



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

สัตว์บาล

สาขา

สัตว์บาล

ภาควิชา

เรื่อง การเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส (*Monascus kaoliang* KB9) สายพันธุ์ที่เสริมสีไข่แดงและให้สารลดคอเลสเตอรอลต่อคุณลักษณะทางการให้ไข่และคุณภาพไข่ในไก่ไข่

Supplementation of Red Mold Rice from an Egg Yolk Pigmented and Cholesterol

Lowering *Monascus kaoliang* KB9 on Egg Performance and Quality in Laying Hens

นามผู้วิจัย นางสาวทิพย์รัตน์ คนตรี

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์สุภาพร อิศริโยดม, D.Agr.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ศาสตราจารย์บุญบา ยงสมิทธิ์, Dr.Eng.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ม.ล. สุนทรานี ทองใหญ่, Dr.3^{cmc} Cycle)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์นุสริน สินบัวทอง, วท.ค.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส (*Monascus kaoliang* KB9) สายพันธุ์ที่เสริมสีไข่แดงและให้
สารลดคอเลสเตอรอลต่อคุณลักษณะทางการให้ไข่และคุณภาพไข่ในไก่ไข่

Supplementation of Red Mold Rice from an Egg Yolk Pigmented and Cholesterol Lowering
Monascus kaoliang KB9 on Egg Performance and Quality in Laying Hens

โดย

นางสาวทิพย์รัตน์ คนตรี

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2552

ทิพย์รัตน์ คนตรี 2552: การเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส (*Monascus kaoliang* KB9) สายพันธุ์ที่เสริมสีไข่แดง และให้สารลดคอเลสเตอรอลต่อคุณลักษณะทางการให้ไข่และคุณภาพไข่ในไก่ไข่ ปรินญาวิทยาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาสัตวบาล ภาควิชาสัตวบาล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์สุภาพร อิศริโยดม, D.Agr. 122 หน้า

ข้าวแดงเป็นผลิตภัณฑ์จากการหมักแห้งด้วยเชื้อรา *Monascus* spp. โดยใช้ข้าวเป็นวัตถุดิบ จะสร้างเส้นใยขนไหมและปกคลุมเมล็ดข้าว และสร้างสารสีแดงขึ้นภายในเส้นใย หรือบางส่วนจะถูกปลดปล่อยออกมาจากเส้นใยทำให้เมล็ดข้าวมีสีแดงเข้ม การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus kaoliang* KB9 ในสภาวะที่เหมาะสม จะได้ทั้งสารสี และสารโมนาโคลิน ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล การทดลองนี้มุ่งเน้นเพื่อศึกษาผลของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อคุณลักษณะทางการให้ไข่ คุณภาพไข่ คอเลสเตอรอลในไข่แดงและในเลือด HDL-C ไตรกลีเซอไรด์ โปรตีน และอัลบูมินในเลือด การทดลองแรกใช้ไก่ไข่พันธุ์ทางการค้าจำนวน 360 ตัว แบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม แล้วเปรียบเทียบการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 4 ระดับ คือ 0.25 0.50 1.25 และ 2.50 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร กับอาหารสูตรควบคุม และอาหารสูตรควบคุมเสริมสารสีทางการค้าเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 2.50 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร มีสีไข่แดงเข้มที่สุด ($P<0.01$) ทั้งยังพบว่าปริมาณคอเลสเตอรอลในซีรัมของไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสทุกระดับแตกต่างกับไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และสูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้า ($P<0.01$) นอกจากนี้ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดงของไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 0.50 1.25 และ 2.50 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร มีความแตกต่างกับไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและอาหารสูตรควบคุมเสริมสารสีทางการค้า ($P<0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างของน้ำหนักไข่ สอฟิยูนิต ปริมาณอาหารที่กิน ปริมาณอาหารที่กินต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม ความหนาเปลือกไข่ และเปอร์เซ็นต์เปลือกไข่ อย่างไรก็ตาม ไก่ที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 2.50 เปอร์เซ็นต์ในอาหารมีเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่ขาวสูงที่สุด ($P<0.05$) การทดลองที่ 2 ได้ปรับระดับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสเป็น 0.15 0.50 0.85 และ 1.20 เปอร์เซ็นต์ในอาหารพบว่าการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสให้ผลสอดคล้องกับการทดลองแรก นอกจากจะส่งผลให้คอเลสเตอรอลในเลือดต่ำลงแล้ว ยังทำให้ ไตรกลีเซอไรด์ในเลือดต่ำลง ทั้งยังส่งผลให้ปริมาณโปรตีน และอัลบูมินในเลือดเพิ่มขึ้นด้วย

Tippayarat Dontri 2009: Supplementation of Red Mold Rice from an Egg Yolk Pigmented and Cholesterol Lowering *Monascus kaoliang* KB9 on Egg Performance and Quality in Laying Hens. Master of Science (Agriculture), Major Field: Animal Science, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Associate Professor Supaporn Isariyodom, D.Agr. 122 pages.

Red mold rice (RMR) is a fermented rice product on which pigments as well as monacolin have been produced by *Monascus kaoliang* KB9. Monacolin K, a secondary metabolite of *Monascus* species can inhibit cholesterol synthesis. The objective of this study was to investigate the effect of RMR supplementation on egg quality, laying performance, egg yolk and blood cholesterol, HDL, triglyceride, total protein and albumin in blood. In the first experiment, three hundred and sixty hens were divided into 6 groups, four levels of RMR (0.25, 0.50, 1.25 AND 2.50%) were supplemented in laying hen diets compared with negative control (NC) and positive control (PC, commercial pigment added) for 12 weeks period. Hens fed 2.50% RMR group showed high significant difference ($P<0.01$) in egg yolk color compared to the others. Serum cholesterol levels of all experimental groups were highly significantly lower than those of the NC and PC groups ($P<0.01$); moreover, egg yolk cholesterol given RMR 0.50, 1.25 and 2.50%, were significantly lower than those of the NC and PC groups ($P<0.05$). No significant differences were found on egg weight, haugh unit, daily feed intake, average feed consumption per 1 kilogram of egg, shell thickness and shell composition. However, hens fed 2.50% RMR supplementation group showed highest albumin content ($P<0.05$). Based on the first experiment results, we readjusted the level of RMR (0.15, 0.50, 0.85 and 1.20%) in the second experiment. It was shown that RMR supplementation affected in similar way with the first experiment. However, RMR supplementation groups in the second experiment not only decreased blood cholesterol but also decreased triglycerides in blood; moreover, hens fed RMR supplementation groups could increase total protein ($P<0.01$) and albumin ($P<0.05$) in blood.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สุภาพร อิศริโยคม อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก ศาสตราจารย์ ดร. บุญบา ยงสมิทธิ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ม.ล. สุนทรานี
ทองใหญ่ และอาจารย์ ดร.นุชรา สีนบัวทอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณาให้
คำปรึกษาแนะนำในด้านการวิจัยและเรียบเรียงวิทยานิพนธ์ ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จน
เสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. พรศรี ชัยรัตนายุทธ์ ประธานการสอบ
และรองศาสตราจารย์ ดร. ไพโชค ปัญจะ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและตรวจ
แก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่สนับสนุนทุนใน
การทำงานวิจัยประกอบการทำวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทความรู้ให้แก่ข้าพเจ้า อันนำไปสู่กระบวนการความคิด วางแผน แก้ไขในการวิจัยให้สำเร็จได้ด้วยดี ขอขอบคุณบุคลากรตลอดจน
เจ้าหน้าที่ เพื่อนๆ พี่ๆ ฟาร์มไก่หลวงสุวรรณวาจกกสิกิจ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร ภาควิชา
จุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาสัตววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ ฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์
กลาง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต
บางเขน ทุกท่าน รวมทั้งบุคคลที่ไม่ได้กล่าวไว้ ณ ที่นี้ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำต่างๆ
ในระหว่างการศึกษาวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อพิชิต คุณแม่จินตนา คนตรี ที่เป็นแรงบันดาลใจ สนับสนุน
ทุนทรัพย์ และช่วยเหลือทุกสิ่งจนสำเร็จการศึกษา ขอกราบขอบพระคุณคุณตาจอม คุณยายแหม่ม
ใจเหนือ ผู้ล่วงลับที่เป็นที่พึ่งทางจิตใจ ขอขอบคุณญาติพี่น้องทุกท่าน และขอขอบใจน้องชาย
จักรมงคล คนตรี ที่เป็นกำลังใจให้มีโอกาสมาถึงวันนี้

ทิพย์รัตน์ คนตรี

เมษายน 2552

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(7)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	34
อุปกรณ์	34
วิธีการ	35
ผลและวิจารณ์	45
ผล	45
วิจารณ์	62
สรุปและข้อเสนอแนะ	69
สรุป	69
ข้อเสนอแนะ	69
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	71
ภาคผนวก	90
ภาคผนวก ก อาหารสูตรเปรียบเทียบ	91
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ทางเคมี	93
ภาคผนวก ค ภาพจากการทดลอง	112
ประวัติการศึกษา และทำงาน	120

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 แสดงค่าสี Roche yolk color scale ของไข่แดงที่ผู้บริโภคมารับ	5
2 สารเมแทบอลิท์ที่มีประโยชน์จากเชื้อราโมแนสคัส	12
3 เปรียบเทียบส่วนประกอบเคมีของข้าวและข้าวแดง (อังกัก)	19
4 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อสมรรถภาพการผลิต (การทดลองที่ 1)	45
5 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อคุณภาพไข่ (การทดลองที่ 1)	46
6 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อส่วนประกอบฟองไข่ (การทดลองที่ 1)	48
7 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดงและซีรัม (การทดลองที่ 1)	49
8 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อดัชนีค่าอาหารที่ใช้ผลิตไข่ 1 กก. (การทดลองที่ 1)	51
9 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อสมรรถภาพการผลิต (การทดลองที่ 2)	52
10 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อคุณภาพไข่ (การทดลองที่ 2)	53
11 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อส่วนประกอบฟองไข่ (การทดลองที่ 2)	55
12 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดงและพลาสมา (การทดลองที่ 2)	57
13 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อปริมาณ HDL-C และ ไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา (การทดลองที่ 2)	58
14 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อปริมาณโปรตีนรวมและอัลบูมินในพลาสมา (การทดลองที่ 2)	59
15 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อดัชนีค่าอาหารที่ใช้ผลิตไข่ 1 กก. (การทดลองที่ 2)	61
16 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อปริมาณโปรตีนในอาหาร 100 กรัม (การทดลองที่ 2)	67

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่

หน้า

ก1 ส่วนประกอบของอาหารไก่ไข่สูตรเปรียบเทียบที่ใช้ในการทดลอง

92

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	วงจรชีวิตของเชื้อราโมแนสคัส	8
2	โครงสร้างทางเคมีของสีที่แยกได้จาก <i>Monascus</i> spp.	14
3	โครงสร้างทางเคมีของ yellow pigment II	14
4	กระบวนการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล (Cholesterol biosynthesis)	27
5	การเปรียบเทียบโครงสร้างของสารตั้งต้นและพราวาสตาติน (pravastatin) ซึ่งเป็นยับยั้ง HMG-CoA reductase	28
6	โครงสร้างของสารยับยั้ง HMG-CoA reductase ที่ได้จากเชื้อรา (A) และยับยั้ง HMG-CoA reductase ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ (B)	29
7	โครงสร้างของสารประกอบที่สัมพันธ์กับโมนาโคลิน (monacolin K mevinolin) ในรูปของแลคโตน (lactone)	30
8	วิธีการสังเคราะห์ของโลวาสตาติน (Lovastatin)	30
9	สีไข่แดงไข่ไก่ที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสระดับต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสีทางการค้า (การทดลองที่ 1)	47
10	เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่ขาวและไข่แดงของไข่ไก่ที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส ระดับต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสีทางการค้า (การทดลองที่ 1)	48
11	คอเลสเตอรอลในซีรัมและไข่แดงของไข่ไก่ที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส ระดับต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสีทางการค้า (การทดลองที่ 1)	50
12	สีไข่แดงของไข่ไก่ที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสระดับต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสีทางการค้า (การทดลองที่ 2)	53
13	เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่ขาวและไข่แดงของไข่ไก่ที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส ระดับต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสีทางการค้า (การทดลองที่ 2)	55

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
14	คอเลสเตอรอลในพลาสมาและไข่แดงของไก่ไข่ที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อรา โมแนสคัส ระดับต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสีทาง การค้ำ (การทดลองที่ 2)	58
15	โปรตีนรวม(Total protein) และอัลบูมิน (Albumin) ของไข่ไก่ที่เสริมข้าวแดง จากเชื้อราโมแนสคัสระดับต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริม สารสีทางการค้ำ (การทดลองที่ 2)	60

ภาพผนวกที่

ข1	Chromatogram แสดงพื้นที่ของ External standard cholesterol และ internal standard 5 α -cholestane (จากกราฟพบว่า พื้นที่ของ External standard cholesterol = 2085.1985 และ internal standard 5 α -cholestane = 35.8442)	101
ข2	Chromatogram แสดงพื้นที่ของ internal standard 5 α -cholestane และ sample's cholesterol (จากกราฟพบว่า พื้นที่ของ internal standard 5 α -cholestane = 31.2569 และคอเลสเตอรอลในตัวอย่างไข่แดง (sample's cholesterol) = 401.3929)	102
ข3	ตัวอย่าง Chromatogram แสดงคอเลสเตอรอลในไข่แดงของไก่กลุ่มที่ได้รับ อาหารสูตรควบคุม (ซ้าย) และกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมข้าวแดงจากเชื้อรา โมแนสคัส (ขวา)	103
ค1	การอบข้าวแดง	113
ค2	ข้าวแดงที่ผ่านการอบแล้ว	113
ค3	การชั่งน้ำหนักไก่	113
ค4	ภายในโรงเรือนเลี้ยงไก่ทดลอง	114
ค5	การเจาะเลือดไก่	114
ค6	การเก็บซีรัมหรือพลาสมา	114
ค7	เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)	115

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ก8 การวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง	115
ก9 การชั่งน้ำหนักไข่	115
ก10 การวัดความสูงไข่ขาว	116
ก11 การวัดสีไข่แดง	116
ก12 การเก็บตัวอย่างไข่แดง	116
ก13 การชั่งน้ำหนักตัวอย่างไข่แดง เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอล	117
ก14 การอุ่นและ reflux สารใน water bath	117
ก15 การระเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary evaporator	118
ก16 ตัวอย่างที่พร้อมฉีดเข้าเครื่อง GC	118
ก17 เครื่อง GC	118
ก18 Micro syringe	119
ก19 การฉีดสารสกัดเข้าเครื่อง GC	119
ก20 จอประมวลผลจากเครื่อง GC	119

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

GC	=	Gas chromatograph
HDL-C	=	High density lipoprotein cholesterol
LDL-C	=	Low density lipoprotein cholesterol
NC	=	Negative control
PC	=	Positive control
RAI	=	Relative albumin index (%)
RAWI	=	Relative albumen weight index (%)
REWI	=	Relative egg weight index (%)
REYCI	=	Relative egg yolk cholesterol index (%)
RFCI	=	Relative feed consumption/1 kg of egg produced index (%)
RFI	=	Relative feed intake index (%)
RHCI	=	Relative HDL cholesterol index (%)
RHI	=	Relative haugh unit index (%)
RMR	=	Red mold rice
RSCI	=	Relative serum cholesterol index (%)
RSTI	=	Relative shell thickness index (%)
RSWI	=	Relative shell weight index (%)
RTI	=	Relative triglyceride index (%)
RTPI	=	Relative total protein index (%)
RYCI	=	Relative yolk color score index (%)
RYWI	=	Relative yolk weight index (%)
SEM	=	Standard error of means
VLDL-C	=	Very low density lipoprotein cholesterol

การเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส (*Monascus kaoliang* KB9) สายพันธุ์ที่เสริมสีไข่แดงและให้สารลดคอเลสเตอรอลต่อคุณลักษณะทางการให้ไข่และคุณภาพไข่ในไก่ไข่

Supplementation of Red Mold Rice from an Egg Yolk Pigmented and Cholesterol Lowering *Monascus kaoliang* KB9 on Egg Performance and Quality in Laying Hens

คำนำ

ไก่ไข่เป็นสัตว์เศรษฐกิจที่มีความสำคัญในการผลิตไข่เพื่อบริโภค ในปี พ.ศ. 2550 ประเทศไทยผลิตไข่ไก่ได้ประมาณ 10,335 ล้านฟอง อัตราการบริโภค 160 ฟองต่อคนต่อปี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2551) การเลี้ยงไก่ไข่ในปัจจุบันต้องคำนึงถึงคุณภาพของผลผลิตมากขึ้นเพื่อให้ตรงกับความต้องการของผู้บริโภค ผู้บริโภคมักนิยมไข่แดงที่มีสีเหลืองเข้ม โรงงานอาหารสัตว์และผู้เลี้ยงไก่ไข่นิยมเสริมสารสีสังเคราะห์ คือ คาโรฟิลล์ในอาหารไก่ เพื่อปรับปรุงสีผลผลิตให้ดีขึ้น สารสีสังเคราะห์ต้องนำเข้าจากต่างประเทศซึ่งมีราคาแพง เป็นเหตุให้ต้นทุนการผลิตสูง และสารสีสังเคราะห์ก็ไม่ได้มีคุณค่าทางอาหารต่อสัตว์ เมื่อปลายปี พ.ศ. 2549 หน่วยงานสาธารณสุขของจีนได้ตรวจพบสารตกค้าง (สารเร่งสีไข่แดง) ซึ่งเป็นสารที่ใช้ในอุตสาหกรรมทอผ้ามาใช้ในอุตสาหกรรมปศุสัตว์ เพื่อเร่งสีไข่แดงในไข่ไก่จากหลายๆ ฟาร์มในพื้นที่ตอนกลางของจีน ซึ่งสารดังกล่าวหากบริโภคเข้าไปจะก่อให้เกิดมะเร็งได้ ทางฮ่องกงจึงชะลอการนำเข้าไข่ไก่จากจีน และเพิ่มมาตรการเข้มงวดในการตรวจสอบไข่ที่นำเข้าจากจีน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550) ดังนั้นควรมีการศึกษาหาแหล่งวัตถุดิบอาหารสัตว์จากธรรมชาติที่เป็นแหล่งสารสีในอาหารไก่ไข่และปลอดภัยต่อผู้บริโภค แหล่งสารสีจากธรรมชาติที่ใช้ในปัจจุบันได้แก่ ใบกระถิน (สุวิทย์ และคณะ, 2547) ข้าวโพด (สฤษฎ์ และ สุวิทย์, 2547) และกลีบดอกดาวเรือง (สุภาพร และคณะ, 2538) ซึ่งการใช้บางครั้งมีข้อจำกัด เช่น กระถินมีสารพิษมิโมซิน ถ้าใช้มากเกินไปจะทำให้สัตว์ขุ่นร่วง การเจริญเติบโตและความสมบูรณ์พันธุ์ลดลง จึงเกิดข้อจำกัดด้านปริมาณที่ใช้ การใช้ข้าวโพดปัจจุบันราคาสูงขึ้นจึงเกิดข้อจำกัดในเรื่องต้นทุน ส่วนสารสีที่สกัดจากดอกดาวเรือง หรือกลีบดอกดาวเรืองแห้ง มีสารแซนโทฟิลล์ในปริมาณสูง ไม่มีข้อจำกัดในเรื่องปริมาณการใช้ แต่มีข้อจำกัดในเรื่องต้นทุนที่สูง จากสาเหตุดังกล่าวจึงได้ให้ความสนใจในสารให้สีจากข้าวแดงที่หมักจากเชื้อรา *Monascus kaoliang* KB9 โดยใช้ข้าวเป็นวัตถุดิบ เชื้อจะสร้างเส้นใยปกคลุมเมล็ดข้าว มีการสร้าง

สารสีขึ้นภายในเส้นใย ทำให้เมล็ดข้าวมีสีแดงเข้มทั้งเมล็ด การผลิตทำได้ง่าย เชื่อให้สีในระยะเวลาสั้น สีในข้าวแดงประกอบด้วยสารสีที่เป็นทุติยภูมิจำพวกโพลีคีไตล์ซึ่งสามารถบริโภคได้โดยไม่เป็นพิษ (วรรณภา, 2529) นอกจากจะให้สารสีแล้วเชื้อราโมแนสคัสบางสายพันธุ์ในข้าวแดงสามารถสร้างสารยับยั้งการสร้างคอเลสเตอรอลได้ (Gailing, 1998; Hai, 1998)

เชื้อราข้าวแดง (red rice mold) หรือเชื้อราโมแนสคัส (*Monascus* spp.) เป็นเชื้อราอาหารที่มีประวัติการใช้เป็นแหล่งสีแดงธรรมชาติ เอนไซม์ สารให้กลิ่นรส ยาพื้นบ้าน ฯลฯ มากกว่า 2,000 ปี ในประเทศจีน ปัจจุบันประเทศจีนมีการผลิตข้าวแดงหรืออังกัก (ang-kak) เพื่อใช้ในประเทศและส่งออก การนำเชื้อราข้าวแดงมาประยุกต์ใช้ในไก่ไข่ได้มีการศึกษามานานแล้วแต่การนำมาใช้เป็นสารให้สีและลดคอเลสเตอรอลในไข่แดงของไข่ไก่ยังไม่แพร่หลาย การทดลองนี้จึงมุ่งเน้นใช้ประโยชน์เชิงประยุกต์จากข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส (*Monascus kaoliang* KB9) ที่ผลิตได้ในประเทศมาใช้ในการอาหารไก่ไข่เพื่อสุขภาพของผู้บริโภคเป็นสำคัญ

วัตถุประสงค์

เพื่อนำข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส (*Monascus kaoliang* KB9) ที่ผลิตได้จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ มาประยุกต์ใช้ในไก่ไข่ และศึกษาหาระดับที่เหมาะสมในการเสริมอาหารเพื่อเพิ่มสีไข่แดง เพิ่มผลผลิตไข่ คุณภาพไข่ การลดคอเลสเตอรอลในไข่แดง ชีวรั้วหรือพลาสติก

การตรวจเอกสาร

ความสำคัญของสีผิวหนังและสีไข่แดง

คุณภาพของอาหารมีอิทธิพลต่อการเลือกซื้ออาหารของผู้บริโภค เนื้อไก่และไข่ไก่เป็นอาหารที่มีผู้นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย สีผิวหนังของไก่และไข่แดงเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเลือกซื้อ ผู้บริโภคนิยมไก่ที่มีสีผิวหนังสีเหลือง และนิยมไข่แดงสีเหลืองเข้ม (คราวญ, 2536) ในขณะที่ Lipstein (1989) รายงานว่า ความต้องการบริโภคเนื้อไก่ของผู้บริโภคในแต่ละประเทศแตกต่างกัน เช่น ผู้บริโภคในประเทศเบลเยียม และอิตาลี ต้องการบริโภคไก่ที่มีสีผิวหนังสีเหลืองถึงส้ม สำหรับประเทศอังกฤษ สวิสเซอร์แลนด์ และฝรั่งเศส นิยมบริโภคไก่ผิวหนังสีขาว ส่วนสีของไข่แดงนั้น De Groote (1970) ได้ทำการสำรวจความนิยมสีไข่แดงของผู้บริโภค โดยนำไข่ไปต้มแล้วให้ผู้บริโภคให้คะแนน ผลปรากฏว่า เมื่อวัดด้วยพัคสี Roche สีของไข่แดงเบอร์ 15 ได้คะแนนสูงสุดคือ 41 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่สีของไข่แดงเบอร์ 12 9 และ 5 ได้คะแนน 21 14.8 และ 13.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ Jeffries (1981) ได้สำรวจความนิยมของผู้บริโภคในประเทศต่างๆ ต่อสีของไข่แดง พบว่าความนิยมแตกต่างกันในแต่ละประเทศ (ตารางที่ 1)

การสะสมของสารสีในไข่แดง เริ่มตั้งแต่ไก่กินอาหารที่มีสารสีเข้าไป สารสีในอาหารจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ผ่านไปยังตับ และเข้าสู่ไข่แดงในระหว่างที่มีการเจริญพัฒนาของไข่แดง ซึ่งในช่วงแรกไข่แดงจะพัฒนาช้ามาก และการสะสมสารสีในไข่แดงจะช้าเช่นเดียวกัน อัตราการพัฒนาไข่แดงจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อไข่แดงมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางได้ประมาณ 6 มิลลิเมตร โดยเส้นผ่าศูนย์กลางของไข่แดงจะเพิ่มขึ้นวันละ 4 มิลลิเมตร (North, 1978) การสะสมสารสีในไข่แดงเกิดขึ้นในช่วงเวลาที่ไก่กินอาหาร (กลางวัน) มากกว่าช่วงที่ไก่พักผ่อน (กลางคืน) สังเกตได้จากไข่แดงมีความเข้มสีแบ่งเป็นชั้นเข้ม (dark yolk layer) และจาง (light yolk layer) สลับกันไป เนื่องจากการพัฒนาของไข่แดงเกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา ทำให้ในช่วงที่ไก่กินอาหาร สารสีที่อยู่ในอาหารจะถูกดูดซึมจากทางเดินอาหาร และเข้าสู่กระแสเลือดส่งผ่านไปยังตับและลำเลียงไปยังรังไข่ สะสมในไข่แดง เป็นผลให้ไข่แดงในช่วงเวลานี้มีสีเข้มมาก แต่ในช่วงที่ไก่พักผ่อน ไม่มีการกินอาหาร จึงทำให้ไม่มีสารสีที่จะดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิต ส่งผลให้ไข่แดงที่มีการพัฒนาช่วงดังกล่าวมีความเข้มสีน้อยกว่าช่วงที่ไก่กินอาหาร

ตารางที่ 1 แสดงค่าสี Roche yolk color scale ของไข่แดงที่ผู้บริโภคมารับ

ประเทศ	หมายเลขที่นิยมที่สุด	หมายเลขที่ยอมรับ
เบลเยียม	-	11-12
แคนาดา	-	3-8
ฝรั่งเศส	-	4-15
ญี่ปุ่น	10	8-13
เนเธอร์แลนด์	7	6-9
นิวซีแลนด์	9	6-10
นอร์เวย์	10-12	10-10.5
สวีเดน	11	9-12.5
ตุรกี	10	9-11
อังกฤษ	9-10	5-13

ที่มา: คัดแปลงจาก Jeffries (1981)

ข้าวแดง

ข้าวแดงเป็นผลิตภัณฑ์จากการหมักแห้งด้วยเชื้อรา *Monascus* spp. โดยใช้ข้าวเป็นวัตถุดิบ จะสร้างเส้นใยของเชื้อราและปกคลุมเมล็ดข้าว และสร้างสารสีขึ้นภายในเส้นใย หรือบางส่วนจะถูกปลดปล่อยออกมาจากเส้นใยทำให้เมล็ดข้าวมีสีแดงเข้ม ข้าวแดงมีต้นกำเนิดในประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ใช้ประโยชน์กันมานาน และแพร่หลายมากในประเทศแถบเอเชีย ได้แก่ ไทย ฟิลิปปินส์ จีน ไต้หวัน อินโดนีเซีย ญี่ปุ่น เพื่อปรุงแต่งสีของอาหาร และก่อให้เกิดกลิ่นเฉพาะในอาหารหมักดอง ตัวอย่างของอาหารที่ใช้สารสีจากข้าวแดง ได้แก่ เต้าหู้ยี้ ปลาแป้งแดง เห็ดเหียง กะปิ โดยเฉพาะปลาแป้งแดงเป็นอาหารที่ชาวไทยนิยมรับประทานกันอย่างแพร่หลาย ในทางภาคใต้ชายฝั่งตะวันออก ได้แก่ สงขลา นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี (จินดารัตน์, 2522) นอกเหนือจากการใช้ปรุงแต่งอาหารแล้ว ข้าวแดงยังเป็นองค์ประกอบหนึ่งในสูตรยาจีนเพื่อใช้รักษาโรค (Lee, 1979)

ข้าวแดงมีชื่อเรียกจากภาษาจีนว่า อั้งคัก (ang-kak) ซึ่ง อั้ง แปลว่า แดง ส่วนคักแปลว่า เมล็ด ที่มีเปลือก นอกจากนี้ยังมีชื่อเรียกอย่างอื่นอีกดังนี้ ข้าวแดงจีน หรือ ไชนิสเรดไรส์ (Chinese red rice) แอแนคัก (ankak) แอแนคา (anka) เบนนิโคจิ (beni-koji) เอกาโคจิ (aga-koji) และเรดโมลด์ไรส์ (red mold rice) (Hesseltine, 1965) ข้าวแดงที่บดละเอียดแล้ว บางคนเรียกว่าแป้งแดงหรือทรายแดง (จินดารัตน์, 2522)

ข้าวแดงจัดว่าเป็นเมล็ดธัญพืชที่มีเชื้อจุลินทรีย์ขึ้นปกคลุม เพื่อใช้เป็นแหล่งของเอนไซม์ เชื้อรา *Monascus* spp. สามารถสร้างเอนไซม์ได้หลายชนิด เช่น กลูโคอะไมเลส (Yasuda *et al.*, 1989; Lotong and Suwanarit, 1990) โปรติเอส (Tsai *et al.*, 1978) เป็นต้น นอกจากนี้ข้าวแดงยังให้ กลิ่น (Hesseltine, 1965) Kranz *et al.* (1992) การสร้างสารมีกลิ่นของเชื้อรา *Monascus purpureus* เป็น volatile metabolite ประเภทเมธิลลิโตน ซึ่งมีการสร้างและควบคุมการสร้างคล้ายกับการสร้าง สารเมธิลลิโตนของเชื้อรา *Penicillium roquefortii* ในเนยแข็งโรคฟอว์ท (Roquefort cheese)

เชื้อราโมแนสคัส (*Monascus* spp.)

Monascus spp. เป็นเชื้อราที่พบครั้งแรกโดย Van Tieghem แยกจากมันฝรั่งต้มในประเทศ ฝรั่งเศสซึ่งพบ 2 สายพันธุ์ด้วยกันคือ *M. ruber* และ *M. mucoroides* ต่อมาในปี ค.ศ. 1930 ได้มีการ แยกเชื้อและจัดจำแนกสปีชีส์อย่างชัดเจนรวมเป็น 5 สปีชีส์ดังนี้ *M. purpureus*, *M. barkeri*, Dangeard *M. olei*, Piedallu *M. mucoroides* และ *M. ruber* Van Tieghem (Young, 1930) Went ได้ แยกเชื้อรา *M. purpureus* จากข้าวแดงทำให้รู้จักประโยชน์ของเชื้อนี้กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น นอกจากนั้นเชื้อรานี้ยังเป็นเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่น (normal flora) ในแป้งข้าวโพดถึงกับมีชื่อเรียกว่า เชื้อราแป้งข้าวโพด (The maize starch mold) และในข้าวโพดที่ได้จากการหมักสำหรับเป็นอาหาร สัตว์มีชื่อเรียกว่า เชื้อราข้าวโพดหมัก (The maize silage molds) และโดยทั่วไปแล้วจัดว่าเป็นเชื้อรา ที่ชอบขึ้นบนอาหารที่มีองค์ประกอบประเภทแป้ง (starch loving) (Young, 1930) และต่อมา ภายหลังจึงมีการพบสปีชีส์เพิ่มขึ้น

ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราโมแนสคัสหรือเชื้อราข้าวแดง

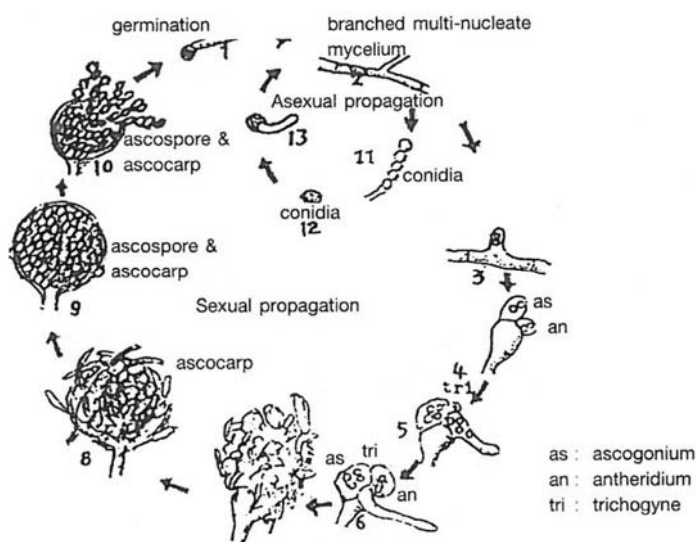
เชื้อราโมแนสคัสหรือเชื้อราข้าวแดง (red rice mold) เป็นราเส้นสาย (filamentous fungus) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Monascus* spp. จัดอยู่ใน Class Ascomycetes Subclass Plectomycetidae

Order Eurotiales (Alexopoulos and Mims, 1979; Hawksworth *et al.*, 1995) เส้นใยมีผนังกั้น (septate hyphae) และแตกออกเป็นแขนงมากมาย ในขณะที่อายุน้อย เส้นใยจะเห็นเป็นสีขาวแต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีแดง เจริญเติบโตบนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้น สามารถดำรงชีวิตได้โดยมีการสืบพันธุ์ที่สมบูรณ์ ครอบวงจรชีวิตได้ด้วยตัวเองเนื่องจากเป็น homothallic fungus สร้างสปอร์ทั้งแบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศ

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อราโมแนสค์คล้ายกับเชื้อราอื่นๆใน Class Ascomycetes มีการสร้างเพอริทีเซียม (perithecium) หรือคลิสโตทีเซียม (cleistothecium) ซึ่งเป็นแอสโคคาร์ป (ascocarp) ที่มีรูปร่างกลมขนาดแตกต่างกันแล้วแต่จะมีการเจริญเต็มที่หรือยัง ในแต่ละโคโลนีเกิดบนก้านชู (stalk) (Smith, 1969; Von Arx, 1970) ที่มีหรือไม่มีผนังกั้นก็ได้ สามารถพบการสร้าง cleistothecia ได้ทุกระยะของการพัฒนา ascocarp เกิดขึ้นบนเส้นใยมีลักษณะเป็น homothallic เริ่มจากเส้นใยเจริญ และพัฒนาเป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (antheridium) และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (ascogonium) ซึ่งเจริญอยู่ใต้เส้นใย antheridium เส้นใยบริเวณส่วนบนของ ascogonium จะพัฒนาไปเป็น trichogyne เชื่อมต่อกับ antheridium เพื่อให้นิวเคลียสผ่านเข้าไปผสมกับนิวเคลียสของ ascogonium หลังจากผสมกันแล้ว ascogonium มีขนาดใหญ่ขึ้นเนื่องจากการสร้างผนังขึ้นมาล้อมรอบ 1-2 ชั้น ก่อนจะพัฒนาไปเป็น perithecium หรือ cleistothecium เมื่อถึงขั้นนี้ผนังของ asci จะสลายไป พบแต่ ascospore จำนวนแตกต่างกันไปภายใน cleistothecium มักพบว่าผนังของ cleistothecium จะแตกออกเพื่อปล่อย ascospore ออกมาในทิศทางตรงกันข้ามกับก้านชู ระยะเวลาการเกิด ascospore ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของอาหาร และสภาวะที่ใช้เลี้ยงเชื้อ จะเริ่มพบ cleistothecium ในอาหารเหลวเมื่อเชื้อราอายุ 24-48 ชั่วโมง และพัฒนาไปเป็น ascospore อย่างสมบูรณ์ เมื่ออายุการเลี้ยงเชื้อได้ 96 ชั่วโมง (Carels and Shepherd, 1975; Kolotila *et al.*, 1978 ; Su and Huang, 1980) วงจรชีวิตของเชื้อราโมแนสค์ (ภาพที่ 1)

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ มีการสร้างโคนิเดียเจริญมาจากก้านชูสปอร์ โคนิเดียมีลักษณะรูปร่างกลมหรือรูปไข่ อาจมีอันเดียวหรือเกิดติดต่อกันเป็นลูกโซ่ (Hawksworth and Pitt, 1983) ส่วนมากจะมีตั้งแต่ 2 ถึง 6 โคนิเดีย โคนิเดียมักจะไม่มีสี แต่เมื่ออายุมากขึ้นอาจเกิดสีแดงหรือสีน้ำตาลอ่อนได้บ้าง (สุภาพร, 2531; Ainsworth *et al.*, 1973) การงอกของโคนิเดียจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสูตรอาหาร เช่น C-medium (Hiroi *et al.*, 1979) เหมาะสมสำหรับการเกิดโคนิเดียของโมแนสค์ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับอิทธิพลหลายๆ ประการ เช่น อายุของสปอร์ ความหนาแน่นของ

สปอร์ ความเป็นกรด-ด่าง แสง สารอาหาร และอุณหภูมิ เป็นต้น โดยทั่วไปโคนิเดียจะงอกภายใน 4 ชั่วโมง เมื่อมีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมด้วยการสร้างท่อเจริญ (germ-tube) ขึ้นมา 1 ถึง 2 อัน หรืออาจมีถึง 6 อัน ซึ่งการงอกของโคนิเดียกระตุ้นได้ด้วยคาร์โบไฮเดรตหลายชนิด (Wong and Bau, 1978) Cole and Kendrick (1968) อธิบายว่าโคนิเดียของเชื้อรา *M. ruber* เกิดจากเส้นใยที่เรียกว่า conidiophores ซึ่งอาจมีลักษณะเป็นเส้นใยตรงๆ หรือโค้งงอก็ได้ เมื่อเริ่มสร้างโคนิเดียปลายเส้นใยจะพองออกแล้วสร้างผนังกันระหว่างโคนิเดียกับเส้นใย หลังจากนั้นประมาณ 5 ชั่วโมง เส้นใยใต้โคนิเดียอันแรกมีการพองออกอย่างรวดเร็ว แล้วสร้างผนังกันได้เป็นโคนิเดียอันที่สอง เป็นเช่นนี้เรื่อยๆ จนได้โคนิเดียต่อกันเป็นลูกโซ่ ลักษณะของโคนิเดียจะมีความยาวตั้งแต่ 5 ถึง 12 ไมครอน และกว้าง 4 ถึง 12 ไมครอน มีรอยตัดที่ฐานกว้างประมาณ 2 ถึง 3.6 ไมครอน ผนังเรียบ มีสีน้ำตาลอ่อน โคนิเดียแต่ละอันเกิดจากบริเวณ meristematic zone ซึ่งสร้างขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อโคนิเดียที่เกิดขึ้นก่อนเสร็จสมบูรณ์ โดยบริเวณดังกล่าวอยู่ใต้โคนิเดียที่เกิดขึ้นก่อนหน้าเพื่อใช้สร้างโคนิเดียอันถัดมา สายของโคนิเดียจะยาวขึ้น ขณะที่ conidiophore สั้นลง



ภาพที่ 1 วงจรชีวิตของเชื้อราโมแนสคัส

ที่มา: บุญบา (2540)

ต่อมา มีการปรับปรุงสายพันธุ์โดยการกลายพันธุ์วิธีต่างๆ และมีการตรวจสอบการเสริมและสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์กลายเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ดั้งเดิม ดังนี้ Lin and Suen (1973) พบว่าเชื้อราสายพันธุ์ R-1 และ S-11 ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ *Monascus* spp. F-2 ด้วยสาร NTG จะสร้างสารสีแดง และสีเหลืองได้ดี แต่เจริญช้าและสร้างสปอร์น้อยกว่าสายพันธุ์พ่อแม่ถึง 33.3 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการทดลองของ Lin and Iizuka (1982) ที่พบว่าการเจริญของ *M. kaoliang* สายพันธุ์ที่สร้างสารสีได้ดี จะขาดสมบัติในการสร้าง ascospore และ perithecia และสร้างโคนิเดียขนาดเล็กในปริมาณต่ำกว่าสายพันธุ์ที่สร้างสารสีได้ต่ำ ต่อมา Wong and Bau (1978) ศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *M. purpureus* สายพันธุ์กลาย พบว่าสายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารสีหรือสร้างได้เพียงเล็กน้อย จะเจริญเร็วกว่าสายพันธุ์พ่อแม่ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเลี้ยงเชื้อบนอาหาร malt extract agar (MEA) จะสร้างโคนิเดียจำนวนมากและสร้าง cleistothecium โดยไม่สร้าง ascospore เรียกว่า protocleistothecium ได้ ขณะที่สายพันธุ์พ่อแม่ยังคงสร้าง cleistothecium ที่สมบูรณ์ได้จำนวนมาก สำหรับลักษณะเส้นใยของสายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารสีจะมีผนังหนามากและแตกแขนงน้อย ส่วนสายพันธุ์พ่อแม่และสายพันธุ์ที่สร้างสารสีได้ดีจะมีเส้นใยที่บอบบางและแตกแขนงมาก

Hawksworth and Pitt (1983) แบ่งเชื้อราโมแนสค์สออกเป็น 3 กลุ่ม คือ *M. pilosus*, *M. purpureus* และ *M. ruber* โดยอาศัยลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิด คือ Czapek yeast extract agar (CYA), MEA และ 25% glycerol nitrate agar (G25N) บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ และลักษณะการเจริญภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเชื้อราทั้ง 3 กลุ่มเจริญในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนประเภทสารอินทรีย์ได้ดีกว่าสารอนินทรีย์ ต้องการอุณหภูมิในการเจริญแตกต่างกันไป โดยเชื้อราในกลุ่ม *M. pilosus* เจริญบนอาหาร CYA ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ได้ดีกว่า 37 องศาเซลเซียส ส่วน *M. purpureus* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ขณะที่ *M. ruber* เจริญที่อุณหภูมิทั้งสองได้ใกล้เคียงกัน *M. pilosus* มีลักษณะต่างจาก *M. ruber* คือสร้างสารสีแดงบนโคโลนี โคนิเดียต่อกันเป็นสายสั้นๆ สร้าง cleistothecia ไม่มีสีขนาดเล็กกว่า และ ascospore มีลักษณะสั้นและแคบกว่า สำหรับ *M. ruber* สร้างสีน้ำตาลอ่อนบนโคโลนี โคนิเดียมีลักษณะกลมต่อกันเป็นสายยาว และสร้าง cleistothecia สีน้ำตาล ส่วน *M. purpureus* เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้ช้ากว่า *M. ruber* และ *M. pilosus* ขณะที่สร้างสีส้มหรือแดงบนอาหาร CYA และ MEA และสร้าง ascospore ได้มากกว่า *M. ruber* ต่อมา Barnard and Cannon (1987) พบเชื้อราโมแนสค์สสายพันธุ์ใหม่จากเนื้อเยื่อของต้นสนในรัฐฟลอริดา มีลักษณะแตกต่างจากสายพันธุ์ทั้งสามที่กล่าวมาข้างต้น ให้ชื่อเชื้อราสายพันธุ์ใหม่นี้ว่า *M. floridanus* สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีลักษณะทั่วไป

ใกล้เคียงกับ *M. ruber* มากที่สุด แต่เจริญได้ช้าและสร้างโคนิเดียขนาดเล็กมากเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่น

เชื้อราทั้ง 4 สายพันธุ์ คือ *M. pilosus*, *M. purpureus*, *M. ruber* และ *M. floridanus* นอกจากจะแตกต่างกันทางด้านสรีรวิทยาแล้ว ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ยังต่างกันอีกด้วย เชื้อราในกลุ่ม *M. pilosus* พบการทำงานของเอนไซม์ β -galactosidase และ α -glucosidase เชื้อราในกลุ่ม *M. purpureus* พบกิจกรรมเอนไซม์ polypectase แต่พบเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสได้เฉพาะในกลุ่มของ *M. ruber* เท่านั้น (Bridge and Hawksworth, 1985; Barnard and Cannon, 1987)

สมชาย (2536) เลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์กลายพันธุ์ KB20M10.2 ซึ่งสร้างสารสีเหลืองได้ที่ pH เป็นกลาง เปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่ KB11304 ซึ่งสร้างสารสีแดง บนอาหารแข็ง 4 ชนิด คือ PDA GYP SS และ MYS agar พบว่าสายพันธุ์พ่อแม่เจริญได้เร็ว และให้เส้นใยลักษณะฟูบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และพบการเจริญน้อยมากบนอาหาร ส่วนการเจริญภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์ ให้ลักษณะการเจริญ ขนาดของเส้นใย โคนิเดีย และ cleistothecium ใกล้เคียงกัน

การสกัดสีออกจากเส้นใยเชื้อราและการวัดค่าสี

วิธีสกัดสีออกจากเส้นใยจะแตกต่างกันไปในด้านการใช้ตัวทำละลาย (solvent) เป็นตัวสกัด และปริมาณความเข้มข้นของสารที่ใช้สกัด Lin (1973) ใช้เอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ในการสกัดสีออกจากเส้นใย นำเอาส่วนสีที่กรองได้ไปวัดค่าสีด้วยเครื่อง spectrophotometer ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร Broder and Koehler (1980) ทดลองใช้เมทานอล คลอโรฟอร์ม เอทานอล และ อะซิโตน ในการสกัดสีออกจากเส้นใย พบว่าสารที่ใช้ในการสกัดสีได้ดีที่สุดคือ เมทานอล ซึ่งสีที่สกัดได้จะดูดกลืน (absorb) แสงเด่นอยู่ 2 สี ที่ความยาวคลื่น 390 นาโนเมตร (สีเหลือง) และ 500 นาโนเมตร (สีแดง) Lin and Iizuka (1982) วัดค่าสีที่ละลายน้ำได้ (water soluble) และสีที่ละลายน้ำรวมทั้งละลายในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (total pigment) โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 และ 500 นาโนเมตร และยังพบว่าในสองวันแรกเมื่อดสารสีที่สร้างในเส้นใยจะถูกขับออกจากเส้นใย พร้อมกับสารเหนียวซึ่งยังไม่ทราบชื่อ เม็ดสีมีลักษณะเป็นก้อน ก้อนเม็ดสีหลายๆ ก้อนจะถูกขับออกมาพร้อมกันและเกาะอยู่ภายนอกเส้นใย จากนั้นก้อนสีเหล่านี้จะรวมตัวกันเป็นก้อนโตขึ้น ซึ่งเป็นขณะเดียวกันกับเส้นใยกำลังหยุดการเจริญโดยมีการปลดปล่อยนิวเคลียส และ โครงสร้างอื่นออกมานอกเซลล์รวมทั้งก้อนเม็ดสีภายในเซลล์ที่ยังเหลือ

วรรณภา (2529) ทำการศึกษาเกี่ยวกับการสกัดสีออกจากเชื้อราข้าวแดง 3 สายพันธุ์ โดยใช้เอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำสารที่สกัดไปวัดค่าสีด้วยเครื่อง shimadzu UV-Vis recording spectrophotometer UV-240 พร้อมทั้งหาค่า maximum absorption peak ของน้ำสีแดง พบว่าเชื้อ 2 สายพันธุ์มีค่า maximum absorption peak ที่ความยาวคลื่น 500 และ 420 นาโนเมตร และอีก 1 สายพันธุ์มีค่า maximum absorption peak ที่ความยาวคลื่น 500 420 และ 370 นาโนเมตร ตามลำดับ

กัณฐดา และคณะ (2540) ได้ปรับปรุงพันธุ์เชื้อรา *Monascus* spp. ให้มีคุณสมบัติทนต่อการกวดการสร้างสีโดยกลูโคส วิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นสีในข้าวแดงที่สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วเจือจางด้วยเอทานอล 76 เปอร์เซ็นต์ วัดความเข้มข้นสีด้วยเครื่อง Shimadzu UV-Vis recording spectrophotometer UV-240 ที่ความยาวคลื่น 300 และ 700 นาโนเมตร ใช้เอทานอลเป็นตัวเปรียบเทียบแล้วคูณด้วยระดับความเข้มข้น พบว่าเชื้อกลายพันธุ์สามารถสร้างสีได้สูงและเร็วกว่าเชื้อเริ่มต้น โดยมีความเข้มข้นสีสูงกว่า 2.54 และ 2.47 เท่าและมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาว 410 และ 396 นาโนเมตร

สารสีจากเชื้อราโมแนสคัสหรือเชื้อราข้าวแดง

เชื้อราโมแนสคัสหรือเชื้อราข้าวแดงเป็นเชื้อราอาหารที่มีประวัติการใช้มากกว่า 2,000 ปี โดยใช้เป็นแหล่งสีแดงธรรมชาติ เอนไซม์ สารให้กลิ่นรส และยาพื้นบ้าน เป็นต้น (ตารางที่ 2) ในประเทศแถบเอเชียมีการใช้เชื้อราโมแนสคัสผลิตอาหารหมักมานาน และมีการค้นคว้าเชิงวิทยาศาสตร์ในประเทศต่างๆ เช่น ข้าวแดง (อรัญ และคณะ, 2531; Palo *et al.*, 1961; Hesseltime, 1965; Lotong and Suwanarit, 1990) ไวน์ข้าว และบรันดีเกาเหลียง (kaoliang brandy) (Hesseltime, 1965; Lin, 1973) ก่อให้เกิดสีและกลิ่น นอกจากนั้นยังเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการในอาหารเนื่องจากมีแคลเซียม ฟอสฟอรัส และวิตามินบีสูง จึงมีการนำไปใช้เป็นสีผสมอาหารจากธรรมชาติ ในอุตสาหกรรมอาหารมากขึ้น ในประเทศจีนมีการใช้ประโยชน์จากเชื้อราโมแนสคัสนั้นในรูปของข้าวแดงหรืออังกัก โดยบทบาทเด่นคือความสามารถในการเป็นสารสี

ตารางที่ 2 สารเมแทบอลิไท์ที่มีประโยชน์จากเชื้อราโมแนสคัส

เมแทบอลิไท์	เอกสารอ้างอิง
เอนไซม์	บุษบา และ วรรณภา (2527); Iizuka and Mineki (1977, 1978); Yongsmith <i>et al.</i> (1990)
1. กลูโคอะไมเลส	
2. โปรตีเอส	Tsai <i>et al.</i> (1978); Nishikawa <i>et al.</i> (1988)
3. แอลฟา-กาแลคโตซิเดส	Wong <i>et al.</i> (1986); Wong-Leung <i>et al.</i> (1993)
4. แอลฟา-อะไมเลส	Pichayangkula (1979); Yongsmith <i>et al.</i> (1990)
5. ไรโบนิวคลีเอส	Yasuda <i>et al.</i> (1995)
เมแทบอลิไท์ปฐมภูมิ (primary metabolites)	
1. เอทิลแอลกอฮอล์	Fink-Gremmels and Leistner (1989)
2. กรดอินทรีย์	Lumyong <i>et al.</i> (1990); Lumyong and Tomita (1992)
3. วิตามินบี 2	รัตน์า (2524)
4. กรดไขมัน	Juzlova <i>et al.</i> (1994)
เมแทบอลิไท์ทุติยภูมิ (secondary metabolites)	
1. สารสี (แดง เหลือง และส้ม)	Chen and John (1993, 1994); Yongsmith <i>et al.</i> (1993,1994)
2. สารปฏิชีวนะ	นิสา (2537); Wong and Bau (1977); Wong <i>et al.</i> (1981, 1983); Martinkova <i>et al.</i> (1995)
3. สารลดคอเลสเตอรอลหรือ monacolins	Endo (1979); Gailing (1998); Hai (1998)
4. สารตกตะกอน (flocculants)	Francis (1989)
5. ยาลดความดันโลหิต (antihypertensives)	Francis (1989)
6. สารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารไม่ย่อย โรคบิด และกล้ามเนื้อฟกช้ำ	Wong <i>et al.</i> (1981); Lin and Iizuka (1982)
7. สารลดอาการแพ้	Hendry and Houghton (1992)
8. สารให้กลิ่นหอม (methyl ketones)	Kranz <i>et al.</i> (1992)

ที่มา: คัดแปลงจาก บุษบา (2542)

เชื้อรา *Monascus* spp. สามารถผลิตสารสีได้ 3 ชนิด คือ สีแดง ส้ม และเหลือง โดยกลุ่มสารสีแดงได้แก่ โมแนสโครูบรามิน (monascorubramine) (Chen and John, 1993) โมแนสโคฟลาวิน (monascoflavin) และอังคาฟลาวิน (ankaflavin) หรือ โมแนสซิน (monascin) ในรูปที่ถูกรีดิวซ์ กลุ่มสารสีส้ม ได้แก่ โมแนสโครูบริน (monascorubrin) และ รูโบรพังกาทิน (rubropunctatin) (Haws *et al.*, 1959) เมื่ออยู่ในสารละลายแอมโมเนียจะได้ในรูปรูโบรพังกาทามีน (rubropunctamine) ซึ่งมีสีม่วง และกลุ่มสารสีเหลืองได้แก่ โมแนสซิน (monascin) และอังคาฟลาวิน (ankaflavin) (Manchand and Whalley, 1973)

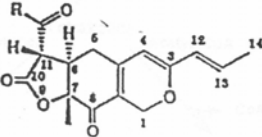
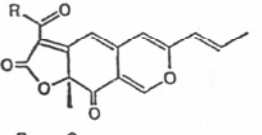
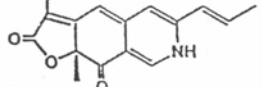
บุษบา และ วรณภา (2527) ได้ศึกษาและคัดเลือกได้สายพันธุ์ *Monascus* spp. ซึ่งใช้มันสำปะหลังและแป้งถั่วเหลืองได้ดี มีเอนไซม์กลูโคอะมิเลสสูง โดยสามารถแยกได้สายพันธุ์ *Monascus* spp. KB11304 จากข้าวแดง (วรณภา, 2529) และทำการปรับปรุงสายพันธุ์โดยการกลายพันธุ์ด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตทำให้ได้สายพันธุ์กลายสีแดง เหลือง และขาว (Yongsmith *et al.*, 1994)

Haws *et al.* (1959) พบโครงสร้างเคมีของสีแดงที่แยกได้จากเส้นใยของ *M. rubropunctatus* Sato ต่อมาในปีเดียวกัน Nakanishi *et al.* (1959) ได้ศึกษาโครงสร้างของ monascorubrin และ monascamine จาก *M. purpureus* โดยพบว่า monascamine เกิดจากปฏิกิริยาระหว่าง monascorubrin กับแอมโมเนีย ภายหลัง Fielding *et al.* (1961) ได้ศึกษาโครงสร้างเคมีของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส พบว่าเชื้อราโมแนสคัสสร้างได้เฉพาะสีส้มและเหลืองเท่านั้น ขณะที่สีแดงเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีต่อเนื่องของสารสีส้ม และเหลืองดังกล่าว

Manchand and Whalley (1973) ทำการแยกสีและพบสีเหลืองของ ankaflavin จาก *M. anka* Sato มีโครงสร้างใกล้เคียงกับ monascin ต่อมา Carels and Shepherd (1977) ศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการสร้างสีของเชื้อโมแนสคัส พบว่าเชื้อราสามารถสังเคราะห์ monascorubrin และ rubropunctatin ซึ่งให้สีส้มได้เท่านั้น ส่วนสีอื่นนั้นจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีโดยขึ้นอยู่กับสภาพการเลี้ยงเชื้อ สีแดงเกิดจากสีส้มที่เชื้อสังเคราะห์ได้ทำปฏิกิริยากับ NH-group ของกรดอะมิโนได้เป็น monascorubramine และ rubropunctamine ส่วนสีเหลืองสันนิษฐานว่าเกิดจากสีส้ม monascorubrin และ rubropunctatin ถูกออกซิไดซ์ไปเป็น monascin หรือ ankaflavin ภายหลัง Sweeny *et al.* (1981) ทำการแยกสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสให้บริสุทธิ์และแบ่งชนิดของสีออกเป็น 3 กลุ่ม คือสีแดง ได้แก่ rubropunctamine และ monascorubramine ซึ่งเป็นอนุพันธ์เอมีน (amine

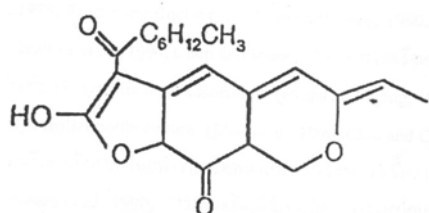
derivative) ของสีส้ม สีส้มได้แก่ rubropunctatin และ monascorubrin และสีเหลืองได้แก่ monascin (monascoflavin) และ ankaflavin ซึ่งสารทั้ง 3 กลุ่มมีโครงสร้างทางเคมี ดังแสดงในภาพที่ 2

Yongsmith (1993) ค้นพบสารสีเหลืองที่มีโครงสร้างเคมีใหม่แตกต่างจาก monascin และ ankaflavin ที่มีรายงานเอาไว้ก่อน โดยให้ชื่อว่า yellow pigment II ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีแสดงในภาพที่ 3 ที่มีอนุมูลไฮดรอกซิล (OH) แทนที่หมู่ฟังก์ชันออกซิเจน (=O) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 10

Yellow		R		สูตรเคมี	M.W.
1. Monascin	$n\text{-C}_5\text{H}_{11}$			$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_5$	358
2. Ankaflavin	$n\text{-C}_7\text{H}_{15}$			$\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_5$	386
Orange		R		สูตรเคมี	M.W.
3. Rubropunctatin	$n\text{-C}_5\text{H}_{11}$			$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_5$	354
4. Monascorubrin	$n\text{-C}_7\text{H}_{15}$			$\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_5$	382
Red		R		สูตรเคมี	M.W.
5. Rubropunctamine	$n\text{-C}_5\text{H}_{11}$			$\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{O}_4\text{N}$	353
6. Monascorubramine	$n\text{-C}_7\text{H}_{15}$			$\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{O}_4\text{N}$	381

ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของสีที่แยกได้จาก *Monascus* spp.

ที่มา: บุญบา (2540)



ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของ yellow pigment II

ที่มา: บุญบา (2540)

เชื้อรา *Monascus* spp. บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus* spp. *Bacillus* spp. และ *Pseudomonas* spp. ซึ่งทั้ง 3 สกุล เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ และเน่าเสีย (Wong and Bau, 1977) ส่วน นิสา (2537) ได้ศึกษาในเชื้อกลายพันธุ์ที่ไม่สร้างสี พบว่าการที่เชื้อขาดความสามารถในการสร้างสีเป็นผลให้สารตั้งต้นของการสร้างสีเปลี่ยนเป็นสารที่มีประโยชน์อื่นๆ เช่น สารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

นอกจากนั้นยังมีนักวิจัยสนใจใช้เทคนิคต่างๆ ในการผลิตสารสีจากเชื้อรา *Monascus* spp. Evans and Wang (1984) ศึกษาการตรึงเซลล์ *Monascus* spp. ด้วยสารโพลีเมอร์เรซิน (Polymeric resin adsorption) การเพิ่มการผลิตสารสีโดยใช้ขวดหมุน (roller bottle culture) (Mak *et al.*, 1990; Chiu and Chan, 1992) การใช้ประโยชน์จากสารสีเพื่อผลิตเหล้าสาเกโดยทำโปรโตพลาสฟิวชันระหว่าง *M. anka* กับเชื้อรา *Aspergillus oryzae* (Kiyohara *et al.*, 1990) การเลี้ยงโดยใช้เทคนิคกึ่งการหมักแห้งและหมักเปียก (solid-liquid state culture) (Lee *et al.*, 1995) เชื้อรานี้ยังมีประโยชน์ทางเภสัชกรรม ได้แก่ มีความสามารถในการสร้างสารไดไฮโดรโมนาโคลินแอ (dihydromonacolin L) และโมนาโคลินเอกซ์ (monacolin X) ยับยั้งการสร้างคอเลสเตอรอล (Endo and Hasumi, 1985) และพบว่าสาร monascorubrin จาก *M. anka* สามารถยับยั้งการส่งเสริมเนื้องอกในหนู เนื่องจากสารสีสามารถยับยั้งการอักเสบ อันเกิดจากสารทีพีเอ (TPA: 12-O-tetradecanoylphorol-13-acetate) ซึ่งเป็นสารที่ส่งเสริมการเกิดเนื้องอก (Yasukawa *et al.*, 1994)

ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างสีของเชื้อราโมแนสคัส

1. ผลของสายพันธุ์

อรัญ และคณะ (2531) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อรา *M. purpureus* 9 สายพันธุ์ลงในข้าวพันธุ์พิจิตรพบว่า เชื้อรา *M. purpureus* 3002 ให้ปริมาณสารสีต่ำมากและมีสีน้ำตาลเหลือง ขณะที่เชื้อรา *M. purpureus* TISTR 3090 ให้ปริมาณสารสีมากที่สุดในกลุ่มสายพันธุ์จาก TISTR แต่สีเหลืองส้ม สำหรับเชื้อราสายพันธุ์ *M. purpureus* CMU-KU เป็นสายพันธุ์ที่ให้ปริมาณสารสีสูงสุดและมีสีแดงเข้มจนเกือบม่วง ต่อมารังสีมา และ สุจิตรา (2533) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อรา *M. purpureus* สายพันธุ์ต่างๆ ดังนี้ สายพันธุ์ 3179 TISTR1 3177 3180 3111 และ 3002 ในข้าวหอมมะลิเพื่อใช้ทำข้าวแดงที่ความชื้น 29.5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากบ่ม 10 วัน พบว่าเมื่อสกัดด้วยเอทานอล

95 เปอร์เซ็นต์ สายพันธุ์ 3179 สร้างสารสีได้สูงสุด เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร รองลงมาคือ NP1 3177 3180 3111 3003 และ 3002 ตามลำดับ

2. ผลของพันธุ์ข้าว

Palo *et al.* (1961) กล่าวว่าข้าวที่ใช้ในการผลิตข้าวแดงไม่ควรเป็นสายพันธุ์ที่มียางเหนียวโดยเฉพาะข้าวเหนียว หรือข้าวเมล็ดสั้นพันธุ์จาปอนิกา ในประเทศไทย กรมวิทยาศาสตร์ (2518) ได้ทดลองทำข้าวแดงจากข้าวพันธุ์ต่างๆ ที่ปลูกกันในประเทศจำนวน 22 พันธุ์ เป็นข้าวเจ้า 16 พันธุ์ และข้าวเหนียว 6 พันธุ์ โดยมีพันธุ์ข้าวเจ้าดังนี้ กข1 กข2 กข3 กข4 กข5 กข9 เพื่อกน้ำ ขาวมะลิ เหลืองใหญ่ นางพญา เหลืองประทิว นางมล-เอส ปิ่นแก้ว พันธุ์ข้าวเหนียวมีดังนี้ พวงไธวัล ดับเบิ้ลยูพี153 ตะเภาแก้ว ขาวปากหม้อ เล็บมือนาง เหมยทอง หางยี นางฉลอง และข้าวเหนียวพันธุ์สันป่าตอง พบว่าข้าวที่ทำข้าวแดงได้มีเพียง 5 พันธุ์เท่านั้น คือ พวงไธวัล ขาวมะลิ ดับเบิ้ลยูพี153 ตะเภาแก้ว และเล็บมือนาง ส่วนพันธุ์อื่นๆ ไม่เหมาะจะใช้ทำข้าวแดงเพราะเมล็ดข้าวบางพันธุ์หักง่าย และเนื้อข้าวแข็งเกินไปจนเชื่อว่าไม่สามารถย่อยได้ถึงแกน บางพันธุ์เนื้อข้าวอ่อนแต่เมื่อทำเป็นข้าวแดงแล้วได้ข้าวแดงที่เหนียว บีด้วยนิ้วแล้วไม่ยุ่ยออกมาเป็นผง ในจำนวนข้าว 5 พันธุ์ที่ใช้ทำข้าวแดงได้นั้น มีอยู่เพียงพันธุ์เดียวที่เหมาะสมแก่การนำมาใช้ในการทำเป็นอุตสาหกรรมได้ คือ ขาวมะลิ เนื่องจากหาซื้อง่าย ต่อมา อรัญ และคณะ (2531) ได้ทดลองเพาะเลี้ยง *M. purpureus* CMU-KU ในข้าวเจ้า 5 สายพันธุ์คือ กข7 กข23 กข25 ขาวดอกมะลิ105 และเหลือง148 พบว่าเชอร์รานิเจอร์และสร้างสีได้ดีที่สุดในข้าวพันธุ์เหลือง148 และสร้างสารสีได้รองมาในข้าวพันธุ์ กข23 และ 25 ข้าว กขพันธุ์ที่สร้างสารสีได้ต่ำคือ ขาวดอกมะลิ105 เมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณอะไมโลสพบว่า ข้าวพันธุ์ กข23 กข25 และเหลือง148 มีปริมาณอะไมโลสสูง (มากกว่า 24 เปอร์เซ็นต์) จึงเป็นข้าวพันธุ์ที่เหมาะสมต่อการผลิตข้าวแดง ส่วนพันธุ์ กข7 มีปริมาณอะไมโลสปานกลาง (20 ถึง 24 เปอร์เซ็นต์) และขาวดอกมะลิ105 มีปริมาณอะไมโลสต่ำ (น้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์) แสดงว่าพันธุ์ข้าวที่เหมาะสมในการผลิตข้าวแดงควรมีอะไมโลสอยู่สูง

3. ผลของการให้อากาศ

เนื่องจากเชื่อว่าเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญ การทดลองทำข้าวแดงที่จำเป็นต้องให้อากาศ ได้แก่ การเขย่าภาชนะบรรจุหรือการให้อากาศช่วยให้การสร้างสารสีได้ดีและเร็วขึ้น เชิดชัย และคณะ (2519) Hesseltn (1965) และ Lotong and Suwanarit (1990) Han and

Mudgett (1992) ได้ศึกษาพบว่า ก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์มีผลต่อการสร้างสารสีและการเจริญของ *Monascus* spp. โดยพบว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูงทำให้การสร้างสารสีโดยการเจริญลดลงและไม่สามารถสร้างสารสีและการเจริญได้เมื่อมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ตั้งแต่ 1.0 atm ขึ้นไป ส่วนก๊าซออกซิเจนตั้งแต่ 0.2 atm ทำให้การสร้างสารสีและการเจริญเพิ่มขึ้นและเพิ่มสูงสุดเมื่อมีก๊าซออกซิเจน 0.5 atm จากนั้นจะค่อยๆ ลดลงและไม่สามารถสร้างสารสีและการเจริญได้เมื่อมีก๊าซออกซิเจนมากกว่า 2.1 atm สภาพที่มีก๊าซออกซิเจนคงที่ที่ 0.21 atm และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณต่ำๆ เป็นสภาพที่ให้การผลิตสารสีสูงสุด

4. ผลของแหล่งคาร์บอน

Palo *et al.* (1960) ได้แสดงให้เห็นว่าข้าวโพดให้ผลผลิตสีได้ดีเช่นเดียวกับข้าวพันธุ์ต่างๆ ยกเว้นข้าวเหนียว แต่ผลการทดลอง บุษบา (2528) พบว่าการทดลองในห้องปฏิบัติการในปี พ.ศ.2519 เป็นต้นมา ข้าวเหนียวของไทยภายหลังจากหมักแห้งด้วยเชื้อราแดงแล้วให้สีเข้มและมีกลิ่นหอมมากกว่าข้าวชนิดอื่น Lin (1973) พบว่าแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการสร้างสีในสภาพหมักเปียกของ *Monascus* sp. F-2 คือ แป้ง มอลโตส และกาแลคโตส Johnson and McHan (1975) พบ *M. purpureus* ATCC 6405 สามารถเจริญได้ดีขึ้นในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน 20 กรัมต่อลิตร ได้แก่ อะราบิโนส ไซโลส กลูโคส ฟรุคโตส แมนโนส ซูโครส มอลโตส แป้ง ซอร์บิทอล และเอทานอล ที่มีการเติมสังกะสีปริมาณ 800 ไมโครกรัมต่อลิตรด้วย และกล่าวว่า การเติมสังกะสีและกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ได้แก่ ไกลซีน แอล-ลิวซีน และแอล-ทรีฟโทเฟน ทำให้การเจริญและการใช้แหล่งคาร์บอนของ *Monascus* spp. เพิ่มมากกว่าการเติมเพียงอย่างเดียวอย่างใดอย่างหนึ่ง นอกจากนี้ Wong *et al.* (1981) พบการสร้างสีของ *M. purpureus* N11S ให้ผลมากที่สุดเมื่อใช้กลูโคส 40 ถึง 200 กรัมต่อลิตร และแอมโมเนียมไนเตรทความเข้มข้น 0.1 ถึง 1.0 กรัมต่อลิตร การเจริญในสภาพที่มีกลูโคสความเข้มข้นสูงทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีสภาพเป็นกรดซึ่งไม่เหมาะสมต่อการสร้างสีแดง Lin and Iizuka (1982) ทดลองใช้ธัญพืช เช่น ข้าวขัดสี (polished rice), ข้าวไม่ขัดสี (de-hulled rice), bread meal, corn meal, kaoliang meal, manton meal และ wheat meal สำหรับใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของเชื้อรา *M. kaoliang* F-2 และ *M. kaoliang* R-10847 เพื่อผลิตสีในสภาพหมักแข็ง พบว่า manton meal เป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีสำหรับผลิตสีแดง จากนั้น Lin and Demain (1991) พบการสร้างสีของเชื้อ *Monascus* sp. TTWMB 6042 ดีที่สุด เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนเป็นแป้งและเด็กซ์ตริน รองมา คือ กลูโคส และมอลโตส ส่วนฟรุคโตสให้สีน้อยที่สุด

บุษบา และ วรณภา (2528) แยกเชื้อโมแนสคัสที่ใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนได้ 15 สายพันธุ์ พบว่า *Monascus* sp. KB11304 สร้างสีแดงดีที่สุดในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง 2 เปอร์เซ็นต์ pH อาหารเริ่มต้น 7.0 ส่วนเชื้อรา *Monascus* sp. KB20322 เมื่อเจริญในอาหาร pH ต่ำกว่า 4.0 จะสร้างสีเหลือง และต่อมา วรณภา (2529) ศึกษาความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนต่อการสร้างสีของเชื้อรา *Monascus* sp. KB21035 KB11304 และ KB20322 คือ 2.0 3.0 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ โดยวัดปริมาณสีแดงได้ 70 98 และ 51 หน่วยต่อมิลลิกรัมตามลำดับ

5. ผลของแหล่งไนโตรเจน

Lin (1973) และ Lin and Suen (1973) พบว่าโมโนโซเดียมกลูตาเมต แอมโมเนียมซัลเฟต โปตัสเซียมไนเตรต และโซเดียมไนเตรต เป็นแหล่งไนโตรเจนความเข้มข้น 0.026 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสำหรับการสร้างสี กรณีที่ใช้ยีสต์เอกซ์แทรคเป็นแหล่งไนโตรเจนพบว่าเชื้อราสร้างสีแดงชนิดเดียว เนื่องจากมีกรดอะมิโนมาก เมื่อเชื้อเจริญทำให้อาหารมี pH สูงขึ้นทำให้สีทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนอิสระในเส้นใยแล้วเปลี่ยนเป็นสารพวก amine derivative จึงไม่พบสีเหลืองหรือสีส้ม แต่ในกรณีใช้โซเดียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนให้การเจริญของเชื้อเป็นไปอย่างปกติอาหารมี pH สูงขึ้น แต่พบการสร้างสีแดงและสีส้ม เนื่องจากไม่มีกรดอะมิโนอิสระมากพอที่จะทำปฏิกิริยากับสีส้มทั้งหมดจึงยังคงเหลือสีส้มอยู่ แต่ถ้าใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมคลอไรด์หรือแอมโมเนียมไนเตรต พบว่าในการเลี้ยงเชื้อจะทำให้ pH ลดลงอย่างรวดเร็วจึงไม่ทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนอิสระภายในเส้นใยจึงมีการสะสมสีประเภท monascorubrin และ rubropunctatin ซึ่งให้สีส้ม ถ้าหากสารสะสมทั้งสองชนิดเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะได้สาร monascins หรือ ankaflavin ซึ่งให้สีเหลือง (Carels and Shepherd, 1977) Yoshimura *et al.* (1975) ทดลองพบว่ายีสต์เอกซ์แทรคเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับผลิตสีแดงจาก *Monascus* sp. No. 2 และการทดลองของ Broder and Kochler (1980) ก็พบว่ายีสต์เอกซ์แทรคมีผลต่อการผลิตสีแดงนอกเซลล์เพิ่มขึ้น

ในการเติมแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ลงในข้าวเพื่อผลิตข้าวแดงพบว่า แหล่งไนโตรเจนที่จำเป็นต่อการผลิตข้าวแดงในวัตถุดิบข้าวมีเพียงพอ จึงไม่จำเป็นต้องเติมสารต่างๆ เช่น แอมโมเนียมไนเตรต แอมโมเนียมซัลเฟต โซเดียมไนเตรต โมโนโซเดียมไนเตรต (กรมวิทยาศาสตร์บริการ, 2531) เปปโต (เจดชัย และคณะ, 2519) กลูตาเมต และยีสต์เอกซ์แทรค (อรัญ และคณะ, 2531)

การสีข้าวมีผลต่อการสร้างสารสีเช่นกัน อรัญ และคณะ (2531) ได้ใช้ข้าวพันธุ์เหลือง 148 และพันธุ์ กข7 โดยทดลองสีและขัดข้าวเองด้วยเครื่องขัดข้าวขนาดเล็ก เปรียบเทียบการขัดข้าว โดยใช้เวลา 3 และ 5 นาที เมื่อนำไปเพาะเลี้ยง *M. purpureus* CUM-KU พบว่าเชื้อราเจริญบนข้าวที่ไม่ได้ขัดได้เร็วมากโดยเจริญทั่วทั้งเมล็ดข้าวภายใน 7 วัน ส่วนการสร้างสารสีพบว่า เชื้อราที่เจริญในข้าวขัด 3 นาทีสามารถสร้างสารสีปริมาณสูงสุด เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของข้าวที่ไม่ได้ขัดเปรียบเทียบกับข้าวที่ขัดพบว่า ข้าวที่ไม่ขัดมีธาตุอาหารต่างๆ รวมทั้งโปรตีน ซึ่งเป็นแหล่งของไนโตรเจนอยู่มากกว่าข้าวที่ขัด การที่มีธาตุอาหารต่างๆ สูงย่อมช่วยกระตุ้นการเจริญของเชื้อรา แต่อาจมีผลยับยั้งการสร้างสารสีจึงทำให้เชื้อราสร้างสารสีได้ต่ำในข้าวที่ไม่ได้ขัด ขณะเดียวกันการขัดข้าวที่นานเกินไป ทำให้สูญเสียธาตุอาหารบางอย่างที่จำเป็นต่อการเจริญ และการสร้างสารสี

สำหรับแหล่งไนโตรเจนที่มีอิทธิพลต่อการสร้างสีบนอาหารแข็งเลี้ยงเชื้อที่มีแป้งข้าวเจ้าเป็นองค์ประกอบ รังสิมา และ สุจิตรา (2533) ศึกษาไว้ในกลุ่มเชื้อรา *Monascus* spp. ได้แก่ สายพันธุ์ NP13179 และ 3002 โดยเติมแหล่งไนโตรเจนปริมาณความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่มีแป้ง 4 เปอร์เซ็นต์ เป็นองค์ประกอบ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน พบว่าการเติมยีสต์เอกซ์แทรคและเปปโตนร่วมกันที่ความเข้มข้น 1 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีผลทำให้เชื้อราสร้างสีเข้มมากที่สุด ในชุดทดลอง ส่วนการเติมแอมโมเนียมไนเตรดเข้มข้น 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ โมโนโซเดียมกลูตาเมตเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ และแป้งข้าวเข้มข้น 0.2 0.4 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ เชื้อราสร้างสีได้เข้มกว่าเล็กน้อย สำหรับการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตเข้มข้น 0.165 เปอร์เซ็นต์ เชื้อราสร้างสีได้เข้มเท่ากับชุดควบคุม

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบส่วนประกอบเคมีของข้าวและข้าวแดง (อังกฤษ)

ส่วนประกอบเคมี (ร้อยละ)	ข้าว	ข้าวแดง (อังกฤษ)
แป้ง	64.8	53-60
โปรตีน	7.8	15-16
ไขมัน	1.6	6-7
เถา	5.0	0.9-1
น้ำ	11.8	7-10

ที่มา: Rodriquez-Amaya (2000)

6. ผลของเกลืออนินทรีย์

Bau and Wong (1979) พบว่าสังกะสีความเข้มข้นต่ำจำเป็นต่อการเจริญแต่เมื่อเข้มข้นมากขึ้นจะเป็นพิษต่อเซลล์ *M. purpureus* สังกะสีจำเป็นต่อการสังเคราะห์สีและเร่งปฏิกิริยาการเกิดสีส้มด้วย เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว ประกอบด้วยสังกะสีที่มีความเข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์ เหมาะสมต่อการสร้างสีมากที่สุด ในขณะที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งความเข้มข้นของสังกะสีที่เหมาะสมเป็น 1×10^{-3} โมลาร์ และพบว่าที่ความเข้มข้นของสังกะสีตั้งแต่ 2×10^{-3} โมลาร์ ขึ้นไปจะเป็นพิษต่อเซลล์ Lin and Demain (1991) พบว่าฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 70 มิลลิโมลาร์ ขึ้นไปมีผลยับยั้งการเจริญและการสร้างสีของเชื้อ สำหรับแมกนีเซียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 16 มิลลิโมลาร์ ให้ค่าสีเพิ่มขึ้น ส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมของแมกนีเซียมซัลเฟต และเฟอร์รัสซัลเฟตต่อการเจริญและการสร้างสีเป็น 0.018 และ 0.036 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ส่วนสังกะสีนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 0.035 มิลลิโมลาร์

7. ผลของ pH

Lin (1973) พบว่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการสร้างสีของเชื้อรา คือ pH 6.0 โดยให้ pH สุดท้ายหลังจากการหมักเป็น 5.8 Carels and Shepherd (1977, 1978) พบว่า pH ต่ำมีการสะสมสีส้ม เนื่องจากสีส้ม monacorubrin และ rubropunctatin ที่เชื้อสังเคราะห์ขึ้นไม่สามารถทำปฏิกิริยากับ NH group ได้ แต่ pH สูง ปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถเกิดขึ้นได้จึงให้สีแดงออกมา Yongsmith *et al.* (1990) ปรับปรุงสายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัสด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตได้สายพันธุ์ KB 20M10.2 ซึ่งสร้างสีเหลืองได้ดีเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี pH เริ่มต้นเป็น 7 ส่วน Han (1990) พบว่า pH เหมาะสมในการผลิตข้าวแดงของเชื้อรา *M. purpureus* ATCC 16365 เริ่มต้น 5.0 ถึง 6.0 ในปีต่อมา Johns and Stuart (1991) ได้ทำการทดลองปรับ pH ของน้ำให้ได้ 3.4 6.0 และ 7.0 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ก่อนนำไปแช่ข้าวเป็นเวลา 5 ชั่วโมง พบว่า pH 6.0 เป็นค่าที่เหมาะสมในการสร้างสารสีของ *M. purpureus* FRR2190 วรรณภา (2529) พบว่า การเลี้ยง *Monascus* sp. KB11304 KB21035 และ KB20322 ที่ pH เริ่มต้น 7.0 ให้การสร้างสีสูงสุด และถ้า pH สุดท้ายเพิ่มขึ้นไปทางด่างจะให้สีแดง แต่เมื่อเลี้ยงเชื้อ KB21035 ในสภาพที่เป็นกรดพบการสร้างสีเหลืองดีที่สุด

8. ผลของอุณหภูมิ

Manandhar and Apinis (1971) ศึกษา linear growth rate ของ *Monascus* spp. 37 สายพันธุ์ บนอาหาร MEA พบว่า *Monascus* spp. ส่วนใหญ่เจริญได้ที่อุณหภูมิ 25 30 37 และ 40 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 30 หรือ 37 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้คือ 45 องศาเซลเซียส การเจริญของ *Monascus* spp. ที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส ไม่ต่างกัน แต่อัตราการเจริญโดยทั่วไปจะช้าที่ 25 และ 40 องศาเซลเซียส Lin (1973) พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสร้างสีของ *Monascus* sp. F-2 คือ 32 องศาเซลเซียส ถ้าสูงกว่านี้จะลดการสร้างสี Dizon and Sanchez (1984) ได้ทดลองทำข้าวแดงที่อุณหภูมิ 20 25 30 และ 35 องศาเซลเซียส พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 และ 400 นาโนเมตร ของสีที่สกัดจากข้าวแดงบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส มีค่าสูงกว่าเมื่อบ่มที่ 20 25 และ 35 องศาเซลเซียส ในประเทศไทย วรรณ (2529) รายงานการสร้างและหลังสีออกนอกเซลล์ของ *Monascus* sp. KB11304 KB20322 และ KB21035 ในสภาพหมักเปียกเหมาะสมที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 35 และ 40 องศาเซลเซียส ต่อมากรมวิทยาศาสตร์บริการ (2531) ศึกษาการทำข้าวแดงที่อุณหภูมิ 25 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่า อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสม สารสีเริ่มเกิดเร็วและได้ปริมาณสูง ส่วนอุณหภูมิอื่นๆ ได้แก่ 25 องศาเซลเซียส ตัวอย่างเริ่มมีสารสีแดงเกิดขึ้นในวันที่ 7 ซึ่งช้ากว่าตัวอย่างที่บ่มที่ 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส ที่เริ่มเกิดสารสีขึ้นในวันที่ 5 ของการบ่ม จากการวัดค่าความเข้มข้นสีเห็นได้ว่าตัวอย่างที่บ่มที่ 40 องศาเซลเซียส มีปริมาณของสารสีที่เกิดขึ้นในแต่ละวันของการบ่มน้อยมาก และเป็นเช่นนั้นจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง สำหรับตัวอย่างที่บ่ม 35 องศาเซลเซียส ปริมาณของสารสีที่เริ่มเกิดมากกว่าตัวอย่างที่บ่ม 30 องศาเซลเซียส แต่ต่อมาปริมาณของสารสีที่ผลิตได้จะน้อยกว่า และความเข้มข้นเริ่มลดลงในวันที่ 13 ของการบ่ม

9. ผลของความชื้นเริ่มต้น

การผลิตข้าวแดงสามารถผลิตได้สำเร็จที่ความชื้นเริ่มต้นต่ำ (Hesseltine, 1965; Lotong and Suwanarit, 1988, 1990) โดย Hesseltine (1965) แนะนำในการทำข้าวแดงว่า ต้องมีการพ่นน้ำเป็นครั้งคราวไปบนเมล็ดข้าวเพื่อควบคุมความชื้นที่ต่ำแก่ข้าว ช่วยให้เชื้อสร้างสีบนข้าวได้ดี และการผลิตในระดับอุตสาหกรรมจำเป็นต้องมีการเติมน้ำระหว่างการบ่ม (Su, 1980) ต่อมา Dizon and Sanchez (1984) ทำการทดลองอิทธิพลของความชื้นเริ่มต้นที่ 31.4 33.2 35.0 38.2 41.2 และ 42.9 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของสีที่สกัดได้ที่ความชื้นเริ่มต้น 35.0 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าสูงสุด

ที่ความยาวคลื่น 500 และ 400 นาโนเมตร หลังจากนั้นเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นค่าการดูดกลืนแสงจะลดต่ำลง

กรมวิทยาศาสตร์บริการ (2531) ได้ศึกษาผลกระทบของความเข้มข้นเริ่มต้นในข้าวที่มีผลต่อการสร้างสารสีของเชื้อในข้าวแดง โดยศึกษาที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักข้าวพบว่า ความเข้มข้นเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีสารสีเกิดขึ้นตลอดการทดลอง ส่วนความเข้มข้นเริ่มต้น 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์เริ่มมีการสร้างสารสีในวันที่ 5 ของการบ่ม แต่สีไม่สม่ำเสมอและข้าวเริ่มเน่าเสีย เนื่องจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในวันที่ 9 และ 11 ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถสร้างสารสีได้ในข้าวแดงซึ่งมีลักษณะที่ดี ปลอดภัยต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ แต่มีปัญหาเรื่องความเข้มข้นเริ่มต้นดังกล่าวไม่เพียงพอต่อการเจริญ ซึ่งต้องเติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อลงไประหว่างการทดลอง ส่วนความเข้มข้นเริ่มต้น 25 30 35 และ 40 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ข้าวเริ่มเน่าเสียตั้งแต่วันที่ 2 ของการบ่มเนื่องจากข้าวมีความชื้นสูงเกินไปทำให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ Lotong and Suwanarit (1990) ผลิตข้าวแดงด้วยเชื้อ *Monascus* spp. NP1 โดยเปรียบเทียบระดับความเข้มข้นเริ่มต้น 26.4 32.2 และ 39.6 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เมื่อสกัดสารสีด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ วัดค่าสีจากการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 370 และ 500 นาโนเมตร พบว่าข้าวที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 39.6 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าสีจากการดูดกลืนแสงต่ำสุด และความชื้น 32.2 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าสีจากการดูดกลืนแสงสูงสุด

การหมักที่ความเข้มข้นเริ่มต้นสูงเชื้อสามารถผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสได้ดี ทำให้การย่อยสลายแป้งให้ได้น้ำตาลสะสมอยู่มากซึ่งน้ำตาลปริมาณสูงนี้เองขัดขวางการสร้างสารสี และเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลแทน ทำให้ไม่สามารถผลิตข้าวแดงโดยเริ่มที่ความเข้มข้นสูงๆ ได้ (Lotong and Suwanarit, 1990) นอกจากนี้ยังมีการทดลองเสริมเพื่อยืนยันว่าน้ำตาลกุดการสร้างสารสีจริง โดยการเติมสารละลายน้ำตาล 0 3 6 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ลงในข้าว แล้วตรวจหาปริมาณน้ำตาลและเอทานอลที่เหลืออยู่หลังจากการหมัก วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร (สีแดง) พบว่าเมื่อปริมาณน้ำตาลมากขึ้น 3 เปอร์เซ็นต์ ค่าสีจากการดูดกลืนแสงจะเพิ่มมากขึ้น แต่ไม่พบเอทานอล เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลขึ้นถึง 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ค่าสีจากการดูดกลืนแสงลดต่ำลง 30 เท่า และพบว่าที่ระดับน้ำตาล 12 เปอร์เซ็นต์ ได้เอทานอลสูงสุดแต่ค่าสีจากการดูดกลืนแสงต่ำที่สุด (Lotong and Suwanit, 1990) นอกจากนี้ Han (1990) ได้ศึกษาการผลิตข้าวแดงด้วย *M. purpureus* ATCC 16365 พบว่าสร้างสารสีได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 เปอร์เซ็นต์ ต่อมา Johns and Stuart (1991)

ได้ทำการทดลองกับเชื้อรา *M. purpureus* FRR2190 พบว่าที่ความชื้นเริ่มต้นต่ำการสร้างสารสีจะลดต่ำด้วย แต่จะสร้างสารสีดีที่ความชื้นเริ่มต้น 56 เปอร์เซ็นต์

นิสา (2537) ทำการศึกษาโดยเลี้ยง *Monascus* sp. KB11304 KB10M16 และ KB20M10.2 และ KB20M1 ในปลายข้าว พบว่าทั้ง 4 สายพันธุ์สร้างสารสีได้ดีที่ความชื้นเริ่มต้น 35 และ 38 เปอร์เซ็นต์ สร้างสารสีได้ต่ำที่ความชื้นเริ่มต้น 32 และ 43 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นความชื้นที่เหมาะสมในการสร้างสารสีขึ้นกับชนิดสายพันธุ์เชื้อราโมแนสคัส ขณะเดียวกันพบว่าสายพันธุ์กลายไม่สร้างสี แต่กลับสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งได้สูงกว่าสายพันธุ์สร้างสีเมื่อหมักข้าวที่มีความชื้นเริ่มต้น 35 เปอร์เซ็นต์

10. ผลของปริมาณออกซิเจนละลาย

Hamdi *et al.* (1996) ศึกษาอิทธิพลของก๊าซต่อการเจริญของ *M. purpureus* ใน prickly pear juice (PPJ) โดยทดลองเปรียบเทียบระหว่างการควบคุมความดันย่อยของออกซิเจน (oxygen partial pressure; pO_2) ต่ำที่ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นช่วงสั้น (F1) และช่วงยาว (F2) พบว่าน้ำหนักรีดจะเพิ่มขึ้นทั้ง 2 ระบบ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการใช้น้ำตาลและการสร้างเอทานอล ซึ่งการสร้างสีแดงจะเริ่มขึ้นเมื่อน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสถูกย่อยอย่างสมบูรณ์ และเริ่มใช้เอทานอล สำหรับระบบ F1 จะผลิตเอทานอล 1.8 g/l และเมื่อสิ้นสุดการหมักจะผลิตสีแดงได้ 6.18 units/ml ส่วนระบบ F2 จะผลิตเอทานอล 7.6 g/l และผลิตสีแดงได้ 13.4 units/ml อัตราการผลิตสีแดงจำเพาะจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึง 0.08 g/h ในระบบ F1 และ 0.2 g/h ในระบบ F2 จากผลที่ได้นี้จึงนำมาใช้กำหนดกระบวนการปรับปรุงการผลิตสีแดงจาก *M. purpureus* ใน PPJ โดยการควบคุม pO_2 เพื่อควบคุมความเข้มข้นของเอทานอลระหว่างการเจริญ ต่อมาภายหลัง Hajjai *et al.* (2000) พบว่าการเพาะเลี้ยง *M. ruber* ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีกลูโคสและกลูตามาต สามารถผลิตสีแดงและสารพิษ (mycotoxin) คือ ซิตรีนินในสถานะที่มีออกซิเจนจำกัด แต่ในสถานะที่มีออกซิเจนมากเกินไป จะผลิตซิตรีนินหลังจากการเจริญ ในทางตรงกันข้ามการผลิตสีจะลดลงอย่างรวดเร็วตลอดการเพาะเลี้ยง แสดงว่าเกิดกลไกการยับยั้ง กรดอินทรีย์ที่สร้างขึ้น คือ มาเลต ซัคซิเนต ทาเทรตและฟูมาเรต จะมีผลยับยั้งการผลิตสีเพียงเล็กน้อย แต่ไม่มีผลต่อการผลิตซิตรีนิน แต่อย่างไรก็ตามการยับยั้งนี้จะไม่พบในการเพาะเลี้ยงในถังหมักแบบเบ็ดเสร็จ (batch fermentation) จึงสรุปได้ว่าการผลิตสีลดลงระหว่างการเพาะเลี้ยง เกิดจากการยับยั้งของผลิตภัณฑ์ที่ยังไม่ทราบแน่ชัด ซึ่งเกิดสะสมขึ้นเมื่อมีการเติมอากาศ

การผลิตสารเมแทบอลิไท์ประเภททุติยภูมิ

สีธรรมชาติจากเชื้อราโมแนสค์จัดเป็นสารเมแทบอลิไท์ประเภททุติยภูมิซึ่งไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับหน้าที่เมแทบอลิซึมที่สำคัญของสิ่งมีชีวิต (Turner, 1971; Bu'Lock, 1974) ลักษณะเด่นชัดประการหนึ่งของสารประเภทนี้ คือ มีการสร้างสารนี้ภายหลังช่วงการเจริญแล้ว โดยเกิดการแยกจากกันระหว่างการเจริญของเซลล์กับการสร้างสารทุติยภูมิ แต่กลไกการสร้างสารดังกล่าวก็ไม่สามารถยึดถือเป็นหลักในการจัดจำแนกได้เพราะในบางกรณีสารทุติยภูมิสามารถสังเคราะห์ในระหว่างการเจริญ (Bu'Lock, 1974; Bajpai and Rueb, 1981; Vining, 1986)

กระบวนการผลิตสารทุติยภูมิเกิดขึ้นในเซลล์ชั้นใน (intracellular) แต่มีบางรายงานอ้างถึงการสะสมในไซโตพลาสซึม เพราะโครงสร้างโมเลกุลของสารทุติยภูมิมีความซับซ้อนจึงยากที่จะแพร่ผ่านผนังเซลล์เมมเบรน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารนี้มีขั้วไฟฟ้า การสร้างสารทุติยภูมิโดยกระบวนการทางชีวภาพจะต้องดำเนินไปพร้อมกับการหลั่งสาร เพราะสารทุติยภูมิมักแสดงความเป็นพิษและมีผลโดยตรงต่อตำแหน่งเป้าหมายที่มีความไวภายในเซลล์จุลินทรีย์ กลไกการหลั่งสารจะทำงานควบคู่ไปกับการยอมให้สารผ่านเข้าออกในเซลล์ (Cundliff, 1984) สารทุติยภูมิที่ไม่มีขั้วไฟฟ้าเมื่อหลั่งออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อมักอยู่ในรูปคอลลอยด์ ได้แก่ ไขมันแอมฟิพาติก (amphipathic lipid) ซึ่งสามารถหลั่งออกจากเซลล์โดยการย่อยสลายตัวเอง (Vining, 1986)

ความคงตัวของสีที่สร้างจากเชื้อราโมแนสค์

Wong and Koehler (1983) พบว่าเมื่อนำสีจากเชื้อรามาสกัดด้วย aminoacetic acid และ aminobenzoic acid ทำให้สีมีความคงตัวต่ออุณหภูมิ pH และแสงอัลตราไวโอเลตได้ดีขึ้น โดยสามารถคงตัวที่ pH เป็นกลางและด่าง และมีความคงตัวต่อแสงอัลตราไวโอเลตได้มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ หลังจากได้รับแสงนาน 36 ชั่วโมง วรรณภา (2529) พบสีแดงจาก *Monascus* sp. KB 11304 คงตัวตั้งแต่ pH เป็นกลางจนถึงด่าง มีความคงตัวที่อุณหภูมิน้ำเดือดนาน 15 นาที และคงตัวต่อการละลายในตัวทำละลายกลีเซอรอลเข้มข้น 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสีเหลืองของ *Monascus* sp. KB21035 คงตัวที่ pH 4 ถึง 11 คงตัวที่อุณหภูมิน้ำเดือดนาน 120 นาที และ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที คงตัวได้ดีในที่มีแสงและอุณหภูมิห้องโดยไม่ลดปริมาณสีเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 3 วัน คงตัวต่อการละลายในตัวทำละลายโซเดียมเบนโซเอต 1.0 เปอร์เซ็นต์ กลีเซอรอล น้ำ และกรดอะซิติกเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ ต่อมานิส (2537) ศึกษาความคงตัวของสีแดงที่ได้จากโมแนสค์สายพันธุ์

พ่อแม่ KB11304 ในอาหารเหลว SS พบว่าสีแดงนั้นคงตัวได้ดีที่ pH 5 ถึง 10 คงตัวได้ดีในสารละลายเอทานอล น้ำกลั่น และกลีเซอรอล แต่สูญเสียความคงตัวเกือบทั้งหมดในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น นอกจากนี้สีแดงที่ละลายอยู่ในสารละลายต่างจะคงตัวต่ออุณหภูมิต่างๆ ได้ดีกว่าอยู่ในสารละลายกรดมาก ทั้งนี้สีแดงสามารถทนต่ออุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อุณหภูมิพาสเจอร์ไรซ์ และสเตอริไลซ์ได้ดี แต่คงตัวต่อรังสีอัลตราไวโอเลตได้ต่ำ และการเก็บสีแดงที่ 4 องศาเซลเซียส หรือในที่มืด อุณหภูมิห้อง (30 ถึง 32 องศาเซลเซียส) สีจะมีความคงตัวดีกว่าเก็บในที่ที่มีแสงที่อุณหภูมิเดียวกัน

การทดสอบความเป็นพิษของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

บุษบา และ วรรณภา (2528) ศึกษาความปลอดภัยของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสโดยทำการวิเคราะห์หาโลหะหนัก ได้แก่ โครเมียม ตะกั่ว และสารหนูในสารสีพบว่าไม่มีโลหะหนักทั้ง 3 ชนิดและเมื่อนำสีไปฉีดทดสอบความเป็นพิษในไข่ไก่ฟักเปรียบเทียบกับการฉีดด้วยน้ำกลั่นตามวิธีของ AOAC พบว่าไข่ไก่ฟักที่ผ่านการฉีดด้วยน้ำสีแดงหรือสีเหลือง มีอัตราการรอดเท่ากับไข่ไก่ฟักควบคุมที่ฉีดด้วยน้ำกลั่น ต่อมา บุษบา และคณะ (2531) ทดสอบความเป็นพิษของสารสีจาก *M. kaoliang* ต่อการฟักเป็นตัวของไข่ไก่และการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมของเม็ดเลือดขาวและการเลี้ยงหนู โดยให้สารสีในอัตราส่วน 0.02 0.10 และ 2.0 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าสารสีจาก *M. kaoliang* ไม่เป็นพิษต่อการฟักเป็นตัวของไข่ไก่ ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมของเม็ดเลือดขาว และไม่พบความผิดปกติในหนูทดลอง นอกจากนี้ ธวัช และคณะ (2530) และบุษบา และคณะ (2531) เปรียบเทียบผลของสีปองโซ 4 อาร์ ซึ่งเป็นสีสังเคราะห์ และสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสต่อความผิดปกติของโครโมโซมของคน พบว่าสีปองโซ 4 อาร์ ทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมถึงร้อยละ 28.64 ขณะที่ความผิดปกติของโครโมโซมเม็ดเลือดขาวที่เป็นผลจากสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสี

จากผลการทดลองดังกล่าวจะเห็นได้ว่า สารสีจากเชื้อราโมแนสคัสไม่มีความเป็นพิษ จึงถือว่าเป็นสารสีที่มีความปลอดภัยสูง จึงน่าที่จะใช้เป็นแหล่งสารสีที่ใช้ในการผสมอาหารเลี้ยงไก่ไข่ เพื่อทดแทนการใช้สารสีสังเคราะห์ได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า *Monascus* spp. บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษได้ (Jarvis *et al.*, 1973) แต่มีผู้ทดสอบว่าสารสีดังกล่าวไม่ทำให้เกิดพิษในหนู (Kaio *et al.*, 1978) และในไข่ไก่ฟัก (วรรณภา, 2529) จึงปลอดภัยต่อการบริโภค นอกจากนี้ Martinkova *et al.* (1995) ศึกษาปฏิกิริยาทางชีววิทยาของสีจาก *M. purpureus* รวมทั้งปฏิกิริยาการ

ยับยั้งจุลินทรีย์ (antibiotic action) พบว่าสามารถยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และราเส้นสายบางชนิด อีกทั้งยังมีพิษต่อเอมบริโอและก่อให้เกิดความพิการแต่กำเนิด (teratogenicity) ปฏิกริยาเหล่านี้จะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของสีส้ม คือ monascorubrin และ rubropunctatin ซึ่งเกิดจากองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ คือ กรดอะมิโน หรือ โปรตีน ในกรณีของการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง เช่น เมล็ดข้าวสาลี หรือข้าวบาร์เลย์ หรือการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นสารอินทรีย์ พบว่าสาร bioactive ถูกเปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ inactive ทำให้ขนาดเล็กลง อยู่ภายในองค์ประกอบของสารสีแดง (monascorubramine และ rubropunctamine) ซึ่งยังคงรักษา กิจกรรมของสิ่งมีชีวิต (biological activity) บางอย่างไว้ ความเป็นพิษ (toxicity) ของสีส้มอาจอยู่ใน ปฏิกริยาเกี่ยวกับการลดความเป็นพิษ (detoxication) ตัวอย่าง เช่น ในการเชื่อมต่อกับ NH-group ภายในเซลล์

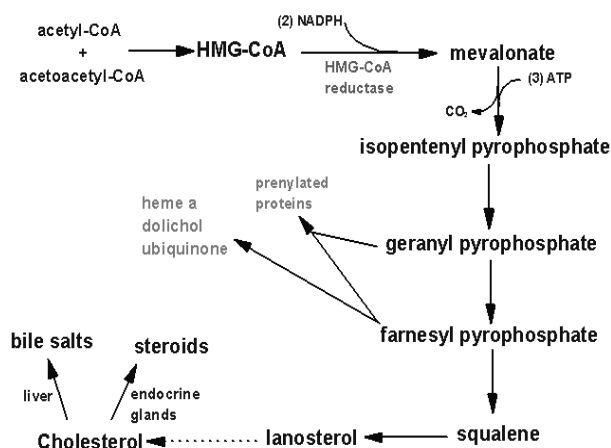
สารลดคอเลสเตอรอลจากเชื้อราโมแนสคัส

คอเลสเตอรอลเป็นสารประเภทไขมันที่ไหลเวียนอยู่ในกระแสเลือด ช่วยสร้างความแข็งแรงให้ผนังเซลล์ เป็นสารต้นกำเนิดของน้ำดี และสเตียรอยด์ฮอร์โมนต่างๆ แต่ถ้ามีมากเกินไป อาจทำให้หลอดเลือดหัวใจอุดตันและทำให้หัวใจล้มเหลว คอเลสเตอรอลจะจับตัวอยู่กับโปรตีน รวมชื่อ ไลโปโปรตีน (lipoprotein) ที่สำคัญมี 2 รูปแบบคือ ไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำหรือ แอลดีแอล (low density lipoprotein; LDL) และไลโปโปรตีนความหนาแน่นสูงหรือเอชดีแอล (high density lipoprotein; HDL) คอเลสเตอรอลในเลือดสูงทำให้เสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจหรือหลอดเลือดในสมองตีบและแตก (ปนัดดา, 2546) แต่สารลดคอเลสเตอรอลจากเชื้อราโมแนสคัสจะช่วยควบคุมคอเลสเตอรอลและลดโอกาสเกิดโรคได้

การสังเคราะห์คอเลสเตอรอลเกิดขึ้นในส่วนไซโตพลาซึมของเซลล์ สังเคราะห์ขึ้นในเนื้อเยื่อหลายชนิด เช่น ตับ ลำไส้เล็ก ต่อมหมวกไตส่วนนอก รวมทั้งระบบสืบพันธุ์ต่างๆ แต่ที่สำคัญและเป็นแหล่งใหญ่ที่สุดที่ทำหน้าที่สังเคราะห์คอเลสเตอรอล คือ ตับ (คิดเป็นประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งหมด) มีสารตั้งต้นคือ อะเซติล โคเอ (ปนัดดา, 2546) มีกระบวนการการสังเคราะห์ดังภาพที่ 4

การควบคุมการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล จะควบคุมที่ปฏิกิริยาการเปลี่ยน HMG-CoA reductase ซึ่งมีการควบคุมได้ 3 ทาง (ปนัดดา, 2546) ดังนี้

1. ผ่านการควบคุมแบบย้อนกลับเชิงลบ (negative feedback) นั่นคือเมื่อใดก็ตามที่เซลล์มีคอเลสเตอรอลมาก ไม่ว่าจะได้มาจากอาหาร หรือจากการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลที่เพิ่มสูงขึ้น ตลอดจนผลิตภัณฑ์หลักที่ได้จากคอเลสเตอรอล คือ น้ำดี ถ้ามีมากก็จะยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ HMG-CoA reductase ทำให้เอนไซม์ HMG- CoA reductase มีปริมาณลดลง



ภาพที่ 4 กระบวนการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล (Cholesterol biosynthesis)

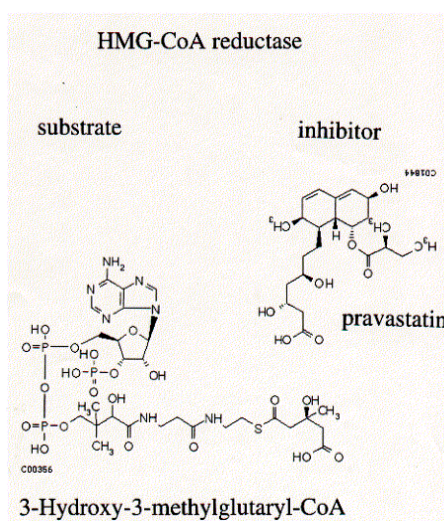
ที่มา: <http://web.indstate.edu/thcme/mwking/cholesterol.html>. (2007)

2. ผ่านทางฮอร์โมน ฮอร์โมนหลักที่มีบทบาทในการควบคุมการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล คือ อินซูลิน และกลูคาгон โดยอินซูลินทำให้มีการตัดหมู่ฟอสเฟตออกจากเอนไซม์ HMG- Co A reductase ทำให้ HMG-CoA reductase อยู่ในรูปที่พร้อมในการทำปฏิกิริยาจึงกระตุ้นการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล ในขณะที่กลูคาгонจะมีผลตรงข้ามโดยเร่งปฏิกิริยาการเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ HMG- CoA reductase อยู่ในรูปเฉื่อย จึงยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล

3. โดยการใช้ยา ยากลุ่มพราวาสตาติน เช่น โลวาสตาติน ซิมวาสตาติน และฟลูวาสตาติน ซึ่งเป็นสตาตินส์ (statins) มีลักษณะโครงสร้างคล้ายกับ HMG- CoA ดังนั้นจึงออกฤทธิ์เป็นสารยับยั้งแบบแข่งขันของเอนไซม์ HMG- CoA reductase ทำให้การสังเคราะห์คอเลสเตอรอลลดลง

สตาตินส์เป็นกลุ่มสารเมแทบอลิท์ทุติยภูมิประเภทหนึ่งของเชื้อรา ที่มีความจำเพาะต่อ 3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์หลัก และเป็น

ส่วนที่ควบคุมกระบวนการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล (Kumar *et al.*, 2000; Manzoni and Rollini, 2002) โดยโครงสร้างสตาดินอยู่ในรูปของกรดที่คล้ายคลึงกับ HMG-CoA ที่เป็นสารตั้งต้นโดยธรรมชาติของปฏิกิริยาของเอนไซม์แสดงในภาพที่ 5 (Manzoni and Rollini, 2002)

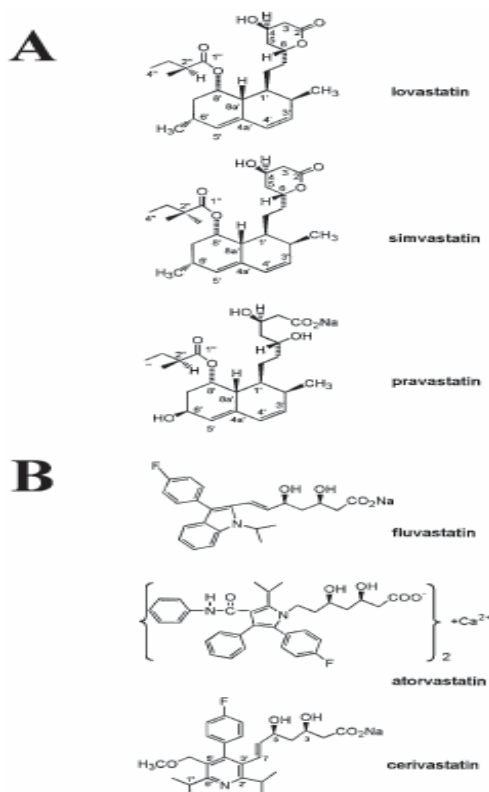


ภาพที่ 5 การเปรียบเทียบโครงสร้างของสารตั้งต้น (HMG-CoA) และพราวาสตาติน ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของ HMG-CoA reductase

ที่มา: <http://www-biology.ucsd.edu/classes/bibc102.SP00/sterol/sterol.html>. (2002)

โครงสร้างเคมีของสารที่ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ได้มีการพัฒนาและปรับปรุงเพื่อใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกา ตัวอย่างเช่น โลวาสตาติน (lovastatin) ซิมวาสตาติน (simvastatin) พราวาสตาติน ฟลูวาสตาติน (fluvastatin) อออร์วาสตาติน (atorvastatin) และ เซอริวาสตาติน (cerivastatin) (Christian *et al.*, 1998) แสดงดังภาพที่ 6 โลวาสตาติน มีวาสตาติน และ พราวาสตาติน ได้มาจากมีวาสตาตินซึ่งเป็นสตาดินที่พบในเชื้อราโลวาสตาติน (lavastatin) โดยส่วนใหญ่สร้างมาจาก *Aspergillus terreus* (Albert *et al.*, 1980) มีวาสตาติน สร้างมาจาก *P. citrinu* และ *P. brevicompactin* (Endo *et al.*, 1976) พราวาสตาตินเป็นอนุพันธ์ที่สามารถเกิดจากการไบโอทรานส์ฟอร์มชันของมีวาสตาตินโดย *Streptomyces carbophilus* (Manzoni and Rollini, 2002) สำหรับซิมวาสตาติน และพราวาสตาติน ถูกสร้างจากกระบวนการกึ่งสังเคราะห์ของซิมวาสตาติน ซึ่งเป็นสารกึ่งสังเคราะห์ที่เป็นอนุพันธ์ของโลวาสตาติน (lovastatin) ที่เกี่ยวข้องกับ การเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่บริเวณปลายด้านข้างของโลวาสตาติน ส่วนพราวาสตาตินสร้างจากการ

ทรานส์ฟอร์เมชันวาสตาติน(mevastatin)ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้ง HMG-CoA reductase ตัวแรกที่แยกได้ (Endo *et al.*,1976) ขณะที่ฟลูวาสตาติน อทอร์วาสตาติน และเซอริวาสตาติน เป็นสารที่สังเคราะห์มาจากมีวาโลเนต และไพรีน (pyrrole) มีโครงสร้างที่แตกต่างจากสารยับยั้ง HMG-CoA reductase ที่ได้จากเชื้อรา

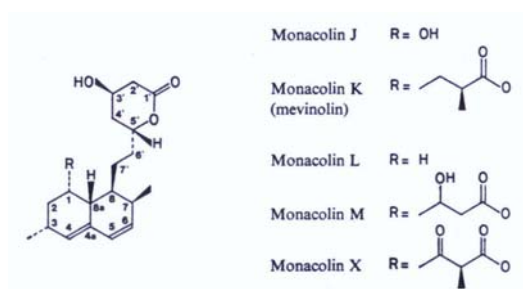


ภาพที่ 6 โครงสร้างของสารยับยั้ง HMG-CoA reductase ที่ได้จากเชื้อรา (A) และสารยับยั้ง HMG-CoA reductase ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ (B)

ที่มา: Christian *et al.* (1998)

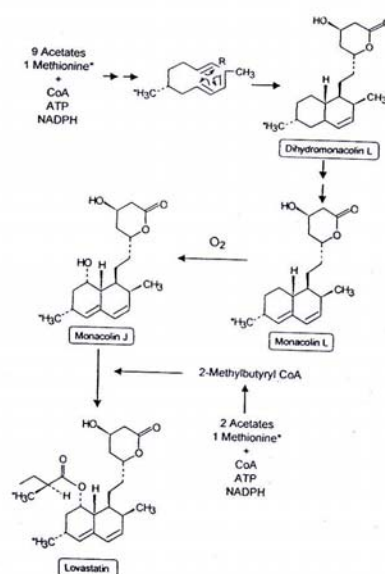
ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับโมนาโคลิน (monacolins) และไดไฮโดรโมนาโคลิน (dihydromonacolins) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีความสัมพันธ์กับสตาตินในธรรมชาติที่แยกได้จากสารเมแทบอลิท์ที่เป็นอินเทอร์มีเดียตซึ่งได้มีการจำแนกดังแสดงในภาพที่ 7 สตาตินในธรรมชาติส่วนใหญ่เป็นส่วนหนึ่งของโพลีคีไทด์ระบบวงแหวนไฮดรอกซี-เฮกซะไฮโดรเนฟทาเลน (hydroxyl-hexahydronaphthalene ring system) ซึ่งแตกต่างกันบริเวณ side chain หรือหมู่ R วิธีการสังเคราะห์

ทางชีวภาพ (biosynthesis pathway) ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสเตอริน เริ่มจากหน่วยของแอซิติล ที่เชื่อมกับหน่วยอื่นแบบหัวไปหางเพื่อให้ได้สายโพลีลิไทด์ แสดงในภาพที่ 8 (Auclair *et al.*, 2001; Manzoni and Rollini, 2002) อนุพันธ์ของสารโมนาโคลินเค (monacolin K) จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* spp. ในสภาวะที่เหมาะสม พบว่าสารที่ได้เป็นสารพวก antihypercholesterol agent มีคุณสมบัติในการยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล



ภาพที่ 7 โครงสร้างของสารประกอบที่สัมพันธ์กับโมนาโคลิน (monacolin K; mevinolin) ในรูปของแลคโตน (lactone)

ที่มา: Komagata *et al.* (1989)



ภาพที่ 8 วิธีการสังเคราะห์ของโลวาสตาติน (Lovastatin)

ที่มา: Manzoni and Rollini (2002)

VLDL-C และ LDL-C ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการทรานส์โลเคชันของคอเลสเตอรอลและการเพิ่ม HDL-C ทำให้เกิดการลดอัตราส่วนของ LDL-C ต่อ HDL-C การใช้สเตตินทำให้เกิดการลดลงของอาการที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือดที่เลี้ยงเนื้อเยื่อหัวใจที่สัมพันธ์กับการมีระดับคอเลสเตอรอลที่สูง แต่ความสัมพันธ์ระหว่างการนำไปใช้ประโยชน์และอันตรายตลอดจนการเกิดปฏิกิริยากับยาอื่นๆ ยังต้องการรายงาน (Manzoni and Rollini, 2002)

Endo (1979) ได้แยกโลวาสตาติน (lovastatin) ครั้งแรกจาก *M. ruber* โดยให้ชื่อว่า Monacolin K ตั้งแต่นั้นมาก็พบในสปีชีส์อื่นๆ ของเชื้อราโมแนสคัส สายพันธุ์ที่สร้างโลวาสตาตินโดยส่วนใหญ่จะสร้างสารสีแดงในปริมาณที่ต่ำและมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสร้างโลวาสตาตินอยู่ประมาณ 25 องศาเซลเซียส การสร้างโลวาสตาตินที่ต่ำและไม่มีการเพิ่มของปริมาณสารสีแดงเมื่ออุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส อยู่ในช่วงการผลิตโคจิ (Gailing, 1998)

โลวาสตาตินจะมีประสิทธิภาพไม่เพียงเฉพาะภายนอกร่างกายเท่านั้น แต่ยังมีผลภายในร่างกายมนุษย์ สัตว์ และนกกระทาด้วยโดยลดระดับพลาสมาของคอเลสเตอรอล (Heber *et al.*, 1999; Manzoni *et al.*, 1999) การเตรียมการสกัดข้าวแดง ที่ทำจาก *M. purpureus* ในประเทศสหรัฐอเมริกาเพื่อเป็นอาหารเสริม (Man *et al.*, 2002) แสดงให้เห็นถึงการลดระดับคอเลสเตอรอลทั้งหมดในสิ่งมีชีวิตที่มีปริมาณไขมันที่สูงและยังมีผลยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในเซลล์ด้วย

การศึกษาการสังเคราะห์และการจำแนกของสารประกอบที่เกี่ยวข้องกับโลวาสตาติน เพื่อบ่งชี้ว่า มีการพบโมนาโคลินชนิดต่างๆ โดยเฉพาะในเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ต่างๆ Endo (1985) ได้แยกและจำแนกโมนาโคลินเจและแอล (monacolin J และ L) จากสายพันธุ์ *M. ruber* และในปีเดียวกัน Endo ได้แยก ไดไฮโดรโมนาโคลินแอล (dyhydromonacolin L) และโมนาโคลินเอกซ์ (monacolin X) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับโมนาโคลินเคจากเชื้อกลายพันธุ์ของ *M. ruber* (Endo, 1985) ในปีต่อมา Endo และคณะ (1986) ได้แยกโมนาโคลินเอ็ม (monacolin M) จาก *M. ruber* และได้ปรับเปลี่ยนโครงสร้างของโมนาโคลินเอ็มให้เป็นโมนาโคลินเจ โดยการรวมด้วยวิธีทางฟิสิกส์พบว่าผลการยับยั้งของโมนาโคลินเอ็มต่อ HMG-CoA reductase มีน้อยกว่าโมนาโคลินเค (Endo, 1986) ต่อมา Komagata *et al.* (1989) ได้รายงานถึงผลของโมนาโคลินแอลว่าเป็นสารตั้งต้นของโมนาโคลินเจ และพบว่าเอนไซม์ monooxygenase จาก *M. ruber* M 4681 มีส่วนเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเปลี่ยนโมนาโคลินแอลจากภายนอกให้เป็นโมนาโคลินเจ

Hai (1998) ได้อธิบายถึงความแตกต่างของการหมักแห้ง (solid state fermentation; SSF) และการหมักเปียก (submerged fermentation; SMF) ต่อการผลิตโมนาโคลินโดย *M. purpureus* ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า *M. purpureus* ผลิตโมนาโคลินในการหมักแห้งมากกว่าการหมักเปียก ได้เปรียบเทียบกรรมวิธีการผลิตข้าวแดงทั่วไปพบว่า การหมักแห้งสำหรับการผลิตโมนาโคลินต้องการวิธีการที่ปลอดเชื้อและพื้นที่สภาวะการเพาะบ่มที่แตกต่าง หัวเชื้อที่เป็นของเหลว และตัวกระตุ้นที่พิเศษเพื่อให้มีผลผลิตโมนาโคลินในปริมาณมาก ผลผลิตที่ผ่านการหมักมีความแตกต่างจากการหมักแบบทั่วไป Chang *et al.* (2002) ได้ศึกษาผลกระทบของอาหารต่อการผลิตโลวาสตาตินในการเลี้ยง *M. ruber* CCRC 31535 แบบของเหลวผสมของแข็งหรือการหมักเปียก (mixed solid-liquid fermentation หรือ submerged) ด้วยวิธีทางสถิติการตอบสนองต่อพื้นผิว (response surface methodology; RSM) โลวาสตาตินปริมาณมากจะพบบริเวณที่มีความเข้มข้นของแป้งข้าว เปปโดน กลีเซอริน และกลูโคสสูง ตามลำดับ

Gailing (1998) ได้รายงานการคัดเลือกและการปรับปรุงสายพันธุ์ของจุลินทรีย์กระบวนการผลิต และการควบคุมคุณภาพของสาร Wenstardin ที่ได้จากการสกัดข้าวแดงด้วยเอทานอล การทดลองในสัตว์และการศึกษาการประยุกต์ใช้รักษามนุษย์ และได้มีการสืบหาตัวยับยั้ง HMG-CoA reductase ในโมแนสคัสสปีชีส์ต่างๆ และค้นพบในสายพันธุ์กลาย *M. purpureus* Went M5801 จาก *M. purpureus* Went M1003 ซึ่งมีการผลิตโมนาโคลินเค ปริมาณที่มากในการเพาะเลี้ยงแห้ง โดยทั่วไปส่วนประกอบของอาหารและองค์ประกอบทางกายภาพมีผลต่อการผลิตโมนาโคลินเคโดยเฉพาะแหล่งของไนโตรเจนและอุณหภูมิ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงอยู่ในช่วง 24-26 องศาเซลเซียส สำหรับการผลิตสารสีจากเชื้อราสายพันธุ์เดียวกันจะใช้อุณหภูมิที่สูงกว่า

การเสริมเชื้อราโมแนสคัสในอาหารสัตว์

Wang *et al.* (2000) ศึกษาผลของ *Monascus* spp. ต่อการลดลงของไตรกลีเซอไรด์ (hypotriglyceridemic effect) โดยทำการทดลองในหนูที่มีระดับไตรกลีเซอไรด์สูง (hypertriglyceridemia) ซึ่งเตรียมโดยให้หนูได้รับสูตรอาหารที่มีฟรุกโตสสูง พบว่าการเสริม *Monascus* spp. ที่ระดับ 2.0 เปอร์เซ็นต์ โดยผสมกับสูตรอาหารที่มีฟรุกโตส 30 เปอร์เซ็นต์ แล้ววัดไขมันในซีรัมและตับ หลังจาก 6 เดือนพบว่าความเข้มข้นของไตรกลีเซอไรด์ คอเลสเตอรอลทั้งหมด VLDL-C และ LDL-C ในซีรัมลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ HDL-C จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในหนูที่เสริม *Monascus*

spp. ต่อมา Wang *et al.* (2006) ศึกษาการเสริมข้าวแดงจากการหมักด้วยเชื้อรา *Monascus* spp. ลงในอาหารไก่กระตังพันธุ์ Arbor Acres ที่ระดับ 2.0 5.0 และ 8.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สามารถลดระดับคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และไลโปโปรตีนชนิด LDL ในซีรัม รวมทั้งยังสามารถลดระดับของคอเลสเตอรอลในเนื้อไก่ส่วนอกและสะโพกได้อีกด้วย เช่นเดียวกับการศึกษาของ Wang and Pan (2003) ซึ่งทำการเสริมข้าวแดงจากเชื้อรา *Monascus* spp. ในไก่ไข่พบว่าสามารถลดระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดง ซึ่ง Endo (1979) อธิบายว่า สารโมนาโคลินเคสามารถยับยั้ง HMG-CoA reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล อย่างไรก็ตามได้มีการค้นพบว่า สารสีสังเคราะห์พวก coal tar dyes ซึ่งเป็นสีผสมอาหารสามารถที่จะเป็นสารก่อมะเร็งได้ ดังนั้น เกตินิก (2544) จึงได้มีการหันมาใช้สีผสมอาหารซึ่งผลิตโดยเชื้อราในกลุ่ม *Monascus* spp. แทนสีสังเคราะห์เหล่านั้น โดยมีการศึกษาการเสริมข้าวแดงที่ได้จาก *Monascus* sp. TISTR 3179 เพื่อใช้เป็นแหล่งสารสีในอาหารไก่ไข่ โดยให้อาหารสำเร็จรูปเสริมข้าวแดง 100 กรัมต่อตัวต่อวัน พบว่าไม่มีผลเสียต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ แต่มีผลทำให้สีไข่แดงเข้มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่เวลา 6 วัน และมีแนวโน้มว่าระยะเวลาที่ให้ข้าวแดงนานขึ้น ทำให้ความเข้มของสีไข่แดงมากขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. กรงตับไก่ไข่ แต่ละกรงมีขนาด $24 \times 40 \times 42$ ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 120 กรง เลี้ยงไก่ไข่ 3 ตัวต่อกรง พร้อมอุปกรณ์ที่ให้น้ำและอาหาร

2. การทดลองที่ 1 และ 2 ใช้ไก่ไข่อายุ 31 สัปดาห์ จำนวน 360 ตัว แบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ซ้ำๆ ละ 15 ตัว

3. ถังใส่อาหารทดลองประจำไก่ทดลองแต่ละตัว

4. เครื่องชั่ง

4.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าขนาดชั่งได้สูงสุด 100 กิโลกรัม ผลิตโดยบริษัท Digi โมเดล DI-28 สำหรับชั่งน้ำหนักอาหารทดลอง

4.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าขนาดชั่งได้สูงสุด 1,500 กรัม ผลิตโดยบริษัท Digi โมเดล DS-671 สำหรับชั่งน้ำหนักฟองไข่

4.3 เครื่องชั่งไถขนาดชั่งได้สูงสุด 7 กิโลกรัม ผลิตโดยบริษัท Trade mark

5. อุปกรณ์ตรวจวัดคุณภาพไข่

5.1 ไมโครมิเตอร์ใช้วัดความหนาเปลือกไข่ ผลิตโดยบริษัท Mitutoyo โมเดล ID-C1012EBS ความละเอียดที่อ่านได้ต่ำสุด 0.01 มิลลิเมตร

5.2 พดเทียบสีไข่ไก่ ซึ่งมีสีเข้มขึ้นตามลำดับจากเบอร์ 1 ถึง 15 ผลิตโดยบริษัท Roche

5.3 เครื่องวัดความสูงไขขาว Haugh Gauge ผลิตโดยบริษัท TSS (Technical Services and Supplies Ltd., York, England)

6. อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี (ภาคผนวก ข)

6.1 เครื่อง Gas chromatograph (GC) สำหรับวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง

6.2 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลในซีรัมและพลาสมา ปริมาณ HDL ไตรกลีเซอไรด์ โปรตีนรวม และอัลบูมินในพลาสมา

วิธีการ

1. การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส (*Monascus kaoliang* KB9) ที่มีผลต่อคุณลักษณะทางการให้ไข่ คุณภาพไข่ในไก่ไข่ สีไข่แดงและระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดงและซีรัม

ศึกษาผลของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสที่แตกต่างกันในสูตรอาหารไก่ไข่ ต่อประสิทธิภาพการผลิต คุณภาพไข่ และส่วนประกอบของฟองไข่ โดยเปรียบเทียบผลผลิตไข่น้ำหนักไข่ มวลไข่ ปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน ปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 กิโลกรัม เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ ส่วนประกอบของฟองไข่ คุณภาพไข่ ระดับของคอเลสเตอรอลในไข่ไก่และซีรัม

ใช้ไก่ไข่เพศเมียพันธุ์บราวน์กัสที่กำลังให้ผลผลิตไข่อายุ 31 สัปดาห์ จำนวน 360 ตัว แบ่งออกเป็น 6 กลุ่มๆ ละ 4 ซ้ำๆ ละ 15 ตัว แต่ละกลุ่มได้รับอาหารทดลอง ดังนี้

กลุ่มที่ 1 สูตรควบคุม (ไม่มีการเสริมสารสีทางการค้า และข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส)

กลุ่มที่ 2 สูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้า

กลุ่มที่ 3 สูตรอาหารควบคุมเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 0.25 % ในอาหาร

กลุ่มที่ 4 สูตรอาหารควบคุมเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 0.50 % ในอาหาร

กลุ่มที่ 5 สูตรอาหารควบคุมเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 1.25 % ในอาหาร

กลุ่มที่ 6 สูตรอาหารควบคุมเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 2.50 % ในอาหาร

ตลอดการทดลองไก่ไข่จะได้รับอาหารแบบกินเต็มที่ (*ad libitum*) เหมือนกันทุกกลุ่ม มีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลาและได้รับแสงวันละ 16 ชั่วโมง

1.1 การบันทึกข้อมูลและการคำนวณ

1.1.1 บันทึกปริมาณอาหารที่กินในแต่ละชั่วโมง

1.1.2 บันทึกผลผลิตไข่แต่ละเช้าทุกวัน

1.1.3 บันทึกน้ำหนักไข่แต่ละเช้าทุกวัน

นำค่าที่บันทึกมาคำนวณหาค่าต่างๆ ได้แก่ ปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน ปริมาณอาหารที่กินต่อการผลิตไข่น้ำหนัก 1 กิโลกรัม เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ (Hen-House production; HH) และ น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง (North and Bell, 1990) ดังนี้

ปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กินในช่วงการทดลอง (กรัม)}}{\text{จำนวนวัน} \times \text{จำนวนไก่เมื่อเริ่มต้นในแต่ละช่วงการทดลอง}}$$

ปริมาณอาหารที่กินต่อการผลิตไข่น้ำหนัก 1 กก.

$$= \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินในช่วงการทดลอง (กก.)}}{\text{น้ำหนักไข่ในแต่ละช่วงการทดลอง (กก.)}}$$

เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่

$$= \left\{ \frac{\text{จำนวนไข่ในแต่ละในช่วงการทดลอง}}{\text{จำนวนวัน x จำนวนไก่เริ่มต้นการทดลอง}} \right\} \times 100$$

น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง

$$= \frac{\text{น้ำหนักไข่ทั้งหมดของซ้ำแต่ละช่วงการทดลอง}}{\text{จำนวนไข่ที่นำมาชั่ง}}$$

ต้นทุนค่าอาหารที่ใช้ผลิตไข่ 1 กิโลกรัม

$$= \text{ราคาอาหาร} \times \text{ปริมาณอาหารที่กินต่อการผลิตไข่หนัก 1 กิโลกรัม}$$

1.1.4 บันทึกส่วนประกอบฟองไข่ตามวิธีของ Lee and Choi (1985) ทุกๆ 14 วัน เมื่อสิ้นสุดแต่ละช่วงการทดลอง โดยสุ่มไข่ซ้ำละ 5 ฟอง หาน้ำหนักไข่แดง ไข่ขาว และเปลือกไข่แล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของไข่ทั้งฟอง

1.1.5 บันทึกการวัดคุณภาพไข่ทุกๆ 14 วัน เมื่อสิ้นสุดแต่ละช่วงการทดลอง โดยสุ่มไข่ซ้ำละ 5 ฟอง

ก. สีของไข่แดง วัดโดยใช้ egg yolk color fan

ข. ความสูงไข่ขาว วัดโดยใช้ haugh gauge ผลิตโดยบริษัท TSS (Technical Services and Supplies Ltd., York, England)

ค. ความหนาของเปลือกไข่ วัดโดยใช้ไมโครมิเตอร์

1.2 การสุ่มเก็บตัวอย่าง

1.2.1 สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดไก่ 3 ครั้ง คือ ก่อน ช่วงกลาง และสิ้นสุดการทดลอง โดยสุ่มไก่แต่ละซุ้มๆ ละ 4 ตัว เจาะเลือดที่เส้นเลือดดำบริเวณปีก (wing vein) นำไปปั่นเหวี่ยงโดยใช้เครื่อง centrifuge ด้วยแรง 1,000 g (ประมาณ 2,500 รอบ/นาที) แยกซีรัมเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์เพื่อหาระดับคอเลสเตอรอล

1.2.2 สุ่มเก็บตัวอย่างไข่แดง 3 ครั้ง คือ เมื่อสิ้นการทดลองช่วงที่ 2 4 และ 6 โดยสุ่มเก็บตัวอย่างไข่แดงของแต่ละซุ้มๆ ละ 3 ฟอง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์หาระดับคอเลสเตอรอล

1.3 การวิเคราะห์ทางเคมี (ภาคผนวก ข)

1.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง

วิเคราะห์คอเลสเตอรอลในไข่แดงตามวิธีของฝ่ายเคมีอาหาร สถาบันวิจัยโภชนาการมหาวิทยาลัยมหิดล โดยใช้เครื่อง GC อ้างอิงตามวิธีของ Will and Greenfield (1984)

1.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลในซีรัม

ก. หลักการ

วิเคราะห์คอเลสเตอรอลในซีรัม โดยมีคอเลสเตอรอลเอสเตอ์เป็นสารตั้งต้น จากนั้นอาศัยหลักการทำงานของเอนไซม์ 3 ชนิด ได้แก่ คอเลสเตอรอลเอสเตอเรส (cholesterol esterase) คอเลสเตอรอลออกซิเดส (cholesterol oxidase) และเปอร์ออกซิเดส (peroxidase) เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและออกซิเดชัน จากนั้นตรวจวัดความเข้มข้นของ ควิโนไนมีน (quinoneimine) ซึ่งเป็นผลผลิตสุดท้ายของปฏิกิริยา

ข. วิธีการ

อาศัยหลักการทำงานของเอนไซม์ โดยใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป cholesterol liquicolor (Human, Germany) และตรวจวัดความเข้มข้นของผลผลิตสุดท้ายโดยใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

1.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design; CRD) (Snedecor and Cochran, 1967) และหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่ม โดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) (Duncan, 1955) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SAS (SAS, 1996) โดยมีแบบจำลองทางสถิติ ดังนี้

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}, \quad i = 1, 2, 3, 4, 5 \text{ และ } 6 \\ j = 1, 2, 3 \text{ และ } 4$$

$$\begin{aligned} \text{เมื่อ } Y_{ij} &= \text{ค่าสังเกตของแต่ละทรีทเมนต์ที่ } i \text{ ซ้ำที่ } j \text{ (} j = 1, 2, 3 \text{ และ } 4) \\ \mu &= \text{ค่าเฉลี่ยรวมของทรีทเมนต์} \\ \tau_i &= \text{อิทธิพลเนื่องจากทรีทเมนต์ที่ } i \text{ (} i = 1, 2, 3, 4, 5 \text{ และ } 6) \\ \varepsilon_{ij} &= \text{ค่าความคลาดเคลื่อนของการทดลอง} \end{aligned}$$

2. การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับที่เหมาะสมของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส (*Monascus kaoliang* KB9) จากการทดลองที่ 1 มาหาระดับของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส ในช่วงถี่ขึ้นที่มีผลต่อคุณลักษณะทางการให้ไข่ คุณภาพไข่ในไก่ไข่ สีไข่แดงและระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดงและซีรัม เพื่อนำไปปรับใช้ในทางการค้า

จากการทดลองที่ 1 นำระดับที่ให้ผลดีที่สุดของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส มาหาระดับของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในช่วงถี่ขึ้นที่มีผลต่อคุณลักษณะทางการให้ไข่ คุณภาพไข่ในไก่ไข่ สีไข่แดงและระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดงและซีรัม เพื่อนำไปใช้ในทางการค้า โดยเปรียบเทียบผลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

ใช้ไก่ไข่เพศเมียพันธุ์บราวน์นิสที่กำลังให้ผลผลิตไข่อายุ 31 สัปดาห์ จำนวน 360 ตัว แบ่งออกเป็น 6 กลุ่มๆ ละ 4 ซ้ำๆ ละ 15 ตัว เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 แต่แตกต่างกันที่ระดับของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส โดยแต่ละกลุ่มได้รับอาหารทดลอง ดังนี้

- กลุ่มที่ 1 สูตรควบคุม (ไม่มีการเสริมสารสีทางการค้า และข้าวแดงลงในอาหาร)
- กลุ่มที่ 2 สูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้า
- กลุ่มที่ 3 สูตรอาหารควบคุมเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 0.15 % ในอาหาร
- กลุ่มที่ 4 สูตรอาหารควบคุมเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 0.50 % ในอาหาร
- กลุ่มที่ 5 สูตรอาหารควบคุมเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 0.85 % ในอาหาร
- กลุ่มที่ 6 สูตรอาหารควบคุมเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 1.20 % ในอาหาร

2.1 การบันทึกข้อมูลและการคำนวณ

บันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.2 การสุ่มเก็บตัวอย่าง

2.2.1 สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดไก่เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 แต่ใช้เฮปาริน (heparin) เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ปั่นเหวี่ยงโดยใช้เครื่อง centrifuge ด้วยแรง 1,000 g แยกเก็บพลาสมาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์เพื่อหาระดับคอเลสเตอรอล HDL-C ไตรกลีเซอไรด์ โปรตีน และอัลบูมิน

2.2.2 สุ่มเก็บตัวอย่างไข่แดง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.3 การวิเคราะห์ทางเคมี (ภาคผนวก ข)

2.3.1 วิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง

วิเคราะห์คอเลสเตอรอลในไข่แดงเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลในพลาสมา

หลักการและวิธีการสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอล เป็นไปเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณ HDL-C ในพลาสมา

ก. หลักการ

วิเคราะห์ HDL-C อาศัยสารเคมีสำเร็จรูปในขั้นตอนการตกตะกอนเพื่อแยก HDL-C ออกจากองค์ประกอบอื่นในพลาสมา โดยที่ HDL-C จะแขวนลอยอยู่ในน้ำใส ซึ่งสามารถนำไปตรวจหาปริมาณของคอเลสเตอรอลที่เป็นผลผลิตสุดท้าย

ข. วิธีการ

ขั้นตอนการตกตะกอนเพื่อแยก HDL-C ออกจากองค์ประกอบอื่นในซีรัมหรือพลาสมา อาศัยสารเคมีสำเร็จรูป HDL cholesterol precipitant and standard (Human, Germany) และอาศัยชุดตรวจสำเร็จรูป Cholesterol liquicolor (Human, Germany) ในการตรวจหาปริมาณคอเลสเตอรอล จากนั้นตรวจวัดความเข้มข้นของผลผลิตสุดท้ายโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

2.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา

ก. หลักการ

วิเคราะห์ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา โดยมีไตรกลีเซอไรด์เป็นสารตั้งต้น จากนั้นอาศัยหลักการทำงานของเอนไซม์ 4 ชนิด ได้แก่ ไลเปส (lipase) กลีเซอรอลไคเนส (glycerol kinase) กลีเซอรอลฟอสเฟตไคเนส (glycerol phosphate kinase) และเปอร์ออกซิเดส (peroxidase) เป็นการตรวจวัดกลีเซอรอล (glycerol) ที่เกิดขึ้นหลังจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ซึ่ง

กลีเซอรอลจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณไตรกลีเซอไรด์ จากนั้นทำการตรวจวัดความเข้มข้นของควิโนไนมีน (quinoneimine) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา

ข. วิธีการ

อาศัยหลักการทำงานของเอนไซม์ โดยใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป Triglycerides liquidcolor (Human, Germany) และตรวจวัดความเข้มข้นของผลผลิตสุดท้ายโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

2.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนรวม (Total protein) ในพลาสมา

ก. หลักการ

วิเคราะห์โปรตีนในพลาสมา โดยไอออนของแคลเซียม (cupric ions) จะทำปฏิกิริยากับโปรตีนในสารละลายด่าง (alkaline solution) ให้สีม่วง

ข. วิธีการ

อาศัยหลักการทำงานของสารเคมี โดยใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป Total protein liquidcolor (Human, Germany) และตรวจวัดความเข้มข้นของผลผลิตสุดท้ายโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

2.3.7 การวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมินในพลาสมา

ก. หลักการ

วิเคราะห์อัลบูมินในพลาสมา โดยโบรโมครีซอลกรีน (bromocresol green) จะจับกับอัลบูมินในซิเตรตบัฟเฟอร์ (citrate buffer) เป็นสีผสม ซึ่งสีที่เกิดขึ้นให้ค่าดูดกลืนแสงขึ้นกับค่าความเข้มข้นของอัลบูมิน

ข. วิธีการ

อาศัยหลักการทำงานของสารเคมี โดยใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป Albumin liquidcolor (Human, Germany) และตรวจวัดความเข้มข้นของผลผลิตสุดท้ายโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Snedecor and Cochran, 1967) และหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่ม โดยวิธี DMRT (Duncan, 1955) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SAS (SAS, 1996) โดยมีแบบจำลองทางสถิติ ดังนี้

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad , i = 1, 2, 3, 4, 5 \text{ และ } 6 \\ j = 1, 2, 3 \text{ และ } 4$$

$$\begin{aligned} \text{เมื่อ } Y_{ij} &= \text{ค่าสังเกตของแต่ละทรีทเมนต์ที่ } i \text{ ซ้ำที่ } j \text{ (} j = 1, 2, 3 \text{ และ } 4) \\ \mu &= \text{ค่าเฉลี่ยรวมของทรีทเมนต์} \\ \tau_i &= \text{อิทธิพลเนื่องจากทรีทเมนต์ที่ } i \text{ (} i = 1, 2, 3, 4, 5 \text{ และ } 6) \\ \varepsilon_{ij} &= \text{ค่าความคลาดเคลื่อนของการทดลอง} \end{aligned}$$

สถานที่ทำการทดลอง

1. ฟาร์มไก่หลวงสุวรรณวาจกกสิกิจ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ
2. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ
3. ภาควิชาสัตววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ

4. ฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ

ระยะเวลาในการทดลอง

1. การทดลองที่ 1

เริ่มการทดลอง: วันที่ 29 พฤศจิกายน 2550
สิ้นสุดการทดลอง: วันที่ 21 กุมภาพันธ์ 2551
รวมระยะเวลาทั้งสิ้น 12 สัปดาห์

2. การทดลองที่ 2

เริ่มการทดลอง: วันที่ 28 พฤษภาคม 2551
สิ้นสุดการทดลอง: วันที่ 6 สิงหาคม 2551
รวมระยะเวลาทั้งสิ้น 10 สัปดาห์

ผลและวิจารณ์

ผล

1. การทดลองที่ 1

1.1 สมรรถภาพการผลิต

ผลของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร 4 ระดับเปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม และสูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้าต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ พบว่า น้ำหนักไข่ (กรัม) ปริมาณอาหารที่กินตลอดการทดลอง และปริมาณอาหารที่กินต่อการผลิตไข่น้ำหนัก 1 กิโลกรัม มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติโดยน้ำหนักไข่มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 64.77-66.49 กรัม ปริมาณอาหารที่กินตลอดการทดลองมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 111.25-113.81 กรัมต่อตัวต่อวัน และปริมาณอาหารที่กินต่อการผลิตไข่น้ำหนัก 1 กิโลกรัม มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.81-1.88 กิโลกรัม (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อสมรรถภาพการผลิต (การทดลองที่ 1)

Treatments	Ave. egg weight (g)	REWI	Daily feed intake (g/bird/day)	RFI	Ave. feed consumption/1 kg of egg produced (kg)	RFCI
NC	66.49	100.00	112.95	100.00	1.85	100.00
PC	66.05	99.34	113.81	100.76	1.84	99.46
0.25%RMR	65.67	98.77	112.94	99.99	1.88	101.62
0.50%RMR	64.77	97.41	111.39	98.62	1.81	97.84
1.25%RMR	65.60	98.66	111.99	99.15	1.81	97.84
2.50%RMR	64.86	97.55	111.25	98.49	1.86	100.54
SEM	0.19	-	0.48	-	0.01	-

1.2 คุณภาพไข่

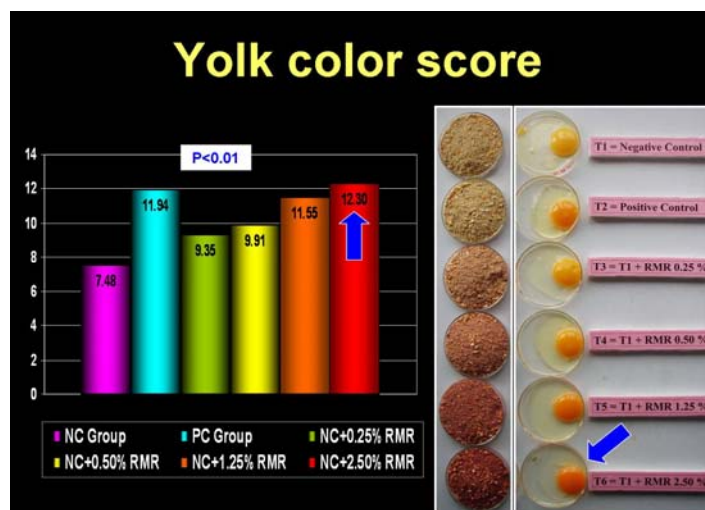
ผลของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร 4 ระดับเปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม และสูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้าต่อคุณภาพไข่ของไก่ไข่ พบว่า ค่าฮอฟยูนิต และความหนาเปลือกไข่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่าฮอฟยูนิตมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 91.99-95.44 และความหนาเปลือกไข่มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.40-0.41 มิลลิเมตร อย่างไรก็ตามไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 2.50 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารให้ค่าความสูงไข่ขาวและค่าฮอฟยูนิตสูงกว่ากลุ่มอื่น (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อคุณภาพไข่ (การทดลองที่ 1)

Treatments	Haugh unit	RHI	Shell thickness (mm)	RSTI	Yolk color score ^{1/}	RYCI
NC	92.78	100.00	0.40	100.00	7.48 ^f	100.00
PC	92.23	99.41	0.41	102.50	11.94 ^b	159.63
0.25% RMR	93.67	100.96	0.41	102.50	9.35 ^c	125.00
0.50% RMR	91.99	99.15	0.40	100.00	9.91 ^d	132.49
1.25% RMR	94.06	101.38	0.41	102.50	11.55 ^c	154.41
2.50% RMR	95.44	102.87	0.40	100.00	12.30 ^a	164.44
SEM	0.55	-	0.00	-	0.08	-

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในแถวตั้งเดียวกันกำกับอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01)

ในด้านสีไข่แดงของไก่ทุกกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) (ตารางที่ 5 และภาพที่ 9) โดยไก่ที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 2.50 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร ให้ไข่ที่มีสีไข่แดงเข้มที่สุด คือ 12.30 รองลงมาได้แก่สีไข่แดงของไก่ที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมเสริมสารสีทางการค้า กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสที่ระดับ 1.25 0.5 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ให้ค่าเท่ากับ 11.94 11.55 9.91 9.35 และ 7.48 ตามลำดับ



ภาพที่ 9 สีไข่แดงไข่ไก่ที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสระดับต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสีทางการค้า (การทดลองที่ 1)

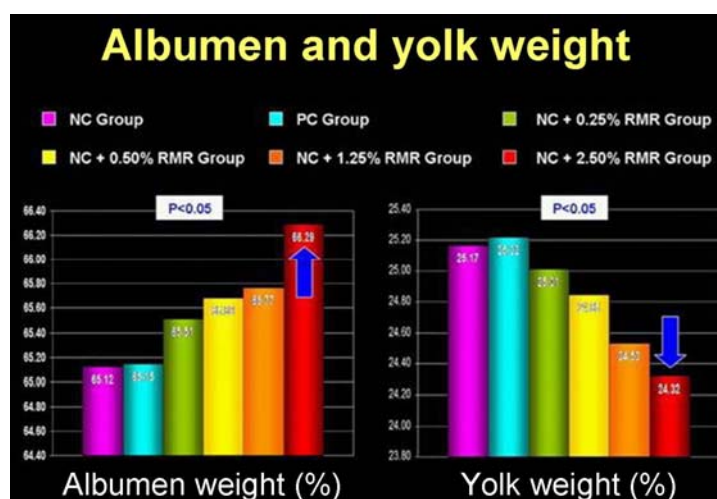
1.3 ส่วนประกอบฟองไข่

การเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสให้ผลต่อเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเปลือกไข่ที่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 9.39-9.71 เปอร์เซ็นต์ แต่ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่ขาวและไข่แดงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 6 และภาพที่ 10) โดยเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่ขาวของไก่ที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 2.50 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารมีค่าสูงที่สุด (66.29 เปอร์เซ็นต์) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จากไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม (65.12 เปอร์เซ็นต์) และกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมเสริมสารสีทางการค้า (65.15 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงในไก่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 2.50 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารมีค่าต่ำที่สุด (24.32 เปอร์เซ็นต์) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จากไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมเสริมสารสีทางการค้า (25.22 เปอร์เซ็นต์)

ตารางที่ 6 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์ต่อส่วนประกอบฟองไข่ (การทดลองที่ 1)

Treatments	Albumen weight (%) ^{1/}	RAWI	Yolk weight (%) ^{1/}	RYWI	Shell weight (%)	RSWI
NC	65.12 ^b	100.00	25.17 ^{ab}	100.00	9.71	100.00
PC	65.15 ^b	100.05	25.22 ^a	100.20	9.63	99.18
0.25%RMR	65.51 ^{ab}	100.60	25.01 ^{ab}	99.36	9.48	97.63
0.50%RMR	65.69 ^{ab}	100.88	24.85 ^{ab}	98.73	9.46	97.43
1.25%RMR	65.77 ^{ab}	101.00	24.53 ^{ab}	97.46	9.70	99.90
2.50%RMR	66.29 ^a	101.80	24.32 ^b	96.22	9.39	96.70
SEM	0.21	-	0.18	-	0.07	-

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในแถวตั้งเดียวกันกำกับอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่ขาวและไข่แดงของไข่ไก่ที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์ระดับต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสีทางการค้า (การทดลองที่ 1)

1.4 คอเลสเตอรอล

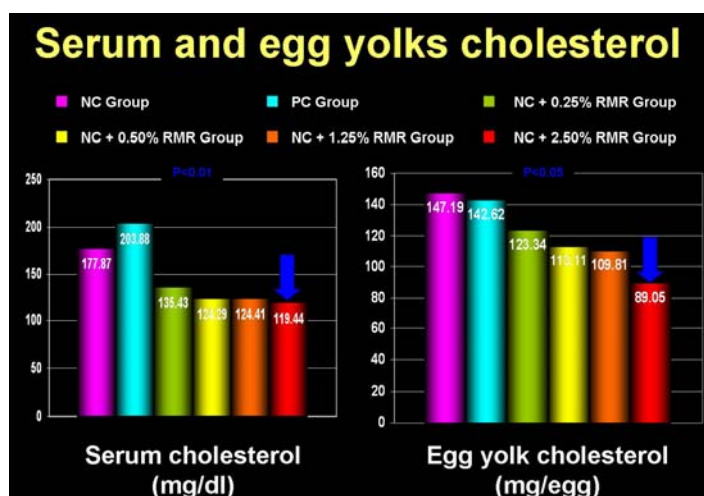
ผลของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในซีรัมและในไข่แดงของไข่ไก่ พบว่า ปริมาณคอเลสเตอรอลในซีรัมของไก่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) จากไก่กลุ่มที่ไม่ได้เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส ส่วนปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดงของไก่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกลุ่มที่ไม่ได้เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส โดยในกลุ่มที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 2.50 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารมีปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดงน้อยที่สุด (89.05 มิลลิกรัมต่อฟอง) (ตารางที่ 7 และภาพที่ 11)

ตารางที่ 7 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดงและซีรัม (การทดลองที่ 1)

Treatments	Egg yolk cholesterol				Serum cholesterol (mg/dl) ^{2/}	RSCI
	(mg/egg) ^{1/}	REYCI	(mg/100 g of egg yolk) ^{2/}	REYCI		
NC	147.19 ^a	100.00	917.70 ^a	100.00	177.87 ^a	100.00
PC	142.62 ^a	96.90	876.10 ^{ab}	95.47	203.88 ^a	114.62
0.25% RMR	123.34 ^{ab}	83.80	747.80 ^{abc}	81.49	135.43 ^b	73.84
0.50% RMR	113.11 ^{bc}	76.80	669.80 ^{bcd}	72.99	124.29 ^b	69.88
1.25% RMR	109.18 ^{bc}	74.20	647.30 ^{cd}	70.54	124.41 ^b	69.94
2.50% RMR	89.05 ^c	60.50	508.40 ^d	55.40	119.44 ^b	67.15
SEM	3.46	-	70.93	-	11.06	-

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในแถวตั้งเดียวกันกำกับอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในแถวตั้งเดียวกันกำกับอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$)



ภาพที่ 11 คอเลสเตอรอลในซีรัมและไข่แดงของไก่ไข่ที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสระดับต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสีทางการค้า (การทดลองที่ 1)

1.5 ต้นทุนค่าอาหารที่ใช้ในการผลิตไข่ 1 กิโลกรัม

ผลของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร 4 ระดับเปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม และสูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้า พบว่า ต้นทุนค่าอาหารเฉลี่ยที่ใช้ผลิตไข่ 1 กิโลกรัม มีความแตกต่างกัน จากการทดลองนี้พบว่า ต้นทุนค่าอาหารจะสูงขึ้นเมื่อมีการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับที่สูงขึ้น (ตารางที่ 8) โดยกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสมีต้นทุนค่าอาหารต่ำกว่ากลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส

ตารางที่ 8 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อต้นทุนค่าอาหารที่ใช้ผลิตไข่ 1 กิโลกรัม
(การทดลองที่ 1)

Treatments	Feed cost per 1 kg of egg produced (baht)
NC	23.74
PC	23.94
0.25% RMR	24.40
0.50% RMR	23.77
1.25% RMR	24.58
2.50% RMR	26.65

หมายเหตุ ต้นทุนค่าอาหารในตารางนี้ กลุ่มที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส คิดค่าใช้จ่ายเฉพาะราคาข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสราคาประมาณ 60 บาท/กิโลกรัม ยังไม่รวมค่าใช้จ่าย เช่น ค่าแรงงาน ค่าไฟฟ้าที่ใช้ในการอบแห้งข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส โดยอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นานประมาณ 8 ชั่วโมง นอกจากนี้ ต้นทุนนี้อาจลดลงได้ถ้าผลิตข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับอุตสาหกรรม

2. การทดลองที่ 2

2.1 สมรรถภาพการผลิต

ผลของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร 4 ระดับเปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม และสูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้าต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ พบว่า น้ำหนักไข่ (กรัม) ปริมาณอาหารที่กินตลอดการทดลอง และปริมาณอาหารที่กินต่อการผลิตไข่ น้ำหนัก 1 กิโลกรัม มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยน้ำหนักไข่มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 62.81-63.87 กรัม ปริมาณอาหารที่กินตลอดการทดลองมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 108.15-111.41 กรัมต่อตัวต่อวัน และปริมาณอาหารที่กินต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.84-1.89 กิโลกรัม (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อสมรรถภาพการผลิต (การทดลองที่ 2)

Treatments	Ave. egg weight (g)	REWI	Daily feed intake (g/bird/day)	RFI	Ave. feed consumption/1 kg of egg produced (kg)	RFCI
NC	62.81	100.00	110.33	100.00	1.89	100.00
PC	63.49	101.08	109.10	98.89	1.87	98.94
0.15%RMR	63.86	101.67	109.95	99.66	1.85	97.88
0.50%RMR	63.69	101.40	111.41	100.98	1.89	100.00
0.85%RMR	63.87	101.69	109.80	99.52	1.85	97.88
1.20%RMR	63.47	101.05	108.15	98.02	1.84	97.35
SEM	0.35	-	1.05	-	0.02	-

2.2 คุณภาพไข่

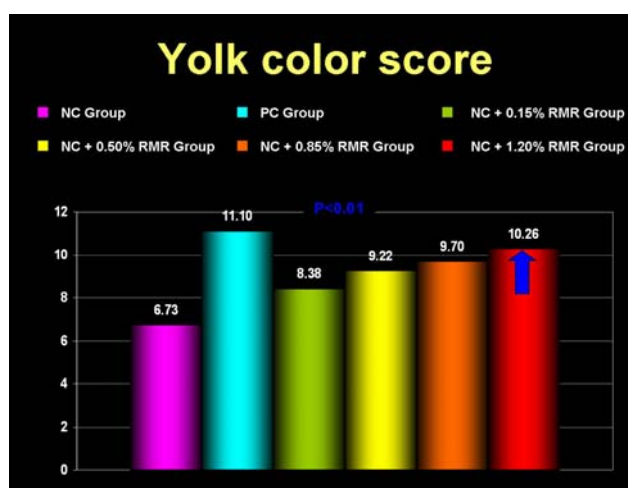
ผลของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร 4 ระดับเปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม และสูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้าต่อคุณภาพไข่ของไก่ไข่ พบว่า ค่าฮอฟยูนิต และความหนาเปลือกไข่มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติโดยค่าฮอฟยูนิตมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 93.24-96.12 และความหนาเปลือกไข่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.41 มิลลิเมตร (ตารางที่ 10)

ในด้านสีไข่แดงของไก่ทุกกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) (ตารางที่ 10 และภาพที่ 12) โดยในไก่ที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมเสริมสารสีทางการค้า มีสีไข่แดงเข้มที่สุด รองลงมาได้แก่ กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสที่ระดับ 1.20 0.85 0.5 และ 0.15 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ให้ค่าเท่ากับ 10.26 9.70 9.22 8.38 และ 6.73 ตามลำดับ

ตารางที่ 10 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสส์ต่อคุณภาพไข่ (การทดลองที่ 2)

Treatments	Haugh unit	RHI	Shell thickness (mm)	RSTI	Yolk color score ^{1/}	RYCI
NC	93.24	100.00	0.41	100.00	6.73 ^f	100.00
PC	94.55	101.40	0.41	100.00	11.10 ^a	164.93
0.15%RMR	95.07	101.96	0.41	100.00	8.38 ^e	124.52
0.50%RMR	95.97	102.93	0.41	100.00	9.22 ^d	137.00
0.85%RMR	96.12	103.09	0.41	100.00	9.70 ^c	144.13
1.20%RMR	95.08	101.97	0.41	100.00	10.26 ^b	152.45
SEM	0.96	-	0.00	-	0.12	-

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในแถวตั้งเดียวกันกำกับอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01)



ภาพที่ 12 สีไข่แดงของไข่ไก่ที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสส์ระดับต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสีทางการค้า (การทดลองที่ 2)

2.3 ส่วนประกอบฟองไข่

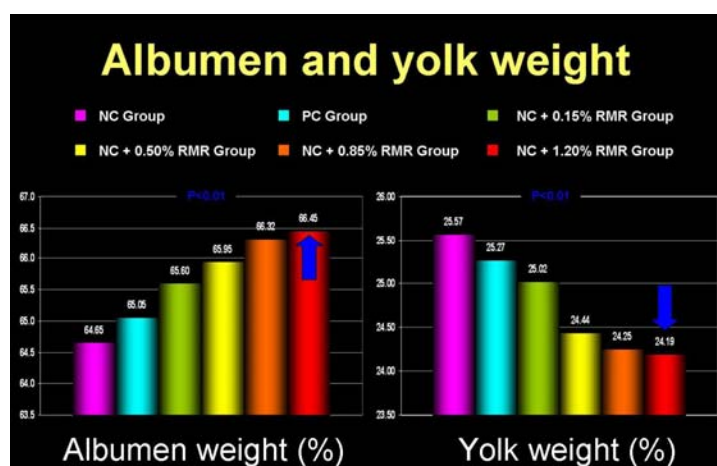
การเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสให้ผลต่อเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเปลือกไข่ที่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 9.37-9.78 เปอร์เซ็นต์ แต่ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่ขาวและไข่แดงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) (ตารางที่ 11 และภาพที่ 13) โดยเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่ขาวของไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 1.20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารมีค่าสูงสุด (66.45 เปอร์เซ็นต์) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) จากไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม (64.65 เปอร์เซ็นต์) และสูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้า (65.05 เปอร์เซ็นต์) และการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับที่สูงขึ้น

เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงในไก่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับ 0.15 0.50 0.85 และ 1.20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารมีค่า 25.02 24.44 24.25 และ 24.19 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ จากการทดลองจะเห็นว่าการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับที่สูงขึ้นส่งผลให้ เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงลดลงตามลำดับ โดยเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงในไก่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับ 0.85 และ 1.20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมเสริมสารสีทางการค้า ในขณะที่ไก่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับ 0.50 0.85 และ 1.20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร มีเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงของไก่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับ 0.15 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร แตกต่างกับไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมเสริมสารสีทางการค้า และกลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับ 0.50 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่สูงกว่ากลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับ 0.85 และ 1.20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

ตารางที่ 11 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสส์ต่อส่วนประกอบฟองไข่ (การทดลองที่ 2)

Treatments	Albumen weight (%) ^{1/}	RAWI	Yolk weight (%) ^{1/}	RYWI	Shell weight (%)	RSWI
NC	64.65 ^d	100.00	25.57 ^a	100.00	9.78	100.00
PC	65.04 ^{cd}	100.62	25.27 ^a	98.83	9.69	99.08
0.15%RMR	65.59 ^{bc}	101.47	25.02 ^{ab}	97.85	9.38	95.91
0.50%RMR	65.96 ^{ab}	102.01	24.44 ^{bc}	95.58	9.61	98.26
0.85%RMR	66.31 ^{ab}	102.58	24.25 ^c	94.84	9.43	96.42
1.20%RMR	66.44 ^a	102.78	24.19 ^c	94.60	9.37	95.81
SEM	0.25	-	0.23	-	0.24	-

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในแถวตั้งเดียวกันกำกับอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01)



ภาพที่ 13 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่ขาวและไข่แดงของไข่ไก่ที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสส์ระดับต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสีทางการค้า (การทดลองที่ 2)

2.4 คอเลสเตอรอล

ผลของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในพลาสมา และในไข่แดงของไข่ไก่ พบว่าปริมาณคอเลสเตอรอลในพลาสมาของไก่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 0.50 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จากไก่กลุ่มที่ไม่ได้เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส ส่วนปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดงของไก่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) กับกลุ่มที่ไม่ได้เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส โดยในกลุ่มที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 1.20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารมีปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดงน้อยที่สุด (53.83 มิลลิกรัมต่อฟอง) ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดงของไก่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 0.15 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 0.50 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร แต่สูงกว่ากลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 0.85 และ 1.20 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร ($P < 0.01$) (ตารางที่ 12 และภาพที่ 14)

2.5 ปริมาณ HDL-C และไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา

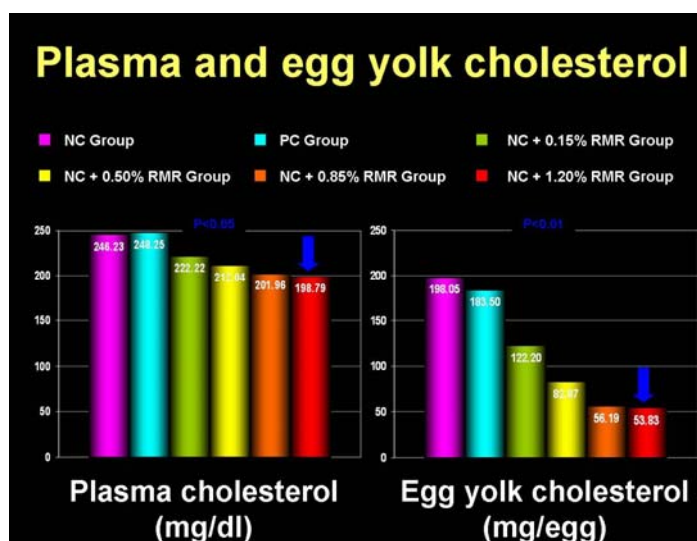
ผลของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อ HDL-C ในพลาสมา พบว่า HDL-C ในพลาสมาของไก่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) กับไก่กลุ่มที่ไม่ได้เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส นอกจากนี้ HDL-C ของไก่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส 0.15 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร สูงกว่าไก่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับอื่น ($P < 0.01$) ในด้านของไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมาของไก่ที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร 4 ระดับเปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม และสูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้า พบว่าการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับที่สูงขึ้น ส่งผลให้ไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมาลดลงตามลำดับ แต่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 960.73-1,020.47 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 12 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง และพลาสมา (การทดลองที่ 2)

Treatments	Egg yolk cholesterol				Plasma	RSCI
	(mg/egg) ^{2/}	REYCI	(mg/100 g of egg yolk) ^{2/}	REYCI	cholesterol (mg/dl) ^{1/}	
NC	198.05 ^a	100.00	1,198.70 ^a	100.00	246.23 ^a	100.00
PC	183.50 ^a	92.65	1,137.20 ^a	94.87	248.25 ^a	100.82
0.15%RMR	122.20 ^b	61.70	753.90 ^b	62.89	222.22 ^{ab}	90.25
0.50%RMR	82.87 ^{bc}	41.84	522.70 ^{bc}	43.60	212.04 ^b	86.11
0.85%RMR	56.19 ^c	28.37	353.50 ^c	29.49	201.96 ^b	82.02
1.20%RMR	53.83 ^c	27.18	338.10 ^c	28.21	198.79 ^b	80.73
SEM	20.22	-	127.37	-	9.40	-

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในแถวตั้งเดียวกันกำกับอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในแถวตั้งเดียวกันกำกับอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)



ภาพที่ 14 คอเลสเตอรอลในพลาสมาและไข่แดงของไก่ไข่ที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส ระดับต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสีทางการค้า (การทดลองที่ 2)

ตารางที่ 13 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อปริมาณ HDL-C และ ไตรกลีเซอไรด์ใน พลาสมา (การทดลองที่ 2)

Treatments	HDL-C (mg/dl) ^{1/}	RHCI	Triglyceride (mg/dl)	RTI
NC	24.94 ^a	100.00	1,020.47	100.00
PC	27.76 ^a	111.32	1,008.06	98.78
0.15%RMR	14.68 ^b	58.87	1,005.79	98.56
0.50%RMR	8.01 ^c	32.12	1,005.66	98.55
0.85%RMR	5.91 ^c	23.70	968.28	94.89
1.20%RMR	4.90 ^c	19.65	960.73	94.15
SEM	2.03	-	19.04	-

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในแถวตั้งเดียวกันกำกับอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01)

2.6 ปริมาณโปรตีนรวมและอัลบูมินในพลาสมา

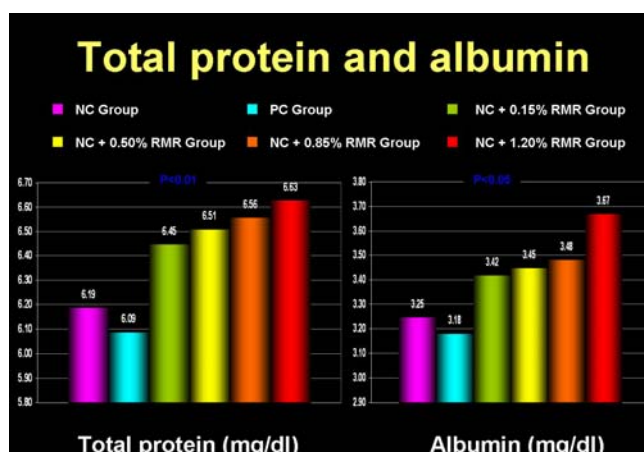
ผลของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในอาหาร 4 ระดับเปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม และสูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้าต่อปริมาณโปรตีนรวมและอัลบูมินในพลาสมาพบว่า ปริมาณโปรตีนรวมในพลาสมาของไก่ที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสที่ระดับ 0.50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) กับไก่กลุ่มที่ไม่ได้เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส ส่วนปริมาณอัลบูมินในพลาสมาของไก่ที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสที่ระดับ 1.20 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส แต่อย่างไรก็ตามจากการทดลองพบว่า ปริมาณโปรตีนรวมและอัลบูมินในพลาสมาของไก่ที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับสูงขึ้นส่งผลให้โปรตีนรวมและอัลบูมินใน พลาสมาเพิ่มขึ้นตามลำดับ (ตารางที่ 14 และภาพที่ 15)

ตารางที่ 14 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อปริมาณโปรตีนรวม และอัลบูมินในพลาสมา (การทดลองที่ 2)

Treatments	Total protein (g/dl) ^{2/}	RTPI	Albumin (g/dl) ^{1/}	RAI
NC	6.19 ^{bc}	100.00	3.25 ^b	100.00
PC	6.09 ^c	98.38	3.18 ^b	97.85
0.15%RMR	6.45 ^{ab}	104.20	3.42 ^{ab}	105.23
0.50%RMR	6.51 ^a	105.17	3.45 ^{ab}	106.15
0.85%RMR	6.56 ^a	105.98	3.48 ^{ab}	107.08
1.20%RMR	6.63 ^a	107.11	3.67 ^a	112.92
SEM	0.10	-	0.10	-

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในแถวตั้งเดียวกันกำกับอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในแถวตั้งเดียวกันกำกับอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)



ภาพที่ 15 โปรตีนรวมและอัลบูมินของไก่ไข่ที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์ระดับต่างๆ
เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสีทางการค้า (การทดลองที่ 2)

2.7 ต้นทุนค่าอาหารที่ใช้ผลิตไข่หนัก 1 กิโลกรัม

ผลของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์ในอาหาร 4 ระดับเปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม และสูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้า พบว่า ต้นทุนค่าอาหารเฉลี่ยที่ใช้ผลิตไข่หนัก 1 กิโลกรัมมีความแตกต่างกัน จากการทดลองนี้พบว่า ต้นทุนค่าอาหารจะสูงขึ้นเมื่อมีการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์ในระดับที่สูงขึ้น (ตารางที่ 15) โดยกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์มีต้นทุนค่าอาหารต่ำกว่ากลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์

ตารางที่ 15 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสต่อต้นทุนค่าอาหารที่ใช้ผลิตไข่ 1 กก.
(การทดลองที่ 2)

Treatments	Feed cost per 1 kg of egg produced (kg)
NC	24.25
PC	24.33
0.15% RMR	23.90
0.50% RMR	24.81
0.85% RMR	24.68
1.20% RMR	24.93

หมายเหตุ ต้นทุนค่าอาหารในตารางนี้ กลุ่มที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส คิดค่าใช้จ่ายเฉพาะราคาข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสราคาประมาณ 60 บาท/กิโลกรัม ยังไม่รวมค่าใช้จ่าย เช่น ค่าแรงงาน ค่าไฟฟ้าที่ใช้ในการอบแห้งข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส โดยอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นานประมาณ 8 ชั่วโมง นอกจากนี้ ต้นทุนนี้อาจลดลงได้ถ้าผลิตข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับอุตสาหกรรม

วิจารณ์

1. สมรรถภาพการผลิต

จากการทดลองที่ 1 และ 2 ผลของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม และสูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้าต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ พบว่าน้ำหนักไข่ (กรัม) ปริมาณอาหารที่กินตลอดการทดลอง และปริมาณอาหารที่กินต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากอาหารทุกสูตรมีโปรตีนและพลังงานใกล้เคียงกัน และยังสอดคล้องกับ Wang and Pan (2003) พบว่าการเสริมข้าวแดงหมักที่ระดับ 0 ถึง 2 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารไก่ไข่ไม่ทำให้ปริมาณอาหารที่กินแตกต่างกันทางสถิติ แต่จะเริ่มพบความแตกต่างที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ถึงแม้ว่าเมื่อเปรียบเทียบส่วนประกอบทางเคมีของข้าวและข้าวแดง พบว่าข้าวแดงจะมีโปรตีนเพิ่มขึ้น 2 เท่า (Rodriguez-Amaya, 2000) แต่ในระดับที่ 0 ถึง 2.50 เปอร์เซ็นต์ จะยังไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณอาหารที่กิน

ในด้านของน้ำหนักไข่ และปริมาณอาหารที่กินต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม จะเห็นว่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากอาหารทุกสูตรมีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกัน ซึ่งระดับโปรตีนในอาหารที่ไก่กินเข้าไปจะมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของไข่ และสมรรถภาพการผลิต สอดคล้องกับ Vogt and Krieg (1982) ที่รายงานว่าระดับโปรตีนในอาหารเป็นตัวกำหนดสมรรถภาพการผลิต มีผลต่อผลผลิตไข่ และน้ำหนักไข่อย่างเด่นชัด จึงมีความสำคัญต่อการผลิตของไก่ไข่ (Gous and Kleyn, 1989; Austic and Nesheim, 1990) นอกจากนี้ น้ำหนักฟองไข่ของสัตว์ปีกนั้นจะมีความสัมพันธ์กับระดับของโปรตีน ไขมัน และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหาร (Tan *et al.*, 1988) โดยเฉพาะในด้านของระดับโปรตีนมีความสัมพันธ์โดยตรงกับผลผลิตไข่ ด้านน้ำหนักและขนาด หากระดับของโปรตีนที่ไก่ได้รับจากการกินอาหารเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้น้ำหนักฟองไข่เพิ่มขึ้นด้วย (Gardner and Young, 1972)

2. คุณภาพไข่

จากการทดลองที่ 1 และ 2 พบว่าการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม และสูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้าต่อคุณภาพไข่ของไก่ไข่ พบว่าความสูงไข่ขาว ค่าฮอฟยูนิต และความหนาเปลือกไข่มีความแตกต่างกันอย่างไม่มี

นัยสำคัญทางสถิติ ความสูงไข่วางและค่าฮอฟฟ์ยูนิตนั้นเป็นเครื่องชี้ให้ทราบว่าไข่วางมีคุณภาพดีมากน้อยเพียงใดซึ่งค่าฮอฟฟ์ยูนิตสูงจะหมายถึง คุณภาพของไข่วางดีมากจะมีค่าสูงกว่า 79 ค่าฮอฟฟ์ยูนิตเป็นค่าที่คำนวณได้จากสมการ $H.U. = 100 \times \log (H + 7.57 - 1.7 W^{0.37})$ โดยที่ H.U. = ค่าฮอฟฟ์ยูนิต (ความสูงไข่วางเมื่อปรับตามน้ำหนักไข่) H = ความสูงของไข่วาง (มิลลิเมตร) และ W = น้ำหนักของฟองไข่ (กรัม) จากสมการดังกล่าวจึงพบว่าตัวแปรหรือปัจจัยที่มีผลต่อความสูงไข่วาง คือ ความสดใหม่ของไข่และปริมาณโภชนะต่างๆในอาหารที่ไก่ไข่ได้รับ (สุวรรณ, 2519) ในการทดลองทั้งสองการทดลองนี้ทำการตรวจวัดคุณภาพไข่ในแต่ละกลุ่มการทดลองวันเดียวกับวันที่เก็บไข่ และอาหารทดลองแต่ละสูตรก็มีระดับพลังงานไม่แตกต่างกัน ซึ่งผลการทดลองไก่อมีปริมาณอาหารที่กินแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติทำให้ไก่ไข่ในแต่ละกลุ่มได้รับปริมาณโปรตีนและพลังงานรวมทั้งโภชนะต่างๆใกล้เคียงกัน จากเหตุผลดังกล่าวจึงส่งผลให้ความสูงไข่วางของไก่ไข่ที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่งผลต่อค่าฮอฟฟ์ยูนิตในการคำนวณเพราะค่าฮอฟฟ์ยูนิตเป็นค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบค่าที่ได้ระหว่างน้ำหนักไข่กับความสูงไข่วาง เนื่องจากน้ำหนักไข่และความสูงไข่วางของแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติทำให้ค่าฮอฟฟ์ยูนิตที่ได้จากการคำนวณที่ได้จากการทดลองแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ในด้านของความหนาเปลือกไข่นั้น พบว่า ผลของการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม และสูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้าให้ค่าความหนาเปลือกไข่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องด้วยองค์ประกอบหลักของเปลือกไข่ คือ แคลเซียมคาร์บอเนต (North and Bell, 1990) ซึ่งระดับแคลเซียมที่เพิ่มขึ้นนั้นสามารถปรับปรุงคุณภาพของเปลือกไข่ในเรื่องความหนาของเปลือกไข่ (Hussein *et al.*, 1996) และความแข็งแรงของเปลือกไข่ การทดลองนี้อาหารทุกสูตรมีระดับแคลเซียมเท่ากันจึงไม่ส่งผลต่อความหนาเปลือกไข่

ในด้านสีไข่แดง พบว่าการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับที่สูงขึ้นมีแนวโน้มทำให้สีไข่แดงเข้มขึ้นตามไปด้วย เนื่องจากสัตว์ปีกไม่สามารถสังเคราะห์สารสีขึ้นมาเองได้ต้องได้รับจากอาหาร (กรวญ, 2536) และเชื้อราโมแนสคัสสามารถสร้างสารสีขึ้นได้ (Yongsmith, 1993; Chen and Johns, 1993, 1994; Yongsmith *et al.*, 1994) เชื้อราโมแนสคัสจะสร้างเส้นใยขนไชและปกคลุมเมล็ดข้าว และสร้างสารสีขึ้นภายในเส้นใย (จินดาร์ตน์, 2522) เส้นใยจะมีสีแดง เมื่อเชื้ออายุมากขึ้น (Cole and Kendrick, 1968) บางส่วนจะถูกปลดปล่อยออกมาทำให้เมล็ดข้าวมีสีแดงเข้ม เมื่อ

ไก่ได้รับอาหารที่มีสารสีดังกล่าวเข้าไปสะสมในไข่แดงของไข่ไก่ ทำให้สีไข่แดงเข้มขึ้นและเพิ่มขึ้นตามปริมาณของสารสีที่ไก่ได้รับ โดย North (1978) กล่าวว่า การสะสมของสารสีในไข่แดงเริ่มตั้งแต่ไก่กินอาหารที่มีสารสีเข้าไป จากนั้นสารสีที่อยู่ในอาหารจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดผ่านยังตับและเข้าสู่ไข่แดงในระหว่างที่มีการพัฒนาของไข่แดง สอดคล้องกับเกคินี (2544) ศึกษาการเสริมข้าวแดงที่ได้จากเชื้อรา *Monascus* sp. TISTR 3179 เพื่อใช้เป็นแหล่งสารสีในอาหารไก่ไข่ โดยเสริมข้าวแดง 100 กรัมต่อตัวต่อวัน พบว่าไม่มีผลเสียต่อสมรรถภาพการผลิตของไข่ไก่ แต่มีผลทำให้สีไข่แดงเข้มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนไก่ไข่กลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมเสริมสารสีทางการค้าให้สีไข่แดงเข้มเนื่องจากสารสีทางการค้าที่เพิ่มขึ้นในอาหารมีสารเฉพาะพวกแซนโทฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ส่งผลต่อการเกิดสีของไข่แดง (คราวญ, 2536) โดยโมเลกุลของสารแซนโทฟิลล์จะมีออกซิเจน (oxygen) ไฮดรอกซิล (hydroxyl) คีโต (keto) และหมู่เอสเทอร์ (ester group) ทำหน้าที่เป็นหมู่ฟังก์ชันนอล เพื่อทำให้เกิดสีในไข่แดง การสะสมสารแซนโทฟิลล์ในไข่แดงเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วตามปริมาณสารที่ได้รับในอาหาร และหลังจากที่ไก่ได้รับสารแซนโทฟิลล์จากอาหารเป็นระยะเวลาประมาณ 3 สัปดาห์ จะเกิดการตอบสนองและเกิดความคงตัวของสารสีในไข่แดง ทำให้ไข่แดงมีสีเข้ม (วิโรจน์, 2537)

3. ส่วนประกอบฟองไข่

จากการทดลองที่ 1 และ 2 พบว่าการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสให้ผลต่อเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเปลือกไข่ที่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม แต่ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่ขาวและไข่แดงแตกต่างกัน โดยเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่ขาวของไก่ที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับที่สูงขึ้นส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่ขาวเพิ่มขึ้นตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบส่วนประกอบทางเคมีของไข่ขาวและไข่แดงพบว่าไข่แดงจะมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนเพิ่มขึ้น 2 เท่า ดังกล่าวแล้วข้างต้น (Rodriguez-Amaya, 2000) ถึงแม้ว่าจะไม่ส่งผลต่อปริมาณอาหารที่กินแต่มีผลต่อน้ำหนักของไข่ขาวเนื่องจากโปรตีนเป็นองค์ประกอบสำคัญของไข่ขาว (Powrie, 1973) จึงส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่ขาวของไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสเพิ่มขึ้น ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงในไก่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับสูงที่สุดในสูตรอาหารมีค่าต่ำที่สุด เนื่องจากน้ำหนักฟองไข่ของทุกกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่ขาวของกลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจึงทำให้เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงลดลง นอกจากนี้คุณสมบัติของสารโมนาโคลิน เค จากการเพาะเลี้ยง

ซีอราโมแนสค์ส์มีคุณสมบัติเป็นสารพวก antihypercholesterol agent มีคุณสมบัติในการยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล (Kumar *et al.*, 2000; Manzoni and Rollini, 2002) ทำให้การสังเคราะห์คอเลสเตอรอลที่ตับของไก่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากซีอราโมแนสค์ส์ลดลง ดังนั้นไขมันบางส่วนที่จะถูกขนย้ายจากตับไปสะสมที่ไข่แดงจึงอาจน้อยกว่าปกติและส่งผลให้ไข่แดงเล็กลง

4. คอเลสเตอรอล

คอเลสเตอรอลมีหน้าที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สเตอรอยด์ ฮอร์โมน วิตามินดี และกรดน้ำดี ซึ่งมีความสำคัญในเมตาบอลิซึมไขมันในร่างกาย นอกจากนั้นยังเป็นองค์ประกอบของไลโปโปรตีนชนิดต่างๆ (บุญล้อม, 2546) ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดไก่มีค่าอยู่ประมาณ 52-270 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (Wegner *et al.*, 1978) ผันแปรตามพันธุกรรม อาหาร และยาต่างๆ (Hargis, 1988) จากการทดลองที่ 1 และ 2 ไก่ไข่กลุ่มที่เสริมข้าวแดงจากซีอราโมแนสค์ส์ในระดับที่สูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณคอเลสเตอรอลในซีรัมและในไข่แดงลดลง ทั้งนี้เป็นเพราะคุณสมบัติในการยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลของอนุพันธ์ของสารโมนาโคลินเค (Kumar *et al.*, 2000; Manzoni and Rollini, 2002) ในข้าวแดงจากซีอราโมแนสค์ส์ที่เสริมลงไปในอาหาร ซึ่ง Endo (1979) อธิบายว่า สารโมนาโคลิน เค สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล สอดคล้องกับ Wang and Pan (2003) ซึ่งเสริมข้าวแดงหมักด้วยซีอราโมแนสค์ส์ที่ระดับ 2.0 5.0 และ 8.0 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารไก่ไข่เปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม พบว่าปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดงในกลุ่มที่เสริมข้าวแดงหมักต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ทั้งยังสอดคล้องกับ Wang *et al.* (2006) ซึ่งเสริมข้าวแดงหมักด้วยซีอราโมแนสค์ส์ในอาหารไก่กระทงที่ระดับ 2.0, 5.0 และ 8.0 เปอร์เซ็นต์พบว่าสามารถลดระดับคอเลสเตอรอลในซีรัมของไก่กระทงได้

5. HDL-C และไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา

จากการทดลองที่ 2 พบว่าไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากซีอราโมแนสค์ส์ในระดับที่สูงขึ้นมีปริมาณ HDL-C ลดลง ($P < 0.01$) ส่วนไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมามีแนวโน้มลดลงตามลำดับเนื่องจากปริมาณคอเลสเตอรอลมีความสัมพันธ์กับ HDL-C และไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา การลดลงของคอเลสเตอรอลในการทดลองนี้จึงอาจส่งผลต่อปริมาณ HDL-C และไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมาลดลงไปด้วย

การเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์จึงส่งผลให้ปริมาณไตรกลีเซอไรด์มีแนวโน้มลดลงแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจาก Wegner *et al.* (1978) พบว่าระดับไตรกลีเซอไรด์ในซีรัมหรือพลาสมาของไก่ไข่มีความผันแปรสูงถึงแม้จะเป็นไก่พันธุ์เดียวกันและได้รับอาหารเหมือนกัน คือ 52-5,754 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ระดับไตรกลีเซอไรด์ในซีรัมหรือพลาสมาเป็นตัวบ่งบอกถึงการเคลื่อนย้ายไตรกลีเซอไรด์จากตับไปยังรังไข่ และเนื้อเยื่อไขมันอื่นๆ ในขณะที่การขนส่งไตรกลีเซอไรด์จากตับไปยังเนื้อเยื่ออื่นๆ (extra hepatic tissue) จะอาศัย VLDL-C (Hermier *et al.*, 1984) จากการทดลองของ Wang and Pan (2003) พบว่าโมนาโคลินเคในระดับสูง (5 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป) ส่งผลให้ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ลดลง ในการทดลองนี้ความเข้มข้นของข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์ต่ำกว่าจึงอาจเป็นผลให้ระดับไตรกลีเซอไรด์ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

6. ปริมาณโปรตีนและอัลบูมิน ในพลาสมา

จากการทดลองที่ 2 พบว่า การเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์ในอาหารเปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม และสูตรอาหารควบคุมเสริมสารสีทางการค้า พบว่าปริมาณโปรตีนรวมและอัลบูมินในพลาสมาของไก่ที่ได้รับการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์ในระดับสูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณโปรตีนรวมและอัลบูมินในพลาสมาเพิ่มขึ้นตามลำดับ

โปรตีนเป็นสารประกอบโมเลกุลขนาดใหญ่ที่เกิดจากการเชื่อมโยงของกรดอะมิโนด้วยพันธะเปปไทด์เป็นสายยาว โปรตีนแต่ละชนิดในร่างกายจะมีขนาดและการเรียงของกรดอะมิโนต่างกัน และมีหน้าที่ต่างกัน เนื่องจากโปรตีนเป็นสารโมเลกุลขนาดใหญ่ ดังนั้นอาหารที่รับประทานเข้าไปร่างกายต้องย่อยให้เป็นกรดอะมิโนเสียก่อน จึงจะดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้ (จริญ และชญานันท์, 2552) กรดอะมิโนจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายสัตว์ได้ทันทีและสมบูรณ์ โดยจับตัวกับตัวพาบนผนังบริชบอร์เดอร์ในบริเวณลำไส้เล็กส่วนบน รวมทั้งกรดอะมิโนบางชนิดจะดูดซึมโดยแพร่กระจายธรรมดาอีกด้วย หลังจากที่มีการดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิตแล้วกรดอะมิโนจะถูกนำไปใช้ประโยชน์โดยอวัยวะต่างๆ ทำให้ระดับโปรตีนในร่างกายของสัตว์จะคงดำรงอยู่ในสภาพที่ค่อนข้างคงที่และพร้อมที่สัตว์จะนำไปใช้ได้ตลอดเวลา (Guyton and Hall, 1996) อัลบูมินเป็นโปรตีนที่สำคัญที่สุดที่สร้างจากตับ เนื่องจากมีมากที่สุดในการะแสเลือด คิดเป็น 50 ถึง 60 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนทั้งหมด (จริญ และชญานันท์, 2552) ในสัตว์ปีกระดับโปรตีนรวมในระดับปกติอยู่ที่ประมาณ 3.0 ถึง 5.0 กรัมต่อเดซิลิตร (Newman *et al.*, 2000) ส่วนอัลบูมินในระดับปกติอยู่ที่ประมาณ 1.2 ถึง 2.2 กรัมต่อเดซิลิตร (Cole, 1997) จากการทดลองจะเห็นว่าไก่กลุ่มที่ได้รับการ

เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสในระดับสูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณโปรตีนรวมและอัลบูมินในพลาสมาเพิ่มขึ้นตามลำดับ ถึงแม้ว่าข้าวแดงจะมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนเพิ่มขึ้น 2 เท่า (Rodriguez-Amaya, 2000) แต่เมื่อคำนวณปริมาณโปรตีนในอาหารที่เสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสเปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม และอาหารสูตรควบคุมเสริมสารสีทางการค้าพบว่า ปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้นจึงไม่น่าจะเป็นผลจากปริมาณโปรตีนในส่วนนี้ (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 16 ผลการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส ต่อปริมาณโปรตีนในอาหาร 100 กรัม
(การทดลองที่ 2)

Treatments	Protein (g)
NC	17.00
PC	17.00
RMR 0.15%	17.02
RMR 0.50%	17.08
RMR 0.85%	17.13
RMR 1.20%	17.18

หมายเหตุ ปริมาณโปรตีนในอาหาร 100 กรัม เป็นการคิดโดยการคำนวณ

แต่อาจเป็นเพราะข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสนอกจากจะให้สารสี และสารลดคอเลสเตอรอลแล้ว เชื้อรายังอาจสร้างสารชนิดอื่นออกมา อาจเป็นพวกกรดอะมิโนบางชนิดที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของโปรตีน แล้วส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่ขาว โปรตีน และอัลบูมินในพลาสมาเพิ่มขึ้น ซึ่งยังไม่ทราบแน่ชัด และต้องการข้อมูลเพิ่มเติมในส่วนนี้ เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ด้วยเนื่องจากการรับประทานไข่ มีประโยชน์ในการเพิ่มอาหารโปรตีน วิตามิน และแร่ธาตุ นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันสมองเสื่อม เนื่องจากในไข่แดงมีสารเลซิทิน ที่จำเป็นต่อการสร้างโคลินซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของสารสื่อประสาท (อะซิติล โคลิน) ซึ่งเป็นฟอสโฟลิปิดที่ช่วยในการเสริมสร้างความจำ และลดอาการหลงลืม แต่ในขณะเดียวกันก็มีข้อเสียด้วย คือ ในไข่แดงมีคอเลสเตอรอลสูงระดับคอเลสเตอรอลในเลือดที่สูงขึ้น เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดแดงทุกชนิด ดังนั้นการลดระดับคอเลสเตอรอลในอาหารลง มีประโยชน์อย่างมากต่อการลดความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดแดง รวมทั้งโรคหัวใจ และหลอดเลือดสมองด้วย ผู้ที่มี

คอเลสเตอรอลสูงอยู่แล้วหรือเป็นโรคหัวใจ ตลอดจนโรคหลอดเลือดแดงอื่นๆ (เช่น หลอดเลือดสมอง) เบาหวาน ก็ไม่ควรเพิ่มโคเลสเตอรอลในเลือดจากการรับประทานไข่ไก่ให้มากขึ้นไปอีก จึงเป็นการดีที่ชาวแดงจากเชื้อราโมแนสค์สามารถลดคอเลสเตอรอลในไข่ไก่ได้ลง และยังมีโปรตีนเพิ่มขึ้นด้วย ทำให้รับประทานไข่ไก่ได้มากขึ้นโดยไม่ต้องพะวงถึงระดับโคเลสเตอรอลในเลือดโดยเฉพาะในผู้ใหญ่ที่มีความเสี่ยงข้างต้น

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. การเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส (*M. kaoliang* KB9) ในระดับ 0.50 ถึง 2.50 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้สีข้าวแดงในข้าวโก๋เข้มขึ้นตามลำดับ
2. การเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักรูปข้าวเพิ่มขึ้น และเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักรูปข้าวแดงลดลง ทั้งยังส่งผลให้ปริมาณโปรตีนรวมและอัลบูมินในพลาสมาเพิ่มขึ้น จึงมีประโยชน์ต่อผู้ที่มีปัญหาทางสุขภาพที่ต้องการโปรตีนจากข้าวเพิ่มขึ้น
3. การเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสส่งผลให้คอเลสเตอรอลในข้าวแดง ชีรั่ม และพลาสมาลดลง

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัสโดยผสมในอาหารในระดับต่างๆ แต่ไม่ได้มีการทดสอบปริมาณโมนาโคลินเค และสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสที่ให้ไก่กินในแต่ละกลุ่มทดลอง ดังนั้นหากจะทำการศึกษารั้งต่อไป จึงควรมีการทดสอบปริมาณโมนาโคลินเค และสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสที่ให้ไก่ในแต่ละกลุ่มทดลอง ซึ่งควรได้รับในปริมาณคงที่ เพื่อการทดลองที่มีความชัดเจนมากขึ้น
2. จากการทดลองพบว่าการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส นอกจากจะให้สารสี และสารลดคอเลสเตอรอลแล้ว เชื้อรายังอาจสร้างสารชนิดอื่นออกมา อาจเป็นพวกกรดอะมิโนบางชนิดที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของโปรตีน แล้วส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักรูปข้าว โปรตีน และอัลบูมินในพลาสมาเพิ่มขึ้น ซึ่งยังไม่ทราบแน่ชัด จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเชิงลึกเกี่ยวกับสารที่เชื้อราโมแนสคัสสร้างขึ้นแล้วมีผลต่อสมรรถภาพการให้ผลผลิตไข่ ดังการทดลองนี้ที่ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักรูปข้าว โปรตีน และอัลบูมินในเลือดเพิ่มขึ้น

3. การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์ด้วยวิธีบดแล้วนำมาผสมอาหารให้ไก่กินในรูปผง จึงเป็นการทดสอบข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์ในรูปแบบป่นเพียงอย่างเดียวเท่านั้น จึงควรมีการศึกษาการผสมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์ในอาหารรูปแบบอื่น เช่น ในรูปอาหารอัดเม็ด โดยนำมาทดสอบในลักษณะเช่นเดียวกันนี้ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพและความเหมาะสมในการนำไปใช้วิจัยพัฒนาต่อไป นอกจากนี้ในระหว่างการผสมจะเป็นฝุ่นค่อนข้างมาก จึงควรมีการศึกษาพัฒนารูปแบบของข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์ให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ง่ายต่อการใช้งาน เพื่อพัฒนาสนับสนุนไปสู่ภาคอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ ทดแทนการนำเข้าสารสีจากต่างประเทศ

4. การผลิตข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์เพื่อการศึกษาในครั้งนี้มีแนวโน้มที่ดีมาก แต่เนื่องจากการทำในห้องปฏิบัติการ จึงยังมีข้อจำกัดอยู่บ้างในเรื่องของอุปกรณ์ และเทคโนโลยีที่ทันสมัย เช่น ตู้อบ ตลอดจนตู้ควบคุมอุณหภูมิในการผลิตเชื้อราโมแนสค์ เป็นต้น นอกจากนี้เป็นการทยอยผลิตทำให้มีปัญหาอยู่บ้างเกี่ยวกับคุณภาพสี และสารลดคอเลสเตอรอลในข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์ ดังนั้นในการพัฒนาไปสู่ในระดับอุตสาหกรรมจึงต้องอาศัยเทคโนโลยีที่ทันสมัยเพื่อผลิตข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสค์ปริมาณมากๆ ในคราวเดียวเพื่อความคงตัวของคุณภาพสีและสารลดคอเลสเตอรอล ประกอบกับการทดลองใช้สารตั้งต้นชนิดอื่นที่มีราคาถูกกว่าข้าวหอมมะลิในการเลี้ยงเชื้อราโมแนสค์ เช่น มันเส้น ก็จะสามารถลดต้นทุนในการผลิตและเสริมสร้างการทดลองที่มีศักยภาพมากขึ้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กรมวิทยาศาสตร์. 2518. การศึกษาทดลองทำข้าวแดงจากข้าวบางพันธุ์ที่ปลูกในประเทศ, น. 80-82. ใน รายงานกิจกรรมของกรมวิทยาศาสตร์ ฉบับที่ 34. กระทรวงอุตสาหกรรม, กรุงเทพฯ.
- กรมวิทยาศาสตร์บริการ. 2531. การผลิตสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* โดยวิธี solid state culture, น. 145-151. ใน รายงานกิจกรรมกรมวิทยาศาสตร์บริการ ฉบับที่ 46. กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและพลังงาน, กรุงเทพฯ.
- กังสดาลย์ บุญปราบ, พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์ และ นภา โล่ทอง. 2540. การคัดเลือก glucose depression mutants เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตข้าวแดง และกลไกควบคุมการสร้างสีของเชื้อกลายพันธุ์. วิทยาศาสตร์ (สาขาวิทยาศาสตร์) 31: 317-326.
- เกศินี จันทโรสมณ. 2544. การใช้ข้าวแดงในอาหารไก่พันธุ์ไข่ที่มีผลต่อสีของไข่แดง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี.
- ครวญ บัวศิริ. 2536. การเสริมสารสีจากธรรมชาติบางชนิดในอาหารไก่กระທงและไก่ไข่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จรัญ ปัตตาโน และ ชญานันท์ แสนมัน. 2552. Protein. แหล่งที่มา: <http://www.medtechzone.com/data/chem/protein.php>, 25 กุมภาพันธ์ 2552.
- จินดารัตน์ นิตวัฒนพงษ์. 2522. การศึกษาจุลชีววิทยาของอาหารหมักพื้นเมืองไตปลาและปลาแป้งแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เจดชัย เชื้อวรวิฑู, ประสิทธิ์ แซ่ลี และ ปนัดดา แซ่อึ้ง. 2519. สีแดงจากข้าว (อังกัก). วารสารอาหาร 8 (1): 51-55.

ธวัช ขนบดี, ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ, นิตยา เลาหจินดา และ อารีย์ เสือก้อน. 2530. เปรียบเทียบ การทดสอบผลของสืผสมอาหารในกลุ่มอะโซบางชนิดและสีที่ได้จากการหมักเชื้อรา โมแนส คัสในโครโมโซมของคน, น. 1-45. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 25 (สาขาสังแวดล้อม). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นิตา บุตรดา. 2537. การกลายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส กบ. 11304 ให้เป็นสายพันธุ์ไม่สร้างสี และเปรียบเทียบสมบัติบางประการกับสายพันธุ์พ่อแม่ สายพันธุ์กลายพันธุ์สีแดงและสี เหลือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุญล้อม ชีวอิสระกุล. 2546. ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

บุษบา ขงสมิทธิ์ และ วรณภา ทาบโลกา. 2527. การใช้ประโยชน์แป้งมันสำปะหลังในการผลิตสืผสมอาหารและเอนไซม์ย่อยแป้งโดยเชื้อราโมแนสคัสในสภาพหมักเปียก, น. 451-452. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 22 (ภาค โปสเตอร์). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____ และ _____. 2528. สืผสมอาหารจากมันสำปะหลัง โดยเชื้อราโมแนสคัส. วิทยาสาร เกษตรศาสตร์ (สาขาวิทยาศาสตร์) 19 (1): 45-50.

_____, วิเชียร ขงมานิตชัย, สันทนา แสงจันทร์ และ ชูลี ชัยศรีสุข. 2531. การผลิตสืผสมอาหารจากมันสำปะหลังเพื่ออุตสาหกรรมการหมัก. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, กรุงเทพฯ.

_____. 2542. จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- ปนัดดา โรจน์พิบูลสถิต. 2546. **ชีวเคมีทางการแพทย์: เมตาบอลิซึมของสารอาหารเชิงบูรณาการ** สำหรับนักศึกษาสายวิทยาศาสตร์การแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์ บุ๊คเน็ต, กรุงเทพฯ.
- รังสิมา กุ่มหอม และ สุจิตรา เมฆเปี่ยมสุข. 2533. **ศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้คัดเลือกสายพันธุ์ *Monascus* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเม็ดสี.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รัตนา สุขสรรค์. 2524. **ข้าวแดง สีธรรมชาติดำสำหรับใช้ผสมอาหาร.** วารสารวิทยาศาสตร์ 35: 336-337.
- วรรณภา ทาบโลกา. 2529. **ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตสีของโมแนสคัสที่เจริญบนอาหารแป้งมันสำปะหลังในสภาพหมักเปียก.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วิโรจน์ จันทรรัตน์. 2537. **กายวิภาคและสรีรวิทยาสัตว์ปีก.** ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.
- สถัญญ์ ประเสริฐสุด และสุวิทย์ ชีรพันธุ์วัฒน์. 2547. **ผลของสารสีในฟริก ใบกระถินป่น และข้าวโพดที่มีต่อสีไข่แดง. ใน: สัมมนาวิชาการเกษตรแห่งชาติ ประจำปี 2547 สาขาสัตวศาสตร์/สัตว์บาล "ปศุสัตว์ไทย อาหารมาตรฐานโลก", คณะเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 582-590.**
- สมชาย ไกรรักษ์. 2536. **ศักยภาพของเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ชนิดใหม่ในการผลิตสีเหลืองธรรมชาติ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2550. **สถานการณ์ปศุสัตว์ ปี 2549 และแนวโน้มปี 2550.** สำนักนโยบายและแผนพัฒนาการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2551. **สถานการณ์ปศุสัตว์ปี 2550 และแนวโน้มปี 2551**. สำนักงานนโยบายและแผนพัฒนาการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สุภาพร จันทรศิริโพธา. 2531. **การปรับปรุงสายพันธุ์เชื้อราแดงเพื่อความสามารถการผลิตสีโดยวิธีการกลายพันธุ์**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุภาพร อิศริโยคม, ประทีป ราชแพทยาคม, ครวญ บัวศิริ และ วิไล สันติโสภาศรี. 2538. การเสริมสารสีจากธรรมชาติบางชนิดในอาหารไก่ไข่. ใน: **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 33 สาขาสัตวศาสตร์ 30 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2538**. หน้า 34-38.

สุวรรณ เกษตรสุวรรณ. 2529. **ไข่และเนื้อไก่**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุวิทย์ ชีรพันธุ์วัฒน์, ศศิพันธ์ วงศ์สุทธาวาส, ชัยรัฐ รัชการวิวัฒน์, นวภาคย์ ดันติปัญจพร, นริศรา สวยรูป. 2547. ผลของระดับฟริก ไบกระถิน และไบกระถินร่วมกับฟริก ในอาหารต่อสมรรถนะการผลิต และสีไข่แดง. ใน: **สัมมนาวิชาการเกษตรแห่งชาติประจำปี 2547 สาขาสัตวศาสตร์/สัตว์บาล "ปศุสัตว์ไทย อาหารมาตรฐานโลก"**, คณะเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 485-491.

อรัญ หันพงศ์กิตติกุล, เมธินี เหว่ซึ่งเจริญ และ เรณู ปิ่นทอง. 2531. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตข้าวแดงโดย *Monascus purpureus*. **วารสารเกษตร** 4 (2): 125-128.

Ainsworth, G.C., F.K. Sparrow and A.S. Sussman. 1973. **The Fungi**. Vol. IV A. Academic Press, Inc., New York.

- Alberts, A.W., J. Chen, G. Kuron, V. Hunt, J. Huff, C. Hoffman, J. Rothrock, M. Lopez, H. Joshua, E. Harris, A. Patchett, R. Monaghan, S. Currie, E. Stapley, G. Albers-Schonberg, O. Hensens, J. Hirshfield, K. Hoogsteen, J. Liesch and J. Springer. 1980. Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 77 (7): 3957-3961.
- Alexopoulos, C.J. and C.W. Mims. 1979. **Introductory Mycology.** 3rd ed. John Wiley and Sons, New York.
- Aso, K., Y. Suzuki, F. Kato, J. Nishikawa and H. Iizuka. 1989. Comparative electrophoresis and some properties of alkaline proteinases produced by *Monascus* spp. **J. Gen. Appl. Microbiol.** 35: 281-288.
- Auclair, K., J. Kennedy, C.R. Hutchinson and J.C. Vederas. 2001. Conversion of cyclic nonaketides to lovastatin and compactin by a *lovC* deficient mutant of *Aspergillus terreus*. **Bioorg. Med. Chem. Lett.** 11: 1527-1531.
- Austic, R.C. and M.C. Nesheim. 1990. **Poultry production.** 13rd ed. Lea and Febiger, Philadelphia, PA.
- Bajpai, R.K. and M. Rueb. 1981. Evaluation of feeding strategies in carbon regulated secondary metabolite production through mathematical. **Biotech. Bioeng.** 23: 717-738.
- Barnard, E.L. and P.F. Cannon. 1987. A new species of *Monascus* from pine tissues in Florida. **Mycologia** 79 (3): 479-484.
- Bau, Y.S. and H.C. Wong. 1979. Zinc effects on growth, pigmentation and antibacterial activity of *Monascus purpureus*. **Plant Physiol.** 46: 63-67.

Bridge, P.D. and D.L. Hawksworth. 1985. Biochemical tests as an aid to the identification of *Monascus* species. **Lett. Appl. Microbiol.** 1: 25-29.

Broder, C.U. and P.E. Koehler. 1980. Pigments produced by *Monascus purpureus* with regard to quality. **J. Food Sci.** 45: 576-569.

Bu' Lock, J.D. 1974. Industrial aspects of biochemistry, pp. 326. In H.J. Rehm and G. Reed, eds. **Biotechnology**. Vol. 4. VCH, Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, Germany.

Carels, M. and D. Shepherd. 1975. Sexual reproduction cycle of *Monascus* sp. in submerged shaken culture. **J. Bacteriol.** 122 (1): 288-294.

_____. and _____. 1977. The effect of different nitrogen source on pigment production and sporulation on *Monascus* sp. in submerged shaken culture. **Can. J. Microbiol.** 23: 1360-1372.

_____. and _____. 1978. The effect of pH and amino acids on conidiation and pigment production of *Monascus* major ATCC 16362 and *Monascus rubiginosus* ATCC 16367 in submerged shaken culture. **Can. J. Microbiol.** 24: 1346-1357.

Chang, Y.N., J.C. Huang, C.C. Lee, I.L. Shih and Y.M. Tzeng. 2002. Use of response surface methodology to optimize culture medium for production of lovastatin by *Monascus ruber*. **Enz. Microb. Technol.** 30: 889-894.

Chen, M.H. and M.R. Johns. 1993. Effect of pH and nitrogen source on pigment production by *Monascus purpureus*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 40 (1): 132-138.

_____. and _____. 1994. Effect of carbon source on ethanol and pigment production by *Monascus purpureus*. **Enz. Microb. Technol.** 16: 584-590.

- Chiu, S.W. and S.M. Chan. 1992. Production of pigments by *Monascus purpureus* using sugarcane bagasse in roller bottle cultures. **World J. Microbiol. Biotechnol.** 8: 68-70.
- Christians, U., W. Jacobsen and L.C. Floren. 1998. Metabolism and drug interactions of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors in transplant patients: are the statins mechanistically similar. **Pharmacol. Ther.** 80 (1): 1-34.
- Cole, G.T. and W.B. Kendrick. 1968. Conidium ontogeny in hyphomycetes: the imperfect state of *Monascus ruber* and its meristem arthrospores. **Can. J. Bot.** 46: 987-992.
- Coles, B.H. 1997. **Avian Medicine and Surgery**. 2nd ed. Blackwell Science, Inc. USA.
- Cundliff, E. 1984. Secondary metabolite, pp. 355. In H.J. Rehm and G. Reed, eds. **Biotechnology**. Vol. 4. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, Germany.
- De Groote, G. 1970. Research on egg yolk pigmentation and its practical application. **World's Poult. Sci. J.** 26: 435-441.
- Dizon, E.I. and P.C. Sanchez. 1984. Mass production of red mold rice ("angkak") and stability of the *Monascus* pigment. **Philipp. Agric.** 67: 25-41.
- Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple F-tests. **Biometric.** 11: 1-42.
- Endo, A. 1979. Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent produced by *Monascus* species. **J. Antibiot.** 32: 852-854.
- _____. 1985. Compactin (ML236B) and related compounds as potential cholesterol-lowering agents that inhibit HMG-CoA reductase. **J. Med. Chem.** 28: 401-405.

- Endo, A. and K. Hasumi. 1985. Dihydromonacolin L and Monacolin X, new metabolites those inhibit cholesterol biosynthesis. **J. Antibiot.** 38 (3): 321-327.
- _____, D. Komogata and H. Shimata. 1986. Monacolin M a new inhibitor of cholesterol biosynthesis. **J. Antibiot.** 39 (12): 1670-1673.
- _____, M. Kuroda and K. Tanazawa. 1976. Competitive inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase by ML-236 A and ML-236 B fungal metabolites having hypocholesterolemic activity. **FEBS Lett.** 72: 323-326.
- Evans, P.J. and H.Y. Wang. 1984. Pigment production from immobilized *Monascus* utilizing polymeric resin adsorption. **Appl. Environ. Microbiol.** 47 (6): 1323-1326.
- Fielding, B.C., E.J. Haws, J.S.E. Holker, A.D.G. Powell, A. Robertson, D.N. Stanway and W.B. Whalley. 1960. Monascorubrin. **Tetrahedron Lett.** 5: 24-27.
- _____, J.S.E. Hollker, D.F. Jone, A.D.G. Powell, K.W. Richman, A. Robertson and W.B. Whalley. 1961. The chemistry of fungal. Part 36: the structure of monascin. **J. Chem. Soc.** 4579-4589.
- Fink-Gremmels, J. and L. Leistner. 1989. Flesch wirtschaft, 69 (115). *Cited* by F.J. Francis.
1992. Miscellaneous colorants, pp. 262-272. *In* G.A.F. Hendry and J.D. Houghton. (eds.) Natural Food Colorants. Blackie, Glasgow.
- Francis, P.Z. 1989. **Pigment microbiology**. Chapman and Hall, UK.
- Gailing, L. 1998. The manufacturing of wenstardin capsule, a new registered and marketable drug based on red rice as raw material. *In* **The Proceeding of The Symposia on *Monascus* Culture and Application, held during 8th to 10th July 1998.** Toulouse, France.

- Gardner, F.A. and L.L. Young. 1972. The influence of dietary protein and energy levels on the protein and lipid content of the hen's egg. **Poult. Sci.** 49: 1687-1692.
- Gill, J.L. 1978. **Design and Analysis of Experiments in The Animal and Medical Science.** Vol. 2. The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Golomb, B.A., J.J. McGraw, M.A. Evans and J.E. Dimsdale. 2007. Physician response to patient reports of adverse drug effects: implications for patient-targeted adverse effect surveillance. **Drug Safety** 30: 669-675.
- Gous, R.M. and F.J. Kleyn. 1989. Response of laying hens to energy and amino acids, pp. 198-211. In D.J.A. Cole and W. Haresign, eds. **Recent Developments in Poultry Nutrition.** Butterworths, London.
- Guyton, A.C. and J.E. Hall. 1996. **Textbook of medical physiology.** W.B. Saunder Company, London.
- Hai, Z. 1998. Production of Monacolin by *Monascus Purpureus* on rice solid state fermentation. In **The Proceeding of The Symposia on *Monascus* Culture and Application, held during 8th to 10th July 1998.** Toulouse, France.
- Hajjai, H., A. Klæbe, M.O. Loret, J.L. Uribe-larrea, G. Goma and P. Loubiere. 2000. Kinetic analysis of red pigment and citrinin production by *Monascus rubber* as a function of organic acid accumulation. **Enz. Microb. Technol.** 27: 619-625.
- Hamdi, M., P.J. Blanc and G. Goma. 1996. Effect of aeration conditions on the production of red pigments by *Monascus purpureus* growth on prickly pear juice. **Process Biochem.** 31 (6): 543-547.

- Han, O. 1990. Optimization of *Monascus* pigment production in solid state fermentation, pp. 262. In G.A.F. Hendry and J.D. Houghton, eds. **Natural Food Colorants**. Blackie and Sun Ltd., Glasgow.
- _____ and R.E. Mudgett. 1992. Effect of oxygen and carbondioxide partial pressures on *Monascus* growth and pigment production in solid-state fermentation. **Biotechnol. Prog.** 8: 5-10.
- Hargis, P.S. 1998. Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl-a review. **World's Poult. Sci. J.** 44: 17-29.
- Hawksworth, D.L. and J.I. Pitt. 1983. A new taxonomy for *Monascus* species based on cultural and microscopical characters. **Austl. J. Bot.** 31: 51-61.
- _____, P.M. Kirk, B.C. Sutton and D.N. Pegler. 1995. **Ainsworth and Bisby's Dictionary of The Fungi**. 8th ed. CAB International, Wallingford, UK.
- Haws, E.J. and J.S.E. Holker. 1961. The chemistry of fungi. Part 38: further evidence for the structure of rubropunctatin. **J. Chem. Soc.** 3820-3822.
- _____, _____, A. Kelly, A.D.G. Powell and A. Robertson. 1959. The chemistry of fungi. Part 37: the structure of rubropunctatin. **J. Chem. Soc.** 3598-3610.
- Heber, D., I. Yip, J.M. Ashley, D.A. Elashoff, R. Elashoff and V.L.W. Go. 1999. Cholesterol-lowering effects of a proprietary Chinese red yeast rice dietary supplement. **Am. J. Clin. Nutr.** 69: 231-236.
- Hendry, G.A.F. and J.D. Houghton. 1992. **Natural Food Colorants**. Blackie and Sun Ltd., Glasgow.

- Hermier, D., M.J. Chapman and B. Leclercq. 1984. Plasma lipoprotein profile in fasted and refed chickens selected for high or low adiposity. **J. Nutr.** 114: 1112-1121.
- Hesseltine, C.W. 1965. A millennium of fungi, food and fermentation. **Mycologia** 57: 180-181.
- Hiroi, T., T. Shima, T. Susuki, M. Tsukioka and N. Ogasawara. 1979. Hyperpigment productive mutant of *Monascus anka* for solid culture. **Agric. Biol. Chem.** 43: 1975-1976.
- Hussein, A.S., A.H. Cantor, A.J. Pescatore and T.H. Johnson. 1996. Effect of dietary protein and energy levels on pullet development. **Poult. Sci.** 75: 973-978.
- Hwang, J. and T.H. Hseu. 1980. Specificity of the acid protease from *Monascus kaoliang* towards the β -chain of oxidized insulin. **Biochem. Biophys. Acta** 614: 607-612.
- Iizuka, H. and S. Mineki. 1977. Studies on the genus *Monascus*, I. purification and properties of two forms of glucoamylase from *Monascus kaoliang* nov. sp. F-1. **J. Gen. Appl. Microbiol.** 23: 217-230.
- _____ and _____. 1978. Studies on the genus *Monascus*, II. substrate specificity of two glucoamylase obtained from *Monascus kaoliang* F-1. **J. Gen. Appl. Microbiol.** 24: 185-192.
- Jarvis, B., M.O. Moss, B.C. Hobbs and J.H.B. Christian. 1973. Bioassay methods for mycotoxins, pp. 293-305. *In* B.C. Hubbs and J.H.B. Christian, eds. **The microbiological safety of food**. Academic Press, London.
- Jeffries, P.J. 1981. Yolk colour improves eye and sales appeal. **Poult. Inter.** 20: 69-72.
- Johns, M.R. and D.M. Stuart. 1991. Production of pigments by *Monascus purpureus* in solid culture. **J. Ind. Microbiol.** 8: 23-28.

- Johnson, G.T. and F. McHan. 1975. Some effect of zine on utilization of carbon source by *Monascus purpureus*. **Mycologia** 67: 806-816.
- Juzlova, P., L. Martinkava, J. Lozinski and F. Machek. 1994. Ethanol as substrate for pigment production by the fungus *Monascus purpureus*. **Enz. Microb. Technol.** 16: 996-1001.
- Kaio, K., N. Seihachiro, N. Yoshiyuki and M. Sadao. 1978. Toxicity of *Monascus* pigment. **Nugata Igakkai Zasshi** 92 (12): 815-820.
- Kiyohara, H., T. Watanabe, J. Imai, N. Takizawa, T. Hatta and K. Nagao. 1990. Intergeneric hybridization between *Monascus anka* and *Aspergillus oryzae* by protoplast fusion. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 33 (6): 671-676.
- Kolotila, M.P., P.J. Hollingsworth and P.A. Volz. 1978. Surface features of *Monascus ruber* van Tieghem cleistothecia. **Bot. Gaz.** 139 (2): 256-260.
- Komagata, D., H. Shimada, S. Murakawa and A. Endo. 1989. Biosynthesis of monacolins: conversion of monacolin L to monacolin J by a monooxygenase of *Monascus ruber*. **J. Antibiot. (Tokyo)** 42 (3): 407-412.
- Kranz, C., C. Panitz and B. Kunz. 1992. Biotransformation of free amino acids in mixtures to methyl ketones by *Monascus purpureus*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 36: 436-439.
- Kumar, M.S., S.K. Jana, V. Senthil, V. Shashanka, S.V. Kumar and A.K. Sadhukhan. 2000. Repeated fed-batch process for improving lovastatin production. **Process Biochem.** 36: 363-368.
- Lee, K.D. and J.H. Choi. 1985. Interrelationships among time of oviposition, egg weight, shell weight, and rate of egg production of laying hens. **Poult. Sci.** 64: 2256-2258.

- Lee, S.T. 1979. The Anka, pp. 1518-1593. *In* **Pen cha kan mu (Chinese herbal medicine)**. Yeh Book Co., Taipei.
- Lee, Y.K., D.C. Chen, S. Chuanvatcharin, T. Seki and T. Yashida. 1995. Production of *Monascus* pigments by a solid-liquid state culture method. **J. Ferment. Bioeng.** 79 (5): 516-518.
- Lin, C.F. 1973. Isolation and cultural conditions of *Monascus* sp. for the production of pigment in a submerged culture. **J. Ferment. Technol.** 51: 407-414.
- _____ and H. Iizuka. 1982. Production of extracellular pigment by a mutant of *Monascus kaoliang* sp. nov. **Appl. Environ. Microbiol.** 43: 671-676.
- _____ and S. Joe-To Suen. 1973. Isolation of hyperpigment-productive mutants of *Monascus* sp. F-2. **J. Ferment. Technol.** 51: 757-759.
- _____ and A.L. Demain. 1991. Effect of nutrition of *Monascus* sp. on formation of red pigments. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 36: 70-75.
- Lipstein, B. 1989. Meat quality in broilers with particular reference to pigmentation, pp. 145-170. *In* D.J.A. Cole and W. Haresign, eds. **Recent Developments in Poultry Nutrition**. Anchor Press, Butterworths.
- Lotong, N. and P. Suwanarit. 1988. **Production of Chinese red rice in plastic bag**. NRCT, NUS, DOST-JSPS Joint Seminar on Biotechnology December 22-24, 1988. Chaing Mai, Thailand.
- _____ and _____. 1990. **Secondary Metabolism in Microorganisms, Plants and Animals**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York.

Lumyong, S. and F. Tomita. 1990. Organic acid production by *Monascus araneosus* AHU9087.

Microb. Utiliz. Renew. Res. 7: 166-174.

_____ and _____. 1992. Some optimization conditions and strain improvement for L-malic acid production by an albino mutant, *Monascus araneosus* ST 92. **Microb. Utiliz. Renew. Res.** 8: 272-278.

Mak, N.K., W.F. Fong and Y.L. Wong-Leung. 1990. Improved fermentative production of *Monascus* pigments in roller bottle culture. **Enz. Microb. Technol.** 12: 965-968.

Man, R.Y.K., E.G. Lynn, C. Filly, P.S.Y. Tsang and O. Karmin. 2002. Cholestin inhibits cholesterol synthesis and secretion in hepatic cells (HepG2). **Mol. Cell. Biochem.** 233 (1-2): 153-158.

Manandhar, K.L. and A.E. Apinis. 1971. Temperature relation in *Monascus*. **Trans. Br. Mycol. Soc.** 57: 465-472.

Manchand, P.S. and W.B. Whalley. 1973. Isolation and structure of ankaflavin: a new pigment from *Monascus anka*. **Phytochem.** 12: 2531-2532.

Manzoni, M. and M. Rollini. 2002. Biosynthesis and biotechnological production of statins by filamentous fungi and application of these cholesterol-lowering drugs. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 58: 555-564.

_____ and _____. 2002. Comparing the structure of substrate and substrate and pravastatin inhibitor of HMG-CoA reductase. Available Source: <http://www-biology.ucsd.edu/classes/bibc102.SP00/sterol/sterol.html>, 4 March, 2550.

_____, S. Bergomi, M. Rollini and V. Cavazzoni. 1999. Production of statin by filamentous fungi. **Biotechnol. Lett.** 21: 253-257.

- Martinkova, L., P. Juzlova and D. Vesely. 1995. Biological activity of polyketide pigments produced by the fungus *Monascus*. **J. Appl. Microbiol.** 79: 609-616.
- Nakanishi, K., M. Ohashi, S. Kumasaki and S. Yamamura. 1959. Monascorubrin II: structures of monascorubrin and monascamine. **J. Am. Chem. Soc.** 81: 6339-6340.
- Newman, S.H., D.W. Anderson, M.H. Ziccardi, J.G. Trupkiewicz, F.S. Tseng, M.M. Christopher and J.G. Zinkl. 2000. An experimental soft-release of oil-spill rehabilitated American coots (*Fulica americana*): II. Effects on health and blood parameters. **Environ. Pollut.** 107: 295-304.
- Nishikawa, J., Y. Watanabe, J. Kashimura, K. Aso and H. Iizaka. 1988. Characterization of extracellular proteinases of the genus *Monascus* by their pH-activity profiles. **J. Gen. Appl. Microbiol.** 34: 467-473.
- Nishisawa, H. 1932. Studies on the biochemistry of mold. The pigments of *Monascus purpureus* Went. **J. Agric. Chem. Soc. Jpn.** 8: 1007-1014.
- North, M.O. 1978. **Commercial chicken production manual**. 2nd ed. The AVI Publishing Company, Westport, Connecticut.
- _____ and D.D. Bell. 1990. **Commercial Chicken Production Manual**. 4th ed. Kluwer Academic Pub, Boston, MA.
- Palo, M.A., L.V. Adeva and L. Maceda. 1961. Study on ang-kak and its production. **Phillipp. J. Sci. Soc.** 89: 1-22.
- _____, _____ and M.M. Leticha. 1960. A study on angkak and its production. **Phillipp. J. Sci. Soc.** 89: 1-19.

- Pichayangkula, S. 1979. Effect of nutrition on amylase production by *Monascus purpureus*. **J. Sci. Soc. Thailand** 5: 175-184.
- Pitman, W.A., D.P. Osgood, D. Smith, E.J. Schaefer and J.M. Ordovas. 1998. The effects of diet and lovastatin on regression of fatty streak lesions and on hepatic and intestinal mRNA levels for the LDL-C receptor and HMG CoA reductase in F1B hamsters. **Atherosclerosis** 138: 43-52.
- Powrie, W. 1973. Chemistry of eggs and egg products, pp. 61-90. *In* W. Stadelman and O. Cotterill, eds. **Egg Science and Technology**. The AVI Publishing Company, Westport, Connecticut.
- Rodriquez-Amaya, D.B. 2000. Factors influencing carotenoid composition in foods, pp 258-263. *In* **The Fourth International Symposium on Natural Colorants**. San Diego. Mission Valley, California.
- SAS. 1996. **SAS Procedures Guides**, Release 6.3 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Smith, G. 1969. **Introduction to Industrial Mycology**. Edward Arnold, Ltd., London.
- Snedecor, G.W. and W.G. Cochran. 1967. **Statisticcal Methods**. 6th ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Su, Y.C. and J.H. Huang. 1980. Fermentative production of anka-pigments (*Monascus* pigments). **Proc. Natl. Sci. Counc. Roc.** 4 (2): 201-215.
- Sujjdam, J.C.V. and B. Metz. 1981. Influence of engineering variables upon the morphology of filamentous moulds. **Biotechnol. Bioeng.** 23: 111-148.

- Sweeny, J.G., M.C. Estrada-Valdes, G.A. Lacobucci, H. Sato and S. Sakamura. 1981. Photoprotection of the red pigments of *Monascus anka* in aqueous media by 1,4,6-trihydroxy-naphthalene. **J. Agric. Food Chem.** 29: 1189-1193.
- Tan, J.Z., H.I. Chen and A.Q. Zeng. 1988. Energy and protein requirement of Putain laying duck. **Chn. J. Anim. Sci.** 6: 3-8.
- Tsai, M.S., T.H. Hseu and Y.S. Shen. 1978. Purification and characterization of an acid protease from *Monascus kaoliang*. **Int. J. Pept. Protein Res.** 12: 293-302.
- Turner, W.B. 1971. **Fungal metabolites**. Academic Press, London.
- Vining, L.C. 1986. Secondary metabolism, pp. 19-38. *In* H.J. Rehm and G. Reed, eds. **Biotechnology**. Vol. 4. Weinheim, Deerfield Beach, Florida.
- Vogt, H. and R. Krieg. 1982. Effect of excess lysine in the feed on performance of laying hens and amino acid composition of the eggs. **Food Sci. Tech.** 16 (7): 94.
- Von Arx, J.A. 1970. **The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture**. Crammer, Verlag.
- Wang, I.K., S.Y. Lin-Shiau, P.C. Chen and J.K. Lin. 2000. Hypotriglyceridemic effect of anka (a fermented rice product of *Monascus* sp.) in rats. **J. Agric. Food Chem.** 48 (8): 3183-3189.
- Wang, J.J., T.M. Pan, M.J. Shieh and C.C. Hsu. 2006. Effect of red mold rice supplements on serum and meat cholesterol levels of broilers chicken. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 71: 812-818.
- Wang, J.J. and T.M. Pan. 2003. Effect of red mold rice supplements on serum and egg yolk cholesterol levels of laying hens. **J. Agric. Food Chem.** 51 (16): 4824-4829.

- Wegner, M.S., J.L. Kelley, E.C. Nelson, P. Alaupovic and R.H. Thayer. 1978. Lipid metabolism in laying hen: the relationship of plasma lipid and liver fatty acid synthetase activity to changes in liver composition. **Poult. Sci.** 57: 959-967.
- Will, R.B.H. and H. Greenfield. 1984. **Laboratory Instruction Manual for Composition Studies.** Department of Food Science and Technology, The University of New South Wales, USA.
- Wong, H.C. and P.E. Koehler. 1983. Production of red water-soluble *monascus* pigments. **J. Food Sci.** 48: 1200-1203.
- _____ and _____. 1981. Production and isolation of and antibiotic from *Monascus purpureus* and its relationship to pigment production. **J. Food Sci.** 46: 589-592.
- _____ and V.S. Bau. 1977. Pigmentation and antibacterial activity of fast neutron and x-rays induced strains of *Monascus purpureus* Went. **Plant Physiol.** 60: 578-581.
- _____ and _____. 1978. A comparison of conidial and ascospore germination of *Monascus purpureus*. **Trans. Br. Mycol. Soc.** 70 (2): 277-282.
- _____, C.A. Hu, H.L. Yeh, W. Su, H.C. Lu and C.F. Lin. 1986. Production, purification and characterization of α -galactosidase from *Monascus pilosus*. **Appl. Environ. Microbiol.** 52 (5): 1147-1152.
- Wong-Leung, Y.L., W.F. Fong and W.L. Lam. 1993. Production of α -galactosidase by *Monascus* grown on soybean and sugarcane wastes. **World J. Microbiol. Biotechnol.** 9: 529-533.

- Yasuda, M., K. Ikehara, S. Tawata, N. Kobamoto and S. Toyama. 1995. Purification and properties of a ribonuclease from a species of the genus *Monascus*. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 59 (2): 327-328.
- _____, M. Kuwae and H. Matsushita. 1989. Purification and properties of two forms of glucoamylase from *Monascus* sp. No 3403. **Agric. Biol. Chem.** 53 (1): 247-249.
- Yasukawa, K., M. Takahashi, S. Natori, K. Kawai, M. Yamazaki, M. Takeuchi and M. Takido. 1994. Azaphilones inhibit tumor promotion by 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-state carcinogenesis in mice. **Oncology** 51 (1): 108-112.
- Yongsmith, B., L. Chitradon, S. Krairak, W. Tabloka and R. Bavavoda. 1990. Cassava fermentation of yellow pigments and amylolytic enzymes of a mutant of *Monascus* spp. in submerge cultivation. **Microb. Utiliz. Renew. Res.** 7: 354-363.
- _____, S. Krairak and R. Bavavoda. 1994. Production of yellow pigments in submerged culture of a mutant of *Monascus* spp. **J. Ferment. Bioeng.** 78 (3): 223-228.
- _____. 1993. Potentials of *Monascus* molds on production of yellow pigments, pp. 155-163. *In International Symposium of the 20th Anniversary of International Post-Graduate University Course in Microbiology*. Osaka, Japan.
- Yoshimura, M., S. Yamanaka, K. Mitsugi and Y. Hirose. 1975. Production of *Monascus* pigment in submerged culture. **Agric. Biol. Chem.** 39: 1789-1795.
- Young, E.M. 1930. Physiological studies in relation to the taxonomy of *Monascus* spp. **Trans. Wis. Acad. Sci. Art. Lett.** 25: 227-244.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
อาหารสูตรเปรียบเทียบ

ตารางผนวกที่ ก1 ส่วนประกอบของอาหารไก่ไข่สูตรเปรียบเทียบที่ใช้ในการทดลอง

ชนิดวัตถุดิบ	ปริมาณที่ใช้ (%)
ข้าวโพด	55.53
กากถั่วเหลือง (44%)	19.37
ปลาป่น (59%)	4.24
รำข้าว	10.00
หินปูน	9.20
ไฮเปอร์ฟอสเฟต (21%)	1.02
เกลือ	0.29
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.08
โคลีน-คลอไรด์ (60%)	0.08
วิตามิน-แร่ธาตุ	0.17
โซเดียมไบคาร์บอเนต	0.02
รวม	100.00
ส่วนประกอบของโภชนะ (โดยการคำนวณ)	
ความชื้น (%)	10.62
โปรตีน (%)	17.00
ไขมัน (%)	4.23
เยื่อใย (%)	3.37
เถ้า (%)	13.60
แคลเซียม (%)	4.10
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (%)	0.79
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้ (%)	0.42
เกลือ (%)	0.39
พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (kcal/kg)	2,750
ไลซีน (%)	0.98
เมทไธโอนีน	0.40
เมทไธโอนีน+ซิสตีน (%)	0.70
ทรีโอนีน (%)	0.71
ทริปโตเฟน (%)	0.21

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง

วิเคราะห์คอเลสเตอรอลในไข่แดงตามวิธีของฝ่ายเคมีอาหาร สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยใช้เครื่อง GC อ้างอิงตามวิธีของ Will and Greenfield (1984)

1.1 อุปกรณ์

1.1.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

1.1.2 Water bath

1.1.3 Pasteur pipettes

1.1.4 ขวดกั่นกลมหรือขวดรูปหัวใจขนาด 50 มิลลิลิตร

1.1.5 หลอดทดลองขนาด 16x150 มิลลิเมตร พร้อมฝา

1.1.6 โถดูดความชื้น (desicator)

1.1.7 Rotary evaporator

1.1.8 Micropipette

1.1.9 Hot air oven

1.1.10 เครื่อง Gas Chromatograph (GC)

ก. Gas Chromatograph condition

1) Column

- HP-5 (Crosslinked 5% PH ME Siloxane)
- 30 เมตร x 0.32 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร Film thickness
(HP Part No. 19091J-413 U.S. Patent No. 4,293,415 Made in U.S.A.)

2) Detector

- Flame Ionized Detector (FID)

3) Carrier gas

- Helium, 0.8 ml/min
- Flow rate 23 cm/sec

4) Temperature Program

- injector temperature 320 องศาเซลเซียส
- oven temperature 300 องศาเซลเซียส
- detector temperature 325 องศาเซลเซียส

5) Inlet

- split ratio 33.2:1
- split flow 20.6 ml/min

6) Injection volume

- ครั้งละ 1.0 ไมโครลิตร

1.2 สารเคมี

1.2.1 สารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร)

1.2.2 Dimethylformamide (DMF)

1.2.3 Dimethyldichlorosilane (DMCS)

1.2.4 Hexamethyldisilazane (HMDS)

1.2.5 Trimethylchlorosilane (TMCS)

1.2.6 N-heptane

1.2.7 Ethanol ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์

1.2.8 Petroleum ether

1.2.9 Methanol

1.2.10 Isopropanol

1.2.11 สารละลายคอเลสเตอรอลมาตรฐาน (External standard cholesterol solution)

1.2.12 สารละลาย 5 α -cholesterol มาตรฐาน (Internal standard 5 α -cholestane solution)

1.3 วิธีการ

1.3.1 การเตรียม silanized test tubes

ก. ล้างหลอดทดลองด้วยเมทานอลโดยเทเมทานอลลงในหลอดทดลองจนถึงปากหลอดที่ละหลอด

ข. อบแห้งใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น

ค. เคลือบหลอดทดลองด้วย 10 เปอร์เซ็นต์ของ DMCS ในสารละลาย toluene โดยเทลงในหลอดทดลองที่ละหลอดจนถึงปากหลอด และปิดฝาหลอดให้สนิท ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง

ง. เท 10 เปอร์เซ็นต์ของ DMCS ออก (เก็บไว้ใช้ได้)

จ. ล้างด้วยเมทานอลและอบแห้งใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อีก 2 ครั้ง แล้วจึงนำหลอดทดลองมาใช้ได้

หมายเหตุ: ขั้นตอนที่ ก-จ ทำเพียงครั้งเดียวก่อนนำหลอดทดลองมาใช้ แต่หลังจากใช้ทุกครั้งต้องล้างหลอดด้วยน้ำกลั่น 2 รอบ และเมทานอล 3 รอบ สุดท้ายนำไปอบให้แห้งใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ก่อนนำกลับมาใช้ใหม่

1.3.2 การเตรียมสารละลาย 5 α -cholestane มาตรฐานความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (internal standard 5 α -cholestane solution)

ชั่ง internal standard 5 α -cholestane 10 มิลลิกรัม ละลายใน n-heptane 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดป้องกันแสงที่ปิดสนิท และเก็บไว้ในตู้เย็น

1.3.3 การเตรียมสารละลายคอเลสเตอรอลมาตรฐานความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (External standard cholesterol solution)

ก. ชั่งคอเลสเตอรอลมาตรฐาน 500 มิลลิกรัม ละลายใน isopropanol 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดป้องกันแสงที่ปิดสนิท และเก็บไว้ในตู้เย็น

ข. คูณสารละลายมาตรฐาน 1, 2, 4, 6 และ 8 มิลลิลิตร ใส่ในขวดก้นกลม ซึ่งจะมีเนื้อสารหนัก 5, 10, 20, 30 และ 40 มิลลิกรัม ตามลำดับ

หมายเหตุ: เมื่อแห้งจนได้สารสีขาวขุ่นแล้วให้นำไปทำต่อในหัวข้อที่ 1.3.5 (ก-ข) หน้า 99

ค. นำสารละลายคอเลสเตอรอลมาตรฐานทั้ง 5 ความเข้มข้น ไประเหยแห้งด้วย rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

1.3.4 การเตรียมตัวอย่างไข่แดง

ก. ขั้นตอน Saponification

1) ชั่งตัวอย่างไข่แดงประมาณ 0.2 กรัม ใส่ในขวดก้นกลมหรือขวดรูปหัวใจ ขนาด 50 มิลลิลิตร

2) นำตัวอย่างมาเติมเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ 4 มิลลิลิตร และสารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ 1 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น และเขย่าอย่างแรงประมาณ 15 วินาที (ควรทำในตู้ดูดควัน)

3)อุ่นขวดก้นกลมใน water bath ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส reflux ต่อ 1 ชั่วโมง และเขย่าหลอดทดลองอย่างแรงประมาณ 15 วินาที ทุก 15 นาที

ข. ขั้นตอน Extract unsaponification matter

1) นำขวดก้นกลมออกจาก water bath ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และเติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร

2) เติม petroleum ether 5 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรงประมาณ 15 วินาที ^{ขึ้น}ทิ้งให้แยก

3) ใช้ Pasteur pipettes ดูดส่วนใสด้านบน (supernatant) ใส่ขวดกั่นกลมใบใหม่ สกัดซ้ำด้วย petroleum ether 5 มิลลิลิตร 4 ครั้ง และแยกส่วนใสใส่ขวดกั่นกลมดังกล่าว

4) นำสารละลายที่สกัดได้ไประเหยแห้งด้วย rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ประมาณ 3 นาที

หมายเหตุ: เมื่อแห้งจนได้สารสีเหลืองขึ้นแล้วให้นำไปทำต่อในหัวข้อที่ 1.3.5 ก-ข หน้า 99-100

1.3.5 การตรวจวัดปริมาณคอเลสเตอรอล

ก. นำขวดกั่นกลมที่ทำการระเหยแห้งแล้วทั้งตัวอย่างสารละลายคอเลสเตอรอล มาตรฐาน(ตามหัวข้อ 1.3.3) และไข่แดง (ตามหัวข้อ 1.3.4) มาเติม DMF 3 มิลลิลิตร เพื่อละลายส่วน เหลือจากการระเหยออก และเขย่าให้เข้ากันประมาณ 30 วินาที

ข. ดูดสารละลายที่ทำการละลายด้วย DMF ออกมา 1 มิลลิลิตร ใส่ใน silanized test tubes (ควรทำในตู้ดูดควัน)

ค. เติม HMDS 0.4 มิลลิลิตร และ TMCS 0.2 มิลลิลิตร ในทุกหลอด (ระวังควันสี ขาวที่เกิดขึ้น) และปิดฝาหลอดทดลองให้แน่น เขย่าอย่างแรงประมาณ 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่ อุณหภูมิห้องประมาณ 15 นาที

ง. เติมสารละลาย 5 α -cholestane มาตรฐาน 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทุกหลอด เขย่าอย่างแรงประมาณ 1 นาที

จ. ดูดส่วนใสด้านบน (supernatant) ใส่ในขวดขนาดเล็ก (vial) ประมาณ 1 มิลลิลิตร เพื่อเก็บไว้ฉีดเข้าเครื่อง Gas Chromatograph

จ. นิดส่วนที่สกัดเสร็จแล้วของสารละลายมาตรฐาน 1 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง Gas Chromatograph เพื่อทำการกราฟมาตรฐาน และหาค่า response factor (RF) ดังอธิบายไว้ในหน้า 101

ข. นิดส่วนที่สกัดเสร็จแล้วของตัวอย่างไข่แดง 1 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง Gas Chromatograph เทียบกับสารมาตรฐาน เพื่อหาคอเลสเตอรอลในไข่แดง

1.3.6 การคำนวณ

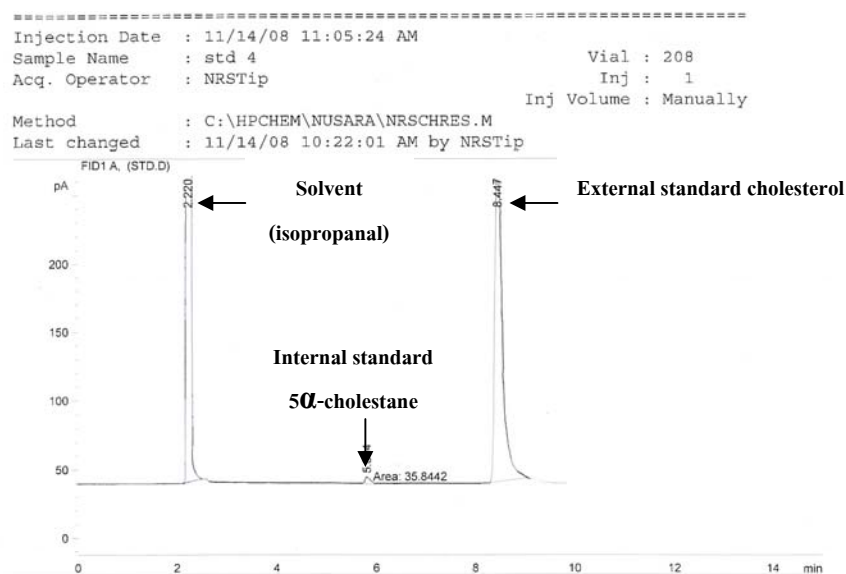
$$\text{Response Factor (RF)} = \frac{\text{พื้นที่ของ External standard cholesterol}}{\text{พื้นที่ของ internal standard } 5\alpha\text{-cholestane} \times \text{น้ำหนักเนื้อสาร (มิลลิกรัม)}}$$

$$\text{ปริมาณคอเลสเตอรอล (มิลลิกรัมต่อกรัม ไข่แดง)} = \frac{\text{พื้นที่ของคอเลสเตอรอลในตัวอย่างไข่แดง}}{\text{พื้นที่ของ internal standard } 5\alpha\text{-cholestane} \times \text{RF} \times \text{น้ำหนักในไข่แดง (กรัม)}}$$

$$\text{ปริมาณคอเลสเตอรอล (มิลลิกรัมต่อฟอง)} = \frac{\text{ปริมาณคอเลสเตอรอล (มิลลิกรัมต่อกรัมไข่แดง)} \times \text{น้ำหนักไข่แดงต่อฟอง (กรัม)}}$$

1.3.7 ตัวอย่างการคำนวณการหาปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง

ตัวอย่างนี้จะแสดงผลการคำนวณการหาปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมไข่แดง และมิลลิกรัมต่อฟอง จาก Chromatogram ที่ได้จากเครื่อง GC



=====

Area Percent Report

=====

Sorted By : Signal
 Calib. Data Modified : Tuesday, December 19, 1995 11:24:10 AM
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000
 Sample Amount : 1.00000 [ng/ul] (not used in calc.)

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Area %	Name
1	2.220	BB S	0.0367	4.22148e5	99.48359	acenaphthalene
2	5.804	MM	0.1106	35.84419	0.00845	?
3	8.447	BV	0.1119	2085.19849	0.49140	?

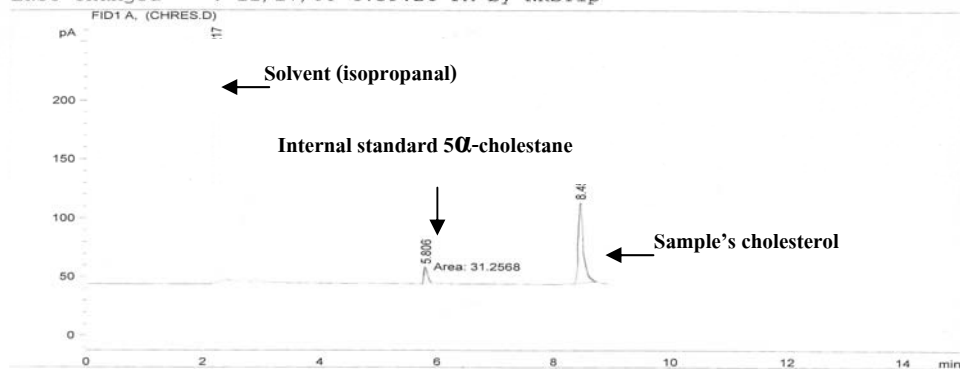
Instrument 1 11/14/08 11:16:08 AM NRSTip

ภาพผนวกที่ ข1 Chromatogram แสดงพื้นที่ของ External standard cholesterol และ internal standard 5α-cholestane (จากกราฟพบว่า พื้นที่ของ External standard cholesterol = 2085.1985 และ internal standard 5α-cholestane = 35.8442)

$$\text{Response Factor (RF)} = \frac{\text{พื้นที่ของ External standard cholesterol}}{\text{พื้นที่ของ internal standard 5}\alpha\text{-cholestane} \times \text{น้ำหนักเนื้อสาร (มิลลิกรัม)}}$$

$$\text{Response Factor (RF)} = \frac{2085.1985}{35.8442 \times 20} = 2.9087$$

Injection Date : 11/18/08 2:43:33 PM
 Sample Name : CHRES
 Acq. Operator : NRSTip
 Method : C:\HPCHEM\NUSARA\NRSCHRES.M
 Last changed : 11/17/08 4:59:24 PM by NRSTip
 Vial : 208
 Inj : 1
 Inj Volume : Manually



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Calib. Data Modified : Tuesday, December 19, 1995 11:24:10 AM
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000
 Sample Amount : 1.00000 [ng/ul] (not used in calc.)

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Area %	Name
1	2.217	BB S	0.0344	3.15588e5	99.86309	acenaphthalene
2	5.806	MM	0.0457	31.25685	0.00989	?
3	8.459	BB	0.0699	401.39291	0.12701	?

Totals : 3.16020e5

ภาพผนวกที่ ข2 Chromatogram แสดงพื้นที่ของ internal standard 5α-cholestane และ sample's cholesterol (จากกราฟพบว่า พื้นที่ของ internal standard 5α-cholestane = 31.2569 และคอเลสเตอรอลในตัวอย่างไขแดง (sample's cholesterol) = 401.3929)

ปริมาณคอเลสเตอรอล = $\frac{\text{พื้นที่ของคอเลสเตอรอลในตัวอย่างไขแดง}}{\text{(มิลลิกรัมต่อกรัมไขแดง) พื้นที่ของ internal standard 5α-cholestane x RFx น้ำหนักไขแดงที่ชั่งมา (กรัม)}}$

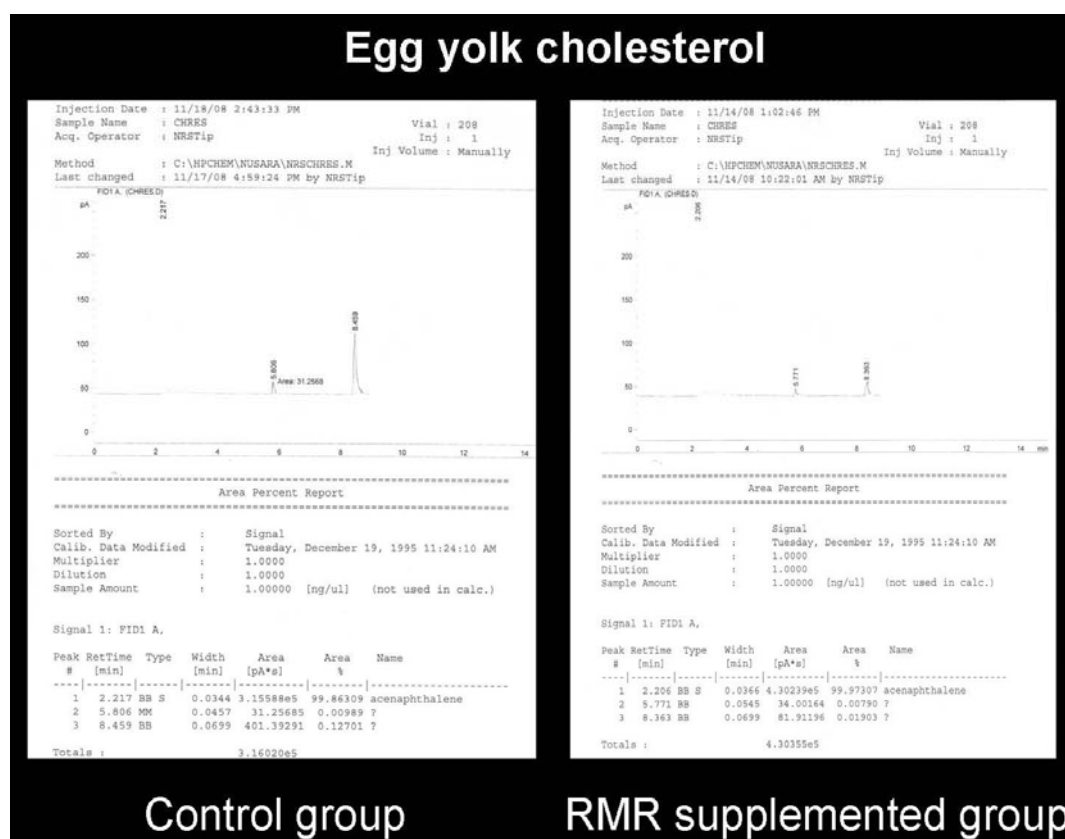
ปริมาณคอเลสเตอรอล = $\frac{401.3929}{31.2569 \times 2.9087 \times 0.2182}$

ปริมาณคอเลสเตอรอล = 20.2335 มิลลิกรัมต่อกรัมไขแดง

ปริมาณคอเลสเตอรอล = ปริมาณคอเลสเตอรอล x น้ำหนักไข่แดงต่อฟอง
 (มิลลิกรัมต่อฟอง) (มิลลิกรัมต่อกรัมไข่แดง) (กรัม)

ปริมาณคอเลสเตอรอล = 20.2335 x 16.8242
 (มิลลิกรัมต่อฟอง)

ปริมาณคอเลสเตอรอล = 340 มิลลิกรัมต่อฟอง



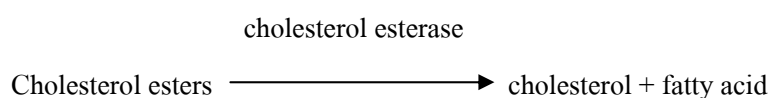
ภาพผนวกที่ ข3 ตัวอย่างกราฟแสดงคอเลสเตอรอลในไข่แดงของไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม (ซ้าย) และกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมข้าวแดงจากเชื้อราโมแนสคัส (ขวา)

2. การวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลในซีรัมหรือพลาสมา

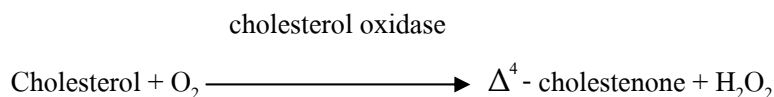
2.1 หลักการ

วิเคราะห์คอเลสเตอรอล ใช้เอนไซม์ 3 ชนิด โดยมีปฏิกิริยา ดังนี้

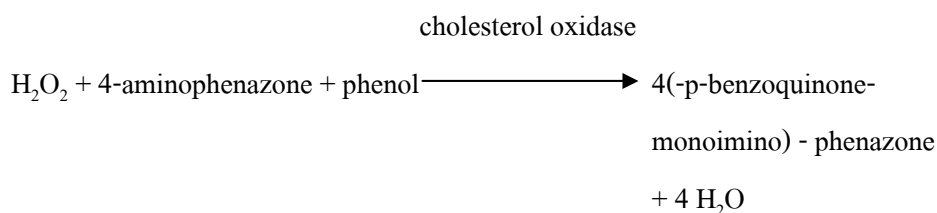
2.1.1 ปฏิกิริยาที่ 1 ใช้เอนไซม์ cholesterol esterase ย่อย cholesterol ester ในซีรัมหรือพลาสมาไปเป็นคอเลสเตอรอลอิสระ



2.2.2 ปฏิกิริยาที่ 2 ออกซิไดซ์คอเลสเตอรอลให้ได้ hydrogenperoxide (H_2O_2) โดยมีเอนไซม์ cholesterol oxidase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา



2.2.3 hydrogenperoxide (H_2O_2) จะไปออกซิไดซ์ 4-aminophenazone และ phenol ให้สารเชิงซ้อน สีชมพูคือ 4 (-P-) เบนโซควิโนน โมโนอิมิโนฟีนาโซน โดยมีเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา



2.2 สารเคมี

ใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป cholesterol liquicolor (Human, Germany)

2.3 วิธีวิเคราะห์

2.3.1 เปิดเครื่องมือวัดการดูดกลืนแสง ตั้งค่าดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร อุ่นเครื่องไว้นาน 30 นาที

2.3.2 ทำ blank โดยใช้น้ำยาปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่นปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที ใช้ blank ปรับค่าเป็นศูนย์

2.2.3 วัดตัวอย่างซีรัมหรือพลาสมา โดยสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอลปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากับซีรัมหรือพลาสมาปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

2.3.4 อ่านค่าคอเลสเตอรอลจากสูตรคำนวณ ดังนี้

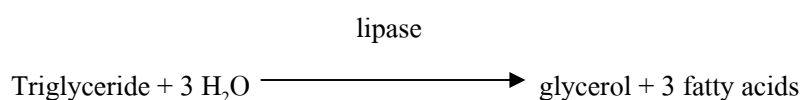
$$\text{คอเลสเตอรอล} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง} \times \text{ความเข้มข้นคอเลสเตอรอลมาตรฐาน}}{\text{ค่าดูดกลืนแสงของคอเลสเตอรอลมาตรฐาน}}$$

3. การวิเคราะห์ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในซีรัมหรือพลาสมา

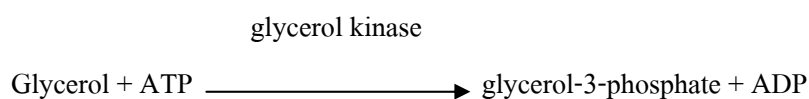
3.1 หลักการ

วิเคราะห์คอเลสเตอรอล ใช้เอนไซม์ 4 ชนิด โดยมีปฏิกิริยาดังนี้

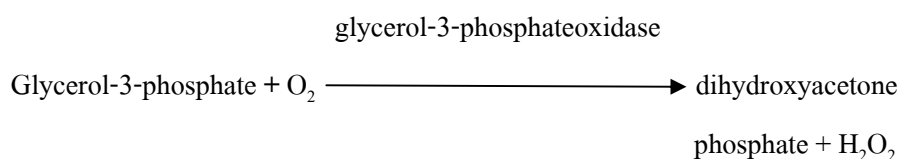
3.1.1 ปฏิกิริยาที่ 1 ใช้เอนไซม์ lipase ย่อยไตรกลีเซอไรด์ได้ glycerol



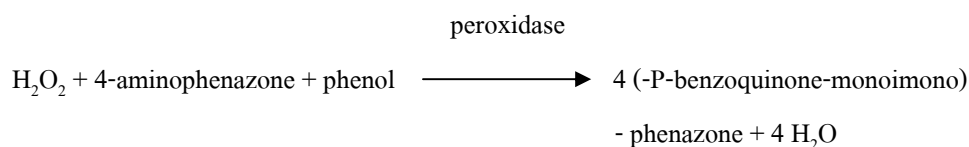
3.1.2 ปฏิกิริยาที่ 2 เติมฟอสเฟตให้กับกลีเซอรอลโดย ATP ซึ่งมีเอนไซม์กลีเซอรอลไคเนสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา



3.1.3 ปฏิกิริยาที่ 3 ออกซิไดซ์ glycerol-3-phosphate ให้ได้ hydrogenperoxide (H_2O_2) โดยมีเอนไซม์ glycerol-3-phosphateoxidase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา



3.1.4 ปฏิกิริยาที่ 4 hydrogenperoxide (H_2O_2) จะไปออกซิไดซ์ 4-aminophenazone และ phenol ให้สารเชิงซ้อนสีชมพู คือ 4 (-P-benzoquinone-monoimono) - phenazone โดยมีเอนไซม์ peroxidase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา



3.2 สารเคมี

ใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป triglyceride liquicolor (Human, Germany)

3.3 วิธีวิเคราะห์

3.3.1 เปิดเครื่องมือวัดการดูดกลืนแสง ตั้งค่าดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร อุ่นเครื่องไว้ นาน 30 นาที

3.3.2 ทำ blank โดยใช้ น้ำยาปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสม น้ำกลั่นปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที ใช้ blank ปรับค่าเป็นศูนย์

3.3.3 วัดตัวอย่างซีรัมหรือพลาสมา โดยสารละลายมาตรฐาน ไตรกลีเซอไรด์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากับซีรัมหรือพลาสมา ปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

3.1.4 อ่านค่าไตรกลีเซอไรด์จากสูตรคำนวณดังนี้

$$\text{ไตรกลีเซอไรด์} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง} \times \text{ความเข้มข้นไตรกลีเซอไรด์มาตรฐาน}}{\text{ค่าดูดกลืนแสงของไตรกลีเซอไรด์มาตรฐาน}}$$

4. การวิเคราะห์ปริมาณ HDL-C ในซีรัมหรือพลาสมา

4.1 หลักการ

คอเลสเตอรอลในซีรัมหรือพลาสมาจับตัวกับโปรตีนในรูปไลโปโปรตีน ได้แก่ Chylomicron VLDL-C LDL-C และ HDL-C ในทางการแพทย์พบว่า HDL-C และ LDL-C เป็นตัวบ่งชี้ถึงโรคหลอดเลือดแดงแข็งและโรคหัวใจได้ดีกว่าคอเลสเตอรอลรวม HDL-C ในซีรัมหรือพลาสมาเป็นตัวนำคอเลสเตอรอลออกจากเซลล์กลับไปเผาผลาญที่ตับ ดังนั้นปริมาณ HDL-C ระดับสูงในกระแสเลือดจึงเป็นสิ่งดี

4.2 สารเคมี

4.2.1 น้ำยาคกตะกอน LDL-C ซึ่งประกอบด้วยกรดฟอสโฟทังสติก และแมกนีเซียมคลอไรด์

4.2.2 น้ำยาควิเคราะห์คอเลสเตอรอล

4.2.3 สารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอล 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

4.2.4 ตัวอย่างซีรัมหรือพลาสมา

4.2.5 ใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป Cholesterol liquicolor (Human, Germany)

4.3 วิธีวิเคราะห์

4.3.1 ปิเปตซีรัมหรือพลาสมา 200 ไมโครลิตรใส่ในหลอดทดลอง

4.3.2 เติมน้ำยาคกตะกอนปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที จะมีตะกอนของ LDL-C ตกลงมา ส่วนน้ำใสจะคงเหลือ HDL-C

4.3.3 ปิเปตสารละลายไขมันบน ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ถ่ายลงในหลอดทดลอง แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลโดยใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป

4.3.4 อ่านค่า HDL-C จากสูตรคำนวณดังนี้

$$\text{HDL-C} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง} \times \text{ความเข้มข้นคอเลสเตอรอลมาตรฐาน}}{\text{ค่าดูดกลืนแสงของคอเลสเตอรอลมาตรฐาน}}$$

5. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนรวม (total protein) ในซีรัมหรือพลาสมา

5.1 หลักการ

วิเคราะห์โปรตีนรวมในพลาสมา โดยไอออนของแคลเซียมจะทำปฏิกิริยากับโปรตีนในสารละลายต่างให้สีม่วง

5.2 สารเคมี

ใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป Total protein liquicolor (Human, Germany)

5.3 วิธีวิเคราะห์

5.3.1 เปิดเครื่องมือวัดการดูดกลืนแสง ตั้งค่าดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร อุ่นเครื่องไว้ 30 นาที

5.3.2 ทำ blank โดยใช้ น้ำยาปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่นปริมาตร 0.02 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที ใช้ blank ปรับค่าเป็นศูนย์

5.3.3 วัดตัวอย่างซีรัมหรือพลาสมา โดยสารละลายมาตรฐานโปรตีนรวมปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากับซีรัมหรือพลาสมาปริมาตร 0.02 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer

ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

5.3.4 อ่านค่าโปรตีนรวมจากสูตรคำนวณ ดังนี้

$$\text{โปรตีนรวม} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง} \times \text{ความเข้มข้นโปรตีนรวมมาตรฐาน}}{\text{ค่าดูดกลืนแสงของโปรตีนรวมมาตรฐาน}}$$

6. การวิเคราะห์ปริมาณอัลบูมิน (albumin) ในพลาสมา

6.1 หลักการ

วิเคราะห์อัลบูมินในพลาสมา โดย bromocresol green จะจับกับอัลบูมินใน citrate buffer เป็นสีผสม ซึ่งสีที่เกิดขึ้นให้ค่าดูดกลืนแสงขึ้นกับค่าความเข้มข้นของอัลบูมิน

6.2 สารเคมี

ใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป Albumin liquicolor (Human, Germany)

6.3 วิธีวิเคราะห์

6.3.1 เปิดเครื่องมือวัดการดูดกลืนแสง ตั้งค่าดูดกลืนแสงที่ 580 นาโนเมตร อุ่นเครื่องไว้ก่อน 30 นาที

6.3.2 ทำ blank โดยใช้ยาปรีมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่นปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที ใช้ blank ปรับค่าเป็นศูนย์

6.3.3 วัดตัวอย่างซีรัมหรือพลาสมา โดยสารละลายมาตรฐานอัลบูมินรวมปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากับซีรัมหรือพลาสมาปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer

ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร

6.3.4 อ่านค่าอัลบูมินรวมจากสูตรคำนวณ ดังนี้

$$\text{อัลบูมิน} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง} \times \text{ความเข้มข้นอัลบูมินมาตรฐาน}}{\text{ค่าดูดกลืนแสงของอัลบูมินมาตรฐาน}}$$

ภาคผนวก ค
ภาพจากการทดลอง



ภาพผนวกที่ ค1 การอบข้าวแดง



ภาพผนวกที่ ค2 ข้าวแดงที่ผ่านการอบแล้ว



ภาพผนวกที่ ค3 การชั่งน้ำหนักไก่



ภาพผนวกที่ ค4 ภายในโรงเรือนเลี้ยงไก่ทดลอง



ภาพผนวกที่ ค5 การเจาะเลือดไก่



ภาพผนวกที่ ค6 การเก็บซีรัมหรือพลาสมา



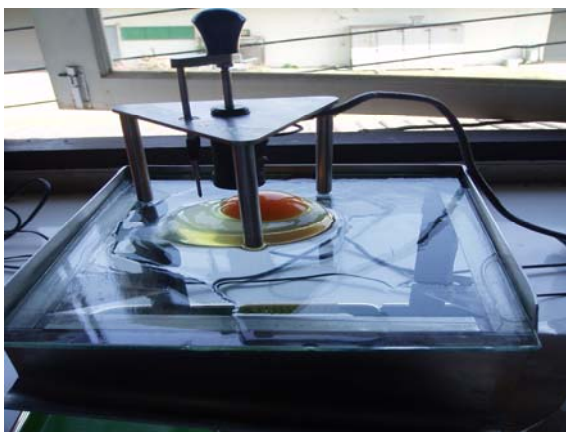
ภาพผนวกที่ ค7 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง



ภาพผนวกที่ ค8 การวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง



ภาพผนวกที่ ค9 การชั่งน้ำหนักไข่



ภาพผนวกที่ ค10 การวัดความสูงไขขาว



ภาพผนวกที่ ค11 การวัดสีไขแดง



ภาพผนวกที่ ค12 การเก็บตัวอย่างไขแดง



ภาพผนวกที่ ค13 การชั่งน้ำหนักตัวอย่างไขแดง เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอล



ภาพผนวกที่ ค14 การอุ่นและ reflux สารใน water bath



ภาพผนวกที่ ค15 การระเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary evaporator



ภาพผนวกที่ ค16 ตัวอย่างที่พร้อมฉีดเข้าเครื่อง GC



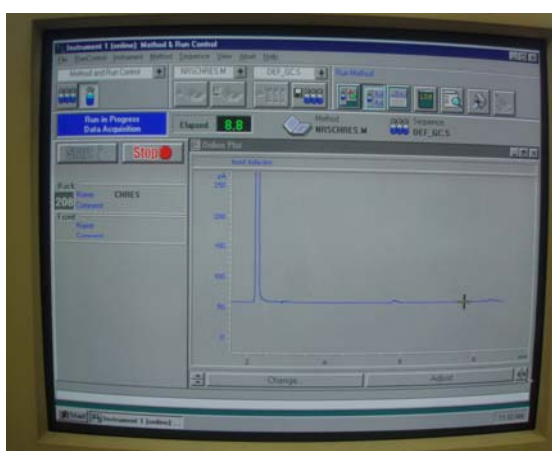
ภาพผนวกที่ ค17 เครื่อง GC



ภาพผนวกที่ ค18 Micro syringe



ภาพผนวกที่ ค19 การฉีดสารสกัดเข้าเครื่อง GC



ภาพผนวกที่ ค20 จอประมวลผลจากเครื่อง GC

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ – นามสกุล	นางสาว ทิพย์รัตน์ คนตรี
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 7 กรกฎาคม 2527
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดอ่างทอง
ประวัติการศึกษา	- มัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลาย โรงเรียนสงวนหญิง อ.เมือง จ.สุพรรณบุรี พ.ศ. 2544 - วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีการเกษตร) เกียรตินิยมอันดับ 2 มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ พ.ศ. 2548
ผลงานทางวิชาการ	ได้รับรางวัล The 7 th Excellent Presentation Award สาขา Food safety in livestock production ในการนำเสนอผลงานวิจัยเรื่อง Supplementation of Red Mold Rice from an Egg Yolk Pigmented and Cholesterol Lowering <i>Monascus</i> Strain on Egg Performance and Quality in Laying Hens. ในการประชุมสัมมนาวิชาการปศุสัตว์นานาชาติ The 13 th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies กรุงเทพมหานคร รัฐสังคมนิยม เวียดนาม ระหว่างวันที่ 22-26 กันยายน 2551



**THE ASIAN - AUSTRALASIAN ASSOCIATION
OF ANIMAL PRODUCTION SOCIETIES**

Certify that

Ms. Tippayarat Dontri

Has participated in

The 13th AAAP Animal Science Congress

on September 22-26, 2008

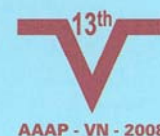
at National Convention Centre & International Convention Centre

Hanoi - Vietnam

President (2006-2008)

**The Asian-Australasian Association
of Animal Production Societies**

Prof. Dr. Nguyen Van Thien



**THE ASIAN - AUSTRALASIAN ASSOCIATION
OF ANIMAL PRODUCTION SOCIETIES**

Proudly present

The 7th Excellent Presentation Award to

Dontri Tippayarat - Thailand

Session: Food safety in livestock production

In recognition of Excellent presentation of a Scientific paper in
The 13th AAAP Animal Science Congress
on September 22-26, 2008
at National Convention Centre & International Convention Centre
Hanoi - Vietnam

President (2006-2008)

**The Asian - Australasian Association
of Animal Production Societies**

Chairman

**The 13th AAAP Animal Science Congress
Excellent Presentation Award
Selection Committee**

Prof. Dr. Nguyen Van Thien

Prof. Dr. Liang Chou Hsia