การหมักกรดแลคติกจากน้ำบีทรูทด้วยแลคโตบาซิลลัส เพนโตซัส เพื่อใช้เป็นเครื่องดื่มโพรไบโอติก

LACTIC ACID FERMENTATION OF BEETROOT JUICE WITH *Lactobacillus pentosus* FOR PROBIOTIC BEVERAGE

นลินี รัตนสุวรรณ

NALINEE RATTANASUWAN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร
คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2558
KMITL-2015-ED-M-241-071

การหมักกรดแลคติกจากน้ำบีทรูทด้วยแลคโตบาซิลลัส เพนโตซัส เพื่อใช้เป็นเครื่องดื่มโพรไบโอติก

LACTIC ACID FERMENTATION OF BEETROOT JUICE WITH *Lactobacillus pentosus* FOR PROBIOTIC BEVERAGE

นลินี รัตนสุวรรณ
NALINEE RATTANASUWAN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร
คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2558
KMITL-2015-ED-M-241-071

LACTIC ACID FERMENTATION OF BEETROOT JUICE WITH *Lactobacillus pentosus* FOR PROBIOTIC BEVERAGE

NALINEE RATTANASUWAN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN AGRICULTURAL EDUCATION
FACULTY OF INDUSTRIAL EDUCATION
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2015

KMITL-2015-ED-M-241-07

COPYRIGHT 2015
FACULTY OF INDUSTRIAL EDUCATION
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การหมักกรดแลคติกจากน้ำบีทรูทด้วยแลคโตบาซิลลัส เพนโตซัส เพื่อใช้เป็นเครื่องดื่มโพรไบโอติก Lactic Acid Fermentation of Beetroot Juice with *Lactobacillus pentosus* for Probiotic Beverage
นักศึกษา	นางสาวนลินี รัตนสุวรรณ
รหัสประจำตัว	53631003
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	ครุศาสตร์เกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร.ปิ่นมณี ขวัญเมือง
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.พรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ดร.ราตรี ศิริพันธุ์	
รศ.ดร.ปิ่นมณี ขวัญเมือง	
รศ.ดร.พรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ	
ผศ.ดร.สีหนาท ประสงค์สุข	

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ	30 มิถุนายน 2558 เวลา 09.00 น. เป็นต้นไป
สถานที่สอบ	ณ ห้องเรียนปริญญาเอก คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.พีระวุฒิ สุวรรณจันทร์)
คณบดี คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม
วันที่....21....เดือน.....กรกฎาคม.....พ.ศ. 2558

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การหมักกรดแลคติกจากน้ำบีทรูทด้วยแลคโตบาซิลลัส เพนโตซัส เพื่อใช้เป็นเครื่องดื่มโพรไบโอติก
นักศึกษา	นางสาวนลินี รัตนสุวรรณ
รหัสประจำตัว	53631003
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	ครุศาสตร์เกษตร
พ.ศ.	2558
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ. ดร. ปิ่นมณี ขวัญเมือง
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รศ. ดร. พรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเลือกสูตรน้ำบีทรูท และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่เหมาะสมในการหมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus pentosus* ที่ผู้ชิมยอมรับ ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ระหว่างการหมัก และระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักบีทรูท และตรวจสอบคุณภาพของน้ำหมัก วิธีการที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้คือการคัดเลือกสูตรโดยใช้วิธีทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยผู้ชิม ค่าพีเอชวิเคราะห์โดยใช้เครื่องวัดพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกวิเคราะห์โดยการไทเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดวิเคราะห์โดยใช้ Hand refractometer การตรวจนับจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ใช้วิธีการนับเซลล์ที่มีชีวิตบนอาหารแข็ง MRS การตรวจนับจำนวนเซลล์ยีสต์และรา ใช้วิธีการนับเซลล์บนอาหารแข็ง PDA ผลการศึกษาพบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับน้ำบีทรูทสูตรที่มีส่วนผสมของน้ำบีทรูทและน้ำสัปปะรดที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 15 องศาบริกซ์ มากที่สุด การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักน้ำบีทรูทที่อายุการหมัก 0 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง ค่าพีเอชลดลงจาก 4.31 เป็น 3.19 เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มขึ้นจาก 0.184 เป็น 0.551 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลงจาก 15 เป็น 14.8 องศาบริกซ์ จำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตเพิ่มจาก 2.12×10^{7} เป็น 3.44×10^{10} โคโลนี/มิลลิลิตร คุณค่าทางทางโภชนาการของน้ำหมักบีทรูท 100 มิลลิลิตร ประกอบด้วย พลังงาน 59.4 กิโลแคลอรี คาร์โบไฮเดรต 14.5 กรัม ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 13.1 กรัม และโปแทสเซียม 64.5 มิลลิกรัม ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกับน้ำบีทรูทที่ไม่ผ่านการหมัก ในระหว่างการเก็บรักษา พบว่า ค่าพีเอชเท่ากับ 3.30 เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.551 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 14.6 องศาบริกซ์ จำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตลดลงจาก 1.11×10^{11} เป็น 1.80×10^{7} โคโลนี/มิลลิลิตร และไม่พบการเจริญของเชื้อยีสต์และรา โดยน้ำหมักบีทรูทที่ได้มีคุณค่าทางโภชนาการเหมาะสมกับการใช้เป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพหรือเครื่องดื่มโพรไบโอติก มีคุณภาพตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน และสามารถเก็บรักษาในตู้เย็นได้เป็นระยะเวลา 15 วัน

Thesis	Lactic Acid Fermentation of Beetroot Juice with *Lactobacillus pentosus* for Probiotic Beverage
Student	Miss Nalinee Rattanasuwan
Student ID.	53631003
Degree	Master of Science
Program	Agricultural Education
Year	2558
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Pinmanee KwanMuang
Thesis Co-Advisor	Assoc. Prof. Dr. Panneepa Sivapirunthep

ABSTRACT

The purposes of this research were to select the mixed beetroot juice and total soluble solid that suitable for fermenting with *Lactobacillus pentosus* approved by panelists, to study the change of pH value, percentage of lactic acid, total soluble solids, and the viable cell count of *L. pentosus* during fermentation at 48 hours and storage times at temperature of 4°C for 15 days, and to study the nutritional value and the quality of the fermented mixed beetroot juice. The methodologies were used in this research as follow : selecting the recipes of the beetroot juice with sensory evaluation by panelists, measuring pH values by a pH meter, analyzing percentage of lactic acid by titration with a solution of NaOH 0.1 N., and analyzing total soluble solids by hand refractometer, counting viable *L. pentosus* on MRS agar and the viable cell count of yeast and mold on PDA. The results were found that, consumers accepted the fermented mixed beetroot with pineapple juice and had total soluble solids of 15 °Bx. During the fermentation of mixed beetroot juice at 0, 12, 24, 36, and 48 hours, the pH decreased from 4.31 to 3.19, while the lactic acid increased from 0.184% to 0.551%. The total soluble solid was reduced from 15 °Bx. to 14.8 °Bx.. The viable cell count of *L. pentosus* grew up from 2.12 x 10^{7} CFU/ml to 3.44 x 10^{10} CFU/ml. In addition, the nutritional value of fermented mixed beetroot juice 100 ml consisted of energy 59.4 kcal, carbohydrates 14.5 g., sugar 13.1 g., and potassium 64.5 mg. This fermented juice was not different from the beetroot juice that was not fermented. During the 15 days storage, pH value was 3.30, lactic acid was 0.551%, total soluble solid was 14.6 °Bx., and the viable cell count of *L. pentosus* decreased from 1.11 x 10^{11} CFU/ml to 1.80 x 10^{7} CFU/ml. Yeast and mold were not found. Taking all evidences, the fermented mixed beetroot juice was nutritionally suitable for using as a healthy or probiotic beverage, had a quality met Thai Community Product Standard, and shelf life in the refrigerator was 15 days.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ก็ด้วยความอนุเคราะห์จาก รศ.ดร.ปิ่นมณี ขวัญเมือง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และ รศ.ดร. พรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ และช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้อย่างสมบูรณ์ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณ นางสาวคุณัชญสุภชา กลับคง นางสาวขนิษฐา เกตุหนู นางสาวดารัตน์ พึ่งบุญ และนายนวรุจ ยวงทอง ที่ให้ความช่วยเหลือด้วยดีเสมอมาในเรื่องการเตรียมวัตถุดิบสำหรับการวิจัยและการจัดเก็บข้อมูลในการวิจัยนี้เป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในขั้นตอนสุดท้ายจนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณญาติๆ ทุกคน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณพ่อ คุณแม่ น้องสาว ครอบครัวสิงห์ชัย และนางจารุทรรศน์ สื่อประเสริฐสุข ที่ได้ส่งเสริมสนับสนุนและเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณทุกท่านมา ณ โอกาสนี้ หากการนำเสนอวิทยานิพนธ์นี้มีความดีและมีประโยชน์อยู่บ้าง ขอมอบความดีนี้ให้แก่บุคคลที่มีส่วนเกี่ยวข้องทั้งหมดที่ให้คำปรึกษาให้กำลังใจและให้ความช่วยเหลือจนประสบผลสำเร็จ หากมีข้อผิดพลาดประการใด ผู้วิจัยขออภัยมา ณ ที่นี้

นลินี รัตนสุวรรณ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย...... I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ...... II
กิตติกรรมประกาศ...... III
สารบัญ...... IV
สารบัญตาราง...... VI
สารบัญรูปภาพ...... VII
บทที่ 1 บทนำ...... 1
    1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา...... 1
    1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย...... 2
    1.3 สมมติฐานของการวิจัย...... 2
    1.4 กรอบแนวคิดที่ใช้ในการวิจัย...... 3
    1.5 ขอบเขตของการวิจัย...... 4
    1.6 นิยามศัพท์เฉพาะในการวิจัย...... 4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง...... 6
    2.1 ความรู้เกี่ยวกับบีทรูท...... 6
    2.2 การหมัก...... 11
    2.3 โพรไบโอติก...... 28
    2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง...... 43
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย...... 46
    3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย...... 46
    3.2 วิธีการดำเนินงาน...... 47
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง...... 52
    4.1 การศึกษาสูตรน้ำบีทรูท และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ที่เหมาะสมต่อการหมักและการทดสอบยอมรับน้ำหมักบีทรูท ของกลุ่มผู้บริโภคที่ไม่ผ่านการฝึกฝน...... 52
    4.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และตรวจนับจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตระหว่างการหมักน้ำบีทรูท...... 57
    4.3 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักบีทรูท และตรวจสอบคุณภาพของน้ำหมัก...... 59
    4.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา...... 61

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 5 สรุปและขอเสนอแนะ.. 64

5.1 สรุปผลการศึกษาวิจัย.. 64

5.2 ข้อเสนอแนะ.. 64

บรรณานุกรม.. 65

ภาคผนวก.. 72

ภาคผนวก ก การเตรียมวัตถุดิบ.. 73

ภาคผนวก ข การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี.. 78

ภาคผนวก ค การใช้เครื่องมือต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ.. 80

ภาคผนวก ง วิธีการวิเคราะห์.. 84

ภาคผนวก จ แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส.. 91

ภาคผนวก ฉ ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.. 99

ภาคผนวก ช มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืช.. 103

ประวัติผู้เขียน.. 111

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 การจัดลำดับชั้นในการจำแนกพืชของบีทรูท 7
2.2 ส่วนประกอบของบีทรูทต่อส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม 7
3.1 อัตราส่วนของน้ำบีทรูทสูตรต่างๆ สำหรับใช้ในการทดลอง 48
4.1 ลักษณะปรากฏด้านสีของน้ำบีทรูทสูตรต่างๆ ที่อายุการหมัก 48 ชั่วโมง 52
4.2 ค่าพีเอช ตะกอน สี และรสชาติของน้ำบีทรูทสูตรต่างๆ ที่อายุการหมัก 48 ชั่วโมง 54
4.3 ค่าเฉลี่ยของคะแนนการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำหมักบีทรูทสูตรต่างๆ และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) 55
4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิต ที่อายุการหมัก 0 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง 57
4.5 คุณค่าทางโภชนาการของน้ำบีทรูทพาสเจอร์ไรซ์และน้ำหมักบีทรูท 59
4.6 ผลการตรวจสอบคุณภาพของน้ำหมักบีทรูท ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืช 61
4.7 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ปริมาณของเข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิต ที่อายุการหมัก 0 - 48 ชั่วโมง และที่อายุการเก็บรักษา 0 - 15 วัน 62
ก.1 อัตราส่วนของน้ำบีทรูทสูตรต่างๆ สำหรับใช้ในการทดลอง 77
ง.1 รหัสตัวอย่างน้ำหมักบีทรูท 98
ฉ.1 แสดงค่าเฉลี่ยของคะแนนลักษณะปรากฏของน้ำหมักบีทรูทสูตรต่างๆ และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) 100
ฉ.2 แสดงค่าเฉลี่ยของคะแนนสีของน้ำหมักบีทรูทสูตรต่างๆ และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) 100
ฉ.3 แสดงค่าเฉลี่ยของคะแนนกลิ่นรสของน้ำหมักบีทรูทสูตรต่างๆ และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) 101
ฉ.4 แสดงค่าเฉลี่ยของคะแนนรสชาติของน้ำหมักบีทรูทสูตรต่างๆ และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) 101
ฉ.5 แสดงค่าเฉลี่ยของคะแนนความชอบโดยรวมของน้ำหมักบีทรูทสูตรต่างๆ และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) 102

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**
2.1 บีทรูท (Beetroot).. 6
2.2 สูตรโครงสร้างเคมีของบีตานิน.. 9
2.3 สูตรโครงสร้างเคมีของบีตาไซยานินและบีตาแซนทิน.. 10
2.4 กระบวนการสลายตัวของบีตานินเนื่องจากกรดและความร้อน.. 11
2.5 สมการแสดงการหมักที่ทำให้เกิดแอลกอฮอล์.. 14
2.6 สมการแสดงการหมักที่ทำให้เกิดกรดอะซีติค.. 14
2.7 สมการแสดงการหมักที่ทำให้เกิดกรดแลคติก.. 14
2.8 โครงสร้างกรดแลคติก.. 15
2.9 วิถีทางเคมีของการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (homofermentative).................. 19
2.10 วิถีทางเคมีของการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (heterofermentative)....... 20
2.11 แนวทางการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียกรดแลคติกในการผลิตอาหารหมักชนิดต่าง ๆ..... 26
2.12 ลักษณะของเชื้อแลคโตบาซิลลัสเพนโตซัส (*Lactobaillus pentosus*)...................... 27
2.13 บทบาทของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ส่งผลต่อผู้บริโภคหรือเจ้าบ้าน.............................. 32
2.14 ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ที่พบภายในระบบทางเดินอาหาร
(กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่).. 33
2.15 บทบาทของโพรไบโอติกต่อโรคต่างๆ และสุขภาพ.. 34
2.16 แผนภาพแสดงประโยชน์น้ำหมักชีวภาพ.. 38
2.17 การผลิตน้ำหมักชีวภาพจากกล้าเชื้อผักดอง.. 42
ก.1 น้ำผักผลไม้ที่ใช้เป็นส่วนผสมในการหมักน้ำบีทรูท.. 77
ค.1 หม้อนึ่งความดัน (Altoclave).. 81
ค.2 ตู้บ่ม (Memmert รุ่น W 8540 Schwabach).. 82
ค.3 ตู้ปลอดเชื้อ (Bionazard Laminar Flow) ยี่ห้อ Clean รุ่น V5-V6............................ 83

บทที่ 1

บทนำ

1.1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การบริโภคอาหารครบถ้วนตามหลักโภชนาการ และการออกกำลังกายสม่ำเสมอเป็นการส่งเสริมสุขภาพร่างกายให้แข็งแรงสมบูรณ์นั้นเป็นสิ่งที่ทุกคนรับรู้และเข้าใจโดยทั่วไป แต่ในทางปฏิบัติแล้วค่อนข้างเป็นไปได้ยากในปัจจุบัน เนื่องจากการดำเนินชีวิตที่เร่งรีบทำให้หลายคนมีพฤติกรรมการบริโภคที่ไม่เหมาะสมรับประทานอาหารไม่ครบถ้วนตามหลักโภชนาการ ดังนั้นผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจึงเข้ามามีบทบาทต่อผู้บริโภคมากขึ้น เพื่อเป็นทางเลือกในการบริโภคเพื่อเสริมสุขภาพให้ดีขึ้น

บีทรูท (beet root) มีชื่อภาษาไทยว่า ผักกาดฝรั่ง ผักกาดแดง เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Chenopodiaceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Beta vulgaris* L. (นิพนธ์ ไชยมงคล, มปป.: 1) บีทรูทมีสารอาหารที่สำคัญหลายชนิดได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส โซเดียม โปแตสเซียม เหล็ก วิตามินซี วิตามินเอ วิตามินบี1 และวิตามินบี2 บีทรูทโดยทั่วไปมีสีแดงซึ่งสารสีดังกล่าวประกอบด้วยแอนโธไซยานิน (anthocyanin) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) (Buchweitz, *et. al*. 2012 : 1971-1979) นอกเหนือจากนี้ยังมีไบโอทิน (Biotin) ช่วยกระตุ้นการหลั่งอินซูลินเร่งการสลายตัวของน้ำตาลทั้งยังช่วยย่อยอาหาร บีตานิน (Betanin) ช่วยกระตุ้นการหลั่งน้ำดี กระตุ้นการไหลเวียนเลือด และป้องกันหลอดเลือดในตับอุดตัน สังกะสีช่วยรักษาไขมันที่มาเกาะตับ (Fatty Liver) ช่วยป้องกันหลอดเลือดอุดตัน โรคหัวใจ และรักษาภาวะซึมเศร้าได้ (Tom, 2555 : 107-108)

บีทรูทนอกจากรับประทานสดในรูปแบบของเครื่องดื่มแล้ว ยังนำมาแปรรูปเป็นน้ำหมักชีวภาพซึ่งจัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในกลุ่มของน้ำหมักพืช โดยความหมายของน้ำหมักพืชตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2548 : 1) กล่าวว่า น้ำหมักพืช หมายถึง เครื่องดื่มที่ได้จากการนำส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชชนิดเดียวหรือหลายชนิดที่สดหรือแห้งและอยู่ในสภาพดีมาล้างให้สะอาด อาจหั่นหรือตัดแต่ง นำมาผ่านกรรมวิธีการผลิตน้ำหมักพืชในภาชนะที่ไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำหมักพืช ส่วนกรรมวิธีการผลิตน้ำหมักพืช หมายถึง การหมักพืชหรือการสกัดน้ำจากพืชด้วยจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดกรดแลกติกเป็นส่วนประกอบหลัก เช่น แลคโตบาซิลัส บัลแกริคัส (*Lactobacillus bulgaricus*) แลกโตบาซิลลัส เคซิอิ (*Lactobacillus casei*) หรือจุลินทรีย์อื่นที่สามารถใช้ในการผลิตน้ำหมักพืช ทั้งนี้อาจมีจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักบ่มที่มีชีวิตคงเหลืออยู่ ซึ่งน้ำหมักพืชเป็นทางเลือกหนึ่งของอาหารเพื่อสุขภาพ เพราะมีส่วนผสมของจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติโพรไบโอติก (ไชยวัฒน์ ไชยสุต, 2553: 44) โดย Maldonado, et al. (2011 : 19) ได้กล่าวถึงคุณสมบัติของ *Lactobacillus pentosus* บางสายพันธุ์ว่าเป็นโพรไบโอติก ช่วยเพิ่มภูมิต้านทานและต้านทานการติดเชื้ออันเนื่องมาจากแบคทีเรีย นอกจากนี้บางสายพันธุ์มีความสามารถในการผลิตแบคทีริโอซิน และมีการนำ *Lactobacillus pentosus* มาใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตเครื่องดื่มโพรไบโอติก (ปิ่นมณี ขวัญเมือง, 2551: 26-29; พรสวรรค์ บัวทอง และ ภัศราพรรณ ยวนใจ, 2556 : 25-28)

การแปรรูปน้ำบีทรูท เป็นน้ำหมักบีทรูทเป็นแนวทางหนึ่งในการแปรรูปผลิตภัณฑ์จากผักให้เป็นกรดแลคติกซึ่งจัดเป็นเทคโนโลยีที่สำคัญในการแปรรูปอาหารโดยกระบวนการหมัก ตลอดจนเป็นการนำวัตถุดิบทางการเกษตรที่มีอยู่มาใช้ประโยชน์ในการสร้างผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสำหรับเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพและสามารถพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์ได้

จากประโยชน์ของบีทรูทและแนวทางการใช้ประโยชน์ผู้วิจัยจึงเห็นความสำคัญของการนำเอาเทคโนโลยีการแปรรูปอาหารโดยการหมักมาใช้ในการแปรรูปน้ำบีทรูทโดยใช้กล้าเชื้อ *Lactobacillus pentosus* เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูทที่เป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ และเป็นแนวทางการพัฒนาผลิตภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์ได้

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาสูตรน้ำบีทรูท และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่เหมาะสมต่อการหมักและที่ผู้ชิมยอมรับ

1.2.2 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และตรวจนับจำนวนเซลล์ *Lactobacillus pentosus* ที่มีชีวิตระหว่างการหมักน้ำบีทรูท

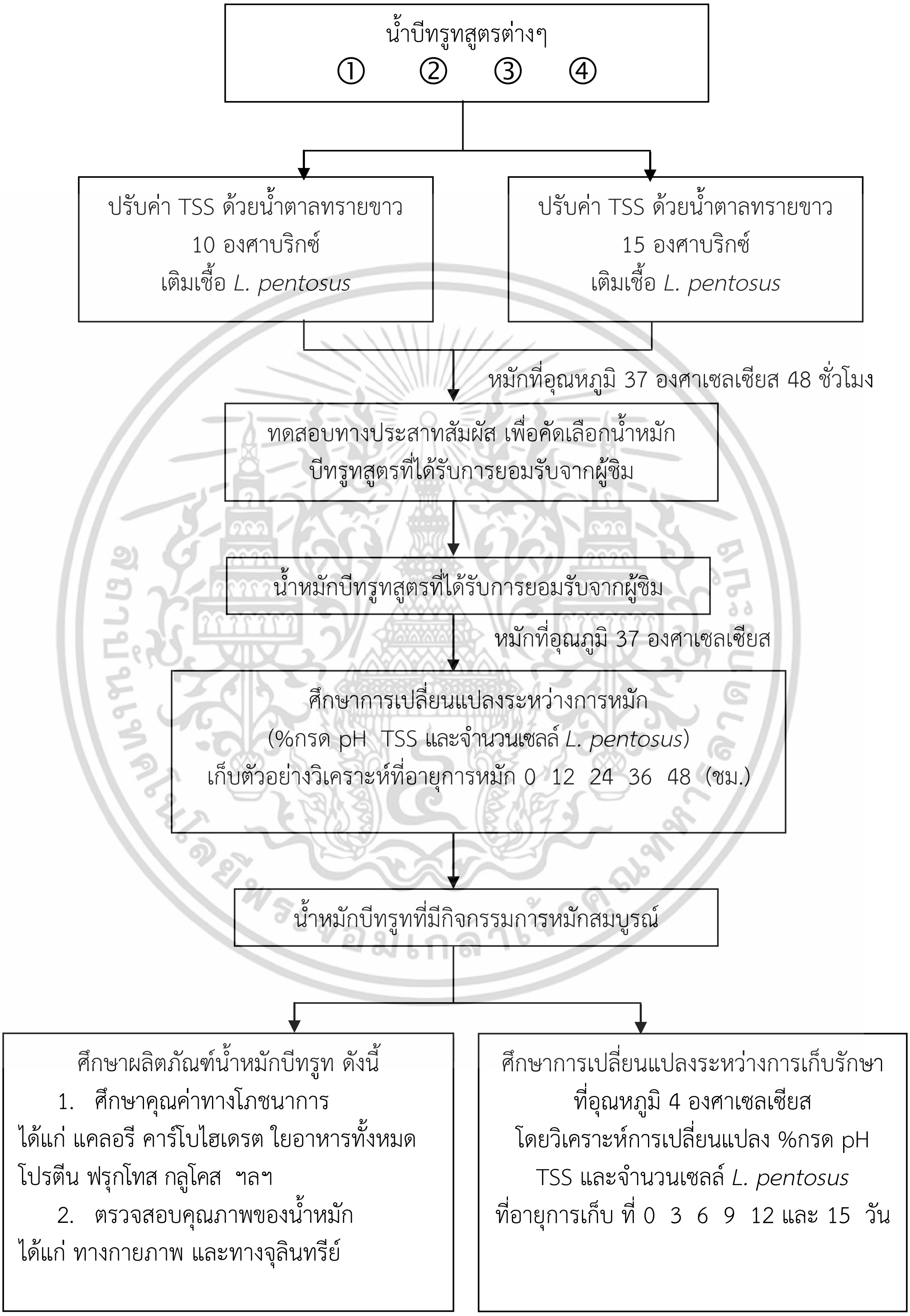
1.2.3 เพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักบีทรูท และตรวจสอบคุณภาพของน้ำหมัก

1.2.4 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาน้ำหมักบีทรูทที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่อายุการเก็บ 0 3 6 9 12 และ15 วัน

1.3 สมมติฐานการวิจัย

น้ำบีทรูทผสมน้ำสับปะรด สามารถหมักให้เกิดกรดแลคติกด้วย *Lactobacillus pentosus* เพื่อใช้เป็นเครื่องดื่มโพรไบโอติกได้

1.4 กรอบแนวคิดที่ใช้ในการวิจัย


น้ำบีทรูทสูตรต่างๆ
① ② ③ ④
ปรับค่า TSS ด้วยน้ำตาลทรายขาว 10 องศาบริกซ์ เติมเชื้อ *L. pentosus*
ปรับค่า TSS ด้วยน้ำตาลทรายขาว 15 องศาบริกซ์ เติมเชื้อ *L. pentosus*
หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง
ทดสอบทางประสาทสัมผัส เพื่อคัดเลือกน้ำหมักบีทรูทสูตรที่ได้รับการยอมรับจากผู้ชิม
น้ำหมักบีทรูทสูตรที่ได้รับการยอมรับจากผู้ชิม
หมักที่อุณภูมิ 37 องศาเซลเซียส
ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมัก
(%กรด pH TSS และจำนวนเซลล์ *L. pentosus*)
เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ที่อายุการหมัก 0 12 24 36 48 (ชม.)
น้ำหมักบีทรูทที่มีกิจกรรมการหมักสมบูรณ์
ศึกษาผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูท ดังนี้
1. ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ แคลอรี คาร์โบไฮเดรต ใยอาหารทั้งหมด โปรตีน ฟรุกโทส กลูโคส ฯลฯ
2. ตรวจสอบคุณภาพของน้ำหมัก ได้แก่ ทางกายภาพ และทางจุลินทรีย์
ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา
ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
โดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลง %กรด pH
TSS และจำนวนเซลล์ *L. pentosus*
ที่อายุการเก็บ ที่ 0 3 6 9 12 และ 15 วัน

1.5 ขอบเขตของการวิจัย

1.5.1 ศึกษาส่วนผสมของสูตรน้ำบีทรูท และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่เหมาะสมต่อการหมักที่ผู้ชิมยอมรับ

1.5.2 วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และตรวจนับจำนวนเซลล์ *Lactobacillus pentosus* ระหว่างการหมัก

1.5.3 เลือกสูตรที่เหมาะสมที่ผู้ชิมยอมรับ และนำมาวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักบีทรูท และตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์น้ำหมัก

1.5.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาน้ำหมักบีทรูทที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่อายุการเก็บรักษา 0 3 6 9 12 และ 15 วัน

1.6 นิยามศัพท์เฉพาะในการวิจัย

1.6.1 การหมัก (fermentation) หมายถึง กระบวนการแปรสภาพของสารประกอบอินทรีย์ที่ถูกควบคุมด้วยการทำงานของเอนไซม์

1.6.2 การหมักให้เกิดกรดแลคติก (lactic acid fermentation) หมายถึง การเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส (glucose) ให้เป็นกรดแลคติกโดยการทำงานของจุลินทรีย์ผลิตกรดแลคติกในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนหรือมีปริมาณออกซิเจนน้อย

1.6.3 แลคโตบาซิลลัส เพนโทซัส (*Lactobacillus pentosus*) หมายถึง จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดแลคติกจากกระบวนการหมัก

1.6.4 น้ำบีทรูท (beetroot juice) หมายถึง เครื่องดื่มชนิดหนึ่งที่ได้จากการนำหัวบีทรูทสดที่ไม่เน่าเสีย ล้างให้สะอาด ปอกเปลือกแล้วตัดแต่งและหั่นเป็นชิ้น อาจนำมาผสมน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 โดยน้ำหนัก ตีปั่นและกรองแยกกากได้น้ำบีทรูท

1.6.5 น้ำหมักบีทรูท (fermented beetroot juice) หมายถึง เครื่องดื่มที่ได้จากการนำบีทรูทในสภาพดีมาล้างให้สะอาด อาจหั่นหรือตัดแต่ง นำมาผ่านกรรมวิธีการผลิตน้ำหมักพืชด้วยจุลินทรีย์ *L. pentosus* ในภาชนะที่ไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำหมักพืช ซึ่งน้ำหมักพืชเป็นทางเลือกหนึ่งของอาหารเพื่อสุขภาพ เพราะมีส่วนผสมของจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติโพรไบโอติก (probiotic)

1.6.6 สูตรน้ำบีทรูท (recipes of the beetroot juice) หมายถึง ส่วนผสมที่ใช้ในการเตรียมน้ำบีทรูทประกอบด้วย น้ำบีทรูท น้ำแครอท น้ำสับปะรด และน้ำกลั่น

1.6.7 คุณภาพของน้ำหมักบีทรูท (the quality of the fermented beetroot juice) หมายถึง ข้อกำหนดด้านคุณภาพตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืชประกอบด้วย ลักษณะทั่วไปคือ เปนของเหลวอาจตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไว้อาจมีชิ้นเนื้อพืชปนอยู่ได้บ้างเล็กน้อย ต้องมีสี กลิ่น และกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใช้และกรรมวิธีการผลิต ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไมพึงประสงค ต้องไมพบสิ่งแปลกปลอมที่ไมใชสวนประกอบที่ใช้ เชน เส้นผม ขนสัตว ดิน ทราย กรวด ชิ้นสวน หรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์ และความเปนกรด - ดาง ตองไมเกิน 4.3 ลักษณะทางจุลินทรีย์ คือ จำนวนยีสตและรา ตองไมเกิน 100 โคโลนีตอตัวอยาง 1 มิลลิลิตร

1.6.8 น้ำหมักพืช (lactic acid fermented plants beverage) หมายถึง เครื่องดื่มที่ได้จากการนำส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชชนิดเดียวหรือหลายชนิดที่สดหรือแห่ง และอยู่ในสภาพดีมาล่างให สะอาด อาจหั่นหรือตัดแตง นำมาผานกรรมวิธีการผลิตน้ำหมักพืชในภาชนะที่ไมทำปฏิกิริยากับน้ำหมักพืช ดวยจุลินทรียที่ทำใหเกิดกรดแลคติกเปนสวนประกอบหลัก ทั้งนี้อาจมีจุลินทรียที่ใชในการหมักบมที่มีชีวิตคงเหลืออยู

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้เกี่ยวกับบีทรูท

2.1.1 ลักษณะทั่วไป

บีทรูท (beetroot) มีชื่อสามัญว่า common beet หรืออาจเรียกว่า ผักกาดฝรั่ง ผักกาดแดง นิยมปลูกในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทยถิ่นกำเนิดอยู่แถบเมดิเตอเรเนียนและภาคเหนือของทวีปอาฟริกา เป็นพืชที่บริโภครากสะสมอาหาร (swollen root) ใบเจริญเป็นกระจุก (rosette) มีลักษณะกลมยาวหรือเป็นเหลี่ยม ผิวเรียบหรือเป็นลอนขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ สีเขียวหรือแดงเข้ม ก้านใบขนาดเล็ก ความยาวขึ้นอยู่กับสายพันธุ์บีทรูทเป็นพืชผักเขตหนาวมีอุณหภูมิเหมาะสมในการปลูกอยู่ระหว่าง 16 - 20 องศาเซลเซียส สีและคุณภาพของหัวขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ การเพาะปลูกทำโดยการหยอดเมล็ด อายุเก็บเกี่ยวอยู่ระหว่าง 50 - 75 วัน หรือขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 - 2 นิ้ว การเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยวควรเก็บที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ความชื้น 95 เปอร์เซ็นต์ จะสามารถเก็บรักษาได้นาน 4 - 6 เดือน (นิพนธ์ ไชยมงคล, มปป.: 1-4)

ภาพที่ 2.1 บีทรูท (beetroot)

ตารางที่ 2.1 การจัดลำดับชั้นในการจำแนกพืชของบีทรูท

ชั้น	ชื่อทางวิทยาศาสตร์
Kingdom	*Plantae*
Subkingdom	*Tracheobionta*
Superdivision	*Spermatophyta*
Division	*Magnoliophyta*
Class	*Magnoliopsida*
Subclass	*Caryophyllidae*
Order	*Caryophyllales*
Family	*Chenopodiaceae*
Genus	*Beta* L.
Species	*Beta vulgaris* L.

ที่มา : USDA Plants Database (n.d.)

2.1.2 องค์ประกอบทางเคมีของบีทรูท

บีทรูทอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระนอกจากนี้ยังมีแร่ธาตุที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายอีกมากมาย เช่น แมกนีเซียม โซเดียม โปแตสเซียม วิตามินซี บีตานิน มีแคลอรี่ต่ำ นอกจากนี้บีทรูทประกอบไปด้วย โฟลิคเอซิด วิตามิน บี1 บี2 บี3 และวิตามินเอ (carotenoids) (Buchweitz, et al., 2012 : 1971-1979.)

ตารางที่ 2.2 ส่วนประกอบของบีทรูท ต่อส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม

ส่วนประกอบ	ปริมาณ/100 กรัม ของบีทรูท
พลังงาน	43 Kcal
คาร์โบไฮเดรต	9.56 g
น้ำตาล	6.76 g
ใยอาหาร	2.8 g
ไขมัน	0.17 g
โปรตีน	1.61 g
น้ำ	87.58 g
วิตามินเอ	33 IU
บีตานิน	128.7 mg
บีต้า-แคโรทีน	20 μg
ไธอะมีน (วิตามินบี1)	0.031 mg
ไรโบฟลาวิน (วิตามินบี2)	0.057 mg
ไนอาซิน (วิตามินบี3)	0.334 mg
แพนโทเทนิค (วิตามินบี5)	0.155 mg
วิตามินบี6	0.067 mg

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

ส่วนประกอบ	ปริมาณ/100 กรัม ของบีทรูท
โฟเลต (วิตามินบี9)	109 μg
วิตามินซี	4.9 mg
แคลเซียม	16 mg
เหล็ก	0.80 mg
แมกนีเซียม	23 mg
ฟอสฟอรัส	40 mg
โปตัสเซียม	325 mg
สังกะสี	0.35 mg

ที่มา : USDA Nutrient Database (n.d.)

2.1.3 น้ำบีทรูท

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2548 : 1) ให้ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.278/2547) เกี่ยวกับน้ำบีทรูท มีดังต่อไปนี้

น้ำบีทรูท หมายถึง เครื่องดื่มชนิดหนึ่งที่ได้จากการนำหัวบีทรูทสด ไม่เน่าเสีย ล้างให้สะอาด ปอกเปลือกแล้วตัดแต่งและหั่นเป็นชิ้น อาจนำมาผสมน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 โดยน้ำหนัก ตีป่นและกรองแยกกากได้น้ำบีทรูท อาจปรุงแต่งรสด้วยน้ำตาล กรดซิตริก และอาจเติมสเตบิไลเซอร์ หรือน้ำผลไม้ชนิดอื่น เช่น น้ำเสาวรส ต้มฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิไม่น้อยกว่า 95 องศาเซลเซียส บรรจุในภาชนะขณะร้อน แล้วทำให้เย็นทันที ประเภทของน้ำบีทรูทได้แก่

น้ำบีทรูทแท้ หมายถึง น้ำบีทรูทที่ไม่มีการเจือน้ำ น้ำบีทรูทแท้ต้องมีสี กลิ่น และรสที่ดีตามธรรมชาติของบีทรูท ไม่มีกลิ่นแอลกอฮอล์ และปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์

น้ำบีทรูทปรุง หมายถึง น้ำบีทรูทที่ทำจากน้ำบีทรูทแท้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก มีการเจือน้ำปรุงแต่งรสด้วยน้ำตาล กรดซิทริก หรือน้ำผลไม้อื่น อาจแต่งสีและกลิ่นด้วย น้ำบีทรูทปรุงต้องมีสี กลิ่น และรสที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้ ไม่มีกลิ่นแอลกอฮอล์ และปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์

น้ำบีทรูทสามารถนำมาแปรรูปต่อโดยการใช้วิธีการหมัก (fermentation) เพื่อให้ได้เป็นน้ำหมักบีทรูทซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่จัดอยู่ในกลุ่มของน้ำหมักพืช

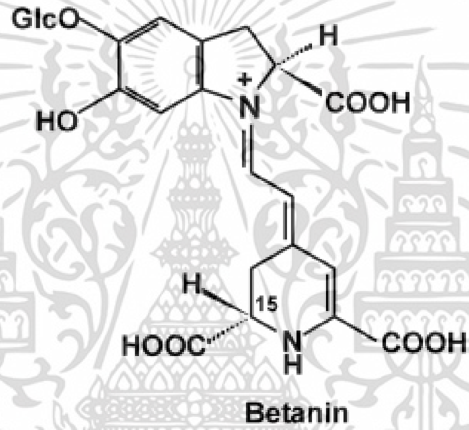
2.1.4 ประโยชน์ของน้ำบีทรูท

บีทรูทมีสารอาหารที่สำคัญหลายชนิด เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส โซเดียม โปแตสเซียม เหล็ก อีกทั้งยังให้วิตามินซี วิตามินเอ วิตามินบี1 และวิตามินบี2 บีทรูทโดยทั่วไปมีสีแดง ซึ่งสารสีดังกล่าวประกอบด้วย แอนโธไซยานิน (anthocyanin) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) (Buchweitz, et. al. 2012 : 1971-1979) นอกเหนือจากนี้ยังมีไบโอทิน (Biotin) ช่วยกระตุ้นการหลั่งอินซูลิน เร่งการสลายตัวของน้ำตาลอีกทั้งยังช่วยย่อยอาหาร บีตานิน (Betanin) ช่วยกระตุ้นการหลั่งน้ำดี กระตุ้นการไหลเวียนเลือดและป้องกันหลอดเลือดในตับอุดตัน สังกะสีช่วยรักษาไขมันที่มาเกาะตับ (Fatty Liver) ช่วยป้องกันหลอดเลือดอุดตัน โรคหัวใจและรักษาภาวะซึมเศร้าได้ (Tom, 2555 : 107-108) ปัจจุบัน

นิยมใช้สีจากบีทรูทมาเป็นสีผสมอาหารจากธรรมชาติและปรุงอาหารต่างๆ เพื่อสุขภาพหลายชนิด เนื่องจากให้พลังงานต่ำแต่อุดมไปด้วยคุณประโยชน์มากมาย (Murphy, et. al. 2012 : 548-552)

2.1.5 บีตานิน

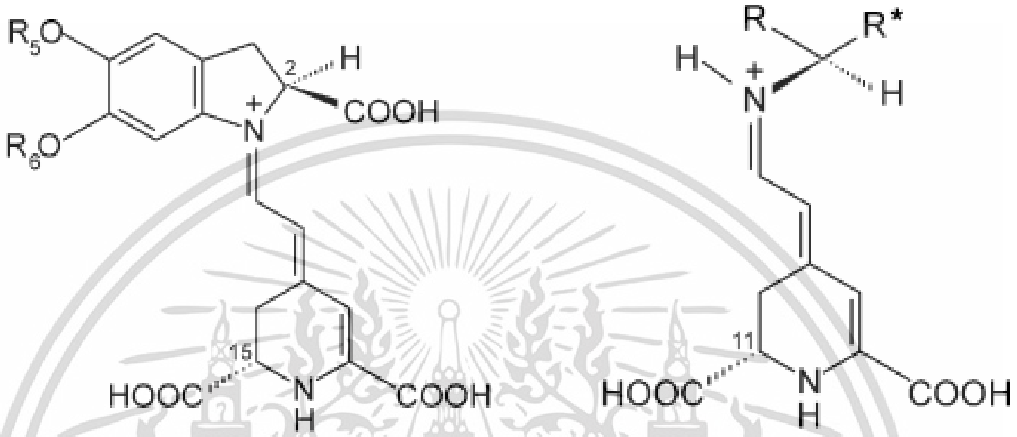
บีตานิน (betanin) เป็นรงควัตถุหลักของหัวบีทรูท ซึ่งเป็นรงค์วัตถุที่จัดอยู่ในกลุ่มของบีตาเลน (betalain) เป็นกลุ่มของสารประกอบให้สีมีการพบเป็นครั้งแรกในหัวบีทรูทโดยส่วนมากจะพบมากในส่วนของแวคคิโอ (vacuole) ในเซลล์พืช บีตาเลนเป็นกลุ่มของรงควัตถุที่ให้สีแดงและสีเหลืองคล้ายแอนโทไซยานินและฟลาโวนอยด์ สมัยก่อนเรียกว่า nitrogenous anthocyanins บีตาเลนพบเฉพาะในพืชตระกูล Centrospermea และชนิดที่เป็นอาหารบริโภคได้คือบีทรูทนอกจากนั้นยังพบบีตาเลนได้ในผลแคคตัส (cactus fruit) และดอกไม้บางชนิดเช่น bougainville และผักโขมแดง (amaranthus) (Strack, et. al. 2003 : 247-269 ; Stintzing and Carle, 2004 : 19-38)



ภาพที่ 2.2 สูตรโครงสร้างเคมีของบีตานิน
ที่มา : โยษิตา โตเสาวลักษณ์ (2552 : 6)

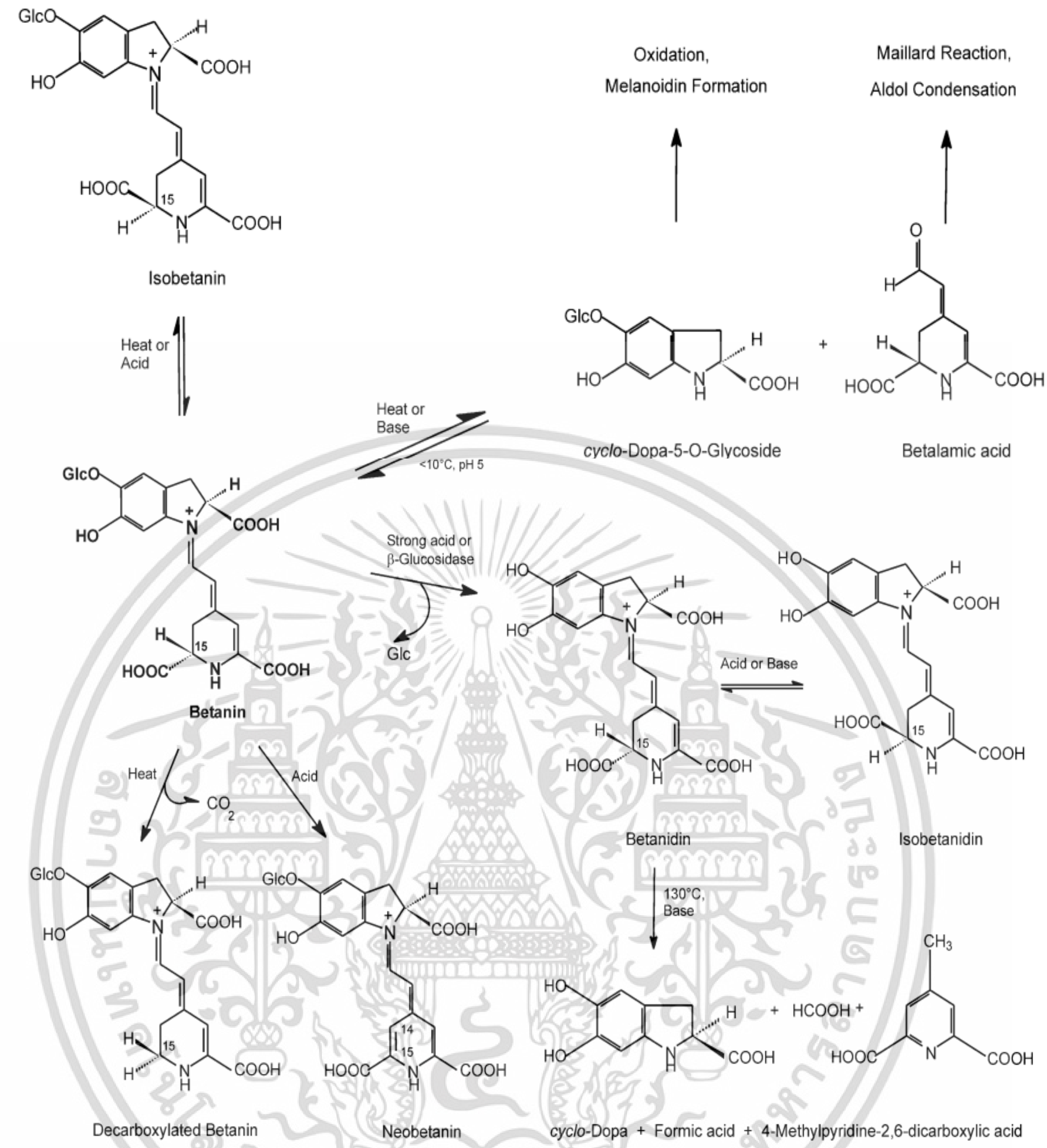
รงควัตถุประเภทนี้ได้รับความสนใจจากนักวิจัยมาเป็นเวลานานมีการใช้เป็นสารให้สีในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มหลายชนิด นอกจากนี้บีตาเลนยังเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพช่วยต้านอนุมูลอิสระต้านไวรัสและแบคทีเรีย (Azeredo, 2009 : 2365-2376) ในงานวิจัยของ Cai, et al. (2003 : 2288-2294) ได้รายงานประสิทธิภาพของบีตาเลนในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ดีกว่าสารคาเทชิน (catechin) และวิตามินซี และจากการที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระทำให้มีความสามารถยับยั้งการแบ่งเซลล์ของเนื้องอกหลายชนิด

สารในกลุ่มบีตาเลนประกอบด้วยสารให้สี 2 กลุ่มย่อย ได้แก่ บีตาไซยานินและบีตาแซนทิน ดังภาพที่ 2.3 บีตาไซยานินเป็นสารให้สีแดง - ม่วง สามารถดูดกลืนคลื่นแสงได้ในช่วง 535 - 550 นาโนเมตร และบีตาแซนทินเป็นสารให้สีเหลืองสามารถดูดกลืนคลื่นแสงได้ในช่วง 475 - 480 นาโนเมตร บีตาไซยานินเป็นสารที่พบมากที่สุดถึงประมาณร้อยละ 90 ของสารในกลุ่มนี้ทั้งหมดสารในกลุ่มบีตาไซยานินที่สำคัญได้แก่ บีตานินซึ่งพบได้มากถึงร้อยละ 75-95 (Zryd and Christinet, 2003 : 185-247)



ภาพที่ 2.3 สูตรโครงสร้างเคมีของบีตาไซยานิน และบีตาแซนทิน
ที่มา : ยุวพร มูลคำ (2552 : 13)

บีตาเลนสลายตัวได้ง่ายในกระบวนการแปรรูปอาหารที่ใช้ความร้อนเช่น การบรรจุกระป๋องของบีทรูทสีแดงจะเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้ม บีตานินที่เป็นรงควัตถุหลักของบีทรูทคือ betanidin-5-O-β-glusoside รูปแบบของบีทรูทที่มีลักษณะเป็นผงจะสามารถเก็บรักษาบีตาเลนได้ดีที่สุดคือ สภาวะที่มีปริมาณน้ำอิสระ 0.12 หรือมีความชื้นร้อยละ 2 ของน้ำหนักแห้ง สีที่สกัดได้จากบีทรูทจะมีความคงตัวที่ค่าพีเอช 4 - 6 จึงน่าสนใจที่จะนำสีจากบีทรูทมาใช้ในอาหารที่ได้จากธรรมชาติชนิดหนึ่งสารละลายบีตานินในน้ำเมื่อได้รับความร้อนจะเกิดปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชัน ดังภาพที่ 2.4 อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเป็นกรดเพิ่มขึ้น (Stintzing and Carle, 2004 : 247-269)


Isobetanin
Heat or Acid
Oxidation, Melanoidin Formation
Maillard Reaction, Aldol Condensation
cyclo-Dopa-5-O-Glycoside
Betalamic acid
Heat or Base
<10°C, pH 5
Betanin
Strong acid or β-Glucosidase
Glc
Betanidin
Acid or Base
Isobetanidin
Heat
CO2
Acid
130°C, Base
Decarboxylated Betanin
Neobetanin
cyclo-Dopa + Formic acid + 4-Methylpyridine-2,6-dicarboxylic acid

ภาพที่ 2.4 กระบวนการสลายตัวของบีตานินเนื่องจากกรดและความร้อน
ที่มา : ยุวพร มูลคำ (2552 : 15)

2.2 การหมัก

2.2.1 ความหมายและประเภทของการหมัก

นันทนา สีสุข (2555:22) กล่าวถึงความหมายของการหมักดังนี้ การหมัก (fermentation) มาจากคำภาษาละตินว่า fervere หมายถึง เดือด ความหมายนี้เริ่มใช้ครั้งแรกเมื่อราวปลายคริสต์ศตวรรษที่ 14 เพื่ออธิบายลักษณะที่เกิดจากการทำงานของยีสต์ในน้ำผลไม้ เพราะยีสต์ย่อยสลายน้ำตาลในน้ำผลไม้ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน แล้วทำให้เกิดฟองแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ผุดขึ้นมาเหมือนน้ำเดือดแต่เมื่อราวคริสต์ศตวรรษที่ 16 จึงเริ่มใช้ในความหมายปัจจุบัน โดยการหมักในทางชีวเคมีหมายถึง การสร้าง

พลังงานจากกระบวนการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ หรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารประกอบอินทรีย์เนื่องจากเอนไซม์ โดยมีสารอินทรีย์เป็นทั้งตัวให้และตัวรับอิเล็กตรอน ซึ่งต่างจากการหายใจแบบใช้ออกซิเจนที่ใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย ส่วนการหมักในทางจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม หมายถึงกระบวนการผลิตผลผลิตใดๆ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จำนวนมาก (mass culture) ซึ่งจะครอบคลุมทั้งกระบวนการแบบใช้และไม่ใช้ออกซิเจน ในทางเทคโนโลยีชีวภาพอาจแบ่งการหมักได้หลากหลาย ขึ้นอยู่กับเกณฑ์พิจารณาที่นำมาใช้แบ่งเป็น 5 ประเภท ดังนี้

2.2.1.1 การแบ่งประเภทการหมักตามผลผลิตของการหมัก ได้แก่

2.2.1.1.1 ผลผลิตเป็นตัวเซลล์จุลินทรีย์ (microbial cell) เช่น การผลิตยีสต์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมขนมอบ (bakers' yeast) การผลิตเซลล์จุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นโปรตีนเซลล์เดี่ยว (Single Cell Protein; SCP)

2.2.1.1.2 ผลผลิตเป็นเอนไซม์จากจุลินทรีย์ (microbial enzyme) ส่วนใหญ่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น เอนไซม์อะไมเลส (amylase) เอนไซม์ไลเปส (lipase) เอนไซม์โปรติเอส (proteases) เป็นต้น

2.2.1.1.3 ผลผลิตเป็นสารเมแทบอไลท์ (microbial metabolite) อาจเป็นสารเมทาบอไลท์ปฐมภูมิ (primary metabolite) เช่น เอทานอล บิวทานอล ไลซีน วิตามิน เป็นต้น จุลินทรีย์จะผลิตสารเหล่านี้ในระยะล็อกของการเจริญ (log phase) และสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งเป็นผลผลิตจากกระบวนการเมแทบอบอลิซึมปฐมภูมิ ซึ่งพบในจุลินทรีย์บางชนิดในระยะสเตชันนารี (stationary phase) ของการเจริญแต่มีความสำคัญ เช่น ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ เป็นสารส่งเสริมการเจริญเติบโต (growth promoter) หรือมีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรคเป็นต้น

2.2.1.1.4 ผลผลิตที่เกิดจากการเปลี่ยนรูปของสารประกอบที่เติมลงไป (transformation process) เป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบให้อยู่ในรูปที่คล้ายกันแต่มีราคาสูงขึ้น เช่น กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู (การเปลี่ยนเอทานอลไปเป็นกรดน้ำส้ม) การผลิตสารปฏิชีวนะ เป็นต้น

2.2.1.2 การแบ่งประเภทการหมักตามความต้องการอากาศหรือออกซิเจน ได้แก่

2.2.1.2.1 การหมักแบบให้อากาศ (aerobic fermentation) เป็นการหมักภายใต้สภาวะที่มีการเติมอากาศให้แก่จุลินทรีย์ระหว่างที่เกิดกระบวนการหมัก เช่น การหมักกรดซิตริก และกรดน้ำส้ม เป็นต้น

2.2.1.2.2 การหมักแบบไม่ให้อากาศ (anaerobic fermentation) เป็นการหมักที่ไม่มีการให้อากาศให้แก่จุลินทรีย์ระหว่างการหมัก เช่น การหมักแอซิโตน และบิวทานอล

2.2.1.3 การแบ่งประเภทการหมักตามสภาพการควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่น ได้แก่

2.2.1.3.1 การหมักแบบไม่ปลอดเชื้อ (septic fermentation) เป็นการหมักในสภาพเปิด ไม่จำเป็นต้องกำจัดจุลินทรีย์อื่นก่อนเริ่มการหมัก เช่น การผลิตอาหารหมัก การผลิตสุรากลั่น การผลิตแอลกอฮอล์และเซลล์ยีสต์จากน้ำทิ้งบางประเภท

2.2.1.3.2 การหมักแบบกึ่งปลอดเชื้อ (semi-septic fermentation) เป็นการหมักในสภาพปิดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนเชื้อจากภายนอก แต่ไม่จำเป็นต้องกำจัดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ

2.2.1.3.3 การหมักแบบปลอดเชื้อ (aseptic fermentation) เป็นการหมักที่ต้องกำจัดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบก่อนเริ่มหมักและในระหว่างกระบวนการหมักต้องใช้เทคนิคปลอดเชื้อกับทุกขั้นตอนการดำเนินงาน การหมักแบบนี้จึงปราศจากจุลินทรีย์ปนเปื้อนชนิดอื่นนอกจากจุลินทรีย์ที่มีบทบาทหลักของกระบวนการ เช่น การหมักสารเมแทบอไลท์ที่มีมูลค่าสูงหลายชนิด

2.2.1.4 การแบ่งประเภทการหมักตามลักษณะหรือปริมาณน้ำในอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่

2.2.1.4.1 การหมักบนอาหารแข็ง (solid state fermentation) อาหารแข็งที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์อาจเป็นวัตถุดิบตั้งต้นของการหมัก เช่น การหมักมันสำปะหลังหรือเมล็ดข้าวเพื่อให้ราสร้างสารสี การหมักถั่วเหลืองเพื่อทำเต้าเจี้ยว หรือซีอิ๊ว

2.2.1.4.2 การหมักในอาหารเหลว (submerged state fermentation) เป็นการหมักที่ทำได้โดยการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารที่มีลักษณะเป็นของเหลว เช่น อาหารกากน้ำตาล อาหารสังเคราะห์ที่ปรุงแต่งให้มีสารอาหารที่จุลินทรีย์ต้องการครบ

2.2.1.5 การแบ่งประเภทการหมักตามลักษณะของกระบวนการที่ใช้ ได้แก่

2.2.1.5.1 การหมักแบบแบตช์ (Batch fermentation) เป็นการหมักในระบบปิดคือให้สารอาหารเริ่มต้นในปริมาณมากเกินพอกับความต้องการเพื่อการเจริญของจุลินทรีย์และเมื่อเพาะกล้าจุลินทรีย์ลงไปในระบบแล้วปล่อยให้จุ้ลินทรีย์มีการเจริญและการหมักโดยไม่มีการเติมสารอาหารลงไปอีก

2.2.1.5.2 การหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation) เป็นการหมักในระบบเปิดที่มีการเติมอาหารใหม่พร้อมๆ กับการถ่ายอาหารเก่าและเซลล์จุลินทรีย์ออกจากระบบในอัตราเดียวกันตลอดเวลา จุลินทรีย์จึงมีการเจริญและการหมักอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาที่มีการเติมอาหารใหม่เข้าในระบบ

2.2.1.5.3 การหมักแบบเฟดแบตช์ (Fed-batch fermentation) คือการหมักแบบแบตช์ซึ่งมีการให้อาหารเลี้ยงเชื้ออย่างต่อเนื่องหรือให้อาหารเป็นลำดับโดยไม่มีการถ่ายอาหารเก่าและเซลล์จุลินทรีย์ออกจากระบบ การหมักแบบนี้เริ่มต้นหมักในลักษณะเดียวกับการหมักแบบแบตช์แต่เมื่อสารอาหารใกล้หมดจะมีการเติมสารอาหารบางอย่างเพิ่มลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อยืดการเจริญและกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ออกไป

นอกจากความหมายและประเภทการหมักที่กล่าวมาแล้ว โชติพงษ์ โนนสว่าง (2546: 75) ให้ความหมายของการหมักว่า การหมัก หมายถึง การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของโมเลกุลสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรต หรือสารประกอบพวกอื่นๆ เช่น โปรตีนและไขมันที่มีโมเลกุลใหญ่เปลี่ยนสภาพเป็นโมเลกุลเล็กซึ่งจะเปลี่ยนที่มีออกซิเจนหรือไม่มีก็ได้โดยการทำงานของจุลินทรีย์ปฏิกิริยาการหมักทำให้อาหารเปลี่ยนแปลงทั้งทางเนื้อสัมผัสของอาหาร ลักษณะที่มองเห็น รส และกลิ่น จุลินทรีย์บางชนิดเท่านั้นที่สามารถเกิดปฏิกิริยาการหมักขึ้นได้ และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีแตกต่างกันด้วยปฏิกิริยาการหมักจะเกิดขึ้นรวดเร็วแค่ไหนขึ้นอยู่กับตัวของจุลินทรีย์ที่จะสร้างการเจริญเติบโตขึ้น โดยต้องมีปัจจัยและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ คือ ค่าพีเอช อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน ปริมาณเกลือ ปริมาณของหัวเชื้อ (starter) และอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยสามารถแบ่งประเภทของการหมักตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการหมักได้ ดังนี้

การหมักที่ทำให้เกิดแอลกอฮอล์ (Alcoholic fermentation) การหมักประเภทนี้เกิดขึ้นโดยอาศัยยีสต์ (Yeast) เปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นเอธิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) และปล่อยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ดังสมการต่อไปนี้

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow[\textit{Saccharomyces cerevisiae}]{\text{ยีสต์}} 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

(น้ำตาล) (เอธิลแอลกอฮอล์) + (คาร์บอนไดออกไซด์)

ภาพที่ 2.5 สมการแสดงการหมักที่ทำให้เกิดแอลกอฮอล์
ที่มา : โชติพงษ์ โนนสว่าง (2546 : 76)

ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นโดยวิธีการหมักจะมีสูงสุด 12 - 16 เปอร์เซ็นต์ซึ่งไม่เกินไปกว่านี้ เพราะปริมาณแอลกอฮอล์ที่เกินระดับนี้จะทำลายเซลล์จุลินทรีย์ที่ทำการหมักแทนการหมักที่ทำให้เกิดแอลกอฮอล์ ได้แก่ การทำเบียร์ สาโท ไวน์ โดยผลิตภัณฑ์ดังกล่าวไม่ได้ผ่านการกลั่นจะมีปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำแต่เมื่อนำไปทำการกลั่นก็จะได้เป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น บรั่นดี วิสกี รัม เบอร์เบิน ซึ่งมีชื่อเรียกตามวัตถุดิบที่ทำเป็นเหล้าโดยผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงโดยวัดปริมาณแอลกอฮอล์เป็นดีกรี เช่น สุราขาว 40 Degree หมายถึงในสุรามีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 40 ตัวอย่างของเครื่องดื่มที่ใช้การหมักดองที่ทำให้เกิดแอลกอฮอล์

การหมักที่ทำให้เกิดกรดอะซีติค (acetic acid fermentation) หลังจากปฏิกิริยาการหมักเกิดแอลกอฮอล์สิ้นสุดลงอาจเกิดปฏิกิริยาทางเคมีต่อไปอีกด้วยหากมีก๊าซออกซิเจนและแบคทีเรียพวก *Acetobacter aceti* โดยแบคทีเรียจะเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก (Acetic acid) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ เช่น น้ำส้มสายชูใช้วัตถุดิบจากอ้อย หรือข้าวโพด หรือแป้งจากธัญพืชนำมาละลายน้ำหมักด้วยราและยีสต์เกิดแอลกอฮอล์แล้วนำแอลกอฮอล์ที่ได้มาหมักต่อ ดังสมการต่อไปนี้

$$C_2H_5OH + O_2 \xrightarrow[\textit{Acetobacter aciti}]{\text{แบคทีเรีย}} CH_3COOH + H_2O$$

(เอทธิลแอลกอฮอล์) + (ออกซิเจน) (กรดอะซิติก) + น้ำ

ภาพที่ 2.6 สมการแสดงการหมักที่ทำให้เกิดกรดอะซีติค
ที่มา : โชติพงษ์ โนนสว่าง (2546 : 90)

การหมักที่ทำให้เกิดกรดแลคติก (Lactic acid fermentation) กระบวนการหมักประเภทนี้เกิดโดยอาศัยแบคทีเรียแลคติก (lactic acid bacteria) ได้แก่ แลคโตบาซิลลัส (Lactobacillus) สเตรปโตคอคคัส (Streptococcus) แลคโตคอคคัส (Lactococcus) ลิวโคนอสตอค (Leuconostoc) เปลี่ยนเป็นน้ำตาลในอาหารให้กลายเป็นกรดแลคติก (Lactic acid) ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเล็กน้อยซึ่งปริมาณกรดแลคติกที่ได้จะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ดังสมการต่อไปนี้

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow[\text{Lactic acid bacteria}]{\text{แบคทีเรีย}} 2C_2H_3 - CHOH - COOH$$

(น้ำตาล) (กรดแลคติก)

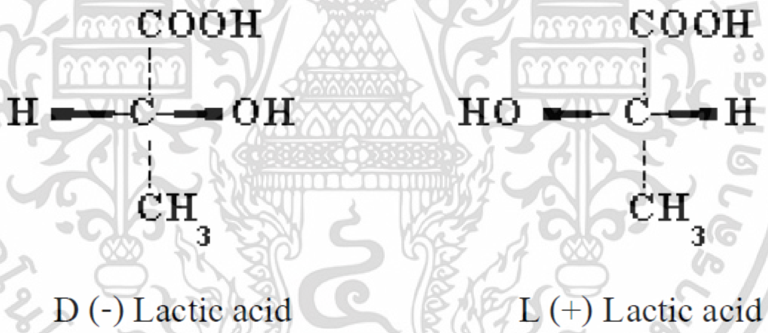
ภาพที่ 2.7 สมการแสดงการหมักที่ทำให้เกิดกรดแลคติก
ที่มา : โชติพงษ์ โนนสว่าง (2546 : 91)

ผลิตภัณฑ์อาหารหมักประเภทนี้ เช่น ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากนม เช่น โยเกิร์ต นมเปรี้ยว เนยแข็ง ผลิตภัณฑ์หมักจากเนื้อสัตว์ เช่น แหนมไส้กรอกอีสาน ซาลามี ผลิตภัณฑ์หมักจากผักและผลไม้ เช่น ผักดอง กิมจิ ผลไม้ดอง ซาวเคราท์ (Sauerkraut) และผลิตภัณฑ์หมักจากถั่วเหลือง เช่น ซีอิ้ว เต้าเจี้ยว มิโซ

2.2.2 แบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria - LAB)

อังคณา ชมพูมิ่ง และคณะ (2553 : 13) กล่าวถึงแบคทีเรียแลคติกไว้ดังนี้ แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกเป็นสารเมตาบอไลท์ทุติยภูมิพบในอาหารหลายชนิดโดยเฉพาะในนม ผัก และผลไม้ ส่วนมากแบคทีเรียนี้เป็นแบคทีเรียที่เจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ แต่ในสภาวะที่มีอากาศก็ไม่ตายแบคทีเรียแลคติกขาดสารไซโตโครม (cytochromes) และพอร์ไฟรินส์ (porphyrins) จึงไม่ให้เอนไซม์แคตาเลส และออกซิเดส แบคทีเรียกลุ่มนี้บางชนิดได้ออกซิเจนโดยผ่านเอนไซม์ฟลาโวโปรตีนออกซิเดส (flavoprotein oxidases) และใช้ออกซิเจนนี้สร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือใช้เพื่อรีออกซิไดซ์ NADH ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการดีไฮโดรจิเนชั่นของน้ำตาล

วันชัย พันธ์ทวี (2550: 17-21) กล่าวถึงกรดแลคติก (Lactic acid) หรือ 2-Hydroxypropanoic acid หรือเรียกว่ากรดน้ำนมมีสูตรทางเคมีคือ $C_3H_6O_3$ กรดนี้พบครั้งแรกโดยนักวิทยาศาสตร์ชาวสวีเดนเมื่อปี พ.ศ. 2323 โดยแยกได้จากนมเปรี้ยวและอีกประมาณหนึ่งร้อยปีต่อมานักวิทยาศาสตร์ชาวฝรั่งเศสสามารถผลิตกรดแลคติกปริมาณมากได้โดยกรรมวิธีการหมัก



D (-) Lactic acid L (+) Lactic acid

ภาพที่ 2.8 โครงสร้างกรดแลคติก

ที่มา : ไชยวัฒน์ นพเก้า (2553 : 6)

กรดแลคติกที่พบว่าทั่วไปจะมีโครงสร้างแตกต่างกัน 2 แบบ โดยแบ่งตามคุณสมบัติการหักเหระนาบแสงคือ L (+) Lactic acid และ D (-) Lactic acid กรดแลคติกเมื่อทำแห้งจะได้ผลึกแข็งสีขาวมีความสามารถในการดูดความชื้นได้ดี ด้วยเหตุนี้การผลิตกรดแลคติกทางการค้าจึงผลิตในสภาพที่เป็นของเหลวมีปริมาณกรดประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพที่เป็นของเหลวนี้กรดแลคติกสามารถเกิดปฏิกิริยาต่อกันเป็นสายยาวแล้วสลับกลับมาเป็นโมเลกุลเดี่ยวๆ ของกรดแลคติกได้ตลอดเวลา การผลิตกรดแลคติกนอกจากวิธีการหมักจากวัตถุดิบประเภทแป้งแล้วในปัจจุบันยังสามารถผลิตโดยวิธีการสังเคราะห์ทางเคมีโดยใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon) เป็นสารตั้งต้น อย่างไรก็ตามกรดแลคติกที่สังเคราะห์ทางเคมีส่วนใหญ่จะได้เป็น D (-) Lactic acid

2.2.2.1 ลักษณะของแบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างเอนไซม์แคตาเลส ต้องการอากาศน้อยๆ (microaerophilic) หรือ facultative anaerobe ต้องการอาหารในการเติบโตซับซ้อน ใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งคาร์บอน ทนกรด อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ระหว่าง 30 - 40 องศาเซลเซียส pH ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 5.5 - 6.2 นิยมใช้ในกระบวนการผลิตอาหารและผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายในกระบวนการหมัก (Toit, et al., 1998 : 93-104) ลักษณะสัณฐานวิทยามีทั้งรูปร่างแท่งและรูปร่างกลม การจัดเรียงกลุ่มแบคทีเรียแลคติกในสกุลต่างๆ ขึ้นอยู่กับรูปร่างลักษณะรูปแบบของการหมักน้ำตาลกลูโคส การใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ และการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ (Konings, 2002 : 3-27)

แบคทีเรียแลคติกถูกใช้ในการเตรียมและถนอมอาหารประเภทเนื้อ นม และผักมาเป็นเวลานาน และเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่ามีความปลอดภัย (generally recognized as safe, GPRS) ซึ่งแบคทีเรียแลคติกจะผลิตสารต่างๆ เช่น กรดอินทรีย์, Protease, Flavor compound และสารที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะที่รู้จักดี คือ แบคเทอริโอซิน (bacteriocin) ซึ่งเป็น Bactericidal protein จากการทดลองของ Yang, et al. (1997: 786-790) พบว่า *Lactobacillus* 12 สายพันธุ์ และ *Pediococcus* 5 สายพันธุ์ สามารถสร้างสารยับยั้งได้ คือ 2-pyrrodone-5-carboxylic acid (PCA) ซึ่ง PCA จะสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้หลายชนิด เช่น *Enterobactor cloaoae* 1575, *Pseudomonas fluorescens* KJLG. และ *P. putida* 1560 - 2 ผลการยับยั้งของ PCA ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับอุณหภูมิขึ้นแต่จะถูกทำลายเมื่อเติมแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และ PCA จะมีผลการยับยั้งน้อยกว่ากรดแลคติกเล็กน้อย แบคทีเรียแลคติกมีบทบาทสำคัญในการถนอมอาหารและผลิตอาหารที่ดีต่อสุขภาพอนามัย ซึ่งแบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียชนิดที่สามารถเติบโตได้ในแหล่งอาหารทั่วๆ ไป และจะทำให้ค่าความเป็นกรด - ด่างของอาหารต่ำลงอย่างรวดเร็วจนถึงจุดที่ทำให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นไม่สามารถเติบโตได้ พบว่า *Leuconostoc* และ *Streptococcus* ที่สร้างกรดแลคติก จะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดที่ 4 - 4.5 ส่วน *Lactobaacillus* และ *Pediococcus* บางสายพันธุ์ จะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำประมาณ 3.5 ก่อนจะมีการยับยั้งการเติบโตของตัวเอง

2.2.2.2 แบคทีเรียแลคติกสามารถจัดจำแนกเป็นสกุลได้ 12 สกุล ดังนี้

2.2.2.2.1 *Streptococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 - 1.2 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นสายโซ่หรือคู่ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) จากการหมักกลูโคสเป็นผลิตภัณฑ์หลักเท่านั้น ต้องการสารอาหารในการเจริญสูงมีหลายชนิด เป็นปรสิตในคนหรือสัตว์และบางชนิดสามารถทำให้เกิดโรคได้เจริญที่อุณหภูมิ 20 - 41 องศาเซลเซียส ปัจจุบันประกอบด้วย 39 สปีชีส์ มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ guanine (G)+ cytosine (c) ระหว่าง 34 - 46 เปอร์เซ็นต์

2.2.2.2.2 *Lactococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 - 1 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่หรือต่อกันเป็นสายโซ่ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) จากการหมักกลูโคส สามารถเจริญได้ที่ 10 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่ 45 องศาเซลเซียส ปัจจุบันประกอบด้วย 5 สปีชีส์ ได้แก่ *L. lactis subsp. lactis, L. lactis subsp. cremoris, L. lactis subsp. hordiniae, L. garvieae, L. plantarum, L. raffinolactis* และ *L. piscium* มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G+C ระหว่าง 34 - 43 เปอร์เซ็นต์

2.2.2.2.3 *Vagococcus* เป็นแบคทีเรียแลคติกซึ่งเคลื่อนที่ได้ประกอบด้วย 2 สปีชีส์ คือ *Vagococcus flauvialis* ซึ่งเดิมอยู่ใน *Streptococci* กลุ่ม *N* และ *V. salmoninarum* ซึ่งแยกได้จากปลาแซลมอนที่เป็นโรค

2.2.2.2.4 *Enterococcus* เซลล์มีรูปร่างไข่ จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว หรือสายโซ่สั้นๆ ผลิตกรดแลคติก ชนิด L(+) จากการหมักกลูโคสเป็นผลิตภัณฑ์หลัก ต้องการสารอาหารในการเจริญสูง สามารถเจริญที่ 10 และ 45 องศาเซลเซียส บางสายพันธุ์ผลิตเอนไซม์แคตาเลสเทียมได้ และบางชนิดทำให้เกิดโรค ปัจจุบันประกอบด้วย 5 สปีชีส์ ได้แก่ *Enterococcus faecalis, E. faecium, E. avium, E. galinarum* และ *E. cecorum* มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G+C ระหว่าง 37- 40 เปอร์เซ็นต์

2.2.2.2.5 *Pediococcus* เซลล์มีรูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.36-1.43 ไมครอน แบ่งตัวลักษณะ 2 ทิศทางบนระนาบเดียวกัน โดยแบ่งตัวครั้งที่ 2 ในทิศด้านขวามือของครั้งแรก ทำให้เกิดลักษณะเฉพาะเป็นเซลล์เป็นเซลล์ 4 เซลล์ติดกัน (tetra formation) ในสภาวะไร้อากาศ ผลิตกรดแลคติกชนิด DL และ L (+) จากการหมักกลูโคส บางชนิดทำให้เบียร์ และไวน์เสีย ปัจจุบันประกอบด้วย 6 สปีชีส์ ได้แก่ *Pediococcus acidilactici, P. damonosus, P. dextrinicus, P. inopinatus, P. parvulus และ P. pentosaceus* มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G+C ระหว่าง 34 - 44 เปอร์เซ็นต์

2.2.2.2.6 *Tetragenococcus* มีลักษณะการแบ่งตัวเหมือนสกุล *Pediococcus* เนื่องจากเดิมคือ *P. halophilus* ซึ่งจัดจำแนกใหม่จากการเจริญในอาหารซึ่งมีเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 18 เปอร์เซ็นต์และมีลำดับเบสบน 16S rRNA ใกล้เคียงกับเชื้อสกุล *Enterococcus* และ *Carnobacterium* มากกว่าสกุลเดิม

2.2.2.2.7 *Aerococcus* มีลักษณะการแบ่งตัวเหมือน *Pediococcus* ประกอบด้วย 2 สปีชีส์ คือ *Aerococcus viridans* และ *A. urinae* ซึ่งเปลี่ยนแปลงจาก *P. homari* และ *P. urinaeequi* ตามลำดับ โดย *A. viridans* ทำให้กุ้งลอบสเตอร์ (lobster) เกิดโรค และเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในมนุษย์

2.2.2.2.8 *Leuconostoc* เซลล์มีสัณฐานวิทยาขึ้นกับอาหารเลี้ยงเชื้อ ในอาหารซึ่งมีกลูโคสเซลล์มีลักษณะยืดออกคล้ายกลุ่ม *Lactobacilli* แต่ในน้ำนมเซลล์จะมีรูปร่างกลม การจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดียวอยู่เป็นคู่หรือสายโซ่สั้นถึงปานกลาง ผลิตกรดแลคติกชนิด D (-) เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ และสารหอมระเหยจากการหมักกลูโคส จึงช่วยสร้างกลิ่น รส ในอาหารหมักดอง การเจริญต้องการสารอาหารสูง ปัจจุบันประกอบด้วย 8 สปีชีส์ ได้แก่ *Leuconostoc mesenteroides, L. lactis, L. gelidum, L. carnosum, L. pseudomesenteroides, L. citreum, L. argentinum* และ *L. fallax* มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G+C ระหว่าง 37 - 40 เปอร์เซ็นต์

2.2.2.2.9 *Oenococcus* สกุลนี้มีเพียงชนิดเดียวคือ *Oenococcus oeni* ซึ่งเปลี่ยนมาจาก *Leuconostoc oenos* ด้วยคุณสมบัติการทนต่อกรดและเอทานอลปริมาณสูง รวมทั้งข้อมูลทางพันธุกรรมจากดีเอ็นเอ: ดีเอ็นเอไฮบริไดเซชัน (DNA : DNA hybridisation) และลำดับเบสของ 16S rRNA ต่างจากสปีชีส์อื่นในสกุล *Leuconostoc* อย่างชัดเจน

2.2.2.2.10 *Weissella* รูปร่างเป็นแท่งและกลม ซึ่งมีลักษณะคล้าย *Leuconostoc* เป็นชนิดซึ่งเดิมอยู่ในสกุล *Leuconostoc* และ *Lactobacillus* ประกอบด้วย 7 สปีชีส์ คือ *Leuconostoc paramesenteroides (Weissella paramesenteroides), Lactobacillus confuses (W. confuses), L. halotolerans (W. halotolerans), L. kandleri (W. kandleri), L.minor (W. minor), L.viridescens (W. viridescens)* และชนิดใหม่ ซึ่งแยกได้จากได้จากไส้กรอกหมัก คือ *W. hellenica*

2.2.2.2.11 *Lactobacillus* เป็นแบคทีเรียแลคติกกลุ่มใหญ่ที่สุดมีความหลากหลายของลักษณะทางฟีโนไทป์ สมบัติทางชีวเคมี และสรีระ เนื่องจากความแตกต่างของโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G+C ภายในโมเลกุลสูงคือระหว่าง 32 - 35 เปอร์เซ็นต์ พบในแหล่งต่างๆ เช่น เยื่อเมือกของมนุษย์ พบในสัตว์ พืช และน้ำทิ้ง เป็นต้น บางชนิดเป็นสาเหตุของโรคในมนุษย์ เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนกลม (coccobacilli) ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญ ประกอบด้วย 55 สปีชีส์ ซึ่งแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

(1) กลุ่ม Obligately homofermentative lactobacilli หมักน้ำตาลแลกโตส (มากกว่า 85 เปอร์เซ็นต์) เป็นกรดแลคติกโดยวิถี Embden-Meyerhof-Parnas Pathway (EMP) ผลิตเอนไซม์ 1,6 ไบฟอสเฟต-แอลโดเลส (1-6 biphosphate - aldolase) แต่ไม่ผลิตเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase) จึงหมักน้ำตาลเพนโทส และกลูโคเนตไม่ได้

(2) กลุ่ม Facultatively heterofermentative lactobacilli หมักน้ำตาลเฮกโซสเป็นกรดแลคติกผ่านวิถี EMP มีการผลิตเอนไซม์ทั้งแอลโดเลส และฟอสโฟคีโตเลสจึงหมักน้ำตาลเพนโทสได้

(3) กลุ่ม Obligately heterofermentative lactobacilli หมักน้ำตาลเฮกโซสและเพนโทสผ่านวิถีฟอสโฟกลูโคเนทเป็นแล็กเทตเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์

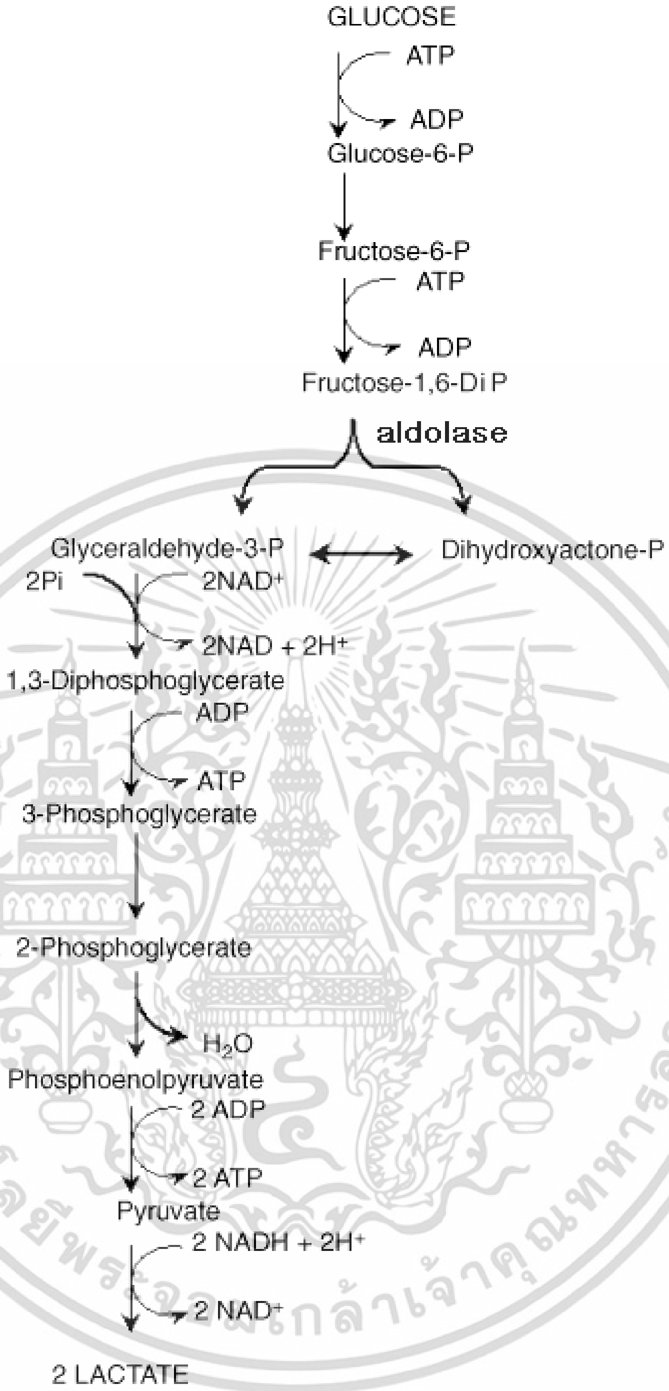
2.2.2.2.12 *Carnobacterium* เซลล์มีรูปร่างท่อนตรง ขนาดสั้นถึงปานกลาง หรือท่อนเรียว (slender rod) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 - 0.7 ไมครอน และยาว 1.1 - 3.0 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยวหรือคู่ มักไม่พบการเรียงตัวเป็นสายโซ่ ผลิตกรดแลคติกชนิด L (+) คาร์บอนไดออกไซด์ แอซีเตต และเอทานอลจากการหมักน้ำตาลเฮกโซส มีทั้งหมด 6 สปีชีส์ คือ *Carnobacterium divergens, C. piscicola, C. gallnarum, C. mobile, C. funditum* และ *C. alterfunditum* มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G+C ระหว่าง 31.6 - 37.2 เปอร์เซ็นต์ (Stiles and Holzapfel, 1997 : 1-29)

2.2.3 การหมักกรดแลคติก

วันชัย พันธ์ทวี (2550: 17-21) และ Axelsson (1993 : 1-17) กล่าวถึงการหมักกรดแลคติกว่าแบคทีเรียแลคติกสร้างพลังงานจากการหมักคาร์โบไฮเดรตเกิดกรดแลคติกซึ่งวิถีการหมัก มี 2 วิถี คือ วิถีทางที่ได้แลคเตทเพียงอย่างเดียวเรียกว่า โฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (homofermentative) และวิถีทางที่ได้แลคเตทร่วมกับสารอื่นในปริมาณที่ใกล้เคียงกันเรียกว่า เฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (heterofermentative)

2.2.3.1 การหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (homofermentative)

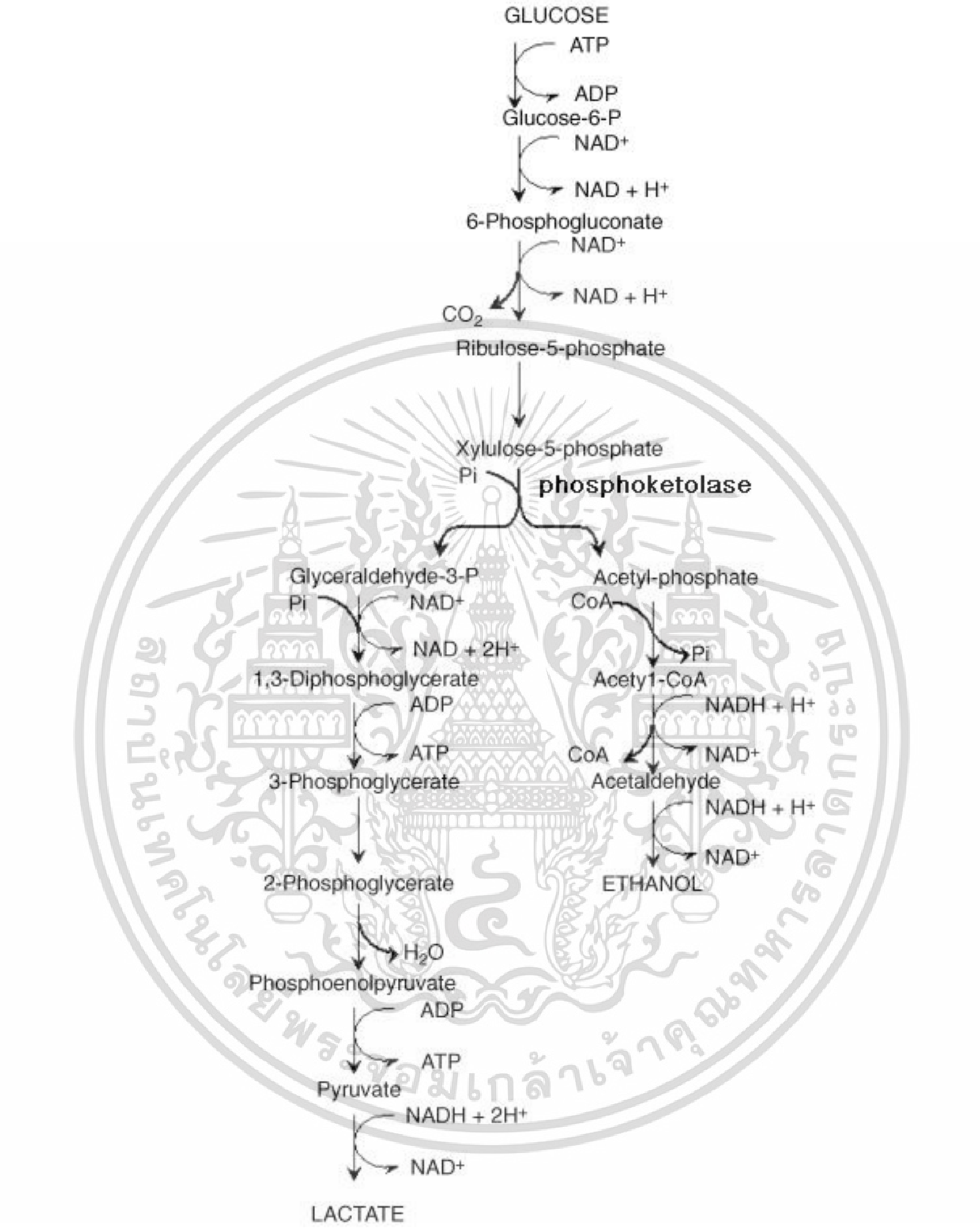
การหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (homofermentative) เป็นการหมักที่ได้แลคแตทอย่างเดียวเป็นผลผลิตสำคัญ โดยผ่านกระบวนการไกลโคไลซีส (Emden-Meyerhof-Parnas glycoytic pathway) หรือ EMP pathway เริ่มจากกลูโคสที่มีคาร์บอน 6 อะตอมถูกเติมฟอสฟอรัสและเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเกิดขึ้นก่อนที่เอนไซม์อัลโดเลส (aldolase) จะเข้าทำปฏิกิริยาเป็นผลให้โมเลกุลกลูโคสแตกออกเป็นกลีเซอรัลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต (ซึ่งมีคาร์บอน 3 อะตอม) 2 โมเลกุล จากนั้นจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไพรูเวท โดยเกิด ATP ขึ้น 2 โมเลกุล จากการหมักกลูโคส 1 โมเลกุล (เนื่องจากมีการเติมฟอสฟอรัสให้กับซับสเตรต 2 แห่ง) ในขั้นสุดท้ายเป็นการริดิวซ์ไพรูเวทเป็นแลคเตทในขั้นตอนนี้ต้องใช้ NADH ได้ NAD+ กลับคืนมาจากที่ใช้ไปในการออกซิเดชันกลีเซอรัลดีไฮด์ - 3 - ฟอสเฟต ดังแสดงในภาพที่ 2.9


GLUCOSE
ATP
ADP
Glucose-6-P
Fructose-6-P
ATP
ADP
Fructose-1,6-Di P
aldolase
Glyceraldehyde-3-P
Dihydroxyactone-P
2Pi
2NAD⁺
2NAD + 2H⁺
1,3-Diphosphoglycerate
ADP
ATP
3-Phosphoglycerate
2-Phosphoglycerate
H₂O
Phosphoenolpyruvate
2 ADP
2 ATP
Pyruvate
2 NADH + 2H⁺
2 NAD⁺
2 LACTATE

ภาพที่ 2.9 วิถีทางเคมีของการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (homofermentative)

ที่มา : Kenneth Todar (2012)

2.2.3.2 การหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททิฟ (heterofermentative)


GLUCOSE
ATP
ADP
Glucose-6-P
NAD+
NAD + H+
6-Phosphogluconate
NAD+
NAD + H+
CO2
Ribulose-5-phosphate
Xylulose-5-phosphate
Pi
phosphoketolase
Glyceraldehyde-3-P
Pi
NAD+
NAD + 2H+
1,3-Diphosphoglycerate
ADP
ATP
3-Phosphoglycerate
2-Phosphoglycerate
H2O
Phosphoenolpyruvate
ADP
ATP
Pyruvate
NADH + 2H+
NAD+
LACTATE
Acetyl-phosphate
CoA
Pi
Acety1-CoA
NADH + H+
CoA
NAD+
Acetaldehyde
NADH + H+
NAD+
ETHANOL

ภาพที่ 2.10 วิถีทางเคมีของการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (heterofermentative)
ที่มา : Kenneth Todar (2012)

การหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททิฟ (heterofermentative) เป็นการหมักที่ได้ แลคเตท เอทธานอล หรืออะซิเตท และคาร์บอนไดออกไซด์จากกลูโคส เนื่องจากแบคทีเรียขาดเอนไซม์อัลโดเลสจึงเปลี่ยนรูปจากกลูโคสที่มีคาร์บอน 6 อะตอม ไปเป็นเพนโตส (ไรโบส) ซึ่งมีคาร์บอน 5 อะตอม โดยการสร้างโครงสร้างภายในโมเลกุลที่มีการออกซิเดชันและดีคาร์บอกซิเลชันร่วมด้วยน้ำตาลที่มี 5 อะตอมนี้จะถูกทำให้แตกออกเป็นกลีเซอรัลดีไฮด์ฟอสเฟต (ซึ่งเป็นสารประกอบฟอสเฟตที่มีคาร์บอน 3 อะตอม) และอะเซทติลฟอสเฟตโดยเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase) กลีเซอรัลดีไฮด์ฟอสเฟตจะเปลี่ยนไปเป็นแลคเตท เช่นเดียวกับการเกิดไกลโคไลซีสในการหมักโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (แต่เนื่องจากการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททิฟ มีกลีเซอรัลดีไฮด์ฟอสเฟตเพียง 1 โมเลกุล จึงเกิด ATP เพียง 1 โมเลกุล) ส่วนอนาคตของอะเซทติลฟอสเฟตนั้นขึ้นอยู่กับว่าจะมีสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนอยู่ด้วยหรือไม่ในสภาวะที่ขาดตัวรับอิเล็กตรอน อะเซทติลฟอสเฟตจะทำหน้าที่นี้เสียเองทำให้ถูกรีดิวซ์เป็นเอทานอลและได้ NAD+ ขึ้นมาใหม่ 2 โมเลกุลจากเอนไซม์ NADH แต่ในสภาวะที่มีออกซิเจน NAD+ สามารถสร้างขึ้นใหม่จากเอนไซม์ NADH oxidases และ peroxidases ปล่อยให้อะเซทติลฟอสเฟตมีมากพอสำหรับการเปลี่ยนให้เป็นอะซิลเตท จึงเท่ากับเป็นการเติมฟอสเฟตให้กับซับสเตรตอีกทางหนึ่ง เป็นผลให้ได้ ATP เพิ่มขึ้นมาอีก 1 โมเลกุล เป็น 2 โมเลกุล จากกลูโคส 1 โมเลกุล เช่นเดียวกับการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ ในกรณีที่มีการเพิ่มขึ้นของ ATP สะท้อนให้เห็นได้จากอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นไปอย่างรวดเร็ว ผลเช่นเดียวกันนี้สามารถเกิดขึ้นกับตัวรับออกซิเจนอื่นๆ ด้วย เช่น ฟรุกโตส ซึ่งจะถูกรีดิวซ์ไปเป็นแมนนิตอล ดังแสดงในภาพที่ 2.10

2.2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก

2.2.4.1 แหล่งสารอาหาร

อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงแบคทีเรียแลคติกโดยทั่วไป ได้แก่ MRS (De Man Rogosa Sharpe medium) (De Man, et al.,1960 : 130-135), APT (All purpose medium with tween 80) และ LBS (Rogasa medium) และอาหารอีกหลายชนิดแต่อาหาร MRS medium เป็นอาหารที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียแลคติกมากที่สุด เนื่องจากเป็นอาหารที่มีสารอาหารและแร่ธาตุที่จะสนับสนุนความต้องการและจำเป็นของเชื้อแบคทีเรียแลคติก อาหาร MRS จึงเป็นอาหารพื้นฐานสำหรับเพาะเลี้ยงแบคทีเรียแลคติกโดยทั่วไป และใช้ในการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด - ด่าง และการทดสอบคุณสมบัติต่างๆ ทางชีวเคมีอีกด้วยแบคทีเรียแลคติกต้องการสารอาหารที่ซับซ้อนและอาหาร MRS ที่นิยมใช้เลี้ยงแบคทีเรียแลคติกมีราคาค่อนข้างสูง เนื่องจากมีสารอาหารหลายชนิดบางชนิดมีราคาสูงหากนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาจไม่คุ้มค่า การพิจารณาสูตรอาหารที่ใช้วัตถุดิบที่มีราคาถูกนั้น ควรเป็นวัตถุดิบที่มีราคาถูก มีคุณภาพสม่ำเสมอหาได้ง่ายตลอดปี สามารถใช้สังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการได้มากและไม่ยุ่งยากในการเก็บเกี่ยวผลผลิต (Stanbury and Whitaker, 1984 : 137-152) นอกจากนี้วัตถุดิบส่วนใหญ่ที่ได้จากของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมแม้จะมีปริมาณมาก แต่หากไม่มีการปรับปริมาณสารอาหารให้เพียงพอก็จะไม่เหมาะสมที่จะใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งต้องการสารอาหาร เช่น แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และแร่ธาตุต่างๆ ให้เพียงพอต่อการเจริญเติบโต

2.2.4.1.1 แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของแบคทีเรียแลคติก เนื่องจากกระบวนการสร้างพลังงานของแบคทีเรียแลคติกส่วนใหญ่จะอยู่ในวิถี Glycolysis (Embden-Meyerhof-Parnas pathway) ซึ่งเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตได้เป็นกรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่ (Axelsson, 1998 : 1-72) โดยปกติแหล่งคาร์บอนของแบคทีเรียแลตติกส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลเฮกโซส (hexose) อื่นๆ เช่น แมนโนส กาแลคโตส และฟรุกโตส เป็นต้น วัตถุดิบจำพวกเซลลูโลส (cellulosic Materials) ซึ่งได้แก่ วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรต่างๆ อาทิ ซังข้าวโพด (corn cob) เปลือกเมล็ดฝ้าย (cotton seed hulls) ฟางหญ้า (straw) เป็นต้น ซึ่งในการใช้ต้องมีขั้นตอนการแปรรูปสารประกอบเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลกลูโคส โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส หรือใช้จุลินทรีย์ที่ผลิตเซลลูเลส นอกจากน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเยื่อกระดาษ ที่เรียกว่า spent sulfite liquor หรือ sulfite waste liquor มีน้ำตาล pentose ที่ได้มาจากสารประกอบเฮมิเซลลูโลสจากเซลล์ของเนื้อไม้ที่นำเอามาทำเยื่อกระดาษ ซึ่งสามารถนำมาใช้เพาะเลี้ยงแลคติกแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ เช่น *Lactobacillus pentosen* และผลิตกรดแลคติกได้แต่มีปัญหาในขั้นตอนการทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตเนื่องจากมีสารประกอบลิกนิน (lignin) อยู่มากในน้ำทิ้งชนิดนี้จึงทำให้มี Residual lignin ปะปนมากับกรดแลคติก (Datta, et al., 1995 : 221-231; Marques, et al., 2008 : 210-216) แบคทีเรียแลคติกบางสายพันธุ์สามารถใช้แป้ง (starch) ได้เช่นกัน Altaf, et al. (2007 : 498-503) ได้ใช้ red lentil และ baker’s yeast cell ทดแทน peptone และ yeast extract ในการหมักกรดแลคติกสายพันธุ์ *Lactobacillus amylophilus* GV6 ซึ่งมีความสามารถในการเปลี่ยนแป้งเป็นกรดแลคติกได้โดยตรงเขาพบว่า baker’s yeast cell ร้อยละ 1 และ red lentil ร้อยละ 0.8 ให้ผลิตกรดแลคติกมากกว่า 13 กรัม/ลิตร และให้ผลผลิตกรดแลคติกสูงสุดที่ 13.5 กรัม จากแป้ง 15.2 กรัม โดยเรียกแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ที่สามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลส (α-amylase) ในการย่อยแป้งได้ว่า Amylolytic lactic acid bacteria ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *Lactobacillus* และ *Lactococcus* บางสายพันธุ์ พบได้ในอาหารที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก (Sanni, et al., 2002 : 53-62) เช่น *Lactobacillus plantarum* ที่แยกได้จาก tofu ผลิตภัณฑ์แป้งมันสำปะหลังในแอฟฟิริกา (Nwankwo, et al., 1989 : 169-179) *Lactococcus lactis* ที่แยกได้จากแป้งข้าวไรด์ (Petrov, et al., 2008 : 550-557) และจากผลิตภัณฑ์แป้งอื่นๆ เช่น ข้าวโพด มันฝรั่ง ข้าวสาลี (Nakamura, 1981 : 56-63; Chatterjee, et al., 1997 : 873-874) ในกระบวนการหมักกรดแลคติกในระดับอุตสาหกรรมหากสามารถใช้วัตถุดิบทางการเกษตรที่มีราคาถูก จะช่วยลดต้นทุนการผลิตลงได้มาก

2.2.4.1.2 กากน้ำตาล (Molassses)

กากน้ำตาลถือเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีราคาถูก ลักษณะเป็นของเหลวที่มีลักษณะข้นเหนียว สีน้ำตาลดำ เป็นผลิตผลพลอยได้ (by product) จากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาล ซึ่งกรรมวิธีการผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อยนั้นเริ่มจากการนำอ้อยเข้าหีบจนได้น้ำอ้อยหลังจากกรองเอากากออก น้ำอ้อยที่ได้จึงนำไปเคี่ยวจนผลึกของน้ำตาลทรายตกตะกอนออกมาหลังจากแยกผลึกน้ำตาลทรายออกด้วยหม้อปั่น (centrifuge) จะได้กากน้ำตาล ผลพลอยได้ที่สำคัญจากการการบวนการผลิตน้ำตาลทรายด้วยวิธีนี้ได้แก่ กากน้ำตาล ขี้ตะกอน (filter cake) และกากอ้อย (bagasses) ซึ่งผลพลอยเหล่านี้มีถึงประมาณ ร้อยละ 4 - 6 ของปริมาณอ้อยที่ใช้ผลิต ปัจจุบันมีการนำกากน้ำตาลไปใช้ประโยชน์มากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในอุตสาหกรรมการผลิตแอลกอฮอล์ เนื่องจากเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีราคาถูก กากน้ำตาลที่เหลือจากกระบวนการผลิตน้ำตาลจากอ้อยยังคงมีปริมาณน้ำตาลหลงเหลืออยู่มากประมาณร้อยละ 50 ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลซูโครสเป็นส่วนใหญ่ (30 - 45%) มีน้ำตาลกลูโคส (5 - 11%)

ฟรุคโตส (6 - 15%) และมีปริมาณไนโตรเจนเหลืออยู่เล็กน้อยประมาณร้อยละ 0.4 - 1.5 (Stoppok and Buchholz., 1996 : 5-29) นอกจากนี้ยังมีโลหะหนัก (iron, zinc, cooper, manganese, magnesium) ซึ่งเป็นข้อด้อยของการใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบในการผลิตกรดแลคติกเพราะโลหะหนักเหล่านี้เป็นพิษสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Monteagudo, et al., 1997 : 271-276) รายงานการวิจัยหลายชิ้นที่มีการลดความเป็นพิษของกากน้ำตาลก่อนนำไปเลี้ยงแบคทีเรีย ซึ่งการลดสารพิษสามารถทำได้หลายวิธี เช่น cation exchange resin, sulphuric acid, tricalcium phosphate, potassium ferricyanide และ EDTA treatment (Kotzamanidis, et al., 2002 : 441-448) เป็นต้น แต่การบำบัดก็จะเพิ่มต้นทุนเช่นกัน Payot, et al. (1999 : 191-199) ได้ทดลองหมักกรดแลคติกด้วยแบคทีเรีย *Bacillus coagulans* TB/04 ซึ่งเจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูงประมาณ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งช่วยลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นๆ โดยใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น 120 กรัม/ลิตร พบว่าได้ปริมาณเซลล์ 3.1 กรัม/ลิตร ผลิตกรดแลคติกได้ 55 กรัม/ลิตร และมีค่า specific production rate เท่ากับ 6.1 ค่า specific growth rate เท่ากับ 0.28 ค่าspecific consumption sucrose rate เท่ากับ 9.5 กรัม/ชั่วโมง/กรัมของเซลล์ และผลผลิตกรดแลคติก (yield) ร้อยละ 92 Göksungur and Güvenç (1997 : 399-404) ใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactobacillus delbrueckii* IFO 3202 หมักกรดแลคติกจากกากน้ำตาลโดยใช้ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น 78.2 กรัม/ลิตร ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าในการหมักแบบกะสามารถผลิตกรดแลคติกได้ 4.83 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง และ 11.20 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง จากการหมักแบบต่อเนื่องที่อัตราเจือจาง (dilution rate.) 0.5 h^{-1}

2.2.4.1.3 แหล่งไนโตรเจน

แหล่งไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญอับดับสองรองจากคาร์บอน แบคทีเรียแลคติกต้องการแหล่งไนโตรเจนในการสร้างเซลล์ การสืบพันธุ์ และในกระบวนการเมตาบอลิซึมต่างๆ ซึ่งแหล่งโปรตีนที่นิยมใช้ในการเลี้ยงแบคทีเรียแลคติก ในสูตรอาหารต่างๆ คือ สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) เปปโตน (peptone) สารสกัดจากเนื้อ (beef extract) เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟต $[(NH_4)_2SO_4]$ เป็นแหล่งไนโตรเจนเพิ่มเติมได้อีกด้วย แต่หากใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตเพียงอย่างเดียวเป็นแหล่งไนโตรเจนพบว่าแบคทีเรียแลคติกเจริญได้ไม่ดี เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกต้องการกรดอะมิโนหลายชนิดรวมทั้งวิตามินและแร่ธาตุในการเจริญ โดยที่ Calderon, et al. (2001 : 508-516) ได้ทดสอบแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ในการเจริญของแบคทีเรียแลคติก พบว่าการใช้แหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ เช่น yeast extract, peptone, beef extract และ corn hydrolysate ทำให้แบคทีเรียแลคติกเจริญได้สูงที่สุด แต่การใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนชนิดเดียวนั้นจะให้ปริมาณการเจริญของแบคทีเรียแลคติกต่ำที่สุด ดังนั้นประสิทธิภาพของการเจริญและการหมักของแบคทีเรียแลคติกนั้นนอกจากจะขึ้นกับปริมาณของไนโตรเจนแล้วยังขึ้นกับชนิดของแหล่งไนโตรเจนอีกด้วย (Gao, et al., 2008 : 3659-3664; Petrov, et al.,2008 : 550-557) แหล่งคาร์บอนต่างๆ โดยทั่วไปมักมีปริมาณไนโตรเจนไม่เพียงพอและไม่หลากหลายพอแก่ความต้องการของแบคทีเรีย ดังนั้นนอกจากการเลือกใช้แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมแล้ว ยังจำเป็นต้องมีปริมาณสารอาหารไนโตรเจนให้เพียงพอต่อความต้องการแหล่งไนโตรเจนที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียแลคติกนอกจาก yeast extract, peptone และ beef extract แล้ว ยังมีวัตถุดิบอื่นๆ เช่น กากถั่วเหลือง (soybean meal) น้ำแช่ข้าวโพด (corn steep liquor) หางนม (whey protein) และ โปรตีนจากเศษเหลือของปลา (fish hydrolysate) เป็นต้น

(1) กากถั่วเหลือง (Soybean meal) เป็นของเหลือจากอุตสาหกรรมการทำน้ำมันถั่วเหลืองโดยได้หลังจากหีบเอาน้ำมันออกแล้วจะเหลือเป็นกากถั่วเหลืองป่น กากถั่วเหลืองที่ได้ยังมีสารอาหารอยู่หลายชนิดทั้งโปรตีน กรดอะมิโน วิตามิน และเกลือแร่

(2) น้ำแช่ข้าวโพด (Corn steep liquor) เป็นวัตถุดิบเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมข้าวโพด เช่น ข้าวโพดกระป๋อง ซุปข้าวโพด ขนมขบเขี้ยวจากแป้งข้าวโพด เป็นต้น ในน้ำแช่ข้าวโพดจะมีปริมาณกรดอะมิโนค่อนข้างสูงและยังมีคาร์โบไฮเดรตรวมอยู่บ้างเล็กน้อย โดย Beatriz, et al. (2004 : 1894-1899) ทดลองใช้ corn steep liquor เป็นแหล่งไนโตรเจนในการเจริญของแบคทีเรียแลคติก Lactobacillus rhamnosus CGMCC 1466 โดยองค์ประกอบของสูตรอาหารประกอบด้วย glucose 118.20 g/l, molasses 37.27 g/l, corn steep liquor42.54 g/l, Tween80 1.52 ml/l และ $MnSO_4$ 0.30 g/l หลังการหมักเป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่ามีการผลิตกรดแลคติกได้ 110 g/l ซึ่งสูงกว่าการใช้สูตรอาหารที่เติม yeast extract เป็นแหล่งไนโตรเจนถึงร้อยละ 30.4

(3) หางนม (Whey) เป็นส่วนที่เหลือจากการแยกโปรตีนนม (curd) ออกจากนมในกระบวนการผลิตชีส ซึ่งมีปริมาณของกรดอะมิโนและน้ำตาลแลคโตสเป็นองค์ประกอบหลักอยู่มาก นอกจากนี้ยังมีวิตามินชนิดต่างๆ หลายชนิด จึงเหมาะสมที่จะใช้เป็นวัตถุดิบในการเลี้ยงแบคทีเรียแลคติก ซึ่ง Ha, et al. (2003 : 134-140) ได้ศึกษาการหมักกรดแลคติกของ *Lactobacillus casei* KH-1 ในหางนม (whey protein) ในสูตรอาหารมีกลูโคสร้อยละ 2.39 yeast extract ร้อยละ 1.28 และ corn steep liquor ร้อยละ 3.5 พบว่ามีค่า yield ของกรดแลคติก เท่ากับ 0.312 กรัม/กรัม ซึ่งใกล้เคียงกับการใช้อาหาร MRS ที่มีค่า yield เท่ากับ 0.382 กรัม/กรัม และอาหารสูตรใหม่นี้มีราคาถูกลง

(4) โปรตีนสกัดจากเศษเหลือของปลา (fish hydrolysate) เป็นแหล่งโปรตีนที่ได้จากการสกัดน้ำต้มปลาซึ่งเป็นของเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมปลากระป๋อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศไทยมีโรงงานปลากระป๋องทั้งปลาซาร์ดีนและปลาทูน่าอยู่เป็นจำนวนมากเศษเหลือเหล่านี้จะเป็นส่วนของเครื่องในปลาและเศษเหลือส่วนต่างๆ ซึ่งผ่านการย่อยด้วยความร้อนและเอนไซม์และระเหยจนเข้มข้น เรียกว่า fish hydrolysate ซึ่งมีโปรตีนสูงเหมาะสำหรับใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดย Aspmo, et al. (2005 : 65-68) ได้นำโปรตีนสกัดที่ได้จากการนำเครื่องในปลาที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์มาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนทดแทน yeast extract, peptone และ beef extract ในสูตรอาหาร MRS มาทดลองเลี้ยง *Lactobacillus* พบว่าสามารถใช้ทดแทน yeast extract, peptone และ beef extract และได้ผลผลิตกรดแลคติกได้ดีเท่าเทียมกัน

2.2.4.2 ความเป็นกรด-ด่าง

ความเป็นกรด - ด่าง (pH) เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งแม้แบคทีเรียแลคติกจะทนกรดและเจริญได้ดีในสภาวะที่เป็นกรด ซึ่งสามารถเจริญได้ที่ pH ต่ำกว่า 4.0 หรือในบางสายพันธุ์ก็สามารถเจริญได้ที่สภาวะเบสที่ pH 9.6 แต่โดยทั่วไปค่า pH ที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง pH 5.5 - 6.0 และเนื่องจากแบคทีเรียแลคติกจะใช้น้ำตาลและเปลี่ยนให้เป็นกรดแลคติก ดังนั้นค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อจะลดลงอย่างรวดเร็วปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นจะไปจำกัดการเจริญของแบคทีเรียแลคติก (product inhibition) เป็นผลให้การสร้างกรดเกิดได้ช้าหรือหยุดลง ซึ่งจะสามารถแก้ไขได้โดยการควบคุมค่า pH โดยใช้เบส หรือการใช้แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) เปลี่ยนกรดแลคติกให้เป็นเกลือแลคเตต (lactate) หรือการใช้กระบวนการอื่นๆ ในการหมัก เช่น การใช้กระบวนการหมักแบบกึ่งกะ (fed-batch) หรือกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง (continuous fermentation)

2.2.4.3 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ซึ่งจะมีผลกระทบต่อการเจริญของจุลินทรีย์ จึงจำเป็นต้องควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสมกับจุลินทรีย์สายพันธุ์นั้นๆ สำหรับแบคทีเรียแลคติก นั้นซึ่งสามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 5 - 45 องศาเซลเซียส ซึ่งจะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตกรดของแบคทีเรียแลคติกแลคติกส่วนใหญ่จะอยู่ระหว่าง 33 - 35 องศาเซลเซียส (Akerberg, et al., 1998 : 682-690)

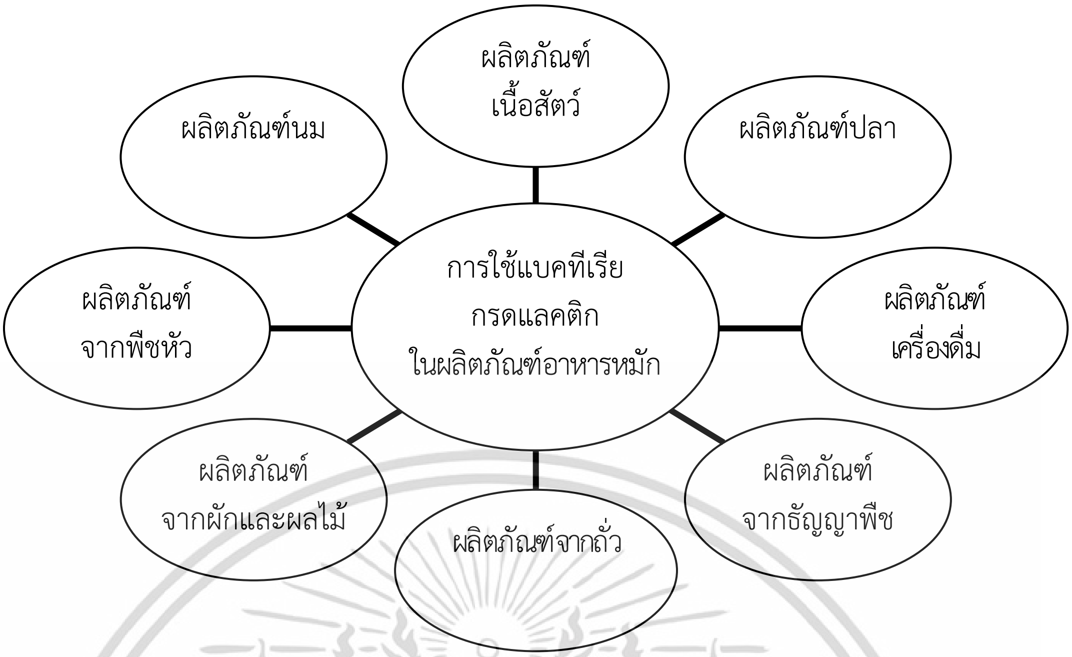
2.2.4.4 ออกซิเจน

แบคทีเรียแลคติกเป็นพวก anaerobic หรือ micro-aerophile ซึ่งเมตะบอไลซ์สารอาหารด้วยกระบวนการหมักในสภาวะที่ไม่มีหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย ดังนั้นในการเลี้ยงแบคทีเรียแลคติกจึงไม่จำเป็นต้องให้อากาศ เพียงแต่มีการกวนให้อาหารเข้ากันได้ดีตลอดระยะเวลาของการหมักก็เพียงพอ (อาภรณ วงษ์วิจารณ์, 2554 : 16)

2.2.5 การใช้ประโยชน์แบคทีเรียกรดแลคติก

มีชัย ลัดดี (2551 : 4-9) ได้จำแนกการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียกรดแลคติกไว้ 7 ด้าน ดังต่อไปนี้

2.2.5.1 ด้านอาหารและเครื่องดื่ม มีการนำกรดแลคติกมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมากกว่าร้อยละ 50 ของปริมาณกรดแลคติกทั้งหมดส่วนใหญ่จะใช้กรดแลคติกเป็นส่วนประกอบในอาหารโดยตรง (food ingredient) ใช้ปรับสภาพความเป็นกรดเพื่อให้เกิดรสเปรี้ยวตามต้องการและมีการใช้กรดแลคติกร่วมกับกรดซิตริก และโพรพาโนอิกเพื่อทำให้เกิดรสเปรี้ยวในอาหาร แต่อาจมีความจำเป็นต้องใช้กรดแลคติกเพียงชนิดเดียวสำหรับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการกลิ่นและรสชาติที่จำเพาะ กรดแลคติก ที่อยู่ในรูปของ stearoyl-2 lactylate (SSL) โดยที่ corn steep liquor (CSL) ใช้เป็นตัวปรับสภาวะแป้งหมัก (dough conditioner) ซึ่งรวมตัวกับกลูเตนในแป้งหมักทำให้สามารถทนต่อสภาวะการกวนและสภาวะต่างๆ ในระหว่างกรรมวิธีการผลิตขนมอบได้ดีขึ้นปกติใช้ CSL เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ขนมอบส่วน SSL มีคุณสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ได้ดีและสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ขนมอบได้กรดแลคติกยังใช้เป็นส่วนประกอบในเนยแข็งชนิดภต่างๆ ในผลิตภัณฑ์บางชนิด เช่น salami ก็มีกรดแลคติกเป็นองค์ประกอบ นอกจากนั้นมีการนำกรดแลคติกไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มแทนกรดซิตริก ฟอสฟอริกและกรดอื่นๆ สำหรับอุตสาหกรรมเบียร์และการผลิตขนมหวานก็มีการใช้กรดแลคติกในการปรับความเป็นกรด - ด่างของน้ำที่ใช้ในการผลิต ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้แบคทีเรียกรดแลคติกแสดงไว้ในภาพที่ 2.11


ผลิตภัณฑ์
เนื้อสัตว์
ผลิตภัณฑ์นม
ผลิตภัณฑ์ปลา
การใช้แบคทีเรีย
กรดแลคติก
ในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก
ผลิตภัณฑ์
จากพืชหัว
ผลิตภัณฑ์
เครื่องดื่ม
ผลิตภัณฑ์
จากผักและผลไม้
ผลิตภัณฑ์จากถั่ว
ผลิตภัณฑ์
จากธัญญาพืช

ภาพที่ 2.11 แนวทางการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียกรดแลคติกในการผลิตภัณฑ์อาหารหมักชนิดต่าง ๆ
ที่มา : ปิ่นมณี ขวัญเมือง (2546)

2.2.5.2 ด้านการเกษตร เช่น ภาชนะปลูกพืช วัสดุห่อหุ้ม และปลดปล่อยยาฆ่าแมลง ยาฆ่าวัชพืช หรือปุ๋ยตามช่วงเวลาที่กำหนด

2.2.5.3 ด้านบรรจุภัณฑ์ เช่น บรรจุภัณฑ์ที่ใช้แล้วทิ้ง ภาชนะบรรจุอาหาร ขวดน้ำ ถุงพลาสติก กล่องโฟม ฟิล์มสำหรับหีบห่อ เม็ดโฟมกันกระแทก ตัวเคลือบภาชนะกระดาษ

2.2.5.4 ด้านเส้นใย และแผ่นผ้าแบบ non-woven เช่น ผลิตภัณฑ์อนามัย ผ้าอ้อมสำเร็จรูป เสื้อผ้าและเครื่องนุ่งห่ม เส้นใยสำหรับบรรจุในเครื่องนอน

2.2.5.5 ด้านยานยนต์ เช่น อุปกรณ์ลดแรงกระแทก (bumpers) แผ่นรองพื้น (floor mats) และอุปกรณ์ตกแต่งภายใน

2.2.5.6 ด้านการแพทย์ เนื่องจาก Poly Lactic Acid (PLA) เป็นพอลิเมอร์ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradable) สามารถเข้ากับเนื้อเยื่อ (biocompatible) และสามารถถูกดูดซึม (bioresorbable) ได้โดยระบบชีวภาพ (biological system) ในร่างกายจึงทำให้ PLA เป็นวัสดุที่มีศักยภาพสูงสำหรับงานทางการแพทย์ และถูกนำมาใช้ทางด้านนี้มานานกว่า 2 ทศวรรษ เช่น ไหมเย็บแผล (sutures) ตัวเย็บแผล (staples) วัสดุปิดแผล (wound dressing) อุปกรณ์ฝังในร่างกาย (surgical implants) อุปกรณ์สำหรับยึดกระดูก (orthopedic fixation devices) วัสดุสำหรับนำพาหรือปลดปล่อยตัวยา ซึ่งสามารถควบคุมอัตราและระยะเวลาในการปลดปล่อยยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.2.5.7 การนำกรดแลคติกไปใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตพอลิแลกเทต ซึ่งเป็นพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพเพื่อใช้แทนพลาสติกสังเคราะห์ที่ได้จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี

นอกจากนี้ ตามข้อมูลของ Liu S.Q. (2003 : 115-131) ได้กล่าวถึงแบคทีเรียกรดแลคติกว่าเป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่หมักน้ำตาลที่สำคัญได้แก่ น้ำตาลกลูโคสเป็นกรดแลคติก นอกจากนั้นแบคทีเรียกรดแลคติกยังมีผลต่อการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษที่ผลิตจากแบคทีเรียชนิดอื่นๆ โดยกิจกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติกที่เป็นการต่อต้านหรือเป็นศัตรูกับแบคทีเรียกลุ่มอื่น ได้แก่ มีความสามารถในการใช้สารอาหารที่เป็นประโยชน์ทำให้เกิดการลดลงของ redox potential ผลิตกรดแลคติก และกรดแอซิติก ซึ่งทำให้เกิดการลดลงของค่าพีเอช สร้างผลิตภัณฑ์ปฐมภูมิที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งจากกระบวนการเมแทบอลิซึม เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ คาร์บอนไดออกไซด์ หรือไดอซิทิล สร้างสารประกอบที่มีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial) เช่น แบคเทอริโอซิน และแอนตีไบโอติก โดยคุณสมบัติแต่ละด้านและคุณสมบัติที่มีความเฉพาะเหล่านี้เป็นตัวช่วยทำให้อายุของผลิตภัณฑ์อยู่ได้นานขึ้น และช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีความปลอดภัย (Kalantzopoulos, 1997 : 185-190) ลักษณะที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักให้เกิดกรดแลคติกได้แก่ กรดแลคติก และกรดแอซิติก (Adams and Nicolaides, 1997 : 227-239)

2.2.6 *Lactobaillus pentosus*

แลคโตบาซิลลัสเพนโตซัส (*Lactobaillus pentosus*) เป็นแบคทีเรียรูปร่างแท่ง เซลล์มีลักษณะแท่งตรงปลายมน มีขนาดความกว้าง 1.0 - 1.2 ไมครอน ยาว 2.0 - 5.0 ไมครอน พบอยู่เป็นเซลล์เดียว เป็นคู่ หรือโซ่สายสั้นๆ เจริญได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จะผลิตกลีเซอรอลในการหมักเป็นแบคทีเรียที่ได้จากข้าวโพดหมัก มะกอกหมักและมูลสัตว์ (Wood and Holzapfel, 1995 : 43-44)

ภาพที่ 2.12 ลักษณะของเชื้อแลคโตบาซิลลัสเพนโตซัส (*Lactobaillus pentosus*)
ที่มา : ปิ่นมณี ขวัญเมือง (มปป. : 7)

ปิ่นมณี ขวัญเมือง (2549 : 39-54) ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างน้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลือง ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางสรีระวิทยาบางประการ และจัดจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติกระดับสปีชีส์โดยใช้ระบบเอพีไอ จากนั้นนำแบคทีเรียกรดแลคติกที่ผ่านการจัดจำแนกมาศึกษาการหมักคีเฟอร์โดยใช้น้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบ จากการศึกษาพบว่า การแยกและการจัดจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างน้ำนมโคและน้ำนม

ถั่วเหลือง ได้แบคทีเรียทั้งหมดจำนวน 8 ไอโซเลต และเมื่อจัดจำแนกในระดับสปีชีส์ได้จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ *Lactococcus lactic* subsp. *lactis* SM-1 ได้จากน้ำนมถั่วเหลือง *Lactobacillus pentosus* PM-1 และ *Lactobacillus fermentum* PM-2 ซึ่งได้จากน้ำนมโค จากนั้นนำแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ไปใช้ศึกษาการหมักคีเฟอร์ร่วมกับยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ผลการศึกษาพบว่าในสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักคีเฟอร์คือการหมักในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง การใช้ *L. pentosus* ร่วมกับ *S. cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อมีกิจกรรมการหมักเกิดได้ดีเมื่อมีการใช้น้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบ

นอกจากนี้ Maldonado, et al. (2011 : 19) ได้ศึกษาเกี่ยวกับสายพันธุ์ *L. pentosus* IG 1 ในระดับจีโนมถึงคุณสมบัติความเป็นโพรไบโอติกจากการหมักน้ำมันมะกอกเขียวด้วยวิธีสเปนนิส ผลการศึกษาพบว่า *L. pentosus* IG 1 ช่วยเพิ่มภูมิต้านทาน ต้านทานการติดเชื้ออันเนื่องมาจากแบคทีเรียและมีความสามารถในการผลิตแบคทีริโอซิน

2.3 โพรไบโอติก

2.3.1 จุลินทรีย์โพรไบโอติก

2.3.1.1 นิยามความหมายของโพรไบโอติก (Definition of Probiotics)

โพรไบโอติก (probiotic) มาจากภาษากรีกของคำว่า “โพร” (pro) และ“ไบโอทอส” (biotos) ซึ่งหมายถึง “สำหรับชีวิต” (for life) หรือ “ส่งเสริมชีวิต” ตรงข้ามกับคำว่า “แอนติไบโอติก” (antibiotics) ซึ่งหมายถึง “ต่อต้านชีวิต” หรือ “ปฏิชีวนะ” โดยยับยั้งหรือต่อต้านสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่งซึ่งอาจหมายถึงจุลินทรีย์ชนิดก่อโรคส่วนโพรไบโอติกนั้นใช้เพื่อส่งเสริมสิ่งมีชีวิต (Suskovic, et al, 2001 : 227-235; Vasiljevic and Shah, 2008 : 714-728)

ไชยวัฒน์ ไชยสุต และ ศศิธร ศิริลุน (2553 : 5) กล่าวว่า โพรไบโอติกก็คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งอาจเป็นชนิดเดี่ยวหรือชนิดผสมและเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ และ International Life Science Institute (ILSI) ยังได้รวมความหมายถึงอาหารที่มีโพรไบโอติกอีกด้วย ซึ่งอาหารที่มีส่วนผสมของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตในปริมาณที่สามารถส่งผลดีต่อสุขภาพผู้บริโภคก็จัดเป็นอาหารโพรไบโอติก ซึ่งนอกจากจุลินทรีย์ที่มีชีวิต (live cell) แล้วการศึกษาเพื่อกล่าวอ้างประโยชน์ของจุลินทรีย์ต่อสุขภาพในรูปแบบจุลินทรีย์เซลล์ตาย (dead cell) รวมถึงส่วนประกอบของจุลินทรีย์ (component of cell) เช่น โปรตีน (protein) ของเซลล์ สารพันธุกรรมอย่างดีเอ็นเอ (DNA) หรืออาร์เอ็นเอ (RNA) ผนังเซลล์ (cell wall) เยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane หรือ cytoplasmic membrane) ซึ่งอาจเป็นน้ำตาลหลายโมเลกุล เรียกว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์ (exopolysaccharide; EPS) หรือส่วนที่เป็นลิปิดหรือไขมันต่อกับน้ำตาลหลายโมเลกุล เรียกว่า ลิโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide; LPS) หรือส่วนประกอบอื่นๆ ของเซลล์ ก็มีบทบาทกับการพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพในปัจจุบัน จึงทำให้นิยามของโพรไบโอติกนั้นหมายรวมทั้งจุลินทรีย์ในรูปแบบเซลล์ที่มีชีวิตรูปแบบเซลล์ตายและส่วนประกอบของจุลินทรีย์ที่สามารถก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพได้

สุญาณี พงษ์ธนานิกร (2549 : 1) ได้ให้ความหมายของ โพรไบโอติก (Probiotics) คือ กลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งเข้าไปอยู่ในระบบของร่างกายมนุษย์และสัตว์ แล้วก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกายของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ โดยจุลินทรีย์นั้นทำหน้าที่ช่วยปรับสมดุลของสภาพแวดล้อมในระบบลำไส้

Fuller (1989 : 365-378) ได้ให้คำจำกัดความที่มีความหมายที่เหมาะสมว่า โพรไบโอติก คือ อาหาร (เสริม) ซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตอยู่และยังก่อให้เกิดประโยชน์ โดยช่วยปรับระดับความสมดุลของจุลินทรีย์ภายในระบบทางเดินอาหารของสิ่งมีชีวิต คำจำกัดความใหม่ที่ปรับปรุงขึ้นมานี้จะเน้นความสำคัญของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตว่าเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของโพรไบโอติกที่มีประสิทธิภาพ และยังช่วยขจัดความสับสนที่เกิดจากการใช้คำว่าสสารอีกด้วย

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา หรือ FDA (The United States Food and Drug Administration) ได้เปลี่ยนให้ใช้คำว่า DFM (Direct-Fed Microbial) แทนคำว่า Probiotic และได้ให้ความหมายว่า เป็นแหล่งของจุลินทรีย์มีชีวิตที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ นอกจากนี้ FAD และ AAFCO (The Association of American Feed Control Officail) ได้จัดให้จุลินทรีย์ DFM เป็น Generally Recognized As Safe (GRAS) ingredients ซึ่งเป็นสารที่เติมลงในอาหารมนุษย์และสัตว์ที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคโดยผ่านการพิจารณาจากเภสัชกรและนักพิษวิทยาแล้ว (Pollman, 1986 : 193-205)

โพรไบโอติก (Probiotics) หมายถึง อาหารที่จุลินทรีย์ยังมีชีวิตอยู่ในระบบทางเดินอาหาร มีลักษณะทนต่อสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะอาหาร ทนต่อเกลือน้ำดีในระบบการย่อยอาหาร สามารถยึดเกาะผนังลำไส้ได้ และมีปริมาณจุลินทรีย์ไม่น้อยกว่า 1×10^6 โคโลนี/มิลลิลิตร มีคุณสมบัติช่วยปรับความสมดุลของจุลินทรีย์ที่ดีภายในลำไส้ในระบบทางเดินอาหารป้องกันไม่ให้เชื้อโรคเกาะผนังลำไส้ ช่วยในระบบการย่อยอาหาร ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคในอาหาร และลดความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ โดยผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่จำหน่ายแบบเซลล์สด เช่น นมเปรี้ยว โยเกิร์ต ชีส เป็นต้น และผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่จำหน่ายแบบเซลล์แห้ง เช่น โพรไบโอติกชนิดผงบรรจุซอง แคปซูล กล้าเชื้อ (ศจี สุวรรณศรี และ นรภัทร หวันเหล็ม, 2557 : 84-85)

2.3.1.2 แบคทีเรียกรดแลคติกที่เป็นโพรไบโอติก (Lactic acid probiotic bacteria)

ไชยวัฒน์ ไชยสุต (2556 : 20-26) แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติก หรือกรดน้ำนมได้ ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่พบในทางเดินอาหารของคนและสัตว์และในอาหารหมักดองต่างๆ ได้มีการนำมาศึกษาและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกมากที่สุดได้แก่ แบคทีเรียในตระกูลหรือจีนัส (Genus) แลกโตบาซิลลัส (*Lactobacillus*) เอนเทอโรคอคคัส (*Enterococcus*) และไบฟิโดแบคทีเรียม (B*ifidobacterium*) โดยแบคทีเรียกลุ่มแลกโตบาซิลลัส และไบฟิโดแบคทีเรียม จัดเป็นแบคทีเรียประจำลำไส้ เนื่องจากพบในลำไส้มนุษย์ตั้งแต่แรกเกิดจนเจริญเติบโตเป็นผู้ใหญ่แต่อาจมีความหลากหลายในชนิด สายพันธุ์ และจำนวนในแต่ละบุคคลหรือช่วงอายุ ขึ้นกับปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น พฤติกรรมการบริโภคที่ไม่เหมาะสม ความเครียดการดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ การใช้ยาปฏิชีวนะ เป็นต้น แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์รองรับ และใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในมนุษย์มากที่สุด เนื่องจากองค์การอนามัยโลกให้การรับรองว่าเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีความปลอดภัย (Generally Regarded as Safe หรือ GRAS) ซึ่งได้มีการศึกษาและนำมาใช้ในสิ่งมีชีวิต มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์รองรับถึงความปลอดภัยในการนำมาใช้กับมนุษย์ และยังได้มีการศึกษาคุณสมบัติการเป็นโพรไบโอติกส่งเสริมสุขภาพ และนำไปใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมอาหารเพื่อสุขภาพมากมาย

2.3.2 เครื่องดื่มโพรไบโอติก

Yoon, et al. (2005 : 73-75) กล่าวถึงผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มโพรไบโอติกว่าจัดเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ ปัจจุบันได้รับความนิยมจากผู้บริโภคเป็นอย่างมาก เพราะมีคุณสมบัติในด้านเสริมประสิทธิภาพการทำงานของระบบทางเดินอาหาร เสริมความแข็งแรงของกระดูก และเสริมกลไกการต่อต้านเชื้อโรคของร่างกายตามธรรมชาติ สามารถแบ่งได้เป็นสองประเภท ได้แก่

2.3.2.1 ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มโพรไบโอติกที่ได้จากนม (dairy-based) เช่น นมเปรี้ยว และโยเกิร์ตโดยกรรมวิธีการผลิตนมเปรี้ยวและโยเกิร์ตสามารถทำได้จากนมชนิดต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นนมสด นมพร่องมันเนย หรือนมถั่วเหลือง โดยการใช้แลคโตบาซิลัส แอซิโดฟิลลัส (*Lactobacillus acidophilus*) แลคโตบาซิลัส บัลแกริคัส (*Lactobacillus bulgaricus*) และสเตรปโตคอคคัส เทอร์โมฟิลลัส (*Streptococcus thermophillu*) เป็นหลักใส่ลงไปหมักผลิตภัณฑ์นมต่างๆ แบคทีเรียเหล่านี้ช่วยย่อยน้ำตาลแลคโตสในนมให้เป็นกรดแลคติกทำให้มีภาวะกรดและมีรสเปรี้ยว

2.3.2.2 ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มโพรไบโอติกที่ไม่ได้ทำจากนม (non dairy-based) เช่น น้ำหมักพืชชนิดต่างๆ โดยพืชที่ใช้ในการผลิตเครื่องดื่มน้ำพืช ควรเป็นพืชที่รับประทานได้ ถ้าเป็นผลไม้ก็ควรเป็นผลไม้ที่ไม่ดิบและไม่สุกจนเน่าเละพืชที่นิยมใช้ ได้แก่ ลูกยอ กระชาย ลูกสมอไทย มะขามป้อม มะเม่า แครอท เป็นต้น กระบวนการผลิตเครื่องดื่มโพรไบโอติกที่ได้จากการหมักพืชจะใช้จุลินทรีย์ที่อาจพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ (เช่น พบบนผิวพืช น้ำ หรือวัตถุดิบที่เป็นส่วนผสม) และหรือที่เติมลงไปเป็นกล้าเชื้อในการหมัก เช่น แลกโตบาซิลลัส คาเซอิ (*Lactobacillus casei*) แลกโตบาซิลลัส แอซิโดฟิลลัส (*Lactobacillus acidophilus*) หรือจุลินทรีย์อื่นที่สามารถใช้ในการผลิตน้ำหมักพืชทั้งนี้อาจมีจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักที่ยังมีชีวิตคงเหลืออยู่ และเมื่อกระบนการหมักเสร็จสิ้นอาจยังมีความขุ่นหรือตะกอนซึ่งเกิดจากส่วนประกอบที่มาจากพืช สมุนไพรปั่นละเอียดและเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีในกระบวนการหมัก ทั้งจุลินทรีย์ที่มีในธรรมชาติและที่เติมลงไปเป็นกล้าเชื้ออยู่ในสภาพที่มีชีวิต (ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก) หรือที่เป็นเซลล์ตายจากกระบวนการกำจัดจุลินทรีย์ โดยการให้ความร้อนหรือใช้สารเคมีซึ่งการบริโภคกากตะกอนของพืชและจุลินทรีย์นี้อาจส่งเสริมสุขภาพในเรื่องของโพรไบโอติกและยังอาจกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ (ไชยวัฒน์ ไชยสุต, 2553 : 9-13)

Chadwick, et al. (2003 : 161-175) ได้กล่าวถึงรายละเอียดบางส่วนเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ที่เป็นโพรไบโอติกและข้อกำหนดเกี่ยวกับโพรไบโอติกไว้ดังนี้ คำว่า โพรไบโอติก (probiotics) คือ เซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีชีวิต และมีประโยชน์อันก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภคทำให้เกิดสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของคนหรือสัตว์ ทำให้เกิดความต้านทานของจุลินทรีย์ก่อโรคในลำไส้ ประโยชน์ของโพรไบไอติกที่มีต่อร่างกายมนุษย์มีด้วยกันหลายประการ ได้แก่ กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทำให้ร่างกายไม่เจ็บป่วยง่าย ช่วยยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง และกำจัดสารก่อมะเร็งบางชนิด สามารถสร้างเอนไซม์ที่ย่อยน้ำตาลแลคโตส ซึ่งเป็นน้ำตาลในน้ำนมให้ได้เป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลกาแลคโตสทำให้ดูดซึมเข้าลำไส้เล็กได้ ลดอาการท้องอืด ท้องร่วงจากการดื่มนม และยังช่วยในการดูดซึมแคลเซียม ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคโดยไปปรับความเป็นกรด - ด่าง ทำให้ไม่เหมาะสมต่อจุลินทรีย์ก่อโรค ลดระดับการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลและระดับน้ำตาลในเลือด ทำให้ระบบขับถ่ายปกติ เพิ่มปริมาณกากอุจจาระ ทำให้ไม่มีการสะสมของเสีย ลดการเสี่ยงที่เกิดโรคมะเร็งลำไส้ได้ การที่จะจัดว่าจุลินทรีย์ใดเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกหรือไม่นั้นต้องพิจารณาว่าจุลินทรีย์นั้นเป็นสายพันธุ์ที่เป็นประโยชน์ไม่ก่อให้เกิดพิษ หรือสร้างสารพิษ สามารถทนอยู่ในกระเพาะอาหารของคนและสัตว์ได้ มีความสามารถที่เกาะกับผนังลำไส้ได้ดีกว่าจุลินทรีย์อื่นๆ แบคทีเรียแลคติกที่มักใช้เป็นกล้าเชื้อ

ตั้งต้นสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์อาหาร ได้แก่ แลตโตบาซิลัส (*Lactobacillus*) สเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus*) บิฟิโดแบคทีเรียม (*Bifidobacterium*) หรือเป็นแบคทีเรียดังกล่าวผสมรวมกันตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป (mixed culture)

ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกส่วนใหญ่ที่จำหน่ายในปัจจุบันเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทนมหมักแม้ว่าส่วนใหญ่ได้นำมาผสมกันเพื่อเปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นๆ เช่น อาหารที่เป็นของเหลว เช่น น้ำผลไม้ ดังนั้นอาหารประเภทนี้จึงมีข้อดีหรือมีประโยชน์มากกว่าอาหารสุขภาพอื่นๆ ที่ไม่มีความแตกต่างกันในลักษณะปรากฏ หรือรสชาติต่างไปจากผลิตภัณฑ์เดิม ซึ่งเป็นที่ยอมรับในการบริโภคทั่วไป นอกจากนั้นโพรไบโอติกที่จำหน่ายอาจพบในรูปของแคปซูล หรือผง แต่อาจได้รับการพิจารณาว่าเป็นทั้งเวชภัณฑ์หรืออาหารเสริมแต่ไม่ใช่อาหารเพื่อสุขภาพสายพันธุ์ของโพรไบโอติกที่พบในท้องตลาดมีต้นกำเนิดและประวัติที่หลากหลายและมาตรฐานสำหรับใช้เป็นเหตุผลว่าเป็นโพรไบโอติกยังไม่ชัดเจน อย่างไรก็ตามข้อกำหนดที่ใช้สำหรับโพรไบโอติกควรประกอบด้วยเป็นสายพันธุ์ที่มีต้นกำเนิดจากมนุษย์ หรือบางกรณีที่จุลินทรีย์ชนิดนั้นถูกนำมาใช้ในอาหารหมักมาเป็นเวลานานก็ไม่จำเป็นต้องขึ้นกับเหตุผลนี้ สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ในระบบทางเดินอาหารและยึดเกาะกับอิพิเทเลี่ยม หรือมูโคซา (mucosa) ของลำไส้ได้ดี มีการพิสูจน์แล้วว่ามีความปลอดภัยต่อการใช้ประโยชน์มีหลักฐานที่พบว่าเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ และคุณสมบัติทางด้านเทคโนโลยีและประสาทสัมผัสควรเข้ากับได้ดีกับอาหารที่ใช้ โดยที่ความปลอดภัยและประโยชน์ต่อสุขภาพ และความเหมาะสมกับการใช้ในอาหารเป็นไปตามสิ่งแวดล้อม

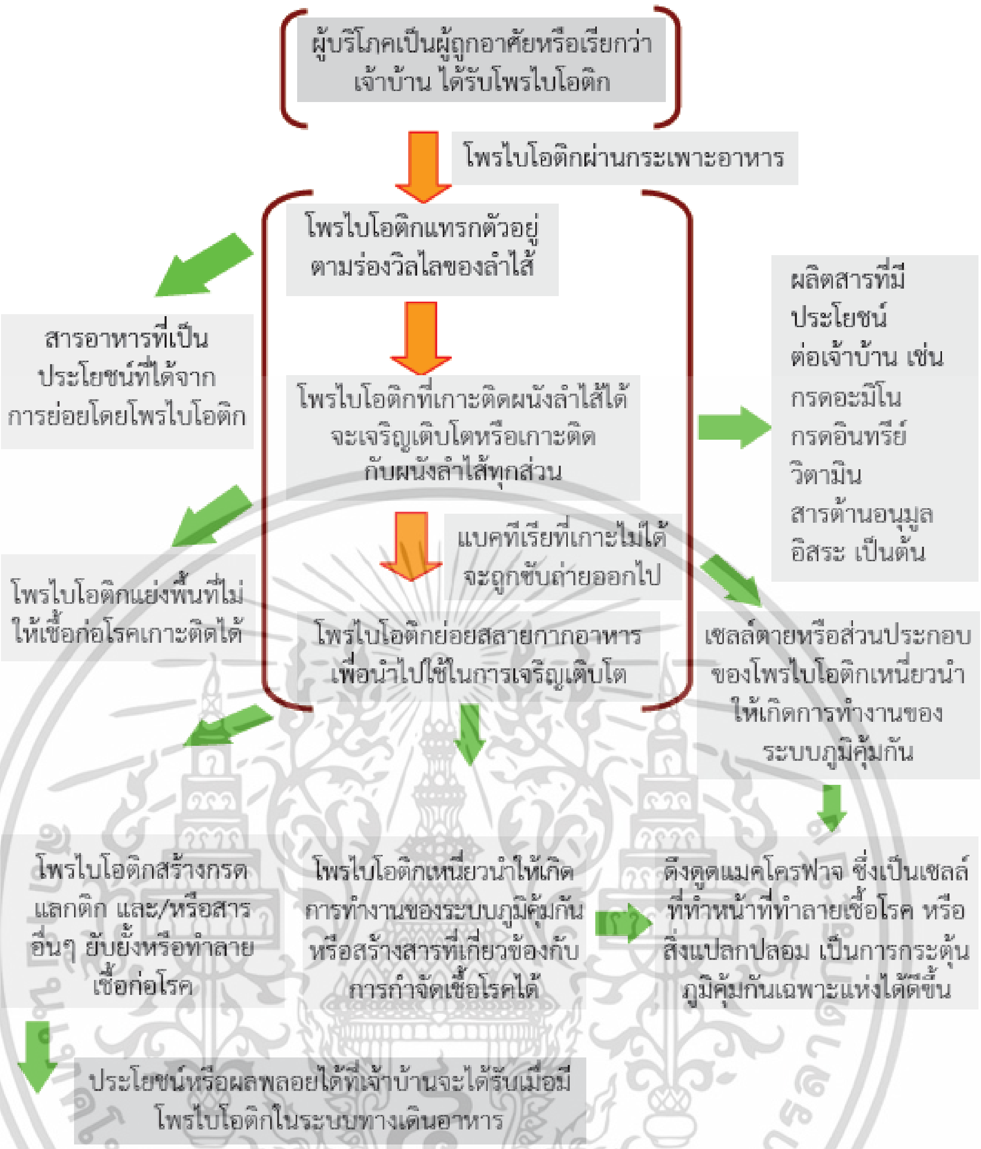
ลักษณะของโพรไบโอติกที่ดี คือ ควรอยู่ได้เป็นเวลานานในสภาพแวดล้อมที่เก็บรักษา สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ที่กระเพาะอาหารที่มีค่าพีเอชต่ำ สามารถเพิ่มจำนวนได้ที่อิพิทีเลียม (epithelium) ณ บริเวณลำไส้ของเจ้าบ้าน ไม่เป็นพิษ และต้องมีอิทธิพลต่อการส่งเสริมการเจริญหรือทนต่อการติดเชื้อ โพรไบโอติกที่ใช้เพื่อการบริโภคของมนุษย์ส่วนใหญ่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก และ *Bifidobacterium* และอีกกลุ่มหนึ่งที่ใช้คือยีสต์ *Saccharomyces boulardii* ซึ่งถูกนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกได้ดี (Kalantzopoulos, 1997 : 185-190)

2.3.3 บทบาทของโพรไบโอติกต่อสุขภาพ

ไชยวัฒน์ ไชยสุต (2556 : 53-76) ได้กล่าวถึงบทบาทของโพรไบโอติกต่อสุขภาพในด้านต่างๆ ไว้ดังนี้

2.3.3.1 บทบาทของโพรไบโอติกในการดูแลสุขภาพเชิงป้องกัน

โพรไบโอติกก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญที่ช่วยระบบการย่อยและส่งเสริมการทำงานของระบบขับถ่าย และปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารซึ่งทำให้เกิดการพัฒนาในลำไส้และส่งผลต่อสุขภาพของเจ้าบ้าน ทำให้สิ่งมีชีวิตซึ่งเป็นผู้ถูกอาศัยของโพรไบโอติกมีความสามารถในการต้านทานโรค โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร โดยกลไกในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์เริ่มขึ้นเมื่อปากรับประทานอาหารมีฟันทำหน้าที่บดเคี้ยวให้อาหารมีขนาดเล็กลง กระเพาะสำหรับย่อยสารอาหาร ลำไส้สำหรับดูดซึมสารอาหาร น้ำ วิตามิน และเกลือแร่จากกากอาหารเข้าสู่ร่างกาย ทำให้กากอาหารรวมตัวกลายเป็นก้อนอุจจาระ ระบบการกักเก็บอุจจาระ ระบบการควบคุมความต้องการในการถ่ายอุจจาระ และระบบการหมักย่อยกากอาหารชนิดที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้โดยจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้จึงเป็นยุทธศาสตร์สุขภาพที่สำคัญ เป็นส่วนเชื่อมโยงกับสุขภาพร่างกายส่วนอื่นๆ ถ้าหากปัจจัยใดก็ตามที่ส่งเสริมการทำงานของระบบทางเดินอาหารให้ดำเนินไปจนสิ้นสุดถึงการขับถ่ายอย่างสมบูรณ์เป็นการทำความสะอาดลำไส้ใหญ่ ปัจจัยนั้นก็ส่งเสริมให้ร่างกายมีสุขภาพที่ดี

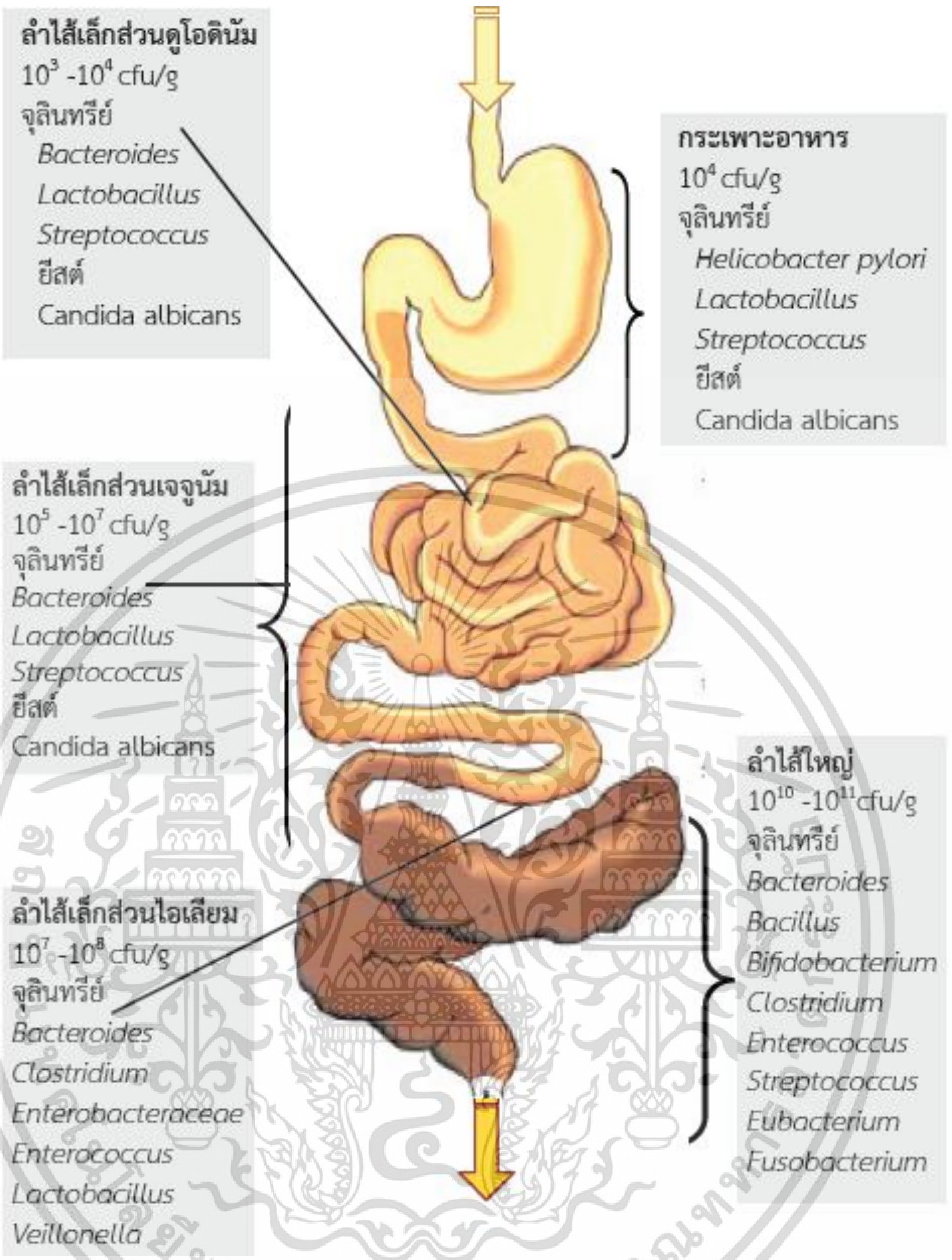

ผู้บริโภคเป็นผู้ถูกอาศัยหรือเรียกว่า เจ้าบ้าน ได้รับโพรไบโอติก
โพรไบโอติกผ่านกระเพาะอาหาร
โพรไบโอติกแทรกตัวอยู่ ตามร่องวิลไลของลำไส้
สารอาหารที่เป็นประโยชน์ที่ได้จากการย่อยโดยโพรไบโอติก
ผลิตสารที่มีประโยชน์ต่อเจ้าบ้าน เช่น กรดอะมิโน กรดอินทรีย์ วิตามิน สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น
โพรไบโอติกที่เกาะติดผนังลำไส้ได้จะเจริญเติบโตหรือเกาะติดกับผนังลำไส้ทุกส่วน
แบคทีเรียที่เกาะไม่ได้จะถูกขับถ่ายออกไป
โพรไบโอติกแย่งพื้นที่ไม่ให้เชื้อก่อโรคเกาะติดได้
โพรไบโอติกย่อยสลายกากอาหารเพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโต
เซลล์ตายหรือส่วนประกอบของโพรไบโอติกเหนี่ยวนำให้เกิดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน
โพรไบโอติกสร้างกรดแลกติก และ/หรือสารอื่นๆ ยับยั้งหรือทำลายเชื้อก่อโรค
โพรไบโอติกเหนี่ยวนำให้เกิดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน หรือสร้างสารที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดเชื้อโรคได้
ดึงดูดแมคโครฟาจ ซึ่งเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ทำลายเชื้อโรค หรือสิ่งแปลกปลอม เป็นการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเฉพาะแห่งได้ดีขึ้น
ประโยชน์หรือผลพลอยได้ที่เจ้าบ้านจะได้รับเมื่อมีโพรไบโอติกในระบบทางเดินอาหาร

ภาพที่ 2.13 บทบาทของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ส่งผลต่อผู้บริโภคหรือเจ้าบ้าน

ที่มา : ไชยวัฒน์ ไชยสุต (2556 : 55)

2.3.3.2 โพรไบโอติกกับระบบทางเดินอาหาร

โพรไบโอติกมีบทบาทสำคัญต่อความสมดุลของลำไส้ซึ่งมีเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันกว่าร้อยละ 80 ที่ส่งผลต่อการมีระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายที่มีประสิทธิภาพ โดยเมื่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกผ่านเข้ามาในระบบทางเดินอาหาร และเกาะติดผิวเยื่อบุบริเวณลำไส้ ระบบภูมิคุ้มกันจะจดจำและมีความต้านทาน (oral tolerance) ยอมรับให้อยู่ร่วมกันโดยจุลินทรีย์จะอาศัยอาหารในการเจริญเติบโตซึ่งจะทำให้ผู้บริโภคได้รับสิ่งที่เป็นประโยชน์ร่วมด้วย

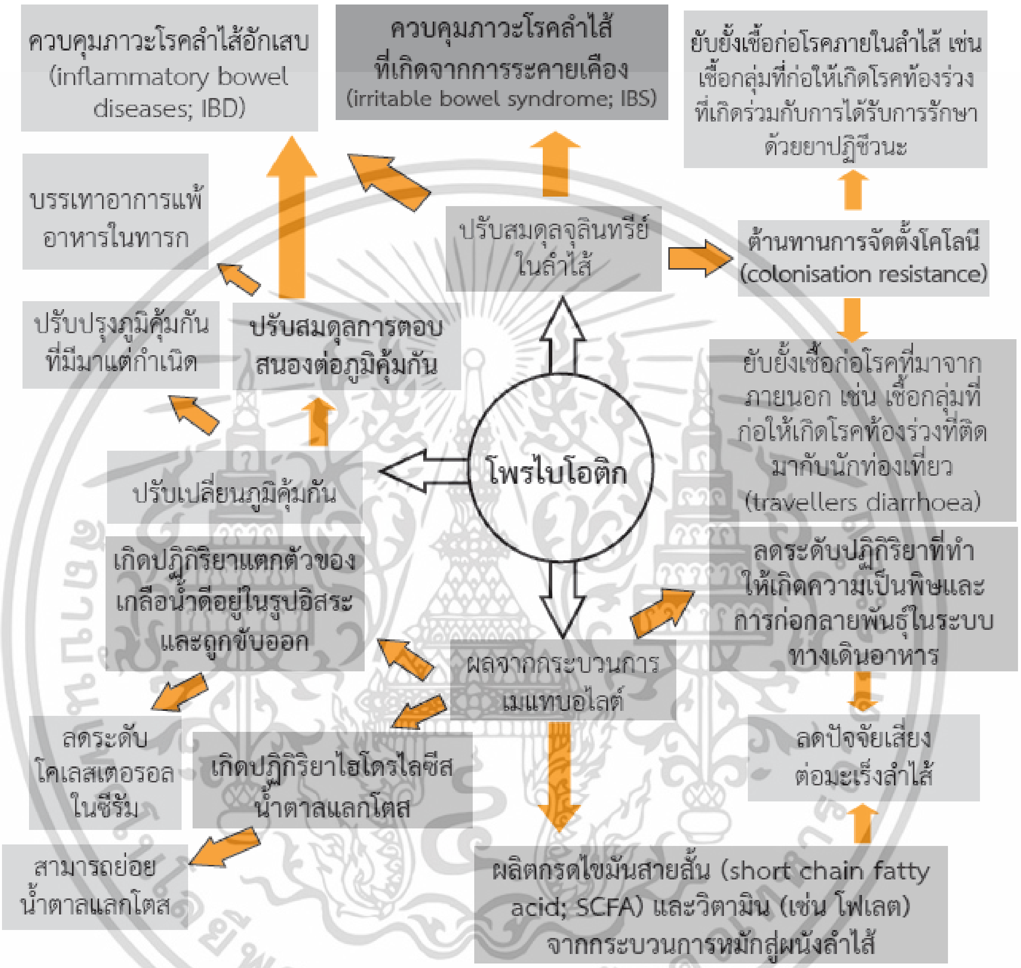

ลำไส้เล็กส่วนดูโอดินัม
10^3 -10^4 cfu/g
จุลินทรีย์
Bacteroides
Lactobacillus
Streptococcus
ยีสต์
Candida albicans
กระเพาะอาหาร
10^4 cfu/g
จุลินทรีย์
Helicobacter pylori
Lactobacillus
Streptococcus
ยีสต์
Candida albicans
ลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม
10^5 -10^7 cfu/g
จุลินทรีย์
Bacteroides
Lactobacillus
Streptococcus
ยีสต์
Candida albicans
ลำไส้ใหญ่
10^{10} -10^{11}cfu/g
จุลินทรีย์
Bacteroides
Bacillus
Bifidobacterium
Clostridium
Enterococcus
Streptococcus
Eubacterium
Fusobacterium
ลำไส้เล็กส่วนไอเลียม
10^7 -10^8 cfu/g
จุลินทรีย์
Bacteroides
Clostridium
Enterobacteraceae
Enterococcus
Lactobacillus
Veillonella

***ภาพที่ 2.**14* ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ที่พบภายในระบบทางเดินอาหาร (กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่)
ที่มา : ไชยวัฒน์ ไชยสุต (2556 : 58)

โดยโพรไบโอติกสามารถทำให้สภาพแวดล้อมที่อาศัยอยู่มีสภาพเป็นกรด ทำให้เชื้อก่อโรคซึ่งมักไม่ทนกรดนั้น ไม่สามารถเจริญได้และยังสามารถผลิตเอนไซม์ที่ช่วยย่อยสารอาหารบางชนิดสามารถผลิตสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ เช่น กรดอินทรีย์ แบคเทอริโอซิน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และสารชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ โพรไบติกยังช่วยปรับสมดุลจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ให้สามารถควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้ นอกจากนี้ยังอาจส่งผลดีต่อสุขภาพในด้านอื่นๆ เช่น ช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด ช่วยกระตุ้นหน้าที่ของระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยป้องกันการติดเชื้อ ลดการเกิดมะเร็ง เพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยช่วยให้ระบบย่อยอาหารทำงานได้ดี และช่วยบังคับการเคลื่อนที่ภายในระบบทางเดินอาหาร

2.3.3.3 บทบาทของโพรไบโอติกต่อโรคต่างๆ และสุขภาพ

ปัจจุบันมีการศึกษาพัฒนาอาหารและผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ ที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกอย่างกว้างขวาง ซึ่งได้มีรายงานถึงผลของโพรไบโอติกต่อโรคต่างๆ และสุขภาพไว้มากมาย เพื่อกล่าวอ้างถึงประสิทธิภาพของโพรไบโอติกนั้นต่อสุขภาพของผู้บริโภค ซึ่งจากรายงานการวิจัยและเอกสารต่างๆ ได้กล่าวถึงโพรไบโอติกและผลต่อสุขภาพโดยรวมดังนี้


ควบคุมภาวะโรคลำไส้อักเสบ (inflammatory bowel diseases; IBD)
ควบคุมภาวะโรคลำไส้ที่เกิดจากการระคายเคือง (irritable bowel syndrome; IBS)
ยับยั้งเชื้อก่อโรคภายในลำไส้ เช่น เชื้อกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงที่เกิดร่วมกับการได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ
บรรเทาอาการแพ้อาหารในทารก
ปรับสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้
ต้านทานการจัดตั้งโคโลนี (colonisation resistance)
ปรับปรุงภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิด
ปรับสมดุลการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน
ยับยั้งเชื้อก่อโรคที่มาจากภายนอก เช่น เชื้อกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงที่ติดมากับนักท่องเที่ยว (travellers diarrhoea)
ปรับเปลี่ยนภูมิคุ้มกัน
โพรไบโอติก
เกิดปฏิกิริยาแตกตัวของเกลือน้ำดีอยู่ในรูปอิสระและถูกขับออก
ลดระดับปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดความเป็นพิษและการก่อกลายพันธุ์ในระบบทางเดินอาหาร
ผลจากกระบวนการเมแทบอไลต์
ลดระดับโคเลสเตอรอลในซีรัม
เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสน้ำตาลแลกโตส
ลดปัจจัยเสี่ยงต่อมะเร็งลำไส้
สามารถย่อยน้ำตาลแลกโตส
ผลิตกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid; SCFA) และวิตามิน (เช่น โฟเลต) จากกระบวนการหมักสู่ผนังลำไส้

ภาพที่ 2.15 บทบาทของโพรไบโอติกต่อโรคต่างๆ และสุขภาพ

ที่มา : ไชยวัฒน์ ไชยสุต (2556 : 63)

2.3.3.3.1 การปรับสมดุลของระบบทางเดินอาหารและระบบขับถ่าย โพรไบโอติกสามารถลดความถี่และระยะเวลาของอาการท้องร่วง ลดอาการติดเชื้อภายในลำไส้ เนื่องจากโพรไบโอติกที่อาศัยอยู่ในลำไส้จะใช้อาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตเพื่อสร้างพลังงานแล้วได้กรดแลคติกและกรดอะซิติกซึ่งกรดดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคได้ นอกจากนี้โพรไบโอติกที่เจริญเติบโตดีอาจผลิตสารอื่นๆ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้

2.3.3.3.2 การลดภาวะที่ร่างกายไม่สามารถย่อยหรือไม่ทนต่อน้ำตาลแลกโตส (lactose intolerance) ผู้ที่มีภาวะที่ไม่ทนต่อน้ำตาลแลกโตสจะมีอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ท้องเดิน ปวดท้อง เมื่อร่างกายได้รับน้ำตาลแลกโตสซึ่งเป็นน้ำตาลที่พบมากในน้ำนมวัวซึ่งภาวะดังกล่าวเกิดจากร่างกายไม่สามารถย่อยน้ำตาลแลกโตสได้เพราะขาดเอนไซม์ β-galactosidase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยย่อยน้ำตาลแลกโตสหรือมีปริมาณของเอนไซม์ β-galactosidase ต่ำจึงทำให้แลกโตสไม่สามารถถูกย่อยในทางเดินอาหาร จึงมักพบว่ามีหลายคนที่เมื่อดื่มนมแล้วมีอาการดังกล่าว ซึ่งโพรไบโอติกสามารถผลิตน้ำย่อยเพื่อช่วยย่อยแลกโตสในนมได้จึงทำให้มีแลกโตสเหลือน้อยกว่าหรือไม่มีเลยจึงทำให้ผู้ที่ไม่มีการสร้างน้ำย่อยดังกล่าวสามารถดื่มนมและผลิตภัณฑ์นมได้โดยไม่เกิดอาการดังกล่าว

2.3.3.3.3 การป้องกันหรือลดระดับการเกิดสารก่อมะเร็ง โพรไบโอติกอาจเกี่ยวข้องกับการป้องกันมะเร็งในลำไส้โดยอาศัยกลไกต่างๆ เช่น อาจช่วยลดการทำงานของสารก่อมะเร็ง ลดสารเมแทบอไลต์ที่ไม่พึงประสงค์ เช่น แอมโมเนียม อินโดล สแกโทล และลดปริมาณเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการก่อมะเร็ง (procarcinogenic enzyme) ในลำไส้ใหญ่ โพรไบโอติกยังอาจควบคุมหรือยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่สร้างสารหรือเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการก่อมะเร็งได้ และมีผลต่อการเคลื่อนไหวหรือการบีบตัวของลำไส้ทำให้กำจัดสารก่อกลายพันธุ์ สารก่อมะเร็งให้ออกจากร่างกายได้เร็วขึ้น ซึ่งมีรายงานตัวอย่างแบคทีเรีย *L. rhamnosus* GG ทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณของแลกโตบาซิลไล และไบฟิโดแบคทีเรียที่พบจากตัวอย่างอุจจาระได้ และในขณะเดียวกันพบเชื้อคลอสติเดียมีปริมาณลดลง

2.3.3.3.4 การปรับเปลี่ยนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โพรไบโอติกสามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายให้ทำงานอย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น โพรไบโอติกช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันโดยการกระตุ้นเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ที่มีอยู่ทุกหนทุกแห่งไหลเวียนไปตามหลอดเลือดให้เคลื่อนมายังตำแหน่งที่เชื้อโรครุกล้ำข้ามาสู่ร่างกาย แล้วโมโนไซต์ก็เติบโตเป็นแมคโครฟาจเพื่อจับกินเชื้อโรคนั้น นอกจากนี้ ยังหลั่งสารเคมีที่เกี่ยวข้องกับการทำลายเชื้อโรค เช่น ไซโตคายน์ชนิดแกมมาโกลบูลิน เอ (Immunoglobulin A; IgA) อินเตอร์ลิวคิน (Interleukin) และทูเมอนิวโครซีสแฟคเตอร์ แอลฟา (Tumor Necrosis Factor; TNF-a) ทำให้ร่างกายป้องกัน ต่อต้านและกำจัดเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมต่างๆ ที่เข้าสู่ร่างกายได้ดียิ่งขึ้น สารเหล่านี้เป็นสารคล้ายฮอร์โมนทำหน้าที่สื่อสารระหว่างเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน เพื่อมาช่วยกันต่อสู้กับสิ่งแปลกปลอม เชื้อโรค หรือผู้รุกราน

2.3.3.3.5 การลดภาวะภูมิแพ้และการอักเสบรุนแรง โพรไบโอติกสามารถกระตุ้นการสร้างสารที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยช่วยลดหรือป้องกันการสร้างโปรตีนหรือแอนติบอดี (antibody) ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสารก่อภูมิแพ้และการอักเสบรุนแรงของร่างกายได้ ซึ่งแอนติบอดีดังกล่าวที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อภูมิแพ้ของร่างกาย คือ IgE และโพรไบโอติกยังช่วยกระตุ้นให้ร่างกายสร้างสารตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันของร่างกายเพื่อไม่ให้เกิดการอักเสบรุนแรง เช่น อินเตอร์ลิวคิน-10 (IL-10) อีกด้วย

2.3.3.3.6 การลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด โคเลสเตอรอลเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เกลือน้ำดี โพรไบโอติกที่สามารถสร้างน้ำย่อยหรือเอนไซม์ที่สามารถย่อยเกลือน้ำดีได้จะทำให้เกลือน้ำดีที่ถูกย่อยแล้วเป็นเกลือน้ำดีอิสระ (deconjugated bile salt) สามารถถูกขับออกทางอุจจาระได้ดีทำให้ร่างกายใช้โคเลสเตอรอลมาสังเคราะห์เป็นเกลือน้ำดีทดแทนจึงส่งผลให้ลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือดได้ นอกจากนี้อาจเนื่องจากการที่โพรไบโอติกนำเอาโคเลสเตอรอลไปใช้ได้โดยตรง เพื่อการสร้างเป็นส่วนประกอบของเซลล์ เช่น ผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ เป็นต้น ทำให้ปริมาณโคเลสเตอรอลในเลือดลดลง

2.3.3 น้ำหมักพืช

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2548 : 1-2) ให้ความหมายและคุณลักษณะที่ต้องการของน้ำหมักพืช (มผช. 481/2547) ดังต่อไปนี้

2.3.3.1 ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืช

น้ำหมักพืช หมายถึง เครื่องดื่มที่ได้จากการนำส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชชนิดเดียวหรือหลายชนิด เช่น ลูกยอ ลูกสมอไทย เหง่ากระชายดำ ผลมะขามปอม ผลมะเมา ที่สดหรือแห่ง และอยู่ในสภาพดีมาลางใหสะอาด อาจหั่นหรือตัดแตง นำมาผานกรรมวิธีการผลิตน้ำหมักพืชในภาชนะที่ไมทำปฏิกิริยากับน้ำหมักพืช

กรรมวิธีการผลิตน้ำหมักพืช หมายถึง การหมักพืชหรือการสกัดน้ำจากพืช ด่วยจุลินทรียที่ทำให่เกิดกรดแลคติกเปนสวนประกอบหลัก เชน แลกโตบาซิลลัส เดลบรูคิอิ ซับส บัลการิคัส (*Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus*) แลกโตบาซิลลัส เคซิอิ (*Lactobacillus casei*) ไบฟโดแบคทีเรียม (*Bifidobacterium*) แลกโตบาซิลลัส อะซิโดฟลัส (*Lactobacillus acidophillus*) หรือจุลินทรียอื่นที่สามารถใชในการผลิตน้ำหมักพืช ทั้งนี้อาจมีจุลินทรียที่ใชในการหมักบมที่มีชีวิตคงเหลืออยู

น้ำหมักพืชแท้ หมายถึง น้ำหมักพืชที่ไม่มีการเจือน้ำและไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส

น้ำหมักพืชปรุง หมายถึง น้ำหมักพืชที่ทำจากน้ำหมักพืชแท้ อาจมีการเจือน้ำ ปรุงแต่งกลิ่นรส ตัวอย่างของน้ำหมักที่ได้จากพืชมีหลายกลุ่ม เช่น น้ำหมักชีวภาพ (มีการนำมาใช้เพื่อการบริโภคและเพื่อวัตถุประสงค์อื่นๆ) น้ำหมักยอ และเครื่องดื่มชาหมัก เป็นต้น

2.3.3.2 คุณลักษณะที่ตองการของน้ำหมักพืช

2.3.3.2.1 ลักษณะทั่วไป ตองเปนของเหลว อาจตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไวอาจมีชิ้นเนื้อพืชปนอยูไดบ่างเล็กน่อย

2.3.3.2.2 สี กลิ่น และกลิ่นรส ต่องมีสี กลิ่น และกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใชและกรรมวิธีการผลิต ปราศจากกลิ่นรส อื่นที่ไมพึงประสงค

2.3.3.2.3 สิ่งแปลกปลอม ต่องไมพบสิ่งแปลกปลอมที่ไมใชสวนประกอบที่ใช เชน เสนผม ขนสัตว ดิน ทราย กรวด ชิ้นสวน หรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว

2.3.3.2.4 วัตถุเจือปนอาหาร (ถ้ามี) หากมีการใชวัตถุกันเสียใหใชไดตามชนิดและปริมาณที่กฎหมายกำหนด

2.3.3.2.5 เอทิลแอลกอฮอล์ ต้องไม่เกินร้อยละ 3 โดยปริมาตร

2.3.3.2.6 เมทิลแอลกอฮอล ต่องไมเกิน 240 มิลลิกรัมตอลิตร

2.3.3.2.7 ความเปนกรด - ดาง ตองไมเกิน 4.3

2.3.3.2.8 จุลินทรีย์

(1) ซาลโมเนลลา ตองไมพบในตัวอยาง 50 กรัม

(2) สตาฟโลค็อกคัส ออเรียส ตองไมพบในตัวอยาง 1 มิลลิลิตร

(3) คลอสตริเดียม เพอรฟริงเจนส ตองไมพบในตัวอยาง 0.1 กรัม

(4) เอสเชอริเชีย โคไล โดยวิธีเอ็มพีเอ็นตองนอยกวา 2.2 ตอตัวอยาง 100 มิลลิลิตร

(5) ยีสตและรา ตองไมเกิน 100 โคโลนีตอตัวอยาง 1 มิลลิลิตร

2.3.4 น้ำหมักชีวภาพ

น้ำหมักชีวภาพอาจมีชื่อเรียกหลากหลาย เช่น น้ำหมักพืช น้ำสกัดชีวภาพ น้ำหมักสมุนไพร น้ำเอนไซม์ น้ำจุลินทรีย์ น้ำไอออนิกพลาสมา เซลล์ฟูดซ์ น้ำหมักโพรไบโอติก ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวที่เกิดจากการหมักพืช ผัก ผลไม้ รวมทั้งสมุนไพรกับสารให้ความหวาน เช่น น้ำตาล น้ำผึ้ง ในสภาวะที่มีแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก (lactic acid bacteria) (ไชยวัฒน์ ไชยสุต, 2553 : 9) น้ำหมักชีวภาพเมื่อพิจารณาตามการใช้ประโยชน์โดยทั่วไปแบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ น้ำหมักชีวภาพที่ใช้สำหรับพืชและสัตว์หรือน้ำหมักชีวภาพเพื่อการเกษตร และน้ำหมักชีวภาพเพื่อการบริโภค (ไชยวัฒน์ ไชยสุต และคณะ, 2554 : 6)

2.3.5 คุณสมบัติของน้ำหมักชีวภาพเพื่อการบริโภค

ไชยวัฒน์ ไชยสุต และคณะ (2554 : 7-9) ได้กล่าวถึงคุณสมบัติของน้ำหมักชีวภาพเพื่อการบริโภคที่ดีว่าต้องมีการควบคุมคุณภาพให้ได้น้ำหมักที่ดี คือ ไม่พบสิ่งปลอมปน มีส่วนของเอทานอลไม่เกินร้อยละ 3 และเมทานอลต้องไม่เกิน 240 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนชนิดของจุลินทรีย์ในการหมักนั้นอาจพบจุลินทรีย์ได้ 2 กลุ่มคือ กลุ่มจุลินทรีย์ก่อให้เกิดโรค และกลุ่มจุลินทรีย์ส่งเสริมสุขภาพ

2.3.5.1 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคที่ต้องควบคุม คือ จุลินทรีย์ที่ย่อยอาหารที่รับประทานเข้าไปให้เป็นสารที่เป็นพิษต่อร่างกาย เกิดเป็นสารแอมโมเนีย ฟีนอสแคตโตส และอินโดล ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารเน่าเสียก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร ท้องร่วง อาหารเป็นพิษ ยกตัวอย่างจุลินทรีย์กลุ่มนี้ คือ ซาลโมเนลลา ต้องไม่พบในตัวอย่าง 50 กรัม สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส ต้องไม่พบในตัวอย่าง 1 มิลลิกรัม คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม เอสเชอริเชีย โคไล ต้องน้อยกว่า 2.2 ต่อตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร ยีสต์และราต้องไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

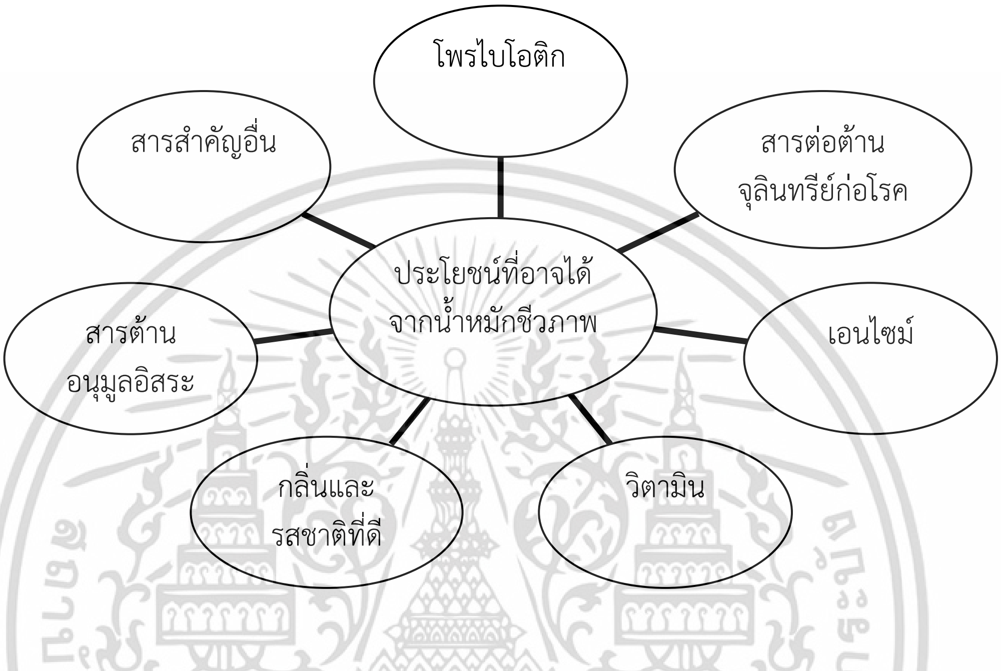
2.3.5.2 จุลินทรีย์ส่งเสริมสุขภาพ คือ จุลินทรีย์เสริมชีวนะหรือโพรไบโอติก (probiotic) ซึ่งเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดกรดแลคติก (กรดน้ำนม) จุลินทรีย์ชนิดนี้ถูกนำใช้ในการผลิตโยเกิร์ต นมเปรี้ยว มีประโยชน์ คือ ช่วยไม่ให้เชื้อก่อโรคเจริญได้ ปรับสมดุลของระบบทางเดินอาหารช่วยในการเหนี่ยวนำให้ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายทำงานได้อย่างสมดุล นอกจากนี้ยังพบคุณสมบัติของจุลินทรีย์เสริมชีวนะในการช่วยลดการเกิดสารก่อมะเร็ง และกลไกที่ชักนำให้เกิดมะเร็งจากการสามารถย่อยและจับสารก่อมะเร็งเอาไว้ได้ รวมถึงการลดการทำงานของเอนไซม์ที่มีกิจกรรมก่อให้เกิดสารพลอยได้ที่เป็นสารก่อมะเร็ง เป็นต้น ยกตัวอย่างจุลินทรีย์กลุ่มนี้ คือ *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus plantarum* เป็นต้น นอกจากนั้นยังมีกลุ่มของแบคทีเรียที่สร้างกรดแอซิติก หรือ acetic bacteria

การควบคุมที่สำคัญซึ่งเกิดขึ้นในการหมักอีกประการหนึ่ง คือ ปริมาณกรด ซึ่งโดยทั่วไปกรดที่เกิดในกระบวนการหมักถือเป็นการถนอมอาหารไปในตัว ความเป็นกรดของน้ำหมักชีวภาพเพื่อการบริโภคต้องมีค่าความเป็นกรดด่างหรือค่าพีเอช (pH) ต่ำกว่า 4.3 จึงจะควบคุมการเจริญของเชื้อก่อโรคได้

ประโยชน์ของน้ำหมักชีวภาพเพื่อการบริโภค คือได้จากจุลินทรีย์ ซึ่งขึ้นอยู่กับว่ากล้าเชื้อเป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์ใด และประโยชน์จากคุณค่าสารสำคัญตามชนิดของพืชผักผลไม้ที่นำมาใช้หมัก เพราะการหมักเป็นการแปรรูปที่เป็นการสกัดสารสำคัญในพืชผักผลไม้ ซึ่งในประเทศไทยเรามีพืชวัตถุดิบมากมายที่นำมาใช้ เช่น ลูกยอ มะขามป้อม ผลไม้ชนิดต่างๆ ตามฤดูกาล ดังนั้นน้ำหมักชีวภาพที่ดีก็ต้องมีสารสำคัญของพืชผักผลไม้ในระดับที่เหมาะสม ซึ่งในการหมักจะมีสารสำคัญออกมา สารสำคัญเหล่านี้จะเป็นส่วนหนึ่งในการเสริมสุขภาพนอกเหนือจากโพรไบโอติก ดังนั้นในวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักอาจจะใช้เวลาแตกต่างกันในการที่จะสกัดสาระสำคัญออกมา

เอกสารนี้เป็น[illegible]ให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากภาพที่ 2.16 แสดงให้ทราบว่าน้ำหมักชีวภาพมีประโยชน์มากมาย ซึ่งอาจได้จากการละลายออกมาจากพืชที่นำมาเป็นวัตถุดิบในการหมัก หรือเกิดจากการสร้างโดยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก หรือแลคติกแอซิดแบคทีเรีย นอกจากนี้ตัวเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำหมักอาจเป็นแบคทีเรียหรือโพรไบโอติกช่วยเพิ่มคุณสมบัติในการดูดซึมและลดอาการที่เกี่ยวข้องกับโรคในระบบทางเดินอาหาร (ไชยวัฒน์ ไชยสุต, 2553 : 43-49)


โพรไบโอติก
สารสำคัญอื่น
สารต่อต้าน จุลินทรีย์ก่อโรค
ประโยชน์ที่อาจได้ จากน้ำหมักชีวภาพ
สารต้าน อนุมูลอิสระ
เอนไซม์
กลิ่นและ รสชาติที่ดี
วิตามิน

ภาพที่ 2.16 แผนภาพแสดงประโยชน์น้ำหมักชีวภาพ

ที่มา : ไชยวัฒน์ ไชยสุต (2553 : 45)

2.3.6 กระบวนการผลิตน้ำหมักชีวภาพเพื่อการบริโภค

ไชยวัฒน์ ไชยสุต และคณะ (2554 : 19-44) ได้กล่าวถึงวิธีการหมักและกระบวนการผลิตน้ำหมักชีวภาพเพื่อการบริโภคไว้ดังนี้

2.3.6.1 วิธีการหมักน้ำหมักชีวภาพเพื่อการบริโภคสามารถจำแนกได้ 2 วิธี ได้แก่

2.3.6.1.1 การหมักโดยวิธีธรรมชาติ

วัตถุดิบ ต้องคัดเลือกวัตถุดิบ เช่น พืช ผัก ผลไม้ โดยวัตถุดิบแต่ละชนิดจะมีกระบวนการคัดเลือกตามคุณสมบัติเพื่อการบริโภคทั้งด้านโภชนาการ และสรรพคุณของพืชนั้นๆ

กระบวนการผลิต ทำอย่างง่ายตามสูตรท้องถิ่น โดยที่นิยม ตัวอย่างการทำน้ำหมักสำหรับถังขนาด 5 ลิตร คือ

(1) พืชที่เป็นผล 1 กิโลกรัม ถ้าเป็นพืชใบใช้ครึ่งกิโลกรัม
(2) น้ำสะอาด 3.2 กิโลกรัม
(3) น้ำตาล 300 กรัม

จุลินทรีย์ ไม่เติมเชื้อใดๆ อาศัยเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนมากับธรรมชาติ เช่น พืชผัก ผลไม้ น้ำ น้ำตาล อากาศ ภาชนะ หรือระหว่างการหมัก

2.3.6.1.2 การหมักโดยใช้กล้าเชื้อเริ่มต้น

วัตถุดิบ ต้องคัดเลือกวัตถุดิบ เช่น พืช ผัก ผลไม้ โดยวัตถุดิบแต่ละชนิดจะมีกระบวนการคัดเลือกตามคุณสมบัติเพื่อการบริโภคทั้งด้านโภชนาการ และสรรพคุณของพืชนั้นๆ

กระบวนการผลิต อาศัยความรู้ที่เป็นวิทยาศาสตร์เข้ามาผสมผสานกับภูมิปัญญาดั้งเดิม ตัวอย่างการทำน้ำหมักสำหรับถังขนาด 5 ลิตร คือ

(1) พืชที่เป็นผล 1 กิโลกรัม ถ้าเป็นพืชใบใช้ครึ่งกิโลกรัม
(2) น้ำสะอาด 3.2 กิโลกรัม
(3) น้ำตาล 300 กรัม และ
(4) กล้าเชื้อ 0.5 กิโลกรัม

จุลินทรีย์ เติมลงไปในการทำการหมักซึ่งต้องเป็นจุลินทรีย์ที่ทราบชนิดและจำนวนมากๆ พอที่จะเป็นกล้าเชื้อ สามารถใช้ได้ทั้งกล้าเชื้อผักดอง และกล้าเชื้อบริสุทธิ์

2.3.6.2 กระบวนการผลิตน้ำหมักชีวภาพเพื่อการบริโภค

2.3.6.2.1 การตรวจสอบลักษณะเบื้องต้นของผู้ผลิต

ผู้ผลิตต้องไม่เป็นโรคติดต่อที่น่ารังเกียจ หรือมีบาดแผล แต่งกายสะอาด มีเสื้อคลุม หรือผ้ากันเปื้อนที่สะอาด ไม่สวมเครื่องประดับ มือและเล็บสะอาด สวมหมวก หรือผ้าคลุมผม มีผ้าปิดปาก ไม่บริโภคอาหาร สูบบุหรี่

2.3.6.2.2 การเตรียมวัตถุดิบ

(1) การคัดเลือกพืชสมุนไพรที่มีคุณภาพ

(1.1) ชนิดของพืชที่นำมาใช้ต้องเป็นพืชที่ปลอดภัยไม่มีสารก่อให้เกิดพิษอยู่เป็นชิ้นส่วนของพืชที่รับประทานได้ ถ้าเป็นผลไม้ควรเป็นผลไม้ที่ไม่ดิบหรือสุกจนเน่าเละ อยู่ในสภาพดี

(1.2) ควรเป็นพืชที่ไม่มีปริมาณเพกตินอยู่ในปริมาณสูง เนื่องจากเพกตินในพืชเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งให้เกิดเมธิลแอลกอฮอล์ขึ้น

(1.3) พืชที่นำมาใช้ควรคัดเลือกพืชที่มีคุณภาพตามที่ได้กล่าวไว้ข้างต้นและมีการทำความสะอาดก่อนนำมาหมักเพื่อลดปริมาณเชื้ออื่นๆ ที่อาจพบในพืชโดยมาจากแหล่งผลิต

(2) การเตรียมพืช

(2.1) คัดเลือกพืช หรือผลไม้ (ไม่อ่อนหรือสุกจนเกินไป และไม่มีส่วนเน่าเสียปะปนอยู่มากเกินไป รวมทั้งการปลอดจากโรคพืช) นำมาล้าง อาจหั่นหรือเฉือนส่วนที่เสียทิ้ง และนำมาผึ่งให้แห้ง

(2.2) ลดขนาดพืชโดยการหั่น สับให้มีขนาดเล็กลง ขนาดชิ้นควรไม่แตกต่างกันมากนัก หรือมีเครื่องปั่นก็สามารถใช้เครื่องปั่นเพื่อลดขนาดได้ และหลีกเลี่ยงการเกิดเมทานอลซึ่งเป็นสารที่ก่อเกิดพิษในร่างกายขึ้นในช่วงระยะเวลาการหมัก เก็บไว้ในภาชนะรองรับที่สะอาด (หลีกเลี่ยงการไต่ตอมจากแมลงต่างๆ)

(2.3) เพื่อความปลอดภัยมากยิ่งขึ้น อาจใช้ชุดตรวจหายาฆ่าแมลงตกค้างจากพืชที่จะนำมาใช้ผลิตก็ได้

(3) การทำความสะอาดวัตถุดิบพืชและสมุนไพร

(3.1) คัดแยกส่วนที่เน่าเสียทิ้งไป

(3.2) ล้างทำความสะอาดคราบดิน ฝุ่น โดยให้น้ำก๊อกไหลผ่านแรงๆ

(3.3) แช่ในน้ำด่างทับทิมประมาณ 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาดและผึ่งให้สะเด็ดน้ำ

(4) การเตรียมน้ำตาล

(4.1) น้ำตาลที่ใช้ในการหมักน้ำหมักชีวภาพเพื่อการบริโภค สามารถใช้น้ำตาลได้ทุกชนิด เช่น น้ำตาลปึก น้ำอ้อย น้ำตาลกรวด น้ำตาลโตนด น้ำตาลทรายขาว แต่คุณภาพของน้ำหมักที่ได้จะแตกต่างกัน จึงแนะนำให้ใช้น้ำตาลแดง หรือน้ำตาลอ้อยป่น

(4.2) ข้อควรระวังสำหรับการใช้น้ำตาลทรายขาว คือให้ระวังสารเคมีที่ใช้ฟอกขาว เพราะจะเป็นอันตรายหากนำไปหมักเพื่อการบริโภค

(4.3) ข้อควรระวังสำหรับการใช้น้ำตาลแดง หรือน้ำตาลอ้อยป่น อาจมีการปนเปื้อนจากกากตะกอนต่างๆ เศษไม้ กรวด เป็นต้น ดังนั้นการนำมาใช้ต้องคัดแยกเศษปนเปื้อนออกหรือนำมาละลายน้ำในปริมาณตามสูตรแล้วจึงกรองแยกกาก โดยใช้ผ้าขาวบางหรือกระชอนแล้วนำมาต้มให้เดือด เพื่อลดหรือกำจัดจุลินทรีย์ปนเปื้อน

(5) หลักในการคัดเลือกภาชนะในการทำน้ำหมักชีวภาพ

(5.1) ไม่ควรใช้โอ่งดิน หรือไหดิน หรือภาชนะที่เป็นไม้ เพราะการหมักทำให้เกิดกรดซึ่งอาจกัดกร่อนภาชนะได้ นอกจากนี้การหมักระยะเวลานาน จะเกิดความชื้น ซึ่งอาจจะเกิดเชื้อราเกาะภาชนะที่เป็นไม้ได้

(5.2) แนะนำให้ใช้ภาชนะพลาสติก หรือภาชนะที่ทำมาจากแก้ว ที่ทนร้อนทนกรด และต้องเป็นภาชนะปากแคบ มีฝาปิดมิดชิดกันอากาศเข้า เพราะแบคทีเรียกรดแลคติกไม่ชอบอากาศ

(5.3) เป็นภาชนะไม่มีสี จะได้ไม่ถูกกัดกร่อนเอาสีมาผสมกับน้ำหมัก ควรเป็นภาชนะที่มีลักษณะใสจะช่วยให้สามารถสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงของน้ำหมักได้ดี เวลาเก็บควรนำผ้าดำมาคลุมไว้ในที่ร่มกันแสง เพราะแสงอาจทำให้สารที่เป็นประโยชน์เสียสภาพ หรือเสียคุณค่าได้

(6) การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น 0.5 ลิตร จากผักกาดเขียวปลีดอง

(6.1) ล้างทำความสะอาดผักกาดเขียว โดยเฉพาะคราบดินและฝุ่น แล้วนำผักกาดเขียวแช่น้ำด่างทับทิมสักครู่ แล้วล้างด้วยน้ำอีกครั้ง

(6.2) นำผักออกผึ่งสะเด็ดน้ำแล้วนำไปผึ่งแดด 1 วัน

(6.3) นำผักที่ผึ่งแดดแล้วมาแบ่งสัดส่วนเพื่อเตรียมดองในกระปุก โดยแต่ละภาชนะต่อการใช้ผัก 250 กรัม

(6.4) นำผักที่แบ่งไว้คลุกเคล้ากับเกลือปริมาณ ร้อยละ 6 ของน้ำหนักผัก (ผัก 100 กรัม ใส่เกลือ 6 กรัม) คือคิดเป็นเกลือปริมาณ 15 กรัมต่อการใช้ผัก 250 กรัม

(6.5) นำผักดองที่คลุกเคล้ากับเกลือแล้วแบ่งบรรจุลงในภาชนะดองที่เตรียมไว้ และนำน้ำซาวข้าวเหนียวปริมาณ 500 มิลลิลิตร เทลงไป สังเกตน้ำซาวข้าวจะท่วมพอดี ปิดฝาเก็บขวดผักดองในที่สะอาด

(6.6) น้ำผักดองที่แนะนำให้นำมาเป็นกล้าเชื้อ คือ น้ำผักดองในวันที่ 3 ถึง 5 ของการดองผัก และต้องเป็นผักดองระยะที่ไม่พบการผุดของฟองกาศในโหลผักดอง โดยใช้ปริมาณ 0.5 ลิตร ต่อปริมาณถังหมัก 5 ลิตร

2.3.6.2.3 การต้มส่วนผสมน้ำหมัก

การต้ม เป็นการลดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนที่อาจปนเปื้อนมากับวัตถุดิบที่นำมาใช้ หรือปนเปื้อนในระหว่างขั้นตอนการผลิตน้ำหมักชีวภาพ ซึ่งการต้มโดยผสมน้ำกับน้ำตาลจนเดือดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ประมาณ 5 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นลงมาที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมพืชที่เตรียมไว้ แล้วต้มต่อที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จับเวลา 15 - 20 วินาที จึงยกภาชนะต้มลงหรือบรรจุลงในถังหมัก และทำให้เย็นลงทันทีโดยการใช้น้ำแข็ง เรียกว่าการทำคูลช็อก (cool shock) หรือการช็อกด้วยความเย็น

2.3.6.2.4 การระบายอากาศถังหมัก

กระบวนการหมักที่เกิดขึ้นในช่วงแรกอาจเกิดความร้อนและก๊าซในปริมาณมากจากการเจริญเติบโตและกิจกรรมการหมักของจุลินทรีย์ จึงทำให้เกิดแรงดันภายในถังหมัก ดังนั้นจึงต้องระบายก๊าซออกจากถังหมัก ซึ่งสามารถทำได้ 2 วิธี คือ การคลายฝาถังหมัก ซึ่งต้องทำเป็นประจำทุกวันในช่วง 15 วันแรกของการหมัก อีกวิธีหนึ่งคือ การใช้ระบบแอร์ล็อค (Air Lock) ซึ่งวัสดุที่ใช้ควรเป็นยางหรือวัสดุที่มีความยืดหยุ่น ล็อคแนบสนิทกับสายยางไม่ให้เกิดช่องโหว่ หรือมีรูให้อากาศเข้าได้

2.3.6.2.5 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของน้ำหมัก

การเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์คุณภาพน้ำหมักชีวภาพทางเคมีเบื้องต้น ประกอบด้วย

(1) สังเกตสี กลิ่นเปรี้ยว ฟองแก๊ส

(2) วัดค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) โดยกระดาษวัดพีเอช หรือเครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) โดยค่าความเป็นกรด - ด่าง ของน้ำหมักต้องไม่เกิน 4.3

(3) วัดความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ โดยใช้ไฮโดรมิเตอร์ (Hydrometer) ปกติน้ำหมักต้องมีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ไม่เกินร้อยละ 3 ปริมาตร/ปริมาตร

(4) วัดความเข้มข้นของน้ำตาล โดยใช้แฮนด์รีแฟรกโตมิเตอร์ (Hand Refractometer) เมื่อมีการหมักปริมาณน้ำตาลจะลดลง ซึ่งบ่งบอกถึงการเกิดกิจกรรมการหมัก มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์บริกซ์ (% brix) เท่ากับ ปริมาณน้ำตาลซูโครส (กรัม) ในน้ำหมัก 100 กรัม

2.3.6.2.6 การเก็บรักษาน้ำหมักชีวภาพ

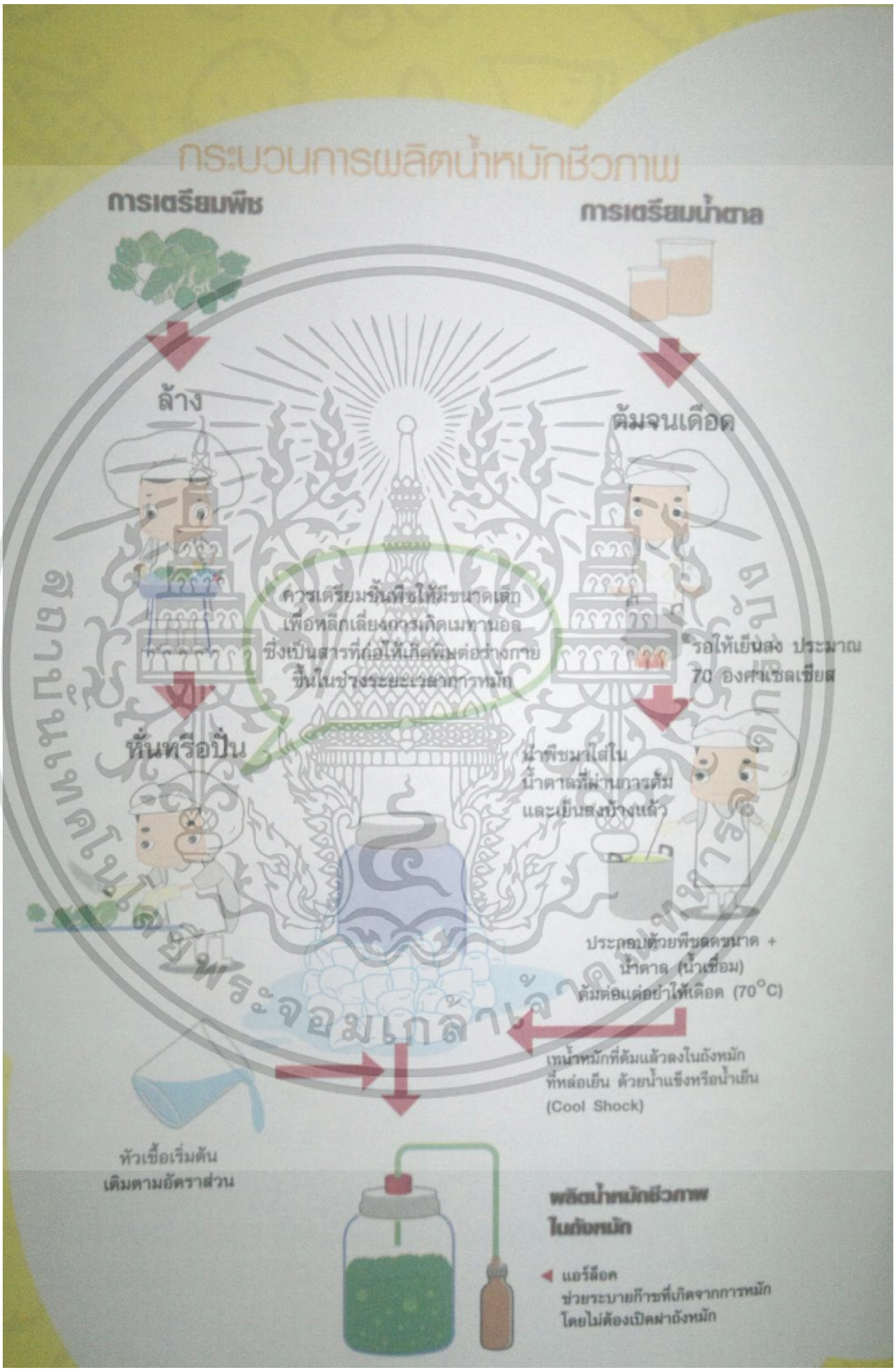
(1) น้ำหมักชีวภาพที่พร้อมบรรจุ ควรมีอายุการหมักตั้งแต่ 3 เดือนขึ้นไป แต่ถ้าหากใช้น้ำผักดองเป็นต้นเชื้อจะเร่งการหมักทำให้สามารถบริโภคได้ตั้งแต่อายุการหมัก 1 เดือน เป็นต้นไป

(2) การเก็บรักษาเพื่อรอการบรรจุ ควรเก็บในภาชนะที่บรรจุน้ำหมักโดยหลีกเลี่ยงจากแสง และความร้อนเก็บในที่แห้ง และระวังการไต่ตอมจากแมลงต่างๆ และสัตว์กัดแทะ เช่น แมลงสาบ หนู แมลงวัน โดยปกติจะเก็บถังหมักไว้ที่อุณหภูมิห้องแต่สามารถเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

(3) การเก็บรักษาน้ำหมักชีวภาพที่บรรจุขวดพร้อมบริโภค สามารถเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยปกติเก็บในที่แห้ง และเย็น

(4) การเก็บรักษาหลังการเปิดภาชนะแล้ว หลังจากเปิดฝาภาชนะเพื่อการบริโภคแล้วน้ำหมักจะปนเปื้อนจุลินทรีย์ได้ง่าย รวมทั้งอาจเกิดการหมักซ้ำครั้งที่ 2 ฉะนั้นควรเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และควรบริโภคให้หมดภายใน 1 สัปดาห์ ทั้งนี้ห้ามนำขวดน้ำหมักแช่ไว้ในช่องแช่แข็ง (ช่องฟรีซ) เพราะจะทำให้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในน้ำหมักชีวภาพตายได้ ถ้าหาก

ต้องการบริโภคเพื่อให้ได้รับประโยชน์สูงสุดจากน้ำหมักชีวภาพควรนำน้ำหมักวางไว้รอให้มีอุณภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง เพื่อกระตุ้นให้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ให้สามารถเกิดกิจกรรมหรือฟื้นตัวได้เร็วยิ่งขึ้นหลังจากที่อยู่ในตู้เย็นเป็นเวลานาน


กระบวนการผลิตน้ำหมักชีวภาพ
การเตรียมพืช
การเตรียมน้ำตาล
ล้าง
ต้มจนเดือด
ควรเตรียมชิ้นพืชให้มีขนาดเล็ก เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดเมทานอล ซึ่งเป็นสารที่ก่อให้เกิดพิษต่อร่างกาย ขึ้นในช่วงระยะเวลาการหมัก
รอให้เย็นลง ประมาณ 70 องศาเซลเซียส
หั่นหรือปั่น
นำพืชมาใส่ใน น้ำตาลที่ผ่านการต้ม และเย็นลงบ้างแล้ว
ประกอบด้วยพืชลดขนาด + น้ำตาล (น้ำเชื่อม) ต้มต่อแต่อย่าให้เดือด (70°C)
เทน้ำหมักที่ต้มแล้วลงในถังหมัก ที่หล่อเย็น ด้วยน้ำแข็งหรือน้ำเย็น (Cool Shock)
หัวเชื้อเริ่มต้น เติมตามอัตราส่วน
ผลิตน้ำหมักชีวภาพ ในถังหมัก
แอร์ล็อค ช่วยระบายก๊าซที่เกิดจากการหมัก โดยไม่ต้องเปิดฝาถังหมัก

ภาพที่ 2.17 การผลิตน้ำหมักชีวภาพจากกล้าเชื้อผักดอง

ที่มา : ไชยวัฒน์ ไชยสุต (2553 : 34)

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Salwa, et al. (2004 : 322-330) ได้หมักโยเกิร์ตแครอทในระดับห้องปฏิบัติการโดยใช้น้ำนมโคผสมน้ำแครอท 5 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี จุลินทรีย์ ลักษณะทางประสาทสัมผัสระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่าการทดสอบทางประสาทสัมผัสเพิ่มขึ้นในตัวอย่างโยเกิร์ตที่ผสมน้ำแครอท 15 เปอร์เซ็นต์ การวิเคราะห์ทางเคมีพบว่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น อัตราส่วนของไนโตรเจนที่ละลายและไนโตรเจนทั้งหมด และแรงตึงของเคิร์ดลดลงเมื่อเพิ่มน้ำแครอท นอกจากนั้นยังพบว่าน้ำแครอทความเข้มข้นสูงมีผลยับยั้งการเจริญของราและยีสต์ จุลินทรีย์ในกลุ่มโคลิฟอร์ม แต่ไม่มีผลต่อการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophillus* ผลการศึกษายังพบว่าแครอทมีผลต่อการยอมรับของโยเกิร์ตระหว่างการเก็บรักษา ดังนั้นแครอทจึงมีความสำคัญต่อการหมักและต่อสุขภาพของผู้บริโภค ผลการศึกษาโดยรวมแล้วสรุปได้ว่าการใช้แครอทผสมในโยเกิร์ตเป็นสิ่งที่มีประโยชน์ เพราะมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและรา ตลอดจนมีผลต่อการสร้างอะฟลาทอกซิน นอกจากนั้นแครอทยังปลอดภัยต่อการบริโภค เพิ่มวิตามิน ซึ่งเห็นได้อย่างชัดเจนในตัวอย่างโยเกิร์ตที่ผสมน้ำแครอท 15 เปอร์เซ็นต์ ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพดี มีอายุการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสได้นาน 21 วัน โดยไม่มีการเจริญของจุลินทรีย์ ไม่มีการสูญเสียของสีและเนื้อสัมผัสระหว่างการผลิตและการเก็บรักษา การเสื่อมสภาพของอะฟลาทอกซินเกิดขึ้น 77 เปอร์เซ็นต์

Bergqvist, et al. (2005 : 53-61) ได้ศึกษาถึงการเพิ่มการละลายของธาตุเหล็กในการหมักน้ำแครอทด้วยกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งชนิดโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ และเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ ผลการศึกษาพบว่าการหมักกรดแลคติกเป็นวิธีการที่จะเพิ่มความสามารถในการละลายของธาตุเหล็กในน้ำแครอทได้ถึง 3 เท่า โดยองค์ประกอบของเกลือแร่ทั้งหมดและธาตุเหล็กที่ละลายต่างกันในการหมักด้วย *Lactpbacillus pentosus* FSC1 และ *Leuconostoc* ของธาตุเหล็กในน้ำแครอทหมักได้ถึง 10 เปอร์เซ็นต์ โดยที่การหมักด้วย *Lactpbacillus pentosus* FSC1 ช่วยเพิ่มการละลายได้ดีที่สุด ระหว่างการหมักกรดแลคติกมีกลไกที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมของจุลินทรีย์และอาจจะเป็นการเพิ่มการละลายของเกลือแร่ต่างๆ ซึ่งได้แก่ การลดลงของค่าพีเอช การสลายตัวของโมเลกุลใหญ่ที่จับกับโลหะที่ไม่ละลายโดยเฉพาะโปรตีน การผลิตสารคีเลทที่จับกับโลหะและละลายน้ำ เช่น กรดอินทรีย์ นอกจากนั้นการลดลงของเกลือแร่อาจเนื่องมาจากการเคลื่อนย้ายของเกลือแร่จากสารละลายไปสู่เซลล์ของแบคทีเรีย

Delgado, et al. (2005 : 521-528) ได้ศึกษาการผลิตแบคเทอริโอซินโดย *Lactobacillus pentosus* B96 โดยหน้าที่เฉพาะของอุณหภูมิห้องและโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น ได้ผลการศึกษาคือ *Lactobacillus pentosus* B96 คือสายพันธุ์ที่ผลิตแบคเทอริโอซิน สามารถแยกได้จากการหมักมะกอกทะเลจุดมุ่งหมายของการนำเสนองานคือ Optimization ของผลิตภัณฑ์แบคเทอริโอซินโดยการใช้ response surface methodology (RS) โดยใช้แบบ Plackett - Burman ปัจจัยมีอิทธิพล 3 อย่าง พีเอช โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น และอุณหภูมิรวมทั้งปฏิกิริยาอย่างอื่น ในที่สุด RS ซึ่งประกอบด้วยขอบเขตของการสะสมของกิจกรรมจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นสร้างหน้าที่ของโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น และอุณหภูมิ การเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของจุลินทรีย์ต้องมีการสังเกตอย่างสม่ำเสมอ ระหว่างอธิบายการเจริญเติบโต แม้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมที่เพิ่มขึ้นจะไม่ชัดเจน และการรวมตัวของกลุ่มจุลินทรีย์ *Lactobacillus* *pentosus* B96 อยู่ที่ประมาณ 30 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชเป็นกลาง อย่างไรก็ตามอุณหภูมิและโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นกระตุ้นการผลิตแบคเทอริโอซิน

Kun, et al. (2008 : 816-821) ได้ศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์และปัจจัยในการหมักน้ำแครอทโดยโพรไบโอติกมีประโยชน์มากสำหรับการช่วยเหลือมนุษย์ ตั้งแต่โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมซึ่งไม่สามารถสลายได้ สำหรับคนที่แพ้โปรตีนในนมหรือไม่สามารถทนย่อยแลคโตสได้ จึงได้มีการมองหาอาหารเพื่อเป็นทางเลือก และสิ่งที่เหมาะสมคือการใช้น้ำแครอทมาเป็นวัตถุดิบสำหรับการทำผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก โดยใช้ *Bifidobacterium* แล้วพาสเจอร์ไรซ์น้ำแครอทที่อุณหภูมิ 80 องศาสเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เพื่อให้ปริมาณเชื้อลดลงและจำกัดอยู่ที่ 10 โคโลนีต่อหน่วยทดสอบการเจริญเติบโตของ bifidobacteria และสารอาหารเพิ่มเติมในน้ำแครอทเปล่า นอกจากนั้นกล้าเชื้อเริ่มต้นอยู่ที่ 10^{7} โคโลนี/มิลลิลิตร เมื่อหมักประมาณ 6 ชั่วโมง ปริมาณเชื้ออยู่ที่ 10^{8} โคโลนี/มิลลิลิตร เมื่อการหมักสิ้นสุดลงจำนวนเชื้อ *B. lactis* Bb - 12, *B. bifidum* B7.1 และ *B. bifidum* B3.2 มีค่า 2.16×10^{10} 4.65×10^{10} และ 3.85×10^{10} โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อครบกำหนดกระบวนการสลายของแบคทีเรียเพิ่มขึ้น ความเป็นกรดของน้ำแครอทเพิ่มขึ้น มีค่าพีเอช เท่ากับ 4 ในระหว่างการหมักจำนวนกลูโคสและซูโครสลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่ฟรุกโตสไม่มีการเปลี่ยนแปลง การลดลงของแคโรทีนอยอยู่ระหว่าง 15 - 45 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากการนำไปใช้ของเชื้อการผลิตของกรดแลคติกและกรดอะซิติกอยู่ที่ 14.8 - 16.7 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 3.3 - 3.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

Angelov, et al. (2006 : 75-80) มีการศึกษาการพัฒนาเครื่องดื่มข้าวโอ๊ตผสมโพรไบโอติก โดยมีการหมักข้าวโอ๊ตซึ่งมีสารเบตากลูแคน ซึ่งเป็นพรีไบโอติก (prebiotic) ผสมน้ำตาลซูโครสและสารให้ความหวาน huxol โซเดียมไซคลาเมต แซกคาริน และแอสปาแตม ให้ความร้อนที่ อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นำไปหมักด้วยแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติคได้แก่ *Lactobacillus plantarum* B28 ใช้ปริมาณสารตั้งต้นข้าวโอ๊ต ที่ร้อยละ 1, 5 และ 10 โดยปริมาตร มีปริมาณเชื้อโพรไบโอติก 7.89, 8.45 และ 7.85 ล็อคโคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 - 10 ชั่วโมง จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 - 6 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 วัน พบว่า เครื่องดื่มข้าวโอ๊ตเมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการมีปริมาณเชื้อ 10.3 ล็อคโคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารให้ความหวานไม่มีผลต่อกระบวนการหมักและปริมาณของเชื้อโพรไบโอติก เครื่องดื่มข้าวโอ๊ตที่ผลิตได้มีปริมาณเบตากลูแคนร้อยละ 0.31 - 0.36 มีระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน

Yoon, et al. (2004 : 1427-1430) ศึกษาความเหมาะสมของน้ำมะเขือเทศในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำมะเขือเทศโพรไบโอติกโดยใช้เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติค 4 สายพันธุ์ คือ *L.acidophilus* LA39, *L. plantarum* C3, *L. casei* A4 และ *L. delbrueckii* D7 ผลปรากฏว่าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติคสามารถลดค่าพีเอชของน้ำมะเขือเทศหมักลงมาอยู่ที่ 4.1 หรือต่ำกว่า และมีปริมาณกรดเพิ่มขึ้นเป็น 0.65 เปอร์เซ็นต์ หรือสูงกว่า และเมื่อระยะเวลาการหมัก 72 ชั่วโมง มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของแบคทีเรียกรดแลคติคอยู่ระหว่าง 1.0×10^{9} - 9×10^{9} โคโลนี/มิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าการเก็บรักษาน้ำมะเขือเทศหมักที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติคทั้ง 4 สายพันธุ์มีชีวิตรอดอยู่ระหว่าง 10^{6} - 10^{9} โคโลนี/มิลลิลิตร

Yoon, et al. (2004 : 73-75) ทำการศึกษาการนำหัวบีทสีแดงมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำบีทโพรไบโอติกโดยมีจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติค 4 สายพันธุ์ ที่ใช้ในกระบวนการหมัก (*L. acidophilus* LA39, *L. plantarum* C3, *L. casei* A4 และ *L. delbrueckii* D7) พบว่ากล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติคทั้งหมด สามารถใช้ประโยชน์จากสารอาหารในน้ำบีทได้เป็นอย่างดี เพื่อใช้ในการสร้างเซลล์และผลิตกรดแลคติค อย่างไรก็ตาม *L. acidophilus* และ *L. plantarum* สามารถผลิตกรดแลคติคได้มากกว่าเชื้อสายพันธุ์อื่นและลดค่าพีเอชของน้ำบีทหมักจากค่าพีเอชเริ่มต้น 6.3 จนมีค่าพีเอชต่ำกว่า 4.5 ที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของแบคทีเรียกรดแลคติคยกเว้น *L. acidophilus* ในน้ำบีทหมักยังคงมีปริมาณเซลล์อยู่ที่ 10^6 - 10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร

Yoon, et al. (2006 : 1427-1430) ทำการศึกษาความเหมาะสมของน้ำกะหล่ำปลีในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตเป็นน้ำกะหล่ำปลีโพรไบโอติกซึ่งในการทดลองใช้เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติค 4 สายพันธุ์ คือ *L. plantarum* C3, *L. casei* A4 และ *L. delbrueckii* D7 ปรากฏว่าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติคทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถเจริญได้ดีในน้ำกะหล่ำปลี โดยมีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ที่ 15×10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร แต่เชื้อ *L. casei* สามารถผลิตกรดแลคติคได้สูงกว่า *L. plantarum* และ *L.delbrueckii* และหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเชื้อ *L. plantarum* และ *L. delbrueckii* มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตรอดอยู่ที่ 4.1×10^7 และ 4.5×10^5 โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ แต่เชื้อ *L. casei* มีชีวิตรอดได้เพียง 2 สัปดาห์ เนื่องจากไม่สามารถทนต่อสภาวะที่เป็นกรดสูงได้

Marica, et al. (2007 : 599-602) ศึกษาการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนากรของน้ำผักโพรไบโอติกด้วยการเสริมด้วยตะกอนยีสต์ที่เซลล์แตก โดยนำน้ำบีทรูท น้ำแครอท และน้ำบีทรูทผสมน้ำแครอทเติมตะกอนยีสต์ที่เซลล์แตกมาหมักด้วยเชื้อ *L. acidophilus* NCDO1748 พบว่าการหมักน้ำแครอทกับตะกอนยีสต์ที่เซลล์แตกมีแร่ธาตุบางชนิดสูง เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก และเบต้าแคโรทีนสูงกว่าน้ำบีทรูทกับตะกอนยีสต์ที่เซลล์แตก ปริมาณแร่ธาตุที่สูงในน้ำแครอททำให้การผลิตกรดแลกติคดีขึ้น การหมักน้ำบีทรูทกับตะกอนยีสต์ที่เซลล์แตกมีสารบีตานิน และวิตามินซีสูงกว่าซึ่งสอดคล้องกับปริมาณส่วนประกอบในบีทรูทผลดิบที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการแปรรูปวัตถุดิบ (การพาสเจอร์ไรซ์และกระบวนการหมัก) ด้วยเหตุนี้การหมักระหว่างน้ำบีทรูท น้ำแครอท และตะกอนยีสต์ที่เซลล์แตกจึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยสัดส่วนของสี วิตามิน และแร่ธาตุที่เหมาะสมที่สุด

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 น้ำบีทรูท
3.1.1.2 น้ำสับปะรด
3.1.1.3 น้ำแครอท
3.1.1.4 เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก สายพันธุ์ *Lactobacillus pentosus* (ปิ่นมณี ขวัญเมือง, 2549 : 34-38)
3.1.1.5 น้ำกลั่น
3.1.1.6 น้ำตาล

3.1.2 เครื่องมือ

3.1.2.1 หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
3.1.2.2 ตู้ปลอดเชื้อ (Bionazard Laminar Flow) ยี่ห้อ Clean รุ่น V5-V6
3.1.2.3 ตู้บ่มเชื้อ (incubator) ยี่ห้อ Memmert รุ่น W 8540
3.1.2.4 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
3.1.2.5 เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Hand Refractometer) รุ่น TAP-25
3.1.2.6 ชุดไตเตรท
3.1.2.7 ตู้เย็น (refrigerator) ยี่ห้อ SUPER CHILL รุ่น UN 617 D
3.1.2.8 เครื่องชั่งละเอียด จุดทศนิยม 2 ตำแหน่งและ 4 ตำแหน่ง

3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องแก้ว

3.1.3.1 มีด
3.1.3.2 ถาด
3.1.3.3 เขียง
3.1.3.4 ไฟเช็ค
3.1.3.5 ถ้วยชิม
3.1.3.6 ช้อนชิม
3.1.3.7 กะละมัง
3.1.3.8 เครื่องปั่น
3.1.3.9 กระชอน
3.1.3.10 ผ้าขาวบาง
3.1.3.11 ถุงพลาสติก

3.1.3.12 เตาความร้อน
3.1.3.13 หม้อสแตนเลส
3.1.3.14 กระดาษทิชชู
3.1.3.15 กระดาษสติกเกอร์
3.1.3.16 กระดาษอลูมินัมฟลอยด์
3.1.3.17 ตะเกียงแอลกอฮอล์
3.1.3.18 แลคใส่หลอดทดลอง
3.1.3.19 หลอดทดลอง
3.1.3.20 บิวเรต (burette)
3.1.3.21 ปิเปต (pipette)
3.1.3.22 ขวดรูปชมพู่ (flask)
3.1.3.23 บีกเกอร์ (Beaker)
3.1.3.24 ขวดดูแรน (duran) ขนาด 250 มล. และ 500 มล.
3.1.3.25 กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 50 มล. และ 25 มล.
3.1.3.26 เทอร์โมมิเตอร์ (thermometer)

3.1.4 สารเคมี

3.1.4.1 ฟีนอฟทาลีน (phenolphthalein)
3.1.4.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล
3.1.4.3 สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85
3.1.4.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ สูตร MRS Agar
3.1.4.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ สูตร PDA สำเร็จรูป

3.2 วิธีการดำเนินงาน

3.2.1 การเตรียมน้ำบีทรูท และน้ำผลไม้

3.2.1.1 การเตรียมน้ำบีทรูท

นำบีทรูทสดมาล้างให้สะอาด วางให้สะเด็ดน้ำ ปอกเปลือกแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก หั่นให้เป็นแว่นๆ นำมาปั่น โดยใช้เนื้อบีทรูทผสมกับน้ำในอัตราส่วน เนื้อบีทรูท : น้ำ เท่ากับ 1 : 2 (น้ำหนัก : ปริมาตร) ปั่นจนละเอียด กรองด้วยผ้าขาวบางจะได้น้ำบีทรูทสำหรับใช้ทดลองต่อไป

3.2.1.2 การเตรียมน้ำแครอท

นำแครอทสดมาล้างให้สะอาด วางให้สะเด็ดน้ำ ปอกเปลือกแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก หั่นให้เป็นแว่นๆ นำมาปั่น โดยใช้เนื้อแครอทผสมกับน้ำในอัตราส่วน เนื้อแครอท : น้ำ เท่ากับ 1 : 1 (น้ำหนัก : ปริมาตร) ปั่นจนละเอียด กรองด้วยผ้าขาวบางจะได้น้ำแครอทสำหรับใช้ทดลองต่อไป

3.2.1.3 การเตรียมน้ำสับปะรด

นำสับปะรดสดมาล้างให้สะอาด วางให้สะเด็ดน้ำ ปอกเปลือกแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก หั่นให้เป็นแว่นๆ นำมาปั่น โดยใช้เนื้อสับปะรดผสมกับน้ำในอัตราส่วน เนื้อสับปะรด : น้ำ เท่ากับ 1 : 1 (น้ำหนัก : ปริมาตร) ปั่นจนละเอียด กรองด้วยผ้าขาวบางจะได้น้ำสับปะรดสำหรับใช้ทดลองต่อไป

3.2.2 การเตรียมน้ำบีทรูท น้ำแครอท และน้ำสับปะรด สูตรต่างๆ

นำน้ำบีทรูท น้ำแครอทและน้ำสับปะรด ที่เตรียมไว้จากข้อ 3.2.1.1 3.2.1.2 และ 3.2.1.3 มาผสมกันได้น้ำบีทรูทสูตรต่างๆ รวม 4 สูตร ในการผสมใช้สัดส่วนเป็นปริมาตรตามตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนของน้ำบีทรูทสูตรต่างๆ สำหรับใช้ในการทดลอง

ส่วนผสม (มิลลิลิตร)	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
1. น้ำบีทรูท	75	50	50	25
2. น้ำแครอท	0	25	0	25
3. น้ำสับปะรด	0	0	25	25
4. น้ำกลั่น	25	25	25	25

หมายเหตุ เมื่อเตรียมน้ำหมักบีทรูทแต่ละสูตรแล้วทำการปรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 10 และ 15 องศาบริกซ์ โดยใช้น้ำตาลทรายขาวแล้วนำใส่ขวดดูแรนโดยใช้ขนาดของขวดตามปริมาตรที่เตรียม นำไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทำให้เย็นทันทีโดยแช่ในน้ำเย็นก่อนเติมกล้าเชื้อ

3.2.3 การหมักกล้าเชื้อ

3.2.3.1 การเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

ใช้ลูปเขี่ยเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากหลอดสตอคมาสตรีคบนอาหารแข็ง MRS Agar ในจานเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มในตู้บ่ม (Memmert รุ่น W 8540 Schwabach) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นใช้ลูปเขี่ยโคโลนีของแบคทีเรียจำนวน 1 ลูป มาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่ฆ่าเชื้อแล้วจะได้สารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียสำหรับใช้เตรียมกล้าเชื้อต่อไป

3.2.3.2 การเตรียมกล้าเชื้อ

3.2.3.2.1 เตรียมน้ำบีทรูทสูตรที่ 1 (จากข้อ 3.2.2) ที่ปรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 10 องศาบริกซ์ จำนวน 90 มิลลิลิตร ใส่ในขวด ดูแรน ขนาด 100 มิลลิลิตร นำไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที จากนั้นทำให้เย็นทันทีโดยแช่ในน้ำเย็น เติมสารละลายเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่เตรียมไว้จากข้อ 3.2.3.1 จำนวน 10 มิลลิลิตร (10 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร) เขย่าให้เข้ากันและหมักไว้ที่ตู้บ่ม (Memmert รุ่น W 8540 Schwabach) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จะเห็นว่ามีการเจริญของเชื้อเกิดขึ้น มีกลิ่นของน้ำบีทรูทที่ผ่านการหมัก นำไปเป็นกล้าเชื้อในการหมักน้ำบีทรูทในสูตรที่ต้องปรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดให้ได้ 10 องศาบริกซ์ ต่อไป

3.2.3.2.2 เตรียมน้ำบีทรูทสูตรที่ 1 (จากข้อ 3.2.2) ที่ปรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 15 องศาบริกซ์ จำนวน 90 มิลลิลิตร ใส่ในขวดดูแรน ขนาด 100 มิลลิลิตร นำไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที จากนั้นทำให้เย็นทันทีโดยแช่ในน้ำเย็น เติมสารละลายเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่เตรียมไว้จากข้อ 3.2.3.1 จำนวน 10 มิลลิลิตร (10 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร) เขย่าให้เข้ากัน และหมักไว้ที่ตู้บ่ม (Memmert รุ่น W 8540 Schwabach) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จะเห็นว่ามีการเจริญของเชื้อเกิดขึ้น มีกลิ่นของน้ำบีทรูทที่ผ่านการหมัก นำไปเป็นกล้าเชื้อในการหมักน้ำบีทรูทในสูตรที่ต้องปรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดให้ได้ 15 องศาบริกซ์ ต่อไป

3.2.4 การหมักน้ำบีทรูทสูตรต่างๆ และการเก็บข้อมูล

3.2.4.1 การหาสูตรของน้ำบีทรูทที่เหมาะสมต่อการหมัก

3.2.4.1.1 หมักน้ำหมักบีทรูททั้ง 4 สูตร โดยใช้น้ำตาลทรายขาวปรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดให้ได้ 10 และ 15 องศาบริกซ์ นำน้ำบีทรูททั้ง 8 สูตร ที่พาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที แล้วมาใส่ในขวดดูแรน ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้ จากนั้นเติมกล้าเชื้อ *L. pentosus* จากข้อ 3.2.3.2 ลงไปในปริมาตร 10 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร แล้วนำไปบ่มที่ตู้บ่ม (Memmert รุ่น W 8540 Schwabach) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง ได้น้ำหมักบีทรูทสำหรับศึกษาการยอมรับของผู้ชิม

3.2.4.1.2 ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation) ในด้าน สี กลิ่น รสชาติ ความชอบโดยรวม ด้วยการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคโดยใช้แบบทดสอบ 9 - point Hedonic Scale Test (คะแนน 9 = ชอบมากที่สุด และคะแนน 1 = ไม่ชอบมากที่สุด) ในการประเมินนี้ใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ได้รับการฝึกฝน จำนวน 25 คน (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2545 : 92) ประกอบด้วย กลุ่มบุคคลทั่วไป และนักศึกษาสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยในการทดสอบชิมแต่ละครั้งมีการจัดกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 2 ชุด โดยการสุ่มตัวอย่าง ชุดละ 4 ตัวอย่างผู้ทำการทดสอบชิมตัวอย่างชุดที่ 1 บันทึกผลการชิมลงในแบบทดสอบทางประสาทสัมผัสชุดที่ 1 เสร็จแล้วบ้วนปากด้วยน้ำเปล่ารอประมาณ 2 นาที จึงทำการทดสอบชิมชุดที่ 2 บันทึกผลการชิมลงในแบบทดสอบทางประสาทสัมผัสชุดที่ 2 ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสนี้ทำการทดสอบชิมจำนวน 3 ครั้ง ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสจะถูกนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างด้วยการวิเคราะห์หาความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละสูตรด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ เพื่อหาสูตรน้ำบีทรูทที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่ผู้ชิมชอบมากที่สุดเพื่อดำเนินการขั้นตอนต่อไป

3.2.4.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักน้ำหมักบีทรูทสูตรที่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค โดยนำสูตรน้ำบีทรูทที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่ได้รับการยอมรับจากผู้ชิมมาเติมกล้าเชื้อ *L. pentosus* (ใช้กล้าเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร) จากนั้นนำไปบ่มที่ตู้บ่ม (Memmert รุ่น W 8540 Schwabach) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมัก โดยเก็บตัวอย่างที่อายุการหมัก 0 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง

3.2.4.2.1 วิเคราะห์ค่าพีเอช โดยนำตัวอย่างน้ำหมักบีทรูทแล้วเทใส่บีเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ใช้เครื่องวัดพีเอช (pH meter) จุ่มลงไปในตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ อ่านค่าและบันทึกผล (AOAC, 2000)

3.2.4.2.2 วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก โดยนำตัวอย่างน้ำหมักบีทรูทปริมาณ 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร หยดฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ทำการไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ จดบันทึกและคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย (AOAC, 2000)

3.2.4.2.3 วิเคราะห์ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Suspended Solids : TSS มีหน่วยเป็น องศาบริกซ์) โดยใช้เครื่อง Hand Refractometer รุ่น TAP-25E ทำการทดลอง 3 ซ้ำ อ่านค่าและบันทึกผลจากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย (AOAC, 2000)

3.2.4.2.4 ตรวจนับจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิต โดยการนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะบนจานอาหาร (plate count) นำน้ำหมักบีทรูท 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ทำเป็นลำดับๆ ละ 10 เท่า ที่ความเจือจางละ 3 ซ้ำ หยดสารละลายน้ำหมักบีทรูทปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารแข็ง Lactobacillus MRS Agar โดยการ spread plate บ่มในตู่บ่ม (Memmert รุ่น W 8540 Schwabach) อุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วตรวจนับโคโลนีที่เกิดขึ้น จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย (มีหน่วยเป็น โคโลนี/มิลลิลิตร) (AOAC, 1990)

3.2.4.3 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและการตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูท

3.2.4.3.1 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักบีทรูทโดยการเปรียบเทียบกับน้ำบีทรูทพาสเจอไรส์ ได้แก่ แคลอรี คาร์โบไฮเดรต ใยอาหารทั้งหมด โปรตีน ฟรุกโทส กลูโคส ซูโครส ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กรดโฟลิก โปแทสเซียม เถ้า และความชื้น

3.2.4.3.2 การตรวจสอบคุณภาพของน้ำหมักตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืช ที่อายุการเก็บรักษา 0 3 9 และ15 วัน ได้แก่

(1) ทางกายภาพ

(1.1) ลักษณะทั่วไป ต้องเป็นของเหลว อาจตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไว้ อาจมีชิ้นเนื้อพืชปนอยู่ได้บ้างเล็กน้อย

(1.2) สี กลิ่น และกลิ่นรส ต้องมีสี กลิ่น และกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้และกรรมวิธีการผลิต ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์

(1.3) สิ่งแปลกปลอม ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์

(1.4) ค่าพีเอช โดยนำตัวอย่างน้ำหมักบีทรูทแล้วเทใส่บีเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ใช้เครื่องวัดพีเอช (pH meter) จุ่มลงไปในตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ อ่านค่าและบันทึกผลจากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย (AOAC, 2000)

(2) ทางจุลินทรีย์ ตรวจนับจำนวนเซลล์ยีสต์และรา โดยการนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะบนจานอาหาร (plate count) นำน้ำหมักบีทรูท 10 มิลลิลิตร ใส่ขวดที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำมาเตรียมจนได้ความเจือจางที่เหมาะสมที่ความเจือจางละ 3 ซ้ำ ปิเปตสารละลายน้ำหมักบีทรูทที่ระดับความเจือจางที่เตรียมไว้ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงบนอาหาร Potato dextrose agar สำเร็จรูป โดยการ spread plate บ่มในตู่บ่ม (Memmert รุ่น W 8540 Schwabach) อุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วตรวจนับโคโลนีที่เกิดขึ้น จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย (มีหน่วยเป็น โคโลนี/มิลลิลิตร) (AOAC, 1990)

3.2.4.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา โดยนำน้ำบีทรูทหมักสูตรที่ได้รับการยอมรับจากผู้ชิมสูงสุด เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ ที่อายุการเก็บรักษา 0 3 6 9 12 และ 15 วัน

3.2.4.4.1 วิเคราะห์ค่าพีเอช โดยนำตัวอย่างน้ำหมักบีทรูทแล้วเทใส่บีเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ใช้เครื่องวัดพีเอช (pH meter) จุ่มลงไปในตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ อ่านค่าและบันทึกผลจากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย (AOAC, 2000)

3.2.4.4.2 วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก (AOAC, 2000) โดยนำตัวอย่างน้ำหมักบีทรูทปริมาณ 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร หยดฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ทำการไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ จดบันทึกและคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย

3.2.4.4.3 วิเคราะห์ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Suspended Solids : TSS มีหน่วยเป็น องศาบริกซ์) โดยใช้เครื่อง Hand Refractometer รุ่น TAP-25E ทำการทดลอง 3 ซ้ำ อ่านค่าและบันทึกผลจากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย (AOAC, 2000)

3.2.4.4.4 ตรวจนับจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิต โดยการนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะบนจานอาหาร (plate count) นำน้ำหมักบีทรูท 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ทำเป็นลำดับๆ ละ 10 เท่า ที่ความเจือจางละ 3 ซ้ำ หยดสารละลายน้ำหมักบีทรูทปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารแข็ง Lactobacillus MRS Agar โดยการ spread plate บ่มในตู่บ่ม (Memmert รุ่น W 8540 Schwabach) อุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วตรวจนับโคโลนีที่เกิดขึ้นจากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย (มีหน่วยเป็น โคโลนี/มิลลิลิตร) (AOAC, 1990)

บทที่ 4

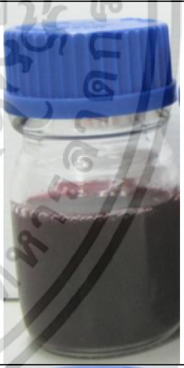
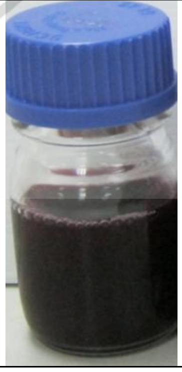
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาสูตรน้ำบีทรูท และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่เหมาะสมต่อการหมัก และการทดสอบยอมรับน้ำหมักบีทรูทของกลุ่มผู้บริโภคที่ไม่ผ่านการฝึกฝน

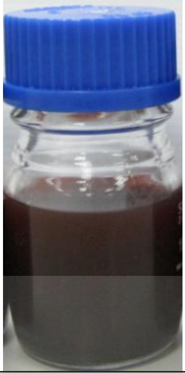
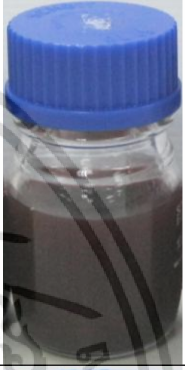
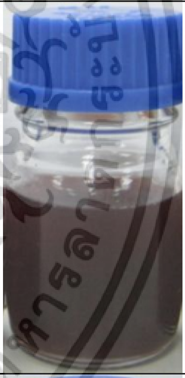
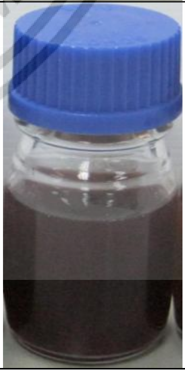
4.1.1 การศึกษาสูตรน้ำบีทรูท และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่เหมาะสมต่อการหมัก

การศึกษาสูตรน้ำบีทรูท ความเข้มข้นของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่เหมาะสมในการหมัก ทำโดยการหมักน้ำหมักบีทรูททั้ง 4 สูตร ที่เติมน้ำตาลทรายขาวและปรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดให้ได้ 10 และ 15 องศาบริกซ์ นำน้ำบีทรูททั้ง 8 สูตร ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที มาเติมกล้าเชื้อ *L. pentosus* ในปริมาตร 10 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง วัดค่าพีเอช สังเกตการตกตะกอน สีของผลิตภัณฑ์ และชิมรสชาติ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.1 และตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 ลักษณะปรากฏด้านสีของน้ำบีทรูทสูตรต่างๆ ที่อายุการหมัก 48 ชั่วโมง

ทรีทเมนต์	ส่วนผสม	ลักษณะสีของน้ำบีทรูทสูตรต่างๆ
1	น้ำบีทรูท : น้ำกลั่น อัตราส่วน 75 : 25 ที่ระดับความหวาน 10 องศาบริกซ์	
2	น้ำบีทรูท : น้ำกลั่น อัตราส่วน 75 : 25 ที่ระดับความหวาน 15 องศาบริกซ์	

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

ทรีทเมนต์	ส่วนผสม	ลักษณะสีของน้ำบีทรูทสูตรต่างๆ
3	น้ำบีทรูท : น้ำแครอท : น้ำกลั่น อัตราส่วน 50 : 25 : 25 ที่ระดับความหวาน 10 องศาบริกซ์	
4	น้ำบีทรูท : น้ำแครอท : น้ำกลั่น อัตราส่วน 50 : 25 : 25 ที่ระดับความหวาน 15 องศาบริกซ์	
5	น้ำบีทรูท : น้ำสัปปะรด : น้ำกลั่น อัตราส่วน 50 : 25 : 25 ที่ระดับความหวาน 10 องศาบริกซ์	
6	น้ำบีทรูท : น้ำสัปปะรด : น้ำกลั่น อัตราส่วน 50 : 25 : 25 ที่ระดับความหวาน 15 องศาบริกซ์	

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

ทรีทเมนต์	ส่วนผสม	ลักษณะสีของน้ำบีทรูทสูตรต่างๆ
7	น้ำบีทรูท : น้ำแครอท : น้ำสัปปะรด : น้ำกลั่น อัตราส่วน 25 : 25 : 25 : 25 ที่ระดับความหวาน 10 องศาบริกซ์	
8	น้ำบีทรูท : น้ำแครอท : น้ำสัปปะรด : น้ำกลั่น อัตราส่วน 25 : 25 : 25 : 25 ที่ระดับความหวาน 15 องศาบริกซ์	

ตารางที่ 4.2 ค่าพีเอช ตะกอน สี และรสชาติของน้ำบีทรูทสูตรต่างๆ ที่อายุการหมัก 48 ชั่วโมง

ทรีทเมนต์	พีเอช	ตะกอน	สี	รสชาติ
1	4.2	ไม่พบ	ม่วงเข้ม	เปรี้ยวอมหวาน
2	4.6	ไม่พบ	ม่วงเข้ม	เปรี้ยวอมหวาน
3	4.2	พบเล็กน้อย	แดงเลือดนก	เปรี้ยว
4	4.2	พบเล็กน้อย	แดงเลือดนก	เปรี้ยวอมหวาน
5	3.4	พบเล็กน้อย	แดงเลือดนก	เปรี้ยว
6	3.4	พบเล็กน้อย	แดงเลือดนก	เปรี้ยวอมหวาน
7	3.4	พบจำนวนมาก	น้ำตาล	เปรี้ยว
8	3.4	พบจำนวนมาก	น้ำตาล	เปรี้ยวอมหวาน

จากตารางที่ 4.2 พบว่า ค่าพีเอชในทรีทเมนต์ที่ 1 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ 4.2 ทรีทเมนต์ที่ 2 มีค่าเท่ากับ 4.6 และทรีทเมนต์ที่ 5 6 7 และ 8 มีค่าเท่ากับ 3.4 ด้านสีและการเกิดตะกอนพบว่าในทรีทเมนต์ที่ 1 และ 2 มีสีม่วงเข้ม ลักษณะใสไม่มีตะกอน ในทรีทเมนต์ที่ 3 4 5 และ 6 มีสีแดงเลือดนก และพบการเกิดตะกอนเล็กน้อย ส่วนในทรีทเมนต์ที่ 7 และ 8 มีสีน้ำตาลและพบการเกิดตะกอนจำนวนมาก ด้านรสชาติ พบว่า ในทุกทรีทเมนต์มีรสชาติเปรี้ยว สอดคล้องกับลักษณะทางกายภาพด้านรสชาติของน้ำหมักที่จะมีรสเปรี้ยวเพิ่มขึ้น และรสหวานจะค่อยๆ ลดลงจนกระทั่งหมดไปเมื่อมีอายุการหมักเพิ่มขึ้น (ไชยวัฒน์ ไชยสุต, 2553 : 48) จากนั้นนำน้ำบีทรูททั้ง 8 ทรีทเมนต์ ไปศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อไป

4.1.2 การศึกษาการยอมรับน้ำหมักบีทรูทของกลุ่มผู้บริโภคที่ไม่ผ่านการฝึกฝน

การศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อน้ำหมักน้ำบีทรูททั้ง 8 สูตร โดยทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation) ในด้าน สี กลิ่น รสชาติ ความชอบโดยรวม ด้วยการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคโดยใช้แบบทดสอบ 9 - point Hedonic Scale Test (คะแนน 9 = ชอบมากที่สุด และคะแนน 1 = ไม่ชอบมากที่สุด) ในการประเมินนี้ใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ได้รับการฝึกฝน จำนวน 25 คน (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2545 : 92) ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสจะถูกนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างด้วยการวิเคราะห์หาความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละสูตรด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ เพื่อหาสูตรน้ำบีทรูทที่ระดับความหวานที่ผู้ชิมชอบมากที่สุด ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ค่าเฉลี่ยของคะแนนการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำหมักบีทรูทสูตรต่างๆ และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ทรีทเมนต์	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่นรส	รสชาติ	ความชอบรวม
1	**6.79^{a}**	**7.44^{a}**	5.13^{bc}	5.32^{cd}	6.12^{ab}
2	5.00^{cd}	5.15^{e}	5.00^{c}	5.67^{bcd}	5.72^{bc}
3	5.77^{b}	5.96^{c}	5.44^{abc}	5.85^{abcd}	5.92^{abc}
4	5.13^{cd}	5.36^{de}	5.08^{bc}	5.21^{d}	5.40^{c}
5	6.52^{a}	6.76^{b}	5.64^{ab}	5.45^{bcd}	6.27^{ab}
6	5.48^{bcd}	5.33^{de}	**5.84^{a}**	**6.43^{a}**	**6.47^{a}**
7	5.61^{bc}	5.73^{cd}	5.43^{abc}	6.00^{abc}	6.13^{ab}
8	4.93^{d}	5.04^{e}	5.40^{abc}	6.05^{ab}	6.01^{ab}

หมายเหตุ

ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงค่าเฉลี่ยความชอบที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ทรีทเมนต์ที่ 1 คือ น้ำหมักบีทรูทที่มีระดับความหวาน 10 องศาบริกซ์
ทรีทเมนต์ที่ 2 คือ น้ำหมักบีทรูทที่มีระดับความหวาน 15 องศาบริกซ์
ทรีทเมนต์ที่ 3 คือ น้ำหมักบีทรูท : แครอท ที่มีระดับความหวาน 10 องศาบริกซ์
ทรีทเมนต์ที่ 4 คือ น้ำหมักบีทรูท : แครอท ที่มีระดับความหวาน 15 องศาบริกซ์
ทรีทเมนต์ที่ 5 คือ น้ำหมักบีทรูท : สัปปะรด ที่มีระดับความหวาน 10 องศาบริกซ์
ทรีทเมนต์ที่ 6 คือ น้ำหมักบีทรูท : สัปปะรด ที่มีระดับความหวาน 15 องศาบริกซ์
ทรีทเมนต์ที่ 7 คือ น้ำหมักบีทรูท : แครอท : สัปปะรด ที่มีระดับความหวาน 10 องศาบริกซ์
ทรีทเมนต์ที่ 8 คือ น้ำหมักบีทรูท : แครอท : สัปปะรด ที่มีระดับความหวาน 15 องศาบริกซ์

จากตารางที่ 4.3 ลักษณะปรากฏ (ความขุ่นใส) ของน้ำหมักบีทรูททั้ง 8 ทรีทเมนต์ พบว่า ผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้การยอมรับน้ำหมักบีทรูททรีทเมนต์ที่ 1 มากที่สุดมีค่าเฉลี่ยความชอบเท่ากับ 6.79 เพราะมีลักษณะปรากฏที่มีความใสไม่พบการเกิดตะกอน และผู้บริโภคให้การยอมรับน้ำหมักบีทรูท

ทรีทเมนต์ที่ 8 น้อยที่สุดมีค่าเฉลี่ยความชอบต่ำสุดเท่ากับ 4.93 ซึ่งมีลักษณะปรากฏที่ขุ่นเป็นผลมาจากมีส่วนผสมของน้ำผลไม้หลายชนิดในผลิตภัณฑ์ได้แก่ น้ำบีทรูท น้ำแครอท และน้ำสัปปะรด

ด้านสี ของน้ำหมักบีทรูททั้ง 8 ทรีทเมนต์ พบว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้การยอมรับน้ำหมักบีทรูททรีทเมนต์ที่ 1 มากที่สุดมีค่าเฉลี่ยความชอบเท่ากับ 7.44 อาจเป็นเพราะมีสีของน้ำหมักที่เป็นสีม่วงใสซึ่งเป็นสีของน้ำบีทรูท ในขณะที่ทรีทเมนต์ที่ 8 มีค่าเฉลี่ยความชอบต่ำที่สุดเท่ากับ 5.04 มีสีน้ำตาลเกิดจากการผสมกันของสีของน้ำผลไม้ 3 ชนิดได้แก่ น้ำบีทรูท น้ำแครอท และน้ำสัปปะรด ซึ่งลักษณะปรากฏด้านสีของน้ำหมักบีทรูทนั้นเกิดจากการผสมของสีของวัตถุดิบที่นำมาทำการหมัก

ค่าเฉลี่ยด้านกลิ่นรส ของน้ำหมักบีทรูททั้ง 8 ทรีทเมนต์ พบว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้การยอมรับน้ำหมักบีทรูททรีทเมนต์ที่ 6 มากที่สุดมีค่าเฉลี่ยความชอบเท่ากับ 5.84 ซึ่งเป็นน้ำหมักที่มีส่วนผสมของน้ำบีทรูทและน้ำสัปปะรด และผู้บริโภคให้การยอมรับกลิ่นรสของน้ำหมักบีทรูททรีทเมนต์ที่ 2 น้อยที่สุดซึ่งค่าเฉลี่ยความชอบต่ำสุดเท่ากับ 5.00 เป็นน้ำหมักที่มีวัตถุดิบหลักคือน้ำบีทรูทอย่างเดียว โดยกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูทส่งผลมาจากวัตถุดิบที่นำมาทำการหมัก

ด้านรสชาติ ของน้ำหมักบีทรูททั้ง 8 ทรีทเมนต์ พบว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้การยอมรับรสชาติของน้ำหมักบีทรูทในทรีทเมนต์ที่ 6 มีค่าเฉลี่ยความชอบสูงที่สุดเท่ากับ 6.43 ซึ่งมีส่วนผสมของน้ำบีทรูทและน้ำสัปปะรด ที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 15 องศาบริกซ์ มีค่าความเป็นกรด - ด่าง เท่ากับ 3.4 ทำการหมักให้เกิดกรดแลคติกแล้วมีรสชาติเปรี้ยวผสมหวานพร้อมกับมีกลิ่นหอมของสัปปะรดอย่างลงตัวจึงเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากที่สุด และผู้บริโภคให้การยอมรับกลิ่นรสของน้ำหมักบีทรูททรีทเมนต์ที่ 4 น้อยที่สุดซึ่งค่าเฉลี่ยความชอบต่ำสุดเท่ากับ 5.00 ซึ่งมีส่วนผสมของน้ำบีทรูทและน้ำแครอท ที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 15 องศาบริกซ์ มีค่าความเป็นกรด - ด่าง เท่ากับ 4.2 ซึ่งมีรสชาติเปรี้ยวน้อยกว่าทรีทเมนต์ที่ 6

ค่าเฉลี่ยด้านความชอบโดยรวม ของน้ำหมักบีทรูททั้ง 8 ทรีทเมนต์ พบว่าผู้บริโภคมีความชอบโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูททรีทเมนต์ที่ 6 มีค่าเฉลี่ยความชอบสูงที่สุดเท่ากับ 6.47 ซึ่งมีส่วนผสมของน้ำบีทรูทและน้ำสัปปะรด ที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 15 องศาบริกซ์ และผู้บริโภคมีความชอบต่อน้ำหมักบีทรูททรีทเมนต์ที่ 4 น้อยที่สุดมีค่าเฉลี่ยความชอบเท่ากับ 5.40 ซึ่งส่วนผสมของน้ำบีทรูทและน้ำแครอท ที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 15 องศาบริกซ์

จากการศึกษาการยอมรับของน้ำหมักบีทรูททั้ง 8 สูตร พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับน้ำหมักบีทรูท ทรีทเมนต์ที่ 6 ซึ่งมีส่วนผสมของน้ำบีทรูทและน้ำสัปปะรด ที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 15 องศาบริกซ์ มากที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยในด้านกลิ่นรส รสชาติ และความชอบโดยรวมเท่ากับ 5.84 6.43 และ 6.47 ตามลำดับ ซึ่งคะแนนความชอบดังกล่าวมีความแตกตางกันอยางมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับทรีทเมนต์อื่นๆ ลักษณะของน้ำหมักบีทรูทมีสีแดงเลือดนก (ตารางที่ 4.1) รสชาติเปรี้ยวหวานพอดี มีตะกอนเล็กน้อย มีกลิ่นของการหมัก มีค่าความเป็นกรด - ด่าง เท่ากับ 3.4 ซึ่งสอดคล้องกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืช (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548 : 2) ที่อธิบายว่า ลักษณะทั่วไปของน้ำหมักพืชต้องเป็นของเหลว อาจตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไว้ อาจมีชิ้นเนื้อพืชปนอยู่ได้บ้างเล็กน้อย ต้องมีสี กลิ่น และกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้และกรรมวิธีการผลิต ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์ ความเป็นกรด - ด่าง ต้องไม่เกิน 4.3

4.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และตรวจนับจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตระหว่างการหมักน้ำบีทรูท

ทำการศึกษาโดยการเตรียมน้ำบีทรูทสูตรที่ 6 ปรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดด้วยน้ำตาลทรายขาวให้ได้ 15 องศาบริกซ์ นำไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที มาเติมกล้าเชื้อ *L. pentosus* ในปริมาตร 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และตรวจนับโคโลนีของเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตบนอาหารแข็ง MRS ที่อายุการหมัก 0 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง (ทำการทดลอง 3 ครั้ง จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย) ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิต ที่อายุการหมัก 0 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง

อายุการหมัก (ชั่วโมง)	พีเอช	กรดแลคติก (%)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Bx.)	จำนวนเซลล์ (โคโลนี/มล.)
0	4.31	0.184	15	2.12×10^{7}
12	3.75	0.367	15	1.07×10^{8}
24	3.49	0.459	14.8	2.30×10^{9}
36	3.23	0.551	14.8	2.74×10^{10}
48	3.19	0.551	14.8	3.44×10^{10}

จากตารางที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตที่อายุการหมัก 0 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง ผลการวิเคราะห์ค่าพีเอชพบว่าที่อายุการหมักเริ่มต้น 0 ชั่วโมง มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.31 โดยที่อายุการหมักที่ 12 ชั่วโมง ค่าพีเอชเท่ากับ 3.75 อายุการหมักที่ 24 ชั่วโมงค่าพีเอชเท่ากับ 3.49 อายุการหมักที่ 36 ชั่วโมงค่าพีเอชเท่ากับ 3.23 และเมื่อสิ้นสุดการหมักที่อายุการหมัก 48 ชั่วโมงมีค่าพีเอชเท่ากับ 3.19 จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเมื่ออายุการหมักเพิ่มขึ้นค่าพีเอชจะลดลงสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yoon et al. (2004 : 73-75) ทำการศึกษาการนำหัวบีทสีแดงมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำบีทโพรไบโอติก โดยมีจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติค 4 สายพันธุ์ ที่ใช้ในกระบวนการหมัก *L. acidophilus* LA39, *L. plantarum* C3, *L. casei* A4 และ *L. delbrueckii* D7 พบว่า *L. acidophilus* และ *L. plantarum* สามารถผลิตกรดแลคติคได้มากกว่าเชื้อสายพันธุ์อื่นและลดค่าพีเอชของน้ำบีทหมักจากค่าพีเอชเริ่มต้น 6.3 จนมีค่าพีเอชต่ำกว่า 4.5 ที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง ซึ่งค่าความกรด - ด่างที่ค่อนข้างต่ำจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในน้ำหมักอย่างมีประสิทธิภาพ (Mark et al., 1963 : 422-427)

การเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกระหว่างการหมัก พบว่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเริ่มต้นของการหมักที่อายุ 0 ชั่วโมงเท่ากับ 0.184 และเมื่อมีอายุการหมักเพิ่มขึ้นเปอร์เซ็นต์กรดเพิ่มขึ้น โดยที่อายุการหมักที่ 12 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์กรดเท่ากับ 0.367 อายุการหมักที่ 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์กรดเท่ากับ 0.459 อายุการหมักที่ 36 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์กรดเท่ากับ 0.551 และเมื่อสิ้นสุดการหมัก

ที่อายุการหมัก 48 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์กรดเท่ากับ 0.551 ซึ่งจากผลการเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์กรดจะเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์กรดจะเพิ่มขึ้นตลอดอายุการหมักซึ่งมีความสอดคล้องกับค่าพีเอชที่ลดลงตลอดอายุการหมัก สอดคล้องกับงานวิจัยของอภิฤดี พูลมี (2551 : 56) ศึกษาการผลิตเครื่องดื่มโพรไบโอติกจากพืชสมุนไพร ถั่วเหลือง ถั่วเขียว และน้ำมะพร้าวโดยใช้เชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกรหัส YK 5001 ที่แยกได้จากนมเปรี้ยวพร้อมดื่มซึ่งในกระบวนการหมักพบว่ามีการสร้างกรดแลคติกและมีผลทำให้ค่าพีเอชลดลง ระยะการหมักเริ่มต้นปริมาณกรดมีค่าอยู่ในช่วง 0.05 - 0.06 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าพีเอชเริ่มต้นประมาณ 5.7 - 6.0 ที่ระยะเวลาการหมัก 24 ชั่วโมงจะมีการสร้างกรดแลคติกเพิ่มสูงขึ้นซึ่งปริมาณกรดที่ได้มีค่าอยู่ในช่วง 0.04 - 0.09 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ค่าพีเอชของน้ำสมุนไพรลดลงอยู่ประมาณที่ 4.5 - 5.4 และเมื่อระยะเวลาการหมักครบ 72 ชั่วโมง เชื้อจะมีการสร้างกรดแลคติกเพิ่มขึ้นเล็กน้อยมีค่าอยู่ในช่วง 0.13 - 0.16 เปอร์เซ็นต์ ทำให้น้ำสมุนไพรมีค่าพีเอชต่ำลงอีกเล็กน้อยประมาณ 3.9 - 4.2 จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าปริมาณกรดมีความสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรด - ด่างของน้ำหมักในลักษณะแปรผกผันกัน (อุทุมพร สุระยศ, 2554 : 48)

การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดระหว่างการหมัก พบว่าค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่อายุการหมัก 0 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 15 องศาบริกซ์ เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการหมักที่ 48 ชั่วโมง ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 14.8 องศาบริกซ์ ซึ่งเป็นไปตามกระบวนการหมักที่จะมีการใช้น้ำตาลเป็นสารเริ่มต้นในการหมักโดยมีการใช้น้ำตาลในการสร้างกรดแลคติกโดยแบคทีเรียกรดแลคติก ผลจากการหมักอื่นๆ คือค่าพีเอชลดลงในระหว่างการหมักและจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นกล้าเชื้อในการหมักเพิ่มขึ้น (จารุวรรณ มณีศิริ, 2551 : 65-80)

การเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตระหว่างการหมัก พบว่าจำนวนเซลล์เริ่มต้นของการหมักที่อายุ 0 ชั่วโมง มีจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตเท่ากับ 2.12×10^{7} โคโลนี/มิลลิลิตร เมื่ออายุการหมักเพิ่มขึ้นจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มขึ้น โดยที่อายุการหมักที่ 12 ชั่วโมง มีจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตเท่ากับ 1.07×10^{8} โคโลนี/มิลลิลิตร ที่อายุการหมักที่ 24 ชั่วโมง มีจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตเท่ากับ 2.30×10^{9} โคโลนี/มิลลิลิตร ที่อายุการหมักที่ 36 ชั่วโมง มีจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตเท่ากับ 2.74×10^{10} โคโลนี/มิลลิลิตร และจำนวนเซลล์จะเพิ่มขึ้นสูงสุดที่อายุการหมักที่ 48 ชั่วโมง โดยจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตมีค่าเท่ากับ 3.44×10^{10} โคโลนี/มิลลิลิตร ซึ่งจากผลการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกพบว่าจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และเพิ่มขึ้นสูงสุดที่อายุการหมัก 48 ชั่วโมง ซึ่งปริมาณดังกล่าวยังอยู่ในมาตรฐานการใช้โพรไบโอติกเป็นส่วนผสมในอาหารตามคำสั่งสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ฉบับที่ 403 พ.ศ.2551 และประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 346 เรื่องการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2555 ซึ่งกำหนดให้มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ยังมีชีวิตอยู่ไม่น้อยกว่า 10^{6} โคโลนี/มิลลิลิตร และสอดคล้องกับงานวิจัยของสันติ แก่อินทร์ และคณะ (2557 : 237-240) ศึกษาการผลิตเครื่องดื่มโพรไบโอติกจากมันเทศโดยการหมักด้วยแบคทีเรียกรดแลคติก โดยทำการคัดเลือกและศึกษาศักยภาพความเป็นโพรไบโอติกของแบคทีเรียกรดแลคติก 10 สายพันธุ์ทำการทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและทดสอบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะพบว่า KN2 เป็นสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการเป็นโพรไบโอติกที่ดีที่สุดจึงถูกคัดเลือกเพื่อใช้ในกระบวนการหมักโดยใช้มันเทศสีเหลืองและสีม่วงเป็นวัตถุดิบเมื่อการหมักสิ้นสุดลงพบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตในน้ำหมักมันเทศสีเหลืองและมันเทศสีม่วงเท่ากับ 2.8×10^{9} และ 7.10×10^{8} โคโลนี/มิลลิลิตร

4.3 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักบีทรูท และตรวจสอบคุณภาพของน้ำหมัก

4.3.1 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักบีทรูท

การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักบีทรูทเปรียบเทียบกับน้ำบีทรูทพาสเจอร์ไรซ์ศึกษา โดยเตรียมน้ำบีทรูททรีทเมนต์ที่ 6 ปรับค่าปริมาณของเข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 15 องศาบริกซ์ แบ่งน้ำบีทรูทออกเป็น 2 ส่วน นำไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ส่วนที่ 1 น้ำบีทรูทพาสเจอร์ไรซ์ ส่วนที่ 2 นำมาเติมกล้าเชื้อ *L. pentosus* ในปริมาตร 10 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง เพื่อทำเป็นน้ำหมักบีทรูทผลการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักบีทรูทเปรียบเทียบกับน้ำบีทรูทพาสเจอร์ไรซ์ แสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 คุณค่าทางโภชนาการของน้ำบีทรูทพาสเจอร์ไรซ์และน้ำหมักบีทรูท

คุณค่าทางโภชนาการของน้ำบีทรูท ปริมาตร 100 มิลลิลิตร	น้ำบีทรูทพาสเจอร์ไรซ์	น้ำหมักบีทรูท	วิธีการวิเคราะห์
พลังงาน (กิโลแคลอรี)	59.0	59.4	Method of Analysis for Nutrition Labeling (1993)
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	14.4	14.5	Method of Analysis for Nutrition Labeling (1993)
ใยอาหารทั้งหมด (กรัม)	0.06	0.07	AOAC (2010)
โปรตีน (กรัม)	0.36	0.36	AOAC (2010)
ฟรุกโทส (กรัม)	0.32	0.46	JAOAC (1992)
กลูโคส (กรัม)	0.46	0.66	JAOAC (1992)
ซูโครส (กรัม)	13.3	11.9	JAOAC (1992)
ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัม)	14.1	13.1	JAOAC (1992)
กรดโฟลิก (ไมโครกรัม)	<1.0	<1.0	USFDA (1996)
โปแทสเซียม (มิลลิกรัม)	65.3	64.5	AOAC (2010)
เถ้า (กรัม)	0.14	0.15	AOAC (2012)
ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	85.1	85.0	AOAC (2012)
เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก	0.092	0.551	AOAC (2000)
L. pentosus (CFU/ml.)	-	1.11×10^{11}	AOAC (1990)

จากตารางที่ 4.5 พบว่า คุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักบีทรูท 100 มิลลิลิตรเปรียบเทียบกับน้ำบีทรูทพาสเจอร์ไรซ์ 100 มิลลิลิตร โดยผลการทดสอบพบว่า พลังงาน มีค่าเท่ากับ 59.4 กิโลแคลอรี และ 59.0 กิโลแคลอรี ตามลำดับ คาร์โบไฮเดรต มีค่าเท่ากับ 14.5 กรัม และ 14.4 กรัม ตามลำดับ ใยอาหารทั้งหมด มีค่าเท่ากับ 0.07 กรัม และ 0.06 กรัม ตามลำดับ โปรตีน ทั้ง 2 ชนิดมีค่าเท่ากับ 0.36 กรัม ฟรุกโทส มีค่าเท่ากับ 0.46 กรัม และ 0.32 กรัม ตามลำดับ กลูโคส มีค่าเท่ากับ 0.66 กรัม และ 0.46 กรัม ตามลำดับ ซูโครส มีค่าเท่ากับ 11.9 กรัม และ 13.3 กรัม ตามลำดับ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 13.1 กรัม และ 14.1 กรัม ตามลำดับ กรดโฟลิก ทั้ง 2 ชนิดมีค่าน้อยกว่า 1.0

ไมโครกรัม โปแทสเซียม มีค่าเท่ากับ 64.5 มิลลิกรัม และ 65.3 มิลลิกรัม ตามลำดับ เถ้า มีค่าเท่ากับ 0.15 กรัม และ 0.14 กรัม ความชื้น มีค่าเท่ากับ 85.0 เปอร์เซ็นต์ และ 85.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก มีค่าเท่ากับ 0.092 และ 0.551 ตามลำดับ จำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตเมื่อผ่านกระบวนการหมักมีค่าเท่ากับ 1.11 x 10^{11} โคโลนี/มิลลิลิตร

การศึกษาศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักบีทรูทเปรียบเทียบกับน้ำบีทรูทพาสเจอร์ไรซ์ พบว่า คุณค่าทางโภชนาการของน้ำบีทรูทที่ผ่านการหมักและไม่ผ่านการหมักมีค่าไม่แตกต่างกัน ทำให้เห็นว่าการหมักไม่ได้ทำให้สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการพื้นฐาน เช่น พลังงาน คาร์โบไฮเดรต โปรตีนแต่กระบวนการหมักมีการสลายน้ำตาลซูโครสไปเป็นกูลโคส และฟรุกโทส จึงทำให้ปริมาณซูโครสลดลงเมื่อผ่านกระบวนการหมักสอดคล้องกับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและค่าพีเอช ที่ลดลงและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกที่มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งการหมักกรดแลคติกแบบ Homofermentation เป็นการหมักด้วยแบคทีเรียที่ใช้น้ำตาลแล้วให้กรดแลคติกเพียงอย่างเดียว เพื่อเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกส่วนน้ำตาลที่เหลืออาจใช้เพื่อให้พลังงานและสารระเหยอื่นๆ ในทางตรงกันข้ามจะพบว่ามีคุณค่าทางโภชนาการที่เพิ่มขึ้น ได้แก่ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คือ กูลโคส และฟรุกโทส ซึ่งร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ทันที (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545 : 283-310) นอกจากนี้ยังพบจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์

4.3.2 การตรวจสอบคุณภาพน้ำหมักบีทรูทตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืช

การตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูท ศึกษาโดยเตรียมน้ำบีทรูททรีทเมนต์ที่ 6 ปรับค่าปริมาณของเข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 15 องศาบริกซ์ นำไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เติมกล้าเชื้อ *L. pentosus* ในปริมาตร 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 วัน เพื่อนำน้ำหมักบีทรูทไปตรวจสอบคุณภาพตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืช ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 0 3 9 และ 15 วัน แสดงในตารางที่ 4.6

จากตารางที่ 4.6 ผลการตรวจสอบคุณภาพด้านลักษณะทางกายภาพ พบว่าตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูทลักษณะทั่วไปเป็นของเหลวพบตะกอนของชิ้นเนื้อพืชปนอยู่ได้บ้างเล็กน้อย สี กลิ่น และกลิ่นรส มีสีแดงเลือดนก กลิ่นบีทรูทและกลิ่นหมัก มีรสชาติเปรี้ยวอมหวาน ซึ่งลักษณะด้านสี กลิ่น และกลิ่นรส ดังกล่าวเป็นลักษณะตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้และกรรมวิธีการผลิต ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ ไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์ และมีค่าพีเอชเท่ากับ 3.3 ซึ่งเป็นค่าคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูทและมีค่าไม่เกินค่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืชที่ระบุให้ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์น้ำหมักพืชมีค่าไม่เกิน 4.3

ลักษณะทางจุลินทรีย์ พบว่า ไม่พบการเจริญของเชื้อยีสต์และราในผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูท ตลอดอายุการเก็บรักษา 15 วัน ซึ่งมีตรงตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืชที่ระบุให้ผลิตภัณฑ์น้ำหมักพืชต้องมีปริมาณเชื้อยีสต์และราที่พบได้ไม่เกิน 1x10^2 โคโลนี/มิลลิลิตร

จากผลการตรวจสอบคุณภาพตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืชของผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูทที่ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 0 3 9 และ 15 วัน พบว่าคุณภาพของผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูทในด้านลักษณะทางกายภาพ และจุลินทรีย์เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืช

ตารางที่ 4.6 ผลการตรวจสอบคุณภาพของน้ำหมักบีทรูทตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืช

เกณฑ์คุณภาพน้ำหมักพืช		ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)			
		0	3	9	15
กายภาพ	ลักษณะทั่วไป	เป็นของเหลว พบตะกอน เล็กน้อย	เป็นของเหลว พบตะกอน เล็กน้อย	เป็นของเหลว พบตะกอน เล็กน้อย	เป็นของเหลว พบตะกอน เล็กน้อย
	สี/กลิ่น/รส	สีแดงเลือดนก กลิ่นบีทรูท และกลิ่นหมัก รสเปรี้ยวอม หวาน	สีแดงเลือดนก กลิ่นบีทรูท และกลิ่นหมัก รสเปรี้ยวอม หวาน	สีแดงเลือดนก กลิ่นบีทรูท และกลิ่นหมัก รสเปรี้ยวอม หวาน	สีแดงเลือดนก กลิ่นบีทรูท และกลิ่นหมัก รสเปรี้ยวอม หวาน
	สิ่งแปลกปลอม	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
	ค่าพีเอช	3.30	3.30	3.30	3.30
จุลินทรีย์ (โคโลนี/มล.)	ยีสต์	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
	รา	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ

4.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูท ศึกษาโดยเตรียมน้ำบีทรูททรีทเมนต์ที่ 6 ปรับค่าปริมาณของเข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 15 องศาบริกซ์ นำไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เติมกล้าเชื้อ *L. pentosus* ในปริมาตร 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 วัน และมีการเก็บตัวอย่างเพื่อทำการตรวจวัดลักษณะทางกายภาพ วัดค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ค่าปริมาณของเข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิต ทุกๆ 3 วันจนครบอายุการเก็บรักษา 15 วัน ผลการศึกษามีแสดงในตารางที่ 4.7

จากตารางที่ 4.7 การศึกษาอายุการเก็บรักษาพบว่า ช่วงระยะเวลาการหมักที่อายุการหมัก 48 ชั่วโมง น้ำหมักบีทรูทมีค่าปริมาณของเข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 15 องศาบริกซ์ มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.30 เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.551 ส่วนจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตเท่ากับ 1.11×10^{11} โคโลนี/มิลลิลิตร นำไปเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ผลทุกๆ 3 วัน จนครบอายุการเก็บรักษา 15 วัน

การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช พบว่า ที่อายุการเก็บรักษาเริ่มต้น 0 วัน มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.30 จนถึงอายุการเก็บรักษาที่ 15 วัน ค่าพีเอชมีค่าเท่ากับ 3.30 ซึ่งไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

การเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกระหว่างการเก็บรักษา พบว่า เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเริ่มต้นของอายุการเก็บรักษาที่ 0 วันเท่ากับ 0.551 จนถึงอายุการเก็บรักษาที่ 15 วัน ค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก มีค่าเท่ากับ 0.551 ซึ่งไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ตารางที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ปริมาณของเข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิต ที่อายุการหมัก 0 - 48 ชั่วโมง และที่อายุการเก็บรักษา 0 - 15 วัน

อายุการหมัก (ชม.)	พีเอช	กรดแลคติก (%)	TSS (°Bx.)	จำนวนเซลล์ (โคโลนี/มล.)
0	4.02	0.184	15	4.60×10^{6}
12	3.98	0.275	15	6.00×10^{7}
24	3.40	0.367	14.8	2.62×10^{9}
36	3.33	0.459	14.8	5.98×10^{9}
48	3.30	0.551	14.8	1.11×10^{11}
การเก็บรักษา (วัน)	สภาพการเก็บรักษา : เก็บในตู้เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส			
	พีเอช	กรดแลคติก (%)	TSS (°Bx.)	จำนวนเซลล์ (โคโลนี/มล.)
0	3.30	0.551	14.8	1.11×10^{11}
3	3.30	0.551	14.6	6.80×10^{10}
6	3.30	0.551	14.6	3.40×10^{9}
9	3.30	0.551	14.6	2.49×10^{8}
12	3.30	0.551	14.6	2.00×10^{8}
15	3.30	0.551	14.6	1.80×10^{7}

การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของเข็งที่ละลายได้ทั้งหมดระหว่างการการเก็บรักษา พบว่าค่าปริมาณของเข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเริ่มต้นของอายุการเก็บรักษา 0 วัน มีค่าเท่ากับ 14.8 องศาบริกซ์ จนถึงอายุการเก็บรักษาที่ 15 วัน ค่าปริมาณของเข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 14.6 องศาบริกซ์ ซึ่งมีค่าลดลงในช่วง 3 วัน แรกของการเก็บรักษาและหลังจากนั้นมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

การเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตระหว่างการเก็บรักษา พบว่าจำนวนเซลล์เริ่มต้นของการเก็บรักษาที่อายุ 0 วัน มีจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตเท่ากับ 1.11×10^{11} โคโลนี/มิลลิลิตร เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกจะลดลง โดยที่อายุการเก็บรักษาที่ 3 วัน มีจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิต เท่ากับ 6.80×10^{10} โคโลนี/มิลลิลิตร และจำนวนเซลล์จะลดลงสูงสุดที่อายุการเก็บรักษาที่ 15 วัน โดยจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตมีค่าเท่ากับ 1.80×10^{7} โคโลนี/มิลลิลิตร ซึ่งพบว่ามีการลดลงของจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิต ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และลดลงสูงสุดที่อายุการเก็บรักษาที่ 15 วัน

จากการวิเคราะห์ผลการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและจุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษาน้ำหมักบีทรูทจากแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถสรุปได้ คือ ค่าพีเอชมีค่าเท่ากับ 3.30 ซึ่งความเป็นกรดของน้ำหมักเพื่อการบริโภคต้องมีค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ต่ำกว่า 4.3 จึงจะควบคุมการเจริญของเชื้อก่อโรคได้ (ไชยวัฒน์ ไชยสุต, 2553 : 48) เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 0.551 พบว่าไม่พบการเปลี่ยนแปลงด้านเคมีตลอดอายุการเก็บรักษา 15 วัน โดยแบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียชนิดที่เติบโตในอาหารสังเคราะห์ที่มีสารอาหารมาก แต่ก็สามารถเติบโตได้ในแหล่งอาหารทั่วๆ ไป และจะทำให้ค่าพีเอชของอาหารต่ำลงอย่างรวดเร็วจนถึงจุดที่ทำให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นไม่สามารถเติบโตได้ พบว่า *Lactobaacillus* บางสายพันธ์จะทำให้ค่าพีเอชต่ำประมาณ 3.5 ก่อนจะมีการยับยั้งการเติบโตของตัวเอง (Steinkraus, 1992 : 43-51) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 14.8 องศาบริกซ์ มีค่าลดลงเป็น

14.6 เมื่อมีอายุการเก็บรักษาครบ 3 วัน หลังจากนั้นมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน สอดคล้องกับอุทุมพร สุระยศ (2554 : 48) ศึกษากระบวนการผลิตน้ำหมักจากข้าวก่ำกล้องงอก พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดในสิ่งทดลองมีค่าลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 2 วันแรกของการหมัก หลังจากนั้นจะลดลงเล็กน้อยจนค่อนข้างคงที่ตลอดช่วงระยะเวลาของการหมัก สำหรับจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกมีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 3.33×10^{10} โคโลนี/มิลลิลิตร มีค่าลดลงเป็น 2.58×10^{7} โคโลนี/มิลลิลิตร เมื่อมีอายุการเก็บรักษาครบ 15 วัน ซึ่งการลดลงของจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกนั้นเกิดจากแบคทีเรียกรดแลคติกไม่สามารถทนต่อสภาวะที่เป็นกรดสูงได้ (Yoon et al., 2006 : 1427-1430) แต่ถึงอย่างไรจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกที่พบในผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูทเมื่อเก็บรักษาครบ 15 วัน ยังคงมีค่าเป็นไปตามตามข้อกำหนดของ International dairy federation (IDF) กำหนดให้ผลิตภัณฑ์เสริมโพรไบโอติกจะต้องมีแบคทีเรียที่มีชีวิตอย่างน้อยที่สุด 10^{7} โคโลนี/มิลลิลิตร จนกระทั่งวันที่บริโภคผลิตภัณฑ์นั้น (Ouwehand and Salminen, 1998 : 749-758) นอกจากมาตรฐานดังกล่าวแล้วในแต่ละประเทศได้มีการพัฒนามาตรฐานของจำนวนเซลล์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก เช่นประเทศญี่ปุ่น The Fermented Milks and Lactic Acid Bacteria Beverages Association ได้กำหนดมาตรฐานขั้นต่ำของจำนวนเซลล์โพรไบโอติกไว้ที่ 10^{7} โคโลนี/มิลลิลิตร และในหลายประเทศมีการกำหนดมาตรฐานขั้นต่ำของจำนวนเซลล์โพรไบโอติกไว้ที่ 10^{6} โคโลนี/มิลลิลิตร เช่น อาร์เจนตินา ปารากวัย และอุรุกวัย เป็นต้น (Krasaekoopt et al., 2003 : 3-13) รวมถึงประเทศไทยมีการกำหนดให้มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ยังมีชีวิตอยู่ไม่น้อยกว่า 10^{6} โคโลนีต่อกรัม ตลอดการเก็บรักษาของอาหารนั้น (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2551 ; กระทรวงสาธารณสุข, 2555)

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษาวิจัย

จากศึกษาการหมักกรดแลคติกจากน้ำบีทรูทด้วย *L. pentosus* เพื่อใช้เป็นเครื่องดื่มโพรไบโอติก พบว่าผู้บริโภคยอมรับน้ำหมักบีทรูทสูตรน้ำบีทรูทผสมน้ำสัปปะรดและน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 50 : 25 : 25 ที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 15 องศาบริกซ์ มากที่สุด โดยผลิตภัณฑ์มีสีแดงเลือดนก รสชาติพอดีมีทั้งความเปรี้ยวและความหวานพบการเกิดตะกอนเล็กน้อยที่อายุการหมัก 48 ชั่วโมง มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.19 เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 0.551 มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 14.8 จำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตมีค่าเท่ากับ 3.44×10^{10} โคโลนี/มิลลิลิตร การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักบีทรูทเปรียบเทียบกับน้ำบีทรูทพาสเจอร์ไรซ์พบว่า การหมักไม่ได้ทำให้สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการพื้นฐาน เช่น พลังงาน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ในทางตรงกันข้ามจะพบว่ามีคุณค่าทางโภชนาการที่เพิ่มขึ้น ได้แก่ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คือ กูลโคส และฟรุกโทส ซึ่งร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ทันที นอกจากนี้ยังพบจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ เมื่อนำไปศึกษาอายุการเก็บรักษาโดยเก็บผลิตภัณฑ์ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน พบว่า ผลิตภัณฑ์มีสีแดงเลือดนกเข้มขึ้น รสชาติเปรี้ยว พบการเกิดตะกอนเพิ่มขึ้น มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.30 เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 0.551 ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 14.6 จำนวนเซลล์ *L. pentosus* ที่มีชีวิตมีค่าเท่ากับ 1.80×10^{7} โคโลนี/มิลลิลิตร ซึ่งจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกมีค่าสูงกว่าระดับที่แนะนำสำหรับผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกคือมีค่าไม่น้อยกว่า 10^{6} โคโลนี/มิลลิลิตร และการตรวจสอบคุณภาพตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืชของผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูท พบว่าตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน ผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูทมีลักษณะเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืช แสดงว่าน้ำหมักบีทรูทด้วย *L. pentosus* มีคุณค่าทางโภชนาการเหมาะสมกับการใช้เป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพหรือเครื่องดื่มโพรไบโอติก

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการศึกษาในเรื่องระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูทด้วย *L. pentosus* โดยการเพิ่มระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

5.2.2 ควรมีการศึกษาในเรื่องคุณค่าทางโภชนาการในด้านสารอาหารอื่นๆ เช่น บีตานิน บีต้า - แคโรทีน แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก และฟอสฟอรัส ของผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูทด้วย *L. pentosus* ที่ผลิตได้เพื่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

5.2.3 ควรมีการศึกษาในเรื่องคุณภาพของน้ำหมักตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืช ทางด้านจุลินทรีย์ เช่น ซาลโมเนลลา สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ และเอสเชอริเชีย โคไล ของผลิตภัณฑ์น้ำหมักบีทรูทด้วย *L. pentosus* ที่ผลิตได้เพื่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืชต่อไป

บรรณานุกรม

กระทรวงสาธารณสุข. 2555. **ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 346 เรื่องการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร (ฉบับที่ 2)**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.bpat.in.th/login/filedata/probiotic%202.PDF.

จารุวรรณ มณีศิริ. 2551. **จุลินทรีย์กับการหมัก**. เทคโนโลยีอาหารหมัก. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหารและโภชนาการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี.

โชติพงษ์ โนนสว่าง. 2546. **เอกสารประกอบการเรียนผลิตภัณฑ์ธัญพืช**. หลักสูตรประกาศนียบัตรวิชาชีพ. วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีบุรีรัมย์.

ไชยวัฒน์ ไชยสุต. 2553. **น้ำหมักชีวภาพ**. กรุงเทพฯ : สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.

ไชยวัฒน์ ไชยสุต และศศิธร ศิริลุน. 2553. “โพรไบโอติกจุลินทรีย์ที่เปนประโยชนต่อสุขภาพ.” **วารสารสำนักการแพทย์ทางเลือก**. 3(3) : 4-16.

ไชยวัฒน์ ไชยสุต ศศิธร ศิริลุน สาร์ทจีน ภีระจันทร์ และนภัตสร กุมาร์. 2554. **คู่มือน้ำหมักชีวภาพเพื่อการบริโภค (ฉบับชาวบ้าน)**. พิมพ์ครั้งที่ 1. ปทุมธานี : สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.

ไชยวัฒน์ นพเก้า. 2553. “การศึกษาองค์ประกอบของอาหารสภาวะการหมักที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลคติกจากเวย์โดยแบคทีเรียกรดแลคติก.” วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

ไชยวัฒน์ ไชยสุต. 2556. **โพรไบโอติกจุลินทรีย์ทางเลือกเพื่อสุขภาพ**. นนทบุรี : สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ.

นันทนา สีสุข. 2555. **เทคโนโลยีชีวภาพ**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.stou.ac.th/Website/Subbj/fileUpload/99201-6.pdf.

นิพนธ์ ไชยมงคล. มปป. **บีทรูท**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.vegetweb.com/wp-content/download/beet1.pdf.

ปนมณี ขวัญเมือง. 2546. “การแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอยางแหนมของประเทศไทยเพื่อใชเปนกลาเชื้อ.” วิทยานิพนธปริญญาเอก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร.

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2549. รายงานการวิจัยเรื่องการหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติก และ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ. คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2551. รายงานการวิจัยการหมักน้ำแครอทด้วยกล้าเชื้อผสมเพื่อเป็นเครื่องดื่มโพรไบโอติก. คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. มปป. **การหมักน้ำแครอทด้วยแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์เพื่อใช้เป็นเครื่องดื่ม**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.50years.kmitl.ac.th/data/T5-carrot-fermentation.pdf.

พรสวรรค์ บัวทอง และภัศราพรรณ ยวนใจ. 2556. “การหมักกรดแลคติกจากน้ำอ้อย.” ครุศาสตร์อุตสาหกรรมบัณฑิต สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร. คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ไพโรจน์ วิริยาจารี. 2545. การประเมินทางประสาทสัมผัส. ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มีชัย ลัดดี. 2551. **การคัดแยกแบคทีเรียกรดแลกติก**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.agro.kmutnb.ac.th/e-learning/521302/pdf/2.pdf

ยุวพร มูลคำ. 2552. “การสกัดสารสีแดงจากเปลือกแก้วมังกรและการประยุกต์ใช้ในน้ำสตรอเบอรี่ที่ผ่านกระบวนการพาสเจอไรซ์.” วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

โยษิตา โตเสาวลักษณ์. 2552. “การห่อหุ้มร่วมของสารสีธรรมชาติกับผลึกน้ำผึ้งด้วยวิธีการอบแห้ง.” วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วันชัย พันธ์ทวี. 2550. “แลคติกแอซิดแบคทีเรียบทบาทที่แตกต่าง.” **Food Journal**. 37(1) : 17-21.

ศจี สุวรรณศรี และนรภัทร หวันเหล็ม. 2557. วิถีชีวิตปัจจุบันกับอาหารทางเลือก. ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.reg.nu.ac.th/publish/Course001275_FALS1.57wk1-15lecture.pdf.

สันติ แก่อินทร์ ภาวินี ดีแท้ จีรัณ กิ่งแก้ว และประภาพรรณ ซอหะซัน. 2557. “การผลิตเครื่องดื่มโพรไบโอติกจากมันเทศโดยการหมักด้วยแบคทีเรียกรดแลคติก.” **วิทยาศาสตร์เกษตร**. 45(2) : 237-240.

สุญาณี พงษ์ธนานิกร. 2549. **พรีไบโอติกและโพรไบโอติก:อาหารสุขภาพ**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.interpharma.co.th/textword/image_upload/Text/th/Pharmacy%20Chula%20Probiotics.pdf.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. **จุลชีววิทยาทางอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2551. **คำสั่งสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ที่ 403 เรื่องการพิจารณา การอนุญาต การกล่าวอ้างทางสุขภาพของโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อาหาร.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://iodinethailand.fda.moph.go.th/food_54/law/data/command_fda/403_2551.pdf.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2548. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืช**. กรุงเทพฯ : (ม.ป.พ.)

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2554. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำบีทรูท**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://law.resource.org/pub/th/ibr/th.ps.278.2554.pdf.

อภิฤดี พูลมี. 2551. “เครื่องดื่มโพรไบโอติกจากพืชสมุนไพรถั่วเหลือง ถั่วเขียว และน้ำมะพร้าว.” วิทยาศาสตรบัณฑิต. คณะศิลปะศาสตร์และวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อังคณา ชมภูมิ่ง ตะวัน ฉัตรสูงเนิน และธวัชชัย ชัยธวัชวิถี. 2553. **รายงานผลการวิจัยมหาวิทยาลัยแมโจ เรื่อง การปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑปลาสมดวยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ : กรณีศึกษาพื้นที่จังหวัดแพรและจังหวัดพะเยา**. มหาวิทยาลัยแมโจ-แพร เฉลิมพระเกียรติ.

อาภรณ วงษ์วิจารณ์. 2554. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่องการศึกษาสูตรอาหารและกระบวนการผลิตกรดแลคติกชนิด L(+). มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

อุทุมพร สุระยศ. 2554. “กระบวนการผลิตน้ำหมักจากข้าวก่ำกล้องงอก.” วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Adams M.R., Nicolaides L. 1997. “Review of the sensitivity of different pathogens of fermentation.” **Food Control**. 8 : 227-239.

Akerberg, C., Hofvendahl, K., Hahn-Hagerdal, B. and Zacchi, G. 1998. "Modelling the Influence of pH, Temperature, Glucose and Lactic Acid Concentrations on the Kinetics of Lactic Acid Production by Lactococcus lactis ssp. lactis ATCC 19435 in Whole-Wheat Flour." **Applied Microbiology and Biotechnology**. 49 : 682-690.

Altaf, M., Naveena, B.J. and Reddy, G. 2007. "Use of Inexpensive Nitrogen Sources and Starch for L(+) Lactic Acid Production in Anaerobic Submerged Fermentation." **Bioresource Technology**. 98 : 498-503.

Angelov, A., Gotcheva, V., Kuncheva, R. and Hristozova, T. 2006. “Development of a new oat-based probiotic drink.” **International Journal of Food Microbiology**. 112: 75-80.

AOAC. 1990. **Official Method of Analysis of AOAC International**. 16. Arlington.

AOAC. 2000. **Official Method of Analysis of AOAC International**. 17. Washington DC.

AOAC. 2010. **Official Method of Analysis of AOAC International**. 18. Gaithersburg.

AOAC. 2012. **Official Method of Analysis of AOAC International**. 19. Arlington.

Aspmo, S.I., Horn, S.J. and Eijsink, V.G.H. 2005. "Use of Hydrolysates from Atlantic Cod (Gadus Morhua L.) Viscera as a Complex Nitrogen Source for Lactic Acid Bacteria." **FEMS Microbiology Letters**. 248 : 65-68.

Axelsson, H. 1998. “Lactic acid bacteria : Classification and Physiology.” pp. 1-72. in S. Saminen and A. von Wright (editors). **Lactic acid bacteria : Microbiology and functions aspect**. 2. New York : Marcel Dekker

Axelsson, L.T. 1993. **Lactic acid bacteria: classification and physiology**. In: Lactic acid bacteria. Salminen, S., & Wright, A, ed. New York : Marcel Dekker.

Azerdo, H.M.C. 2009. “Betalains: properties, sources, applications, and stability - a review.” **Inter J of Food Sci and Tech**. 44(12): 2365-2376.

Beatriz, R., Ana B.M., Jose, M.D. and Juan C.P. 2004. “Development of Culture Media Containing Spent Yeast Cells of Debaryomyces hansenii and Corn Steep Liquor for Lactic Acid Production with Lactobacillus rhamnosus.” **International Journal of Food Microbiology**. 8(10) : 1894- 1899.

Bergqvist SW, Sandberg A-S, Carlsson N-G & Andlid T. 2005. “Improved iron solubility in carrot juice fermented by homo- and hetero-fermentative lactic acid bacteria.” **Food Microbiology**. 22 : 53-61.

Buchweitz, M., A. Nagel, et al. 2012. “Characterisation of sugar beet pectin fractions providing enhanced stability of anthocyanin-based natural blue food colourants.” **J.Food. Chem**. 132 : 1971-1979.

Cai YZ, Sun M, Corke H. 2003. “Antioxidant activity of betalains from plants of the *Amaranthaceae*.” **J Agric Food Chem**. 51 : 2288-2294.

Calderon, M., Loiseau G. and Guyot J.P. 2001. “Nutritional Requirements and Simplified Cultivation Medium to Study Growth and Energetics of a Sourdough Lactic Acid Bacterium *Lactobacillus fermentum* Ogi E1 During Heterolactic Fermentation of Starch.” **International Journal of Food Microbiology**. 90 : 508-516.

Chadwick, R., S. Henson, B. Moseley, G. Koenen, M.Liakopoulos, C. Midden, A. palou, G. Rechkemmer, D. Schrode, and A. von Wrigh. 2003. **Functional Foods**. New York, Srpinger, : 161-175.

Chatterjee, M., Chakrabarty, S.L., Chattopadhyay, B.D. and Mandal, R.K. 1997. Production of Lactic Acid by Direct Fermentation of Starchy Wastes by an Amylase-Producing *Lactobacillus*." **Biotechnology Letter**. 19 : 873-874.

Datta, R., Tsai, S.P., Bonsignore, P., Moon, S.H. and Frank, J.R. 1995. "Technological and Economic Potential of Poly(Lactic Acid) and Lactic Acid Derivatives." **FEMS Microbiology Reviews**, 16 : 221-231.

Delgado, A., Brito, D., Peres, C., Noé-Arroyo, F., & Garrido-Fernández, A. 2005. “Bacteriocin production by *Lactobacillus pentosus* B96 can be expressed as a function of temperature and NaCl concentration.” **Food Microbiology**. 22 : 521-528.

De Man, J. C., Rogosa, M. & Sharpe, M. E. 1960. “A medium for the cultivation of lactobacilli.” **J Appl Bacteriol**. 23 : 130-135.

Fuller, R. 1989. “Probiotcs in man and animals.” **Journal of Apply Bacteriology**. 66 : 365-378.

Gao, M.T., Kaneko, M., Hirata, M., Toorisaka, E. and Hano, T. 2008. "Utilization of Rice Bran as Nutrient Source for Fermentative Lactic Acid Production." **Bioresource Technology**, 99 : 3659-3664.

Göksungur. Y. and Güvenç. U.. 1997. “Batch and Continuous Production of Lactic Acid from Beet Molasses by *Lactobacillus delbrueckii* IFO 3202.” **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. 69 : 399-404.

Ha, M.Y., Kim, S.W., Lee, Y.W., Kim, M.J. and Kim, S.J. 2003. “Kinetic Analysis of Growth and Lactic Acid Production in pH Controlled Batch Cultures of *Lactobacillus casei* KH-1 Using Yeast Extract/ Corn Steep Liquor/ Glucose Medium.” **Bioscience and Bioengineering**. 96 : 134-140.

Henriette Azeredo, 2009. “Betalains: properties, sources, applications, and stability - a review.” **International Journal of Food Science and Technology**. 44 : 2365–2376.

JAOAC. 1992. “The Scientific Association Dedicated to Analytical Excellence.” **Journal of AOAC International**. 75(3) : 590 p.

Kalantzopoulos,G. 1997. “Fermented products with probiotic quality.” **Anaerobe.** 3 : 185-190.

Kenneth Todar. 2012. **Lactic Acid Bacteria** . [Online]. Available : http://textbookofbacteriology.net/lactics_2.html.

Konings, W.N. 2002. “The cell membrane and the struggle for life of lactic acid bacteria.” **Antonie Van Leeuwenkoek**. 82: 3-27.

Kotzamanidis, Ch., Roukas, T., and Skaracis, G. 2002. “Optimization of Lactic Acid Production From Beet Molasses by *Lactobacillus delbrueckii* NCIMB 8130.” **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. 18 : 441-448.

Krasaekoopt W, Bhandari B and Deeth H. 2003. “Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt.” **International Dairy Journal**. 13 : 3-13.

Kun, S., Rezessy-Szabó, J.M., Nguyen, Q.D., and Hoschke, A. 2008. “Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains.” **Process Biochem.** 43 : 816-821.

Liu S.Q. 2003. “Practical implication of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and Beverage fermentations.” **International Journal of Food Microbiology**. 83 : 115-131.

Maldonado-Barragán A1, Caballero-Guerrero B, Lucena-Padrós H, Ruiz-Barba JL. 2011. Genome sequence of *Lactobacillus pentosus* IG1, a strain isolated from Spanish-style green olive fermentations. **J Bacteriol**. 193 : 19.

Marica Rakin , Maja Vukasinovic, Slavica Siler-Marinkovic and Milan Maksimovic. 2007. “Contribution of lactic acid fermentation to improved nutritive quality vegetable juices enriched with brewers yeast autolysate.” **Food Chemistry**. 100 : 599-602

Mark, H. F., McKetta, J. J. Other, D. F. and Standen, A. 1963. **Kirk-Othmer Encyclopaedia of chemical technology**. 2nd Ed. New York : John Wiley and Sons, Inc.

Marques, S., Santos, J.A.L., Gìrio, F.M. and Roseiro, J.C. 2008. "Lactic Acid Production from Recycled Paper Sludge by Simultaneous Saccharification and Fermentation." **Biochemical Engineering Journal**. 41 : 210-216.

Methods of Analysis for Nutrition Labeling. 1993. In D.M. Sullivan, & D.E. Carpenter (editors.). AOAC INTERNATIONAL. Arlington.

Monteagudo, JM., Rodriguez, L., Rincon, J., and Fuertes, J. 1997. “Kinetics of Lactic Acid Fermentation by *Lactobacillus delbrueckii* Grown on Beet Molasses.” **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. 68 : 271-276.

Murphy M1, Eliot K, Heuertz RM and Weiss E. 2012. “Whole beetroot consumption acutely improves running performance.” **J Acad Nutr Diet.** 112 : 548-52.

Nakamura, L.K. 1981. "*Lactobacillus amylovorus*, a New Starch-Hydrolyzing Species from Cattle Waste - Corn Fermentations." **International Journal of Systematic Bacteriology**. 31 : 56-63.

Nwankwo, D., Anadu, E. and Usoro, R. 1989. "Cassava-Fermenting Organisms." **Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**. 5 : 169-179.

Ouwehand, A.C. and Salminen, S.J. 1998. "The health effects of viable and non-viable cultured milk." **International Dairy Journal**. 8 : 749-758.

Payot, T., Chemaly, Z. and Fick, M. 1999. "Lactic Acid Production by *Bacillus coagulans*-Kinetic Studies and Optimization of Culture Medium for Batch and Continuous Fermentations." **Enzyme and Microbial Technology**. 24 : 191-199.

Petrov, K., Urshev, Z. and Petrova, P. 2008. "L(+)-Lactic Acid Production from Starch by a Novel Amylolytic *Lactococcus lactis subsp*. *lactis* B84." **Food Microbiology**. 25 : 550-557.

Pollmann, D.S. 1986. "Probiotic in pig diets." pp. 193-205. in N. Haresign and D.J.A. Coles (editors.). **Recent Advances in Animal Nutrition**. London : Butterworth.

Salwa, A. Aly, E.A. Galal and Neimat, A. Elewa. 2004. "Carrot Yoghurt : Sensory, Chemical, Microbiological Propertiesand Consumer Acceptance." **Pakistan Journal of Nutrition** 3 (6) : 322-330.

Sanni, A.I., Morlon-Guyot, J. and Guyot, J.P. 2002. "New Efficient Amylase-Producing Strains of *Lactobacillus plantarum* and L. fermentum Isolated from Different Nigerian Traditional Fermented Foods." **International Journal of Food Microbiology**. 72 : 53-62.

Stanbury, P. F. and A. Whitaker. 1984. **Principle of Fermentation Technology**. Oxford : Pergamon Press.

Steinkrus,H.K. 1992. "Lactic Acid Fermentation."pp.43-51. in Gaden,E.L., Bokanga,M. Harlander,S. and Hesseltine,G.W (editors). **Applications of Biotechonology to Traditional Fremented Food**. Washington,D.C. : National Academy Press.

Stiles, E. and H. Holzapfel. 1997. "Lactic acid bacteria of foods and to their current taxonomy." **Intl. J. Food. Microbiol**. 36: 1-29.

Stintzing, F.C. and Carle, R. 2004. "Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food and in human nutrition." **Trends in Food Science and Technology**. 15 : 19-38.

Stoppok, E., and Buchholz, K. 1996. "Sugar-Based Raw Materials for Fermentation Applications." **Biotechnology**. 2 : 5-29.

Strack. D., Thomas Vogt and Willibald Schliemann. 2003. "Recent advances in betalain research." **Phytochemistry.** 62 : 247-269.

Suskovic J, Kos B, Goreta J and Matosic S. 2001. "Role of lactic acid bacteria and *bifidobacteria* in symbiotic effect." **Food Technol Biotechnol**. 39 : 227-235.

Toit. D., M., C. Franz, U. Schillinger, B. Warles, and W. Holzappfel, 1998. “Characterization and selection of probiotic lactobacilli for a preliminary minipig-feeding trail and their effect on serum cholesterol level, faeces pH and faeces moisture contents.” **International Food Microbiology**. 40 : 93-104.

Tom Wu. 2555. **ธรรมชาติช่วยชีวิต ฉบับปรับปรุง**. แปลจาก **Principles of Natural Cure**. โดย เรืองชัย รักศรีอักษร. พิมพ์ครั้งที่ 22. กรุงเทพฯ : อินสปายร์.

USDA Nutrient Database. n.d. **Beets raw** [Online]. Available : http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2900?fgcd=&manu=&lfacet=&format=&count=&max=35&offset=&sort=&qlookup=beet.

USDA Plants Database. n.d. **the PLANTS Classification Report.** [Online]. Available : http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=BEVU2.

USFDA. 1996. “Food standards: amendments of standards of identity for enriched grain products to require addition of folic acid.” **Federal Register**. 61 : 8781-8797.

Vasiljevic T and Shah NP. 2008. “Probiotics from Metchnikoff to bioactives.” **Int Dairy J**. 18 : 714-728.

Wood, B. J. B. and W. H. Holzapfel. 1995. **The General of Lactic Acid Bacteria**. London : Chapman & Hall.

Yang, Z.Suomalainen,T.Maeyrae-Maekinen,A.,Huttunen,E. 1997. “Antimicrobial Activity of 2-Pyrolidone-5-Carboxylic Acid Produce by Lactic Acid Bacteria.” **J.Appl.Environ.Microbiol**. 60 : 786-790.

Yoon, Y.K., E.E. Woodams and Y.D. Hang. 2004. “Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria.” **J. of Microbiology**. 42(2) : 1427-1430.

Yoon, Y.K., E.E. Woodams and Y.D. Hang. 2005. “Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria.” **J. Food Sci. Technol**. 38 : 73-75.

Yoon, Y.K., E.E. Woodams and Y.D. Hang. 2006. “Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria.” **Bioresour Technol**. 97: 1427-1430.

Zryd. J.P. and Christinet. L. 2003. **Betalain pigment. Laboratory of Plant Cell Genetics. Department of Plant Molecular Biology**. University de Lausanne, CH 1015 Lausanne, Switzerland. : 185-247.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การเตรียมวัตถุดิบ
ภาคผนวก ข การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี
ภาคผนวก ค การใช้เครื่องมือต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ
ภาคผนวก ง วิธีการวิเคราะห์
ภาคผนวก จ แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส
ภาคผนวก ฉ ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ
ภาคผนวก ช มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืช

ภาคผนวก ก

การเตรียมวัตถุดิบ

1. การเตรียมน้ำบีทรูท

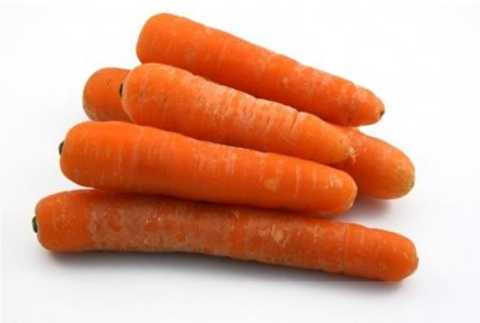
1. บีทรูทสด

2. ปอกเปลือกล้างให้สะอาดวางให้สะเด็ดน้ำนำมาชั่งน้ำหนักแล้วหั่นให้เป็นแว่นๆ

3. ปั่นกับน้ำในอัตราส่วนเนื้อบีทรูท : น้ำ เท่ากับ 1 : 2 (น้ำหนัก : ปริมาตร) และกรองด้วยผ้าขาว

4.น้ำบีทรูทสำหรับใช้ทดลองต่อไป

2. การเตรียมน้ำแครอท



1. แครอทสด

2. ปอกเปลือกล้างให้สะอาดวางให้สะเด็ดน้ำนำมาชั่งน้ำหนักแล้วหั่นให้เป็นแว่นๆ

3. ปั่นกับน้ำในอัตราส่วนเนื้อแครอท : น้ำ เท่ากับ 1 : 1 และกรองด้วยผ้าขาว

4.น้ำแครอทสำหรับใช้ทดลองต่อไป

3. การเตรียมน้ำสับปะรด

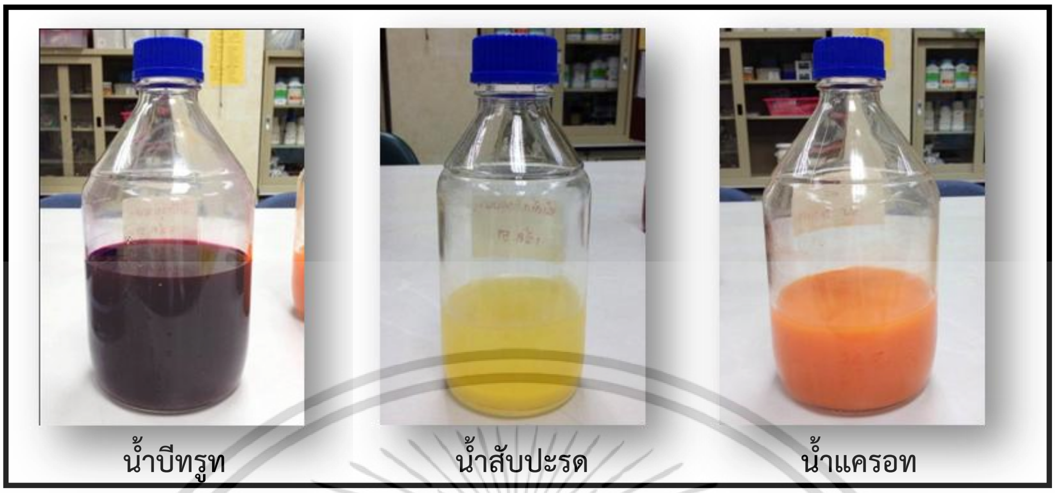
1. สับปะรดสด

2. ปอกเปลือกล้างให้สะอาดวางให้สะเด็ดน้ำนำมาชั่งน้ำหนักแล้วหั่นให้เป็นแว่นๆ

3. ปั่นกับน้ำในอัตราส่วนเนื้อสับปะรด : น้ำ เท่ากับ 1 : 1 และกรองด้วยผ้าขาว

4.น้ำสับปะรดสำหรับใช้ทดลองต่อไป

การหมักน้ำบีทรูท



น้ำบีทรูท น้ำสับปะรด น้ำแครอท

ภาพภาคผนวก ก.1 น้ำผักผลไม้ที่ใช้เป็นส่วนผสมในการหมักน้ำบีทรูท

ตารางภาคผนวก ก. 1 อัตราส่วนของน้ำบีทรูทสูตรต่างๆ สำหรับใช้ในการทดลอง

ส่วนผสม (มิลลิลิตร)	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
1. น้ำบีทรูท	75	50	50	25
2. น้ำแครอท	0	25	0	25
3. น้ำสับปะรด	0	0	25	25
4. น้ำกลั่น	25	25	25	25

หมายเหตุ เมื่อเตรียมน้ำหมักบีทรูทแต่ละสูตรแล้วทำการปรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 10 และ 15 องศาบริกซ์ โดยใช้น้ำตาลทรายขาวแล้วนำใส่ขวดดูแรนโดยใช้ขนาดของขวดตามปริมาตรที่เตรียม นำไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทำให้เย็นทันทีโดยแช่ในน้ำเย็นก่อนเติมกล้าเชื้อ

ภาคผนวก ข

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สูตรอาหาร Lactobacillus MRS Agar (MRS) ต่อส่วนผสม 1,000 มิลลิลิตร

1.1	Proteose peptone	10	กรัม
1.2	Beef Extract	10	กรัม
1.3	Yeast Extract	5	กรัม
1.4	Dextrose	20	กรัม
1.5	Polysorbate 80	1	มิลลิลิตร
1.6	Ammouium citrate	2	กรัม
1.7	Sodium acetate	5	กรัม
1.8	Magnesium sulphate	0.1	กรัม
1.9	Manganese sulphate	0.05	กรัม
1.10.	Dipotassium phosphate	2	กรัม
1.11.	Agar	15	กรัม

ละลายส่วนผสมและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) สำเร็จรูป

ชั่ง PDA สำเร็จรูป อัตราส่วน 39 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ละลายส่วนผสมและนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์กับน้ำปริมาณเท่าๆ กันใส่ขวดทิ้งไว้ประมาณ 3 - 4 วัน เพื่อให้ส่วนมี่ไม่ละลายตกตะกอน จากนั้นใช้ส่วนใสมาเตรียมสารละลายมาตรฐานโดยใช้ Stock Solution ประมาณ 8 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานโปแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (Potossium hydrogen phthalate)

2. สารละลายฟีนอฟทาลีน

ละลายฟีนอฟทาลีน 1 กรัม ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มัล ทีละหยดจนหยดแรกให้สีชมพูเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 200 มิลลิลิตร

3. สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85

ชั่งโซเดียมคลอไรด์ 0.85 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ค

การใช้เครื่องมือต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ

1. หม้อนึ่งความดัน (Altoclave)

ภาพภาคผนวก ค.1 หม้อนึ่งความดัน (Altoclave)

1. ใส่น้ำสะอาดลงในเครื่อง Autoclave พอประมาณ อย่าให้ท่วมจานวางตะกร้า

2. เสียบปลั๊กไฟตัวเครื่องให้เรียบร้อย นำของที่ต้องการฆ่าเชื้อใส่ลงไปในตะกร้าและใส่ของลงไปใน Autoclave

3. กดปุ่ม Power ไปที่ On

4. เช็คปุ่ม Exhaust ให้อยู่ที่ Close

5. กดปุ่ม Mode แล้วกดปุ่ม Temp หน้าแป้นโชว์เลข “121” ถ้าต้องการเปลี่ยนอุณหภูมิตัวเลขให้กดลูกศร “ ▼ ” เมื่อต้องการปรับอุณหภูมิขึ้นและลูกศร “ ▲ ” เมื่อต้องการปรับอุณหภูมิลง

6.กดปุ่ม “ Start Time” เป็นเวลาที่ต้องการฆ่าเชื้อโดยปกติตั้งค่าไว้ที่ 15 นาที แต่ถ้าต้องการแก้ไขสามารถเปลี่ยนค่า ตั้งขึ้นหรือลงได้เช่นเดียวกันกับข้อ 6

7. กดปุ่ม Start เพื่อเริ่มการใช้งาน

8. ให้ยืนรอดูว่าไม่มีเสียงอะไรผิดปกติและตัวเลขของอุณหภูมิขึ้น จึงเดินออกไปได้

ข้อควรระวังในการใช้งาน

1. ตรวจสอบอุณหภูมิให้ได้ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว

2. เวลาฆ่าเชื้อเสร็จแล้วไม่ควรเปิดฝาออกทันที ควรรอให้สเกลความดันลดลงถึง “0” ก่อนเพื่อความปลอดภัยในการใช้งาน จึงจะเปิดฝาออกได้

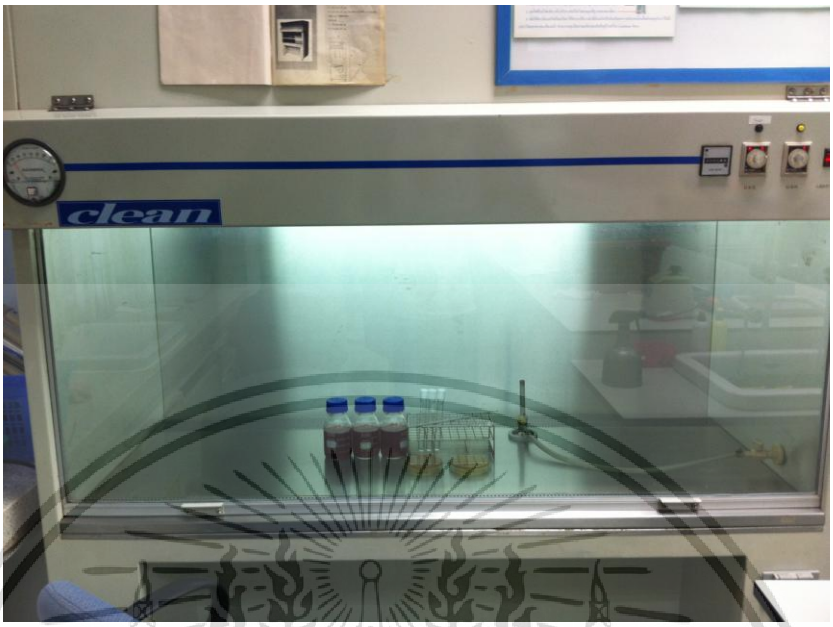
2. ตู้บ่มเพาะเชื้อ

37.0
memmert

ภาพภาคผนวก ค.2 ตู้บ่ม (Memmert รุ่น W 8540 Schwabach)

1. เสียบปลั๊กเพื่อจ่ายเข้าเครื่อง
2. เปิดสวิทซ์โดยหมุนปุ่ม Power จาก “0” มาที่ “I”
3. กดปุ่ม Set ค้างไว้แล้วหมุนปรับอุณหภูมิ “ ↷ ” ได้ตามต้องการใช้งาน (ไม่ควรเกิน limit ของเครื่องคือประมาณ 70 องศาเซลเซียส)
4. เมื่อใช้งานเสร็จแล้วหมุนปุ่ม Power มาที่ “0” เพื่อเปิดสวิทซ์ให้เรียบร้อย
5. ถอดปลั๊กออกทุกครั้งเมื่อใช้งานเสร็จ

3. ตู้ปลอดเชื้อ (Biohazard Laminar Flow)



ภาพภาคผนวก ค.3 ตู้ปลอดเชื้อ (Bionazard Laminar Flow) ยี่ห้อ Clean รุ่น V5-V6

1. เสียบปลั๊กสายไฟให้เรียบร้อย หลังจากนั้นกดปุ่ม Reset ระบบ U.V.C เพื่อฆ่าเชื้อบริเวณพื้นที่ทำงานประมาณ 15 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาที่ตั้งไว้ ระบบจะตัดอัตโนมัติ (Automatic Timer) ถ้าต้องการเพิ่มหรือลดเวลาในการฆ่าเชื้อก็สามารถทำได้โดยปรับ 0 - 3 ชั่วโมงในกรณีระบบ U.V.C ยังไม่ถึงเวลาที่ตั้งเอาไว้ แต่มีความจำเป็นจะต้องเปิดเครื่อง ให้หมุนตัวปรับเวลามาทาง “0” จนสุด จน U.V.C ตัดไป และให้หมุนกับไปที่ตัวเลขเดิมเพื่อการใช้งานครั้งต่อไป ไฟที่โชว์ที่ Timer ติดสองดวง แสดงว่าหลอด U.V ถูกสั่งปิด ไฟโชว์ที่ Timer ติด 1 ดวง แสดงว่าหลอด U.V กำลังฆ่าเชื้ออยู่
2. เปิดสวิซ์แสงสว่าง (Light)
3. เปิดสวิทซ์ Blower ทำความสะอาดบริเวณพื้นที่ทำงานด้วยแอลกอฮอล์ 70 %
4. เครื่องพร้อมใช้
5. การปิดเครื่องโดยปิดสวิทซ์ Blower แล้วปิดแสงสว่างจากนั้นจึงกดปุ่ม Reset เพื่อตั้งเวลาฆ่าเชื้อ สำหรับทำการฆ่าเชื้อที่ตกค้างอยู่บริเวณใช้งาน ประมาณ 15 - 20 นาที เมื้อเสร็จสิ้นการฆ่าเชื้อถอดปลั๊กออกให้เรียบร้อย

การเปิดตะเกียงแก๊ส

1. เปิดวาวล์ที่ตัวถังแก๊สให้เรียบร้อย ถ้ามีปุ่ม Safty valve ให้กดปุ่มนี้ลงไป จากนั้นยกปุ่มแล้วหมุนปุ่มเปิดแก๊สที่อยู่ในตู้ Laminar Flow
2. จุดไฟด้วยไฟเช็ค แล้วปรับระดับไฟ โดยหมุนช่องปรับอากาศเข้าที่บริเวณตะเกียงปรับจนได้ไฟสีน้ำเงินเขียว
3. เมื่อใช้ตะเกียงเสร็จเรียบร้อยแล้ว ให้ทำการปิดวาวล์ที่ถังแก๊สเป็นอันดับแรก หลังจากเมื่อสังเกตว่าไม่มีเปลวไฟออกจากตะเกียงแล้ว ทำการหมุนปุ่มปิดสายท่อแก๊สที่อยู่ในเครื่อง Laminar Flow ให้อยู่ในลักษณะที่สังเกตเห็นในครั้งแรก

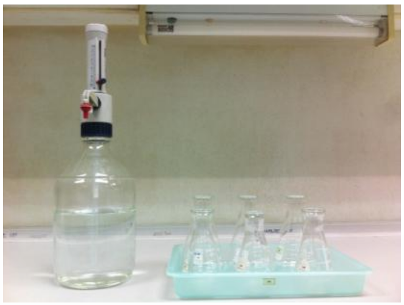
ภาคผนวก ง

วิธีการเคราะห์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

การวิเคราะห์ทางเคมี

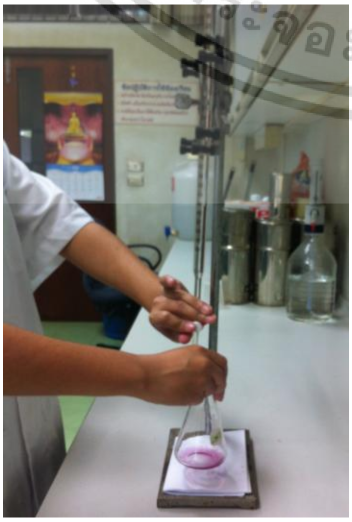
1. การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก (AOAC, 2000)



1. นำตัวอย่างน้ำหมักบีทรูทปริมาณ 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร

2. เติม phenolphthalein indicator 2 - 3 หยด

3. ไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐาน 0.1 นอร์มัล



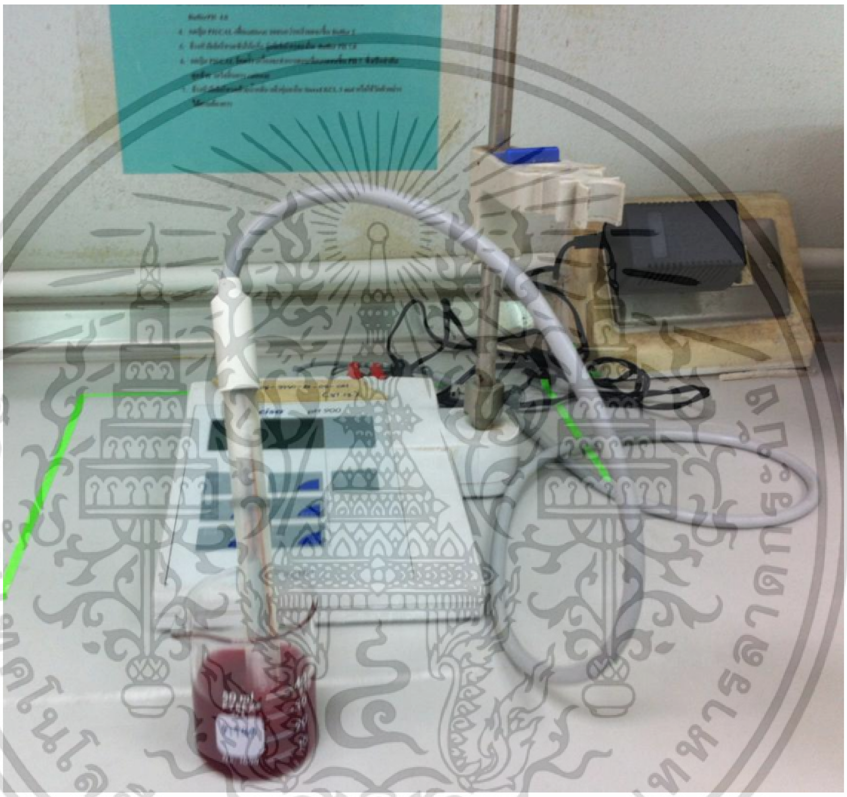
4. หยดสารละลายในบิวเรตต์ลงในฟลาสอย่างช้าๆ พร้อมทั้งแกว่งฟลาสด้วยมือขวาให้วนไปในทิศทางเดียวกัน จนกระทั่งถึงจุดยุติ

สูตรการคำนวณปริมาณกรด (ร้อยละ)

$$= \frac{\text{[NaOH] x จำนวนมิลิลิตรของ NaOH ที่ใช้ x น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของกรดแลคติก x 100}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง x 1000}}$$

เมื่อ น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของกรดแลคติก = 90

2. การวิเคราะห์ค่าพีเอช (AOAC, 2000)



เปิดเครื่องวัดพีเอช (pH meter) ทิ้งไว้อย่างน้อย 15 นาที เพื่อให้สัญญาณเสถียร จากนั้นปรับเทียบค่าพีเอชโดยใช้บัฟเฟอร์ 7 เป็นจุดที่1 และใช้บัฟเฟอร์ 4.01 เป็นจุดที่ 2 3. และทำการวัดค่าพีเอชโดยเครื่องวัดพีเอชโดยนำตัวอย่างน้ำหมักบีทรูทเทใส่บีเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร จุ่มอิเลคโทรดลงในบีกเกอร์ตัวอย่างแล้วคนเบาๆ รอจนกว่าค่าพีเอชไม่เปลี่ยนแปลงจึงอ่านค่า

3. การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายไดทั้งหมด (AOAC, 2000)

กอนทำการวัดปริมาณของแข็งที่ละลายไดทั้งหมดทุกครั้งตองทำการปรับมาตรฐานของเครื่อง (calibration) โดยใชน้ำกลั่นซึ่งคาที่อานไดปรับใหเทากับ 0 จากนั้นนำตัวอยางน้ำหมักบีทรูทมาวัดดวยเครื่อง Hand refractometer ที่มีสเกลวัดคาไดอยูในชวงระหวาง 0 - 32 ˚Brix บันทึกคาที่อานไดในหนวยของ ˚Brix

การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์

1. Spread plate technique

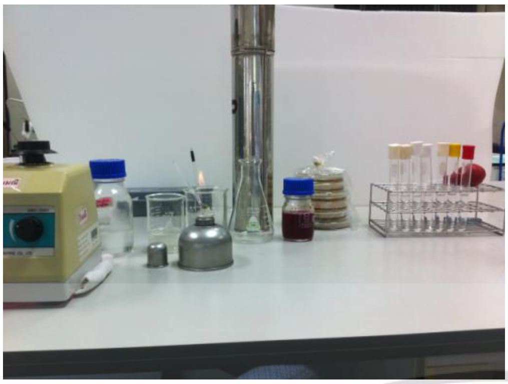
นำน้ำหมักบีทรูทที่ผ่านการบ่มด้วยอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง นำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้ปิเปตดูดตัวอย่างมา 1 ml. เติมลงในน้ำกลั่น 9 ml. เขย่าให้เข้ากัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างของค่าเจือจางที่เหมาะสม (Dilution) เช่น 10^{-1} 10^{-3} 10^{-5} อย่างละ 0.1ml. ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่เทอาหารแข็งไว้ก่อนหน้า แล้วใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมจุ่มแอลกอฮอล์ลนไฟเพื่อฆ่าเชื้อทิ้งไว้สักครู่ให้เย็น ทำการสเปรดโดยเกลี่ยตัวอย่างให้แผ่กระจายทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงแข็ง ซึ่งทำได้โดยใช้มือหนึ่งช่วยหมุนจาน โดยแตะแท่งแก้วไว้บนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมทั้งผลักจานหมุนไปรอบๆ ระวังอย่าให้วุ่นแตก หลังจากนั้นวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 20 นาทีเพื่อให้สารละลายตัวอย่างแห้งและซึมเข้าในวุ่นให้หมด เพื่อป้องกันการปนเปื้อนบ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียน เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นำไปบ่มเพาะเชื้อโดยไม่ต้องคว่ำจาน นับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่เจริญบนอาหารแข็งทั้งหมด โดยจำนวนจุลินทรีย์ต่อจานที่เหมาะสมในช่วง 25-250 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีใน 1 จาน และคำนวณหา cfu ต่อมิลลิกรัมของตัวอย่าง โดยคำนวณได้จาก ความสัมพันธ์ต่อไปนี้

cfu ต่อกรัม หรือ cfu ต่อมิลลิลิตร = n/d

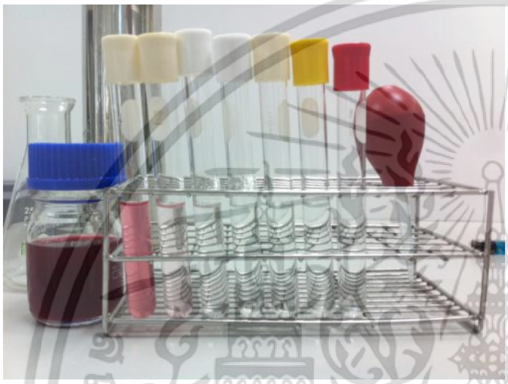
โดยที่ n = จำนวนโคโลนีเฉลี่ยใน 1 จาน ของจานที่มีโคโลนีอยู่ในช่วง 25-250

d = ความเจือจางของตัวอย่างที่นำมาเพาะในจานที่หาค่า n ได้

2. ตรวจนับจำนวนเซลล์ L. pentosus ที่มีชีวิต (AOAC, 1990)



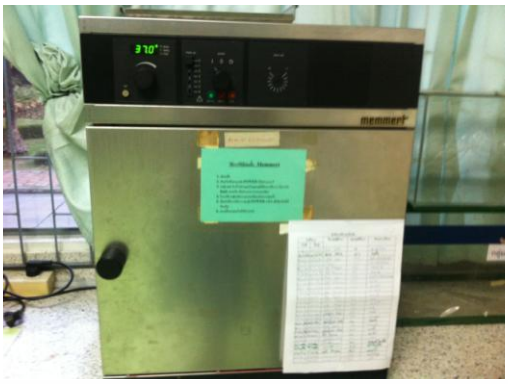
1. เตรียมอุปกรณ์



2. นำน้ำหมักบีทรูท 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันใช้ปิเปตดูดตัวอย่างของค่าเจือจางที่เหมาะสม (Dilution) เช่น 10^{-1} 10^{-3} 10^{-5}

3. ปิเปตสารละลายที่ระดับความเจือจางที่เตรียมไว้ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหาร MRS Agar

4. ทำการ spread plate โดยเกลี่ยตัวอย่างให้แผ่กระจายทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar



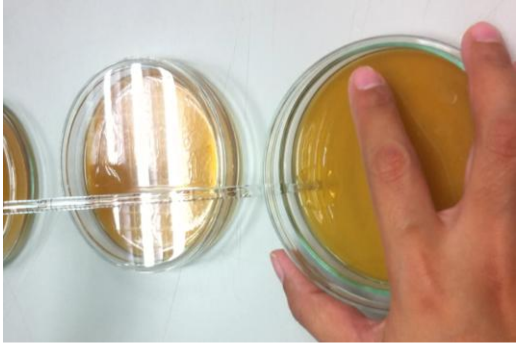
5. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจนับโคโลนีที่เกิดขึ้น (มีหน่วยเป็นโคโลนี/มิลลิลิตร)

3. ปริมาณยีสต์และรา (AOAC, 1990)

1. เตรียมอุปกรณ์

2. นำน้ำหมักบีทรูท 10 มิลลิลิตร ใส่ขวดที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

3. ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างของค่าเจือจางที่เหมาะสม (Dilution) เช่น 10^{-1} 10^{-3} 10^{-5}



4. ปิเปตสารละลายที่ระดับความเจือจางที่เตรียมไว้ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

5. ทำการ spread plate โดยเกลี่ยตัวอย่างให้แผ่กระจายทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

6. บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วตรวจนับโคโลนีที่เกิดขึ้น (มีหน่วยเป็น โคโลนี/มิลลิลิตร)

ภาคผนวก จ

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านความชอบ
โดยใช้สเกลแบบ 9 - point hedonic scale

ชื่อผู้ทดสอบชิม .... วันที่..... 19 ธันวาคม 2555..............
ชื่อผลิตภัณฑ์ ....น้ำหมักบีทรูท...................................... ชุดที่ ....1................................
คำนะนำ: กรุณาทดสอบตัวอย่างตามลำดับที่นำเสนอแล้วให้คะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ โดยกำหนดให้

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

และกรุณาบ้วนปากระหว่างตัวอย่างทุกครั้ง

คุณลักษณะ	รหัส			
	966	426	657	246
ลักษณะปรากฏ (ใส/ขุ่น/ตะกอน)				
สี				
กลิ่น				
รสชาติ				
ความชอบโดยรวม				

ข้อเสนอแนะ ....
....
....
....

แบบทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านความชอบ
โดยใช้สเกลแบบ 9 - point hedonic scale

ชื่อผู้ทดสอบชิม .... วันที่..... 19 ธันวาคม 2555..............
ชื่อผลิตภัณฑ์ ....น้ำหมักบีทรูท..................................... ชุดที่ ....2...............................
คำแนะนำ: กรุณาทดสอบตัวอย่างตามลำดับที่นำเสนอแล้วให้คะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ โดยกำหนดให้

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

และกรุณาบ้วนปากระหว่างตัวอย่างทุกครั้ง

คุณลักษณะ	รหัส			
	423	277	685	533
ลักษณะปรากฏ (ใส/ขุ่น/ตะกอน)				
สี				
กลิ่น				
รสชาติ				
ความชอบโดยรวม				

ข้อเสนอแนะ ....
....
....
....

แบบทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านความชอบ
โดยใช้สเกลแบบ 9 - point hedonic scale

ชื่อผู้ทดสอบชิม .... วันที่..... 15 กุมภาพันธ์ 2556........
ชื่อผลิตภัณฑ์ ....น้ำหมักบีทรูท...................................... ชุดที่ ....1.................................
คำนะนำ: กรุณาทดสอบตัวอย่างตามลำดับที่นำเสนอแล้วให้คะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ โดยกำหนดให้

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

และกรุณาบ้วนปากระหว่างตัวอย่างทุกครั้ง

คุณลักษณะ	รหัส			
	966	426	657	246
ลักษณะปรากฏ (ใส/ขุ่น/ตะกอน)				
สี				
กลิ่น				
รสชาติ				
ความชอบโดยรวม				

ข้อเสนอแนะ ....
....
....
....

แบบทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านความชอบ
โดยใช้สเกลแบบ 9 - point hedonic scale

ชื่อผู้ทดสอบชิม .... วันที่..... 15 กุมภาพันธ์ 2556........
ชื่อผลิตภัณฑ์ ....น้ำหมักบีทรูท...................................... ชุดที่ ....2................................
คำนะนำ: กรุณาทดสอบตัวอย่างตามลำดับที่นำเสนอแล้วให้คะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ โดยกำหนดให้

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

และกรุณาบ้วนปากระหว่างตัวอย่างทุกครั้ง

คุณลักษณะ	รหัส			
	423	277	685	533
ลักษณะปรากฏ (ใส/ขุ่น/ตะกอน)				
สี				
กลิ่น				
รสชาติ				
ความชอบโดยรวม				

ข้อเสนอแนะ ....
....
....
....

แบบทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านความชอบ
โดยใช้สเกลแบบ 9 - point hedonic scale

ชื่อผู้ทดสอบชิม .... วันที่..... 20 กุมภาพันธ์ 2556......
ชื่อผลิตภัณฑ์ ....น้ำหมักบีทรูท..................................... ชุดที่ ....1................................
คำนะนำ: กรุณาทดสอบตัวอย่างตามลำดับที่นำเสนอแล้วให้คะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ โดยกำหนดให้

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

และกรุณาบ้วนปากระหว่างตัวอย่างทุกครั้ง

คุณลักษณะ	รหัส			
	546	319	775	169
ลักษณะปรากฏ (ใส/ขุ่น/ตะกอน)				
สี				
กลิ่น				
รสชาติ				
ความชอบโดยรวม				

ข้อเสนอแนะ ....
....
....
....

แบบทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านความชอบ
โดยใช้สเกลแบบ 9 - point hedonic scale

ชื่อผู้ทดสอบชิม .... วันที่..... 20 กุมภาพันธ์ 2556......
ชื่อผลิตภัณฑ์ ....น้ำหมักบีทรูท...................................... ชุดที่ ....2.................................
คำแนะนำ: กรุณาทดสอบตัวอย่างตามลำดับที่นำเสนอแล้วให้คะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ โดยกำหนดให้

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

และกรุณาบ้วนปากระหว่างตัวอย่างทุกครั้ง

คุณลักษณะ	รหัส			
	896	275	513	222
ลักษณะปรากฏ (ใส/ขุ่น/ตะกอน)				
สี				
กลิ่น				
รสชาติ				
ความชอบโดยรวม				

ข้อเสนอแนะ ....
....
....
....

ตารางภาคผนวก ง.1 รหัสตัวอย่างน้ำหมักบีทรูท

ครั้งที่ 1 วันที่ 19 ธันวาคม 2555								
รหัส	966	426	657	246	423	277	685	533
สูตร	1	1	2	2	3	3	4	4
ความหวาน	10 Bx	15 Bx	10 Bx	15 Bx	10 Bx	15 Bx	10 Bx	15 Bx
ชุดที่	1				2			
ครั้งที่ 2 วันที่ 15 กุมภาพันธ์ 2556								
รหัส	966	426	657	246	423	277	685	533
สูตร	1	1	2	2	3	3	4	4
ความหวาน	10 Bx	15 Bx	10 Bx	15 Bx	10 Bx	15 Bx	10 Bx	15 Bx
ชุดที่	1				2			
ครั้งที่ 3 วันที่ 20 กุมภาพันธ์ 2556								
รหัส	546	319	775	169	896	275	513	222
สูตร	1	1	2	2	3	3	4	4
ความหวาน	10 ^{0}Bx	15 ^{0}Bx	10 ^{0}Bx	15 ^{0}Bx	10 ^{0}Bx	15 ^{0}Bx	10 ^{0}Bx	15 ^{0}Bx
ชุดที่	1				2			

ภาคผนวก ฉ

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางภาคผนวก ฉ.1 แสดงค่าเฉลี่ยของคะแนนลักษณะปรากฏของน้ำหมักบีทรูทสูตรต่างๆ และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

Treatment	N	Subset			
		1	2	3	4
Mix 15 Bx	75	4.9333			
Beet 15 Bx	75	5.0000	5.0000		
Beet : Carrot 15 Bx	75	5.1333	5.1333		
Beet : Pineapple 15 Bx	75	5.4800	5.4800	5.4800	
Mix 10 Bx	75		5.6133	5.6133	
Beet : Carrot 10 Bx	75			5.7733	
Beet : Pineapple 10 Bx	75				6.5200
Beet 10 Bx	75				6.7867
Sig.	75	.085	.052	.344	.358

ตารางภาคผนวก ฉ.2 แสดงค่าเฉลี่ยของคะแนนสีของน้ำหมักบีทรูทสูตรต่างๆ และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

Treatment	N	Subset				
		1	2	3	4	5
Mix 15 Bx	75	5.0400				
Beet 15 Bx	75	5.1500				
Beet : Pineapple 15 Bx	75	5.3300	5.3300			
Beet : Carrot 15 Bx	75	5.3600	5.3600			
Mix 10 Bx	75		5.7300	5.7300		
Beet : Carrot 10 Bx	75			5.9600		
Beet : Pineapple 10 Bx	75				6.760	
Beet 10 Bx	75					7.4400
Sig.	75	.294	.171	.409	1.000	1.000

ตารางภาคผนวก ฉ.3 แสดงค่าเฉลี่ยของคะแนนกลิ่นรสของน้ำหมักบีทรูทสูตรต่างๆ และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

Treatment	N	Subset		
		1	2	3
Beet 15 Bx	75	5.0000		
Beet : Carrot 15 Bx	75	5.0800	5.0800	
Beet 10 Bx	75	5.1333	5.1333	
Mix 15 Bx	75	5.4000	5.4000	5.4000
Mix 10 Bx	75	5.4267	5.4267	5.4267
Beet : Carrot 10 Bx	75	5.4400	5.4400	5.4400
Beet : Pineapple 10 Bx	75		5.6400	5.6400
Beet : Pineapple 15 Bx	75			5.8400
Sig.	75	.168	.076	.160

ตารางภาคผนวก ฉ.4 แสดงค่าเฉลี่ยของคะแนนรสชาติของน้ำหมักบีทรูทสูตรต่างๆ และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

Treatment	N	Subset			
		1	2	3	4
Beet : Carrot 15 Bx	75	5.2133			
Beet 10 Bx	75	5.3200	5.3200		
Beet : Pineapple 10 Bx	75	5.4533	5.4533	5.4533	
Beet 15 Bx	75	5.6667	5.6667	5.6667	
Beet : Carrot 10 Bx	75	5.8533	5.8533	5.8533	5.8533
Mix 10 Bx	75		6.0000	6.0000	6.0000
Mix 15 Bx	75			6.0533	6.0533
Beet : Pineapple 15 Bx	75				6.4267
Sig.	75	.072	.055	.093	.100

ตารางภาคผนวก ฉ.5 แสดงค่าเฉลี่ยของคะแนนความชอบโดยรวมของน้ำหมักบีทรูทสูตรต่างๆ และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

Treatment	N	Subset		
		1	2	3
Beet : Carrot 15 Bx	75	5.4000		
Beet 15 Bx	75	5.7200	5.7200	
Beet : Carrot 10 Bx	75	5.9200	5.9200	5.9200
Mix 15 Bx	75		6.0133	6.0133
Beet 10 Bx	75		6.1200	6.1200
Mix 10 Bx	75		6.1333	6.1333
Beet : Pineapple 10 Bx	75		6.2667	6.2667
Beet : Pineapple 15 Bx	75			6.4667
Sig.	75	.063	.071	.071

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ภาคผนวก ช

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำหมักพืช

มผช.๔๘๑/๒๕๔๗

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน
น้ำหมักพืช

๑. ขอบข่าย

๑.๑ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ครอบคลุมเฉพาะน้ำหมักพืชแท้และน้ำหมักพืชปรุงพร้อมดื่มบรรจุในภาชนะบรรจุ

๒. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ มีดังต่อไปนี้

๒.๑ น้ำหมักพืช หมายถึง เครื่องดื่มที่ได้จากการนำส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชชนิดเดียวหรือหลายชนิด เช่น ลูกยอ ลูกสมอไทย เหง้ากระชายดำ ผลมะขามป้อม ผลมะเม่า ที่สดหรือแห้งและอยู่ในสภาพดีมาล้างให้สะอาด อาจหั่นหรือตัดแต่ง นำมาผ่านกรรมวิธีการผลิตน้ำหมักพืชในภาชนะที่ไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำหมักพืช

๒.๒ กรรมวิธีการผลิตน้ำหมักพืช หมายถึง การหมักพืชหรือการสกัดน้ำจากพืช ด้วยจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดกรดแลกติกเป็นส่วนประกอบหลัก เช่น แลกโตบาซิลลัส เดลบรูคิอิ ซับส์ บัลการิคัส (Lactobacillusdelbrueckii subsp bulgaricus) แลกโตบาซิลลัส เคซิอิ (Lactobacillus casei) ไบฟิโดแบคทีเรียม (Bifidobacterium) แลกโตบาซิลลัส อะซิโดฟิลัส (Lactobacillus acidophillus) หรือจุลินทรีย์อื่นที่สามารถใช้ในการผลิตน้ำหมักพืช ทั้งนี้อาจมีจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักบ่มที่มีชีวิตคงเหลืออยู่

๒.๓ น้ำหมักพืชแท้ หมายถึง น้ำหมักพืชที่ไม่มีการเจือน้ำ และไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส

๒.๔ น้ำหมักพืชปรุง หมายถึง น้ำหมักพืชที่ทำจากน้ำหมักพืชแท้ อาจมีการเจือน้ำ ปรุงแต่งกลิ่นรส

๓. ชนิด

๓.๑ น้ำหมักพืช แบ่งออกเป็น ๒ ชนิด คือ

- ๓.๑.๑ น้ำหมักพืชแท้
- ๓.๑.๒ น้ำหมักพืชปรุง

๔. คุณลักษณะที่ต้องการ

๔.๑ ลักษณะทั่วไป

ต้องเป็นของเหลว อาจตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไว้ อาจมีชิ้นเนื้อพืชปนอยู่ได้บ้างเล็กน้อย

๔.๒ สี กลิ่น และกลิ่นรส

ต้องมีสี กลิ่น และกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้และกรรมวิธีการผลิต ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์

เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ ๙.๑ แล้ว ต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคนไม่น้อยกว่า ๓ คะแนน และไม่มีลักษณะใดได้ ๑ คะแนน จากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

๔.๓ สิ่งแปลกปลอม

ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วน หรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์

๔.๔ วัตถุเจือปนอาหาร (ถ้ามี)

หากมีการใช้วัตถุกันเสีย ให้ใช้ได้ตามชนิดและปริมาณที่กฎหมายกำหนด

๔.๕ เอทิลแอลกอฮอล์

ต้องไม่เกินร้อยละ ๓ โดยปริมาตร

๔.๖ เมทิลแอลกอฮอล์

ต้องไม่เกิน ๒๔๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

๔.๗ ความเป็นกรด-ด่าง

ต้องไม่เกิน ๔.๓

๔.๘ จุลินทรีย์

๔.๘.๑ ซาลโมเนลลา ต้องไม่พบในตัวอย่าง ๕๐ กรัม

๔.๘.๒ สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส ต้องไม่พบในตัวอย่าง ๑ มิลลิลิตร

๔.๘.๓ คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ ต้องไม่พบในตัวอย่าง ๐.๑ กรัม

๔.๘.๔ เอสเชอริเชีย โคไล โดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า ๒.๒ ต่อตัวอย่าง ๑๐๐ มิลลิลิตร

๔.๘.๕ ยีสต์และรา ต้องไม่เกิน ๑๐๐ โคโลนีต่อตัวอย่าง ๑ มิลลิลิตร

๕. สุขลักษณะ

๕.๑ สุขลักษณะในการทำน้ำหมักพืช ให้เป็นไปตามคำแนะนำตามภาคผนวก ก.

๖. การบรรจุ

๖.๑ ให้บรรจุน้ำหมักพืชในภาชนะบรรจุที่สะอาด ปิดได้สนิท และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกภายนอกได้

๖.๒ ปริมาตรสุทธิหรือน้ำหนักสุทธิของน้ำหมักพืชในแต่ละภาชนะบรรจุ ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก

๗. เครื่องหมายและฉลาก

๗.๑ ที่ภาชนะบรรจุน้ำหมักพืชทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้ให้เห็นได้ง่ายและ ชัดเจน

(๑) ชื่อเรียกผลิตภัณฑ์ เช่น น้ำหมักกระชายดำเข้มข้น น้ำหมักกระชายดำพร้อมดื่ม
(๒) ส่วนประกอบที่สำคัญ
(๓) ชนิดและปริมาณวัตถุเจือปนอาหาร (ถ้ามี)
(๔) ปริมาตรสุทธิหรือน้ำหนักสุทธิ
(๕) วัน เดือน ปีที่บรรจุ และวัน เดือน ปีที่หมดอายุ หรือข้อความว่า “ควรบริโภคก่อน (วัน เดือน ปี)”
(๖) ข้อแนะนำในการเก็บรักษาตามชนิดของผลิตภัณฑ์และกระบวนการผลิต
(๗) คำเตือนได้แก่ “หยุดบริโภคเมื่อมีอาการผิดปกติ” และคำเตือนพิเศษอื่นๆ ของแต่ละผลิตภัณฑ์
(๘) ชื่อผู้ทำ หรือสถานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน

ในกรณีใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

๘. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

๘.๑ รุ่นในที่นี้ หมายถึง น้ำหมักพืชชนิดเดียวกันที่มีส่วนประกอบเดียวกัน ทำในระยะเวลาเดียวกัน

๘.๒ การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้

๘.๒.๑ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับทดสอบสิ่งแปลกปลอม การบรรจุ และเครื่องหมายและฉลากให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๔.๓ ข้อ ๖. และข้อ ๗. จึงจะถือว่าน้ำหมักพืชรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๘.๒.๒ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบลักษณะทั่วไปและสี กลิ่น และกลิ่นรส ให้ใช้ตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบตามข้อ ๘.๒.๑ แล้ว จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๔.๑ และข้อ ๔.๒ จึงจะถือว่าน้ำหมักพืชรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๘.๒.๓ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบวัตถุเจือปนอาหาร เอทิลแอลกอฮอล์ เมทิลแอลกอฮอล์ และความเป็นกรด-ด่าง ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ นำมาทำเป็นตัวอย่างรวม โดยมีปริมาตรรวมไม่น้อยกว่า ๓๐๐ มิลลิลิตรหรือน้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า ๓๐๐ กรัม กรณีตัวอย่างไม่พอให้ชักตัวอย่างเพิ่มโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันให้ได้ตัวอย่างที่มีปริมาตรรวมหรือน้ำหนักรวมตามที่กำหนด เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๔.๔ ถึงข้อ ๔.๗ จึงจะถือว่าน้ำหมักพืชรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๘.๒.๔ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบจุลินทรีย์ ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันจำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ โดยมีปริมาตรรวมไม่น้อยกว่า ๕๐๐ มิลลิลิตรหรือน้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า ๓๐๐ กรัม กรณีตัวอย่างไม่พอให้ชักตัวอย่างเพิ่มโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันให้ได้ตัวอย่างที่มีปริมาตรรวมหรือน้ำหนักรวมตามที่กำหนด เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๔.๘ จึงจะถือว่าน้ำหมักพืชรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๘.๓ เกณฑ์ตัดสิน

ตัวอย่างน้ำหมักพืชต้องเป็นไปตามข้อ ๘.๒.๑ ข้อ ๘.๒.๒ ข้อ ๘.๒.๓ และข้อ ๘.๒.๔ ทุกข้อ จึงจะถือว่าน้ำหมักพืชรุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้

๙. การทดสอบ

๙.๑ การทดสอบลักษณะทั่วไปและสี กลิ่น และกลิ่นรส

๙.๑.๑ ให้แต่งตั้งคณะผู้ตรวจสอบ ประกอบด้วยผู้ที่มีความชำนาญในการตรวจสอบน้ำหมักพืชอย่างน้อย ๕ คน แต่ละคนจะแยกกันตรวจและให้คะแนนโดยอิสระ

๙.๑.๒ เทตัวอย่างน้ำหมักพืชลงในแก้วใสโดยมีกระดาษสีขาวเป็นฉากหลัง ตรวจสอบโดยการตรวจพินิจและชิม

๙.๑.๓ หลักเกณฑ์การให้คะแนน ให้เป็นไปตามตารางที่ ๑

ตารางที่ ๑ หลักเกณฑ์การให้คะแนน

(ข้อ ๙.๑.๓)

ลักษณะที่ตรวจสอบ	เกณฑ์ที่กำหนด	ระดับการตัดสิน (คะแนน)			
		ดีมาก	ดี	พอใช้	ต้องปรับปรุง
ลักษณะทั่วไป	ต้องเป็นของเหลว อาจตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไว้ อาจมีชิ้นเนื้อพืชปนอยู่ได้บ้างเล็กน้อย	๔	๓	๒	๑
สี กลิ่น และกลิ่นรส	ต้องมีสี กลิ่น และกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้และกรรมวิธีการผลิต ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์	๔	๓	๒	๑

๙.๒ การทดสอบสิ่งแปลกปลอม การบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก
ให้ตรวจพินิจ

๙.๓ การทดสอบวัตถุเจือปนอาหาร เอทิลแอลกอฮอล์ เมทิลแอลกอฮอล์ และความเป็นกรด-ด่าง
ให้ใช้วิธีทดสอบตาม AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

๙.๔ การทดสอบจุลินทรีย์
ให้ใช้วิธีทดสอบตาม AOAC หรือ BAM หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

๙.๕ การทดสอบปริมาตรสุทธิหรือน้ำหนักสุทธิ
ให้ใช้เครื่องวัดปริมาตรหรือเครื่องชั่ง ที่เหมาะสม

ภาคผนวก ก.

สุขลักษณะ

(ข้อ ๕.๑)

ก.๑ สถานที่ตั้งและอาคารที่ทำ

ก.๑.๑ สถานที่ตั้งอาคารและที่ใกล้เคียง อยู่ในที่ที่จะไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ทำเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย โดย

ก.๑.๑.๑ สถานที่ตั้งตัวอาคารและบริเวณโดยรอบ สะอาด ไม่มีน้ำขังแฉะและสกปรก

ก.๑.๑.๒ อยู่ห่างจากบริเวณหรือสถานที่ที่มีฝุ่น เขม่า ควัน มากผิดปกติ

ก.๑.๑.๓ ไม่อยู่ใกล้เคียงกับสถานที่น่ารังเกียจ เช่น บริเวณเพาะเลี้ยงสัตว์ แหล่งเก็บหรือกำจัดขยะ

ก.๑.๒ อาคารที่ทำมีขนาดเหมาะสม มีการออกแบบก่อสร้างในลักษณะที่ง่ายแก่การบำรุงรักษา การทำความสะอาด และสะดวกในการปฏิบัติงาน โดย

ก.๑.๒.๑ พื้น ฝาผนัง และเพดานของอาคารที่ทำ ก่อสร้างด้วยวัสดุที่คงทน เรียบ ทำความสะอาดและซ่อมแซมให้อยู่ในสภาพที่ดีตลอดเวลา

ก.๑.๒.๒ แยกบริเวณที่ทำออกเป็นสัดส่วน ไม่อยู่ใกล้ห้องสุขา ไม่มีสิ่งของที่ไม่ใช้แล้วหรือไม่เกี่ยวข้องกับการทำอยู่ในบริเวณที่ทำ

ก.๑.๒.๓ พื้นที่ปฏิบัติงานไม่แออัด มีแสงสว่างเพียงพอ และมีการระบายอากาศที่เหมาะสม

ก.๒ เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้ทำ

ก.๒.๑ ภาชนะหรืออุปกรณ์ในการทำที่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์ ทำจากวัสดุผิวเรียบ ไม่เป็นสนิม ล้างทำความสะอาดได้ง่าย

ก.๒.๒ เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้ สะอาด เหมาะสมกับการใช้งาน ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนติดตั้งได้ง่าย มีปริมาณเพียงพอ รวมทั้งสามารถทำความสะอาดได้ง่ายและทั่วถึง

ก.๓ การควบคุมกระบวนการทำ

ก.๓.๑ วัตถุดิบและส่วนผสมในการทำ สะอาด มีคุณภาพ มีการล้างหรือทำความสะอาดก่อนนำไปใช้

ก.๓.๒ การทำ การเก็บรักษา การขนย้าย และการขนส่ง ให้มีการป้องกันการปนเปื้อนและการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์

ก.๔ การสุขาภิบาล การบำรุงรักษา และการทำความสะอาด

ก.๔.๑ น้ำที่ใช้ล้างทำความสะอาดเครื่องมือ เครื่องจักร อุปกรณ์ และมือของผู้ทำ เป็นน้ำสะอาดและมีปริมาณเพียงพอ

ก.๔.๒ มีวิธีการป้องกันและกำจัดสัตว์นำเชื้อ แมลงและฝุ่นผง ไม่ให้เข้าในบริเวณที่ทำตามความเหมาะสม

ก.๔.๓ มีการกำจัดขยะ สิ่งสกปรก และน้ำทิ้ง อย่างเหมาะสม เพื่อไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนกลับลงสู่ผลิตภัณฑ์

ก.๔.๔ สารเคมีที่ใช้ล้างทำความสะอาด และใช้กำจัดสัตว์นำเชื้อและแมลง และใช้ในปริมาณที่เหมาะสมและเก็บแยกจากบริเวณที่ทำ เพื่อไม่ให้ปนเปื้อนลงสู่ผลิตภัณฑ์ได้

ก.๕ บุคลากรและสุขลักษณะของผู้ทำ

ผู้ทำทุกคน ต้องรักษาความสะอาดส่วนบุคคลให้ดี เช่น สวมเสื้อผ้าที่สะอาด มีผ้าคลุมเพื่อป้องกันไม่ให้เส้นผมหล่นลงในผลิตภัณฑ์ ไม่ไว้เล็บยาว ล้างมือให้สะอาดทุกครั้งก่อนปฏิบัติงาน หลังการใช้ห้องสุขา และเมื่อมือสกปรก

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวนลินี รัตนสุวรรณ
วัน เดือน ปีเกิด	26 เมษายน 2529 ที่จังหวัดสระบุรี
ที่อยู่	137/254 ถนนคู้บอน 27 แยก 21 แขวงท่าแร้ง เขตบางเขน กรุงเทพฯ 10220
ประวัติการศึกษา	2551 ครุศาสตร์บัณฑิต สาขาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประวัติการทำงาน	เจ้าหน้าที่ธุรการ โรงเรียนสุธีวิทยา พ.ศ. 2552-2555 ผู้ช่วยพนักงานลูกค้าสัมพันธ์ ธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตร พ.ศ. 2555-2556 เจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไป กรมทรัพยากรน้ำ พ.ศ. 2556-ปัจจุบัน