ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
250396

แบบรายงานฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การพัฒนากระบวนการผลิตข้าวแดงที่มีปริมาณรงควัตถุสีแดงและสารลดคอเลสเตอรอลสูง และมีปริมาณสารซิทรินินต่ำ เพื่อใช้เป็นสีผสมอาหารและอาหารเสริมสุขภาพ

เสนอ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
250396

หัวหน้าโครงการ

ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มณฑิรา นพรัตน์
หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
บางมด ทุ่งครุ กรุงเทพฯ 10140
โทรศัพท์ 02-470-9245 โทรสาร 02-470-9240
E-mail montira.nop@kmutt.ac.th

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ผู้ร่วมโครงการ

1. ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนันต์ ทองทา
หน่วยงานที่สังกัด สายวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
บางมด ทุ่งครุ กรุงเทพฯ 10140
โทรศัพท์ 02-470-7564 โทรสาร 02-452-3455
E-mail a_tongta@yahoo.com

2. ชื่อ ดร.พนิต กิจสุบรรณ
หน่วยงานที่สังกัด ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (บางขุนเทียน)
83 หมู่ 8 ต.ท่าข้าม บางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150
โทรศัพท์ 02-470-7580 โทรสาร 02-452-3455
E-mail panitkitsubun@hotmail.com

3. ชื่อ นางสนิ จิระสถิตย์
หน่วยงานที่สังกัด สายวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
บางมด ทุ่งครุ กรุงเทพฯ 10140
โทรศัพท์ 02-452-3456 ต่อ 4085 โทรสาร 02-427-9623
E-mail sani12345@hotmail.com

ได้รับอนุมัติงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ....2554.....

250396

บทคัดย่อ

ข้าวแดงประกอบด้วยสาร โมนาโคลิน เค และรงควัตถุ ซึ่งผลิตจากเชื้อรา *Monascus* sp. สามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นยาลดการสังเคราะห์คลอเรสเตอรอลในตับ และใช้เป็นสีผสมอาหารตามลำดับ อย่างไรก็ตามข้าวแดงยังประกอบด้วยสารพิษซิตรินิน ซึ่งผลิตจากเชื้อรา *Monascus* sp. เช่นเดียวกัน จากความต้องการบริโภคข้าวแดงที่เพิ่มสูงขึ้น อีกทั้งยังต้องคำนึงถึงความปลอดภัยในการบริโภค ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมทางสถิติสำหรับการผลิตสาร โมนาโคลิน เค และรงควัตถุ และลดการผลิตซิตรินิน จากเชื้อรา *M. purpureus* TISTR 3541 ด้วยกระบวนการหมักแบบอาหารแข็ง โดยใช้แผนการทดลองแบบ Fractional factorial design พบว่า กลีเซอรอล เมไทโอนีน โซเดียมไนเตรท อุณหภูมิ และระยะเวลาการหมัก เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเพิ่มการผลิต โมนาโคลิน เค และรงควัตถุ และลดการผลิตซิตรินินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อศึกษาปริมาณที่เหมาะสม โดยใช้แผนการทดลองแบบ Central composite design พบว่า ปริมาณที่เหมาะสม คือ กลีเซอรอล 2% (v/w) เมไทโอนีน 0.14% (w/w) โซเดียมไนเตรท 0.01% (w/w) ที่อุณหภูมิ 25 $^{\circ}$C ด้วยระยะเวลาการหมักนาน 16 วัน และเมื่อทดสอบการหมักจริงสามารถผลิต โมนาโคลิน เค และรงควัตถุเพิ่มขึ้น 3.28 และ 1.28-1.54 เท่า ตามลำดับ ขณะที่ซิตรินินลดลง 36.65 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการหมักแบบดั้งเดิม อีกทั้งการผลิตข้าวแดงตาม Optimization method โดยใช้ถังหมักแบบหมุนขนาด 200 ลิตร พบว่าสามารถผลิต โมนาโคลิน เค และรงควัตถุเพิ่มขึ้น ขณะที่การผลิตซิตรินิน ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการหมักแบบดั้งเดิมที่เวลาการหมักเท่ากัน

คำสำคัญ : ข้าวแดง / รงควัตถุ / ซิตรินิน / พื้นที่การตอบสนอง / โมนาโคลิน เคโมแนสคัส

Abstract

25[illegible]

Monacolin K and pigments, produced by *Monascus* sp., have each been proven to be beneficial compounds as antihypercholesterolemia and natural food coloring agent, respectively. However, citrinin, a human toxic substance was been also synthesized in this fungus. In this research, solid-state fermentation of *M. purpureus* TISTR 3541 was optimized by statistical methodology to obtain high production of monacolin K and pigments along with low level of citrinin. Fractional factorial design was applied in this study to identify the significant factors. Among 13 variables, five parameters (i.e. glycerol, methionine, sodium nitrate, cultivation time and temperature) influencing monacolin K, pigments and citrinin production were identified. Central composite design was further employed to investigate the optimum level of these five factors. The maximum production of monacolin K of 5900 mg/kg and red, orange and yellow pigments of 1200, 900 and 1700 OD units/g, respectively with the minimum citrinin concentration of 0.26 mg/kg were obtained in the medium containing 2% glycerol, 0.14% methionine and 0.01% sodium nitrate at 25 $^{\circ}$C for 16 days of cultivation. After optimization, the yields of monacolin K and pigments increased by 3.28 and 1.28-1.54 times, respectively, while citrinin dramatically reduced by 36.65 times as compared to the basal medium. In red yeast rice production under optimization method using 200L-rotary drum bioreactor, it was found that the production of monacolion K and pigments increased together with citrinin reduced as compared to basal medium at the same time.

Keywords : Citrinin / Monacolin K / Monascus / Pigment / Response surface method

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iii
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	3
1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	3
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรมและสารสนเทศที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 รงควัตถุของ *Monascus*	5
2.2 ซิตรินิน	7
2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ และการสังเคราะห์รงควัตถุและโมนาโคลิน เค ของรา *Monascus* ในข้าวแดง	9
2.4 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตซิตรินินของรา *Monascus*	13
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง	16
3.1 เชื้อราและการเก็บรักษา	16
3.2 การผลิตข้าวแดง	16
3.3 การคัดเลือกปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตรงควัตถุและสารโมนาโคลิน เค และลดปริมาณซิตรินินจาก *M. purpureus* ด้วยวิธี Fraction factorial design (FFD)	16
3.4 การศึกษาเพื่อหาเหมาะสมในการผลิตรงควัตถุและสารโมนาโคลิน เค และลดปริมาณซิตรินิน ด้วยวิธี Response surfaces method (RSM)	18
3.5 การศึกษาการผลิตข้าวแดงตาม Optimization method ในถังหมักแบบหมุน ขนาด 200 L	21
3.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ	21

บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 22

4.1 การเจริญและการผลิตสารทุติยภูมิจากรา *M. purpureus* ในข้าวแดง ด้วยวิธีการแบบดั้งเดิม (Basal medium) 22

4.2 ผลการคัดเลือกปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตรงควัตถุและสารโมนาโคลิน เค และลดปริมาณซิตรินินจาก *M. purpureus* ด้วยวิธี Fraction factorial design (FFD) 23

4.3 ผลการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตรงควัตถุและสารโมนาลิน เค และลดปริมาณซิตรินินจาก *M. purpureus* โดยวิธีพื้นผิวตอบสนองแบบ Central composite design (CCD) 32

4.4 ผลการศึกษาการผลิตข้าวแดงตาม Optimization method ในถังหมักแบบหมุนขนาด 200 ลิตร 47

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 49

เอกสารอ้างอิง 50

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่1 กลไกการสังเคราะห์รงควัตถุสีส้ม	6
รูปที่2 กลไกการสังเคราะห์ซิตรินิน	8
รูปที่3 ความชื้นและความเป็นกรด-ด่างของข้าวแดงในระหว่างการหมัก	22
รูปที่4 ปริมาณชีวมวล โมนาโคลิน เค ซิตรินิน และรงควัตถุสีแดง จาก *M. purpureus* ด้วยวิธีการหมักแบบดั้งเดิม	23
รูปที่5 กราฟแสดงพื้นที่การตอบสนองของปริมาณนาโคลิน เค (a), ซิตรินิน (b), รงควัตถุสีแดง (c), สีส้ม (d) และสีเหลือง (e) ที่ความแตกต่างของอุณหภูมิและระยะเวลาการหมัก	46
รูปที่6 อุณหภูมิและความเร็วอากาศขาเข้าระหว่างการหมักข้าวแดงถังหมักแบบหมุน	47
รูปที่7 ความชื้นและความเป็นกรด-ด่าง ของข้าวแดงในระหว่างการหมักด้วยถังหมักแบบหมุน	47
รูปที่8 ปริมาณชีวมวล และปริมาณโมนาโคลิน เค รงควัตถุ และซิตรินินจากรา *Monascus* ในระหว่างการหมักด้วยถังหมักแบบหมุน	48

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่1 ความเข้มข้นของแต่ละตัวแปรที่ระดับต่างๆ ใน Fractional factorial design สำหรับการผลิตรงควัตถุ สารโมนาโคลิน เค และการลดปริมาณซิตรินินด้วยการหมักแบบอาหารแข็ง 17

ตารางที่2 Fractional factorial design matrix สำหรับการประเมินปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตรงควัตถุ สารโมนาโคลิน เค และลดปริมาณซิตรินินของ *M. purpureus* 18

ตารางที่3 ความเข้มข้นตัวแปรตามแผนการทดลอง Central composite design สำหรับการผลิตรงควัตถุ สารโมนาโคลิน เค และการลดปริมาณซิตรินิน 19

ตารางที่4 Central composite design matrix สำหรับการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตรงควัตถุ สารโมนาโคลิน เค และลดปริมาณซิตรินินของ *M. purpureus* 20

ตารางที่5 ผลปัจจัยทางกายภาพและทางเคมีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารโมนาโคลิน เค และซิตรินิน ตามการทดลอง FFD 24

ตารางที่6 ผลปัจจัยทางกายภาพและทางเคมีต่อการผลิตรงควัตถุ ตามการทดลอง FFD 25

ตารางที่7 การประเมินผลกระทบของตัวแปรอิสระต่อการเจริญของ *Monascus* ตาม FFD 26

ตารางที่8 การประเมินผลกระทบของตัวแปรอิสระต่อการผลิตโมนาโคลิน เค ตาม FFD 27

ตารางที่9 การประเมินผลกระทบของตัวแปรอิสระต่อการผลิตซิตรินินตาม FFD 28

ตารางที่10 การประเมินผลกระทบของตัวแปรอิสระต่อการผลิตรงควัตถุสีแดงตาม FFD 29

ตารางที่11 การประเมินผลกระทบของตัวแปรอิสระต่อการผลิตรงควัตถุสีส้มตาม FFD 30

ตารางที่12 การประเมินผลกระทบของตัวแปรอิสระต่อการผลิตรงควัตถุสีเหลืองตาม FFD 31

ตารางที่13 ผลของการผลิตสารโมนาโคลิน เค ซิตรินิน และการเจริญของ *Monascus* ตามการทดลอง CCD 34

ตารางที่14 ผลของการผลิตรงควัตถุ สีเหลือง ส้ม และแดง จาก *Monascus* ตามการทดลอง CCD 36

ตารางที่15 ผลการวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ของ CCD สำหรับการเจริญของ *Monascus* 38

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่16 ผลการวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ของ CCD สำหรับการผลิตโมนาโคลิน เค	39
ตารางที่17 ผลการวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ของ CCD สำหรับการผลิตซิตรินิน	40
ตารางที่18 ผลการวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ของ CCD สำหรับการผลิตรงควัตถุสีแดง	41
ตารางที่19 ผลการวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ของ CCD สำหรับการผลิตรงควัตถุสีส้ม	42
ตารางที่20 ผลการวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ของ CCD สำหรับการผลิตรงควัตถุสีเหลือง	43
ตารางที่21 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณชีวมวลของ *Monascus*	43
ตารางที่22 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตสารโมนาโคลิน เค	44
ตารางที่23 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตซิตรินิน	44
ตารางที่24 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตรงควัตถุสีแดง	44
ตารางที่25 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตรงควัตถุสีส้ม	44
ตารางที่26 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตรงควัตถุสีเหลือง	45