

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตข้าวแดงโดย Monascus purpureus

อรรณี หันพงศ์กิตติกุล เมธิณี เหว่งเจริญ และ เรณู ปิ่นทอง

FACTORS AFFECTING RED RICE PRODUCTION BY Monascus purpureus

Aran H-Kittikun, Methinee V-Charern and Renu Pinthong

ABSTRACT: The factors that affected red rice production by *Monascus purpureus* were investigated. *M. purpureus* CMU-KU was the best strain for pigment production from the nine strains tested. The ratio of rice and water of 1:1 and 3:4 were suitable for pigment production by this strain. Non-glutinous rice variety Leung 148 was the best variety for pigmentation. Method of milling also had an effect on pigment production. Rice polished for 3 minutes gave highest pigment with the concentration of 5.40 units (OD 500). Addition of some nutrient such as yeast extract, peptone, glutamate or ammonium sulfate did not stimulate pigment production. Neither did addition of iron, manganese or zinc ($10^{-2} - 10^{-3}$ M). The optimum cultural conditions for pigmentation by this strain were incubation temperature of 30-35 °C with higher than 74% relative humidity.

บทคัดย่อ: การทดลองครั้งนี้เป็นการศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตข้าวแดงโดย *Monascus purpureus* จากการทดสอบ *M. purpureus* 9 สายพันธุ์ พบว่า *M. purpureus* CMU-KU เป็นสายพันธุ์ที่สร้างสีแดงดีที่สุด อัตราส่วนของข้าวต่อน้ำเป็น 1 : 1 และ 3 : 4 คืออัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการสร้างสี และข้าวสารเจ้าพันธุ์ที่ดีที่สุดคือ เหลือง 148 วิธีการสีข้าวก็มีผลต่อการสร้างสีโดยข้าวที่ขัด 3 นาที จะให้สีได้ดีที่สุด มีค่าความเข้มข้นเป็น 5.40 หน่วย (OD 500) การเติมสารอาหารบางชนิดเช่น ยีสต์เอชแทรก เปปไทน์ กลูตาเมท หรือ แอมโมเนียมซัลเฟตไม่ได้ช่วยกระตุ้นการสร้างสี การเติมเหล็ก แมงกานีส หรือสังกะสี ($10^{-2} - 10^{-3}$ M) ก็ไม่ช่วยให้การสร้างสีเพิ่มขึ้น สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการสร้างสีคือ อุณหภูมิ 30-35 °C และมีความชื้นสัมพัทธ์สูงกว่า 74%

คำนำ

สีธรรมชาติชนิดหนึ่งที่มนุษย์รู้จักใช้ผสมอาหารมานานนับร้อยๆ ปี คือ สีแดงที่ได้จากการเจริญของเชื้อรา *Monascus purpureus* เพาะเลี้ยงบนข้าว เรียกว่า ข้าวแดง นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศแถบเอเชียตะวันออก โดยมีต้นกำเนิดจากประเทศจีน อาหารที่ใช้ข้าวแดงผสมมี ไวน์ข้าว เต้าหู้ อาหารหมักพวกปลาและ เนื้อ นอกจากนี้ยังพบว่าข้าวแดงมีสรรพคุณในทางรักษาโรคบางชนิดด้วย (Wong and Koehler, 1981) ประเทศไทยจัดเป็นแหล่งผลิตข้าวที่ใหญ่แห่งหนึ่งของโลก ควรพิจารณาถึงการแปรรูปข้าวเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้น หากมีการส่งเสริมการผลิตและการใช้ข้าวแดงอย่างจริงจัง นอกจากจะช่วยให้ข้าวมีราคาเพิ่มขึ้นแล้วยังก่อให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภคอาหารเจือสีด้วย

ข้าวแดงได้จากการเจริญของเชื้อรา *M. purpureus* Went, *M. anka* หรือ *M. kaoliang* บนข้าว เชื้อราในกลุ่มนี้ยังสามารถเจริญและสร้างสีในวัตถุดิบอื่นๆ เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี ขนหมับ และหมั่นโถ (Lin and Lizuka, 1982) หรือมันสำปะหลัง (ยงสมิทธิ์ และ ทาบโลกา, 2523) Lin (1973) ทดลองใช้อาหารเหลวซึ่งมี ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวเหนียวและข้าวเจ้า เป็นวัตถุดิบพบว่า การเพาะเลี้ยง *Monascus* sp. F-2 ในข้าวเจ้าจะให้ปริมาณสีสูงสุด Shepherd (1977) ศึกษาการคัดเลือกสายพันธุ์ *Monascus* มากกว่า 40 สายพันธุ์พบว่า *M. purpureus* ATCC 16427 สามารถเจริญและสร้างสีได้ดีในอาหารเหลวที่มีกลูโคส (Glucose) เป็นแหล่งคาร์บอน และโซเดียมไนเตรท (Sodium nitrate) เป็นแหล่งไนโตรเจน เชื้อยีสร์กุลและคณะ (2519) พบว่า *M. purpureus* K 001 สร้างสีได้ดีกว่าเชื้อราอีกสามสายพันธุ์ที่ทดสอบ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้น 6 ชนิด พบว่า *M. purpureus* K 001 เจริญบนอาหาร Yeast malt agar หรือ Glucose starch agar ให้สีดีที่สุด McHan and Johnson (1970) ศึกษาการใช้อาหารเหลวเพาะเลี้ยง *M. purpureus* พบว่าเชื้อนี้เจริญดีที่สุดในการอาหาร Glucose peptone yeast extract broth และพบว่าอาหารสังเคราะห์ที่มีสังกะสี ร่วมกับกรดอะมิโนไกลซีน (Glycine) ลิวซีน (Leucine) และทริปโตเฟน (Tryptophan) ช่วยเร่งการเจริญ Lin (1973) ศึกษาสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีแดงโดย *Monascus* sp. F-2 พบว่า อาหารที่ประกอบด้วยแป้ง 3.5% และเกลือไนเตรทของ โซเดียมหรือโปแตสเซียม 0.5% ที่ pH 6.0 จะผลิตสีได้ดีที่สุด Carels and Shepherd (1977) พบว่าระหว่างการเพาะเลี้ยง *Monascus* ในอาหารต่างๆ กัน อาหารจะมี pH ไม่เท่ากัน และทำให้สร้างสีได้ต่างกัน เมื่อเจริญในอาหารที่มียีสต์เอกซแทรก (Yeast ex-

tract) หรือในเตรท อาหารจะมี pH ประมาณ 2.5 และเชื้อจะสร้างสีส้ม Bau and Wong (1979) ศึกษาพบว่า สังกะสีที่ความเข้มข้น 2×10^{-3} M และ 3×10^{-3} M ยับยั้งการเจริญและการสร้างสีของ *M. purpureus* ในอาหารเหลว แต่ถ้าเป็นอาหารแข็งที่มีสังกะสีในปริมาณเท่ากัน เชื้อยังคงเจริญและสร้างสีได้ดี

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ จะศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีอิทธิพลต่อการผลิตข้าวแดง โดย *M. purpureus* เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการผลิตข้าวแดงในระดับกึ่งอุตสาหกรรมในสภาพแวดล้อมของประเทศไทยในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. จุลินทรีย์ *Monascus purpureus* TISTR 3002, TIRTS 3003, TISTR 3006, TISTR 3090, TISTR 3111, TISTR 3177 และ TISTR 3179 ได้รับความเชื้อจากศูนย์เก็บรวบรวมพันธุ์จุลินทรีย์ Bangkok MIRCENS. สำหรับอีก 2 สายพันธุ์ คือ CMU-KU และ CMU-FST เป็นสายพันธุ์ที่มีอยู่ในภาควิชาชีววิทยา และภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี การอาหาร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เก็บเชื้อทั้งหมดในหลอดวันเอียงของอาหาร PDA เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 °C 7 วัน แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น การเตรียมเชื้อเริ่มต้นใช้เชื้อจากหลอดวันเอียงเพาะเลี้ยงในจานอาหาร PDA 10 วันแล้วจึงนำไปทดลอง

2. การเตรียมข้าว ข้าวที่ใช้ในการทดลอง มีข้าวสารเจ้าสายพันธุ์ กข 7, กข 23, กข 25, ข้าวคอกมะลิ 105 และเหลืองใหญ่ 148 ได้รับความเชื้อจากสถานีทดลองข้าวสันป่าตอง และข้าวสารเจ้าพิจิตรซึ่งซื้อจากท้องตลาด การทดลองช่วงแรกใช้ข้าวต่อน้ำในอัตราส่วน 1 : 1 หนึ่งข้าวในรังถึงนาน 20 นาที แล้วชั่งข้าวสุก 50 กรัมใส่ฟลask (Flask) ขนาด 500 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที เพื่อทดสอบผลของความชื้นใช้ข้าวสารเจ้า 15 กรัม ใส่ในอัตราส่วนต่างๆกัน นึ่งในขวดแยมขนาด 285 กรัม แล้วจึงนำข้าวสารจากขวดใส่ฟลask ขนาด 500 มล. เกลี่ยข้าวให้กระจายทั่วฟลask ก่อนนำไปฆ่าเชื้อ

3. การเติมเชื้อและการเพาะเลี้ยง ใช้ลูป (Loop) ตัดเฉพาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อ *M. purpureus* ที่เจริญในจานอาหาร PDA ขนาด 1 ตารางเซนติเมตร นำไปวางในฟลask ข้าวที่จะทดสอบแล้วนำฟลask ทั้งหมดไปบ่มที่ 30 °C เขย่าฟลask เมื่อครบ 2 วัน และ 4 วัน สังเกตการเจริญของเส้นใย และวัดปริมาณสีเมื่อครบ 14 วัน

4. การวัดปริมาณสี ชั่งข้าวแดง 0.1 กรัม ใส่หลอดฝาเกลียว ใช้แท่งแก้วคนบดข้าวแดงให้มีขนาดเล็กลง แล้วเติมสารสกัด 10 มล. ประกอบด้วย กลีโกล 1% และแอลกอฮอล์ 95% ในอัตราส่วน 1 : 1 บดฝาหลอด เขย่าอย่างแรง 5 นาที นำไปปั่นด้วยความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำเอาเฉพาะส่วนใสไปวัดการดูดกลืนแสงในช่วงคลื่น 500 นาโนเมตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของสายพันธุ์ *M. purpureus* ต่อการสร้างสี

การทดลองเพาะเลี้ยง *M. purpureus* 9 สายพันธุ์ ในข้าวพันธุ์พิจิตร เป็นเวลา 14 วัน ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 1 จะเห็นว่า *M. purpureus* TISTR 3006 เจริญได้ดีที่สุดแต่ให้ปริมาณสีต่ำมาก และลักษณะสีที่ได้ออกสีน้ำตาลเหลือง ขณะที่ *M. purpureus* TISTR 3090 ให้ปริมาณสีมากที่สุดในกลุ่มสายพันธุ์จาก TISTR แต่ข้าวแดงที่ได้มีลักษณะออกสีเหลือง ส้ม สำหรับสายพันธุ์ *M. purpureus* CMU-KU เป็นสารพันธุ์ที่ให้ปริมาณสีสูงสุด และข้าวแดงที่ได้

Table 1. Pigment production by *M. purpureus* in variety Pijit rice after 14 days of incubation at 30 °C.

Strain of <i>M. purpureus</i>	Amount of rice	
	without color (gm)*	Amount of red pigment (unit OD 500)
TISTR 3002	13.1	0.83
TISTR 3003	6.3	0.47
TISTR 3006	0	0.67
TISTR 3090	7.7	1.85
TISTR 3111	14.6	0.67
TISTR 3177	11.0	0.82
TISTR 3179	5.6	1.60
CMU-KU	7.7	2.70
CMU-FST	9.5	1.70

* Initial steamed rice 50 g.

มีสีแดงเข้มจนเกือบเป็นสีม่วง

จากการทดลองนี้จะเห็นว่า สายพันธุ์ของ *M. purpureus* ที่ใช้ผลิตข้าวแดงมีผลต่อการสร้างสี โดยสายพันธุ์ต่างชนิดกันมีความสามารถในการสร้างสี และให้ข้าวแดงที่ได้ลักษณะต่างกัน ศรีวิบูลย์ (2531) ได้ทดสอบความสามารถในการสร้างสีจากสายพันธุ์ *M. purpureus* ของ TISTR พบว่าสายพันธุ์ TISTR 3090 สร้างสีได้ดีที่สุดเช่นกัน แต่เนื่องจากสายพันธุ์ CMU-KU ให้ปริมาณสีสูงกว่าสายพันธุ์ TISTR 3090 ถึง 50% ในการทดลองต่อไปจึงใช้เฉพาะสายพันธุ์ CMU-KU

2. ผลของความชื้นต่อการสร้างสี โดย *M. purpureus*

การทดลองนี้ใช้ข้าวสารเจ้าพันธุ์พิจิตร 15 กรัม และใช้น้ำในอัตราส่วนต่างๆ กัน โดยมีอัตราส่วนของข้าวต่อน้ำตั้งแต่ 2 : 1 ถึง 3 : 8 แล้วเพาะเลี้ยง *M. purpureus* CMU-KU ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2 เมื่อใช้อัตราส่วนของข้าวมากกว่าน้ำ (2 : 1) ข้าวที่ได้แข็งมาก เชื้อราเจริญไม่ดีและไม่สม่ำเสมอ ปริมาณสีที่ได้ต่ำ หากใช้อัตราส่วนของน้ำมากเชื้อราเจริญได้ดี แต่ลักษณะของข้าวแดงที่ได้นุ่มและละเอียด อัตราส่วนของข้าวต่อน้ำที่เหมาะสมคือ 1 : 1 และ 3 : 4 ให้ปริมาณสีที่ได้สูงที่สุด และข้าวแดงที่ได้แยกเป็นเมล็ดมีสีแดงเข้มสม่ำเสมอเมื่อหักเมล็ดข้าวก็จะ

Table 2 . Effect of moisture on pigment production by *M. purpureus* CMU-KU.

Ratio of rice to water *	Amount of red pigment (unit OD 500)
2 : 1	0.20
3 : 2	0.63
1 : 1	3.3
3 : 4	3.25
3 : 5	2.03
1 : 2	2.15
3 : 7	1.68
3 : 8	1.73

* Varsity Pijit rice 14 g.

พบว่าเชื้อราเจริญและสร้างสีแดงจนถึงภายใน โดยเชื้อราเจริญทั่วเมล็ดข้าวภายใน 7 วัน การทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่า ความชื้นของข้าวสุกมีความสำคัญต่อการเจริญของ *M. purpureus* และมีผลต่อลักษณะของข้าวแดงที่ได้

3. ผลของสายพันธุ์ข้าวต่อการสร้างสี โดย *M. purpureus*

การทดลองเพาะเลี้ยง *M. purpureus* CMU-KU ในข้าวสารเจ้า 5 สายพันธุ์ คือ กข 7, กข 23, กข 25 ขาวดอกมะลิ 105 และเหลือง 148 พบว่า เชื้อราเจริญและสร้างสีแดงได้ดีที่สุดในข้าวพันธุ์เหลือง 148 และสร้างสีได้ดึรลงมาในข้าวพันธุ์ กข 23 และ กข 25 ขณะที่สร้างสีได้ต่ำสุดในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ผลดังแสดงในตารางที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบอมัยโลส (Amylose) ของข้าวพันธุ์ต่าง ๆ พบว่า ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีปริมาณอมัยโลสต่ำ (น้อยกว่า 20%) ข้าวพันธุ์ กข 7 มีปริมาณอมัยโลสปานกลาง (20-24%) แต่ข้าวพันธุ์ กข 23, กข 25 และเหลือง 148 มีปริมาณอมัยโลสสูง (มากกว่า 24% : ข้อมูลจากสถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตรบางเขน : ติดต่อส่วนตัว) จะเห็นว่าพันธุ์ข้าวที่เหมาะสมต่อการผลิตข้าวแดงโดยเชื้อ *M. purpureus* CMU-KU คือข้าวที่มีองค์ประกอบอมัยโลสอยู่สูง ศรีวิบูลย์ (2531) ทดลองใช้ *M. purpureus* TISTR 3090 เพาะเลี้ยงในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ก็พบว่า ข้าวพันธุ์ กข. 23 และ 25 ให้สีแดงดีที่สุด

Table 3. Effect of rice variety on pigment production by *M. purpureus* CMU-KU.

Rice variety	Amylose content *	Amount of red pigment (unit OD 500)
RD 7	intermediate	3.40
RD 23	high	4.00
RD 25	high	3.90
KDML 105	low	1.27
Luang Yai 148	high	4.60

* low < 20 % intermediate 20-24 % and high > 24 % (data from Rice Research Institute : personal contact)

4. ผลของการสีข้าวต่อการสร้างสี โดย *M. purpureus*

การทดลองนี้ใช้ข้าวพันธุ์เหลือง 148 และพันธุ์ กข 7 โดยทดลองสีและขัดข้าวเอง ด้วยเครื่องสีและขัดข้าวขนาดเล็ก (Satake Testing Husker THU 35 A & Testing Mill TM05) ขัดข้าวเป็นเวลา 0, 3 และ 5 นาที เมื่อนำไปเพาะเลี้ยง *M. purpureus* CMU-KU พบว่าเชื้อราเจริญได้รวดเร็วมากในข้าวที่ไม่ได้ขัด โดยเจริญทั่วข้าวภายใน 5 วัน ในขณะที่การเจริญในข้าวที่ขัด 3 นาทีและ 5 นาที จะเจริญทั่วข้าวภายใน 7 วัน สำหรับการสร้างสีพบว่าเมื่อเชื้อราเจริญในข้าวขัด 3 นาทีให้ปริมาณสีสูงสุด ดังแสดงในตารางที่ 4 เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของข้าวที่ไม่ได้ขัดเปรียบเทียบกับข้าวที่ขัด พบว่าข้าวที่ไม่ขัดมีธาตุอาหารต่างๆ รวมทั้งโปรตีนซึ่งเป็นแหล่งของไนโตรเจนอยู่มากกว่าข้าวที่ขัด การที่มีธาตุอาหารต่างๆ สูงย่อมช่วยกระตุ้นการเจริญของรา แต่อาจมีผลยับยั้งการสร้างสี จึงทำให้เชื้อราสร้างสีได้ต่ำในข้าวที่ไม่ได้ขัด ขณะเดียวกันการขัดข้าวนานเกินไป ก็ทำให้ข้าวสูญเสียธาตุอาหารบางอย่างที่จำเป็นต่อการเจริญและสร้างสีโดยเชื้อรา

Table 4. Effect of milling on pigment production by *M. purpureus* CMU-KU.

Polishing time	Amount of red pigment (unit OD 500)
RD 7 0 min	2.90
3 min	4.55
5 min	3.40
Luang Yai 148 0 min	3.30
3 min	5.40
5 min	4.40

5. ผลของการเติมธาตุอาหารบางชนิดต่อการสร้างสี โดย *M. purpureus*

การทดลองนี้ใช้ข้าวพันธุ์เหลือง 148 เติมธาตุอาหารที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างกัน 4 ชนิดคือ ยีสต์เอกซแทรก (Yeast extract) เปปโตน (Peptone) กลูตาเมท (Glutamate) และแอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium sulfate) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 5 เมื่อ *M. purpureus* เจริญในข้าวที่มี ยีสต์เอกซแทรก หรือเปปโตน จะให้สีแดงเข้ม ขณะที่เจริญในข้าวที่มีแอมโม-

เนี่ยมซัลเฟตจะให้สีส้ม เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน พบว่าปริมาณสีที่ผลิตได้ไม่ได้เพิ่มขึ้น การเติมเปปโตนกลับทำให้การผลิตสีลดลง สำหรับข้าวที่เติมกลูตาเมตนั้นเชื้อราเจริญได้น้อยและให้ข้าวมีสีส้มและปริมาณสีต่ำมาก

ผลจากการทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่าการผลิตข้าวแดงโดยเติมแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ทดลองไม่ได้ช่วยให้ *M. purpureus* CMU-KU สร้างสีได้มากขึ้น แต่มีผลให้เกิดการสร้างสีได้ต่างชนิดกัน โดยปริมาณไนโตรเจนที่มีในข้าวพอเพียงต่อการเจริญและการสร้างสี

การเติมโลหะ สังกะสี เหล็กและแมงกานีส ในรูปเกลือซัลเฟต ในปริมาณ 10^{-2} 10^{-3} M ลงในน้ำที่ใช้หนึ่งข้าวก็ไม่ได้ช่วยให้เชื้อราสร้างสีได้เพิ่มขึ้น ผลดังแสดงในตารางที่ 5 แต่ที่น่าสังเกตคือ การเติม สังกะสี หรือ แมงกานีส จะช่วยให้ *M. purpureus* สร้างสีได้เร็วขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวควบคุม โดยข้าวจะมีสีแดงทั่วภายใน 5 วันแทนที่จะเป็น 7 วัน

Table 5. Effects of nutrients and trace elements on pigment production by *M. purpureus* CMU-KU.

Type of nutrient and trace element	Amount of red pigment (unit OD 500)
Yeast extract 1%	4.20
Peptone 1%	3.50
Monosodium glutamate 1%	2.10
Ammonium sulfate 0.1%	4.50
ZnSO ₄ 10 ⁻³ M	3.40
10 ⁻² M	3.60
MnSO ₄ 10 ⁻³ M	4.20
10 ⁻² M	3.80
FeSO ₄ 10 ⁻³ M	3.80
Control (Luang Yai 148)	4.40

6. ผลของอุณหภูมิและ pH ต่อการสร้างสีโดย *M. purpureus*

การเพาะเลี้ยง *M. purpureus* CMU-KU ในข้าวพันธุ์เหลือง 148 โดยใช้ข้าวต่อน้ำ

ในอัตราส่วน 1 : 1 เมื่อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25°, 30° และ 35° ซ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 6 ที่อุณหภูมิ 25° ซ เชื้อราเจริญได้น้อยและผลิตสีออกมาในปริมาณต่ำ ที่อุณหภูมิ 30° ซ และ 35° ซ เชื้อราเจริญและสร้างสีได้ดีพอๆ กัน

Table 6 . Effects of temperature and pH on pigment production by *M. purpureus* CMU-KU.

Temperature	Amount of red pigment (unit OD 500)
25°C	3.30
30°C	4.40
35°C	4.30
Initial pH (Phosphate buffer 0.2 M)	
5.0	1.20
6.0	1.10
7.0	0.85
8.0	0.40
Control (Luang Yai 148) pH 5.6	4.30

เมื่อเพาะเลี้ยง *M. purpureus* CMU-KU ในข้าวพันธุ์เหลือง 148 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) ความเข้มข้น 0.2 M ที่มี pH ต่างๆ กัน โดยใช้ข้าวต่อบัฟเฟอร์ในอัตราส่วน 1 : 1 พบว่า ข้าวที่ใช้บัฟเฟอร์ pH 5-8 นั้นเชื้อราเจริญและสร้างสีได้น้อยกว่าข้าวควบคุมมาก ผลดังแสดงในตารางที่ 6 ในข้าวที่เติมบัฟเฟอร์ pH 5 และ 6 เชื้อราเจริญเป็นสีชมพูอ่อนและเริ่มมีสีแดงเล็กน้อยเมื่อครบ 14 วัน หากใช้ข้าวที่เติมบัฟเฟอร์ pH 7 และ 8 เชื้อราเจริญและสร้างสีแดงเข้ม โดยที่ pH 7 ข้าวจะแดงทั่วภายใน 7 วัน เหมือนข้าวควบคุม แต่ที่ pH 8 เชื้อราจะเจริญช้ากว่า เมื่อวัด pH ของข้าวแดงที่เพาะเลี้ยงเชื้อราได้ 14 วัน พบว่า ข้าวที่เติมบัฟเฟอร์ pH 5, 6, 7 และ 8 มี pH สุดท้ายเป็น 4.7, 4.9, 5.9 และ 6.0 ตามลำดับ แสดงว่าความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ที่ใช้ยังไม่เข้มข้นพอที่จะรักษาให้ pH ของข้าวคงที่ได้ตามที่ต้องการ และการที่เชื้อราสร้างสีได้น้อย น่าจะมีผลมาจากความเข้มข้นของธาตุโปแตส-

เซียมหรือฟอสฟอรัส ที่มีอยู่ในบัพเฟอร์มากกว่าที่จะเป็นผลของ pH อย่างเดียว ซึ่งเป็นเรื่องน่าสนใจที่จะศึกษาต่อไป

เมื่อใช้ข้าวต่อน้ำในอัตราส่วน 1 : 1 ใส่ฟลasks แล้วเพาะเลี้ยงเชื้อในตูบ่มที่อุณหภูมิ 30° ซ แล้ววัดความชื้นสัมพัทธ์ด้วยเครื่องวัด (Jenway Humidity Meter 5070) พบว่าในฟลasks และตูบ่มมีความชื้นสัมพัทธ์ 80 และ 74% ตามลำดับ แต่ถ้าในตูบ่มมีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่า 65% แม้จะใช้ข้าวต่อน้ำในอัตราส่วน 1 : 1 เมื่อเพาะเลี้ยงไประยะหนึ่งความชื้นในฟลasks ก็จะลดลงต่ำกว่า 70% เป็นผลให้เชื้อราเจริญช้าและสร้างสีได้น้อยลงด้วย

สรุปผลการทดลอง

การผลิตข้าวแดงโดยเชื้อรา *Monascus purpureus* CMU-KU สามารถทำได้ภายใต้สภาพแวดล้อมของประเทศไทย โดยไม่ต้องเติมธาตุอาหารใดๆ แต่ต้องควบคุมความชื้นโดยใช้ข้าวต่อน้ำในอัตราส่วน 1 : 1 หรือ 3 : 4 ควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 30-35° ซ และควรให้ความชื้นของบรรยากาศสูงกว่า 74%

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่ให้เงินอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2530 เพื่อใช้ในการวิจัยเรื่องนี้

เอกสารอ้างอิง

- เชียวธีรกุล, เชิดชัย., แซ่ลี้, ประสิทธิ์., และ แซ่ฮ้ง, ปณัฏา (2519). สีแดงจากข้าว (อังกัก) วารสารอาหาร 8 : 51-55.
- ยงสมิทธิ์, บุษบา และ ทาบโลกา, วรณภา (2528). สีผสมอาหารจากมันสำปะหลังโดยเชื้อราโมแนสคัส วารสารเกษตรศาสตร์ (วิทยา) 19 : 45-50.
- ศรีวิบูลย์, รัตนภรณ์ (2531). การคัดเลือกสายพันธุ์ *Monascus purpureus* ที่เหมาะสมในการผลิตสี วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Bau, Y and Wong, H. (1979). Zinc effects on growth, pigmentation and antibacterial activity of *Monascus purpureus*. *Physiol, Plant.* 49 : 63-67.
- Carels, M. and Shepherd, D. (1977). The effect of different nitrogen sources on pigment production and sporulation of *Monascus* species in submerged shaken culture. *Can J. Microbiol.* 23 : 1360-1372.

- Lin, C. (1973). Isolation and cultural conditions of *Monascus* sp. for the production of pigment in a submerged culture. J. Ferment. Technol 51 : 407-414.
- Lin, C. and Iizuka, H. (1982). Production of extracellular pigment by a mutant of *Monascus kaoliang* sp. nov. Appl. Environ. Microbiol. 43 : 671-676.
- McHan, F. and Johnson, G. (1970). Zinc and amino acids: Important components of a medium Promoting growth of *Monascus purpureus*. Mycologia 62 : 1018-1031.
- Shepherd, D. (1977). The relationships between pigment production and sporulation in *Monascus*. in Biotechnology and fungal differentiation (FEMS Symposium No. 4) edited by J. Meyrath and J.D. BuLock, Academic Press, London. p. 103-118.
- Wong, H. and Kochler, P. (1981). Production and isolation of an antibiotic from *Monascus purpureus* and its relationship to pigment production. J. Food Sci, 46 : 589-592.
-