

การใช้ข้าว (*Oryza sativa* L.) หุงสุกพันธุ์พื้นเมืองเป็นสารอาหาร สำหรับโพรไบโอติก

ณัฐญาณ ศรีสุว*

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

เลขที่ 2 ถนนนางลิ้นจี่ แขวงทุ่งมหาเมฆ เขตสาทร กรุงเทพมหานคร 10120

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้ข้าวหุงสุกพันธุ์พื้นเมือง 2 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวธัญลิริน และข้าวหอมล้านนา สำหรับเป็นสารอาหารของโพรไบโอติก โดยศึกษาจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตของ *Lactobacillus rhamnosus* TISTR 047, *L. rhamnosus* TISTR 108 และ *L. plantarum* TISTR 951 ในระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากผลการทดลองพบว่า จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ TISTR 047 ที่เติมลงไป ข้าวธัญลิรินและข้าวหอมล้านนาหุงสุกมีจำนวนเพิ่มขึ้น 0.19 และ 0.37 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ และศึกษาการรอดชีวิตของ โพรไบโอติกในถุงลามิเนตแบบสุญญากาศในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 12 วัน พบว่า ข้าวธัญลิรินและข้าวหอมล้านนาหุงสุกมีจำนวน TISTR 047 ที่รอดชีวิต 7.63 และ 7.75 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ ในระหว่างการเก็บรักษาและไม่แตกต่างจากจำนวนเซลล์เริ่มต้น จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ พบว่ามีการยึดเกาะของเซลล์ที่มีชีวิตในข้าวหอมล้านนาหุงสุกในระหว่างการเก็บรักษา งานวิจัยต้นแบบนี้อาจเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ สำหรับการเพิ่มมูลค่าของข้าวหุงสุกพันธุ์พื้นเมือง และสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารหมักประเภทธัญพืชและเนื้อสัตว์ได้

คำสำคัญ : ข้าวหุงสุก / พันธุ์พื้นเมือง / สารอาหาร / โพรไบโอติก / การรอดชีวิต

* Corresponding Author : srisuvor@gmail.com

อาจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนาการ คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์

Use of Cooked Rice (*Oryza sativa* L.) of Indigenous Cultivars as Food Matrices for Probiotics

Nutthaya Srisuvor*

Rajamangala University of Technology Krungthep,
2 Nang Linchi Road, Thung Maha Mek, Sathon, Bangkok 10120, Thailand.

Abstract

This research was to investigate the possibility of using cooked rice (*Oryza sativa* L.) of two indigenous cultivars, i.e., Thanyasirin and Hom Lanna, as food matrices for carrying active probiotic cells. The numbers of viable cells of *Lactobacillus rhamnosus* TISTR 047, *L. rhamnosus* TISTR 108 and *L. plantarum* TISTR 951 during incubation at 37 °C for 24 hours were examined. The results showed that the numbers of viable cells of TISTR 047 added into cooked rice of Thanyasirin and Hom Lanna increased by 0.19 and 0.37 log CFU g⁻¹, respectively. In addition, the survivals of three species of probiotics were assayed in vacuum laminate bags during storage at 4 °C for 12 days. The results showed that cooked rice of Thanyasirin and Hom Lanna had survival cells of TISTR 047 of 7.63 and 7.75 log CFU g⁻¹, respectively; the numbers were not significantly different from the initial cell counts. Finally, the morphology of the cells were examined. It was found that cooked rice of Hom Lanna possessed adhered viable cells during the storage. This developed prototype could be an interesting alternative to add value to cooked rice of indigenous cultivars and could be applied to fermented cereal and meat products.

Keywords : Cooked Rice / Indigenous Cultivars / Food Matrices / Probiotics / Survival

* Corresponding Author : srisuvor@gmail.com

Lecturer, Department of Food Technology and Nutrition, Faculty of Home Economics Technology.

1. บทนำ

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจของคนไทยมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน เกษตรกรไทยปลูกข้าวเป็นพืชหลัก และส่งไปจำหน่ายยังต่างประเทศทั่วทุกภาคของโลก ในข้าวมีสารอาหารครบถ้วน มีแป้ง ซูโครส ฟรุคโตส และน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ [1] มีกรดอะมิโนหลายชนิด ไขมันชนิดไม่อิ่มตัว วิตามินบี 1 บี 2 บีรวม แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี และ ไนอาซิน มีเส้นใยอาหาร สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) รวมทั้งโอลิโกแซ็กคาไรด์ (oligosaccharides) [2, 3, 4] ข้าวบางสายพันธุ์มีองค์ประกอบที่เป็นรงควัตถุสีดํา แดง หรือม่วงดํา [5] เช่น ข้าวเหนียวดํา ข้าวแดง และข้าวหอมณิล รงควัตถุเหล่านี้จัดอยู่ในประเภท ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) โดยเฉพาะกลุ่ม แอนโทไซยานิน (anthocyanins) ทำหน้าที่ต่อต้านอนุมูลอิสระ มีบทบาทที่สำคัญต่อกระบวนการชรา การเกิดโรคมะเร็ง และโรคหัวใจ [6] มีการนำข้าวมาหมักเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากข้าว ได้แก่ ข้าวหมากมีโซะ (miso) สาเก สาโท และไวน์ข้าว มีงานวิจัยที่ใช้ข้าวเป็นสับสเตรท (substrate) สำหรับ *Lactobacillus rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* และ *Bifidobacterium* spp. [7, 8, 9, 10]

โพรไบโอติก หมายถึง อาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตสามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิต โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย [11, 12] โพรไบโอติกสามารถรื้อชีวิตในผลิตภัณฑ์อาหารได้น้อย [13, 14] การทำให้โพรไบโอติกมีชีวิตรอดในอาหารและระบบทางเดินอาหารได้นั้น มีหลายปัจจัย ได้แก่ ปริมาณสารอาหารออกซิเจนในผลิตภัณฑ์ จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น ความไวของหัวเชื้อต่อสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตขึ้น และสภาวะการเก็บรักษา [14, 15] มีรายงานว่า การเติมโพรไบโอติกให้มีจำนวนเริ่มต้น 7 - 9 log CFU ต่อกรัมในผลิตภัณฑ์ช่วยส่งเสริมการรอดชีวิตของโพรไบโอติกทั้งในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา [16]

อาหารเสริมโพรไบโอติกมีคุณสมบัติ เชิงหน้าที่ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคร้ายในลำไส้ ช่วยป้องกันการเกิดโรคท้องร่วง ท้องผูก ริดสีดวงทวาร ช่วยให้ระบบการย่อยและการดูดซึมสารอาหารดีขึ้น [12, 16, 17, 18, 19, 20] ลดความเสี่ยงของการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่

และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน [21, 22, 23] ปัจจุบันงานวิจัยผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่ไม่มีส่วนผสมของนม (non - dairy probiotic) กำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก มีการเสริมโพรไบโอติกในอาหารเหลวและอาหารแห้ง ได้แก่ ผักผลไม้ ธัญพืช ซ็อกโกแลต มาร์มาเลด น้ำผึ้ง ท็อฟฟี่ และเนื้อสัตว์ เป็นต้น [10, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31] แต่ยังไม่รายงานการเสริมโพรไบโอติกลงในข้าวหุงสุกพันธุ์พื้นเมือง

งานวิจัยนี้ต้องการศึกษาการใช้ข้าวพันธุ์พื้นเมืองของไทย ได้แก่ ข้าวธัญลิริน และข้าวหอมล้านนา เพื่อเป็นสารอาหารสำหรับโพรไบโอติก โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการรอดชีวิตของ *Lactobacillus rhamnosus* TISTR 047, *L. rhamnosus* TISTR 108 และ *L. plantarum* TISTR 951 ในข้าวธัญลิรินและหอมล้านนาหุงสุกในระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และศึกษาการรอดชีวิตของโพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

2. วัตถุประสงค์และวิธีการทดลอง

2.1 วัตถุประสงค์และจุลินทรีย์

ข้าวธัญลิริน (ข้าวเหนียวสีขาว) และข้าวหอมล้านนา (ข้าวเจ้าสีดํา) ซื้อจากสถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตรมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา จังหวัดลําปาง และซื้อถุงลามิเนตชนิด OPP/PE/AL/PE/LLDPE หนา 110 ± 10 ไมโครเมตร จากบริษัท เจนจรัส เคมีซัพพลาย จำกัด และซื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Lactobacillus rhamnosus* TISTR 047, *L. rhamnosus* TISTR 108 และ *L. plantarum* TISTR 951 จากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

2.2 วิธีการทดลอง

2.2.1 การเตรียมกล้าเชื้อ

เพาะเลี้ยงโพรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์ ได้แก่ TISTR 047, TISTR 108 และ TISTR 951 ลงในอาหารเหลว MRS ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และตรวจหาจำนวนโพรไบโอติก โดยวัดค่า optical density (O.D.) ด้วย

เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV/VIS spectrophotometer, T80) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) เพื่อประเมินจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น

เตรียมกล้าเชื้อแต่ละสายพันธุ์ให้มีจำนวนเริ่มต้น 9 log CFU ต่อมิลลิลิตร นำไปหมუნเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (refrigerated centrifuge, Changsha Yingtai, TGL20) ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 นาที ล้างเซลล์ด้วยการหมุนเหวี่ยงด้วยน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 จำนวน 2 รอบ และเติมน้ำเกลือดังกล่าว ปริมาตร 10 มิลลิลิตร สำหรับใช้เป็นเซลล์ที่มีชีวิตเพื่อใช้เติมลงในผลิตภัณฑ์ โดยให้มีจำนวนเซลล์เริ่มต้น 7 log CFU ต่อกรัม

2.2.2 การเตรียมข้าวหุงสุกเสริมโพรไบโอติก

นึ่งข้าวเหนียวธัญลิรินและหุงข้าวหอมล้านนาจนกระทั่งเม็ดข้าวสุกดี เดิมกล้าเชื้อแต่ละสายพันธุ์ลงในข้าวเหนียวและข้าวเจ้า ให้มีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น 7 log CFU ต่อกรัม บรรจุลงในถุงลามิเนต ถุงละ 20 กรัม ปิดผนึกด้วยเครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศ (vacuum sealer, Supravac, B3G) และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง นำไปเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 12 วัน ตรวจหาจำนวน โพรไบโอติกที่มีชีวิตในระหว่างการบ่มที่ 0 12 และ 24 ชั่วโมง และในระหว่างการเก็บรักษา ทุกๆ 3 วัน เป็นเวลานาน 12 วัน ทดลอง 3 ซ้ำ

2.2.3 การตรวจหาจำนวนโพรไบโอติกที่รอดชีวิต

เพาะเลี้ยงเซลล์ TISTR 047, TISTR 108 และ TISTR 951 ลงในอาหารแข็ง MRS และบ่มในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ (anaerobic chamber, Merck) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และตรวจนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต

2.2.4 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์

เลือกตัวอย่างข้าวธัญลิรินและหอมล้านนาหุงสุกที่เติมโพรไบโอติกสายพันธุ์ที่มีจำนวนจุลินทรีย์รอดชีวิตมากที่สุดในการเก็บรักษา มาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ โดยส่งตรวจที่ศูนย์บริการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เตรียมตัวอย่างโดยแช่ลงในสารละลายกลูตาเลดีไฮด์ 2% โดยปริมาตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ (pH 7.2) ในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์จำนวน 2 ครั้ง และทำให้แห้งด้วยสารละลายเอทานอล (30, 50, 70, 95 และ 100 %) ที่จุดวิกฤต และเคลือบด้วยทอง ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM) (JEOL, JSM - 5910 - LV) กำลังขยาย 10,000 เท่า ด้วยกำลังไฟฟ้า 15 kV.

2.2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ($p \leq 0.05$)

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

การเติมโพรไบโอติกสายพันธุ์ TISTR 047, TISTR 108 และ TISTR 951 ลงในข้าวหุงสุกพันธุ์พื้นเมืองให้มีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น 7.50 - 7.78 log CFU ต่อกรัม บรรจุใส่ถุงลามิเนตปิดผนึกแบบสุญญากาศ และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ผลของจำนวนโพรไบโอติกที่มีชีวิตบนข้าวธัญลิรินหุงสุกในระหว่างการบ่มแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนโพรไบโอติก 3 สายพันธุ์ ในข้าวธัญลิรินหุงสุกในระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

สายพันธุ์โพรไบโอติก	จำนวนโพรไบโอติกในข้าวธัญลิริน (log CFU ต่อกรัม)		
	ระยะเวลาการบ่ม (ชั่วโมง)		
	0 ^{ns}	12 ^{ns}	24
<i>L. rhamnosus</i> TISTR 047	7.78 ± 0.04	7.92 ± 0.21	7.97 ± 0.10 ^a
<i>L. rhamnosus</i> TISTR 108	7.75 ± 0.03	7.23 ± 0.25	7.07 ± 0.02 ^b
<i>L. plantarum</i> TISTR 951	7.50 ± 0.04	6.77 ± 0.18	6.53 ± 0.21 ^b

^{ns} แนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

^{a, b} อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 1 เปรียบเทียบจำนวน TISTR 047, TISTR 108 และ TISTR 951 ในข้าวธัญลิรินหุงสุกในระหว่างการบ่มเป็นระยะเวลา 0 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่า จำนวนโพรไบโอติกที่มีชีวิตเริ่มต้นทั้ง 3 สายพันธุ์ ไม่แตกต่างกัน และเมื่อระยะเวลาการบ่มนาน 12 ชั่วโมง จำนวนโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ ก็ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่เมื่อระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นเป็น 24 ชั่วโมง พบว่า สายพันธุ์ TISTR 047 มีจำนวนมากที่สุด 7.97 log CFU ต่อกรัม ส่วนอีกสองสายพันธุ์มีจำนวนไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) สรุปได้ว่า TISTR 047 มีจำนวนเพิ่มขึ้น 0.19 log CFU ต่อกรัม จากจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นในระหว่างการบ่มนาน 24 ชั่วโมง ตามลำดับ

สำหรับข้าวหอมล้านนาหุงสุกที่เติมโพรไบโอติก และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ผลของจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก 3 สายพันธุ์ที่มีชีวิตในข้าวหอมล้านนาหุงสุกในระหว่างการบ่มใน

ตารางที่ 2 พบว่า จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นอยู่ในช่วง 7.38 – 7.78 log CFU ต่อกรัม จำนวน TISTR 108 และ TISTR 951 ในระหว่างการบ่มที่ 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ตัวอย่างที่เติม TISTR 047 มีจำนวนจุลินทรีย์มากที่สุดในระหว่างการบ่มนาน 12 และ 24 ชั่วโมง บ่งชี้ว่า ข้าวหอมล้านนา (พันธุ์ลูกผสมระหว่างข้าวหอมนิลกับข้าวป่าพันธุ์ *Oryza nivara*) น่าจะมีสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของ TISTR 047 มากกว่าจุลินทรีย์อีกสองสายพันธุ์ หรือการเก็บโพรไบโอติกไว้ในข้าวหอมล้านนาหุงสุกที่บ่มในสภาวะดังกล่าวเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์ TISTR 047 มากกว่าอีกสองสายพันธุ์ โดยพบว่าจำนวน TISTR 047 เพิ่มขึ้น 0.28 และ 0.37 log CFU ต่อกรัม ในระหว่างการบ่มนาน 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ

ตารางที่ 2 จำนวนโพรไบโอติก 3 สายพันธุ์ ในข้าวหอมล้านนาหุงสุกในระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

สายพันธุ์โพรไบโอติก	จำนวนโพรไบโอติกในข้าวหอมล้านนา (log CFU ต่อกรัม)		
	ระยะเวลาการบ่ม (ชั่วโมง)		
	0 ^{ns}	12 ^{ns}	24
L. rhamnosus TISTR 047	7.78 ± 0.05	8.06 ± 0.23 ^a	8.15 ± 0.06 ^a
L. rhamnosus TISTR 108	7.70 ± 0.04	7.14 ± 0.19 ^b	7.09 ± 0.06 ^b
L. plantarum TISTR 951	7.38 ± 0.07	6.68 ± 0.07 ^b	6.33 ± 0.19 ^b

^{ns} แนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

^{a, b} อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 1 และ 2 จะเห็นได้ว่า ข้าวธัญลิริน ซึ่งเป็นข้าวที่ปรับปรุงพันธุ์มาจากข้าวเหนียว กข 6 พบจำนวน TISTR 047 มากกว่า TISTR 108 และ TISTR 951 ในระหว่างการบ่มที่ 24 ชั่วโมง ในขณะที่ข้าวหอมล้านนามีจำนวน TISTR 047 มากกว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นในระหว่างการบ่มเพียง 12 ชั่วโมง ทั้งนี้เนื่องจาก TISTR 047 สามารถนำสารอาหารจากข้าวหอมล้านนาไปใช้ในการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ดีกว่าข้าวธัญลิริน เพราะข้าวหอมล้านนาเป็นข้าวเจ้าซึ่งมีปริมาณอะมิโลส (amylose) สูงกว่าอะมิโลเพกติน (amylopectin) ส่วนข้าวเหนียวธัญลิรินประกอบด้วยแป้งซึ่งมีปริมาณอะมิโลเพกตินสูงกว่าอะมิโลส ดังนั้นจุลินทรีย์จึงสามารถ

สร้างเอนไซม์เพื่อย่อยสลายกลูโคสจากอะมิโลสซึ่งมีโครงสร้างเป็นสายโซ่ตรงเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ง่ายกว่าอะมิโลเพกตินซึ่งมีโครงสร้างขนาดใหญ่และเป็นสายโซ่ที่มีกิ่งก้านมากกว่า

จากตารางที่ 1 และ 2 จำนวน TISTR 047 ในข้าวธัญลิรินและหอมล้านนาไม่แตกต่างกันในระหว่างการบ่มนาน 12 และ 24 ชั่วโมง (ข้อมูลไม่ได้แสดง) ดังนั้นในขั้นตอนต่อไปในระหว่างการเก็บรักษา จึงเลือกระยะเวลาการบ่มนาน 12 ชั่วโมง แล้วเก็บรักษาในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 วัน ผลการตรวจติดตามจำนวนโพรไบโอติกที่รอดชีวิตแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 จำนวนโพรไบโอติกที่มีชีวิตรอด 3 สายพันธุ์ ในข้าวธัญลิรินหุงสุกในระหว่างการเก็บ รักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 12 วัน

สายพันธุ์โพรไบโอติก	จำนวนโพรไบโอติกในข้าวธัญลิริน (log CFU ต่อกรัม)				
	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)				
	0 ^{ns}	3	6	9	12
L. rhamnosus TISTR 047	7.78 ± 0.04	7.97 ± 0.01 ^a	7.89 ± 0.12 ^a	7.72 ± 0.25 ^a	7.63 ± 0.38 ^a
L. rhamnosus TISTR 108	7.75 ± 0.03	5.97 ± 0.04 ^b	5.86 ± 0.42 ^b	5.65 ± 0.18 ^b	5.40 ± 0.35 ^b
L. plantarum TISTR 951	7.50 ± 0.04	6.10 ± 0.24 ^b	5.91 ± 0.06 ^b	5.73 ± 0.18 ^b	5.62 ± 0.03 ^b

^{ns} แนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

^{a, b} อักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จำนวนโพรไบโอติกที่มีชีวิตรอด 3 สายพันธุ์ ในข้าวธัญลิรินหุงสุกในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 3) พบว่า สายพันธุ์ TISTR 047 มีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตรอดได้มากที่สุดในการเก็บนาน 3 6 9 และ 12 วัน และมีจำนวนไม่แตกต่างจากจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น (ข้อมูลไม่ได้แสดง) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ TISTR 108 และ TISTR 951 ในระหว่างการเก็บรักษาที่ระยะเวลาเท่ากัน พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งสองไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับจำนวนจุลินทรีย์ในระหว่างการบ่ม

(ตารางที่ 1) ที่พบว่า จำนวน TISTR 047 มากกว่าสายพันธุ์อื่นๆ ในระหว่างการบ่มนาน 24 ชั่วโมง แสดงว่า จุลินทรีย์สายพันธุ์ TISTR 047 สามารถเจริญเติบโตในระหว่างการบ่ม และรอดชีวิตได้ดีในระหว่างการเก็บรักษาในข้าวธัญลิรินหุงสุกมากกว่าจุลินทรีย์อีกสองสายพันธุ์

สำหรับการเก็บโพรไบโอติก TISTR 047, TISTR 108 และ TISTR 951 ไว้ในข้าวหอมล้านนาหุงสุกที่อยู่ในอุณหภูมิในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิต่ำ เป็นระยะเวลา 12 วัน ผลของการตรวจติดตามจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 จำนวนโพรไบโอติกที่มีชีวิตรอด 3 สายพันธุ์ ในข้าวหอมล้านนาหุงสุกในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 วัน

สายพันธุ์ โพรไบโอติก	จำนวนโพรไบโอติกในข้าวหอมล้านนา (log CFU ต่อกรัม)				
	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)				
	0 ^{ns}	3	6	9	12
L. rhamnosus TISTR 047	7.78 ± 0.05	8.10 ± 0.35 ^a	8.00 ± 0.07 ^a	8.12 ± 0.01 ^a	7.75 ± 0.35 ^a
L. rhamnosus TISTR 108	7.70 ± 0.04	6.55 ± 0.07 ^b	5.85 ± 0.42 ^b	5.76 ± 0.04 ^b	5.69 ± 0.06 ^b
L. plantarum TISTR 951	7.38 ± 0.07	6.38 ± 0.19 ^b	5.95 ± 0.35 ^b	5.73 ± 0.04 ^b	5.60 ± 0.33 ^b

^{ns} แนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

^{a, b} อักษรที่แตกต่างตามแนวตั้งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4 พบว่า TISTR 047 สามารถรอดชีวิตในข้าวหอมล้านนาหุงสุกได้มากที่สุดในการเก็บรักษานาน 3 6 9 และ 12 วัน ส่วน TISTR 108 และ TISTR 951 มีจำนวนไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p > 0.05$) ผลการทดลองสอดคล้องกับการบ่มในตารางที่ 2 ที่พบจำนวน TISTR 047 มากกว่า TISTR 108 และ TISTR 951 ในระหว่างการบ่ม แสดงให้เห็นว่า TISTR 047 เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญและรอดชีวิตได้ดีกว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นๆ ในข้าวหอมล้านนาหุงสุกทั้งในระหว่างการบ่มและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

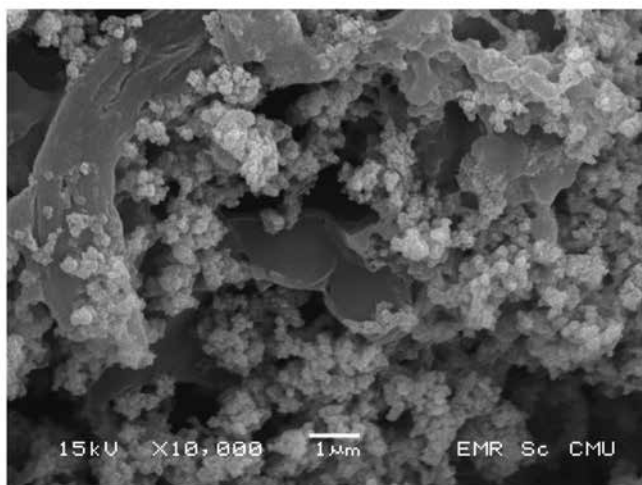
ดังนั้นอาจสรุปได้ว่า ข้าวธัญลิรินและข้าวหอมล้านนา

หุงสุกที่เติม TISTR 047 มีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งในระหว่างการบ่มและการเก็บรักษามากกว่า TISTR 108 และ TISTR 951 บ่งชี้ว่า TISTR 047 เป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บไว้ในข้าวหุงสุกพันธุ์พื้นเมืองทั้งสองสายพันธุ์ หรือสภาวะการบ่มและสภาวะการเก็บรักษาข้าวหุงสุกพันธุ์พื้นเมืองทั้งสองสายพันธุ์เป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ TISTR 047

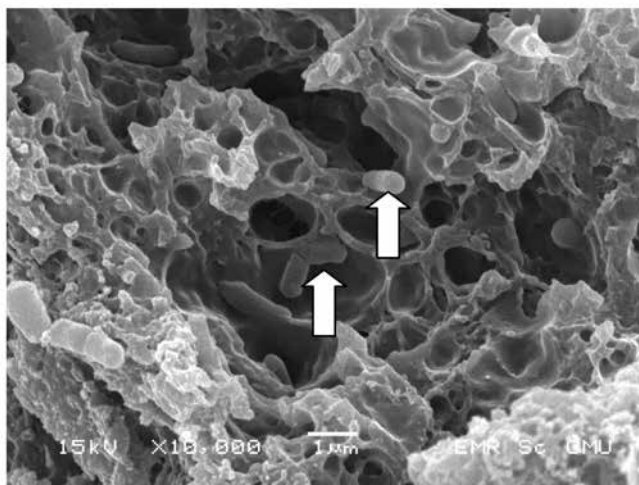
สำหรับการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์บนข้าวหุงสุกพันธุ์พื้นเมืองทั้งสองสายพันธุ์ โดยเลือกตัวอย่างข้าวธัญลิรินและข้าวหอมล้านนาหุงสุกที่เติม

โพรไบโอติกสายพันธุ์ TISTR 047 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตรอดมากที่สุดในช่วงการเก็บรักษา นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง และเก็บรักษาในถุงลามิเนตแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 4

องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 12 วัน ผลการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงในรูปที่ 1



(ก)



(ข)

รูปที่ 1 Scanning Electron Microscope ของเซลล์ *L. rhamnosus* TISTR 047 ที่ยัดเกาะบน (ก) ข้าวธัญลิริน และ (ข) ข้าวหอมล้านนา หุงสุกในช่วงการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 วัน

การเก็บ TISTR 047 บนข้าวธัญลิรินทุ่งสูงในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 12 วัน ผลการตรวจสอบไม่พบ TISTR 047 รอดชีวิตหลงเหลือในตัวอย่าง (รูปที่ 1 ก) อาจเนื่องมาจากจุลินทรีย์ถูกชะล้างออกไปในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ซึ่งต้องแช่ตัวอย่างในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ 1 ชั่วโมง คั้น และนำตัวอย่างไปทำให้แห้งก่อนนำมาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน จึงไม่สามารถตรวจพบเซลล์ที่มีชีวิตรอดในตัวอย่างดังกล่าวได้

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ TISTR 047 ที่ยึดเกาะบนตัวอย่างข้าวหอมล้านนาทุ่งสูง รูปที่ 1 (ข) แสดงให้เห็นว่า จุลินทรีย์มีลักษณะที่เป็นทั้งเซลล์เดี่ยว (single cell) คู่ หรือสายสั้นๆ และมีการยึดเกาะ (adhere) บนตัวอย่างเพื่อหาอาหาร แบ่งเซลล์ และเพิ่มจำนวน ซึ่งเป็นลักษณะที่สำคัญของเกณฑ์การประเมินว่าเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก [32] มีรายงานว่า *L. rhamnosus* สามารถสร้างสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ออกมาภายนอกเซลล์ (exopolysaccharide) ในระหว่างการเจริญได้ [33] จากรูปที่ 1 (ข) จะเห็นได้ว่า มีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตร่อนน้อยกว่าการตรวจนับในระหว่างการเก็บรักษา (ตารางที่ 4) ทั้งนี้เนื่องจากขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ทำให้จำนวนจุลินทรีย์ที่เหลือรอดชีวิตบนตัวอย่างน้อยลง จากการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนยังพบว่า TISTR 047 ที่เหลือรอดชีวิตส่วนใหญ่จะอยู่ตามโพรงหรือบริเวณส่วนที่ลึกเข้าไปข้างในตัวอย่าง อาจเป็นเพราะจุลินทรีย์สามารถใช้สารอาหารได้ง่ายกว่า หรือเป็นบริเวณที่เหมาะสมสำหรับการยึดเกาะของเซลล์มากกว่า หรือจุลินทรีย์ที่อยู่บริเวณผิวด้านบนของตัวอย่างถูกชะล้างออกไปในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง จึงมักตรวจพบเซลล์ที่เหลือรอดชีวิตเจริญอยู่บริเวณของเนื้อด้านในตัวอย่างมากกว่าผิวด้านนอก หรือบริเวณด้านตัดขวางของตัวอย่าง

4. สรุปผลการทดลอง

ข้าวทุ่งสูงพันธุ์พื้นเมืองได้แก่ ข้าวธัญลิริน และข้าวหอมล้านนาเป็นแหล่งสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและการรอดชีวิตของจุลินทรีย์สายพันธุ์ TISTR 047 ทั้งในระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยสามารถ

นำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารหมักจากธัญพืชและเนื้อสัตว์ต่อไปได้

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2556 และขอขอบคุณผู้จัดการบริษัทพีโอ (ไทยแลนด์) และบริษัททินกรเคมีคอล แอนด์ ชัพพลาย จำกัด ที่อนุเคราะห์ อินูลิน (Orafti® HP) และน้ำตาลฟรุคโตส (food grade) สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในงานวิจัยนี้

6. เอกสารอ้างอิง

1. Yang, Y., Rao, Y., Xu, J., Shao, G., Leng, Y., Huang, L., Wang, L., Dai, L., Zhang, G., Hu, J., Zhu, L., Li, C., Gao, Z., Guo, L., Qian, Q. and Zeng, D., 2014, "Genetic Analysis of Sugar-related Traits in Rice Grain," *South African Journal of Botany*, 93, pp. 137-141.
2. Wangpakapattanawong, P., 2010, "Nutrition of Rice and Innovation of Use," *Thai Journal of Clinical Nutrition*, 4 (1), pp. 32-40. (In Thai)
3. Katsuta, K., Nishimura, A. and Miura, M., 1992, "Effects of Saccharides on Stabilities of Rice Starch Gels. 2. Oligosaccharides," *Food Hydrocolloids*, 6 (4), pp. 399-408.
4. Arendt, E.K. and Zannini, E., 2013, "Rice", *Cereal Grains for the Food and Beverage Industries*, pp. 114-154.
5. Food and Agriculture Organization (FAO), 2004, "Rice and Human Nutrition," [online]. Available from : <http://www.fao.org/rice2004/en/f-sheet/factsheet3.pdf> [2014, July 08].
6. Srilaong, V., 2014, "Nutrients in Rice," [online]. Available from: <http://www.thammculture.com/th> [2014, May 08]. (In Thai)
7. Helland, M.H., Wicklund, T. and Narvhus, J.A., 2004, "Growth and Metabolism of Selected Strains of Probiotic Bacteria in Milk- and Water-based

Cereal Puddings,” *International Dairy Journal*, 14, (11), pp. 957-965.

8. Saman, P., Fuciños, P., Vázquez, J.A. and Pandiella, S.S., 2011, “Fermentability of Brown Rice and Rice Bran for Growth of Human *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826,” *Food Technology and Biotechnology*, 49 (1), pp. 128-132.

9. Nguyen, T.T.T., Guyot, J., Icard-Vernière, C., Rochette, I. and Loiseau, G., 2014, “Effect of High Pressure Homogenisation on the Capacity of *Lactobacillus plantarum* A6 to Ferment Rice/Soybean Slurries to Prepare High Energy Density Complementary Food,” [online]. Available from : <http://www.aseanfood.info/Articles/13005737.pdf> [2014, July 08].

10. Song, D., Ibrahim, S. and Hayek, S., 2014, “Recent Application of Probiotics in Food and Agricultural Science,” [online]. Available from : http://cdn.intechopen.com/pdfs/39607/InTech-Recent_application_of_probiotics_in_food_and_agricultural_science.pdf [2014, July 08].

11. Fuller, R., 1989, “Probiotics in Man and Animals,” *Journal of Applied Bacteriology*, 66 (5), pp. 365-378.

12. Ziemer, C.J. and Gibson, G.R., 1998, “An Overview of Probiotics, Prebiotics and Synbiotics in the Functional Food Concept : Perspectives and Future Strategies,” *International Dairy Journal*, 8 (5-6), pp. 473-479.

13. Shah, N.P., Lankaputhra, W.E. V., Britz, M.L. and Kyle, W.S.A., 1995, “Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in Commercial Yoghurt during Refrigerated Storage,” *International Dairy Journal*, 5 (5), pp. 515-521.

14. Shah, N.P., Ali, J.F. and Ravula, R.R., 2000, “Populations of *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* spp., and *L. casei* in Commercial Fermented Milk Products”, *Bioscience and Microflora*, 19 (1), pp.

35-39.

15. Tamime, A.Y., Saarela, M., Sondergaard, K., Mistry, V.V. and Shah, N. P., 2005, “Production and Maintaining Viability of Probiotics,” in A.Y. Tamime (Ed.), *Probiotic Dairy Products*, Blackwell, Oxford, pp. 39-72.

16. Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J. and Mattila-Sandholm, T., 2000, “Probiotic Bacteria: Safety, Functional and Technological Properties,” *Journal of Biotechnology*, 84 (3), pp. 197-215.

17. Saarela, J.S., 2000, “Probiotics and infectious diarrhea,” *The American Journal of Gastroenterology*, 95 (1 Suppl), pp. S16-S18.

18. Zubillaga, M., Weill, R., Postaire, E., Goldman, C., Caro, R. and Boccio, J., 2001, “Effect of Probiotics and Functional Foods and their use in Different Diseases,” *Nutrition Research*, 21 (3), pp. 569-579.

19. Gibson, G.R., 2004, “Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept),” *Clinical Nutrition Supplements*, 1 (2), pp. 25-31.

20. Šušković, J., Kos, B., Beganović, J., Pavunc, A.L., Habjanič, K., and Matošić, S., 2010, “Antimicrobial Activity - The most Important Property of Probiotic and Starter lactic Acid Bacteria,” *Food Technology and Biotechnology*, 48 (3), pp. 296-307.

21. Perdigon, G., Alvarez, S., Rachid, M., Agüero, G. and Gobbato, N., 1995, “Immune System Stimulation by Probiotics,” *Journal of Dairy Science*, 78 (7), pp. 1597-1606.

22. Brady, L.J., Gallaher, D.D. and Busta, F.F., 2000, “The Role of Probiotic Cultures in the Prevention of Colon Cancer,” *The Journal of Nutrition*, 130 (2S Suppl), pp. 410S-414S.

23. Boge, T., Rémy, M., Vaudaine, S., Tanguy, J., Bourdet-Sicard, R. and vander Werf, S., 2009,

"A Probiotic Fermented Dairy Drink Improves Antibody Response to Influenza Vaccination in the Elderly in Two Randomized Controlled Trials," *Vaccine*, 27 (41), pp. 5677-5684.

24. Betoret, N., Puente, L., Diaz, M. J., Pagán, M. J., Garcia, M. J., Gras, M. L., Martínez-Monzó, J. and Fito, P., 2003, "Development of Probiotic-enriched Dried Fruits by Vacuum Impregnation," *Journal of Food Engineering*, 56 (2-3), pp. 273-277.

25. Kourkoutas, Y., Xolias, V., Kallis, M., Bezirtzoglou, E. and Kanellaki, M., 2005, "Lactobacillus casei Cell Immobilization on Fruit Pieces for Probiotic Additive, Fermented Milk and Lactic Acid Production," *Process Biochemistry*, 40 (1), pp. 411-416.

26. Espírito Santo, A.P.D., Perego, P., Converti, A. and Oliveira, M.N., 2011, "Influence of Food Matrices on Probiotic Viability - A Review Focusing on the Fruity Bases," *Trends in Food Science & Technology*, 22 (7), pp. 377-385.

27. Prado, F.C., Parada, J.L., Pandey, A. and Soccol, C.R., 2008, "Trends in Non-dairy Probiotic Beverages," *Food Research International*, 41 (2), pp. 111-123.

28. Lamsal, B.P. and Faubion, J.M., 2009, "The Beneficial Use of Cereal and Cereal Components in Probiotic Foods," *Food Reviews International*, 25, pp. 103-114.

29. Rivera-Espinoza, Y. and Gallardo-Navarro, Y., 2010, "Non-dairy Probiotic Products," *Food Microbiology*, 27, (1), pp. 1-11.

30. Rathore, S., Salmerón, I., Pandiella, S.S., 2012, "Production of Potentially Probiotic Beverages Using Single and Mixed Cereal Substrates Fermented with Lactic Acid Bacteria Cultures," *Food Microbiology*, 30 (1), pp. 239-244.

31. Vasudha, S. and Mishra, H.N., 2013, "Non Dairy Probiotic Beverages," *International Food Research Journal*, 20 (1), pp. 7-15.

32. Chaiyasut, C. and Sisilun, S., 2010, "Probiotic: Alternative Microorganisms for Health," *Bureau of Alternative Medicine*, 3 (3), pp. 4-16. (In Thai)

33. Champagne, C.P., Gardner, N. J. and Lacroix, C., 2007, "Fermentation Technologies for the Production of Exopolysaccharide - Synthesizing Lactobacillus rhamnosus Concentrated Cultures," *Electronic Journal of Biotechnology*, 10 (2), pp. 211-220.

