



รายงานการวิจัย

เรื่อง

อิทธิพลของสภาวะการเพาะเลี้ยงที่มีต่อการผลิตสารสีโดย *Monascus* sp. LC1
Influence of Culture Conditions on the Pigment Production by *Monascus* sp. LC1

นฤมล อัสวเกศมณี
พัชรี หล่องหม่าน
เสาวนิตย์ ชอบบุญ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

พ.ศ. 2552

(งานวิจัยฉบับนี้ยังไม่เสร็จสมบูรณ์ ห้ามนำไปใช้อ้างอิง)

ชื่อโครงการวิจัย อิทธิพลของสภาวะการเพาะเลี้ยงที่มีต่อการผลิตสารสีโดย *Monascus* sp. LC1

หน่วยงาน มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ชื่อผู้วิจัย นฤมล อัสวเกษมณี

พัชรี หลุ่งหม่าน

เสาวนิตย์ ชอบบุญ

เดือนและปีที่ทำวิจัยสำเร็จ

มกราคม 2553

บทคัดย่อ

เชื้อราสกุล *Monascus* เป็นแหล่งผลิตสารสีจากธรรมชาติตั้งแต่สีเหลืองถึงสีแดง ใช้เป็นสารให้สีในอาหารประเภทต่าง ๆ การศึกษาครั้งนี้ต้องการศึกษาผลของ กล้าเชื้อ อุณหภูมิการบ่มเชื้อ เวลาในการแช่ข้าว อุณหภูมิสำหรับการฆ่าเชื้อข้าว และเวลาสำหรับการฆ่าเชื้อข้าว ต่อการผลิตสารสีแดงบนข้าว โดย *Monascus* sp. LC1 ในถุงพลาสติก โดยนำปัจจัยต่าง ๆ มาศึกษาปัจจัยที่เหมาะสม โดยการออกแบบสูตรด้วยวิธี Two-level factorial design ผลการทดลองพบว่าสูตรปัจจัยที่ 22 ประกอบด้วย กล้าเชื้อ 3 กรัม อุณหภูมิการบ่มเชื้อ 25 องศาเซลเซียส เวลาในการแช่ข้าว 120 นาที อุณหภูมิสำหรับการฆ่าเชื้อข้าว 80 องศาเซลเซียส และเวลาสำหรับการฆ่าเชื้อข้าว 15 นาที เป็นสูตรที่ *Monascus* sp. LC1 ผลิตสารสีแดงสูงสุด 194 ± 9.89 หน่วยต่อกรัม ซึ่งให้สารสีแดงสูงกว่าสูตรดั้งเดิม 40.84 เท่า ค่าพีเอชมีแนวโน้มลดลงในข้าวทุกสูตร อยู่ในช่วงพีเอช 4.60 ถึง 5.94 ที่เวลาการบ่ม 14 วัน เมื่อนำข้าวแดงสูตรที่ 22 มาวิเคราะห์องค์ประกอบพบของโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ไนโตรเจนทั้งหมด คิดเป็น 11.26 ± 5.7 , 6.0 ± 0.7 , 81.08 ± 7.6 , 1.8 ± 0.8 % ตามลำดับ โปรตีนละลายน้ำ 81.12 ± 4.7 $\mu\text{g/ml}$ ปริมาณอะมิโลส 36% จัดอยู่ในกลุ่มข้าวแดงที่มีอะมิโลสสูง ความชื้นในข้าวแดงโดยน้ำหนักเปียกและแห้งคิดเป็น 41.5 ± 0.5 และ 0.33 ± 0.2 % และ *Monascus* sp. LC1 ที่เจริญบนข้าวผลิตซีทรินิน 52.82 mg/Kg

คำสำคัญ : โมนัสคัส สารสี สภาวะการเพาะเลี้ยง ข้าวแดง ซีทรินิน

Research Title Influence of Culture Conditions on the Pigment Production by *Monascus* sp. LC1

Institution Songkhla Rajabhat University.

Researcher Naruemon Usawakesmanee

Patcharee Lungmann

Saowanit Chobbun

Year January 2010

Abstract

Monascus spp. are a promising source for natural color additives, ranging from yellow to red, that have been used as food colorants. The purpose of this study is to investigate the effects of starter, incubation temperature, rice-soaking time, rice-sterilization temperature and rice-sterilization time on red pigment production by *Monascus* sp. LC1 in plastic bags. The optimal factors were investigated using two-level factorial design. The results shown that the recipe no. 22 using the optimal factors for enhancing the red pigment production. The optimal factors was 3 g/L starter, incubated at 25°C, rice-soaking time for 120 min., rice-sterilization temperature at 80°C and rice-sterilization time for 15 min. The highest red pigment production by the *Monascus* sp. LC1 was 194 ± 9.89 unit/g, which was higher than the original formula 40.84 times. The pH of all formulas was decrease; rang from 4.60 to 5.94 for 14 days. The red rice produced from recipe no. 22 consisted of 11.26 ± 5.7 % protein, 6.0 ± 0.7 % lipids, 81.08 ± 7.6 % carbohydrate, 1.8 ± 0.8 % total nitrogen and 36% amylase, respectively. The insoluble protein was 81.12 ± 4.7 µg/ml. Moisture of wet weight and ash of red rice were found at 41.5 ± 0.5 % and 0.33 ± 0.2 %, respectively. *Monascus* sp. LC1, which was grown on rice, produced citrinin at 52.82 mg/Kg.

Keywords : *Monascus*, Pigment, Culture condition, Red rice, Citrinin

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่องอิทธิพลของสภาวะการเพาะเลี้ยงที่มีต่อการผลิตสารสีโดย *Monascus* sp. LC1 ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปี พ.ศ. 2552 ผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างสูง ขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิ ที่ได้ให้คำแนะนำและตรวจแก้ไข เพื่อให้ได้งานวิจัยที่มีคุณภาพมากยิ่งขึ้น และขอขอบคุณบุคลากรสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาทุกท่านที่ได้ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ดร. สุวรรณิ พรหมศิริ ที่ได้กรุณาอนุเคราะห์ให้ใช้ห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์ เครื่องมือ และครุภัณฑ์ในการทำวิจัย และขอขอบคุณนางสาวสิทธิพร มากมณี และนายปริญญา ทับเที่ยง นักวิทยาศาสตร์โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์การเตรียมอาหาร และนางสาวรอชียะ บ่อเนาะ ผู้ช่วยนักวิจัย ที่มีส่วนช่วยในการทำวิจัยครั้งนี้

กุมภาพันธ์ 2553

นฤมล อัสวเกศมณี
พัชรี หลุ่งหม่าน
เสาวนิตย์ ชอบบุญ

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(4)
สารบัญภาพ	(6)
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับราข้าวแดง	4
ลักษณะรูปร่างและการจัดจำแนกเชื้อรา <i>Monascus</i> spp.	4
ชนิดตรงควัตถุที่ผลิตโดย เชื้อรา <i>Monascus</i> spp.	5
การนำรงควัตถุจาก เชื้อรา <i>Monascus</i> spp. มาใช้ประโยชน์	8
ประโยชน์ของสารชนิดอื่นที่ผลิตจากเชื้อรา <i>Monascus</i> spp.	9
ปัจจัยในการผลิตสารสีจากเชื้อรา <i>Monascus</i> spp. บนอาหารแข็ง	11
ข้อดีของกระบวนการผลิตรงควัตถุบนอาหารแข็ง	13
ข้อเสียของกระบวนการผลิตรงควัตถุบนอาหารแข็ง	13
ความเป็นพิษของข้าวแดง	14
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	18
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	21
วัสดุสำหรับการเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus</i>	21
อุปกรณ์ที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus</i>	21
วัสดุและอุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์กระบวนการเลี้ยงเชื้อรา <i>Monascus</i>	21
วิธีการศึกษา	23
การเตรียมข้าวสำหรับผลิตข้าวแดง	23
การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อผลิตข้าวแดง	23
โดยเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. LC1 ด้วยวิธี Two-level factorial design	
การศึกษาข้าวแดงผลิตโดยเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. LC1	26
ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของข้าวแดงเมื่อสิ้นสุดการหมัก	27

สารบัญ

หน้า

ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของข้าวแดงเมื่อสิ้นสุดการหมัก	27
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	27
บทที่ 4 ผลการทดลอง	28
ผลการแยกเชื้อราจากข้าวแดง	28
สัณฐานวิทยา <i>Monascus</i> sp. LC1	29
ผลการเตรียมหัวเชื้อ <i>Monascus</i> sp. LC1 ในข้าวหอมมะลิ	31
ผลการศึกษาสูตรปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตสารสี	32
โดยเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. LC1	
สูตรปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารสี	32
การวิเคราะห์สมการถดถอย (regression)	36
ผลการตรวจสอบความเหมาะสมของสมการถดถอย (Diagnostic)	39
การทำนายสูตรปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตสารสีในข้าว	42
โดย <i>Monascus</i> sp. LC1 ด้วยวิธีตอบสนองต่อพื้นผิว	
(Response Surface Methodology : RSM)	
ผลการศึกษาพีเอชของข้าวแดง	45
ผลการศึกษาปริมาณอะมิโลสของข้าวแดงผลิตโดย <i>Monascus</i> sp. LC1	45
องค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของราข้าวแดงต่อการผลิตสารสี	46
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	49
เอกสารอ้างอิง	51
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	58
ภาคผนวก ข	59
ภาคผนวก ค	68
ภาคผนวก ง	72
ภาคผนวก จ	74

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สายพันธุ์ต่างๆ ของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp	5
2.2 กิจกรรมเอนไซม์ที่แตกต่างกัน ในเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. แต่ละสายพันธุ์	5
2.3 สูตรเคมีและมวลโมเลกุลของรงควัตถุจาก <i>Monascus</i> sp.	6
2.4 สารเมตาบอไลต์ที่ผลิตโดย <i>Monascus</i> sp.	10
2.5 คุณค่าทางโภชนาการของข้าวหอมมะลิ	12
3.1 การออกแบบสูตรปัจจัยการเพาะเลี้ยงเชื้อราบนข้าวต่อการผลิตสารสีในข้าว โดยวิธี Two-level factorial design ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดและสูงสุด	24
3.2 Factorial design matrix ของสูตรปัจจัยการเพาะเลี้ยงเชื้อราในข้าว	25
4.1 สูตรปัจจัยของการเพาะเลี้ยง <i>Monascus</i> sp. LC1 เพื่อผลิตสารสีและค่าพีเอช	33
4.2 ANOVA และ สมการถดถอย สำหรับสมการเส้นตรง (linear model) เพื่อผลิตสารสี	36
4.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนและปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารสี ซึ่งออกแบบสูตรปัจจัยด้วยวิธี two-level factorial design 2 ⁵	38
4.4 อะมิโลสในข้าวแดง ของสูตรปัจจัยต่างๆ ที่เวลาการบ่มเชื้อ 14 วัน	46
4.5 องค์ประกอบข้าวแดง ผลิตโดย <i>Monascus</i> sp. LC1 ในสูตรปัจจัยที่ 22 บ่มที่ อุณหภูมิ 25±1 °C เป็นเวลา 14 วัน	47

สารบัญตาราง

ตารางผนวกที่	หน้า
1 ปริมาณสารสีผลิตโดย <i>Monascus</i> sp. LC1 ที่ระยะเวลาการบ่ม 14 วัน อุณหภูมิ $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ วัดปริมาณสารสีที่ความยาวคลื่น 400 และ 500 นาโนเมตร	70

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างทางเคมีของรงควัตถุที่ผลิตโดย เชื้อรา <i>Monascus</i> spp.	7
2.2 โครงสร้างทางเคมีของซีทรินิน	14
2.3 กลไกการสังเคราะห์ซีทรินินของเชื้อรา <i>Monascus</i> spp.	16
2.4 กลไกการสังเคราะห์ซีทรินินและรงควัตถุสีแดงของ <i>Monascus ruber</i> โดยเส้นประ แสดงกลไกการสังเคราะห์ซีทรินินของราสกุล <i>Penicillium</i> และ <i>Aspergillus</i>	17
4.1 ลักษณะของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. LC 1 ที่เจริญบนอาหาร CM Medium บ่มที่อุณหภูมิห้อง	28
4.2 ลักษณะโครงสร้างต่างๆของเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. LC1 (400 เท่า)	30
4.3 เชื้อรา <i>Monascus</i> sp. LC1 เจริญในข้าวหอมมะลิ	31
4.4 ลักษณะข้าวแดง ผลิตโดย <i>Monascus</i> sp. LC1 ของสูตรปัจจัยที่ 22 บ่มที่อุณหภูมิ $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 14 วัน	34
4.5 การตรวจสอบความเหมาะสมของสมการถดถอยจากค่าเฉลี่ย ความคลาดเคลื่อนค่าส่วนตกค้างของโมเดล สำหรับการผลิตสารสี	40
4.6 การตอบสนองต่อพื้นผิวแสดงผลของการ interaction ระหว่างเวลาการแช่ข้าว และระยะเวลาการฆ่าเชื้อข้าว ต่อการผลิตสารสี	43
4.7 การตอบสนองต่อพื้นผิวแสดงผลของการ interaction ระหว่างเวลาการแช่ข้าว และอุณหภูมิการฆ่าเชื้อข้าวต่อการผลิตสารสี	44
4.8 กราฟการวิเคราะห์ซีทรินิน โดย HPLC ของข้าวแดง ผลิตโดยเชื้อรา <i>Monascus</i> sp. LC1	48

สารบัญภาพ

ภาพผนวกที่	หน้า
1 ลักษณะข้าวแดง ผลิตโดย <i>Monascus</i> sp. LC1 ของสูตรปัจจัยการเพาะเลี้ยงต่างๆ บ่มในถุงพลาสติก เขย่าข้าวทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน	66
2 สารสีจากข้าวแดง ผลิตโดย <i>Monascus</i> sp. LC1 สกัดด้วยเอทานอล	69
3 ความสัมพันธ์ระหว่างกล้าเชื้อกับเวลาแช่ข้าวต่อการผลิตสารสีบนข้าว ผลิตโดย <i>Monascus</i> sp. LC 1	72
4 ความสัมพันธ์ระหว่างกล้าเชื้อกับอุณหภูมิการมาเชื้อข้าวต่อการผลิตสารสีบนข้าว ผลิตโดย <i>Monascus</i> sp. LC 1	73
5 ความสัมพันธ์ระหว่างกล้าเชื้อกับระยะเวลาการมาเชื้อข้าวต่อการผลิตสารสีบนข้าว ผลิตโดย <i>Monascus</i> sp. LC 1	74
6 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิการบ่มรานข้าวกับเวลาแช่ข้าวต่อการผลิตสารสีบนข้าว ผลิตโดย <i>Monascus</i> sp. LC 1	75
7 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิการบ่มรานข้าวกับอุณหภูมิการมาเชื้อข้าวต่อการผลิตสารสีบนข้าว ผลิตโดย <i>Monascus</i> sp. LC 1	76
8 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิการบ่มรานข้าวกับระยะเวลาการมาเชื้อข้าวต่อการผลิตสารสีบนข้าว ผลิตโดย <i>Monascus</i> sp. LC 1	77
9 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิการมาเชื้อข้าวกับระยะเวลาการมาเชื้อข้าวต่อการผลิตสารสีบนข้าว ผลิตโดย <i>Monascus</i> sp. LC 1	78