กรกต สุนทรกุล. 2555. <mark>การผลิตสาโทแดงจากข้าวเหนียวดำและรา</mark> *Monascus purpureus*. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทค โนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ผศ. คร. คณิต วิชิตพันธุ์

## บทคัดย่อ

สาโทเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้าน ที่อยู่คู่กับคนไทยและสังคมไทยมาช้านาน โดยกระบวนการผลิต สาโทตามวิธีภูมิปัญญาชาวบ้าน จะทำการหมักข้าวเหนียวขาวด้วย ลูกแป้ง ที่มีกลุ่มจุลินทรีย์จำพวกรา ยีสต์ และ แบคทีเรีย ได้ผลิตภัณฑ์สาโทที่มีลักษณะใสหรือขาวขุ่น แต่ผลิตภัณฑ์สาโท ที่ผลิตโดยวิธี นี้มักมีคุณภาพไม่ สม่ำเสมอ และไม่มีความคงตัว งานวิจัยนี้ มุ่งเน้นการ ผลิตสาโทแดงจากข้าวเหนียวคำ โดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ บริสุทธิ์ ได้แก่ราแดง Monascus purpureus ในขั้นตอนการย่อยข้าว ซึ่งรา M. purpureus เป็นราที่สามารถผลิตสาร สีเหลือง สีส้ม และสีแดง นอกจากนี้ยังสามารถผลิตสารเมแทบอไลต์ที่มีประโยชน์ได้หลายชนิด เช่น โมนาโคลิน เค และซิตรินิน และใช้ยีสต์สายพันธุ์ Saccharomyces bayanas EC1118 ในขั้นตอนการผลิตเอทานอล

การทดลองแรกเป็นการคัดเลือกชนิดของข้าวเหนียวดำ จาก 4 แหล่งปลูก ได้แก่ ข้าวเหนียวดำจากคณะ เกษตรศาสตร์ มหา วิทยาลัยขอนแก่น ข้าวเหนียวดำ จาก จ. นครราชสีมา จ. เชียงราย และจ. ร้อยเอ็ด ที่มีปริมาณ สารแกมมาโอไรซานอล สารแอนติออกซิแดนท์ สารประกอบฟินอลลิก ในปริมาณสูง และคัดเลือกสายพันธุ์รา แดง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *M. purpureus* TISTR 3002, 3385, 3541 และ 3090 ที่เหมาะสมต่อการผลิตสาโทแดง โดย ทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยแป้ง เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สาโทที่มีปริมาณสารสำคัญในปริมาณสูง ผลการ คัดเลือกชนิดของข้าวเหนียวดำจากการสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญของข้าวเหนียวดำ พบว่าข้าวเหนียว ดำจากคณะเกษตรศาสตร์ มข. และข้าวเหนียวดำจาก จ. ร้อยเอ็ดให้ปริมาณสารสำคัญสูงกว่าอีก 2 แหล่งปลูก ส่วน ของราแดงผลการทดลองพบว่า *M. purpureus* TISTR 3002 เป็นสายพันธุ์ราที่มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้ง สูง กว่าอีก 3 สายพันธุ์

จากนั้น ผลิตสาโทแดงโดยใช้ ข้าวเหนียวดำจากคณะเกษตรศาสตร์ และข้าวเหนียวดำจากจ .ร้อยเอ็ด ร่วมกับรา *R. oryzae* และ *M. purpureus* TISTR 3002 ผลการทดลองพบว่า สาโท แดงที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำทั้ง สองสายพันธุ์ ร่วมกับการใช้รา *R. oryzae* เป็นสาโทที่มีปริมาณสารสำคัญสูงที่สุด เป็นไปได้ว่ารา *M. purpureus* TISTR 3002 ไม่สามารถย่อยข้าวเหนียวดำได้ อย่างมีประสิทธิภาพมาก นัก จึง ทดลองโดย แปรผันอัตราส่วน ระหว่างข้าวเหนียวดำจากจ .ร้อยเอ็ดต่อข้าวเหนียวขาว ในอัตราส่วน 0:100 55:45 70:30 85:15 และ 100:0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักร่วมกับ การใช้ รา *R. oryzae* และ *M. purpureus* TISTR 3002 ผลการทดลองพบว่า ที่ อัตราส่วน 55:45 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ร่วมกับการใช้รา *M. purpureus* TISTR 3002 ได้ผลิตภัณฑ์สาโทแดง ที่มี ปริมาณสารแกมมาโอไรซานอล และสารประกอบฟินอลลิก สูงกว่าการใช้รา *R. oryzae* ในขณะที่ปริมาณ สาร แอนติออกซิแดนท์ในสาโทมีปริมาณใกล้เคียงกัน เมื่อนำตัวอย่างสาโทแดงไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการ เจริญของแบกทีเรียก่อโรค 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus cereus, Staphylococcus aureus* TISTR 029, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27533, *Escherichia coli* TISTR 073 และ *Enterobacter aerogenes* TISTR 1540 พบว่า 5 สายพันธุ์ โดยอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดคือ 55:45 และ 70:30 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ยกเว้นการยับยั้งการเจริญ ของ *E. coli* TISTR 073 มีอัตราส่วนที่เหมาะสมอยู่ที่ 0:100 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

จากนั้นกัดเลือกตัวอย่างสาโทที่มีปริมาณสารสำคัญสูง และมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ก่อโรกจำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ สาโทแดงที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำต่อข้าวเหนียวขาว ในอัตราส่วน 70:30 และ 100:0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักร่วมกับการใช้รา *M. purpureus* TISTR 3002 และสาโทแดงที่ผลิตจากข้าวเหนียวคำ ต่อข้าวเหนียวขาว ในอัตราส่วน 70:30 และ 100:0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักร่วมกับการใช้รา *R. oryzae* โดยใช้สาโท ที่ผลิตจากข้าวเหนียวขาวร่วมกับการใช้ราสายพันธุ์ *R. oryzae* เป็นตัวอย่างกวบคุม มาทดสอบทางประสาทสัมผัส ร่วมกับสาโททางการค้า 1 ตัวอย่าง ผลการทดลองพบว่า สาโทที่ผลิตจากข้าวเหนียวคำ 100 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ร่วมกับการใช้รา *M. purpureus* TISTR 3002 และสาโทที่ผลิตจากข้าวเหนียวจาว 100 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ร่วมกับการใช้รา *R. oryzae* มีคะแนนจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสในด้านสี กลิ่น รสชา ติ และคะแนน ความชอบโดยรวมสูงกว่าอีก 4 ตัวอย่าง

งานวิจัยสรุปได้ว่า การผลิตสาโทแดงจากข้าวเหนียวดำ ร่วมกับการใช้รา *M. purpureus* ได้ผลิตภัณฑ์ สาโทแดงที่มีปริมาณสารสำคัญที่มีประโยชน์และผู้บริโภคชื่นชอบจากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส แต่ การ ใช้รา *M. purpureus* ในการข่อยข้าวเหนียวดำนั้นยังมีประสิทธิภาพต่ำกว่าใช้รา *R. oryzae* ดังนั้นจึงกวรศึกษาและ หาแนวทางในการเตรียมวัตถุดิบ (ข้าวเหนียวดำ) เพื่อให้วัตถุดิบอยู่ในสภาพที่เหมาะสมพร้อมที่จะเอื้อให้รา *M. purpureus* สามารถช่อยข้าวเหนียวดำได้อย่างมีประสิทธิ ภาพมากยิ่งขึ้น ร่วมกับการ คัดเลือกและ พัฒนา สายพันธุ์รา *M. purpureus* ให้มีความสามารถในการ ย่อยเมล็ดข้าวเหนียวดำได้ อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อได้ ผลิตภัณฑ์สาโทแดงที่มีทั้งประโยชน์ต่อผู้บริโภค และมีลักษณะทางกายภาพ และรสชาติที่ถูกใจผู้บริโภค Korakoth Soontornkul. 2012. Red Rice Wine Production from Black Sticky Rice and Monascus purpureus.

Master of Science Thesis in Biotechnology, Graduate School, Khon Kaen University.

Thesis Advisors: Asst. Prof. Dr. Kanit Vichitphan

## ABSTRACT

Rice wine is one of the most ancient wines in Thai society for a long time. Traditional rice wine produced from sticky rice fermented with a various microorganism in mixed culture starter granules or look-pang that contains mold, yeast, and bacteria. The fermenting goes until the product, rice wine, has the clear color or smoky white color. However, the rice wine from the mentioned process has not been stable and low quality. This research study focuses on using black sticky rice as raw material and using *Monascus purpureus* and *Saccharomyces bayanas* EC1118 as pure culture during red rice wine production process. *M. purpureus* was selected in step of digesting black sticky rice because it can produce various useful metabolites (monacolin K and citrinin) and colour agent which are yellow, orange and red color.

Five varieties of black sticky rice, black sticky rice from Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, black sticky rice grown in Nakhon Ratchasima, Chiang Rai and Roi-Et province of Thailand, were selected to determine the gramma oryzanol, antioxidant and phenolic compounds. The results showed that black sticky rice from Faculty of Agriculture, Khon Kaen University and black sticky rice grown in Roi-Et province of Thailand exhibited higher concentration of those compounds than the others 2 varieties. Moreover, the starch degrading ability of 4 strains of *M. purpureus* TISTR 3002, 3385, 3541 Haz 3090 were evaluated. The results showed that *M. purpureus* TISTR 3002 exhibited highest starch degrading ability.

Red rice wine production was performed by using the black sticky rice from the Faculty of Agriculture, and Roi-Et province with pure culture of *R. oryzae* and *M. purpureus* TISTR 3002. It was showed that red rice wine producing from black sticky rice and *R. oryzae* exhibited highest concentration of gramma oryzanol, anti-oxidant, phenolic compounds. This is because almost of those compounds extracted from black sticky rice and *R. oryzae* exhibited the higher starch degrading ability than *M. purpureus* TISTR 3002. Thus, the red rice wines production by varied ratio of black sticky rice and white sticky rice as 0:100, 55:45, 70:30, 85:15 and 100:0 % (w/w) with *R. oryzae* and *M. purpureus* TISTR 3002 were performed. The result showed that red rice wine produced at ratio 55:45 by using *M. purpureus* TISTR 3002 contained gramma oryzanol, and phenolic compounds higher than red rice wine made from *R. Oryzae*. Furthermore, the final products of red rice wine were concentrated and were tested for antibacterial activity of 5 pathogenic bacteria which were *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* TISTR 1540 The results showed that the ratio of black sticky rice and white sticky rice and sticky rice and white sticky rice at 55:45 and 70:30 substantially inhibited the growth of 5 pathogenic bacteria.

Five red rice wines containing both high beneficial compounds and antibacterial activity were selected for sensory evaluation. The result showed that red rice wine made from 100 %w/w black sticky rice with *M. purpureus* TISTR 3002 and red rice wine made from 100 %w/w white sticky rice with *R. oryzae* exhibited the highest scores in color, smelling, tasting, and over all liking.

This research could be concluded that red rice wine produced from black sticky rice with *M. purpureus* achieved the red rice wine containing beneficial compounds and accepting sensory evaluation. However, *M. purpureus* compared with *R. oryzae* exhibited low ability to degrade black sticky rice. The study of material preparation particularly black sticky rice was further elucidated. Moreover, the efficient *M. purpureus* to degrade the black sticky rice was screened from nature and were developed by genetic engineering tool. The accumulated data from this research could be used as a guideline to produce red rice wine in the line of both health benefit and consumers' want.