



รายงานการวิจัย  
เรื่อง

การพัฒนากระบวนการหมักข้าวแดงเพื่อเพิ่มผลผลิตสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ  
โดย *Monascus purpureus* IFRPD 4046 สายพันธุ์ที่กลายจากปลายข้าว  
Development of Red Rice Yeast Fermentation Process for  
Improved Secondary Metabolites Production by Mutant  
*Monascus purpureus* IFRPD 4046 from Broken Milled-Rices

ดร. ศรีสุดา หาญภาคภูมิ  
ผศ.ประมวล ทรายทอง  
ดร.วนิดา เทวารุทธิ์ ชิติสรรงค์กุล  
เรืออากาศเอกหญิงชุตินา ทองวชิระ

มหาวิทยาลัยสวन्दุสิต  
2560  
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสวन्दุสิต



รายงานการวิจัย  
เรื่อง

การพัฒนากระบวนการหมักข้าวแดงเพื่อเพิ่มผลผลิตสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ  
โดย *Monascus purpureus* IFRPD 4046 สายพันธุ์ที่กลายจากปลายข้าว  
Development of Red Rice Yeast Fermentation Process for  
Improved Secondary Metabolites Production by Mutant  
*Monascus purpureus* IFRPD 4046 from Broken Milled-Rices

ดร. ศรีสุดา หาญภาคภูมิ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

ผศ.ประมวล ทรายทอง

สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดร.วนิดา เทวารุทธิ์ ชิติสรรงค์กุล

สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เรืออากาศเอกหญิงชุตินา ทองวชิระ

คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

2560

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสวนดุสิต

(งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดินด้านการวิจัยปีงบประมาณ 2559)

หัวข้อวิจัย	การพัฒนากระบวนการหมักข้าวแดงเพื่อเพิ่มผลผลิตสารเมแทบอลิซึมโดย <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์กลายจากปลายข้าว
ผู้ดำเนินการวิจัย	ดร.ศรีสุดา หาญภาคภูมิ ผศ.ประมวล ทรายทอง ดร.วนิดา เทวารุทธิ์ ชิติสรร์กุล เรืออากาศเอกหญิงชุติมา ทองวชิระ
หน่วยงาน	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะพยาบาล มหาวิทยาลัยสวนดุสิต มหาวิทยาลัยสวนดุสิต
ปี พ.ศ.	2560

คัดเลือกชนิดและอัตราส่วนของปลายข้าวเจ้าชยันนาท ปลายข้าวสาลี และปลายข้าวสินิลในการการผลิตสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสาร monacolin สารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ภายใต้การหมักแบบแห้งโดยรา *Monascus purpureus* IFRPD 4046 สายพันธุ์กลาย ด้วยแผนการทดลองทางสถิติแบบผสม พบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมของปลายข้าวเจ้าชยันนาท ปลายข้าวสาลี และปลายข้าวสินิลเพื่อผลิต สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ และปริมาณสาร monacolin สูงสุดเท่ากับ 0.34:0:0.66, 0.5:0.5:0 และ 0.33:0.67:0 ตามลำดับ ค่าสูงสุดของการทวนสอบการทดลองของสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสาร monacolin คือ  $420.27 \pm 9.67$  mg trolox / g DW และ  $445.52$  mg/kg, ตามลำดับ สารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรค *P. acnes* DMST 14916, *Stap. aureus* TISTR 1466 และ *Stap. epidermidis* TISTR 518 ให้ค่าไซนัยบ์เท่ากับ 7.36 6.50 และ 5.77 mm ตามลำดับ การขยายขนาดของกระบวนการหมักแห้งในกล่องพลาสติก พบว่า สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสาร monacolin เพิ่มขึ้น 1.68 เท่า ( $705.07 \pm 8.85$  mg trolox / g DW) และ 1.62 เท่า ( $719.87$  mg/kg) ตามลำดับ สารสกัดหยาบแสดงไซนัยบ์ยังเชื้อ *P. acnes* DMST 14916 และ *Stap. epidermidis* TISTR 518 เพิ่มขึ้น 2.17 เท่า ( $16.00 \pm 3.06$ ) และ 1.18 เท่า ( $7.66 \pm 4.07$ ) mm ตามลำดับ ยกเว้น *Stap. aureus* TISTR 1466 ( $5.00 \pm 0.58$  mm) ค่า MIC ของสารสกัดหยาบต่อเชื้อ *P. acnes* DMST 14916 และ *Stap. epidermidis* TISTR 518 และ *Stap. aureus* TISTR 1466 คือ 0.39, 0.78 และ 50 mg/mL คุณสมบัติของสารประกอบ monacolin และสารประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียมีความคงตัวต่อสภาวะอุณหภูมิสูง ความเป็นกรด-ด่าง และการเกิด oxidation ยกเว้น สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

