

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

ผลการทดลองได้แบ่งออกเป็น 2 ตอนคือ **ตอนที่ 1** ผลการทดลองในอาหารสังเคราะห์ (Chemically defined medium) ศึกษาผลของกลูโคสและ/หรือแลคโตสและโมโนโซเดียมกลูตาเมท (monosodium glutamate) หรือฮิสติดีน (L-histidine) ต่อการผลิตรงควัตถุสีแดงและโมนาโคลิน เค (Monacolin K) โดยเชื้อรา *Monascus purpureus* FTCMU และ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 โดยมีอาหารเหลวทั้งหมด 8 สูตร (อาหารเหลวสูตรที่ 1- 8) ได้แก่

- อาหารเหลวสูตรที่ 1 เติมกลูโคส 20 กรัม/ลิตร และ โมโนโซเดียมกลูตาเมท 12.5 กรัม/ลิตร
- อาหารเหลวสูตรที่ 2 เติมกลูโคส 20 กรัม/ลิตร และฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตร
- อาหารเหลวสูตรที่ 3 เติมแลคโตส 45 กรัม/ลิตร และ โมโนโซเดียมกลูตาเมท 12.5 กรัม/ลิตร
- อาหารเหลวสูตรที่ 4 เติมแลคโตส 45 กรัม/ลิตร และฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตร
- อาหารเหลวสูตรที่ 5 เติมกลูโคส และแลคโตสอย่างละ 20 กรัม/ลิตร และ โมโนโซเดียมกลูตาเมท 12.5 กรัม/ลิตร
- อาหารเหลวสูตรที่ 6 เติมกลูโคส และแลคโตสอย่างละ 20 กรัม/ลิตร และฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตร
- อาหารเหลวสูตรที่ 7 เติมกลูโคส 45 กรัม/ลิตร และ โมโนโซเดียมกลูตาเมท 12.5 กรัม/ลิตร
- อาหารเหลวสูตรที่ 8 เติมกลูโคส 45 กรัม/ลิตร และฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตร

ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 และใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 สำหรับอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม

ตอนที่ 2 ผลการทดลองในอาหารแข็ง (ข้าวเจ้า) ศึกษาผลของโมโนโซเดียมกลูตาเมท (monosodium glutamate) หรือฮิสติดีน (L-histidine) ต่อการผลิตรงควัตถุสีแดงและโมนาโคลิน เค (Monacolin K) โดยเชื้อรา *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารแข็งทั้งหมด 3 สูตร โดยไม่เติมกลูโคส และ/หรือแลคโตส ได้แก่

- อาหารแข็งสูตรที่ 1 เติมโมโนโซเดียมกลูตาเมท 12.5 กรัม/กิโลกรัม
- อาหารแข็งสูตรที่ 2 เติมฮิสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัม
- อาหารแข็งสูตรที่ 3 ไม่เติมโมโนโซเดียมกลูตาเมทและฮิสติดีน

อาหารทุกสูตรเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน แล้วจึงนำมาวิเคราะห์ผลค่าพีเอช (pH) ปริมาณคาร์บอนและปริมาณไนโตรเจนที่เชื้อใช้ไปในอาหาร -มวลชีวภาพ (biomass) เฉพาะอาหารเหลว ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเหลว ค่าสีแดงโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ค่าสีโดยใช้ Hunter Lab และวิเคราะห์โหมนาโคติน เค ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งจะได้แสดงผลต่างๆดังต่อไปนี้ตามลำดับ

ก่อนที่จะนำเสนอผลการทดลองต่างๆ ได้มีการวิเคราะห์คุณภาพของข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาทคิบ และสุก โดยวิเคราะห์ค่าร้อยละของความชื้น ร้อยละของเถ้า ร้อยละของไขมัน ร้อยละของเส้นใย ร้อยละของไนโตรเจน ร้อยละของโปรตีน (ได้มาจากค่าไนโตรเจน x 5.59) และร้อยละของคาร์โบไฮเดรต ตามลำดับซึ่งจะได้ค่าตามตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพของข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท

ลักษณะข้าว	ร้อยละของความชื้น	ร้อยละของเถ้า	ร้อยละของไขมัน	ร้อยละของเส้นใย	ร้อยละของไนโตรเจน	ร้อยละของโปรตีน (ไนโตรเจน x 5.59)	ร้อยละของคาร์โบไฮเดรต
ข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาทคิบ	8.52±0.00	0.33±0.01	0.36±0.00	0.45±0.01	1.28±0.00	7.15±0.00	83.19±0.02
ข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาทสุก	61.79±0.01	0.03±0.01	0.41±0.01	0.33±0.01	0.75±0.00	4.19±0.00	33.25±0.01

หมายเหตุ : 1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.1 ผลค่าพีเอช (pH) ของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละสูตรเป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

ผลที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 และในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 ที่ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม โดยจะนำมาวิเคราะห์แยกเป็นอาหารเหลวและอาหารแข็ง ซึ่งในแต่ละสูตรอาหารมีการเติมกลูโคสและ/หรือแลคโตส และโมโนโซเดียมกลูตาเมตหรือฮิสติดีนแตกต่างกัน ในอาหารทุกสูตรเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน แล้วจึงนำมาวิเคราะห์ค่าพีเอชได้ผลดังตารางที่ 4.1.1, 4.1.2 และ ภาพที่ 4.1.1, 4.1.2

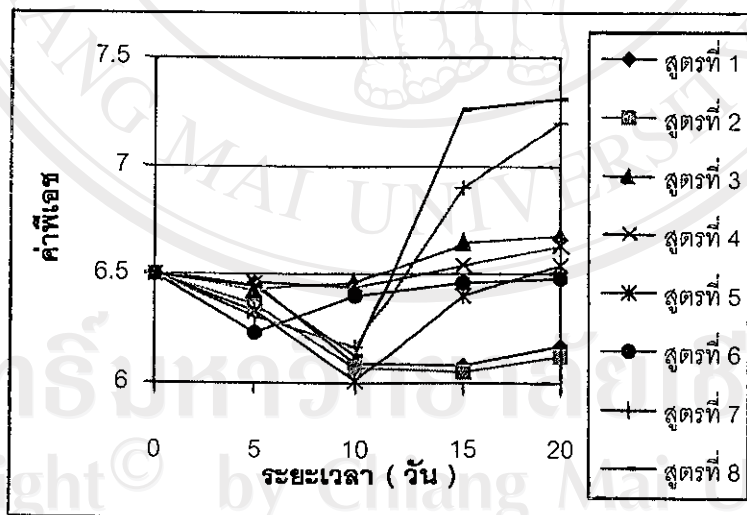
ตาราง 4.1.1 เปรียบเทียบค่าพีเอชของอาหารเหลวเมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

อาหารเหลว สูตรที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	6.50±0.00	6.46 ^{bc} ±0.01	6.09 ^{cd} ±0.01	6.08 ^b ±0.03	6.17 ^b ±0.01
2	6.50±0.00	6.36 ^d ±0.01	6.07 ^{bc} ±0.01	6.05 ^a ±0.01	6.12 ^a ±0.01
3	6.50±0.00	6.43 ^{cd} ±0.00	6.46 ^{bc} ±0.01	6.64 ^f ±0.01	6.68 ^f ±0.01
4	6.50±0.00	6.46 ^{bc} ±0.00	6.44 ^{bc} ±0.01	6.54 ^c ±0.02	6.63 ^c ±0.02
5	6.50±0.00	6.33 ^e ±0.02	6.01 ^a ±0.02	6.40 ^c ±0.01	6.54 ^d ±0.01
6	6.50±0.00	6.23 ^a ±0.01	6.40 ^f ±0.00	6.46 ^d ±0.01	6.48 ^c ±0.01
7	6.50±0.00	6.30 ^{bc} ±0.01	6.16 ^c ±0.02	6.90 ^e ±0.01	7.20 ^h ±0.01
8	6.50±0.00	6.44 ^f ±0.01	6.12 ^d ±0.02	7.26 ^h ±0.01	7.31 ^e ±0.01

หมายเหตุ : 1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวตั้งที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

3) จากอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม



ภาพที่ 4.1.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชและระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 และแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชและระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม

จากตารางที่ 4.1.1 และภาพที่ 4.1.1 พบว่าค่าพีเอชมีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาในการหมัก โดยค่าพีเอชมีแนวโน้มลดลงจากวันแรก และลดลงเรื่อย ๆ จนกระทั่งถึง 10 หรือ 15 วัน แล้วค่าพีเอชจึงจะเริ่มมีค่าเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 20 ซึ่งได้ผลการทดลองคล้ายกับ Hajjaj *et al.* (2001) ที่ได้ศึกษาอิทธิพลของแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตโมนาโคลิน เค ของเชื้อรา *Aspergillus terreus* Thom ATCC 74135 พบว่าค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มลดลงจากเดิมมีค่าพีเอชเท่ากับ 6.5 ลดลงเหลือ 4.9 ในขณะที่เชื้อมีการใช้กลูโคสเป็นแหล่งอาหาร และค่าพีเอชจะค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นอย่างช้าๆในตอนท้ายๆของการทดลองเมื่อเวลาผ่านไป 300 ชั่วโมง (ประมาณ 12 วัน) ซึ่งจะมีค่าพีเอชเท่ากับ 6.9 ดังนั้นทำให้สามารถจัดกลุ่มของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชได้ดังนี้คือ กลุ่มของอาหารเหลวกลุ่มที่ 1 ได้แก่ อาหารเหลวสูตรที่ 1, 2 และ 5 มีค่าพีเอชลดลงเรื่อย ๆ ตั้งแต่ 0-15 วัน โดยค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.50 ลดลงเหลือค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.05-6.40 พอหลังจาก 15-20 วันค่าพีเอชจะเพิ่มขึ้นเป็น 6.12-6.54 ในวันที่ 20 อาหารเหลวกลุ่มที่ 2 ได้แก่ อาหารเหลวสูตรที่ 3, 4, 6, 7 และ 8 มีค่าพีเอชลดลงเรื่อยๆจาก 0-10 วัน โดยค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.50 ลดลงเหลือค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.12-6.46 พอหลังจาก 10-20 วัน ค่าพีเอชจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เป็น 6.48-7.31 ในวันที่ 20

ค่าพีเอชลดลงเนื่องจากปริมาณน้ำตาลในอาหารลดลง เพราะเชื้อสามารถใช้น้ำตาลเพื่อการเจริญทำให้มวลชีวภาพเพิ่มขึ้น และเกิดกรดอินทรีย์ขึ้นในอาหารจากกระบวนการเมตาโบไลต์ (Lumyong *et al.*, 1990 อ้างอิงโดยบุษบา ยงสมิทธิ์, 2542) ได้แก่ malate, succinic, fumarate และ tartrate (Hajjaj *et al.*, 2000b) และเมื่อปริมาณน้ำตาล (แหล่งคาร์บอน) ในอาหารลดลงต่ำมาก เชื้อจึงหันไปใช้แหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเป็นแหล่งพลังงานแทน จึงทำให้ค่าพีเอชในอาหารเลี้ยงเชื้อสูงขึ้น (สมใจ ศิริโชค, 2537 และบุษบา ยงสมิทธิ์, 2542) เพราะสารประกอบไนโตรเจนทำให้เกิดสารประกอบด่าง (Stryer, 1981)

เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน ในอาหารเหลวสูตรที่ 1-8 จะมีค่า pH ต่ำสุดและสูงสุดอยู่ในช่วง 6.08-6.50, 6.05-6.50, 6.43-6.68, 6.50-6.63, 6.01-6.54, 6.23-6.50, 6.16-7.20 และ 6.12-7.31 ตามลำดับ

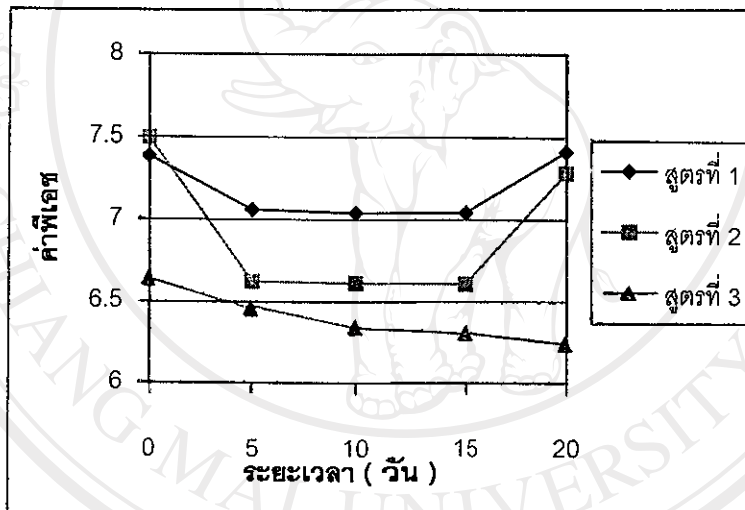
ตาราง 4.1.2 เปรียบเทียบค่าพีเอชของอาหารแห้งเมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

อาหารแห้ง สูตรที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	7.39 ^b ±0.00	7.06 ^c ±0.03	7.04 ^c ±0.01	7.04 ^c ±0.04	7.41 ^c ±0.01
2	7.50 ^c ±0.01	6.62 ^b ±0.02	6.61 ^b ±0.00	6.60 ^b ±0.01	7.28 ^b ±0.01
3	6.64 ^a ±0.02	6.45 ^a ±0.04	6.33 ^a ±0.02	6.30 ^a ±0.01	6.23 ^a ±0.01

หมายเหตุ : 1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวตั้งที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

3) จากอาหารแห้งสูตรที่ 1-3 ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU



ภาพที่ 4.1.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชและระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารแห้งสูตรที่ 1-3

จากตารางที่ 4.1.2 และภาพที่ 4.1.2 ผลการทดลองในอาหารแห้งทั้งหมด 3 สูตรใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และไม่เติมแหล่งคาร์บอนเลย จะพบว่าเมื่อเริ่มแรก 0 วันในการเลี้ยงเชื้อ อาหารแห้งสูตรที่ 1 เติมโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/กิโลกรัม เป็นแหล่งไนโตรเจน และอาหารแห้งสูตรที่ 2 เติมฮิสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัม เป็นแหล่งไนโตรเจน มีค่าพีเอชสูงกว่าอาหารแห้งสูตรที่ 3 ซึ่งไม่เติมทั้งแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนเลย เพราะค่าพีเอชของโมโนโซเดียมกลูตาเมตเท่ากับ 7.20 (Wikipedia, 2003) และฮิสติดีนเป็นกรดอะมิโนซึ่งมีคุณสมบัติเป็นด่าง (Damodalan, 1996 อ้างอิงโดยนิธิยา รัตนปนนท์, 2543) โดยที่ค่าพีเอชของฮิสติดีนเท่ากับ

7.47 (Kirste, 1998) ดังนั้นเมื่อเติมโมโนโซเดียมกลูตาเมต หรือฮิสติดีนลงไปในช่วง จึงทำให้ค่าพีเอชสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารแข็งสูตรที่ 3 ซึ่งเป็นข้าวสุกไม่เต็มทั้งแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนเลย แต่เมื่อเลี้ยงเชื้อไปเรื่อยๆ ตั้งแต่ 0 วันจนถึง 20 วัน จะได้ผลว่าค่าพีเอชของอาหารสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ อาหารแข็งกลุ่มที่ 1 ได้แก่ อาหารแข็งสูตรที่ 1 และ 2 มีค่าพีเอชลดลงมาจาก 0-5 วัน แต่ในวันที่ 5-15 จะมีค่าพีเอชลดลงเพียงเล็กน้อย พอหลังจาก 15-20 วัน ค่าพีเอชจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ อาหารแข็งกลุ่มที่ 2 ได้แก่ อาหารแข็งสูตรที่ 3 มีค่าพีเอชลดลงเรื่อยๆ ค่าพีเอชของอาหารแข็งสูตรที่ 3 ลดลงมากกว่าอาหารแข็งสูตรที่ 1 และ 2 เพราะอาหารแข็งสูตรที่ 3 ซึ่งเป็นข้าวสุกไม่เต็มทั้งแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนเลย เชื้อจึงสามารถใช้ข้าวเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญของมวลเซลล์ จึงทำให้ค่าพีเอชของอาหารแข็งสูตรที่ 3 ลดลงมากกว่าค่าพีเอชของอาหารแข็งสูตรที่ 1 และ 2 ที่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน ซึ่งค่าพีเอชที่ลดลงระหว่างการหมักเกิดจากเชื้อราสร้างกรดอินทรีย์ขึ้นระหว่างการเจริญเติบโต (Hajjaj *et al.*, 2000a) และค่าพีเอชที่ลดลงเนื่องจากเชื้อสามารถย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล จากนั้นย่อยต่อได้ผลผลิตเป็นกรดอินทรีย์ เมื่อค่าพีเอชลดลงแสดงว่าปริมาณแหล่งคาร์บอนใกล้หมด เชื้อจึงเริ่มมีการใช้แหล่งไนโตรเจน ทำให้ค่าพีเอชของอาหารแข็งเพิ่มขึ้น (บุษบา ยงสมิทธิ์, 2542) จากจุลยุทธ บัญสร้างสม (2546) ที่ได้ศึกษาการหมักข้าวแดงโดยใช้เชื้อรา *M. purpureus* 4 สายพันธุ์ในข้าวพันธุ์พิจิตรโดยไม่เติมโซเดียมอะซิเตดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน มีค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5 แล้วมีค่าพีเอชลดลงไปเรื่อยๆ จนถึง 15 วันในการทดลอง และถ้านำมาเปรียบเทียบกับงานวิจัยในครั้งนี้ จะพบได้ว่าอาหารแข็งทั้งหมดสูตร 3 เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 15 วัน มีผลของค่าพีเอชที่คล้ายกับผลค่าพีเอชของจุลยุทธ บัญสร้างสม และจากศศิธร ใบพ่อง (2546) ได้ศึกษาแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจนที่มีอิทธิพลต่อการเกิดสีแดงและซีตรินินโดยใช้เชื้อรา *M. purpureus* ในอาหารแข็ง (ข้าว) เป็นเวลา 20 วัน ซึ่งจะค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5 แล้วจะค่อยๆ ลดลงเรื่อยๆ และพอวันหลายๆของการทดลองค่าพีเอชก็จะเพิ่มสูงขึ้น เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลการทดลองในครั้งนี้ก็ให้ผลที่คล้ายกับศศิธร ใบพ่อง เช่นกัน

อาหารแข็งทั้งหมด 3 สูตร โดยที่อาหารแข็งสูตรที่ 1-3 จะมีค่าพีเอชต่ำสุดและสูงสุดอยู่ในช่วง 7.04-7.41, 6.60-7.50 และ 6.23-6.64 ตามลำดับ

4.2 ผลปริมาณคาร์บอนที่เชื้อใช้ไปของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละสูตรเป็นระยะเวลา 0,5,10,15 และ 20 วัน

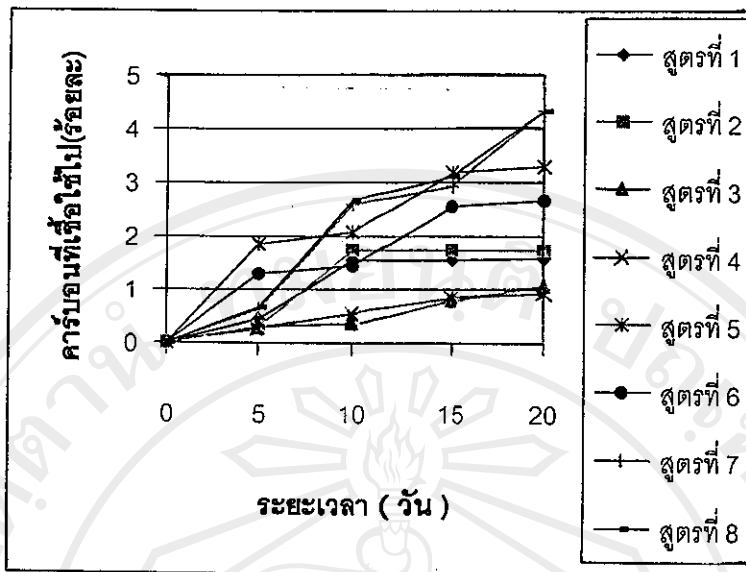
ผลที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 และในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 ที่ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม โดยจะนำมาวิเคราะห์แยกเป็นอาหารเหลวและอาหารแข็ง ซึ่งในแต่ละสูตรอาหารมีการเติมกลูโคสและ/หรือแลคโตส และโมโนโซเดียมกลูตาเมตหรือฮิสติดีน

แตกต่างกัน ในอาหารทุกๆสูตรเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน แล้วจึงนำมาวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอนที่เชื้อใช้ไปได้ผลดังตารางที่ 4.2.1, 4.2.2 และ ภาพที่ 4.2.1, 4.2.2

ตารางที่ 4.2.1 เปรียบเทียบปริมาณคาร์บอน (ปริมาณน้ำตาล) ที่เชื้อใช้ไปของอาหารเหลว (ร้อยละ) เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

อาหาร เหลวสูตร ที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	0.00±0.00	0.44 ^c ±0.01	1.55 ^d ±0.02	1.56 ^b ±0.02	1.58 ^c ±0.02
2	0.00±0.00	0.29 ^a ±0.07	1.72 ^c ±0.02	1.73 ^c ±0.02	1.74 ^d ±0.02
3	0.00±0.00	0.30 ^{ab} ±0.01	0.36 ^a ±0.01	0.77 ^a ±0.03	1.07 ^b ±0.01
4	0.00±0.00	0.25 ^a ±0.05	0.56 ^b ±0.06	0.83 ^a ±0.03	0.91 ^a ±0.00
5	0.00±0.00	1.86 ^f ±0.01	2.08 ^f ±0.05	3.17 ^b ±0.03	3.29 ^f ±0.01
6	0.00±0.00	1.30 ^c ±0.05	1.42 ^c ±0.01	2.54 ^d ±0.01	2.64 ^c ±0.03
7	0.00±0.00	0.63 ^d ±0.01	2.61 ^e ±0.00	2.91 ^c ±0.01	4.33 ^e ±0.01
8	0.00±0.00	0.66 ^d ±0.01	2.67 ^e ±0.05	3.09 ^f ±0.01	4.31 ^e ±0.04

- หมายเหตุ : 1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวดิ่งที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)
 3) จากอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม
 4) ปริมาณคาร์บอนที่มีอยู่ในอาหารเหลวสูตรที่ 1-8 เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0 วัน คือร้อยละ 1.66, 1.83, 4.23, 4.44, 3.33, 3.11, 4.35 และ 4.35 ตามลำดับ



ภาพที่ 4.2.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคาร์บอนที่เชื้อใช้ไป และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 และแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคาร์บอนที่เชื้อใช้ไป และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม

จากตารางที่ 4.2.1 และภาพที่ 4.2.1 พบว่าในอาหารเหลวทุกสูตรจะมีปริมาณคาร์บอนที่เชื้อใช้ไปเพิ่มขึ้น เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลานานขึ้น ซึ่งเชื้อจะใช้แหล่งคาร์บอนเพื่อสร้างมวลชีวภาพ และปริมาณคาร์บอนที่เพิ่มขึ้นนี้จะแปรผกผันกับค่าพีเอช โดยที่ค่าพีเอชจะลดลง (ตามตารางที่ 4.1.1) เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนไป ซึ่งจะได้ว่าค่าพีเอชลดลงเนื่องจากปริมาณน้ำตาลในอาหารลดลง เพราะเชื้อสามารถใช้น้ำตาลเพื่อการเจริญทำให้มวลชีวภาพเพิ่มขึ้น และเกิดกรดอินทรีย์ขึ้นในอาหารจากกระบวนการเมตาโบไลต์ (Lumyong *et al.*, 1990 อ้างอิงโดยบุษบา ยงสมิทธิ์, 2542) ได้แก่ malate, succinic, fumarate และ tartrate (Hajjaj *et al.*, 2000b) ในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 มีการใช้ปริมาณคาร์บอนมากเมื่อเทียบกับอาหารเหลวสูตรอื่นๆ เนื่องจากอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 เดิมกลูโคส 45 กรัม/ลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน สูตรอาหารที่เชื้อมีการใช้แหล่งคาร์บอนมารองลงมาคือ อาหารเหลวสูตรที่ 5 และ 6 เดิมกลูโคสและแลคโตสอย่างละ 20 กรัม/ลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน ส่วนอาหารเหลวสูตรที่ 3 และ 4 มีการใช้ปริมาณคาร์บอนน้อยเมื่อเทียบกับอาหารเหลวสูตรอื่นๆ เนื่องจากอาหารเหลวสูตรที่ 3 เดิมแลคโตส 45 กรัม/ลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน เชื้อสามารถใช้กลูโคสที่มีน้อยอยู่ในอาหาร (เกิดจากแลคโตสแตกตัวได้เป็นกลูโคสและกาแลคโตส) ซึ่งจะแปรผกผันกับค่าพีเอชในอาหาร โดยจะทำให้ค่าพีเอชในอาหารลดลงในช่วงแรก ต่อมาเมื่อกลูโคสในอาหารหมดเชื้อไม่สามารถใช้กาแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ เพราะไม่พบว่าเชื้อเราสามารถเจริญได้ดีในกาแลคโตส แลคโตส และซูโครส (Su and Huang, 1980 อ้างอิงโดยบุษบา ยงสมิทธิ์, 2542) เชื้อ

จะมีการเจริญเติบโตช้า เมื่อใช้แลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอน (Lopez *et al.*, 2003) ดังนั้นอาหารเหลวสูตรที่ 3 จึงมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์บอนเพียงเล็กน้อย แล้วเชื้อราจึงหันไปใช้โมโนโซเดียมกลูตาเมตในอาหารเป็นทั้งแหล่งพลังงานแทน เพื่อที่เชื้อราจะสามารถเจริญได้สำหรับอาหารเหลวสูตรที่ 4 นั้นเติมแลคโตส 45 กรัม/ลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนเหมือนอาหารเหลวสูตรที่ 3 แต่ใช้ฮิสติดีนเป็นแหล่งไนโตรเจน แต่ทว่าเชื้อไม่สามารถใช้ฮิสติดีนเป็นทั้งแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนได้ ดังนั้นเพื่อความอยู่รอดของเชื้อ เชื้อจึงหันกลับไปใช้แลคโตสในอาหาร แต่ก็ใช้ได้เพียงเล็กน้อยเพื่อการเจริญของมวลชีวภาพ ปริมาณคาร์บอนจึงมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จาก Hajjaj *et al.* (2001) ที่ได้ศึกษาอิทธิพลของแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตโมนาโคลิน เค ของเชื้อรา *Aspergillus terreus* Thom ATCC 74135 พบว่าแหล่งคาร์บอนที่เติมลงไปในการเลี้ยงเชื้อนั้น เชื้อจะมีการใช้กลูโคสก่อนให้หมดก่อนแล้วจึงหันไปใช้แหล่งไนโตรเจน และเชื้อก็สามารถใช้แลคโตสได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น การทดลองครั้งนี้จะสอดคล้องกับ Hajjaj *et al.* (2002b) โดยเชื้อจะใช้กลูโคสและโมโนโซเดียมกลูตาเมตเป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน ทำให้ปริมาณของสารทั้งสองลดลงเรื่อยๆ เมื่อหมักเป็นเวลา 120 ชั่วโมง (5 วัน)

เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน ในอาหารเหลวสูตรที่ 1-8 จะมีปริมาณคาร์บอนที่เชื้อใช้ไปในระยะเริ่มแรกและในวันสุดท้ายอยู่ในช่วงร้อยละ 0.00-1.58, 0.00-1.74, 0.00-1.07, 0.00-0.91, 0.00-3.29, 0.00-2.64, 0.00-4.33 และ 0.00-4.31 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2.2 เปรียบเทียบปริมาณคาร์โบไฮเดรต (เทียบเท่ากับปริมาณน้ำตาลกลูโคส) ที่ใช้ไปในอาหารแข็ง (ร้อยละ) เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

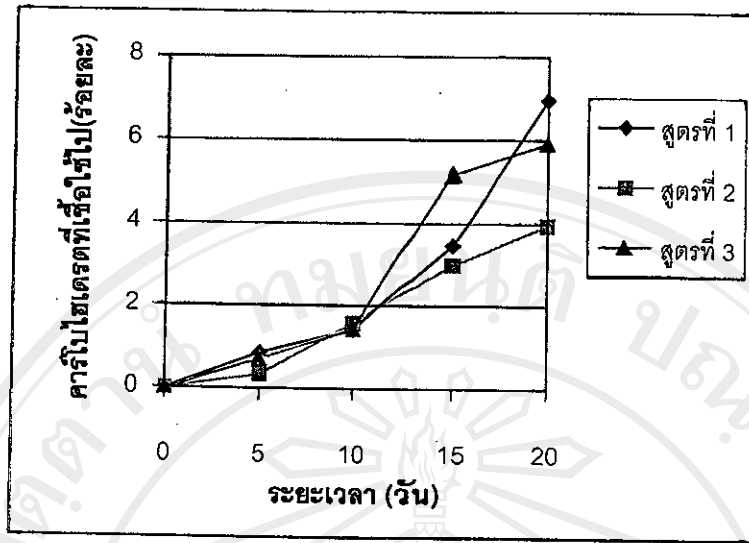
อาหารแข็ง สูตรที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	0.00±0.00	0.87 ^c ±0.05	1.43 ^b ±0.00	3.47 ^b ±0.03	6.96 ^c ±0.04
2	0.00±0.00	0.33 ^a ±0.04	1.58 ^b ±0.02	2.99 ^b ±0.02	3.95 ^a ±0.01
3	0.00±0.00	0.72 ^b ±0.02	1.48 ^b ±0.01	5.18 ^c ±0.02	5.92 ^b ±0.03

หมายเหตุ :1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวตั้งที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

3) จากอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU

4) ปริมาณคาร์บอนที่มีอยู่ในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0 วัน คือร้อยละ 33.41, 33.87 และ 33.34 ตามลำดับ



ภาพที่ 4.2.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เชื้อใช้ไป และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3

จากตารางที่ 4.2.2 และภาพที่ 4.2.2 พบว่าสำหรับอาหารแข็งทั้งหมด 3 สูตรนั้น (อาหารแข็งสูตรที่ 1-3) ในวันที่ 0 อาหารแข็งสูตรที่ 3 คือสูตรที่ไม่เติมแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนเลยมีปริมาณคาร์บอนเท่ากับร้อยละ 33.34 อาหารแข็งสูตรที่ 2 ไม่เติมแหล่งคาร์บอนแต่เติมแหล่งไนโตรเจนคือฮิสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัมมีปริมาณคาร์บอนเท่ากับร้อยละ 33.87 และอาหารแข็งสูตรที่ 1 ไม่เติมแหล่งคาร์บอนแต่เติมแหล่งไนโตรเจนคือ โมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/กิโลกรัม มีปริมาณคาร์บอนเท่ากับร้อยละ 33.41 การที่ในวันแรกคือ 0 วันของการเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็งสูตรต่างๆมีปริมาณคาร์บอนต่างกันเพราะ สูตรโมเลกุลของโมโนโซเดียมกลูตาเมตต่างจากสูตรโมเลกุลของฮิสติดีน โดยโมโนโซเดียมกลูตาเมตมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 187 กรัม (คาร์บอน=60.06 กรัม, ไนโตรเจน=28.01 กรัม) ในขณะที่ฮิสติดีนมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 155.156 กรัม (คาร์บอน=72.07 กรัม, ไนโตรเจน=42.02 กรัม) ซึ่งการเติมแหล่งไนโตรเจนในอาหารแข็งนั้นไม่ได้เป็นการเพิ่มไนโตรเจนลงไปในการอย่างเดียวก่อน แต่ในขณะที่เดียวกันก็เป็นการเพิ่มคาร์บอนลงไปในการด้วยเพราะแหล่งไนโตรเจนที่เติมลงไปนั้น มีทั้งส่วนประกอบของไนโตรเจนและคาร์บอนรวมอยู่ด้วยกัน ไม่สามารถแยกเอาเฉพาะไนโตรเจนอย่างเดียวเติมลงไปในการได้ จึงทำให้ปริมาณคาร์บอนของอาหารแข็งสูตรที่ 1 และ 2 ที่เติมแหล่งไนโตรเจนนั้นมีปริมาณคาร์บอนมากกว่าอาหารแข็งสูตรที่ 3 ที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลาตั้งแต่ 0 วันถึง 20 วัน จะมีแนวโน้มว่าเชื้อมีการใช้ปริมาณคาร์บอนเพิ่มขึ้น แสดงว่าเชื้อมีการใช้แหล่งคาร์บอนในการเจริญของมวลเซลล์ โดยเชื้ออาจจะย่อยแบ่งให้เป็นน้ำตาล จากนั้นจะย่อยต่อไปจนได้ผลผลิตเป็นกรดอินทรีย์ (บุษบา ยงสมิทธิ, 2542) นั้นแสดงว่าเชื้อมีการใช้แหล่ง

คาร์บอนในการสังเคราะห์เซลล์และพลังงาน (สนใจ ศิริโชค, 2530) คล้ายกับการทดลองของ Teng and Feldhim (2001) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของข้าวในระหว่างกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อรา *Monascus purpureus* เพื่อผลิตอังกักและรงควัตถุ โดยวัดปริมาณสตาร์ทที่เหลือใน 5 วันแรก ปริมาณสตาร์ทลดลง ในช่วง 5-15 วันของการหมัก ปริมาณสตาร์ทลดลงเรื่อยๆ ปริมาณสตาร์ทที่ลดลงก็คล้ายกับว่าเชื้อมีการใช้ปริมาณสตาร์ทเพิ่มขึ้นในช่วง 5-15 วันนั่นเอง

ส่วนในอาหารแข็งทั้งหมด 3 สูตร โดยที่อาหารแข็งสูตรที่ 1-3 จะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เชื้อใช้ไปจากวันแรกและวันที่ 20 ในช่วงร้อยละ 0.00-6.96, 0.00-3.95 และ 0.00-5.92 ตามลำดับ

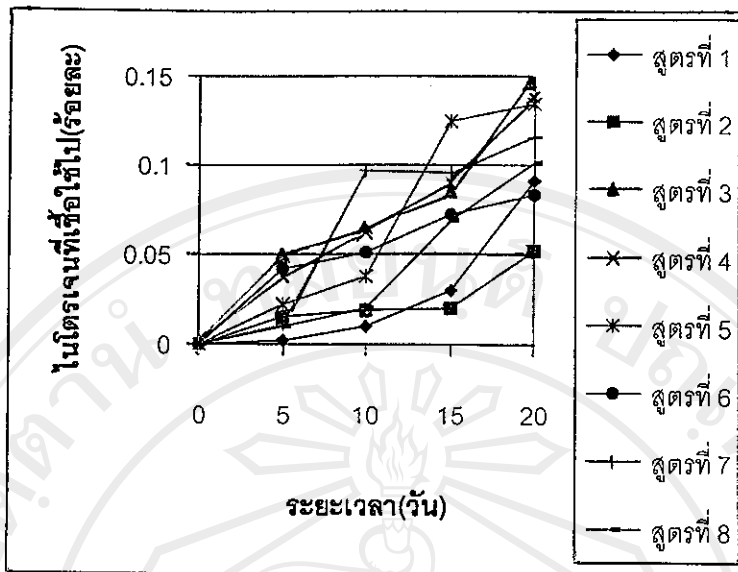
4.3 ผลปริมาณไนโตรเจนที่เชื้อใช้ไปของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละสูตรเป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

ผลที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 และในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 ที่ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม โดยจะนำมาวิเคราะห์แยกเป็นอาหารเหลวและอาหารแข็ง ซึ่งในแต่ละสูตรอาหารมีการเติมกลูโคสและ/หรือแลคโตสและโมโนโซเดียมกลูตาเมตหรือฮิสติดีนแตกต่างกัน ในอาหารทุกๆสูตรเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน แล้วจึงนำมาวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนที่เชื้อใช้ไปได้ผลดังตารางที่ 4.3.1, 4.3.2 และ ภาพที่ 4.3.1, 4.3.2

ตารางที่ 4.3.1 เปรียบเทียบปริมาณไนโตรเจนที่เชื้อใช้ไปของอาหารเหลว (ร้อยละ) เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

อาหาร เหลวสูตร ที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	0.00±0.00	0.00 ^a ±0.00	0.01 ^a ±0.00	0.02 ^{ab} ±0.01	0.09 ^{cdef} ±0.00
2	0.00±0.00	0.01 ^{abc} ±0.00	0.02 ^{ab} ±0.00	0.02 ^a ±0.00	0.05 ^{ab} ±0.00
3	0.00±0.00	0.04 ^{cde} ±0.00	0.06 ^{cdef} ±0.00	0.08 ^{def} ±0.00	0.15 ^h ±0.00
4	0.00±0.00	0.03 ^{abcd} ±0.01	0.06 ^{cde} ±0.01	0.08 ^{efg} ±0.00	0.13 ^h ±0.00
5	0.00±0.00	0.02 ^{abc} ±0.00	0.03 ^{abc} ±0.01	0.12 ^{gh} ±0.00	0.13 ^{gh} ±0.00
6	0.00±0.00	0.04 ^{bcd} ±0.00	0.05 ^{bcd} ±0.00	0.07 ^{cde} ±0.00	0.08 ^{bcd} ±0.01
7	0.00±0.00	0.01 ^{ab} ±0.01	0.09 ^{efg} ±0.09	0.09 ^{efg} ±0.01	0.11 ^{efgh} ±0.01
8	0.00±0.00	0.01 ^{ab} ±0.00	0.02 ^{ab} ±0.00	0.06 ^{cde} ±0.00	0.10 ^{defg} ±0.00

- หมายเหตุ : 1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูล ในแนวตั้งที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)
 3) จากอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม
 4) ปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่ในอาหารเหลวสูตรที่ 1-8 เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0 วัน คือร้อยละ 0.17, 0.37, 0.18, 0.38, 0.17, 0.36, 0.16 และ 0.36 ตามลำดับ



ภาพที่ 4.3.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนที่เชื้อใช้ไป และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 และแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนที่เชื้อใช้ไปและระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม

จากตารางที่ 4.3.1 และภาพที่ 4.3.1 พบว่าในอาหารทุกสูตรมีปริมาณไนโตรเจนที่เชื้อใช้ไปเพิ่มขึ้น เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลานานขึ้น แสดงว่าเชื้อมีการใช้แหล่งไนโตรเจนเพื่อการเจริญของมวลชีวภาพ เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 0 วัน อาหารเหลวที่เติมฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตรคือ อาหารเหลวสูตรที่ 2, 4, 6 และ 8 นั้นจะมีปริมาณไนโตรเจนมากกว่าอาหารเหลวที่เติมโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตรคือ อาหารสูตรที่ 1, 3, 5 และ 7 เพราะว่าฮิสติดีนและโมโนโซเดียมกลูตาเมตมีสูตรโครงสร้าง และสูตรโมเลกุลที่แตกต่างกัน โดยที่ฮิสติดีนสูตรโมเลกุลคือ $C_6H_9N_3O_2$ สำหรับโมโนโซเดียมกลูตาเมตมีสูตรโมเลกุลคือ $NaC_5H_7NO_4 \cdot H_2O$ จึงทำให้มีปริมาณไนโตรเจนเริ่มต้นไม่เท่ากันแม้จะใส่ในปริมาณที่เท่ากันคือ 12.5 กรัม/ลิตร โดยที่ฮิสติดีนมีปริมาณไนโตรเจนมากกว่าโมโนโซเดียมกลูตาเมต สำหรับอาหารเหลวสูตรที่ 1- 8 ในระหว่างระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ 0-10 วัน จะมีปริมาณไนโตรเจนที่เชื้อใช้ไปเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น พอหลังจาก 10 วันถึง 20 วันจึงจะมีปริมาณไนโตรเจนที่เชื้อใช้ไปเพิ่มขึ้นมาก เนื่องจากเชื้อมีการใช้แหล่งคาร์บอนในการเจริญของมวลชีวภาพก่อน เมื่อแหล่งคาร์บอนใกล้จะหมดเชื้อจึงเริ่มหันมาใช้แหล่งไนโตรเจนแทนแหล่งคาร์บอนที่จะหมดไป (Hajjaj *et al.*, 2001) เพื่อการเจริญของมวลชีวภาพ เชื้อมีการใช้แหล่งคาร์บอนใกล้หมดในวันที่ 10-15 หลังจากนั้นเชื้อเริ่มหันไปใช้แหล่งไนโตรเจนมากขึ้น จึงทำให้แหล่งไนโตรเจนมีการเปลี่ยนแปลงมากขึ้นและเชื้อมีการใช้โมโนโซเดียมกลูตาเมตได้ดีกว่าฮิสติดีน

โดยอาหารเหลวที่เติมฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตรคือ อาหารเหลวสูตรที่ 2, 4, 6 และ 8 นั้นจะมีการใช้ปริมาณไนโตรเจนน้อยกว่าอาหารเหลวที่เติมโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตรคือ อาหารสูตรที่ 1, 3, 5 และ 7 การทดลองในครั้งนี้คล้ายกับ Lin and Demain (1994) (อ้างอิงจากบุษบา ยงสมิทธิ์, 2542) พบว่าโมโนโซเดียมกลูตาเมตเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. TTWMB 6042 และแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสร้างสีคือ โมโนโซเดียมกลูตาเมตที่มีความเข้มข้น 1.26 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ร่วมกับมอลโทสเข้มข้น 10.0 เปอร์เซ็นต์ Pastrana *et al.* (1994) และ Santerre *et al.* (1995) (อ้างอิงจากบุษบา ยงสมิทธิ์, 2542) พบว่าสารไนโตรเจนชนิดนี้ร่วมกับกลูโคสดีสำหรับการสร้างสีของ *M. rubber*

เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน ในอาหารเหลวสูตรที่ 1-8 จะมีปริมาณไนโตรเจนที่เชื้อใช้ไปจากวันแรกและวันที่ 20 อยู่ในช่วงร้อยละ 0.00-0.09, 0.00-0.05, 0.00-0.15, 0.00-0.13, 0.00-0.13, 0.00-0.08, 0.00-0.11 และ 0.00-0.10 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.3.2 เปรียบเทียบปริมาณไนโตรเจนที่เชื้อใช้ไปของอาหารแข็ง (ร้อยละ) เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

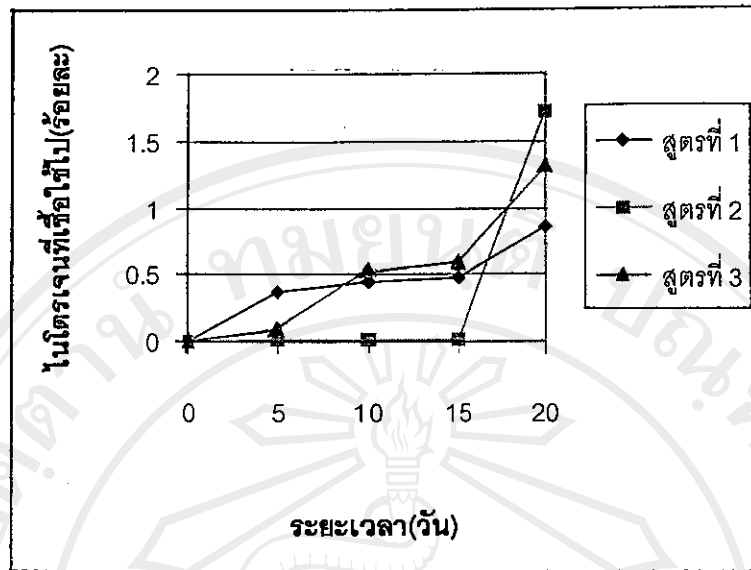
อาหารแข็ง สูตรที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	0.00±0.00	0.37 ^c ±0.01	0.44 ^b ±0.02	0.47 ^b ±0.01	0.85 ^a ±0.02
2	0.00±0.00	0.02 ^a ±0.00	0.01 ^a ±0.01	0.02 ^a ±0.01	1.17 ^b ±0.00
3	0.00±0.00	0.09 ^b ±0.02	0.53 ^c ±0.00	0.59 ^c ±0.03	1.31 ^c ±0.03

หมายเหตุ : 1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวดิ่งที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3) จากอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU

4) ปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่ในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0 วัน คือร้อยละ 0.99, 1.05 และ 0.74 ตามลำดับ



ภาพที่ 4.3.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนที่เชื้อใช้ไป และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3

จากตารางที่ 4.3.2 และภาพที่ 4.3.2 พบว่าใน 0 วัน อาหารแข็งสูตรที่ 2 เติมฮิสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัมจะมีปริมาณไนโตรเจนมากกว่าอาหารแข็งสูตรที่ 1 เติมโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/กิโลกรัม เพราะว่าฮิสติดีนและโมโนโซเดียมกลูตาเมตมีสูตร โครงสร้างและสูตรโมเลกุลที่แตกต่างกัน โดยที่ฮิสติดีนสูตรโมเลกุลคือ $C_6H_9N_3O_2$ สำหรับโมโนโซเดียมกลูตาเมตมีสูตรโมเลกุลคือ $NaC_5H_8NO_4 \cdot H_2O$ จึงทำให้มีปริมาณไนโตรเจนเริ่มต้นไม่เท่ากันแม้จะใส่ในปริมาณที่เท่ากันคือ 12.5 กรัม/กิโลกรัม โดยที่ฮิสติดีนมีปริมาณไนโตรเจนมากกว่าโมโนโซเดียมกลูตาเมต สำหรับอาหารแข็งสูตรที่ 3 คือข้าวที่ไม่เติมทั้งแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน แต่ในข้าวก็มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ ปริมาณไนโตรเจนที่เชื้อใช้ไปในวันที่ 20 มีมากกว่าปริมาณไนโตรเจนที่เติมลงไปในตอนแรก เนื่องจากในระหว่างการหมักเชื้อจะใช้โปรตีนในข้าวไปพร้อมๆกับการเจริญของมวลชีวภาพจึงทำให้ค่าโปรตีนทั้งหมด หรือปริมาณไนโตรเจนเพิ่มสูงขึ้น (Teng and Feldeim, 2001) ซึ่งปริมาณไนโตรเจนที่เพิ่มสูงขึ้นนั้นก็คือ ปริมาณไนโตรเจนที่เหลืออยู่ในข้าวรวมกับปริมาณไนโตรเจนของเซลล์เชื้อรา (มวลชีวภาพ) นั่นเอง

อาหารแข็งสูตรที่ 1-3 ในระหว่างระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ 0-20 วัน จะมีปริมาณไนโตรเจนที่เชื้อใช้ไปในวันที่ 0 และในวันที่ 20 อยู่ในช่วงร้อยละ 0.00-0.85, 0.00-1.17 และ 0.00-1.31 ตามลำดับ

4.4 ผลปริมาณมวลชีวภาพ (biomass) ของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละสูตรเป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

ผลที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 และในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 ที่ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม โดยจะนำมาวิเคราะห์แยกเป็นอาหารเหลวและอาหารแข็ง ซึ่งในแต่ละสูตรอาหารมีการเติมกลูโคสและ/หรือแลคโตสและโมโนโซเดียมกลูตาเมตหรือฮิสติดีนแตกต่างกัน ในอาหารทุกสูตรเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน แล้วจึงนำมาวิเคราะห์ปริมาณมวลชีวภาพ (อาหารเหลว) ได้ผลดังตารางที่ 4.4 และ ภาพที่ 4.4

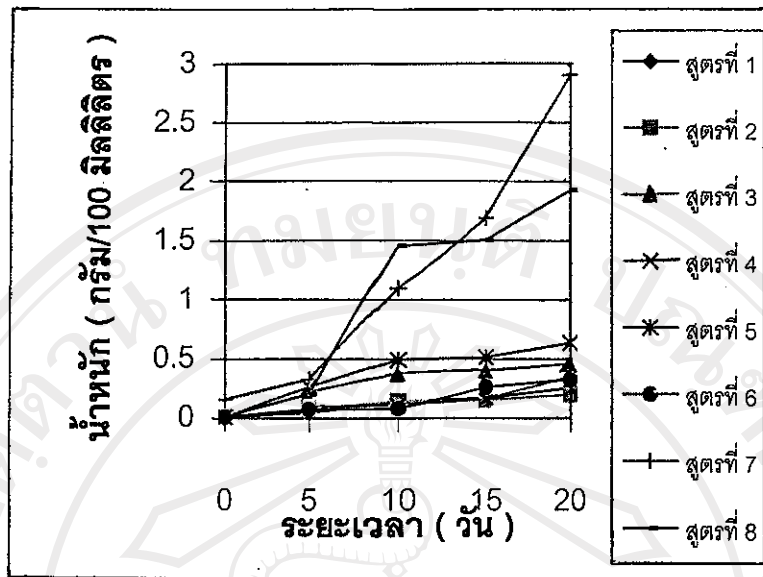
ตาราง 4.4 เปรียบเทียบปริมาณมวลชีวภาพของอาหารเหลว (กรัม/100 มิลลิลิตร) เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

อาหารเหลวสูตรที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	0.01±0.00	0.05 ^{ab} ±0.02	0.14 ^c ±0.00	0.17 ^{bb} ±0.02	0.26 ^b ±0.03
2	0.01±0.00	0.07 ^{bc} ±0.00	0.15 ^c ±0.01	0.15 ^a ±0.00	0.20 ^a ±0.00
3	0.01±0.00	0.21 ^c ±0.00	0.37 ^d ±0.01	0.43 ^d ±0.00	0.45 ^c ±0.01
4	0.01±0.00	0.09 ^c ±0.01	0.10 ^b ±0.00	0.16 ^a ±0.00	0.35 ^{cd} ±0.03
5	0.01±0.00	0.27 ^f ±0.00	0.49 ^e ±0.00	0.51 ^c ±0.00	0.63 ^f ±0.04
6	0.01±0.00	0.08 ^{bc} ±0.00	0.08 ^{ab} ±0.00	0.26 ^c ±0.00	0.33 ^c ±0.03
7	0.01±0.00	0.33 ^a ±0.04	1.09 ^f ±0.07	1.69 ^e ±0.01	2.90 ^h ±0.02
8	0.01±0.00	0.21 ^{dc} ±0.00	1.45 ^e ±0.00	1.50 ^f ±0.00	1.92 ^e ±0.02

หมายเหตุ : 1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวตั้งที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

3) จากอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม



ภาพที่ 4.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณมวลชีวภาพ และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 และแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณมวลชีวภาพ และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม

จากตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.4 พบว่าในอาหารเหลวทุกสูตรให้ปริมาณมวลชีวภาพเพิ่มมากขึ้น เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลานานขึ้น โดยเฉพาะอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 นั้นมีมวลชีวภาพเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนมากกว่าอาหารสูตรอื่นๆ อาจเป็นเพราะสูตรอาหารเหลวที่ใช้ดัดแปลงมาจาก Hajjaj *et al.* (2001) ที่ได้ศึกษาอิทธิพลของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อผลิตโมนาโคลิน เค ของเชื้อรา *Aspergillus terreus* Thom ATCC 74135 แต่สำหรับอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ซึ่งอาหารเหลวสูตรนี้อาจไม่เหมาะสมสำหรับเชื้อชนิดนี้ทำให้เชื้อเจริญเติบโตช้าหรือมีมวลชีวภาพน้อยเพราะมีการเติมคอปเปอร์คลอไรด์ ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) กรดบอริก (H_3BO_3) และแอมโมเนียโมลิบเดท $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ เท่ากับ 5.0, 11.0 และ 5.0 มิลลิลิตร/อาหาร 1 ลิตร ตามลำดับ ซึ่งอาหารปกติที่ใช้เลี้ยงเชื้อนี้ไม่มีการเติมสารดังกล่าว (Hajjaj *et al.*, 2001) อาหารเหลวทั้งหมด 8 สูตรจะพบว่าอาหารเหลวสูตรที่ 7 เติมกลูโคส 45 กรัม/ลิตร และ โมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร ให้มวลชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 2.90 กรัม/100 มิลลิลิตร รองลงมาคือ อาหารสูตรที่ 8 เติมกลูโคส 45 กรัม/ลิตร และฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตร ให้มวลชีวภาพเท่ากับ 1.92 กรัม/100 มิลลิลิตร แต่ถ้าพิจารณาเฉพาะอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 ที่ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU จะพบว่าอาหารเหลวสูตรที่ 5 ที่เติมกลูโคสและแลคโตสอย่างละ 20 กรัม/ลิตร และโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร มีมวลชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 0.63 กรัม/100 มิลลิลิตร รองลงมาคืออาหารเหลวสูตรที่ 3 เติม

แลคโตส 45 กรัม/ลิตร และโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร ให้มวลชีวภาพเท่ากับ 0.45 กรัม/100 มิลลิลิตร

จาก Hajjaj *et al.* (2001) ที่ได้ศึกษาอิทธิพลของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตโมนาโคลิน เลขของเชื้อรา *Aspergillus terreus* Thom ATCC 74135 พบว่าแหล่งไนโตรเจนคือ โมโนโซเดียมกลูตาเมต จะทำให้เกิดมวลชีวภาพได้เร็ว และถ้านำมาเปรียบเทียบกับงานวิจัยในครั้งนี้ จะพบได้ว่าการทดลองในครั้งนี้เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 15 วัน และ 20 วัน อาหารเหลวสูตรที่ 1,3,5 และ 7 ซึ่งล้วนแต่มีแหล่งไนโตรเจนอย่างเดียวกันคือ โมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร จะมีปริมาณมวลชีวภาพมากกว่าอาหารเหลวสูตรที่ 2, 4, 6 และ 8 ซึ่งมีแหล่งไนโตรเจนอย่างเดียวกันคือ ฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตร โดยพิจารณาเป็นคู่ๆ คือคู่ที่ 1 ได้แก่ อาหารเหลวสูตรที่ 1 และ 2 มีแหล่งคาร์บอนอย่างเดียวกันคือ กลูโคส 20 กรัม/ลิตร แต่มีแหล่งไนโตรเจนต่างกันโดยที่อาหารเหลวสูตรที่ 1 มีแหล่งไนโตรเจนคือ โมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร และมีปริมาณมวลชีวภาพมากกว่า อาหารเหลวสูตรที่ 2 ที่มีแหล่งไนโตรเจนคือ ฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตร คู่ที่ 2 ได้แก่ อาหารเหลวสูตรที่ 3 และ 4 มีแหล่งคาร์บอนอย่างเดียวกันคือแลคโตส 45 กรัม/ลิตร แต่มีแหล่งไนโตรเจนต่างกันโดยที่ อาหารเหลวสูตรที่ 3 มีแหล่งไนโตรเจนคือ โมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร และมีปริมาณมวลชีวภาพมากกว่าอาหารเหลวสูตรที่ 4 ที่มีแหล่งไนโตรเจนคือ ฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตร คู่ที่ 3 ได้แก่ อาหารเหลวสูตรที่ 5 และ 6 มีแหล่งคาร์บอนอย่างเดียวกันคือ กลูโคส 20 กรัม/ลิตรรวมกับแลคโตส 20 กรัม/ลิตร แต่มีแหล่งไนโตรเจนต่างกันโดยที่อาหารเหลวสูตรที่ 5 มีแหล่งไนโตรเจนคือ โมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร และมีปริมาณมวลชีวภาพมากกว่า อาหารเหลวสูตรที่ 6 ที่มีแหล่งไนโตรเจนคือ ฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตร และคู่ที่ 4 เป็นคู่สุดท้าย ได้แก่ อาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 มีแหล่งคาร์บอนอย่างเดียวกันคือ กลูโคส 45 กรัม/ลิตร แต่มีแหล่งไนโตรเจนต่างกันโดยที่ อาหารเหลวสูตรที่ 7 มีแหล่งไนโตรเจนคือ โมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร และมีปริมาณมวลชีวภาพมากกว่า อาหารเหลวสูตรที่ 8 ที่มีแหล่งไนโตรเจนคือ ฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตร จึงสรุปได้ว่าอาหารเหลวสูตรที่มีการเติมโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร ลงไปในอาหารจะให้มวลชีวภาพมากกว่าอาหารเหลวสูตรที่มีการเติมฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตร เพราะเชื้อสามารถใช้โมโนโซเดียมกลูตาเมตได้ง่ายกว่าการใช้ฮิสติดีน

เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน ในอาหารเหลวสูตรที่ 1-8 จะมีปริมาณมวลชีวภาพต่ำสุดและสูงสุดอยู่ในช่วง 0.01-0.26, 0.01-0.20, 0.01-0.45, 0.01-0.35, 0.01-0.63, 0.01-0.33, 0.01-2.90 และ 0.01-1.92 กรัม/100 มิลลิลิตร ตามลำดับ

4.5 ผลปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเหลวของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละสูตรเป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

ผลที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 และในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 ที่ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม โดยจะนำมาวิเคราะห์แยกเป็นอาหารเหลวและอาหารแข็ง ซึ่งในแต่ละสูตรอาหารมีการเติมกลูโคสและ/หรือแลคโตสและโมโนโซเดียมกลูตาเมทหรือฮิสติดีนแตกต่างกัน ในอาหารทุกๆสูตรเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน แล้วจึงนำมาวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเหลวได้ผลดังตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเหลว (%DO₂) เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

อาหารเหลว สูตรที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	74 ^c ±1	73 ^{dc} ±1	72 ^e ±0	75 ^c ±0	74 ^{ef} ±1
2	63 ^a ±0	64 ^{bc} ±1	64 ^{bc} ±1	65 ^b ±0	63 ^a ±0
3	73 ^d ±0	73 ^{dc} ±1	73 ^c ±0	73 ^c ±0	74 ^{def} ±0
4	64 ^{bc} ±1	65 ^c ±0	63 ^{ab} ±1	65 ^b ±0	65 ^c ±0
5	74 ^c ±1	74 ^{ef} ±1	75 ^f ±0	74 ^{de} ±1	75 ^f ±0
6	63 ^{ab} ±1	62 ^a ±0	64 ^{bc} ±1	65 ^b ±0	65 ^c ±0
7	63 ^a ±0	63 ^a ±0	64 ^{ab} ±1	63 ^a ±0	65 ^c ±0
8	64 ^{abc} ±0	64 ^{bc} ±1	64 ^{bc} ±1	65 ^b ±0	63 ^{ab} ±1

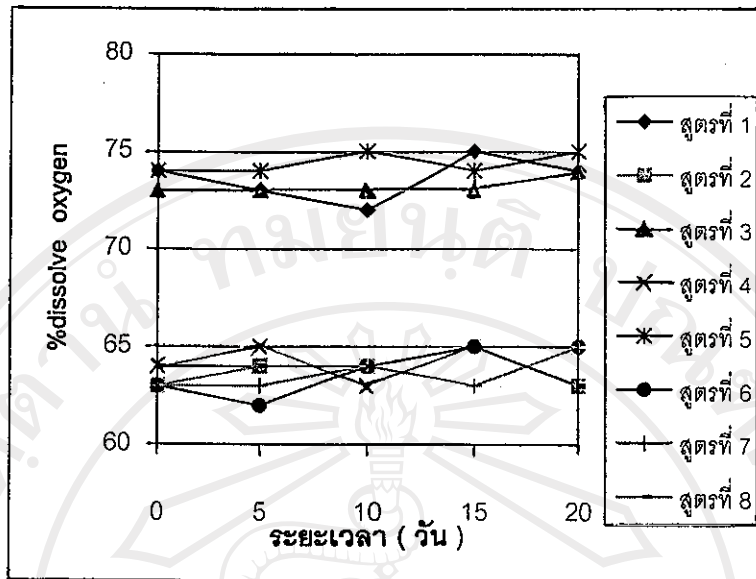
หมายเหตุ : 1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย+ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวดิ่งที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

3) จากอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม

4) อาหารเหลวสูตรที่ 1, 3 และ 5 ทดลองในเดือนธันวาคม 2545-เดือนมกราคม 2546

5) อาหารเหลวสูตรที่ 2, 4, 6, 7 และ 8 ทดลองในเดือนมีนาคม-เดือนเมษายน 2546



ภาพที่ 4.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเหลว และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 และแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเหลวและระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม

หมายเหตุ : 1) อาหารเหลวสูตรที่ 1, 3 และ 5 ทดลองในเดือนธันวาคม 2545-เดือนมกราคม 2546

2) อาหารเหลวสูตรที่ 2, 4, 6, 7 และ 8 ทดลองในเดือนมีนาคม-เดือนเมษายน 2546

จากตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.5 พบว่าการที่ปริมาณออกซิเจนละลายในอาหารเหลวไม่เท่ากันนั้น อาจเกิดจากไม่มีการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ โดยทดลองที่อุณหภูมิห้องแต่ทำในช่วงฤดูหนาวถึงฤดูร้อน อุณหภูมิเลยแตกต่างกันซึ่งมีผลต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้ในอาหารเหลว เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นการละลายของออกซิเจนในอาหารเหลวจะละลายได้น้อยลง อาหารเหลวสูตรที่ 1, 3 และ 5 นั้นได้ทำการทดลองในช่วงประมาณเดือนธันวาคม 2545-เดือนมกราคม 2546 (ฤดูหนาวมีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 18 ± 2 องศาเซลเซียส) มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเหลวอยู่ในระหว่าง 72-75 %DO₂ ซึ่งสูงกว่าอาหารเหลวสูตรที่ 2, 4, 6, 7 และ 8 ที่ได้ทำการทดลองในช่วงประมาณเดือนมีนาคม-เดือนเมษายน 2546 (ฤดูร้อนมีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 32 ± 2 องศาเซลเซียส) ที่มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเหลวอยู่ในระหว่าง 63-65 %DO₂ จากเชิดชัย เขียวศิริกุล และคณะ (2519) เมื่อมีการเขย่าหรือการให้อากาศช่วยให้เชื้อราสร้างสีแดงได้ดีและเร็วขึ้น และ Lee *et al.* (2002) ได้ทำการศึกษาเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* ที่สามารถสร้างสีแดงและสารโมนาโคลิน เค ได้ในปริมาณสูง โดยเลี้ยงในอาหารเหลวพบว่า ปริมาณอากาศมีผลต่อการผลิตสีและสารโมนาโคลิน เค

เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน ในอาหารเหลวสูตรที่ 1-8 จะมีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเหลวต่ำสุดและสูงสุดอยู่ในช่วง 72-75, 63-65, 73-74, 63-65, 74-75, 62-65, 63-65 และ 63-65 %DO₂ ตามลำดับ

4.6 ผลค่าสีแดงโดยใช้วิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละสูตร เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

ผลที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 และในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 ที่ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม โดยจะนำมาวิเคราะห์แยกเป็นอาหารเหลว และอาหารแข็งซึ่งในแต่ละสูตรอาหารมีการเติมกลูโคสและ/หรือแลคโตส และโมโนโซเดียมกลูตาเมตหรือฮิสติดีนแตกต่างกัน ในอาหารทุกๆสูตรเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน แล้วจึงนำมาวิเคราะห์ค่าสีแดงโดยใช้วิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ได้ผลดังตารางที่ 4.6.1, 4.6.2 และภาพที่ 4.6.1, 4.6.2

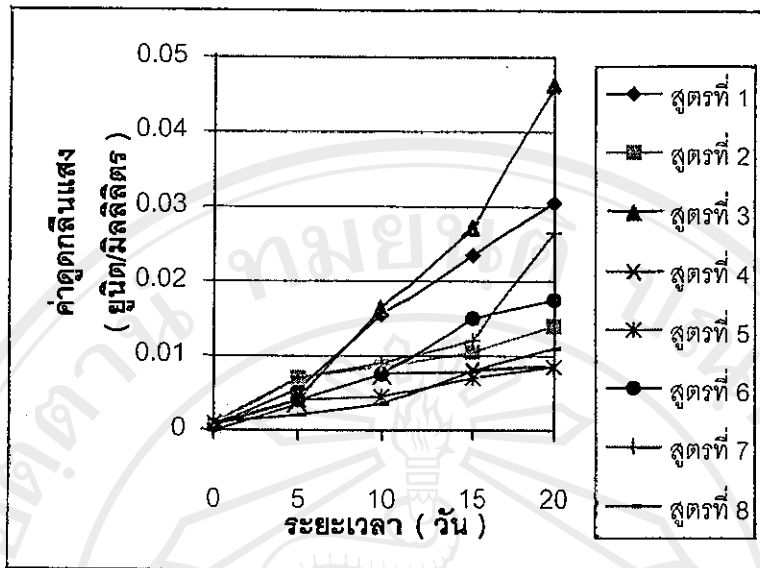
ตารางที่ 4.6.1 เปรียบเทียบค่าสีโดยใช้วิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ของอาหารเหลว (ยูนิต/มิลลิลิตร) เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

อาหาร เหลวสูตร ที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	0.000 ^a ±0.001	0.005 ^{abcd} ±0.001	0.015 ^{gh} ±0.001	0.023 ^h ±0.002	0.030 ^h ±0.001
2	0.000 ^a ±0.001	0.007 ^{bcdef} ±0.000	0.008 ^{cdef} ±0.001	0.010 ^{def} ±0.001	0.014 ^{cde} ±0.001
3	0.001 ^{ab} ±0.000	0.004 ^{abcd} ±0.001	0.016 ^h ±0.002	0.027 ^{hi} ±0.000	0.046 ^h ±0.002
4	0.000 ^a ±0.000	0.003 ^{abc} ±0.001	0.007 ^{bcd} ±0.001	0.008 ^{bcd} ±0.001	0.009 ^{abc} ±0.001
5	0.001 ^{ab} ±0.000	0.004 ^{abcd} ±0.000	0.005 ^{abcd} ±0.001	0.007 ^{abcd} ±0.000	0.009 ^{abc} ±0.001
6	0.000 ^a ±0.001	0.004 ^{abcd} ±0.001	0.008 ^{bcd} ±0.001	0.015 ^{fg} ±0.004	0.018 ^c ±0.001
7	0.001 ^{ab} ±0.000	0.007 ^{bcdef} ±0.000	0.009 ^{cdef} ±0.001	0.012 ^{defg} ±0.000	0.026 ^{fg} ±0.001
8	0.001 ^{ab} ±0.000	0.002 ^{abc} ±0.000	0.004 ^{abc} ±0.001	0.008 ^{bcd} ±0.001	0.012 ^c ±0.001

หมายเหตุ :1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวดิ่งที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

3) จากอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม



ภาพที่ 4.6.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีโดยใช้วิธีสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 และแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีโดยใช้วิธีสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม

จากตารางที่ 4.6.1 และภาพที่ 4.6.1 พบว่าในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 8 ให้ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตรเพิ่มขึ้น เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลานานขึ้น โดยจะให้ค่าสีเพิ่มขึ้นแตกต่างกันไม่ชัดเจนเมื่อเริ่มเลี้ยงเชื้อในระยะแรก 0-10 วัน แต่เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 10-20 วันขึ้นไป ในอาหารเหลวจะให้ค่าสีเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างชัดเจน แต่ค่าสีที่เพิ่มขึ้นของอาหารเหลวสูตรที่ 1-8 นั้นก็มีปริมาณเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และไม่มีสีแดงเกิดขึ้นเลยเป็นเพียงสีเหลืองหรือสีน้ำตาลของอาหารเหลวเท่านั้น อาจจะเป็นเพราะสูตรอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อไม่เหมาะสมกับเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ซึ่งสูตรอาหารเหลวนี้นี้ได้ดัดแปลงมาจากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อ *Aspergillus terreus* (Hajjaj et al., 2001) ได้มีสารประกอบพื้นฐานที่แตกต่างออกไปจากสูตรอาหารพื้นฐานที่ใช้เลี้ยงเชื้อโมแนสคัส ได้แก่ คอปเปอร์คลอไรด์ ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) กรดบอริก (H_3BO_3) และแอมโมเนียโมลิบเดต $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ สันนิษฐานได้ว่าสารตัวใดตัวหนึ่งอาจมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อโมแนสคัส นอกจากนี้สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* เพื่อให้สร้างรงควัตถุมีกฎโคลส 20 กรัม/ลิตร และ โมโนโซเดียมกลูตาเมต 5 กรัม/ลิตรเท่านั้น สำหรับอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 สูตรอาหารพื้นฐานนี้เหมาะสมกับเชื้อ *Aspergillus terreus* แต่เมื่อวัดค่าสีโดยใช้วิธีสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร เป็นการวัดค่าสีแดง อาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 จึงให้ค่า

สีแดงในปริมาณที่น้อยเพราะเชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 เป็นเชื้อที่ผลิตสีเหลือง (Khan *et al.*, 2000) ถึงแม้ว่าอาหารเหลวสูตรที่ 1- 8 ให้ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตรเพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลานานขึ้น แต่ก็ให้ค่าที่น้อยมากอาจจะถือได้ว่าอาหารเหลวทั้งหมด 8 สูตรไม่มีการสร้างรงควัตถุสีแดง แต่เดิมสูตรอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในการทดลองนี้เป็นสูตรอาหารเหลวที่ได้ดัดแปลงมาจากอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเชื้อ *Aspergillus terreus* (Hajjaj *et al.*, 2001) ซึ่ง Hajjaj *et al.* (2001) ได้ศึกษาแล้วว่าทำให้ เชื้อ *Aspergillus terreus* เกิดการสร้างโมนาโคลิน เค ได้มาก จึงคิดนำมาดัดแปลงเพื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU บ้างโดยหวังว่าเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU จะเกิดการสร้างโมนาโคลิน เค ได้มาก แต่ไม่ได้คิดว่าเมื่อนำมาเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU แล้วกลับกลายเป็นว่าเชื้อไม่เกิดการสร้างสีหรือสร้างเพียงเล็กน้อยมากจนไม่สามารถตรวจสอบได้ สำหรับการทดลองในครั้งนี้คล้ายกับการทดลองของศศิธร ไบพ่อง (2546) ได้ศึกษาแหล่งคาร์บอน และไนโตรเจนที่มีอิทธิพลต่อการเกิดสีแดง และซิทริ닌โดยใช้เชื้อรา *M. purpureus* ในอาหารเหลวแบบสังเคราะห์ เป็นเวลา 20 วัน ซึ่งจะว่าอาหารเหลวทั้งหมด 8 สูตรไม่เกิดสีแดงเช่นกัน

เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน ในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 8 จะมีค่าสีโดยใช้วิธีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ต่ำสุดและสูงสุดอยู่ในช่วง 0.000-0.030, 0.000-0.014, 0.001-0.046, 0.000-0.009, 0.001-0.009, 0.000-0.018, 0.001-0.026 และ 0.001-0.011 หน่วย/มิลลิกรัม ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 20 วันอาหารเหลวสูตรที่ 3 ที่มีการเติมแลกโตส 45 กรัม/ลิตร และโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร จะให้ค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.046 หน่วย/มิลลิกรัม สูตรอาหารที่ให้ค่าดูดกลืนแสงรองลงมาคือสูตรอาหารที่ 1 ที่เติมกลูโคส 20 กรัม/ลิตรและและโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร จะให้ค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.030 หน่วย/มิลลิกรัม

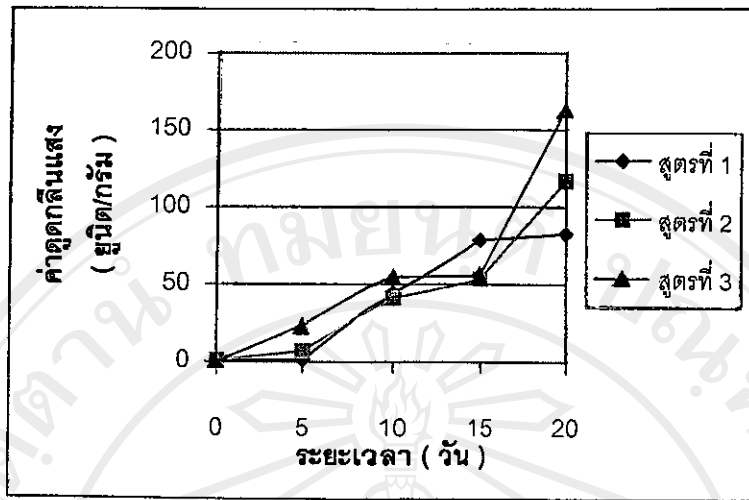
ตารางที่ 4.6.2 เปรียบเทียบค่าสีแดงโดยใช้วิธีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ของอาหารแห้ง (หน่วย/กรัม) เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

อาหารแห้ง สูตรที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	0.75 ^a ±0.35	1.17 ^a ±0.00	44.34 ^b ±0.00	78.57 ^c ±0.00	82.68 ^a ±0.00
2	1.00 ^b ±0.00	7.04 ^b ±0.00	41.34 ^a ±0.00	53.53 ^a ±0.00	117.00 ^b ±0.00
3	0.53 ^a ±0.04	23.02 ^a ±0.00	55.15 ^c ±0.01	56.26 ^b ±0.00	163.50 ^c ±0.00

หมายเหตุ : 1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวดิ่งที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

3) จากอาหารแห้งสูตรที่ 1-3 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU



ภาพที่ 4.6.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีแดงโดยใช้วิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3

จากตารางที่ 4.6.2 และภาพที่ 4.6.2 พบว่าอาหารแข็งทั้งหมด 3 สูตรจะให้ค่าสีเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างชัดเจนตลอดระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ โดยที่อาหารแข็งสูตรที่ 3 ที่ไม่เติมแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนให้ค่าสีแดงมากที่สุดเท่ากับ 163.50 ยูนิต/กรัม อาหารแข็งที่ให้ค่าสีแดงรองลงมาคืออาหารแข็งสูตรที่ 2 ที่ไม่เติมแหล่งคาร์บอนแต่เติมแหล่งไนโตรเจนคือฮิสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัม ซึ่งให้ค่าสีแดงเท่ากับ 117.00 ยูนิต/กรัม ส่วนอาหารแข็งที่ให้ค่าสีแดงน้อยที่สุดคืออาหารแข็งสูตรที่ 1 ที่ไม่เติมแหล่งคาร์บอน แต่เติมแหล่งไนโตรเจนคือ โมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/กิโลกรัม จะให้ค่าสีแดงเท่ากับ 82.68 ยูนิต/กรัม หรือ จะกล่าวได้ว่าอาหารแข็งที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจนใดๆเลยคือ อาหารแข็งสูตรที่ 3 ให้ค่าสีแดงสูงกว่าอาหารแข็งที่เติมแหล่งไนโตรเจนคือ อาหารสูตรที่ 2 และ 3 แสดงว่าแหล่งไนโตรเจนที่ลงไปในอาหารแข็งนั้นไม่ได้ช่วยทำให้เกิดสีแดงเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของศศิธร ไบผ่อง (2546) ได้ศึกษาแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจนที่มีอิทธิพลต่อการเกิดสีแดง และซีทรินินโดยใช้เชื้อรา *M. purpureus* ในอาหารแข็ง (ข้าว) เป็นเวลา 20 วัน ซึ่งจะพบว่าอาหารแข็ง (ข้าว) ที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจนใดๆเลยคือ อาหารแข็งสูตรที่ 3 ให้ค่าสีแดงสูงกว่าอาหารแข็งที่เติมแหล่งไนโตรเจนคือ อาหารสูตรที่ 2 และ 3 และจุลยุทธ บุญสร้างสม (2546) ได้ศึกษาการเติมโซเดียมอะซิเตดมีต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงของข้าวแดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) พบว่าค่าสีแดงลดลงตามความเข้มข้นของโซเดียมอะซิเตดที่เพิ่มขึ้น โดยกลุ่มข้าวแดงที่เติมโซเดียมอะซิเตดเข้มข้น 0.05 M จะมีค่าสีแดงต่ำมาก เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่เติมโซเดียมอะซิเตด

เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน ในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 จะมีค่าสีโดยใช้วิธี สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ต่ำสุดและสูงสุดอยู่ในช่วง 0.75-82.68, 1.00-117.00 และ 0.52-163.50 หน่วย/กรัม ตามลำดับ

4.7 ผลค่าสีโดยระบบ hunter lab ของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละสูตรเป็นระยะเวลา 0,5,10,15 และ 20 วัน

ผลที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 และในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 ที่ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม โดยจะนำมาวิเคราะห์แยกเป็นอาหารเหลวและอาหารแข็ง ซึ่งในแต่ละสูตรอาหารมีการเติมกลูโคสและ/หรือแลคโตส และโมโนโซเดียมกลูตาเมตหรือฮิสติดีน แตกต่างกันในอาหารทุกๆสูตรเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน แล้วจึงนำมาวิเคราะห์ค่าสี L โดยระบบ hunter lab ได้ผลดังตารางที่ 4.7.1.1 , 4.7.1.2 และภาพที่ 4.7.1.1 , 4.7.1.2 ตามลำดับ วิเคราะห์ค่า hue โดยระบบ hunter lab ได้ผลดังตารางที่ 4.7.2.1 , 4.7.2.2 และ ภาพที่ 4.7.2.1, 4.7.2.2 ตามลำดับ วิเคราะห์ค่าสี chroma โดยระบบ hunter lab ได้ผลดังตารางที่ 4.7.3.1 , 4.7.3.2 และภาพที่ 4.7.3.1, 4.7.3.2 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.7.1.1 เปรียบเทียบค่าสี L โดยระบบ hunter lab ของอาหารเหลว เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

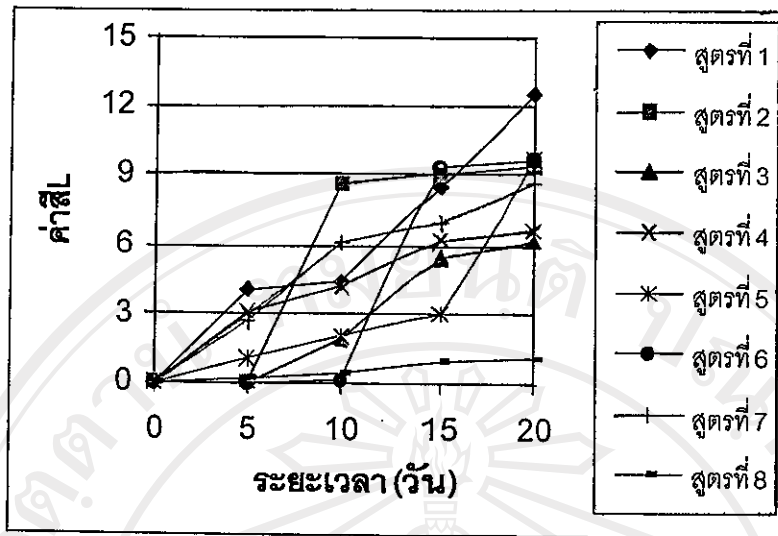
อาหารเหลว สูตรที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	0.00±0.03	3.99 ^h ±0.02	4.40 ^f ±0.04	8.49 ^f ±0.02	12.59 ^g ±0.03
2	0.00±0.00	0.04 ^b ±0.00	8.97 ^h ±0.03	8.99 ^g ±0.04	9.35 ^f ±0.00
3	0.00±0.02	0.05 ^c ±0.02	1.96 ^e ±0.03	5.45 ^c ±0.03	6.16 ^b ±0.00
4	0.00±0.02	3.04 ^e ±0.02	4.18 ^e ±0.00	6.17 ^d ±0.04	6.55 ^c ±0.00
5	0.00±0.04	1.10 ^d ±0.02	2.00 ^d ±0.02	3.00 ^b ±0.02	9.70 ^c ±0.00
6	0.00±0.02	0.00 ^a ±0.01	0.08 ^a ±0.01	9.36 ^h ±0.00	9.71 ^c ±0.03
7	0.00±0.01	2.67 ^f ±0.01	6.02 ^e ±0.01	6.91 ^c ±0.00	8.58 ^d ±0.00
8	0.00±0.01	0.19 ^e ±0.04	0.43 ^b ±0.02	0.93 ^a ±0.03	1.10 ^a ±0.01

หมายเหตุ :1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวดิ่งที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

3) จากอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม

4) ค่าสี L ของอาหารเหลวสูตรที่ 1-8 เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0 วัน คือ 52.75, 19.92, 46.71, 17.91, 48.64, 19.96, 48.58 และ 17.75 ตามลำดับ



ภาพที่ 4.7.1.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี L โดยระบบ hunter lab และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 และแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี L โดยระบบ hunter lab และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม

จากตารางที่ 4.7.1.1 และภาพที่ 4.7.1.1 พบว่าในอาหารเหลวทุกสูตรให้ค่าสี L เพิ่มขึ้นซึ่งได้เส้นกราฟมาจากค่าสี L ในวันแรกของการเลี้ยงเชื้อเป็นตัวตั้งต้นแล้วเอาค่าสี L ของการเลี้ยงเชื้อในแต่ละวันลบออก จะทำให้ได้ค่าในตารางที่ 4.7.1.1 เป็นค่าสี L เทียบจากวันเริ่มต้นเลี้ยงเชื้อว่ามีแสงสว่างมากหรือน้อยจากค่าสี L ในวันแรก เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0 วัน อาหารก็จะมีสีที่เป็นสีที่เกิดจากตัวอาหารเองอยู่แล้ว ฉะนั้นเมื่อเวลาเลี้ยงเชื้อนานขึ้นจะพบว่าอาหารทุกสูตรก็จะมีสีที่เข้มขึ้นกว่าเดิม (ค่าสี L คือความสว่าง มีค่าตั้งแต่ 0 หมายถึงสว่างน้อย: วัตถุมีสีดำ ถึง 100 หมายถึงสว่างมาก: วัตถุมีสีขาว) โดยอาหารเหลวสูตรที่ 1 จะให้ค่าสี L มากที่เท่ากับ 12.59 ในระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ 20 วัน ซึ่งแสดงว่าอาหารเหลวสูตรที่ 1 จะมีสีเข้มขึ้นมากเมื่อเทียบกับสีของอาหารในวันแรก และจะได้ว่าอาหารเหลวสูตรที่ 8 จะมีสีเข้มขึ้นเมื่อเทียบกับสีของอาหารในวันแรก แต่สีที่เข้มขึ้นนั้นยังน้อยกว่าอาหารสูตรอื่นๆ จาก Jung *et al.* (2003) ได้ศึกษาผลของการผลิตรงควัตถุ โดยเชื้อราโมแนสคัสในอาหารที่เติมกรดอะมิโน 20 ชนิด วัดค่าสี L a b chroma และ hue พบว่าการเติมกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการเกิดอนุพันธ์ของรงควัตถุสีแดง ทำให้สีแดงจากโมแนสคัสมีเฉดสีที่แตกต่างกัน

เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน ในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 8 จะมีค่าสี L โดยระบบ hunter lab ค่าสุดและสูงสุดอยู่ในช่วง 0.00-12.59, 0.00-9.35, 0.00-6.16, 0.00-6.55, 0.00-9.70, 0.00-9.71, 0.00-8.58 และ 0.00-1.10 ตามลำดับ

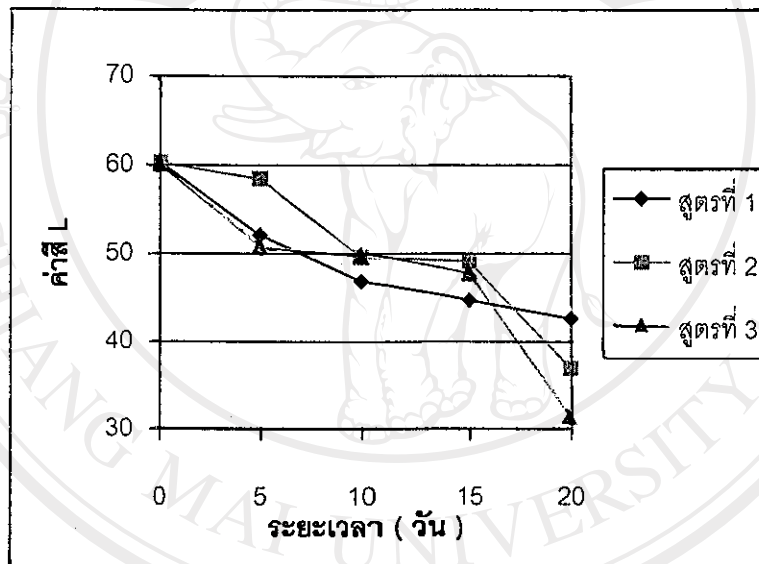
ตารางที่ 4.7.1.2 เปรียบเทียบค่าสี L โดยระบบ hunter lab ของอาหารแห้ง เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

อาหารแห้ง สูตรที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	60.38 ^b ±0.01	52.13 ^b ±0.02	46.92 ^a ±0.02	44.74 ^a ±0.02	42.63 ^c ±0.02
2	60.27 ^a ±0.01	58.47 ^c ±0.02	49.63 ^b ±0.04	49.14 ^c ±0.04	36.93 ^b ±0.02
3	60.33 ^b ±0.01	50.72 ^a ±0.01	49.94 ^c ±0.02	47.93 ^b ±0.04	31.24 ^a ±0.01

หมายเหตุ : 1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวตั้งที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

3) จากอาหารแห้งสูตรที่ 1-3 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU



ภาพที่ 4.7.1.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี L โดยระบบ hunter lab และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารแห้งสูตรที่ 1-3

จากตารางที่ 4.7.1.2 และภาพที่ 4.7.1.2 พบว่าในอาหารแห้งทุกสูตรให้ค่าสี L ลดลง เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลานานขึ้น (ค่าสี L คือความสว่าง มีค่าตั้งแต่ 0 หมายถึงสว่างน้อย ถึง 100 หมายถึงสว่างมาก) โดยที่อาหารแห้งทั้งหมด 3 สูตรไม่เติมแหล่งคาร์บอน เมื่อเริ่มเลี้ยงเชื้อในอาหารแห้ง 0 วัน ในอาหารแห้งสูตรที่ 2 ที่เติมฮิสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัมเป็นแหล่งไนโตรเจนจะให้ค่าสี L น้อยกว่าอาหารแห้งสูตรที่ 1 และ 3 ซึ่งอาหารแห้งสูตรที่ 1 เติมโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/กิโลกรัมเป็นแหล่งไนโตรเจน และอาหารแห้งสูตรที่ 3 ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน แสดงว่าฮิสติดีนมีผลต่อสีของอาหาร เมื่อเติมฮิสติดีนลงไปในการเลี้ยงเชื้อแล้วจะทำให้สีของอาหารเข้มขึ้นค่า L

ที่วัดได้จึงมีค่าน้อย พอวันสุดท้ายของการเลี้ยงเชื้อคือ 20 วัน อาหารแข็งสูตรที่ให้ค่าสี L เรียงจากน้อยสุดไปมากที่สุดคือ อาหารแข็งสูตรที่ 3, 2 และ 1 ตามลำดับ จากศศิธร ไบพ่อง (2546) ศึกษาค่าสีแดงที่ได้จากการวัดด้วยเครื่องวัดสีระบบ Hunter Lab การเปลี่ยนแปลงค่าสี L ของข้าวแดง ตลอดระยะเวลาการหมัก 20 วัน พบว่าข้าวทุกสูตรมีค่าสี L ลดลง โดยในวันสุดท้ายของการหมักได้ค่าสี L อยู่ในช่วง 31.14-36.45

เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน ในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 จะมีค่าสี L โดยระบบ hunter lab ต่ำสุดและสูงสุดอยู่ในช่วง 42.63-60.38, 36.93-60.27 และ 31.24-60.33 ตามลำดับ

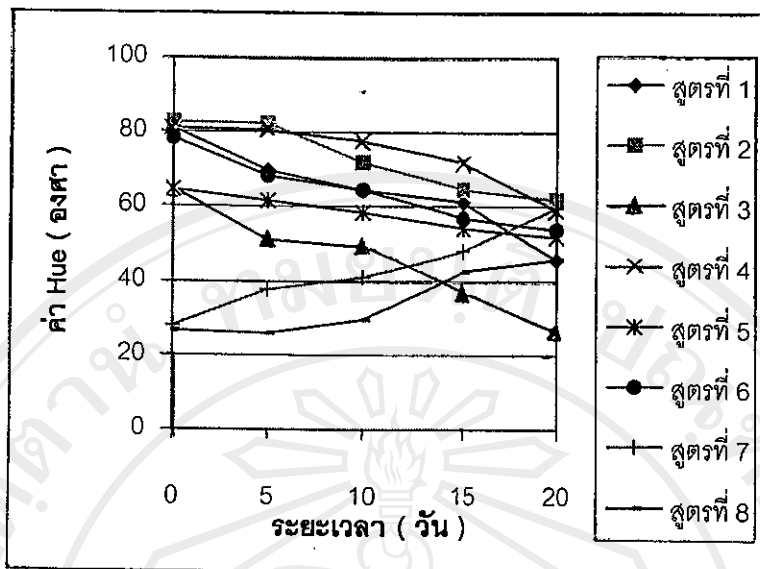
ตารางที่ 4.7.2.1 เปรียบเทียบค่า hue (องศา) โดยระบบ hunter lab ของอาหารเหลว เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

อาหารเหลว สูตรที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	80.92 ^f ±0.12	69.92 ^f ±0.05	64.33 ^f ±0.01	61.02 ^f ±0.01	45.61 ^b ±0.02
2	82.50 ^b ±0.09	82.15 ^b ±0.09	71.65 ^f ±0.09	64.42 ^b ±0.05	61.77 ^b ±0.12
3	64.18 ^c ±0.01	50.78 ^c ±0.01	49.44 ^f ±0.04	36.73 ^a ±0.04	26.14 ^a ±0.16
4	80.74 ^f ±0.01	80.46 ^b ±0.08	77.42 ^f ±0.04	71.61 ^b ±0.01	58.94 ^c ±0.01
5	64.47 ^d ±0.02	61.48 ^d ±0.20	58.32 ^d ±0.13	54.05 ^d ±0.11	51.73 ^c ±0.04
6	78.23 ^c ±0.19	68.48 ^c ±0.08	64.26 ^e ±0.24	56.73 ^c ±0.09	53.68 ^d ±0.14
7	27.92 ^b ±0.11	37.68 ^b ±0.12	40.95 ^b ±0.04	47.95 ^c ±0.14	59.48 ^f ±0.10
8	26.59 ^a ±0.07	25.96 ^a ±0.14	29.52 ^a ±0.08	42.59 ^b ±0.16	45.72 ^b ±0.03

หมายเหตุ :1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูล ในแนวตั้งที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

3) จากอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม



ภาพที่ 4.7.2.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า hue โดยระบบ hunter lab และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 และแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า hue โดยระบบ hunter lab และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม

จากตารางที่ 4.7.2.1 และภาพที่ 4.7.2.1 สีในระบบ hunter lab จะมีค่าสี a ซึ่งกำหนดให้ค่าสี a, บวกหมายถึงสีแดง, ลบหมายถึงสีเขียว มีค่าสี b ซึ่งกำหนดให้ค่าสี b, บวกหมายถึงสีเหลือง, ลบหมายถึงสีน้ำเงิน และจะได้ค่า hue angle เป็นตัวเลขที่ระบุว่าสีมีตำแหน่งที่ใดในกราฟในหน่วยองศา โดยที่ $h = \tan^{-1}(b/a)$ (h คือค่า hue มีค่าตั้งแต่ 0-360 องศา) ถ้า hue = 0-30 องศา (สีแดง-สีแดงส้ม), hue = 30-60 องศา (สีแดงส้ม-สีเหลืองส้ม) และ hue = 60-90 องศา (สีเหลืองส้ม-สีเหลือง) พบว่าในอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 ที่ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU จะมีค่า hue อยู่ในช่วง 64.18-80.92 องศา เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0 วัน สีของอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 จะเป็นสีออกไปทางสีเหลือง แต่เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลานานขึ้น สีของอาหารเหลวก็จะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองส้ม เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 20 วัน ซึ่งจะมีค่า hue อยู่ในช่วง 26.14-61.77 องศา (สีแดงส้ม-สีเหลืองส้ม) ยกเว้นอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งเป็นเชื้อที่สร้างสีเหลืองจึงให้ค่า hue แตกต่างจากอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 โดยสีของอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 จะเป็นสีออกไปทางสีแดงมีค่า hue อยู่ในช่วง 26.59-27.92 องศา แต่เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลานานขึ้น สีของอาหารเหลวก็จะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลือง เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 20 วัน ซึ่งจะมีค่า hue อยู่ในช่วง 45.72-59.48 องศา อาหารเหลวสูตรที่ให้ค่าสี hue ต่ำสุดจะเป็นสูตรอาหารให้ค่าสีแดงสูงสุด ในวันที่ 20 ของการเลี้ยงเชื้อ พบว่าในอาหารเหลวสูตรที่ 3 ที่เติมแลกโดส 45 กรัม/ลิตร

และโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร ให้ค่า hue ต่ำที่สุดเท่ากับ 26.14 องศา จึงเป็นสูตรอาหารที่ให้ค่าสีแดงสูงที่สุด อาหารเหลวสูตรที่ให้ค่าสีแดงรองลงมาคือ อาหารสูตรที่ 1 ที่เติมกลูโคส 20 กรัม/ลิตร และโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร ซึ่งจะให้ค่า hue เท่ากับ 45.61 องศา ค่า hue เป็นค่าสีที่ตาสามารถมองเห็นได้ แต่อาหารเหลวทั้งหมด 8 สูตรนั้นไม่สร้างรงควัตถุสีแดงเลย สีที่วัดได้นั้นเป็นเพียงสีของอาหารเท่านั้น โดยที่เริ่มต้นที่ 0 วันอาหารก็มีสีเหลืองหรือสีน้ำตาลของอาหารเองอยู่แล้ว งานวิจัยของ Jung *et al.* (2003) ศึกษาผลของการผลิตรงควัตถุโดยโมแนสคัสในอาหารเหลวที่เติมกรดอะมิโน 20 ชนิด พบว่าการเติมกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการเกิดอนุพันธ์ของรงควัตถุสีแดงทำให้รงควัตถุสีแดงจากโมแนสคัสมีเฉดสีแตกต่างกัน สีแดงที่ได้จะมีเฉดสีเข้มแดงไปจนถึงสีม่วงแดง

เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน ในอาหารเหลวทั้งหมด 8 สูตร โดยอาหารเหลวสูตรที่ 1- 8 จะให้ค่า hue โดยระบบ hunter lab ในวันแรกและวันสุดท้ายของการทดลองอยู่ในช่วง 80.92-45.61, 82.50-61.77, 64.18-26.14, 80.74-58.94, 64.47-51.73, 78.23-53.48, 17.92-59.48 และ 26.59-45.72 องศา ตามลำดับ

ตารางที่ 4.7.2.2 เปรียบเทียบค่า hue (องศา) โดยระบบ hunter lab ของอาหารแข็ง เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

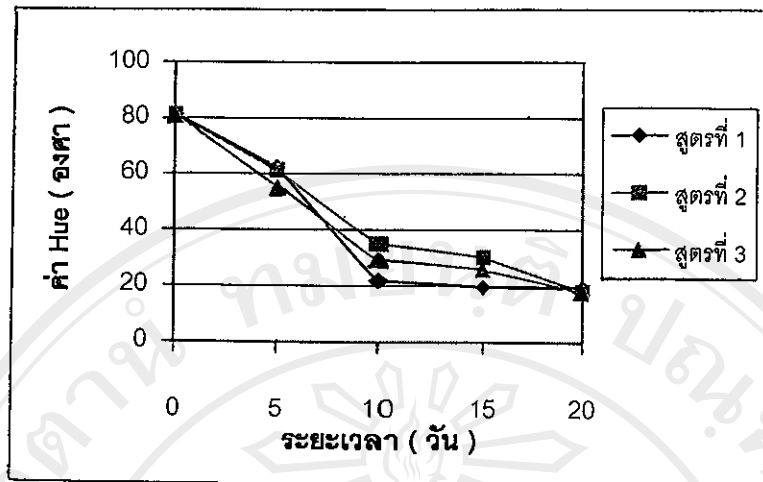
อาหารแข็ง สูตรที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	81.23 ^b ±0.02	62.31 ^c ±0.22	21.75 ^d ±0.14	19.37 ^e ±0.07	19.20 ^e ±0.00
2	81.13 ^b ±0.06	61.31 ^b ±0.01	35.00 ^c ±0.03	30.07 ^c ±0.03	17.91 ^b ±0.02
3	80.71 ^a ±0.12	55.15 ^a ±0.09	29.42 ^b ±0.07	25.74 ^b ±0.12	17.67 ^a ±0.11

หมายเหตุ :1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวดังที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่าง

ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

3) จากอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU



ภาพที่ 4.7.2.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า hue โดยระบบ hunter lab และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3

จากตารางที่ 4.7.2.2 และภาพที่ 4.7.2.2 ที่ในระบบ hunter lab จะมีค่าสี a ซึ่งกำหนดให้ค่าสี a , บวกหมายถึงสีแดง, ลบหมายถึงสีเขียว มีค่าสี b ซึ่งกำหนดให้ค่าสี b , บวกหมายถึงสีเหลือง, ลบหมายถึงสีน้ำเงิน และจะได้ค่า hue angle เป็นตัวเลขที่ระบุว่าสีมีตำแหน่งที่ใดในกราฟในหน่วยองศา โดยที่ $h = \tan^{-1}(b/a)$ (h คือค่า hue มีค่าตั้งแต่ 0-360 องศา) ถ้า hue = 0-30 องศา (สีแดง-สีแดงส้ม), hue = 30-60 องศา (สีแดงส้ม-สีเหลืองส้ม) และ hue = 60-90 องศา (สีเหลืองส้ม-สีเหลือง) พบว่าในอาหารแข็งทุกสูตร (อาหารแข็งสูตรที่ 1-3) จะมีลักษณะการเปลี่ยนแปลงค่า hue คล้ายๆกัน คือ ค่า hue จะลดลงต่ำกว่า 30 องศา และเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองในวันที่ 5 และจะให้ค่าสีแดงมากขึ้นไปเรื่อยๆจนถึงวันสุดท้ายของการทดลองคือวันที่ 20 เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 20 วันจะได้ว่าอาหารแข็งสูตรที่ให้ค่าสี hue ต่ำสุดจะเป็นสูตรอาหารให้ค่าสีแดงสูงสุด ดังนั้นสามารถเรียงสูตรอาหารแข็งที่ให้ค่าสีแดงสูงสุดไปหาสูตรอาหารแข็งที่ให้ค่าสีแดงต่ำสุดคือ สูตรอาหารแข็งสูตรที่ 3, 2 และ 1 โดยที่อาหารแข็งทั้งหมด 3 สูตรไม่เติมแหล่งคาร์บอน เพิ่มเติมนอกจากแหล่งคาร์บอนที่มีอยู่ในข้าวเดิมนั้น ในอาหารแข็งสูตรที่ 3 ไม่เติมแหล่งไนโตรเจนให้ค่าสี hue เท่ากับ 17.67 องศา อาหารแข็งสูตรที่ 2 เติมแหล่งไนโตรเจนคือฮิสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัมให้ค่าสี hue เท่ากับ 17.91 องศา และอาหารแข็งสูตรที่ 1 เติมแหล่งไนโตรเจนคือโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/กิโลกรัมให้ค่าสี hue เท่ากับ 19.20 องศา ซึ่งจะสรุปได้ว่าแหล่งไนโตรเจนที่เติมลงไปในการเลี้ยงเชื้อนั้นทำให้เกิดสีแดงได้น้อยกว่าสูตรอาหารแข็งที่ไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจนใดๆเลย หรือจะกล่าวได้ว่าอาหารแข็งที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจนใดๆเลยคือ อาหารแข็งสูตรที่ 3 ให้ค่าสีแดงสูงกว่าอาหารแข็งที่เติมแหล่งไนโตรเจนคือ อาหารสูตรที่ 2 และ 3 ซึ่งสอดคล้องกับการวัดค่าสีแดงโดยใช้วิธีสเปกโตร

โฟโตมิเตอร์ด้วยเช่นกัน จากรายงาน Dussa *et al.* (1998) พบว่ากรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับสร้างรงควัตถุสีแดง ในกระบวนการเมตาโบลิซึมครั้งที่ 2 ของเชื้อ *Monascus purpureus* เพราะปริมาณรงควัตถุสีแดงเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณกรดอะมิโนอิสระในข้าวลดลง

เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน ส่วนในอาหารแข็งทั้งหมด 3 สูตร โดยที่อาหารแข็งสูตรที่ 1-3 จะให้ค่า hue โดยระบบ hunter lab สูงสุดและต่ำสุดอยู่ในช่วง 81.23-19.20, 81.13-17.91 และ 80.71-17.67 องศา ตามลำดับ

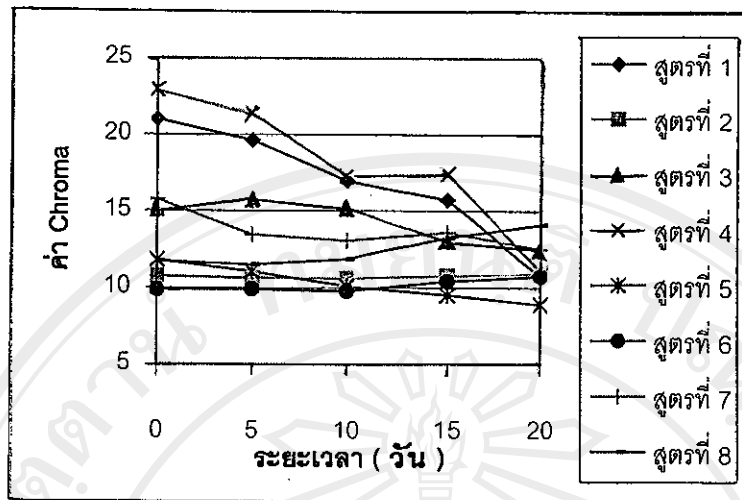
ตารางที่ 4.7.3.1 เปรียบเทียบค่าสี chroma โดยระบบ hunter lab ของอาหารเหลว เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

อาหารเหลว สูตรที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	20.97 ^e ±0.51	19.59 ^b ±0.47	16.94 ^e ±0.45	15.68 ^e ±0.40	10.70 ^b ±0.52
2	10.72 ^b ±0.15	10.62 ^b ±0.45	10.57 ^c ±0.37	10.73 ^c ±0.24	10.88 ^c ±0.44
3	15.08 ^c ±0.01	15.73 ^f ±0.80	15.08 ^f ±0.55	12.99 ^d ±0.23	12.35 ^e ±0.44
4	22.87 ^h ±1.61	21.36 ^h ±1.87	17.23 ^h ±0.04	17.33 ^h ±0.77	11.01 ^d ±0.14
5	11.77 ^d ±0.63	11.03 ^c ±0.57	10.08 ^b ±0.25	9.49 ^a ±0.87	8.88 ^a ±0.24
6	9.85 ^a ±0.07	9.89 ^a ±0.05	9.74 ^a ±0.02	10.38 ^b ±0.53	10.71 ^b ±0.39
7	15.72 ^f ±0.36	13.45 ^e ±0.73	13.05 ^e ±0.25	13.56 ^f ±0.55	12.51 ^f ±0.30
8	11.71 ^c ±0.75	11.48 ^d ±0.02	11.84 ^d ±0.70	13.23 ^c ±0.77	14.09 ^e ±0.02

หมายเหตุ :1) ค่าของข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวตั้งที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

3) จากอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม



ภาพที่ 4.7.3.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี chroma โดยระบบ hunter lab และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 และแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี chroma โดยระบบ hunter lab และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม

จากตารางที่ 4.7.3.1 และภาพที่ 4.7.3.1 1 ที่ในระบบ hunter lab จะมีค่าสี a ซึ่งกำหนดให้ค่าสี a, บวกหมายถึงสีแดง, ลบหมายถึงสีเขียว มีค่าสี b ซึ่งกำหนดให้ค่าสี b, บวกหมายถึงสีเหลือง, ลบหมายถึงสีน้ำเงิน โดยที่ $C = (a^2 + b^2)^{1/2}$ (C คือค่าสี chroma) สี chroma คือค่าความสดของสี โดยที่ค่าสี chroma ต่ำจะแสดงว่าความสดของสีจะลดลง พบว่าอาหารเหลวสูตรที่ 1 และ 6 มีค่าสี chroma ลดลงตลอดระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ อาหารเหลวสูตรที่ 2 มีค่าสี chroma ลดลงในวันที่ 0-10 และหลังจากนั้นมีค่าสี chroma เพิ่มขึ้นตลอดจนครบ 20 วัน อาหารเหลวสูตรที่ 3 มีค่าสี chroma เพิ่มขึ้น ในวันที่ 0-5 และหลังจากนั้นมีค่าสี chroma ลดลงระยะเวลาในการหมัก อาหารเหลวสูตรที่ 4 และ 7 มีค่าสี chroma เปลี่ยนแปลงคล้ายกันคือ 0-10 วันมีค่าสี chroma ลดลง ในวันที่ 10-15 ค่าสี chroma กลับเพิ่มขึ้น และในวันที่ 15-20 ค่าสี chroma ลดลง อาหารเหลวสูตรที่ 6 มีค่าสี chroma เพิ่มขึ้นตลอด แต่จะมีค่าสี chroma ลดลงในวันที่ 10 หลังจากนั้นค่าสี chroma ก็จะเพิ่มขึ้น ในวันที่ 20 ของเลี้ยงเชื้อ อาหารเหลวสูตรที่ 8 เดิมกลูโคส 45 กรัม/ลิตรและฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตรมีค่าสี chroma สูงที่สุดแสดงว่ามีความสดของสีมากที่สุด โดยมีค่าสี chroma เท่ากับ 14.09 รองลงมาคืออาหารเหลวสูตรที่ 7 เดิมกลูโคส 45 กรัม/ลิตรและโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตรมีค่าสี chroma เท่ากับ 12.51 งานวิจัยของ Jung *et al.* (2003) ศึกษาผลของการผลิตรงควัตถุโดยโมแนสคัสในอาหารเหลวที่เติมกรดอะมิโน 20 ชนิด พบว่าการเติมกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการเกิดอนุพันธ์ของรงควัตถุสีแดงทำให้รงควัตถุสีแดงจากโมแนสคัสมีเฉดสีแตกต่างกัน

เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน ในอาหารเหลวทั้งหมด 8 สูตร โดยอาหารเหลวสูตรที่ 1- 8 จะให้ค่าสี chroma โดยระบบ hunter lab ในวันแรกและวันสุดท้ายของการทดลองอยู่ในช่วง 20.97-10.70, 10.72-10.88, 15.08-12.35, 22.87-11.01, 11.77-8.88, 9.85-10.71, 15.72-12.51 และ 11.71-14.09 ตามลำดับ

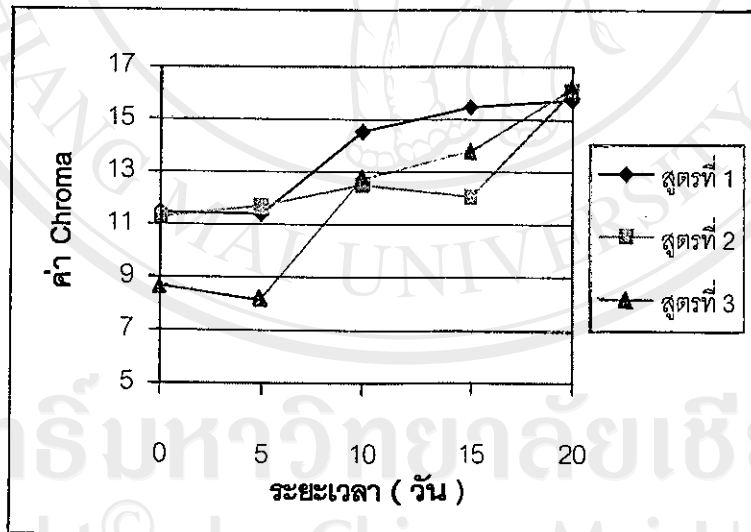
ตารางที่ 4.7.3.2 เปรียบเทียบค่าสี chroma โดยระบบ hunter lab ของอาหารแข็ง เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

อาหารแข็ง สูตรที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	11.45 ^c ±0.16	11.40 ^b ±0.58	14.53 ^c ±0.49	15.47 ^c ±0.45	15.74 ^a ±1.27
2	11.28 ^b ±0.01	11.69 ^c ±0.15	12.51 ^a ±1.16	12.03 ^a ±0.28	16.07 ^b ±0.50
3	8.65 ^a ±0.50	8.14 ^a ±0.39	12.79 ^b ±0.36	13.78 ^b ±0.41	16.17 ^c ±0.34

หมายเหตุ :1) ค่าของข้อมูลแสดงใน ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลในแนวตั้งที่แตกต่างกัน แสดงว่าเป็นค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

3) จากอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU



ภาพที่ 4.7.3.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี chroma โดยระบบ hunter lab และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3

จากตารางที่ 4.7.3.2 และภาพที่ 4.7.3.2 สีในระบบ hunter lab จะมีค่าสี a ซึ่งกำหนดให้ค่าสี a , บวกหมายถึงสีแดง, ลบหมายถึงสีเขียว มีค่าสี b ซึ่งกำหนดให้ค่าสี b , บวกหมายถึงสีเหลือง,

ลบหมายถึงสีน้ำเงิน โดยที่ $C = (a^2 + b^2)^{1/2}$ (C คือค่าสี chroma) ค่าสี chroma คือค่าความสดของสี โดยที่ค่าสี chroma ต่ำจะแสดงว่าความสดของสีจะลดลง พบว่าอาหารแข็งสูตรที่ 1 ที่เติม โมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/กิโลกรัม และอาหารแข็งสูตรที่ 3 ที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจนจะให้ ลักษณะเส้นกราฟคล้ายกันเพียงแต่อาหารแข็งสูตรที่ 1 จะมีค่าสี chroma สูงกว่าอาหารแข็งสูตรที่ 3 หรืออาหารแข็งสูตรที่ 1 มีค่าความสดของสีมากกว่าอาหารแข็งสูตรที่ 3 โดยมีการเปลี่ยนแปลงดังนี้ คือ 0-5 วันในการเลี้ยงเชื้อจะมีค่าสี chroma ลดลงแสดงว่าสีมีความสดลดลง พอในวันที่ 5-20 ของ การเลี้ยงเชื้อจะมีค่าสี chroma เพิ่มขึ้นแสดงว่าสีมีความสดเพิ่มขึ้น สำหรับอาหารแข็งสูตรที่ 2 เติม ฮิสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัม จะมีค่าสี chroma ลดลงในวันที่ 0-10 พอในวันที่ 10-15 จะมีค่าสี chroma ลดลงอีก และในวันที่ 15-20 จะมีค่าสี chroma เพิ่มขึ้น จากรายงาน Dussa *et al.* (1998) พบ ว่ากรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับสร้างรงควัตถุสีแดง ในกระบวนการเมตาโบลิซึมครั้งที่ 2 ของเชื้อ *Monascus purpureus* เพราะปริมาณรงควัตถุสีแดงเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณกรดอะมิโนอิสระ ในข้าวลดลง

เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน ส่วนในอาหารแข็งทั้งหมด 3 สูตร โดยที่อาหารแข็ง สูตรที่ 1-3 จะให้ค่าสี chroma โดยระบบ hunter lab สูงสุดและต่ำสุดอยู่ในช่วง 15.74-11.40, 16.07-11.28 และ 18.17-8.14 ตามลำดับ

4.8 ผลการตรวจสอบสารโมนาโคลิน เค (Monacolins K) ด้วยเครื่อง HPLC ของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละ สูตร เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

ผลที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 และในอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 ที่ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม โดยจะนำมาวิเคราะห์แยกเป็นอาหารเหลวและอาหารแข็ง ซึ่ง ในแต่ละสูตรอาหารมีการเติมกลูโคสและ/หรือแลคโตสและโมโนโซเดียมกลูตาเมตหรือฮิสติดีน แตกต่างกันในอาหารทุกสูตรเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน แล้วจึงนำมาวิเคราะห์ สารโมนาโคลิน เค ด้วยเครื่อง HPLC ได้ผลดังตารางที่ 4.8.1 และ 4.8.2

ตารางที่ 4.8.1 เปรียบเทียบผลของสารโมนาโคลิน เค ด้วยเครื่อง HPLC ของอาหารเหลว เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ

Monascus purpureus FTCMU และ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

อาหารเหลว สูตรที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	-	-	?	?	?
2	?	?	<0.01 มก./มล., ?	?	?
3	?	-	?	?	?
4	-	?	?	?	-
5	?	-	-	-	?
6	-	?	?	<0.01 มก./มล., ?	?
7	-	-	-	-	-
8	-	<0.01 มก./มล.	<0.01 มก./มล.	?	?

หมายเหตุ : 1) <0.01 มก./มล. หมายถึง พบโมนาโคลิน เค ในจำนวนที่น้อยกว่า 0.01 มก./มล.

2) เครื่องหมาย ? แสดงว่าน่าจะพบว่าเป็นสารอนุพันธ์ของโมนาโคลิน เค

3) เครื่องหมาย - แสดงว่าไม่พบทั้งสารอนุพันธ์และสารโมนาโคลิน เค

4) <0.01 มก./มล., ? หมายถึง พบทั้งโมนาโคลิน เค ในจำนวนที่น้อยกว่า 0.01 มก./มล. และพบสารที่น่าจะเป็นสารอนุพันธ์ของโมนาโคลิน เค

5) จากอาหารเหลวสูตรที่ 1- 6 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม

จากตารางที่ 4.8.1 การวิเคราะห์โมนาโคลิน เค ด้วยเครื่อง HPLC และใช้เมทานอลเป็นตัวสกัดนั้น จะได้สารโมนาโคลิน เค ออกมา 3 รูปคือ acid, lactone และ methyl ester ซึ่งสารทั้ง 3 รูปนี้จะมี retention time ที่แตกต่างกันโดยจะเรียงจากสารที่ใช้ retention time ต่ำสุดไปหาสารที่ใช้ retention time มากสุดคือ สารโมนาโคลิน เค ออกมาในรูป acid, lactone และ methyl ester ตามลำดับ (Friedrich *et al.*, 1995) สำหรับการทดลองในครั้งนี้มีสารมาตรฐานที่สามารถตรวจวัดโมนาโคลิน เค ในรูป lactone เท่านั้นจึงรายงานเฉพาะพบหรือไม่พบโมนาโคลิน เค เท่านั้น และไม่คำนวณหาปริมาณที่ตรวจพบสารโมนาโคลิน เค เพราะพบว่าโมนาโคลิน เค ที่ตรวจพบได้นั้นมีในปริมาณที่น้อยมาก อาจจะเป็นเพราะว่าเซลล์ที่เจริญในอาหารเหลวแต่ละสูตรนั้นยังคงมีจำนวนมวลชีวภาพที่น้อยอยู่สำหรับที่จะสร้างโมนาโคลิน เค ให้ได้ในปริมาณที่หลายๆ ได้ แต่ก็ยังมีพิกที่น่าสนใจที่ใช้ retention time นานกว่าสารโมนาโคลิน เค ที่ออกมาในรูป จึงสันนิษฐานว่าอาจจะเป็นสารโมนาโคลิน เค ที่ออกมาในรูป methyl ester (ในที่นี้จะเรียกว่าเป็นอนุพันธ์ของโมนาโคลิน เค) จากรายงานของ Friedrich *et al.* (1995) เมื่อเก็บสารมาตรฐานไว้นานมีผลต่อพิก เช่น พิกรูป lactone

ลดความสูงลง แต่พีคของรูป methyl ester สูงขึ้น เป็นต้น และ Xu *et al.* (2002) ได้ทำการศึกษาเชื้อราสายพันธุ์ *Monascus* sp. XFP-1 เพื่อเลือกผลิตภัณฑ์ที่มีสีแดงและสารโมนาโคลิน เค มาก วิเคราะห์สารโมนาโคลิน เค โดยเครื่อง HPLC สารประกอบที่ได้นี้ ภายหลัง 144 ชั่วโมงจะเปลี่ยนเป็นสารประกอบอื่นๆ ในการทดลองครั้งนี้พบว่า ในบางครั้งจะพบสารโมนาโคลิน เค ที่ออกมาในรูป lactone อย่างเดียว หรือ พบในรูปที่น่าจะเป็น methyl ester หรือพบทั้ง 2 รูปพร้อมกัน (ภาพที่ 4.8.1 และ 4.8.2) แต่จะเลือกว่าสูตรอาหารเหลวสูตรใดที่พบสารโมนาโคลิน เค มากที่สุดนั้นจะใช้สารโมนาโคลิน เค ที่ออกมาในรูป lactone เท่านั้นเป็นตัวตัดสินใจเพราะมีสารมาตรฐาน จากการทดลองนี้พบว่า อาหารเหลวสูตรที่ 1, 3, 4, 5 และ 7 เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน ไม่พบสารโมนาโคลิน เค ในอาหารเหลวสูตรที่ 2 พบสารโมนาโคลิน เค ในวันที่ 10 ในอาหารเหลวสูตรที่ 6 พบสารโมนาโคลิน เค ในวันที่ 15 ในอาหารเหลวสูตรที่ 8 พบสารโมนาโคลิน เค ในวันที่ 10 ฉะนั้นในอาหารเหลวสูตรอาหารที่พบสารโมนาโคลิน เค มากที่สุดคืออาหารเหลวสูตรที่ 8 ในอาหารเหลวสูตรอาหารที่พบสารโมนาโคลิน เค จำนวนน้อยรองลงมาคือ อาหารเหลวสูตรที่ 2 และ 6 ส่วนอาหารเหลวที่ไม่ได้กล่าวถึงนั้นไม่พบสารโมนาโคลิน เค

พบว่าสูตรอาหารเหลวที่สามารถตรวจพบสารโมนาโคลิน เค ได้นั้นมีแหล่งไนโตรเจนที่เหมือนกันคือฮิสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัม โดยอาหารเหลวสูตรที่ 2 เดิมกลูโคส 20 กรัม/ลิตรและฮิสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัม อาหารเหลวสูตรที่ 6 เดิมกลูโคสและแลคโตสอย่างละ 20 กรัม/ลิตรและฮิสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัม และอาหารเหลวสูตรที่ 8 เดิมกลูโคส 45 กรัม/ลิตรและฮิสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัม การตรวจพบสารโมนาโคลิน เค ในอาหารเหลวสูตรที่ 2, 6 และ 8 นั้น เป็นเพราะว่าอาหารสูตรที่ 2 และ 6 (ดังภาพที่ 4.8.3 และ 4.8.4) จะพบว่าฟีกที่พบเป็นฟีกที่ติดๆกันหลายๆฟีกต่อกันไปเรื่อยๆจนครบ 15 นาที ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่ารงควัตถุสีแดง และสารโมนาโคลิน เค เกิดจากสารเริ่มต้นที่เหมือนกันคืออะซิเตด และมาโลเนด ในระยะแรกมีการเปลี่ยนแปลงใน path way ทางเดียวกัน แต่พอระยะหลังสารเริ่มต้นที่เหมือนกันนี้จะต้องเปลี่ยนเป็นรงควัตถุสีแดง หรือสารโมนาโคลิน เค นั้นกลับมีการเปลี่ยนแปลงใน path way ที่แยกทางกันไป ส่วนอาหารเหลวสูตรที่ 8 (ดังภาพที่ 4.8.6) นั้นใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งต่างจากอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 ที่ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU โดยที่อาหารเหลวสูตรที่ 8 ไม่เกิดสีแดงก็จริงแต่เชื้อสร้างสีเหลือง (Khan *et al.*, 2000) และตรวจพบโมนาโคลิน เค ได้ สำหรับอาหารเหลวสูตรที่ 7 (ภาพที่ 4.8.5) ใช้เชื้อเหมือนอาหารเหลวสูตรที่ 8 แต่ต่างกันตรงที่ใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร เกิดสีเหลืองเหมือนอาหารเหลวสูตรที่ 8 แต่ไม่พบโมนาโคลิน เค อาจจะเป็นเพราะว่าเกิดโมนาโคลิน เค ในปริมาณที่น้อยมากๆจนเครื่อง HPLC ไม่

สามารถตรวจสอบได้ ดังภาพที่ 4.8.5 เมื่อเทียบอัตราส่วนกับพีคอื่นๆในภาพแล้ว พีคของโมนาโคลิน เค ถือว่าเป็นพีคที่น้อยมาก ๆ จึงถือได้ว่าไม่เกิดโมนาโคลิน เค

การทดลองนี้ที่เลือกเติมแหล่งไนโตรเจนคือ โมโนโซเดียมกลูตาเมต หรือฮิสติดีน ที่ความเข้มข้น 12.5 กรัม/ลิตร เพราะได้ดัดแปลงสูตรอาหารมาจาก Hajjaj *et al.* (2001) ซึ่งศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่มีต่อการสร้างโมนาโคลิน เค ในอาหารเหลวสังเคราะห์ ได้เติมแหล่งไนโตรเจนทั้งสารอินทรีย์ (กลูตาเมต, ฮิสติดีน, ไกลซีน, อาจีนีน และไอโซลูซีน) และสารอนินทรีย์ (แอมโมเนียมคาร์เตรท, แอมโมเนียมอะซิเตท, โซเดียมไนเตรท หรือยูเรีย) และใช้กลูโคส 45 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าอาหารที่เติมแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์จะช่วยเพิ่มมวลชีวภาพเท่านั้น แต่สร้างโมนาโคลิน เค น้อย ส่วนแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ พบว่าโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร และฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตร ให้โมนาโคลิน เค เท่ากับ 47 และ 46 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ฉะนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกใช้แหล่งไนโตรเจนคือ โมโนโซเดียมกลูตาเมตหรือ ฮิสติดีน ที่ความเข้มข้น 12.5 กรัม/ลิตร เพื่อที่จะให้ได้โมนาโคลิน เค มากๆ

ตารางที่ 4.8.2 เปรียบเทียบผลของสารโมนาโคลิน เค ด้วยเครื่อง HPLC ของอาหารแข็ง เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน

อาหารแข็ง สูตรที่	ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ (วัน)				
	0	5	10	15	20
1	-	-	?	-	<0.01 มก./มล.
2	-	?	<0.01 มก./มล., ?	<0.01 มก./มล., ?	<0.01 มก./มล., ?
3	-	-	?	<0.01 มก./มล., ?	<0.01 มก./มล., ?

หมายเหตุ : 1) <0.01 มก./มล. หมายถึง พบโมนาโคลิน เค ในจำนวนที่น้อยกว่า 0.01 มก./มล.

- 2) เครื่องหมาย ? แสดงว่าน่าจะพบว่าเป็นสารอนุพันธ์ของโมนาโคลิน เค
- 3) เครื่องหมาย - แสดงว่าไม่พบทั้งสารอนุพันธ์ และ สารโมนาโคลิน เค
- 4) <0.01 มก./มล., ? หมายถึง พบทั้งโมนาโคลิน เค ในจำนวนที่น้อยกว่า 0.01 มก./มล. และพบสารที่น่าจะเป็นสารอนุพันธ์ของโมนาโคลิน เค
- 5) จากอาหารแข็งสูตรที่ 1-3 ใช้เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU

จากตารางที่ 4.8.2 การวิเคราะห์โมนาโคลิน เค ด้วยเครื่อง HPLC และใช้เมทานอลเป็นตัวสกัดนั้น จะได้สารโมนาโคลิน เค ออกมา 3 รูปคือ acid, lactone และ methyl ester ซึ่งสารทั้ง 3 รูปนี้จะมี retention time ที่แตกต่างกันโดยจะเรียงจากสารที่ใช้ retention time ต่ำสุดไปหาสารที่ใช้ retention time มากสุดคือ สารโมนาโคลิน เค ออกมาในรูป acid, lactone และ methyl ester ตามลำดับ (Friedrich *et al.*, 1995) สำหรับการทดลองในครั้งนี้มีสารมาตรฐานที่สามารถตรวจวัด

โมนาโคลิน เค ในรูป lactone เท่านั้นจึงรายงานเฉพาะพบหรือไม่พบโมนาโคลิน เค เท่านั้น และไม่คำนวณหาปริมาณที่ตรวจพบสารโมนาโคลิน เค เพราะพบว่าโมนาโคลิน เค ที่ตรวจพบได้นั้นมีในปริมาณที่น้อยมาก อาจจะเป็นเพราะว่าเซลล์ที่เจริญในอาหารแข็งแต่ละสูตรนั้นยังคงมีจำนวนมวลชีวภาพที่น้อยอยู่สำหรับที่จะสร้างโมนาโคลิน เค ให้ได้ในปริมาณที่มากๆ ได้ แต่ก็มีพิกที่น่าสนใจที่ใช้ retention time นานกว่าสารโมนาโคลิน เค ที่ออกมาในรูป lactone จึงสันนิษฐานว่าอาจจะเป็นสารโมนาโคลิน เค ที่ออกมาในรูป methyl ester (ในที่นี้จะเรียกว่าเป็นอนุพันธ์ของโมนาโคลิน เค) จากรายงานของ Friedrich *et al.* (1995) เมื่อเก็บสารมาตรฐานไว้นานมีผลต่อพิก เช่น พิกของรูป lactone ลดความสูงลง แต่พิกรูป methyl ester สูงขึ้น เป็นต้น และ Xu *et al.* (2002) ได้ทำการศึกษาเชื้อราสายพันธุ์ *Monascus* sp. XFP-1 เพื่อเลือกผลิตภัณฑ์ที่มีสีแดงและสารโมนาโคลิน เค มาก วิเคราะห์สารโมนาโคลิน เค โดยเครื่อง HPLC สารประกอบที่ได้นี้เมื่อภายหลัง 144 ชั่วโมงจะเปลี่ยนเป็นสารประกอบอื่นๆ ในการทดลองครั้งนี้พบว่า ในบางครั้งจะพบสารโมนาโคลิน เค ที่ออกมาในรูป lactone อย่างเดียว หรือ พบในรูปที่น่าจะเป็น methyl ester หรือพบทั้ง 2 รูปพร้อมกัน (ภาพที่ 4.8.1 และ 4.8.2) แต่จะเลือกสูตรอาหารแข็ง สูตรใดที่พบสารโมนาโคลิน เค มากที่สุดนั้น จะใช้สารโมนาโคลิน เค ที่ออกมาในรูป lactone เท่านั้นเป็นตัวตัดสินใจเพราะมีสารมาตรฐานจากการทดลองนี้พบว่าอาหารแข็งทั้งหมด 3 สูตรจะพบโมนาโคลิน เค ได้ เมื่อเลี้ยงเชื้อไปนานประมาณ 10-20 วัน โดยที่อาหารแข็งสูตรที่ 1 (ภาพที่ 4.8.7) เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 20 วัน จึงพบสารโมนาโคลิน เค ในอาหารแข็งสูตรที่ 2 (ภาพที่ 4.8.8) เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 10, 15 และ 20 วัน จึงพบสารโมนาโคลิน เค ในอาหารแข็งสูตรที่ 3 (ภาพที่ 4.8.9) เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 15 และ 20 วัน จึงพบสารโมนาโคลิน เค ฉะนั้นในอาหารแข็งสูตรอาหารที่พบสารโมนาโคลิน เค มากที่สุดไปน้อยที่สุดคือ อาหารแข็งสูตรที่ 2, 3 และ 1 พบว่าสูตรอาหารแข็งที่สามารถตรวจพบสารโมนาโคลิน เค ได้มากที่สุดนั้นคืออาหารแข็งสูตรที่ 2 ซึ่งมีแหล่งไนโตรเจนคือฮิสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัม

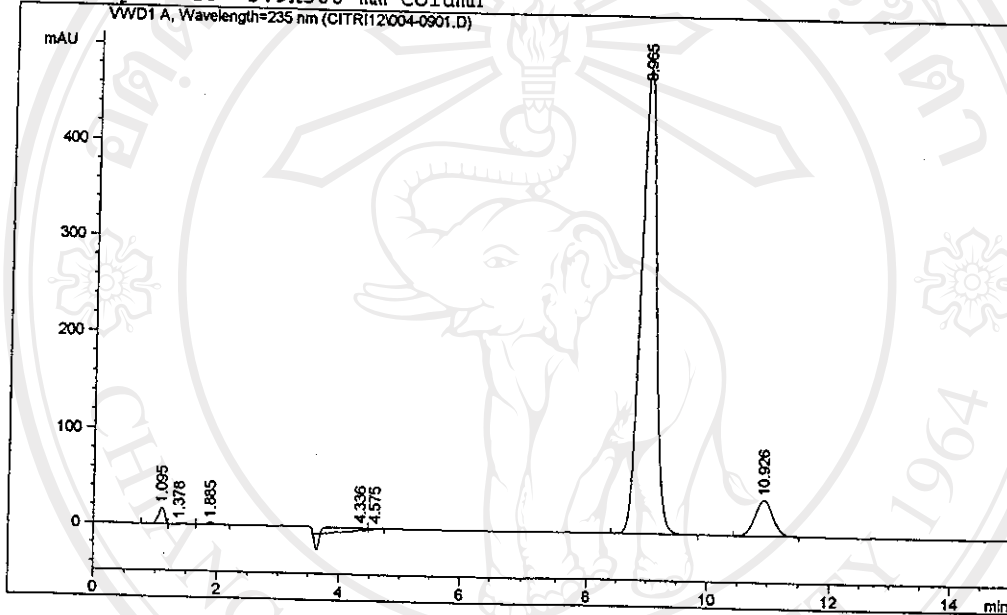
ในการทดลองในบ้างสูตรอาหารเกิดพิกขึ้นมาแต่ไม่สามารถคำนวณกลับได้ เพราะสารโมนาโคลิน เค ที่พบให้พื้นที่ได้กราฟน้อยมากเมื่อเทียบกับพื้นที่ได้กราฟของสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นน้อยที่สุด เช่น ภาพที่ 4.8.7 เป็นภาพของอาหารแข็งสูตรที่ 1 เดิม โมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/กิโลกรัม ซ้ำที่ 1 เมื่อเลี้ยงเชื้อ 20 วัน เกิดพิกของโมนาโคลิน เค ที่ เวลา 8.803 นาที มีพื้นที่ได้กราฟ 71.54442 แต่ถ้ากลับไปดูพื้นที่ได้กราฟของสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นน้อยที่สุดคือ โมนาโคลิน เค มาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จะมีพื้นที่ได้กราฟซ้ำที่ 1 เท่ากับ 384.11 แต่พิกที่เราพบมีพื้นที่ได้กราฟเท่ากับ 71.54442 จึงไม่สามารถบอกปริมาณของสาร

โมนาโคลิน เค ที่พบได้ หรือถ้าจะบอกก็บอกได้ว่าพบโมนาโคลิน เค น้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นต้น

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\CITRI12\004-0901.D Sample Name: mevinolin-0.25

```

=====
Injection Date : 8/19/02 2:35:45 PM          Seq. Line : 9
Sample Name    : mevinolin-0.25              Vial : 4
Acq. Operator  : Nuntayaporn                 Inj : 1
                                           Inj Volume : 15 ul
Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\CITRININ.M
Last changed   : 8/19/02 10:09:37 AM by Nuntayaporn
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\STD1.M\STD2.M
Last changed   : 5/26/03 1:25:21 PM by Paveena
u Bondapak C18 3.9x300 mm Column
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=235 nm
Results obtained with standard integrator!

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	1.095	BV	0.1111	123.98479	17.40170	1.2841
2	1.378	PB	0.1965	14.28132	1.00919	0.1479
3	1.885	BB	0.1186	21.06858	2.53286	0.2182
4	4.336	BV	0.5870	146.02522	3.11613	1.5124
5	4.575	VB	0.1786	17.74735	1.46471	0.1838
6	8.965	BV	0.2729	8529.28027	486.12863	88.3359
7	10.926	BV	0.3222	803.12561	38.76907	8.3178

Totals : 9655.51316 550.42229

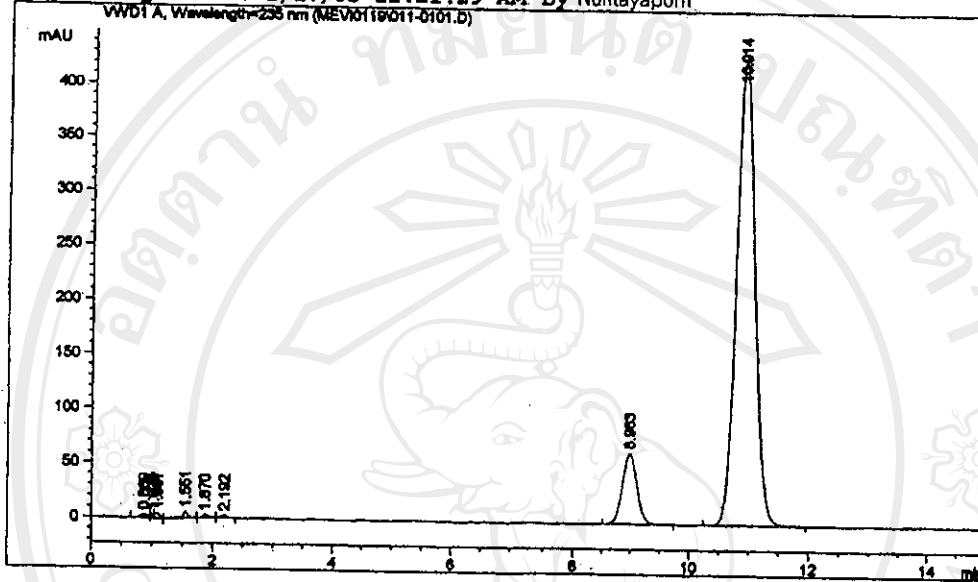
ภาพที่ 4.8.1 ผลกราฟของสารโมนาโคลิน เค มาตรฐาน ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ด้วยเครื่อง HPLC ที่คของสารโมนาโคลิน เค มาตรฐาน คือพีคที่เวลา 8.695 นาที

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\MEVI0119\011-0101.D

Sample Name: mevinolin

```

-----
Injection Date : 1/17/03 2:14:19 PM           Seq. Line : 1
Sample Name    : mevinolin                     Vial       : 11
Acq. Operator  : Nuntayaporn                   Inj        : 1
                                                    Inj Volume : 15 µl
Sequence File  : C:\HPCHEM\1\SEQUENCE\MEVI0119.S
Method         : C:\HPCHEM\1\METHODS\ISOCITRI.M
Last changed   : 1/17/03 11:21:29 AM by Nuntayaporn
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution       : 1.0000
    
```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=235 nm
 Results obtained with standard integrator!

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU	Height [mAU]	Area %
1	0.869	BV	0.1242	30.89031	3.46602	0.2986
2	1.029	VV	0.0457	11.93985	3.79483	0.1154
3	1.087	VV	0.0717	28.45117	5.50785	0.2750
4	1.551	PB	0.1106	49.77346	6.17655	0.4811
5	1.870	BV	0.0997	18.55095	2.75554	0.1793
6	2.192	VB	0.0986	16.47243	2.45523	0.1592
7	8.983	BB	0.2697	1123.35547	64.60114	10.8572
8	10.914	BB	0.3302	9067.17285	428.27646	87.6343
Totals :				1.03466e4	517.03362	

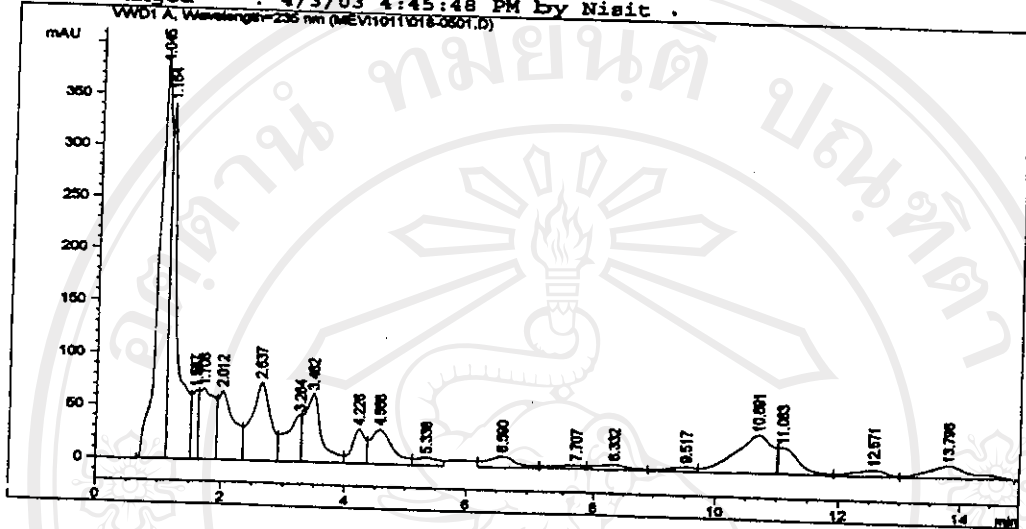
ภาพที่ 4.8.2 ผลกราฟของสาร โมนาโคลิน เค มาตรฐานด้วยเครื่อง HPLC พิกของสารโมนาโคลิน เค มาตรฐาน คือพีคที่เวลา 8.983 นาที เมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลาานประมาณ 3 สัปดาห์

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\MEV1011\018-0501.D

Sample Name: t2/2-10

```

-----
Injection Date : 3/23/03 11:00:32 AM      Seq. Line : 5
Sample Name    : t2/2-10                  Vial      : 18
Acq. Operator  : Nuntayaporn              Inj       : 1
                                           Inj Volume: 50 ul
Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\ISOCITRI.M
Last changed   : 3/23/03 9:49:00 AM by Nuntayaporn
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ISOCITRI.M
Last changed   : 4/3/03 4:45:48 PM by Nisit .
-----
    
```



Area Percent Report

```

-----
Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=235 nm
 Results obtained with standard integrator!

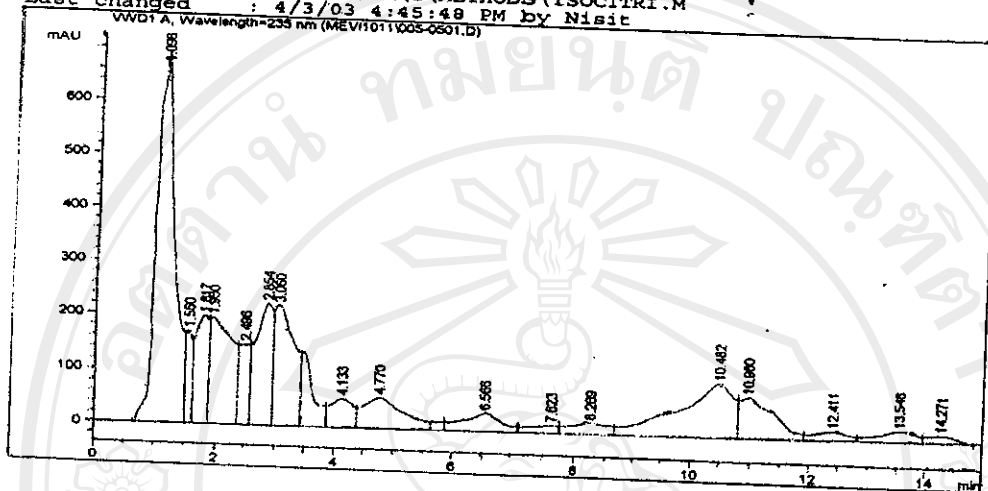
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU	Height [mAU]	Area %
1	1.045	BV	0.1450	4311.83789	394.43552	22.7717
2	1.164	VV	0.1236	3120.42383	341.47708	16.4796
3	1.587	VV	0.0962	453.07629	65.32014	2.3928
4	1.708	VV	0.2109	1085.85388	67.27225	5.7346
5	2.012	VV	0.2440	1168.73755	65.37691	6.1723
6	2.637	VV	0.2910	1587.03394	74.48544	8.3814
7	3.264	VV	0.2390	762.53528	43.98761	4.0271
8	3.482	VV	0.2636	1215.69153	64.79553	6.4203
9	4.226	VV	0.2195	478.19238	32.15629	2.5254
10	4.568	VV	0.3729	817.17786	32.23618	4.3157
11	5.338	VV	0.3900	200.14546	7.27576	1.0570
12	6.590	VV	0.5005	363.58990	10.43904	1.9202
13	7.707	VV	0.6074	118.62424	3.25504	0.6265
14	8.332	VV	0.5912	193.87375	4.58000	1.0239
15	9.517	VV	0.4637	143.41302	4.35590	0.7574
16	10.691	VV	0.5874	1534.97632	35.78770	8.1065
17	11.083	VV	0.3841	567.93152	24.64437	2.9994
18	12.571	VV	0.5344	220.20351	5.91184	1.1629
19	13.796	VEA	0.7231	591.77869	11.31507	3.1253
Totals :				1.89351e4	1289.10766	

ภาพที่ 4.8.3 ผลวิเคราะห์ของสารโมนาโคลิน เค ด้วยเครื่อง HPLC จากเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารเหลวสูตรที่ 2 ซ้ำที่ 2 ที่ใช้กลูโคส 20 กรัม/ลิตร และฮีสติดีน 12.5 กรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 10 วัน พิกของสารโมนาโคลิน เค คือพิกที่เวลา 8.332 นาที

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\MEVI1011\005-0501.D

Sample Name: t6/1-15

 Injection Date : 3/22/03 11:31:06 AM Seq. Line : 5
 Sample Name : t6/1-15 Vial : 5
 Acq. Operator : Nuntayaporn Inj : 1
 Inj Volume : 100 ul
 Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ISOCITRI.M
 Last changed : 3/22/03 10:16:08 AM by Nuntayaporn
 Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ISOCITRI.M
 Last changed : 4/3/03 4:45:48 PM by Nisit



 Area Percent Report

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=235 nm
 Results obtained with standard integrator!

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU	%s	Height [mAU]	Area %
1	1.098	BV	0.2770	1.44870e4		693.48236	27.2627
2	1.560	VV	0.0985	1190.91809		169.64201	2.2412
3	1.817	VV	0.2102	2854.03760		197.49156	5.3709
4	1.950	VV	0.3238	4996.16895		195.01842	9.4022
5	2.496	VV	0.1926	1900.76636		147.25436	3.5770
6	2.854	VV	0.2697	4254.11621		223.12979	8.0057
7	3.060	VV	0.3054	5018.24805		219.36237	9.4437
8	4.133	VV	0.4062	1432.87878		52.27609	2.6965
9	4.770	VV	0.6741	2750.76514		56.27587	5.1766
10	6.566	VV	0.6435	1525.74060		32.77103	2.8713
11	7.623	VV	0.5575	450.33566		13.46231	0.8475
12	8.269	VV	0.6279	895.60010		19.16842	1.6854
13	10.482	VV	0.8587	6410.53613		98.46500	12.0638
14	10.980	VV	0.5353	2961.47290		74.32674	5.5731
15	12.411	VV	0.5535	638.34399		16.21370	1.2013
16	13.548	VV	0.6659	908.40210		19.27734	1.7095
17	14.271	VV	0.5271	463.14166		13.20344	0.8716
Totals :				5.31384e4		2240.82082	

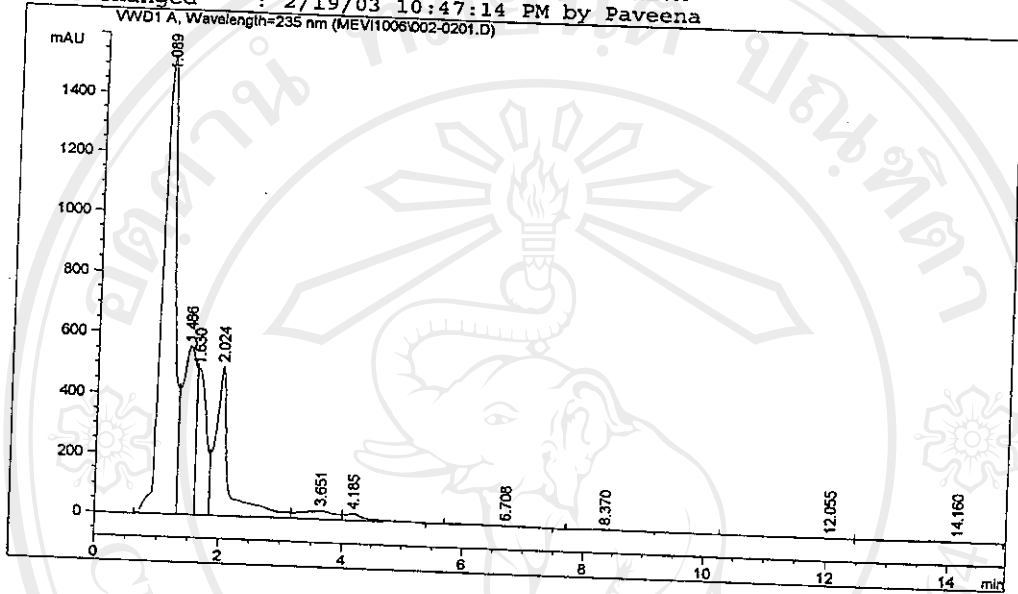
ภาพที่ 4.8.4 ผลวิเคราะห์ของสารโมนาโคลิน เค ด้วยเครื่อง HPLC จากเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารเหลวสูตรที่ 6 ซ้ำที่ 1 ที่ใช้กลูโคสและแลคโตสอย่างละ 20 กรัม/ลิตร และ ยีสต์ 12.5 กรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 15 วัน พีคของสารโมนาโคลิน เค คือพีคที่เวลา 8.269 นาที

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\MEVI1006\002-0201.D

Sample Name: t7/2-10

```

=====
Injection Date : 2/14/03 1:28:45 AM
Sample Name    : t7/2-10
Acq. Operator  : Nuntayaporn
Seq. Line     : 2
Vial          : 2
Inj           : 1
Inj Volume    : 100 ul
Acq. Method   : C:\HPCHEM\1\METHODS\ISOCITRI.M
Last changed  : 2/14/03 1:10:06 AM by Nuntayaporn
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\FLAVONE.M
Last changed  : 2/19/03 10:47:14 PM by Paveena
=====
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
    
```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=235 nm
 Results obtained with standard integrator!

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU	Area *s	Height [mAU]	Area %
1	1.089	PV	0.2109	2.22405e4		1525.14185	48.5099
2	1.486	VV	0.2132	8436.59375		559.09747	18.4015
3	1.630	VV	0.1710	5004.81641		487.69681	10.9162
4	2.024	VV	0.2126	7843.58691		495.92435	17.1080
5	3.651	VV	0.5085	1118.10852		28.65040	2.4388
6	4.185	VB	0.3658	577.17310		21.55472	1.2589
7	6.708	BB	0.6754	133.40169		2.57136	0.2910
8	8.370	BB	0.5368	81.30511		2.09279	0.1773
9	12.055	BV	0.8116	110.19609		1.84454	0.2404
10	14.160	VBA	0.9823	301.70340		4.23498	0.6581

Totals : 4.58474e4 3128.80926

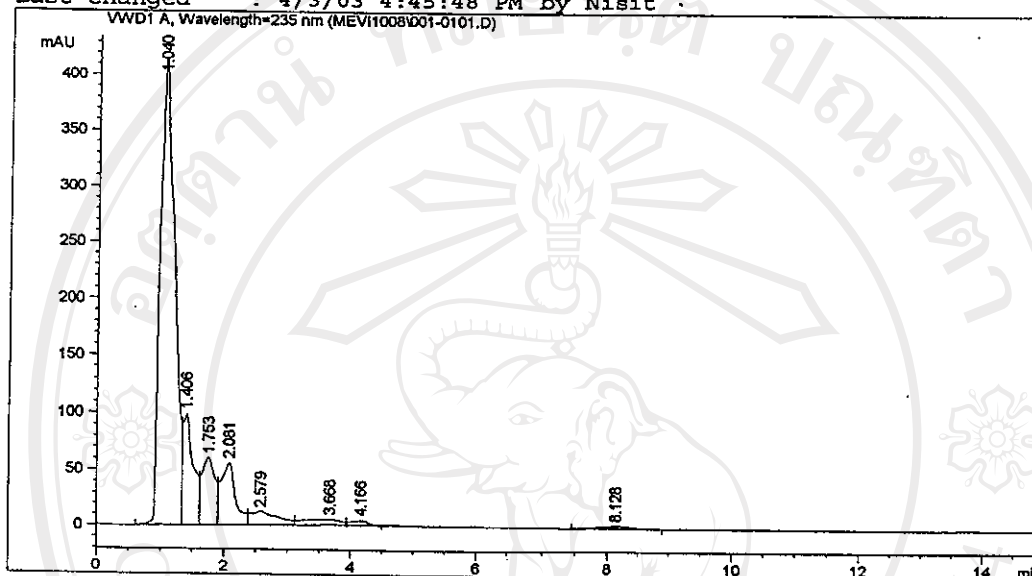
ภาพที่ 4.8.5 ผลวิเคราะห์ของสารโมนาโคลิน เค ด้วยเครื่อง HPLC จากเชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ในอาหารเห็ดสูตรที่ 7 ซ้ำที่ 2 ที่ใช้กลูโคส 45 กรัม/ลิตร และโมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 10 วัน ไม่เกิดฟักของสารโมนาโคลิน เค

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\MEV11008\001-0101.D

Sample Name: t8/1-5

```

=====
Injection Date : 3/7/03 1:13:30 PM          Seq. Line : 1
Sample Name    : t8/1-5                      Vial       : 1
Acq. Operator  : Nuntayaporn                 Inj        : 1
                                           Inj Volume : 100 ul
Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\ISOCITRI.M
Last changed   : 3/7/03 1:11:52 PM by Nuntayaporn
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ISOCITRI.M
Last changed   : 4/3/03 4:45:48 PM by Nisit
=====
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=235 nm
 Results obtained with standard integrator!

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	1.040	BV	0.2002	6452.11865	414.84659	63.6971
2	1.406	VV	0.1475	1131.01978	98.73959	11.1657
3	1.753	VV	0.2119	892.99091	60.35315	8.8159
4	2.081	VV	0.2194	892.21930	55.98108	8.8082
5	2.579	VV	0.3807	371.04034	12.45479	3.6630
6	3.668	VV	0.5341	224.60374	5.36986	2.2173
7	4.166	VV	0.2746	80.75082	4.25616	0.7972
8	8.128	BV	0.6336	84.63412	2.21643	0.8355

Totals : 1.01294e4 654.21763

ภาพที่ 4.8.6 ผลวิเคราะห์ของสาร โมนาโคลิน เค ด้วยเครื่อง HPLC จากเชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ในอาหารเหลวสูตรที่ 8 ซ้ำที่ 1 ที่ใช้กลูโคส 45 กรัม/ลิตร และฮีสติดีน 12.5 กรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 5 วัน พิกของสาร โมนาโคลิน เค คือพิกที่เวลา 8.128 นาที

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\MEVI1005\015-0101.D

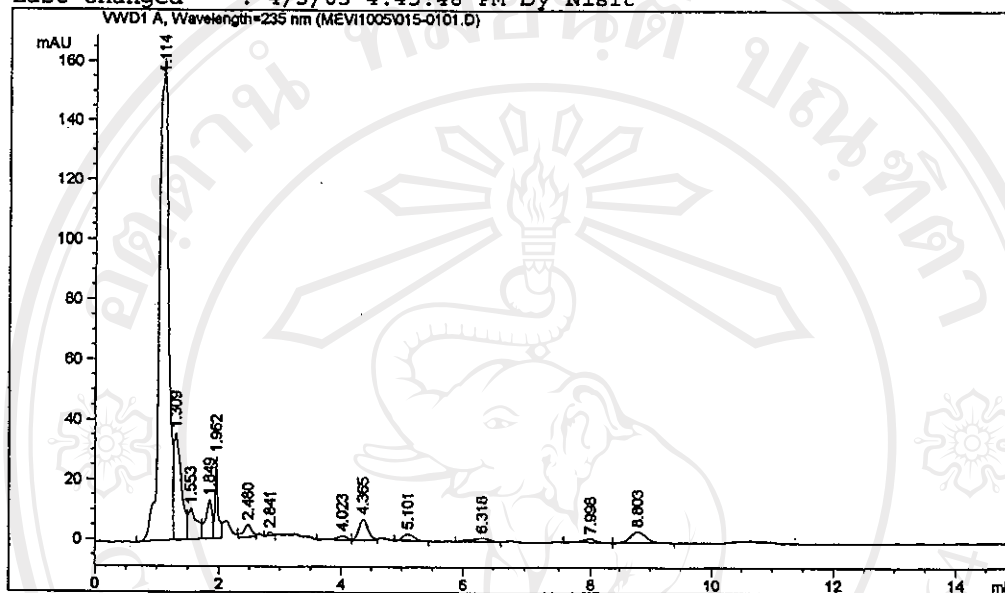
Sample Name: t9/1-20

```

=====
Injection Date   : 2/13/03 9:45:26 PM           Seq. Line :    1
Sample Name     : t9/1-20                       Vial      :   15
Acq. Operator   : Nuntayaporn                   Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 20 ul

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\ISOCITRI.M
Last changed    : 2/10/03 1:58:27 AM by nuntayaporn
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\ISOCITRI.M
Last changed    : 4/3/03 4:45:48 PM by Nisit
=====

```



```

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

```

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000

```

```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=235 nm
Results obtained with standard integrator!

```

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	1.114	BV	0.1391	1685.80725	161.54988	65.9349
2	1.309	VV	0.1107	299.30786	35.84879	11.7065
3	1.553	VV	0.1320	101.77802	10.27404	3.9807
4	1.849	VV	0.1051	97.04169	13.04374	3.7955
5	1.962	VV	0.0474	89.42591	27.27885	3.4976
6	2.480	VV	0.1381	38.40753	4.07309	1.5022
7	2.841	PV	0.0815	5.85159	1.17416	0.2289
8	4.023	BV	0.1936	16.68684	1.29063	0.6527
9	4.365	VV	0.1647	74.62614	6.96846	2.9188
10	5.101	VB	0.2117	29.12154	2.23516	1.1390
11	6.318	BV	0.3239	27.39192	1.23846	1.0713
12	7.998	BV	0.2362	19.78522	1.22439	0.7738
13	8.803	PV	0.2934	71.54442	3.73142	2.7982
Totals :				2556.77593	269.93109	

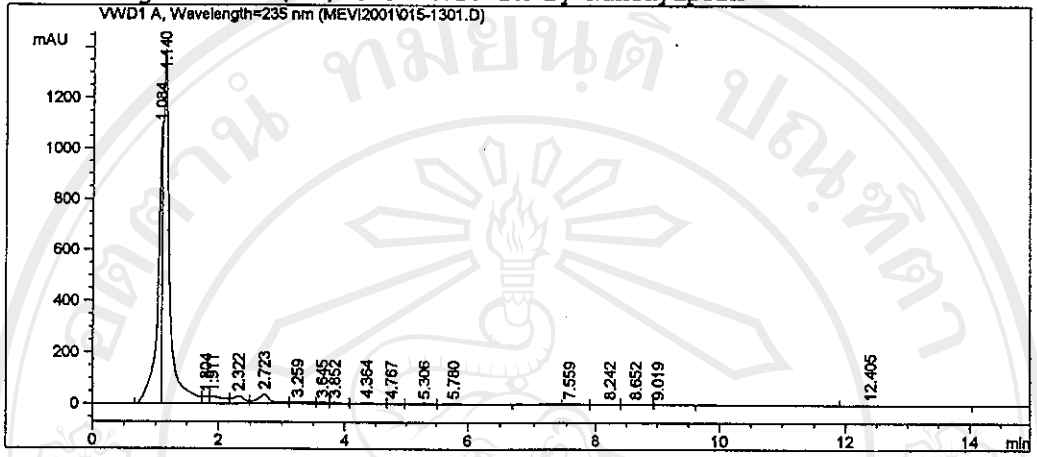
ภาพที่ 4.8.7 ผลวิเคราะห์ของสารโมนาโคลิน เค ด้วยเครื่อง HPLC จากเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารเน้่งสูตรที่ 1 ซ้ำที่ 1 ที่ใช้โมโนโซเดียมกลูตาเมต 12.5 กรัม/กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 20 วัน พืชของสารโมนาโคลิน เค คือพืชที่เวลา 8.803 นาที

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\MEVI2001\015-1301.D

Sample Name: t10/1-20

```

=====
Injection Date : 4/16/03 7:44:57 PM          Seq. Line : 13
Sample Name    : t10/1-20                    Vial       : 15
Acq. Operator  : Nuntayaporn                 Inj        : 1
                                                Inj Volume : 20 ul
Method         : C:\HPCHEM\1\METHODS\NICHAK-1.M\ISOCITRI.M
Last changed   : 4/16/03 3:44:20 PM by Nuntayaporn
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution       : 1.0000
    
```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=235 nm
 Results obtained with enhanced integrator!

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU	Height [mAU]	Area %
1	1.084	PV	0.0687	5341.24707	1091.97144	29.2524
2	1.140	VV	0.1050	1.02833e4	1394.23743	56.3184
3	1.804	VV	0.1028	212.70111	29.58860	1.1649
4	1.911	VV	0.1946	445.54596	29.10023	2.4401
5	2.322	VV	0.1788	377.69186	30.01873	2.0685
6	2.723	VV	0.2198	575.27820	36.88796	3.1506
7	3.259	VV	0.3136	177.98256	7.57036	0.9748
8	3.645	VV	0.1793	81.20931	6.56128	0.4448
9	3.852	VV	0.2134	98.85591	6.51652	0.5414
10	4.364	VV	0.3912	150.72862	5.21303	0.8255
11	4.767	VV	0.2276	56.23523	3.62438	0.3080
12	5.306	VV	0.3136	97.55250	4.40667	0.5343
13	5.780	VB	0.3574	90.88802	3.47632	0.4978
14	7.559	VV	0.2551	42.46647	2.32786	0.2326
15	8.242	VV	0.3252	40.84461	1.75613	0.2237
16	8.652	VV	0.3536	64.66740	2.45740	0.3542
17	9.019	VV	0.3813	59.91392	1.93694	0.3281
18	12.405	VP	0.3853	62.08619	2.49204	0.3400

Totals : 1.82592e4 2660.14334

ภาพที่ 4.8.8 ผลวิเคราะห์ของสารโมนาโคลิน เค ด้วยเครื่อง HPLC จากเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารแห้งสูตรที่ 2 ซ้ำที่ 1 ที่ใช้สัปดาห์ 12.5 กรัม/กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 20 วัน พีคของสารโมนาโคลิน เค คือพีคที่เวลา 8.652 นาที

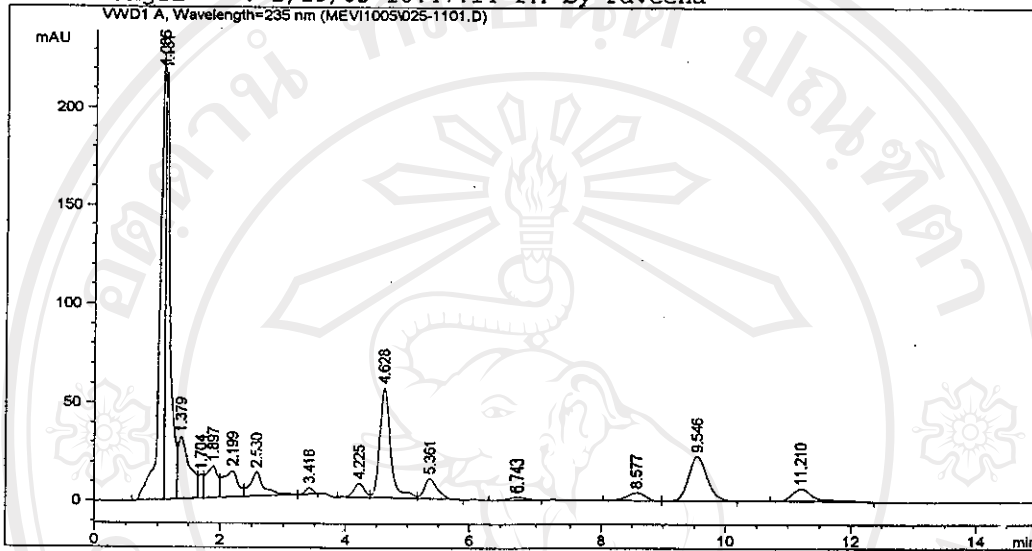
Data File C:\HPCHEM\1\DATA\MEVI1005\025-1101.D

Sample Name: t11/1-20

```

=====
Injection Date : 2/14/03 12:32:07 AM      Seq. Line : 11
Sample Name    : t11/1-20                  Vial       : 25
Acq. Operator  : Nuntayaporn              Inj        : 1
                                           Inj Volume : 20 ul

Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\ISOCITRI.M
Last changed   : 2/10/03 1:58:27 AM by nuntayaporn
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\FLAVONE.M
Last changed   : 2/19/03 10:47:14 PM by Paveena
=====
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
    
```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=235 nm
 Results obtained with standard integrator!

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU*s	Height [mAU]	Area %
1	1.086	BV	0.0792	1348.21338	227.98987	25.4225
2	1.131	VV	0.0709	1126.74402	217.49481	21.2464
3	1.379	VV	0.1831	415.34485	31.89822	7.8319
4	1.704	VV	0.0823	71.98405	12.43469	1.3574
5	1.897	VV	0.1659	202.73318	16.29726	3.8228
6	2.199	VV	0.2154	214.95955	13.56654	4.0534
7	2.580	VV	0.2123	191.39647	12.34305	3.6091
8	3.418	PV	0.1347	27.09372	3.23513	0.5109
9	4.225	BV	0.1888	87.58823	7.14742	1.6516
10	4.628	VV	0.1888	697.02515	55.84380	13.1434
11	5.361	VB	0.2170	155.60159	10.54208	2.9341
12	6.743	BV	0.2807	26.66756	1.49360	0.5029
13	8.577	VV	0.3367	92.74483	4.16905	1.7488
14	9.546	PV	0.3207	477.98914	22.84359	9.0132
15	11.210	BB	0.3794	167.14128	6.45056	3.1517

Totals : 5303.22700 643.74967

ภาพที่ 4.8.9 ผลวิเคราะห์ของสารโมนาโคลิน เค ด้วยเครื่อง HPLC จากเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU ในอาหารแข็งสูตรที่ 3 ซ้ำที่ 1 ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน เป็นระยะเวลา 20 วัน พิกของสารโมนาโคลิน เค คือพิกที่เวลา 8.577 นาที