

การผลิตแป้งผัดหน้าจากสารสีโมนาสคัส

Powder cosmetics production by *Monascus* pigment.

รัชนาลักษณ์  
วันวิสาข์

สุทธิเวชดิษฐ์  
แซ่โจ้ว

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2560

# การผลิตแป้งผัดหน้าจากสารสีโมนาสคัส

Powder cosmetics production by *Monascus* pigment.

รัชนาลักษณ์

สุทธิเวชดิษฐ์

วันวิสาข์

แซ่โง้ว

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2560

Powder cosmetics production by *Monascus* pigment.

Rutchanaluk      Suthivetchadith  
Wanvisa          Sae-ngow

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE  
REQUIREMENT FOR  
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE  
(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)  
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2016

หัวข้อโครงการพิเศษ      การผลิตแป้งผัดหน้าจากสารสีโมแนสคัส  
 Powder cosmetics production by *Monascus* pigment.

ชื่อนักศึกษา                    นางสาวรัชชาลักษณ์      สุทธิเวชดิษฐ์      รหัสนักศึกษา 57050891  
     นางสาววันวิสาข์            แซ่โจ้ว                    รหัสนักศึกษา 57050892

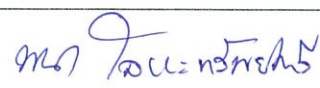

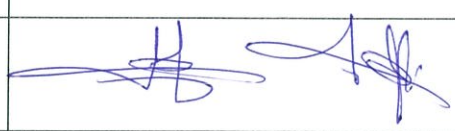
ปริญญา                            วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา                            ชีววิทยา

ปีการศึกษา                        2560

อาจารย์ที่ปรึกษา                ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้  
 โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยา  
 อุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2560

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

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์  
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงการพิเศษ	การผลิตแป้งผัดหน้าจากสารสีโมแนสคัส		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวรัชชาลักษณ์	สุทธิเวชดิษฐ์	รหัสนักศึกษา 57050891
	นางสาววันวิสาข์	แซ่ไฉ่	รหัสนักศึกษา 57050892
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต		
ภาควิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง(สจล.)		
ปีการศึกษา	2560		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์		

### บทคัดย่อ

การผลิตข้าวแดงโดยเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* U6V1 บนอาหารแข็งธัญพืชข้าวเสาให้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่าข้าวแดงให้สารสีแดงสูงสุด และไม่พบการสร้างสารซีตรินิน จึงนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในการทำแป้งทาหน้า โดยนำไปบดให้มีขนาดเล็กกว่า 75 ไมครอน จากนั้นนำไปผสมกับแป้งข้าวเจ้าที่สัดส่วน 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ (ตามลำดับ) จึงนำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าให้ผลการตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์อยู่ในข้อกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.) ผงข้าวแดงผสมแป้งข้าวเจ้า (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) นำมาผสมกับวิตามินอี เอสเซนส์ น้ำหอม และน้ำแร่ ได้เป็นสูตร 1, 2 และ 3 ตามลำดับ จากนั้นนำมาทดสอบคุณสมบัติของแป้งผัดหน้า พบว่าให้ค่าการไหลที่ค่อนข้างไม่ดี ค่าร้อยละการตอกอัดไม่ดี และไม่สามารถทนน้ำได้ แต่ไม่พบการระคายเคืองต่อผิว เมื่อนำมาทดสอบความพึงพอใจ พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความพึงพอใจแป้งผัดหน้าสูตร 3 มากที่สุด

คำสำคัญ : *Monascus purpureus*, สารสี, แป้งผัดหน้า

Title	Powder cosmetic production by <i>Monascus</i> pigment		
Students	Miss Rutchanaluk	Suthivetchadith	ID 57050891
	Miss Wanvisa	Sae-ngow	ID 57050892
Degree	Bachelor of Science		
Major Program	Industrial Microbiology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2017		
Advisor	Asst. Prof. Dr. Somchai Krairak		

### Abstract

Red yeast rice production was prepared by cultivating *Monascus purpureus* U6V1 on solid state fermentation with Sao-Hai rice as the substrate at 28°C for 28 days. The result showed the maximum red pigment concentration and without citrinin formation. The red yeast rice was used as component of face powder by grounded to particle size less than 75 micron, then mixed with rice flour at 20, 30 and 40 percentage, respectively. The mixed red yeast rice was pasteurized at 70°C for 12 hr. to complete the microbial regulation of Thai Cosmetic Industrial Standards (TSI). The pasteurized red rice powder was formulated with vitamin E, essential oil, perfume, and spring water to be Formulation 1, 2 and 3, respectively. All 3 Formulations showed the low flow ability, low compressibility and low water repellent. However, the skin irritation was not found in all 3 Formulations. The satisfaction test showed that, Formulation 3 had the highest satisfaction score.

**Keywords:** *Monascus purpureus*, pigment, pressed powder

## กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยโครงการพิเศษนี้ ผู้ศึกษาขอกราบพระคุณ ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และช่วยตรวจสอบ แก้ไข ข้อบกพร่องของโครงการพิเศษนี้ ตลอดจนให้ความรู้ และข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อโครงการพิเศษนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี ประธานกรรมการโครงการพิเศษ และ ผศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พฤษภูมิ กรรมการโครงการพิเศษ ผู้ตรวจสอบและให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อโครงการพิเศษฉบับนี้

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยา ที่อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการทำโครงการพิเศษนี้

ท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การเลี้ยงดูอบรมและส่งเสริมการศึกษาเป็นอย่างดีตลอดมา จนทำให้ผู้ศึกษาประสบความสำเร็จในชีวิตตลอดมา

รัชนาลักษณ์      สุทธิเวชดิษฐ์  
วันวิสาข์      แซ่โจ้ว

## สารบัญ

บทที่ 1 บทนำ .....	1
1.1    ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย .....	1
1.2    วัตถุประสงค์งานวิจัย .....	3
1.3    ขอบเขตงานวิจัย.....	3
1.4    ขั้นตอนการดำเนินงาน.....	4
1.5    ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ .....	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	5
2.1    ความเป็นมาและลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราโมแนสคัส.....	5
2.2    สภาวะที่ใช้เลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส .....	7
2.2.1    การเลี้ยงเชื้อราในวัสดุแห้ง (Solid cultivation) .....	7
2.2.2    ปัจจัยที่มีผลต่อการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็ง .....	7
2.2.3    ปัจจัยที่มีผลต่อการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารเหลว.....	8
2.3    สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส.....	11
2.3.1    เชื้อรา <i>Monascus</i> spp. ผลิตสารสีชนิดต่างๆ (กรูณา และคณะ, 2546) แสดงดัง รูปที่ 2.2 .....	11
2.4    คุณสมบัติของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส .....	15
2.5    การปล่อยสารสีออกจากเส้นใยของเชื้อราโมแนสคัส .....	16
2.6    ความปลอดภัยของสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส .....	17
2.7    การใช้ประโยชน์จากสารสีโมแนสคัส .....	17
2.8    เมแทบอลิต์ประเภทต่างๆจากเชื้อราโมแนสคัส .....	20
2.9    แป้ง.....	22
2.9.1    องค์ประกอบของแป้ง.....	22
2.10    เครื่องสำอาง.....	23
2.10.1    ความปลอดภัยกับเครื่องสำอาง .....	25

## สารบัญ (ต่อ)

2.10.2	จุลินทรีย์ปนเปื้อนในเครื่องสำอาง.....	26
2.11	แป้งผัดหน้า.....	31
2.11.1	ชนิดของแป้งผัดหน้า.....	31
2.11.2	ส่วนประกอบโดยทั่วไปของแป้งผัดหน้า.....	32
2.12	อาการแพ้เครื่องสำอาง (รุ่งนภา และวิบูลย์, 2554).....	33
2.12.1	ข้อควรระวังก่อนใช้เครื่องสำอาง .....	33
2.12.2	การทดสอบการแพ้เครื่องสำอางด้วยวิธี Patch Test (Jan E. Wahlberg and Magnus Linndberg) .....	34
บทที่ 3	วิธีการดำเนินงานวิจัย .....	36
3.1	เชื้อจุลินทรีย์ .....	36
3.2	อาหารเลี้ยงเชื้อ .....	36
3.3	อุปกรณ์และเครื่องมือ .....	36
3.4	วิธีการทดลอง.....	37
3.4.1	การเก็บรักษาเชื้อราโมแนสคัส.....	37
3.4.2	การเตรียมเชื้อเริ่มต้น (Inoculum).....	37
3.4.3	ศึกษาการเจริญและระยะเวลาในการสร้างสารทุติยภูมิของเชื้อราโมแนสคัส ดัดแปลงจากวิธีการทำข้าวแดงของ บุชบา (2542).....	37
3.4.3	การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของแป้งผัดหน้า ดัดแปลงจากวิธีทดสอบแป้งผัดหน้าของภาณุพงษ์ (2558).....	40
3.4.4	การศึกษาขั้นตอนการผลิตแป้งผัดหน้าที่มีส่วนผสมของผงแป้งข้าวแดงจากเชื้อรา โมแนสคัสเป็นองค์ประกอบ.....	40
3.4.5	การตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์ .....	42
3.5	การวิเคราะห์ทางสถิติ .....	42

## สารบัญ (ต่อ)

3.6	ทดสอบการแพ้โดยการสัมผัส .....	42
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล .....		43
4.1	ผลการเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส .....	43
4.2	ผลศึกษาการเจริญและระยะเวลาในการสร้างสารสีบนข้าวเสาไห้ .....	44
4.2.1	ผลการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสเพื่อผลิตสารสีบนข้าวเสาไห้ .....	44
4.3	การผลิตซิตรีนินจาก <i>Monascus</i> sp. สายพันธุ์ U6V1 .....	46
4.4	การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของแป้งผัดหน้า ดัดแปลงจากวิธีทดสอบแป้งผัดหน้าของ (งามศิลป์ และคณะ, 2558) .....	52
4.4.1	การทดสอบความสามารถในการไหลของผงแป้งข้าวแดง .....	52
4.4.2	การทดสอบความสามารถในการทนน้ำ .....	52
4.4.3	การทดสอบร้อยละการตอกอัด .....	52
4.5	การตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์ .....	54
4.5.1	การศึกษาระยะเวลาการฆ่าเชื้อโดยวิธีการพาสเจอไรซ์ .....	54
4.6	ผลการวัดสารสีเพื่อนำมาใช้ในการผลิตแป้งผัดหน้า .....	54
4.7	ทดสอบการระคายเคืองของผิวหนังของแป้งผัดหน้า .....	60
4.8	การทดสอบความพึงพอใจของแป้งผัดหน้า .....	61
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ .....		62
5.1	สรุปผลการวิจัย .....	62
5.2	ข้อเสนอแนะ .....	63
บรรณานุกรม .....		64
ภาคผนวก .....		75
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ .....		76
ภาคผนวก ข สารเคมีและวิธีวิเคราะห์ .....		77
ภาคผนวก ง ตารางวิเคราะห์ทางสถิติ .....		87

## สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 2.1 แสดงวงจรชีวิตของเชื้อราโมแนสคัส .....	6
รูปที่ 2.2 แสดงโครงสร้างสารสีของเชื้อราโมแนสคัส.....	12
รูปที่ 2.3 ปฏิริยาการเปลี่ยนแปลงสารสีที่สร้างจากเชื้อรา <i>Monascus</i> sp.....	13
รูปที่ 2.4 แสดงปฏิริยาการเปลี่ยนแปลงสารสีที่สร้างจากเชื้อรา <i>Monascus</i> sp.....	14
รูปที่ 2.5 องค์ประกอบของเมล็ดธัญพืช .....	22
รูปที่ 2.6 เครื่องสำอางเพื่อความสวยงามเพิ่มสีสัน .....	23
รูปที่ 2.7 เครื่องสำอางชนิดต่างๆ.....	24
รูปที่ 2.8 เครื่องสำอางลักษณะต่างๆ .....	25
รูปที่ 2.9 ฉลากเครื่องสำอางที่ระบุเดือนปีที่ผลิตและหมดอายุ .....	26
รูปที่ 2.10 การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในเครื่องสำอางด้วยวิธีต่างๆ .....	27
รูปที่ 2.11 สัญลักษณ์ PAO ของผลิตภัณฑ์ต่างๆ.....	28
รูปที่ 2.12 ระยะเวลาหลังเปิดใช้โดยประมาณของเครื่องสำอางต่างๆ .....	28
รูปที่ 2.13 ระยะเวลาการใช้เครื่องสำอางเมื่อพิจารณา จากอายุผลิตภัณฑ์และอายุหลังเปิดใช้งาน.....	29
รูปที่ 2.14 สัญลักษณ์ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ไม่ได้ใช้สัตว์ในการทดลอง .....	30
รูปที่ 2.15 แป้งอัดแข็ง.....	31
รูปที่ 2.17 แป้งฝุ่นชนิดไม่อัดแข็ง.....	31
รูปที่ 2.18 การทดสอบการแพ้โดยวิธี patch test.....	35
รูปที่ 4.1 ลักษณะของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนอาหาร MYS.....	43
รูปที่ 4.2 อาหาร SS สำหรับเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส.....	44
รูปที่ 4.1 ลักษณะของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนอาหารเหลว SS.....	45

## สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่ 4.4 การเตรียมข้าวเสาไห้สำหรับเลี้ยงเชื้อราโมนาสคัส.....	45
รูปที่ 4.5 ลักษณะการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อราโมนาสคัส.....	46
รูปที่ 4.6 การเจริญของเชื้อ <i>Monascus</i> sp. U6V1 ที่เจริญบนข้าวเสาไห้.....	51
รูปที่ 4.7 การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังโดยการทำ patch test.....	60

## สารบัญตาราง

ตารางที่ 2. 1 คุณสมบัติของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส.....	16
ตารางที่ 2. 2 ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณแร่ธาตุและวิตามินในข้าวสารพันธุ์ขาวมะลิ และข้าวแดงที่ผลิตได้.....	18
ตารางที่ 3.1 ปริมาณการเติมน้ำแต่ละสัปดาห์ ขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร .....	38
ตารางที่ 3. 2 ส่วนประกอบของสูตรแป้งผัดหน้าทั้ง 3 สูตร.....	41
ตารางที่ 4. 1 แสดงปริมาณการเติมน้ำแต่ละสัปดาห์ ขวดปริมาตร 1000 มิลลิลิตร .....	49
ตารางที่ 4. 2 แสดงค่าพีเอช ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์) ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (mg/g-DSW) ปริมาณสารสี (U500/g-DSW) และปริมาณซิทรีนิน (mg/g-DSW) ในขวดอาหาร ขนาด 1000 มิลลิลิตร สภาวะหมუნสลับนึ่ง 1:3 ชั่วโมง.....	50
ตารางที่ 4. 3 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของแป้งผัดหน้า สมบัติการไหลของแป้งผัดหน้า กับค่า angle of repose.....	53
ตารางที่ 4. 4 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของแป้งผัดหน้าสมบัติการไหลของแป้งผัดหน้า กับค่า compressibility index.....	53
ตารางที่ 4. 5 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถตรวจนับได้ โดยวิธี total plate count ที่ผ่านการพาส เจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง.....	53
ตารางที่ 4. 6 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถตรวจนับได้ โดยวิธี total plate count ที่ผ่านการพาส เจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง .....	54
ตารางที่ 4. 7 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถตรวจนับได้ โดยวิธี total plate count ที่ผ่านการพาส เจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง.....	55
ตารางที่ 4.8 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถตรวจนับได้ โดยวิธี total plate count ที่ผ่านการพาส เจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง .....	56
ตารางที่ 4. 9 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถตรวจนับได้ โดยวิธี total plate count ที่ผ่านการพาส เจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง .....	57
ตารางที่ 4.10 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถตรวจนับได้ โดยวิธี total plate count ที่ผ่านการ พาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง .....	58

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ 4.11 ค่าการวัดสีจากข้าวแดงที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส ด้วยเครื่อง Chroma meter.....	60
ตารางที่ 4.12 ผลการทดสอบความพึงพอใจแบ่งผัดหน้าด้านการสัมผัสต่างๆ.....	61
ตารางที่ 6.1 สมบัติการไหลของผงแบ่งกับค่า angle of repose.....	82
ตารางที่ 6.2 สมบัติการไหลของผงยากับค่า compressibility index.....	83
ตารางที่ ง.1 ผลการศึกษาระยะเวลาการสร้างปริมาณสารสีสีแดง (OD 500 nm ) เป็นระยะเวลา 28 วัน .....	87
ตารางที่ ง.2 การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสีของแบ่งผัดหน้า .....	90
ตารางที่ ง.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของแบ่งผัดหน้า ที่มีส่วนผสมของผงข้าวแดง .....	91
ตารางที่ ง.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความลื่นของแบ่งผัดหน้า ที่มีส่วนผสมของผงข้าวแดง .....	92
ตารางที่ ง.5 การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความติดทนของแบ่งผัด หน้าที่มีส่วนผสมของผงข้าวแดง.....	93
ตารางที่ ง.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความชอบโดยรวมของแบ่งผัดหน้า ที่มีส่วนผสมของผงข้าวแดง.....	94

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ในปัจจุบันแป้งผัดหน้าเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทหนึ่งที่มีการใช้อย่างกว้างขวาง ซึ่งใช้ทาบริเวณใบหน้า เพื่อเติมสีสันทัดโดดเด่น เพิ่มความมั่นใจให้กับผู้ใช้ เป็นต้น แต่เนื่องจากแป้งผัดหน้าในปัจจุบันนิยมใช้สารทัลคัมเป็นส่วนผสมของแป้งผัดหน้า เป็นสารอันตรายเมื่อมีการสะสมในร่างกายก่อให้เกิดมะเร็งปากมดลูก (ศิริลักษณ์, 2557) ทัลคัมคือ ผงที่ได้จากการบดหินทาลค์ (talc) ซึ่งเป็นแร่ประเภท ไฮเดรท แมกนีเซียม ซิลิเกต ที่พบตามธรรมชาติมีสูตรทางเคมีคือ  $Mg_3 Si_4 O_{10} (OH)_2$  โดยหินทาลค์สามารถเกิดได้จากปฏิกิริยาไฮโดรเทอร์มอล (hydrothermal) ของหินโดโลไมท์ และหินอัคนีที่มีแมกนีเซียมและซิลิกาเป็นองค์ประกอบ แป้งทัลคัม ส่วนใหญ่นำมาใช้เป็นองค์ประกอบสำคัญทางอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง นอกจากนี้สามารถใช้เป็นตัวเติม (filler) ทางอุตสาหกรรมกระดาษและอุตสาหกรรมพลาสติก เพื่อควบคุมการขยายตัวเมื่อโดนความร้อนในอุตสาหกรรมเซรามิก รวมถึงเป็นสารหล่อลื่นแบบพิมพ์ในการขึ้นรูปโลหะ โดยที่แป้งทัลคัมนั้นมีความบริสุทธิ์ต่างกัน ขึ้นอยู่กับประเภทการใช้งาน ทางด้านอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง แป้งทัลคัมต้องนำมาบดให้ละเอียด ทำให้แห้งและนำไปฆ่าเชื้อก่อนนำมาเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง แต่ทั้งนี้ก็ไม่สามารถแยกทัลคัมให้บริสุทธิ์ 100 เปอร์เซ็นต์ได้ ซึ่งแป้งทัลคัมมีสารอันตรายปนเปื้อน เช่น แอสเบสตอส (asbestos) เป็นสารก่อมะเร็งปนเปื้อนอยู่ได้ ดังนั้นตั้งแต่ปี พ.ศ. 2519 จึงได้ทำการจัดแบ่งชนิดของแป้งทัลคัมสำหรับใช้ในแต่ละอุตสาหกรรม โดยที่แป้งทัลคัมสำหรับเครื่องสำอางต้องไม่มีสารแอสเบสตอสปนเปื้อนอยู่

การใช้ทัลคัมในอุตสาหกรรมแป้งเด็กจากคุณสมบัติด้านการดูดความชื้นและการลดแรงเสียดสี สามารถช่วยลดอาการผดผื่นและกลิ่นอับได้ ความละเอียดของแป้งนั้นส่งผลต่อความรู้สึกเมื่อใช้ ดังนั้นแป้งทัลคัมสำหรับเด็กจึงต้องมีลักษณะเป็นแป้งฝุ่นละเอียดสีขาว แต่ข้อเสียของการเป็นผงละเอียดนั้นจะทำให้เมื่อใช้แป้งจะเกิดการฟุ้งในอากาศเมื่อสูดดมเข้าสู่ระบบทางเดินหายใจ ก่อให้เกิดการระคายเคืองและโรคระบบทางเดินหายใจได้ หากใช้เป็นระยะเวลานานจะเกิดการสะสมในร่างกาย เพราะแป้งทัลคัมเป็นสารอนินทรีย์ ไม่สามารถย่อยสลายเองได้ นอกจากนี้สุขภาพสตรีเป็นจำนวนมากได้ใช้แป้งทัลคัมบริเวณอวัยวะเพศเพื่อลดกลิ่นอับและการเสียดสี โดยโรยบนผ้าอนามัยช่วงมีประจำเดือน หรือใช้เป็นสารช่วยหล่อลื่นบนถุงยางอนามัยระหว่างมีเพศสัมพันธ์การใช้แป้งทัลคัมบริเวณดังกล่าวอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน อาจส่งผลให้แป้งทัลคัมเข้าสะสมภายในช่องคลอด

มดลูกและรังไข่ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อชั้นในและเกิดการอักเสบเรื้อรังอาจส่งผลร้ายไปถึงการเป็นมะเร็งระบบสืบพันธุ์ได้

ดังนั้นการเลือกใช้แป้งโดยเฉพาะแป้งเด็กนั้น ผู้บริโภคควรเลือกผลิตภัณฑ์ที่มีฉลากระบุส่วนประกอบชัดเจน และในขณะเดียวกันผู้ผลิตหลายรายทั้งในประเทศและต่างประเทศได้คิดค้นการใช้แป้งจากวัตถุดิบที่มาจากพืช เช่น แป้งข้าวเจ้าบริสุทธิ์และแป้งข้าวโพดบริสุทธิ์ เพื่อทดแทนการใช้ทัลคัม (สายจิตร, 2559)

อันตรายจากแป้งทัลคัมที่กล่าวมาข้างต้น จึงต้องมีความระมัดระวังในการเลือกซื้อแป้งผัดหน้า เพราะถ้าหากแป้งที่เลือกซื้อใช้ ไม่ได้ตามมาตรฐานเครื่องสำอางอาจเกิดการสะสมและส่งผลกระทบต่อร่างกายได้ โดยส่วนประกอบต่างๆจะช่วยให้แป้งติดกับผิวหนังได้ยาวนาน สีที่ใช้ต้องเป็นสีที่กระทรวงสาธารณสุขอนุญาต สีสี่มีความสำคัญสำหรับกระบวนการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรม มีความสำคัญในการผลิตอาหาร สีส้มอาหารมี 2 ประเภท ได้แก่ สีจากธรรมชาติและสีสังเคราะห์ โดยสีจากธรรมชาติได้จากพืชหรือจากจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ จนกระทั่งอนุญาตให้ใช้สีในการสังเคราะห์ลดลง เนื่องจากอาจก่อให้เกิดการกลายพันธุ์และการเกิดมะเร็ง (นงนุช และสุจิตรา, 2547)

ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสำคัญและเอาใจใส่ดูแลสุขภาพมากยิ่งขึ้น สนใจศึกษาค้นคว้าหาความรู้ทางด้านความงามที่ปลอดภัยเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ผู้บริโภคเลือกสินค้าจากสิ่งที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เนื่องจากมีความเป็นพิษต่อร่างกายน้อย สีส้มอาหารที่นำมาใช้ผสมอาหารมีทั้งได้จากผลไม้ จากสัตว์ รวมถึงสีธรรมชาติที่ได้จากจุลินทรีย์นั้น เป็นสิ่งที่น่าสนใจเพราะจุลินทรีย์มีขนาดเล็กสามารถเจริญอย่างรวดเร็ว ใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อย รวมทั้งอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มีความหลากหลาย และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน เช่น ทางด้านอุตสาหกรรม ทางด้านอาหาร และยา เป็นต้น

เชื้อราโมแนสคัสเป็นเชื้อราที่สร้างสารสีได้หลายชนิด ตั้งแต่สารสีสีแดง สารสีส้มและสารสีเหลือง มีแหล่งกำเนิดจากประเทศจีนโดยผลิตอยู่ในรูปของข้าวแดงเรียกว่า อังคัก ใช้ผสมในไวน์ข้าวเต้าหู้ยี้ ผลิตภัณฑ์เนื้อและปลา มีสรรพคุณเป็นยารักษาโรคจากสารโมนาโคลิน เค นอกจากนี้มีการใช้ข้าวแดงอย่างแพร่หลายในประเทศแถบเอเชีย เนื่องจากมีการการเพาะปลูกข้าวได้เป็นจำนวนมาก เป็นการส่งเสริมให้เกิดการแปรรูปเป็นข้าวแดงเพื่อเพิ่มมูลค่าของผลผลิตทางการเกษตรอีกทางหนึ่ง แต่ข้าวแดงที่ได้จะพบซิตรีนิน ซึ่งเป็นสารอันตรายอยู่ด้วยโดยที่แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่ใช้ในการเจริญของราโมแนสคัส มีผลต่อการเกิดสารซิตรีนิน การศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นการหาทางลดปริมาณซิตรีนิน เพื่อสามารถนำสีแดงที่ได้ไปใช้อย่างปลอดภัย (เรณู, 2547)

ปัจจุบันการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* เพื่อผลิตสารสี (pigment) สามารถเพาะเลี้ยงในสภาวะที่แตกต่างกัน กระบวนการผลิตสามารถทำได้ทั้งวิธีการหมักบนอาหารแข็ง (Solid state fermentation) และการหมักแบบในอาหารเหลว (Submerged fermentation) มีรายงานว่า การผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* บนอาหารแข็งดีกว่าการหมักในอาหารเหลว เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความหลากหลาย รวมถึงของเหลือจากอุตสาหกรรม การเกษตร เช่น กากมันสำปะหลัง กากถั่วเหลือง มีราคาถูกกว่าการใช้สารอาหารสังเคราะห์ที่มีราคาแพง และการหมักบนอาหารแข็ง มีสภาวะที่คล้ายกับการเจริญของเชื้อราในธรรมชาติ

สำหรับเชื้อราโมแนสคัส (*Monascus purpureus*) ได้นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและทางการแพทย์เป็นเวลานานับศตวรรษในอุตสาหกรรมอาหารที่ใช้สีโมแนสคัสเป็นสีผสมในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่ม นอกจากนี้ยังสามารถใช้ผสมในอาหารสัตว์ (Lin และ Demain, 1991) ในทางการแพทย์ได้นำ *Monascus purpureus* มาใช้รักษาโรค Hyperlipidemia (Wang และคณะ, 2002)

งานวิจัยมุ่งศึกษาการประยุกต์ใช้สารสีจากเชื้อรา *Monascus purpureus* สายพันธุ์ U6V1 ซึ่งเป็นสารสีที่ได้จากธรรมชาติ ทำผลิตภัณฑ์แป้งผัดหน้าที่ปลอดภัยไม่มีส่วนผสมของสีสังเคราะห์ โดยศึกษาระยะการเจริญและการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

## 1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการผลิตสารสีแดงจากเชื้อราโมแนสคัสแทนการใช้สารสีชื่อ คาร์มิน (carmine) ที่มาจากแมลงและผลไม้ เนื่องจากสารสีคาร์มินจากแมลงและผลไม้ มีข้อเสียคือ อาจก่อให้เกิดอาการแพ้ในกลุ่มคนจำนวนหนึ่งและสูญเสียผลผลิตทางการเกษตร ตามลำดับ

1.2.2 เพื่อศึกษาและพัฒนาผลิตภัณฑ์แป้งผัดหน้าโดยใช้แป้งข้าวเจ้าเนื่องจากเป็นพืชทางการเกษตรภายในประเทศไทย จึงเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับพืชทางการเกษตรและมีการใช้สารสีจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นองค์ประกอบหลักโดยปราศจากสีสังเคราะห์

1.2.3 ศึกษากรรมวิธีในการผลิตแป้งผัดหน้าให้มีคุณลักษณะตรงตามข้อกำหนดพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2558

## 1.3 ขอบเขตงานวิจัย

ศึกษาการเจริญและระยะเวลาในการสร้างสารสี รูปแบบกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์แป้งผัดหน้า ลักษณะรูปแบบเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ และการทำแป้งผัดหน้าที่มีส่วนผสมของสารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาทำการวิเคราะห์และตรวจสอบคุณภาพ

## 1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน

การดำเนินงานวิจัย แบ่งออกเป็นขั้นตอนดังนี้

1.4.1 การเตรียมเชื้อราโมแนสคัส มาเลี้ยงบนอาหารแข็ง MYS บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-10 วัน เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการศึกษาต่อไป

1.4.2 ศึกษาการเจริญและระยะเวลาในการสร้างสารสีของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวเสาให้ เพื่อให้ทราบลักษณะการเจริญและระยะเวลาที่เชื้อราสร้างสารสีได้สูงสุด

