

การคัดแยกและยีสต์จากลูกแป้งเพื่อใช้ในการพัฒนาและยกระดับผลิตภัณฑ์สาโทจากข้าวพันธุ์พื้นเมืองบุรีรัมย์และสุรินทร์

ประภาพันธุ์ ศิริจันทร์แสง^{1*} ประภัสรา ศิริจันทร์แสง² และ ญัฐพงษ์ สวัสดิ์¹

¹คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

²คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์

¹439 ถนนจิระ ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ 3100

²186 หมู่ 1 ถนนสุรินทร์-ปราสาท ตำบลนอกเมือง อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์ 32000

รับบทความ 12 มิถุนายน 2566 แก้ไขบทความ 23 พฤศจิกายน 2567 ตอรับบทความ 7 มกราคม 2568

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกและยีสต์จากลูกแป้งให้ได้ราและยีสต์ที่เหมาะสมต่อการผลิตสาโทจากข้าวจีบและข้าวผกาอำปิล โดยนำลูกแป้ง 20 ตัวอย่าง มาคัดแยกราเส้นใยและยีสต์ด้วยวิธี Aerobic plate count (APC) และ Enrichment technique (ET) พบว่าวิธี APC แยกได้ 90 ไอโซเลท และแยกยีสต์ได้ 50 ไอโซเลท แล้วนำราและยีสต์ที่แยกได้ไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมี พบว่าแยกราที่ต่างกันได้ 6 ไอโซเลท และแยกยีสต์ที่ต่างกันได้ 2 ไอโซเลท และระบุชนิดของเชื้อได้ดังนี้คือ *Aspergillus flavus* *A. oryzae* *A. niger* *Mucor indicus* และ *Saccharomycopsis fibuligera* โดยเชื้อ *A. flavus* และ *S. fibuligera* ที่ได้จะนำมาศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยแป้งและใช้ในการผลิตสาโทต่อไป การแยกราเส้นใยและยีสต์ด้วยวิธี ET สามารถแยกราได้ทั้งหมด 7 ไอโซเลท และแยกยีสต์ได้ทั้งหมด 115 ไอโซเลท การศึกษาประสิทธิภาพของราในการย่อยแป้งพบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสของเชื้อ *A. flavus* และ *S. fibuligera* มีค่า 3.41 ± 0.22 และ 2.93 ± 0.11 เซนติเมตรตามลำดับ การผลิตสาโทจากราและยีสต์ที่แยกได้ใช้ความเข้มข้นของราเริ่มต้นเท่ากับ 0.57×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และยีสต์เท่ากับ 1.00×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร หมักครบเวลา 3 วัน แล้วผ่านน้ำโดยเติมน้ำเชื่อมความเข้มข้น 16 องศาบริกซ์ ปริมาตร 1.5 ลิตรต่อข้าว 1 กิโลกรัม เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักเป็นเวลา 7 วัน พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของสาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปิลมีค่าเท่ากับ 12.73 ± 0.09 และ 13.20 ± 0.20 องศาบริกซ์ตามลำดับ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าเท่ากับ 137.05 ± 0.00 และ 141.45 ± 0.01 กรัมต่อลิตร ในสาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปิล ตามลำดับ ค่า pH เท่ากับ 3.64 ± 0.21 และ 4.14 ± 0.09 ในสาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปิลตามลำดับ และปริมาณแอลกอฮอล์ของสาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปิลมีค่าเท่ากับ 4.50 ± 0.74 และ 4.26 ± 0.32 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรตามลำดับ

คำสำคัญ : ลูกแป้ง; สาโท; ข้าวจีบ; ข้าวผกาอำปิล

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทร: +669 9649 6995, อีเมล: prapaparn.sk@bru.ac.th

Identification of Molds and Yeasts Isolated from Loog Pang for Development and Improvement of Sato Production from Buriram and Surin Indigenous Rice

Prapaparn Sirikhansaeng^{1*} Prapussara Sirikhansaeng² and Nuttapong Sawasdee¹

¹Faculty of Science, Buriram Rajabhat University

²Faculty of Science and Technology, Surindra Rajabhat University

¹439 Jira Road, Naimuang Sub-district, Muang District, Buriram, 31000

²186 Moo 1 Surin-Prasat Road, Nok Mueang Subdistrict, Mueang District, Surin, 32000

Received 12 June 2023; Revised 23 November 2024; Accepted 7 January 2025

Abstract

This research aimed to identify molds and yeasts from Loog pang for Sato production from Jib and Paka Umpul rice. A total of 20 Loog pang samples were screened for molds and yeasts, and the results revealed the presence of 90 mold isolates and 50 yeast isolates. The morphological and biochemical characteristics of these isolates were subsequently analyzed. It was found that 6 mold isolates and 2 yeast isolates were identified. The identified species included *Aspergillus flavus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Mucor indicus*, and *Saccharomycopsis fibuligera*. Following these findings, *A. flavus* and *S. fibuligera* were evaluated for their starch degradation efficiency and Sato production capabilities. From enrichment technique, 7 mold isolates and 115 yeast isolates were established. The starch degradation efficiency of *A. flavus* and *S. fibuligera* was assessed, revealing diameters of 3.41 ± 0.22 cm for *A. flavus* and 2.93 ± 0.11 cm for *S. fibuligera*. For Sato production using both rices, the starter concentrations of *A. flavus* and *S. fibuligera* were used at 0.57×10^7 and 1.00×10^7 cells/ml, respectively. On the 3rd day of fermentation, 1.50 liters of syrup (16.00 °Brix) was added to 1 kg of rice. After fermentation for 7 days, total soluble solids (TTS), reducing sugars (RS), pH, and alcohol content (AC) were evaluated. The results indicated that Jib rice Sato exhibited TTS of 12.73 ± 0.09 °Brix, RS content of 137.05 ± 0.00 g/l, pH of 3.64 ± 0.21 , and an AC of $4.50 \pm 0.74\%$ (v/v). In contrast, the Paka Umpul rice Sato showed TTS of 13.20 ± 0.20 °Brix, RS at 141.45 ± 0.01 g/l, pH of 4.14 ± 0.09 , and an AC of $4.26 \pm 0.32\%$ (v/v).

Keywords : Loog pang; Sato; Jib rice; Paka Umpul rice

* Corresponding Author. Tel.: +669 9649 6995, E-mail Address: prapaparn.sk@bru.ac.th

1. บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีพื้นที่ในการเพาะปลูกข้าวจำนวนทั้งสิ้น 68.86 ล้านไร่ ส่วนใหญ่อยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือตอนล่าง และภาคกลาง เป็นประเทศผู้ผลิตและส่งออกข้าวที่สำคัญของโลก โดยปี 2563/2564 ไทยมีผลผลิตข้าวสูงเป็นอันดับ 6 ของโลก คิดเป็น 3.7% ของผลผลิตข้าวทั่วโลก (รองจากจีน อินเดีย อินโดนีเซีย บังคลาเทศ และเวียดนามซึ่งมีสัดส่วนผลผลิต 29.30, 24.10, 7.00, 6.80 และ 5.40 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ) [1] จากข้อมูลเบื้องต้นจะเห็นว่า ประเทศไทยมีศักยภาพและความสามารถในการผลิตและส่งออกค่อนข้างสูง ดังนั้นหากมีการนำผลผลิตข้าวที่ได้มาทำการแปรรูปให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ ที่มีความหลากหลายและมีคุณภาพก็จะเป็นแนวทางหนึ่งที่สำคัญที่ช่วยเพิ่มมูลค่าผลผลิตของข้าว และช่วยป้องกันปัญหาผลผลิตข้าวล้นตลาดได้ กลุ่มเกษตรกรอินทรีย์บ้านลี้มทอง เลขที่ 82/1 หมู่ 4 บ้านลี้มทอง ตำบลหนองโสน อำเภอนางรอง จังหวัดบุรีรัมย์ มีการผลิตข้าวอินทรีย์หลากหลายชนิด เช่น ข้าวจีบ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวหอมมะลิ เป็นต้น โดยเฉพาะข้าวจีบซึ่งเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองของอำเภอนางรอง จังหวัดบุรีรัมย์ ซึ่งทางกลุ่มมีการดำเนินงานจัดเป็นแหล่งศึกษาเรียนรู้ให้กับเยาวชนในท้องถิ่น และนอกจากนี้ทางกลุ่มยังมีโรงสีข้าวเป็นของตนเองเพื่อใช้ในการแปรรูปผลผลิตข้าวออกจำหน่าย โดยผลผลิตที่ได้ส่วนใหญ่ทางกลุ่มจะจำหน่ายในรูปของข้าวสารบรรจุถุง ซึ่งทางกลุ่มยังขาดองค์ความรู้ในการแปรรูปข้าวให้มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น นอกจากกลุ่มเกษตรกรอินทรีย์บ้านลี้มทองแล้ว วิสาหกิจชุมชนแฮตอม ออร์แกนิก ฟาร์ม สุรินทร์ ก็เป็นอีกหนึ่งชุมชนที่ต้องการองค์ความรู้เพื่อนำมาใช้ในการแปรรูปผลผลิตจากข้าวด้วย โดยวิสาหกิจชุมชน แฮตอม ออร์แกนิก ฟาร์ม สุรินทร์ มีลักษณะการดำเนินงานแบบฟาร์มสเตย์ คือ ให้นักท่องเที่ยวเข้าพักและทำกิจกรรมต่าง ๆ ภายในฟาร์ม มีการให้ความรู้ในการทำนาแบบเกษตรอินทรีย์

และสามารถชมความหลากหลายของสายพันธุ์ข้าวได้ ทำให้มีนักท่องเที่ยวทั้งชาวไทยและชาวต่างชาติเข้าเยี่ยมชมเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ทางวิสาหกิจชุมชนดังกล่าวยังมีการผลิตและจำหน่ายสาโทจากพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ผลิตได้เองอีกด้วย ดังนั้นกลุ่มเกษตรกรอินทรีย์บ้านลี้มทอง และวิสาหกิจชุมชน แฮตอม ออร์แกนิก ฟาร์ม สุรินทร์ จึงมีความต้องการในด้านต่าง ๆ ดังนี้ 1) ผลิตสาโทข้าวพันธุ์พื้นเมืองโดยใช้องค์ความรู้ และเทคนิคในการผลิตสาโทที่มีคุณภาพได้ 2) ได้สาโทรสชาติดีเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค 3) สามารถควบคุมคุณภาพสาโท ทั้งทางกายภาพ เคมี และชีวภาพได้ตามมาตรฐานที่กรมสรรพสามิตกำหนด ซึ่งเป็นการนำไปใช้ประโยชน์โดยตรงของทั้ง 2 ชุมชน และยังเป็นการสร้างเอกลักษณ์และอัตลักษณ์ พร้อมทั้งมีการสร้างความหลากหลายในชนิดและรสชาติของสาโทอีกด้วย นอกจากนี้ยังเป็นการสร้างมูลค่าผลผลิตทางเกษตร และพัฒนาศักยภาพในการแข่งขัน ซึ่งจะนำไปสู่การพึ่งพาตนเองได้อย่างยั่งยืนของชุมชนอีกด้วย ดังนั้นหากมีการศึกษาการคิดแยกแยะและยีสต์จากลูกแบงก็จะสามารถนำราและยีสต์ที่คิดแยกได้มาใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สาโทให้มีคุณภาพได้ ซึ่งเป็นการสร้างนวัตกรรมสอดคล้องกับนโยบายการก้าวเข้าสู่ยุคประเทศไทย 4.0 (Thailand 4.0) และยิ่งไปกว่านั้นการที่ชุมชนทั้ง 2 แห่ง มีการเพาะปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองเพื่อการบริโภคและจำหน่ายถือเป็นการอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืชพื้นถิ่นของประเทศไทย ซึ่งจะสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของโครงการอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ที่อยากให้ประชาชนชาวไทยเข้าใจและเห็นความสำคัญของพันธุ์กรรมพืชและทรัพยากร

สาโทเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านของประเทศไทย ซึ่งมีการผลิตมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน การผลิตสาโทให้ได้คุณภาพดีนั้น จะต้องอาศัยปัจจัยหลาย ๆ ประการ เช่น หัวเชื้อแห้งหรือลูกแบง ชนิดของ

พันธุ์ข้าว เป็นต้น ลูกแป้งเป็นกล้าเชื้อที่เก็บในรูปของเชื้อแห้ง ใช้ในการผลิตอาหารหมักหลายชนิดในแถบเอเชีย [2] ในประเทศไทยมีการผลิตลูกแป้งมาแต่โบราณเพื่อใช้ในการทำขนม เช่น ขนมถ้วยฟู ขนมตาล หรือเครื่องตมพื้นบ้าน เช่น กระแซ่ อุ สาโท เป็นต้น ซึ่งลูกแป้งที่มีคุณภาพดีจะต้องโปร่งเบา สีขาวนวล ไม่มีรอยแตกร้าว ก่อนแป้งเป็นรูปพวงซึ่งเกิดจากการพองแป้งขณะบ่ม เมื่อใช้มือบีบจะหยุ่นเป็นผ่งละเอียดได้ง่ายไม่มีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว มีรูปร่างและลักษณะแตกต่างกัน ภายในมีเส้นใยราชิน้อยอยู่อย่างสม่ำเสมอ [2]-[4] ซึ่งกระบวนการหมักสาโททำโดยการนำข้าวเหนียวมาล้าง จากนั้นล้างเมือกข้าวออกแล้วนำไปตากให้สะเด็ดน้ำ คลุกเคล้าด้วยหัวเชื้อแห้ง หมักทิ้งไว้ประมาณ 10-14 วัน โดยราที่อยู่ในลูกแป้งจะทำการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล และยีสต์จะช่วยย่อยน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งจะมีแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี โดยสาโทเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดไวน์ข้าว (Rice wine) [5] นอกจากนี้ยีสต์และรายังมีความสามารถในการใช้น้ำตาลและแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันและจะมีช่วงระยะเวลาในการเจริญที่แตกต่างกัน [2], [4] ซึ่งยีสต์และรายังเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อรสชาติของสาโท [4] และการใช้ลูกแป้งไม่สามารถควบคุมคุณภาพของสาโทให้คงที่ได้เนื่องจากกระบวนการผลิตลูกแป้งแบบดั้งเดิมไม่สามารถควบคุมคุณภาพทางกายภาพ เคมี และชีวภาพให้คงที่ได้เนื่องจากขึ้นอยู่กับกรรมวิธีวัตถุดิบ วิธีการทำลูกแป้ง สภาพอากาศ ระดับความชื้นสัมพัทธ์ ตลอดจนการจัดเก็บรักษาลูกแป้งที่ไม่เหมาะสมเป็นการเพิ่มความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนและการสูญเสียจุลินทรีย์ที่จำเป็นต่อการหมัก การผลิตสาโทจากจุลินทรีย์บริสุทธิ์จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการควบคุมคุณภาพของสาโทให้มีมาตรฐานได้ [6] หากมีการศึกษาการคัดแยกและยีสต์จากลูกแป้งก็จะสามารถนารายีสต์ที่คัดแยกได้ไปผลิตเป็นสาโทที่มีคุณภาพได้ เนื่องจากการใช้เชื้อบริสุทธิ์จะทำให้คุณภาพของสาโทคงที่กว่าการใช้จุลินทรีย์ผสม (Mixed culture) ที่อยู่ในลูกแป้ง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการคัดแยกและ

ยีสต์จากลูกแป้งในจังหวัดบุรีรัมย์และจังหวัดสุรินทร์ เพื่อให้ได้รายีสต์ที่เหมาะสมต่อการผลิตสาโทข้าวพันธุ์พื้นเมืองจังหวัดบุรีรัมย์และสุรินทร์ให้ได้คุณภาพ

2. ระเบียบวิธีวิจัย

2.1 การสุ่มเก็บตัวอย่างลูกแป้ง

สุ่มเก็บตัวอย่างลูกแป้งที่ใช้ในการผลิตสาโทในจังหวัดบุรีรัมย์ และจังหวัดสุรินทร์ โดยเก็บลูกแป้งแหล่งละ 10 ลูก และเก็บรักษาในถุงพลาสติกซิปล็อคเพื่อแยกไม่ให้ปะปนกัน หลังจากนั้นนำลูกแป้งมากำหนดรหัส และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสหรือจนกว่าจะนำไปทำการคัดแยกและยีสต์ต่อไป

2.2 การจำแนกรายเส้นใยและยีสต์จากลูกแป้งโดยวิธี Aerobic plate count

นำลูกแป้งมาบดในโถรงบดที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ โดยบดให้ละเอียด จากนั้นจึงชั่งลูกแป้งที่ทำการบดแล้ว 10 กรัม ลงใน 0.85 เปอร์เซ็นต์ NaCl ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ เจือจางทีละ 10 เท่าจนได้ระดับการเจือจางที่ 10^{-1} - 10^{-6} ถ่ายตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนผิวหน้าอาหารแข็ง YM (Yeast Malt agar) สำหรับเลี้ยงยีสต์ PDA (Potato dextrose agar) สำหรับเลี้ยงราเส้นใย และ DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol agar) สำหรับนับจำนวนยีสต์และราเส้นใย เกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี คัดเลือกโคโลนีของราเส้นใยและยีสต์ จากนั้นนำโคโลนีที่ทำการคัดเลือกมาทำการขีดลากลงบนอาหารแข็ง YM และ PDA โดยทำเช่นนี้จำนวน 3 ซ้ำหรือจนกระทั่งได้เชื้อบริสุทธิ์ แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อทำการทดสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่อไป (ดัดแปลงจาก [3], [7])

2.2.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราเส้นใยที่คัดแยกได้

นำราเส้นใยที่คัดแยกได้จากข้อ 2.2 มาศึกษาการเจริญบนอาหารแข็ง PDA และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยการเลี้ยงราโดยใช้เทคนิค slide culture

2.2.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ที่คัดแยกได้

นำยีสต์ที่คัดแยกได้จากข้อ 2.2 ที่เจริญบนอาหารแข็ง YM อายุ 24 ชั่วโมง มาทดสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยดูสี และลักษณะโคโลนีเมื่อเจริญบนอาหารแข็ง ดูลักษณะการเจริญในอาหารเหลว รูปร่าง การเรียงตัว และการเพิ่มจำนวนของเซลล์

2.2.3 การคัดเลือกราเส้นใยที่มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้ง

นำเชื้อที่คัดแยกได้จากข้อ 2.2 มาถ่ายลงจุดกึ่งกลางของอาหารแข็ง PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.60 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วกดลงไปบนบริเวณขอบของโคโลนีของเชื้อ ใช้เข็มถ่ายเชื้อเกี่ยวขึ้นรู้นที่มีเส้นใยวางลงตรงกลางอาหารเพาะเชื้อ starch agar 4 เปอร์เซ็นต์ (w/v) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นราดสารละลายไอโอดีนความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ให้ท่วมผิวหน้าอาหาร ทิ้งไว้ 1 นาที จึงเทสารละลายออกวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส (ดัดแปลงจาก [3], [7])

2.2.4 การคัดเลือกยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้ง

นำเชื้อที่คัดแยกได้จากข้อ 2.3 มาเพาะเลี้ยงในขวดอาหารเหลว YM ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อแบบ point inoculation 4 จุด ลงบนอาหาร

แข็ง YM ที่มี starch agar 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นราดสารละลายไอโอดีนความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ให้ท่วมผิวหน้าอาหาร ทิ้งไว้ 1 นาที จึงเทสารละลายออกวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสของเชื้อแต่ละไอโซเลทใส (ดัดแปลงจาก [7], [8])

2.3 การแยกราเส้นใยและยีสต์จากลูกแป้งโดยวิธี Enrichment technique

บดตัวอย่างลูกแป้ง 1 กรัมใส่ลงในข้าวพันธุ์พื้นเมืองบุรีรัมย์และสุรินทร์ที่นึ่งสุกแบบปลอดเชื้อ 50 กรัม คลุกเคล้าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน เติมน้ำในช่วงการหมักวันที่ 3 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างวันที่ 1, 3, 5, 7 และ 9 มาคัดแยกราเส้นใยและยีสต์ โดยเก็บตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน 0.85 เปอร์เซ็นต์ NaCl ปริมาตร 9 มิลลิลิตร และเจือจางต่อในระดับต่าง ๆ จากนั้นจึงถ่ายตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร อาหารแข็ง YM และ PDA แล้วเกลี่ยตัวอย่างให้ท่วมผิวหน้าอาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีของราเส้นใยและยีสต์ จากนั้นนำโคโลนีที่ทำการคัดเลือกมาทำการชิตลากลงบนอาหารแข็ง YM และ PDA โดยทำเช่นนี้ จำนวน 3 ซ้ำ หรือจนกระทั่งได้เชื้อบริสุทธิ์ [8]

2.4 การผลิตสาโทจากเชื้อราและยีสต์ที่คัดแยกได้

นำข้าวพันธุ์พื้นเมืองบุรีรัมย์และสุรินทร์อย่างละ 1 สายพันธุ์มาทำให้สุก จากนั้นล้างยางข้าวออกด้วยน้ำสะอาดจนหมดยางข้าว นำไปผึ่งลมให้สะเด็ดน้ำ จากนั้นนำกล้าเชื้อที่ได้จากการคัดแยกมาโรยลงบนข้าวพื้นเมือง โดยแปรผันกล้าเชื้อ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ต่อข้าวพันธุ์พื้นเมือง 1 กิโลกรัม คลุกเคล้าให้ผสมกับข้าวให้เข้ากันดี จากนั้นนำไปบรรจุลงในถังหมัก เมื่อหมักจนถึงวันที่ 3 เติมน้ำสะอาดต้มสุกที่เย็นแล้ว เติมน้ำลงไปในอัตราส่วนข้าวเหนียว 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 1.5 ลิตร โดย

ค่อย ๆ รินน้ำต้มสุกลงในถังหมักเบา ๆ เพื่อไม่ให้ก้อนข้าวสาโทแตก ก่อนจะปิดฝา และหมักทิ้งไว้อีก 5-12 วัน รวมระยะเวลาในการหมักทั้งสิ้นเป็นเวลา 7-14 วัน

2.5 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของสาโท

2.5.1 วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid, TSS)

วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดด้วย Hand refractometer โดยดูตัวอย่างสาโทที่ต้องการวัดหยดลงบนแผ่นปริซึม 1-2 หยด ปิดฝาครอบ และอ่านค่าตรงระดับเส้นรอยต่อที่ตัดกับพื้นสีฟ้า [9]

2.5.2 วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่างโดยใช้พีเอชมิเตอร์

2.5.3 วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์

วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้เครื่อง Ebulliometer โดยการหาจุดเดือดของน้ำกลั่นเปรียบเทียบกับจุดเดือดของสาโท [10]

2.5.4 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi-Nelson

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยเตรียมสารละลาย Somogyi I สารละลาย Somogyi II และสารละลาย Nelson จากนั้นจึงเจือจางตัวอย่างสาโทแต่ละชนิดโดยใช้น้ำกลั่น ดูดสารตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายผสม Somogyi (Somogyi I : Somogyi II ในอัตราส่วน 4 ต่อ 1) 2 มิลลิลิตร และใช้น้ำกลั่นเป็นแบลนด์ ปิดปากหลอดทดลองด้วยลูกแก้วเพื่อลดการระเหยของน้ำ นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้จากการต้มไปแช่ในอ่างน้ำแข็ง เติมสารละลาย Nelson ลงไป 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที เติมน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการ

ดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร โดยเทียบกับแบลนด์อ่านค่าความเข้มข้นของกลูโคสจากกราฟมาตรฐาน (Glucose anhydrous) โดยทำตัวอย่างละ 2 ซ้ำ [11]

3. ผลการศึกษาและอภิปรายผล

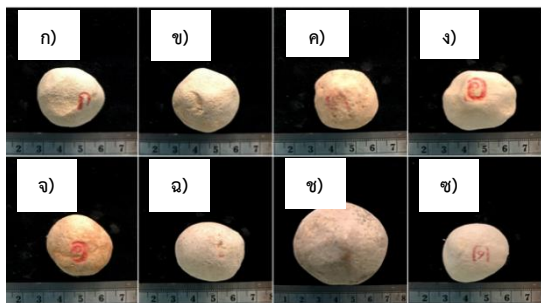
3.1 การสุ่มเก็บตัวอย่างลูกแป้ง

ทำการเก็บตัวอย่างลูกแป้งสาโทในจังหวัดบุรีรัมย์และจังหวัดสุรินทร์ได้จำนวน 20 ตัวอย่าง ซึ่งก่อนที่จะทำการศึกษาได้ทำการกำหนดรหัสลูกแป้งและถ่ายภาพ โดยลักษณะทั่วไปของลูกแป้งมีสีขาว ลักษณะกลม ไม่มีกลิ่น บางลูกมีเชื้อราสีดำเกาะที่ผิว มีขนาดประมาณ 2.50-4.00 เซนติเมตร ดังแสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงรหัสของตัวอย่างลูกแป้งสาโทที่เก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์และจังหวัดสุรินทร์

รหัสลูกแป้ง	แหล่งตัวอย่างลูกแป้ง
SR1	ลูกแป้งสาโทคุณสุแทน จังหวัดสุรินทร์
SR2	ลูกแป้งจากร้านร้านนครเดช จังหวัดสุรินทร์
SR3	ลูกแป้งสาโทจากร้านนิวซอป จังหวัดสุรินทร์
SR4	ลูกแป้งสาโทจากอำเภอบัวเขต จังหวัดสุรินทร์
SR5	ลูกแป้งสาโทจากร้านเทพอำนาจ จังหวัดสุรินทร์
SR6	ลูกแป้งสาโทจากเกษตรภัณฑ์ จังหวัดสุรินทร์
SR7	ลูกแป้งสาโทจากร้านพูนศักดิ์ จังหวัดสุรินทร์
SR8	ลูกแป้งสาโทจากบ้านตุม จังหวัดสุรินทร์
SR9	ลูกแป้งสาโทจากอำเภอปราสาท 1 จังหวัดสุรินทร์
SR10	ลูกแป้งสาโทจากอำเภอปราสาท 2 จังหวัดสุรินทร์
SR11	ลูกแป้งสาโทจากดอนขุนพรหม จังหวัดสุรินทร์
SR12	ลูกแป้งสาโทจากสาโทยัก จังหวัดสุรินทร์

รหัสลูกแป้ง	แหล่งตัวอย่างลูกแป้ง
SR13	ลูกแป้งสาโทจากบ้านเบอะซุ่น จังหวัดสุรินทร์
SR14	ลูกแป้งสาโทจากบ้านขาม จังหวัดสุรินทร์
SR15	ลูกแป้งสาโทจากคุณโสณัญ เสรีวัฒน์ จังหวัดสุรินทร์
SR16	ลูกแป้งสาโทจากร้านองไถ่ จังหวัดสุรินทร์
SR17	ลูกแป้งสาโทจากบ้านระแงง จังหวัดสุรินทร์
BR1	ลูกแป้งสาโทจากบ้านหนองนางดำ จังหวัดบุรีรัมย์
BR2	ลูกแป้งสาโทจากคุณภัทรกร มาตา จังหวัดบุรีรัมย์
BR3	ลูกแป้งสาโทจากอำเภอลำดวน จังหวัดบุรีรัมย์

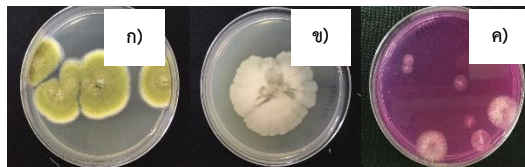


รูปที่ 1 ตัวอย่างลูกแป้งที่นำมาทดสอบ โดยที่ (ก) คือ รหัส SR1 (ข) คือ รหัส SR2 (ค) คือ รหัส SR7 (ง) คือ รหัส SR8 (จ) คือ รหัส SR9 (ฉ) คือ รหัส SR11 (ช) คือ รหัส BR17 และ (ซ) คือ รหัส BR19

3.2 การจำแนกราสีและยีสต์จากลูกแป้งโดยวิธี Aerobic plate count

ผลการจำแนกชนิดของราและยีสต์จากลูกแป้งจำนวน 20 ตัวอย่าง ที่เก็บในพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์ และจังหวัดสุรินทร์โดยการนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, YM และอาหารเลี้ยงเชื้อ DRBC ที่ระดับความเจือจางของเชื้อที่ 10^{-3} - 10^{-5} ตามลำดับ พบว่า ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สามารถคัดแยกได้ 30 ไอโซเลท และคัดแยกยีสต์ได้ 17

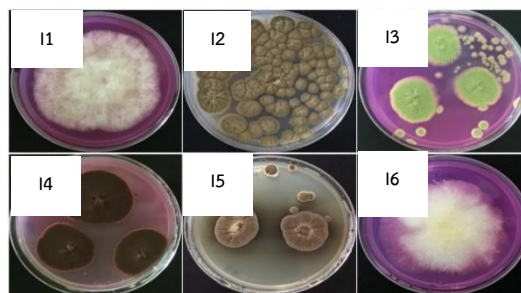
ไอโซเลท อาหารเลี้ยงเชื้อ YM สามารถคัดแยกได้ 26 ไอโซเลท และคัดแยกยีสต์ได้ 24 ไอโซเลท ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ DRBC สามารถคัดแยกได้ 34 ไอโซเลท และคัดแยกยีสต์ได้ 9 ไอโซเลท โดยการจำแนกราสีและยีสต์จากลูกแป้งโดยวิธี Aerobic plate count แสดงดังรูปที่ 2 จากนั้น ราที่คัดแยกได้นี้จะถูกนำไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่อไป



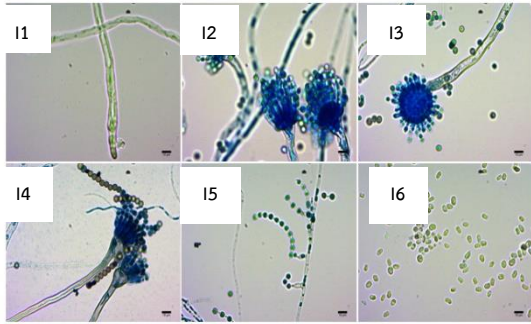
รูปที่ 2 เชื้อที่คัดแยกได้จากลูกแป้งโดยที่ ก) คือ เชื้อราและยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ข) คือ เชื้อราและยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YM และ ค) คือ เชื้อราและยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ DRBC

3.2.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราเส้นใยที่แยกได้

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้เทคนิค slide culture โดยนำเชื้อราที่คัดแยกได้จากลูกแป้งในข้อ 2 มาย้อมด้วยสี Lactophenol cotton blue พบว่าสามารถจำแนกเชื้อราได้เป็น 6 ไอโซเลท โดยกำหนดรหัสของเชื้อราในแต่ละไอโซเลทเป็นเชื้อรหัส I1-I6 ดังแสดงในรูปที่ 3 และผลจากการศึกษาลักษณะเส้นใย ลักษณะสปอร์ และโครงสร้างของเชื้อราในแต่ละไอโซเลทภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสดงในรูปที่ 4



รูปที่ 3 ลักษณะของเชื้อราที่คัดแยกได้จากลูกแป้ง



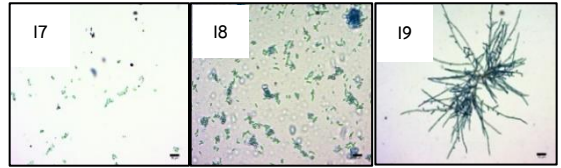
รูปที่ 4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของสปอร์จากเชื้อราที่คัดแยกได้

3.2.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ที่คัดแยกได้

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยนำเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จากลูกแป้งในข้อ 3.2 มาย้อมด้วยสี lactophenol cotton blue พบว่าสามารถจำแนกเชื้อยีสต์ได้เป็น 2 ไอโซเลท คือ เชื้อรหัส I7 และ I9 โดยไอโซเลท I7 มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ ส่วนไอโซเลท I7 มีลักษณะเป็นเส้นใย และไม่สามารถระบุชนิดได้จำนวน 1 ไอโซเลท คือเชื้อรหัส I8 (รูปที่ 5 และรูปที่ 6) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kanlayakrit et al. [12] ที่ศึกษาการจัดจำแนกยีสต์และราที่แยกได้จากลูกแป้งเพื่ออุตสาหกรรมสาโท โดยพบที่สามารถคัดแยกยีสต์ได้ 3 ไอโซเลท และยีสต์ที่คัดแยกได้มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ เช่นเดียวกับยีสต์ที่คัดแยกได้จากการศึกษาในครั้งนี้



รูปที่ 5 ลักษณะของเชื้อยีสต์และแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากลูกแป้ง



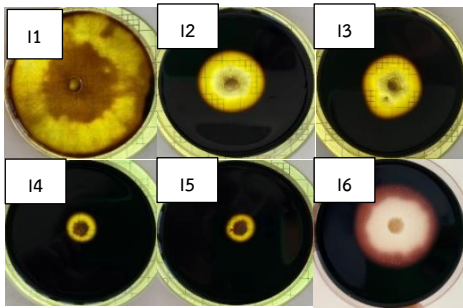
รูปที่ 6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อยีสต์และแบคทีเรียที่คัดแยกได้

จากนั้นนำเชื้อที่คัดแยกได้มาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมี พบว่าสามารถคัดแยกเชื้อราที่แตกต่างกันได้ทั้งหมด 6 ไอโซเลท และยีสต์ 2 ไอโซเลท โดยระบุชนิดของเชื้อได้ดังนี้คือ *Aspergillus flavus*, *A. oryzae*, *A. niger*, *Mucor indicus* และ *Saccharomycopsis fibuligera* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chay et al. [3] ที่พบว่าเชื้อราที่คัดแยกได้จาก *medombae* ได้แก่ *Rhizopus oryzae* และ *Mucor* spp. จะมีประสิทธิภาพในการย่อยแป้ง ส่วนยีสต์จะเป็นจุลินทรีย์ที่เปลี่ยนแปลงให้กลายเป็นแอลกอฮอล์

3.2.3 การคัดเลือกราเส้นใยที่มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้ง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการย่อยแป้งจะสังเกตได้จากบริเวณที่แป้งถูกย่อยเห็นเป็นบริเวณใส (clear zone) เมื่อราดด้วยสารไอโอดีน บริเวณที่ไม่เกิดการย่อยจะมีแป้งหลงเหลืออยู่ ดังนั้นแป้งก็จะทำปฏิกิริยากับไอโอดีนเกิดเป็นสีน้ำเงินเข้ม พบว่าเชื้อรหัส I1 มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งมากที่สุดโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสเท่ากับ 8.83 ± 0.15 เซนติเมตร รองลงมาคือเชื้อรหัส I2, I3, I4 และ I5 โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสเท่ากับ 3.41 ± 0.22 , 3.20 ± 0.20 , 1.95 ± 0.13 และ 1.13 ± 0.11 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนเชื้อรหัส I6 ไม่พบการย่อยแป้ง (รูปที่ 7) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chay et al. [3] ที่พบว่า

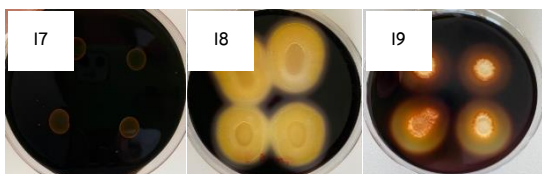
เชื้อราที่คัดแยกได้จาก medombae ได้แก่ *Rhizopus oryzae* และ *Mucor* spp. จะมีประสิทธิภาพในการย่อยแป้ง ส่วนยีสต์จะเป็นจุลินทรีย์ที่เปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นแอลกอฮอล์



รูปที่ 7 ประสิทธิภาพของเชื้อราในการย่อยแป้งในแต่ละไอโซเลท

3.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อยีสต์ในการย่อยแป้ง

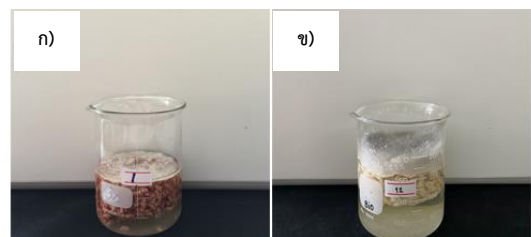
จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อยีสต์ในการย่อยแป้ง พบว่าเชื้อรหัส 19 มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งมากที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสเฉลี่ยเท่ากับ 2.93 ± 0.11 เซนติเมตร ตัวอย่างเชื้อรหัส 17 ไม่พบการย่อยแป้ง และเชื้อรหัส 18 มีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสเฉลี่ยเท่ากับ 3.56 ± 0.07 เซนติเมตร ดังแสดงผลในรูปที่ 8 แต่จากการศึกษาลักษณะทางฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเชื้อรหัส 18 ไม่สามารถระบุชนิดได้



รูปที่ 8 ประสิทธิภาพของเชื้อยีสต์และแบคทีเรียในการย่อยแป้ง

3.3 การแยกราเส้นใยและยีสต์จากลูกแป้งโดยวิธี Enrichment technique

ผลการคัดแยกลูกแป้งจำนวน 20 ตัวอย่างในข้าวจีบและข้าวผกอำปิล ซึ่งเก็บตัวอย่างในวันที่ 3, 5, 7 และ 9 ตามลำดับ โดยทำการเก็บตัวอย่าง ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ที่ระดับความเจือจาง 10^{-3} - 10^{-5} ตามลำดับมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ YM ผลการทดลองพบว่า ตัวอย่างจากข้าวจีบที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร PDA สามารถแยกราเส้นใยได้ 2 ไอโซเลท และยีสต์ได้ 28 ไอโซเลท ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM สามารถแยกราเส้นใยได้ 2 ไอโซเลท และยีสต์ได้ 28 ไอโซเลท ส่วนข้าวผกอำปิลในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สามารถแยกราเส้นใยได้ 2 ไอโซเลท และยีสต์ได้ 29 ไอโซเลท ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM สามารถแยกราเส้นใยได้ 1 ไอโซเลท และยีสต์ได้ 30 ไอโซเลท โดยการแยกราเส้นใยและยีสต์จากลูกแป้งโดยวิธี Enrichment technique แสดงดังรูปที่ 9



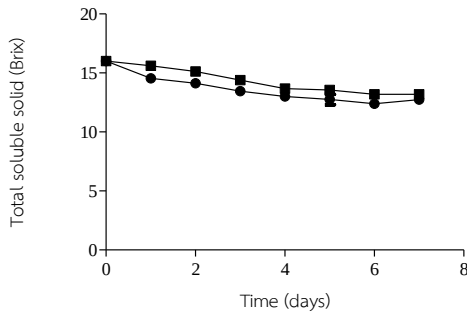
รูปที่ 9 การคัดแยกราเส้นใยและยีสต์จากลูกแป้งโดยวิธี Enrichment technique โดยที่ ก) คือ ข้าวจีบ ข) คือ ข้าวผกอำปิล

3.4 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของสาโท

3.4.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดพบว่า ในวันที่ 1 จะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสูงที่สุด เท่ากับ 14.53 ± 0.25 และ 15.60 ± 0.28 องศาบริกซ์ในสาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกอำปิลตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการหมักในวันที่ 7

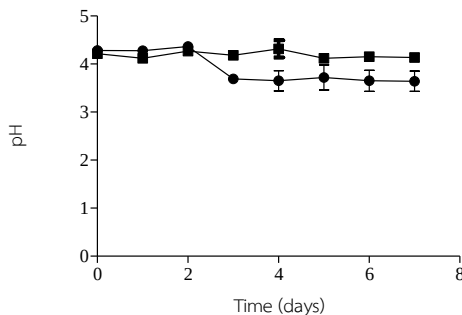
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในสาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปี้ล จะมีค่าเท่ากับ 12.73 ± 0.09 และ 13.20 ± 0.20 องศาบริกซ์ แสดงดังรูปที่ 10



รูปที่ 10 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของสาโท โดยที่ (●) คือ สาโทข้าวจีบ และ (■) คือ สาโทข้าวผกาอำปี้ล

3.4.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

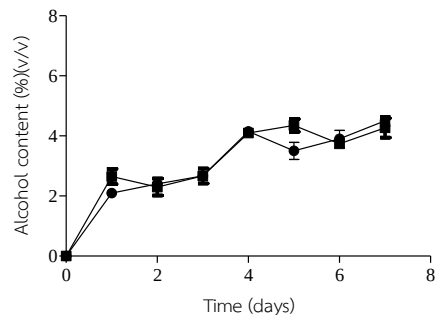
จากการวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่าตลอดระยะเวลาที่ทำการหมักค่า pH มีค่าค่อนข้างคงที่ แต่ในสาโทข้าวจีบจะมีค่า pH น้อยกว่าสาโทข้าวผกาอำปี้ล โดยในวันแรกที่ทำการทดลองพบว่าในสาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปี้ลมีค่า pH เท่ากับ 4.28 ± 0.01 และ 4.21 ± 0.06 ตามลำดับ และในวันสุดท้ายของการหมักมีค่า pH เท่ากับ 3.64 ± 0.21 และ 4.14 ± 0.09 ในสาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปี้ลตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 11



รูปที่ 11 ค่าความเป็นกรด-ด่างของสาโท โดยที่ (●) คือ สาโทข้าวจีบ และ (■) คือ สาโทข้าวผกาอำปี้ล

3.4.3 ปริมาณแอลกอฮอล์

จากการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์พบว่าตลอดระยะเวลาที่ทำการหมักเป็นระยะเวลา 10 วัน ปริมาณแอลกอฮอล์ในสาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปี้ลจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตามระยะเวลาที่ทำการหมัก โดยในวันที่ 1 สาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปี้ลมีปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับ 2.10 ± 0.10 และ 2.65 ± 0.25 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักปริมาณแอลกอฮอล์ของสาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปี้ลมีค่าเท่ากับ 4.50 ± 0.74 และ 4.26 ± 0.32 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 12



รูปที่ 12 ปริมาณแอลกอฮอล์ของสาโท โดยที่ (●) คือ สาโทข้าวจีบ และ (■) คือ สาโทข้าวผกาอำปี้ล

3.4.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi-Nelson

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อเริ่มต้นกระบวนการหมักในวันที่ 0 (วันที่ 3 ของการหมัก) พบว่ามีค่าเท่ากับ 78.03 ± 0.01 และ 66.28 ± 0.00 กรัมต่อลิตร ในสาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปี้ลตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าสาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปี้ลมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 137.05 ± 0.00 และ 141.45 ± 0.01 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

จากการคัดเลือกเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ ยีสต์ *Saccharomycopsis fibuligera* ที่ได้จากการคัด แยกนำมาใช้การหมักสาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกา อำปิล เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยในข้าวจีบใช้ความ เข้มข้นของ เชื้อราเริ่มต้นเท่ากับ 0.57×10^7 เซลล์ต่อ มิลลิลิตร และยีสต์เท่ากับ 1.00×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนข้าวผกาอำปิลใช้ความเข้มข้นของเชื้อราเริ่มต้น เท่ากับ 0.52×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และยีสต์ 1.00×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลาย ได้ทั้งหมด ผลการทดลองพบว่าในวันที่ 0 มีค่ามากที่สุด คือ 16 องศาบริกซ์ในสาโททั้ง 2 ชนิด โดยการเติมน้ำเชื่อมที่มีความเข้มข้น 16 องศาบริกซ์ รองลงมาคือ วันที่ 1 ซึ่งปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะลดลง เล็กน้อยโดยมีค่าเท่ากับ 14.60 และ 15.60 องศาบริกซ์ ในสาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปิลตามลำดับ ซึ่งจาก การศึกษาพบว่าในช่วงแรกเชื้อราจำพวก *Amylomyces* sp., *Actinomucor* sp., *Aspergillus niger*., *Aspergillus* sp., *Mucor* sp., *Monascus* sp., *Penicilium* sp. และ *Rhizopus* sp. จะเปลี่ยนแบ่งไปเป็นน้ำตาลทำให้ในช่วงแรกของการหมักสาโทจะมีปริมาณของแข็งที่ละลาย ได้ทั้งหมดสูงกว่าช่วงท้ายของการทดลอง [13]-[16] แต่ เมื่อระยะเวลาผ่านไปปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด จะลดลงเนื่องจากจะถูกเปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์ ส่วน เชื้อ *S. fibuligera* ที่ได้จากการคัดแยกจัดเป็นเชื้อที่มีความ สำคัญต่ออุตสาหกรรมหมัก เนื่องจากมี ความสามารถในการผลิตเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่อการ ย่อยสลายสารอาหารจากลูกแป้ง เช่น α -amylase, glucoamylase, protease และ β -glucosidase จาก การศึกษาของ Chay et al. [3] พบว่ามีการเติมน้ำเชื่อม ในขั้นตอนการผ่านน้ำเช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้ เนื่องจากในข้าวเจ้ามีปริมาณแป้งค่อนข้างน้อย และ เพื่อช่วยเสริมให้รสชาติสาโทดีขึ้น จากนั้นปริมาณ ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะค่อนข้างลดลงตลอด ระยะเวลาที่ทำการหมัก โดยในวันสุดท้ายของการหมัก

พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในสาโทข้าวจีบ และสาโทข้าวผกาอำปิลมีค่าเท่ากับ 12.73 ± 0.09 และ 13.20 ± 0.20 องศาบริกซ์ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ งานวิจัยของ Kudpeng et al. [17] คือปริมาณของแข็ง ที่ละลายได้ทั้งหมดจะลดลง โดยพบว่าปริมาณของแข็งที่ ละลายได้ทั้งหมดของสาโทข้าวไรซ์เบอร์รี่มีค่าเท่ากับ 6 องศาบริกซ์ แต่งานวิจัยในครั้งนี้มีปริมาณของแข็งที่ ละลายได้ทั้งหมดมากกว่าเนื่องจากการเติมน้ำเชื่อมใน ขั้นตอนการผ่านน้ำ การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าในวันที่ 0 (วันที่ 3 ของการหมัก) มีค่าเท่ากับ 78.03 ± 0.01 และ 66.28 ± 0.00 กรัมต่อลิตร ในสาโท ข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปิล ตามลำดับ และเมื่อ สิ้นสุดกระบวนการหมักพบว่ามีค่าเท่ากับ 137.05 ± 0.00 และ 141.45 ± 0.01 กรัมต่อลิตรในสาโทข้าวจีบและ สาโทข้าวผกาอำปิลตามลำดับ การวิเคราะห์ปริมาณกรด ทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ามีค่าเท่ากับ 19.99 ± 0.74 และ 7.08 ± 0.34 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตรใน สาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปิลตามลำดับ การวิเคราะห์ค่า pH ในสาโทข้าวจีบและสาโทข้าวผกา อำปิล พบว่าในวันที่ 1 ของการหมักมีค่าเท่ากับ 4.28 ± 0.01 และ 4.21 ± 0.06 ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุด กระบวนการหมักสาโทในวันที่ 7 พบว่ามีค่าเท่ากับ 3.64 ± 0.21 และ 4.14 ± 0.09 ในสาโทข้าวจีบและสาโท ข้าวผกาอำปิลตามลำดับ ซึ่งในกระบวนการหมักสาโทค่า pH เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการหมัก โดยค่า pH ที่ เหมาะสมต่อการหมักควรอยู่ในช่วง 2.8-3.8 ซึ่งจะ เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ และเพื่อ ป้องกันไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นเจริญได้ [17] ผลการ วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์ จะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตามระยะเวลาของการหมัก เมื่อ สิ้นสุดกระบวนการหมักปริมาณแอลกอฮอล์ของสาโท ข้าวจีบและสาโทข้าวผกาอำปิลมีค่าเท่ากับ 4.50 ± 0.17 และ 4.26 ± 0.32 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร โดยการ เพิ่มขึ้นของปริมาณแอลกอฮอล์จะสอดคล้องกับการ

ลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่ลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงสิ้นสุดกระบวนการหมัก เนื่องจากเชื้อยีสต์จำพวก *Saccharomycopsis fibuligera*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Issatchenkia orientaris*, *Candida rhagii*, *C. glabrata*, *Torulaspora globosa*, *Rhodotorula philyla*, *Trichosporon asahii*, *T. delbrueckii*, *Pichia anomala*, *P. burtonii*, *P. fabianii*, *P. Mexicana* และ *P. heimii* จะเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ [13]-[16]

4. สรุป

จากการคัดแยกเชื้อราและยีสต์จากลูกแป้งสาโทเพื่อใช้ในการพัฒนาและยกระดับผลิตภัณฑ์สาโทข้าวจิ๊บและสาโทข้าวผกอำปิล จำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่า 1) วิธี Aerobic plate count บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, YM และ DRBC พบว่าสามารถคัดแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 90 ไอโซเลท และคัดแยกเชื้อยีสต์ได้ทั้งหมด 50 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อราที่คัดแยกได้ไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าสามารถจำแนกเชื้อราได้ 6 ไอโซเลท และจำแนกยีสต์ได้เป็น 2 ไอโซเลท คือ *A. flavus*, *A. oryzae*, *A. niger*, *M. indicus* และ *S. fibuligera* 2) การศึกษาประสิทธิภาพของการย่อยแป้ง พบว่าเชื้อรหัส I1 มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งมากที่สุดโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสเฉลี่ยเท่ากับ 8.83 ± 0.15 เซนติเมตร รองลงมาคือเชื้อรหัส I2, I3, I4 และ I5 ตามลำดับ ส่วนเชื้อรหัส I6 ไม่พบการการย่อยแป้ง 3) การคัดแยกราเส้นใยและยีสต์จากลูกแป้งโดยวิธี Enrichment technique จำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่า สามารถคัดแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 7 ไอโซเลท และคัดแยกเชื้อยีสต์ได้ทั้งหมด 115 ไอโซเลท 4) การผลิตสาโทจากเชื้อราและยีสต์ที่คัดแยกได้ ผลการทดลองพบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในสาโทข้าวจิ๊บและสาโทข้าวผกอำปิลมีค่าเท่ากับ 12.73 ± 0.09 และ 13.20 ± 0.20 องศาบริกซ์ตามลำดับ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าเท่ากับ 137.05 ± 0.00 และ 141.45 ± 0.01 กรัมต่อลิตร ในสาโท

ข้าวจิ๊บและสาโทข้าวผกอำปิลตามลำดับ ค่า pH มีค่าเท่ากับ 3.64 ± 0.21 และ 4.14 ± 0.09 ในสาโทข้าวจิ๊บและสาโทข้าวผกอำปิลตามลำดับ และปริมาณแอลกอฮอล์ของสาโทข้าวจิ๊บและสาโทข้าวผกอำปิลมีค่าเท่ากับ 4.50 ± 0.74 และ 4.26 ± 0.32 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรตามลำดับ

5. กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการวิจัยและนวัตกรรมเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนฐานราก เครือข่ายอุดมศึกษาภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 และคณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ที่อำนวยความสะดวกในด้านสถานที่ รวมถึงวัสดุอุปกรณ์ในการทำ การวิจัย นอกจากนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณนายสุแทน สุขจิตร ประธานวิสาหกิจชุมชนแซตตอม ออร์แกนิก ฟาร์ม จังหวัดสุรินทร์ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ลูกแป้งที่นำมาใช้ในการทำการวิจัยในครั้งนี้

6. เอกสารอ้างอิง

- [1] C. Sowcharoensuk, "Business trends/industry 2022-2024: Rice industry," [Online]. Available: <https://www.krungsri.com/th/research/industry/industry-outlook/agriculture/rice/io/io-rice-2022>. [Accessed: Mar. 11, 2024].
- [2] Research report, "Role of yeast and mold from Loog-Pang for rice fermentation" Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani, 2005.
- [3] C. Chay, E. I. Dizon, F. B. Elegado, C. Norng, W. A. Hurtada, and L. C. Raymundo, "Isolation and identification of mold and

- yeast in medombae, a rice wine starter culture from Kompong Cham Province, Cambodia,” *Food Research*, vol. 1, no. 6, pp. 213-220, 2017.
- [4] W. Kanlayakrit, and S. Booranasawettathrum, “Identification of yeasts and molds isolated from Thai tradition fermentation starter (Lookpang) for Sato industry,” in *Proceedings of 43th Kasetsart University Annual Conference*, Kasetsart University, Thailand, 2005, pp. 1-8.
- [5] P. Sirikhansaeng, P. Phuakkaew, and N. Sirisanguan, “Effects of Sato from various rice color on the inhibition of growth in *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*,” *Koch Cha Sam Journal of Science*, vol. 39, no. 21, pp. 121-135, 2017.
- [6] O. Deesuth, A. Samneing, P. Laopaiboon, K. Wechgama, and L. Laopaiboon, “Decrease in ethanol fermentation time for Sato making by *Rhizopus* sp. and mixed cultures of yeasts”, *KKU Research Journal*, vol. 15, no. 7, pp. 670-678, 2010.
- [7] *Research project*, “Riceberry Sato (rice wine) production using mixed pure culture that isolated from Loog-Pang,” *Huachiew Chalermprakiet University*, Samut Prakan, Thailand, 2015.
- [8] J. Yodtheon, W. Chantarapanont, and H. Rimkeeree, “Screening pure cultures by testing starch hydrolysis and alcohol fermentation for developing sweeten rice (Khaomak) beverage,” in *Proceedings of 48th Kasetsart University Annual Conference*, Kasetsart University, Bangkok, Thailand, 2010, pp. 3-5.
- [9] P. Sirikhansaeng, J. Koedlap, and W. Nukadram, “Glutinous rice Fermented Vinegar Production from *Acetobacter pasteurianus* TISTR 102,” *YRU Journal of Science and Technology*, vol. 6, no. 1, pp. 1-9, 2021.
- [10] K. Saelim, S. Junmuen, and K. Lueanprasert, “Chemical Change During Mulberry Wine Fermentation and Consumer’s Satisfaction,” *Agricultural Science Journal*, vol. 49, no. 1(Suppl.), pp. 612-616, 2018.
- [11] P. Danvirutai and P. Laopaiboon, “Fruit wine and Sato: How to produce with confidence?,” 2nd ed. Khonkaen: Klungnana Printing, 2006, pp. 47-48.
- [12] W. Kanlayakrit, W. Changpha, M. Rodprapakorn, and P. Sirirote, “Study of mixed culture for Thai traditional fermentation starter (Loog-Pang) production”, in *Proceedings of 49th Kasetsart University Annual Conference*, Thailand, 2012, pp. 1-9.
- [13] S. Limtong, S. Sintara, P. Suwanarit, and N. Lotong, “Yeast Diversity in Thai traditional fermentation starter (Loog-pang),” *Kasetsart Journal (Nat Sci)*, vol. 36, pp. 149-158, 2002.
- [14] S. Limtong, S. Sintara, P. Suwanarit, and N. Lotong, “Species diversity of molds in Thai traditional fermentation starters (Loog- Pang),” *Kasetsart Journal (Nat Sci)*, vol. 39, pp. 511-518, 2005.
- [15] S. Chaijamrus and B. Mouthung, “Selection of Thai starter components for ethanol production utilizing malted rice from waste paddy,” *Journal of Science and Technology*, vol. 33, no. 2, pp. 163-170, 2011.
- [16] C. Kudpeng, W. Soemphol, and V. Tanamool, “Study on Production of Sato from Indigenous Rice Varieties in Nakhon Ratchasima”, in *Proceeding The National and International Graduate Research Conference 2016. Khon Kaen University*, Thailand, 2016, pp. BMP1-10.