



## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตสารโมนาโคลินจากเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนอาหารแข็ง

The monacolin production by the solid state cultivation of *Monascus* sp

ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

และ

ผศ. นิสา ไกรรักษ์

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยบูรพา

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2554

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



246467



## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตสารโมนาโคลินจากเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนอาหารแข็ง

The monacolin production by the solid state cultivation of *Monascus sp*

ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

และ

ผศ. นิสา ไกรรักษ์

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยบูรพา

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2554

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การผลิตสาร โมนาโคลินจากเชื้อรา โมแนสคัสที่เจริญบนอาหารแข็ง

ชื่อโครงการ(ภาษาอังกฤษ)....The monacolin production by the solid state cultivation of

*Monascus* sp

แหล่งเงิน งบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ 2554 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 266,400 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2554

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ และผู้ร่วมโครงการวิจัย

นาย สมชาย ไกรรักษ์ (หัวหน้าโครงการ)

หน่วยงาน สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้า  
คุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520, [kksomcha@kmitl.ac.th](mailto:kksomcha@kmitl.ac.th)

นาง นิสา ไกรรักษ์ (ผู้วิจัยร่วม)

หน่วยงาน ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี  
20131, [nisa@buu.ac.th](mailto:nisa@buu.ac.th)

คำสำคัญ (Keywords) *Monascus* แป้งมันสำปะหลัง โมนาโคลิน ซิตรินิน

### บทคัดย่อ

## 246467

*Monascus* sp. SS14 คัดแยกด้วยวิธีคัดเลือกตามธรรมชาติบนอาหารที่ใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน นำมาศึกษาการสร้างโมนาโคลินด้วยการเจริญบนอาหารแข็ง การใช้เชื้อเริ่มต้นในรูปเส้นใยเชื้อราให้ผลดีกว่าเชื้อเริ่มต้นในรูปสารละลายสปอร์ เนื่องจากเส้นใยเจริญได้ทันที และขยายกำลังการผลิตได้ง่าย การเจริญของเชื้อราบนวัสดุข้าวเสาให้ให้ผลดีเนื่องจากมีการถ่ายเทอากาศ และการผสมผสานดี ต่างจากการเจริญบนมันสำปะหลัง และมันเทศ ซึ่งพบการจับตัวเป็นก้อนแข็ง และอัดแน่น การเติมข้าวสำหรับเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. SS14 โดยนำข้าวไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นจึงเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 15 มิลลิลิตร ให้ผลดีต่อการผลิตโมนาโคลิน เนื่องจากความชื้นเริ่มต้นเหมาะสม และส่งผลดีต่อการถ่ายเทอากาศ และการผสมผสาน การเลี้ยงเชื้อ *Monascus* sp. SS14 บนอาหารข้าวปริมาณ 1000 กรัม พบปัญหาการสะสมกลูโคส ความชื้น และการจับเกาะของเมล็ดข้าวที่ผิวหน้าภาชนะ เนื่องจากการถ่ายเทอากาศมีค่าต่ำ ควรใช้ระบบให้อากาศในระหว่างเลี้ยงเชื้อ ผลการทดลองพบการสร้างซิตรินินเมื่อเลี้ยงเชื้อบนข้าวปริมาณ 50 100 และ 200 กรัมเนื่องกิจกรรมของเชื้อมีค่ามาก

**Abstract****246467**

The *Monascus* sp. SS14 was selected by natural selection with medium containing cassava starch as carbon source. The monacolin production was studied on solid state fermentation. The mycelium suspension was used as inoculum that indicated higher cell growth than one with spore suspension as inoculum due to the immediate extension of fungal mycelium. The cultivation on Sao-Hai rice gave the suitable growth because of ventilation and mixing. On the other hand, growth on cassava chip and sweet potato chip presented the densely clump of material. The preparation of rice medium for solid state fermentation of *Monascus* sp. SS14 was done by sterilization of raw Sao-Hai rice at 121°C for 15 min. and then added with 15-ml of sterilized distilled water. This method showed the suitability of rice characteristic for ventilation and mixing. The cultivation of *Monascus* sp. SS14 on 1000 g of rice medium presented the accumulation of glucose, high moisture content and the attachment of rice on container surface due to the low ventilation. The aeration system should be necessary for high volume cultivation. The citrinin production was observed in the cultivation of 50, 100 and 200 g of rice because of high cell activities.

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัย “การผลิตสารโมนาโคลินจากเชื้อราโมแนสคัสที่เจริญบนอาหารแข็ง” ดำเนินงานไปได้ด้วยดี โดยได้รับความสนับสนุนจากทุนงบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2554 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ นอกจากนี้ยังขอกราบขอบพระคุณ ศ.ดร. บุษบา ยงสมิทธิ์ ที่เสียสละเวลาอันมีค่า และให้คำแนะนำ ชี้แนะ จนทำให้งานวิจัยนี้ดำเนินไปได้อย่างดี ขอขอบคุณคณาจารย์ นักวิทยาศาสตร์ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ความสะดวกในการทำวิจัย และในทุกๆ ด้านงานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ด้วยดี

ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์

ผศ. นิสา ไกรรักษ์

(คณะผู้วิจัย)

## สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
สารบัญ.....	จ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ซ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของ โครงการวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน.....	4
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ.....	5
2.1 เชื้อราโมแนสคัส.....	6
2.2 ความสัมพันธ์ระหว่างสารโมนาโคลิน และ คลอเลสเทอรอล.....	8
2.3 การค้นพบทางชีวเคมีและทางชีววิทยา.....	10
2.4 กระบวนการสังเคราะห์สารโมนาโคลิน.....	10
2.5 คุณสมบัติทางเภสัชวิทยา.....	11
2.6 กลไกการออกฤทธิ์.....	13
2.7 ผลกระทบจากการใช้ยากุ่มสแตติน.....	15
2.8 ประโยชน์ในการรักษา.....	16
2.9 ความสัมพันธ์ระหว่างเมแทบอลิซึมปฐมภูมิ และเมแทบอลิซึมทุติยภูมิ.....	16
2.10 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็ง.....	17
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	19
3.1 เชื้อจุลินทรีย์.....	19
3.2 สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	19
3.3 การวิเคราะห์.....	19
3.4 วิธีการทดลอง.....	21

บทที่ 4 ผลการทดลอง และวิจารณ์ผล.....	25
4.1 เชื้อจุลินทรีย์ .....	25
4.2 ศึกษาการสร้างโมนาโคลินในอาหารแข็งข้าวหอมมะลิในสภาวะวางฟลaskนี้้ง.....	26
4.2 ศึกษาการสร้างโมนาโคลินในอาหารแข็งธัญพืชในสภาวะนี้้ง.....	28
4.4 ศึกษาการสร้างโมนาโคลินในอาหารแข็งข้าวเสาไห้ในสภาวะหมุนขวด .....	29
4.5 ศึกษาการสร้างโมนาโคลินในอาหารแข็งข้าวเสาไห้ปริมาณต่างๆ ในสภาวะหมุนขวด .....	30
4.6 ศึกษาการเจริญและการสร้างโมนาโคลินในอาหารแข็งข้าวเสาไห้ปริมาณ 100 กรัม และ 1000 กรัม ในสภาวะหมุนขวด.....	32
4.7 ศึกษาการสร้างซิทรีนินในอาหารข้าวเสาไห้ เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะหมุนขวด.....	34
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ .....	35
5.1 สรุปผลการทดลอง .....	35
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	37
เอกสารอ้างอิง.....	38
ภาคผนวก ก.....	44
ภาคผนวก ข.....	46
ภาคผนวก ค.....	51

## สารบัญตาราง

<u>ตารางที่ 1.1</u>	โครงสร้างโมนาโคลินชนิดต่างๆ .....	3
<u>ตารางที่ 2.1</u>	ระดับการออกฤทธิ์ของโมนาโคลิน .....	15
<u>ตารางที่ 4.1</u>	การผลิตโมนาโคลินจากเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. SS14 ในสถานะนิ่ง .....	28
<u>ตารางที่ 4.2</u>	การสร้างโมนาโคลิน และซิทรีนิน ในสัปดาห์ที่ 4 ของการเลี้ยงเชื้อ บนข้าวเสาไห้ ปริมาณ 50 กรัม 100 กรัม 200 กรัม 500 กรัม และ 1000 กรัม ตามลำดับ .....	34

## สารบัญภาพ

ภาพที่ 2.1	โครงสร้างทางเคมีของ Lovastatin .....	8
ภาพที่ 2.2	เปรียบเทียบ โครงสร้างทางเคมีระหว่าง Lovastatin (A) และ Compactin (B) 9	
ภาพที่ 2.3	กระบวนการสังเคราะห์ทางชีวภาพของ Lovastatin .....	11
ภาพที่ 2.4	A วิธีการสังเคราะห์กลอสเตอรอลทางชีวภาพ ซึ่งกิจกรรมของ เอนไซม์ 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase เป็นขั้นตอนควบคุมอัตราการสังเคราะห์กลอสเตอรอล B : สารตัวกลางสแตตินมีผลโดยตรงต่อ Endothelial cells และเนื้อเยื่อต่างๆ.....	12
ภาพที่ 2.5	สแตตินชนิดต่างๆ ที่ได้รับเข้าสู่ร่างกายจะอยู่ในรูปของกรดที่ทำงานได้ (active acid form) จึงสามารถยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ขณะที่ Lovastatin ที่ได้รับเข้าสู่ร่างกายจะอยู่ในรูปของแลกโตน (lactone form) จึงต้องเปลี่ยนรูปไปเป็นกรดก่อน จึงสามารถออกฤทธิ์เพื่อเข้าจับกับเอนไซม์ได้.....	12
ภาพที่ 2.6	ความคล้ายคลึงระหว่าง โครงสร้าง Lovastatin และ HMG – CoA .....	13
ภาพที่ 2.7	การขนส่งไขมัน และแก๊สชีวพิษของระดับไขมันในเลือด .....	14
ภาพที่ 4.1	การคัดเลือกเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. SS14 ที่ใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งอาหาร .....	25
ภาพที่ 4.2	การผลิตโมนาโคลินของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. SS14 ที่เจริญบนอาหารข้าวหอมมะลิ โดยใช้เชื้อเริ่มต้นสารละลายสปอร์ (A) และเส้นใยเชื้อรา (B) เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	27
ภาพที่ 4.3	แสดงการผลิตโมนาโคลินโดยการเลี้ยงเชื้อราบนข้าวเสาไห้ที่เตรียมด้วย วิธีการเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อเข้าไปหลังจากนำข้าวเสาไห้ไปผ่านการฆ่าเชื้อ โดยตรง.....	30
ภาพที่ 4.4	แสดงการเลี้ยงเชื้อบนวัตถุดิบข้าวเสาไห้ที่บรรจุปริมาณต่างกัน โดยเลี้ยงเชื้อ ในสภาวะหมุนขวด.....	31
ภาพที่ 4.5	แสดงการเจริญของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. SS14 บนอาหารแข็งข้าวเสาไห้ ปริมาณ 100 กรัม และ 1000 กรัม ในสภาวะหมุนขวดด้วยความเร็ว 5-7 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 32-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์ปริมาณ โมนาโคลินด้วยวิธี HPLC .....	33

<u>ภาพที่ ค-1</u>	ลักษณะเชื้อเริ่มต้นในรูปของเส้นใยเชื้อรา โดยเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. SS14 ในอาหารเหลว SS medium บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 32-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน.....	51
<u>ภาพที่ ค-2</u>	การเลี้ยงเชื้อในสภาวะหมุนขวดบนเครื่องหมุน .....	51
<u>ภาพที่ ค-3</u>	ลักษณะการเจริญของเชื้อราบนธัญพืชมันสำปะหลัง และมันฝรั่ง ซึ่งพบการเกาะตัวเป็นก้อนอันแน่น .....	52
<u>ภาพที่ ค-4</u>	แสดงการเจริญของเชื้อบนข้าว (A) สัปดาห์ที่ 1 (B) สัปดาห์ที่ 2 (C) สัปดาห์ที่ 3 และ (D) สัปดาห์ที่ 4.....	52
<u>ภาพที่ ค-5</u>	แสดงการแทงเส้นใยเชื้อราเข้าไปยังภายในของเมล็ดข้าว ในกรณีที่เชื้อเจริญในสภาวะเหมาะสม.....	53
<u>ภาพที่ ค-6</u>	แสดงเจริญของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. SS14 ในขวดที่บรรจุข้าวปริมาณ 50 กรัม และเติมน้ำ 20 มิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ .....	53