วิธีดำเนินการ

๑. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารสี และคุณสมบัติสารต้านอนุมูลอิสระของเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR ๓๐๘๐บน ปลายข้าว

๑. โดยนำเชื้อราไปใส่ในหลอดทดลองที่มี Potato dextrose Agar (PDA) และบ่มเชื้อ ๒๕ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๗ วัน

๒. หลังจากนั้น นำ Tween ๘๐ ความเข้มข้น ๐.๑ เปอร์เซ็นต์ ไปเติมในหลอดทดลองที่มีเชื้อราเจริญอยู่ และทำการเจือจาง spore ให้มี spore suspension เท่ากับ $๑๐^{๖}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

๓. นำปลายข้าว ๕๐ กรัม แช่น้ำเป็นเวลา ๐ และ ๑๒ ชั่วโมง หลังจากนั้นเอาปลายข้าวขึ้นจากน้ำ มาใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด ๕๐๐ มิลลิลิตร

๔. โดยไม่เติมน้ำ และเติมน้ำ ๑๕ และ ๓๐ มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีปลายข้าวที่ไม่แช่น้ำ (๐ นาที) และแช่น้ำเป็นเวลา ๒๐ นาที หลังจากนั้น นำขวดรูปชมพู่ที่มีปลายข้าวที่ไม่แช่น้ำ และปลายข้าวที่แช่น้ำ ๒๐ นาที ไม่เติมน้ำ เติมน้ำ ๑๕ มิลลิลิตร และ ๓๐ มิลลิลิตร จำนวน ๖ ตัวอย่างไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ๑๒๑ องศาเซลเซียส ๑๕ นาที

๕. ข้าวที่ฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave แล้ว นำไปวัดความชื้น ตามวิธีของ AOAC (๑๙๙๕)

๖. นำเชื้อที่เตรียมไว้มาปลูกบนข้าวที่ทำการฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave แล้ว และนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ ๓๕ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๗, ๑๔, ๒๑ และ ๒๘ วัน

๗. หลังจากเลี้ยงเชื้อราแล้วเป็นเวลา ๗, ๑๔, ๒๑, ๒๘ วัน นำปลายข้าวที่มีเชื้อราไปอบที่อุณหภูมิ ๖๐ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๒๔ ชั่วโมง นำไปบดให้ละเอียดแล้วนำไปผ่านตะแกรงร่อนขอนาด ๒๐ เมช(mesh)

๘. จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุที่ผลิตได้จากเชื้อรา โดยนำไปวัดที่ความยาวคลื่นแสง ๕๐๐ นาโนเมตร ตามวิธีของ ดัดแปลงจาก Yongsmith และคณะ (๑๙๙๔)

๘.๑ สมบัติทางเคมี

- ความชื้น (AOAC, ๑๙๙๕)

๘.๒ วิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุที่ผลิตได้ของเชื้อรา (Yongsmith et al., ๑๙๙๔)

๘.๓ ศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชั่น

- การยับยั้งปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชั่น (Inhibition of peroxidation), (Lingnert et al., ๑๙๗๙)

- ดีพีพีเอชแอคติวิตีการกำจัดอนุมูลอิสระ (Scavenging ability on ๑,๑-diphenyl-๒-picryhydrazyl (DPPH) radicals) (Shimada et al.,๑๙๙๒)

๒. ศึกษาสภาวะการสกัดสารสี และคุณสมบัติสารต้านอนุมูลอิสระที่ผลิตจากข้าวแดง

๑. คัดเลือกข้าวแดงในข้อ ๑๓.๑ โดยคัดเลือกกลุ่มทดลองที่เชื้อราผลิตสารสีบนปลายข้าวในปริมาณมากที่สุด

๒. นำปลายข้าวที่มีเชื้อราในข้อ ๑ ไปอบที่อุณหภูมิ ๕๐ เซลเซียส เป็นเวลา ๓๐ ชั่วโมง ๖๐ องศาเซลเซียส ๒๔ ชั่วโมง และ ๗๐ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๒๐ ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปวัดความชื้นตามวิธีของ AOAC (๑๙๙๕)

๓. นำข้าวแดงที่อบได้นำไปไว้ในขวดรูปชมพู่ และนำ เอทานอล ๙๕ เปอร์เซ็นต์ เอทานอล ๙๕ เปอร์เซ็นต์:น้ำ อัตราส่วน ๒:๑ และ ๑:๑ และน้ำกลั่นเติมลงไป ในขวดรูปชมพู่ที่มีข้าวแดงที่อบแล้ว โดยใช้อัตราส่วน ๕ มิลลิลิตร ต่อกรัมข้าวแดง หลังจากนั้นนำไปวางไว้บน Shaker ที่ความเร็ว ๒๐๐ rpm เป็นเวลา ๑ ชั่วโมง หลังจากนั้นพักไว้ ๑๕ นาที แล้วนำกรองผ่านกระดาษกรอง เบอร์ ๑

๔. นำส่วนที่กรองได้ไปวัดปริมาณรงควัตถุที่ผลิตได้จากเชื้อรา โดยนำไปวัดที่ความยาวคลื่นแสง ๕๐๐ นาโนเมตร ตามวิธีของ ดัดแปลงจาก Yongsmith และคณะ (๑๙๙๔)

๔.๑ สมบัติทางเคมี

- ความชื้น (AOAC, ๑๙๙๕)

๔.๒ วิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุที่ผลิตได้ของเชื้อรา (Yongsmith et al., ๑๙๙๔)

๔.๓ ศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชั่น

- การยับยั้งปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชั่น (Inhibition of peroxidation), (Lingnert et al., ๑๙๗๙)

- ดีพีพีเอชแอคติวิตีการกำจัดอนุมูลอิสระ (Scavenging ability on ๑,๑-diphenyl-๒-picryhydrazyl (DPPH) radicals) (Shimada et al.,๑๙๙๒)

๓. ศึกษาความคงตัวของสารสี และคุณสมบัติสารต้านอนุมูลอิสระ

โดยนำปลายข้าวที่มีการเจริญของเชื้อราจากสภาวะที่เหมาะสมแล้วมาบดละเอียดให้มีขนาดประมาณ ๒๐ เมช หลังจากนั้นนำไปทดสอบความคงตัวของสารที่ โดยศึกษาผลของการให้ความร้อน การแช่แข็ง ความสามารถทนต่อกรด ความสามารถทนต่อด่าง และรังสี UV

โดยการทดสอบความคงตัวต่อความร้อน จะศึกษาที่อุณหภูมิ ๑๒๑ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๑ ชั่วโมง

การทดสอบการทนต่อสภาวะแช่แข็ง จะศึกษาที่อุณหภูมิ – ๒๐ องศาเซลเซียส เป็นวลา ๕ วัน

การทดสอบความทนต่อกรดและด่าง จะศึกษาโดยการแช่ตัวอย่างในกรดอะซิติก และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ที่ ความเป็นกรด-ด่าง ๒.๕ และ ๑๒.๕ ตามลำดับ ทำเป็นเวลา ๕ วัน

การทดสอบความทนต่อรังสี UV จะศึกษาโดยนำตัวอย่างผ่านการให้รังสีที่ความยาวคลื่น ๓๖๕ นาโนเมตร เป็นเวลา ๓๖ ชั่วโมง

ตัวอย่างที่ผ่านการศึกษาผลความคงตัวของสีในสภาวะต่างๆ จะนำมาวัดสีหลังจากการศึกษาตามวิธี Yongsmith และคณะ (๑๙๙๔)

ศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชั่น

- การยับยั้งปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชั่น (Inhibition of peroxidation), (Lingnert et al., ๑๙๗๙)

- ดีพีพีเอชแอคติวิตีการกำจัดอนุมูลอิสระ (Scavenging ability on ๑,๑-diphenyl-๒-picryhydrazyl (DPPH) radicals) (Shimada et al.,๑๙๙๒)

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก ๖๕๐๐๐