Thesis Title Purification and Identification of Monacolins from Red Yeast

Rice Prepared from Glutinous Rice by Solid-State

Fermentation with Monascus purpureus CMU001

Author Mr. Samuch Taweekasemsombut

Degree Master of Science (Biotechnology)

Thesis Advisor Assoc. Prof. Dr. Griangsak Chairote

ABSTRACT

Monacolins were known as the cholesterol-lowering compounds, which were produced by *Monascus* spp. in red yeast rice products. In this study, red yeast rice was prepared from Thai glutinous rice (*Oryza sativa*. cv. Sanpatong 1). It was fermented with *Monascus purpureus* CMU001 using the solid-state fermentation method. The analysis for the presence of monacolins from red yeast rice extract was performed by HPLC. The presence of several monacolins which was confirmed with reference standard compounds in previous studied by LC-MS. The chromatogram and mass spectrum showed the presence of monacolin K, monacolin K acid form, monacolin X, monacolin X acid form, dehydro-monacolin K, monacolin L, dihydromonacolin L monacolin M and compactin. A dominant compound with the molecular weight of 358 had been detected and tentatively identified. This compound was separated and identified with LC-MS and FT-IR. According to mass spectrum and infrared spectrum, it was revealed that the compound structure was similar to dehydromonacolin K without 2 methyl group. Besides that, in this study, the protein

profiling of *M. purpureus* CMU001 has changed during solid-state fermentation was investigated by proteomics. The 2DE gel patterns of *M. purpureus* CMU001 were compared in order to analyze the protein responses. The comparison between protein spots before and after fermentation was revealed 31 differentially expressed protein spots. There were 16 spots that appeared only in before fermentation experiment, 7 spots were highly expressed proteins and 8 spots were lower expressed in rice fermented condition of *M. purpureus* CMU001.



ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การทำบริสุทธิ์และการหาเอกลักษณ์ของโมนาโคลินในข้าวหมัก

แดงที่เตรียมได้จากการหมักข้าวเหนียวแบบสภาวะอาหารแข็ง

ด้วย Monascus purpureus CMU001

ผู้เขียน นาย สมัชญ์ ทวีเกษมสมบัติ

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ. ดร. เกรียงศักดิ์ ใชยโรจน์

บทคัดย่อ

โมนาโคลินเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการลดระดับคอเรสเตอรอลในเลือด สารที่ผลิต ใค้จากการหมักข้าวกับเชื้อราสายพันฐ์โมนัสคัส ในผลิตภัณฑ์ข้าวหมักแคง ในการทคลองนี้ใค้ ์ศึกษาการผลิตข้าวหมักแดงจากข้าวเหนียวพันธุ์สันป่าตอง1 (Oryza sativa. cv. Sanpatong 1) กับเชื้อ ราโมนัสคัส (Monascus purpureus CMU001) โดยวิธีการหมักแบบสภาวะอาหารแข็ง เพื่อทำการ ้วิเคราะห์หาสารในกลุ่มโมนาโคลินที่ได้จากสารสกัดจากข้าวหมักแดงนี้ โดยอาศัยเทคนิคโครมา โทรกราฟฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ร่วมกับเทคนิคแมสสเปกโทรเมตรีเพื่อใช้ยืนยัน ชนิดของสารกลุ่มโมนาโคลินที่พบจากงานวิจัยอื่นๆก่อนหน้านี้ จากการวิเคราะห์โครมาโทรแกรม และแมสสเปกตรัม พบสารโมนาโคลินชนิคต่างๆ ดังนี้ โมนาโคลิน เค, โมนาโคลินเค ในรูปของ กรค, โมนาโคลิน เอ็กซ์, โมนาโคลิน เอกซ์ ในรูปของกรค, ดีไฮโครโมนาโคลิน เค, โมนาโคลิน แอล, ใดใฮโดรโมนาโกลิน แอล, โมนาโกลิน เอ็ม และ กอมแพกติน และยังพบสารประกอบที่ น่าสนใจซึ่งมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 358 แต่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ เมื่อแยกสารประกอบนี้และทำ การวิเคราะห์ด้วยโครมาโทรกราฟฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูงร่วมกับแมสสเปกโทรเมตรีและ อินฟราเรคสเปกโทรสโกปี จากแมสสเปกตรัมและอินฟราเรคสเปกตรัมเมื่อวิเคราะห์ถึงโครงสร้าง ที่เป็นไปได้ของสารประกอบนี้ว่ามีลักษณะโครงสร้างเหมือนกับดีใฮโครโมนาโคลินเคที่ไม่มีหมู่ เมททิล 2 หมู่ นอกจากนี้ในการทคลองนี้ยังได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีน ในช่วงของการหมักแบบสภาวะอาหารแข็งของเชื้อรา M. purpureus CMU001 โดยการเปรียบเทียบ รูปแบบเจล 2DE ของเชื้อรา M. purpureus CMU001 ด้วยวิธีโปรติโอมิกส์ (proteomices) พบว่าการ แสดงออกของโปรตีนของเชื้อราก่อนหมักและหลังหมักมีความแตกต่างกันจำนวน 31 จุด และพบ 16 จุดที่พบเฉพาะในเชื้อราก่อนหมัก นอกจากนี้ยังพบว่ามี 7 จุดที่มีการแสดงออกเพิ่มขึ้น และ 8 จุด ที่มีการแสดงออกลดลงในเชื้อที่ทำการหมักลงในข้าว