1.4.3 ศึกษาวิธีการนำข้าวแดงมาบดให้ละเอียดโดยมีขนาดเล็กกว่า 75 ไมครอน เพื่อใช้เป็นองค์ประกอบหลักในการผลิตผลิตภัณฑ์แป้งผัดหน้า

1.4.4 ศึกษาขั้นตอนการผลิตแป้งผัดหน้า ที่ทำมาจากข้าวแดงของเชื้อราโมแนสคัสเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้ใช้สีและวัตถุดิบจากธรรมชาติ

## 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.5 สามารถนำสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสซึ่งเป็นสารสีจากธรรมชาติ มาทดแทนสารสีแดงที่ได้จากแมลงและผลไม้ เนื่องจากสารสีที่ได้จากแมลงอาจทำให้เกิดอาการแพ้ และสารสีที่ได้จากผลไม้ส่งผลเสียด้านผลผลิตทางการเกษตร

1.4.6 สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส สามารถผลิตและใช้ได้อย่างปลอดภัย

1.4.7 สารสีที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ มีข้อดีคือ ใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อย มีการเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว เป็นสารสีที่ได้จากธรรมชาติไม่เกิดอาการแพ้หรือส่งผลเสียต่อผลผลิตทางการเกษตร

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ความเป็นมาและลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราโมแนสคัส

เชื้อราโมแนสคัสได้ถูกค้นพบและถูกตั้งชื่อเป็นสกุลโมแนสคัส (*Monascus* sp.) อย่างเป็นทางการในปี ค.ศ. 1884 การใช้ประโยชน์จากเชื้อราโมแนสคัส ได้มีมาเป็นระยะเวลานาน โดยเฉพาะในประเทศจีน มีการผลิตข้าวแดงได้จากการหมักข้าวที่นึ่งแล้วบ่มด้วยเชื้อราโมแนสคัส อุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสม (ชยุต, 2557) เชื้อสามารถเจริญและผลิตสารสีแดงบนเมล็ดข้าว นอกจากนี้ประเทศไต้หวัน ญี่ปุ่น อินโดนีเซีย และฟิลิปปินส์ รู้จักใช้ประโยชน์จากเชื้อราโมแนสคัส โดยนำมาทำสีผสมอาหาร เครื่องดื่ม และทำยารักษา (กมลวรรณ และดวงใจ, 2554) ในขณะที่ประเทศแถบตะวันตกรู้จักเชื้อราโมแนสคัสในลักษณะที่เป็นเชื้อราปะปนในเมล็ดธัญพืช และแป้ง

ดั่งนั้นบทบาทสำคัญของเชื้อราโมแนสคัสนั้น มาจากคุณสมบัติพิเศษที่สามารถผลิตสารสีแดง สารสีส้ม และสารสีเหลือง และยังมีการทดลองใช้เชื้อราโมแนสคัสในการผลิตข้าวแดง พบว่าข้าวแดงที่ได้มีคุณภาพ สามารถนำมาเจือจางสีในอาหารได้โดยตรง ในเวลาต่อมาได้มีการศึกษาเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว (submerged culture) จนกระทั่งปัจจุบันมีการศึกษาและพัฒนาเกี่ยวกับการผลิตสารสีทั้งในวัสดุแห้ง และอาหารเหลวเรื่อยมา เนื่องจากมีการให้ความสำคัญกับการใช้สีผสมอาหารจากธรรมชาติมากขึ้นรวมทั้งสารเมทาบอลิท์อื่นๆ (Lin, 1973)

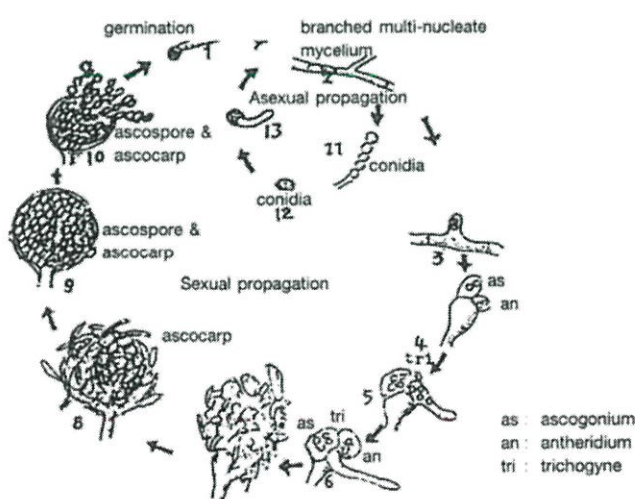
Alexopoulos และคณะ (1988) ได้มีการจัดทำอนุกรมวิธานของเชื้อรา *Monascus* spp.

Class	Ascomycetes
Subclass	Plectomycetidae
Order	Eurotidae
Genus	<i>Monascus</i>

เชื้อรา *Monascus purpureus* เป็นเชื้อราเส้นใยมีผนังกัน (septate hyphae) มีการแตกแขนงของเส้นใย ในขณะที่อายุน้อยเส้นใยเป็นสีขาว แต่เมื่ออายุมากขึ้นเส้นใยเป็นสีแดง (วาลิสา และอลิษา, 2558) การสืบพันธุ์มี 2 แบบ ได้แก่ แบบอาศัยเพศ (sexual) และไม่อาศัยเพศ (asexual) การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะเกิดบนเส้นใยโฮโมทัลลิก (homothallic) เริ่มจากเส้นใยมีการเจริญและพัฒนาไปเป็นโครงสร้างเซลล์สำหรับสืบพันธุ์ได้แก่ แอนเทอริเดียม (antheridium) คือโครงสร้างสืบพันธุ์เพศผู้ และแอสโกโกเนียม (ascogonium) คือโครงสร้างสืบพันธุ์เพศเมีย ซึ่งเจริญอยู่ที่แอนเท

อริเดียม จากนั้นเส้นใยบริเวณส่วนบนของแอสโคโกเนียมจะพัฒนาต่อไปเป็นโครงสร้างพิเศษที่เรียกว่า ไตรโคจีน (trichogyne) เชื่อมต่อบริเวณส่วนฐานหรือส่วนกลางของแอนเทอริเดียม เพื่อให้นิวเคลียสจากแอนเทอริเดียมผ่านเข้ามาผสมกับนิวเคลียสของแอสโคโกเนียม หลังจากนั้นนิวเคลียสผสมกันมีการพัฒนาต่อไปโดยการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (meiosis) และไมโทซิส (mitosis) แอสโคโกเนียมจะมีการสร้างผนังชั้นมาล้อมรอบทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้น จากนั้นจึงพัฒนาต่อไปเป็นเพอริทีเซียม (perithecium) ซึ่งเป็นแอสโคคาร์ป (ascocarp) ทรงกลมเกิดที่ปลายก้านชู (stalk) ในระยะนี้จะมีการสลายไปของผนังแอสคัส (ascus) ที่ห่อหุ้มแอสโคสปอร์ (ascospore) ทำให้เหลือแต่แอสโคสปอร์อยู่ในเพอริทีเซียม และในแต่ละเพอริทีเซียมจะมีจำนวนของแอสโคสปอร์ออกมาในทิศตรงกันข้ามกับก้านชู ซึ่งระยะเวลาการเกิดแอสโคสปอร์จะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของอาหาร และสภาวะที่ใช้เลี้ยงเชื้อโดย ขณะที่เลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวจะเริ่มพบเพอริทีเซียมได้เมื่อเวลาผ่านไป 24 ถึง 48 ชั่วโมง แล้วจึงพัฒนาไปเป็นแอสโคสปอร์อย่างสมบูรณ์ เมื่อเลี้ยงเชื้อผ่านไปได้ 96 ชั่วโมง

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศจะมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่ชื่อว่า โคนิเดียม (conidia) บนปลายเส้นใย เรียกว่า โคนิดิโอพอร์ (conidiophore) ซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นตรงหรือขดเป็นเกลียวขณะเริ่มสร้างโคนิเดียมที่บริเวณปลายของเส้นใยจะพองออก จากนั้นมีการสร้างผนังกั้นระหว่างโคนิเดียมกับเส้นใยกลายเป็นโคนิเดียมอันที่สอง และเป็นเช่นนี้ไปเรื่อยๆ จนในที่สุดได้โคนิเดียมที่ต่อกันเป็นสาย ดังนั้นโคนิเดียมที่มีอายุมากที่สุดจะอยู่ด้านนอก โดยโคนิเดียมแต่ละอันเกิดจากบริเวณ (meristematic zone) ซึ่งเป็นบริเวณที่อยู่ใต้โคนิเดียมที่เกิดก่อนหน้า เพื่อใช้ในการสร้างโคนิเดียมถัดมาทำให้สายโคนิเดียมยาวขึ้น ขณะที่โคนิดิโอพอร์จะสั้นลง ลักษณะของโคนิเดียมจะสั้นลง ลักษณะของโคนิเดียมจะเป็นรูปกลมหรือรูปไข่ บริเวณฐานของโคนิเดียมจะมีรอยตัด ผนังเรียบไม่มีสีแต่อาจจะมีสีแดงหรือน้ำตาลอ่อนถ้าเชื้อ รามีอายุมากขึ้น (Hawksworth และPitt, 1983) แสดงดัง รูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 แสดงวงจรชีวิตของเชื้อราโมแนสคัส

ที่มา : บุชบา, 2540

## 2.2 สภาวะที่ใช้เลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส

### 2.2.1 การเลี้ยงเชื้อราในวัสดุแห้ง (Solid cultivation)

สิริพร และคณะ (2556) ได้มีศึกษาการเลี้ยงเชื้อราในสภาพหมักแห้ง เชื้อราที่เจริญสามารถสร้างสารสีออกนอกเซลล์ได้มาก ทำให้ไม่เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์สารสี จึงสร้างสารสีออกนอกเซลล์ได้สูงกว่าการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว และการปล่อยให้สารสีออกนอกเซลล์ ทำให้ข้าวมีสีแดงทั่วทั้งเมล็ด

Chiu และ Chan (1992) ศึกษาการสร้างสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* บนวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร คือ ชานอ้อย โดยเปรียบเทียบระหว่างการเลี้ยงเชื้อในขวดหมึกที่ความเร็ว 1.7-2 รอบต่อนาที กับตั้งทิ้งไว้ พบว่าระบบการหมุนเชื้อราสามารถสร้างสารสีได้ดีมากกว่าปกติ ประมาณ 2-3 เท่า แต่ยังคงให้สารสีน้อยกว่าเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีส่วนประกอบของกลูโคส เปปโตน และยีสต์สกัด นอกจากนี้ยังพบว่า การเติมน้ำมันข้าวโพดลงในอาหารเหลว จะทำให้การสร้างสารสีออกนอกเซลล์เพิ่มขึ้นถึง 2 เท่า แต่จะมีการเจริญที่ลดน้อยลง

Johns และ Stuart (1991) พบว่าเชื้อรา *Monascus purpureus* สร้างสารสีได้น้อยเมื่อเลี้ยงเชื้อที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 38 แต่ความชื้นเริ่มต้นสูงขึ้นเป็นร้อยละ 55-56 และค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.0 การสร้างสารสีจะเพิ่มขึ้น ดังนั้นการผลิตข้าวแดงให้มีคุณภาพที่ดี ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น สายพันธุ์ข้าว สายพันธุ์เชื้อรา สภาวะที่ใช้เลี้ยงเชื้อ ความชื้นเริ่มต้นซึ่งสำคัญมากต่อการเจริญ แต่ถ้าความชื้นเริ่มต้นสูงเกินไป ทำให้การเจริญและการสร้างเอนไซม์กลูโคอะไมเลส เป็นไปได้ดี จึงมีการสะสมกลูโคสมากขึ้น และนำไปใช้ในการผลิตเอทานอลแทนการสร้างสารสี นั่นคือ ปริมาณกลูโคสที่สูงเกินไปจะยับยั้งการสังเคราะห์สารสี

### 2.2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็ง

#### ก. สายพันธุ์ของเชื้อรา

โดยทั่วไปแล้วเชื้อราโมแนสคัส เมื่อเจริญบนเมล็ดข้าวโดยการงอกของเส้นใยทั้งผิวหน้าและแทรกเข้าไปภายในเมล็ดข้าว จะมีการสร้างสารสีได้ภายหลังจากการบ่มเป็นเวลา 3 วัน สารสีเหล่านี้เมื่อนำมาสกัดด้วยสารละลายเอทานอล พบว่าสารสีแดงทั่วไปจะมีค่าดูดกลืนแสงสูงสุด 2 จุดคือที่ 420 และ 500 นาโนเมตร บางสายพันธุ์ที่ให้สีข้าวแดงเป็นสีแดงหรือชมพูแก่ จะมีค่าดูดกลืนแสงที่จุด 500 นาโนเมตร เช่นที่พบในสายพันธุ์ของ *Monascus purpureus* หรือ *Monascus anka* แต่บางสายพันธุ์อาจให้สีแดงคล้ำ

## ข. สายพันธุ์ข้าว

ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างสารสีของ *Monascus purpureus* พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตข้าวแดง คือ ความชื้นไม่เกินร้อยละ 50 พีเอช ระหว่าง 3.0-7.0 อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และข้าวที่ไม่ควรนำมาใช้คือข้าวประเภทมียางเหนียว โดยเฉพาะข้าวเหนียว หรือข้าวเมล็ดพันธุ์สั้นจาปอนนิกา ไม่เหมาะสมในการทำข้าวแดง (อาภรณ์ และคณะ, 2543)

## ค. การให้อากาศ

เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโตพบว่าหากเขย่าหรือให้อากาศช่วยจะส่งผลต่อการสร้างสารสีได้ดีและเร็วขึ้น ก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ความเข้มข้นสูงทำให้การสร้างสารสีและการเจริญลดลง และไม่สามารถสร้างสารสี เจริญได้เมื่อมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 1.0 บรรยากาศ และก๊าซออกซิเจนตั้งแต่ 0.2 บรรยากาศ ทำให้การสร้างสารสีเพิ่มขึ้น (Sukumaran และคณะ, 2018) สภาพที่มีก๊าซออกซิเจนคงที่และคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำ ทำให้เกิดการผลิตรายสีที่สูง (Yang และคณะ, 2014)

## ง. อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลโดยตรงต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) เพื่อการเจริญเติบโต อุณหภูมิสูงเกินไป อาจทำให้เชื้อราเจริญได้ช้า และมีการสร้างสารสีในข้าวแดงได้น้อย และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีอยู่ระหว่าง 27-30 องศาเซลเซียส

## จ. ความชื้น

การผลิตข้าวแดงสามารถผลิตได้ที่ความชื้นเริ่มต้นต่ำมีการเติมน้ำตาม เพื่อควบคุมความชื้นซึ่งจะช่วยให้เชื้อสร้างสารสีได้ดีขึ้น การผลิตในระดับอุตสาหกรรมจำเป็นต้องมีการเติมน้ำระหว่างการบ่ม แต่ความชื้นที่เหมาะสมในการสร้างสารสีขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของข้าว

## ฉ. พีเอช

Kang และคณะ( 2013) พบว่าข้าวที่เกิดจากการหมักเชื้อราโมแนสคัสที่ถูกทดสอบโดยควบคุมสภาวะของค่าพีเอช พบว่าแหล่งไนโตรเจนมีผลโดยตรงกับค่าพีเอช ค่าพีเอชสามารถควบคุมส่วนประกอบของสารสีและการสังเคราะห์ซีทรินินได้ ดังนั้นแหล่งไนโตรเจนในอุดมคติสามารถเลือกควบคุมค่าพีเอชได้ เช่น สารสีสีส้มที่ปราศจากซีทรินิน (Citrinin-free orange pigments) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้มาจากการหมักของเชื้อราโมแนสคัสที่ใช้ค่าพีเอชต่ำ ในอาหารที่มีส่วนประกอบของโมโนโซเดียมกลูตาเมตซึ่งเปรียบเหมือนแหล่งไนโตรเจน

### 2.2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารเหลว

#### ก. แหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน

น้ำตาล อินเวอร์ท ฟรุคโตส กลูโคส คือน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์เป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีในการเจริญของเชื้อรา *Monascus purpureus* เพราะเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวซึ่งเชื้อราสามารถ

นำไปใช้ได้โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อย่อยให้เป็นโมเลกุลที่เล็กกว่า แต่จะเป็นการเพิ่มอัตราการเจริญมากขึ้นหากมีน้ำตาลไคแซ็กคาไรด์ เช่น ซูโครส มอลโตส ฟรุคโตส จากรายงานพบว่า หากเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* ในอาหารเหลวที่มีน้ำตาลมอลโตสเป็นองค์ประกอบ สีของอาหารเหลวจะมีสีแดงอย่างรวดเร็วจนชัดเจนกว่า อาหารเหลวที่มีส่วนประกอบของกลูโคสเป็นหลัก (Chen และ John, 1994)

Lin (1973) ได้คัดเลือกเชื้อราที่เจริญได้ดีในอาหารเหลวจากโคจิจที่ใช้ทำเหล้าเกาเหลียง พบว่า *Monascus* F-2 สามารถใช้คาร์บอนเป็นแหล่งอาหารได้หลายชนิด และอาหารที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสี คือ แป้ง และมอลโตส ตามลำดับ

Broder และ Koehler (1980) พบว่าทั้งเชื้อรา *Monascus purpureus* NRRL2897 สร้างสารสีแดงได้ดีที่สุดในแหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาลมอลโตสเข้มข้นร้อยละ 10.0 โดยสร้างสารสีแดงดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 634 นาโนเมตร รองลงมาเป็นน้ำตาลฟรุคโตสความเข้มข้นร้อยละ 15.0 และ 8.0 เชื้อราสร้างสารสีแดงดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 627 และ 625 นาโนเมตร

การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนได้แก่ กลูโคสและ แหล่งไนโตรเจนคือ แอมโมเนียมไนเตรท ต่อการเจริญ การสร้างสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* N11S มีรายงานว่า หากใช้น้ำตาลกลูโคส 40.0 กรัมต่อลิตร จะใช้แอมโมเนียมไนเตรทเพียง 0.5 กรัมต่อลิตร สำหรับการเจริญและการสร้างสารสี เมื่อความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนสูงขึ้น ความต้องการแหล่งไนโตรเจนก็จะมากขึ้นเช่นกัน หากขาดแหล่งคาร์บอนในอาหาร จะส่งผลยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ nitrate reductase และ glutamate dehydronase ซึ่งเป็นกลไกควบคุมไนโตรเจนและวิถีเมทาบอลิซึม (Wong และ Koehler, 1981)

## ข. แหล่งไนโตรเจน

Lin (1973) แหล่งไนโตรเจนมีผลต่อการเจริญ การสร้างสารสี และชนิดของสารสีที่เชื้อราสร้างขึ้นมีการรายงานว่า *Monascus* sp. F-2 ใช้แหล่งไนโตรเจนได้หลายชนิดในการสร้างสารสีสีแดง ได้แก่ โมโนโซเดียมกลูตาเมต แอมโมเนียมซัลเฟต แต่เปปโตนและยีสต์สกัดไม่เหมาะสมต่อแหล่งไนโตรเจนในการสร้างสารสีแดง เช่นเดียวกับการทดลองของ (Su และ Huang, 1980) รายงานว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีแดงของเชื้อ *M. anka* V-204 คือ โมโนโซเดียมกลูตาเมตความเข้มข้น 0.15 (Broder และ Koehler, 1980) พบว่าเชื้อรา *M. purpureus* NRRL2897 สร้างสารสีแดงและมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 611 นาโนเมตร

เมื่อเติมโมโนโซเดียมกลูตาเมต และ เปปโตน จะมีผลต่อ กระบวนการต้านอนุมูลอิสระ โมนาโคลิน เค ซิตรีนิน กลูโคซามีน ที่ผลิตโดยเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 จากการทดลองใช้ เปปโตนและโมโนโซเดียมกลูตาเมต เป็นแหล่งไนโตรเจนโดยการเติมที่ปริมาตรดังนี้ 0.25, 0.50, 0.75, 1.00% การเติมโมโนโซเดียมกลูตาเมตและเปปโตน จะส่งผลต่อกระบวนการ

เจริญเติบโตของเชื้อราซึ่งจะทำให้เกิดกระบวนการต้านอนุมูลอิสระ โมนาโคลิน เค สารสี และซีตรินิน สูงกว่าเดิม เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับตัวควบคุม (ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน) ผลผลิตของสารสี โมนาโคลิน ซีตรินิน จะมีสารสูงสุดเมื่อครบ 12 วัน ในขณะที่สารกลูโคซามีนจะมีสารสูงสุดเมื่อครบเวลา 8 วัน (Kraboun และคณะ, 2012)

เปปโตเนเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีและเหมาะสำหรับการกระตุ้นการสังเคราะห์สารสีในเชื้อราโมแนสคัส ทำการทดสอบเปปโตเนจากขนไก่ (chicken feathers peptone : CFP) เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการผลิตสารสีจากเชื้อรา *M. purpureus* ATCC16365 จากนั้นนำ CFP เปรียบเทียบกับเปปโตเนจากปลา (fish peptone : FP) และ เปปโตเนจากโปรตีเอส (Protease Peptone :PP) โดยเตรียม CFP จากการไฮโดรไลซิส (hydrolysis :KOH) และ นิวทริไลเซชัน (neutralization : H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) โปรตีนที่มี CFP เป็นองค์ประกอบจะใช้อัตราส่วน 67.2 กรัมต่อ 100 กรัม ตามความเข้มข้นที่เหมาะสมของ CFP และกลูโคส สำหรับการผลิตสารสีจะใช้ 3 และ 20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ อาหารเลี้ยงเชื้อจะกำหนดค่าพีเอชที่ 5.5 บ่มเป็นเวลา 7 วันจะเป็นช่วงเวลาที่ได้สารสีที่เหมาะสม เมื่อทำการเลี้ยงใช้ในอาหาร CFP,PP และ FP สารสีสีเหลืองมีค่าดูดกลืนแสงอยู่ที่ 2.643, 2.132 และ 2.743 ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์น้ำตาลที่เชื้อใช้ไปผลกับการเจริญของไมซีเลียมพบว่า มีแนวโน้มไปในทางเดียวกันกับการทดสอบอาหารทั้ง 3 ชนิดคือ CFP, FP และ PP สามารถสรุปได้ว่า เปปโตเนจากขนไก่ อาจจะมีสารอาหารที่ดีเพียงพอสำหรับสร้างสารสีจากเชื้อรา *M. purpureus* (Orak และคณะ, 2018)

#### ค. อุณหภูมิและพีเอช

Lin (1973) ได้มีการศึกษาการสร้างสารสีของเชื้อรา *Monascus* sp. F-2 ในอาหารที่อุณหภูมิ 27-40 องศาเซลเซียส พีเอชเริ่มต้นตั้งแต่ 2-10 พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีคือ 32 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิสูงมากกว่า 37 องศาเซลเซียส การสร้างสารสีจะลดลง ส่วนค่าพีเอชที่เหมาะสมคือ 6.0 รองลงมาคือ 5.0 และ 7.0 ตามลำดับ

Su และ Huang (1980) พบว่าเชื้อรา *M. anka* V-204 สร้างสารสีดีที่สุดที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส พีเอชเริ่มต้น 6.0 อุณหภูมิและพีเอชมีผลน้อยมากต่อการเจริญของคลิสโททีเซียมและโคนิเดีย คือ 28-30 และ 35-40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะยับยั้งการสร้างสปอร์อย่างสมบูรณ์

Yongsmith และคณะ (1993) พบว่าเชื้อรา *Monascus* sp.KB10 สร้างสารสีเหลืองและมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 330 นาโนเมตร ได้ดีที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส รองลงมาคืออุณหภูมิ 31 และ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยอาหารมีพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 2.5 ส่วนอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 40 องศาเซลเซียส และพีเอช 4.0 ตามลำดับ

## 2.3 สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

### 2.3.1 เชื้อรา *Monascus* spp. ผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ ดังนี้ (กรรณา และคณะ, 2546) แสดงดัง รูปที่ 2.2

ก. โมนาสโคฟลาวิน (monascoflavin) แยกได้เป็นครั้งแรกพร้อมกับสารสีโมนาสโครูบรินจากเชื้อรา *M. purpureus* Wentii เป็นสารสีในกลุ่มสีเหลือง สูตรโมเลกุลคือ  $C_{21}H_{26}O_5$  และน้ำหนักโมเลกุล 358 มีจุดหลอมเหลว 143-155 องศาเซลเซียส สารสีโมนาสโคฟลาวินเป็นตัวเดียวกันกับสารสีโมนาสซิน (monascin) ซึ่งแยกได้จากเชื้อรา *M. rubiginosus* Sato อยู่ในกลุ่มสีเหลือง

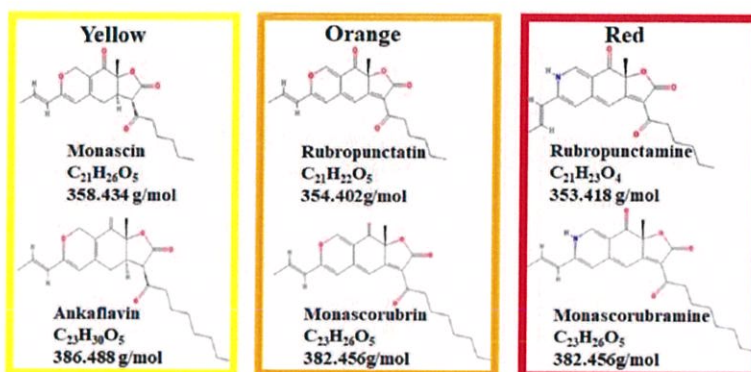
ข. อังกักฟลาวิน (ankaflovin) เป็นสารในกลุ่มสีเหลือง สูตรโมเลกุลคือ  $C_{23}H_{30}O_5$  และน้ำหนักโมเลกุล 386 มีจุดหลอมเหลว 120-121 องศาเซลเซียส สารสีอังกักฟลาวินมีสูตรโครงสร้างสัมพันธ์กับสารสีโมนาสซินเช่นเดียวกับสารสีรูโบรพังกาทาทินที่มีสูตรสัมพันธ์กับสารสีโมนาสโครูบริน

ค. รูโบรพังกาทาทิน (rubropunctatin) เป็นสารในกลุ่มสีส้ม สูตรโมเลกุลคือ  $C_{21}H_{22}O_5$  และน้ำหนักโมเลกุล 354 สารสีรูโบรพังกาทาทินสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนียมในอาหารเลี้ยงได้สารรูโบรพังกาทามีนซึ่งสามารถทำปฏิกิริยาต่อได้อีกกับสังกะสีและกรดแอสติคได้สารอะโปรูโบรพังกาทามีน (aporubropunctamine) สารนี้มีผลึกรูปเข็มสีแดง มีจุดหลอมเหลว 156-157 องศาเซลเซียส

ง. โมนาสโครูบริน (monascorubrin) เป็นสารสีในกลุ่มสีส้ม สูตรโมเลกุลคือ  $C_{23}H_{26}O_5$  และน้ำหนักโมเลกุล 382 มีจุดหลอมเหลว 134-136 องศาเซลเซียส

จ. รูโบรพังกาทามีน (robropunctamine) เป็นสารสีในกลุ่มสีแดง สูตรโมเลกุลคือ  $C_{21}H_{23}O_4N$  และน้ำหนัก 353 สารรูโบรพังกาทามีนเกิดจากสารรูโบรพังกาทามีนทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนียม

ฉ. โมนาสโครูบรามีน (monascorubramine) เป็นสารสีในกลุ่มสีแดง สูตรโมเลกุลคือ  $C_{23}H_{27}O_4N$  และน้ำหนักโมเลกุล 381 มีจุดหลอมเหลว 207-208 องศาเซลเซียส สารโมนาสโครูบรามีนเกิดจากสารโมนาสโครูบรินทำให้ปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนียม



รูปที่ 2. 2 แสดงโครงสร้างสารสีของเชื้อราโมแนสคัส

ที่มา: Chen และคณะ, 1994

สีที่ผลิตจากเชื้อราโมแนสคัสจัดเป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งไม่จำเป็นต่อการเจริญและการสืบพันธุ์ของเชื้อราโดยมีทั้งสร้างขึ้นควบคู่ไปกับการเจริญและสร้างหลังจากที่เชื้อราหยุดการเจริญ (non-growth associated) (วรรณภา, 2529) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อรา ส่วนประกอบของอาหารและสภาพการเลี้ยงเชื้อ สารสีดังกล่าวมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับสารในกลุ่ม azaphilone เช่น sclerotiorin และ rotiorin

Haws และคณะ (1959) พบว่าสีแดงจากเชื้อรา *Monascus rubropunctatus* Sato ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Czapek Dox เมื่อนำมาสกัดด้วย light petroleum และอีเทอร์ (ether) จะได้สารสีส้มของ rubropunctatin ( $C_{21}H_{22}O_5$ ) ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับสารละลายแอมโมเนียแล้วได้สารสีม่วงของ rubropunctamine ( $C_{21}H_{23}O_4$ ) นอกจากนี้ยังพบสารสีเหลืองของ monascin ( $C_{21}H_{26}O_5$ ) ซึ่งแยกได้จาก *M. purpureus* โดยนำมาทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียจะได้สารโมแนสคามีน (monascamine) ( $C_{23}H_{27}O_4N$ ) และเมื่อรวมกับสังกะสีจะเปลี่ยนเป็นโมแนสคามีนอน (monascaminone)