**คำสำคัญ:** ข้าวแดง, โมนาโคลิน, โมแนสคัส, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์, ปลายข้าวชยันนาท, ปลายข้าวสาลี และปลายข้าวหอมนิล

<b>Research Title</b>	Development of Red Rice Yeast Fermentation Process for Improved Secondary Metabolites Production by Mutant <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 from Broken Milled-Rices
<b>Researcher</b>	Srisuda Hanphakphoom Pramuan Saithong Wanida tewaruth chitisunkhun Flt.Lt. Chutima Thongwachira
<b>Organization</b>	Science and Technology, Suan Dusit University Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University Faculty of Nursing, Suan Dusit University
<b>Year</b>	2017

The selection of optimum types and ratio of Chinart, wheat and Hom Nin broken milled-rices on the production of antioxidant and antimicrobial activities and monacolin content under solid state fermentation (SSF) by mutant *Monascus purpureus* IFRPD 4046 was investigated. Statistical mixture design experiment found that the suitable ratio of Chinart, wheat and Hom Nin broken milled-rices for the highest antioxidant and antimicrobial activities and monacolin content was 0.34 : 0 : 0.66, 0.5 : 0.5 : 0, and 0.33 : 0.67 : 0, respectively. The highest valudated values of antioxidant activity and monacolin content were 420.27±9.67 mg trolox / g DW and 445.52 mg/kg, while antibacterial activity against *P. acnes* DMST 14916, *Stap. aureus* TISTR 1466 and *Stap. epidermidis* TISTR 518 were 7.36 6.50 and 5.77 mm respectively. The up-scale solid state fermentation in plastic box, the results found that the antioxidant activity and monacolin content showed an increase by 1.68-fold (705.07±8.85 mg trolox / g DW) and 1.62-fold (719.87 mg/kg), respectively. The inhibition zone of red yeast rice extract against *P. acnes* DMST 14916 and *Stap. epidermidis* TISTR 518 exhibited an increase by 2.17-fold (16.00±3.06) and 1.18-fold (7.66±4.07) mm respectively except *Stap. aureus* TISTR 1466 (5.00±0.58 mm). Minimum inhibition concentration value (MIC) of red yeast rice extract against *P. acnes* DMST 14916 and *Stap. epidermidis* TISTR 518 และ *Stap. aureus* TISTR 1466 was 0.39, 0.78 and 50 mg/mL The properties of monacolin and antibacterial activity compounds were stable at high temperature, alkaline, acid and oxidation conditions except antioxidant activity compound.

**Keywords:** Red rice yeast, Monacolin, *Monascus* sp., antioxidant activity, antimicrobial activity, Chai Nart Broken Rice, Wheat Broken Rice, Homin Broken Rice

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ศูนย์เครื่องมือและปฏิบัติการ และคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่อนุญาตให้ใช้สถานที่, อุปกรณ์, และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ ซึ่งทำให้งานวิจัยดำเนินไปอย่างราบรื่นจนประสบความสำเร็จ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสวนดุสิต และสถาบันคั้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และบุคคลทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องซึ่งทำให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอแสดงความกตัญญูตเวทีตาคุณ แต่บิดา มารดา ที่คอยให้กำลังใจและสนับสนุนทุกสิ่งอย่าง สำหรับข้อบกพร่องต่างๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นนั้น ผู้วิจัยขออภัยและยินดีที่จะรับฟังคำแนะนำจากทุกท่านที่ได้เข้ามาศึกษา เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนางานวิจัยต่อไป

ศรีสุตา หาญภาคภูมิ

2560

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ฎ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
ความเป็นมาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
ขอบเขตการวิจัย	4
คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
<b>บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>6</b>
สารอนุมูลอิสระและกระบวนการทำงานของสารที่มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ	6
สารสำคัญในธัญพืช	6
จุลินทรีย์มีความสำคัญสามารถผลิตสารสีและสีธรรมชาติ	8
สารสำคัญในข้าวแดง	8
ความคงตัวของสารสี	19
ปลายข้าว (Broken milled-rice)	20
กรอบแนวคิดในการวิจัย	22

	หน้า
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย</b>	24
การคัดเลือกชนิดและอัตราส่วนของวัสดุหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตสาร	24
เมแทบอลิต์ทุติยภูมิโดยใช้การทดลองแบบผสม mixture design	25
ศึกษาการขยายขนาดกระบวนการหมักข้าวแดง	26
การวิเคราะห์	30
ศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดก่อนการพัฒนาผลิตภัณฑ์	31
การประเมินผลทางสถิติ	33
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัย</b>	33
การคัดเลือกชนิดและปริมาณวัสดุหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตสาร	33
เมแทบอลิต์ทุติยภูมิโดยใช้การทดลองแบบผสม mixture design	43
ผลการขยายขนาดกระบวนการหมักข้าวแดง	47
ผลคุณสมบัติของสารสกัดก่อนการพัฒนาผลิตภัณฑ์	49
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ</b>	49
สรุปผลการวิจัย	49
อภิปรายผล	51
ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้	54
ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป	54
<b>บรรณานุกรม</b>	55
บรรณานุกรมภาษาไทย	55
บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ	55
<b>ภาคผนวก</b>	60
<b>ประวัติผู้วิจัย</b>	63

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	สารสีบางชนิดธรรมชาติที่ผลิตจากจุลินทรีย์	8
2.2	สปอร์สีของ <i>Monascus</i> ที่สร้างสารสี	11
2.3	การผลิตสารสีของ <i>Monascus</i>	13
2.4	ความคงตัวของสารสี <i>Monascus</i> ในสภาวะต่างๆ	20
2.5	องค์ประกอบทางเคมีของข้าวหอมนิลและแป้งสาลี	22
2.6	สารต้านอนุมูลอิสระและสารฟีนอลิกทั้งหมด	22
3.1	การทดลองหาสัดส่วนที่เหมาะสมของวัสดุหมักต่อการผลิตสารโดยใช้ mixture design	25
3.2	เชื้อทดสอบและอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อทดสอบ	29
4.1	การคัดเลือกวัสดุหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตสาร monacolin ของข้าวหมักแดงที่หมักด้วยรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์	34
4.2	การคัดเลือกวัสดุหมักที่เหมาะสมต่อค่า EC <sub>50</sub> ของสารต้านอนุมูลอิสระที่วัดโดยวิธี DPPH จากข้าวหมักแดงหมักด้วยรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์กลาย	34
4.3	การคัดเลือกวัสดุหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจากข้าวหมักแดงหมักด้วยรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์กลาย	35
4.4	การคัดเลือกวัสดุหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตสาร monacolin จากข้าวหมักแดงที่หมักด้วยรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์	35
4.5	การคัดเลือกวัสดุหมักที่เหมาะสมในการผลิตสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม /มิลลิลิตรจากข้าวหมักแดงที่หมักด้วยรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์	36
4.6	อัตราส่วนที่เหมาะสมของวัสดุหมักต่อการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ สาร monacolin K และสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์โดยใช้ mixture design เพาะเลี้ยงนาน 15 วัน	37
4.7	สัดส่วนของวัสดุหมักต่อการผลิตสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์โดยใช้ mixture design ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม /มิลลิลิตรจากข้าวหมักแดงในวัสดุหมัก 3 ชนิดที่สัดส่วนแตกต่างกันด้วยรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์ เพาะเลี้ยงนาน 15 วัน	38
4.8	อัตราส่วนของปลายข้าว 3 ชนิดที่แตกต่างกันที่หมักด้วยรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์ในพลาสติกปริมาณทั้งหมด 50 g เพาะเลี้ยงนาน 14 วันเพื่อผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ และสาร monacolin K	42

ตารางที่		หน้า
4.9	สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสาร monacolin ที่ผลิตจากการหมักรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์ที่กลายด้วยวัสดุหมัก 3 ชนิดในอัตราส่วนที่แตกต่างกันในฟลาสก์ปริมาณทั้งหมด 50 g ใช้เวลาเพาะเลี้ยงนาน 14 วัน	42
4.10	อัตราส่วนของปลายข้าว 3 ชนิดที่แตกต่างกันที่หมักด้วยรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์ในฟลาสก์ปริมาณทั้งหมด 50 g เพาะเลี้ยงนาน 14 วันเพื่อผลิตสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย	43
4.11	สารที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ผลิตจากการหมักรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์ที่กลายด้วยวัสดุหมัก 3 ชนิดในอัตราส่วนที่แตกต่างกันในฟลาสก์ใช้เวลาเพาะเลี้ยงนาน 14 วัน	43
4.12	อัตราส่วนของปลายข้าว 3 ชนิดในสัดส่วนที่แตกต่างกันที่หมักด้วยรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์ในกล่องหมักเพาะเลี้ยงนาน 15 วัน เพื่อผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ และสาร monacolin K	44
4.13	ปริมาณความชื้นและน้ำหนักแห้งในกระบวนการหมักสำหรับการขยาย scale การผลิต	44
4.14	การผลิตสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสาร monacolin จากการหมักรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์ที่กลายด้วยปลายข้าว 3 ชนิดในสัดส่วนที่เหมาะสมในกล่องหมักขนาด 7 ลิตร ใช้เวลาเพาะเลี้ยงนาน 14 วัน	45
4.15	การผลิตสารที่มีสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์จากการหมักรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์ที่กลายด้วยปลายข้าว 3 ชนิดในสัดส่วนที่เหมาะสมในกล่องหมักขนาด 7 ลิตร ใช้เวลาเพาะเลี้ยงนาน 14 วัน	46
4.16	ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดหยาบจากข้าวแดงในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย	47
4.17	คุณสมบัติความคงตัวของสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความคงตัวของสาร monacolin K ต่อการทดสอบทางกายภาพ	47
4.18	คุณสมบัติความคงตัวของสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อการทดสอบทางกายภาพ	48
5.1	สรุปการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระและ total phenolic จากการหมักรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์ที่กลายด้วยปลายข้าวในอัตราส่วนที่เหมาะสมในฟลาสก์และกล่องหมักขนาด 7 ลิตร ใช้เวลาเพาะเลี้ยงนาน 14 วัน	50
5.2	สรุปการผลิตสารต้าน Monacolin K จากการหมักรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์ที่กลายด้วยปลายข้าวในอัตราส่วนที่เหมาะสมในฟลาสก์และกล่องหมักขนาด 7 ลิตร ใช้เวลาเพาะเลี้ยงนาน 14 วัน	50

<p>ตารางที่</p>	<p>หน้า</p>
<p>5.3</p>	<p>สรุปการผลิตสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากการหมักรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์กลายด้วยปลายข้าวในอัตราส่วนที่เหมาะสมในพลาสติกและกล่องหมักขนาด 7 ลิตร ใช้เวลาเพาะเลี้ยงนาน 14 วัน</p>
<p>50</p>	<p></p>
<p>ตาราง ผนวกที่</p>	<p>หน้า</p>
<p>1</p>	<p>การคัดเลือกวัสดุหมักที่เหมาะสมปริมาณสารฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของข้าวหมักแดงที่ หมักด้วยรา <i>Monascus purpureus</i> IFRPD 4046 สายพันธุ์กลาย</p>
<p>62</p>	<p></p>
<p>2</p>	<p>คุณสมบัติความคงตัวของสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความคงตัวของสาร monacolin K ต่อการทดสอบทางกายภาพ</p>
<p>62</p>	<p></p>

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	โครงสร้างทางเคมีของสารสี <i>Monascus</i>	10
2.2	โครงสร้างทางเคมีของ Monacolin K ที่ผลิตโดย <i>Monascus</i>	14
2.3	การสังเคราะห์สารสีและสาร citrinin จาก <i>Monascus ruber</i> และการสร้างสารพิษจาก <i>Aspergillus</i> และ <i>Penicillium</i>	16
3.1	ลักษณะผงของข้าวแดงหลังจากการหมัก	27
3.2	การสกัดสารจากข้าวแดงด้วย 95% ethanol	28
3.3	การกรองสารจากข้าวแดง	28
3.4	ลักษณะสารสกัดข้าวแดงด้วย 95% ethanol ก่อนการทดสอบคุณสมบัติความคงตัวของสารสกัด (บน) และหลังการทดสอบคุณสมบัติความคงตัวของสารสกัด (ล่าง)	31
4.1	พื้นผิวตอบสนองของสัดส่วนผสมของวัสดุหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (A) สาร monacolin (B) ที่ได้จาก quadratic model ของ mixture เพาะเลี้ยงนาน 15 วัน	39
4.2	พื้นผิวตอบสนองของสัดส่วนผสมของวัสดุหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตสารที่มีฤทธิ์ต้าน <i>P. acnes</i> DMST 14916 (A) <i>Stap. epidermidis</i> TISTR 518 (B) <i>Stap. aureus</i> TISTR 1466 (C) ที่ได้จาก quadratic model ของ mixture เพาะเลี้ยงนาน 15 วัน	40
4.3	การยับยั้ง <i>P. acnes</i> DMST 14916 ของสารสกัดหยาบจากวัสดุหมักปลายข้าว ชัยนาทและปลายข้าวสาเลีใช้เวลาเพาะเลี้ยงนาน 14 และ 15 วัน; C = 95% alcohol, E = Erythomycin	46