



การคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรียเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ
ผลิตแหนมเห็ดเสริมพรีไบโอติก

Screening of Lactic Acid Bacteria from *Nham het* for
Production of *Nham het* Adding Prebiotics

นางสุรัตน์ ว่างพิกุล
และคณะ

สถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ
งบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2556
กันยายน 2557



การคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรียเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ
ผลิตหมมเห็ดเสริมพรีไบโอติก

Screening of Lactic Acid Bacteria from *Nham het* for
Production of *Nham het* Adding Prebiotics

นายสุรัตน์ ว่างพิกุล

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ

นางสาววิรัชนิย์ แก่นแสนดี

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

สถาบันวิจัยและพัฒนา

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ

งบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2556

กันยายน 2557

ชื่อเรื่อง การคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรียเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อผลิตแหนมเห็ดเสริมพรีไบโอติก

ผู้วิจัย นายสุรัตน์ ว่างพิกุล สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ
นางสาววิรัชณี แก่นแสนดี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

ปี พ.ศ. 2557

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ต้องการพัฒนาการผลิตแหนมเห็ดเสริมพรีไบโอติก โดยการแยกและคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรีย โดยเก็บตัวอย่างแหนมเห็ดจากจังหวัดนครราชสีมา จังหวัดพระนครศรีอยุธยา และจากจังหวัดมหาสารคาม ทั้งหมด 13 ตัวอย่าง นำมาแยกและคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรียได้ทั้งหมด 162 ไอโซเลท เชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมดเป็นแบคทีเรียแกรมบวกและไม่สร้างเอนไซม์อะมิโนเอสเตอเรส เมื่อนำมาส่องดูลักษณะรูปร่าง การจัดเรียงตัว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่ามีลักษณะรูปร่างเป็นท่อน (rod) 70 ไอโซเลท (43.20 เปอร์เซ็นต์) มีทั้งท่อนยาวและท่อนสั้น และลักษณะเซลล์กลม (cocci) 92 ไอโซเลท (56.80 เปอร์เซ็นต์) เมื่อนำเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้งหมดมาทดสอบคุณสมบัติในการเป็นหัวเชื้อโดยทดสอบการผลิตกรด พบว่า แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่คัดแยกได้ผลิตกรดเมื่อเลี้ยงในอาหาร MRS อยู่ระหว่าง pH 5.39-6.11 โดยพบว่าไอโซเลท L3 และ C4 มีค่า pH ต่ำสุดคือ 5.39 และ 5.42 ตามลำดับ จึงเลือกเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลทเป็นหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียในการผลิตแหนมเห็ดต่อไป เมื่อนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท ได้แก่ L3 และ C4 มาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ ทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี swab-paper disc พบว่าไอโซเลท L3 และ C4 สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบได้ทั้งหมด ได้แก่ *B. subtilis* TISTR 008, *B. cereus* ATCC11778, *S. aureus* TISTR029, *E. coli* TISTR 887, *P. aeruginosa* TISTR1467 และ *S. typhimurium* TISTR 292 เมื่อนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท ได้แก่ L3 และ C4 เทียบเคียงชนิดของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย พบว่า ไอโซเลท L3 คือ *L. lactis* ส่วนไอโซเลท C4 คือ *L. plantarum* นำแลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท L3 คือ *L. lactis* ส่วนไอโซเลท C4 คือ *L. plantarum* มาพัฒนาใช้เป็นหัวเชื้อเพื่อผลิตแหนมเห็ด จำนวน 5 สูตร พบว่าสูตร 4 ที่เติมตัวอย่างพืชหัวทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ กระเทียม หอมแดง และแก่นตะวัน ให้การเจริญ การผลิตกรดสูงกว่าสูตรอื่นๆ ผลการทดสอบความชอบของผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง พบว่า ผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทองสูตร 4 ให้ค่าการยอมรับผลิตภัณฑ์ดีกว่าสูตรอื่นๆ แตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทองที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่า การรอดชีวิตของแลคติกแอซิดแบคทีเรียมีแนวโน้มลดลงและลดลงต่ำกว่า 10^6 cfu/ml เมื่อมีอายุการเก็บรักษามากกว่า 21 วัน ส่วนค่า pH จะลดลงเรื่อยๆ แปรผกผันกับปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บ โดยในวันที่ 28 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายในการศึกษาการเก็บรักษา มีค่า pH เป็น 4.58 และปริมาณกรดทั้งหมด 0.72 ตามลำดับ ในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดตรวจไม่พบเชื้อ Enterobacteriaceae รวมถึงยีสต์และรา โคลิฟอร์ม *E. coli*, *S. aureus* แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนเชื้อ Enterobacteriaceae และเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง

คำสำคัญ : แหนมเห็ด แลคติกแอซิดแบคทีเรีย พรีไบโอติก

Title Screening of lactic acid bacteria from *Nham het* for production of *Nham het* adding prebiotics

Researcher Surat Vangpikul : Research and Development Institute, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi
Miss. Wiratchanee Kansandee : Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Rajabhat Mahasarakham University

Year 2014

Abstract

This research aims to development and production of *Nham het* adding prebiotics. 13 samples of traditional Thai fermented *Nham het* were bought from the local market in Nakhon Ratchasima, Ayutthaya and Maha Sarakham Province. Lactic acid bacteria were isolated on MRS agar and were incubated at 37°C for 24-48 h. 162 isolates were characterized as gram positive and catalase negative bacteria. The arrangement morphology of LAB found that rod 70 isolates (43.20 percent) cocci 92 isolates (56.80 percent). The isolated LAB were test the properties of starter culture by acid production, found that lactic acid decreased pH value 5.39. -6.11 of growing in MRS broth within 12 h, the isolates L3 and C4 has lowest pH value is 5.39 and 5.42, respectively. Selected both 2 isolates were starter culture to produce *Nham het*. The L3 and C4 were then tested for an eventual inhibitory action against pathogenic bacteria by swab-paper disc method. LAB L3 and C4 were inhibited including *B. subtilis* TISTR 008, *B. cereus* ATCC11778, *S. aureus* TISTR029, *E. coli* TISTR 887, *P. aeruginosa* TISTR1467 and *S. typhimurium* TISTR 292. The isolated LAB were characterized and identified as *Lactococcus lactis* (L3) and *Lactobacillus plantarum* (C4). Using mixed culture of *L. lactis* (L3) and *L. plantarum* (C4) for produced 5 treatment *Nham het*, found that the treatment 4 that mixed with garlic, onion and Jerusalem artichoke, growth and acid production higher other than treatment, and overall acceptability better than other treatment ($p \leq 0.05$). Survival of lactic acid bacteria Storage *Nham het* 4 °C for 28 days tended to decrease and lower than 10^6 cfu / ml when storage more than 21 days, the pH was steadily declining, inversely to amount of acid production that increases with storage time. Day 28, pH and total acidity is 4.58 and 0.72, respectively. In *Nham het* product were not detected of Enterobacteriaceae, yeast, mold, coliforms, *E. coli*, and *S. aureus*, Indicates that no contamination of Enterobacteriaceae and other microorganisms in *Nham het*.

Keywords: *Nham het*, Lactic acid bacteria, Prebiotics

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยเรื่องนี้จัดทำขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์ เพื่อคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรียจากผลิตภัณฑ์หมักเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อผลิตหมักเสริมโปรไบโอติก และพัฒนาผลิตภัณฑ์หมักเสริมโปรไบโอติกโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่คัดเลือกได้มาเป็นหัวเชื้อในการผลิตหมักเข้มข้น ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางอาหาร และมีจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายผู้บริโภค

ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ที่ได้ให้ความสำคัญกับงานวิจัยครั้งนี้ พร้อมทั้งให้การสนับสนุนเพื่อทำการวิจัย

ขอขอบคุณ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม และสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ที่ให้การสนับสนุนและช่วยเหลือในด้านวัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือในการทำวิจัย ตลอดจนวิเคราะห์ข้อมูล

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ประจำปี 2556

ขอขอบคุณ ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา และรองผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ตลอดจนเพื่อนร่วมงาน ที่ให้คำปรึกษาและให้กำลังใจในการสนับสนุนงานวิจัย

คุณค่าและประโยชน์จากงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอมอบบูชาพระคุณบุพการีและบูรพาจารย์ที่ประสาทความรู้

สุรัตน์ วังพิกุล
วิรัชนิย์ แก่นแสนดี
กันยายน 2557

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
ขอบเขตการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
ทฤษฎีและเอกสารที่เกี่ยวข้อง	3
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	24
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	26
วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย	26
ขั้นตอนดำเนินการวิจัย	27
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย	31
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะการวิจัย	45
สรุปผลการวิจัย	45
ข้อเสนอแนะ	46
บรรณานุกรม	47
ภาคผนวก	50
ประวัติผู้้นักวิจัย	66

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตจากแลคติกแอซิดแบคทีเรีย	6
2.2 แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ใช้เป็นโพรไบโอติกในมนุษย์	9
2.3 ประเภทของคาร์โบไฮเดรต	15
2.4 ปริมาณอินนูลิน และโอลิโกฟรุคโตส ในอาหารชนิดต่างๆ	17
3.1 ส่วนผสมในการทำผลิตภัณฑ์ขนมเค้ก	29
4.1 รหัสเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย 162 ไอโซเลท ที่แยกได้จากขนมเค้ก	32
4.2 คุณลักษณะและคุณสมบัติของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างขนมเค้ก	33
4.3 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากขนมเค้ก	39
4.4 ผลการทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์ขนมเค้ก โดยใช้ระดับความชอบ 9 คะแนน (Hedonic-9 scale test)	42

สาวพ.
มทร.สุวรรณภูมิ

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 โครงสร้างของโอลิโกพรุคโตส	16
2.2 โครงสร้างของอินูลิน	16
2.3 ลักษณะของแก่นตะวัน	22
2.4 กระเทียม	23
2.5 หอมแดง	24
4.1 แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างแหนมเห็ด	31
4.2 การเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง	40
4.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง	41
4.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง	41
4.5 การรอดชีวิตของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน	42
4.6 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน	43
4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน	43
6.1 ตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อ	51
6.2 ตัวอย่างแหนมเห็ดทั้งหมด 13 ตัวอย่าง ที่นำมาคัดแยกเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย	63
6.3 ผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดทั้ง 5 สูตร ตามลำดับ	65

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

อาหารหมักดองเป็นอาหารที่มีการผลิตสืบทอดกันมานาน และมีการบริโภคในทุกภาคของประเทศ มีการผลิตทั้งในระดับครอบครัวไปจนถึงระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากเป็นการถนอมอาหารที่ทำให้ได้ง่ายและประหยัด โดยการหมักนอกจากจะป้องกันการเน่าเสียแล้วยังเป็นการช่วยรักษาคุณค่าทางโภชนาการ ทั้งยังให้กลิ่นและรสที่ดียิ่งขึ้น โดยจุลินทรีย์ที่พบก็เป็นพวกแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ซึ่งได้ถูกนำมาใช้ในการผลิตอาหารหมักจากผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรหลายชนิด ได้แก่ ผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ดอง ผลิตภัณฑ์ปลา ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ นอกจากนี้ในการผลิตอาหารสัตว์บางชนิดยังมีการใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรีย เช่น การทำหญ้าหมัก ซึ่งเชื่อว่าได้หญ้าหมักที่มีคุณภาพดี มีคุณค่าทางอาหารสูง เหมาะกับการเลี้ยงสัตว์ การผลิตอาหารหมักชนิดต่างๆ แลคติกแอซิดแบคทีเรียเข้าไปมีบทบาทเป็นอย่างมาก ปัจจุบันแลคติกแอซิดแบคทีเรียถูกนำมาใช้ในอาหารหมักชนิดต่าง ๆ อย่างกว้างขวาง โดยกิจกรรมหลักของแลคติกแอซิดแบคทีเรียต่อผลิตภัณฑ์อาหาร คือ เปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตในส่วนผสมของอาหารให้เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ ได้แก่ กรดแลคติก กรดอะซิติก เอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งสารเหล่านี้ทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสเฉพาะ นอกจากนี้ยังได้ผลิตภัณฑ์บางอย่างที่มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดอื่น

การนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียมาพัฒนาใช้เป็นหัวเชื้อเพื่อผลิตอาหารหมักดองที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค เนื่องจากเป็นการผลิตอาหารหมักโดยเชื้อบริสุทธิ์ และแลคติกแอซิดแบคทีเรียยังผลิตสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ จึงเป็นการเหมาะสมที่จะนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียมาใช้ในการเพิ่มมูลค่าสินค้าทางการเกษตร เพื่อให้สามารถเก็บได้นานและยังมีคุณค่าทางอาหารต่อผู้บริโภค จากที่มาและความสำคัญดังกล่าว ถ้าสามารถแปรรูปพัฒนาผลิตภัณฑ์หมักเห็ด สามารถเพิ่มมูลค่าของผลผลิตทางการเกษตรและเพิ่มความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเห็ด ช่วยเกษตรกรให้สามารถพัฒนาอาชีพเพิ่มขึ้น ผู้บริโภคจะได้รับอาหารที่มีคุณค่าและสารอาหารจากผลิตภัณฑ์ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. คัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรียจากผลิตภัณฑ์หมักเห็ดเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อผลิตหมักเห็ดเสริมโปรไบโอติก
2. ศึกษาการเจริญและการผลิตกรดของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์หมักเห็ดเสริมโปรไบโอติก
3. ศึกษาการรอดชีวิตของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์และอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์หมักเห็ดเสริมโปรไบโอติก
4. ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

พัฒนาผลิตภัณฑ์หมักเห็ดเสริมโปรไบโอติก โดยใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ของแลคติกแอซิดแบคทีเรียเป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการผลิต เลือกใช้ผลผลิตทางการเกษตรคือ เห็ด มาแปรรูปและพัฒนาใช้ผลิตหมักเห็ด

ศึกษาการเจริญและการผลิตกรดของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย รวมถึงอายุการเก็บรักษา คุณภาพทางเคมี ภายภาพและทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ เพื่อความปลอดภัยและมีคุณค่าทางอาหารกับผู้บริโภค

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. นำวัตถุดิบทางการเกษตรได้แก่ เห็ด มาแปรรูปพัฒนาให้เกิดประโยชน์และเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์
2. ได้ผลิตภัณฑ์แทนมเห็ดที่มีคุณค่าทางโภชนาการ และมีเชื้อโปรไบโอติกที่เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค
3. เผยแพร่ผลงานวิจัยโดยการนำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการ
4. เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป

สาวพ.
มทร.สุวรรณภูมิ

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทฤษฎีและเอกสารที่เกี่ยวข้อง

แลคติกแอซิดแบคทีเรีย

แลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria : LAB) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ (non-motile) ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase negative) ไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า มีทั้งรูปร่างแท่งและรูปร่างกลม (De Vuyst and Vandamme. 1994 : 1-90) ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการหมักของแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้จากการใช้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นกรดแลคติก ตัวอย่างของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบ ได้แก่ *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* และ *Leuconostoc* แลคติกแอซิดแบคทีเรียได้ถูกจำแนกไว้ทั้งหมด 12 สกุลด้วยกัน ได้แก่ *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, และ *Weissella* (Wood and Holzappel. 1997 : 7-15) แลคติกแอซิดแบคทีเรียตามธรรมชาติพบได้ในอาหารหมักหลายชนิด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมาจากผลิตผลทางการเกษตร และเครื่องมือที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปผลิตผลทางการเกษตร ปัจจุบันได้มีการพัฒนาถึงการใช้ประโยชน์ของแบคทีเรียกลุ่มนี้เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในกระบวนการผลิตอาหารหมักหลายชนิด เช่น ไส้กรอกหมัก ผลิตภัณฑ์นมหมัก จากเทคนิคการผลิตกล้าเชื้อจุลินทรีย์ มีผลทำให้เกิดการพัฒนากระบวนการหมักและผลิตภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ โดยการเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อให้มีลักษณะที่ดี

การผลิตอาหารหมักชนิดต่างๆ แลคติกแอซิดแบคทีเรียเข้าไปมีบทบาทเป็นอย่างมากปัจจุบันแลคติกแอซิดแบคทีเรียถูกนำมาใช้ในอาหารหมักชนิดต่าง ๆ อย่างกว้างขวาง โดยกิจกรรมหลักของแลคติกแอซิดแบคทีเรียต่อผลิตภัณฑ์อาหาร คือ เปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตในส่วนผสมของอาหารให้เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กรดแลคติก กรดอะซิติก เอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งสารเหล่านี้ทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสเฉพาะ นอกจากนั้นยังได้ผลิตภัณฑ์บางอย่างที่มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น แบคเทอริโอซิน จากการใช้ประโยชน์ของกล้าเชื้อจุลินทรีย์ในหลายด้าน ทำให้มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมหมักมากขึ้นจึงได้มีข้อกำหนดสำหรับกล้าเชื้อที่เป็นมาตรฐาน ซึ่งประกอบด้วย กล้าเชื้อต้องเป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีความเป็นพิษและไม่ทำให้เกิดโรค เป็นเชื้อบริสุทธิ์ที่ไม่มีจุลินทรีย์ชนิดอื่น หรือสารเคมีปนเปื้อนที่อาจทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพ กล้าเชื้อที่ดีต้องมีกิจกรรมการหมักที่ดี เช่น กิจกรรมการสร้างกรด ซึ่งมีผลต่อกลิ่นรส มีผลต่อสีตามต้องการ มีความคงตัวของผลิตภัณฑ์สูง มีคุณสมบัติที่ทนต่อฟาจก์ กล้าเชื้อที่ดีไม่ควรสร้างสารที่มีผลในการยับยั้งกิจกรรมการหมัก (Hammers. 1987 : 22)

ปัจจุบันแลคติกแอซิดแบคทีเรียถูกจัดจำแนกเป็น 12 สกุล ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา กระบวนการหมักน้ำตาล ความสามารถในการเจริญที่สภาวะต่างๆ ชนิดไอโซเมอร์ของกรดแลคติก รวมถึงข้อมูลด้านพันธุกรรม (De Vuyst and Vandamme. 1994 : 1-90) ได้แก่ *Streptococcus*, *Vagococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Lactobacillus* และ *Carnobacterium*

กระบวนการหมักที่เกิดกรดจากแลคติกแอซิดแบคทีเรียมี 2 กระบวนการ คือ

1. Homolactic fermentation เป็นกระบวนการหมักที่ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่ โดยพวก homofermentative lactic acid bacteria เช่น *Lb. plantarum* เป็นต้น รูปแบบการเกิดกรดแลคติก คือการเปลี่ยน glucose เป็น pyruvic acid โดยเอนไซม์ dehydrogenase ด้วยวิถี glycolysis แล้วจึงเปลี่ยน pyruvic acid เป็นกรดแลคติก

2. Heterolactic fermentation เป็นกระบวนการหมักที่จะเกิดกรดแลคติกได้เพียงร้อยละ 50 เท่านั้น และเกิดเอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ หรือกรดอะซิติก โดยการหมักจากพวก heterofermentative lactic acid bacteria เช่น *Leuconostoc mesenteroides*

ผลิตภัณฑ์ที่ใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรีย

1. ผลิตภัณฑ์นม (Dairy products) ผลิตภัณฑ์นมหมักเตรียมได้จากนมหลายชนิด ลักษณะของการหมักนมเกิดได้ 2 แบบ คือ acid type เป็นการหมักที่ให้กรดเพียงอย่างเดียวกับ kefir type ซึ่งเป็นการหมักที่ให้กรด ก๊าซและมีแอลกอฮอล์เกิดขึ้นเล็กน้อย หลักการของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์นมหมักคือ การสร้างกรดแลคติกของกล้าเชื้อในระหว่างการหมักทำให้ค่า pH ของผลิตภัณฑ์ลดลงและเกิดการจับตัวของโปรตีนในนมเกิดเป็นเคิร์ด (curd) รสชาติของผลิตภัณฑ์มีรสเปรี้ยว ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์นมที่ใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรีย ได้แก่ นมเปรี้ยว โยเกิร์ตและเนยแข็ง เชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการผลิตโยเกิร์ต ได้แก่ *Strep. salivarius* subsp. *thermophilus* และ *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ยังมีผลิตภัณฑ์นมหมักที่เรียกว่าคีเฟอร์ (Kefir) เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย เกิดจากการหมักนมกับหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่เรียกว่า คีเฟอร์เกรน (kefir grain) ในคีเฟอร์เกรนประกอบด้วยแลคติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์ที่ยึดเกาะกันด้วยสารที่มีลักษณะเป็นเมือกเหนียวประเภทโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ *Leuconostoc* spp. การอยู่ร่วมกันของกล้าเชื้อในคีเฟอร์เป็นแบบ symbiotic (นภา โล่ห์ทอง. 2543 : 1-13) คีเฟอร์ยังมีคุณสมบัติเป็นเครื่องดื่มโปรไบโอติก มีประโยชน์ในการลดการเจริญของเซลล์มะเร็ง ใช้เป็นอาหารของทารกได้ และยังมีผลกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย (Guzel-Seydim and others. 2000 : 35-43)

2. ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Meat products) ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรียในการผลิตส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เช่น แหนม รวมทั้งไส้กรอกแห้งและไส้กรอกกึ่งแห้ง เช่น ซาลามิ เปปเปอร์โรมิ เป็นต้น จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมัก ได้แก่ *Streptococcus* sp. และ *Lactobacillus* sp. ซึ่งจะผลิตกรดอินทรีย์ออกมาทำให้ pH ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการหมักแหนมและไส้กรอก ได้แก่ *Lactobacillus* sp. และ *Pediococcus* sp. ซึ่งทั้งสองสายพันธุ์ใช้เป็นกล้าเชื้อในทางการค้าของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักในต่างประเทศ นอกจากนี้บางผลิตภัณฑ์ยังใช้ *Micrococcus* sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่รีดิวซ์ไนเตรต (Nitrate) เป็นไนไตรต์ (Nitrite) มีผลทำให้สีของผลิตภัณฑ์มีความคงทนยิ่งขึ้น นอกจากนี้แลคติกแอซิดแบคทีเรียยังทำให้การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนรวมถึงจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคลดลงด้วย ซึ่งผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้นเกิดจากกรดอินทรีย์และสารในกลุ่มแบคทีริโอซิน โดยจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นหัวเชื้อนี้ช่วยให้แหนมมีความปลอดภัยต่อการบริโภคและเก็บไว้ได้นานขึ้น

3. ผลิตภัณฑ์ปลาหมัก (Fermented fish products) ผลิตภัณฑ์ปลาหมักหลายชนิดในแถบเอเชียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่เกี่ยวข้องกับแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ได้แก่ ปลาร้า ปลาเจ่า ปลาส้ม และส้มผัก ซึ่งผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้จัดอยู่ในชนิด fermented fish/salt/carbohydrate products และยังมีผลิตภัณฑ์ชนิด fish sauce เช่น น้ำปลา และกะปิ ซึ่งส่วนผสมหลักในการผลิตประกอบด้วย ปลา เกลือ

แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในผลิตภัณฑ์ปลาหมัก ได้แก่ *Lb. farciminis*, *Lb. pentosus*, *Lb. plantarum*, *Lactobacillus* sp. และ *Leuconostoc* sp. (Tanasupawat, Okada and Komagata, 1998) จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักน้ำปลาเป็นกลุ่มที่ทนเกลือได้ดี และเจริญได้บ้างเล็กน้อยในระหว่างการหมัก จึงมีส่วนช่วยเสริมรสชาติของอาหารหมักได้เป็นอย่างดี

4. ผลิตภัณฑ์ผักดองเปรี้ยว (Fermented vegetable products) การทำผักดอง เป็นการแปรรูปผักอีกวิธีหนึ่งที่น่าผักสดที่มากเกินไปเกิดการบริโภคมาแปรรูป ทำให้เก็บไว้บริโภคได้นานและยังรวมไปถึงการผลิตผลไม้ดองด้วย การดองส่วนใหญ่เกิดจากกิจกรรมของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ผักที่นิยมนำมาดอง ได้แก่กะหล่ำปลี หอม แตงกวา หน่อไม้ ส่วนผลไม้ที่นิยมนำมาดอง ได้แก่ มะขาม มะม่วง มะกอก เป็นต้น ปัจจุบันการแปรรูปมีทั้งระดับครอบครัวและเป็นอุตสาหกรรมเพื่อการค้าในประเทศไทยผักดองในลักษณะนี้ซึ่งเป็นที่รู้จักกันทั่วไปได้แก่ ผักเสี้ยนดอง หน่อไม้ดอง หอมดอง ผักกาดดอง ซึ่งแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในผักเสี้ยนดองได้แก่ *Leu. mesenteroides*, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. fermentum* และ *Pediococcus cerevisiae* (Steinkraus. 1996)

5. ผลิตภัณฑ์จากถั่วและธัญพืช (Legume and cereal products) ผลิตภัณฑ์จากพืชที่นอกเหนือจากผักและผลไม้แล้ว ถั่วและธัญพืชนับเป็นอาหารอีกกลุ่มหนึ่งที่มีการศึกษา โดยเป็นการหมักที่ใช้ถั่วและธัญพืชเป็นวัตถุดิบ (substrate) เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องมีหลายกลุ่มด้วยกัน ได้แก่ ยีสต์ รา และแบคทีเรีย ตัวอย่างได้แก่ ซีอิ้ว (soy sauce) ซึ่งวัตถุดิบในการหมักส่วนใหญ่ประกอบด้วยถั่วเหลืองและข้าวสาลี เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักได้แก่ *Aspergillus oryzae*, *P. halophilus* และ *Lb. delbrueckii* อาหารหมักชนิดนี้ใช้เป็นเครื่องปรุงรส ในอาหารหมักกลุ่มของ fermented bean เช่น hamanatto, tou-shin และ tao-si ซึ่งเป็นอาหารหมักของญี่ปุ่นใช้ถั่วเหลืองทั้งเมล็ดและแบ่งข้าวสาลี เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องได้แก่ *Aspergillus* sp., *Streptococcus* sp. และ *Pediococcus* sp.