Fielding และคณะ (1960) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างสีจากเชื้อราโมแนสคัส คือ โมแนสซิน และรูโบพังทาทินที่ได้จาก *M. rubropunctatus* Sato และโมแนสโครูบรินได้จาก *M. purpureus* Went โมแนสซินได้จาก *M. rubiginosus* Sato นอกจากนี้ (Manchand และWhalley, 1973) ทำการแยกสารสีจาก *M. anka* Sato และพบว่าสารสีสีเหลืองคืออังกักฟลาวิน มีโครงสร้างใกล้เคียงกับโมแนสซิน

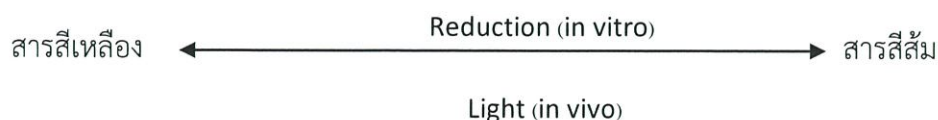
Sweeny และคณะ (1981) ได้แบ่งชนิดของสีบริสุทธิ์ที่เชื้อราผลิตออกมาได้เป็น 3 กลุ่ม ได้จากการสกัดสีของ *Monascus anka* จากข้าวแดงให้บริสุทธิ์ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ คือสารสีสีแดง ประกอบด้วย rubropunctamine และ monascorubramine สารสีสีส้มประกอบด้วย rubropunctatin และ monascorubrin และสารสีสีเหลืองประกอบด้วย monascin และ ankaflavin ซึ่งสูตรโครงสร้างแสดงดัง ภาพที่ 3 (Yongsmith และคณะ, 1993) โครงสร้างของสารสี

เหลืองตัวใหม่จากการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. KB10 ในอาหารเหลวที่ใช้แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด และ กรดกลูตามิก เป็นส่วนประกอบ ที่พีเอชเริ่มต้น 2.5-3 โดยสารสีเหลืองนี้ใช้ชื่อว่า yellow pigment II ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในช่วงความยาวคลื่น 330 นาโนเมตร มีสูตรโมเลกุลเป็น  $C_{22}H_{23}O_5$

Jongrungruangchok และคณะ (2004) ได้พบโครงสร้างสีเหลืองตัวใหม่ของ *M. kaoliang* KB20M10.2 ซึ่งเป็นมิวแทนต์สารสีเหลืองที่เลี้ยงบนปลายข้าวหอมมะลิ จากการสกัดด้วย  $CH_2Cl_2$  แยกสารสีโดยใช้ Sephadex LH-20 และ Si gel chromatography สารสีเหลืองใหม่ที่พบได้แก่ monascusone A และ monascusone B เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างสารด้วย NMR

Campoy และคณะ (2006) ได้พบโครงสร้างสารสีแดงและสารสีเหลืองตัวใหม่ผลิตโดย *M. purpureus* HP14 ที่เลี้ยงในอาหารที่เติม hexanoic acid วิเคราะห์ด้วย HPLC ที่ใช้ photodiode detector ที่ความยาวคลื่น 520 และ 390 นาโนเมตร ตามลำดับ โครงสร้างสี 2 โครงสร้างจากจำนวนที่พบทั้งหมด 5 โครงสร้าง ได้ถูกนำมาวิเคราะห์ด้วย NMR ตัวแรกคือ R3 มีชื่อโครงสร้างทางเคมีว่า 9-hexanoyl-3-(2-hydroxypropyl)-6a-methyl-9,9a-dihydro-6H-furo [2,3-h]isochromene-6,8-(6aH)-dione ตัวที่สองคือ Y3 มีชื่อโครงสร้างทางเคมีว่า 4-[2,4-dihydroxy-6-(3-hydroxybutanehiolxy)-3-methyl-phenyl][3,4-dihydroxy-3,6-dimethylheptanoic acid ดังแสดง รูปที่ 2.2 ทั้งสองตัวนี้สามารถละลายน้ำได้ดี

Wong และ Bau (1987) ได้ทำการศึกษาผลของแสงต่อการเปลี่ยนแปลงสารสีจากเชื้อรา โมแนสคัสพบว่าแสงอุตราไวโอเล็ต และสารบางอย่างที่ได้จากเชื้อ *Bacillus* sp. กระตุ้นให้เชื้อราสายพันธุ์ที่สร้างสารสีได้น้อย สร้างสารสีได้ดีขึ้น ในขณะที่เดียวกันก็ยับยั้งการสร้างสีในสายพันธุ์ที่สามารถผลิตสารสีได้สูง แสงสีขาวย แสงสีน้ำเงินและแสงสีแดงกระตุ้นการสร้างสารสีเหลืองแต่ไม่มีผลต่อสารสีแดง ทั้งนี้เนื่องจากสารสีเหลืองทำหน้าที่เป็นตัวรับแสง (photoreceptor) ซึ่งอาจเป็นสารเริ่มต้นหรือสารตัวกลางในกระบวนการสังเคราะห์สารสีก็เป็นได้ สารสีสีเหลืองนี้สามารถถูกออกซิไดซ์ไปเป็นสารสีส้มคือรูโบรฟังกาทิน ได้ในหลอดทดลอง และปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถเกิดย้อนกลับได้เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสง

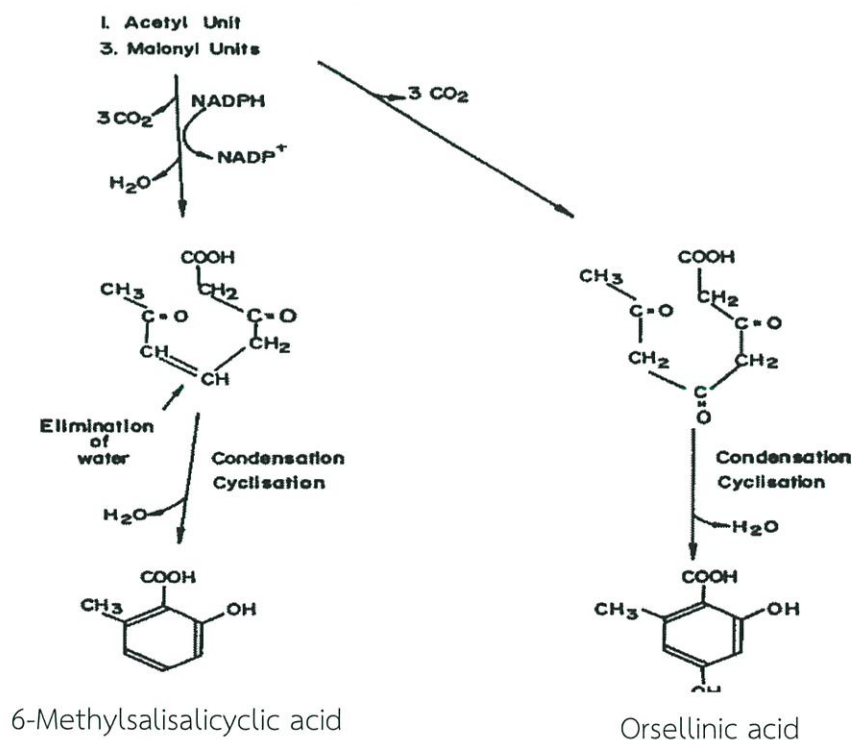


รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสารสีที่สร้างจากเชื้อรา *Monascus* sp.

ที่มา: Wong และ Bau (1987)

สารที่ได้จากการหมักเชื้อราโมแนสคัสจะใช้แหล่งอาหารในการผลิตสารเมตาบอไลต์ทั้งปฐมภูมิและทุติยภูมิ ซึ่งสารทุติยภูมินี้จะสร้างสารจำพวก สารสี ยารักษาโรคและสารพิษ เชื้อราโมแนสคัสสามารถผลิตสารทุติยภูมิเมตาบอไลต์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ ประกอบไปด้วยสารสีและโมนาโคลินส์ ซึ่งสังเคราะห์ได้จากวิถีโพลีคีไทด์ในเชื้อราโมแนสคัส

การสังเคราะห์สารสีเริ่มเกิดจากการรวมตัวกัน 1 โมล ของ acetyl-CoA กับ 5 โมลของ malonyl-CoA ได้เป็นไพรเมอร์และปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา วิธีการสังเคราะห์สารโพลีคีไทด์นั้นเหมือนกรดไขมันแต่จะไม่พบสารตัวกลางที่เกิดจากปฏิกิริยารีดักชัน ในการสังเคราะห์สารโพลีคีไทด์นั้นสายของโพลีคีไทด์จะยาวขึ้นตามจำนวนของคาร์บอน 2 หน่วยที่มาจาก malonyl unit ที่ถูกเติมเข้าไปในสายไพรเมอร์เกิดเป็น triketide tetraketide pentaketide และ polyketides ตามลำดับ ต่อจากนั้นเกิดปฏิกิริยา cyclisation และ aromatization ได้เป็น 6-methylsalicylic acid หรือ orsellinic acid ซึ่งเป็นสาร tetraketide เริ่มต้นที่จะนำไปสู่การสังเคราะห์สารโพลีคีไทด์อื่นๆ เมื่อได้สารเริ่มต้นแล้ว ปฏิกิริยาที่จะเกิดขึ้นต่อไปขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์นั้นๆ เช่น อาจจะมีการเติม หรือดึงออกซิเจนออกจากโครงสร้างของสาร เกิดปฏิกิริยา decarboxylation มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหมู่ต่างๆ ดังแสดง รูปที่ 2.4 แสดงการเกิดสาร 6-methylsalicylic acid และ orsellinic acid จาก acetyl และ malony unit



รูปที่ 2. 4 แสดงปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสารสีที่สร้างจากเชื้อรา *Monascus* sp.

ที่มา: Wong และ Bau, 1987

สารสีที่สกัดได้จาก *Monascus* sp. เช่น *rubropunctatin* จาก *M. rubropunctatus* *monascorubrin* จาก *M. purpureus* และ *monascin* (*monascoflavin*) จาก *Monascus* sp. เป็นสารประเภทโพลีคีไทด์ซึ่งเป็นเมทาบอลิท์ทุติยภูมิ โดยผลิตขึ้นมาคล้ายกับกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน อาจจะเป็นไปได้ว่าสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสและโมนาโคลิน เค นั้นถูกสร้างมาจากเอนไซม์โพลีคีไทด์ที่เหมือนกัน (สุนีย์, 2014) เชื่อว่าเอนไซม์โพลีคีไทด์ เป็นเอนไซม์ที่ใช้สังเคราะห์สารโพลีคีไทด์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับยีนที่สังเคราะห์เอนไซม์ *fatty acid synthase* จากการจำลองตัวเองที่ผิดพลาดของยีนทำให้สูญเสียขั้นตอนรีดักชัน ทำให้เอนไซม์ *polyketide synthase* ที่ทำหน้าที่สังเคราะห์โพลีคีไทด์ แทนที่จะเป็น *fatty acid synthase* ซึ่งมีหน้าที่สังเคราะห์กรดไขมัน ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสอง

การสังเคราะห์โพลีคีไทด์ถูกยับยั้งด้วยแสงสีน้ำเงิน โดยพบว่าแสงสีน้ำเงินจะกระตุ้นให้เชื้อราสร้างโคโคเดียเบต้าแคโรทีน และกรดไขมันแทนสารโพลีคีไทด์ โดยมีผลต่อเอนไซม์ที่ใช้สังเคราะห์หรือควบคุมวิถีการสร้างโพลีคีไทด์ การรับแสงสีน้ำเงินเวลาเพียง 2 นาที ก็สามารถยับยั้งการสังเคราะห์สารโพลีคีไทด์ได้แล้ว

#### 2.4 คุณสมบัติของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

Su และHuang(1980) ได้ศึกษาคุณสมบัติของสารสีจากเชื้อรา *M. anka* V-204 พบว่าละลายได้ดีในเอทานอล แต่ละลายได้เล็กน้อยในน้ำ สารสีในตัวทำละลายพีเอชต่างกันจะได้สารสีที่แตกต่างกัน ดังนี้ ที่พีเอช 3.0-4.0 จะเป็นสีส้ม พีเอช 5.0-6.0 เป็นสีแดง และที่พีเอช 7.0-9.0 จะเป็นสีม่วงแดง เมื่อแยกสารสีจากเส้นใยมาทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่ได้จากแป้งถั่วเหลืองจะได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงเข้มละลายในน้ำได้ดี สารสีจะไวต่อแสงเมื่อละลายในน้ำแต่จะทนต่อแสงมากขึ้นเมื่อละลายในเอทานอล และทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ได้ดีเมื่ออยู่ในตัวทำละลายพีเอชเป็นกลางหรือเบส

Sweeny และคณะ (1981) ทดสอบคุณสมบัติของสารสีโดยเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ดีขึ้นคือ *N-glucosylrubropunctamine* และ *N-glucosymonascorunramine* พบว่าสารทั้งสองชนิด คงสภาพต่อแสงแดดได้ดีขึ้นเมื่อเติมสาร *quercetin-5-sulfonic acid* สำหรับพีเอช 2.8 (*6-hydroxy-1,4-naphthoquinone*) สำหรับพีเอช 6.0 (*1,4,6-trihydroxynaphthalene*) ใช้ได้ดีทั้งพีเอช 2.8 และ 6.0 เป็นสารป้องกันการสลายตัวของสารสีจากแดด

Wong และ Koehler (1983) ได้นำสารสีแดงจากเชื้อราโมแนสค์สมาทำปฏิกิริยากับสารที่ไม่เป็นอันตรายและมีราคาถูกเพื่อให้ละลายน้ำได้ดี พบว่าสาร aminoacetic acid และ aminobenzoic acid ใช้กับสารสีแดงได้ดี สารซับซ้อนที่ได้คงตัวที่พีเอช 9.2 และพีเอช 7.0 มากกว่าที่พีเอช 3.0 เมื่ออยู่ในตัวทำละลายพีเอชเป็นกลางหรือต่างจะทนความร้อนและแสงอัลตราไวโอเลตได้ดี โดยเหลือสารสีมากกว่าร้อยละ 80 เมื่อได้รับแสงอัลตราไวโอเลตนาน 30 ชั่วโมง

บุษบา และวรรณภา(2528) พบว่าสารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสค์สโดยผ่านกระบวนการต่างๆ คงตัวได้ดีที่พีเอชเป็นกลางถึงต่างเช่นกัน ทนต่ออุณหภูมิน้ำเดือดนาน 15 นาทีและคงตัวได้ดีในสารละลายโซเดียมเบนโซเอท กลีเซอรอล น้ำและกรดอะซิติก ซึ่งคุณสมบัติของสารสีจากเชื้อราโมแนสค์สบางประการ ดังแสดง ตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2. 1 คุณสมบัติของสารสีจากเชื้อราโมแนสค์ส

สมบัติ	สีแดง	สีเหลือง
ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด	420 และ 500	330 และ 370
ค่าคงทนต่อ pH	4-11	2-11
สารละลาย	เอทานอล น้ำ เมทานอล	เอทานอล น้ำ แอซีโตน
ความคงทนต่อความร้อน	ดีพอใช้	ดีกว่าสีแดง
ความคงทนต่อแสง	พอใช้	ดี
ความปลอดภัย	ดี	ดี

ที่มา : บุษบา และชูลี (2531)

## 2.5 การปล่อยสารสีออกจากเส้นใยของเชื้อราโมแนสค์ส

Su และHuang (1980) กล่าวว่าสารสีที่เชื้อราโมแนสค์สสร้างขึ้นจะมีลักษณะเป็น granular fluid ซึ่งจะถูกขับออกมาตามช่องหรือรอยแตกของผนังเส้นใย ในบางครั้งเมื่อขับออกมาแล้วสารสียังคงติดอยู่กับปลายเส้นใย และสะสมจนมีจำนวนมากก่อนหลุดจากเส้นใย สารสีบางส่วนสะสมอยู่ภายในเส้นใย

ได้มีการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *M. Kaoliang* R-10847 บนอาหารแข็ง Mantou meal เพื่อศึกษาการสร้างสารสีนอกเซลล์ พบว่าเชื้อราจะเริ่มต้นสร้างสารสีและปล่อยออกนอกเซลล์ในวันที่ 2 ของการเจริญพร้อมกับสารสีที่มีลักษณะหนืดชนิดหนึ่ง (viscous substance) ทำให้สารสีเกาะติดอยู่กับเส้นใย และสะสมเพิ่มมากขึ้น จนกระทั่งเส้นใยแตกจึงหลุดออกมา ไม่พบการสะสมสารสีภายในเส้นใย และยังพบว่าการชักนำให้เชื้อราเกิดการผ่าเหล่าเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีรอยแตก (leakage) ของผนังเส้นใยมากขึ้นส่งผลให้เชื้อราสร้างสารสีได้ดี ขึ้นเนื่องจากมีความสมดุลระหว่างการสังเคราะห์สารสี และการปล่อยออกจากเส้นใย การเติมทวิน (Tween) 80 ปริมาณที่เหมาะสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

หรือปรับปรุงสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ก็เป็นอีกวิธีที่ช่วยให้การปล่อยสารสีออกจากเส้นใยเพิ่มขึ้น (Lin และ Lizuka, 1982)

## 2.6 ความปลอดภัยของสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส

การศึกษาความปลอดภัยของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสโดยทำการวิเคราะห์หาโลหะหนัก ได้แก่ โครเมียม ตะกั่ว และสารหนูในสารสี พบว่าไม่มีโลหะหนักทั้ง 3 ชนิด และเมื่อนำมาทดสอบความเป็นพิษในไขไก่ฟักเทียบกับการฉีดด้วยน้ำกลั่นตามวิธีของ AOAC พบว่าไขไก่ฟักที่ถูกฉีดด้วยน้ำสี มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับไขไก่ฟักควบคุมซึ่งฉีดด้วยน้ำกลั่น (บุษบา และวรรณภา, 2528)

บุษบา และชูลี (2531) ได้ทดสอบความเป็นพิษของสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสต่อการฟักตัวของไขไก่ ต่อการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมของเม็ดเลือดขาว จากผลการทดสอบไม่พบความผิดปกติใดๆ ในหนูทดลอง ซึ่งตรงกับการทดสอบความเป็นพิษของสีจากเชื้อราโมแนสคัสในหนูทดลอง

อารีย์ และคณะ (2530) ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบผลระหว่างสีปองโซ 4 อาร์ ซึ่งเป็นสีสังเคราะห์กับสีจากเชื้อราโมแนสคัสในการแสดงออกต่อโครโมโซมพบว่าสีปองโซ 4 อาร์ทำให้โครโมโซมของคนผิดปกติสูงถึง ร้อยละ 28.64 ขณะที่สีจากเชื้อราโมแนสคัสไม่ทำให้โครโมโซมของคนผิดปกติ

## 2.7 การใช้ประโยชน์จากสารสีโมแนสคัส

ในแถบเอเชียได้มีการใช้เชื้อรา *Monascus* spp. ผลิตอาหารหมัก เช่น ข้าวแดง ไวน์ขาว สุราเกาหลียง (kaoliang brandy) และเต้าหู้ยี้ (tofu yoo) ซึ่งก่อให้เกิดสีส้มและกลิ่นเฉพาะ นอกจากนี้ยังใช้ข้าวแดงผสมในตำรายาจีนเพื่อรักษาโรค ข้าวแดงจะมีคุณค่าทางโภชนาการการเพิ่มขึ้นเนื่องจากมีธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และวิตามินบีสูง จากการวิเคราะห์ของวิทยาศาสตร์บริการพบว่าในข้าวแดงมีปริมาณแร่ธาตุและวิตามินสูงกว่าข้าวสารมาก ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกันแล้วเห็นว่าข้าวแดงมีปริมาณวิตามินบี 2 สูงกว่าข้าวสารถึง 180 เท่า ดังแสดง ตารางที่ 2.2

เชื้อรา *Monascus* spp. บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารปฏิชีวนะที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* spp. *Bacillus* spp. และ *Pseudomonas* spp. ซึ่งทั้งสามสกุลพบว่าเป็นเชื้อที่เป็นสาเหตุก่อให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษและอาหารเน่าเสีย ซึ่งอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อตัวนี้คือ ยีสต์เอกแทรกทาการ์ (yeast extract agar, YEA) (Wong และ Koehler, 1981) ซึ่งแยกสารปฏิชีวนะจากเชื้อรา *M. purpureus* N11S แล้วนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ด้วยวิธีเปเปอร์แอสเซย์ดิสก์ (paper assay disc) พบว่าต้องใช้ปริมาณอย่างน้อยที่สุด 1.5 ไมโครกรัมต่อ 6 มิลลิเมตร

ตารางที่ 2. 2 ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณแร่ธาตุและวิตามินในข้าวสารพันธุ์ขาวมะลิและข้าวแดงที่ผลิตได้

รายการ	ข้าวพันธุ์ขาวมะลิ (มิลลิกรัมต่อ100 กรัม)	ข้าวแดงที่ผลิตได้ (มิลลิกรัมต่อ 10 กรัม)
แคลเซียม	4.30	18.70
ฟอสฟอรัส	86.70	326.00
วิตามินบี 1	0.12	0.54
วิตามินบี 2	0.04	9.28

ที่มา: กรมวิทยาศาสตร์บริการ, 2518

Shuxin และคณะ (2008) กล่าวว่าซิทรีนินและสารสีไม่มีผลกระทบต่อสารปฏิชีวนะ เมื่อใช้วิธีเปเปอร์ดิสก์แล้วจะพบว่า สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* แต่ไม่ได้ออกฤทธิ์กับ *E. coli* และ *Sacchalomyces cerevisiae*.

ข้าวแดงได้ถูกใช้เป็นส่วนประกอบในอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งเป็นสารสีจากธรรมชาติที่มีความปลอดภัย ราคาถูก โดยใช้ในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ น้ำหวาน นำนม นมเปรี้ยว น้ำผลไม้ แยม ขนมผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ผลิตภัณฑ์ซูริมิ เป็นต้น นอกจากนี้ข้าวแดงยังใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องยาจีน เนื่องจากมีสารโมนาโคลิน เค (monocolin K) โดยสารนี้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 3-hydroxy-3methylglutareyl coenzyme A (HMG-CoA) reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล ทำให้มีคุณสมบัติในการลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดได้ ใช้ในผู้ป่วยที่มีปริมาณไขมันในเลือดสูงและยังพบว่า สารสีโมนาสโครูบินจากเชื้อรา *M. anka* สามารถยับยั้งการส่งเสริมเนื้องอกในหนู เนื่องจากสารสีสามารถยับยั้งกระบวนการอักเสบ อันเกิดจากสารทีพีเอ (TPA: 12-O-tatradecanoylphorbol-13-acetate) ซึ่งเป็นสารที่ส่งเสริมการเกิดเนื้องอก

อุทัยวรรณ และเกตุการ (2014) สารโมนาโคลิน เค (monocolin K) มีผลต่อปริมาณคอเลสเตอรอล (total cholesterol) ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำ (low density lipoprotein cholesterol; LDL-C) เป็นคอเลสเตอรอลที่ไม่ดี (bad Cholesterol) ทำให้เลือดตกตะกอนเป็นลิ่มแล้วเกาะผนังเส้นเลือดเป็นสาเหตุใหญ่ที่ทำให้ผนังเส้นเลือดภายในหนาขึ้น การไหลเวียนของเลือดไม่สะดวกก่อให้เกิดการอุดตันของเส้นเลือด ส่วน HDL-C เป็นคอเลสเตอรอลที่ดี (good cholesterol) เนื่องจากนำคอเลสเตอรอลที่ไม่จำเป็นต่อร่างกายกลับไปสู่ตับแล้วขับถ่ายออกกระบวนการนี้เรียกว่า Reverse Transportation of cholesterol ถ้าในร่างกายมีระดับ HDL-C ต่ำกว่า 35 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรจะมีความเสี่ยงที่จะเป็นโรคเส้นเลือดในสมองและหัวใจอุดตัน

Wong และคณะ (2000) ได้มีการทดลองให้หนูได้รับข้าวแดงเป็นระยะ 6 เดือนหลังจากนั้น จะวัดปริมาณไขมันในเลือดและพบว่าความเข้มข้นของซีรัมไตรกลีเซอไรด์ โคเลสเตอรอล VLDL-C (very low density lipoprotein cholesterol) และ LDL-C จะลดลงส่วน HDL-C จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากข้าวแดงจะมีสารกลุ่มโมนาโคลินซึ่งเป็นสารเมแทบอลิต์ทุติยภูมิที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล

Moll และ Farr (1976) นอกจากนี้ยังมีการทดลองใช้สารสีจาก *M. rubiginosus* เจือสีในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว โดยเติมสารสีในปริมาณต่างๆ กัน 3 ระดับคือ ร้อยละ 0.2 0.5 และ 1 และนำมาเปรียบเทียบกับนมเปรี้ยวธรรมชาติ นมเปรี้ยวที่เติมสารสีร้อยละ 0.2 จะมีสีแดงอ่อนกว่านมเปรี้ยวที่เติมสารสีร้อยละ 1

Fink-Gremmels และคณะ (1991) ได้ทำการสกัดสารสีโมแนสคัส *M. purpureus* DSM 1379 ด้วยเมทานอลแล้วเติมลงในไส้กรอกแพรงเพอเตอร์เพื่อลดปริมาณไนโตรที่ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งพบว่าสารสีสกัดจะทำให้เกิดสีน้ำตาลแดง ซึ่งเป็นสีที่ผู้บริโภคต้องการในผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีไนโตรท์และเมื่อนำไปให้แสงเป็นเวลา 30 นาทีและ 2.5 ชั่วโมง สีของไส้กรอกที่เติมสารสีโมแนสคัสจะมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย

Farbe และคณะ (1993) มีการศึกษาคุณสมบัติของสารสีจาก *M. ruber* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยการใช้เอทานอลและกลูตาเมตเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน หลังจากการสกัดทำให้บริสุทธิ์จากนั้นทำการตรวจสอบคุณสมบัติของสารสีที่อยู่ในสารละลาย โดยทดสอบความคงตัวของสารสีทั้งในสารละลายและเมื่อเติมลงไปผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ พบว่าสารสีที่เติมลงในผลิตภัณฑ์จะยังคงอยู่ได้ เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานถึง 3 เดือน จะคงตัวอยู่ระหว่างร้อยละ 92-98 จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสปรากฏว่าผลิตภัณฑ์ที่เติมสารสีจาก *M. ruber* จะช่วยเพิ่มกลิ่นรส เนื่องจากสารสีรวมตัวกับกลูตาเมต

Lee และคณะ (1995) ได้มีการศึกษาการใช้ประโยชน์จากสารสีเพื่อผลิตเหล้าสาเกโดยการทำให้โปรโตพลาสฟิวชันระหว่างเชื้อรา *M. anka* กับเชื้อรา *Aspergillus oryzae* การเลี้ยงโดยใช้เทคนิคกึ่งการหมักแห้งและเลี้ยงในอาหารเหลว (solid-liquid state culture method)

ทศพร (2544) ศึกษาการใช้ข้าวแดงเพื่อปรับปรุงสีในไส้กรอกอิมัลชัน โดยเปรียบเทียบด้วยการประเมินผลทางประสาทสัมผัสกับไส้กรอกที่ใช้ผงเพอร์คร้อยละ 0.3 พบว่าข้าวแดงบดละเอียดในระดับร้อยละ 0.6 ของน้ำหนักเนื้อ ผู้ชิมให้การยอมรับมากที่สุด ส่วนการใช้สีที่สกัดจากข้าวบดละเอียด พบว่าไส้กรอกจากการใช้สีสกัดจากข้าวแดงบดละเอียดในระดับร้อยละ 0.3, 0.6 และ 0.9 ไม่มีความแตกต่างกันในเรื่องนี้และการยอมรับโดยรวมและเมื่อเก็บไส้กรอกที่ปรับปรุงสีโดยใช้ข้าวแดงบดละเอียดพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าสี

Hong และคณะ (2008) ได้ศึกษาผลของการใช้ข้าวแดง (red yeast rice: RYP) ที่ได้จากการผลิตโมแนสคัส ต่อการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ โดยการใช้ความเข้มข้นของข้าวแดง 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ชนิด HCT-116 ได้ 41 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ชนิด HT-29 ได้ 32 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าข้าวแดง มีสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ทั้งสองชนิดได้

Jeun และคณะ (2008) นำสารที่จากโมแนสคัสไปใช้เป็นสารลดคอเลสเตอรอล ได้ศึกษาการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล โดยใช้สารให้สีเหลืองที่ผลิตจากเชื้อราโมแนสคัส ผลการทดลองพบว่า สารสีเหลืองสามารถยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลได้ 36 เปอร์เซ็นต์ สารสีเหลืองนี้สามารถใช้ประโยชน์ในการควบคุมหรือลดระดับคอเลสเตอรอลในกระแสโลหิตของผู้ป่วยได้

## 2.8 เมแทบอลิต์ประเภทต่างๆจากเชื้อราโมแนสคัส

การศึกษาต่อมาพบสารเมแทบอลิต์หลายๆ ชนิดที่น่าสนใจและมีค่าทางเศรษฐศาสตร์จากเชื้อราโมแนสคัสดังรวบรวมในตารางที่ 2.3

สารเมแทบอลิต์	เอกสารอ้างอิง
<b>เอนไซม์</b>	
1. กลูโคอะมิเลส	Lizuka และ Mineki (1977) Yongsmith และคณะ.(1990) บุษบา และ วรณภา (2528)
<b>เมแทบอลิต์ปฐมภูมิ</b>	
1. เอทิลแอลกอฮอล์	Lizuka และ Mineki (1977)
2. กรดอินทรีย์	Yongsmith และคณะ.(1990) บุษบา และ วรณภา (2528)

สารเมแทบอลิต์	เอกสารอ้างอิง
<p><b>เมทาบอลิต์ปฐมภูมิ</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>3. วิตามินบี 2</li> <li>4. ไซมัน</li> <li>5. กรดไขมัน</li> </ol> <p><b>เมทาบอลิต์ทุติยภูมิ</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. สารสี(แดง,เหลือง,ส้ม)</li> <li>2. สารปฏิชีวนะ</li> <li>3. สารลดคอเลสเทอรอล(monacolin)</li> <li>4. ยาลดความดันโลหิต</li> <li>5. ยาพื้นบ้านของจีนรักษาโรคอาหารไม่ย่อย ไม่บิด,กล้ามเนื้อพกซ้ำ</li> <li>6. สารให้กลิ่นหอม(methyl ketones)</li> <li>7. สารแอนติแกแลคโตส</li> </ol>	<p>Nishikawa และคณะ. (1988)</p> <p>Tsai และคณะ (1978)</p> <p>Wong และ Koehler (1983)</p> <p>Yongsmith และคณะ (1990)</p> <p>Yasuda และคณะ.(1995)</p> <p>Fink-Gremmels และ Leistner (1989)</p> <p>Lumyong และคณะ (1990); Lumyong and Tomita ( 1993)</p> <p>รัตนา (2524)</p> <p>Rasheva และคณะ (1997)</p> <p>Juzlova และคณะ (1996)</p> <p>Chen และ Jonn (,1994); Faber และคณะ (1993)</p> <p>Sweeny และคณะ (1981); Yongsmith และคณะ (1990)</p> <p>นิตา (2537); บุชบาและนิตา (2540)</p> <p>Martinkova และคณะ (1995)</p> <p>Endo and (1986),Fink-Gremmels and Leistner (1989)</p> <p>Juzlova และคณะ (1996)</p> <p>Lin และ Lizuka (1982), Wong และคณะ (1981)</p>

## 2.9 แป้ง

Stefan และคณะ(2017) แป้งเป็นส่วนผสมสำคัญในการผลิตภัณฑ์ อาหารหลายชนิด เช่น อาหารเส้น ขนมเบเกอรี่ ขนมขบเคี้ยว ขนมหวาน อาหารแปรรูป และอาหารกึ่งสำเร็จรูป เป็นต้น ซึ่งคำว่าแป้ง เป็นคำทั่วไปใช้เรียก flour และ starch ซึ่งมีลักษณะที่แตกต่างกัน ประเภทของแป้งที่ใช้เลือกในการผลิต อาหารมีหลายประเภทด้วยวัตถุประสงค์ที่ต่างกัน ด้านลักษณะของเนื้อสัมผัส กลิ่นที่ไม่เหมือนกัน แป้ง ผลิตมาจากส่วนของพืชที่มีการสะสมอาหาร เช่น เมล็ดของข้าว ข้าวสาลี ข้าวโพด ถั่วเหลือง มันสำปะหลัง มันฝรั่ง มันเทศ และเผือก เป็นต้น นำมาผ่านกระบวนการทำให้ละเอียดด้วยวิธีการบดหรือโม่ ซึ่งมีทั้งวิธีแบบแห้ง (dry milling) และวิธีแบบเปียก (wet milling ) แป้งที่ผลิตได้โดยทั่วไป จะมีลักษณะเป็นผงแห้งมีองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติแตกต่างกันไปตามชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ผลิต

### 2.9.1. องค์ประกอบของแป้ง

ขึ้นอยู่กับชนิดของธัญพืชและส่วนของเมล็ดที่ถูกนำมาบดเป็นแป้ง ซึ่งจะทำให้แป้งมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน ส่วนประกอบของเมล็ดธัญพืชประกอบด้วยส่วนต่างๆดังนี้

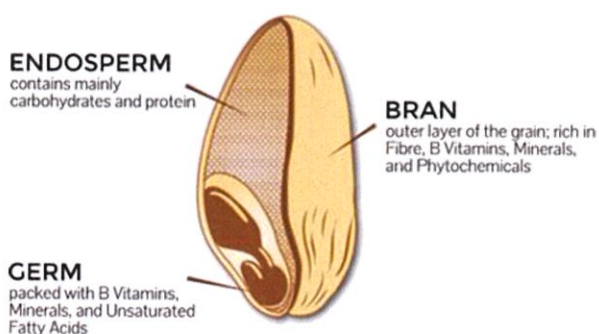
ก. รำข้าว (Bran) เปลือกนอกสุดของเมล็ด ถ้านำไปบดจะทำให้แป้งมีสีน้ำตาล พื้นผิวหยาบๆ และมีไฟเบอร์

ข. เอ็นโดสเปิร์ม (Endosperm) ส่วนแป้งของเมล็ด ประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน แป้งขาวโดยทั่วไปจะใช้ส่วนเอ็นโดสเปิร์มเพียงอย่างเดียว

ค. จมูกข้าว (Gem) ส่วนนี้สามารถนำไปปลูกต่อได้ อุดมไปด้วยวิตามิน แร่ธาตุ กาก และสารอาหารต่างๆมากมาย

ง. กลูเต็น (Gluten) คือโปรตีนที่มีอยู่ในส่วนเอ็นโดสเปิร์มของเมล็ด เป็นตัวที่ทำให้แป้งมีความนุ่มนิ่ม เหนียวยืดหยุ่นมากน้อยต่างกัน เช่น ขนมปังที่ใช้ยีสต์ เส้นพาสต้า แป้งพิซซ่า

### STRUCTURE OF A WHOLEGRAIN



รูปที่ 2.5 องค์ประกอบของเมล็ดธัญพืช

ที่มา : Lee และคณะ, 2017

ปัจจุบันนิยมนำแป้งจากธัญพืชเช่น แป้งข้าวเจ้าแป้ง ข้าวโพดมาใช้กับอุตสาหกรรมเครื่องสำอางแทน ทาลคัม ซึ่งคุณสมบัติมีดังนี้ แป้งข้าวเจ้า (rice flour) เป็นแป้งที่นำเมล็ดข้าวเจ้าบดละเอียด มีลักษณะสีขาว จับแล้วซากมือเล็กน้อยเมื่อทำให้สุกและทิ้งให้เย็นตัวลง จะมีลักษณะเป็นก้อน อยู่ตัว แต่ไม่เหนียว สีขาวขุ่น แป้งข้าวโพด (corn starch) เป็นแป้งที่นำเมล็ดข้าวโพดมาบดละเอียด มีลักษณะสีเหลืองนวล เนียนลื่นมือ เมื่อทำให้สุกจะมีลักษณะขุ่นอยู่ไม่คืนตัวง่าย เมื่อทิ้งตัวให้เย็นจะจับตัวเป็นก้อนแข็งร่วน และมันวาว (สายจิตร, 2559)

## 2.10 เครื่องสำอาง

ในปัจจุบัน เครื่องสำอางเป็นสิ่งที่สร้างเสริมบุคลิกภาพให้ดูดีเพิ่มมากขึ้น ทำให้ตลาดเครื่องสำอางของไทยมีการเติบโตอย่างต่อเนื่อง ข้อมูลจากกรมส่งเสริมอุตสาหกรรม (กสอ.) พบธุรกิจเครื่องสำอางไทยมีมูลค่าภายในประเทศ 1.2 แสนล้านบาทและส่งออก 8 หมื่นล้านบาท ซึ่งนอกจากเครื่องสำอางจะช่วยเสริมแต่งให้ดูดีขึ้นแล้วยังต้องปลอดภัยต่อผู้บริโภคด้วย เมื่อกกล่าวถึงเครื่องสำอางจะไม่ใช่เพียงผลิตภัณฑ์ที่มีสีสันทันสำหรับใช้กับใบหน้าเพื่อความสวยงาม เช่น ลิปสติกสำหรับทาปาก อายแชโดว์สำหรับทาตา และบลัชออนสำหรับทาแก้ม ดังภาพที่ 2.6 แต่เครื่องสำอางจะรวมถึงผลิตภัณฑ์ที่ใช้เพื่อทำความสะอาดร่างกาย เช่น สบู่ แชมพูสระผม และครีมนวดผม รวมทั้งผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่ใช้กับส่วนภายนอกของร่างกายในชีวิตประจำวัน เช่น แป้ง ครีมทาผิว ยาสีฟัน และน้ำยาระงับกลิ่นกาย ก็จัดเป็นเครื่องสำอางด้วยเช่นกัน



รูปที่ 2.6 เครื่องสำอางเพื่อความสวยงามเพิ่มสีสัน

ที่มา: สุนัดตา, 2017

ผลิตภัณฑ์ที่เข้าข่ายเป็นเครื่องสำอาง จะต้องเป็นไปตามคำจำกัดความในมาตรา 4 แห่งพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2558 ซึ่งกำหนดไว้ว่า “เครื่องสำอาง” หมายความว่า

1. วัตถุที่มุ่งหมายสำหรับใช้ทา ถู หนวด โขย ฟัน หยอด ใส่ อบ หรือกระทำด้วยวิธีอื่นกับส่วนภายนอกของร่างกายมนุษย์ และให้หมายความรวมถึงการใช้กับฟันและเยื่อในช่องปาก โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อความสะอาด ความสวยงาม หรือเปลี่ยนแปลงลักษณะที่ปรากฏ หรือระงับกลิ่นกาย หรือปกป้องดูแลส่วนต่างๆ นั้น ให้อยู่ในสภาพดี และรวมตลอดทั้งเครื่องประทีนต่างๆ สำหรับผิวด้วย ดังรูปที่ 2.7 แต่ไม่รวมถึงเครื่องประดับและเครื่องแต่งตัวซึ่งเป็นอุปกรณ์ภายนอกร่างกาย
2. วัตถุที่มุ่งหมายสำหรับใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอางโดยเฉพาะ หรือ
3. วัตถุอื่นที่กำหนดโดยกฎกระทรวงให้เป็นเครื่องสำอาง

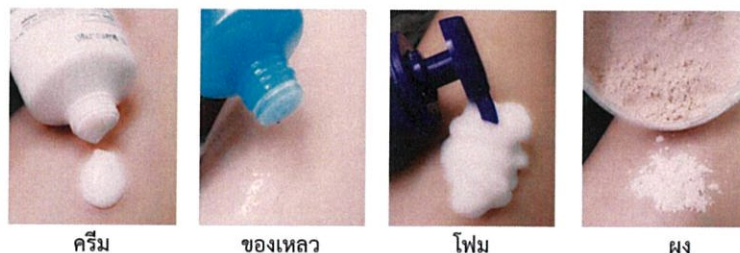


รูปที่ 2.7 เครื่องสำอางชนิดต่างๆ

ที่มา: สุนัดดา, 2017

เครื่องสำอางอาจมีได้หลายลักษณะ เช่น ครีม ของเหลว โฟม หรือผง ดังแสดง รูปที่ 2.8 และฉลากของเครื่องสำอางต้องมีลักษณะตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) กำหนดเช่น ใช้ข้อความที่ตรงต่อความเป็นจริง ใช้ข้อความภาษาไทยและมีขนาดที่สามารถอ่านได้ชัดเจน รวมทั้งต้องระบุข้อความดังต่อไปนี้

- 1) ชื่อเครื่องสำอางและชื่อทางการค้า
- 2) ชื่อและที่ตั้งของผู้ผลิต กรณีที่ผลิตภายในประเทศ ชื่อและที่ตั้งของผู้นำเข้า และชื่อผู้ผลิตและประเทศที่ผลิต และชื่อของสารทุกชนิดที่ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิต
- 3) ข้อความอื่นเพื่อคุ้มครองประโยชน์ของผู้บริโภค ตามหลักเกณฑ์และเงื่อนไขที่คณะกรรมการกำหนดโดยประกาศในราชกิจจานุเบกษา



รูปที่ 2.8 เครื่องสำอางลักษณะต่างๆ

ที่มา : สุนัดดา, 2017

### 2.10.1 ความปลอดภัยกับเครื่องสำอาง

ในปัจจุบันมีเครื่องสำอางวางจำหน่ายจำนวนมาก ซึ่งมีทั้งเครื่องสำอางที่ผ่านการตรวจเพื่อความปลอดภัยและเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารอันตราย อันตรายจากเครื่องสำอางแบ่งได้เป็นอันตรายจากสารเคมีที่เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง อันตรายจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนทั้งจากกระบวนการผลิตและปนเปื้อนภายหลังการผลิต การระคายเคืองหรือการแพ้เครื่องสำอางที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากการใช้เครื่องสำอางที่ไม่ได้มาตรฐานหรืออาจเกิดจากภาวะภูมิแพ้ที่เกิดจากการแพ้สารเคมีบางชนิดที่อยู่ในเครื่องสำอาง ซึ่งเกิดเฉพาะบางคนแม้ว่าเครื่องสำอางนั้นจะผลิตได้ตามมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ในเรื่องการใช้วัตถุที่ห้ามนำมาเป็นส่วนผสมในการผลิตสำอาง ตามที่ปรากฏในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 133 ตอนพิเศษ 114 ลงวันที่ 17 พฤษภาคม 2559 ซึ่งประกาศวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอางและมีบัญชีแนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุขนั้น

สารบางชนิดห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง เช่น ยาปฏิชีวนะ (ลำดับ 39) คลอรีน (ลำดับที่ 78) สารกัมมันตรังสี (ลำดับที่ 293) สารบางชนิดห้ามใช้ แต่มีข้อยกเว้น เช่น พรอท

(1) วัตถุที่ระบุนไว้ในประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่ออกตามความในมาตรา 6 (3) เกี่ยวกับชื่อปริมาณ และเงื่อนไขของวัตถุที่อาจใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง

(2) การปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปได้ไม่เกิน 1 ส่วนในล้านส่วนโดยน้ำหนัก (1 ppm หรือ 1 mg/kg)

ไฮโดรควิโนน (ลำดับที่ 1243X Hydroquinone (CAS No. 123-31-9) ยกเว้น วัตถุที่ระบุนไว้ในประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่ออกตามความในมาตรา 6 (3) เกี่ยวกับชื่อ ปริมาณ และเงื่อนไขของวัตถุที่อาจใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง

สารบางชนิดไม่อยู่ในรายชื่อวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง ซึ่งสามารถใช้ได้แต่ต้องไม่เกินปริมาณและเงื่อนไขที่กำหนด เช่น กรดบอริก ที่ใช้เป็นสารกันเสียผสมในแป้งฝุ่นโรยตัว กำหนดให้ต้องใช้ไม่เกินร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก แต่ห้ามใช้ในแป้งฝุ่นโรยตัวสำหรับเด็ก

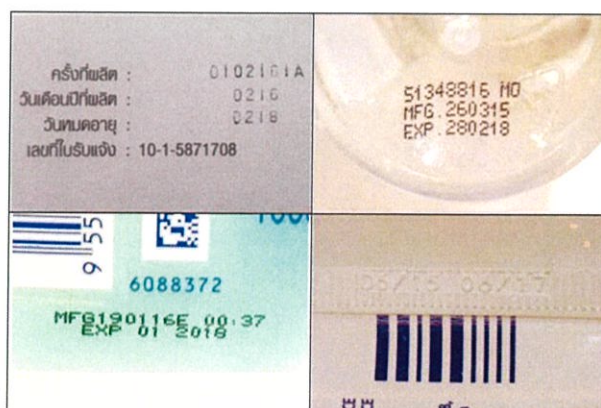
อย. ได้กำหนดให้เครื่องสำอางทุกชนิดที่จะผลิตหรือนำเข้าเพื่อขาย ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าต้องจดแจ้ง ซึ่งเป็นการยื่นรายละเอียดต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ เพื่อให้ อย. ตรวจสอบ ได้แก่ ชื่อการค้าของผลิตภัณฑ์ ชื่อสินค้า และประเภทของเครื่องสำอางและวัตถุประสงค์ในการใช้

ส่วนผสมทั้งหมด เรียงลำดับจากความเข้มข้นมากไปน้อย และระบุเปอร์เซ็นต์สำหรับส่วนผสมที่ อย. กำหนดให้เป็นสารควบคุมปริมาณโดยจะอนุมัติตามกฎหมายอาหารและยา

เมื่อผ่านการตรวจสอบข้อมูลที่ยื่นแล้ว อย. จะอนุมัติเลขที่ใบรับแจ้ง 10 หลัก ให้แก่ผลิตภัณฑ์นั้นๆ อย่างไรก็ตามการจดแจ้งสูตรนั้น อย. ไม่ได้ตรวจสอบส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ เป็นเพียงการยื่นข้อมูลส่วนประกอบ และปริมาณที่ใส่เพื่อความปลอดภัยของผู้ใช้ ดังนั้นครีมที่ผ่านการจดแจ้งและมีเลขที่จดแจ้ง ก็อาจจะไม่ปลอดภัยทั้งหมด หรืออาจมีการใส่สารต้องห้ามในภายหลัง ดังนั้นถ้าใช้ผลิตภัณฑ์ใดแล้วมีอาการแพ้ก็ควรหยุดใช้ทันที หรือถ้าไม่มั่นใจในสินค้าว่าเป็นของจริงหรือไม่ สามารถโทรสอบถามได้ที่กองเครื่องสำอาง นอกจากนี้ ผลิตภัณฑ์ที่มีเลขจดแจ้ง ก็ไม่ใช่การรับรองว่าจะไม่เกิดการแพ้เมื่อใช้ผลิตภัณฑ์นั้น เนื่องจากภาวะภูมิแพ้อาจจะขึ้นกับแต่ละบุคคลไม่เหมือนกัน

### 2.10.2 จุลินทรีย์ปนเปื้อนในเครื่องสำอาง

โดยทั่วไปเครื่องสำอางที่ยังไม่เปิดใช้จะมีอายุหลังผลิต 2 - 3 ปี เรียกว่าอายุผลิตภัณฑ์ (shelf life) ซึ่งฉลากเครื่องสำอางต้องระบุเดือนและปีที่ผลิต (MFG.; manufacture date) และเดือนปีที่หมดอายุ (EXP.; expiration date) หรือบางผลิตภัณฑ์อาจจะระบุเป็นวัน เดือน ปี และครั้งที่ผลิตด้วย ดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 ฉลากเครื่องสำอางที่ระบุเดือนปีที่ผลิตและหมดอายุ

เครื่องสำอางที่ผ่านมาตรฐานการผลิตและยังไม่หมดอายุเมื่อเปิดใช้แล้วจะมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่เกิดจากผู้ใช้เครื่องสำอางนั้น ทำให้จุลินทรีย์จากภายนอกปนเปื้อนลงไปเครื่องสำอางได้ ทั้งจากอุปกรณ์ต่างๆ เช่น แปรง ฟองน้ำ รวมทั้งการใช้นิ้วมือสัมผัสกับเครื่องสำอาง การใช้เครื่องสำอางสัมผัสกับส่วนต่างๆ เช่น ลิปสติคทาปาก มาสคาราปิดขนตา คอนซิลเลอร์และที่ผิวหน้า แม้แต่การเปิดภาชนะบรรจุก็ทำให้จุลินทรีย์จากอากาศลงไปปนเปื้อนในเครื่องสำอางได้เช่นกัน ดังแสดง รูปที่ 2.10 เมื่อเวลาผ่านไปจุลินทรีย์ที่เข้าไปปนเปื้อนเหล่านั้นก็จะเพิ่มจำนวนขึ้น

ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่บรรจุในภาชนะที่มีปริมาณมาก เมื่อเปิดใช้แล้วจะใช้เวลาานกว่าจะหมดทำให้มีความเสี่ยงสูงที่จะทำให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนระหว่างการใช้งาน เมื่อมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์จะทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมสภาพเร็วและมีลักษณะที่แตกต่างไปจากเดิมทั้งสมบัติด้านเคมีและกายภาพ เช่น เหลวหรือเหนียวกว่าเดิม สีหรือกลิ่นเปลี่ยน เกิดการตกตะกอน หรือมีการแยกส่วนของน้ำและน้ำมัน การใช้ผลิตภัณฑ์ที่เสื่อมสภาพนั้นอาจทำให้ได้รับอันตรายจากจุลินทรีย์ได้



ฟองน้ำที่ทำผิวแล้วสัมผัสกับแป้ง

ครีมรองพื้นสัมผัสกับอากาศ

มาสคาราสัมผัสกับขนตา

ลิปสติคสัมผัสกับปาก

รูปที่ 2.10 การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในเครื่องสำอางด้วยวิธีต่างๆ

ที่มา : สุนัดดา, 2017

จากพฤติกรรมต่างๆ ดังที่กล่าวมา จึงเป็นไปได้ยากที่จะหลีกเลี่ยงไม่ให้จุลินทรีย์ลงไปปนเปื้อนในเครื่องสำอาง จึงต้องมีการใส่สารกันเสียลงไปเพื่อทำลายและควบคุมไม่ให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วทำให้มีอายุการเก็บได้นาน

เมื่อเปิดใช้แล้วจุลินทรีย์จากภายนอกสามารถปนเปื้อนลงไปเครื่องสำอางได้ด้วยวิธีการต่างๆ ดังนั้นจึงมีสัญลักษณ์เพื่อบอกระยะเวลาว่าหลังจากเปิดแล้วจะสามารถใช้เครื่องสำอางนั้นได้นานเท่าใด เรียกว่าสัญลักษณ์ period-after-opening หรือ PAO เป็นตัวเลขหน้าตัวอักษร M และอยู่ภายในสัญลักษณ์กระปุกเปิดฝา เป็นตัวเลขบออายุเครื่องสำอางหลังเปิดใช้ครั้งแรก เช่น ถ้าเป็น 12M หมายถึง หลังจากเปิดแล้วสามารถใช้เครื่องสำอางนี้ภายในระยะเวลา 12 เดือน ในผลิตภัณฑ์แต่

ละชนิดอาจมีระยะเวลาหลังเปิดใช้ที่แตกต่างกัน จึงอาจเห็นตัวเลขเป็น 6M 18M หรือ 24M ก็ได้ ซึ่งตัวเลขหน้าตัว M หมายถึงจำนวนเดือนที่สามารถใช้ผลิตภัณฑ์หลังเปิดใช้ ดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 สัญลักษณ์ PAO ของผลิตภัณฑ์ต่างๆ

ที่มา: สุนัดดา, 2017

ถ้าเปิดภาชนะบรรจุแล้วควรใช้เครื่องสำอางให้หมดภายในระยะเวลาที่กำหนด อย่างไรก็ตามถ้าบนฉลากไม่มี สัญลักษณ์ PAO ก็ไม่ได้หมายความว่าเมื่อเปิดใช้แล้วจะสามารถใช้ได้จนถึงวันหมดอายุ เครื่องสำอางต่างๆ จะมีระยะเวลาหลังเปิดใช้โดยประมาณ ดังรูปที่ 2.12



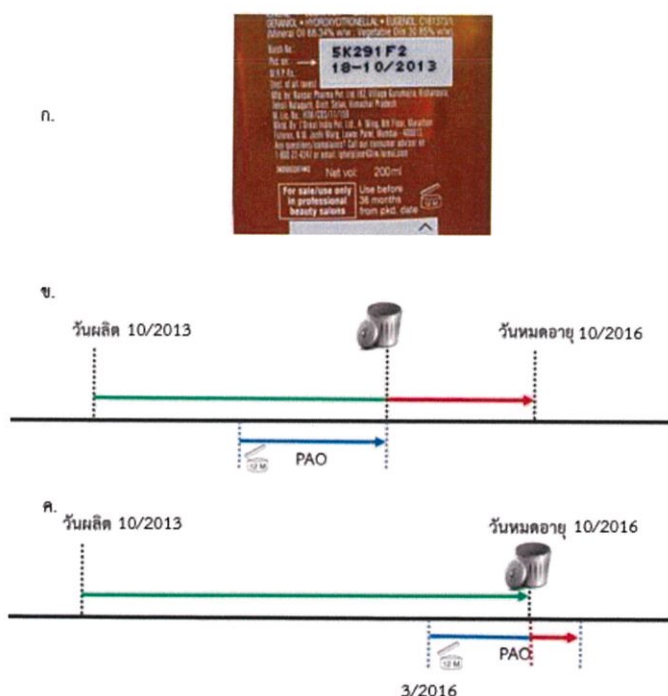
รูปที่ 2.12 ระยะเวลาหลังเปิดใช้โดยประมาณของเครื่องสำอางต่างๆ

ที่มา: สุนัดดา, 2017

หลังจากเปิดแล้วควรใช้เครื่องสำอางให้หมดภายในระยะเวลาที่กำหนด แม้ว่าจะยังไม่ถึงวันหมดอายุที่อยู่บนฉลากก็ตาม เช่น เครื่องสำอางผลิตเดือนตุลาคม ค.ศ. 2013 อายุผลิตภัณฑ์ 3 ปี จึงหมดอายุเดือนตุลาคม ค.ศ. 2016 แต่มีสัญลักษณ์ PAO ที่บอกว่าผลิตภัณฑ์มีอายุหลังเปิดใช้ 12 เดือน ดังภาพที่ 2.13 นั้นถ้าเปิดใช้เดือนธันวาคม ค.ศ. 2013 ก็สามารถใช้ได้ถึงเดือนธันวาคม ค.ศ.

