191364

ข้าวแดงเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักข้าวกับเชื้อราในสกุล Monascus มีการใช้ประโยชน์จากข้าวแดงเป็นวัตถุเติมแต่งสีให้กับผลิตภัณฑ์อาหารเช่น สาเก ไวน์ และไส้กรอกเป็นต้น ใช้เป็นยาสำหรับลดโคเลสเตอรอลและลดความดันโลหิต แต่อย่างไรก็ดีมีการค้นพบว่าเชื้อราหลายชนิดในสกุล Monascus สามารถสร้างซิตรินินซึ่งมีความเป็นพิษต่อไต ในระหว่างกระบวนการหมักข้าวแดง โดยซิตรินินมีการสังเคราะห์ขึ้นมาพร้อมกับสารสี จึงเป็นที่มาของการศึกษาเกี่ยวกับความเป็นพิษของซิตรินินในข้าวแดง สำหรับเป็นแนวทางในการคัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส และปรับปรุงสภาวะการหมักข้าวแดง เพื่อให้เกิดซิตรินินน้อยที่สุดหรือไม่มีเลย ในการศึกษานี้ได้ใช้ข้าวแดงที่ผลิตจาก *M. purpureus* 3 สายพันธุ์คือ ATCC 16365, DMKU, และ FTCMU 3385 ที่ระยะเวลาหมัก 6, 12, 18, และ 24 วัน ในการเตรียมเป็นสารสกัดข้าวแดงใน DMSO นำสารละลายของสารสกัดข้าวแดงทั้งหมด มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง ที่มีต้นกำเนิดมาจากไตของตัวอ่อนของมนุษย์ (Human Embryonic Kidney cells : HEK293T) ด้วยวิธีการ MTT bioassay และทำการตรวจหาปริมาณซิตรินินในข้าวแดงทุกตัวอย่างนี้ด้วยวิธีการ HPLC เป็นการยืนยัน

ผลการศึกษาพบว่าทั้งสายพันธุ์ของ *M. purpureus* ระยะเวลาหมักข้าวแดง และความเข้มข้นสารละลายของสารสกัดข้าวแดง ล้วนแต่มีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ HEK293T อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยสารละลายของสารสกัดข้าวแดงที่ผลิต

จาก *M. purpureus* สายพันธุ์ DMKU ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ HEK293T สูงสุดเท่ากับ 92.0% รองลงมาเป็นสายพันธุ์ ATCC 16365 และ FTCMU 3385 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณซิตรินินในตัวอย่างข้าวแดงที่ผลิตจาก *M. purpureus* สายพันธุ์เดียวกันด้วยวิธีการ HPLC สารละลายของสารสกัดข้าวแดงที่ระยะหมัก 6 วันให้ค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์สูงสุดเท่ากับ 88.5% รองลงมาเป็นที่ระยะหมัก 12 และ 18 วัน ซึ่งให้ค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ใกล้เคียงกันมากเท่ากับ 87.2 และ 87.1% ตามลำดับ ส่วนที่ระยะหมัก 24 วันให้ค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ต่ำที่สุดเท่ากับ 81.1% จากผลความเข้มข้นสารละลายของสารสกัดข้าวแดงพบว่า ในสภาวะที่ไม่มีสารสกัดข้าวแดงเลย ค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ HEK293T คิดเป็น 100% เมื่อความเข้มข้นของสารละลายของสารสกัดข้าวแดงเพิ่มขึ้นจนอยู่ในช่วง 0.45-0.47 และ 0.89-0.94 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรซึ่งมาจากปริมาณข้าวแดง 182.29 และ 364.59 ppm ตามลำดับ ค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์มีความใกล้เคียงกันโดยเท่ากับ 91.3 และ 88.5% ตามลำดับ เมื่อความเข้มข้นสารละลายของสารสกัดข้าวแดงเพิ่มขึ้นถึงระดับสูงสุดในช่วง 3.54-3.74 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมาจากปริมาณข้าวแดง 1,458.39 ppm ค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์จะน้อยที่สุดเท่ากับ 63.9%

จากผลของปฏิกิริยาร่วมระหว่างสายพันธุ์ของ *M. purpureus* ระยะเวลาที่ใช้หมักข้าวแดงและความเข้มข้นสารละลายของสารสกัดข้าวแดงพบว่า สารละลายของสารสกัดข้าวแดงที่ผลิตจาก *M. purpureus* สายพันธุ์ DMKU ที่ระยะหมัก 12 วันในช่วงความเข้มข้น 3.54-3.74 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ HEK293T สูงสุดเท่ากับ 95.4% ส่วนสารละลายของสารสกัดข้าวแดงที่ผลิตจาก *M. purpureus* สายพันธุ์ FTCMU 3385 ที่ระยะหมัก 24 วันในช่วงความเข้มข้นเดียวกันนี้ ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ต่ำสุดเท่ากับ 6.6% นอกจากนี้ยังพบว่าข้าวแดงที่ผลิตจาก *M. purpureus* สายพันธุ์ DMKU ที่ระยะหมัก 6, 12, และ 18 วัน ให้ค่าความเข้มข้นสารละลายของสารสกัดข้าวแดงซึ่งทำให้เซลล์ HEK293T มีการรอดชีวิตอยู่ที่ 80% สอดคล้องกับแนวโน้มของปริมาณซิตรินินจากการตรวจด้วยวิธีการ HPLC

Red rice (Ang-kak) is a product prepared by fermented rice with Monascus. The advantages from red rice are food colorant in sake, wine, and sausages. It contains cholesterol and blood pressue lowering substances. However, several species of Monascus can produce citrinin, the nephrotoxic agent, during red rice fermentation to produce pigments. Therefore, this investigation was aimed to observe the toxicity of citrinin in red rice produced from *Monascus spp.* strains selection of minimal citrinin in red rice fermentation. The red rice samples in this study were fermented from 3 strains of *M.purpureus* : ATCC 16365, DMKU, and FTMU 3385 at 6, 12, 18, and 24 days. The red rice extract in Complete RPMI-1640 medium each with 5 concentrations were tested by MTT bioassay with Human Embryonic Kidney cell line (HEK293T) and analyzed amount of citrinin in each red rice sample by HPLC. It was found that strains of *M. purpureus*, fermentation periods, and concentrations of red rice extract solution had an effect on percentage of cell survival of HEK293T significantly at 95% confidence. Red rice extract solution from *M. purpureus* DMKU gave the highest percentage of cell survival at 92.0%, the lower ones were ATCC 16365 and FTCMU 3385, respectively corresponding to amount of citrinin in red rice detected from the same strain of *M. purpureus* by HPLC. Red rice extract solution fermented for 6 days gave the

highest percentage of cell survival at 88.5%. The lower percentage of cell survival were from the red rice extract solution at 12 and 18 day fermentation which had similar cell survival results of 87.2 and 87.1%, respectively. The lowest percentage of cell survival was observed at 24 day fermentation. With respect to the effect of the concentration of red rice extract solution it was found that in condition without the red rice extract percentage of cell survival of HEK293T was 100%. When concentration of red rice extract solution raised to 0.45-0.47 and 0.89-0.94 mg/mL which derived from amount of red rice 182.29 and 364.59 ppm, respectively showed similar percentage of cell survival at 91.3 and 88.5%, respectively. When the concentration was increased to 3.54-3.74 mg/mL which derived from amount of red rice 1,458.39 ppm resulted in the lowest percentage of cell survival at 63.9%.

By the interaction of *M. purpureus* strains, fermentation periods, and concentrations of red rice extract solution were taken into account, it was found that the red rice extract solution from *M. purpureus* DMKU at 12 day fermentation of 3.54-3.74 mg/mL concentration gave the highest percentage of cell survival of HEK293T at 95.4%, but red rice extract solution from *M. purpureus* FTCMU 3385 at 24 days fermentation with the same concentration gave the lowest percentage of cell survival at 6.6%. In addition, red rice from *M. purpureus* DMKU at 6, 12, and 18 days fermentation caused 80% cell survival of HEK293T which correlated with trend of the amounts of citrinin detected by HPLC.