บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี และเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แก้วมังกร

2.1.1 แหล่งที่มาและประวัติ

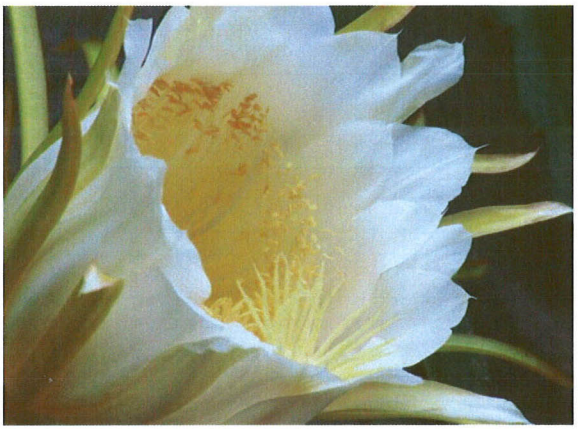
แก้วมังกร (Dragon fruits) เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในป่าทางตอนเหนือของอเมริกาใต้และอเมริกากลาง มีการปลูกเป็นการค้าจำนวนมากในประเทศนิคารากัว และประเทศเวียดนาม เวียดนามได้นำแก้วมังกรเข้ามาจากฝรั่งเศสประมาณ 100 กว่าปีมาแล้ว สามารถเจริญเติบโตได้ดีตามแนวชายฝั่งตะวันออก จาก Nha Trang ตอนเหนือจนถึงโฮจิมินต์ซิตี้ตอนใต้ โดยเฉพาะในเขตจังหวัดบินทวนซึ่งเป็นแหล่งปลูกที่ใหญ่และสำคัญที่สุด สุรพงษ์ โกสิยะจินดา (2540, หน้า 62-68) กล่าวว่าแก้วมังกรเป็นผลไม้ที่เกิดจากต้นไม้ผลพวกกระบองเพชรประเภทเลื้อย ไม้ผลชนิดนี้มีชื่อต่างด้าวว่า "กรีนดรากอน (มังกรมรกต)" และเรียกผลไม้ว่า "ดราก้อนฟรุ้ท" หรือผลมังกร เนื่องจากผลไม้ของต้นกระบองเพชรเลื้อยนี้มีลักษณะคล้ายลูกแก้ว ที่มีเปลวไฟลุกโชติช่วง โดยมีมังกรสองตัวเผชิญหน้าแย่งกัน ซึ่งเห็นได้ตามหลังคาศาลเจ้าต่างๆ เพื่อเป็นชื่อแบบไทยๆ และง่ายต่อการเรียกจึงเรียกผลไม้นี้ว่า "ผลแก้วมังกร" ส่วนต้นควรเรียกว่า "ต้นแก้วมังกร" แก้วมังกรรู้จักกันดีในนามของ "Pitaya" ซึ่งเป็นภาษาสเปน นอกจากนี้ยังถูกเรียกว่า "Pitahaya" "Pitayaja" "Pithaya" และ "Pithayas" ในประเทศเวียดนามเรียกผลแก้วมังกรว่า "Dragon fruit" "Dragon pearl fruit" และ "Thang loy" สำหรับชื่อวิทยาศาสตร์นั้นจะแตกต่างกันตามสายพันธุ์

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

2.1.2.1 ดอกแก้วมังกร

หลังจากเริ่มปลูกต้นแก้วมังกรจนกระทั่งต้นแก้วมังกรเจริญเติบโตมาได้ประมาณ 8 เดือนถึง 1 ปี แก้วมังกรจะเริ่มมีดอกตูมจนกลายเป็นดอกและเป็นผลในเวลาต่อมา ใช้ระยะเวลาประมาณ 45 วัน หรือ 6 อาทิตย์ ดอกมีสีขาวเป็นรูปทรงกรวยขนาดใหญ่ มีกลีบยาวเรียว

ทับซ้อนกัน ดังภาพที่ 1 บานในเวลากลางคืน จึงมีชื่อเรียกว่า Moonflower หรือ Lady to the night หรือ Queen of the night (ภักดี แจงบำรุง, 2552)



ภาพที่ 1 ลักษณะของดอกแก้วมังกร
ที่มา: ดอกแก้วมังกร, (2551). http://zipman.wordpress.com.

2.1.2.2 ผลแก้วมังกร

เมื่อดิบผิวเปลือกสีเขียว รูปทรงกลมรี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางผล 6 - 10 เซนติเมตร มีกลีบเลี้ยงติดอยู่ตามเปลือกผล เมื่อสุกผิวเปลือกเปลี่ยนเป็นสีแดงอมชมพู เนื้อในมีทั้งสีแดงและสีขาวขุ่น มีเมล็ดเล็กๆ สีดำคล้ายเมล็ดแมงลักกระจายทั่วทั้งผล (ภักดี แจงบำรุง, 2552) ส่วนใหญ่มีน้ำหนักประมาณ 300 - 600 กรัม เมื่อผ่าผลแก้วมังกรจะเห็นเนื้อของผลแก้วมังกรสีขาว หากผลนั้นเป็นแก้วมังกรพันธุ์เวียดนามหรือพันธุ์ไทย และเนื้อผลจะมีสีแดงหรือชมพูเมื่อผลนั้นเป็นพันธุ์เนื้อสีแดง โดยมีเมล็ดสีดำเล็กคล้ายๆ เม็ดงา หรือเม็ดแมงลัก กระจายฝังอยู่ทั่วเนื้อ รสชาติของแก้วมังกรโดยทั่วไปจะมีรสหวานอมเปรี้ยว

ผลแก้วมังกรจัดเป็น non-climacteric fruit จึงเก็บเกี่ยวเมื่อผลเริ่มสุกบริโภคได้ คือผิวเปลี่ยนเป็นสีเหลืองมีน้ำหนักผลประมาณ 180-300 กรัม สามารถเก็บรักษาได้ประมาณ 7-9 วัน ที่อุณหภูมิ 20 °C และนาน 14-18 วันที่อุณหภูมิ 10-14 °C และหากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C หรือต่ำกว่าจะเกิดอาการสะท้านหนาว (Chilling injury) ทำให้เกิดจุดสีน้ำตาลที่ผิว

2.1.2.3 ลำต้นแก้วมังกร

แก้วมังกรเป็นพันธุ์ไม้เลื้อยมีสีเขียวเข้มตลอดลำต้น ลำต้นกิ่ง 3 แฉกและมีรอยหยักโดยตลอด รูปร่างคล้ายครีบมังกร มีหนามเป็นกระจุกอยู่ที่ตา 4 - 5 หนาม ลำต้นเดียว แผ่ก้านออกไปรอบๆ ต้องมีค้างคอยพยุง แต่ละแฉกของแก้วมังกรจะอวบน้ำเต่งตึง แท้ที่จริงกิ่งที่เห็นไม่ใช่ลำต้นที่แท้จริงแต่เป็นใบที่เปลี่ยนรูปมา ลำต้นจริงๆ นั้นอยู่ภายในศูนย์กลางของแฉก ซึ่งก็เป็นลักษณะของตะบองเพชรรูปแบบหนึ่ง ตาข้างๆ ของต้นแก้วมังกรจะมีหนามอยู่โดยทั่วไป ตำแหน่งที่มีหนามนั้นคือส่วนที่จะเกิดเป็นดอกและผลแก้วมังกรต่อมา (ภักดี แจงบำรุง, 2552)

ภาพที่ 2 ลำต้นแก้วมังกร
ที่มา: ภักดี แจงบำรุง (2552)

2.1.3 แก้วมังกรที่นิยมปลูกเชิงพาณิชย์

ในวงศ์ *Cactaceae* ได้แบ่งพืชในตระกูลนี้ออกเป็น 122 สกุล ประมาณ 1,600 ชนิด และมีเพียง 9 สกุลเท่านั้นที่สามารถนำมารับประทานได้ แต่มีเพียง 3 สกุลเท่านั้นที่สามารถนำมาทำการเพาะปลูกในเชิงพาณิชย์ได้ (คชษิณ สุวิชา, 2544) ซึ่งได้แก่

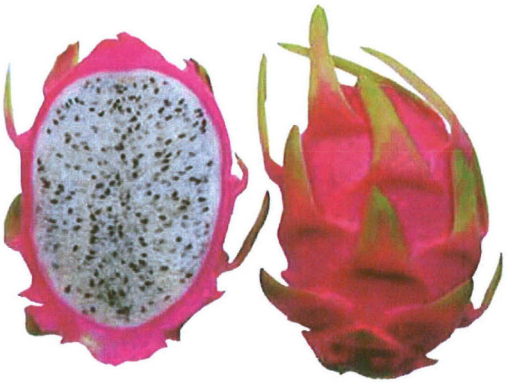
2.1.3.1 *Mediocactus* ผลขนาดเล็ก แต่มีรสหวานมาก

2.1.3.2 ***Selenicereus*** ผลสีเหลืองและเป็นหนาม หนามจะหลุดออกมาได้ง่ายเมื่อผลแก่ เนื้อในสีขาวและมีเมล็ดภายในสีดำ ในทวีปอเมริกาเรียกง่ายๆ ว่า yellow pitaya หรือ yellow pitahaya สำหรับประเทศไทยเรียกสกุลนี้ว่า แก้วมังกรผิวทอง (ภาพที่ 3)

2.1.3.3 ***Hylocereus*** ผลสีแดง เนื้อผลมีสีขาวหรือสีแดง (ภาพที่ 4 และ ภาพที่ 5) ผลมีชื่อเรียกทั่วไปว่า pitaya, pitahaya ในเวียดนาม เรียกว่า Dragon Fruits หรือ Thanh Long เป็นสกุลที่นำเข้ามาปลูกในประเทศไทยอย่างแพร่หลาย และรู้จักกันมากที่สุด

ภาพที่ 3 แก้วมังกรพันธุ์เนื้อขาวเปลือกเหลือง

ที่มา: Tavatpalm, (2005). http://www.212cafe.com/freewebboard/view.php?user=tavatpalm&id=16.



ภาพที่ 4 แก้วมังกรพันธุ์เนื้อขาวเปลือกแดง

ที่มา: Mizrahi, Nerd, & Sitri (2002, pp. 378–384)

ภาพที่ 5 แก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงเปลือกแดง

ที่มา: Beauty is More Than Skin Deep (Red Dragon Fruit). (2010). http://www.pbase.com/ helenpb /image /8372436.

2.1.4 องค์ประกอบทางเคมี

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของแก้วมังกรที่ฟลอริดา สหรัฐอเมริกาใช้ Hylocereus guatemalwnsis Britt & rose ที่มีลักษณะคล้าย Hylocereus undatus มากแต่มีขนาดผลเล็กกว่าและมีเนื้อสีแดงมาทำการศึกษา ซึ่งวิเคราะห์โดย Morton (1987) อ้างโดย ชนิดา พันธุ์ศรี (2543) แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบทางเคมีของผลแก้วมังกรพันธุ์ *Hylocereus undatus* Britt & rose (ต่อ 100 กรัม ของส่วนที่บริโภคได้)

ส่วนประกอบทางเคมี	ปริมาณ
ความชื้น (กรัม)	82.5-83.0
โปรตีน(กรัม)	0.159-0.229
ไขมัน (กรัม)	0.21-0.61
เส้นใย (กรัม)	0.7-0.9
เถ้า (กรัม)	0.54-0.68
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	6.3-8.8
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	30.2-36.1
เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.55-0.65
แคโรทีน (มิลลิกรัม)	0.005-0.012
ไทอะมิน (มิลลิกรัม)	0.28-0.043
ไรโบฟลาวิน (มิลลิกรัม)	0.043-0.045
ไอซิน (มิลลิกรัม)	0.297-0.43
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	8.0-9.0

ที่มา: Morton (1987) อ้างโดย ชนิดา พันธุ์ศรี (2543)

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบทางเคมีของผลแก้วมังกรพันธุ์ *Hylocereus undatus*

ส่วนประกอบทางเคมี	ปริมาณ (%)
น้ำ	92.20
โปรตีน	0.48 - 0.50
คาร์โบไฮเดรต	4.33 - 4.98
ไขมัน	0.17 - 0.18
เส้นใย	1.12
เถ้า	1.10

ที่มา: Morton (1987) อ้างโดย ชนิดา พันธุ์ศรี (2543)

Aguilar Giron ศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของผลแก้วมังกรพันธุ์ *Hylocereus undatus* โดยนำส่วนเนื้อมาทำการวิเคราะห์ได้ผลดังตารางที่ 2 สำหรับแก้วมังกรที่ปลูกในประเทศเวียดนามกมีการศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของแก้วมังกรเช่นกัน โดยศูนย์วิจัยไม้ผลเมืองลองติน ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ส่วนประกอบทางเคมีของผลแก้วมังกรพันธุ์ *Hylocereus undatus* ที่ปลูกที่ประเทศเวียดนาม

สารอาหาร	ปริมาณในเนื้อต่อ 100 กรัม
ความหวาน (° Brix)	13
น้ำตาลซูโครส (กรัม)	6.1
น้ำตาลทั้งหมด (กรัม)	11.5
ปริมาณกรด (กรัม)	0.13
โปรตีน (กรัม)	0.53
เส้นใย (กรัม)	0.71
โปแตสเซียม (มิลลิกรัม)	212.2
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	8.7
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	134.5
แมกนีเซียม (มิลลิกรัม)	60.4
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	9.4

กรรณิการ์ สอนโยธา และ ปราณี อ่านเปรื่อง (2552, หน้า 15-18) ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดงเปลือกแดง พบว่ามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และมีสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ เบต้าไซยานิน ใยอาหารปริมาณสูง แสดงดังตารางที่ 4 และจากการวิเคราะห์ความคงตัวของเบต้าไซยานินจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกร พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.5-5.5 และอุณหภูมิ 40 °C ในที่มืด เบต้าไซยานินมีความคงตัวดีกว่าช่วงความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิอื่น

ตารางที่ 4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงเปลือกแดง

Bioactive compounds	skin	flesh
Total dietary fiber (g/100g FM)	3.62± 0.01	2.57±0.06
Soluble dietary fiber	1.93± 0.05	0.90±0.02
Insoluble dietary fiber	1.69± 0.07	1.67±0.03
Total phenolics (μg GAE[a] / g FM[b])	191.24±0.05	480.47±0.01
Total flavoniolds (μg CE[c]/g FM)	32.63±0.03	288.27±0.04
Total vitamin C (mg / g FM)	45.11±0.02	44.91±0.03
Antioxidant activities		
DPPH assay (EC50, μg FM/ μg DPPH)	20.88±0.023	3.27±0.05
ABTS assay (μg TE[d]/ μg FM)	110.41±0.06	332.14±0.21
Total betacyanin (mg/100 g FM)	14.27±0.22	15.53±0.07

หมายเหตุ [a] GAE = gallic acid equivalent, [b] FM = fresh mass, [c] CE = catechin equivalent, [d] TE = Trolox equivalent, All values were performed in triplicate.

ที่มา: กรรณิการ์ สอนโยธา และ ปราณี อ่านเปรื่อง (2552, หน้า 15-18)

2.1.6 ประโยชน์ของแก้วมังกร

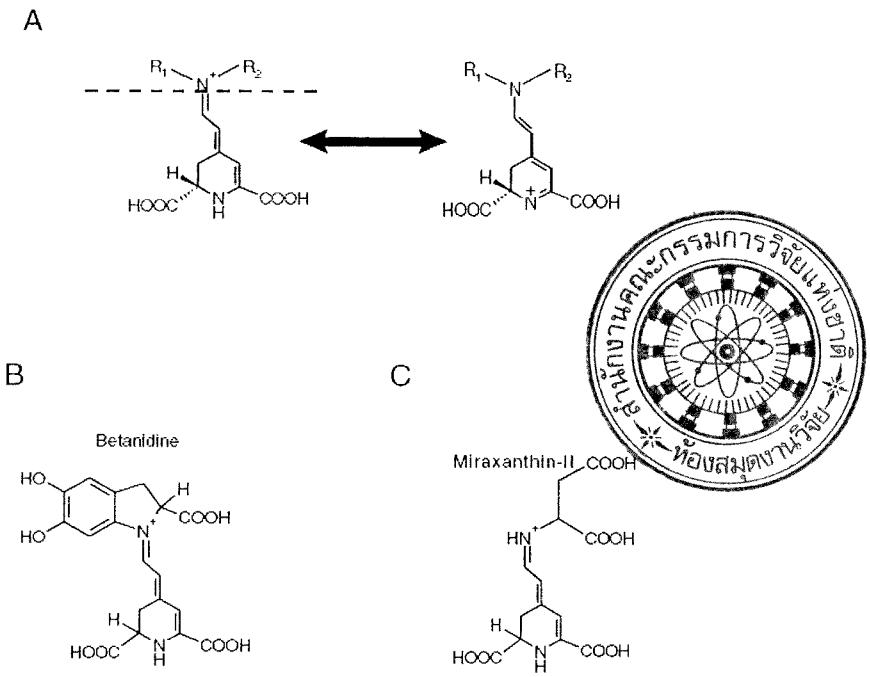
นอกจากรับประทานสด แก้วมังยังกรสามารถนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้มากมายหลายอย่าง ตัวอย่างเช่น แคนดี้ แยม เยลลี น้ำผลไม้ หวานเย็น เชอร์เบท โยเกิร์ต และ fruit bars นอกจากนี้ยังนำมาใช้เป็นแหล่งของสีอาหารธรรมชาติได้อีกด้วย

2.2 เบตาเลน

2.2.1 คำจำกัดความ

เบตาเลน เป็นอนุพันธุ์ของอิมโมเนียมของกรดเบตาลามิก มีสูตรทั่วไปดังภาพที่ 6 (A) ซึ่งเป็นรูปแบบของสาร 1, 7 – diazahep tamethin ที่มีหมู่เพนตะตรงตำแหน่ง 1, 2, 4, 7, 7 –

penta และอยู่ในสภาพเติมโปรตอน เบตาเลน เดิมเรียกว่า คาริโอฟิลลินโรธ, รูเบนโรธ หรือ โครโมอัลคาลอยด์ ชื่อสามัญของเบตาเลน มีความเกี่ยวโยงกับชื่อพืชที่มีการแยกสารชนิดนี้ได้เป็นครั้งแรก คือ เบตาไซยานิน อะมารันทีน-1 ซึ่งแยกได้จากพืชที่ชื่อ *Amaranthus tricolor* ส่วนสาร เบตานิน แยกได้จาก *Beta vulgaris* และ สารโกมฟรีนิน-1 แยกได้จาก *Gomphrena globosa* ส่วนสารเบตาแซนธิน และมิราแซนธิน แยกได้จากดอก *Mirabilis jalapa* สารวัลกาแซนธิน-1 และ 2 แยกได้จากรากของบีทแดง (*B. vulgaris*) และสารพอร์ตูลาแซนธิน แยกได้จากกลีบดอกของ *Portulaca grandiflora* (Delgado-Vargas, Jiménez, & Paredes-López, 2000, pp. 173–289)



ภาพที่ 6 (A) เบตาเลนและโครงสร้างเรโซแนนซ์ของเบตาเลน โครงสร้างของโมเลกุลเบตาเลน เบตาเลนเป็นเบต้าไซยานินหรือเบต้าแซนทินขึ้นอยู่กับลักษณะเฉพาะของ R_1 และ R_2ส่วนที่เหลือ (B) ตัวอย่างเบต้าไซยานิน และ (C) เบต้าแซนทิน

ที่มา: Delgado-Vargas, Jiménez, & Paredes-López (2000, pp. 173–289)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 16 ก.ย. 2555
เลขทะเบียน 243968
เลขเรียกหนังสือ

2.2.2 การจำแนกหมวดหมู่

เบตาเลนสามารถแบ่งตามลักษณะโครงสร้างโมเลกุลได้เป็นสองกลุ่ม คือ เบตาไซยานิน กับ เบตาแซนธิน ซึ่งมีสีม่วงแดงและสีเหลือง ตามลำดับ เห็นได้จากการที่สีของแต่ละกลุ่มมาจากส่วนของ R_1-N-R_2 เบตาเลนมีมากกว่า 50 ชนิด ทุกชนิดมีโครงสร้างหลักแบบเดียวกัน และหมู่ R_1 กับ R_2 ของเบตาเลนอาจจะเป็นได้ทั้งหมู่ไฮโดรเจน หมู่อะโรมาติก หรือหมู่สำคัญอื่นๆ ก็ได้ สีของเบตาเลนเกิดจากการเรโซแนนซ์ของพันธะคู่ (ภาพที่ 6 A) เมื่อโครงสร้างพื้นฐานถูกแทนที่ด้วยหมู่อะโรมาติกจะเกิดการเปลี่ยนแปลงค่าสูงสุดของการดูดกลืนแสง จาก 540 nm (ของเบต้าไซยานินหลักบางชนิด เช่น เบตานิดีน ซึ่งมีสีม่วงแดง) ไปเป็น 480 nm (กลายเป็นสารในกลุ่มเบตาแซนธีน เช่น มิราแซนธีน -2 ซึ่งมีสีเหลือง) (ภาพที่ 6 B - C) การเกิดเบตาแซนธีนโดยการต่อเติมส่วนของโมเลกุลที่เป็นไดไฮโดรไพริดีน สามารถเกิดได้หลายแบบ โดยการเชื่อมต่อกับสารประกอบเอมีนหลายชนิด เช่น กรดอะมิโน ตัวอย่างเช่น หมู่ R_2 ของวัลกาแซนธีน -1 แยกได้จาก *B. vulgaris* เป็นอนุพันธ์ที่เกิดจากการเติมกรดกลูตามิกเข้าไป ในอีกมุมหนึ่ง ความหลากหลายของเบต้าไซยานิน เกิดจากผลร่วมระหว่างโครงสร้างหลัก (เบตานิดิน ซึ่งเป็นโครงสร้างที่พบได้มากที่สุด รองลงมาคือไอโซเบตานิดิน ซึ่งเป็นอีพิเมอร์ ณ ตำแหน่ง C_{15} ที่มีการเติมโมเลกุลน้ำตาลกับหมู่เอซิลในตำแหน่งต่างๆ กัน โดยจะเข้าแทนที่หมู่ไฮดรอกซิล ณ ตำแหน่ง 5 และ 6 (ภาพที่ 6 B) โมเลกุลน้ำตาลที่พบว่ามีการเข้าไปแทนที่บ่อยที่สุดคือ กลูโคส แม้ว่าโซโฟโรสกับแรมโนสก็พบได้บ้าง แต่ก็พบน้อยกว่า หมู่เอซิลที่พบได้บ่อยที่สุด คือกรดซัลฟูริก, กรดมาโลนิก, กรด 3 – ไฮดรอกซี่ – 3 – เมทธิลกลูตามิก, กรดซิตริก, กรดพารา-คูมาริก, กรดเฟอรูริก, กรดคาเฟอิก และซินาปิก (Delgado-Vargas, Jiménez, & Paredes-López, 2000, pp. 173–289)

2.2.3 การกระจายตัว

เบตาเลนพบในพืชชั้นสูง ซึ่งมีการจำแนกวงศ์ที่สร้างเบตาเลนได้ 10 วงศ์ คือ Aizoacea, Amaranthaceae, Basellaceae, Cactaceae, Chenopodiaceae, Didieraceae, Holophytaceae, Nyctaginaceae, Phytolaccaceae และ Portulacaceae เบตาเลนจะพบได้ในส่วนต่างๆ ของพืชและมีการสะสมอยู่ในแวคคูโอลของเซลล์ โดยเฉพาะเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวกับเนื้อเยื่อชั้นถัดเข้าไปเป็นหลัก (ตารางที่ 5) บางครั้งพบว่ามีการสะสมในก้านหรือลำต้น เช่น ในส่วนที่อยู่ใต้ดินของบีทรูทแดง พืชหลายชนิดมีการสะสมเบตาเลนแต่มีเพียงสองชนิด คือ *B. vulgaris* และลูกแพร์หนาม (*Opuntia ficus-indica*) ได้รับการรับรองแล้วว่าใช้ในอาหารได้ นอกจากนี้ยังพบเบตาเลนได้ในเชื้อราชั้นสูง

บางชนิด เช่น *Amanita, Hygrocybe* และ *Hygrosporus* (Delgado-Vargas, Jiménez, & Paredes-López, 2000, pp. 173–289)

ตารางที่ 5 การกระจายตัวของเบตาเลนในโครงสร้างของพืช

โครงสร้างของพืช	การสร้างสารสี	ตัวอย่าง
ดอกไม้	แดง, เหลือง, ชมพู และส้ม	
ผลไม้	เหลือง, แดง และม่วง	
บีทรูท	แดง - ม่วง	บีทรูทแดง
กลีบดอก		*Bougainvillea* spp.
เมล็ด	เหลือง และ แดง, สีอื่นๆ	*Amaranthus* spp.
ใบและลำต้น		*Teloxis* spp.

ที่มา: Delgado-Vargas, Jiménez, & Paredes-López (2000, pp. 173–289)

2.2.4 การใช้เบตาเลนแต่งสีอาหาร

มีการใช้เบตาเลนเป็นสารให้สีในอาหารตั้งแต่ช่วงเปลี่ยนของศตวรรษที่ 20 การใช้งานในระยะแรกๆ จะใช้น้ำโพคเบอรี่ (ซึ่งมีเบตานินอยู่) โดยตรง เพื่อปรับปรุงสีแดงของไวน์ ส่วนสารสีที่มีจำหน่ายทางการค้าจะอยู่ในรูปของบีทรูทสกัดเข้มข้น (ทำแห้งแบบสุญญากาศ จนมีความเข้มข้นของของแข็ง 60 – 65 %) จากนั้นนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยร่วมกับมอลโตเด็กซ์ทริน จนได้เป็นผงบีทรูท ผลผลิตที่ได้มีเบตาเลนตั้งแต่ 0.3 - 1 % (มีน้ำตาล 75 - 80 % ,โปรตีน 10 %) น้ำบีทรูทเดิมได้จากการบีบด้วยไฮดรอลิก ซึ่งวิธีนี้จะทำให้ได้เบตาเลนออกมาน้อยกว่า 50 % สามารถแก้ไขได้โดยใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัด ส่วนปัญหาในการสกัดบีทแดง คือ สีที่ได้ในแต่ละครั้งไม่ค่อยเหมือนกัน รวมถึงมีกลิ่นและรสคล้ายบีทและผลผลิตที่ได้ค่อนข้างต่ำ (Delgado-Vargas, Jiménez, & Paredes-López, 2000, pp. 173–289)

2.2.5 ความคงตัวของเบตาเลนในระบบของอาหาร

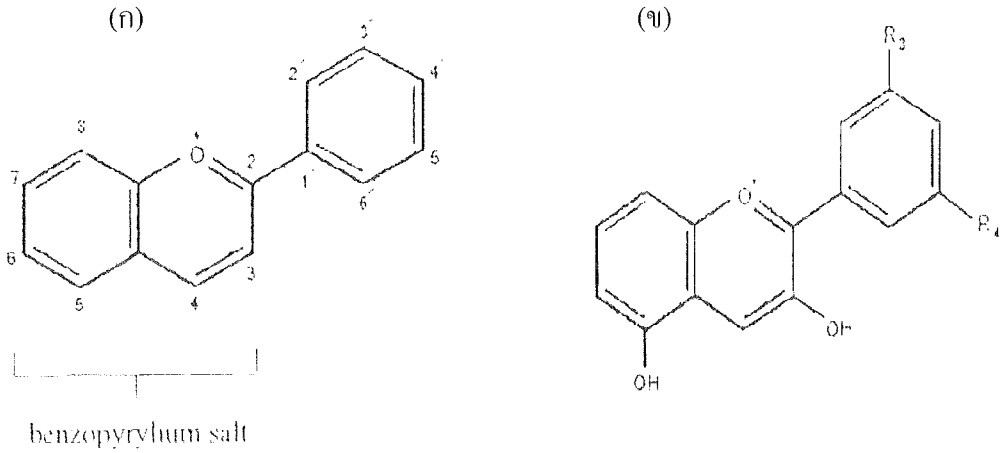
ความเป็นกรด-ด่างเป็นปัจจัยสำคัญต่อความคงตัวของเบตาเลน ปกตินำ้บีทแดงจะมีความคงตัวมากกว่าสารสกัดบริสุทธิ์ ความคงตัวที่เหมาะสมของผงสีคือความเป็นกรด-ด่าง 5.7 นอกจากนี้อุณหภูมิก็มีผลต่อความคงตัวของเบตาเลนด้วย เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเบตาเลนจะสลายตัวได้มากขึ้น เบตาเลนที่สลายตัวแล้วจะกลายเป็นกรดเบตาลามิก และไซโคล-DOPA-5-O-กลูโคไซด์ นอกจากนี้ยังมีอีกหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อความคงตัวของเบตาเลน เช่น เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส แสง อากาศ เป็นต้น โดยสรุป เบตาเลนจะมีความไวต่อปัจจัยต่างๆ เป็นอย่างมาก ทำให้มีข้อจำกัดในการใช้งาน สามารถใช้ในอาหารที่มีอายุแสดงบนชั้นสั้น การใช้ความร้อนจะต้องใช้ความร้อนให้น้อยที่สุด และต้องบรรจุในสภาพที่มีค่ากิจกรรมของน้ำต่ำ ไม่ให้ถูกแสง และมีปริมาณออกซิเจนกับความชื้นน้อย ดังนั้นการใช้ทดแทนสีสังเคราะห์ยังคงทำได้จำกัด (Delgado-Vargas, Jiménez, & Paredes-López, 2000, pp. 173–289)

2.3 แอนโทไซยานิน

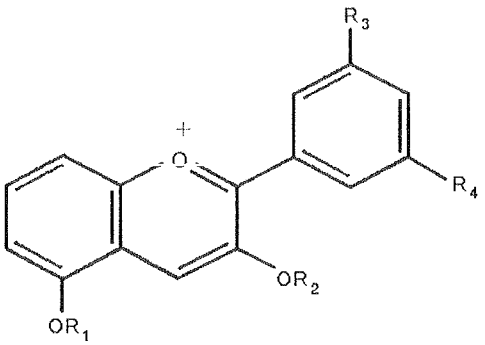
แอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุที่พบได้ในผัก ผลไม้ และดอกไม้บางชนิด เช่นกะเพรา โหระพา ใบแมงลัก (Phippen & Simon, 1998, pp. 1734-1738) แครนเบอร์รี่ องุ่น พลัม บลูเบอร์รี่ หว้า หรือผลไม้ที่มีสีม่วงแดงชนิดต่าง ๆ บางชนิด กลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และดอกอัญชัน แอนโทไซยานินจะละลายใน Cell sap ของพืช มีคุณสมบัติละลายน้ำได้แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายชนิดที่ไม่มีขั้ว (ไม่มีหมู่ไฮดรอกซิล -OH) เช่น อีเทอร์ อะซีโตน คลอโรฟอร์ม และเบนซีน เป็นต้น

2.3.1 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ชนิดหนึ่ง มีสูตรโครงสร้างหลักเป็น $C_6C_3C_6$ ของเกลือฟลาวีเลียม (Flavylium salt) หรือ 2-phenylbenzopyrylium (ฉวีวรรณ และ บุศราภรณ์ 2531) มีคุณสมบัติเป็นเกลือ ดังภาพที่ 7ก ซึ่งถ้ามีหมู่ไฮดรอกซิล มาเกาะที่ตำแหน่ง 3 และ 5 เรียกโครงสร้างนี้ว่า แอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidin หรือ Aglycone) เมื่อมีน้ำตาลมาจับกับแอนโทไซยานิดิน ที่ตำแหน่ง 3 และ 5 เรียกโครงสร้างนี้ว่าแอนโทไซยานิน (รัตนา รุจิรวนิช และ ระมน เสรีวรวิทย์กุล, 2532; สาธิต พลวิทยากุล, 2531) แสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 7 โครงสร้างของเกลือฟลาวีเลียม (Flavylium salt) หรือ 2-phenylbenzopyrylium



ภาพที่ 8 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน เมื่อ R_1 และ R_2 คือน้ำตาล

ในธรรมชาติจะพบแอนโทไซยานินมากกว่า 15 ชนิด เรียกชื่อแตกต่างกันขึ้นอยู่กับตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิล และหมู่เมทธอกซิล (metoxyl, -OCH3) ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แอนโทไซยานิดินที่พบในธรรมชาติ

Name	Substitution							Color
	3	5	6	7	3′	4′	5′	
Apigenindin (Ap)	H	OH	H	OH	H	*OH*	H	Orange
Aurantinidin (Au)	OH	OH	OH	OH	H	OH	H	Orange
Capensinidin (Cp)	OH	OMe	H	OH	*OMe*	OH	Ome	Bluish-red
Cyanidin (Cy)	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Orange-red
Delphinidin (Dp)	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Bluish-red
Europinidin (Eu)	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OH	Bluish-red
Hirsutidin (Hs)	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	Ome	Bluish-red
6-Hydroxycyqnidin (6-OHCy)	OH	OH	OH	OH	OH	H		Red
Luteolinidin (Lt)	H	OH	H	OH	OH	OH	H	Orange
Malvidin (Mv)	OH	OH	H	OH	OMe	OMe	Ome	Bluish-red
5-Methylcyanidin (5-Mcy)	OH	OMe	H	OH	OH	H		Orange-red
Pelargonidin (Pg)	OH	OH	H	OH	H	OH	H	Orange
Peonidin (Pn)	OH	OH	H	OH	OMe	OH	H	Orange-red
Petunidin (Pt)	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OH	Bluish-red
Pulchellidin (Pl)	OH	OMe	H	OH	OH	OH	OH	Bluish-red
Rosinidin (Rs)	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	H	Red
Tricetinidin (Tr)	H	OH	H	OH	OH	OH	OH	Red

ที่มา: Mazza & Miniati (1993)

2.3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินมีการเปลี่ยนแปลงระดับของสีได้ง่าย เนื่องจากผลของการขาดอิเล็กตรอนของโมเลกุลแอนโทไซยานินจึงทำให้ Flavylium nuclei ของแอนโทไซยานินมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยามาก การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับของสี ซึ่งอาจเกิดจากสภาวะต่าง ๆ ในกระบวนการแปรรูปและในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารนั้น ๆ โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแอนโทไซยานิน ได้แก่

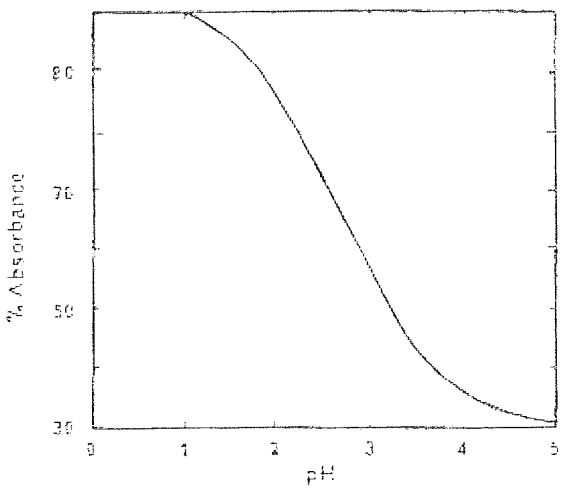
2.3.2.1 ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) แอนโทไซยานินมีคุณสมบัติของการบอกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH indicator) อย่างคร่าวๆได้ โดยแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงสีไปตามค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่างๆ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรด-ด่างกับสีของแอนโทไซยานิน

ค่าความเป็นกรด-ด่าง	สี
1.0	แดง
4.0	น้ำเงินแดง
6.0	ม่วง
8.0	น้ำเงิน
12.0	เขียว
13.0	เหลือง

ที่มา: เรือนเงิน สินธุ (2543)

เพื่อให้เกิดความเหมาะสมในการใช้แอนโทไซยานิน ควรใช้แอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์ที่เป็นกรด เพื่อให้ได้สีแดงจนถึงสีม่วง นอกจากการเปลี่ยนแปลงของระดับของสีตามค่าความเป็นกรด-ด่าง แล้ว ค่าความเข้มของสี (Color intensity) ยังแปรผันตามค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วย กล่าวคือ แอนโทไซยานินมีความเข้มมากที่สุดที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 1.0 และลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่าง เพิ่มสูงขึ้น ดังกราฟความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงกับค่าความเป็นกรด-ด่าง ดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานินกับค่าความเป็นกรด-ด่าง
ที่มา: นัยวิท เฉลิมนนท์ (2538)

2.3.2.2 ประจุบวก ประจุบวกบางชนิดโดยเฉพาะ Di และ Trivalent metal ion จะทำให้ค่าความยาวคลื่นสูงสุดของการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิด Blucing ของสี และอาจทำให้เกิดการตกตะกอนของสีได้ จึงควรหลีกเลี่ยงไม่ให้แอนโทไซยานินสัมผัสกับเหล็ก เหล็กผสม และ ทองแดง กรณีที่ต้องบรรจุผลิตภัณฑ์อาหารลงในกระป๋องดีบุกควรเคลือบด้วยแลคเกอร์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย

2.3.2.3 ความร้อนและแสงสว่าง แอนโทไซยานินมีคุณสมบัติในการคงทนต่อความร้อนได้ดี โดยมีความคงทนเพียงพอสำหรับกระบวนการผลิตที่ต้องใช้ความร้อนสูงบางชนิด เช่น แยม การต้มน้ำตาล และการผลิตผลไม้กระป๋อง การเกิด Acylation กับโมเลกุลน้ำตาลทำให้มีคุณสมบัติในการทนความร้อนและแสงได้ดีเพิ่มขึ้น ดังเห็นได้จากกะหล่ำปลีแดง ที่ประกอบไปด้วย

Mono- และ Di–acylated anthocyanins จึงทำให้มีคุณสมบัติในการคงทนต่อความร้อนและแสงที่ดีมาก และผลิตภัณฑ์ที่มีแอนโทไซยานินจะไม่มีผลกระทบใด ๆ เมื่อสัมผัสกับแสงสว่าง

2.3.2.4 ออกซิเจน สารละลายแอนโทไซยานินมีแนวโน้มในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เมื่อมีปริมาณของออกซิเจนอยู่ด้วย อัตราของการเกิดออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของสารละลาย หรือผลิตภัณฑ์อาหาร ค่าของอุณหภูมิ และค่าของความเข้มข้นของแอนโทไซยานิน แต่แอนโทไซยานินมีอัตราออกซิไดซ์ช้าลงเมื่ออยู่ในสภาพของเหลว

2.3.2.5 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทำปฏิกิริยากับแอนโทไซยานินจะได้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีสีเกิดขึ้น ปฏิกิริยาที่เกิดเป็นปฏิกิริยาที่สามารถย้อนกลับได้ การให้ความร้อนแก่ผลิตภัณฑ์ที่มีแอนโทไซยานิน และซัลเฟอร์ไดออกไซด์อยู่ด้วยกัน ทำให้ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ถูกแยกออกมา เหลือแอนโทไซยานินที่มีสีเจือจางลง ดังจะเห็นได้จากกระบวนการต้มผลไม้ที่มีซัลไฟด์อยู่เพื่อทำผลไม้เชื่อมหรือดอง ดังนั้นจึงไม่ควรใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์เพื่อใช้สำหรับการเก็บรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่มีแอนโทไซยานิน แต่ควรใช้สารที่เป็นส่วนประกอบของ Benzoate และ Sorbate แทน ซึ่งจะมีความเหมาะสมมากกว่า

2.3.2.6 โปรตีน แอนโทไซยานินที่สกัดได้จากองุ่นสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีน เช่น เจลาติน (Gelatin) เกิดเป็นตะกอนหรือทำให้เกิดความขุ่น แต่ปฏิกิริยานี้โดยมากมักเกิดจากสารประกอบชนิดอื่นที่ไม่ใช่เม็ดสี ได้แก่ สารประกอบฟีโนลิก มากกว่าเกิดจากตัวของแอนโทไซยานินเอง ทั้งนี้เนื่องจากแอนโทไซยานินที่มีความบริสุทธิ์เท่านั้นที่จะทำปฏิกิริยากับเจลาตินได้

2.3.2.7 เอนไซม์ ผลจากการใช้เอนไซม์บางชนิดในการปรับปรุงคุณภาพน้ำผลไม้อาจเป็นสาเหตุให้เกิดการลดลงของแอนโทไซยานินได้ จะเห็นว่าพบ Glucosidase เสมอเมื่อเตรียมเอนไซม์บางชนิด

2.3.3 การนำแอนโทไซยานินไปใช้ประโยชน์

แอนโทไซยานินสามารถนำไปใช้เป็นสีผสมอาหาร ซึ่งสามารถทดแทนการใช้สีสังเคราะห์ได้ อีกทั้งสารดังกล่าวไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคด้วย ในประเทศสหรัฐอเมริกานั้นนิยม

เติมลงน้ำผลไม้ นอกจากนี้ แอนโทไซยานินยังสามารถเติมลงในผลิตภัณฑ์อีกมากมายได้แก่ เยลลี่ แยม ไอศกรีม โยเกิร์ต ขนมที่มีเจลาตินเป็นองค์ประกอบ ผลไม้กระป๋อง ซอสผลไม้ ผลิตภัณฑ์ลูกอม เบเกอรี่ ทอปปิ้ง สารแต่งกลิ่นรส เครื่องดื่มผสม pastries เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์ยา

2.4 ไวน์

ไวน์ หมายถึง เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ได้จากการหมักน้ำองุ่นโดยใช้เชื้อยีสต์แต่ถ้าเป็นการหมักน้ำผลไม้อื่น ๆ ให้เป็นแอลกอฮอล์โดยใช้ยีสต์เรียกว่าไวน์ผลไม้ มีชื่อเรียกต่าง ๆ กัน เช่น ไวน์สับปะรด ไวน์มะเกี๋ยง ไวน์ลูกหว้า เป็นต้น

2.4.1 การแบ่งชนิดของไวน์

2.4.1.1 เทเบิ้ลไวน์ (Table Wines) เป็นไวน์ที่ได้รับความนิยมสูงสุด ปัจจุบันไวน์ประเภทนี้ที่ผลิตมากที่สุด คือ ไวน์ขาว (White table wine) ไวน์แดง (Red table wine) และโรสไวน์ หรือไวน์สีชมพู (Rose table wine) ส่วนใหญ่มีเอธานอล 8.5 - 14 % (v/v)

2.4.1.2 สปาร์กลิ้งไวน์ (Sparkling Wines) คือ ไวน์ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเกิดจากการหมักอยู่ด้วยในปริมาณที่จำเพาะ ในสหรัฐอเมริกากำหนดว่าต้องมีคาร์บอนไดออกไซด์เกินกว่า 0.39 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ในกรณีที่เติมคาร์บอนไดออกไซด์ลงในไวน์ จำเป็นต้องระบุไว้บนฉลากให้ชัดเจนว่าเป็น “Artificial carbonation”

2.4.1.3 ฟอร์ติไฟด์ไวน์ (Fortified Wines) มีปริมาณเอธานอลสูงประมาณ 17 - 21 % (v/v) เกิดจากการนำบรั่นดี (Brandy) มาผสมกับไวน์ก่อนที่การหมักเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ มีลักษณะเป็นไวน์ที่มีรสหวาน (Sweet wine) ที่มีชื่อเสียงมาก คือ เชอร์รี (Sherry) สเปนฟอร์ท (Port) และแองจีลิคา (Angelica) (สาวิตรี ลิ่มทอง, 2540)

2.4.2 กระบวนการทำไวน์ผลไม้

การทำไวน์ผลไม้แต่ละชนิด มีขั้นตอนการทำที่แตกต่างกันเล็กน้อย เนื่องจากผลไม้แต่ละชนิดมีลักษณะที่ไม่เหมือนกัน ขั้นตอนที่สำคัญในการทำไวน์ผลไม้ มีดังนี้

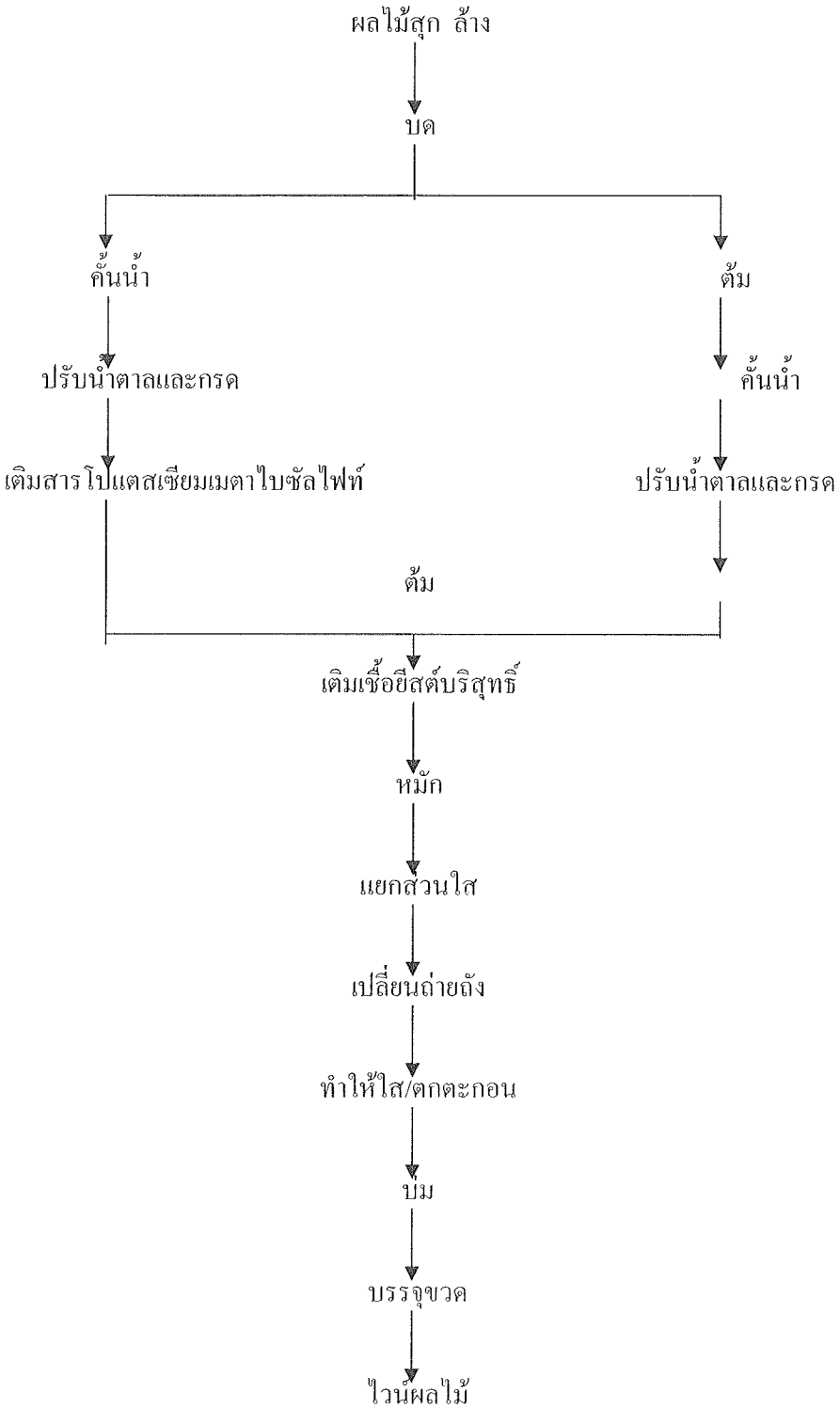
2.4.2.1 การคัดเลือกผลไม้ ผลไม้ที่จะนำมาทำไวน์ควรมีความสุกพอดี ไม่เน่าเสีย มีกลิ่นหอม และควรมีสีที่น่ารับประทาน

2.4.2.2 การเตรียมน้ำหมัก วิธีการเตรียมน้ำหมักสามารถทำได้ 2 วิธี คือ การหมักทั้งผล เหมาะสมกับผลไม้ที่ต้องการสกัดสีออกจากผิวของผลไม้ หรือผลไม้ที่มีความนุ่ม และเตรียมโดยการแช่ผลไม้นั้น ๆ ลงในน้ำในปริมาณที่เหมาะสม การหมักเฉพาะน้ำผลไม้ เหมาะกับผลไม้ที่มีน้ำมาก

1) การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำผลไม้ เมื่อสกัดน้ำผลไม้ได้แล้วจะต้องทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่มีในธรรมชาติของผลไม้และปรับปริมาณสารอาหารให้พอดีกับความต้องการของยีสต์ที่จะใช้ในการหมัก วิธีการทำลายจุลินทรีย์สามารถทำได้ 2 วิธี คือ

(1) การต้ม เหมาะกับผลไม้ที่มีความแข็งและต้องการสกัดสี การต้มจะเกิดปัญหาทำให้ไวน์ขุ่น นอกจากนี้ความร้อนจะทำให้กลิ่นและรสชาติของน้ำผลไม้สูญเสียไป ในทางตรงกันข้ามการต้มก็มีข้อดีบางอย่าง เช่น ช่วยสกัดสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของยีสต์และสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคได้มากกว่าการไม่ต้ม ซึ่งจะช่วยทำให้ได้ไวน์ผลไม้ที่มีความเข้มข้น (body) สูง

(2) การใช้สารเคมี สารเคมีที่นิยมใช้คือ โซเดียมหรือ โปรแตสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ ในปริมาณ 0.01-0.02 % (w/v) ขึ้นอยู่กับความสกปรกของผลไม้ การใช้สารเคมีมีข้อดีคือ ช่วยทำให้เกิดการสร้างกลีเซอรอล (glycerol) ในปริมาณที่เหมาะสมที่จะช่วยในด้านความเข้มข้นของไวน์ และทำให้ไวน์มีรสชาติกลมกล่อม และป้องกันการเปลี่ยนแปลงสี กลิ่น และรสของไวน์ในระหว่างการหมักและเก็บบ่ม เป็นต้น แต่ ถ้าใช้ในปริมาณมากจะทำให้เกิดความเป็นพิษและยังเป็นสารฟอกสีกับผลไม้บางชนิด



ภาพที่10 ขั้นตอนการผลิตไวน์ผลไม้

ที่มา: สถาบันวิจัยไวน์และสุราพื้นบ้าน คณะวิศวกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล (2545)

2) การปรับปริมาณกรดและน้ำตาลในน้ำหมัก เมื่อเตรียมน้ำผลไม้แล้ว จะต้องปรับปริมาณกรดและน้ำตาลในน้ำหมักให้เหมาะสมและเพียงพอที่ยีสต์จะเจริญและใช้ในการสร้างแอลกอฮอล์ในปริมาณ 9-14 % (v/v) ปริมาณกรดที่เหมาะสมคือ 0.4-0.6 % (w/v) และปริมาณน้ำตาล 200-250 กรัมต่อลิตร น้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์เป็นน้ำตาลที่นิยมใช้ทำไวน์มากที่สุด เพราะราคาถูก หาง่าย และยีสต์สามารถใช้เปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์ได้

2.4.2.3 การหมักน้ำหมัก (Fermentation)

1) ชนิดของการหมัก การหมักเฉพาะน้ำผลไม้ นิยมใช้ในการหมักไวน์ขาว การหมักทั้งเนื้อและน้ำผลไม้ นิยมใช้ในการหมักไวน์แดง โดยทั่วไปจะหมักทั้งเนื้อและน้ำผลไม้ ในถังปากกว้าง เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ก่อน เพื่อให้ง่ายในการแยกเอากากผลไม้ออก จากนั้นจึงทำการหมักในถังปากแคบต่อไป

2) การเตรียมหัวเชื้อ (starter) วัตถุประสงค์เพื่อที่จะขยายปริมาณเชื้อยีสต์ที่จะใช้ในการหมัก และให้ยีสต์ปรับตัวเพื่อให้พร้อมในการใช้น้ำตาลเพื่อสร้างแอลกอฮอล์

3) การเติมสารอาหารให้กับเชื้อยีสต์ ในระยะแรกยีสต์จำเป็นต้องได้รับสารอาหารเพื่อให้ยีสต์มีความแข็งแรงและแบ่งเซลล์ได้ในปริมาณที่เหมาะสม ดังนั้นหากผลไม้มีปริมาณสารอาหารเหล่านี้ต่ำ จำเป็นต้องเติมสารอาหารลงไป ไนโตรเจนเป็นสารอาหารหลักที่ยีสต์ต้องการ โดยจะใช้ในรูปของไดแอมโมเนียมฟอสเฟต ($(NH_4)_2 PO_4$) นอกจากนี้อาจเติม โปแตสเซียมฟอสเฟต แอมโมเนียมฟอสเฟต ไวตามินบีหนึ่ง หรือ ไธอามีนไฮโดรคลอไรด์ ซึ่งควรเติมในน้ำหมักก่อนการเติมยีสต์

4) การหมัก (Fermentation) การหมักแบ่งเป็น 2 ช่วง ช่วงแรกยีสต์จะแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนจำเป็นต้องให้อากาศกับยีสต์ ช่วงที่ 2 ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ช่วงนี้ไม่ต้องการอากาศ การหมักที่มีอุณหภูมิสูง (มากกว่า 28 ° C) จะเกิดการหมักอย่างรวดเร็วและเกิดความร้อนจึงทำให้ยีสต์ตายได้ เพราะทนแอลกอฮอล์ได้น้อยลง และชักนำให้เกิดกรดและการระเหยของแอลกอฮอล์ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักคือ 20 ° C เมื่อการหมักใกล้สิ้นสุดควรเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นประมาณ 24 – 26 ° C เพื่อให้ยีสต์ใช้น้ำตาลจนหมด

2.4.2.6 การแยกส่วนใส (Racking) เมื่อการหมักสิ้นสุดควรแยกไวน์ออกจากตะกอนทันทีเพื่อป้องกันการเกิดกลิ่น และรสชาติที่ไม่ดีจากเซลล์ยีสต์ที่ตายแล้ว นอกจากนี้ยังป้องกันปัญหาการหมักซ้ำจากยีสต์ที่หลงเหลือ หลังจากนั้นจะทำลายยีสต์ที่หลงเหลือเพื่อหยุดปฏิกิริยาการหมักของยีสต์ โดยใช้สารโปแตสเซียมหรือโซเดียมเมตาไบซัลไฟท์ ในปริมาณ 0.15 - 0 .25 กรัม ต่อลิตร

2.4.2.5 การบ่ม หรือ เก็บ (Aging หรือ Maturation) ควรเก็บไวน์ที่แยกส่วนใสและหยุดปฏิกิริยาการหมักที่อุณหภูมิ 0 - 15 ° C ในระหว่างบ่มควรแยกส่วนใสอีกครั้งหลังจากครั้งแรก 3 - 4 สัปดาห์ การบ่มช่วยให้ไวน์มีกลิ่นหอมของดอกไม้นานาชนิด (bouquet) และมีรสชาติที่ดีขึ้น ไวน์แต่ละชนิดจะใช้เวลาในการทำให้เกิดกลิ่นหอม (maturation) ไม่เท่ากัน บางชนิดใช้เวลา 6 เดือน บางชนิดใช้เวลาเป็นปี หรือมากกว่านั้น

2.4.2.6 การทำให้ไวน์ใส (Wine Clarification) โดยทิ้งให้ไวน์ตกตะกอนจนกว่าไวน์จะใส ถ้าไวน์นั้นไม่ใสอาจเติมสารช่วยตกตะกอน (fining agent) หรือกรอง การเติมสารละลายซัลไฟท์หลังการแยกส่วนใสจะช่วยทำให้ไวน์ใสด้วย เพราะซัลไฟท์ทำให้เกิดการรวมตัวของตะกอนและตกไปที่ก้นถัง ซัลไฟท์ยังช่วยป้องกันไม่ให้มีการเจริญและพัฒนาของยีสต์ด้วย ตัวอย่าง สารช่วยตกตะกอน เช่น ไข่ขาว เจลาติน เคซีน เบนโทไนท์ นม เป็นต้น

2.4.2.7 การบรรจุขวด (Filling) เมื่อไวน์ใส และมีการพัฒนาของสี กลิ่นและรสชาติดีแล้ว ก่อนการบรรจุขวดควรเติมโปแตสเซี่ยมซอร์เบท เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บไวน์ให้นานขึ้น ขวดไวน์ที่ใช้ควรมีสีเข้มเพื่อป้องกันการออกซิไดซ์ การบรรจุไวน์ควรบรรจุโดยใช้ระบบท่อ หรือสายยางให้มีช่องว่างที่คอขวดเหลือประมาณ 1-1.5 นิ้ว และควรปิดจุกทันที เพื่อป้องกันการสัมผัสกับอากาศซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดออกซิเดชั่น ควรปิดจุกคอร์กให้พอดีกับปากขวด หรือโผล่พ้นปากขวดเล็กน้อย การเก็บไวน์ อาจเก็บไว้โดยไม่หุ้มพลาสติก หรือฟอยล์ก็ได้

2.4.2.8 การปิดฉลาก (Labelling) ก่อนเก็บไวน์ ควรปิดฉลากก่อน เพื่อให้ทราบว่าไวน์ชุดนี้มีอายุเท่าไร ทำจากอะไร หรือข้อมูลอื่น ๆ ฉลากควรปิดตรงกลางขวด และปิดด้วยกาวที่ไม่ละลายน้ำ หรือลอกออกด้วยน้ำ

2.4.2.9 การเก็บไวน์ผลไม้ ไวน์ผลไม้ที่บรรจุขวดแล้วควรเก็บที่อุณหภูมิไม่เกิน

25 °C เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลง สี กลิ่น และรสชาติ ถ้าเป็นไวน์ที่บรรจุและปิดด้วยจุกคอร์ก ควรเก็บโดยการวางขวดในแนวนอนเพื่อให้จุกคอร์กเปียกตลอดเวลา ป้องกันไม่ให้มีอากาศเข้าไปในน้ำไวน์มากจนเกินไป

2.4.3 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการหมักไวน์

2.4.3.1 เชื้อยีสต์ (yeast) ยีสต์ที่ใช้หมักไวน์คือ *Saccharomyces* spp. ซึ่งมีหลายสายพันธุ์ที่นิยมใช้ ได้แก่ *S. cerevisiae, S. uvarum, S. elipsoideus* และ *S. bayanus* ยีสต์ที่ดีควรหมักไม่ช้าหรือเร็ว การหมักไวน์ที่ดีควรเลือกใช้สายพันธุ์ยีสต์เฉพาะสำหรับหมักไวน์เท่านั้น และต้องมีความเหมาะสมกับชนิดของไวน์ที่ต้องการผลิต และชนิดผลไม้ที่ใช้ การใช้ยีสต์มากเกินไปไม่มีผลเสียแต่การใช้น้อยเกินไปอาจเน่าเสียจากแบคทีเรียก่อนที่จะเกิดการหมักได้ ยีสต์แต่ละสายพันธุ์จะให้ไวน์ที่มีกลิ่น และรสชาติแตกต่างกัน (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2546) การหมักแอลกอฮอล์ โดยยีสต์คือการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์หรือเอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังสมการ ดังนี้

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 + Heat$$

ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลในผลไม้ให้เป็นแอลกอฮอล์ รสชาติและกลิ่นของไวน์จะได้มาจากยีสต์ส่วนหนึ่งแต่หลัก ๆ มาจากผลไม้ อย่างไรก็ตามมีผู้พัฒนาสายพันธุ์ยีสต์เป็นเพื่อเพิ่มรสชาติและกลิ่นของไวน์ให้ดีขึ้น นอกเหนือจากการให้ปริมาณและทนทานต่อแอลกอฮอล์ได้ดีกว่าในอดีตมาก ยีสต์ที่มีจำหน่ายมี 2 ลักษณะ คือ แบบของเหลว (ยีสต์สด) และแบบแห้ง (ยีสต์ผง) ยีสต์แบบของเหลวมักไม่สะดวกต่อการขนส่ง การใช้งานและการจัดเก็บเพราะอายุค่อนข้างสั้น และต้องเก็บที่อุณหภูมิต่ำมักนิยมใช้แบบแห้ง (โชคชัย วนภู, นันทกร บุญเกิด, และ ลำไพร ดิษฐวิบูลย์, 2546)

2.4.3.2 สารอาหารของยีสต์ (yeast nutrients) ยีสต์จำเป็นต้องได้รับสารอาหาร เช่น น้ำตาลเชิงเดี่ยว น้ำตาลเชิงคู่ และไนโตรเจนสำหรับใช้ในการเจริญ (โชคชัย วนภู, นันทกร บุญเกิด, และ ลำไพร ดิษฐวิบูลย์, 2546) สารอาหารจะช่วยให้เกิดการหมักและสร้างแอลกอฮอล์ให้สูงที่สุดจนกว่ายีสต์จะทนได้ ดังนั้นถ้าผลไม้มีปริมาณสารอาหารต่ำหรือเจือจางน้ำมาก จำเป็นต้องเติมสารอาหารเหล่านี้ลงไป (ธีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน, 2542)

2.4.3.3 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) การหมักไวน์ผลไม้จะปรับค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 3.0-3.6 หรือปริมาณกรดทั้งหมด 4 – 6 กรัมต่อลิตร การเพิ่มหรือลดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมักทำได้โดยการเติมกรดซิตริก และเจือจางด้วยน้ำสะอาด ตามลำดับ (ธีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน, 2542)

2.4.3.4 อุณหภูมิ (temperature) อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 20 - 25 °C เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นการหมักจะเกิดอย่างรวดเร็ว ถ้าอุณหภูมิสูงถึง 38 °C หรือสูงกว่านี้ยีสต์จะตายหมด หากอุณหภูมิเท่ากับ 10 °C หรือต่ำกว่าการหมักไวน์จะหยุด และถ้าอุณหภูมิเหมาะสมจะใช้เวลาประมาณ 3 - 4 สัปดาห์ หากอุณหภูมิสูงเกิน 35 °C ไวน์อาจเกิดการเน่าเสียเนื่องจากแบคทีเรีย และควรเหลือช่องว่างส่วนบนของภาชนะให้มีอากาศน้อยที่สุดเพื่อป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของไวน์ (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2546)

2.4.3.5 สารเร่งการเจริญ (growth factors) สารเร่งการเจริญมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ยีสต์ (วราวุฒิ ครูส่ง, 2538) ไบโอตินมีความเกี่ยวข้องกับเอนไซม์และการสังเคราะห์ลิปิด รวมถึงเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต เพราะวิตามินเป็นโคเอนไซม์ที่ทำให้เอนไซม์ทำงานได้และรักษาสภาพของเมมเบรนของยีสต์ ซึ่งมีผลต่ออัตราการหมัก (วราวุฒิ ครูส่ง, 2529) สารเร่งการเจริญ ได้แก่ ไทอะมีน ไรโบฟลาวิน กรดเพนโทธินิก ไพริโดซีน นิโคไทนาไมด์ ไบโอติน มีโซอินทอล โคบาลาไมด์ และโคลีน (Ribereau-Gayon, Dubourdieu, Doneche, & Lonvand, 2000)

2.4.3.6 DAP (diammonium phosphate) DAP เป็นแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสช่วยทำให้ยีสต์เจริญได้เร็วขึ้น หากน้ำผลไม้มีไนโตรเจนต่ำยีสต์จะสร้างไดซัลไฟด์ ไวน์ที่ได้จะมีกลิ่นไม่ค่อยดี ดังนั้นจึงควรเติม DAP ในปริมาณ 0.05 – 0.1 % (w/v)

2.4.3.7 สารต้านการเจริญ (growth inhibitors) อาจมีในธรรมชาติหรือใส่ลงไปภายหลัง และอาจเกิดจากกรรมวิธีการผลิตอาหาร หรือเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ สารฆ่าแมลง สารฆ่าเชื้อรา ยาปฏิชีวนะ เอทธานอล คาร์บอนไดออกไซด์ และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (Ribereau-Gayon, Dubourdieu, Doneche, & Lonvand, 2000) ส่วนสารอื่น ๆ คือ ซิลเวอร์ อาร์ซินิก เมอร์คิวรีลิเทียม และซิลิไนด์ ถ้าความเข้มข้นสูง ก็ยับยั้งการหมักได้ (วราวุฒิ ครูส่ง, 2529)

2.4.3.8 ยีสต์เพชรฆาต (killer yeasts) ยีสต์บางสายพันธุ์สามารถผลิตโปรตีนที่เป็นพิษต่อยีสต์สปีชีส์เดียวกันหรือสปีชีส์อื่น ยีสต์ธรรมชาติบางชนิดสามารถผลิตสารพิษ (killer toxin) ได้ และอาจทำให้การหมักหยุดชะงักได้ *S. cerevisiae* ที่ผลิตทางการค้าหลายสายพันธุ์มีคุณสมบัตินี้ เพื่อควบคุมยีสต์ที่ไม่พึงประสงค์ และป้องกันการทำลายจากยีสต์อื่น (ศิวาพร ศิวเวชช, 2529) ตัวอย่างยีสต์เพชรฆาต เช่น *Candida, Pichia, Hansenula* และ *Torulopsis*

2.5 น้ำส้มสายชู

2.5.1 ความหมาย

น้ำส้มสายชู (Vinegar) มาจากรากศัพท์ภาษาฝรั่งเศสว่า " vinaigre" หมายถึง ไวน์เปรี้ยว เป็นผลิตภัณฑ์จากกระบวนการหมักในสภาพอาหารเหลว ใช้ปรุงแต่งรสอาหาร และยังเป็นวัตถุดิบมูลฐานของอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น ซอส น้ำสลัด เป็นต้น น้ำส้มสายชูส่วนใหญ่ผลิตจากวัตถุดิบที่เป็นแป้งหรือน้ำตาล เช่น น้ำผลไม้ กากน้ำตาล น้ำเชื่อม เป็นต้น น้ำส้มสายชูจะมีกรดอะซิติกอย่างน้อย 4 % (w/v) (วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต, 2532)

2.5.2 ชนิดของน้ำส้มสายชู

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 204 พ.ศ. 2543 ได้แบ่งน้ำส้มสายชูเป็น 3 ชนิด ตามกรรมวิธีการผลิต คือ

2.5.2.1 น้ำส้มสายชูหมัก ได้จากการหมักน้ำตาลหรือผลไม้ที่มีน้ำตาล และข้าวเหนียวหมักด้วยยีสต์ให้เป็นแอลกอฮอล์แล้วหมักต่อกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีธรรมชาติ ซึ่งจะเปลี่ยนแอลกอฮอล์ไปเป็นกรดอะซิติก มีสีเหลืองอ่อนจนถึงสีน้ำตาล มีกลิ่นหอมปนกลิ่นเฉพาะของกรดน้ำส้ม ไม่ค่อยมีจำหน่ายเพราะกรรมวิธีการผลิตยุ่งยากและเก็บได้ไม่นาน

2.5.2.2 น้ำส้มสายชูกลั่น ได้จากการนำแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักมากลั่นแล้วจึงนำไปหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูทีหลัง ซึ่งจะได้น้ำส้มสายชูที่ไม่มีสี อาจแต่งเติมให้เป็นสีเหลืองอ่อนด้วยน้ำตาลเคี่ยวไหม้ จะมีกลิ่นกรดอ่อน ๆ มีความบริสุทธิ์สูงกว่าน้ำส้มสายชูหมักและเป็นที่นิยมในหมู่ผู้บริโภค

2.5.2.3 น้ำส้มสายชูเทียม ได้จากการนำเอากรดอะซิติกเข้มข้น ซึ่งได้จากการสังเคราะห์มาเจือจางให้มีคุณภาพหรือมาตรฐานตามกฎหมายกำหนด มีความเข้มข้นของกรด 4 - 7 % (w/v) มีลักษณะใส ไม่มีสี มีกลิ่นฉุนของกรดน้ำส้ม ราคาถูกและไม่อนุญาตให้เติมแต่งสี

2.5.3 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู

วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต (2532) กล่าวว่า วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชูจะเป็นตัวบ่งชี้คุณภาพของน้ำส้มสายชูที่ได้ ดังนั้นจำเป็นต้องเลือกใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพ วัตถุดิบที่สามารถนำมาผลิตน้ำส้มสายชูสามารถแบ่งออกได้ดังนี้

2.5.3.1 ผลไม้และผัก เช่น องุ่น แอปเปิล ส้ม แพร์ และผลไม้หลายชนิดที่ให้น้ำตาลและสามารถนำมาหมักไวน์ได้ น้ำส้มสายชูที่ได้จากวัตถุดิบเหล่านี้ ได้แก่ cider vinegar, fruit vinegar เป็นต้น ผักที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก เช่น มันฝรั่ง มันเทศ มันสำปะหลัง ทั้งนี้แป้งที่มีในผักต้องถูกนำไปผ่านการแปรสภาพ (pretreatment) เพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาลก่อน โดยนำผักที่มีแป้งเหล่านี้มาผ่านการให้ความร้อน และนำไปย่อยให้เป็นน้ำตาลโดยใช้ลูกแป้งน้ำส้มสายชู หรือเอนไซม์อะไมเลส บริสุทธิ์

2.5.3.2 ธัญพืชต่าง ๆ เช่น ข้าวบาร์เลย์ ข้าวมอลท์ ข้าวสาลี ข้าวเหนียว ข้าวจ้าวและข้าวโพด เป็นต้น ธัญพืชเหล่านี้จะมีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก จึงต้องแปรสภาพไปเป็นน้ำตาลก่อน น้ำส้มสายชูจากวัตถุดิบเหล่านี้ ได้แก่ malt vinegar rice vinegar เป็นต้น

2.5.3.3 วัตถุดิบพวกน้ำตาล เช่น กากน้ำตาล น้ำผึ้ง น้ำอ้อย น้ำเชื่อม เป็นต้น น้ำส้มสายชูจากวัตถุดิบเหล่านี้ ได้แก่ sugar vinegar (ใช้น้ำเชื่อมหรือกากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ) glucose vinegar whey vinegar เป็นต้น

2.5.3.4 แอลกอฮอล์เพื่อใช้ในการหมักโดยตรง เช่น แอลกอฮอล์เจือจาง แอลกอฮอล์ที่สูญเสียสภาพธรรมชาติแล้ว (denatured ethyl alcohol) รวมถึงน้ำทิ้งจากโรงงานเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น โรงงานเบียร์ ซึ่งมีปริมาณแอลกอฮอล์เหลืออยู่ น้ำส้มสายชูจากวัตถุดิบเหล่านี้ ได้แก่ distilled vinegar wine vinegar เป็นต้น

2.5.4 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการหมักน้ำส้มสายชู

2.5.4.1 ยีสต์ ยีสต์ที่ใช้ในการหมักเพื่อผลิตน้ำส้มสายชูเป็นชนิดเดียวกับที่ใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์เพื่อเป็นวัตถุดิบในการหมักด้วยแบคทีเรียอีกต่อหนึ่ง ยีสต์แต่ละชนิดจะให้กลิ่นและรสชาติของไวน์ที่เป็นเอกลักษณ์แตกต่างกัน ในประเทศไทยนิยมใช้ *S. cerevisiae* เนื่องจากหมักได้ดีที่อุณหภูมิสูง ปัจจุบันมีการคัดเลือกยีสต์สำหรับผลิตแอลกอฮอล์เพื่อนำไปผลิตกรดอะซิติกโดยตรง เช่น การผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์ ยีสต์ที่ใช้คือ *S. ellipsoideus* ซึ่งจะให้น้ำส้มสายชูที่มีกลิ่นและรสดี เมื่อนำไวน์มาหมักที่อุณหภูมิ 25-30 ° C ยีสต์ชนิดอื่นที่ใช้ ได้แก่ *S. cerevisiae S. diastaticus* และ *S. carlsbergensis* เป็นต้น

2.5.4.2 แบคทีเรีย *Acetobacter aceti* จะทำให้เกิดกรดอะซิติกจากแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในไวน์ ต้องการอากาศเพราะไม่สามารถใช้สารปีนตัวรับไฮโดรเจนตัวสุดท้ายในขบวนการเปลี่ยนอาหารเป็นพลังงานได้ ส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 15-34 ° C ชอบความเป็นกรด-ด่างค่อนข้างต่ำเจริญได้ที่ความเป็นกรด-ด่าง 4.0 - 4.5 และเจริญได้ดีที่ความเป็นกรด-ด่าง 5.4 - 6.3 ในระดับความเป็นกรด-ด่าง 7 – 8 เจริญได้เพียงเล็กน้อย สามารถออกซิไดซ์เอทานอลเป็นกรดอะซิติกในสภาพแวดล้อมที่เป็นกลางหรือเป็นกรด (ความเป็นกรด-ด่าง 4.0 - 4.5) ในสภาพที่ไม่มีเอทานอลแต่มีการให้อากาศจะเกิดการออกซิไดซ์กรดอะซิติกไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ (overoxidation) (กำเนิด สุภัณวงษ์, 2534)

2.5.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักน้ำส้มสายชู

สุวรรณา ศรีสวัสดิ์, ไพพรรณ บุตกะ, ปุณณภา บุญยะภักดิ์, อิทราวุธ ฉัตรเกษ, ต่อศักดิ์ นวลใย, ดำรงชัย สิทธิสำอางค์, พรภัทรา ศรีนรคุตร, และสมพงษ์ สุกแสงเปล่ง (2545) กล่าวว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักน้ำส้มสายชู มี 4 ประการ คือ

2.5.5.1 ปริมาณแอลกอฮอล์หรือเอทานอล ถ้ามีปริมาณน้อยเกินไปจะทำให้การผลิตน้ำส้มสายชูเกิดช้า ถ้ามีปริมาณมากเกินไปจะเกิดอันตรายกับจุลินทรีย์เนื่องจากพิษของแอลกอฮอล์

2.5.5.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตกรดน้ำส้มสายชู ที่สำคัญคือ *Acetobacter* sp. เซลล์รูปร่างกลมรีหรือเป็นท่อน กว้าง 0.6 - 0.8 ไมครอน ยาว 1.0 - 3.0 ไมครอน พบทั้งเซลล์เดี่ยว เซลล์คู่ ไม่สร้างเอนโดสปอร์ เซลล์อ่อนติดสีแกรมลบ เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 5 - 42 ° C ความเป็นกรด-ด่าง 5.4 - 6.3 ต้องการอากาศในการเจริญออกซิไดซ์สารอินทรีย์ให้เป็นกรดอินทรีย์ได้

2.5.5.3 อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก อุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 30 °C และไม่ควรต่ำกว่า 15 ° C

2.5.5.4 ปริมาณอากาศ ต้องให้อากาศที่เพียงพอต่อการเจริญของจุลินทรีย์และเกิดการสูญเสียเอทานอลเนื่องจากการระเหยน้อยที่สุด ในกรณีการหมักน้ำส้มสายชูแบบหยุดนิ่งปริมาณอากาศมีความสัมพันธ์กับอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรของสารละลายโดยตรง

2.5.6 กลไกการผลิตน้ำส้มสายชู

วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต (2532) ได้อธิบายถึงกลไกการผลิตน้ำส้มสายชูจากวัตถุดิบประเภทน้ำตาลมี 2 ขั้นตอน คือ

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> การหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ซึ่งเป็นกระบวนหมักแบบไม่ใช้อากาศและอาศัยเชื้อยีสต์ในสกุล *S. cerevisiae* var. *ellipsoideus* ดังสมการ คือ

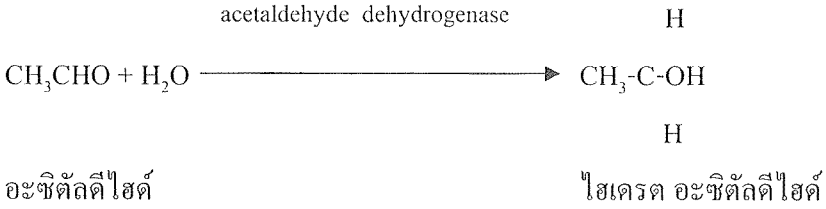
$$\underset{\text{กลูโคส}}{C_6H_{12}O_6} \xrightarrow{\text{ยีสต์}} 2\,CO_2 + 2\,\underset{\text{แอลกอฮอล์}}{C_2H_5OH} + \text{พลังงาน}$$

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> การเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติก โดยอาศัยเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม acetic acid bacteria ทำการหมักในสภาวะมีอากาศ สำหรับปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ

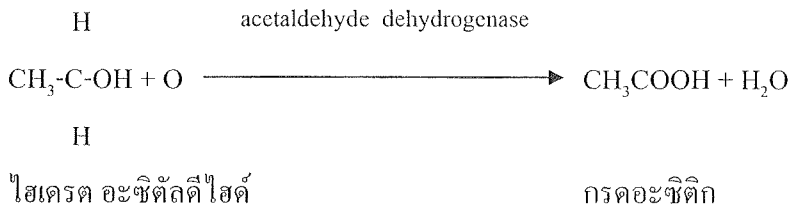
<u>ขั้นที่ 2.1</u> การเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นอะซิตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) โดยอาศัยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนี้

$$\underset{\text{แอลกอฮอล์}}{C_2H_5OH} + O \xrightarrow{\text{alcohol dehydrogenase}} \underset{\text{อะซิตัลดีไฮด์}}{CH_3CHO} + H_2O$$

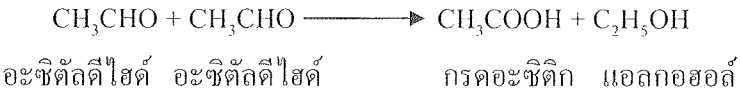
ขั้นที่ 2.2 เป็นการเปลี่ยนอะเซทัลดีไฮด์ให้เป็นไฮโดรตอะซิทัลดีไฮด์ (hydrate acetaldehyde) โดยอาศัยเอนไซม์อะซิทัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส (acetaldehyde dehydrogenas) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนี้



โปรตอน 2 ตัว ของไฮเดรต อะซิทัลดีไซด์ ไปยังอะตอมของออกซิเจน เกิดกรดอะซิติก โดยอาศัยเอนไซม์อัลดีไฮด์ ดีไฮโดรจีเนส ((acetaldehyde dehydrogenas) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนี้



นอกจากนี้แล้วการสร้างกรดอะซิติก อาจเกิดขึ้นโดยอาศัยปฏิกิกริยารวมตัวของอะซิทัลดีไฮด์ 2 โมเลกุล เรียกปฏิกิริยานี้ว่า Cannizaro reaction ได้เป็นกรดอะซิติกและเอทานอล ดังสมการ



2.5.7 สารอาหารที่จำเป็นในการผลิตน้ำส้มสายชู

สมใจ ศิริโภค (2545) กล่าวว่า การออกซิไดซ์เอทานอลไปเป็นกรดอธวิติกเพื่อผลิตน้ำส้มสายชูจะเกิด $NADH_2$ 2 โมเลกุล ซึ่งจะถูกออกซิไดซ์โดยออกซิเจนในกระบวนการหายใจ ทำให้ได้พลังงาน 6 ATP การออกซิไดซ์เอทานอล 1 โมลจะทำให้เกิดกรดอะซิติก 1 โมล

ดังนั้นถ้าใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเอทานอล 12 % (v/v) ก็จะทำให้ได้น้ำส้มสายชู 1 ลิตร ที่มีกรดอะซิติก 12.4 % (w/v)

กำเนิด สุภัณวงษ์ (2534) กล่าวว่า การผลิตน้ำส้มสายชูโดยใช้วัตถุดิบที่มีอยู่ตามธรรมชาติมักจะไม่ต้องเติมสารอาหาร แต่ในบางครั้งต้องเติมแอมโมเนียมฟอสเฟต 400 กรัม ลงในน้ำองุ่นเพื่อให้เกิดการหมักได้ดีขึ้น ในการผลิตน้ำส้มสายชูโดยเชื้อ *A. aceti* จำเป็นต้องเติมสารอาหาร ดังนี้ คือ กลูโคส โพแทสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม แอมโมเนียมฟอสเฟต ซัลเฟตและเกลือคลอไรด์

วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต (2532) กล่าวว่า การหมักเพื่อผลิตน้ำส้มสายชูนั้นสารอาหารที่จำเป็นต้องเติมขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก อาจเติมกลูโคส เกลือของโพแทสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม และแอมโมเนียมในรูปของเกลือฟอสเฟต ซัลเฟต และคลอไรด์ นอกจากนี้อาจเติมแร่ธาตุ เช่น เหล็ก แมงกานีส โคบอลต์ ทองแดง โมลิปดีนัม และวาเนเดียม ลงไปในปริมาณเล็กน้อย รวมทั้งต้องเติมแคลเซียมคาร์บอเนต และโซเดียมคลอไรด์ ในกระบวนการหมักกรดอะซิติกในทางอุตสาหกรรมจำเป็นต้องเติมสารอาหาร ได้แก่ แอมโมเนียมฟอสเฟต และแมกนีเซียมซัลเฟต เพื่อให้การผลิตกรดมีประสิทธิภาพ

2.5.8 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู

ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำส้มสายชูจากวัตถุดิบประเภทน้ำตาลจะสามารถแบ่งได้เป็น 5 ขั้นตอน ดังนี้

2.5.8.1 การเตรียมวัตถุดิบ (Raw material preparation) วัตถุดิบที่ใช้โดยทั่วไปจะเป็นผลไม้ ธัญพืช ได้แก่ แอปเปิล องุ่น ส้ม หรือสารประกอบอื่น ๆ ซึ่งสามารถหมักแอลกอฮอล์ได้ ถ้าวัตถุดิบเป็นแป้งจะต้องนำแป้งไปผ่านการให้ความร้อน เพื่อเจลาติไนส์แล้วย่อยสลายต่อด้วยเอนไซม์เพื่อผลิตน้ำตาลที่สามารถหมักได้

2.5.8.2 การหมักครั้งที่ 1 การหมักน้ำตาลให้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์โดยการหมักนี้เป็นการหมักในสภาพไร้อากาศด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ในการหมักนี้ถ้ามีการปนเปื้อนของ *Acetobacter* และมีการผลิตกรดอะซิติกเพียง 0.5 % (w/v) ก็สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ *S.*

cerevisiae ได้ จึงจำเป็นต้องใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (125 ส่วนในล้านส่วน) หรือ ไบซัลไฟต์ (bisulfite) เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อรา ยีสต์ป่า *Acetobacter* และแบคทีเรียสร้างกรดแลกติก

2.5.8.3 การหมักครั้งที่ 2 การออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ไปเป็นกรดอะซิติก เป็นการหมักที่ต้องใช้อากาศ โดยอาศัยแบคทีเรีย *Acetobacter* หรือ *Gluconobacter* การหมักน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์จะใช้ปริมาตรของไวน์ 3 ใน 4 ของถังหมัก แล้วหมักที่อุณหภูมิ 21.1 - 26.7 ° C โดยไม่จำเป็นต้องเติมสารอาหารใด ๆ ให้แก่แบคทีเรีย เนื่องจากในไวน์มีสารอาหารเพียงพอต่อการเจริญอยู่แล้ว การผลิตน้ำส้มสายชูกลั่นจากแอลกอฮอล์จะต้องทำให้แอลกอฮอล์เคลื่อนที่และต้องเติมสารประกอบอินทรีย์และอนินทรีย์ต่าง ๆ เช่น ไดเบสิกแอมโมเนียมฟอสเฟต (dibasic ammonium phosphate) ยูเรียเปปโตน สารสกัดจากยีสต์ กลูโคส มอลต์ เกลือ เป็นต้น กรดอะซิติกที่ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณของแอลกอฮอล์ที่เกิดจากการหมักของยีสต์ และการเจริญของฟิล์มยีสต์หรือราซึ่งสามารถออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ได้เช่นกันแต่ไม่ให้กรดอะซิติก โดยแบคทีเรียชนิดให้กรดอะซิติกจะเจริญเป็นฟิล์มอยู่ที่ผิวของของเหลวและออกซิไดซ์แอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติก ระยะเวลามากหรือน้อยขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ

2.5.8.4 การเก็บเกี่ยวน้ำส้มสายชู เมื่อการหมักสิ้นสุด น้ำส้มสายชูที่ได้จะขุ่นซึ่งเกิดจากสารประกอบที่ละลายได้และไม่ละลายได้จากวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู จึงจำเป็นต้องมีการบ่มเป็นเวลาหลายเดือนเพื่อให้น้ำส้มสายชูใสขึ้นและมีกลิ่นรสที่ดีขึ้น ในระหว่างการบ่มนี้จะเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอลกอฮอล์และกรดอะซิติกเกิดเป็นสารเอสเทอร์ทำให้กลิ่นรสของน้ำส้มสายชูดีขึ้น เมื่อน้ำส้มสายชูใสแล้วจะนำมากรองเพื่อแยกอนุภาคที่ยังหลงเหลืออยู่ การกรองมีด้วยกัน 2 ระบบ ดังนี้

1) การเติมสารที่ช่วยทำให้ใส เช่น ไดอะตอม (diatomaceous earth) หรือ เบนโทไนท์ (bentonite) ลงไปแล้วผสมให้เข้ากันสารเหล่านี้จะจับตัวกับตะกอนที่ยังเหลืออยู่แล้วตกตะกอนนอนก้นจึงทำให้น้ำส้มสายชูใส โดยเบนโทไนท์เป็นสารที่นิยมใช้มากที่สุดเนื่องจากราคาถูก ปลอดภัยและไม่ส่งผลเสียต่อกลิ่นรสของไวน์

ไพบูลย์ ด่านวิรุทัย และ พัฒนา เหล่าไพบูลย์. (บก.), 2548) กล่าวว่า เบนโทไนท์เป็นดินเหนียวชนิดหนึ่ง สีขาวนวล เนื้อละเอียดนิ่ม มีอนุภาคเป็นพวกอะลูมิเนียมซิลิเกตไฮเดรตที่ซับซ้อน (complex hhydrated aluminium silicate) ประกอบด้วยแคทไอออนที่มักเป็น

โซเดียมไอออน เบนโทไนท์ที่แขวนลอยในสารละลายเอเควียสเป็นซิลิเกต(silicate) ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นเล็กๆ (small platelets) และไม่ละลายน้ำ แผ่นเล็กๆ ของเบนโทไนท์มีประจุลบและมีพื้นที่ผิวมากประมาณ 750 m^3/g เบนโทไนท์เป็นตัวดูดซับที่จะเลือกดูดซับแต่โปรตีน และการดูดซับเกิดจากการดูดซับระหว่างประจุบวกของโปรตีนและประจุลบของซิลิเกต อนุภาคของเบนโทไนท์ที่ปกคลุมด้วยโปรตีนที่ถูกดูดซับจะดูดซับสารพวกแทนนินอยู่บนโปรตีนหรือพร้อมกับโปรตีน เกิดเป็นตะกอนที่รวมเอาพวกฟินอลิคและแทนนินตกลงมาโดยตะกอนจะมีลักษณะแน่น ดังนั้นเบนโทไนท์จึงเหมาะสมกับการทำให้สารประจุบวกตกตะกอน เช่น โปรตีน อย่างไรก็ตามการใส่เบนโทไนท์ในปริมาณมากเกินพอ อาจทำให้เกิดการสูญเสียกลิ่นบางอย่างที่ดีในผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการใช้เบนโทไนท์จึงจำเป็นที่จะต้องทดสอบหาปริมาณที่เหมาะสมในการใช้แต่ละครั้ง ปกติจะใช้เบนโทไนท์ 25-100 g/L

2) การกรอง (Filtration) การกรองสามารถแยกเซลล์ของจุลินทรีย์และตกตะกอนบางส่วนออกได้ ขึ้นกับขนาดรูของเยื่อกรองที่ใช้ โดยทั่วไปจะใช้เยื่อกรองที่มีรูขนาดระหว่าง 30-0.5 ไมครอน วิธีนี้จะทำให้น้ำส้มสายชูใสอย่างรวดเร็วแต่ค่าใช้จ่ายสูง ปัจจุบันมีการใช้ membrane ultrafiltration process ซึ่งใช้ความดันเข้ามาช่วยกรองทำให้กรองได้เร็วขึ้น

2.5.8.5 การใช้ความร้อนและการเติมสารเคมี น้ำส้มสายชูจะถูกพาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 2-3 วินาที เพื่อทำลาย *Acetobacter aceti* และจุลินทรีย์ที่เหลือ อาจมีการเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ลงไป 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ก่อนการบรรจุขวดเพียงเล็กน้อย

2.5.8.6 การบรรจุขวด ตามปกติน้ำส้มสายชูที่ใช้ตามครัวเรือนจะบรรจุในขวดแก้วหรือขวดพลาสติกพอลิไวนิลคลอไรด์ หรือพอลิเอทิลีน พร้อมทั้งปิดฝาอย่างแน่นหนาเพื่อป้องกันอากาศเข้า น้ำส้มสายชูอาจบรรจุในขวดพลาสติกขนาด 5 - 25 ลิตร สำหรับใช้ในภัตตาคาร หรือบรรจุในถังโลหะปลอดสนิมสำหรับใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม

2.6 เซลลูโลสจากแบคทีเรีย

Acetobacter aceti subsp. *xylinum* หรือ *A. xylinum* เป็น acetic acid bacteria ที่สามารถผลิตเซลลูโลสได้ ในระหว่างการเจริญจะมีการสร้างเส้นใยเซลลูโลสซึ่งจัดเป็น primary metabolic product มีชื่อเป็นภาษาอังกฤษว่า Bacterial cellulose หากหมักด้วยน้ำมะพร้าวเรียกว่า Nata de Co

co หากหมักด้วยน้ำสับปะรดจะเรียกว่า Nata de Pina มีชื่อเรียกหลายอย่าง เช่น วุ้นน้ำมะพร้าว เห็ดกัมพูชา เห็ดรัสเซีย วุ้นน้ำส้ม เส้นใยเซลลูโลสที่สร้างขึ้นมีลักษณะเป็นแผ่นวุ้นสีขาวลอยอยู่ที่ผิวหน้าของอาหาร มีลักษณะเป็นเยื่อเหนียวสีขาว สีครีม ทึบแสง คล้ายวุ้นทำขนม แต่เหนียวกว่า ต้มที่ 100 °C ไม่ละลายน้ำ ปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจผลิตวุ้นเซลลูโลสกันมาก เพราะสามารถใช้น้ำมะพร้าวแก่เหลือทิ้งจากครัวเรือนและอุตสาหกรรมแปรรูปมะพร้าวหรือน้ำผลไม้จากวัสดุเหลือทิ้งมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตได้ แผ่นวุ้นที่ได้สามารถนำมาแปรรูปเป็นอาหารคาวหวานได้หลายชนิด (สมคิด ธรรมรัตน์, 2531)

2.6.1 การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ

การผลิตเซลลูโลสจาก *A. xylinum* มีหลายวิธี ได้แก่ การผลิตแบบสภาวะนิ่ง (static culture) การผลิตโดยใช้ถังหมักแบบมีใบกวนหรือสภาวะ การผลิตโดยใช้ถังหมักแบบ air lift และการผลิตแบบ 2-stage fermentation (Okiyama, Shirae, Kano, & Yamanaka, 1992, pp. 471-477) เป็นต้น มีรายงานว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter* โดยเปรียบเทียบระหว่างการเลี้ยงในสภาพนิ่ง (static) และสภาพที่มีการเขย่า (agitation) พบว่าการเลี้ยงแบบสภาพนิ่งเส้นใยเซลลูโลสจะจับตัวกันแน่น อาหารเลี้ยงเชื้อจะมีความหนืดสูงกว่าการเลี้ยงแบบเขย่า และพบว่าการเพิ่มกรดคาร์บอนิกจะช่วยให้เซลล์มีการเจริญเติบโตดีในช่วง Lag phase และยังช่วยเพิ่มการผลิตเซลลูโลสด้วย การเพิ่มกรดแลคติกลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะช่วยให้เชื้อสังเคราะห์ ATP ได้ดีขึ้น โดยจะเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของ Lactate dehydrogenase และ TCA cycle นอกจากนี้ชนิดของใบพัด ความเร็วในการกวน ปริมาณอากาศและความเป็นกรด-ด่าง ก็มีผลต่อการผลิตเซลลูโลสด้วย

2.6.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย

การผลิตวุ้นเซลลูโลสให้ได้ผลผลิตสูง วุ้นมีสีขาว เนื้อสัมผัสเนียนนุ่ม เหนียวพอเหมาะ ไม่มีเส้นใยนั้น ต้องควบคุมสภาวะในการหมักให้เหมาะสมกับการเจริญของแบคทีเรียที่ใช้ ซึ่งปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชนิดนี้ มีดังนี้

2.6.3.1 วัตถุดิบ (raw material) ที่นิยมคือ น้ำมะพร้าวแก่ เนื่องจากเป็นวัสดุเหลือใช้และมีสารอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมะพร้าวแตกต่างกันไปตามอายุ พันธุ์ และแหล่งที่ปลูก ได้มีการวิเคราะห์สารอาหารต่าง ๆ ในน้ำมะพร้าว

พบว่านอกจากประกอบด้วยองค์ประกอบหลักดังแสดงในตารางที่ 8 แล้วยังประกอบด้วยวิตามินหลายชนิด คือ กรดนิโคตินิก ไบโอติน กรดเพนโตธินิก ไรโบฟลาวิน กรดโฟลิก ในปริมาณ 0.01 0.02 0.52 0.01 และ 0.03 µg ตามลำดับ ส่วนไทอะมีน ไนอะซิน และวิตามินซี มีปริมาณน้อยมาก (Dolendo, & Maniquis, 1967, pp. 363-376) น้ำมะพร้าวที่ใช้ควรเป็นน้ำมะพร้าวสดไม่เน่าเสีย นำมาต้มเพื่อให้ไขมันละลายและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์อื่นที่ปะปนมา การเจือจางน้ำมะพร้าวจะทำให้ผลผลิตของวุ้นเซลลูโลสลดลง (สมคิด ธรรมรัตน์, 2531) นอกจากนี้ยังสามารถใช้เศษวัสดุเหลือจากผลไม้ เช่น น้ำสับปะรด น้ำอ้อย หรือผลไม้ชนิดอื่นๆ ได้ด้วย

ตารางที่ 8 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมะพร้าว

องค์ประกอบ	เปอร์เซ็นต์ (%)	
	Miller (1929)	Intengon และคณะ
โปรตีน	0.23	Traces
ไขมัน	3.56	0.2
คาร์โบไฮเดรต	3.68	5.1
เถ้า	-	0.3
แคลเซียม	0.03	0.048
ฟอสฟอรัส	0.01	0.018

ที่มา: ดัดแปลงจาก Dolendo, A.L. และ Maniquis, P.L. (1967) (อ้างโดยทิพรัตน์ หงภัทรคีรี, 2536, หน้า 44-50)

2.6.3.2 แหล่งคาร์บอน (carbon source) แหล่งคาร์บอนที่ *A. xylinum* สามารถใช้ในการเจริญและสร้างแผ่นวุ้นก็คือน้ำตาล เช่น ซูโครส มอลโทส แล็กโทส กาแล็กโทส และเดกซ์โทรส Lapus, Gallarado, & Palo (1967, pp. 91-108) พบว่าเชื้อสามารถสร้างวุ้นได้หนาที่สุดเมื่อใช้น้ำตาลเดกซ์โทรสเป็นแหล่งคาร์บอน รองลงมาเป็นซูโครส ซึ่งหาซื้อได้ง่ายและราคาถูกกว่า จึงเหมาะสมที่จะนำมาผลิตวุ้นเซลลูโลสในทางการค้า โดยปริมาณที่เหมาะสมที่สุดในการสร้างแผ่นวุ้นของเชื้อคือ 10 % Alaban (1962, pp. 111-115) พบว่าปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมคือ 5-8 % ถ้าใช้น้ำตาลน้อยกว่า 5 % จะทำให้เนื้อวุ้นเซลลูโลสที่ได้นิ่ม นัยทัศน์ ภู่ศรัณย์ (2527)

รายงานว่าการเติมน้ำตาล 0-15 % ในน้ำมะพร้าวซึ่งมีความเข้มข้น 5.7 °Brix ความหนาของแผ่นวุ้นที่ได้ไม่ต่างกันมากนัก จึงไม่จำเป็นในการเติมน้ำตาลในการเลี้ยงเชื้อ ปรารถนา เกิดบัว และวีระ อวิคุณประเสริฐ (2535) รายงานว่าการใช้น้ำมะพร้าวผสมน้ำสับปะรดในอัตราส่วน 80 : 20 ซึ่งมีน้ำตาลทั้งหมด 65.5 g/L *A. xylinum* TISTR107 และ AGR60 สามารถสร้างวุ้นได้หนาที่สุด เมื่อเทียบกับการใช้อาหารที่มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 22.0 43.5 85.0 และ 107 g/L

2.6.3.3 แหล่งไนโตรเจน (nitrogen source) อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไนโตรเจนอยู่เลยแบคทีเรียชนิดนี้ไม่สามารถเจริญได้ ถึงแม้ว่าน้ำมะพร้าวจะมีโปรตีนในรูปซึ่งแบคทีเรียสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ง่าย แต่การเติมสารที่อยู่ในรูปของแอมโมเนียมจะช่วยเร่งการเจริญเติบโตและการสร้างวุ้นของแบคทีเรียชนิดนี้ให้เร็วขึ้น Lapus, Gallarado, & Palo (1967, pp. 91-108) พบว่าการใช้แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NH_4H_2PO_4$) 0.5 % แบคทีเรียจะให้ผลผลิตวุ้นสูงสุดเมื่อเทียบกับการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต ($NH_4)_2SO_4$ และเปปโตน (peptone) ในขณะที่การใช้โพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3) และโซเดียมไนเตรต ($NaNO_3$) ไม่ปรากฏการการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและการสร้างวุ้นเลย เนื่องจากสารประกอบไนเตรทเป็นพิษต่อแบคทีเรีย Dimaguila (1967, pp. 475-485) เปรียบเทียบการใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ เช่น แอสพาราจีน (asparagines) เคซีน (casein) เปปโตน (peptone) และยีสต์สกัด (yeast extract) พบว่าการใช้เคซีน (casein) และ vitamin-free casein ให้ผลผลิตวุ้นที่หนาที่สุด นัยทัศน์ ภู่ศรัณย์ (2527) พบว่าการใช้แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NH_4H_2PO_4$) 0.5 % ในน้ำมะพร้าวให้ผลผลิตวุ้นสูงที่สุดเมื่อเทียบกับการใช้ยูเรียและแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NH_4H_2PO_4$) 0.5 % เป็นแหล่งไนโตรเจน ซึ่งปริมาณการใช้แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NH_4H_2PO_4$) ที่เหมาะสมนี้ให้ผลเช่นเดียวกับผลการทดลองของ สมศรี ลิปิพัฒนวิทย์ (2531)

2.6.3.4 ปริมาณเชื้อเริ่มต้น (starter) การผลิตวุ้นเซลลูโลสที่มีคุณภาพดีควรใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่ได้คัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสม ปริมาณเชื้อที่ใช้เติมลงในน้ำมะพร้าวควรมีปริมาณที่มากพอเพื่อเชื้อจะเจริญเติบโตและสร้างวุ้นได้ทันกับเชื้อที่อาจปนเปื้อนมากับน้ำมะพร้าว หรือในระหว่างการหมักโดยพบว่าการใช้เชื้อเริ่มต้น 10-20 % ของอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้ได้ผลผลิตวุ้นดีที่สุดแต่ถ้าใช้เชื้อเริ่มต้นมากขึ้นผลผลิตกลับลดต่ำลง (สมคิด ธรรมรัตน์, 2531)

2.6.3.5 เอทานอลและกรดอะซิติก (ethanol and acetic acid) เนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Acetobacter* สามารถออกซิไดซ์เอทานอลไปเป็นกรดอะซิติกได้ แต่การสร้างวุ้นจะไม่

เกิดขึ้นถ้าหากไม่มีกลูโคสในอาหาร นอกจากนี้แบคทีเรียในกลุ่มนี้ไม่สามารถเจริญในอาหารที่มีเอทานอลถ้าหากไม่มีการเติมกรดอะซิติก เกลืออะซิเตท หรือกลูโคส ทั้งเอทานอลและกรดอะซิติกเป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงานทำให้ผลผลิตวุ้นสูงขึ้นในระยะเวลาสั้น และเอทานอลยังมีผลไปยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ซึ่งปนเปื้อนมากับน้ำมะพร้าว และกรรมวิธีการผลิตได้ นัยทัศน์ ภู่ศรัณย์ (2527) พบว่าการใช้เอทานอล 5 % ในน้ำมะพร้าวสามารถเก็บเกี่ยวุ้นที่หนาพอได้ถึง 3 ครั้ง สมคิด ธรรมรัตน์ (2531) รายงานการทดลองของกลุ่มงานวิเคราะห์วิจัยวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรและอุตสาหกรรมกองเกษตรเคมีว่า การเติมกรดอะซิติก1-2 % จะได้วุ้นที่มีความหนา 1-1.5 เซนติเมตร ในเวลา 10 วัน แต่ถ้าต้องการวุ้นหนา 1.5-2.5 เซนติเมตร จะต้องเติมกรดอะซิติก 2-2.5 % และใช้เวลาในการหมักนานกว่า 10 วัน สมศรี ลิปิพัฒนวิทย์ (2531) พบว่าเชื้อสร้างแผ่นวุ้นได้หนาสูงสุดเมื่อเติมเอทานอล 6 (%v/v) ปรารถนา เกิดบัว และวีระ อวิคุณประเสริฐ (2535) ทดลองเติมเอทานอลในน้ำมะพร้าวผสมน้ำสับปะรด 0-6 % พบว่าที่ระดับเอทานอล 1 % ให้ผลผลิตวุ้นสูงสุดหนา 2.6-2.85 เซนติเมตร ในเวลา 14 วัน โดยที่ความหนาของชิ้นวุ้นได้หนาสูงสุดเมื่อเติมเอทานอล 6 % (v/v)

2.6.3.6 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) *A. xylinum* สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 3.5-7.5 แต่ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการสร้างวุ้นที่มีความหนาและมีคุณสมบัติดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth คือ 4.5-6 ส่วนในน้ำมะพร้าวที่เหมาะสมในการสร้างวุ้นคือ 5-5.5 Dimaguila, (1967, pp. 462-474) พบว่าที่ความเป็นกรด-ด่าง 4.0 มีความเหมาะสมที่สุดในการสร้างแผ่นวุ้นของเชื้อ และ สมศรี ลิปิพัฒนวิทย์ (2531) พบว่าการใช้กรดอะซิติกปรับความเป็นกรด-ด่างของน้ำมะพร้าวเป็น 4.5 เชื้อสามารถสร้างแผ่นวุ้นที่มีความหนาสูงสุด 1.35 เซนติเมตร

2.6.3.7 อุณหภูมิ (temperature) Lapus, Gallarado, & Palo (1967, pp. 91-108) ทดลองเลี้ยง *A. xylinum* ที่อุณหภูมิ 10 - 40 °C พบว่าที่อุณหภูมิ 10 15 35 และ 40 °C ไม่มีการสร้างวุ้น แต่ที่อุณหภูมิห้อง 28 - 31 °C หลังจากการบ่ม 72 ชั่วโมง จะเกิดแผ่นวุ้นขึ้นในขณะที่อุณหภูมิ 20 และ 25 °C เกิดแผ่นวุ้นหลังจากการบ่มเป็นเวลา 7 วัน อุณหภูมิห้องจึงเป็นช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการสร้างวุ้นของเชื้อ พันทิพา โพธิ์วัน (2547) ทดลองเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* สายพันธุ์ G9 ในน้ำมะพร้าวพบว่าสามารถเจริญและให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุดที่อุณหภูมิ 37 40 และ 42 °C โดยให้วุ้นหนา 15.55 8.56 และ 4.57 mm ปริมาณเซลลูโลส 4.15 3.51 และ 2.54 g/L ตามลำดับ

2.6.3.8 ออกซิเจน (oxygen) เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้ต้องการออกซิเจนในการเจริญ ดังนั้นในการผลิตวุ้นเซลลูโลสควรเลือกใช้ภาชนะที่มีปากกว้าง หรือผิวหน้ากว้าง เพราะเชื้อจะสร้างวุ้นเฉพาะส่วนบนของน้ำมะพร้าวเท่านั้นและระหว่างการหมักต้องระวังไม่ให้มีการกระทบกระเทือนเพราะแผ่นวุ้นอาจจมได้ เชื้อจะสร้างแผ่นวุ้นแผ่นใหม่บนผิวหน้าของน้ำมะพร้าว ทำให้ได้แผ่นวุ้นที่บาง นอกจากนี้วัสดุที่ใช้ปิดปากภาชนะควรจะระบายอากาศได้ดี เช่น ผ้าขาวบาง ไม่ควรใช้วัสดุที่หนาจนเกินไป (สมคิด ธรรมรัตน์, 2531)

2.6.4 การเก็บเกี่ยวเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

แผ่นวุ้นเซลลูโลสที่หมักได้จะมีน้ำตาลและกรดอยู่มาก ก่อนนำมาใช้ประโยชน์หรือนำมาแปรรูปจะต้องนำแผ่นวุ้นมาล้างด้วยน้ำหลาย ๆ ครั้ง โดยนำแผ่นวุ้นที่นำออกจากอาหารน้ำมะพร้าวแล้วมาล้างเยื่อด้านล่างออกแล้วล้างน้ำให้สะอาด ตัดวุ้นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกเต๋า ต้มในน้ำเดือด 5 นาที จากนั้นนำไปแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 2 % ทิ้งไว้ 1 คืน แล้วต้มในสารเคมีนั้นนาน 10 นาที รินสารเคมีทิ้งต้มในน้ำสะอาดจนเดือด 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที จะได้วุ้นที่พร้อมแปรรูปเป็นอาหารคาวหวาน

2.6.5 คุณค่าทางโภชนาการของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

เซลลูโลสจากแบคทีเรียไม่สามารถย่อยได้โดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ จึงถูกจัดเป็นสารอาหารประเภทเส้นใยอาหาร (Dietary fiber) เนื่องจากเซลลูโลสจากแบคทีเรียมีปริมาณเส้นใยอาหารอยู่มาก เมื่อรับประทานแล้วจะไปช่วยในระบบการย่อยและขับถ่ายของร่างกาย ลดปัญหาที่เกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร โดยคุณค่าทางโภชนาการของเซลลูโลสจากแบคทีเรียแสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 คุณค่าทางโภชนาการของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

สารอาหาร	วิเคราะห์ผลโดย		
	Araceti, L.	กรมวิทยาศาสตร์บริการ	กรมวิชาการเกษตร
น้ำ (ร้อยละ)	67.7	94.4	94.6
โปรตีน (ร้อยละ)	nil	0.68	0.84
ไขมัน (ร้อยละ)	0.2	0.05	0.06
คาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ)	-	3	3.2
เส้นใย (ร้อยละ)	-	1.1	1.15
เถ้า (ร้อยละ)	-	0.77	0.1
แคลเซียม (มิลลิกรัม/ 100 กรัม)	12	34.5	5.2
เหล็ก (มิลลิกรัม/ 100 กรัม)	5	0.2	-
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม/ 100 กรัม)	2	22	5.7
วิตามินบี 1 (มิลลิกรัม/ 100 กรัม)	trace	0.01	-
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม/ 100 กรัม)	0.01	0.06	-
ไนอาซีน (มิลลิกรัม/ 100 กรัม)	-	0.22	0.22

ที่มา: Araceli, Dolendo, & Maniquis; Lapus, Gallarado & Palo; กรมวิชาการเกษตร (อ้างถึงใน วรรณี บินไชย, 2547)

2.6.7 การนำเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ประโยชน์

2.6.7.1 ดัดแปลงใช้เป็นส่วนประกอบของเมมเบรนต่างๆ เช่น เป็นส่วนประกอบของลำโพงและกระดาษที่ต้องการความเหนียวสูง

2.6.7.2 ในทางการแพทย์ได้มีการนำ Bacterial มาพัฒนาใช้เป็น Artificial skin (Wound dressing) อุปกรณ์สำหรับฟัน

2.6.7.3 ใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร เช่น เซลลูโลสจากแบคทีเรียและเครื่องสำอางอีกด้วย

ตารางที่ 10 การใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียในอุตสาหกรรมต่างๆ

อุตสาหกรรม	ประโยชน์
เครื่องสำอาง	ใช้เป็นสารให้ความคงตัวของอีมัลชัน เช่น ครีม โทนิก ยาบำรุงเล็บ
เครื่องหนัง	สารที่มีความสามารถในการดูดซึมที่ดี
การกีฬาเสื้อกีฬา	อุปกรณ์เต็นท์และแคมปิง
แร่	ฟองน้ำ อุปกรณ์สำหรับดูดซึมสารพิษ
การบำบัดของเสีย	ใช้ในการรีไซเคิล แร่ และน้ำมัน
การแยกขยะ	ใช้ในการกรอง และอื่นๆ
การประชาสัมพันธ์	กรวยลำโพง ไมโครโฟน และ หูฟัง
กระดาษ	กระดาษพิเศษ ผ้าอ้อม ผ้าอนามัย
เครื่องจักร	ตัวถังรถยนต์ ส่วนประกอบเครื่องบิน
อาหาร	ฟิล์มที่รับประทานได้
การแพทย์	ผิวหนังเทียมสำหรับแผลไฟไหม้ อุปกรณ์สำหรับฟัน
ห้องทดลอง	การตึงเซลล์ และโปรตีน เทคนิคโครมาโตกราฟฟี อาหารเลี้ยงเชื้อ

ที่มา: ศศิพร เทียนแป้น (2551)

2.6.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

จารุวรรณ์ ศิริพรรณพร, ปราโมทย์ ธรรมรัตน์, สิริพร สธนเสาวภาคย์, สร้อยทอง สายหยุดทอง, กาญจนิจ วาณะวินิจ, ศรีเมือง มาลีหวล, และ สมคิด ธรรมรัตน์ (2544, หน้า, 165-172) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียจากน้ำกะทิที่ได้จากมะพร้าวแก่และเจือจางด้วยน้ำประปา 60 พบว่าน้ำกะทิที่ต้มเดือดให้ผลผลิตวุ้นที่น้อยกว่าน้ำกะทิที่ไม่ต้มอย่างมีนัยสำคัญทาง การเพิ่มปริมาณหัวเชื้อจาก 10 % เป็น 15 % เป็นผลทำให้ผลผลิตวุ้นเพิ่มขึ้น ส่วนการเพิ่มปริมาณน้ำตาลจาก 5 % เป็น 7 % ผลผลิตวุ้นจะได้เพิ่มขึ้นจากความหนา 1.05 เซนติเมตร น้ำหนัก 350 กรัม/ถาด เป็นความหนา 1.52 เซนติเมตร น้ำหนัก 496 กรัม/ถาด ตามลำดับ ซึ่งการใช้น้ำตามเพิ่มอีก 2 % เป็นการเพิ่มผลผลิตวุ้นที่มีความคุ้มค่ากับการลงทุนเมื่อใช้น้ำกะทิจากน้ำ

มะพร้าวแก่จัดเป็นวัตถุดิบในการผลิต ได้ผลผลิตวุ้นมากที่สุด คือความหนา 1.60 เซนติเมตร น้ำหนัก 636 กรัม/ถาด

พันธ์ณรงค์ จันทร์แสงศรี, ปาริชาติ ศรีคำสุข, และ วิไลวรรณ แป้นขาว (2545, หน้า, 46-55) รายงานว่าปริมาณน้ำตาลและแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียคือ 8 % และ 0.6 % ตามลำดับ โดยอาหารเหลวสูตรดัดแปลงเพื่อการผลิตวุ้นมะพร้าว-สับปะรดที่เหมาะสมประกอบด้วย น้ำสับปะรด 25 % น้ำตาล 8 % กรดน้ำส้ม 2 % แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.6 % แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำมะพร้าว โดยทำการผลิตในภาชนะปากกว้างที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร ภายใต้อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน ในการผลิตวุ้นมะพร้าว-สับปะรดในน้ำสับปะรด เมื่อปรับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.6 จะให้ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสด้านสีและกลิ่นสูงที่สุด

อังคณา พรรณศรี, ปราโมทย์ ธรรมรัตน์, วราวุฒิ ครูส่ง, และ สุเมธ ตันตระเธียร (2546, หน้า, 36-43) ได้ทำการศึกษาพื้นที่สัมผัสอากาศและความลึกของน้ำหมักที่เหมาะต่อการผลิตเซลลูโลสของ *Acetobacter* TISTR 975 โดยนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อน้ำมะพร้าวซึ่งเติม $MgSO_4$ และ NH_4HPO_4 พบว่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการผลิตให้ได้ปริมาณเซลลูโลสมากที่สุด หลังจากทำการหมักในสภาวะนิ่งเป็นเวลา 8 วัน ที่ 4.75 และปริมาณน้ำตาลที่เติมเพิ่มควรเป็น 5.1 % ความลึกของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมเป็น 2.5 เซนติเมตร และพบว่าพื้นที่ผิวมีผลต่อการสร้างเซลลูโลสของเชื้อมาก จากการเพิ่มปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อโดยการเพิ่มพื้นที่ผิวมีการสร้างเซลลูโลสมากกว่าการเพิ่มความลึกของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยปริมาณเซลลูโลสที่ผลิตได้ที่ความลึกอาหารเลี้ยงเชื้อ 2.5 เซนติเมตร และมีพื้นที่ผิวหน้า 359.12 ตารางเซนติเมตร ให้เซลลูโลส 5.94 กรัมต่อลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

จิราพัชร ขุนเกตุ และ พัชณียา หานะพันธ์ (2550) รายงานว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของน้ำผักปลัง : น้ำมะพร้าว อัตราการผลิตเซลลูโลสจะลดลง แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต และปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด อัตราการผลิตเซลลูโลสจะเพิ่มขึ้น โดยสภาวะที่มีอัตราการผลิตเซลลูโลสสูงที่สุดคือ การใช้อัตราส่วนน้ำผักปลัง : น้ำมะพร้าว 30 : 70 % (v/v) แอมโมเนียมซัลเฟตเข้มข้น 0.5 % (w/v) และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 8 °Brix โดยมีอัตราการผลิตเซลลูโลสเท่ากับ 1.63 กรัม/ลิตร/วัน การศึกษาอิทธิพลของระดับความสูงของน้ำหมักและระยะเวลาในการบ่ม พบว่าการหมักที่ระดับความสูงของน้ำหมัก 4.2 เซนติเมตร

(ปริมาตร 1,500 มิลลิลิตร) เป็นเวลา 10 วัน มีอัตราการผลิตเซลลูโลสเฉลี่ยเท่ากับ 1.67 กรัม/ลิตร/วัน โดยที่เมื่อทำการทดสอบความคงตัวของสีวุ้นผักปลังก่อนการแปรรูปพบว่า การต้มเดือดเป็นเวลา 15 นาที ค่าความเป็นสีแดงลดลงมากที่สุด (72.65 %) เมื่อนำแผ่นวุ้นไปต้มเดือดเป็นเวลานาน แรงสูงสุดที่ใช้ในการเจาะทะลุผ่านมีค่าลดลง ส่วนการนำแผ่นวุ้นไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 7 วัน ไม่มีผลต่อค่าสีและแรงสูงสุดที่ใช้ในการเจาะทะลุผ่าน

ธนุสรา เหล่าเจริญสุข และ สุพัตรา แก้วทะโร (2548) ศึกษาสูตรอาหารน้ำตาลโตนดที่เหมาะสมต่อการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* TISTR 107 พบว่าการใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลโตนด 15 °Brix เติมแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 7.0 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต 0.7 กรัม ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 4.25 แล้วหมักที่อุณหภูมิห้องจะได้แผ่นวุ้นหนา 1.15 เซนติเมตร ในเวลา 9 วัน การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส พบว่ากลิ่นและการยอมรับไม่แตกต่างกับเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ผลิตสร้างจากน้ำมะพร้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เซลลูโลสจากแบคทีเรียที่สร้างจากน้ำตาลโตนดมีเนื้อสัมผัสดีกว่า องค์ประกอบทางเคมีของเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่สร้างจากน้ำตาลโตนด พบว่ามีโปรตีน 0.13 % เยื่อใย 2.74 % Nitrogen-free extract 0.378 % เถ้า 0.11 % และความชื้น 96.63 %

2.7 โยกิร์ต

โยเกิร์ต (Yogurt) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักนม โดยการเติมแบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) ลงไปในนม แบคทีเรียดังกล่าวจะเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตสเป็นกรดแลคติก ทำให้มีสภาวะเป็นกรดและมีรสชาติเปรี้ยว คือมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 3.8 - 4.6 ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว มีต้นกำเนิดอยู่ที่ประเทศบัลกาเรีย โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมที่เหมาะสมกับผู้ที่มีปัญหาการดื่มนมไม่ได้เนื่องจากร่างกายไม่สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตส (lactose intolerance) เพราะน้ำตาลแลคโตสในนมถูกแบคทีเรียกรดแลคติกเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก ทำให้ผู้มีปัญหาดื่มนมไม่ได้สามารถบริโภคโยเกิร์ตได้โดยไม่ทำให้เกิดปัญหา

2.7.1 ชนิดของโยเกิร์ต (วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงษ์สวัสดิ์มานิต, 2532)

2.7.1.1 จำแนกตามปริมาณไขมันในโยเกิร์ต แบ่งได้ 3 ประเภท คือ

1) โยเกิร์ตไขมันต่ำ (very low fat yoghurt) ไขมันไม่น้อยกว่า 3.0 %

2) โยเกิร์ตไขมันปานกลาง (half fat yoghurt) มีไขมัน 0.5 – 3.0 %

3) โยเกิร์ตไขมันเต็ม (full fat yoghurt) มีไขมันไม่น้อยกว่า 3.0 %

2.7.1.2 จำแนกตามกรรมวิธีการผลิต

1) เซทโยเกิร์ต (set yoghurt) บรรจุทันทีหลังจากเติมจุลินทรีย์ โดยให้จุลินทรีย์หมักในภาชนะบรรจุ เมื่อหมักได้ที่แล้วทำให้เย็นพร้อมที่จะจำหน่าย

2) สเตอโยเกิร์ต (stirred yoghurt) เติมจุลินทรีย์ลงในน้ำนมแล้วปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาการหมักในถังใหญ่ เมื่อหมักได้ที่ทำให้เย็นและบรรจุในภาชนะเพื่อจำหน่าย

2.7.1.3 จำแนกตามกลิ่นรส

1) โยเกิร์ตชนิดธรรมชาติ (plain yoghurt หรือ natural yoghurt) ไม่มีการเติมกลิ่นรสและผลไม้ลงไป กลิ่นรสของโยเกิร์ตจะเป็นไปโดยธรรมชาติ

2) โยเกิร์ตชนิดผสมผลไม้ (fruit yoghurt) มีการเติมผลไม้ลงไปในโยเกิร์ตชนิดธรรมดา ในรูปของผลไม้แช่อิ่ม หรือแยม ถ้าเป็นเซทโยเกิร์ตผลไม้จะอยู่ที่ก้นภาชนะ แต่ถ้าเป็นสเตอโยเกิร์ตผลไม้จะกระจายทั่ว

3) โยเกิร์ตชนิดปรุงแต่งกลิ่นรส (flavored yoghurt) มีการเติมน้ำตาลหรือสารให้ความหวานชนิดอื่น หรืออาจมีการเติมสารให้กลิ่นรสและสีลงไปในโยเกิร์ตชนิดธรรมดา

2.7.1.4 จำแนกตามกรรมวิธีหลังการหมัก

1) โยเกิร์ตพาสเจอไรส์ และโยเกิร์ตยูเอชที (pasteurized yoghurt and UHT yoghurt) ผ่านความร้อนหลังการหมักเพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่เหลือจากการหมัก ทำให้สารประกอบที่ระเหยได้ในโยเกิร์ตลดลง

2) โยเกิร์ตเข้มข้น (concentrated yoghurt) มีการขจัดน้ำบางส่วนออก ทำให้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดประมาณ 24 %

3) โยเกิร์ตแช่แข็ง (frozen yoghurt) ผ่านการแช่แข็งหลังจากการหมักมีลักษณะคล้ายไอศกรีม บางกรณีอาจเติมน้ำตาลและสารคงตัวลงไปด้วย

4) โยเกิร์ตแห้ง (dried yoghurt) ผ่านการทำแห้งโดยวิธีตากแดด (sun-drying) ซึ่งมักทำกันในแถบชนบทของตะวันออกกลา ในระดับอุตสาหกรรมจะใช้การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray-drying) หรือทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze-drying) เพื่อให้เก็บไว้ได้นาน

2.7.2 จุลินทรีย์ในโยเกิร์ต (Bautita , Valerie, & Rawson, **1966)**

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักโยเกิร์ตคือแบคทีเรีย *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* ซึ่งหัวเชื้อโยเกิร์ตควรปลอดจากการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่น เจริญได้ดีในส่วนผสมของนมที่ใช้เตรียมโยเกิร์ต ให้กลิ่นรสที่ต้องการ ให้โยเกิร์ตที่เนื้อดีและต้านทานต่อฝาจ (Phages) และสารปฏิชีวนะ ในระยะแรกของการหมักโยเกิร์ต *S. thermophilus* จะเจริญอย่างรวดเร็วโดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 40 °C จากนั้นจะปล่อยกรดแลคติคและสร้างไดอะซิติล (diacetyl) ออกมา รวมถึงสารประกอบที่คล้ายคลึงกันซึ่งมีผลต่อกลิ่นรสของโยเกิร์ต *Streptococcus* จะช่วยกำจัดออกซิเจนจากน้ำนม จนกระทั่งความเป็นกรด-ด่างลดต่ำลงมาอยู่ที่ 5.5 ช่วงนี้ *Lactobacillus bulgaricus* จะเจริญเด่น โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญคือ 45 °C สามารถให้ปริมาณกรดแลคติกมากพอที่จะสร้างอะซิตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) ซึ่งให้กลิ่นรสเฉพาะของโยเกิร์ตได้ โยเกิร์ตที่มีคุณภาพดีจะมีอะซิทอลดิไฮด์มาณ 23 - 41 พีพีเอ็ม (ppm) คิดเป็นสัดส่วนของสารประกอบให้กลิ่นถึ 90 % นอกจากนี้ *L. bulgaricus* ยังปล่อยกรดอะมิโนบางชนิดที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *Streptococci* อีกด้วย

ในการสร้างสารให้กลิ่นรสของโยเกิร์ต พบว่าเชื้อ *S. thermophilus* จะสร้างกรดฟอร์มิกออกมา ซึ่งเชื้อ *L. bulgaricus* จะนำกรดฟอร์มิกนี้ไปใช้ในการสร้างสารให้กลิ่นรสรวมทั้งสร้างอะซิตัลดิไฮด์ออกมาด้วย ดังนั้นจะเห็นได้ว่า *L. bulgaricus* นี้เป็นตัวการสำคัญในการสร้างสารที่ให้กลิ่นรสในโยเกิร์ต อย่างไรก็ตาม *S. thermophilus* ก็สามารถสร้างกลิ่นรสพวกสร้างอะซิตัลดีไฮด์ได้ด้วย แต่ปริมาณสารดังกล่าวที่ได้จากเชื้อ *S. thermophilus* จะน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของสารดังกล่าวที่ได้จาก *L. bulgaricus* เมื่อการเปลี่ยนแปลงของสารเกิดขึ้นที่อุณหภูมิการหมักปกติประมาณ 40 °C ในระหว่างการหมักอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเชื้อสายพันธุ์ผสมคือ 40 - 42 °C เนื่องจากอุณหภูมินี้หัวเชื้อโยเกิร์ตที่ผสมกันสามารถมีกิจกรรมร่วมกันได้สูงสุด อย่างไรก็ตามเพื่อให้สัดส่วนของหัวเชื้อผสมทั้งสองเป็นหนึ่งต่อหนึ่งควรเลือกใช้อุณหภูมิการหมัก 42 °C แม้ว่าการสร้างกรดของหัวเชื้อผสมทั้งสองจะสูงสุดที่อุณหภูมิการหมักที่ 45 °C ก็ตาม

2.7.3 การผลิตโยเกิร์ตในระดับอุตสาหกรรม

การผลิตโยเกิร์ตในระดับอุตสาหกรรมมีขั้นตอนที่สำคัญ ดังนี้

2.7.3.1 การปรับปริมาณไขมันในน้ำนม ในการปรับปริมาณไขมันในน้ำนมที่ใช้ในการเตรียมโยเกิร์ตนี้ จะใช้หลักการของเพียสันส์สแควร์ (Peasons square)

2.7.3.2 การปรับปริมาณของแข็งที่ไม่ใช่ไขมัน (SNF) ในน้ำนม ปริมาณของแข็งที่ไม่ใช่ไขมันในน้ำนม ได้แก่ น้ำตาลแลกโตสและเกลือแร่ จะมีผลโดยตรงต่อคุณสมบัติทางกายภาพและกลิ่นรสของโยเกิร์ต เช่น ความเรียบของผิวหน้า ความหนืด และความสม่ำเสมอของ coagulum ถ้าปริมาณของแข็งมีมากโยเกิร์ตจะมีความหนืดมากขึ้นด้วย โยเกิร์ตที่ดีควรมีปริมาณของแข็ง 14 - 15 % โดยได้จากน้ำนมที่มีของแข็ง 14 - 16 % ถ้าของแข็งทั้งหมดในส่วนผสมที่ใช้เตรียมโยเกิร์ตมีมากกว่า 25 % จะทำให้ความชื้นของโยเกิร์ตลดลง โยเกิร์ตต้องการของแข็งที่ไม่ใช่ไขมัน 8.2 - 8.6 % แต่การผลิตในอุตสาหกรรมต้องการให้ได้ปริมาณของแข็งที่ไม่ใช่ไขมันน้อยที่สุด เพื่อประหยัดค่าใช้จ่าย สามารถเพิ่มปริมาณ total solid ได้โดยวิธีต่าง ๆ เช่น ให้ความร้อนนมที่ 60 - 80 °C เพื่อลดปริมาตรของนมลง ประมาณ 2/3 ของปริมาตรเริ่มต้น หรือการเติม skim milk, butter milk powder, whey powder และ casien powder เป็นต้น

2.7.3.3 การเติมสารคงตัว (stabilizers) เพื่อให้ลักษณะเฉพาะตัวที่ต้องการคงอยู่หรือเพิ่มขึ้น เช่น ลักษณะเนื้อสัมผัส ความหนืด ลักษณะปรากฏด้านโครงสร้างของ curd และช่วยลดปัญหาการแยกชั้นของน้ำหางนม (whey) หรือที่เรียกว่า syneresis เป็นต้น สารคงตัวโยเกิร์ตที่นิยมใช้ได้แก่ carboxymethyl cellulose, gelatin, alginates, carrageenans เป็นต้น

2.7.3.4 การเติมสารให้ความหวาน การเติมผลไม้ที่มีความหวานลงไปในส่วนผสมของโยเกิร์ตเพื่อลดความเปรี้ยวในโยเกิร์ต ควรคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ชนิดของสารให้ความหวาน ชนิดของผลไม้ ความชอบของผู้บริโภค ผลที่อาจยับยั้งการเจริญของหัวเชื้อจุลินทรีย์เป็นต้น

2.7.3.5 การทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenization) หมายถึง การที่ไขมันในน้ำนมได้ถูกทำให้มีขนาดเล็กลงจนมีขนาดเดียวกันทั้งหมดอาจจะทำให้เล็กลงได้ถึง 10 เท่าจากการที่โมเลกุลเล็กลงนี้มีผลทำให้ไขมันน้ำนมไม่มีการลอยตัว ทำให้ระบบโฮโมจีไนส์นี้ช่วยทำให้

ผลิตภัณฑ์มีความอยู่ตัวสูงขึ้น ระบบโฮโมจีไนเซชั่นอาจทำได้ 2 ลักษณะ คือ ทั้งหมดหรือบางส่วน น้ำนมจะได้รับการดำเนินการทั้งหมดซึ่งมักจะเป็นน้ำนมที่มีปริมาณไขมันน้อย จึงไม่มีการจับตัวเป็นก้อนเลยเรียกว่า น้ำนมไมโครไนซ์ (Micronized Milk)

2.7.3.6 การให้ความร้อน(heat treatment) มีผลต่อส่วนผสมโยเกิร์ต ดังนี้

1) ความร้อนจะทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค หรือจุลินทรีย์อื่นๆ ที่ไม่ต้องการ และน้ำนมที่ผ่านความร้อนแล้วจะทำให้มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตที่ดีของหัวเชื้อโยเกิร์ตด้วย

2) เนื่องจากกิจกรรรมของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกในสภาวะต้องการอากาศเล็กน้อย ผลของความร้อนจะช่วยกำจัดอากาศที่มีในนม

3) ทำให้โปรตีนในน้ำนมถูกทำลายเกิดสารที่มีโมเลกุลเล็กลง (breakdown product) ซึ่งอาจเป็นสารที่ไปช่วยเร่งกิจกรรมของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกได้

4) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำนม โดยทำให้โปรตีนในน้ำนมที่เสียสภาพธรรมชาติแล้วตกตะกอน อีกทั้งยังก่อให้เกิดการรวมตัวของโมเลกุลเคซีนเกิดเป็นร่างแหในลักษณะ 3 มิติขึ้นมา โดยร่างแหนี้จะจับกับโปรตีนหางนมแล้วทำให้โยเกิร์ตที่ได้มีความหนืดมากกว่าเดิม

2.7.3.7 กระบวนการหมัก การเปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมักคือ

1) น้ำตาลแลคโตสในนมเปลี่ยนเป็นกรดแลคติคโดยแบคทีเรียแลคติค

2) กรดแลคติคที่เพิ่มขึ้นทำให้น้ำนมมีค่า pH ลดลง

3) pH ที่ลดลง ทำให้โปรตีนในนมตกตะกอน รวมตัวเป็นก้อนนิ่ม ๆ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของโยเกิร์ต

4) โปรตีนนมถูกย่อยเป็น เปปไทด์ และกรดอะมิโนอิสระ

5) จุลินทรีย์โยเกิร์ต : เพิ่มจำนวนขึ้น จาก100-1000 เท่า จนมีปริมาณ 1000 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร

6) แบคทีเรียแลคติคบางชนิดยังผลิตวิตามินเช่น โฟลิก

7) แบคทีเรียแลคติคบางชนิดสามารถผลิตสารโพลีแซคคาไรด์ได้ ช่วยปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตได้

8) แบคทีเรียแลคติคทำให้เกิดกลิ่นและรสเฉพาะของโยเกิร์ต จากการผลิตสารพวกอัลดีไฮด์

2.7.3.8 การทำความเย็น(cooling) เพื่อควบคุมกิจกรรมของหัวเชื้อโยเกิร์ตและเอนไซม์ การให้ความเย็นจะทำเมื่อโยเกิร์ตมีระดับความเป็นกรดด่างตามความต้องการ

2.7.3.9 การเติมองค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสและสี ได้แก่ผลไม้ สารให้กลิ่นรส สี และองค์ประกอบอื่น ๆ เช่น น้ำผึ้ง กาแฟและถั่วต่างๆ เป็นต้น

2.7.3.10 การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ปกติโยเกิร์ตมีอายุการเก็บรักษาประมาณ 10 วัน ที่ 5 °C หลังจากนั้นปริมาณกรดในโยเกิร์ต จะมีปริมาณเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นนี้จะทำให้กลิ่นรสของโยเกิร์ตเปลี่ยนแปลงไปและไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคได้ ดังนั้นการผลิตจึงควรระมัดระวังการปนเปื้อนของเชื้อยีสต์/รา รวมทั้งในระหว่างการบรรจุด้วย

2.7.4 การเก็บรักษาคุณภาพโยเกิร์ต (Keeping qualities)

โยเกิร์ตมีอายุการเก็บประมาณ 10 วัน เมื่อเก็บที่ 5 °C จากนั้นปริมารกรดจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเนื่องจากกิจกรรมของหัวเชื้อที่มีอยู่ในโยเกิร์ต แม้ว่ากิจกรรมของหัวเชื้อจะต่ำแต่ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นนี้ทำให้กลิ่นรสของโยเกิร์ตเปลี่ยนแปลงไปและไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค สุดท้ายหัวเชื้อแบคทีเรียจะถูกทำลายและโยเกิร์ตจะเกิดการแยกชั้นของ curd และ whey ซึ่งมีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ เช่น ยีสต์และราเจริญได้ ดังนั้นการผลิตควรระมัดระวังในเรื่องการปนเปื้อนของเชื้อรา/ยีสต์ในหัวเชื้อโยเกิร์ตรวมทั้งในระหว่างการบรรจุด้วย ปัจจุบันโยเกิร์ตที่ผลิตขึ้นมีการพัฒนาปรับปรุงรสชาติและเนื้อสัมผัสเพื่อให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากขึ้น ดังนั้นการใช้วัตถุดิบต่าง ๆ ที่มีคุณภาพการควบคุมกรรมวิธีการผลิตให้เป็นไปตามที่ตั้งไว้ รวมทั้งการใช้หัวเชื้อที่มีคุณภาพล้วนแต่มีผลให้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ได้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคและยังเป็นการเพิ่มความนิยมในผลิตภัณฑ์ประเภทนี้อีกด้วย

2.7.5 ประโยชน์ของโยเกิร์ตต่อสุขภาพ

2.7.5.1 เหมาะสำหรับผู้ที่ไม่สามารถดื่มนมธรรมดาได้ เนื่องจากขาดน้ำย่อยย่อยน้ำตาลแลคโตส เพราะแบคทีเรียแลคติคย่อยน้ำตาลแลคโตสในนมให้เป็นกรดแลกติค

2.7.5.2 ช่วยรักษาอาการท้องเสีย หากลำไส้ถูกทำให้เสียสมดุลเชื้อโรคก็จะทำให้เกิดอาการท้องเสียทันที เมื่อทานโยเกิร์ตลงไปจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตจะช่วยปรับสมดุลให้กลับคืนมาอย่างรวดเร็วและสามารถป้องกันอาการท้องเดินได้ โดยเฉพาะในเด็กทารก

2.7.5.3 ช่วยยกระดับภูมิคุ้มกันโรค โดยกระตุ้นภูมิคุ้มกันในร่างกายให้สูงขึ้นและกระตุ้นการสร้างแอนติบอดี้และสารต้านโรคอื่นๆ เพิ่มปริมาณอินเตอร์เฟอรอนให้เป็น 3 เท่า

2.7.5.4 ช่วยลดความเสี่ยงจากการเกิดมะเร็งบริเวณเนื้อเยื่อกระดูก

2.7.5.5 ช่วยรักษาแผลในกระเพาะ เพราะในโยเกิร์ตมีพรอสตาแกลนดิน อี 2 (Prostaglandin E2) ทำหน้าที่ปกป้องผนังกระเพาะจากสารกระตุ้น เช่น แอลกอฮอล์และบุหรี่

2.7.5.6 ช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด

2.7.5.7 ช่วยบำรุงผิวพรรณ โดยนำโยเกิร์ตธรรมดามาพอกหน้าแทนครีมพอกหน้าหรือผสมตัวยาหรือสมุนไพรชนิดอื่นร่วมด้วยเพื่อเพิ่มสรรพคุณ