

ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคของสาโทแดง ที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำ

ร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3002

Antibacterial activity of red rice wine production from black sticky rice with *Monascus purpureus* TISTR 3002

กรกต สุนทรกุล (Korakoth Soontornkul)* สุกานดา วิจิตพันธุ์ (Sukanda Vichitpan)**

กณิต วิจิตพันธุ์ (Kanit Vichitpan)**

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการผลิตสาโทแดงจากข้าวเหนียวดำ โดยใช้ราสายพันธุ์ *Monascus purpureus* TISTR 3002 ในการย่อยข้าว และใช้ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces bayanus* EC1118 ในการผลิตเอทานอล เนื่องจาก *M. purpureus* TISTR 3002 สามารถเจริญได้ดีบนข้าวเหนียวขาวมากกว่าข้าวเหนียวดำ ดังนั้นการทดลองนี้จึงใช้ข้าวผสมระหว่างข้าวเหนียวดำและข้าวเหนียวขาวเป็นวัตถุดิบ โดยแปรผันปริมาณส่วนผสมของข้าวเหนียวดำ ดังนี้ 0, 55, 70, 85 และ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก % (w/w) นำสาโทแดงที่ผลิตได้มาทำให้เข้มข้นและทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคจำนวน 6 สายพันธุ์ ผลการทดลองพบว่าสาโทแดงที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำ 70 % (w/w) ร่วมกับราแดง *M. purpureus* TISTR 3002 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ดีที่สุด โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) ได้ 1.5, 1.2, 1.7, 1.4, 1.5 และ 1.1 เซนติเมตรสำหรับ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* TISTR 029, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27533, *Escherichia coli* TISTR 073, *Enterobacter aerogenes* TISTR 1540 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 ตามลำดับ

ABSTRACT

Red rice wines were produced from black sticky rice with *Monascus purpureus* TISTR 3002 for starch degrading and *Saccharomyces bayanus* EC1118 for ethanol production. In this experiment, the mixture of white and black sticky rice was varied and the percentages of black sticky rice at 0, 55, 70, 85 and 100 % (w/w) were prepared. The final products of red rice wine were concentrated and were tested for antimicrobial activities. The results showed that red rice wine production from 70 % (w/w) of black sticky rice with *Monascus purpureus* TISTR 3002 inhibited all of 6 pathogenic bacteria. The inhibition activities against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* TISTR 029, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27533, *Escherichia coli* TISTR 073, *Enterobacter aerogenes* TISTR 1540 and *Salmonella typhimurium* TISTR 292 were 1.5, 1.2, 1.7, 1.4, 1.5 and 1.1 cm in diameter, respectively.

คำสำคัญ: ข้าวเหนียวดำ โมแนสคัส เพอพิวเรียส การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

Keywords: Black sticky rice, *Monascus purpureus*, antibacterial activity

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

“สาโท” เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านที่อยู่คู่กับคนไทยและสังคมไทยมาช้านาน โดยกระบวนการผลิตสาโทตามวิธีภูมิปัญญาชาวบ้านนั้น จะทำการหมักข้าวเหนียวขาวด้วย “ลูกแป้ง” ที่มีกลุ่มจุลินทรีย์จำพวกรา, ยีสต์ และแบคทีเรีย จนได้ผลิตภัณฑ์สาโทที่มีลักษณะใสหรือขาวขุ่น

นอกจากการผลิตสาโทโดยใช้ข้าวเหนียวขาวแล้วยังมีการนำข้าวเหนียวดำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเนื่องจากข้าวเหนียวดำ มีคุณค่าทางโภชนาการมากมาย ได้แก่ โปรตีน ไขมัน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม เส้นใย เหล็ก แคลเซียม วิตามินบี2 และแร่ธาตุอื่นๆ สูงกว่าข้าวเหนียวขาว (Suzuki et al., 2004) โดยเฉพาะสารแอนโทไซยานิน และสารแกมมา โอไรซานอล ซึ่งเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย

แอนโทไซยานิน เป็นสารประกอบจำพวกฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) (วรรณ และคณะ, 2533) พบได้ในผัก ผลไม้ ธัญพืช ดอกไม้ และข้าวเหนียวดำ เป็นสารที่มีสีแดง สีม่วง สีนํ้าเงิน และสีดำ ซึ่งสีเหล่านี้สามารถละลายน้ำได้ แอนโทไซยานินมีบทบาทสำคัญหลายด้าน เช่น สารสีเหล่านี้สามารถยับยั้งออกฤทธิ์ของพืชและผลผลิตของพืชได้ ใช้เป็นสีข้อมธรรมชาติ และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ (Sompong et al., 2007)

สารแกมมาโอไรซานอล ถูกค้นพบในปี ค.ศ. 1954 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่น เป็นสารประกอบที่พบในรำข้าว (นริรัตน์, 2553) เป็นสารที่มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็ง (Dejian et al, 2002) และใช้ในการแก้ปัญหาสุขภาพ เช่น ลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลจากอาหารสู่ร่างกาย ลดการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในตับ และใช้ในการปรับสมดุลของสภาพวัยหมดประจำเดือน ของสตรีวัยทอง ช่วยป้องกันโรคหัวใจ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการหลั่งของกรดในกระเพาะอาหาร

และการรวมตัวของเกล็ดเลือด นอกจากนี้สารแกมมา โอไรซานอลที่พบในธรรมชาติยังจัดเป็นสมุนไพรท้องถิ่นใช้เป็นสมุนไพรสำหรับหญิงที่ตกเลือดในขณะคลอดบุตร เป็นต้น (การณย์, 2552)

ส่วนราโมแนสคัส (*Monascus* spp.) นั้นจัดอยู่ใน Family Monascaceae, Class Ascomycetes เส้นใยเมื่ออายุน้อยมีสีขาว แต่เมื่ออายุมากขึ้นเส้นใยจะมีสีแดงหรือแดงม่วง สามารถผลิตสารสี (pigment) ได้ 6 ชนิด ได้แก่ monascin, ankaflavin (สารสีเหลือง) monascorubrin, rubropunctatin (สารสีส้ม) corubramine และ rubropunctamine (สารสีแดง) (Jeun et al., 2008) นอกจากนี้ *Monascus* spp. ยังสามารถผลิตสารเมแทบอไลต์ ได้หลายชนิดที่น่าสนใจและมีคุณค่าทางเศรษฐศาสตร์ในส่วนของอาหารเสริมสุขภาพ เช่น วิตามินบี 2 (รัตน, 2524) Mevinolin และ Citrinin ซึ่ง Mevinolin มีคุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในวิถีการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล เมื่อเอนไซม์นี้ไม่สามารถทำงานได้ ก็ไม่สามารถสังเคราะห์คอเลสเตอรอลได้ ทำให้สามารถควบคุมระดับคอเลสเตอรอลในกระแสโลหิตได้ (Endo, 1979) นอกจากนี้ ยังมีการนำ ซิตรีนิน มาใช้เป็นสารปฏิชีวนะ สารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เชื้อรา และโปรโตซัว (Li et al., 2003)

ซึ่งการใช้ *Monascus* spp. ในอาหารและยาพื้นบ้านของประเทศแถบตะวันออกมีมานานกว่าหลายร้อยปีแล้ว (บุญบา, 2542) เช่นเมื่อ 600 ปีก่อน มีการใช้ *Monascus* spp. ในการผลิตไวน์ ใช้เป็นสีผสมอาหาร ยาสามัญพื้นบ้าน และอาหารหมักดองต่างๆ (Kim et al., 2008) โดย *Monascus* spp. สามารถเจริญบนเมล็ดข้าวง่ายได้ และเมื่อบ่มที่อุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสม จะสามารถย่อยข้าวให้นุ่ม และในขณะเดียวกันก็สร้างสารสีแดงเข้มขึ้นด้วยเรียกว่า “ข้าวแดง” ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภคเช่นกัน

Ferdes et al. (2010) รายงานว่า สารสกัดจากข้าวแดง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *P. aeruginosa* และ *E. coli* เช่นเดียวกับ Ungureanu and Ferfes. (2010) รายงานว่า สารสกัดจาก monascus red rice powder คุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*, *P. aeruginosa* และ *Streptomyces albus* และ Sroykesorn et al. (2011) รายงานว่าสาร Citrinin มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*, *P. aeruginosa* และ *E. coli*

จะเห็นได้ว่าทั้งข้าวเหนียวดำและราโมแนสคัสให้สารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดในการผลิตสาโทแดงโดยใช้ข้าวเหนียวดำร่วมกับราสายพันธุ์ *M. purpureus* TISTR3002 และ ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces bayanus* EC1118 และเนื่องจากราโมแนสคัสเจริญได้ดีในข้าวเหนียวขาวแต่เจริญได้ไม่ดีในข้าวเหนียวดำ ทำให้ได้สาโทแดงที่ได้มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคที่ต่างกัน การทดลองนี้จึงมีแนวคิดในการใช้ข้าวผสมของข้าวเหนียวดำและข้าวเหนียวขาวมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสาโทแดง โดยแปรผันปริมาณข้าวเหนียวดำเป็น 0, 55, 70, 85 และ 100 % (w/w) จากนั้นนำสาโทแดงที่ผลิตได้ มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* TISTR 029, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27533, *Escherichia coli* TISTR 073, *Enterobacter aerogenes* TISTR 1540 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 ด้วยวิธี agar diffusion assay เพื่อหาปริมาณของข้าวเหนียวดำที่เหมาะสมในการผลิตสาโทแดงที่มีสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในปริมาณสูง

วัตถุประสงค์

ผลิตสาโทแดงจากข้าวผสมระหว่างข้าวเหนียวเหนียวดำและข้าวเหนียวขาว โดยใช้ราสายพันธุ์ *M. purpureus* TISTR3002 ร่วมกับยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces bayanus* EC1118 แล้วทำการทดสอบ

ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค 6 สายพันธุ์

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

1. อุปกรณ์

ข้าวเหนียวดำที่ใช้ในการทดลองเป็นข้าวที่ปลูกที่จังหวัดร้อยเอ็ด ส่วนข้าวเหนียวขาวสายพันธุ์ กข. 6 ชื่อจากตลาดบางลำพู อ.เมือง จ. ขอนแก่น ส่วน *M. purpureus* TISTR3002 ชื่อมาจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท) และ *Rhizopus oryzae* ได้รับความอนุเคราะห์จากรศ.ดร.พัฒนา เหล่าไพบูลย์ ส่วนยีสต์ผง *Saccharomyces bayanus* EC1118 ชื่อมาจากบริษัท Lallemand ประเทศออสเตรเลีย

แบคทีเรียก่อโรค 6 สายพันธุ์ ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2. การผลิตสาโทแดง

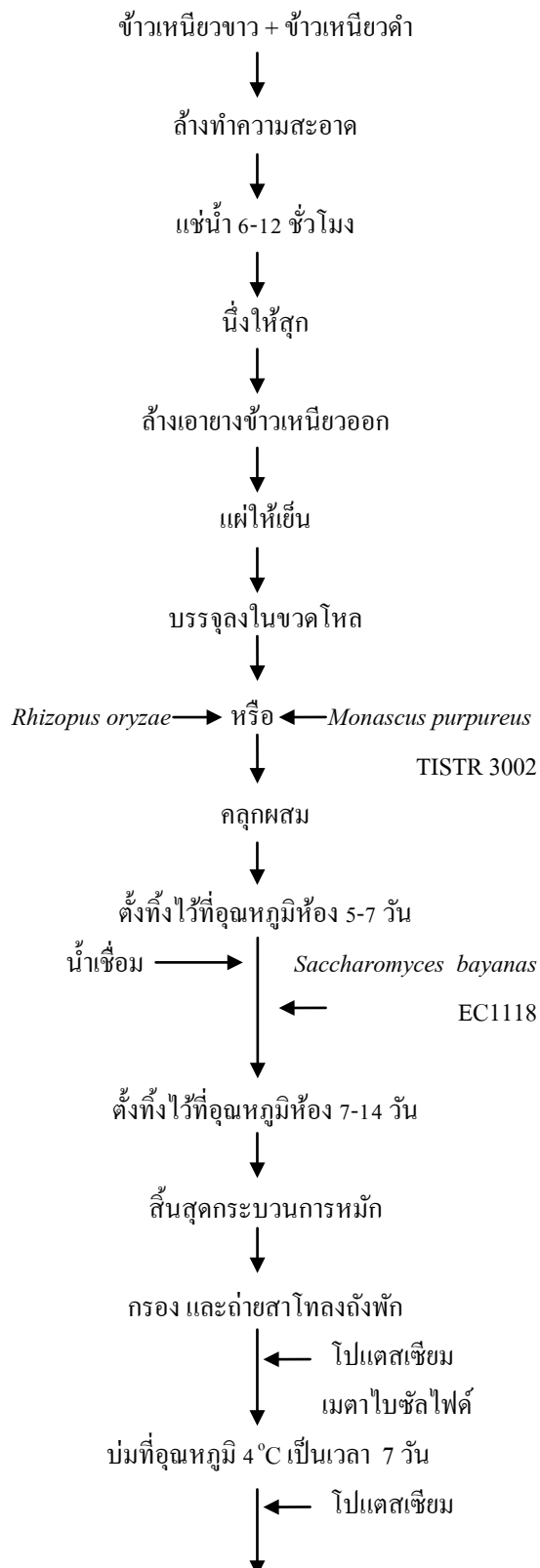
นำข้าวเหนียวที่นึ่งสุกแล้วไปล้างด้วยน้ำสะอาดเพื่อล้างเอาขางข้าวออกให้หมด จนเมล็ดข้าวไม่เหนียวติดกัน จากนั้นผึ่งให้ข้าวสะเด็ดน้ำประมาณ 5 นาที ผรมด้วยสารละลายสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ก่อนนำไปใช้ในกระบวนการหมักสาโท

