



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม

1. Potato dextrose agar

อาหาร Potato dextrose agar เป็นอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อราและยีสต์ มีอยู่ 2 ชนิด คือ อาหาร Potato dextrose agar ชนิดสำเร็จรูปสามารถนำไปต้มเป็นอาหารแข็งได้เลย อีกชนิดหนึ่งคือ Potato dextrose agar ซึ่งมีวิธีการเตรียมดังนี้

สูตรอาหาร

มันฝรั่งหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ	200	กรัม
น้ำตาลกลูโคส	20	กรัม
ผงวุ้น	20	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปอกเปลือกมันฝรั่ง ล้างให้สะอาดแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์ เซนติเมตร นำไปชั่งจนครบ 250 กรัม แล้วนำไปต้มกับน้ำกลั่น 1 ลิตร เป็นเวลา 15-20 นาที กรองเอาส่วนที่เป็นน้ำออกมาเติม ส่วนประกอบที่เหลือละลายให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

2. Potato dextrose broth

สูตรอาหาร

มันฝรั่งหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ	200	กรัม
น้ำตาลกลูโคส	20	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปอกเปลือกมันฝรั่ง ล้างให้สะอาดแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์ เซนติเมตร นำไปชั่งจนครบ 250 กรัม แล้วนำไปต้มกับน้ำกลั่น 1 ลิตร เป็นเวลา 15-20 นาที กรองเอาส่วนที่เป็นน้ำออกมาเติม ส่วนประกอบที่เหลือละลายให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

การเตรียมเศษข้าวอบกรอบ

1. อาหารเศษข้าวอบกรอบ

เศษข้าวอบกรอบ

10

กรัม

น้ำกลั่น

1

มิลลิลิตร

ซึ่งเศษข้าวอบกรอบใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ขวดละ 10 กรัม แล้วใส่น้ำกลั่นลงไปขวดละ 1 มิลลิลิตร นำแท่งแก้วคนให้เข้ากันแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ก

การคำนวณจำนวนสเปร์เชื้อราจากการตรวจนับด้วย hemacytometer

ปริมาตรใน 25 ช่องใหญ่ (400 ช่องเล็ก) = 0.1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร

สมมติค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ใน 1 ช่องใหญ่ = X เซลล์

1 ช่องเล็ก = Y เซลล์ (X = 16Y)

ใน 0.1 mm^3 มีจำนวนเซลล์ทั้งหมด = $X \times 25$ หรือ $Y \times 16 \times 25$ เซลล์

1 mm^3 = $X \times 25 \times 10$ หรือ $Y \times 16 \times 25 \times 10$ เซลล์

1 ml = $X \times 25 \times 10 \times 10^3$ หรือ $Y \times 16 \times 25 \times 10 \times 10^3$
เซลล์

= $25X \times 10^4$ หรือ $4Y \times 10^6$ เซลล์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

ภาคผนวก ง

การคำนวณปริมาณความชื้น

1. การคำนวณปริมาณความชื้นในระบบการหมักในสภาพ solid-state cultivation ในเศษข้าวอบกรอบ

คำนวณจากปริมาณของเหลวในอาหารหมักเปรียบเทียบกับปริมาณของผสมทั้งหมดในระบบ
เช่น ปริมาณความชื้น 28.5% คิดจาก

ส่วนที่เป็นของเหลว (spore suspension 3 มิลลิลิตร + น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร) = 4 ส่วน

ปริมาณของผสมทั้งหมด (เศษข้าวอบกรอบ 10 กรัม + spore suspension 3 มิลลิลิตร +
น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร) = 14 ส่วน

นำสัดส่วนทั้งหมดมาคำนวณ ดังนี้

ปริมาณของผสม 14 ส่วน มีส่วนที่เป็นของเหลว 4 ส่วน

ปริมาณของผสม 100 ส่วน จะมีส่วนที่เป็นของเหลวเท่ากับ $100 \times 4/14 = 28.5\%$

ภาคผนวก จ

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา

1. ศึกษาด้วยตาเปล่า (macroscopic) โดยเปรียบเทียบลักษณะ โคลนินของเชื้อราที่เจริญอยู่บนอาหาร
แข็ง ใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่เผาไฟแล้ว เขี่ยที่โคลนินของเชื้อ เพื่อดูความแน่นของโคลนินและการเกาะติด
อาหาร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก จ

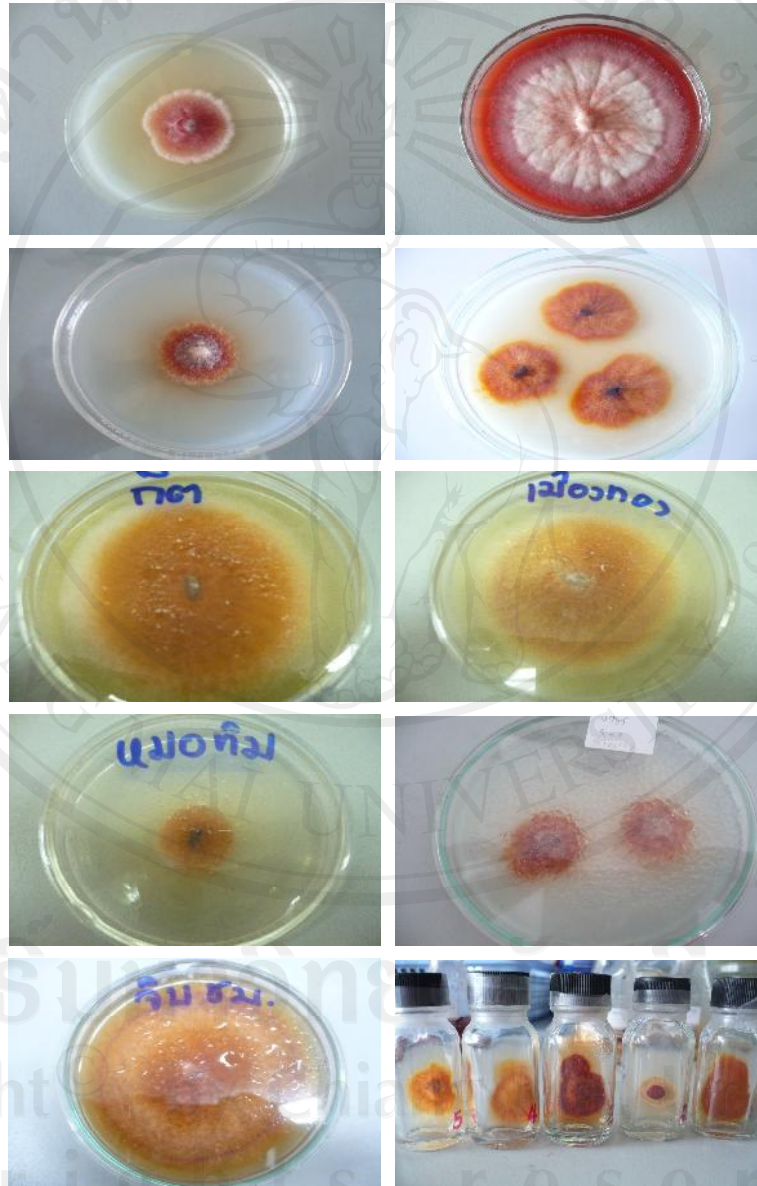
การหาล้อยละผลผลิตของผลิตภัณฑ์

1. เปอร์เซ็นต์ผลผลิตเศษข้าวอบกรอบราแดง (Chairote *et al.*, 2007)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ผลผลิตเศษข้าวอบกรอบราแดง} = \frac{\text{น้ำหนักของเศษข้าวกรอบราแดง (g)}}{\text{น้ำหนักของเศษข้าวกรอบก่อนการหมัก (g)}} \times 100$$

ภาคผนวก ข

ลักษณะโคโลนีของ *Monascus* spp.



ภาพ 19 *Monascus* จำนวน 14 ไอโซเลตบนอาหาร PDA และอาหารวุ้นเห็ยง

ภาคผนวก ข

ตารางผลการทดลองและผลวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตาราง 5 ปริมาณสารสีของ *Monascus purpureus* NK1 เมื่อเพาะเลี้ยงบนเศษข้าวอบกรอบที่ปริมาณ spore suspension ที่แตกต่างกัน

spore suspension (%)	ปริมาณสารสี (ยูนิตต่อกรัม)		
	สีแดง (500 nm)	สีส้ม (470 nm)	สีเหลือง (400 nm)
0	0 ^a ± 0.00	0 ^a ± 0.00	0 ^a ± 0.00
10	22.01 ^b ± 0.43	39.04 ^b ± 0.53	23.03 ^b ± 0.59
20	24.86 ^c ± 0.96	40.20 ^{bc} ± 0.26	39.60 ^c ± 0.54
30	30.20 ^e ± 0.43	44.38 ^d ± 0.62	47.80 ^d ± 0.24
40	30.50 ^f ± 0.91	47.80 ^c ± 0.71	47.00 ^d ± 0.42
50	29.50 ^d ± 0.45	40.53 ^c ± 0.60	47.34 ^d ± 0.46

ตาราง 6 ปริมาณสารสีของ *Monascus purpureus* NK1 เมื่อเพาะเลี้ยงบนเศษข้าวอบกรอบเป็นเวลา 14 วัน

เวลา (วัน)	ปริมาณสารสี (ยูนิตต่อกรัม)		
	สีแดง (500 nm)	สีส้ม (470 nm)	สีเหลือง (400 nm)
0	0 ^a ± 0.00	0 ^a ± 0.00	0 ^a ± 0.00
2	0.27 ^a ± 0.03	0.29 ^a ± 0.02	0.25 ^a ± 0.06
4	3.25 ^b ± 0.46	4.29 ^b ± 0.43	4.38 ^b ± 0.06
6	10.36 ^c ± 0.60	30.46 ^c ± 0.78	20.75 ^c ± 0.40

ตาราง 6 ปริมาณสารสีของ *Monascus purpureus* NK1 เมื่อเพาะเลี้ยงบนเศษข้าวอบกรอบเป็น เวลา 14 วัน

เวลา (วัน)	ปริมาณสารสี (ยูนิตต่อกรัม)		
	สีแดง (500 nm)	สีส้ม (470 nm)	สีเหลือง (400 nm)
8	20.75 ^d ± 0.04	20.75 ^d ± 1.13	39.47 ^d ± 0.03
10	63.02 ^f ± 0.97	61.23 ^e ± 0.04	56.57 ^e ± 0.15
12	61.66 ^f ± 0.72	65.20 ^f ± 0.03	77.20 ^f ± 0.20
14	57.84 ^e ± 0.87	66.06 ^f ± 0.51	78.83 ^g ± 0.54

ตาราง 7 ปริมาณสารสีของ *Monascus purpureus* NK1 เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณสารสี (ยูนิตต่อกรัม)		
	สีแดง (500 nm)	สีส้ม (470 nm)	สีเหลือง (400 nm)
25	14.96 ^b ± 0.12	10.96 ^b ± 0.20	16.05 ^b ± 0.90
28	19.42 ^c ± 0.03	19.81 ^c ± 0.26	21.67 ^c ± 0.88
30	23.25 ^d ± 0.05	23.93 ^d ± 0.02	28.70 ^d ± 0.04
37	0.44 ^a ± 0.02	0.53 ^a ± 0.11	1.14 ^a ± 0.04
45	0.56 ^a ± 0.04	0.40 ^a ± 0.04	0.62 ^a ± 0.08

ตาราง 8 ปริมาณสารสีของ *Monascus purpureus* NK1 เมื่อเพาะเลี้ยงบนเศษข้าวอบกรอบ
ที่มีค่า pH เริ่มต้นแตกต่างกัน

pH	ปริมาณสารสี (ยูนิตต่อกรัม)		
	สีแดง (500 nm)	สีส้ม (470 nm)	สีเหลือง (400 nm)
2	9.24 ^a ± 0.08	19.78 ^f ± 0.21	16.05 ^f ± 0.31
3	11.25 ^b ± 0.09	14.71 ^e ± 0.19	12.86 ^e ± 0.21
4	10.98 ^b ± 0.18	11.24 ^d ± 0.06	10.98 ^d ± 0.15
5	12.96 ^c ± 0.26	9.82 ^b ± 0.09	9.55 ^c ± 0.14
6	26.56 ^d ± 0.47	9.04 ^a ± 0.12	8.67 ^b ± 0.12
7	25.03 ^c ± 0.29	10.67 ^c ± 0.06	8.02 ^a ± 0.28

ตาราง 9 ปริมาณสารสีของ *Monascus purpureus* NK1 เมื่อเพาะเลี้ยงบนเศษข้าวอบกรอบที่มี
ปริมาณความชื้นเริ่มต้นแตกต่างกัน

ความชื้น (%)	ปริมาณสารสี (ยูนิตต่อกรัม)		
	สีแดง (500 nm)	สีส้ม (470 nm)	สีเหลือง (400 nm)
28.5	5.60 ^b ± 0.21	6.03 ^b ± 0.10	6.45 ^b ± 0.07
33	59.07 ^d ± 0.35	65.89 ^d ± 1.01	80.76 ^d ± 0.77
50	32.34 ^c ± 0.88	35.20 ^c ± 0.17	38.60 ^c ± 0.97
60	1.52 ^a ± 0.11	1.69 ^a ± 0.04	2.56 ^a ± 0.10

ตาราง 10 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสีที่ผลิตจาก *Monascus purpureus* NK1 ที่สภาวะการเพาะเลี้ยงที่มีปริมาณ spore suspension ต่างกัน

ANOVA					
Red pigment					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2050.683	5	410.137	1059.207	.000
Within Groups	4.647	12	.387		
Total	2055.329	17			
Orange					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4651.810	5	930.362	3551.226	.000
Within Groups	3.144	12	.262		
Total	4654.954	17			
Yellow					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5534.626	5	1106.925	6124.821	.000
Within Groups	2.169	12	.181		
Total	5536.795	17			

ตาราง 11 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสีที่ผลิตจาก *Monascus purpureus* NK1 ที่สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เวลาต่างกัน

ANOVA					
Red pigment					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17320.847	7	2474.407	7150.517	.000
Within Groups	5.537	16	.346		
Total	17326.384	23			
Orange pigment					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18106.884	7	2586.698	8897.659	.000
Within Groups	4.651	16	.291		
Total	18111.535	23			
Yellow pigment					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23279.282	7	3325.612	50885.994	.000
Within Groups	1.046	16	.065		
Total	23280.328	23			

ตาราง 12 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสีที่ผลิตจาก *Monascus purpureus* NK1 ที่สภาวะการเพาะเลี้ยงที่มีอุณหภูมิแตกต่างกัน

ANOVA					
Red pigment					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1363.307	4	340.827	90484.945	.000
Within Groups	.038	10	.004		
Total	1363.344	14			
Orange pigment					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1400.112	4	350.028	14444.075	.000
Within Groups	.242	10	.024		
Total	1400.355	14			
Yellow pigment					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1868.492	4	467.123	1456.785	.000
Within Groups	3.207	10	.321		
Total	1871.699	14			

ตาราง 13 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสีที่ผลิตจาก *Monascus purpureus* NK1 ที่สภาวะการเพาะเลี้ยงที่มี pH เริ่มต้นต่างกัน

ANOVA					
Red pigment					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	887.099	5	177.420	2533.362	.000
Within Groups	.840	12	.070		
Total	887.939	17			
Orange pigment					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	245.680	5	49.136	2721.381	.000
Within Groups	.217	12	.018		
Total	245.897	17			
Yellow pigment					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	136.252	5	27.250	598.982	.000
Within Groups	.546	12	.045		
Total	136.798	17			

ตาราง 14 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสีที่ผลิตจาก *Monascus purpureus* NK1 ที่สภาวะการเพาะเลี้ยงที่มีความชื้นเริ่มต้นต่างกัน

Red pigment

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6424.777	3	2141.592	9038.480	.000
Within Groups	1.896	8	.237		
Total	6426.673	11			

Orange pigment

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7979.375	3	2659.792	10025.285	.000
Within Groups	2.122	8	.265		
Total	7981.498	11			

Yellow pigment

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11820.305	3	3940.102	10175.225	.000
Within Groups	3.098	8	.387		
Total	11823.402	11			

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล

นางสาวชุตินันท์ คงรัตนไพศาล

วัน เดือน ปี เกิด

28 ธันวาคม 2527

ประวัติการศึกษา

จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย แผนก
วิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ โรงเรียนเซนต์โยเซฟ
นครสวรรค์ ปีการศึกษา 2545

ประสบการณ์

จบการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาชีววิทยา
คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ปีการศึกษา 2550

ได้ฝึกประสบการณ์การสอนในชั้นเรียน มัธยมศึกษาปีที่ 2
โรงเรียน เขาทราบทับคล้อ จ.พิจิตร เป็นระยะเวลา 1 ภาคการเรียน

เสนอผลงานวิจัยแบบโปสเตอร์ที่งานประชุมนานาชาติ

FerVAAP 2011 จ.ขอนแก่น วันที่ 29-31 สิงหาคม พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved