เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ข้าวแดงมีต้นกำเนิดในประเทศจีน ใช้ประโยชน์กันมานานและแพร่หลายมากในประเทศแถบเอเชีย ได้แก่ จีน ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน ไทย อินโดนีเซีย และญี่ปุ่น เพื่อปรุงแต่งสีอาหารและก่อให้เกิดกลิ่นเฉพาะในอาหารหมักดอง อาหารที่ใช้สารสีจากข้าวแดง ได้แก่ เต้าหู้ยี้ เหล้า กะปิ ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เป็นต้น นอกเหนือจากการปรุงแต่งอาหารแล้ว ข้าวแดงยังเป็นส่วนประกอบหนึ่งที่สำคัญในสูตรยาจีนเพื่อใช้ในการรักษาโรค

ข้าวแดงมีชื่อเรียกจากภาษาจีนว่า อังคัก (angkak) ซึ่ง อัง แปลว่าแดง ส่วนคัก แปลว่าเมล็ดที่มีเปลือก นอกจากนี้มีชื่อเรียกอย่างอื่นคือ ข้าวแดง (red rice) ไชนีสเรดไรส์ (Chinese red rice) แอนคัก (ankak) แอนคา (anka) อังควอก (ang-quac) เบนนิโคจิ (beni-koji) เอกาโคจิ (aka-koji) และเรดโมลด์ไรส์ (red mold rice) ข้าวแดงที่บดแล้ว บางคนเรียกว่า แป้งแดงหรือทรายแดง

การผลิตข้าวแดง

การผลิตข้าวแดงบนอาหารเหลว มีรายงานว่าแหล่งของ คาร์บอนเป็นแหล่งอาหารสำหรับการผลิตสีแดงได้ดีที่สุดในอาหารเหลว ดั้งเดิมนั้นการเลี้ยงเชื้อราจะปลูกเชื้อราให้เจริญบน ขนมปังและข้าว ซึ่งเป็นแหล่งที่มี อะไมโลสมาก โดยเชื้อรา *Monascus* จะเจริญได้ดีบน starch dextrines glucose maltose และ fructose โดยสารสีจะผลิตได้ปริมาณมากเมื่อเติม glucose และ maltose ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อรา แต่ดูเหมือนว่า แหล่งของไนโตรเจนจะมีความสำคัญมากกว่า แหล่งคาร์บอน และ แอมโมเนียม และ เปปโตน ซึ่งแหล่งของไนโตรเจนที่เติมลงไปจะทำให้การเจริญของเชื้อรา *Monascus* ที่ดีกว่า และความเข้มข้นของสีที่สูงกว่า อาหารที่เติมแหล่งคาร์บอนลงไป (Hamdi et al., ๑๙๙๕)

การผลิตข้าวแดงบนอาหารแข็ง การหมักบนอาหารแข็ง (Solid state fermentation) เป็นการหมักที่เกี่ยวกับการเจริญของจุลินทรีย์บนอาหารแห้งในสภาพไม่มีน้ำอิสระ (Free liquid) อยู่ในระบบ (Moo-Young et al., ๑๙๘๓) น้ำที่อยู่ในระบบจะอยู่ในสภาพความชื้น (Moisture) ที่ถูกดูดซับอยู่กับวัตถุดิบเท่านั้น (วราวุฒิ ครูส่ง และรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต, ๒๕๓๒) ดังนั้นกระบวนการหมักจึงไม่รวมถึงการหมักของแข็ง (Solid) ในอาหารเหลวหรือการหมักในรูปของเหลวข้น (Slurries) การหมักในสภาพอาหารแห้งนี้ ปริมาณความชื้นหรือน้ำที่จุลินทรีย์นำไปใช้จึงค่อนข้างต่ำ และเปรียบเทียบการผลิตสีแดงบนอาหารแข็งจากเชื้อรา *Monascus* เมื่อใช้ Substrate ที่แตกต่างกัน

Chiu et al (๒๐๐๖) นำข้าวมาแช่น้ำ เป็นเวลา ๖-๘ ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปหุง และทำให้เย็นลงที่ ๔๐ องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำเชื้อรา *Monascus* Koji ไปปลูกลงบนข้าวที่ทำการหุงแล้วที่อุณหภูมิ ๓๓-๓๕ องศาเซลเซียส วันที่ ๒ คนและผสม Koji ที่ อุณหภูมิ ๓๔ องศาเซลเซียส วันที่ ๓ นำKoji ไปแช่น้ำ เป็นเวลา ๓๐ นาที ให้มีความชื้นเท่ากับ ๕๐ เปอร์เซ็นต์ วันที่ ๔ นำ Koji ไปแช่น้ำอีกครั้ง ควบคุมให้มีความชื้นเท่ากับ ๔๗ เปอร์เซ็นต์ วันที่ ๕ นำ Koji ไปแช่น้ำเป็นครั้งสุดท้าย ควบคุมความชื้นให้เท่ากับ ๔๘ เปอร์เซ็นต์ วันที่ ๖ หลังจาก Koji เป็นสีแดงสม่ำเสมอแล้ว คนต่อทุก ๆ ๑๐ ชั่วโมงควบคุมอุณหภูมิให้เท่ากับ ๓๐ องศาเซลเซียส วันที่ ๗ นำข้าวแดงที่ได้มาอบแห้งที่ ๔๕ องศาเซลเซียส ๒๒ ชั่วโมง วันที่ ๘ วันสุดท้ายจะได้ข้าวแดงที่อบแห้งเรียบร้อยแล้ว โดยแสดงเป็นแผนการผลิตข้าวแดงแบบวิธีดั้งเดิมในภาพ

ในกลางปี ๑๙๕๐ มีการใช้เครื่องจักรสำหรับการผลิต koji โดยเริ่มแรกผลิตในประเทศ ญี่ปุ่น ซึ่งเป็นแบบชนิดที่เรียกว่า Nagata typeโดยพัฒนาในข้าว ถั่วเหลือง และ ข้าวสาลี สำหรับทำสาเก (Japanese rice wine) หรือ การผลิตซีอสถั่วเหลือง จากเชื้อรา *Aspergillus* sp. โดยองค์ประกอบของการผลิต koji แบบ Nagata type นั้นประกอบด้วย rotary bed ที่มีความลึกอย่างน้อย ๓๐ เซนติเมตร และส่วนด้านล่างของ rotary bed จะมีรูเพื่อให้อากาศผ่านได้ ซึ่งความเร็วของลมที่เข้ามาทำให้เกิดการพลิก koji ในระหว่างการหมักเพิ่มช่วยในการส่งผ่านอากาศ การระบายความร้อน และป้องกัน koji จับตัวกันเป็นก้อน และระบบการเติมอากาศประกอบด้วย air sterilizer และ humidifier ก่อนลง rotary bed และ cyclone separater สำหรับปล่อยอากาศออกไป โดยจะมี sensors สำหรับเฝ้าระวังและควบคุมอยู่ตลอดเวลา อย่างไรก็ตาม การทำ koji แบบ Nagata type จะใช้เชื้อรา *Aspergillus* sp. ซึ่งการผลิต koji จากเชื้อรา *Monascus* spp. จะมีความแตกต่างจากการผลิต koji จากเชื้อรา *Aspergillus* sp. จะมีความแตกต่างกันในเรื่อง สรีรวิทยาและสัณฐานวิทยาของเชื้อราเอง โดยเชื้อรา *Monascus* spp. จะมีความต้องการความชื้นที่เฉพาะเจาะจง และอุณหภูมิที่มากกว่าดังนั้นการผลิต koji จากเชื้อรา *Monascus* spp. จะต้องสะอาด และอยู่ในสภาพที่ควบคุมมากกว่า การผลิต koji จากเชื้อรา *Monascus* spp.

นำข้าวมาแช่น้ำ เป็นเวลา ๖-๘ ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปหุง และทำให้เย็นลงที่ ๔๐ องศาเซลเซียส เซลเซียส

↓

หลังจากนั้นนำเชื้อรา *Monascus* Koji ไปปลูกลงบนข้าวที่ทำการหุงแล้ว ที่อุณหภูมิ ๓๓-๓๕ องศาเซลเซียส

↓

วันที่ ๓ นำKoji ไปแช่น้ำ เป็นเวลา ๓๐ นาที ให้มีความชื้นเท่ากับ ๕๐ เปอร์เซ็นต์

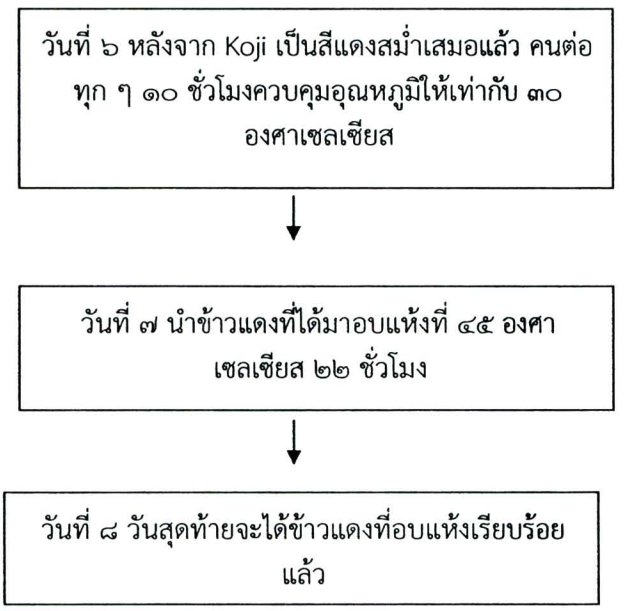
↓

วันที่ ๔ นำ Koji ไปแช่น้ำอีกครั้ง ควบคุมให้มีความชื้นเท่ากับ ๔๗ เปอร์เซ็นต์

↓

วันที่ ๕ นำ Koji ไปแช่น้ำเป็นครั้งสุดท้าย ควบคุมความชื้นให้เท่ากับ ๔๘ เปอร์เซ็นต์

↓



ภาพ ๑ แสดงการผลิตข้าวแดงโดยวิธีการแบบดั้งเดิม
ที่มา : Chiu et al. (๒๐๐๖)

การแยกสารสี

วิธีสกัดสีออกจากเส้นใยจะแตกต่างกันไปทางด้านการใช้สารตัวทำละลาย (solvent) เป็นตัวสกัดและปริมาณความเข้มข้นของสารตัวทำละลายที่ใช้สกัด Broder and Koehler (๑๙๘๐) ทดลองใช้เมทานอล (methanol) คลอโรฟอร์ม (chloroform) เอทานอล (ethanol) และอะซิโตน (acetone) ในการสกัดสีออกจากเส้นใย พบว่าสารที่สกัดสีได้ดีที่สุดคือเมทานอล ซึ่งสีที่สกัดได้จะมีค่าดูดกลืนแสง แสงเด่นอยู่ ๒ สีที่ความยาวคลื่น ๓๙๐ นาโนเมตร (สีเหลือง) และ ๕๐๐ นาโนเมตร (สีแดง) Lin (๑๙๗๓) ใช้เอทานอล ๕๐ เปอร์เซ็นต์ ในการสกัดสีออกจากเส้นใย นำเอาส่วนใสที่กรองได้ไปวัดค่าสีด้วยเครื่องสเปกโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น ๕๐๐ นาโนเมตร Lin and Iizuka (๑๙๘๒) มีการวัดค่าสีที่ละลายน้ำได้ (water soluble) และสีที่ละลายน้ำรวมทั้งละลายใน เอทานอล (ethanol) ๙๕ เปอร์เซ็นต์ได้ด้วย นำมาวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น ๔๐๐ นาโนเมตร และ ๕๐๐ นาโนเมตร ส่วน Sweeny et al. (๑๙๘๑) ประสบความสำเร็จจากการแยกสีแดงให้บริสุทธิ์ จากข้าวแดงดังขั้นตอนต่าง ๆ มีหลายวิธีที่ทำให้สีที่ผลิตได้ละลายน้ำได้ดียิ่งขึ้น หลักการก็คือ นำ ไนโตรเจนของกลุ่มอะมิโน เช่น กรดอะมิโน โปรตีน และ เปปไตท์ ไปแทนที่ ออกซิเจน ใน monascorubrine หรือ rubropunctatine โดยจะเปลี่ยนจากสีส้มไปเป็นสีม่วง โดยสีที่สกัดได้จะสามารถ reduced ,oxidized และทำปฏิกิริยากับผลิตภัณฑ์อื่น โดยเฉพาะกรดอะมิโน และรวมกันเป็นสารประกอบเชิงซ้อน คือ Glutamyl-monascorubine และ Glutamyl-rubropunctatine แสดงในภาพที่ ๘ ซึ่งแยกได้จากอาหารเหลว ดังนั้นถ้าต้องการให้สี *Monascus* ที่ผลิตได้ ใช้น้ำสกัดออกมาได้ก็จะต้องเติมไนโตรเจนเข้าไป substrate (Galaup et al., ๒๐๐๕)

ความคงตัวของสารสีโมแนสคัส

สารสีที่แยกได้จากเชื้อรา *Monascus* อยู่ในกลุ่มที่เรียกว่า azaphilones สารสีเหล่านี้ มีการละลายน้ำที่ต่ำ ไวต่อความร้อน ไม่คงตัวในช่วง pH ๒-๑๐ และเมื่อโดนแสงสีจะซีดจาง (Galaup et al. ๒๐๐๕) ดังนั้นจึงมีการพัฒนาความคงตัวของสารสีเพื่อให้ใช้ได้ดีในกระบวนการแปรรูปอาหาร

Sweeny et al. (๑๙๘๑) ศึกษาความคงตัวของสารสีแดงจาก *M. Anka* จากแสงแดดในสารละลายที่พีเอช ๒.๘ และ ๖.๐ พบว่าสาร ๑,๔,๖-tribydroxynaphthalene สามารถป้องกันการแตกสลายของสารสีจากแสงแดดได้ ซึ่งจะขึ้นอยู่กับจำนวนและตำแหน่งของไฮดรอกซีในวงแหวนแนบทาลีน (naphthalene)

Wong and Koehler (๑๙๘๓) พบว่าเมื่อนำสารสีจากเชื้อรามาสกัดด้วย animoacetic acid และ aminobenzoic acid ทำให้สารสีมีความคงตัวต่ออุณหภูมิ พีเอชและแสงอุลตราไวโอเลตได้ดีขึ้น โดยสามารถคงตัวที่พเอชเป็นกลางและพีเอชเป็นด่าง และคงตัวต่อแสงอุลตราไวโอเลตได้มากกว่า ๘๐ เปอร์เซ็นต์ หลังจากได้รับแสงนาน ๓๖ ชั่วโมง

วรรณภา ทาบโลกา (๒๕๒๙) พบสีแดงจาก *Monascus* spp. KB ๑๑๓๐๔ คงตัวตั้งแต่พีเอชเป็นกลางจนถึงด่าง มีความคงตัวที่อุณหภูมิน้ำเดือดนาน ๑๕ นาที และคงตัวต่อการละลายในตัวทำละลาย กลีเซอรอลเข้มข้น ๕๐ และ ๗๕ เปอร์เซ็นต์ ส่วนสีเหลืองของเชื้อรา *Monascus* spp. KB ๒๑๐๓๕ คงตัวที่พีเอช ๔-๑๑ คงตัวที่อุณหภูมิน้ำเดือดนานถึง ๑๒๐ นาที และ ๑๒๑ องศาเซลเซียสนาน ๑๕ นาที คงตัวได้ดีในที่มีแสงและอุณหภูมิห้องโดยไม่ลดปริมาณสีเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา ๓ วัน คงตัวต่อการละลายในตัวทำละลายโซเดียมเบนโซเอท ๑.๐ เปอร์เซ็นต์ กลีเซอรอล น้ำ และกรดอะซิติกเข้มข้น ๑.๐ เปอร์เซ็นต์

ความปลอดภัยของสารสีโมแนสคัส

สารสีธรรมชาติจากเชื้อราโมแนสคัสถูกนำมาใช้เป็นสารสีผสมอาหารแทนสีสังเคราะห์ที่ผลิตโดยวิธีทางเคมี เพราะมีราคาถูก ความปลอดภัยสูงกว่า อีกทั้งยังไม่พบสารก่อมะเร็งเหมือนในสีผสมอาหารประเภทสังเคราะห์

บุษบา ยงสมิทธิ์ และคณะ (๒๕๓๑) ทดสอบความเป็นพิษของสารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสต่อการฟักตัวของไข่ไก่ ต่อการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมของเม็ดเลือดขาวและต่อหนู พบว่าสารสีไม่มีพิษต่อการฟักตัวของไข่ไก่ ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโครโมโซมของเม็ดเลือดขาว และไม่พบความผิดปกติใด ๆ ในหนูทดลอง ซึ่งตรงกับการทดลองความเป็นพิษของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสในหนูของ Kaio และคณะ (๑๙๗๘)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) จากข้าวแดง

สารต้านออกซิเดชัน (Antioxidants) ที่มีในรงควัตถุสีแดง

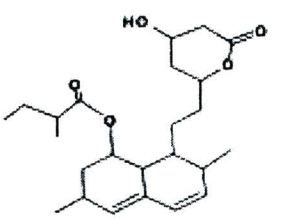
ข้าวแดง (Monascus-fermented rice, anka and red koji) นำไปใช้ในอาหารจีนโดยเฉพาะ Wine และพวกผลิตภัณฑ์อาหารหมักอื่น ๆ (Bau and Mo, ๑๙๗๕) โดยเชื้อราโมแนสคัสจะผลิตสารเมทาบอไลท์ที่เกิดขึ้นในขบวนการหมัก คือ monacolin ซึ่งเป็น Polyketides ซึ่งจะอยู่ในรูปของ acetyl coA หรือ malomyl coA ซึ่งทำให้เกิด ปฏิกิริยา decarboxylation ในการสังเคราะห์ lipid และรงควัตถุที่เชื้อรา *Monascus* ผลิตขึ้นนี้จะประกอบไปด้วย mycotoxin และ Monacolin มีหลายชนิด คือ Monacolin J, K, L แต่ชนิดที่มีการศึกษากันมากเป็นที่น่าสนใจคือ Monacolin K (Galaup et al., ๒๐๐๕)

Monacolin K Segura (๒๐๐๓) รายงานว่า Monacolin K จะอยู่ในรูปของ lactone ซึ่งจะถูกเปลี่ยนเมื่อเข้าไปในร่างกายแล้วจะอยู่ในรูปของ statin (Atorvastatin, cerivastatin, fluvastatin, lovastatin, pravastatin, simvastatin) ที่ทำงานได้ โดย Monacolin K ที่เรียกทั่วไป คือ lovastatin , mevinolin และ mevacor เป็นชื่อสามัญทางยา โดยสารจำพวกนี้เป็นสารทุติยภูมิของเชื้อรา (secondary metabolites) โดยเป็นตัวยับยั้ง ๓-hydroxy-๓-methylglutaryl-coenzyme A(HMG-CoA) reductase ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่สังเคราะห์ cholesterol (Alberts et al., ๑๙๘๐ ; Endo, ๑๙๘๐) และยังเป็นอาหารเสริมลด cholesterol ในร่างกายมนุษย์ (Toberts et al., ๑๙๘๒) อีกทั้งยังผลิตสารเคมี hyprocholester-olemic (Endo, ๑๙๗๙), liver-protective and antitumor effect (Aniya et al., ๑๙๙๘ ; Yasukawa et al., ๑๙๙๖) โดยใช้สารเคมีพวกนี้เป็นรักษาอาการ hypercholester-olemia และเชื้อรา *Monascus* spp. ยังผลิตสารต่อต้านอนุมูลอิสระอื่นอีกด้วย คือ ϒ-Aminobutyric acid (GABA)

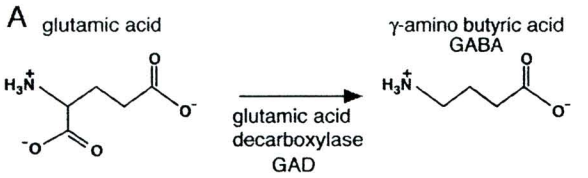
ϒ-Aminobutyric acid (GABA) คือ กรดอะมิโนที่ถูกสังเคราะห์จาก ปฏิกิริยา decarboxylation ของ กลูตาเมต โดย เอนไซม์ glutamic acid decarboxylase ซึ่ง ϒ-Aminobutyric acid (GABA) จะสังเคราะห์ขึ้นจากพืช และ แบคทีเรีย โดยผลิตขึ้นจาก Krebs cycle (Jorgensen, ๒๐๐๕)

Galaup et al. (๒๐๐๕) พบว่า Hypocholesteremic agent จะสามารถแยกได้จาก *Monascus* ได้แก่ monacolin J K และ L ซึ่งสารดังกล่าวเป็น polyketides สามารแยกได้จากเชื้อราอีกชนิดหนึ่งคือ *Penicillium citrinum* ซึ่งสารดังกล่าวจะสามารถยับยั้ง เอนไซม์ที่สังเคราะห์โคเลสเตอรอลได้ ในปัจจุบันนี้ในประเทศจีนนำมาใช้เป็นยา แผนปัจจุบันและแผนโบราณ

Ohtani et al. (๒๐๐๐) รายงานว่าเชื้อรา *Monascus Anka* สามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้คือ dimerumic acid โดยเป็นสารเคมีที่ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและปฏิกิริยา hepatoprotective action ซึ่งจะทำให้ตับถูกทำลาย มีการทดลองใช้ dimerumic acid ดังกล่าวในหนูทดลอง ปริมาณ ๑๒ มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบว่าในขณะที่หนูกินคาร์บอนเตตตระคลอไรด์ ๒๐ ไมโครลิตรต่อกิโลกรัม dimerumic acid จะสามารถยับยั้งอาการ hepatoprotective action โดยเกิดจาก คาร์บอนเตตตระคลอไรด์ ได้



ภาพ ๒ Monacolin K ที่อยู่ในรูปของ lactone ที่ผลิตได้ *Monascus* spp. (Hua et al.,๒๐๐๖)



ภาพ ๓ ɣ-Amino Butyric Acid (GABA) ที่ผลิตได้จากเชื้อรา *Monascus* spp. (Jorgensen, ๒๐๐๕)