

การผลิตสารสีและโมนาโคลิน เค ที่ได้จากการหมักเมล็ดขุ่นผง ด้วยเชื้อราโมแนสคัสต่างสายพันธุ์

สุนีย์ เอียดมุสิก^{1*} วิจิตรา สานพภา¹ และ ณิชชยาน์ ชูสุข²

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้นำเมล็ดขุ่นซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้เป็นแหล่งอาหารในการหมักแบบแห้งด้วยเชื้อราโมแนสคัส 3 สายพันธุ์คือ *Monascus purpureus* (*M. purpureus*), *Monascus pilosus* (*M. pilosus*) และ *Monascus ruber* (*M. ruber*) โดยศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณสารสีและสารโมนาโคลิน เค ที่ได้จากการหมักจากการทดลองพบว่าเมล็ดขุ่นผงที่เตรียมได้มีความชื้นร้อยละ 11.56 โดยน้ำหนักเปียก และมีปริมาณโปรตีนไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 13.16, 0.33, 6.59 และ 68.36 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณสารสี 3 ปัจจัย คือสายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส ปริมาณความชื้นเริ่มต้น 3 ระดับ (ร้อยละ 30, 40 และ 50) และปริมาณการเติมน้ำตาลซูโครส 5 ระดับ (ร้อยละ 0, 2, 4, 6 และ 8) กำหนดให้สภาวะในการหมักเมล็ดขุ่นผงเป็นดังนี้ ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6 ความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 12 วัน

พบว่าทั้งสามปัจจัยมีอิทธิพล และอิทธิพลร่วม (Interaction) ต่อปริมาณสารสีที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) ที่ 412 และ 500 นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าความยาวคลื่นที่แสดงถึงค่าสีเหลืองและสีแดง ตามลำดับ สภาวะที่เชื้อราโมแนสคัสทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถสร้างสารสีได้มากที่สุดคือที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 และการเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 4 โดยเชื้อ *M. purpureus*, *M. pilosus* และ *M. ruber* สร้างสารสีได้ 5.920, 4.780 และ 3.436 OD ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และที่สภาวะดังกล่าวนี้สายพันธุ์ของเชื้อราและปริมาณการเติมน้ำตาลซูโครสมีอิทธิพลและอิทธิพลร่วมต่อปริมาณสารโมนาโคลิน เค ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมัก โดยปริมาณสารโมนาโคลิน เค ที่ *M. purpureus* และ *M. ruber* สร้างขึ้น มีค่า 29.50 และ 72.38 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ตรวจไม่พบปริมาณสารโมนาโคลิน เค ที่เชื้อ *M. pilosus* สร้างขึ้น

คำสำคัญ: เมล็ดขุ่น โมนาโคลิน เค เชื้อราโมแนสคัส

¹ อาจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมและการจัดการ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

² ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 0-2913-2500 ต่อ 7919 อีเมล: suneee@kmutnb.ac.th



Production of Pigment and Monacolin K from Jackfruit Seed Powder Fermented by Different *Monascus* Strains

Sunee Eadmusik^{1*} Wichitra Sanoppa¹ and Natthaya Choosuk²

Abstract

Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) seeds, considered as an agricultural residue, were used as a substrate for solid-state fermentation of 3 different *Monascus* strains. The results showed that the prepared jackfruit seed powder (JSP) had 11.56% moisture and it consisted of 13.16% protein, 0.33% fat, 6.59% ash and 68.36% carbohydrate by dry basis. Factors affecting pigment yield and Monacolin K content obtained during the fermentation were also studied. These factors were *Monascus* strains (*M. purpureus*, *M. pilosus* and *M. ruber*), the initial moisture content (30, 40 and 50%) and the additional level of sucrose (0, 2, 4, 6 and 8%). The fermenting conditions of JSP were as the following: pH 6, 4 mL of spore suspension (1×10^6 spores/mL), incubated at 30°C for 12 days. The results revealed that these factors and their interactions affected pigment

yield measured at λ_{\max} , 412 nm and 500 nm, which refer to yellow and red colours, respectively. For all *Monascus* strains, the suitable condition for pigment production is at 50% initial moisture content and 4% sucrose addition. Under this condition, pigment yields at λ_{\max} obtained from JSP fermented by *M. purpureus*, *M. pilosus* and *M. ruber* were 5.920, 4.780 and 3.436 OD per dry sample, respectively. The Monacolin K content obtained from JSP fermented at 50% initial moisture content and 4% sucrose addition was also affected by *Monascus* strains, the level of sucrose addition and their interactions. The Monacolin K contents in JSP fermented by *M. purpureus* and *M. ruber* were 29.50 and 72.38 mg/kg, respectively. However, Monacolin K content produced from *M. pilosus* was not found.

Keywords: Jackfruit Seed, Monacolin K, *Monascus*

¹ Lecturer, Agro-industry Technology and Management, Faculty of Agro-industry, King Mongkut's University of Technology North Bangkok.

² Assistant Professor, Agro-industry Product Development, Faculty of Agro-industry, King Mongkut's University of Technology North Bangkok.

* Corresponding Author, Tel. 0-2913-2500 Ext.7919, E-mail: sunee@kmutnb.ac.th

1. บทนำ

เนื่องจากสีเป็นหนึ่งในหลายปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะปรากฏของอาหาร ซึ่งส่งผลต่อการตัดสินใจซื้อของผู้บริโภค ดังนั้นผู้ประกอบการจำนวนมากจึงพยายามปรับปรุงคุณภาพสีของอาหารแต่ละชนิดเพื่อให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยสีที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอาจเป็นสีที่ได้จากธรรมชาติ (Natural Substances) หรือเป็นสีสังเคราะห์ (Synthetic Compounds) สีทั้งสองประเภทนี้มีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกัน เช่น สีธรรมชาติมีการมีวิธในการผลิตที่ละเอียดอ่อน ทำให้ต้นทุนการผลิตสูง จึงมีราคาแพง แต่จะไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ในขณะที่สีสังเคราะห์ซึ่งมีต้นทุนการผลิตต่ำ แต่หากได้รับเป็นปริมาณมากหรือเป็นเวลานาน ร่างกายจะเกิดการสะสมซึ่งอาจเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งได้ [1]

เชื้อราโมแนสคัส (*Monascus* spp.) เป็นเชื้อราที่สามารถสร้างสารสีธรรมชาติได้ในกลุ่มสีเหลืองถึงสีแดง [2] ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และสภาวะในการหมัก [3] สารสีที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อราโมแนสคัสเป็นสารเมแทโบไลต์ทุติยภูมิจำพวกโพลีคีไทด์ (Polyketides) ที่มีกลุ่ม Azaphilone เป็นองค์ประกอบ [4] และมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ [5] หรือละลายได้น้อยมาก [6] นอกจากสารสีแล้ว สารเมแทโบไลต์ทุติยภูมิที่เกิดขึ้นจากการหมักด้วยเชื้อราโมแนสคัสมีคุณสมบัติป้องกันการอักเสบ ป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน อีกทั้งยังลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดได้ [7]-[10] เนื่องจากประกอบด้วยสารโมนาโคลิน เค (Monacolin K) ที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase) ในกระบวนการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล [11]

โดยทั่วไปนิยมใช้ข้าวเป็นแหล่งอาหารในการหมักด้วยเชื้อราโมแนสคัส แหล่งอาหารธรรมชาติอื่นๆ ยังไม่เป็นที่แพร่หลาย อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยหลายชิ้นเริ่มใช้แหล่งอาหารอื่นสำหรับการผลิตสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส เช่น เปลือกกุ้งและปู [9] วัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตไวน์ [12] แป้งมันสำปะหลัง [13] และถั่วเหลือง [14] เป็นต้น

ขนุน (Jackfruit; *Artocarpus heterophylls* Lam.) เป็นผลไม้เมืองร้อนที่ปลูกได้ง่าย และมีผลผลิตตลอดทั้งปี สามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภูมิภาคภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีพื้นที่ปลูกขนุนเป็นจำนวนมาก ในการบริโภคขนุนมักจะมีวัสดุเหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก เช่น ชังขนุน แกนขนุน และ เมล็ดขนุน ซึ่งวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวยังไม่ได้ถูกนำไปแปรรูป หรือใช้ประโยชน์มากนัก [15]

งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะนำเมล็ดขนุนซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการบริโภคมาใช้ประโยชน์ โดยใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับการผลิตสารสีแดงจากกระบวนการหมักแบบแห้งด้วยเชื้อราโมแนสคัส 3 สายพันธุ์ที่นิยมใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร คือ *Monascus purpureus* (*M. purpureus*, *M. Anka*), *Monascus ruber* (*M. ruber*) และ *Monascus pilosus* (*M. pilosus*) [16 อ้างถึงใน 17] ซึ่งการนำเมล็ดขนุนมาหมักด้วยเชื้อราโมแนสคัสนี้ นอกจากจะเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่เมล็ดขนุนแล้ว ยังได้สารสีธรรมชาติที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และได้สารโมนาโคลิน เค ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภคอีกด้วย ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ 1) เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างสีของเชื้อราโมแนสคัส แต่ละสายพันธุ์ เมื่อใช้เมล็ดขนุนผงเป็นแหล่งอาหาร และ 2) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารโมนาโคลิน เค ที่ผลิตได้จากเชื้อราโมแนสคัสแต่ละสายพันธุ์

2. อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 การเตรียมเมล็ดขนุนผง

เตรียมเมล็ดขนุนผงโดยนำเมล็ดขนุนพันธุ์ขนุนหนึ่งที่ได้จากการแกะเอาเนื้อขวงออก นำไปล้างทำความสะอาดพักเมล็ดให้สะเด็ดน้ำ ลอกเยื่อชั้นนอกสีขาวครีมและเยื่อสีน้ำตาลออก นำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบดละเอียด (Blender) ด้วยความเร็วปานกลาง นาน 2 นาที อบแห้งในตู้อบลมร้อนแบบถาด (Tray Dryer) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง หรือ มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 15 บดให้ละเอียดอีกครั้ง แล้วนำมาร่อนผ่าน

ตะแกรงขนาด 80 เมช (ดัดแปลงจาก [18])

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดขุ่นผง ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า [19] ปริมาณคาร์โบไฮเดรตได้จากวิธีคำนวณ

2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างสีของเชื้อราโมแนสคัสเมื่อใช้เมล็ดขุ่นผงเป็นแหล่งอาหาร

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเมล็ดขุ่นผง โดยศึกษา 3 ปัจจัย คือสายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส (*M. purpureus*; TISTR 3615, *M. pilosus*; DSM 6914 และ *M. ruber*; DSM 62748 สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) ปริมาณความชื้นเริ่มต้น (ร้อยละ 30, 40 และ 50) และปริมาณน้ำตาลซูโครส (ร้อยละ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของน้ำหนักเมล็ดขุ่นผง)

2.2.1 กระบวนการหมัก

1) ชั่งเมล็ดขุ่นผง 50 กรัม บรรจุลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นเพื่อปรับความชื้นให้ได้ร้อยละ 30, 40 หรือ 50 และเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 0, 2, 4, 6 หรือ 8 ของน้ำหนักเมล็ดขุ่นผง และปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เท่ากับ 6 ปิดจุกสำลีแล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น

2) เติมหักเชื้อสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ *M. purpureus*, *M. pilosus* หรือ *M. ruber* ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 วัน

2.2.2 การวัดปริมาณสารสีที่ได้จากการหมัก

วัดปริมาณสารสี (Pigment Yield) ตามวิธีของ [1] โดยนำเมล็ดขุ่นผงที่ได้จากการหมักมาสกัดสารสีโดยการเติมเอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 90 ในอัตราส่วน 5 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัม น้ำหนักแห้งของแหล่งอาหาร เขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 วัดปริมาณสารสีที่เกิดขึ้น

ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) และที่ความยาวคลื่น 412 และ 500 นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าความยาวคลื่นที่แสดงถึงค่าสีเหลืองและสีแดง ตามลำดับ [20] ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อราโมแนสคัสสามารถสร้างสารสีได้สารกลุ่มสีตั้งแต่สีเหลืองจนถึงสีแดง [2] ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และสภาวะในการหมัก [3] ปริมาณสารสีที่เชื้อสร้างขึ้นคำนวณจากการดูดกลืนแสงต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง มีหน่วยเป็น OD ต่อกรัม น้ำหนักแห้ง

เปรียบเทียบปริมาณสารสีที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ต่างๆ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสม เพื่อใช้สำหรับดำเนินการทดลองต่อไป

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารโมนาโคลิน เค ในเมล็ดขุ่นผงที่หมักด้วยเชื้อราโมแนสคัสต่างสายพันธุ์

นำสภาวะที่คัดเลือกได้จากข้อ 2.2 มาใช้เป็นสภาวะในการหมักเพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารโมนาโคลิน เค ที่ผลิตได้จากการหมักด้วยเชื้อราโมแนสคัสแต่ละสายพันธุ์ วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารโมนาโคลิน เค โดยใช้เทคนิค HPLC (ดัดแปลงจาก [21] และ [22]) ทำได้โดยสกัดสารโมนาโคลิน เค ออกจากแหล่งอาหารหมักด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 อัตราส่วนของปริมาณแหล่งอาหารหมักต่อเอทานอล เป็น 1:2 ทำการสกัดที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง ใช้ความเร็วรอบในการสกัดเท่ากับ 250 รอบต่อนาที เมื่อครบระยะเวลาการสกัดให้กรองผ่านกระดาษกรองที่มีรูพรุนขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารโมนาโคลิน เค ด้วยเครื่อง HPLC ที่ใช้สารละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรท์และไตรฟลูออโรอะซิเตดที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในอัตราส่วน 65:35 (v/v) เป็นเฟสเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็ว 1 มิลลิลิตรต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง และใช้ UV Detector ที่ความยาวคลื่น 238 นาโนเมตร เปรียบเทียบปริมาณสารโมนาโคลิน เค ที่วิเคราะห์ได้กับกราฟมาตรฐาน

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์และจัดสิ่งทดลองแบบ Factorial (Factorial in CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดขนุนผง

หลังจากการเตรียมเมล็ดขนุนผงโดยการอบแห้งและลดขนาดเมล็ดขนุนที่ได้ลอกเยื่อหุ้มสีน้ำตาลออกและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่า เมล็ดขนุนผงที่เตรียมได้มีความชื้นร้อยละ 11.56 โดยน้ำหนักเปียก และมีปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และ คาร์โบไฮเดรต เท่ากับ ร้อยละ 13.16, 0.33, 6.59 และ 68.36 โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดขนุนผง

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (ร้อยละ)	
	โดย น้ำหนักเปียก	โดย น้ำหนักแห้ง
ความชื้น	11.56 \pm 1.68	-
โปรตีน	11.76 \pm 0.88	13.16 \pm 0.84
ไขมัน	0.29 \pm 0.04	0.33 \pm 0.05
เถ้า	5.85 \pm 1.87	6.59 \pm 2.00
คาร์โบไฮเดรต ¹	70.54 \pm 1.52	68.36 \pm 1.69

¹ = ใช้วิธีคำนวณ

จากข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดขนุนผงจากงานวิจัยต่างๆ (ตารางที่ 2) พบว่าผลการทดลองที่วิเคราะห์ได้จากงานวิจัยนี้ โดยเฉพาะปริมาณโปรตีนและไขมันมีค่าสอดคล้องกับงานวิจัยของ Tulyathan และคณะ [15] Puwastien และคณะ [23] และ Gupta และคณะ [24] สำหรับปริมาณเถ้าและคาร์โบไฮเดรตที่มีค่าแตกต่างกันอาจเกิดเนื่องจากการลอกหรือไม่ลอกเยื่อชั้นนอกสีขาวครีมหรือเยื่อสีน้ำตาลที่ห่อหุ้มเมล็ดขนุนออกในแต่ละงานวิจัย

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดขนุนผง

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)					
	โปรตีน	18.86	13.99	12.25	12.63	11.85
ไขมัน	2.20	0.51	0.99	2.34	1.00	0.33
เถ้า	3.60	3.56	3.92	3.99	0.15	6.59
คาร์โบไฮเดรต	70.24	21.24	75.26	74.70	26.20	68.36
ที่มา:	[25]	[23]	[15]	[7]	[24]	การทดลอง

3.2 สภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างสีของเชื้อราโมแนสคัสเมื่อใช้เมล็ดขนุนผงเป็นแหล่งอาหาร

3.2.1 ความเป็นไปได้ในการใช้เมล็ดขนุนผงเป็นแหล่งอาหารของเชื้อราโมแนสคัส

ในการทดลองเบื้องต้นเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการหมักเมล็ดขนุนผงด้วยเชื้อ *M. purpureus*, *M. pilosus* และ *M. ruber* พบว่าเมื่อใช้เมล็ดขนุนผงเป็นแหล่งอาหารเพียงอย่างเดียว เชื้อ *M. pilosus* และ *M. ruber* มีการเจริญและการสร้างสารสีได้ไม่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับ การหมักด้วยเชื้อ *M. purpureus* ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการเติมน้ำตาลซูโครสเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ช่วยในการเจริญของเชื้อรา เนื่องจากมีวางจำหน่ายทั่วไปตามท้องตลาด มีราคาถูก และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมขนาดย่อมได้ง่าย

3.2.2 สภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างสีของเชื้อราโมแนสคัส

จากผลการทดลองเบื้องต้นจึงศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีโดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial Design $3 \times 5 \times 3$ ศึกษา 3 ปัจจัย คือ สายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส 3 สายพันธุ์ (*M. purpureus*, *M. pilosus* และ *M. ruber*) ปริมาณความชื้นเริ่มต้นในการหมัก 3 ระดับ (ร้อยละ 30, 40 และ 50) และปริมาณการเติมน้ำตาลซูโครส 5 ระดับ (ร้อยละ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น) สภาวะที่ใช้ในการหมักแสดงในหัวข้อ 2.2.1 เมื่อหมักครบ 12 วัน ตามระยะเวลาที่กำหนดจึงวัดปริมาณสารสีที่ได้จากการหมักตามวิธีในหัวข้อ 2.2.2

ผลการหมักเมล็ตขุ่นผงด้วยเชื้อราโมแนสคัสต่างสายพันธุ์ต่อปริมาณสารสีแสดงดังตารางที่ 3 และตารางที่ 4

ตารางที่ 3 อิทธิพลของปัจจัยต่อปริมาณสารสีที่ผลิตได้

อิทธิพลหลัก	ปริมาณสารสีที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ		
	λ_{max}	412 nm	500 nm
สายพันธุ์	***	***	***
ความชื้นเริ่มต้น	***	***	***
ปริมาณน้ำตาล	***	**	**
อิทธิพลร่วม			
สายพันธุ์ × ความชื้นเริ่มต้น	***	***	*
สายพันธุ์ × ปริมาณน้ำตาล	*	*	ns
ความชื้นเริ่มต้น × ปริมาณน้ำตาล	***	**	*
สายพันธุ์ × ความชื้นเริ่มต้น × ปริมาณน้ำตาล	*	ns	ns

***, **, * หมายถึงมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p = 0.001, 0.01$ และ 0.05 ตามลำดับ
ns ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p = 0.05$

จากตารางที่ 3 พบว่าทั้ง 3 ปัจจัย คือสายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส ปริมาณความชื้นเริ่มต้น และปริมาณการเติมน้ำตาลซูโครส ส่งผลต่อปริมาณสารสีที่สร้างขึ้นเมื่อวิเคราะห์ที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) ที่ 412 และ 500 นาโนเมตร นอกจากนี้ยังพบว่าอิทธิพลร่วมของปัจจัย (Interaction) ที่ส่งผลต่อปริมาณสารสีที่สร้างขึ้น อย่างไรก็ตามไม่พบอิทธิพลร่วมของสายพันธุ์ × ปริมาณน้ำตาลซูโครส ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร และไม่พบอิทธิพลร่วมของสายพันธุ์ × ความชื้นเริ่มต้น × ปริมาณน้ำตาลซูโครส ทั้งที่ความยาวคลื่น 412 และ 500 นาโนเมตร ซึ่งการเกิดอิทธิพลร่วมของปัจจัยที่ส่งผลต่อการสร้างสารสีของเชื้อราโมแนสคัส ในงานวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานที่ระบุว่า การสร้างสารสีและการเจริญเติบโตของเชื้อราโมแนสคัสแต่ละสายพันธุ์มีความจำเพาะต่อชนิดของแหล่งคาร์บอนที่ใช้ [26], [27]

เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสีที่เชื้อราโมแนสคัส

สร้างขึ้นที่ λ_{max} และที่ 412 และ 500 นาโนเมตร ซึ่งแสดงถึงค่าสีเหลืองและสีแดง ตามลำดับ พบว่าสภาวะในการหมักเมล็ตขุ่นผงที่เชื้อราโมแนสคัสทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถสร้างปริมาณสารสีที่ λ_{max} ได้มากที่สุดคือ ในสภาวะความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 และมีการเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 4 (ตารางที่ 4) ปริมาณสารสีที่เชื้อ *M. purpureus*, *M. pilosus* และ *M. ruber* สร้างขึ้นที่ค่าความยาวคลื่นสูงสุดมีค่าเท่ากับ 5.92, 4.78 และ 3.44 OD ต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ

เมื่อหมักเมล็ตขุ่นผงด้วยเชื้อ *M. purpureus* ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 พบว่าการเติมน้ำตาลร้อยละ 4 และร้อยละ 6 ให้ปริมาณสารสีเหลืองและสารสีแดงสูงที่สุดซึ่งปริมาณสารสีเหลือง (412 นาโนเมตร) และสารสีแดง (500 นาโนเมตร) ที่ได้จากการเติมน้ำตาลร้อยละ 4 และร้อยละ 6 มีค่าไม่แตกต่างกัน คือ มีค่าเท่ากับ 5.34 กับ 5.29 OD ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และเท่ากับ 2.79 กับ 2.77 OD ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

ที่ความชื้นร้อยละ 50 พบว่าเมื่อเติมน้ำตาลร้อยละ 6 เชื้อ *M. pilosus* สามารถสร้างปริมาณสารสีเหลืองและสารสีแดงได้สูงที่สุด คือเท่ากับ 3.49 และ 4.19 OD ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ สำหรับการหมักด้วยเชื้อ *M. ruber* พบว่าเมื่อเติมน้ำตาลร้อยละ 8 เชื้อสามารถสร้างปริมาณสารสีเหลืองสูงสุด (2.01 OD ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) และปริมาณสารสีแดงที่ได้จากการเติมน้ำตาลร้อยละ 4 และร้อยละ 8 มีค่าไม่แตกต่างกัน คือมีค่าเท่ากับ 2.30 และ 2.06 OD ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

เนื่องจากสายพันธุ์ของเชื้อรามีผลต่อกลุ่มสีที่ได้จากการหมัก [3] ดังนั้นจึงนำเฉพาะปริมาณสารสีที่การดูดกลืนแสงสูงสุดที่เชื้อราโมแนสคัสแต่ละสายพันธุ์สร้างขึ้นมาใช้เป็นขอบเขตในการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเมล็ตขุ่นผงด้วยเชื้อราโมแนสคัส นั่นคือที่สภาวะความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 และปริมาณการเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 4 (ตารางที่ 5) จากนั้นจึงใช้สภาวะดังกล่าวนี้เป็นสภาวะคัดเลือกเพื่อทำการหมักเมล็ตขุ่นผงสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารโมโนโคลิน เค ต่อไป

ตารางที่ 4 ปริมาณสารสี (OD ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ที่ได้จากการหมักเมล็ดขุ่นผงที่สภาวะต่างๆ ด้วยเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ *M. purpureus*, *M. pilosus* และ *M. ruber*

ความชื้น (ร้อยละ)	น้ำตาล (ร้อยละ)	ปริมาณสารสีที่ λ_{max}			ปริมาณสารสีที่ 412 นาโนเมตร			ปริมาณสารสีที่ 500 นาโนเมตร		
		<i>M. purpureus</i>	<i>M. pilosus</i>	<i>M. ruber</i>	<i>M. purpureus</i>	<i>M. pilosus</i>	<i>M. ruber</i>	<i>M. purpureus</i>	<i>M. pilosus</i>	<i>M. ruber</i>
30	0	0.07+0.01 ^f	0.09+0.01 ^g	0.05+0.01 ^c	0.04+0.01 ^e	0.05+0.00 ^h	0.05+0.01 ^c	0.01+0.00 ^f	0.03+0.00 ^g	0.03+0.01 ^c
	2	0.08+0.02 ^f	0.08+0.01 ^g	0.05+0.00 ^c	0.04+0.01 ^e	0.06+0.01 ^h	0.05+0.00 ^c	0.02+0.01 ^f	0.03+0.00 ^g	0.03+0.00 ^c
	4	0.10+0.05 ^f	0.11+0.04 ^g	0.04+0.00 ^c	0.04+0.00 ^e	0.06+0.01 ^h	0.04+0.00 ^c	0.01+0.00 ^f	0.03+0.00 ^g	0.03+0.00 ^c
	6	0.09+0.01 ^f	0.13+0.02 ^g	0.04+0.00 ^c	0.03+0.01 ^e	0.06+0.00 ^h	0.05+0.01 ^c	0.01+0.00 ^f	0.03+0.00 ^g	0.03+0.01 ^c
	8	0.12+0.00 ^f	0.66+0.03 ^f	0.06+0.01 ^c	0.05+0.00 ^e	0.06+0.00 ^h	0.06+0.01 ^c	0.01+0.00 ^f	0.02+0.00 ^g	0.04+0.01 ^c
40	0	0.48+0.10 ^{ef}	0.69+0.04 ^{ef}	0.18+0.02 ^c	0.16+0.04 ^e	0.65+0.05 ^f	0.08+0.02 ^c	0.15+0.02 ^f	0.55+0.04 ^f	0.06+0.02 ^c
	2	1.35+0.04 ^d	0.77+0.04 ^{ef}	0.16+0.01 ^c	1.58+0.87 ^d	0.19+0.04 ^g	0.13+0.02 ^c	0.89+0.05 ^d	0.10+0.01 ⁱ	0.10+0.01 ^c
	4	0.97+0.03 ^{de}	0.77+0.13 ^{ef}	0.14+0.03 ^c	0.45+0.25 ^e	0.25+0.00 ^g	0.14+0.02 ^c	0.32+0.06 ^{ef}	0.22+0.00 ^h	0.12+0.02 ^c
	6	1.11+0.11 ^d	0.72+0.01 ^{ef}	0.15+0.04 ^c	1.24+0.24 ^d	0.68+0.02 ^f	0.11+0.03 ^c	1.48+0.40 ^c	0.49+0.02 ^g	0.08+0.01 ^c
	8	0.91+0.15 ^{de}	0.74+0.03 ^{ef}	0.16+0.03 ^c	1.32+0.29 ^d	0.19+0.01 ^g	0.14+0.02 ^c	0.69+0.06 ^{de}	0.12+0.01 ⁱ	0.12+0.02 ^c
50	0	4.82+0.47 ^b	0.94+0.16 ^{de}	0.79+0.06 ^c	3.83+0.39 ^b	0.83+0.09 ^e	0.77+0.05 ^{bc}	2.14+0.24 ^b	0.84+0.08 ^e	0.58+0.02 ^c
	2	4.64+0.55 ^b	1.43+0.04 ^c	0.56+0.00 ^c	3.92+0.42 ^b	1.24+0.05 ^c	0.48+0.00 ^c	2.21+0.35 ^b	1.50+0.01 ^b	0.45+0.00 ^c
	4	5.92+0.25^a	4.78+0.34^a	3.44+0.10^a	5.34+0.34^a	1.50+0.04 ^b	1.51+0.44 ^b	2.79+0.22^a	1.43+0.04 ^c	2.30+0.10^a
	6	4.34+0.45 ^b	4.16+0.00 ^b	2.02+0.16 ^b	5.29+0.68^a	3.49+0.09^a	1.32+0.10 ^b	2.77+0.26^a	4.19+0.06 ^a	1.50+0.11 ^b
	8	2.74+0.26 ^c	1.09+0.09 ^d	3.10+0.57 ^{ab}	2.72+0.16 ^c	0.99+0.05 ^d	2.01+0.06^a	1.54+0.10 ^c	1.09+0.08 ^d	2.06+0.11^{ab}

a, b, ..., i ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 5 สภาวะในการหมักที่เหมาะสมในการสร้างสารสีของเชื้อราโมแนสคัสเมื่อใช้เมล็ดขุ่นผงเป็นแหล่งอาหารในการหมัก

สภาวะคัดเลือก	สายพันธุ์		
	<i>M. purpureus</i>	<i>M. pilosus</i>	<i>M. ruber</i>
ปริมาณความชื้นเริ่มต้น (ร้อยละ)	50	50	50
ปริมาณน้ำตาลซูโครส (ร้อยละ)	4	4	4
ปริมาณสารสีที่ λ_{max} (OD ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)	5.92	4.78	3.44
ค่า λ_{max} (นาโนเมตร)	403	362	435

3.3 ปริมาณโมนาโคลิน เค ในเมล็ดขุ่นผงที่หมักด้วยเชื้อราโมแนสคัสต่างสายพันธุ์

จากการทดลองพบว่า ทั้งสายพันธุ์และปริมาณน้ำตาลซูโครสมีอิทธิพลต่อปริมาณสารโมนาโคลิน เค ที่ได้จากการหมัก ($p < 0.001$) และพบอิทธิพลร่วมระหว่าง

สายพันธุ์และปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อปริมาณสารโมนาโคลิน เค ($p < 0.001$) และวิเคราะห์ไม่พบปริมาณสารโมนาโคลิน เค ในตัวอย่างควบคุม (ไม่แสดงผล)

ตารางที่ 6 ปริมาณสารโมนาโคลิน เค (มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตัวอย่างแห้ง) ที่ได้จากการหมักเมล็ดขุ่นผงด้วยเชื้อราโมแนสคัสต่างสายพันธุ์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50

สายพันธุ์	ปริมาณน้ำตาลซูโครส (ร้อยละ)	ปริมาณสารโมนาโคลิน เค (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)
<i>M. purpureus</i>	0	1.62 ± 0.27
	4	29.50 ± 3.27
<i>M. pilosus</i>	0	N.D.
	4	N.D.
<i>M. ruber</i>	0	45.43 ± 1.20
	4	72.38 ± 5.65

จากผลการทดลองในตารางที่ 6 พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสส่งผลให้ปริมาณสารโมนาโคลิน เค

ที่ได้จากการหมักเมล็ดขนุนผงด้วยเชื้อ *M. purpureus* และ *M. ruber* เพิ่มมากขึ้น คือเพิ่มจาก 1.62 เป็น 29.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และจาก 45.43 เป็น 72.38 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่า เมื่อใช้เมล็ดขนุนผงเป็นแหล่งอาหารในการหมักภายใต้สภาวะที่กำหนดเดียวกัน เชื้อ *M. ruber* สามารถสร้างสารโมนาโคลิน เค ได้มากกว่า *M. purpureus*

งานวิจัยนี้ไม่สามารถตรวจพบปริมาณสารโมนาโคลิน เค ที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อ *M. pilosus* ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจาก เชื้อ *M. pilosus* มีความสามารถในการสร้างสารโมนาโคลิน เค ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อ *M. purpureus* และ *M. ruber* และอาจเกิดจากการสร้างสารโมนาโคลิน เค ของเชื้อ *M. pilosus* มีความไวสูงต่อชนิดและปริมาณของน้ำตาลที่มีอยู่ในแหล่งอาหาร [28]

4. สรุป

จากการทดลองใช้เมล็ดขนุนผงมาเป็นแหล่งอาหารของเชื้อราโมแนสคัส 3 สายพันธุ์แตกต่างกัน คือ *M. purpureus*, *M. pilosus* และ *M. ruber* สามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้

1. เมล็ดขนุนผงพันธุ์ขนุนแห้งที่เตรียมได้มีความชื้นร้อยละ 11.56 โดยน้ำหนักเปียก และมีปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรต เท่ากับร้อยละ 13.16, 0.33, 6.59 และ 68.36 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

2. เมื่อนำเมล็ดขนุนผงที่เตรียมได้ไปใช้เป็นแหล่งอาหาร เพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการผลิตสารสีที่เชื้อราโมแนสคัสสร้างขึ้นระหว่างการหมัก โดยศึกษา 3 ปัจจัย คือ สายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส 3 สายพันธุ์ (*M. purpureus*, *M. pilosus* และ *M. ruber*) ปริมาณความชื้นเริ่มต้นในการหมัก 3 ระดับ (ร้อยละ 30, 40 และ 50) และปริมาณการเติมน้ำตาลซูโครส 5 ระดับ (ร้อยละ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น) กำหนดให้ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6 ความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน พบว่า

ทั้งสามปัจจัยมีอิทธิพล และอิทธิพลร่วมต่อปริมาณสารสีที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) ที่ 412 และ 500 นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าความยาวคลื่นที่แสดงถึงค่าสีเหลืองและสีแดงตามลำดับ

3. สภาวะที่เชื้อราโมแนสคัสทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถสร้างสารสีได้มากที่สุด คือที่สภาวะความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 และการเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 4 โดยเชื้อ *M. purpureus*, *M. pilosus* และ *M. ruber* สร้างสารสีได้ 5.92, 4.78 และ 3.44 OD ต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ

4. เมื่อศึกษาปริมาณสารโมนาโคลิน เค ที่เชื้อราโมแนสคัสทั้ง 3 สายพันธุ์สร้างขึ้นระหว่างกระบวนการหมักโดยนำเมล็ดขนุนผงมาหมักภายใต้สภาวะที่คัดเลือก คือที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 และการเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 4 เปรียบเทียบกับสภาวะที่ไม่เติมน้ำตาลซูโครสและตัวอย่างควบคุม (เมล็ดขนุนผงที่ไม่ผ่านการหมัก) พบว่าสายพันธุ์ของเชื้อโมแนสคัส และปริมาณการเติมน้ำตาลซูโครสมีอิทธิพลและอิทธิพลร่วมต่อปริมาณสารโมนาโคลิน เค ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมัก

5. ปริมาณสารโมนาโคลิน เค ที่สายพันธุ์ *M. purpureus* และ *M. ruber* สร้างขึ้นได้ระหว่างการหมักเมล็ดขนุนผงภายใต้สภาวะที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 และการเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 4 มีค่าเท่ากับ 29.50 และ 72.38 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ไม่สามารถตรวจพบปริมาณสารโมนาโคลิน เค ที่เชื้อ *M. pilosus* สร้างขึ้น

เมล็ดขนุนผงที่ผ่านการหมักด้วยเชื้อราโมแนสคัสจากงานวิจัยนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งแก่ผู้บริโภค โดยเฉพาะผู้บริโภคที่ใส่ใจต่อสุขภาพ อย่างไรก็ตามการประยุกต์ใช้นั้นยังต้องคำนึงถึงความปลอดภัยในการบริโภคผลิตภัณฑ์อาหารเหล่านั้น เนื่องจากระหว่างการหมักเชื้อราโมแนสคัสสามารถสร้างสารเมแทบอไลต์อื่น นอกจากโมนาโคลิน เค เช่น ซิตรินิน ซึ่งเป็นสารพิษจากเชื้อรา (Mycotoxin) ที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย



5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ (ทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2554)

เอกสารอ้างอิง

- [1] S. Babitha, C.R. Soccol, and A. Pandey, "Solid-state fermentation for the production of *Monascus* pigments from jackfruit seed," *Bioresource Technology*, vol. 98, pp. 1554-1560, 2007.
- [2] P.Z. Margalith, *Pigment microbiology*, London: Chapman and Hall, 1992.
- [3] C.Arunachalam and D.Narmadhapiya, "Monascus fermented rice and its beneficial aspects: A new review," *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, vol. 4, pp. 29-31, 2011.
- [4] R.M.J. Nout, "Chapter 17: the colonizing fungus as a food provider," In J. Dijksterhuis, and R.A. Samson, *Food mycology: A multifaceted approach to fungi and food*, Florida: CRC Press; 2007.
- [5] Y. Zheng, Y. Xin, and Y. Guo, "Study on the fingerprint profile of *Monascus* products with HPLC-FD, PAD and MS," *Food Chemistry*, vol. 113, pp. 705-711, 2009.
- [6] L. Dufossé, "Microbial production of food grade pigments," *Food Technology and Biotechnology*, vol. 44, pp. 313-321, 2006.
- [7] C. Chairisook, "Mycelial reactions and mycelial compatibility groups of red rice mould (*Monascus purpureus*)," *Mycological Research*, vol. 106, no. 3, pp. 298-304, 2002.
- [8] Y.N. Chang, J.C. Huang, C.C. Lee, I.L. Shih, and Y.M. Tzeng, "Use of response surface methodology to optimize culture medium for production of lovastatin by *Monascus ruber*," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 30, pp. 889-894, 2002.
- [9] S.L. Wang, Y.H. Yen, W.J. Tsiao, W.T. Chang, and C.L. Wang, "Production of antimicrobial compounds by *Monascus purpureus* CCRC31499 using shrimp and crab shell powder as a carbon source," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 31, pp. 337-344, 2002.
- [10] Y.L. Lee, J.H. Yang, and J.L. Mau, "Antioxidant properties of water extracts from *Monascus* fermented soybean," *Food Chemistry*, vol. 106, pp. 1128-1137, 2008.
- [11] C.F. Kuo, M.H. Hou, T.S. Wang, C.C. Chyau, and Y.T. Chen, "Enhanced antioxidant activity of *Monascus pilosus* fermented products by addition of ginger to the medium," *Food Chemistry*, vol. 116, pp. 915-922, 2009.
- [12] S.T. Silveira, D.J. Daroit, and A. Brandelli, "Pigment production by *Monascus purpureus* in grape waste using factorial design," *Swiss Society of Food Science and Technology*, vol. 41, pp. 170-174, 2008.
- [13] S. Kongruang, "Growth kinetics of biopigment production by Thai isolated *Monascus purpureus* in a stirred tank bioreactor," *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, vol. 38, pp. 93-99, 2011.
- [14] B. Yongsmith and K. Kangsadalampai, "Fermentation of functional *monascus* yellow pigments on rice solid culture," *Journal of Biotechnology*, vol. 136S, pp. S743-S750, 2008.
- [15] V. Tulyathan, K. Tananuwong, P. Songjinda, and N. Jaiboon, "Some physicochemical properties of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam) seed



- flour and starch,” *ScienceAsia*, vol. 28, pp.37-41, 2002.
- [16] D.L. Hawksworth and J.I. Pitt, “A new taxonomy for *Monascus* species based on cultural and microscopical characters,” *Australian Journal of Botany*, vol. 31, pp. 51-61, 1983.
- [17] B.S. Sun, L.P. Zhou, X.Q. Jia, and C.K. Sung, “Response surface modeling for γ -amino butyric acid production by *Monascus pilosus* GM100 under solid-state fermentation,” *African Journal of Biotechnology*, vol. 7, pp. 4544-4550, 2008.
- [18] A. Mukprasirt and K. Sajjaanantakul, “Physico-chemical properties of flour and starch from jackfruit seeds (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) compared with modified starches,” *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 39, pp. 271-276, 2004.
- [19] Official Methods of Analysis, *The Association of Official Analytical Chemists (AOAC)*, ed. 16th, 1995.
- [20] P. Velmurugan, H. Hur, V. Balachandar, S.K. Kannan, K.L. Lee, S.M. Lee, J.C. Chae, P.J. Shea, and B.T. Oh, “*Monascus* pigment production by solid-state fermentation with corn cob substrate,” *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 12, pp. 590-594, 2011.
- [21] F. Chen and X. Hu, “Study on red fermented rice with high concentration of Monacolin K and low concentration of Citrinin,” *International Journal of Food Microbiology*, vol. 103, pp. 331-337, 2005.
- [22] J. Japakaset, C. Wongkhalaung, and V. Leelawatcharamas, “Utilization of Soybean Residue to Produce Monacolin K – Cholesterol Lowering Agent,” *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, vol. 31, pp. 35-39, 2009.
- [23] P. Puwastien, M. Raroengwicht, P. Sungpuag, and K. Judprasong, *Thai Food Composition Tables*, Institute of Nutrition, Mahidol University, 1999 (in Thai).
- [24] D. Gupta, S. Mann, A. Sood, and R.K. Gupta, “Phytochemical, nutritional and antioxidant activity evaluation of seeds of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.),” *International Journal of Pharma and Bio Science*, vol. 2, pp. 336-344, 2011.
- [25] A. Singh, S. Kumar, and I.S. Singh, “Functional Properties of Jack Fruit Seed Flour,” *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, vol. 24, pp. 373-374, 1991.
- [26] M. Yoshimura, S. Yamanaka, K. Mitsugi, and Y. Hirose, “Production of *Monascus*-pigment in a submerged culture,” *Agricultural and Biological Chemistry*, vol. 39, pp. 1789-1795, 1975.
- [27] S. Babitha, C.R. Soccol, and A. Pandey, “Jackfruit seed-a novel substrate for the production of *Monascus* pigments through solid-state fermentation,” *Food Technology and Biotechnology*, vol. 44, pp. 465-471, 2006.
- [28] T. Miyake, K. Uchitomi, M.Y. Zhang, I. Kono, N. Nozaki, H. Sammoto, and K. Inagabi, “Effects of the Principal Nutrients on Lovastatin Production by *Monascus pilosus*,” *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, vol. 70, pp. 1154-1159, 2006.