สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้ แม่โจ้ ๒๕๗๗

รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การคัดเลือกแบคทีเรียที่สร้างกรดได้เพื่อสกัดเพคตินจากน้ำผลไม้หมัก

Selection of Acid-Producing Bacteria for Extracting Pectin from Fermented Fruit Juice

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2557

จำนวน 50,000 บาท

หัวหน้าโครงการ นางสาวกนกวรรณ ตาลดี

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

14/10/58

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
บทคัดย่อ	จ
Abstract	ฉ
กิตติกรรมประกาศ	ช
คำนำ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	6
ผลการวิจัย	11
วิจารณ์ผลการวิจัย	37
สรุปผลการวิจัย	41
เอกสารอ้างอิง	42

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของแบคทีเรียที่สร้างกรดได้สายพันธุ์ต่างๆ 11

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	ระยะการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1	12
ภาพที่ 2	ระยะการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2	13
ภาพที่ 3	ระยะการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 3	14
ภาพที่ 4	ระยะการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4	15
ภาพที่ 5	จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ (หน่วย log CFU/ml) ในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำกล้วยที่ไม่ได้เติมเชื้อ	16
ภาพที่ 6	จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ (หน่วย log CFU/ml) ในน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำลูกยอที่ไม่ได้เติมเชื้อ	17
ภาพที่ 7	จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ (หน่วย log CFU/ml) ในน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำฝรั่งที่ไม่ได้เติมเชื้อ	19
ภาพที่ 8	จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ (หน่วย log CFU/ml) ในน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำมะกรูดที่ไม่ได้เติมเชื้อ	20
ภาพที่ 9	จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ (หน่วย log CFU/ml) ในน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำมะขามป้อมที่ไม่ได้เติมเชื้อ	21
ภาพที่ 10	ค่า pH ของน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำกล้วยที่ไม่ได้เติมเชื้อ	22
ภาพที่ 11	ค่า pH ของน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำลูกยอที่ไม่ได้เติมเชื้อ	23
ภาพที่ 12	ค่า pH ของน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำฝรั่งที่ไม่ได้เติมเชื้อ	24
ภาพที่ 13	ค่า pH ของน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำมะกรูดที่ไม่ได้เติมเชื้อ	25
ภาพที่ 14	ค่า pH ของน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำมะขามป้อมที่ไม่ได้เติมเชื้อ	26

ภาพที่ 15 ปริมาณเพคตินในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำกล้วยหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ 27

ภาพที่ 16 ปริมาณเพคตินในน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำลูกยอหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ 28

ภาพที่ 17 ปริมาณเพคตินในน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำฝรั่งหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ 29

ภาพที่ 18 ปริมาณเพคตินในน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำมะกรูดหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ 30

ภาพที่ 19 ปริมาณเพคตินในน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ 31

ภาพที่ 20 ปริมาณเพคตินที่สกัดจากน้ำผลไม้หมักชนิดต่างๆ ที่ไม่ได้เติมเชื้อ 32

ภาพที่ 21 ปริมาณเพคตินที่สกัดจากน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ ที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 33

ภาพที่ 22 ปริมาณเพคตินที่สกัดจากน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ ที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 34

ภาพที่ 23 ปริมาณเพคตินที่สกัดจากน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ ที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 35

ภาพที่ 24 ปริมาณเพคตินที่สกัดจากน้ำผลไม้หมักชนิดต่างๆ 36

การคัดเลือกแบคทีเรียที่สร้างกรดได้เพื่อสกัดเพคตินจากน้ำผลไม้หมัก

Selection of Acid-Producing Bacteria for Extracting Pectin from Fermented Fruit Juice

กนกวรรณ ตาลดี

Kanokwan Tandee

คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

น้ำผลไม้หมักนอกจากจะประกอบด้วยสารที่ส่งเสริมสุขภาพแล้ว ยังประกอบด้วยเพคติน ซึ่งเป็นสารปรับปรุงเนื้อสัมผัสของอาหาร แต่โดยทั่วไปการสกัดเพคตินจากผลไม้ต้องใช้สารเคมีหลายชนิด ทำให้ยุ่งยากต่อการทำบริสุทธิ์ อย่างไรก็ตามน้ำผลไม้หมักจะมีความเป็นกรดสูงซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพคติน ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องการคัดเลือกแบคทีเรียที่สร้างกรดได้สำหรับใช้สกัดเพคตินจากน้ำผลไม้หมัก เพื่อลดการใช้สารเคมีและเพิ่มมูลค่าของผลไม้ในท้องถิ่น โดยได้คัดแยกแบคทีเรียจำนวน 4 สายพันธุ์ จากน้ำกล้วยหมักและน้ำลูกยอหมัก และใช้แบคทีเรียที่เพิ่มจำนวนได้รวดเร็วและอยู่ในระยะกึ่งกลางของการเจริญจำนวน 3 สายพันธุ์ ในการหมักและสกัดเพคตินจากน้ำกล้วย น้ำฝรั่ง น้ำมะกรูด น้ำมะขามป้อม และน้ำลูกยอ ผลปรากฏว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 เหมาะสำหรับเป็นเชื้อตั้งต้นในการหมักน้ำกล้วย น้ำฝรั่ง น้ำมะกรูด และน้ำมะขามป้อม ส่วนแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 เหมาะสำหรับเป็นเชื้อตั้งต้นในการหมักน้ำลูกยอ เนื่องจากแบคทีเรียดังกล่าวสามารถส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นที่ทนกรดได้หรือสร้างกรดได้ ทำให้มีความเป็นกรดและปริมาณเพคตินมากกว่าน้ำผลไม้หมักที่ไม่ได้เติมเชื้อตั้งต้น โดยปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากน้ำมะขามป้อมหมักมีค่าสูงสุด รองลงมาคือน้ำมะกรูดหมัก สำหรับน้ำกล้วยหมัก น้ำฝรั่งหมัก และน้ำลูกยอหมัก มีปริมาณเพคตินใกล้เคียงกัน

คำสำคัญ: เพคติน แบคทีเรียที่สร้างกรดได้ น้ำผลไม้หมัก

Abstract

Fermented fruit juice is comprised of several health-promoting compounds including pectin which is also used as a texture-improving agent in food industry. Generally, extraction of pectin from fruits requires several chemicals which purification is laborious. Fermented fruit juice is, nonetheless, highly acidic and suitable for pectin isolation. Therefore, this research aims to select the acid-producing bacteria for extracting pectin from fermented fruit juice that could further reduce the use of chemicals and increase the economic value of local fruits. Four bacteria were first isolated from fermented banana and noni juice. Then, three isolates, which showed a rapid growth and were active at a mid-log phase, were individually used as a starter for fermenting and extracting pectin from banana, guava, key lime, gooseberry, and noni juice. Results indicated that isolate no. 1 was suitable for isolating pectin from banana, guava, key lime, and gooseberry juice while isolate no. 4 was proper for pectin extraction from noni juice. These bacteria were able to promote the growth of other acid-tolerating or -producing bacteria that were naturally present in juice and increase acidity as well as pectin content when compared to a control juice without a starter. The highest pectin content was obtained from fermented gooseberry and key lime juice, respectively. Fermented banana, guava, and noni juice were showed to contain comparable pectin content.

Keywords: Pectin, Acid-producing bacteria, Fermented fruit juice

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง การคัดเลือกแบคทีเรียที่สร้างกรดได้เพื่อสกัดเพคตินจากน้ำผลไม้หมัก (Selection of Acid-Producing Bacteria for Extracting Pectin from Fermented Fruit Juice) ได้สำเร็จลุล่วง โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2557 ผู้วิจัยขอขอบคุณ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อนุเคราะห์สถานที่และเครื่องมืออุปกรณ์ในการทำวิจัย

ผู้วิจัย

คำนำ

น้ำผักและผลไม้หมักได้แพร่หลายในกลุ่มผู้รักสุขภาพและผู้ที่สนับสนุนการแพทย์ทางเลือก (Alternative medicine) เนื่องจากน้ำหมักดังกล่าวประกอบด้วยสารสำคัญ (Functional ingredient) จากผักและผลไม้ซึ่งสามารถส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภคโดยตรง เช่น รงควัตถุ วิตามิน และเกลือแร่ ที่สามารถต่อต้านอนุมูลอิสระ ช่วยในการดูดซึมธาตุอาหาร ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งและปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้ลดความเสี่ยงของโรคมะเร็ง โรคหัวใจ และโรคเบาหวาน นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ (Probiotic) ซึ่งสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ และส่งผลต่อระบบทางเดินอาหารในทางสรีรวิทยา เช่น เพิ่มปริมาณกรดไขมันสายสั้น โปรตีน และแร่ธาตุที่ร่างกายสามารถดูดซึมได้ รวมถึงกระตุ้นการสร้างโปรตีนบนผนังลำไส้ (Mucin) เพิ่มความสามารถในการคัดเลือกสารของเยื่อบุทางเดินอาหาร และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน

เพคตินเป็นหนึ่งในสารสำคัญที่พบได้ทั่วไปในพืชและพบมากในผลไม้บางชนิด เช่น ผลไม้ตระกูลส้ม กล้วย ลูกยอ เนื่องจากร่างกายของมนุษย์ไม่สามารถย่อยเพคตินได้ สารนี้จึงจัดเป็นใยอาหาร (Dietary fiber) ที่มีประโยชน์ต่อทางเดินอาหารในด้านสัณฐานวิทยา เช่น กระตุ้นการแบ่งเซลล์และการพัฒนาของเยื่อบุผนังลำไส้ (Crypt and villus) รวมทั้งเป็นสารที่ส่งเสริมการเจริญและกิจกรรมของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ (Prebiotic) อย่างไรก็ตามปริมาณเพคตินที่พบในน้ำผลไม้หมักจะมีความหลากหลาย โดยขึ้นอยู่กับชนิดและสัดส่วนของผลไม้ นอกจากนี้ค่าความเป็นกรดด่างซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณกรดที่สร้างจากแบคทีเรียระหว่างการหมักยังมีผลต่อการสกัดเพคตินจากผลไม้

ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงต้องการคัดเลือกสายพันธุ์ของแบคทีเรียสำหรับใช้สกัดเพคตินจากน้ำผลไม้หมัก เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการหมักและเพิ่มมูลค่าของผลไม้ในท้องถิ่น นอกจากนี้องค์ความรู้จากงานวิจัยสามารถใช้พัฒนาวิธีการสกัดเพคตินจากผลไม้โดยไม่ใช้สารเคมีสำหรับอาหารอินทรีย์ ซึ่งสอดคล้องกับแผนพัฒนาของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ที่ต้องการสร้างองค์ความรู้ในการผลิตอาหารที่มีคุณภาพ มีคุณค่าทางโภชนาการ และสร้างความสมดุลทางธรรมชาติ สิ่งแวดล้อม ระบบนิเวศ วัฒนธรรม ประเพณี วิถีชีวิตและภูมิปัญญาท้องถิ่น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อคัดแยกสายพันธุ์แบคทีเรียที่สร้างกรดได้จากน้ำผลไม้หมัก
2. เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับการหมักน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ
3. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากน้ำผลไม้หมักชนิดต่างๆ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. การเพิ่มมูลค่าของผลไม้ในท้องถิ่น โดยเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดเพคตินจากน้ำผลไม้หมัก
2. การพัฒนาวิธีการสกัดเพคตินจากผลไม้โดยไม่ใช้สารเคมีสำหรับอาหารอินทรีย์
3. การตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารระดับชาติหรือนานาชาติ หรือการนำเสนอผลงานวิจัยในระดับชาติ

การตรวจเอกสาร

แนวคิดและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การบริโภคผักและผลไม้สามารถส่งเสริมสุขภาพโดยป้องกันหรือลดโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร เช่น ท้องผูก มะเร็งลำไส้ใหญ่ รวมถึงลดความเสี่ยงของโรคหัวใจและโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Mudgil and Barak, 2013) ส่วนหนึ่งเนื่องจากประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น ฟลาโวโนน (ผลไม้ตระกูลส้ม), ฟลาโวนอล (มะเขือเทศ หอมหัวใหญ่), แอนโทไซยานิน (แอปเปิ้ล ทับทิม) เป็นต้น (Wang *et al.*, 2011) นอกจากนี้การหมักผักและผลไม้ยังคัดเลือกและส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ (Probiotic) ซึ่งสร้างกรดไขมันสายสั้นหรือโปรตีนที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อที่ใกล้ชิดกันในทางวิวัฒนาการ (Bacteriocin) รวมถึงแย่งสารอาหารและตำแหน่งยึดเกาะบนผนังลำไส้ ส่งผลให้เกิดการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค เช่น *Salmonella* และป้องกันการสร้างสารพิษ ทำให้ระบบทางเดินอาหารมีความสมบูรณ์มากขึ้น (Chui *et al.*, 2008) นอกจากนี้แบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพยังสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโดยเพิ่มระดับแอนติบอดีและกิจกรรมของเซลล์ที่กำจัดสิ่งแปลกปลอม (Macrophage) หรือเซลล์ที่กำจัดเซลล์ติดเชื้อ (Natural killer cell) และทำให้เกิดการสร้างโปรตีนที่ควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน (Cytokine) โดยตัวอย่างของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพซึ่งพบหรือใช้ในผักและผลไม้หมักหรือแปรรูป (แครอท หัวบีท ผักกาด มะเขือเทศ ขึ้นฉ่าย ถั่วเหลือง มะกอก มะละกอ ผลไม้ตระกูลส้ม แอปเปิ้ล สับปะรด ทับทิม สาลี่ พลัม แคนตาลูป) ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus brevis, Lactobacillus casei, Lactobacillus delbrueckii, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus salivarius, Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium longum, Pedioccus pentosaceus,* และ *Saccharomyces boluradii* (Furtado-Martins *et al.*, 2013)

เพคตินเป็นโพลีแซกคาไรด์ที่พบในผนังเซลล์ของพืช เกิดจากการต่อกันของกรดกาแล็คทูโรนิกและน้ำตาล เช่น แรมโนส กาแล็คโตส อะราบิโนส ฟูโคส อะพิโอส ไซโลส เป็นต้น (Palin and Geitmann, 2012) เพคตินที่อยู่ในผลไม้ดิบหรือห่ามจะอยู่ในรูปของโปรโตเพคตินซึ่งไม่ละลายน้ำ แต่ผลไม้สุกจะมีเอนไซม์โพลีกาแล็คทูโรเนสและเพคตินเมทิลเอสเตอเรสซึ่งย่อยเพคตินจนอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ ทำให้ผลไม้มีเนื้อสัมผัสนิ่มลง (พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, 2557) นอกจากนี้จุลินทรีย์บางชนิด เช่น *Erwinia chrysanthemi* และ *Aspergillus niger* ยังสามารถสร้างเอนไซม์ดังกล่าวและเอนไซม์เพคตินไลเอสเพื่อย่อยเพคตินให้อยู่ในรูปที่นำไปใช้ได้ (Fries *et al.*, 2007; Johansson *et al.*, 2002) โดยทั่วไปเพคตินที่ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร

ถูกสกัดจากเปลือกของผลไม้ตระกูลส้ม กากของแอปเปิ้ล และหัวบีท ซึ่งจะพองตัวเป็นเจลเมื่อละลายน้ำ จึงทำหน้าที่เป็นสารก่อเจล (Gelling agent) สารเพิ่มความหนืด (Thickening agent) สารทำให้คงตัว (Stabilizer) และสารทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Emulsifier) ในผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องดื่ม และยา ทำให้กระบวนการผลิตสะดวกขึ้น และช่วยปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้ดีขึ้น เช่น ทำให้แยมและเยลลี่มีลักษณะอ่อนนุ่ม ป้องกันนมเปรี้ยวและโยเกิร์ตตกตะกอน ทำให้ซอสน้ำเชื่อม น้ำสลัด หรือเครื่องดื่มมีลักษณะข้นหนืด (ชวนิฏฐ์และคณะ, 2557) นอกจากนี้เพคตินยังมีฤทธิ์ยับยั้งอาการท้องเสียหรือเป็นตัวกลางของยาชนิดอื่นๆ (Papathanasopoulos and Camilleri, 2010)

เนื่องจากเอนไซม์ในลำไส้เล็กของมนุษย์ไม่สามารถย่อยเพคตินได้ เพคตินจึงจัดเป็นใยอาหาร (Dietary fiber) ชนิดหนึ่ง โดย Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses ได้ระบุคุณสมบัติทั่วไปของใยอาหารไว้ดังนี้ (1) กระตุ้นการเคลื่อนที่ของอาหารภายในลำไส้และเพิ่มปริมาณอุจจาระ (2) ลดระดับคอเลสเตอรอลทั้งหมดและ/หรือคอเรสเตอรอลที่จับกับไขมันไม่ดี (LDL cholesterol) (3) ลดระดับน้ำตาลและ/หรืออินซูลินในเลือด และ (4) ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียบางชนิดในลำไส้ใหญ่ เพคตินจึงถูกใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพ (Functional food) โดยมีคุณสมบัติชะลอการเคลื่อนที่ของอาหารภายในลำไส้ ทำให้ร่างกายรู้สึกอิ่มนาน ทั้งนี้ European Food Safety Agency (EFSA) ยอมรับว่าเพคตินสามารถลดระดับคอเลสเตอรอลและน้ำตาลในเลือดได้ (Phillips, 2013) นอกจากนี้เพคตินยังจัดเป็นสารที่ส่งเสริมการเจริญและกิจกรรมของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ (Prebiotic) ในลำไส้ใหญ่ (Saad *et al.*, 2013) เช่น เพคตินที่สกัดจากผลกีวีและผลไม้ตระกูลส้มสามารถยับยั้ง *Salmonella typhimurium* แต่ส่งเสริม *Lactobacillus rhamnosus* และ *Bifidobacterium bifidum* ในการยึดเกาะเซลล์บุผนังลำไส้ (Caco-2 cell) (Parkar *et al.*, 2010) เพคตินที่สกัดจากหัวบีทสามารถลดจำนวนแบคทีเรียที่มักจะก่อโรคในมนุษย์ (*Bacteroidetes*) และเพิ่มจำนวนแบคทีเรียที่มักพบในมนุษย์ที่สุขภาพแข็งแรง (*Firmicutes*) (Holck *et al.*, 2011) นอกจากนี้เพคตินยังช่วยให้ *Lactobacillus acidophilus* ซึ่งแบคทีเรียที่มีประโยชน์ สามารถต้านทานกรดและเอนไซม์ในกระเพาะอาหารได้ดีอีกด้วย (Nazzaro *et al.*, 2012)

เพคตินที่พบในผิวหรือเปลือกของผักและผลไม้มีปริมาณหลากหลาย เช่น 30% ในเปลือกส้ม, 15% ในผิวแอปเปิ้ล, 12% ในผิวหอมหัวใหญ่ เป็นต้น โดยสามารถละลายในน้ำร้อน ทำให้แบคทีเรียในลำไส้ใหญ่นำไปใช้ได้ดี และกลายเป็นเจลเมื่อทำให้เย็นลง ทำให้จับกับคอเรสเตอรอลและกรดน้ำดีในลำไส้และขับสารดังกล่าวออกนอกร่างกายได้ดี (Mudgil and Barak, 2013) ด้วยเหตุนี้เมตาบอลิซึมของร่างกายจึงมีการเปลี่ยนแปลง กล่าวคือตับจะนำคอเรสเตอรอลใน

เลือดมาสร้างกรดน้ำดีทดแทน (Brownlee, 2011) ทั้งนี้ค่าความเป็นกรดด่างจะมีผลต่อการสกัดเพคตินจากผักและผลไม้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเพคตินที่มีหมู่เมทิลจำนวนมาก (High methoxyl pectin) ซึ่งให้วุ้นที่เก็บน้ำได้ดีและมีลักษณะอ่อนนุ่ม กล่าวคือเมื่อลดค่าความเป็นกรดด่างจนถึง 3.0-3.3 เพคตินที่ไม่ไวต่อแคลเซียม (Non-calcium sensitive pectin) จะตกตะกอนก่อน หลังจากค่าความเป็นกรดด่างลดลงถึง 2.0 เพคตินที่ไวต่อแคลเซียม (Calcium sensitive pectin) จะตกตะกอนตามมา (Joye and Luzio, 2000; Papathanasopoulos and Camilleri, 2010) ดังนั้นปริมาณกรดที่สร้างจากแบคทีเรียระหว่างการหมักจึงมีผลต่อการสกัดเพคตินจากผักและผลไม้

กรอบแนวคิดของการวิจัย

1. คัดแยกแบคทีเรียที่สร้างกรดได้อย่างน้อย 3 สายพันธุ์ จากน้ำผลไม้หมัก
2. เปรียบเทียบความสามารถของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ในการหมักน้ำกล้วย น้ำลูกยอ น้ำฝรั่ง น้ำมะกรูด น้ำมะขามป้อม ภายในระยะเวลา 3 เดือน
3. เปรียบเทียบปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากน้ำกล้วยหมัก น้ำลูกยอหมัก น้ำฝรั่งหมัก น้ำมะกรูดหมัก และน้ำมะขามป้อมหมัก

สมมุติฐานการวิจัย

แบคทีเรียที่สร้างกรดปริมาณสูงจะสามารถลดค่าความเป็นกรดด่างของน้ำผลไม้หมักได้ดี ทำให้สามารถสกัดเพคตินจากน้ำผลไม้หมักได้มากขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. ผลไม้ ได้แก่ กล้วย, ลูกยอ, ฝรั่ง, มะกรูด และมะขามป้อม
2. น้ำตาลทราย
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ de Man, Rogosa and Sharpe (MRS)
4. ผงวุ้น (Agar)
5. โบรโมครีซอลเพอร์เพิล (Bromocresol purple)
6. แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate; $CaCO_3$)
7. โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride; NaCl)
8. กลีเซอรอล (Glycerol)
9. เอทานอล (Ethanol) 95%
10. พาราฟิล์ม (Parafilm)
11. หลอดปั่นเหวี่ยง (Centrifuge tube) ขนาด 15 ml
12. หลอดสำหรับการแช่แข็ง (Cryovial) ขนาด 2 ml
13. กล่องสำหรับการแช่แข็ง (Cryobox)
14. เครื่องผสมสาร (Vortex)
15. ออโต้ปิเปต (Autopipette) ขนาด 200 และ 1000 µl
16. ทิปสำหรับออโต้ปิเปต (Autopipette tip)
17. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
18. ขวดดูแรน (Duran bottle) ขนาด 250 และ 1000 ml
19. ห่วงถ่ายเชื้อ (Loop)
20. จานเพาะเชื้อ (Plate)
21. ชุดย้อมสีแกรม (Gram's staining kit) ซึ่งประกอบด้วย สารละลายคริสตัลไวโอเล็ต (Crystal violet), สารละลายไอโอดีน (Iodine), สารละลายอะซีโตน-แอลกอฮอล์ (Acetone-alcohol), และสารละลายซาฟรานีนโอ (Safranin O)
22. หลอดทดลอง
23. บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 250 ml
24. ปิเปตแก้ว (Glass pipette) ขนาด 10 ml
25. กรวยกรอง (Buchner funnel) และปั๊มสุญญากาศ

26. กระดาษกรอง Whatman no. 1
27. เครื่องกวนสารภายใต้สนามไฟฟ้า (Magnetic stirrer) และแท่งแม่เหล็ก (Magnetic bar)
28. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) และหลอดบรรจุสาร (Cuvette)
29. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH meter)
30. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
31. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
32. ตู้เย็นและตู้แช่แข็ง
33. เครื่องชั่งน้ำหนัก
34. อื่นๆ อาทิ สำลี, เทปกาว, ถุงร้อน

วิธีการวิจัย

<u>การคัดแยกสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่สร้างกรดได้จากน้ำผลไม้หมัก</u>

1. เตรียมน้ำลูกยอหมักและน้ำกล้วยหมัก โดยล้างลูกยอและกล้วยด้วยน้ำสะอาด หั่นเป็นแว่นหนา 1 cm จากนั้นผสมลูกยอหรือกล้วยปริมาณ 300 g กับน้ำสะอาดปริมาตร 500 ml และน้ำตาลทรายแดงปริมาณ 100 g ในขวดดูแรน ปิดฝาให้สนิทและวางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 สัปดาห์
2. ใช้ห่วงถ่ายเชื้อ (Transfer) จากน้ำลูกยอหมักและน้ำกล้วยหมัก โดยอาศัยเทคนิค Streak plate ลงบน MRS agar + Bromocresol purple 0.004% เพื่อทดสอบการสร้างกรด โดยจุลินทรีย์จะเปลี่ยนสีของ Bromocresol purple จากม่วงเป็นเหลือง บ่มเพลทที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง
3. เลือกโคโลนี (Isolate) ที่มีวงแหวนสีเหลืองล้อมรอบ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่สร้างกรดได้ อย่างน้อย 3 ชนิด มาย้อมสีแกรม
4. เพาะเลี้ยง (Restreak) แบคทีเรียแกรมบวกบน MRS agar + Bromocresol purple 0.004% อีกครั้ง เพื่อทำบริสุทธิ์เชื้อ (Purify) บ่มเพลทที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง
5. เขี่ยโคโลนี (Inoculate) ที่มีวงแหวนสีเหลืองล้อมรอบลงใน MRS broth บ่มหลอดทดลองที่อุณหภูมิ 37°C นาน 24 ชั่วโมง
6. ผสมเชื้อที่เจริญใน MRS broth ปริมาตร 1 ml กับ Glycerol 50% ปริมาตร 1 ml ในหลอดสำหรับการแช่แข็งและเก็บรักษา (Store) ที่อุณหภูมิ -20°C สำหรับใช้ในการวิจัยต่อไป

<u>การศึกษาระยะการเจริญของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์</u>

1. เขี่ยเชื้อ (Inoculate) ที่เก็บรักษาไว้ลงใน MRS broth บ่มหลอดทดลองที่อุณหภูมิ 37°C นาน 24 ชั่วโมง เพื่อปรับสภาพเชื้อ (Resuscitate)
2. ถ่ายเชื้อ (Transfer) ลงใน MRS broth อีกครั้ง บ่มหลอดทดลองที่อุณหภูมิ 37°C นาน 12 ชั่วโมง
3. ผสมเชื้อที่เจริญใน MRS broth ปริมาตร 0.15 ml กับ NaCl 0.85% ปริมาตร 2.85 ml แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 nm (OD_{600}) เพื่อประมาณจำนวนเชื้อ โดยใช้ NaCl 0.85% เป็น Blank
4. เจือจางเชื้อ (Dilute) ที่เจริญใน MRS broth ปริมาตร 0.1 ml กับ NaCl 0.85% ปริมาตร 0.9 ml เป็นลำดับ (Serial dilution) เพื่อให้ได้ความเจือจาง 10^{-1} จนถึง 10^{-7}
5. หยดเชื้อ (Drop) ปริมาตร 50 µl ความเจือจางละ 2 ซ้ำ ลงบน MRS agar เพื่อนับจำนวนเชื้อ บ่มเพลทที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง
6. ทำซ้ำข้อ 3) ถึง 5) ทุกชั่วโมง จนกระทั่งค่า OD_{600} คงที่

<u>การคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับการหมักน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ</u>

1. การเตรียมเชื้อ
   - เขี่ยเชื้อ (Inoculate) ที่เก็บรักษาไว้ลงใน MRS broth บ่มหลอดทดลองที่อุณหภูมิ 37°C นาน 24 ชั่วโมง เพื่อปรับสภาพเชื้อ (Resuscitate)
   - ถ่ายเชื้อ (Transfer) ลงใน MRS broth อีกครั้ง บ่มหลอดทดลองที่อุณหภูมิ 37°C จนเชื้อแต่ละสายพันธุ์อยู่ใน Mid log phase (ประมาณ 14-17 ชั่วโมง)
   - ผสมเชื้อที่เจริญใน MRS broth ปริมาตร 0.15 ml กับ NaCl 0.85% ปริมาตร 2.85 ml และวัดค่า OD_{600} โดยใช้ NaCl 0.85% เป็น Blank
   - ปรับความเข้มข้นของเชื้อใน MRS broth ให้เท่ากับ 9.00 log CFU/ml โดยใช้ NaCl 0.85%
   - ปั่นเก็บเชื้อ (Centrifuge) ปริมาตร 10 ml ที่ความเร็ว 3000×g นาน 10 นาที
   - ทิ้งส่วนใส (Supernatant) และละลายตะกอนเชื้อใน NaCl 0.85% ปริมาตร 10 ml เพื่อกำจัด MRS broth ให้มากที่สุด
   - ปั่นเก็บเชื้อ (Centrifuge) ที่ความเร็ว 3000×g นาน 10 นาที และทิ้งส่วนใส
   - ละลายตะกอนเชื้อใน NaCl 0.85% ปริมาตร 1 ml สำหรับใช้ในการหมัก

2. การเตรียมน้ำผลไม้
   - ล้างกล้วย, ลูกยอ, ฝรั่ง, มะกรูด และมะขามป้อมด้วยน้ำสะอาด หั่นเป็นแว่นหนา 1 cm หรือทุบให้เนื้อแตกกรณีมะขามป้อม
   - ผสมผลไม้ปริมาณ 60 g กับน้ำสะอาดปริมาตร 100 ml และน้ำตาลทรายแดงปริมาณ 20 g ในขวดดูแรน เพื่อให้ได้น้ำกล้วย, น้ำลูกยอ, น้ำฝรั่ง, น้ำมะกรูด และน้ำมะขามป้อม สำหรับใช้ในการหมัก
3. การหมักน้ำผลไม้
   - เติมเชื้อแต่ละสายพันธุ์ลงในน้ำผลไม้ โดยทำสายพันธุ์ละ 3 ซ้ำ สำหรับน้ำผลไม้แต่ละชนิด และน้ำผลไม้ที่ไม่ได้เติมเชื้อจะถูกใช้เป็นชุดควบคุม
   - ปิดฝาขวดให้สนิท และวางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 12 สัปดาห์ โดยเก็บตัวอย่างทุกสัปดาห์เพื่อวิเคราะห์จำนวนเชื้อและค่าความเป็นกรดด่าง (pH)
   - เจือจาง (Dilute) น้ำผลไม้หมักปริมาตร 0.1 ml กับ NaCl 0.85% ปริมาตร 0.9 ml เป็นลำดับ (Serial dilution) เพื่อให้ได้ความเจือจาง 10^{-1} จนถึง 10^{-7}
   - หยด (Drop) น้ำผลไม้หมักปริมาตร 50 µl ความเจือจางละ 2 ซ้ำ ลงบน MRS agar + Bromocresol purple 0.004% เพื่อนับจำนวนเชื้อที่ทนกรดได้ (MRS มีส่วนผสมของกรดซิตริก) และเชื้อที่สร้างกรดได้ (สีของ Bromocresol purple เปลี่ยนจากม่วงเป็นเหลือง)
   - แบ่งน้ำผลไม้หมักปริมาตร 3 ml ออกมาวัดค่า pH
   - หมักน้ำผลไม้จนครบ 9 เดือน ก่อนวิเคราะห์ปริมาณเพคติน

<u>การเปรียบเทียบปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากน้ำผลไม้หมักชนิดต่างๆ</u>

1. การสกัดเพคติน
   - แช่ขวดน้ำผลไม้หมักในอ่างน้ำอุณหภูมิ 95°C นาน 1 ชั่วโมง
   - กรองแยกกากผ่านสำลีในขณะที่น้ำผลไม้หมักยังร้อนอยู่
   - เก็บสารละลายที่กรองได้
2. การตกตะกอนเพคติน
   - ผสมเอทานอล 95% ที่เย็นจัด ปริมาตร 45 ml กับสารละลายที่กรองได้ ปริมาตร 40 ml พร้อมกับกวนส่วนผสมช้าๆ นาน 15 นาที จะเห็นตะกอนเพคติน
   - แช่ส่วนผสมตู้เย็นนาน 12 ชั่วโมง เพื่อให้ตะกอนเพคตินรวมตัวกันและตกตะกอนมากขึ้น
   - ชั่งน้ำหนักกระดาษกรอง Whatman no. 1 ที่จะใช้

- กรองตะกอนเพคตินผ่านกระดาษกรองโดยใช้ชุดกรองสุญญากาศ
- อบกระดาษกรองที่ 40°C นาน 3 ชั่วโมง
- ชั่งน้ำหนักกระดาษอีกครั้งและคำนวณน้ำหนักเพคตินที่ได้
- ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ต่อน้ำผลไม้หมัก 1 ขวด

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. ในการศึกษาระยะการเจริญของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อในหน่วย log CFU/ml หรือค่า OD_{600} กับเวลา จะถูกสร้างโดยโปรแกรม Microsoft Excel เพื่อประเมิน Lag, Log, and Stationary phase ของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์
2. ในการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับการหมักน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในหน่วย log CFU/ml รวมถึงค่า pH และปริมาณเพคตินของน้ำผลไม้หมักชนิดต่างๆ จะถูกเปรียบเทียบโดยโปรแกรม SPSS เพื่อประเมินสายพันธุ์แบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับการหมักผลไม้แต่ละชนิด

ผลการวิจัย

ลักษณะของแบคทีเรียที่สร้างกรดได้จากน้ำผลไม้หมัก

จากการการคัดแยกสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่สร้างกรดได้จากน้ำผลไม้หมัก พบแบคทีเรียที่สร้างกรดได้ทั้งหมด 4 สายพันธุ์ โดยมีลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ใต้กล้องจุลทรรศน์ดังแสดงในตารางที่ 1

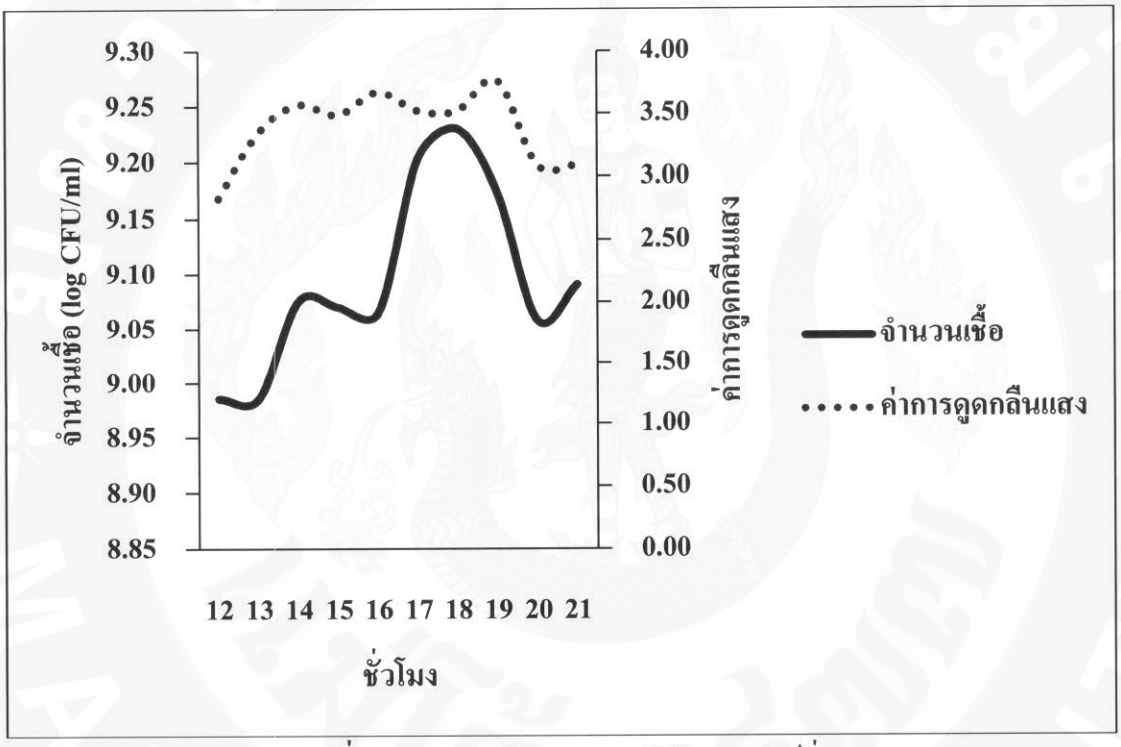
ตารางที่ 1 ลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของแบคทีเรียที่สร้างกรดได้สายพันธุ์ต่างๆ

สายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะเซลล์
1	เล็ก, กลมนูน, มันเงา, สีครีม-เหลืองอ่อน	กลม, แกรมบวก
2	ใหญ่, กลมนูน, มันเงา, สีขาว-ครีม	แท่งยาว, แกรมบวก
3	เล็ก, กลมนูน, มันเงา, สีครีม-เหลืองอ่อน	แท่งสั้น, แกรมบวก
4	เล็ก, กลมเรียบ, มันเงา, สีเหลืองอ่อน	แท่ง, แกรมบวก

ระยะการเจริญของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์

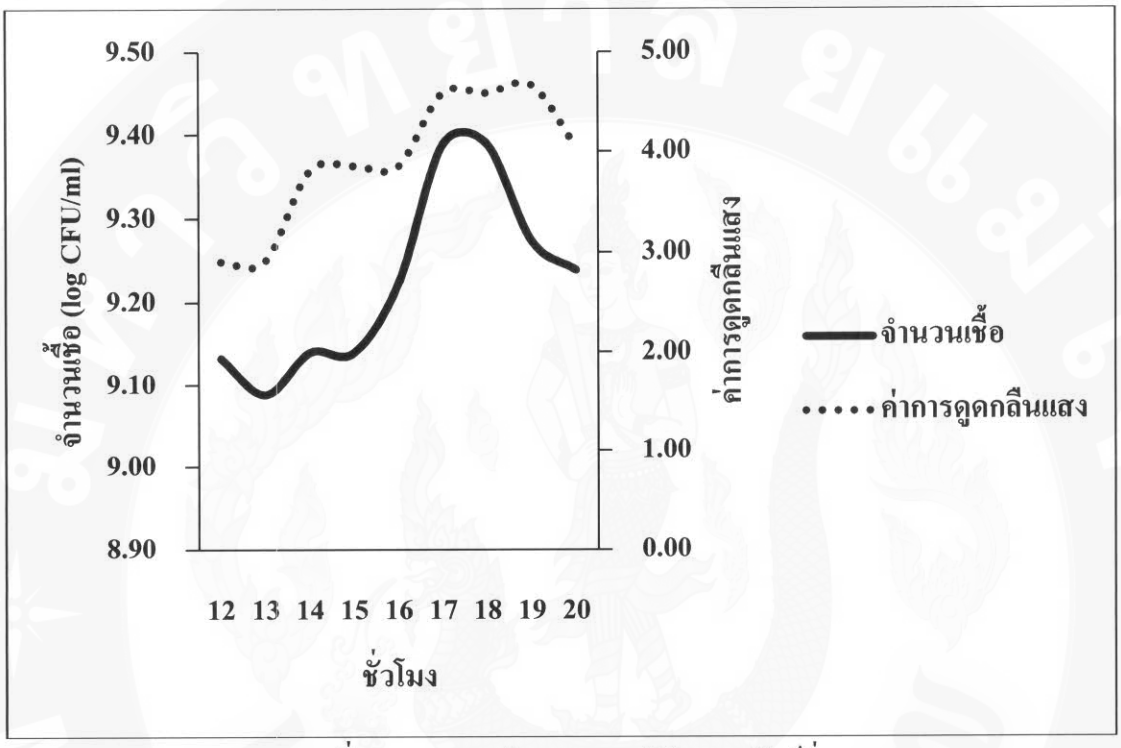
ผลการศึกษาระยะการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 3, และ 4 ที่อุณหภูมิ 37°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ใช้เพิ่มจำนวนเชื้อตั้งต้น แสดงในภาพที่ 1-4 ตามลำดับ

จากภาพที่ 1 จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 เริ่มเข้าสู่ Log phase ประมาณชั่วโมงที่ 16 และเข้าสู่ Stationary phase ประมาณชั่วโมงที่ 18 โดยมีจำนวนเชื้อสูงสุดคือ 9.23 log CFU/ml การเตรียมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 สำหรับใช้เป็นเชื้อตั้งต้นจึงควรเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37°C ประมาณ 17 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้ออยู่ใน Mid log phase ซึ่งเป็นระยะที่มีจำนวนเชื้อมากพอสมควรและเชื้อยังมีกิจกรรมตลอดเวลา (Active culture)



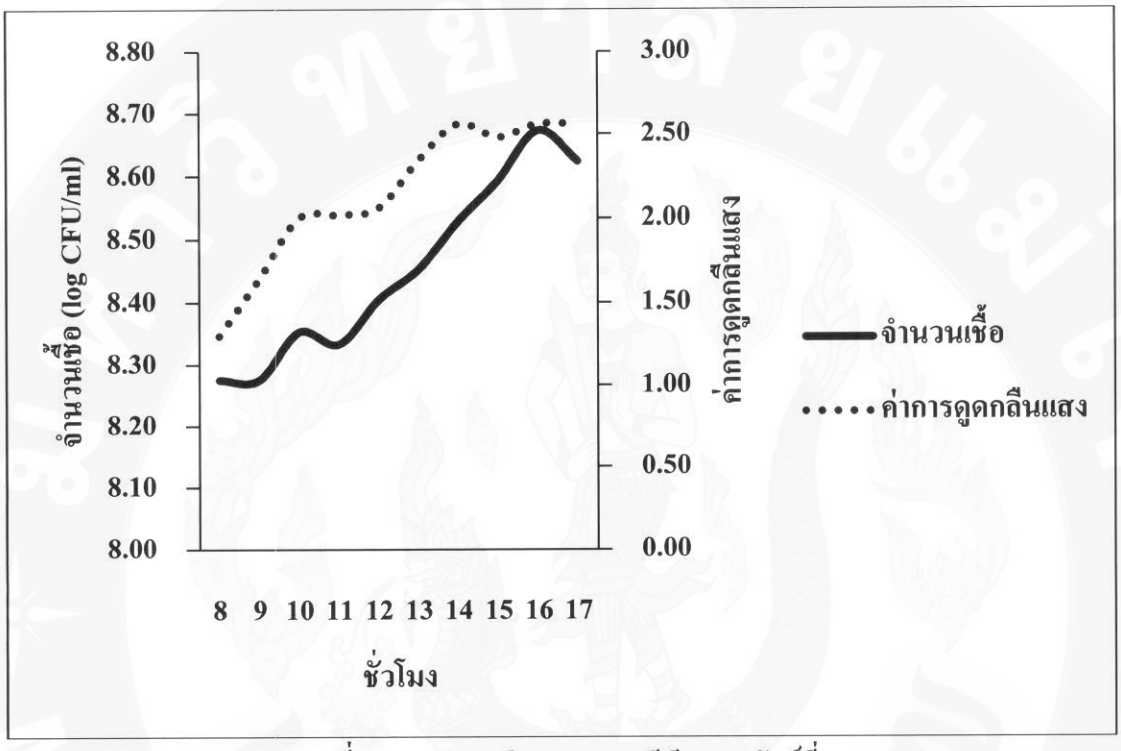
ภาพที่ 1 ระยะการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1

จากภาพที่ 2 จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 เริ่มเข้าสู่ Log phase ประมาณชั่วโมงที่ 15 และเข้าสู่ Stationary phase ประมาณชั่วโมงที่ 17 โดยมีจำนวนเชื้อสูงสุดคือ 9.39 log CFU/ml การเตรียมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 สำหรับใช้เป็นเชื้อตั้งต้นจึงควรเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37°C ประมาณ 16 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้ออยู่ใน Mid log phase ซึ่งเป็นระยะที่มีจำนวนเชื้อมากพอสมควรและเชื้อยังมีกิจกรรมตลอดเวลา (Active culture)



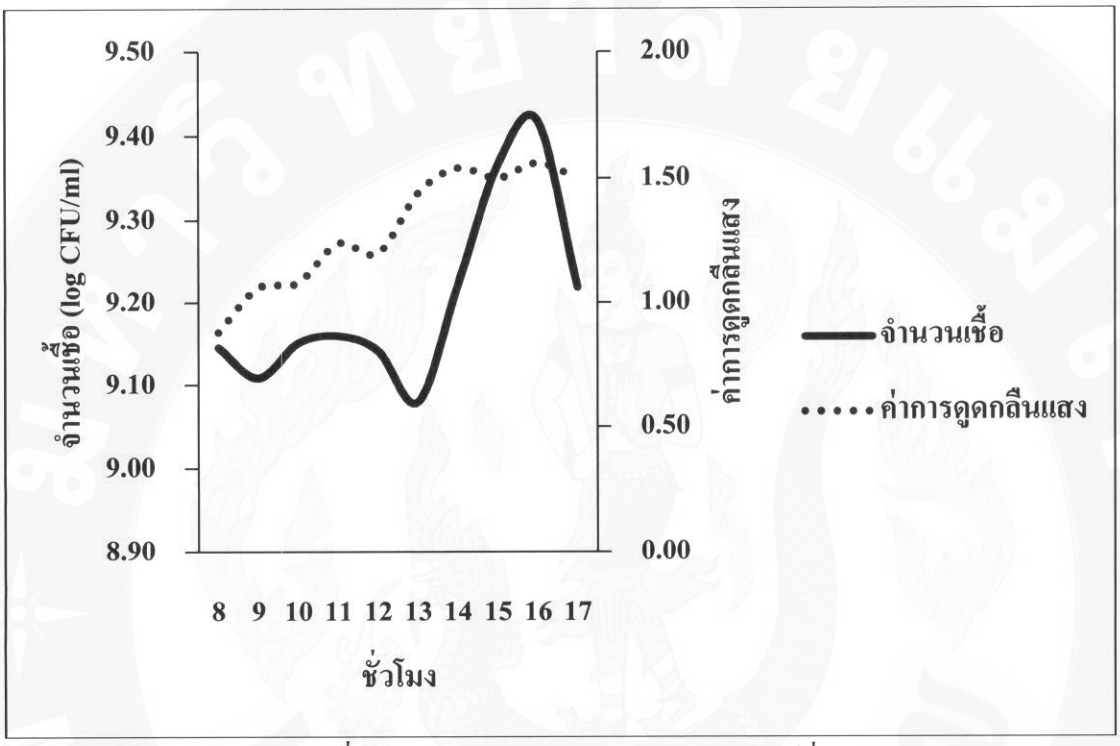
ภาพที่ 2 ระยะการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2

จากภาพที่ 3 จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 3 เริ่มเข้าสู่ Log phase ประมาณชั่วโมงที่ 11 และเข้าสู่ Stationary phase ประมาณชั่วโมงที่ 16 โดยมีจำนวนเชื้อสูงสุดคือ 8.67 log CFU/ml การเตรียมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 3 สำหรับใช้เป็นเชื้อตั้งต้นจึงควรเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37°C ประมาณ 14 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้ออยู่ใน Mid log phase ซึ่งเป็นระยะที่มีจำนวนเชื้อมากพอสมควรและเชื้อยังมีกิจกรรมตลอดเวลา (Active culture)



ภาพที่ 3 ระยะการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 3

จากภาพที่ 4 จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 เริ่มเข้าสู่ Log phase ประมาณชั่วโมงที่ 13 และเข้าสู่ Stationary phase ประมาณชั่วโมงที่ 16 โดยมีจำนวนเชื้อสูงสุดคือ 9.42 log CFU/ml การเตรียมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 สำหรับใช้เป็นเชื้อตั้งต้นจึงควรเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37°C ประมาณ 14 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้ออยู่ใน Mid log phase ซึ่งเป็นระยะที่มีจำนวนเชื้อมากพอสมควรและเชื้อยังมีกิจกรรมตลอดเวลา (Active culture)



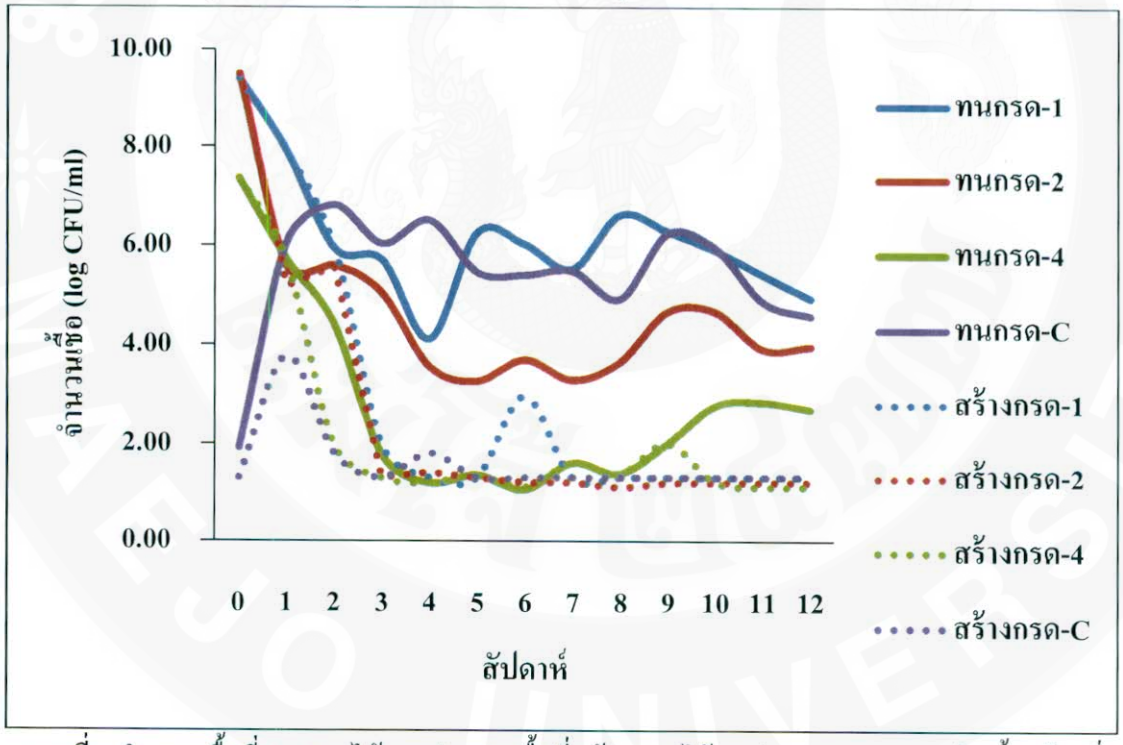
ภาพที่ 4 ระยะการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4

เนื่องจากจำนวนสูงสุดของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 3 ต่ำกว่า 9.00 log CFU/ml ซึ่งไม่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้เป็นเชื้อตั้งต้น ดังนั้นการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับการหมักน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ จึงดำเนินการเฉพาะแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4

สายพันธุ์แบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับการหมักน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ

จากการใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 เป็นเชื้อตั้งต้นในการหมักน้ำกล้วย, น้ำลูกยอ, น้ำฝรั่ง, น้ำมะกรูด และน้ำมะขามป้อมที่อุณหภูมิห้อง พบว่าจำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ (หน่วย log CFU/ml) ในน้ำผลไม้หมักแต่ละชนิดมีการเปลี่ยนแปลงดังแสดงในภาพที่ 5-9 ตามลำดับ

จากภาพที่ 5 จะเห็นได้ว่าจำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 ที่อุณหภูมิห้อง มีค่าลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ทั้งนี้จำนวนสูงสุดของเชื้อที่ทนกรดได้และเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำกล้วยหมักคือ 9.50 log CFU/ml โดยพบในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 เมื่อเริ่มต้นการหมัก (สัปดาห์ที่ 0) รองลงมาคือ 9.41 log CFU/ml โดยพบในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 อย่างไรก็ตามจำนวนเชื้อที่ทนกรดได้ในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 มีค่าสูงกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ในสัปดาห์ที่ 12 คือ 4.94 และ 3.97 log CFU/ml ตามลำดับ นอกจากนี้จำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 ยังมีค่าสูงกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ในสัปดาห์ที่ 0-3

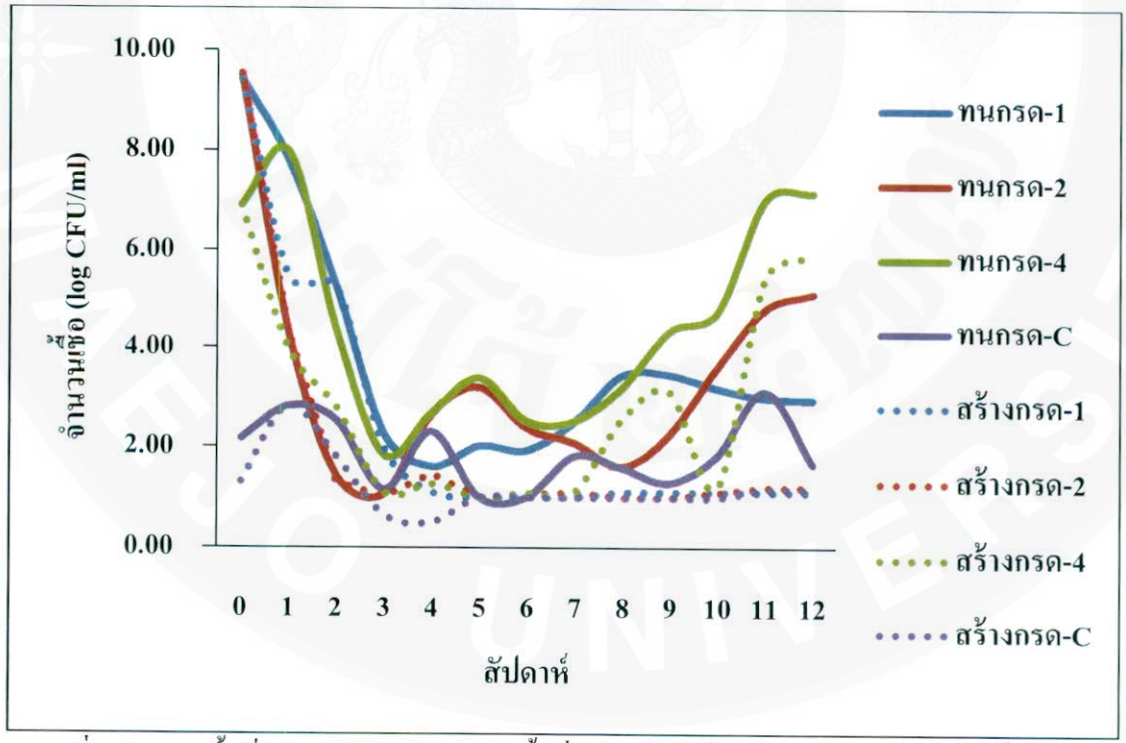


ภาพที่ 5 จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ (หน่วย log CFU/ml) ในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำกล้วยหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ

โดยรวมแล้ว จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้ในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 (6.15 log CFU/ml) มีค่าไม่แตกต่างจากน้ำกล้วยหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (5.47 log CFU/ml) แต่จำนวน

เชื้อที่ทนกรดได้ในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และ 4 มีค่าต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ 4.65 และ 2.78 log CFU/ml ตามลำดับ นอกจากนี้จำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 (2.97 log CFU/ml) ยังมีค่าสูงกว่าน้ำกล้วยหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (1.57 log CFU/ml) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่จำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และ 4 มีค่าใกล้เคียงกับน้ำกล้วยหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ คือ 2.50 และ 2.18 log CFU/ml ตามลำดับ ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 จึงเหมาะสมสำหรับการหมักน้ำกล้วย

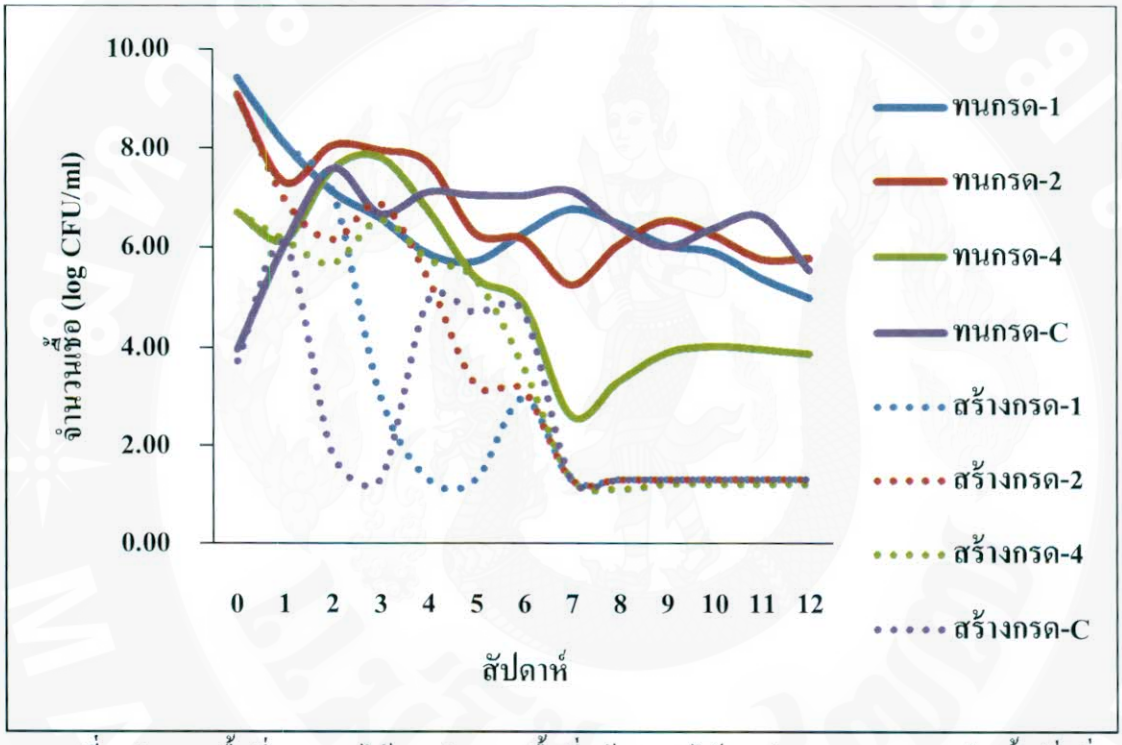
จากภาพที่ 6 จะเห็นได้ว่าจำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 ที่อุณหภูมิห้อง มีค่าลดลงจนถึงสัปดาห์ที่ 3-4 หลังจากนั้นจำนวนเชื้อที่ทนกรดได้จะเพิ่มขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 12 ทั้งนี้จำนวนสูงสุดของเชื้อที่ทนกรดได้และเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำลูกยอหมักคือ 9.54 log CFU/ml โดยพบในน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 เมื่อเริ่มต้นการหมัก (สัปดาห์ที่ 0) รองลงมาคือ 9.43 log CFU/ml โดยพบในน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 อย่างไรก็ตามจำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 มีค่าสูงกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ ในสัปดาห์ที่ 12 คือ 7.15 และ 5.89 log CFU/ml ตามลำดับ นอกจากนี้การหมักน้ำลูกยอโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 ยังเพิ่มจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 7 เป็นต้นไป



ภาพที่ 6 จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ (หน่วย log CFU/ml) ในน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำลูกยอหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ

โดยรวมแล้ว จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้ในน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 (4.51 log CFU/ml) มีค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และจำนวนเชื้อที่ทนกรดได้ในน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 2 มีค่าสูงกว่าน้ำลูกยอหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (1.86 log CFU/ml) คือ 3.75 และ 3.39 log CFU/ml ตามลำดับ นอกจากนี้จำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 4 (2.44 และ 2.87 log CFU/ml) ยังมีค่าสูงกว่าน้ำลูกยอหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (1.18 log CFU/ml) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่จำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 มีค่าใกล้เคียงกับน้ำลูกยอหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (2.02 log CFU/ml) ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 จึงเหมาะสมสำหรับการหมักน้ำลูกยอ

จากภาพที่ 7 จะเห็นได้ว่าจำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 ที่อุณหภูมิห้อง มีค่าลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ทั้งนี้จำนวนสูงสุดของเชื้อที่ทนกรดได้และเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำฝรั่งหมักคือ 9.42 log CFU/ml โดยพบในน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 เมื่อเริ่มต้นการหมัก (สัปดาห์ที่ 0) รองลงมาคือ 9.08 log CFU/ml โดยพบในน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 อย่างไรก็ตามจำนวนเชื้อที่ทนกรดได้ในน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 มีค่าสูงกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 ในสัปดาห์ที่ 12 คือ 5.78 และ 4.99 log CFU/ml ตามลำดับ นอกจากนี้จำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ยังมีค่าสูงกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 ในสัปดาห์ที่ 3-6

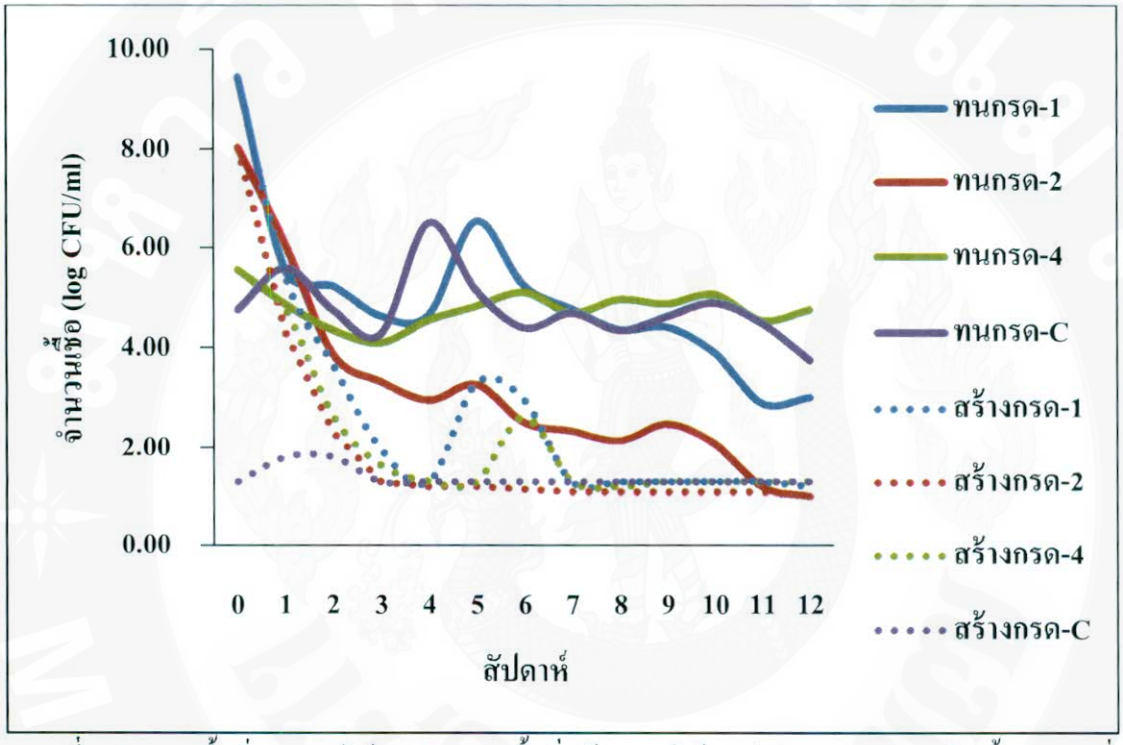


ภาพที่ 7 จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ (หน่วย log CFU/ml) ในน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำฝรั่งหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ

โดยรวมแล้ว จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้ในน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 2 (6.51 และ 6.77 log CFU/ml) มีค่าไม่แตกต่างจากน้ำฝรั่งหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (6.47 log CFU/ml) แต่จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้ในน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 มีค่าต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ 5.14 log CFU/ml อย่างไรก็ตามจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 (3.15, 3.74 และ 3.61 log CFU/ml) มีค่าไม่แตกต่างจากน้ำฝรั่งหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (2.67 log CFU/ml) ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 จึงเหมาะสมสำหรับการหมัก

น้ำฝรั่ง ซึ่งโดยธรรมชาติมีเชื้อจากวัตถุดิบที่ทนกรดได้ในระดับที่สูงกว่า (3.96-7.57 log CFU/ml) น้ำผลไม้ชนิดอื่นๆ

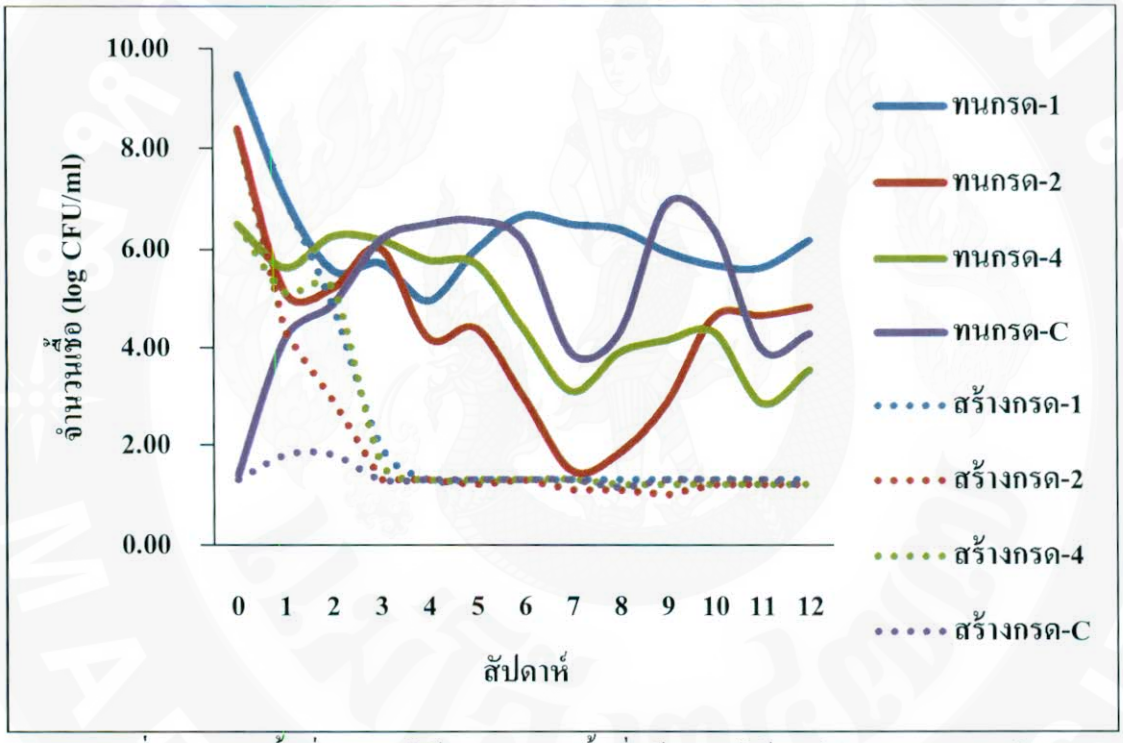
จากภาพที่ 8 จะเห็นได้ว่าจำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 ที่อุณหภูมิห้อง มีค่าลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ทั้งนี้จำนวนสูงสุดของเชื้อที่ทนกรดได้และเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำมะกรูดหมักคือ 9.46 log CFU/ml โดยพบในน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 เมื่อเริ่มต้นการหมัก (สัปดาห์ที่ 0) รองลงมาคือ 8.03 log CFU/ml โดยพบในน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2



ภาพที่ 8 จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ (หน่วย log CFU/ml) ในน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำมะกรูดหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ

โดยรวมแล้ว จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้ในน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 4 (4.97 และ 4.78 log CFU/ml) มีค่าไม่แตกต่างจากน้ำมะกรูดหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (4.78 log CFU/ml) แต่จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้ในน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 มีค่าต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ 3.17 log CFU/ml นอกจากนี้จำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 (2.75 log CFU/ml) ยังมีค่าสูงกว่าน้ำมะกรูดหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (1.38 log CFU/ml) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่จำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และ 4 มีค่าใกล้เคียงกับน้ำมะกรูดหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ คือ 2.00 และ 2.12 log CFU/ml ตามลำดับ ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 จึงเหมาะสมสำหรับการหมักน้ำมะกรูด

จากภาพที่ 9 จะเห็นได้ว่าจำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 ที่อุณหภูมิห้อง มีค่าลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ทั้งนี้จำนวนสูงสุดของเชื้อที่ทนกรดได้และเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำมะขามป้อมหมักคือ 9.48 log CFU/ml โดยพบในน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 เมื่อเริ่มต้นการหมัก (สัปดาห์ที่ 0) รองลงมาคือ 8.37 log CFU/ml โดยพบในน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 นอกจากนี้จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้ในน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 มีค่าสูงกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ในสัปดาห์ที่ 12 คือ 6.17 และ 4.84 log CFU/ml ตามลำดับ อีกทั้งจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 มีค่าสูงกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ในสัปดาห์ที่ 0-3



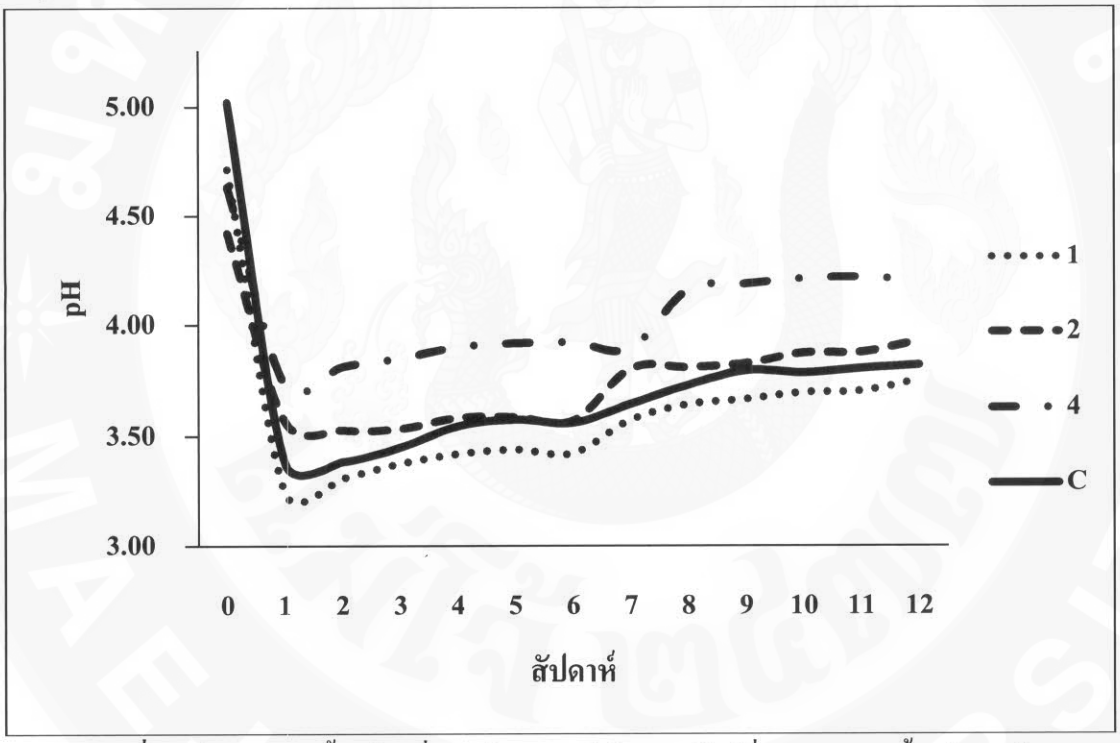
ภาพที่ 9 จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้และจำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ (หน่วย log CFU/ml) ในน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ

โดยรวมแล้ว จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้ในน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 (6.29 log CFU/ml) มีค่าสูงกว่าน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (5.12 log CFU/ml) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่จำนวนเชื้อที่ทนกรดได้ในน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และ 4 มีค่าไม่แตกต่างจากน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ คือ 4.35 และ 4.79 log CFU/ml ตามลำดับ นอกจากนี้จำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 4 (2.69 และ 2.28 log CFU/ml) ยังมีค่าสูงกว่าน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (1.35 log

CFU/ml) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่จำนวนเชื้อที่สร้างกรดได้ในน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 มีค่าใกล้เคียงกับน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ คือ 2.11 log CFU/ml ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 จึงเหมาะสมสำหรับการหมักน้ำมะขามป้อม

จากการใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 เป็นเชื้อตั้งต้นในการหมักน้ำกล้วย, น้ำลูกยอ, น้ำฝรั่ง, น้ำมะกรูด และน้ำมะขามป้อมที่อุณหภูมิห้อง พบว่าค่า pH ในน้ำผลไม้หมักแต่ละชนิดมีการเปลี่ยนแปลงดังแสดงในภาพที่ 10-14 ตามลำดับ

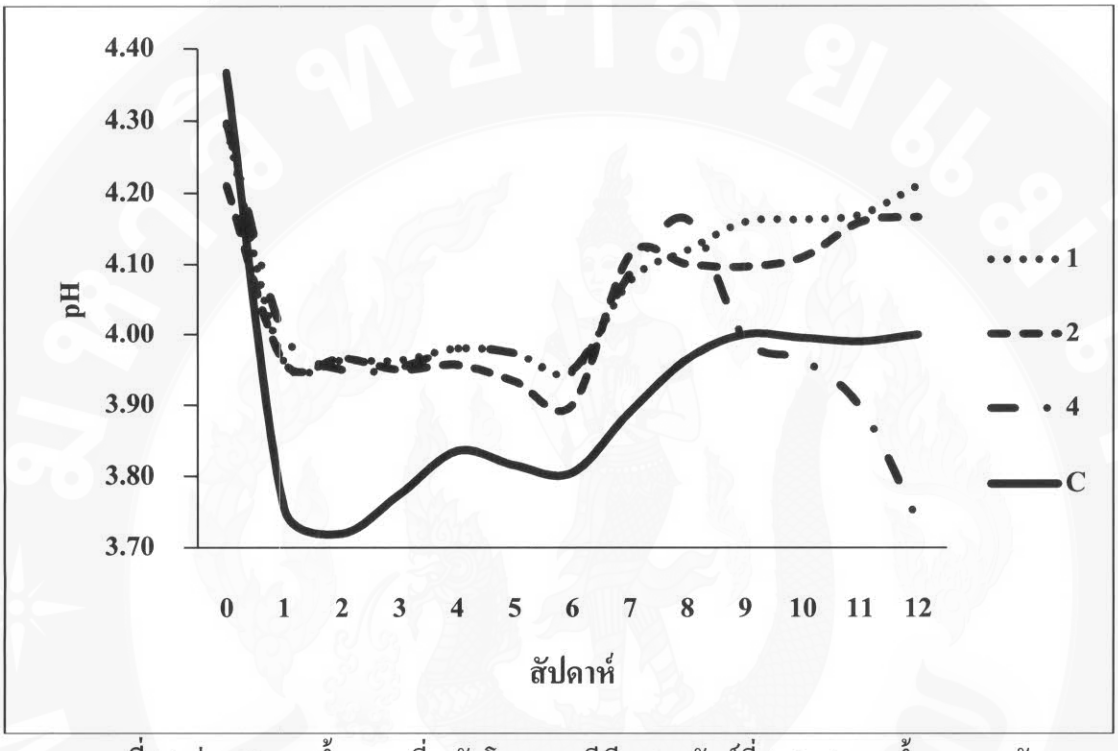
จากภาพที่ 10 จะเห็นได้ว่าค่า pH ของน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 ที่อุณหภูมิห้อง ลดลงต่ำสุดในสัปดาห์ที่ 1 หลังจากนั้นค่อยๆ สูงขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 12 ทั้งนี้ค่า pH ต่ำสุดของน้ำกล้วยหมักคือ 3.24 โดยพบในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 ซึ่งต่ำกว่าค่า pH ของน้ำกล้วยหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ



ภาพที่ 10 ค่า pH ของน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำกล้วยหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ

โดยรวมแล้ว ค่า pH ของน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 2 (3.61 และ 3.76) มีค่าไม่แตกต่างจากน้ำกล้วยหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (3.71) แต่ค่า pH ของน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 (4.05) มีค่าสูงกว่าน้ำกล้วยหมักที่ไม่ได้เติมเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 จึงเหมาะสมสำหรับการหมักน้ำกล้วย เพราะลดค่า pH ของน้ำกล้วยหมักได้ดี

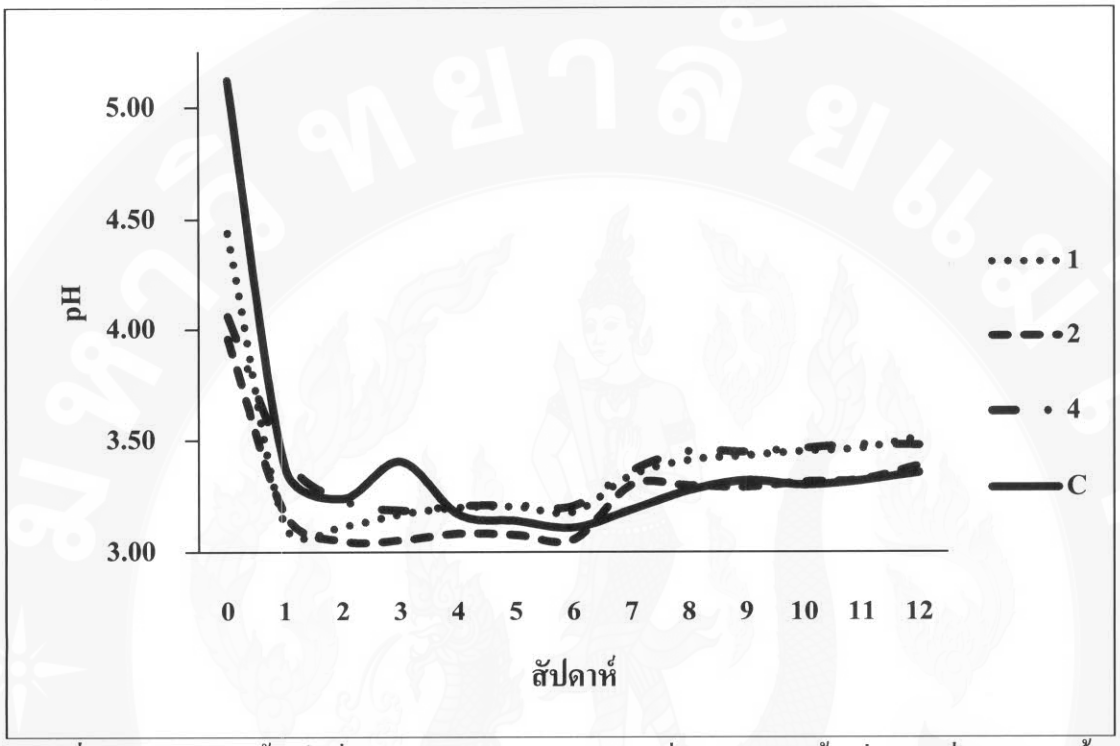
จากภาพที่ 11 จะเห็นได้ว่าค่า pH ของน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 ที่อุณหภูมิห้อง ลดลงต่ำสุดในสัปดาห์ที่ 1 หลังจากนั้นค่อยๆ สูงขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 7-9 และคงที่จนถึงสัปดาห์ที่ 12 สำหรับแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 2 หรือลดลงจนถึงสัปดาห์ที่ 12 สำหรับแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 ทั้งนี้ค่า pH ต่ำสุดของน้ำลูกยอหมักคือ 3.74 โดยพบในน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 ในสัปดาห์ที่ 12



ภาพที่ 11 ค่า pH ของน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำลูกยอหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ

โดยรวมแล้ว ค่า pH ของน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 (4.08, 4.05 และ 4.00) มีค่าสูงกว่าน้ำลูกยอหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (3.91) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 ซึ่งลดค่า pH ของน้ำลูกยอหมักได้ดี จึงเหมาะสมสำหรับการหมักน้ำลูกยอที่โดยธรรมชาติมีเชื้อจากวัตถุดิบซึ่งลดค่า pH ในสัปดาห์ที่ 2 (3.72) แต่หลังจากนั้นค่า pH ของน้ำลูกยอหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อจะสูงขึ้นและคงที่ในสัปดาห์ที่ 9

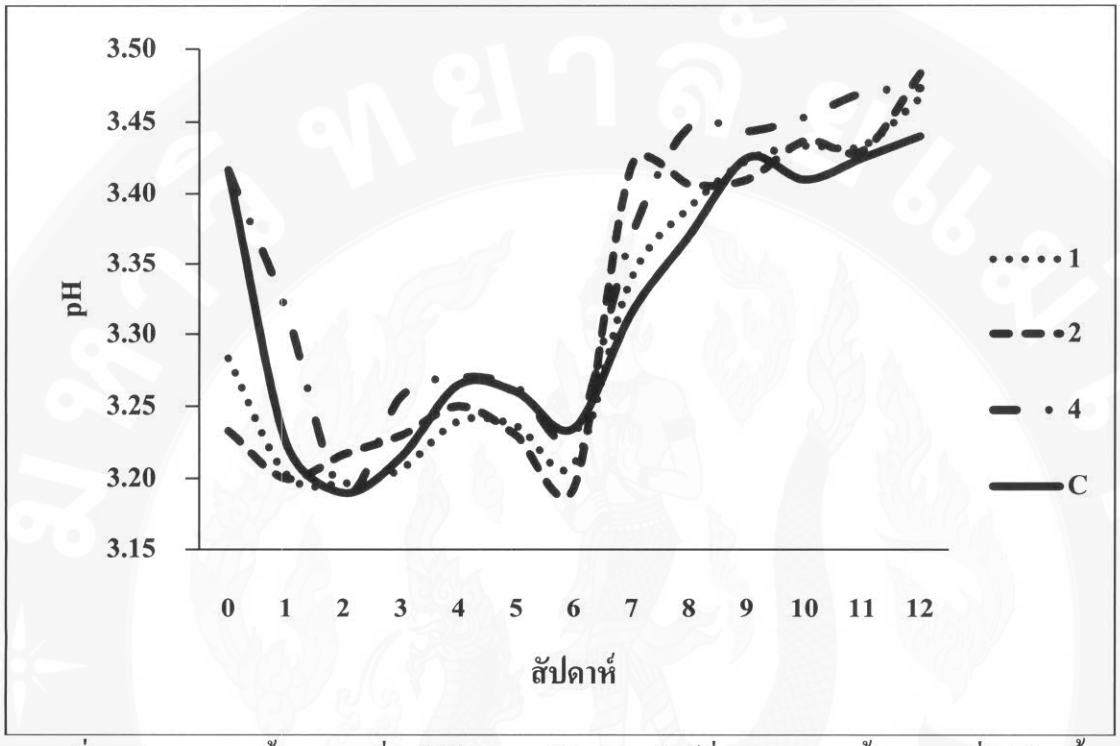
จากภาพที่ 12 จะเห็นได้ว่าค่า pH ของน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 ที่อุณหภูมิห้อง ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ทั้งนี้ค่า pH ต่ำสุดของน้ำฝรั่งหมักคือ 3.05 โดยพบในน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ในสัปดาห์ที่ 2-3 นอกจากนี้ค่า pH ของน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ยังใกล้เคียงกับค่า pH ของน้ำฝรั่งหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อในสัปดาห์ที่ 12 ด้วย



ภาพที่ 12 ค่า pH ของน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำฝรั่งหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ

โดยรวมแล้ว ค่า pH ของน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 (3.39, 3.26 และ 3.40) มีค่าไม่แตกต่างจากน้ำฝรั่งหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (3.38) ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 จึงเหมาะสมสำหรับการหมักน้ำฝรั่ง เพราะลดค่า pH ของน้ำฝรั่งหมักได้ดี

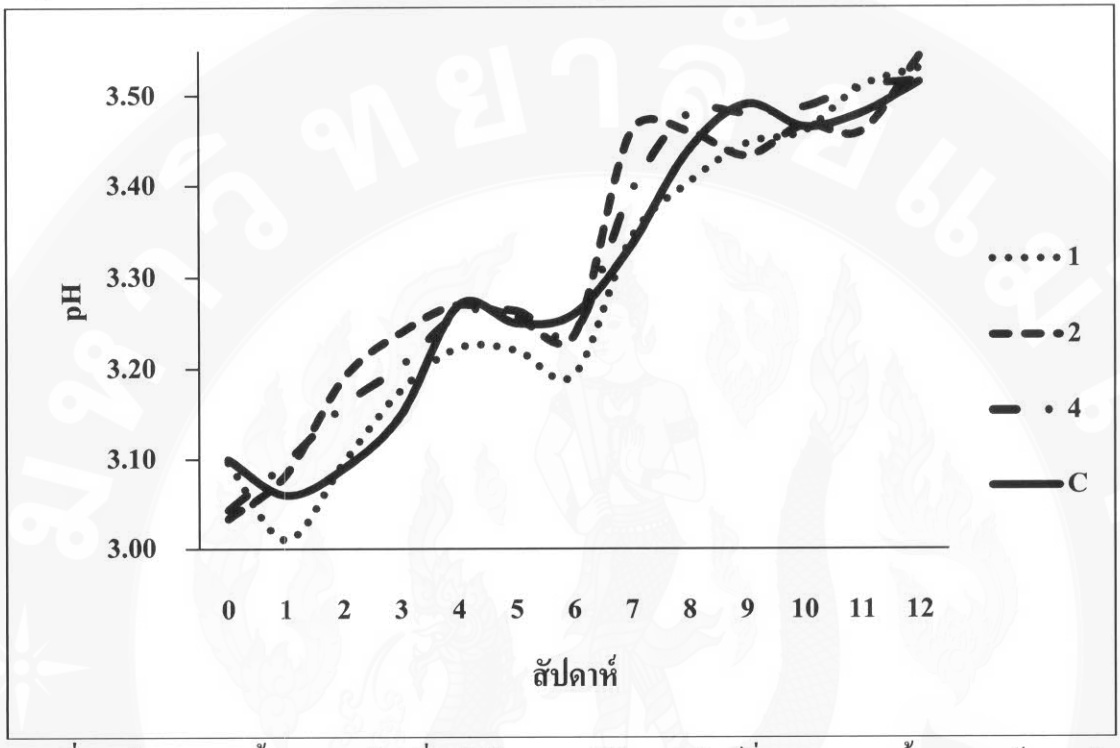
จากภาพที่ 13 จะเห็นได้ว่าค่า pH ของน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 ที่อุณหภูมิห้อง ลดลงในสัปดาห์ที่ 1-6 และเพิ่มขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 12 ทั้งนี้ค่า pH ต่ำสุดของน้ำมะกรูดหมักคือ 3.19 โดยพบในน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 และน้ำมะกรูดหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อในสัปดาห์ที่ 2 รวมถึงน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ในสัปดาห์ที่ 6



ภาพที่ 13 ค่า pH ของน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำมะกรูดที่ไม่เติมเชื้อ

โดยรวมแล้ว ค่า pH ของน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 (3.31, 3.31 และ 3.35) มีค่าไม่แตกต่างจากน้ำมะกรูดหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (3.32) ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 จึงเหมาะสมสำหรับการหมักน้ำมะกรูด เพราะลดค่า pH ของน้ำมะกรูดหมักได้ดี

จากภาพที่ 14 จะเห็นได้ว่าค่า pH ของน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 ที่อุณหภูมิห้อง เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป ยกเว้นในสัปดาห์ที่ 1 ซึ่งค่า pH ของน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อมีค่าลดลง ทำให้ค่า pH ต่ำสุดของน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 เท่ากับ 3.01



ภาพที่ 14 ค่า pH ของน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ

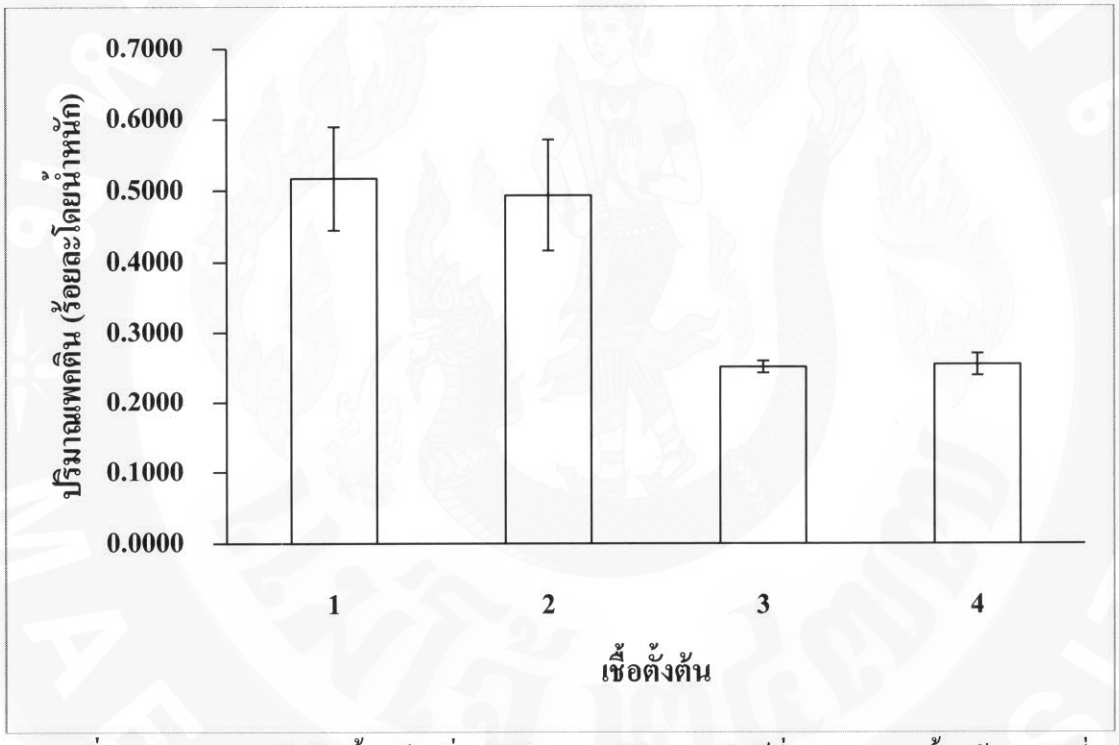
โดยรวมแล้ว ค่า pH ของน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 (3.29, 3.32 และ 3.32) มีค่าไม่แตกต่างจากน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (3.30) ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 จึงเหมาะสมสำหรับการหมักน้ำมะขามป้อม เพราะลดค่า pH ของน้ำมะขามป้อมหมักได้ดี

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปริมาณเพคตินที่สกัดโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ

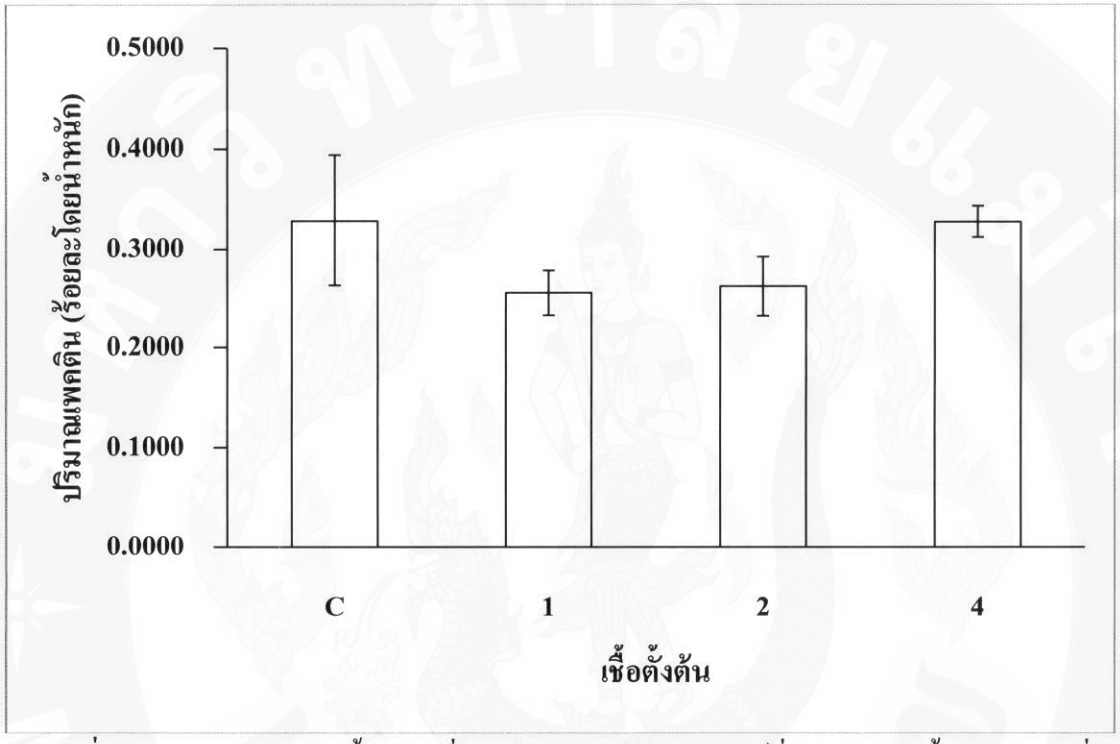
จากการใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 เป็นเชื้อตั้งต้นในการหมักน้ำกล้วย, น้ำลูกยอ, น้ำฝรั่ง, น้ำมะกรูด และน้ำมะขามป้อมที่อุณหภูมิห้อง นาน 9 เดือน พบว่าปริมาณเพคตินในน้ำผลไม้หมักแต่ละชนิดมีค่าดังแสดงในภาพที่ 15-19 ตามลำดับ

จากภาพที่ 15 จะเห็นได้ว่าปริมาณเพคตินในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 (0.4933%) มีค่าใกล้เคียงกับน้ำกล้วยหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (0.5165%) แต่ปริมาณเพคตินในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และ 4 มีค่าต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ 0.2517% และ 0.2522% ตามลำดับ ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 จึงเหมาะสมสำหรับการสกัดเพคตินจากน้ำกล้วยหมัก



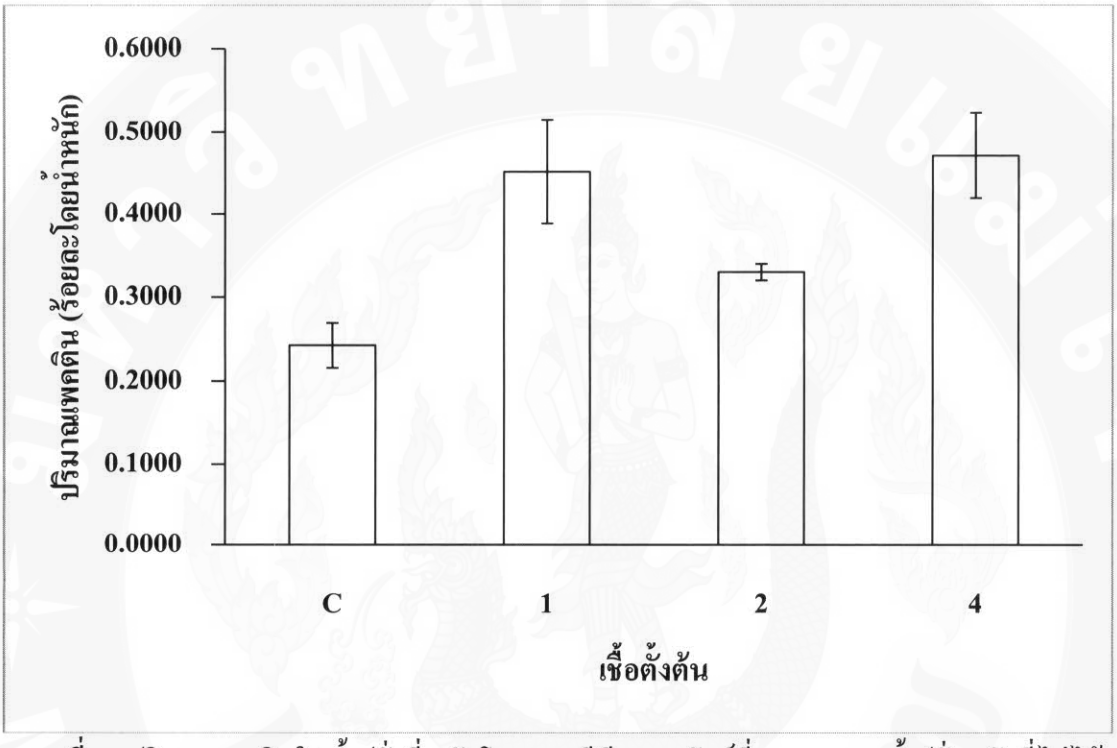
ภาพที่ 15 ปริมาณเพคตินในน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำกล้วยหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ

จากภาพที่ 16 จะเห็นได้ว่าปริมาณเพคตินในน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 (0.3278%) มีค่าใกล้เคียงกับน้ำลูกยอหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (0.3288%) และปริมาณเพคตินในน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 2 มีค่าต่ำกว่าอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) คือ 0.2577% และ 0.2623% ตามลำดับ ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 จึงเหมาะสมสำหรับการสกัดเพคตินจากน้ำลูกยอหมัก



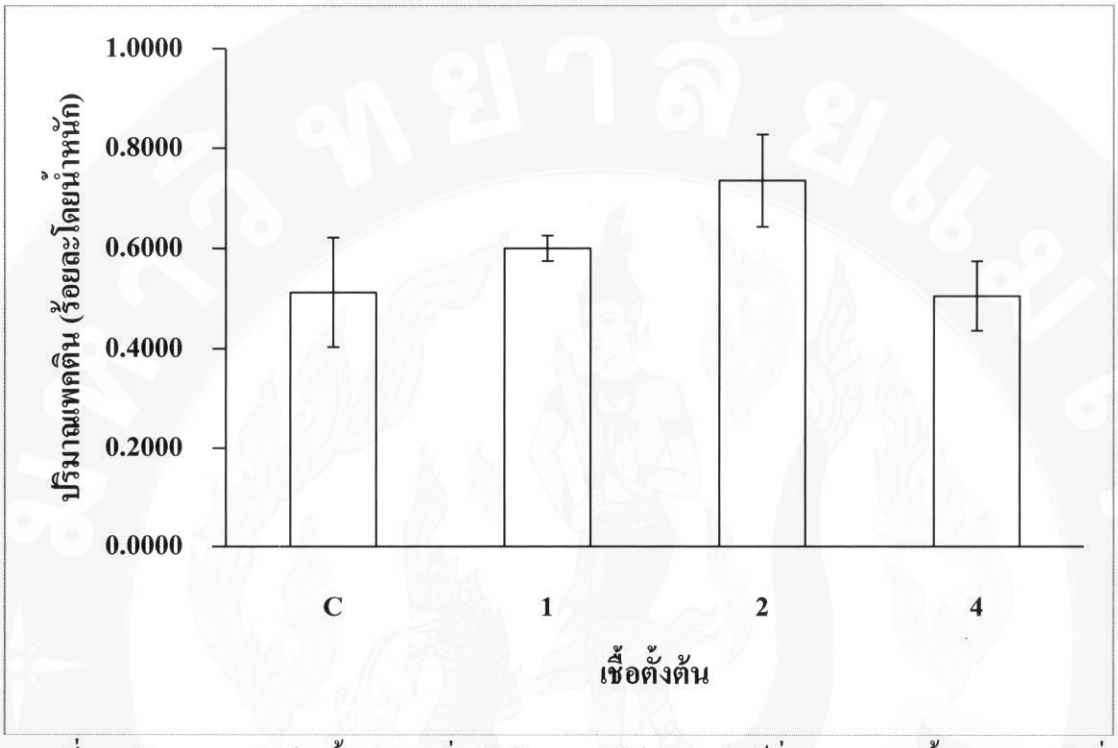
ภาพที่ 16 ปริมาณเพคตินในน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำลูกยอหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ

จากภาพที่ 17 จะเห็นได้ว่าปริมาณเพคตินในน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 4 (0.4516% และ 0.4711%) มีค่าสูงกว่าน้ำฝรั่งหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (0.2423%) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ปริมาณเพคตินในน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 (0.3294%) มีค่าใกล้เคียงกับน้ำฝรั่งหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ ($p > 0.05$) ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 4 จึงเหมาะสมสำหรับการสกัดเพคตินจากน้ำฝรั่งหมัก



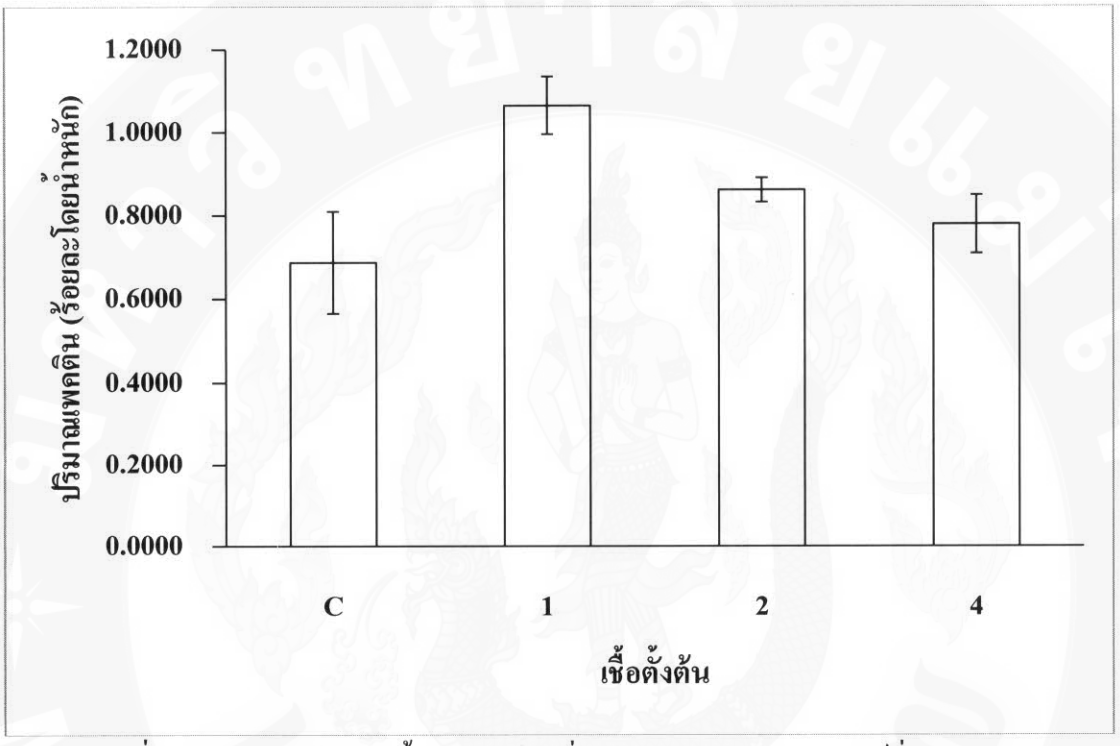
ภาพที่ 17 ปริมาณเพคตินในน้ำฝรั่งที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำฝรั่งหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ

จากภาพที่ 18 จะเห็นได้ว่าปริมาณเพคตินในน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 คือ 0.5999%, 0.7343% และ 0.5043% ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่าง ($p > 0.05$) จากน้ำมะกรูดหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (0.5124%) ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ซึ่งให้ปริมาณเพคตินสูงสุดจึงเหมาะสมสำหรับการสกัดเพคตินจากน้ำมะกรูดหมัก



ภาพที่ 18 ปริมาณเพคตินในน้ำมะกรูดที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำมะกรูดหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ

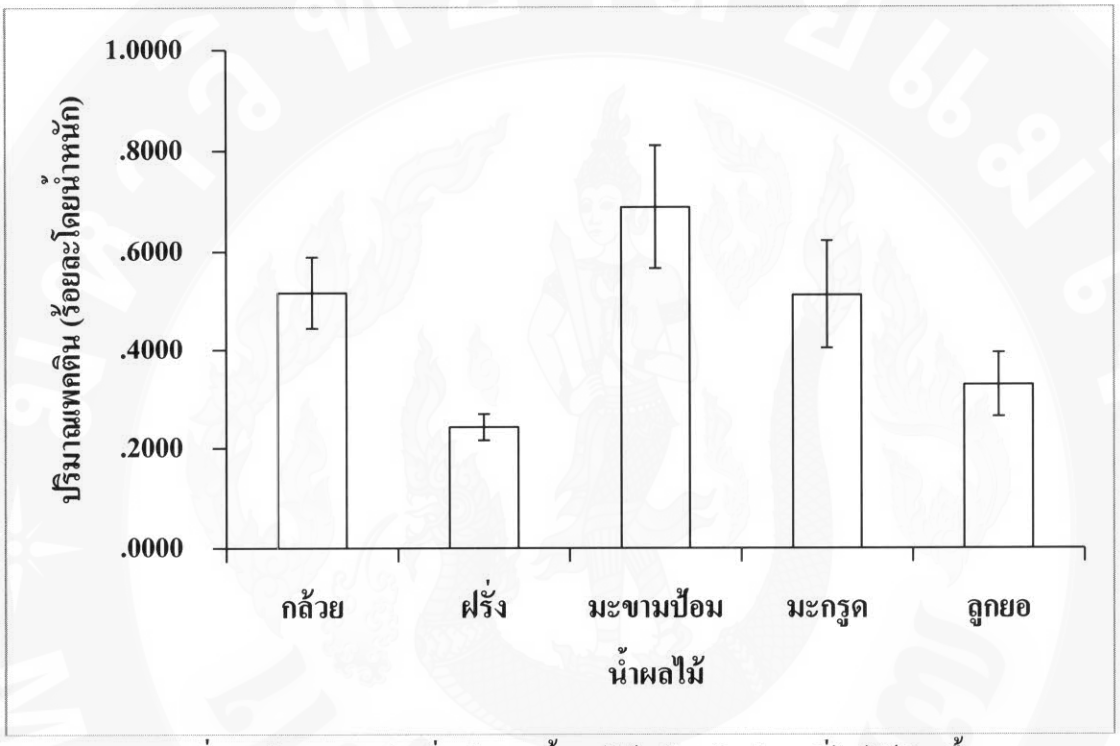
จากภาพที่ 19 จะเห็นได้ว่าปริมาณเพคตินในน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 (1.0648%) มีค่าสูงกว่าน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ (0.6873%) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ปริมาณเพคตินในน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และ 4 มีค่าไม่แตกต่างจากน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ คือ 0.8609% และ 0.7783% ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 จึงเหมาะสมสำหรับการสกัดเพคตินจากน้ำมะขามป้อมหมัก



ภาพที่ 19 ปริมาณเพคตินในน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4 และน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ

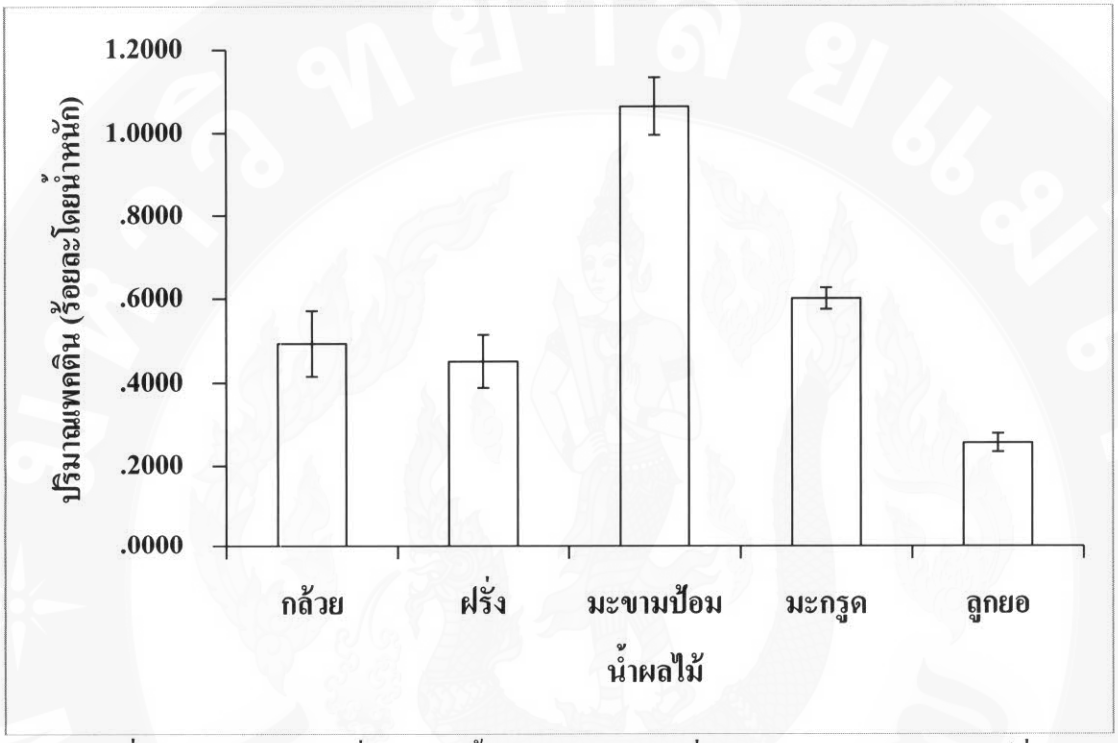
ปริมาณเพคตินที่สกัดจากน้ำผลไม้หมักชนิดต่างๆ

จากการหมักน้ำกล้วย, น้ำลูกยอ, น้ำฝรั่ง, น้ำมะกรูด และน้ำมะขามป้อม โดยไม่ได้เติมเชื้อที่อุณหภูมิห้อง นาน 9 เดือน พบว่าปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากน้ำมะขามป้อมหมักมีค่าสูงกว่าน้ำฝรั่งหมักอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ 0.6873% และ 0.2423% ตามลำดับ สำหรับน้ำกล้วยหมัก น้ำมะกรูดหมัก และน้ำลูกยอหมัก มีปริมาณเพคตินใกล้เคียงกัน ($p > 0.05$) คือ 0.5165%, 0.5124% และ 0.3288% ตามลำดับ (ภาพที่ 20)



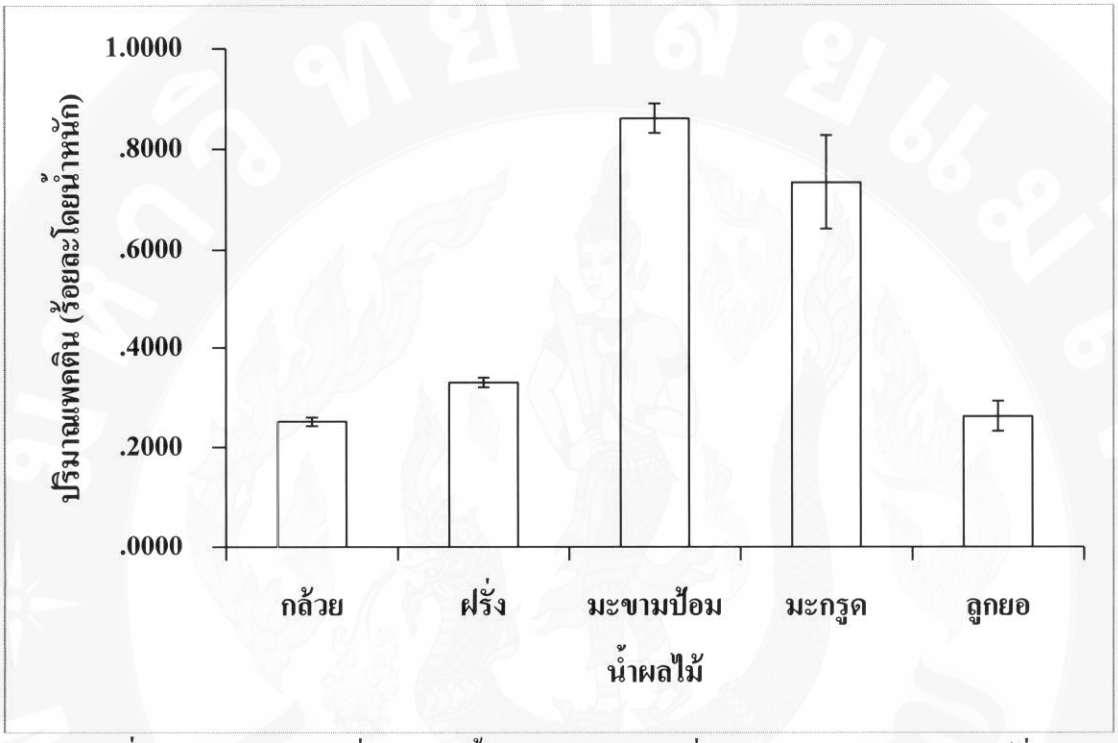
ภาพที่ 20 ปริมาณเพคตินที่สกัดจากน้ำผลไม้หมักชนิดต่างๆ ที่ไม่ได้เติมเชื้อ

จากการหมักน้ำกล้วย, น้ำลูกยอ, น้ำฝรั่ง, น้ำมะกรูด และน้ำมะขามป้อม โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 ที่อุณหภูมิห้อง นาน 9 เดือน พบว่าปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากน้ำมะขามป้อมหมักมีค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ 1.0648% รองลงมาคือน้ำกล้วยหมักและน้ำมะกรูดหมัก ซึ่งมีปริมาณเพคติน 0.4933% และ 0.5999% ตามลำดับ สำหรับน้ำฝรั่งหมักและน้ำลูกยอหมักมีปริมาณเพคตินต่ำสุด คือ 0.4516% และ 0.2557% ตามลำดับ (ภาพที่ 21)



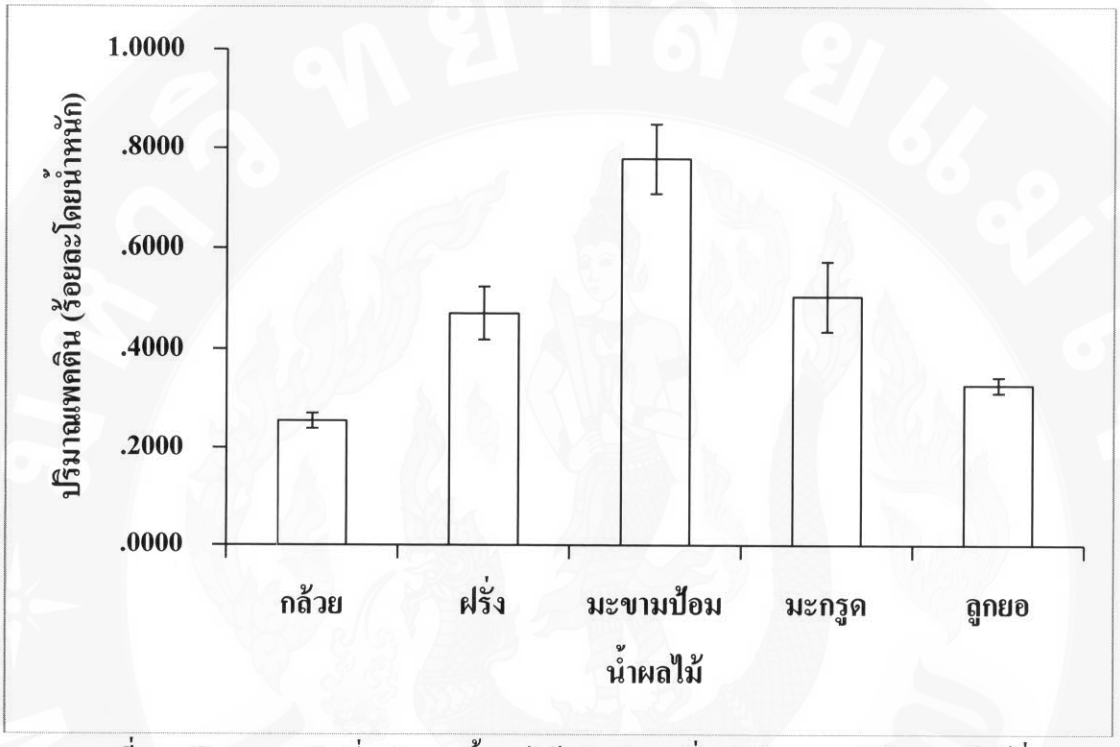
ภาพที่ 21 ปริมาณเพคตินที่สกัดจากน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ ที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1

จากการหมักน้ำกล้วย, น้ำลูกยอ, น้ำฝรั่ง, น้ำมะกรูด และน้ำมะขามป้อม โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ที่อุณหภูมิห้อง นาน 9 เดือน พบว่าปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากน้ำมะขามป้อมหมักและน้ำมะกรูดหมักมีค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ 0.8609% และ 0.7343% ตามลำดับ สำหรับน้ำกล้วยหมัก น้ำฝรั่งหมัก และน้ำลูกยอหมัก มีปริมาณเพคตินใกล้เคียงกัน คือ 0.2517%, 0.3294% และ 0.2623% ตามลำดับ (ภาพที่ 22)



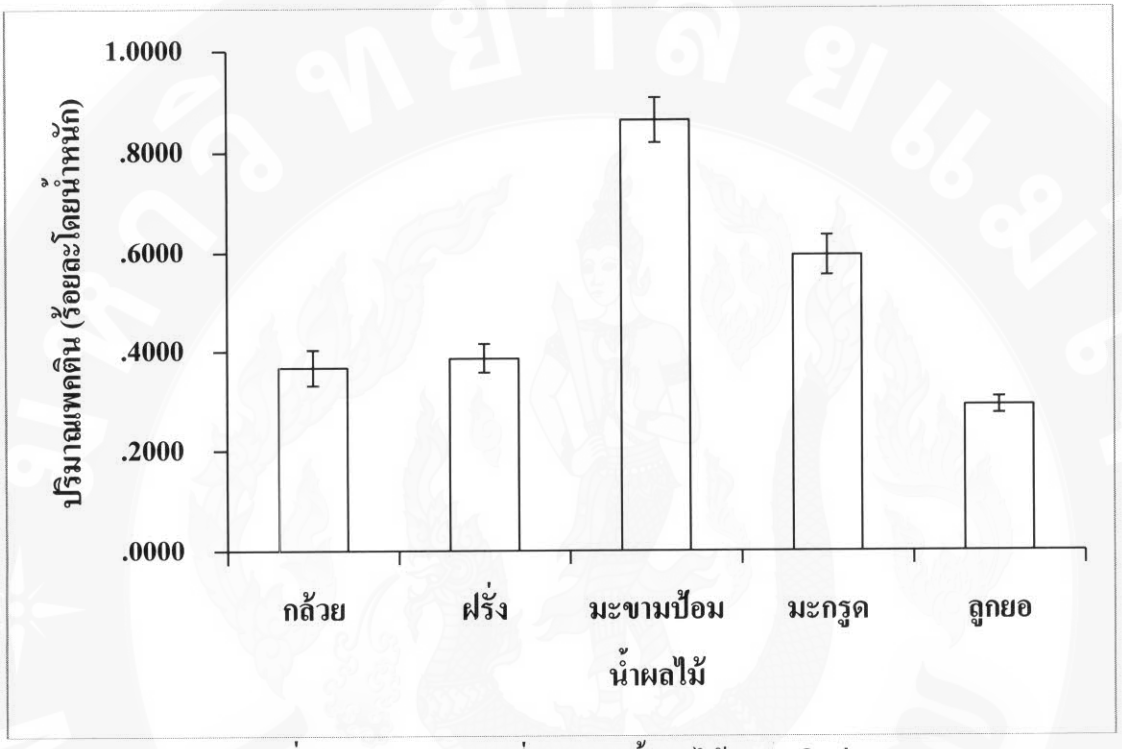
ภาพที่ 22 ปริมาณเพคตินที่สกัดจากน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ ที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2

จากการหมักน้ำกล้วย, น้ำลูกยอ, น้ำฝรั่ง, น้ำมะกรูด และน้ำมะขามป้อม โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 ที่อุณหภูมิห้อง นาน 9 เดือน พบว่าปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากน้ำมะขามป้อมหมักมีค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ 0.7783% รองลงมาคือน้ำฝรั่งหมักและน้ำมะกรูดหมัก ซึ่งมีปริมาณเพคติน 0.4711% และ 0.5043% ตามลำดับ สำหรับน้ำกล้วยหมักและน้ำลูกยอหมักมีปริมาณเพคตินต่ำสุด คือ 0.2552% และ 0.3278% ตามลำดับ (ภาพที่ 23)



ภาพที่ 23 ปริมาณเพคตินที่สกัดจากน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ ที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4

จากการหมักน้ำกล้วย, น้ำลูกยอ, น้ำฝรั่ง, น้ำมะกรูด และน้ำมะขามป้อมที่อุณหภูมิห้อง นาน 9 เดือน พบว่าปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากน้ำมะขามป้อมหมักมีค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ 0.8624% รองลงมาคือน้ำมะกรูดหมัก ซึ่งมีปริมาณเพคติน 0.5946% สำหรับน้ำกล้วยหมัก, น้ำฝรั่งหมัก และน้ำลูกยอหมัก มีปริมาณเพคตินใกล้เคียงกัน ($p > 0.05$) คือ 0.3667%, 0.3855% และ 0.2905% ตามลำดับ (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 24 ปริมาณเพคตินที่สกัดจากน้ำผลไม้หมักชนิดต่างๆ

วิจารณ์ผลการวิจัย

ในการคัดแยกสายพันธุ์ของแบคทีเรียจากน้ำผลไม้หมักสำหรับใช้เป็นเชื้อตั้งต้นสำหรับการหมักน้ำผลไม้ที่อุณหภูมิห้อง พบแบคทีเรียที่สร้างกรดได้ทั้งหมด 4 สายพันธุ์ โดยทุกสายพันธุ์เป็นแบคทีเรียแกรมบวก จึงมีแนวโน้มว่าจะเป็นแบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) อย่างไรก็ตามควรศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม เช่น การหาลำดับเบส (Sequencing) ของยีน 16S rRNA เพื่อบ่งชี้ชนิด (Identify) ในระดับสปีชีส์ ก่อนใช้แบคทีเรียเป็นเชื้อตั้งต้นในการหมักน้ำผลไม้สำหรับการบริโภค เพื่อให้มั่นใจว่าแบคทีเรียดังกล่าวไม่เป็นเชื้อก่อโรคหรือมีอันตรายต่อสุขภาพ ทั้งนี้แบคทีเรียกรดแลคติกที่มักพบในผลไม้หมัก ได้แก่ *Lactobacillus plantarum* ซึ่งพบระหว่างการหมักฝรั่งและผลคาเปอร์ (Bhat et al., 2015; Manuel-Palomino et al., 2015), *Leuconostoc mesenteroides, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus parafarraginis, Lactobacillus collinoides, Lactobacillus rapi, Propionibacterium olivae, Pediococcus ethanolidurans, Pediococcus parvulus, Pediococcus acidilactici, Weissella paramesenteroides, Aerococcus viridans, Enterococcus casseliflavus, Enterococcus olivae, Leuconostoc pseudomesenteroides, Lactobacillus pentosus, Lactobacillus paraplantarum* รวมทั้ง *Alkalibacterium, Marinilactibacillus, Halolactibacillus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียทนเกลือและทนด่างที่พบระหว่างการหมักมะกอก (Argyri et al., 2013; Chiu et al., 2008; Lucena-Padrós et al., 2015)

นอกจากนี้ยังพบ *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus rossiae* ระหว่างการหมักสับปะรด (Di Cagno et al., 2010), *Lactobacillus plantarum, Pediococcus acidilactici, Pediococcus pentosaceus, Leuconostoc mesenteroides* ระหว่างการหมักเชอร์รี่ (Di Cagno et al., 2011), *Lactobacillus agilis, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus bifermentans, Lactobacillus minor, Lactobacillus divergens, Lactobacillus hilgardii, Lactobacillus fermentum* ระหว่างการหมักพุทราอินเดีย (Nyanga et al., 2007), *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei, Lactobacillus hordei, Lactobacillus paraplantarum, Lactobacillus coryniformis, Leuconostoc mesenteroides, Lactobacillus brevis, Lactobacillus buchneri, Lactobacillus parabuchneri, Lactobacillus pantheris, Leuconostoc pseudomesenteroides, Lactobacillus harbinensis* ระหว่างการหมักแครนเบอร์รี่ (Sagdic et al., 2014)

ผลการศึกษาระยะการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2, 3, และ 4 ที่อุณหภูมิ 37°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ใช้เพิ่มจำนวนเชื้อตั้งต้น แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 3 มีความสามารถในการเพิ่มจำนวนที่อุณหภูมิ 37°C จนเข้าสู่ Log phase ได้รวดเร็วที่สุดคือ 11 ชั่วโมง รองลงมาคือ

แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4, 2, และ 1 ซึ่งใช้เวลา 13, 15, และ 16 ชั่วโมง ตามลำดับ นอกจากนี้แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 3 และ 4 มีความสามารถในการเพิ่มจำนวนที่อุณหภูมิ 37°C จนเข้าสู่ Stationary phase ได้รวดเร็วที่สุดคือ 16 ชั่วโมง รองลงมาคือแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และ 1 ซึ่งใช้เวลา 17 และ 18 ชั่วโมง ตามลำดับ ยิ่งไปกว่านั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 มีจำนวนเชื้อสูงสุดคือ 9.42 log CFU/ml เมื่อเทียบกับแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2, 1, และ 3 ซึ่งมีจำนวนเชื้อสูงสุดเท่ากับ 9.39, 9.23, และ 8.67 log CFU/ml ตามลำดับ ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 จึงอาจเหมาะสมสำหรับเป็นเชื้อตั้งต้นในการหมักน้ำผลไม้ เนื่องจากสามารถเพิ่มจำนวนที่อุณหภูมิ 37°C จนอยู่ใน Mid log phase ซึ่งเชื้อมีกิจกรรมตลอดเวลา (Active culture) ได้รวดเร็วและมีจำนวนเชื้อสูงสุด อย่างไรก็ตามควรศึกษาและเปรียบเทียบคุณสมบัติอื่นๆ เช่น ความสามารถในการสร้างกรด ความสามารถในการลดค่า pH ของน้ำผลไม้หมัก ความสามารถในการสกัดเพคติดจากน้ำผลไม้หมัก เป็นต้น ก่อนใช้แบคทีเรียหมักผลไม้แต่ละชนิด

ในการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับการหมักน้ำกล้วยที่อุณหภูมิห้อง พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 ส่งเสริมการเจริญของเชื้อที่ทนกรดได้ดีกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และ 4 และใกล้เคียงกับน้ำกล้วยหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ นอกจากนี้แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 ยังส่งเสริมการเจริญของเชื้อที่สร้างกรดได้ดีกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และ 4 และดีกว่าน้ำกล้วยหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ แม้ว่าค่า pH ของน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 2 จะใกล้เคียงกับน้ำกล้วยหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ แต่ต่ำกว่าค่า pH ของน้ำกล้วยที่หมักโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 นอกจากนี้แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 ยังสกัดเพคตินจากน้ำกล้วยหมักได้ดีกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และ 4 และใกล้เคียงกับน้ำกล้วยหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 จึงเหมาะสำหรับการหมักน้ำกล้วยที่อุณหภูมิห้อง เพราะลดค่า pH ของน้ำกล้วยหมักได้ดี ทำให้สกัดเพคตินได้มาก

ในการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับการหมักน้ำลูกยอที่อุณหภูมิห้อง พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 ส่งเสริมการเจริญของเชื้อที่ทนกรดได้ดีกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 2 และดีกว่าน้ำลูกยอหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ นอกจากนี้แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 4 ยังส่งเสริมการเจริญของเชื้อที่สร้างกรดได้ดีกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และดีกว่าน้ำลูกยอหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ แม้ว่าค่า pH ของน้ำลูกยอที่หมักโดยแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ จะสูงกว่าน้ำลูกยอหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ แต่แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 สามารถสกัดเพคตินจากน้ำลูกยอหมักได้ดีกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 2 และใกล้เคียงกับน้ำลูกยอหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 จึงเหมาะสำหรับการหมักน้ำลูกยอเพื่อสกัดเพคตินที่อุณหภูมิห้อง

ในการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับการหมักน้ำฝรั่งที่อุณหภูมิห้อง พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 2 ส่งเสริมการเจริญของเชื้อที่ทนกรดได้ดีกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4

และใกล้เคียงกับน้ำฝรั่งหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ อย่างไรก็ตามแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ส่งเสริมการเจริญของเชื้อที่สร้างกรดได้และลดค่า pH ได้ใกล้เคียงกับน้ำฝรั่งหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ ทั้งนี้แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 4 สามารถสกัดเพคตินจากน้ำฝรั่งหมักได้ดีกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และดีกว่าน้ำฝรั่งหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 จึงเหมาะสำหรับเป็นเชื้อตั้งต้นในการหมักน้ำฝรั่งเพื่อสกัดเพคตินที่อุณหภูมิห้อง

ในการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับการหมักน้ำมะกรูดที่อุณหภูมิห้อง พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 4 ส่งเสริมการเจริญของเชื้อที่ทนกรดได้ดีกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และใกล้เคียงกับน้ำมะกรูดหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ นอกจากนี้แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 ยังส่งเสริมการเจริญของเชื้อที่สร้างกรดได้ดีกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และ 4 และดีกว่าน้ำมะกรูดหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ แม้ว่าแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์จะลดค่า pH และสกัดเพคตินจากน้ำมะกรูดหมักได้ใกล้เคียงกับน้ำมะกรูดหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 จึงเหมาะสำหรับการหมักน้ำมะกรูดเพื่อสกัดเพคตินที่อุณหภูมิห้อง

ในการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับการหมักน้ำมะขามป้อมที่อุณหภูมิห้อง พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 ส่งเสริมการเจริญของเชื้อที่ทนกรดได้ดีกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และ 4 และดีกว่าน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ นอกจากนี้แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 และ 4 ยังส่งเสริมการเจริญของเชื้อที่สร้างกรดได้ดีกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และดีกว่าน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ แม้ว่าค่า pH ของน้ำมะขามป้อมที่หมักโดยแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์จะใกล้เคียงกับน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ แต่แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 สามารถสกัดเพคตินจากน้ำมะขามป้อมหมักได้ดีกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 และ 4 และดีกว่าน้ำมะขามป้อมหมักที่ไม่ได้เติมเชื้อ ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 จึงเหมาะสำหรับการหมักน้ำมะขามป้อมเพื่อสกัดเพคตินที่อุณหภูมิห้อง

ในการเปรียบเทียบปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากน้ำผลไม้หมักชนิดต่างๆ ทั้งที่ไม่ได้เติมเชื้อและเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 พบว่ามีค่าสูงสุดในน้ำมะขามป้อมหมัก (0.8624%) รองลงมาคือน้ำมะกรูดหมัก (0.5946%) สำหรับน้ำกล้วยหมัก, น้ำฝรั่งหมัก และน้ำลูกยอหมัก มีปริมาณเพคตินใกล้เคียงกัน (0.3667%, 0.3855% และ 0.2905%) ทั้งนี้ปริมาณเพคตินที่สกัดได้ในงานวิจัยนี้ต่ำกว่าค่าที่รายงานโดย Baker (1997) ประมาณ 1.6-3.5 เท่า เช่น กล้วยมีเพคตินประมาณ 0.59-1.28% เป็นต้น โดยเหตุผลหลักคือ สายพันธุ์ของผลไม้ที่ใช้ศึกษาแตกต่างกัน เนื่องจากงานวิจัยนี้ใช้กล้วยน้ำว้า แต่งานวิจัยทั่วไปนิยมใช้กล้วยหอม นอกจากนี้การสกัดทางเคมีที่ใช้กรดแก่ เช่น กรดไนตริก อาจมีประสิทธิภาพมากกว่ากรดอ่อน เช่น กรดแลคติกที่สร้างโดยจุลินทรีย์ระหว่างการหมัก จากรายงานของ Baker (1997) พบว่าผลไม้มีปริมาณเพคตินสูงสุดคือ ส้มโอ ซึ่งมีเพคติน

ประมาณ 3.30-4.50% รองลงมาคือ มะนาว ซึ่งมีเพคตินประมาณ 2.80-2.99% และส้ม ซึ่งมีเพคติน ประมาณ 2.34-2.38% สำหรับผลไม้มีปริมาณเพคตินต่ำสุดคือ องุ่น ซึ่งมีเพคตินประมาณ 0.09-0.28%

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการสกัดเพคตินจากผลไม้ในสภาวะกรด (Acid extraction) คือ ค่า pH ของตัวทำละลาย โดยที่ค่า pH สูงกว่า 3 เพคตินจะมีหมู่เมทิลจำนวนมาก (High methoxyl pectin) และตกตะกอนได้โดยไม่ต้องมีแคลเซียม (Non-calcium sensitive pectin) ซึ่งเป็นรูปที่เก็บน้ำได้มาก และก่อเจลที่มีลักษณะนิ่ม แต่ที่ค่า pH ต่ำกว่า 2.0 เพคตินจะมีหมู่เมทิลจำนวนน้อย (Low methoxyl pectin) และตกตะกอนได้เมื่อมีแคลเซียม (Calcium sensitive pectin) ซึ่งเป็นรูปที่เก็บน้ำได้น้อยและก่อเจลที่มีลักษณะแข็ง (Joye and Luzio, 2000) จึงอาจกล่าวได้ว่าแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถสร้างสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพคตินที่มีหมู่เมทิลจำนวนมาก ซึ่งมีลักษณะเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค

สรุปผลการวิจัย

1. แบคทีเรียแกรมบวกที่สร้างกรดได้จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้ถูกคัดแยกจากน้ำกล้วยหมักและน้ำลูกยอหมัก
2. แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 3 ไม่เหมาะสมสำหรับเป็นเชื้อตั้งต้นสำหรับการหมักน้ำผลไม้ เนื่องจากเพิ่มจำนวนช้าและมีจำนวนเชื้อน้อยในสภาวะที่มีออกซิเจน
3. ที่อุณหภูมิ 37°C แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 4 เข้าสู่ Mid log phase ซึ่งเป็นระยะที่เชื้อมีกิจกรรมตลอดเวลา (Active culture) เมื่อเวลาผ่านไป 17, 16 และ 14 ชั่วโมง ตามลำดับ
4. ในการสกัดเพคติน แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 1 เหมาะสำหรับเป็นเชื้อตั้งต้นในการหมักน้ำกล้วยน้ำฝรั่ง น้ำมะกรูด และน้ำมะขามป้อม ส่วนแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 4 เหมาะสำหรับเป็นเชื้อตั้งต้นในการหมักน้ำลูกยอ
5. ปริมาณเพคตินที่สกัดได้จากน้ำมะขามป้อมหมักมีค่าสูงสุด รองลงมาคือน้ำมะกรูดหมัก สำหรับน้ำกล้วยหมัก, น้ำฝรั่งหมัก และน้ำลูกยอหมัก มีปริมาณเพคตินใกล้เคียงกัน

เอกสารอ้างอิง

ชวนิฏฐ์ สิทธิดิลกรัตน์ พิลาณี ไวถนอมสัตย์ จิราพร เชื้อกูล และปริศนา สิริอาชา. การผลิตเพคตินจากเปลือกและกากผลส้มเหลือทิ้ง. จาก http://kucon.lib.ku.ac.th/Fulltext/KC4306017.pdf [7 มีนาคม 2557].

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. เพคติน. จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0430/pectin-เพคติน [7 มีนาคม 2557].

Argyri, A.A., G. Zoumpopoulou, K.A.G. Karatzas, E. Tsakalidou, G.J.E. Nychas, E.Z. Panagou, and C.C. Tassou. 2013. Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by *in vitro* tests. **Food Microbiology** 33: 282-291.

Bhat, R., L.C. Suryanarayana, K.A. Chandrashekara, P. Krishnan, A. Kush, and P. Ravikumar. 2015. *Lactobacillus plantarum* mediated fermentation of *Psidium guajava* L. fruit extract. **Journal of Bioscience and Bioengineering** 119: 430-432.

Baker, R.A. 1997. Reassessment of some fruit and vegetable pectin levels. **Journal of Food Science** 62: 225-229.

Brownlee, I.A. 2011. The physiological roles of dietary fibre. **Food Hydrocolloids** 25: 238-250.

Chiu, H.H., C.C. Tsai, H.Y. Hsih, and H.Y. Tsen. 2008. Screening from pickled vegetables the potential probiotic strains of lactic acid bacteria able to inhibit the *Salmonella* invasion in mice. **Journal of Applied Microbiology** 104: 605–612.

Di Cagno, R., G. Cardinali, G. Minervini, L. Antonielli, C. Giuseppe-Rizzello, P. Ricciuti, and M. Gobbetti. 2010. Taxonomic structure of the yeasts and lactic acid bacteria microbiota of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) and use of autochthonous starters for minimally processing. **Food Microbiology** 27: 381-389.

Di Cagno, R., R. Fortunata-Surico, G. Minervini, C. Giuseppe-Rizzello, R. Lovino, M. Servili, A. Taticchi, S. Urbani, and M. Gobbetti. 2011. Exploitation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) puree added of stem infusion through fermentation by selected autochthonous lactic acid bacteria. **Food Microbiology** 28: 900-909.

Fries, M., J. Ihrig, K. Brocklehurst, V.E. Shevchik, and R.W. Pickersgill. 2007. Molecular basis of the activity of the phytopathogen pectin methylesterase. **EMBO Journal** 26: 3879-3887.

Furtado-Martins, E.M., A. Mota-Ramos, E.S. Lago-Vanzela, P. César-Stringheta, C.L. de Oliveira-Pinto, and J. Manoel-Martins. 2013. Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. **Food Research International** 51: 764-770.

Holck, J., K. Hjernø, A. Lorentzen, L.K. Vigsnæs, L. Hemmingsen, T.R. Licht, J.D. Mikkelsena, and A.S. Meyer. 2011. Tailored enzymatic production of oligosaccharides from sugar beet pectin and evidence of differential effects of a single DP chain length difference on human faecal microbiota composition after *in vitro* fermentation. **Process Biochemistry** 46: 1039-1049.

Johansson, K., M. El-Ahmad, R. Friemann, H. Jörnvall, O. Markovič, and H. Eklund. 2002. Crystal structure of plant pectin methylesterase. **FEBS Letters** 514: 243-249.

Joye, D.D. and G.A. Luzio. 2010. Process for selective extraction of pectins from plant material by differential pH. **Carbohydrate Polymers** 43: 337-342.

Lucena-Padrós, H., E. Jiménez, A. Maldonado-Barragán, J.M. Rodríguez, and J.L. Ruiz-Barba. 2015. PCR-DGGE assessment of the bacterial diversity in Spanish-style green table-olive fermentations. **International Journal of Food Microbiology** 205: 47-53.

Manuel-Palomino, J., J. Toledo-del Árbol, N. Benomar, H. Abriouel, M. Martínez-Cañamero, A. Gálvez, and R. Peréz-Pulido. 2015 Application of *Lactobacillus plantarum* Lb9 as starter culture in caper berry fermentation. **LWT - Food Science and Technology** 60: 788-794.

Mudgil, D. and S. Barak. 2013. Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: a review. **International Journal of Biological Macromolecules** 61: 1-6.

Nazzaroa, F., F. Fratianni, B. Nicolaus, A. Poli, and P. Orlando. 2012. The prebiotic source influences the growth, biochemical features and survival under simulated gastrointestinal conditions of the probiotic *Lactobacillus acidophilus*. **Anaerobe** 18: 280-285.

Nyanga, L.K., M.J.R. Nout, T.H. Gadaga, B. Theelen, T. Boekhout, and M.H. Zwietering. 2007. Yeasts and lactic acid bacteria microbiota from masau (*Ziziphus mauritiana*) fruits and their fermented fruit pulp in Zimbabwe. **International Journal of Food Microbiology** 120: 159-166.