ประโยชน์ของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่มีต่ออาหารหมัก

1. เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ จากการศึกษาถึงข้อมูลในกลุ่มของธัญพืช พบว่าคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้นมาจากกิจกรรมการหมักที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิตโดยเฉพาะการเพิ่มองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นนอกจากนั้นคุณค่าทางด้านโปรตีนในอาหารที่มีส่วนของธัญพืชและถัวยังเพิ่มขึ้นอีกด้วย องค์ประกอบของวิตามินบางชนิดยังพบได้ในระหว่างการหมัก เพราะมีจุลินทรีย์บางชนิดสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญ จึงทำให้องค์ประกอบของวิตามินในอาหารที่ผ่านการหมักสูงกว่าอาหารที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก เช่น ในเทมเป้จากข้าวสาลีพบว่าปริมาณของไนอะซิน ไรโบฟลาวิน และไทอะมิน ก่อนการหมักเท่ากับ 46.0, 0.4 และ 3.2 ไมโครกรัมต่อกรัม เพิ่มเป็น 135.0, 3.2 และ 3.2 ไมโครกรัมต่อกรัม ภายหลังการหมัก โดยส่วนใหญ่แล้วปริมาณของวิตามินมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (Wang and Hesseltin. 1981)

2. การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ บทบาทของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในอาหารหมักพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสูงขึ้น ตลอดจนเก็บรักษาได้นานขึ้น โดยปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งคือ การสร้างกรดอินทรีย์และการลดลงของค่า pH กรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมตะบอลิซึมของแบคทีเรียทั้งกรดแลคติกและ กรดอะซิติก นอกจากนั้นยังมีสารประกอบอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่เกิดขึ้นและมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แบคเทอริโอซิน ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ประเภทโพลีเปปไทด์โครงสร้างทางเคมีเกิดจากการเรียงตัวของกรดอะมิโนเป็นสายยาว มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มที่ใกล้เคียงกัน แบคเทอริโอซินส่วนใหญ่ผลิตจากแลคติกแอซิดแบคทีเรีย โดยแลคติกแอซิดแบคทีเรียแต่ละ

สายพันธุ์จะให้คุณสมบัติของแบคทีเรียโอซินที่แตกต่างกันไป ทั้งคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่น น้ำหนักโมเลกุล โครงสร้างโมเลกุลสมบัติทางพันธุกรรมและคุณสมบัติทางชีวเคมี (Klaenhammer, 1988; Stiles and Hastings, 1991) ตัวอย่างสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตจากแลคติกแอซิดแบคทีเรียบางสายพันธุ์ (ตาราง 1) ดังนี้ (De Vuyst and Vandamme, 1994)

ตาราง 2.1 สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตจากแลคติกแอซิดแบคทีเรีย

สารยับยั้งจุลินทรีย์	สายพันธุ์ของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ผลิต
Hydrogen peroxide	<i>Lactobacillus</i> sp., <i>Pediococcus</i> sp.
Nisin and diplococcin	<i>Streptococcus</i> sp.
Lactocin and lactobacillin	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Lactobrevin	<i>Lactobacillus brevis</i>
Bulgarican	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
Acidophilin, lactocidin	<i>Lactobacillus acidophilus</i>

3. แลคติกแอซิดแบคทีเรียมีกิจกรรมในการลดปริมาณคอเลสเทอรอลในกระแสเลือด มีรายงานโดย Adam และ Moss (1995) ว่าการบริโภคผลิตภัณฑ์นมหมักจะช่วยยับยั้งการเกิดคอเลสเทอรอลได้ นอกจากนี้ยังมีผลในการลดน้ำหนักได้ประมาณ 2.3 - 2.7 กิโลกรัม ภายใน 3 สัปดาห์ ซึ่งจะต้องบริโภคผลิตภัณฑ์พร้อมกับการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้ในโยเกิร์ตยังมีองค์ประกอบของสารที่ยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเทอรอล ดังนั้นการบริโภคผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีเชื้อ *Lb. acidophilus* จะช่วยให้คอเลสเทอรอลในเลือดลดลงกว่าการบริโภคนมที่ไม่มีเชื้อดังกล่าว (Marvin. 1981) การบริโภคคีเฟอร์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักประเภทหนึ่งมีผลดีต่อสุขภาพหลายประการ เพราะมีคุณค่าทางโภชนาการหลายประการ และยังส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย ช่วยให้ระบบการย่อยอาหารดีขึ้น โดยเฉพาะการย่อยแลคโตส (Hertzler and Clancy. 2003)

4. กิจกรรมในการป้องกันมะเร็ง แลคติกแอซิดแบคทีเรียโดยเฉพาะ *Lb. acidophilus* เป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งในลำไส้ใหญ่ การศึกษาถึงการบริโภคอาหารประเภทเนื้อแดง พบว่าทำให้ระดับของเอนไซม์ β -lucuronidase, azoreductase และเอนไซม์ intoreductase เพิ่มขึ้นสูงกว่าการบริโภคอาหารประเภทผัก และเอนไซม์เหล่านี้ยังมีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มความเปลี่ยนแปลงของ procarcinogen ไปเป็น carcinogen ในส่วนปลายของลำไส้ ผลของ *Lb. acidophilus* สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้ได้ ทำให้โอกาสเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งของผู้บริโภคลดลง (Adam and Moss. 1995; Marvin. 1981)

5. ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน มีการศึกษาที่พบว่าแลคติกแอซิดแบคทีเรียเป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยมีความไวต่อ microphage และ lymphocyte ทำให้เพิ่มระดับของ immunoglobulin (IgA) และผลิต gamma interferon ซึ่งผลดังกล่าวทำให้มีความต้านทานต่อเชื้อก่อโรค และยังมีคุณสมบัติเป็น antitumor โดยเฉพาะ *Lb. acidophilus* (Adam and Moss. 1995)

แหม่มเห็ด

แหม่มเห็ด หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเห็ดที่บริโภคได้เช่น เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดหอม เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดหูหนูดำ นำมาล้างและตัดแต่งตามต้องการเติมเกลือข้าวสุกกระเทียมผสมให้เข้ากันอาจเติมน้ำตาล หนั้หมูต้มสุกพริกสด หรือพริกไทย ห่อเป็นมัดหรือบรรจุในภาชนะบรรจุที่เหมาะสมหมักจนมีรสเปรี้ยว

แหนมเป็นอาหารพื้นเมืองทางภาคเหนือของประเทศไทย การทำแหนมเป็นการถนอมอาหาร (food preservation) ด้วยการหมัก (fermentation) เพื่อให้ได้กรดแลคติก (lactic acid fermentation) โดยแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria) เช่น *Lactobacillus*, *Pediococcus*

การผลิตแหนม

วัตถุดิบและการเตรียมวัตถุดิบที่ใช้ในการทำแหนม ได้แก่

เนื้อหมู (pork) ใช้เป็นเนื้อแดงสด ที่ชำแหละใหม่ๆ มักใช้เนื้อส่วนต้นขา เนื่องจากมีไขมันแทรกน้อย เนื้อที่ใช้ทำแหนม มักไม่ล้างน้ำ หากล้างน้ำควรซับน้ำให้แห้ง เนื่องจากเนื้อมีความชื้นสูง และอาจเน่าเสียง่าย ตัดเอามันและพังพืดออกให้หมด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ บดด้วยเครื่องบดเนื้อ หรือใช้มีดสับจนละเอียด หนังหมู หรือหมูหมัก จมูกหมู ขูดให้สะอาด ล้างน้ำ ถอนขนออกให้หมด นำไปต้มให้สุกและหั่นบางๆ

กระเทียมแกะเปลือกออกให้หมด บดให้ละเอียด

น้ำตาล และข้าวเหนียวหนึ่ง หรือข้าวสอย บดละเอียด เป็นอาหารของ lactic acid bacteria ในการหมัก ฟริกชี้หูสด

เกลือ มีหน้าที่ให้รสชาติ และทำให้เกิดการออสโมซิส (osmosis) โดยน้ำจากวัตถุดิบจะถูกขับออกมา ได้สารละลายเกลือซึ่งจะไปยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียหลายชนิดที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (microbial spoilage) รวมทั้งแบคทีเรียก่อโรค (pathogen)

เกลือไนไตรต์ (nitrite) หรือไนเตรต (nitrate) ซึ่งทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบินให้เนื้อเป็นสีชมพู เกลืออีริทอร์เบต (รีกัลเบส) ได้แก่ โซเดียมอีริทอร์เบต (Sodium erythorbate) เพื่อเร่งการรีดิวซ์ เปลี่ยนไนเตรตและไนไตรต์ให้เป็นไนตริกออกไซด์ และช่วยรักษากลิ่นรส

การบรรจุ

แหนมเมื่อนวดได้ที่แล้วนำไปปั่นเป็นก้อนห่อด้วยพลาสติก หรือห่อด้วยใบตองสด มัดให้แน่นด้วยยาง เชือก หรือตอกเพื่อไล่อากาศภายในหรืออาจใช้เครื่องบรรจุไส้กรอกบรรจุแหนมที่ผสมแล้วใส่ในถุงที่ขึ้นรูปเป็นหลอด แล้วมัดหัวท้าย การบรรจุแน่น และไล่อากาศภายในเพื่อให้เกิดสภาวะไม่มีอากาศ ซึ่งเป็นสภาวะที่ lactic acid bacteria เจริญได้ดี และสร้างกรด

พลาสติกที่ใช้ห่อแหนม ควรเป็นพลาสติกที่ป้องกันการผ่านเข้าออกของน้ำ อากาศ และไขมัน ได้ดี เช่น HDPE

การหมักจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักแหนม

การหมักแหนมเป็นการหมักให้ได้กรดแลคติก (lactic acid fermentation) โดยใช้แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria) ชนิดของแบคทีเรียที่พบในแหนมมีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ ในระยะแรกมักพบ *พิดิโอคอคคัส ซีรีวิซิอี* (*Pediococcus cerevisiae*) ผลิตกรด มีค่า pH ประมาณ 5.9-6.3 หลังจากนั้นจะพบแล็กโทบาซิลลัส (*lactobacillus*) 2 ชนิด คือ *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus brevis* เจริญต่อจากแบคทีเรียชนิดแรกและสร้างกรดแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว มีค่า pH ประมาณ 4.45-4.55 ซึ่งทำให้แหนมมีรสเปรี้ยว การหมักแหนมโดย *lactobacillus* เป็นแบบ hetero fermentative คือ นอกจากผลิตกรดแลคติกเป็นหลักแล้วยังได้สารอื่นๆ ที่ให้กลิ่นรส ระยะที่เหมาะสมในการรับประทานคือประมาณวันที่ 4 ของการหมัก

การใช้เชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์เพื่อหมักแหนม

เพื่อลดระยะเวลาการหมักและทำให้แหนมมีคุณภาพและรสชาติสม่ำเสมอได้มีการคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์บริสุทธิ์มาใช้เพื่อเป็นกล้าเชื้อ (starter) เพื่อการหมักแหนม โดยจุลินทรีย์ที่ใช้ ได้แก่ แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria) เช่น *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* และยีสต์ (yeast)

กล้าเชื้อที่มีสมบัติคือ มีการเจริญอย่างรวดเร็ว แข่งขันกับจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (microbial spoilage) ซึ่งมีอยู่ในเนื้อหมูทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) เช่น *Salmonella*, *Escherichia coli* และ *Clostridium botulinum* ได้ จึงทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความปลอดภัยมากกว่าการใช้เชื้อธรรมชาติสามารถทนเกลือไนไตรต์ (nitrite) ในปริมาณอย่างต่ำ 100 ppm และทนเกลือได้ในความเข้มข้นอย่างน้อย 6 เปอร์เซ็นต์

แหนมฉายรังสี

หลังการหมักแหนม อาจนำมาฉายรังสี (food irradiation) ด้วยรังสีแกมมา (gamma ray) เพื่อทำลายแบคทีเรียก่อโรค (pathogen) เช่น *Salmonella* ปรสิต (parasite) เช่น พยาธิ ที่อาจปนเปื้อนมา กับเนื้อหมูปริมาณรังสีที่ได้รับเฉลี่ยสูงสุดไม่ควรเกิน 4 กิโลเกรย์ (มอก. 1219-2537)

โพรไบโอติก (Probiotics) ถูกนำมาใช้เป็นครั้งแรกในรายงานการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ของ Lilly และ Stillwell ในปี พ.ศ. 2508 เพื่อกล่าวถึงสารที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งขับออกมา และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่ตรงข้ามกับการทำงานของยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่จะทำลายจุลินทรีย์เกือบทุกชนิด ในปี พ.ศ. 2517 Parker ได้ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติก คือสิ่งมีชีวิตและสารเคมีที่มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ คำจำกัดความล่าสุด ซึ่งเสนอโดย Fuller ในปี พ.ศ. 2532 อธิบายคำว่า โพรไบโอติก คืออาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต สามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบลำไส้ (Glenn and Marcel, 1995 ; ธารารัตน์ ศุภศิริ, 2542 ; วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2541 ; Trachoo *et al.*, 2006) Holzapfel and Schillinger (2001 : 109-116) ระหว่าง 2-3 ทศวรรษที่ผ่านมา ได้มีการหันมาใส่ใจสุขภาพ โดยเน้นไปที่จุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ภายในลำไส้ ซึ่งเรียกว่า โพรไบโอติก โดย 65 เปอร์เซ็นต์ของตลาดอาหารโลกจะมีโพรไบโอติกอยู่ และกำลังขยายตลาดให้ใหญ่ขึ้น มีปริมาณโดยรวมมากกว่า 75 พันล้านเหรียญสหรัฐ โดยส่วนประกอบที่สำคัญในผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก คือ จุลินทรีย์กลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรียรวมทั้ง *Bifidobacteria*, *Lactobacilli* และ *Enterococci* ซึ่งสุขภาพของคนเรานั้นมีความสัมพันธ์กับโพรไบโอติกมากมาย แต่ถือว่าการรักษาสุขภาพของลำไส้ธรรมดา และปกป้องต่อต้านผู้บุกรุกเข้ามาบรรเทาอาการขาดแลคโตสและช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน

ผู้บริโภคจะมีความสัมพันธ์กับผลิตภัณฑ์ที่มีเชื้อที่มีประโยชน์ต่อเราอย่างมาก ซึ่งเชื่อนี้ก็คือโพรไบโอติกนั่นเอง นอกจากนี้ *bifidobacteria* และ *lactobacilli* คือเชื้อตัวสำคัญที่อาศัยอยู่บริเวณกระเพาะอาหารกับลำไส้ (GIT) โดยพรีไบโอติกและโพรไบโอติกมักจะเป็นส่วนประกอบอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหาร เรียกว่ามีการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติก (synbiotic) เพื่อให้มีประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ให้ได้มากที่สุด

ตาราง 2.2 แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ใช้เป็นโพรไบโอติกในมนุษย์

Lactobacilli	Bifidobacteria	Enterococci
<i>L. acidophilus</i>	<i>Bif. adolescentis</i>	<i>Ent. faecalis</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>Bif. animalis</i>	<i>Ent. faecium</i>
<i>L. casei</i>	<i>Bif. bifidum</i>	
<i>L. crispatus</i>	<i>Bif. breve</i>	
<i>L. gallinarum</i>	<i>Bif. infantis</i>	
<i>L. gasseri</i>	<i>Bif. lactis</i>	
<i>L. jonhsonii</i>	<i>Bif. longum</i>	
<i>L. plantarum</i>		
<i>L. reuteri</i>		
<i>L. rhamnosus</i>		
<i>L. salivarius</i>		

ที่มา : Adapted from Fooks *et al.* (1999), Shortt (1999) and Klaenhammer and Kullen (1999).

คุณสมบัติพื้นฐานของจุลินทรีย์โพรไบโอติก

โพรไบโอติกที่ดีจะต้องสามารถชักนำให้เกิดความสมดุลทางโภชนาการ และสุขภาพที่ดีได้ทั้งภายนอกและภายในเซลล์ ในการทำให้เกิดสมดุลภายนอกเซลล์นั้น จุลินทรีย์โพรไบโอติกทั่วไปจะต้องเกิดกระบวนการหมักอาหารให้ได้สารอาหารมากมายหลายชนิด เช่น สามารถย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสในโยเกิร์ตทำให้ร่างกายสามารถใช้ประโยชน์จากสารอาหารนี้ได้ นอกจากนี้ยังสามารถผลิตสารยับยั้งจุลชีพ สารยับยั้งการเกิดมะเร็งและคุณสมบัติอื่นๆ อีกหลายชนิด ส่วนคุณสมบัติภายในเซลล์ของโพรไบโอติกที่ต้องการ คือ สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารที่รองรับจุลินทรีย์นั้น และยังคงมีคุณสมบัติเฉพาะของโพรไบโอติกอยู่ซึ่งคุณสมบัติที่สำคัญที่ใช้ในการคัดเลือกจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีดังต่อไปนี้

1. ความสามารถในการมีชีวิตอยู่รอด (Survival ability) ในกระเพาะอาหารที่มี pH ต่ำ ประมาณ 4.4-5.0 และเจริญเติบโตได้ในเกลือน้ำดีที่ความเข้มข้น 0.15 ถึง 1.0 เปอร์เซ็นต์
2. ความสามารถในการยึดเกาะผนังลำไส้ (Adhesion)
3. ความสามารถในการยับยั้งจุลชีพ

ประโยชน์ของโพรไบโอติก

ประโยชน์ของโพรไบโอติกสามารถสรุปได้ดังนี้

1. สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ด้วยกลไกหลายอย่าง เช่น สามารถแข่งขันกับจุลินทรีย์ก่อโรค โดยยึดเกาะบริเวณเยื่อเมือกทางเดินอาหารได้ และแย่งพื้นที่การเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค สร้างสารปฏิชีวนะ เป็นต้น (Guarner and Schaafsma, 1998)
2. เป็นจุลินทรีย์ที่มีความปลอดภัยเนื่องจากเป็นที่ยอมรับ และผ่านการคัดเลือกแล้วว่ามีความปลอดภัย ไม่ทำให้เกิดโรค และไม่เป็นพิษ (Guarner and Schaafsma, 1998)
3. มีความสามารถในการผลิตสารต้านจุลชีพ เช่น แบคเทอริโอซิน กรดแลคติก และ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นต้น ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่นๆ ก่อให้เกิดโทษได้ และสารที่

สร้างขึ้นสามารถเพิ่มความต้านทานต่อสภาวะการติดเชื้อภายในลำไส้ได้ (Guarner and Schaafsma, 1998)

4. สามารถส่งเสริมภาวะโภชนาการของผู้บริโภคได้ คือ มีการสังเคราะห์สารอาหารที่จำเป็น และนำมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น วิตามินบี 12 ที่ทำให้การเจริญเติบโตของผู้บริโภคดีขึ้น เนื่องจากวิตามินบี 12 มีส่วนเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดอะมิโน และการสร้างโปรตีน (Grosso Favaro-Trindade, 2004)

5. สามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันต้านทานในร่างกายผู้บริโภค (Grosso Favaro-Trindade, 2004)

6. มีความคงตัว และมีอัตราการรอดชีวิตสูง จึงสามารถเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาอันยาวนานในการผสมอาหารสัตว์ เนื่องจากการผลิตอาหารสัตว์บางชนิดต้องผ่านกระบวนการให้ความร้อน แรงอัดเพื่อการอัดเม็ด สภาพกรด การเอกซ์ทรูชัน (Extrusion) และออกซิเดชัน (Oxidation) เช่น วัตถุดิบเติมในอาหารสัตว์บางชนิดช่วยในการถนอมคุณภาพอาหารสัตว์ และควรมีคุณสมบัติทนทานต่อสารปฏิชีวนะที่ผสมในอาหารสัตว์

7. ไม่ตกค้างสะสมในร่างกาย และไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร (Grosso Favaro-Trindade, 2004)

8. ช่วยขจัดสารพิษ (detoxification) และมลภาวะต่างๆ จากร่างกาย เช่น แอมีน (amine) และก๊าซแอมโมเนีย (ammonia) เป็นต้น เนื่องจากโปรตีนถูกเปลี่ยนเป็นแอมาย และก๊าซแอมโมเนีย โดยการเพิ่มกิจกรรมเมตาบอลิซึม (metabolism activity) ของเชื้อ *Escherichia coli* (ธารารัตน์ ศุภกิจ, 2542)

9. สามารถลดระดับคอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ให้อยู่ในระดับปกติ

10. ช่วยบำบัดภาวะเบื่ออาหาร ภาวะเครียด (ธารารัตน์ ศุภกิจ, 2542)

11. ช่วยในการทำงานของไตและตับให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

12. สามารถส่งเสริมระบบการไหลเวียนของเลือดให้ดียิ่งขึ้น (Guarner and Schaafsma, 1998)

13. สามารถผลิตเอนไซม์แลคเตส (lactase) และเอนไซม์อะไมเลส (amylase) ทำให้ร่างกายได้รับเอนไซม์มากขึ้น จึงสามารถช่วยย่อยน้ำตาลในนมทำให้ไม่มีอาการท้องอืดจากการดื่มนม และช่วยในการดูดซึมแคลเซียมดีขึ้น ส่งผลลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง โดยเฉพาะมะเร็งในลำไส้ใหญ่และมะเร็งตับ

14. สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง และกำจัดสารก่อมะเร็งบางชนิด

15. ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของสายพันธุ์ และไม่เกิดการแพ้

16. จุลินทรีย์มีบทบาทมากในระบบย่อยอาหาร ระบบขับถ่าย และระบบภูมิคุ้มกัน โดยจะเข้าไปอาศัยอยู่ในลำไส้ตั้งแต่เกิด ในลำไส้ควรมีจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มากกว่าจุลินทรีย์ให้โทษ ในอัตราส่วนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อจุลินทรีย์ให้โทษ เท่ากับ 85 เปอร์เซ็นต์ ต่อ 15 เปอร์เซ็นต์ (ธารารัตน์ ศุภกิจ, 2542)

การทำงานของโปรไบโอติก (ธารารัตน์ ศุภกิจ, 2542) ทฤษฎีที่อธิบายแนวความคิดของโปรไบโอติก มีดังนี้

1. การสร้างกรดแลคติก โดยจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* และ *Streptococcus* เป็นปัจจัยหนึ่งในหลาย ๆ ปัจจัยที่เป็นประโยชน์ในการทำงานของจุลินทรีย์เหล่านี้โดยการปรับสภาพความเป็นกรดต่างในระบบทางเดินอาหารให้คงที่

2. การสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นตัวทำลายเชื้อโรค
3. การสร้างสารปฏิชีวนะ จุลินทรีย์ *Lactobacillus* และ *Streptococcus* บางสายพันธุ์ที่โดดเด่นได้ถูกนำมาทดสอบในห้องทดลองวิทยาศาสตร์ ได้แก่ *L. acidophilus* และ *L. lactolin* สามารถสร้างสารฆ่าเชื้อโรคในตัวกุ้ง และสัตว์น้ำอื่นได้ เมื่อเชื้อเจริญอยู่ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์นั้นๆ
4. การสร้างเอนไซม์ ที่มักพบในเชื้อโปรไบโอติกอาจเกี่ยวข้องกับระบบการย่อยน้ำย่อย ในระบบการย่อยที่โปรไบโอติกสร้างขึ้น ตัวอย่างเช่น *Lactobacillus* สามารถสร้างน้ำย่อยแลคเตส (Lactase) ได้ดีและทำงานในฐานะที่เอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกัน
5. การสร้างวิตามินบี จุลินทรีย์โปรไบโอติกเป็นผู้ผลิตวิตามินบีหลายชนิดเช่นเดียวกับสารที่ย่อยได้ในลำไส้
6. การแข่งขันกับเชื้อโรค การเกาะยึด การยึดติด หรือการอยู่ร่วมกันบริเวณทางเดินอาหารเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งของจุลินทรีย์ในการพยายามที่จะอยู่ร่วมกันในพื้นที่พิเศษของกระเพาะ โปรไบโอติกมีบทบาทในการขัดขวางเชื้อก่อโรค (Pathogens) จากการเกาะยึดหรือรวมตัวกันในระบบทางเดินอาหาร หรือมีบทบาทในการป้องกันการเกาะยึดโดยตรงของเชื้อก่อโรคร่วมกับผนังทางเดินอาหาร
7. การป้องกันสารเอมีนและแอมโมเนีย เมื่อโปรตีนถูกเปลี่ยนเป็นสารประกอบเอมีนและแอมโมเนียโดยปฏิกิริยาการย่อยที่เพิ่มขึ้นของเชื้อโรค เช่น *E. coli* ความระคายเคืองและความเป็นพิษของเอมีน จะทำให้เกิดการยึดหดตัวของลำไส้มากขึ้น โปรไบโอติกจะทำให้ระบบการย่อยดีขึ้น
8. การกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง เช่น อาจมีบทบาทกระตุ้นภูมิคุ้มกันบางชนิดในกระเพาะ

หลักการของโปรไบโอติก

โดยธรรมชาติโปรไบโอติกไม่สามารถเพิ่มจำนวนในเซลล์เจ้าบ้านได้อย่างถาวร โปรไบโอติกจะมีคุณสมบัติในการส่งเสริมสุขภาพได้ก็ต่อเมื่อผ่านระบบย่อยอาหารเข้าไปอยู่ในลำไส้ได้แล้ว งานวิจัยส่วนใหญ่เกี่ยวกับโปรไบโอติกจะเกี่ยวกับการสังเกตผลมากกว่าการอธิบายผล ดังนั้นกระบวนการทำงานของโปรไบโอติกจึงไม่ค่อยได้มีคำอธิบายมากนัก โปรไบโอติกบางชนิดเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ (normal colonic microflora) โปรไบโอติกที่วางจำหน่ายในท้องตลาดนั้นโดยมากจะมีแลคโตบาซิลลัสและบิฟิโดบาซิลลัสรวมกันอยู่ แม้ว่าจะมีการใช้ยีสต์พวก *Saccharomyces* อยู่บ้างก็ตาม จุลินทรีย์แลคโตบาซิลลัสเป็นส่วนที่น่าสนใจมากที่สุดเพราะเป็นจุลินทรีย์ประเภทที่ไม่ต้องการอากาศและรูปร่างแบบท่อน โดยปกติแล้วจะมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารประเภทคาร์โบไฮเดรตและมีความสัมพันธ์กับระบบเมตาบอลิซึมของเจ้าบ้านโดยตรง บางชนิดสามารถสร้างและปลดปล่อยวิตามินที่ละลายน้ำได้ออกมา แต่จะมีชนิดของวิตามินที่สร้างแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้จะพบได้ในลำไส้ของเด็กทารกที่กินนมแม่อย่างชัดเจน พบสูงสุดถึงประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ ที่พบในลำไส้และช่วยป้องกันการติดเชื้อของเด็กทารกได้ และมีจำนวนลดลงเมื่อเติบโตมากขึ้น

จุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้จะทำหน้าที่เป็นเกราะป้องกันจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่เข้ามารุกราน จุลินทรีย์ก่อโรคจะเข้าไปรุกรานได้ก็ต่อเมื่อจุลินทรีย์ประจำถิ่นเสียสมดุล อยู่ในภาวะเครียด บ่อย มีการใช้สารปฏิชีวนะ เปลี่ยนอาหารหรือมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของระบบลำไส้ เมื่อเด็กที่มีอาการลำไส้อักเสบเนื่องจากติดเชื้อ *Campylobacter jejuni* เมื่อรับประทาน *Bifidobacterium breve* พบว่าช่วยบรรเทาอาการได้แม้จะช้ากว่าการรักษาด้วยสารปฏิชีวนะกลุ่มอีริโทมัยซิน (erythromycin) ก็ตาม และพบว่าการเสริมด้วย *B. bifidum* และ *Streptococcus thermophilus* ในนมสำหรับทารก จะช่วยลดจำนวน rotavirus และอาการท้องร่วงของเด็กในโรงพยาบาลได้

อย่างไรก็ตามไม่ใช่ทั้งหมดของแลคโตบาซิลลัสทุกสายพันธุ์ที่จะมีประสิทธิภาพในการต่อต้านจุลินทรีย์ก่อโรคในลำไส้ได้ มีการทดลองใช้อาสาสมัครที่มีสุขภาพแข็งแรง 23 คน รับประทานผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกที่มี *L. acidophilus* และ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* แล้วลองให้ได้รับเชื้อ *E. coli* ชนิดที่สร้างเอ็นเทอโรท็อกซิน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทั้งในอัตราการเกิดโรค ระยะฟักตัวและระยะเวลาในการเกิดโรคเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับโปรไบโอติก นอกจากนี้ยีสต์ *Saccharomyces boulardii* ถูกนำมาใช้ในการทดลองเกี่ยวกับการป้องกันและรักษาโรคท้องร่วงที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อ *C. difficile* ใช้ผู้ป่วยจำนวนทั้งหมด 180 คน ในการทดลอง เป็นกลุ่มควบคุม 20 คน พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับโปรไบโอติก 9.5 เปอร์เซ็นต์มีอาการท้องเสีย เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีอาการ 22 เปอร์เซ็นต์ สรุปว่าการใช้โปรไบโอติกช่วยลดการเกิดอาการท้องร่วงที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อ *C. difficile* ถึงแม้ว่ายีสต์ *Sac. boulardii* จะไม่สามารถป้องกันเชื้อก่อโรคได้ก็ตาม (O'Sullivan et al., 2005 ; Kieran et al., 2003) นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Holzapfel and Schillinger (2001 : 109-116) พบว่าระหว่าง 2-3 ทศวรรษที่ผ่านมา ได้มีการหันมาใส่ใจสุขภาพ โดยเน้นไปที่จุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ภายในลำไส้ ซึ่งเรียกว่า โปรไบโอติก โดย 65 เปอร์เซ็นต์ของตลาดอาหารโลกจะมีโปรไบโอติกอยู่ และกำลังขยายตลาดให้ใหญ่ขึ้น มีปริมาณโดยรวมมากกว่า 75 พันล้านเหรียญสหรัฐ โดยส่วนประกอบที่สำคัญในผลิตภัณฑ์โปรไบโอติก คือ จุลินทรีย์กลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรียรวมทั้ง Bifidobacteria, Lactobacilli และ Enterococci ซึ่งสุขภาพของคนเรามีความสัมพันธ์กับโปรไบโอติกมากมาย แต่ถือว่าเป็นการรักษาสุขภาพของลำไส้ธรรมดา และปกป้องต่อต้านผู้บุกรุกเข้ามาบรรเทาการขาดแลคโตสและช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ผู้บริโภคจะมีความสัมพันธ์กับผลิตภัณฑ์ที่มีเชื้อที่มีประโยชน์ต่อเราอย่างมาก ซึ่งเชื่อนี้ก็คือโปรไบโอติกนั่นเอง นอกจากนี้ bifidobacteria และ lactobacilli คือเชื้อตัวสำคัญที่อาศัยอยู่บริเวณกระเพาะอาหารกับลำไส้ (GIT) โดยฟรีไบโอติกและโปรไบโอติกมักจะเป็นส่วนประกอบอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหาร เรียกว่ามีการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติก (synbiotic) เพื่อให้มีประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ให้ได้มากที่สุด

ประโยชน์ของโปรไบโอติก

1. การปรับปรุงการย่อยสลายกลูโคส รายงานของ Montes และคณะ (1995) พบว่า การใช้จุลินทรีย์โยเกิร์ตซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ β - galactosidase เป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถแก้ไขปัญหาคอเลสเตอรอลสูงที่เกิดจากการย่อยและดูดซึมน้ำตาลกลูโคสในเด็ก เนื่องจากขาดเอนไซม์ดังกล่าว จุลินทรีย์โยเกิร์ตจะขับเอนไซม์ออกมาในลำไส้เล็กได้
2. การปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ การปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารเป็นแบคทีเรียที่ให้โทษในลำไส้ โดยกลไกการยับยั้งเมตาบอลิซึม การผลิตสารพิษและการเคลื่อนที่ของลำไส้ การสร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นพวก Lactobacilli เช่น bucaгарin ซึ่งผลิตโดย *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* มาช่วยเสริมการแก่งแย่งและยึดติดผนังลำไส้ได้ดีกว่าแบคทีเรียอื่น ๆ (Yukuchi และคณะ, 1992) นอกจากนี้ กรดอินทรีย์ที่เกิดจากเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ในโยเกิร์ต เช่น กรดแลคติก มีผลในการลดและทำลายแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคซึ่งปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์
3. ปรับปรุงการเคลื่อนที่ของอวัยวะภายใน การเคลื่อนที่ของอวัยวะภายในเกิดจากการจัดระบบของลำไส้ใหญ่มีผลต่ออาการท้องผูกและท้องร่วง ซึ่งส่วนมากเกิดกับเพศหญิงและผู้สูงอายุ อาการท้องผูก ความถี่ของการเคลื่อนที่ของอวัยวะภายในลดลง และจะเป็นปกติเมื่ออุจจาระผ่านไป 3 - 4 วัน ผู้สูงอายุที่มีการเคลื่อนที่ของอวัยวะภายในผิดปกติเมื่อรับประทาน *S. thermophilus* วันละ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 วัน มีการถ่ายอุจจาระเป็นปกติ และการเคลื่อนที่ของลำไส้ใหญ่เพิ่มขึ้นจากก่อนได้รับเชื้อถึง 5 - 7 เท่า

ในทางกลับกันจุลินทรีย์โยเกิร์ตสามารถลดอาการท้องร่วง และปัญหาของลำไส้ที่เกิดจากกลไกการควบคุมสารอาหารไม่มีประสิทธิภาพและสารอาหารไม่สมดุล

4. การต่อต้านมะเร็ง จากรายงานถึงคุณสมบัติทางอายุรเวชของเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตในการต่อต้านหรือระงับมะเร็ง Adachi (1992) กล่าวว่า การต่อต้านมะเร็งของ *Lactobacillus* เกิดการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน การลดการผลิตสารก่อมะเร็งโดย Carcinogen - producing fecal enzymes ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ในลำไส้ คือ β - glucuronidase nitroreductase และ azoreductase นอกจากนี้ *L. acidophilus* และ *L. delbruekii* supsp. *bulgaricus* สามารถยึดเกาะกับสารที่ก่อการกลายพันธุ์ทำให้กิจกรรมของสารลดลง สำหรับอนุพันธ์ของไกลโคโปรตีนจากผนังเซลล์ของ *L. delbruekii* supsp. *bugaricus* มีผลในการยับยั้งกิจกรรมของมะเร็ง และพบว่าการต่อต้านมะเร็งของจุลินทรีย์โยเกิร์ตขึ้นอยู่กับจำนวนเซลล์แบคทีเรียที่ยังมีชีวิตและเซลล์ที่ตาย (Yukuchi *et al.*, 1992) นอกจากนี้ Ayebo *et al.* (1981) พบว่า สารในโยเกิร์ตที่ทำหน้าที่ต่อต้านมะเร็งแยกได้โดยวิธี Fractionation บน ion-exchange resin ซึ่งได้จากโยเกิร์ตที่เป็นของแข็ง

5. การลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ในปี 1974 Nann และ Spoerry พบว่าผู้ที่ดื่มโยเกิร์ตที่หมักด้วย *Lactobacillus* สายพันธุ์ทั่วไปวันละ 8.33 ลิตร จะมีระดับคอเลสเตอรอลในเลือดต่ำ ในขณะที่ O'Sullivan และคณะ (1992) รายงานว่า *Lactobacillus* สามารถลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด และลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจที่เกิดจากระดับคอเลสเตอรอลในเลือดสูง โดยเชื่อว่าสารเคมี hydroxyl methyl glutarate ที่จุลินทรีย์โยเกิร์ตสร้างขึ้นมีคุณสมบัติในการยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในร่างกาย

6. การปรับปรุงคุณค่าทางอาหารของน้ำนม การปรับปรุงคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจะเกี่ยวข้องกับโปรตีน ซึ่งเกิดการเปลี่ยนแปลงระหว่างการผลิตโยเกิร์ต และช่วยในการทำงานของระบบย่อยอาหาร คือทำให้ร่างกายสามารถย่อยสลายและดูดซึมสารอาหารในน้ำนมได้มาก ถ้าเชื้อโยเกิร์ตบางชนิดจะช่วยเพิ่มความเข้มข้นของวิตามินบี pyridoxyl(B6), riboflavin(B12), thiamine(B1), nicotinic acid(B3) ซึ่งมีความสำคัญต่อการบำรุงผิวหนัง เส้น และระบบประสาท กรดฟลอริกทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบของโคเอนไซม์ในการสร้างเบสพิวรีนและการสร้างเลือด กรดเพนโทนิคเป็นส่วนประกอบของโคเอนไซม์ที่จำเป็นสำหรับการใช้คาร์โบไฮเดรตในร่างกาย และการใช้กรดอะมิโนบางชนิดและไบโอติน ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการเติมหรือการสลายตัวของคาร์บอนไดออกไซด์ ให้แก่สารประกอบของร่างกายเพิ่มขึ้นด้วย (Gilland, 1990) นอกจากนี้ Kneifel และคณะ (1998) พบว่าเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตมีความผันแปรสูงในการผลิตวิตามินระหว่างการหมัก นอกจากนี้การปรับปรุงคุณค่าทางอาหารเกิดจากผลดีของเอนไซม์ภายในเซลล์จุลินทรีย์โยเกิร์ตที่ใช้ในการผลิตซึ่งขับออกมาออกเซลล์ แล้วทำหน้าที่ย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสที่เหลือ

คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)

คาร์โบไฮเดรต เป็นสารอาหารที่ให้พลังงานกับคนทุกเชื้อชาติและทุกวัย ตั้งแต่ทารก เด็ก ผู้ใหญ่ และผู้สูงอายุ ตามข้อกำหนดสารอาหารที่แนะนำให้บริโภคประจำวันสำหรับคนไทยอายุตั้งแต่ 6 ปีขึ้นไปของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กำหนดไว้ว่าควรได้รับคาร์โบไฮเดรต 60 % ของพลังงานที่บริโภคอาหารต่อวัน (2,000 กิโลแคลอรี) คาร์โบไฮเดรตหลัก ๆ ได้แก่ น้ำตาล (Sugars) และคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน (Complex Carbohydrates) น้ำตาล (Sugars) รวมถึง Monosaccharides เช่น กลูโคส ฟรุคโตส Disaccharides เช่น น้ำตาลทราย แลคโตส คาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน (Complex

Carbohydrates) หมายถึงคาร์โบไฮเดรตประเภทแป้ง โพลีแซคคาไรด์ รวมถึงพวกอัญชาติต่าง ๆ ผักและผลไม้ด้วย แต่ไม่รวมถึงน้ำตาล

คาร์โบไฮเดรต เป็นอินทรีย์สารประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ($C_nH_{2n}O_n$) แบ่งได้ 3 ประเภทใหญ่ตามขนาดโครงสร้าง (Degree of Polymerization, DP) ดังแสดงในตาราง 1

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (แป้งและน้ำตาล) ในผลไม้ส่วนที่กินได้ 100 กรัมพบว่า กล้วยน้ำว้าสุกมี 26.1 กรัม เงาะ 16.5 กรัม แตงโม 4.9 กรัม ทูเรียน 23.9 กรัม มะขามหวาน 75.6 กรัม มะม่วงอกร่อง 17.7 กรัม มะละกอสุก 11.8 กรัม ลำไย 15.6 กรัม ลิ้นจี่ 16.3 กรัม มังคุด 14.7 กรัม ลางสาด 14.2 กรัม ลูกตาล 8.9 กรัม สับปะรด 11.6 กรัม ส้มเขียวหวาน 9.9 กรัม องุ่น 12.8 กรัม สาลี่ 11.4 กรัม แอปเปิล 15.2 กรัม

ตัวอย่างแอปเปิลส่วนที่กิน 100 กรัมมีวิตามินซี 2 มิลลิกรัม โยอาหาร 0.7 กรัม, สาลี่ 100 กรัมให้วิตามินซี 4 มิลลิกรัม ให้โยอาหาร 1.0 กรัม, ลูกพลับจีนสุก 100 กรัมให้วิตามินซี 20 มิลลิกรัม โยอาหาร 2.0 กรัม ในขณะที่ส้มเขียวหวาน 100 กรัมให้วิตามินซี 18 มิลลิกรัม โยอาหาร 0.2 กรัม, มะละกอสุก 100 กรัมให้วิตามินซี 73 มิลลิกรัม โยอาหาร 0.5 กรัม, ฝรั่ง 100 กรัมให้วิตามินซี 160 มิลลิกรัม โยอาหาร 6.0 กรัม

พรีไบโอติก (Prebiotic) คือส่วนประกอบของอาหารที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ด้วยระบบทางเดินอาหารส่วนบน (Upper Gastrointestinal Tract) ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียตัวใดตัวหนึ่งหรือหลายตัวที่มีอยู่ในลำไส้ใหญ่ แบคทีเรียที่เรียกว่านี้ก็มีแบคทีเรียจำพวก *Lb. acidophilus*, *B. bifidum* และ *Strep. thermophilus* ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้เป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพหรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า จุลินทรีย์สุขภาพ หรือโปรไบโอติก นอกจากนี้จะส่งเสริมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์แล้วยังส่งเสริมสุขภาพของมนุษย์ให้ดีขึ้นอีกด้วย (Gibson and Roberfroid, 1995 : 1401-1412)

พรีไบโอติกโดยโครงสร้างทางเคมีเป็นคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ($C_nH_{2n}O_n$) แบ่งได้เป็น 3 ประเภทใหญ่ตามดัชนีของการสังเคราะห์โพลิเมอร์ (Degree of Polymerization, DP) (มาลี จีรวงศ์ศรี. 2543 : 19-23)

เนื่องจากพรีไบโอติกมีประโยชน์ต่อสุขภาพหลายอย่าง เช่น การลดความรุนแรงของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค การลดลงของไขมันในเลือด คุณสมบัติในการต้านมะเร็งลำไส้ ควบคุมระดับฮอร์โมนในร่างกาย ลดการท้องผูก และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย ลำไส้สามารถดูดซึมแคลเซียมและธาตุเหล็กได้ดีขึ้นเป็นผลทำให้ลดการเกิดโรคกระดูกผุได้อีกด้วย จากประโยชน์ข้างต้นที่ได้กล่าวมาแล้ว จึงได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตสารพรีไบโอติกมากขึ้น ตัวอย่างพรีไบโอติก ได้แก่ Oligosaccharides แบ่งได้ 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. Malto - Oligosaccharides เป็นคาร์โบไฮเดรตที่เกิดขึ้นระหว่างการแตกตัว หรือการย่อยแป้ง โดยมาก จะอยู่กับคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่น ๆ เช่น น้ำผึ้ง Corn Syrup มอลโตเด็คซ์ตริน เมื่อแตกตัวหรือถูกย่อยต่อไปในที่สุดจะให้กลูโคส

ตาราง 2.3 ประเภทของคาร์โบไฮเดรต

DP	ประเภท	ตัวอย่าง
1- 2	น้ำตาล (Sugars)	1. น้ำตาลชั้นเดียว (Monosaccharides) :- กลูโคส ฟรุคโตส กาแลคโตส 2. น้ำตาล 2 ชั้น (Disaccharides) :- น้ำตาลทราย (ซูโครส), แลคโตส 3. น้ำตาลแอลกอฮอล์ (Polyols) :- ซอร์บิทอล, ไซลิตอล
3 - 9	Oligosaccharides	1. Malto-Oligosaccharides :- Maltodextrin 2. Non-Digestible Oligosaccharides :- Raffinose, stachyose, fructo-Oligosaccharides
> 9	Polysaccharides	1. แป้ง (Starch) :- Amylose, Amylopectin, Modified starch 2. Non-starch polysaccharides : cellulose, hemicellulose, pectins, hydrocolloids

ที่มา : มาลี จีรวงศ์ศรี. 2543 : 19-23.

2. Resistant Oligosaccharides (Non - Digestible Oligosaccharides) แบ่งเป็น

2.1 Galactosylsucrose ประกอบด้วย Raffinose Stachyose และ Verbascose ยังไม่สามารถถูกย่อยโดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ได้ จึงผ่านเข้าสู่ลำไส้เล็ก

2.2 พบได้ในอาหารประเภทข้าวสาลี ข้าวไรย์ หัวหอม แอสปารากัส Artichoke กล้วย ถั่วเหลือง Burdock และพืชประเภทพืชหัว โอลิโกฟรุคโตสมีความหวานประมาณ 30 % ของน้ำตาลทราย ไม่สามารถถูกย่อยโดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ได้ แต่ถูกย่อยที่ลำไส้ใหญ่โดยเชื้อแบคทีเรียซึ่งมีอยู่ตามปกติในลำไส้ใหญ่

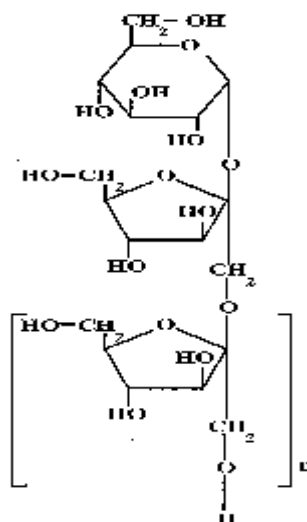
โอลิโกฟรุคโตส (Oligofructose) หรือ Fructo-oligosaccharides คือ น้ำตาลฟรุคโตส 2 โมเลกุลยึดติดกันที่ตำแหน่ง β -2,1 และต่อกับน้ำตาลกลูโคส (GFm) มีจำนวนโมเลกุลต่อกันไม่เกิน 9 โมเลกุล คือมีค่า DP อยู่ระหว่าง 2-9 นั่นเอง Oligosaccharides แบ่งได้ 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. Malto - Oligosaccharides เป็นคาร์โบไฮเดรตที่เกิดขึ้นระหว่างการแตกตัว หรือการย่อยแป้ง โดยมาก จะอยู่กับคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่น ๆ เช่น น้ำผึ้ง Corn Syrup มอลโตเด็คซ์ทริน เมื่อแตกตัวหรือถูกย่อยต่อไปในที่สุดจะให้กลูโคส

2. Resistant Oligosaccharides (Non - Digestible Oligosaccharides)

2.1 Galactosylsucrose ประกอบด้วย Raffinose Stachyose และ Verbascose ยังไม่สามารถถูกย่อยโดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ได้ จึงผ่านเข้าสู่ลำไส้เล็ก

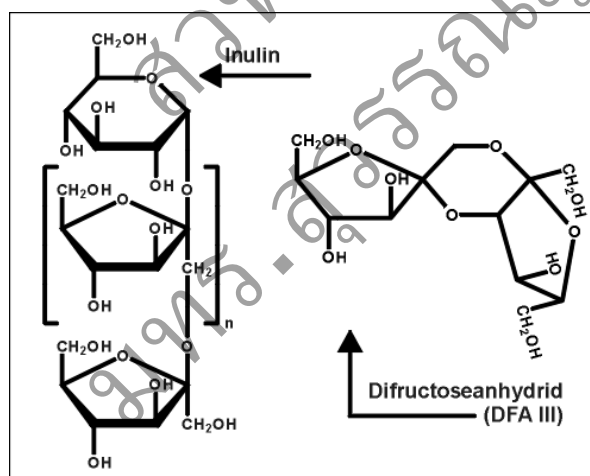
2.2 พบได้ในอาหารประเภทข้าวสาลี ข้าวไรย์ หัวหอม แอสปารากัส Artichoke กล้วย ถั่วเหลือง Burdock และพืชประเภทพืชหัว โอลิโกฟรุคโตสมีความหวานประมาณ 30 % ของน้ำตาลทราย ไม่สามารถถูกย่อยโดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ได้ แต่ถูกย่อยที่ลำไส้ใหญ่โดยเชื้อแบคทีเรียซึ่งมีอยู่ตามปกติในลำไส้ใหญ่



n: 1-3

ภาพ 2.1 โครงสร้างของโอลิโกฟรุคโตส

อินนูลิน (Inulin) คือ น้ำตาลฟรุคโตส 2 โมเลกุลยึดติดกันที่ตำแหน่ง β -2,1 และต่อกับน้ำตาลกลูโคส (GFm) มีจำนวนโมเลกุลต่อกัน 9 ถึง 60 โมเลกุล คือมีค่า DP อยู่ระหว่าง 9-60 จะเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่ยาวกว่าโอลิโกฟรุคโตส (Oligofructose) แต่ก็มีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติกเหมือนกัน (บุษบา วิวัฒน์เวคิน, 2543 : 19)



ภาพ 2.2 โครงสร้างของอินนูลิน

อินนูลินเป็นสาร Polysaccharides ที่พืชเก็บไว้เป็นอาหาร พบในพืชมากกว่า 36,000 ชนิด เช่น Chicory root เห็ด หัวหอม หัวกระเทียม กล่ำย แต่อินนูลินนี้ย่อยไม่ได้โดยน้ำย่อยในลำไส้ แต่สามารถย่อยได้โดยอาศัยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ จากการย่อยอินนูลินจะได้ฟรุคโตสตั้งแต่ปี 1905 ได้มีการแนะนำให้ผู้ป่วยเบาหวานบริโภคอินนูลิน (Lewis 1912, Persia 1905) และจากการทดลองพบว่าปริมาณที่ใช้และเกิดผลดีต่อผู้ป่วยคืออินนูลิน 40-100 กรัม/วัน (McCance and Lawrence 1929, Foot and Berker 1925, Strouss 1911, Wise and Hey 1931) ตามขนาดของโครงสร้างอินนูลินมีค่า DP (Degree of Polymerization) ประมาณ 9-60 และตามโครงสร้างจะมีโอลิโกฟรุคโตสประกอบอยู่เป็นโครงสร้างกลุ่มย่อย ในพืชต่างชนิดกันจะมีปริมาณอินนูลิน และโอลิโกฟรุคโตสที่แตกต่างกัน ดังแสดงตามตาราง 2.4

ตาราง 2.4 ปริมาณอินนูลิน และโอลิโกฟรุคโตส ในอาหารชนิดต่างๆ

ชนิดของอาหาร	ปริมาณอินนูลิน (%)	ปริมาณโอลิโกฟรุคโตส (%)
Onion (หัวหอม)	2 - 6	2 - 6
Jerusalem artichoke	16 - 20	16 - 20
Chicory (ชิโครี)	15 - 20	5 - 10
Asparagus (แอสปารากัส)	1 - 30	1 - 20
Leek (พืชตระกูลกะเทียม)	3 - 10	2 - 5
Garlic (กระเทียม)	9 - 16	3 - 6
Banana (กล้วย)	0.3 - 0.7	0.3 - 0.7
Wheat (ข้าวสาลี)	1 - 4	1 - 4
Rye (ข้าวไรย์)	0.5 - 1	0.5 - 1
Barley (ข้าวบาเลย์)	0.5 - 1.5	0.5 - 1.5

ที่มา : มาลี จีรวงศ์ศรี.2543 : 19-23. Coussement, 1999

จากคุณสมบัติที่อินนูลิน และโอลิโกฟรุคโตสละลายน้ำได้และมีความคงตัวที่อุณหภูมิสูง ไม่มีผลข้างเคียงกับระบบประสาทสัมผัส รสชาติหวานเล็กน้อย จึงมีการพัฒนานำไปใช้ในทางอุตสาหกรรมอาหารในลักษณะต่าง ๆ เช่น

1. สารทดแทนไขมันในครีม สลัดครีม Mousses เนยแข็ง ไอศกรีม
2. สารทดแทนน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลต
3. เพิ่มใยอาหารในผลิตภัณฑ์นม เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์ขนมอบ
4. ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (วันทนีย์ เกรียงสินยศ, 2542 : 59-62)

การย่อยสลายของพรีไบโอติกในร่างกาย

พรีไบโอติกจะถูกย่อยสลายในลำไส้ใหญ่โดยแบคทีเรียที่อยู่ในลำไส้ตัวเอง โดยในลำไส้ใหญ่ส่วนต้นจะมีการย่อยมากกว่าส่วนปลาย เนื่องจากมีความเข้มข้นของสารตั้งต้นสูง และมีค่า pH ต่ำเพียงประมาณ 5-6 ทำให้แบคทีเรียมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วด้วย แต่ในลำไส้ใหญ่ส่วนปลายนั้นมีปริมาณสารตั้งต้นน้อย มีค่า pH เป็นกลาง และมีการเจริญของแบคทีเรียต่ำ โดยทั่วไปลำไส้ใหญ่ของคนปกติจะมีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 20-60 กรัม และมีโปรตีน 5-20 กรัมต่อวัน ดังนั้นการย่อยสลายสาร (โดยไม่ใช้อากาศ) จึงแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะคือ การย่อยคาร์โบไฮเดรต (saccharolytic) ซึ่งจะเกิดในลำไส้ใหญ่ส่วนต้นและเกิดบางส่วนในลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย และการย่อยโปรตีน (proteolytic) ซึ่งจะเกิดในลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย ผลสุดท้ายที่ได้จากการย่อยคาร์โบไฮเดรตคือ short-chain fatty acid (SCFA) ได้แก่ acetate, propionate และ butyrate ซึ่งอาจมีการ metabolize ต่อไปเพื่อสร้างพลังงานให้กับ host ส่วนการย่อยโปรตีนนั้น จะได้ phenolic compounds, amines และ ammonia

เห็ด (Mushroom) คือ สิ่งมีชีวิตกลุ่มหนึ่ง เดิมเคยจัดอยู่อาณาจักรเดียวกับพืช แต่ปัจจุบันจัดอยู่ในอาณาจักรเห็ดราหรือฟังไจ (Kingdom Fungi) เป็นเซลล์ยูแคริโอต (Eukaryote) พบได้ทั้งที่เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว เส้นใย และ ดอกเห็ด ไม่มีคลอโรพลาสต์ ได้รับสารอาหารจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยจะปล่อยเอนไซม์ออกมาย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่และซับซ้อนให้เป็นโมเลกุลเล็กและดูดซึมเข้าสู่เซลล์

ความสำคัญของเห็ดในแง่โภชนาการ

เห็ดจัดว่าเป็นอาหารที่มีปริมาณน้ำตาลและเกลือค่อนข้างต่ำ โดยที่แต่ละชนิดจะมีคุณค่าทางโภชนาการแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของเห็ด ในเห็ดมีวิตามิน เกลือแร่ และโปรตีน ซึ่งพบว่าในเห็ดนั้นมีโปรตีนที่มีคุณภาพดีกว่าที่พบในผัก สิ่งสำคัญที่ทำให้เห็ดมีกลิ่นที่ชวนน่ารับประทาน เนื่องจากมี กรดอะมิโนกลูตามิก (Amino glutamic) เป็นส่วนประกอบ เห็ดประกอบไปด้วยเส้นใยจำนวนมาก ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรต ช่วยในการดูดซึม ลดปริมาณคอเลสเตอรอล ความดันโลหิต โรคหัวใจ รวมถึงโรคมะเร็ง

เห็ด เป็นแหล่งอาหารโปรตีนจากธรรมชาติ ที่มีวิวัฒนาการมาจากการประสานเส้นใยจำนวนมากของเชื้อราชั้นสูง และถึงแม้เห็ดจะขาดกรดอะมิโนบางตัวไปบ้าง แต่ในเรื่องของรสชาติและเนื้อสัมผัสนั้นรับรองว่าเห็ดไม่เป็นรองใครในยุทธจักรอาหารอย่างแน่นอน ที่สำคัญเห็ดยังให้คุณค่าทางโภชนาการและมีสรรพคุณทางยา ซึ่งมีคุณสมบัติที่ช่วยเสริมภูมิคุ้มกันในร่างกาย และช่วยลดอัตราความเสี่ยงจากโรคร้ายต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง เบาหวาน อัลไซเมอร์ หลอดเลือดหัวใจอุดตัน และความดันโลหิตสูง เป็นต้น

เห็ดจัดเป็นอาหารประเภทผักที่ปราศจากไขมัน มีปริมาณน้ำตาลและเกลือค่อนข้างต่ำ และยังเป็นแหล่งโปรตีนที่ดี เมื่อเทียบกับผักอีกหลายชนิด อีกทั้งยังมีรสชาติและกลิ่นที่ชวนรับประทาน ซึ่งรสชาติที่โดดเด่นนี้ มาจากการที่เห็ดมีกรดอะมิโนกลูตามิกเป็นองค์ประกอบ โดยกรดอะมิโนตัวนี้จะทำหน้าที่ช่วยกระตุ้นประสาทการรับรู้รสชาติของลิ้นให้ ไวกว่าปกติ และทำให้มีรสชาติคล้ายกับเนื้อสัตว์

นอกจากนี้เห็ดยังอุดมไปด้วยวิตามิน โดยเฉพาะวิตามินบีรวม (ไรโบฟลาวิน) และไนอาซิน ซึ่งจะช่วยควบคุมการทำงานของระบบย่อยอาหาร ในส่วนของเกลือแร่ เห็ดจัดเป็นแหล่งเกลือแร่ที่สำคัญ โดยมีเกลือแร่ต่างๆ เช่น ซิลิเนียม ทำหน้าที่ช่วยต้านอนุมูลอิสระ ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน โปแตสเซียม ทำหน้าที่ควบคุมจังหวะการเต้นของหัวใจ สมดุลของน้ำในร่างกาย การทำงานของกล้ามเนื้อและระบบประสาทต่างๆ ลดการเกิดโรคความดันโลหิตสูง อัมพฤกษ์ และอัมพาต ส่วนทองแดง ทำหน้าที่ช่วยเสริมสร้างการทำงานของธาตุเหล็ก ที่สำคัญ เห็ดมีองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ชื่อว่า “โพลีแซคคาไรด์” (Polysaccharide) จะทำงานร่วมกับแมคโครฟาจ (macrophage) ซึ่งเป็นเซลล์คุ้มกันขนาดใหญ่ที่ออกจากหลอดเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อและจะไป จับกับโพลีแซคคาไรด์ที่บริเวณกระเพาะอาหาร และนำไปส่งยังเซลล์คุ้มกันตัวอื่นๆ โดยจะช่วยกระตุ้นวงจรการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เสริมและช่วยเพิ่มปริมาณและประสิทธิภาพของเซลล์คุ้มกันธรรมชาติ ให้ทำหน้าที่ทำลายเซลล์แปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย รวมถึงพวกไวรัสและแบคทีเรียอื่นๆ ด้วย เห็ดที่มีปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์สูง คือ เห็ดหอมหรือเห็ดชิตาเกะ เห็ดนางรม เห็ดหูช้าง และเห็ดกระดุม เป็นต้น และเห็ดอื่นๆ ที่นิยมนำมารับประทาน ได้แก่ เห็ดหลินจือ เห็ดฟาง เห็ดหูหนู เห็ดกระดุมหรือแฮมปิยอง เห็ดโคน และเห็ดเข็มทอง เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถใช้เห็ดเป็นยาได้อีกด้วย ซึ่งสรรพคุณทางยาของเห็ดมีมากมาย เช่น ช่วยควบคุมการทำงานของอวัยวะสำคัญต่างๆ เช่น สมอง หัวใจ ปอด ตับ และระบบไหลเวียนของโลหิต เนื่องจากชาวจีนจัดเห็ดเป็นยาเย็น เพราะมีสรรพคุณช่วยลดไข้ เพิ่มพลังชีวิต ตับร้อนใน แก้อาเจียน บำรุงร่างกาย ลดระดับน้ำตาล และคอเลสเตอรอลในหลอดเลือด ลดความดัน ขับปัสสาวะ ช่วยให้หายหงุดหงิด บำรุงเซลล์ประสาท รักษาอาการอัลไซเมอร์ และที่สำคัญ คือ ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง

เห็ดเข็มเงินหรือเห็ดเข็มทอง

เห็ดเข็มเงินหรือเห็ดเข็มทอง อยู่ในตระกูลเดียวกัน แต่เดิมนั้นเกิดขึ้นเองบนต้นไม้ผุ ในป่า ต่อมาได้นำมาเพาะเลี้ยงและพัฒนาการเพาะเลี้ยงมาเรื่อย ๆ ถือเป็นเห็ดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่ง

เห็ดเข็มเงินหรือ เข็มทองมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกันเล็กน้อย แต่มีคุณค่าทางโภชนาการเหมือนกันทุกประการ ซึ่งประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และส่วนที่เป็นเถ้าร้อยละ 31.2, 5.8, 3.3 และ 7.6 ตามลำดับ ลักษณะของดอกเห็ด ทั้งหมดดอก ก้านดอกเหมือนเข็มหมุด ยาวเรียวมีความกรอบสูง เป็นเห็ดที่เจริญได้ดีในสภาพอากาศเย็น เช่นเดียวกับเห็ดแชมปิญอง และเห็ดหอม

การจำแนกเห็ดเข็มทอง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Flammulina velutipes* Karst.

ชื่อสามัญ เห็ดเข็มเงิน เห็ดเข็มทอง (Golden needle mushroom, Velvet stem collybia, Velvet agaric, Winter mushroom, Enoki)

Subdivision Basidiomycotina

Class Hymenomycetes

Subclass Holobasidiomycetidae

Order Agaricales (Agarics)

Family Trichlomataceae

Genus *Flammulina*

Specie *velutipes*

คุณค่าทางโภชนาการ

เห็ดเข็มทอง 100 กรัม ให้พลังงาน 34 กิโลแคลอรี ประกอบด้วย โปรตีน 2.4 กรัม โซเดียม 3 มิลลิกรัม คาร์โบไฮเดรต 7 กรัม เส้นใย 2.6 กรัม

แก่นตะวัน หรือ ทานตะวันหัว (เป็นชื่อเรียกอย่างเป็นทางการ) หรือที่เป็นชื่อเรียกภาษาไทยว่า “แห้วบัวตอง” แก่นตะวัน ภาษาอังกฤษ Jerusalem artichoke (เจอร์ซาเล็ม อาร์ติโชค), Sunchoke (ซันโโชค), Sunroot, Earth Apple, Topinambour มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Helianthus tuberosus* L. จัดอยู่ในวงศ์ ASTERACEAE มีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมในทวีปอเมริกาเหนือ และต่อมาภายหลังจึงแพร่หลายไปยังสหรัฐอเมริกาและทางยุโรป สมุนไพรแก่นตะวัน กับความเป็นมาในบ้านเรา ต้นแก่นตะวันได้มีการนำต้นแก่นเข้ามาปลูกเมื่อปี พ.ศ.2539 ภายหลังจึงได้มีการเปลี่ยนชื่อใหม่เป็น “แก่นตะวัน” (สนั่น, 2549) แก่นตะวันสมุนไพร ที่กำลังเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายและเป็นที่ต้องการของตลาดทั่วโลก เนื่องจากเป็นพืชที่มีประโยชน์สารพัด เพราะในหัวแก่นตะวันจะมีสารสำคัญชนิดหนึ่ง นั่นก็คือ อินนูลิน (Inulin) ซึ่งเป็นน้ำตาลเชิงซ้อน มีโมเลกุลของน้ำตาลต่อกันเป็นห่วงโซ่มากกว่า 10 โมเลกุล ด้วยลักษณะที่โดดเด่นของสารชนิดนี้ มันจึงกลายเป็นอาหารที่เส้นใยสูง และจะไม่ถูกย่อยในกระเพาะอาหารและลำไส้ของเรา จึงเท่ากับว่าสารอินนูลินเดินทางผ่านกระเพาะอาหารและลำไส้ของเราไปเฉยๆ แล้วยังไม่มีแคลอรีแต่อย่างใด มันจึงเหลือไปถึงลำไส้ใหญ่ แล้วกลายเป็นอาหารของแบคทีเรียในกลุ่มที่มีประโยชน์ (แบคทีเรียมีทั้งกลุ่มมีประโยชน์ และไม่มีประโยชน์) ทำให้แบคทีเรียกลุ่มที่มีประโยชน์เกิดการแบ่งตัวมากขึ้น ทำให้แบคทีเรียในกลุ่มที่เป็นอันตรายต่อร่างกายลดน้อยลง เมื่อร่างกายไม่สามารถย่อยได้ แก่นตะวันจึงเป็นสารเส้นใยอย่างเดียวที่ไม่ให้แคลอรี สารเส้นใยดังกล่าวจึงช่วยทำให้อยู่ท้องได้นาน กินอาหารได้น้อยลง กินแล้วไม่อ้วน จึงช่วยลดน้ำหนักไปได้ในตัว และยังช่วยลดไขมันและน้ำตาลที่เราอาจรับประทานเกินออกไป จึงสามารถช่วยป้องกันโรคไขมันในเส้นเลือดสูงได้อีกด้วย โดยมีผลงานวิจัยที่น่าสนใจดังนี้ หนูทดลองที่กินอาหารผสมกับสารอินนูลินเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักตัวของหนูจะน้อยกว่าหนูปกติที่ไม่ได้รับอินนูลินมากถึง 30% ผู้ที่มีระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์สูง หากได้รับอินนูลินเข้าไปเป็นประจำจะช่วยทำ

ให้ไขมันในเลือดลดลง (งานวิจัยของคอเซ 2000) ผู้ที่ได้รับสารอินนูลินจะมีโอกาสเป็นโรคเบาหวานน้อยกว่าคนที่กินน้ำตาลมาก ถึง 40% จึงแสดงให้เห็นว่าการรับประทานแกนตะวันเป็นประจำจะช่วยป้องกันโรคเบาหวาน ได้เป็นอย่างดี (ฮาตะ 1983) ลักษณะของแกนตะวัน ต้นแกนตะวัน หรือ พีชแกนตะวัน จัดเป็นพืชล้มลุก มีหัวสะสมอาหาร ลักษณะเป็นตะปุ่มตะป่ำ ผิวไม่เรียบ คล้ายหัวขิงอบและหัวข่า แต่มีหลากหลายสี เช่น สีเหลือง สีขาว สีแดง และสีม่วง แต่โดยทั่วไปแล้วเปลือกจะมีสีน้ำตาลอ่อน เนื้อในมีสีขาว เนื้อกรอบคล้ายแห้วดิบ การเจริญเติบโตของแกนตะวันจะมีอยู่ 2 ช่วง ช่วงแรกนับตั้งแต่ตอนปลูกจนถึงออกดอกครั้งแรก แกนตะวันจะสะสมอาหารในใบและลำต้น หรือที่เรียกว่า หัวแกนตะวัน หรือ ร่วนแกนตะวัน และช่วงที่สองหลังจากดอกแรกบานจนถึงระยะเก็บเกี่ยว ใบจะหลุดร่วง อาหารสะสมที่ใบก็จะถูกส่งไปที่หัวซึ่งหัวสามารถนำมารับประทานได้ สรรพคุณของแกนตะวัน ชาวอินเดียแดงปลูกต้นแกนตะวันไว้รับประทานหัว โดยมีสรรพคุณช่วยทำให้เจริญอาหาร ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย ช่วยลดการติดเชื้อ เพราะสารอินนูลินจะช่วยลดปริมาณของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร อย่างเชื้ออี.โคไล (E.Coli) และโคลิฟอร์ม (Coliforms) และในขณะเดียวกันยังไปช่วยเพิ่มการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มที่เป็นประโยชน์ ต่อร่างกายให้เจริญเติบโตขึ้นอีกด้วย เช่น บีฟิโดแบคทีเรีย (Bifidobacteria) และแลคโตบาซิลลัส (Lactobacillus) ช่วยป้องกันอาการภูมิแพ้ การแพ้อาหาร โดยเฉพาะในเด็ก แกนตะวันลดความอ้วน ช่วยลดน้ำหนักและความอ้วน ภายในหัวจะมีน้ำประมาณ 80% และมีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 18% ซึ่งคาร์โบไฮเดรตส่วนใหญ่จะเป็นอินนูลิน (Inulin) ซึ่งอินนูลินเป็นสารเยื่อใยอาหารที่ให้ความหวานได้ แต่จะไม่ถูกย่อยในกระเพาะและลำไส้เล็ก จึงสามารถอยู่ในระบบทางเดินอาหารได้นาน จึงช่วยทำให้ไม่รู้สึกหิว ทำให้รับประทานอาหารได้น้อย สามารถช่วยควบคุมพลังงานที่ได้รับต่อวันได้เป็นอย่างดี จึงช่วยลดความอ้วนและป้องกันโรคเบาหวานไปด้วยในตัว ซึ่งมีงานวิจัยพบว่าหนูที่ได้รับสารนี้เป็นเวลา 3 สัปดาห์ น้ำหนักตัวของมันจะลดลงมากกว่าหนูปกติถึง 30% โดยดร.ครรชิต จุดประสงค์ นักวิชาการประจำสถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล ยังระบุด้วยว่าแกนตะวันสามารถช่วยลดความอ้วนได้ดีกว่าพืชลดความอ้วนชนิดอื่นๆ ที่คนไทยรู้จักกันดีเมื่อนำมาเปรียบเทียบกัน อย่างเช่น หญ้าหมาน้อย หัวบุก และเม็ดแมงลัก เป็นต้น ช่วยในการควบคุมน้ำหนัก เนื่องจากแกนตะวันมีสารประกอบเชิงซ้อนกลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่ให้พลังงานต่ำ กว่าคาร์โบไฮเดรตทั่วไป มีลักษณะคล้ายแป้ง แต่มีคุณสมบัติในการรักษาสมดุลของสารอาหารที่รับประทาน โดยสามารถรับประทานได้มากขึ้น แต่ยังคงระดับพลังงานให้คงที่ได้ ทำให้รู้สึกอิ่มนาน ซึ่งไม่เหมือนกับแป้งทั่วไปที่ร่างกายย่อยสลายแล้วถูกดูดซึมเข้าไปสะสมเป็น ไขมันแล้วทำให้อ้วน จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกสำหรับผู้ที่กำลังประสบปัญหาภาวะน้ำหนักเกิน ช่วยป้องกันไขมันในเลือดสูง เพราะเส้นใยของแกนตะวันจะช่วยดูดซับไขมันและน้ำตาลที่เรารับประทานกินไว้ ไม่ว่าจะเป็คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ หรือไขมันเลว ที่เรารับประทานเข้าไปทั้งออกทางอุจจาระ และยังมีงานวิจัยที่ระบุว่าผู้ที่มีระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์สูง หากได้รับอินนูลินเป็นประจำก็จะช่วยทำให้ไขมันในเส้นเลือดลดลงได้ ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและโรคหลอดเลือดได้เป็นอย่างดี เนื่องจากเส้นใยของแกนตะวันเป็นตัวช่วยดูดซับไขมันที่เป็นโทษต่อร่างกายและเป็นสาเหตุของการเกิดโรคดังกล่าวทั้งออกทางอุจจาระ ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด และป้องกันโรคเบาหวานได้เป็นอย่างดี เนื่องจากแกนตะวันมีแคลอรีต่ำ ไม่ส่งผลกระทบต่อระดับน้ำตาลในเลือด แม้จะรับประทานในปริมาณมาก จึงเหมาะอย่างยิ่งสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน หากรับประทานอย่างต่อเนื่องเป็นประจำจะช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ โดยมีงานวิจัยที่ระบุว่าผู้ที่ได้รับสารอินนูลินเป็นประจำจะมีโอกาสเป็นโรคเบาหวานน้อยกว่าคนที่กินน้ำตาลมากถึง 40% ช่วยป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ ช่วยในการทำงานของลำไส้ให้เป็นปกติ และช่วยบำรุงสุขภาพของลำไส้ใหญ่ได้เป็นอย่างดี เพราะผู้ที่ได้รับสารอินนูลิน

เป็นประจำ จะทำให้ลำไส้ใหญ่จะแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อร่างกายเพิ่มมากขึ้น และมีปริมาณของแบคทีเรียที่เป็นอันตรายต่อร่างกายหรือแบคทีเรียที่เป็นตัว ก่อโรคให้ที่ลดลง ทำให้แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดแก๊สกลิ่นเหม็นในร่างกายลดลง หรือแบคทีเรียที่กินซากเนื้อสัตว์ตัวสร้างสารก่อมะเร็งในลำไส้ใหญ่อย่างอีโค ไคก็ลดน้อยลงด้วยเช่นกัน ช่วยกระตุ้นการดูดซึมของแร่ธาตุหลายชนิด ช่วยปรับสภาพของลำไส้ให้เหมาะสมต่อการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด ที่ไม่สามารถดูดซึมได้ในลำไส้เล็ก และช่วยให้ลำไส้ใหญ่สามารถดูดซึมแร่ธาตุที่มีประโยชน์ต่อร่างกายได้เพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการช่วยดูดซึมธาตุแคลเซียมได้มากถึงร้อยละ 20% รวมไปถึงธาตุเหล็ก ฯลฯ ช่วยในการทำงานของระบบขับถ่าย ช่วยในขับถ่าย ช่วยทำความสะอาดลำไส้ ช่วยเก็บกวาดของเสียในระบบทางเดินอาหารได้เป็นอย่างดี แก้อาการท้องผูกได้ เนื่องจากทำให้อุจจาระมีกากใยมากขึ้น และยังช่วยลดกลิ่นเหม็นของอุจจาระได้อีกด้วย สมุนไพรแก่นตะวัน สรรพคุณช่วยลดอาการจุกเสียดแน่นท้อง แก้อาการท้องเสีย สรรพคุณแก่นตะวัน ช่วยกระตุ้นการหลั่งของน้ำดี แก่นตะวัน สรรพคุณช่วยในการขับปัสสาวะ ช่วยป้องกันสารพิษอย่างโลหะหนัก เช่น สารตะกั่ว คำแนะนำ : แม้จะมีข้อดีอยู่หลายประการ แต่ก็ยังมีข้อเสียอยู่บ้าง เนื่องจากแก่นตะวันมีคุณสมบัติของเส้นใยอาหารสูง การรับประทานสารสกัดในปริมาณที่มากเกินไปอาจทำให้เกิดผลข้างเคียงได้ เช่น มีอาการไม่สบายท้อง จุกเสียดแน่นท้อง ท้องเสีย ท้องอืดท้องเฟ้อ หรือมีอาการคลื่นไส้ เป็นต้น ซึ่งอาการดังกล่าวจะพบได้น้อยและไม่มีผลกระทบต่อผู้รับประทานมากนัก หากคุณรับประทานสารสกัดดังกล่าวในปริมาณที่เหมาะสม หรือเลือกรับประทานในรูปของแก่นตะวันสดในรูปของอาหาร แฝมยังช่วยคงคุณค่าของสารอาหารและเส้นใยไว้อย่างครบถ้วนอีกด้วย ดังนั้นการเลือกรับประทานแบบสดๆ จึงมีประโยชน์ต่อร่างกายมากที่สุด

ประโยชน์ของแก่นตะวัน หัวแก่นตะวันจัดเป็นอาหารที่ดีและมีประโยชน์อย่างมากสำหรับผู้รักสุขภาพ เพราะเป็นอาหารเสริมสุขภาพอย่างหนึ่ง เนื่องจากในหัวของแก่นตะวันนั้นอุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุต่างๆ มากมาย ซึ่งล้วนแล้วแต่มีประโยชน์ต่อร่างกายทั้งสิ้น เช่น มีวิตามินบีรวม แคลเซียม ธาตุเหล็กที่สูง เป็นต้น ประโยชน์แก่นตะวัน ช่วยลดกลิ่นปากจากเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากดอกแก่นตะวัน มีดอกที่สวยงามจึงมีการเพาะปลูกไว้เป็นไม้ประดับ ปลูกเป็นพืชเพื่อการท่องเที่ยว เพื่อเป็นที่พักผ่อนหย่อนใจได้ เพราะมีความสวยงามไม่แพ้ทุ่งบัวตองหรือทุ่งทานตะวันเลยทีเดียว หัวใช้รับประทานสดๆ เป็นผัก ซึ่งหัวสดจะมีรสชาติคล้ายๆ กับแห้ว หรือนำมาประกอบอาหารทั้งคาวและหวาน ทำเป็นขนมหรือใช้ต้มรับประทาน หรือนำไปผัดหรือใช้ยำก็ได้เช่นกัน หัวแก่นตะวันสามารถนำมาใช้เป็นอาหารแทนมันฝรั่งได้ เพราะมีเนื้อสัมผัสเช่นเดียวกัน เพียงแต่ว่ามีรสหวานกว่า จึงเหมาะสำหรับใส่ในสลัดผักต่างๆ หัวแก่นตะวันสามารถนำมาเป็นผง คือเอาหัวมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ นำมาตากแดดให้แห้งแล้วอบ เมื่ออบเสร็จก็นำมาป่นเป็นผงเล็กๆ ซึ่งผลดังกล่าวสามารถนำไปผสมกับแป้งต่างๆ เป็นผลิตภัณฑ์ได้ เช่น ขนมปัง คุกกี้ เป็นต้น จะช่วยให้มีรสชาติที่ดีและมีกลิ่นหอม แฝมยังคงปริมาณของอินนูลินไว้ได้อีกด้วย มีการนำหัวแก่นตะวันมาสกัดเอาสารอินนูลิน ใช้ผสมในผลิตภัณฑ์นมผงเด็ก โดยจะมีสารอินนูลินผสมอยู่ด้วยราว 1-2% ซึ่งหลายๆ คนอาจจะไม่ได้สังเกต หัวแก่นตะวัน ใช้เป็นวัตถุดิบในการแปรรูปเป็นสุราและเอทานอลได้ ซึ่งในประเทศเยอรมัน รัฐบาลเดิน-เวือร์ทเทมแบร์ก จะมีการใช้หัวแก่นตะวันในการผลิตสุรากันมากกว่า 90% ซึ่งสุราชนิดนี้ก็คือ Topi หรือ Rossler ลำต้นแก่นตะวัน ก็สามารถนำไปหมักทำเป็นเอทานอลได้เหมือนกัน ลำต้นและใบของแก่นตะวัน สามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ และยังมีสารอาหารที่ช่วยในการย่อยได้หมดมากกว่าถั่วอัลฟัลฟา (แต่จะมีโปรตีนน้อยกว่า) หัวใช้เป็นอาหารเสริมในสัตว์เลี้ยงได้ เพราะมีผลต่อการเจริญเติบโต ทำให้สัตว์เลี้ยงมีสุขภาพแข็งแรง ช่วยลดจุลินทรีย์ที่เป็นโทษในระบบทางเดินอาหาร ช่วยลดกลิ่นเหม็นของมูลสัตว์ ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้สัตว์เลี้ยง จึงช่วยลดการใช้ยาปฏิชีวนะไปด้วยในตัว จึง

ถูกมีการนำมาใช้เป็นสมุนไพรของสัตว์เลี้ยง การเสริมสารสกัดอินนูลินลงไปในการอาหารของสัตว์ เช่น สุนัข สุกร ไก่ จะช่วยปริมาณของแอมโมเนียในระบบทางเดินอาหารและในสิ่งขับถ่ายได้ จึงช่วยให้ลดปริมาณของสารที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นในสิ่งขับถ่าย ทำให้กลิ่นเหม็นของอุจจาระลดลงอย่างมากจนถึงไม่มีกลิ่นเลยในเชิงอุตสาหกรรม มีการใช้หัวแก่้นตะวันมาเป็นวัตถุดิบในการสกัดเป็นน้ำตาลอินนูลิน (Inulin) เพราะสามารถพบได้ในพืชชนิดนี้มากถึง 16-39% และยังมีการใช้อินนูลินเพื่อผลิตเป็นน้ำตาลเชื่อมฟรุคโตสเข้มข้น หรือสารให้ความหวานในอุตสาหกรรมอาหาร แก่นตะวันเป็นพืชที่ให้พลังงานสูง หัวสด 1 ตันสามารถใช้ผลิตเป็นเอทานอลบริสุทธิ์ 99.5% ได้มากถึง 100 ลิตร สามารถใช้เป็นพลังงานทดแทนด้วยการนำไปใช้ผสมกับน้ำมันเบนซิน ใช้ผลิตแก๊สโซฮอล์ได้อีกด้วย แก่นตะวันเป็นพืชเศรษฐกิจที่กำลังได้รับความนิยม เพราะสามารถนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลากหลาย ผลิตภัณฑ์แก่นตะวัน เช่น แก่นตะวันแบบบรรจุถุง แก่นตะวันบดผง แก่นตะวันอบแห้ง ชาแก่นตะวัน วุ้นแก่นตะวัน แคนป์ชูล สบู่แก่นตะวัน เป็นต้น



ภาพ 2.3 ลักษณะของแก่นตะวัน

หัวแก่นตะวัน คุณค่าทางโภชนาการของแก่นตะวันดิบ ต่อ 100 กรัม พลังงาน 73 กิโลแคลอรี ดอกแก่นตะวัน คาร์โบไฮเดรต 17.44 กรัม น้ำตาล 9.6 กรัม เส้นใย 1.6 กรัม ไขมัน 0.01 กรัม โปรตีน 2 กรัม วิตามินบี1 0.2 มิลลิกรัม 17% วิตามินบี2 0.06 มิลลิกรัม 5% วิตามินบี3 1.3 มิลลิกรัม 9% วิตามินบี5 0.397 มิลลิกรัม 8% วิตามินบี6 0.077 มิลลิกรัม 6% วิตามินบี9 13 ไมโครกรัม 3% วิตามินซี 4 มิลลิกรัม 5% ธาตุแคลเซียม 14 มิลลิกรัม 1% ธาตุเหล็ก 3.4 มิลลิกรัม 26% ธาตุแมกนีเซียม 17 มิลลิกรัม 5% ธาตุฟอสฟอรัส 78 มิลลิกรัม 11% ธาตุโพแทสเซียม 429 มิลลิกรัม 9% ร้อยละของปริมาณแนะนำที่ร่างกายต้องการในแต่ละวันสำหรับผู้ใหญ่ (ข้อมูลจาก : USDA Nutrient database)

วิธีกินแก่นตะวัน แก่นตะวันสามารถรับประทานได้ทั้งแบบปอกเปลือกและไม่ปอกเปลือก แต่การรับประทานทั้งเปลือกก็ควรล้างให้สะอาดก่อน เนื่องจากมีแมงเอยะอาจจะเสียดินติดอยู่ หรือจะแช่น้ำไว้สักพักเพื่อให้ดินอ่อนตัวก่อนนำมาล้างก็ได้ ถ้าจะให้ดีก็ใช้แปรงสีฟันเล็กๆ นำมาขัดอีกรอบเพื่อความสะอาด สำหรับวิธีการปอกเปลือกแก่นตะวัน ก็ใช้วิธีเดียวกันกับการปอกเปลือกมะม่วง โดยใช้มีดสองคมขนาดเล็ก (ตามสีส้มที่เราคุ้นเคยกันดี) ในการปอกเปลือก ถ้ามีแรงก็ให้ใช้มีดตัดออกมาก่อนแล้วค่อยปอก สำหรับผู้ที่ยังไม่เคยรับประทาน ควรรับประทานในปริมาณที่ไม่มากก่อนในช่วงแรก หรือทานสดครึ่งละ 1 ชีด เพื่อให้ร่างกายได้ปรับสภาพก่อน สำหรับการเก็บรักษา สำหรับแก่นตะวันแบบปอกเปลือก ก็ให้เก็บไว้ในกล่องพลาสติกที่ปิดฝาปิดชิดไม่ให้อากาศเข้า หรือจะใส่ถึงซิป กล่องพลาสติกก็ได้ แล้วนำไปแช่ในตู้เย็นช่องธรรมดา ก็จะช่วยให้คงความสดและไม่ทำให้เหี่ยวเร็ว แก่นตะวันที่ไม่ปอกเปลือก สามารถเก็บไว้ในตู้เย็นได้นานถึง 10 สัปดาห์ หรือมากกว่าถ้าไม่มีเชื้อรา แต่หากเก็บไว้นานสีอาจจะเปลี่ยนหรือเหี่ยวทำให้ดูไม่น่ารับประทาน ยิ่งเก็บไว้นานคุณภาพก็ยิ่งน้อยลง การรับประทานแบบสดใหม่จึงเป็นทางเลือกที่ดีที่สุด

การใช้หัวแค้นตะวันในการประกอบอาหาร อาจพบว่าสีของหัวเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีน้ำตาล สาเหตุอาจมาจากการปอกเปลือกทิ้งไว้นาน ดังนั้นเมื่อปอกเปลือกหรือหั่นเสร็จแล้วให้เก็บแช่ทิ้งไว้ในน้ำเปล่าก่อนที่ จะนำไปประกอบอาหารจะช่วยป้องกันปัญหาดังกล่าวได้

กระเทียม ชื่อสามัญ Garlic กระเทียม ชื่อวิทยาศาสตร์ คือคำว่า *Allium sativum* Linn. จัดอยู่ในวงศ์ AMARYLLIDACEAE และอยู่ในวงศ์ย่อย ALLIOIDEAE เช่นเดียวกับกุยช่าย พลับพลึงขาว พลับพลึงแดง พลับพลึงตีนเป็ด ว่านสีทศ หอมแดง และหอมใหญ่ สำหรับในประเทศไทยนิยมปลูกมากในทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ประโยชน์ของกระเทียม ประโยชน์หลักๆ ของกระเทียมคงหนีไม่พ้นการนำมาใช้เพื่อช่วยปรุงรสชาติของอาหาร ไม่ว่าจะใช้ผัด แกง ทอด ยำ ต้มยำ หรือน้ำพริกต่างๆ อีกสารพัด กระเทียมเป็นเครื่องสมุนไพรที่อุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุหลายชนิด และยังเป็นพืชที่ธาตุซีลีเนียมสูงกว่าพืชชนิดอื่นๆ อีกทั้งยังมีสารอะดีโนซีน (Adenosine) ซึ่งเป็นกรดนิวคลีอิกที่เป็นตัวสร้าง DNA และ RNA ของเซลล์ในร่างกาย นอกจากนี้ยังมีการนำกระเทียมไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ อย่างหลากหลาย เช่น กระเทียมเสริมอาหาร กระเทียมสกัดผง สารสกัดน้ำมันกระเทียม กระเทียมดอง เป็นต้น คุณค่าทางโภชนาการของกระเทียมดิบ ต่อ 100 กรัม พลังงาน 149 กิโลแคลอรี คาร์โบไฮเดรต 33.06 กรัม น้ำตาล 1 กรัม เส้นใยอาหาร 2.1 กรัม ไขมัน 0.5 กรัม โปรตีน 6.36 กรัม วิตามินบี1 0.2 มิลลิกรัม 17% วิตามินบี2 0.11 มิลลิกรัม 9% วิตามินบี3 0.7 มิลลิกรัม 5% วิตามินบี5 0.596 มิลลิกรัม 12% วิตามินบี6 1.235 มิลลิกรัม 95% วิตามินบี9 3 ไมโครกรัม 1% วิตามินซี 31.2 มิลลิกรัม 38% ธาตุแคลเซียม 181 มิลลิกรัม 18% ธาตุเหล็ก 1.7 มิลลิกรัม 13% ธาตุแมกนีเซียม 25 มิลลิกรัม 7% ธาตุแมงกานีส 1.672 มิลลิกรัม 80% ธาตุฟอสฟอรัส 153 มิลลิกรัม 22% ธาตุโพแทสเซียม 401 มิลลิกรัม 9% ธาตุสังกะสี 1.16 มิลลิกรัม 12% ธาตุซีลีเนียม 14.2 ไมโครกรัม % ร้อยละของปริมาณแนะนำที่ร่างกายต้องการในแต่ละวันสำหรับผู้ใหญ่ (แหล่งที่มา : USDA Nutrient database)



ภาพ 2.4 กระเทียม

หอมแดง ภาษาอังกฤษ Shallot มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Allium cepa* linn .cv group Aggregatum จัดอยู่ในวงศ์ AMARYLLIDACEAE เช่นเดียวกับหอมใหญ่ กระเทียม กุยช่าย พลับพลึงขาว พลับพลึงแดง พลับพลึงตีนเป็ด และว่านสีทศ หอมแดง จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งประเทศไทยมีการปลูกมากทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือและทางภาคเหนือ และหอมแดงที่ขึ้นชื่อว่าเป็นหอมแดงคุณภาพดีก็ได้แก่หอมแดงจากจังหวัด ศรีสะเกษ

คุณค่าทางโภชนาการของหอมแดงดิบต่อ 100 กรัม หอมแดงพลังงาน 72 กิโลแคลอรี คาร์โบไฮเดรต 16.8 กรัม น้ำตาล 7.87 กรัม เส้นใย 3.2 กรัม ไขมัน 0.1 กรัม โปรตีน 2.5 กรัม วิตามินบี1 0.06 มิลลิกรัม 5% วิตามินบี2 0.02 มิลลิกรัม 2% วิตามินบี3 0.2 มิลลิกรัม 1% วิตามินบี5 0.29 มิลลิกรัม 6% วิตามินบี6 0.345 มิลลิกรัม 27% วิตามินบี9 34 ไมโครกรัม 9% วิตามินซี 8 มิลลิกรัม 10% ธาตุแคลเซียม 37 มิลลิกรัม 4% ธาตุเหล็ก 1.2 มิลลิกรัม 9% ธาตุแมกนีเซียม 21 มิลลิกรัม 6% ธาตุแมงกานีส 0.292 มิลลิกรัม 14% ธาตุฟอสฟอรัส 60 มิลลิกรัม 9% ธาตุโพแทสเซียม 334 มิลลิกรัม 7% ธาตุสังกะสี 0.4 มิลลิกรัม 4% ร้อยละของปริมาณแนะนำที่ร่างกายต้องการในแต่ละวันสำหรับผู้ใหญ่ (ข้อมูลจาก : USDA Nutrient database) หัวหอมแดง มีสารเคมีและสารอาหารมากมาย เช่น ไดอัลลิล ไตรซัลไฟด์ (เช่นเดียวกับที่ได้ใน กระเทียม) และยังมีฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ เพคติน ลูโคคินิน ซึ่งสารต่างๆเหล่านี้มีคุณสมบัติในการช่วยยับยั้งแบคทีเรีย ลดไขมันในเส้นเลือด และในหัวหอมยังมีน้ำมันหอมระเหย ซึ่งประกอบไปด้วยสารกำมะถันและแร่ธาตุอื่นๆ ไม่ว่าจะเป็นธาตุเหล็ก แคลเซียม และฟอสฟอรัส



ภาพ 2.5 หอมแดง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุจินต์ อังกราวีรุทธ์ (2548) ได้รายงานว่าการสกัดจากหอมแดงส่งผลให้อัตราการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* เพิ่มขึ้น

Wilhelm and Ulrich (2001 : 109-116) รายงานว่าระหว่าง 2-3 ทศวรรษที่ผ่านมา ได้มีการหันมาใส่ใจสุขภาพ โดยเน้นไปที่จุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ในลำไส้ ซึ่งเรียกว่า Probiotics โดย 65 เปอร์เซ็นต์ของตลาดอาหารโลกจะมี Probiotics อยู่ และกำลังขยายตลาดให้ใหญ่ขึ้น มีปริมาณโดยรวมมากกว่า US\$ 75 billion โดยส่วนประกอบที่สำคัญในผลิตภัณฑ์ Probiotics คือ พวก Lactic acid bacteria รวมทั้ง Bifidobacteria, Lactobacilli และ Enterococci ซึ่งสุขภาพของเรามีความสัมพันธ์กับ Probiotics มากมาย แต่ถือว่าการรักษาสุขภาพของลำไส้ธรรมดา และปกป้องต่อต้านผู้บุกรุกเข้ามาบรรเทาการขาด Lactose และช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน

Gibson และคณะ ได้ทำการศึกษา ผลของโอลิโกฟรุคโตสที่ได้จากหัวชิคอรี่ (ChiFos) จากการศึกษาพบว่า ChiFos สามารถทำให้เชื้อ *Bifidobacterium* เพิ่มจำนวนได้ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ ของจุลินทรีย์ทั้งหมด และยังพบอีกว่าจำนวนอุจจาระมีจำนวนเพิ่มขึ้นหลังได้รับ ChiFos ในปริมาณที่มากขึ้น 1-2 กรัม นอกจากนี้ ChiFos ยังช่วยให้ร่างกายดูดซับแคลเซียมและเหล็กได้อย่างเต็มที่ ทำให้ลดการเกิดโรคกระดูกพรุน ช่วยลดการสะสมของไขมันที่ตับ รวมทั้งลดการสร้างกรดไขมันที่ตับด้วย

Cummings และคณะ (2001:415s-420s) ได้ทำการศึกษากการย่อยสารพรีไบโอติกด้วยเอนไซม์ในลำไส้เล็กและเอนไซม์ในตับอ่อน อีกทั้งยังได้ทำการศึกษากการหมักสารพรีไบโอติกโดยแบคทีเรียในลำไส้ซึ่งสารพรีไบโอติกที่ได้ทำการศึกษาในครั้งนี้คือ อินูลินและโอลิโกฟรุคโตส จากการศึกษาพบว่าทั้งอินูลินและโอลิโกฟรุคโตสไม่สามารถย่อยด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารแต่จะถูกหมักด้วยแบคทีเรียที่สำคัญในลำไส้ใหญ่ได้แก่ Bifidobacteria และ Lactobacilli ส่งผลทำให้แบคทีเรียดังกล่าวเจริญได้ดีขึ้นและผลิตภัณฑ์สำคัญได้จากการหมักคือ กรดไขมันสายสั้นๆ (Short Chain Fatty Acid) ได้แก่ Acetate, Propionate และ Butyrate

ศวพ.
มทร.สุวรรณภูมิ

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุุดิบ

- เห็ดเข็มทอง
- แก่นตะวัน
- กระเทียม
- หอมแดง
- ข้าวกล็อง
- เกลือ

3.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

- แบคทีเรียก่อโรคแกรมบวกและแกรมลบ จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (TISTR) ดังนี้

- *Bacillus subtilis* TISTR 008
- *Bacillus cereus* ATCC11778
- *Staphylococcus aureus* TISTR029
- *Escherichia coli* TISTR 887
- *Pseudomonas aeruginosa* TISTR1467
- *Salmonella typhimurium* TISTR 292

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

- MRS medium (Difco)
- Nutrient broth (NB) (Himedia)
- Potato Dextrose Agar (PDA) (Himedia)
- Plate count Agar (PCA) (Himedia)
- Brain Heart Infusion (BHI) medium (Himedia)
- Brilliant Green Lactose Bile broth (Himedia)
- Eosine Methylene Blue Agar (EMB) (Himedia)
- Salmonella shigella agar (Himedia)
- Tryptic soy broth (TSB) (Himedia)
- Buffered peptone water (BPW) (Difco)
- Ethanol

3.4 วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือในการผลิต วิเคราะห์

- ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
- จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Burner)

- กระบอกตวง (Cylinder)
- Beaker
- แท่งแก้ว
- ขวด blue top
- เครื่องวัดค่าความหนืด (Viscometer, Brookfield)
- เครื่องวัดค่าสี (Lovibond)
- เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Hand Refractometer)
- UV-Visible Spectrophotometer
- Microwave
- Laminar Air Flow
- Incubator
- Autoclave
- Centrifuge
- pH meter
- Blender
- Hot air oven
- Refrigerator

3.5 ขั้นตอนดำเนินการวิจัย

3.5.1 การคัดแยกแลคติกแอซิดแบคทีเรียจากตัวอย่างเนนมืด

การคัดแยกแลคติกแอซิดแบคทีเรียจากอาหารหมัก โดยมีวิธีการดังนี้ ซึ่งตัวอย่างอาหารหมัก 25 กรัม ละลายด้วยสารละลาย buffered peptone water ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ นำไปตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 1 นาที ทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม จากนั้นดูดตัวอย่างใส่จานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ที่ผสมแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) และ Bromocresol purple โดยวิธี spread plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีลักษณะแตกต่างกันมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Cross streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นได้แก่ การย้อมสีแกรมดูลักษณะรูปร่างของเซลล์ และทดสอบการสร้างเอนไซม์อะมิลเลส เพื่อให้ได้จุลินทรีย์ในกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรีย จากนั้นนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียเก็บรักษาไว้ในอาหาร MRS broth ที่มีกลีเซอรอล 30 เปอร์เซ็นต์ ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส

การย้อมแกรม ทำการเลี้ยงตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียลงในอาหาร MRS broth บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง นำลูปที่ผ่านการฆ่าเชื้อเข้าโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียเกลี่ย (smear) ลงบนแผ่นกระจกสไลด์ ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วตรึงให้เชื้อแบคทีเรียติดแน่นบนแผ่นกระจกสไลด์ด้วยความร้อน นำไปย้อมแกรม โดยหยดสี Crystal violet ให้ทั่วมรอยจุลินทรีย์เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นล้างน้ำ แล้วหยด Gram's iodine ให้ทั่วมรอยจุลินทรีย์เป็นเวลา 1 นาที ล้างด้วยน้ำ แล้วล้างสีออกด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลาประมาณ 10 วินาที ล้างน้ำแล้วย้อมทับด้วย Safranin เป็นเวลา 1 นาที ล้างน้ำ จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้ง นำไปตรวจสอบการย้อมการติดสีแกรม สังเกตลักษณะรูปร่าง และการจัดเรียงตัวของ

เซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่มีกำลังขยาย 100x โดยแลคติกแอซิดแบคทีเรียจะติดสีแกรมบวก มีรูปร่างทั้งกลมและท่อน

การทดสอบการสร้างเอนไซม์อะมิลเลส ทำการตรวจสอบการสร้างเอนไซม์อะมิลเลส โดยนำตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียเลี้ยงในอาหาร MRS agar บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นใช้ลูปที่ผ่านการฆ่าเชื้อเขี่ยโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียลงบนกระดาษกรองที่หยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ตรวจสอบผลการทดสอบโดยการสังเกตฟองแก๊สที่เกิดขึ้น ถ้าเป็นเชื้อในกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรียจะไม่มีฟองแก๊สเกิดขึ้น แสดงว่าเชื้อไม่สร้างเอนไซม์อะมิลเลส

3.5.2 การคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับผลิตนมเห็ด

นำแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาคัดเลือกชนิดที่เหมาะสมสำหรับการหมัก โดยดูจากความสามารถในการผลิตกรดได้สูงสุด โดยเลี้ยงแลคติกแอซิดแบคทีเรียในอาหาร MRS broth เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดค่า pH เพื่อหาแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่สร้างกรดได้ดีที่สุด

3.5.3 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากนมเห็ด

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากนมเห็ด แบคทีเรียที่นำมาทดสอบมีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ โดยแบคทีเรียที่นำมาทดสอบมีดังนี้ แบคทีเรียแกรมบวกได้แก่ *Bacillus subtilis* TISTR 008, *Bacillus cereus* ATCC11778, *Staphylococcus aureus* TISTR029 แบคทีเรียแกรมลบที่นำมาทดสอบได้แก่ *Escherichia coli* TISTR 887, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR1467, *Salmonella typhimurium* TISTR 292 ทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี swab-paper disc โดยนำเชื้อแบคทีเรียก่อโรคมาย้ายในอาหาร Nutrient broth (NB) จากนั้นนำเชื้อไปป้ายบนผิวหน้าของอาหารแข็งชนิดเดียวกันกับที่ใช้เพาะเลี้ยงแบคทีเรียนั้น เชื้อก่อโรคใช้อาหาร NA จากนั้นหยด supernatant ของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ลงบนแผ่น paper disc ปราศจากเชื้อที่วางอยู่บนผิวหน้าของอาหาร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการวัดการยับยั้งโดยดูจากบริเวณวงใส (clear zone) ที่เกิดขึ้น

การเตรียม supernatant ทำได้โดยเลี้ยงแลคติกแอซิดแบคทีเรียในอาหาร MRS broth ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.5.4 การเทียบเคียงชนิดแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้

นำแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่คัดแยกได้ มาศึกษาคุณสมบัติและลักษณะต่างๆ เพื่อเทียบเคียงชนิดของแบคทีเรีย โดยการดูการย้อมติดสีแกรม ส่องใต้กล้องจุลทรรศน์รูปร่างเซลล์ การจัดเรียงตัวของเซลล์ การสร้างก๊าซจากกระบวนการหมักน้ำตาลกลูโคส ทดสอบการสร้างเอนไซม์อะมิลเลส การทดสอบ O-F glucose เพื่อตรวจสอบการหมักกลูโคสได้กรดแลคติก การเจริญที่อุณหภูมิ 10, 15 และ 45 องศาเซลเซียส ตรวจสอบความสามารถในการเจริญที่ pH 4.4, 5.7 และ 9.6 การเจริญในอาหารที่มีส่วนผสมของ NaCl 6.5 เปอร์เซ็นต์ และ 18 เปอร์เซ็นต์ ทดสอบ arginine hydrolysis นำผลที่ได้ไปเทียบเคียงชนิดของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียตาม Bergey's Manual Determinative Bacteriology Edition 9th (Holt et al., 1994)

3.5.5 การผลิตแหนมเห็ดเข็มทอง

การเตรียมวัตถุดิบ ได้แก่ แก่นตะวัน กระเทียม หอมแดง นำมาปอกเปลือก ล้างให้สะอาด จากนั้นนำมาปั่นหรือตำให้ละเอียด

การเตรียมหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียทำได้โดยนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ผ่านการคัดเลือกมาใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตแหนมเห็ด โดยเลี้ยงในอาหาร MRS broth จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง

การเตรียมเห็ดเข็มทอง นำเห็ดเข็มทองมาล้างเอาสิ่งสกปรกออกให้สะอาด ฉีกเห็ดออกเป็นเส้นตามยาว จากนั้นนำไปนึ่งให้สุก จากนั้นทำให้เย็นลง บีบน้ำออกจากเห็ดด้วยผ้าขาวบางเพื่อให้ปริมาณความชื้นของเห็ดลดลง เติมส่วนผสมดังตาราง 3.1

ตาราง 3.1 ส่วนผสมในการทำผลิตภัณฑ์แหนมเห็ด

ส่วนผสม/ สูตร	เห็ดเข็มทอง	กระเทียม	หอมแดง	แก่นตะวัน	ข้าวกล้องงอก	เกลือ
สูตร 1	100	5	-	-	1	3
สูตร 2	100	-	5	-	1	3
สูตร 3	100	-	-	5	1	3
สูตร 4	100	5	5	5	1	3
สูตร 5	100	-	-	-	1	3

ผสมทุกอย่างให้เข้ากัน นำไปห่อในถุงพลาสติก รัดด้วยหนังยางให้แน่นจนแหนมอยู่ในสภาพที่มีอากาศน้อยที่สุด จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 30, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณกรดทั้งหมด และค่า pH

การทดสอบความชอบผลิตภัณฑ์

ทำการประเมินค่าทางประสาทสัมผัสทำการทดสอบโดยให้คะแนนความชอบแบบ Hedonic 9-point scale (1=ไม่ชอบมากที่สุด ถึง 9=ชอบมากที่สุด)

ศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์

นำผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการพัฒนามาทำการวิเคราะห์คุณภาพต่างๆ ดังนี้
คุณภาพการปนเปื้อนจุลินทรีย์ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา โคลิฟอร์ม *E. coli*, *S. aureus*
คุณภาพทางเคมีและกายภาพ ได้แก่ ปริมาณกรด (Total titratable acidity), pH

3.5.6 การศึกษาการรอดชีวิตของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และอายุการเก็บรักษาในผลิตภัณฑ์

เลือกผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเสริมพรีไบโอติกที่ได้รับการยอมรับสูงสุด มาศึกษาการรอดชีวิตของของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และอายุการเก็บรักษาในผลิตภัณฑ์ โดยเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน เก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 โดยนำตัวอย่างมาวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์

3.5.7 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่ ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ทดสอบความมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P\text{-value} \leq 0.05$ โดยใช้โปรแกรม SPSS

ศวพ.
มทร.สุวรรณภูมิ

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

4.1 การคัดแยกแลคติกแอซิดแบคทีเรียจากแหนมเห็ด

เก็บตัวอย่างแหนมเห็ดจากอำเภอน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา จังหวัดพระนครศรีอยุธยา และจากจังหวัดมหาสารคาม ได้ทั้งหมด 13 ตัวอย่าง นำตัวอย่างแหนมเห็ดทั้งหมดมาแยกและคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ด้วยวิธีการเลือกโคโลนีที่เจริญบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อมาทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งจะอาศัยความแตกต่างของโคโลนีจำแนกตามขนาด รูปร่าง ลักษณะริมหรือขอบของโคโลนี ระดับความหนูน ลักษณะผิวหน้า และลักษณะที่เกี่ยวกับแสงของโคโลนี ได้ทั้งหมด 162 ไอโซเลท (ตาราง 4.1) โดยเมื่อทำการทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นได้แก่ การย้อมสีแกรม และการทดสอบคะตาเลส พบว่าโดยเฉลี่ยที่แยกได้ทั้งหมดเป็นแบคทีเรียแกรมบวกและไม่สร้างเอนไซม์คะตาเลส

โดยแลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้จากตัวอย่างแหนมเห็ด (ภาพ 4.1) เมื่อนำมาส่องดูลักษณะรูปร่าง การจัดเรียงตัว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่ามีลักษณะรูปร่างเป็นท่อน (rod) 70 ไอโซเลท (43.20 เปอร์เซ็นต์) มีทั้งท่อนยาวและท่อนสั้น และลักษณะเซลล์กลม (cocci) 92 ไอโซเลท (56.80 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งเซลล์มีขนาดเล็กและใหญ่ จัดเรียงตัวต่อกันเป็นสายโซ่สั้น และสายโซ่ยาว อยู่กันเป็นกลุ่มหรือต่อกันตั้งแต่สองเซลล์ และสี่เซลล์ หรือจับกันเป็นกลุ่ม



ภาพ 4.1 แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างแหนมเห็ด

ตาราง 4.1 รหัสเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย 162 ไอโซเลท ที่แยกได้จากแหนมเห็ด

ลำดับ	รหัสเชื้อ	จำนวนที่แยกได้ (ไอโซเลท)	แหล่งเก็บตัวอย่าง
1	A1-15	15	แหนมเห็ดบ้านสวน อยุธยา 1
2	B1-16	16	แหนมเห็ด ตลาดน้ำอโยธยา อยุธยา2
3	C1-25	25	ตลาดสระบุรี
4	D1-14	14	แหนมเห็ดเข้มใบตอง มหาสารคาม 1
5	E	-	แหนมเห็ดเข้มถุง มหาสารคาม 2
6	F1-10	10	แหนมเห็ดนางฟ้าใบตอง มหาสารคาม 3
7	G1-11	11	แหนมเห็ดนางฟ้าถุง มหาสารคาม 4
8	H1-11	11	วังน้ำเขียว 1
9	I1-16	16	วังน้ำเขียว 2
10	J1-7	7	วังน้ำเขียว 3
11	K1-10	10	วังน้ำเขียว 4
12	L1-13	13	วังน้ำเขียว 5
13	M1-14	14	วังน้ำเขียว 6
รวม		162	

4.2 การทดสอบคุณสมบัติการคัดเลือกแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับผลิตแหนมเห็ด

นำแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาคัดเลือกชนิดที่เหมาะสมสำหรับการหมัก โดยดูจากความสามารถในการผลิตกรดได้สูงสุด โดยเลี้ยงแลคติกแอสิดแบคทีเรียในอาหาร MRS broth เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดค่า pH เพื่อหาแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่สร้างกรดได้ดีที่สุด พบว่าแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่คัดแยกได้ผลิตกรดเมื่อเลี้ยงในอาหาร MRS อยู่ระหว่าง pH 5.39-6.11 โดยพบว่าไอโซเลท L3 และ C4 มีค่า pH ต่ำสุดคือ 5.39 และ 5.42 ตามลำดับ จึงเลือกเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลทเป็นหัวเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรียในการผลิตแหนมเห็ดต่อไป

ในประเทศไทยได้มีการศึกษาการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นสายพันธุ์เดียว (Single starter culture) เช่น *Lactobacillus* spp. หรือ *Pediococcus* spp. ในการหมักผลิตภัณฑ์แหนม ซึ่งพบว่า การใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโทษได้ แต่คุณภาพในด้านารยอมรับรวมของผู้บริโภคยังไม่ดีพอ ดังนั้นจึงมีการใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อ *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus cerevisiae* และ *Micrococcus varians* ในการหมักแหนม ซึ่งพบว่าสามารถปรับปรุงคุณภาพแหนม ทำให้การผลิตกรดเป็นไปได้อย่างดี ซึ่งมีผลทำให้คุณภาพของแหนมในด้านเนื้อสัมผัส (firmness) และสีดีมาก ตลอดจนผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีความปลอดภัยสูง และยังทำให้แหนมมีอายุการเก็บที่ยาวนานขึ้นกว่าเดิม (ไพโรจน์, 2534)

ตาราง 4.2 คุณลักษณะและคุณสมบัติของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างนมเห็ด

ลำดับ	รหัสเชื้อ LAB	แหล่งแยกเชื้อ	รูปร่าง	การติดสี แกรม	Catalase test	pH (หลังจากบ่ม12 ชม.)
1	A1	อายุรยา 1	cocci	+	-	5.81
2	A2	อายุรยา 1	cocci	+	-	5.58
3	A3	อายุรยา 1	cocci	+	-	5.86
4	A4	อายุรยา 1	rod	+	-	5.96
5	A5	อายุรยา 1	rod	+	-	5.72
6	A6	อายุรยา 1	rod	+	-	5.52
7	A7	อายุรยา 1	cocci	+	-	5.60
8	A8	อายุรยา 1	cocci	+	-	5.63
9	A9	อายุรยา 1	rod	+	-	5.58
10	A10	อายุรยา 1	rod	+	-	5.59
11	A11	อายุรยา 1	rod	+	-	5.55
12	A12	อายุรยา 1	cocci	+	-	5.66
13	A13	อายุรยา 1	cocci	+	-	5.65
14	A14	อายุรยา 1	cocci	+	-	5.72
15	A15	อายุรยา 1	cocci	+	-	5.68
16	B1	อายุรยา2	cocci	+	-	5.56
17	B2	อายุรยา2	cocci	+	-	5.61
18	B3	อายุรยา2	rod	+	-	5.84
19	B4	อายุรยา2	cocci	+	-	5.74
20	B5	อายุรยา2	cocci	+	-	5.73
21	B6	อายุรยา2	rod	+	-	5.78
22	B7	อายุรยา2	rod	+	-	5.82
23	B8	อายุรยา2	cocci	+	-	5.79
24	B9	อายุรยา2	cocci	+	-	5.69
25	B10	อายุรยา2	cocci	+	-	5.67
26	B11	อายุรยา2	cocci	+	-	5.68
27	B12	อายุรยา2	rod	+	-	5.82
28	B13	อายุรยา2	cocci	+	-	5.69

ตาราง 4.2 คุณลักษณะและคุณสมบัติของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างนมเห็ด (ต่อ)

