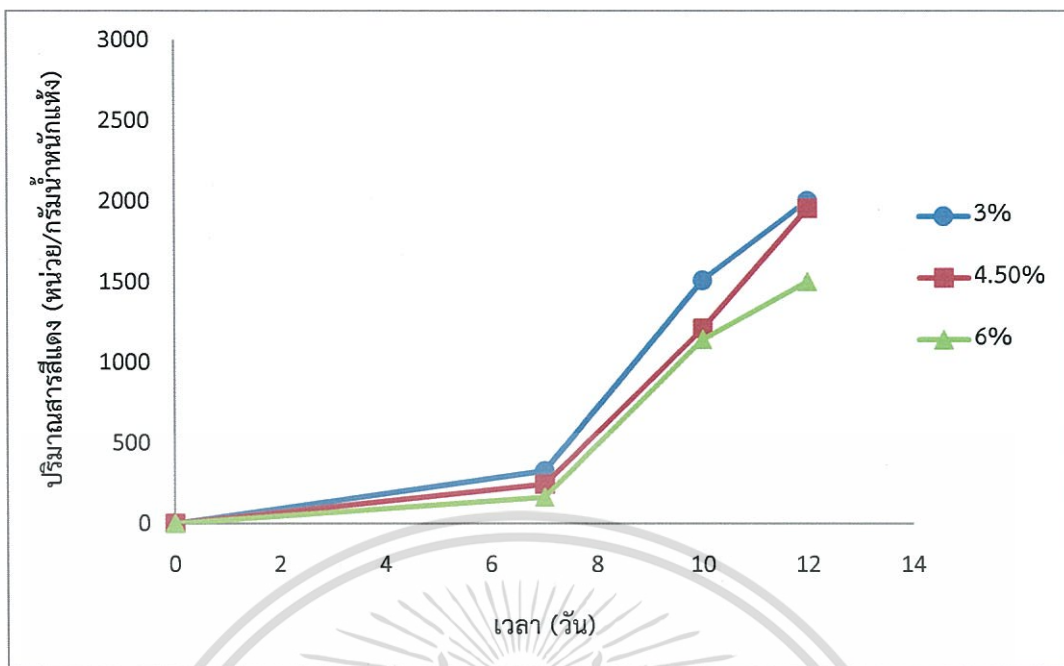
จากตารางที่ 4.2 พบว่าในวันที่ 7 ปลายข้าวหอมมะลิผสมรำละเอียดที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้สูงที่สุดคือ 326.38 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 417.57 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และปลายข้าวหอมมะลิผสมรำละเอียดที่ความเข้มข้น 6% ผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้น้อยที่สุดคือ 161.54 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 270.11 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดยปลายข้าวหอมมะลิผสมรำละเอียดที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงได้มากกว่าที่

ความเข้มข้น 4.5% และ 6% 1.34 เท่า และ 2.02 เท่าตามลำดับ และยังสามารถผลิตสารสีเหลืองได้มากกว่าความเข้มข้น 4.5 % และ 6 % 1.19 เท่า และ 1.55 เท่าตามลำดับ

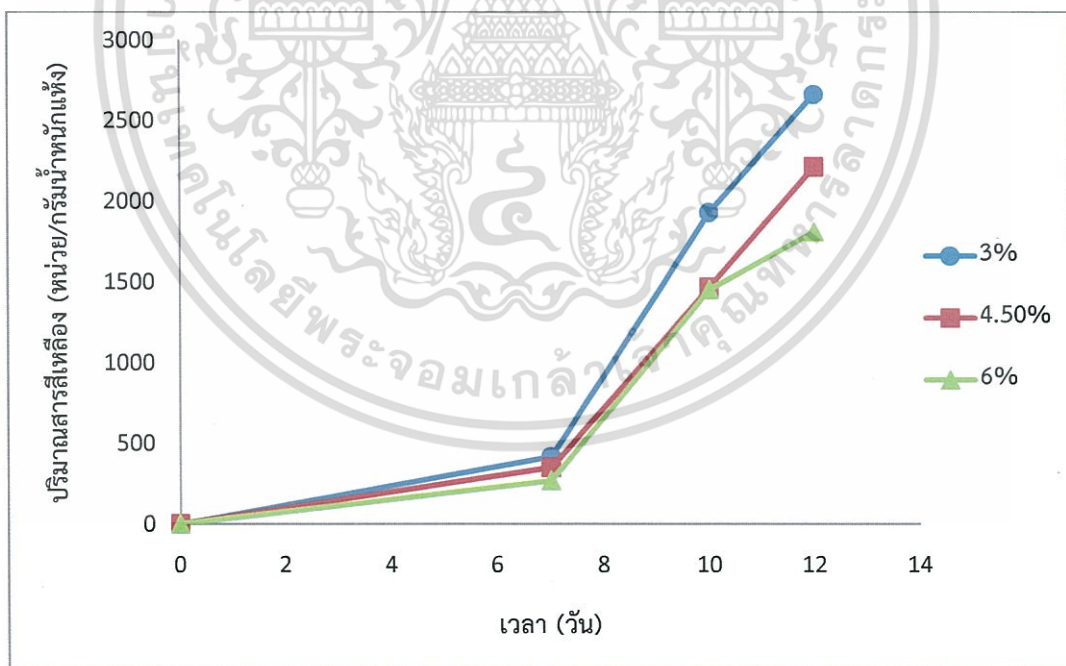
ในวันที่ 10 ปลายข้าวหอมมะลิสมร่าละเอียดที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้สูงที่สุดคือ 1508.74 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้งและ 1928.80 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้งตามลำดับ ในขณะที่การผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้น้อยที่สุดได้จากปลายข้าวหอมมะลิสมร่าละเอียดที่ความเข้มข้น 6% คือ 1141.06 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้งและ 1451.97 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับปลายข้าวหอมมะลิสมร่าละเอียดที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงได้มากกว่าที่ความเข้มข้น 4.5% และ 6% 1.25 เท่า และ 1.32 เท่าตามลำดับ และยังสามารถผลิตสารสีเหลืองได้มากกว่าความเข้มข้น 4.5% และ 6% 1.32 เท่า และ 1.33 เท่าตามลำดับ

ในวันที่ 12 ปลายข้าวหอมมะลิสมร่าละเอียดที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้สูงที่สุดคือ 2002.70 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้งและ 2660.29 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้งตามลำดับ และปลายข้าวหอมมะลิสมร่าละเอียดที่ความเข้มข้น 6% ผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้น้อยที่สุดคือ 1500.61 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้งและ 1810.76 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และพบว่าปลายข้าวหอมมะลิสมร่าละเอียดที่ความเข้มข้น 3% สามารถผลิตสารสีแดงได้มากกว่าที่ความเข้มข้น 4.5% และ 6% 1.02 เท่า และ 1.33 เท่าตามลำดับ และยังสามารถผลิตสารสีเหลืองได้มากกว่าความเข้มข้น 4.5% และ 6% 1.20 เท่า และ 1.47 เท่าตามลำดับ

ในส่วนของปลายข้าวหอมมะลิสมกับกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 3% 4.5% และ 6% ทำการเก็บผลในวันที่ 7 10 และ 12 ของการเพาะเลี้ยงเชื้อราโดยนำมาสกัดสารสีด้วยเอทานอล 95% และนำส่วนใสที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร (สีแดง) และ 410 นาโนเมตร (สีเหลือง) นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลือง แสดงค่าดังตารางที่ 4.3 รูปที่ 4.5 และ รูปที่ 4.6



รูปที่ 4.3 ปริมาณสปอร์สีแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมรำละเอียดที่ความชื้นต่างกัน



รูปที่ 4.4 ปริมาณสปอร์สีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมรำละเอียดที่ความชื้นต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

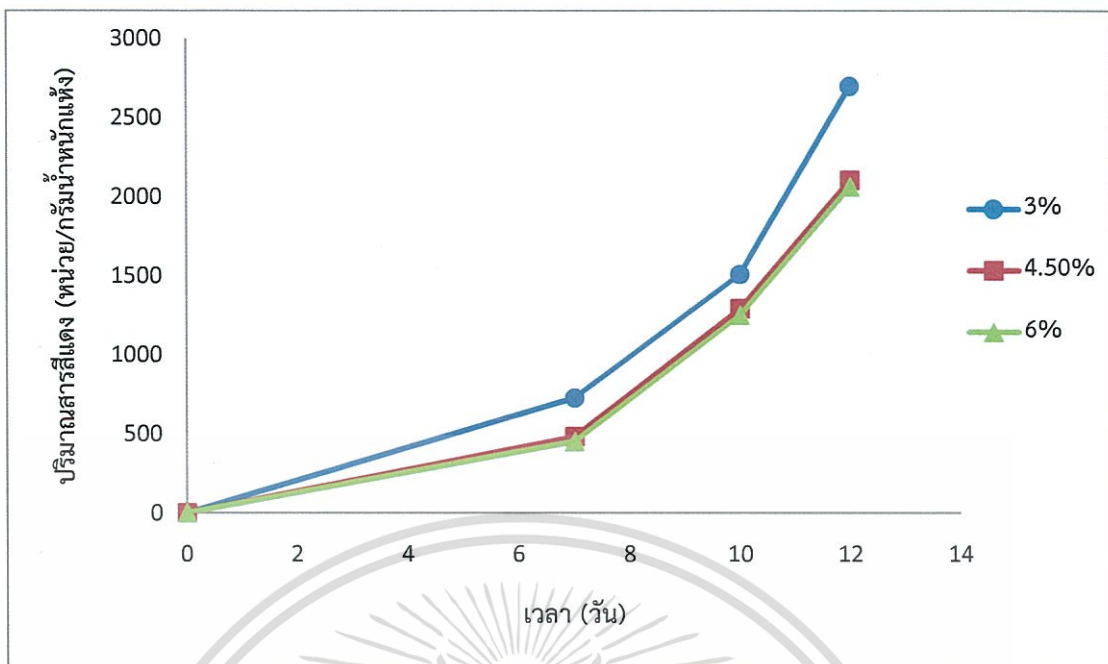
ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลือง

กากถั่วเหลือง (%)	ปริมาณสารสีแดง (หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง)			ปริมาณสารสีเหลือง (หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง)		
	7วัน	10วัน	12วัน	7วัน	10วัน	12วัน
3	726.64	1508.78	2699.47	765.15	1756.23	3141.94
4.5	481.34	1290.31	2103.21	551.50	1563.45	2389.27
6	451.66	1250.92	2062.91	507.95	1447.91	2382.63

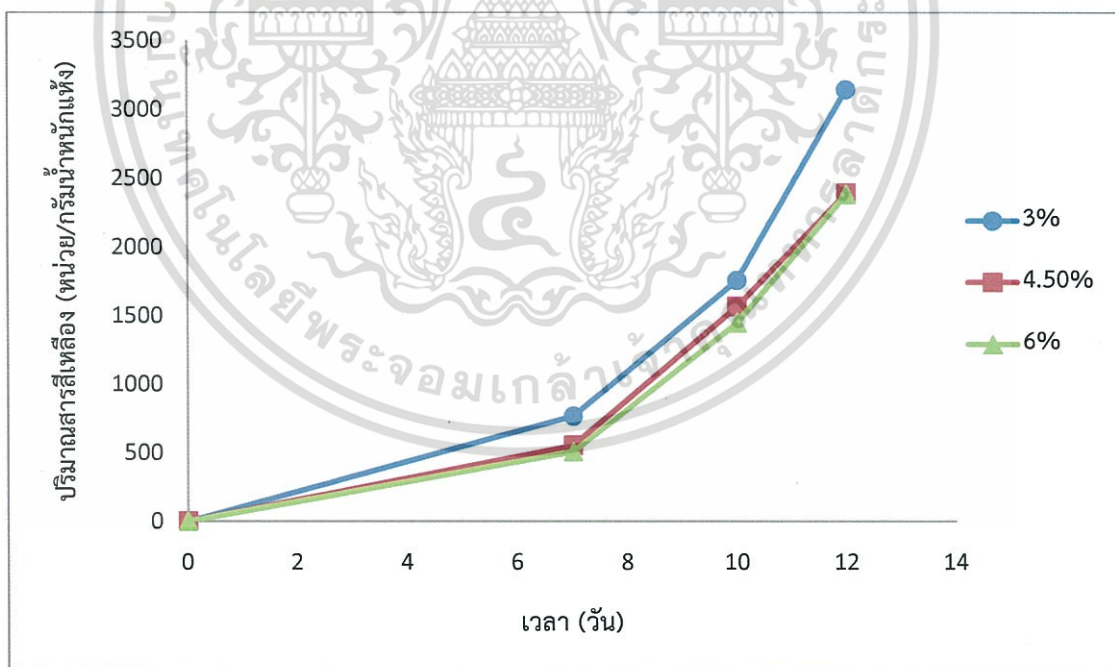
จากตารางที่ 4.3 พบว่าในวันที่ 7 ปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้สูงที่สุดคือ 726.64 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 766.65 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 6% ผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้น้อยที่สุดคือ 451.66 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 507.95 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ พบว่าปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้มากกว่าที่ความเข้มข้น 4.5% และ 6% 1.51 เท่า 1.61 เท่า 1.39 เท่า และ 1.51 เท่าตามลำดับ

ในวันที่ 10 ปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 3% ผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้สูงที่สุดคือ 1508.78 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 1756.23 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ และกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 6% ผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้น้อยที่สุดคือ 1250.92 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 1447.91 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ โดยปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 3% จะผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้มากกว่าที่ความเข้มข้น 4.5% และ 6% คือ 1.17 เท่า 1.21 เท่า 1.12 เท่า และ 1.21 เท่าตามลำดับ

ในวันที่ 12 ปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้สูงที่สุดคือ 2699.47 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 3141.94 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ในขณะที่การผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้น้อยที่สุดคือปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 6% คือ 2062.91 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 2382.63 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 3% จะผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้มากกว่าที่ความเข้มข้น 4.5% และ 6% 1.29 เท่า 1.31 เท่า 1.32 เท่า และ 1.32 เท่าตามลำดับ



รูปที่ 4.5 ปริมาณสารสีแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้นต่างๆกัน



รูปที่ 4.6 ปริมาณสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้นต่างๆกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลายข้าวหอมมะลิผสมกับโซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้น 3% 45 % และ 6% ทำการเก็บผล ในวันที่ 7 10 และ 12 ของการเพาะเลี้ยงเชื้อราโดยนำมาสกัดสารสีด้วยเอทานอล 95% และนำส่วนใสที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร (สีแดง) และ 410 นาโนเมตร (สีเหลือง) นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลือง แสดงค่าดังตารางที่ 4.4 รูปที่ 4.7 และ รูปที่ 4.8

ตารางที่ 4.4 ปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนปลายข้าวหอมมะลิผสมโซเดียมไนเตรท

โซเดียมไนเตรท (%)	ปริมาณสารสีแดง (หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง)			ปริมาณสารสีเหลือง (หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง)		
	7วัน	10วัน	12วัน	7วัน	10วัน	12วัน
3	162.86	384.33	716.86	244.78	498.24	928.14
4.5	27.50	94.98	230.03	55.67	141.50	344.32
6	13.24	61.13	108.30	26.42	86.64	166.26

จากตารางที่ 4.4 พบว่าในวันที่ 7 ปลายข้าวหอมมะลิผสมโซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้สูงที่สุดคือ 162.86 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 244.78 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และปลายข้าวหอมมะลิผสมโซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้น 6% ผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้น้อยที่สุดคือ 13.24 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 26.42 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดยปลายข้าวหอมมะลิผสมโซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงได้มากกว่าที่ความเข้มข้น 4.5% และ 6% 5.92 เท่า และ 12.3 เท่าตามลำดับ และยังสามารถผลิตสารสีเหลืองได้มากกว่าที่ความเข้มข้น 4.5% และ 6% 4.40 เท่า และ 9.26 เท่าตามลำดับ

ในวันที่ 10 ปลายข้าวหอมมะลิผสมโซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้สูงที่สุดคือ 384.33 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 498.24 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และปลายข้าวหอมมะลิผสมโซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้น 6% ผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้น้อยที่สุดคือ 61.13 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 86.64 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งปลายข้าวหอมมะลิผสมโซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงได้มากกว่าความที่เข้มข้น 4.5% และ 6% 4.05 เท่า และ 6.29 เท่าตามลำดับ และมีการผลิตสารสีเหลืองได้มากกว่าที่ความเข้มข้น 4.5% และ 6% 3.52 เท่า และ 5.75 เท่าตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

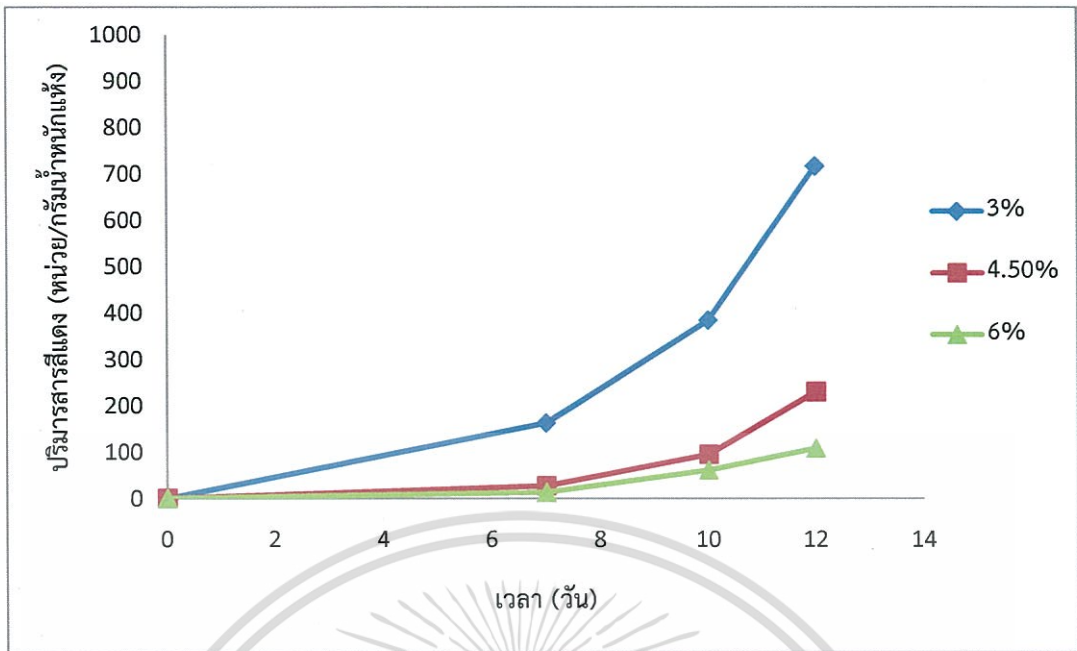
ในวันที่ 12 ปลายข้าวหอมมะลิผสมโซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้สูงที่สุดคือ 716.86 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 928.14 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ ขณะที่ปลายข้าวหอมมะลิผสมโซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้น 6% ผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้น้อยที่สุดคือ 108.30 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 166.26 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ ปลายข้าวหอมมะลิผสมโซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้น 3% สามารถผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้มากกว่าที่ความเข้มข้น 4.5% และ 6% 3.11 เท่า 6.62 เท่า 2.70 เท่า และ 5.58 เท่าตามลำดับ

ปลายข้าวหอมมะลิผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 3% 4.5% และ 6% ทำการเก็บผลในวันที่ 7 10 และ 12 ของการเพาะเลี้ยงเชื้อราโดยนำมาสกัดสารสีด้วยเอทานอล 95% และนำส่วนใสที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร (สีแดง) และ 410 นาโนเมตร (สีเหลือง) นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลืองแสดงค่าดังตารางที่ 4.5 รูปที่ 4.9 และ รูปที่ 4.10

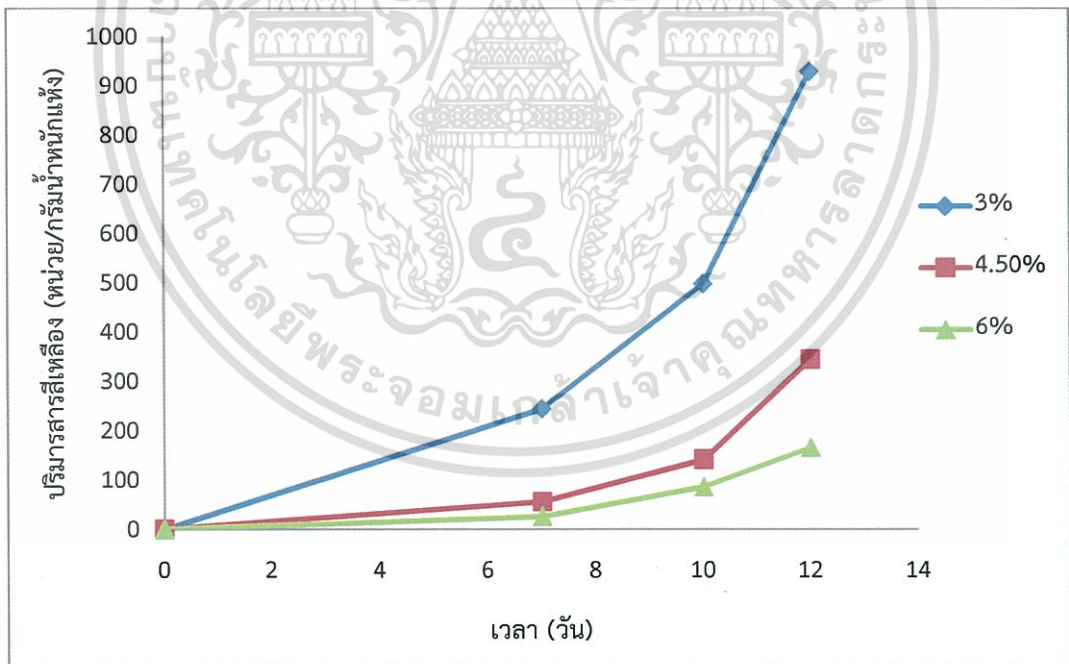
ตารางที่ 4.5 ปริมาณสารสีแดงและสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนปลายข้าวหอมมะลิผสมแอมโมเนียมซัลเฟต

แอมโมเนียมซัลเฟต (%)	ปริมาณสารสีแดง (หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง)			ปริมาณสารสีเหลือง (หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง)		
	7วัน	10วัน	12วัน	7วัน	10วัน	12วัน
3	64.96	268.98	499.56	109.63	494.34	720.70
4.5	13.04	115.31	223.37	21.11	211.04	342.49
6	2.71	40.12	119.56	4.22	72.98	155.96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 ปริมาณสารสีแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมโซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้นต่างๆกัน



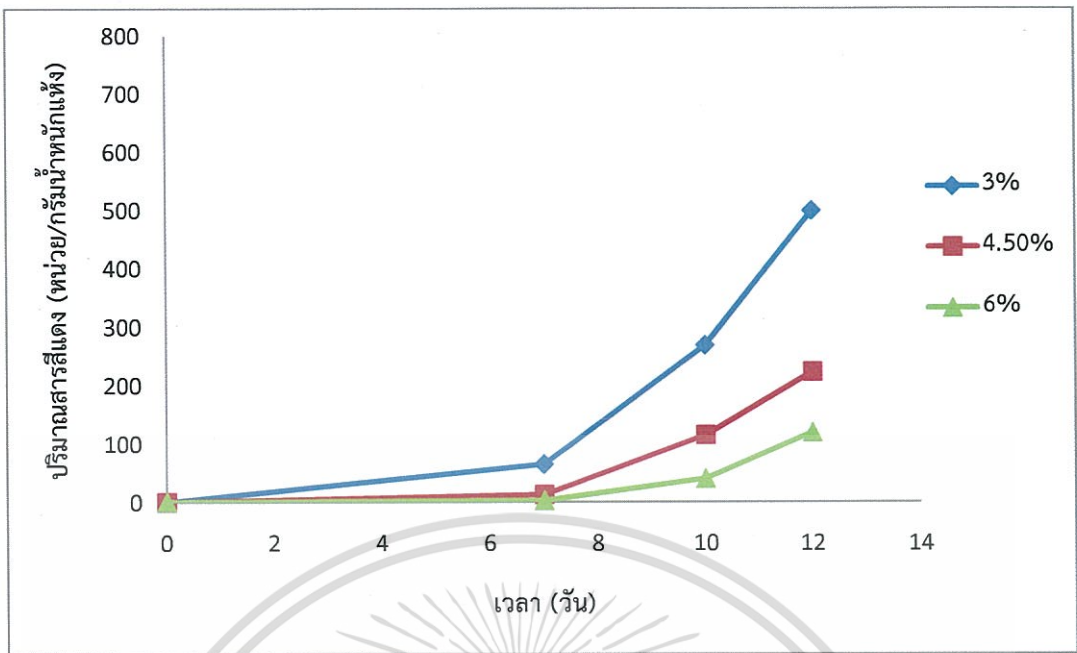
รูปที่ 4.8 ปริมาณสารสีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมโซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้นต่างๆกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

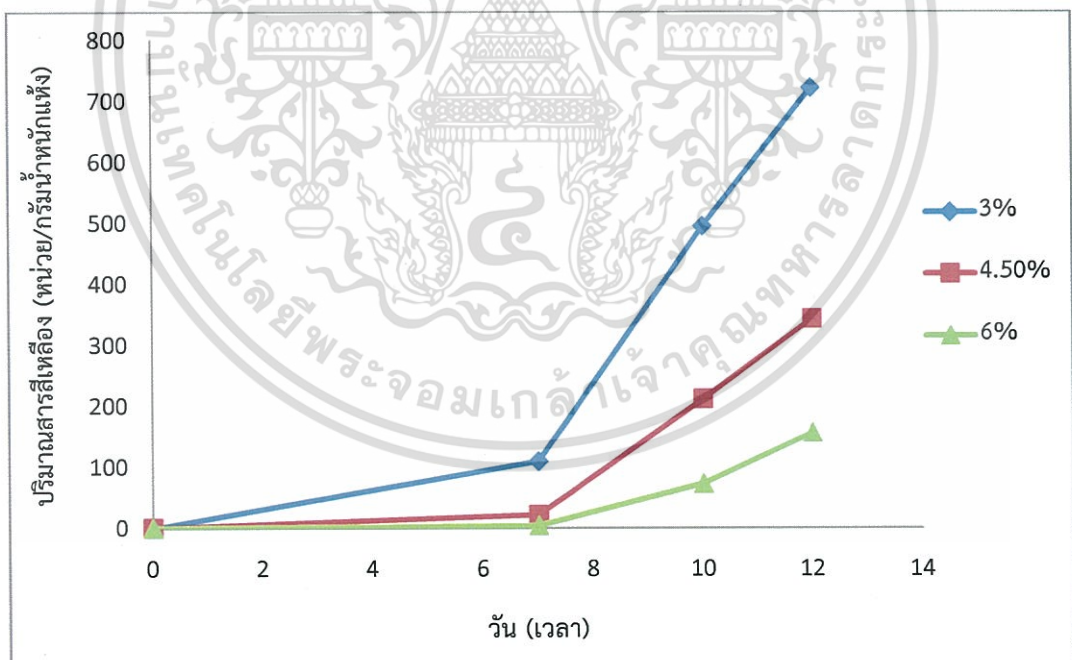
จากตารางที่ 4.5 พบว่าในวันที่ 7 ปลายข้าวหอมมะลิผสมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้สูงที่สุดคือ 64.96 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 109.63 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และปลายข้าวหอมมะลิผสมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 6% ผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้น้อยที่สุดคือ 2.71 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 4.22 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดยปลายข้าวหอมมะลิผสมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 3% สามารถผลิตสารสีแดงได้มากกว่าความที่เข้มข้น 4.5% และ 6% 4.98 เท่า และ 23.97 เท่าตามลำดับ และผลิตสารสีเหลืองได้มากกว่าที่ความเข้มข้น 4.5% และ 6% 5.19 เท่า และ 25.97 เท่าตามลำดับ

ในวันที่ 10 ปลายข้าวหอมมะลิผสมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้สูงที่สุดคือ 268.98 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 494.34 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และปลายข้าวหอมมะลิผสมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 6% ผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้น้อยที่สุดคือ 40.12 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 72.98 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ พบว่าปลายข้าวหอมมะลิผสมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงได้มากกว่าความเข้มข้นที่ 4.5% และ 6% 2.33 เท่า และ 6.70 เท่าตามลำดับ และยังมีผลิตสารสีเหลืองได้มากกว่าความเข้มข้นที่ 4.5% และ 6% 2.34 เท่า และ 6.77 เท่าตามลำดับ

ในวันที่ 12 ปลายข้าวหอมมะลิผสมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้สูงที่สุดเท่ากับ 499.56 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 720.70 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และปลายข้าวหอมมะลิผสมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 6% ผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้น้อยที่สุดเท่ากับ 119.56 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้งและ 155.96 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ พบว่าปลายข้าวหอมมะลิผสมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 3% มีการผลิตสารสีแดงได้มากกว่าความเข้มข้นที่ 4.5% และ 6% 2.24 เท่า และ 4.18 เท่าตามลำดับ และยังสามารถผลิตสารสีเหลืองได้มากกว่าความเข้มข้นที่ 4.5% และ 6% 2.10 เท่า และ 4.62 เท่าตามลำดับ



รูปที่ 4.9 ปริมาณสปอร์สีแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างกัน



รูปที่ 4.10 ปริมาณสปอร์สีเหลืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อรา *Monascus purpureus* ใช้ในการผลิตสารสีได้ดีคือ แหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ ได้แก่ รำละเอียดและกากถั่วเหลือง ส่วนแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟตและโซเดียมไนเตรท เชื้อจะผลิตสารสีในปริมาณต่ำ โดยแหล่งไนโตรเจนที่เชื้อรา *Monascus purpureus* สามารถผลิตสารสีได้สูงที่สุดคือ กากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 3% ซึ่งผลิตได้สูงสุดในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงโดยผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้เท่ากับ 2699.47 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง และ 3141.94 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ อาจเนื่องมาจากกากถั่วเหลืองมีสารอาหารและวิตามินที่ส่งผลต่อการเจริญและการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Subhasree *et al.* (2011) ได้ศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งพบว่า เมื่อใช้สัตสกดเป็นแหล่งไนโตรเจนเชื้อจะผลิตสารสีได้สูงที่สุดในขณะที่ Tseng *et al.* (1999) ได้ศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* ในอาหารเหลวพบว่า เมื่อใช้โซเดียมไนเตรทที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 0.2 กรัมต่อลิตร จะส่งเสริมการเจริญของเชื้อราและการผลิตสารสี และ Chang-Chai *et al.* (2004) ทำการศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่เชื้อใช้ในการผลิตสารสีได้สูงที่สุดคือ แอมโมเนียมฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 1.5% ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าการเติมแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ อาจจะต้องใช้ในปริมาณต่ำ เชื้อจึงจะสามารถผลิตสารสีได้สูงขึ้น

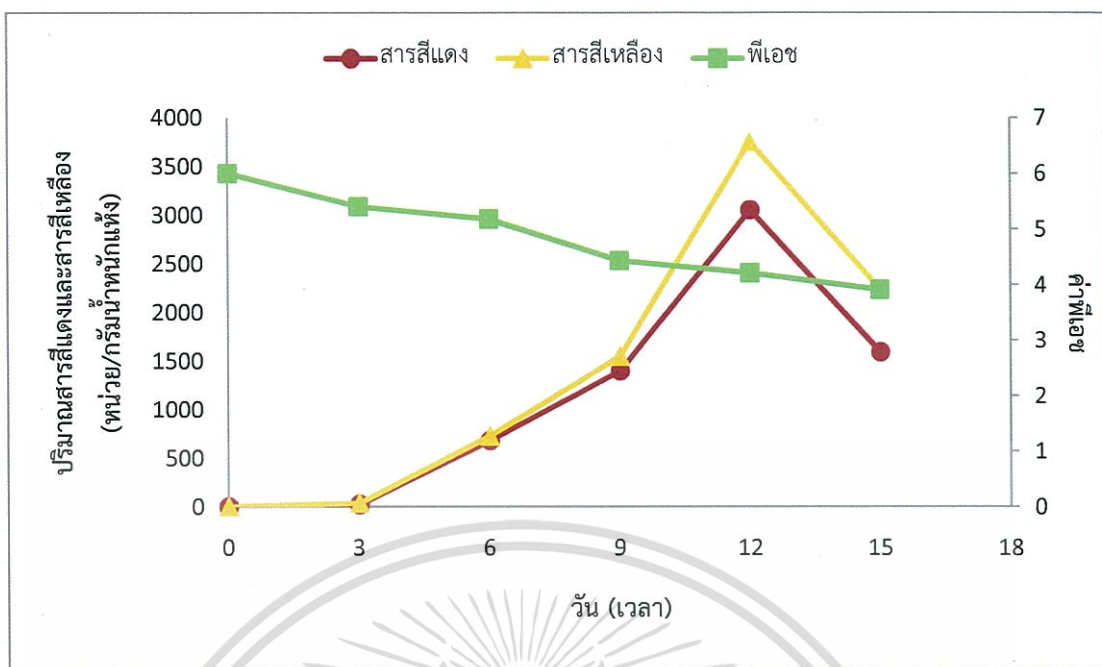
4.3 ผลการศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus*

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนปลายข้าวหอมมะลิที่มีการเติมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 3% โดยใช้ความชื้นเริ่มต้น 40% โดยน้ำหนัก และค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6 ทำเก็บผลในวันที่ 3 6 9 12 และ 15 ของการเพาะเลี้ยงเชื้อราเพื่อศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* และค่าพีเอชบนอาหารแข็ง แสดงค่าดังตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.11

ตารางที่ 4.6 ปริมาณสารสีแดง สารสีเหลืองและค่าพีเอชที่วัดได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลือง 3%

วัน	ปริมาณสารสีแดง (หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง)	ปริมาณสารสีเหลือง (หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง)	ค่าพีเอช
0	-	-	6.00
3	23.3	36.85	5.40
6	679.24	727.18	5.18
9	1399.67	1546.75	4.43
12	3054.13	3753.49	4.21
15	1592.06	2238.03	3.91

จากตารางที่ 4.6 พบว่าการศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อ *Monascus purpureus* และค่าพีเอช โดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 3% เป็นสับสเตรท ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง เชื้อมีการผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้เล็กน้อยคือ ผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้เท่ากับ 23.3 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง และ 36.85 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และผลิตเพิ่มขึ้นในวันที่ 6 โดยผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้เท่ากับ 679.24 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง และ 727.18 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งเชื้อจะสามารถผลิตสารสีเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ สูงสุดในวันที่ 12 โดยผลิตสารสีแดงและสารสีเหลืองได้เท่ากับ 3054.13 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง และ 3753.49 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ จากนั้นในวันที่ 15 การผลิตสารสีจะเริ่มลดลง ในขณะที่ค่าพีเอชก็มีค่าลดลงจากค่าพีเอชเริ่มต้น โดยวันที่ 12 ที่มีการผลิตสารสีสูงสุด ค่าพีเอชเท่ากับ 4.21 และต่ำสุดในวันที่ 15 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Velmurugan *et al.* (2011) ที่ได้ศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งโดยใช้ซังข้าวโพดเป็นสับสเตรท พบว่าเชื้อจะมีการผลิตสารสีสูงขึ้นเรื่อยๆ และผลิตสารสีได้สูงสุดที่การบ่ม 168 ชั่วโมง หลังจากนั้นเชื้อจะสามารถผลิตสารสีได้ต่ำลง ซึ่งน่าจะเกิดจากระยะ decline phase ของเชื้อรา และการทดลองของพลายแก้ว และบุษบา (2534ก) ได้ศึกษาการผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus kaoliang* เมื่อบ่มเป็นเวลา 12 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส โดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิเป็นสับสเตรท พบว่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.20 และที่วันสิ้นสุดการหมักพีเอชลดลงเหลือ 4.33



รูปที่ 4.11 ปริมาณสารสีแดง สารสีเหลืองและค่าสีเอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* บนปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 3%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 จากการทดลองการศึกษาชนิดของข้าวที่มีผลต่อการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งโดยใช้ข้าว 4 ชนิด ใช้ความชื้นเริ่มต้น 40% โดยน้ำหนัก และค่าพีเอช 6 พบว่า ปลายข้าวหอมมะลิเป็นวัตถุดิบที่มีผลต่อการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* ได้สูงที่สุด โดยให้สารสีสูงสุดในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งสารสีแดงและสารสีเหลืองที่เชื้อผลิตได้มีค่าเท่ากับ 2432.89 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้งและ 2799.90 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

5.1.2 จากการทดลองการศึกษาแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนและอนินทรีย์ไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งพบว่า ปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 3% เป็นวัตถุดิบที่มีผลต่อการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* ได้สูงที่สุด โดยผลิตได้สูงสุดในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งสารสีแดงและสารสีเหลืองที่เชื้อผลิตได้มีค่าเท่ากับ 2699.47 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้งและ 3141.94 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

5.1.3 จากการทดลองศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งโดยใช้ปลายข้าวหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 3% ซึ่งให้ผลการผลิตสารสีได้สูงที่สุด เป็นสับสเตรท โดยใช้ความชื้นเริ่มต้น 40% โดยน้ำหนัก และค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6 พบว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* เชื้อมีการผลิตสารสีเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยจะสามารถผลิตสารสีได้สูงสุดในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งสารสีแดงและสารสีเหลืองที่เชื้อผลิตได้มีค่าเท่ากับ 3054.13 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้งและ 3753.49 หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ หลังจากนั้นเชื้อจะผลิตสารสีได้ลดลง ส่วนค่าพีเอชหลังการเพาะเลี้ยงลดลงเหลือ 3.91 ในวันที่ 15 และมีแนวโน้มจะลดลงเรื่อยๆ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการศึกษาชนิดของข้าวเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากประเทศไทยมีข้าวหลายชนิด

5.2.2 ควรมีการศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจนทั้งอินทรีย์และอนินทรีย์เพิ่มมากขึ้นและศึกษาความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนให้หลากหลายมากขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- กมลวรรณ ตันโสภณ และดวงใจ โอชัยกุล. 2554. การผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 บนลูกเต๋อยในสภาวะอาหารแข็ง. การประชุมวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 320-338.
- กรกต สุนทรกุล, คณิต วิชิตพันธุ์และสุกานดา วิชิตพันธ์. 2553. โมแนสคัส : ราแดงที่มีประโยชน์ต่อ สุขภาพ. วารสารศูนย์บริการวิชาการ. 18(3-4): 4-8.
- เชิดชัย เขียวธีรกุล, ประสิทธิ์ แซ่ลี และปณิตดา แซ่อึ้ง. 2519. สีแดงจากข้าว (อั้งคัก). วารสารอาหาร. 8(1): 51-55.
- นฤมล เกื้อนกุล. 2548. การศึกษาชนิดของสับสเตรตและสภาวะที่เหมาะสมต่อค่าการดูดกลืนแสงสาร สกัดสีแดงของ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ในสภาพหมักแข็ง. วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม. 2: 14-25.
- นฤมล อัครเวทมนต์, พิชรี หลุ่งหม่าน และ เสาวนิตย์ ชอบบุญ. 2553. อิทธิพลของสภาวะการ เพาะเลี้ยงที่มีต่อการผลิตสารสีโดย *Monascus* sp. LC1. มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา. สงขลา.
- นิตา บุตรดา. 2537. การกลายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส กบ.11304 ให้เป็นสายพันธุ์ไม่สร้างสีและ เปรียบเทียบสมบัติบางประการกับสายพันธุ์พ่อแม่ สายพันธุ์กลายพันธุ์สีแดงและสีเหลือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- บุษบา ยงสมิทธิ. 2518. ปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการผลิตข้าวแดงโดยเชื้อราโมแนสคัส. บทปฏิบัติการใน วิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2 น.
- บุษบา ยงสมิทธิ และวรรณภา ทาบโลกา. 2527. การใช้ประโยชน์แยมันสำปะหลังในการผลิตสีผสม อาหาร และเอนไซมย่อยแป้งโดยเชื้อราโมแนสคัสในสภาพหมักเปียก. การประชุมวิชาการ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 22. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 451-452.
- บุษบา ยงสมิทธิ และวรรณภา ทาบโลกา. 2528. สีผสมอาหารจากมันสำปะหลังโดยเชื้อราโมแนสคัส. วิทยาสารเกษตรศาสตร์ (วิทย์.). 19(1): 45-50.
- บุษบา ยงสมิทธิ. 2542. จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พลายแก้ว ไชยเบญจรงค์ และบุษบา ยงสมิทธิ. 2534ก. การศึกษาเบื้องต้นการผลิตสีแดงของ โมแนสคัส เตரியมัตถุติบชนิดต่างๆ. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 277-282.
- พลายแก้ว ไชยเบญจรงค์ และบุษบา ยงสมิทธิ. 2534ข. ผลของการปรับวัตถุดิบต่อคุณภาพของอั้งคัก. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 29. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 283-292.
- เรณู ปิ่นทอง และจุลยุทธ บุญสร้างสม. 2546. ผลของสายพันธุ์เชื้อราโมแนสคัส และชนิดของข้าวต่อ ปริมาณซีทรินินในข้าวแดง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. กรุงเทพฯ. 34(4-6): 168-171.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- วรรณดี มหรรณพกุล. (ม.ป.ป.). เทคโนโลยีการแปรรูป การผลิตข้าวสำเร็จรูปบรรจุกระป๋อง. กรม
วิทยาศาสตร์บริการ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยนครพนม. 25 หน้า
- วรรณภา ทาบโลกา. 2529. ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตสีของโมแนสคัสที่เจริญบนอาหารแป้งมัน
สำปะหลังในสภาพหมักเปียก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศศิธร ใบพ่อง และเรณู ปิ่นทอง. 2546. การผลิตรงควัตถุสีแดงและซีทรินินโดยเชื้อรา *Monascus
purpureus*. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ บัณฑิตวิทยาลัย. เชียงใหม่.
- สุนีย์ เอียดมุสิก, มีชัย ลัดดี และนงเยาว์ ชูสุข. 2555. การทดแทนเนื้อหมูในกุนเชียงด้วยกากถั่ว
เหลืองที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อโมแนสคัส (*M. purpureus*). วารสารวิชาการพระจอมเกล้า
พระนครเหนือ. กรุงเทพฯ. หน้า 622-631.
- อรัญ หันพงศ์กิตติกุล, เมธินี เหวซึ่งเจริญ และเรณู ปิ่นทอง. 2530. รายงานวิจัยเรื่องการผลิตสารสี
แดงของ *Monascus purpureus* จากข้าวในระดับกิ่งอุตสาหกรรม I. ปัจจัยที่มีผลต่อการ
ผลิตข้าวแดง. หน้า 1-18.
- อรัญ หันพงศ์กิตติกุล, เมธินี เหวซึ่งเจริญ และเรณู ปิ่นทอง. 2531. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตข้าวแดง
โดย *Monascus purpureus*. วารสารเกษตร. 4(2): 125-128.
- Alexopoulos, C.J. and Mims, C.W., 1979. Introductory Mycology. John Wiley and
Sons, Inc., New York.
- AOAC, 1990. Official methods of analysis. 15th Edn. Association of Official Agricultural
Chemists Washington, DC.
- Babitha, S., Soccol, C.R. and Pandey A., 2007. Solid-state fermentation for the
production of *Monascus* pigments from jackfruit seed. Bioresource
Technology. 98: 1554-1560.
- Bridge, P.D. and Hawksworth, D.L., 1985. Biochemical tests as an aid to the
identification of *Monascus* species. Letters in Apply Microbiology. 1: 25-29.
- Broder, C.U. and Koehler, P.E., 1980. Pigment produced by *Monascus purpureus* with
regard to quality. Journal of Food Science. 45: 579-583.
- Carels, M. and Shepherd, D., 1975. Sexual reproduction cycle of *Monascus* sp. in
submerged shaken culture. Journal of Bacteriology. 122(1): 288-294.
- Carels, M. and Shepherd, D., 1977. The effect of different nitrogen source on pigment
production and sporulation of *Monascus* species in submerged, shaken
culture. Canadian Journal of Microbiology. 23: 1360-1372.
- Carels, M. and Shepherd, D., 1978. The effect of pH and amino acid on condition and
pigment production of *Monascus major* ATCC 16362 and *Monascus
rubiginosus* ATCC 16367 in submerged shaken culture. Canadian Journal of
Microbiology. 24: 1346-1357.

- Chang-Chai, Ng, Sheu, F., Wang, C.L. and Shyu, Y.T., 2004. Fermentation of *Monascus purpureus* on agri-by-products to make colorful and functional bacterial cellulose (Nata). *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 20: 875-879.
- Dikshit, R. and Padmavathi, T., 2011. *Monascus purpureus* : A potential source for natural pigment production. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*. 4: 164-174.
- Dizon, E.I. and Sanchez, P.C., 1984. Potential of *Monascus* pigment as coloring agent for banana sauce and tocino. *The Philippine agriculturist Scientist*. 67:157-166.
- Endo, A., 1979. Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species. *Journal of Antibiotic*. 32: 852-854.
- European Mycotoxin Network. 2002. Citrinin. [online]. Available at: < <http://www.lfra.co.uk/eman2/fsheet9.asp>> [Accessed 18 March 2014].
- Fielding, B.C., Holker, J.S.E., Jones, D.F., Powell, A.D.G., Richman K.W., Robertson, A. and Whalley, W.B., 1961. The Chemistry of Fungi. Part XXXIX. The Structure of Monascin. *Journal of the Chemical Society*. 1961: 4579-4589.
- Hajjaj, H., Loret, M.O., Goma, G., Blanc, P.J. and Francois, J., 1999. Biosynthetic pathway of citrinin in the filamentous fungus *Monascus ruber* as revealed by ¹³C nuclear magnetic resonance. *Applied and Environmental Microbiology*. 65(1): 311-314.
- Han, O.H., 1990. Optimization of *Monascus* pigment production in solid-state fermentation. University of Massachusetts at Amherst.
- Han, O.H. and Mudgett, R.E., 1992. Effect of oxygen and carbon dioxide partial pressures on *Monascus* growth and pigment production in solid-state fermentation. *Biotechnology Progress*. 8: 5-10.
- Hawksworth, D.L. and Pitt, J.I., 1983. A new taxonomy for *Monascus* species based on cultural and microscopical characters. *Australian Journal of Botany*. 31: 51-61.
- Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, B.C. and Pegler, D.N., 1995. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*. 8th ed. CAB International : 290.
- Haws, E.J., Holker, J.S.E., Kelly, A., Pwell, A.D.G. and Robertson, A., 1959. The Chemistry of Fungi. Part XXXVII. The structure of Rubropunctatin. *Journal of the Chemical Society* : 3598-3610.
- Hiroi, T., Shima, T., Susuki, T., Tsukioka, M. and Ogasawara N., 1979. Hyperpigment productive mutant of *Monascus anka* for solid culture. *Agricultural and Biological Chemistry*. 43: 1975-1976.
- Hong M. Y., Seeram N. P., Zhang Y. and Heber D., 2008. Anticancer effects of Chinese red yeast rice versus monacolin K alone on colon cancer cells. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 19: 448-458.

- lizuka, H. and Lin, C.F., 1981. On the genus *Monascus* of Asia and its specific characteristics, pp. 555-561 In Moo Young, M., Robinson, C.W. and Vezina, C., (eds). *Advances in Biotechnology Vol. 2*. Pergamon Press, Toronto.
- Jeun J., Jung H., Kim, J.H., Kim Y.O., Youn S. H. and Shin C.S., 2008. Effect of the *monascus* pigment threonine derivative on regulation of the cholesterol level in mice. *Journal of Food Chemistry*. 107: 1078-1085.
- Johns, M.R. and Stuart, D.M., 1991. Production of pigments by *Monascus purpureus* in solid culture. *Journal of Industrial Microbiology*. 8: 23-28.
- Johnson, G.T. and McHan, F., 1975. Some effect of zine on utilization of carbon source by *Monascus purpureus*. *Mycologia*. 67: 806-816.
- Juzlova, P., Rezanka, T. and Martinikova, L., 1996. Long-chain fatty acids from *Monascus purpureus*. *Phytochemistry*. 43: 151-153.
- Kim, S. Y., Kim, Yoon. S., Kim, Young S., Kim, J. M. and Suha, H.J., 2008. The application of monascal rice in rice beverage preparation. *Journal of LWT-Food Science and Technology*. 41: 1204-1209.
- Kolotila, M.P., Hollingsworth, P.J. and Volz, P.A., 1978. Surface features of *Monascus ruber* van Tieghem cleistothecia. *Botanical gazette*. 139 (2): 256-260.
- Li, F., Xu, G., Li, Y. and Chen, Y., 2003. Study on the production of citrinin *Monascus* strains used in food industry [online]. Available at: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14963915>> [Accessed 18 March 2014].
- Lin, C.F., 1973. Isolation and culture condition of *Monascus* spp. for the production of pigment in submerged culture. *Journal of Fermentation Technology*. 51(6): 407-414.
- Lin, C.F. and lizuka, H., 1982. Production of extracellular pigment by a mutant of *Monascus kaoliang* sp. *Applied and Environmental Microbiology*. 43 (3): 671-676.
- Lin, C.F. and Suen, S. J., 1973. Isolation hyperpigment-productive mutants of *Monascus* sp.F-2. *Journal of Fermentation Technology*. 51(10): 757-759.
- Lotong, N. and Suwanarit, P., 1990. Fermentation of ang-kak in plastic bags and regulation of pigmentation by initial moisture content. *The Journal of Applied Bacteriology*. 68: 565-57.
- Manandhar, K.L. and Apinis, A.E., 1971. Temperature relation in *Monascus*. *Transactions of the British Mycological Society*. 57(3): 465-472.
- Munchand, P.S., Whally, W.B. and Chen, F.H., 1973. Isolation and structure of ankaflavin: A new pigment from *Monascus anka*. *Phytochemistry*. 12: 2531-2532.

- Nakanishi, K., Ohashi, M., Kumasaki, S. and Yamamura, S., 1959. Structure of monascorubrin and monascamine. *Journal of the American Chemical Society*. 81: 6339-6340.
- Nishikawa, J., Watanabe, Y., Kashimura, J., Aso, K. and Iizuka, H., 1998. Characterization of extracellular proteinases of the genus *Monascus* by their pH-activity profile. *Journal of General and Applied Microbiology*. 34: 467-473.
- Palo, M.A., Vidal-Adeva, L. and Maceda, L., 1960. Study on an-kak and its production. *Philippine Journal of Science*. 89: 1-22.
- Patakova-Juzlova, P., Rezanka, T. and Viden, I., 1998. Identification of volatile metabolites from rice fermented by the fungus *Monascus purpureus*. *Folia Microbiologica*. 43: 407-410.
- Pattanagul, P., Pinthong, R., Phianmongkhol, A., and Tharatha, S., 2008. Mevinolin, citrinin and pigments of Adlay Angkak fermented by *Monascus* sp. *International Journal of Food Microbiology*. 126(1-2): 20-23.
- Rashmi, D. and Padmavathi, T., 2011. *Monascus purpureus* : A potential source for natural pigment production. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*. 4: 164.
- Sabater-Vilar, M., Roel, F.M. and Fink-Gremmels, J., 1999. Mutagenicity of commercial fermentation products and the role of citrinin contamination. *Mutation Research*. 444: 7-16.
- Smith, G., 1969. *Introduction to Industrial Mycology*. Edward Arnold, Ltd., London.
- Srianta, I., Hendrawan, B., Kusumawati, N. and Blanc, P.J., 2012. Study on durian seed as a new substrate for angkak production. *International Food Research Journal*. 19(3): 941-945.
- Su, Y.C. and Huang, J.H., 1980. Fermentative production of anka-pigments (*Monascus* pigments). *Proceedings of the National Science Council, Republic of China*. 4(2): 201-215.
- Subhasree, R.S., Dinesh Babu, P., Vidyalakshmi R. and Chandra Mohan V., 2011. Effect of carbon and nitrogen sources on stimulation of pigment production by *Monascus purpureus* on Jackfruit seeds. *International Journal of Microbiological Research*. 2(2): 184-187.
- Sung., 1966: Yeast. In T'ien-Kung K'aiwu. *Chinese Technology in the Seventeenth Century*. Sun, ETZ and Sun SC. University Park, PA: Pennsylvania State University Press.
- Sweeny, J.G., Estrada-Valdes, M.C., Lacobucci, G.A., Sato, H. and Sakamura, S., 1981. Photoprotection of the red pigments of *Monascus anka* in aqueous media by 1,4,6-trihydroxy-naphthalene. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 29: 1189-1193.

- Tseng, Y. Y., Chen, M. T. and Lin, C.F., 2000. Growth, pigment production and protease activity of *Monascus purpureus* as affected by salt, sodium nitrite, polyphosphate and various sugars. *Journal of Applied Microbiology*.88: 31-37.
- Van Tieghem, P., 1884. *Monascus*, genre nouveau de l' order des Ascomycetes. *Bulletin de la Société Botanique de France*. France. 31: 226-231.
- Velmurugan, P., Hur, H., Balachandar, V., Kamala-Kannan, S., Lee, K., Lee, S., Chae, J., Shea, P.J. and Oh, B., 2011. *Monascus* pigment production by solid-state fermentation with corn cob substrate. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 6: 590-594.
- Von Arx, J.A., 1970. *The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture*. Cramer, Verlag.
- Wang, Y., Zhang, B., Lu, L., Huang Y. and Xu, G., 2013. Enhanced production of pigments by addition of surfactants in submerged fermentation of *Monascus purpureus* H1102. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93(13): 3339-3344.
- Wong, H.C. and Bua, Y.S., 1978. A comparison of conidial and ascospore germination of *Monascus purpureus*. *Transactions of the British Mycological Society*. 70(2): 277-282.
- Wong, H.C. and Koehler, P.E., 1983. Production of red water-soluble *Monascus* pigments. *Journal of Food Science*. 48: 1200-1203.
- Ying, J., Mao, X. and Ma, Q., 1987. *Icones of Medicinal Fungi from China*. Beijing, China. Science Press.
- Yongsmith, B., Krairak, S. and Bavavoda, R., 1994. Production of yellow pigments in submerged culture of a mutant of *Monascus* spp. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 78(3): 223-228.
- Yoshimura, M., Yamanaka, S., Mitsugi, K. and Hirose, Y., 1975. Production of *Monascus* pigment in submerged culture. *Agricultural and Biological Chemistry*. 39: 1789-1795.
- [online]. Available at: <http://db.21tcm.com/jjzj/Show_1218.shtml > [Accessed 18 March 2014].
- [online]. Available at: < <http://www.student.chula.ac.th/~53370869/asco.html> > [Accessed 20 March 2014].
- [online]. Available at: <<http://flipper.diff.org/app/items/5975> > [Accessed 18 March 2014].
- [online]. Available at: <<http://www.answers.com/topic/citrinin> > [Accessed 21 March 2014].
- [online]. Available at: <<http://genomebiology.com/2004/5/11/248/figure/F3>> [Accessed 18 March 2014].
- [online]. Available at: <<http://www.kuredeyeastrice.com/> > [Accessed 15 March 2014].

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[online]. Available at: <<http://www.agro.kmutnb.ac.th/e-learning/521302/8.php>>

[Accessed 24 March 2014].

[online]. Available at: <<http://www.doctor.or.th/article/detail/3505>>

[Accessed 26 March 2014].

[online]. Available at: <<http://www.cmualumniausa.org/hommali.htm>>

[Accessed 26 March 2014].

[online]. Available at: <http://www.riceproduct.org/index.php?option=com_content&task>

[Accessed 26 March 2014].

[online]. Available at: <http://www.toyota.co.th/rrc/download/22_optimize1-2.pdf>

[Accessed 30 March 2014].



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

1. การหาปริมาณความชื้น (ดัดแปลงมาจาก AOAC, 1990)

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้อุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วจึงชั่งน้ำหนักโดยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

2. ทำเช่นเดียวกับข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการหาความชื้นให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1-2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่าง

4. อบซ้ำจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100$$

2. การหาน้ำหนักแห้ง

วิธีการ

เก็บตัวอย่างข้าวที่จากการหมักโดยเชื้อรา *Monascus purpureus* 5 กรัม ใส่ในภาชนะอะลูมิเนียมที่ได้อบแห้งและชั่งน้ำหนักแล้ว นำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นนำออกมาใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วจึงนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง

การคำนวณ

$$\text{น้ำหนักแห้ง (กรัม)} = \text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}$$

3. วิธีการคำนวณปริมาณสารสี

วิธีการ

เก็บตัวอย่างที่ได้จากการหมัก 20 กรัม สกัดสารสีด้วยเอทานอลเข้มข้น 95% 2 ครั้ง รวมปริมาตรได้ 110 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตรสำหรับปริมาณสารสีแดง โดยทำการเจือจาง 120 เท่า วัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 0.6265 ABS ส่วนขาวที่สกัดสีแล้วนำไปอบแห้งและชั่งน้ำหนักได้ 2.6823 กรัม สามารถคำนวณปริมาณสารสีได้ดังนี้

$$\text{ปริมาณสารสีแดง} \quad 120 \times 0.6265 \quad = \quad 75.18 \text{ หน่วย/มิลลิลิตร}$$

$$\text{ปริมาณสารแดงสีทั้งหมด} \quad 110 \times 75.18 \text{ หน่วย มิลลิลิตร/มิลลิลิตร} \quad = \quad 8269.8 \text{ หน่วย}$$

$$\text{น้ำหนักแห้ง 2.6823 กรัม ได้สารสีแดง} \quad = \quad 8269.8 \text{ หน่วย}$$

$$\text{ในข้าว 1 กรัม มีสารแดงสีทั้งหมด} \quad = \quad 3083.10 \text{ หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง}$$

สำหรับสารสีเหลืองวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตรโดยทำการเจือจาง 120 เท่า วัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 0.770 A และชั่งน้ำหนักแห้งได้ 2.6823 กรัม สามารถคำนวณปริมาณสารสีได้ดังนี้

$$\text{ปริมาณสารสีเหลือง} \quad 120 \times 0.770 \quad = \quad 92.40 \text{ หน่วย/มิลลิลิตร}$$

$$\text{ปริมาณสารเหลืองสีทั้งหมด} \quad 110 \times 92.40 \text{ หน่วย มิลลิลิตร/มิลลิลิตร} \quad = \quad 10164 \text{ หน่วย}$$

$$\text{น้ำหนักแห้ง 2.6823 กรัม ได้สารสีเหลือง} \quad = \quad 10164 \text{ หน่วย}$$

$$\text{ในข้าว 1 กรัม มีสารเหลืองสีทั้งหมด} \quad = \quad 3739.28 \text{ หน่วย/กรัม น้ำหนักแห้ง}$$

ภาคผนวก ข

อาหารเลี้ยงเชื้อ

MYS (Malt yeast extract starch agar)

ส่วนประกอบต่อ 1 ลิตร

เปป्टอน	5	กรัม
ยีสต์สกัด	3	กรัม
มอลต์สกัด	3	กรัม
แป้งมันสำปะหลัง	10	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีการเตรียม

ซึ่งส่วนประกอบทั้งหมด เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม 1 ลิตร ปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 6.8 -7.2 นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที