

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

ผู้ร่วมโครงการ

1. ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนันต์ ทองทา
 หน่วยงานที่สังกัด สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ 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 นางศนิ จิระสถิตย์
 หน่วยงานที่สังกัด สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ 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.....

บทคัดย่อ

ข้าวแดงประกอบด้วยสารโมนาโคลิน เค และรงควัตถุ ซึ่งผลิตจากเชื้อรา *Monascus* sp. สามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นยาลดการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในตับ และใช้เป็นสีผสมอาหารตามลำดับ อย่างไรก็ตามข้าวแดงยังประกอบด้วยสารพิษซิทรีนิน ซึ่งผลิตจากเชื้อรา *Monascus* sp. เช่นเดียวกัน จากความต้องการบริโภคข้าวแดงที่เพิ่มสูงขึ้น อีกทั้งยังต้องคำนึงถึงความปลอดภัยในการบริโภค ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมทางสถิติสำหรับการผลิตสารโมนาโคลิน เค และรงควัตถุ และลดการผลิตซิทรีนิน จากเชื้อรา *M. purpureus* TISTR 3541 ด้วยกระบวนการหมักแบบอาหารแข็ง โดยใช้แผนการทดลองแบบ Fractional factorial design พบว่า กลีเซอรอล เมไทโอนีน โซเดียมไนเตรท อุณหภูมิ และระยะเวลาการหมัก เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเพิ่มการผลิตโมนาโคลิน เค และรงควัตถุ และลดการผลิตซิทรีนินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อศึกษาปริมาณที่เหมาะสม โดยใช้แผนการทดลองแบบ Central composite design พบว่า ปริมาณที่เหมาะสม คือ กลีเซอรอล 2% (v/w) เมไทโอนีน 0.14% (w/w) โซเดียมไนเตรท 0.01% (w/w) ที่อุณหภูมิ 25 °C ด้วยระยะเวลาการหมักนาน 16 วัน และเมื่อทดสอบการหมักจริงสามารถผลิตโมนาโคลิน เค และรงควัตถุเพิ่มขึ้น 3.28 และ 1.28-1.54 เท่า ตามลำดับ ขณะที่ซิทรีนินลดลง 36.65 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการหมักแบบดั้งเดิม อีกทั้งการผลิตข้าวแดงตาม Optimization method โดยใช้ถังหมักแบบหมุนขนาด 200 ลิตร พบว่าสามารถผลิตโมนาโคลิน เค และรงควัตถุเพิ่มขึ้น ขณะที่การผลิตซิทรีนิน ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการหมักแบบดั้งเดิมที่เวลาการหมักเท่ากัน

คำสำคัญ : ข้าวแดง / รงควัตถุ / ซิทรีนิน / พื้นที่การตอบสนอง / โมนาโคลิน เค โมแนสคัส

Abstract

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 °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 monacolin 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 <i>Monascus</i>	5
2.2 ชีตรินิน	7
2.3 ป้างัยที่มีผลต่อการเจริญ และการสังเคราะห์รงควัตถุและโมนาโคลิน เค ของ รา <i>Monascus</i> ในข้าวแดง	9
2.4 ป้างัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตชีตรินินของรา <i>Monascus</i>	13
บทที่ 3 วัสดุและวิธีการทดลอง	16
3.1 เชื้อราและการเก็บรักษา	16
3.2 การผลิตข้าวแดง	16
3.3 การคัดเลือกป้างัยที่มีผลต่อการผลิตรงควัตถุและสารโมนาโคลิน เค และลด ปริมาณชีตรินินจาก <i>M. purpureus</i> ด้วยวิธี Fraction factorial design (FFD)	16
3.4 การศึกษาเพื่อหาเหมาะสมในการผลิตรงควัตถุและสารโมนาโคลิน เค และ ลดปริมาณชีตรินิน 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 <i>M. purpureus</i> ในข้าวแดง ด้วยวิธีการแบบดั้งเดิม (Basal medium)	22
4.2 ผลการคัดเลือกปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตตรงควัตถุและสารโมนาโคลิน เค และลดปริมาณชิตรินินจาก <i>M. purpureus</i> ด้วยวิธี Fraction factorial design (FFD)	23
4.3 ผลการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตตรงควัตถุและสารโมนาโคลิน เค และลดปริมาณชิตรินินจาก <i>M. purpureus</i> 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 กลไกการสังเคราะห์ซีทรินิน	8
รูปที่3 ความขึ้นและความเป็นกรด-ด่างของข้าวแดงในระหว่างการหมัก	22
รูปที่4 ปริมาณชีวมวล โมนาโคลิน เค ซีทรินิน และรงควัตถุสีแดง จาก <i>M. purpureus</i> ด้วยวิธีการหมักแบบดั้งเดิม	23
รูปที่5 กราฟแสดงพื้นที่การตอบสนองของปริมาณนาโคลิน เค (a), ซีทรินิน (b), รงควัตถุสีแดง (c), สีส้ม (d) และสีเหลือง (e) ที่ความแตกต่างของอุณหภูมิและระยะเวลาการหมัก	46
รูปที่6 อุณหภูมิและความเร็วอากาศเข้าระหว่างการหมักข้าวแดงถึงหมักแบบหมุน	47
รูปที่7 ความขึ้นและความเป็นกรด-ด่าง ของข้าวแดงในระหว่างการหมักด้วยถังหมักแบบหมุน	47
รูปที่8 ปริมาณชีวมวล และปริมาณโมนาโคลิน เค รงควัตถุ และซีทรินินจากรา <i>Monascus</i> ในระหว่างการหมักด้วยถังหมักแบบหมุน	48

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่1 ความเข้มข้นของแต่ละตัวแปรที่ระดับต่างๆ ใน Fractional factorial design สำหรับการผลิตตรงควัตถุ สารโมนาโคลิน เค และการลดปริมาณชิตรินินด้วยการหมักแบบอาหารแข็ง	17
ตารางที่2 Fractional factorial design matrix สำหรับการประเมินปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตตรงควัตถุ สารโมนาโคลิน เค และลดปริมาณชิตรินินของ <i>M. purpureus</i>	18
ตารางที่3 ความเข้มข้นตัวแปรตามแผนการทดลอง Central composite design สำหรับการผลิตตรงควัตถุ สารโมนาโคลิน เค และการลดปริมาณชิตรินิน	19
ตารางที่4 Central composite design matrix สำหรับการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตตรงควัตถุ สารโมนาโคลิน เค และลดปริมาณชิตรินินของ <i>M. purpureus</i>	20
ตารางที่5 ผลปัจจัยทางกายภาพและทางเคมีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารโมนาโคลิน เค และชิตรินิน ตามการทดลอง FFD	24
ตารางที่6 ผลปัจจัยทางกายภาพและทางเคมีต่อการผลิตตรงควัตถุ ตามการทดลอง FFD	25
ตารางที่7 การประเมินผลกระทบของตัวแปรอิสระต่อการเจริญของ <i>Monascus</i> ตาม FFD	26
ตารางที่8 การประเมินผลกระทบของตัวแปรอิสระต่อการผลิตโมนาโคลิน เค ตาม FFD	27
ตารางที่9 การประเมินผลกระทบของตัวแปรอิสระต่อการผลิตชิตรินินตาม FFD	28
ตารางที่10 การประเมินผลกระทบของตัวแปรอิสระต่อการผลิตตรงควัตถุสีแดงตาม FFD	29
ตารางที่11 การประเมินผลกระทบของตัวแปรอิสระต่อการผลิตตรงควัตถุสีส้มตาม FFD	30
ตารางที่12 การประเมินผลกระทบของตัวแปรอิสระต่อการผลิตตรงควัตถุสีเหลืองตาม FFD	31
ตารางที่13 ผลของการผลิตสารโมนาโคลิน เค ชิตรินิน และการเจริญของ <i>Monascus</i> ตามการทดลอง CCD	34
ตารางที่14 ผลของการผลิตตรงควัตถุ สีเหลือง ส้ม และแดง จาก <i>Monascus</i> ตามการทดลอง CCD	36
ตารางที่15 ผลการวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ของ CCD สำหรับการเจริญของ <i>Monascus</i>	38

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่16 ผลการวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ของ CCD สำหรับการผลิตโม นาโคลิน เค	39
ตารางที่17 ผลการวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ของ CCD สำหรับการผลิตซิทรี นิน	40
ตารางที่18 ผลการวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ของ CCD สำหรับการผลิตตรงค วัตถุสีแดง	41
ตารางที่19 ผลการวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ของ CCD สำหรับการผลิตตรงค วัตถุสีส้ม	42
ตารางที่20 ผลการวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ของ CCD สำหรับการผลิตตรงค วัตถุสีเหลือง	43
ตารางที่21 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณชีวมวลของ <i>Monascus</i>	43
ตารางที่22 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตสารโมนาโคลิน เค	44
ตารางที่23 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตซิทรีนิน	44
ตารางที่24 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตตรงควัตถุสีแดง	44
ตารางที่25 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตตรงควัตถุสีส้ม	44
ตารางที่26 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตตรงควัตถุสีเหลือง	45