

บทที่ 4

ผลการวิจัย

1. การวิเคราะห์ปริมาณแป้งในเศษข้าวอบกรอบ

จากการส่งตัวอย่างเศษข้าวอบกรอบไปวิเคราะห์ที่หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีแปรรูปมันสำปะหลังและแป้งสถาบันผลิตผลการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร ทำการวิเคราะห์โดยวิธี Glucoamylase method พบว่าแป้งจากเศษข้าวอบกรอบมีปริมาณเนื้อแป้ง $85.80 \pm 0.30\%$

2. การแยก *Monascus* จากข้าวแดง

จากการแยกเชื้อราจากข้าวแดงแหล่งต่างๆในประเทศไทยทำโดยวิธี direct isolation สามารถแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 15 ไอโซเลต (ตาราง 1) พบว่า เชื้อราทั้งหมด 15 ไอโซเลตมีโคโคนีสีแดง หรือสีแดงเข้ม มีการเจริญแบบซิดเกาะแน่นบนผิวของอาหารแข็ง เส้นใยของเชื้อรามีสีขาวเมื่ออายุน้อย มีเส้นใยฟูทั่วโคโคนี จากนั้นเส้นใยจะเปลี่ยนสีจากสีขาวเป็นสีส้ม และเมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีแดงเข้ม (ภาคผนวก ช) เส้นใยมีผนังกัน มีการสร้างสปอร์สำหรับการสืบพันธุ์ทั้งแบบมีเพศ เรียกว่า โคนิเดียม และแบบไม่มีเพศ เรียกว่า แอสโคสปอร์

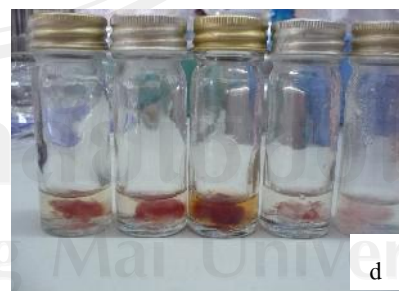
ตัวอย่างข้าวแดงจากร้านชัยอรุณ โอสด (ภาพ 8a) มาทำการแยกบนอาหาร PDA (potato dextrose agar) (ภาพ b) และเชื้อราที่เจริญบนอาหารวุ้นเหียง (ภาพ 8c) บ่มที่อุณหภูมิห้อง $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 7 วัน แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C พร้อมทำการเก็บรักษา เชื้อราไว้ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ แล้วเก็บที่อุณหภูมิห้อง (ภาพ 8d)

ตาราง 1 รหัสไอโซเลตของเชื้อราที่แยกจากข้าวแดงและแหล่งของข้าวแดง

ไอโซเลต	แหล่งของข้าวแดง
NK1	ร้านชัยอรุณ โอสด นครสวรรค์
NK2	ร้านสง่าพาณิชย์ นครสวรรค์
NK3	ร้านมาดีโอสด นครสวรรค์
CMU1	ร้านจิบอั้งตั้งโอสด เชียงใหม่

ตาราง 1 (ต่อ) รหัสไอโซเลทของเชื้อราที่แยกจากข้าวแดงและแหล่งของข้าวแดง

ไอโซเลท	แหล่งของข้าวแดง
CMU2	ข้าวแดงจากประเทศฮ่องกง
CMU3	ร้านห่อเห็มฝ่อ เชียงใหม่
AY1	ร้านหมอทิม ตลาดหัวรอ อโยธยา
AY2	ร้านเมืองทองเกษัช อโยธยา
AY2	ร้านเมืองทองเกษัช อโยธยา
AY3	ร้านวันชัยโฮสเทล อโยธยา
BK1	เขาวราช กรุงเทพฯ
SB1	ร้านกิตติโฮสเทล สิงห์บุรี
PH1	ร้านบ้านฮั่วตั้ง พิษณุโลก
PH2	ร้านจ้วนฮั่วตั้ง พิษณุโลก
PH3	ร้านมโนราห์ พิษณุโลก
KP1	ร้านไพศาลชัยโฮสเทล กำแพงเพชร



ภาพ 8 a) ข้าวแดงจากร้านชัยอรุณโฮสเทล b) การแยกเชื้อราบนอาหาร PDA c) เชื้อราไอโซเลท NK1 บนอาหารวุ้นเอียง PDA และ d) ไอโซเลท NK1 เก็บเชื้อในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ

3. การคัดเลือก *Monascus* ที่สามารถสร้างสารสีได้ดีที่สุดในอาหารเศษข้าวอบกรอบ โดยการเพาะเลี้ยงแบบ solid-state cultivation

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อราทั้ง 15 ไอโซเลทบนเศษข้าวอบกรอบในสภาพ solid-state cultivation บ่มที่อุณหภูมิห้อง ($26-28^{\circ}\text{C}$) เป็นเวลา 14 วัน ในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร แต่ละไอโซเลทจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ พบว่า เชื้อราสามารถเจริญและสร้างเส้นใยบนอาหารได้ดี เนื่องจากเศษข้าวอบกรอบที่ถูกนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อรา มีปริมาณเนื้อแป้ง $85.80 \pm 0.30\%$ และสารอินทรีย์อื่นๆ ที่มีส่วนทำให้เชื้อรานี้มาใช้ในการเจริญ ผลิตสี และสร้างสปอร์อย่างเต็มที่ อีกทั้งลักษณะทางกายภาพของเศษข้าวอบกรอบยังส่งผลต่อการเจริญของเชื้อรา เนื่องจากเศษข้าวอบกรอบมีขนาดเล็กประมาณ 1×1 เซนติเมตร ทำให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสกับเชื้อราได้มาก มีออกซิเจนถ่ายเทได้ทั่วอาหาร และทำให้เชื้อราเจริญขึ้นใยเส้นใยและสร้างสีได้ดี การทดลองครั้งนี้พบว่า เชื้อราไอโซเลท NK1 ที่แยกได้จากข้าวแดงที่มาจากร้านชัยอรุณ โอสด จังหวัด นครสวรรค์ สามารถสร้างสารสีแดง สีส้ม และสีเหลืองได้สูงที่สุด เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนเศษข้าวอบกรอบในสภาพแบบ solid-state cultivation โดยมีปริมาณสารสีแดงเท่ากับ 30 หน่วยต่อกรัม ปริมาณสารสีส้มเท่ากับ 29.50 หน่วยต่อกรัม และปริมาณสารสีเหลืองเท่ากับ 37.1 หน่วยต่อกรัม (ตาราง 2) ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อราไอโซเลท NK1 ไว้ศึกษาในขั้นตอนต่อไป ลักษณะการเจริญของเชื้อราไอโซเลทดังกล่าวบนเศษข้าวอบกรอบ พบว่าเชื้อราเจริญและสร้างสีแดงจนถึงภายในเศษข้าวอบกรอบ โดยเชื้อราจะสร้างเส้นใยสีขาวในระยะแรก ต่อมาเส้นใยก็เปลี่ยนเป็นสีแดง และปลดปล่อยสารสีออกมาทั่วเศษข้าวอบกรอบ เส้นใยจะเจริญทั่วเศษข้าวอบกรอบ ดังภาพ 9a หลังจากการอบแห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมงได้เศษข้าวอบกรอบมีลักษณะเป็นก้อนสีแดง ดังแสดงในภาพ 9b

