

การหมักน้ำบีทรูทผสมด้วยแบคทีเรียกรดแลคติกและการรีไซเคิลสตาร์ทเตอร์
FERMENTATION OF MIXED BEETROOT JUICE WITH LACTIC ACID
BACTERIA AND RECYCLING STARTER

ปิ่นมณี ขวัญเมือง

Pinmanee Kwanmuang

รองศาสตราจารย์ ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

pinmanee.kw@kmitl.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาสูตรน้ำบีทรูทผสมที่เหมาะสมต่อการหมักด้วย *Lactobacillus pentosus* ที่ผู้บริโภคยอมรับ ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ศึกษาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ค่าพีเอช และศึกษาจำนวนเซลล์ *L. pentosus* ระหว่างการหมัก การรีไซเคิลสตาร์ทเตอร์ และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักบีทรูทผสม ผลการศึกษาพบว่าสูตรน้ำบีทรูทผสมที่เหมาะสมต่อการหมักคือ น้ำบีทรูท 50 % น้ำสับปะรด 25 % และน้ำกลั่น 25 % (โดยปริมาตร) ในระหว่างการหมักครั้งที่ 1 อายุการหมัก 48 ชั่วโมง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ลดลงจาก 15.00 เป็น 14.10 องศาบริกซ์ กรดแลคติกเพิ่มจาก 0.214 เป็น 0.612 เปอร์เซ็นต์ ค่าพีเอชลดลงจาก 3.95 เป็น 3.17 และจำนวนเซลล์ *L. pentosus* เพิ่มจาก 9.40×10^6 เป็น 6.50×10^{10} โคโลนี/มล. การเปลี่ยนแปลงของการรีไซเคิลรอบที่ 6 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดคงที่ เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มขึ้น ค่าพีเอชลดลง และจำนวนเซลล์ *L. pentosus* เพิ่มจาก 10^6 เป็น 10^{10} โคโลนี/มล. น้ำหมักบีทรูทผสมที่ได้มีคุณค่าทางโภชนาการสูงเหมาะสำหรับใช้เป็นเครื่องดื่มโปรไบโอติก ได้แก่ มีคาร์โบไฮเดรตรวมไฟเบอร์ โปรตีน พลังงาน โปแตสเซียม และมีจุลินทรีย์โปรไบโอติก น้ำหมักบีทรูทที่ได้มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

คำสำคัญ: น้ำบีทรูทผสม การหมักกรดแลคติก แบคทีเรียกรดแลคติก แลคโทบาซิลลัส เพนโตซิส การรีไซเคิลสตาร์ทเตอร์

Abstract

The purpose of this research was to studying the optimum formula of mixed beetroot juice for fermentation with *Lactobacillus pentosus* that acceptable of customers, studying the change of total soluble solid, percent of lactic acid, pH and viable cell of *L. pentosus* during beetroot juice fermentation, recycling, and storage of fermented beetroot juice at 4 °C, and studying the nutritional value of fermented beetroot juice. The result showed that, the optimum formula of beetroot juice for fermentation were as follows : 50 % (v/v) beetroot juice, 25 % (v/v) pineapple juice and 25 % (v/v) distilled water. During 48 hours of fermentation, total soluble solid was decreased from 15.00 to 14.10 °brix, lactic acid was increased from 0.214 to 0.612 %, pH value was decreased from 3.95 to 3.17, and viable cell of *L. pentosus* was increased from 9.40×10^6 to 6.50×10^{10} colony/ml. The change of sixth recycling starter culture were as follows: total soluble solid was stable, lactic acid was increased, pH value was decreased, and viable cell of *L. pentosus* was increased from 10^6 to 10^{10} colony/ml. The fermented beetroot juice had high nutritional value and suitable for probiotic beverage, such as carbohydrate include fiber, protein, energy, potassium and probiotic of *L. pentosus*, The fermented mixed beetroot juice can be stored at 4 °C for 30 days.

Keywords: Mixed Beetroot juice; Lactic acid Fermentation; Lactic acid Bacteria; *Lactobacillus pentosus*
Recycling starter

