

การพัฒนาแบบการผลิตแบคทีเรียน้ำส้มสายชูสำเร็จรูปเพื่อการผลิตสับปะรดไซเดอร์

Development of Instant Acetic Acid Bacteria Model for Pineapple Cider Production

สวรรยา ปัญญานันท์¹ วรณรัตน์ เจริญแสนยากร¹ ชนกภัทร ผดุงอรุณ¹ และลักษมี หมั่นศรีธาราม¹
Sawanya Punyanunt¹, Wannarat Chalernsanyakorn¹, Chanokphat Phadungath¹ and Laksamee MeunSriitharam¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตสับปะรดไซเดอร์ในรูปแบบการผลิตแบคทีเรียน้ำส้มสายชูสำเร็จรูป โดยคัดเลือกแบคทีเรียน้ำส้มสายชู *Acetobacter aceti* TISTR354 และ *Acetobacter pasteurianus* TISTR521 ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (glucose yeast extract broth) เป็นเวลา 3 วัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง พบว่า *A. pasteurianus* มีความเหมาะสมต่อการเจริญและเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ดีกว่า *A. aceti* เมื่อเก็บรักษาแบคทีเรียน้ำส้มสายชูโดยใช้วัสดุพองเชื้อ คือ แป้งข้าวเจ้า แป้งมันสำปะหลัง และหางนมผง พบว่า แบคทีเรียน้ำส้มสายชูที่อยู่ในแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังมีจำนวนเซลล์รอดชีวิตใกล้เคียงกันคือ 5.97×10^7 และ 4.65×10^7 โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ ทั้งนี้ขนาดอนุภาคของแป้งข้าวเจ้า (ประมาณ 2-5 ไมครอน) มีขนาดเล็กและอนุภาคสม่ำเสมอกว่าแป้งมันสำปะหลัง (ประมาณ 5-20 ไมครอน) จึงสามารถพองรักษาเชื้อได้ดีและขนาดอนุภาคที่เล็กของแป้งข้าวเจ้ามีผลต่อการละลายเป็นเนื้อเดียวกันในน้ำหมักได้ง่ายกว่าแป้งมันสำปะหลัง นอกจากนี้อุณหภูมิและเวลาของการอบแห้งแป้งข้าวเจ้าด้วยตู้อบลมร้อน (ที่ 35 องศาเซลเซียส เวลา 4 ชั่วโมง) เปรียบเทียบกับแป้งข้าวเจ้าที่ไม่ผ่านอบแห้งแล้วบรรจุทันทีในซองอลูมิเนียมฟอยด์สภาพสุญญากาศหลังจากเติมแบคทีเรียน้ำส้มสายชูแล้วมีปริมาณแบคทีเรียน้ำส้มสายชูรอดชีวิตหลังผ่านการอบแห้งเท่ากับ 7.80×10^7 โคโลนีต่อกรัม และ 1.15×10^8 โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณเซลล์รอดชีวิตใกล้เคียงกันและเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (ประมาณ 5 องศาเซลเซียส) เป็นเวลาอย่างน้อย 2 สัปดาห์ ยังคงมีปริมาณแบคทีเรียน้ำส้มสายชูสูงเพียงพอสำหรับการนำไปผลิตน้ำส้มสายชูหมักและสับปะรดไซเดอร์ต่อไปได้

คำสำคัญ: แบคทีเรียผง แบคทีเรียน้ำส้มสายชู น้ำส้มสายชูหมัก ไซเดอร์ สับปะรด

Abstract

The objectives of this research were to develop pineapple cider production technology in the form of instant acetic acid bacteria powder. Two types of acetic acid producing bacteria, *Acetobacter aceti* TISTR354 and *Acetobacter pasteurianus* TISTR521, were selected and grown in GYE broth with 3 days incubation at room temperature. It was found that *A. pasteurianus* was more suitable for cell growth and proliferation than *A. aceti*. Substrates tested to support the bacteria were rice starch, cassava starch and skim milk. The number of bacterial cells that survived on rice flour (5.97×10^7 CFU/g) was comparable to the number that survived on cassava starch (4.65×10^7 CFU/g). However, the particle size of the rice starch (2-5 microns) was smaller and more uniform than that of cassava starch (5-20 microns). The smaller particle size of rice starch meant that it was better homogenized and thus would be more soluble in fermented vinegar. In addition, the results showed that the temperature and time of drying of the supporting material could affect the survival of the bacterial cells. The work indicated that the cell survival concentration after drying with hot air dryer (at 35°C for 4 hr.) and that of the non-dried control were 7.80×10^7 and 1.15×10^8 CFU/g, respectively. After a storage time of at least 2 weeks, the number of surviving cells of bacteria was high enough for fermented vinegar and pineapple cider production.

Keywords: bacteria powder, acetic acid bacteria, vinegar, cider, pineapple

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง อ. จอมบึง จ. ราชบุรี 70150

¹ Food Science and Technology Program, Faculty of Science and Technology, Muban Chombueng Rajabhat University, Chombueng, Ratchaburi 70150

*Corresponding author, Email: sawanya_net@hotmail.com

คำนำ

แบคทีเรียน้ำส้มสายชู หรือแบคทีเรียแอซิติก (acetic acid bacteria) เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งอยู่ในตระกูล Acetobacteraceae มีคุณสมบัติในการผลิตกรดน้ำส้มสายชูหรือกรดแอซิติกจากแอลกอฮอล์ โดยทั่วไปนำมาใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักเครื่องปรุงรสในอาหาร และถนอมอาหาร เช่น ผักผลไม้ดอง เป็นต้น (วันเชิญ โพธาเจริญ และคณะ, 2550) แบคทีเรียชนิดนี้ยังมีส่วนสำคัญในการผลิตเครื่องดื่มบำรุงกำลังและรักษาสุขภาพ เช่น น้ำหมักเห็ดราสเซีย (tea fungus or kombucha) ซึ่งเป็นเครื่องดื่มสุขภาพที่แพร่หลายในจีน ญี่ปุ่น และอินเดียมากกว่า 1,000 ปีก่อนคริสตกาล (Kerstens et al., 2006) ภายหลังมีการศึกษาองค์ประกอบของเครื่องดื่มชนิดนี้ พบว่ามีกรดและวิตามินหลายชนิดที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพและร่างกาย เช่น กรดแอซิติก กรดแลคติก กรดมาลิก กรดออกซาลิก กรดกลูโคนิก กรดอะมิโน วิตามิน B และวิตามิน C (Mohamad et al., 2015) จึงได้รับความนิยมทั่วไปทั้งในยุโรป สหรัฐอเมริกา และเอเชีย แบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารและเทคโนโลยีชีวภาพอีกหลายด้าน เช่น ผลิตเซลล์ลูโลส ผลิตน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) สามารถผลิตกรดไกลโคลิก (glycolic acid) เป็นสารที่ใช้ในอุตสาหกรรมซักฟอกผ้าและเครื่องหนัง รวมทั้งเป็นส่วนประกอบในการผลิตเครื่องสำอาง (Sengun and Karabiyikli, 2011)

สับปะรด (*Ananas comosus* (L.) Mer) ถือเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่สร้างรายได้ให้กับประเทศไทยปีละ 23,000-25,000 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2556) จังหวัดราชบุรีเป็นจังหวัดหนึ่งที่เป็นแหล่งเพาะปลูกสับปะรดที่สำคัญของประเทศ แหล่งเพาะปลูกหลักครอบคลุมในพื้นที่ 4 อำเภอ ได้แก่ บ้านคา สวนผึ้ง จอมบึง และปากท่อ นิยมปลูกมากคือ “พันธุ์ปัตตาเวีย” ตำบลหนองพันจันทร์ อำเภอบ้านคา จังหวัดราชบุรี เป็นพื้นที่ปลูกสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย หรือสับปะรดบ้านคา แหล่งใหญ่ที่มุ่งเน้นการผลิตสับปะรดให้ได้คุณภาพ ตั้งแต่การผลิตจนถึงการตลาด (ไชยรัตน์ สัมบุณ, 2559) มีลักษณะพิเศษเฉพาะคือ มีสีเหลืองสวย กลิ่นหอม รสชาติหวานฉ่ำไม่กัดลิ้น ได้รับการส่งเสริมจากรัฐบาลให้ปลูกแบบขยายพื้นที่ (ชฎาพร โพธิ์สุวรรณ และคณะ, 2561) อย่างไรก็ตามยังคงมีสับปะรดที่มีขนาดเล็กไม่ได้มาตรฐาน รวมถึงบางช่วงของปีมีผลผลิตสับปะรดเป็นจำนวนมาก ราคาของสับปะรดตกต่ำ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้เกษตรกรมีสับปะรดผลสดเหลือเป็นจำนวนมาก ศูนย์การเรียนรู้การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสินค้าเกษตร (ศพก.) ตำบลหนองพันจันทร์ อำเภอบ้านคา จังหวัดราชบุรี ได้มีการหาแนวทางใช้ประโยชน์สับปะรดเหลือทิ้งหรือสับปะรดตกเกรด โดยนำมาแปรรูปเป็นสับปะรดกวน น้ำสับปะรดที่เหลือนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจากน้ำส้มสายชูหมักสับปะรด หรือเรียกว่า น้ำสับปะรดไซเดอร์ (pineapple cider) (ชนกภัทร ผดุงอรอด และคณะ, 2561)

ปัจจุบันทางกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรบ้านหนองจอกสามารถเรียนรู้การผลิตสับปะรดไซเดอร์ด้วยตนเอง เพื่อจำหน่ายในกลุ่มผู้บริโภคที่สนใจคือกลุ่มผู้รักสุขภาพซึ่งเป็นตลาดเฉพาะกลุ่ม (niche market) ที่มีกำลังซื้อสูง อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถผลิตได้อย่างต่อเนื่องหรือเพียงพอ เนื่องจากยังไม่มี ความชำนาญในการทำลำเชื้อน้ำส้มสายชู ทำให้บางรุ่นการผลิตเสียไปในขณะที่แบคทีเรียน้ำส้มสายชูยังไม่มีจำหน่ายในรูปเชื้อสำเร็จรูป ส่วนใหญ่ใช้ในรูปแบบเชื้อบริสุทธิ์หรือเชื้อสด (slant culture) อายุการเก็บรักษาสั้น หรืออาจมีการผลิตในเฉพาะกลุ่มบุคคลเท่านั้น ซึ่งหาซื้อได้ยากและไม่มีการเปิดเผยสูตรการผลิต (ชินจิต ประกิจชัยวัฒนา และคณะ, 2559) ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้จึงพัฒนารูปแบบการผลิตแบคทีเรียน้ำส้มสายชูสำเร็จรูปชนิดผงเพื่อการผลิตสับปะรดไซเดอร์ และสามารถคัดเลือกวัสดุพียงเชื้อ (supporting materials) หรือรูปแบบการเก็บรักษาเชื้อที่เหมาะสมกับชุมชนท้องถิ่น (ภาววิดา เจริญจินดารัตน์ และดวงกมล ปานรศพิพ) ธรรมารัตน์, 2561) ลดต้นทุนการซื้อเชื้อจุลินทรีย์ รวมทั้งผลิตแบคทีเรียน้ำส้มสายชูสำเร็จรูปชนิดผงเพื่อนำไปใช้ได้ง่ายขึ้น สะดวก และสามารถผลิตสับปะรดไซเดอร์แบบพึ่งพาตนเองอย่างยั่งยืนได้

วิธีการศึกษา

วัตถุดิบ

แบคทีเรียน้ำส้มสายชู 2 สายพันธุ์ *Acetobacter aceti* TISTR354 และ *Acetobacter pasteurianus* TISTR521 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

แป้งข้าวเจ้า ตราช้างสามเศียร บริษัท โรงเส้นหมี่ขอเอง จำกัด

แป้งมันสำปะหลัง ตราใบหยก บริษัท บางกอกอินเตอร์ฟู้ด จำกัด

หางนมผง ตราแดรี่ฟาร์ม บริษัท ไอเอสเอ็มฟู้ดส์โปรดักส์ จำกัด

สับปะรดบ้านคา ตำบลบ้านคา อำเภอบ้านคา จังหวัดราชบุรี

ศึกษาระยะการเจริญของแบคทีเรียน้ำส้มสายชูที่เหมาะสมในการเก็บรักษา

ทำการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียน้ำส้มสายชู 2 ชนิด คือ *Acetobacter aceti* TISTR354 และ *Acetobacter pasteurianus* TISTR521 โดยถ่ายเชื้อแบคทีเรียน้ำส้มสายชูจากหลอดอาหารแข็งลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (Glucose Yeast Extract Broth, GYE-broth) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยเครื่องเขย่าให้อากาศ (shaker) แล้วจึงถ่ายเชื้อแบคทีเรียน้ำส้มสายชูแต่ละสายพันธุ์ปริมาณร้อยละ 3 โดยปริมาตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYE broth ปริมาตร 150 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง ด้วยเครื่องเขย่าให้อากาศ (shaker) ตรวจวิเคราะห์การเจริญของแบคทีเรียน้ำส้มสายชูทุก ๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน เพื่อติดตามการเจริญของแบคทีเรียน้ำส้มสายชูบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Glucose Yeast Extract Agar ด้วยเทคนิคเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารแข็ง (spread plate technique) เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียน้ำส้มสายชูที่เหมาะสมและช่วงเวลาที่มียานวนแบคทีเรียน้ำส้มสายชูเจริญสูงที่สุด (จารุวรรณ มณีศรี และพายุพ มาศนิยม, 2556)

ศึกษาวัสดุพองเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตแบคทีเรียน้ำส้มสายชูสำเร็จรูป

เลือกอายุของแบคทีเรียน้ำส้มสายชูที่มีจำนวนเซลล์เจริญสูงที่สุด (จากผลการทดลองระยะการเจริญของแบคทีเรียน้ำส้มสายชูที่เหมาะสม) มาผลิตแบคทีเรียน้ำส้มสายชูสำเร็จรูปโดยใช้วัสดุพองเชื้อ 3 ชนิด คือ แป้งข้าวเจ้า แป้งมันสำปะหลัง และหางนมผง โดยเตรียมเชื้อและเพาะเลี้ยงแบคทีเรียน้ำส้มสายชูเช่นเดียวกับการทดลองระยะการเจริญของแบคทีเรียน้ำส้มสายชูที่เหมาะสม เมื่อได้สารแขวนลอยเชื้อ (culture suspension) แล้วจึงปิเปตผสมกับวัสดุพองเชื้อ (บรรจุวัสดุพองเชื้อแต่ละชนิดปริมาณ 5 กรัม ในถุงพลาสติกพอลิโพรพิลีน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ด้วยความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที แล้วอบแห้งที่ 80 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิท) อัตราส่วนสารแขวนลอยเชื้อปริมาณ 1 มิลลิลิตรต่อวัสดุพองเชื้อ 5 กรัม และนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่ 35 องศาเซลเซียส เวลา 4 ชั่วโมง (Maneesri et al., 2011) จนกระทั่งแห้งสนิท แล้วนำมาตรวจวิเคราะห์การเจริญของแบคทีเรียน้ำส้มสายชูที่รอดชีวิตในวัสดุพองเชื้อทันที ตรวจวิเคราะห์การเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนที่มีชีวิต (total plate count) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (plate count agar, PCA) ตรวจวัดปริมาณน้ำอิสระ (water activity, a_w) และตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM)

ศึกษาเทคนิคการอบแห้งที่เหมาะสมต่อการผลิตแบคทีเรียน้ำส้มสายชูสำเร็จรูป

นำวัสดุพองเชื้อที่เหมาะสม (สามารถเก็บรักษาแบคทีเรียน้ำส้มสายชูได้ปริมาณสูงที่สุด) มาศึกษาผลของการอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่ 35 องศาเซลเซียส เวลา 4 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับการไม่อบแห้งและบรรจุในถุงพอลิโพรพิลีนและถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ โดยตั้งอากาศออกทันทีด้วยเครื่องซีลสุญญากาศ แล้วนำมาตรวจวิเคราะห์การรอดชีวิตของแบคทีเรียน้ำส้มสายชู ขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (ประมาณ 5 องศาเซลเซียส) เป็นเวลาอย่างน้อย 2 สัปดาห์

การวิเคราะห์

ตรวจนับการเจริญของแบคทีเรียน้ำส้มสายชูด้วยเทคนิคเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารแข็ง (spread plate technique) เพื่อศึกษาการรอดชีวิตในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYE บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3-5 วัน

ตรวจสอบการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนที่มีชีวิต (total plate count)

ตรวจวัดปริมาณน้ำอิสระ (water activity, a_w) (Aqualab Series 4TE)

ตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) และใช้กำลังขยายตั้งแต่ 500-7,500 เท่า

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ศึกษาระยะการเจริญของเชื้อแบคทีเรียน้ำส้มสายชูที่เหมาะสมในการเก็บรักษา

โดยนำแบคทีเรียน้ำส้มสายชู 2 สายพันธุ์ คือ *Acetobacter aceti* TISTR354 และ *Acetobacter pasteurianus* TISTR521 มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (GYE-broth) เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการเจริญ พบว่าแบคทีเรียน้ำส้มสายชู *A. aceti* เจริญได้ช้ากว่า *A. pasteurianus* เมื่อบ่มที่อุณหภูมิห้อง ดังแสดงใน Figure 1 จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียน้ำส้มสายชู *A. pasteurianus* มีการเจริญในอาหารเหลวทำให้สีของอาหารขุ่น (Figure 1B) และเมื่อนำมาทดสอบการเจริญในอาหารแข็งที่มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต เพื่อสังเกตการสร้างกรดแอซิดิก *A. pasteurianus* (Figure 1D) มีการสร้างกรดมาย่อยสลายละลายแคลเซียมคาร์บอเนตในระหว่างเจริญ แสดงว่า *A. pasteurianus* มีความสามารถในการเจริญได้สูงกว่า *A. aceti* ซึ่งจาก Figure 1A และ Figure 1C ไม่พบการเจริญหรือการสร้างกรดของ *A. aceti*

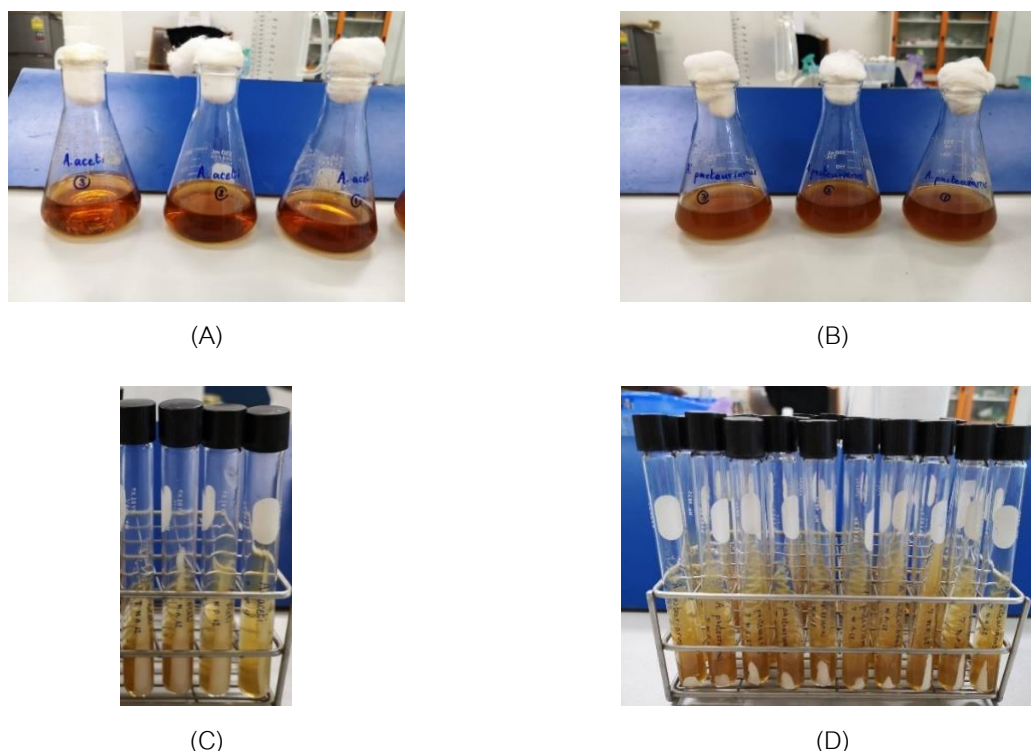


Figure 1 The appearance of growth *A. aceti* (A and C) and *A. pasteurianus* (B and D).

จากนั้นจึงนำแบคทีเรียที่เลี้ยงน้ำส้มสายชู *A. pasteurianus* มาศึกษากระบวนการเจริญที่เหมาะสมเพื่อใช้ผลิตเป็นหัวเชื้อในการหมักน้ำส้มสายชูจากสับปะรด ตรวจสอบการเจริญทุก ๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน ได้ผลการเจริญดังแสดงใน Table 1

Table 1 Growth of acetic acid bacteria in GYE-broth for 5 days incubation at room temperature.

Time (hrs)	Cell viability (CFU/ml)
24	3.56×10^5
48	5.34×10^6
72	2.52×10^8
96	1.13×10^8
120	3.64×10^8

พบว่าตั้งแต่วันที่ 2 ของการเจริญมีจำนวนแบคทีเรียที่เลี้ยงน้ำส้มสายชูสูงถึง 10^6 CFU/ml ซึ่งเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักได้ (เรณู อยู่เจริญ และคณะ, 2561) โดยวันที่ 3 มีการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียที่เลี้ยงน้ำส้มสายชูอยู่ในระดับ 10^8 CFU/ml คงที่จนถึงวันที่ 5 ของการเจริญ ดังนั้นการเจริญของแบคทีเรียที่เลี้ยงน้ำส้มสายชูตั้งแต่วันที่ 3 จึงมีจำนวนสูงที่สุดเพียงพอต่อการนำไปศึกษากระบวนการผลิตแบคทีเรียที่เลี้ยงน้ำส้มสายชูสำเร็จรูปต่อไป

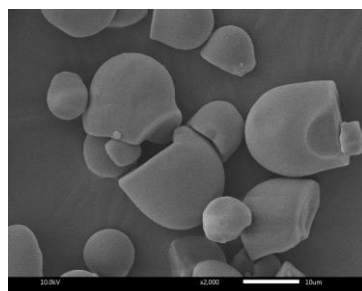
ศึกษาวัสดุพองเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตแบคทีเรียที่เลี้ยงน้ำส้มสายชูสำเร็จรูป

เมื่อนำแบคทีเรียที่เลี้ยงน้ำส้มสายชู *A. pasteurianus* ที่เจริญในอาหาร GYE-broth เป็นเวลา 3 วัน (จากการศึกษาระยะเวลาการเจริญของแบคทีเรียที่เลี้ยงน้ำส้มสายชูที่เหมาะสม) มาเติมในวัสดุพองเชื้อ คือ แป้งข้าวเจ้า แป้งมันสำปะหลัง และหางนมผง ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วบรรจุในถุงพลาสติกพอลิโพรพิลีนปริมาณ 5 กรัม หลังจากเติมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงน้ำส้มสายชูแล้วจึงอบต่อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เวลา 4 ชั่วโมง และวิเคราะห์การเจริญของแบคทีเรียที่เลี้ยงน้ำส้มสายชูที่รอดชีวิตในวัสดุพองเชื้อทันทีพบว่า แบคทีเรียที่เลี้ยงน้ำส้มสายชูที่เก็บรักษาในแป้งข้าวเจ้ามีจำนวนเซลล์รอดชีวิต ประมาณ 10^7 โคโลนีต่อกรัม ใกล้เคียงกับแป้งมันสำปะหลัง แต่หางนมผงมีการเจริญของแบคทีเรียที่เลี้ยงน้ำส้มสายชูเพียง 10^4 โคโลนีต่อกรัม น้อยกว่า 10^6 โคโลนีต่อกรัม จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาผลิตต่อไป เมื่อพิจารณาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นพบว่าน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อกรัม และมีค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w) หลังอบแห้งวัสดุพองเชื้อแต่ละชนิด ดังแสดงใน Table 2

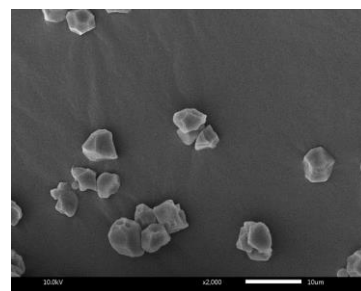
Table 2 Comparison of supporting materials on survival cell in instant acetic acid bacteria.

Supporting materials	a_w	Average survival cell (CFU/g)	Contaminated cell (CFU/g)
Rice starch	0.525	5.97×10^7	<10
Cassava starch	0.492	4.65×10^7	<10
Skim milk powder	0.318	2.16×10^4	<10

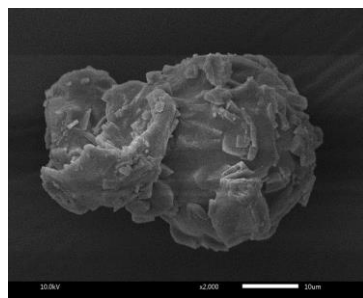
จากนั้นนำวัสดุพองเชื้อทั้ง 3 ชนิด คือ แป้งข้าวเจ้า แป้งมันสำปะหลัง และหางนมผง ไปตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดดังแสดงใน Figure 2 จากภาพจะเห็นได้ว่าตัวอย่างแบคทีเรีย น้ำส้มสายชูที่เก็บรักษาในแป้งข้าวเจ้ามีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเหมือนกับตัวอย่างแบคทีเรีย น้ำส้มสายชูที่ได้รับความอนุเคราะห์ (ไม่มีจำหน่ายทางการค้า) จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ทั้งนี้อนุภาคของแป้งข้าวเจ้ามีขนาดเล็ก (ประมาณ 2-5 ไมครอน) (Figure 2B) และมีความสม่ำเสมอสูงกว่าแป้งมันสำปะหลัง (ประมาณ 5-20 ไมครอน) (Figure 2A) และหางนมผง (ประมาณ 30-50 ไมครอน) จึงมีความสามารถพองรักษาเชื้อได้ดี ขนาดอนุภาคของแป้งนั้นส่งผลต่อความสามารถในการละลายเป็นเนื้อเดียวกันในน้ำหมักได้สูงกว่าแป้งมันสำปะหลัง สอดคล้องกับภูมิปัญญาท้องถิ่นของไทย ในการผลิตลูกแป้งเพื่อเป็นการเก็บรักษาเชื้อโดยผสมแป้งข้าวเจ้ากับลูกแป้งสำเร็จรูปที่มีส่วนผสมของเครื่องเทศสมุนไพร เช่น กระเทียม ขิง ข่า ตะไคร้ และพริกไทย เป็นต้น ซึ่งมีข้อเสียคือไม่ทราบปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นที่แน่นอน เชื้อจุลินทรีย์อยู่ในรูปแบบผสมมีโอกาสปนเปื้อน และไม่สามารถควบคุมคุณภาพได้ ดังนั้นการพัฒนารูปแบบการผลิตแบคทีเรีย น้ำส้มสายชูสำเร็จรูป จึงเลือกใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นวัสดุพองเชื้อที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาจุลินทรีย์หลักเพียงชนิดเดียวคือแบคทีเรีย น้ำส้มสายชู ซึ่งทราบจำนวนเชื้อเริ่มต้น และผ่านกระบวนการผลิตที่ลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการได้



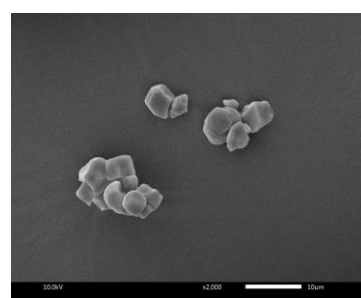
(A) cassava starch



(B) rice starch



(C) skim milk powder



(D) bacteria powder from TISTR

Figure 2 Scanning electron micrographs of (A) cassava starch, (B) rice starch, and (C) skim milk powder compare with (D) bacteria powder from TISTR.

ศึกษาเทคนิคการอบแห้งที่เหมาะสมต่อการผลิตแบคทีเรีย น้ำส้มสายชูสำเร็จรูป

หลังจากนำแบคทีเรีย น้ำส้มสายชู *A. pasteurianus* ที่เจริญในอาหารเหลวเป็นเวลา 3 วัน เติมน้ำสดพองเชื้อ คือ แป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (จากการทดลองข้างต้น) แล้วเปรียบเทียบกับการใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง (Maneesri et al., 2011) อบแห้งแป้งเพื่อไล่น้ำและทำให้แป้งข้าวเจ้าแห้งสามารถเก็บรักษาเชื้อไว้ได้นานขึ้น

เปรียบเทียบกับ การไม่อบแห้งและดึงอากาศออกทันทีด้วยเครื่องซีลสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (ประมาณ 5 องศาเซลเซียส) แล้วจึงนำมาวิเคราะห์การเจริญของแบคทีเรียน้ำส้มสายชูที่รอดชีวิตในระหว่างเก็บรักษาเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าแบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชูที่รอดชีวิตหลังการอบแห้งและไม่ผ่านการอบแห้ง (โดยบรรจุแบบสุญญากาศทันทีหลังเติมแบคทีเรียน้ำส้มสายชู) ได้ผลดังแสดงใน Table 3 ในวันแรกจำนวนเชื้อหลังผ่านการอบแห้งในตู้อบ (7.80×10^7 โคโลนีต่อกรัม) มีเซลล์รอดชีวิตน้อยกว่าที่ไม่อบแห้ง (1.15×10^8 โคโลนีต่อกรัม) ทั้งนี้อุณหภูมิและเวลาในตู้อบมีผลต่อการรอดชีวิตของแบคทีเรียน้ำส้มสายชู แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเก็บรักษาต่อจนครบ 2 สัปดาห์ แบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชูสำเร็จรูปทั้ง 2 รูปแบบที่ผ่านการอบแห้งและไม่ผ่านการอบแห้งนี้มีจำนวนแบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชูรอดชีวิตสูง (ประมาณ 10^6 โคโลนีต่อกรัม) เพียงพอสำหรับการนำไปผลิตน้ำส้มสายชูได้เช่นเดียวกัน ทั้งนี้สภาพที่ไม่ผ่านการอบแห้งนั้นสามารถที่จะรักษาจำนวนแบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชูได้ดีเทียบเท่ากับการอบแห้ง ลดขั้นตอนการผลิตได้ และตัวเซลล์แบคทีเรียดังกล่าวไม่ผ่านอุณหภูมิความร้อนที่รุนแรง ดังนั้นรูปแบบการผลิตแบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชูสำเร็จรูปโดยเก็บรักษาแบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชูที่มีจำนวนที่เหมาะสมเติมในวัสดุพุงเชื้อ คือ แป้งข้าวเจ้า ที่ผ่านการฆ่าเชื้อในถุงพลาสติกพอลิโพรพิลีนปริมาณ 5 กรัม สภาพไม่อบแห้งและดึงอากาศออกทันทีแบบสุญญากาศนั้นสามารถเก็บรักษาแบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชูและนำไปใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นเพื่อผลิตสับปะรดไซเดอร์ในชุมชนได้

Table 3 Effect of dehydration on cell viability and stability.

Storage time (room temp.) (days)	Average survival cell (CFU/g)	
	Dried at 35°C 4 hrs	Non-dried
0	7.80×10^7	1.15×10^8
7	1.55×10^7	2.26×10^8
14	3.00×10^6	8.45×10^7

คณะผู้วิจัยได้นำสภาวะการเก็บรักษาแบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชูในแป้งข้าวเจ้ามาพัฒนาเป็นต้นแบบแบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชูสำเร็จรูปบรรจุอะลูมิเนียมฟอยล์ในสภาพสุญญากาศ (Figure 3) เพื่อใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดที่เหมาะสมกับกลุ่มเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดราชบุรี ทั้งนี้ได้ศึกษาอายุการเก็บรักษาของแบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชูสำเร็จรูปนี้ในสภาวะอุณหภูมิอื่น ๆ ที่จะช่วยคงปริมาณเซลล์แบคทีเรียได้ดี และทดสอบประสิทธิภาพ การผลิตสับปะรดไซเดอร์จากแบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชูสำเร็จรูปนี้ในชุมชนต่อไป



(A) vacuum seal



(B) prototype of instant acetic acid bacteria

Figure 3 Prototype of Instant acetic acid bacteria.

สรุปผลการศึกษา

เมื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์กึ่งสำเร็จรูปแบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชูสำเร็จรูปชนิดผงในห้องปฏิบัติการ พบว่าแบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชู *A. pasteurianus* ที่มีการเจริญในอาหารเหลวเป็นเวลา 3 วัน มีความเหมาะสมต่อการเจริญและเก็บรักษามากกว่า *A. aceti* และการเปรียบเทียบวัสดุพุงเชื้อ คือ แป้งข้าวเจ้า แป้งมันสำปะหลัง และหางนมผง ต่อการเก็บรักษาแบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชู พบว่า แบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชูที่เก็บรักษาในแป้งข้าวเจ้ามีการรอดชีวิตได้ใกล้เคียงกับในแป้งมันสำปะหลัง มีจำนวนเซลล์รอดชีวิตประมาณ 10^7 โคโลนีต่อกรัม และลักษณะทางสัณฐานวิทยาเช่นเดียวกับแบคทีเรียที่ใช้น้ำส้มสายชูผงจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์

และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ที่ได้รับความอนุเคราะห์เพื่อการผลิตน้ำส้มสายชูแต่ไม่มีจำหน่ายทางการค้า ดังนั้นจึงเลือกใช้แบคทีเรียเจ้าเป็นวัสดุพองเชื้อในการเก็บรักษาแบคทีเรียที่เรี่ยน้ำส้มสายชู และพัฒนาได้เป็นต้นแบบแบคทีเรียที่เรี่ยน้ำส้มสายชูสำเร็จรูปชนิดผง บรรจุถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ในสภาพสุญญากาศ เพื่อใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดของกลุ่มเกษตรกรต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ภายใต้งานวิจัยการบูรณาการการพัฒนาปัจจัยการผลิตการสร้างมูลค่าเพิ่มและการบริหารจัดการการตลาดเพื่อยกระดับคุณภาพชีวิตของเกษตรกรผู้ปลูกสับปะรดจังหวัดราชบุรี ประเภททุนโครงการวิจัยท้าทายไทยและโครงการวิจัยตอบสนองนโยบายเป้าหมายรัฐบาลตามระเบียบวาระแห่งชาติปี 2561 และขอขอบคุณคุณคุณลาวัลย์ ชตานนท์ นักวิจัยจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ที่ให้คำปรึกษาในการผลิตเชื้อแบคทีเรียแอซิติกสำเร็จรูป

เอกสารอ้างอิง

- ไชยรัตน์ สัมฉน. 2559. สับปะรดแปลงใหญ่บ้านคา ต้นแบบแปลงดินเลวให้มีค่า. หนังสือพิมพ์ไทยรัฐ. <https://www.thairath.co.th/content/680497> (20 มีนาคม 2560).
- จารุวรรณ มณีศรี และพายุพ มาศนิยม. 2556. รายงานวิจัย เรื่อง การผลิตกล้าเชื้อผงสำหรับทำขนมถ้วยฟู. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี.
- ชญาพร โพธิ์สุวรรณ, ครองศักดิ์ ภาณุชนก, พุทธพร พุ่มโรจน์, นิชากร ปทุมรังสรรค์, อัจฉริยา โชติกลาง, อรรถพล อูสายพันธ์, ชนภัทร ผดุงอรรถ และคณะ. 2561. รายงานวิจัย โครงการสร้างมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรเพื่อกระตุ้นเศรษฐกิจฐานรากจากพืชเศรษฐกิจชุมชน สับปะรดจังหวัดราชบุรี. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.).
- ชนภัทร ผดุงอรรถ, สวรรยา ปัญญานันท์ และวรรณรัตน์ เจริญแสนยาว. 2561. รายงานวิจัย เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจากน้ำส้มสายชูหมักสับปะรดเพื่อการใช้ประโยชน์และเพิ่มมูลค่าสับปะรดเหลือทิ้ง. ใน ชุดโครงการสร้างมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรเพื่อกระตุ้นเศรษฐกิจฐานรากจากพืชเศรษฐกิจชุมชนสับปะรดจังหวัดราชบุรี. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.).
- ชื่นจิต ประกิจชัยวัฒนา, ปรีดี ศุภมิตรโยธิน, ศานต์ เศรษฐชัยมงคล, อัจฉริยา สุริยา และชื่นจิต จันทจุญพงษ์. 2559. รายงานวิจัย เรื่อง การพัฒนาระบบการผลิตปลาร้าเพื่อเพิ่มอัตราการผลิตและสร้างอัตลักษณ์ของผลิตภัณฑ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.).
- ภาวิดา เจริญจินดารัตน์ และดวงกมล (ปานรศทิพ) ธรรมาธิวัฒน์. 2561. งานวิจัยท้องถิ่นเพื่อความเข้มแข็งของชุมชน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 36(2): 152-161.
- เรณู อยู่เจริญ, สโรชา กายเพชร, ปฐมาวดี เย็นจัตุรัส, ฐาปกรณ์ ชุมพล และศรัณย์ พรหมสาย. 2560. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มข้าวพันธุ์พื้นเมืองของไทยโดยใช้แบคทีเรียโพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum*. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม 7(2): 28-41.
- วันเชิญ โพธิ์เจริญ, ภัทรพร (ยุคนวน) รัตนวารี, ทวีศักดิ์ มะลิมาศ และยุชระ ยามาตะ. 2550. แบคทีเรียผลิตกรดน้ำส้มสายชู (acetic acid bacteria). ใน รายงานการวิจัยในชุดโครงการวิจัยของภาควิชาชีววิทยา, วิทยาลัย โขไม้, บรรณาธิการ. น. 400-408. สำนักพิมพ์โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (Biodiversity Research and Training Program, BRT).
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2556. สถิติการเกษตรของประเทศไทยปี 2556. <http://www.oae.go.th/assets/portals/1/files/ebook/yearbook56.pdf> (29 กรกฎาคม 2562).
- Kerstens, K., Lisdiyanti, P., Komagata, K., and Swings, J. 2006. The family Acetobacteraceae: the genera *Acetobacter*, *Acidomonas*, *Asaia*, *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter*, and *Kozakia*. In *The Prokaryotes: 3rd ed.*, Vol.5, M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, and E. Stackebrandt, eds. pp. 163-200. New York: Springer.
- Maneesri, J., Masniyom, P., and Wipawan, W. 2011. Production of *Acetobacter aceti* starter powder by low temperature thermal drying. In *The 23rd Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology*, C. Boonched, ed. pp. 190-192. The Imperial Queen Park Hotel, Bangkok, Thailand.
- Mohamad, N. E., Yeap, S. K., Lim, K. L., Yusof, H. M., Beh, B. K., Tan, S. W., Ho, W. Y. et al. 2015. Antioxidant effects of pineapple vinegar in reversing of paracetamol-induced liver damage in mice. *Chinese Medicine* 10(3): 1-10.
- Sengun, I. Y., and Karabiyikli, S. 2011. Importance of acetic acid bacteria in food industry. *Food Control* 22(5): 647-656.

วันรับบทความ (Received date) : 19 ก.ค. 62

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 18 ธ.ค. 63

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 27 เม.ย. 64