



การสร้างโมนาโคลินเค ซิตรีนิน และสารสีในอังกักจากเศษเหลือเส้นก๋วยเตี๋ยวที่หมักด้วยราโมแนสค์สต่างสายพันธุ์

The Production of Monacolin K, Citrinin and Pigments in Noodle Waste Angkak Fermented by Various *Monascus* Strains

อุทัยวรรณ นัครอง* และเกตุการ ดาจันทา

Utaiwan Chatong* and Katekan Dajanta

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

*Corresponding author: nuwongs@hotmail.com

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสร้างสารโมนาโคลินเค ซิตรีนินและสารสีในผงอังกักจากเศษเหลือเส้นก๋วยเตี๋ยวที่หมักด้วยรา *Monascus* sp. PSRU03, *M. purpureus* ATCC16365, *M. purpureus* BCC6131 และ *M. ruber* TISTR3006 ผลการศึกษาพบว่าอังกักจากรา *Monascus* ทั้ง 4 สายพันธุ์มีปริมาณสารสีในช่วง 95.65 – 293.87 หน่วย/กรัม ตัวอย่างแห้ง สาร โมนาโคลินเค 8.05 - 34.47 มิลลิกรัม/กิโลกรัมตัวอย่างแห้ง และซิตรีนิน 2.13 - 3.11 มิลลิกรัม/กิโลกรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างราที่ใช้ในการศึกษาพบว่ารา *Monascus* sp. PSRU03 เป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารโมนาโคลินเคได้สูงและสร้างซิตรีนิน ได้ต่ำที่สุด รวมทั้งยังสามารถสร้างสารสีได้มากที่สุด จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ารา *Monascus* sp. PSRU03 เป็นสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตผงอังกักจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยว

Abstract

This study aims to investigate the production of monacolin K, citrinin and pigments in noodle waste angkak fermented by 4 strains of *Monascus* including *Monascus* sp. PSRU03, *M. purpureus* ATCC16365, *M. purpureus* BCC6131 and *M. ruber* TISTR3006. The results found that angkak samples from 4 strains of *Monascus* contained pigments of 95.65 – 293.87 unit/g DM, monacolin K contents of 8.05-34.47 mg/kg DM, and citrinin contents of 2.13-3.11 mg/kg DM. Among tested strains of molds, *Monascus* sp. PSRU03 produced high monacolin K and lowest citrinin contents in noodle. Furthermore, this strain also produced the highest content of pigments. Therefore, this study suggested that *Monascus* sp. PSRU03 has a potential for using as starter culture in the production process of noodle waste angkak.

คำสำคัญ: โมแนสค์ส สารสี โมนาโคลิน ซิตรีนิน เส้นก๋วยเตี๋ยว

Keywords: *Monascus*, pigment, monacolin, citrinin, noodle

1. บทนำ

ราโมเนสคัส (*Monascus*) เป็นราที่ใช้ในกระบวนการผลิตอาหารหมักและมีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาอย่างแพร่หลาย เนื่องจากในระหว่างการเจริญของราได้มีการสร้างสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) หลายชนิดที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารลดคอเลสเตอรอล โมนาโคลินเค (monacolin K) ซึ่งเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-Co A) ในขั้นตอนการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในร่างกาย (1,2) ดังนั้นจึงมีการใช้อาหารหมักจากราโมเนสคัส โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ข้าวแดงหรืออังคัก (angkak) ในการรักษาโรคคอเลสเตอรอลสูง (3,4,5) รวมถึงช่วยลดอาการของโรคความดันโลหิตสูง (6) และโรคหลอดเลือดหัวใจ (3) นอกจากนี้ในระหว่างการเจริญของราโมเนสคัสยังสร้างสารสี (pigments) ซึ่งเป็นสารให้สีธรรมชาติในอาหารและมีสรรพคุณทางยาในการลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็ง (7,8) ต้านการอักเสบ (9) และมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (10) อย่างไรก็ตามในระหว่างการเจริญของราโมเนสคัสพบการสร้างสารซิตรีนิน (citrinin) ซึ่งเป็นสารที่มีพิษต่อตับและไตของมนุษย์ สารซิตรีนินถูกสร้างขึ้นจากกระบวนการ polyketide pathway ของราซึ่งเป็นกระบวนการเดียวกันกับการสร้างสาร โมนาโคลินเค และสารสี ดังนั้นในอาหารหมักโมเนสคัสถึงแม้จะมีสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายอยู่มากแต่ก็มักมีการปนเปื้อนของสารพิษซิตรีนินร่วมอยู่ด้วยเสมอ จึงมีการคัดเลือกรา *Monascus* สายพันธุ์ที่มีการสร้างสารพิษซิตรีนินต่ำมาใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักร่วมกับการปรับสภาวะการหมักให้เหมาะสมกับการสร้างสาร โมนาโคลินและควบคุมการสร้างสารพิษซิตรีนินให้อยู่ในระดับที่ต่ำกว่าระดับที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย

สารสีจาก โมเนสคัสนอกจากอังคักซึ่งเป็นข้าวที่หมักด้วยราโมเนสคัสแล้วยังมีการใช้วัตถุดิบทางเกษตรชนิดอื่นเป็นวัสดุหมักอีกด้วย เช่น ลูกเดือย (11) กลอย (12) และมันฝรั่ง (13) นอกจากนี้ได้มีการนำเศษมันฝรั่งจากโรงงานผลิตมันทอดและของเสียจากกระบวนการผลิตอาหาร เช่น น้ำทิ้งจากโรงงานแปรงมันสำปะหลัง (14) กากมะพร้าว commeal

peanut meal และ soybean meal (15) มาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสารสีจากโมเนสคัสด้วย

จังหวัดพิษณุโลกและสุโขทัยมีโรงงานแปรรูปเส้นก๋วยเตี๋ยวหลายแห่งและมีเศษเหลือเส้นก๋วยเตี๋ยวแห้งจำนวนมากเนื่องจากเส้นสดที่จำหน่ายไม่หมดภายในวันผลิตและเส้นสดไม่ได้ขนาดตามต้องการ เศษเส้นก๋วยเตี๋ยวเหล่านี้ถูกจำหน่ายเป็นอาหารสัตว์ซึ่งมีราคาถูกลงอย่างมากจากราคาก๋วยเตี๋ยวเส้นสด กิโลกรัมละ 30 บาทเหลือเพียง กิโลกรัมละ 4-5 บาทเท่านั้น และมีบางส่วนมีการกำจัดทิ้งเป็นขยะ จากปัญหาดังกล่าวนอกจากจะเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิตแล้วยังเป็นการสร้างมลพิษกับสิ่งแวดล้อมอีกด้วย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการเพิ่มมูลค่าให้กับเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวด้วยการใช้เป็นวัสดุหมักของราโมเนสคัสและพัฒนาเป็นผงสีอังคัก โดยศึกษาหาสายพันธุ์ของราโมเนสคัสที่สามารถสร้างสารสีและสาร โมนาโคลินเค ได้ดีแต่สามารถสร้างซิตรีนินในปริมาณต่ำ

2. วิธีวิจัย

2.1 การเตรียมกล้าเชื้อ *Monascus*

ใช้รา *Monascus* sp. PSRU03 ซึ่งเป็นราที่คัดแยกได้จากอังกักทางการค้าและผ่านตรวจสอบแล้วว่าสามารถสร้างสารสีสูงแต่สร้างสารพิษซิตรีนินต่ำ (16) เปรียบเทียบกับราโมเนสคัสสายพันธุ์มาตรฐาน จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ *M. purpureus* ATCC16365, *M. purpureus* BCC6131 และ *M. ruber* TISTR3006 ซึ่งได้รับจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

กล้าเชื้อ *Monascus* ทั้ง 4 สายพันธุ์เตรียมได้จากการเพาะเลี้ยงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., ประเทศอินเดีย) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน ทำซ้ำเช่นนี้ 2 ครั้งก่อนนำไปใช้ในการทดลองการหมัก

2.2 การเตรียมวัสดุหมักจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยว

ได้รับเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กแห้งจากโรงงานเส้นก๋วยเตี๋ยวนิตย อ.สวรรคโลก จ.สุโขทัย เศษเส้นก๋วยเตี๋ยวมีองค์ประกอบทางเคมีคือมีค่าความชื้นร้อยละ 9.70 โปรตีนร้อยละ 1.10 ไขมันร้อยละ 0.25 เถ้าร้อยละ 0.46

เส้นใยร้อยละ 0.24 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 88.25 เตรียมวัสดุหมักจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวโดยการบดเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวด้วยเครื่องปั่น ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 80 mesh ผสมผงเส้นก๋วยเตี๋ยว 50 กรัมกับน้ำ 50 มิลลิลิตรในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร นำเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ได้วัสดุหมักจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวที่มีค่าความชื้นร้อยละ 52.93 และค่า pH 7.37

2.3 การคัดเลือกรา *Monascus* ที่สร้างสารโมนาโคลิน และสารสีได้ดีในเศษเส้นก๋วยเตี๋ยว

ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.4 เซนติเมตรเจาะโคโลนีของรา *Monascus* ที่เตรียมได้จากข้อ 2.1 นำไปเพาะเชื้อโดยวางบนวัสดุหมักจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวที่เตรียมได้จากข้อ 2.2 บ่มเพาะในตู้บ่มอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 14 วัน อบแห้งในตู้อบแห้งแบบลมร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง บดให้เป็นผงละเอียดด้วย เครื่องบดได้ผงสีโมแนสคัสจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวที่มีค่า water activity ต่ำกว่า 0.6

2.4 การตรวจวิเคราะห์

2.4.1 ตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพในองค์จากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยว

ตรวจค่า pH และ ค่าความชื้น (17) ในเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวทั้งก่อนและหลังการหมักครบ 14 วัน และวัดลักษณะปรากฏของผงสีโมแนสคัสด้วยระบบ CIE โดยวัดค่า L^* และ b^*

2.4.2 ตรวจวิเคราะห์สารโมนาโคลินและสารสีในองค์จากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยว

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารโมนาโคลินและสารสีในองค์จากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวด้วยวิธี HPLC/DAD/MSD โดยใช้ HPLC Agilent technologies 1100 series Germany คอลัมน์ Zorbax SB C18 ขนาด 150x4.6 มิลลิเมตร, 5 ไมครอน (Agilent technology, USA) ในการตรวจวิเคราะห์ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ที่ 30 องศาเซลเซียส เฟสเคลื่อนที่ A คือ trifluoroacetic acid เข้มข้นร้อยละ 0.1 และ เฟสเคลื่อนที่ B คือ acetonitrile ใช้ระบบการวิเคราะห์แบบ isocratic A:B อัตรา 40:50 ด้วยอัตราการไหล 1 มิลลิลิตร/นาที ดีเทคเตอร์เป็น diode array ตรวจวัดที่ 238 และ 330 นาโนเมตร และ Mass Spectroscopy (Agilent technology, USA) สแกนที่ 100 - 500 m/z

2.4.3 ตรวจวิเคราะห์สารสีในองค์จากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยว

สกัดสารสีในผงสีโมแนสคัส 1 กรัมด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 จำนวน 20 มิลลิลิตร ในเครื่องอัลตราโซนิคอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1,008 xg (Eppendorf Centrifuge 5403, Germany) นาน 20 นาที เก็บสารละลายเฉพาะส่วนใสด้านบน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ วัดปริมาณสารสีแดงที่ช่วงคลื่น 500 นาโนเมตร สารสีเหลืองที่ช่วงคลื่น 400 นาโนเมตร และสีส้มที่ช่วงคลื่น 470 นาโนเมตร โดยสารสี 1 หน่วย (unit) คือสารสีจากราโมแนสคัสที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นนั้นๆ เท่ากับ 1

2.4.4 การวางแผนการทดลองทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3. ผลการวิจัยและอภิปราย

3.1 คุณภาพทางเคมีกายภาพขององค์จากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยว

องค์หรือผงสีโมแนสคัสจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวที่ผลิตได้จากราโมแนสคัสต่างสายพันธุ์มีค่า pH ค่าความชื้น และสี L^* b^* แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 1

องค์จากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวหลังเสร็จสิ้นการหมัก 14 วัน มีค่าความชื้นเพิ่มขึ้นจากก่อนหมักคิดเป็นร้อยละ 2-58 โดยค่าความชื้นขององค์เพิ่มมากขึ้นสูงสุดในเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวที่หมักด้วย *M. purpureus* ATCC16365 รองลงมาคือ องค์จาก *Monascus* sp. PSRU03 *M. purpureus* BCC6131 และ *M. ruber* TISTR3006 ตามลำดับ ความชื้นของเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวก่อนหมักมีค่าร้อยละ 52.93 เป็นค่าที่เหมาะสมกับการเจริญของราโมแนสคัส ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lee *et al.* (18) ที่พบว่าปริมาณความชื้นของวัตถุดิบก่อนหมักมีผลต่อประสิทธิภาพการสร้างสารสีของโมแนสคัสและปริมาณความชื้นของวัตถุดิบก่อนหมักที่มีค่า

ตารางที่ 1 สมบัติทางเคมีกายภาพของผงสีสกัดจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวที่หมักด้วย *Monascus* ต่างสายพันธุ์

สายพันธุ์ <i>Monascus</i>	ค่า pH	ความชื้น (ร้อยละ)	ค่าสี L	ค่าสี a*	ค่าสี b*
ATCC16365	6.35 ± 0.01a	83.78 ± 2.74a	45.47 ± 1.60b	11.89 ± 2.54a	8.76 ± 0.86a
PSRU03	5.11 ± 0.04d	79.21 ± 2.58ab	41.37 ± 0.41a	5.16 ± 1.20b	6.00 ± 0.84b
BCC6131	5.26 ± 0.04c	76.64 ± 3.40b	44.11 ± 0.44b	7.87 ± 1.27b	5.80 ± 0.50b
RUBER TISTR3006	5.40 ± 0.04b	54.15 ± 2.11c	43.72 ± 0.50b	6.37 ± 0.56b	6.56 ± 0.21b

ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3) และตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำหนดค่าของข้อมูลในคอลัมน์เดียวกันที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ประมาณร้อยละ 50-55 ให้ผลดีต่อการสร้างสารสีของ *M. purpureus* มากที่สุด อาหารที่มีความชื้นเริ่มต้นสูงทำให้เชื้อราสามารถผลิตเอนไซม์ออกมาย่อยสลายแป้งได้เร็วขึ้น มีผลต่อการเจริญและการสร้างสารสีหรือรงควัตถุในวัสดุหมัก แต่ถ้าความชื้นของวัสดุหมักน้อยเกินไปจะส่งผลต่อการเจริญและการสร้างสารสีที่ต่ำด้วย

ค่า pH ของอังกักที่หมักจากราโมแนสคัสทั้ง 4 สายพันธุ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) หลังการหมัก 14 วันค่า pH ของอังกักลดลงจากก่อนหมักเล็กน้อย โดยการหมักของ *Monascus* sp. PSU03 ทำให้ค่า pH ของอังกักลดลงต่ำที่สุด รองลงมาคือ *M. purpureus* BCC6131 *M. ruber* TISTR3006 และ *M. purpureus* ATCC16365 จากการวัดค่าสีปรากฏของอังกักที่ผลิตจากรา *Monascus* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ด้วยระบบ CIE โดยค่าสี L หมายถึง ค่าความสว่าง ค่าสี a* หมายถึง สีแดง-เขียว และค่าสี b* หมายถึง สีเหลือง-น้ำเงิน พบว่า ผงสีสกัดจาก *M. purpureus* ATCC16365 มีค่าความสว่าง ค่าสีแดงและค่าสีเหลืองสูงกว่าอังกักที่ผลิตจากราสายพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ขณะที่ผงสีสกัดจากรา *Monascus* sp. PSU03 มีค่าความสว่างต่ำที่สุด ทำให้ลักษณะปรากฏของผงอังกักมีสีแดงคล้ำกว่าอังกักที่ผลิตจากราสายพันธุ์อื่น

3.2 ปริมาณสารโมโนโคลินเคและซิทรีนินในอังกักจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยว

แสดงปริมาณสารโมโนโคลินเคและซิทรีนินในผงสีสกัดจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวที่หมักด้วยราโมแนสคัสต่างสายพันธุ์ในตารางที่ 2

M. purpureus ATCC16365 สามารถสร้างสารโมโนโคลินเคในเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวได้มากที่สุด รองลงมาคือ *Monascus* sp. PSU03, *M. purpureus* BCC6131 และ *M. ruber* TISTR3006 ตามลำดับ โดยพบปริมาณสารโมโนโคลินเคอยู่ในช่วง 8.05-34.47 มิลลิกรัม/กิโลกรัมตัวอย่างแห้ง สำหรับปริมาณของสารซิทรีนินพบว่า *Monascus* sp. PSU03 สามารถสร้างได้น้อยที่สุด (2.13 มิลลิกรัม/กิโลกรัมตัวอย่างแห้ง) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับรา *M. purpureus* ATCC16365 (3.11 มิลลิกรัม/กิโลกรัมตัวอย่างแห้ง) ($P > 0.05$) และ *M. purpureus* BCC6131 สามารถสร้างสารซิทรีนินได้มากที่สุด (33.19 มิลลิกรัม/กิโลกรัมตัวอย่างแห้ง) คิดเป็น 15 เท่าของปริมาณที่พบในผงสีสกัดจาก *Monascus* sp. PSU03 การศึกษาในครั้งนี้ให้ผลการทดลองที่แตกต่างจากรายงานของ Pattanagul *et al.* (11) ที่พบสารโมโนโคลินในลูกเต๋อที่หมักด้วย *M. purpureus* ATCC16365, *M. purpureus* BCC6131, *M. purpureus* DMKU, *M. purpureus* FTCMU และ *M. ruber* TISTR3006 อยู่ในช่วง 14.97-25.03 มิลลิกรัม/กิโลกรัม โดย *M. purpureus* DMKU เป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารโมโนโคลินได้มากที่สุด และ *M. purpureus* ATCC16365 เป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารโมโนโคลินได้น้อยที่สุด สำหรับปริมาณสารซิทรีนินในอังกักจากลูกเต๋อพบอยู่ในช่วง 0.26-14.64 มิลลิกรัม/กิโลกรัมตัวอย่าง โดย *M. ruber* TISTR3006 และ *M. purpureus* DMKU เป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารซิทรีนินได้มากที่สุดและน้อยที่สุดตามลำดับ จากผลการศึกษาในครั้งนี้ผงสีจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวที่หมักด้วย *M. purpureus* ATCC16365 และ *Monascus* sp. PSU03 มีปริมาณโมโนโคลินเคและซิทรีนิน

ตารางที่ 2 ปริมาณสารโมโนโคลินเคและซิดรีนินในผงสีสกัดจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวที่หมักด้วย *Monascus* ต่างสายพันธุ์

สายพันธุ์ <i>Monascus</i>	โมโนโคลินเค (mg/kg DM)	ซิดรีนิน (mg/kg DM)
ATCC16365	34.47 ± 0.13a	3.11 ± 0.06c
PSRU03	20.61 ± 1.00b	2.13 ± 0.05c
BCC6131	10.75 ± 0.14c	33.19 ± 0.63a
RUBER TISTR3006	8.05 ± 0.09d	19.03 ± 1.56b

ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3) และตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำหนดค่าของข้อมูลในคอลัมน์เดียวกันที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P ≤ 0.05)

ตารางที่ 3 ปริมาณสารสีในผงสีสกัดจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวที่หมักด้วย *Monascus* ต่างสายพันธุ์

สายพันธุ์ <i>Monascus</i>	ปริมาณสารสี (units/g DM)			
	สารสีเหลือง	สารสีส้ม	สารสีแดง	รวม
ATCC16365	50.13 ± 3.91b	31.68 ± 8.11b	21.70 ± 2.01b	103.51 ± 13.55b
PSRU03	149.46 ± 7.76a	63.48 ± 6.04a	80.93 ± 5.68a	293.87 ± 18.43a
BCC6131	51.90 ± 6.13b	36.25 ± 3.61b	20.38 ± 5.14b	108.53 ± 14.36b
RUBER TISTR3006	62.61 ± 7.04b	15.26 ± 1.46c	17.78 ± 2.45b	95.65 ± 10.66b

ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3) และตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำหนดค่าของข้อมูลในคอลัมน์เดียวกันที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P ≤ 0.05)

สูงกว่าผงสีโมแนสคัสจากลูกเคี้ยว มีรายงานการปนเปื้อนของสารซิดรีนินในอังกักที่มีจำหน่ายทางการค้าในประเทศจีนและได้หวั่นอยู่ในช่วง 4.2-25.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตัวอย่าง (19) และในสหรัฐอเมริกาพบการปนเปื้อนของสารซิดรีนินในอังกักบรรจุแคปซูลอยู่ในช่วง 0.47-11.82 มิลลิกรัม/กิโลกรัมตัวอย่าง (20) ดังนั้นผงสีสกัดจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวที่หมักด้วยรา *Monascus* sp. PSU03 และ *M. purpureus* ATCC16365 จึงจัดเป็นผงสีที่มีความปลอดภัยในการใช้งานเมื่อเปรียบเทียบกับสินค้าที่มีจำหน่ายในท้องตลาด

3.3 สารสีในผงสีโมแนสคัสจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยว

แสดงปริมาณสารสีในผงสีสกัดจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวที่หมักด้วยราโมแนสคัสต่างสายพันธุ์ในตารางที่ 3 สารสีจากราโมแนสคัสประกอบด้วยรงควัตถุ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มสารสีเหลือง กลุ่มสารสีส้ม และกลุ่มสารสีแดง แต่ละกลุ่มมีชนิดของรงควัตถุที่แตกต่างกัน โดยกลุ่มสารสีเหลืองประกอบด้วยรงควัตถุ monascins และ ankaflavins สารสีส้ม ประกอบด้วยรงควัตถุ monascorubrin และ rubropunctatin และสารสีแดงประกอบด้วยรงควัตถุ

monascorubramine และ rubropunctamine (21) จากการศึกษาค้นคว้าพบว่ารา *Monascus* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ สามารถสร้างสารสีในเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวได้แตกต่างกัน พบปริมาณสารสีรวมทั้งหมดในช่วง 95.65-293.87 หน่วย/กรัมตัวอย่างแห้ง โดยรา *Monascus* sp. PSU03 สามารถสร้างสารสีได้ในปริมาณสูงกว่าราโมแนสคัสสายพันธุ์อื่นคิดเป็นร้อยละ 171-207 และ *M. ruber* TISTR3006 สามารถสร้างสารสีได้ในปริมาณต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Pattanagul et al. (11) พบว่าสารสีจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวมีปริมาณของสารสีรวมทั้ง 3 ชนิด (สีเหลือง สีส้มและสีแดง) สูงกว่าสารสีโมแนสคัสในลูกเคี้ยวที่หมักด้วยราโมแนสคัสต่างสายพันธุ์ซึ่งพบสารสีรวมในปริมาณ 3.84-33.52 หน่วย/กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Nimnoi and Lumyong (15) พบว่าเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวที่หมักด้วย *Monascus* sp. PSU03 มีปริมาณของสารสีสูงกว่าอังกักที่ได้จากการหมัก corn meal ผสมกลูโคสร้อยละ 8 ด้วยรา *M. purpureus* CMU001 ซึ่งพบปริมาณสารสีรวม 129.63 หน่วย/กรัมตัวอย่างแห้ง ความแตกต่างที่เกิดขึ้นนี้

นอกจากความแตกต่างของสายพันธุ์ของเชื้อราแล้วยังขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ สภาพอากาศ และวิธีการสกัด รงควัตถุอีกด้วย (22,23,24,25)

สารสีที่ราโมแนสคัสทั้ง 4 สายพันธุ์สร้างขึ้นในเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวส่วนใหญ่เป็นรงควัตถุสีเหลือง โดยคิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 48 - 65 และมีสารสีส้มและแดงอยู่ในสัดส่วนร้อยละ 16 - 33 และ 19 - 28 ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของ Broder and Koehler (26) ที่พบสารสีเหลืองมากที่สุดในการสกัดเช่นเดียวกัน

มีรายงานที่บ่งชี้ว่าชนิดและปริมาณของสารที่ทำหน้าที่เป็นแหล่งของคาร์บอนและไนโตรเจนในวัสดุหมักมีบทบาทสำคัญในการกระบวนการสังเคราะห์สารสีและสารออกฤทธิ์อื่น องค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในวัสดุหมักทำหน้าที่เป็นแหล่งของคาร์บอนและไนโตรเจนให้กับจุลินทรีย์ตามลำดับ รายงานของ Lin *et al.* (27) และ Pandey (28) ระบุว่าน้ำตาลกลูโคสและ oligosaccharide ของน้ำตาลกลูโคสในวัสดุหมักช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อราและสร้างสารสีได้ดีกว่าสารที่ทำหน้าที่เป็นแหล่งของคาร์บอนชนิดอื่น สอดคล้องกับรายงานของ Nimnoi and Lumyong (15) ที่ระบุว่า น้ำตาลกลูโคสส่งเสริมการสร้างสารสีของรา *M. purpureus* CMU001 ได้ดีกว่าน้ำตาลชนิดอื่น ดังนั้นในเส้นก๋วยเตี๋ยวซึ่งมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบมากถึงร้อยละ 88.25 และโครงสร้างหลักของแป้งในเส้นก๋วยเตี๋ยวเป็นอะไมโลสและอะไมโลเพกตินซึ่งมีโครงสร้างเป็นโพลีเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสจึงทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์บอนให้กับราโมแนสคัสได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้เส้นก๋วยเตื่อยังมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบร้อยละ 1.10 จึงเป็นแหล่งไนโตรเจนให้กับราโมแนสคัสได้ ซึ่งจากรายงานของ Chiawtherakul *et al.* (29) พบว่าโปรตีนในเมล็ดข้าวมีปริมาณเพียงพอต่อการสร้างสารสีและสารเมตาโบไลต์อื่นจึงไม่จำเป็นต้องเติมสารเสริมโปรตีนเพื่อเป็นแหล่งของไนโตรเจนให้กับราโมแนสคัสและรายงานของ Lee *et al.* (18) ระบุว่า วัสดุหมักที่มีความเข้มข้นของสารที่ทำหน้าที่เป็นแหล่งของคาร์บอนและไนโตรเจนที่สูงจะมีผลในการยับยั้งการเจริญของราโมแนสคัสและการสังเคราะห์สารเมตาโบไลต์ได้มากกว่าการที่มีสารตั้งต้นเหล่านี้ในปริมาณต่ำ

4. สรุป

จากผลการศึกษาปริมาณสารโมนาโคลิน สารสี และสารชิตรินินในผงสีสกัดจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวที่หมักด้วยรา *Monascus* พบว่า เศษเส้นก๋วยเตี๋ยวสามารถใช้เป็นวัสดุหมักในการผลิตผงสีสกัดได้ดี โดยรา *Monascus* ทั้ง 4 สายพันธุ์ (*M. purpureus* ATCC16365, BCC6131, *M. ruber* TISTR3006 และ *Monascus* sp. PSRU03) สามารถเจริญและสร้างสารสี สารโมนาโคลินและชิตรินินได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน และ *Monascus* sp. PSRU03 มีความเหมาะสมในการใช้เป็นก้ำเชื้อหมักสกัดจากเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวมากที่สุด โดยสามารถสร้างสารสีและสารโมนาโคลินได้ในปริมาณสูงขณะที่สร้างสารชิตรินินซึ่งเป็นสารพิษต่อตับและไตในปริมาณที่ต่ำกว่ารา *Monascus* สายพันธุ์อื่น ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาถึงสภาวะการหมักที่เหมาะสมเพื่อผลิตสารเมตาโบไลต์ที่สำคัญและการพัฒนาศักยภาพของการนำ *Monascus* sp. PSRU03 และเศษเส้นก๋วยเตี๋ยวไปใช้ผลิตสารที่มีประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

6. เอกสารอ้างอิง

- (1) Alberts AW, Chen J, Kuron G, Hunt V, Huff J, Hoffman C, et al. Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme a reductase and a cholesterol-lowering agent. Proc Natl Acad Sci USA. 1980;77: 3957-3961.
- (2) Endo A. Monacolin-K, a new hypocholesterolemic agent that specifically inhibits 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase. J Antibiot. 1980;33: 334-336.

- (3) Wei W, Li C, Wang Y, Huaide S, Zhu J, Kritchevsky D. Hypolipidemic and anti-atherogenic effects of long-term cholestin (*Monascus purpureus*-fermented rice, red yeast rice) in cholesterol fed rabbits. *J Nutr Biochem.* 2003;14: 314-318.
- (4) Guardamagna O, Abello F, Baracco V, Stasiowska B, Martino F. The treatment of hypercholesterolemic children: efficacy and safety of a combination of red yeast rice extract and policosanols. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2011;21(6): 424-429.
- (5) Venero CV, Venero JV, Wortham DC, Thompson PD. Lipid-lowering efficacy of red yeast rice in a population intolerant to statins. *Am J Cardiol.* 2010;105: 664-666.
- (6) Rhyu MR, Kim EY, Han JS. Antihypertensive effect of the soybean paste fermented with the fungus *Monascus*. *Int J Food Sci Technol.* 2002;37: 585-588.
- (7) Yasukawa K, Akihisa T, Oinuma H, Kaminaga T, Kanno H, Kasahara Y, et al. Inhibitory effect of taraxastane-type triterpenes on tumor promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-stage carcinogenesis in mouse skin. *Oncology.* 1996;53: 341-344.
- (8) Akihisa T, Tokuda H, Ukiya M, Kiyota A, Yasukawa K, Sakamoto N, et al. Anti-tumor initiating effects of monascin, an azaphilone pigment from the extract of *Monascus pilosus* fermented rice (red-mold rice). *Chem Biodivers.* 2005;2: 1305-1309.
- (9) Yasukawa K, Takahashi M, Natori S, Kawai K, Yamazaki M, Takeuchi M, et al. Azaphilones inhibit tumor promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in 2-stage carcinogenesis in mice. *Oncology.* 1994;51: 108-112.
- (10) Martinkova L, Juzlova P, Vesely D. Biological-activity of polyketide pigments produced by the fungus *Monascus*. *J Appl Bacteriol.* 1995;79: 609-616.
- (11) Pattanagul P, Pinthong R, Phianmongkhol A, Tharatha S. Mevinolin, citrinin and pigments of adlay angkak fermented by *Monascus* sp. *Int J Food Microbiol.* 2008;126: 20-23.
- (12) Ritnangkarn B. Improvement of *Monascus purpureus* by mutation for the pigments production in solid state using wide Yam [BSc research]. Bangkok: Chandrakasem Rajabhat University; 2004. Thai.
- (13) Yongsmith B and Tabloka. Food colors fermentation from cassava by *Monascus* sp. *Kasetsart J (Nat Sci).* 1985;19(1): 45-50. Thai.
- (14) Terasawat A. Pigment production by *Monascus* sp. using decater wastewater from cassava starch factory as substrate [MSc thesis]. Bangkok: King Mongkut's University of Technology Thonburi; 2007. Thai.
- (15) Nimnoi P, Lumyong S. Improving solid-state fermentation of *Monascus purpureus* on agricultural precuts for pigment production. *Food Bioprocess Technol.* 2009; 1-7.
- (16) Dajanta K. Screening low mycotoxin-producing strains of *Monascus* sp. for using as starter culture of safe pigment production from red rice. Research report. Phitsanulok: Pibulsongkram Rajabhat University; 2011. Thai.
- (17) Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Method of Analysis. 17th ed. Washington DC: George Bantou Co., Ltd; 2000.
- (18) Lee BK, Piao HY, Chung WJ. Production of red pigments by *Monascus purpureus* in solid-state culture. *Biotechnol Bioprocess Eng.* 2002;7: 21-25.
- (19) Shu PY, Lin CH. Simple and sensitive determination of citrinin in *Monascus* by GC-selected ion monitoring mass spectrometry. *Anal Sci.* 2002;18: 283-287.
- (20) Heber D, Lembertas A, Lu QY, Bowerman S, Go VLW. An analysis of nine proprietary Chinese red yeast rice dietary supplements: implications of variability in chemical profile and contents. *J Altern Complem Med.* 2001;7: 133-139.

- (21) Martinkova L, Patakova-Juzlova P, Kren V, Kucerova Z, Havlicek V, Olsovsky P, et al. Biological activities of oligoketide pigments of *Monascus purpureus*. *Food Addit Contam.* 1999;16: 15–24.
- (22) Chen F, Hu X. Study on red fermented rice with high concentration of monacolin K and low concentration of citrinin. *Int J Food Microbiol.* 2005;103: 331-336.
- (23) Tsukahara M, Shinzato N, Tamaki Y, Namihira T, Matsui T. Red yeast rice fermentation by selected *Monascus* sp. with deep-red color, lovastatin production but no citrinin, and effect of temperature-shift cultivation on lovastatin production. *Appl Biochem Biotechnol.* 2009;158: 476-482.
- (24) Vidyalakshmi R, Paranthaman R, Muruges S, Singaravadivel K. Stimulation of *Monascus* pigments by invention of different nitrogen sources. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry.* 2009;4: 25-28.
- (25) Chairote EO, Chairote G, Lumyong S. Red yeast rice prepared from Thai glutinous rice and the antioxidant activities. *Chiang Mai J Sci.* 2009; 36: 42-49.
- (26) Broder CU, Koehler PE. Pigments produced by *Monascus purpureus* with regard to quality and quantity. *J Food Sci.* 1980;45: 567-569.
- (27) Lin TF, Yakushijin K, B̄chi GH, Demain AL. Formation of water-soluble *Monascus* red pigments by biological and semi synthetic processes. *J Ind Microbiol Biot.* 1992;9: 173–179.
- (28) Pandey A. Solid-state fermentation. *Biochem Eng J.* 2003;14: 81–84.
- (29) Chiawtherakul C, Saelee P, Saeaug P. Red pigments from red rice (angkak). *J Food.* 2519;8: 51-55. Thai.