หัวข้อวิจัย	การพัฒนาขนมจีนแป้งหมักด้วยกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผลิตแบคเทอริโอซินและประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* ที่ปนเปื้อนในขนมจีน
ผู้ดำเนินการวิจัย	พรพรรณ พัวไพบูลย์
หน่วยงาน	สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
ปี พ.ศ.	2561

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการผลิตขนมจีนแป้งหมักจากการใช้เชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก *Lactobacillus plantarum* TISTR 951, *L. fermentum* TISTR 945 และ *L. fermentum* TISTR 950 เป็นกล้าเชื้อในการหมัก ซึ่งใช้เวลาหมักข้าว 24 ชั่วโมง และทำการเปรียบเทียบอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องกับขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ และขนมจีนแป้งหมักใส่วัตถุกันเสียกรดเบนโซอิกซึ่งใช้เวลาในการหมักข้าว 72 ชั่วโมง โดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมี ทางกายภาพ ทางจุลินทรีย์ และวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส พบว่าเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน ขนมจีนแป้งหมักทั้ง 5 ทรีทเม้นต์ มีปริมาณความชื้นไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) มีค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (a_w) อยู่ระหว่าง 0.94 ถึง 1.00 โดยขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิกมีค่า a_w ต่ำสุด ($p\leq0.05$) ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเม้นต์ มีค่าความเป็นกรด–ด่างและปริมาณกรดแลคติกต่ำกว่า ($p\leq0.05$) และสูงกว่า ($p\leq0.05$) ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติและขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก ตามลำดับ โดยเฉพาะการหมักด้วย *L. plantarum* TISTR 951 มีค่าความเป็นกรด–ด่างต่ำสุดและปริมาณกรดแลคติกสูงสุด ค่าความสว่าง (L*) และค่าความเป็นสีเขียว (a*) ของขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเม้นต์สูงกว่า ($p\leq0.05$) ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ ขณะที่ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติมีค่าความเป็นสีเหลือง (b*) สูงสุด ($p\leq0.05$) ค่าความแข็ง (hardness) ของขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเม้นต์ มีค่าเพิ่มขึ้น ($p\leq0.05$) ตามระยะเวลาเก็บรักษา 2 วัน โดยการหมักด้วย *L. plantarum* TISTR 951 มีค่าความแข็งสูงสุด การเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน ขนมจีนแป้งหมักทั้ง 5 ทรีทเม้นต์ มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเกิน $1x10^6$ โคโลนีต่อกรัม ขณะที่การเก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดของขนมจีนที่หมักด้วย *L. plantarum* TISTR 951 มีปริมาณต่ำสุด อยู่ที่ 5.02×10^4 โคโลนีต่อกรัม ปริมาณยีสต์และราของขนมจีนที่หมักด้วย *L. fermentum* TISTR 945 มีปริมาณต่ำสุด อยู่ที่ 5.20×10^4 โคโลนีต่อกรัม และปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกของขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติมีปริมาณสูงสุด อยู่ที่ $1.01x10^5$ โคโลนีต่อกรัม คะแนนความชอบโดยรวมของขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเม้นต์ อยู่ในระดับชอบปานกลาง ส่วนขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติและขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิกอยู่ในระดับชอบมาก

คำสำคัญ: ขนมจีนแป้งหมัก แบคทีเรียกรดแลคติก อายุการเก็บรักษา

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

Research Title Development of fermented rice noodle by lactic acid bacteria starter cultures produce bacteriocins and effect on inhibition of *Bacillus cereus* contaminate in fermented rice noodle
Researcher Pornpan Phuapaiboon
Organization Major of Food Technology, Faculty of Agricultural Technology Rajabhat Maha Sarakham University
Year 2018

ABSTRACT

The aim of this research is to development for the production of fermented rice noodle (Kanomjeen) by lactic acid bacteria *L. plantarum* TISTR 951, *L. fermentum* TISTR 945 and *L. fermentum* TISTR 950 as starter cultures (24 hour-fermented rice). A comparison of shelf-life at room temperature, Kanomjeen natural process and Kanomjeen added benzoate were also produced (72 hour-fermented rice). The effects of starter culture and storage time on the physicochemical, microbial and sensory characteristics of a Kanomjeen were investigated. The results showed that after 2 days of storage, the moisture contents of all samples was not statistically significant ($p>0.05$). The value of water activity (a_w) of all samples ranged from 0.94 to 1.00; however, a_w values of Kanomjeen added benzoate were the lowest. All Kanomjeen added with lactic acid bacteria had a significantly lower pH values ($p\leq0.05$) and significantly higher lactic acid content ($p\leq0.05$) in comparison with Kanomjeen natural process and Kanomjeen added benzoate, especially Kanomjeen fermented by *L. plantarum* TISTR 951, which resulted a lowest pH values and highest lactic acid content. All samples with starter cultures exhibited higher ($p\leq0.05$) L* values (lightness) and a* values (greenness) than Kanomjeen natural process, whereas Kanomjeen natural process exhibited the highest b* values (yellowness) ($p\leq0.05$). The increase in hardness was significant ($p\leq0.05$) among all samples with starter cultures during storage for 2 days. This effect was much more evident for sample fermented by *L. fermentum* TISTR 945. During storage for 2 days, the number of total bacteria of all samples was higher than 1×10^6 cfu/g. However, during storage for 1 day, the number of total bacteria of sample fermented by *L. plantarum* TISTR 951 was lowest at 5.02×10^4 cfu/g. The number of yeasts and molds of sample fermented by *L. fermentum* TISTR 945 was lowest at 5.20×10^4 cfu/g, whereas the number of lactic acid bacteria of Kanomjeen natural process was highest at 1.01×10^5 cfu/g. The overall acceptance scores of all samples with

starter cultures were moderately like, whereas the score levels of Kanomjeen natural process and Kanomjeen added benzoate were very much like.

Key words: fermented rice noodle, lactic acid bacteria, shelf life

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์เป็นอย่างดีได้ ด้วยความช่วยเหลือจากผู้ช่วยวิจัย นางสาวจารุวรรณ สมีกลาง และนางสาวนัฐนันท์ พันธมาศ นักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ที่ช่วยงานวิจัยด้วยความขยันขันแข็ง รับผิดชอบและอดทน และขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ที่ให้ทุนสนับสนุนการศึกษาวิจัยนี้

พรพรรณ พัวไพบูลย์

2561

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก

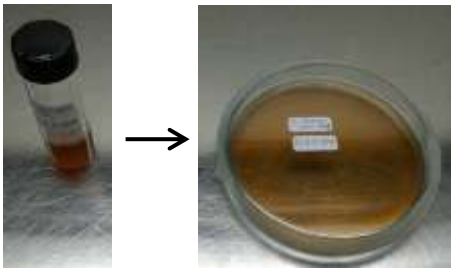
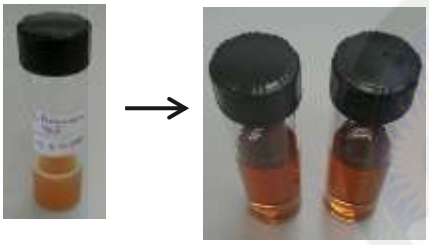
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ก

การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

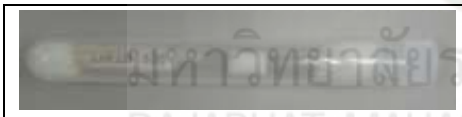
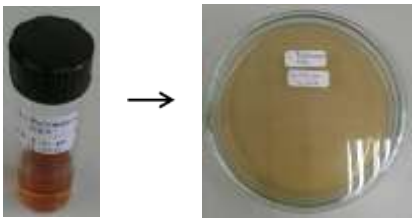
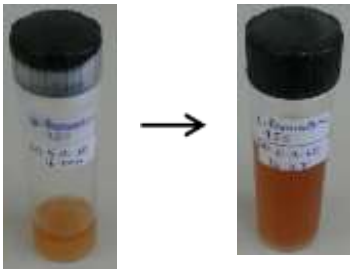
1. การเตรียมกล้าเชื้อ *Lactobacillus fermentum* TISTR 945

	1. เตรียมหลอดเชื้อแห้งแข็ง (revival of freeze-dried cultures) ของ *L. fermentum* TISTR 945
	2. ขยายกล้าเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945 จากหลอดเชื้อแห้งแข็งลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร และขีดเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth บ่มเป็นเวลา 21.40 ชั่วโมง
	3. ขยายกล้าเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945 จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 19 ชั่วโมง และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอนำไปใช้งาน เก็บไว้ 22 ชั่วโมง
	4. ขยายกล้าเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945 จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 10 มิลลิลิตร มา 6 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 200 มิลลิลิตร (ร้อยละ 3) นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 23 ชั่วโมง

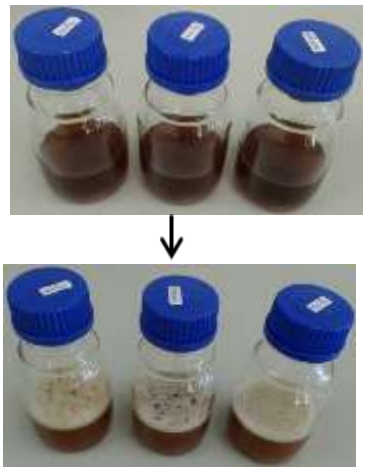
มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
RAJABHAT RASPRAKHAM UNIVERSITY

 ↓ 	5. นำกล้าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 200 มิลลิลิตร โดยกล้าเชื้อมีจำนวน 1.9x10^9 โคโลนีต่อมิลลิลิตร จากการตรวจวิเคราะห์จำนวนด้วยเทคนิคเกลี่ยเชื้อ (spread plate technique) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar บ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง **นำกล้าเชื้อ**ไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอน ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที และล้างเซลล์ด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 24 มิลลิลิตร นำมาปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนในสภาวะเดิม และแขวนลอยเซลล์ในสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 4 มิลลิลิตร และนำไปใช้ในการผลิตขนมจีนแป้งหมัก

2. การเตรียมกล้าเชื้อ *Lactobacillus fermentum* TISTR 950

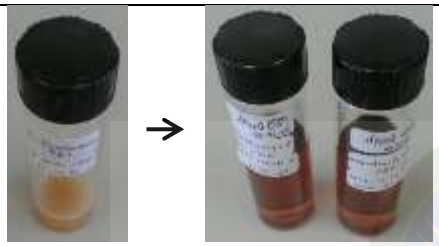
	1. เตรียมหลอดเชื้อแห้งแข็งของ *L. fermentum* TISTR 950
	2. ขยายกล้าเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950 จากหลอดเชื้อแห้งแข็งลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร และขีดเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง 25 นาที
	3. ขยายกล้าเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950 จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร มา 1 มิลลิลิตร ใสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

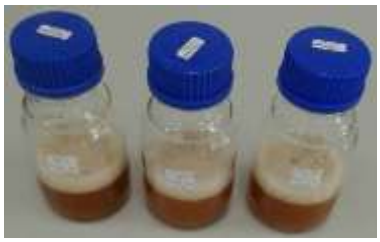
	4. ขยายกล้าเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950 จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 10 มิลลิลิตร มา 3 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 100 มิลลิลิตร (ร้อยละ 3) นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 23 ชั่วโมง
	5. นำกล้าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 100 มิลลิลิตร โดยกล้าเชื้อมีจำนวน $1.62x10^{9}$ ±$2.86x10^{8}$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร จากการตรวจวิเคราะห์จำนวนด้วยเทคนิคเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar บ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำกล้าเชื้อไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอน ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที และล้างเซลล์ด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 12 มิลลิลิตร นำมาปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนในสภาวะเดิม และแขวนลอยเซลล์ในสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 2 มิลลิลิตร และนำไปใช้ในการผลิตขนมจีนแป้งหมัก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3. การเตรียมกล้าเชื้อ *Lactobacillus plantarum* TISTR 951

	1. เตรียมหลอดเชื้อแห้งแข็งของ *L. plantarum* TISTR 951
	2. ขยายกล้าเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951 จากหลอดเชื้อแห้งแข็งลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร และขีดเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth บ่มเป็นเวลา 22 ชั่วโมง
	3. ขยายกล้าเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951 จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 19.30 ชั่วโมง
	4. ขยายกล้าเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951 จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 10 มิลลิลิตร มา 3 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 100 มิลลิลิตร (ร้อยละ 3) นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 23.30 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY



↓

↓

↓

5. นำกล้าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 100 มิลลิลิตร โดยกล้าเชื้อมีจำนวน 4.63x10^{9} โคโลนีต่อมิลลิลิตร จากการตรวจวิเคราะห์จำนวนด้วยเทคนิคเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ที่นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอน ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที และล้างเซลล์ด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 15 มิลลิลิตร นำมาปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนในสภาวะเดิม และแขวนลอยเซลล์ในสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 2 มิลลิลิตร และนำไปใช้ในการผลิตขนมจีนแป้งหมัก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ข

ขั้นตอนการผลิตขนมจีนแป้งหมัก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ขนมจีนแป้งหมัก ใส่กรดเบนโซอิก	ขนมจีนแป้งหมัก จากเชื้อธรรมชาติ	ขนมจีนแป้งหมักจากกล้าเชื้อ แบคทีเรียกรดแลคติก
 เตรียมข้าว 250 กรัม	 เตรียมข้าว 250 กรัม	 เตรียมข้าว 250 กรัม
 ล้างข้าวให้สะอาด 5 ครั้ง น้ำ 500 มิลลิลิตร/ครั้ง	 ล้างข้าวให้สะอาด 5 ครั้ง น้ำ 500 มิลลิลิตร/ครั้ง	 ล้างข้าวให้สะอาด 5 ครั้ง น้ำ 500 มิลลิลิตร/ครั้ง
 แช่ข้าว 30 นาที อุณหภูมิ 35 ℃	 แช่ข้าว 30 นาที อุณหภูมิ 35 ℃	 แช่ข้าว 30 นาที อุณหภูมิ 37 ℃

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม MAHASARAKHAM RAJABHAT UNIVERSITY

		 เทน้ำแช่ข้าวออก แยกผสมเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951, *L. fermentum* TISTR 945 และ *L. fermentum* TISTR 950 อัตราส่วน ข้าว 500 กรัม : เชื้อ 200 มิลลิลิตร
 หมักข้าวแบบแห้ง 72 ชั่วโมง อุณหภูมิ 35 °C	 หมักข้าวแบบแห้ง 72 ชั่วโมง อุณหภูมิ 35 °C	 หมักข้าวแบบแห้ง 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 37 °C
 ล่างน้ำเช้า-เย็น	 ล่างน้ำเช้า-เย็น	

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

 ปั่นข้าวหมัก เป็นเวลา 4 นาที เติมน้ำ 150 มิลลิลิตร	 ปั่นข้าวหมัก เป็นเวลา 4 นาที เติมน้ำ 150 มิลลิลิตร	 ปั่นข้าวหมัก เป็นเวลา 4 นาที เติมน้ำ 150 มิลลิลิตร
 เตรียมน้ำแช่ 500 มิลลิลิตร (น้ำกรอง 400 มิลลิลิตร น้ำเกลือแกงเข้มข้น 7% 100 มิลลิลิตร)	 เตรียมน้ำแช่ 500 มิลลิลิตร (น้ำกรอง 400 มิลลิลิตร น้ำเกลือแกงเข้มข้น 7% 100 มิลลิลิตร)	 เตรียมน้ำแช่ 500 มิลลิลิตร (น้ำกรอง 400 มิลลิลิตร น้ำเกลือแกงเข้มข้น 7% 100 มิลลิลิตร)
 นอนน้ำแป้ง 1 คืน (ประมาณ 20 ชั่วโมง) อุณหภูมิ 35 ℃	 นอนน้ำแป้ง 1 คืน (ประมาณ 20 ชั่วโมง) อุณหภูมิ 35 ℃	 นอนน้ำแป้ง 1 คืน (ประมาณ 20 ชั่วโมง) อุณหภูมิ 37 ℃
 รินน้ำส่วนบนทิ้ง	 รินน้ำส่วนบนทิ้ง	 รินน้ำส่วนบนทิ้ง

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

 แยกแป้งส่วนที่นอนน้ำ ลงในถุงโพลิพรอพิลีน	 แยกแป้งส่วนที่นอนน้ำ ลงในถุงโพลิพรอพิลีน	 แยกแป้งส่วนที่นอนน้ำ ลงในถุงโพลิพรอพิลีน
 ทับน้ำแป้ง ด้วยเครื่องคั้น แบบแยกกาก-น้ำ	 ทับน้ำแป้ง ด้วยเครื่องคั้น แบบแยกกาก-น้ำ	 ทับน้ำแป้ง ด้วยเครื่องคั้น แบบแยกกาก-น้ำ
 แบ่งแป้งเป็น 2 ส่วน	 แบ่งแป้งเป็น 2 ส่วน	 แบ่งแป้งเป็น 2 ส่วน
 นำก้อนแป้งไปนึ่งให้แป้งสุก เป็นเวลา 5 นาที	 นำก้อนแป้งไปนึ่งให้แป้งสุก เป็นเวลา 5 นาที	 นำก้อนแป้งไปนึ่งให้แป้งสุก เป็นเวลา 5 นาที

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

 ผสมแป้งสุก และแป้งดิบให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร นวดเป็นเวลา 30 นาที	 ผสมแป้งสุก และแป้งดิบให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร นวดเป็นเวลา 30 นาที	 ผสมแป้งสุก และแป้งดิบให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร นวดเป็นเวลา 30 นาที
 เติมน้ำร้อนเรื่อย ๆ ระหว่างนวด น้ำร้อน อุณหภูมิ 60-80 ℃	 เติมน้ำร้อนเรื่อย ๆ ระหว่างนวด น้ำร้อน อุณหภูมิ 60-80 ℃	 เติมน้ำร้อนเรื่อย ๆ ระหว่างนวด น้ำร้อน อุณหภูมิ 60-80 ℃
 กรองแป้งด้วยผ้าขาวบาง	 กรองแป้งด้วยผ้าขาวบาง	 กรองแป้งด้วยผ้าขาวบาง
 เติมกรดเบนโซอิก อัตราส่วน 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม		

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

 ต้มน้ำเดือด อุณหภูมิประมาณ 75-95 ℃	 ต้มน้ำเดือด อุณหภูมิประมาณ 75-95 ℃	 ต้มน้ำเดือด อุณหภูมิประมาณ 75-95 ℃
 โรยเส้นในน้ำเดือด เป็นเวลา 3 นาที	 โรยเส้นในน้ำเดือด เป็นเวลา 3 นาที	 โรยเส้นในน้ำเดือด เป็นเวลา 3 นาที
 นำมาผ่านน้ำเย็น 3 ครั้ง	 นำมาผ่านน้ำเย็น 3 ครั้ง	 นำมาผ่านน้ำเย็น 3 ครั้ง
 จับให้เป็นเส้น พักให้เส้นให้สะเด็ดน้ำ 10-15 นาที	 จับให้เป็นเส้น พักให้เส้นให้สะเด็ดน้ำ 10-15 นาที	 จับให้เป็นเส้น พักให้เส้นสะเด็ดน้ำ10-15 นาที

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางเคมี

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1. การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (ดัดแปลงจากวิธี AOAC, 2000)

เครื่องมือ

1) เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (ยี่ห้อ Sartorius รุ่น Docu-pH+ Meter)

2) เครื่องผสมสารละลาย vortex mixer (ยี่ห้อ Scientific Industries รุ่น G560E Vortex Mixer Genie 2)

วิธีทดลอง

1) ชั่งตัวอย่างขนมจีนแป้งหมัก 5 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร

2) เติมน้ำปราศจากไอออน 45 มิลลิลิตร

3) นำไปเขย่าผสมด้วยเครื่องผสมสารละลาย vortex mixer นาน 1 นาที

4) นำตัวอย่างไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่างซึ่งมีการปรับเทียบมาตรฐาน (calibration) ด้วยระบบ two-point calibration คือ สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4 และ 7 โดยให้ค่า slop ที่ยอมรับได้อยู่ในช่วงตั้งแต่ร้อยละ 95 ขึ้นไป

2. การวัดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (water activity: a_W)

อุปกรณ์ เครื่องมือ

1) เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (ยี่ห้อ AquaLab รุ่น 3TE)

2) ตลับพลาสติกสำหรับวัดค่า

วิธีทดลอง

การเตรียมตัวอย่าง

1) ใส่ตัวอย่างขนมจีนที่ตัดเป็นชิ้นขนาดเล็ก ๆ ในตลับพลาสติกสำหรับวัดค่า ประมาณ 1 ใน 3 ของตลับหรือไม่เกินครึ่งหนึ่งของตลับ เกลี่ยตัวอย่างให้คลอบคลุมทั่วก้นตลับเพื่อประสิทธิภาพในการวัด

2) ตรวจสอบให้แน่ชัดว่าที่ขอบริม และด้านนอกของตลับวัดสะอาด ห้ามมีตัวอย่างติดบริเวณตลับพลาสติกสำหรับวัดค่า

3) ตัวอย่างควรมีอุณหภูมิใกล้เคียงหรือต่างกันไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส ของอุณหภูมิ chamber ของเครื่องวัดค่า a_W โดยก่อนวัดค่า a_W ให้นำตลับวางไว้บริเวณข้าง ๆ เครื่อง เพื่อให้อุณหภูมิของตัวอย่างและเครื่องมีความใกล้เคียงกัน

การวัดค่า

1) เปิดเครื่องวัดค่า a_W ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที เพื่อการวัดที่มีประสิทธิภาพสูง

2) ทำการปรับเทียบมาตรฐานเครื่องวัดค่า a_W ด้วยน้ำกลั่น

3) นำตลับที่ใส่ตัวอย่างใส่ลงในที่ใส่ตลับพลาสติกสำหรับวัดค่า (sample drawer) ของเครื่องวัดค่า a_W ห้ามใส่ตัวอย่างหกหล่น และหมุนปุ่มจาก OPEN/LOAD ไปยัง READ เพื่อเริ่มการวัดค่า เมื่อเครื่องเริ่มวัดจะมีสัญญาณเตือน 1 ครั้ง

4) เมื่อเครื่องวัดเสร็จจะมีสัญญาณเตือนให้อ่านค่า a_w และอุณหภูมิที่หน้าจอ บันทึกค่าที่เครื่องวัดได้

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM RAJABHAT UNIVERSITY

3. **การหาปริมาณความชื้น โดยใช้วิธีอบในตู้อบลมร้อน** (AOAC, 2000)

อุปกรณ์ เครื่องมือ

1) ตู้อบลมร้อน
2) ถ้วยครูซิเบิ้ล (crucible)
3) โถดูดความชื้น
4) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีทดลอง

1) อบถ้วยครูซิเบิ้ลในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ถึง 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก

2) ทำเช่นเดียวกับข้อ 1 ซ้ำ จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1 ถึง 3 มิลลิกรัม

3) ชั่งน้ำหนักตัวอย่างขนมจีนให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 3 ถึง 5 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักดีแล้ว

4) นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ถึง 6 ชั่วโมง แล้วจึงนำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่างนั้น จากนั้นนำกลับไปเข้าตู้อบอีก และทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักแห้งที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1 ถึง 3 มิลลิกรัม ซึ่งน้ำหนักที่หายไปเป็นน้ำหนักของความชื้น

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

การคำนวณ

ปริมาณความชื้น (ร้อยละต่อน้ำหนัก) = $\frac{(W_1-W_2)}{W_1} \times 100$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

4. ปริมาณกรดจากการไตเตรท (titratable acidity: TA) (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1) เครื่องผสมสารละลาย vortex mixer (ยี่ห้อ Scientific Industries รุ่น G560E Vortex Mixer Genie 2)
2) บิวเรต ที่จับบิวเรต ฐานตั้งเหล็ก
3) ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร

สารเคมี

1) สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน ($C_{20}H_{14}O_4$) เข้มข้นร้อยละ 1

ชั่งฟีนอล์ฟทาลีน 1 กรัม ละลายในเอธิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 75 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

2) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 0.1 นอร์มอล

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

วิธีทดลอง

1) ชั่งตัวอย่างขนมจีนแป้งหมักน้ำหนักแน่นนอนประมาณ 3 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร

2) ผสมให้เข้ากันกับน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องผสมสารละลาย vortex mixer

3) หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 2 ถึง 3 หยด เขย่าให้เข้ากัน แล้วทำการไตเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนได้จุดยุติสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูใส บันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้

4) นำผลที่ได้มาคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดแลคติก

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละต่อน้ำหนัก)} = \frac{\text{ปริมาตร NaOH ที่ใช้} \times \text{ความเข้มข้น NaOH} \times 0.09 \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้}}$$

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ทางกายภาพ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1. การวัดค่าสีของแผ่นฟิล์ม

อุปกรณ์ เครื่องมือ

1. แผ่นสีมาตรฐาน (black glass, white calibrated tile)
2. เครื่องวัดสี (ยี่ห้อ HunterLab รุ่น ColorFlex Model $45^0/0^0$) (ภาพที่ ง.1)

วิธีทดลอง

1. ปรับมาตรฐานของเครื่องวัดสี (calibration) ด้วยแผ่นสีมาตรฐาน (black glass, white calibrated tile)

2. วัดค่าสีของขนมจีนแป้งหมัก โดยนำตัวอย่างขนมจีนใส่ในจานแก้วให้เต็มจาน และนำไปวางบน port วางตัวอย่างขนาด 1 นิ้ว (port insert 1 inch with glass) ของเครื่องวัดสี วัด 5 จุดต่อจาน (ภาพที่ ง.1)

3. อ่านค่าสีที่ได้จากเครื่อง โดยใช้ระบบ C.I.E. Lab โดยค่าที่วัดได้เป็นค่า L* a* b*

L* คือ ความสว่างของสี (lightness) โดยมีค่าจาก 0 คือสีดำ ถึง 100 คือสีขาว

a* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและสีแดงที่อยู่ในตัวอย่าง (redness/greenness) โดย ค่า a+ แสดงถึงความเป็นสีแดง และค่า a- แสดงถึงความเป็นสีเขียว

b* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงินที่อยู่ในตัวอย่าง (yellowness/blueness) โดยค่า b+ แสดงถึงความเป็นสีแดง และค่า b- แสดงถึงความเป็นสีน้ำเงิน

(ก)

(ข)

ภาพที่ ง.1 เครื่องวัดสี (ก) และการวัดค่าสีของขนมจีน (ข)

2. การวัดลักษณะเนื้อสัมผัส

อุปกรณ์ เครื่องมือ

1) เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (ยี่ห้อ Stable Micro Systems รุ่น TA.XT.plus) (ภาพที่ ง.2)

2) หัววัดแบบหัวใบมีดตัด (knife and blade) รหัส HDP/BSW (ภาพที่ ง.2)

วิธีทดลอง

การวิเคราะห์ค่าความแน่นเนื้อ (firmness) ความเหนียว (toughness) และการยึดติด (adhesiveness) ของขนมจีนแป้งหมักจากการวัดแรงตัดด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส มีขั้นตอนดังนี้

1) เปิดเครื่องสำรองไฟ เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์ และเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส

2) การเข้าโปรแกรม Texture Exponent 32 ให้ดับเบิ้ลคลิกที่ไอคอนของ Texture Exponent 32 บนหน้าจอคอมพิวเตอร์ และใส่รหัสผ่าน (password) ที่หน้าจอคอมพิวเตอร์

3) ปรากฏหน้าจอพร้อมใช้งานของโปรแกรม Texture Exponent 32

4) เปิด Graph Texture โดยคลิก File Menu คลิกเลือก New และคลิกเลือกไอคอน Graph

5) ทำการสอบเทียบแรงกด (calibrate force) โดยคลิกที่แถบเมนู T.A. และคลิกเลือก Calibrate Eorce

6) ตรวจสอบให้แน่ใจว่าไม่มีหัววัดและตัวอย่างอยู่ที่ฐานของเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส

7) คลิกที่ Next พิมพ์น้ำหนักสอบเทียบที่ใช้ (calibration weight) 1,000 กรัม วางตุ้มน้ำหนักที่ฐานรับน้ำหนักของเครื่องวัดแรงกด (T.A.'s Calibration Platform) และคลิก Next

8) โปรแกรมทำการสอบเทียบและแสดงหน้าต่าง Calibration Status เพื่อแสดงผลลัพธ์การสอบเทียบ โดยหน้าจอปรากฏข้อความว่า "Calibrate Complete" ยกตุ้มน้ำหนักลงจากที่ฐานรับน้ำหนักและคลิกที่ Finish เพื่อสิ้นสุดการสอบเทียบ

9) ทำการสอบเทียบความสูง (calibrate height) เพื่อให้หัววัดรู้จักตำแหน่งของฐาน โดยต่อชุดหัววัดแบบหัวใบมีดตัดเข้ากับแขนและฐานของเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส

10) คลิกที่แถบเมนู T.A. และคลิกเลือก Calibrate Height

11) วางตัวอย่างบนแท่นตัด โดยนำเส้นขนมจีนมาจัดเรียงชิดกันให้ได้ 6 เส้น ให้มีความยาว 10 เซนติเมตร

12) เลื่อนหัววัดให้ใกล้กับฐานมากที่สุดเพื่อลดระยะเวลาในการ Calibrate

13) กำหนดข้อมูลลงบนหน้าต่าง Probe Height Calibration ดังนี้

13.1 Return Distance หมายถึง ระยะทางที่หัววัดเคลื่อนที่กลับหลังจากหัววัดสัมผัสฐานแล้ว โดยให้ระยะทางสูงกว่าตัวอย่างเล็กน้อย ในการทดลองเท่ากับ 30 mm

13.2 Return Speed หมายถึง อัตราที่หัววัดเคลื่อนที่กลับหลังแตะถูกฐาน ในการทดลองเท่ากับ 10 mm/Sec

13.3 Contact Force (g) หมายถึง แรงที่กำหนดให้เครื่องทราบว่าพบฐานแล้ว และดึงหัววัดกลับ ในการทดลองเท่ากับ 1 g

14) คลิกที่ OK โดยหัวใบมีดตัดที่ต่อเข้ากับแขนจะค่อย ๆ เลื่อนลงมาหาฐาน และเคลื่อนที่กลับเมื่อแตะฐาน จากนั้นหน้าจอปรากฏข้อความว่า "Calibrate Complete" และคลิกที่ Finish เพื่อสิ้นสุดการสอบเทียบความสูง

15) การวิเคราะห์ค่าแรงตัด คลิกเมนู T.A. และคลิกเลือก T.A. Setting

16) กดปุ่ม Library ด้านขวา และคลิกเลือก 1 RETURN TO START และกด OK เพื่อกำหนดรูปแบบการวัด และตั้งค่า Value เพื่อกำหนดการเคลื่อนที่ของหัววัดแบบหัวใบมีดตัด

17) ตั้งค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในการทดสอบ กำหนดดังนี้

Caption	**Value**	
Test Mode	Compression	
Pre-Test Speed	2.00	mm/sec
Test Speed	2.00	mm/sec
Post-Test Speed	5.00	mm/sec
Target Mode	Distance	
Distance	15.000	mm
Trigger Type	Auto (Force)	
Trigger Force	5.0	g
Break Mode	Off	
Stop Plot At	Start Position	
Tare Mode	Auto	
Advanced Options	On	
Control Oven	Disabled	
Wait For Temperature	No	
Frame Deflection Correction	Off (XT2 compatibility)	

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM UNIVERSITY

18) คลิก OK

19) เข้าสู่หน้า Exponent ตรงกราฟ เปลี่ยนหน่วยการวัดของ Force แกนตั้งบนกราฟ คลิกขวาที่หน่วย kg เป็น g

20) นำตัวอย่างเส้นขนมจีนมาจัดเรียงชิดกันให้ได้ 6 เส้น ให้มีความยาว 10 เซนติเมตร บนแท่นตัด

21) เริ่มการทดสอบ เลือกเมนู T.A. คลิกเลือก Run a Test เครื่องจะแสดงกล่องตอบโต้ Test Configuration เพื่อให้ข้อมูลต่าง ๆ เกี่ยวกับการวัด

21.1) Archive Information ไปที่ File ID เพื่อตั้งชื่อไฟล์ที่ทำการทดสอบและคลิกช่องที่เป็น Auto Save

21.2) Probe Selection เลือกชุด หัววัดแบบหัวใบมีดตัด (knife and blade) รหัส HDP/BSW

22.2) Data Acquisition เพื่อกำหนดอัตราการเก็บข้อมูล โดยเลือก Data Acquisition Rate เป็น 200 จุดต่อวินาที (point per sec: pps)

22.3) กด Start Test เครื่องจะทำการวัดตัวอย่างให้อัตโนมัติ โดยหัววัดแบบหัวใบมีดตัดจะเคลื่อนที่ลงมาตัดเส้นขนมจีน พร้อมกับปรากฏเส้นกราฟบนหน้าต่างกราฟ ทำการวัด 5 ตัวอย่างต่อซ้ำ

23) เมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำต่อไปให้เลือกเมนู T.A. คลิกเลือก Quick Test Run โปรมแกรมจะทำการบันทึกชื่อกับจำนวนซ้ำของตัวอย่าง และวิเคราะห์ตัวอย่างให้อัตโนมัติ (ภาพที่ ง.3)

24) วิเคราะห์ผลการทดลอง

ข้อมูลที่ได้จะอยู่ในรูปกราฟ การหาค่าจากกราฟที่ได้ สามารถทำได้โดยการใช้คำสั่งใน Process data การกำหนดค่าใน Process data หรือการเขียน Macro ซึ่งโปรแกรมจะแปรผลจากกราฟออกมาเป็นตัวเลข

24.1) คลิกซ้ายลากคลุมทุกซ้ำที่ทำการทดลอง

24.2) เลือกแถบคำสั่ง Process data คลิกเลือก Quick Calculation

24.3) จะปรากฏหน้าต่างคำสั่ง เลือกคำสั่งย่อยที่ต้องการจากคำสั่งต่าง ๆ ที่แสดง

เลือก ☑ Peak Positive Force
☑ Positive Area
☑ Negative Area

โดยที่ Peak Positive Force คือ ความสูงของกราฟ ซึ่งก็คือแรงที่มีคามากที่สุดในการตัดหรือค่าความแข็ง (hardness) ของขนมจีน

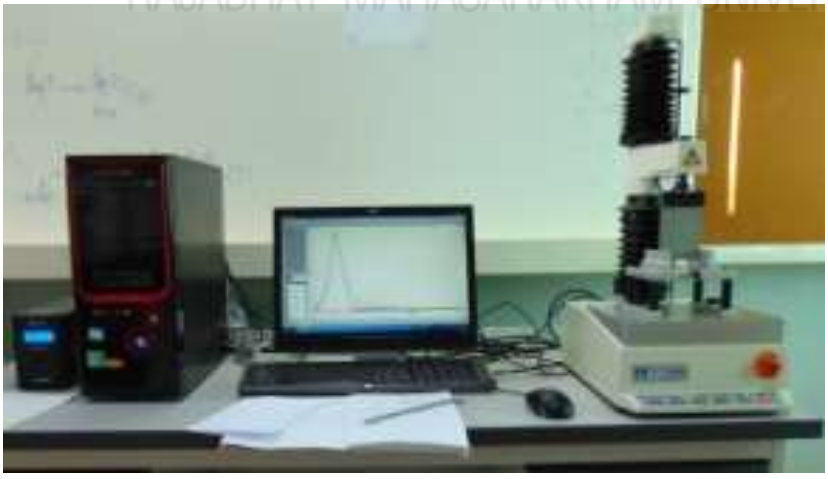
Positive Area คือ พื้นที่ของแรงที่เปนบวกในการตัด ซึ่งก็คืองานจากการตัดทั้งหมดหรือค่าความเหนียว (toughness) ของขนมจีน

Negative Area : พื้นที่ของแรงที่เปนลบในการตัด ซึ่งก็คืองานที่ตองใชในการดึงหรือความสามารถในการยึดติด (adhesiveness) ของขนมจีน

24.4) คลิก OK

24.5) เมื่อหาข้อมูลจากกราฟได้แล้ว ผลที่ได้จะอยู่ในภาพตารางข้อมูล

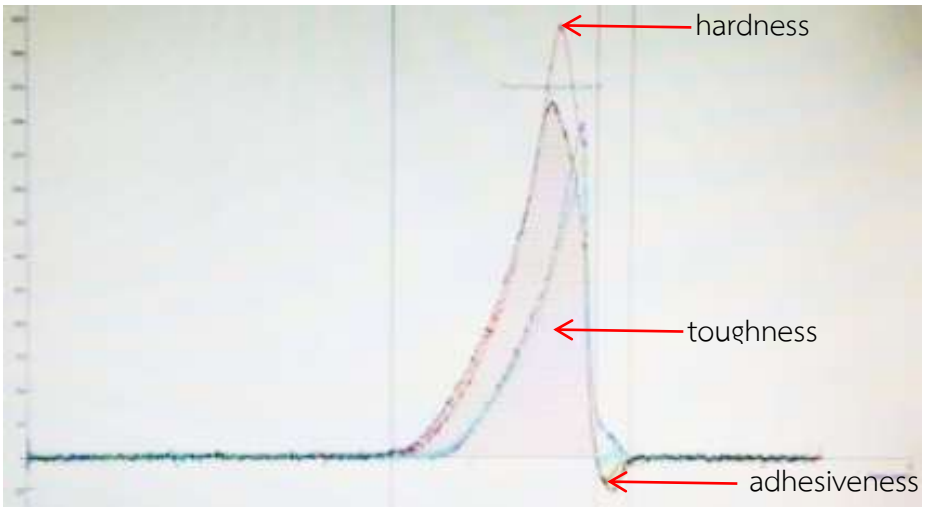
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY



(ก)

(ข)

ภาพที่ ง.2 เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (ก) และหัววัดแบบหัวใบมีดตัด (ข)



ภาพที่ ง.3 ตัวอย่างกราฟลักษณะเนื้อสัมผัสของขนมจีนแป้งหมัก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก จ

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) (Difco, France)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Pancreatic Digest of Casein	5.00 กรัม
Yeast Extract	2.50 กรัม
Dextrose	1.00 กรัม
Agar	15.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA 23.50 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดและคนบ่อย ๆ จนวุ้นละลาย เทใส่ขวดแก้วฝาเกลียว นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) (Himedia, India)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Potatoes, infusion from	200.00 กรัม
Dextrose	20.00 กรัม
Agar	15.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 39 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดและคนบ่อย ๆ จนวุ้นละลาย เทใส่ขวดแก้วฝาเกลียว นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิ 45 ถึง 50 องศาเซลเซียส ปรับความเป็นกรด-ด่าง เป็น 3.5 โดยใช้กรดทาร์ทาริกปลอดเชื้อ เข้มข้นร้อยละ 10 และผสมให้เข้ากัน

สถาบันวิทยบริการ มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Lactobacillus MRS Broth (MRS Broth) (Himedia, India)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Proteose peptone	10.00 กรัม
Beef extract	10.00 กรัม
Yeast extract	5.00 กรัม
Dextrose	20.00 กรัม
Polysorbate 80	1.00 กรัม
Ammonium citrate	2.00 กรัม
Sodium acetate	5.00 กรัม
Magnesium sulphate	0.10 กรัม
Manganese sulphate	0.05 กรัม
Dipotassium phosphate	2.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Broth 55.15 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แบ่งเทใส่ขวดแก้วฝาเกลียว นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ : การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar เติมผงวุ้น 15 กรัมต่อลิตร

4. สารละลายเปปโตน วอร์เตอร์ (Peptone Water) (Himedia, India)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Peptone	10.00 กรัม
Sodium chloride	5.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

ชั่ง Peptone Water 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แบ่งเทใส่ขวดแก้วฝาเกลียว และหลอดทดลอง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ฉ

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

วันที่..... ฉบับที่.....

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส
ชื่อผลิตภัณฑ์ ขนมจีนแป้งหมักจากกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

<u>ส่วนที่ 1</u> ข้อมูลทางประชากรศาสตร์
คำแนะนำ : กรุณาใส่เครื่องหมาย / ในวงเล็บ ( ) หน้าคำตอบที่ตรงกับคุณสมบัติของท่าน

1. เพศ
   ( ) 1. หญิง ( ) 2. ชาย

2. อายุ
   ( ) 1. ต่ำกว่า 20 ปี ( ) 2. 21 – 30 ปี
   ( ) 3. 31 – 40 ปี ( ) 4. 41 – 45 ปี
   ( ) 4. 45 ปี ขึ้นไป

3. วุฒิการศึกษาปัจจุบัน
   ( ) 1. ประถมศึกษา ( ) 2. มัธยมศึกษาหรือเทียบเท่า
   ( ) 3. อนุปริญญา หรือเทียบเท่า ( ) 4. ปริญญาตรี
   ( ) 4. สูงกว่าปริญญาตรี

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

4. อาชีพ
   ( ) 1. นิสิต/นักศึกษา ( ) 2. ค้าขาย/ธุรกิจส่วนตัว
   ( ) 3. แม่บ้าน ( ) 4. ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ
   ( ) 5. พนักงานเอกชน ( ) 6. รับจ้าง
   ( ) 7. อื่นๆ โปรดระบุ.....

5. รายได้ต่อเดือน
   ( ) 1. น้อยกว่า 1,000 บาท ( ) 2. 1,000 – 5,000 บาท
   ( ) 3. 5,001 – 10,000 บาท ( ) 4. 10,001 – 15,000 บาท
   ( ) 5. 15,001 – 20,000 บาท ( ) 6. มากกว่า 20,000 บาท

<u>ส่วนที่ 2</u> ข้อมูลด้านการยอมรับผลิตภัณฑ์ ขนมจีนแป้งหมักจากกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

คำอธิบาย

1. ลักษณะปรากฏ
   1) จับเรียงเส้น และมีรูปร่าง ขนาดใกล้เคียงกัน อาจมีเส้นขาดได้เล็กน้อย เท่ากับ 9 คะแนน
   2) ไม่จับเส้นและมีรูปร่าง ขนาดใกล้เคียงกัน มีเส้นขาดจำนวนมาก เท่ากับ 1 คะแนน
2. สี
   1) สีขาวตามธรรมชาติ และมีสีสม่ำเสมอ เท่ากับ 9 คะแนน
   2) สีคล้ำ และมีสีไม่สม่ำเสมอ เท่ากับ 1 คะแนน
3. กลิ่น
   1) มีกลิ่นหมักตามธรรมชาติ เท่ากับ 9 คะแนน
   2) มีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูด เท่ากับ 1 คะแนน
4. รสชาติ
   1) มีรสชาติที่ดีตามธรรมชาติของการหมัก เท่ากับ 9 คะแนน
   2) มีรสเปรียว เท่ากับ 1 คะแนน
5. เนื้อสัมผัส
   1) เส้นนุ่ม เหนียว ไม่เละ เท่ากับ 9 คะแนน
   2) เส้นแฉะ เท่ากับ 1 คะแนน
6. ความชอบโดยรวม
   1) ชอบมากที่สุด เท่ากับ 9 คะแนน
   2) ไม่ชอบมากที่สุด เท่ากับ 1 คะแนน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

คำแนะนำ : กรุณาพิจารณา ทดสอบดม และทดสอบชิมผลิตภัณฑ์ต่อไปนี้จากซ้ายไปขวา จากนั้นให้คะแนนความชอบให้ตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยมีเกณฑ์การให้คะแนนกำหนดไว้ด้านล่าง และกรุณาบ้วนปากระหว่างผลิตภัณฑ์

ชอบมากที่สุด	9 คะแนน	ไม่ชอบเล็กน้อย	4 คะแนน
ชอบมาก	8 คะแนน	ไม่ชอบปานกลาง	3 คะแนน
ชอบปานกลาง	7 คะแนน	ไม่ชอบมาก	2 คะแนน
ชอบเล็กน้อย	6 คะแนน	ไม่ชอบมากที่สุด	1 คะแนน
เฉยๆ	5 คะแนน		

ลักษณะที่ประเมิน	**รหัสผลิตภัณฑ์**				
	015	**081**	**426**	**539**	**568**
ลักษณะปรากฏ					
สี					
กลิ่น					
รสชาติ					
เนื้อสัมผัส					
ความชอบโดยรวม					

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

.....

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

"ขนมจีน" เป็นอาหารยอดนิยมของคนเกือบทุกภาคในประเทศไทย รับประทานสะดวก มีคุณค่าทางสารอาหารจากผักเคียงและมีหลายเมนูให้เลือกสรร ไม่ว่าจะเป็นขนมจีนน้ำยากะทิของคนภาคกลาง ขนมจีนน้ำเงี้ยวของคนภาคเหนือ ขนมจีนราดแกงไตปลาของภาคคนใต้ หรือขนมจีนในตำซั่วของคนภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ขนมจีนแบ่งตามการผลิตได้เป็น 3 แบบ แบบเส้นสดที่ผลิตสำหรับรับประทานแบบวันต่อวัน ไม่ผ่านการหมักก่อน เส้นค่อนข้างตึงและกระด้าง มีความนุ่มน้อย ไม่มีกลิ่นหมัก แบบเส้นแห้งกึ่งสำเร็จรูป ต้องนำมาต้มให้คืนตัวภายใน 5 ถึง 10 นาที ก่อนรับประทาน และแบบเส้นหมัก นิยมรับประทานมากในปัจจุบัน เนื่องจากเส้นมีความเหนียวอ่อนนุ่ม ลื่น มีกลิ่นหอมจากการหมัก ขนมจีนแป้งหมักมีน้ำเป็นส่วนประกอบอยู่มาก มีความชื้นสูง ขนมจีนจึงจัดอยู่ในกลุ่มอาหารเน่าเสียง่าย มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิปกติได้ 1 คืน ทำให้ปัจจุบันบางแหล่งผลิตขนมจีนเส้นหมักมีการใส่วัตถุกันเสียลงไปเพื่อเป็นการถนอมเส้นขนมจีนให้เก็บไว้ได้นาน ซึ่งตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 281 พ.ศ. 2547 อ้างอิงตามมาตรฐานสากลของโคเด็กซ์ (Codex) กำหนดไว้ว่า อาหารจำพวกพาสตา ก๋วยเตี๋ยว และผลิตภัณฑ์ทำนองเดียวกัน ซึ่งรวมถึงขนมจีน ต้องมีค่ามาตรฐานของวัตถุกันเสีย กรดเบนโซอิก (benzoic acid) ไม่เกิน 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การเก็บขนมจีนที่ใส่วัตถุกันเสียในปริมาณปกติแล้วเก็บไว้ที่อากาศปกติ ขนมจีนนั้นจะสามารถอยู่ได้นาน 1 ถึง 2 วัน จากการสุ่มตรวจขนมจีนเพื่อหาวัตถุกันเสียตกค้าง จำนวน 12 ยี่ห้อ ของมลฤดี (2559) ตามแหล่งซื้อขายต่าง ๆ ในเขตพื้นที่กรุงเทพมหานครและปริมณฑล พบว่า ตรวจพบการใส่วัตถุกันเสียทั้ง 12 ยี่ห้อ มีการใส่วัตถุกันเสียไม่เกินมาตรฐาน 10 ยี่ห้อ และเกินมาตรฐาน 2 ยี่ห้อ โดยมีวัตถุกันเสียมากถึง 1,121.37 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 1,115.32 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยปกติร่างกายไม่ควรได้รับวัตถุกันเสียเกินกว่า 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม การได้รับวัตถุกันเสียมากเกินไปย่อมเกิดอันตราย กรณีพิษเฉียบพลัน เมื่อได้รับปริมาณสูง เกิดอาการคลื่นไส้ หายใจไม่ออกและหมดสติ ในกรณีพิษกึ่งเรื้อรังและพิษเรื้อรัง เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีสารกันบูดเป็นระยะ ๆ เป็นเวลานาน อาจก่อให้เกิดมะเร็งลำไส้ ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของตับและไตลดลง ซึ่งอาจถึงขั้นเสียชีวิตได้ (ศูนย์วิทยบริการ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, ม.ป.ป.) ทั้งนี้วัตถุกันเสียสามารถถูกทำลายได้ด้วยความร้อน อย่างเส้นก๋วยเตี๋ยวมีการลวกก่อนรับประทานจึงลดปริมาณสารกันบูดไปได้บ้าง แต่ขนมจีนเส้นหมักมักนำมารับประทานเลย ทำให้มีความเสี่ยงมากกว่า ดังนั้นการหาแนวทางยืดอายุเส้นขนมจีนแป้งหมักให้เก็บได้นานขึ้น ทดแทนการใช้วัตถุกันเสียกรดเบนโซอิกจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจพัฒนา

การทำขนมจีนแป้งหมักมีขั้นตอนการทำทั่ว ๆ ไป เริ่มจากเตรียมข้าวมาล้างทำความสะอาด แช่น้ำ นำไปโม่เปียก พอได้แป้งน้ำ นำไปหมัก จากนั้นนำไปทับน้ำ แล้วนำก้อนแป้งที่ได้ไปนึ่ง นำไปนวดให้ได้ที่ แล้วนำไปโรยเส้น เป็นขนมจีน ซึ่งในขั้นตอนการหมักโดยทั่วไปเป็นการหมักโดยอาศัยจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ โดยทิ้งให้แป้งย่อยเองซึ่งเสี่ยงกับการปนเปื้อนกับเชื้อชนิดอื่น และอาจส่งผล

ต่อคุณภาพขนมจีน จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการหมักขนมจีนส่วนใหญ่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบต่าง ๆ และพบว่าจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการหมักแป้งขนมจีนเป็นกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก โดยเฉพาะสายพันธุ์ *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus fermentum* โดยตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์อัลฟากลูโคซิเดส เบต้ากลูโคซิเดส ซึ่งบ่งบอกถึงความสามารถในการย่อยแป้ง ได้ดี (Lu และคณะ, 2008; Li และคณะ, 2015) ในงานวิจัยนี้จึงสนใจเลือกใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *L. plantarum* และ *L. fermentum* ที่ย่อยแป้งได้ดีและแยกได้จากขนมจีนมาหมักขนมจีน การใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกผลิตขนมจีนทำให้สามารถควบคุมคุณภาพของขนมจีนได้อย่างสม่ำเสมอ รวมทั้งลดเวลาการหมัก และน้ำทิ้งจากการผลิตขนมจีน (อรวัลภ์, 2553; ณัฐพร, 2558) รวมทั้งการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกหมักข้าว ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่าข้าวหมักตามธรรมชาติ และปริมาณกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดแลคติก และกรดแอซีติกสูงกว่าการหมักตามธรรมชาติมาก กรดอินทรีย์ที่สร้างขึ้นในกระบวนการหมักนี้มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะพวกแบคทีเรียที่ทำให้ขนมจีนเน่าเสียได้ กรดอินทรีย์จึงอาจเป็นตัวการในการยืดอายุการเก็บรักษาขนมจีน นอกจากนี้ยังพบว่า *L. plantarum* และ *L. fermentum* ผลิตแบคเทอริโอซิน ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่น โดยแบคเทอริโอซินที่ผลิตจาก *L. plantarum* จะยับยั้ง *Enterococcus* spp., *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* และ *Listeria* spp. (Todorov, 2008) ขณะที่แบคเทอริโอซินที่ผลิตจาก *L. fermentum* จะยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวกและแกรมลบ รวมทั้งเชื้อ Candida (Pascual และคณะ, 2008) แบคเทอริโอซินที่สร้างขึ้นโดยแบคทีเรียกรดแลคติกนี้จึงสามารถนำมาใช้ในการถนอมอาหารหมัก ลดการเน่าเสีย และยืดอายุการเก็บขนมจีนได้ รวมทั้งยังสามารถลดการใช้วัตถุกันเสียในขนมจีน

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการยืดอายุการเก็บขนมจีนแป้งหมักทดแทนการใช้วัตถุกันเสีย ด้วยการพัฒนากระบวนการผลิตโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกจากขนมจีน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. fermentum* TISTR 945, *L. fermentum* TISTR 950 และ *L. plantarum* TISTR 951 เปรียบเทียบกับขนมจีนที่มีการหมักจากเชื้อธรรมชาติและขนมจีนที่ใส่วัตถุกันเสียกรดเบนโซอิก

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาขนมจีนแป้งหมักที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก เปรียบเทียบกับขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ และขนมจีนแป้งหมักใส่วัตถุกันเสียกรดเบนโซอิก
2. เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมี ทางกายภาพ และทางจุลินทรีย์ของขนมจีนที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ และขนมจีนแป้งหมักใส่วัตถุกันเสียกรดเบนโซอิก
3. เพื่อศึกษาการยอมรับทางประสาทสัมผัสของขนมจีนแป้งหมักที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก

มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ขอบเขตการวิจัย

1. วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตขนมจีนแป้งหมักเป็นข้าวพันธุ์เหลืองปะทิว

2. ผลิตขนมจีนแป้งหมักด้วยกล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. fermentum* TISTR 945, *L. fermentum* TISTR 950 และ *L. plantarum* TISTR 951 พร้อมกับผลิตขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ และขนมจีนแป้งหมักใส่วัตถุกันเสียกรดเบนโซอิก

3. ศึกษาสมบัติทางเคมีของขนมจีนแป้งหมักจากการวัดค่าความเป็นกรด–ด่าง ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (a_w) การวิเคราะห์ปริมาณกรดจากการไตเตรท และปริมาณความชื้น ในวันที่ 0, 1 และ 2

4. ศึกษาสมบัติทางกายภาพของขนมจีนแป้งหมักจากการวัดค่าสี และลักษณะเนื้อสัมผัส ในวันที่ 0, 1 และ 2

5. ตรวจวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์ของขนมจีนแป้งหมักจากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราปริมาณจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียทั้งหมด และปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติก ในวันที่ 0, 1 และ 2

6. ศึกษาการยอมรับทางประสาทสัมผัสของขนมจีนในวันที่ 0

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. ขนมจีน หมายถึง อาหารคาวชนิดหนึ่ง ทำด้วยแป้งเป็นเส้นกลม ๆ คล้ายเส้นหมี่ รับประทานกับน้ำยา น้ำพริก เป็นต้น

2. วัตถุกันเสีย หมายถึง วัตถุเจือปนอาหารที่ใช้เติมในอาหาร เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายจุลินทรีย์ที่จะทำให้อาหารเน่าเสียและช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร วัตถุกันเสียที่ใช้ในขนมจีนแป้งหมักเป็นสารเคมี กรดเบนโซอิก

3. แบคเทอริโอซิน หมายถึง เพปไทด์หรือโปรตีน ที่สังเคราะห์จากไรโบโซมของแบคทีเรีย และมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่น และมีฤทธิ์การยับยั้งแคบและเป็นพิษกับแบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกัน

4. แบคทีเรียกรดแลคติก หมายถึง กลุ่มของแบคทีเรียแกรมบวก ที่สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสให้เกิดกรดแลคติก กรดอินทรีย์อื่น ได้แก่ กรดแอซีติก และกรดโพรพิโอนิก และสารอื่น ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นและรสของอาหารหมัก ได้แก่ *L. fermentum* TISTR 945, *L. fermentum* TISTR 950 และ *L. plantarum* TISTR 951

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ยกระดับอาหารพื้นบ้านให้มีคุณภาพ และมีความปลอดภัยทางอาหาร
2. ได้ขนมจีนแป้งหมักที่มีคุณภาพดีสม่ำเสมอ มีอายุการเก็บนานขึ้น โดยไม่ต้องใส่วัตถุกันเสีย
3. ได้ผลงานวิจัยที่สามารถเผยแพร่ได้ในระดับชาติและนานาชาติ

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ขนมจีน และวิธีทำขนมจีน

ขนมจีน เป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่แปรรูปมาจากแป้งธรรมชาติในรูปของเส้นแป้งสุก สีขาว ขนาดเล็ก มีความนุ่ม ลื่น นิยมใช้รับประทานแทนข้าวคู่กับน้ำยาขนมจีนชนิดต่าง ๆ หรือรับประทานคู่กับอาหารอื่น ๆ เช่น ส้มตำ และเมนูยำต่าง ๆ การแปรรูปขนมจีน ถือเป็นภูมิปัญญาในการแปรรูปแป้งของคนไทยมาตั้งแต่สมัยอยุธยา สมัยก่อนนิยมใช้เป็นอาหารต้อนรับแขกในงานบุญต่าง ๆ จนถึงปัจจุบันยังใช้เป็นอาหารอย่างหนึ่งสำหรับทุกเทศกาลงานบุญต่าง ๆ รวมถึงกลายเป็นอาหารที่นิยมรับประทานแทนข้าวได้

ชนิดขนมจีน

1. ขนมจีนแป้งหมัก

ขนมจีนแป้งหมัก (fermented rice noodle) เป็นขนมจีนที่มีการผลิตในทุกภาค และนิยมรับประทานมากในปัจจุบัน เนื่องจากให้เส้นที่อ่อนนุ่ม ลื่น มีกลิ่นหอมจากการหมักเป็นเอกลักษณ์ และกระบวนการผลิตง่าย ไม่ซับซ้อน โดยผลิตจากข้าว ปลายข้าว หรือแป้งที่มีการหมักไว้ 2-3 วัน ก่อนนำมาให้ความร้อน และรีดเป็นเส้น การผลิตขนมจีนแป้งหมักแบ่งเป็น 3 ระดับ คือ การผลิตระดับอุตสาหกรรม การผลิตระดับอุตสาหกรรมครัวเรือน และการผลิตระดับพื้นบ้าน การผลิตทั้ง 3 ระดับนี้ ส่วนใหญ่เป็นการผลิตขนมจีนแป้งหมักซึ่งมีความหลากหลายของการผลิตในแต่ละท้องถิ่น ความแตกต่างขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว แหล่งน้ำ การใช้อุปกรณ์เครื่องทุ่นแรงมาช่วยในการผลิต และระยะเวลาในการหมักที่แตกต่างของแต่ละแหล่งผลิต

2. ขนมจีนแป้งสด

ขนมจีนแป้งสดเป็นขนมจีนที่ผลิตจากข้าวหรือแป้งสด โดยไม่ผ่านการหมักก่อน ทำให้ได้เส้นขนมจีนสีขาว เส้นค่อนข้างตึง และกระด้าง มีความนุ่มน้อย ไม่มีกลิ่นหมัก จึงไม่เป็นที่นิยมผลิตและรับประทานกันมากนัก

3. ขนมจีนแห้งกึ่งสำเร็จรูป

เป็นขนมจีนอีกรูปแบบหนึ่งในรูปเส้นแห้งเพื่อให้เก็บได้นาน และพร้อมรับประทานได้ทุกเมื่อ โดยผลิตจากการหมักข้าวหรือแป้ง แล้วนำมานวด และขึ้นรูปให้เป็นเส้น หลังจากนั้นนำมาตัดและจัดเรียงก่อนเข้าเครื่องอบแห้งจนได้ขนมจีนแห้งที่สามารถเก็บไว้ได้นาน และพร้อมรับประทานด้วยการต้มภายใน 5-10 นาที คล้ายกับบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปทั่วไป

วิธีการทำขนมจีนแป้งหมัก

1. วัตถุดิบ

1.1 ข้าว

RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ข้าวเป็นวัตถุดิบหลักในการทำขนมจีน โดยทั่วไปจะใช้ข้าวจ้าว จะไม่ใช้ข้าวเหนียว เพราะไม่ต้องการให้ขนมจีนเหนียวมาก โดยข้าวที่ใช้จะมีอายุหลังการเก็บเกี่ยวประมาณ 6 เดือน ถึง 1 ปี เนื่องจากข้าวจะมีความสามารถในการดูดน้ำและพองตัวได้มาก และให้ความคงตัวของแป้งสุกดี การใช้ข้าวใหม่ที่มีอายุการเก็บรักษาน้อยกว่า 6 เดือน ทำให้เส้นขนมจีนที่ได้นิ่มและติดกัน และได้ปริมาณการผลิตน้อย ข้าวที่ใช้ไม่ควรเป็นข้าวเก่า เพราะจะทำให้ขนมจีนมีสีเหลืองมาก เส้นแข็งกระด้าง ไม่มีความมันเงา การผลิตขนมจีนในระดับชุมชนมักใช้ข้าวจ้าวเม็ดเต็มหรือข้าวจ้าวเกรดที่ใช้บริโภคทั่วไป เช่น ข้าวหอมมะลิ แต่หากเป็นในระดับโรงงานมักใช้ข้าวหัก หรือปลายข้าวเป็นหลัก และค่อนข้างเป็นข้าวเกรดปานกลาง ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีแสดงดังตารางที่ 2.1 ข้าวที่เหมาะในการทำขนมจีนคือข้าวที่มีแอมิโลสสูง ร้อยละ 27-33 ซึ่งแอมิโลสสูงจะมีผลต่อความสามารถในการดูดน้ำของเม็ดสตาร์ช ช่วยในการพองตัวและสามารถให้ความคงตัวต่อการแตกของเม็ดแป้งที่อุณหภูมิสูงได้ เมื่อแป้งสุกแล้วทำให้เย็นจะเกิดการคืนตัวและจับตัวเชื่อต่อกัน ทำให้ได้ขนมจีนที่มีลักษณะเหนียวนุ่ม ไม่แฉะและเหนียวติดกัน ถ้ามีปริมาณแอมิโลสต่ำ ทำให้เส้นขาดง่าย ไม่คงตัว ส่วนปริมาณโปรตีนถ้าสูง ทำให้ขนมจีนที่ได้มีสีคล้ำ ไม่เป็นเงา ความเหนียวของเส้นลดลง ขาดได้ง่าย และลักษณะเนื้อสัมผัสค่อนข้างกระด้าง เนื่องจากไม่มีคุณสมบัติในการจับตัวเชื่อมต่อกัน และยังขัดขวางการดูดน้ำของเม็ดแป้ง พันธุ์ข้าวที่นิยมนำมาใช้ทำขนมจีน เช่น เหลืองประทิว 123 ปทุมธานี 60 สุพรรณบุรี 90 ชัยนาท 1 และ ปราจีนบุรี 1 เป็นต้น (Juliano, 1971; งามชื่น, 2541)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของข้าวหักที่ใช้ในการผลิตขนมจีน

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณในข้าวหักเฉลี่ย (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)
ความชื้น	9.57-14.88
ปริมาณแอมิโลส	27.25-33.33
สตาร์ช	87.49-92.06
โปรตีน	5.99-8.69
ไขมัน	0.04-1.74
เยื่อไย	0.33-1.79
เถ้า	0.26-0.66

ที่มา : พัชรีและคณะ (2534)

1.2 น้ำ

น้ำที่ใช้ในทุกขั้นตอนการผลิตควรใช้น้ำที่สะอาดปราศจากสิ่งแขวนลอย มีความกระด้างต่ำ สามารถใช้ได้ทั้งน้ำฝน และน้ำประปา แต่ทั่วไปนิยมใช้น้ำประปามากที่สุด น้ำฝนจะมีใช้น้อยบางพื้นที่ชนบทเท่านั้น ส่วนน้ำบาดาลก็สามารถใช้ได้เช่นกันในเฉพาะบางพื้นที่ที่ไม่มีปัญหาในเรื่องน้ำบาดาลเค็มหรือน้ำกร่อยมาก และเมื่อสูบขึ้นมาแล้ว ควรเก็บในบ่อพักเสียก่อนก่อนนำมาใช้ เพื่อให้อิออนเหล็กตกตะกอนเสียก่อนแล้วจึงนำไปกรองผ่านทรายและผ่านเครื่องกำจัดความกระด้าง ถ้าเป็นน้ำประปาไม่ควรมีคลอรีนมากเกินไปจะทำให้ขนมจีนมีกลิ่นผิดปกติ ถ้าใช้น้ำขุ่นจะทำให้ขนมจีนมีสีคล้ำ นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำที่ใช้ยังมีผลต่อสีของขนมจีน น้ำที่มีค่าความ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

เป็นกรด-ด่าง 6.4 ทำให้ขนมจีนมีสีผิดปกติมีสีออกเหลือง ถ้ามีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 5.5 ทำให้ขนมจีนมีสีขาวเหลืองออกสีคล้ำแดง ถ้ามีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 7.4 ขนมจีนที่ได้จะมีสีขาวเหลืองออกเขียว ส่วนลักษณะของความสว่าง (value) และความเข้มสี (chroma) ไม่มีความแตกต่างกัน (ณรงค์ และอัญชนีย์, 2528)

1.3 เกลือ

เกลือที่ผสมในขนมจีนใช้เพื่อป้องกันการเน่าเสีย ลดความเปรี้ยวของขนมจีน เนื่องจากเกลือทำหน้าที่ในการคัดเลือกให้เฉพาะแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีประโยชน์ต่อกระบวนการหมักเจริญเติบโตได้ดี แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นแบคทีเรียที่สามารถทนเกลือได้ และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ทำให้อาหารเน่าเสีย รวมทั้งเกลือที่ผสมช่วยเพิ่มรสชาติ เกลือที่ใช้อาจเป็นเกลือสมุทรหรือเกลือสินเธาว์ เป็นเกลือบ่นหรือเม็ด แต่ควรมีความขาว และบริสุทธิ์มากพอนำไปผสมในขณะโม่แป้งหรือนอนน้ำแป้ง (สุรางค์รัตน์, 2526)

1.4 สีผสมอาหาร

ในบางครั้งการทำขนมจีนอาจต้องการเพิ่มสีสันให้แก่ขนมจีน เช่น สีชมพู สีเหลือง สีม่วงและสีเขียว เป็นต้น เพื่อให้ขนมจีนมีสีสันที่น่ารับประทานมากขึ้น และช่วยดึงดูดความสนใจในทางการตลาดได้อีกทาง สีผสมอาหารที่ใช้ ควรเป็นสีผสมอาหารจากธรรมชาติ เช่น สีเขียวจากใบเตย สีม่วงจากดอกอัญชัน สีชมพูจากดอกเฟื่องฟ้า สีเหลืองจากดาวเรือง เป็นต้น

1.5 จุลินทรีย์

จุลินทรีย์เป็นแหล่งเอนไซม์ต่าง ๆ ซึ่งใช้ในการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ให้ได้ผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการหมักของขนมจีนแป้งหมักตามธรรมชาติในด้านกลิ่นรส และสี ได้แก่ แบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งจะเกี่ยวข้องในการผลิตขนมจีนแป้งหมักในขั้นตอนการหมักปลายข้าว การนอนน้ำแป้งและทับน้ำแป้ง ชลธิชา และคณะ (2555) ได้ศึกษาจุลชีววิทยาของกระบวนการผลิตขนมจีน พบว่า แบคทีเรียกรดแลกติกมีปริมาณสูงสุดในขั้นตอนของนอนน้ำแป้งเท่ากับ 2.26×10^{9} CFU/g รองลงมาคือขั้นตอนของน้ำแป้งเท่ากับ 6.93×10^{8} CFU/g และทับน้ำแป้งเท่ากับ 3.67×10^{8} จุลินทรีย์ในขั้นตอนการหมักขนมจีนเป็นจุลินทรีย์จากธรรมชาติซึ่งอาจติดมากับวัตถุดิบ ได้แก่ ปลายข้าว น้ำ เครื่องมือ ภาชนะบรรจุ เช่น ใบตอง จากการศึกษาวิจัยของสุพรรณิการ (2548) ได้ศึกษาการคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกจากข้าวหมักของโรงงานแสงจันทร์และสถานประกอบการบ้านโคกประโดกเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อขนมจีนแป้งหมัก พบว่าจีนัสหลักที่พบคือ Lactobacillus และการจำแนกในระดับสปีชีส์ คือ *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus cellubiosus* โดยมีคุณสมบัติที่ดีในการย่อยแป้ง สร้างกรด และยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค สามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus cereus*, *Eshcherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium และ *Staphylococcus aureus* Lu และคณะ (2008) ได้ทำการคัดแยกและจัดจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ในขนมจีนแป้งหมักจากโรงงานผลิตขนมจีน 14 แหล่ง พบว่า จุลินทรีย์หลักที่คัดแยกได้เป็นแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก โดยเฉพาะสายพันธุ์ *Lactobacillus plantarum* โดยตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์อัลฟากลูโคซิเดส เบต้ากลูโคซิเดส ไลเปส และทริปซิน ซึ่งบ่งบอกถึงความสามารถในการย่อยแป้ง น้ำตาล ไขมัน และโปรตีนได้ดี Li และคณะ (2015) ได้ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากขนมจีนแป้งหมักที่ผลิตจากโรงงานขนมจีนแต่ละแหล่ง พบว่าเป็น

สายพันธุ์ของ *Lactobacillus* จำนวน 7 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus delbrueckii*, *L. salivarius*, *L. helveticus*, *L. reuteri*, *L. fermentum*, *L. amylovorus* และ *L. oris*

ขั้นตอนการทำขนมจีน

1. การทำความสะอาด และแช่ข้าว

เป็นขั้นตอนแรก ด้วยการนำข้าวมาแช่น้ำ และล้างทำความสะอาด โดยเฉพาะสิ่งปนเปื้อนที่มักลอยอยู่ชั้นบนหลังแช่ข้าวในน้ำ ถ้าการล้างข้าวไม่สะอาดหรือใช้น้ำที่มีสารแขวนลอยอยู่มาก จะทำให้ขนมจีนที่ได้มีสีคล้ำ หลังล้างเสร็จให้แช่ข้าวสักพัก ก่อนนำเข้าขั้นตอนการหมัก การแช่ข้าวในน้ำเพื่อทำให้เอนโดสเปิร์มของเมล็ดข้าวอ่อนตัวลง ช่วยเพิ่มความชื้นในข้าวในข้าว ช่วยให้เม็ดแป้งแตกตัวได้ดีในขั้นตอนการโม่ข้าว ทำให้ง่ายต่อการบด

2. การหมักข้าว

การหมักข้าวเป็นกระบวนการที่ใช้จุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ แบคทีเรียกรดแลคติก ยีสต์ รา และโคลิฟอร์มเข้าช่วยย่อยแป้ง และทำให้เกิดกลิ่น ด้วยการหมักข้าวทั้งแบบแห้ง และแบบแช่น้ำ การหมักเป็นกระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบอินทรีย์โดยการทำงานของเอนไซม์ที่ถูกสร้างขึ้นจากเชื้อจุลินทรีย์ จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารอาหารต่าง ๆ ในข้าวหมัก ได้แก่ ความชื้นเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 30-32 ปริมาณแอมิโลสเพิ่มขึ้นร้อยละ 1-4 ปริมาณโปรตีนลดลง และองค์ประกอบอื่น ๆ เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย รวมทั้งมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 3.3-4.5 และอุณหภูมิสูงขึ้นเป็น 34-40 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังเกิดสารระเหยกลิ่นต่าง ๆ ในข้าวหมัก เช่น เอธานอล เอทิลแอซีเทต ไดแอซีทิล และกรดแอซีติก เป็นต้น (Keatkrai และคณะ, 2004) แต่ทั่วไปนิยมหมักข้าวแบบหมักแห้งมากที่สุด

การหมักแห้ง (solid state fermentation) เป็นวิธีการหมักที่ไม่ต้องแช่ข้าว แต่จะให้น้ำแก่เมล็ดข้าวเป็นช่วง ๆ เพื่อให้แป้งในเมล็ดข้าวมีการดูดซับน้ำ เกิดภาวะเหมาะสมของจุลินทรีย์ และทำให้นำมาบดได้ง่ายขึ้น ขั้นตอนการหมักมีดังนี้

2.1 นำข้าวที่ล้างทำความสะอาด และแช่ได้เหมาะสมแล้ว ใส่ในภาชนะที่มีรูให้น้ำไหลผ่านได้ เช่น ตะกร้าไม้ไผ่ ตะแกรงลวด เป็นต้น การหมักจะเป็นการให้น้ำแก่เมล็ดข้าวทุกวันแบบไม่มีการแช่ ซึ่งมักจะหมักนาน 2-3 วัน (โรงงานมักหมักประมาณ 1-2 วัน/ครัวเรือน 2-3 วัน)

2.2 เมื่อหมักข้าวครบตามวันที่ต้องการ ให้สังเกตข้าวที่พร้อมนำมาใช้ ซึ่งจะมีลักษณะเม็ดพองโต มีสีใสออกคล้ำเล็กน้อย เมื่อบีบจะเปื่อยยุ่ยง่าย มีกลิ่นแรงจากการหมัก ซึ่งถือว่าลักษณะเหล่านี้เหมาะสำหรับนำมาบดขั้นต่อไป ทั้งนี้ การหมักข้าวไม่ควรหมักนานเกิน 3-4 วัน เพราะจะทำให้ข้าวมีสีคล้ำ และมีกลิ่นคล้ายกลิ่นข้าวบูดได้ โดยจุลินทรีย์ที่ตรวจพบ ได้แก่ *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* เป็นต้น

3. การบดข้าว

เป็นขั้นตอนนำข้าวมาบดผ่านเครื่องบดหรือการนำข้าวหมักมาโม่เปียกเพื่อให้เมล็ดข้าวแตกเป็นผงขนาดเล็ก โดยมักบดขณะที่ข้าวอิ่มน้ำ ร่วมกับเติมน้ำขณะบด การโม่ข้าวเป็นการแยกส่วนเปลือกนอกออกจากส่วนของเอนโดสเปิร์ม จึงทำให้เกิดการตกตะกอนของสตาร์ช ข้าวที่โม่มีขนาดโมเลกุลข้าวเล็กลง ซึ่งจุลินทรีย์สามารถนำสารอาหารต่าง ๆ มาใช้ในการเจริญได้ดี จึงเกิดการสร้าง

กรดได้มากด้วย โดยข้าวที่บดจะแตกเป็นผงละลายมากับน้ำ ผ่านผ้าขาวสำหรับกรองให้ไหลลงตุ่ม ซึ่งในขั้นตอนนี้อาจเติมเกลือประมาณ 4 ส่วน สำหรับป้องกันการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

4. การนอนแป้ง

การนอนแป้งช่วยให้เม็ดแป้งดูดน้ำได้มากขึ้น มีผลให้เม็ดแป้งมีการกระจายตัวมากขึ้น พองตัวดีขึ้น และมีปริมาณแอมิโลสออกมาได้มากเมื่อได้รับความร้อนในขั้นตอนโรยเส้นขนมจีน ซึ่งเป็นผลต่อการเกิดเจลเพิ่มขึ้น (งามชื่น, 2541) เป็นขั้นตอนที่ใช้ในระดับครัวเรือน ด้วยการแช่น้ำแป้งให้ตกตะกอนประมาณ 1-2 วัน น้ำแป้งส่วนบนจะมีสีเหลือง และสิ่งปนเปื้อนสีดำคล้ำจะลอยอยู่บนสุด ในขั้นตอนนี้จะทำการล้างน้ำแป้งด้วยการให้น้ำ และปล่อยให้ตกตะกอน ซึ่งจะทำให้แป้งขาวสะอาดและมีกลิ่นน้อยลง

5. การทับน้ำหรือการไล่น้ำ

ขั้นตอนนี้เป็นวิธีการกำจัดน้ำออกจากน้ำแป้ง ด้วยการนำน้ำแป้งใส่ผ้าขาวที่มัดห่อให้แน่น แล้วนำของหนักมาทับเพื่อให้น้ำไหลซึมผ่านออก ขั้นตอนนี้จะใช้เวลาประมาณ 1 วัน หลังจากนั้นจะได้ก้อนแป้งที่มีน้ำประมาณร้อยละ 40-50

6. การต้มหรือนึ่งแป้ง

เป็นขั้นตอนที่ทำให้แป้งสุกประมาณร้อยละ 25-35 เท่านั้น เพื่อไม่ให้แป้งเหนียวมากเกินไป สำหรับระดับครัวเรือนจะใช้วิธีการต้ม ส่วนในโรงงานจะใช้วิธีการนึ่งแทน

ในระดับครัวเรือนจะใช้วิธีการปั้นแป้งเป็นก้อน ๆ เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 20-25 เซนติเมตร นำใส่เสวียนหย่อนลงต้มในน้ำเดือด โดยให้แป้งสุกเข้าด้านในประมาณ 1-3 เซนติเมตร เท่านั้น อย่าให้แป้งสุกลึกมาก เพราะจะทำให้โรยเส้นได้ยาก

7. การนวดแป้ง

เป็นขั้นตอนการนำก้อนแป้งมาบี้ให้ส่วนแป้งสุก และแป้งดิบผสมกัน ซึ่งอาจใช้มือหรือเครื่องจักรหรือครกไม้สำหรับชาวชนบท โดยสังเกตเนื้อแป้งขณะนวด หากแป้งแห้งมากให้ผสมน้ำร้อน หากแป้งเหนียวติดกันมากให้ผสมแป้งดิบ นวดแป้งให้เหมาะสมประมาณ 30 นาที เพื่อให้เป็นเนื้อเดียวกันและมีความหนืด ถ้าใช้เวลาน้อยไปอาจทำให้แป้งผสมกันไม่สม่ำเสมอ หรือเส้นขนมจีนเปื่อยยุ่ยได้ ก้อนแป้งที่เหมาะสำหรับโรยเส้นนั้น จากข้าวประมาณ 1 กิโลกรัม ที่ทำให้ได้ก้อนแป้งเหลวหนักประมาณ 3-3.5 กิโลกรัม มีลักษณะเป็นก้องแป้งอ่อนออกเหลวเล็กน้อย ในขั้นตอนการนวดแป้ง หากต้องการเพิ่มสีสันขนมจีนให้มีสีต่าง ๆ จะทำในขั้นตอนนี้ ด้วยการเทสีผสมอาหารผสมลงนวดพร้อมก้อนแป้งให้มีสีเนื้อเข้ากัน

8. การกรองเม็ดแป้ง

ในบางครั้งแป้งสุกอาจจับเป็นก้อนในขั้นตอนการนวดแป้ง หากนำไปโรยเส้นอาจทำให้เส้นขนมจีนไม่ต่อเนื่องได้ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องกรองแป้งหลังนวดด้วยผ้าขาวเสียก่อนเพื่อกำจัดก้อนแป้งสุกออกไปให้หมด

9. การโรยเส้น

การโรยเส้นเป็นขั้นตอนสำคัญที่ทำให้ขนมจีนเป็นเส้น ด้วยการบีบดันก้อนแป้งเหลวให้ไหลผ่านรูขนาดเล็กลงในน้ำเดือดอุณหภูมิ 90-95 องศาเซลเซียส เพื่อทำให้เส้นสุกจากการที่แป้งเกิดการพองตัว และมีความหนืดสูงขึ้นจากปริมาณแอมิโลสที่ละลายได้ โดยยังคงรูปเส้นเหมือนเดิม ไม่ควร

ใช้อุณหภูมิสูงมาก จะทำให้เส้นขนมจีนนิ่มและสุกเกินไป ถ้าใช้อุณหภูมิต่ำเกินไปจะใช้เวลานานในการทำให้เส้นขนมจีนสุก ซึ่งในระดับครัวเรือนจะใช้แว่นหรือเฟื่อนแว่นจะมีลักษณะเป็นแผ่นโลหะทรงกลมที่มีรูขนาดเล็กจำนวนมาก แว่นนี้จะถูกเย็บติดแน่นกับถุงผ้าที่ใช้สำหรับใส่ก้อนแป้งเหลว หลังจากนั้นรวบปลายผ้าเข้าหากัน และบีบดันแป้งให้ไหลผ่านรูลงหม้อต้มเฟื่อน มีลักษณะเป็นหม้อทรงกลมขนาดเล็ก 2 อัน อันแรกด้านล่างมีรูขนาดเล็กจำนวนมาก ด้านบนมีหูล็อกติดสองข้างสำหรับจับ อันที่สองมีลักษณะเหมือนกันแต่เล็กกว่า และสามารถวางสวมอันแรกได้ ซึ่งจะใช้สำหรับดันก้อนแป้งให้ไหลผ่านรูของอันแรกลงหม้อต้ม ส่วนระดับโรงงานมักใช้ปั๊มแรงดันต่อท่อดันก้อนแป้งเหลวผ่านตะแกรงที่มีรูขนาดเล็กลักษณะคล้ายแว่นลงหม้อต้ม ซึ่งจะประหยัดแรงงาน และได้เส้นขนมจีนที่รวดเร็วกว่า เมื่อบีบเส้นลงหม้อต้มแล้ว ให้พยายามรักษาความร้อนให้คงที่ และรอจนกว่าเส้นขนมจีนจะลอยตัวจึงใช้ตะแกรงหรือกระชุตักขึ้นมา ระยะเวลาที่เส้นขนมจีนลอยอยู่ในน้ำประมาณ 60 วินาที ถ้าใช้เวลามากขนมจีนจะดูดน้ำมากทำให้ได้เส้นค่อนข้างนิ่มและขาดง่าย แต่ถ้าใช้เวลาน้อยเกินไป ทำให้เส้นขนมจีนค่อนข้างขุ่น (ศันสนีย์, 2543)

10. การทำให้เย็น และจัดเรียงเส้น

เป็นขั้นตอนสุดท้ายในการทำขนมจีน ภายหลังจากต้มเส้นให้สุกลอยขึ้นด้านบนหม้อแล้วต่อมาจะใช้ตะแกรงหรือกระชุตักเส้นขนมจีนขึ้นมา แล้วจุ่มลงน้ำเย็นทันที เพื่อให้แอมิโลสเกิดการจับตัวและเรียงตัวกันอย่างหนาแน่นด้วยพันธะไฮโดรเจน เกิดเป็นเจล และมีสีขาวขุ่น รอจนเส้นเย็นพร้อมสามารถใช้มือจับได้ เมื่อเส้นเย็นให้ใช้มือข้างที่ถนัดจับเส้นขึ้นมาพันรอบฝ่ามืออีกข้างที่วางในแนวตั้งจนกระทั่งหมดความยาวเส้น พร้อมวางใส่ภาชนะบรรจุหรือตะแกรงที่มีช่องให้น้ำไหลผ่านได้ และเป็นภาชนะที่พร้อมส่งจำหน่ายได้ทันทีหรืออาจวางเรียงให้แห้งก่อนค่อยจัดเรียงในภาชนะจำหน่าย ทั้งนี้พยายามเรียงเส้นให้เป็นแนวสม่ำเสมอ กรรมวิธีการผลิตขนมจีนแป้งหมัก แสดงในภาพที่ 2.1

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ปัญหาคุณภาพขนมจีน

ระยะเวลาการหมักที่ไม่เหมาะสม หากการหมักไม่เพียงพอ เมล็ดข้าวมักไม่มีกลิ่น แต่หากหมักนานเกินไปมักทำให้มีกลิ่นแรง สีคล้ำมาก และมีรสเปรี้ยวมาก ซึ่งอาจเกิดจากเชื้อที่ไม่ดี และเชื้อดี ดังนั้น จึงควรผสมเกลือเล็กน้อยเพื่อควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในขั้นตอนนี้ด้วย

1. กลิ่นแรง อันเกิดจากระยะเวลาการหมักนานเกินไป มีจุลินทรีย์มากเกินไป หรือมีเชื้อชนิดอื่นเจริญเติบโต วิธีการแก้ไขด้วยการเติมเกลือในขั้นตอนหมัก และนำข้าวมาล้างน้ำก่อนเข้าขั้นตอนการบด

2. สีคล้ำ อาจเกิดจากขั้นตอนการล้างที่ไม่สะอาดพอ รวมถึงมีการหมักนานเกินไป รวมไปถึงการใช้น้ำที่ไม่สะอาดในขั้นตอนการผลิต วิธีแก้ไข ได้แก่ ใช้น้ำที่สะอาด เช่น น้ำประปาหรือน้ำฝน และล้างเมล็ดข้าวให้สะอาดทุกครั้ง ระยะเวลาการหมัก 2-3 วัน

3. เส้นยุ่ย อาจเกิดจากคุณภาพข้าวไม่ดี ใช้เวลานวดแป้งสั้น ใช้เกลือน้อย รวมถึงน้ำแป้งก่อนโรยเส้นมีน้ำมากเกินไป แก้โดยอันดับแรกที่คัดเลือกพันธุ์ข้าว และเมล็ดข้าวที่มีคุณภาพ มีการใช้เกลือที่เหมาะสม เวลาในการนวดแป้งนานพอที่ทำให้แป้งผสมกันดี และเตรียมก้อนแป้งให้มีความหนืดที่เหมาะสม (เว็บเพื่อพืชเกษตรไทย, ม.ป.ป.) รวมทั้งเส้นเปื่อยยุ่ยเนื่องจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ชนิดอื่น และทำให้ท้องเสีย ต้องไปจัดการในเรื่องหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตอาหารอย่างปลอดภัย (GMP)

4. ปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม คือเกิดน้ำเสียจำนวนมาก เนื่องจากขั้นตอนการผลิตขนมจีนต้องใช้น้ำแทบทุกขั้นตอน ซึ่งผู้ประกอบการส่วนใหญ่ไม่มีระบบบำบัดน้ำทิ้ง

ขั้นตอน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเป็นกรด-ด่าง
ข้าวหัก ↓ แช่-ล้างให้สะอาด ปล่อยน้ำทิ้ง หมักข้าว 1-2 คืน	30-40	3.3-4.5
↓ ล้าง-ปล่อยน้ำทิ้ง ข้าวหมัก + เกลือร้อยละ 2 ↓ โม่ละเอียด-กรอง น้ำแป้ง	27-30	3.9-4.2
↓ นอนน้ำแป้ง 1 คืน น้ำแป้งตกตะกอน	27-30	3.0-3.8
↓ ใส่ถุงผ้าทับน้ำ 1 คืน ก้อนแป้งสะเด็ดน้ำ ↓ นึ่ง 20 นาที หรือ ผิวนอกสุกประมาณ 0.5 นิ้ว ก้อนแป้งภายหลังนึ่งแล้ว	60-70	
↓ นวดด้วยเครื่องจนเหนียว แป้งนวด	40-50	3.0-3.3
↓ ผ่านเครื่องกรองแป้ง แป้งก่อนโรยเส้น	45	3.0-3.3
↓ ผ่านเครื่องโรยเส้น ต้มในน้ำเดือด ขนมจีนสุก	90-95	4.5
↓ แช่น้ำเย็น-จับเส้น ขนมจีนแป้งหมัก		

ภาพที่ 2.1 กรรมวิธีการผลิตขนมจีนแป้งหมัก
ที่มา : สุภรัตน์ และคณะ (2534)

แบคทีเรียกรดแลคติก

แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ หรือถ้ามีการเคลื่อนที่จะใช้แฟลคเจลลา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า มีทั้งรูปร่างทรงกลม ท่อนสั้น หรือเป็นท่อนยาว ส่วนใหญ่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

เล็กน้อย หรือไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ ซึ่งจัดเป็น facultative anaerobia แบคทีเรียกรดแลคติกขาดสารไซโตรโครม (cytochromes) และฟอร์ไฟลิน (porphyrins) จึงไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส และออกซิเดส แต่อาจพบการสร้างเอนไซม์ที่มีสมบัติคล้ายเอนไซม์คะตะเลสได้ (pseudocatalase enzyme) ในภาวะการเจริญที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลต่ำ ปริมาณของเบส G+C น้อยกว่า 50 โมลเปอร์เซ็นต์ (mol%) แบคทีเรียในกลุ่มนี้บางชนิดได้ออกซิเจนโดยผ่านเอนไซม์ฟลาโวโปรตีนออกซิเดส (flavoprotein oxidases) และใช้ออกซิเจนนี้สร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพื่อออกซิไดซ์ NADH ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการดีไฮโดรจิเนชันของน้ำตาล สามารถทนต่อสภาวะที่มีความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 5 หรือที่อุณหภูมิสูงกว่า 37 ถึง 40 องศาเซลเซียส แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกเป็นสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ สามารถผลิตกรดแลคติกได้โดยใช้คาร์บอนเป็นสารอาหาร น้ำตาลที่ใช้ได้แก่ กลูโคส และแลคโตส รวมทั้งต้องการสารประกอบไนโตรเจนเพื่อใช้เป็นแหล่งของกรดแอมิโนและวิตามินสำหรับการเจริญและสร้างกรดอินทรีย์ แหล่งที่พบแบคทีเรียกรดแลคติก ได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์จากเนื้อ ผลิตภัณฑ์จากนม ผัก ผลไม้ และอาหารหมักดองต่าง ๆ นอกจากนี้ยังพบได้ในระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินอาหาร และลำไส้เล็กของมนุษย์และสัตว์ ตัวอย่างของแบคทีเรียกรดแลคติก ได้แก่ *Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus* และ *Streptococcus* เป็นต้น (Singleton และ Sainsburg, 1998) แบคทีเรียกรดแลคติกได้รับการยอมรับว่าเป็นแบคทีเรียปลอดภัย (GRAS status) มนุษย์ได้นำแบคทีเรียกรดแลคติกมาใช้ในการผลิตอาหารหมักจากผลิตผลทางการเกษตรหลายชนิด ทั้งในรูปการเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นในการหมักตามธรรมชาติ หรือในรูปกล้าเชื้อ (starter culture) เติมลงในอาหารภายใต้ภาวะควบคุม ได้แก่ ผลิตภัณฑ์นม เช่น นมเปรี้ยว โยเกิร์ต ผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ดอง เช่น กิมจิ ผักกาดดอง ใช้ในผลิตภัณฑ์ปลา เช่น ปลาร้า ปลาส้ม ปลาจ่อม ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว ใช้ในผลิตภัณฑ์ข้าว เช่น ขนมจีนแป้งหมัก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM RAJABHAT UNIVERSITY

การจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติก

การสร้างกรดแลคติกของแบคทีเรียกรดแลคติก เกิดจากการใช้สารประกอบคาร์โบไฮเดรตในกระบวนการเมแทบอลิซึมได้กรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์ ดังนั้นเมื่อพิจารณาผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึม สามารถจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติคได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. การหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (homofermentative)

เป็นการหมักของแบคทีเรียกรดแลคติก หลังจากการหมักโดยผ่านวิถีไกลโคไลซีส (Emden-Meyerhof-Parnas pathway) หรือ EMP pathway ให้แลคเตทเพียงอย่างเดียวเป็นผลผลิตสำคัญ ในขั้นตอนแรกของปฏิกิริยามีการใช้พลังงานจาก ATP 2 โมเลกุลเพื่อเปลี่ยนกลูโคสให้เป็นกลูโคส-6-ฟอสเฟต และฟรุกโทส-1,6-ไดฟอสเฟต ตามลำดับ จากนั้นฟรุกโทส-1,6-ไดฟอสเฟตจะเปลี่ยนเป็นสารประกอบคาร์บอน 3 อะตอม โดยเอนไซม์อัลโดเลส (aldolase) ได้แก่ ไดไฮดรอกซีอะซิโตนฟอสเฟต และกลีเซอราลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต ซึ่งเป็นสารตัวกลางในวิถี EMP จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นไพรูเวทและแลคเตท จากกระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นกรดแลคติก จะได้พลังงาน ATP 2 โมเลกุลต่อกลูโคส 1 โมเลกุล ตัวอย่างของแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีกระบวนการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ ได้แก่ แบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่ม *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* และ *Streptococcus* แสดงดังตารางที่ 2.2 และผลิตภัณฑ์จากการหมักแสดงได้ในภาพที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แบคทีเรียกรดแลคติกในกลุ่มที่มีการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ

Cocci	Rods
Streptococci	**Lactobacillus**
Lactococcus lactis subsp. *lactis*	Thermobacteria
Lactococcus lactis subsp. *lactis* var. *diacetialactis*	(temp. opt. 40°C, do not grow at 15°C)
Lactococcus lactis subsp. *cremoris*	*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*
Enterococcus feacalis	*Lactobacillus delbrueckii* subsp *lactis*
Streptococcus salivarius subsp. *salivarius*	*Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*
Streptococcus salivarius subsp. *thermophilus*	*Lactobacillus helveticus*
Streptococcus pyrogenes	*Lactobacillus salivarius*
	Streptobacteria
	(temp. opt. 30-37°C, always growth at 18°C)
	Lactobacillus casei
	Lactobacillus alimentaris
	Lactobacillus coryniformis
	Lactobacillus plantarum

ที่มา : Schlegel (1993)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM UNIVERSITY

$C_6H_{12}O_6$ ⟶ $CH_3.CO.COOH$

Glucose — Pyruvic acid

$CH_3.CO.COOH + NADH_2$ ⟶ $CH_3.CHOH.COOH + NAD$

Pyruvic acid — Lactic acid

ภาพที่ 2.2 สมการจากการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ

2. การหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (heterofermentative)

เป็นการหมักของแบคทีเรียกรดแลคติกที่หลังจากการหมักน้ำตาลและสร้างพลังงานโดยผ่าน 6-phosphogluconate/phosphoketolase pathway จะได้ผลิตภัณฑ์ ได้แก่ กรดแลคติก กรดอะซิติก คาร์บอนไดออกไซด์ และเอธานอล แบคทีเรียกลุ่มนี้ไม่มีเอนไซม์อัลโดเลสซึ่งเป็นเอนไซม์ในวิถี EMP จึงไม่สามารถเปลี่ยนฟรุกโทส-1,6-ไดฟอสเฟตเป็นไตรโอสฟอสเฟต ดังนั้นจึงเกิด

กระบวนการหมักผ่านวิถีฟอสโฟกลูโคเนท (phosphogluconate) โดยกลูโคส-6-ฟอสเฟต จะถูกออกซิไดซ์เป็น 6-ฟอสโฟกลูโคเนท จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชัน (decarboxylation) ได้เป็นเพนโทสฟอสเฟตกับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จากนั้นเพนโทสฟอสเฟตจะแตกตัวเป็นไตรโอสฟอสเฟต และอะซิติลฟอสเฟต โดยเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลสเปลี่ยนไตรโอสฟอสเฟตจะเปลี่ยนเป็นแลคเตท ส่วนอะซิติลฟอสเฟตจะเปลี่ยนเป็นเอธานอล นอกจากนี้แบคทีเรียกรดแลคติกอาจจะใช้กระบวนการ อื่น ๆ ในการสร้างผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น กรดฟอร์มิก และกลีเซอรอล เป็นต้น แบคทีเรียกรดแลคติกที่มีกระบวนการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ ได้แก่ แบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่ม *Leuconostoc* และ *Lactobacillus* แสดงดังตารางที่ 2.3 และผลิตภัณฑ์จากการหมักแสดงได้ในภาพที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แบคทีเรียกรดแลคติกในกลุ่มที่มีการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ

Cocci	Rods
Streptococci	**Lactobacilli**
Leuconostoc mesenteroides subsp. *mesenteroides*	*Lactobacillus bifermentans*
Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum	*Lactobacillus brevis*
Leuconostoc mesenteroides subsp. *cremoris*	*Lactobacillus fermentum*
Leuconostoc lactis	*Lactobacillus kandleri*
	Lactobacillus viredescens

ที่มา: Schlegel (1993)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM RAJABHAT UNIVERSITY

$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3\text{-}CHOH\text{-}COOH + CH_3\text{-}CH_2OH + CO_2$ or $CH_3\text{-}COOH$

Glucose — Lactic acid — Acetic acid — Ethanol

ภาพที่ 2.3 สมการจากการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ

แบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติก

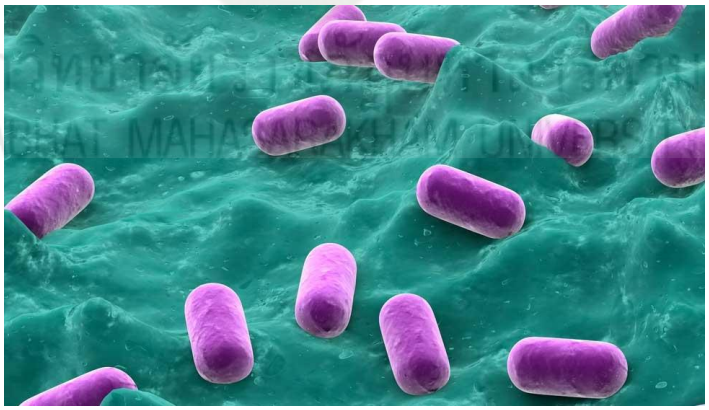
การศึกษาอนุกรมวิธานของแบคทีเรียกรดแลกติกโดยอาศัยลักษณะทางกายภาพ สมบัติทางชีวเคมี ลักษณะสัณฐาน องค์ประกอบของผนังเซลล์ กรดไขมันภายในเซลล์ ไอโซโพรีนอยด์ (isoporenoid) ควิโนน (quinone) รวมทั้งการศึกษาในระดับโมเลกุล เช่น อัตราส่วนของเบสดีเอ็นเอ (G+C content) การเข้าคู่กันของดีเอ็นเอ ลำดับเบสบน rRNA ทำให้พบลักษณะที่แตกต่างของแบคทีเรียแต่ละกลุ่ม ปัจจุบันแบคทีเรียกรดแลกติกถูกจำแนกเป็น 12 กลุ่ม ได้แก่

1. *Lactobacillus* เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกกลุ่มใหญ่ที่สุด เนื่องจากมีความแตกต่างในอัตราส่วนของเบสในดีเอ็นเอ (G+C content) ภายในกลุ่มสูงถึง 32 ถึง 53 โมลเปอร์เซ็นต์ จึงทำให้แบคทีเรียในกลุ่มนี้มีความหลากหลายของลักษณะทางฟีโนไทป์ สมบัติทางชีวเคมี และสรีระเซลล์ ซึ่งมีรูปร่างเป็นท่อน หรือทรงรี (coccobacilli) มีการจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ หรือเป็นโซ่

ไม่เคลื่อนที่ ไม่มีการสร้างเอนไซม์คะตะเลส มีบางสายพันธุ์เป็นคะตะเลสเทียม มีคุณสมบัติในการใช้เป็นโพรไบโอติกได้เป็นอย่างดี พบได้ทั่วไปในมนุษย์และสัตว์ ในนมและผลิตภัณฑ์นม อาหารหมักชนิดต่าง ๆ และเครื่องดื่ม พบในพืชเพียงเล็กน้อย เช่น ในหญ้าหมักและผักดอง โดยทั่วไปไม่เป็นพิษ มีความต้องการสารอาหารในการเจริญสูง มีเฉพาะบางสายพันธุ์เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในมนุษย์

1.1 *Lactobacillus plantarum*

เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในสกุล *Lactobacillus* ติดสีแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อน ปลายโค้งมน กว้าง 0.9 ถึง 1.2 ไมโครเมตร ยาว 3 ถึง 8 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ (ภาพที่ 2.4) เจริญได้ตั้งแต่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นต้นไป แต่ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และเจริญที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.2 หรือสูงกว่า (De Vries และคณะ, 2006) สามารถใช้แหล่งคาร์บอนในการหมักได้หลากหลายชนิด ไม่ต้องการอากาศในการเจริญ พบในอาหารหมักหลากหลายชนิด รวมถึงผลิตภัณฑ์นมหมัก เนื้อหมัก ผักดอง รวมทั้งในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ เมื่อมีปริมาณอยู่สูงในอาหารจะถูกจัดเป็นโพรไบโอติก หน้าที่หลักในกระบวนการหมัก คือ เปลี่ยนน้ำตาลที่อยู่ในวัตถุดิบให้เป็นกรดแลคติกทั้งชนิด D และ L นอกจากนี้ยังผลิตสารต่อต้านจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียลบซึ่งเป็นสารในกลุ่มของเปบไตด์และเอกโซโพลีแซคคาไรด์ สามารถรักษาระดับความเป็นกรด-ด่างระหว่างภายในเซล์และนอกเซลล์เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีปริมาณกรดแลคติกและกรดอะซีติกอยู่สูง รวมทั้งสามารถย่อยสลายแป้งมันสำปะหลังได้ จึงมักพบว่ามีการนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อในอาหารหมักพื้นบ้าน



ภาพที่ 2.4 *Lactobacillus plantarum* ภายใต้กล้องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
ที่มา : Janković และคณะ (2012)

1.2 *Lactobacillus fermentum*

เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในสกุล *Lactobacillus* ติดสีแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ (ภาพที่ 2.5) ไม่สร้างเอนไซม์คะตาเลส เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีปริมาณของเบส G+C ระหว่าง 52 ถึง 54 โมลเปอร์เซ็นต์ สามารถอยู่รอดได้ดีเมื่อผ่านระบบทางเดินอาหารของมนุษย์หรือสัตว์ ทนต่อสิ่งแวดล้อมที่

มี ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อยู่สูง มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระจากการกำจัดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์และอนุมูลไฮดรอกซิล พบได้ในอาหารหมัก ประเภทนมหมัก เนื้อสัตว์หมัก อาหารหมักจากพืช ขนมปังแป้งหมัก รวมถึงในช่องปากของมนุษย์ เป็นสายพันธุ์ที่ถูกนำมาใช้อย่างหลากหลาย รวมถึงนำมาประยุกต์ใช้ในอาหารและอาหารหมัก บางสายพันธุ์จัดเป็นโพรไบโอติก เช่น *L. fermentum* PCC, *L. fermentum* ME-3 และ *L. fermentum* CECT5716 บางสายพันธุ์เผลิตสารต้านจุลชีพพวกแอนตี้ไบโอติกและ คีโมเทอราพูติก (Klein, 2011) จากการศึกษาของ Mikelsaar และ Zilmer (2009) ที่ได้ประยุกต์ใช้ *L. fermentum* ME-3 เป็นกล้าเชื้อโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก พบว่าสามารถลดเชื้อก่อโรคที่ปนเปื้อนในอาหาร ได้แก่ *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Escherichia coli* และ *Staphylococcus* spp.

ภาพที่ 2.5 *Lactobacillus fermentum* ภายใต้กล้องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
ที่มา : The Star Online (2005)

มหาวิทยาลัยราชภัฏพนัสธาร
PHANASTHANA RAJABHAT MAHAVIRAKHAM UNIVERSITY

2. *Streptococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 ถึง 1.2 ไมครอน มักจัดเรียงตัวเป็นสายโซ่หรือคู่ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักเท่านั้นจากการหมักกลูโคส เจริญที่อุณหภูมิ 20 ถึง 42 องศาเซลเซียส ต้องการอาหารที่ซับซ้อนในการเจริญ ส่วนใหญ่นิยมใช้เป็นกล้าเชื้อในอุตสาหกรรมนมหมัก ประกอบด้วย 39 สายพันธุ์ บางสายพันธุ์เป็นปรสิตในคนหรือสัตว์ และบางสายพันธุ์ก่อให้เกิดโรครุนแรงได้ มีปริมาณเบส G+C ระหว่าง 34 ถึง 46 โมลเปอร์เซ็นต์

3. *Vagococcus* เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกซึ่งเคลื่อนที่ได้ แต่ไม่ทุกสายพันธุ์ ประกอบด้วย 2 สายพันธุ์ คือ *V. fluviais* ซึ่งเดิมอยู่ในกลุ่ม *Streptococcus* กลุ่ม N แยกได้จากอุจจาระของไก่ และ *V. salmoninarum* ซึ่งแยกได้จากปลาแซลมอนที่เป็นโรค

4. *Pediococcus* เซลล์มีรูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.36 ถึง 1.43 ไมครอน สามารถ แบ่งตัวได้ใน 2 ลักษณะ ทิศทางบนระนาบเดียวโดยแบ่งครั้งที่ 2 ในทิศทางด้านขวามือของครั้งแรก ทำให้เกิดลักษณะเฉพาะเป็นเซลล์ 4 เซลล์ ติดกันคล้ายจตุรัส (tetrad formation) ในสภาวะไม่มีอากาศ ผลิตกรดแลคติก ชนิด DL และ L(+) จากการหมักกลูโคส เจริญที่อุณหภูมิ 25 ถึง 40

องศาเซลเซียส บางสายพันธุ์ผลิตเอนไซม์คะตะเลสเทียม เป็นพวกที่มีการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ ต้องการสารอาหารที่มีความซับซ้อน มักพบร่วมกับพืชที่นำมาหมัก เช่น ผักดองเค็ม และบางสายพันธุ์เป็นสาเหตุของการเสื่อมสภาพในเบียร์และไวน์ ประกอบด้วย 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *P. acidilactici, P. damnosus, P. dextrinicus, P. inopinatus, P. parvulus, P. pentosaceus* มีปริมาณของเบส G+C ระหว่าง 34 ถึง 44 โมลเปอร์เซ็นต์

5. *Tetragenococcus* ลักษณะการแบ่งตัวเหมือน *Pediococcus* สายพันธุ์เดิม คือ *P. halophilus* อย่างไรก็ตามได้นำมาจัดจำแนกใหม่เนื่องจากความสามารถในการเจริญในอาหารที่มีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึงร้อยละ 18 และลำดับเบสบน 16S rRNA ใกล้เคียงกับเชื้อกลุ่ม *Enterococcus* และ *Carnobacterium* มากกว่ากลุ่มเดิม

6. *Aerococcus* มีลักษณะการแบ่งตัวเหมือน *Pediococcus* สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่มีอากาศเพียงเล็กน้อย เป็นพวกมีการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ ไม่มีการสร้างเอนไซม์คะตะเลส แต่มีบางสายพันธุ์มีการผลิตเอนไซม์คะตะเลสเทียม ประกอบด้วย 2 สายพันธุ์ คือ *A. viridans* และ *A. urinae* สายพันธุ์เดิมคือ *P. homari* และ *P. urinae-equi* ตามลำดับ ได้ถูกนำมาจัดจำแนกใหม่เนื่องจากความสามารถในการเจริญในอาหารที่มีสภาวะเป็นเบสสูง มีปริมาณเบส G+C ระหว่าง 39.6 ถึง 39.7 โมลเปอร์เซ็นต์ *A. viridans* ก่อให้เกิดโรคในกุ้งลอบสเตอร์และเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในคน

7. *Lactococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมหรือไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ถึง 1 ไมครอน ไม่มีการเคลื่อนที่ มีการจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่หรือต่อกันเป็นสายโซ่ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) จากการหมักแลกโตส มักใช้เป็นกล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์นมสามารถเจริญได้ที่ 10 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่ 45 องศาเซลเซียส ประกอบด้วย 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. lactis, L. garvieae, L. plantarum, L. raffinolactis* และ *L. piscium* มีปริมาณของเบส G+C ระหว่าง 34 ถึง 43 โมลเปอร์เซ็นต์

8. *Enterococcus* เซลล์มีรูปไข่จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว คู่ หรือเป็นสายโซ่สั้น ๆ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักเท่านั้นจากการหมักกลูโคส สามารถเจริญได้ที่ 10 และ 45 องศาเซลเซียส เจริญได้ในสภาพที่มีโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 6.5 และน้ำดีร้อยละ 40 เจริญได้ที่ความเป็นกรด-ด่าง 9.6 ต้องการอาหารที่ซับซ้อนในการเจริญ บางสายพันธุ์ผลิตเอนไซม์คะตะเลสเทียม และบางสายพันธุ์ก่อให้เกิดโรค แบคทีเรียกรดแลคติกกลุ่มนี้ประกอบด้วย 4 สายพันธุ์ คือ *E. faecalis, E. avium, E. gallinarum* และ *E. cecorum* มีปริมาณเบส G+C ระหว่าง 37 ถึง 40 โมลเปอร์เซ็นต์

9. *Leuconostoc* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ในผลิตภัณฑ์นมหลายชนิด เครื่องดื่มที่ได้จากการหมักและผักดองหลายชนิด สัณฐานของเซลล์ขึ้นกับอาหารเลี้ยงเชื้อ ในอาหารที่มีกลูโคสเซลล์มีลักษณะยืดออกคล้ายกลุ่ม Lactobacilli แต่เมื่อเจริญในน้ำนม เซลล์จะมีลักษณะกลม การจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือเป็นสายโซ่สั้นถึงปานกลาง ผลิตกรดแลคติกชนิด D(-) เอธานอล คาร์บอนไดออกไซด์ และไดอะซิติล จากการหมักกลูโคส จึงช่วยสร้างกลิ่นรสในอาหารหมักดอง มีการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 20 ถึง 30 องศาเซลเซียส เป็นกลุ่มที่ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส มักพบอยู่ร่วมกับ Lactobacilli การเจริญต้องการอาหารสูง ประกอบด้วย 8 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. mesenteroides*, *L. lactis, L. gelidum, L. carnosum, L. citreum, L. pseudomesenteroides, L. argentimum* และ *L. fallax* มีปริมาณของเบส G+C ระหว่าง 37 ถึง 40 โมลเปอร์เซ็นต์

10. *Oenococcus* มีรูปร่างทรงกลม ประกอบด้วยสายพันธุ์เดียวคือ *O. oeni* ซึ่งเปลี่ยนมาจาก *Leuconostoc oenus* ด้วยคุณสมบัติการทนกรดและเอธานอลปริมาณสูง รวมทั้งข้อมูลพันธุกรรมจากดีอ็นเอด้วยการศึกษาดีเอ็นเอไฮบริไดซ์เซชั่น และลำดับเบสของ 16S rRNA ต่างจากสายพันธุ์อื่นในกลุ่ม *Leuconostoc* อย่างชัดเจน และทนต่อกรดได้ดีกว่า

11. *Weissella* เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งและกลมลักษณะคล้ายกับ *Leuconostoc* (Leuconostoc-like bacteria) ซึ่งเดิมอยู่ในกลุ่ม *Leuconostoc* และ *Lactobacillus* ประกอบด้วย 7 สายพันธุ์ คือ *W. paramesenteroides* (*Leuc. paramesenteroides*), *W. confuses* (*Lactobacillus confuses*), *W. halotolerans* (*Lb. halotolerans*), *W. kandleri* (*Lb. kandleri*), *W. minor* (*Lb. minor*), *W. viridescens* (*Lb. viridescens*) และสายพันธุ์ใหม่ที่แยกได้จากไส้กรอกหมัก คือ *W. hellenica*

12. *Carnobacterium* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนตรง ขนาดสั้นถึงปานกลางหรือเป็นท่อนเรียว (slender rod) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ถึง 0.7 ไมครอน และยาว 1.1 ถึง 3.0 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว หรือคู่ มักไม่พบการเรียงเป็นสายโซ่ ไม่มีการสร้างเอนไซม์คะตะเลส เป็นพวกที่มีการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ ส่วนใหญ่เจริญได้ ที่ 0 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่ 45 องศาเซลเซียส ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) อะซิเตท เอธานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ จากการหมักน้ำตาลเฮกโตส อาจพบการผลิตอะวิโตอิน และกรดฟอร์มิก ไม่สามารถเจริญบนอาหารที่มีอะซิเตท และไม่สร้างกรดโอเลอิกในสภาวะการให้อากาศ ประกอบด้วย 6 สายพันธุ์ คือ *Carnobacterium divergens, C. piscicola, C. gallinarum, C. mobile, C. fundium* และ *C. alterfunditum* มีปริมาณของเบส G+C ระหว่าง 31.6 ถึง 37.2 โมลเปอร์เซ็นต์ พบได้ตามเนื้อสัตว์ที่บรรจุในสภาพสุญญากาศ ปลา และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ปีก (ปริยดา, 2550)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารยับยั้งจุลินทรีย์จากแบคทีเรียกรดแลคติก

การนำแบคทีเรียกรดแลคติกมาใช้ในการถนอมอาหารโดยเฉพาะอาหารหมัก ระหว่างการหมักจะมีผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึม ทั้งชนิดที่เป็นสารเมแทบอไลท์ปฐมภูมิ (primary metabolite) และสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) และผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ ตัวอย่างของสารในกลุ่มนี้ ได้แก่

1. กรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์ที่เกิดจากแบคทีเรียกรดแลคติก คือ กรดแลคติกและกรดอะซิติก จากการศึกษาของ LÜcke (2000) พบว่ากรดอะซิติกมีความสามารถในการยับยั้งรา ยีสต์ และแบคทีเรียได้ดี และทั้งกรดแลคติกและกรดอะซิติกเมื่อทำงานร่วมกันจะมีผลในการลดการเจริญของ *Salmonella* Typhinurium ได้เป็นอย่างดี ในอาหารหมักส่วนใหญ่ทั้งกรดแลคติกและกรดอะซิติกที่ผลิตจากแบคทีเรียกรดแลคติกมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ลดลง ในผลิตภัณฑ์เนื้อกรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่พบว่าเป็นกรดแลคติกและมีกรดอะซิติกเพียงเล็กน้อย

2. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ในภาวะที่มีออกซิเจน แบคทีเรียกรดแลคติกบางกลุ่ม โดยเฉพาะ Lactobacilli สามารถสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะทำลายเซลล์แบคทีเรีย โดยส่วนของ sulphydryl ของโปรตีนและลิปิดที่เมมเบรนจะถูกออกซิไดซ์อย่างรุนแรง การสะสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในผลิตภัณฑ์จะมีผลต่อการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas* spp. นอกจากนั้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังทำปฏิกิริยากับสารประกอบตัวอื่น ๆ เกิดเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ขึ้นมา เช่น ในนมดิบ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากแบคทีเรียกรดแลคติกจะทำปฏิกิริยากับ endogenous thiocyanate ซึ่งถูกเร่งปฏิกิริยาโดย lactoperoxidase เกิดเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์

3. ไดอะซิทิล

ไดอะซิทิล (2,3-butanedione) เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมที่สังเคราะห์จากสารตัวกลางในการสังเคราะห์ไพรูเวท เป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นในเนย และมีคุณสมบัติในการยับยั้ง โดยพบว่าที่ความเข้มเข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะยับยั้งยีสต์ และความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนในแบคทีเรียกรดแลคติกพบว่ามีผลเพียงเล็กน้อย ซึ่งที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 350 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีผลในการยับยั้ง

4. แบคเทอริโอซิน

แบคเทอริโอซินเป็นสารประกอบโปรตีนที่มีคุณสมบัติในสารต่อต้านจุลินทรีย์ (proteinaceous antimicrobial substance) ชนิดหนึ่ง ซึ่งผลิตจากแบคทีเรียบางชนิด มีคุณสมบัติในการยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ในสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกัน กลไกการทำลายมีความจำเพาะต่อเซลล์เป้าหมายที่แน่นอน แบคเทอริโอซินบางชนิดสามารถทนความร้อนได้ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จึงใช้ร่วมกับการแปรรูปอาหารโดยใช้ความร้อนได้ แบคเทอริโอซินจะถูกยับยั้งด้วยเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีน เช่น ทริปซิน ตัวอย่างของแบคเทอริโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรียกรดแลคติกและอนุญาตให้ใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร ได้แก่ ไนซิน จากการศึกษาของ Todorov (2008) ที่ได้ศึกษาผลของแบคเทอริโอซิน AMA-K ที่ผลิตจาก *Lactobacillus plantarum* AMA-K ที่แยกมาจากนมหมัก Zimbabwean ที่มีฤทธิ์ต่อการยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่น ผลการศึกษาพบว่าแบคเทอริโอซิน AMA-K มีฤทธิ์ยับยั้ง *Enterococcus* spp., *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae*, *Listeria innocua* LMG13568, *L. ivanovii* subsp. *ivanovii* ATCC19119 และ *L. monocytogenes* ScottA ขณะที่แบคเทอริโอซิน L23 ที่ผลิตจากเชื้อ *Lactobacillus fermentum* L23 มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 7,000 ดัลตัล คงทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวกและแกรมลบ รวมทั้ง *Candida* (Pascual และคณะ, 2008)

5. คาร์บอนไดออกไซด์

คาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide, CO_2) เกิดจากกระบวนการหมักน้ำตาลเฮกโซสให้เป็นกรดแลคติกแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ คาร์บอนไดออกไซด์จะเกิดการสะสมในชั้นไขมัน ทำให้คุณสมบัติในการเป็นเยื่อเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์เสีย คาร์บอนไดออกไซด์ที่ความเข้มข้นสูง ๆ สามารถป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิดได้

6. รูเทอริน

รูเทอรินที่มีการศึกษามากพบว่าสร้างมาจาก *Lactobacillus reuteri* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อยู่ในทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ เชื้อชนิดนี้สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ ในที่มีกลูโคส กลีเซอรอล หรือกลีเซอรอลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนด์ เชื้อ *L. reuteri* จะสามารถผลิต 3-hydroxypropanal และรูเทอรินได้จากกลีเซอรอล เนื่องจากมีการใช้พลังงานจากการเผาผลาญกลูโคส อย่างไรก็ตามเมื่อเข้าสู่ stationary phase จึงจะเริ่มมีการสะสมรูเทอริน *L. reuteri* สามารถสร้างรูเทอรินได้ 3 รูปแบบ โดยส่วนใหญ่จะพบในรูปของ monomer หรือ hydrated monomer แต่จะพบในรูปของ cyclic dimer เป็นส่วนน้อย อย่างไรก็ตามแบคทีเรียอื่น ๆ ไม่สามารถย่อยสลายกลีเซอรอลได้ ดังนั้นการสะสมและการปล่อยรูเทอรินจึงจำเพาะกับ *L. reuteri* เท่านั้น รูเทอรินมีฤทธิ์ในการยับยั้งที่กว้าง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย รา โปรโตซัว ไวรัส รวมทั้งแบคทีเรียกรดแลคติก อย่างไรก็ตาม *L. reuteri* จะทนต่อรูเทอรินมากกว่าแบคทีเรียกรดแลคติกอื่น ๆ กลไกการทำงานของรูเทอริน พบว่ารูเทอรินจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ribonucleotide reductase ทำให้รบกวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ แต่พบว่ารูเทอรินไม่มีผลกระทบเชิงลบในเซลล์มนุษย์ (Ouwehand และ Vesterlund, 2004)

กล้าเชื้อ

กล้าเชื้อ หรือหัวเชื้อ (starter culture) หมายถึงเชื้อบริสุทธ์ของจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิต เช่น รา แบคทีเรีย ยีสต์ ซึ่งได้ผ่านการคัดเลือก และตรวจสอบแล้ว จำนวนหนึ่งชนิด หรือมากกว่าหนึ่งชนิด ใช้เติมลงไปในสูตรการผลิตอย่างน้อย 10^6 เซลล์/กรัม เพื่อใช้เป็นตัวเริ่มต้นในกระบวนการหมัก ช่วยเพิ่มคุณภาพ รสชาติ และลักษณะของผลิตภัณฑ์ ลักษณะของกล้าเชื้อที่ใช้ ได้แก่ ลักษณะของสารแขวนลอย ในรูปของผงเชื้อที่ผ่านการทำไลโอฟิไลซ์ อาจมีการใช้โดยตรง หรือถ่ายเชื้อก่อนใช้ ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่หมักโดยใช้หัวเชื้อ ได้แก่ ไส้กรอกหมัก โยเกิร์ต เนยแข็ง เบียร์ เป็นต้น (Frank, 1992) โดยคุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นกล้าเชื้อต้องรับประกันได้ว่าทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพดี ซึ่งประกอบด้วยเป็นเชื้อที่มีการจัดจำแนกโดยใช้พื้นฐานทางสัณฐานวิทยา มีกิจกรรมทางสรีรวิทยาในการสร้างผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัว ทราบจำนวนเริ่มต้นของการใช้ มีความบริสุทธิ์ มีความปลอดภัยในการบริโภค

การถนอมอาหารโดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกได้เกิดขึ้นมาเป็นเวลานานพร้อมกับการพัฒนาของมนุษย์ชาติ แต่ระยะนั้นการศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียกรดแลคติกยังไม่แพร่หลายมากนัก ปัจจุบันในโลกของจุลินทรีย์โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอาหารได้รับการสนใจและพัฒนามากขึ้น แบคทีเรียกรดแลคติกได้ถูกนำมาใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตอาหารหมักหลายชนิด เช่น ผลิตภัณฑ์นมหมัก ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักในแถบยุโรป ส่วนในประเทศไทยมีการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในแหนมบางยี่ห้อ เช่น แหนมไบโอเทค และแหนมป้าย่น นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากผลิตผลทางการเกษตรหลายชนิดที่มีการหมักแบบธรรมชาติ (natural fermentation) และเกี่ยวข้องกับแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งสิ้น เช่น ขนมจีน ปลาส้ม ส้มฟัก หอยดอง หน่อไม้ดอง เป็นต้น

ชนิดของกล้าเชื้อ

การผลิตกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกเป็นตัวอย่างที่เห็นได้ชัดเจนตัวอย่างหนึ่งที่ได้มีการพัฒนาจนมีการผลิตในระดับอุตสาหกรรม ซึ่งนอกจากจะแบ่งชนิดกล้าเชื้อออกตามความเหมาะสมที่จะใช้ในผลิตภัณฑ์ที่ต่างกันแล้ว ยังแบ่งกล้าออกเป็น 2 ชนิด คือ

1. กล้าเชื้อที่นำไปใช้ได้เลยโดยไม่ต้องเพิ่มปริมาณเชื้อ (direct set) เช่น กล้าที่ใช้ในการผลิตเนยแข็งเชดดา เนยแข็งคอตเตจ และโยเกิร์ต ผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ผักและผลไม้ดอง เป็นต้น

2. กล้าเชื้อที่ต้องนำไปเพิ่มปริมาณเชื้อก่อนใช้ (bulk set) กล้าชนิดนี้ก่อนนำไปใช้โรงงานอาหารหมักแต่ละแห่งจะต้องนำไปเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณให้มากพอ กล้าที่เพิ่มปริมาณเชื้อแล้วนี้เรียก bulk starter ซึ่งเฉพาะโรงงานอุตสาหกรรมนมหมักเท่านั้นที่นิยมผลิต bulk starter กล้าเชื้อทั้งสองชนิดนี้มีทั้งที่เป็นกล้าเชื้อเข้มข้น และกล้าเชื้อที่ไม่เข้มข้นในรูปแบบต่าง ๆ กัน เช่น เป็นกล้าเชื้อที่อยู่ในรูปแช่แข็ง ไลโอฟิไลส์ และเชื้อผงแห้ง

การหมักที่มีการเติมเชื้อบริสุทธิ์ลงไปในส่วนผสม เป็นการหมักที่มีการเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์เข้าไป กล้าเชื้อที่เติมต้องเป็นสายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกแล้วว่ามีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการหมัก ต้องแข็งแรงและอยู่ในระยะที่กำลังเจริญอย่างรวดเร็ว สร้างกรดได้ในปริมาณสูง และมีความสามารถในการผลิตสารเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่ไม่ต้องการได้เป็นอย่างดี และสารประกอบอื่น ๆ ที่มีผลในการเพิ่มคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ ปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการแข่งขันของกล้าเชื้อต่อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ได้แก่ จำนวนของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่เติมลงไปในส่วนผสมกับแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีอยู่แล้วในส่วนผสมสภาพทางสรีวิทยาของกล้าเชื้อ และสูตรผสมในการผลิตว่ามีแหล่งพลังงานที่เหมาะสมต่อการเจริญของกล้าเชื้อหรือไม่ (Montel และคณะ, 1993)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นวรัตน์ และคณะ (2549) ได้ศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกต่อคุณสมบัติทางเคมีในกระบวนการผลิตขนมจีนแป้งหมัก ผลการศึกษาพบว่า แบคทีเรียกรดแลคติก 3 ชนิด ซึ่งคัดแยกจากข้าวหมักในการผลิตขนมจีนแป้งหมักทางการค้า ได้แก่ Lactobacillus RE33, Lactobacillus PD110 และ Leuconostoc PD128 ใช้เป็นกล้าเชื้อสำหรับผลิตขนมจีนแป้งหมัก โดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีในขั้นตอนที่สำคัญของการผลิตขนมจีน ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-เบส ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ ปริมาณกรดแลคติกและกรดแอซีติก เปรียบเทียบกับกระบวนการผลิตขนมจีนแป้งหมักตามธรรมชาติซึ่งใช้เวลาหมักข้าว 48 ชั่วโมง พบว่าการหมักด้วยกล้าเชื้อสามารถลดระยะเวลาหมักข้าวจาก 48 ชั่วโมงเป็น 24 ชั่วโมงได้ เนื่องจากค่าความเป็นกรด-เบสที่ลดลงอย่างรวดเร็วจาก 6.7 เป็น 3.8-4.6 และการหมักด้วย PD110 ให้ปริมาณกรดแลคติกใกล้เคียงกับการหมักตามธรรมชาติ ส่วนกระบวนการผลิตขนมจีนที่ระยะเวลาหมักข้าว 48 ชั่วโมงของการหมักด้วย RE33 ในขั้นตอนแป้งทับน้ำและการหมักด้วย PD128 ในขั้นตอนของข้าวหมักให้ปริมาณกรดแอซีติกสูงกว่าการหมักตามธรรมชาติมาก

อรวัลภ์ (2553) ได้พัฒนาการผลิตขนมจีนแป้งหมักโดยใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก *Lactobacillus plantarum* ที่ได้คัดแยกมาจากข้าวหมัก แป้งนอนน้ำ และแป้งทับน้ำของโรงงานขนมจีนในจังหวัดฉะเชิงเทรา และปทุมธานี ได้สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดแลคติกและย่อยแป้งได้สูง คือ *L. plantarum* A1 และ A39 เมื่อทำการคัดเลือกโดยศึกษาระยะเวลาในการหมักและคุณภาพของขนมจีน พบว่า *L. plantarum* A1 ใช้ระยะเวลาการหมักสั้นที่สุดเท่ากับ 24 ชั่วโมง และการใช้ในรูปกล้าเชื้อเหลวโดยผสมเซลล์ *L. plantarum* A1 ในสารละลายบัฟเฟอร์ พบว่าใช้ระยะเวลาการหมักสั้น และสามารถคงจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกไว้ได้มากที่สุดคือ 10^{9}-10^{10} โคโลนีต่อมิลลิลิตร และให้คุณภาพแป้งหมักและขนมจีนไม่มีความแตกต่างกัน ($p<0.05$) คุณภาพแป้งหมักที่ได้ที่ระยะเวลาการหมัก 24 ชั่วโมง สำหรับการผลิตขนมจีนมีคุณภาพดังนี้ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3.49 ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณแอมิโลส น้ำตาลรีดิวซ์ และโปรตีนเท่าดับร้อยละ 1.01, 33.54, 0.39 และ 6.44 ของน้ำหนักแห้งตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส มีกำลังพองตัวและความสามารถในการละลายเท่ากับ 15.00 กรัมต่อกรัม และร้อยละ 27.94 อุณหภูมิเริ่มต้นในการเกิดเจลาติไนซ์ที่วัดได้จากเครื่อง Differential Scanning Calorimetry เท่ากับ 71.19 องศาเซลเซียส มีค่าความหนืดสูงสุดและความหนืดสุดท้ายที่วัดได้จากเครื่อง Rapid Visco Analyzer เท่ากับ 285.04 และ 373.00 RVU เมื่อนำแป้งหมักมาผลิตขนมจีนและนำมาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณาโดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน 10 คน ประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของขนมจีน ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่น กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความรู้สึกตกค้าง รวม 33 คุณลักษณะ เปรียบเทียบกับขนมจีนทางการค้า พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

วิภา และคณะ (2556) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติบางประการของข้าวอ่อนสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML 150) ที่ได้รับผลกระทบจากสภาวะน้ำท่วม โดยการหมักข้าวดังกล่าวด้วยเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถย่อยแป้งได้ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงภายใต้สภาวะไร้อากาศ พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักมีความเป็นกรดสูงขึ้นและมีคุณสมบัติเปลี่ยนแปลงไปจากตัวอย่างควบคุม ผลการวิเคราะห์พบปริมาณแอมิโลสของข้าวอ่อนมีค่าร้อยละ 9.07 และมีค่าลดลงอยู่ที่ร้อยละ 7.57 ในแป้งที่ผ่านกระบวนการหมักนาน 72 ชั่วโมง นอกจากนี้กระบวนการหมักยังมีผลต่อค่าสี ค่าการละลาย กำลังการพองตัว และสมบัติด้านความหนืดของแป้งด้วย พบว่าค่าความหนืดสูงสุด ความหนืดสุดท้าย และค่าเซ็ตแบค ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับแป้งที่ไม่ผ่านการหมัก สภาวะที่เหมาะสมในการหมักที่ให้ผลผลิตสูง และได้ผลิตภัณฑ์ข้าวหมักมีลักษณะปรากฏและกลิ่นเป็นที่ยอมรับ มีค่ากำลังการพองตัวสูง และการละลายต่ำ คือการหมักข้าวอ่อนด้วย *Lactobacillus plantarum* ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ในถุงพลาสติก

ณัฐพร (2558) ได้ศึกษาการผลิตขนมจีนเส้นหมักด้วยหัวเชื้อบริสุทธิ์ของชุมชนบ้านแม่ยางโพธิ์ อำเภอร้องกวาง จังหวัดแพร่ โ ดยทำการคัดแยกจุลินทรีย์จากแป้งหมัก 3 แหล่ง คือ จังหวัดอุตรดิตถ์ จังหวัดแพร่ และจังหวัดพะเยา จากการศึกษาพบว่าสามารถจำแนกเชื้อจุลินทรีย์จากจังหวัดอุตรดิตถ์ได้ 47 ไอโซเลท จังหวัดแพร่ได้ 81 ไอโซเลท และจังหวัดพะเยาได้ 38 ไอโซเลท นำจุลินทรีย์ที่ได้แต่

ละไอโซเลทไปทำการทดสอบกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก พบว่าแป้งหมักจากจังหวัดอุตรดิตถ์เป็นจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก 3 ไอโซเลท แป้งหมักจากจังหวัดแพร่เป็นจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก 4 ไอโซเลท และแป้งหมักจากจังหวัดพะเยาเป็นจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก 1 ไอโซเลท หลังจากนั้นนำจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกที่ได้ในแต่ละแหล่งมาทดสอบการผลิตขนมจีนเส้นหมักในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน โดยทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale จากการทดลองพบว่า การใช้เชื้อจุลินทรีย์จากจังหวัดอุตรดิตถ์ : แพร่ : พะเยา ที่อัตราส่วน 1 : 2 : 1 (10 : 20 : 10 มิลลิลิตร) ให้การยอมรับจากผู้ทดสอบมากที่สุดซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการผลิตขนมจีนเส้นหมักโดยการเติมเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในปริมาณที่เหมาะสมส่งผลต่อคุณภาพของขนมจีน สามารถย่นระยะเวลาการผลิตให้สั้นลง ลดปริมาณน้ำทิ้ง สามารถควบคุมคุณภาพการผลิต และช่วยลดต้นทุนการผลิตได้

กรอบแนวคิดในการวิจัย

การผลิตขนมจีนแป้งหมัก ในขั้นตอนการหมักข้าวนั้นต้องนำข้าวมาแช่กับน้ำสะอาด เพื่อให้เกิดการย่อยหรือไฮโดรไลซ์แป้งที่เป็นองค์ประกอบหลักของข้าวด้วยเอนไซม์อะไมเลสจากจุลินทรีย์ตามธรรมชาติที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบและอุปกรณ์ ได้เป็นเด็กซ์ทรินและมอลโตส การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในขั้นตอนการหมักข้าวนี้เองที่ทำให้ขนมจีนแป้งหมักมีเส้นที่อ่อนนุ่ม ลื่น และมีกลิ่นหอมจากการหมักมากว่าขนมจีนเส้นสด การหมักข้าวมีจุลินทรีย์ที่มาเกี่ยวข้องหลายชนิด ทำให้การผลิตขนมจีนแป้งหมักมีการควบคุมคุณภาพให้สม่ำเสมอตามต้องการได้ยาก ในการหมักข้าวด้วยจุลินทรีย์ตามธรรมชาตินั้นการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการหมักจะต้องเจริญได้ดีมีอัตราการเจริญสูงกว่าการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสีย จึงจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ขนมจีนที่มีคุณภาพ แต่ถ้าในการหมักข้าว จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียรวมทั้งจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการเจริญได้ดี จะทำให้ผลิตภัณฑ์ขนมจีนที่ได้เกิดการเน่าเสีย และมีคุณภาพที่ไม่ดี ดังนั้นการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์จากกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกที่เป็นกลุ่มหลักในการหมักข้าวที่มีคุณสมบัติในการย่อยแป้งได้ดี เช่น *Lactobacillus plantarum* TISTR 951, *L. fermentum* TISTR 945 และ *L. fermentum* TISTR 950 ในการผลิตขนมจีนแป้งหมัก จะทำให้สามารถควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ขนมจีนได้ รวมทั้งสามารถลดการเน่าเสียในขั้นตอนการหมัก เนื่องจากกล้าเชื้อดังกล่าวสามารถสร้างกรดอินทรีย์ได้ดีในขั้นตอนการหมัก ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในข้าวหมักมีค่าต่ำ ซึ่งจะมีผลไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย รวมทั้งแบคทีเรียกรดแลคติกดังกล่าวยังผลิตแบคเทอริโอซินซึ่งเป็นสารที่ยับยั้งจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ใกล้เคียงและยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารด้วย ดังนั้นการผลิตขนมจีนแป้งหมักด้วยกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกดังกล่าวร่วมกับการผลิตขนมจีนด้วยการปฏิบัติที่ดีในการผลิตอาหาร (Good Manufacturing Practice, GMP) การใช้น้ำสะอาดในขั้นตอนการแช่ข้าว นวดแป้ง การจับเส้น โรยเส้น จับเส้น และการระเหยน้ำออกให้หมดขณะจัดเก็บขนมจีน จะช่วยยืดอายุการเก็บขนมจีน ทดแทนการใช้สารกันบูด

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบ

1. ปลายข้าวหัก เป็นข้าวจ้าวพันธุ์เหลืองปะทิว มีอายุหลังการเก็บเกี่ยวประมาณ 3 เดือน ถึง 1 ปี ซื้อจากตลาดสด อำเภอบ้านไผ่ จังหวัดขอนแก่น
2. เกลือสินเธาว์ ซื้อจากตลาดสด อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม
3. น้ำกรอง

กล้าเชื้อจุลินทรีย์

ในงานวิจัยนี้ได้ใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ 3 สายพันธุ์ เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับบริการจากสถาบันวิจัยทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ได้แก่

1. *Lactobacillus fermentum* TISTR 945 เป็นแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก คัดแยกได้จากขนมจีนแป้งหมัก
2. *Lactobacillus fermentum* TISTR 950 เป็นแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก คัดแยกได้จากขนมจีนแป้งหมัก
3. *Lactobacillus plantarum* TISTR 951 เป็นแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก คัดแยกได้จากขนมจีนแป้งหมัก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. กรดเบนโซอิก (C_6H_5COOH)
2. กรดทาร์ทาริก ($C_4H_6O_6$)
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
4. ฟีนอล์ฟทาลีน ($C_{20}H_{14}O_4$)
5. อาหารเลี้ยงเชื้อ Lactobacillus MRS Broth (MRS Broth) (Himedia, India)
6. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) (Himedia, India)
7. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) (Difco, France)
8. ผงวุ้น (Himedia, India)
9. เปปโตน วอร์เตอร์ (Peptone Water) (Himedia, India)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ตู้อบลมร้อน (ยี่ห้อ Memmert รุ่น 14-03129; ยี่ห้อ Conthern รุ่น Thermotec 2000)

2. ตู้บ่มเชื้อ (ยี่ห้อ Binder; ยี่ห้อ n-Biotek รุ่น NB-205QF)

3. เครื่องคั้นแบบแยกกาก-น้ำ ระบบไฮโดรลิค 2 จังหวะ (ยี่ห้อ Owner Foods Machinery รุ่น Sakaya® I2) พร้อมถุงโพลิพรอพิลีนอย่างหนา

4. ตู้ปลอดเชื้อสำหรับห้องปฏิบัติการชีวภาพระดับ 2 (ยี่ห้อ MICROTECH)

5. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (ยี่ห้อ REXMED รุ่น RAU-530D)

6. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง

7. เครื่องผสมอาหาร (ยี่ห้อ KitchenAid รุ่น5K5SS)

8. เครื่องปั่นน้ำผลไม้ (ยี่ห้อ PHILIPS รุ่น Cucina HR-1799)

9. เครื่องวัดสี (ยี่ห้อ HunterLab รุ่น ColorFlex Model $45^0/0^0$)

10. เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (ยี่ห้อ Stable Micro Systems รุ่น TA.XT.plus)

11. เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (ยี่ห้อ SIGMA รุ่น 2-16KL)

12. เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (ยี่ห้อ AquaLab รุ่น 3TE)

13. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (ยี่ห้อ Sartorius รุ่น Docu-pH+ Meter)

14. เครื่องผสมสารละลาย vortex mixer (ยี่ห้อ Scientific Industries รุ่น G560E Vortex Mixer Genie 2)

15. เครื่องดูดจ่ายสารละลาย ปิเปต ขนาด 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

16. ปิเปตทิป ขนาด 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

17. ตะเกียงแอลกอฮอล์

18. หลอดทดลอง

19. จานเพาะเชื้อแก้ว

20. แท่งแก้วงอ

21. บีกเกอร์แก้วขนาด 100, 250, 500, 1,000 มิลลิลิตร

22. ขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร

23. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร

24. บิวเรต ที่จับบิวเรต ฐานตั้งเหล็ก

25. เทอร์โมมิเตอร์

26. เฝือนบีบมือ โรยเส้นขนมจีน ขนาดตัวกระบอกเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 นิ้ว ขนาดเส้นที่ได้เส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร

27. เครื่องครัว ได้แก่ อ่างผสม กระชอน หม้ออลูมิเนียม หม้อนึ่ง ถาดอลูมิเนียมทรงสี่เหลี่ยม ไม้พายยาง ตะกร้าพลาสติก ตะกร้าใส่ขนมจีน กล่องพลาสติก ผ้าขาวบาง

การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

ในการวิจัยครั้งนี้ ได้ใช้แบคทีเรียสร้างกรดแลคติก 3 สายพันธุ์ คือ *L. fermentum* TISTR 945, และ *L. fermentum* TISTR 950 และ *L. plantarum* TISTR 951 ซึ่งเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์ที่ได้มาในรูปหลอดเชื้อแห้งแข็ง นำจุลินทรีย์ดังกล่าว มาแยกเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM RAJABHAT UNIVERSITY

MRS ปลอดเชื้อ และนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 22-24 ชั่วโมง และทำการกระตุ้นเชื้ออีกครั้งโดยเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ปลอดเชื้อ นำกล้าเชื้อที่ผ่านการกระตุ้น 2 ครั้ง มาเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ปลอดเชื้อ 100 มิลลิลิตร ปริมาณร้อยละ 3 แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาซลเซียส เป็นเวลา 23 ชั่วโมง ซึ่งมีเชื้อเริ่มต้น $1.9x10^9$, $1.62x10^9$ และ $4.63x10^9$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สำหรับกล้าเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945, *L. fermentum* TISTR 950, *L. plantarum* TISTR 951 ตามลำดับ นำกล้าเชื้อไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที ล้างเซลล์ด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 นำมาปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนในสภาวะเดิม แขวนลอยเซลล์ในสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และนำไปผลิตขนมจีนแป้งหมัก (รายละเอียดการเตรียมกล้าเชื้อแสดงดังภาคผนวก ก)

การผลิตขนมจีนแป้งหมัก

ในการวิจัยครั้งนี้ได้ผลิตขนมจีนแป้งหมักจากการแยกใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก 3 สายพันธุ์ พร้อมกับเปรียบเทียบกับการผลิตขนมจีนแป้งหมักจากจุลินทรีย์ธรรมชาติ และขนมจีนแป้งหมักใส่วัตถุกันเสียกรดเบนโซอิก โดยดัดแปลงจากวิธีของ Keatkrai และ Jirapakkul (2010) มีขั้นตอนการผลิตแสดงดังภาพที่ 3.1 (ขั้นตอนการผลิตขนมจีนแป้งหมักแสดงดังภาคผนวก ข)

นำปลายข้าวหักมา 250 กรัม ล้างข้าวให้สะอาด 5 ครั้ง ด้วยน้ำกรอง ใช้น้ำ 500 มิลลิลิตรต่อครั้ง

↓

แช่ข้าวในน้ำกรอง 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

↓

นำข้าวที่ผ่านการแช่ที่สะเด็ดน้ำมาแยกเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^9 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เติมกล้าเชื้อที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอน จากการเตรียมกล้าเชื้อในอัตราส่วนร้อยละ 100 มิลลิลิตรต่อข้าว 250 กรัม และผสมข้าวให้เข้ากันกับกล้าเชื้อ

↓

หมักข้าวแบบแห้ง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือ 72 ชั่วโมง อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส [1] ล้างน้ำเช้า-เย็น

↓

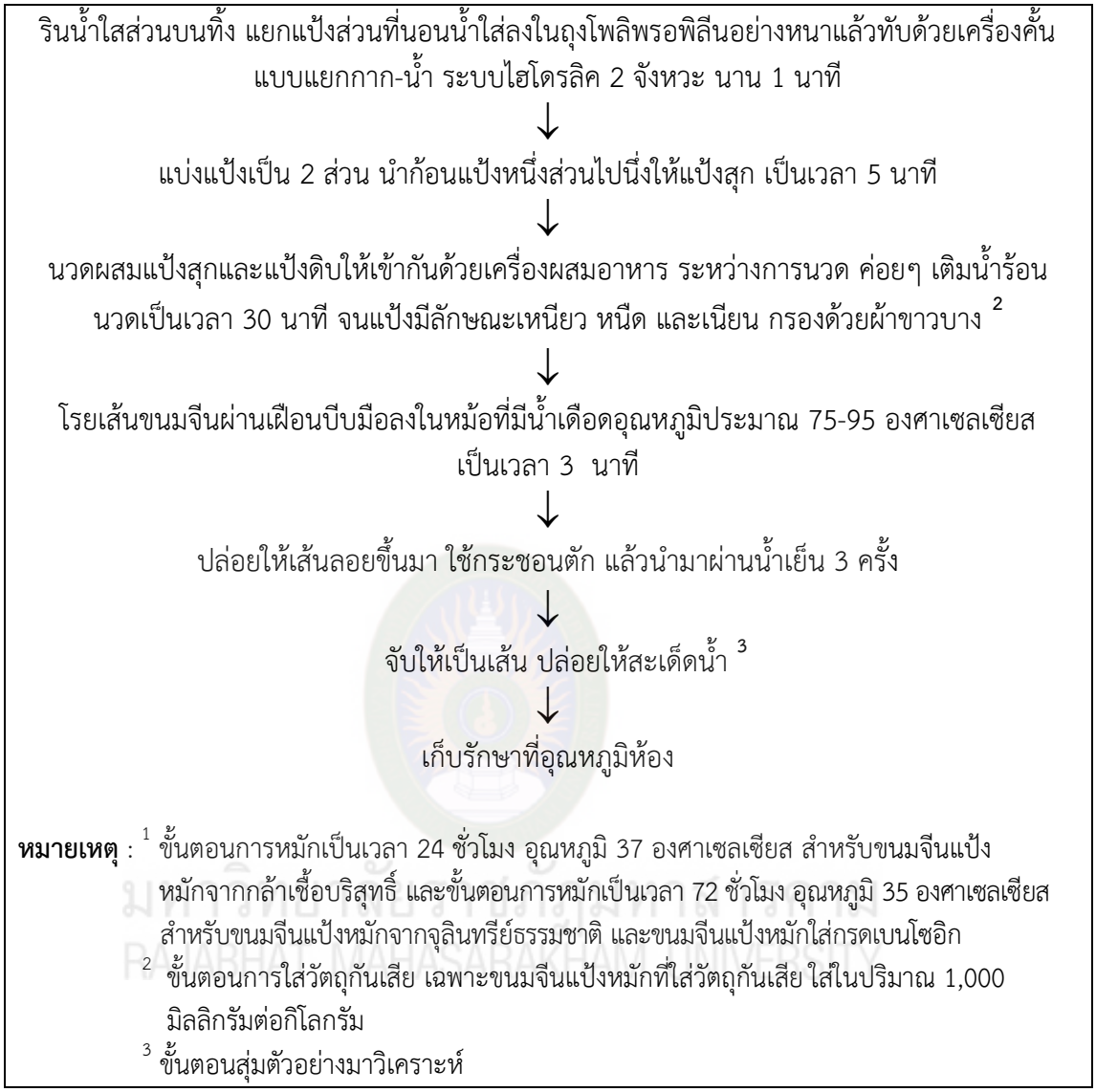
ปั่นข้าวหมัก ผสมกับน้ำ 150 มิลลิลิตร ปั่นเป็นเวลา 4 นาที

↓

ผสมกับน้ำ 500 มิลลิลิตร ที่ 100 มิลลิลิตร มีเกลือแกงเข้มข้นร้อยละ 7
ปล่อยให้แป้งตกตะกอนเป็นเวลา 1 วัน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

↓

ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตขนมจีนแป้งหมัก



ภาพที่ 3.1 (ต่อ)

การวิเคราะห์คุณภาพขนมจีนแป้งหมัก

1. ตรวจสอบโดยใช้ความรู้สึก

นำขนมจีนที่ผ่านขั้นตอนการผลิตเรียบร้อยแล้ว มาบรรจุใส่ตะกร้าพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมขนาดความกว้าง 23.5 เซนติเมตร ยาว 35 เซนติเมตร ลึก 7 เซนติเมตร ในปริมาณ 1/9 ส่วนของบรรจุภัณฑ์ และหุ้มตะกร้าด้วยฟิล์มยืดห่อหุ้มอาหาร 2 ชั้น เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง ผู้วิจัยศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษาเป็นเวลา 0, 1 และ 2 วัน ศึกษาจากลักษณะทั่วไป สี กลิ่น กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัส และการปนเปื้อนของเชื้อรา

2. การวิเคราะห์ทางเคมี

2.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของขนมจีนแป้งหมักด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) โดยดัดแปลงจากวิธี AOAC (2000) ทำการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการวัดแสดงดังภาคผนวก ค)

2.2 ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้

วัดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (water activity: a_w) หรือปริมาณน้ำอิสระของขนมจีนแป้งหมัก จากการใช้เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (water activity meter) ทำการวัดการเปลี่ยนแปลงค่า a_w ในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการวัดแสดงดังภาคผนวก ค)

2.3 ปริมาณความชื้น

วิเคราะห์ร้อยละปริมาณความชื้นของขนมจีนแป้งหมักด้วยวิธีอบในตู้อบลมร้อน ตามวิธีของ AOAC (2000) ทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ค)

2.4 ปริมาณกรดจากการไตเตรท (titratable acidity: TA)

วิเคราะห์ร้อยละปริมาณกรดทั้งหมดที่มีอยู่ในขนมจีนแป้งหมักในรูปของกรดแลคติก โดยการไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ตามวิธีของ AOAC (2000) ทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ค)

3. การวิเคราะห์ทางกายภาพ

3.1 ค่าสี

วัดค่าสีของขนมจีนแป้งหมักโดยใช้เครื่องวัดสียี่ห้อ HunterLab รุ่น ColorFlex Model $45^0/0^0$ ซึ่งเป็นการวัดค่าสีระบบ C.I.E lab (L* a* b*) โดยทำการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าสีในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการวัดแสดงดังภาคผนวก ง)

3.2 ลักษณะเนื้อสัมผัส

วัดค่าลักษณะเนื้อสัมผัสของขนมจีนแป้งหมัก ด้วยการวัดค่าแรงตัด (cutting/shearing force) ซึ่งเป็นการวัดค่าแรงที่ทำให้ตัวอย่างขาดจากกัน แต่ละส่วนที่แยกออกไปจะคงรูปเดิม เพียงแต่ขาดเป็นส่วน ๆ และมีรอยแยกเป็นระเบียบ โดยใช้เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส คู่กับหัววัดใบมีดตัด (knife and blade) รหัส HDP/BSW จากการนำเส้นขนมจีนมาจัดเรียงชิดกันให้ได้ 6 เส้น วางลงบนแท่นตัด ให้มีความยาว 10 เซนติเมตร ทำการตัดตัวอย่างด้วยอัตราเร็วก่อนการทดสอบ (pre-test speed) 2 มิลลิเมตรต่อวินาที อัตราเร็วระหว่างการทดสอบ (test speed) 2 มิลลิเมตรต่อวินาที และอัตราเร็วหลังการทดสอบ (post-test speed) 2 มิลลิเมตรต่อวินาที ด้วยระยะทาง 15 มิลลิเมตร และนำไปคำนวณหาค่าแรงตัดสูงสุด ซึ่งบ่งบอกถึงความแข็ง (hardness) งานจากการตัดทั้งหมด ซึ่งบ่งบอกถึงความเหนียว (toughness) และงานที่ต้องใช้ในการดึงหรือความสามารถในการยึดติดของชิ้นอาหาร (adhesiveness) ของขนมจีนแป้งหมัก โดยใช้โปรแกรมของเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส ทำการวัดการเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อสัมผัสในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการวัดแสดงดังภาคผนวก ง)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม MAHASARAKHAM UNIVERSITY

4. การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

การเตรียมตัวอย่างเพื่อทำการตรวจวิเคราะห์ทำโดยการใช้เทคนิคปราศจากเชื้อ (aspetic technique) ทุกขั้นตอน

4.1 ปริมาณยีสต์และรา

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราของขนมจีนแป้งหมัก ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC (2000) ด้วยเทคนิคเทเพลท (pour plate) จากการเจือจางตัวอย่างขนมจีนตามลำดับ ๆ ละ 10 เท่า (Ten-fold serial dilutions) ด้วยสารละลายสำหรับเจือจาง โดยสุ่มตักตัวอย่างขนมจีนแป้งหมักที่ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ 10 กรัม มาทำการเจือจางโดยผสมลงในสารละลายเปปโตน วอร์เตอร์เข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาณ 90 มิลลิลิตร ที่อยู่ในขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสารเป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างเจือจาง 10^{-1} เท่า แล้วนำไปเจือจางต่อ โดยปิเปตตัวอย่างที่เจือจาง 10^{-1} เท่า มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลายเปปโตน วอร์เตอร์เข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาณ 9 มิลลิลิตร ที่อยู่ในหลอดแก้วฝาเกลียวขนาด 15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้าโดยเขย่าให้เชื้อกระจายทั่วกันทั้งหลอดภายในเวลา 7 วินาที ถ้าตั้งทิ้งไว้เกิน 3 นาที ให้เขย่าใหม่ จะได้ตัวอย่างเจือจาง 10^{-2} เท่า ทำการเจือจางด้วยวิธี Ten-fold serial dilutions เช่นนี้ต่อไปจนได้สารละลายตัวอย่างอาหารที่เจือจางตามต้องการ แล้วปิเปตแต่ละสารละลายตัวอย่างอาหาร 3 ระดับความเจือจางที่ติดกัน 1 มิลลิลิตร ปล่อยลงในจานเพาะเชื้อแก้วปลอดเชื้อ เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ปลอดเชื้อที่หลอมละลาย มีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ประมาณ 15 มิลลิลิตร ลงในแต่ละจานเพาะเชื้อ ผสมให้เข้ากับตัวอย่างในจานเพาะเชื้อ โดยปิดฝาจานเพาะเชื้อ ใช้มือจับฝาจานเพาะเชื้อ ลากตัวจานเพาะเชื้อให้ไหลตามพื้นโต๊ะ ขึ้น - ลง 5 ครั้ง วนซ้าย 5 รอบ วนขวา 5 รอบ แล้วขึ้นลงอีก 5 รอบ ระยะเวลาตั้งแต่ถ่ายตัวอย่าง จนกระทั่งเทเพลทด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่ควรนานเกิน 20 นาที (ที่เหมาะสมควรภายใน 10 นาที) รออาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว โดยไม่ต้องคว่ำจานเพาะเชื้อ และวางซ้อนกันไม่เกิน 3 จานเพาะเชื้อ นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72±3 ชั่วโมง (ไม่เคลื่อนย้ายจานเพาะเชื้อจนกว่าจะทำการนับจำนวนโคโลนี) นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นมาในจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อขึ้นระหว่าง 10 - 150 โคโลนีต่อจาน นำมาหาค่าเฉลี่ย และแสดงผลเป็นโคโลนีต่อกรัม โดยทำการตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณยีสต์และราในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจางแสดงดังภาคผนวก จ)

4.2 ปริมาณจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียทั้งหมด

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียทั้งหมดของขนมจีนแป้งหมัก ตามวิธีของ AOAC (2000) ด้วยเทคนิคเทเพลท โดยปิเปตแต่ละสารละลายตัวอย่างอาหาร 3 ระดับความเจือจางที่ติดกัน (ที่เตรียมจากข้อ 4.1) 1 มิลลิลิตร ปล่อยลงในจานเพาะเชื้อแก้วปลอดเชื้อ ทำการเทเพลทด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ปลอดเชื้อ ระยะเวลาตั้งแต่ถ่ายตัวอย่างจนกระทั่งเทเพลทด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ภายใน 15 นาที รออาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว จับจานเพาะเชื้อคว่ำเพื่อป้องกันไม่ให้น้ำที่ติดฝาหยดลงมาบนวุ้น นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 35±0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นมาในจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อขึ้นระหว่าง 25 - 250 โคโลนีต่อจาน นำมาหาค่าเฉลี่ยและแสดงผลเป็นโคโลนีต่อกรัม โดยทำการตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

ในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา(รายละเอียดการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจางแสดงดังภาคผนวก จ)

4.3 ปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติก

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกของขนมจีนแป้งหมัก ตามวิธี AOAC (1998) ด้วยเทคนิคเกลี่ยเพลท (spread plate) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ปลอดเชื้อ โดยปิเปตแต่ละสารละลายตัวอย่างอาหาร 3 ระดับความเจือจางที่ติดกัน (ที่เตรียมจากข้อ 4.1) 0.1 มิลลิลิตร ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้แท่งแก้วงอ (sterile spreader) เกลี่ยให้ทั่วจนกระทั่งผิวหน้าของวุ้นแห้ง นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นมาในจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อขึ้นระหว่าง 25 - 250 โคโลนีต่อจาน นำมาหาค่าเฉลี่ยและแสดงผลเป็นโคโลนีต่อกรัม โดยทำการตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติกในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจางแสดงดังภาคผนวก จ)

5. การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส

ทดสอบการยอมรับขนมจีนแป้งหมัก หลังจากการผลิต (วันที่ 0) ทั้ง 5 ทรีทเมนต์ ด้วยวิธีการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ปฏิเสธการบริโภคขนมจีนแป้งหมักที่ไม่ผ่านการฝึกฝน 40 คน ใช้แบบประเมินที่มีวิธีการให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (9 point hedonic scale test) (1 = ไม่ยอมรับมากที่สุด 5 = เฉย ๆ 9 = ยอมรับมากที่สุด) ประเมินการยอมรับในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม โดยเสิร์ฟพร้อมกับน้ำแกงพะแนงหมู ซึ่งการประเมินด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส และเนื้อสัมผัส จะประเมินจากขนมจีนเปล่า ส่วนการประเมินการยอมรับรวม ประเมินจากขนมจีนผสมน้ำแกงพะแนงหมู (รายละเอียดแบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแสดงดังภาคผนวก ฉ)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สถิติที่ใช้ในงานวิจัย

การวิเคราะห์ทางเคมี การวิเคราะห์ทางกายภาพ และการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ วางแผนการทดลองแบบ 5x 3 Factorial in Complete Randomized Design พิจารณา 2 ปัจจัย คือ จำนวนกล้าเชื้อ 5 ทรีทเมนต์ และเวลา 3 ระดับ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) มีจำนวน 40 ซ้ำ

การวิเคราะห์ดังกล่าวข้างต้น วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติโดย Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลองโดยใช้ค่าสถิติ Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ .05 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 13 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้ทำการทดลองผลิตขนมจีนแป้งหมักจากการใช้ปลายข้าวหัก สายพันธุ์เหลืองประทิว เป็นวัตถุดิบ และใช้แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นกล้าเชื้อในการหมักจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lactobacillus fermentum* TISTR 945, *L. fermentum* TISTR 950 และ *L. plantarum* TISTR 951 เปรียบเทียบกับขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ และขนมจีนแป้งหมักใส่วัตถุกันเสียกรดเบนโซอิก และศึกษาอายุการเก็บรักษาขนมจีนแป้งหมักเป็นระยะเวลา 2 วัน จากการตรวจสอบโดยใช้ความรู้สึก การวิเคราะห์ทางเคมี การวิเคราะห์ทางกายภาพ การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ และการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส แสดงผลดังต่อไปนี้

ผลการตรวจสอบโดยใช้ความรู้สึก

จากการเก็บรักษาขนมจีนแป้งหมักทั้ง 5 ทรีทเมนต์ ที่อุณหภูมิห้อง พบการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 2 วัน โดยสังเกตพบว่า ขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์ มีการปนเปื้อนของเชื้อราเมื่อเก็บรักษาที่ระยะเวลานานขึ้น แสดงผลดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลการตรวจสอบขนมจีนแป้งหมักโดยใช้ความรู้สึก

	ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ		
วันที่	ตัวอย่าง	การตรวจสอบ	
0		ลักษณะทั่วไป	การจับเรียงเส้น มีเส้นขาดบ้างเล็กน้อย
		สี	มีสีที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใชและสม่ำเสมอ สีขาว มันวาว คล้ำเล็กน้อย
		กลิ่น	ไมมีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูด
		กลิ่นรส	มีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของขนมจีน ปราศจาก กลิ่นรสอื่นที่ไมพึงประสงค
		ลักษณะเนื้อสัมผัส	เหนียวนุม ไมเละ
1		ลักษณะทั่วไป	การจับเรียงเส้น มีเสนขาดบางเล็กนอย
		สี	มีสีที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใชและสม่ำเสมอ สีขาว มันวาว คล้ำเล็กน้อย
		กลิ่น	มีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูด เล็กน้อย
		กลิ่นรส	มีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของขนมจีน มีกลิ่นรสอื่นที่ไม

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

			พึงประสงคเล็กน้อย
		ลักษณะเนื้อสัมผัส	เหนียวนุม ไมเละ
2		ลักษณะทั่วไป	การจับเรียงเส้น มีเสนขาดบางเล็กนอย เริ่มมีราสีเหลืองขึ้นประปราย เยิ้มน้ำ
		สี	มีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้และสม่ำเสมอ สีขาว คล้ำเล็กน้อย
		กลิ่น	มีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูด
		กลิ่นรส	มีกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์
		ลักษณะเนื้อสัมผัส	เหนียวนุ่ม เละ

ขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก

วันที่	ตัวอย่าง	ลักษณะ	
0		ลักษณะทั่วไป	การจับเรียงเส้น มีเส้นขาดบ้างเล็กน้อย
		สี	มีสีที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใชและสม่ำเสมอ สีขาวใส มันวาว
		กลิ่น	ไมมีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูด
		กลิ่นรส	มีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของขนมจีน ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไมพึงประสงค
		ลักษณะเนื้อสัมผัส	เหนียวนุม ไมเละ
1		ลักษณะทั่วไป	การจับเรียงเส้น มีเสนขาดบางเล็กนอย
		สี	มีสีที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใชและสม่ำเสมอ สีขาวใส มันวาว
		กลิ่น	ไมมีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูด
		กลิ่นรส	มีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของขนมจีน ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไมพึงประสงค
		ลักษณะเนื้อสัมผัส	เหนียวนุม ไมเละ
2		ลักษณะทั่วไป	การจับเรียงเส้น มีเสนขาดบางเล็กนอย มีราสีเหลืองขึ้นเป็นจุดกระจายทุกเส้น แฉะบางจุด มีสปอร์รา
		สี	มีสีที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใชและสม่ำเสมอ สีขาวใส มันวาว
		กลิ่น	มีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูด
		กลิ่นรส	มีกลิ่นรสอื่นที่ไมพึงประสงคเล็กน้อย

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

		ลักษณะเนื้อสัมผัส	เหนียวนุม ไมเละ
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945			
วันที่	ตัวอย่าง	ลักษณะ	
0		ลักษณะทั่วไป สี กลิ่น กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัส	การจับเรียงเส้น มีเสนขาดบางเล็กนอย มีสีที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใชและสม่ำเสมอ สีขาวใส มันวาว ไมมีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูด มีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของขนมจีน ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไมพึงประสงค เหนียวนุม ไมเละ
1		ลักษณะทั่วไป สี กลิ่น กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัส	การจับเรียงเส้น มีเสนขาดบางเล็กนอย มีสีที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใชและสม่ำเสมอ สีขาวขุ่น มันวาว มีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูด เล็กน้อย มีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของขนมจีน มีกลิ่นรสอื่นที่ไมพึงประสงคเล็กน้อย เหนียวนุ่ม ไมเละ
2		ลักษณะทั่วไป สี กลิ่น กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัส	การจับเรียงเส้น มีเสนขาดบางเล็กนอย ราขึ้น 2 ถึง 3 จุด มีเส้นใยราสีขาว มีสีที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใชและสม่ำเสมอ สีขาวขุ่น มันวาว มีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูดเล็กน้อย มีกลิ่นรสอื่นที่ไมพึงประสงคเล็กน้อย เหนียวนุ่ม ไมเละ
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950			
วันที่	ตัวอย่าง	ลักษณะ	
0		ลักษณะทั่วไป สี กลิ่น กลิ่นรส	การจับเรียงเส้น มีเสนขาดบางเล็กนอย มีสีที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใชและสม่ำเสมอ สีขาวใส มันวาว ไมมีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูด มีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของขนมจีน ปราศจากกลิ่นรส

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม MAHASARAKHAM UNIVERSITY

			อื่นที่ไมพึงประสงค
		ลักษณะเนื้อสัมผัส	เหนียวนุม ไมเละ
1		ลักษณะทั่วไป	การจับเรียงเส้น เสนขาดบางเล็กนอย
		สี	มีสีที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใชและสม่ำเสมอ เส้นจะออกสีขาวใส มันวาว
		กลิ่น	มีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูดเล็กน้อย
		กลิ่นรส	มีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของขนมจีน มีกลิ่นรสอื่นที่ไมพึงประสงคเล็กน้อย
		ลักษณะเนื้อสัมผัส	นุมเหนียว ไมเละ
2		ลักษณะทั่วไป	การจับเรียงเส้น มีเสนขาดบางเล็กนอย ราขึ้น 2 ถึง 3 จุด
		สี	มีสีที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใชและสม่ำเสมอ สีขาวใส มันวาว
		กลิ่น	มีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูด
		กลิ่นรส	มีกลิ่นรสอื่นที่ไมพึงประสงคเล็กน้อย
		ลักษณะเนื้อสัมผัส	เหนียวนุม ไมเละ

ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951

วันที่	ตัวอย่าง	ลักษณะ	
0		ลักษณะทั่วไป	การจับเรียงเส้น มีเสนขาดบางเล็กนอย
		สี	มีสีที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใชและสม่ำเสมอ สีขาวขุ่น มันวาว
		กลิ่น	ไมมีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูด
		กลิ่นรส	มีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของขนมจีน ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไมพึงประสงค
		ลักษณะเนื้อสัมผัส	เหนียวนุม ไมเละ
1		ลักษณะทั่วไป	การจับเรียงเส้น มีเสนขาดบางเล็กนอย
		สี	มีสีที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใชและสม่ำเสมอ สีขาวใส มันวาว
		กลิ่น	มีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูดเล็กน้อย
		กลิ่นรส	มีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของขนมจีน มีกลิ่นรสอื่นที่ไมพึงประสงคเล็กน้อย
		ลักษณะเนื้อสัมผัส	เหนียวนุม ไมเละ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

2		ลักษณะทั่วไป	การจับเรียงเส้น มีเส้นขาดบ้างเล็กน้อย ราขึ้น 2 ถึง 3 จุด
		สี	มีสีที่ดีตามธรรมชาติของสวนประกอบที่ใช้และสม่ำเสมอ สีขาวใส มันวาว
		กลิ่น	มีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูด
		กลิ่นรส	มีกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์เล็กน้อย
		ลักษณะเนื้อสัมผัส	เหนียวนุ่ม ไม่เละ

จากตารางที่ 4.1 พบว่า ผลการตรวจสอบขนมจีนแป้งหมักโดยใช้ความรู้สึก ในวันที่ 0 ขนมจีนแป้งหมักทั้ง 5 ทรีทเมนต์ มีการจับเรียงเส้นที่มีรูปรางและขนาดใกล้เคียงกัน มีเส้นขาดเล็กน้อย มีสีที่ดีตามธรรมชาติ มีสีขาว มันวาว คล้ำเล็กน้อย โดยขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ มีสีคล้ำเล็กน้อยแตกต่างจากทรีทเมนต์อื่น ๆ ทุกทรีทเมนต์ไม่มีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูด มีรสชาติที่ดีตามธรรมชาติของขนมจีน ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เหนียวนุ่ม ไม่เละ โดยขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก มีลักษณะเส้นที่ยืดหยุ่นกว่าสูตรอื่น ๆ รวมทั้งมีกลิ่นหมักที่แตกต่างจากสูตรอื่น ๆ เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน ขนมจีนทุกทรีทเมนต์มีการเปลี่ยนแปลง ขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเมนต์ มีลักษณะของเส้นแข็งขึ้น ขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิกเส้นยืดหยุ่น ขาวใส มันวาว ในขณะที่ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ เส้นเริ่มแฉะ และทุกทรีทเมนต์มีกลิ่นของการหมักเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน ขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์มีการเปลี่ยนแปลง ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ เส้นนิ่มเละมากขึ้น มีกลิ่นบูด มีเชื้อราสีดำ สีเหลือง สีส้ม ขึ้นเป็นจุด ๆ ส่วนขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิกเส้นมีลักษณะใสขึ้น มีกลิ่นอับเกิดขึ้นเล็กน้อย พบเชื้อราปนเปื้อนเพียงเล็กน้อย และขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 สูตร ลักษณะเส้นแข็งขึ้น มีกลิ่นหมักเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และพบเชื้อราสีดำปนเปื้อนเพียงเล็กน้อย

ผลการวิเคราะห์ทางเคมี

จากการเก็บรักษาขนมจีนแป้งหมักทั้ง 5 ทรีทเมนต์ ที่อุณหภูมิห้อง พบการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (a_w) ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณกรดจากการไตเตรท ระหว่างเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน แสดงดังตารางที่ 4.2–4.5

ปริมาณความชื้นของขนมจีนแป้งหมักทุกสูตรเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน มีปริมาณความชื้นอยู่ระหว่างร้อยละ 74.34 ถึง 81.45 (ตารางที่ 4.2) โดยการเก็บรักษาขนมจีนแป้งหมักเป็นเวลา 1 และ 2 วัน ขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์มีปริมาณความชื้นไม่แตกต่างจากวันที่ 0 ($p>0.05$) และพบว่าขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเมนต์ ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 0, 1 และ 2 วัน

มีปริมาณความชื้นไม่แตกต่างขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติและขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก ($p>0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากขนมจีนแป้งหมักได้บรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่ห่อด้วยยืดห่อหุ้มอาหารอย่างมิดชิด ช่วยลดการถ่ายเทความชื้นระหว่างสภาพแวดล้อม รวมทั้งขนมจีนแป้งหมักทั้ง 5 ทรีทเมนต์ ในการทดลองนี้ มีปริมาณความชื้นมากกว่าร้อยละ 50 จึงจัดเป็นอาหารที่มีความชื้นสูงและเป็นอาหารที่เสื่อมเสียได้ง่าย

ตารางที่ 4.2 ปริมาณความชื้น (ร้อยละ) ของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน (Means±SD)

ทรีทเมนต์	เวลาในการเก็บรักษา (วัน)		
	0[ns]	1[ns]	2[ns]
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ[ns]	78.73±1.46	75.17±0.13	75.73±1.21
ขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก[ns]	79.58±1.45	76.37±2.31	76.54±2.51
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945[ns]	78.87±3.37	76.53±3.35	77.84±2.67
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950[ns]	76.79±2.97	74.34±0.94	81.46±10.73
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951[ns]	76.43±1.65	74.69±5.62	75.12±0.98

[ns] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (a_w) หรือค่าปริมาณน้ำอิสระที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ซึ่งพบว่าขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์ เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน มีค่า a_w อยู่ระหว่าง 0.94 ถึง 1.00 (ตารางที่ 4.3) ซึ่งเป็นค่า a_w ที่สูง ค่า a_w ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 0.95 อาหารนั้นจัดเป็นอาหารที่เสื่อมเสียง่าย แสดงให้เห็นว่าขนมจีนแป้งหมักในการทดลองนี้เป็นอาหารที่เน่าเสียง่าย สอดคล้องกับการมีปริมาณความชื้นที่สูง (ตารางที่ 4.2) โดยการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน ขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์มีค่า a_w ไม่แตกต่างจากวันที่ 0 ($p>0.05$) ยกเว้นขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก ($p\leq0.05$) ซึ่งขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิกนี้ ยังมีค่า a_w ต่ำกว่าขนมจีนแป้งหมักจากทรีทเมนต์อื่น ๆ ทั้งนี้เนื่องจากคุณสมบัติความเป็นกรดของกรดเบนโซอิกช่วยลดปริมาณของน้ำอิสระในขนมจีนแป้งหมัก

ตารางที่ 4.3 ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (a_w) ของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน (Means±SD)

ทรีทเมนต์	เวลาในการเก็บรักษา (วัน)		
	0	1	2
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ	0.99±0.00^{abc}	0.98±0.01^{c}	0.99±0.00^{abc}
ขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก	0.94±0.01^{e}	0.96±0.02^{d}	0.98±0.02^{bc}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945	0.99±0.00^{abc}	0.99±0.00^{abc}	1.00±0.00^{a}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950	1.00±0.00^{a}	1.00±0.00^{a}	1.00±0.00^{a}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951	1.00±0.00^{a}	1.00±0.00^{a}	1.00±0.00^{a}

$^{a, b, c, d, e}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าความเป็นกรด–ด่างของขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์ที่ทำการทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 3.00 ถึง 5.45 (ตารางที่ 4.4) เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน ขนมจีนทุกสูตรมีค่าความเป็นกรด–ด่าง ไม่แตกต่างจากวันที่ 0 ($p>0.05$) ยกเว้นขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติมีค่าความเป็นกรด–ด่างเพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้ค่าความเป็นกรด–ด่างที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาอาจเนื่องมาจากขนมจีนแป้งหมักมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นในปริมาณที่มากกว่าการปนเปื้อนจากแบคทีเรียกรดแลคติก โดยในวันที่ 0, 1 และ 2 ขนมจีนเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทุกทรีทเมนต์มีค่าความเป็นกรด–ด่างต่ำกว่าขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ และขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก โดยขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951 มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่เติมลงไปในกระบวนการผลิตขนมจีนแป้งหมักมีการใช้คาร์โบไฮเดรตและเปลี่ยนเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และนำน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวไปสร้างเป็นกรดแลคติก จึงทำให้ขนมจีนแป้งหมักที่มีการใส่กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่าขนมจีนสูตรอื่น ๆ ในขณะที่มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนขนมจีน มผช. 500/2557 ได้กำหนดไว้ว่าขนมจีนแปงหมัก ต่องมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยูระหวาง 3.0 ถึง 4.5 เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค ซึ่งขนมจีนแป้งหมักที่ได้ทำการทดลอง คือ ขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเมนต์ และขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก มีค่าความเป็นกรด-ด่างไม่เกินค่าที่กำหนด

มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี RAJABHAT RAJANAGARINDRA UNIVERSITY

ตารางที่ 4.4 ค่าความเป็นกรด–ด่าง ของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน (Means±SD)

ทรีทเมนต์	เวลาในการเก็บรักษา (วัน)		
	0	1	2
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ	4.88±0.19^{bc}	5.16±0.14^{ab}	5.45±0.03^{a}
ขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก	3.70±0.31^{de}	3.77±0.33^{d}	4.39±0.86^{c}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945	3.18±0.01^{ef}	3.25±0.09^{def}	3.25±0.19^{def}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950	3.26±0.23^{def}	3.33±0.28^{def}	3.48±0.42^{def}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951	3.04±0.08^{f}	3.00±0.04^{f}	3.25±0.08^{def}

$^{a, b, c, d, e, f}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ปริมาณกรดจากการไตเตรทหรือปริมาณกรดทั้งหมดคิดในรูปกรดแลคติกของขนมจีนแป้งหมักทุกทุกทรีทเมนต์ เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน มีปริมาณกรดแลคติกอยู่ระหว่างร้อยละ 0.03 ถึง 0.12 (ตารางที่ 4.5) ซึ่งสอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่าง (ตารางที่ 4.4) โดยขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 1 และ 2 วัน มีปริมาณกรดแลคติกไม่แตกต่างจากวันที่ 0 ($p>0.05$) ยกเว้นขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก ในวันที่ 2 นั้น มีปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 และวันที่ 1 ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่า หลังการผลิต (วันที่ 0) และระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951 มีปริมาณกรดแลคติกสูงกว่าขนมจีนแป้งหมักทรีทเมนต์อื่น ๆ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ตารางที่ 4.5 ปริมาณกรดจากการไตเตรท (ร้อยละ) ของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน (Means±SD)

ทรีทเมนต์	เวลาในการเก็บรักษา (วัน)		
	0	1	2
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ	0.05±0.02^{ef}	0.05±0.02^{ef}	0.04±0.01^{ef}
ขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก	0.03 ±0.00^{f}	0.03±0.00^{f}	0.06±0.00^{de}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945	0.06±0.00^{de}	0.06±0.00^{de}	0.06±0.00^{de}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950	0.08±0.02^{d}	0.08±0.02^{cd}	0.08±0.01^{cd}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951	0.11±0.02^{ab}	0.12±0.00^{a}	0.10±0.02^{bc}

$^{a, b, c, d, e, f}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ผลการวิเคราะห์ทางกายภาพ

จากการเก็บรักษาขนมจีนแป้งหมักทั้ง 5 ทรีทเมนต์ ที่อุณหภูมิห้อง พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี และลักษณะเนื้อสัมผัสระหว่างเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน แสดงดังตารางที่ 4.6–4.7

จากการวัดค่าสีของขนมจีนแป้งหมักทั้ง 5 ทรีทเมนต์ (ตารางที่ 4.6) พบว่า ค่า L^* มีค่าตั้งแต่ 0-100 ค่าที่เข้าใกล้ 0 จะแสดงถึงสีของผลิตภัณฑ์ที่ค่อนข้างมืด ส่วนค่าที่เข้าใกล้ 100 แสดงถึงสีของผลิตภัณฑ์ที่มีความสว่าง ซึ่งค่า L^* ของขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์ มีค่าค่อนข้างสว่าง อยู่ในช่วง 72.50 ถึง 77.69 การเก็บรักษาขนมจีนเป็นเวลา 1 และ 2 วัน ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง และพบว่าขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติที่ผลิตเสร็จใหม่มีสีคล้ำกว่าขนมจีนแป้งหมักทรีทเมนต์อื่น ๆ ซึ่งมีค่าความสว่างต่ำกว่าทรีทเมนต์อื่น ๆ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระยะเวลาในการหมักข้าวในขั้นตอนการผลิตมีระยะเวลานานถึง 3 วัน จึงส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมัก และส่งผลต่อค่าสีที่เปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้เวลาเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 2 วัน ขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก มีค่าความสว่างสูงกว่าขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ

ส่วนค่า a* จะแสดงถึงค่าสีแดง และสีเขียว ค่าที่ติดลบจะแสดงค่าสีเขียว ส่วนค่าที่ไม่ติดลบจะแสดงค่าสีแดง ซึ่งขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์มีความเป็นสีเขียว มีค่าอยู่ระหว่าง -1.82 ถึง -2.79 แสดงความเป็นสีเขียวเล็กน้อย โดยพบว่าการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่อค่าความเป็นสีเขียว ยกเว้นขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติมีค่าความเป็นสีเขียวลดลงเมื่อมีการเก็บรักษานานขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบค่าความเป็นสีเขียวของขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์ พบว่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ยกเว้นขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติที่มีค่าความเป็นสีเขียวต่ำกว่า ($p\leq0.05$)

ส่วนค่า b* จะแสดงค่าสีเหลือง และสีน้ำเงิน ซึ่งค่าที่ติดลบจะแสดงค่าสีน้ำเงิน ส่วนค่าที่ไม่ติดลบจะแสดงค่าสีเหลือง ซึ่งขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์ จะแสดงค่าสีเหลือง มีค่าอยู่ระหว่าง 4.99 ถึง 10.22 แสดงความเป็นสีเหลืองเล็กน้อย และเมื่อเก็บรักษาขนมจีนเป็นเวลา 2 วัน ขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นสีเหลือง ($p>0.05$) ยกเว้นขนมจีนขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ มีค่าความเป็นสีเหลืองเพิ่มขึ้น และนอกจากนี้ยังพบว่าขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติมีค่าความเป็นสีเหลืองแตกต่างจากทรีทเมนต์อื่น ๆ ($p\leq0.05$) โดยมีค่าความเป็นสีเหลืองที่สูงกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เป็นจำนวนมาก ส่งผลให้ระหว่างการเก็บรักษาเกิดการหมักและส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีของขนมจีนแป้งหมัก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ตารางที่ 4.6 ค่าสีของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน (Means±SD)

ทรีทเมนต์	ค่าสี								
	L*			a*			b*		
	เก็บรักษา 0 วัน	เก็บรักษา 1 วัน	เก็บรักษา 2 วัน	เก็บรักษา 0 วัน	เก็บรักษา 1 วัน	เก็บรักษา 2 วัน	เก็บรักษา 0 วัน	เก็บรักษา 1 วัน	เก็บรักษา 2 วัน
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ	72.50±1.20^{c}	73.01±1.51^{bc}	72.97±1.15^{bc}	-2.14±0.07^{d}	-1.83±0.28^{e}	-1.82±0.39^{e}	7.87±1.71^{bc}	8.73±1.78^{ab}	10.22±1.26^{a}
ขนมจีนแป้งหมักใส่วัตถุกันเสีย	75.90±1.82^{abc}	76.08±2.69^{abc}	77.69±1.40^{a}	-2.57±0.03^{abc}	-2.43±0.03^{c}	-2.58±0.05^{abc}	5.15±0.19^{d}	5.49±1.14^{d}	6.63±0.88^{cd}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945	76.66±0.81^{ab}	77.12±0.46^{a}	74.84±2.21^{abc}	-2.79±0.09^{a}	-2.69±0.11^{abc}	-2.65±0.08^{abc}	4.99±0.78^{d}	5.72±0.62^{d}	5.23±0.88^{d}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950	74.98±1.30^{abc}	75.86±1.82^{abc}	75.89±0.60^{abc}	-2.77±0.07^{a}	-2.74±0.10^{ab}	-2.70±0.05^{abc}	5.29±0.46^{d}	5.78±0.25^{d}	6.12±0.46^{d}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951	76.46±2.30^{ab}	76.86±1.05^{ab}	76.32±5.04^{abc}	-2.52±0.08^{abc}	-2.58±0.02^{abc}	-2.47±0.11^{bc}	6.59±0.27^{cd}	6.44±0.50^{cd}	6.77±0.16^{cd}

$^{a, b, c, d, e}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

จากการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของขนมจีน ได้แก่ ค่าการยึดติด (adhesiveness) ความแข็ง (hardness) และความเหนียว (toughness) หลังการผลิต (วันที่ 0) และเก็บรักษาเป็นเวลา 1 และ 2 วัน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลง (ตารางที่ 4.7) โดยขนมจีนทุกทรีทเมนต์มีค่าการยึดติด อยู่ระหว่าง -0.95 ถึง -10.89 g.sec ขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์มีค่าการยึดติดของวันที่ 1 และวันที่ 2 ไม่แตกต่างจากวันที่ 0 ($p>0.05$) ขณะที่การเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945 มีค่าการยึดติดสูงกว่าขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951 และขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก ($p\leq0.05$)

ค่าความแข็งของขนมจีนแป้งหมักหลังการผลิต (วันที่ 0) และเก็บรักษาเป็นเวลา 1 และ 2 วัน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลง โดยขนมจีนทุกทรีทเมนต์มีค่าความแข็งอยู่ระหว่าง 77.26 ถึง 273.72 g และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน ค่าความแข็งของขนมจีนทุกทรีทเมนต์ไม่แตกต่างจากวันที่ 0 ($p>0.05$) แต่เมื่อเก็บเป็นเวลา 2 วัน ขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเมนต์ มีค่าความแข็งเพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 ($p\leq0.05$) โดยเฉพาะขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951 มีค่าความแข็งสูงสุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกรดแลคติกที่ผลิตจากกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่เติมลงไปในการผลิตขนมจีนแป้งหมักช่วยจับยึดโมเลกุลของแป้งที่เจลลาติไนซ์ในขนมจีนแป้งหมักให้เกิดการเกาะเกี่ยวกัน ซึ่งสอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่างของขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951 ที่มีค่าต่ำสุด (ตารางที่ 4.4) และมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุด (ตารางที่ 4.5) แต่ในขณะเดียวกัน ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติมีค่าความแข็ง ต่ำสุด ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจสอบโดยใช้ความรู้สึกที่พบว่าขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่เละ

ค่าความเหนียวของขนมจีนแป้งหมักหลังการผลิต (วันที่ 0) และเก็บรักษาเป็นเวลา 1 และ 2 วัน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลง โดยขนมจีนทุกทรีทเมนต์ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน มีค่าความเหนียวอยู่ระหว่าง 130.16 ถึง 247.47 g.sec และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน ค่าความเหนียวของขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์ไม่แตกต่างจากวันที่ 0 ($p>0.05$) แต่เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945 มีค่าความเหนียวเพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 ($p\leq0.05$) และการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน ขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์มีค่าความเหนียวไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ยกเว้นขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติมีค่าความเหนียวต่ำกว่าทรีทเมนต์อื่น ๆ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับค่าความแข็ง

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ตารางที่ 4.7 ลักษณะเนื้อสัมผัสของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน (Means±SD)

ทรีทเมนต์	Adhesiveness (g.sec)			hardness (g)			Toughness (g.sec)		
	เก็บรักษา 0 วัน	เก็บรักษา 1 วัน	เก็บรักษา 2 วัน	เก็บรักษา 0 วัน	เก็บรักษา 1 วัน	เก็บรักษา 2 วัน	เก็บรักษา 0 วัน	เก็บรักษา 1 วัน	เก็บรักษา 2 วัน
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ	-4.32±3.71^{ab}	-5.90±8.97^{ab}	-2.75±1.60^{ab}	98.85±13.35^{efg}	85.89±19.86^{fg}	77.26±31.49^{g}	130.16±23.61^{c}	135.44±10.40^{c}	132.74±52.80^{c}
ขนมจีนแป้งหมักใส่วัตถุกันเสีย	-1.06±1.50^{b}	-4.20±3.73^{ab}	-1.29±1.89^{b}	107.56±5.88d^{efg}	123.80±17.00^{bcdef}	137.11±21.17^{bcde}	160.17±10.95^{bc}	185.52±36.67^{abc}	183.52±23.39^{abc}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945	-7.48±7.88^{ab}	-3.81±5.03^{ab}	-10.89±8.96^{a}	96.22±19.13^{efg}	120.08±10.58^{cdefg}	148.80±27.13^{bcd}	162.38±29.81^{bc}	180.25±27.62^{abc}	238.22±58.59^{a}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950	-10.00±6.69^{ab}	-8.67±2.96^{ab}	-5.95±0.39^{ab}	107.90±7.75^{defg}	139.94±31.36^{bcde}	165.68±44.08^{b}	180.76±30.67^{abc}	227.41±63.27^{ab}	247.47±65.52^{a}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951	-2.61±1.44^{ab}	-3.00±1.90^{ab}	-0.95±0.76^{b}	130.12±14.79^{bcdef}	158.79±17.88^{bc}	273.72±34.55^{a}	191.20±25.59^{abc}	220.18±30.12^{ab}	243.84±11.89^{a}

a, b, c, d, e, f, g ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ผลการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

จากการเก็บรักษาขนมจีนแป้งหมักทั้ง 5 ทรีทเมนต์ ที่อุณหภูมิห้อง พบการเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ได้แก่ ปริมาณยีสต์และรา ปริมาณจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียทั้งหมด และปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติก ระหว่างเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน แสดงดังตารางที่ 4.8–4.10

การเปลี่ยนแปลงปริมาณยีสต์และราของขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์ เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน อยู่ระหว่าง 3.40×10^{3} ถึง 1.87×10^{9} โคโลนีต่อกรัม (ตารางที่ 4.8) โดยพบว่าเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน ปริมาณยีสต์และราของขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์ ไม่แตกต่างจากวันที่ 0 ($p>0.05$) แต่เมื่อเก็บรักษานานขึ้นเป็นเวลา 2 วัน ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติและขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951 มีปริมาณเพิ่มขึ้นแตกต่างจากวันที่ 0 และวันที่ 1 ($p\leq0.05$) และนอกจากนี้ขนมจีนแป้งหมักในแต่ละทรีทเมนต์ มีปริมาณยีสต์และราในวันที่ 0 และในวันที่ 1 ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ยกเว้นในวันที่ 2 ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติมีปริมาณยีสต์และราสูงที่สุด และสูงกว่าขนมจีนแป้งหมักทรีทเมนต์อื่น ๆ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติมีขั้นตอนการหมักนานกว่าขนมจีนแป้งหมักจากกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของยีสต์และราในระหว่างขั้นตอนการหมัก ในขณะที่ขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเมนต์ มีปริมาณยีสต์และราที่ต่ำกว่า อาจเนื่องมาจากสารแบคทีโรซินและกรดแลคติกที่แบคทีเรียกรดแลคติกสร้างขึ้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งยีสต์และรา โดยเฉพาะขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945 มีปริมาณยีสต์และราหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน อยู่ที่ 5.2×10^{4} โคโลนีต่อกรัม ซึ่งมีปริมาณที่น้อยกว่าขนมจีนแป้งหมักใส่วัตถุกันเสียกรดเบนโซอิก ที่มีปริมาณยีสต์และราอยู่ที่ 4.5×10^{6} โคโลนีต่อกรัม ในการเก็บรักษา 1 วัน เช่นเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sangmanee และ Hongpattarakee (2014) ได้รายงานว่าแบคทีเรียกรดแลคติก *L. plantarum* K35 ที่แยกได้จากขนมจีนแป้งหมักมีประสิทธิภาพในลดการเจริญเติบโตและลดการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* TISTR304 และ *Aspergillus parasiticus* TISTR3276 จากการทำลายผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งองค์ประกอบของเหลวที่ยับยั้งเชื้อราหลักๆ พบว่าเป็นกรดแลคติก, 2-butyl-4-hexyloctahydro-1H-indene, กรดโอเลอิก และกรดปาลมิติก

มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
RAJABHAT MAHANAKHORN UNIVERSITY

ตารางที่ 4.8 ปริมาณยีสต์และรา (โคโลนีต่อกรัม) ของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน (Means±SD)

ทรีทเมนต์	เวลาในการเก็บรักษา (วัน)		
	0	1	2
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ	$4.47x10^{4}\pm2.34x10^{4}$[4c]	$1.23x10^{7}\pm3.43x10^{6}$[6c]	$1.87x10^{9}\pm4.61x10^{8}$[8a]
ขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก	$2.21x10^{4}\pm2.91x10^{5}$[5c]	$4.50x10^{6}\pm2.15x10^{6}$[6c]	$2.23x10^{8}\pm1.15x10^{8}$[8bc]
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945	$3.92x10^{4}\pm1.31x10^{4}$[4c]	$5.20x10^{4}\pm3.72x10^{5}$[5c]	$2.05x10^{8}\pm1.52\ x10^{8}$[8bc]
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950	$3.40x10^{3}\pm1.47x10^{4}$[4c]	$3.12x10^{6}\pm4.81x10^{6}$[6c]	$1.60x10^{8}\pm1.59x10^{6}$[6bc]
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951	$1.82x10^{4}\pm8.97x10^{3}$[3c]	$1.80x10^{6}\pm3.07x10^{6}$[6c]	$6.12x10^{8}\pm8.49x10^{6}$[6b]

[a, b, c] ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียทั้งหมดของขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน อยู่ระหว่าง $7.33x10^{2}$ ถึง $1.68x10^{8}$ โคโลนีต่อกรัม (ตารางที่ 4.9) โดยพบว่าการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน ขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างจากวันที่ 0 ($p>0.05$) แต่เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติและขนมจีนแป้งหมักใส่กล้าเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945 มีปริมาณเพิ่มขึ้นแตกต่างจากวันที่ 0 ($p\leq0.05$) และนอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในวันที่ 0 และวันที่ 1 ของขนมจีนทุกทรีทเมนต์ มีปริมาณไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่จุลินทรีย์ทั้งหมดในวันที่ 2 ของขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติมีปริมาณสูงสุดและสูงกว่าสูตรอื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับผลของปริมาณยีสต์และรา (ตารางที่ 4.8) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากว่า กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่เติมในขนมจีนแป้งหมักนั้นได้สร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่น แบคเทอริโอซิน และกรดอินทรีย์ ส่วนกรดเบนโซอิกที่ใส่ในขนมจีนแป้งหมักจะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ทำให้มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำกว่า ในขณะที่มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนขนมจีน มผช. 500/2557 ได้กำหนดไว้ว่าขนมจีนแปงหมัก ตองมีจำนวนจุลินทรียทั้งหมดไม่เกิน $1x10^{6}$ โคโลนีตอตัวอยาง 1 กรัม ซึ่งขนมจีนแป้งหมักที่ได้ทำการทดลอง คือ ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติในวันที่ 0 ขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิกและขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเมนต์ ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน มีจำนวนจุลินทรียทั้งหมดอยู่ในขอบข่ายที่กำหนด โดยเฉพาะขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951 มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดจากเก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน อยู่ที่ $5.02x10^{4}$ โคโลนีต่อกรัม ซึ่งมีปริมาณที่น้อยกว่าขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก ที่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ที่ $8.90\ x10^{6}$ โคโลนีต่อกรัม ในการเก็บรักษา 1 วัน เช่นเดียวกัน

มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ตารางที่ 4.9 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนีต่อกรัม) ของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน (Means±SD)

ทรีทเมนต์	เวลาในการเก็บรักษา (วัน)		
	0	1	2
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ	$1.00\times10^{4}\pm6.25\times10^{3c}$	$1.50\times10^{7}\pm5.38\times10^{6bc}$	$1.68\times10^{8}\pm5.40\times10^{7a}$
ขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก	$4.33\times10^{3}\pm1.90\times10^{3c}$	$8.90\times10^{5}\pm5.25\times10^{5c}$	$2.85\times10^{7}\pm5.77\times10^{4bc}$
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945	$5.30\times10^{3}\pm3.97\times10^{3c}$	$1.44\times10^{6}\pm1.27\times10^{6c}$	$6.74\times10^{7}\pm6.25\times10^{7b}$
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950	$7.33\times10^{2}\pm5.03\times10^{2c}$	$1.39\times10^{6}\pm2.16\times10^{6c}$	$5.52\times10^{7}\pm9.07\times10^{7bc}$
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951	$3.40\times10^{3}\pm3.37\times10^{3c}$	$5.02\times10^{4}\pm8.47\times10^{4c}$	$2.21\times10^{7}\pm3.46\times10^{7bc}$

[a, b, c] ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแบคทีเรียกรดแลคติกของขนมจีนแป้งหมักทั้ง 5 ทรีทเมนต์ ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 วัน มีปริมาณอยู่ระหว่าง $0\text{-}3.28\times10^{5}$ โคโลนีต่อกรัม แสดงดังตารางที่ 4.10 โดยพบว่า ขนมจีนทุกทรีทเมนต์ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน และ 2 วัน มีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกไม่แตกกันทางสถิติกับวันที่ 0 ($p>0.05$) ยกเว้นขนมจีนเติมกล้าเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950 ที่การเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน มีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มขึ้นสูงกว่าการเก็บรักษา วันที่ 0 และวันที่ 1 ($p\leq0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่า การเก็บรักษาวันที่ 0 และวันที่ 1 นั้น ปริมาณของแบคทีเรียกรดแลคติก ระหว่างทั้ง 5 ทรีทเมนต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่เมื่อการเก็บรักษานานขึ้น เป็นเวลา 2 วัน เฉพาะขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950 มีปริมาณของแบคทีเรียกรดแลคติกแตกต่างกับทรีทเมนต์อื่น ๆ โดยมีปริมาณที่สูงกว่า ($p\leq0.05$) ทั้งนี้ปริมาณของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ตรวจวิเคราะห์อาจเป็นแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *L. fermentum* TISTR 950 ที่เติมลงไป สำหรับเป็นกล้าเชื้อในการหมัก ซึ่งมีประสิทธิภาพที่ดีในการหมักและเจริญเติบโตระหว่างการเก็บรักษา ในขณะที่การตรวจวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกในขนมจีนที่ได้มาหลังจากการโรยเส้นในน้ำเดือด ผ่านน้ำเย็นและปล่อยให้สะเด็ดน้ำ (วันที่ 0) ของขนมจีนเติมกล้าเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950 และขนมจีนเติมกล้าเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951 มีจำนวนน้อยมากจนตรวจไม่พบ จนรายงานเป็น 0 โคโลนีต่อกรัมนั้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกล้าเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ดังกล่าวไม่ทนต่ออุณหภูมิน้ำเดือดในขั้นตอนโรยเส้น จึงทำให้ประชากรลดลงเป็นจำนวนมาก ส่วนขนมจีนใส่กรดเบนโซอิก รายงานเป็น 0 โคโลนีต่อกรัม ในวันที่ 0 นั้น เนื่องจากกรดเบนโซอิกมีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียกรดแลคติกจากธรรมชาติและขั้นตอนโรยเส้นในน้ำเดือดยังลดจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกจากธรรมชาติ ซึ่งส่งผลให้ประชากรลดลงเป็นจำนวนมากจนตรวจไม่พบเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามขนมจีนทั้ง 3 ทรีทเมนต์ที่รายงานว่าตรวจไม่พบ อาจได้รับบาดเจ็บและฟื้นตัวและเพิ่มจำนวนระหว่างการเก็บรักษาขนมจีน

มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ตารางที่ 4.10 ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก (โคโลนีต่อกรัม) ของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน (Means±SD)

ทรีทเมนต์	เวลาในการเก็บรักษา (วัน)		
	0	1	2
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ	$5.33x10^{2}$ ±3.51 $x10^{2a}$	$1.01x10^{5}$ ±1.29 $x10^{5a}$	3.92 $x10^{4}$ ±2.5^{8} $x10^{4a}$
ขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก	0±0^{a}	5.23 $x10^{4}$ ±8.98 $x10^{4a}$	4.80 $x10^{3}$ ±2.95 $x10^{3a}$
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945	0±0^{a}	8.00 $x10^{2}$ ±1.00 $x10^{2a}$	3.45 $x10^{4}$ ±4.48 $x10^{4a}$
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950	3.30 $x10^{1}$ ±5.8 $x10^{1a}$	1.46 $x10^{4}$ ±1.11 $x10^{4a}$	$3.28x10^{5}$ ±1.41 $x10^{5\ b}$
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951	0±0^{a}	6.00 $x10^{2}$ ±2.00 $x10^{2a}$	$2.67x10^{4}$ ±8.59 $x10^{3a}$

$^{a, b}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส

การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส จากการทดสอบการยอมรับขนมจีนแป้งหมักทั้ง 5 ทรีทเมนต์ โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ปฏิเสธการบริโภคขนมจีนแป้งหมักที่ไม่ผ่านการฝึกฝน 40 คน จากนักศึกษาสาขาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม มีเพศชายร้อยละ 12.50 เพศหญิงร้อยละ 87.50 อายุต่ำกว่า 20 ปี ร้อยละ 22.50 อายุ 21-30 ปี ร้อยละ 77.50 วุฒิการศึกษา มัธยมศึกษาหรือเทียบเท่าร้อยละ 10.00 ปริญญาตรีร้อยละ 90.00 อาชีพ นิสิต/นักศึกษาร้อยละ 97.50 รับจ้างร้อยละ 2.50 รายได้ต่อเดือน น้อยกว่า 1,000 บาท ร้อยละ 32.50 รายได้ช่วง 1,000-5,000 บาท ร้อยละ 52.50 และรายได้ช่วง 5,001-10,000 บาท ร้อยละ 15 ใช้แบบประเมินที่มีวิธีการให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (9 point hedonic scale test) (1 = ไม่ยอมรับมากที่สุด 5 = เฉย ๆ 9 = ยอมรับมากที่สุด) โดยเสิร์ฟขนมจีนแป้งหมักที่ทำเสร็จใหม่พร้อมกับน้ำแกงพะแนงหมู และประเมินการยอมรับในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ผลแสดงดังตารางที่ 4.11 โดยพบว่าคะแนนการยอบรับลักษณะปรากฏของขนมจีนแป้งหมักมีคะแนนอยู่ระหว่าง 6.85 ถึง 7.65 คะแนน ซึ่งขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติมีคะแนนการยอมรับมากกว่าขนมจีนใส่กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเมนต์ ($p \leq 0.05$) แต่มีคะแนนการยอมรับไม่แตกกับขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก ($p > 0.05$)

คะแนนการยอมรับในด้านสีของขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์อยู่ระหว่าง 7.00 ถึง 7.58 คะแนน โดยพบว่า ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติมีคะแนนการยอมรับมากกว่าขนมจีนใส่กล้าเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945 ($p \leq 0.05$) แต่มีคะแนนการยอมรับไม่แตกต่างจากทรีทเมนต์อื่น ๆ ($p > 0.05$) คะแนนการยอมรับด้านกลิ่นของขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์อยู่ระหว่าง 5.30 ถึง 5.88 คะแนน โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) นอกจากนี้คะแนนการยอมรับในด้านเนื้อสัมผัส

ของขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์อยู่ระหว่าง 6.08 ถึง 7.15 คะแนน โดยพบว่าขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติและขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก มีคะแนนการยอมรับลักษณะเนื้อสัมผัสสูงกว่าขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเมนต์ ($p \leq 0.05$) ขณะที่คะแนนความชอบโดยรวมของขนมจีนแป้งหมักทุกทรีทเมนต์อยู่ระหว่าง 6.65 ถึง 7.60 คะแนน อยู่ในระดับชอบปานกลางถึงชอบมาก โดยพบว่าขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติและขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิกมีคะแนนความชอบโดยรวมสูงกว่าขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเมนต์ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติและขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก มีระยะการหมักที่นานทำให้เนื้อสัมผัสของขนมจีนที่ได้มีความยืดหยุ่น รวมทั้งมีการสร้างกลิ่นเฉพาะที่เกิดจากการหมัก แต่อย่างไรก็ตามขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเมนต์ ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคอยู่ในระดับชอบปานกลาง (6.65 ถึง 6.82 คะแนน)

ตารางที่ 4.11 คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของขนมจีนแป้งหมัก (Means±SD)

ทรีทเมนต์	ลักษณะทางประสาทสัมผัส					
	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น^{ns}	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบโดยรวม
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ	7.65±1.14^{a}	7.58±1.03^{a}	5.58±1.74	7.05±1.06^{ab}	7.08±1.25^{a}	7.60±1.03^{a}
ขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก	7.42±1.24^{ab}	7.55±1.13^{ab}	5.40±1.89	7.30±1.26^{a}	7.15±1.41^{a}	7.60±1.06^{a}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945	6.85±1.27^{b}	7.00±1.28^{b}	5.30±1.49	6.52±1.09^{bc}	6.48±1.24^{b}	6.82±1.17^{b}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. fermentum* TISTR 950	6.90±1.19^{b}	7.10±1.06^{ab}	5.88±1.62	6.40±1.22^{c}	6.08±1.53^{b}	6.65±1.25^{b}
ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951	6.85±1.39^{b}	7.02±1.23^{ab}	5.72±1.63	6.52±1.04^{bc}	6.10±1.30^{b}	6.72±0.96^{b}

$^{a, b, c}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

การผลิตขนมจีนแป้งหมักจากปลายข้าวหักพันธุ์เหลืองปะทิว ด้วยการหมักโดยแยกใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก 3 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus fermentum* TISTR 945, *L. fermentum* TISTR 950 และ *L. plantarum* TISTR 951 พร้อมเปรียบเทียบกับการผลิตขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติและขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแป้ง 1 กิโลกรัม มีขั้นตอนการผลิต เริ่มจากการแช่ข้าว นำข้าวแยกเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^9 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ในอัตราส่วน 100 มิลลิลิตรต่อข้าว 250 กรัม นำมาหมักข้าวแบบแห้ง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับขนมจีนแป้งหมักจากกล้าเชื้อบริสุทธิ์ หรือ 72 ชั่วโมง สำหรับขนมจีนแป้งหมักจากจุลินทรีย์ธรรมชาติ หรือขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก นำข้าวที่หมักมาปั่นผสมน้ำ และปล่อยให้แป้งตกตะกอนเป็นเวลา 1 วัน ในน้ำ 5 เท่า ที่มีเกลือร้อยละ 7 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลารินน้ำใสส่วนบนทิ้ง แยกแป้งส่วนที่นอนน้ำลงในถุงผ้าแล้วทับด้วยเครื่องคั้นแบบแยกกาก-น้ำ ระบบไฮโดรลิค 2 จังหวะ นำแป้งแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งนำไปนึ่งให้แป้งสุก เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นผสมแป้งสุก และแป้งดิบให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นผสม นวดเป็นเวลา 30 นาที เติมน้ำร้อนเรื่อย ๆ ระหว่างการนวด กรองด้วยผ้าขาวบาง ขั้นตอนนี้ใส่วัตถุกันเสีย เฉพาะขนมจีนแป้งหมักที่ใส่วัตถุกันเสีย โรยเส้นในน้ำเดือดที่อุณหภูมิประมาณ 75 ถึง 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที นำเส้นมาผ่านน้ำเย็น 3 ครั้ง จับให้เป็นเส้น

ขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเมนต์ ที่อายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง 2 วัน มีลักษณะเส้นแข็งขึ้น มีกลิ่นหมักเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และพบเชื้อราสีดำปนเปื้อนเพียงเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติซึ่งมีเส้นนิ่มเละ มีกลิ่นบูด เชื้อราขึ้นเป็นจุด ๆ และขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก เส้นมีลักษณะใสขึ้น มีกลิ่นอับเกิดขึ้นเล็กน้อย พบเชื้อราสีดำปนเปื้อนเพียงเล็กน้อย สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์คุณภาพที่ว่าขนมจีนทุกทรีทเมนต์มีปริมาณความชื้นและค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้สูง จัดเป็นอาหารที่เน่าเสียง่าย โดยขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อ *L. plantarum* TISTR 951 มีรสชาติเปรี้ยวเล็กน้อยจากการหมักมากกว่าสูตรอื่น ด้วยค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำ และมีปริมาณกรดแลคติกที่สูง ขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติมีสีขาวคล้ำมากกว่าขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก และขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเมนต์ ขนมจีนที่ผลิตจากกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเมนต์ มีความแน่นเนื้อ การยึดติด และความเหนียวใกล้เคียงกับขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก แต่ค่าสูงกว่าขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติ ขนมจีนทุกทรีทเมนต์มีอายุการเก็บรักษาสั้น ไม่ควรเกิน 1 วัน โดยขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติมีการเน่าเสียง่ายสุด จากปริมาณยีสต์และรา รวมทั้งปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่สูง ซึ่งสูงกว่าขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ทรีทเมนต์ และขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก และการยอมรับทางประสาทสัมผัสต่อขนมจีนแป้งหมัก คะแนนความชอบโดยรวมของผู้บริโภคส่วนใหญ่ชอบขนมจีนแป้งหมักจากเชื้อธรรมชาติและขนมจีนแป้งหมักใส่

กรดเบนโซอิก แต่อย่างไรก็ตามขนมจีนแป้งหมักเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมีทั้ง 3 ทรีทเมนต์ ก็ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคอยู่ในระดับชอบปานกลาง รวมทั้งยังพบว่าการผลิตขนมจีนแป้งหมักที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกใช้เวลาในการหมักข้าวสั้นเพียง 1 วัน จึงช่วยลดปริมาณน้ำล้างและน้ำเสียต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

ขั้นตอนการผลิตขนมจีนแป้งหมัก และการผลิตขนมจีนแป้งหมักด้วยกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้กับผู้ประกอบการที่ผลิตขนมจีนตั้งแต่ระดับครัวเรือน ชุมชน และอุตสาหกรรม

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

1. ศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของกล้าเชื้อ โดยทำเป็นกล้าเชื้อผสม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการหมักแห้งที่มากขึ้น และเป็นการพัฒนากลิ่นรสของขนมจีนแป้งหมักต่อไป
2. ผลิตกล้าเชื้อในรูปแบบผงในการทางค้า และประยุกต์ใช้กล้าเชื้อในระดับโรงงานอุตสาหกรรม

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ง
สารบัญ ..... จ
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญภาพ ..... ซ

บทที่ 1 บทนำ 1
ความเป็นมาและความสำคัญ 1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2
ขอบเขตการวิจัย 3
นิยามศัพท์เฉพาะ 3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
ขนมจีน และวิธีทำขนมจีน 4
แบคทีเรียกรดแลคติก 10
กล้าเชื้อ 19
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 20
กรอบแนวคิดในการวิจัย 22

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 23
วัตถุดิบ 23
กล้าเชื้อจุลินทรีย์ 23
สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ 23
อุปกรณ์และเครื่องมือ 23
การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก 24
การผลิตขนมจีนแป้งหมัก 25
การวิเคราะห์คุณภาพขนมจีนแป้งหมัก 26
สถิติที่ใช้ในงานวิจัย 29
สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล 29

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 30
ผลการตรวจสอบโดยใช้ความรู้สึก 30
ผลการวิเคราะห์ทางเคมี 34
ผลการวิเคราะห์ทางกายภาพ 38
ผลการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ 42
ผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส 45

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 47
สรุปผลการวิจัย 47
ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้ 48
ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป 48

บรรณานุกรม 49
บรรณานุกรมภาษาไทย 49
บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ 50

ภาคผนวก 53
ภาคผนวก ก การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก 54
ภาคผนวก ข ขั้นตอนการผลิตขนมจีนแป้งหมัก 60
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ทางเคมี 67
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ทางกายภาพ 71
ภาคผนวก จ การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง 77
ภาคผนวก ฉ แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส 70

ประวัติผู้วิจัย 85

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	องค์ประกอบทางเคมีของข้าวหักที่ใช้ในการผลิตขนมจีน	5
2.2	แบคทีเรียกรดแลคติกในกลุ่มที่มีการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ	12
2.3	แบคทีเรียกรดแลคติกในกลุ่มที่มีการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ	13
4.1	ผลการตรวจสอบขนมจีนแป้งหมักโดยใช้ความรู้สึก	30
4.2	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ) ของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษา เป็นระยะเวลา 2 วัน	35
4.3	ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (aw) ของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษา เป็นระยะเวลา 2 วัน	36
4.4	ค่าความเป็นกรด–ด่าง ของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน	37
4.5	ปริมาณกรดจากการไตเตรท (ร้อยละ) ของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษา เป็นระยะเวลา 2 วัน	37
4.6	ค่าสีของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน	39
4.7	ลักษณะเนื้อสัมผัสของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา	41
4.8	ปริมาณยีสต์และรา (โคโลนีต่อกรัม) ของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษา เป็นระยะเวลา 2 วัน	43
4.9	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนีต่อกรัม) ของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษาเป็น ระยะเวลา 2 วัน	44
4.10	ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก (โคโลนีต่อกรัม) ของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษา เป็นระยะเวลา 2 วัน	45
4.11	คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของขนมจีนแป้งหมัก	46

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	กรรมวิธีการผลิตขนมจีนแป้งหมัก	10
2.2	สมการจากการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ	11
2.3	สมการจากการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ	13
2.4	*Lactobacillus plantarum* ภายใต้กล้องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	14
2.5	*Lactobacillus fermentum* ภายใต้กล้องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	15
3.1	ขั้นตอนการผลิตขนมจีนแป้งหมัก	25
ง.1	เครื่องวัดสี (ก) และการวัดค่าสีของขนมจีน (ข)	69
ง.2	เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (ก) และหัววัดแบบหัวใบมีดตัด (ข)	72
ง.3	ตัวอย่างกราฟลักษณะเนื้อสัมผัสของขนมจีนแป้งหมัก	73

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การพัฒนาขนมจีนแป้งหมักด้วยกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผลิตแบคเทอริโอซิน และประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* ที่ปนเปื้อนในขนมจีน

Development of fermented rice noodle by lactic acid bacteria starter cultures produce bacteriocins and effect on inhibition of *Bacillus cereus* contaminate in fermented rice noodle

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

พรพรรณ พัวไพบูลย์

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ปีงบประมาณ 2560

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	นางพรพรรณ พัวไพบูลย์
วันเกิด	13 มีนาคม พ.ศ. 2516
สถานที่เกิด	สมุทรสาคร
ที่อยู่	145/2 ถนนถีนานนท์ ตำบลตลาด อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000
ตำแหน่ง/หน่วยงานที่สังกัด	อาจารย์สาขาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2537	ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม
พ.ศ. 2548	ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
พ.ศ. 2556	ปริญญาดุษฎีบัณฑิต (ปร.ด.) สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผลงานทางวิชาการ

Publications

Phuapaiboon, P., Leenanon, B., & Levin, R. E. (2013). Effect of Lactococcus lactis immobilized within pineapple and yam bean segments, and jerusalem artichoke powder on its viability and quality of yogurt. *Food and Bioprocess Technology*, *6*(10), 2751-2762.

Phuapaiboon, P. (2016). Immobilization of probiotic bacteria with banana flour and effect on quality of synbiotic ice cream and survival under simulated gastrointestinal conditions. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, *8*(4), 33-46.

Phuapaiboon, P. (2017). Gamma-aminobutyric acid, total anthocyanin content and antioxidant activity of vinegar brewed from germinated pigmented rice. Pakistan Journal of Nutrition, 16(3), 109-118.

Proceedings

Phuapaiboon, P and S. Chumchuere, Growth of selected strains of lactic acid bacteria In legume milk. The 1st International Conference on “Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products”. March 22-25, Khon Kaen, Thailand. 2005.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

Phuapaiboon, P. and B. Leenanon, Growth and effect of probiotic bacteria immobilized on fruit and tuber crop pieces in fermented milk. Commission on Higher Education Congress III: University Staff Development Consortium. September 9-11, Pattaya, Thailand. 2010.

Phuapaiboon, P., & Leenanon, B. (2013). Analysis of volatile compound by GC-MS of the yogurt containing immobilized *Lactococcus lactis* cells. In *The 3rd International Conference on Sciences and Social Sciences*, pp. 506-511. Maha Sarakham: Rajabhat Maha Sarakham University.

Phuapaiboon, P., (2014). The potency of antioxidant in wine, which used fruit peel and fruit axis as Substrates. In *18th World Congress on Clinical Nutrition (WCCN 2014) "Agriculture, Food and Nutrition for Health and Wellness"*, pp. 82-86. Ubon Ratchathani: Ubon Ratchathani University.

พรพรรณ พัวไพบูลย์. (2561). ผลของเซลลูโลสจากแบคทีเรียต่อสมบัติทางกายภาพของฟิล์มแอคทีฟ. *การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยบัณฑิตศึกษาระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ครั้งที่ 3*, น. 85-93. มหาสารคาม: มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บรรณานุกรม

บรรณานุกรมภาษาไทย

งามชื่น คงเสรี. (2541). ผลิตภัณฑ์ข้าว, น. 45-90. ใน *เอกสารการสอนวิชาผลิตภัณฑ์อาหาร หน่วยที่ 1-7*. นนทบุรี: สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมมาธิราช.

ชลธิชา เลี่ยมดำ, วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, ณัฐพงษ์ บวรเรืองโรจน์, และ ปรียานุช บวรเรืองโรจน์. (2555). การคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีความสามารถในการย่อยแป้งเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในกระบวนการหมักขนมจีน, น. 101-107. ใน *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50: สาขาวิทยาศาสตร์, สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม*. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

ณรงค์ นิยมวิทย์ และ อัญชนีย์ อุทัยพัฒนาชีพ. (2528). *วิทยาศาสตร์การประกอบอาหาร*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณัฐพร จันทร์ฉาย. (2558). การผลิตขนมจีน เส้นหมักด้วยหัวเชื้อ บริสุทธิ์ของชุมชนบ้านแม่ยางโพธิ์ อำเภอร้องกวาง จังหวัดแพร่. *วารสารการพัฒนาชุมชนและคุณภาพชีวิต*, *3*(2), 141-149.

นวรัตน์ สุพิชญางกูร, วรรณี จิรภาคย์กุล และ อรอนงค์ นัยวิกุล. (2549). ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกต่อคุณสมบัติทางเคมีในกระบวนการผลิตขนมจีนแป้งหมัก, น. 356-362. ใน *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44: สาขาอุตสาหกรรมเกษตร สาขาเศรษฐศาสตร์ สาขาบริหารธุรกิจ*. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

ปริยดา ตั้นจักร. (2550). *การคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก*. ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

พัชรี โสธนา, อรอนงค์ นัยวิกุล, สุภรัตน์ ชวนะ, มาลี สุวรรณอัตน์, ลาวัณย์ ไกรเดช, ปราโมทย์ ศิริโรจน์ และ พรเทพ พัฒนานุรักษ์. (2534). คุณลักษณะทางเคมี กายภาพของข้าวหักที่ใช้ในการทำขนมจีน, น. 357-364. ใน *รายงานประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29 (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร)*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มลฤดี โพธิ์อินทร์. (2559). *อันตราย!! พบ “ขนมจีน” ใส่สารกันบูดเกินมาตรฐาน ชง อย.บังคับออกฉลาก*. 1 กันยายน 2559. http://www.manager.co.th/QOL/ViewNews.aspx?NewsID=9590000024505.

วิภา สุโรจนะเมธากุล, ประจงเวท สาตมาลี, วันชัย พันธ์ทวี และ นราพร พรหมไกรวร. (2556). ผลของการหมักด้วยเชื้อแลคโตบาซิลลัส แพลนทารั่ม ต่อสมบัติบางประการของข้าวอ่อนพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105, น. 5-7. ใน *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51: สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์, สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. บริหารธุรกิจ*. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

เว็บเพื่อพืชเกษตรไทย. (ม.ป.ป). *ขนมจีน และวิธีทำขนมจีน*. 1 กันยายน 2559. http://puechkaset.com/ขนมจีน/.

ศันสนีย์ เนียมเปรม. (2543). *การพัฒนาแป้งข้าวหอมมะลิผสมแป้งบุกสำหรับผลิตภัณฑ์ขนมจีน*. ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ศูนย์วิทยบริการ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (ม.ป.ป.). *อันตราย...อาหารกับสารกันบูด*. 1 กรกฎาคม 2561. http://www.http://elib.fda.moph.go.th/library/default.asp?page2=subdetail&id_L1=27&id_L2=15799&id_L3=3076.

สุภรัตน์ ชวนะ, พัชรี ตั้งตระกูล, อรอนงค์ นัยวิกุล, มาลี สุวรรณอัตถ์, ลาวัลย์ ไกรเดช, ปราโมทย์ ศิริโรจน์, และ พรเทพ พัฒนานุรักษ์. (2534). การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของแป้งขนมจีนในกระบวนการผลิต, น. 417-425. ใน *รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29 (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร)*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุพรรณิการ์ ศรีบัวทอง. (2548). *การคัดเลือกแบคทีเรียกรดแล็กทิกจากข้าวหมักเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อขนมจีนแป้งหมัก*. ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาตร์การอาหาร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สุรางรัตน์ คัมภีรยส. (2526). ขนมจีน, น. 50-121. ใน *ผลิตภัณฑ์จากธัญพืชและพืชหัว เล่มที่ 1*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาเกษตรศาสตร์.

อรวัลภ์ อุปถัมภานนท์. (2553). *นักวิจัยมทร.ธัญบุรี คิดสูตรหมักแป้งขนมจีนวันเดียว*. 1 กันยายน 2559. http://www.news.rmutt.ac.th/archives/2651.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ

AOAC. (1998). *Bacteriological Analytical Manual*. 8th ed. Gaithersburg, MD: The Association of Official Analytical Chemists.

AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis*. 17th ed. Arlington, VA: The Association of Official Analytical Chemists.

Frank, H. K. (1992). *Bacteriocin*. *Dictionary of Food Microbiology*. Technomic Publishing. Co Inc., USA. pp. 43.

Janković, T., Frece, J., Abram, M., & Gobin, I. (2012). Aggregation ability of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *International Journal of sanitary engineering research*, *6*(1), 19-24.

Juliano, B. O. (1971). A simplified assay for milled rice amylose. *Cereal Science Today*, *16*(10), 334-340.

Klein, G. (2011). Antibiotic resistance and molecular characterization of probiotic and clinical Lactobacillus strains in relation to safety aspects of probiotics. *Foodborne Pathogens and Disease*, *8*(2), 267-281.

Keatkrai, J., Sribuathong, S., Jirapakkul, W., Trevanich, S., & Naivikul, A. (2004). *Microbial populations and volatile compounds of fermented knanomjeen and their change during process*. Proceeding of 6th Agro-Industrial Conference. 28-29 May 2004. Bangkok, Thailand.

Li, Y., Zheng, X. W., Chen, J. Y., Liang, J. F., Yu, S. Z., & Han, B. Z. (2015). Lactic acid bacteria diversity of fresh rice noodles during the fermentation process, revealed by culture-dependent and culture-independent methods. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, *29*(5), 915-920.

Lu, Z. H., Peng, H. H., Cao, W., Tatsumi, E., & Li, L. T. (2008). Isolation, characterization and identification of lactic acid bacteria and yeasts from sour Mifen, a traditional fermented rice noodle from China. *Journal of applied microbiology*, *105*(3), 893-903.

LÜcke, F. K., (2000). Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Science*, *56*, 105-115.

Montel, M. C., Talon, R., Berdagué, J. L., & Cantonnet, M. (1993). Effects of starter cultures on the biochemical characteristics of French dry sausages. *Meat Science*, *35*(2), 229-240.

Mikelsaar, M., & Zilmer, M. (2009). Lactobacillus fermentum ME-3–an antimicrobial and antioxidative probiotic. *Microbial Ecology in Health and Disease*, *21*(1), 1-27.

Ouwehand, A. C., & Vesterlund, S. (2004). *Antimicrobial components from lactic acid bacteria*. In Lactic acid bacteria. Edited by Salminen, S., von Wright, A., & Ouwehand, A. 3rd Edition. New York: Marcel Dekker, Inc.: 377-378.

Pascual, L. M., Daniele, M. B., Giordano, W., Pájaro, M. C., & Barberis, I. L. (2008). Purification and partial characterization of novel bacteriocin L23 produced by *Lactobacillus fermentum* L23. *Current microbiology*, *56*(4), 397-402.

Sangmanee, P., & Hongpattarakere, T. (2014). Inhibitory of multiple antifungal components produced by Lactobacillus plantarum K35 on growth, aflatoxin production and ultrastructure alterations of Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus. *Food Control*, *40*, 224-233.

Schlegel, H. G. (1993). *General Microbiology*. 7th ed. Cambridge University Press, New York. pp. 300-305.

Singleton, P. & Sainsbury, D. (1988). *Dictionary of Microbiology and Molecularbiology*. 2nd ed. John Wiley & Sons, Singapore. pp. 485-486, 682.

มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย
HUACHIEW CHALERMPRAKIET UNIVERSITY

The Star Online. (2005). Hunting good bacteria. July 1, 2017. https://www.thestar.com.my/lifestyle/health/2005/08/28/hunting-good-bacteria/.

Todorov, S. D. 2008. Bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* AMA-K isolated from Amasi, a Zimbabwean fermented milk product and study of the adsorption of bacteriocin AMA-K to *Listeria* sp. *Brazilian Journal of microbiology*, *39*(1), 178-187.

De Vries, M. C., Vaughan, E. E., Kleerebezem, M., & de Vos, W. M. (2006). *Lactobacillus plantarum*—survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *International Dairy Journal*, *16*(9), 1018-1028.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY