**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 หลังจากนั้นนำมาตัด และจัดเรียงก่อนเข้าเครื่องอบแห้งจนได้ขนมจีนแห้งที่สามารถเก็บไว้ได้นาน และพร้อมรับประทานด้วยการต้มภายใน 5-10 นาที คล้ายกับบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปทั่วไป

วิธีการทำขนมจีนแป้งหมัก  
 1. วัตถุดิบ  
 1.1 ข้าว

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 ส่วนปริมาณโปรตีนถ้าสูงทำให้ขนมจีนที่ได้มีสีคล้ำ 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  ปริมาณแอมิโลส  สตาร์ช  โปรตีน  ไขมัน  เยื่อไย  เถ้า | 9.57-14.88  27.25-33.33  87.49-92.06  5.99-8.69  0.04-1.74  0.33-1.79  0.26-0.66 |

ที่มา : พัชรีและคณะ (2534)

1.2 น้ำ

น้ำที่ใช้ในทุกขั้นตอนการผลิตควรใช้น้ำที่สะอาดปราศจากสิ่งแขวนลอย มีความกระด้างต่ำ สามารถใช้ได้ทั้งน้ำฝน และน้ำประปา แต่ทั่วไปนิยมใช้น้ำประปามากที่สุด น้ำฝนจะมีใช้น้อยบางพื้นที่ชนบทเท่านั้น ส่วนน้ำบาดาลก็สามารถใช้ได้เช่นกันในเฉพาะบางพื้นที่ที่ไม่มีปัญหาในเรื่องน้ำบาดาลเค็มหรือน้ำกร่อยมาก และเมื่อสูบขึ้นมาแล้ว ควรเก็บในบ่อพักเสียก่อนก่อนนำมาใช้เพื่อให้อิออนเหล็กตกตะกอนเสียก่อนแล้วจึงนำไปกรองผ่านทรายและผ่านเครื่องกำจัดความกระด้าง ถ้าเป็นน้ำประปาไม่ควรมีคลอรีนมากเกินไปจะทำให้ขนมจีนมีกลิ่นผิดปกติ ถ้าใช้น้ำขุ่นจะทำให้ขนมจีนมีสีคล้ำ นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำที่ใช้ยังมีผลต่อสีของขนมจีน น้ำที่มีค่าความเป็นกรด-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 และบริสุทธิ์มากพอ นำไปผสมในขณะโม่แป้งหรือนอนน้ำแป้ง (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) ได้ศึกษา จุลชีววิทยาของกระบวนการผลิตขนมจีน พบว่า แบคทีเรียกรดแลกติกมีปริมาณสูงสุดในขั้นตอนของนอนน้ำแป้งเท่ากับ 2.26 x 109 CFU/g รองลงมาคือขั้นตอนของน้ำแป้งเท่ากับ 6.93 x 108 CFU/g และทับน้ำแป้งเท่ากับ 3.67 x 108 จุลินทรีย์ในขั้นตอนการหมักขนมจีนเป็นจุลินทรีย์จากธรรมชาติซึ่งอาจติดมากับวัตถุดิบ ได้แก่ ปลายข้าว น้ำ เครื่องมือ ภาชนะบรรจุ เช่น ใบตอง จากการศึกษาวิจัยของ สุพรรณิการ (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 ถ้าการล้างข้าวไม่สะอาดหรือใช้น้ำที่มีสารแขวนลอยอยู่มากจะทำให้ขนมจีนที่ได้มีสีคล้ำ 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 จึงเกิดการสร้างกรดได้มากด้วย โดยข้าวที่บดจะแตกเป็นผงละลายมากับน้ำ ผ่านผ้าขาวสำหรับกรองให้ไหลลงตุ่ม ซึ่งในขั้นตอนนี้อาจเติมเกลือประมาณ 4 ส่วน สำหรับป้องกันการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

4. การนอนแป้ง

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

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 ไม่ควรใช้อุณหภูมิสูงมาก จะทำให้เส้นขนมจีนนิ่มและสุกเกินไป ถ้าใช้อุณหภูมิต่ำเกินไปจะใช้เวลานานในการทำให้เส้นขนมจีนสุก ซึ่งในระดับครัวเรือนจะใช้แว่นหรือเฝื่อนแว่นจะมีลักษณะเป็นแผ่นโลหะทรงกลมที่มีรูขนาดเล็กจำนวนมาก แว่นนี้จะถูกเย็บติดแน่นกับถุงผ้าที่ใช้สำหรับใส่ก้อนแป้งเหลว หลังจากนั้น รวบปลายผ้าเข้าหากัน และบีบดันแป้งให้ไหลผ่านรูลงหม้อต้มเฝื่อน มีลักษณะเป็นหม้อทรงกลมขนาดเล็ก 2 อัน อันแรกด้านล่างมีรูขนาดเล็กจำนวนมาก ด้านบนมีหูล็อกติดสองข้างสำหรับจับ อันทีสองมีลักษณะเหมือนกันแต่เล็กกว่า และสามารถวางสวมอันแรกได้ ซึ่งจะใช้สำหรับดันก้อนแป้งให้ไหลผ่านรูของอันแรกลงหม้อต้ม ส่วนระดับโรงงานมักใช้ปั๊มแรงดันต่อท่อดันก้อนแป้งเหลวผ่านตะแกรงที่มีรูขนาดเล็กลักษณะคล้ายแว่นลงหม้อต้ม ซึ่งจะประหยัดแรงงาน และได้เส้นขนมจีนที่รวดเร็วกว่า เมื่อบีบเส้นลงหม้อต้มแล้ว ให้พยายามรักษาความร้อนให้คงที่ และรอจนกว่าเส้นขนมจีนจะลอยตัวจึงใช้ตะแกรงหรือกระชุตักขึ้นมา ระยะเวลาที่เส้นขนมจีนลอยอยู่ในน้ำประมาณ 60 วินาที ถ้าใช้เวลามากขนมจีนจะดูดน้ำมากทำให้ได้เส้นค่อนข้างนิ่มและขาดง่าย แต่ถ้าใช้เวลาน้อยเกินไป ทำให้เส้นขนมจีนค่อนข้างขุ่น (ศันสนีย์, 2543)

10. การทำให้เย็น และจัดเรียงเส้น

เป็นขั้นตอนสุดท้ายในการทำขนมจีน ภายหลังจากต้มเส้นให้สุกลอยขึ้นด้านบนหม้อแล้ว ต่อมาจะใช้ตะแกรงหรือกระชุตักเส้นขนมจีนขึ้นมา แล้วจุ่มลงน้ำเย็นทันที เพื่อให้แอมิโลสเกิดการจับตัวและเรียงตัวกันอย่างหนาแน่นด้วยพันธะไฮโดรเจน เกิดเป็นเจล และมีสีขาวขุ่น รอจนเส้นเย็นพร้อมสามารถใช้มือจับได้ เมื่อเส้นเย็นให้ใช้มือข้างที่ถนัดจับเส้นขึ้นมาพันรอบฝ่ามืออีกข้างที่วางในแนวตั้ง จนกระทั่งหมดความยาวเส้น พร้อมวางใส่ภาชนะบรรจุหรือตะแกรงที่มีช่องให้น้ำไหลผ่านได้ และเป็นภาชนะที่พร้อมส่งจำหน่ายได้ทันทีหรืออาจวางเรียงให้แห้งก่อนค่อยจัดเรียงในภาชนะจำหน่าย ทั้งนี้ พยายามเรียงเส้นให้เป็นแนวสม่ำเสมอ กรรมวิธีการผลิตขนมจีนแป้งหมัก แสดงในภาพที่ 2.1

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 น้ำประปาหรือน้ำฝนและล้างเมล็ดข้าวให้สะอาดทุกครั้ง 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 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า มีทั้งรูปร่างทรงกลม ท่อนสั้น หรือเป็นท่อนยาว ส่วนใหญ่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเล็กน้อย 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

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

ที่มา : Schlegel (1993)

C6H12O6  CH3.CO.COOH

Glucose Pyruvic acid

CH3.CO.COOH + NADH2 CH3.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 ดังนั้นจึงเกิดกระบวนการหมักผ่านวิถีฟอสโฟกลูโคเนท (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**  *Leuconostoc mesenteroides*  subsp.  *mesenteroides*  *Leuconostoc mesenteroides* subsp.  dextranicum  *Leuconostoc mesenteroides* subsp.  *cremoris*  *Leuconostoc lactis* | **Lactobacilli**  *Lactobacillus bifermentans*  *Lactobacillus brevis*  *Lactobacillus fermentum*  *Lactobacillus kandleri*  *Lactobacillus viredescens* |

ที่มา: Schlegel (1993)

C6H12O6 CH3-CHOH-COOH + CH3-CH2OH + CO2 or CH3-COOH

Glucose Lactic acid Acetic acid Ethanol

ภาพที่ 2.3 สมการจากการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ

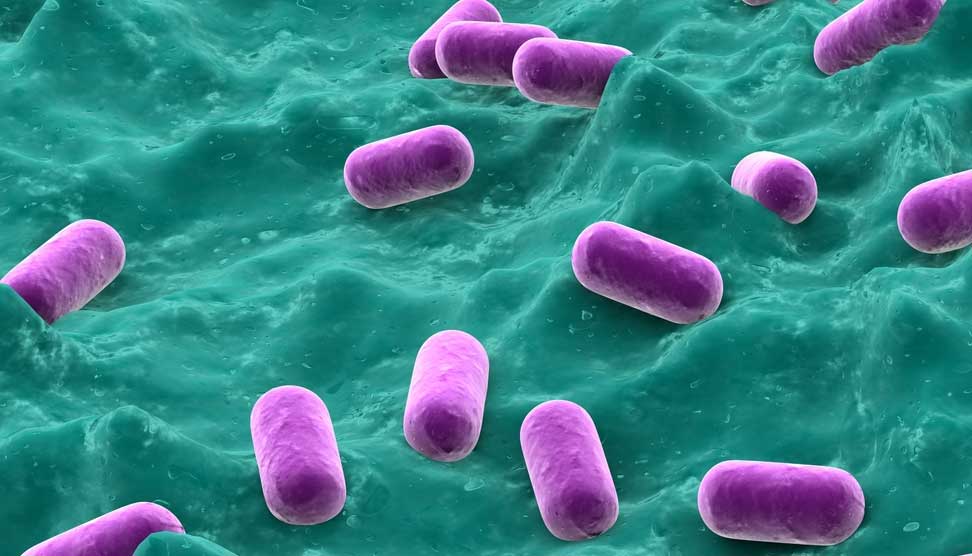
แบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติก

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 นอกจากนี้ยังผลิตสารต่อต้านจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียลบ ซี่งเป็นสารในกลุ่มของเปบไตด์และเอกโซโพลีแซคคาไรด์ สามารถรักษาระดับความเป็นกรด-ด่างระหว่างภายในเซล์และนอกเซลล์เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีปริมาณกรดแลคติกและกรดอะซีติกอยู่สูง รวมทั้งสามารถย่อยสลายแป้งมันสำปะหลังได้ จึงมักพบว่ามีการนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อในอาหารหมักพื้นบ้าน

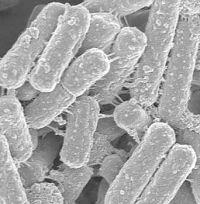


ภาพที่ 2.4 *Lactobacillus plantarum* ภายใต้กล้องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

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 ทนต่อสิ่งแวดล้อมที่มี 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)

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 ผลิตกรดแลคติก ชนิด 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 คาร์บอนไดออกไซค์ 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)

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* Typhinuriumได้เป็นอย่างดี ในอาหารหมักส่วนใหญ่ทั้งกรดแลคติกและกรดอะซิติกที่ผลิตจากแบคทีเรียกรดแลคติกมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ลดลง ในผลิตภัณฑ์เนื้อ กรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่พบว่าเป็นกรดแลคติกและมีกรดอะซิติกเพียงเล็กน้อย

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 ทริบซิน 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, CO2) 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 106 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 ปัจจุบันในโลกของจุลินทรีย์โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอาหารได้รับการสนใจและพัฒนามากขึ้นแบคทีเรียกรดแลคติกได้ถูกนำมาใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตอาหารหมักหลายชนิด 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)

**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 ชั่วโมง ของการหมักด้วย 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 109-1010 โคโลนีต่อมิลลิลิตร และให้คุณภาพแป้งหมักและขนมจีนไม่มีความแตกต่างกัน (p<0.05) คุณภาพ แป้งหมักที่ได้ที่ระยะเวลาการหมัก 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 มีกำลังพองตัว และความสามารถในการละลายเท่ากับ 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) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติบางประการของข้าวอ่อนสายพันธุ์ ขาวดอกมะลิ 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 จากการศึกษาพบว่าสามารถจำแนกเชื้อจุลินทรีย์จากจังหวัดอุตรดิตถ์ ได้ 47 ไอโซเลท จังหวัดแพร่ได้ 81 ไอโซเลท และจังหวัดพะเยาได้ 38 ไอโซเลท นำจุลินทรีย์ที่ได้แต่ละไอโซเลทไปทำการทดสอบกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก 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 ในการหมักข้าวด้วยจุลินทรีย์ตามธรรมชาตินั้นการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของ**การหมัก**จะต้องเจริญได้ดีมีอัตราการเจริญสูงกว่าการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสีย 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