1. บทนำ

บีทรูท (beetroot : *Beta vulgaris* L.) เป็นพืชในตระกูล ผักกาด มีหัวอยู่ใต้ดิน ลักษณะของหัวรูปร่างกลมป้อม เปลือกมีสีดำ เนื้อมีลักษณะฉ่ำน้ำเป็นชั้นๆ มีสีเลือดหมูหรือสีม่วงแดง บีทรูทจัดเป็นพืชผักเมืองหนาว มีถิ่นกำเนิดในแถบเมดิเตอร์เรเนียน ปัจจุบันสามารถปลูกได้ทางภาคเหนือของประเทศไทย [1] การใช้ประโยชน์จากบีทรูทมีหลายรูปแบบ ได้แก่ การบริโภคสดในลักษณะของสลัด และนำมาแปรรูปเป็นน้ำบีทรูท ซึ่งน้ำบีทรูทเป็นเครื่องดื่มหนึ่งที่ได้จากการนำหัวบีทรูทสด ไม่เนาเสีย มาล้างให้สะอาด ปอกเปลือกแล้วหั่นเป็นชิ้น นำมาปั่นโดยผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 โดยน้ำหนัก กรองและแยกกากออก น้ำบีทรูทที่ได้อาจจะนำมาปรุงแต่งด้วยน้ำตาล กรดซิตริก หรือผสมกับน้ำผลไม้ชนิดอื่นจากนั้นนำไปต้มฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิไม่น้อยกว่า 95 องศาเซลเซียส บรรจุแล้วทำให้เย็นทันที น้ำบีทรูทมีทั้งน้ำบีทรูทแท้และน้ำบีทรูทปรุง [2] ใช้บริโภคเป็นเครื่องดื่ม องค์ประกอบทางเคมีของบีทรูทมีคุณค่าทางโภชนาการหลายอย่าง ได้แก่ น้ำตาล โยอาหาร วิตามินบี 1 บี 2 และ บี 3 วิตามินเอในรูปของเบต้าแคโรทีน และเกลือแร่ เช่น แมกนีเซียม โซเดียม โพแทสเซียม ซึ่งองค์ประกอบต่างๆ ที่พบในน้ำบีทรูท มีความจำเป็นสำหรับการบริโภค [3, 4] น้ำบีทรูทนอกจากจะบริโภคเป็นเครื่องดื่มที่มีประโยชน์แล้ว ยังสามารถนำมาแปรรูปต่อโดยใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักเพื่อใช้เป็นเครื่องดื่มโพรไบโอติก (probiotic beverage) หรือเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ (functional drink) โดยเฉพาะนำมาหมักด้วยจุลินทรีย์โพรไบโอติก ได้แก่ แบคทีเรียกรดแลคติก [5] ซึ่งเครื่องดื่มที่ได้จากการหมักนี้จัดเป็นเครื่องดื่มในกลุ่มของเครื่องดื่มโพรไบโอติกส์ ตัวอย่าง เช่น คีเฟอร์ [6] และน้ำหมักพืช [7] โดยน้ำหมักพืชเป็นเครื่องดื่มที่ได้จากการนำส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชชนิดเดียวหรือหลายชนิดมาผ่านการผลิตน้ำหมักพืชโดยใช้จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดกรดแลคติกเป็นส่วนประกอบหลัก เช่น *Lactobacillus sp.* และ *Bifidobacterium* เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบันน้ำหมักพืชเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้ต้องการรักษาสุขภาพ เพราะนอกจากจะได้ประโยชน์จากสารอาหารที่พบในพืชแล้ว ยังได้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิต การวิจัยครั้งนี้เป็นการนำน้ำบีทรูทมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเครื่องดื่มโพรไบโอติก โดยศึกษาสูตรที่ผู้บริโภคมองรับ ซึ่งในกระบวนการหมักประกอบด้วย การเตรียมวัตถุดิบ การเตรียมสแตรต์เตอร์ และการหมัก โดยในขั้นตอนของการเตรียมสแตรต์เตอร์จะใช้เวลาประมาณ 2-3 วัน ดังนั้นการใช้น้ำที่ผ่านการหมักมาเป็นสแตรต์เตอร์ในการหมักรอบ

ต่อไปจึงเป็นแนวทางลดขั้นตอนในการหมักได้โดยที่กิจกรรมการหมักยังเหมือนเดิม

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสูตรน้ำบีทรูทผสมที่เหมาะสมต่อการหมักด้วยกล้าเชื้อ *L. pentosus* ที่ผู้บริโภคมองรับ
2. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักน้ำบีทรูทผสม และการรีไซเคิลสแตรต์เตอร์
3. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา น้ำหมักบีทรูทผสมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
4. เพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักบีทรูทผสม

3. วัตถุดิบ และสารเคมี

วัตถุดิบที่ใช้ในการเตรียมน้ำบีทรูทผสมเพื่อใช้ในการหมัก ได้แก่ น้ำบีทรูท น้ำแครอท น้ำสับปะรด และน้ำตาลทราย จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมัก คือ เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *L. pentosus* การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ใช้เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร MRS agar การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์กรดใช้การไตเตรทตัวอย่างน้ำหมักบีทรูทผสมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

4. วิธีการทดลอง

4.1 การเตรียมส่วนผสมในการหมัก

1. การเตรียมน้ำบีทรูท นำบีทรูทสดมาล้างให้สะอาด ปอกเปลือก หั่นเป็นแว่น ชั่งน้ำหนัก นำมาปั่นโดยใช้ส่วนผสมเนื้อบีทรูท : น้ำ เท่ากับ 1 : 2 (น้ำหนัก : ปริมาตร) ปั่นจนละเอียด กรองด้วยผ้าขาวบาง ได้น้ำบีทรูทสำหรับใช้ผสมสูตรต่อไป

2. การเตรียมน้ำแครอท นำแครอทสดมาล้างให้สะอาด ปอกเปลือก หั่นเป็นแว่น ชั่งน้ำหนัก นำไปนึ่งพอสุก ปล่อยให้เย็น และนำมาปั่น โดยใช้ส่วนผสมเนื้อแครอท : น้ำ เท่ากับ 1 : 1 (น้ำหนัก : ปริมาตร) ปั่นจนละเอียด กรองด้วยผ้าขาวบาง ได้น้ำแครอทสำหรับผสมสูตรต่อไป

3. การเตรียมน้ำสับปะรด นำสับปะรดมาปอกเปลือก ล้างและหั่นเป็นชิ้น นำมาปั่น โดยใช้เนื้อสับปะรด : น้ำ เท่ากับ 1: 1 (น้ำหนัก : ปริมาตร) ปั่นจนละเอียด กรองด้วยผ้าขาวบาง ได้น้ำสับปะรดสำหรับผสมสูตรต่อไป

การผสมสูตรในการหมัก

เตรียมน้ำบีทรูทผสมเพื่อใช้ในการหมักทั้งหมด 4 สูตร โดยแต่ละสูตรมีส่วนผสมตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงการผสมสูตรในการทดลอง (100 มล.)

ส่วนผสม (มิลลิกรัม)	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
น้ำปีทรูท	75	50	50	25
น้ำแครอท	0	25	0	25
น้ำสับปะรด	0	0	25	25
น้ำกลั่น	25	25	25	25
รวมปริมาตร (มล.)	100	100	100	100

นำส่วนผสมทั้ง 4 สูตร มาปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดให้เท่ากับ 10 และ 15 องศาบริกซ์ รวมน้ำปีทรูทผสมทั้งหมด 8 สูตร จากนั้นนำไปพาสเจอร์ไรซ์โดยใช้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทำให้เย็น สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมสตาร์ทเตอร์ และการหมักต่อไป

4.2 การเตรียมสตาร์ทเตอร์

ใช้ลูปเขี่ยเชื้อ *L. pentosus* จากหลอดเก็บเชื้อ (stock culture) มาเขี่ยบนอาหารแข็งสูตร MRS นำไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะเห็นเชื้อขึ้นตามรอยขีด ใช้ลูปเขี่ยโคลนเชื้อที่เจริญบนเพลทมา 1 ลูปนำไปละลายในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 10 มล. จะได้สารละลายเชื้อ นำสารละลายเชื้อไปใส่ในน้ำปีทรูทสูตรที่ 1 ที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 10 และ 15 องศาบริกซ์ ใช้ปริมาตรของสารละลายเชื้อต่อน้ำปีทรูท 1 : 10 (โดยปริมาตร) ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปหมักในตู้บ่ม อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับใช้เป็นสตาร์ทเตอร์ในการหมักต่อไป

4.3 การหมัก

นำสตาร์ทเตอร์ที่เตรียมไว้ตามข้อ 4.2 ไปเติมในน้ำปีทรูทผสมที่เตรียมไว้ โดยสตาร์ทเตอร์ที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 10 องศาบริกซ์ ใช้เติมน้ำปีทรูทที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 10 องศาบริกซ์ ทั้ง 4 สูตร และสตาร์ทเตอร์ที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 15 องศาบริกซ์ ใช้เติมน้ำปีทรูทที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 15 องศาบริกซ์ ทั้ง 4 สูตร จากนั้นนำไปหมักในตู้บ่ม อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะได้น้ำหมักปีทรูทผสมสำหรับนำไปทดสอบทางประสาทสัมผัส

4.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

นำน้ำหมักปีทรูทผสมทั้ง 8 สูตร ไปทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และความชอบ โดยใช้กลุ่มผู้ชิมจำนวน 30 คน ใช้แบบให้คะแนน 9-point Hedonic Scale Test เลือกสูตรที่ผู้บริโภคยอมรับ

มากที่สุดโดยพิจารณาจากค่าเฉลี่ยไปศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักต่อไป

4.5 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

- วิเคราะห์การยอมรับทางประสาทสัมผัส ทดสอบโดยใช้แบบให้คะแนน 9-point Hedonic Scale Test นำผลการทดสอบมาเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของการทดสอบในแต่ละด้าน
- วิเคราะห์ระหว่างการหมักที่อายุการหมัก 0 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง และที่อายุการเก็บรักษา 0 5 10 15 20 25 และ 30 วัน โดยวิเคราะห์ค่าพีเอชด้วยเครื่องวัดพีเอช วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดด้วย Hand refractometer วิเคราะห์ปริมาณกรดในรูปของกรดแลคติกโดยการไตเตรท และวิเคราะห์จำนวนเซลล์จุลินทรีย์ด้วยการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร MRS agar

5. ผลการทดลอง

5.1 ผลการคัดเลือกสูตรที่ผู้บริโภคยอมรับโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ตารางที่ 2 แสดงการทดสอบทางประสาทสัมผัส น้ำหมักปีทรูทผสม

สูตร	ค่าเฉลี่ยของการทดสอบทางประสาทสัมผัส				
	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบรวม
110	7.15 ^a	7.47 ^a	5.25	5.38 ^d	6.25 ^{ab}
115	7.04 ^{ab}	7.29 ^a	5.45	5.09 ^d	6.11 ^{ab}
210	5.18 ^d	5.33 ^c	5.20	5.84 ^{bc}	5.82 ^d
215	5.36 ^d	5.24 ^c	5.53	6.18 ^{ab}	6.22 ^{ab}
310	6.24 ^c	6.25 ^b	5.55	5.80 ^{bc}	6.00 ^{ab}
315	6.45 ^{bc}	6.60 ^b	5.53	6.69 ^a	6.67 ^a
410	4.80 ^d	4.82 ^c	5.36	4.91 ^d	5.13 ^c
415	4.98 ^d	5.22 ^c	5.29	5.65 ^{bcd}	5.55 ^c

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบทางประสาทสัมผัส น้ำหมักปีทรูทผสม พบว่า น้ำหมักปีทรูทผสมสูตร 315 ซึ่งเป็นสูตรที่ใช้ส่วนผสมของน้ำปีทรูท น้ำสับปะรด และน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 50 : 25 : 25 (โดยปริมาตร) และมีความหวาน 15 องศาบริกซ์ มีค่าเฉลี่ยของการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านรสชาติและความชอบรวมสูงกว่าตัวอย่างอื่น โดยมีค่าเฉลี่ยด้านรสชาติเท่ากับ 6.69 และค่าเฉลี่ยความชอบรวมเท่ากับ 6.67 (ตารางที่ 2) โดยลักษณะของน้ำหมักปีทรูทผสมที่ได้มีสีม่วงแดง รสชาติอมหวาน เมื่อตั้งทิ้งไว้พบตะกอนเล็กน้อย ดังนั้น จึงเลือกน้ำปีทรูทสูตรดังกล่าวไปศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักและการไรโซเคลสสตาร์ทเตอร์ต่อไป

5.2 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักน้ำปืทรูทผสม และการรีไซเคิลสตาร์ทเตอร์

การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักในตารางที่ 3 พบว่าการหมักครั้งที่ 1 ซึ่งใช้สตาร์ทเตอร์ที่เตรียมจากหลอดเก็บเชื้อ การเปลี่ยนแปลงองศาบริกซ์ ค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์ กรดแลคติก จำนวนเซลล์ มีการเปลี่ยนแปลงจากเริ่มต้นการหมัก 0 ชั่วโมง จนถึงสิ้นสุดการหมักที่ 48 ชั่วโมง ดังนี้ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลงจาก 15.00 เป็น 14.10 ค่าพีเอชลดลงจาก 3.95 เป็น 3.17 เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มขึ้น จาก 0.214 เป็น 0.612 และจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 9.40×10^6 เป็น 6.50×10^{10} โคโลนี/มิลลิลิตร และเมื่อนำน้ำหมักที่อายุ 48 ชั่วโมง ไปเป็นสตาร์ทเตอร์ครั้งที่ 1 นำน้ำหมักครั้งที่ 2 ไปเป็นสตาร์ทเตอร์ จนถึงครั้งที่ 6 พบว่า กิจกรรมของเชื้อในระหว่างการหมักยังดำเนินไปได้ด้วยดี ซึ่งจากการวิเคราะห์ในระหว่างการหมักของทุกๆ รอบของการรีไซเคิลสตาร์ทเตอร์ พบว่า ค่าพีเอชในระหว่างการหมักลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกและจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น โดยจำนวนเซลล์เริ่มต้นในแต่ละรอบของการรีไซเคิลอยู่ที่ 10^6 เพิ่มเป็น 10^{10} โคโลนี/มิลลิลิตร ซึ่งเซลล์สามารถเจริญได้ดีในสภาวะของน้ำปืทรูทผสม ส่วนองศาบริกซ์มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย เนื่องจากน้ำปืทรูทผสมนอกจากจะมีน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนแล้ว ยังมีสารต่างๆ ที่เซลล์สามารถนำไปใช้ในการเจริญและการสังเคราะห์กรดแลคติกได้ จากข้อมูลการรีไซเคิลสตาร์ทเตอร์ในการหมักจะเห็นได้ว่า กิจกรรมการหมักในการรีไซเคิลสตาร์ทเตอร์เกิดได้ดี เป็นการลดระยะเวลาในการเตรียมสตาร์ทเตอร์ใหม่แต่ละครั้งได้เป็นอย่างดี

ตารางที่ 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก องศาบริกซ์ และจำนวนเซลล์ ระหว่างการหมักและการรีไซเคิลสตาร์ทเตอร์

อายุการหมัก (ชั่วโมง)	องศาบริกซ์	พีเอช	กรดแลคติก (%)	จำนวนเซลล์ (โคโลนี/มล.)	หมายเหตุ
0	15.00	3.95	0.214	9.40×10^6	หมักครั้งที่ 1 ใช้สตาร์ทเตอร์ 10 %
12	15.00	3.74	0.367	1.32×10^8	
24	14.80	3.48	0.398	3.25×10^9	
36	14.20	3.28	0.490	4.30×10^9	
48	14.10	3.17	0.612	6.50×10^{10}	
0	15.00	3.95	0.122	1.06×10^7	รีไซเคิลรอบที่ 1 ใช้สตาร์ทเตอร์ 5 %
12	15.00	3.38	0.398	2.70×10^6	
24	14.00	3.19	0.428	4.60×10^8	
36	14.00	3.12	0.490	5.10×10^9	
48	14.00	3.08	0.518	2.90×10^{10}	

ตารางที่ 3 (ต่อ)

อายุการหมัก (ชั่วโมง)	องศาบริกซ์	พีเอช	กรดแลคติก (%)	จำนวนเซลล์ (โคโลนี/มล.)	หมายเหตุ
0	15.00	4.10	0.245	2.00×10^7	รีไซเคิลรอบที่ 2 ใช้สตาร์ทเตอร์ 5 %
12	15.00	3.32	0.398	2.50×10^8	
24	15.00	3.21	0.520	5.00×10^8	
36	15.00	3.09	0.581	5.90×10^9	
48	15.00	3.09	0.581	8.50×10^{10}	
0	15.00	3.97	0.210	3.01×10^6	รีไซเคิลรอบที่ 3 ใช้สตาร์ทเตอร์ 5 %
12	15.00	3.38	0.390	6.10×10^8	
24	15.00	3.29	0.420	9.65×10^8	
36	15.00	3.22	0.570	6.20×10^9	
48	15.00	3.19	0.630	6.00×10^{10}	
0	15.00	3.96	0.240	1.01×10^7	รีไซเคิลรอบที่ 4 ใช้สตาร์ทเตอร์ 5 %
12	15.00	3.42	0.480	2.50×10^8	
24	15.00	3.21	0.480	5.90×10^8	
36	15.00	3.17	0.540	2.45×10^9	
48	15.00	3.07	0.570	8.10×10^{10}	
0	15.00	3.98	0.180	7.45×10^6	รีไซเคิลรอบที่ 5 ใช้สตาร์ทเตอร์ 5 %
12	15.00	3.39	0.480	4.35×10^8	
24	15.00	3.21	0.510	1.06×10^9	
36	15.00	3.21	0.540	5.40×10^9	
48	15.00	3.04	0.630	9.30×10^{10}	
0	15.00	3.95	0.240	7.90×10^6	รีไซเคิลรอบที่ 6 ใช้สตาร์ทเตอร์ 5 %
12	15.00	3.43	0.540	2.70×10^8	
24	15.00	3.20	0.540	6.60×10^8	
36	15.00	3.14	0.570	5.80×10^9	
48	15.00	3.08	0.660	6.20×10^{10}	

5.3 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา น้ำหมักปืทรูท

การเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา ดำเนินการโดยนำน้ำปืทรูทผสมสูตรที่ 6 มาหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ทุก 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก และจำนวนเซลล์ เท่ากับ 15 3.18 0.551 และ

7.70×10^9 โคโลนี/มล. (ตารางที่ 4) จากนั้นนำไปเก็บรักษาในตู้เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ทุก 5 วัน เป็นเวลา 30 วัน ผลการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา 0-30 วัน พบว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดคงที่ ค่าพีเอชลดจาก 3.18 เป็น 3.15 เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มขึ้นจาก 0.551 เป็น 0.690 ส่วนจำนวนเซลล์คงที่อยู่ที่ 10^9 โคโลนี/มล. (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงพีเอช เฟอร์เซนต์กรดแลคติก
องศาบริกซ์ และจำนวนเซลล์ ระหว่างการหมัก

อายุ การหมัก (ชั่วโมง)	องศา บริกซ์	พีเอช	กรด แลคติก (%)	จำนวนเซลล์ (โคโลนี/มล.)	หมายเหตุ
0	15	3.98	0.180	7.45×10^6	
12	15	3.39	0.480	4.30×10^8	
24	15	3.21	0.510	1.06×10^9	
36	15	3.21	0.540	5.80×10^9	
48	15	3.18	0.551	7.70×10^9	

ตารางที่ 5 แสดงการเปลี่ยนแปลงพีเอช เฟอร์เซนต์กรดแลคติก
องศาบริกซ์ และจำนวนเซลล์ ระหว่างการการเก็บรักษาที่
อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

อายุ การหมัก (ชั่วโมง)	องศา บริกซ์	พีเอช	กรด แลคติก (%)	จำนวนเซลล์ (โคโลนี/มล.)	หมายเหตุ
0	15	3.18	0.551	7.70×10^9	
5	15	3.18	0.612	9.00×10^9	
10	15	3.15	0.600	9.50×10^9	
15	15	3.16	0.630	8.50×10^9	
20	15	3.16	0.660	9.90×10^9	
25	15	3.16	0.600	8.40×10^9	
30	15	3.15	0.690	8.40×10^9	

5.4 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักบิทรูทผสม

ผสม

การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการดำเนินการโดยเตรียมน้ำบิทรูทผสมสูตรที่ 6 นำมาหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ เปรียบเทียบกับน้ำบิทรูทผสมที่ไม่ผ่านการหมัก หรือน้ำบิทรูทผสมพาสเจอร์ไรซ์ โดยทดสอบทางอาหาร ทดสอบเกลือแร่ และจุลินทรีย์ ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 6

จากผลการทดสอบทางอาหารของน้ำบิทรูทผสมและน้ำหมักบิทรูทผสม (ตารางที่ 6) จะเห็นได้ว่าน้ำหมักบิทรูทผสมมีคาร์โบไฮเดรตรวมไฟเบอร์ ฟรุทโทส และกลูโคส (14.50, 0.46 และ 0.66) ซึ่งสูงกว่าน้ำบิทรูทพาสเจอร์ไรซ์เล็กน้อย (14.40, 0.32 และ 0.46) ส่วนน้ำบิทรูทผสมพาสเจอร์ไรซ์มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และซูโครส (14.10 และ 13.30) สูงกว่าน้ำหมักบิทรูทผสม (13.10 และ 11.90) ฟลังงานมีปริมาณใกล้เคียงกัน ส่วนปริมาณกรดแลคติกและเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก พบได้เฉพาะน้ำบิทรูทผสมที่ผ่านการหมักเท่านั้น มีค่าเท่ากับ 0.551 และ 7.70×10^9 โคโลนี/มล.

ตารางที่ 6 แสดงคุณค่าทางโภชนาการของน้ำบิทรูทพาสเจอร์ไรซ์
และน้ำหมักบิทรูท

องค์ประกอบทางเคมี	น้ำบิทรูท ผสม พาสเจอร์ไรซ์	น้ำหมัก บิทรูทผสม
การทดสอบทางอาหาร		
1. เกล็ด (กรัม/100 กรัม)	0.14	0.15
2. กรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)	0.18	0.551
3. คาร์โบไฮเดรต รวมไฟเบอร์ (กรัม/100 กรัม)	14.40	14.50
4. โปรตีน (กรัม/100 กรัม)	0.36	0.36
5. ไขมัน (กรัม/100 กรัม)	0.00	0.00
6. ฟลังงาน (กิโลแคลอรี/100 กรัม)	59.00	59.40
7. ฟรุทโทส (กรัม/100 กรัม)	0.32	0.46
8. กลูโคส (กรัม/100 กรัม)	0.46	0.66
9. ซูโครส (กรัม/100 กรัม)	13.30	11.90
10. น้ำตาลทั้งหมด (กรัม/100 กรัม)	14.10	13.10
11. ความชื้น (กรัม/100 กรัม)	85.10	85.00
12. กรดฟอสฟอริก (กรัม/100 กรัม)	<1.0	<1.0
การทดสอบทางเกลือแร่		
1. โพแทสเซียม (มิลลิกรัม/100 กรัม)	65.30	64.50
แบคทีเรียกรดแลคติก (โคโลนี/มิลลิลิตร)	ND	7.70×10^9

6. วิจัยณ์ผลการทดลอง

ผลการคัดเลือกสูตรที่ผู้บริโภคมอบรับโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่ยอมรับน้ำบิทรูทผสมที่เตรียมให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 15 องศาบริกซ์ ในด้านรสชาติและความชอบรวม โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.69 และ 6.67 ซึ่งมีรสชาติหวานพอดี อมเปรี้ยวเล็กน้อย สอดคล้องกับการศึกษาการหมักน้ำแก่นตะวันด้วยเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกของดารัตน์ พิงบุญ และปริศนา เป้าชิเป้า [8] แต่ถ้าเป็นการหมักด้วยเชื้อผสมที่มีทั้งแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์ ผู้บริโภคจะให้การยอมรับสูตรที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 20 องศาบริกซ์

การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักน้ำบิทรูทผสม และระหว่างการรีไซเคิลสตาร์ทเตอร์ ซึ่งพบว่าการหมักครั้งที่ 1 และการรีไซเคิลสตาร์ทเตอร์ กิจกรรมการหมักเกิดขึ้นได้ดี แสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำหมักที่หมักตามระยะเวลาที่กำหนดไปเป็นสตาร์ทเตอร์ในการหมักครั้งต่อไปมีผลดีต่อกิจกรรมการหมัก ทั้งนี้เนื่องจากการเจริญของเชื้ออยู่ในระยะการเจริญสูงสุด (Logarithmic phase หรือ Exponential phase หรือระยะ Log phase) ซึ่งเป็นระยะที่แบคทีเรียแบ่งตัวอย่าง

รวดเร็วในอัตราคงที่ ระยะนี้อัตราการเจริญจะมากที่สุด เซลล์ว่องไวที่สุด [9] เมื่อนำเซลล์ในระยะนี้ไปเลี้ยงในสารอาหารใหม่ สารอาหารใหม่จะถูกนำไปใช้อย่างมากและรวดเร็ว ทำให้เชื้อมีกิจกรรมสูง และในกระบวนการหมักที่มีการใช้น้ำตาลเป็นสับสเตรท เชื้อจะใช้น้ำตาลในกระบวนการทางชีวเคมีและการสร้างกรด ทำให้ค่าพีเอชในการหมักลดลง และจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นกรดเชื้อในการหมักเพิ่มขึ้น [10] และสอดคล้องกับการศึกษาการหมักน้ำปีทรูทโดย Yoon และคณะ [11] ที่หมักน้ำปีทรูทโดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติก พบว่าเมื่ออายุการหมักเพิ่มขึ้นค่าพีเอชจะมีค่าลดลง เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกและจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น

การเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาน้ำหมักปีทรูทผสมในระยะเวลา 0- 30 วัน การเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเล็กน้อยที่เห็นได้ชัด คือ ค่าพีเอชลดลงจาก 3.18 เป็น 3.15 เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มขึ้นจาก 0.551 เป็น 0.690 ส่วนจำนวนเซลล์คงที่อยู่ที 10^9 โคโลนี/มล. ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ในสภาพอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส กิจกรรมของเชื้อเกิดขึ้นเล็กน้อย แต่อย่างไรก็ตามค่าพีเอชต่ำ (ต่ำกว่า 4.3) มีผลยังยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้ [12] อย่างไรก็ตามเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตที่ตรวจนับได้ยังเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 403 พ.ศ. 2551 ซึ่งได้กำหนดให้จุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ที่ยังมีชีวิตไม่น้อยกว่า 10^6 โคโลนี/กรัม ตลอดอายุการเก็บรักษาของอาหารนั้น [13] และสอดคล้องกับการศึกษาของ Yoon และคณะ [11] ที่ได้ศึกษาการหมักน้ำปีทรูทด้วย *Lactobacillus* จำนวน 4 สายพันธุ์ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยจำนวนเซลล์ที่ตรวจนับได้อยู่ระหว่าง 10^6 - 10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร

การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหมักปีทรูทผสมพบว่าน้ำหมักปีทรูทผสม 100 มิลลิลิตร ให้พลังงาน 59.4 กิโลแคลอรี มีคาร์โบไฮเดรตรวมไฟเบอร์ 14.50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 13.10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณซูโครส 11.90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่างจากน้ำปีทรูทผสมที่ไม่ผ่านการหมักเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าการนำน้ำปีทรูทผสมมาแปรรูปโดยการหมักเพื่อเป็นเครื่องดื่มโพรไบโอติกไม่ได้ทำให้คุณค่าทางโภชนาการของน้ำปีทรูทผสมเสียไป แต่การหมักเกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลซูโครสให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวคือ กลูโคสและฟรุคโทส จึงทำให้ปริมาณน้ำตาลซูโครสในน้ำหมักปีทรูทผสมลดลง ปริมาณกลูโคสและฟรุคโทสเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ สุขมณฑา วัฒนสุนธิ์ [14] ซึ่งกล่าวถึงการหมักกรดแลคติกโดยวิธี homofermentative ว่าเป็นการหมักโดยใช้แบคทีเรียในกลุ่ม homofermentative lactic acid bacteria เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดแลคติก ในการหมักที่มี

ส่วนผสมของน้ำตาลซูโครสเป็นสับสเตรทจะทำให้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเพิ่มขึ้น ซึ่งเมื่อใช้เป็นเครื่องดื่มแล้วร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้ทันที จึงทำให้รู้สึกสดชื่น

7. สรุปผลการทดลอง

การหมักน้ำปีทรูทผสมด้วยแบคทีเรียกรดแลคติก และการรีไซเคิลสตาร์ทเตอร์สรุปได้ว่า สูตรน้ำปีทรูทผสมที่เหมาะสมต่อการหมักและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค คือ สูตรที่มีส่วนผสมของน้ำปีทรูท น้ำสับปะรด และน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 50 : 25 : 25 (โดยปริมาตร) และมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเริ่มต้นเท่ากับ 15 องศาบริกซ์ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของการยอมรับด้านรสชาติ และการยอมรับโดยรวมเท่ากับ 6.69 และ 6.67 เมื่อนำสูตรดังกล่าวมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักจาก 0 ไปจนถึง 48 ชั่วโมง ค่าพีเอชลดจาก 3.95 เป็น 3.17 เปอร์เซ็นต์ กรดแลคติกเพิ่มขึ้นจาก 0.214 เป็น 0.612 จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 9.40×10^6 เป็น 6.50×10^{10} โคโลนี/มิลลิลิตร ส่วนองศาบริกซ์ลดลงเล็กน้อย เมื่อนำน้ำหมักมาเป็นสตาร์ทเตอร์ในการหมักครั้งต่อไป กิจกรรมการหมักในแต่ละรอบของการรีไซเคิลเกิดได้ดี โดยจากการศึกษาสามารถใช้ได้ถึง 6 รอบ ดังนั้นการรีไซเคิลสตาร์ทเตอร์จึงเป็นการลดขั้นตอนในการเตรียมสตาร์ทเตอร์ได้ดี การศึกษาอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บได้นานถึง 30 วัน โดยมีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักเพียงเล็กน้อย และน้ำหมักปีทรูทผสมที่ได้ยังคงคุณค่าทางโภชนาการไม่ต่างไปจากน้ำปีทรูทผสมพาสเจอร์ไรซ์ มีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเพิ่มมากขึ้น และมีจุลินทรีย์โพรไบโอติกอยู่ตามเกณฑ์ที่กำหนด

เอกสารอ้างอิง

- [1] ชาติ ประชาชื่น. 2552. ปีทรูท. นสพ. **ข่าวสดรายวัน** 27 พฤษภาคม พ.ศ. 2552 ปีที่ 19 ฉบับที่ 6754
- [2] มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. มผช.278/2547. **น้ำปีทรูท** [Online]. Available : http://app.tisi.go.th/otop/pdf_file/tcps278_47.pdf. (วันที่สืบค้นข้อมูล : 15 ธันวาคม 2558)
- [3] อุทศน์ พิทักษ์สายชน. 2550. **ปีทรูท เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ**. [Online]. Available : http://www.uniserv.buuc.ac.th/forum2/topi.c.asp? TOPIC_ID=1700 (วันที่สืบค้นข้อมูล : 10 พฤศจิกายน 2559)

- [4] **Beets nutrition facts.** 2012. [Online]. Available : <http://www.nutrition-and-you.com/beets.html>. (วันที่สืบค้น : 10 ธันวาคม 2558)
- [5] ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2548. ฟังก์ชันนัลฟู้ดส์ : อาหารเพื่อสุขภาพ. **วารสารครุศาสตร์อุตสาหกรรม**, 4 (2) : 43-50. Pinmanee Kwanmuang, 2548. Functional Foods : Foods for Health. **Journal of Industrial Education**, 4 (2) : 43-50.
- [6] ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2550. คีเฟอร์ : อาหารสุขภาพจากผลิตภัณฑ์นมหมัก. **วารสารครุศาสตร์อุตสาหกรรม**, 6 (1) : 152-160. Pinmanee Kwanmuang, 2550. Kefir Functional Foods from Fermented Dairy Products. **Journal of Industrial Education**, 6 (1) : 152-160.
- [7] มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. มพช.481/2547. **น้ำหมักพืช** [Online]. Available : http://app.tisi.go.th/otop/pdf_file/tcps841_47.pdf. (วันที่สืบค้น : 10 ธันวาคม 2558)
- [8] คาร์ตัน ฟิงบุญ และปริศนา เป้าชะเปี้ยะ. 2556. **การหมักน้ำแก้วนวดด้วยเชื้อผสมของแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาครุศาสตร์ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [9] ลักษณะการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Growth Curve of bacteria) แบ่งเป็น 4 ระยะ. [Online]. Available : <http://www.thaieditorial.com/ลักษณะการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย>. (วันที่สืบค้น : 10 ธันวาคม 2558)
- [10] จารุวรรณ มีศิริ. 2551. จุลินทรีย์กับการหมัก. **เทคโนโลยีอาหารหมัก.** ภาควิชาเทคโนโลยีอาหารและโภชนาการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี. น. 65-80.
- [11] Yoon, Y.K. E. E. Woodams and Y. D. Hang. 2005. Fermentation of beet juice by Beneficial lactic acid bacteria. **LWT - Food Science and Technology**, 38 (1) : 73-75.
- [12] Mark, h.F., McKetta, J.J., Other, D.F. and Standen, A. 1963. **Kirk-Othmer Encyclopaedia of chemical technology.** 2nd. New York : John Wiley and Sons, Inc.
- [13] สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2551. **คำสั่งคณะกรรมการอาหารและยา ที่ 403 เรื่อง การพิจารณา การอนุญาต การกล่าวอ้างทางสุขภาพของโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อาหาร.** สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา.
- [14] สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. **จุลชีววิทยาทางอาหาร.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.