



การคัดเลือกกล้าเชื้อและการศึกษาคุณสมบัติของแป้งข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มฝัวเสริมโพรไบโอติก

กนกรัตน์ เอี่ยมสะอาด¹ รัตนารณ ปิมสา¹ กิตติศักดิ์ ธรรมพิทักษ์¹ ธวัชชัย สุ่มประดิษฐ์² ศุภศิลป์ มณีรัตน์³ และนรภัทร หวันเหล็ม^{4*}

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

²ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

³ศูนย์ความเป็นเลิศนวัตกรรมเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการใช้ประโยชน์ทรัพยากรชีวภาพอย่างยั่งยืน คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

⁴ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

*Corresponding author: noraphath@nu.ac.th

(Received: March 29, 2024; Revised: April 26, 2024; Accepted: May 9, 2024)

บทคัดย่อ

การคัดเลือกกล้าเชื้อและศึกษาคุณสมบัติของแป้งข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มฝัวเสริมโพรไบโอติก โดยใช้ลูกแป้งจาก น่าน แพร่ สุโขทัย และลำปาง เป็นกล้าเชื้อสำหรับผลิตแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติก *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 พบว่าแป้งข้าวหมากที่ผลิตโดยใช้ลูกแป้งจากสุโขทัยได้รับคะแนนจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสทั้งหมดสูงกว่าชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < .05$) เมื่อเก็บรักษาแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกที่ผลิตโดยใช้ลูกแป้งจากสุโขทัยที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 56 วัน พบว่าที่เวลาต่าง ๆ ค่าสี ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ปริมาณแอลกอฮอล์ และปริมาณแอนโทไซยานินมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < .05$) ในขณะที่จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และแบคทีเรียแลคติกมีแนวโน้มลดลงจากวันเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < .05$) และพบว่าแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกได้รับคะแนนต่างกับแป้งข้าวหมากทางการค้าบางยี่ห้อทางด้านเนื้อสัมผัส ความหวานและความชอบโดยรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < .05$) มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่สูงกว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายได้และปริมาณแอลกอฮอล์ที่ต่ำกว่าผลิตภัณฑ์แป้งข้าวหมากยี่ห้ออื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < .05$) การวิจัยนี้ทำให้ได้อาหารสุขภาพที่มีความปลอดภัยและมีคุณสมบัติตรงต่อความต้องการของผู้บริโภค

คำสำคัญ: กล้าเชื้อ; ข้าวเหนียวลิ้มฝัว; แป้งข้าวหมาก; โพรไบโอติก; อาหารสุขภาพ

Starter Culture Selection and Characterization of Probiotic-Supplemented Sweet Fermented Rice (*Pang Khao Mak*) from *Leum Pua* Glutinous Rice (*Oryza sativa* L. variety *Leum Pua*)

Kanokrat Aiamsaard¹, Rattanaporn Pimisa¹, Kittisak Thampitak¹, Tawatchai Sumpradit², Suppasil Maneerat³, and Noraphat Hwanhlem^{4*}

¹Program in Agricultural Biotechnology, Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

²Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medical Science, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

³Center of Excellence in Innovative Biotechnology for Sustainable Utilization of Bioresources, Faculty of Agro-Industry, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90110, Thailand

⁴Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

*Corresponding author: noraphath@nu.ac.th

(Received: March 29, 2024; Revised: April 26, 2024; Accepted: May 9, 2024)

Abstract

Look pang—a starter culture collected from Nan, Phrae, Sukhothai, and Lampang was selected for the production of probiotic (*Saccharomyces boulardii* CNCM I-745)-supplemented sweet fermented rice (*Pang Khao Mak*) (PS-PKM) from *Leum Pua* glutinous rice (*Oryza sativa* L. variety *Leum Pua*). Sensory evaluation revealed that PS-PKM produced by *Look pang* from Sukhothai (LPS) received significantly higher scores ($P<.05$) in all assessed qualities (color, odor, texture, sweetness, and overall liking) compared to other treatments. PS-PKM produced by LPS was stored at 4 °C for 56 days, and its properties were evaluated at different storage time intervals. Significant differences ($P<.05$) were observed in color, pH, total soluble solids (TSS), and alcohol and anthocyanin content over time. Microbial quality assessment slightly decreases in total viable count (TVC), yeast, and lactic acid bacteria (LAB) counts throughout the experiment ($P<.05$). Furthermore, sensory evaluation demonstrated significant differences ($P<.05$) in texture, sweetness, and overall liking of PS-PKM compared to some commercial PKM. Additionally, the pH of PS-PKM was significantly higher than commercial PKM, while TSS and

alcohol content were significantly lower ($P<.05$). This study presents a safe and healthy food that meets the consumers' acceptance.

Keywords: Starter culture; *Leum Pua* glutinous rice; Sweet fermented rice; Probiotic; Healthy food

บทนำ

ข้าวเหนียวดำพันธุ์ลิ้มผัวเป็นข้าวเหนียวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวกล้องสีดำ มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และมีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำกว่าข้าวเหนียวที่บริโภคทั่วไป มีสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็ง ช่วยลดคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ทำให้เส้นเลือดไม่อุดตัน ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ โรคพาร์คินสัน ตลอดจนการหย่อนสมรรถภาพทางเพศ มีกรดไขมันที่ช่วยบำรุงสมอง ป้องกันภาวะเสื่อมของสมองและช่วยในเรื่องความจำ (Pornputtapitak et al., 2018; Praman et al., 2018) นอกจากนี้ยังมีปริมาณแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) สูงกว่าข้าวเหนียวดำพันธุ์อื่น ๆ ซึ่งเป็นรงควัตถุที่พบในพืชให้สีแดง น้ำเงิน และม่วง ละลายน้ำได้ดี แอนโทไซยานินที่พบมากในพืชมี 6 ชนิด ได้แก่ เพลาร์โกนิน (Pelargonidin) ไซยานิดิน (Cyanidin) เดลฟินิดิน (Delphinidin) พีโอนิดิน (Peonidin) เพตุนิดิน (Petunidin) และมัลวิดิน (Malvidin) (Horbowicz et al., 2008; Valls et al., 2009) แอนโทไซยานินจัดเป็นรงควัตถุที่ได้รับความสนใจจากนักวิจัย เนื่องจากเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) และมีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคเกี่ยวกับหลอดเลือดหัวใจ โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน ช่วยลดความดันโลหิตสูง และลดระดับคอเลสเตอรอล เป็นต้น (Khoo et al., 2017; Lee et al., 2008; Valls et al., 2009) ในอุตสาหกรรมอาหาร มีการนำแอนโทไซยานินไปใช้ประโยชน์ในการสร้างสีสังเคราะห์ที่มีความน่าสนใจ และยังถูกนำไปใช้เสริมคุณค่าทางโภชนาการในสูตรอาหารเพื่อสุขภาพและยา เป็นต้น ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยได้เล็งเห็นถึงความสำคัญในการพัฒนาข้าวเหนียวดังกล่าวเป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปข้าวหมากเสริมโพรไบโอติก เนื่องจากปัจจุบันผู้บริโภคหันมาให้ความสำคัญกับการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพกันมากขึ้น อีกทั้งการตลาดทางด้านผลิตภัณฑ์อาหารอินทรีย์และชีวภาพ (Organic-Bio food product) อาหารเพื่อสุขภาพ (Healthy food) อาหารฟังก์ชัน (Functional food) หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (Nutraceuticals) เข้ามามีบทบาทต่อผู้บริโภคมากขึ้น ซึ่งแปรรูปข้าวหมากหรือข้าวหมากเป็นอาหารหมักพื้นบ้านของไทย ทำจากข้าวเหนียวทั้งข้าวเหนียวธรรมดาและข้าวเหนียวดำ แต่ข้าวเหนียวดำมักพบไม่บ่อยนัก โดยการทำแปรรูปข้าวหมากต้องใช้ลูกแป้งซึ่งเป็นกล้าเชื้อผสม (Mixed culture) ที่อยู่ในรูปเชื้อแห้งประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ รา ยีสต์ และแบคทีเรีย มีลักษณะเป็นลูกกลม ก้อนครึ่งวงกลมหรือกลมแบน ขนาดประมาณ 3-4 เซนติเมตร มีน้ำหนักเบาเนื่องจากภายในมีรูพรุนที่เกิดจากการฟองฟูขยายตัวของเนื้อแป้งขณะบ่มและมีการตากแดดจนเหลือความชื้นไม่มาก เมื่อนำมาขยี้หรือบดจะได้เป็นผงแป้งละเอียด สีขาวนวลหรือสีขาวผสมน้ำตาล ไม่มีกลิ่นเปรี้ยว พบในหลายประเทศ เช่น จีน ไต้หวัน เกาหลี ญี่ปุ่น อินเดีย มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ เวียดนาม และ ไทย เป็นต้น (Jirasatid and Nopharatana, 2018; Mongkontanawat and Lertnimitmongkol, 2015; Roongrojmongkhon et al., 2020; Saelim et al., 2008) การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกกล้าเชื้อ (ลูกแป้ง) ในเขตภาคเหนือตอนล่าง ได้แก่ น่าน แพร่ สุโขทัย และลำปาง โดยนำมาผลิตและศึกษาคุณสมบัติแปรรูปข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผัวเสริมโพรไบโอติก ได้แก่ คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี จุลชีววิทยา และคุณภาพทางประสาทสัมผัส ตลอดจนศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาแปรรูปข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา และเปรียบเทียบ

กับแป้งข้าวหมากที่มีจำหน่ายในห้างสรรพสินค้าโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส ทั้งนี้เพื่อพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกที่ปลอดภัยและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างลูกแป้ง

เก็บตัวอย่างลูกแป้งในจังหวัดภาคเหนือ 4 จังหวัด ได้แก่ น่าน แพร่ สุโขทัย และลำปาง ดังแสดงใน Figure 1 จากนั้น เก็บตัวอย่างลูกแป้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำมาใช้ในการทดลองขั้นถัดไป



Figure 1. Look pang—a starter culture collected from Nan, Phrae, Sukhothai, and Lampang.

2. การผลิตแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติก

นำตัวอย่างข้าวเหนียวลื้มผั่วที่ปลูกในเขตภาคเหนือตอนล่าง (จัดเตรียมโดย บริษัท อุตสาหกรรมการเกษตรเขาค้อ จำกัด อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์) ลูกแป้งที่ได้จากข้อ 1 และยีสต์โพรไบโอติก *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 ยี่ห้อ BIOFLOR® ในรูป Lyophilized ขนาด 275 มิลลิกรัม มาทำการผลิตแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติก โดยมีขั้นตอนดังนี้

2.1 ล้างข้าวเหนียวลื้มผั่ว 750 กรัม แล้วแช่น้ำข้ามคืน (หรืออย่างน้อยประมาณ 3 ชั่วโมง) จากนั้นเอาขึ้นจากน้ำ รอให้สะเด็ดน้ำ รองด้วยผ้าขาวบางแล้วนำไปนึ่งจนข้าวเหนียวสุกทั่วถึงกัน ผึ่งข้าวให้เย็นแล้วล้างด้วยน้ำสะอาดจนข้าวหมดเมือก (ล้างประมาณ 3 ครั้ง) จะได้เมล็ดข้าวร่วนไม่ติดกัน สะเด็ดน้ำให้แห้งมากที่สุด เพราะถ้าข้าวเปียกหรือแฉะจะมีเชื้อแบคทีเรียเจริญและทำให้ข้าวหมากเปรี้ยวได้ง่าย จากนั้นเกลี่ยข้าวให้กระจายหนาเท่า ๆ กัน แล้วทิ้งให้แห้งประมาณ 1 ชั่วโมง ขั้นตอนนี้จะได้ข้าวเหนียวสุกสำหรับทำแป้งข้าวหมากประมาณ 1 กิโลกรัม

2.2 นำ *S. boulardii* CNCM I-745 ขนาด 275 มิลลิกรัมต่อซอง คลุกผสมกับข้าวเหนียวสุกที่เตรียมไว้ (ขั้นตอนนี้จะได้จำนวน *S. boulardii* CNCM I-745 10^6 CFU/g ของข้าวเหนียวสุก) จากนั้น เติมลูกแป้งจากข้อ 1 ที่บดละเอียดแล้ว 20 กรัม หรือ 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักข้าวเหนียวสุก (w/w) คลุกผสมให้เข้ากันบรรจุ

ของผสมที่ได้ลงในกล่องพลาสติกใสที่มีฝาปิดสนิท แล้วเก็บไว้ในที่ร่มอุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 วัน เพื่อให้กลายเป็นแป้งข้าวหมาก ดังแสดงใน Figure 2



Figure 2. Probiotic-supplemented sweet fermented rice (*Pang Khao Mak*) from *Leum Pua* glutinous rice produced using 2% *Look pang* (starter culture) collected from Nan, Phrae, Sukhothai, and Lampang mixed with *S. boulardii* CNCM I-745 at 10^6 CFU/g of cooked *Leum Pua* glutinous rice.

3. การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้และปริมาณแอลกอฮอล์แป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติก

นำตัวอย่างแป้งข้าวหมากที่ได้จากข้อ 2.2 มาผสมกับน้ำปราศจากไอออน (Deionized Water) ในอัตราส่วน 1:1 ปั่นด้วยเครื่องปั่นเอนกประสงค์ (HR2115, Philips, Indonesia) แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง 1 ชั้น จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการกรองไปทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วย pH meter (ST3100-F, Ohaus, USA) และตรวจวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้และปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้เครื่อง hand refractometer (RHW-25ATC/JEDTO Alcohol refractometer, China) ซึ่งเป็นเครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 0–40 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณแอลกอฮอล์ 0–25 เปอร์เซ็นต์ แบบกลิ้งส่องโดยปรับเทียบมาตรฐานด้วยน้ำปราศจากไอออนให้อ่านค่าได้ 0 ก่อนการวัดตัวอย่างทุกครั้ง จากนั้นหยดตัวอย่าง 1–2 หยดลงในแผ่นตรวจวัดแล้วปิดฝาเลนส์ ทำการส่องดูค่าหักเหของแสง อ่านค่าที่เส้นแบ่งระหว่างสีขาวกับสีฟ้า แล้วบันทึกผลโดยทำการหาค่าทั้งหมด 3 ครั้ง ซึ่งค่าของปริมาณของแข็งที่ละลายได้และปริมาณแอลกอฮอล์จะถูกเทียบค่าออกมาเป็น °Brix และ เปอร์เซ็นต์ (v/v) ตามลำดับ ซึ่งมีค่าความแม่นยำอยู่ที่ ± 0.2 เปอร์เซ็นต์

4. การคัดเลือกลูกแป้งเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส

นำแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกที่ได้จากข้อ 2.2 ไปทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส ความหวาน และความชอบโดยรวม เพื่อคัดเลือกแหล่งของลูกแป้งที่ส่งผลให้แป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกได้รับคะแนนทางประสาทสัมผัสสูงสุด โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน เพศชายและหญิงที่มีอายุระหว่าง 18–60 ปี และเป็นผู้ที่ไม่ได้รับการฝึกฝนก่อนการทดสอบชิมโดยผู้ทดสอบจะต้องบ้วนปากด้วยน้ำเปล่าก่อนทดสอบตัวอย่างทุกอย่าง และเริ่มทดสอบตัวอย่างที่ระบุหมายเลขแบบสุ่ม 3 ตำแหน่ง (เช่น 721 223 618 369) ตามลำดับจากซ้ายไปขวา เมื่อทดสอบตัวอย่างแต่ละตัวอย่างแล้วผู้ทดสอบจะต้องให้คะแนนด้วยวิธี 9 Point Hedonic Scale (1 = ไม่ชอบมากที่สุด, 9 = ชอบมากที่สุด) ซึ่งการวิจัยนี้ได้รับการรับรองโครงการวิจัยตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ที่เป็นมาตรฐานสากลจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร (Naresuan University Institutional Review Board (NU-IRB)) หมายเลขอนุมัติ COA No. 397/2021 (IRB No. P10019/64)

5. การศึกษาระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาของแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติก

ผลิตแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกโดยใช้กล้าเชื้อที่คัดเลือกได้จากข้อ 4 ร่วมกับ *S. boulardii* CNCM I-745 ที่ 10^6 CFU/g ของข้าวเหนียวสุก ตามวิธีการในข้อ 2 แล้วแบ่งบรรจุใส่ถ้วยพลาสติกใสมีฝาปิดสนิทถ้วยละ 35 กรัม นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำการศึกษาคูณสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ที่เวลา 0, 14, 28, 42 และ 56 วัน ดังนี้

5.1 การตรวจวิเคราะห์ค่าสี ในระบบ hunter lab ($L^* a^* b^*$) โดยใช้เครื่องวัดสีแบบพกพา ยี่ห้อ Konica Minolta รุ่น CR400 (Chroma Meter CR-400, Konica Minolta, Japan) ทำการปรับเทียบมาตรฐานก่อนใช้งาน โดยที่ค่า L^* คือ ความสว่าง ซึ่งมีค่าระหว่าง 0 – 100 หรือ สีดำถึงขาว a^* แสดงค่า (+) สีแดง หรือ (-) สีเขียว และ b^* แสดงค่า (+) สีเหลืองหรือ (-) สีนํ้าเงิน

5.2 การหาปริมาณน้ำอิสระ (a_w) โดยใช้ Water activity meter ยี่ห้อ Novasina รุ่น Lab swift (LabSwift-Aw, Novasina AG, Switzerland)

5.3 การหาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตามวิธีการในข้อ 3

5.4 การตรวจวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้และปริมาณแอลกอฮอล์ ตามวิธีการในข้อ 3

5.5 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (Total anthocyanin content) ด้วยวิธี pH-differential ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Lee et al., (2005) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis Spectrophotometer (Shimadzu UV-1800, Japan) ที่ความยาวคลื่น 520 nm และ 700 nm แสดงผลเป็น Anthocyanin pigment (cyaniding-3-glucoside equivalent, mg/L) ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{Anthocyanin pigment (cyaniding-3-glucoside equivalent, mg/L)} = \frac{A \times Mw \times DF \times 10^3}{\epsilon \times l}$$

โดยที่ A = (A520 – A700)pH 1.0 - (A520 – A700)pH 4.5

MW = 449.2 g/mol

DF = dilution factor (ทำการเจือจาง 10 เท่า)

ϵ = 26,900 L x mol⁻¹ x cm⁻¹

l = ขนาดความกว้างของคิวเวต (เซนติเมตร) ที่ใช้วัดค่าดูดกลืนแสง

5.6 การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา ซึ่งตัวอย่างแบ่งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติก จำนวน 25 กรัม ด้วยวิธีปราศจากเชื้อแล้วเจือจางใน Sterile physiological saline (SPSS) (Sodium chloride 0.85 เปอร์เซ็นต์, Peptone 0.1 เปอร์เซ็นต์) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร แล้วเจือจางต่อแบบ ten-fold serial dilution ให้มีจำนวนเชื้อที่เหมาะสม จากนั้น Spread plate บนอาหาร MRS agar (HiMedia, India) ที่มี bromocresol purple 0.004 เปอร์เซ็นต์ (w/v) (สำหรับหาจำนวนแบคทีเรียแลคติก) บนอาหาร Violet red bile glucose agar (HiMedia, India) (สำหรับหาจำนวน Enterobacteriaceae) บน MacConkey Agar (HiMedia, India) (สำหรับหาจำนวน *Escherichia coli*) บน Baird-Parker agar (HiMedia, India) (สำหรับหาจำนวน *Staphylococcus aureus*) บน Salmonella Shigella (SS) Agar (HiMedia, India) (สำหรับหาจำนวน *Salmonella* spp.) บน Plate count agar (PCA) (HiMedia, India) (สำหรับหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด) บน MYP Agar Base (HiMedia, India) (สำหรับหาจำนวน *Bacillus cereus*) และบน Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (HiMedia, India) (สำหรับหาจำนวนยีสต์) โดยทำ 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 วัน นับจำนวนเชื้อและรายงานในหน่วย CFU/g ของแบ่งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติก

6. การทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์แบ่งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกเปรียบเทียบกับแบ่งข้าวหมากที่มีจำหน่ายในห้างสรรพสินค้า อ.เมือง จ.พิษณุโลก

นำแบ่งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกจากข้อ 5. ไปทดสอบทางประสาทสัมผัส ตามวิธีการในข้อ 4 เปรียบเทียบกับแบ่งข้าวหมากที่มีจำหน่ายในห้างสรรพสินค้า อ.เมือง จ.พิษณุโลก จำนวน 3 ตัวอย่าง ได้แก่ แบ่งข้าวหมากตราเพชรบุรี แบ่งข้าวหมากท้องถิ่น และแบ่งข้าวหมากตราคุณเบญ โดยให้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน เพศชายและหญิงที่มีอายุระหว่าง 18-60 ปี และเป็นผู้ที่ไม่ได้รับการฝึกฝนก่อนการทดสอบชิม

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองจะทำการหาค่าต่าง ๆ จำนวน 3 ซ้ำ นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\pm$ S.D.) และนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างสิ่งทดลองด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรม SPSS version 16.0

ผลและวิจารณ์

1. การคัดเลือกลูกแป้งเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส

การคัดเลือกลูกแป้งเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกจาก 4 จังหวัดในเขตภาคเหนือตอนล่าง ได้แก่ น่าน แพร่ สุโขทัย และลำปาง โดยการผลิตแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกจากลูกแป้งทั้ง 4 แหล่ง และเสริมด้วย *S. boulardii* CNCM I-745 ซึ่งเป็นยีสต์โพรไบโอติกที่ใช้ในการรักษาโรคท้องร่วงและความผิดปกติของระบบทางเดินอาหารของผู้ป่วย (Chumphon et al., 2016; KaŻmierczak-Siedlecka et al., 2020; Moré and Swidsinski, 2015) ที่ระดับ 10^6 CFU/g ของแป้งข้าวหมาก ได้แป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกจำนวน 4 ชุดการทดลอง เมื่อทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกทั้ง 4 ชุดการทดลอง

พบว่าแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกที่ผลิตโดยใช้ลูกแป้งจากจังหวัดสุโขทัยได้รับคะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสทั้งหมดสูงกว่าชุดการทดลองอื่นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < .05$) ในลักษณะปรากฏ กลิ่นรส ความหวาน และความชอบโดยรวม และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ ($P > .05$) ในคุณลักษณะทางด้านสี และเนื้อสัมผัส ดังแสดงใน Table 1 และเมื่อศึกษาคุณภาพทางเคมีซึ่งประกอบด้วยค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และปริมาณแอลกอฮอล์ของแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกทั้ง 4 ชุดการทดลอง พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 3.85–4.32, 11.40–13.27 °Brix และ 6.20–7.07 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < .05$) ดังแสดงใน Table 2 จากผลการทดลองดังกล่าว ลูกแป้งจากจังหวัดสุโขทัยจึงถูกคัดเลือกเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

ลูกแป้งข้าวหมากเป็นกล้าเชื้อแบบดั้งเดิมที่ใช้ในการผลิตอาหารหมักของไทยมานานหลายทศวรรษ ซึ่งการผลิตลูกแป้งเป็นภูมิปัญญาชาวบ้านที่ได้จากการผสมข้าวเหนียว สมุนไพรและเครื่องเทศ ได้แก่ ข่า กระเทียม กานพลู พริกไทย ขิง ดีปลี โป๊ยกั๊ก ดอกจันทร์ อบเชย มะตูม เป็นต้น ซึ่งชนิด ปริมาณและสัดส่วนของสมุนไพรและเครื่องเทศ ทำให้ลูกแป้งของแต่ละท้องถิ่นแตกต่างกัน โดยสมุนไพรและเครื่องเทศทำหน้าที่ในการคัดเลือกและยับยั้งจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องในการหมัก ประกอบด้วยเชื้อราชนิดไม่เปลี่ยนแอลกอฮอล์ (เช่น *Amylomyces rouxii*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, และ *Rhizopus* spp. เป็นต้น) ซึ่งราเหล่านี้สามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลส (Amylase) ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ยีสต์ (เช่น *Endomycopsis* spp., *Hasenula* spp., *Saccharomycopsis fibuligera* และ *Saccharomyces cerevisiae*) ทำหน้าที่ต่อจากเชื้อรา โดยการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ และแบคทีเรีย (เช่น *Pediococcus pentosaceus* และ *Lactobacillus* spp.) เป็นแบคทีเรียที่เปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดแลกติกยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (Pathogen) อย่างไรก็ตามหากแบคทีเรียผลิตกรดมากเกินไป อาจทำให้เกิดการเสียของแป้งข้าวหมากได้ (Jirasatid and Nopharatana, 2018; Mongkontanawat and Lertnimitmongkol, 2015; Roongrojmongkhon et al., 2020; Saelim et al., 2008)

Table 1. Sensory scores of probiotic-supplemented sweet fermented rice (*Pang Khao Mak*) (PS-PKM) from *Leum Pua* glutinous rice (*Oryza sativa* L. variety *Leum Pua*) produced by *Look pang*—a starter culture collected from Nan, Phrae, Sukhothai, and Lampang, according to the sensory acceptability test.

Acceptability	Source of <i>Look pang</i>			
	Nan	Phrae	Sukhothai	Lampang
Appearance	5.40±1.35 ^{†ab}	5.17±1.84 ^b	6.07±1.48 ^a	5.80±1.69 ^{ab}
Color ^{ns}	5.67±1.42 ^a	5.47±1.43 ^a	5.83±1.46 ^a	6.07±1.55 ^a
Flavor	5.40±1.38 ^a	4.43±1.87 ^b	6.20±1.45 ^a	5.97±1.73 ^a
Texture ^{ns}	4.63±2.07 ^a	4.56±1.87 ^a	5.56±1.85 ^a	5.03±1.79 ^a
Sweetness	3.93±2.08 ^b	3.43±1.96 ^b	5.80±2.04 ^a	4.20±2.16 ^b
Overall liking	4.53±1.94 ^b	4.10±2.10 ^b	6.07±1.60 ^a	4.87±2.11 ^b

Different superscripts in the same row indicate significant differences ($P<.05$)

^{ns} No significant difference ($P>.05$)

[†] Mean ± SD from triplicate determinations

Table 2. Some chemical properties of PS-PKM from *Leum Pua* glutinous rice produced by *Look pang* collected from Nan, Phrae, Sukhothai, and Lampang.

Properties	Source of <i>Look pang</i>			
	Nan	Phrae	Sukhothai	Lampang
pH	3.91±0.02 ^{†b}	3.85±0.01 ^c	4.32±0.01 ^a	3.91±0.02 ^b
Total soluble solids (°Brix)	12.40±0.20 ^b	11.40±0.20 ^c	13.27±0.10 ^a	13.27±0.10 ^a
Alcohol content (% (v/v))	6.47±0.12 ^b	6.20±0.00 ^c	7.07±0.12 ^a	7.07±0.12 ^a

Different superscripts in the same row indicate significant differences ($P<.05$)

[†] Mean ± SD from triplicate determinations

2. การศึกษาระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาของแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติก

การศึกษาระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาของแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกที่ผลิตโดยใช้ลูกแป้งจากจังหวัดสุโขทัยร่วมกับ *S. boulardii* CNCM I-745 ที่ 10^6 CFU/g ของข้าวเหนียวสุก ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 56 วัน เมื่อวิเคราะห์ค่า a_w ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และปริมาณแอลกอฮอล์ ในวันที่ 0, 14, 28, 42 และ 56 พบว่าค่าต่าง ๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < .05$) โดยค่า L^* , a^* และ b^* มีค่าอยู่ในช่วง 23.85–27.52 6.66–8.12 และ 0.05–0.64 ตามลำดับ และค่า a_w ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ปริมาณแอลกอฮอล์ และปริมาณแอนโทไซยานิน มีค่าประมาณ 0.93–0.94, 4.04–4.17, 14–15°Brix และ 7–8 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 3 โดยค่าความเป็นกรด-ด่าง ของแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกที่เก็บรักษาที่ระยะเวลาต่าง ๆ มีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และปริมาณแอลกอฮอล์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง และการเพิ่มขึ้นของปริมาณความหวานและปริมาณแอลกอฮอล์นั้น เกิดจากการหมักของจุลินทรีย์ในลูกแป้ง (ยีสต์ รา และแบคทีเรีย) และ *S. boulardii* CNCM I-745

การทดลองนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Mongkontanawat and Lertnimitmongkol (2015) ซึ่งศึกษาและพัฒนาผลิตภัณฑ์แป้งข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองพบว่า ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ในขณะที่ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และปริมาณแอลกอฮอล์นั้นเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน

การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 56 วัน พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินที่ช่วงเวลาต่าง ๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < .05$) (Table 3) โดยปริมาณแอนโทไซยานินมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($P < .05$) จาก 60.15 ± 0.65 (วันเริ่มต้นของการเก็บรักษา) เป็น 95.05 ± 2.20 (56 วันของการเก็บรักษา) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความสามารถในการผลิตเอนไซม์ของเชื้อเริ่มต้นในลูกแป้ง หรืออาจเกิดจากการไฮโดรไลซิสโดยเอนไซม์ในกลุ่ม glycoside hydrolase ได้แก่ α -amylase และ β -amylase ดังนั้นการออกฤทธิ์ของเอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อเริ่มต้นในระหว่างการหมัก อาจเข้าไปทำปฏิกิริยาโดยการสลายพันธะไกลโคซิดิกทำให้โมเลกุลที่มีขนาดใหญ่เล็กลง จึงทำให้ส่วนประกอบของผนังเซลล์พืชถูกทำลาย ส่งผลให้แอนโทไซยานินที่อยู่ภายในผนังเซลล์หลุดออกมาได้มากขึ้น ซึ่งกลไกดังกล่าวอาจเป็นปัจจัยสำคัญที่มีส่วนช่วยให้ปริมาณแอนโทไซยานินของแป้งข้าวหมากเพิ่มสูงขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา (Kwaw et al., 2018; Plaitho et al., 2013) นอกจากนี้ปริมาณแอนโทไซยานินยังขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว เช่น วิธีการเพาะปลูก ระยะเวลาในการสุก ลักษณะทางพันธุกรรม และสภาพภูมิอากาศ รวมถึงกระบวนการแปรรูป เป็นต้น (Casierra-Posada and Jarma-Orozco, 2016; Devi Ramaiya et al., 2013) สอดคล้องกับการศึกษาของ Lee et al. (2008) ซึ่งรายงานว่าปริมาณแอนโทไซยานินในถั่วดำเพิ่มขึ้นหลังผ่านกระบวนการหมัก

Table 3. Changes in physical, chemical, and microbiological properties of PS-PKM from *Leum Pua* glutinous rice produced by *Look pang* collected from Sukhothai (LPS) at different interval times of storage at 4 °C

Properties		Times of storage (day)				
		0	14	28	42	56
Color	<i>L</i> *	24.42±0.05 ^{†d}	26.62±0.03 ^b	26.16±0.01 ^c	27.52±0.03 ^a	23.85±0.03 ^e
	<i>a</i> *	7.53±0.01 ^c	7.59±0.04 ^c	8.12±0.02 ^a	6.66±0.09 ^d	8.04±0.03 ^b
	<i>b</i> *	0.25±0.03 ^d	0.64±0.04 ^a	0.37±0.04 ^c	0.05±0.02 ^e	0.55±0.01 ^b
Water activity (<i>a_w</i>)		0.94±0.00 ^a	0.94±0.00 ^a	0.94±0.00 ^b	0.93±0.01 ^c	0.93±0.01 ^c
pH		4.17±0.02 ^a	4.11±0.02 ^b	4.09±0.01 ^b	4.06±0.01 ^c	4.04±0.01 ^d
Total soluble solids (°Brix)		14.55±0.23 ^d	14.78±0.18 ^{cd}	14.97±0.15 ^{bc}	15.12±0.10 ^{ab}	15.30±0.10 ^a
Alcohol content (% (v/v))		7.68±0.15 ^b	8.07±0.08 ^a	8.15±0.15 ^a	8.32±0.10 ^a	8.32±0.19 ^a
Total anthocyanin content (mg CGE/100 g)		60.15±0.65 ^e	65.74±0.82 ^d	75.37±3.27 ^c	89.34±1.48 ^b	95.05±2.20 ^a
Total viable count (log CFU/g)		7.83±0.08 ^a	6.41±0.01 ^b	6.17±0.10 ^c	6.00±0.04 ^d	5.88±0.02 ^e
Yeast (log CFU/g)		7.85±0.08 ^a	6.31±0.01 ^b	6.02±0.04 ^c	5.78±0.05 ^d	5.38±0.01 ^e
Lactic acid bacteria (log CFU/g)		7.13±0.03 ^a	5.95±0.04 ^b	5.83±0.02 ^c	5.29±0.05 ^d	4.97±0.03 ^e

CGE = cyanidine-3-glucoside equivalent

Different superscripts in the same row indicate significant differences ($P < .05$)

[†] Mean ± SD from triplicate determinations

การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 56 วัน พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และจำนวนแบคทีเรียแลคติกมีแนวโน้มที่ลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ดังแสดงใน Table 3 ซึ่งการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์นั้นเกี่ยวข้องกับปัจจัยต่าง ๆ เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงจากการสะสมของกรดอินทรีย์ ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น ปฏิกริยาของเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น ระดับของออกซิเจนและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สภาพการเก็บ

รักษา สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ เทคโนโลยีในการผลิต อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษา รวมถึงสูตร และส่วนประกอบที่ใช้ในการผลิต เป็นต้น (Jayabalan et al., 2007; Li et al., 2016; Thampitak et al., 2022; Villalva et al., 2017)

เมื่อตรวจหาจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *B. cereus* Enterobacteriaceae *E. coli* *Salmonella* spp. และ *S. aureus* ในแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 56 วัน พบว่าไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรสดังกล่าว ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา ดังแสดงใน Table 4 ซึ่งเป็นไปตามปริมาณที่กำหนดตามคู่มือการปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 364) พ.ศ. 2556 เรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2559; Thampitak et al., 2022)

3. การทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์แป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกเปรียบเทียบกับแป้งข้าวหมากที่มีจำหน่ายในห้างสรรพสินค้า อ.เมือง จ.พิษณุโลก

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์แป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกจากข้าวเหนียวลิ้มผิวเปรียบเทียบกับ แป้งข้าวหมากตราเพชรบุรี แป้งข้าวหมากท้องถิ่น และแป้งข้าวหมากตราคุณเบญ พบว่าคะแนนเฉลี่ยที่ได้จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์แป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกต่ำกว่า แป้งข้าวหมากทั้ง 3 แหล่ง แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>.05$) ในลักษณะปรากฏ สี และกลิ่นรส ในขณะที่คะแนนเฉลี่ยด้านเนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมต่ำกว่าแป้งข้าวหมากตราเพชรบุรีและแป้งข้าวหมากท้องถิ่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<.05$) และได้รับคะแนนเฉลี่ยด้านความหวานต่ำกว่าแป้งข้าวหมากทั้ง 3 แหล่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<.05$) ดังแสดงใน Table 5 เมื่อวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของผลิตภัณฑ์แป้งข้าวหมากทั้ง 4 ตัวอย่าง พบว่าแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่สูงกว่า และมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้และปริมาณแอลกอฮอล์ที่ต่ำกว่าแป้งข้าวหมากทั้ง 3 แหล่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<.05$) ดังแสดงใน Table 6 ซึ่งผลที่ต่างกันนี้อาจเกิดจากความแตกต่างของชนิดข้าว กล้าเชื้อ สูตรและส่วนประกอบ กระบวนการและเทคโนโลยีในการผลิต รวมถึงอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ เป็นต้น

Table 4. Viable count of pathogenic bacteria presented in PS-PKM from *Leum Pua* glutinous rice produced by LPS at different interval times of storage at 4 °C

Pathogenic bacteria	Times of storage (Days)					Requirement [†]
	0	14	28	42	56	
<i>Bacillus cereus</i>	ND	ND	ND	ND	ND	Not more than 100 CFU/g
Enterobacteriaceae	ND	ND	ND	ND	ND	Not more than 100 CFU/g
<i>Escherichia coli</i>	ND	ND	ND	ND	ND	Not detected
<i>Salmonella</i> spp.	ND	ND	ND	ND	ND	Not detected in 25 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	ND	ND	ND	ND	ND	Not detected in 0.1 g

[†]Requirement according to the Notification of the Ministry of Public Health of Thailand (No.416) B.E.2563 (2020), issued by virtue of the Food Act B.E. 2522,

Re: Prescribing the quality or standard, principles, conditions and methods of analysis for pathogenic microorganisms in foods.

ND = Not detected

Table 5. Sensory scores of PS-PKM from *Leum Pua* glutinous rice produced by LPS compared to some commercial PKM according to the sensory acceptability test

Acceptability	<i>Pang Khao Mak</i>			
	PS-PKM	Phetchaburi	Local	Khun Ben
Appearance ^{ns}	6.42±1.58 ^{†a}	6.88±1.31 ^a	7.07±1.36 ^a	6.46±1.82 ^a
Color ^{ns}	6.42±1.86 ^a	6.88±1.39 ^a	6.70±1.34 ^a	7.00±1.23 ^a
Flavor ^{ns}	5.82±2.16 ^a	6.75±1.58 ^a	6.50±1.72 ^a	6.31±1.70 ^a
Texture	5.75±2.05 ^b	6.80±1.78 ^a	7.16±1.76 ^a	6.23±2.18 ^{ab}
Sweetness	5.90±1.73 ^b	7.05±1.63 ^a	7.10±1.67 ^a	6.91±1.60 ^a
Overall liking	6.08±1.77 ^b	7.04±1.57 ^a	7.13±1.57 ^a	6.55±1.97 ^{ab}

Different superscripts in the same row indicate significant differences ($P < .05$)

^{ns} No significant difference ($P > .05$)

[†] Mean ± SD from triplicate determinations

Table 6. Some chemical properties of PS-PKM from *Leum Pua* glutinous rice produced by LPS compared to some commercial PKM

Properties	<i>Pang Khao Mak</i>			
	PS-PKM	Phetchaburi	Local	Khun Ben
pH	4.17±0.02 ^{†a}	3.87±0.02 ^c	4.10±0.02 ^b	3.58±0.01 ^d
Total soluble solids (°Brix)	14.47±0.23 ^c	20.10±0.17 ^a	20.87±0.11 ^a	17.33±0.12 ^b
Alcohol content (% (v/v))	7.73±0.11 ^c	11.83±0.21 ^a	12.07±0.11 ^a	9.62±0.23 ^b

Different superscripts in the same row indicate significant differences ($P < .05$)

[†] Mean ± SD from triplicate determinations

สรุป

แป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติก (*S. boulardii* CNCM I-745) ที่ผลิตโดยลูกแป้งจากจังหวัดสุโขทัย ได้รับคะแนนเฉลี่ยจากการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสสูงกว่าแป้งข้าวหมากที่ผลิตโดยใช้ลูกแป้งจากจังหวัดน่าน แพร่ และลำปาง และแป้งข้าวหมากทั้ง 4 ชุดการทดลอง มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้และปริมาณแอลกอฮอล์ที่แตกต่างกัน เมื่อเก็บรักษาแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกที่ผลิตโดยใช้ลูกแป้งจากจังหวัดสุโขทัยที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 56 วัน พบว่าที่ช่วงเวลาต่าง ๆ ค่าสี และค่า a_w มีความแตกต่างกัน ค่าความเป็นกรด-ด่าง จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และแบคทีเรียแลกติกมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณแอนโทไซยานินมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และตรวจไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา เมื่อเปรียบเทียบแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกกับแป้งข้าวหมากที่มีจำหน่ายในห้างสรรพสินค้าโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า คะแนนลักษณะปรากฏ สี และกลิ่นรส ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และพบว่าแป้งข้าวหมากเสริมโพรไบโอติกมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่สูงกว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายได้และปริมาณแอลกอฮอล์ที่ต่ำกว่าผลิตภัณฑ์แป้งข้าวหมากที่มีจำหน่ายในห้างสรรพสินค้า การวิจัยนี้ทำให้ได้กล้าเชื้อและได้ผลิตภัณฑ์แป้งข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผัวเสริมโพรไบโอติกที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสม มีความปลอดภัยและตรงต่อความต้องการของผู้บริโภค การวิจัยต่อจากนี้จะนำแป้งข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผัวเสริมโพรไบโอติกสูตรที่คัดเลือกได้ไปพัฒนาสูตรและกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ไอศกรีมไขมันต่ำแป้งข้าวหมากจากข้าวเหนียวลิ้มผัวเสริมโพรไบโอติกเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกสว.) และ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ร่วมกับ บริษัท อุตสาหกรรมการเกษตรเขาค้อ จำกัด อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ ภายใต้ชุดโครงการ “การพัฒนาผลิตภัณฑ์ Innovative House” ในกลุ่มอุตสาหกรรมอาหารและอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ระยะที่ 2: กลุ่มผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ (กลุ่มที่ 25)” (RUG6150017) และการสนับสนุนการวิจัยจากโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ประจำปีงบประมาณ 2562 (สัญญาเลขที่ MSD62I0097 รหัสโครงการ 6122009) จาก สกสว. และ บริษัท อุตสาหกรรมการเกษตรเขาค้อ จำกัด

เอกสารอ้างอิง

- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2559). คู่มือการปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 364) พ.ศ. 2556 เรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (หน้า 1-49).
<https://food.fda.moph.go.th/food-law/announ-moph-364>
- Casierra-Posada, F., & Jarma-Orozco, A. (2016). Nutritional Composition of *Passiflora* Species. In M. S. J. Simmonds & V. R. Preedy (Eds.), *Nutritional Composition of Fruit Cultivars* (pp. 517–534). Academic Press.
- Chumphon, T., Sriprasertsak, P., & Promsai, S. (2016). Development of rice as potential carriers for probiotic *Lactobacillus amylovorus*. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(5), 1260–1267.
- Devi Ramaiya, S., Bujang, J. S., Zakaria, M. H., King, W. S. & Shaffiq Sahrir, M. A. (2013). Sugars, ascorbic acid, total phenolic content and total antioxidant activity in passion fruit (*Passiflora*) cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(5), 1198–1205.
- Horbowicz, M., Kosson, R., Grzesiuk, A., & Debski, H. (2008). Anthocyanins of fruits and vegetables—Their occurrence, analysis and role in human nutrition. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 68(1), 5–22.
- Jayabalan, R., Marimuthu, S., & Swaminathan, K. (2007). Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry*, 102(1), 392–398.
- Jirasatid, S., & Nopharatana, M. (2018). Product development of sweet fermented rice (Khao-Mak) supplemented with red yeast rice. *International Journal of Agricultural Technology*, 14, 521–534.
- Kaźmierczak-Siedlecka, K., Ruszkowski, J., Fic, M., Folwarski, M., & Makarewicz, W. (2020). *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745: A non-bacterial microorganism used as probiotic agent in supporting treatment of selected diseases. *Current Microbiology*, 77(9), 1987–1996.
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1361779.

- Kwaw, E., Ma, Y., Tchabo, W., Apaliya, M. T., Wu, M., Sackey, A. S., Xiao, L., & 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.
- Lee, I.-H., Hung, Y.-H., & Chou, C.-C. (2008). Solid-state fermentation with fungi to enhance the antioxidative activity, total phenolic and anthocyanin contents of black bean. *International Journal of Food Microbiology*, 121(2), 150–156.
- 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.
- Lee, J.-C., Kim, J.-D., Hsieh, F., & Eun, J.-B. (2008). Production of black rice cake using ground black rice and medium-grain brown rice. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(6), 1078–1082.
- Li, S., Ma, C., Gong, G., Liu, Z., Chang, C., & Xu, Z. (2016). The impact of onion juice on milk fermentation by *Lactobacillus acidophilus*. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 543–548.
- Mongkontanawat, N., & Lertnimitmongkol, W. (2015). Product development of sweet fermented rice (Khao-Mak) from germinated native black glutinous rice. *International Journal of Agricultural Technology*, 11(2), 501–515.
- Moré, M. I. & Swidsinski, A. (2015). *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 supports regeneration of the intestinal microbiota after diarrheic dysbiosis—A review. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, 8, 237–255.
- Plaitho, Y., Kangsadalampai, K., & Sukprasansap, M. (2013). The protective effect of Thai fermented pigmented rice on urethane induced somatic mutation and recombination in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(2), 91–98.
- Pornputtapitak, W., Pantakitcharoenkul, J., Panpakdee, R., Teeranachaideekul, V., & Sinchaipanid, N. (2018). Development of γ -oryzanol rich extract from Leum Pua glutinous rice bran loaded nanostructured lipid carriers for topical delivery. *Journal of Oleo Science*, 67(2), 125–133.

- Praman, S., Wanta, A., Hawiset, T., Sakulsak, N., Popluechai, S., & Somsuan, K. (2018). Resistant starch isolated from Luem-Pua glutinous rice decreases adipocyte size of visceral fat and thickness of thoracic aorta in high-fat diet-fed rats. *Chulalongkorn Medical Journal*, 62(3), 435–449.
- Roongrojmongkhon, N., Rungjindamai, N., Vatanavicharn, T., & Ochaikul, D. (2020). Isolation and identification of fungi with glucoamylase activity from loog-pang-khao-mak (A Thai traditional fermentation starter). *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14(1), 233–246.
- Saelim, K., Dissara, Y., & H-Kittikun, A. (2008). Saccharification of cassava starch by *Saccharomycopsis fibuligera* YCY1 isolated from Loog-Pang (rice cake starter). *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30(SUPPL. 1), 65–71.
- Thampitak, K., Pimisa, R., Pongcharoen, P., Maneerat, S., & Hwanhlem, N. (2022). Mulberry low-fat ice cream supplemented with synbiotic: Formulation, phytochemical composition, nutritional characteristics, and sensory properties. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 50(3), 361–374.
- Valls, J., Millán, S., Martí, M. P., Borràs, E., & Arola, L. (2009). Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of Chromatography A*, 1216(43), 7143–7172.
- Villalva, F. J., Cravero Bruneri, A. P., Vinderola, G., Gonçalves De Oliveira, E., Paz, N. F., & Ramón, A. N. (2017). Formulation of a peach ice cream as potential symbiotic food. *Food Science and Technology*, 37, 456–461.