

การพัฒนาข้าวหมากจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ และการศึกษาคุณสมบัติของยีสต์ข้าวหมาก

ต่อการต้านทานแบคทีเรีย *ESCHERICHIA COLI*

THE DEVELOPMENT OF KHAO-MAK FROM RICEBERRY RICE AND STUDY OF CHARACTERISTICS OF YEAST KHAO-MAK AGAINST BACTERIA *ESCHERICHIA COLI*

พรพรรณ รัตนะสังข์¹, จารุณี สมองคุณ¹, อาคม หะยิอูมา¹, มานพ สังข์แก้ว²
และ พิชญ์ ตั้งสมบัติวิจิตร^{2,*}

Pornpan Ruttanasutja¹, Jarunee Sanongkhun¹, Akom Hayeeuma¹, Manop Sungkaew²
and Pitchya Tangsombatvichit^{2,*}

¹ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ

² สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ

¹ Division of Science, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University
of Technology Suvarnabhumi

² Division of Health Science, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University
of Technology Suvarnabhumi

Received: 13 November 2023

Revised: 14 December 2023

Accepted: 25 December 2023

บทคัดย่อ

ข้าวหมากเป็นอาหารหมักด้วยจุลินทรีย์จากภูมิปัญญาไทย อย่างไรก็ตามข้าวหมากแม้จะมีงานวิจัยมากมายที่ระบุถึงประโยชน์ต่อผู้บริโภค แต่ข้าวหมากก็ยังไม่เป็นที่นิยมในการบริโภคมากนัก ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ พัฒนาข้าวหมากจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ โดยกำหนดสูตรข้าวหมาก 3 สูตร คือ ข้าวหมากข้าวเหนียวขาว ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวหมากข้าวเหนียวขาว อัตราส่วน 50:50 และ ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ ผลการทดลองพบว่า ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่หมัก 3 วัน มีความหวานเฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ $16.9 \pm 0.4\%$ และ ปริมาณแอลกอฮอล์เฉลี่ยต่ำที่สุด เท่ากับ $0.58 \pm 0.03\%$ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* Corresponding author: พิชญ์ ตั้งสมบัติวิจิตร

Email: pitchya.t@rmutsb.ac.th

ผลการทดลองคุณค่าทางอาหาร พบว่า ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่มีโปรตีนและใยอาหารสูงที่สุด เท่ากับ 6.33 ± 0.09 และ 5.24 ± 0.06 กรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ เมื่อเทียบกับข้าวหมาก อีก 2 สูตร รวมทั้งข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 71.10 ± 0.25 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม มีสารต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 194.60 ± 3.10 ไมโครโมลต่อ 100 กรัม และมีความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 87.56% ในขณะที่ข้าวหมากทั้ง 3 สูตรสามารถตรวจพบยีสต์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อ แบคทีเรีย *Escherichia coli* ผลการทดลองพบว่า ยีสต์ไอโซเลทจากข้าวหมากข้าวเหนียวขาว (W15) และยีสต์ไอโซเลทจากข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ (B1) มีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส เท่ากับ 11.67 ± 0.11 และ 9.80 ± 0.20 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อระบุงชี้สายพันธุ์ยีสต์ในข้าวหมาก ระดับพันธุกรรมของยีสต์ด้วยวิธีการ sequencing บริเวณตำแหน่งจำเพาะ 2 บริเวณ คือ Internal transcribed spacer (ITS region) และบริเวณ 26S rRNA พบว่า ยีสต์ไอโซเลท W15 และ B1 คือ *Saccharomycopsis fibuligera* เช่นเดียวกัน

คำสำคัญ: ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่, ความหวานต่ำ, สารต้านอนุมูลอิสระ, คุณค่าทางอาหาร, ด้านเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli*

Abstract

Khao-Mak is fermented food with microorganisms from Thai wisdom. However, there are many research articles showing its benefits to consumers. But Khao-Mak is still not popular for consumption. Therefore, the aim of this research was to develop fermented rice from Riceberry. By specifying 3 treatments for Khao-Mak, there are white glutinous rice, Riceberry rice mixed with white glutinous rice, ratio 50:50 and Riceberry rice. The results showed that 3 day fermentation, the average value of sweetness (°brix) of Khao-Mak Riceberry rice was the lowest as $16.9 \pm 0.4\%$ and the average alcohol content was the lowest $0.58 \pm 0.03\%$, significantly. The results of the nutritional value investigated that Riceberry rice had the highest protein and dietary fiber as 6.33 ± 0.09 and 5.24 ± 0.06 grams per 100 grams, respectively, when compared

two others Khao Mak treatments. Moreover, The total phenolic content of Khao Mak with Riceberry rice was 71.10 ± 0.25 milligrams per 100 grams, the antioxidants were 194.60 ± 3.10 μmol per 100 grams, and the best free radical inhibition ability was 87.56%, significantly. In addition, all 3 treatments for Khao-Mak showed that isolated yeasts were effective in inhibiting the growth of bacteria *Escherichia coli* could be detected. The results showed that isolated yeast from white glutinous rice (W15) and isolated yeast from Riceberry rice (B1) had clear zone diameters of 11.67 ± 0.11 and 9.80 ± 0.20 mm, respectively. When identifying the genetic level of isolated yeasts via sequencing the 2 specific regions, namely the Internal transcribed spacer (ITS region) and the 26S rRNA region, found that the isolated yeasts W15 and B1 were also *Saccharomycopsis fibuligera*.

Keywords: fermented Riceberry, Low sugar brix, Antioxidant, Nutritional value, Against bacteria *Escherichia coli*

บทนำ

ข้าวหมาก (Khao-Mak) เป็นอาหารหมักด้วยจุลินทรีย์จากภูมิปัญญาไทย ดันตำรับ ข้าวหมากผลิตจากข้าวเหนียวขาวนึ่งสุกผสมกับลูกแป้งข้าวหมาก โดยลูกแป้งข้าวหมากมีส่วนผสมของสมุนไพรไทยหลายชนิด และมีจุลินทรีย์ในธรรมชาติ ได้แก่ รา แบคทีเรีย และ ยีสต์ เมื่อข้าวเหนียวขาวนึ่งสุกผสมกับลูกแป้งเป็นระยะเวลาหนึ่ง เกิดกระบวนการหมักตามธรรมชาติ จะได้ข้าวหมากที่มีรสชาติดหวานและมีกลิ่นหอมของแอลกอฮอล์ระดับต่ำ (Limtong et.al., 2002; Limtong et.al., 2005) จากงานวิจัยพบว่าจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักของ ข้าวหมาก ได้แก่ รา *Mucor* sp., *Amylomyces* sp. สร้างเอนไซม์อะไมเลส ย่อยแป้งจาก ข้าวให้เป็นน้ำตาล น้ำตาลที่ได้มีความหวานประมาณ 30-40 °brix (ปริมาณน้ำตาลคิดเป็นกรัม ของน้ำชูโครสตอ 100 มิลลิลิตร) (Limtong et.al., 2002; Limtong et.al., 2005) เมื่อหมักต่อไปก็จะมีกลิ่นแอลกอฮอล์อ่อนๆ เนื่องจากมียีสต์บางชนิด เช่น ยีสต์ *Sacchacomycetes* sp., *Saccharomycopsis* sp. หมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ข้าวหมากมีจุลินทรีย์ช่วยปรับ

กลไกในร่างกายให้มีความสมดุล ทำให้ร่างกายสามารถสร้างเชื้อธรรมชาติในลำไส้ที่ช่วยให้กระบวนการย่อยดีขึ้น อีกทั้งยังเป็น ตัวต้านอนุมูลอิสระ และช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันแก่ร่างกาย (Tanasuoawat & Komagata, 1995; Chanchaichavivat, 2010) สำหรับยีสต์ในข้าวหมากมีประโยชน์ในการสร้างผลิตภัณฑ์หลากหลายชนิดที่ส่งเสริมภูมิคุ้มกันในร่างกายมนุษย์ อาทิเช่น ปีตากุลแคน เป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ที่พบบริเวณโครงสร้างผนังเซลล์ยีสต์ ด้วยคุณสมบัติทางชีวเคมีของปีตากุลแคนที่สกัดจากยีสต์ บ่งชี้ว่าปีตากุลแคนมีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ (อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์ และคณะ, 2558; Chanchaichavivat, 2010) มีงานวิจัยที่แสดงหลักฐานจากการทดสอบในระดับสัตว์ทดลอง และในมนุษย์ที่แสดงให้เห็นว่าปีตากุลแคนจากยีสต์ สามารถลดอาการเจ็บป่วยได้หลายประการ ที่สำคัญได้แก่ ความสามารถในการลดปริมาณเซลล์มะเร็งและเนื้องอก ลดการติดเชื้อหลังการผ่าตัด ทำให้บาดแผลหายเร็วขึ้น และลดอัตราการเพิ่มจำนวนของไวรัสในหมู (swine flu virus) (Demir et al., 2007; Hong et al., 2004) จึงมีแนวโน้มในการศึกษานำยีสต์มาใช้ป้องกันการติดเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ในอนาคต ใช้เป็นสารเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับมนุษย์ จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติของยีสต์ปีตากุลแคนที่จะนำมาใช้เป็นอาหารเสริมภูมิคุ้มกันโรคและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้อย่างมากมาย (Kogan et al., 2005)

งานวิจัยก่อนหน้านี้ทำการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของข้าวหมาก โดยพัฒนาจากการใช้ข้าวเหนียวขาว มาเป็น ข้าวเหนียวดำผสมกับข้าวกล้องสังขยัตตพทุฑฐอตราส่วน 1:1 ใช้เวลาหมัก 3-7 วัน พบว่า มีโปรตีน 3.6% มีไขมัน 0.16% มีความหวานอยู่ในช่วง 33-42 °brix มีแอลกอฮอล์อยู่ในช่วง 0.13-0.47% รวมทั้งยังมี แอนโทไซยานินสูง และมีเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่า 50%DPPH (อุไรวรรณ วัฒนกุล และคณะ, 2555) เช่นเดียวกันกับงานวิจัยที่ศึกษาข้าวหมากข้าวเหนียวขาวสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Shigella* spp. ได้ รวมทั้งมีการวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่พบในลูกแป้งข้าวหมาก ส่วนใหญ่ เป็นยีสต์ *Candida parapsilosis*, *Candida quercitrusa* และ *Pichia kudriavzevii* รา *Rhizopus oryzae* และ *Mucor indicus* แบคทีเรีย *Pediococcus pentosaceus* (Chanchaichavivat & Pasuk, 2013) ประเทศไทยมีการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะเด่นในด้านคุณค่าทางโภชนาการ คือ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ (*Oryza sativa*) เป็นข้าวที่เมล็ดมีสีม่วงเข้มคล้ายกับลูกเบอร์รี่ที่มีสีม่วงเข้ม มีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว ผ่านการขัดสีเพียงแค่บางส่วนเท่านั้น

จึงยังทำให้คงคุณค่าทางโภชนาการไว้ได้อย่างครบถ้วน ข้าวสายพันธุ์นี้เมล็ดมีสีม่วงของแอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นสารที่มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดี นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยศึกษาคุณค่าทางอาหารของข้าวไรซ์เบอร์รี่ พบว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระสูง โพลีฟีนอลสูง เบต้าแคโรทีน แกมมาโอไรซานอล วิตามินอี วิตามินบี 1 ลูทีน แพนทีน สังกะสี โอเมกา 3 ธาตุเหล็ก โพลีฟีนอล เส้นใย และมีดัชนีน้ำตาลต่ำ ซึ่งสารอาหารเหล่านี้มีส่วนช่วยในการบำรุงร่างกาย บำรุงสายตา บำรุงระบบประสาท ลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง ช่วยป้องกันโรคต่างๆ ได้อย่างมากมาย อาทิโรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคสมองเสื่อม โรคโลหิตจาง ช่วยชะลอความแก่ได้ (ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2566; ชื่นจิตสิพญา, 2558; ผาณิต รุจิรพิสิฐ และคณะ, 2555; Suttiarporn et al., 2016)

ปัจจุบัน ข้าวหมากถึงแม้จะมีงานวิจัยมากมายที่ระบุถึงประโยชน์ต่อผู้บริโภค แต่ข้าวหมากก็ยังไม่เป็นที่นิยมในการบริโภคมากนัก มีผู้บริโภคแค่เพียงเฉพาะกลุ่ม ในขณะที่เดียวกันการพัฒนาข้าวหมากจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ยังมีงานวิจัยอยู่น้อย รวมทั้งงานวิจัยที่ทำการศึกษายีสต์ในข้าวหมากต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารก็มีอยู่น้อยเช่นกัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้ จึงทำการพัฒนาข้าวหมากจากข้าวไรซ์เบอร์รี่เปรียบเทียบกับข้าวหมากข้าวเหนียวขาว จากนั้นนำข้าวหมากมาตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณความหวาน (°brix) และปริมาณแอลกอฮอล์ ตรวจวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร ตรวจวิเคราะห์ฟีนอลิกทั้งหมด และสารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH assay) ขั้นตอนต่อไปนำไอโซเลทยีสต์บริสุทธิ์ที่คัดแยกได้จากข้าวหมากแต่ละสูตรไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร *E. coli* รวมทั้งทำการระบุยีสต์สายพันธุ์ยีสต์ที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารด้วยวิธีทางอณูโมเลกุล ผลการทดลองที่ได้จะเป็นข้อมูลในการพัฒนาคุณภาพและคุณค่าทางอาหารของข้าวหมากให้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพทางเลือกสำหรับผู้บริโภค และสนับสนุนผลิตภัณฑ์ข้าวหมากอาหารหมักจากภูมิปัญญาท้องถิ่นของจังหวัดพระนครศรีอยุธยาต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนการทำข้าวหมาก

ข้าวหมากที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มี 3 สูตร คือ 1) ข้าวหมากข้าวเหนียวขาว นำมาจากกลุ่มแม่บ้านชุมชนทับน้ำ-บ้านม้า อำเภอบางปะหัน จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

2) ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวหมากข้าวเหนียวขาว อัตราส่วน 50:50 และ 3) ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ โดยขั้นตอนการทำข้าวหมากมีดังนี้ นำข้าวไรซ์เบอร์รี่หรือข้าวเหนียวขาว แช่น้ำ ต้มสะอาดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำข้าวแต่ละสูตรมาล้างด้วยน้ำต้มสะอาดอีก 1 ครั้ง แล้วจึงนำข้าวมาหนึ่งให้สุก จากนั้นนำข้าวหนึ่งสุกมาพักไว้ให้เย็นบนภาชนะสะอาด ปิดด้วยผ้าขาวบางสะอาดที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ นำข้าวที่นึ่งสุกแต่ละสูตรมาผสมกับลูกแป้งข้าวหมาก คลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วทำการตักบรรจุลงในถ้วยพลาสติกสะอาด ปิดฝาให้มิดชิด หมักไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน ข้าวหมากแต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ถ้วย

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีในข้าวหมาก

นำข้าวหมากแต่ละสูตร มาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่อง pH meter ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ($^{\circ}\text{brix}$) ด้วยเครื่อง handheld refractometer และปริมาณแอลกอฮอล์ ด้วยเครื่อง Ebulliometer แต่ละชุดการทดลองทำการทดสอบ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 5 ของการหมักข้าวหมาก

การวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารในข้าวหมาก

นำข้าวหมากแต่ละสูตร ที่หมักเป็นเวลา 3 วัน มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมี โดยประมาณ ได้แก่ ความชื้น ไขมัน เถ้า โปรตีน และใยอาหาร ดัดแปลงวิธีการของ AOAC (2016) และคาร์โบไฮเดรต พลังงาน ดัดแปลงวิธีการของ Sullivan & Carpenter (1993) แต่ละชุดการทดลองทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารต้านอนุมูลอิสระในข้าวหมาก

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ทำได้โดยนำข้าวหมากแต่ละสูตรที่หมักเป็นเวลา 3 วัน สูตรละ 5 กรัม มาบดหยาบ แล้วใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Folin-ciocalteu phenol reagent เข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตรลงไป 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติม 2 มิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เข้มข้นร้อยละ 7.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปิดปากหลอดด้วยพาราฟิล์ม ตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร แต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ (ดัดแปลงจาก Maikaeo et al., 2019) การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ นำข้าวหมากมาบดหยาบ สูตรละ 1 กรัม จากนั้นสกัดด้วยเอทานอล 5 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมหลอดทดลองเติมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) เข้มข้น 0.1 mM ใน

เอทานอลใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติมสารสกัดข้าวหมากส่วนใสลงไป 100 μ l ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ในที่มืด 30 นาที เปรียบเทียบกับสารละลาย DPPH ที่ไม่ใส่สารสกัดข้าวหมาก นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง และนำค่าที่ได้คำนวณร้อยละของความสามารถต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition) (ดัดแปลงจาก Mongkontanawat & Lertnimitmongkol, 2015)

การทดสอบความสามารถของยีสต์ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*

นำไอโซเลทยีสต์บริสุทธิ์ที่คัดแยกได้จากข้าวหมากแต่ละสูตร มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ด้วยวิธีดัดแปลงจาก Kim et al. (2016) เริ่มจากเตรียมสารละลายแบคทีเรีย *E. coli* ในอาหารเหลว nutrient broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมเชื้อตั้งต้น 1×10^8 CFU/ml ด้วยการเทียบมาตรฐาน McFarland standard No.0.5 แล้วนำไปเกลี่ยให้ทั่วผิวน้ำอาหารแข็ง nutrient agar จากนั้นเจาะหลุมด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร สำหรับยีสต์บริสุทธิ์แต่ละโคโลนีที่คัดแยกได้จากข้าวหมากแต่ละสูตร สูตรละ 30 โคโลนี นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว yeast peptone dextrose บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 rpm เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำสารละลายใสใส่ลงในหลุมที่เจาะไว้ปริมาตร 60 ไมโครลิตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นวัดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (clear zone)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลการทดลองที่ได้ นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยการหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซนต์ ($p < 0.05$)

การระบุยีสต์สายพันธุ์ยีสต์ในข้าวหมากที่มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*

นำยีสต์ที่มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ได้ดีที่สุดที่ได้จากข้าวหมากทั้งหมด มา 2 โคโลนี ทำการระบุยีสต์สายพันธุ์ยีสต์โดยเริ่มต้นจากการสกัดดีเอ็นเอของยีสต์ตามวิธีการของ Tangsombatvichit et al. (2015) ทำการ purified ดีเอ็นเอของยีสต์ด้วย DNA purification kit (QIAGEN) แล้วนำไปตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยเครื่อง Nanodrop spectrophotometer (Thermo Scientific) จากนั้นนำดีเอ็นเอไปตรวจสอบบริเวณจำเพาะ

2 ตำแหน่ง คือ 1. บริเวณ Internal transcribed spacer (ITS region) ด้วยคู่ไพรเมอร์ ITS1 5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3' และ ITS4 5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3' 2. บริเวณ 26S rRNA ด้วยคู่ไพรเมอร์ LR0R 5'ACCCGCTGAACCTTAAGC3' และ LR7 5'TACTACCAC CAAGATCT 3' (Macrogen sequencing)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

คุณภาพทางเคมีในข้าวหมาก

เมื่อนำข้าวหมากแต่ละสูตร มาตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ 0 ถึง 5 วัน ผลการทดลองพบว่า ที่ 0 วัน ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว (50:50) และ ข้าวหมากข้าวเหนียวขาว มีค่า pH เฉลี่ยอยู่ในช่วง 6.4-6.6 เมื่อกระบวนการหมักเกิดขึ้น ที่ 1 วัน พบว่า ข้าวหมากข้าวเหนียวขาวมีค่า pH เฉลี่ย เท่ากับ 3.3 ± 0.1 ซึ่งลดลงกว่าข้าวหมากอีก 2 สูตร ที่ 2 วัน ข้าวหมากทั้ง 3 สูตร มีค่า pH เฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.3-4.7 ที่ 3-5 วัน ข้าวหมากทั้ง 3 สูตร มีค่า pH เฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.3-4.8 จะเห็นว่าเมื่อเกิดกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์จากลูกแป้ง เกิดการเปลี่ยนแปลงให้เป็นน้ำตาล เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ และเกิดกรด จากกิจกรรมของจุลินทรีย์กลุ่มราและยีสต์ ทำให้ค่า pH เปลี่ยนแปลง เกิดความเป็นกรดเพิ่มขึ้น (Tanasuoawat & Komagata, 1995; Chanchaichaovivat, 2010; Manosroi et al., 2011) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mongkontanawat & Lertnimitmongkol (2015) ทำการพัฒนาข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำ เมื่อวัดค่า pH พบว่า เมื่อกระบวนการหมักเกิดขึ้น ในวันที่ 1 ค่า pH เฉลี่ยลดลง และในวันที่ 2 ค่า pH เฉลี่ยเพิ่มขึ้น จากนั้นในวันที่ 3-7 ค่า pH เฉลี่ยคงที่

ทำการวัดปริมาณความหวาน ($^{\circ}$ brix) ของข้าวหมากทั้ง 3 สูตร ผลการทดลองพบว่า ที่ 0 วัน ข้าวหมากทั้ง 3 สูตร มีค่าความหวานเฉลี่ย เท่ากับ 0 ที่ 1 วัน ข้าวหมากข้าวเหนียวขาวมีค่าความหวานเฉลี่ยเท่ากับ $16.4 \pm 1.10\%$ ซึ่งสูงกว่าข้าวหมากอีก 2 สูตร เมื่อกระบวนการหมักเกิดขึ้นในวันที่ 2-5 พบว่า ข้าวหมากข้าวเหนียวขาวมีค่าความหวานเฉลี่ยสูงที่สุด เมื่อเทียบกับข้าวหมากข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว (50:50) และข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ ในขณะที่ ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ มีค่าความหวานเฉลี่ยในช่วง 16.9-18.1% ซึ่งต่ำที่สุด ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mongkontanawat & Lertnimitmongkol (2015) ทำการพัฒนาข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำ พบว่า เมื่อเวลาใน

การหมักเพิ่มขึ้น $^{\circ}\text{brix}$ ของข้าวหมากเหนียวขาวมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าข้าวหมากข้าวเหนียวดำ เป็นไปได้ว่าโครงสร้างทางชีวเคมีของแป้งในข้าวไรซ์เบอร์รี่มีส่วนที่จุลินทรีย์ย่อยได้ยาก เมื่อเกิดกระบวนการหมักตามธรรมชาติ แป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่จึงย่อยด้วยจุลินทรีย์กลุ่มราและยีสต์ คล้ายราจากลูกแป้งได้ช้ากว่าข้าวเหนียวขาว และมีการวิจัยพบว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่มีดัชนีน้ำตาลต่ำ (ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2566; ชื่นจิต สีพญา, 2558; ภาณุต รุจิรพิสิฐ และคณะ, 2555; Suttiarporn et al., 2016)

ทำการวัดปริมาณแอลกอฮอล์ของข้าวหมาก ผลการทดลองพบว่า ที่ 0 วัน ข้าวหมาก ทั้ง 3 สูตร มีปริมาณแอลกอฮอล์เฉลี่ย เท่ากับ 0 ที่ 1 วัน ข้าวหมากข้าวเหนียวขาวมีปริมาณ แอลกอฮอล์เฉลี่ยเท่ากับ $0.39 \pm 0.04\%$ ซึ่งสูงกว่าข้าวหมากอีก 2 สูตร เมื่อกระบวนการหมัก เกิดขึ้นในวันที่ 2-5 พบว่า ข้าวหมากข้าวเหนียวขาวมีปริมาณแอลกอฮอล์เฉลี่ยสูงสุด เมื่อเทียบกับข้าวหมากข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว (50:50) และข้าวหมาก ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ในขณะที่ข้าวหมากข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว (50:50) มีปริมาณแอลกอฮอล์เฉลี่ยในช่วง $0.96-1.56\%$ ส่วนข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ มีปริมาณ แอลกอฮอล์เฉลี่ยในช่วง $0.48-1.37\%$ ในการทดลองครั้งนี้ ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นใน กระบวนการหมักข้าวหมากมีค่าสอดคล้องไปตามกิจกรรมของจุลินทรีย์ลูกแป้ง ตั้งแต่ค่า pH และปริมาณความหวาน (Manosroi et al., 2011)

คุณค่าทางอาหารในข้าวหมาก

นำข้าวหมากแต่ละสูตรมาวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร ผลการทดลองพบว่า ข้าวหมาก ข้าวไรซ์เบอร์รี่มีโปรตีนสูงที่สุด รองลงมาคือข้าวหมากข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าว เหนียวขาว (50:50) และข้าวหมากข้าวเหนียวขาว เท่ากับ 6.33 ± 0.09 5.65 ± 0.10 และ 4.57 ± 0.08 กรัม/100กรัม ตามลำดับ รวมทั้งใยอาหาร ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่มีใยอาหารสูง ที่สุด รองลงมาคือข้าวหมากข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว (50:50) และข้าวหมาก ข้าวเหนียวขาว เท่ากับ 5.24 ± 0.06 3.82 ± 0.04 และ 1.22 ± 0.05 กรัม/100กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 คุณค่าทางอาหารในข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว 50:50 และข้าวหมากข้าวเหนียวขาว หมักเป็นเวลา 3 วัน

คุณค่าทางอาหาร	ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่	ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว 50:50	ข้าวหมากข้าวเหนียวขาว	ข้าวหมากข้าวเหนียวดำ**
เถ้า (กรัม/100 กรัม)	0.84 ^a ±0.04	0.78 ^a ±0.06	0.13 ^b ±0.01	0.29±0.49
ความชื้น (กรัม/100 กรัม)	52.18 ^b ±0.45	55.22 ^b ±0.47	59.00 ^a ±0.61	55.86±0.50
โปรตีน (กรัม/100 กรัม)	6.33 ^a ±0.09	5.65 ^b ±0.10	4.57 ^c ±0.08	3.11±0.50
คาร์โบไฮเดรต (กรัม/100 กรัม)	39.56 ^a ±0.69	36.18 ^b ±0.26	35.92 ^b ±0.97	38.80±0.50
ไขมัน (กรัม/100 กรัม)	0.86 ^a ±0.04	0.64 ^b ±0.10	0.39 ^c ±0.02	0.35±0.48
พลังงานจากไขมัน (กิโลแคลอรี/100 กรัม)	8.24 ^a ±0.23	6.88 ^b ±0.15	3.51 ^c ±0.05	ไม่มีผล การตรวจ
พลังงานทั้งหมด (กิโลแคลอรี/100 กรัม)	184.72 ^a ±1.57	171.33 ^b ±1.14	165.05 ^b ±1.44	ไม่มีผล การตรวจ
ใยอาหาร (กรัม/100 กรัม)	5.24 ^a ±0.06	3.82 ^b ±0.04	1.22 ^c ±0.05	1.59±0.25

หมายเหตุ ตัวเลขในตาราง คือ ค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

*abc แสดงค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแนวนอนที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

**อ้างอิงผลการทดลองจากงานวิจัยของ Mongkontanawat and Lertnimitmongkol, 2015

มีงานวิจัยของ Mongkontanawat & Lertnimitmongkol (2015) ทำการพัฒนาข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำ ที่หมักเป็นเวลา 3 วัน และวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร พบว่ามีโปรตีน เท่ากับ 3.11 ± 0.50 กรัม/100กรัม และมีใยอาหาร เท่ากับ 1.59 ± 0.25 กรัม/100กรัม รวมทั้งงานวิจัยของ อุไรวรรณ วัฒนกุล และคณะ (2555) ทำการพัฒนาข้าวหมากจากข้าวสังข์หยดพัทลุงและข้าวเหนียวดำ หมักที่ 3 วัน และวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร พบว่ามีโปรตีน เท่ากับ $3.5 \pm 0.03\%$ และ $4.4 \pm 0.02\%$ จะเห็นได้ว่า ข้าวหมากจากข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวหมากข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว (50:50) ในการทดลองนี้ มีโปรตีนและใยอาหารสูงกว่า ข้าวหมากข้าวเหนียวดำ หรือข้าวหมากข้าวสังข์หยดพัทลุง

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารต้านอนุมูลอิสระในข้าวหมาก

เมื่อนำข้าวหมากแต่ละสูตรมาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารต้านอนุมูลอิสระ ผลการทดลองพบว่า ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่หมักเป็นเวลา 3 วัน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเฉลี่ย และสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเท่ากับ

71.10± 0.25 mg GEA/100กรัม และ 194.60±3.10 µmol/100กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 2) รองลงมาคือ ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว 50:50 และข้าวหมากข้าวเหนียวขาวมีน้อยที่สุด ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสารต้านอนุมูลอิสระในข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว 50:50 และข้าวหมากข้าวเหนียวขาวหมักเป็นเวลา 3 วัน

การวิเคราะห์ตัวอย่าง	ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่	ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว 50:50	ข้าวหมากข้าวเหนียวขาว
ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (mg GEA/100กรัม)	71.10 ^a ±0.25	59.40 ^b ±0.21	36.70 ^c ±0.30
สารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH assay) µmol/100กรัม	194.60 ^a ±3.10	143.00 ^b ±1.10	41.20 ^c ±0.80

หมายเหตุ ตัวเลขในตาราง คือ ค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

*abc แสดงค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแนวนอนที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

รวมทั้งเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระเฉลี่ยของข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่มีประสิทธิภาพดีที่สุด คือ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระเฉลี่ย เท่ากับ 87.56% รองมาคือ ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว 50:50 เท่ากับ 52.33% และ ข้าวหมากข้าวเหนียวขาว เท่ากับ 24.15% อธิบายได้จากคุณสมบัติของข้าวไรซ์เบอร์รี่ ที่เป็นพันธุ์ข้าวไทยที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ให้มีคุณค่าทางอาหารสูง มีสารต้านอนุมูลอิสระและเส้นใยสูง รวมทั้งมีสารอาหารและวิตามินสูง (ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าวมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2566; ชื่นจิต สัพัญญา, 2558; ภาณิต รุจิรพิสิฐ และคณะ, 2555; Suttiarporn et al., 2016; Wattanuruk et al., 2020)

การทดสอบความสามารถของยีสต์ข้าวหมากต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*

เมื่อนำไอโซเลทยีสต์ที่ได้จากข้าวหมากแต่ละสูตรมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ผลการทดลองพบว่า ไอโซเลทยีสต์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารได้ พิจารณาจากเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส มีค่าเฉลี่ยระหว่าง 8.00±0.10 ถึง 11.67±0.11 มิลลิเมตร (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของยีสต์ที่คัดแยกได้จากข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว 50:50 และข้าวหมากข้าวเหนียวขาว ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*

ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่		ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว 50:50		ข้าวหมากข้าวเหนียวขาว	
ไอโซเลท	Inhibition zone (mm±SD)	ไอโซเลท	Inhibition zone (mm±SD)	ไอโซเลท	Inhibition zone (mm±SD)
ยีสต์	(mm±SD)	ยีสต์	(mm±SD)	ยีสต์	(mm±SD)
B1	9.80 ^a ±0.20	BW5	9.30 ^a ±0.00	W11	8.20 ^c ±0.00
B2	7.70 ^b ±0.00	BW8	8.70 ^b ±0.30	W13	8.17 ^c ±0.15
B31	8.40 ^b ±0.00	BW16	7.50 ^c ±0.10	W14	11.10 ^a ±0.65
B37	8.00 ^b ±0.10	BW20	8.90 ^b ±0.20	W15	11.67 ^a ±0.11
B42	8.70 ^b ±0.30	BW21	8.50 ^b ±0.30	W16	9.30 ^b ±0.17
B45	9.10 ^a ±0.15	BW24	8.30 ^b ±0.25	W19	11.07 ^a ±0.11

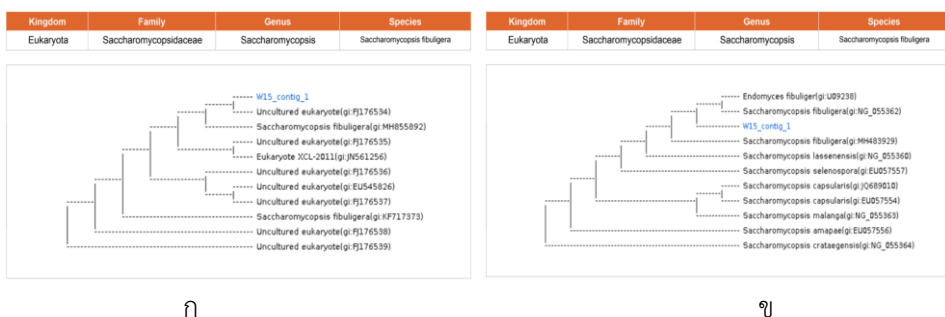
หมายเหตุ *abc แสดงค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแนวดังที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

โดยไอโซเลทยีสต์จากข้าวหมากข้าวเหนียวขาวสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีอันดับ 1 โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 11.67 ± 0.11 มิลลิเมตร สำหรับไอโซเลทยีสต์จากข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือมีเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส เท่ากับ 9.80 ± 0.20 มิลลิเมตร ในขณะที่ ไอโซเลทยีสต์จากข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว 50:50 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือมีเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส เท่ากับ 9.30 มิลลิเมตร (ตารางที่ 3) ในขณะที่มีงานวิจัยของ เจนจิรา เตชรักษา และ ดวงเดือน วัฒนานุรักษ์. (2564) ทำการศึกษาสารสกัดข้าวหมากจากข้าวมีสีต่อการยับยั้งแบคทีเรียแล้วพบว่าข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* และ *Bacillus subtilis* ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณวงใส ระหว่าง 7.25 ถึง 8.90 มิลลิเมตร เป็นไปได้ว่าสารสกัดที่ได้จากข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่น่าจะมีสารชีวภาพจากจุลินทรีย์ในข้าวหมาก จึงทำให้สารสกัดข้าวหมากสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ดี

การระบุพันธุ์สายพันธุ์ยีสต์ในข้าวหมากที่มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

E. coli

จากการทดสอบความสามารถของยีสต์บริสุทธิ์ที่คัดแยกได้จากข้าวหมากแต่ละสูตรที่มีความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ได้ดีที่สุด พบว่า ยีสต์จากข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ คือไอโซเลท B1 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* เท่ากับ 9.80 ± 0.20 มิลลิเมตร ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว 50:50 คือไอโซเลท BW 5 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* เท่ากับ 9.3 ± 0.00 มิลลิเมตร และยีสต์จากข้าวหมากข้าวเหนียวขาว คือไอโซเลท W15 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* เท่ากับ 11.67 ± 0.11 มิลลิเมตร จากนั้นเลือกนำยีสต์ไอโซเลท B1 และ W15 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ดีที่สุด มาตรวจสอบการระบุพันธุ์ระดับพันธุกรรมของยีสต์ด้วยวิธีการ sequencing บริเวณตำแหน่งจำเพาะ 2 บริเวณ คือ Internal transcribed spacer (ITS region) และบริเวณ 26S rRNA ผลการทดสอบพบว่า บริเวณตำแหน่งจำเพาะทั้ง 2 บริเวณระบุชี้ว่า ยีสต์ไอโซเลท B1 คือ *Saccharomycopsis fibuligera* เช่นเดียวกับยีสต์ไอโซเลท W15 (รูปที่ 1 ก และ ข) เนื่องจากค่าความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลำดับเบสของยีสต์ไอโซเลททั้ง 2 ตรงกับ *S. fibuligera* 100% โดยยีสต์ *S. fibuligera* เป็นยีสต์ที่พบในลูกแป้งข้าวหมาก มีความสามารถย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลได้ (Limtong et.al., 2002; Limtong et.al., 2005)



รูปที่ 1 ก. การระบุพันธุ์พันธุกรรมของตัวอย่างยีสต์ไอโซเลท W15 บริเวณจำเพาะ ITS region และ ข. การระบุพันธุ์พันธุกรรมของตัวอย่างยีสต์ไอโซเลท W15 บริเวณจำเพาะ 26sRNA

สรุปผลการวิจัย

การพัฒนาข้าวหมากซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากภูมิปัญญาไทย โดยกำหนดข้าวหมาก 3 สูตร คือ ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว 50:50 และข้าวหมากข้าวเหนียวขาว จากผลการทดลองสรุปได้ว่า ข้าวหมากทั้ง 3 สูตร มีความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ย (pH) เริ่มต้นประมาณ 6.5 และลดลงเมื่อเกิดกระบวนการหมักจากนั้นคงที่ในช่วง 4.3-4.8 ในขณะที่ ค่า °brix เพิ่มขึ้นเมื่อกระบวนการหมักผ่านไปในแต่ละวันที่ทำการทดลอง โดยระยะเวลาหมักวันที่ 5 ข้าวหมากข้าวเหนียวขาว มีค่าความหวานเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ $36.2 \pm 0.5\%$ ส่วนข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ต่ำที่สุด เท่ากับ $18.1 \pm 0.2\%$ สำหรับค่าปริมาณแอลกอฮอล์เฉลี่ย มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อกระบวนการหมักเกิดขึ้นกับข้าวหมากทั้ง 3 สูตร โดยข้าวหมากข้าวเหนียวขาว มีค่าปริมาณแอลกอฮอล์เฉลี่ยสูงสุดประมาณ 2.5% ส่วนข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ต่ำที่สุดประมาณ 1.3% จากการทดลองครั้งนี้จะเห็นได้ว่าข้าวหมากที่พัฒนาจากข้าวไรซ์เบอร์รี่มีโปรตีนและใยอาหารสูงที่สุด เท่ากับ 6.33 ± 0.09 และ 5.24 ± 0.06 กรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ เมื่อเทียบกับข้าวหมากอีก 2 สูตรคือ ข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมข้าวเหนียวขาว 50:50 และข้าวหมากข้าวเหนียวขาว รวมทั้งข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 71.10 ± 0.25 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม มีสารต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 194.60 ± 3.10 μmol ต่อ 100 กรัม และมีความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด เท่ากับ 87.56% ในขณะที่ข้าวหมากทั้ง 3 สูตรสามารถตรวจพบยีสต์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ผลการทดลองพบว่า ยีสต์ไอโซเลทจากข้าวหมากข้าวเหนียวขาว (W15) และ ยีสต์ไอโซเลทจากข้าวหมากข้าวไรซ์เบอร์รี่ (B1) มีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส เท่ากับ 11.67 ± 0.11 และ 9.80 ± 0.20 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อระบุบ่งชี้สายพันธุ์ยีสต์ในข้าวหมากระดับพันธุกรรมของยีสต์ด้วยวิธีการ sequencing บริเวณตำแหน่งจำเพาะ 2 บริเวณ คือ Internal transcribed spacer (ITS region) และบริเวณ 26S rRNA พบว่า ยีสต์ไอโซเลท W15 และ B1 คือ *Saccharomycopsis fibuligera* เช่นเดียวกัน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากกองทุนส่งเสริมงานวิจัย มทร. สุวรรณภูมิ ประจำปีงบประมาณ 2563 ขอขอบคุณสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ที่เอื้ออำนวยความสะดวก

สะดวกสถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์ในการวิจัยทดลองในครั้งนี้ ขอขอบคุณนายกองค์การบริหารส่วนตำบลทับน้ำ-บ้านม้า อำเภอบางปะหัน จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ที่สนับสนุนการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากภูมิปัญญาท้องถิ่น และกลุ่มแม่บ้านชุมชนทับน้ำ-บ้านม้า ที่แนะนำและช่วยเหลือการทำข้าวหมาก

เอกสารอ้างอิง

- เจนจิรา เดชรักษา และ ดวงเดือน วัฏฏานุรักษ์. (2564). การยับยั้งแบคทีเรียจากสารสกัดข้าวหมากมีสี. *วารสารวิจัยและนวัตกรรมทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์*, 2(3), 92-105.
- ชื่นจิต สัพพญา. (2558). ไรซ์เบอร์รี่ ข้าวดี มีประโยชน์. สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มิถุนายน 2562, จาก http://lib3.dss.go.th/fulltext/dss_knowledge/bsti_11_2558_Riceberry.pdf.
- ผาณิต รุจิรพิสิฐ, วิชชุดา สังข์แก้ว และ เสาวนีย์ เอี้ยวสกุลรัตน์. (2555). คุณค่าทางโภชนาการของข้าว 9 สายพันธุ์. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 43 (ฉบับพิเศษ 2), 173-176.
- ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (2566). *ข้าวไรซ์เบอร์รี่ Riceberry*. สืบค้นเมื่อวันที่ 3 เมษายน 2564, จาก: <https://dna.kps.ku.ac.th/index.php/research-develop/rice-breeding-lab/riceberry-variety>.
- อรุณ ชาญชัยเขารวิวัฒน์, สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ และ เกร็ดแก้ว มุขแสง. (2558). การวิเคราะห์และเปรียบเทียบยีสต์บีตาไกลูแคนจากลูกแป้งข้าวหมากในภาคกลางของประเทศไทย. *วารสารหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้*, 6(2), 188-197.
- อุไรวรรณ วัฒนกุล, ชุตินุช สุจริต และ นพรัตน์ วงศ์หิรัญเดชา. (2555). คุณค่าทางโภชนาการบางประการในข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวสังข์หยดพัทลุง. น. 721-729. ใน: การประชุมวิชาการแห่งชาติ ครั้งที่ 9. 6-7 ธันวาคม 2555. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.
- AOAC. (2016). *Official methods of analysis*. Maryland, USA: AOAC International.
- Chachaichaovivat, A. (2010). Yeast betaglukan: Food supplement for immune system. *Journal of Research Unit on Science, Technology and Environment for Learning*, 1(2), 113-118. (in Thai)

- Chanchaichaovivat, A., & Pasuk, A. (2013). Inhibitory Effect of Fermented Glutinous Rice on Enteropathogenic Bacteria. *The Journal of Interdisciplinary Networks*, 2(2), 30-36.
- Demir, G., Klein, H. O., Mandel-Molinas, N., & Tuzuner, N. (2007). Beta glucan induces proliferation and activation of monocytes in peripheral blood of patients with ad-vanced breast cancer. *International immunopharmacology*, 7(1), 113–116.
- Hong, F., Yan, J., Baran, J. T., Allendorf, D. J., Hansen, R. D., Ostroff, G R., Xing, P. X., Cheung, N. K., & Ross, G. D. (2004). Mechanism by which orally administered β -1,3-glucans enhance the tumoricidal activity of antitumor monoclonal antibodies in murine tumor models. *Journal of Immunology*, 173(2), 797–806.
- Kim, D. H., Jeong, D., Kim, H., Kang, I. B., Chon, J. W., Song, K. Y., & Seo, K. H. (2016). Antimicrobial activity of kefir against various food pathogens and spoilage bacteria. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(6), 787-790.
- Kogan, G., Stasko, A., Bauerova, K., Polovka, M., Soltes, L., Brezova, V., & Navarova, J. (2005). Antioxidant properties of yeast (1,3)- β -D-glucan studied by electron paramagnetic resonance spectroscopy and its activity in the adjuvant arthritis. *Carbohydrate Polymers*, 61(1), 18–28.
- Limtong, S., Sintara, S., Suwanarit, P., & Lotong, N. (2002). Yeast diversity in Thai traditional fermentation starter (loog-pang). *Kasetsart Journal Natural Science*, 36, 149-158.
- Limtong, S., Sintara, S., Suwanarit, P., & Lotong, N. (2005). Species diversity of molds in Thai traditional fermentation starters (Long-pang). *Kasetsart Journal Natural Science*, 39, 511-518.

- Maikaeo, L., Sajjabut, S., & Thepthong, P. (2019). Total Phenolic Content, Antioxidant and Antiproliferative Activities of Methanolic Extract from Flowers, Twigs and Peels of *Mammea siamensis*. *Thai Journal of Pharmacology*, 41(1), 5-12.
- Manosroi, A., Ruksiriwanich, W., Kietthankorn, B., Manosroi, W., & Manosroi, J. (2011). Relationship between biological activities and bioactive compounds in the fermented rice sap. *Food Research International*, 44, 2757-2765.
- Mongkontanawat, N., & Lertnimitmongkol, W. (2015). Product development of sweet fermented rice (Khao-Mak) from germinated native black glutinous rice. *Journal of Agricultural Technology*, 11(2), 501-515.
- Sullivan, D., & Carpenter, D. (1993) *Method of Analysis for Nutrition Labeling*. AOAC International, Arlington.
- Suttiarporn, P., Sookwong, P., & Mahatheeranont, S. (2016). Fractionation and identification of antioxidant compounds from bran of Thai Black Rice cv. Riceberry. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 7(2), 109-114.
- Tangsombatvichit, P., Semkiv, M.V., Sibirny, A.A., Jensen, L.T., Ratanakhanokchai, K., & Soontorngun, N. (2015). Zinc cluster protein Znf1, a novel transcription factor of non-fermentative metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Research*, 15(2), Doi: 10.1093/femsyr/fou002.
- Tanasuoawat, S., & Komagata, K. (1995). Lactic acid bacteria in fermented foods in Thailand. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11, 253-256.
- Wattanuruk, D., Phasuk, S., Nilsang, P., & Takolpuckdee, P. (2020). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activities of Khaow-Mak extracts from various colored rice. *Journal of Food Health and Bioenvironmental Science*, 13(1), 10-18.