ลำดับ	รหัสเชื้อ LAB	แหล่งแยกเชื้อ	รูปร่าง	การติด สีแกรม	Catalase test	pH (หลังจากบ่ม 12 ชม.)
29	B14	อยุธยา 2	cocci	+	-	5.71
30	B15	อยุธยา 2	rod	+	-	5.85
31	B16	อยุธยา 2	cocci	+	-	5.71
32	C1	สระบุรี	cocci	+	-	5.72
33	C2	สระบุรี	cocci	+	-	5.68
34	C3	สระบุรี	cocci	+	-	5.66
35	C4	สระบุรี	rod	+	-	5.42
36	C5	สระบุรี	rod	+	-	5.56
37	C6	สระบุรี	rod	+	-	5.68
38	C7	สระบุรี	cocci	+	-	5.62
39	C8	สระบุรี	rod	+	-	5.64
40	C9	สระบุรี	rod	+	-	5.66
41	C10	สระบุรี	cocci	+	-	5.58
42	C11	สระบุรี	cocci	+	-	5.62
43	C12	สระบุรี	rod	+	-	5.71
44	C13	สระบุรี	rod	+	-	5.72
45	C14	สระบุรี	rod	+	-	5.72
46	C15	สระบุรี	cocci	+	-	5.62
47	C16	สระบุรี	rod	+	-	5.70
48	C17	สระบุรี	cocci	+	-	5.65
49	C18	สระบุรี	cocci	+	-	5.66
50	C19	สระบุรี	cocci	+	-	5.65
51	C20	สระบุรี	rod	+	-	5.84
52	C21	สระบุรี	rod	+	-	5.82
53	C22	สระบุรี	cocci	+	-	5.69
54	C23	สระบุรี	cocci	+	-	5.71
55	C24	สระบุรี	cocci	+	-	5.68
56	C25	สระบุรี	rod	+	-	5.69
57	D1	มหาสารคาม 1	cocci	+	-	5.61

ตาราง 4.2 คุณลักษณะและคุณสมบัติของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างนมเห็ด (ต่อ)

ลำดับ	รหัสเชื้อ LAB	แหล่งแยกเชื้อ	รูปร่าง	การติด สีแกรม	Catalase test	pH (หลังจากบ่ม 12 ชม.)
58	D2	มหาสารคาม 1	cocci	+	-	5.62
59	D3	มหาสารคาม 1	rod	+	-	5.69
60	D4	มหาสารคาม 1	rod	+	-	5.72
61	D5	มหาสารคาม 1	rod	+	-	5.71
62	D6	มหาสารคาม 1	cocci	+	-	5.61
63	D7	มหาสารคาม 1	cocci	+	-	5.63
64	D8	มหาสารคาม 1	rod	+	-	5.64
65	D9	มหาสารคาม 1	rod	+	-	5.72
66	D10	มหาสารคาม 1	cocci	+	-	5.63
67	D11	มหาสารคาม 1	rod	+	-	5.68
68	D12	มหาสารคาม 1	cocci	+	-	5.71
69	D13	มหาสารคาม 1	rod	+	-	5.65
70	D14	มหาสารคาม 1	rod	+	-	5.66
71	F1	มหาสารคาม 3	rod	+	-	5.62
72	F2	มหาสารคาม 3	cocci	+	-	5.84
73	F3	มหาสารคาม 3	cocci	+	-	5.72
74	F4	มหาสารคาม 3	rod	+	-	5.91
75	F5	มหาสารคาม 3	rod	+	-	5.68
76	F6	มหาสารคาม 3	rod	+	-	5.85
77	F7	มหาสารคาม 3	cocci	+	-	5.69
78	F8	มหาสารคาม 3	cocci	+	-	5.71
79	F9	มหาสารคาม 3	cocci	+	-	5.68
80	F10	มหาสารคาม 3	cocci	+	-	5.69
81	G1	มหาสารคาม 4	cocci	+	-	5.84
82	G2	มหาสารคาม 4	cocci	+	-	5.88
83	G3	มหาสารคาม 4	cocci	+	-	5.81
84	G4	มหาสารคาม 4	rod	+	-	5.92
85	G5	มหาสารคาม 4	rod	+	-	5.91
86	G6	มหาสารคาม 4	rod	+	-	5.86

ตาราง 4.2 คุณลักษณะและคุณสมบัติของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างนมเห็ด (ต่อ)

ลำดับ	รหัสเชื้อ LAB	แหล่งแยกเชื้อ	รูปร่าง	การติด สีแกรม	Catalase test	pH (หลังจากบ่ม 12 ชม.)
87	G7	มหาสารคาม 4	cocci	+	-	5.68
88	G8	มหาสารคาม 4	rod	+	-	5.76
89	G9	มหาสารคาม 4	cocci	+	-	5.66
90	G10	มหาสารคาม 4	cocci	+	-	5.66
91	G11	มหาสารคาม 4	cocci	+	-	5.65
92	H1	วังน้ำเขียว 1	rod	+	-	5.78
93	H2	วังน้ำเขียว 1	rod	+	-	5.77
94	H3	วังน้ำเขียว 1	cocci	+	-	5.69
95	H4	วังน้ำเขียว 1	cocci	+	-	5.69
96	H5	วังน้ำเขียว 1	cocci	+	-	5.68
97	H6	วังน้ำเขียว 1	rod	+	-	5.76
98	H7	วังน้ำเขียว 1	cocci	+	-	5.63
99	H8	วังน้ำเขียว 1	rod	+	-	5.69
100	H9	วังน้ำเขียว 1	rod	+	-	5.68
101	H10	วังน้ำเขียว 1	cocci	+	-	5.75
102	H11	วังน้ำเขียว 1	cocci	+	-	5.92
103	I1	วังน้ำเขียว 2	cocci	+	-	5.68
104	I2	วังน้ำเขียว 2	cocci	+	-	5.88
105	I3	วังน้ำเขียว 2	rod	+	-	6.02
106	I4	วังน้ำเขียว 2	rod	+	-	6.05
107	I5	วังน้ำเขียว 2	cocci	+	-	5.78
108	I6	วังน้ำเขียว 2	cocci	+	-	5.76
109	I7	วังน้ำเขียว 2	rod	+	-	5.98
110	I8	วังน้ำเขียว 2	rod	+	-	5.89
111	I9	วังน้ำเขียว 2	cocci	+	-	5.78
112	I10	วังน้ำเขียว 2	cocci	+	-	5.77
113	I11	วังน้ำเขียว 2	rod	+	-	5.89
114	I12	วังน้ำเขียว 2	rod	+	-	5.92
115	I13	วังน้ำเขียว 2	rod	+	-	5.79

ตาราง 4.2 คุณลักษณะและคุณสมบัติของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างหมนมเห็ด (ต่อ)

ลำดับ	รหัสเชื้อ LAB	แหล่งแยกเชื้อ	รูปร่าง	การติด สีแกรม	Catalase test	pH (หลังจากบ่ม 12 ชม.)
116	I14	วังน้ำเขียว 2	cocci	+	-	5.72
117	I15	วังน้ำเขียว 2	cocci	+	-	5.82
118	I16	วังน้ำเขียว 2	cocci	+	-	5.69
119	J1	วังน้ำเขียว 3	cocci	+	-	5.75
120	J2	วังน้ำเขียว 3	cocci	+	-	5.74
121	J3	วังน้ำเขียว 3	cocci	+	-	5.72
122	J4	วังน้ำเขียว 3	rod	+	-	5.72
123	J5	วังน้ำเขียว 3	rod	+	-	5.81
124	J6	วังน้ำเขียว 3	cocci	+	-	5.75
125	J7	วังน้ำเขียว 3	cocci	+	-	5.77
126	K1	วังน้ำเขียว 4	cocci	+	-	5.69
127	K2	วังน้ำเขียว 4	cocci	+	-	5.87
128	K3	วังน้ำเขียว 4	cocci	+	-	5.76
129	K4	วังน้ำเขียว 4	rod	+	-	5.88
130	K5	วังน้ำเขียว 4	cocci	+	-	5.78
131	K6	วังน้ำเขียว 4	rod	+	-	5.78
132	K7	วังน้ำเขียว 4	rod	+	-	5.84
133	K8	วังน้ำเขียว 4	cocci	+	-	6.11
134	K9	วังน้ำเขียว 4	cocci	+	-	5.87
135	K10	วังน้ำเขียว 4	cocci	+	-	6.03
136	L1	วังน้ำเขียว 5	rod	+	-	5.89
137	L2	วังน้ำเขียว 5	rod	+	-	5.85
138	L3	วังน้ำเขียว 5	cocci	+	-	5.39
139	L4	วังน้ำเขียว 5	cocci	+	-	5.52
140	L5	วังน้ำเขียว 5	rod	+	-	5.75
141	L6	วังน้ำเขียว 5	rod	+	-	5.77
142	L7	วังน้ำเขียว 5	cocci	+	-	5.68
143	L8	วังน้ำเขียว 5	cocci	+	-	5.67
144	L9	วังน้ำเขียว 5	rod	+	-	5.71

ตาราง 4.2 คุณลักษณะและคุณสมบัติของแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างหมนมเห็ด (ต่อ)

ลำดับ	รหัสเชื้อ LAB	แหล่งแยกเชื้อ	รูปร่าง	การติดสีแกรม	Catalase test	pH (หลังจากบ่ม 12 ชม.)
145	L10	วังน้ำเขียว 5	cocci	+	-	5.63
146	L11	วังน้ำเขียว 5	cocci	+	-	5.65
147	L12	วังน้ำเขียว 5	rod	+	-	5.72
148	L13	วังน้ำเขียว 5	rod	+	-	5.69
149	M1	วังน้ำเขียว 6	rod	+	-	5.68
150	M2	วังน้ำเขียว 6	cocci	+	-	5.71
151	M3	วังน้ำเขียว 6	cocci	+	-	5.69
152	M4	วังน้ำเขียว 6	cocci	+	-	5.61
153	M5	วังน้ำเขียว 6	cocci	+	-	5.63
154	M6	วังน้ำเขียว 6	cocci	+	-	5.66
155	M7	วังน้ำเขียว 6	rod	+	-	5.69
156	M8	วังน้ำเขียว 6	rod	+	-	5.68
157	M9	วังน้ำเขียว 6	cocci	+	-	5.58
158	M10	วังน้ำเขียว 6	cocci	+	-	5.59
159	M11	วังน้ำเขียว 6	cocci	+	-	5.60
160	M12	วังน้ำเขียว 6	rod	+	-	5.68
161	M13	วังน้ำเขียว 6	rod	+	-	5.66
162	M14	วังน้ำเขียว 6	cocci	+	-	5.64

4.3 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่แยกได้จากหมนมเห็ด

เมื่อนำแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่แยกได้จากหมนมเห็ดมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus subtilis* TISTR 008, *Bacillus cereus* ATCC11778, *Staphylococcus aureus* TISTR029 แบคทีเรียแกรมลบที่นำมาทดสอบได้แก่ *Escherichia coli* TISTR 887, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR1467, *Salmonella typhimurium* TISTR 292 โดยวิธี swab-paper disc พบว่าแลคติกแอสิดแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท ได้แก่ L3 และ C4 มาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ ทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี swab-paper disc พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคทั้งหมดได้ สอดคล้องกับรายงานการศึกษาการสร้างสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยแลคติกแอสิดแบคทีเรียพบว่ามีสารที่แลคติกแอสิดแบคทีเรียสร้างขึ้นเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ นั้น มีหลายชนิดได้แก่ กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ รูเทอริน อะซิติกแอซิด ไดอะซีติล และแบคเทอริโอซิน (Rattanachaikunsopon and Phumkhachorn, 2000)

สอดคล้องกับการรายงานของ Jacobsen และคณะ (1999) กล่าวคือเชื้อทดสอบกลุ่มที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์นมในกลุ่มเชื้อ *Lactobacillus* spp. ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก พบว่า เชื้อทดสอบกลุ่มที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์นมส่วนใหญ่สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus*, *E. coli* และ *Listeria monocytogenes* ได้ดี

ไพโรจน์ (2534) กล่าวว่า การใช้เชื้อบริสุทธิ์ผสมเริ่มต้นระหว่าง *L. plantarum* และ *P. cerevisiae* จะมีผลทำให้เกิดความเหนียวแน่น (firmness) ของแหนม โดยในช่วงแรกของการหมัก *L. plantarum* จะเปลี่ยนแหล่งคาร์บอนและข้าวสาลีให้กลายเป็นกรดแลคติก ซึ่งส่งผลต่อการลดลงของ pH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อ pH ลดลงเรื่อย ๆ จะทำให้โปรตีนถูกทำลายไป (denature) และเกิดเป็นเจลขึ้น ทำให้เนื้อสัมผัสของแหนมเริ่มเหนียวขึ้น และในช่วงท้ายของการหมัก *P. cerevisiae* จะเจริญเติบโตและทำให้แหนมมีความเหนียวมากขึ้น

ตาราง 4.3 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากแหนมเห็ด

Isolates	Inhibition zone (mm.) ($\bar{x} \pm SD$)					
	<i>B. subtilis</i> TISTR 008	<i>B. cereus</i> ATCC11778	<i>S. aureus</i> TISTR029	<i>E. coli</i> TISTR 887	<i>P. aeruginosa</i> TISTR1467	<i>S. typhimurium</i> TISTR 292
L3	13.0±0.00	10.7±0.58	12.0±1.00	9.0±0.58	10.0±0.00	12.0±1.00
C4	12.0±0.00	11.0±1.00	13.0±1.00	13.0±1.00	9.0±0.00	11.0±0.00

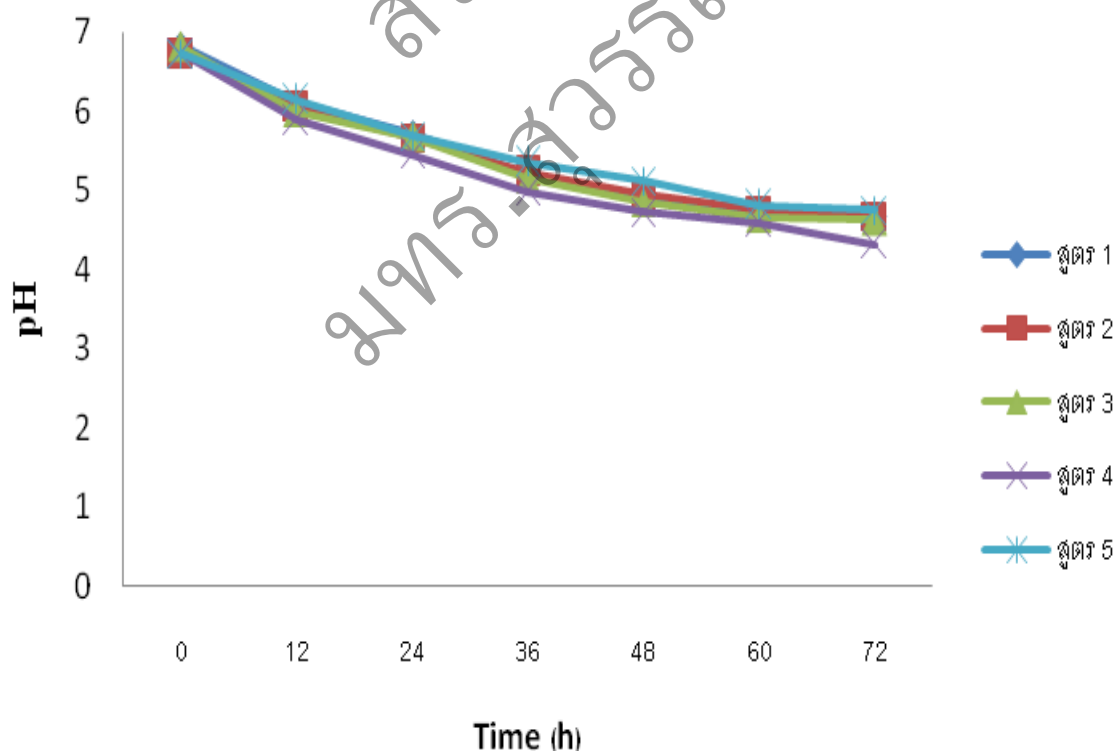
4.4 การเทียบเคียงชนิดของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากแหนมเห็ด

เมื่อนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท ได้แก่ L3 และ C4 เทียบเคียงชนิดของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียตาม Bergey's Manual Determinative Bacteriology Edition 9th (Holt et al., 1994) พบว่า ไอโซเลท L3 คือ *L. lactis* ส่วนไอโซเลท C4 คือ *L. plantarum*

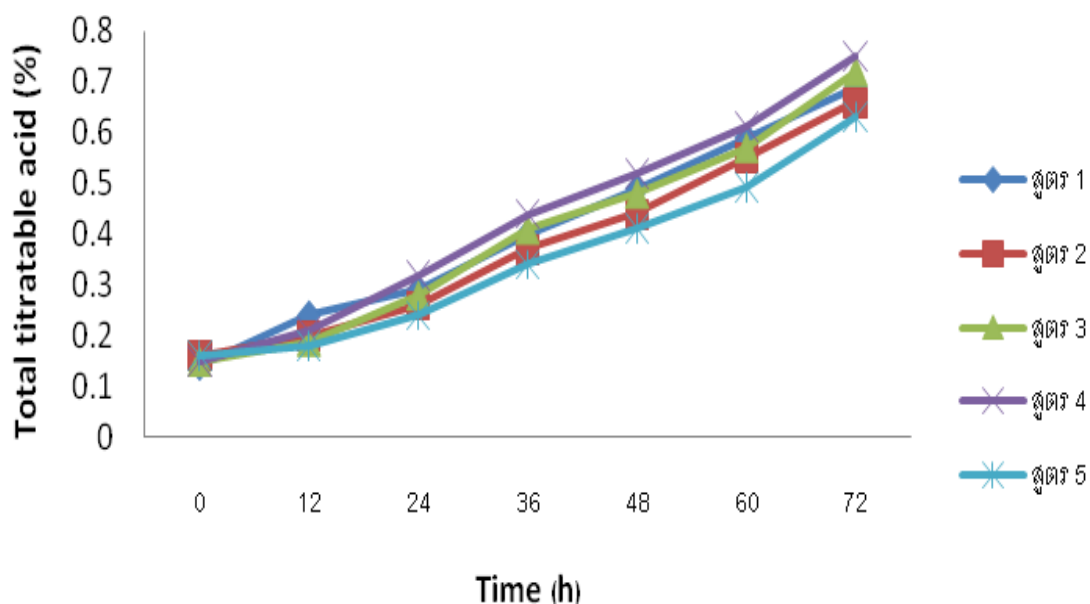
4.5 ผลการพัฒนาผลิตแหนมเห็ดเข็มทองโดยใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากแหนมเห็ด

นำแลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท L3 คือ *L. lactis* ส่วนไอโซเลท C4 คือ *L. plantarum* มาพัฒนาใช้เป็นหัวเชื้อเพื่อผลิตแหนมเห็ด จำนวน 5 สูตร โดยให้มีเชื้อเริ่มต้นมากกว่า 10^8 CFU/ml บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมงคือ ชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 48, 60 และ 72 นำมาตรวจนับปริมาณการรอดชีวิตเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และตรวจวัดปริมาณกรด ผลการทดลองแสดงในภาพ 4.2-4.4 แหนมเห็ดเข็มทองสูตร 4 ที่เติมพืชหัวทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ กระเทียม หอมแดง และแก่นตะวัน ให้ผลการผลิตกรด และปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียสูงสุด อาจจะเป็นเพราะสูตรที่ 4 มีส่วนผสมของกระเทียม หอมแดง และแก่นตะวัน ซึ่งพืชเหล่านี้มีคุณสมบัติเป็นพืชที่มีสารพรีไบโอติก ไปส่งเสริมการเจริญของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ทำให้ผลิตกรดและเจริญได้ดีกว่าสูตรอื่น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Aida et al., 2009 ได้รายงานไว้ว่าเห็ดเป็นแหล่งของสารพรีไบโอติก ได้แก่ คาร์โบไฮเดรตในกลุ่ม chitin, hemicellulose, band a-glucans, mannans, xylans and galactans ซึ่งส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติก ซึ่งในเห็ดเข็มทองจะมีสารพวก Xylose, Fructose, Mannose, Glucose, Sucrose, Trehalose นอกจากนี้ Synytsya et al. (2008) ได้พบว่าสารสกัดจากเห็ด *P. ostreatus* และ *P. eryngii* ส่งเสริมการเจริญของโปรไบโอติก *Lactobacillus* ssp. และ *Bifidobacterium* ssp.

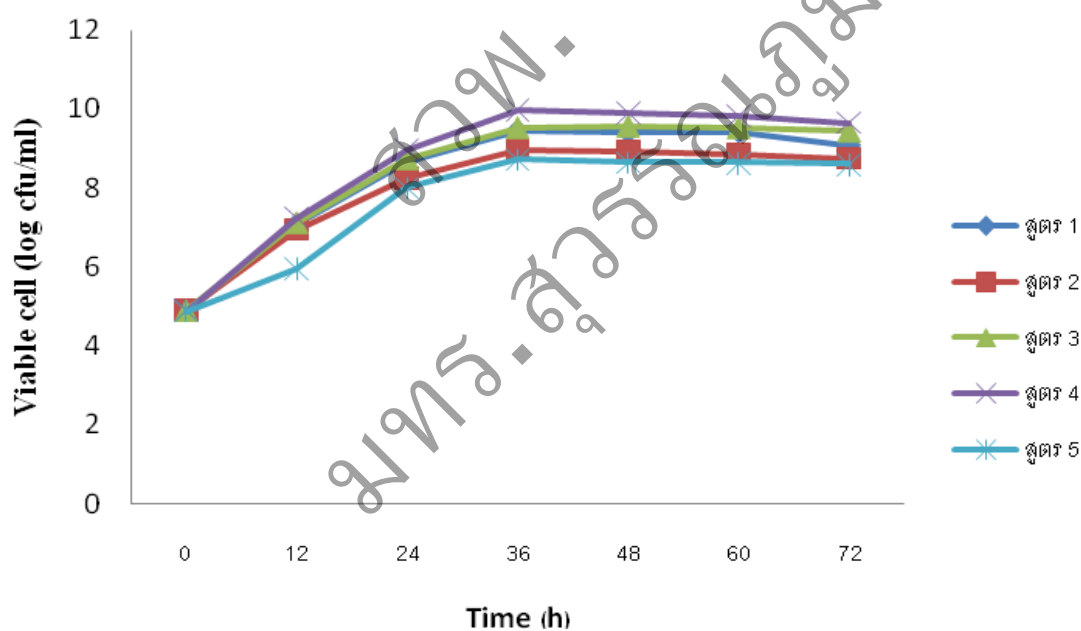
สังเกตได้ว่าจำนวนเซลล์แปรผันตรงกับผงข้าวกล้องงอกที่เติม ในขณะเดียวกันปริมาณกรดเพิ่มขึ้น ค่า pH ลดลง โดยพบว่าตัวอย่างที่เติมผงข้าวกล้องงอกเยอะที่สุด จะมีปริมาณกรดมากที่สุดและมีจำนวนเซลล์มาก เนื่องจากในการเจริญของเชื้อทำการใช้น้ำตาลเพื่อไปผลิตกรด สอดคล้องกับรายงานของ จุฑามาศ และ เฉลิมพล (2553) และ วราวุฒิ และรุ่งนภา (2532) ที่ว่าแหล่งคาร์บอนจะต้องมี สารประกอบที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย ความต้องการคาร์บอนของแบคทีเรียมีอยู่ในรูปต่างๆ กัน ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ แหล่งคาร์บอนได้จากสารอินทรีย์ เช่น โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต เป็นต้น เพื่อให้ได้พลังงานและการสังเคราะห์ของเซลล์ นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังต้องการเกลือแร่บางชนิดใน ปริมาณเล็กน้อย แต่ถ้าไม่มีจะเป็นผลเสียต่อการเจริญของจุลินทรีย์มาก เพราะเกลือแร่บางชนิดเป็นตัวเร่ง ในปฏิกิริยาทางชีวเคมีหลายอย่าง และเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ และองค์ประกอบบางอย่างของเซลล์ เกลือแร่ที่จำเป็นมากที่จะต้องอยู่ในสารอาหาร ได้แก่ ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม เพราะเป็นตัวเร่งใน ปฏิกิริยาการสร้างและถ่ายเทพลังงานสำหรับจุลินทรีย์ (จุฑามาศ, 2547) โดยที่ความต้องการเกลือแร่ของ แบคทีเรียมักไม่ทราบแน่ชัด พบแต่ว่าฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ และเหล็ก มีความสำคัญมากในการเจริญเติบโต ของแบคทีเรีย (บัญญัติ, 2526) และสินธนา (2535) และ สมใจ (2544) ได้สรุปไว้ว่า จุลินทรีย์จะใช้น้ำตาล เป็นแหล่งให้พลังงานเพิ่มปริมาณของเซลล์ และสร้างสารประกอบอื่นๆ ร่วมด้วยตามสภาพของการหมัก เช่น กรดแลคติก ซึ่งโดยปกติแล้วจุลินทรีย์จะใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส ฟรุคโตส และแมนโนส ได้ดี ขณะเดียวกันก็สามารถใช้น้ำตาลโมเลกุลคู่ เช่น ซูโครส มอลโตส ได้ด้วยเช่นกัน และใกล้เคียงกับ รายงานของ Su *et al.* (2007) ที่ได้คัดเลือกพรีไบโอติกเพื่อช่วยส่งเสริมการเจริญของโปรไบโอติก แบคทีเรีย พบว่าการใช้อินนูลินช่วยส่งเสริมการเจริญของ *L. acidophilus*



ภาพ 4.2 การเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในผลิตภัณฑ์หมักเห็ดเข็มทอง



ภาพ 4.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง



ภาพ 4.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง

4.6 การทดสอบความชอบของผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง

การตรวจสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทองโดยใช้ระดับความชอบ 9 คะแนน (Hedonic-9 scale test) โดยศึกษาคุณลักษณะต่างๆ ของผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส โดยให้ผลดังแสดงในตาราง 4.4 ผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทองสูตร 4 ที่เติมพืชหัวทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ กระเทียม หอมแดง และแก่นตะวัน มีลักษณะปรากฏ และการยอมรับโดยรวมสูงสุด อยู่ระดับชอบมาก (6) แหนมเห็ดที่เติมกระเทียมจะให้กลิ่นและมีรสชาติที่ดีที่สุด โดยสรุปแล้ว

ผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทองสูตร 4 ที่เติมตัวอย่างพืชหัวทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ กระเทียม หอมแดง และแก่นตะวัน ให้ค่าการยอมรับผลิตภัณฑ์ดีกว่าสูตรอื่นๆ

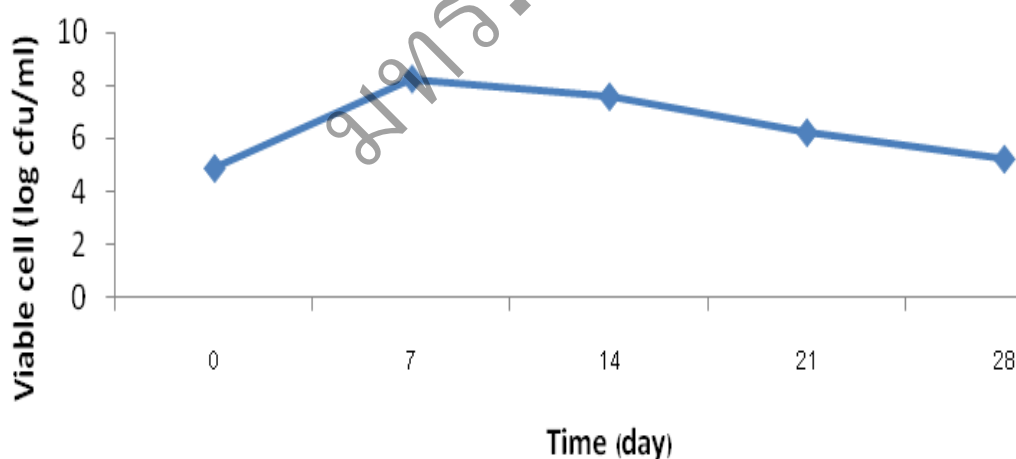
ตาราง 4.4 ผลการทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์แหนมเห็ด โดยใช้ระดับความชอบ 9 คะแนน (Hedonic-9 scale test)

ตัวอย่าง	คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์แหนมเห็ด				
	ลักษณะปรากฏ	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	การยอมรับโดยรวม
สูตร 1	5.25 ^c	6.68 ^b	4.94 ^b	4.47 ^c	6.02 ^c
สูตร 2	4.62 ^b	5.57 ^b	3.53 ^a	4.23 ^a	5.05 ^b
สูตร 3	3.82 ^a	5.20 ^a	3.47 ^a	4.15 ^a	4.26 ^a
สูตร 4	6.13 ^d	6.26 ^b	4.85 ^b	4.28 ^b	6.15 ^d
สูตร 5	3.85 ^a	5.56 ^b	3.50 ^a	4.10 ^c	4.21 ^a

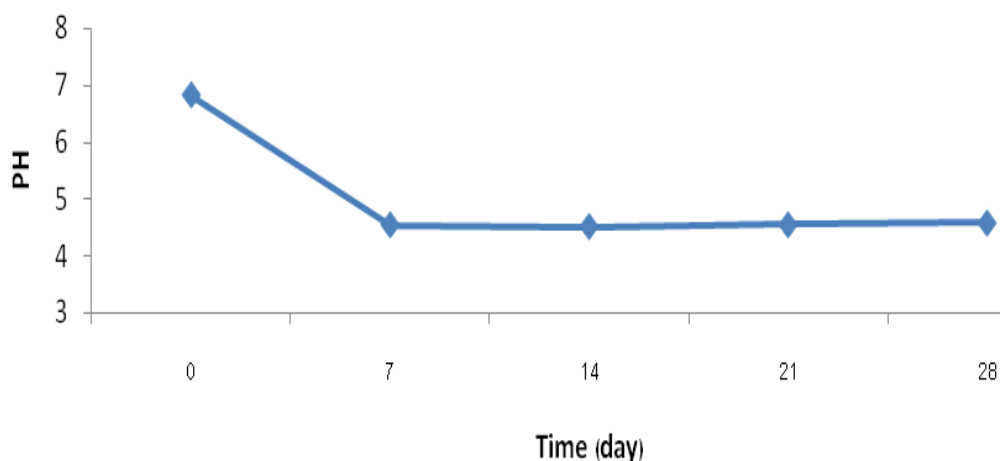
a, b, c, d ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.7 ผลการศึกษาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง

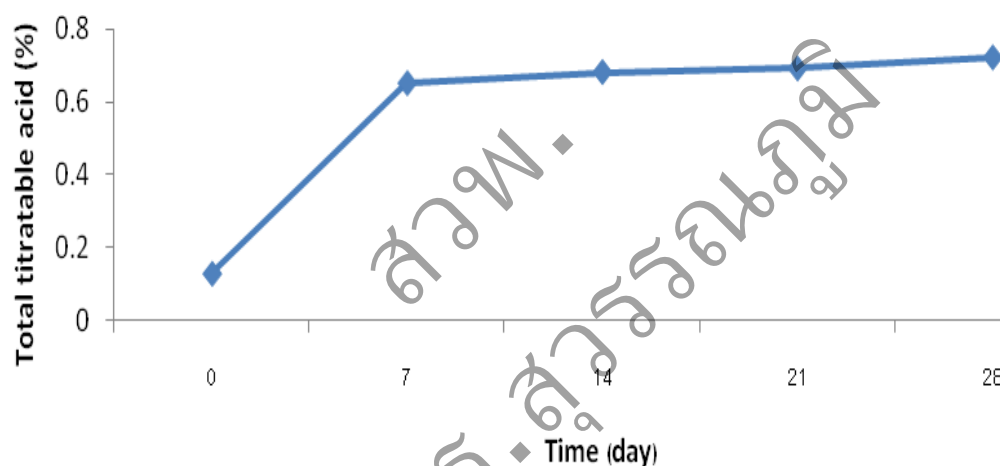
โดยนำผลการทดลองจากการยอมรับผลิตภัณฑ์ที่ดีที่สุด จากสูตร 1-5 พบว่าผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทองสูตร 4 ให้ค่าการยอมรับผลิตภัณฑ์ดีกว่าสูตรอื่นๆ จึงได้นำผลิตภัณฑ์นมหมักข้าวกล้องงอกตามอัตราส่วนดังกล่าว มาศึกษาคุณภาพการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์นมหมักที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน โดยศึกษาการรอดชีวิตแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณกรด ทำการตรวจวัดทุก 7 วัน ให้ผลการทดลองดังแสดงในภาพ 4.5 - 4.7



ภาพ 4.5 การรอดชีวิตของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน



ภาพ 4.6 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในผลิตภัณฑ์แฮมเห็ดเข็มทอง หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน



ภาพ 4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดในผลิตภัณฑ์แฮมเห็ดเข็มทอง หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

จากผลการศึกษาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์แฮมเห็ดเข็มทอง พบว่า เมื่อเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานขึ้น การรอดชีวิตของแลคติกแอซิดแบคทีเรียมีแนวโน้มลดลงและลดลงต่ำกว่า 10^6 cfu/ml เมื่อมีอายุการเก็บรักษามากกว่า 21 วัน พบว่ามีจำนวนมากกว่าระดับที่กำหนดให้เป็นระดับที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (Minimum Therapeutic Dose) ซึ่งเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกต้องเหลือรอดชีวิตอย่างน้อย 10^6 cfu/ml หรือ 5 log cfu/ml (Robinson, 1987; Samona and Robinson, 1994; Dave and Shah, 1998) ส่วนค่า pH จะลดลงเรื่อยๆ แปรผกผันกับปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บ โดยในวันที่ 28 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายในการศึกษาการเก็บรักษา มีค่า pH เป็น 4.58 และปริมาณกรดทั้งหมด 0.72 ตามลำดับ

ผลการตรวจนับปริมาณเชื้อทั้งหมด ยีสต์ รา และเชื้อ Enterobacteriaceae ในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง

ผลของการตรวจนับปริมาณเชื้อทั้งหมดและเชื้อ Enterobacteriaceae เป็นเวลา 28 วัน พบว่า ในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดตรวจไม่พบเชื้อ Enterobacteriaceae รวมถึงยีสต์และรา โคลิฟอร์ม *E. coli*, *S. aureus* แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนเชื้อ Enterobacteriaceae และเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดเข็มทอง ซึ่งแสดงว่าผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

ศวพ.
มทร.สุวรรณภูมิ

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ต้องการพัฒนาการผลิตหมักเห็ดเสริมโปรไบโอติก โดยการแยกและคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรีย โดยเก็บตัวอย่างหมักเห็ดจากจังหวัดนครราชสีมา จังหวัดพระนครศรีอยุธยา และจากจังหวัดมหาสารคาม ทั้งหมด 13 ตัวอย่าง นำมาแยกและคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรียได้ทั้งหมด 162 ไอโซเลท เชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมดเป็นแบคทีเรียแกรมบวกและไม่สร้างเอนไซม์อะไมเลส เมื่อนำมาส่องดูลักษณะรูปร่าง การจัดเรียงตัว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่ามีลักษณะรูปร่างเป็นท่อน (rod) 70 ไอโซเลท (43.20 เปอร์เซ็นต์) มีทั้งท่อนยาวและท่อนสั้น และลักษณะเซลล์กลม (cocci) 92 ไอโซเลท (56.80 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งเซลล์มีขนาดเล็กและใหญ่ จัดเรียงตัวต่อกันเป็นสายโซ่สั้น และสายโซ่ยาว อยู่กันเป็นกลุ่ม หรือต่อกันตั้งแต่สองเซลล์ และสี่เซลล์ หรือจับกันเป็นกลุ่ม เมื่อนำเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้งหมดมาทดสอบคุณสมบัติในการเป็นหัวเชื้อโดยทดสอบการผลิตกรด พบว่า แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่คัดแยกได้ผลิตกรดเมื่อเลี้ยงในอาหาร MRS อยู่ระหว่าง pH 5.39-6.11 โดยพบว่าไอโซเลท L3 และ C4 มีค่า pH ต่ำสุดคือ 5.39 และ 5.42 ตามลำดับ จึงเลือกเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลทเป็นหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียในการผลิตหมักเห็ดต่อไป

เมื่อนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท ได้แก่ L3 และ C4 มาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ ทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี swab-paper disc พบว่าไอโซเลท L3 และ C4 สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบได้ทั้งหมด ได้แก่ *B. subtilis* TISTR 008, *B. cereus* ATCC11778, *S. aureus* TISTR029, *E. coli* TISTR 887, *P. aeruginosa* TISTR1467 และ *S. typhimurium* TISTR 292

เมื่อนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท ได้แก่ L3 และ C4 เทียบเคียงชนิดของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียตาม Bergey's Manual Determinative Bacteriology Edition 9th (Holt *et al.*, 1994) พบว่า ไอโซเลท L3 คือ *L. lactis* ส่วนไอโซเลท C4 คือ *L. plantarum*

นำแลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท L3 คือ *L. lactis* ส่วนไอโซเลท C4 คือ *L. plantarum* มาพัฒนาใช้เป็นหัวเชื้อเพื่อผลิตหมักเห็ด จำนวน 5 สูตร พบว่าสูตร 4 ที่เติมตัวอย่างพืชหัวทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ กระเทียม หอมแดง และแก่นตะวัน ให้การเจริญ การผลิตกรดสูงกว่าสูตรอื่นๆ

ผลการทดสอบความชอบของผลิตภัณฑ์หมักเห็ดเข็มทอง พบว่า ผลิตภัณฑ์หมักเห็ดเข็มทองสูตร 4 ที่เติมตัวอย่างพืชหัวทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ กระเทียม หอมแดง และแก่นตะวัน ให้ค่าการยอมรับผลิตภัณฑ์ดีกว่าสูตรอื่นๆ แตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์หมักเห็ดเข็มทอง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่าการรอดชีวิตของแลคติกแอซิดแบคทีเรียมีแนวโน้มลดลงและลดลงต่ำกว่า 10^6 cfu/ml เมื่อมีอายุการเก็บรักษามากกว่า 21 วัน ส่วนค่า pH จะลดลงเรื่อยๆ แปรผกผันกับปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บ โดยในวันที่ 28 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายในการศึกษาการเก็บรักษา มีค่า pH เป็น 4.58 และปริมาณกรดทั้งหมด 0.72 ตามลำดับ ในผลิตภัณฑ์หมักเห็ดตรวจไม่พบเชื้อ Enterobacteriaceae รวมถึงยีสต์และรา โคลิฟอร์ม *E. coli*, *S. aureus* แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนเชื้อ Enterobacteriaceae และเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ในผลิตภัณฑ์หมักเห็ดเข็มทอง

การแยกและคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรียจากหมนมเห็ดเป็นการคัดเลือกหัวเชื้อเพื่อพัฒนาผลิตหมนมเห็ดให้ความปลอดภัยต่อผู้บริโภค เนื่องจากการผลิตอาหารหมักโดยเชื้อบริสุทธิ์ และแลคติกแอซิดแบคทีเรียยังผลิตสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ จึงเป็นการเหมาะสมที่จะนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียมาใช้ในการเพิ่มมูลค่าสินค้าทางการเกษตร โดยทำเป็นหมนมเห็ด เพื่อให้สามารถเก็บได้นานและยังมีคุณค่าทางอาหารต่อผู้บริโภค เพิ่มมูลค่าของผลผลิตทางการเกษตรและเพิ่มความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเห็ด ผู้บริโภคจะได้รับอาหารที่มีคุณค่าและสารอาหารจากผลิตภัณฑ์ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค

ข้อเสนอแนะ

1. แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากหมนมเห็ดควรมีการศึกษาคุณสมบัติการเป็นจุลินทรีย์โปรไบโอติก และพัฒนาใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตอาหารหมักที่มีการเติมพรีไบโอติกได้เป็นผลิตภัณฑ์ซินไบโอติกต่อไป
2. การผลิตหมนมเห็ดในการวิจัยครั้งต่อไป ควรมีพัฒนาสูตรในการผลิตโดยอาจใช้แหล่งพรีไบโอติกจากแหล่งต่างๆ และใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกที่มีคุณสมบัติการเป็นหัวเชื้อที่ดี เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์หมนมเห็ดที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและมีจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย

สาวพ.
มทร.สุวรรณภูมิ

บรรณานุกรม

- นภา โล่ห์ทอง. 2543. เทคโนโลยีชีวภาพกับการพัฒนาการผลิตอาหารหมัก, เทคโนโลยีชีวภาพ. 2(1) : 1-13 ; กันยายน.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2547. แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
- นงลักษณ์ สายเทพ. 2546. การคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรียสำหรับการผลิตแหนมเห็ดนางรม. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- โชติณา เหล่าไพบูลย์. 2552. การผลิตแหนมเห็ดโปรไบโอติกโดยใช้แบคทีเรียแลคติกเป็นเชื้อเริ่มต้น. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2547. แบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์อาหารหมักดอง, วารสารครุศาสตร์ อุดสาหกรรม. 3(1) : 62-68 ; ตุลาคม 2546 – มีนาคม.
- พงษ์เทพ วิลพานธ์. 2546. แบคทีเรียโอซิน, วารสารจารย์พา. 10(72) : 16-19 ; พฤษภาคม-มิถุนายน.
- วรายุทธ สุระนารกุล. 2549. คุณสมบัติของแบคทีเรียโอซินที่สร้างโดยแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากอาหารหมัก. วิทยานิพนธ์ วท.ม. ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- วิเชียร สีสาวรมาศ. 2541. โปรไบโอติกอาหารสุขภาพสำหรับมนุษย์และสัตว์, วารสารจารย์พา. 5(45) : 38-41 ; พฤษภาคม – ธันวาคม.
- วิลาวัลย์ เจริญจิระตระกูล. 2539. จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- นิมิต วรสุด และ สนั่น จอกลอย. 2549. อินนูลิน: สารสำคัญสำหรับสุขภาพในแก่นตะวัน. แก่นเกษตร. 34 (2): 85 - 91
- สุดาทิพย์ ฐิติโสภา. 2552. โปรไบโอติก. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 34(7) ; 366-375.
- อภัสรา กอบกัยกิจ. 2537. การแยกเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ผลิตสารต่อต้านจุลชีพจากอาหารหมักดอง. วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Adam, M.R. and M.O. Moss. 1995. Food Microbiology. Cambridge : The Royal Society of Chemistry.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 18th ed., The Association of Official Analytical Chemists Arlington, Virginia USA.
- Baird-Parker, A.C. 1980. Organic acid, in Microbial Ecology of Foods. p. 126-135. New York : Academic Press.
- Collins, E.B. and K. Aramaki. 1980. Production of Hydrogen Peroxide by *Lactobacillus acidophilus*. Journal of Dairy Science. 63 : 353-357.
- Davidson, P.M. and A.L. Branen. 1993. Antimicrobials in Foods. 2nd ed. New York : Marcel Dekker.
- De Man, L.C., M. Rogosa and M.E. Sharpe. 1960. A Medium for the Cultivation of Lactobacilli. Journal of Applied Bacteriology. 23 (1) : 130-135.
- De vuyst, L. and E.J. Vandamme. 1994. Antimicrobial Potential of Lactic Acid Bacteria, in Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria : Microbiology, Genetics and Applications. p. 91-142. London : Blackie Academic and Professional.

- Dillon, V.M. and R.G. Board. 1994. Natural Antimicrobial Systems and Food Preservation. UK : CAB International.
- Hammers, W.P. 1987. Proceeding from Food Ingredients. Wiesbaden : European Conference on Ingredients and Additive.
- Holt, J.G. and others. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Baltimore : William and Wilkins.
- Hurst, A. and D.G. Hoover. 1993. Nisin, in Antimicrobials in Foods. p. 369-394, New York : Mercel Dekker.
- Jacob, F. and others. 1953. Definition de Quelques Termes Relatives a la Lysogenie," Ann. Inst. Pasteur Paris. 84 : 222-224.
- Jay, J.M. 1982. Antimicrobial Properties of Diacetyl. Applied and Environmental Microbiology. 44 : 525-532.
- Noonpakdee, W. and others. 2003. Isolation of Nisin-Producing *Lactococcus lactis* WNC 20 Strain from *Nham*, a Traditional Thai Fermented Sausage. International Journal of Food Microbiology. 81 : 137-145.
- Rattanachaikunsopon, P. and P. Phumkhachorn. 2000. A Bacteriocin Produced by *Lactobacillus lactis* subsp. *lactis* Isolated from Thai Fermented Foods, Science Asia. 26 : 195-200,
- Schillinger, U. and F.K. Lucke. 1989. Antimicrobial Activity of *Lactobacillus sake* Isolated from Meat," Applied and Environmental Microbiology. 55 : 1901-1906.
- Schillinger, U. and F.K. Lucke. 1987. Identification of *Lactobacilli* from Meat and Meat Products. Food Microbiology. 4 : 199-208.
- Steinkraus, K. 1996. Handbook of Indogenous Fermented Foods. 2nd ed. USA : Marcel Dekker.
- Stiles, M.E. and W.H. Holzapfel. 1997. Lactic Acid Bacteria of Food and their Current Taxonomy. International Journal of Food microbiology. 36 : 1-29.
- Tanasupawat, S., S. Okada and K. Komagata. 1998. Lactic Acid Bacteria Found in Fermented Fish in Thailand," Journal of General and Applied Microbiology. 44 : 193-200.
- Thomas, E.L. 1985. Bacterial Hydrogen Peroxide Production, in The Lactoperoxidase System. p. 179-202. New York : Marcel Dekker,
- Wood, B.J.B. and W.H. Holzapfel. 1997. The Lactic Acid Bacteria : The Genera of Lactic Acid Bacteria. New York : Blackie Academic and Professional.
- F.M.N.A. Aida, M. Shuhaimi, M. Yazid, A.G. Maaruf. 2009. Mushroom as a potential source of prebiotics: a review. Trends in Food Science & Technology. 20(2009) 567-575.

- Synytsya, A., Mickova, K., Synytsya, Al., Jablonsky, I., Spevacek, J., Erban, V., Kovarikova, E. and Copikova, J. 2009. Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. *Carbohydrate Polymers*. 7(4): 548-556.
- Susan Sungsoo Cho and Terry Finocchiaro. 2010. *Handbook of Prebiotics and Probiotics Ingredients: Health Benefits and Food Applications*. Boca Raton : CRC Press, cop.
- Yuan Kun Lee and Seppo Salminen. 2008. *Handbook of Probiotics and Prebiotics*, 2nd Edition. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey.

ศาสตราจารย์
ดร.สุวรรณีภูมิ

ภาคผนวก

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์และสารเคมีที่ใช้วิเคราะห์

1. MRS medium

Peptone	10.0	กรัม
Meat extract	10.0	กรัม
Yeast extract	5.0	กรัม
Glucose	20.0	กรัม
Tween 80	1.0	มิลลิลิตร
K ₂ HPO ₄	2.0	กรัม
Sodium acetate	5.0	กรัม
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2	กรัม
MnSO ₄ · 4H ₂ O	0.05	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
Di- ammonium hydrogen citrate	2.0	กรัม
pH	6.2-6.6	

ชั่งส่วนผสมละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ถ้าเป็นอาหารแข็งให้เติม Agar 15 กรัม ต้มให้เดือด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

ถ้าเป็นอาหารสำเร็จรูป ชั่งสาร 55.15 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ถ้าเป็นอาหารแข็งให้เติม Agar 15 กรัม ต้มให้เดือด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2. Buffer peptone water

Proteose peptone	10.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Di-sodium phosphate	3.5	กรัม
Mono-potassium phosphate	1.5	กรัม

ชั่งส่วนผสมละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

ถ้าเป็นสูตรสำเร็จรูป ชั่งสาร 20.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

3. Plate count agar (PCA)

Tryptone	5.0	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Dextrose	1.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
DW	1,000	มิลลิลิตร

ต้มให้เดือด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

4. Violet red bile agar (VRB)

Yeast extract	3	กรัม
Bacteriological peptone	7	กรัม
NaCl	5	กรัม
Bile salt NO.3	1.5	กรัม
Neutral red	0.03	กรัม
Crystal violet	0.002	กรัม
Agar	15	กรัม
0.1% Glucose		
DW	1,000	มิลลิลิตร

ต้มให้เดือดจนวุ้นละลายหมด ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ

ตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อ



อาหาร MRS Agar



อาหาร VRB Agar



อาหาร PCA Agar

ภาพ 6.1 ตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อ

แบบสอบถามประเภท Hedonic 9 scaling

ชื่อ.....

ชุดที่

ผลิตภัณฑ์แทนมเห็ดเข็มทอง

วันที่.....

ข้อเสนอแนะ : ทดสอบรสชาติของตัวอย่างที่ให้ และตรวจสอบว่าท่านชอบ/ไม่ชอบมากเพียงไรในผลิตภัณฑ์ ใช้สเกลที่เหมาะสมเพื่อแสดงทัศนคติของท่านโดยการขีดกำหนดบนสเกลที่อธิบายความรู้สึกของท่านได้ดีที่สุด ตีมน้ำหลังจากแต่ละผลิตภัณฑ์ถูกทดสอบแล้ว

ระดับ	ตัวอย่างรหัส				
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5
ชอบมากที่สุด					
ชอบมาก					
ชอบปานกลาง					
ชอบเล็กน้อย					
เฉยๆ					
ไม่ชอบเล็กน้อย					
ไม่ชอบปานกลาง					
ไม่ชอบมาก					
ไม่ชอบมากที่สุด					

ข้อเสนอแนะ.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ขอขอบคุณ

ใบรายงานผลการทดสอบ Hedonic scaling ของผลิตภัณฑ์แทนมเห็ดเข็มทอง

คำแนะนำ กรุณาประเมินผลิตภัณฑ์นมหมักต่อไปนี้ แล้วให้คะแนนความชอบ-ไม่ชอบต่างๆดังนี้

1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบเล็กน้อย 3 = รู้สึกเฉยๆ 4 = ชอบเล็กน้อย
5 = ชอบปานกลาง 6 = ชอบมาก 7 = ชอบมากที่สุด

คุณลักษณะ ของผลิตภัณฑ์	คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์				
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5
ลักษณะปรากฏ					
กลิ่น					
รสชาติ					
เนื้อสัมผัส					
การยอมรับรวม					

หมายเหตุ

ส่วนผสม/ สูตร	เห็ดเข็มทอง	กระเทียม	หอมแดง	แก่นตะวัน	ข้าวกล้องงอก	เกลือ
สูตร 1	100	5	-	-	1	3
สูตร 2	100	-	5	-	1	3
สูตร 3	100	-	-	5	1	3
สูตร 4	100	5	5	5	1	3
สูตร 5	100	-	-	-	1	3

ขอขอบคุณ

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี

การวิเคราะห์หาความเป็นกรด-ด่าง (AOAC (2000)

นำน้ำหมัก 10 มิลลิลิตร นำไปวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH700, Eutech) ซึ่งได้มีการปรับค่ามาตรฐานด้วยสารละลายมาตรฐานที่มี pH เท่ากับ 4 และ 7 ตามลำดับ

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด (Total titrable acidity) AOAC, (2000)

สารเคมี

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร โดยชวดปรับปริมาตร

วิธีวิเคราะห์

ปิเปตน้ำหมักเชื้อ 10 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร หยดฟีนอล์ฟธาไลน์ 3-5 หยด โดยใช้ เป็นอินดิเคเตอร์ นำไปไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนถึงจุดยุติ (เป็นสีชมพู) คำนวณหาปริมาณกรดโดยเทียบจากค่ามาตรฐาน ดังนี้ คือ 1 มิลลิลิตร ของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ทำปฏิกิริยาสมมูลย์พอดีกับกรดแลคติก 0.009 กรัม

$$\% \text{ กรด} = \frac{\text{ปริมาตร 0.1 NaOH ที่ไตเตรทได้} \times 0.009 \times 100}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

สาวพ.
มทร.สุวรรณภูมิ

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน แหนมเห็ด

๑. ขอบข่าย

๑.๑ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ครอบคลุมเฉพาะแหนมที่ทำจากเห็ดที่บริโภคได้เป็นส่วนประกอบหลักบรรจุในภาชนะบรรจุ

๒. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ มีดังต่อไปนี้

๒.๑ แหนมเห็ด หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเห็ดที่บริโภคได้ เช่น เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดหอม เห็ดเป่าฮื้อ เห็ดหูหนูดำ นำมาล้างและตัดแต่งตามต้องการ เติมเกลือ ข้าวสุก กระทียม ผสมให้เข้ากัน อาจเติมน้ำตาล หนั้หมูต้มสุก พริกสด หรือพริกไทย ห่อเป็นมัด หรือบรรจุในภาชนะบรรจุที่เหมาะสม หมักจนมีรสเปรี้ยว

๓. คุณลักษณะที่ต้องการ

๓.๑ ลักษณะทั่วไป

ต้องมีการกระจายตัวของส่วนประกอบที่ใช้อย่างสม่ำเสมอ ไม่มีโพรงอากาศ และมีน้ำที่เกิดจากการหมักได้เล็กน้อย

๓.๒ สี

ต้องมีสีที่ติดตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้

๓.๓ กลิ่นรส

ต้องมีกลิ่นรสที่ติดตามธรรมชาติที่เกิดจากการหมักของส่วนประกอบที่ใช้ รสเปรี้ยวพอเหมาะ ปราศจากกลิ่นรสอื่น

ที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นเหม็น รสขม

๓.๔ ลักษณะเนื้อ

ต้องแน่น ไม่ยุ่ย

เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ ๘.๑ แล้ว ต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคน

ไม่น้อยกว่า ๓ คะแนน และไม่มีลักษณะใดได้ ๑ คะแนน จากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

๓.๕ สิ่งแปลกปลอม

ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์

๓.๖ วัตถุเจือปนอาหาร

๓.๖.๑ ห้ามใช้สีผสมอาหารทุกชนิด

๓.๖.๒ หากมีการใช้วัตถุเจือปนอาหาร ให้ใช้ตามชนิดและปริมาณตามที่กฎหมายกำหนด

๓.๗ ความเป็นกรด-ด่าง

ต้องไม่เกิน ๔.๖

๓.๘ จุลินทรีย์

๓.๘.๑ ซาลโมเนลลา ต้องไม่พบในตัวอย่าง ๒๕ กรัม

๓.๘.๒ สตาฟีโลค็อกคัส ออเรียส ต้องไม่พบในตัวอย่าง ๐.๑ กรัม

๓.๘.๓ คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ ต้องไม่พบในตัวอย่าง ๐.๑ กรัม

๓.๘.๔ เอสเชอริเชีย โคลิ โดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า ๓ ต่อตัวอย่าง ๑ กรัม

๓.๘.๕ ยีสต์และรา ต้องน้อยกว่า ๑๐ โคลินี่ต่อตัวอย่าง ๑ กรัม

๔. สุขลักษณะ

๔.๑ สุขลักษณะในการทำแหมมเห็ด ให้เป็นไปตามคำแนะนำตามภาคผนวก ก.

๕. การบรรจุ

๕.๑ ให้บรรจุแหมมเห็ดในภาชนะบรรจุที่สะอาดแห้ง ผนึกได้เรียบร้อย และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกภายนอกได้

๕.๒ น้ำหนักสุทธิของแหมมเห็ดในแต่ละภาชนะบรรจุ ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก

๖. เครื่องหมายและฉลาก

๖.๑ ที่ภาชนะบรรจุแหมมเห็ดทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้อย่างชัดเจน

(๑) ชื่อเรียกผลิตภัณฑ์ เช่น แหมมเห็ดนางฟ้า แหมมเห็ดโคน

(๒) ส่วนประกอบที่สำคัญ

(๓) ชนิดและปริมาณวัตถุเจือปนอาหาร (ถ้ามี)

(๔) น้ำหนักสุทธิ

(๕) วัน เดือน ปีที่เริ่มบริโภคได้

(๖) วัน เดือน ปี ที่ทำ และวัน เดือน ปีที่หมดอายุ หรือข้อความว่า “ควรบริโภคก่อน (วัน เดือน ปี)”

(๗) ข้อแนะนำในการเก็บรักษาและการบริโภค เช่น ควรเก็บไว้ในที่เย็น

(๘) ชื่อผู้ทำ หรือสถานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน

ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

๗. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

๗.๑ รุ่น ในที่นี้ หมายถึง แหมมเห็ดที่มีส่วนประกอบเดียวกัน ทำในระยะเวลาเดียวกัน

๗.๒ การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้

๗.๒.๑ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบสิ่งแปลกปลอม การบรรจุ และเครื่องหมายและฉลากให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตาม ข้อ ๓.๕ ข้อ ๕. และข้อ ๖. จึงจะถือว่าแหมมเห็ดรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๗.๒.๒ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบลักษณะทั่วไป สี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อ ให้ใช้ตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบตามข้อ ๗.๒.๑ แล้ว จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๓.๑ ถึงข้อ ๓.๔ จึงจะถือว่าแหมมเห็ดรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๗.๒.๓ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบวัตถุเจือปนอาหารและความเป็นกรด-ด่าง ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ นำมาทำเป็นตัวอย่างรวม

โดยมีน้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า ๒๐๐ กรัม กรณีตัวอย่างไม่พอให้ชั่งตัวอย่างเพิ่มโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันให้ได้ตัวอย่างที่มีน้ำหนักรวมตามที่กำหนด เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๓.๖ และข้อ ๓.๗ จึงจะถือว่าแหนมเห็ดรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๗.๒.๔ การชั่งตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบจุลินทรีย์ ให้ชั่งตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันจำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ โดยมีน้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า ๕๐๐ กรัม กรณีตัวอย่างไม่พอให้ชั่งตัวอย่างเพิ่มโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันให้ได้ตัวอย่างที่มีน้ำหนักรวมตามที่กำหนด เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๓.๘ จึงจะถือว่าแหนมเห็ดรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๗.๓ เกณฑ์ตัดสิน

ตัวอย่างแหนมเห็ดต้องเป็นไปตามข้อ ๗.๒.๑ ข้อ ๗.๒.๒ ข้อ ๗.๒.๓ และข้อ ๗.๒.๔ ทุกข้อ จึงจะถือว่าแหนมเห็ดรุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้

๘. การทดสอบ

๘.๑ การทดสอบลักษณะทั่วไป สี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อ

๘.๑.๑ ให้แต่งตั้งคณะผู้ตรวจสอบ ประกอบด้วยผู้ที่มีความชำนาญในการตรวจสอบแหนมเห็ดอย่างน้อย ๕ คนแต่ละคนจะแยกกันตรวจและให้คะแนนโดยอิสระ

๘.๑.๒ นำตัวอย่างแหนมเห็ดมาตรวจสอบ โดยการตรวจพินิจและชิม

๘.๑.๓ หลักเกณฑ์การให้คะแนน ให้เป็นไปตามตารางที่ ๑

ตารางที่ ๑ หลักเกณฑ์การให้คะแนน

(ข้อ ๘.๑.๓)

ลักษณะที่ตรวจสอบ	เกณฑ์ที่กำหนด	ระดับการตัดสิน (คะแนน)			
		ดีมาก	ดี	พอใช้	ต้องปรับปรุง
ลักษณะทั่วไป	ต้องมีการกระจายตัวของส่วนประกอบที่ใช้อย่างสม่ำเสมอ ไม่มีโพรงอากาศ และมีน้ำที่เกิดจากการหมักได้เล็กน้อย	๔	๓	๒	๑
สี	ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้	๔	๓	๒	๑
กลิ่นรส	ต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติที่เกิดจากการหมักของส่วนประกอบที่ใช้ รสเปรี้ยวพอเหมาะ ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นเหม็น รสขม	๔	๓	๒	๑
ลักษณะเนื้อ	ต้องแน่น ไม่ยุ่ย	๔	๓	๒	๑

๘.๒ การทดสอบสิ่งแปลกปลอม ภาชนะบรรจุ และเครื่องหมายและฉลากให้ตรวจพินิจ

๘.๓ การทดสอบวัตถุเจือปนอาหารและความเป็นกรด-ด่าง ให้ใช้วิธีทดสอบตาม AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

๘.๔ การทดสอบจุลินทรีย์

ให้ใช้วิธีทดสอบวิธีตาม AOAC หรือ BAM หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

๘.๕ การทดสอบน้ำหนักสุทธิ ให้ใช้เครื่องชั่งที่เหมาะสม

ภาคผนวก ก.

สัญลักษณ์

(ข้อ ๔.๑)

- ก.๑ สถานที่ตั้งและอาคารที่ทำ
- ก.๑.๑ สถานที่ตั้งตัวอาคารและที่ใกล้เคียง อยู่ในที่ที่จะไม่ทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ง่าย โดย
- ก.๑.๑.๑ สถานที่ตั้งตัวอาคารและบริเวณโดยรอบ สะอาด ไม่มีน้ำขังแฉะและสกปรก
- ก.๑.๑.๒ อยู่ห่างจากบริเวณหรือสถานที่ที่มีฝุ่น เหม่า ควัน มากผิดปกติ
- ก.๑.๑.๓ ไม่อยู่ใกล้เคียงกับสถานที่น่ารังเกียจ เช่น บริเวณเพาะเลี้ยงสัตว์ แหล่งเก็บหรือกำจัดขยะ
- ก.๑.๒ อาคารที่ทำมีขนาดเหมาะสม มีการออกแบบและก่อสร้างในลักษณะที่ง่ายแก่การบำรุงรักษาการทำความสะอาด และสะดวกในการปฏิบัติงาน โดย
- ก.๑.๒.๑ พื้น ฝาผนัง และเพดานของอาคารที่ทำ ก่อสร้างด้วยวัสดุที่คงทน เรียบ ทำความสะอาด และซ่อมแซมให้อยู่ในสภาพที่ดีตลอดเวลา
- ก.๑.๒.๒ แยกบริเวณที่ทำออกเป็นสัดส่วน ไม่อยู่ใกล้ห้องสุขา ไม่มีสิ่งของที่มิใช่แล้วหรือไม่เกี่ยวข้องกับการทำงานในบริเวณที่ทำ
- ก.๑.๒.๓ พื้นที่ใช้ปฏิบัติงานไม่แออัด มีแสงสว่างเพียงพอ และมีการระบายอากาศที่เหมาะสม
- ก.๒ เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ในการทำ
- ก.๒.๑ ภาชนะหรืออุปกรณ์ในการทำที่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์ ทำจากวัสดุมีผิวเรียบ ไม่เป็นสนิมล้างทำความสะอาดได้ง่าย
- ก.๒.๒ เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้ สะอาด เหมาะสมกับการใช้งาน ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อน ติดตั้งได้ง่าย มีปริมาณเพียงพอ รวมทั้งสามารถทำความสะอาดได้ง่ายและทั่วถึง
- ก.๓ การควบคุมกระบวนการทำ
- ก.๓.๑ วัตถุประสงค์และส่วนผสมในการทำ สะอาด มีคุณภาพดี มีการล้างหรือทำความสะอาดก่อนนำไปใช้
- ก.๓.๒ การทำ การเก็บรักษา การขนย้าย และการขนส่ง ให้มีการป้องกันการปนเปื้อนและการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์
- ก.๔ การสุขาภิบาล การบำรุงรักษา และการทำความสะอาด
- ก.๔.๑ น้ำที่ใช้ล้างทำความสะอาดเครื่องมือ เครื่องจักร อุปกรณ์ และมือของผู้ทำ เป็นน้ำสะอาดและมีปริมาณเพียงพอ
- ก.๔.๒ มีวิธีการป้องกันและกำจัดสัตว์นำเชื้อ แมลงและฝุ่นผง ไม่ให้เข้าไปในบริเวณที่ทำตามความเหมาะสม
- ก.๔.๓ มีการกำจัดขยะ สิ่งสกปรก และน้ำทิ้ง อย่างเหมาะสม เพื่อไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนกลับลงสู่ผลิตภัณฑ์
- ก.๔.๔ สารเคมีที่ใช้ล้างทำความสะอาด และใช้กำจัดสัตว์นำเชื้อและแมลง ใช้ในปริมาณที่เหมาะสม และเก็บแยกจากบริเวณที่ทำ เพื่อไม่ให้ปนเปื้อนลงสู่ผลิตภัณฑ์ได้
- ก.๕ บุคลากรและสัญลักษณ์ของผู้ทำ
- ผู้ทำทุกคนต้องรักษาความสะอาดส่วนบุคคลให้ดี เช่น สวมเสื้อผ้าที่สะอาด มีผ้าคลุมผมเพื่อป้องกันไม่ให้เส้นผมหล่นลงในผลิตภัณฑ์ ไม่ไว้เล็บยาว ล้างมือให้สะอาดทุกครั้งก่อนปฏิบัติงาน หลังการใช้ห้องสุขา และเมื่อมือสกปรก

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน

แหนม

๑. ขอบข่าย

๑.๑ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ครอบคลุมแหนมที่ทำจากเนื้อหมู หนังหมู หูหมูและจุกหมู ไม่ครอบคลุม แหนมกระดูกหมูอ่อน แหนมข้อไก่และอื่นๆ

๒. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ มีดังต่อไปนี้

๒.๑ แหนม หมายถึง ผลิตภัณฑ์ทำจากเนื้อหมูส่วนสะโพกที่แยกไขมันและเอ็นออกแล้ว ผสมกับหนังหมู อาจผสมหูหมูหรือจุกหมูที่ต้มสุกและหั่นเป็นเส้นแล้ว เติมเกลือ ข้าวสุก กระเทียมบด น้ำตาลทราย ผสมให้เข้ากัน อาจเติมพริกสดด้วยก็ได้ ห่อเป็นมัด หรือบรรจุในภาชนะบรรจุลักษณะอื่นๆ หมักจนมีรสเปรี้ยว

๓. คุณลักษณะที่ต้องการ

๓.๑ ลักษณะทั่วไป

ในภาชนะบรรจุเดียวกัน ต้องมีรูปร่างเดียวกัน และมีขนาดใกล้เคียงกัน มีการกระจายตัวของส่วนประกอบที่ใช้ทำผสมกันอย่างทั่วถึง ลักษณะเนื้อแน่น ไม่มีโพรงอากาศ และมีน้ำที่เกิดจากการหมักได้เล็กน้อย

๓.๒ สี ต้องมีสีชมพูตามธรรมชาติของแหนม

๓.๓ กลิ่นรส

ต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติที่เกิดจากการหมักของส่วนประกอบที่ใช้ มีรสเปรี้ยวพอเหมาะ ปราศจากกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นเหม็น

๓.๔ ลักษณะเนื้อสัมผัส ต้องมีเนื้อแน่น ไม่ยุ่ย เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ ๘.๑ แล้ว ต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคนไม่น้อยกว่า ๓ คะแนน และไม่มีลักษณะใดได้ ๑ คะแนน จากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

๓.๕ สิ่งแปลกปลอม

ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์

๓.๖ วัตถุเจือปนอาหาร

๓.๖.๑ ห้ามใช้สีผสมอาหารทุกชนิด

๓.๖.๒ หากมีการใช้วัตถุเจือปนอาหาร ให้ใช้ได้ตามชนิดและปริมาณที่กำหนดดังต่อไปนี้

๓.๖.๒.๑ โซเดียมไนไตรต์หรือโพแทสเซียมไนไตรต์ (คำนวณเป็นโซเดียมไนไตรต์) ต้องไม่เกิน ๑๒๕ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือถ้าใช้ในรูปของผงเพรก (เกลือ : เกลือไนไตรท์ ในสัดส่วนร้อยละ ๙๔ :

๖) ต้องไม่เกิน ๒ กรัมต่อเนื้อสัตว์ ๑ กิโลกรัม

๓.๖.๒.๒ ฟอสเฟตในรูปของโมโน- ไต- และโพลีของเกลือโซเดียมหรือโพแทสเซียมอย่างใดอย่างหนึ่งหรือรวมกันในผลิตภัณฑ์สำเร็จ (คำนวณเป็น P2O5 จากฟอสฟอรัสทั้งหมด) ต้องไม่เกิน ๓,๐๐๐ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

๓.๗ ความเป็นกรด-ด่าง ต้องไม่เกิน ๔.๖

๓.๘ จุลินทรีย์

- ๓.๘.๑ ซาลโมเนลลา ต้องไม่พบในตัวอย่าง ๒๕ กรัม
 ๓.๘.๒ สตาฟีโลค็อกคัส ออเรียส ต้องไม่พบในตัวอย่าง ๐.๑ กรัม
 ๓.๘.๓ คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ ต้องไม่พบในตัวอย่าง ๐.๑ กรัม
 ๓.๘.๔ เอสเชอริเชีย โคลิ โดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า ๓ ต่อตัวอย่าง ๑ กรัม
 ๓.๘.๕ ยีสต์และรา ต้องน้อยกว่า ๑๐ โคลนิต่อตัวอย่าง ๑ กรัม
 ๓.๙ พยาธิ พยาธิทริคิเนลลา สไปราลิส ต้องไม่พบในตัวอย่าง ๑๐๐ กรัม

๔. สุขลักษณะ

- ๔.๑ สุขลักษณะในการทำแหมม ให้เป็นไปตามคำแนะนำตามภาคผนวก ก.

๕. การบรรจุ

- ๕.๑ ให้บรรจุแหมมในภาชนะบรรจุที่สะอาดแห้ง ผนึกได้เรียบร้อย และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกภายนอกได้
 ๕.๒ น้ำหนักสุทธิของแหมมในแต่ละภาชนะบรรจุ ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก

๖. เครื่องหมายและฉลาก

- ๖.๑ ที่ภาชนะบรรจุแหมมทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้ให้เห็นได้ง่าย ชัดเจน
 (๑) ชื่อเรียกผลิตภัณฑ์ เช่น แหมมหมูหมู แหมมตุ้ม
 (๒) วัตถุประสงค์ของอาหาร (ถ้าใช้)
 (๓) น้ำหนักสุทธิ
 (๔) วัน เดือน ปีที่เริ่มบริโภครได้
 (๕) วัน เดือน ปี ที่ทำ และวัน เดือน ปีที่หมดอายุ หรือข้อความว่า “ควรบริโภคก่อน (วัน เดือน ปี)”
 (๖) ข้อแนะนำในการเก็บรักษาและการบริโภค เช่น ควรเก็บไว้ในที่เย็น เพื่อความปลอดภัยและรสชาติที่ดี เริ่มบริโภครได้ (วัน เดือน ปี)
 (๗) ชื่อผู้ทำ หรือสถานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน
 ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

๗. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

- ๗.๑ รุ่น ในที่นี้ หมายถึง แหมมที่มีส่วนประกอบเดียวกัน ทำในระยะเวลาเดียวกัน
 ๗.๒ การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้
 ๗.๒.๑ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบสิ่งแปลกปลอม การบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตาม ข้อ ๓.๕ ข้อ ๕. และข้อ ๖. จึงจะถือว่าแหมมรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด
 ๗.๒.๒ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบลักษณะทั่วไป สี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสให้ใช้ตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบตามข้อ ๗.๒.๑ แล้ว จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๓.๑ ถึงข้อ ๓.๔ จึงจะถือว่าแหมมรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด
 ๗.๒.๓ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบวัตถุเจือปนอาหาร ความเป็นกรด-ด่าง และจุลินทรีย์ ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน ๕ หน่วยภาชนะบรรจุ นำมาทำเป็นตัว

อย่างรวม โดยมีน้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า ๕๐๐ กรัม เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๓.๖ ถึงข้อ ๓.๘ จึงจะถือว่าแหนมรุ้นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๗.๒.๔ การซีกตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบพยาธิ ให้ซีกตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ้นเดียวกัน จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ นำมาทำเป็นตัวอย่างรวม โดยมีน้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า ๕๐๐ กรัม เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๓.๙ จึงจะถือว่าแหนมรุ้นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๗.๓ เกณฑ์ตัดสิน

ตัวอย่างแหนมต้องเป็นไปตามข้อ ๗.๒.๑ ข้อ ๗.๒.๒ ข้อ ๗.๒.๓ และข้อ ๗.๒.๔ ทุกข้อ จึงจะถือว่าแหนมรุ้นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้

๘. การทดสอบ

๘.๑ การทดสอบลักษณะทั่วไป สี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัส

๘.๑.๑ ให้แต่งตั้งคณะผู้ตรวจสอบ ประกอบด้วยผู้ที่มีความชำนาญในการตรวจสอบแหนมอย่างน้อย ๕ คน แต่ละคนจะแยกกันตรวจและให้คะแนนโดยอิสระ

๘.๑.๒ นำตัวอย่างแหนมมาตรวจสอบโดยพิจารณาจากแหนมดิบ โดยการตรวจพินิจและชิม

๘.๑.๓ หลักเกณฑ์การให้คะแนน ให้เป็นไปตามตารางที่ ๑

ตารางที่ ๑ หลักเกณฑ์การให้คะแนน

(ข้อ ๘.๑.๓)

ลักษณะที่ตรวจสอบ	เกณฑ์ที่กำหนด	ระดับการตัดสิน (คะแนน)			
		ดีมาก	ดี	พอใช้	ต้องปรับปรุง
ลักษณะทั่วไป	ในภาชนะบรรจุเดียวกัน ต้องมีรูพรองเดียวกันและมีขนาดใกล้เคียงกันมีการกระจายตัวของส่วนประกอบที่ใช้ทำผสมกันอย่างทั่วถึงลักษณะเนื้อแน่น ไม่มีโพรงอากาศ และมีน้ำที่เกิดจากการหมักได้เล็กน้อย	๕	๓	๒	๑
สี	ต้องมีสีชมพูตามธรรมชาติของแหนม	๕	๓	๒	๑
กลิ่นรส	ต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติที่เกิดจากการหมักและของส่วนประกอบที่ใช้ มีรสเปรี้ยวพอเหมาะ ปราศจากกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นเหม็น	๕	๓	๒	๑
ลักษณะเนื้อ	ต้องมีเนื้อแน่น ไม่ยุ่ย	๕	๓	๒	๑

๘.๒ การทดสอบสิ่งแปลกปลอม ภาชนะบรรจุ และเครื่องหมายและฉลากให้ตรวจพินิจ

๘.๓ การทดสอบวัตถุเจือปนอาหารและความเป็นกรด-ด่าง ให้ใช้วิธีทดสอบตาม AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

๘.๔ การทดสอบจุลินทรีย์ ให้ใช้วิธีตาม AOAC หรือ BAM หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

๘.๕ การทดสอบพยาธิ ให้ใช้วิธีส่องด้วยกล้องโทรทรรศน์ไมโครสโคป หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

๘.๖ การทดสอบน้ำหนักสุทธิ ให้ใช้เครื่องชั่งที่เหมาะสม

ภาคผนวก ก.

สุขลักษณะ

(ข้อ ๔.๑)

- ก.๑ สถานที่ตั้งและอาคารที่ทำ
- ก.๑.๑ สถานที่ตั้งตัวอาคารและที่ใกล้เคียง อยู่ในที่ที่จะไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดการปนเปื้อนได้ง่าย โดย
- ก.๑.๑.๑ สถานที่ตั้งตัวอาคารและบริเวณโดยรอบ สะอาด ไม่มีน้ำขังแฉะและสกปรก
- ก.๑.๑.๒ อยู่ห่างจากบริเวณหรือสถานที่ที่มีฝุ่น เหม่า ควัน มากผิดปกติ
- ก.๑.๑.๓ ไม่อยู่ใกล้เคียงกับสถานที่น่ารังเกียจ เช่น บริเวณเพาะเลี้ยงสัตว์ แหล่งเก็บหรือกำจัดขยะ
- ก.๑.๒ อาคารที่ทำมีขนาดเหมาะสม มีการออกแบบและก่อสร้างในลักษณะที่ง่ายแก่การบำรุงรักษา การทำความสะอาด และสะดวกในการปฏิบัติงาน โดย
- ก.๑.๒.๑ พื้น ฝาผนัง และเพดานของอาคารที่ทำ ก่อสร้างด้วยวัสดุที่คงทน เรียบ ทำความสะอาด และซ่อมแซมให้อยู่ในสภาพที่ดีตลอดเวลา
- ก.๑.๒.๒ แยกบริเวณที่ทำออกเป็นสัดส่วน ไม่อยู่ใกล้ห้องสุขา ไม่มีสิ่งของที่ไมใช่แล้วหรือไม่เกี่ยวข้องกับการทำงานในบริเวณที่ทำ
- ก.๑.๒.๓ พื้นปฏิบัติงาน ไม่แออัด มีแสงสว่างเพียงพอ และมีการระบายอากาศที่เหมาะสม
- ก.๒ เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ในการทำ
- ก.๒.๑ ภาชนะหรืออุปกรณ์ในการทำที่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์ ทำจากวัสดุมีผิวเรียบ ไม่เป็นสนิม ล้างทำความสะอาดได้ง่าย
- ก.๒.๒ เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้ สะอาด เหมาะสมกับการใช้งาน ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อน ติดตั้งได้ง่าย มีปริมาณเพียงพอ รวมทั้งสามารถทำความสะอาดได้ง่ายและทั่วถึง
- ก.๓ การควบคุมกระบวนการทำ
- ก.๓.๑ วัตถุประสงค์และส่วนผสมในการทำ สะอาด มีคุณภาพดี มีการล้างหรือทำความสะอาดก่อนนำไปใช้
- ก.๓.๒ การทำ การเก็บรักษา การขนย้าย และการขนส่ง มีการป้องกันการปนเปื้อนและการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์
- ก.๔ การสุขาภิบาล การบำรุงรักษา และการทำความสะอาด
- ก.๔.๑ น้ำที่ใช้ล้างทำความสะอาดเครื่องมือ เครื่องจักร อุปกรณ์ และมือของผู้ทำ เป็นน้ำสะอาดและมีปริมาณเพียงพอ
- ก.๔.๒ มีวิธีการป้องกันและกำจัดสัตว์นำเชื้อ แมลงและฝุ่นผง ไม่ให้เข้าไปในบริเวณที่ทำตามความเหมาะสม
- ก.๔.๓ มีการกำจัดขยะ สิ่งสกปรก และน้ำทิ้ง อย่างเหมาะสม เพื่อไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนกลับลงสู่ผลิตภัณฑ์
- ก.๔.๔ สารเคมีที่ใช้ล้างทำความสะอาด และใช้กำจัดสัตว์นำเชื้อและแมลง ใช้ในปริมาณที่เหมาะสม และเก็บแยกจากบริเวณที่ทำ เพื่อไม่ให้ปนเปื้อนลงสู่ผลิตภัณฑ์ได้
- ก.๕ บุคลากรและสุขลักษณะของผู้ทำ
- ผู้ทำทุกคน ต้องรักษาความสะอาดส่วนบุคคลให้ดี เช่น สวมเสื้อผ้าที่สะอาด มีผ้าคลุมผมเพื่อป้องกันไม่ให้เส้นผมหล่นลงในผลิตภัณฑ์ ไม่ไว้เล็บยาว ล้างมือให้สะอาดทุกครั้งก่อนปฏิบัติงาน หลังการใช้ห้องสุขา และเมื่อมือสกปรก

รูปภาพประกอบงานวิจัย



ภาพ 6.2 ตัวอย่างเหนมเหน็ดทั้งหมด 13 ตัวอย่าง ที่นำมาคัดแยกเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย



ภาพ 6.2 ตัวอย่างแหนมเห็ดทั้งหมด 13 ตัวอย่าง ที่นำมาคัดแยกเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (ต่อ)



ภาพ 6.3 ผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดทั้ง 5 สูตร ตามลำดับ

ประวัติผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นาย สุรัตน์ ว่างพิกุล
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Surat Vangpikul
ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิจัย

หน่วยงานและสถานที่อยู่ติดต่อได้สะดวก

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ 60 หมู่ 3
ต. หันตรา อ. พระนครศรีอยุธยา จ. พระนครศรีอยุธยา 13000
โทรศัพท์ 081-0489317
e-mail : suratosan@gmail.com

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญา	สาขาวิชาเอก	ชื่อสถาบัน	ประเทศ
2547	ปริญญาตรี	วท. บ	เทคโนโลยีชีวภาพ	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	ไทย
2552	ปริญญาโท	วท. ม	เทคโนโลยีชีวภาพ	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	ไทย

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

Lactic acid bacteria in fermented foods, Bacteriocin from lactic acid bacteria, Probiotics bacteria, Prebiotic substances and synbiotics

ประวัติผู้ร่วมโครงการวิจัย

ชื่อ - สกุล (ภาษาไทย) นางสาววิรัชณี แก่นแสนดี
 ชื่อ - สกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Wiratchanee Kansandee
 ตำแหน่งทางวิชาการ อาจารย์

หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
 ต.ตลาด อ. เมือง จ.มหาสารคาม 44000 โทรศัพท์มือถือ 089-2793-146
 E-mail: wiratchanee_k@yahoo.com

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญา	สาขาวิชาเอก	ชื่อสถาบัน	ประเทศ
2549	ปริญญาตรี	วท. บ	เทคโนโลยีชีวภาพ	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	ไทย
2553	ปริญญาโท	วท. ม	เทคโนโลยีชีวภาพ	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	ไทย

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

แลคติกแอซิดแบคทีเรียในอาหารหมัก จุลินทรีย์โปรไบโอติก โพลีแซ็กคาไรด์จากแลคติกแอซิดแบคทีเรีย

ผลงานการวิจัย

วิรัชณี แก่นแสนดี สมพร มุลมั่งมี และ ปริญญา อิศรานันต์. การทนต่อกรด เกลื่อน้ำดี และสภาวะในระบบทางเดินอาหารของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่มีถิ่นกำเนิดจากมนุษย์ วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ปีที่ 27 ฉบับที่ 3 (พิเศษ) มิถุนายน - กันยายน 2553.

ทุนวิจัยที่เคยได้รับ

เริ่มปีพ.ศ.	เสร็จปีพ.ศ.	ชื่อผลงาน/โครงการ	หน่วยงาน
2549	2549	ผลของผงพืชต่อการรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกและคุณภาพของผักกาดทอง	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
2551	2553	Screening and identification of probiotic lactic acid bacteria from human colostrums milk	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
2552	2552	การคัดเลือกและจัดจำแนกเชื้อโปรไบโอติกแลคติกแอซิดแบคทีเรียจากน้ำนมเหลืองคน	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม