บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

ผลจากการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 และในอาหารแข็งสูตรที่ 9-11 ที่ใช้เชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และในอาหารเหลวสูตรที่ 7 และ 8 ที่ใช้เชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม โดยจะนำมาวิเคราะห์แยกเป็นอาหารเหลวและอาหารแข็ง ซึ่งในแต่ละสูตรอาหารมีกลูโคส และ/หรือ แลคโตส และโมโนโซเดียมกลูตาเมท หรือฮิสติดีน แตกต่างกัน ในอาหารทุกสูตรเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน แล้วจึงนำมาวิเคราะห์ค่าพีเอช ปริมาณคาร์บอนและปริมาณไนโตรเจนที่เชื้อใช้ไปในอาหาร มวลชีวภาพ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหาร (วิเคราะห์เฉพาะอาหารเหลว) ค่าสีแดงสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ค่าสีโดยใช้ Hunter Lab และโมนาโคลิน เค สามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้

1. ในอาหารเหลวศึกษาผลของกลูโคส และ/หรือแลคโตส และโมโนโซเดียมกลูตาเมท หรือฮิสติดีนต่อการผลิตรงควัตถุสีแดงและโมนาโคลิน เค โดยเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU และ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 จากการเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน พบว่าอาหารเหลวสูตรที่ 3 ที่เติมกลูโคสและแลคโตสอย่างละ20กรัม/ลิตรและโมโนโซเดียมกลูตาเมท 12.5 กรัม/ลิตร ให้ค่าดูดกลืนแสงสูงที่สุด สูตรอาหารที่ให้ค่าดูดกลืนแสงรองลงมาคืออาหารเหลวสูตรที่ 1 เติมกลูโคส 20 กรัม/ลิตร และโมโนโซเดียมกลูตาเมท 12.5 กรัม/ลิตร แต่ก็ให้ค่าที่น้อยมากจึงอาจจะถือได้ว่าอาหารเหลวทั้งหมด 8 สูตรไม่มีการสร้างรงควัตถุสีแดง สูตรอาหารที่พบสารโมนาโคลินได้จะมีแหล่งไนโตรเจนที่เหมือนกันคือฮิสติดีน 12.5กรัม/ลิตร โดยเรียงจากสูตรอาหารที่พบโมนาโคลิน เคมากไปหาน้อยคือ อาหารเหลวสูตรที่ 8 รองลงมาคืออาหารสูตรที่ 2 และ 6 โดยอาหารเหลวสูตรที่ 8 เติมกลูโคส 45 กรัม/ลิตรพบโมนาโคลิน เค ในวันที่ 5 และ10 ของการเลี้ยงเชื้อ อาหารเหลวสูตรที่ 2 เติมกลูโคส 20 กรัม/ลิตร พบโมนาโคลิน เค ในวันที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อ อาหารเหลวสูตรที่ 6 เติมกลูโคสและแลคโตสอย่างละ 20 กรัม/ลิตร พบโมนาโคลิน เค ในวันที่ 15 ของการเลี้ยงเชื้อ ซึ่งอาหารเหลวสูตรที่ 8, 2 และ6 นั้นล้วนแต่มีการเติมฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจน มวลชีวภาพของเชื้อ *Aspergillus terreus* TISTR 3109 จะมีจำนวนมากกว่ามวลชีวภาพของเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU เมื่อพิจารณาอาหารเหลวสูตรที่ 1-6 ที่ใช้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU นั้น อาหารเหลวสูตรที่ 5 เติมกลูโคสและแลคโตสอย่างละ 20 กรัม/ลิตร และโมโนโซเดียมกลูตาเมท 12.5 กรัม/ลิตร ให้มวลชีวภาพสูงที่สุด สูตรอาหารเหลวที่ให้มวลชีวภาพรองลงมาคืออาหารเหลวสูตรที่ 3 เติมแลคโตส 45 กรัม/ลิตรและโมโนโซเดียมกลูตาเมท 12.5 กรัม/ลิตร ในอาหารเหลวทั้งหมด 8 สูตรอาหารที่เติมโมโนโซเดียมกลูตาเมท 12.5 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจนจะมีจำนวนมวลชีวภาพมากกว่าอาหารเหลวที่เติมฮิสติดีน 12.5 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน

2. ในอาหารแข็งศึกษาผลโมโนโซเดียมกลูตาเมท หรือฮิสติดีน ต่อการผลิตรงควัตถุสีแดงและโมนาโคลิน เค โดยเชื้อ *Monascus purpureus* FTCMU จากการเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 0-20 วัน พบว่าในอาหารแข็งทั้งหมด 3 สูตรไม่เติมแหล่งคาร์บอนแต่จะเติมแหล่งไนโตรเจนแตกต่างกันไป โดยที่อาหารแข็งสูตรที่ 3 ไม่เติมแหล่งไนโตรเจนให้ค่าสีแดงสูงที่สุด สูตรอาหารที่ให้ค่าสีแดงรองลงมาคืออาหารแข็งสูตรที่ 1 เติมโมโนโซเดียมกลูตาเมท 12.5 กรัม/กิโลกรัม สูตรอาหารที่พบโมนาโคลิน เค มากไปหาน้อยคือ อาหารแข็งสูตรที่ 2 เติมฮิสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัม พบโมนาโคลิน เค ในวันที่ 20 ของการเลี้ยงเชื้อ รองลงมาคืออาหารแข็งสูตรที่ 3 ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน พบโมนาโคลิน เค ในวันที่ 15 และ 20 ของการเลี้ยงเชื้อ และอาหารแข็งสูตรที่ 1 เติมโมโนโซเดียมกลูตาเมท 12.5 กรัม/กิโลกรัม พบโมนาโคลิน เค ในวันที่ 20 ของการเลี้ยงเชื้อ ตามลำดับ การเติมฮิสติดีน 12.5 กรัม/กิโลกรัมเป็นแหล่งไนโตรเจนนั้นทำให้สามารถพบโมนาโคลิน เค ได้มากที่สุด

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. เลี้ยงเชื้อในอาหารปริมาณที่เท่าเดิม แต่เพิ่มเป็นเลี้ยงในขวดรูปชมพู่หลายๆขวดแล้วนำมารวมกัน แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ผล อาจจะเป็นการเพิ่มจำนวนเชื้อที่ได้ให้มีจำนวนมากขึ้น เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ผลต่างๆ ยกตัวอย่างเช่น หาปริมาณโมนาโคลิน เค ด้วยเครื่อง HPLC อาจจะได้ผลที่ดีกว่านี้เพราะมีปริมาณวัตถุดิบตัวอย่างเชื้อที่ใช้ในการทดลองเพิ่มขึ้น เป็นต้น
2. เลี้ยงเชื้อในอาหารเป็นระยะเวลาที่นานขึ้น จากการทดลองในครั้งนี้ใช้เวลาเลี้ยงนานที่สุดคือ 20 วัน จะเห็นได้ว่า ระยะเวลาในการเลี้ยงช่วงหลังๆ 15 วัน และ 20 วัน จะตรวจพบโมนาโคลิน เค ได้ในปริมาณต่ำๆ ถ้าหากมีการเพิ่มระยะเวลาการเลี้ยงในนานขึ้นกว่าเดิม อาจจะเป็น 25 วัน หรือ 30 วัน จะเป็นการศึกษาต่อไปได้ว่าปริมาณโมนาโคลิน เค ที่ต้องการนั้นจะมีปริมาณที่เพิ่มมากขึ้นหรือไม่ หรือเพื่อศึกษาว่าเชื้อมีการสร้างสีเพิ่มมากขึ้นหรือไม่ ถ้าเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลานานขึ้นกว่าเดิม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. จากเดิมเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นใน PDAนาน 8 วัน แล้วจึงนำเชื้อนั้นมาตัดลงในอาหาร 1 ชิ้น ขนาด 1x1 เซนติเมตร ซึ่งเชื้ออาจจะมีการเจริญเติบโตในบริเวณที่จะตัดใส่ลงในอาหารหนาแน่นไม่เท่ากัน หรือมีจำนวนสปอร์ไม่เท่ากัน ซึ่งอาจจะมีผลต้องการทดลองได้ เพราะเชื้อเริ่มต้นไม่เท่ากัน ฉะนั้นควรจะหาวิธีนับจำนวนสปอร์ หรือใส่เชื้อเริ่มต้นให้เท่ากันในทุกสูตรอาหาร
4. ควรจะศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตรงควัตถุสีอื่นนอกจากสีแดง เพราะเชื้อราโมแนสคัสนั้นสามารถผลิตสีได้หลายสี เช่น สีเหลือง สีแดง และสีส้ม เป็นต้น
5. ควรจะทดลองเลี้ยงเชื้อในห้องที่ปลอดเชื้อและสามารถควบคุมอุณหภูมิได้ เพื่อที่เชื้อจะได้มีสภาวะต่างๆที่คงที่ และเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ อาจมีการสร้างสีและโมนาโคลิน เคมากขึ้นก็ได้
6. ควรจะศึกษาปริมาณมวลชีวภาพที่เจริญในข้าวด้วย โดยใช้วิธีวิเคราะห์ทางอ้อม เช่น วิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน (glucosamine) ในระหว่างการเลี้ยงเชื้อรา
7. ควรจะศึกษาเพิ่มเติมว่าการเติมคอปเปอร์คลอไรด์ ($CuCl_2.2H_2O$) กรดบอริค (H_3BO_3) และแอมโนเนียโมลิบเดท $[(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O]$ ลงในอาหารเหลว รวมทั้งความเข้มข้นที่ใช้ อาจจะไปยับยั้งการเจริญและการสร้างรงควัตถุของเชื้อรา
8. ควรจะศึกษากลไกการสังเคราะห์สารโมนาโคลิน เค เพื่อให้ทราบลำดับขั้นตอนการเกิด และระยะเวลาที่เหมาะสม สำหรับการเกิดสารโมนาโคลิน เค ที่แน่นอน จะได้ตรวจพบสารโมนาโคลิน เคได้
9. การตรวจหาโมนาโคลิน เค อาจจะทำได้โดยวิธีอื่นได้อีก เช่น ใช้เครื่องแมสสเปกโทรเมตรี (Mass Spectrometry) เป็นต้น
10. การตรวจหาสีที่เกิดขึ้น อาจจะทำได้โดยวิธีอื่นได้อีก เช่น ใช้วิธี High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) เป็นต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved