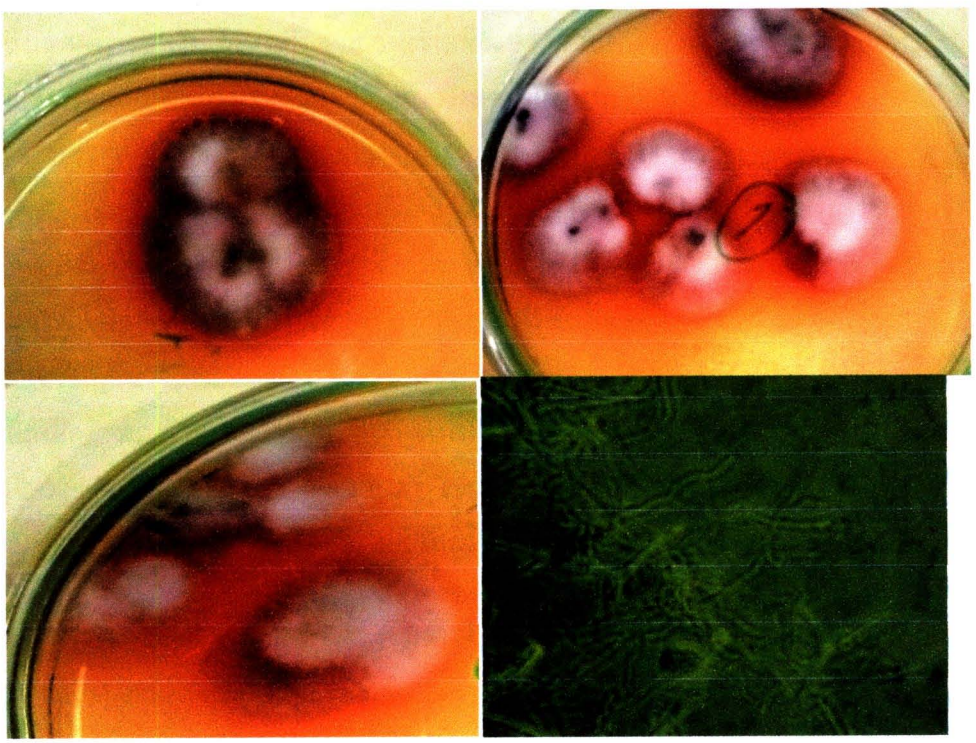
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

บทที่ 4

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผล

4.1 เชื้อจุลินทรีย์

นำเชื้อรา *Monascus* sp. มาคัดแยกด้วยอาหารแข็ง MYS agar และSS agar เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์แบบ natural selection โดยสังเกตโคโลนีที่เจริญอย่างรวดเร็วในอาหารที่มีแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน งานวิจัยนี้มุ่งไปที่เชื้อจากธรรมชาติที่สามารถผลิตสารยับยั้งคลอเรสเตอรอล (anti-cholesterol) หรือ โมนาโคลิน (monacolin) จากนั้นนำมาศึกษาการสร้างผลิตภัณฑ์โดยอาศัยการเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง (solid state fermentation) ลักษณะสัญฐานวิทยาของเชื้อราที่คัดแยกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ดังแสดงในภาพที่ 4.1