2014 หลังจากนั้นไม่ควรใช้ผลิตภัณฑ์นี้แล้วแม้ว่าจะยังไม่หมดอายุก็ตาม สามารถเขียนแผนภาพได้ ดังภาพที่ 2.13 แต่ถ้าวันหมดอายุมาถึงก่อนระยะเวลาที่กำหนด เช่น เปิดใช้เดือนมีนาคม ค.ศ. 2016 แต่เมื่อถึงเดือนตุลาคม ค.ศ. 2016 ก็ควรทิ้งเครื่องสำอางเช่นกัน แม้ว่าจะมีอายุหลังเปิดใช้แค่ 8 เดือน ไม่ควรใช้ต่อไปเนื่องจากเครื่องสำอางนั้นหมดอายุแล้ว สามารถเขียนแผนภาพได้ ดังรูปที่ 2.13

เครื่องสำอางที่วางจำหน่ายจะต้องมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้จึงต้องมีการทดสอบกับสัตว์ทดลองมาก่อนที่จะนำมาใช้กับมนุษย์ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 4462 พ.ศ. 2555 ได้กำหนดคุณลักษณะที่ต้องการของเครื่องสำอาง เมื่อทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังต้องมีดัชนีการระคายเคืองต่อผิวหนังต้องไม่เกิน 1 โดยการใช้สัตว์ทดลองเป็นกระต่ายขาวสายพันธุ์นิวซีแลนด์ไวต์ เพศผู้หรือเพศเมีย สุขภาพดี น้ำหนักไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม จำนวน 3 ตัว ต่อการทดสอบ 1 ตัวอย่าง การใช้สัตว์ทดลองเป็นกระต่ายเนื่องจากมีผิวหนังที่ค่อนข้างตอบสนองไวกว่าสัตว์ชนิดอื่น และมีผิวหนังที่มีความใกล้เคียงกับมนุษย์มากที่สุด



รูปที่ 2.13 ระยะเวลาการใช้เครื่องสำอางเมื่อพิจารณาจากอายุผลิตภัณฑ์และอายุหลังเปิดใช้งาน

ที่มา : Cruz และคณะ, 2017

เครื่องสำอางบางชนิดอาจมีการใช้สัตว์ทดลองอื่นๆ เช่น หนู แมว หรือสุนัข หรืออาจจะมีการทดสอบอื่นๆ นอกจากทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนัง เช่น เครื่องสำอางที่ใช้กับดวงตา จะต้องมีการทดสอบการระคายเคืองต่อดวงตา โดยด้วยการทาหรือหยอดสารเข้าไปในตาของกระต่าย อย่างไรก็ตามมีเครื่องสำอางบางยี่ห้อที่ไม่ทดลองในสัตว์ เนื่องจากใช้สารที่เคยผ่านการทดสอบกับสัตว์มาก่อนแล้วและมีการยอมรับแล้วว่าส่วนผสมเหล่านี้ปลอดภัยสำหรับมนุษย์ จึงไม่จำเป็นต้องทดสอบ

อีก โดยที่ฉลากของเครื่องสำอางจะมีรูปกระต่ายที่ใช้เป็นสัญลักษณ์ว่าผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางนี้ไม่ได้ใช้สัตว์ในการทดสอบ ซึ่งอาจมีรูปแบบสัญลักษณ์ได้หลายแบบขึ้นกับองค์กรที่รับรอง ดังรูปที่ 2.14

อย่างไรก็ตามแม้ว่าเครื่องสำอางนั้นจะผลิตได้มาตรฐานไม่มีสารอันตราย ไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรค และผ่านการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนัง แต่ผู้ใช้อาจแพ้สารบางอย่างที่เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางซึ่งเป็นภาวะภูมิแพ้ที่เกิดเฉพาะบางคน เมื่อจะใช้เครื่องสำอางชนิดใหม่จึงควรทดสอบก่อนโดยอาจใช้วิธีง่ายๆ เช่น ทาเครื่องสำอางปริมาณเล็กน้อยที่บริเวณท้องแขน ทิ้งไว้ 24 - 48 ชั่วโมง ถ้ามีอาการบวมแดงหรือคันก็ไม่ควรใช้เครื่องสำอางนั้น หรือถ้าทดสอบแล้วไม่แพ้ แต่เมื่อใช้แล้วมีอาการผื่นปฏิกิริยาที่ต้องหยุดใช้เครื่องสำอางนั้นทันที อย่างไรก็ตามแม้ว่าเครื่องสำอางนั้นจะผลิตได้มาตรฐานไม่มีสารอันตราย ไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรค และผ่านการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนัง แต่ผู้ใช้อาจแพ้สารบางอย่างที่เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางซึ่งเป็นภาวะภูมิแพ้ที่เกิดเฉพาะบางคน เมื่อจะใช้เครื่องสำอางชนิดใหม่จึงควรทดสอบก่อนโดยอาจใช้วิธีง่ายๆ เช่น ทาเครื่องสำอางปริมาณเล็กน้อยที่บริเวณท้องแขน ทิ้งไว้ 24 -48 ชั่วโมง ถ้ามีอาการบวมแดงหรือคันก็ไม่ควรใช้เครื่องสำอางนั้น หรือถ้าทดสอบแล้วไม่แพ้ แต่เมื่อใช้แล้วมีอาการผื่นปฏิกิริยาที่ต้องหยุดใช้เครื่องสำอางนั้นทันที นอกจากนี้ในการเลือกซื้อเครื่องสำอางทุกครั้งควรซื้อจากแหล่งที่เชื่อถือได้และต้องแน่ใจว่ามีการผลิตที่ได้มาตรฐานโดยพิจารณาจากฉลากของเครื่องสำอางที่มีลักษณะตามที่กำหนดดังที่เขียนไว้ข้างต้นแล้ว และมีภาชนะบรรจุที่สมบูรณ์ไม่แตกหักหรือมีการเปิดใช้มาก่อน



รูปที่ 2.14 สัญลักษณ์ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางไม่ได้ใช้สัตว์ในการทดลอง

ที่มา: สุนัดดา, 2017

## 2.11 แป้งผัดหน้า

แป้งผัดหน้า เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นผงสีต่างๆ ใช้สำหรับตกแต่งสีผิวบริเวณใบหน้า และลำคอให้มีลักษณะสวยงามกว่าสภาพผิวธรรมดา ลักษณะโดยทั่วไปจะมีคุณสมบัติเนื้อละเอียด นุ่ม สามารถใช้ และทาติดผิวได้ง่าย ติดทนนาน กระจายตัวดี สามารถปกปิดริ้วรอยหรือรอยต่างด้า มีความกลมกลืนกับสีผิว ลดความมันบนใบหน้า มีกลิ่นหรือสีน้ำใช้ มองดูเป็นธรรมชาติ และไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ (พิมพ์พร, 2551)

### 2.11.1 ชนิดของแป้งผัดหน้า

1. ชนิดอัดแข็ง (compact face powder) เป็นแป้งผัดหน้าที่มีความนิยมนมากที่สุดในปัจจุบัน เนื่องจากเล็ก กะทัดรัด สามารถพกพาได้สะดวก ใช้ได้นาน หาซื้อได้ง่าย และมีให้เลือกหลายสี มีลักษณะเป็นผงละเอียดที่ถูกอัดเป็นแผ่นตามลักษณะของตลับบรรจุ มักเติมสารเพิ่มการยึดเกาะ และสารที่มีคุณสมบัติทึบแสงช่วยให้ปกปิดสภาพผิวที่มีปัญหาได้ดี ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจะมีหลายแบบให้เลือก โดยมีฟองน้ำเนื้อละเอียด และบางเบา ใช้สำหรับเป็นอุปกรณ์ผัดทา ดังรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.15 แป้งอัดแข็ง

ที่มา: สุนัดดา, 2017

2. ชนิดฝุ่น (loose face powder) เป็นแป้งผัดหน้าที่อยู่ในรูปผงบรรจุในตลับโดยไม่มีกัอัดแข็ง นิยมใช้ทาทับผิวหน้าหรือเป็นแป้งรองพื้นเพื่อให้ใบหน้าดูเนียน ลดความมันของใบหน้าหรือครีม โดยมีแปรงผัดหน้าที่มีขนอ่อนนุ่มใช้สำหรับเป็นอุปกรณ์ผัดทา ดังรูปที่ 2.16



รูปที่ 2.17 แป้งฝุ่นชนิดไม่อัดแข็ง

ที่มา: สุนัดดา, 2017

### 2.11.2 ส่วนประกอบโดยทั่วไปของแป้งขัดหน้า

ผลิตภัณฑ์ของแป้งโดยองค์ประกอบหลักจะมีลักษณะคล้ายกัน คือ การใช้ Talcum และสารเติมแต่งอื่นๆเช่นสารยึดเกาะสารให้สี เป็นต้น

1. ทัลคัม เป็นผลิตภัณฑ์แร่ที่ได้จากธรรมชาติ มีลักษณะเป็นผลึกหรือผงเนื้อละเอียด เมื่อสัมผัสจะรู้สึกลื่นเบา โปร่งใส หากบริสุทธิ์จะมีลักษณะสีขาว หากมีสิ่งอื่นเจือปนจะมีสีเทาหรือสีเขียวย่อน มีผลึกมากในแถบประเทศฝรั่งเศส นอร์เวย์ อียิปต์ อินเดีย ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา มีจุดด้อยคือ ปกปิดสภาพผิวได้น้อย ซึมติดผิวได้ไม่ดีนักเนื่องจากน้ำซึมผ่านได้ไม่ดี และอาจมีเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ซึ่งต้องทำการอบฆ่าเชื้อก่อนที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 1 ชั่วโมง

2. Sericite เป็นแร่จากธรรมชาติ มีลักษณะเป็นผงละเอียด ขนาดเล็ก เมื่อสัมผัสจะรู้สึกลื่นมือ หากนำไปผสมซิลิโคนจะมีคุณสมบัติเกาะติดผิว และป้องกันน้ำได้ดี และดีกว่า talcum แต่มีความละเอียด และลื่นน้อยกว่า

3. Mica เป็นสารจากธรรมชาติ มีลักษณะเป็นสีขาวอมเทา ขนาด 150 ไมครอน ใช้เป็นส่วนผสมเพื่อให้มีความโปร่งแสง

4. Kaolin เป็นสารจากธรรมชาติ สีขาวอมเทา เมื่อเปียกน้ำจะทำให้สีเข้มขึ้น มีกลิ่นเหมือนดิน มีความสามารถในการดูดซับน้ำหรือน้ำมันได้ดีใช้เพื่อลดความหนาแน่นของฝุ่นขัดหน้า ช่วยลดความเงาของ talcum

5. สังกะสี (zinc stearate) เป็นผงสีขาวใช้เพื่อเพิ่มความทึบแสง ช่วยในการเกาะติดผิว และกันน้ำได้ดี

6. แมกนีเซียมคาร์บอเนต (magnesium carbonate) มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาล ช่วยในการดูดซับน้ำ น้ำมันบนใบหน้า

7. แคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate) มีลักษณะเป็นผงสีขาว ใช้สำหรับการดูดซับความชื้น น้ำ น้ำมัน บนใบหน้า และทำให้ใบหน้าแลดูมีนวล

8. Metallic soaps เป็นส่วนผสมช่วยให้แป้งมีคุณสมบัติกันน้ำเพิ่มขึ้น

9. แป้ง (starch) เป็นส่วนผสมที่ทำให้ผิวดูนวล หากผสมมากจะทำให้จับตัวเป็นก้อนเมื่อสัมผัสกับน้ำ

10. พลาสติก (plastics) ใช้เป็นส่วนผสมที่ทำให้มีความลื่นเพิ่มขึ้น ใช้เป็นส่วนผสมเพียงเล็กน้อย

11. พอลิเมอร์ (polymer) เช่น nylon-12 lauryl, lysine, PMMA ใช้สำหรับเพิ่มความลื่น และสัมผัสที่ดีให้แป้ง

12. สารช่วยยึดเกาะ เช่น lanolin ช่วยทำให้แป้งยึดเกาะตัวกันดีขึ้นสำหรับการอัดแข็งบนตลับ

13. สารทำให้มีสี เช่น iron oxide, titanium dioxide zinc, oxide และ ultramarine เป็นสารทำให้เกิดสีที่กลมกลืนกับผิวของใบหน้า

14. สารกันเสีย (preservatives) เป็นสารที่ใช้สำหรับการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ในแป้งผัดหน้า ทำให้เก็บรักษาไว้ได้นาน สารที่ใช้ ได้แก่ พอร์มาดีไฮด์ อิมิดาโซลิดีนัลยูเรีย เมทิลคลอโรโซโทอะโคลโนน และฟีโนซีเอทานอล เป็นต้น

15. น้ำหอม ใช้สำหรับทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นหอมน่าใช้มากขึ้น น้ำหอมที่เข้มข้นเป็นสารที่สกัดจากธรรมชาติ พวกน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ

## 2.12 อาการแพ้เครื่องสำอาง (รุ่งนภา และวิบูลย์, 2554)

เครื่องสำอางในปัจจุบันมีความสำคัญทั้งกับผู้หญิงและผู้ชาย เพราะจำเป็นต้องใช้ แป้ง สบู่ แชมพู ครีมนวดผม ยาหอมผม เหล่านี้จัดเป็นเครื่องสำอางเช่นกัน เครื่องสำอางจึงเป็นของคู่กันของทุกคน เพียงแต่กับผู้หญิงอาจจะต้องมีการนำเครื่องสำอางมาประทินเพิ่ม เช่น ลิปสติก บลัชออน ยาทา รอบดวงตา อายแชร์โดว์ ดินสอเขียนคิ้ว เป็นต้น

หากใช้เครื่องสำอางมาก โอกาสเกิดการแพ้บางอย่างหนึ่งก็เพิ่มมากขึ้น อาการแพ้จะเริ่มมีตั้งแต่ อาการคัน ระคายเคือง เป็นสิ่ว เป็นผื่นดำ ผื่นรอบดวงตาจากอายชาโดว์หรือยาทาเล็บซึ่งติดอยู่บริเวณนี้ไว้แล้วไปขยี้ตา บางรายพบผื่นรอบปาก บางรายอาหารเป็นมากจนเกิดเป็นตุ่มพองใส เมื่อสงสัยว่าแพ้จะต้องงดใช้แล้วเปลี่ยนยี่ห้อ เพราะว่าบางครั้งอาจไม่ได้แพ้เนื้อครีมหรือโลชั่น แต่อาจแพ้สี น้ำหอม เพราะบริษัทที่ผลิตเครื่องสำอางยี่ห้ออื่นอาจใช้ส่วนประกอบ เช่น น้ำหอม สีที่ต่างออกไป ซึ่งช่วยทำให้ไม่แพ้ได้ ถ้ายังปัญหาและจำเป็นต้องใช้ อาจต้องปรึกษาแพทย์ เพื่อทำการทดสอบภูมิแพ้ โดยใช้วิธีแพทช์เทสต์ (patch test) โดยทาสารเคมีซึ่งสงสัยว่าแพ้ลงบนแผ่นหลังและปิดด้วยเทป หลังจากนั้นก็อ่านผลในอีก 2-3 วันต่อมา แพทย์จะให้การวินิจฉัยที่แน่นอนว่าแพ้สารเคมีตัวใด จะได้หลีกเลี่ยงได้อย่างถูกต้อง

### 2.12.1 ข้อควรระวังก่อนใช้เครื่องสำอาง จะทำให้เราใช้เครื่องสำอางได้อย่างปลอดภัย และปราศจากอาการแพ้

1. เวลาใช้เครื่องสำอางต้องปิดจุกให้แน่น
2. เก็บในที่ที่มีอากาศถ่ายเทสะดวก ไม่ร้อนอบอ้าว อย่าเก็บตากแดดไว้ในรถ เพราะอาจจะทำให้เสื่อมคุณภาพได้ง่ายขึ้น
3. ล้างหน้าให้สะอาดทุกครั้งก่อนใช้เครื่องสำอาง
4. ควรทำความสะอาดอุปกรณ์ต่างๆ เช่น แปรง ฟองน้ำ สิ่งของที่ใช้ต้องสะอาด เช่น สำลี ซึ่งใช้กับโลชั่นเช็ดหน้า
5. หมั่นตรวจดูอายุการใช้งานของเครื่องสำอางว่าหมดอายุเมื่อไร ถ้าหมดอายุแล้วก็ไม่ควรใช้

6. ไม่ควรมียืมเครื่องสำอางของผู้อื่นมาใช้ เพราะอาจจะทำให้มีการติดต่อเชื้อโรคได้ เช่น ริม

7. การเลือกใช้เครื่องสำอางควรพิจารณาก่อนตัดสินใจเลือกใช้ เพราะแรงจูงใจจากบริษัทที่ทำธุรกิจเครื่องสำอางทำให้เกิดความเชื่อผิดๆ แก่ผู้ใช้จำนวนมาก อาจจะทำให้ผู้ใช้เสียเงินเสียทองมากเกินไป เนื่องจากมักมีการค้ากำไรเกินควร ซึ่งผมคิดว่าสิ่งเหล่านี้น่าจะเป็นการไม่ซื่อสัตย์ต่อผู้บริโภค

โดยปกติเครื่องสำอางทุกชนิดทำให้เกิดอาการแพ้ได้ ไม่ว่าจะเป็นสบู่ ผงซักฟอก ยา ดับกลิ่น ยาลดเหงื่อ มาสคาร่า ยาย้อมผม ครีมบำรุงผิว ยาดัดผม ยาดัดผม ยากันแดด แชมพู ครีมโกนหนวด แป้งผัดหน้า ลิปสติก สบุน้ำหรือผลไม้ซึ่งใส่ในเครื่องสำอาง เช่น มะนาว มะกรูด เป็นต้น

การแพ้อาจแพ้สารตัวหลัก แพ้สี น้ำหอม ยากันแดด ในลิปสติกอาจแพ้สีโอซีน ครีมทาหน้าขาวอาจแพ้พวกไฮโดรควิโนน แพ้สีน้ำหอมในครีมโกนหนวด แพ้ยากันแดด หรือตัวทำละลาย เช่น โพรพีลีนไกลคอลในพวกครีมหรือโลชั่นต่างๆหรือแพ้สารพวกฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำยาทาเล็บ ซึ่งเป็นการแพ้ประเภทระคายเคือง นอกจากนั้นอาจแพ้สารพวกอะซิโตน ซึ่งก่อให้เกิดการระคายเคืองได้ ยาทาเล็บอาจทำให้เกิดอาการแพ้ในบริเวณอื่นเนื่องจากรอยเกา เช่น เปลือกตา หน้า ข้างคอ เป็นต้น

ดังนั้นในกรณีที่สงสัยว่าแพ้เครื่องสำอาง ให้หยุดใช้และรีบไปพบแพทย์ผิวหนัง แพทย์อาจจะทำแพทช์เทสต์เพื่อหาสารที่ทำให้เกิดอาการแพ้ และควรเป็นหน้าที่ของท่านในการเลือกใช้เครื่องสำอางที่มีคุณภาพมาตรฐาน มีสลากบอกสารเคมีที่แน่นอน บอกวันหมดอายุ และควรพบแพทย์เมื่อเกิดปัญหา ดีกว่าที่จะไปรักษากันตามร้านเสริมสวย ซึ่งไม่ปลอดภัย อาจทำให้เสียทั้งเงินและเสียทั้งเวลา และลงท้ายด้วยความเจ็บใจและความเจ็บปวด

### 2.12.2 การทดสอบการแพ้เครื่องสำอางด้วยวิธี Patch Test (Jan E. Wahlberg and Magnus Linndberg)

Patch Test เป็นการทดสอบอาการแพ้โดยการสัมผัสทางผิวหนัง Allergic Contact Dermatitis (ACD) ผื่นแพ้ที่เกิดจากการสัมผัสสารที่เป็นสาเหตุ ซึ่งพบได้บ่อย เช่น ถูมือยาง โลหะนิกเกิล สีย้อมผม และสารที่ใช้ในการย้อมสี สารกันบูด หรือ การแพ้น้ำหอมที่ผสมอยู่ในเครื่องสำอาง มักมีผื่นที่บริเวณผิวหนัง การแพ้อาจมีสาเหตุมาจากสารมากกว่าหนึ่งชนิด (Malten และคณะ, 1976) ดังรูปที่ 2.18

การเตรียมตัวก่อน ระหว่างและหลังการทำทดสอบ patch test ควรนำผลิตภัณฑ์ที่ใช้อยู่ หรือสงสัยอาจเป็นสาเหตุของอาการแพ้ เช่น ครีม ยาทา หรือเครื่องสำอางมาด้วย พร้อมบรรจุภัณฑ์และฉลาก



รูปที่ 2.19 การทดสอบการแพ้โดยวิธี patch test

ที่มา: สวริน, 2550

ปิดแผ่นพลาสติกที่มีสารที่จะทำการทดสอบทั้งบริเวณแผ่นหลังเป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นแพทย์จะนัดพบเพื่ออ่านผลครั้งแรกและจะนัดอ่านผลครั้งที่สองเมื่อครบ 96 ชั่วโมง ในกรณีที่สงสัยสารภูมิแพ้บางชนิด ต้องมาพบแพทย์เพื่อทำการอ่านผลการทดสอบในวันที่ 7 เพิ่มเติม ระหว่างระยะเวลาที่ทำการทดสอบ ควรระวังไม่ให้ผิวหนังเปียกน้ำหรือได้รับความชื้นโดยปกติมักปิดแผ่นพลาสติกที่บริเวณแผ่นหลัง แต่บางครั้งอาจปิดที่บริเวณแขนกรณีการทดสอบ อาจมีอาการคันหรือระคายเคืองบ้างเล็กน้อยบริเวณที่ทำการทดสอบ ซึ่งเกิดจากสารเคมีที่เป็นสาเหตุทำปฏิกิริยาให้เกิดผื่นแพ้เล็กๆ บริเวณที่ทำการทดสอบ ควรงดทำการทดสอบ patch test ในสตรีมีครรภ์

หลังทำการทดสอบ patch test เสร็จแล้ว แพทย์จะแจ้งผลให้ทราบว่าเกิดจากสารเคมีชนิดใด พบในผลิตภัณฑ์ชนิดใดบ้าง และแนะนำวิธีการปฏิบัติตัว การหลีกเลี่ยง และการป้องกันการสัมผัสสารเคมีเหล่านั้น เพื่อป้องกันการเกิดผื่นแพ้สัมผัสขึ้นมาอีก สำหรับปัญหาของผื่นระคายสัมผัส irritant contact dermatitis นั้น ไม่สามารถวินิจฉัยด้วย patch test ต้องอาศัยประวัติและอาการแสดงเป็นหลัก (Woo และคณะ, 2003)

นอกจากนี้ยังอาจทดสอบอาการแพ้ได้ด้วยวิธีการ Irritant test กล่าวคือ ฉีดสารที่สงสัยว่าทำให้เกิดภูมิแพ้นั้นผิวหนัง เทียบกับการฉีดน้ำเกลือปราศจากเชื้อ แล้วดูปฏิกิริยาว่าจุดที่ฉีดสารที่สงสัยว่าทำให้เกิดภูมิแพ้มีอาการของการแพ้ (บวมแดง) มากกว่าจุดที่ฉีดน้ำเกลือหรือไม่ หากใหญ่กว่าก็พิจารณาว่าสารดังกล่าวอาจก่อให้เกิดภูมิแพ้ในผู้ป่วยได้

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 เชื้อจุลินทรีย์

*Monascus purpureus* สายพันธุ์ U6V1 เชื้อราทำลายพันธุ์จาก *Monascus purpureus* สายพันธุ์จากพ่อแม่

#### 3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1 MYS (Malt yeast extract starch agar) (ภาคผนวก ก)

3.2.2 SS (Soybean starch medium) (ภาคผนวก ก)

3.2.3 PCA (Plate count agar) (ภาคผนวก ก)

3.2.4 MSA (Mannitol salt agar)

3.2.5 TSA (Trypticase soy agar)

3.2.6 SDA (Sabouraud Dextrose agar)

3.2.7 วัสดุแห้ง ได้แก่ ข้าวเสาไห้

#### 3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.3.1 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

(High-performance liquid chromatography) รุ่น Shimadzu, C20994007894LP, LC10ADvp

3.3.2 คอลัมน์  $\mu$  BondapakTM C18 3.9 x 300 มิลลิเมตร (Water, USA)

3.3.3 Microplate reader (BMG Lantech)

3.3.4 เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง (pH meter)

3.3.5 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น HERMLE Labortechnik GmbH, Wehingen,

Germany

3.3.6 ตู้อบแห้งสุญญากาศ (Vacuum dryer)

3.3.7 เครื่องแก้ว

3.3.8 หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)

3.3.9 เครื่องซั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น HA-300HIV

3.3.10 ตู้ปัมเชื้อแบบเขย่า (shaker)

- 3.3.11 โถดูดความชื้น (desiccator)
- 3.3.12 เครื่องวัดค่าสี ของบริษัท Minota รุ่น CR-300
- 3.3.13 ตู้บ่มเชื้อ (incubator)

### 3.4 วิธีการทดลอง

#### 3.4.1 การเก็บรักษาเชื้อราโมแนสคัส

เตรียมกล้าเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ U6V1 โดยใช้ cork borer ขนาด 4.0 มิลลิเมตร มาเจาะรูอาหารบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อรา นำมาใส่อาหารแข็ง MYS slant บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-10 วัน จากนั้นเก็บรักษาเชื้อโดยการพันปิดขอบหลอดทดลองให้แน่นด้วยพาราฟิล์มเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

#### 3.4.2 การเตรียมเชื้อเริ่มต้น (Inoculum)

นำเชื้อรา *Monascus* sp. สายพันธุ์ U6V1 มาเลี้ยงบนอาหารแข็ง MYS บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาด 4.0 มิลลิเมตร มาเจาะรูอาหารบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราจำนวน 4 ชิ้น นำมาใส่ในอาหารเหลว SS medium ที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตรอาหาร 100 มิลลิตร ที่บรรจุอยู่ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในสภาวะเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 วัน เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น

3.4.3 ศึกษาการเจริญและระยะเวลาในการสร้างสารทุติยภูมิของเชื้อราโมแนสคัสบนวัสดุแห้งข้าวเสาไห้ เพื่อผลิตสารทุติยภูมิ ดัดแปลงจากวิธีการทำข้าวแดงของ บุชบา (2542) มีขั้นตอนดังแสดงในรูปที่ 3.1

ก. การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสเพื่อการผลิตสารทุติยภูมิ บนอาหารแข็งข้าวเสาไห้  
ชั่งข้าว 250 กรัม ลงในขวดเตรียมอาหาร จากนั้นปิดปากขวดด้วยจุกสำลีแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 17.5 มิลลิตร จากนั้นนำไปวางบนเครื่องหมุนต่อเนื่องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้เมล็ดข้าวดูดซึมน้ำ จากนั้นถ่ายกล้าเชื้อโมแนสคัสที่เลี้ยงในอาหารเหลว SS medium เป็นเวลา 4 วัน ใช้ปริมาตร 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักรวมเท่ากับจำนวน 7.5 มิลลิตร ลงในข้าวที่เตรียมไว้ แล้วจึงนำไปบ่มบนเครื่องหมุนสลับนึ่งที่อุณหภูมิห้อง และเก็บตัวอย่างทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ปริมาณการเติมน้ำแต่ละสัปดาห์ ขวดปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ที่สภาวะหมუნสลับนิ่ง

ปริมาณข้าว และน้ำ	ระยะเวลาเติมน้ำ (วัน)					ปริมาณสุทธิ
	0	7	14	21	28	
ข้าว (กรัม)	250	---	---	---	---	250
น้ำ (มิลลิลิตร)	25	25	25	--		75

#### ข. การหาปริมาณความชื้นของตัวอย่างวัตถุดิบ

เก็บตัวอย่างประมาณ 1-2 กรัม ใส่จานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการอบแห้ง และชั่งน้ำหนักแล้ว นำตัวอย่างไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้น (แล้วจึงนำไปชั่งหาน้ำหนักแห้งที่แน่นอนของตัวอย่างและคำนวณหาปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์) ของวัตถุดิบ

#### ค. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และวัดค่าพีเอช

เก็บตัวอย่างข้าวประมาณ 1-2 กรัม นำมาผสมกับน้ำกลั่น ปริมาณ 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปหมუნบนเครื่องแยกสารละลายเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำสารละลายผสมไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสไปวัดค่าพีเอช และวิเคราะห์หาน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธี Somogyi-Nelson (1954) ดังแสดงในภาคผนวก ข.

#### ง. การวิเคราะห์สารสี

เก็บตัวอย่างข้าวประมาณ 1 กรัม สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บนเครื่องแยกสารละลาย เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำสารสีที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสไปวิเคราะห์หาค่าการดูดกลืนแสง เพื่อวัดปริมาณของสารสี ด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ดังแสดงในภาคผนวก ข.

#### จ. การวิเคราะห์ซิทรีนิน

เก็บตัวอย่างข้าวประมาณ 1 กรัม สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับ pH ด้วย กรดออร์โธฟอสฟอริก (ortho-phosphoric acid) 85 เปอร์เซ็นต์ ให้มีค่าพีเอชเท่ากับ 2.5 หมุนบนเครื่องสกัดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ดังแสดงในภาคผนวก ข.



### 3.4.3 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของแป้งผัดหน้า ดัดแปลงจากวิธีทดสอบแป้งผัดหน้าของภาณุพงษ์ (2558)

#### ก. ความสามารถในการไหล

นำผงแป้งมาประเมินการไหลของอนุภาคด้วยการวัดจากมุกกอง โดยวิธี funnel method ซึ่งแป้งปริมาณ 15 กรัม เทผงแป้งผ่านกรวยที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร ลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร เมื่อผงแป้งไหลผ่านกรวย จากนั้นวัดความสูงของแป้งในจาน

#### ข. ความสามารถในการทนนํ้า

ชั่งผงแป้งข้าวเจ้าผสมข้าวแดง , แป้งข้าวเจ้า , แป้งข้าวแดง ในอัตราส่วนอย่างละ 10 กรัม เทลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 150 มิลลิลิตร สังเกตการลอยตัวของสารแต่ละชนิด

#### ค. ทดสอบร้อยละการตอกอัด

1. ชั่งแป้งจำนวน 40 กรัม เทใส่กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร ระวังอย่าให้มีแรงกระทบ จากนั้นทำการบันทึกปริมาตรที่วัดได้ เพื่อคำนวณหาความหนาแน่นจำเพาะ (Bulk density)

2. ยกกระบอกตวงให้สูงจากพื้นประมาณ 1 นิ้ว แล้วปล่อยลงกระแทกเบาๆ โดยต้องเตรียมผ้าสำหรับรองพื้นไว้ ปล่อยกระแทกเบาๆ จนกระทั่งปริมาตรไม่ลดลงไปอีก จากนั้นบันทึกปริมาตรที่ได้ เพื่อคำนวณหาค่าความหนาแน่นที่ถูกกดตัน (tapped density)

3. คำนวณหาค่าร้อยละการตอกอัด ดังแสดงในภาคผนวก ข.

### 3.4.4 การศึกษาขั้นตอนการผลิตแป้งผัดหน้าที่มีส่วนผสมของผงแป้งข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นองค์ประกอบ

แป้งผัดหน้าที่มีส่วนผสมผงแป้งข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสเป็นองค์ประกอบมีทั้งหมด 3 สูตร โดยมีปริมาณส่วนผสมของผงข้าวแดงที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 20 เปอร์เซ็นต์, 30 เปอร์เซ็นต์, 40 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแป้งทั้งหมด อัตราส่วนผสมของแป้งผัดหน้าแต่ละสูตร แสดงดังตารางที่ 3.2 ซึ่งส่วนผสมในสูตรแป้งผัดหน้าประกอบด้วย เอสเซนซ์ (Essence oil) สเปรย์น้ำแร่ วิตามินอี (vitamin E) และน้ำหอม

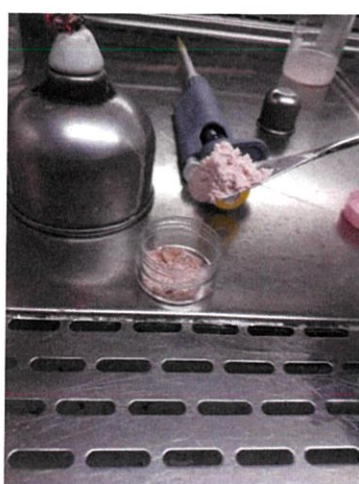
ตารางที่ 3. 2 ส่วนประกอบของสูตรแป้งผัดหน้าทั้ง 3 สูตร

ส่วนประกอบ	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3
แป้งข้าวเจ้า (กรัม)	8	7	6
แป้งข้าวแดง (กรัม)	2	3	4
เอสเซนส์ (มิลลิลิตร)	1.2	1.2	1.2
สเปรย์น้ำแร่ (มิลลิลิตร)	1	1	1
วิตามินอี (มิลลิลิตร)	0.5	0.5	0.5
น้ำหอม (มิลลิลิตร)	0.3	0.3	0.3

ก. การทำแป้งผัดหน้าที่มีส่วนผสมแป้งข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส

วิธีการทำแป้งผัดหน้า มี 4 ขั้นตอน โดยทุกขั้นตอนต้องปราศจากเชื้อ ดังรูปที่ 3.2

1. การผสมแป้งในอัตราส่วนระหว่างแป้งข้าวเจ้ากับผงแป้งข้าวแดงตามสูตรที่กำหนดนำไปฆ่าเชื้อ ด้วยวิธีการพลาสมาเจโรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง
2. นำแป้งที่ผ่านการฆ่าเชื้อใส่ส่วนประกอบต่างๆ คือ เอสเซนส์ สเปรย์น้ำแร่ วิตามินอีและน้ำหอม นำมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน
3. นำมาบรรจุใส่ภาชนะที่มีฝาปิดผ่านการฆ่าเชื้อ
4. ใช้แบงกกดทับเผาไฟ นำมากดทับจนแป้งแน่นเป็นเนื้อเดียวกัน



รูปที่ 3.2 แสดงขั้นตอนการทำแป้งผัดหน้า โดยใช้สูตรตาม ตารางที่ 3.2

### 3.4.5 การตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์

#### ก. การศึกษาระยะเวลาการฆ่าเชื้อโดยวิธีการพาสเจอไรซ์

นำตัวอย่างผงแป้งข้าวแดงใส่หลอดทดลองประมาณ 1 กรัม นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างออกมาเมื่อครบตามเวลาที่กำหนด ทำการตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นทั้งหมด โดยวิธี Total plate count ทำการเจือจางในระดับที่  $10^{-1}$  ถึง  $10^{-5}$  โดยใช้ปิเปตดูดสารละลายแต่ละระดับความเจือจางหยดลงบนผิวหน้าอาหาร PCA ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลเกลี่ยให้ทั่วบริเวณ จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จดบันทึกจำนวนโคโลนี เพื่อนำไปหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ CFU/g

#### ข. การตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในเครื่องสำอาง (Charpenlier และ Delagarde, 2018)

นำผงแป้งตัวอย่างแต่ละสูตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 12 ชั่วโมง มาทำการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคโดยใช้อาหารดังนี้

- |                            |  |
|----------------------------|--|
| 1) Mannital salt agar      | ใช้ทดสอบ <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| 2) Tryptic soy agar        | ใช้ทดสอบ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| 3) Sabouraud dextrose agar | ใช้ทดสอบ <i>Candida albicans</i>       |

เมื่อทำการตรวจสอบแล้วจะต้องตรงตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง โดยจะไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

### 3.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

3.5.1 การวิเคราะห์ลักษณะสีของข้าวแดง โดยหาจากค่าความแตกต่างทางสถิติโดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวแปรที่ทำการศึกษาด้วยวิธี Turkey Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป MINITAP

3.5.2 การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสโดยใช้การทดสอบความชอบด้วยวิธี 5 Point Hedonic Scale ใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 20 คนซึ่งในการวิเคราะห์ดังกล่าว มีแป้งข้าวเจ้าเป็นชุดควบคุมโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป MINITAP

### 3.6 ทดสอบการแพ้โดยการสัมผัส

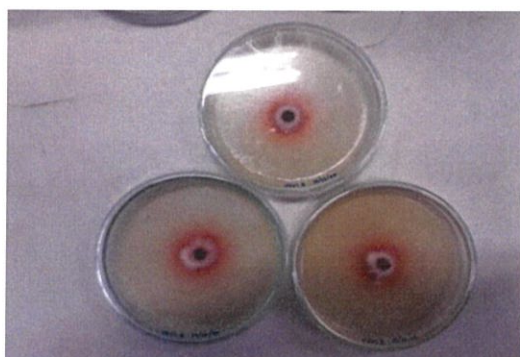
ทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังโดยการทำ patch test โดยกลุ่มอาสาสมัครเพศหญิงจำนวน 20 คน ที่มีอายุระหว่าง 21-25 ปี โดยใช้เวลาทดสอบเป็นระยะเวลา 1-2 ชั่วโมง

## บทที่ 4

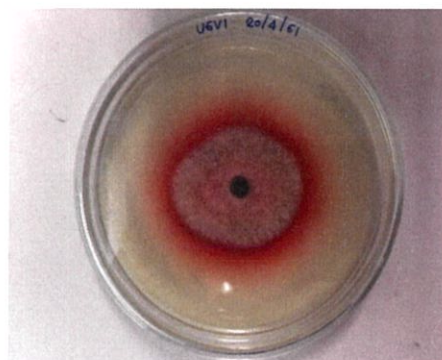
### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

#### 4.1 ผลการเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

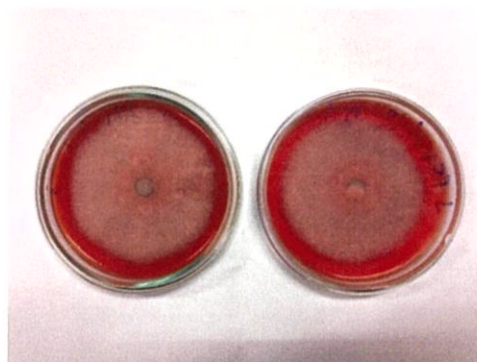
การเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* จากการสังเกตลักษณะสีฐานการเจริญของเชื้อราบนอาหารแข็ง MYS พบว่าเชื้อราสร้างเส้นใยสีขาวฟู และเมื่ออายุเพิ่มขึ้นสีของเส้นใยจะเปลี่ยนเป็นสีส้ม หรือสีแดงทั่วโคโลนี แสดงดังรูปที่ 4.1 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว ทำการตัดบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญอยู่บนอาหารแข็ง MYS ด้วย cork borer จำนวน 2 ชิ้น ใส่ลงไป ในอาหารเหลว SS เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับการผลิตสารสี แสดงดังรูป 4.2 จำนวน 4 ชิ้น



ก.



ข.



ค.

รูปที่ 4.2 ลักษณะของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนอาหาร MYS บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน (รูป ก.), 7 วัน (รูป ข.), 14 วัน (รูป ค.)

## 4.2 ผลศึกษาการเจริญและระยะเวลาในการสร้างสารสีบนข้าวเสาไห้

### 4.2.1 ผลการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสเพื่อผลิตสารสีบนข้าวเสาไห้

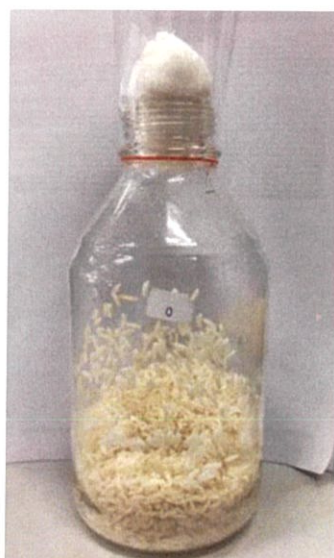
การทดลองพบว่าเชื้อราโมแนสคัสสามารถเจริญและสร้างสีได้ทั้งอาหารแข็ง การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว SS medium (รูปที่ 4.2) ซึ่งใช้เป็นก้ำเชื้อสำหรับการผลิตสารสีบนอาหารแข็งที่ใช้ข้าวเสาไห้เป็นซัพสเตรท เป็นสูตรอาหารที่ให้อัตราส่วนการเจริญเร็วพอสมควร ประกอบด้วยแป้งถั่วเหลือง และแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจนและแหล่งพลังงาน ลักษณะการเจริญของเชื้อราบนอาหารเหลว SS มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีลักษณะเป็นก้อน (pellet) แสดงดัง รูปที่ 4.3 การเตรียมข้าวเสาไห้สำหรับใช้เลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส นำข้าวใส่ขวดขนาด 1000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว จากนั้นนำไปกลิ้งบนเครื่องกลิ้ง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แสดงดัง รูปที่ 4.4 จากนั้นใช้ก้ำเชื้อราโมแนสคัสที่เลี้ยงในอาหารเหลว SS medium มาใส่ จำนวน 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่า ลักษณะการเจริญและการสร้างสารสีของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวเสาไห้ เชื้อราจะสร้างเส้นใยและสีขึ้นภายในเส้นใยโดยเห็นว่าเป็นสีแดงเข้มเมื่อมองด้วยตาเปล่า และเชื้อราจะเริ่มเจริญแทรกอยู่ที่หัวเมล็ดข้าวเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น แสดงดังรูป 4.5 เก็บตัวอย่างข้าวทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 28 วันเพื่อนำไปวิเคราะห์สารสี พีเอช วิเคราะห์น้ำตาล วิเคราะห์ซิติรีนิน และเปอร์เซ็นต์ความชื้น



รูปที่ 4.3 อาหาร SS สำหรับเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส เพื่อใช้เป็นก้ำเชื้อเริ่มต้นในการผลิตสารสีบนข้าวเสาไห้



รูปที่ 4.4 ลักษณะของเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนอาหารเหลว SS บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบ/นาทีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วันเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในการผลิตสารสีบนข้าวเสาไห้



รูปที่ 4.5 การเตรียมข้าวเสาไห้สำหรับเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส โดยใช้ข้าวจำนวน 250 กรัมใส่ในขวดขนาด 1000 มิลลิลิตร ทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว จากนั้นนำไปกลิ้งบนเครื่องกลิ้ง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง



รูปที่ 4.6 ลักษณะการเจริญและการสร้างสีของเชื้อราโมแนสคัสโดยใช้กล้าเชื้อเริ่มต้น 5 มิลลิลิตรเลี้ยงบนข้าวเสาไห้ 250 กรัมในขวด 1000 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

#### 4.3 การผลิตซีทรินินจาก *Monascus* sp. สายพันธุ์ U6V1

การเลี้ยง *Monascus* sp. สายพันธุ์ U6V1 บนอาหารแข็งโดยใช้ข้าวเสาไห้เป็นวัสดุหมัก ซึ่งบรรจุลงในขวดเลี้ยงเชื้อปริมาตร 1000 มิลลิลิตร หลังจากทำให้ข้าวปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงเติมน้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 15 มิลลิลิตรต่อข้าว 50 กรัม นำไปวางบนเครื่องหมุน เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำซึมเข้าเมล็ดข้าว เติมน้ำเชื้อเริ่มต้นปริมาตร 3 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักข้าว นำไปบ่มบนเครื่องหมุนในสภาวะหมุนสลับนิ่งอัตรา 1:3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส พร้อมเก็บตัวอย่างระหว่างการเลี้ยงเชื่อนาน 4 สัปดาห์ เพื่อใช้วิเคราะห์ค่าพีเอช ความชื้น น้ำตาลรีดิวซ์ สารสี และซีทรินิน ดังแสดงในตารางที่ 4.1 4.2 และ รูปที่ 4.6 ตามลำดับ

ผลทดลองการเลี้ยง *Monascus* sp. สายพันธุ์ U6V1 ในสภาวะหมุนสลับนิ่ง บนอาหารแข็งโดยใช้ข้าวเสาไห้เป็นวัสดุหมัก ซึ่งบรรจุลงในขวดเลี้ยงเชื้อปริมาตร 1000 มิลลิลิตร พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นลดลงจนกระทั่งถึงวันที่ 28 ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากการเคลื่อนที่ของวัสดุหมัก มีการถ่ายเทอากาศได้ดี ส่งผลให้มีการระเหยเพิ่มขึ้นซึ่งจะพบว่าในวันที่ 0-7 ช่วงแรกของการเจริญจะมีปริมาณความชื้นสูงสุดในวันที่ 0 (82.50 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่ค่าพีเอช พบว่ามีแนวโน้มลดลง (ในระดับ 6-4) ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ สำหรับการผลิตสารสีพบว่ามีค่าสูงสุดอยู่ที่ 19.7590 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และให้การผลิตซีทรินินสูงสุดอยู่ที่ 0.000334 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ในวันที่ 21 ของการเลี้ยงเชื้อ) ส่วนปริมาณน้ำตาลกลูโคสพบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นสูงที่สุดในวันที่ 14 (81.8528 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง) ซึ่งอาจส่งผลยับยั้งการผลิตสารสี และ ซีทรินิน (ซึ่งจัดเป็นสารทุติยภูมิ) จากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะมีปริมาณลดลงตามลำดับโดยในวันที่ 28 ของการเลี้ยงจะมีปริมาณน้ำตาลน้อยที่สุด

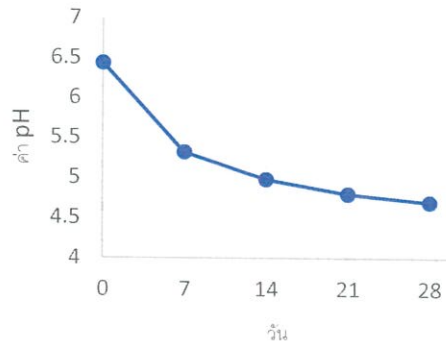
ตารางที่ 4. 1 แสดงปริมาณการเติมน้ำแต่ละสัปดาห์ ขวดปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ในสภาวะหมุนสลัปนิ่ง 1:3 ชั่วโมง

ขนาดขวด (มิลลิลิตร)	ปริมาณน้ำ	ระยะเวลาการเติมน้ำ (วัน)					ปริมาณสุทธิ
		0	7	14	21	28	
1000	ปริมาณน้ำ (มิลลิลิตร)	25	25	25	-	-	75
	ข้าว (กรัม)	250	-	-	-	-	250

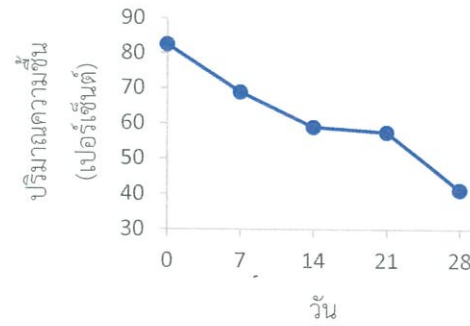
ตารางที่ 4. 2 แสดงค่าพีเอช ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/g-DSW) ปริมาณสารสี (U500/g-DSW) และปริมาณซิทรีนิน (mg/g-DSW) ในขวดอาหารขนาด 1000 มิลลิลิตร สภาวะหมนสลับนึ่ง 1:3 ชั่วโมง

วันที่เก็บตัวอย่าง	ค่าพีเอช	ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/g-DSW)	ปริมาณสารสี (U500/g-DSW)	ปริมาณซิทรีนิน (mg/g-DSW)
0	6.4	82.5	0.8786	1.9434	-
7	5.3	68.9	36.3565	19.7590	-
14	4.9	59	81.8528	4.7007	-
21	4.8	57.5	71.2795	11.0890	0.0003
28	4.7	41.2	2.6396	15.4790	-

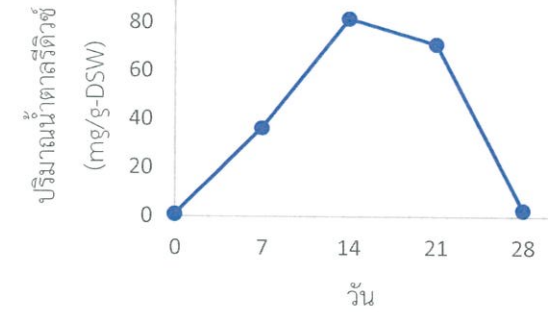
ก.



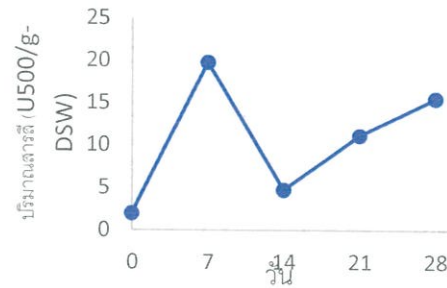
ข.



ค.



ง.



รูปที่ 4.7 การเจริญของเชื้อ *Monascus* sp. U6V1 ที่เจริญบนข้าวเส้าให้ในสถานะหมუნสลับนึ่ง 1:3 ชั่วโมง โดยที่ (ก.) ค่าพีเอช (ข.) ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์) (ค.) ปริมาณน้ำตาเลรีติวซ์ (g/g-DSW) และ (ง.) ปริมาณสารสี (U500/g-DSW)

#### 4.4 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของแป้งผัดหน้า ดัดแปลงจากวิธีทดสอบแป้งผัดหน้าของ (งามศิลป์ และคณะ, 2558)

##### 4.4.1 การทดสอบความสามารถในการไหลของผงแป้งข้าวแดง

นำแป้งมาประเมินการไหลของอนุภาคด้วยการวัดจากมูกอง โดยวิธี funnel method ชั่งแป้งจำนวน 15 กรัม เทแป้งผ่านกรวยที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร ลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร เมื่อผงแป้งไหลผ่านกรวยกรองจากนั้นวัดความสูงและรัศมีของผงแป้งในจาน

ผลทดสอบความสามารถในการไหลของผงแป้งข้าวแดง คำนวณหา Angle of repose ;  $\theta$  จากสูตร  $\tan\theta = h/r$  มีค่าเท่ากับ  $\theta = 57 (^{\circ})$  พบว่าความสามารถในการไหลของผงแป้งอยู่ในระดับที่ไม่ดี (Very poor-must agitate) เนื่องจากผงแป้งข้าวแดงมีความชื้นสูง เมื่อสัมผัสสภาวะอากาศจะเกิดการจับตัวเป็นก้อน ส่งผลให้มีอัตราการไหลผ่านกรวยกรองในระดับต่ำ ดังแสดง ดังตาราง ที่ 4.3

##### 4.4.2 การทดสอบความสามารถในการทนน้ำ

ชั่งผงแป้งข้าวเจ้าผสมผงแป้งข้าวแดง, แป้งข้าวเจ้า, ผงแป้งข้าวแดง ในอัตราส่วนอย่างละ 10 กรัม เทลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 150 มิลลิลิตร สังเกตการลอยตัวของแป้งแต่ละชนิด

ผลทดสอบความสามารถในการทนน้ำ พบว่าแป้งทั้ง 3 ชนิด ไม่สามารถทนน้ำได้ สังเกตได้จากผงแป้งที่ตกลงสู่ก้นบีกเกอร์ทั้งหมด เมื่อเวลาผ่านไป 20 นาที

##### 4.4.3 การทดสอบร้อยละการตอกอัด

ชั่งแป้งจำนวน 40 กรัม เทใส่กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร ระวังอย่าให้มีแรงกระแทกจากนั้นทำการบันทึกปริมาตรที่วัดได้ เพื่อคำนวณหาความหนาแน่นจำเพาะ (Bulk density) ยกกระบอกตวงให้สูงจากพื้นประมาณ 1 นิ้ว แล้วปล่อยลงกระแทกเบาๆ โดยต้องเตรียมผ้าสำหรับรองพื้นไว้ ปล่อยกระแทกเบาๆ จนกระทั่งปริมาตรไม่ลดลงไปอีก จากนั้นบันทึกปริมาตรที่ได้ เพื่อคำนวณหาค่าความหนาแน่นที่ถูกกดตัน (tapped density)

ผลการทดสอบร้อยละของการตอกอัด คำนวณหาค่า percent compressibility (Carr's compressibility index) จากสูตร % compressibility =  $\{1 - (\rho_b/\rho_a)\} \times 100$  มีค่าเท่ากับ 41 (Very, Very poor) พบว่าร้อยละการตอกอัดอยู่ในระดับที่ต่ำที่สุด ดังแสดง ตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4. 3 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของแป้งผัดหน้า สมบัติการไหลของผงแป้ง  
กับค่า angle of repose

Flow property	Angle of repose
Excellent	25-30
Good	31-35
Fair-aid not needed	36-40
Passable-may hang up	41-45
Poor	46-55
Very poor-must agitate	56-65
Very, very poor	>66

ตารางที่ 4. 4 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของแป้งผัดหน้าสมบัติการไหลของแป้ง  
ผัดหน้ากับค่า compressibility index

Compressibility	Flow property
$\leq 10$	Excellent
11-15	Good
16-20	Fair
21-25	Passable
26-31	Poor
32-37	Very poor
>38	Very, Very poor

#### 4.5 การตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์

##### 4.5.1 การศึกษาระยะเวลาการฆ่าเชื้อโดยวิธีการพาสเจอไรซ์

นำตัวอย่างผงแป้งข้าวแดงใส่หลอดทดลอง นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างออกมาเมื่อครบตามเวลาที่กำหนด ทำการตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นทั้งหมดโดยวิธี Total plate count ทำการเจือจางในระดับที่  $10^{-1}$  ถึง  $10^{-5}$  ใช้ปิเปตดูดสารละลายแต่ละระดับความเจือจางหยดลงบนผิวหน้าอาหาร PCA 0.1 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลเกลี่ยให้ตัวบริเวณ จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จดบันทึกจำนวนโคโลนี เพื่อนำไปหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ CFU/g

จากการทดลองการพาสเจอไรซ์ผลิตภัณฑ์แป้งผัดหน้าที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 4, 6, 8, 12 ชั่วโมง พบว่าเชื้อจุลินทรีย์มีการลดจำนวนลงเมื่อเวลาในการพาสเจอไรซ์เพิ่มขึ้น ซึ่งในชั่วโมงที่ 1 ถึง 6 มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์มากเกินมาตรฐานที่กำหนด แต่เมื่อชั่วโมงที่ 8 ของการพาสเจอไรซ์ มีการลดลงของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (CFU/g) ซึ่งผลเป็นที่ยอมรับได้ ตรงตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ที่ว่าต้องตรวจพบจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ไม่เกิน 1000 CFU/g และเมื่อชั่วโมงที่ 12 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนน้อยกว่า 25 โคโลนี ซึ่งเหมาะสมกับการผลิตผลิตภัณฑ์แป้งผัดหน้ามากที่สุด แสดงดัง ตารางที่ 4.5 ถึง 4.10 ตามลำดับ

#### 4.6 ผลการวัดสารสีเพื่อนำมาใช้ในการผลิตแป้งผัดหน้า

ผลการวัดค่าสีที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัส ด้วยเครื่อง Chroma meter (Minolta, CR-300) พบว่าสีที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัสมีสีส้มเหลือง แสดงดังตารางที่ 4.11 โดยวัดค่า  $L^*$   $a^*$   $b^*$  Chroma ซึ่งค่า  $L^*$  แสดงค่าความสว่าง, ค่า  $a^*$  แสดงค่าความเป็นสีแดง-เขียว, ค่า  $b^*$  แสดงค่าความเป็นสีเหลือง-น้ำเงิน โดยมีค่าตั้งแต่ 0 องศา ถึง 360 องศา โดยในช่วง 0 ถึง 30 องศา (สีแดง-สีแดงส้ม) ช่วง 30-60 องศา (สีแดงส้ม-สีเหลืองส้ม) และช่วง 60-90 องศา (สีเหลืองส้ม-สีเหลือง) เป็นต้น

ตารางที่ 4. 5 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถตรวจนับได้ โดยวิธี total plate count ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

วันที่	จำนวนโคโลนี					CFU/g
	1:10	1:100	1:1000	1:10000	1:100000	
7	> 250	> 250	> 250	209	90	3.02×10 <sup>6</sup>
	> 250	> 250	> 250	218	148	
14	> 250	> 250	> 250	199	97	2.92×10 <sup>6</sup>
	> 250	> 250	> 250	212	137	
21	> 250	> 250	> 250	199	151	3.20×10 <sup>6</sup>
	> 250	> 250	> 250	269	102	
28	> 250	> 250	> 250	> 250	102	3.48×10 <sup>6</sup>
	> 250	> 250	> 250	217	98	

ตารางที่ 4. 6 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถตรวจนับได้ โดยวิธี total plate count ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

วันที่	จำนวนโคโลนี					CFU/g
	1:10	1:100	1:1000	1:10000	1:100000	
7	> 250	> 250	170	126	58	3.26×10 <sup>5</sup>
	> 250	> 250	203	97	63	
14	> 250	> 250	> 250	120	54	4.45×10 <sup>5</sup>
	> 250	> 250	222	92	46	
21	> 250	> 250	> 250	139	75	5.14×10 <sup>5</sup>
	> 250	> 250	218	118	67	
28	> 250	> 250	241	107	21	2.87×10 <sup>5</sup>
	> 250	> 250	189	97	39	

ตารางที่ 4. 7 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถตรวจนับได้ โดยวิธี total plate count ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง

วันที่	จำนวนโคโลนี					CFU/g
	1:10	1:100	1:1000	1:10000	1:100000	
7	249	179	115	71	< 25	7.02×10 <sup>3</sup>
	> 250	> 250	121	71	37	
14	219	178	109	77	< 25	8.42×10 <sup>3</sup>
	> 250	182	161	63	38	
21	239	217	102	69	< 25	8.51×10 <sup>3</sup>
	> 250	243	98	54	38	
28	> 250	> 250	241	> 250	102	5.46×10 <sup>3</sup>
	> 250	> 250	189	217	98	

ตารางที่ 4.8 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถตรวจนับได้ โดยวิธี total plate count ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

วันที่	จำนวนโคโลนี					CFU/g
	1:10	1:100	1:1000	1:10000	1:100000	
7	134	74	27	< 25	N	2.02×10 <sup>3</sup>
	128	82	< 25	< 25	N	
14	LA	59	< 25	N	N	2.47×10 <sup>3</sup>
	141	71	25	< 25	N	
21	124	89	32	< 25	N	2.09×10 <sup>3</sup>
	139	64	< 25	< 25	N	
28	147	60	< 25	N	N	1.75×10 <sup>3</sup>
	105	72	< 25	N	N	

ตารางที่ 4. 9 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถตรวจนับได้ โดยวิธี total plate count ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

วันที่	จำนวนโคโลนี					CFU/g
	1:10	1:100	1:1000	1:10000	1:100000	
7	42	< 25	< 25	N	N	3.90×10 <sup>2</sup>
	36	< 25	< 25	N	N	
14	45	25	< 25	N	N	4.80×10 <sup>2</sup>
	31	< 25	< 25	N	N	
21	31	< 25	< 25	N	N	2.90×10 <sup>2</sup>
	28	< 25	N	N	N	
28	30	< 25	< 25	N	N	3.15×10 <sup>2</sup>
	33	< 25	N	N	N	

ตารางที่ 4.10 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถตรวจนับได้ โดยวิธี total plate count ที่ผ่านการพาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

วันที่	จำนวนโคโลนี					CFU/g
	1:10	1:100	1:1000	1:10000	1:100000	
7	< 25	< 25	< 25	N	N	} ไม่สามารถวิเคราะห์ผลได้ เนื่องจากมีโคโลนีน้อยกว่า 25 โคโลนี
	< 25	< 25	N	N	N	
14	< 25	< 25	< 25	N	N	
	< 25	< 25	N	N	N	
21	< 25	< 25	< 25	N	N	
	< 25	< 25	N	N	N	
28	< 25	< 25	< 25	N	N	
	< 25	< 25	< 25	N	N	

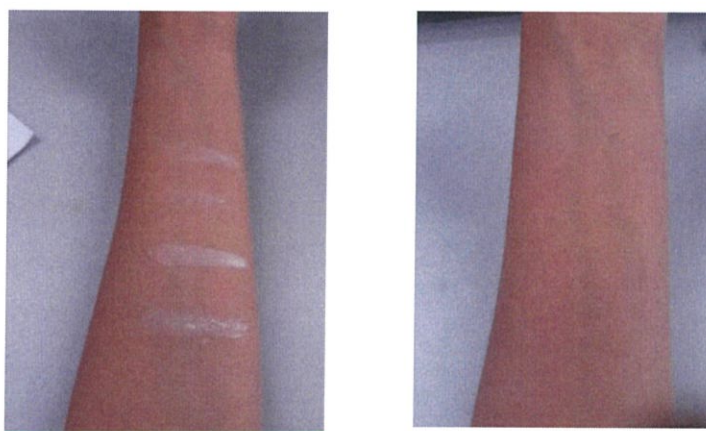
ตารางที่ 4.11 ค่าการวัดสีจากข้าวแดงที่ได้จากเชื้อราโมแนสค์ด้วยเครื่อง Chroma meter

วัน	L*	a*	b*	เฉดสี
7	73.27	42.65	32.15	OR*
14	73.51	42.37	31.63	OR*
21	83.70	32.45	21.85	OR*
28	82.06	32.07	23.53	OR*

หมายเหตุ \* คือ สีส้มแดง

#### 4.7 ทดสอบการระคายเคืองของผิวหนังของแป้งผัดหน้า

จากการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังโดยการทำ patch test โดยการใช้ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มอาสาสมัครจำนวน 20 คนพบว่าผลิตภัณฑ์แป้งผัดหน้าที่มีส่วนผสมของผงแป้งข้าวแดง ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองในกลุ่มอาสาสมัครทั้ง 20 คน ที่ทำการทดสอบด้วยวิธี patch test เป็นระยะเวลา 1-2 ชั่วโมงแสดงดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.8 การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังโดยการทำ patch test ขณะใช้ผลิตภัณฑ์และหลังใช้ผลิตภัณฑ์

#### 4.8 การทดสอบความพึงพอใจของแป้งผัดหน้า

โดยทำแบบสอบถามความพึงพอใจจากอาสาสมัครจำนวน 20 คน โดยที่ทดสอบการใช้ผลิตภัณฑ์บริเวณท้องแขน และให้คะแนนความพึงพอใจในด้านต่างๆ ของแป้งผัดหน้าทั้ง 3 สูตร แสดงดัง ตารางที่ 4.10ข

ตารางที่ 4.12 ผลการทดสอบความพึงพอใจแป้งผัดหน้าด้านการสัมผัสต่างๆ

สูตร	การทดสอบความพึงพอใจด้านต่างๆ				
	สีของผลิตภัณฑ์	กลิ่นของผลิตภัณฑ์	ความลื่นหลังทา	ความติดทนหลังทา	ความชอบรวม
สูตรที่ 1(แป้งข้าวเจ้า)	3.400 <sup>a</sup> ±1.095	3.800 <sup>a</sup> ±1.196	2.500 <sup>c</sup> ±1.235	3.150 <sup>a</sup> ±0.933	3.350 <sup>ab</sup> ±0.933
สูตรที่ 2(แป้งข้าวแดง 20 เปอร์เซ็นต์)	3.200 <sup>a</sup> ±0.951	3.200 <sup>ab</sup> ±1.005	2.650 <sup>bc</sup> ±0.813	2.600 <sup>a</sup> ±0.995	3.000 <sup>b</sup> ±0.973
สูตรที่ 3(แป้งข้าวแดง 30 เปอร์เซ็นต์)	3.700 <sup>a</sup> ±0.801	3.600 <sup>a</sup> ±0.754	3.350 <sup>ab</sup> ±0.587	3.100 <sup>a</sup> ±0.852	3.800 <sup>a</sup> ±0.834
สูตรที่ 4(แป้งข้าวแดง 40 เปอร์เซ็นต์)	3.500 <sup>a</sup> ±1.051	2.650 <sup>b</sup> ±1.309	3.550 <sup>a</sup> ±0.759	2.650 <sup>ab</sup> ±1.040	3.200 <sup>ab</sup> ±0.768

จากตารางที่ 4.12 ผลการทดสอบความพึงพอใจของแป้งผัดหน้าสูตรต่างๆ ผลการประเมินความพึงพอใจหลังการใช้แป้งผัดหน้าโดยมีคะแนนเต็ม 5 คะแนน ด้านสีของผลิตภัณฑ์ พบว่าสูตรที่ 3 มีคะแนนสูงกว่าแป้งผัดหน้าสูตรอื่นแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) ด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์ พบว่าสูตรที่ 1 มีคะแนนที่สูงกว่าแป้งผัดหน้าสูตรอื่นแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) ด้านความลื่นหลังทา พบว่าสูตรที่ 4 มีคะแนนสูงที่สุด เมื่อมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) ด้านความติดทนหลังทา พบว่าทุกสูตรไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) และด้านความชอบโดยรวม พบว่าสูตรที่ 3 มีคะแนนสูงที่สุดเมื่อมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ )

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับใช้ในการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส โดยลักษณะ สัณฐานของการเจริญบนอาหารแข็ง MYS พบว่าเชื้อราสร้างเส้นใยสีขาวฟู และเมื่ออายุมากขึ้นสีของ เส้นใยจะเปลี่ยนเป็นสีส้ม หรือสีแดงทั่วโคโลนี จากการทดลองพบว่าเชื้อราโมแนสคัสสามารถเจริญ และสร้างสารสีได้ทั้งในอาหารเหลวและอาหารแข็ง เมื่อเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว SS medium ลักษณะการเจริญของเชื้อราบนอาหารเหลว SS มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีลักษณะ เป็นก้อน (pellet) ส่วนลักษณะของการเลี้ยงบนอาหารแข็งข้าวเสาไห้ มีลักษณะกึ่งแข็ง จากนั้นใช้ กล้าเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเหลว SS medium ใส่ลงในข้าวเสาไห้ที่เตรียมไว้ เชื้อราจะสร้างเส้นใยและ สารสีขึ้นภายในเส้นใยโดยเห็นเป็นสีแดงเข้มเมื่อมองด้วยตาเปล่า และเชื้อราจะเริ่มเจริญแทรกอยู่ที่หัว เมล็ดข้าวเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ศึกษาการเจริญและระยะเวลาในการสร้างสารสีของเชื้อรา โมแนสคัสบนข้าวเสาไห้เพื่อให้ทราบลักษณะการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวเสาไห้ และ ระยะเวลาที่เชื้อสร้างสารสีได้สูงสุดพบว่าที่ระยะเวลาการเลี้ยงที่ 28 วัน เนื่องจากช่วงวันที่ 28 อาหาร เริ่มหมดผลจึงส่งผลให้สร้างสารทุติยภูมิ ซึ่งจะมีปริมาณน้ำตาลน้อยที่สุด การวิเคราะห์แนวโน้มค่าพี เอชและเปอร์เซ็นต์ความชื้นพบว่าจะมีค่าลดลงเมื่อเชื้ออายุเพิ่มขึ้น ศึกษาขั้นตอนการผลิตแป้ง ผัด หน้าที่มีส่วนผสมของผงแป้งข้าวแดงจากสารสีเชื้อราโมแนสคัส เพื่อพัฒนาสูตรที่ใช้สีจากธรรมชาติ คือ ผงแป้งข้าวแดงจำนวน 3 สูตร การทดสอบทางกายภาพของแป้งผัดหน้า พบว่าผ่านมาตรฐาน ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.) ในคุณสมบัติทางกายภาพของแป้งผัดหน้า คือ การวัดค่าสี  $L^* a^* b^*$  ของผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 สูตร มีสีส้มแดงทั้ง 3 สูตร แต่มีความเข้มข้นของเนื้อแป้งและกลืนที่แตกต่างกัน ออกไปตามปริมาณของผงแป้งข้าวแดงที่ใช้ การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังของแป้งผัดหน้า โดยการทำให้ patch test เป็นระยะเวลา 1-2 ชั่วโมง กับกลุ่มอาสาสมัคร 20 คนพบว่าผลิตภัณฑ์แป้ง ผัดหน้าทั้ง 3 สูตร ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองในกลุ่มอาสาสมัครทั้ง 20 คน การทดสอบความพึง พอใจของแป้งผัดหน้ากับอาสาสมัครจำนวน 20 คน เพื่อหาผลิตภัณฑ์ที่อาสาสมัครพึงพอใจในด้าน ต่างๆของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ กลิ่น สี เนื้อสัมผัส ความสิ้น พบว่าอาสาสมัครชอบแป้งผัดหน้าสูตรที่ 3 มากที่สุด คือ สูตรแป้งผัดหน้าที่มีส่วนผสมของผงแป้งข้าวแดงปริมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแป้ง ผัดหน้า รองลงมาคือสูตรที่ 1, 4 และสูตรที่ 2 ตามลำดับ

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส ควรศึกษาปัจจัยอื่นๆ ให้มากยิ่งขึ้น เพื่อให้ได้ปริมาณสารสีที่สูงขึ้นและประหยัดต้นทุน
2. การพัฒนาสีสำหรับผงแป้งข้าวแดงที่นำมาผสมกับแป้งข้าวเจ้าให้กลายเป็นผลิตภัณฑ์แป้งผัดหน้า นำมาเลี้ยงในสภาวะและการควบคุมที่ต่างกันจะสามารถสร้างสารสีได้หลายสี ทั้งสีเหลือง สีส้ม สีแดง ดังแสดงในการทดลองเพื่อให้เป็นทางเลือกแก่บริโภคมากยิ่งขึ้น
3. การศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์แป้งผัดหน้าที่มีส่วนผสมของผงแป้งข้าวแดงที่ได้มาจากเชื้อราโมแนสคัส เพื่อที่จะสามารถทำนายอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ในช่วงเวลาระหว่างเก็บรักษา เช่น ความคงตัวของสี ความแน่นของเนื้อแป้ง ความเปลี่ยนแปลงกลิ่นของผลิตภัณฑ์
4. การศึกษาการแพ้โดยวิธี patch test ควรทดสอบกับอาสาสมัครจำนวนที่มากขึ้น และช่วงอายุของอาสาสมัครควรมีช่วงที่หลากหลาย

# บรรณานุกรม

## บรรณานุกรม

- กมลวรรณ ตันโสภณ และดวงใจ โอชัยกุล. 2554 “การผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus*.TISTR 3090 บนลูกเดือยในสภาวะอาหารแข็ง.” การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49 : สาขาวิทยาศาสตร์
- กรุณา โชติฤทธิไกร, จิราพร จันทรา และสินีท์ วุฒิกมลสมบัติกุล. 2546. “การหมักเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ร่วมกับแบคทีเรียเซลลูโลสและการคงตัวของสีในผลิตภัณฑ์ที่ได้.” วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
- กรมวิทยาศาสตร์บริการ, 2518. การศึกษาการทดลองผลิตข้าวแดง ระดับห้องปฏิบัติการและรายงานกิจกรรม กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม
- งามศิลป์ กาบทอง, ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ,และปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง 2558. “การพัฒนาสีจากแก้วมังกรแดงร่วมกับแป้งข้าวเจ้าเพื่อพัฒนาเป็นแป้งผัดหน้า.” สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 2 ฉบับที่ 1
- ชยุต ชุรัมย์ย์. 2557. “การสร้างสารสีและสารลดคลอเรสเตอรอลบนมันสำปะหลังโดยเชื้อราโมแนสค์ด้วยวิธีหมักแบบแข็ง”. สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- ทศพร นามโฮ้ง. 2544. “การใช้ข้าวแดงเพื่อปรับปรุงสีในไส้กรอกอิมัลชัน.” คณะเทคโนโลยีการอาหารวิทยาเขตพระนครศรีอยุธยา หันตรา สถาบันเทคโนโลยิราชมงคล, อยุธยา.
- นงนุช เมธิยนต์พิริยะ และสุจิตรา วิมลจิตติ. 2547. ศึกษาวิเคราะห์สีผสมอาหารในลูกกวาดเชิงคุณภาพและปริมาณ. กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.
- นิตา บุตรดา. 2537. “การกลายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสค์ส กบ.11304 ให้กลายเป็นไม่สร้างสีและเปรียบเทียบสมบัติบางประการกับสายพันธุ์พ่อแม่ สายพันธุ์กลายพันธุ์สีแดง และสีเหลือง.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต.สาขาวิชา จุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- บุษบา ยงสมิทธิ์ และวรรณาทาปโลกา. 2528. “สีผสมอาหารจากมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อรา  
โมแนสคัส.” *วิทยาสารเกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์*, ปีที่ 19, ฉบับที่ 1, หน้า 45-50.
- บุษบา ยงสมิทธิ์ วิเชียร ยงมานิตชัย สนทนา แสงจันทร์ และชูลี ชัยศรีสุข, 2531. “การผลิตสีผสม  
อาหารจากมันสำปะหลังเพื่ออุตสาหกรรมหมัก.” *รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์เสนอต่อ  
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ*, กรุงเทพฯ หน้า 225.
- บุษบา ยงสมิทธิ์. 2540. *จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี*. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- พิมพ์ร ลีลาพรพิสิฐ. 2551. *เครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง (พิมพ์ครั้งที่2)*. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์  
พระราชบัญญัติเครื่องสำอางค์, 2558 ประกาศในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 132 ตอนที่ 86ก วันที่ 8  
กันยายน พ.ศ.2558. Available[online]: [http://library2.parliament.go.th  
/giventake/content\\_nla2557/law86-080958-5.pdf](http://library2.parliament.go.th/giventake/content_nla2557/law86-080958-5.pdf). (Retrieved 05/08/2016).
- ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร. (2556). *คู่มือปฏิบัติการ  
เทคโนโลยีเภสัชกรรม 2*. นครปฐม: หน่วยผลิตเอกสารคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัย  
ศิลปากร
- เรณู ปิ่นทอง. 2547. “การผลิตข้าวแดงที่ปลอดภัยเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร.” *วารสาร  
วิทยาศาสตร์* 322-337.
- รุ่งนภา กงวงษ์ และวิบูลย์ วัฒนนามกุล. 2554. “การศึกษา/พฤติกรรมการใช้เครื่องสำอางอันตราย  
ของวัยรุ่นหญิง จังหวัดอุบลราชธานี.” *ว.เภสัชศาสตร์อีสาน* 2554; 7(1):76-87
- รัตนา สุขสรรค์. 2524. “ข้าวแดงสีธรรมชาติสำหรับใช้ผสมอาหาร”. *วารสารวิทยาศาสตร์* 35:336-  
337.
- วรรณาทาปโลกา. 2529. ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตสีของโมแนสคัสที่เจริญบนอาหารแป้งมัน  
สำปะหลังในสภาพหมักเปียก. *วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาบัณฑิต  
วิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์*.

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- วรฤทธิ เอกวัฒนกุล. 2550. การศึกษาประสิทธิภาพของซิงค์ที่มีส่วนประกอบของเด็กซ์แพนทีนอล (Dexpanthenol) ในการรักษาผู้ป่วยโรคผื่นสัมผัสที่มีมือ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจดวิทยา, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
- วาฬิสมา เมืองแมน และอลิษา สุนทรวัฒน์. 2558. “การผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus sp.* โดยใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร:รำข้าวหรือกากถั่วเหลือง.” ปีที่1 ฉบับที่2 กรกฎาคม-ธันวาคม 2558, ว.วิทย.เทคโนโลยี.หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ 45. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ สมุทรปราการ 10540
- ศิริลักษณ์ อรุณจิตต์. 2557. “การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแป้งทัลคัมและซิงค์ออกไซด์ครีมในการป้องกันผื่นผ้าอ้อมในเด็ก.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจดวิทยา, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
- สุนัดดา โยมญาติ. 2017 “เครื่องสำอางสวยอย่างปลอดภัย.” [online].Available : biology.lpst.ac.th
- สุนีย์ เอียดมุสิก, 2014. “การใช้ประโยชน์วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจากการหมักด้วยเชื้อราโมแนสคัส.” *KK Res.J.2014*; 19(1):92-106
- สิริพร อักษร, วงเดือน บุตรหนัน และปาริยา ณ นคร. 2556. “ความคงตัวของสีแดงที่สกัดได้จากการเลี้ยงราที่คัดแยกได้ในอาหารเหลว.” *Thai Journal of science and Technology*.ปีที่ 2. ฉบับ 3. กันยายน-ธันวาคม 2556. หน้า 45-52. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
- สายจิต ดาวสุโข. 2559. “แป้งฝุ่นเด็ก ทัลคัมและข้อควรระวัง.” กรุงเทพฯ: สำนักเทคโนโลยีชุมชน.
- อารีย์ เสือก้อน, นิตยา เลหาจินดา, ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ และธวัช ขนบดี, 2530 .การเปรียบเทียบการทดสอบผลของสีผสมอาหารในกลุ่มอะโซบางชนิด และสีที่ได้จากการหมักเชื้อรา *Monascus sp.* ในโครโมโซมคน. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 25

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- อาภรณ์ วงศ์วิจารณ์ และพรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์. 2543. “การใช้สารสีของเชื้อราโมแนสคัสในผลิตภัณฑ์อาหาร.” ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
- อุทัยวรรณ ฉัตรธง และเกตุการ ดาจันทา. 2014. การสร้างโมนาโคลิน ซิตรีนิน และสารสีในอังกักจากเศษเหลือเส้นก๋วยเตี๋ยวที่หมักด้วยราโมแนสคัสต่างสายพันธุ์. *KKU Res.j.*2014; 19(2) : 215-222[online]. Available : <http://resjournal.kku.ac.th>
- เอมอร ไชโยโรจน์, ปนัดดา จันทร์เนย และเกรียงศักดิ์ ไชโยโรจน์. การศึกษาสารสีแดงและซิตรีนินข้าวแดงที่เตรียมจากข้าวไทย.” *วารสารวิจัยและพัฒนา มจร. ฉบับพิเศษ ปีที่ 35 ฉบับที่ 1 มกราคม-มีนาคม 2555.* มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Alexopoulos, C.J and C.W, Miws, 1998. “Introductory Microbiology (Edn).”Wiley eastern Ltd. (Ed), pp. 3-586
- Broder, C.U. and Koehler P.E. 1980. “Pigments produced by *Monascus purpureus* with regard to quality and quantity.” *J.Food sci.*, 45:567-569
- Campoy, S., Rumbero, A., Martin, J.F. 2006.” Characterization of an hyperpigmenting mutant of *Monascus purpureus* IB1.” *Identification of two novel pigment chemical structures.* Vol.70, pp. 488-491.
- Carels, M. and Shepherd, D.1977. “The effect of different nitrogen sources on pigment production and sporulation of *Monascus* species in submerged shaken culture.” *Canad. J. Microbiol.* 23:1360-1372
- Chan, M.H and Johns, M.R. 1994. “Effect of carbon source on ethanol and pigment production by *Monascus purpureus*.” *Enzyme Microb Technol.* Vol.16
- Charpentier, A. and Delagarde, R. 2018. “milk production and grazing behavior responses of Alpine dairy goat to dairy access time to pasture or to dairy paature allowance on temperate pastures in spring.” *Small Ruminant Research.* Volume 162. Pages 48-56.

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- Chen, M.H. and Johns, M.R., 1994. "Effect of pH and Nitrogen Source on Pigment Production by *Monascus purpureus*." *Enzyme and Microbial Technology*. 16(7): 584-590.
- Chiu, S.W. and Chan, S. M. 1992. "Production of pigments by *Monascus purpureus* using sugar-cane bagasse in roller bottle cultures." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 8, 68-70
- Cruz, C., Costa, C., Gomes, A.C., Matama, T. and Cavaco-Paulo, A. 2016." Human Hair and the impact of Cosmetic Procedures : A Review on Cleaning and Shape-Modulating Cosmetics." *Cosmetic*. 3(3),26 [online]Available : <https://doi.org/10.3390/cosmetics3030026>
- Endo, A., D. Komagata and H. Shimada. 1986. "Monacolin M a new inhibitor of cholesterol biosynthesis." *Journal of Antibiotic*. Tokyo,39(12):1679-1673.
- Fabre, C.E., Santerre, A.L., Loret, M.O., Baberian, R., Pareilleux, A., Goma, G., Blanc, P.J. 1993. "Production and food application of the red pigment of *Monascus ruber*." *Journal of Food Science* 58: 1099-1110.
- Fielding, B.C., Haws, E.J., Holker J.S.E., Powell, A.D.G., Robertson, A., Stanway D.N., Whalley W.B. 1960. "Monaascorubrin." *Tetrahedron letters*. No.5, PP.24-27. Pergamon press Ltd. Printed in Great Britain,London
- Fink-Gremmels, J.and Leistner, L. 1989. *Monascus* product.pp.260-269.In G.A.F. and J.D. Houghton (eds.) Natural Food Colorants. Blankie and Son., New York, 280.
- Goode, S.1977.Lip glosses. *Cosmet Toilet*; 92(7):28-38.
- Fink-Gremmels, J., Dresel, J. and Leistner,L. 1991. "Use of *Monascus* extracts as an alternative to nitrite in meat products." *Fleischwrtsh*. 71: 1187-1186
- Hai, Z., 1998. "Production of Monascolin by *Monascus purpureus* on Rice Solid State Fermentation." [Online], Available: <http://www.allow.com> [2000, January 14].

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- Haws E.J, Holker, J.S.E, Kelly, A.D and Robertson, A. 1959. "The chemistry of fungi and the structure of rubropunctatin." *Journal of Chemical Society*. 55:170-181.
- Hawksworth, D.L., Pitt, J.I. 1983. "A new taxonomy for *Monascus* species based on culture and microscopical characters." *Australian Journal of Botany* 31:51-61.
- Hesseltine, C.W. 1965. "A millienium of fungi, food and fermentation." *Mycologiai*. 57:179-181.
- Hong, M.Y., Seeram, N.P., Zhang, Y., Heber, D., 2008. "Anticancer effects of Chinese red yeast rice versus monascolin K alone on colon cancer cells." *Journal of Nutritional Biochemistry* 19:418-458.
- Jeun, J., Jung, H., Kim, J.H., Kim, Y.O., Youn, S.H., Shin, C.S. 2008. "Effect of the monascus pigment threonine derivative on regulation of the cholesterol level in mice." *Food chemistry* 107:1078-1085
- Johns, M.R. and Stuart, D.M. 1991. Production of pigment by *Monascus purpureus* in solid culture. *Journal of Industrial Microbiology* 8:23-28
- Jongrungruangchok, S., Kittakoop, P., Yongsmith, B., Bavovada, R., Tanasupawat, S., Lartpornmattulee, N., Theptaranonth, Y. 2004. "Azaphilone pigments from a yellow mutant of the fungus *Monascus kaoliang*." *Phytochemistry*: 2569-2575.
- Juzlova, P., Martinkova, L. and Kren, V.1996. "Secondary Metabolites of the Fungus *Monascus*." : a review. *Journal of Industrial Microbiology*. 16(1):163-170.
- Juzlova, P., Rezanka, T., Martinkova, L and Kren, V.1996. "Long-chain Fatty acids from *Monascus purpureus*". *Phytochemistry*. 43(1): 151-153.

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- Kabthong, N. Chaiwut, P. Pintathong, P. “Development of dragon fruit colorant with rice starch for starch for application in face powder.” *Veridian E-journal, Science and Technology Slipakorn University*. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 เดือนมกราคม-มิถุนายน 2558
- Kraboun, K., Tochampa, W., Chatdamrong, W. and Kongbangkerd, T. 2012. “Effect of monosodium glutamate and peptone on antioxidant activity of monascal waxy corn.” *International food research Journal* 20(2):623-631
- Kang, B., Zhang, X., Wu, Z., Wang, Z. and Park, S. 2013. “Production of citrinin-free *Monascus* pigments by submerged culture at low pH.” *Enzyme and Microbiology Technology* 55: 50-57
- Kranz, C., Panitx, C. and Kunz, B. 1992. “Biotransformation of the Fatty Acid in Mixtures to Methyl Ketone by *Monascus purpureus*.” *Applied Microbiology and Biotechnology*.36(6): 436-439
- Lee, Y.K., Chen, D.C., Chauvatcharin, S., Seki, T., Yoshida, T. 1995. “Production of *Monascus* pigments by solid-state culture method.” *Journal of Fermentation. Bioeng.* 79(5):516-518.
- Lee, S., Lee, J.H., Chung, H.J. 2017. “Impact of diverse cultivars on molecular and crystalline structures of rice starch for food processing.” *Carbohydrate polymers* 169:33-40.
- Lin, C.F. 1973. “Isolation and Cultural Condition of *Monascus* sp. For the Production of Pigment in Submerged Culture.” *Journal of Fermentation and Technology*. 51(6):407-417.
- Lin, C.F and Lizuka, H. 1982. “Production of extracellular pigment by a mutant of *Monascus kaoliang* sp.” *Nov. Applied and Environmental Microbiology* 43(3):671-676.

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- Lin, T.F. and Demain, A.L. 1991. "Effect of Nutrition of *Monascus* sp. of Fermentation of red Pigment." *Applied and Microbiology and Biotechnology*.36:70-75.
- Lin, T.F. and Demain, A.L. 1993. "Resting Cell Studies on Formation of Water-soluble R Pigment by *Monascus* sp." *Journal of Industrial Microbiology*. 12(6):361-367.
- Lizaka,H and S. Mineki. 1978. "Studies on the genus *Monascus*, II. Substrate specificity of two glucoamylase obtained *Monascus kaoliang* F-1." *Journal Gen. Applied Microbiol.* 24:185-192.
- Lumyong, S., Takao, S. and Tomita, F. 1990. "Organic acid production by *Monascus araneosus* AHU 9087". *Microbiol. Utilization of Renewable Resources* 7:354-367.
- Lumyong, S. and Tomita, F.1993. "L-Malic Acid Production by an Albino Strain of *Monascus Araneosus*." *World Journal of Microbiology and Biotechnology*.9(3):385-384.
- Manchand. P.S., Whalley, W.B. and Chen, F.C. 1973. "Isolation and structure of ankaflavin, a new pigment from *Monascus anka*." *Phytochem.* 12:2531-2532
- Malten, K.E., Nater, J.P, van Ketel, W.G.,1976 ."Patch testing guidelines." *Journal Biotechnology*. Volumn 243: 51-69
- Martinkova, L., Juzlova, P.and Vesely, D.1995. "Biological Activity of Polyketide pigments Produced by the Fungus *Monascus*." *Journal of Applied Bacteriology*. 79(6):609-616.
- Maturin, L, Peeler, J.T. 2001 "Aerobic Plate Count." **Bacteriological Analytical Manual**. New York
- Moll, H.R. and Farr, D.R. " Red pigment and process." US. Patent no. 3993789, November 1976.

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- Nishikawa, J and Watanabe,Y., Kashimura, J, Aso, K. and Lizuka, H. 1988.  
Characterization of extracellular proteinases of genus *Monascus* by their pH activity profile. *J. Gen.Apple. Microbiol.* 34: 467-473.
- Monton, C, Kraisintu, K, Suksaeree J, Charoenchai L. 2557. “Flowability Study of Herbal Powder for solid Dosage form Preparation.” **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 22 ฉบับที่ 5 (ฉบับพิเศษ) 2557.** มหาวิทยาลัยรังสิต
- Orak, T., Caglar, O., Ortucu, S., Ozkan, H., Taskin, M. 2018. Chicken feathers peptone :  
“A new alternative nitrogen source for pigment production by *Monascus purpureus*.” *Journal Biotechnology.* Volumn 271: 56-62
- Shuxin, Z., Luyan Z., Yi L. 2008. “Study on antibiotic substances metabolized *Monascus purpureus*.” *Journal of Biotectnology* 136S(2008) S22-S71. Tianjin University, China.
- Rasheva,T., Kujumdzieva, A. and Hllet, NJ. 1997. Liquid Production by *Monascus purpureus* Albino Stain. *Journal of Biotectnology.* 56(3): 217-224.
- Stefan W., Horstmann, Kieran M. Lynch and Elke K Arendt. 2017. Starch Characteristics Linked to Gluten-Free Products. School of food and Nutritional sciences, University college cork, I12 Y337 cork, Ireland.
- Su, Y.C. and Huang J.H. 1980 “Fermentative production of anka-pigment (*Monascus* pigment). *Microbiology and Biotechnology Letters.*Volumn 11.201:215.
- Sukumaran, A.T, Holtcamp, A.T., Englishbey, A.K., Campbell Y.L ., Kim T., Schilling M.W., Thu T.N Dinh. 2018. “ Effect of deboning time on the growth of Salmonella, E. coli, aerobic, and lactic acid bacteria during beef sausage processes and storage.” *Meat science* .volume 139, Pages 49-55.

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- Sweeny, J.G., Estrada-Valdes, M.C., Lacobucci, G.A., Sato, H., Sakamura, S. 1981. "Photoprotection of the red pigments of *Monascus anka* in aqueous media by 1,4,6- trihydroxynapthalene." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 29: 1189-1193.
- Tan, J. Chu, J. Wang, Y. Zhuang, Y. Zhang S. 2014. "High-throghput system for screening of *Monascus purpureus* high-yield strain in pigment production." *Bioresources and Bioprocessing* 2014,1: 16
- Testing the Physical Characteristics of Cosmetics. Available[online]:  
<http://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=12477>. (Retrieved 05/08/2016)
- Tsai, M. S., T.H. Hseu and shen, Y.S. 1978. Purification and characterization of an acid protease from *Monascus kaoliang*. *Int. J. Pept. Protein Res.* 12: 293-302.
- Wahlberg, J.E. Lindberg, M. 2003. Patch Testing. Management of positive Patch Testing Reactions. page 365-390
- Wang, S-L., Hsiao, W-J. and Chang, W-T. 2002. "Purification and Characterization of an antimicrobial Chitinase Extracellularly Produced by *Monascus purpureus* CCRC31499 in a Shrimp and Shell Powder Medium." *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 50:2249-2255
- Wong, H.C. and Koehler, P.E. 1981. "Production and Isolation of an antibiotic from *Monascus purpureus* . and its relationship to pigment production", *Journal of food Sci.*46: 589-592.
- Wong, H.C. and Koehler, P.E. 1983. "Production of water soluble *Monascus* pigment Production." *Journal Food Sci.* 48:1200-1203.
- Wong, H.C and Bau, V.S. 1987. "A comparison of conidial and ascospore Germination of *Monascus purpureus*." *Transactions of the British Mycological Society,* 70(2):277-282.

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- Wong, I.K., Lin-Shiau, S.Y., Chen, P.C. and Lin, J.K. 2000. "Hypertriglyceridemic effect of anka (a fermented rice product of *Monascus* spp.) in rat." *J. Agric. Food Chem.*48:3183-3189.
- Wong-Leung, L., Fong, F.W. and Lam, L.W., 1993. "Production of  $\alpha$ -Galactosidase by *Monascus* Grown on Soybean and Sugarcane Waste. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.*" 9(5):529-533
- Woo, P.N., Hay, I.C., Ormerod, A.D. 2003. "An audit of the value of patch testing and its effect on quality of life." *Contact Dermatitis* 48: 244-247
- Xu, B.J., Wang, Q.J., Lee, J.H., Jia, X.Q. and Sung, C.K. 2003. "HPLC Analysis of Citrinin in Red Yeast Rice" . *Food Science Biotechnol.* Vol. 12, No. 4, pp. 376-380
- Yang, J., Chen, Q., Wang, W., Hu, J., Hu, C., 2014. " Effect of oxygen supply on *Monascus* pigments and citrinin production in submerged fermentation." *Journal of Bioscience and Bioengineering* 2014., VOL.119 No.5, 564-569, Hubei University of Technology Wuhan, China.
- Yasuda, M., Ikehara, K., Tawata, S., Kobamoto, N., Toyama, S. 1995. Purification and Properties of a Ribonuclease from species of the genus *Monascus*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*: 59(2):327-328.
- Yongsmith, B., Tabloka, W., Krairak S, Bavavoda R. 1990. "Cassava fermentation of yellow pigments and amylolytic enzymes by mutant of *Monascus* spp. In submerge cultivation." *Microbiol. Utilization of Renewable Resources* 7:354-363.
- Yongsmith, B., Tabloka, W., Yongmanitchai, W. and Bavavoda, R. 1993. "Culture conditions for yellow pigment formation by *Monascus* sp. KB 10 grown on cassava medium." *World J. Microbiol. Biotechnol.* 9:85-90

ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

## อาหารเลี้ยงเชื้อ

## สูตรอาหาร

## 1. อาหาร MYS (Malt yeast extract starch agar)

Peptone	5	กรัมต่อลิตร
Yeast extract	3	กรัมต่อลิตร
Malt extract	3	กรัมต่อลิตร
Agar	12	กรัมต่อลิตร
แป้งมันสำปะหลัง	10	กรัมต่อลิตร

นำส่วนผสมใส่ลงในบีกเกอร์หรือในภาชนะที่จะผสม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จากนั้นใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน ปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 6.8-7.2 ในกรณีที่สารละลายยาก สามารถนำไปต้มซึ่งความร้อนจะทำให้ละลายได้ง่ายขึ้น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

## 2. อาหาร SS (Soybean starch medium)

แป้งมันสำปะหลัง	30	กรัม
แป้งถั่วเหลือง	40	กรัม

นำส่วนผสมใส่ลงในบีกเกอร์หรือในภาชนะที่จะผสม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน ปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 6.8-7.2 ในกรณีที่สารละลายยาก สามารถนำไปต้มซึ่งความร้อนจะทำให้ละลายได้ง่ายขึ้น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

## ภาคผนวก ข

## สารเคมีและวิธีวิเคราะห์

## 1. การหาน้ำหนักแห้ง (dry cell weight)

1.1 นำจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) แล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอน

1.2 นำตัวอย่างข้าวประมาณ 1-2 กรัม ใส่จานเพาะเชื้อที่ผ่านการอบ

1.3 นำเข้าตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อบจนได้น้ำหนักคงที่โดยใช้เวลาประมาณ 24-48 ชั่วโมง

1.4 นำออกมาใส่โถดูดความชื้น 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาชั่งหาน้ำหนัก

1.5 อบซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่ นำค่าน้ำหนักจานเพาะเชื้อมาลบออกได้เป็นค่าน้ำหนักแห้ง

## 2. การหาปริมาณความชื้น

นำจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) แล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอน นำตัวอย่างข้าวประมาณ 1-2 กรัม ใส่จานเพาะเชื้อที่ผ่านการอบไว้แล้ว นำเข้าตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อบจนได้น้ำหนักที่คงที่ ใช้เวลาอบประมาณ 6-12 ชั่วโมง นำออกมาใส่โถดูดความชื้น 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักนำไปอบซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่ นำค่าน้ำหนักจานเพาะเชื้อมาลบออกได้เป็นค่าน้ำหนักแห้งเมื่อได้น้ำหนักแห้งแล้ว นำมาลบออกจากน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ จะได้ค่าความชื้นของตัวอย่าง นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นได้ดังนี้

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

## ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณความชื้น

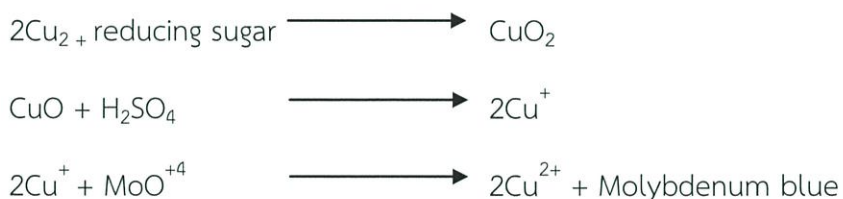
น้ำหนักงานเพาะเชื้อ	=	96.938	กรัม
น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ	=	1.783	กรัม
น้ำหนักงานเพาะเชื้อหลังอบ	=	97.702	กรัม
ดังนั้น น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ	=	0.764	กรัม

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} &= \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100 \\ &= \frac{1.783 - 0.764}{1.783} \times 100 \\ &= 57.150 \end{aligned}$$

ดังนั้น ตัวอย่างมีปริมาณความชื้น 57.150 เปอร์เซ็นต์

### 3. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) โดยดัดแปลงวิธีการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ของ Somogyi-Nelson (1954)

วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เช่น กลูโคส ไซโลส โดยมีการทำปฏิกิริยากับสารละลายคอปเปอร์เกิดสีโมลิบดีนัมบลู (Molybdenum blue) ดังปฏิกิริยา



#### 3.1 สารเคมี

##### Copper reagent

เตรียมสารละลาย  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  71 กรัม และ โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต 40 กรัม ละลายแต่ละสารในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 นอโมล จำนวน 100 มิลลิลิตร ตามด้วยสารละลาย  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  10 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 80 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ทำให้อุ่น เติมโซเดียมซัลเฟต 180 กรัม ละลายให้เข้ากันแล้วเติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 1 ลิตร เก็บในขวดสีน้ำตาล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ถ้ามีตะกอนกรองออกก่อนนำไปใช้

### Nelson reagent

เตรียมสารละลาย  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  50 กรัม ละลายสารในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 21 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน เติม  $\text{Na}_2\text{AsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  6 กรัม จากนั้นเก็บในขวดสีน้ำตาลที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองตะกอนออกก่อนนำไปใช้

## 3.2 วิธีการวิเคราะห์

### 3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส

เตรียมสารละลายกลูโคส (Analytical grade glucose) โดยอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง ก่อนนำมาทำเป็นสารละลายความเข้มข้น 20 40 60 80 100 120 140 160 และ 180 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ด้วยน้ำกลั่น เก็บสารละลายแต่ละความเข้มข้นในหลอดทดสอบหลอดละ 1 มิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ เติม Copper reagent 1.0 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นทันทีโดยใช้น้ำเย็นจัด เติม Nelson reagent 1.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปวัดค่าความขุ่นด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 520 nm

### 3.2.2 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างสารละลายจากข้าวจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง นำไปวิเคราะห์ตามวิธีการเตรียมกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสข้างต้น คำนวณปริมาณน้ำตาลกลูโคสของตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

## 4. การวิเคราะห์สารสี

สกัดสารสีจากการหมักข้าวของเชื้อราโมแนสคัสด้วยเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์บนเครื่องสกัดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสีที่สกัดได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำส่วนใสไปวิเคราะห์หาค่าการดูดกลืนแสงของสารสีด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 500 nm วัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 1.2335  $\text{OD}_{500}$  ส่วนตัวอย่างข้าวที่นำมาสกัดสีคิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 0.689124 กรัม สามารถนำมาคำนวณปริมาณสารสีได้ดังนี้ ปริมาณสี

	$1.2335 \times 1$	=	1.2335	$\text{OD}_{500}/\text{ml}$
ปริมาณสารสีทั้งหมด	$11 \times 1.2335$	=	13.5685	unit
ตัวอย่างน้ำหนักแห้ง 0.689124 กรัม		=	19.68949	unit
ในข้าว 1 กรัม น้ำหนักแห้งมีสารสีทั้งหมด		=	28.57175	$\text{OD}_{500}/\text{g-DSW}$

หมายเหตุ: 1 หน่วย (Unit) คือ สารเมตาบอไลต์จากเชื้อราโมแนสคัส เมื่อนำมาประมาณค่าด้วยวิธีการสกัดเอสารสีตามวิธีการข้างต้น จะมีค่าดูดกลืนความยาวคลื่นแสงเท่ากับ 1.00

## 5. การวิเคราะห์ซีทรินินด้วยเครื่องแยกสารในสถานะของเหลวที่มีประสิทธิภาพสูง (High Performance Liquid Chromatography) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Xu และคณะ, 2003

### 5.1 การวิเคราะห์

นำส่วนใสที่ได้จากการสกัดจากก่อนหน้ามาใช้วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC (Shimadzu, c20994007894 LP, LC-10ADvp) คอลัมน์  $\mu$ BondapakTM C18 3.9  $\times$  300 มิลลิเมตร (Water, USA) และวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 238 nm (UV detector SPD-10A vp) โดยใช้ส่วนที่เคลื่อนที่เป็นสารละลาย Acetonitrile ความเข้มข้นร้อยละ 55 แล้วนำมาเทียบกับสารละลายมาตรฐานซีทรินิน (Sigma, USA)

### 5.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซีทรินิน

นำสารละลายซีทรินินมาตรฐานมาละลายในเอทานอล 99.9 เปอร์เซ็นต์ นำมาเจือจางเป็นความเข้มข้น 0.6 0.8 1.0 2 3 4 และ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาผสมกับสารละลายอะซิโตนไนไตรท์ในอัตราส่วนของสารละลาย อะซิโตนไนไตรท์: สารมาตรฐาน (35 : 65) จากนั้นนำไปกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC เพื่อวิเคราะห์หาพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน

### 5.3 การเตรียมตัวอย่างสารละลายซีทรินิน

นำเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ทำให้เป็นเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ปรับพีเอชเท่ากับ 2.5 ด้วยออร์โธฟอสฟอริก (Ortho-phosphoric acid) จากนั้นนำตัวอย่างมาผสมสารละลายอะซิโตนไนไตรท์ในอัตราส่วน (35 : 65) จากนั้นนำไปกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC เพื่อวิเคราะห์ปริมาณซีทรินิน นำพื้นที่ใต้กราฟที่เวลาเดียวกับกราฟมาตรฐานไปเทียบเพื่อหาปริมาณของซีทรินิน

## 6. การวิเคราะห์กายภาพของข้าวแดงและผงแป้งข้าวจากสารสีโมแนสคัส

### 6.1 การทดสอบ ค่าสีโดยวิธีทางสถิติ

#### 6.1.1 การทดสอบ ค่าสี $L^*$ $a^*$ $b^*$ ของข้าวแดงสด

เตรียมข้าวแดงสดของวันที่ 7 14 21 28 เพื่อนำไปวัดค่าสีโดยใช้เครื่อง Chroma meter ยี่ห้อ Minolta รุ่น CR-300

#### 6.1.2 การทดสอบ ค่าสี $L^*$ $a^*$ $b^*$ ของผงข้าวแดง

เตรียมผงข้าวแดงที่ผ่านการอบของวันที่ 7 14 21 28 เพื่อนำไปวัดค่าสีโดยใช้เครื่อง Chroma meter ยี่ห้อ Minolta รุ่น CR-300

#### 6.1.3 วิธีวิเคราะห์

$L^*$ = lightness (0=black, 100=white)

$a^*$ = redness / greenness (+=red, -=green)

$b^*$ = yellowness / blueness (+=yellow, -=blue)

จากนั้นนำไปวิเคราะห์สีของข้าวแดงโดยหาจากค่าความแตกต่างทางสถิติโดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวแปรที่ทำการศึกษาด้วยวิธี Turkey Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป MINITAP

### 6.2 การทดสอบความสามารถของการไหล

นำผงแป้งมาประเมินการไหลของอนุภาคด้วยการวัดจากมุกง โดยวิธี funnel method โดยชั่งแป้งจำนวน 15 กรัม เทแป้งผ่านกรวยที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร ลงในจานเพราะเลี้ยงเชื้อเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรเมื่อแป้งไหลผ่านกรวยหมด วัดความสูงของสารในจาน คำนวณหา angle of repose ;  $\theta$  จากสูตร  $\tan\theta = h/r$  ( $r= 4.5$  เซนติเมตร) (ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม, 2556)

เมื่อ  $\theta =$  angle of repose

$h =$  ความสูงของกองผงแป้ง

$r =$  รัศมีของกองผงแป้ง

ซึ่งค่าของ  $\theta$  จะหมายถึงความสามารถของการไหลของผงแป้ง แสดงตารางดังนี้

ตารางที่ 6.1 สมบัติการไหลของผงแบ่งกับค่า angle of repose

Flow property	Angle of repose
Excellent	25-30
Good	31-35
Fair-aid not needed	36-40
Passable-may hang up	41-45
Poor	46-55
Very poor-must agitate	56-65
Very, very poor	>66

### 6.3 ทดสอบความสามารถในการตอกอัด

การหาค่าการตอกอัด (compressibility index) จะต้องมีการทดสอบเพื่อหาค่า bulk density และ tapped density โดยค่า bulk density คือ อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักต่อปริมาตรของผงแบ่งที่ยังไม่ผ่านการเคาะหรือทำให้อัดแน่น ในขณะที่ tapped density คือ อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักต่อปริมาตรของผงแบ่งที่ผ่านการเคาะหรือทำให้อัดแน่นแล้ว นิยมใช้หน่วยเป็นกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ( $\text{g/cm}^3$ )

#### 6.3.1 การหาค่า bulk density ( $\rho_{\text{bulk}}$ )

$$\rho_{\text{bulk}} = \frac{m}{V(0)}$$

เมื่อ  $m$  = ผงแบ่งที่ทราบน้ำหนัก

$V_0$  = ปริมาตรของผงแบ่งจากขีดบอกปริมาตรของกระบอกตวง

#### 6.3.2 การหาค่า tapped-density ( $\rho_{\text{tapped}}$ )

$$\rho_{\text{tapped}} = \frac{m}{V(f)}$$

เมื่อ  $m$  = ผงแบ่งที่ทราบน้ำหนัก

$V_f$  = ปริมาตรของผงแบ่งที่ผ่านการกระแทกจากขีดบอกปริมาตรสุดท้าย

### 6.3.3 การคำนวณค่าการตอกอัด

$$\text{Compressibility index} = \frac{V(0) - V(f)}{V(0)} \times 100$$

หรือ

$$\text{Compressibility index} = \frac{\rho(\text{tapped}) - \rho(\text{bulk})}{\rho(\text{tapped})} \times 100$$

ซึ่งค่า compressibility index สามารถบ่งบอกสมบัติการไหลได้ แสดงตามตารางที่ 6.2

ตารางที่ 6.2 สมบัติการไหลของผงยากับค่า compressibility index

Compressibility	Flow property
≤ 10	Excellent
11-15	Good
16-20	Fair
21-25	Passable
26-31	Poor
32-37	Very poor
>38	Very, Very poor

### 6.4 การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังของแป้งผัดหน้า

ทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังของแป้งผัดหน้าโดยการทำให้ patch test บริเวณท้องแขนเป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง โดยให้อาสาสมัครเพศหญิงจำนวน 20 คน ทดสอบโดยการสังเกตการณ์ระคายเคืองหลังจากครบเวลา แล้วทำการตอบแบบสอบถาม ถ้าไม่เกิดการระคายเคือง(ไม่มีรอยบวมแดง)จึงสามารถใช้แป้งผัดหน้าได้

### 6.5 ทดสอบความพึงพอใจของแป้งผัดหน้า

การทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัคร เพศหญิงจำนวน 20 คนโดยเปรียบเทียบระหว่างแป้งผัดหน้าที่มีส่วนผสมของผงแป้งข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสทั้ง 3 สูตรกับแป้งข้าวเจ้า ใน

หัวข้อต่อไปนี้เป็น คือ สีของผลิตภัณฑ์ กลิ่นของผลิตภัณฑ์ ความสิ้นของผลิตภัณฑ์ ความติดทนของผลิตภัณฑ์ และด้านความรู้สึกพึงพอใจโดยรวม แล้วทำการตอบแบบสอบถาม

## 7. การตรวจสอบคุณภาพทางด้านเชื้อจุลินทรีย์ (Maturin และ Peeler, 2001)

วิธีตรวจนับจุลินทรีย์มาตรฐาน หรือ Standard Plate Count (SPC) หรือ เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า Aerobic Plate Count (APC) เป็นวิธีที่นิยมในการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยนำตัวอย่างอาหารมาเจือจางเป็นลำดับติดต่อกัน (serial dilution) จากนั้นทำการตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์จากส่วนหนึ่ง (aliquates) ของตัวอย่างอาหารที่เจือจางบนอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิดไม่คัดเลือก (non-selective medium) แล้วนำไปบ่มอุณหภูมิที่เหมาะสม ทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีที่ได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากลำดับตัวอย่างที่เจือจางเป็นเท่าติดต่อกันที่อยู่ในช่วง 25-250 โคโลนี จากนั้นนำจำนวนโคโลนีที่ได้ไปคำนวณจำนวนโคโลนีต่อหนึ่งหน่วยน้ำหนักหรือจำนวนจุลินทรีย์ต่อหนึ่งหน่วยปริมาตร

### การคำนวณ

เลือกระดับความเจือจางที่ติดต่อกันเพียง 2 ระดับ ที่มีโคโลนีของเชื้ออยู่ในช่วง 25-250 โคโลนี นำมาคำนวณโดยใช้สูตรดังนี้

$$N = \frac{\sum c}{[(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2) \times d]}$$

- เมื่อ
- N = ผลรวมจำนวนโคโลนีทั้งหมดจากทุกเพลทที่สามารถนับจำนวนได้
  - $n_1$  = จำนวนเพลทที่สามารถนับโคโลนีได้เมื่อใช้สารละลายตัวอย่างที่มีการเจือจางน้อย
  - $n_2$  = จำนวนเพลทที่สามารถนับโคโลนีได้เมื่อใช้สารละลายตัวอย่างที่มีการเจือจางมาก
  - d = ระดับความเจือจางของสารละลายตัวอย่างใน  $n_1$

8. แบบสอบถามความพึงพอใจของผู้ใช้ผลิตภัณฑ์แป้งผัดหน้าที่มีส่วนผสมงาช้างแดงที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส

คำชี้แจง วัตถุประสงค์ของแบบสอบถามนี้เพื่อศึกษาความพึงพอใจของผู้ใช้ผลิตภัณฑ์แป้งผัดหน้าที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส การวิเคราะห์ข้อมูลในภาพรวมซึ่งจะไม่กระทบต่อท่าน ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม

1. ชื่อ.....นามสกุล.....
2. อายุ
 

<input type="checkbox"/> 21-25 ปี	<input type="checkbox"/> 26-30 ปี	<input type="checkbox"/> 31-35 ปี
<input type="checkbox"/> 36-40 ปี	<input type="checkbox"/> 41-45 ปี	<input type="checkbox"/> 46-50 ปี

ส่วนที่ 2 การประเมินความพึงพอใจ

คำชี้แจง กรุณากรอกเครื่องหมาย(/) และกรอกตัวเลขคะแนนตามความรู้สึกชอบของท่านในตาราง

วิธีใช้: ทาบบริเวณท้องแขน

ความพึงพอใจของแป้งด้านต่างๆ

หัวข้อ	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4
1. สีของผลิตภัณฑ์				
2. กลิ่นของผลิตภัณฑ์				
3. ความลื่นของผลิตภัณฑ์				
4. ด้านความรู้สึกพึงพอใจโดยรวม				

คะแนนความชอบ

1=น้อยที่สุด    2=ชอบน้อย    3=เฉยๆ    4=ชอบมาก    5=ชอบมากที่สุด

ส่วนที่ 3 การทดสอบการแพ้และการระคายเคือง (Patch Test)

จากการทดสอบการแพ้ในการใช้ผลิตภัณฑ์โดยใช้วิธีการ Patch test โดยให้อาสาสมัครทำ  
ความสะอาดบริเวณต้นแขน แล้วนำผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 สูตรมาทาบริเวณท้องแขน เป็นระยะเวลา 1-2  
ชั่วโมง

เกณฑ์การประเมินการแพ้สูตรที่ 1

ไม่มีการระคายเคือง(ไม่มีรอยบวมแดง)

ระคายเคือง(มีรอยบวมแดง)

เกณฑ์การประเมินการแพ้สูตรที่ 2

ไม่มีการระคายเคือง(ไม่มีรอยบวมแดง)

ระคายเคือง(มีรอยบวมแดง)

เกณฑ์การประเมินการแพ้สูตรที่ 3

ไม่มีการระคายเคือง(ไม่มีรอยบวมแดง)

ระคายเคือง(มีรอยบวมแดง)

เกณฑ์การประเมินการแพ้สูตรที่ 4

ไม่มีการระคายเคือง(ไม่มีรอยบวมแดง)

ระคายเคือง(มีรอยบวมแดง)

ข้อคิดเห็นเพิ่มเติม

.....

.....

.....

.....

.....

## ภาคผนวก ง

## ตารางวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ ง.1 ผลการศึกษาระยะเวลาการสร้างปริมาณสารสีสีแดง (OD 500 nm ) เป็นระยะเวลา 28 วัน โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 5 วัน

One-Way ANOVA : L\* versus day

Significance level  $\alpha=0.05$

## Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Day	3	104.52	34.839	18.66	0.001
Error	8	14.94	1.867		
Total	11	119.45			

## Mean

day	N	Mean	StDev	95%CI
7	3	104.04	2.49	(102.22, 105.86)
14	3	98.327	0.615	(96.507, 100.146)
21	3	106.453	0.926	(104.634, 108.273)
28	3	103.000	0.234	(101.181, 104.819)

## Turkey Pairwise Comparisons

Grouping information using the Turkey Method and 95% Confidence

day	N	Mean	Grouping
7	3	104.04	A
21	3	106.453	A
28	3	103.000	A
14	3	98.327	B

One-Way ANOVA : a\* versus day

Significance level  $\alpha=0.05$ 

## Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Day	3	315.82	105.27	1135.5	0.000
Error	8	0.742	0.093		
Total	11	316.569			

## Mean

day	N	Mean	StDev	95%CI
7	3	42.650	0.0529	(42.244, 43.055)
14	3	42.376	0.1124	(41.971, 42.782)
21	3	32.067	0.535	(31.661, 32.472)
28	3	32.450	0.262	(32.045, 32.855)

## Turkey Pairwise Comparisons

Grouping information using the Turkey Method and 95% Confidence

day	N	Mean	Grouping
7	3	42.650	A
14	3	42.376	A
21	3	32.067	B
28	3	32.450	B

One-Way ANOVA : b\* versus day

Significance level  $\alpha=0.05$ 

## Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Day	3	258.46	88.154	2710.7	0.000
Error	8	0.254	0.0318		
Total	11	258.716			

## Mean

day	N	Mean	StDev	95%CI
7	3	32.153	0.0379	(31.916, 32.391)
14	3	31.636	0.1097	(31.399, 31.874)
21	3	21.857	0.305	(21.619, 22.094)
28	3	23.537	0.1429	(23.299, 23.774)

## Turkey Pairwise Comparisons

Grouping information using the Turkey Method and 95% Confidence

day	N	Mean	Grouping
7	3	32.153	A
14	3	31.636	B
28	3	23.537	C
21	3	21.857	D

ตารางที่ ง.2 การทดสอบทางประสาทสัมพัสด้านสีของแป้งผัดหน้าที่มีส่วนผสมของผงข้าวแดง

One-Way ANOVA : สีของผลิตภัณฑ์ versus สูตร

Significance level  $\alpha=0.05$

## Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
สูตร	3	2.600	0.8667	0.90	0.445
Error	76	73.200	0.0963		
Total	79				

## Mean

สูตร	N	Mean	StDev	95%CI
1	20	3.400	1.095	(2.963, 3.837)
2	20	3.200	0.951	(2.763, 3.637)
3	20	3.700	0.801	(3.263, 4.137)
4	20	3.500	1.051	(3.063, 3.937)

## Turkey Pairwise Comparisons

Grouping information using the Turkey Method and 95% Confidence

สูตร	N	Mean	Grouping
3	20	3.700	A
4	20	3.500	A
1	20	3.400	A
2	20	3.200	A

ตารางที่ ง. 3 การทดสอบทางประสาธสัมพันธ์ด้านกลิ่นของแป้งผัดหน้าที่มีส่วนผสมของผงข้าวแดง

One-Way ANOVA : กลิ่นของผลิตภัณฑ์ versus สูตร

Significance level  $\alpha=0.05$

## Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
สูตร	3	15.44	5.146	4.36	0.007
Error	76	89.75	1.181		
Total	79				

## Mean

สูตร	N	Mean	StDev	95%CI
1	20	3.800	1.196	(3.316, 4.284)
2	20	3.200	1.005	(2.716, 3.684)
3	20	3.600	0.754	(3.116, 4.084)
4	20	2.650	1.309	(2.166, 3.134)

## Turkey Pairwise Comparisons

Grouping information using the Turkey Method and 95% Confidence

สูตร	N	Mean	Grouping
1	20	3.800	A
3	20	3.600	A
2	20	3.200	A B
4	20	2.650	B

ตารางที่ ง.4 การทดสอบทางประสาธสัมพันธ์ด้านความถี่ของแป้งผัดหน้าที่มีส่วนผสมของผงข้าวแดง

One-Way ANOVA : ความถี่ของผลิตภัณฑ์ versus สูตร

Significance level  $\alpha=0.05$

## Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
สูตร	3	15.94	5.312	6.84	0.000
Error	76	59.05	0.777		
Total	79				

## Mean

สูตร	N	Mean	StDev	95%CI
1	20	2.500	1.235	(2.107, 2.893)
2	20	2.650	0.813	(2.257, 3.043)
3	20	3.350	0.587	(2.957, 3.743)
4	20	3.550	0.759	(3.157, 3.943)

## Turkey Pairwise Comparisons

Grouping information using the Turkey Method and 95% Confidence

สูตร	N	Mean	Grouping
4	20	3.550	A
3	20	3.350	A B
2	20	2.650	B C
1	20	2.500	C

ตารางที่ ง.5 การทดสอบทางประสาธสัมพันธ์ด้านความติดทนของแป้งผัดหน้าที่มีส่วนผสมของผงข้าวแดง

One-Way ANOVA : ความติดทนของผลิตภัณฑ์ versus สูตร

Significance level  $\alpha=0.05$

## Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
สูตร	3	5.050	1.6833	1.84	0.148
Error	76	69.700	0.9171		
Total	79				

## Mean

สูตร	N	Mean	StDev	95%CI
1	20	3.150	0.933	(2.724, 3.576)
2	20	2.600	0.995	(2.174, 3.026)
3	20	3.100	0.852	(2.674, 3.526)
4	20	2.650	1.040	(2.224, 3.076)

## Turkey Pairwise Comparisons

Grouping information using the Turkey Method and 95% Confidence

สูตร	N	Mean	Grouping
1	20	3.,150	A
3	20	3.100	A
4	20	2.650	A
2	20	2.600	A

ตารางที่ ง.6 การทดสอบทางประสาทสัมพันธ์ด้านความชอบโดยรวมของแป้งผัดหน้าที่มีส่วนผสมของผงข้าวแดง

One-Way ANOVA : ความชอบโดยรวม versus สูตร

Significance level  $\alpha=0.05$ 

## Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
สูตร	3	6.937	2.3125	2.98	0.0037
Error	76	58.950	0.775		
Total	79				

## Mean

สูตร	N	Mean	StDev	95%CI
1	20	3.350	0.933	(2.958, 3.742)
2	20	3.000	0.973	(2.608, 3.392)
3	20	3.800	0.834	(3.408, 4.192)
4	20	3.200	0.768	(2.808, 3.592)

## Turkey Pairwise Comparisons

Grouping information using the Turkey Method and 95% Confidence

สูตร	N	Mean	Grouping
3	20	3.800	A
1	20	3.350	A B
4	20	3.200	A B
2	20	3.000	B



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 10 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2561

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว โชนลักษณ์ สัตติเวธินันท์ รหัสประจำตัว 57050891

นาย/นาง/นางสาว นันทิสาห์ แซ่โจ้ว รหัสประจำตัว 57050892

นาย/นาง/นางสาว..... รหัสประจำตัว.....

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรมภาควิชา ไววิทยา

ขอรับรองว่าโครงการพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การผลิตแป้งผัดหน้าจากสาลีโมแนสคัส

ชื่อภาษาอังกฤษ Powder cosmetics production by Monascus pigment

ปีการศึกษา 2560

เป็นผลงานวิจัยที่มีได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงการพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 0.40 % หรือโปรแกรม Turnitin.....%

ลงชื่อ โชนลักษณ์ สัตติเวธินันท์  
(นางสาวโชนลักษณ์ สัตติเวธินันท์)  
นักศึกษา

ลงชื่อ นันทิสาห์ แซ่โจ้ว  
(นางสาวนันทิสาห์ แซ่โจ้ว)  
นักศึกษา

ข้าพเจ้า ศ. / รศ. / ผศ. / ดร. / อ. สมชาย โภกย์แก้ว อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา ได้ตรวจสอบโครงการพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาวจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ..... ลงชื่อ..... ลงชื่อ.....

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม