รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2558

การศึกษาคุณสมบัติทางเคมี จุลินทรีย์ และคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหวานต้นจาก

Physicochemical Microbiological Characteristics and Nutritional Values of Nipa Palm (*Nypa fruticans*) Sap

ดร. ธณิกานต์ ธรสินธุ์

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ธันวาคม 2559

รหัสโครงการ... 2558A17163001 ...

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2558

การศึกษาคุณสมบัติทางเคมี จุลินทรีย์ และคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหวานต้นจาก

ดร. ธณิกานต์ ธรสินธุ์
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

สนับสนุนโดย สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัย
ในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ
สำนักงานการอุดมศึกษา

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เกิดขึ้นได้โดยการได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานการอุดมศึกษา ประจำปี 2558 ซึ่งงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ต้องขอขอบคุณ เกษตรกรผู้ผลิตน้ำหวานต้นจา ก ทุกท่าน ที่ให้ข้อมูลความรู้จากประสบการณ์จริง และช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง และสถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่รับวิเคราะห์ตัวอย่างสำหรับใช้ในงานวิจัย นางสาวปิยพร สิงขรัตน์ ผู้ช่วยนักวิจัย และ นายธีระพงค์ หมวดศรี นักวิทยาศาสตร์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่ร่วมแรงทำงานวิจัยชิ้นนี้จนสำเร็จ ขอขอบคุณไว้ ณ โอกาสนี้ รวมทั้งกำลังใจอันสำคัญจากครอบครัว ที่คอยให้กำลังใจในการทำวิจัยครั้งนี้โดยตลอด หากรายงานวิจัยฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใด ทางผู้วิจัยยินดีน้อมรับ เพื่อนำไปปรับปรุงแก้ไขต่อไป

นางสาวธณิกานต์ ธรสินธุ์

23 ธันวาคม 2559

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยเรื่องนี้ต้องการ ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีด้านต่าง ๆ ปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ และทดสอบคุณสมบัติอื่น ๆ ที่น่าจะมีในน้ำหวานต้นจาก 10 ตัวอย่าง งานวิจัยเรื่องนี้ต้องการเก็บรวบรวมตัวอย่างน้ำหวานต้นจากสดจากแหล่งเพาะปลูกต้นจากในจังหวัดนครศรีธรรมราช ได้แก่ ตำบลขนาบนาก อำเภอปากพนัง และตำบลเสือหึง อำเภอเชียรใหญ่ ซึ่งแบ่งเป็นพื้นที่เพาะปลูกตามสภาพแวดล้อมในพื้นที่ ต่าง ๆ ได้แก่ พื้นที่น้ำเค็มจัด พื้นที่น้ำกร่อย พื้นที่นากุ้งร้าง พื้นที่ที่เคยเป็นน้ำเค็มมาก่อน และพื้นที่น้ำจืด จากผลการทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยความเป็นกรด- ด่างของน้ำหวานต้นจากสดอยู่ระหว่าง 4.3-6.9 และค่าเฉลี่ยปริมาณของแข็งทั้งหมดอยู่ระหว่าง 13.6-22.5 บริกซ์ พบว่าน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ ต.ขนากนาก มีระดับความเป็นกรดและระดับปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงกว่าพื้นที่ ต .เสือหึง ส่วนปริมาณกรดทั้งหมดและปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งสองพื้นที่ต่ำกว่า 0.05 เปอร์เซ็นต์ จำนวนจุลินทรีย์มีปริมาณแตกต่างกันไปในแต่ละตัวอย่าง และบางตัวอย่างตรวจ พบเชื้อคอลิฟอร์มแบคทีเรียปนเปื้อน น้ำตาลที่พบในน้ำหวานต้นจากคือ น้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุ๊คโตส นอกจากนี้ยังตรวจพบปริมาณวิตามินซีในช่วง 6-14 มิลลิกรัม โซเดียม 66-121 มิลลิกรัม และโปแตสเซียม 116-188 มิลลิกรัม แต่ไม่พบวิตามินเอในทุกตัวอย่าง ส่วนฤทธิ์ของเคี่ย มในน้ำตาลจากสดสามารถยังยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้หลายชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Salmonella typhi* DMST 22842 และ *Listeria monocytogenes* DMST 17303 ยกเว้นเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780 และเมื่อใช้น้ำหวานต้นจากแทนน้ำตาล แดกในอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป พบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกได้ดี

คำสำคัญ: คุณสมบัติทางเคมี, คุณลักษณะของจุลินทรีย์, คุณค่าทางโภชนาการ, น้ำหวานต้นจาก

Abstract

Aim of this research was to study the physiochemical properties, the microbial contaminants, the chemical composition and other characteristics present in 10 Nipa palm sap samples. The Nipa palm sap samples were collected from different places of Nakhon Si Thammarat province (Khanapnak Sub-District and Suea Hueng Sub-District). Nipa palm tree grows in different environments such as: salt water, brackish water, abandoned shrimp pond and fresh water (from both Khanapnak and Suea Hueng Sub-Districts). The results showed that the acidity/alkalinity ratio of Nipa palm samples was ranged between 4.3 and 6.9, and the average of total solids was included between 13.6 and 22.5 Brix. Interestingly, the Nipa palm sap collected from Khanapnak Sub-District showed both higher acidity and total solids when compared with the respective samples from Suea Hueng Sub-District. Despite of that, the total acidity and alcohol content of samples from both area were below the 0.05 percent. With regard to the microbiological characteristics, a number of different bacteria were noticed in each sample. Furthermore, some samples showed coliform bacteria. Sucrose, glucose and fructose were found in all Nipa palm sap samples. Furthermore, **a**mounts of vitamin C, sodium and potassium ranged respectively between 6-14 mg, 66-121 mg and 116-188 mg were found in all samples; however, vitamin A could not be detected in any samples. In addition, we observed that Kiam wood in Nipa plam sap can inhibit several pathogens such as: *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Salmonella typhi* DMST 22842 and *Listeria monocytogenes* DMST 17303**,** except *Escherichia coli* TISTR 780. Moreover, our findings highlighted the capability of Nipa palm sap and Nipa palm powder to stimulate the growth rate of Lactic acid bacteria.

Keyword: Physicochemical properties, Microbiological characteristics, Nutritional values, Nipa palm sap

สารบัญเรื่อง

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญตารางภาคผนวก ข	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	10
วิธีดำเนินการวิจัย	11
ผลการวิจัยและอภิปราย	22
สรุปผลการทดลอง	45
ผลผลิตที่เกิดขึ้นช่วงที่ได้รับทุน	47
รายงานการเงิน	48
บรรณานุกรม	49
ภาคผนวก	53
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ	54
ภาคผนวก ข ข้อมูลผลการทดลอง	58
ประวัตินักวิจัย	69

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ข้อมูลของเกษตรกรผู้ผลิตน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ ต . ขนาบนาก อ .ปากพนัง และ ต. เสือหึง อ.เชียรใหญ่	24
2	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่	27
3	ผลการวิเคราะห์จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่	30
4	ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่	33
5	ผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินและเกลือแร่ ในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่	36
6	ผลการวิเคราะห์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค จากฤทธิ์ของเคี่ยม ในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่	38

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวก ข ที่		หน้า
1	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ความเป็นกรดด่าง และปริมาณของแข็งทั้งหมด) ของน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่	59
2	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ความชื้น และเถ้า) ของน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่	60
3	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ปริมาณกรดทั้งหมด และแอลกอฮอล์) ของน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่	61
4	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบโภชนาการ (ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ) ในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่	62
5	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบโภชนาการ (ปริมาณวิตามินและเกลือแร่) ในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่	63
6	ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสง ($OD_{660\ nm}$) ของเชื้อ *L. mersenteroides* TISTR 473 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	64
7	ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสง ($OD_{660\ nm}$) ของเชื้อ *L. acidophillus* TISTR 2365 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	65
8	ผลการวัดค่าระดับความเป็นกรด-ด่างของเชื้อ *L. mersenteroides* TISTR 473 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	66
9	ผลการวัดค่าระดับความเป็นกรด-ด่างของเชื้อ *L. acidophillus* TISTR 2365 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	67
10	การเจริญของเชื้อ *L. mersenteroides* TISTR 473 (cfu/ml) เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	68
11	การเจริญของเชื้อ *L. acidophillus* TISTR 2365 (cfu/ml) เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	68

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ภาชนะที่รองรับน้ำหวานต้นจากของเกษตรกรที่เกิดการปนเปื้อน	3
2	ต้นจากที่ขึ้นในพื้นที่ ตำบลขนาบนาก อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช	4
3	น้ำหวานต้นจากที่ไหลจากก้านช่อผล (inflorescence stalk) ดอกและลูกจาก	5
4	กระบวนการผลิตน้ำตาลจากบรรจุปี๊บของเกษตรกรในพื้นที่ ต. ขนาบนาก อ. ปากพนัง	6
5	แผนภาพน้ำหวานต้นจากที่เก็บจากพื้นที่ต่าง ๆ ใน ต.ขนาบนาก อำเภอปาก พนัง และ ต.เสือหึง อำเภอเชียรใหญ่	13
6	แผนภาพการตรวจสอบจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ น้ำหวานต้นจาก	19
7	เวทีเสวนาสู่การอนุรักษ์ป่าจากอย่างยั่งยืน เมื่อวันที่ 4 มีนาคม 2558	22
8	ภาชนะที่รองรับน้ำหวานต้นจากของเกษตรกรในพื้นที่ ต.ขนาบนาก อ.ปาก พนัง	23
9	ตัวอย่างลักษณะน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่าง ๆ ใน ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง	25
10	ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสง ($OD_{660\ nm}$) ของเชื้อ *L. mersenteroides* TISTR 473 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	40
11	ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสง ($OD_{660\ nm}$) ของเชื้อ *L. acidophillus* TISTR 2365 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	40
12	ผลการวัดค่าระดับความเป็นกรดด่างของเชื้อ *L. mersenteroides* TISTR 473 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	41
13	ผลการวัดค่าระดับความเป็นกรดด่างของเชื้อ *L. acidophillus* TISTR 2365 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	41
14	การเจริญของเชื้อ *L. mersenteroides* TISTR 473 (cfu/ml) เมื่อเลี้ยงใน อาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	42
15	การเจริญของเชื้อ *L. acidophillus* TISTR 2365 (cfu/ml) เมื่อเลี้ยงในอาหาร สูตร ต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	42

บทนำ

(Introduction)

<u>ความสำคัญและที่มาของปัญหา</u>

ต้นจาก (Nipa palm: *Nypa fruticans*) เป็นพืชตระกูลปาล์มที่ปลูกกันมากในแถบเอเชีย เช่น อินเดีย มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ สิงค์โปร์ และไทย และบางพื้นที่ของออสเตรเลีย (Queensland) สำหรับประเทศไทยสามารถพบต้นจาก ได้ตามชายฝั่งทะเลที่มีน้ำกร่อย ปากแม่น้ำ ปากอ่าว หรือที่ลุ่มที่มีน้ำกร่อยทั่วไป เช่น จังหวัดสมุทรสาคร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ระนอง กระบี่ ตรัง และสตูล ประเทศไทยมีการนำส่วนต่าง ๆ ของต้นจากมาใช้ประโยชน์อย่างหลากหลาย เช่น ใบจากใช้มุงหลังคาห่อขนมจาก และมวน บุหรี่ ผลลูกจากใช้ทำขนมหวาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำหวานต้นจาก (Nipa palm sap) ซึ่งเป็นผลผลิตของต้นจากที่มนุษย์นำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน และมีมูลค่าทางเศรษฐกิจสูงต่อชุมชน น้ำหวานต้นจากสามารถบริโภคได้ทันทีเป็นน้ำตาลสด หรือผ่านกระบวนการให้ความร้อนจนกลายเป็นน้ำเชื่อมและน้ำตาลปี๊บ และผ่านกระบวนการหมักเป็นน้ำส้มสายชูและแอลกอฮอล์หรือสุรากลั่น มีรายงานว่าน้ำหวานจากพืชตระกูลปาล์มมีคุณค่าและสารอาหารที่สูงกว่าน้ำหวานจากอ้อย นอกจากนั้นน้ำหวานจากพืชตระกูลปาล์มยังมีรายงานเกี่ยวกับสรรพคุณที่มีประโยชน์ทางยาอีกด้วย เนื่องจากน้ำหวานจากปาล์มมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง ทั้งยังอุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุต่าง ๆ หลายชนิด ในน้ำตาลสดจะมีการเติมสารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น ไม้เคี่ยม หรือไม้พะยอม เพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้น้ำหวานเกิดการเสื่อมเสีย แต่ก็ยังมีเชื้อจุลินทรีย์บางสายพันธุ์ที่ปนเปื้อนในน้ำตาลสดตามธรรมชาติ เช่น เชื้อยีสต์และแบคทีเรีย

อย่างไรก็ตามแม้ในประเทศไทยจะมีการแปรรูปน้ำหวานต้นจากในรูปแบบต่าง ๆ เช่น น้ำตาลสด น้ำเชื่อม น้ำตาลปี๊บ น้ำส้มสายชู และสุรากลั่นอย่างแพร่หลายตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน แต่ส่วนใหญ่จะเป็นผลิตเพื่อบริโภคภายในครัวเรือนหรือส่งขายเฉพาะพื้นที่เท่านั้น ดังนั้นการใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบอื่น ๆ เพื่อการค้าเชิงพาณิชย์มีน้อย ประกอบกับจำนวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องโดยตรงเรื่องน้ำหวานต้นจาก โดยเฉพาะ เอกสารทางวิชาการในประเทศและต่างประเทศมีจำนวนจำกัด ทำให้ขาดความรู้พื้นฐานเรื่ององค์ประกอบทางเคมี คุณค่าทางโภชนาการ จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน และการศึกษาคุณสมบัติด้านอื่น ๆ ของน้ำหวานต้น

จาก ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาคุณสมบัติทางเคมีด้านต่าง ๆ อ งค์ประกอบของสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน และคุณสมบัติอื่น ๆ ที่น่าจะพบในน้ำหวานต้นจาก เช่น การยับยั้งเชื้อก่อโรค และการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติก เพื่อเป็นองค์ความรู้และแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มมูลค่าจากน้ำหว านต้นจาก และอาจเป็นแนวทางในการผลิตเชิงพาณิชย์ในอนาคตได้

<u>แนวความคิดที่นำมาใช้ในการทำวิจัย</u>

จากที่กล่าวมา ประเทศไทยยังขาดองค์ความรู้และข้อมูลพื้ นฐานของน้ำหวานต้นจากในด้านต่าง ๆ และเอกสารและข้อมูลวิจัยเรื่องน้ำหวานต้นจากมีน้อย ดังนั้น กรอบแนวความคิดและแนวทางกา รวิจัยเรื่อง นี้ต้องการศึกษาคุณสมบัติ พื้นฐานของน้ำหวานต้นจากในด้านต่าง ๆ ทั้งด้านเคมีพื้นฐาน เช่น ค่าความเป็น กรด-ด่าง ปริมาณของแข็งทั้งหมด ปริมาณความชื้น เถ้า ปริมาณกรด และปริมาณแอลกอฮอล์ เพื่อเป็นองค์ความรู้สำหรับน้ำหวานต้นจากในแต่ละพื้นที่ว่ามีองค์ประกอบท างเคมีแตกต่างกันอย่างไร เนื่องจากการสอบถามจากเกษตรพบว่า เกษตรกรผู้ผลิตน้ำหวานต้นจากสามารถผ ลิตน้ำตาลจากในพื้นที่น้ำเค็มได้ ปริมาณน้ำตาลจากเยอะกว่าในพื้นที่น้ำจืด นอกจากนี้เกษตรกรผู้ผลิตน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ตำบลเสือหึง อำเภอเชียรใหญ่ ต้องใช้น้ำหวานต้นจากสดใน การผลิตน้ำตาลจากเยอะกว่า เกษตรกรผู้ผลิตน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ตำบลขนาบนาก อำเภอปากพนัง และบางครั้งเกษตรกรต้องเติมน้ำตาลทรายในกระบวนการผลิตน้ำตาลจาก แต่ไม่มีข้อมูลหรืองานวิจัยที่ยืนยันคำบอกเล่าและประสบกา รณ์ของเกษตรกร

นอกจากนี้งานวิจัยครั้งนี้ต้องการศึกษาจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำหวานต้นจากสดในแต่ละพื้นที่ รวมทั้งสุขลักษณะของพื้นที่ผลิตน้ำหวานต้นจาก เนื่องจาก กระบวนการ ผลิตน้ำตาลจากเกษตรกรต้อง ใช้ภาชนะรองรับน้ำหวานต้นจากตั้งแต่ตอนเย็นจนถึงเช้าวันรุ่งขึ้น เพื่อรองรับน้ำหวานต้นจากตลอดทั้งคืน และภาชนะที่รองรับน้ำห วานทั้งที่เป็นกระบอกพลาสติกและกระบอกไม้ไผ่ไม่ได้มีการฆ่าเชื้อเพื่อกำจัดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนออกไป เกษตรกรจะลวกกระบอกก่อนนำกระบอกรองรับน้ำหวานไปแขวนรองรับน้ำหวาน ประกอบกับ ภาชนะที่รองรับน้ำหวานต้นจากเป็นภาชนะเปิด ทำให้เกิดการปนเปื้อนจากธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมภายนอก ได้แก่ สัตว์ชนิดต่าง ๆ เช่น มด และแมลง นอกจากนี้ธรรมชาติของน้ำหวานต้นจากมีองค์ประกอบของ

น้ำตาลในปริมาณสูง ทำให้เป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์และเกิดการปนเปื้อนของ จุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้ง่าย ตัวอย่างภาชนะที่รองรับน้ำหวานต้นจากดังแสดงในภาพที่ 1

ภาพที่ 1 ภาชนะที่รองรับน้ำหวานต้นจากของเกษตรกรที่เกิดการปนเปื้อน

นอกจากนี้ การเก็บตัวอย่างน้ำ หวานต้น จากต้องมีการเติมไม้เคี่ยมหรือไม้พะยอม เพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของน้ำหวานต้นจาก ดังนั้น ในน้ำหวานต้นจาก สด อาจ จะ มีฤทธิ์ของเคี่ยม อยู่ทำ ให้มี คุณสมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ชนิดต่าง ๆ ได้ นอกจากนี้ในต่างประเทศมีการรายงานว่าน้ำตาลจากพืชตระกูลปาล์มมีคุณค่าทางอาหารที่มากกว่าน้ำตาลอ้อย ดังนั้น การทดลองครั้งนี้จึงมุ่งเน้น ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการที่เป็ น องค์ประกอบหลักของน้ำหวานต้นจาก ในด้านต่าง ๆ โดยเฉพาะ น้ำตาลหลัก ในน้ำหวานต้น จาก ได้แก่ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลฟรุ๊คโต ส รวมทั้งวิตามินและแร่ธาตุชนิดต่าง ๆ ในน้ำหวานต้นจาก ซึ่งองค์ประกอบต่าง ๆ เหล่านี้ในน้ำหวานต้นจาก น่าจะมีส่วนส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลกติกได้ เนื่องจากแบคที เรียกรดแลกติกและยีตส์มีรายงานว่าเป็นจุลินทรีย์หลักที่พบในน้ำหวานจากต้นปาล์ม ผู้วิจัยจึงต้อง การทดสอบน้ำ หวานต้น จากสด และน้ำตาลจากผง สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและวิตามิน ในการส่งเสริมการเจริญเ ติบโตของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกเปรียบเทียบกับอาหาร MRS broth สูตรปกติ ได้หรือไม่

การตรวจเอกสาร

ต้นจากเป็นพืชเขตร้อน (Tropical plant) และเป็นพืชตระกูลปาล์มชนิดเดียวที่พบในเขตป่าโกงกาง (Dharmapalan *et al*., 2012) ซึ่งเป็นพืชที่สามารถเจริญปรับตัวได้ดีในป่าโกงกาง

บริเวณชายฝั่งสามารถเจริญเติบโตที่อุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 20 องศาเซลเซียส และสูงสุด 32 – 35 องศาเซลเซียส ต้องการอากาศชื้นที่มีฝนตกมากกว่า 100 มิลลิลิตร ต่อเดือนตลอดทั้งปี เป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ดีในน้ำกร่อยที่มีความเข้มข้นของเกลือ 1- 9 กรัมต่อมิลลิลิตร ในสภาวะที่มีเกลือปานกลาง เจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีความแตกต่างของเกลือจากบริเวณน้ำเค็มจนถึงพื้นที่ชายฝั่งและต้องการพีเอชประมาณ 5 (Theerawitaya *et al*., 2014; Hossain and Islam, 2015)

ต้นจากเป็นพืชตระกูลปาล์มที่ปลูกกันมากในแถบเอเชียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Tsuji *et al*., 2011) เช่น อินเดีย มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ สิงค์โปร์ (Teo *et al*., 2010) ไทย และบางส่วนของควีนแลนด์ประเทศออสเตรเลีย (Tamunaidu and Saka, 2011) สำหรับประเทศไทยสามารถพบต้นจากได้ตามชายฝั่งทะเลที่มีน้ำกร่อย ปากแม่น้ำ ปากอ่าว หรือที่ลุ่มที่มีน้ำกร่อยทั่วไป เช่น จังหวัดสมุทรสาคร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ระนอง กระบี่ ตรัง และสตูล เป็นต้น (นพรัตน์, 2551) พื้นที่จากในจังหวัดนครศรีธรรมราช โดยเฉพาะบริเวณลุ่มน้ำปากพนัง เป็นพื้นที่ที่เหมาะสมสำหรับต้นจากในการปรับตัวเข้ากับสภาพนิเวศบริเวณนี้ เนื่องจากสภาพพื้นที่หลากหลายทั้งน้ำเค็มและน้ำกร่อย ต้นจากที่ขึ้นในพื้นที่ ตำบลขนาบนาก อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราชดังแสดงในภาพที่ 2

<u>ภาพที่ 2</u> ต้นจากที่ขึ้นในพื้นที่ ตำบลขนาบนาก อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช

มนุษย์นำต้นจากมาใช้ประโยชน์หลายวัตถุประสงค์ เช่น ใบ (leaflet) และ ก้านใบ (mid rip) ใช้ทำไม้กวาด, ตะกร้า, เสื้อกันฝน, เชือก, หลังคา (root thatching), ฉากกั้นบ้าน (wall partitioning), หมวกกันแดด (sun hat), ที่นอน, เสื่อหรือสาด (mats), ใบจากใช้ในการทำมวนบุหรี่ (Tsuji *et al*., 2011) และชา ก้าน, กิ่ง และผลสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงผลอ่อนสามารถใช้เป็นอาหารได้, ผล (Fruit) ใช้เป็นเหยื่อล่อในการจับปลา , อุปกรณ์จับปลาเพื่อช่วยให้แหลอย

(Dharmapalan *et al*., 2012) นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณทางยา เช่น ยอดอ่อนหรือหน่อ (shoot) ถูกใช้เป็นสารกำจัดพยาธิ (vermicide), น้ำหวานจากยอดอ่อน (Juice from young shoots) ใช้ต่อต้านโรคเริม (herpes) (Tsuji *et al*., 2011), น้ำหวาน (Sap) ถูกใช้เพื่อผลิตน้ำหวาน, น้ำตาลจาก, กากน้ำตาล (molasses), น้ำส้มสายชู และ เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ใช้ในการผลิตเอทานอล (bio - ethanol), เปลือกแข็งหรือกะลา (hard shell) เรียกว่า mesocarp ใช้ในการทำกระดุม, สร้อยคอ ในประเทศไนจีเรีย (Hossain and Islam, 2015) นอกจากนี้ต้นจากยังช่วย ป้องกันการกัดเซาะของหน้าดินริมชายฝั่งอีกด้วย (Ebana *et al*., 2015)

น้ำหวานต้นจาก

น้ำหวานต้นจาก (Nypa palm sap) เป็นน้ำหวานที่ได้จากการเคาะก้าน (tapping) และตัดก้านของก้านช่อดอกและก้านช่อผล (inflorescence stalk) ซึ่งเป็นท่ออาหารที่ส่งไปเลี้ยงดอกและลูกจาก การตัดหรือปาดก้านจากทำให้น้ำหวานไหลออกมาจากก้าน และการเคาะก้านทำให้ปริมาณน้ำหวานออกมามากขึ้น (Tsuji *et al*., 2011) ดังแสดงใน ภาพที่ 3 แต่ผลผลิตของน้ำหวานต้นจากมีความผันแปรขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และระบบการจัดการ

ภาพที่ 3 น้ำหวานต้นจากที่ไหลจากก้านช่อผล (Inflorescence stalk) ดอกและลูกจาก

การผลิตน้ำตาลจากของเกษตรกรในพื้นที่ ต. ขนาบนาก อ.ปากพนัง เริ่มจากเกษตรกรลวกกระบอกรองรับน้ำหวานด้วยน้ำหวานจากร้อน ตอนเย็นปาดก้านช่อผล ใส่เคี่ยม 2-3 เกล็ดในกระบอกและนำกระบอกไปแขวนรองรั บน้ำหวาน ตอนเช้าเก็บกระบอกน้ำหวาน กรองเอาเคี่ยมออก เทน้ำหวานลงกระทะ ต้มน้ำหวานต้นจากจนงวด ยกลงจากเตาและโซมน้ำตาล (ใช้ไม้ตีเพื่อให้เกิดฟองอากาศทำให้น้ำตาลงวด) และบรรจุลงปี๊บขั้นตอนการผลิตน้ำตาลจากดังแสดงในภาพที่ 4 มนุษย์นำน้ำหวานต้นจากมาใช้ประโยชน์ในหลากห ลายด้านเช่น การบริโภคและเพื่อ

จำหน่ายในท้องถิ่น ทำน้ำตาล จากผง , น้ำหวานต้นจากสด , น้ำส้มสายชู , การผลิตสุรา , กากน้ำตาล (molasses), น้ำส้มสายชู และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์นอกจากนี้ยังใช้ในการผลิตไบโอ-เอทานอล (bio - ethanol) (Tsuji *et al*., 2011; Hossain and Islam, 2015)

ภาพที่ 4 กระบวนการผลิตน้ำตาลจากบรรจุปี๊บของเกษตรกรในพื้นที่ ต. ขนาบนาก อ.ปากพนัง

องค์ประกอบในน้ำหวานต้นจาก

น้ำหวานต้นจาก สดจะมีความหวาน กลิ่นรสคล้ายผลไม้ (fruit-like odor) ไม่มีปริมาณแอลกอฮอล์และกรดอะซิติกสูง (Aimi *et al*., 2013) แต่ปริมาณความหวา นจะหายไป เมื่อเกิดกระบวนการหมักตามธรรมชาติ ซึ่ง เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ และกรดอะซิติกในเวลาต่อมา จากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติของน้ำตาล (Ogbonna *et al*., 2016) น้ำหวานจากต้นปาล์มจะมีปริมาณน้ำตาลสูง (10-20 เปอร์เซ็นต์) ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ช่วงเวลาที่เ ก็บเกี่ยว และกระบวนการเก็บเกี่ยว (Francisco-Ortega and Zona, 2013) น้ำตาลจากต้นปาล์ม ได้แก่ อิทผาลัม (*Phoenix sylvestris*) และ ตาลโตนด (*Borassus flabellifer*) มีรายงานว่ามีสารอาหารที่มีคุณค่ามากกว่าน้ำตาลจากอ้อย และน้ำตาลจากต้นปาล์มบางสายพันธุ์ถูกระบุว่ามีสร รพคุณทางยา เช่น ในมาดาร์กัสการ์ (Madagascar) พบว่าน้ำหวานจากต้นมะพร้าว (*Cocos nucifera*) มีคุณสมบัติในการต้าน โรคไตอักเสบ (nephritis) และ การติดเชื้อในกระเพาะปัสสาวะ (bladder infections) (Dalibard *et al*., 1999)

ปริมาณน้ำตาลในอิทผาลัมจะประกอบด้วยน้ำตาลเป็นส่ วนใหญ่โดยเฉพาะซูโครส นอกจากนี้ยังประกอบด้วยโปรตีน 2.7-5 เปอร์เซ็นต์ และเกลือแร่ 2.3-2.6 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงหน้าหนาวจะพบซูโครสประมาณ 18 เปอร์เซ็นต์ ในฤดูใบไม้ผลิจะมีน้ำตาลชนิดอื่นเพิ่มเติม เช่น กลูโครส (1.0-2.47 เปอร์เซ็นต์) และฟรุ๊คโตส (1.04-1.79 เปอร์เซ็นต์) (Ziadi *et al*., 2014) เนื่องจากน้ำหวานต้นจากเป็นแหล่งของน้ำตาลที่ดี และอุดมไปด้วย คาร์โบไฮเดรต เยื่อใย เกลือแร่ และวิตามิน (Prasad *et al*., 2013) จากการศึกษาของ Tamunaidu *et al* (2013) พบว่าน้ำหวานต้นจากจะมีน้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุ๊คโตสเป็นองค์ประกอบหลัก โดยจะมีน้ำตาลกลูโคสและฟรุ๊คโตสในปริมาณที่สูงกว่าน้ำหวานจากอ้อย น้ำหวานจากปาล์มซึ่งอุดมไปด้วยน้ำตาลจะเริ่มต้นกระบวนการหมักหลังจากกระบวนการเก็บน้ำหวาน เนื่องจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในสิ่งแวดล้อมและจุลินทรีย์ที่หลงเหลือจากภาชนะที่เก็บน้ำหวาน น้ำหวาน จากปาล์มน้ำมันสายพันธุ์ *Elaeis guineensis* จะมีน้ำตาลซูโครสระหว่าง 9.59-10.59 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักโดยปริมาตร) ในขณะที่จะมีน้ำตาลกลูโคส 1.0 และน้ำตาลฟรุ๊คโตส (0.13-0.73 เปอร์เซ็นต์) (Ehrmann *et al*., 2009)

การศึกษาของ Tamunaidu *et al* (2013) พบว่าในน้ำหวานต้นจากยังอุดมไปด้วยแร่ธาตุชนิดต่าง ๆ ได้แก่ โซเดียม (Na), โพแทสเซียม (K), คลอรีน (Cl), แมกนีเซียม (Mg) เป็นต้น นอกจากนี้จากการทดลองของ Ogbonna *et al* (2013) ยังพบว่าใน Palm wine ยังอุดมไปด้วยแร่ธาตุต่าง ๆ ได้แก่ แมกนีเซียม , แคลเซียม, เหล็ก และสังกะสี เป็นต้น รวมทั้งวิตามินเอและซีอีกด้วย สอดคล้องกับรายงานของ Chandrasekhar *et al* (2012) ซึ่งรายงานว่า Palm wine ประกอบด้วยวิตามินเอ ซี และเค ซึ่งช่วยในการบำรุงสายตา ในน้ำหวานพืชตระกูลปาล์ม (*Borassus flabellifer*) ยังประกอบด้วย แร่ธาตุชนิดต่าง ๆ เช่น ฟอสฟอรัส เหล็ก ทอ งแดง วิตามินซี และเป็นแหล่งที่ดีของวิตามินบีรวม (Dalibard, 1999)

<u>จุลินทรีย์ในน้ำหวานต้นจาก</u>

การทดลองของ Aimi *et al* (2013) รายงานว่าในน้ำหวานต้นจากสดจะไม่พบกรดอะซิติกในตัวอย่าง แต่จะพบกรดอะซิติกปริมาณต่ำในน้ำตาลเมา ซึ่งเป็นผลผลิตที่เกิดขึ้นจากอะซิติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Acetobacter* และกระบวนการหมักน้ำตาลเมาเกิดขึ้นจากยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces*, *Candida* และ *Kloeckera* และแบคทีเรียกรดแลกติก ส่วนการทดลองแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกจาก oil palm (*Elaeis guineensis*) wine ในประเทศกานาพบเชื้อ

แบคทีเรียกรดแลกติกสายพันธุ์ *Lactobacillus plantarum* และ *L. mesenteroides* ส่วนเชื้อยีสต์สายพันธุ์เด่นพบเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* เพียงสายพันธุ์เดียว นอกจากนี้แบคทีเรียกรดอะซิติกจะพบหลังจาก 3 วันของการหมักเมื่อมีปริมาณแอลกอฮอล์จากการหมักสูงขึ้น (Amoa-Awua *et al*., 2007)

นอกจากนี้การทดลองของ Manel *et al*. (2011) ซึ่งศึกษาจุลินทรีย์ในน้ำหวานจากอิทผาลัม (date palm sap) ที่เรียกว่า “Legmi” จากตอนใต้ของประเทศตูนีเซีย พบ แบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลกติกในปริมาณสูง 2 สายพันธุ์ ซึ่งสามารถจัดจำแนกเป็น *Leuconoctoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* และ *L. delbrueckii* subsp. *delbruckii* ซึ่งจุลินทรีย์ 2 กลุ่มนี้จะผลิตกรดได้รวดเร็วและระดับความเป็นกรดต่างลดต่ำลง หลังจาก 6 ชั่วโมงของกระบวนการหมัก สอดคล้องกับการทดลองของธณิกานต์ (2552) ซึ่งทำการทดลองแยกเชื้อแบคทีเรียและยีสต์จากน้ำตาลสด น้ำหวานต้นจาก น้ำอ้อย และน้ำตาลเมา เป็นต้น พบเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ส่วนใหญ่จัดอยู่ในสายพันธุ์ *Leuconoctoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Micrococcus luteus* และ *Kloeckera apis*

จุลินทรีย์หลากหลายชนิดที่พบในกระบวนการหมักปาล์มไวน์ขึ้นอยู่กับต้นปาล์มแต่ละต้น ความหลากหลายขององค์ประกอบของจุลินทรีย์อาจจะมาจากคุณภาพของวัตถุดิบหลัก เช่น สายพันธุ์, ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อม (อุณหภูมิ) และสภาวะการเก็บเกี่ยว (อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บเกี่ยว , สุขลักษณะส่วนบุคคล และความสะอาดของเครื่องมือ เครื่องใช้ (Manel *et al*., 2011) โดยทั่วไปกระบวนการเคาะก้านปาล์มและการเก็บเกี่ยวน้ำหวาน จะมีอิทธิพลต่อจุลินทรีย์ที่มีในน้ำหวาน (Amoa-Awua *et al*. 2007; Manel *et al*., 2011) จุลินทรีย์ตามธรรมชาติที่พบในอิทผาลัมประกอบด้วยแบคทีเรียกรดแลกติก แบคทีเรียกรดอะซิติก และยีตส์ (Ziadi *et al*., 2014) การทดลองของ Ehrmann *et al*. (2009) ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากปาล์มไวน์ พบจุลินทรีย์แบคทีเรียกรดแลกติกสายพันธุ์ใหม่คือ *Leuconostoc palmae* sp. nov.

นอกจากนี้การสกัดสารจากใบ, เปลือกนอกของลูกจาก (husk) และเนื้อเยื่อ (tissue) ของจากมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ บางชนิดได้แก่ *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* และ *Pseudomonas aeruginosa* นอกจากนี้สารสกัดที่ได้มีคุณสมบัติเป็น phytochemical และส่วนใหญ่เป็นสารประกอบพวกอัลคาลอยด์ (alkaloids) และ โพลีฟนอล (polyphenol) (Ebana *et al*., 2015)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

โครงการวิจัยครั้งนี้เป็นเพียงจุดเริ่มต้นในการศึกษาคุณสมบัติทางเคมี จุลชีววิทยา และคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหวานต้นจาก เนื่องจากในปัจจุบันข้อมูลพื้นฐานของน้ำหวานต้นจากที่เผยแพร่ในเอกสารวิชาการในประเทศไทยมีค่อนข้างจำกัด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	หน่วยงานที่ใช้ประโยชน์จากผลการวิจัย
1. ด้านวิชาการ: ทราบองค์ความรู้พื้นฐานของน้ำหวานต้นจากด้านต่าง ๆ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการเรียนรู้แก่เกษตรกร, นักเรียน นักศึกษา และนักวิจัยสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงวิชาการสำหรับการเรียนการสอนและการวิจัยด้านต่าง ๆ รวมทั้งผู้วิจัยสามารถนำไปใช้ในการขอตำแหน่งทางวิชาการต่อไปในอนาคต	เกษตรกรผู้ผลิตและใช้ประโยชน์น้ำหวานต้นจาก, นักเรียน , นักศึกษา , นักวิจัยในสถาบันต่าง ๆ
2. ด้านนโยบาย: ทราบเอกลักษณ์และองค์ประกอบพื้นฐานของน้ำหวานต้นจาก สามารถนำไปใช้ปรับปรุงผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพและปลอดภัยในการบริโภค	เกษตรกรผู้ผลิตและใช้ประโยชน์น้ำหวานต้นจาก
3. ผลทางเศรษฐกิจ: เกษตรกรนำข้อมูลพื้นฐานไปใช้และสามารถพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ ๆ ในภาคธุรกิจซึ่งจะเกิดประโยชน์ทางเศรษฐกิจในอนาคต	เกษตรกรผู้ผลิตและใช้ประโยชน์น้ำหวาน ต้นจาก และผู้ผลิตภาคเอกชน

ขอบเขตของโครงการวิจัย

ขอบเขตการดำเนินการวิจัยเริ่มต้นจากการสุ่มเก็บรวบรวมตัวอย่างน้ำหวานต้นจากในแหล่งเพาะปลูกจากพื้นที่ต่าง ๆ ในจังหวัดนครศรีธรรมราช โดยพื้นที่เป้าหมายคือ น้ำหวานต้นจากในพื้นที่ตำบลขนาบนาก อำเภอปากพนัง และตำบลเสือหึง อ.เชียรใหญ่ จ.นครศรีธรรมราช โดยแบ่งกลุ่มเก็บตัวอย่างเป็นพื้นที่ต่ำกว่าระดับน้ำทะเลน้ำท่วมถึง และพื้นที่สูงน้ำท่วมไม่ถึง ซึ่งจะเก็บตัวอย่างอย่างน้อย 10 ตัวอย่าง จากพื้นที่น้ำเค็มจัด พื้นที่น้ำกร่อย พื้นที่นากุ้งร้าง พื้นที่ที่เคยเป็นน้ำเค็มมาก่อน และพื้นที่น้ำจืด

โดยจะการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี พื้นฐานด้านต่าง ๆ หลังจากนั้นจะวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ น้ำตาล วิตามิน และแร่ธาตุหลักที่เป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้จะวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ที่พบปนเปื้อนอยู่ในน้ำหวานต้นจาก เช่น จุลินทรีย์ทั้งหมด , ยีสต์, คอลิฟอร์มแบคทีเรีย (Coliform bacteria) และแบคทีเรียกรดแลกติก (Lactic Acid Bacteria) หลังจากนั้นจะทดสอบคุณสมบัติอื่น ๆ ที่น่าจะมีในน้ำหวานต้นจาก ได้แก่การยับยั้งเชื้อก่อโรคชนิดต่าง ๆ และทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติก นอ กจากนี้ในขณะทำวิจัยหากมีบางด้านที่เป็นเรื่องที่น่าสนใจและเกิดประโยชน์ ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยครั้งนี้ ก็จะทำการศึกษาวิจัยเรื่องนั้นเพิ่มเติม เพื่อให้งานวิจัยครั้งนี้สมบูรณ์มากที่สุด

<u>วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย</u>

1) เพื่อศึกษาและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่าง ๆ ของน้ำหวานต้นจาก
2) เพื่อศึกษาและวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของน้ำหวานต้นจาก
3) เพื่อศึกษาจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่ปนเปื้อนในน้ำหวานต้นจาก
4) เพื่อศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อก่อโรคและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลกติกของน้ำหวานต้นจาก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

วิธีดำเนินการวิจัย

(Materials & Method)

1. วัสดุอุปกรณ์

1.1 วัตถุดิบ

น้ำหวานต้นจากสดในพื้นที่ต่าง ๆ จากตำบลขนาบนาก อำเภอปากพนัง และตำบลเสือหึง อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช

1.2 ชนิดของจุลินทรีย์

- *Escherichia coli* TISTR 780
- *Salmonella typhi* DMST 22842
- *Staphylococcus aureus* TISTR 1466
- *Listeria monocytogenes* DMST 17303
- *Lactobacillus acidophilus* TISTR 2365
- *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473

1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- Nutrient Broth (NB)
- Nutrient Agar (NA)
- Plate Count Agar (PCA)
- Sabouraud agar
- Violet Red Bile Lactose Agar (VRBA)
- MRS Broth

1.4 สารเคมี

- Cycloheximide
- Potassium hydrogen phthalate ($KC_8H_5O_4$)
- Sodium hydroxide (NaOH)

- Phenolphthalein
- Calcium Carbonate ($CaCO_3$)
- Bromocresol purple

1.5 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (Autoclave) ยี่ห้อ SPEEDY AUTOCLAVE รุ่น SX-300/500/700 จากประเทศญี่ปุ่น
- ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar Flow) ยี่ห้อ MAGNEHELIC รุ่น 0237
- เครื่องผสม (Vortex Mixer) รุ่น VTX-3000L
- ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ยี่ห้อ MEMMERT รุ่น Model 600
- เครื่องชั่ง (Balance) ยี่ห้อ METTLER รุ่น PL3002
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) ยี่ห้อ Russell รุ่น S20 Seven easy บริษัท METTLER TOLEDO
- เครื่องชั่ง (Balance) ยี่ห้อ METTLER รุ่น PL3002
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) ยี่ห้อ Russell รุ่น S20 Seven easy บริษัท METTLER TOLEDO
- เครื่องวัดค่าความขุ่น (Spectrophotometer) ยี่ห้อ Biochrom รุ่น Libra S12 บริษัท SCIENTIFIC PROMOTION ประเทศอังกฤษ
- ตู้เย็น (Refrigerator) ยี่ห้อ SANYO รุ่น MIR 553 บริษัท SANYO Electric Biomedical ประเทศอังกฤษ
- กล้องจุลทรรศน์ ยี่ห้อ Motic รุ่น BA300
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ Memmert รุ่น DIN40050-IP20
- เครื่องวิเคราะห์ปริมาณร้อยละน้ำตาล (Refractometer par-1) ยี่ห้อ ATAGOรุ่น PAL-1
- โถดูดความชื้น (Desiccator) ยี่ห้อ Duran ประเทศ Germany
- ภาชนะสำหรับอบตัวอย่าง (Moisture can)
- เตาเผา (Muffle furnace) ยี่ห้อ Carbolite รุ่น ELF11/6 S/N20-702113
- เตาไฟฟ้าให้ความร้อน (Hot plate stirrer) ยี่ห้อ Harmony รุ่น HTS-1003
- เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี (Gas Chromatography) ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Clarus 600
- ขวดใส่ตัวอย่าง (Vail)

- ชุดกรองตัวอย่าง

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างน้ำหวานต้นจาก

เก็บรวบรวมตัวอย่างน้ำหวานต้นจากสดจากแหล่งเพาะปลูกต้นจากในพื้นที่ต่าง ๆ ภายในจังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งแบ่งเป็นพื้นที่ต่าง ๆ ต ามลักษณะพื้นที่เพาะปลูกได้แก่ พื้นที่น้ำเค็มจัด (Salt water), พื้นที่น้ำกร่อย (Brackish water), พื้นที่นากุ้งร้าง (Abandoned shrimp pond), พื้นที่ที่เคยเป็นน้ำเค็มมาก่อน และปัจจุบันเป็นน้ำจืด จากพื้นที่ตำบลขนาบนาก อำเภอปากพนัง และพื้นที่น้ำจืด (Fresh water) จากตำบลเสือหึง อำ เภอเชียรใหญ่ จำนวนทั้งสิ้น 10 ตัวอย่าง ดังแผนภาพที่ 5 โดยเก็บตัวอย่างน้ำหวานต้นจากสด จากกระบอกที่รองเก็บน้ำหวานต้นจากตั้งแต่ตอนเช้า ถ่ายใส่ ในภาชนะปลอดเชื้อ ปิดฝาและเก็บรักษาในถังน้ำแข็ง (4 องศาเซลเซียส) ทันที หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาถึงห้ องปฏิบัติการโดยเร็วที่สุด กรองด้วยผ้าขาวบางและถ้าตัวอย่าง ยังไม่ได้ทำการทดลองโดยทันทีจะเก็บตัวอย่างไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส ก่อนจะดำเนินการทดลองในขั้นต่อไป

ภาพที่ 5 แผนภาพน้ำหวานต้นจากที่เก็บจากพื้นที่ต่าง ๆ ใน ต.ขนาบนาก อำเภอปากพนัง และ ต.เสือหึง อำเภอเชียรใหญ่

2. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี

การศึกษาองค์ประกอบ ทางเคมีต่าง ๆ ในน้ำหวานต้นจาก ทุกตัวอย่างมีการทำซ้ำอย่างน้อยตัวอย่างละ 2 ซ้ำ ดัดแปลงตามวิธีการของ AOAC (2000), Ogbonna *et al.* (2013) และ Ziadi *et al* (2014) โดยค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่ใช้วัด ได้แก่

2.1 การวัดค่าระดับความเป็นกรด-ด่าง

การวัดค่าระดับความเป็นกรด- ด่าง โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ความเป็นกรด -ด่าง (pH-Meter) ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น Seven Easy

2.1.1 เปิดสวิทซ์เครื่องวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง ON/OFF

2.1.2 ปรับเทียบตรวจสอบเครื่องโดยใช้ Buffer pH 7.00 และ 4.01 หลังจากนั้นล้างหัววัด (Electrode) ด้วยน้ำกลั่น ซับด้วยกระดาษทิชชูให้แห้ง

2.1.3 จุ่มหัววัดลงในตัวอย่าง กดปุ่ม Read เครื่องจะอ่านค่าไปเรื่อยๆ โดยจะแสดงการกระพริบของจุดระหว่างค่า pH เมื่อสังเกตเห็นจุดหยุดกระพริบ อ่านค่า pH ของตัวอย่าง

2.1.4เมื่อวัดตัวอย่างเสร็จล้างหัววัดให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นซับด้วยกระดาษทิชชูให้แห้งนำไปแช่ในสารละลาย KCl

2.1.5 กดปิดที่ปุ่ม ON/OFF

2.2 การวัดค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (soluble solid)

การวัดค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดใช้เครื่ องวิเคราะห์ปริมาณร้อยละน้ำตาล (Refractometer par-1) ยี่ห้อ ATAGO รุ่น PAL-1

2.2.1 กดปุ่มเปิดเครื่องวิเคราะห์ปริมาณร้อยละน้ำตาล

2.2.2 หยดน้ำกลั่นในช่องที่วิเคราะห์ตัวอย่าง กดปุ่ม Zero

2.2.3 ล้างในช่องที่วิเคราะห์ตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นและเช็ดให้แห้ง

2.2.4 หยดตัวอย่างลงไปในช่องที่วิเคราะห์ตัวอย่าง กดปุ่ม Start

2.2.5 อ่านผลการวิเคราะห์ จดบันทึก

2.2.6 เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองล้างในช่องวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นและเช็ดให้แห้ง

2.3 การวัดปริมาณความชื้น

2.3.1 อบภาชนะสำหรับอบตัวอย่าง ในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง จนได้น้ำหนัก กคงที่ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก (น้ำหนักที่แน่นอน)

2.3.2 ชั่งตัวอย่างประมาณ 2-3 กรัม (น้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ในภาชนะสำหรับอบตัวอย่าง

2.3.3 นำภาชนะสำหรับอบตัวอย่างที่มีตัวอย่าง ไปอบในตู้อบลมร้อนโดยเปิดฝาออกที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง

2.3.4 นำออกจากตู้อบลมร้อนปิดฝาทันทีใส่ในโถดูดความชื้น ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น (Desiccator) แล้วชั่งน้ำหนัก และอบใหม่จนได้น้ำหนักคงที่ (ผลต่างการชั่งน้ำหนักสองครั้งมีค่าไม่เกิน 2-3 มิลลิกรัม)

2.3.5 การคำนวณ

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ-น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

2.5 การวัดปริมาณเถ้า

2.5.1 นำภาชนะที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเถ้าโดยส่วนมากใช้ Crucible ใส่ในเตาเผา เผาที่อุณหภูมิ 550-600 องศาเซลเซียส ประมาณ 2-3 ชั่วโมง ปิดเตาเผาทิ้งให้อุณหภูมิในเตาเผาลดลงให้เหลือประมาณ 100 องศาเซลเซียส

2.5.2 นำภาชนะ Crucible ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก **(W)**

2.5.3 ชั่งตัวอย่างประมาณ 2-3 กรัม (น้ำหนักที่แน่นอน) ควรชั่งด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ใส่ในภาชนะ Crucible **(W_1)** นำไปเผาบนเตาไฟฟ้าให้ความร้อนจนหมดควัน

2.5.4 นำภาชนะ Crucible ที่มีตัวอย่างไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550-600 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาวประมาณ 3 ชั่วโมง

2.5.5 ปิดเตาเผาทิ้งให้อุณหภูมิในเตาเผาลดลงให้เหลือประมาณ 100 องศาเซลเซียส นำภาชนะ Crucible ที่มีตัวอย่างทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก **(W_2)**

2.5.6 ถ้าเถ้าที่ได้ยังไม่ขาวให้นำไปเผาต่ออีก 1 ชั่วโมง ปิดเตาเผาทิ้งให้อุณหภูมิในเตาเผาลดลงให้เหลือประมาณ 100 องศาเซลเซียส นำภาชนะ Crucible ที่มีตัวอย่างทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักอีกครั้ง

2.5.7 การคำนวณ

$$\text{ร้อยละปริมาณเถ้าทั้งหมด} = \frac{W_2 - W}{W_1 - W} \times 100$$

2.6 การวัดค่าปริมาณกรดทั้งหมด (total acidity) โดยการไตเตรต

การวัดค่าปริมาณกรดทั้งหมดใช้วิธีการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์กรดแลกติก

2.6.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล

2.6.2 ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น เทลงในขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตร ให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล

2.6.3 ชั่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต (potassium hydrogen Phathalate (KHP) 2.042 กรัม ละลายในน้ำกลั่น เทลงในขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐาน KHP ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล

2.6.4 ปิเปตสารละลายมาตรฐาน KHP ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล มา 25.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นามาไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่เตรียมไว้โดย ใช้ฟีนอลทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

2.6.5 การคำนวณหาค่า normality ของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

$$\text{ความเข้มข้นมาตรฐานของ NaOH (N1)} = \frac{N2 \times V2}{V1}$$

กำหนดให้ N1 = ความเข้มข้นมาตรฐานของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (N)

V1 = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรต

N2 = ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานของ KHP (N)

V2 = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน KHP ที่ใช้ในการไตเตรต

2.6.6 การวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

2.6.6.1 นำตัวอย่างน้ำหวานต้นจากตัวอย่างละ 5 มิลลิลิตร

2.6.6.2 หยดฟีนอลทาลีน 2 หยด จากนั้นไตเตรตด้วยสารละลาย

โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล

2.6.6.3 คำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

ร้อยละกรดแลคติก = $\frac{\text{M.V.กรดแลคติก x ปริมาตร NaOH ที่ใช้ x ความเข้มข้นของ NaOH x 100}}{\text{1,000 x ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้}}$

หมายเหตุ น้ำหนักโมเลกุลของกรดแลคติก ($C_3H_6O_3$) = 90.8

2.7 การวัดปริมาณแอลกอฮอล์

2.7.1 เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์และเปิดถังแก๊ส 3 ถังคือ Air Zero, Hydrogen และHelium

2.7.2 เปิดเครื่อง Gas Chromatography และระบบโปรแกรมควบคุมการทำงานของเครื่องรอจนเครื่องพร้อมใช้งานจึง load program ที่จะทำการวิเคราะห์

2.7.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทธานอลความเข้มข้นร้อยละ 0.1-1.0 โดยน้ำหนัก เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

2.7.4 เตรียมตัวอย่างที่จะวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละเอทานอล โดยกรองผ่านชุดกรองใส่ในขวดใส่ตัวอย่าง และปิดฝาให้สนิท

2.7.5 นำขวดใส่ตัวอย่างไปวางบนถาดป้อนตัวอย่างของเครื่อง Gas Chromatography นำตัวอย่างมาฉีดโดยเทียบกับ กราฟมาตรฐานที่วัดได้

2.7.6 คำนวณปริมาณเอทานอลจากสมการเส้นตรงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเอทานอลกับพื้นที่ใต้กราฟ

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ร้อยละปริมาณแอลกอฮอล์

- Carrier gas: Helium 10 ml/min,
- Hydrogen 45 ml/min,
- Air zero 450 ml/min
- Carrier flow rate: 1 ml/min
- Split flow: 120 ml/min

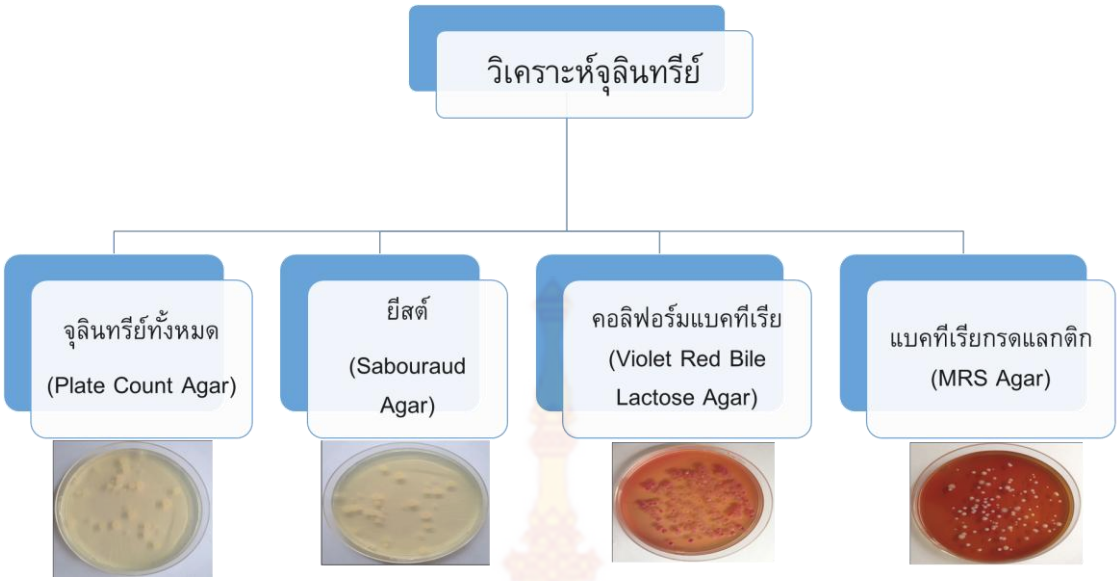
- Column: Wax 0.32 mm ID, 30 meter Length, Max Temp 250°C (Real setting 230 °C)
- Temperature: Inject 70°C, FID 230 °C
- Oven: 40°C : Hold 3 min : Rate10 °C/min,
- Oven: 50°C : Hold 3 min : Rate10 °C/min,
- Oven: 70°C : Hold 1 min :End.

3. การศึกษาจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่มีในน้ำหวานต้นจาก

ตัวอย่างน้ำหวานต้นจากสดจากแหล่งต่าง ๆ นำมาเจือจางใน peptone water 0.1 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วน (1:10) และทำการเจือจาง serial dilution ในอัตราส่วนต่าง ๆ หลังจากนั้นตรวจสอบจุลินทรีย์ในน้ำ หวานต้นจากโดยวิธีการ spread plate ตามวิธีการ ที่ดัดแปลงจาก Amoa-Awua *et al* (2007), Manel *et al* (2011) และ Ziadi *et al* (2014) ในอาหารชนิดต่าง ๆ ดังแสดงในภาพที่ 6 ได้แก่

- การตรวจสอบจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA)
- ตรวจสอบยีสต์ทั้งหมดใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud agar ที่มีการเติม Chloramphenical
- ตรวจสอบเชื้อคอลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Violet Red Bile Lactose Agar (VRBA)
- ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกทั้งหมด ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ De Man Rogasa and Sharpe Agar (MRS) ที่มีการเติม cycloheximide และ 0.004 เปอร์เซ็นต์ Bromocresol purple

หลังจากนั้นบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิที่เหมาะสมเป็นเวลา 2-5 วัน และตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนประมาณ 30-300 โคโลนี เพื่อรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตร (cfu/ml) ทุกตัวอย่างมีการทำซ้ำอย่างน้อยตัวอย่างละ 2 ซ้ำ



ภาพที่ 6 แผนภาพการตรวจสอบจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ น้ำหวานต้นจาก

4. การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการในน้ำหวานต้นจาก

ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหวานต้นจาก โดยค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่ใช้วัด ได้แก่ วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ได้แก่ sucrose, fructose และ glucose โดยวิธี HPLC ดัดแปลงจากวิธีการของ AOAC (2000), Tamunaidu *et al* (2013) และ Ziadi *et al* (2014) ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินชนิดต่าง ๆ ได้แก่ วิตามินเอ และซี ดัดแปลงตามวิธีการของ Ogbonna *et al.* (2013) และการวิเคราะห์ปริมาณเกลือแร่ (mineral-inorganic compound) ได้แก่ โซเดียม, และ โพแทสเซียม ใช้วิธี Atomic absorption spectrophotometric ตามวิธีการของ AOAC (2012) และ Tamunaidu *et al*. (2013) ทุกตัวอย่างมีการทำซ้ำอย่างน้อยตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

5. การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำหวานต้นจากที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรค

กระบอกที่เก็บน้ำหวานต้นจากจะมีการเติมเคี่ยม เพื่อป้องกันก ารเสื่อมเสียของน้ำหวานต้นจาก ที่รองรับน้ำหวานตลอดทั้งคืน ดังนั้นต้องการทดสอบว่าฤทธิ์ของเคี่ยมมีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคได้หรือไม่ การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำ หวานต้นจากที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ

ก่อโรคใช้วิธี Well diffusion method ดัดแปลงตามวิธีการ Krishnamoonrthy and Arjun (2012) และ Chandrasekhar *et al*. (2013)

5.1 การเตรียมตัวอย่างเชื้อก่อโรค

เชื้อก่อโรคชนิดต่าง ๆ ได้แก่ *Escherichia coli* TISTR 780, *Salmonella typhi* DMST 22842, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 และ *Listeria monocytogenes* DMST 17303 เลือกโคโลนีเดี่ยว ๆ ของเชื้อก่อโรคทั้ง 4 ชนิด อย่างละ 1 โคโลนี ถ่ายลงอาหารเหลว Nutrient Broth (NB) ปริมาตร 7 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 18-20 ชั่วโมง

5.2 การทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรค

นำเชื้อแต่ละชนิดจากข้อ 5.1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร หยดลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) และใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยม spread เชื้อให้กระจายทั่วอาหาร ทิ้งให้เชื้อจุลินทรีย์แห้ง ใช้ cork borer ฆ่าเชื้อ เจาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จานละ 4 หลุม ต่อ plate หลังจากนั้นดูดตัวอย่างน้ำหวานต้นจากปริมาตร 50, 80, 100, 120, 150, 180, 200 และ 240 ไมโครลิตร หยดลงในแต่ละหลุมตามหมายเลขที่ เขียนกำกับไว้ จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อให้สารถูกดูดซึมเข้าไปใน NA ก่อนนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง เมื่อบ่มเชื้อจนครบ 16-18 ชั่วโมง ตรวจสอบโซนใส (Clear Zone) ที่เกิดขึ้น ถ้าเกิดโซนใสรอบ ๆ หลุมที่เจาะ แสดงว่าฤทธิ์ของเคี่ยมในน้ำตาลจากสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดนั้นได้

6. การทดสอบความสามารถของน้ำหวานต้นจากในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติก

นำน้ำหวานต้นจากสดและน้ำตาลจากผงมาเป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียกรดแลกติก โดยใช้สูตรอาหาร DeMan Rogasa and Sharpe Agar (MRS) และใช้น้ำหวานต้นจากเป็นส่วนผสม แทนน้ำตาลเด็กซ์โตรสใน อัตราส่วนที่เท่ากัน ดัดแปลงเป็นสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเปรียบเทียบทั้งหมด 3 สูตร ได้แก่

สูตรที่ 1 - สูตรอาหาร MRS broth สูตรปกติ (normal)

สูตรที่ 2 – สูตรอาหาร MRS broth ที่ผสมน้ำหวานต้นจากสด 20 มิลลิลิตร (fresh)

สูตรที่ 3 – สูตรอาหาร MRS broth ที่ผสมน้ำตาลจากผง 20 กรัม (powder)

ดัดแปลงวิธีการของ ดาสณี และคณะ (2553) โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียก รดแลกติก 2 สายพันธุ์ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 2365 และ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473 ตรวจวัดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ทุก ๆ 4 ชั่วโมงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร และวัดความเป็นกรดด่างด้วย pH meter ส่วนจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกเก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมงเป็นเวลา 28 ชั่วโมง เพื่อวัดจำนวนแบคทีเรียที่เจริญเติบโตในอาหารสูตรต่าง ๆ โดยการ spread plate ในอาหาร MRS agar ทุกตัวอย่างมีการทำซ้ำอย่างน้อยตัวอย่างละ 2 ซ้ำ หลังจากนั้นบ่มจานเพาะเชื้อที่ อุณหภูมิที่เหมาะสมเป็นเวลา 2-5 วัน และตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนประมาณ 30-300 โคโลนี เพื่อรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตร (cfu/ml)

<u>สถานที่เก็บอย่าง/ทำการทดลอง</u>

สถานที่เก็บตัวอย่าง : ตำบลขนาบนาก อำเภอปากพนัง และตำบลเสือหึง อำเภอเชียรใหญ่ จังหวัดนครศรีธรรมราช

สถานที่ทำการทดลอง : สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มทร.ศรีวิชัย

ผลการวิจัยและอภิปราย

(Results & Discussion)

1. การเก็บตัวอย่างน้ำตาลจากแหล่งต่าง ๆ

คณะโครงการวิจัยชุดได้ออกสำรวจพื้นที่สำหรับการทำงานวิจัย โดยหัวหน้าโครงการวิจัยชุดได้ร่วมกับองค์การบริหารส่วนตำบลขนาบนาก อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช จัดเวทีเสวนาสู่การอนุรักษ์ป่าจากอย่างยั่งยืน เมื่อวันที่ 4 มีนาคม 2558 ดังแสดงในภาพที่ 7

ภาพที่ 7 เวทีเสวนาสู่การอนุรักษ์ป่าจากอย่างยั่งยืน เมื่อวันที่ 4 มีนาคม 2558

จากการเสวนาในครั้งนี้ผู้วิจัยได้พบปะพูดคุยกับนักวิชาการเกษตรและเกษตรกรผู้ผลิตน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ ทำให้ทราบถึงลักษณะพื้นที่ปลูกจากและสามารถแบ่งพื้นที่เพาะปลูกตามสภาพแวดล้อมของพื้นที่ได้แก่ พื้นที่น้ำเค็มจัด พื้นที่น้ำกร่อย พื้นที่นากุ้งร้าง พื้นที่ซึ่งเคยเป็นน้ำเค็มมาก่อนและปัจจุบันเป็นพื้นที่น้ำจืด และพื้นที่น้ำจืด ในพื้นที่ตำบลขนาบนาก อำเภอปากพนัง ส่วนที่ตำบลเสือหึง อำเภอเชียรใหญ่ มีพื้นที่ปลูกจากเฉพาะพื้นที่น้ำจืด

หลังจากนั้นผู้วิจัยดำเนินการเก็บตัวอย่างน้ำหวานต้นจากสดในพื้นที่ต่าง ๆ จำนวน 10 ตัวอย่าง จากตำบลขนาบนาก อำเภอปากพนัง และตำบลเสือหึง อำเภอเชียรใหญ่ ซึ่งขั้นตอนการ

เก็บน้ำหวานต้นจากมีดังนี้ หลังจากเกษตรกรปาดผิวท่อน้ำเลี้ยงช่อผลต้นจากในตอนเย็น จะลวกกระบอกสำหรับรองรับน้ำหวานและ ใส่เคี่ยม แล้วนำกระบอกรองรับน้ำหวานต้นจาก ไปแขวนไว้ที่ต้นจาก ดังแสดงในภาพที่ 8 ซึ่งน้ำหวานต้นจากจะหยด ลงในภาชนะที่รองรับ น้ำหวาน ตลอดทั้งคืน หลังจากนั้นในตอนเช้าตรู่ผู้วิจัยดำเนินการเก็บน้ำหวานต้นจากสด โดยเก็บตัวอย่างน้ำหวานต้ นจากสดจากภาชนะที่รองรับ ถ่ายใส่ภาชนะปลอดเชื้อและปิดฝา เก็บรักษาในถังน้ำแข็ง (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาถึงห้องปฏิบัติการโดยเร็วที่สุด ถ้าตัวอย่างไม่ได้ทำการทดลองโดยทันทีจะเก็บตัวอย่างไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส ก่อนจะดำเนินการทดลองในขั้นต่อไป

<u>ภาพที่ 8</u> ภาชนะที่รองรับน้ำหวานต้นจากของเกษตรกรในพื้นที่ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง

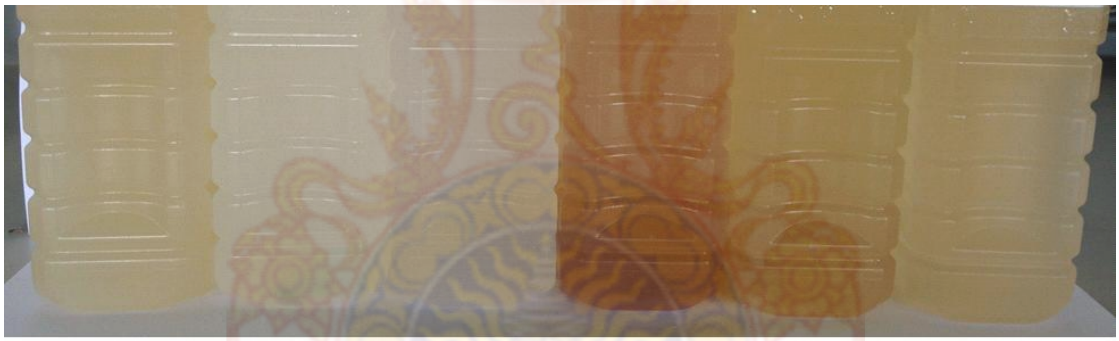
จากการเก็บตัวอย่างน้ำหวานต้นจากทั้งหมด 10 ตัวอย่าง จากพื้นที่ต่าง ๆ ต .ขนาบนาก อ .ปากพนัง และ ต .เสือหึง อ .เชียรใหญ่ ดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่าต้นจากของเกษตร กรผู้ผลิตน้ำหวานต้นจากส่วนใหญ่มีอายุมากกว่า 100 ปี และระยะเวลาการประกอบอาชีพตั้งแต่ 5-50 ปี อาชีพเกษตรกรผู้ผลิตน้ำหวานต้นจาก ส่วนใหญ่ ได้รับการสืบทอดอาชีพมาตั้งแต่บรรพบุรุษ และเกษตรกรจะถูกถ่ายทอดภูมิปัญญาการผลิตน้ำตาล จากรุ่นสู่รุ่น ร่วมทั้งการสั่งสมประสบการณ์ ในช่วงที่ประกอบอาชีพ ผลิตน้ำตาลจาก เป็นองค์ความรู้แ ละภูมิปัญญาเฉพาะบุคคล เช่น ปริมาณเคี่ยมที่ควรเติมในกระบอกรองรับน้ำตาล ระยะเวลาที่ควร เคาะก้าน (tapping) และตัดก้านของก้านช่อดอกและก้านช่อผลของต้นจาก เป็นต้น เกษตรกรส่วนใหญ่จะเก็บน้ำหวานต้นจากในตอนเช้าตั้งแต่ 7.00-12.00 น. เกษตรกร ในพื้นที่น้ำเค็ม จัด พื้นที่นากุ้ง และพื้นที่น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก อ .ปากพนัง ใช้น้ำหวานต้นจากจำนวน 6 ปี๊บ สามารถผลิตน้ำตาลจากได้ 1ปี๊บ

ตารางที่ 1 ข้อมูลของเกษตรกรผู้ผลิตน้ำหวานตันจากในพื้นที่ ต. ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต. เสือหึง อ.เชียรใหญ่

ตัวอย่างที่	ลักษณะพื้นที่เก็บตัวอย่าง	อำเภอ	อายุจาก	เวลาเก็บน้ำหวาน	จำนวนน้ำหวาน ต่อน้ำตาลจาก	เติมน้ำตาลทราย	เติมเคี่ยม	ระยะเวลาการประกอบอาชีพ
1	น้ำเค็มจัด	ปากพนัง	100+ ปี	12.00	6 ปี๊บ / 1 ปี๊บ	ไม่เติม	เติม	30 ปี
2	น้ำเค็มจัด	ปากพนัง	100+ ปี	10.00	6 ปี๊บ / 1 ปี๊บ	ไม่เติม	เติม	40 ปี
3	พื้นที่นากุ้ง	ปากพนัง	7-8 ปี	11.00	6 ปี๊บ / 1 ปี๊บ	ไม่เติม	เติม	5 ปี
4	พื้นที่น้ำกร่อย	ปากพนัง	100+ ปี	7.00	6 ปี๊บ / 1 ปี๊บ	ไม่เติม	เติม	15 ปี
5	พื้นที่น้ำกร่อย	ปากพนัง	100+ ปี	11.00	61/2 ปี๊บ / 1 ปี๊บ	ไม่เติม	เติม	50 ปี
6	พื้นที่เคยเป็นน้ำเค็มมาก่อน ปัจจุบันน้ำจืด	ปากพนัง	50 ปี	8.00	7 ปี๊บ / 1ปี๊บ	ไม่เติม	เติม	27 ปี
7	พื้นที่เคยเป็นน้ำเค็มมาก่อน ปัจจุบันน้ำจืด	ปากพนัง	100+ ปี	9.30	7 ปี๊บ / 1 ปี๊บ	ไม่เติม	เติม	10 ปี
8	น้ำจืด	เชียรใหญ่	100+ ปี	7.00	7 ปี๊บ / 1 ปี๊บ	เติม	เติม	6-7 ปี
9	น้ำจืด	เชียรใหญ่	100+ ปี	10.00	7 ปี๊บ / 1 ปี๊บ	1 ก.ก./1 กะทะ	เติม	10 ปี
10	น้ำจืด	เชียรใหญ่	100+ ปี	10.30	10 ปี๊บ /1 ปี๊บ	ไม่เติม	เติม	10 ปี

ในขณะที่เกษตรกรจากพื้นที่ที่เคยเป็นน้ำเค็มมาก่อนและปัจจุบันเป็นน้ำจืดในพื้นที่ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และพื้นที่น้ำจืดในพื้นที่ ต .เสือหึง อ .เชียรใหญ่ ใช้น้ำหวานต้นจาก ปริมาณเยอะกว่าเพื่อผลิตน้ำตาลจาก 1 ปี๊บ (จำนวนน้ำหวานต้นจาก 7-10 ปี๊บ สามารถผลิตน้ำตาลจากได้ 1ปี๊บ

นอกจากนี้พบว่าน้ำหวานต้นจากมีสี ความใส และความขุ่น แตกต่างกัน ตั้งแต่ลักษณะเป็นของเหลวใส สีขาวขุ่น และสีเหลืองถึงน้ำตาลขุ่น ดังแสดงในภาพที่ 9 ซึ่งสีที่แตกต่างกันอาจ มาจากปริมาณน้ำหวานต้นจากในแต่ละพื้นที่ รวมทั้งการเติมเคี่ยมซึ่งมีผล ทำให้เกิดการตกตะกอนของน้ำตาล และ ปริมาณเคี่ยมที่เติม ทำให้น้ำหวานต้นจากมี สีเข้มขึ้นตามปริมาณเคี่ยมที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้กระบวนการหมักของน้ำหวานจากปาล์ม ทำให้เกิดการ เปลี่ยนสีจากใสเป็นสีขาว (milky white) จากการกระทำของแบคทีเรียกรดแลก ติก นอกจากนี้ปริมาณเชื้อยีสต์และแบคทีเรียในตัวอย่างน้ำหวานทำให้ลักษณะของน้ำหวานเปลี่ยนเป็นสีขาวได้เช่นกัน (Manel *et al*., 2011)



(a) (b) (c) (d) (e) (f)

<u>ภาพที่ 9</u> ตัวอย่างลักษณะน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่าง ๆ ใน ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง

(a) คือ ตัวอย่างน้ำหวานต้นจากพื้นที่น้ำเค็มจัด ตัวอย่างที่ 1

(b) คือ ตัวอย่างน้ำหวานต้นจากพื้นที่นากุ้งร้าง ตัวอย่างที่ 3

(c) คือ ตัวอย่างน้ำหวานต้นจากพื้นที่น้ำกร่อย ตัวอย่างที่ 4

(d) คือ ตัวอย่างน้ำหวานต้นจากพื้นที่น้ำกร่อย ตัวอย่างที่ 5

(e) คือ ตัวอย่างน้ำหวานต้นจากพื้นที่ที่เคยเป็นน้ำเค็มมาก่อน ตัวอย่างที่ 6

(f) คือ ตัวอย่างน้ำหวานต้นจากพื้นที่ที่เคยเป็นน้ำเค็มมาก่อน ตัวอย่างที่ 7

2). การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในน้ำหวานต้นจาก จำนวน 10 ตัวอย่าง ในพื้นที่ต่าง ๆ โดยวัดค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งทั้งหมด ปริมาณความชื้น เถ้า ปริมาณกรด และปริมาณแอลกอฮอล์ ผลการวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีในน้ำหวานต้นจากดังแสดงในตางรางที่ 2 พบว่าค่าเฉลี่ยความเป็นกรด -ด่าง อยู่ช่วงระหว่าง 4.26-6.86 โดยน้ำหวานต้นจากในพื้นที่นากุ้งร้าง ต.ขนาบนาก มีค่าเฉลี่ยความเป็นกรด -ด่างต่ำที่สุด 4.26 ± 0.01 น้ำหวานต้นจากในพื้นที่ที่เป็นน้ำเค็มมาก่อนปัจจุบันเป็นน้ำจืดมีค่าเฉลี่ยความเป็นกรด -ด่าง สูงที่สุด 6.86 ± 0.59 เมื่อเปรียบเทียบในระดับพื้นที่พบว่าน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ ต .ขนากนาก ส่วนใหญ่มีระดับความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่าน้ำหวานต้นจากในพื้นที่น้ำจืด ต .เสือหึง และค่าเฉลี่ยของข้อมูล ระดับความเป็นกรด-ด่าง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ส่วนค่าเฉลี่ยปริมาณของแข็งทั้งหมดอยู่ ในช่วง ระหว่าง 13.60-22.50 องศาบริกซ์ และค่าเฉลี่ยของข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) จากผลการทดลองพบว่าน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง มีระดับปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงกว่าพื้นที่ ต .เสือหึง อ.เชียรใหญ่ หมายความว่าน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ ต.ขนากนาก อ.ปากพนัง มีปริมาณน้ำตาลสูงกว่าในพื้นที่ ต .เสือหึง อ .เชียรใหญ่ โดยเฉพ าะเมื่อเปรียบเทียบ ภายในพื้นที่ ต. ขนาบนาก อ .ปากพนัง พบว่าน้ำหวานต้นจากในพื้นที่น้ำเค็มจัดมีปริมาณของแข็ง ทั้งหมดสูงที่สุด อยู่ในช่วง 21.90-22.50 องศาบริกซ์ รองลงมาคือพื้นที่น้ำกร่อย พื้นที่นากุ้งร้าง และพื้นที่ซึ่งเคยเป็นน้ำเค็มมาก่อนแต่ปัจจุบันเป็นน้ำจืด ตามลำดับ สรุปได้ว่าต้นจากที่ปลูกในพื้นที่น้ำเค็ม น้ำกร่อย นากุ้งร้าง จะมี ปริมาณน้ำตาลสูงกว่าน้ำหวานจากต้นจากที่ปลูกในพื้นที่น้ำจืด และปริมาณน้ำตาล ของน้ำหวานต้นจาก ในพื้นที่ ต.ขนาบนาก ซึ่งเคยเป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อนแต่ปัจจุบันเป็นน้ำจืด และพื้นที่น้ำจืด ใน ต .เสือหึง มีปริมาณน้ำตาลค่อนข้างใกล้เคียงกัน สอดคล้องกับคำสัมภาษณ์ของเกษตรกร (นพรัตน์, 2551) ซึ่งเกษตรกรเล่าว่า ถ้าต้นจากในพื้นที่ปลูกได้รับน้ำจืดเพียงอย่างเดียว ปริมาณน้ำหวานที่ได้จะน้อยลง ทำให้การปลูกจากสภาพพื้นที่ควรมีน้ำกร่อย หรือน้ำเค็มท่วมถึงบ้าง แต่ถ้าน้ำเค็มท่วมนานเกินไปจะทำให้น้ำตาลจากมีรสเค็มเจอปนด้วย และสอดคล้องกับข้อมูลที่ได้จาก งานวิจัยนี้จากการสอบถามเกษตรกร ซึ่งแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่

ตัวอย่างที่	ลักษณะพื้นที่ปลูกต้นจาก	ค่าเฉลี่ยองค์ประกอบทางเคมีต่าง ๆ ที่ศึกษา					
		ระดับความเป็นกรด-ด่าง	ของแข็งทั้งหมด (องศาบริกซ์)	ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	เถ้า (เปอร์เซ็นต์)	กรด (เปอร์เซ็นต์)	แอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์)
1	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	4.88 ± 0.14^{b}	21.90 ± 0.42^{a}	79.34 ± 1.01^{f}	0.25 ± 0.06^{ns}	0.08	0.02
2	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	4.70 ± 0.71^{b}	22.50 ± 0.57^{a}	80.69 ± 1.62^{ef}	0.15 ± 0.05^{ns}	0.08	0.02
3	นากุ้งร้าง ต.ขนาบนาก	4.26 ± 0.01^{b}	16.20 ± 0.00^{de}	87.05 ± 1.22^{ab}	0.19 ± 0.05^{ns}	0.15	0.02
4	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	4.35 ± 0.28^{b}	20.25 ± 0.78^{b}	82.88 ± 2.53^{de}	0.23 ± 0.09^{ns}	0.21	0.01
5	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	5.95 ± 0.07^{a}	19.40 ± 0.99^{b}	81.78 ± 0.53^{ef}	0.17 ± 0.05^{ns}	0.05	0.01
6	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	4.58 ± 0.68^{b}	17.75 ± 1.48^{c}	83.60 ± 1.76^{cde}	0.22 ± 0.05^{ns}	0.17	0.03
7	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	6.86 ± 0.59^{a}	14.70 ± 0.14^{ef}	85.93 ± 0.05^{bc}	0.15 ± 0.01^{ns}	0.07	0.01
8	น้ำจืด ต.เสือหึง	5.96 ± 0.06^{a}	16.60 ± 0.00^{cd}	85.67 ± 0.36^{bcd}	0.14 ± 0.02^{ns}	0.06	0.02
9	น้ำจืด ต.เสือหึง	6.03 ± 0.18^{a}	13.60 ± 0.00^{f}	89.23 ± 0.21^{a}	0.22 ± 0.06^{ns}	0.05	0.05
10	น้ำจืด ต.เสือหึง	6.44 ± 0.24^{a}	15.20 ± 0.00^{de}	86.36 ± 0.29^{bc}	0.19 ± 0.04^{ns}	0.05	0.02

ตัวอักษร a, b,... ที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ : ค่าเฉลี่ยของข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตัวอักษร ns : ค่าเฉลี่ยของข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ส่วนปริมาณความชื้นของน้ำหวานต้นจากทั้ง 10 ตัวอย่างอยู่ในช่วง 79.34-89.23 เปอร์เซ็นต์ และค่าเฉลี่ยของข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) นอกจากนี้ปริมาณความชื้นในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากต่ำที่สุด มีค่าอยู่ในช่วง 79.34-80.69 ในพื้นที่น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง รองลงมาคือ น้ำหวานต้นจากในพื้นที่น้ำกร่อย และปริมาณความชื้นของน้ำหวานต้นจากในพื้นที่น้ำจืดทั้งสองพื้นที่ใน ต .ขนาบนาก และ ต .เสือหึง มีปริมาณความชื้นทั้งหมดสูงกว่าน้ำหวานต้นจากในพื้นที่น้ำเค็มจัดและพื้นที่น้ำกร่อย และข้อมูลสอดคล้องกั บปริมาณเถ้าทั้งสองพื้นที่ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.14-0.25 โดยค่าเฉลี่ยของข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) สรุปได้ว่าน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ ต .ขนาบนาก มีปริมาณความชื้นต่ำกว่าและเถ้าสูงกว่าน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ ต .เสือหึง หมายความว่าน้ำ หวานต้นจากในพื้นที่ ต . ขนาบนาก มี ความเข้มข้นของน้ำตาลสูง กว่าน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ ต .เสือหึง และผลการทดลอง สอดคล้องกับผลการวัดค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด

นอกจากนี้ปริมาณกรดทั้งหมดจากตัวอย่างน้ำหวาน ต้นจากทั้งหมดพบว่าอยู่ในช่วง 0.05-0.21 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณแ อลกอฮอล์อยู่ในช่วง 0.01-0.05 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองพบว่าน้ำหวานต้นจากสดทั้งสองพื้นที่มีปริมาณกรดและปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำกว่า 0.3 เปอร์เซ็นต์ สรุปได้ว่าน้ำหวานต้นจากทั้งสองพื้นที่ยังไม่เกิดกระบวนการหมักจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำหวานต้นจากตามธรรมชาติ เช่น แบคทีเรียกรดแลกติก แบคทีเรียกรดอะซิติก และยีสต์ที่ผลิตแอ ลกอฮอล์ จึงมีปริมาณกรดและปริมาณแอลกอฮอล์น้อยมาก สอดคล้องกับการทดลองของ Ogbonna *et al.* (2013) และ Ziadi *et al*. (2014) ซึ่งพบว่าปริมาณกรดโดยเฉพาะกรดอะซิติกและกรดแลกติกมีปริมาณน้อยมาก และน้ำหวานสดมีปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำมาก กรดอะซิติกปริมาณต่ำ ๆ จะพบในช่วงเริ่มต้นของกระบวนการหมัก แต่ไม่พบกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์ในน้ำหวานจากสด (Aimi *et al*., 2013)

นอกจากนี้จากการศึกษาของ Amoa-Awua *et al.* (2007) พบว่าวันแรกของปริมาณน้ำหวานจากปาล์มจะอุดมไปด้วยน้ำตาลและไม่มีปริมาณแอลกอฮอล์เกิดขึ้น หลังจากนั้นประมาณ 3-4 วันจะประกอบด้วยแอลกอฮอล์ประมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะอะซิติกแบคทีเรียซึ่งจะเกิดกระบวนการหมักหลังจาก 3 วัน จุลินทรีย์ในน้ำหวานสดและปาล์มไวน์จากประเทศอิน เดียจะมีจุลินทรีย์แบคทีเรียกรดแล กติกและ ยีสต์เกี่ยวข้อง โดย จะพบแบคทีเรียกรดอะซิติก เมื่อมีปริมาณแอลกอฮอล์สูงขึ้น (Manel *et al*., 2011)

3. การศึกษาจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่มีในน้ำหวานต้นจาก

เนื่องจากเกษตรกรนำกระบอกไปแขวนรองรับน้ำหวานต้นจากตลอดทั้งคืน และเก็บน้ำหวานในตอนเช้าถึงสาย ทำให้น้ำหวานต้นจากเกิดการปนเปื้อนจาก มด แมลง และจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องการตรวจสอบจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่มีในน้ำหวานต้นจากสด ในพื้นที่ต่าง ๆ เพื่อต้องการทราบว่ าน้ำหวานต้นจากในแต่ละพื้นที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดใดบ้าง โดยการตรวจสอบจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ การตรวจสอบจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ คอลิฟอร์มแบคทีเรีย และแบคทีเรียกรดแลกติกทั้งหมด ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3

จากการทดลองพบว่าจุลินทรีย์ ในน้ำหวานต้นจากแต่ละพื้นที่มีปริมาณจุลินทรีย์แตกต่างกันไป เมื่อตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากอยู่ในช่วง 1.5×10^3 - 2.4×10^8 (cfu/ml) ตัวอย่างน้ำหวานต้นจากที่มีจำนวนจุลินทรีย์ น้อยที่สุดคือ น้ำหวานต้นจากตัวอย่างที่ 1 (พื้นที่น้ำเค็มจัด ต .ขนาบนาก) และ 10 (พื้นที่น้ำจืด ต .เสือหึง) มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำ อยู่ในช่วงประมาณ $1.5 \times 10^3 - 7.5 \times 10^3$ (cfu/ml) และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อยีสต์ คอลิฟอร์มแบคทีเรีย และแบคทีเรียกรดแลกติก อาจสรุปได้ว่า เกษตรกรเติมเคี่ยมในปริมาณสูง ทำให้มีผลยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำหวานต้นจากได้หลายชนิด ส่วนน้ำหวานต้นจากที่มีปริมาณเชื้อ แบคทีเรียทั้งหมดสูงที่สุด ได้แก่น้ำหวานต้นจากใน ตัวอย่างที่ 3 รวมทั้งปริมาณยีสต์และแบคทีเรียกรดแลกติก ก็มีจำนวนจุลนทรีย์มากกว่าในตัวอย่างอื่น ๆ อาจสรุปได้ว่าเกษตรกรเติมเคี่ยมในปริมาณต่ำ ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เจริญเติบโตได้ดี โดยเฉพาะเชื้อยีสต์และแบคทีเรียกรดแลกติก จากคำบอกเล่าของเกษตรกร พบว่าถ้าน้ำหวานต้นจากเก็บไว้ เพื่อบริโภคภายในครัวเรือน หรือทำน้ำตาลจากผง จะ เติมเคี่ยมในกระบอกรองรับน้ำหวานต้นจากใน ปริมาณต่ำ แต่ถ้าทำน้ำตาล จากใส่ ปี๊บเพื่อส่ง ขายโรงเหล้าจะใส่เคี่ยมในปริมาณที่เยอะกว่าปกติ จากการเก็บตัวอย่างน้ำหวานต้นจากเป็นการเก็บตัวอย่างแบบสุ่มตัวอย่างและเกษตรกรใส่เคี่ยมในปริมาณปกติ ไม่ได้ระบุว่าเพื่อการบริโภค หรือเพื่อส่งขายโรงเหล้า

นอกจากนี้พบว่าจุลินทรีย์ในน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ ต .ขนาบนาก ส่วนใหญ่ มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และแบคทีเรียกรดแลกติกมาก กว่า น้ำหวานต้นจากในพื้นที่ ต .เสือหึง แสดงว่าเกษตรในพื้นที่ ต .ขนาบนาก เติมเคี่ยมในน้ำหวานต้นจาก ปริมาณ น้อยกว่า ในพื้นที่ ต .เสือหึง

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต .ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ. เชียรใหญ่

ตัวอย่างที่	ลักษณะพื้นที่ปลูกต้นจาก	ชนิดของจุลินทรีย์ ๆ ที่ศึกษา (cfu/ml)			
		จุลินทรีย์ทั้งหมด	ยีสต์	คอลิฟอร์มแบคทีเรีย	แบคทีเรียกรดแลกติก
1	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	1.5×10^3	No colony	No colony	No colony
2	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	3.2×10^7	1.9×10^7	6.9×10^4	4.2×10^6
3	นากุ้งร้าง ต.ขนาบนาก	2.4×10^8	6.9×10^7	1.0×10^3	1.9×10^7
4	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	9.0×10^7	3.3×10^7	4.5×10^3	1.4×10^7
5	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	5.1×10^7	2.8×10^2	No colony	2.4×10^7
6	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	4.2×10^7	2.1×10^6	8.2×10^3	7.4×10^6
7	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	3.5×10^6	2.2×10^2	8.8×10^3	1.7×10^2
8	น้ำจืด ต.เสือหึง	2.2×10^4	1.6×10^3	No colony	8.0×10^3
9	น้ำจืด ต.เสือหึง	9.1×10^4	1.8×10^4	2.7×10^4	9.1×10^2
10	น้ำจืด ต.เสือหึง	7.5×10^3	No colony	No colony	No colony

ทำให้เคี่ยมไม่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ ในวงกว้างได้หลายชนิด ส่งผลให้จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ มีปริมาณมากกว่า ผลการทดลองสอดคล้องกับฤทธิ์ของเคี่ยมที่มีผลยับยั้งเชื้อก่อโรคในหัวข้อที่ 5

เชื้อยีสต์ในตัวอย่างน้ำหวานต้นจาก ทั้งสองพื้นที่พบว่ามีปริมาณเชื้อยีสต์ ทั้งหมดอยู่ในช่วง 2.8×10^2 – 6.9×10^7 (cfu/ml) น้ำหวานต้นจากตัวอย่างที่ 1 และ 10 ตรวจไม่พบเชื้อยีสต์ และตัวอย่างน้ำหวานต้นจากตัวอย่างที่ 1, 5, 8 และ 10 ตรวจไม่พบเชื้อคอลิฟอร์มแบคทีเรีย ส่วนตัวอย่างอื่น ๆ การตรวจพบเชื้อคอลิฟอร์มแบคทีเรียอยู่ในช่วง 1.0×10^3 - 6.9×10^4 (cfu/ml) เนื่องจากภาชนะที่รองรับน้ำหวานต้นจากเป็นภาชนะเปิด และรองรับน้ำหวานต้นจาก ตั้งแต่ตอนเย็นจนถึงตอนเช้าถึงสาย (ประมาณ 12-16 ชั่วโมง) ทำให้มีโอกาสปนเปื้อน ของอุจจาระ เช่น จากแมลง นก หรือ สัตว์อื่น ๆ และผลการทดลองสอดคล้องกับฤทธิ์ของเคี่ยมในหัวข้อที่ 5

ส่วนแ บคทีเรียกรดแลกติก ในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากทั้งสองพื้นที่พบว่ามีปริมาณเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติก ทั้งหมดอยู่ในช่วง 1.7×10^2 – 1.9×10^7 (cfu/ml) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพื้นที่พบว่าน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ ต.ขนาบนาก มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกมากกว่าในพื้นที่ ต . เสือหึ ง ผลการทดลองสอดคล้องกับผลระดับความเป็นกรด- ด่าง และปริมาณกรดทั้งหมด ตัวอย่างเช่น ตัวอย่างน้ำหวานต้นจากที่ 3 และ 4 มีปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติกสูง 1.9×10^7 และ 1.4×10^7 (cfu/ml) มีระดับความเป็นกรด- ด่าง ต่ำที่สุด (4.26 และ 4.35) และปริมาณกรดทั้งหมดสูงที่สุด (0.16 และ 0.21 เปอร์เซ็นต์) ส่วนน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ ต . เสือหึง มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกต่ำ สอดคล้องกับผลค่าระดับความเป็นกรด- ด่าง และปริมาณกรดทั้งหมดต่ำจากการทดลองในหัวข้อที่ 2 เช่นเดียวกัน นอกจากนี้น้ำหวานต้นจากในพื้นที่ตำบลขนาบนากมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และแบคทีเรียกรดแลกติก มากกว่าน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ตำบลเสือหึง

จากการทดลองศึกษาจุลินทรีย์ในน้ำหวานจากอิทผาลัม (date palm sap) ของ Manel *et al*. (2011) พบว่าประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายชนิดโดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศและชอบอุณหภูมิปานกลาง (aerobic mesophilic bacteria) อยู่ในช่วง (6.07-8.57 log cfu/ml) แบคทีเรียกรดแลกติก อยู่ในช่วง (5.36-8.88 log cfu/ml) และยีสต์ (3-8.47 log cfu/ml) คอลิฟอร์มแบคทีเรียอยู่ในช่วง (3-6.78 log cfu/ml) ซึ่งคอลิฟอร์มแบคทีเรียที่พบอาจเนื่องจาก การปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมและเครื่องมือที่ใช้ในการเคาะก้านช่อดอก และจากการทำรังของนกบนต้นปาล์ม

Chandrasekhar *et al*. (2012) รายงานว่า ปาล์มไวน์ประกอบด้วยจุลินทรีย์ หลายชนิด โดยเฉพาะ ยีสต์และแบคทีเรีย เช่น *Saccharomyces cerevisae*, *Saccharomyces pombe*, *Debaryomyces hansenii* และ *Zygosaccharomyces rouxii* และแบคทีเรีย กรดแลกติก เช่น *Streptococcus, Pediococcus, Leuconostoc* และ *Lactobacillus* นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียสายพันธุ์ *Zymomonas mobilis* อีกด้วย สอดคล้องกับการทดลองของ Amoa-Awua *et al*. (2007) ซึ่งแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกจากปาล์มไวน์ในประเทศกานา พบเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกสายพันธุ์ *Lactobacillus plantarum* และ *L. mesenteroides* และสอดคล้องกับการทดลองของธณิกานต์ (2552) ซึ่งทดลองแยกเชื้อแบคทีเรียและยีสต์จากน้ำตาลสด น้ำหวานต้นจาก น้ำอ้อย และน้ำตาลเมา เป็นต้น พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ส่วนใหญ่เป็นยีสต์และแบคทีเรียกรดแลกติก ซึ่งสามารถจัดจำแนกสายพันธุ์ได้เป็น *Leuconoctoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Micrococcus luteus* และ *Kloeckera apis* นอกจากนี้จากการทดลองของ Aimi *et al*. (2013) รายงานว่าไม่สามารถตรวจพบกรดอะซิติกในตัวอย่างในน้ำหวานต้นจากสด แต่จะพบกรดอะซิติกปริมาณต่ำในน้ำตาลเมา ซึ่งเป็นผลผลิตที่เกิดขึ้นจากอะซิติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Acetobacter* และยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces*, *Candida* และ *Kloeckera* และแบคทีเรียกรดแลกติก ก่อให้เกิดกระบวนการหมักน้ำตาลเมา

จุลินทรีย์หลากหลายชนิดที่พบในกระบวนการหมักปาล์มไวน์มีหลากหลาย และขึ้นอยู่กับต้นปาล์มแต่ละต้น ความหลากหลายขององค์ประกอบ ของจุลินทรีย์อาจจะมาจากคุณภาพของวัตถุดิบหลัก เช่น สายพันธุ์, ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อม (อุณหภูมิ) และสภาวะการเก็บเกี่ยว (อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บเกี่ยว, สุขลักษณะส่วนบุคคล และความสะอาดของเครื่องมือ เครื่องใช้ (Manel *et al*., 2011) โดยทั่วไปกระบวนการเคาะก้านปาล์มและการเก็บเกี่ยวน้ำหวาน จะมีอิทธิพลต่อจุลินทรีย์ที่มีในน้ำหวาน (Amoa-Awua *et al*. 2007; Manel *et al*., 2011) เนื่องจากน้ำตาลส่วนใหญ่คือน้ำตาลซูโครส ทำให้แบคทีเรียกรดแลกติกสามารถเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสไปเป็นน้ำตาลกลูโคส และฟรุ๊คโตส โดยอาศัยเอนไซม์อินเวอร์เทสจากยีสต์เพื่อเปลี่ยนไปเป็นกรดอินทรีย์หรือแอลกอฮอล์ และเอนไซม์อินเวอร์เทสได้มาจากยีสต์ เช่น *Saccharomyces cerevisiae และ Saccharomyces carlsbergensis* หรือเชื้อรา เช่น *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus niger* ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นและระดับความเป็นกรดด่างที่ลดลงเกิดจากกระบวนการทำปฏิกิริยา (Manel *et al*., 2011)

4. การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ

ตัวอย่างน้ำหวานต้นจากที่เก็บตัวอย่างนำมาวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ ปริมาณน้ำตาลหลักชนิดต่าง ๆ ได้แก่ น้ำตาลฟรุ๊คโตส น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครส ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่

ตัวอย่างที่	ลักษณะพื้นที่ปลูกต้นจาก	น้ำตาลฟรุ๊คโตส (เปอร์เซ็นต์)	น้ำตาลกลูโคส (เปอร์เซ็นต์)	น้ำตาลซูโครส (เปอร์เซ็นต์)
1	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	0.48 ± 0.02^{e}	1.69 ± 0.57^{bc}	18.80 ± 1.31^{a}
2	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	0.59 ± 0.00^{e}	2.17 ± 0.65^{bc}	16.25 ± 0.79^{b}
3	นากุ้งร้าง ต.ขนาบนาก	0.54 ± 0.05^{e}	1.82 ± 0.51^{bc}	10.60 ± 0.81^{de}
4	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	1.06 ± 0.04^{c}	2.59 ± 0.68^{ab}	13.46 ± 0.35^{c}
5	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	0.51 ± 0.01^{e}	2.03 ± 0.65^{bc}	12.26 ± 0.53^{cd}
6	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	1.67 ± 0.17^{b}	2.64 ± 0.74^{ab}	10.77 ± 1.00^{de}
7	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	0.41 ± 0.11^{e}	1.65 ± 0.78^{bc}	10.60 ± 0.99^{de}
8	น้ำจืด ต.เสือหึง	0.83 ± 0.10^{d}	2.05 ± 0.74^{bc}	3.37 ± 0.21^{f}
9	น้ำจืด ต.เสือหึง	2.80 ± 0.10^{a}	3.85 ± 1.02^{a}	9.74 ± 0.25^{e}
10	น้ำจืด ต.เสือหึง	0.46 ± 0.04^{e}	1.69 ± 0.63^{bc}	17.20 ± 0.76^{ab}

ตัวอักษร a, b,ที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ : ค่าเฉลี่ยของข้อมูลมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตัวอักษร ns: ค่าเฉลี่ยของข้อมูลไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

จากการทดลองพบว่าน้ำตาลที่มีปริมาณสูงสุดในน้ำหวานต้นจากทุกตัวอย่าง คือน้ำตาลซูโครส และมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 3.4-18.8 รองลงมาคือน้ำตาลกลูโคส มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.7-3.9 และน้ำตาลฟรุ๊คโตสมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.4-2.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลการทดลองสอดคล้องกับ

Tamunaidu *et al*. (2013) เมื่อเปรียบระหว่างพื้นที่พบว่า น้ำหวานต้นจากในพื้นที่ตำบลขนาบนากมีปริมาณน้ำตาลซูโครสสูงกว่าพื้นที่ตำ บลเสือหึง โดยเฉพาะน้ำหวานต้นจากใน พื้นที่น้ำเค็มจัด ซึ่งสอดคล้องกับคำบอกเล่าและประสบการณ์ของเกษตรผู้ผลิตน้ำหวานต้นจาก ที่เล่าว่าพื้นที่น้ำเค็มผลิตน้ำตาลจากผงได้เยอะกว่าเขตพื้นที่น้ำจืด เช่น ในเขตพื้นที่น้ำเค็มจัดใช้น้ำหวานต้นจาก 6 ปี๊บ ได้น้ำตาลจาก 1 ปี๊บ และในเขตพื้นที่น้ำจืด ต้องใช้น้ำหวานต้นจากเยอะกว่าคือ 7-8 ปี๊บ เพื่อผลิตน้ำตาลจาก 1 ปี๊บ สอดคล้องกับข้อมูลของเกษตรกรผู้ผลิตน้ำหวานต้นจากในตารางที่ 1 เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำอ้อย พบว่าน้ำหวานต้นจากใ นทุกพื้นที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส ต่ำกว่าน้ำอ้อยสด (17.20 เปอร์เซ็นต์) ยกเว้นน้ำหวานต้นจากตัวอย่างที่ 1 ในพื้นที่น้ำเค็มจัด (18.80 เปอร์เซ็นต์) และน้ำหวานต้นจากมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงกว่า แต่มีปริมาณน้ำตาลฟรุ๊คโตสใกล้เคียงกับน้ำอ้อย สอดคล้องกับ การศึกษาของ Tamunaidu *et al*. (2013) ซึ่งพบว่าน้ำหวานต้นจากจะมีน้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุ๊คโตสเป็นองค์ประกอบหลัก โดยจะมีน้ำตาลกลูโคสและฟรุ๊คโตส ในปริมาณที่สูงกว่าน้ำหวานจากอ้อย (0.4 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) และมีน้ำตาลซูโครสต่ำกว่าในน้ำตาลอ้อย (16.4 เปอร์เซ็นต์) และมีปริมาณน้ำตาลซูโครสจากตัวอย่างในพื้นที่ต่าง ๆ ในช่วง (9.3-11.1 เปอร์เซ็นต์) โดยน้ำหวานต้นจากจากพื้นที่ต่ำและน้ำท่วมถึง มีปริมาณน้ำ ตาลซูโครสสูงที่สุด (11.1 เปอร์เซ็นต์)

Theerawitaya *et al*. (2014) ศึกษาผลของเกลือ salt stress ที่มีต่อต้นจากในด้านการเจริญเติบโตและสรีวิทยาของต้นจาก จากจังหวัดชลบุรี โดยทำการเพาะเลี้ยงในกระถาง ที่มีความเข้มข้นของเกลือแตกต่างกันเป็นเวลา 6 เดือน ในสภาวะที่เกลือ เข้มข้นแตกต่างกัน พบว่า น้ำตาลที่ละลายได้ (soluble sugar) ของก้านจากมีค่ามากกว่าใบจากและรากจาก เมื่อความเค็มเพิ่มขึ้น น้ำตาลที่ละลายน้ำได้เป็นกุญแจสำคัญในการปรับสภาวะสมดุลของน้ำ)osmotic adjusment ( ) โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับภาวะเครียดstress level ที่ไม่สามารถทำให้พืชชนิดนั้นเกิดการบาดเจ็บ (หรือเสียหายที่รุนแรง แต่จะเป็นผลประโยชน์ในทางบวกในการใช้น้ำอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในงานวิจัยครั้งนี้ โดยพื้นที่น้ำเค็มจะมีปริมาณน้ำหวานต้นจากสูงกว่าพื้นที่น้ำจืด

นอกจากนี้น้ำหวานจากต้นปาล์มมีปริมาณน้ำตาลสูง (10-20 เปอร์เซ็นต์) ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ช่วงเวลาที่เก็บเกี่ยว และกระบวนการเก็บเกี่ยว (Francisco-Ortega and Zona, 2013) ส่วนน้ำหวานจากปาล์มสดจะมีน้ำตาลประมาณ 10-12 % (Chandrasekhar *et al*., 2012) น้ำหวานจากปาล์มซึ่ง

อุดมไปด้วยน้ำตาลจะเริ่มต้นกระบวนการหมักหลังจากกระบวนการเก็บน้ำหวาน เนื่องจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในสิ่งแวดล้อมและจุลินทรีย์ที่หลงเหลือจากภาชนะที่เก็บน้ำหวาน น้ำหวานจากปาล์มน้ำมันสายพันธุ์ *Elaeis guineensis* จะมีน้ำตาลซูโครสระหว่าง 9.59-10. เปอร์เซ็นต์ 59 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ในขณะที่จะมีน้ำตาลกลูโคส 1. และน้ำตาลฟรุ๊คโตส 0(0.13-0.73 เปอร์เซ็นต์) (Ehrmann *et al*., 2009)

หลังจากนั้นวิเคราะห์วิตามินและเกลือแร่ ในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 5 พบว่าในทุกตัวอย่างของน้ำหวานต้นจากทั้งสองพื้นที่ไม่สามารถตรวจพบวิตามินเอในตัวอย่างน้ำหวานต้นจาก และปริมาณวิตามินซี โซเดียม และโพแทสเซียม มีค่าเฉลี่ยของข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ปริมาณวิตามินซีของน้ำหวานต้นจากทุกตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง 6-14 มิลลิกรัม และมีค่าเฉลี่ยปริมาณวิตามินซี 8.33 มิลลิกรัม ปริมาณโซเดียมของน้ำหวานต้นจากทุกตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง 66-121 มิลลิกรัม และมีค่าเฉลี่ยปริมาณ โซเดียม 92.17 มิลลิกรัม และปริมาณโพแตสเซียมของน้ำหวานต้นจากทุกตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง 116-188 มิลลิกรัม และมีค่าเฉลี่ยปริมาณโซเดียม 165.78. มิลลิกรัม สรุปว่าในน้ำตาลจากมี แร่ธาตุโพแตสเซียมสูงที่สุด ผลการสอดคล้องกับการศึกษาของ Tamunaidu *et al*. (2013) ซึ่งพบว่าน้ำหวานต้นจากในแต่ละพื้นที่จะประกอบด้วยเกลือแร่หลักชนิดต่าง ๆ ตามลำดับดังนี้ โพแทสเซียม โซเดียม คลอไรด์ ฟอสฟอรัส และกำมะถัน เป็นต้น

ในน้ำหวานพืชตระกูลปาล์ม (*Borassus flabellifer*) ยังประกอบด้วย แร่ธาตุชนิดต่าง ๆ เช่น ฟอสฟอรัส เหล็ก ทองแดง วิตามินซี และเป็นแหล่งที่ดีของวิตามินบีรวม (Dalibard, 1999) นอกจากนี้ในการทดลองของ Ogbonna *et al*. (2013) ยังพบว่าใน ปาล์มไวน์ยังอุดมไปด้วยแร่ธาตุชนิดต่าง ๆ ได้แก่ แมกนีเซียม, แคลเซียม, เหล็ก และสังกะสี เป็นต้น รวมทั้งวิตามินเอและซี อีกด้วย พบว่าปาล์มไวน์ ประกอบด้วยแร่ธาตุมากที่สุด 3 อันดับได้แก่ แมกนีเซียมมากที่สุดประมาณ 31.33±0.04 แคลเซียม 3.85±0.02 และเหล็ก 3.20±0.04 สอดคล้องกับรายงานของ Chandrasekhar *et al*. (2012) ซึ่งรายงานว่า ปาล์มไวน์ประกอบด้วยวิตามินเอ ซี และ เค ซึ่งช่วยในการบำรุงสายตา

<u>ตารางที่ 5</u> ผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินและเกลือแร่ ในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่

ตัวอย่างที่	ลักษณะพื้นที่ปลูกต้นจาก	วิตามินซี (มิลลิกรัม)	โซเดียม (มิลลิกรัม)	โพแทสเซียม (มิลลิกรัม)
1	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	13.93 ± 1.05^{a}	121.02 ± 1.66^{a}	173.28 ± 3.90^{bc}
2	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	12.66 ± 0.30^{b}	94.12 ± 0.01^{e}	184.09 ± 3.35^{ab}
3	นากุ้งร้าง ต.ขนาบนาก	8.64 ± 0.45^{c}	77.68 ± 0.66^{h}	175.41 ± 1.24^{bc}
4	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	6.10 ± 0.16^{e}	89.67 ± 0.33^{f}	188.31 ± 6.18^{a}
5	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	6.76 ± 0.12^{de}	65.74 ± 0.28^{i}	168.66 ± 8.08^{c}
6	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	7.26 ± 0.30^{d}	86.02 ± 1.22^{g}	166.87 ± 9.64^{c}
7	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	7.58 ± 0.37^{d}	75.53 ± 0.88^{h}	167.81 ± 1.80^{c}
8	น้ำจืด ต.เสือหึง	5.99 ± 0.44^{e}	105.95 ± 0.18^{b}	115.68 ± 1.58^{e}
9	น้ำจืด ต.เสือหึง	7.26 ± 0.13^{d}	103.69 ± 2.64^{bc}	133.21 ± 1.16^{d}
10	น้ำจืด ต.เสือหึง	7.13 ± 0.02^{d}	102.29 ± 2.21^{d}	184.46 ± 1.94^{ab}

ตัวอักษร a, b,ที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ : ค่าเฉลี่ยของข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตัวอักษร ns : ค่าเฉลี่ยของข้อมูลไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$)

5. การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคชนิดต่าง ๆ

เนื่องจากกระบอกที่เก็บน้ำหวานต้นจากจะมีการเติมเคี่ยม เพื่อป้องกั นการเสื่อมเสียของน้ำหวานต้นจากที่รองรับน้ำหวานตลอดทั้งคืน ดังนั้นต้องการทดสอบว่าฤทธิ์ของเคี่ยม ในน้ำหวานต้นจากมีผลต่อการยับยั้ง เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้หรือไม่ โดยใช้วิธี Well diffusion method ดัดแปลงตามวิธีการของ Krishnamoonrthy and Arjun (2012) และ Chandrasekhar *et al*. (2013) จากผลการทดลองฤทธิ์ของเคี่ยมในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 6 ฤทธิ์ของเคี่ยมที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ จุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่าง ๆ จะเกิดเป็นวงโซนใส (Clear zone) ที่มีความกว้างของโซนใสแตกต่างกันไป และการยับยั้งเกิดเป็นโซนใสกว้างขึ้นตามปริมาตรของน้ำหวานต้นจากที่เพิ่มขึ้น ผลการทดลองพบว่า ฤทธิ์ของเคี่ยมในน้ำหวานต้นจาก จากทั้งสองพื้นที่ทุกตัวอย่างไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780 และฤทธิ์ของเคี่ยมในน้ำหวานต้นจาก ของตัวอย่างที่ 2, 3, 4 และ 6 จากพื้นที่ ต. ขนาบนาก ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคทุกชนิดที่นำมาทดสอบ ได้แก่ *Escherichia coli* TISTR 780, *Salmonella typhi* DMST 22842, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 และ *Listeria monocytogenes* DMST 17303 สอดคล้องกับการทดลองของ Ebana *et al*. (2015) ซึ่งพบว่าสกัดสารจากใบ (leave), เปลือกนอกของลูกจาก (husk) และเนื้อเยื่อ (tissue) ของจากมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* และ *Pseudomonas aeruginosa*

ในทางตรงกันข้าม ฤทธิ์ของเคี่ยมใน น้ำหวานต้นจากในตัวอย่างที่ 1, 5, 7, และ 8 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคได้แก่ *Staphylococcus aureus Salmonella typhimurium* และ *Listeria monocytogenes* DMST 17303 และฤทธิ์ของเคี่ยมในน้ำหวานต้นจากตัวอย่างที่ 9 และ 10 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhimurium* ส่วนน้ำหวานต้นจากในตัวอย่างที่ 1 สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดี เนื่องจากสามารถยับยั้งเชื้อได้เมื่อเติมน้ำหวานต้นจาก ตั้งแต่ 50 ไมโครลิตรเป็นต้นไป แสดงว่า เกษตรกร มีการเติมเคี่ยมในน้ำหวานต้นจากในปริมาณสูง ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดมีปริมาณต่ำ (1.9×10^7, cfu/ml) และทำให้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เช่น ยีสต์ คอลิฟอร์มแบคที เรีย และแบคทีเรียกรดแลกติก ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ดี ผลการทดลองสอดคล้องกันดังการทดลองในหัวข้อที่ 4

<u>ตารางที่ 6</u> ผลการวิเคราะห์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค จากฤทธิ์ของเคี่ยม ในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่

ลักษณะพื้นที่ปลูกต้นจาก	การยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคของน้ำหวานต้นจากที่ปริมาตรต่าง ๆ กัน (มิลลิลิตร)			
	E. coli	***S. aureus***	***S. typhi***	***L. monocytogenes***
น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	N	50-240	50-240	80-240
น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	N	N	N	N
นากุ้งร้าง ต.ขนาบนาก	N	N	N	N
น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	N	N	N	N
น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	N	50-240	80-240	80-240
เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	N	N	N	N
เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	N	80-240	100-240	150-240
น้ำจืด ต.เสือหึง	N	50-240	120-240	150-240
น้ำจืด ต.เสือหึง	N	120-240	80-220	N
น้ำจืด ต.เสือหึง	N	80-240	100-240	N

หมายเหตุ ตัวอักษร N หมายถึง ไม่เกิดผลยับยั้งการเจริญเติบโต

นอกจากนี้การทดลองของ Chandrasekhar *et al*. (2013) พบว่าความเข้มข้นของน้ำหวานจากมะพร้าว (cocoti palm sap) และ ปาล์มไวน์ (cocoti palm wine) จากประเทศอินเดีย พบว่าน้ำหวานจากมะพร้าวปริมาตร 180 ไมโครลิตร และปาล์มไวน์ปริมาตร 120 ไมโครลิตร จะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโพรไบโอติกสายพันธุ์ *E. coli* Nissle 1917 ได้ ส่วนการทดลองของ Chana-Thaworn *et al*. (2011) พบว่า สารสกัดจากเคี่ยม 300 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* 0175:H7, *S. aureus* และ *L. monocytogenes* ได้อย่างสมบูรณ์

6. การทดสอบความสามารถของน้ำตาลจากในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติก

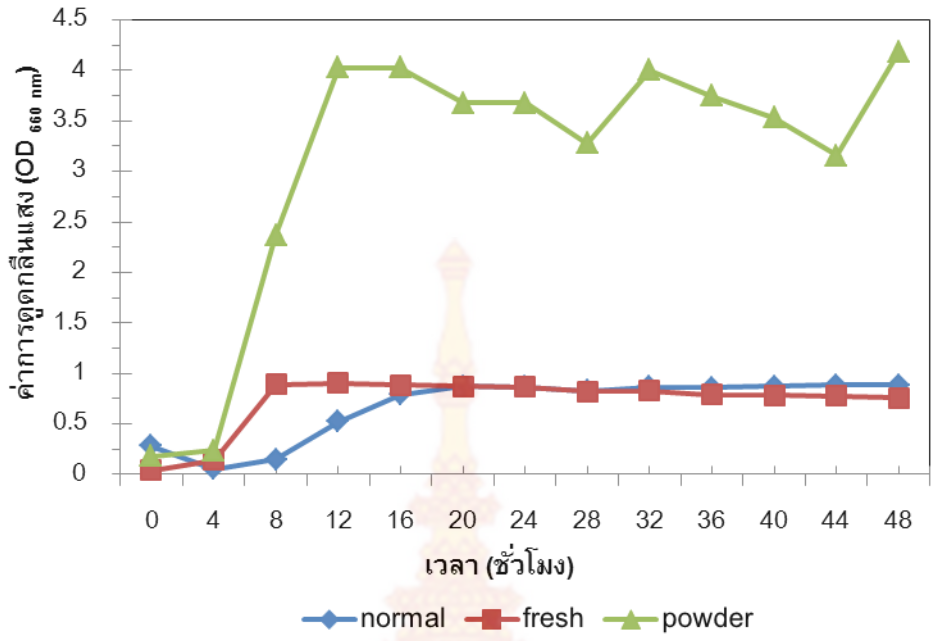
เนื่องจากองค์ประกอบในน้ำหวานต้นจากประกอบด้วยน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ในปริมาณสูง ได้แก่ น้ำตาลซูโครส (3.4-18.8 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือน้ำตาลกลูโคส (1.7-3.9 เปอร์เซ็นต์) และน้ำตาลฟรุ๊คโตสเฉลี่ยอยู่ในช่วง (0.4-2.8 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ ดังผลการทดลองในหัวข้อที่ 2 จึงใช้น้ำหวานต้นจากสดและน้ำตาลจากผงมาเป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียกรดแลกติก โดยดัดแปลงจากสูตรอาหาร DeMan Rogasa and Sharpe Agar (MRS) และใช้น้ำหวานต้นจากเป็นส่วนผสมแทนน้ำตาลเด๊กซ์โตรสในอัตราส่วนที่เท่ากัน วิธีการทดลองดัดแปลงจากการทดลองของ ดาสณี และคณะ (2553) ดัดแปลงเป็นสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเปรียบเทียบทั้งหมด 3 สูตร ได้แก่

สูตรที่ 1 - สูตรอาหาร MRS broth สูตรปกติ (normal)

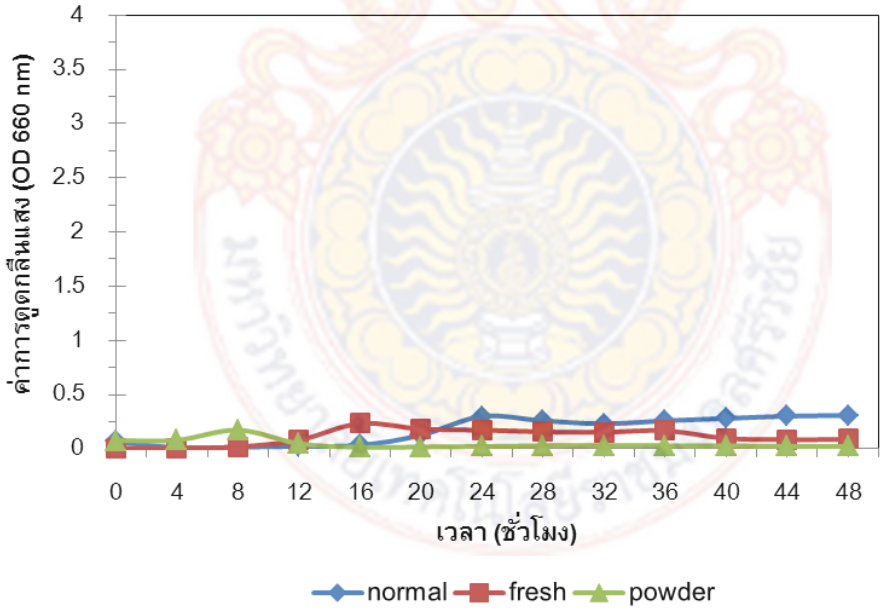
สูตรที่ 2 - สูตรอาหาร MRS broth ที่ผสมน้ำหวานต้นจากสด (fresh)

สูตรที่ 3 - สูตรอาหาร MRS broth ที่ผสมน้ำตาลจากผง (powder)

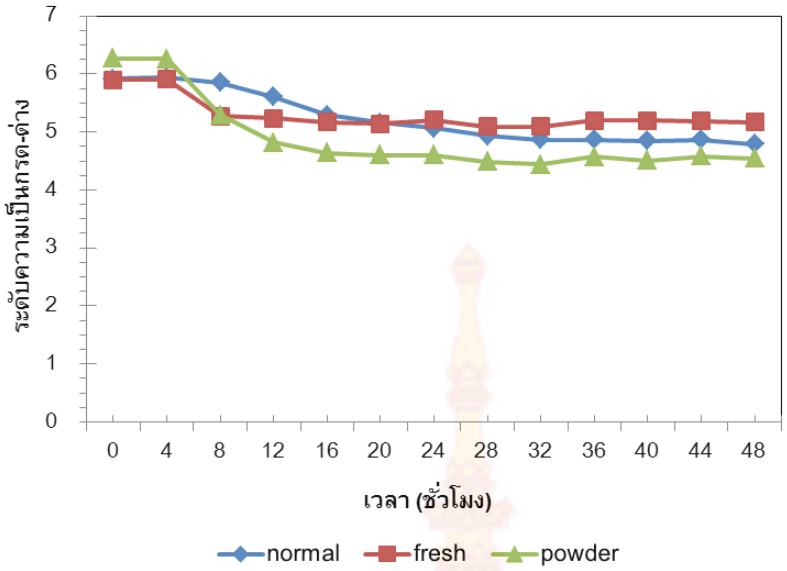
โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียกรดแลกติก จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 2365 และ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473 โดยตรวจวัดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทุก ๆ ชั่วโมง โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 48 ชั่วโมงเป็นเวลา 4 นาโนเมตร 660 ความยาวคลื่นระดับความเป็นกรดด่าง และแบคทีเรียกรดแลกติกเก็บตัวอย่างทุกๆ ชั่วโมง 28 ชั่วโมงเป็นเวลา 4 เพื่อรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตร (cfu/ml) ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 10-15



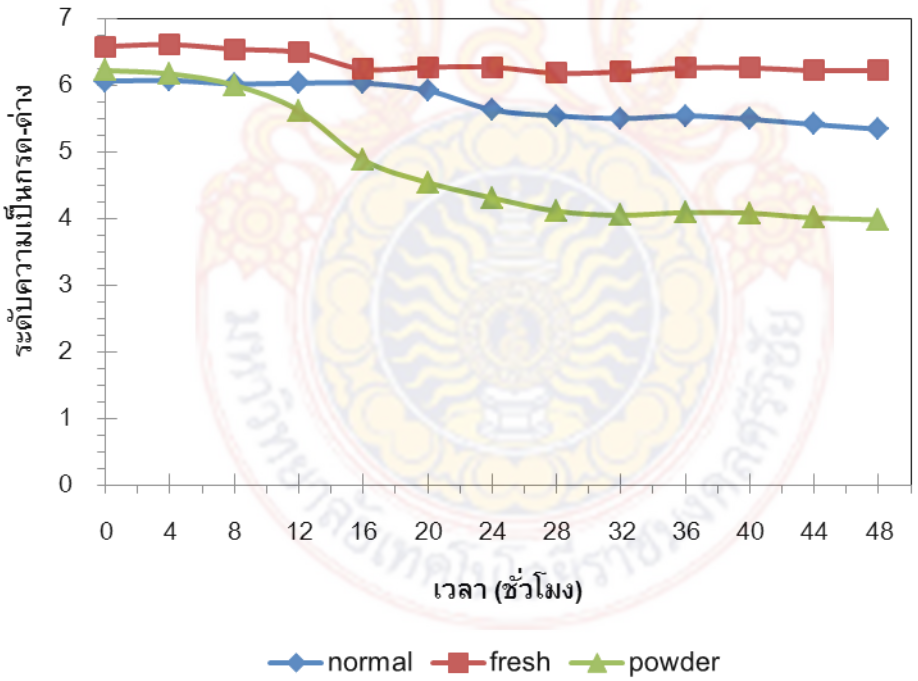
ภาพที่ 10 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD $_{660\ nm}$) ของเชื้อ *L. mersenteroides* TISTR 473 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง



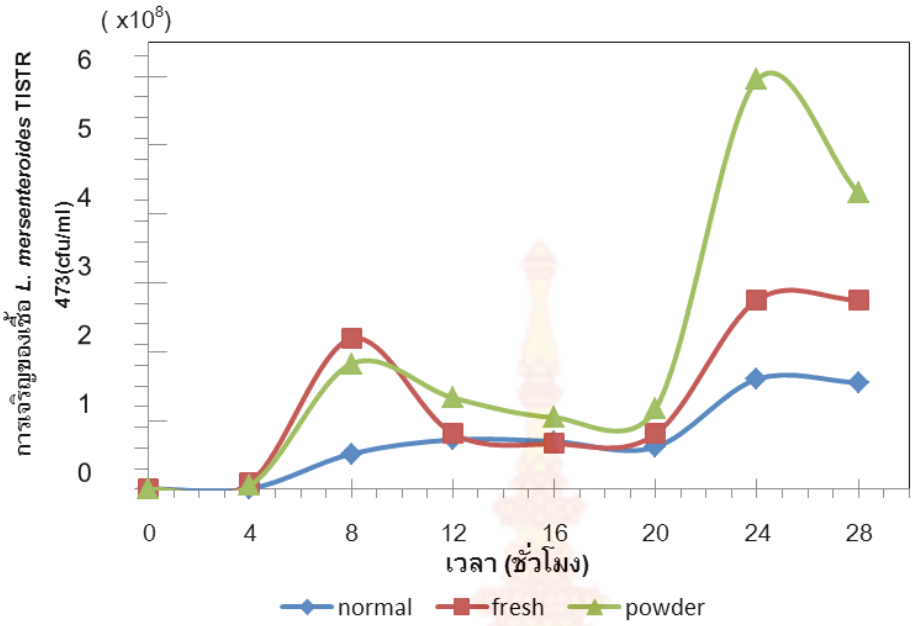
ภาพที่ 11 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD $_{660\ nm}$) ของเชื้อ *L. acidophillus* TISTR 2365 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง



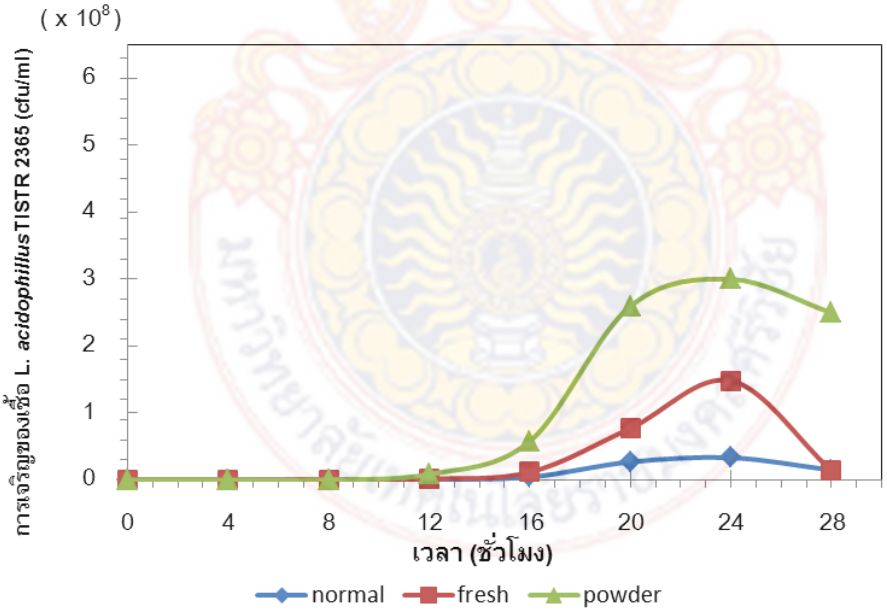
ภาพที่ 12 ผลการวัดค่าระดับความเป็นกรดด่างของเชื้อ *L. mersenteroides* TISTR 473 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง



ภาพที่ 13 ผลการวัดค่าระดับความเป็นกรดด่างของเชื้อ *L. acidophillus* TISTR 2365 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง



ภาพที่ 14 การเจริญของเชื้อ *L. mersenteroides* TISTR 473 (cfu/ml) เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง



ภาพที่ 15 การเจริญของเชื้อ *L. acidophillus* TISTR 2365 (cfu/ml) เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร ต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

จากผลการทดลองพบว่า น้ำหวานต้นจากสดและผง มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติก *L. mersenteroides* TISTR 473 และ *L. acidophillus* TISTR 2365 ทำให้แบคทีเรียกรดแลกติกเจริญเติบโตได้ดี โดยเฉพาะ *L. mersenteroides* TISTR 473 มีอัตราการเจริญเติบโตได้ดี และรวดเร็วกว่า *L. acidophillus* TISTR 2365 และเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในชั่วโมงที่ 12 ในขณะที่ *L. acidophillus* TISTR 2365 เจริญเติบโตได้ดีที่สุดในชั่วโมงที่ 16 หลังจากนั้นการเจริญเติบโตจะค่อย ๆ คงที่หรือลดลง ผลการทดลองสอดคล้องกันทั้ งค่าการดูดกลืนแสง ระดับความเป็นกรด- ด่าง และการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจาก *L. acidophillus* TISTR 2365 เป็นเชื้อที่เจริญเติบโตได้ดีในสภาพที่ต้องการออกซิเจนน้อย ประกอบกับต้องบ่มเชื้อในโถไร้ออกซิเจน (Anaerobic jar) และเชื้อที่เจริญเติบโตมีลักษณะ โคโลนีเล็กมาก เมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญของเชื้อ *L. mersenteroides* TISTR 473 ซึ่งเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะปกติ

เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในสูตรอาหารทั้ง 3 สูตรพบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 3 ซึ่งประกอบด้วยสูตรอาหาร MRS broth ที่ผสมน้ำตาลจากผง (powder) มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดได้ดีที่สุด เนื่องจากน้ำตาลจากผงมีปริมาณน้ำตาลซูโครสสูงกว่าน้ำหวานจากสด เพราะมีน้ำตาลปริมาณเข้มข้นกว่า จากการทดลองสรุปได้ว่าแบคทีเรียกรดแลกติกสามารถเจริญเติบโตได้ดี ในสภาวะที่มีน้ำตาลซูโครสมากกว่าน้ำตาลแด๊กซ์โตรส

นอกจากนี้จาการทดลองคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียกรดแลกติกจากปาล์มไวน์ในประเทศกานา ของ Amoa-Awua *et al*. (2007) พบเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกสายพันธุ์ *Lactobacillus plantarum* และ *L. mesenteroides* และแบคทีเรียกรดแลกติก 2 สายพันธุ์ สามารถแยกได้จากน้ำหวานจากอิทผาลัม (date palm sap) ซึ่งสามารถจัดจำแนกเป็น *Leuconoctoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* และ *L. delbrueckii* subsp. *Delbruckii* (Manel *et al*., 2011) ซึ่งจุลินทรีย์ 2 กลุ่มนี้จะผลิตกรดได้รวดเร็วและระดับความเป็นกรดด่างลดต่ำลง หลังจาก ชั่วโมงของกระบวนการ 6 หมัก สอดคล้องกับการทดลองของธณิกานต์ (2552) ซึ่งทำการทดลองแยกเชื้อแบคทีเรียและยีสต์จากน้ำตาลสด น้ำหวานต้นจาก น้ำอ้อย และน้ำตาลเมา เป็นต้น พบเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ส่วนใหญ่จัดอยู่ในสายพันธุ์ *Leuconoctoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Micrococcus luteus* และ *Kloeckera apis*

สรุปได้ว่าเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติก *L. mesenteroides* เป็นเชื้อประจำถิ่นที่มีพบอยู่น้ำหวานจากปาล์ม ทำให้สามารถเจริญเติบโต ได้ดีกว่า *L. acidophillus* นอกจากนี้น้ำหวานต้นจากสดและผงมีแหล่งคาร์บอนโดยเฉพาะน้ำตาลซูโครส เกลือแร่ และวิตามินต่าง ๆ ในปริมาณสูง ซึ่งสามารถใช้ทดแทนน้ำตาลแดร็กซ์โตสในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ได้ และสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารที่ ดีสำหรับแบคทีเรียกรดแลกติกโดยเฉพาะ *L. mesenteroides*

สรุปผลการทดลอง

(Summary)

1) พื้นที่ปลูกจากของเกษตรกรผู้ผลิตน้ำหวานต้นจากสามารถแบ่งเป็นพื้นที่น้ำเค็มจัด, พื้นที่น้ำกร่อย, พื้นที่นากุ้งร้าง, พื้นที่ที่เคยเป็นน้ำเค็มมาก่อนและปัจจุบันเป็นน้ำจืด จากพื้นที่ตำบลขนาบนาก อำเภอปากพนัง และพื้นที่น้ำจืด จากตำบลเสือหึง อำเภอเชียรใหญ่

2) การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่าน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ ต.ขนาบนาก มีระดับความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณความชื้นต่ำกว่า ส่วนปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงกว่าน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ ต.เสือหึง สรุปได้ว่าต้นจากที่ปลูกในพื้นที่น้ำเค็ม น้ำกร่อย และนากุ้งร้างในพื้นที่ ต.ขนาบนาก จะมีปริมาณน้ำตาลสูงกว่าน้ำหวานจากต้นจากที่ปลูกในพื้นที่น้ำจืดในพื้นที่ ต.ขนาบนาก และเสือหึง

3) ปริมาณกรดและปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากทั้งสองพื้นที่มีปริมาณต่ำกว่า 0.3 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าน้ำหวานต้นจากยังไม่เกิดกระบวนการหมัก จากจุลินทรีย์ที่มีในน้ำหวานต้นจาก เช่น ยีสต์ แบคทีเรียกรด แลกติก และแบคทีเรียกรดอะซิติก

4) จุลินทรีย์ในน้ำหวานต้นจากแต่ละพื้นที่มีปริมาณจุลินทรีย์แตกต่างกันไป เมื่อตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากอยู่ในช่วง 1.5×10^3 - 2.4×10^8 (cfu/ml) ไม่สามารถตรวจพบเชื้อยีสต์ คอลิฟอร์มแบคทีเรีย และแบคทีเรียกรดแลกติก ในบางตัวอย่าง นอกจากนี้น้ำหวานต้นจากในพื้นที่ตำบลขนาบนากมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และแบคทีเรียกรดแลกติก มากกว่าน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ตำบลเสือหึง

5) ฤทธิ์ของเคี่ยมในน้ำหวานต้นจากต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค พบว่า ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780 แต่ในน้ำหวานต้นจากบางตัวอย่างสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคบางชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Salmonella typhi* DMST 22842 และ *Listeria monocytogenes* DMST 17303

6) น้ำหวานต้นจากสดและผงมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลกติก ทำให้แบคทีเรียกรดแลกติกเจริญเติบโตได้ดี และสามารถผลิตกรดทำให้ระดับความเป็นกรด-ด่างต่ำลง โดยเฉพาะน้ำตาลจากผงช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลกติกได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับอาหาร MRS สูตรปกติ

โดยสรุปน้ำหวานต้นจากสดในแต่ละพื้นที่มีคุณสมบัติทางเคมี จุลินทรีย์ และคุณค่าทางโภชนาการที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ ส่วนการใช้เคี่ยมเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำหวานต้นจากสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้บางชนิด และน้ำตาลที่มีในน้ำหวานต้นจากสดและผงสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียกรดแลกติกบางชนิดได้

ผลผลิตที่เกิดขึ้นช่วงที่ได้รับทุน

(Output)

- เผยแพร่ผลงานในรูปแบบ โปสเตอร์ ในการเข้าร่วมการประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมใหญ่โครงการส่งเสริมการ วิจัยในระดับอุดมศึกษา ครั้งที่ 4 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี อ .เมือง จังหวัดอุบลราชธานี ในระหว่างวันที่ 5-13 กุมภาพันธ์ 2559

- อยู่ระหว่างการเตรียม manuscript เพื่อเผยแพร่ในวารสาร International Food Research Journal

บรรณานุกรม

(Bibliography)

Aimi N.R., Bakar A.F. and Dzulkifly M.H. 2013. Determination of volatile compound in fresh and fermented *Nipa* sap (*Nypa fruticans*) using static headspace gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *International Food Research Journal*, 20(1): 369-376.

Amoa-Awua W.K., Sampson E. and Tano-Debran K. 2007. Growth of yeast, lactic and acetic bacteria in palm wine during tapping and fermentation from felled oil palm (*Elaeis guineensis*) in Ghana. *Journal of Applied Microbiology*, 102: 599-606.

AOAC. 2012. Official Method 985.35 Minerals (Ca, Mg, Zn, Cu, Mn, Na and K) infant formular. Atomic absorption spectrophotometric method.

AOAC. 2000. Official methods of analysis, 17th edn. Association of official analytical Chemists. Washington D.C.

Chana-Thaworn J., Chanthachum S., Wittaya T. 2011. Properties and antimicrobial activity of edible films incorporated with kiam wood (*Cotyleobium lanceotatum*) extract. *Food Sciences Technology,* 44: 284-292.

Chandrasekhar K., Sreevani S., Seshapani P. and Pramodhakumari J. 2012. A review on palm wine. *International Journal of Research in Biological Sciences,* 2(1): 33-38.

Chandrasekhar K., Sreevani S., Seshapani P., Sreedevi B. and Pramodhakumari J. 2013. Effect of Cocoti palm wine on gastro intestine organism, probiotic *E. coli* Nissle 1917. *International Journal of Current Pharmaceutical Research,* 5(2): 90 92.

Dalibard C. 1999. Overall view on the tradition of tapping palm trees and prospects for animal production. *Livestock Research for Rural Development*, 11(1): Available at: http://www.lrrd.org/lrrd11/1/dali111.htm [accessed 28.08.14].

Dharmapalan B., Jyothish M.S., Ashokan A. and Harinandanan P.V. 2012. Mangrove palm a versatile unique palm. *Journal of Science Reporter*, 49(7): 53-54.

Ebana R.U.B., Etoc C.A. and Edet U.O. 2015. Phytochemical screening and antimicrobial activity of Nypa fruticans harvested from Oporo River in the Niger Delta region of Nigeria. *Journal of Scientific Research*, 10(4): 1120-51124.

Ehrmann A.E., Freiding S. and Vogel F.R. 2009. *Leuconostoc palmae* sp. nov., a novel lactic acid bacterium isolated from palm wine. *African Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59: 943-947.

Francisco-Ortega J. and Zona S. 2013. Sweet sap from palms, a source of Beverages, alcohol, vinegar, syrup and sugar. *Vieraea*, 41: 91-113.

Hossain M.F. and Islam M. A. 2015. Utilization of Mangrove Forest Plant: Nipa Palm (*Nypa fruticans* wurmb.). *American Journal of Agriculture and Forestry*, 3(4): 156-160.

Krishnamoonrthy M. and Arjun P. 2012. Probiotic and antimicrobial activity of bacteria from fermented toddy of Cocus *nucifera*. *Journal of Academia and Industry Research*, 1(3): 127-131.

Manel Z., Sana N., Nedia K., Mokta H. and Ali F. 2011. Microbiological analysis and screening of lactic acid bacteria from Tunisian date palm sap. *International Food Research Journal*, 5(19): 2929-2935.

Ogbonna A.C., Abuajah C.I., Akpan M.F. and Udofia U.S. 2013. A comparative study of the nutritional values of palmwine and Kunu-Zaki. *Annals. Journal of Food Science and Technology,* 14(1): 39-43.

Prasad N., Yang B., Kong K.W., Khoo H.E., Sun J., Azlan A., Ismail A. and Romli Z.B. 2013. Phytochemicals and antioxidant capacity from *Nypa fruticans* Wurmb. Fruit. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-9.

Tamunaidu P. and Saka S. 2011. Chemical characterization of various parts of nipa palm (*Nypa fruticans*). *Journal of Industrial Crops and Products*, 34: 1423-1428.

Tamunaidu P., Matsui N., Okimori Y. and Saka S. 2013. Nipa (*Nypa fruticans*) sap as a potential feedstock for ethanol production. *Biomass and Bioenergy*, 52: 96-102.

Teo S., Ang W.F., Lok A.F.S.L., Kurukulasuriya B.R. and Tan H.T.W. 2010. The status and distribution of the nipa palm *nypa fruticans* wurmb (arecaceae) in singapore. *Journal of Nature in Singapore*, 3: 45-52.

Theerawitaya C., Samphumphaung T., Cha-um S., Yamada N. and Takabe T. 2014. Responses of Nipa palm (*Nypa fruticans*) seedlings, a mangrove species, to salt stress in pot culture. *Journal of Flora-Morphology Distribution Functional Ecology of Plants*, 209: 597-603.

Tsuji K., Ghazalli M.N.F., Ariffin Z., Nordin M.S., Khaidizar M.I., Dulloo M.E. and Sebastian L.S. 2011. Biological and ethanobotanical characteristics of Nipa Plam (*Nypa fructicans* Wurmb.): A Review. *Journal of Sains Malaysiana*, 40(12): 1407-1412.

Ziadi M., Gaabeb N., Marbet A. and Ferchichi A. 2014. Variation in physicochemical and microbiological characteristics of date palm sap (Phoenix dactylifera) during the tapping period in oasian ecosystem of Soutern Tunisia. *International Food Research Journal*, 21(2): 561-567.

ดาสณี นวมศิริ, อรชุมา มีกุล, สุรวัฒน์ ชลอสันติสกุล, จารุณี เกสรพิกุล และธนิต ผิวนิ่ม . 2553. การใช้สารสกัดคาร์โบไฮเดรตจากพืชบางชนิดเป็นพรีไบโอติกส์สำหรับเพาะเลี้ยงแบคทีเรียกรดแลกติก. วารสารคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2: 17-28.

ธณิกานต์ ธรสินธุ์. 2552. การคัดเลือกจุลินทรีย์จากแหล่งต่างๆ เพื่อผลิตเอทานอล . รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย, 142 หน้า.

นพรัตน์ บำรุงรักษ์. 2551. โครงการให้ความช่วยเหลือพื้นที่ป่าจาก ตำบลขนาบนก อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ภาคผนวก

(Appendix)

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ภาคผนวก ก

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) (อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป)

1) Yeast extract	2.5	กรัม
2) Tryptone	5.0	กรัม
3) Glucose	1.0	กรัม
4) Agar	15	กรัม
5) Distilled water	1.0	ลิตร

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันตามปริมาณที่แสดงไว้ ปรับระดับพีเอช 7.1 ± 0.1นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud agar (อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป)

1) Peptone	10.0	กรัม
2) Dextrose	40.0	กรัม
3) Agar	15.0	กรัม
4) Distilled water	1.0	ลิตร

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันตามปริมาณที่แสดงไว้นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Violet Red Bile Lactose Agar (VRBA)
(อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป)

1) Yeast extract	3.0	กรัม
2) Bile salts	1.5	กรัม
3) Peptone	7.0	กรัม
4) Sodium chloride	5.0	กรัม
5) Lactose	10.0	กรัม
6) 1% Neutral red	3.0	มิลลิลิตร

7) 0.05% Crystal violet	4.0	มิลลิลิตร
8) Agar	15.0	กรัม
9) Distilled water	1.0	ลิตร

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันตามปริมาณที่แสดงไว้นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ De Man Rogasa and Sharpe Agar (MRS) (อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป)

1) Proteose peptone	10.0	กรัม
2) Beef extract	10.0	กรัม
3) Yeast extract	5.0	กรัม
4) Dextrose	20.0	กรัม
5) Polysorbate 80 (Tween 80)	1.0	กรัม
6) Ammonium citrate	2.0	มิลลิลิตร
7) Sodium acetate	5.0	มิลลิลิตร
8) Magnesium sulphate	0.1	กรัม
9) Manganese sulphate	0.05	ลิตร
10) Dipotassium phosphate	2.0	กรัม
11) Distilled water	1.0	ลิตร

Final pH (at 25°C) 6.5±0.2

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันตามปริมาณที่แสดง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

5. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB) (อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป)

1) Peptic digests of animal tissue	5.0	กรัม
2) Sodium chloride	5.0	กรัม
3) Beef extract	1.5	กรัม
4) Yeast extract	1.5	กรัม
5) Distilled water	1.0	ลิตร

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันตามปริมาณที่แสดงไว้ปรับค่าพีเอชให้เป็น 7.4 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

ข้อมูลการทดลอง

<u>ตารางภาคผนวก ข ที่ 1</u> ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ความเป็นกรดด่าง และปริมาณของแข็งทั้งหมด) ของน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่

ตัวอย่าง	ลักษณะพื้นที่ปลูกต้นจาก	ระดับความเป็นกรด-ด่าง			ปริมาณของแข็งทั้งหมด (องศาบริกซ์		
		(Rep. 1)	(Rep. 2)	ค่าเฉลี่ย	(Rep. 1)	(Rep. 2)	ค่าเฉลี่ย
1	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	4.78	4.98	4.88	80.05	22.2	21.90
2	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	5.20	4.20	4.70	79.54	22.1	22.50
3	นากุ้งร้าง ต.ขนาบนาก	4.25	4.25	4.26	86.19	16.2	16.20
4	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	4.15	4.54	4.35	84.67	20.8	20.25
5	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	6.00	5.90	5.95	82.15	20.1	19.40
6	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	5.06	4.10	4.58	82.35	16.7	17.75
7	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	7.27	6.44	6.86	85.89	14.6	14.70
8	น้ำจืด ต.เสือหึง	6.00	5.91	5.96	85.92	16.6	16.60
10	น้ำจืด ต.เสือหึง	5.90	6.15	6.03	89.38	13.6	13.60
11	น้ำจืด ต.เสือหึง	6.61	6.27	6.44	86.15	15.2	15.20

<u>ตารางภาคผนวก ข ที่ 2</u> ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ความชื้น และเถ้า) ของน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่

ตัวอย่าง	ลักษณะพื้นที่ปลูกต้นจาก	ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)			เถ้า (เปอร์เซ็นต์)		
		(Rep. 1)	(Rep. 2)	ค่าเฉลี่ย	(Rep. 1)	(Rep. 2)	ค่าเฉลี่ย
1	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	80.05	78.62	79.33	0.20	0.29	0.25
2	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	79.54	81.83	80.69	0.19	0.11	0.15
3	นากุ้งร้าง ต.ขนาบนาก	86.19	87.91	87.05	0.23	0.15	0.19
4	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	84.67	81.09	82.88	0.17	0.29	0.23
5	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	82.15	81.39	81.77	0.20	0.13	0.17
6	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	82.35	84.84	83.59	0.18	0.25	0.22
7	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	85.89	85.96	85.92	0.14	0.16	0.15
8	น้ำจืด ต.เสือหึง	85.92	85.41	85.67	0.15	0.12	0.13
10	น้ำจืด ต.เสือหึง	89.38	89.08	89.23	0.26	0.18	0.22
11	น้ำจืด ต.เสือหึง	86.15	86.56	86.36	0.21	0.16	0.19

<u>ตารางภาคผนวก ข ที่ 3</u> ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ปริมาณกรดทั้งหมด และแอลกอฮอล์) ของน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่

ตัวอย่าง	ลักษณะพื้นที่ปลูกต้นจาก	ปริมาณกรดทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)			แอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์)		
		(Rep. 1)	(Rep. 2)	ค่าเฉลี่ย	(Rep. 1)	(Rep. 2)	ค่าเฉลี่ย
1	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	0.12	0.03	0.08	0.03	0.02	0.02
2	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	0.05	0.12	0.09	0.03	0.01	0.02
3	นากุ้งร้าง ต.ขนาบนาก	0.17	0.13	0.15	0.02	0.02	0.02
4	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	0.17	0.24	0.20	0.01	0.01	0.01
5	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	0.03	0.07	0.05	0.01	0.01	0.01
6	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	0.14	0.21	0.17	0.03	0.04	0.03
7	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	0.04	0.10	0.07	0.03	0.00	0.02
8	น้ำจืด ต.เสือหึง	0.05	0.07	0.06	0.02	0.02	0.02
10	น้ำจืด ต.เสือหึง	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06
11	น้ำจืด ต.เสือหึง	0.05	0.05	0.05	0.02	0.01	0.02

ตารางภาคผนวก ข ที่ 4 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบโภชนาการ (ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ) ในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่

ตัวอย่าง	ลักษณะพื้นที่ปลูกต้นจาก	น้ำตาลฟรุ๊คโตส (เปอร์เซ็นต์)			น้ำตาลกลูโคส (เปอร์เซ็นต์)			น้ำตาลซูโครส (เปอร์เซ็นต์)		
		(Rep. 1)	(Rep. 2)	ค่าเฉลี่ย	(Rep. 1)	(Rep. 2)	ค่าเฉลี่ย	(Rep. 1)	(Rep. 2)	ค่าเฉลี่ย
1	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	0.49	0.46	0.48	2.09	1.285	1.69	17.87	19.725	18.80
2	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	0.59	0.59	0.59	2.63	1.715	2.17	15.69	16.805	16.25
3	นากุ้งร้าง ต.ขนาบนาก	0.57	0.50	0.54	2.18	1.455	1.82	11.17	10.025	10.60
4	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	1.08	1.03	1.06	3.07	2.115	2.59	13.71	13.215	13.46
5	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	0.52	0.50	0.51	2.49	1.565	2.03	12.64	11.885	12.26
6	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	1.79	1.55	1.67	3.16	2.115	2.64	11.48	10.065	10.77
7	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	0.48	0.33	0.41	2.2	1.1	1.65	11.33	8.315	9.82
8	น้ำจืด ต.เสือหึง	0.9	0.75	0.83	2.57	1.52	2.05	11.3	9.895	10.60
10	น้ำจืด ต.เสือหึง	2.87	2.72	2.80	4.57	3.13	3.85	3.52	3.22	3.37
11	น้ำจืด ต.เสือหึง	0.51	0.40	0.46	2.13	1.24	1.69	9.56	9.91	9.74

<u>ตารางภาคผนวก ข ที่ 5</u> ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบโภชนาการ (ปริมาณวิตามินและเกลือแร่) ในตัวอย่างน้ำหวานต้นจากในพื้นที่ต่างๆ ของ ต.ขนาบนาก อ.ปากพนัง และ ต.เสือหึง อ.เชียรใหญ่

ตัวอย่าง	ลักษณะพื้นที่ปลูกต้นจาก	วิตามินซี			โซเดียม			โพแทสเซียม		
		(Rep. 1)	(Rep. 2)	ค่าเฉลี่ย	(Rep. 1)	(Rep. 2)	ค่าเฉลี่ย	(Rep. 1)	(Rep. 2)	ค่าเฉลี่ย
1	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	14.67	13.19	13.93	122.19	119.84	121.02	170.52	176.04	173.28
2	น้ำเค็มจัด ต.ขนาบนาก	12.87	12.45	12.66	94.11	94.13	94.12	181.72	186.46	184.09
3	นากุ้งร้าง ต.ขนาบนาก	8.95	8.32	8.64	77.21	78.14	77.68	174.53	176.29	175.41
4	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	6.21	5.99	6.10	89.44	89.9	89.67	183.94	192.68	188.31
5	น้ำกร่อย ต.ขนาบนาก	6.67	6.84	6.76	65.94	65.54	65.74	162.95	174.37	168.66
6	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	7.47	7.05	7.26	86.88	85.16	86.02	160.05	173.69	166.87
7	เป็นพื้นที่น้ำเค็มมาก่อน ต.ขนาบนาก	7.31	7.84	7.58	74.9	76.15	75.53	166.54	169.08	167.81
8	น้ำจืด ต.เสือหึง	5.68	6.3	5.99	106.07	105.82	105.95	116.79	114.56	115.68
10	น้ำจืด ต.เสือหึง	7.35	7.17	7.26	105.56	101.82	103.69	132.39	134.03	133.21
11	น้ำจืด ต.เสือหึง	7.14	7.11	7.13	100.72	103.85	102.29	185.83	183.09	184.46

<u>ตารางภาคผนวก ข ที่ 6</u> ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD $_{660\ nm}$) ของเชื้อ *L. mersenteroides* TISTR 473 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD $_{660\ nm}$)		
	MRS สูตรปกติ (Normal)	MRS น้ำหวานต้นจากสด (Fresh)	MRS น้ำตาลจากผง (Powder)
0	0.280	0.042	0.179
4	0.055	0.142	0.238
8	0.151	0.894	2.370
12	0.523	0.904	4.030
16	0.791	0.884	4.030
20	0.875	0.871	3.680
24	0.865	0.869	3.680
28	0.830	0.823	3.280
32	0.868	0.828	4.000
36	0.863	0.789	3.750
40	0.872	0.781	3.530
44	0.884	0.775	3.160
48	0.888	0.761	4.180

ตารางภาคผนวก ข ที่ 7 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสง ($OD_{660\ nm}$) ของเชื้อ *L. acidophillus* TISTR 2365 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง ($OD_{660\ nm}$)		
	MRS สูตรปกติ (Normal)	MRS น้ำหวานต้นจากสด (Fresh)	MRS น้ำตาลจากผง (Powder)
0	0.067	0.006	0.076
4	0.012	0.007	0.081
8	0.016	0.020	0.174
12	0.024	0.081	0.049
16	0.034	0.234	0.015
20	0.127	0.184	0.018
24	0.300	0.174	0.023
28	0.260	0.157	0.029
32	0.232	0.154	0.031
36	0.260	0.168	0.030
40	0.281	0.098	0.029
44	0.302	0.085	0.024
48	0.308	0.089	0.022

<u>ตารางภาคผนวก ข ที่ 8</u> ผลการวัดค่าระดับความเป็นกรด-ด่างของเชื้อ *L. mersenteroides* TISTR 473 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าเฉลี่ยระดับความเป็นกรด-ด่าง		
	MRS สูตรปกติ (Normal)	MRS น้ำหวานต้นจากสด (Fresh)	MRS น้ำตาลจากผง (Powder)
0	5.920	5.900	6.270
4	5.940	5.910	6.260
8	5.850	5.270	5.290
12	5.610	5.240	4.820
16	5.290	5.170	4.640
20	5.160	5.140	4.600
24	5.070	5.210	4.600
28	4.930	5.090	4.490
32	4.870	5.090	4.440
36	4.870	5.200	4.570
40	4.850	5.200	4.510
44	4.870	5.190	4.580
48	4.790	5.170	4.540

ตารางภาคผนวก ข ที่ 9 ผลการวัดค่าระดับความเป็นกรด-ด่างของเชื้อ *L. acidophillus* TISTR 2365 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าเฉลี่ยระดับความเป็นกรด-ด่าง		
	MRS สูตรปกติ (Normal)	MRS น้ำหวานต้นจากสด (Fresh)	MRS น้ำตาลจากผง (Powder)
0	6.060	6.580	6.220
4	6.070	6.610	6.170
8	6.020	6.540	6.000
12	6.030	6.490	5.620
16	6.030	6.240	4.880
20	5.920	6.270	4.540
24	5.630	6.270	4.310
28	5.540	6.180	4.110
32	5.50	6.200	4.050
36	5.540	6.260	4.090
40	5.490	6.260	4.080
44	5.410	6.220	4.010
48	5.340	6.220	3.980

ตารางภาคผนวก ข ที่ 10 การเจริญของเชื้อ *L. mersenteroides* TISTR 473 (cfu/ml) เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. mersenteroides* TISTR 473 (cfu/ml)		
	MRS สูตรปกติ (Normal)	MRS น้ำหวานต้นจากสด (Fresh)	MRS น้ำตาลจากผง (Powder)
0	7.00×10^{5}	2.08×10^{5}	1.08×10^{5}
4	8.95×10^{5}	9.80×10^{6}	5.70×10^{6}
8	5.15×10^{7}	2.19×10^{8}	1.82×10^{8}
12	7.20×10^{7}	8.10×10^{7}	1.33×10^{8}
16	6.95×10^{7}	6.60×10^{7}	1.04×10^{8}
20	6.15×10^{7}	8.05×10^{7}	1.17×10^{8}
24	1.60×10^{8}	2.75×10^{8}	5.95×10^{8}
28	1.55×10^{8}	2.75×10^{8}	4.30×10^{8}

ตารางภาคผนวก ข ที่ 11 การเจริญของเชื้อ *L. acidophillus* TISTR 2365 (cfu/ml) เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. acidophillus* TISTR 2365 (cfu/ml)		
	MRS สูตรปกติ (Normal)	MRS น้ำหวานต้นจากสด (Fresh)	MRS น้ำตาลจากผง (Powder)
0	3.55×10^{4}	1.37×10^{5}	3.00×10^{5}
4	6.45×10^{4}	7.65×10^{4}	2.70×10^{5}
8	5.50×10^{5}	8.50×10^{5}	5.50×10^{5}
12	1.05×10^{6}	1.90×10^{6}	8.70×10^{6}
16	4.55×10^{6}	1.18×10^{7}	5.80×10^{7}
20	2.71×10^{7}	7.75×10^{7}	2.60×10^{8}
24	3.35×10^{7}	1.48×10^{8}	3.00×10^{8}
28	1.50×10^{7}	1.39×10^{7}	2.50×10^{8}

ประวัตินักวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย: ดร.ธณิกานต์ ธรสินธุ์

หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย 133 หมู่ 5 ต. ทุ่งใหญ่ อ. ทุ่งใหญ่ จ. นครศรีธรรมราช 80240

โทรศัพท์ 086-7482887

โทรสาร 086-4782887

อีเมล์ blueofbeer@hotmail.com, thanikan.t@rmutsv.ac.th

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับการศึกษา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชาเอก	ชื่อสถาบัน	ประเทศ
2556	เอก	Ph.D.	Food and Nutritional Sciences	University of Reading	United Kingdom
2547	โท	วท.ม. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	เทคโนโลยีชีวภาพ	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ไทย
2543	ตรี	วท.บ. วิทยาศาสตรบัณฑิต	เทคโนโลยีชีวภาพ	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์	ไทย

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

- Gut microbiota
- Molecular Biology
- Probiotics
- Lactic Acid Bacteria

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

1. หัวหน้าโครงการวิจัย : การคัดเลือกจุลินทรีย์จากแหล่งต่าง ๆ เพื่อผลิตเอทานอล งบประมาณปี 2550-2551

2. หัวหน้าโครงการวิจัย : การศึกษาคุณสมบัติทางเคมี จุลินทรีย์ และคุณค่าทางโภชนาการของน้ำหวานต้นจาก งบประมาณปี 2558

ผลงานตีพิมพ์และการนำเสนอผลงาน

1. ธณิกานต์ ธรสินธุ์. 2552. การคัดเลือกจุลินทรีย์จากแหล่งต่างๆ เพื่อผลิตเอทานอล รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย, 142 หน้า.

2. **Thorasin, T.,** Hoyles, L. and McCartny, A. L. (2015). Dynamics and diversity of the '*Atopobium* cluster' in the human faecal microbiota, and phenotypic characterization of '*Atopobium* cluster' isolates. *Microbiology*. 161, 565-579.

3. **Thorasin, T**., Jimenez-Pranteda, M. L., Hoyles, L. and McCartny, A. L. 2013. *Coriobacteriaceae*: could gut bacteria be implicated in lipid metabolism. The 2nd Gut Microbiota for Health Summit. 24th-26th February 2013, Madrid, Spain.

4. McCartny, A. L., **Thorasin, T**. and Hoyles, L. 2012. Investigation of the human faecal *Coriobacteriaceae* population. Exploring Human Host-Microbiome Interactions in Health and Disease. 8th-10th May 2012, Wellcome Trust Conferences Centre. Cambridge, United Kingdom.

5. **Thorasin, T**., Hoyles, L. and McCartny, A. L. 2011. Pilot study investigating the *Coriobacteriaceae* population of the human gastrointestinal microbiota. International Scientific Conference on Nutraceuticals and Functional Foods. 25th-27th October 2011, Kosice, Slovakia.

6. **Thorasin, T**. and Leelawatcharamas, V. 2003. Isolated lactic acid bacteria as soy yogurt starter. The 5th Lactic Acid Bacteria in Thai Food Industry Conference. 29th-30th October 2003. Kasetsart University, Thailand.

ผลงานวิจัยที่กำลังทำ

1. โครงการการวิจัยการศึกษาผลของการเติมเคี่ยมที่มีต่อลักษณะทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของน้ำหวานต้นจาก งบประมาณปี 2559