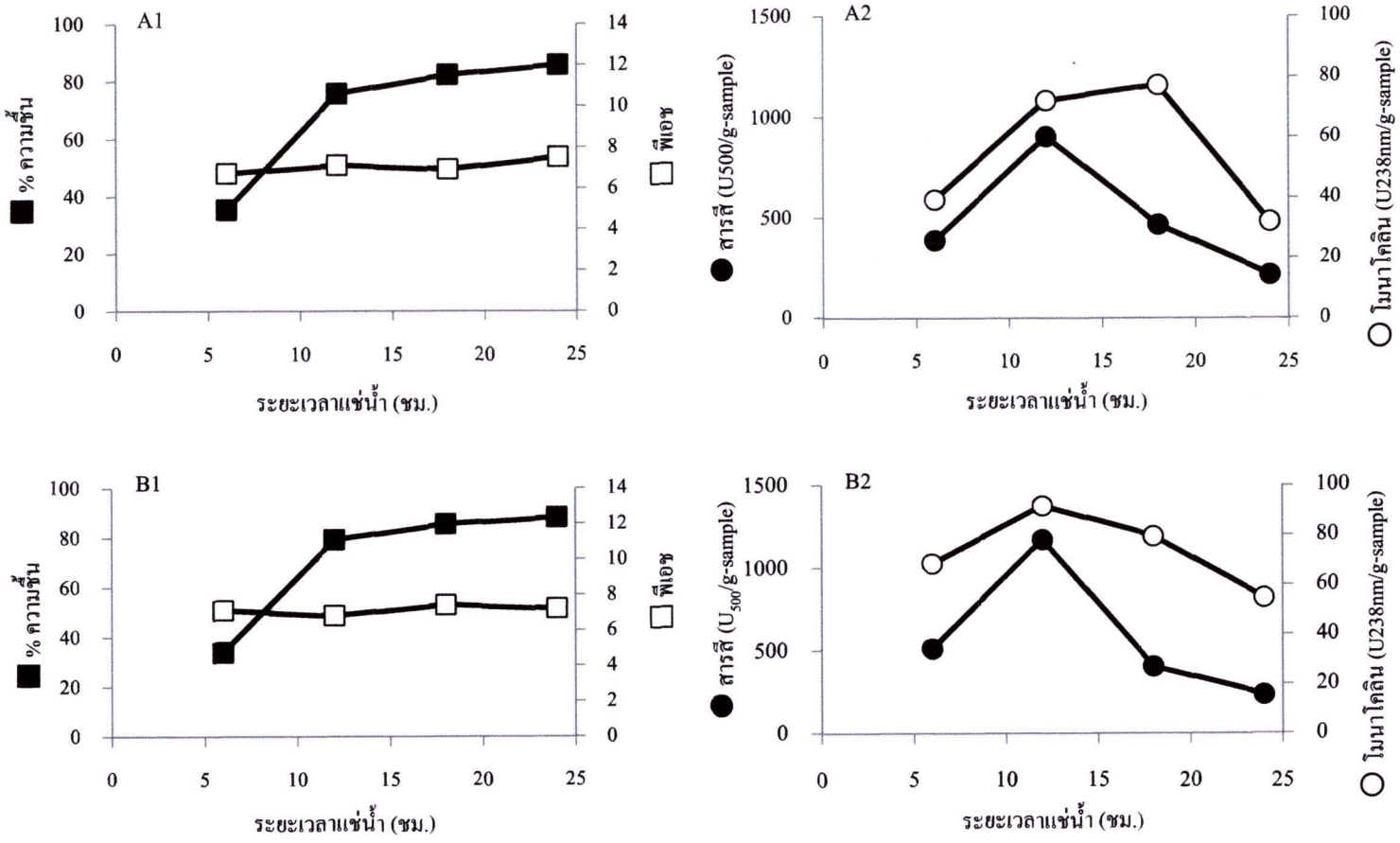
ภาพที่ 4.1 การคัดเลือกเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ที่ใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งอาหาร

4.2 ศึกษาการสร้างโมนาโคลินในอาหารแข็งข้าวหอมมะลิในสภาวะวางฟลาสก์นิ่ง

การเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 บนอาหารแข็ง เพื่อผลิตโมนาโคลิน ด้วยการเลี้ยงเชื้อในสภาวะหยุดนิ่ง และใช้เชื้อเริ่มต้น 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อเริ่มต้นในรูปของสารละลายสปอร์ ($1*10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 3.0 เปอร์เซ็นต์ และ เชื้อเริ่มต้นในรูปของเส้นใยเชื้อรา ปริมาตร 3.0 เปอร์เซ็นต์ ใส่ในอาหารข้าวหอมมะลิปลอดเชื้อ ซึ่งเตรียมได้โดยแช่น้ำกลั่นเป็นเวลา 6 12 18 และ 24 ชม. แล้วนำไปสะเด็ดน้ำเป็นเวลา 2 ชม. แล้วนำข้าวสะเด็ดน้ำปริมาณ 100 กรัม บรรจุฟลาสก์ (ปริมาตร 250 มล.) แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำเชื้อราไปบ่มที่ที่อุณหภูมิห้อง (32-35 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ภาพ 4.2-A1 และ 4.2-A2 แสดงการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 เมื่อใช้เชื้อเริ่มต้นในรูปสารละลายสปอร์ พบว่าเมื่อให้ระยะเวลาการแช่ข้าวนานขึ้น ทำให้ข้าวดูดซับน้ำมากขึ้น ส่งผลดีการเจริญของเชื้อรา แต่ระยะเวลาแช่น้ำ 6 ชั่วโมง ข้าวดูดซับน้ำเพียงเล็กน้อย ทำให้เมื่อสิ้นสุดการเจริญในสัปดาห์ที่ 4 มีความชื้นเพียง 35.17 เปอร์เซ็นต์ จึงทำให้เชื้อราเจริญช้า เมื่อระยะเวลาการแช่ข้าวนานขึ้น เมล็ดข้าวจึงดูดซับน้ำมากขึ้น ส่งผลให้การเจริญในสัปดาห์ที่ 4 มีระดับความชื้นในข้าวแดงประมาณ 75-85 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาแช่ข้าวมากกว่า 12 ชั่วโมง ส่งผลให้เมล็ดข้าวดูดซับน้ำมากขึ้น ซึ่งส่งผลต่อการโครงสร้างเมล็ดข้าวหลังการฆ่าเชื้อ ทำให้เมล็ดข้าวเจลาติไนซ์มาก เส้นใยเชื้อราจึงแทรกเข้าไปในเนื้อขาวไม่ดี เพราะการแพร่ของอากาศมีค่าต่ำ สภาพดังกล่าวทำให้การสร้างสารสี และโมนาโคลินมีค่าต่ำกว่า ระยะเวลาแช่ข้าว 12 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าถ้าระยะเวลาแช่ข้าวนานขึ้น จำเป็นต้องสะเด็ดน้ำนานขึ้น เพื่อกำจัดน้ำส่วนเกิน หรือที่ยังติดค้างบนผิวหน้าเมล็ดข้าว ภาพที่ 4.2-B1 และ 4.2-B2 แสดงการใช้เชื้อเริ่มต้นจากเส้นใยเชื้อรา พบว่ามีรูปแบบคล้ายกันกับการใช้สารละลายสปอร์เป็นเชื้อเริ่มต้น แต่ให้การเจริญเร็วกว่า เนื่องจากเส้นใยเริ่มเจริญได้ทันที ไม่ต้องเสียเวลาในการงอกของสปอร์

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการใช้เชื้อเริ่มต้นในรูปของสารละลายสปอร์ และเส้นใยเชื้อรา ให้ผลใกล้เคียงกัน จึงเลือกใช้เชื้อเริ่มต้นในรูปแบบเส้นใย สำหรับการทดลองต่อไป เนื่องจากขั้นตอนการเตรียมทำได้ง่าย ขยายกำลังการผลิตได้ง่าย อีกทั้งลักษณะเส้นใยมีการกระจายตัว ไม่เกาะกันเป็นก้อน pellet การเลี้ยงเชื้อในสภาวะหยุดนิ่ง อาจส่งผลดีต่อการยืดยาวของเส้นใย แต่มีปัญหาเรื่องการผสมผสาน และการถ่ายเทอากาศ ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงหันไปใช้วิธีเลี้ยงเชื้อแบบหมุนขวด เพื่อให้มีการผสมผสานตลอดเวลา และเพื่อป้องกันการฉีกขาดของเส้นใย จึงใช้การหมุนที่ความเร็วต่ำ ประมาณ 5-7 รอบต่อนาที



ภาพที่ 4.2 การผลิตโมนาโคลินองเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ที่เจริญบนอาหารข้าวหอมมะลิ โดยใช้เชื้อเริ่มต้นสารละลายสปอร์ (A) และเส้นใยเชื้อรา (B) เป็นเวลา 4 สัปดาห์

4.2 ศึกษาการสร้างโมนาโคลินในอาหารแข็งธัญพืชในสภาวะนิ่ง

การผลิตโมนาโคลินจากเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 บนอาหารแข็งธัญพืชชนิดต่างๆ โดยใช้เชื้อเริ่มต้นในรูปของสารละลายเซลล์ ใส่ในอาหารธัญพืช ได้แก่ มันสำปะหลัง แห้ว มันฝรั่ง มันแกว (ขนาดประมาณ 1 ตารางเซ็นติเมตร) ข้าวเหนียว ข้าวบาร์เล่ย์ ข้าวโอ๊ต และข้าวเจ้าเสาไห้ ในสภาวะนิ่ง บรรจุธัญพืชแต่ละชนิดปริมาณ 50 กรัม ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มล. นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 32-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 การผลิตโมนาโคลินจากเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ในสภาวะนิ่ง

ธัญพืช	เปอร์เซ็นต์ความชื้น (สัปดาห์ที่ 4)	ปริมาณสารสี ($U_{500\ nm}$/กรัม-ตัวอย่าง)	ปริมาณสารโมนาโคลิน ($U_{238\ nm}$/กรัม-ตัวอย่าง)
ข้าวเหนียว	40.72	2.51	78.75
ข้าวเสาไห้	75.69	9.33	132.77
ข้าวบาร์เล่ย์	42.81	0.52	118.33
ข้าวโอ๊ต	30.41	1.98	106.41
มันสำปะหลัง	62.59	2.17	141.38
มันฝรั่ง	64.83	2.83	76.69
มันแกว	73.18	45.89	37.84
แห้ว	68.84	3.39	85.71

การเลี้ยงเชื้อบนธัญพืชพบว่าลักษณะการจับตัวของธัญพืชแต่ละชนิดมีผลต่อการเจริญอย่างมาก เช่น การเจริญบนมันสำปะหลัง พบการจับเป็นก้อน จับตัวกันแน่น ไม่แยกออกจากกัน มีการเจริญของเส้นใยที่ผิวหน้า เช่นเดียวกับการเจริญบนมันฝรั่ง ข้าวเหนียวมีการจับเป็นก้อน และเชื้อเจริญหนาแน่นที่ภายนอก เมื่อนำมาเขย่าทำให้ก้อนข้าวจับตัวแน่นมากขึ้น ข้าวโอ๊ต และข้าวบาร์เลย์ มีลักษณะร่วน และเชื้อเจริญน้อย แต่พบปริมาณโมนาโคลินมาก อาจเนื่องจากความคลาดเคลื่อนในการวัดด้วยสเปกโตโฟโตมิเตอร์ มันแกว และแห้ง พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อไปได้ประมาณ 2-3 สัปดาห์ มีน้ำแยกตัวออกอยู่ที่ด้านล่างของฟลาสก์ เมื่อพิจารณาจากลักษณะธัญพืชหลังการเลี้ยงเชื้อ พบว่าข้าวเสาไห้มีลักษณะกระจายตัวดี แต่มีการแตกหักของเมล็ดข้าวเนื่องจากการเขย่าฟลาสก์ในระหว่างการเลี้ยงเชื้อ เพื่อให้เกิดการกระจาย และถ่ายเทอากาศ อีกทั้ง

ให้การสร้างโมนาโคลินเป็นลำดับที่ 2 รองจากมันสำปะหลัง แต่การเจริญบนมันสำปะหลัง พบการเกาะตัวเป็นก้อนนิ่ม และแน่น ทั่วทั้งภาชนะ ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ข้าวเสาไห้เป็นวัตถุดิบสำหรับการเลี้ยงเชื้อในสภาวะหมุนขวด

4.4 ศึกษาการสร้างโมนาโคลินในอาหารแข็งข้าวเสาไห้ในสภาวะหมุนขวด

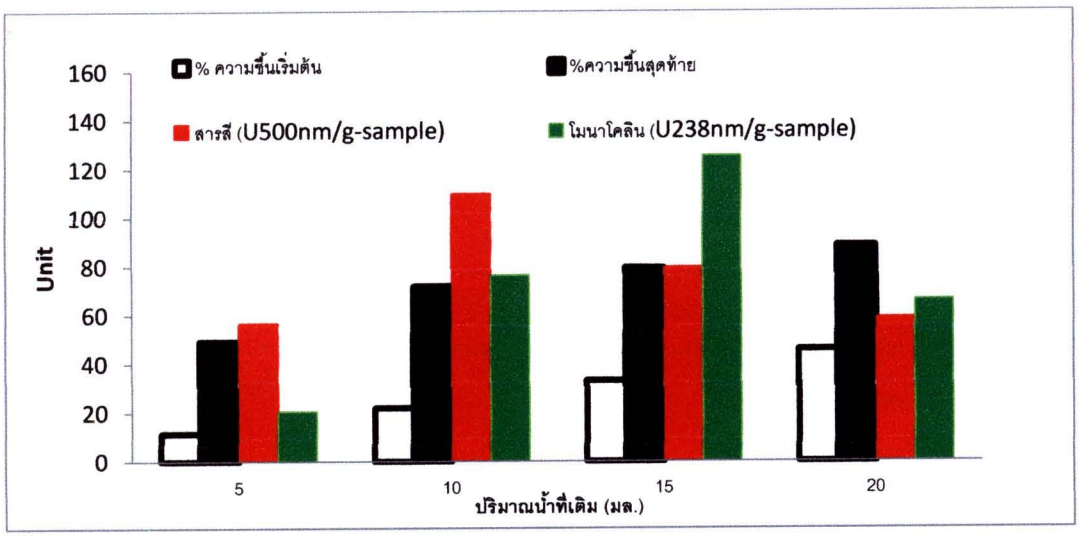
ผลการทดลองที่ผ่านมา พบว่าการเตรียมวัตถุดิบข้าว สำหรับการเลี้ยงเชื้อราบนอาหารแข็งมีความยุ่งยาก และเสียเวลา จึงหันมาศึกษาวิธีเตรียมข้าวโดยไม่ต้องผ่านการแช่ แต่นำไปผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน จากนั้นจึงนำมาผสมกับน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ปริมาณต่างๆ แล้วนำไปวางบนเครื่องหมุน เพื่อให้เมล็ดข้าวผสมคลุกเคล้า และดูดซับน้ำอย่างทั่วถึง การทำแบบนี้สามารถควบคุมปริมาณความชื้นเริ่มต้นได้ตามความต้องการ และประหยัดเวลา ความซับซ้อนในการเตรียมวัตถุดิบ

เตรียมอาหารข้าวเสาไห้สำหรับเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 บนอาหารแข็ง (solid state fermentation) ด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่

ก. นำข้าวไปแช่น้ำกลั่นเป็นเวลา 2 ชม. สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 30 นาที บรรจุข้าว 50 กรัม ในขวดเตรียมอาหารปริมาณ 200 มล. แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ข. นำข้าวปริมาณ 50 กรัม บรรจุในขวดเตรียมอาหาร แล้วไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นจึงใส่น้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาณ 5 10 15 20 และ 25 มล. ลงไปในข้าวปลอดเชื้อ (ตามลำดับ) แล้วนำไปวางบนเครื่องหมุนเป็นเวลา 12 ชม. เพื่อให้น้ำซึมเข้าเมล็ดข้าวอย่างทั่วถึง

ใส่ชื้อเริ่มต้นในรูปสารเส้นใย (ปริมาณ 3.0 เปอร์เซ็นต์) ใส่ลงในขวดบรรจุข้าวเสาไห้ แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง (32-35 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 4.3



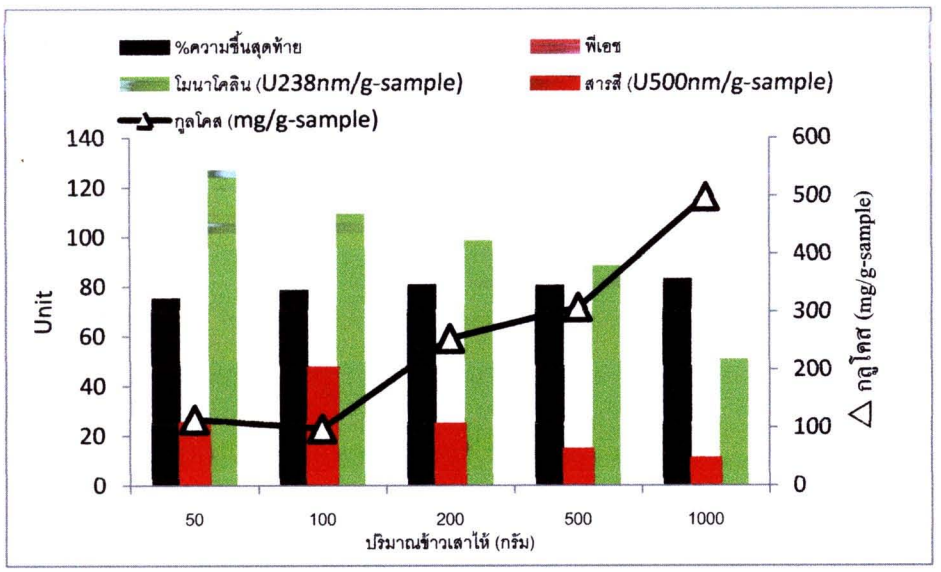
ภาพที่ 4.3 แสดงการผลิตโมนาโคลินโดยการเลี้ยงเชื้อราบนข้าวเสาไห้ที่เตรียมด้วยวิธีการเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อเข้าไปหลังจากนำข้าวเสาไห้ไปผ่านการฆ่าเชื้อโดยตรง

ผลการทดลองพบว่า การเติมน้ำเข้าไปในข้าวเสาไห้ปลอดเชื้อที่ปริมาตร 5 10 15 และ 20 มิลลิลิตร ทำให้ความชื้นเริ่มต้นมีค่าเป็น 11.55 21.98 33.17 และ 45.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงเชื้อในสัปดาห์ที่ 4 พบความชื้นอยู่ที่ 49.27 71.92 79.51 และ 88.64 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าการเติมน้ำกลั่น 20 มล. ส่งผลให้ความชื้นเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้น และส่งผลให้การสร้างสารสี และโมนาโคลิน ลดลงอย่างมาก เนื่องจากผิวหน้าเมล็ดข้าวมีน้ำจับอยู่ ทำให้อากาศแทรกเข้าไปภายในเมล็ดข้าวลดลง ขณะที่การเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร มีปริมาณน้อยเกินไป จึงมีระดับความชื้นต่ำ เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงเชื้อที่ 4 สัปดาห์ การเติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 และ 15 มลิลิลิตร ทำให้มีความชื้นเหมาะสม โดยพบการสร้างสารสีสูงสุด และโมนาโคลินสูงสุดตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสภาวะการเลี้ยงเชื่อต่างกัน ส่งผลต่อการสร้างผลิตภัณฑ์จากเชื้อรา *Monascus* sp. หรืออาจเป็นเพราะการสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ทั้ง 2 ชนิด ใช้สารตั้งต้นชนิดเดียวกัน ทำให้เกิดการนำไปใช้ผลิตผลิตภัณฑ์ในสภาวะต่างกันก็เป็นได้

4.5 ศึกษาการสร้างโมนาโคลินในอาหารแข็งข้าวเสาไห้ปริมาณต่างๆ ในสภาวะหมุนขวด

เตรียมอาหารข้าวเสาไห้สำหรับเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 บนอาหารแข็ง (solid state fermentation) โดยนำข้าวปริมาณ 50 100 200 500 และ 1000 กรัม บรรจุในขวดเตรียมอาหารขนาด 200 มล. 500 มล. 1 ลิตร 2 ลิตร และ 5 ลิตร ตามลำดับ แล้วไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นจึงใส่น้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาณ 15 30 60 150 และ 300 มล. ลงไป

ในข้าวปลอดเชื้อ และนำไปวางบนเครื่องหมุนเป็นเวลา 12 ชม. เพื่อให้น้ำซึมเข้าเมล็ดข้าวอย่างทั่วถึง จากนั้นนำเชื้อเริ่มต้นในรูปสารเส้นใย (ปริมาณ 3.0 เปอร์เซ็นต์) ใส่ลงในขวดบรรจุข้าวเสาไห้ปริมาณต่างๆ แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง (32-35 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 4.4



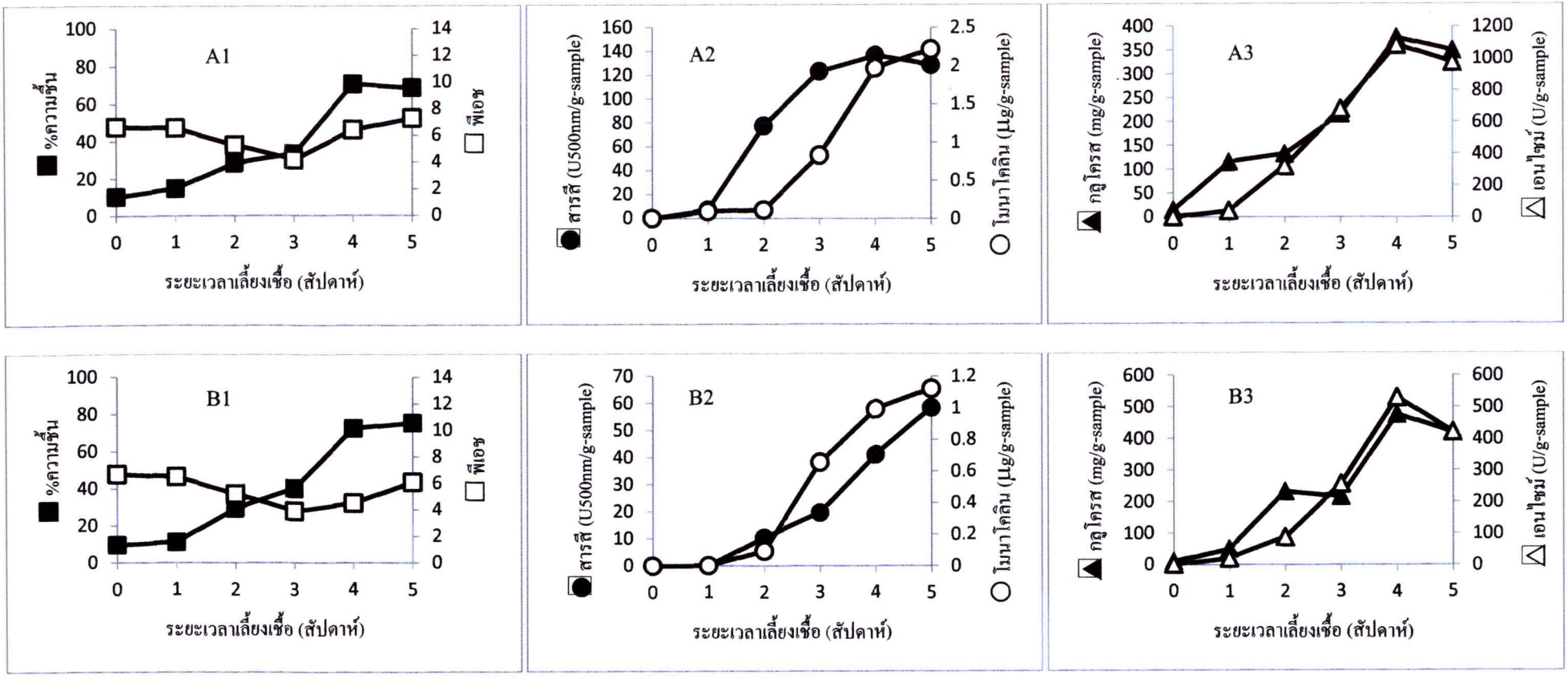
<u>ภาพที่ 4.4</u> แสดงการเลี้ยงเชื้อบนวัตถุดิบข้าวเสาไห้ที่บรรจุปริมาณต่างกัน โดยเลี้ยงเชื้อในสภาวะหมุนขวด

ผลการทดลองพบว่าเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงเชื้อที่เวลา 4 สัปดาห์ ทุกการทดลองมีความชื้นสุดท้ายในระดับเดียวกัน แต่ในขวดที่บรรจุข้าวเสาไห้ 1000 กรัม พบว่าเมล็ดข้าวเกาะที่ผิวขวดเป็นแผ่นแข็ง และพบการแยกตัวของน้ำ ทำให้การผสมผสาน และการถ่ายเทอากาศลดลง พร้อมทั้งมีการสะสมกลูโคสสูงมาก อาจเป็นผลมาจากน้ำที่แยกตัวออกมาก ซึ่งอาจส่งผลต่อการสร้างโมนาโคลิน นอกจากนี้ยังได้กลิ่นแอลกอฮอล์อีกด้วย ปัจจัยดังกล่าวอาจส่งผลกระทบต่อการสร้างโมนาโคลินลดลง การเพิ่มปริมาณข้าวเสาไห้ ส่งผลให้มีการสะสมกลูโคสเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจส่งผลยับยั้งการผลิตสารสี และโมนาโคลิน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าพื้นที่ภายในภาชนะส่งผลต่อการถ่ายเท และการผสมผสาน จึงจำเป็นต้องมีระบบให้อากาศร่วมในการเลี้ยงเชื้อด้วย เพราะการถ่ายเทอากาศเข้าและออกจากขวดด้วยวิธีปกติ อาจไม่เพียงพอต่อการเจริญ และกิจกรรมของเชื้อรา

4.6 ศึกษาการเจริญและการสร้างโมนาโคลินในอาหารแข็งข้าวเสาไห้ปริมาณ 100 กรัม และ1000 กรัม ในสภาวะหมุนขวด

เตรียมอาหารข้าวเสาไห้สำหรับเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 บนอาหารแข็ง (solid state fermentation) โดยนำข้าวปริมาณ 50 และ 1000 กรัม บรรจุในขวดเตรียมอาหารขนาด 200 มล. และ 5 ลิตร แล้วไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 และ 45 นาที ตามลำดับจากนั้นจึงใส่น้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาณ 15 และ 300 มล. ลงไปในข้าวปลอดเชื้อ นำไปวางบนเครื่องหมุนเป็นเวลา 12 ชม. เพื่อให้น้ำซึมเข้าเมล็ดข้าวอย่างทั่วถึง นำเชื้อเริ่มต้นในรูปสารเส้นใย (ปริมาณ 3.0 เปอร์เซ็นต์) ใส่ลงในขวดบรรจุธัญพืช แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง (32-35 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 สัปดาห์ เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ความชื้น ปริมาณสารสี ปริมาณโมนาโคลิน (ด้วยวิธี HPLC) และพีเอชในอาหารแข็ง พร้อมทั้งวัดกิจกรรมเอนไซม์อะมัยเลสในสาระลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ พีเอช 4.5 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียน เป็นเวลา 30 นาที ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 4.5

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงความชื้นระหว่างการเจริญบนอาหารปริมาณ 100 กรัม และ 1000 กรัม มีรูปแบบคล้ายกัน แต่การเจริญบนอาหาร 1000 กรัม มีความชื้นสูงกว่า อาจเป็นเพราะการถ่ายเททำได้จำกัด ขณะที่การเปลี่ยนแปลงพีเอชเมื่อเจริญบนอาหาร 1000 กรัม พบว่าพีเอชลดลงอย่างรวดเร็ว และไปอยู่ที่ประมาณ 3.9 จากนั้นก็เพิ่มขึ้นอย่างช้า ซึ่งต่างจากการเจริญบนอาหารปริมาณ 100 กรัม ที่พบว่าพีเอชเพิ่มขึ้นเป็นกลางในสัปดาห์ที่ 4 และ 5 ของการเจริญ การสร้างสารสี พบว่าเชื้อราเจริญบนอาหารปริมาณ 100 กรัม ได้อย่างดี และให้สารสีสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 ของการเจริญ ขณะที่เชื้อราเจริญบนอาหารปริมาณ 1000 กรัม ให้การสร้างสารสีช้า และมีความเข้มข้นต่ำ ซึ่งอาจเป็นผลจากข้าวบางส่วนเกาะติดที่พื้นผิวขวดเลี้ยงเชื้อ และมีการแยกตัวของน้ำ สอดคล้องกับการสร้างโมนาโคลิน พบว่าการเจริญบนอาหาร 100 กรัม ให้ความเข้มข้นสูงสุดในสัปดาห์ที่ 5 ของการเจริญ และมีค่าเป็น 2 เท่าของการเจริญบนอาหารปริมาณ 1000 กรัม การเจริญบนอาหารปริมาณ 100 กรัม พบว่ามีกิจกรรมเอนไซม์สูง แต่ปริมาณกลูโคสสะสมพบว่ามีค่าน้อย อาจเป็นเพราะเชื้อราเจริญได้ดี และนำกลูโคสไปใช้สำหรับกิจกรรมต่างๆ ภายในเซลล์ ขณะที่การเจริญบนอาหารปริมาณ 1000 กรัม พบกิจกรรมเอนไซม์ต่ำกว่า และมีการสะสมกลูโคสสูง จึงส่งผลต่อการสร้างสารทุติยภูมิ



<u>ภาพที่ 4.5</u> แสดงการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 บนอาหารแข็งข้าวเสาไห้ ปริมาณ 100 กรัม และ 1000 กรัม ในสภาวะหมุนขวดด้วยความเร็ว 5-7 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 32-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์ปริมาณโมนาโคลินด้วยวิธี HPLC

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

4.7 ศึกษาการสร้างซิตรินินในอาหารข้าวเสาไห้ เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะหมุนขวด

นำตัวอย่างเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 ที่เจริญบนอาหารข้าวเสาไห้ปริมาณ 50 100 200 500 และ 1000 กรัม เป็นเวลา 4 สัปดาห์ มาตรวจสอบปริมาณซิตรินินโดยวิธีเชิงคุณภาพ (quanlitative) บนแผ่น TLC ดังแสดงผลในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 การสร้างโมนาโคลิน และซิตรินิน ในสัปดาห์ที่ 4 ของการเลี้ยงเชื้อบนข้าวเสาไห้ ปริมาณ 50 กรัม 100 กรัม 200 กรัม 500 กรัม และ 1000 กรัม ตามลำดับ

ปริมาณข้าว กรัม	ปริมาณโมนาโคลิน (μg/g-sample)	การตรวจสอบซิตรินิน (yellow fluorescent)
50	2.11	+
100	1.96	+
200	1.67	+
500	1.23	-
1000	0.99	-

การวิเคราะห์ citrinin เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงเชื้อสัปดาห์ที่ 4 นำสารละลายที่สกัดได้ไปหยดลงบน TLC plates หลังจากนำไปวางในโถแก้วที่มีสารละลายเคลื่อนที่ (mobile phase) ประกอบด้วย tolune : ethylacetate : chloroform (80:70:50) และ 1 มล. ของสารละลายกรดฟอร์มิก (formic acid) ความเข้มข้น 90 % จนกระทั่งระยะทางที่สารละลายเคลื่อนถึงด้านบนของ TLC จึงนำไปทำให้แห้ง แล้วสังเกตุด้วยแสงอัลตร้าไวโอเลต ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร พบว่า การเจริญบนข้าวปริมาณ 50 กรัม 100 กรัม และ 200 กรัม มีวงสีเหลืองเรืองแสง ที่ตำแหน่งเดียวกับสารซิตรินินมาตรฐาน (ตัวควบคุม) (ไม่สามารถถ่ายภาพได้ เพราะวงสีเหลือง มีลักษณะจางมาก) ขณะที่การเจริญบนข้าวปริมาณ 500 กรัม และ 1000 กรัม ไม่พบวงสีเหลืองเรืองแสงดังกล่าว อาจเป็นเพราะเชื้อราเจริญช้า หรือมีกิจกรรมการสร้างสารทุติยภูมิต่ำ จึงไม่สามารถตรวจสอบได้