วารสารเกษตรนเรศวร
ISSN : 0859-3027
ISSN (Online) : 2730-356X

บทความวิจัย

องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวและการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก *Pediococcus acidilactici* V202

เอื้องพร สังคต[1], กัญญารัตน์ จุลรอด[1], กนกรัตน์ เอี่ยมสะอาด[1], กิตติศักดิ์ ธรรมพิทักษ์[1] และ นรภัทร หวันเหล็ม[1]*

[1]ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000
*Corresponding author: noraphath@nu.ac.th
(Received August 18, 2021; Revised October 4, 2021; Accepted October 5, 2021)

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโพรไบโอติก *Pediococcus acidilactici* V202 ของรำข้าวจากโรงสีย่งฮงจั้ว อำเภอหนองบัว จังหวัดนครสวรรค์ จากการศึกษาพบว่า พีเอช ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ปริมาณสารฟีนอลิก กิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ เถ้า คาร์โบไฮเดรต พลังงาน ไขมัน ความชื้น โปรตีน และเยื่อใย มีค่า เท่ากับ 5.68±0.22, 4.41±0.02 °Brix, 227.17±6.84 mg GAE/100 g, 816.02±111.99 mg/100 g, 8.61 g/100 g, 47.92 g/100 g, 398.46 kcal/100 g, 16.10 g/100 g, 11.90 g/100 g, 15.47 g/100 g และ 4.70 g/100 g ตามลำดับ เมื่อศึกษาคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก *P. acidilactici* V202 ในอาหารเหลว Nutrient broth ที่มีรำข้าว 0 (กลุ่มควบคุม), 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าการเสริมรำข้าวในอาหารเหลว Nutrient broth ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติก *P. acidilactici* V202 ได้ดีที่สุดที่เวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งแตกต่างกับชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อของทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) การทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าการเสริมรำข้าวในอาหารเลี้ยงเชื้อมีศักยภาพในการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียโพรไบโอติก *P. acidilactici* V202 และลดระยะเวลาในการเลี้ยง ซึ่งช่วยลดต้นทุนและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแบคทีเรียโพรไบโอติกก่อนนำไปประยุกต์ใช้ในอาหารสัตว์

คำสำคัญ: รำข้าว, โพรไบโอติก, แบคทีเรียแลคติก, องค์ประกอบทางเคมี, *Pediococcus acidilactici*

NARESUAN AGRICULTURE JOURNAL
ISSN : 0859-3027
ISSN (Online) : 2730-356X

Research Article

Chemical Characteristics of Rice Bran and Its Growth Enhancement of Probiotic *Pediococcus acidilactici* V202

Uangporn Sangkod[1], Kanyarat Junrod[1], Kanokrat Aiamsaard[1], Kittisak Thampitak[1] and Noraphat Hwanhlem[1]*

[1]Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand
*Corresponding author: noraphath@nu.ac.th
(Received August 18, 2021; Revised October 4, 2021; Accepted October 5, 2021)

Abstract

The objective of this study was to determine the chemical characteristics and the growth enhancement of probiotic lactic acid bacteria (LAB) of rice bran obtained from Yong Hong Chua Mill, Nong Bua District, Nakhon Sawan. The chemical compositions including pH, total soluble solids, phenolic content, antioxidant activity, ash, carbohydrate, energy, fat, moisture, protein and fiber of rice bran were 5.68±0.22, 4.41±0.02 °Brix, 227.17±6.84 mg GAE/100 g, 816.02±111.99 mg/100 g, 8.61 g/100 g, 47.92 g/100 g, 398.46 kcal/100 g, 16.10 g/100 g, 11.90 g/100 g, 15.47 g/100 g, and 4.70 g/100 g, respectively. The growth enhancement of probiotic *Pediococcus acidilactici* V202 was performed in nutrient broth containing 0 (control), 5 and 10% rice bran (w/v) and incubated at 39 °C for 24 h. These results found that nutrient broth containing 10% rice bran (w/v) enhanced the maximum growth of *P. acidilactici* V202 at 12 h ($P<0.05$), whereas no significant difference in the pH value ($P>0.05$) was found. This study indicated that rice bran has the potentiality to be applied in the culture medium to increase the number of probiotic LAB at a shorter incubation time, which may reduce the cost and increase the productivity of LAB before application in feed.

Keywords: Rice bran, Probiotic, Lactic acid bacteria, Chemical Characteristics, *Pediococcus acidilactici*

บทนำ

ปัจจุบันจุลินทรีย์โพรไบโอติกถูกพัฒนาและนำมาใช้แทนที่ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์อย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีความปลอดภัย สามารถช่วยปรับสมดุลในระบบทางเดินอาหาร และเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของสัตว์ (Holzapfel et al., 2014) แต่การนำจุลินทรีย์โพรไบโอติกมาใช้ในการเลี้ยงสัตว์เป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิตให้กับผู้ประกอบการหรือผู้ผลิตโพรไบโอติกก่อนนำมาเลี้ยงสัตว์ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีแนวคิดในการนำรำข้าวมาใช้ในการเลี้ยงแบคทีเรียโพรไบโอติกเพื่อลดต้นทุนการผลิตก่อนนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตอาหารสัตว์

รำข้าวถือเป็นผลพลอยได้หรือวัสดุเหลือทิ้งประมาณ 5-8 เปอร์เซ็นต์ จากกระบวนการสีข้าว หรือคิดเป็น 29.3 ล้านตัน/ปี จากการผลิตทั่วโลก ทำให้สามารถหาได้ง่ายและมีราคาถูก มีองค์ประกอบทางเคมีที่แบคทีเรียต้องการในการเจริญ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน อุดมไปด้วยสารอาหาร เส้นใยอาหาร สารต้านอนุมูลอิสระ และมีผลต่อการยับยั้งการเกิดโรคต่าง ๆ โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรำข้าวส่วนใหญ่เป็นแกมมา-โอริซานอล (gamma-oryzanol) ซึ่งมีการศึกษาพบว่าสามารถต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ มีคุณสมบัติในการลดไขมันในเลือด ลดการเกิดโรคเบาหวาน ต้านการเกิดมะเร็ง ช่วยกระตุ้นและพัฒนาระบบภูมิคุ้มกัน (Ferronatto et al., 2021; Kähkönen et al., 1999) จึงมีความเหมาะสมในการนำไปใช้เลี้ยงโพรไบโอติกแทนที่การใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจำหน่ายทางการค้าซึ่งส่วนใหญ่นำเข้ามาจากต่างประเทศในราคาค่อนข้างสูง นอกจากนี้รำข้าวยังมีคุณสมบัติเป็นวัสดุห่อหุ้มเซลล์โพรไบโอติก ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของโพรไบโอติกหลังผ่านกระบวนการแปรรูป เช่น การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งหรือการทำแห้งแบบพ่นฝอย เป็นต้น (Chitprasert et al., 2012; Poletto et al., 2019; Vaniski et al., 2021) จากคุณสมบัติดังกล่าวการนำรำข้าวมาประยุกต์ในใช้ในการเลี้ยงแบคทีเรียโพรไบโอติกอาจช่วยส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก ลดต้นทุนในการผลิตอาหารสัตว์ และลดปริมาณของเสีย (zero waste) ที่เกิดจากจากกระบวนการสีข้าว

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติก (*Pediococcus acidilactici* V202) ของรำข้าว เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตอาหารสัตว์หรือการเลี้ยงสัตว์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมรำข้าว นำรำข้าวที่ได้จากโรงสีย่งฮงจั้ว อำเภอหนองบัว จังหวัดนครสวรรค์ ไปร่อนด้วยตะแกรงขนาด 100 mesh จากนั้นนำไปเก็บรักษาในตู้แช่เย็น เพื่อใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

2. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว

2.1 การหาค่าพีเอช โดยการนำรำข้าวจากข้อ 1 มาผสมด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:5 แล้วกรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกของเหลวกับกากออกจากกัน จากนั้นนำของเหลวที่ได้มาวัดค่าพีเอช ด้วยเครื่อง pH meter (Ohaus Corporation, Korea) โดยทำการหาค่าทั้งหมด 3 ครั้ง

2.2 วิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (total soluble solids) ด้วยเครื่อง Hand refractometer แบบกล้องส่อง ปรับเทียบมาตรฐานด้วยน้ำกลั่นให้อ่านค่าได้ 0 ก่อนการวัดตัวอย่างทุกครั้ง จากนั้นทำการหยดตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 2.1 มา 1-2 หยด ลงในแผ่นตรวจวัดแล้วปิดฝาเลนส์ และทำการส่องดูค่าหักเหของแสง อ่านค่าที่เส้นแบ่งระหว่างสีขาวกับสีฟ้า แล้วบันทึกผล โดยทำการหาค่าทั้งหมด 3 ครั้ง ซึ่งค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้จะถูกเทียบค่าออกมาเป็น °Brix โดยมีความแม่นยำอยู่ที่ ±0.2 เปอร์เซ็นต์

2.3 วิเคราะห์หาปริมาณเถ้า คาร์โบไฮเดรต ความชื้น ไขมัน พลังงาน โปรตีนและเยื่อใยของตัวอย่างรำข้าวที่เตรียมได้จากข้อ 1 ตามวิธีการของ AOAC (2016) โดยบริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาเชียงใหม่

3. การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ

3.1 การเตรียมสารสกัดรำข้าวเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยชั่งตัวอย่างรำข้าวจากข้อ 1 แล้วนำไปสกัดด้วยเอทานอล 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อเอทานอล 1:5 จากนั้นผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และกรองสารสกัดรำข้าวด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกกากกับของเหลวออกจากกัน จากนั้นนำของเหลวที่สกัดได้กรองด้วยกระดาษกรอง What man No.3 จะได้สารสกัดรำข้าว

3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิก (total phenolic content (TPC)) ดัดแปลงจากวิธีของ Kwaw et al., (2018) โดยดูดตัวอย่างสารสกัดรำข้าวที่ได้จากข้อ 3.1 มา 0.2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer แล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดอุณหภูมิห้องนาน 60 นาที จนปฏิกิริยาเกิดขึ้นสมบูรณ์หลังจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis Spectrophotometer (Cert No. BSCC-UV-006/19 Model UV-1800 Bara Scientific CO., LTD.) ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยปริมาณฟีนอลิกรวมหาได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิค ปริมาณที่ได้แสดงในหน่วย milligram of gallic acid equivalent (GAE) per milliliter of extract โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.3 กิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) ดัดแปลงจากวิธีของ Kwaw et al., (2018) โดยการเตรียมสารละลาย 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical ความเข้มข้น 0.1 mM ในเมทานอล (MeOH) โดยชั่งสาร DDPH 0.0039 ละลายในเมทานอล 99.9 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร จากนั้นดูดตัวอย่างสารสกัดรำข้าวที่ได้จากข้อ 3.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 10 เท่า แล้วดูดตัวอย่างสารละลายมา 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DDPH 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer และนำไปไว้ในที่มืด 60 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบเวลานำมาวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis Spectrophotometer (Cert No. BSCC-UV-006/19 Model UV-1800 Bara Scientific CO., LTD.) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และคำนวณหาค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในหน่วยมิลลิกรัม/100 กรัม โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารทดสอบกับความเข้มข้นของ Trolox ที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

4. การกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติก

ทำการกระตุ้นแบคทีเรียโพรไบโอติก *P. acidilactici* V202 ที่เก็บไว้ใน glycerol ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว MRS ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อ *P. acidilactici* V202 เจริญ ทำการกระตุ้นเหมือนเดิมอีก 1 ครั้ง

5. การหาจำนวน *P. acidilactici* V202

ทำการหาจำนวน *P. acidilactici* V202 ด้วยวิธีการ Drop plate โดยหยดตัวอย่าง *P. acidilactici* V202 ที่ได้ทำการกระตุ้นไว้ในข้อ 4 ลงบนอาหารแข็ง MRS (1.5% agar) (Himedia, India)

จำนวน 5 จุด ๆ ละ 10 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส จากนั้นนับจำนวนโคโลนีทั้ง 5 จุดรวมกัน แล้วคำนวณหาจำนวน *P. acidilactici* V202 ในหน่วย log CFU ต่อมิลลิลิตร

6. การศึกษาการเจริญของ *P. acidilactici* V202 ในอาหารเหลว Nutrient broth ที่เสริมด้วยรำข้าว

6.1 นำ *P. acidilactici* V202 จากข้อ 4 มาศึกษาการเจริญในอาหารเหลว Nutrient broth ที่เสริมด้วยรำและทำให้ปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที โดยถ่าย *P. acidilactici* V202 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร (~3 log CFU/ml) ลงในอาหารเหลว Nutrient broth ที่เสริมด้วยรำข้าวปริมาตร 200 มิลลิลิตร ในขวดดูแรนปริมาตร 250 มิลลิลิตร และปิดทับผิวหน้าด้วยพาราฟินเหลวปราศจากเชื้อ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ได้แก่

ชุดการทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเสริมรำข้าว

ชุดการทดลองที่ 2 กลุ่มที่มีการเสริมรำข้าว 5 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 3 กลุ่มที่มีการเสริมรำข้าว 10 เปอร์เซ็นต์

6.2 นำชุดการทดลองทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

6.3 วัดค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อของแต่ละชุดการทดลองด้วยเครื่อง pH Meter (Ohaus Corporation, Korea) และหาจำนวน *P. acidilactici* V202 ด้วยวิธีการ Drop plate บนอาหารแข็ง MRS ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 ชั่วโมง โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

6.4 นำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิที่ 39 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวน *P. acidilactici* V202 ทั้ง 5 จุดรวมกัน แล้วคำนวณหาจำนวนในหน่วย log CFU ต่อมิลลิลิตร

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในการทดลองนี้จะทำการหาค่าต่าง ๆ จำนวน 3 ซ้ำ แล้วนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (±S.D.) วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variances) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธี Independent sample T test (สำหรับเปรียบเทียบปริมาณสารฟีนอลิกและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของรำข้าวเมื่อสกัดด้วยเอทานอล 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์) และ Duncan's new multiple range test (DMRT) (สำหรับเปรียบเทียบการเจริญของ *P. acidilactici* V202 ในอาหารเหลว Nutrient broth ที่เสริมรำข้าว 0, 5, และ 10 เปอร์เซ็นต์) โดยใช้โปรแกรมทางสถิติสำเร็จรูป SPSS version 20.0

ผลและวิจารณ์

1. ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว

องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวที่ผ่านการร่อนด้วยตะแกรงขนาดอนุภาค 100 mesh ซึ่งประกอบด้วยค่าพีเอช ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (total soluble solids) ปริมาณเถ้า คาร์โบไฮเดรต พลังงาน ไขมัน ความชื้น โปรตีน และเยื่อใย มีค่าดังแสดงใน Table 1 ใกล้เคียงกับการรายงานของ Sharma et al. (2004) ซึ่งรายงานว่าองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวประกอบด้วยไขมัน 12-25 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 10-16 เปอร์เซ็นต์ แป้ง 10-20 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลรีดิวซ์ 3-8 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 8-11 เปอร์เซ็นต์ เซลลูโลส 10-12 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยดิบ 6–15 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 6.5–10 เปอร์เซ็นต์ และ Liu et al. (2021) รายงานว่ารำข้าวประกอบด้วย เยื่อใยอาหารเป็นส่วนใหญ่ (20.5–33.3 เปอร์เซ็นต์) แป้ง (16.1–26.7 เปอร์เซ็นต์) เถ้า (9.2–13.9 เปอร์เซ็นต์) โปรตีน (13.2–18.6 เปอร์เซ็นต์) และไขมัน (9.5–22.9 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่ Wang et al. (2015) รายงานว่าองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวสดประกอบด้วย โปรตีน 12.45±0.86 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน

26.59±1.38 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 8.58±0.69 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 8.57±0.57 เปอร์เซ็นต์ และคาร์โบไฮเดรต 43.73±0.80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการที่เกี่ยวข้อง เช่น ความแปรปรวนของพันธุ์ข้าวและสิ่งแวดล้อม การกระจายขององค์ประกอบทางเคมี ขนาดความหนาและรูปร่างของเมล็ดข้าว ความต้านทานของเมล็ดข้าวต่อการแตกหัก รวมไปถึงเครื่องจักรและการแปรรูปที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสีข้าว (Kalpanadevi et al., 2018)

Table 1 Chemical characteristics of rice bran screened by 100 mesh particle sieves.

Chemical properties	Composition
pH	5.68±0.22*
Total soluble solids (°Brix)	4.41±0.02
Ash (g/100g)	8.61
Carbohydrate (g/100g)	47.92
Energy (kcal/100g)	398.46
Fat (g/100g)	16.10
Moisture (g/100g)	11.90
Protein (g/100g)	15.47
Fiber (g/100g)	4.70

*Mean ± SD from triplicate determinations.

ปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของรำข้าว เมื่อสกัดด้วยเอทานอล 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์ มีค่าดังแสดงใน Table 2 มีหลายการศึกษารายงานว่าปริมาณสารฟีนอลิกมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ เมื่อปริมาณสารฟีนอลิกสูงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระก็จะสูงตามไปด้วย อย่างไรก็ตามการสกัดโดยใช้น้ำ เมทานอล และเอทานอล ก็ล้วนส่งผลต่อปริมาณสารฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนั้น สายพันธ์ของพืช วิธีการและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดก็มีผลต่อปริมาณสารฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระได้เช่นกัน (Arab et al., 2011; Karimi et al., 2012; Lou et al., 2014; Peanparkdee et al., 2019) มีหลายงานวิจัยรายงานว่ารำข้าวอาจมีสารต้านอนุมูลอิสระมากถึง 100 ชนิด ซึ่งมีการค้นพบสารพฤกษเคมีใหม่ ๆ ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพและส่งเสริมสุขภาพ เช่น ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แกมมา-โอริซานอล โทโคฟีรอล กรดเฟรูลิก กรดไฟติก และโทโคไตรอีนอล เป็นต้น ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารทุติยภูมิที่พบในพืช สามารถขับอนุมูลอิสระ ลดความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และปกป้องชีวโมเลกุลขนาดใหญ่จากความเสียหายที่อาจเกิดขึ้นได้ ซึ่งคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกมีส่วนช่วยในการป้องกันโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคอ้วน เบาหวาน หลอดเลือด มะเร็ง และโรคหลอดเลือดหัวใจ (Reddy et al., 2017; Sairam et al., 2011)

2. การศึกษาการเจริญของ *P. acidilactici* V202 ในอาหารเหลว Nutrient broth ที่เสริมด้วยรำข้าว

การเจริญของ *P. acidilactici* V202 ในอาหารเหลว Nutrient broth ที่เสริมรำข้าว 0 (กลุ่มควบคุม) 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ในชั่วโมงที่ 6 *P. acidilactici* V202 ในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว Nutrient broth ที่เสริมด้วยรำข้าว 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีการ

เจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มควบคุม (P<0.05) และเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง *P. acidilactici* V202 ในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว Nutrient broth ที่เสริมด้วย รำข้าว 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตของเชื้อเพิ่มขึ้นสูงสุดจนถึงระดับ 8 และ 9 log CFU/mL ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังแสดงใน Table 3 และ Figure 1 ในขณะที่ค่าพีเอชของอาหารเหลว Nutrient broth ของทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยมีการเปลี่ยนแปลงลดลงเล็กน้อยซึ่งมีค่าอยู่ประมาณ 6 ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 18 จนสิ้นสุดระยะเวลาของการทดลอง (ไม่แสดงข้อมูล) การศึกษานี้สอดคล้องกับหลายงานวิจัยก่อนหน้านี้ซึ่งรายงานว่ารำข้าวมีคุณสมบัติในการส่งเสริมและเพิ่มความสามารถในการเจริญของโพรไบโอติก ทั้งนี้เนื่องจากรำข้าวมีองค์ประกอบทางเคมี เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ (Demirci et al., 2017; Demissie et al., 2020; Moon & Chang, 2021) โดยการส่งเสริมการเจริญที่เกิดขึ้นน่าจะเกิดจากการนำอาหารเหลว Nutrient broth ที่เสริมด้วยรำข้าวไปทำให้ปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที ซึ่งที่สภาวะดังกล่าว องค์ประกอบทางเคมีในรำข้าวอาจถูกสกัดออกมาส่งผลให้แบคทีเรียโพรไบโอติกเจริญเติบโตได้ดีกว่าการเลี้ยงด้วย Nutrient broth เพียงอย่างเดียว ซึ่ง Daou & Zhang (2012) รายงานว่าการนำรำข้าวสกัดน้ำมันไปทำให้ปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มขึ้นของน้ำตาลที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble sugars) ไปเป็นน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ (soluble sugars) เช่น Arabinose, Galactose, Glucose, Inositol และ Xylose เป็นต้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Rico et al. (2020) ซึ่งศึกษาผลของการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำต่อคุณภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพของรำข้าวสาลี พบว่าการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส ส่งผลให้องค์ประกอบทางเคมี เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ความเข้มข้นของกรด Ferulic อิสระ และ Apigenin-6-C-arabinoside-8-C-hexoside เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับรำข้าวสาลีที่ไม่ผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ นอกจากนั้นยังพบว่าการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ช่วยเพิ่มความสามารถในการดูดซับน้ำและลดความหนืดของรำข้าวสาลีได้อีกด้วย

Table 2 Total phenolic content and antioxidant activity of rice bran screened by 100 mesh particle sieves and extracted by different concentrations of ethanol.

Chemical properties	Ethanol concentration	
	50%	70%
Total phenolic content (mg GAE/100g)	115.13±9.31*, B	227.17±6.84A
Antioxidant activity (mg/100g)	816.02±111.99A	943.83±56.76A

GAE: gallic acid equivalent (GAE)/100g extract).

Different superscripts of the uppercase in the same row indicate significant differences (P≤0.05).

*Mean ± SD from triplicate determinations.

Table 3 Total counts of *Pediococcus acidilactici* V202 when cultivated in nutrient broth supplemented with different concentrations of rice bran.

Time (hour)	Bacterial cell (log CFU/ml)		
	Control (0% Rice bran)	5% Rice bran	10% Rice bran
0	3.34±0.08*, Af	3.30±0.09 Ag	3.27±0.07 Af
3	3.19±0.05 Bg	3.37±0.01 Ag	3.15±0.04 Be
6	3.55±0.18 Be	5.06±0.02 Af	5.26±0.003 Ag
9	4.51±0.04 Cd	6.24±0.05 Ae	5.93±0.01 Bd
12	5.91±0.04 Cc	8.09±0.05 Bb	9.21±0.04 Aa
15	6.23±0.03 Cb	8.24±0.05 Ba	8.43±0.04 Aa
18	8.04±0.07 Aa	8.03±0.07 Ab	8.19±0.09 Ab
21	8.06±0.03 Aa	7.85±0.03 Bc	8.05±0.08 Ac
24	8.03±0.05 Aa	7.04±0.07 Bd	8.12±0.05 Abc

Different superscripts of the uppercase in the same row indicate significant differences ($P \leq 0.05$).
Different superscripts of the lowercase in the same column indicate significant differences ($P \leq 0.05$).
*Mean ± SD from triplicate determinations.

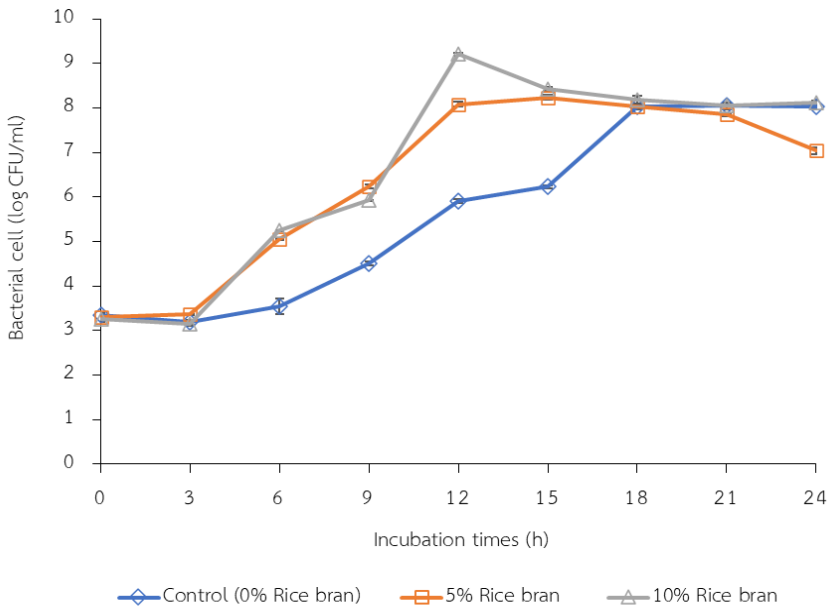

Figure 1 The growth curves of *Pediococcus acidilactici* V202 when cultivated in nutrient broth supplemented with different concentrations of rice bran, at 39 °C for 24 h.

สรุป

การศึกษานี้พบว่ารำข้าวมีองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ และสามารถส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติก ซึ่งชี้ให้เห็นว่ารำข้าวมีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเพิ่มจำนวนแบคทีเรียโพรไบโอติกและลดระยะเวลาในการเลี้ยง ซึ่งช่วยลดต้นทุนและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแบคทีเรียโพรไบโอติกก่อนนำไปประยุกต์ใช้ในอาหารเลี้ยงสัตว์ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติม เช่น การเลี้ยงแบคทีเรียโพรไบโอติกโดยใช้รำข้าวเพียงอย่างเดียว การเก็บเกี่ยวมวลเซลล์ การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง การทำแห้งแบบพ่นฝอยหรือการหาอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่เลี้ยงด้วยรำข้าวหลังผ่านกระบวนการทำแห้ง เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของคณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร สำหรับความช่วยในการวิจัยและขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ฯ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

AOAC. (2016). Official Methods of Analysis of AOAC International-20th Edition.

Arab, F., Alemzadeh, I., & Maghsoudi, V. (2011). Determination of antioxidant component and activity of rice bran extract. *Scientia Iranica*, 18(6), 1402–1406.

Chitprasert, P., Sudsai, P., & Rodklongtan, A. (2012). Aluminum carboxymethyl cellulose–rice bran microcapsules: Enhancing survival of *Lactobacillus reuteri* KUB-AC5. *Carbohydrate Polymers*, 90(1), 78–86.

Daou, C., & Zhang, H. (2012). Effect of high pressure, autoclaving and extrusion treatments on insoluble, soluble and total dietary fiber contents of defatted rice bran. *Akademik Gıda*, 10(2), 6-13.

Demirci, T., Aktaş, K., Sözeri, D., Öztürk, H.İ., & Akın, N. (2017). Rice bran improve probiotic viability in yoghurt and provide added antioxidative benefits. *Journal of Functional Foods*, 36, 396–403.

Demissie, Y., Humblot, C., Baxter, B., Nealon, N.J., & Ryan, E. (2020). Probiotic fermentation of rice bran with six genetically diverse strains effects nutrient and phytochemical composition; a non-targeted metabolomics approach. *Current Developments in Nutrition*, 4(2), 1553–1553.

Ferronatto, A.N., Rossi, R., Massochin Nunes Pinto, L., & Garavaglia, J. (2021). Development of a freeze-dried symbiotic obtained from rice bran. *Biotechnology Reports*, 30, e00636.

Holzapfel, W.H., & Wood, B.J. (2014). *Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy*. John Wiley & Sons.

Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja,K., Kujala, T.S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954-3962.

Kalpanadevi, C., Singh, V., & Subramanian, R. (2018). Influence of milling on the nutritional composition of bran from different rice varieties. *Journal of Food Science and Technology*, 55(6), 2259–2269.

Karimi, E., Oskoueian, E., Hendra, R., Oskoueian, A., & Jaafar, H.Z. (2012). Phenolic compounds characterization and biological activities of *Citrus aurantium* bloom. *Molecules*, 17(2), 1203-1218.

Kwaw, E., Ma, Y., Tchabo, W., Apaliya, M.T., Wu, M., Sackey, A.S., & Tahir, H.E. (2018). Effect of lactobacillus strains on phenolic profile, color attributes and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice. *Food Chemistry*, 250, 148-154.

Liu, Y., Zhang, H., Yi, C., Quan, K., & Lin, B. (2021). Chemical composition, structure, physicochemical and functional properties of rice bran dietary fiber modified by cellulase treatment. *Food Chemistry*, 342, 128352.

Lou, N. S., Lai, C.Y., Hsu, S.Y., & Ho, T.C. (2014). Flavonoid compositions and antioxidant activity of calamondin extracts prepared using different solvents. *Journal of Food and Drug analysis*, 22, 290-295.

Moon, S.-H., & Chang, H.-C. (2021). Rice bran fermentation using *Lactiplantibacillus plantarum* EM as a starter and the potential of the fermented rice bran as a functional food. *Foods*, 10(5), 978.

Peanparkdee, M., Patrawart, J., & Iwamoto, S. (2019). Effect of extraction conditions on phenolic content, anthocyanin content and antioxidant activity of bran extracts from Thai rice cultivars. *Journal of Cereal Science*, 86, 86–91.

Poletto, G., Raddatz, G.C., Cichoski, A.J., Zepka, L.Q., Lopes, E.J., Barin, J.S., Wagner, R., & de Menezes, C.R. (2019). Study of viability and storage stability of *Lactobacillus acidophillus* when encapsulated with the prebiotics rice bran, inulin and hi-maize. *Food Hydrocolloids*, 95, 238–244.

Reddy, C.K., Kimi, L., Haripriya, S., & Kang, N. (2017). Effects of polishing on proximate composition, physico- chemical characteristics, mineral composition and antioxidant properties of pigmented rice. *Rice Science*, 24(5), 241–252.

Rico, D., Villaverde, A., Martinez-Villaluenga, C., Gutierrez, A.L., Caballero, P.A., Ronda, F., Peñas, E., Frias, J., & Martin Diana, A.B. (2020). Application of autoclave treatment for development of a natural wheat bran antioxidant ingredient. *Foods*, 9(6), 781.

Sairam, S., Gopala Krishna, A.G., & Urooj, A. (2011). Physico-chemical characteristics of defatted rice bran and its utilization in a bakery product. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 478–483.

Sharma, H.R., Chauhan, G.S., & Agrawal, K. (2004). Physico-chemical characteristics of rice bran processed by dry heating and extrusion cooking. *International Journal of Food Properties*, 7(3), 603–614.

Vaniski, R., Silva, S.C. da, Silva-Buzanello, R.A. da, Canan, C., & Drunkler, D.A. (2021). Improvement of *Lactobacillus acidophilus* La-5 microencapsulation viability by spray-drying with rice bran protein and maltodextrin. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(4), e15364.

Wang, C., Xu, F., Li, D., & Zhang, M. (2015). Physico-chemical and structural properties of four rice bran protein fractions based on the multiple solvent extraction method. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(3), 283–291.