ตาราง 2 ผลผลิตสารสีจากเชื้อรา 15 ไอโซเลท

ไอโซเลท	ผลผลิตสารสี (หน่วยต่อกรัม)		
	สารสีแดง (A_{500})	สารสีส้ม (A_{470})	สารสีเหลือง (A_{400})
NK1	30	29.50	37.1
NK2	3.24	3.13	0.44
NK3	28.8	25.1	35.7
CMU1	21.4	21.1	25.9
CMU2	0.28	0.06	0.12
CMU3	2.24	2.51	3.84

ตาราง 2 (ต่อ) ผลผลิตสารสีจากเชื้อรา 15 ไอโซเลท

ไอโซเลท	ผลผลิตสารสี (ยูนิตต่อกรัม)		
	สารสีแดง (A_{500})	สารสีส้ม (A_{470})	สารสีเหลือง (A_{400})
AY1	8.19	8.73	4.46
AY2	0.94	3.61	0.37
AY3	1.93	2.29	0.36
BK1	0.32	2.64	0.92
SB1	21.2	25.1	3.17
PH1	6.88	1.47	2.65
PH2	1.75	1.87	0.29
PH3	15.8	18.8	0.30
KP1	3.25	2.25	5.63



a



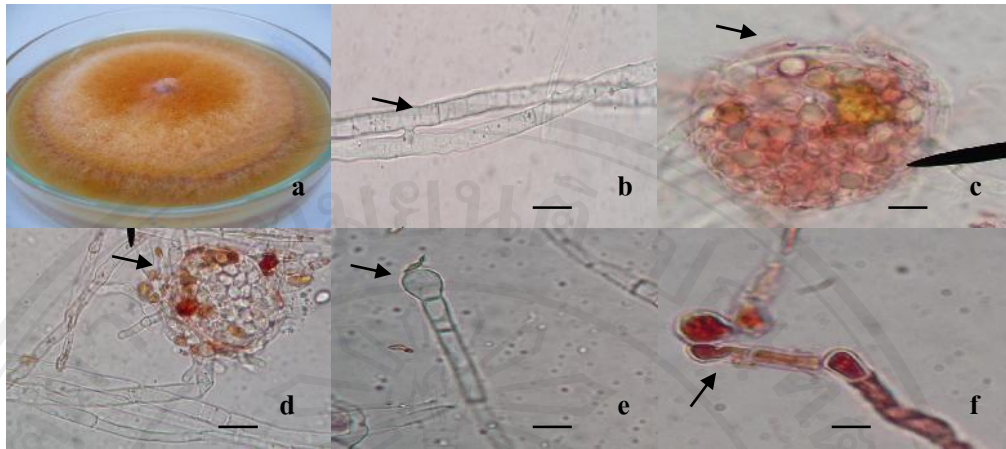
b

ภาพ 9 การเพาะเลี้ยงเชื้อราไอโซเลท NK1 บนเศษข้าวอบกรอบและเศษข้าวอบกรอบราแดงที่ผ่าน
การอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C

4. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติบางประการของ ไอโซเลท NK1

จากการนำเชื้อราไอโซเลท NK1 มาเพาะเลี้ยงบน PDA โดยสังเกตลักษณะผิวหน้าโคโลนีบนอาหาร (ภาพ 10a) พบว่า มีลักษณะเป็นแบบผิวหน้าภูเขาไฟ เส้นผ่านศูนย์กลางมีขนาด 5-6 เซนติเมตร การเจริญของเส้นใยในระยะแรกจะมีสีขาว และเมื่อเชื้ออายุมากขึ้นเส้นใยเปลี่ยนเป็นสีส้ม และสีแดง ตามลำดับ จากการทำ slide culture technique พบว่าเส้นใยมีผนังกัน (ภาพ 10b) มีการสร้างโคนิเดียมาจากโคนิดิโอฟอร์ โคนิเดียมีลักษณะกลมหรือรูปไข่ มีอันเดียว โคนิเดียไม่มีสี (ภาพ 10c) แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะเกิดสีแดง โคนิดิโอฟอร์มีผนังกัน (ภาพ 10d) เป็นสายตรงหรือขดเป็นเกลียว และเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่อมีอายุแก่ขึ้น มีการสร้างเพอริทีเซียม (ภาพ 10e และ d) ซึ่งมีแอสโคสปอร์จำนวน 8 สปอร์รวมอยู่ภายในแอสคัส แอสโคสปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่ มีสีน้ำตาล สีแดง สีส้ม หรือไม่มีสี เมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาตามหนังสือ Fungi and Food Spoilage (Pitt and Hocking, 1997) และสายพันธุ์อ้างอิง *Monascus purpureus* TISTR 3385 พบว่าเป็น *Monascus* spp. และเมื่อทดสอบการเจริญของเชื้อราในอาหารที่มีเกลือ 6% และ ethanol 30% (ภาพผนวก ก) หากเป็น *M. purpureus* จะไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะดังกล่าว จากการทดลองพบว่า ไอโซเลท NK1 ไม่สามารถเจริญในสภาวะดังกล่าว จึงจัดเป็นเชื้อราสายพันธุ์ *M. purpureus* NK1

สำหรับเชื้อรา 14 ไอโซเลท ได้มีการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการ เช่นเดียวกับวิธีที่ได้กล่าวมา พบว่า มีการสร้างเส้นใยสีขาวในระยะแรก หลังจากนั้นเส้นใยจะเปลี่ยนเป็นสีส้มและแดงตามลำดับ เส้นใยมีผนังกัน มีการสร้างโคนิเดียมีลักษณะกลม 1 อัน ที่เจริญมาจากโคนิดิโอฟอร์ และมีการสร้างเพอริทีเซียมซึ่งมีแอสโคสปอร์อยู่ภายในแอสคัส เชื้อราทั้ง 14 ไอโซเลทจึงจัดอยู่ใน *Monascus* spp.



ภาพ 10 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *M. purpureus* NK1 (40x)

- (a) ลักษณะโคโลนี (colony)
- (b) ลักษณะเส้นใยมีผนังกัน (septate)
- (c) และ (d) ลักษณะเพอริทีเซียม (perithcium)
- (e) และ (f) โคนิเดีย (conidia) และ โคนิดิโอฟอร์ (conidiospore)

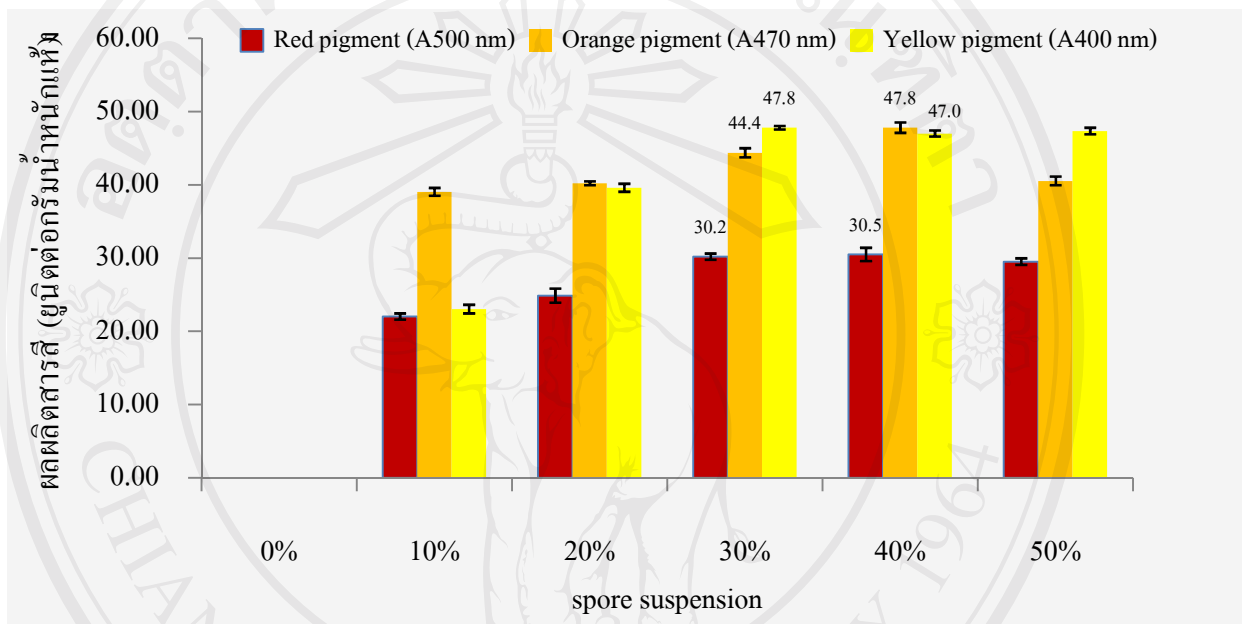
จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการของไอโซเลต NK2, NK3, CMU1, CMU2, CMU3, AY1, AY2, AY3, BK1, SB1, PH1, PH2, PH3 และ KP1 โดยทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA เช่นเดียวกับการศึกษาของไอโซเลต NK1 พบว่า การเจริญของเส้นใยระยะแรกจะมีสีขาว และจะเปลี่ยนเป็นสีส้ม และสีแดง ตามลำดับ เส้นใยมีผนังกัน และสร้างสปอร์ในรูปโคนิเดีย และ เพอริทีเซียม (Pitt and Hocking, 1997) เชื้อราทั้ง 14 ไอโซเลตจึงจัดเป็นเชื้อรา *Monascus* spp. (ภาคผนวก ช)

5. การหาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการผลิตสารสีของ *Monascus purpureus* NK1

5.1 ผลของปริมาณ spore suspension ต่อการผลิตสารสีของ *Monascus purpureus* NK1

จากการเพาะเลี้ยง *M. purpureus* NK1 โดยการหมักในสภาพของแข็งบนเศษข้าวอบกรอบ 10 กรัม ที่มีเชื้อตั้งต้นแบบ spore suspension ที่มีปริมาตร 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร คิดเป็น 10%, 20%, 30%, 40% และ 50% ตามลำดับ โดยเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (26-28°C) เป็นเวลา 7 วัน พบว่า *M. purpureus* NK1 สามารถผลิตสารสีแดง ส้ม และเหลืองสูงที่สุดเมื่อใช้เชื้อตั้งต้น

ปริมาณ 40% มีปริมาณสีแดงเท่ากับ 30.5 หน่วยต่อกรัม สารสีส้มเท่ากับ 47.8 หน่วยต่อกรัม และสารสีเหลืองเท่ากับ 47.0 หน่วยต่อกรัม (ภาพ 11 และภาคผนวกตาราง 5 และ 10) และเนื่องจากปริมาณ spore suspension ที่ 30%, 40% และ 50% ให้ปริมาณสีใกล้เคียงกันและให้ค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เพื่อเป็นการลดต้นทุนและค่าใช้จ่ายในการเตรียมเชื้อตั้งต้น จึงเลือกใช้ปริมาณ spore suspension 30 % ในการเพาะเลี้ยง *M. purpurescens* NK1 เพื่อผลิตสารสีแดง ส้ม และเหลือง

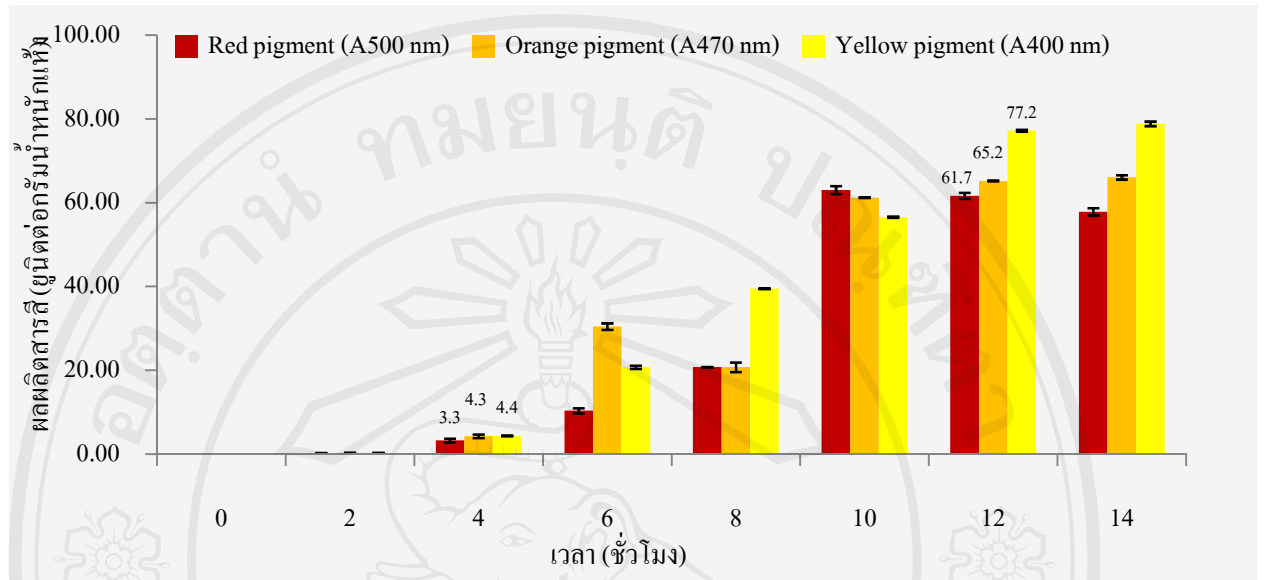


ภาพ 11 ผลของปริมาณ spore suspension ต่อการผลิตสารสีของ *M. purpurescens* NK1

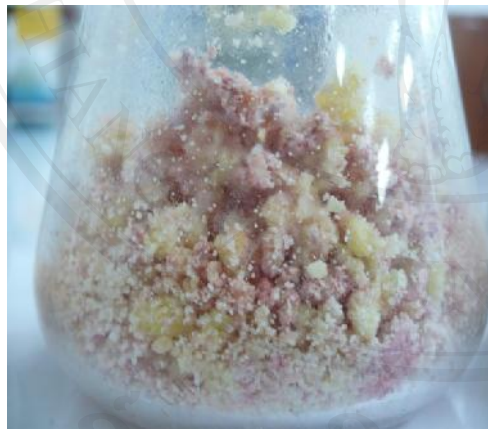
5.2 ผลของระยะเวลาต่อการผลิตสารสีของ *Monascus purpurescens* NK1

จากการเพาะเลี้ยง *M. purpurescens* NK1 โดยการหมักในสภาพของแข็งบนเศษข้าวอบกรอบ 10 กรัม ที่มีเชื้อตั้งต้นแบบ spore suspension ปริมาตร 3 มิลลิเมตร ความชื้นเริ่มต้น 28.5 % บ่มที่อุณหภูมิห้อง (26-28°C) มีระยะการเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน คือ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 วัน พบว่า *M. purpurescens* NK1 สามารถสร้างสารสีแดง ส้ม และเหลือง ให้ค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและสามารถสร้างสารสีได้สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 วัน สำหรับการเพาะเลี้ยงใน 2 วันแรก *M. purpurescens* NK1 จะเจริญและสร้างเส้นใยสีขาวขึ้นบนเศษข้าวอบกรอบ ขณะที่การสร้างสีของเชื้อมีปริมาณน้อยในช่วงแรกๆ (ภาพ 13a) และค่อยเพิ่มมากขึ้นจนกระทั่งเริ่มคงที่ในวันที่ 12 (ภาพ 13b) ส่งผลให้เศษข้าวอบกรอบมีสีแดงเข้มทั่วอาหาร (ภาพ 13b) โดยมีปริมาณสารสี

แดงเท่ากับ 61.7 ยูนิตต่อกรัม ปริมาณสารสีส้มเท่ากับ 65.2 ยูนิตต่อกรัม และปริมาณสารสีเหลืองเท่ากับ 77.2 ยูนิตต่อกรัม (ภาพ 12 และภาคผนวกตาราง 6 และ 11)



ภาพ 12 ผลของระยะเวลาต่อการผลิตสารสีของ *M. purpurescens* NK1



a



b

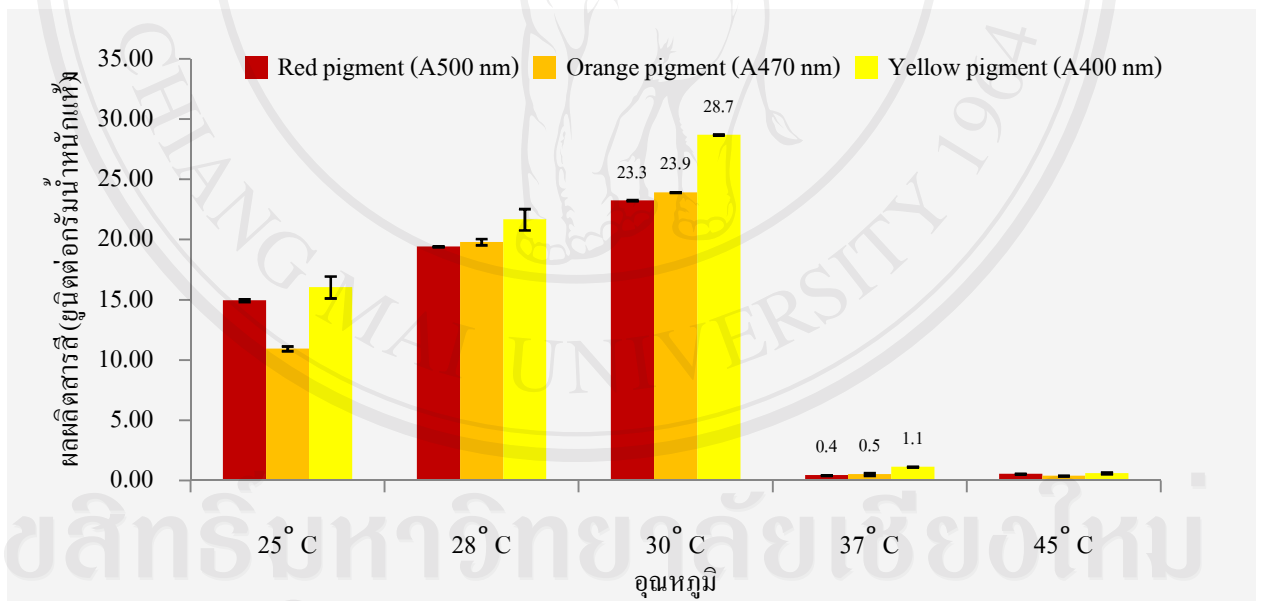
ภาพ 13 ลักษณะการเจริญของ *M. purpurescens* NK1 บนเศษข้าวอบกรอบ

(a) ลักษณะสีของเศษข้าวอบกรอบหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 วัน

(b) ลักษณะสีของเศษข้าวอบกรอบหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 วัน

5.3 ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตสารสีของ *Monascus purpureus* NK1

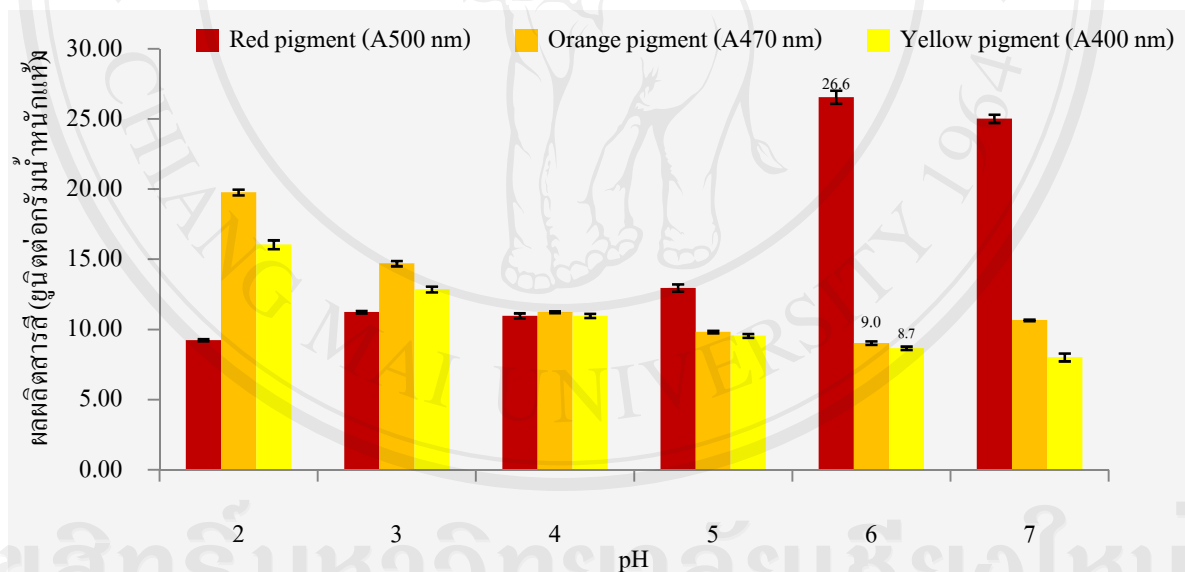
จากการเพาะเลี้ยง *M. purpureus* NK1 โดยการหมักในสภาพของแข็งบนเศษข้าวอบกรอบ 10 กรัม ที่มีเชื้อตั้งต้นแบบ spore suspension ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ปรับความชื้นเป็น 28.5 % บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 25 °C, 30 °C, 37 °C, 45 °C และอุณหภูมิห้อง (26-28 °C) พบว่า *M. purpureus* NK1 สามารถสร้างสารสีแดง ส้ม และเหลือง ให้ค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และสามารถสร้างสารสีได้ดีที่สุดเมื่อทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 °C โดยมีปริมาณสารสีแดงเท่ากับ 23.3 หน่วยต่อกรัม ปริมาณสารสีส้มเท่ากับ 23.9 หน่วยต่อกรัม และปริมาณสารสีเหลืองเท่ากับ 28.7 หน่วยต่อกรัม (ตาราง 14 และภาคผนวกตาราง 7 และ 12) โดยอุณหภูมิที่ 30 °C *M. purpureus* NK1 สามารถเจริญได้ดีทั้งอาหาร ลักษณะของเศษข้าวอบกรอบมีสีแดงเข้ม ในขณะที่อุณหภูมิ 37 °C และ 45 °C ไม่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสารสีของ *M. purpureus* NK1 ส่งผลทำให้เศษข้าวอบกรอบที่ได้มีสีชมพูอ่อน อุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งของสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ โดยจะมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ในระบบเมตาบอลิซึม



ภาพ 14 ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตสารสีของ *M. purpureus* NK1

5.4 ผลของ pH เริ่มต้นต่อการผลิตสารสีของ *Monascus purpureus* NK1

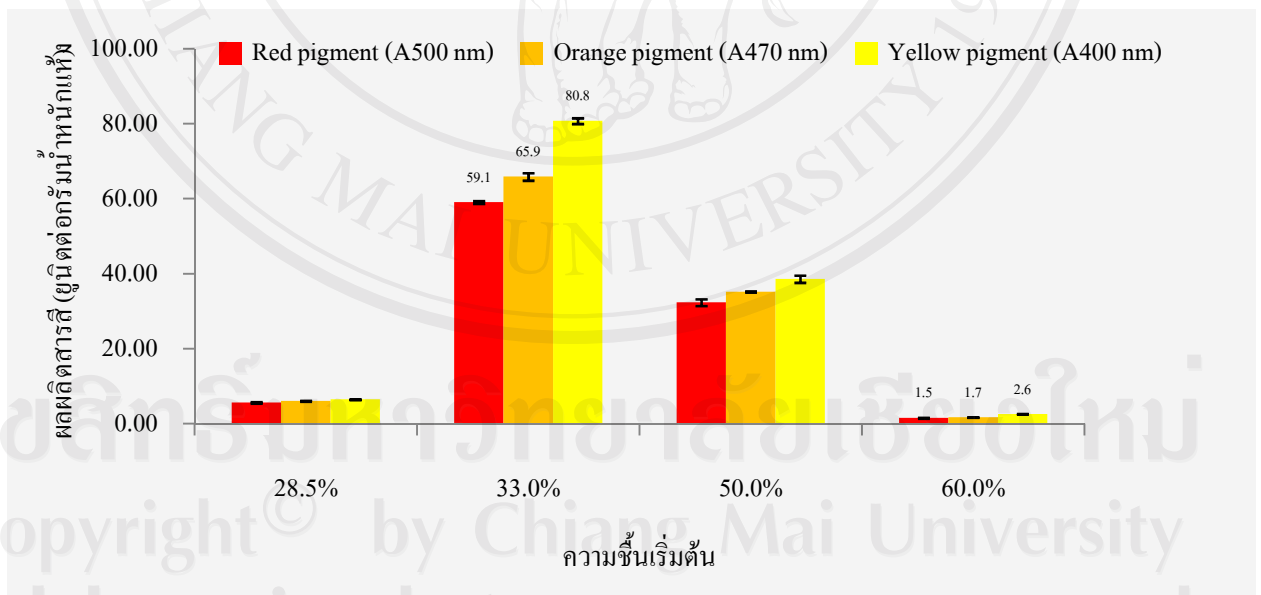
จากการเพาะเลี้ยง *M. purpureus* NK1 โดยการหมักในสภาพของแข็งบนเศษข้าวอบกรอบ 20 กรัม ที่มีเชื้อตั้งต้นเป็นแบบ spore suspension ปริมาตร 3 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 12 วัน ความชื้น 28.5% และอัตราส่วนของสับสเตรทเศษข้าวอบกรอบ ต่อ ปริมาณน้ำ เท่ากับ 10:1 (w/v) ที่มี pH เริ่มต้นของอาหารแตกต่างกันคือ 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 พบว่า *M. purpureus* NK1 สามารถสร้างสารสีแดง ส้ม และเหลือง ให้ค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และสามารถสร้างสารสีได้ดีที่สุดในอาหารที่มี pH เริ่มต้นเท่ากับ 6 (ภาพ 15 และภาคผนวกตาราง 8 และ 13) และ pH ของอาหารหลังการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 4 โดยมีปริมาณสารสีแดงเท่ากับ 26.6 ยูนิตต่อกรัม สารสีส้มเท่ากับ 9.0 ยูนิตต่อกรัม และสารสีเหลืองเท่ากับ 8.7 ยูนิตต่อกรัม ดังนั้นการเพาะเลี้ยง *Monascus purpureus* NK1 เพื่อผลิตสารสี จึงต้องควบคุมค่า pH ให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับกิจกรรมของจุลินทรีย์ เนื่องจากกิจกรรมแต่ละประเภท รวมทั้งชนิดของจุลินทรีย์ ต้องการ pH ที่เหมาะสมแตกต่างกันไป



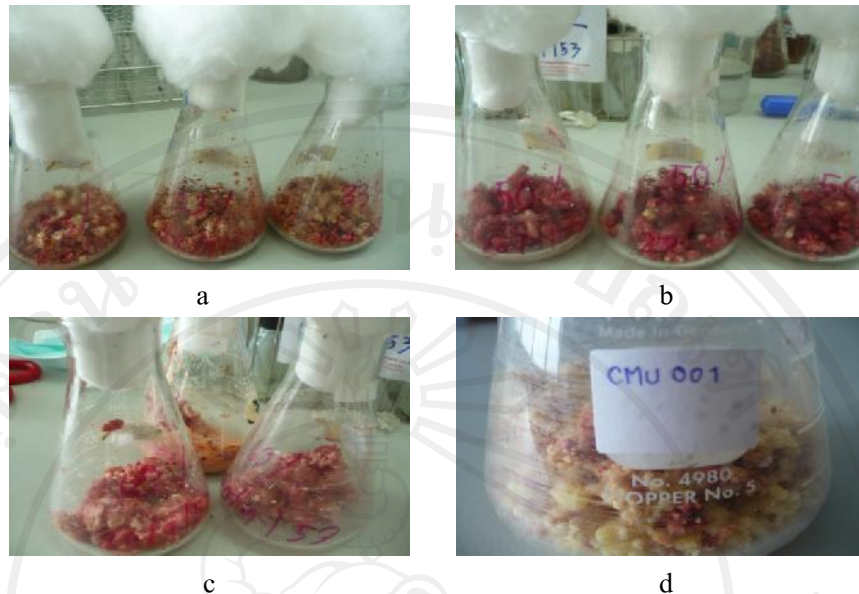
ภาพ 15 ผลของ pH เริ่มต้นต่อการผลิตสารสีของ *M. purpureus* NK1

5.5 ผลของความชื้นเริ่มต้นต่อการผลิตสารสีของ *Monascus purpureus* NK1

จากการเพาะเลี้ยง *M. purpureus* NK1 โดยการหมักในสภาพของแข็งบนเศษข้าวอบกรอบ 20 กรัม ใช้เชื้อตั้งต้นแบบ spore suspension ปริมาตร 3 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 12 วัน โดยมี pH เริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 6 มีการผันแปรความชื้นเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 33%, 50%, 60% และ ชุดที่ไม่ได้ปรับความชื้น (13%) (ภาคผนวก ง) พบว่า *M. purpureus* NK1 สามารถผลิตสารสีแดง ส้ม และเหลือง ให้ค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และสามารถสร้างสารสีได้ดีที่สุดในเศษข้าวอบกรอบที่มีการปรับความชื้นเริ่มต้น 33% (ภาพ 16 และภาคผนวกตาราง 9 และ 14) โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ได้ค่าการดูดกลืนแสงดังต่อไปนี้ ปริมาณสารสีแดงเท่ากับ 59.1 หน่วยต่อกรัม ปริมาณสารสีส้มเท่ากับ 65.9 หน่วยต่อกรัม และปริมาณสารสีเหลืองเท่ากับ 80.8 หน่วยต่อกรัม ลักษณะการเจริญของเชื้อราบนเศษข้าวอบกรอบที่ความชื้น 33% (ภาพ 17a) ความชื้น 50% (ภาพ 17b) ความชื้น 60% (ภาพ 17c) และชุดควบคุมที่ไม่มีการปรับเพิ่มความชื้น (ภาพ 7d) ความชื้นเป็นส่วนสำคัญในการหมักเชื้อราและเป็นตัวกำหนดการเจริญของเส้นใยของเชื้อราที่สำคัญ ถ้าความชื้นมีน้อยเกินไป เส้นใยของเชื้อราจะเจริญช้า ถ้าความชื้นมากเกินไปการระบายอากาศภายในอาหารไม่ดี ทำให้เส้นใยขาดออกซิเจนและไม่เจริญซึ่งจะส่งผลให้การสร้างสีลดลงด้วย



ภาพ 16 ผลของความชื้นเริ่มต้นต่อการผลิตสารสีของ *M. purpureus* NK1



ภาพ 17 การเพาะเลี้ยง *M. purpureus* NK1 บนอาหารแข็งที่มีความชื้นเริ่มต้นแตกต่างกัน

- (a) ความชื้น 33%
- (b) ความชื้น 50%
- (c) ความชื้น 60%
- (d) ความชื้น 28.5% (control)

6. ผลผลิตข้าวอบกรอบราแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Monascus purpureus* NK1 และ เปรอร์เซ็นต์ผลผลิตของข้าวอบกรอบราแดง

นำเศษข้าวอบกรอบราแดงที่หมักโดย *M. purpureus* NK1 มาชั่งน้ำหนักหลังการหมัก 10 วัน (ภาพ 18a) พบว่า การหมักด้วย *M. purpureus* NK1 ในเศษข้าวอบกรอบ 30 กรัม ให้ น้ำหนักหลังการหมักเฉลี่ย คือ 27.84 กรัม เมื่อนำมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วบดด้วยโกร่งให้ละเอียดจนเป็นผง พบว่า ผงข้าวกรอบราแดง (18b) ให้น้ำหนัก 22.75 กรัม คำนวณค่าผลผลิตร้อยละของผลิตภัณฑ์ที่มาจากการหมัก *M. purpureus* NK1 บนเศษข้าวอบกรอบ คือ 75.83 %



ภาพ 18 a) ผลผลิตข้าวอบกรอบราแดง และ b) ข้าวอบกรอบราแดงบดเป็นผงละเอียด

7. ปริมาณสปอร์ของ *Monascus* ที่เก็บรักษาในรูปผงข้าวอบกรอบเชื้อราแดง

จากการนับจำนวนสปอร์ที่มีชีวิตของ *M. purpureus* NK1 โดยวิธีการ dilution plate count พบว่า จำนวนสปอร์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งก่อนและหลังการอบแห้งมีจำนวนสปอร์ 4.2×10^6 และ 4.0×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง และ 4.16×10^6 และ 3.96×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 4°C

หลังการเก็บรักษาในสภาพอบแห้งเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 4°C มีจำนวนสปอร์ใกล้เคียงกันแต่จำนวนลดลงเล็กน้อย หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 เดือน พบว่า ที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 4°C มีจำนวนสปอร์ 3.4×10^6 และ 3.32×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังตาราง 3

ตาราง 3 จำนวนสปอร์ของ *M. purpureus* NK1 ในผงข้าวอบกรอบราแดงเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 1 และ 4 เดือน

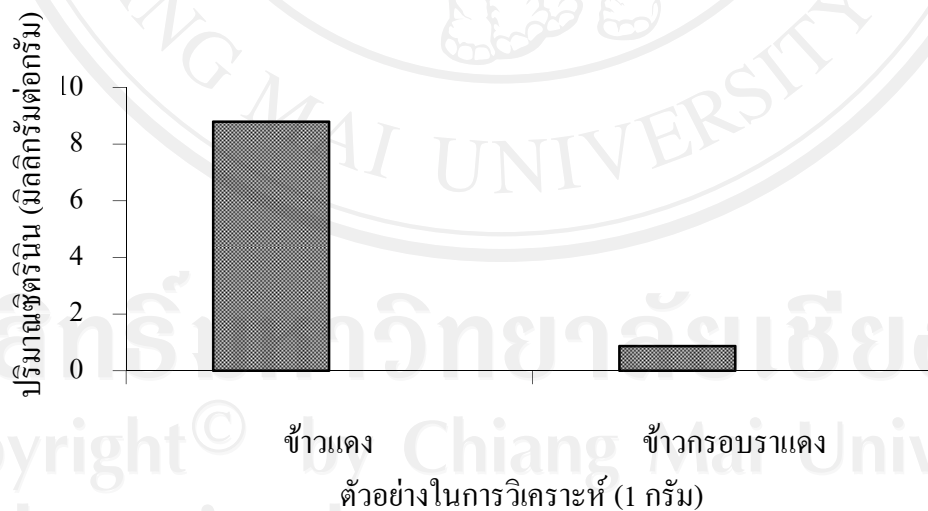
ลักษณะสปอร์	จำนวนสปอร์ของเชื้อรา (สปอร์ต่อมิลลิลิตร)	
	อุณหภูมิห้อง	อุณหภูมิ 4°C
ก่อนอบแห้ง	$4.2 \times 10^6 \pm 0.01$	$4.16 \times 10^6 \pm 0.02$
หลังอบแห้ง	$4.0 \times 10^6 \pm 0.02$	$3.96 \times 10^6 \pm 0.05$
เก็บรักษา 1 เดือน	$3.5 \times 10^6 \pm 0.06$	$3.49 \times 10^6 \pm 0.08$
เก็บรักษา 4 เดือน	$3.4 \times 10^6 \pm 0.15$	$3.32 \times 10^6 \pm 0.06$

8. ปริมาณสารชิตรีนินและสารโมนาโคลิน เค ในข้าวกรอบราแดง

ในการวิเคราะห์หาปริมาณชิตรีนินในข้าวแดงจากร้านชัยอรุณ โอสด จ.นครสวรรค์ และข้าวอบกรอบราแดง (ภาพ 19a และ b ตามลำดับ) โดยการสกัดตัวอย่างของชิตรีนิน ด้วย 68% ethanol แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณของชิตรีนินโดยวิธี HPLC พบว่าเศษข้าวอบกรอบราแดงให้ปริมาณชิตรีนินต่ำกว่าข้าวแดง (ภาพ 20) โดยข้าวกรอบราแดงและข้าวแดงมีปริมาณชิตรีนินเท่ากับ 0.87 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 8.79 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ นำข้าวกรอบราแดงวิเคราะห์หาสารโมนาโคลิน เค โดยวิธี HPLC พบว่า ข้าวอบกรอบราแดงมีปริมาณสารโมนาโคลิน เค ซึ่งเป็นสารลดคอเลสเตอรอลถึง 94.77 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม



ภาพ 19 a) ตัวอย่างในการทดสอบสารชิตรีนินข้าวแดงจากชัยอรุณ โอสด b) ผงข้าวอบกรอบราแดง

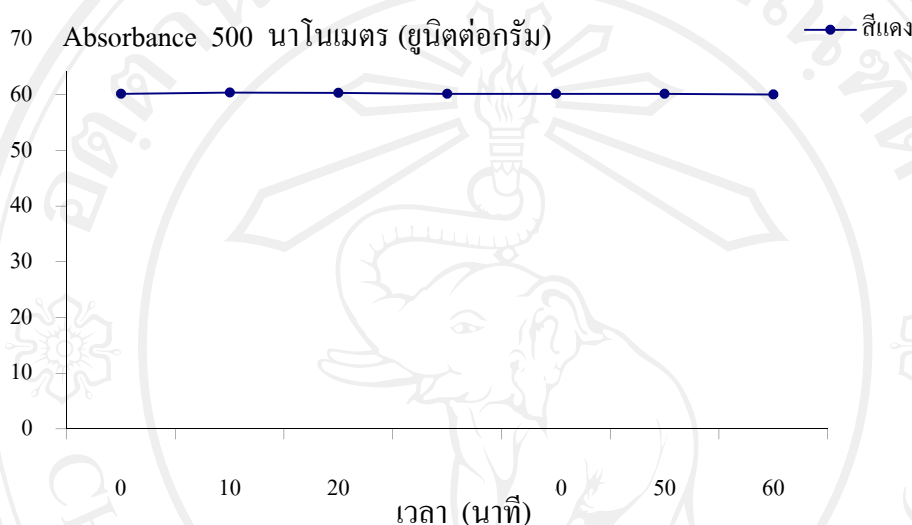


ภาพ 20 ปริมาณชิตรีนินในข้าวแดงและข้าวอบกรอบราแดง

9. ผลการศึกษาคุณสมบัติบางประการของสีจาก *Monascus purpureus* NK1

9.1 ผลการศึกษาความคงทนต่อความร้อน

สีที่ได้จาก *M. purpureus* NK1 เป็นสีที่คงทนต่อความร้อน พบว่า เมื่อนำสีที่สกัดจากเชื้อราไปต้มให้ความร้อนใน water bath 100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ความเข้มของสียังคงเท่าเดิม ไม่เปลี่ยนแปลง ดังภาพ 11



ภาพ 21 ผลการศึกษาความคงทนของสีต่อความร้อน

9.2 ความคงทนต่อความเป็นกรดต่าง

สารสีที่ได้จาก *M. purpureus* NK1 ที่ได้นำไปปรับให้เป็นกรดและด่างด้วย HCl หรือ NaOH 0.1 N ตั้งแต่พีเอช 2 ถึง พีเอช 11 แล้วนำไปวัดความเข้มของสีแดง พบว่า ก่อนการปรับค่า pH มีปริมาณสารสีแดงเท่ากับ 59.26 ยูนิตต่อกรัม และไม่มีความแตกต่างกันเมื่อปรับ pH 2 หรือ pH 11 ดังตาราง 4

ตาราง 4 ความคงทนของสารสีต่อความเป็นกรดและด่าง

ไอโซเลต	เริ่มต้น		ปรับเป็นกรด		ปรับเป็นด่าง	
	pH	OD 500	pH	OD 500	pH	OD 500
NK 1	6.24	59.26	2	59.30	11	59.20