เลี้ยงรา *M. purpureus* TISTR3002 บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นเวลา 14 วันและ *R. oryzae* เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ชะสปรอร์รา ให้ได้กล้าเชื้อราบริสุทธิ์ที่มีความเข้มข้น 5×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร จำนวน 5 มิลลิลิตร ต่อข้าวเหนียวหนึ่งสุก 1 กิโลกรัม

ทำรีไซเคิลชั้นยีสต์ *Saccharomyces bayanus* EC1118 คือการละลายยีสต์ผงโดยใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อในปริมาณ 0.35 g/l แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อแบบเขยี่ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 30 นาที

ผลิตสาโทแดง โดยแปรผันปริมาณข้าวเหนียวดำเป็น 0, 55, 70, 85 และ 100 % (w/w) และใช้ราสายพันธุ์ *M. purpureus* TISTR3002 ในขั้นการย่อยแป้งในเมล็ด

ข้าวให้กลายเป็นน้ำตาล ที่เรียกว่า “น้ำตาลอ้อย” และใช้ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces bayanus* EC1118 ในขั้นตอนการผลิตเอทานอล การทดลองนี้ใช้รา *R. oryzae* เป็นกลุ่มควบคุมในขั้นตอนการย่อยแป้ง โดยกระบวนการผลิตสาโทแดงแสดง ดังภาพที่ 1



เมตาไบซัลไฟด์

บรรจุลงขวด

ภาพที่ 1 แผนภูมิกระบวนการผลิตสาโท

3. การทำให้สาโทแดงให้เข้มข้น

เนื่องจากสาโทแดงที่ผลิตได้ มีปริมาณของสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เรียกว่า ร็อกน้อย เพื่อให้การทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เรียกว่า ร็อกของสาโทแดงสัมฤทธิ์ผล จึงต้องมีการทำให้สาโทแดงที่ผลิตได้มีความเข้มข้นขึ้น โดยนำเอาสาโทที่ผลิตได้ไปทำการระเหยโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) ตามขั้นตอน ดังต่อไปนี้

นำตัวอย่างสาโทแดง ปริมาตร 30 มิลลิลิตรไปผ่านกระบวนการระเหยโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นละลายสาโทโดยใช้ 20% Dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปกรองผ่านกระดาษกรอง (Membrane filter) ปลอดเชื้อขนาด 0.2 ไมครอน สำหรับทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เรียกว่า ร็อก 6 สายพันธุ์

4. การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เรียกว่า ร็อก 6 สายพันธุ์

นำตัวอย่างสาโทที่ทำให้เข้มข้นแล้วมาทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เรียกว่า ร็อก โดยแบคทีเรียที่เรียกว่า ร็อกที่นำมาใช้ในการทดสอบมี 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* TISTR 029, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27533, *Escherichia coli* TISTR 073, *Enterobacter aerogenes* TISTR 1540 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 โดยใช้วิธี agar diffusion assay ดังนี้

Streak เชื้อแบคทีเรียที่เรียกว่า ร็อก 6 สายพันธุ์ลงบนอาหาร Nutrient Agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเลือกโคโลนีเดี่ยว มา 2-3 โคโลนี ใส่ใน 0.85% NaCl (w/v) ปลอดเชื้อ และปรับความขุ่นของเชื้อให้ได้เท่ากับ 0.5 McFarland Standard หลังจากนั้นใช้

cotton swab ปลอดเชื้อ จุ่มสารละลายแบคทีเรียที่เตรียมไว้ นำมาป้าย (Swab) ให้ทั่วอาหาร NA

ใช้ Cork borer ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะอาหาร NA ให้เป็นหลุม แล้วหยดตัวอย่างสาโทแดงเข้มข้น ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลุมบนจานอาหาร NA โดยใช้ยาปฏิชีวนะคลอแรมฟินิ

คอล (Chloramphenicol) ความเข้มข้น 500 mg/l เป็น positive control และ 20% (v/v) DMSO เป็น negative control จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กิจกรรมการยับยั้ง ระบุเป็นเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส ในหน่วย เซนติเมตร แสดงในตารางที่ 1

ผลการทดลอง

ตารางที่ 1 กิจกรรมการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค 6 สายพันธุ์ ในหน่วยเซนติเมตร จากสาโทแดงที่ผลิตจากข้าวผสมของข้าวเหนียวดำและข้าวเหนียวขาว โดยรา *M. purpureus* TISTR3002 และ *R. oryzae*

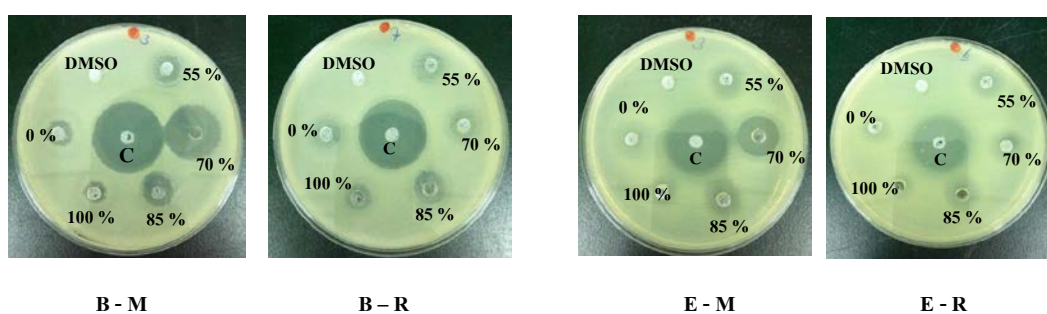
ตัวอย่างสาโทแดง แบคทีเรียก่อโรค	ปริมาณข้าวเหนียวดำ % (w/w)										Control			
	0		55		70		85		100		C		D	
	M	R	M	R	M	R	M	R	M	R	M	R	M	R
1. <i>Bacillus cereus</i>	1.0	0.8	0.6	0.9	1.5	0.9	1.1	1.0	0.9	0.8	2.7	2.6	0.5	0.5
2. <i>Staphylococcus aureus</i> TISTR 029	0.8	0.9	0.7	0.8	1.2	0.7	0.7	1.0	0.6	0.6	2.7	2.7	0.5	0.5
3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27533	0.5	0.5	0.7	1.0	1.7	0.9	0.5	0.9	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
4. <i>Escherichia coli</i> TISTR 073	0.7	0.9	0.7	0.8	1.4	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	2.5	2.5	0.5	0.5
5. <i>Enterobacter aerogenes</i> TISTR 1540	0.7	0.6	1.3	1.0	1.5	1.1	1.2	1.2	0.6	0.6	2.4	2.4	0.5	0.5
6. <i>Salmonella typhimurium</i> TISTR 292	0.5	0.5	0.5	0.5	1.1	0.8	0.5	0.5	0.5	0.5	2.8	2.8	0.5	0.5

หมายเหตุ ; C หมายถึง 500 mg/l Chloram phenicol (positive control) D หมายถึง 20% DMSO (negative control)

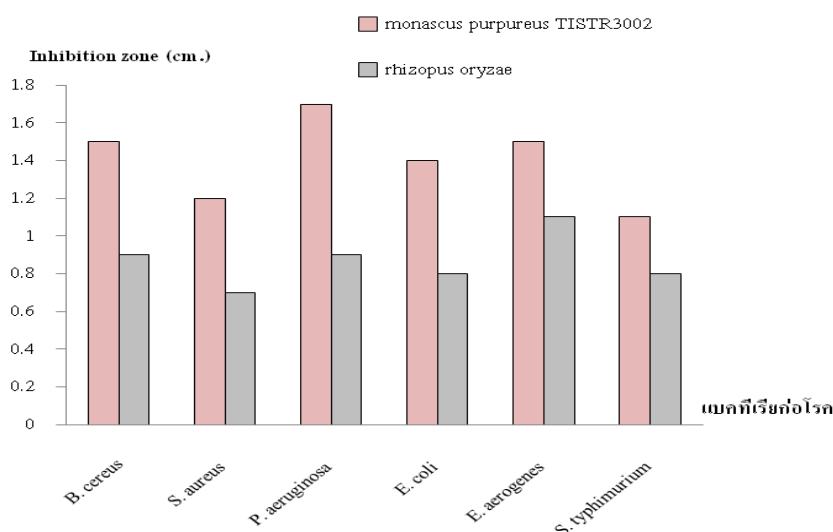
M หมายถึง *Monascus purpureus* TISTR 3002

R หมายถึง *Rhizopus oryzae*

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm หมายถึง ไม่มีการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค



ภาพที่ 2 ตัวอย่างแสดงบริเวณโซนใสของการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *Bacillus cereus* (B-M และ B-R) และ *Enterobacter aerogenes* TISTR 1540 (E-M และ E-R) จากสาโทแดงที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำ 0, 55, 70, 85 และ 100 % (w/w) โดยใช้รา *Monascus purpureus* TISTR 3002 (B-M และ E-M) และ รา *Rhizopus oryzae* (B-R และ E-R)



ภาพที่ 3 แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบเส้นผ่านศูนย์กลางที่เกิดขึ้น จากการทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของ แบคทีเรียก่อโรค จากตัวอย่างสาโทแดงที่ผลิตจากข้าวดำ 70 % (w/w) ของแบคทีเรียก่อโรค 6 สายพันธุ์ โดย *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* TISTR 029, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27533, *Escherichia coli* TISTR 073, *Enterobacter aerogenes* TISTR 1540 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 292

ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่าเชื้อ แบคทีเรียก่อโรคทั้ง 6 สายพันธุ์ ไม่ถูกยับยั้งโดย สารละลาย 20% DMSO ที่ใช้เป็น negative control ใน กรณีของคลอแรมฟินิคอล ที่ใช้เป็น positive control นั้น พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ทุกชนิด ยกเว้น *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27533 ที่ไม่ถูก ยับยั้งจากสารละลายดังกล่าว ซึ่งตรงกับรายงานการวิจัย ของ นิวัตร ช่วงโชติ, 2550 ที่พบว่าเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* คือตัวยาปฏิชีวนะ 3 ชนิด คือ ยาปฏิชีวนะ คีนาไมซิน (Kanamycin) คลอแรมฟินิคอล และ แอมพลิซิลลิน(Ampicillin)

สำหรับประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของ แบคทีเรียก่อโรคทั้ง 6 สายพันธุ์ ของตัวอย่างสาโทแดง พบว่า สาโทแดงที่ผลิตจากการแปรรูปปริมาณข้าว เหนียวดำโดยราสายพันธุ์ *M. purpureus* TISTR 3002 และ *R. oryzae* ให้ผลการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคไม่

แตกต่างกันอย่างนัก ยกเว้นสภาวะที่ใช้ปริมาณข้าวเหนียว ดำที่ใช้เป็นวัตถุดิบ 70 % (w/w) เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง การใช้รา *M. purpureus* TISTR 3002 กับ รา *R. oryzae* ผลการทดลองพบว่าการใช้รา *M. purpureus* TISTR 3002 ในการผลิต ได้สาโทแดงที่มีกิจกรรมการยับยั้งการ เจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 6 สายพันธุ์ ได้ดีที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้ง 1.5, 1.2, 1.7, 1.4, 1.5 และ 1.1 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ รา *R. oryzae* ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.9, 0.7, 0.9, 0.8, 1.1 และ 0.8 เซนติเมตร สำหรับ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* TISTR 029, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27533, *Escherichia coli* TISTR 073, *Enterobacter aerogenes* TISTR 1540 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 ตามลำดับ

ภาพที่ 2 แสดงตัวอย่างของโซนใสที่เกิดจากการ จากการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค *Bacillus*

cereus จากสาโทแดงที่ผลิตจากการใช้ข้าวเหนียวดำ 0, 55, 70, 85 และ 100% (w/w) โดยใช้รา *M. purpureus* TISTR3002 (B-M) และ รา *R. oryzae* (B-R) และ โชนใส ที่เกิดจากการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค *Enterobacter aerogenes* TISTR 1540 จากสาโทแดงที่ผลิตจากการใช้ข้าวเหนียวดำ 0, 55, 70, 85 และ 100% (w/w) โดยใช้รา *M. purpureus* TISTR 3002 (E-M) และ รา *R. oryzae* (E-R) สรุปได้ว่า ตัวอย่างสาโทที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำในปริมาณ 70% (w/w) สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 2 สายพันธุ์ได้ดีที่สุด ส่วนภาพที่ 3 เป็นการเปรียบเทียบให้เห็นถึงประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคของสาโทแดงที่ใช้ปริมาณข้าวเหนียวดำ 70% (w/w) แต่ใช้ราที่ต่างชนิดกัน คือ *M. purpureus* TISTR 3002 และ *R. oryzae* จะเห็นว่า *M. purpureus* TISTR 3002 สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 6 สายพันธุ์ได้ดีกว่า *R. oryzae* ที่ใช้เป็นสายพันธุ์ควบคุม

บทวิจารณ์

จากผลการทดลองดังกล่าว สามารถสรุปได้ว่า อัตราส่วนระหว่างข้าวเหนียวดำต่อข้าวเหนียวขาว มีผลต่อการผลิตสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค โดยเฉพาะราสายพันธุ์ *M. purpureus* TISTR 3002 แต่ไม่มีผลต่อราสายพันธุ์ *R. oryzae* โดยปริมาณข้าวเหนียวดำที่เหมาะสมคือที่ 70 % (w/w)

ถ้าใช้ปริมาณข้าวเหนียวดำน้อยกว่า 70 % (w/w) จะมีส่วนผสมของข้าวเหนียวขาวในปริมาณที่สูง ทำให้รา *M. purpureus* TISTR 3002 เจริญเติบโตได้ดี และสามารถเติบโตได้โดยไม่มีข้อจำกัด และไม่มีสภาวะเครียดที่สนับสนุนให้รา *M. purpureus* TISTR 3002 ผลิตสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในปริมาณมากนัก หรือเป็นไปได้ว่าปริมาณข้าวเหนียวดำน้อยส่งผลให้สารที่เป็นส่วนประกอบในข้าวเหนียวดำที่อาจทำหน้าที่เหนียวทำให้รา *M. purpureus* TISTR 3002 ผลิตสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคมีปริมาณลดลง ส่งผลให้สาโทแดงที่ผลิตโดยใช้ปริมาณข้าวเหนียวดำ 0

และ 55 % (w/w) ไม่สามารถเหนียวน้ำให้รา *M. purpureus* TISTR 3002 ผลิตสารยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 6 สายพันธุ์ได้ดีเท่าที่ควร

ในขณะที่เดียวกันสาโทแดง ที่ผลิตโดยใช้ปริมาณข้าวเหนียวดำ 85 และ 100 % (w/w) นั้นมีปริมาณข้าวเหนียวขาวค่อนข้างต่ำ มีผลทำให้รา *M. purpureus* TISTR 3002 เจริญเติบโตได้ไม่ด้นัก ส่งผลให้การผลิตสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 6 สายพันธุ์ได้ในปริมาณต่ำเช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจากข้าวเหนียวดำนั้นมีลักษณะทางกายภาพ และลักษณะทางเคมีของเมล็ดข้าวที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของรา *M. purpureus* TISTR 3002 กล่าวคือที่ผิวของเมล็ดข้าวเหนียวดำมีสารสำคัญเคลือบอยู่ในปริมาณมาก เช่น สารแอนโทไซยานิน สารสีต่างๆ สารแกมมา โอไรซานอล สารประกอบฟีนอลิก และสารแอนติออกซิแดนท์ (Kong and Lee, 2010) ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้ ล้วนเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค แต่ในทางกลับกัน องค์ประกอบที่สำคัญเหล่านี้ เคลือบอยู่ที่ผิวของเมล็ดข้าวเหนียวดำในปริมาณมาก ทำให้ผิวเมล็ดข้าวเหนียวดำ มีความแข็งแรงกว่าข้าวเหนียวขาว ทำให้รา *M. purpureus* TISTR 3002 ไม่สามารถย่อยองค์ประกอบเหล่านี้ เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลต่อการผลิตสารยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่ลดลง

บทสรุป

รา *M. purpureus* TISTR 3002 สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 6 สายพันธุ์ ทั้งนี้ขึ้นกับอัตราส่วนระหว่างข้าวเหนียวดำต่อข้าวเหนียวขาว ที่ใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิตสาโทแดง โดยสาโทแดงที่ผลิตโดยใช้ปริมาณข้าวเหนียวดำ 70 % (w/w) เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตสารยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

ทั้งนี้การผลิตสาโทแดงโดยการประยุกต์ใช้ข้าวเหนียวดำ ร่วมกับการใช้ราสายพันธุ์ *M. purpureus* TISTR 3002 เพื่อให้ได้สาโทที่มีคุณค่า และมีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค จะต้องคำนึงถึงองค์ประกอบ

อื่นๆ ร่วมด้วย เช่น ปริมาณสารแอนโทไซยานิน, แกมมาโอไรซานอล, แอนติออกซิแดนท์, สารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสารสีต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบอื่นๆ ในสาโทแดงที่ผลิตได้ รวมทั้งการทดสอบทางประสาทสัมผัส ซึ่งจะได้มีการวิเคราะห์และนำมาเชื่อมโยงกับความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์เรื่อง “การผลิตสาโทแดงจากข้าวเหนียวดำและเชื้อราสายพันธุ์ *Monascus purpureus*” ของนางสาวกรกต สุนทรกุล โดยมี ผศ.ดร.คณิต วิจิตพันธุ์ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ผศ.สุกานดา วิจิตพันธุ์ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาเฉพาะเรื่อง โดยได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัยดังนี้

1. ศูนย์วิจัยการหมักเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น
2. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น
3. สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

เอกสารอ้างอิง

1. การุณย์ มะโนใจ. (2552). ข้าวดำ พันธุ์พิเศษสำคัญทางโภชนาการ ควรค่าแก่การอนุรักษ์. ค้นเมื่อ 27 พฤศจิกายน พ.ศ. 2554, สืบค้นจาก <http://info.matichon.co.th/techno.php?src=tag=05042151252&srcday=&search=no>.
2. นิวัตร โชติช่วง. (2550). ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดบัวผุด. โครงการงานวิจัยปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
3. นาริรัตน์ แสนเมืองชิน. (2553). การจัดกลุ่มทางพันธุกรรมของข้าวเหนียวดำพื้นเมือง โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลายพิมพ์ DNA. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชไร่ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น .

4. บุญบา ขงสมิทธิ. 2542. จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี, พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
5. รัตนา สุขสรรค์. 2524. ข้าวแดงสีธรรมชาติสำหรับใช้ผสมอาหาร วารสารวิทยาศาสตร์. 35 : 336-337.
6. วรรณดา ดุลยชัย, สุวรรณมา สุกิมาร, อรไท สุขเจริญ และสุภาพรณ ดุลยพิรุฬศิลป์. 2533. สารสกัดแอนโทไซยานินจากเปลือกมังคุด. วารสารอาหาร. 15: 24-32
7. Dejian, H., B. Ou, M. Hampsch-Woodill, J.A. Flanagan and E.K. Deemer. 2002. Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated beta-cyclodextrin as the solubility enhancer. Journal of Agricultural and food Chemistry. 50: 1815-1821.
8. Endo, A. 1979. Monakolin K, A new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species. Journal of Antibiotics. 32 852-854
9. Ferdes, M., Ungureanu, C., Radu, N. and Chirvase, A. A.. 2010. Antimicrobial effect of *Monascus purpureus* red rice against some bacterial and fungal strains. ค้นเมื่อ 18 มกราคม พ.ศ. 2555, สืบค้นจาก http://www.aidic.it/icheap9/webpapers/171_Ferdes.pdf
10. Jeun J., Jung H., Kim J. H., Kim Y.O., Youn S. H. and Shin C. S.. 2008. Effect of the monascus pigment threonine derivative on regulation of the cholesterol level in mice. Journal of Food Chemistry. 107, 1078-1085.
11. Kim S. Y., Kim Yoon. S., Kim Young S., Kim J. M. and Suha H. J.. 2008. The application of

- monascul rice in rice beverage preparation.
Journal of LWT. 41, 1204-1209.
12. Kong, S. and Lee, J. (2010). Antioxidants in milling fractions of black rice cultivars. Journal of Food Chemistry. 120, 278-281.
 13. Li F., Xu G., Li Y. and Chen Y., 2003. Study on the production of citrinin by *Monascus* strains used in food industry [ออนไลน์] [อ้างเมื่อ 15 พฤศจิกายน 2546] เข้าถึงได้ จาก <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14963915>.
 14. Sompong. R., Siebenhandl-Ehn. S., Linsberger-Martin. G. and Berghofer. E. (2011). Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. Journal of Food Chemistry. 124, 132-140.
 15. Suzuki, M., Kimura, T., Yamagishi, K., Shinmoto, H. and Yamaki, K. (2004). Comparison of mineral contents in 8 cultivars of pigmented brown rice. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 51(8), 424-427.
 16. Sroykesorn, K., Wanleeluk, A. and Kongruang, S. (2011). Food Borne Pathogen Inhibition by Citrinin from *Monascus purpureus*. 2011 International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics IPCBEE vol.5 (2011) © (2011) IACSIT Press, Singapore. ค้นเมื่อ 18 มกราคม พ.ศ. 2555, สืบค้นจาก <http://www.ipcbee.com/vol5 /53-X00084.pdf>
 17. Ungureanu, C. and Ferdes, M. (2010). Antibacterial and antifungal activity of red rice obtained from *Monascus purpureus*. ค้นเมื่อ 18 มกราคม พ.ศ. 2555, สืบค้นจาก <http://www.aidic.it/ibic2010/webpapers/70Ungureanu.pdf>