รายงานการวิจัย
เรื่อง

ผลของการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ในการผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำงอกต่อปริมาณสารกาบาและสารออกฤทธิ์ชีวภาพ การพัฒนาเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากและผลของสารสกัดจากข้าวหมากในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร

Effect of starter culture on sweet fermented rice products from germinated black glutinous brown rice on gamma-amino butyric acid (GABA) and bioactive compounds content, developing sweet fermented rice beverage and effect of substances extracted from sweet fermented rice products on inhibition enter pathogenic bacteria

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

พรพรรณ พัวไพบูลย์

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
2562
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
(งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดินด้านการวิจัย ปีงบประมาณ 2561)

หัวข้อวิจัย	ผลของการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ในการผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำงอกต่อปริมาณสารกาบาและสารออกฤทธิ์ชีวภาพ การพัฒนาเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากและผลของสารสกัดจากข้าวหมากในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร
ผู้ดำเนินการวิจัย	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรพรรณ พัวไพบูลย์
หน่วยงาน	สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
ปี พ.ศ.	2562

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้เชื้อบริสุทธิ์ในการผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้องเพาะงอก และพัฒนาเป็นเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก จากการใช้เชื้อบริสุทธิ์ของราและยีสต์ผลิตเป็นลูกแป้งข้าวหมาก 3 สูตร คือ สูตร 1: *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 + *Saccharomycopsis fibuligera* TISTR 5188 สูตร 2: *A. rouxii* TISTR 3182 + *Hansenula anomala* TISTR 5113 สูตร 3: *A. rouxii* TISTR 3182 + *S. fibuligera* TISTR 5188 + *H. anomala* TISTR 5113 นำมาเปรียบเทียบกับการผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้องไม่เพาะงอก แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ทรีตเมนต์ คือ ทรีตเมนต์ 1: ข้าวเพาะงอก + ลูกแป้งสูตร 1 ทรีตเมนต์ 2: ข้าวเพาะงอก + ลูกแป้งสูตร 2 ทรีตเมนต์ 3: ข้าวเพาะงอก + ลูกแป้งสูตร 3 ทรีตเมนต์ 4: ข้าวไม่เพาะงอก + ลูกแป้งสูตร 3 ทำการหมักข้าวหมากที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมัก พบว่าข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 มีปริมาณน้ำต้อยมากกว่าทรีตเมนต์ที่ 2, 3 และ 4 ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของทุกทรีตเมนต์มีค่าอยู่ระหว่าง 28.43 - 32.20 องศาบริกซ์ และมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 3.61 - 4.40 และปริมาณกรดจากการไทเทรตอยู่ระหว่างร้อยละ 0.61 - 1.16 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของทุกทรีตเมนต์อยู่ระหว่าง 4.05 - 268.26 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทรีตเมนต์ที่ 1 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ของทุกทรีตเมนต์อยู่ระหว่างร้อยละ 0.50 - 1.65 ทรีตเมนต์ที่ 1 และ 2 มีปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ต่ำกว่าร้อยละ 0.5 ข้าวหมากทุกสูตรมีค่าความสว่าง ค่าความเป็นสีแดง และสีเหลืองเล็กน้อย ปริมาณยีสต์และราทั้งหมดระหว่างการหมักของทุกทรีตเมนต์อยู่ระหว่าง 1.89×10^{8} - 3.48×10^{9} ซีเอฟยูต่อกรัม โดยทรีตเมนต์ ที่ 3 มีปริมาณยีสต์และราทั้งหมดสูงสุด และข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีคะแนนความชอบโดยรวมอยู่ระหว่าง 5.27 - 6.57 คะแนน โดยทรีตเมนต์ที่ 1 และ 2 ได้รับคะแนนความชอบโดยรวมสูงสุดอยู่ในระดับชอบปานกลาง ปริมาณแอนโทไซยานินและปริมาณกาบาของข้าวหมากทั้ง 4 ทรีตเมนต์ มีปริมาณไม่แตกต่างกัน โดยมีปริมาณ 12.49 - 13.26 และ 3.53 - 4.12 มิลลิกรัมต่อตัวอย่างน้ำหนักแห้ง 100 กรัม ตามลำดับ สารสกัดข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีร้อยละการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อยู่ระหว่างร้อยละ 50.41 - 62.99 โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH อยู่ระหว่าง 6.73 - 19.46 mM VCEAC ซึ่งสารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี

FRAP อยู่ระหว่าง 136.54 - 165.15 mg Fe(III)/L ซึ่งสารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 และ 2 มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนสูงสุด สารสกัดจากข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 โดยมีขนาดวงยับยั้งต่อเชื้ออยู่ระหว่าง 1.67 - 3.67 มิลลิเมตร โดยที่ประสิทธิภาพการยับยั้งไม่แตกต่างกันระหว่างสารสกัดจากข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 2, 3 และ 4

การผลิตเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากจากการนำข้าวหมาก 4 ทรีตเมนต์ ข้างต้นมาเจือจางด้วยน้ำอุ่น 4 เท่า โดยปั่นและกรองผ่านผ้าขาวบาง ปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำเป็น 12 องศาบริกซ์ พบว่าทุกทรีตเมนต์ มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 3.48 - 3.84 ปริมาณกรดจากการไทเทรตอยู่ระหว่างร้อยละ 0.16 - 0.23 และตรวจไม่พบเอทิลแอลกอฮอล์ ทุกทรีตเมนต์มีค่าความสว่าง ค่าความเป็นสีแดง และค่าความเป็นสีเหลืองเล็กน้อย โดยทรีตเมนต์ที่ 2 มีค่าความเป็นสีแดงสูงสุด ค่าความหนืดของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทุกทรีตเมนต์อยู่ระหว่าง 10 - 35 เซนติพอยด์ โดยทรีตเมนต์ที่ 2 มีค่าความหนืดสูงสุดและทรีตเมนต์ที่ 1 มีค่าความหนืดต่ำสุด และมีคะแนนการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสทุกด้านที่ทดสอบไม่แตกต่างกัน โดยมีคะแนนความชอบโดยรวมอยู่ในระดับชอบปานกลาง เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงสุด (6.85 มิลลิกรัมต่อลิตร) สอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH (4.44 mM VCEAC) และวิธี FRAP (100.77 mg Fe(III)/L) ที่เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ปริมาณกาบาในเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีค่าอยู่ระหว่าง 11.69 - 21.68 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 3 มีปริมาณกาบาสูงสุด และเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 2 มีปริมาณกาบาต่ำสุด

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

คำสำคัญ : ข้าวเหนียวดำ ข้าวหมาก เครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก กาบา สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

Research Title Effect of starter culture on sweet fermented rice products from germinated black glutinous brown rice on gamma-amino butyric acid (GABA) and bioactive compounds content, developing sweet fermented rice beverage and effect of substances extracted from sweet fermented rice products on inhibition enter pathogenic bacteria

Researcher Assit. Prof. Dr.Pornpan Phuapaiboon

Organization Major of Food Technology, Faculty of Agricultural Technology
Rajabhat Maha Sarakham University

Year 2019

ABSTRACT

The aim of this research is to investigate the effect starter culture in the production of sweet fermented rice (Khaow-Mak) from germinated black glutinous brown rice and developed into a sweet fermented rice beverage. The mix of starter culture of mold and yeast were produced Thai traditional fermentation starter (Loog-Pang) as 3 recipes: recipe 1: *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 + *Saccharomycopsis fibuligera* TISTR 5188; recipe 2: *A. rouxii* TISTR 3182 + *Hansenula anomala* TISTR 5113; recipe 3: *A. rouxii* TISTR 3182 + *S. fibuligera* TISTR 5188 + *H. anomala* TISTR 5113. The production of Khaow-Mak from germinated black glutinous brown rice was compared to Khaow-Mak from ungerminated black glutinous brown rice. Loog-Pang was used for designing experiments of 4 treatments: treatment 1: germinated rice + Loog-Pang recipe 1; treatment 2: germinated rice + Loog-Pang recipe 2; treatment 3: germinated rice + Loog-Pang recipe 3; treatment 4: ungerminated rice + Loog-Pang recipe 3. The effect of Loog-Pang on fermentation of Khaow-Mak at 30°C for 72 hours was study. The results showed that the treatment 1 had sweet rice liquid more than treatment 2, 3 and 4. The total soluble solid content of all treatments was 28.43 to 32.20 $^{\circ}$Brix and increased the content by the time of fermentation. The pH value and the titratable acidity of all treatments ranged from 3.61 to 4.40 and 0.61 to 1.16%, respectively. The reducing sugar of all treatments was 4.05 to 268.26 mg/mL, which treatment 1 had the highest reducing sugar content. The ethyl alcohol content of all treatments was 0.50 to 1.65%, which treatment 1 and 2 have the ethyl alcohol content lower 0.5%. All of the treatment has a little brightness, redness, and yellowness. Total yeast and mold count during fermentation of all treatments was 1.89×10^{8} to 3.48×10^{9} CFU/g, which treatment 3 had the highest yeast and mold

content. The overall acceptance scores of all treatments ranged from 5.27 to 6.57, which treatment 1 and 2 had the highest overall acceptance scores as moderately like. The total anthocyanin and gamma-amino butyric acid (GABA) content of all treatments were not statistically significant, which was 12.49 to 13.26 and 3.53 to 4.12 mg/100 g dry sample, respectively. Percent DPPH scavenging activity of all Khaow-Mak crude extract samples ranged between 50.41 and 62.99%. According to % DPPH scavenging activity, vitamin c equivalent antioxidant capacity (VCEAC) ranged from 6.73 to 19.46 mM VCEAC, and Khaow-Mak crude extract from treatment 1 showed the highest VCEAC. The antioxidant activities assayed using ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods showed that antioxidant capacities of all Khaow-Mak crude extract samples were ranged 136.54 to 165.15 mg Fe(III)/L, which was Khaow-Mak crude extract from treatment 1 and 2 have the highest electron donating capacity of antioxidant. All Khaow-Mak crude extract samples exhibited activity against *L. monocytgenase* DMST 17303 (inhibition zone 1.67 to 3.67 mm) and the activity against on *L. monocytgenase* DMST 17303 not statistically significant between treatment 2, 3 and 4.

The production of sweet fermented rice beverage (Khaow-Mak juice) from the 4 treatment of Khaow-Mak above was diluted with 4 times of warm water by blending and filtering through a cloth cheese. The total soluble solids of all treatment were 12 $^{\circ}$Brix. All treatments had pH values and the titratable acidity ranging from 3.48 to 3.84., and 0.16 to 0.23%, respectively, and the ethyl alcohol was not detected. All treatments had slightly brightness, redness and yellowness, which treatment 2 had the highest redness. The viscosity of all treatments was 10 to 35 cp, which treatment 2 had the highest viscosity and treatment 1 had the lowest viscosity. There were no significant differences in the sensory acceptance scores of all treatments, which the overall accept score was moderately like. Treatment 1 showed maximum total anthocyanin content as 6.85 mg/L. Likewise in DPPH and FRAP assay, treatment 1 showed the highest antioxidant activity as 4.44 mM VCEAC and 100.77 mg Fe(III)/L, respectively. The GABA content of all treatments was 11.69 to 21.68 mg/L, which treatment 3 had the highest GABA content and treatment 2 had the lowest GABA content.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

Keywords: black glutinous rice, sweet fermented rice, sweet fermented rice beverage, gamma-amino butyric acid (GABA), bioactive compounds

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบรูณ์เป็นอย่างดีได้ ด้วยความช่วยเหลือจากผู้ช่วยวิจัย นางสาวกุลภัสสร แสงทอง นางสาวพรรณนิภา นาคินชาติ นักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ที่ช่วยงานวิจัยด้วยความขยันขันแข็ง รับผิดชอบและอดทน และขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ที่ให้ทุนสนับสนุนการศึกษาวิจัยนี้

พรพรรณ พัวไพบูลย์

2562

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก

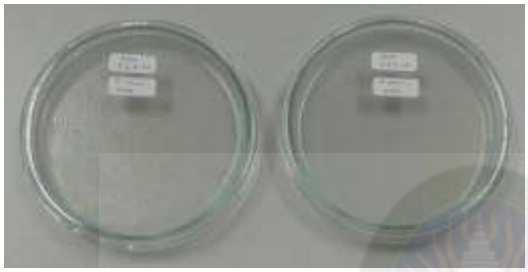
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ก

การผลิตลูกแป้งข้าวหมาก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

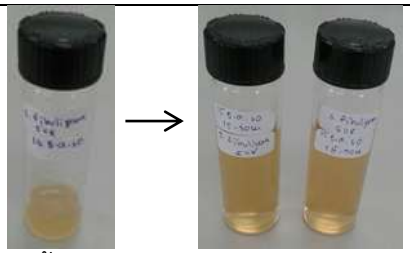
1. การเตรียมทาเนโคจิราจากเชื้อ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182

 Amylomyces rouxii TISTR 3182	นำเชื้อบริสุทธิ์ของ *A. rouxii* TISTR 3182 ที่อยู่ในรูปหลอดวุ้นเอียง (slant) ซึ่งได้รับบริการจากสถาบันวิจัยทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ออกจากตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
	ตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ ด้วยห่วงถ่ายเชื้อปลอดเชื้อ (loop) และถ่ายเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ลงบนอาหาร PDA (เตรียมจาก PDB ยี่ห้อ BIOMARK™ LABORATORIES ที่ประกอบด้วย Potato infusion from 200 g/L Dextrose 20 g/L และผสมด้วย Agar 15 g/L)
	นำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน จนเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ขึ้นเต็มหน้าจานเพาะเชื้อ ทำการตัดเชื้อราที่ขึ้นเต็มหน้าจานเพาะเชื้อออกเป็นชิ้นๆ ชิ้นละขนาด 1 ตารางเซนติเมตร
	นำไปใส่ปลายข้าวหักที่ผ่านการแช่น้ำกลั่นนาน 20 ชั่วโมง และนำไปใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ผ่านการสเตอไรด์ด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซสเซียส นาน 30 นาที แล้วปล่อยให้เย็น จำนวน 13 ชิ้น

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

	นำไปบ่มให้เชื้อราขึ้น ที่ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

2. การเตรียมเชื้อ *Saccharomycopsis fibuligera* TISTR 5118 และ *Hansenula anomala* TISTR 5113

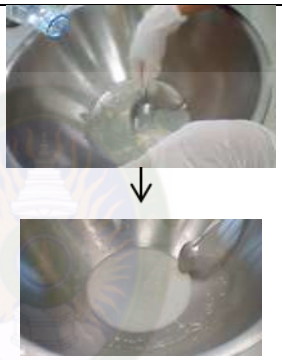
***Saccharomycopsis fibuligera* TISTR 5118**	***Hansenula anomala* TISTR 5113**
 หลอดเชื้อแห้งแข็ง (revival of freeze-dried culture) *S. fibuligera* TISTR 5118	 หลอดเชื้อแห้งแข็ง(revival of freeze-dried culture) *H. anomala* TISTR 5113
 ขยายเชื้อ *S. fibuligera* TISTR 5118 จากหลอดเชื้อแห้งแข็งลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth 5 มิลลิลิตร และขีดเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ YM agar นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เขย่าเป็นเวลา 25 ชั่วโมง	 ขยายเชื้อ *H. anomala* TISTR 5113 จากหลอดเชื้อแห้งแข็งลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth 5 มิลลิลิตร และขีดเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ YM agar นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เขย่าเป็นเวลา 25 ชั่วโมง
 ขยายกล้าเชื้อ *S. fibuligera* TISTR 5118 จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth 5 มิลลิลิตร มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่	 ขยายกล้าเชื้อ *H. anomala* TISTR 5113 จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth 5 มิลลิลิตร มา 1 มิลลิลิตร ใสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศา

***Saccharomycopsis fibuligera* TISTR 5118**	***Hansenula anomala* TISTR 5113**
อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เขย่าเป็นเวลา 48 ชั่วโมง	เซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เขย่าเป็นเวลา 48 ชั่วโมง
นำเชื้อ *S. fibuligera* TISTR 5118 ไปผลิตลูกแป้งข้าวหมาก โดยเชื้อมีจำนวน 1.9×10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร จากการตรวจวิเคราะห์จำนวนด้วยเทคนิคเกลี่ยเชื้อ (spread plate technique) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YM agar ที่นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง	นำเชื้อ *H. anomala TISTR 5113* ไปผลิตลูกแป้งข้าวหมาก โดยเชื้อมีจำนวน 1.2×10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร จากการตรวจวิเคราะห์จำนวนด้วยเทคนิคเกลี่ยเชื้อ (spread plate technique) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YM agar ที่นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

3. ขั้นตอนการผลิตลูกแป้งข้าวหมากจากเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์

ลูกแป้งข้าวหมากสูตร 1 (*A. rouxii* TISTR 3182 + *S. fibuligera* TISTR 5118)	**ลูกแป้งข้าวหมากสูตร** 2 (*A. rouxii* TISTR 3182 + *H. anomala* TISTR 5113)	**ลูกแป้งข้าวหมากสูตร 3** (*A. rouxii* TISTR 3182 + *S. fibuligera* TISTR 5118 + *H. anomala* TISTR 5113)
 + = 	 + = 	 + =

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ลูกแป้งข้าวหมากสูตร 1 (*A. rouxii* TISTR 3182 + *S. fibuligera* TISTR 5118)	**ลูกแป้งข้าวหมากสูตร** 2 (*A. rouxii* TISTR 3182 + *H. anomala* TISTR 5113)	**ลูกแป้งข้าวหมากสูตร 3** (*A. rouxii* TISTR 3182 + *S. fibuligera* TISTR 5118 + *H. anomala* TISTR 5113)
นำทาเนโคจิราที่ผ่านการบดให้ละเอียดด้วยโถบดของเครื่องปั่นอเนกประสงค์ 11.25 กรัม ผสมกับ *S. fibuligera* TISTR 5118 3.75 มิลลิลิตร	นำทาเนโคจิราที่ผ่านการบดให้ละเอียดด้วยโถบดของเครื่องปั่นอเนกประสงค์ 11.25 กรัม ผสมกับเชื้อ *H. anomala* TISTR 5113 3.75 มิลลิลิตร	นำทาเนโคจิราที่ผ่านการบดให้ละเอียดด้วยโถบดของเครื่องปั่นอเนกประสงค์ 11.25 กรัม ผสมกับเชื้อ *S. fibuligera* TISTR 5118 1.88 มิลลิลิตร และ *H. anomala* TISTR 5113 1.88 มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 80 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน	 เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 80 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน	เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 80 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
เติมแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และปล่อยให้เย็น จำนวน 100 กรัม คลุกเคล้าแป้งให้เข้ากัน	เติมแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และปล่อยให้เย็น จำนวน 100 กรัม คลุกเคล้าแป้งให้เข้ากัน	เติมแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และปล่อยให้เย็น จำนวน 100 กรัมคลุกเคล้าแป้งให้เข้ากัน

ลูกแป้งข้าวหมากสูตร 1 (*A. rouxii* TISTR 3182 + *S. fibuligera* TISTR 5118)	**ลูกแป้งข้าวหมากสูตร** 2 (*A. rouxii* TISTR 3182 + *H. anomala* TISTR 5113)	**ลูกแป้งข้าวหมากสูตร 3** (*A. rouxii* TISTR 3182 + *S. fibuligera* TISTR 5118 + *H. anomala* TISTR 5113)
↓ ↓	↓ ↓	↓ ↓
ปั้นเป็นก้อนกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร นำไปวางบนตะแกรง คลุมด้วยผ้าขาวบาง บ่มที่อุณหภูมิห้องในห้องที่มีอากาศถ่ายเท เป็นเวลา 2 วัน อบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน	ปั้นเป็นก้อนกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร นำไปวางบนตะแกรง คลุมด้วยผ้าขาวบาง บ่มที่อุณหภูมิห้องในห้องที่มีอากาศถ่ายเท เป็นเวลา 2 วัน อบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน	ปั้นเป็นก้อนกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร นำไปวางบนตะแกรง คลุมด้วยผ้าขาวบาง บ่มที่อุณหภูมิห้องในห้องที่มีอากาศถ่ายเท เป็นเวลา 2 วัน อบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน
เก็บใส่ถ้วยพลาสติก ปิดฝาแน่น รอการนำไปใช้ผลิตข้าวหมาก	เก็บใส่ถ้วยพลาสติก ปิดฝาแน่น รอการนำไปใช้ผลิตข้าวหมาก	เก็บใส่ถ้วยพลาสติก ปิดฝาแน่น รอการนำไปใช้ผลิตข้าวหมาก

มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ข

การผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้อง

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1. การผลิตข้าวเหนียวดำกล้องงอก

	นำข้าวเหนียวดำกล้องมาใส่ลงในอ่างผสมและใส่น้ำกรองให้ท่วมเมล็ดข้าว
	นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่งโมง
	หลังจากแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำข้าวเหนียวดำกล้องมาล้างด้วยน้ำกรอง
	นำมาห่อด้วยผ้าขาวบางชุ่มน้ำ 4 ชั้น แผ่ให้เต็มกล่องพลาสติก โดยมีความความหนา 2-3 เซนติเมตร
	ใช้ผ้าขาวบางชุ่มน้ำปิดทับด้านบนอีก 1 ชั้น

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

	ปิดฝากล่องไม่แน่นและให้มีอากาศถ่ายเท บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง
	หลังการบ่ม 4 ชั่วโมง นำข้าวกล้องออกมาล้างด้วยน้ำกรอง โดยการซาวเบา ๆ แล้วเทน้ำทิ้ง
	หลังจากนั้นนำกลับไปห่อด้วยผ้าขาวบางและบรรจุใส่กล่องเหมือนเดิม แล้วทิ้งไว้ในกล่องอีกเป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำออกมาล้างด้วยน้ำกรองทุก ๆ 4 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง
	จะสังเกตเห็นตุ่มที่จมูกข้าวเริ่มงอกออกมา จะได้เป็นข้าวเหนียวดำกล้องงอก

2. ขั้นตอนการทำข้าวหมาก

	นำข้าวเหนียวดำกล้องที่ผ่านการเพาะงอกหรือไม่ได้เพาะงอกไปนึ่งด้วยเตาแก๊สเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนข้าวเหนียวนิ่ม
	นำข้าวเหนียวมาผึ่งบนตะแกรงพักขนมใช้ผ้าขาวบางรอง 1 ชั้น พักให้ข้าวเย็น

ราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM UNIVERSITY

	นำมาล้างด้วยน้ำกรองหลาย ๆ ครั้ง จนกว่าจะหมดยางข้าว แล้วนำไปตากบนตะแกรงมีผ้าขาวบางรอง 1 ชั้น เกลี่ยข้าวเหนียวให้กระจายบนผ้าขาวบาง พักให้สะเด็ดน้ำ
	นำข้าวเหนียวมาแยกผสมกับลูกแป้งข้าวหมาก 3 สูตร และน้ำตาลทราย โดยใช้อัตราส่วนข้าว 2 กิโลกรัม ต่อน้ำตาลทรายขาว 500 กรัม
	คลุกเคล้าให้ส่วนผสมเข้ากัน ทิ้งไว้ส่วนผสมชื้นสักครู่
	นำส่วนผสมใส่กล่องพลาสติก จากนั้นปิดฝากล่องให้สนิท
	นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ได้เป็นผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก โดยผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้องเปรียบเทียบกับข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้องงอก โดยมีขั้นตอนการผลิตเหมือนกับข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้องงอก
	เมื่อครบเวลาบ่ม ได้ผลิตภัณฑ์ข้าวหมากเหนียวดำกล้อง 4 ทรีตเมนต์

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ค

การผลิตเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ขั้นตอนการผลิตเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก

	นำข้าวหมากที่ได้จากกระบวนการผลิตทั้ง 4 ทรีตเมนต์ มาเติมน้ำอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนข้าวหมาก : น้ำ เป็น 1:4 ปั่นด้วยเครื่องปั่นอเนกประสงค์เป็นเวลา 1 นาที
	นำมากรองเอาเฉพาะส่วนน้ำโดยกรองผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น นำไปปรับค่าของแข็งที่ละลายได้ของเครื่องดื่มให้คงที่ ที่ 12 องศาบริกซ์ ด้วยน้ำตาลทรายขาว
	นำเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากที่ได้ทั้ง 4 สูตร มาฆ่าเชื้อด้วยวิธีพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
	นำมาทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วด้วยการแช่ในอ่างน้ำแข็ง
	บรรจุใส่ขวดแก้วปลอดเชื้อ นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ทางเคมีและการเตรียมบัฟเฟอร์

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1. การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

เครื่องมือ

เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

วิธีทดลอง

นำตัวอย่างข้าวหมากหรือเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่างซึ่งมีการปรับเทียบมาตรฐาน (calibration) ด้วยระบบ two-point calibration คือ สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4 และ 7 โดยให้ค่า slop ที่ยอมรับได้อยู่ในช่วงตั้งแต่ร้อยละ 95 ขึ้นไป

2. การวิเคราะห์ปริมาณกรดจากการไตเตรท (titratable acidity: TA)

อุปกรณ์

1) เครื่องผสมสารละลาย vortex mixer
2) บิวเรต ที่จับบิวเรต ฐานตั้งเหล็ก
3) ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร

สารเคมี

1) สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน เข้มข้นร้อยละ 1

ชั่งฟีนอล์ฟทาลีน 1 กรัม ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 75 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

2) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 นอร์มอล

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

วิธีทดลอง

1) ชั่งตัวอย่างข้าวหมากหรือเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากน้ำหนักแน่นอนประมาณ 3 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร

2) ผสมให้เข้ากันกับน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องผสมสารละลาย vortex mixer

3) หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด เขย่าให้เข้ากัน แล้วทำการไตเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนได้จุดยุติ บันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้

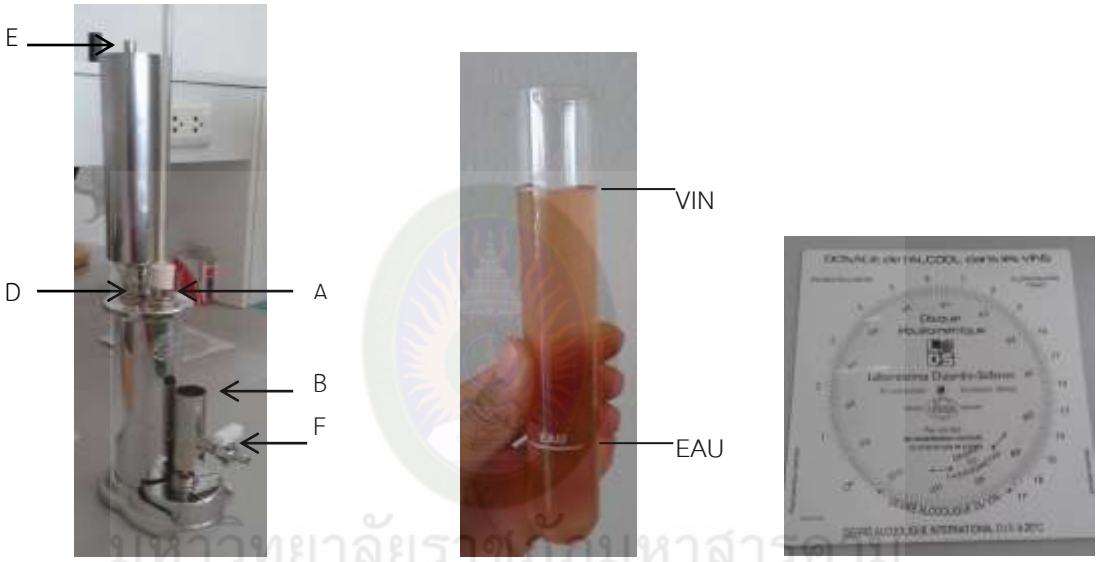
4) นำผลที่ได้มาคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดแลคติก

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละต่อน้ำหนัก)} = \frac{\text{ปริมาตร NaOH ที่ใช้} \times \text{ความเข้มข้น NaOH} \times 0.09 \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้}}$$

3. การวัดปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยเครื่องอีบูลลิโอมิเตอร์

อีบูลลิโอมิเตอร์เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดเอทิลแอลกอฮอล์โดยการหาจุดเดือดของน้ำเทียบกับจุดเดือดของตัวอย่างที่วัด เครื่องมือประกอบด้วยโลหะทรงกระบอก 2 ส่วนต่อกัน ดังภาพที่ ก.1 ทรงกระบอกส่วนล่างบรรจุสารละลายที่ต้องการหาปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ ในช่อง A ใช้เสียบเทอร์โมมิเตอร์สำหรับอ่านอุณหภูมิไว้ ทรงกระบอกส่วนบนมีจุด E ใช้บรรจุน้ำ เพื่อหล่อน้ำให้เย็น ทรงกระบอกส่วนบนและส่วนล่างต่อกันที่จุด D จุด F เป็นก๊อกที่ใช้ระบายสารละลายออกทิ้ง และจุด B เป็นปล่องสำหรับรวมเปลวไฟจากตะเกียงซึ่งวางไว้ใต้ปล่องนี้



ภาพที่ ง.1 อีบูลลิโอมิเตอร์ (ก) หลอดทดลอง (ข) และแผ่นอ่านค่าปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ (ค)

การหาจุดเดือดของน้ำ

1) ตวงน้ำกลั่น 30 มิลิลิตร หรือใช้หลอดที่มากับเครื่องมือ โดยตวงให้ถึง “EAU” ลงในช่องบรรจุสาร A ในขณะเดียวกันเติมน้ำเย็นลงไปในส่วนของชุดควบแน่น E

2) นำเทอร์โมมิเตอร์ใส่ลงไปในตำแหน่งสำหรับอ่านอุณหภูมิ จุดตะเกียงแอลกอฮอล์ต้มจนเดือด

3) อ่านค่าอุณหภูมิจากเทอร์โมมิเตอร์เมื่อมีค่าคงที่ประมาณ 15-30 วินาที

4) จุดเดือดของน้ำที่อ่านได้ นำค่าที่ได้ไปตั้งในแผ่นอ่านเปอร์เซ็นต์เอทิลแอลกอฮอล์ (Dosage del’ Alcohol dans les VINS) โดยตั้งจุดเดือดของน้ำที่อ่านได้ (ดูสเกลด้านใน) ให้ตรงกับ 0.0% เอทิลแอลกอฮอล์ (ดูสเกลด้านนอก) หรือตำแหน่งที่มีเครื่องหมาย

การหาจุดเดือดของสารตัวอย่าง

1) ตวงตัวอย่างน้ำข้าวหมากหรือเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก 50 มิลลิลิตร หรือใช้หลอดที่มากับเครื่องมือ โดยตวงให้ถึง “Vin” ใส่ลงในช่องบรรจุสาร A ในขณะเดียวกันเติมน้ำเย็นลงไปในส่วนของชุดควบแน่น E

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

2) นำเทอร์โมมิเตอร์ใส่ลงไปในตำแหน่งสำหรับอ่านอุณหภูมิ จุดตะเกียงแอลกอฮอล์ ต้มจนเดือด

3) อ่านค่าอุณหภูมิจากเทอร์โมมิเตอร์เมื่อมีค่าคงที่ประมาณ 15-30 วินาที

4) อ่านร้อยละเอทิลแอลกอฮอล์ของสารตัวอย่าง (ดูที่สเกลด้านนอก) ที่ตรงกับจุดเดือดของสารตัวอย่าง (ดูสเกลด้านใน) จากแผ่นอ่านร้อยละเอทิลแอลกอฮอล์

การคำนวณเทียบจากแผ่นสเกล

โดยให้จุดเดือดของน้ำกลั่นมาอยู่ที่ตำแหน่ง 0 ของแผ่นเปรียบเทียบอุณหภูมิ (Degree Alcoolique Du Vin) จากจุดเดือดของสารตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ ให้เทียบสเกลด้านใน (Degres Du Thermometre) แล้วอ่านค่าปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) ที่สเกลด้านนอก

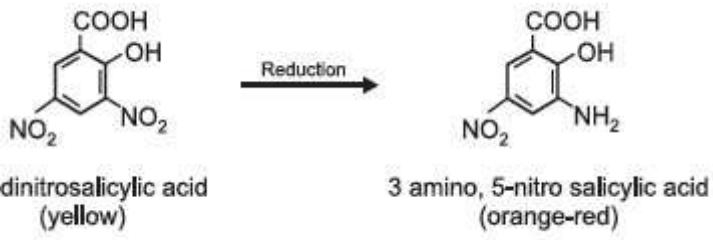
4. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS)

วิธีการนี้สามารถใช้ตรวจหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีปริมาณอยู่ในช่วง 5-500 ไมโครกรัมของน้ำตาลกลูโคส

หลักการทางปฏิกิริยา

การต้มน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายด่างที่มีกรดไนโตรซาลิไซลิค ซึ่งสารเหล่านี้จะเปลี่ยนรูปไปเป็นสารที่มีสีเข้มขึ้น ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นแสงช่วง 500-550 นาโนเมตร ปฏิกิริยานี้ไม่หยุดจนกว่าจะเกิดผลิตภัณฑ์หมด เชื่อว่าสีของผลิตภัณฑ์นั้นเป็นสีของ 3-amino-5-nitrosalicylic acid ดังภาพที่ ก.2

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY



ภาพที่ ง.2 ปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์และสาร 3,5-dinitrosalicylic acid ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีเข้มของ 3-amino-5-nitrosalicylic acid

สารเคมี

1) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร

2) สารละลาย DNS

เตรียมโดยละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) 2.5 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต (rochelle salt) ลงไป 75 กรัม และคนจนกระทั่งสารละลายหมด จึงเติมน้ำให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 250 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีน้ำตาลที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งสามารถเก็บไว้ใช้ได้นานหลายสัปดาห์

วิธีวิเคราะห์

1) ดูดตัวอย่างน้ำต้อยที่เกิดจากหมัก นำมาปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 xg และนำมาเจือจางให้เหมาะสม นำตัวอย่างมาตรวจหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง สำหรับหลอดที่ไม่มีตัวอย่าง (blank) ใส่น้ำกลั่น

2) เติมสารละลาย DNS ลงไปในแต่ละหลอด ๆ ละ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

3) ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 20 นาที

4) ทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว โดยนำหลอดไปแช่ในอ่างน้ำแข็ง

5) เติมน้ำกลั่นให้ครบ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

6) นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV/Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลที่ทราบค่าความเข้มข้นที่แน่นอน

กราฟมาตรฐานน้ำตาลรีดิวซ์

1) การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

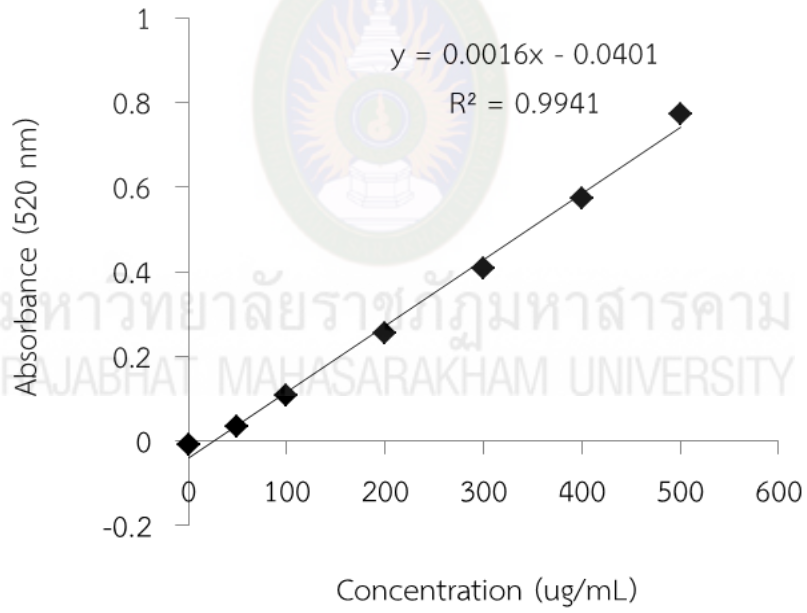
ชั่งกลูโคส 0.1 กรัม และละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร ใช้เป็นสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่มีปริมาณกลูโคส 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2) วิเคราะห์ปริมาณกลูโคสโดยใช้สารละลาย DNS

ดูดสารละลายมาตรฐานกลูโคส 1.0 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของกลูโคสในระดับต่าง ๆ ตั้งแต่ 0-500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เติมสารละลาย DNS 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และดำเนินการตามวิธีข้างต้น นำค่าที่ได้มา plot เป็นกราฟมาตรฐาน ดังตารางที่ ง.1 และภาพที่ ง.3

ตารางที่ ง.1 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกลูโคสระดับต่าง ๆ กับค่า Absorbance ที่ 520 นาโนเมตร ที่ได้จากการวิเคราะห์กลูโคสด้วยสารละลาย DNS

Glucose concentration (µg/mL)	Absorbance at 520 nm
0	-0.007398582
50	0.033484303
100	0.106290407
200	0.25552219
300	0.407909091
400	0.572498179
500	0.772431398



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาพที่ ง.3 กราฟมาตรฐานน้ำตาลรีดิวซ์

5. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยใช้วิธีอบในตู้อบลมร้อน (AOAC, 2000)

อุปกรณ์ เครื่องมือ

1) ตู้อบลมร้อน
2) ถ้วยครูซิเบิ้ล (crucible)
3) โถดูดความชื้น
4) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีทดลอง

1) อบถ้วยครูซิเบิ้ลในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ถึง 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก

2) ทำเช่นเดียวกับข้อ 1 ซ้ำ จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1 ถึง 3 มิลลิกรัม

3) ชั่งน้ำหนักตัวอย่างข้าวหมากหรือข้าวหมากผงให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 3 ถึง 5 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักดีแล้ว

4) นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ถึง 6 ชั่วโมง แล้วจึงนำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่างนั้น จากนั้นนำกลับไปเข้าตู้อบอีกและทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักแห้งที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1 ถึง 3 มิลลิกรัม ซึ่งน้ำหนักที่หายไปเป็นน้ำหนักของความชื้น

การคำนวณ

ปริมาณความชื้น (ร้อยละต่อน้ำหนัก) = $\frac{(W_1-W_2)}{W_1} \times 100$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

6. การเตรียมบัฟเฟอร์

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
Rajabhat Mahasarakham University

โพแทสเซียมคลอไรด์บัฟเฟอร์ ความเป็นกรด-เบส 1 ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์

ชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ 1.86 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ ละลายด้วยน้ำกลั่น 980 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (6.3 มิลลิลิตร) จนได้ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 1 ถ่ายลงขวดปรับปริมาตร 1 ลิตร ปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

โซเดียมอะซิเตรตบัฟเฟอร์ ความเป็นกรด-เบส 4.5 ความเข้มข้น 0.04 โมลาร์

ชั่งโซเดียมอะซิเตรต 54.43 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ ละลายด้วยน้ำกลั่น 960 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (20 มิลลิลิตร) จนได้ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.5 ถ่ายลงขวดปรับปริมาตร 1 ลิตร ปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

ภาคผนวก จ

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ YM Broth

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

เปปโตน	5.00 กรัม
สารสกัดยีสต์	3.00 กรัม
สารสกัดมอลต์	3.00 กรัม
กลูโคส	100.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น เทใส่ขวดแก้วฝาเกลียว นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ : การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ YM Agar เติมผงวุ้น 15 กรัมต่อลิตร

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) (Himedia, India)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Potatoes infusion from	200.00 กรัม
Dextrose	20.00 กรัม
Agar	15.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 39 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดและคนบ่อย ๆ จนวุ้นละลาย เทใส่ขวดแก้วฝาเกลียว นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิ 45 ถึง 50 องศาเซลเซียส ปรับความเป็นกรด-ด่าง เป็น 3.5 โดยใช้กรดทาร์ทาริกปลอดเชื้อ เข้มข้นร้อยละ 10 และผสมให้เข้ากัน เทใส่จานเพาะเชื้อปลอดเชื้อ จานละ 15 มิลลิลิตร และปล่อยให้อาหารแข็งตัว

3. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB) (Himedia, India)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Peptic digest of animal tissue	5.00 กรัม
Sodium chloride	5.00 กรัม
Beef extract	1.50 กรัม
Yeast extract	1.50 กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ NB 13 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนอาหารละลายหมดบนแผ่นให้ความร้อนไฟฟ้าแล้วแบ่งใส่หลอดทดลองฝาเกลียว นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth (TSB) (Mikrobiologie, Germany)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Peptone from casein	17.00 กรัม
Sodium from soymeal	3.00 กรัม
D(+)Glucose	2.50 กรัม
Sodium chloride	5.00 กรัม
di-Potassium hydrogen phosphate	2.50 กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอดทดลองฝาเกลียว นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

6. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar (TSA) (Mikrobiologie, Germany)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Peptone from casein	15.00 กรัม
Sodium from soymeal	15.00 กรัม
Sodium chloride	5.00 กรัม
Agar	15.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดบนแผ่นความร้อนไฟฟ้า แบ่งใส่ขวดเก็บสารละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปล่อยให้อาหารเย็นตัวลง เทใส่จานเพาะเชื้อปลอดเชื้อ จานละ 15 มิลลิลิตร และปล่อยให้อาหารแข็งตัว

7. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird Parker (BP) agar base (Himedia, India)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Casein enzymic hydrolysate	10.00 กรัม
Beef extract	5.00 กรัม
Yeast extract	1.00 กรัม

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

Glycine	12.00 กรัม
Sodium pyruvate	10.00 กรัม
Lithium chloride	5.00 กรัม
Agar	20.00 กรัม
น้ำกลั่น	950.00 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ BP agar base 63 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร กวนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปต้มให้เดือดจนอาหารหลอมละลาย แล้วใส่ขวดเก็บสารละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปล่อยให้เย็นลงอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเติม Egg Yolk Tellurite Emuistion (Himedia, India) 50 มิลลิลิตร ด้วยวิธีปลอดเชื้อ ผสมให้เข้ากัน เทใส่จานเพาะเชื้อปลอดเชื้อ จานละ 15 มิลลิลิตร และปล่อยให้อาหารแข็งตัว

8. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose-Lysine Deoxycholate Agar (XLD Agar) (Himedia, India)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Yeast extract	3.00 กรัม
L-Lysine	5.00 กรัม
Lactose	7.50 กรัม
Sucrose	7.50 กรัม
Xylose	3.50 กรัม
Sodium chloride	5.00 กรัม
Sodium deoxycholate	2.50 กรัม
Sodium thiosulphate	6.80 กรัม
Ferric ammonium citrate	0.80 กรัม
Phenol red	0.08 กรัม
Agar	15.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD Agar 56.68 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด และคนบ่อย ๆ บนแผ่นความร้อนไฟฟ้า แล้วใส่ขวดเก็บสารละลาย นำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ปล่อยให้เย็นถึงอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เทใส่จานเพาะเชื้อปลอดเชื้อ จานละ 15 มิลลิลิตร และปล่อยให้อาหารแข็งตัว

หมายเหตุ : ไม่ควรเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณมาก เนื่องจากต้องให้ความร้อนเป็นเวลานาน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

9. สารละลายเปปโตน วอร์เตอร์ (Peptone Water) (Himedia, India)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Peptic digest of animal tissue	10.00 กรัม
Sodium chloride	5.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

ชั่ง Peptone Water 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แบ่งเทใส่ขวดแก้วฝาเกลียว และหลอดทดลอง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ฉ

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของข้าวหมากและเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

วันที่..... ฉบับที่.....

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส
ชื่อผลิตภัณฑ์ ข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้อง

<u>ส่วนที่ 1</u> ข้อมูลทางประชากรศาสตร์

คำแนะนำ : กรุณาใส่เครื่องหมาย / ในวงเล็บ ( ) หน้าคำตอบที่ตรงกับคุณสมบัติของท่าน

1. เพศ

( ) 1) หญิง ( ) 2) ชาย

2. อายุ

( ) 1) ต่ำกว่า 20 ปี ( ) 2) 21 – 30 ปี

( ) 3) 31 – 40 ปี ( ) 4) 41 – 45 ปี

( ) 4. 45 ปี ขึ้นไป

3. ระดับการศึกษาปัจจุบัน

( ) 1) ประถมศึกษา ( ) 2) มัธยมศึกษาหรือเทียบเท่า

( ) 3) อนุปริญญา หรือเทียบเท่า ( ) 4) ปริญญาตรี

( ) 4) สูงกว่าปริญญาตรี

4. อาชีพ

( ) 1) นิสิต/นักศึกษา ( ) 2) ค้าขาย/ธุรกิจส่วนตัว

( ) 3) แม่บ้าน ( ) 4) ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ

( ) 5) พนักงานเอกชน ( ) 6) รับจ้าง

( ) 7) อื่นๆ โปรดระบุ.....

5. รายได้ต่อเดือน

( ) 1) น้อยกว่า 1,000 บาท ( ) 2) 1,000 – 5,000 บาท

( ) 3) 5,001 – 10,000 บาท ( ) 4) 10,001 – 15,000 บาท

( ) 5) 15,001 – 20,000 บาท ( ) 6) มากกว่า 20,000 บาท

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

<u>ส่วนที่ 2</u> ข้อมูลด้านการยอมรับผลิตภัณฑ์ ข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้อง
คำอธิบาย

1. ลักษณะปรากฏ
   1) เมล็ดข้าวเหนียวยังคงรูป น้ำพอท้วมข้าวเหนียว
      น้ำมีลักษณะใส ไม่มีราปรากฏ เท่ากับ 9 คะแนน
   2) เมล็ดข้าวเหนียวไม่คงรูป น้ำมากเกินไปหรือไม่มีน้ำ
      น้ำมีลักษณะขุ่น ไม่มีราปรากฏ เท่ากับ 1 คะแนน
2. สี
   1) สีที่ดีตามธรรมชาติ เท่ากับ 9 คะแนน
   2) สีไม่เป็นไปตามธรรมชาติ เท่ากับ 1 คะแนน
3. กลิ่นแอลกอฮอล์
   1) มีกลิ่นรสของแอลกอฮอล์เล็กน้อย เท่ากับ 9 คะแนน
   2) ไม่มีกลิ่นรสของแอลกอฮอล์
      หรือมีกลิ่นรสของแอลกอฮอล์มากเกินไป เท่ากับ 1 คะแนน
4. รสหวาน
   1) มีรสหวานเล็กน้อย เท่ากับ 9 คะแนน
   2) ไม่มีรสหวานหรือมีรสหวานมากเกินไป เท่ากับ 1 คะแนน
5. รสเปรี้ยว
   1) มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย เท่ากับ 9 คะแนน
   2) ไม่มีรสเปรี้ยวหรือมีรสเปรี้ยวจัด เท่ากับ 1 คะแนน
6. เนื้อสัมผัส (ความนุ่ม)
   1) นุ่ม ไม่เป็นไตแข็ง เท่ากับ 9 คะแนน
   2) ไม่นุ่ม เป็นไตแข็ง เท่ากับ 1 คะแนน
7. ความชอบโดยรวม
   1) มีลักษณะที่ดีทุกด้านที่ทดสอบ เท่ากับ 9 คะแนน
   2) มีลักษณะที่ไม่ดีทุกด้านที่ทดสอบ เท่ากับ 1 คะแนน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

คำแนะนำ : กรุณาพิจารณา ทดสอบดม และทดสอบชิมผลิตภัณฑ์ จากนั้นให้คะแนนให้ตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยมีเกณฑ์การให้คะแนนดังนี้

ชอบมากที่สุด	9 คะแนน	ไม่ชอบเล็กน้อย	4 คะแนน
ชอบมาก	8 คะแนน	ไม่ชอบปานกลาง	3 คะแนน
ชอบปานกลาง	7 คะแนน	ไม่ชอบมาก	2 คะแนน
ชอบเล็กน้อย	6 คะแนน	ไม่ชอบมากที่สุด	1 คะแนน
เฉยๆ	5 คะแนน		

ความชอบทางประสาทสัมผัส	**ทรีตเมนต์**			
	281	**526**	**752**	**936**
ลักษณะปรากฏ				
สี				
กลิ่นแอลกอฮอล์				
รสหวาน				
รสเปรี้ยว				
เนื้อสัมผัส (ความนุ่ม)				
ความชอบโดยรวม				

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

.....

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส
ชื่อผลิตภัณฑ์ เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้อง

<u>ส่วนที่ 1</u> ข้อมูลทางประชากรศาสตร์

คำแนะนำ : กรุณาใส่เครื่องหมาย / ในวงเล็บ ( ) หน้าคำตอบที่ตรงกับคุณสมบัติของท่าน

1. เพศ

( ) 1) หญิง ( ) 2) ชาย

2. อายุ

( ) 1) ต่ำกว่า 20 ปี ( ) 2) 21 – 30 ปี

( ) 3) 31 – 40 ปี ( ) 4) 41 – 45 ปี

( ) 4) 45 ปี ขึ้นไป

3. ระดับการศึกษาปัจจุบัน

( ) 1) ประถมศึกษา ( ) 2) มัธยมศึกษาหรือเทียบเท่า

( ) 3) อนุปริญญา หรือเทียบเท่า ( ) 4) ปริญญาตรี

( ) 4) สูงกว่าปริญญาตรี

4. อาชีพ

( ) 1) นิสิต/นักศึกษา ( ) 2) ค้าขาย/ธุรกิจส่วนตัว

( ) 3) แม่บ้าน ( ) 4) ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ

( ) 5) พนักงานเอกชน ( ) 6) รับจ้าง

( ) 7) อื่นๆ โปรดระบุ.....

5. รายได้ต่อเดือน

( ) 1) น้อยกว่า 1,000 บาท ( ) 2) 1,000 – 5,000 บาท

( ) 3) 5,001 – 10,000 บาท ( ) 4) 10,001 – 15,000 บาท

( ) 5) 15,001 – 20,000 บาท ( ) 6) มากกว่า 20,000 บาท

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

<u>ส่วนที่ 2</u> ข้อมูลด้านการยอมรับผลิตภัณฑ์ เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้อง

คำอธิบาย

1. ลักษณะปรากฏ
    3) เป็นของเหลวขุ่น อาจตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไว้ เท่ากับ 9 คะแนน
    4) เป็นของเหลวใสหรือข้นหนืดมากเกินไป เท่ากับ 1 คะแนน
2. สี
    3) สีที่ดีตามธรรมชาติ เท่ากับ 9 คะแนน
    4) สีไม่เป็นไปตามธรรมชาติ เท่ากับ 1 คะแนน
3. กลิ่นของข้าวหมาก
    3) มีกลิ่นที่ดีตามธรรมชาติของข้าวหมาก เท่ากับ 9 คะแนน
    4) มีกลิ่นเปรี้ยว บูด เท่ากับ 1 คะแนน
4. รสชาติของข้าวหมาก
    3) มีรสที่ดีตามธรรมชาติของข้าวหมาก เท่ากับ 9 คะแนน
    4) มีรสเปรี้ยว บูด เท่ากับ 1 คะแนน
5. รสชาติของเครื่องดื่ม
    3) มีรสชาติโดยรวมที่ดีของเครื่องดื่ม เท่ากับ 9 คะแนน
    4) มีรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ เท่ากับ 1 คะแนน
6. ความชอบโดยรวม
    3) มีลักษณะที่ดีทุกด้านที่ทดสอบ เท่ากับ 9 คะแนน
    4) มีลักษณะที่ไม่ดีทุกด้านที่ทดสอบ เท่ากับ 1 คะแนน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

คำแนะนำ : กรุณาพิจารณา ทดสอบดม และทดสอบชิมผลิตภัณฑ์ จากนั้นให้คะแนนให้ตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยมีเกณฑ์การให้คะแนนดังนี้

ชอบมากที่สุด	9 คะแนน	ไม่ชอบเล็กน้อย	4 คะแนน
ชอบมาก	8 คะแนน	ไม่ชอบปานกลาง	3 คะแนน
ชอบปานกลาง	7 คะแนน	ไม่ชอบมาก	2 คะแนน
ชอบเล็กน้อย	6 คะแนน	ไม่ชอบมากที่สุด	1 คะแนน
เฉยๆ	5 คะแนน		

ความชอบทางประสาทสัมผัส	**ทรีตเมนต์**			
	482	**694**	**882**	**902**
ลักษณะปรากฏ				
สี				
กลิ่นของข้าวหมาก				
รสของข้าวหมาก				
รสชาติของเครื่องดื่ม				
ความชอบโดยรวม				

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

.....

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

ข้าวเหนียวดำ หรือข้าวก่ำ เป็นข้าวพันธุ์พื้นบ้านของทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย ลักษณะที่โดดเด่นคือ มีสีม่วงทั้งลำต้นและเมล็ด โดยทั่วไปมักพบว่าเกษตรกรมีการปลูกข้าวเหนียวดำทั้งข้าวไร่และข้าวนาดำ ขณะที่ข้าวเหนียวดำใช้ได้เพียงเพื่อการบริโภคในครัวเรือนเท่านั้น อย่างไรก็ตามขณะนี้ข้าวเหนียวดำได้กลับมามีบทบาทสำคัญอีกครั้งในแง่ของการเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์บำรุงสุขภาพ ยา และเวชภัณฑ์ต่าง ๆ ข้าวเหนียวดำมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์ คือ oligomeric proanthocyanidin (OPC: โอพีซี) จัดเป็นสารชนิดหนึ่งที่อยู่ในกลุ่มไบโอฟลาโวนอยด์ (bioflavonoid) เมื่อรับประทานเข้าไปในร่างกายจะเปลี่ยนเป็นสารสีแดงชื่อแอนโทไซยานิดิน โอพีซีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ มีประสิทธิภาพในการต่อต้านอนุมูลอิสระเหนือกว่าสารต้านอนุมูลอิสระอื่น ๆ จึงได้รับการขนานนามว่า เป็นซุปเปอร์สารต้านอนุมูลอิสระ มีประสิทธิภาพแรงกว่าวิตามินซี 20 เท่า และแรงกว่าวิตามินอี 50 เท่า โดยสารโอพีซีที่พบในข้าวเหนียวดำ เป็นสารชนิดเดียวกับสารสกัดที่ได้จากองุ่นดำ องุ่นแดง เปลือกสน สารโอพีซีมีสรรพคุณช่วยป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจ ช่วยให้เส้นเลือดฝอยแข็งแรงไม่เปราะหรือแตกหักง่าย ต้านการอักเสบ ลดอาการภูมิแพ้ ป้องกันสมองเสื่อม ป้องกันการเสื่อมของดวงตา ต้อกระจก ป้องกันมะเร็ง ป้องกันริ้วรอย ฝ้า กระ ชะลอการแก่ก่อนวัย และความเสื่อมถอยของร่างกาย (Suttajit และคณะ, 2006) รวมทั้งเมล็ดข้าวกล้องสีดำมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงมากเมื่อเทียบกับเมล็ดข้าวกล้องสีขาว ข้าวกล้องมีคุณค่าทางโภชนาการที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายสูงมากกว่าข้าวขาวหรือข้าวสารเพราะข้าวกล้องยังคงมีเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวและคัพภะ (rice germ) ซึ่งประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน วิตามิน เกลือแร่ และใยอาหารในปริมาณสูง แต่ข้าวกล้องมีปัญหาเรื่องการเก็บรักษาได้ไม่นาน เสื่อมคุณภาพง่าย และข้าวกล้องเมื่อหุงสุกมีเนื้อสัมผัสที่แข็งกระด้างกว่าข้าวขาวจึงทำให้ผู้บริโภคไม่ค่อยนิยมบริโภคข้าวกล้อง การเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของข้าวด้วยการทำข้าวกล้องงอก (germinated brown rice) พบการเพิ่มขึ้นของสารชีวกิจกรรม เช่น กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริกหรือกาบา (gamma-aminobutyric acid: GABA) สารประกอบฟินอลิก (phenolic compound) แกมมาออริซานอล (gamma oryzanol) กรดเฟอร์รูลิก (ferrulic acid) ใยอาหาร (fiber) อินโนซิทอล (inositol) กรดไฟติก (phytic acid) โทโคไตรอีนอล (tocotrienols) แมกนีเซียม โพแทสเซียม และสังกะสี (Tian และคณะ, 2004; มัณฑนา, 2555) ในต่างประเทศได้มีการนำสารกาบา ที่พบในข้าวกล้องงอกมาใช้ในวงการแพทย์เพื่อรักษาโรคเกี่ยวกับประสาท เช่น โรควิตกกังวล โรคนอนไม่หลับ และโรคลมชัก เพราะสารกาบาจัดอยู่ในกลุ่มกรดโปรตีนที่ช่วยบำรุงเซลล์ประสาท ทำให้สมองเกิดการผ่อนคลาย ป้องกันการทำลายสมอง ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคสูญเสียความทรงจำ หรืออัลไซเมอร์ (Tadashi และคณะ, 2000) ข้าวเหนียวดำนอกจากใช้รับประทานเป็นข้าวแล้ว ยังสามารถทำเป็นอาหารหวานได้อีกหลายชนิด เช่น ข้าวเหนียวดำมูลกับกะทิ ข้าวเหนียวดำเปียกเผือก ข้าวหลามข้าวเหนียวดำ ข้าวแต๋นข้าวเหนียวดำ และข้าวหมากข้าวเหนียวดำ ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยมีความสนใจนำข้าวเหนียวดำกล้องที่เป็นข้าวพื้นเมือง

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือมาเพาะงอกและใช้แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากข้าวกล้องเหนียวดำงอก

ข้าวหมากเป็นอาหารหมักพื้นบ้านชนิดหนึ่งของประเทศไทย จัดเป็นอาหารหวานหรืออาหารว่าง ทำจากข้าวเหนียวขาวหรือข้าวเหนียวดำก็ได้ แต่ปัจจุบันไม่พบข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำ ข้าวหมากเป็นโปรไบโอติกอีกรูปแบบหนึ่ง โปรไบโอติก คือ อาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต สามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร สามารถใช้ในการรักษาและป้องกันโรคได้หลายชนิด ซึ่งยีสต์ในข้าวหมากจัดได้ว่าเป็นโปรไบโอติกยีสต์เช่นกัน ปัจจุบันมีการศึกษาพบว่า โปรไบโอติกกระตุ้นให้มีการสร้างสารในการต้านอนุมูลอิสระ กระตุ้นให้มีการสร้างภูมิคุ้มกัน ช่วยป้องกันมะเร็ง ช่วยทำให้ระบบทางเดินอาหารทำงานเป็นปกติ ทำให้การดูดซึมวิตามินและอาหารได้ดีขึ้น ทำให้มีการผลิตเม็ดเลือดแดงดีขึ้น ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ยับยั้งอาการท้องอืดจากการดื่มนม และช่วยให้การดูดซึมแคลเซียมดีขึ้น ทั้งยังรักษาแผลในลำไส้จากการอักเสบเรื้อรัง ซึ่งถ้าต้องการฤทธิ์เป็นโปรไบโอติกของข้าวหมาก ยีสต์ต้องยังมีชีวิตอยู่ คือต้องกินข้าวหมากสด ๆ ไม่ผ่านการต้ม ภูมิปัญญาในการใช้โปรไบโอติกในการรักษาโรคและส่งเสริมสุขภาพจึงน่าอนุรักษ์ไว้ให้กับชนรุ่นหลังต่อไป ข้าวหมากที่ดีมีรสหวานและกลิ่นหอม การทำข้าวหมากมีกระบวนการที่ไม่ยุ่งยาก คือ นำข้าวเหนียวที่แช่ไว้มานึ่งจนสุก จากนั้นนำมาคลุกกับลูกแป้งข้าวหมากที่บดละเอียด นำไปเก็บไว้ในภาชนะที่มิดชิดหรือห่อในใบตอง หมักทิ้งไว้ 2-3 วัน ก็จะได้ข้าวหมากที่มีเมล็ดข้าวนุ่ม รสหวานปนแอลกอฮอล์ และมีกลิ่นหอม ปัจจุบันไม่ค่อยมีใครทำกันมากนัก เพราะข้าวหมากที่ทำได้ส่วนใหญ่จะมีคุณภาพไม่ค่อยดี ลูกแป้งข้าวหมากที่เลือกใช้อาจมีจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการปะปนอยู่มาก ข้าวหมากที่ได้จึงมีคุณภาพต่ำตามไปด้วย ดังนั้นการทำข้าวหมากควรเลือกลูกแป้งที่มีคุณภาพดีจึงจะได้ข้าวหมากที่มีคุณภาพดีตามต้องการ เพราะลูกแป้งถือเป็นหัวใจสำคัญในการหมักทำข้าวหมาก การทำลูกแป้งนั้นส่วนใหญ่จะอาศัยประสบการณ์ที่ถ่ายทอดกันมา ส่วนองค์ประกอบของวัตถุดิบและกรรมวิธีการผลิตนั้นจะมีรายละเอียดแตกต่างกันไป และมักถูกเก็บเป็นความลับในแต่ละท้องถิ่นนั้น ๆ กรณีที่ลูกแป้งข้าวหมากมีจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการปะปนอยู่มากข้าวหมากจะมีรสเปรี้ยว (สิรินทรเทพ, 2523)

ข้าวหมากทำมาจากข้าวเหนียวหมักด้วยลูกแป้งข้าวหมาก โดยการย่อยข้าวด้วยเอนไซม์ของเชื้อราในลูกแป้งเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล จากนั้นยีสต์ในลูกแป้งจะทำการหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในลูกแป้งข้าวหมากพบเพียงไม่กี่สกุลเท่านั้น ราที่พบส่วนใหญ่คือ *Amylomyces rouxii* และ *Rhizopus oryzae* ซึ่งมีความสามารถผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส ส่วนยีสต์ที่พบส่วนใหญ่จะเป็น *Saccharomycopsis fibuligera* (นภา, 2534) นอกจากมีบทบาทในการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์แล้วยังสามารถผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสออกมาย่อยแป้งที่เหลือเป็นน้ำตาลได้อีกด้วย (มณชัย, 2546) นอกจากนี้ยังพบยีสต์ *Hansenula* ซึ่งสามารถเปลี่ยนน้ำตาลบางส่วนเป็นเอสเทอร์ ซึ่งเป็นกลิ่นรสที่ดีของข้าวหมาก ลูกแป้งเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก เนื่องจากการผลิตลูกแป้งเป็นภูมิปัญญาพื้นบ้านต้องอาศัยความชำนาญและมีสูตรลูกแป้งที่ตกทอดมาภายในครอบครัว ทำให้ผู้ผลิตส่วนมากต้องอาศัยการซื้อลูกแป้งจากผู้ผลิตโดยเฉพาะเหล่านี้ ทำให้ไม่สามารถควบคุมคุณภาพของลูกแป้งให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ของตนได้ และผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ ดังนั้นหากสามารถพัฒนา

กล้าเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์เพื่อใช้ในการผลิตจะทำให้สามารถควบคุมกระบวนการผลิตและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้โดยไม่ต้องอาศัยลูกแป้งของผู้ผลิตเพียงไม่กี่ราย ทังนี้สิรินทรเทพ (2523) ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้เชื้อบริสุทธิ์ในการหมักข้าวหมาก พบว่าเชื้อผสมระหว่างเชื้อรา *Amylomyces* AH3 รวมกับเชื้อยีสต์ *Endomycopsis* ER10 และ *Hansenula* 4-9 สามารถผลิตข้าวหมากที่มีความหวานและกลิ่นรสดีให้คุณสมบัติที่ดีของข้าวหมาก สามารถใช้หมักแทนลูกแป้งข้าวหมากได้ ลมภูริพล (2555) ประยุกต์ใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ในกระบวนการผลิตกล้าเชื้อทางการค้า พบว่าข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *Amylomyces rouxii* ร้อยละ 5 จะคุณภาพทางประสาทสัมผัสได้ข้าวหมากในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นแอลกอฮอล์ รสหวาน ความนุ่มของข้าว และความชอบโดยรวมสูงที่สุด

ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์จากข้าวได้รับการพัฒนาเป็นอาหารในหลากหลายรูปแบบ เครื่องดื่มจากข้าวเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจ อีกทั้งข้าวหมากนับวันยิ่งเลือนหายไปจากสังคมไทย การนำข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำงอกที่ผลิตจากกล้าเชื้อบริสุทธิ์มาพัฒนารูปแบบการบริโภคเป็นเครื่องดื่ม รวมถึงการเอาเอกลักษณ์ของข้าวหมากที่มีรสชาติโดดเด่นในเรื่องของความหวานจากธรรมชาติและมีปริมาณแอลกอฮอล์ที่ต่ำ (น้อยกว่าร้อยละ 4) ซึ่งช่วยในเรื่องการสูบฉีดของโลหิตสำหรับผู้ที่มีความดันโลหิตต่ำและผนวกกับน้ำตาลที่ได้จากการย่อยข้าวเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว สามารถดูดซึมเข้าสู่แสโลหิตได้เร็ว ทำให้ผู้ที่รับประทานรู้สึกสดชื่น กระปรี้กระเปร่า (จิราภรณ์และคณะ, 2553)

เชื้อยีสต์ในข้าวหมากจัดเป็นโปรไบโอติกที่ก่อเกิดประโยชน์ต่อร่างกาย และยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค จึงมีความน่าสนใจที่จะศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากข้าวหมากในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร

งานวิจัยนี้จึงมีจุดมุ่งหมายเพื่อใช้ประโยชน์ข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองของภาคตะวันออกเฉียงเหนือแปรรูปเป็นข้าวเหนียวดำกล้องงอก และนำมาใช้ผลิตข้าวหมากด้วยกล้าเชื้อบริสุทธิ์ และพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากเพื่อสุขภาพ โดยผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากที่ได้มีการควบคุมให้มีปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำที่สุด (น้อยกว่าร้อยละ 4) และมีกลิ่นรสของน้ำข้าวหมากที่ดี รวมทั้งศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารของสารสกัดจากข้าวหมาก

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากข้าวเหนียวดำกล้องงอกซึ่งเป็นวัตถุดิบในท้องถิ่นภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
2. เพื่อศึกษาคุณภาพของข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำกล้องงอกด้วยกล้าเชื้อบริสุทธิ์
3. เพื่อศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำกล้องงอก
4. เพื่อประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของข้าวหมากที่ผลิตได้จากข้าวเหนียวดำกล้องงอก
5. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากเพื่อสุขภาพ
6. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากข้าวหมากต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร

ขอบเขตการวิจัย

1. ผลิตข้าวหมากโดยใช้ข้าวเหนียวดำกล้องพันธุ์ลืมผัวที่ปลูกในเขตอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ จำนวน 1 สายพันธุ์

2. ผลิตลูกแป้งข้าวหมาก จำนวน 3 สูตร จากเชื้อราบริสุทธิ์ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และเชื้อยีสต์บริสุทธิ์ *Saccharomycopsis fibuligera* TISTR 5188, *Hansenula anomala* TISTR 5113

3. ผลิตข้าวหมาก 4 สูตร จากข้าวเหนียวดำกล้องงอกโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมาก 3 สูตร เปรียบเทียบกับข้าวเหนียวดำกล้องไม่เพาะงอกโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมาก 1 สูตร

4. ตรวจสอบสมบัติทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ ระหว่างหมักข้าวหมาก และตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารของสารสกัดจากข้าวหมากด้วยวิธี disc diffusion

5. ศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อข้าวหมาก

6. ผลิตเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากจากข้าวหมาก จำนวน 4 สูตร

7. ตรวจสอบสมบัติทางเคมี กายภาพ และตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก

8. ศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. ข้าวหมาก หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากข้าวเหนียวดำกล้องที่ผ่านการล้าง นำมานึ่ง และล้างอีกครั้ง แล้วหมักกับลูกแป้งข้าวหมากในระยะเวลา 3 วัน เพื่อที่เชื้อราจะเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล และเชื้อยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์

2. ลูกแป้งข้าวหมาก หมายถึง ลูกแป้งที่ผลิตจากเชื้อราบริสุทธิ์ *A. rouxii* TISTR 3182 และเชื้อยีสต์บริสุทธิ์ *S. fibuligera* TISTR 5188, *H. anomala* TISTR 5113 เมื่อนำมาหมักกับข้าวเหนียวดำกล้องนึ่งแล้วสามารถทำให้เกิดน้ำตาลและแอลกอฮอล์

3. เครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก หมายถึง เครื่องดื่มที่ทำจากข้าวหมากข้าวเหนียวดำกล้องที่มีระยะเวลาหมัก 3 วัน นำมาเจือจางกับน้ำ มีปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ไม่เกินร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก

4. ลูกแป้งสูตร 1 หมายถึง ลูกแป้งที่ประกอบด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *S. fibuligera* TISTR 5188

ลูกแป้งสูตร 2 หมายถึง ลูกแป้งที่ประกอบด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *H. anomala* TISTR 5113

ลูกแป้งสูตร 3 หมายถึง ลูกแป้งที่ประกอบด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *S. fibuligera* TISTR 5188 และ *H. anomala* TISTR 5113

5. ข้าวหมากทรีตเมนต์ 1 หมายถึง ข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำกล้องงอกหมักด้วยลูกแป้งสูตร 1 ปริมาณ 4 กรัม

ข้าวหมากทรีตเมนต์ 2 หมายถึง ข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำกล้องงอกหมักด้วยลูกแป้งสูตร 2 ปริมาณ 0.5 กรัม

ข้าวหมากทรีตเมนต์ 3 หมายถึง ข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำกล้องงอกหมักด้วยลูกแป้งสูตร 3 ปริมาณ 6 กรัม

ข้าวหมากทรีตเมนต์ 4 หมายถึง ข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำกล้องหมักด้วยลูกแป้งสูตร 3 ปริมาณ 6 กรัม

6. เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ 1 หมายถึง เครื่องดื่มที่ผลิตจากข้าวหมากทรีตเมนต์ 1
เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ 2 หมายถึง เครื่องดื่มที่ผลิตจากข้าวหมากทรีตเมนต์ 2
เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ 3 หมายถึง เครื่องดื่มที่ผลิตจากข้าวหมากทรีตเมนต์ 3
เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ 4 หมายถึง เครื่องดื่มที่ผลิตจากข้าวหมากทรีตเมนต์ 4

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้กระบวนการผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำจากการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ ทำให้สามารถควบคุมคุณภาพของข้าวหมากให้สม่ำเสมอและได้คุณภาพตามต้องการ เหมาะสำหรับผู้ผลิตข้าวหมากทางการค้า

2. ได้ผลิตภัณฑ์ข้าวหมากและผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากเพื่อสุขภาพที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย จากสารอาหารจากข้าวเหนียวดำงอก จุลินทรีย์ยีสต์โพรไบโอติก และสารอาหารที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก เป็นอาหารเพื่อสุขภาพอีกหนึ่งทางเลือก

3. เพิ่มมูลค่าให้กับข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองของภาคตะวันออกเฉียงเหนือด้วยการแปรรูปเป็นข้าวหมาก และเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก

4. ช่วยอนุรักษ์อาหารหมักพื้นบ้านข้าวหมากที่คนรุ่นใหม่ส่วนมากไม่ค่อยรู้จักและไม่นิยมรับประทานให้กลับมาเป็นที่รู้จักมากขึ้น

5. ได้ข้อมูลประสิทธิภาพของสารสกัดจากข้าวหมากในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารเพื่อนำมาพัฒนาให้เกิดประโยชน์เป็นสินค้ามูลค่าเพิ่ม

6. ได้ผลงานวิจัยที่สามารถเผยแพร่ได้ในระดับนานาชาติ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม MAHASARAKHAM RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ข้าวเหนียวดำ

ข้าวเหนียวดำ (*Oryza sativa L.*) หรือ black glutinous rice เป็นพืชที่อยู่ในตระกูล Gramineae (นิจศิริ และพยอม, 2534) หรือเรียกตามภาษาพื้นเมืองของทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือว่า ข้าวก่ำ ซึ่งเป็นการเรียกตามลักษณะสีของเมล็ดที่มีสีม่วงดำ หรือแดงก่ำ ซึ่งเกิดจากสารสีแอนโทไซยานิน (anthocyanin) นิยมปลูกมากในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย พันธุ์ข้าวเหนียวดำเป็นลักษณะพันธุ์ไวแสง และเป็นข้าวเหนียวปลูกได้เฉพาะฤดูนาปี นอกจากนี้ ข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองจะมีความสามารถในการทนแล้งและฟื้นตัวจากแล้งได้ดี ต้านทานต่อเพลี้ยจักจั่นสีเขียว ลักษณะเฉพาะที่แตกต่างไปจากข้าวทั่วไปที่เห็นอย่างชัดเจน คือ การปรากฏของสีม่วงบนส่วนต่าง ๆ ของต้น เช่น กาบใบ แผ่นใบ กลีบดอก เปลือกเมล็ด และเยื่อหุ้มเมล็ด เป็นต้น ปริมาณของสีเข้มแตกต่างกันไป เป็นลักษณะเฉพาะประจำพันธุ์

1. ข้าวเหนียวดำลืมผัว

ข้าวเหนียวดำลืมผัวเป็นข้าวไร่ข้าวเหนียวดำที่มีกลิ่นหอม มีคุณค่าทางโภชนาการสูง อายุเบาและต้นเตี้ย เป็นข้าวพันธุ์พื้นเมือง มีลักษณะประจำพันธุ์คือ เป็นข้าวเหนียวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวกล้องสีดำไวต่อช่วงแสง อายุเบา เก็บเกี่ยวประมาณกลางเดือนตุลาคม ลักษณะทรงกอตั้ง ต้นแข็ง ไม่ล้มง่าย ปล้องสีเหลืองอ่อน กาบใบและใบสีเขียว ลิ้นใบสีน้ำตาลอ่อน หูใบสีเหลืองน้ำตาล ใบธงหักลง คอรวงยาว รวงค่อนข้างแน่น กลีบดอกระยะออกรวงร้อยละ 50 มีสีเขียวอ่อน เมื่ออยู่ในระยะน้ำนมกลีบดอกเปลี่ยนสีเป็นแถบสีม่วงบนพื้นสีเขียวอ่อน ต่อมาเมื่อเข้าสู่ระยะแป้งแข็งสีกลีบดอกจะเปลี่ยนเป็นสีฟ้าแถบม่วงดำ และเมื่อข้าวอยู่ในระยะสุกแก่สีเปลือกเมล็ดเปลี่ยนเป็นสีฟางแถบดำหรือสีฟาง ความสูงเฉลี่ย 151 เซนติเมตร น้ำหนักข้าวเปลือก 10.4 กิโลกรัมต่อถัง ข้าวเปลือก 1,000 เมล็ด หนัก 38.1 กรัม เปลือกเมล็ดมีสีฟางแถบดำ ข้าวเปลือกยาว 10.7 มิลลิเมตร หนา 1.9 มิลลิเมตร (ภาพที่ 2.1) คุณภาพการสีดีได้ข้าวเมล็ดเต็มและต้นข้าวร้อยละ 48.2 คุณภาพเมล็ดทางเคมีมีการสลายเมล็ดในด่างที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.4 และ 1.7 ของโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ค่าอุณหภูมิแป้งสุกปกติ ค่าอัตราการยืดตัวปกติ ระยะพักตัว 5 สัปดาห์ (วรวีร์, 2557-2558)

2. คุณค่าทางโภชนาการของข้าวเหนียวดำ

เมล็ดข้าวเหนียวดำมีสารสำคัญ ชื่อแกมมา-โอไรซานอล (gamma oryzanol) ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็ง (Huang และคณะ, 2002) สามารถลดการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และเพิ่มระดับของไขมันที่มีความหนาแน่นสูงในเลือด ลดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง (Nakamura และคณะ, 1996; Lichenstein และคณะ, 1994) มีผลต่อการทำงานของต่อมใต้สมอง ยับยั้งการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารและการรวมตัวของเกล็ดเลือด ลดน้ำตาลในเลือดและเพิ่มระดับของฮอร์โมนอินซูลินของคน

(ก) (ข)

ภาพที่ 2.1 ลักษณะต้น (ก) และเมล็ดข้าวเหนียวดำลืมผัว (ข)
ที่มา : เกร็ดความรู้.net (2559)

เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ปรับสภาพของภาวะวัยหมดระดูของสตรีวัยทอง เป็นต้น (Nakayama และคณะ, 1987) นอกจากนี้ Xu และคณะ (2001) พบว่า แกมมา-โอไรซานอล ในข้าวมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพดีกว่าวิตามินอีถึง 10 เท่า โดยเฉพาะอนุพันธุ์ 24-methylene cycloartenol ferulate และกระตุ้นการตอบสนองภูมิคุ้มกัน (Teltathum, 2004)

ข้าวเหนียวดำมีสารแอนโทไซยานิน โดยเฉพาะแอนโทไซยานินชนิดที่พบในข้าวสีม่วงกลุ่มอินดิก้า ซึ่งรวมถึงข้าวก่ำไทย คือ กลุ่มของ cyanindin 3-glucoside ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ช่วยการหมุนเวียนของกระแสโลหิต ชะลอการเสื่อมของเซลล์ร่างกาย อีกทั้งสารสกัดในข้าวเหนียวดำยังมีคุณสมบัติในการสร้างเม็ดเลือดแดง สร้างวิลไลในผนังลำไส้เล็กซึ่งเป็นส่วนที่ยื่นออกมาเพื่อดูดซึมสารอาหาร ทำให้ร่างกายสามารถดูดซับอาหารได้มากขึ้น ส่งผลให้ร่างกายเจริญเติบโตและแข็งแรงยิ่งขึ้น (พันทิพา, 2551) นอกจากนี้ยังพบสารประกอบอื่น ๆ ในเมล็ดข้าวเหนียวดำที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีเข้ม ได้แก่ โปรตีน ซึ่งในข้าวกล้องมีปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนที่สำคัญคือ ไลซีน สูงกว่าข้าวสาร (Frei และ Becker, 2005) ธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวโดยทั่วไปแล้วมีแนวโน้มว่าพันธุ์ข้าวที่มีกลิ่นหอมและมีสีแดงและดำจะมีธาตุเหล็กสูงกว่าพันธุ์ที่ไม่มีกลิ่นหอมและไม่มีสี (Gregorio, 2002) สังกะสี โดยที่ข้าวมีสีและมีกลิ่นหอมมีแนวโน้มที่มีธาตุสังกะสีในปริมาณสูง (รัชนี และคณะ, 2551) รวมทั้งวิตามินต่าง ๆ ซึ่งเป็นสารอาหารที่ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นเองได้ แต่มีความสำคัญช่วยให้ร่างกายทำงานเป็นปกติ เช่น วิตามินอี (tocopherol) ช่วยชะลอการแก่ของเซลล์ ทำให้การกระจายออกซิเจนในกระแสเลือดดีขึ้น ป้องกันการสะสมและการเกาะของแคลเซียมในหลอดเลือด เป็นสารหลักของสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยในการดูแลรักษาผิว รักษาแผลเป็น และลดริ้วรอยบนผิว วิตามินบีหนึ่ง (thiamine) ทำให้กลไกการย่อยคาร์โบไฮเดรตในร่างกายดีขึ้น สนับสนุนระบบการทำงานของประสาท หัวใจและกล้ามเนื้อ วิตามินบีสอง (riboflavin) จำเป็นสำหรับสุขภาพของผิวหนังและระบบประสาท ช่วยบำรุงสายตา วิตามินบีหก (pyridoxine) จำเป็นสำหรับสุขภาพของผิวหนัง ลิ้น การทำงานของกระเพาะอาหาร ลำไส้ และการทำงานของระบบประสาท รวมถึงสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารที่ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ ป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระไปมีผลทำลายเซลล์ในร่างกายซึ่งก่อให้เกิดโรคหลายชนิด

โดยปกติในร่างกายมีระบบควบคุมหรือป้องกันอนุมูลอิสระแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มของเอนไซม์ กลุ่มของสารและโปรตีนบางชนิด และกลุ่มของสารอาหารบางชนิด (Cornish และ Garberry, 2010) ปัจจุบันสารต้านอนุมูลอิสระถูกนำมาใช้ในการส่งเสริมสุขภาพป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ ในรูปของอาหารโดยเฉพาะประเภทที่มีวิตามินซี อี และเอ ซีลีเนียม และเบต้า-แคโรทีน รวมทั้งสารประกอบฟีนอลิค ซึ่งทำหน้าที่ขจัดอนุมูลอิสระได้ดี จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารและแร่ธาตุที่สำคัญในเมล็ดข้าว พบว่าเมล็ดข้าวกล้องสีดำและแดงมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงมากเมื่อเทียบกับเมล็ดข้าวกล้องสีขาว (ตารางที่ 2.1) โดยที่ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิคในเมล็ดข้าว

ตารางที่ 2.1 ปริมาณสารอาหารและแร่ธาตุที่สำคัญในเมล็ดข้าวกล้อง KDML105, Hawm Daeng และ Hawm Dam

Nutrients	KDML105	Hawm Daeng	Hawm Dam
Dietary Fiber (mg/100g)	3.310	7.900	6.410
Iron (Fe) (mg/kg)	9.910	8.160	9.660
Calcium (Ca) (mg/kg)	85.910	92.250	114.800
Zinc (Zn) (mg/kg)	26.640	22.620	20.940
Vitamin B1 (mg/100g)	0.320	0.190	0.390
Vitamin B2 (mg/100g)	0.001	0.002	0.100
Vitamin B6 (mg/100g)	0.260	0.100	0.070
Vitamin E (mga-TE/100g)	0.580	0.370	1.220
Protein (g/100g)	7.060	6.310	7.810
Antioxidant (mg/g)			
Total Polyphenols	0.421	2.786	1.487
TEAC	0.617	2.593	1.583

ที่มา : จรัญจิต และสุวัตน์ (2552)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM UNIVERSITY

Suttajit และคณะ (2006) ได้รายงานคุณค่าทางโภชนาการของข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัวที่มีเปลือกหุ้มเมล็ดสีแดงและสีม่วงเข้มสูงกว่าข้าวที่มีเปลือกหุ้มเมล็ดปกติ จากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของข้าวเหนียวดำพันธุ์ที่โดดเด่น พบว่ามีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวมอยู่ในปริมาณสูงถึง 833.77 มิลลิกรัมต่อข้าว 100 กรัม รวมทั้งอภิชาต และคณะ (2553) ได้รายงานสารอาหารต่าง ๆ ที่พบในข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ปริมาณสารอาหารและแร่ธาตุที่สำคัญในข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว

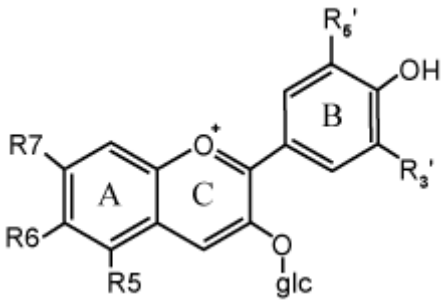
Nutrients	LeumPua Glutinous Rice
Vitamin E (α-tocopherol) (mg/kg)	16.83
Gamma oryzanol (mg/kg)	508.09
Omega-3 (mg/100g)	33.94
Omega-6 (mg/100g)	1,160.08
Omega-9 (mg/100g)	1,146.41
Anthocyanin (mg/100g)	46.56
Iron (Fe) (mg/kg)	84.18
Calcium (Ca) (mg/kg)	169.75
Zinc (Zn) (mg/kg)	23.60
Manganese (Mn) (mg/kg)	35.38

ที่มา : อภิชาต และคณะ (2553)

3. รงควัตถุที่พบในข้าวเหนียวดำ

รงควัตถุที่พบโดยทั่วไปมักมีสีดำ สีแดง หรือสีม่วงดำ ซึ่งพบในข้าวเหนียวดำหรือข้าวแดง มีหน้าที่ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการชราและการเกิดโรคต่าง ๆ ในมนุษย์ เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจเป็นต้น (วาริช, 2549) รงควัตถุเหล่านี้ถูกจัดอยู่ในรงควัตถุประเภทฟลาโวนอยด์ โดยเฉพาะกลุ่มแอนโทไซยานินพวก cyanidin-3-O-D-glucoside (Cy-3-Glc) ที่พบในพืชทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนใบของพืช

โครงสร้างของแอนโทไซยานิน เป็นโมเลกุลที่ให้สีที่มีส่วนประกอบของสารแอนโทไซยานิดิน หรือ aglycons เกาะอยู่กับวงแหวน aromatic [A] จับกับวงแหวน heterocylic [C] ที่ประกอบด้วย ออกซิเจนที่จับกันด้วยพันธะคาร์บอนกับคาร์บอนในวงแหวนอโรมาติกวงที่สาม [B] แอนโทไซยานิดิน เหล่านี้ส่วนใหญ่พบอยู่ในรูปของ glycoside (มีพันธะไกลโคซิดิกที่จับกับโมเลกุลน้ำตาล) โดยทั่วไป ตามธรรมชาติมีแอนโทไซยานิดินประมาณ 19 ชนิด แต่สามารถพบได้ในพืชเพียง 6 ชนิด ซึ่งเรียกชื่อ แตกต่างกันตามตำแหน่งของหมู่ hydroxyl และ methoxyl ที่จับอยู่กับวงแหวน B ดังภาพที่ 2.2 (Castaneda-Ovando และคณะ, 2009) แอนโทไซยานินสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น น้ำ แอลกอฮอล์ โดยความสามารถในการละลายจะเพิ่มขึ้นเมื่อตัวทำละลายเป็นกรดมากขึ้น และ สามารถละลายได้ดีในน้ำ โดยทั่วไปแล้วลักษณะการแสดงออกของสีในพืชจะเป็นการแสดงออกที่คงที่ มากกว่าลักษณะพื้นฐานอื่น ๆ ที่เป็นลักษณะทางคุณภาพ ถึงแม้ว่าสารแอนโทไซยานินจะกระจายตัว ไปแทบทุกส่วนของพืช แต่ว่าความเข้มข้นของสีที่ปรากฏก็มีความแตกต่างกันไป เนื่องจากอิทธิพลของ แสง อุณหภูมิ และอายุของพืช ที่ทำให้การสังเคราะห์และการสลายตัวของแอนโทไซยานิน เปลี่ยนแปลง และแตกต่างกันไปในแต่ละส่วนของพืช



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานิน
ที่มา : Brouillard และ Delaporte (1977)

Hue และคณะ (2003) พบว่าร้อยละ 85 ของแอนโทไซยานินทั้งหมดที่มีในข้าวสีม่วงดำจะเป็น cyanidin-3-glucoside และ peonidin-3-glucoside ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นของไลโปโปรตีน (low density lipoprotein: LDL) ส่วนโปรแอนโทไซยานิดิน หรือแทนนินพบในข้าวเหนียวดำประมาณร้อยละ 0.044-0.103 ของน้ำหนักแห้ง (Karladee และคณะ, 2003) ซึ่งมีคุณสมบัติที่สำคัญคือ สามารถจับกับไอออนของโลหะเหล็กและสังกะสี เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียรที่สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Koga และคณะ, 1999) นอกจากนี้นักวิจัยในประเทศอเมริกาพบว่าข้าวและธัญพืชที่มีรงควัตถุสีดำหรือแดงมีกิจกรรมต่อต้านอนุมูลอิสระสูงใกล้เคียงกับผลบลูเบอรี่ ซึ่งผลไม้ในตระกูลบลูเบอรี่ได้ชื่อว่าเป็นแหล่งที่ดีของสารต้านอนุมูลอิสระ (Awika, 2004) ขณะที่วาริน และคณะ (2551) ได้ทำการตรวจวัดปริมาณรวมสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากข้าว 3 กลุ่ม ได้แก่ ข้าวแดง ข้าวสีนิล และข้าวเหนียวดำ พบว่าข้าวเหนียวดำมีปริมาณรวมสารต้านอนุมูลอิสระสูงมากกว่า ส่วนข้าวแดงและข้าวสีนิลมีปริมาณรวมสารต้านอนุมูลอิสระรองลงมา การบริโภคข้าวเหนียวดำนอกจากจะได้สารอาหารประเภคคาร์โบไฮเดรตแล้ว ยังได้สารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ แอนโทไซยานิน โพลีฟีนอล แกมมา-โอไรซานอล ควิโนน อัลคาลอยด์ และวิตามินอี เป็นต้น

4. สรรพคุณทางยาของข้าวเหนียวดำ

เนื่องจากในข้าวกล้องของข้าวเหนียวดำ มีปริมาณสารแกมมา-โอไรซานอล และสามารถสังเคราะห์สารแอนโทไซยานินได้มากกว่าข้าวขาว จึงได้มีการนำคุณสมบัตินี้มาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ โดยพบว่าสารแกมมา-โอไรซานอล จะช่วยกระตุ้นโกรทฮอร์โมน ทำให้ร่างกายทำงานได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ร่างกายจึงสร้างภูมิต้านทานต่อโรคต่าง ๆ หรือบำบัดอาการของโรคเรื้อรังต่าง ๆ ด้วยตัวเอง โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวกับความเสื่อม ต้านมะเร็ง อัมพฤกษ์ โรคหัวใจ ความดันโลหิต ลดคลอเรสเตอรอล เส้นเลือดตีบ โรคเก๊าท์ ไมเกรน ลดความเครียด ช่วยให้นอนหลับ แก้ปัญหาวัยทอง ปวดประจำเดือน และสมรรถภาพเพศชาย (ธวัชชัย, 2547) ในต่างประเทศได้มีการนำสารกาบา ที่พบในข้าวกล้องงอก มาใช้ในวงการแพทย์ เพื่อรักษาโรคเกี่ยวกับประสาท เช่น โรควิตกกังวล โรคนอนไม่หลับ และโรคลมชัก เพราะสารกาบา จัดอยู่ในกลุ่มกรดโปรตีนที่ช่วยบำรุงเซลล์ประสาท ทำให้สมองเกิดการผ่อนคลาย ป้องกันการทำลายสมอง ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคสูญเสียความทรงจำ หรืออัลไซเมอร์

ซึ่งวรนุช (2551) พบวิธีการเตรียมข้าวกล้องงอกแบบใหม่ คืองอกทั้งเปลือก ทำให้ได้สารกาบาสูงขึ้น โดยพันธุ์ข้าวมะลิแดง ให้สารกาบาสูงที่สุด (12 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)

5. การใช้ข้าวเหนียวดำบริโภคเป็นอาหาร

ข้าวเหนียวดำ ใช้รับประทานเป็นข้าวกับอาหาร เช่น ส้มตำไก่ย่าง น้ำพริกหนุ่ม ไส้อั่ว เป็นต้น และสามารถดัดแปลงเพื่อทำเป็นอาหารคาวหวานได้หลายชนิด เช่น ข้าวเหนียวดำนึ่งนม ข้าวจี่ ข้าวเม่าหมี่ ข้าวเหนียวดำ ข้าวเหนียวดำมูลกับกะทิ ข้าวเหนียวดำเปียก ข้าวหลามข้าวเหนียวดำ ข้าวต้มมัดข้าวเหนียวดำ ขนมกครกข้าวเหนียว ขนมต้มข้าวเหนียวดำ ถั่วแปบข้าวเหนียวดำ ขนมนางเล็ดข้าวเหนียวดำ บะจ่างข้าวเหนียวดำ ข้าวแต๋นข้าวเหนียวดำ ข้าวหมากข้าวเหนียวดำ ไอศกรีมข้าวเหนียวดำ น้ำข้าวกล้องงอก ข้าวสารข้าวเหนียวดำบรรจุถุงพร้อมใช้ ข้าวเหนียวดำกล้องงอกบรรจุถุงพร้อมใช้ น้ำมันรำข้าวเหนียวดำ สีผสมอาหารสีม่วงจากข้าวเหนียวดำ ชาชงดื่มกึ่งสำเร็จรูปจากข้าวเหนียวดำ สุราแช่ สาโทข้าวเหนียวดำ และข้าวหมากข้าวเหนียวดำ

การเพาะข้าวกล้องงอก

ข้าวกล้อง (cargo rice หรือ loonzain rice หรือ brown rice หรือ husked rice) คือข้าวที่ผ่านการกะเทาะเปลือกออกเท่านั้น จึงเป็นข้าวที่มีสีขาวขุ่น แต่เป็นข้าวที่ยังคงมีจมูกข้าวและเยื่อหุ้มเมล็ดข้าว (รำ) อยู่มาก เป็นส่วนที่มีคุณค่าอาหาร เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย ข้าวกล้องจะมีเปลือกชั้นในบาง ๆ อยู่ อุดมด้วยสารเส้นใย ถัดเข้าไปเป็นชั้นของวิตามินและเกลือแร่ ข้าวกล้องจึงมีคุณค่าทางอาหารมากมายเป็นที่ยอมรับ และยังพบอีกว่า ข้าวกล้องถ้าทำให้งอกยิ่งมีคุณค่ามากยิ่งขึ้น เพราะกระบวนการงอกจะทำให้สารอาหารภายในเมล็ดเกิดการเปลี่ยนแปลง

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1. เมล็ดข้าว

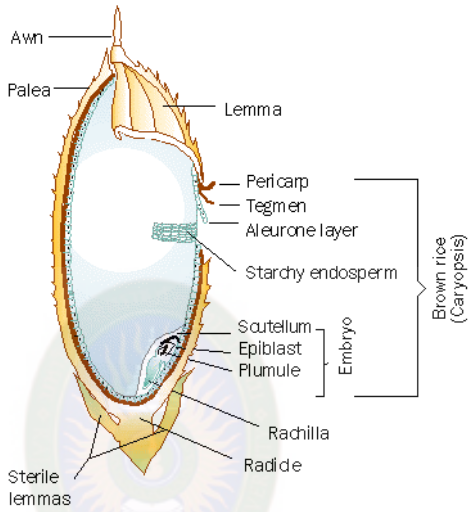
เมล็ดข้าวมีส่วนประกอบดังต่อไปนี้ (ภาพที่ 2.3)

1.1 เปลือกนอก (husk หรือ hull) เป็นส่วนที่ห่อหุ้มผลทั้งหมด ซึ่งผลนี้เรียกว่าข้าวกล้อง เป็นผลแห้งชนิดที่เรียกว่า caryopsis เปลือกนอกนี้มีลักษณะสาก สีน้ำตาล สองฝาประกบกัน ประกอบด้วยเปลือกฝาใหญ่ (lemma) และเปลือกฝาเล็ก (palea) เมื่อทำการสีข้าว ส่วนนี้เรียกว่าแกลบซึ่งมีประมาณร้อยละ 20 ของข้าวเปลือก

1.2 เปลือกเมล็ด หรือเยื่อหุ้มข้าวกล้อง (caryopsis coat) ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ชั้น คือ เยื่อหุ้มผล (pericarp) เยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat หรือ tegmen) และนิวเซลลัส (nucellus) เมื่อแกะเปลือกนอกออกจะได้เมล็ดที่เรียกว่าข้าวกล้อง มีสีต่าง ๆ กันขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว ตั้งแต่สีขาว น้ำตาลอ่อน แดง ม่วงจนเกือบดำ ซึ่งสารสีเหล่านี้อยู่ในชั้นเยื่อหุ้มผลและเยื่อหุ้มเมล็ด (ชาญ, 2536) ในส่วนนี้เมื่อทำการขัดสีให้ขาวจนเป็นข้าวสารจะได้ส่วนของรำ ซึ่งมีคุณค่าทางอาหารมากมาย ซึ่งมีประมาณร้อยละ 11 ของข้าวเปลือก

1.3 เนื้อเมล็ด (endosperm) จะมีเยื่อบาง ๆ ห่อหุ้มส่วนของเนื้อเมล็ด และคัพภะ (embryo) หรือที่เรียกว่าจมูกข้าว เยื่อบาง ๆ นี้เรียกว่าเยื่ออะลิวโรน (aleurone layer) เป็นเนื้อเยื่อ

ที่มีชีวิตเก็บสะสมโปรตีนเป็นส่วนใหญ่ และมีธาตุฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และโพแทสเซียม ในส่วนเนื้อเมล็ด ประกอบด้วยแป้งถึงร้อยละ 69 ของข้าวเปลือก เมื่อพิจารณาส่วนประกอบของข้าวกล้อง จะพบว่าชั้นของเยื่อหุ้มผล เยื่อหุ้มเมล็ด และเยื่ออะลิวโรน อุดมไปด้วยโปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ดังนั้นการบริโภคข้าวกล้อง มีคุณค่าทางอาหาร แต่เนื้อข้าวจะกระด้างกว่าข้าวสารขัดสาร ทั้งนี้เพราะเส้นใยจากเซลลูโลส และโปรตีนในข้าวกล้องจะขัดขวางไม่ให้น้ำซึมผ่านเข้าไปภายในเมล็ดได้ง่าย จึงทำให้ข้าวกระด้างและใช้เวลาหุงต้มนานกว่าการหุงข้าวขัดขาว (วรรณวิไล, 2550)



ภาพที่ 2.3 ส่วนประกอบของเมล็ดข้าว

ที่มา : ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน (2558)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

2. การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีระหว่างการงอก

เมื่อเมล็ดได้รับน้ำเข้าไป ส่งผลให้กระบวนการสังเคราะห์ต่าง ๆ ภายในเซลล์เริ่มทำงาน โดยสังเคราะห์สารที่จำเป็นต่อการทำงานของเซลล์ กระบวนการย่อยสลาย และกระบวนการลำเลียงสารอาหารที่เก็บสะสมไว้ นำไปใช้สำหรับการเจริญเติบโตของเอ็มบริโอให้สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นกล้าที่ปกติ ซึ่งกระบวนการต่าง ๆ สามารถอธิบายได้ดังนี้

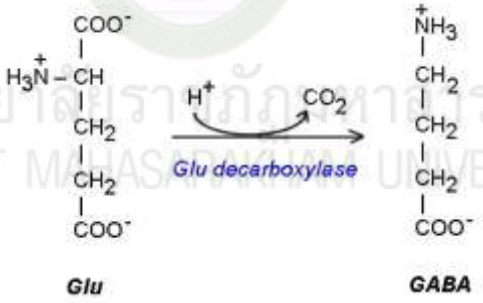
2.1 การสังเคราะห์สารที่จำเป็นต่อการทำงานของเซลล์ สารที่จำเป็นต่อการทำงานของเซลล์ ได้แก่ เอนไซม์ ดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีน จะถูกชักนำในการสังเคราะห์เพิ่มขึ้นด้วย เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องได้มาจาก 2 แหล่งคือ เอนไซม์ที่ถูกสร้างขึ้นขณะเมล็ดกำลังเจริญเติบโตจะถูกกระตุ้นให้ทำงานเนื่องจากการเข้าไปของน้ำ เช่น อะไมเลส และกลูโคซิเดส เอนไซม์ 2 ตัวนี้จะปรากฏขึ้นทันทีหลังจากเมล็ดพันธุ์ดูดน้ำ แหล่งที่สองได้จากการเริ่มสังเคราะห์ขึ้นใหม่ โดยผ่านการควบคุมของกรดนิวคลิอิก โดยพบในเซลล์อะลิวโรน (aleulone) ในเมล็ดข้าว เอนไซม์ที่สังเคราะห์ขึ้นได้แก่ อะไมเลส ไรโบนิวคลิเอส โปรทิเอส และไลเปส เป็นต้น พลังงานที่ต้องใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนต่าง ๆ ได้มาจาก เอทีพี (ATP) ซึ่งผลิตในไมโทคอนเดรียที่ตื่นตัวภายหลังจากเมล็ดได้รับน้ำเข้ามา

2.2 การย่อยสลายสารอาหารที่สะสมในเมล็ดพันธุ์ สารอาหารที่เมล็ดพันธุ์เก็บสะสมไว้ในส่วนเนื้อเยื่อสะสมอาหาร ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน จะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่สร้าง

ขึ้นมา คาร์โบไฮเดรตจะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ไฮโดรเลส เช่น อะไมเลส และฟอสฟอริเลส จากรูปน้ำตาลที่ละลายไม่ได้ เป็นรูปน้ำตาลที่ละลายได้ ทำให้ข้าวกล้องงอกมีรสหวาน โปรตีนถูกย่อยโดยเอนไซม์โปรทิเอส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สร้างขึ้นมาใหม่ในระหว่างการงอกของเมล็ด ได้กรดอะมิโนเกิดขึ้นหลายชนิด ที่สำคัญ ได้แก่ กาบา ส่วนการย่อยสลายไขมัน จะถูกย่อยโดยเอนไซม์ไลเปส ได้กรดไขมันและกลีเซอรอล (วันชัย, 2538)

จากการสลายตัวของสารพอลิเมอร์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ต่าง ๆ เหล่านี้จึงทำให้เกิดสารชีวภาพที่มีคุณค่าต่อร่างกาย อีกทั้งยังช่วยปรับปรุงคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของข้าวกล้องงอกให้มีความนุ่มมากขึ้น นอกจากนี้ ในข้าวกล้องยังมีใยอาหารชนิดที่ไม่ละลายน้ำ ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน ซึ่งใยอาหารนี้ไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหารของคน จึงช่วยดูดซับสารก่อมะเร็ง ซึ่งอาจเกิดขึ้นกับทางเดินลำไส้อันเนื่องมาจากการกินอาหาร และช่วยป้องกันการดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่เส้นเลือด จึงมีประโยชน์ต่อผู้ป่วยโรคเบาหวาน และยังพบสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น วิตามินอี สารประกอบฟินอลิค แกมมา-โอไรซานอล ช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดได้ วิตามินที่พบได้แก่ วิตามินบีหนึ่ง วิตามินบีสอง และไนอะซีน แร่ธาตุต่าง ๆ เช่น แมกนีเซียม แมงกานิส สังกะสี โคบอล ทองแดง ซิลิเนียม และไอโอดิน (พัชรี และคณะ, 2549)

ในกรณีของสารกาบา (gamma-aminobutyric acid, GABA) เป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งที่มิใช่โปรตีน สารนี้นอกจากพบได้ในพืชแล้ว ยังพบได้ในสัตว์และจุลินทรีย์ เป็นผลผลิตที่ได้จากกระบวนการดีคาร์บอกซีเลชันของกรดกลูตามิก แสดงดังภาพที่ 2.4



มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครสวรรค์
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาพที่ 2.4 การสังเคราะห์สารกาบาจากกรดกลูตามิก

สารกาบามีบทบาทสำคัญในการทำหน้าที่เป็นสารสื่อประสาทในระบบประสาทส่วนกลาง และจัดเป็นสารสื่อประสาทประเภทยับยั้ง ซึ่งจะช่วยให้สมองเกิดการผ่อนคลายและช่วยให้นอนหลับได้ดี โดยสารกาบาจะทำหน้าที่รักษาสมดุลในสมอง ทำให้สมองที่ได้รับการกระตุ้น มีความสมดุลจากสารยับยั้ง หน้าที่ในการรักษาสมดุลของสารกาบาคือ ช่วยกระตุ้นต่อมไร้ท่อ ซึ่งทำหน้าที่ผลิตฮอร์โมนที่ช่วยในการเจริญเติบโต (human growth hormone, HGH) ซึ่ง HGH จะทำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อและกล้ามเนื้อ และเกิดสาร lipotropic ซึ่งเป็นสารป้องกันการสะสมไขมัน ทำให้กล้ามเนื้อเกิดความกระชับ และช่วยป้องกันการเกิดริ้วรอย สารกาบายังมีประโยชน์ในการป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งเป็นโรคที่เกิดขึ้นกับคนวัยชราเป็นส่วนใหญ่ โดยผู้ป่วยจะสูญเสียความทรงจำ

เนื่องจากมีเปปไทด์ชนิด beta-amyloid peptide ในสมอง ทำให้สมองทำงานไม่เป็นปกติ โดยทำให้สมองด้านความทรงจำทำงานได้ลดลง จากการศึกษา โดยใช้หนูทดลองกินข้าวกล้องที่แช่น้ำซึ่งมีปริมาณสารกาบาสูงกว่าข้าวปกติถึง 15 เท่า พบว่าภายในสมองของหนูทดลองจะเกิดการป้องกันการทำลายจาก beta-amyloid peptide นอกจากนี้ยังพบว่าการบริโภคอาหารที่อุดมด้วยสารกาบาจะช่วยเพิ่มความสามารถในการปล่อยกรดกลูตามิกและความว่องไวต่อ NMDA receptors ซึ่งเป็นส่วนช่วยกระตุ้นลดการเกิดมะเร็งในหนูได้ (พัชรี , 2550) Saikusa และคณะ (1994) พบว่าเมื่อนำคัภพะข้าวมาแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 8-24 ชั่วโมง จะมีปริมาณสารกาบาเพิ่มสูงขึ้นมาก Kayahara (2002) รายงานว่า เมื่อนำข้าวไปทำให้งอกก็จะทำให้สารอาหารเพิ่มขึ้น ได้แก่ ใยอาหาร อินนอซิทอล กรดเฟอรูลิก กรดไฟติก โทโคไทรอินอล แมกนีเซียม สังกะสี แกมมา-โอไรซานอล และสารกาบา และมีนักวิจัยหลายท่านได้ทำการตรวจสอบสารกาบาในคัพภะข้าวหอมไทย 2 พันธุ์ โดยนำคัพภะแช่น้ำเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดสารกาบาสูงสุดในข้าวหอมปทุมธานี 1 ส่วนข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีสารกาบาต่ำกว่าเล็กน้อย (Varanyanoud และคณะ, 2005) และมีการเปรียบเทียบปริมาณกาบาในข้าวที่แช่น้ำเป็นเวลาแตกต่างกัน ในข้าวกล้องงอกที่แช่น้ำนานจะให้ปริมาณกาบาสูง (ตารางที่ 2.3)

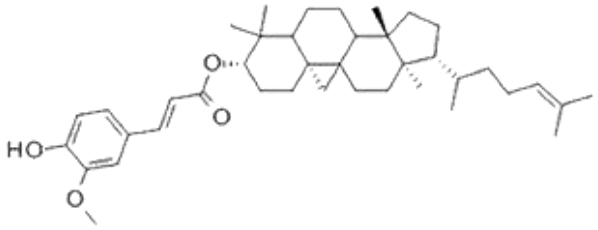
ตารางที่ 2.3 ปริมาณกาบาในข้าวกล้องงอกที่แช่น้ำเป็นเวลาต่าง ๆ กัน เปรียบเทียบกับข้าวขาว และข้าวกล้อง

ตัวอย่าง	ปริมาณกาบา (มิลลิกรัม/100 กรัม)
ข้าวขาว	1.70
ข้าวกล้อง	6.04
ข้าวกล้องงอกที่ 24 ชั่วโมง	11.02
ข้าวกล้องงอกที่ 48 ชั่วโมง	27.73
ข้าวกล้องงอกที่ 72 ชั่วโมง	69.21
ข้าวกล้องงอกที่ 96 ชั่วโมง	149.03

ที่มา : Ohtsubo และคณะ (2005)

สารแกมมา-โอไรซานอล ถูกค้นพบในปี ค.ศ. 1954 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่น เป็นสารประกอบที่พบในรำข้าว มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 2.5 สารแกมมา-โอไรซานอลเป็นสารที่มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็ง (Huang และคณะ, 2002) และใช้ในการแก้ไขปัญหาสุขภาพ เช่น ลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลจากอาหารสู่ร่างกาย ลดการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในตับ และใช้ในการปรับสมดุลของสภาพของสตรีวัยทอง (Menopause) (Nakayama และคณะ, 1987) ช่วยป้องกันโรคหัวใจ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการหลั่งของกรดในกระเพาะอาหารและการรวมตัวของเกล็ดเลือด นอกจากนี้สารแกมมา-โอไรซานอลที่พบในธรรมชาติยังจัดเป็นสมุนไพรท้องถิ่น ใช้เป็นสมุนไพรสำหรับหญิงที่ตกเลือดในขณะคลอดบุตร เป็นต้น

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM UNIVERSITY



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมีของสารแกมมา-โอไรซานอล
ที่มา : Fabrichem (2018)

3. วิธีการเพาะข้าวกล้องงอกจากข้าวเปลือก

ปกติเกษตรกรเก็บเกี่ยวข้าวมาใหม่ ๆ หากนำเมล็ดข้าวเปลือกมาเพาะเลย จะยังไม่งอก เพราะข้าวแต่ละสายพันธุ์มีระยะเวลาการพักตัวซึ่งการพักตัวเกิดขึ้นเนื่องจากมีสารยับยั้งพวกซูเบอริน (suberin) หรือสารเพคติก (pectic substance) (เอกสงวน, 2544) ต้องให้พ้นจากระยะการพักตัวไปก่อนจึงจะเกิดการงอกได้ หรือ ใช้วิธีการอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง สามารถแก้การพักตัวของข้าวได้ (นงนุช, 2541) ข้าวแต่ละพันธุ์มีระยะการพักตัวแตกต่างกันไป เช่น ข้าวเล็บนกมีระยะการพักตัว 3 สัปดาห์ ข้าวเฉี้ยงพัทลุง 1 สัปดาห์ ข้าวชัยนาท 8 สัปดาห์ ข้าวหอมปทุมธานี 3-4 สัปดาห์ หลังจากพ้นระยะการพักตัวแล้ว เมล็ดก็จะเริ่มเสื่อมไปเรื่อย ๆ ทำให้อัตราการงอกลดลง นอกจากนี้ปัจจัยที่จำเป็นต่อการงอกของเมล็ดข้าวได้แก่อุณหภูมิและความชื้น อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 30-40 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่านี้ เช่นในฤดูหนาว สามารถเพาะกลางแดดได้ ดังนั้นข้าวเปลือกที่จะนำมาเพาะไม่ควรที่จะเป็นข้าวเปลือกใหม่ ควรปล่อยไว้ประมาณ 1 เดือน เพื่อให้หมดระยะพักตัวเสียก่อน และทำการเพาะข้าวกล้องงอกจำเป็นต้องตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของข้าวเปลือกเสียก่อน ถ้าเปอร์เซ็นต์ความงอกน้อยกว่าร้อยละ 80 ไม่ควรนำมา เพาะเป็นข้าวกล้องงอกเพราะจะทำให้เกิดกลิ่นบูดในระหว่างการเพาะจากเมล็ดที่ไม่มีชีวิต

4. วิธีการทดสอบร้อยละการงอก

สามารถทำได้ง่าย โดยใช้กล่องพลาสติกที่มีฝาปิดรองพื้นกล่องด้วยกระดาษทิชชู 2-3 ชั้น เติมน้ำประปาให้กระดาษทิชชูเปียกน้ำ มีน้ำขังเล็กน้อย โรยข้าวเปลือก 100 เมล็ด ปิดฝากล่อง เมื่อครบ 3 วัน นับเมล็ดที่งอกรากเล็ก ๆ ถ้านับ ได้มากกว่าร้อยละ 80 ถือว่าข้าวเปลือกดังกล่าวนำไปเพาะเป็นข้าวกล้องงอกได้

เมื่อทดสอบร้อยละการงอกผ่านเกณฑ์แล้วล้างข้าวเปลือก ทิ้งส่วนข้าวเปลือกที่ลอยน้ำไป แช่ข้าวเปลือกในน้ำนาน 4 ชั่วโมง ล้างน้ำอีกครั้งหนึ่ง หรือสามารถแช่ได้นานถึง 8 ชั่วโมง แต่ระหว่างการแช่น้ำต้องมีการเปลี่ยนน้ำบ่อยครั้งจึงเพาะข้าวเปลือกในกล่อง หรือถังพลาสติก โดยใช้ผ้าบุฟองน้ำรองพื้นกล่อง ใส่ข้าวเปลือกให้สูงจากพื้นกล่องประมาณ 1 ใน 3 ของความสูง ปิดทับด้วยผ้าด้านบนอีกชั้นเพื่อรักษาความชื้น ปิดฝากล่อง นำไปวางที่ริมระเบียงแดดส่องถึง เป็นเวลา 3 วัน จะพบว่ามีรากงอก

ออกมาประมาณ 1 - 3 มิลลิเมตร จึงนำข้าวเปลือกงอกไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 วัน หรือตากแดด เมื่อข้าวเปลือกแห้งดีแล้ว ทำการสีข้าวเปลือก โดยใช้เครื่องกะเทาะเปลือก และทำการสีข้าว

ข้าวหมาก

ข้าวหมาก คือ ขนมหวานหรืออาหารว่างชนิดหนึ่งของไทยซึ่งมีมาแต่ครั้งโบราณ ข้าวหมากทำจากข้าวเหนียว ลักษณะทั่วไปของข้าวหมาก คือ เป็นเมล็ดข้าวนุ่ม เกาะกันเป็นก้อนสีขาวนวล มีน้ำซึมออกมาจากเมล็ดข้าวเล็กน้อย ลักษณะเฉพาะของข้าวหมากที่ทำให้แตกต่างจากขนมหวานอื่น ๆ คือ ข้าวหมากจะมีรสชาติของแอลกอฮอล์เมื่อรับประทานแล้วจะมีความรู้สึกร้อนคอและมึนเล็กน้อย ข้าวหมากที่ดีควรมีรสหวานจัด ไม่มีรสเปรี้ยว ข้าวหมากเป็นอาหารหมักพื้นบ้านของไทยทำจากข้าวเหนียวนึ่งทั้งข้าวธรรมดาและข้าวเหนียวดำ แต่ปัจจุบันมักไม่ค่อยเห็นข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำ การทำข้าวหมากถือเป็นการถนอมอาหารวิธีหนึ่ง เนื่องจากยีสต์จะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอธิลแอลกอฮอล์ ในการทำข้าวหมากต้องใช้หัวเชื้อแป้งข้าวหมาก ที่เรียกว่า “ลูกแป้ง” ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปก้อนแป้งรูปครึ่งวงกลม สีขาวนวล น้ำหนักเบา มาเคล้ากับข้าวเหนียวที่นึ่งจนสุก ในลูกแป้งข้าวหมากจะมีเชื้อรา สกุล *Mucor* spp. และ *Amylomyces* spp. ซึ่งสามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลสออกมาย่อยแป้งในข้าวเหนียวให้เป็นน้ำตาล น้ำตาลหรือน้ำหวานที่ได้จากการย่อยข้าวเหนียวนี้เรียกว่า น้ำต้อย หรือ น้ำตาลข้าว มีรสหวานชวนรับประทาน โดยในระยะช่วงวันที่ 1 และ 2 น้ำต้อยยังไม่ค่อยหวานจัดเพราะแป้งยังถูกย่อยไม่สมบรูณ์จะเริ่มหวานจัดประมาณวันที่ 3 และถ้าหมักไว้นานเป็นสัปดาห์จะมีกลิ่นเหล้าอ่อน ๆ เนื่องจากมียีสต์บางชนิด เช่น ยีสต์ในสกุล *Saccharomyces* spp. ที่เปลี่ยนน้ำตาลในข้าวหมากกลายให้เป็นแอลกอฮอล์ ถ้าต้องการให้ข้าวหมากเกิดเร็วขึ้นเพิ่มลูกแป้ง ถ้าใส่ลูกแป้งน้อยไปหรือมากไป จะทำให้ได้ข้าวหมากมีคุณภาพไม่ดี ในกรณีที่ใส่ลูกแป้งน้อยไป ข้าวหมากเกิดช้า เนื้อข้าวไม่ฟูนิ่มทั่วตลอด เมล็ดข้าวไม่ขาวใส เนื่องจากมีการปนเปื้อนของเชื้อราอื่น ทำให้มีสีดำ แดงหรือคล้ำเป็นจุด ๆ ถ้าใส่ลูกแป้งมากไป ทำให้ข้าวหมากเกิดเร็วไป ทำให้เก็บไว้ได้ไม่นานจะเกิดรสเปรี้ยว ดังนั้นจึงควรเก็บข้าวหมากไว้ในตู้เย็นเมื่อหมักได้ที่แล้ว (วรายุ, 2546; เจริญ, 2548) มีผู้เชื่อว่าการบริโภคข้าวหมากช่วยบำบัดโรคบางอย่างได้ เช่น โรคไอ และเจ็บคอ โรคเม็ดผื่นคันตามผิวหนัง ผด และสิว นอกจากนี้ยังใช้ทำปลาเจ่าและเหล้าแดงได้อีกด้วย (อั้งจิ้ว) (ขุน กฤษณามรวิสิฐ, 2494) ในข้าวหมากยังมีเซลล์ยีสต์ที่ยังมีชีวิตอยู่ ซึ่งมีวิตามินบีที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย และเชื้อยีสต์ในข้าวหมากจัดเป็นโพรไบโอติกส์ (probiotics) ชนิดหนึ่ง ซึ่งโพรไบโอติกส์ เป็นจุลินทรีย์มีชีวิต ที่ก่อประโยชน์ต่อร่างกายที่มันอาศัยอยู่ ทำการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย กระตุ้นการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ภูมิคุ้มกันมะเร็ง ช่วยระบบทางเดินอาหารให้ทำงานเป็นปกติและดูดซึมวิตามินดีขึ้น ผลิตเม็ดเลือดแดงดีขึ้น ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค รักษาแผลในลำไส้ นอกจากนี้ยังพบว่าในระหว่างกระบวนการหมักข้าวหมากจะมีแบคทีเรียกรดแลคติคสร้างกรดที่ทำให้ข้าวหมากมีรสเปรี้ยวและมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำลง จนสามารถเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลานานกว่าข้าวหมากที่ไม่ได้ผ่านการหมัก ซึ่งแบคทีเรียกรดแลคติคบางสายพันธุ์ในข้าวหมากมีคุณสมบัติการเป็นโพรไบโอติกส์ จากการศึกษาของธนิฏฐา และคณะ (2559) ได้ทำการแยกและระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติค

จากข้าวหมากที่มีจำหน่ายทั่วไป พบว่า ในข้าวหมากมีแบคทีเรียกรดแลคติก *Pediococcus pentosaceus* ไอโซเลท R2 ซึ่งมีคุณสมบัติที่สอดคล้องกับคุณสมบัติของโพรไบโอติกส์

1. วัตถุดิบในการทำข้าวหมาก

1.1 ข้าวเหนียวอย่างดี ควรเป็นข้าวเหนียวเขี้ยวงู ไม่มีเมล็ดข้าวหักปน

1.2 ลูกแป้งข้าวหมาก หาซื้อได้ตามตลาดทั่ว ๆ ไป ถือเป็นปัจจัยสำคัญในการทำข้าวหมาก ลักษณะเป็นก้อนแป้งครึ่งวงกลม สีขาวนวล น้ำหนักเบา เห็นเส้นใยเชื้อราเกาะที่แป้ง ควรเลือกซื้อลูกแป้งข้าวหมากที่ทำเสร็จใหม่ ๆ เพราะถ้าเก่า ลูกแป้งจะมีเชื้ออื่นที่ไม่ต้องการปะปน ทำให้ข้าวหมากไม่มีคุณภาพ สังเกตได้จากสีของลูกแป้งจะเริ่มเป็นสีเหลืองออกน้ำตาล บางครั้งอาจเห็นราดำขึ้นเป็นจุด ๆ ส่วนประกอบที่สำคัญของลูกแป้งได้แก่ เครื่องเทศ น้ำ และแป้ง เชื้อลูกแป้งแต่ละรายจะมีสูตรการทำลูกแป้งแตกต่างกันออกไป

1.3 น้ำ ต้องเป็นน้ำสะอาด อาจเป็นน้ำฝนหรือน้ำบาดาลก็ได้

1.4 ภาชนะสำหรับใส่ข้าวหมาก อาจเป็นโหลแก้ว ไห กล่องพลาสติก หรือใบตองก็ได้

2. ขั้นตอนการทำข้าวหมาก

การทำข้าวหมากเป็นสิ่งที่ง่ายและไม่ยุ่งยาก แต่ต้องมีเทคนิคบางประการ จึงจะทำให้คุณภาพของข้าวหมากดีได้ ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

2.1 นำข้าวเหนียวแช่น้ำค้างคืนหรืออย่างน้อย 3 ชั่วโมง

2.2 นำข้าวเหนียวไปนึ่งให้สุกโดยใช้เวลา 1 ชั่วโมง อย่าให้เมล็ดบานเพราะเมื่อนำไปทำข้าวหมากจะเละไม่สวย

2.3 นำไปผึ่งให้เย็นในภาชนะที่สะอาด อาจใช้พัดลมช่วยเพื่อให้เย็นเร็วขึ้น

2.4 นำข้าวที่ได้ล้างเมล็ดข้าวด้วยน้ำสะอาดหลาย ๆ ครั้ง จนกว่าหมดยางข้าว ข้าวเหนียวจะร่วนแยกเมล็ดออกจากกัน ผู้ผลิตบางเจ้าล้างด้วยสารส้มหรือน้ำปูนใส เพื่อให้เมล็ดข้าวรัดตัวทำให้ร่วนไม่เกาะกัน เกลี่ยข้าวให้กระจายทิ้งให้สะเด็ดน้ำ

2.5 โรยแป้งข้าวหมากที่บดละเอียดบนข้าวให้สม่ำเสมอ โดยใช้อัตราส่วนลูกแป้ง 2 ลูก ต่อข้าว 5 กิโลกรัม

2.6 คลุกเคล้าให้เข้ากันเบา ๆ นำไปใส่ในภาชนะที่เตรียมไว้ ใส่ข้าวโหย่ง ๆ อย่ากดข้าวให้แน่น นำไปบ่ม ใช้เวลา 2-3 วัน จะได้ข้าวหมากที่มีเม็ดข้าวนุ่ม หอม มีน้ำซึมออกมา พร้อมกินได้ (วรายุ, 2546)

ลมภูริพล (2555) ได้ประยุกต์ใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ในกระบวนการผลิตข้าวหมากแบบดั้งเดิมแทนการใช้ลูกแป้ง ซึ่งมีขั้นตอนการทำข้าวหมากดังนี้

1) ข้าวสารเหนียวล้างทำความสะอาด แช่น้ำไว้ 3 ชั่วโมง

2) นำข้าวเหนียวมานึ่งให้สุก ล้างทำความสะอาด พักให้สะเด็ดน้ำ

3) เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ร้อยละ 2, 5 หรือ 10 เติมน้ำตาลทราย ผสมให้เข้ากัน

4) บรรจุลงบรรจุภัณฑ์ หมักทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง หรือ 2 วัน ที่ระดับอุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส

ยศพร (2559) ได้ผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว ซึ่งมีขั้นตอนการทำข้าวหมาก คือ นำข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัวที่หาซื้อได้จากท้องตลาด 3 ตราสินค้า มาผสมให้เข้ากันเป็นตัวอย่างแบบผสมรวม แล้วนำมาหุงในหม้อหุงข้าวไฟฟ้าในอัตราส่วน ข้าว 1 ส่วน ต่อน้ำ 2 ส่วน เมื่อข้าวสุกนำมาผึ่งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำข้าวเหนียวดำสุกที่พักให้เย็นมาหมักกับลูกแป้งข้าวหมากในอัตราส่วนร้อยละ 0.2 ต่อข้าวเหนียวดำดิบในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน

อุไรวรรณ และคณะ (2555) ได้ศึกษาการผลิตแป้งข้าวหมากจากข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงและข้าวเหนียวดำพัทลุง ซึ่งมีขั้นตอนการทำข้าวหมาก คือ นำตัวอย่างข้าวมาล้างน้ำให้สะอาด 2 ครั้ง แช่ข้าวเหนียวดำ 6 ชั่วโมง แล้วนำมานึ่งจนสุก ส่วนข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงนำมาหุงจนสุก จากนั้นนำมาเกลี่ยให้กระจายความหนาเท่ากัน รอจนข้าวเย็น นำข้าวทั้งสองชนิดมาผสมกันโดยใช้ข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุง : ข้าวเหนียวดำพัทลุง สัดส่วน 3 : 1, 1 : 1 และ 1 : 3 หรือใช้ข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงหรือข้าวเหนียวดำพัทลุงอย่างเดียว ทำการโรยน้ำตาลลงไปให้สม่ำเสมอกันโดยใช้ข้าว 500 กรัมต่อน้ำตาล 110 กรัม ตามด้วยการโรยลูกแป้งข้าวหมากที่บดละเอียด 2 ลูก จากนั้นบรรจุใส่ภาชนะที่แห้งและสะอาดเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ใช้เวลาในการหมัก 3 วัน

3. การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักข้าวหมาก

ในการหมักข้าวหมากมีกระบวนการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นต่าง ๆ สามารถแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ

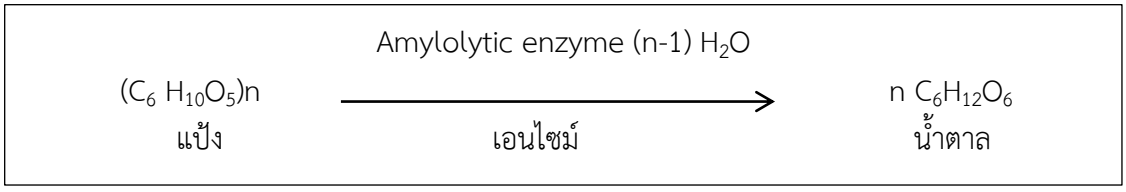
3.1 ขั้นตอนที่หนึ่ง เป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในเมล็ดข้าวระหว่างกระบวนการล้างและแช่ข้าว โดยการล้างและแช่ข้าวเหนียวทำให้ผิวของเมล็ดข้าวบางส่วนหลุดออกไปประมาณร้อยละ 1-3 ของน้ำหนักเมล็ดข้าว และเมล็ดข้าวจะดูดซับน้ำไว้ ทำให้น้ำหนักเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 9-17 จากน้ำหนักเริ่มต้น และเมื่อแช่น้ำ เม็ดสตาร์ชจะดูดซับน้ำไว้ทำให้พองตัวและเกิดการละลาย ซึ่งสมบัติด้านการพองตัวและละลายเกิดจากเม็ดสตาร์ชซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักภายในแป้งเกิดการดูดซึมน้ำและมีการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น ปัจจัยที่มีผลต่อการพองตัวและความสามารถในการละลายของแป้งมีหลายประการ ปัจจัยหลักได้แก่ ชนิดของแป้ง ความบริสุทธิ์ของแป้ง ความแข็งแรง และลักษณะร่างแหภายในเม็ดสตาร์ช การดัดแปลงทางเคมี และพันธุ์ข้าว (Leach และคณะ, 1959) นอกจากนี้การแช่ข้าวยังช่วยให้ความร้อนเข้าถึงภายในเม็ดสตาร์ชได้ง่ายเมื่อทำการนึ่ง อีกทั้งยังเร่งการเปลี่ยนแปลงของเม็ดสตาร์ช ในระหว่างการล้างและการแช่ข้าว แร่ธาตุบางตัว เช่น โพแทสเซียม และน้ำตาลบางตัวจะถูกปล่อยจากเมล็ด (Yoshizawa, 1973)

3.2 ขั้นที่สอง เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการนึ่งข้าว ซึ่งการนึ่งจะทำให้แป้งเกิดการเจลาติไนเซชัน และโปรตีนเสียสภาพทำให้สามารถเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ กับเอนไซม์ที่เชื้อจุลินทรีย์ในลูกแป้งสร้างได้ง่าย โดยเริ่มแรกเป็นระยะที่น้ำแป้งไม่ละลายน้ำเย็นแล้วเกิดการดูดซึม

น้ำเย็นและพองตัวอย่างจำกัด เม็ดสตาร์ชคงรักษารูปร่างได้ เมื่อให้ความร้อนกับน้ำแป้งจนมีอุณหภูมิสูงพอที่จะทำให้พันธะไฮโดรเจนคลายตัวลง เม็ดสตาร์ชจะดูดน้ำและพองตัวขึ้นอย่างรวดเร็วทำให้น้ำบริเวณรอบเม็ดสตาร์ชเหลือน้อยลง เม็ดสตาร์ชจะเกิดความหนืดเพิ่มขึ้น พันธะภายในเม็ดสตาร์ชคงเกิดการแตกตัวอย่างสมบูรณ์ (Olkuku และ Rha, 1987) ซึ่งการนึ่งข้าวจะทำให้เม็ดสตาร์ชดูดซับน้ำไว้เพิ่มขึ้นร้อยละ 7-12 จากน้ำหนัก และจะทำให้น้ำอยู่ในเมล็ดสตาร์ชร้อยละ 35-40 ของน้ำหนัก

3.3 ขั้นที่สาม เกิดขึ้นภายหลังจากคลุกเคล้าข้าวเหนียวนึ่งกับลูกแป้ง แล้วราในลูกแป้งที่เกี่ยวข้องซึ่งเป็นกลุ่มที่สามารถสังเคราะห์เอนไซม์ในกลุ่มอะไมโลไลติกเอนไซม์ ได้แก่ แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส ซึ่งเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้สามารถไฮโดรไลซ์โครงสร้างแอลฟาฟอร์มในโมเลกุลของสตาร์ชให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคส แอลฟาอะไมเลสจะไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคไซด์ภายในสายพอลิเมอร์ของโมเลกุลสตาร์ชที่ตำแหน่งแอลฟา 1-4 แบบสุ่ม ทำให้โมเลกุลของสตาร์ชถูกไฮโดรไลซ์แล้วได้น้ำตาลอย่างรวดเร็ว กลูโคอะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์สายพอลิเมอร์ของสตาร์ชได้ทั้งที่พันธะไกลโคไซด์ที่ตำแหน่งแอลฟา 1-4 และแอลฟา 1-6 จึงสามารถไฮโดรไลซ์โมเลกุลของอะไมโลเพกทินซึ่งโมเลกุลมีสายแขนง โดยจะไฮโดรไลซ์จากส่วนปลายด้านนอนรีดิวส์เข้ามาทีละ 1หน่วย ได้น้ำตาลกลูโคส ดังภาพที่ 2.6 ซึ่งนอกจากราจะเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลแล้ว รายังสามารถผลิตสารประกอบที่ให้กลิ่นและรสชาติในข้าวหมากด้วย

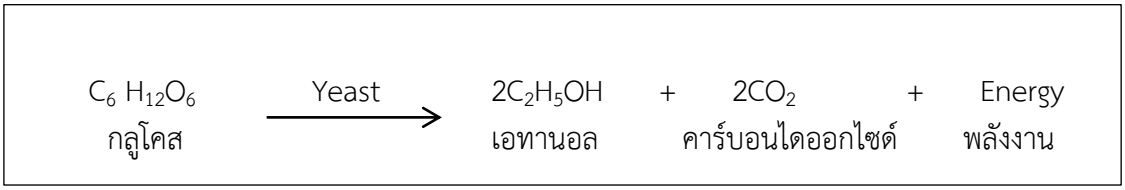
รากลุ่มที่มีบทบาทในการสร้างเอนไซม์ปริมาณมาก ได้แก่ Class Zygomycetes, Order Mucorales, Family Mucoraceae จีนัสที่สำคัญ คือ *Rhizopus* spp. *Mucor* sp. และ *Amylomyces* spp. และ Class Deuteromycetes, Order Mobiliales, Family Moniaceae จีนัสที่สำคัญ คือ *Aspergillus* spp. ซึ่งราใน Class Zygomycetes จะสร้างเอนไซม์ในปริมาณมาก พร้อมกับกรดอินทรีย์ เช่น กรดฟูมาลิค กรดซิตริก และกรดแลคติก ทำให้เกิดรสเปรี้ยว กรดที่เกิดขึ้นจะช่วยยับยั้งจุลินทรีย์อื่นที่มาปนเปื้อนได้ (ชไมธร, 2549) แต่การไฮโดรไลซ์สตาร์ชเกิดไม่สมบูรณ์ คือให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับราในคลาสหลัง ยกเว้นรา *Amylomyces rouxii* ที่มีระดับการสร้างน้ำตาลรีดิวส์สูงสุดในกลุ่มเนื่องจากมีกลูโคอะไมเลส



ภาพที่ 2.6 การเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล

การหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์น้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นจะถูกเปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์โดยยีสต์ โดยกิจกรรมหลักของยีสต์นั้น จะเปลี่ยนน้ำตาล 1 โมเลกุล ให้ได้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์ 2 โมเลกุล และพลังงาน ดังภาพที่ 2.7 ในกระบวนการหมักนั้น ยีสต์ที่สำคัญที่ใช้จะอยู่ใน Class Ascomycetes โดยมีจีนัสที่สำคัญ ได้แก่ *Saccharomycopsis* spp., *Hansenula* spp. และ *Saccharomyces* spp. และยีสต์ใน Class Blastomycetes โดยมีจีนัสที่สำคัญ คือ *Torulopsis* spp. (ยุพกนิษฐ์, 2543) ซึ่งภายหลังจากการคลุกเคล้าผสมลูกแป้งจะเกิดลิเคอแฟคชัน (liquefaction) ซึ่งเป็น

ขั้นตอนเพื่อลดความหนืดของแป้งที่ผ่านการเจลาติไนซ์มาแล้วโดยการย่อยแป้ง โมเลกุลของแป้งจะมีขนาดโมเลกุลลดลง ความหนืดก็ลดลง ในกระบวนการหมักข้าวหมากนั้น นอกเหนือจากแอลกอฮอล์ กลีเซอรอล และกรดแลคติกที่เกิดขึ้นแล้ว ยังมีสารอื่น ๆ เกิดขึ้นด้วย เช่น ฟูเซลออยล (fusel oil) หรือที่บางครั้งเรียกวา ฟูเซลแอลกอฮอล (fusel alcohol) เช่น ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ โพรพิวแอลกอฮอล์ บิวทิวแอลกอฮอล์ และเอสเทอร์ ชนิดต่าง ๆ เป็นต้น



ภาพที่ 2.7 การเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทิลแอลกอฮอล์

จากการศึกษาของชัยวัฒน์ (2521) และสิรินทรเทพ (2523) แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *Amylomyces* spp. และยีสต์ *Saccharomycopsis* spp. และ *Hansenula* spp. มีความสำคัญในการหมักข้าวหมาก และให้ข้าวหมากมีคุณภาพดีที่สุด โดยที่ *Amylomyces* มีบทบาทสำคัญในการสร้างเอนไซม์อะไมเลส ส่วน *Saccharomycopsis* จะสร้างกลูโคอะไมเลส ส่วน *Hansenula* จะเปลี่ยนน้ำตาลบางส่วนไปเป็นเอสเทอร์ ทำให้กลิ่นรสของข้าวหมากดีขึ้น

4. นิยามและมาตรฐานของข้าวหมาก

ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช.162/2546 ข้าวหมาก ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากข้าวเหนียวขาวหรือข้าวเหนียวดำ ที่ผ่านการล้าง นำมานึ่ง และล้างอีกครั้ง แล้วหมักกับลูกแป้งข้าวหมากในระยะเวลา 2 วันถึง 3 วัน เพื่อเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลและยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์

สำหรับลูกแป้งข้าวหมาก หมายถึง ลูกแป้งที่เป็นแหล่งของกล้าเชื้อราและยีสต์ที่เหมาะสม โดยการเติมสมุนไพร (herb) บางชนิด เมื่อนำมาหมักกับข้าวเหนียวนึ่ง แล้วสามารถทำให้เกิดน้ำตาลและแอลกอฮอล์ โดยคุณลักษณะที่ต้องการของข้าวหมากตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช. 162/2546 มีดังนี้

1) ลักษณะทั่วไป เมล็ดข้าวเหนียวยังคงรูปเดิม ปริมาณน้ำพอท่วมก้อนข้าวเหนียวและน้ำควรมีลักษณะใส และไม่มีราปรากฏให้เห็นเด่นชัด

2) สี ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้

3) กลิ่นรส ต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติที่เกิดจากการหมักมีรสเปรี้ยวเล็กน้อย อาจมีรสชาติของแอลกอฮอล์เล็กน้อย และปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นเหม็นบูด รสเปรี้ยวจัด

4) ลักษณะเนื้อสัมผัส ต้องนุ่ม ไม่เป็นไตแข็ง เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนน จากคะแนนเต็ม 4 แล้ว ต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคนไม่น้อยกว่า 3 คะแนน และไม่มีลักษณะใดได้ 1 คะแนน จากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

5) สิ่งแปลกปลอม ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์

6) เอทิลแอลกอฮอล์ ต้องไม่เกินร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก

7) วัตถุเจือปนอาหาร ห้ามใช้วัตถุกันเสียและสีทุกชนิด

8) ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ต้องอยู่ระหว่างร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก ถึงร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก

9) ความเป็นกรด-ด่าง ต้องอยู่ระหว่าง 4.0 ถึง 4.5

10) จุลินทรีย์ เอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*) โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN) ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม ยีสต์และราต้องไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

ลูกแป้ง

ลูกแป้ง คือ กล้าเชื้อจุลินทรีย์ (inoculum) ที่เก็บอยู่ในรูปเชื้อแห้ง ใช้ในการผลิตอาหารหมักหลายชนิดในแถบเอเชีย การผลิตลูกแป้งเข้าใจว่ามีต้นกำเนิดจากประเทศจีน กล้าเชื้อนี้มีชื่อเรียกตามภาษาท้องถิ่นในแต่ละประเทศแตกต่างกันไป เช่น ชาวตะวันตกเรียกลูกแป้งของจีนว่า “Chinese yeast”, “Chinese yeast cake” หรือ “Chinese koji” ในฟอร์โมซา เรียกลูกแป้งว่า “Peka” ในมาลายาและอินโดนีเซียเรียกว่า “Raji” หรือ “Raggi” ในประเทศอินเดียเรียกว่า Bukhar การใช้ประโยชน์กล้าเชื้อในลักษณะนี้จะคล้ายคลึงกันเป็นส่วนใหญ่ คือใช้ในการหมักที่มีกิจกรรมการเปลี่ยนแป้งในวัตถุดิบประเภทธัญพืชและพืชหัวให้เป็นน้ำตาล (scarification) เพื่อผลิตอาหารหมักประเภทข้าวหมาก สุรา และเมรัย เช่น กระแช่ สาโท หรือ อุ ยกเว้น “ราจิเทมเป้”ของอินโดนีเซียที่ใช้ในการผลิตเทมเป้ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง โดยกิจกรรมของกล้าเชื้อจะเป็นการย่อยสลายโปรตีน ลูกแป้งมีหลายชนิดผลิตตามวัตถุประสงค์ที่จะนำไปใช้ เช่น ลูกแป้งข้าวหมาก ลูกแป้งเหล้า ลูกแป้งน้ำส้มสายชู ลูกแป้งขนมถ้วยฟู ลูกแป้งที่ดีจะมีลักษณะโปร่งเบา สีขาวนวล มีรอยแตกร้าว ก้อนแป้งเป็นรูพรุน ซึ่งเกิดจากการฟูของแป้งขณะบ่ม เมื่อขยี้จะยุ่ยเป็นผงละเอียด ไม่มีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว มีรูปร่างและขนาดต่างกัน ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้าส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นครึ่งวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-4 เซนติเมตร ลูกแป้งน้ำส้มสายชูมักนิยมปั้นเป็นก้อนกลมใหญ่มีเส้นผ่านศูย์กลางประมาณ 5-6 เซนติเมตร และมีกลิ่นเครื่องเทศฉุนจัด ลูกแป้งจากบางแหล่งบางท้องที่ เช่น ลูกแป้งจากอินเดียและมาเลเซียมีลักษณะเป็นวงแหวน ลูกแป้งเหล้าเกาเหลียงของจีนมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 12-15 เซนติเมตร มีลักษณะคล้ายวงแหวนเช่นกัน ลูกแป้งจากไต้หวันเมื่อแห้งแล้วจะนิยมนำมาป่นละเอียดเป็นผงและบรรจุขายเป็นซอง ลูกแป้งที่ผลิตจากแต่ละแหล่งจะมีประสิทธิภาพการหมักต่างกัน ซึ่งบางครั้งไม่สามารถบอกได้ด้วยลักษณะปรากฏ (นภา, 2535)

การผลิตลูกแป้งมักทำเป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือน โดยมีกิจกรรมที่คล้ายคลึงกัน การผลิตลูกแป้งต้องอาศัยความชำนาญสูตรแน่นอนจึงไม่มี และประกอบกับผู้ที่มีความรู้ทางด้านนี้ในสมัยก่อนมักปิดปังวิชา ไม่ค่อยถ่ายทอดกันมากนัก จึงทำให้เชื้อดี ๆ และสูตรลูกแป้งดี ๆ สูญหายไปอย่างน่าเสียดาย อย่างไรก็ตามองค์ประกอบที่สำคัญในการทำลูกแป้งโดยทั่วไป คือ แป้ง เครื่องเทศ หรือสมุนไพร น้ำ ลูกแป้งเดิม ซึ่งใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์ และรำหยาบหรือแกลบ (บางสูตรใช้หรือบางสูตรไม่ใช้)

1. ลักษณะโดยทั่วไปของลูกแป้ง

ลักษณะที่ดีของลูกแป้งจากการสังเกตด้วยตา

1.1 มีน้ำหนักเบา ฟูแห้ง มีโพรงอากาศข้างใน แสดงถึงกิจกรรมการสร้างกาซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ดีของยีสต์

1.2 มีกลิ่นหอม แสดงถึงประสิทธิภาพของเครื่องเทศยังแรงอยู่

1.3 บี้ดูเห็นใยของรากระจายตัวดีเกาะกับผงแป้ง แสดงถึงปริมาณราเริ่มต้นที่เหมาะสม

1.4 ชิมดูมีรสหวาน แสดงถึงประสิทธิภาพการสร้างน้ำตาลของรา

1.5 ไม่เหม็นเปรี้ยว แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียน้ำส้ม

1.6 มีสีขาวนวลเป็นสีเดียวกันทั้งลูก ไม่มีสีดำหรือสีเขียวปะปน แสดงว่าไม่เกิดการปนเปื้อนของราชนิดอื่น

ลักษณะที่ดีของลูกแป้งจากการหมักข้าวเหนียว ต้องให้น้ำต้อย (น้ำเชื่อมข้าว) มากและเร็ว ให้กลิ่นหอม ให้แอลกอฮอล์สูง และสภาวะการหมักไม่เกิดการปนเปื้อนง่าย

2. องค์ประกอบหลักของวัตถุดิบที่ใช้ผลิตลูกแป้ง

2.1 แป้ง ควรใช้แป้งข้าวเจ้าล้วน ๆ จะมีคุณภาพดีที่สุด ตามตำรับเดิมผู้ผลิตจะบดแป้งใช้เป็นคราว ๆ ไป ข้าวที่ใช้จะต้องไม่เก่าหรือขึ้นรา ไม่นิยมใช้แป้งสำเร็จทั้งนี้เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และหลีกเลี่ยงกรดโพรพิโอนิกที่เป็นสารยับยั้งเชื้อรา ซึ่งมักใส่ลงไปในแป้งสำเร็จ

2.2 เครื่องเทศหรือสมุนไพร เครื่องเทศแบ่งออกเป็น 3 ลักษณะ ได้แก่ เครื่องเทศแห้ง น้ำมันหอมละเหย และ โอลีโอเรซิน (oleoresin) ปริมาณองค์ประกอบในเครื่องทศแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันตามรุ่นของเครื่องเทศที่นำมาใช้ เริ่มตั้งแต่สายพันธุ์ของพืช การเพาะปลูก การบำรุงรักษา ความอ่อนแก่ของส่วนที่นำมาทำเตรียมเป็นเครื่องเทศ วิธีการเตรียม สภาพแวดล้อมและระยะเวลาการเตรียม และวิธีการตรวจหาองค์ประกอบต่าง ๆ ในเครื่องเทศ

เครื่องเทศและสมุนไพรมีหน้าที่ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่ไม่ต้องการในลูกแป้ง เนื่องจากเครื่องเทศมีน้ำมันหอมระเหย ซึ่งมีองค์ประกอบหลายชนิด ได้แก่ แอลกอฮอล์ เอสเทอร์ เทอร์ปีน ฟีนอล อัลคาลอยด์ เรซิน กรดอินทรีย์ สารประกอบที่มีกำมะถัน และสารอื่น ๆ น้ำมันหอมระเหยเหล่านี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์มากกว่าการฆ่า เนื่องจากมีปริมาณไม่เพียงพอที่จะทำลายจุลินทรีย์ได้ การใช้ในปริมาณที่เหมาะสมจะมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิดแต่ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของยีสต์และรา สมุนไพรแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้แตกต่างกัน การใช้เครื่องเทศและสมุนไพรต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ จะทำให้ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในลูกแป้งต่างกัน ปัจจัยที่มีผลทำให้ประสิทธิภาพของเครื่องเทศในการทำลายจุลินทรีย์ขึ้นกับส่วนของเครื่องเทศที่ใช้ อายุเครื่องเทศ ความเข้มข้นของเครื่องเทศ ชนิดของเชื้อ และสภาวะที่ใช้ในการทดสอบ เช่น อุณหภูมิ ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ และระยะเวลาที่จุลินทรีย์สัมผัสกับเครื่องเทศ สูตรการผลิตลูกแป้งในแต่ละพื้นที่มีแตกต่างกันหลายตำรับ แต่เมื่อเปรียบเทียบชนิดของสมุนไพรที่ใช้ในแต่ละตำรับ จะเห็นว่าสมุนไพรที่ใช้เป็นองค์ประกอบพื้นฐานร่วมกันในหลาย ๆ ตำรับ ได้แก่กระเทียม พริกไทย ขิง และข่า ส่วนชะเอมและดีปลีเป็นองค์ประกอบของลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้าไทย (นภา, 2535)

2.3 น้ำ ปริมาณน้ำมีความสำคัญมากในการควบคุมความชื้นของลูกแป้ง ถ้ามีความชื้นมากไปจะทำให้ลูกแป้งเหม็นเปรี้ยวและเสียได้ หรือแห้งเกินไปจะทำให้ลูกแป้งแตกหรือราเจริญในลูกแป้งไม่ดี ถ้าความชื้นในลูกแป้งเหมาะสมจะทำให้เก็บรักษาจุลินทรีย์ในลูกแป้งได้นาน

2.4 ลูกแป้งเดิม บดเป็นผงใช้เป็นแหล่งกล้าเชื้อ ต้องไม่เก่าเกินไปจนมอดกินหรือใช้ลูกแป้งที่มีเชื้อราอื่นปนเปื้อนภายนอกจนเห็นได้ชัด โดยสามารถใช้ลูกแป้ง 20 กรัม ต่อตำรับที่ใช้แป้ง 1 กิโลกรัม

2.5 รำหยาบหรือแกลบ ใส่เพื่อให้ลูกแป้งโปร่งเบามีอากาศเข้าได้มาก ทำให้จุลินทรีย์ที่สำคัญสามารถเจริญได้ดี ในบางสูตรไม่ใช้

3. การเตรียมวัตถุดิบและการปั้นลูกแป้ง

3.1 เตรียมแป้งโดยซาวข้าวจ้าวให้สะอาด แช่น้ำไว้ประมาณ 2-3 ชั่วโมง นำไปโม่แล้วทับน้ำให้แห้ง หรือทำให้สะเด็ดน้ำเสียก่อนแล้วจึงนำไปบดหรือปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้าให้ละเอียดแล้วร่อนด้วยแร่ง การแช่ข้าวนานเกินไปโดยไม่เปลี่ยนน้ำ จะมีผลให้แบคทีเรีย และ *Bacillus* spp. เจริญเพิ่มจำนวนในปริมาณมาก ทำให้ลูกแป้งที่ผลิตได้ด้วยคุณภาพ

3.2 บดสมุนไพรชนิดแห้งให้ละเอียด สมุนไพรสดอาจนำไปบดพร้อมกับข้าว

3.3 ผสมแป้งและสมุนไพรกับลูกแป้ง (ลูกแป้ง 5 กรัม ต่อแป้ง 1 กิโลกรัม) ที่บดละเอียดให้เข้ากันโดยการร่อนด้วยแร่งหรือปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้าความเร็วต่ำ เติมน้ำหรือน้ำต้มชะเอมในปริมาณพอเหมาะ เมื่อนวดแป้งแล้วจะปั้นเป็นก้อนได้ ปริมาณสมุนไพรสดที่ใช้อาจแตกต่างกันในแต่ละตำรับ

3.4 เมื่อนวดแป้งจนเหนียวแล้วจึงปั้นเป็นก้อนกลมขนาดต่าง ๆ กัน ตามชนิดของลูกแป้ง

3.5 เรียงลูกแป้งบนกระด้งหรือภาชนะก้นโปร่งอื่น ๆ ให้แต่ละก้อนห่างกันเล็กน้อย เนื่องจากเมื่อจุลินทรีย์เจริญจะทำให้ลูกแป้งฟูขึ้น สำหรับการปั้นลูกแป้งขนาดใหญ่ เมื่อเรียงบนภาชนะแล้ว ควรกดด้านบนให้แบนเล็กน้อย เพื่อให้ลูกแป้งบางลง จุลินทรีย์ภายในก้อนแป้งจะมีโอกาสรับอากาศมากขึ้น

3.6 เมื่อเรียงลูกแป้งเต็มภาชนะ โรยผงลูกแป้งที่เตรียมไว้ลงบนผิวของลูกแป้งที่ปั้นใหม่ โดยใช้ผงลูกแป้งที่ปั้นประมาณ 15 กรัม ต่อสูตรที่ใช้แป้ง 1 กิโลกรัม แล้วคลุมภาชนะด้วยผ้าหนา ๆ โดยไม่ให้ผ้าสัมผัสกับผิวลูกแป้ง บ่มประมาณ 48 ชั่วโมง นำไปตากแดดให้แห้งแล้วเก็บในภาชนะที่ปิดฝาสนิท การที่ลูกแป้งได้รับแสงโดยตรงจะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ลดลงไปบ้าง ซึ่งเป็นผลจากรังสีอัลตราไวโอเลต ดังนั้นจึงควรตากลูกแป้งโดยมีแผ่นกระจกใสกั้นแสงอยู่ด้านบน โดยเว้นระยะระหว่างผิวลูกแป้งและกระจกให้อากาศถ่ายเทได้ นอกจากนั้นการทำให้ลูกแป้งแห้งอย่างได้ผลดีอีกวิธีหนึ่ง คือ การอบในตู้อบ (นภา, 2535)

4. จุลินทรีย์ที่พบในลูกแป้ง

ลูกแป้งคือกล้าเชื้อผสม (mixed culture) ที่มีทั้งเชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย ซึ่งเป็นที่น่าสนใจว่า ถึงแม้กรรมวิธีการผลิตลูกแป้ง จะไม่สามารถควบคุมการปนเปื้อนได้โดยสิ้นเชิง แต่หากการผลิตนั้นได้กระทำอย่างระมัดระวัง จะมีจุลินทรีย์เพียงไม่กี่สกุล (genus) เท่านั้น ที่สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนขนจรวจนับได้ในปริมาณสูง ส่วนจุลินทรีย์ปนเปื้อนอื่น ๆ จะพบปนมาในปริมาณน้อยมาก

4.1 เชื้อรา

เชื้อราที่ตรวจพบในลูกแป้งจากทุก ๆ แหล่งที่มีรายงานการศึกษา ได้แก่ *Amylomyces rouxii* และ *Rhizopus* spp. ปริมาณที่พบมากน้อยนั้นขึ้นกับชนิดของลูกแป้ง เชื้อหลักที่พบในลูกแป้งข้าวหมากได้แก่ *A. rouxii* ซึ่งส่วนใหญ่พบประมาณ 10^4 โคโลนีต่อกรัม ส่วนลูกแป้งที่ปั้นใหม่ ๆ จะพบถึง $1.5x10^5$ - $2.7x10^5$ โคโลนีต่อกรัม จุลินทรีย์นี้มีปรากฏเพียงสปีชีส์เดียว และไม่มีรายงานว่าแยกได้จากธรรมชาติ ซึ่งสันนิษฐานว่าเป็นเชื้อที่ผ่าเหล่าอย่างถาวรมาจาก *Rhizopus* spp. ในการแยกเชื้อจากลูกแป้งในระยะแรก ๆ ได้จัดจำแนกจุลินทรีย์นี้เป็น *Chlamydomucor rouxii*, *C. japonicas*, *C. rouxiznus* และ *Rhizopus chlamydosporus* สำหรับลูกแป้งเหล้าจะพบทั้ง *Rhizopus* spp. และ *A. rouxii* เป็นเชื้อหลัก ยกเว้นลูกแป้งสุราจากอินเดียซึ่งเชื้อราส่วนใหญ่เป็น *Mucor* spp. และในลูกแป้งสำหรับผลิตเทมเป้ที่พบ *R. oligosporus* และ *R. orysae* เชื้อรานี้มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสเพื่อย่อยสลายโปรตีนในถั่วเหลือง (นภา, 2535) นอกจากเชื้อราหลัก ๆ ที่กล่าวมาแล้ว ยังพบเชื้อราอื่นๆ ต่างชนิดกัน โดยขึ้นกับแหล่งที่ผลิตลูกแป้ง ดังรายละเอียดในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 เชื้อราในลูกแป้งจากแหล่งต่าง ๆ

แหล่งและชนิดของลูกแป้ง	เชื้อรา
ลูกแป้งข้าวหมากไทย	*Amylomyces rouxii*
	Rhizopus spp.
	Mucor spp.
	Aspergillus niger
	Aspergillus spp.
	Penicillium spp.
	Hyalodendron spp.
ลูกแป้งเหล้าไทย	*Rhizopus* spp.
	A. rouxii
	Mucor spp.
	Aspergillus spp.
	Penicillium spp.
ลูกแป้ง (ส่า) น้ำส้มไทย	*Rhizopus* spp.
	A. rouxii
	Mucor spp.
	Aspergillus spp.
	Absidia spp.
ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้าอินโดนีเซีย	*A. rouxii*
	Mucor dubius
	M. javanicus

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

แหล่งและชนิดของลูกแป้ง	เชื้อรา
	R. oryzae
	A. niger
	R. stolonifer
	R. cohnii
	Zyghynchus moelleri
	A. oryzae
	A. flavus
	R. oligosporus
	R. arrhizus
	Fusarium spp.
ลูกแป้งเทมเป้อินโดนีเซีย	*R. oligosporus*
	R. oligosporus
	Rhizopus spp.
	Mucor spp.
	Aspergillus spp.
ลูกแป้งอินเดีย	*M. fragilis*
	A. rouxii
	A. fragilis
ลูกแป้งฟิลิปปินส์	*Rhizopus* spp.
	Mucor spp.
ลูกแป้งจีน	*Rhizopus javanicus*
	R. chinensis
	Rhizopus spp.
	A. rouxii

ที่มา : นภา (2535)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

รานั้นจะสร้างเส้นใยจำนวนมากแผ่กระจายปกคลุมบนผิวเมล็ดข้าว และแทรกตัวเข้าไปในช่องว่างระหว่างเมล็ดข้าว บางส่วนทะลุเข้าไปในเมล็ดข้าว ราจะสร้างเอนไซม์จำนวนมากออกมาย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลเฟอร์เมนต์ ได้แก่ มอลโตไตรโอส มอลโตส กลูโคส และน้ำตาลนอนเฟอร์เมนต์ ได้แก่ ลิมิตเดกซ์ตริน (limit dextrins) และสร้างกรดอินทรีย์ และยังได้สารอาหารและวิตามินที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของยีสต์

Amylomyces เป็นเชื้อราที่มีความสำคัญที่สุดในการทำข้าวหมาก จัดอยู่ในพวก Mucorales เมื่อเลี้ยงบนอาหาร synthetic mucor agar (SMA) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ได้อย่างรวดเร็ว โคโลนีเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อภายใน 7 วัน เส้นใยมีสีขาวจนถึงสีเทา และสามารถเจริญ

บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) และ molt extract agar แต่เจริญช้ากว่ามากบนอาหาร PDA เส้นใยมีสีเทาน้ำตาลอ่อนจนถึงสีขาว สร้างเป็นอับสปอร์ (sporangium) ซึ่งไม่มีหรือมีสปอร์แรงจิโอสปอร์ (sporangiospore) บ้าง แต่อยู่ในสภาพเป็นหมัน สปอร์แรงจิโอสปอร์ไม่เจริญเป็นเส้นใยเหมือน *Rhizopus* ลักษณะที่สำคัญคือ ทุกสายพันธุ์จะสร้างคลาไมโดสปอร์ (chlamydospore) อย่างมากมายในเส้นใยบนผิวหน้าและอากาศ อาจเกิดเดี่ยว ๆ หรือเป็นหมู่ ๆ ก็ได้ ลักษณะของคลาไมโดสปอร์มีต่าง ๆ กัน จากรูปร่างทรงกระบอกสั้น ๆ รูปไข่ จนกระทั่งกลม มีขนาดตั้งแต่ 127x60 ไมโครเมตร เชื้อรา *Amylomyces* ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ส่วนมากจะเจริญได้ดีที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (วิลาวัณย์, 2539)

4.2 ยีสต์

ยีสต์ที่พบในลูกแป้งข้าวหมากส่วนใหญ่ ได้แก่ *Saccharomycopsis* spp. และ *Hansenula malanga* โดยมี *Saccharomyces cerevisiae* ปนมาบ้าง ส่วนลูกแป้งเหล้าจะพบ *S. cerevisiae* ในปริมาณมากกว่า *Saccharomycopsis* spp. นอกจากนั้นยังมียีสต์อื่นที่พบในลูกแป้งเฉพาะแหล่ง ได้แก่ *Candida* spp. และ *Torulopsis* spp. ดังรายละเอียดในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 ยีสต์ในลูกแป้งจากแหล่งต่าง ๆ

แหล่งและชนิดของลูกแป้ง	ยีสต์
ลูกแป้งข้าวหมากไทย	*Saccharomycopsis fibuligera*
	Endomycopsis spp.
	Hansenula malanga
	Candida tropicalis
	Torulopsis glabrata
ลูกแป้งเหล้าไทย	*Saccharomyces cerevisiae*
	Endomycopsis fibuligera
	Endomycopsis spp.
ลูกแป้งอินโดนีเซีย	*Torula indica*
	Hansenula anomala
	Saccharomyces cerevisiae
	Saccharomycopsis chodati
	E. fibuligera
	H. subpelliculosa
	H. malanga
	Candida guilliermondii
	C. humicola
	C. intermedia
	C. japonica

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

แหล่งและชนิดของลูกแป้ง	ยีสต์
	C. pelliculosa
	Saccharomycopsis fibuligera
ลูกแป้งอินเดีย	*H. anomala*
ลูกแป้งฟิลิปปินส์	*Saccharomycopsis* spp.
	Saccharomyces spp.
ลูกแป้งจีน	*Saccharomycopsis* spp.

ที่มา : นภา (2535)

ยีสต์ที่พบในลูกแป้งทั่ว ๆ ไป มีปริมาณสูงถึง $5x10^6$ - $8x10^7$ เซลล์ต่อกรัมของลูกแป้ง

Hansenula เป็นยีสต์ที่พบในปริมาณใกล้เคียงกันทั้งในลูกแป้งข้าวหมาก ลูกแป้งเหล้า และข้าวหมาก ยีสต์พวกนี้มีคุณสมบัติในการสร้างกลิ่นของเอสเทอร์ มีรายงานว่าพบ *Hansenula anomala* ในลูกแป้งข้าวหมากอินโดนีเซีย ลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม ทรงรี และทรงกระบอก การแตกหน่อแบบทวีคูณ เซลล์เรียงต่อกันเป็นเส้นใยแบบซูโดไมซีเลียม (pseudomycelium) รูปร่างของแอสโคสปอร์ (ascospore) เป็นรูปหมวก

Saccharomycopsis เป็นยีสต์ที่พบในลูกแป้ง ยีสต์หลักที่พบในลูกแป้ง คือ *Saccharomycopsis fibuligera* ซึ่งเป็นยีสต์ที่มีความสามารถผลิตน้ำย่อยย่อยแป้งได้ด้วย การที่ในลูกแป้งมียีสต์ *Saccharomycopsis* ซึ่งสามารถย่อยแป้งได้นั้น อาจเป็นเพราะน้ำย่อยของเชื้อราไม่สามารถย่อยแป้งได้หมด เพราะราจะตายไปหลังจากการหมักเพียง 3 วัน ดังนั้นจึงต้องอาศัยน้ำย่อยของยีสต์นี้ช่วยย่อยแป้งที่เหลือ เพื่อให้เกิดเป็นน้ำตาลเพื่อยีสต์จะได้ใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์ต่อไป จากการศึกษาของเบญจพร (2541) ได้ศึกษาเชื้อยีสต์ 12 ไอโซเลท ที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมากในประเทศไทย พบว่าเชื้อยีสต์ไอโซเลท KU7 สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสย่อยแป้งดิบได้สูงสุด จากการศึกษาทางอนุกรมวิธาน พบว่าไอโซเลท KU7 เป็นเชื้อยีสต์สกุล *Saccharomycopsis* sp. ที่ประกอบด้วยเอนไซม์สองชนิด คือ แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส แอลฟาอะไมเลสไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาดูดซับและย่อยแป้งดิบได้ เอนไซม์มีความสามารถในการย่อยแป้งมันฝรั่งสุก ไกลโคเจน และแป้งข้าวเหนียวสุกได้น้อยกว่าร้อยละ 50 ส่วนกลูโคอะไมเลสสามารถเกิดปฏิกิริยาดูดซับและย่อยแป้งดิบได้ดี เอนไซม์มีความสามารถย่อยแป้งมันฝรั่งสุก ไกลโคเจน และแป้งข้าวเหนียวสุกได้ร้อยละ 70.36, 84.14 และ 59.99 ตามลำดับ

4.3 แบคทีเรีย

แบคทีเรียที่พบส่วนใหญ่ได้แก่ แบคทีเรียแลคติก *Pediococcus pentosaceus* โดยพบประมาณถึงประมาก 10^4 - 10^7 เซลล์ต่อกรัม ขึ้นกับที่มาของลูกแป้ง และลูกแป้งเหล้าของไทยบางท้องถิ่นอาจพบ *Lactobacillus* spp. และอาจพบแบคทีเรียกรดน้ำส้ม เช่น *Acetobacter* spp. และ *Gluconobacter* spp. ซึ่งมีมากในส่าน้ำส้ม นอกจากนี้อาจพบ *Bacillus* spp. ในลูกแป้งจากการ

ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ เช่น แป้งและสมุนไพร แต่ถ้าส่วนผสมสมุนไพรเหมาะสม สามารถลดจุลินทรีย์นี้ได้มาก (นภา, 2534)

Ragi ลูกแป้งของอินโดนีเซีย ซึ่งใช้ในการเตรียมข้าวหมากที่เรียกว่า Tape จากการแยกเชื้อพบว่า แบคทีเรียพบมากที่สุดคือ *Streptococcus* spp. (เจริญ, 2548)

จิราภรณ์ และคณะ (2553) ได้ศึกษาและคัดเลือกเชื้อราสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก โดยเชื้อบริสุทธิ์ที่ใช้ในการศึกษาประกอบด้วย *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ TISTR 3568 ที่คัดแยกได้จากลูกแป้งข้าวหมากและข้าวหมาก ตามลำดับ *Saccharomycopsis fibuligera* TISTR 5097 และ TISTR 5775 ซึ่งคัดแยกได้จากลูกแป้ง และ *Hansenula anomala* TISTR 5113 ซึ่งคัดแยกได้จากไวน์ข้าว จากการคัดเลือกประสิทธิภาพในการย่อยแป้งโดยพิจารณาจากเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสเฉลี่ยที่สูงสุด พบว่า *A. rouxii* TISTR 3182 และ *S. fibuligera* TISTR 5775 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสเฉลี่ยมากที่สุดในกลุ่มของเชื้อราและเชื้อยีสต์ที่ใช้ทดสอบ ตามลำดับ ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อดังกล่าวเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป ส่วนการคัดเลือกประสิทธิภาพในการผลิตแอลกอฮอล์ของยีสต์ พบว่า มีเชื้อยีสต์เพียง 2 ไอโซเลทเท่านั้น คือ *Hansenula anomala* TISTR 5113 และ *S. fibuligera* TISTR 5775 ที่สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ซึ่งไม่เกินปริมาณที่กำหนด (น้อยกว่าร้อยละ 4) ร้อยละ 1.25 และ 0.5 ตามลำดับ ขณะที่อีก 1 ไอโซเลท คือ *S. fibuligera* TISTR 5097 ไม่พบการผลิตแอลกอฮอล์ แต่ลักษณะกลิ่นหมักที่ได้ของเชื้อแต่ละไอโซเลทมีกลิ่นที่แตกต่างกัน โดย *H. anomala* TISTR 5113 จะมีลักษณะกลิ่นหอมของเอสเทอร์ซึ่งเป็นกลิ่นที่ดีของข้าวหมาก จึงเลือก *H. anomala* TISTR 5113 เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

5. การผลิตลูกแป้งข้าวหมากด้วยเชื้อบริสุทธิ์

จากการศึกษาถึงบทบาทของจุลินทรีย์ในลูกแป้งข้าวหมาก ทำให้มีการคัดเลือกสายพันธุ์โดยแยกเชื้อจากลูกแป้งที่มีคุณภาพดี มีประสิทธิภาพในการหมัก ตลอดจนสามารถจัดคู่หรือกลุ่มจุลินทรีย์ในรูปเชื้อผสมเพื่อเป็นแนวทางในการนำจุลินทรีย์ไปผลิตลูกแป้งโดยเชื้อบริสุทธ์ เพื่อให้ได้ลูกแป้งที่มีคุณภาพสม่ำเสมอ ส่งผลต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพแน่นอน สามารถปรับปรุงประสิทธิภาพการหมัก หรือขยายกำลังผลิตให้สูงกว่าที่เป็นอยู่ได้ การผลิตลูกแป้งด้วยเชื้อบริสุทธิ์ได้สำเร็จเพียงใดนั้น นอกจากการคัดเลือกและจัดคู่จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นกล้าเชื้อได้อย่างเหมาะสมแล้ว จะต้องมีการศึกษาให้ทราบแน่ชัดถึงผลของสมุนไพรต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ทั้งกลุ่มที่ต้องการให้มีในลูกแป้งและกลุ่มที่เป็นจุลินทรีย์ปนเปื้อน สำหรับการผลิตลูกแป้งข้าวหมากเชื้อบริสุทธิ์ที่ใช้ได้แก่ *A. rouxii, Endomycopsis* spp. และ *Hansenula* spp. ซึ่งจากการศึกษาผลของสมุนไพร 23 ชนิด และส่วนผสมของสมุนไพรเหล่านี้ต่อเชื้อทั้งสามชนิดและจุลินทรีย์ปนเปื้อนอื่น ๆ เช่น *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp. และ *Penicillium* spp. โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเลือกสมุนไพรที่ไม่ยับยั้งการเจริญของเชื้อบริสุทธิ์ที่เติมในลูกแป้ง แต่มีผลต่อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ผลปรากฏว่าลูกแป้งที่ตรวจ พบเฉพาะ *A. rouxii, Endomycopsis* spp. และ *Hansenula* spp. โดยไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อราอื่น ๆ ได้แก่ ลูกแป้งที่เติมส่วนผสมของสมุนไพรดังต่อไปนี้

1) กานพลูร้อยละ 0.5 และขิงร้อยละ 3
2) ขิงร้อยละ 3 ข่าร้อยละ 1 และดีปลีร้อยละ 1.5
3) ข่าร้อยละ 1 ชะเอมร้อยละ 2 และดีปลีร้อยละ 1.5
4) กระเทียมร้อยละ 3 ขิงร้อยละ 3 ข่าร้อยละ 1 และพริกไทยร้อยละ 1.5
5) กระเทียมร้อยละ 3 ขิงร้อยละ 3 ชะเอมร้อยละ 2 และพริกไทยร้อยละ 1.5
6) ขิงร้อยละ 3 ชะเอมร้อยละ 2 ดีปลีร้อยละ 1.5 และพริกไทยร้อยละ 1.5
7) กระเทียมร้อยละ 3 ขิงร้อยละ 3 ชะเอมร้อยละ 2 และดีปลีร้อยละ 1.5 (นภา, 2534)

สิรินทรเทพ (2523) ได้ศึกษาการหมักข้าวหมากด้วยเชื้อบริสุทธิ์ จากแยกเชื้อจากลูกแป้งข้าวหมากและข้าวหมาก พบว่ามี *Amylomyces* ร้อยละ 36.50 *Saccharomycopsis* ร้อยละ 37.60 *Mucor* ร้อยละ 17.90 *Rhizopus* ร้อยละ 6.90 และ *Aspergillus* ร้อยละ 1.1 และนำเชื้อมาทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์อะไมเลส รวมทั้งการให้กลิ่นและรส เพื่อให้เหมาะสมกับการทำข้าวหมาก ซึ่งข้าวหมากที่ทำจากเชื้อบริสุทธิ์ได้ข้าวหมากที่มีเมล็ดข้าวนิ่ม ขาว มีน้ำเยิ้ม ปริมาณน้ำตาลในข้าวหมากจะได้สูงสุดในเวลา 60 ชั่วโมงของการหมัก ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ค่าความเป็นกรด-ด่างคงที่ ในการทำข้าวหมากที่ใช้เชื้อผสม 2 เชื้อคือ *Amylomyces* ร่วมกับ *Saccharomycopsis* หรือ *Amylomyces* ร่วมกับ *Hansenula* จะมีความหวานมากขึ้น ในขณะที่ข้าวหมากที่ใช้เชื้อผสม 3 เชื้อคือ *Amylomyces* ร่วมกับ *Saccharomycopsis* และ *Hansenula* จะให้กลิ่นที่ดีมากขึ้น เชื้อผสมที่เหมาะสมที่สุดในการหมักข้าวหมากคือเชื้อผสมระหว่าง *Amylomyces rouxii* AH3 ร่วมกับ *Saccharomycopsis* fibuligera ER10 และ *Hansenula* anomala 4-9 ในข้าวหมากที่มีรสหวานมีกลิ่นหอม มีรสชาติดีและความพอใจของผู้ชิมมากกว่าข้าวหมากจากท้องตลาด

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM RAJABHAT UNIVERSITY

อังคณา และจารุณี (2550) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำลูกแป้งข้าวหมาก โดยทำการศึกษาชนิดของแป้งและธัญพืช ชนิดและความเข้มข้นของเครื่องเทศ พีเอชที่เหมาะสมของระยะพักตัว ระยะเวลาในการบ่มลูกแป้งพบว่า ชนิดแป้งสำเร็จรูป 3 ชนิด คือ แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียว และแป้งถั่วเขียว เมล็ดข้าวบดละเอียด 3 ชนิดคือ ข้าวเจ้า ข้าวเหนียว และข้าวสาลี นำมาทำลูกแป้งจะให้ข้าวหมากที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด แอลกอฮอล์ และกรดทั้งหมด (ในรูปกรดแลคติค) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่า ลูกแป้งที่ทำจากแป้งสำเร็จรูปให้ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<=0.05$) ในการทำลูกแป้งโดยใช้เครื่องเทศ 5 ชนิด ได้แก่ กระเทียม ขิง ชะเอม ดีปลี และพริกไทย ทดสอบการเจริญกับเชื้อรา *Amylomyces rouxii* และเชื้อยีสต์ 2 ชนิดได้แก่ *Hansenula anomala*, *Saccharomyces cerevisiae* พบว่า ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ขึ้นไปมีผลทำให้การเจริญของเชื้อทั้ง 3 ลดลง การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในระยะพักตัวของเชื้อรา *A.rouxii* ที่แยกได้จากลูกแป้งบรูไนและอินโดนีเซียพบว่าที่ความเป็นกรด-ด่าง 4.5-6.7 เชื้อรา *A.rouxii* สามารถเจริญได้ดี ระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มลูกแป้ง พบว่า การบ่มช่วง 12-24 ชั่วโมง จะทำให้คุณภาพทางเคมีและประสาทสัมผัสแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<=0.05$)

ภัณฑิรา (2558) ได้ศึกษากระบวนการผลิตผงกล้าเชื้อสำหรับข้าวหมาก โดยได้คัดแยกและบ่งชี้เชื้อราได้ 5 ไอโซเลต ได้แก่ *Aspergillus* (3 ไอโซเลต) *Rhizopus* (1 ไอโซเลต) และ *Amylomyces* (1 ไอโซเลต) และยีสต์ได้ 2 ไอโซเลต คือ *Saccharomyces* และ *Hansennula* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการหมักข้าวหมากจากข้าวหมากที่หมักด้วยลูกแป้งที่ผลิตแบบพื้นบ้าน เชื้อรา *Amylomyces* และยีสต์ *Hansennula* มีความสามารถย่อยสลายแป้งได้มากที่สุด จึงได้คัดเลือกจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดนี้ไปพัฒนาเป็นผงกล้าเชื้อสำหรับหมักข้าวหมาก และพบว่าแป้งข้าวเจ้าและแป้งข้าวเหนียวมีความเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นสารพยุงเซลล์เชื้อราและเชื้อยีสต์ โดยผงกล้าเชื้อราและยีสต์ที่ผลิตได้มีปริมาณเชื้อราและยีสต์ 4.68 log CFU/g และ 7.96 log CFU/g ตามลำดับ ผงกล้าเชื้อราผสมผงกล้าเชื้อยีสต์ในอัตรา 8:1 มีความเหมาะสมในการหมักข้าวหมากข้าวเหนียวดำมากที่สุด โดยข้าวหมากที่ผลิตได้มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้และน้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณสูง และผงกล้าเชื้อที่ผลิตได้มีค่าการเหลือรอดของกล้าเชื้อหมักร้อยละ 96 หลังการเก็บรักษาในถุงอลูมิเนียมฟอยด์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่น้อยกว่า 90 วัน

การผลิตกล้าเชื้อรา

เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจน ในกระบวนการเมทาบอลิซึม ดังนั้นจึงเจริญได้ดีเฉพาะในสภาวะที่มีอากาศเพียงพอ ยกเว้นเชื้อราบางชนิดเท่านั้นที่สามารถเจริญเติบโตได้ในที่ ๆ มีออกซิเจนอยู่น้อย เช่น *Rhizopus* spp., *Amylomyces rouxii* แต่ราเหล่านี้ก็จะสร้างสปอร์ได้น้อยมากในสภาวะดังกล่าว การเพาะเลี้ยงเชื้อราเพื่อให้สร้างสปอร์โดยเลี้ยงในสับสเตรทที่เป็นของแข็ง ในลักษณะที่ไม่มีการให้อากาศหรือรบกวน เช่นการใช้ถาดหรือกระด้งเป็นภาชนะในการเลี้ยงเชื้อซึ่งควบคุมในเรื่องการปนเปื้อนได้ยาก ส่วนการเลี้ยงเชื้อในขวดแก้ว หรือขวดรูปชมพู่ซึ่งควบคุมการปนเปื้อนได้ดีก็จะเสียพื้นที่ด้านบน จึงได้มีวิธีการเพิ่มพื้นที่ผิวที่จะเพาะเลี้ยงเชื้อราในภาชนะขวดแก้วหรือขวดรูปชมพู่ ทำให้สับสเตรทเกาะติดพื้นที่ผิวด้านในทั้งหมดของภาชนะ ในลักษณะนี้ราจะได้รับอากาศอย่างเต็มที่ เหมาะกับเชื้อราที่มีลักษณะเส้นใยยาวฟู เช่น *Rhizopus* spp., *Mucor* spp. เป็นต้น

สับสเตรทในการเลี้ยงเชื้อได้แก่ข้าวเจ้าหรือข้าวเหนียว ในกรณีที่ใช้ข้าวเจ้าควรเลือกที่เป็นพันธุ์ข้าวนิ่มไม่แข็งกระด้าง (มีอะไมโลเพคตินสูง) เช่น ข้าวหอมมะลิ ทั้งนี้เพื่อที่เมล็ดข้าวจะสามารถเกาะติดข้างภาชนะได้ดี รายละเอียดการเตรียมสับสเตรทมีดังนี้

1) แช่ข้าวประมาณ 1-2 ชั่วโมง บรรจุในขวดโหลปากกว้าง หรือขวดรูปชมพู่ กลิ้งหรือเขย่าภาชนะให้เมล็ดข้าวเกาะติดพื้นที่ผิวด้านในของภาชนะโดยรอบ ปริมาณข้าวที่ใช้นั้นต้องพอเหมาะกับขนาดของภาชนะ ซึ่งมีปริมาณมากพอที่จะแผ่กระจายเรียงเมล็ดทั่วพื้นผิวโดยไม่มีช่องว่าง และเมล็ดจะต้องไม่ซ้อนกัน เมื่ออุดจุกภาชนะแล้วจึงนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่อเย็นแล้วจึงหยดซัสเปนชันของสปอร์โดยรอบปากภาชนะ เพื่อให้ซัสเปนชันไหลลงทั่วเมล็ดข้าวในขวดรูปชมพู่

2) แช่ข้าวและบรรจุลงในภาชนะตามปริมาณเช่นเดียวกับข้อที่ 1 แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดความดันไอน้ำเช่นเดียวกัน เมื่อข้าวเย็นแล้วจึงใส่ซัสเปนชันของสปอร์หรือผงสปอร์ซึ่งเป็นเชื้อบริสุทธิ์แล้วจึงกลิ้งหรือเขย่าขวด จนเมล็ดข้าวแผ่กระจายเรียงเมล็ดทั่วพื้นที่ผิวภายใน (นภา, 2535)

อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

1. อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลของสารที่มีอิเลคตรอนโดดเดี่ยว 1 หรือมากกว่า เนื่องจากการสูญเสียอิเลคตรอนโดดเดี่ยว หรือมีอิเลคตรอนโดดเดี่ยวเพิ่มขึ้น อาจเป็นประจุลบ ประจุบวก หรือเป็นกลางก็ได้ ปกติอิเล็กตรอนจะอยู่เป็นคู่ หากอิเลคตรอนขาดคู่จะทำให้สารนั้นมีปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ว่องไวมาก โดยการไปดึงอิเลคตรอนจากสารอื่นมาไว้ให้เป็นคู่ หรือให้อิเลคตรอนโดดเดี่ยวกับสารอื่น เพื่อทำให้อะตอมหรือโมเลกุลมีความเสถียรอยู่ได้ หรืออาจรวมกับโมเลกุลที่ไม่มีอนุมูล ถ้าอนุมูลให้ 1 อิเลคตรอน หรือรับ 1 อิเลคตรอน หรือรวมกับโมเลกุลที่ไม่มีอนุมูล จะกลายเป็นอนุมูลอิสระซึ่งว่องไวมาก มีอายุสั้น และทำปฏิกิริยาแบบไม่เฉพาะเจาะจง ตัวอย่างของอนุมูลอิสระ คือ ซูเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\cdot}$) ไฮดรอกซิล ($HO^{\cdot}$) ไนตรัสออกไซด์ ($NO^{\cdot}$) เปอร์ออกซีไนไตรท์ ($OONO^{\cdot}$) ไลปิดเปอร์ออกไซด์ ($LOO^{\cdot}$) และเปอร์ไฮดรอกซิล ($OOH^{\cdot}$) อนุมูลอิสระเกิดปฏิกิริยาแบบลูกโซ่ ซึ่ง 1 อนุมูลจะก่อให้เกิดอนุมูลอื่นต่อ ๆ ไป อนุมูลอิสระเกิดได้ภายในและภายนอกร่างกาย เช่น เกิดที่ไมโตคอนเดรีย ไมโครโซม เพอร์รอกไซโซม ซึ่งเกิดจากกระบวนการขนส่งอิเลคตรอน การเกิดเมตาบอลิซึมฟาโกไซโตซิส หรือเกิดจากสารเคมี รังสี ยาบางชนิด และความร้อน (บุหรัน, 2556)

2. ผลของอนุมูลอิสระต่อสุขภาพมนุษย์

กระบวนการเกิดพยาธิสภาพอันเนื่องจากอนุมูลอิสระที่จะนำไปสู่การเกิดโรคในมนุษย์ เป้าหมายที่จะเกิดความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้แก่ ไขมัน โปรตีน หรือดีเอ็นเอ (Rice-Evan, 1999) ภาวะที่มีการทำลายด้วยออกซิเดชันมาก ๆ จะเป็นผลร้ายต่อเซลล์ และออกซิเดชัน คือ ปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนให้แก่ธาตุหรือสาร หรือการลดจำนวนอิเลคตรอน ธาตุคาร์บอนอินทรีย์ที่ถูกเติมออกซิเจนจนกลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ จะหมดศักยภาพของความเป็นสารที่มีพลังงานทางชีววิทยา เชื้อจุลลินทรีย์และพืชที่สังเคราะห์แสงจะพยายามที่จะเพิ่มสถานะของคาร์บอนให้เป็นรีดิวซ์คาร์บอน คือเปลี่ยนจากคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำให้เป็นสารอินทรีย์หรือสารอาหารเพื่อรักษาสภาพพลังงานที่เป็นประโยชน์ต่อชีวิตในเมทาบอลิซึมของเซลล์ เช่น ในไมโตคอนเดรีย ไมโครโซม มีออกซิเดชันตลอดเวลา หากเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ขาดการควบคุมต่อเนื่องไปเรื่อย ๆ จะเป็นอันตรายต่อเซลล์ ถ้าเกิดไลปิดเปอร์ออกซิเดชันไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์จะถูกทำลายทำให้เซลล์ตาย เนื้อเยื่อเสื่อมสภาพ ถ้าเกิดที่โมเลกุลของของโคเลสเตอรอลจะเกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัวตามมา ถ้าเกิดที่โปรตีนจะทำให้โปรตีนเสื่อมสภาพจากธรรมชาติ เช่น เกิดที่เลนส์คอลลาเจนของตาจะทำให้เกิดต้อกระจกได้ ถ้าเกิดที่ดีเอ็นเอจะทำให้ดีเอ็นเอถูกทำลายจากออกซิเดชันเกิดการเปลี่ยนแปลงรหัสทางพันธุกรรม (Gordon, 1990) เกิดโรคที่เกี่ยวกับความเสื่อมของประสาทและโรคเกี่ยวกับความผิดปกติของปอด โดยเฉพาะสาเหตุจากการอักเสบ (Rice-Evan, 1999)

3. สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ

สารต้านออกซิเดชัน คือ สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน สามารถป้องกันหรือยืดเวลาการเกิดออกซิเดชัน (Gordon, 1990) สารต้านออกซิเดชันที่พบในธรรมชาติมี 4 ประเภท ได้แก่

1) เอนไซม์ที่สร้างได้ในเซลล์ร่างกาย ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส คาตาเลส กลูตาไธโอน-เปอร์ออกซิเดส และเมทไธโอนีนรีดักเตส

2) วิตามินต้านออกซิเดชัน ได้แก่ วิตามินอี ในถั่ว ธัญพืช รำ ข้าวกล้อง งา และวิตามินซี ในผลไม้ ผักสด

3) แร่ธาตุ เช่น ซิเลนียม และสังกะสีเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน

4) สารเคมีจากพืช (phytochemicals) เป็นสารเคมีจากพืชที่ไม่ใช่วิตามินและสารอาหาร เช่น แคโรทีน แอนโทไซยานิน ไลโคปีน แซนโธฟิล แทนนิน และฟลาโวนอยด์

ปัจจุบันมีผู้สนใจศึกษาเกี่ยวกับพืชผัก ผลไม้ และสมุนไพรต่าง ๆ เนื่องจากพบว่ามีสารที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระอยู่มากมายหลายชนิดแตกต่างกันออกไปตามชนิดของพืชและโดยทั่วไปจะไม่สามารถบอกปริมาณต่อหน่วยน้ำหนักของพืชได้ ส่วนใหญ่แล้วจะเป็นค่าเปรียบเทียบกับสารที่รู้อยู่แล้วว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินอี วิตามินซี หรือสารที่นิยมใช้กันมากในขณะนี้เนื่องจากค่อนข้างคงตัวและใช้ได้ง่าย คือ 3-ter-buty-4-hydroxyanisole (BHA) หรือ butylated hydroxytoluene (BHT) และการใช้อนุมูลอิสระที่เสถียร คือ 2,2-diphenyl-1-picrylthdeazyl (DPPH) ทำให้ทราบได้คร่าว ๆ ว่า พืชนั้นมีสารต้านอนุมูลอิสระได้มากน้อยเพียงใด จากผลร่วมของฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดที่มีอยู่ในพืชนั้น ซึ่งน่าจะให้ผลดีหากร่างกายได้รับในปริมาณที่เหมาะสมและเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย (Czyzowska และคณะ, 2015)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

4. กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ

กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระมีขั้นตอน ดังนี้

1) ขั้นแรก สารต้านอนุมูลอิสระจะไปเป็นตัวรีดิวซ์หรือให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระหมดฤทธิ์ไป จากนั้นตัวของสารต้านอนุมูลอิสระจะกลายเป็นอนุมูลอิสระเสียเอง

$$R^{\cdot} + AH \longrightarrow RH + A^{\cdot}$$
$$RO^{\cdot} + AH \longrightarrow ROH + A^{\cdot}$$
$$ROO^{\cdot} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\cdot}$$

2) ขั้นที่สอง สารต้านอนุมูลอิสระที่กลายเป็นอนุมูลอิสระจากขั้นตอนแรกจะไปจับกับอนุมูลอิสระตัวใหม่ทำให้ไม่เกิดการสร้างอนุมูลอิสระต่อไป

$$R^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow RA$$
$$RO^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow ROA$$

$ROO^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow ROOA$

Antioxidant + O_2 ⟶ Oxidized Antioxidant

นั่นคือ สารต้านอนุมูลอิสระโมเลกุลเดียวสามารถต้านหรือทำลายอนุมูลอิสระได้ 2 โมเลกุล (1:2) เช่น กลไกการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินซีและสารมาตรฐาน BHA เป็นต้น

5. กลไกการกำจัดอนุมูลอิสระที่มีความเสถียร (DPPH)

สารต้านอนุมูลอิสระจะไปรีดิวซ์หรือให้ไฮโดรเจนอะตอมกับ DPPH ทำให้ DPPH เกิดความเสถียรและไม่เป็นอนุมูลอิสระอีกต่อไป

6. วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณเป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่าง ๆ วิธีที่นิยมได้แก่ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH$^{\cdot}$) วิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS$^{\cdot+}$) และการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) ซึ่งวิธีการดังกล่าวข้างต้นจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือจากค่าการดูดกลืนแสง สารอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ เช่น ABTS$^{\cdot+}$ และ DPPH$^{\cdot}$ การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระหาได้จากอัตราส่วนของการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน (เช่น โทรลอกซ์ วิตามินซี และเฟอรัส ซัลเฟต) หน่วยของการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณแสดงได้ 2 แบบ คือ (1) แบบปริมาณความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในตัวอย่าง ซึ่งค่าตัวเลขสูงก็แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และ (2) แบบปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลงร้อยละ 50 (IC50, 50% of inhibitory concentration) โดยค่าตัวเลขต่ำแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ทั้งสองแบบสามารถแสดงหน่วยได้หลากหลาย ได้แก่ ไมโครโมลต่อมิลลิกรัม มิลลิโมลต่อมิลลิกรัม ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร มิลลิโมลต่อมิลลิลิตร เป็นต้น

ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับแบคทีเรียก่อโรคในอาหารที่ใช้ทดสอบ

1. *Staphylococcus aureus*

S. aureus เป็นแบคทีเรียที่เซลล์มีลักษณะกลม อาจอยู่ในลักษณะเป็นคู่ ท่อนสั้น หรือรวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่นก็ได้ เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ (ภาพที่ 2.8) สามารถสร้างสารพิษที่ทนความร้อน (enterotoxin) ซึ่งสร้างภายในเซลล์ และเมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารที่มีเซลล์ของแบคทีเรียชนิดนี้ในจำนวนมากพอ ก็จะเกิดอาการอาหารเป็นพิษขึ้นมาได้ สารพิษเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 25,000 ดาลตัน ทนความร้อนที่น้ำเดือดได้นานถึง 60 นาที ต้องใช้อุณหภูมิสูงถึง 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที จึงทำลายสารพิษนี้ได้

อาการเป็นพิษจะเกิดขึ้นอย่างเฉียบพลัน พบว่าภายในเวลา 2-6 ชั่วโมง ภายหลังจากได้รับสารพิษ ผู้ป่วยจะเกิดการบวมพองของผนังลำไส้และกระเพาะ (gastroenteritis หรือ gastrointestinal upset) ขึ้นอยู่กับภูมิต้านทานของร่างกาย ปริมาณของเชื้อที่ร่างกายได้รับโดยทั่วไปต้องมากกว่า 100,000 โคโลนีต่อกรัม และปริมาณสารพิษ ซึ่งโดยทั่วไปเพียง 1.0 ไมโครกรัมก็จะทำให้เกิดอาการได้ นอกจากนี้เชื้อนี้ยังสามาถเป็นผลร้ายต่อระบบประสาทได้ โดยมีอาการคลื่นไส้อาเจียน ปวดท้อง อ่อนเพลีย ถ้าเป็นมากก็จะปวดศีรษะ ปวดตามกล้ามเนื้อ และเกิดการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิตและอัตราการเต้นของชีพจรชั่วคราว ส่วนการตายอันเนื่องมาจากอาหารเป็นพิษแบบนี้นั้น มีเป็นจำนวนน้อย มักจะหายได้ภายใน 2-3 วัน แต่ถ้าเป็นมากก็จะใช้เวลานานกว่านี้ และที่ตายไปนั้นส่วนใหญ่จะมีผลมาจากมีอาการหรือโรคอื่นแทรกอยู่แล้วมากกว่า มักเป็นกับเด็กเล็กหรือผู้สูงอายุ ซึ่งมีความต้านทานต่ำและสุขภาพอ่อนแออยู่ก่อนแล้ว

ภาพที่ 2.8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Staphylococcus aureus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด
ที่มา : Wikipedia (2017)

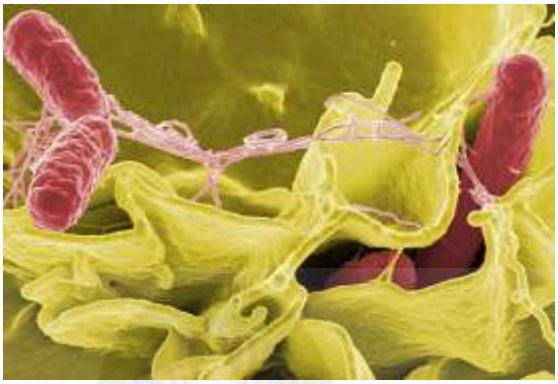
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

การปนเปื้อน *S. aureus* มักพบในผลิตภัณฑ์นม ไก่ และแฮม รวมทั้งอาหารประเภทเนื้อสัตว์ที่ปิ้ง ย่าง รมควัน และเนื้อสด ซึ่งผ่านการให้ความร้อนในช่วงแรกไม่เพียงพอที่จะทำลายเซลล์ของเชื้อชนิดนี้ได้ ควรให้ความร้อนสูงถึง 60 องศาเซลเซียส หรือมากกว่า ไม่เช่นนั้นความร้อนที่ใช้จะเป็นตัวกระตุ้นให้แบคทีเรียที่มีอยู่เจริญเติบโตและแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว ในช่วงที่ทำให้เย็นลงอย่างช้า ๆ และตั้งรอเวลาไว้ 8-12 ชั่วโมง ก่อนนำมารับประทาน โดยไม่ได้เก็บในที่เย็นพอ (7.2 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า) รวมทั้งการปนเปื้อนยังเกิดจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารมีการสุขาภิบาลที่ไม่ดีพอ โดยเฉพาะมีสุขวิทยาส่วนบุคคลของคนงานไม่ดี มักพบเชื้อนี้ปนเปื้อนมาจากคนงานที่มีโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ หรือมีบาดแผล ฝี หนองต่าง ๆ (สุมาลี, 2541)

2. *Salmonella* spp.

Salmonella เป็นแบคทีเรีย ที่มีลักษณะรูปท่อนย้อมติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ (ภาพที่ 2.9) สามารถย่อยสลายกลูโคสได้กรดกับก๊าซแต่ไม่ย่อยแลคโตสหรือซูโครส มีการแยกชนิดโดยการใช้

วิธีทางซีโรโลยี เพราะเชื้อมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลารอบเซลล์ ต้องการออกซิเจนในการเติบโต อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของ *Salmonella* ประมาณ 37 องศาเซลเซียส ช่วงพีเอชในการเติบโตอยู่ระหว่าง 4.1-9.0 ส่วนค่าปริมาณน้ำอิสระในอาหารที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเติบโตต่ำสุดสำหรับการเติบโตประมาณ 0.93-0.95 *Salmonella* มีความสามารถในการทนความร้อนแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ชนิดของอาหาร และผลจากสิ่งแวดล้อมในการเติบโต *Salmonella* มีค่า D_{60} °C อยู่ในช่วง 0.06-11.3 นาที



ภาพที่ 2.9 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Salmonella* spp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ที่มา : WebMD (2005)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

Salmonella สามารถติดต่อจากสัตว์มาสู่คนและสัตว์อื่น ๆ เช่น หนู สัตว์ปีก แมลง วัว ควาย สุนัข แมว และม้า เป็นต้น แต่ที่สำคัญคือ มาจากสัตว์ปีกและไข่ของสัตว์เหล่านี้ ซึ่งพบว่ามีการติด *Salmonella* มาก จึงมักพบเชื้ออยู่ตามอุจจาระ ไข่ และเป็ดไก่ที่ถอนขนแล้ว แมลงก็สามารถแพร่เชื้อได้ดี โดยการตอมอุจจาระของมนุษย์และสัตว์ แล้วมาตอมอาหาร อาหารสัตว์ต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกที่เป็นผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์หรือปลาอาจนำ *Salmonella* ไปสู่สัตว์เลี้ยงที่ให้เนื้อได้ สำหรับการติดเชื้อในคนนั้นส่วนมากจะได้รับเชื้อปะปนมากับน้ำและอาหาร และบางครั้งอาจเกิดจากสัตว์เลี้ยงที่อาศัยตามอาคารบ้านเรือน ซึ่งเป็นพาหะของเชื้อหรือหากมีผู้ป่วยเป็นโรคซัลโมเนลโลซิสทำงานที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปอาหารแล้วมีสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ไม่ดีพอ เช่น ไว้เล็บยาว และหลังจากกลับจากห้องน้ำมิได้มีการล้างมือให้สะอาดเสียก่อน *Salmonella* ก็มีโอกาสที่จะปนเปื้อนลงไปยังอาหารได้ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ *Salmonella* เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดอาการท้องร่วง ประกอบกับเชื้อมีอัตราการแพร่ระบาดสูง จึงสามารถพบผู้ป่วยที่เป็นโรคจากเชื้อนี้ในอัตราสูงด้วย

Salmonella เป็นแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเป็นพิษ และสามารถถ่ายทอดเข้าสู่ร่างกายได้โดยรับประทานอาหารที่มี *Salmonella* ปนเปื้อนมาในขณะชำแหละ ได้แก่ อาหารประเภทเนื้อ เช่น พายเนื้อ ไส้กรอก แฮม เบคอน แซนวิช และมักเป็นอาหารที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน

นอกจากนี้ยังพบในเนื้อ ไก่ ไข่ นมและผลิตภัณฑ์ ปลา และอาหารทะเลที่ไม่ได้ผ่านความร้อนอย่างเพียงพอ อาหารสุก ๆ ดิบ ๆ ไม่ว่าจะเป็นแหนม ลาบ ยำ ปูเค็ม ปูดอง และผักสด

Salmonella เป็นแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเป็นพิษที่เรียกว่าซัลโมเนลโลซิส อาการจะเกิดขึ้นหลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนแล้วประมาณ 6 - 48 ชั่วโมง และจะมีอาการอยู่ในระหว่าง 1-5 วัน เมื่อร่างกายเราได้รับ *Salmonella* เข้าสู่ร่างกายแล้ว เชื้อโรคจะมุ่งเข้าสู่เซลล์น้ำเหลืองของลำไส้เล็กและจะเจริญแบ่งตัวที่นั่น ในระยะนี้จะยังไม่มีอาการอะไร เป็นระยะฟักตัว ต่อมาเชื้อจะแพร่เข้าสู่กระแสเลือดและกระจายสู่ส่วนต่าง ๆ ของร่างกายผู้ป่วยจะเริ่มแสดงอาการ ในรายที่ไม่มีโรคอื่นแทรกซ้อนจะมีชีพจรเต้นช้ากว่าปกติ ผู้ป่วยที่เสียชีวิตด้วยโรคนี้มักจะเสียชีวิตเนื่องจากเลือดออกในลำไส้เล็ก และลำไส้ทะลุ สำหรับอาการทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อ คือ คลื่นไส้อาเจียน ท้องเดิน ปวดศีรษะ ปวดท้อง มีไข้ หนาวสั่น และอ่อนเพลีย โดยความรุนแรงของอาการที่เกิดขึ้นนั้นจะแตกต่างไปตามปริมาณเชื้อที่บริโภค ชนิดของเชื้อที่บริโภค และความต้านทานของผู้บริโภค *Salmonella* มีหลายชนิด แต่ละชนิดมีลักษณะทางนิเวศวิทยาที่แตกต่างกันไป จึงทำให้การติดเชื้อและอาการของโรคแตกต่างกันตามไปด้วย สำหรับโรคที่เกิดจากเชื้อ *Salmonella* ที่สำคัญได้แก่

1) โรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ (gastroenteritis)

โรคชนิดนี้มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อ *Salmonella typhimurium* เชื้อมีระยะฟักตัว 4-48 ชั่วโมง อาการในระยะแรกจะคลื่นไส้อาเจียน เจ็บปวด บริเวณท้อง หรือท้องร่วง ผู้ป่วยจะมีอุณหภูมิของร่างกายสูงถึง 38-39 องศาเซลเซียส และจะพบเม็ดเลือดขาวปะปนมากับอุจจาระด้วย อาการของโรค คือ ผู้ป่วยจะกลับเข้าสู่ภาวะปกติภายใน 5 วัน ไม่ว่าจะได้รับการรักษาหรือไม่ก็ตาม

2) โรคโลหิตเป็นพิษ (septicemia)

โรคชนิดนี้เป็นผลมาจากมีเชื้อ *Salmonella cholerasuis* อยู่ในร่างกายเป็นเวลานาน เชื้อจะเข้าสู่กระแสเลือด และสามารถแพร่กระจายไปเจริญตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ทำให้เกิดการอักเสบที่อวัยวะต่าง ๆ เช่น ไต ตับ ม้าม หัวใจ ปอด และเยื่อหุ้มประสาท เป็นต้น สำหรับอาการที่เกิดขึ้น ได้แก่ การครั่นเนื้อครั่นตัว หรือหนาวสั่น เบื่ออาหาร และน้ำหนักตัวลดลง

3) ไข้ไทฟอยด์ (typhoid fever)

มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Salmonella typhi* และ *S. paratyphi* ชนิด (type) A, B, C โดยอาจได้รับเชื้อโดยตรงจากผู้ป่วย หรือผู้ที่เป็นพาหะ หรืออาจได้รับเชื้อทางอ้อม โดยปนเปื้อนอยู่ในอาหารหรือน้ำ เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วเชื้อมีระยะฟักตัว 3-35 วัน แต่โดยทั่วไปประมาณ 7-14 วัน สำหรับอาการที่ปรากฏ ได้แก่ อาการหนาว สั่น อ่อนเพลีย ปวดศีรษะ ปวดหลัง ท้องร่วง และมีอุจจาระเหม็นมาก ในบางรายอาจเกิดหลอดลมอักเสบได้ อุณหภูมิในร่างกายเพิ่มสูงขึ้น 39-40 องศาเซลเซียส จะมีอาการเช่นนี้นาน 1-2 สัปดาห์ และอาการไข้จะค่อย ๆ ลดลง จนกระทั่งถึงสัปดาห์ที่ 4 จะไม่มีอาการไข้เลย ในผู้ป่วยที่ไม่ได้มีการรักษาจนถึงสัปดาห์ที่ 2-3 จะเกิดจุดสีแดงขนาดประมาณ 2-5 มิลลิเมตร ตามผิวหนัง เนื่องมาจากเชื้อแพร่กระจายอยู่ตามเส้น เลือดฝอยจำนวนมาก ผู้ป่วยอาจมีอาการทางสมองเลอะเลือน คลื่นไส้อาเจียน ปวดท้อง เจ็บคอ อย่างรุนแรง ชีพจรเต้นเร็ว มีเลือดออกตามบริเวณลำไส้ และอุจจาระจะมีเยื่อเมือกออกมา

Salmonella ปริมาณประมาณ 10^8-10^9 เซลล์ สามารถทำให้เกิดโรคซัลโมเนลโลซิสได้ แต่ในบางกรณี แม้จะมีปริมาณต่ำกว่า 10^8-10^9 เซลล์ ก็สามารถทำให้เกิดโรคได้เช่นกัน ดังนั้นหลายประเทศโดยเฉพาะประเทศที่พัฒนาแล้ว ได้กำหนดให้ต้องไม่พบ *Salmonella* ในอาหาร (ต่อตัวอย่างอาหาร 25 กรัม) *Salmonella* ถูกทำลายได้ง่ายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 4-5 นาที หรืออุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ดังนั้นการรับประทานอาหารที่ปรุงสุกใหม่ ๆ และรับประทานในขณะที่ยังร้อน จะช่วยลดการติด *Salmonella* ได้ การแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Salmonella* ได้ (สุมาลี, 2541; สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม, ม.ป.ป.)

3. *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะรูปท่อนสั้น มักเรียงตัวเป็นสายต่อกัน 3-5 เซลล์ หรือมากกว่านั้น เป็นแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์หรือแคปซูล มีแฟลกเจลลาช่วยให้สามารถเคลื่อนที่ได้ (ภาพที่ 2.10) อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเติบโต คือ 37 องศาเซลเซียส แต่สามารถเติบโตได้ทุกอุณหภูมิ แม้ที่อุณหภูมิต่ำถึง 2.5 องศาเซลเซียส และสามารถทนความร้อนได้ดี

ภาพที่ 2.10 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Listeria monocytogenes* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ที่มา : Jones (2010)

L. monocytogenes พบได้ทั่วไปในน้ำ น้ำเสีย อุจจาระคนและสัตว์ จึงสามารถปนเปื้อนลงไปในอาหารได้ง่าย โดยพบเชื้อได้ในวัตถุดิบที่จะนำไปประกอบอาหาร โดยเฉพาะเนื้อสัตว์หรือผลิตผลจากสัตว์ เช่น น้ำนม เชื้อ *L. monocytogenes* ถูกทำลายได้โดยอุณหภูมิที่ใช้ในการปรุงอาหารหรือความร้อนในระดับพาสเจอไรซ์ ดังนั้นการปนเปื้อนเชื้อชนิดนี้ในอาหารจึงเกิดขึ้นหลังขั้นตอนการปรุงหรือเกิดการปนเปื้อนซ้ำในระหว่างขั้นตอนการบรรจุ การขนส่ง และการวางจำหน่าย

L. monocytogenes ทำให้เกิดโรค และสามารถถ่ายทอดเข้าสู่ร่างกายได้โดยการรับประทานอาหารที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อน อาหารที่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อได้แก่ นม เนื้อ ไก่ อาหารทะเล ส่วนในผักไม่พบ หรือพบน้อยมาก นอกจากนี้เชื้อ *L. monocytogenes* ยังสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิตู้เย็น และทนความร้อนได้ดีกว่าแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์ชนิดอื่น จึงสามารถมีชีวิต

อยู่รอดได้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ เช่น นม เนื้อสัตว์ ผัก และไส้กรอก ซึ่งเชื้อนี้ก่อให้เกิดโรค Listeriosis โลหิตเป็นพิษ และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ มีอาการคล้ายเป็นหวัด เช่น มีไข้ ปวดหัว มีอาการท้องเสีย คลื่นไส้อาเจียน อาการติดเชื้อในกระแสเลือด มักพบในผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันอ่อนแอ หรือทารกที่เกิดจากมารดาที่ได้รับเชื้อขณะตั้งครรภ์ อาจทำให้สตรีมีครรภ์แท้งได้ และยังมีรายงานว่ามีผู้เสียชีวิตเนื่องจากบริโภคอาหารที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อน *L. monocytogenes* จึงเป็นดัชนีตัวหนึ่งที่แสดงถึงความปลอดภัยของอาหารด้วย (สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม, ม.ป.ป.)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลมภูริพล (2555) ได้ศึกษากระบวนการผลิตและลดต้นทุนการผลิตข้าวหมากแบบดั้งเดิม โดยสัมภาษณ์ผู้ประกอบการจากอำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี ศึกษาปริมาณกล้าเชื้อ *Amylomyces rouxii* ในการผลิตข้าวหมาก 3 ระดับ คือร้อยละ 2, 5 และ 10 คัดเลือกปริมาณเชื้อที่เหมาะสม โดยนำข้าวหมากที่ได้มาประเมินทางประสาทสัมผัส โดยวิธี 9 Point Hedonic Scale Test จากนั้นนำสูตรที่เหมาะสมมาผลิตข้าวหมากเพื่อศึกษาคุณภาพทางเคมีและยอมรับของผู้ผลิตและผู้บริโภค พบว่าสูตรของข้าวหมากที่ผลิตแบบดั้งเดิมประกอบด้วย ข้าวเหนียว ลูกแป้ง และน้ำตาลทราย ปริมาณร้อยละ 90.49, 0.45 และ 9.04 คิดต้นทุนรวม 73 บาทต่อตำรับ จากการศึกษาปริมาณกล้าเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตข้าวหมากจากกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *Amylomyces rouxii* พบว่ากล้าเชื้อในปริมาณร้อยละ 5 จะผลิตได้ข้าวหมากที่มีคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นแอลกอฮอล์ รสหวาน ความนุ่มของข้าว และความชอบโดยรวมสูงที่สุด และมีความแตกต่างจากกล้าเชื้อปริมาณร้อยละ 2 และ 10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนคุณภาพด้านเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าของแข็งที่ละลายได้ และปริมาณแอลกอฮอล์ มีค่าเฉลี่ยที่ 3.5, 45 องศาบริกซ์ และร้อยละ 1.3 ตามลำดับ จากการสัมภาษณ์ความพึงพอใจของผู้ประกอบการ พบว่าผู้ประกอบการมีความพึงพอใจในการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ เพราะมีกระบวนการและต้นทุนการผลิตที่ควบคุมได้ และผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่ใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์

อนุสรณ์ (2555) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคาความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ ปริมาณแอนโทไซยานินของขาวหมากจากขาวเหนียวดำระหวางการหมัก พบวาระหวางการหมักมีการลดลงของคาความเป็นกรด-ด่าง และแอนโทไซยานิน พรอมกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ ($p<0.05$) คา a* ของตัวอยางเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น เมื่อการหมักสมบูรณ (คาความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่า 4.5) องคประกอบทางเคมีของขาวหมากที่ผานการหมักแลวประกอบดวยความชื้นรอยละ 58.57 โปรตีนรอยละ 10.55 ไขมันรอยละ 0.81 เถารอยละ 0.44 ใยอาหารหยาบรอยละ 1.84 คารโบไฮเดรตรอยละ 27.90 และเอธิลแอลกอฮอลรอยละ 2.28 ขาวหมากไดรับการยอมรับดานลักษณะปรากฏ สี และความชอบรวม แตคะแนนความชอบดานกลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ และกลิ่นรสของขาวหมากอยูในชวง 6.63 ถึง 6.87 ดังนั้นขาวเหนียวดำสามารถนำมาเปนวัตถุดิบสำหรับการผลิตขาวหมากที่มีแอนโทไซยานิน โปรตีน และใยอาหารหยาบ

ศุภชัย และคณะ (2557) ได้ศึกษาคุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และประสาทสัมผัสของข้าวเหนียว 4 สายพันธุ์ คือ ข้าว กข 6 ข้าว กข 8 ข้าว กข 12 และข้าวเหนียวดำ ที่มีผลต่อการทำข้าวหมาก สำหรับคุณสมบัติทางด้านเคมี ค่าปริมาณของไขมันอยู่ในช่วงร้อยละ 0.1-0.5 ค่าปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 5.43-7.60 ตามลำดับ ปริมาณความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 9.94-11.96 ปริมาณเถ้าอยู่ในช่วงร้อยละ 0.55-2.46 หลังจากนำข้าวทั้ง 4 สายพันธุ์มาหมักเป็นข้าวหมากเมื่อผ่านไป 7 วัน พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่หมัก ค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าอยู่ระหว่าง 3.80-4.38 ส่วนปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของข้าวหมากที่ผลิตจากสายพันธุ์ข้าว กข 6 ไม่แตกต่างกับข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวสายพันธุ์ กข 12 ($p>0.05$) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) กับข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำ ข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำจะมีค่าลักษณะเนื้อสัมผัสสูงที่สุด (2358.75 N) ในขณะที่ข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวสายพันธุ์ กข12 จะมีค่าต่ำสุด (963.90 N) ($p\leq0.05$) สำหรับผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส โดยทดสอบทางด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบรวม พบว่าอยู่ในเกณฑ์ดีและไม่แตกต่างกันระหว่างข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวสายพันธุ์ กข 6 กับ กข 12

เกศริน (2558) ได้ผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวขาว กข 6 ข้าวเหนียวดำสันกำแพง และข้าวเหนียวดำดอยมูเซอ โดยมีอัตราผสมระหว่างข้าวเหนียวขาวและข้าวเหนียวดำ 1:0, 1:3, 1:1, 3:1, 0:1 พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.) ข้าวหมากที่กำหนด ยกเว้นปริมาณแอลกอฮอล์ที่มีค่าเกินมาตรฐานซึ่งกำหนดไว้ต้องไม่เกินร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก และผลการทดสอบทางประสารทสัมผัสข้าวหมากที่มีส่วนผสมระหว่างข้าวเหนียวขาวกล้องงอก กข 6 และข้าวเหนียวดำกล้องงอกสันกำแพง ได้รับการยอมรับด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมสูงที่สุด และเมื่อนำข้าวหมากมาสกัดสารสกัดหยาบ พบว่า ข้าวหมากสูตรผสมระหว่างข้าว กข 6 และมูเซอ (อัตราส่วน 1:3) มีร้อยละการผลิตของสารสกัดหยาบสูงสุดเท่ากับร้อยละ 47.50 และข้าวหมากสูตรที่ข้าวมูเซออย่างเดียวมีร้อยละผลิตภัณฑ์ของน้ำสกัดเข้มข้นสูงสุดเท่ากับร้อยละ 50 จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำข้าวหมาก น้ำข้าวหมากเข้มข้น และสารสกัดเนื้อข้าวหมากด้วยวิธี DPPH พบว่า ข้าวหมากที่ผลิตได้ทุกสูตรในการทดลองมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระไดทั้งหมด โดยพบว่าน้ำข้าวหมากที่ผลิตได้ทุกสูตรในการทดลองมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้ทั้งหมด โดยพบว่าน้ำข้าวหมากเข้มข้นจากข้าวหมากกล้องสูตรผสมระหว่าง กข 6 และสันกำแพง (อัตรา 1:1) ที่ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 75.80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งน้อยกว่าวิตามินซี 1,895 เท่า คิดเป็นร้อยละ 0.06 ของสารมาตรฐานวิตามินซี และสารสกัดเนื้อข้าวหมากของข้าวหมากกล้องงอกสูตรผสมระหว่างข้าวเหนียวขาว กข 6 และข้าวเหนียวดำดอยมูเซอ (อัตราส่วน 1:3) มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 26.84 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี 632 เท่า คิดเป็นร้อยละ 0.16 ของสารมาตรฐานวิตามินซี ส่วนปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารทดสอบทั้ง 3 ชนิด พบว่า สารสกัดเนื้อข้าวหมาก ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด โดยข้าวหมากสูตรที่ใช้ข้าวมูเซออย่างเดียวมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 105.96 mg GAE/100 g ในข้าวหมากกล้อง และ 106.27 mg GAE/100 ในข้าวหมากกล้องงอก ซึ่งจากการทดลองครั้งนี้ พบว่า ส่วนใหญ่

ข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวกล้องดำจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าข้าวกล้องขาว โดยเฉพาะข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำมูเซอ และสามารถจะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ในอนาคตได้

วรางคณา และวัชรี (2558) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดข้าวหมากจากข้าวเหนียวกล้องและข้าวเหนียวกล้องงอก ด้วยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดจากน้ำข้าวหมากข้าวกล้อง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Vibrio cholerae*, *Listeria ivanovii*, *Enterrobacter aerogines* และ *Escherichia coli* ได้ดีที่สุดในสูตรข้าวหมากมูเซอร้อยละ 25 มูเซอร้อยละ 25 สันกำแพงร้อยละ 100 และมูเซอร้อยละ 75 โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 0.85, 0.85, 0.93 และ 0.97 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนผลของสารสกัดจากน้ำข้าวหมากข้าวกล้องงอก คือสูตรข้าวหมากมูเซอร้อยละ 50 สันกำแพงร้อยละ 100 สันกำแพงร้อยละ 100 และมูเซอร้อยละ 75 โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 11.85, 18.00, 12.25 และ 12.83 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากเนื้อข้าวหมากข้าวกล้อง สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *Vibrio cholerae*, *Listeria ivanovii*, *Enterrobacter aerogines* และ *Escherichia coli* ได้ดีที่สุด คือสูตรข้าวหมากสันกำแพงร้อยละ 75 สันกำแพงร้อยละ 75 สันกำแพงร้อยละ 75 และสันกำแพงร้อยละ 75 โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 0.98, 0.90, 0.90 และ 0.90 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากเนื้อข้าวหมากข้าวกล้องงอก สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *Vibrio cholerae*, *Listeria ivanovii*, *Enterrobacter aerogines* และ *Escherichia coli* ได้ดีที่สุด คือ สูตรข้าวหมากสันกำแพงร้อยละ 75 สันกำแพงร้อยละ 100 สันกำแพงร้อยละ 100 สันกำแพงร้อยละ 75 โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 10.17, 11.33, 11.00 และ 12.17 มิลลิเมตร ตามลำดับ และข้าวหมากมูเซอร้อยละ 25 สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp. เท่ากับ 12.0 มิลลิเมตร และสารสกัดจากน้ำสดข้าวหมากข้าวกล้อง ยับยั้งการเจริญเชื้อ *Vibrio cholerae*, *Listeria ivanovii*, *Enterrobacter aerogines* และ *Escherichia coli* ได้ดีที่สุด คือสูตรข้าวหมากสันกำแพงร้อยละ 75 สันกำแพงร้อยละ 75 สันกำแพงร้อยละ 75 และสันกำแพงร้อยละ 75 ตามลำดับ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 0.80, 0.80, 12.2 และ 1.22 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (MBC) ที่ทดสอบกับเชื้อ *Salmonella* sp. สารสกัดจากเนื้อข้าวกล้อง คือข้าวหมากสูตรมูเซอร้อยละ 25 มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 500 mg/ml ส่วนเชื้อ *Vibrio cholera* สารสกัดจากน้ำข้าวหมาก และเนื้อข้าวหมากจากข้าวกล้อง คือข้าวหมากสูตรสันกำแพงร้อยละ 75 มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 125 mg/ml ส่วนเชื้อ *Listeria ivanovii* สารสกัดจากน้ำข้าวหมากและเนื้อข้าวหมากจากข้าวกล้อง คือข้าวหมากสูตรมูเซอร้อยละ 50 และ กข 6 ร้อยละ 100 มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 125 และ 500 mg/ml ส่วนเชื้อ *Enterrobacter aerogines* สารสกัดจากน้ำข้าวหมาก และเนื้อข้าวหมากจากข้าวกล้อง คือข้าวหมากสูตร กข 6 ร้อยละ 100 และสันกำแพงร้อยละ 100 มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 125 และ125 mg/ml ตามลำดับ และเชื้อ *Escherichia coli* สารสกัดจากน้ำข้าวหมากและเนื้อข้าวหมากจากข้าวกล้อง คือข้าวหมากสูตรมูเซอร้อยละ 75 และสันกำแพงร้อยละ 75 มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 125 และ 500 mg/ml

ศิริพร (2558) ศึกษากระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากและพัฒนาเครื่องดื่มข้าวหมากจากข้าวมีสีที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำต่างสายพันธุ์ โดยทำการหมักข้าวหมากโดยใช้ข้าวเหนียวดำ 3 สายพันธุ์ คือ ข้าวก่ำม้ง ข้าวลืมผัว และข้าวก่ำพะเยา เป็นวัตถุดิบ หมักด้วยผงกล้าเชื้อยีสต์ผสมราในปริมาณร้อยละ 0.4 เปรียบเทียบกับข้าวเหนียวขาว (กข 6) พบว่า ข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำก่ำม้งมีสารต้านอนุมูลอิสระ สารในกลุ่มสารประกอบฟีนอล แอนโทไซยานิน ค่า DPPH radical scavenging activity (DPPH) และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) สูงกว่าข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำลืมผัวและก่ำพะเยา และข้าวเหนียวขาว กข 6 จึงนำมาพัฒนาเป็นเครื่องดื่ม โดยผลิตเริ่มจากการหมักข้าวหมาก หลังจากนั้นสกัดเอาน้ำข้าวหมากโดยใช้น้ำ ปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้เป็น 20 องศาบริกซ์ พบว่าได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีม่วงแดง มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.09 มีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 1.13 และได้รับคะแนนความชอบ ในด้านคุณลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ รสหวาน และความชอบรวม สูงที่สุด 6.60-7.10 (ชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง) นอกจากนี้ยังพบปริมาณของสารประกอบฟีนอล (64.02 mg GAE/100 ml) แอนโทไซยานิน (1,202.32 mg CGE/100 ml) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (64.07 mg BHT/100 ml) และค่า FRAP (70.01 mg trolox/100 ml) ในเครื่องดื่มข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำก่ำม้ง และผลการศึกษาคุณภาพของเครื่องดื่มข้าวหมากระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าเครื่องดื่มสามารถเก็บรักษาไว้ได้อย่างน้อย 30 วัน โดยยังคงมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งมีความปลอดภัยทางด้านจุลชีววิทยา

สุมิตรา และคณะ (2559) ได้ผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวเขี้ยวงูและข้าวไรซ์เบอรี่ พบว่า จากการประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัส อัตราส่วนของข้าวเหนียวเขี้ยวงูต่อข้าวไรซ์เบอรี่ที่เหมาะสมคือ 50:50 คุณค่าทางโภชนาการของข้าวหมากไรซ์เบอรี่ มีพลังงาน 362.5 กิโลแคลอรี่ มีเส้นใย 2.5 กรัม ต่อ 1 หน่วยบริโภค มีความหวานเฉลี่ย 17.7 องศาบริกซ์

กรอบแนวคิดในการวิจัย

เมล็ดข้าวเหนียวดำมีคุณประโยชน์นานับประการโดยมีสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สูงจากการมีสารแกมมา-โอไรซานอล มีสารแอนโทไซยานิน ซึ่งช่วยลดการเกิดโรคมะเร็ง ลดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง ลดน้ำตาลในเลือด เพิ่มระดับฮอร์โมนอินซูลิน ชะลอการเสื่อมของเซลล์ร่างกาย จึงเป็นข้าวที่ควรส่งเสริมให้ประชาชนบริโภค นอกนี้การนำข้าวเหนียวดำกล้องมาเพาะงอกจะช่วยให้มีปริมาณสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะสารกาบาที่เป็นสารที่ช่วยลดป้องกันโรคความจำเสื่อม รวมทั้งการการเพาะงอกจะช่วยให้ข้าวเมล็ดข้าวเหนียวดำกล้องมีความนุ่มขึ้นช่วยเพิ่มเนื้อสัมผัสในการบริโภค และการใช้ข้าวพันธุ์พื้นเมืองเป็นการช่วยอนุรักษ์พันธุ์ข้าวให้กับแหล่งชุมชน และการนำข้าวเหนียวดำกล้องงอกมาแปรรูปเป็นข้าวหมาก จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพเพื่อเป็นอีกหนึ่งทางเลือกให้กับผู้บริโภค จากการได้รับคุณค่าของสารอาหารจากข้าวกล้อง

เหนียวดำงอกแล้ว ยังได้คุณค่าของโพรไบโอติกจากข้าวหมากอีกด้วย โดยข้าวหมากจัดเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ ผลิตจากข้าวเหนียวนึ่งผสมกับหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในลูกแป้ง เชื้อราในลูกแป้งจะย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลและเชื้อยีสต์ในลูกแป้งจะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ซึ่งข้าวหมากที่ดีจะมีรสหวานกลิ่นหอมมีกลิ่นแอลกอฮอล์เล็กน้อย แต่ก็พบว่าบางครั้งลูกแป้งที่ใช้มีคุณภาพไม่ดีเช่นมีจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการปนเปื้อน และคุณภาพของลูกแป้งแต่ละครั้งไม่สม่ำเสมอทำให้ผู้ผลิตข้าวหมากขายไม่สามารถควบคุมได้ ดังนั้นการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่เป็นกล้าเชื้อที่ได้คัดแยกมาแล้วทั้งเชื้อราและเชื้อยีสต์ จะทำให้ผลิตภัณฑ์ข้าวหมากไม่มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นที่ไม่ต้องการ รวมทั้งสามารถควบคุมกระบวนการผลิตได้ตามต้องการ รวมทั้งผลิตภัณฑ์ข้าวหมากดังกล่าวสามารถพัฒนาต่อไปเป็นเครื่องดื่มน้ำข้าวมากเพื่อสุขภาพ และสามารถควบคุมปริมาณแอลกอฮอล์ของเครื่องดื่มให้ต่ำสุด (น้อยกว่าร้อยละ 4) และมีรสชาติตามต้องการได้จากการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ นอกจากนี้ในตัวข้าวหมากและน้ำข้าวหมากที่ใช้ข้าวเหนียวดำกล้องงอกและระหว่างกระบวนการหมักพบว่า มีการสกัดสารสำคัญเกิดขึ้น และเป็นสารที่สามารถนำมาใช้ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ และเกิดประโยชน์ในการนำไปใช้งานด้านอื่นต่อไป

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบ

1. ข้าวเหนียวดำกล้องพันธุ์ลืมผัว (พันธุ์เตี้ย) เป็นข้าวไร่ ปลูกในท้องที่อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนตุลาคม 2560 และนำไปบรรจุในถุงพลาสติกที่ใช้การบรรจุแบบสุญญากาศ โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระหว่างรอการนำไปเพาะงอก
2. น้ำตาลทรายขาว (ยี่ห้อมิตรผล)
3. ปลายข้าวเจ้า จากร้านค้าในตลาดสดเทศบาลเมืองมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม
4. แป้งข้าวเจ้า (ยี่ห้อช้างสามเศียร)

สายพันธุ์จุลินทรีย์

1. การผลิตลูกแป้งข้าวหมาก

ในงานวิจัยนี้ได้ใช้เชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ 3 สายพันธุ์ เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับบริการจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ได้แก่

1.1 *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 เป็นเชื้อรา คัดแยกได้จากลูกแป้ง ผลิตเอนไซม์อะไมเลส

1.2 *Saccharomycopsis fibuligera* TISTR 5188 เป็นเชื้อยีสต์ คัดแยกได้จากลูกแป้ง ผลิตเอนไซม์อะไมเลส

1.3 *Hansenula anomala* TISTR 5113 เป็นเชื้อยีสต์ คัดแยกได้จากไวน์ข้าว สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ไม่เกินปริมาณที่กำหนด (น้อยกว่า 4 เปอร์เซ็นต์) สร้างกลิ่นหมักที่มีลักษณะกลิ่นหอมของเอสเทอร์

2. การยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร

การทดสอบสารสกัดจากข้าวหมากในการยับยั้งเชื้อก่อโรค ได้ใช้แบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ซึ่งได้รับบริการในรูปหลอดเชื้อที่เพาะเชื้อในหลอดวุ้นตรง (stab inoculation) เป็นสายพันธุ์มาตรฐานจากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์แห่งชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพมหานคร ได้แก่

2.1 *Staphylococcus aureus* DMST 8840

2.2 *Salmonella* Typhimurium DMST 562

2.3 *Listeria monocytogenes* DMST 17303

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อ และยาปฏิชีวนะ

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
2. เอทิลแอลกอฮอล์ เข้มข้นร้อยละ 99.8 (C_2H_5OH)
3. เอทิลแอลกอฮอล์ เข้มข้นร้อยละ 95 (C_2H_5OH)
4. เมทิลแอลกอฮอล์ เข้มข้นร้อยละ 99.9 (CH_3OH)
5. 3,5 ไดไนโตรซาลิไซลิคแอซิด ($C_7H_4N_2O_7$)
6. โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต ($KC_4H_5O_6$)
7. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)
8. กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
9. โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)
10. โซเดียมอะซิเตรต $C_2H_3NaO_2$
11. 2-ไฮดรอกซี-1-แนฟทอลดีไฮด์ ($C_{11}H_8O_2$)
12. กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก ($C_4H_9NO_2$)
13. 1,1–diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ($C_{18}H_{12}N_5O_6$)
14. กรดแอล-แอสคอร์บิก ($C_6H_8O_6$)
15. เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)
16. 2,4,6-tri (2-pyridyl)-tri-azine (TPTZ) ($C_{18}H_{12}N_6$)
17. กรดอะซิติก ($C_2H_4O_2$)
18. ฟีนอล์ฟทาลีน ($C_{20}H_{14}O_4$)
19. สารสกัดยีสต์ (Yeast extract) (Himedia, India)
20. สารสกัดมอลต์ (Malt extract) (Himedia, India)
21. อาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose-Lysine Deoxycholate Agar (XLD) (Himedia, India)
22. อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB) (Himedia, India)
23. อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth (TSB) (Mikrobiologie, Germany)
24. อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar (TSA) (Mikrobiologie, Germany)
25. อาหารเลี้ยงเชื้อ Baird Parker (BP) agar base (Himedia, India)
26. เปปโตน (Peptone, Bacteriological) (Himedia, India)
27. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) (Himedia, India)
28. ผงวุ้น (Agar powder, Bacteriological grade) (Himedia, India)
29. เปปโตน วอร์เตอร์ (Peptone Water) (Himedia, India)
30. กลูโคส (D(+)-Glucose) (Merck, Germany)
31. ยาปฏิชีวนะออกซีเททราซัยคลิน ($C_{22}H_{24}N_2O_8$)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ตู้อบลมร้อน (ยี่ห้อ Memmert รุ่น 14-03129; ยี่ห้อ Conthern รุ่น Thermotec 2000)
2. ตู้ปลอดเชื้อสำหรับห้องปฏิบัติการชีวภาพระดับ 2 (ยี่ห้อ Microtech)
3. เครื่องวิเคราะห์คุณสมบัติของเนื้อสัมผัส (ยี่ห้อ Stable Micro Systems รุ่น TA.XT.plus)
4. เครื่องระเหยสารแบบหลายตัวอย่าง (Buchi Syncore® Polyvap)
5. ตู้บ่มเชื้อ (ยี่ห้อ n-Biotek รุ่น NB-205QF; ยี่ห้อ Binder รุ่น KT (E6))
6. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (ยี่ห้อ Rexmed รุ่น RAU-530D)
7. เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (ยี่ห้อ Sigma รุ่น 2-16KL)
8. หลอดเซนตริฟิวซ์พลาสติก ขนาด 50 มิลลิลิตร
9. เครื่องปั่นอเนกประสงค์ (ยี่ห้อ PHILIPS รุ่น Cucina HR-1799)
10. เครื่อง UV/Vis Spectrophotometer (ยี่ห้อ PerkinElmer รุ่น LAMBDA 365)
11. เครื่องวัดค่าสี (ยี่ห้อ Hunter lab รุ่น ColorFlex model $45^{\circ}/0^{\circ}$)
12. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
13. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (ยี่ห้อ Sartorius รุ่น Docu-pH+Meter)
14. เครื่องตีบดผสมอาหาร (stomacher)
15. ถุงตีบดผสมอาหาร (stomacher® bag)
16. เครื่องดูดจ่ายสารละลาย ปิเปต ขนาด 20, 100 และ 1,000 ไมโครลิตร
17. ปิเปตทิป ขนาด 200 และ 1,000 ไมโครลิตร
18. เครื่องผสมสารละลาย Vortex Mixer (ยี่ห้อ The LabMart รุ่น 101864)
19. เครื่องวัดความหวานแบบปากกา (Digital Brix Refractometer) (ยี่ห้อ ATAGO รุ่น PEN-PRO)
20. เครื่องวัดประมาณแอลกอฮอล์แบบอีบูลลิโอมิเตอร์ (Ebulliometer)
21. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) (Agilent 1200)
22. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายในไมโครเพลท (ยี่ห้อ Microplate reader รุ่น 680 Reader)
23. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น Heat Tech 26L)
24. แผ่นกรองไนลอน ขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร
25. เครื่องวัดความหนืดแบบดิจิตอล (ยี่ห้อ Brookfield รุ่น DV2T)
26. เครื่องล้างอัลตราโซนิค (ยี่ห้อ Elma รุ่น Elmasonic S 300 H)
27. ชุดกรองสารระบบสุญญากาศ (ยี่ห้อ Rocker รุ่น Rocker 300)
28. ไมโครเวลเพลท
29. ขวดแก้วเล็ก ขนาด 10 มิลลิลิตร
30. กระบอกตวง ขนาด 10, 100 และ 250 มิลลิลิตร
31. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร
32. จานเพาะเชื้อ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

33. บีกเกอร์ ขนาด 100, 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
34. ขวดแก้วฝาเกลียว ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
35. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 50, 100 และ 250 มิลลิลิตร
36. ขวดสีน้ำตาล ขนาด 50, 100 และ 250 มิลลิลิตร
37. ปิเปต ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
38. บิวเรต ที่จับบิวเรต ฐานตั้งเหล็ก
39. กระดาษกรองสาร Whatman No. 1
40. แท่งแก้วเกลี่ยเชื้อ
41. ตะเกียงแอลกอฮอล์
42. ห่วงถ่ายเชื้อ
43. คีมคีบ
44. โถดูดความชื้น
45. ถ้วยครูซิเบิ้ล
46. แผ่นให้ความร้อนไฟฟ้า
47. เครื่องครัว ได้แก่ เตาแก๊ส หม้อนึ่ง อ่างผสม ทัพพี ตะแกรงพักขนม กล่องพลาสติก ถ้วยพลาสติก ผ้าขาวบาง

การผลิตลูกแป้งข้าวหมากจากเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์

ในงานวิจัยได้ใช้หัวเชื้อผสมของรา (*A. rouxii* TISTR 3182) และยีสต์ (*S. fibuligera* TISTR 5188, *H. anomala* TISTR 5113) เป็นส่วนประกอบหนึ่งในการปั้นลูกแป้งข้าวหมาก ซึ่งสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ได้รับการคัดเลือกแล้วว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสสูง และมีประสิทธิภาพในการผลิตเอทิลแอลกอฮอล์ การผลิตลูกแป้งข้าวหมากได้ดัดแปลงจากวิธีของวีระสิทธิ์ และคณะ (2554) มีรายละเอียดดังนี้

1. การเตรียมกล้ายีสต์

ในการเตรียมซัสเพนชันของยีสต์ ได้แก่ *S. fibuligera* TISTR 5188 และ *Hansenula anomala* TISTR 5113 โดยการแยกถ่ายยีสต์บริสุทธิ์จากหลอดเชื้อแห้งแข็งลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อแบบเขย่าบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เขย่าเป็นเวลา 25 ชั่วโมง ขยายกล้าเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth 5 มิลลิลิตร มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อแบบเขย่า บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เขย่าเป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำกล้าเชื้อไปผลิตลูกแป้งข้าวหมาก

2. เตรียมทาเนโคจิราบริสุทธิ์

เตรียมข้าวเจ้า โดยชั่งปลายข้าวเจ้า 25 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร นำมาล้างแล้วแช่น้ำทิ้งไว้ค้างคืน 20 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง เทน้ำที่แช่ข้าวทิ้งให้สะเด็ดน้ำ แล้วปิดขวดด้วยจุกสำลี นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เตรียมเพาะเลี้ยงทาเนโคจิราบริสุทธิ์ โดยนำข้าวที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นถ่ายรา *A. rouxii* TISTR 3182 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เตรียมจากการนำกล้าเชื้อบริสุทธิ์ของ *A. rouxii* TISTR 3182 ที่อยู่ในรูปหลอดวุ้นเอียงมาตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ ด้วยห่วงถ่ายเชื้อปลอดเชื้อ และถ่ายเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA นำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน จนเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ขึ้นเต็มหน้าจานเพาะเชื้อ ตัดเชื้อราที่ขึ้นเต็มหน้าจานเพาะเชื้อออกเป็นชิ้น ๆ ชิ้นละขนาด 1 ตารางเซนติเมตร จำนวน 13 ชิ้น ลงบนข้าวนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วคลุกเคล้าให้เข้ากัน โดยจะได้กล้าเชื้อทาเนโคจิราบริสุทธิ์ นำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อต่อไป

3. การเตรียมปริมาณส่วนผสมหัวเชื้อในการผลิตลูกแป้งข้าวหมาก

เตรียมปริมาณส่วนผสมหัวเชื้อ โดยใช้อัตราส่วนระหว่าง รา : ยีสต์ เท่ากับ 3 : 1 ใช้แป้งข้าวเจ้าทรีตเมนต์ละ 100 กรัม (น้ำหนักลูกละประมาณ 10-13 กรัม) ใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อ 80 มิลลิลิตร และปริมาตรกล้าเชื้อเริ่มต้น (รา+ยีสต์) ในการปั้นลูกแป้ง 15 มิลลิลิตร

4. การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้นเพื่อใช้ในการปั้นลูกแป้ง

เตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้นในการปั้นลูกแป้ง ซึ่งประกอบด้วยราและยีสต์ จากข้อ 3 สภาวะที่ใช้ในการปั้นในส่วนของอัตราส่วนระหว่า รา : ยีสต์ เท่ากับ 3 : 1 ซึ่งทำการเทียบอัตราส่วนกับปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นทั้งหมดที่ใช้ในการปั้นลูกแป้งเท่ากับ 15 มิลลิลิตร ได้น้ำหนักราเท่ากับ 11.25 กรัม และปริมาตรยีสต์เท่ากับ 3.75 มิลลิลิตร ซึ่งในทางปฏิบัติเนื่องจากราเตรียมเป็นทาเนโคจิซึ่งเป็นของแข็ง ดังนั้นใช้รา 1 กรัมเทียบได้กับรา 1 มิลลิลิตรในการคำนวณปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นในการปั้นลูกแป้ง แต่ราที่ใช้จะต้องมีอายุอย่างน้อย 5-7 วัน ซึ่งในการปฏิบัติเช่นนี้เพื่อให้ง่ายในการคำนวณกล้าเชื้อเริ่มต้นในการปั้นลูกแป้งเท่านั้นเอง องค์ประกอบระหว่างราและยีสต์แต่ละสายพันธุ์เพื่อศึกษาและปรับปรุงคุณภาพของข้าวหมากที่มีคุณสมบัติดีที่สุด ในงานวิจัยนี้ได้ออกแบบสูตรลูกแป้งข้าวหมากออกเป็น 3 สูตร แสดงตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบระหว่างราและยีสต์แต่ละสายพันธุ์เพื่อผลิตลูกแป้งข้าวหมาก

Formula	Fungi (g)	Yeast (mL)	
No.	*A. rouxii* TISTR 3182	*S. fibuligera* TISTR 5188	*H. anomala* TISTR 5113
1	11.25	3.75	
2	11.25		3.75
3	11.25	1.88	1.88

5. การปั้นลูกแป้ง

เตรียมแป้งโดยนำแป้งข้าวเจ้าอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง รอให้เย็น นำกล้ายีสต์และทาเนโคจิราที่เตรียมไว้ตามปริมาณดังแสดงในตารางที่ 3.1 ซึ่งเป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นมาผสมลงในน้ำกลั่นที่ใช้ในการปั้นลูกแป้ง หลังจากนั้นคลุกเคล้าแป้งให้เข้ากัน ปั้นเป็นก้อนกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 เซนติเมตร วางในภาชนะโปร่งถ่ายเทอากาศได้ดี โดยใช้ตะแกรงพักขนมและบ่มบนโต๊ะห้องปฏิบัติการซึ่งมีการปนเปื้อนของเชื้อชนิดอื่นได้น้อย และคลุมด้วยผ้าขาวบางซึ่งช่วยให้มีการถ่ายเทอากาศได้ดีเพื่อให้มีการเจริญของเชื้อได้ดี นำตะแกรงดังกล่าวบ่มที่อุณหภูมิห้อง 2 วัน จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน เพื่อทำให้ลูกแป้งแห้ง เก็บใส่ถ้วยพลาสติก ปิดฝาแน่นเพื่อป้องกันความชื้น รอการนำไปใช้ผลิตข้าวหมาก

การผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้องงอก

1. ขั้นตอนการเพาะข้าวงอก

การผลิตข้าวเหนียวดำกล้องงอก ดัดแปลงจากวิธีของสุนัน และจตุรงค์ (2556) โดยมีวิธีการดังนี้

1) นำข้าวเหนียวดำกล้องมาใส่ลงในอ่างผสม และใส่น้ำกรองให้ท่วมเมล็ดข้าว นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่งโมง

2) หลังจากแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำข้าวเหนียวดำกล้องมาล้างด้วยน้ำกรอง แล้วนำมาห่อด้วยผ้าขาวบางชุ่มน้ำ 4 ชั้น

3) แผ่ให้เต็มกล่องพลาสติก โดยมีความความหนา 2-3 เซนติเมตร และใช้ผ้าขาวบางชุ่มน้ำปิดทับด้านบนอีก 1 ชั้น

4) ปิดฝากล่องไม่แน่นและให้มีอากาศถ่ายเท

5) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง

6) หลังการบ่ม 4 ชั่วโมง นำข้าวกล้องออกมาล้างด้วยน้ำกรอง โดยการซาวเบา ๆ แล้วเทน้ำทิ้ง หลังจากนั้นนำกลับไปห่อด้วยผ้าขาวบางและบรรจุใส่กล่องเหมือนเดิม แล้วทิ้งไว้ในกล่องอีกเป็นเวลา 4 ชั่วโมง

7) นำออกมาล้างด้วยน้ำกรองทุก ๆ 4 ชั่วโมง การนำมาล้างทุก ๆ 4 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นตุ่มที่จมูกข้าวเริ่มงอกออกมา จะได้เป็นข้าวเหนียวดำกล้องงอก

2. ขั้นตอนการทำข้าวหมาก

การผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้องงอก เปรียบเทียบกับข้าวเหนียวดำกล้องไม่เพาะงอก ดัดแปลงจากวิธีของวรายุ (2546) โดยมีวิธีการ ดังนี้

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1) นำข้าวเหนียวดำกล้องที่ผ่านการเพาะงอก และข้าวเหนียวดำกล้องไม่เพาะงอกที่เตรียมจากการแช่ในน้ำกรองที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ไปนึ่งด้วยเตาแก๊สจนนิ่ม เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

2) พอนึ่งข้าวนิ่มแล้วนำข้าวมาผึ่งบนตะแกรงพักขนมให้เย็น แล้วล้างด้วยน้ำกรองหลาย ๆ ครั้ง จนกว่าจะหมดยางข้าว เกลี่ยข้าวให้กระจายบนผ้าขาวบาง พักให้สะเด็ดน้ำ

3) นำข้าวเหนียวที่ผ่านการนึ่งมาใส่อ่างผสม แยกผสมกล้าเชื้อจากลูกแป้งข้าวหมากที่บดเป็นผง โดยในงานวิจัยนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ทรีตเมนต์ (Treatment) ดังนี้

ทรีตเมนต์ 1 : ข้าวงอก (น้ำหนักข้าวก่อนแช่น้ำ 2,000 กรัม) + ลูกแป้งสูตร 1 ปริมาณ 4 กรัม
ทรีตเมนต์ 2 : ข้าวงอก (น้ำหนักข้าวก่อนแช่น้ำ 2,000 กรัม) + ลูกแป้งสูตร 2 ปริมาณ 0.5 กรัม
ทรีตเมนต์ 3 : ข้าวงอก (น้ำหนักข้าวก่อนแช่น้ำ 2,000 กรัม) + ลูกแป้งสูตร 3 ปริมาณ 6 กรัม
ทรีตเมนต์ 4 : ข้าวไม่งอก (น้ำหนักข้าวก่อนแช่น้ำ 2,000 กรัม) + ลูกแป้งสูตร 3 ปริมาณ 6 กรัม

หลังจากนั้นผสมน้ำตาลทรายขาวน้ำหนัก 500 กรัม ต่อทรีตเมนต์ ผสมบนข้าวให้สม่ำเสมอ คลุกเคล้าส่วนผสมให้เข้ากัน ปล่อยทิ้งไว้สักครู่ นำส่วนผสมบรรจุใส่กล่องพลาสติก ปิดฝากล่องให้สนิท

4) นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ได้เป็นผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวหมากและการวิเคราะห์คุณภาพข้าวหมาก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1. คุณลักษณะของข้าวหมาก

ศึกษาคุณลักษณะของข้าวหมากที่หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากลักษณะเมล็ดข้าว สีของเมล็ดข้าว ลักษณะเนื้อสัมผัสของเมล็ดข้าว ปริมาณน้ำต้อย และความใสของน้ำต้อย

2. การวิเคราะห์ทางเคมี

2.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

วัดปริมาณร้อยละของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของข้าวหมากจากการใช้เครื่องวัดความหวานแบบปากกา ซึ่งใช้บอกความเข้มข้นของของแข็งที่ละลายอยู่ในสารละลาย มีหน่วยเป็นองศาบริกซ์ ($^{\circ}$Brix) หรือร้อยละน้ำหนักต่อน้ำหนัก โดยทำการวัดในชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 ของการหมัก โดยใช้เครื่องวัดความหวานแบบปากกาจุ่มลงในตัวอย่าง แล้วกดปุ่ม STAR และอ่านค่าที่ได้

2.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

วัดค่าความเป็นกรด-ด่างของข้าวหมากจากการใช้เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยดัดแปลงจากวิธี AOAC (2000) ทำการวัดในชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 ของการหมัก (รายละเอียดการวัดแสดงดังภาคผนวก ง)

2.3 ปริมาณกรดจากการไตเตรท (titratable acidity: TA)

วิเคราะห์ร้อยละปริมาณกรดทั้งหมดที่มีอยู่ในข้าวหมากในรูปของกรดแลคติก โดยการไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ตามวิธีของ AOAC (2000) ทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ง)

2.4 ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล

วัดปริมาณร้อยละเอทิลแอลกอฮอล์ของข้าวหมากจากการใช้เครื่องวัดประมาณแอลกอฮอล์แบบอีบูลลิโอมิเตอร์ (Ebulliometer) โดยทำการวัดในชั่วโมงที่ 72 ของการหมัก (รายละเอียดการวัดแสดงดังภาคผนวก ง)

2.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในรูปของน้ำตาลกลูโคสระหว่างการหมักข้าวหมากโดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) (Scherz และ Bonn, 1998) โดยทำการวิเคราะห์ในชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 ของการหมัก (รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ง)

3. การวิเคราะห์ทางกายภาพ

ค่าสี

วัดค่าสีของของข้าวหมากโดยใช้เครื่องวัดสียี่ห้อ HunterLab รุ่น ColorFlex Model $45^0/0^0$ ซึ่งเป็นการวัดค่าสีระบบ C.I.E lab (L* a* b*) โดยค่า

L* คือ ความสว่างของสี (lightness) โดยมีค่าจาก 0 คือสีดำ ถึง 100 คือสีขาว

a* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและสีแดงที่อยู่ในตัวอย่าง (redness/greenness) โดยค่า a+ แสดงถึงความเป็นสีแดง และค่า a- แสดงถึงความเป็นสีเขียว

b* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงินที่อยู่ในตัวอย่าง (yellowness/blueness) โดยค่า b+ แสดงถึงความเป็นสีเหลือง และค่า b- แสดงถึงความเป็นสีน้ำเงิน

ก่อนการวัดค่าทุกครั้งต้องทำการปรับมาตรฐานเครื่องด้วยแผ่นสีมาตรฐาน คือ black glass calibrated tile และ white glass calibrated tile แล้วจึงวัดค่าสีของตัวอย่าง โดยกวนผสมข้าวหมากให้เข้ากันและนำมาใส่ Glass sample cup ปริมาตร ¾ ของถ้วย และปิดด้วย sample cup cover นำไปวัดค่าสี โดยทำการวัด 3 ซ้ำต่อตัวอย่าง แล้วอ่านค่าที่ได้จากเครื่อง โดยทำการวัดในชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 ของการหมัก

4. การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

ปริมาณยีสต์และรา

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราของข้าวหมาก ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC (2000) ด้วยเทคนิคเกลี่ยเพลท (spread plate) โดยทำการเจือจางตัวอย่างตามลำดับ ๆ ละ 10 เท่า (Ten-fold serial dilutions) ด้วยสารละลายสำหรับเจือจาง มีขั้นตอนการตรวจดังนี้

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1) ชั่งตัวอย่างข้าวหมากที่ผ่านการกวนผสมให้เข้ากัน 10 กรัม ทำการเจือจางโดยผสมลงในสารละลายเปปโตน วอร์เตอร์เข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาณ 90 มิลลิลิตร ที่อยู่ในขวดแก้วฝาเกลียว ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสารเป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างเจือจาง 10^{-1} เท่า

2) ทำการเจือจางต่อ โดยปิเปตตัวอย่างที่เจือจาง 10^{-1} เท่า มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลายเปปโตน วอร์เตอร์เข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาณ 9 มิลลิลิตร ที่อยู่ในหลอดแก้วฝาเกลียว ขนาด 15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้าโดยเขย่าให้เชื้อกระจายทั่วกันทั้งหลอดภายในเวลา 7 วินาที ถ้าตั้งทิ้งไว้เกิน 3 นาที จะเขย่าใหม่ ได้ตัวอย่างเจือจาง 10^{-2} เท่า

3) ทำการเจือจางด้วยวิธี Ten-fold serial dilutions เช่นนี้ต่อไปจนได้สารละลายตัวอย่างอาหารที่เจือจางตามต้องการ แล้วปิเปตแต่ละสารละลายตัวอย่างอาหาร 3 ระดับความเจือจางที่ติดกัน 1 มิลลิลิตร ปล่อยลงในจานเพาะเชื้อแก้วปลอดเชื้อ

4) เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ปลอดเชื้อที่หลอมละลาย มีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ประมาณ 15 มิลลิลิตร ลงในแต่ละจานเพาะเชื้อ

5) ผสมให้เข้ากับตัวอย่างในจานเพาะเชื้อ โดยปิดฝาจานเพาะเชื้อ ใช้มือจับฝาจานเพาะเชื้อลากตัวจานเพาะเชื้อให้ไหลตามพื้นโต๊ะ ขึ้น - ลง 5 ครั้ง วนซ้าย 5 รอบ วนขวา 5 รอบ แล้วขึ้นลงอีก 5 รอบ ระยะเวลาตั้งแต่ถ่ายตัวอย่าง จนกระทั่งเทเพลทด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่ควรนานเกิน 20 นาที (ที่เหมาะสมควรภายใน 10 นาที)

6) รออาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว โดยไม่ต้องคว่ำจานเพาะเชื้อ และวางซ้อนกันไม่เกิน 3 จานเพาะเชื้อ นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72±3 ชั่วโมง (ไม่เคลื่อนย้ายจานเพาะเชื้อจนกว่าจะทำการนับจำนวนโคโลนี)

7) นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นมาในจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อขึ้นระหว่าง 10 - 150 โคโลนีต่อจาน นำมาหาค่าเฉลี่ย และแสดงผลเป็นซีเอฟยูต่อกรัม โดยทำการตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณยีสต์และราในชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 ของการหมัก (รายละเอียดการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจางแสดงดังภาคผนวก จ)

5. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อข้าวหมากด้วยวิธีการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ปฏิเสธการบริโภคข้าวหมากที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 30 คน ใช้แบบประเมินที่มีวิธีการให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (9 point hedonic scale test) (1 = ไม่ยอมรับมากที่สุด 5 = เฉย ๆ 9 = ยอมรับมากที่สุด) ประเมินการยอมรับในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นแอลกอฮอล์ รสหวาน รสเปรี้ยว เนื้อสัมผัส (ความนุ่ม) และความชอบโดยรวม โดยเสิร์ฟข้าวหมากจากตัวอย่างที่หมักครบ 72 ชั่วโมง ปริมาณ 20 กรัม ใส่ถ้วยพลาสติกให้แก่ผู้ทดสอบชิม (รายละเอียดแบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแสดงดังภาคผนวก ฉ)

การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวหมาก

1. การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

1.1 การสกัดตัวอย่าง

นำตัวอย่างข้าวหมากหลังบ่มเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่ Treatment 1, 2, 3 และ 4 มีปริมาณความชื้นร้อยละ 56.88, 56.14, 55.23 และ 59.39 ตามลำดับ มากวนผสมให้เข้ากัน ตักใส่จานเพาะเชื้อ และนำไปอบแห้งที่ตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 64 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปบดให้ละเอียดด้วยโถบดสับของเครื่องปั่นอเนกประสงค์ โดยตัวอย่างจาก Treatment 1, 2, 3 และ 4 มีปริมาณความชื้นร้อยละ 7.21, 5.89 5.78 และ 5.81 ตามลำดับ จากนั้นนำตัวอยางที่บดละเอียดแล้ว มาสกัดด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ที่ถูกปรับให้มีความเป็นกรดตามวิธีของ Abdel-Aal และคณะ (2006) ด้วยการดัดแปลงเล็กน้อย โดยเตรียมเมทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 99.9 ผสมกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 นอร์มัล ในอัตราส่วน 85:15 ปริมาตรต่อปริมาตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 1 นำตัวอย่างข้าวหมากผง 1 กรัม ใส่หลอดเซนตริฟิวซ์พลาสติก ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมเมทิลแอลกอฮอล์ที่ถูกปรับให้มีความเป็นกรด 8 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร็ว 10,000g เป็นเวลา 20 นาที ถ่ายส่วนใสไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส กากที่เหลือสกัดซ้ำด้วยสภาวะเดิม และนำส่วนใสที่ได้ไปรวมกับสารสกัดรอบแรก แช่สารสกัดต่อในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำสารสกัดไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร็ว 10,000g เป็นเวลา 20 นาทีก่อนนำไปวิเคราะห์

1.2 การวิเคราะห์

วิเคราะห์ด้วยวิธีพีเอช-ดิฟเฟอเรนเชียล ตามวิธีของ Lee และคณะ (2014) โดยนำสารสกัดข้าวหมากมาสแกนหาค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนสูงสุด (λmax) ด้วยเครื่อง UV/Vis Spectrophotometer (การทดลองนี้ได้ค่า λmax = 530 นาโนเมตร) ผสมสารสกัดข้าวหมากหลอดที่ 1 ปริมาณ 0.6 มิลลิลิตร เติมโพแทสเซียมคลอไรด์บัฟเฟอร์ ความเป็นกรด-เบส 1 ปริมาณ 8.4 มิลลิลิตร และผสมสารสกัดข้าวหมากหลอดที่ 2 ปริมาณ 0.6 มิลลิลิตร เติมโซเดียมอะซิเตรตบัฟเฟอร์ ความเป็นกรด-เบส 4.5 ปริมาตร 8.4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที นำทั้ง 2 หลอดมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 และ 700 นาโนเมตร โดยวัดเทียบกับชุดควบคุม (blank) ซึ่งใช้น้ำกลั่นแทนสารตัวอย่าง วัดด้วยเครื่อง UV/Vis Spectrophotometer คำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ซึ่งแสดงผลในรูปมิลลิกรัมของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ในตัวอย่างน้ำหนักแห้ง 100 กรัม ดังสมการด้านล่าง โดยทำการวัดในชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 ของการหมัก (รายละเอียดการเตรียมบัฟเฟอร์แสดงดังภาคผนวก ง)

$$\text{ปริมาณแอนโทไซยานิน} = \frac{A \times MW \times DF \times 10^{3}}{\varepsilon \times l}$$

โดยที่ A = $(A_{510}nm - A_{700}nm)pH_{1.0} - (A_{510}nm - A_{700}nm)pH_{4.5}$

MW = 449.2 กรัมต่อโมล (น้ำหนักโมเลกุลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์)

ε = 26,900 ลิตรต่อโมลต่อเซนติเมตร (โมลาร์แอฟซอฟติวิตี้)

l = 1 เซนติเมตร (ความกว้างของคิวเวทท์)

DF = แฟคเตอร์การเจือจางของสารละลายตัวอย่าง

10^3 = แฟคเตอร์การเปลี่ยนหน่วยกรัมเป็นมิลลิกรัม

2. การวิเคราะห์ปริมาณกาบา

2.1 การสกัดตัวอย่าง

การสกัดตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณกาบาทำตามวิธีของ Phuapaiboon และคณะ (2013) ด้วยการดัดแปลงเล็กน้อย โดยนำข้าวหมากผงที่เตรียมไว้ข้างต้นชนิดละ 5 กรัม ใส่ลงในหลอดเซนตริฟิวซ์พลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดสารกาบาด้วยเอทิลแอลกอฮอล์เข้มเข้นร้อยละ 70 ปริมาณ 25 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรงด้วยเครื่องเขย่าสารเป็นเวลา 1 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็ว 12,000g เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสใส่ glass tube ทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง และนำส่วนใสใส่ glass tube เดิม (ปริมาณทั้งหมด 75 มิลลิลิตร) และนำไประเหยแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องระเหยสารแบบหลายตัวอย่าง ที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ตั้งค่าปั๊มสุญญากาศในช่วงแรก 175 มิลลิบาร์ และในช่วงหลัง 74 มิลลิบาร์ ชะส่วนที่แห้งติด glass tube ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 70 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็ว 10,000g เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม MAHASARAKHAM UNIVERSITY

2.2 การวิเคราะห์

วิเคราะห์ตามวิธีของ Hayat และคณะ (2013) โดยนำสารสกัดข้าวหมาก 1 มิลลิลิตร หรือสารมาตรฐานกาบา ผสมกับสารอนุพันธ์ 2-ไฮดรอกซี-1-แนฟทอลดีไฮด์ (ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ในเมทิลแอลกอฮอล์) 1 มิลลิลิตร และเติมบอเรต-ไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ 0.5 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนที่อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ผสมให้เข้ากัน กรองผ่านเมมเบรนรูพรุนขนาด 0.22 ไมโครเมตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยนำตัวอย่างสารละลาย 5 ไมโครลิตร ฉีดผ่านรีเวิร์สเฟสคอลัมน์ที่เป็น SB-C18 (2.1x50 มิลลิเมตร) มีวัฏภาคเคลื่อนที่ บี คือเมทิลแอลกอฮอล์ และวัฏภาคเคลื่อนที่ เอ คือน้ำ วิเคราะหแบบ gradient (ที่ 0 นาที สารละลาย บี ร้อยละ 50, ที่ 2 นาที สารละลาย บี ร้อยละ 60, ที่ 5 นาที สารละลาย บี ร้อยละ 70, ที่ 8 นาที สารละลาย บี ร้อยละ 80, ที่ 10 นาที สารละลาย บี ร้อยละ 90, ที่ 12 นาที สารละลาย บี ร้อยละ 50) อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตร/นาที ตรวจวัดการเรืองแสงด้วยดีเทคเตอร์ชนิดดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเลต แบบ photodiode array ที่ความยาวเคลื่อน 254 นาโนเมตร

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.1 การสกัดตัวอย่าง

การสกัดตัวอย่างทำตามวิธีของ Muangnoi และคณะ (2012) และ Bhat และ Riar (2017) ด้วยการดัดแปลงเล็กน้อย โดยนำข้าวหมากผงที่เตรียมไว้ข้างต้นชนิดละ 1 กรัม ใส่ลงในหลอดเซนตริฟิวซ์พลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดสารด้วยเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 90 ปริมาณ 30 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรงด้วยเครื่องเขย่าสารเป็นเวลา 2 นาที แล้วนำไปสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงในเครื่องล้างอัลตราโซนิค ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็ว 4,500g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส กรองแยกส่วนใสผ่านกระดาษกรองสาร Whatman No. 1 ด้วยชุดกรองสารระบบสุญญากาศ นำกากที่เหลือไปสกัดซ้ำอีก 1 ครั้ง นำของเหลวใสที่ได้ทั้ง 2 ครั้ง มารวมกัน (ปริมาณทั้งหมด 60 มิลลิลิตร) ใส่ลงใน glass tube และนำไประเหยแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องระเหยสารแบบหลายตัวอย่าง ที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ตั้งค่าปั๊มสุญญากาศ 74 มิลลิบาร์ ชะส่วนที่แห้งติด glass tube ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 90 ปริมาณ ให้มีความเข้มข้นที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ระหว่างรอการนำไปวิเคราะห์

3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวหมากด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวหมากวัดได้จากการใช้อนุมูลอิสระเสถียรดีพีพีเอช ซึ่งทำตามวิธีการของ Masuda และคณะ (1999) โดยทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างด้วยสารดีพีพีเอชเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน คือวิตามินซี โดยเริ่มจากการเติมเมทิลแอลกอฮอล์ปริมาณ 200 และ 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมของไมโครเวลเพลท เพื่อใช้เป็นชุดการทดลองเปรียบเทียบและควบคุม ตามลำดับ เติมวิตามินซีหรือสารสกัดตัวอย่างปริมาณ 100 ไมโครลิตรลงในหลุมของไมโครเวลเพลทที่เหมาะสม หลังจากนั้นเตรียมสารดีพีพีเอชเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมจากการใช้เมทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย และนำมาปริมาณ 100 ไมโครลิตร ผสมลงในหลุมของชุดควบคุม วิตามินซี และสารสกัดตัวอย่าง เขย่าไมโครเวลเพลทอย่างเบา ๆ เพื่อผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปิดฝาไมโครเวลเพลท แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ในเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท นำค่าที่ได้มาพล็อตกราฟระหว่างค่าดูดกลืนแสงของสารดีพีพีเอชกับความเข้มข้นของสารต้านการออกซิเดชัน จะได้กราฟมาตรฐาน ซึ่งมีหลักการทดสอบ คือ สารดีพีพีเอชเป็นสารที่มีสีม่วง-เขียว สามารถดูดกลืนแสงได้เมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารตัวอย่างจะมีสีม่วง-เขียวจางลงและจะทำให้ค่าดูดกลืนแสงลดลงด้วย คำนวณประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ (%scavenging) โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{DPPH scavenging activity (\%)} = \frac{A_{520}\,\text{control} - A_{520}\,\text{test sample}}{A_{520}\,\text{control}} \times 100$$

เมื่อ A_{520} control = ค่าดูดกลืนแสงของดีพีพีเอช (สารละลาย DPPH ที่ไม่ได้เติมสารสกัดตัวอย่าง)
A_{520} test sample = ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างหลังทำปฏิกิริยากับดีพีพีเอช

ใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน จึงเปรียบเทียบเป็นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าวิตามินซีในหน่วยมิลลิโมลาร์ เรียกว่า mM Vitamin C equivalent antioxidant capacity (mM VCEAC)

3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวหมากโดยใช้ Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวหมากตรวจวัดได้โดยการใช้อนุมูลอิสระเสถียร 2,4,6-tri (2-pyridyl)-tri-azine (TPTZ) ซึ่งเป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างด้วยสาร Ferric reducing antioxidant power (FRAP) (Benzie และ Strain, 1996) เปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน คือ เฟอรัสซัลเฟต โดยเตรียมสารอนุมูลอิสระเสถียร FRAP ให้มีความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย นำมาผสมกับสารสกัดตัวอย่างในปริมาตร 30 ไมโครลิตร ใส่ในหลุมไมโครเวลเพลท แล้วเติมสารละลาย FRAP 270 ไมโครลิตร แต่ชุดการทดลองเปรียบเทียบ ให้เติมอะซีเตตบัฟเฟอร์ลงไปแทนสารละลาย FRAP ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร คำนวณประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ แล้วรายงานค่าที่ได้ในรูปมิลลิกรัมสมมูลของ $FeSO_4$ (mg Fe(ll)/L)

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารของสารสกัดจากข้าวหมาก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

นำสารสกัดข้าวหมากที่ได้จากขั้นตอนการสกัดเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทั้ง 4 Treatment มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค ในงานวิจัยนี้ได้ทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Salmonella* Typhimurium DMST 562 และ *Listeria monocytogenes* DMST 17303 ด้วยการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี paper disc diffusion โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมเชื้อ

1.1 นำเชื้อที่ทดสอบมากระตุ้น โดยใช้ห่วงเขี่ยเชื้อปลอดเชื้อถ่ายเชื้อที่เก็บไว้ในหลอดวุ้นตรง ได้แก่เชื้อ *S. aureus* DMST 8840, *S.* Typhimurium DMST 562 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth และบ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อปลอดเชื้อถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth และบ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.2 ถ่ายเชื้อแบคทีเรียที่มีอายุ 24 ชั่วโมง มาเพาะเลี้ยงต่อในอาหารเหลวสูตรเดิม และบ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.3 นำหลอดเชื้อจากข้อ 1.2 มาตรวจนับจำนวนเซลล์ด้วยวิธีเกลี่ยเพลท (spread plate) โดยทำการเจือจางเชื้อแต่ละหลอดด้วยน้ำยาเจือจางโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 เจือจางครั้งละ 10 เท่า จนมีความเจือจางอยู่ที่ 10^6 เท่า และทำการตรวจนับจำนวนเซลล์ โดยนำตัวอย่างจากหลอดที่เจือจาง 10^4, 10^5 และ 10^6 เท่า ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร มาหยดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และทำการเกลี่ยเพลทด้วยแท่งแก้วเกลี่ยเชื้อปลอดเชื้อ ซึ่งเชื้อ *S. aureus* DMST 8840 ทำการเกลี่ยเพลทบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BP agar base เชื้อ *S.* Typhimurium DMST 562 ทำการเกลี่ยเพลทบนอาหาร XLD และเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 ทำการเกลี่ยเพลทบนอาหาร TSA แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมาตรวจนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นบนจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อขึ้นระหว่าง 30 - 300 โคโลนีต่อจาน นำมาหาค่าเฉลี่ย แสดงผลเป็นโคโลนีต่อมิลลิลิตร พบว่า เชื้อ *S. aureus* DMST 8840 มีจำนวนโคโลนี เท่ากับ 2.54×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เชื้อ *S.* Typhimurium DMST 562 มีจำนวนโคโลนี เท่ากับ 6.25×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร และ เชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 มีจำนวนโคโลนี เท่ากับ 1.07×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

2. การเตรียมสารสกัดข้าวหมากแบบแผ่นแห้ง

มีขั้นตอนการเตรียมดังนี้

2.1 นำสารสกัดข้าวหมากที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทำให้ปลอดเชื้อโดยกรองผ่านแผ่นกรองไนลอน (nylon syringe filter) ขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร ใส่หลอดไมโครเซนตริฟิวซ์ปลอดเชื้อ ความจุ 1.5 มิลลิลิตร

2.2 นำแผ่นกรองปลอดเชื้อ (paper disc) ที่เตรียมจากกระดาษกรองสาร Whatman No. 1ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที วางลงในจานเพาะเชื้อปลอดเชื้อ ใช้เครื่องดูดจ่ายสารละลาย ปิเปต ขนาด 20 ไมโครลิตร ดูดสารสกัดข้าวหมากแต่ละทรีตเมนต์ ทรีตเมนต์ละ 20 ไมโครลิตร หยดตรงกลางแผ่นกรองปลอดเชื้อ ส่วนแผ่นกรองปลอดเชื้ออีก 2 แผ่น จะหยดเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 90 ในปริมาณ 20 ไมโครลิตร เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) และหยดยาปฏิชีวนะออกซีเททราซัยคลิน ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 20 ไมโครลิตร ในอีกแผ่น จัดเป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) ตั้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องในตู้ปลอดเชื้อสำหรับห้องปฏิบัติการชีวภาพระดับ 2 และนำไปทำสอบฤทธิ์ควบคุมการเจริญของเชื้อต่อไป

3. การทดสอบสารสกัด

ใช้ก้านไม้พันสำลีปลอดเชื้อ (sterile cotton swab) จุ่มในหลอดเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด (จากข้อ 1.2) และเกลี่ยให้ทั่วบนผิวหน้าของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเชื้อ *S. aureus* DMST 8840 ทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BPA เชื้อ *S.* Typhimurium DMST 562 ทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD และเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 ทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA หลังจากนั้นรอให้ผิวหน้าอาหารแห้งเป็นเวลา 5 นาที ใช้คีมคีบปลอดเชื้อคีบเอาแผ่นกรองวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้แนบกับผิวหน้า นำเชื้อทั้ง 3 ชนิด ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในตู้บ่มเชื้อ เป็นระยะเวลา 24

ชั่วโมง โดยหงายจานเพาะเชื้อ แล้วบันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางของวงยับยั้ง (inhibition zone) หรือโซนใสที่เกิดขึ้น การวัดขนาดของโซนใส แสดงดังสมการด้านล่าง

ขนาดของโซนใส (มิลลิเมตร) = (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc และโซนใสของเชื้อ) ลบด้วย (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc)

การผลิตเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก

การผลิตเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก ดัดแปลงจากวิธีของศิริพร และคณะ (2558) โดยมีวิธีการผลิตดังนี้

1) ผลิตข้าวหมาก 4 Treatment ดังรายละเอียดข้างต้น หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำแต่ละ Treatment มาแยกเติมน้ำอุ่นที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราส่วน ข้าวหมาก : น้ำอุ่น เป็น 4 : 1 คนเบา ๆ และนำไปปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นอเนกประสงค์ ความแรงเบอร์ 3 เป็นเวลา 1 นาที

2) นำมากรองแยกกากออกผ่านผ้าขาวบางหนา 2 ชั้น

3) ปรับค่าของแข็งที่ละลายได้ของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากให้คงที่ คือ 12 องศาบริกซ์ ด้วยน้ำตาลทรายขาว

4) นำมาให้ความร้อน โดยการฆ่าเชื้อด้วยวิธีพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

5) ทำให้เย็นทันในอ่างน้ำแข็ง และบรรจุในขวดแก้วปลอดเชื้อ นำไปเก็บรักษาที่ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะได้เครื่องดื่มข้าวหมาก นำตัวอย่างมาวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

การวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก

1. การวิเคราะห์ทางเคมี

1.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

วัดตามวิธีการวัดของข้าวหมาก

1.2 ปริมาณกรดจากการไตเตรท (titratable acidity: TA)

วิเคราะห์ตามวิธีการวิเคราะห์ของข้าวหมาก

1.3 ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล

วัดตามวิธีการวัดของข้าวหมาก

2. การวิเคราะห์ทางกายภาพ

2.1 ค่าสี

วัดตามวิธีการวัดของข้าวหมาก

2.2 ความหนืด

วัดค่าความหนืดของเครื่องดื่มข้าวน้ำหมากโดยใช้เครื่องวัดความหนืดแบบดิจิตอล ที่ความเร็วรอบ 6 รอบต่อนาที และเข็มเบอร์ 62 ซึ่งเป็นเครื่องที่ใช้วัดความต้านทานการไหลมีหน่วยเป็น cP (Centipoise) โดยค่าที่บอกจากหน้าจอสำหรับความหนืดบอกเป็น cP และบอกเป็นร้อยละของทอร์ก โดยมีวิธีการดังนี้

1) เปิดเครื่อง โดยกดปุ่มเปิดด้านหลังเครื่อง หน้าจอเครื่องเปิดและแสดงรายละเอียดของยี่ห้อและรุ่น

2) หลังจากนั้นหน้าจอเครื่องขึ้น Auto Zero เพื่อปรับลูกน้ำให้อยู่ตรงกลาง และปรับ Zero ของเครื่องก่อนใช้งาน โดยกดปุ่ม Next ซึ่งในขั้นตอน Auto Zero ต้องถอดเข็มออกก่อน

3) เมื่อขั้นตอน Auto Zero เสร็จสมบรูณ์ ให้กดปุ่ม Next หน้าจอเครื่องขึ้น the Configure Viscosity Test โดยเข้าไปตั้งค่าความเร็วรอบและเบอร์เข็ม

4) ประกอบเข็มเข้ากับตัวเครื่อง และเลื่อนจุ่มเข็มลงในน้ำข้าวหมากที่อยู่ในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตร 400 มิลลิลิตร ให้น้ำข้าวหมากท่วมขีดบอกระดับที่เข็ม

5) หลังจากติดตั้งค่าต่าง ๆ เรียบร้อยแล้ว กดปุ่ม RUN เครื่องจะเริ่มทำงาน เริ่มจดบันทึกค่าที่แสดงบนหน้าจอเครื่อง

3. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากด้วยวิธีการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ปฏิเสธการบริโภคเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 30 คน ใช้แบบประเมินที่มีวิธีการให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ ประเมินการยอมรับในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นของข้าวหมาก รสชาติของข้าวหมาก รสชาติของเครื่องดื่ม และความชอบโดยรวม โดยเสิร์ฟเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากที่แช่เย็น ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ใส่ถ้วยพลาสติกให้แก่ผู้ทดสอบชิม (รายละเอียดแบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแสดงดังภาคผนวก ฉ)

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

4.1 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

นำตัวอย่างเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากใส่ลงในหลอดเซนตริฟิวซ์พลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000g เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำสารละลายส่วนบนไปวิเคราะห์ตามวิธีการวิเคราะห์ของข้าวหมาก

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณกาบา

นำตัวอย่างเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนไปวิเคราะห์ตามวิธีการวิเคราะห์ของข้าวหมาก

4.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

4.3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH)

นำตัวอย่างเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนไปวิเคราะห์ตามวิธีการวิเคราะห์ของข้าวหมาก

4.3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

นำตัวอย่างเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนไปวิเคราะห์ตามวิธีการวิเคราะห์ของข้าวหมาก

การวางแผนการทดลองและสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ทางเคมี การวิเคราะห์ทางกายภาพ และการตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาของข้าวหมาก วางแผนการทดลองแบบ 4 x 3 Factorial in CRD พิจารณา 2 ปัจจัย คือ ข้าวหมาก 4 ทรีตเมนต์ และระยะเวลาการหมัก 3 ระดับ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวหมากและของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก การวิเคราะห์ทางเคมีและการวิเคราะห์ทางกายภาพของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของข้าวหมากและเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดยมีจำนวนซ้ำ 30 ซ้ำ

การทดสอบดังกล่าวข้างต้น วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติโดย analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลองโดยใช้ค่าสถิติ Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ .05 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 13 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ในงานวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการทดลองแบ่งเป็น 2 ตอน ตอนที่ 1 ผลิตข้าวหมาก 4 ทรีตเมนต์ จากข้าวเหนียวดำกล้องเพาะงอกหมักด้วยลูกแป้งข้าวหมากที่ผลิตจากเชื้อบริสุทธิ์ของราและยีสต์ที่แตกต่างกัน 3 สูตร หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งเชื้อราบริสุทธิ์ ได้แก่ สายพันธุ์ *A. rouxii* TISTR 3182 และเชื้อยีสต์บริสุทธิ์ ได้แก่ สายพันธุ์ *S. fibuligera* TISTR 5188 และสายพันธุ์ *H. anomala* TISTR 5113 เปรียบเทียบกับข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำกล้องที่ไม่ได้เพาะงอกหมักด้วยลูกแป้งข้าวหมากสูตร 3 และศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างหมักข้าวหมาก ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวหมาก และประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารของสารสกัดจากข้าวหมาก ตอนที่ 2 ผลิตเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก 4 ทรีตเมนต์ จากการผลิตข้าวหมากตามรายละเอียดตอนที่ 1 และนำข้าวหมากมาแปรรูปต่อเป็นเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก ศึกษาคุณภาพและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก ผลการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

ผลการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวหมากและผลการวิเคราะห์คุณภาพข้าวหมาก

1. คุณลักษณะของข้าวหมาก

คุณลักษณะของข้าวหมากที่หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 4.1 โดยพบว่าลักษณะของเมล็ดข้าวของทรีตเมนต์ที่ 1 มีลักษณะแข็ง แยกตัว ไม่อุ้มน้ำ ซึ่งแตกต่างจาก ทรีตเมนต์ที่ 2, 3 และ 4 ที่เมล็ดข้าวมีความเหนียว โดยเฉพาะทรีตเมนต์ที่ 2 เกาะติดกันมาก สีของเมล็ดข้าวทุกทรีตเมนต์มีสีใกล้เคียงกัน คือ ม่วงอมดำ ส่วนปริมาณน้ำต้อย พบว่า การหมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทรีตเมนต์ที่ 1 มีปริมาณน้ำต้อยมากกว่าทรีตเมนต์อื่น ๆ โดยเฉพาะทรีตเมนต์ที่ 2 มีปริมาณน้ำต้อยน้อยมาก ส่วนความใสของน้ำต้อย พบว่าเฉพาะทรีตเมนต์ที่ 4 ที่ใส ส่วนทรีตเมนต์อื่น ๆ ค่อนข้างขุ่น

ตารางที่ 4.1 คุณลักษณะของข้าวหมากที่หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ทรีตเมนต์	ลักษณะปรากฏของข้าวหมาก				
	ลักษณะของเมล็ดข้าว	สีของเมล็ด	ลักษณะเนื้อสัมผัส	ปริมาณน้ำต้อย	ความใสของน้ำต้อย
1	แข็ง แยกตัว ไม่อุ้มน้ำ	ม่วงอมดำ	แข็งเล็กน้อย	ปานกลาง	ใส
2	มีความเหนียว เกาะติดกัน	ม่วงอมดำ	นุ่ม	มีเล็กน้อย	ขุ่น
3	มีความเหนียวเล็กน้อย แยกเป็นเมล็ด	ม่วงอมดำ	นุ่ม	มีเล็กน้อย	ขุ่น
4	มีความเหนียวเล็กน้อย แยกเป็นเมล็ด	ม่วงอมดำ	นุ่ม	มีเล็กน้อย	ขุ่น

2. ผลการวิเคราะห์ทางเคมี

2.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายไดทั้งหมด

การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดระหว่างการหมักข้าวหมากเป็นเวลา 72 ชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 4.2 โดยพบว่า ข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดระหว่างการหมักอยู่ระหว่าง 28.43 - 32.20 องศาบริกซ์ และเมื่อหมักเป็นเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของทุกทรีตเมนต์มีค่าเพิ่มขึ้นจากชั่วโมงที่ 24 ($p \leq 0.05$) และนอกจากนี้ยังพบว่า การหมักในชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 ระหว่างทรีตเมนต์ที่ 1, 2, 3 และ 4 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากว่าในขั้นตอนการผลิตข้าวหมากทุกทรีตเมนต์ได้มีการผสมน้ำตาลทรายขาวที่อัตราส่วน 500 กรัมต่อข้าว 2000 กรัม ซึ่งปริมาณของแข็งที่ละลายไดทั้งหมดของข้าวหมากทุกทรีตเมนต์เมื่อหมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าอยู่ระหว่าง 31.50 - 32.20 องศาบริกซ์ บ่งบอกว่าข้าวหมากมีรสชาติค่อนข้างหวาน

ตารางที่ 4.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายไดทั้งหมด (องศาบริกซ์) ของการหมักข้าวหมาก (Means±SD)

ทรีตเมนต์	เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)		
	24	48	72
1	29.43±0.53^{cd}	30.57±0.84^{b}	32.00±1.14^{a}
2	29.67±0.17^{cd}	31.17±0.74^{ab}	32.20±0.43^{a}
3	29.30±0.22^{d}	30.90±0.46^{ab}	31.50±0.36^{ab}
4	28.43±0.25^{d}	31.23±0.21^{ab}	30.93±0.53^{ab}

$^{a, b, c, d}$ ตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

2.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการหมักข้าวหมากเป็นเวลา 72 ชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 4.3 โดยพบว่า ข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการหมักอยู่ระหว่าง 3.61 - 4.40 และเมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้นเป็น 48 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างของทุกทรีตเมนต์เพิ่มขึ้นจากชั่วโมงที่ 24 และเมื่อหมักนานขึ้นเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า เฉพาะทรีตเมนต์ที่ 2 มีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงแตกต่างจากชั่วโมงที่ 48 และนอกจากนี้ยังพบว่า การหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทรีตเมนต์ที่ 3 มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดแตกต่างจากทรีตเมนต์อื่น ๆ ทั้งนี้อาจเนื่องจากประสิทธิภาพของกล้าเชื้อในลูกแป้งเปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวให้เป็นกรด โดยเชื้อราสามารถสร้างกรดอินทรีย์ระหว่างการหมักข้าวหมาก และเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในกระบวนการหมัก เช่น แบคทีเรียผลิตกรดแลคติกและแบคทีเรียผลิตกรดอะซิติก ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ขณะที่การหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างทรีตเมนต์ที่ 1, 3 และ 4 ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ส่วนการหมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ระหว่างทรีตเมนต์ที่ 1- 4 มีค่าความเป็นกรด-ด่างไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ซึ่งตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช.162/2546 ข้าวหมากต้องมีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ระหว่าง 4.0 - 4.5 ซึ่งงานวิจัยนี้ข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า

ตารางที่ 4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่างของการหมักข้าวหมาก (Means±SD)

Treatment	เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)		
	24	48	72
1	4.12±0.05[a]	3.73±0.10[de]	3.61±0.04[d]
2	4.40±0.138[a]	4.12±0.04[b]	3.75±0.07[cde]
3	4.24±0.02[b]	3.78±0.08[cde]	3.64±0.01[d]
4	4.25±0.13[ab]	3.87±0.05[cd]	3.75±0.03[cde]

[a, b, c, d, e] ตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

2.3 ปริมาณกรดจากการไตเตรท (titratable acidity: TA)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดจากการไทเทรตของการหมักข้าวหมากเป็นเวลา 72 ชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 4.4 โดยพบว่า ข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีปริมาณกรดจากการไทเทรตระหว่างการหมักอยู่ระหว่างร้อยละ 0.61 - 1.16 และเมื่อหมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ปริมาณกรดจากการไทเทรตของทุกทรีตเมนต์ลดลงจากการหมักเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ($p \leq 0.05$) ยกเว้นปริมาณกรดจากการไทเทรตของทรีตเมนต์ที่ 4 ที่เวลาในการหมัก 72 ชั่วโมง ไม่แตกต่างจากเวลาในการหมัก 48 ชั่วโมง ($p > 0.05$) ข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 3 มีปริมาณกรดจากการไทเทรตสูงสุดเมื่อหมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณกรดจากการไทเทรต (ร้อยละ) ของการหมักข้าวหมาก (Means±SD)

Treatment	เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)		
	24	48	72
1	1.13±0.04[a]	0.80±0.06[cd]	0.76±0.03[de]
2	1.16±0.01[a]	0.91±0.02[bc]	0.72±0.07[e]
3	0.99±0.02[b]	0.92±0.01[bc]	0.78±0.07[d]
4	0.91±0.01[bc]	0.62±0.10[f]	0.61±0.01[f]

[a, b, c, d, e, f] ตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

2.4 ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์

ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ของข้าวหมากที่หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 4.7 โดยพบว่า ข้าวหมากกทุกทรีตเมนต์มีปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์อยู่ระหว่างร้อยละ 0.50 – 1.65 การหมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ของทรีตเมนต์ที่ 1 และ 2 ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ส่วนทรีตเมนต์ที่ 3 และ 4 มีปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์มากกว่าทรีตเมนต์ที่ 1 และ 2 ($p \leq 0.05$) โดยทรีตเมนต์ที่ 3 มีปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์สูงที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากทรีตเมนต์ที่ 3 เป็นข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำกล้องเพาะงอกหมักด้วยลูกแป้งสูตร 3 ที่ประกอบด้วยเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และเชื้อยีสต์ *S. fibuligera* TISTR 5188, *H. anomala* TISTR 5113 โดยที่

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

โดยที่เชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และเชื้อยีสต์ *S. fibuligera* TISTR 5188 สร้างเอนไซม์อะไมเลสเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลได้ดี และเชื้อยีสต์ *H. anomala* TISTR 5113 เปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทิลแอลกอฮอล์ได้ดี แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ของข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 3 และ 4 มีปริมาณสูงกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช.162/2546 ข้าวหมาก ที่ต้องมีเอทิลแอลกอฮอล์ไม่เกินร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก

ตารางที่ 4.5 ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ของข้าวหมากที่หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง (Means±SD)

Treatment	ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ (ร้อยละ)
1	0.52±0.02[c]
2	0.50±0.02[c]
3	1.65±0.02[a]
4	1.39±0.02[b]

[a, b, c] ตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

2.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ของการหมักข้าวหมากเป็นเวลา 72 ชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 4.6 โดยพบว่า ทุกทรีตเมนต์มีค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ระหว่างการหมักอยู่ระหว่าง 4.05 - 268.26 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของทุกทรีตเมนต์เพิ่มขึ้นจากการหมักที่ 24 ชั่วโมง ยกเว้นทรีตเมนต์ที่ 2 และนอกจากนี้ยังพบว่าการหมักที่นานขึ้นเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แตกต่างจากการหมักในชั่วโมงที่ 48 โดยทรีตเมนต์ที่ 1, 2 และ 3 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้นอาจเนื่องมาจากการเมตาบอไลท์คาร์โบไฮเดรตของกล้าเชื้อที่เติมลงไปให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และในการหมักที่ชั่วโมงที่ 24 ระหว่างทรีตเมนต์ที่ 1, 2, 3 และ 4 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่เมื่อหมักนานขึ้นเป็นเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง ระหว่างทรีตเมนต์ที่ 1, 2, 3 และ 4 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) โดยการหมักในชั่วโมที่ 72 ทรีตเมนต์ที่ 1 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด ในขณะที่ Treatment ที่ 2 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำสุด ซึ่งเป็นข้าวหมากหมักด้วยลูกแป้งสูตร 3 ที่ประกอบด้วยเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และเชื้อยีสต์ *H. anomala* TISTR 5113 แต่ไม่มีเชื้อยีสต์ *S. fibuligera* TISTR 5188 ที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ของการหมักข้าวหมาก (Means±SD)

Treatment	เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)		
	24	48	72
1	31.32±15.21[e]	168.97±12.17[b]	268.26±12.76[a]
2	4.79±0.74[e]	4.05±0.72[e]	6.54±0.70[d]
3	32.38±6.86[e]	145.73±32.44[bc]	148.43±25.04[bc]
4	28.70±9.67[e]	76.38±14.66[d]	12.74±16.57[c]

[a, b, c, d, e] ตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

3. การวิเคราะห์ทางกายภาพ

ค่าสี

ระหว่างการหมักข้าวหมากทั้ง 4 ทรีตเมนต์มีการเปลี่ยนแปลงค่าสี แสดงดังตารางที่ 4.7 โดยที่ค่าความสว่าง (L*) ของข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีค่าค่อนข้างมืดอยู่ในช่วง 5.96 - 12.72 การหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำให้ค่า L* ของทรีตเมนต์ที่ 2 และ 3 เพิ่มขึ้นจากชั่วโมงที่ 24 แต่เมื่อหมักนานขึ้นเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทรีตเมนต์ที่ 2 และ 3 มีค่า L* ลดลงจากชั่วโมงที่ 48 นอกจากนี้ยังพบว่าการหมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ระหว่างทรีตเมนต์ที่ 1, 2, 3 และ 4 มีค่า L* แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) โดยที่ทรีตเมนต์ที่ 4 มีค่า L* สูงกว่าทรีตเมนต์อื่น ๆ นั่นคือมีความสว่างมากกว่าทรีตเมนต์อื่น ๆ

ค่าความเป็นสีแดงและสีเขียว (a*) ของข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีความเป็นสีแดงอยู่ในช่วง 4.66 - 7.65 โดยที่เวลาในการหมักเพิ่มขึ้นเป็นเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง ค่า a* ของทุกทรีตเมนต์ไม่แตกต่างจากชั่วโมงที่ 24 และนอกจากนี้ยังพบว่า ค่า a* ของทรีตเมนต์ที่ 4 ในการหมักที่ชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 มีค่าสูงกว่าทรีตเมนต์อื่น ๆ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากทรีตเมนต์ที่ 4 ใช้ข้าวเหนียวดำกล้องไม่ได้ผ่านการเพาะงอกในการผลิต ซึ่งเวลาในการแช่น้ำน้อยกว่าทรีตเมนต์อื่น ๆ

ค่าความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงิน (b*) ของข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีค่าความเป็นสีเหลืองอยู่ในช่วง 1.56 – 2.76 โดยที่การหมักเพิ่มขึ้นเป็นเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง ค่า b* ของทุกทรีตเมนต์ไม่แตกต่างจากชั่วโมงที่ 24 และนอกจากนี้ยังพบว่าการหมักที่ชั่วโมง 72 ค่า b* ของทรีตเมนต์ที่ 4 ต่ำกว่าสูตรอื่น ๆ ($p \leq 0.05$)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ตารางที่ 4.7 ค่าสีของการหมักข้าวหมาก (Means±SD)

Treatment	ค่าสี								
	L*			a*			b*		
	หมัก 24 ชั่วโมง	หมัก 48 ชั่วโมง	หมัก 72 ชั่วโมง	หมัก 24 ชั่วโมง	หมัก 48 ชั่วโมง	หมัก 72 ชั่วโมง	หมัก 24 ชั่วโมง	หมัก 48 ชั่วโมง	หมัก 72 ชั่วโมง
1	5.96±0.83^{e}	6.88±0.52^{de}	6.15±0.26^{e}	6.16±0.50^{abcde}	6.86±0.42^{abcd}	7.65±0.11^{a}	2.16±0.25^{bcd}	2.01±0.14^{abcd}	2.33±0.08^{abcd}
2	9.10±1.49^{bcd}	12.72±0.09^{a}	10.02±0.27^{bc}	6.84±1.53^{abcd}	5.61±1.22^{bcde}	7.20±0.97^{ab}	2.62±0.61^{ab}	1.95±0.54^{bcd}	2.50±0.32^{abc}
3	6.70±0.62^{de}	9.61±2.71^{bc}	7.83±0.88^{de}	7.08±0.37^{abc}	7.40±1.37^{ab}	7.612±0.14^{a}	2.44±0.17^{abc}	2.61±0.49^{ab}	2.76±0.20^{a}
4	10.67±0.64^{ab}	11.37±0.76^{ab}	12.99±1.95^{a}	4.66± 0.56^{e}	5.20±0.35^{cde}	5.06±0.77^{de}	1.90±0.24^{bcd}	1.81± 0.20^{cd}	1.56±0.29^{d}

$^{a, b, c, d, e}$ ตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

4. การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

ระหว่างการหมักข้าวหมากทั้ง 4 ทรีตเมนต์มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณยีสต์และรา แสดงดังตารางที่ 4.8 โดยพบว่า ระหว่างการหมักข้าวหมากเป็นเวลา 24 - 72 ชั่วโมง ปริมาณยีสต์และราของข้าวหมากทุกทรีตเมนต์อยู่ระหว่าง $1.89x10^{8}$ - $3.48x10^{9}$ ซีเอฟยูต่อกรัม เมื่อการหมักนานขึ้นเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 และ 2 มีปริมาณยีสต์และราไม่แตกต่างจากชั่วโมงที่ 24 และ 48 ($p>0.05$) ส่วนทรีตเมนต์ที่ 3 มีปริมาณยีสต์และราเพิ่มขึ้นจากชั่วโมงที่ 24 ในขณะที่การหมักในชั่วโมงที่ 72 ปริมาณยีสต์และราแต่ละทรีตเมนต์มีปริมาณแตกต่างกัน โดยทรีตเมนต์ที่ 3 มีปริมาณยีสต์และราสูงสุด ซึ่งอาจจะเป็นปริมาณยีสต์และราที่มาจากลูกแป้งที่เติมลงไปในปริมาณลูกแป้ง 6 กรัม ต่อข้าว 2 กิโลกรัม ซึ่งข้าวหมากจัดเป็นโปรไบโอติกอีกรูปแบบหนึ่ง ยีสต์ในข้าวหมากจัดได้ว่าเป็นโปรไบโอติกยีสต์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ข้าวหมากทุกทรีตเมนต์ในงานวิจัยนี้ที่หมักด้วยลูกแป้งที่ประกอบด้วยเชื้อยีสต์และราบริสุทธิ์มีปริมาณยีสต์และราอยู่ในปริมาณสูง ซึ่งสูงกว่า 10^{8} ซีเอฟยูต่อกรัม

ตารางที่ 4.8 ปริมาณยีสต์และรา (ซีเอฟยูต่อกรัม) ของการหมักข้าวหมาก (Means±SD)

Treatment	เวลาในการหมัก (ชั่วโมง)		
	24	48	72
1	$8.00x10^{8} \pm 3.98x10^{8}$ ef	$1.21x10^{9} \pm 6.31\ x10^{9}$ cdef	$9.33x10^{8} \pm 4.54\ x10^{8}$ def
2	$6.23x10^{8} \pm 2.5x10^{7}$ f	$6.90x10^{8} \pm 1.92\ x10^{8}$ f	$5.47x10^{8} \pm 2.98\ x10^{8}$ f
3	$1.89x10^{8} \pm 4.63x10^{8}$ bcde	$3.00x10^{9} \pm 1.44\ x10^{9}$ ab	$3.48x10^{9} \pm 4.81\ x10^{8}$ a
4	$1.35\ x10^{9} \pm 3.21x10^{8}$ cdef	$2.17x10^{9} \pm 3.38x10^{8}$ bc	$2.08x10^{9} \pm 1.07x10^{8}$ bcd

a, b, c, d, e, f ตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

5. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสจากการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้องงอกโดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ปฏิเสธการบริโภคข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้องงอก ที่ไม่ผ่านการฝึกฝน 30 คน จากนักศึกษาสาขาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม มีเพศชาย 3 คน คิดเป็นร้อยละ 10 เพศหญิง 27 คน คิดเป็นร้อยละ 90 มีอายุต่ำกว่า 20 ปี 7 คน คิดเป็นร้อยละ 23 ระหว่าง 21 - 30 ปี 23 คน คิดเป็นร้อยละ 77 วุฒิการศึกษาปริญญาตรี 30 คน คิดเป็นร้อยละ 100 อาชีพนักศึกษา 30 คน คิดเป็นร้อยละ 100 รายได้ น้อยกว่า 1,000 บาท 9 คน คิดเป็นร้อยละ 30 ระหว่าง 1,000 - 5,000 บาท 18 คน คิดเป็นร้อยละ 60 ระหว่าง 5,001 - 10,000 บาท 3 คน คิดเป็นร้อยละ 10 ใช้แบบประเมินที่มีวิธีการให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (9 point hedonic scales) (1=ไม่ยอมรับมากที่สุด 5=เฉย ๆ 9=ยอมรับมากที่สุด) และประเมินการยอมรับในด้าน ลักษณะปรากฏ สี กลิ่นแอลกอฮอล์ รสหวาน รสเปรี้ยว เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม แสดงดังตารางที่ 4.9 โดยพบว่า คะแนนการยอมรับด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นแอลกอฮอล์ รสเปรี้ยว และเนื้อสัมผัส ของทุกทรีตเมนต์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยคะแนนการยอมรับด้านลักษณะปรากฏอยู่ระหว่าง 6.50 – 6.77 คะแนน คะแนนการยอมรับด้านสีอยู่ระหว่าง 6.47 – 6.73 คะแนน คะแนนการยอมรับด้านกลิ่นแอลกอฮอล์

อยู่ระหว่าง 5.47 – 6.37 คะแนน คะแนนการยอมรับด้านรสเปรี้ยวอยู่ระหว่าง 4.63 – 5.57 คะแนน คะแนนการยอมรับด้านเนื้อสัมผัสอยู่ระหว่าง 6.10 - 6.30 คะแนน ส่วนการยอมรับด้านรสหวานมีคะแนนการยอมรับอยู่ระหว่าง 4.50 – 5.50 คะแนน โดยพบว่า คะแนนการยอมรับด้านรสหวานของทรีตเมนต์ที่ 2 กับทรีตเมนต์ที่ 4 แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) ส่วนคะแนนการยอมรับด้านความชอบโดยรวมอยู่ระหว่าง 5.27 – 6.57 คะแนน อยู่ในระดับเฉย ๆ ถึงชอบปานกลาง โดย ทรีตเมนต์ที่ 1 และ 2 ได้รับคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องจากทรีตเมนต์ที่ 1 และ 2 มีรสหวานผสมเปรี้ยวเล็กน้อย และมีเนื้อของข้าวหมากนุ่ม

ตารางที่ 4.9 คะแนนการยอมรับของผู้บริโภคต่อข้าวหมาก (Means±SD)

Treatment	ลักษณะทางประสาทสัมผัส						
	ลักษณะปรากฏ^{ns}	สี^{ns}	กลิ่นแอลกอฮอล์^{ns}	รสหวาน	รสเปรี้ยว^{ns}	เนื้อสัมผัส^{ns}	ความชอบโดยรวม
1	6.60±1.50	6.70±1.56	6.13±3.62	5.20±3.62^{ab}	5.57±3.52	6.17±3.51	6.37±.59^{a}
2	6.63±1.47	6.73±1.24	6.37±1.84	5.50±1.67^{a}	5.43±1.87	6.30±1.27	6.57±1.38^{a}
3	6.77±1.05	6.63±1.20	5.90±1.78	4.70±1.64^{ab}	4.77±1.86	6.10±1.14	5.97±1.198^{ab}
4	6.50±1.38	6.47±1.28	5.47±1.978	4.50±2.01^{b}	4.63±2.33	6.17±1.07	5.27±1.79^{b}

$^{a, b}$ ตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวหมาก

1. ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของตัวอย่างข้าวหมากผงน้ำหนักแห้ง 100 กรัม ทั้ง 4 ทรีตเมนต์ที่มีปริมาณความชื้นอยู่ระหว่างร้อยละ 5.81 - 7.21 แสดงดังตารางที่ 4.10 โดยพบว่า ทั้ง 4 ทรีตเมนต์มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดอยู่ระหว่าง 12.49 - 13.26 มิลลิกรัมต่อตัวอย่างน้ำหนักแห้ง 100 กรัม ซึ่งปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของทั้ง 4 ทรีตเมนต์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

2. ผลการวิเคราะห์ปริมาณกาบา

ปริมาณกาบาทั้งหมดของตัวอย่างข้าวหมากผงน้ำหนักแห้ง 100 กรัม ทั้ง 4 ทรีตเมนต์แสดงดังตารางที่ 4.10 โดยพบว่า ทั้ง 4 ทรีตเมนต์มีกาบาทั้งหมดอยู่ระหว่าง 3.53 - 4.12 มิลลิกรัมต่อตัวอย่างน้ำหนักแห้ง 100 กรัม ซึ่งปริมาณกาบาทั้งหมดของทั้ง 4 ทรีตเมนต์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hayat และคณะ (2014) ที่รายงานว่า ตัวอย่างข้าวบาสมาติ (basmati) จำนวน 5 สายพันธุ์ ที่เป็นข้าวกล้อง และข้าวที่ผ่านการขัดสี มีปริมาณกาบาอยู่ระหว่าง 4.1 - 6.58 และ 0.32 - 0.47 มิลลิกรัมต่อตัวอย่างน้ำหนักแห้ง 100 กรัม ตามลำดับ

ตารางที่ 4.10 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดและปริมาณกาบาของข้าวหมาก (Means±SD)

Treatment	ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (mg/100 g Dw) [ns]	ปริมาณกาบา (mg/100 g Dw) [ns]
1	12.64±5.14	3.53±0.43
2	12.49±1.19	3.74±0.20
3	11.49±0.63	4.12±0.40
4	13.26±0.16	3.58±0.26

[ns] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

3. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวหมากที่มีความเข้มข้นที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของทรีตเมนต์ต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 4.11 ในงานวิจัยนี้ใช้วิตามินซีและเฟอรัสซัลเฟตเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานในการเปรียบเทียบจากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP ตามลำดับ จากผลการพบว่า การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวหมากที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ทุกทรีตเมนต์มีร้อยละการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH scavenging activity) สูงกว่าร้อยละ 50 โดยอยู่ระหว่างร้อยละ 50.41 - 62.99 ซึ่งสารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 มีร้อยละการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดและแตกต่างจากสารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 2, 3 และ 4 ($p\leq0.05$) ในขณะที่สารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 2, 3 และ 4 มีร้อยละการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับค่าการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าวิตามินซี ที่ทุกทรีตเมนต์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ระหว่าง 6.73 - 19.46 mM VCEAC ซึ่งสารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดและแตกต่างจากสารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์อื่น ๆ ($p\leq0.05$) ในขณะที่สารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 2, 3 และ 4 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวหมากที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP ทุกทรีตเมนต์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากความสามารถในการให้อิเล็กตรอน มีค่าอยู่ระหว่าง 136.54 - 165.15 mg Fe(III)/L ซึ่งสารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 และ 2 มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนสูงกว่าสารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 4 ($p\leq0.05$) ในขณะที่สารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 3 มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนไม่แตกต่างจากสารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 4 และจากผลการทดลองในตารางที่ 4.11 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดข้าวหมาก ทรีตเมนต์ที่ 1 ซึ่งสกัดมาจากข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำกล้องงอกหมักด้วยลูกแป้งสูตร 1 มีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP สูงกว่าสารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 4 ซึ่งสกัดมาจากข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำกล้องไม่เพาะงอกหมักด้วยลูกแป้งสูตร 3 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเพาะงอกข้าวส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และได้ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kaur และคณะ (2017) ที่ได้ทำการเปรียบเทียบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ กรดไฟติก กาบา โทโคฟีรอล และรีดิวซ์แอสคอร์เบต ระหว่างข้าวกล้อง

งอกและข้าวกล้องไม่ผ่านการเพาะงอก 10 สายพันธุ์ พบว่า ข้าวกล้องงอกทั้ง 10 สายพันธุ์ มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทั้ง 4 ชนิด เพิ่มขึ้น และเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP พบว่า ข้าวกล้องงอกทั้ง 10 สายพันธุ์มีประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าข้าวไม่เพาะงอก โดยข้าวกล้องงอกมีค่าเฉลี่ยของร้อยละการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เป็น 69.8 และค่า FRAP value เป็น 238.1μmol/g

ตารางที่ 4.11 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวหมากด้วยวิธี DPPH และ FRAP (Means±SD)

Treatment	วิธี DPPH		วิธี FRAP
	% Scavenging	mM VCEAC	mg Fe(III)/L
1	62.99±2.17[a]	19.46±3.05[a]	165.15±6.90[a]
2	54.05±3.28[b]	10.11±1.41[b]	151.60±7.98[ab]
3	50.41±5.03[b]	8.22±3.89[b]	142.52±5.54[bc]
4	53.23±2.29[b]	6.73±1.34[b]	136.54±8.36[c]

[a, b, c] ตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารของสารสกัดจากข้าวหมาก

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* DMST 8840 เชื้อ *L. monocytgenase* DMST 17303 และเชื้อ *S. Typhimurium* DMST 562 ด้วยสารสกัดจากข้าวหมาก ทรีตเมนต์ที่ 1, 2, 3 และ 4 ที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี paper disc diffusion ผลของวงยับยั้งที่เกิดขึ้น แสดงดังตารางที่ 4.12

มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
RAJABHAT RAMPHAIPHANNEE UNIVERSITY

ตารางที่ 4.12 ขนาดวงยับยั้งจากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารด้วยสารสกัดจากข้าวหมาก (มิลลิเมตร) (Mean±SD)

สาร	เชื้อแบคทีเรีย		
	S. Typhimrium DMST 562	*L. monocytogenes* DMST 17303	*S. aureus* DMST 8840
เอทานอล	0.00±0.00[f]	0.00±0.00[f]	0.00±0.00[f]
ออกซีเททราซัยคลิน	5.33±0.58[c]	17.00±1.00[a]	9.00±0.58[b]
Treatment 1	0.00±0.00[f]	1.67±0.58[e]	0.00±0.00[f]
Treatment 2	0.00±0.00[f]	3.67±0.58[d]	0.33±0.57[f]
Treatment 3	0.00±0.00[f]	3.33±1.15[d]	0.00±0.00[f]
Treatment 4	0.00±0.00[f]	3.00±0.00[d]	0.00±0.00[f]

[a, b, c] ตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.12 พบว่าตัวควบคุมเชิงลบ (เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 90) ไม่มีการปรากฏของวงยับยั้งต่อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารทั้ง 3 สายพันธุ์ แสดงให้เห็นว่าแผ่นกรองปลอดเชื้อที่หยดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 90 แล้วปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหารทั้ง 3 สายพันธุ์ เนื่องจากว่าได้มีการระเหยเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 90 ออกจนหมด เช่นเดียวกันกับแผ่นกรองปลอดเชื้อที่หยดด้วยสารสกัดข้าวหมากแต่ละชนิดไม่มีการตกค้างของเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 90 ที่ใช้เป็นตัวทำละลาย ขณะที่สารสกัดจากข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหารเฉพาะสายพันธุ์ *L. monocytogenes* DMST 17303 แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งสายพันธุ์ *S.* Typhimurium DMST 562 และ *S. aureus* DMST 8840 โดยขนาดวงยับยั้งต่อเชื้อ *L. monocytogenes* DMST ของสารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1, 2, 3 และ 4 มีค่าอยู่ระหว่าง 1.67 – 3.67 มิลลิเมตร ซึ่งขนาดวงยับยั้งของสารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 2, 3 และ 4 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่แตกกันทางสถิติกับทรีตเมนต์ที่ 1 ($p\leq0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าตัวควบคุมเชิงบวก (ยาปฏิชีวนะออกซีเททราซัยคลิน) ที่ใช้ทดสอบมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหารทั้ง 3 สายพันธุ์ แตกต่างกัน โดยมีขนาดวงยับยั้งต่อเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 สูงสุด ตามมาด้วยเชื้อ *S. aureus* DMST 8840 และเชื้อ *S.* Typhimurium DMST 562 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าตัวควบคุมเชิงบวก (ยาปฏิชีวนะออกซีเททราซัยคลิน) ที่ใช้ทดสอบมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหารทั้ง 3 สายพันธุ์ แตกต่างกัน โดยมีขนาดวงยับยั้งต่อเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 สูงสุด ตามมาด้วยเชื้อ *S. aureus* DMST 8840 และเชื้อ *S.* Typhimurium DMST 562 ตามลำดับ และจากผลการทดลองในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ 2, 3 และ 4 มีขนาดวงยับยั้งต่อเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 น้อยกว่าตัวควบคุมเชิงบวกที่มีความเข้มข้นความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรอยู่ 5 เท่า ซึ่งในขณะที่การศึกษาของวรางคณา และวัชรี (2553) ได้รายงานผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี agar well diffusion โดยสารสกัดของเนื้อข้าวหมากจากข้าวเหนียวกล้องขาว กข 6 : ข้าวเหนียวกล้องดำสันกำแพง (1:3) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria ivanovii* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 0.90 มิลลิเมตร และสารสกัดของเนื้อข้าวหมากจากข้าวเหนียวกล้องดำสันกำแพงเพาะงอก (0:1) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria ivanovii* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 11.33 มิลลิเมตร

ผลการวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก

1. การวิเคราะห์ทางเคมี

การผลิตเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทั้ง 4 ทรีตเมนต์มีการวิเคราะห์ทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดจากการไทเทรต และปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ แสดงดังตารางที่ 4.13

ค่าความเป็นกรด-ด่างของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทุกทรีตเมนต์อยู่ระหว่าง 3.48 – 3.84 โดยค่าความเป็นกรด-ด่างของทรีตเมนต์ที่ 1 ต่ำกว่าทรีตเมนต์ที่ 2, 3 และ 4 ($p\leq0.05$) ทั้งนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างที่แตกต่างกัน อาจเนื่องจากประสิทธิภาพในการผลิตกรดของกล้าเชื้อในลูกแป้งแต่ละสูตร

ขณะที่ทำการหมักข้าวหมาก สามารถย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และเปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวให้เป็นกรดที่ต่างกัน

ปริมาณกรดจากการไทเทรตของเครื่องดื่มข้าวหมากทุกทรีตเมนต์อยู่ระหว่างร้อยละ 0.16 – 0.23 โดย ทรีตเมนต์ที่ 2 มีปริมาณกรดต่ำกว่าทรีตเมนต์ที่ 1 ซึ่งสอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่างของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก

ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีค่าอยู่ที่ร้อยละ 0 จากการวัดด้วยเครื่องวัดประมาณแอลกอฮอล์แบบอีบูลลิโอมิเตอร์ ทั้งนี้เนื่องจากว่าการเจือจางข้าวหมากด้วยน้ำอุ่นเพื่อผลิตเป็นเครื่องดื่มข้าวหมาก ทำให้เอทิลแอลกอฮอล์ถูกเจือจางไปด้วยจนอยู่ในระดับตรวจไม่พบ

ตารางที่ 4.13 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดจากการไทเทรต ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ ของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก (Means±SD)

Treatment	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณกรดจากการไทเทรต (ร้อยละ)	ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ (ร้อยละ) [ns]
1	3.48±0.12[b]	0.23±0.01[a]	0
2	3.82±0.02[a]	0.16±0.01[b]	0
3	3.84±0.04[a]	0.23±0.04[a]	0
4	3.78±0.05[a]	0.20±0.07[ab]	0

[a, b] ตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
[ns] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

2. การวิเคราะห์ทางกายภาพ

การผลิตเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทั้ง 4 ทรีตเมนต์ มีการวิเคราะห์ทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี และค่าความหนืด แสดงดังตารางที่ 4.14

ค่า ความสว่าง (L*) ของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทุกทรีตเมนต์อยู่ระหว่าง 19.32 - 25.58 ซึ่งมีสีคล้ำ เครื่องดื่มข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 2 มีค่า L* สูงสุด ($p \leq 0.05$) ส่วนค่าความเป็นสีแดงและสีเขียว (a*) ของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทุกทรีตเมนต์อยู่ระหว่าง 6.52 – 9.74 ซึ่งมีความเป็นสีแดง เครื่องดื่มข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 2 มีค่า a* สูงสุด ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ค่าความเป็นสีเหลืองและน้ำเงิน (b*) ของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทุกทรีตเมนต์อยู่ระหว่าง 1.34 - 2.86 ซึ่งมีความเป็นสีเหลือง โดยที่แต่ละทรีตเมนต์มีค่า b* ไม่แตกต่างกัน

ค่าความหนืดของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีค่าอยู่ระหว่าง 10 - 35 เซนติพอยด์ โดยเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีความหนืดแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) ทรีตเมนต์ที่ 2 มีความหนืดสูงสุด ส่วนทรีตเมนต์ที่ 1 มีความหนืดต่ำสุด ทั้งนี้ค่าความหนืดที่แตกต่างกันเนื่องมาจากข้าวหมากที่ใช้ในการผลิตมีปริมาณน้ำต้อยที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.14 ค่าสีของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก (Means±SD)

Treatment	ค่าสี			ความหนืด (cP)
	L*	a*	b*	
1	19.32±0.55[b]	7.09±0.79[bc]	1.34±0.37[b]	10.00±0.00[d]
2	25.58±0.66[a]	9.74±0.39[a]	2.32±0.24[ab]	35.00±0.00[a]
3	21.05±0.82[b]	6.52±1.07[c]	1.67±0.25[ab]	18.33±2.36[b]
4	19.32±0.55[b]	7.09±0.79[bc]	1.34±0.37[b]	15.00±0.00[c]

[a, b, c, d] ตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

3. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสจากการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ปฏิเสธการบริโภคเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากที่ไม่ผ่านการฝึกฝน 30 คน จากนักศึกษาสาขาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม มีเพศชาย 3 คน คิดเป็นร้อยละ 10 เพศหญิง 27 คน คิดเป็นร้อยละ 90 มีอายุต่ำกว่า 20 ปี 7 คน คิดเป็นร้อยละ 23 ระหว่าง 21 - 30 ปี 23 คน คิดเป็นร้อยละ 77 วุฒิการศึกษาปริญญาตรี 30 คน คิดเป็นร้อยละ 100 อาชีพนักศึกษา 30 คน คิดเป็นร้อยละ 100 รายได้ น้อยกว่า 1,000 บาท 9 คน คิดเป็นร้อยละ 30 ระหว่าง 1,000 - 5,000 บาท 18 คน คิดเป็นร้อยละ 60 ระหว่าง 5,001 - 10,000 บาท 3 คน คิดเป็นร้อยละ 10 ใช้แบบประเมินที่มีวิธีการให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ และประเมินการยอมรับในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นของข้าวหมาก รสชาติของข้าวหมาก รสชาติของเครื่องดื่ม และความชอบโดยรวม การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทั้ง 4 ทรีตเมนต์แสดงดังตารางที่ 4.15 โดยพบว่า คะแนนการยอมรับด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นของข้าวหมาก รสชาติของข้าวหมาก รสชาติของเครื่องดื่ม และความชอบโดยรวมของเครื่องดื่มข้าวหมากทุกทรีตเมนต์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีคะแนนความชอบโดยรวมอยู่ระหว่าง 6.70 – 7.20 คะแนน ซึ่งอยู่ในระดับความชอบปานกลาง ซึ่งการผลิตเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบโดยรวมมากกว่าข้าวหมากที่มีคะแนนอยู่ระหว่าง 5.27 – 6.57 คะแนน อยู่ในระดับเฉย ๆ ถึงชอบปานกลาง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเครื่องดื่มข้าวหมาก บริโภคง่ายกว่า และมีกลิ่นหมักไม่แรงเท่าข้าวหมาก

ตารางที่ 4.15 คะแนนการยอมรับของผู้บริโภคต่อเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก (Means±SD)

Treatment	ลักษณะทางประสาทสัมผัส					
	ลักษณะปรากฏ[ns]	สี[ns]	กลิ่นของข้าวหมาก[ns]	รสชาติของข้าวหมาก[ns]	รสชาติของเครื่องดื่ม[ns]	ความชอบโดยรวม[ns]
1	7.07±1.50	6.97±1.62	6.63±1.30	6.60±1.84	7.07±1.67	7.20±.1.76
2	7.07±1.15	7.00±1.00	6.10±1.68	6.33±1.68	6.50±1.57	6.73±1.39
3	6.80±1.17	6.63±1.17	6.40±1.31	6.40±1.43	6.50±1.59	6.77±1.50
4	6.67±1.27	6.43±1.28	6.60±1.23	6.10±1.74	6.57±1.50	6.70±1.26

[ns] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

4. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

4.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด

ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากที่ผลิตจากการเจือจางข้าวหมากด้วยน้ำอุ่น ที่อัตราส่วน ข้าวหมาก : น้ำอุ่น เป็น 4 : 1 ทั้ง 4 ทรีตเมนต์แสดงดังตารางที่ 4.16 โดยพบว่า ทั้ง 4 ทรีตเมนต์มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดอยู่ระหว่าง 2.79 – 6.85 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของทั้ง 4 ทรีตเมนต์มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงสุด ขณะที่เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 3 มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดต่ำสุด ซึ่งปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 ที่มีค่าสูงสุดนั้น อาจเนื่องมาจากการแปรรูปมาจากข้าวหมากในทรีตเมนต์ที่ 1 ที่หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งมีลักษณะปรากฏที่แข็ง แยกตัว ไม่อุ้มน้ำ และนอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากในงานวิจัยนี้มีปริมาณที่ต่ำกว่ารายงานของศิริพร (2558) ที่ได้พัฒนาเครื่องดื่มข้าวหมากจากการหมักข้าวหมากด้วยข้าวเหนียวดำก่ำม้งและสกัดเอาน้ำข้าวหมากโดยใช้น้ำ เครื่องดื่มข้าวหมากที่ได้มีแอนโทไซยานิน 1,202.32 mg CGE/100 mL ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากในงานวิจัยนี้มีการเจือจางข้าวหมากด้วยน้ำถึง 4 เท่า ส่งผลต่อการลดปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด แต่อย่างไรก็ตาม แอนโทไซยานินสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น น้ำ และความสามารถในการละลายจะเพิ่มขึ้นเมื่อตัวทำละลายเป็นกรดมากขึ้น

4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา

ปริมาณกาบาทั้งหมดของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก ทั้ง 4 ทรีตเมนต์แสดงดังตารางที่ 4.16 โดยพบว่า ทั้ง 4 ทรีตเมนต์มีกาบาทั้งหมดอยู่ระหว่าง 11.69 - 21.68 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณกาบาทั้งหมดของทั้ง 4 ทรีตเมนต์มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 3 มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงสุด ขณะที่เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 2 มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดต่ำสุด ซึ่งปริมาณกาบาของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 2 ที่มีค่าสูงสุดนั้นอาจเนื่องมาจากการแปรรูปมาจากข้าวหมากในทรีตเมนต์ที่ 3 ที่ใช้ข้าวเหนียวดำกล้องที่ผ่านการเพาะงอกหมักด้วยลูกแป้งสูตร 3 ที่ประกอบด้วยเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 เชื้อยีสต์ *S. fibuligera* TISTR 5188 และ *H. anomala* TISTR 5113 ซึ่งกาบายังสามารถพบได้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากการหมักด้วยจุลินทรีย์ เช่น ข้าวหมาก โดยจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสังเคราะห์กาบาจะสังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยาดีคาร์บอกซีเลชันของกรดกลูตามิคโดยเอนไซม์ Glutamic Acid Decarboxylase (GAD)

ตารางที่ 4.16 ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดและปริมาณสารกาบาของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก (Means±SD)

Treatment	ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (mg/L)	ปริมาณกาบา (mg/L)
1	6.85±0.09[a]	15.44±0.67[c]
2	4.16±0.26[c]	11.69±1.60[d]
3	2.79±0.07[d]	21.68±0.52[a]
4	4.60±-0.08[b]	17.90±1.82[b]

[a, b, c, d] ตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 4.17 โดยพบว่า การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ทุกทรีตเมนต์มีร้อยละการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH scavenging activity) ต่ำกว่าร้อยละ 50 โดยอยู่ระหว่างร้อยละ 17.28 - 38.18 ซึ่งเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 และ 2 มีร้อยละการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 3 และ 4 ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับค่าการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าวิตามินซี ที่ทุกทรีตเมนต์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ระหว่าง 1.06 - 4.44 mM VCEAC ซึ่งเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1, 2 และ 4 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่แตกต่างกับเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 3 โดยมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าทรีตเมนต์ที่ 3 ($p \leq 0.05$)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP พบว่าทุกทรีตเมนต์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากความสามารถในการให้อิเล็กตรอน มีค่าอยู่ระหว่าง 77.31 - 100.77 mg Fe(III)/L ซึ่งเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนสูงกว่าสารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 2, 3 และ 4 ($p \leq 0.05$) ในขณะที่เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 2, 3 และ 4 มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) จากผลการทดลองในตารางที่ 4.17 แสดงให้เห็นว่าเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 ซึ่งสกัดมาจากข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำกล้องงอกหมักด้วยลูกแป้งสูตร 1 มีแนวโน้มของประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP สูงกว่าสารทรีตเมนต์อื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากที่ทรีตเมนต์ที่ 1 มีปริมาณสูงกว่าทรีตเมนต์อื่น ๆ ขณะที่รายงานของศิริพร (2558) ที่ได้พัฒนาเครื่องดื่มข้าวหมากจากการหมักข้าวหมากด้วยข้าวเหนียวดำก่ำม้งและสกัดเอาน้ำข้าวหมากโดยใช้น้ำ พบว่าน้ำข้าวหมากมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP อยู่ที่ 64.07 mg BHT/100 mL และ 70.01 mg trolox/100 mL ตามลำดับ จากผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากที่ผลิตจากการเจือจางข้าวหมากด้วยน้ำอุ่นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงเช่นเดียวกับปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวหมาก

ตารางที่ 4.17 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากด้วยวิธี DPPH และ FRAP (Means±SD)

Treatment	วิธี DPPH		วิธี FRAP
	% Scavenging	mM VCEAC	mg Fe(III)/L
1	38.18±5.71[a]	4.44±1.73[a]	100.77±2.47[a]
2	33.12±6.91[a]	5.03±1.20[a]	84.81±5.79[b]
3	21.14±3.57[b]	1.06±0.56[b]	77.31±4.64[b]
4	17.28±5.83[b]	2.65±1.25[ab]	78.05±4.84[b]

[a, b] ตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

การผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้องพันธุ์ลืมผัว ด้วยการหมักโดยแยกใช้เชื้อบริสุทธิ์ของรา 2 สายพันธุ์ คือ *A. rouxii* TISTR 3182, *S. fibuligera* TISTR 5188 และยีสต์ 1 สายพันธุ์ คือ *H. anomala TISTR 5113* ผลิตเป็นลูกแป้ง 3 สูตร ได้แก่ สูตร 1 : *A. rouxii* TISTR 3182 + *S. fibuligera* TISTR 5188 สูตร 2 : *A. rouxii TISTR 3182* + *H. anomala* TISTR 5113 และสูตร 3 : *A. rouxii* TISTR 3182 + *S. fibuligera* TISTR 5188 + *H. anomala* TISTR 5113 พร้อมกับเปรียบเทียบกับการผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้องไม่เพาะงอก แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ทรีตเมนต์ คือ ทรีตเมนต์ที่ 1: ข้าวงอก + ลูกแป้งสูตร 1 จำนวน 4 กรัม ทรีตเมนต์ที่ 2: ข้าวงอก + ลูกแป้งสูตร 2 จำนวน 0.5 กรัม ทรีตเมนต์ 3: ข้าวงอก + ลูกแป้งสูตร 3 จำนวน 6 กรัม ทรีตเมนต์ 4: ข้าวไม่เพาะงอก + ลูกแป้งสูตร 3 จำนวน 6 กรัม ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า ข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 มีปริมาณน้ำต้อยอยู่ในระดับปานกลางและมีความใส เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 2, 3 และ 4 ที่มีปริมาณน้ำต้อยน้อยและค่อนข้างขุ่น สอดคล้องกับผลการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของทุกทรีตเมนต์เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น ข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้น โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.61 - 4.40 ซึ่งต่ำกว่าค่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนข้าวหมาก ปี 2546 และมีปริมาณกรดจากการไทเทรตร้อยละ 0.61 - 1.16 มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้นระหว่างการหมักข้าวหมาก โดยข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด ข้าวหมากทรีตเมนต์ ที่ 1 และ 2 มีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่เกินค่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนข้าวหมาก ปี 2546 ข้าวหมากทุกสูตรมีค่าความสว่างค่อนข้างมืด มีค่าความเป็นสีแดงและสีเหลืองเล็กน้อย โดยที่ทรีตเมนต์ที่ 4 มีค่าความสว่างสูงสุด ค่าความเป็นสีแดงสูงสุด และค่าความเป็นสีเหลืองต่ำสุด มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณยีสต์และราทั้งหมดเพิ่มขึ้นระหว่างการหมัก ข้าวหมากทรีตเมนต์ 3 มีปริมาณยีสต์และราทั้งหมดสูงสุด ซึ่งสูงกว่า 10^9 ซีเอฟยูต่อกรัม รวมทั้งข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 และ 2 มีคะแนนความชอบโดยรวมสูงสุดอยู่ในระดับชอบปานกลาง ข้าวหมากทั้ง 4 ทรีตเมนต์มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดไม่แตกต่างกันและเช่นเดียวกับปริมาณกาบา สารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH สูงสุด ส่วนสารสกัดข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 และ 2 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี FRAP สูงสุด เฉพาะเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 เท่านั้น ที่สารสกัดจากข้าวหมากมีประสิทธิภาพการยับยั้ง โดยที่ประสิทธิภาพการยับยั้งไม่แตกต่างกันระหว่างสารสกัดข้าวหมากหมากทรีตเมนต์ที่ 2, 3 และ 4

การผลิตเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากจากการนำข้าวหมาก 4 ทรีตเมนต์ข้างต้นมาเจือจางด้วยน้ำอุ่น 4 เท่า โดยปั่นและกรองผ่านผ้าขาวบาง ปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำเป็น 12 องศาบริกซ์ พบว่าทุกทรีตเมนต์มีรสชาติเปรี้ยวเล็กน้อย โดยที่ทรีตเมนต์ที่ 1 มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุด สอดคล้องกับ

ปริมาณกรดจากการไทเทรตสูงสุด และตรวจไม่พบเอทิลแอลกอฮอล์ในเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทุกทรีตเมนต์ เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทุกทรีตเมนต์มีค่าความสว่างค่อนข้างมืด มีค่าความเป็นสีแดงและค่าความเป็นสีเหลืองเล็กน้อย โดยทรีตเมนต์ที่ 2 มีค่าความเป็นสีแดงสูงสุด ค่าความหนืดของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทุกทรีตเมนต์แตกต่างกัน โดยที่ทรีตเมนต์ที่ 2 มีค่าความหนืดสูงสุด ส่วนทรีตเมนต์ที่ 1 มีค่าความหนืดต่ำสุด และมีคะแนนการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสทุกด้านที่ทดสอบไม่แตกต่างกัน โดยมีคะแนนความชอบโดยรวมอยู่ในระดับชอบปานกลาง เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากได้คะแนนการยอมรับโดยรวมสูงกว่าข้าวหมาก เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงสุด สอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP ที่เครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 1 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเช่นเดียวกัน ปริมาณกาบาในเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทุกทรีตเมนต์อยู่ระหว่าง โดยเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 3 มีปริมาณกาบาสูงสุด และเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากทรีตเมนต์ที่ 2 มีปริมาณกาบาต่ำสุด

ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

1. เทคโนโลยีการผลิตลูกแป้งข้าวหมาก การแปรรูปข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้องเพาะงอก และการแปรรูปเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากของงานวิจัยนี้ ผู้ประกอบการ หรือวิสาหกิจชุมชนสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อสร้างมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์

2. ข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้องเพาะงอก และเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากของงานวิจัยนี้สามารถนำไปทำการตลาดในกลุ่มอาหารเพื่อสุขภาพ จากการมีโพรไบโอติกยีสต์ และสารออกฤทธิ์ชีวภาพ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

1. พัฒนาบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมสำหรับข้าวหมากและเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาและให้ตรงตามความต้องการของผู้บริโภค
2. ผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวสายพันธุ์อื่น ๆ
3. ศึกษาอายุการเก็บรักษาเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก
4. ศึกษาอายุการเก็บรักษาลูกแป้งข้าวหมาก

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค
กิตติกรรมประกาศ ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ฌ
สารบัญภาพ ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1
ความเป็นมาและความสำคัญ 1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3
ขอบเขตการวิจัย 4
นิยามศัพท์เฉพาะ 4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 5

บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 6
ข้าวเหนียวดำ 6
การเพาะข้าวกล้องงอก 11
ข้าวหมาก 16
ลูกแป้ง 21
อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ 31
ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับแบคทีเรียก่อโรคในอาหารที่ใช้ทดสอบ 33
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 38
กรอบแนวคิดในการวิจัย 41

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 43
วัตถุดิบ 43
สายพันธุ์จุลินทรีย์ 43
สารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อ และยาปฏิชีวนะ 44
อุปกรณ์และเครื่องมือ 45
การผลิตลูกแป้งข้าวหมากจากเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ 46
การผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้องงอก 48

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

หน้า

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวหมากและการวิเคราะห์คุณภาพข้าวหมาก 49
การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวหมาก 52
การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารของสารสกัดจากข้าวหมาก 55
การผลิตเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก 57
การวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก 57
การวางแผนการทดลองและสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล 59
สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล 59

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 60
ผลการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวหมากและผลการวิเคราะห์คุณภาพข้าวหมาก 60
ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวหมาก 67
ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารของสารสกัดจากข้าวหมาก..... 69

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 76
สรุปผลการวิจัย 76
ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้ 77
ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป 77

บรรณานุกรม 78
บรรณานุกรมภาษาไทย 78
บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ 81

ภาคผนวก 86
ภาคผนวก ก การผลิตลูกแป้งข้าวหมาก 87
ภาคผนวก ข การผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำกล้อง 93
ภาคผนวก ค การผลิตเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก..... 97
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ทางเคมีและการเตรียมบัฟเฟอร์ 99
ภาคผนวก จ การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง 106

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

หน้า

ภาคผนวก ฉ แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของข้าวหมากและ
เครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก 111

ประวัติผู้วิจัย 118

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ปริมาณสารอาหารและแร่ธาตุที่สำคัญในเมล็ดข้าวกล้อง KDML105, Hawm Daeng และ Hawm Dam 8
2.2 ปริมาณสารอาหารและแร่ธาตุที่สำคัญในข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว 9
2.3 ปริมาณกาบาในข้าวกล้องงอกที่แช่น้ำเป็นเวลาต่าง ๆ กัน เปรียบเทียบกับข้าวขาวและข้าวกล้อง 14
2.4 เชื้อราในลูกแป้งจากแหล่งต่าง ๆ 24
2.5 ยีสต์ในลูกแป้งจากแหล่งต่าง ๆ 26
3.1 องค์ประกอบระหว่างราและยีสต์แต่ละสายพันธุ์เพื่อผลิตลูกแป้งข้าวหมาก 47
4.1 คุณลักษณะของข้าวหมากที่หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง 60
4.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์) ของการหมักข้าวหมาก 61
4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่างของการหมักข้าวหมาก 62
4.4 ปริมาณกรดจากการไทเทรต (ร้อยละ) ของการหมักข้าวหมาก 62
4.5 ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ของข้าวหมากที่หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง 63
4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ของการหมักข้าวหมาก 63
4.7 ค่าสีของการหมักข้าวหมาก 65
4.8 ปริมาณยีสต์และรา (ซีเอฟยูต่อกรัม) ของการหมักข้าวหมาก 66
4.9 คะแนนการยอมรับของผู้บริโภคต่อข้าวหมาก 67
4.10 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดและปริมาณกาบาของข้าวหมาก 68
4.11 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวหมากด้วยวิธี DPPH และ FRAP 69
4.12 ขนาดวงยับยั้งจากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารด้วยสารสกัดจากข้าวหมาก (มิลลิเมตร) 69
4.13 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดจากการไทเทรต ปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก 71
4.14 ค่าสีของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก 72
4.15 คะแนนการยอมรับของผู้บริโภคต่อเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก 72
4.16 ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดและปริมาณสารกาบาของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก 74
4.17 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของของเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากด้วยวิธี DPPH และ FRAP 75

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 ลักษณะต้น (ก) และเมล็ดข้าวเหนียวดำลืมผัว (ข) 7
2.2 โครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานิน 10
2.3 ส่วนประกอบของเมล็ดข้าว 12
2.4 การสังเคราะห์สารกาบาจากกรดกลูตามิก 13
2.5 โครงสร้างทางเคมีของสารแกมมา-โอไรซานอล 15
2.6 การเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล 19
2.7 การเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทิลแอลกอฮอล์ 20
2.8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Staphylococcus aureus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด 34
2.9 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Salmonella* spp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด .....
2.10 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Listeria monocytogenes* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด 37

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

รายงานการวิจัย
เรื่อง

ผลของการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ในการผลิตข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำงอกต่อปริมาณสารกาบาและสารออกฤทธิ์ชีวภาพ การพัฒนาเครื่องดื่มน้ำข้าวหมากและผลของสารสกัดจากข้าวหมากในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร

Effect of starter culture on sweet fermented rice products from germinated black glutinous brown rice on gamma-amino butyric acid (GABA) and bioactive compounds content, developing sweet fermented rice beverage and effect of substances extracted from sweet fermented rice products on inhibition enter pathogenic bacteria

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

พรพรรณ พัวไพบูลย์

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
2562
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
(งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดินด้านการวิจัย ปีงบประมาณ 2561)

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	นางพรพรรณ พัวไพบูลย์
วันเกิด	13 มีนาคม พ.ศ. 2516
สถานที่เกิด	สมุทรสาคร
ที่อยู่	145/2 ถนนถีนานนท์ ตำบลตลาด อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000
ตำแหน่ง/หน่วยงานที่สังกัด	อาจารย์สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2537	ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม
พ.ศ. 2548	ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
พ.ศ. 2556	ปริญญาดุษฎีบัณฑิต (ปร.ด.) สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผลงานทางวิชาการ

Publications

Phuapaiboon, P., Leenanon, B., & Levin, R. E. (2013). Effect of Lactococcus lactis immobilized within pineapple and yam bean segments, and jerusalem artichoke powder on its viability and quality of yogurt. *Food and Bioprocess Technology*, *6*(10), 2751-2762.

Phuapaiboon, P. (2016). Immobilization of probiotic bacteria with banana flour and effect on quality of synbiotic ice cream and survival under simulated gastrointestinal conditions. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, *8*(4), 33-46.

Phuapaiboon, P. (2017). Gamma-aminobutyric acid, total anthocyanin content and antioxidant activity of vinegar brewed from germinated pigmented rice. *Pakistan Journal of Nutrition*, *16*(3), 109-118.

Proceedings

Phuapaiboon, P and S. Chumchuere, Growth of selected strains of lactic acid bacteria In legume milk. In *The 1st International Conference on "Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products"*. March 22-25, Khon Kaen, Thailand. 2005.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

Phuapaiboon, P. and B. Leenanon, Growth and effect of probiotic bacteria immobilized on fruit and tuber crop pieces in fermented milk. *Commission on Higher Education Congress III: University Staff Development Consortium.* September 9-11, Pattaya, Thailand. 2010.

Phuapaiboon, P., & Leenanon, B. (2013). Analysis of volatile compound by GC-MS of the yogurt containing immobilized *Lactococcus lactis* cells. In *The 3rd International Conference on Sciences and Social Sciences*, pp. 506-511. Maha Sarakham: Rajabhat Maha Sarakham University.

Phuapaiboon, P., (2014). The potency of antioxidant in wine, which used fruit peel and fruit axis as Substrates. In *18th World Congress on Clinical Nutrition (WCCN 2014) "Agriculture, Food and Nutrition for Health and Wellness"*, pp. 82-86. Ubon Ratchathani: Ubon Ratchathani University.

พรพรรณ พัวไพบูลย์. (2561). ผลของเซลลูโลสจากแบคทีเรียต่อสมบัติทางกายภาพของฟิล์มแอคทีฟ. *การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยบัณฑิตศึกษาระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ครั้งที่ 3*, น. 85-93. มหาสารคาม: มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บรรณานุกรม

บรรณานุกรมภาษาไทย

เกร็ดความรู้.net. (2559). *ข้าวลืมผัว ประโยชน์และสรรพคุณของข้าวลืมผัว*. 17 มกราคม 2562. https://www.เกร็ดความรู้.net/ข้าวลืมผัว/.

เกศริน แก้วมณี. (2558). *ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดข้าวหมากจากข้าวเหนียวกล้องและข้าวเหนียวกล้องงอก*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ), มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่. เชียงใหม่.

ขุน กฤษณามรวิสิฐ. (2494). ข้าวหมาก. *สามิตสาร*, *7*(2), 75-79.

จรัญจิต เพ็งรัตน์ และสุวัฒน์ เจียระคงมั่น. (2554). *“ข้าวเหนียวดำ” หลากประโยชน์ หลายแนวคิดเสริมเศรษฐกิจไทย สู่สากล*. ศูนย์วิจัยข้าวชุมแพ ขอนแก่น, สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว.

เจริญ เจริญชัย. (2548). *บทบาทของยีสต์และราจากลูกแป้งในการหมักข้าว.* รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีที่ 2 (2548), คณะวิศวกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี. ปทุมธานี.

จิราภรณ์ ยอดเถื่อน, วลัยรัตน์ จันทรปานนท์ และหทัยรัตน์ ริมคีรี. (2553). *การคัดเลือกเชื้อบริสุทธิ์โดยทดสอบการย่อยแป้งและการผลิตแอลกอฮอล์เพื่อใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก*. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48. 3 - 5 กุมภาพันธ์ 2553 ณ กรุงเทพฯ.

ชไมธร ชนะญาติ. (2549). *การผลิตมิรินจากเชื้อบริสุทธิ์ที่คัดเลือกจากลูกแป้ง*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร), มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่.

ชัยวัฒน์ จาติเสถียร (2521). การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราและยีสต์ในลูกแป้งสำหรับการหมักข้าวหมาก. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาวิชาจุลชีววิทยา), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ชาญ มงคล. (2536). *ข้าว*. กรุงเทพฯ: คุรุสภา.

ธนิฏฐา เที่ยงแท้, เจริญ เจริยชัย, สาธิรัตน์ รัตนวงศ์ปาล, อรวัลภ์ อุปถัมภานนท์ และปาลิดา ตั้งอนุรัตน์. (2559). *คุณสมบัติด้านโปรไบโอติกของแบคทีเรียทีแยกจากข้าวหมาก*. การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ราชธานีวิชาการ ครั้งที่ 1 “สร้างเสริมสหวิทยาการผสมผสานวัฒนธรรมไทย ก้าวอย่างมั่นใจเข้าสู่ AC”. 29 กรกฎาคม 2559 ณ มหาวิทยาลัยราชธานี อำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี.

ธวัชชัย แถวถาทำ. (2547). Effect of gamma oryzanol in purple glutinous rice bran on immune response in male mice (Mus musculus). ใน *เอกสารประกอบการประชุม First Agriculture Biotechnology*. 18-19 มีนาคม 2547 ณ โรงแรมรีเจนท์ กรุงเทพฯ.

นภา โล่ห์ทอง. (2534). *กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต.* กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัดฟันนี่ พับบลิชชิ่ง.

นิจศิริ เรืองรังษี และพยอม ตันติวัฒน์. (2534). *พืชสมุนไพร*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, *21*(3), 275-286.

เบญจพร บัวบาน. (2541). *การผลิตและสมบัติของเอนไซม์อะไมเลสย่อยแป้งดิบจากเชื้อยีสต์ Saccharomycopsis* sp. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. (2558). *บทปฏิบัติการที่ 3 ข้าว (rice)*. 17 มกราคม 2562. http://agron.agri.kps.ku.ac.th/index.php/en/30-e-learning/economic-crops.

มัณฑนา นครเรียบ. (2555). ประโยชน์ที่ดีต่อสุขภาพของข้าวกล้องงอกและข้าวฮางงอก. *วารสารวิทยาศาสตร์แห่งมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี*, *9*(1), 69-79.

มณชัย เดชสังกรานนท์. (2546). *คุณสมบัติของยีสต์และราที่มีบทบาทในการหมักข้าวหมากและสาโท.* วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

รัชนี คงคาฉุยฉาย, ริญ เจริญศิริ, อรวรรณ กริ่งเกษมศรี, อภิชาติ วรรณวิจิตร และศิริพัฒน์ เรืองพยัคฆ์. (2551) ปริมาณ ธาตุเหล็ก สังกะสี ธาตุทองแดง วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และลูทีน ในข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากแหล่งต่างๆ ของประเทศไทย. *วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ*, 40(2), 13-32.

ลมภูริพล สรสุพิสิฐกุล. (2555). *การประยุกต์ใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ในกระบวนการผลิตข้าวหมากทางการค้า*. วิทยานิพนธ์ปริญญาคหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาวิชาเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์), มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี. ปทุมธานี.

วรายุ ลี้ประเสริฐ. (2546). การทำข้าวหมากและสาโท ไบโอเทคพื้นบ้านไทย. กรุงเทพฯ: สุวีริยาสาส์น.

วรางคณา รัตนะ และวัชรี หาญเมืองใจ (2558). ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดข้าวหมากจากข้าวเหนียวกล้องและข้าวเหนียวกล้องงอก.การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 6. 28-29 เมษายน 2558 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา. กรุงเทพฯ.

วันชัย จันทร์ประเสริฐ. (2538). *สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์.* ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วรรณวิไล ฤทธิเดช. (2550). *ผลของการงอกที่มีต่อสมบัติทางเคมีกายภาพ คุณภาพการหุงต้มและคุณภาพการรับประทานของข้าวกล้องหอมมะลิ และข้าวกล้องมันปู*. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร), มหาวิทยาลัยนเรศวร. พิษณุโลก.

วาริช ศรีละออง. 2549. รงควัตถุในข้าวมีความสำคัญอย่างไร. *วารสารจาร์พา*, *14*(90), 54-55.

วาริน แสงกิติโกมล, เทวิน เทนคำเนาว์ และอทิตยา โรจนสโรช. (2551). การเปรียบเทียบปริมาณรวมสารต้านอนุมูลอิสระของข้าวแดง ข้าวสีนิล และข้าวเหนียวดำ. *วารสารโภชนาการ*, *43*(2), 13-21.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. (2539). *จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร.* กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

วีระสิทธิ์ กัลยากฤต, วรศักดิ์ ช่างภา, มังกร โรจน์ประภากร และปราโมทย์ ศิริโรจน์. (2554). *การศึกษาการใช้จุลินทรีย์หัวเชื้อผสมเพื่อการผลิตลูกแป้งสาโท*. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49, 1-4 กุมภาพันธ์ 2554 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วรนุช ศรีเจษฎารักข์. (2551). *การผลิตสารประกอบทางชีวภาพจากข้าวกล้องงอก*. รายงานฉบับสมบูรณ์, ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

วรวีร์ รายา. (2557-2558). ข้าวลืมผัว. *ข่าวสารเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์*, *60*(2), 1-15.

ศิริพร คำชุ่ม. (2558). *การพัฒนาเครื่องดื่มข้าวหมากจากข้าวมีสีที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลสระ.* วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร), มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม. พิษณุโลก.

ศุภชัย ภูลายดอก, อรนุช สีหามาลา, พรพรรณ ศิริจิตร์, และณัฐพล อรรถประจง. (2557). *อิทธิพลของสายพันธุ์ข้าวเหนียวที่มีต่อการผลิตข้าวหมาก*. รายงานวิจัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตกาฬสินธุ์. กาฬสินธุ์.

สิรินทรเทพ ภักดีศุภผล. (2523). *การหมักข้าวหมากด้วยเชื้อบริสุทธิ์.* วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาวิชาจุลชีววิทยา), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม. (ม.ป.ป.). *ซาลโมเนลลา (Salmonella).* 10 ตุลาคม 2559. http://fic.nfi.or.th/foodsafety/upload/damage/pdf/salmonella_2.pdf.

สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม. (ม.ป.ป.). *ลิสทีเรีย โมโนไซโตจิเนส (Listeria monocytogenes).* 10 ตุลาคม 2559. http://fic.nfi.or.th/foodsafety/upload/damage/pdf/listeria_monocytogenes2.pdf.

สุนัน ปานสาคร และจตุรงค์ ลังกาพินธุ์. (2556). *ข้าวกล้องงอกทำง่าย ได้ประโยชน์สูง.* กรุงเทพฯ: บริษัท ทริปเพิ้ล กรุ๊ป จำกัด.

สุมาลี เหลืองสุวรรณ. (2541). *จุลชีววิทยาทางอาหาร* พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: ชัยเจริญ.

สุมิตรา เผ่าเพ็ง, กฤษณา ทองน้อย, สุภาภรณ์ สิงสีสุข, และศิรดา อยู่แพ. (2559). *ผลิตภัณฑ์ข้าวหมากไรซ์เบอรี่*. รายงานการวิจัย, มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม. กรุงเทพฯ.

พัชรี ตั้งตระกูล. (2550). Gamma amino butyric acid ในคัพภะข้าวและข้าวกล้องงอก. *Food*, 37, 291-296.

พัชรี ตั้งตระกูล, วารุณี วารัญญานนท์, วิภา สุโรจนะเมธากุล และลัดดา วัฒนศิริธรรม. (2549). *การใช้ประโยชน์จากคัพภะข้าวและข้าวกล้องงอกเป็นอาหารสุขภาพเพื่อเพิ่มมูลค่า*. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ เสนอต่อสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2548. กรุงเทพฯ.

พันทิพา พงษ์เพียจันทร์. (2551, มีนาคม, 31). เปิบข้าวเหนียวดำแล้วแก่ช้า**.** *คม-ชัด-ลึก*.

ภัณฑิรา ศรีดำ. (2558). *การพัฒนาผงกล้าเชื้อสำหรับหมักข้าวหมาก.* วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร), มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม. พิษณุโลก.

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีระกุล. 2543. ไวน์ข้าวภูมิปัญญาไทย สู่การผลิตเชิงพาณิชย์ (Rice wine: Thai local wisdom; opportunity for commercial product). *วารสารวิศวกรรมและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยรังสิต*, *4*(2), 15-23.

ยศพร พลายโถ. (2559). ฤทธิ์การป้องกันภาวะเครียดจากออกซิเดชันในเซลล์ลำไส้มนุษย์ ของข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, *24* (5), 813-830.

อนุสรณ์ ทองใหญ่, ศิริพร เรียบร้อย, ศุภศิลป์ มณีรัตน์, น้องนุช ศิริวงศ์, และสิริพันธุ์ จุลกรังคะ. (2555). *การเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางเคมีฟิสิกส์และประสาทสัมผัสระหว่างการหมักข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำ*. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50. 31 มกราคม – 2 กุมภาพันธ์ 2555 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อภิชาต เนินพลับ, อัจฉรา ณ ลำปาง เนินพลับ, พจน์ วัจนะภูมิ และพงศา สุขเสริม. (2553). *ข้าวเหนียวพันธุ์ "ลืมผัว" พันธุกรรมข้าว อนุรักษณ์เพื่อคุณค่าทางโภชนาการ*. การสัมมนาวิชาการกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคเหนือตอนบนและภาคเหนือตอนล่าง ประจำปี 2553. ณ โรงแรมอมรินทร์ลากูน อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก.

อังคณา เชวงภูษิต และจารุณี มีจุ้ย. (2550). *ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของลูกแป้งสำหรับทำข้าวหมาก*. รายงานวิจัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา. ลำปาง.

อุไรวรรณ วัฒนกุล, ชุตินุช สุจริต, และนพรัตน์ วงศ์หิรัญเดชา. (2555). *คุณค่าทางโภชนาการบางประการในข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวสังข์หยดพัทลุง*. การประชุมวิชาการแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 9. 6-7 ธันวาคม 2555 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

เอกสงวน ชูวิสิฐกุล. (2544). *เทคโนโลยีการผลิตข้าวพันธุ์ดี*. กรุงเทพฯ: จิรวัฒน์เอ็กเพรส.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ

Abdel-Aal, E. S. M., Young, J. C., & Rabalski, I. (2006). Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *Journal of agricultural and food chemistry*, *54*(13), 4696-4704.

AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis*. 17th ed. Arlington, VA: The Association of Official Analytical Chemists.

Awika, J.M. & Rooney, L.W. 2004. *Are cereals viable source of phytochemical antioxidants?*. In 2004 IFT Annual Meeting. Las Vegas NV.

Bhat, F. M., & Riar, C. S. (2017). Extraction, identification and assessment of antioxidative compounds of bran extracts of traditional rice cultivars: An analytical approach. *Food chemistry*, *237*, 264-274.

Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry, 239*(1), 70-76.

Brouillard, R., & Delaporte, B. (1977). Chemistry of anthocyanin pigments. 2. Kinetic and thermodynamic study of proton transfer, hydration, and tautomeric reactions of malvidin 3-glucoside. *Journal of the American Chemical Society*, *99*(26), 8461-8468.

Castaneda-Ovando, A., de Lourdes Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food chemistry*, *113*(4), 859-871.

Cornish, M. L., & Garbary, D. J. (2010). Antioxidants from macroalgae: potential applications in human health and nutrition. *Algae*, *25*(4), 155-171.

Czyzowska, A., Klewicka, E., Pogorzelski, E., & Nowak, A. (2015). Polyphenols, vitamin C and antioxidant activity in wines from Rosa canina L. and Rosa rugosa Thunb. *Journal of Food Composition and Analysis*, *39*, 62-68.

Fabrichem. (2018). Gamma oryzanol (from rice bran). 10 December 2018. https://fabricheminc.com/cosmetic-oral-care-ingredients/gamma-oryzanol-from-rice-bran/.

Gordon, M. H. (1990). The mechanism of antioxidant action in vitro. In B. J. Hudson (Ed.), *Food antioxidants* (pp. 1-18). Netherlands: Springer.

Gregorio, G. B. (2002). Progress in breeding for trace minerals in staple crops. *The Journal of nutrition*, *132*(3), 500S-502S.

Hayat, A., Jahangir, T. M., Khuhawar, M. Y., Alamgir, M., Siddiqui, A. J., & Musharraf, S. G. (2014). Simultaneous HPLC determination of gamma amino butyric acid (GABA) and lysine in selected Pakistani rice varieties by pre-column derivatization with 2-Hydroxynaphthaldehyde. *Journal of Cereal Science*, *60*(2), 356-360.

Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Deemer, E. K. (2002). Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated β-cyclodextrin as the solubility enhancer. *Journal of agricultural and food chemistry*, *50*(7), 1815-1821.

Hu, C., Zawistowski, J., Ling, W., & Kitts, D. D. (2003). Black rice (Oryza sativa L. indica) pigmented fraction suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide in chemical and biological model systems. *Journal of agricultural and food chemistry*, *51*(18), 5271-5277.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Deemer, E. K. (2002). Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated β-cyclodextrin as the solubility enhancer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(7), 1815-1821.

Jones, L. (2010). *Listeria monocytogenes.* Retrieved October 10, 2016, from https://web.mst.edu/~microbio/BIO221_2010/L_monocytogenes.html.

Kayahara, H. (2002). Elucidation of functionality of GABA and probability for novel foodstuff. *Japan food Science*, *41*(1), 39-45.

Karladee, D., Pongpiachan, P., Taltathum, T., & Gavilo, A. (2003). Accumulation of gamma-oryzanol in purple rice grain. *Book of Abstracts Bio Thailand*, *374*.

Kaur, M., Asthir, B., & Mahajan, G. (2017). Variation in antioxidants, bioactive compounds and antioxidant capacity in germinated and ungerminated grains of ten rice cultivars. *Rice Science*, *24*(6), 349-359.

Koga, T., Moro, K., Nakamori, K., Yamakoshi, J., Hosoyama, H., Kataoka, S., & Ariga, T. (1999). Increase of antioxidative potential of rat plasma by oral administration of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Journal of agricultural and food chemistry*, *47*(5), 1892-1897.

Kong, J. M., Chia, L. S., Goh, N. K., Chia, T. F., & Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, *64*(5), 923-933.

Lichtenstein, A. H., Ausman, L. M., Carrasco, W., Gualtieri, L. J., Jenner, J. L., Ordovas, J. M., & Schaefer, E. J. (1994). Rice bran oil consumption and plasma lipid levels in moderately hypercholesterolemic humans. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, *14*(4), 549-556.

Leach, W. H., McCowen, L.D., & Schoch, T.J. (1959). Structure of the starch granule. I. Swelling and solubilitypatterns of various starches. Cereal Cherm. 36, 534-544.

Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC international*, *88*(5), 1269-1278.

Masuda, T., Yonemori, S., Oyama, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., Andoh, T., ... & Nakata, M. (1999). Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *47*(4), 1749-1754.

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
MAHASARAKHAM UNIVERSITY

Muangnoi, C., Chingsuwanrote, P., Praengamthanachoti, P., Svasti, S., & Tuntipopipat, S. (2012). Moringa oleifera pod inhibits inflammatory mediator production by lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophage cell lines. *Inflammation*, *35*(2), 445-455.

Nakamura, H. 1996. Effect of γ-oryzanol on hepatic cholesterol biosynthesis and fecal excretion metabolites. *Radioisotopes*, 25:371-374.

Nakayama, S., Manabe, A., Suzuki, J., Sakamoto, K., & Inagaki, T. (1987). Comparative effects of two forms of. GAMMA.-oryzanol in different sterol compositions on hyperlipidemia induced by cholesterol diet in rats. *The Japanese Journal of Pharmacology*, *44*(2), 135-143.

Okada, T., Sugishita, T., Murakami, T., Murai, H., Saikusa, T., Horino, T., ... & Takahashi, T. (2000). Effect of the defatted rice germ enriched with GABA for sleeplessness, depression, autonomic disorder by oral administration. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi= Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*, *47*(8), 596-603.

Olkku, J., & Rha, C. (1978). Gelatinisation of starch and wheat flour starch—a review. *Food Chemistry*, *3*(4), 293-317.

Ohtsubo, K. I., Suzuki, K., Yasui, Y., & Kasumi, T. (2005). Bio-functional components in the processed pre-germinated brown rice by a twin-screw extruder. *Journal of food composition and analysis*, *18*(4), 303-316.

Phuapaiboon, P., Leenanon, B., & Levin, R.E. (2013). Effect of *Lactococcus lactis* immobilized within pineapple and yam bean segments, and jerusalem artichoke powder on its viability and quality of yogurt. Food and Bioprocess Technology, *6*(10), 2751-2762.

Rice-Evans, C. (1999). 16-Screening of phenolics and flavonoids for antioxidant activity. In L. Packer, M. Hiramatsu, & T. Yoshikawa (Eds.), *Antioxidant food supplements in human health*, (pp. 239-253). San Diego: Academic Press.

Saikusa, T., Horino, T., & Mori, Y. (1994). Distribution of free amino acids in the rice kernel and kernel fractions and the effect of water soaking on the distribution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *42*(5), 1122-1125.

Scherz, H., & Bonn., G. (1998). *Analytical chemistry of carbohydrates*. Stuttgat: Georg Thieme Verlag.

Suttajit M., Immark S., Teerajan S., Suttajit S. & Chiyasut C. (2006). Antioxidative activity and polyphenol content in different varieties of Thai rice grains. *Asia Pacific Journal Clinical Nutrition*, *15*(suppl): s78.

Teltathum, T. (2004) . *Effect of gamma oryzanol in purple glutinous rice bran on immune response in male mice (Mus musculus)*. Master of science (Agriculture) in Animal Science, Chiang Mai University.

Tian, S., Nakamura, K., & Kayahara, H. (2004). Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice, and germinated brown rice. *Journal of agricultural and food chemistry*, *52*(15), 4808-4813.

Varanyanond, W., Tungtrakul, P., Surojanametakul, V., Watanasiritham, L., & Luxiang, W. (2005). Effect of water soaking on gamma-aminobutyric acid (GABA) in germ of different Thai rice varieties. kasetsart Journal (Natural Science), 39, 411-415.

Wikipedia. (2017). *Staphylococcus aureus*. Retrieved April, 1, 2017. from https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus.

WebMD. (2005). *Salmonellosis-topic overview*. Retrieved October 10, 2016, from http://www.webmd.com/food-recipes/food-poisoning/tc/salmonellosis-topic-overview#1.

Xu, Z., Hua, N., & Godber, J. S. (2001). Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and γ-oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2, 2'-azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(4), 2077-2081.

Yoshizawa, K., Ishikawa, T., Unemoto, F., & Noshiro, K. (1973). On the content of potassium in various polished rice grains. *Journal of Brewing Society of Japan*, 68, 705-707.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY