การพัฒนาผลิตภัณฑ์คอมบูชาจากชาดำโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์

Development of Kombucha Product from Black Tea Using Pure Culture

ปฏิญญา มั่นเกษตรกิจ[1], ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สกุณณี บวรสมบัติ[2]
[1]นักศึกษาระดับปริญญาโท สาขาวิชาจุลชีววิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
[2]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ

คอมบูชา คือ เครื่องดื่มที่ชาหมักได้รับความนิยม ซึ่งประกอบไปด้วยสารประกอบที่มีประโยชน์มากมายโดยเฉพาะสารต้านอนุมูลอิสระที่ถูกผลิตขึ้นจากแบคทีเรียกรดอะซิติก วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือการพัฒนาผลิตภัณฑ์คออมบูชาจากจากชาดำโดยเชื้อบริสุทธิ์ โดยคัดแยกแบคทีเรียกรดอะซิติกจากหัวเชื้อหัวเชื้อคอมบูชาของโรงงานและน้ำหมักผลไม้เพื่อใช้ผลิตคอมบูชาจากชาดำ ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและ ชีวเคมี สามารถคัดแยกแบคทีเรียกรดอะซิติกได้ 38 ไอโซเลท เมื่อตรวจสออบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมี พบว่ามี 34 ไอโซเลทเป็นแบคทีเรียจีนัส *Acetobacter* sp. และ 4 ไอโซเลทเป็นแบคทีเรียจีนัส *Gluconacetobacter* sp. เมื่อทดสอบความสามารถในการผลิตกรด พบว่าไอโซเลท K3-13 สามารถผลิตกรดได้สูงสุด 7.44 g/L และสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นของเอทานอล และกรดอะซิติกสูง 8% และ 4% เมื่อนำไอโซเลท K3-13 มาใช้ในการหมักชาดำเป็นเวลา 21 วัน พบว่าค่า pH ลดลงเหลือ 2.54 ให้ปริมาณกรดสูง 18.08 g/L เมื่อวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric method พบว่ามีปริมาณสูงสุด 43.98 ± 0.6 mg GAE/ml และวิเคราะห์กิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่า มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 139.31 ± 1.2 mg gallic acid / ml

คำสำคัญ แบคทีเรียกรดอะซิติก, สารต้านอนุมูลอิสระ, สารประกอบฟีนอลิก

Abstract

Kombucha tea is popular known as a potent several benefit compounds. Especially antioxidant will be increased by the acetic acid bacteria. The aim of this research is to study the potential of acetic acid bacteria isolated from commercial Kombucha and fermented fruit juice for produce black tea Kombucha using pure culture. The results showed that 38 isolates were selected and biochemical test, these isolates were tested for overoxidation activity to define their genus. 34 isolates were classified as *Acetobacter* sp. and other 4 isolates were *Gluconacetobacter* sp. From acid production was tested K3-13 shown high acid production 7.44 g/L. It could tolerate to acid and alcohol concentration up to 10% and

4% respectively. So K3-13 will be used in black tea Kombucha production. The Folin-Ciocalteu analysis was used for the standard method of phenolic determination and the antioxidant was evaluated by 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity (DPPH). Showed that the maximum total phenolic compounds is 43.98 ± 0.6 mg GAE/ml and antioxidants capacity is 139.31 mg gallic acid / ml

Keywords Acetic acid bacteria**,** Antioxidant, Phenolic compounds

บทนำ

คอมบูชา (Kombucha tea) เป็นเครื่องดื่มชาหมักเพื่อสุขภาพที่เกิดจากการหมักชากับน้ำตาลด้วยจุลินทรีย์ที่ทำงานร่วมกันคือ ยีสต์ และ แบคทีเรียกรดอะซิติกโดยยีสต์จะใช้น้ำตาลในชาหมักเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งจะกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดอะซิติกที่จะใช้แอลกอฮอล์เปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก (Jayabalan *et al*., 2007) คอมบูชาได้รับการบริโภคในหลายประเทศมาเป็นเวลานาน มีการนำชาหลายชนิดมาใช้ในการผลิตคอมบูชาเนื่องจากชาแต่ละชนิดมี สี กลิ่น รสชาติที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของใบชา และกระบวนการผลิต ซึ่งองค์ประกอบของใบชาที่แตกต่างกันเป็นผลมาจากสายพันธุ์ สภาพพื้นที่เพาะปลูก สภาพภูมิอากาศ ลักษณะดิน น้ำ การดูแล และกระบวนการเก็บเกี่ยว โดยชาที่ได้รับความนิยมมากที่สุดในการผลิตคอมบูชาได้แก่ ชาดำ (black tea) เป็นชาที่ผ่านกระบวนการหมักอย่างสมบรูณ์ทำให้ชาดำมีสีน้ำตาลแดง ใบชาจะถูกตากให้เอนไซม์ polyphenol oxidase เร่งปฏิกิริยาอย่างเต็มที่ ซึ่ง polyphenols จะถูก oxidized อย่างสมบรูณ์ (Dufresne and Farnworth, 1999) การศึกษาองค์ประกอบในคอมบูชาพบว่ามีสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น polyphenols, gluconic acid, glucuronic acid, lactic acid, vitamins, amino acid, antibiotics (Jayabalana *et al*., 2008) โดยเฉพาะสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็ง ลดอาการโรคข้ออักเสบ และช่วยการทำงานของไต เป็นต้น (Bhattacharya *et al*., 2013) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาการคัดแยกแบคทีเรียกรดอะซิติกที่สามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ แอลกอฮอล์และปริมาณกรดให้เหมาะสม เพื่อนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ชาหมักให้มีคุณภาพและรสชาติที่ดีต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อคัดแยกแบคทีเรียกรดอะซิติกจากหัวเชื้อคอมบูชาของโรงงานและน้ำหมักผลไม้
2. เพื่อพัฒนาการผลิตคอมบูชาจากดำโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่คัดแยกได้

ขอบเขตการวิจัย

ระยะเวลา 12 เดือน

วิธีดำเนินการวิจัย

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียกรดอะซิติกจากหัวเชื้อคอมบูชาของโรงงาน และน้ำหมักผลไม้ (ดัดแปลงจาก ธารินี, 2557)

นำตัวอย่างหัวเชื้อคอมบูชาที่ได้รับจากโรงงาน น้ำหมักผลไม้ได้แก่ มะขามป้อม, มะรุม, สับปะรด, ลูกยอ, เสาวรส, ลำไย และสมอไทย ทั้งหมด 11 ตัวอย่าง ปิเปตตัวอย่าง 0.1 ml ลงบนอาหาร Bromocresol purple ethanol agar โดยวิธี spread plate technique บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน คัดเลือกโคโลนีของแบคทีเรียที่ทำให้อาหาร Bromocresol purple ethanol agar เปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและย้อมสีแกรม คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่ติดสีแกรมลบ รูปแท่ง นำมาตรวจสอบลักษณะทางชีวเคมี ได้แก่ การเกิดปฏิกิริยา overoxidation บนอาหาร bromocresol green ethanol agar การเจริญในอาหารที่มีเอทานอลเป็นแหล่งคาร์บอน การสร้างไดไฮดรอกซีอะซีโตนจากกลีเซอรอล การสร้างแคตาเลส การสร้างออกซิเดส การสร้างเซลลูโลส การสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส

การคัดแยกเชื้อยีสต์จากน้ำหมักของโรงงาน (ดัดแปลงจาก กุลวดี, 2552)

นำตัวอย่างหัวเชื้อที่ได้รับจากโรงงาน ทำการเจือจางโดยการทำ Serial tenfold dilution ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้ว 0.1 ml ลงบนอาหาร Yeast malt agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและย้อมสีแกรม คัดเลือกเชื้อที่มีขนาดเซลล์ใหญ่ รูปทรงกลม หรือทรงรี มีการแตกหน่อ (budding) เก็บเชื้อบริสุทธิ์ลงในอาหาร Yeast malt agar slant เพื่อนำไปใช้หมักชาต่อไป

การคัดเลือกแบคทีเรียเพื่อใช้ในการผลิตคอมบูชา

คัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดได้สูงสุดซึ่งจะสามารถให้อนุมูลอิสระได้สูงด้วย (Radomir *et al*., 2011) โดยเลี้ยงเชื้อในอาหาร Ethanol yeast extract medium ปริมาณ 50 ml ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 ml นำไปบ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ไตเตรทด้วย 0.1 M สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และใช้ฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ เพื่อวัดปริมาณกรด และพิจารณาความสามารถในการทนกรดในอาหาร potato medium ที่มีกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6% ความสามารถในการทนแอลกอฮอล์ในอาหาร potato medium ที่มีเอทานอลที่ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10% (Romero *et al*., 2012)

การผลิตคอมบูชาจากชาดำ โดยเชื้อแบคทีเรียกรดอะซิติกที่ และยีสต์ที่บริสุทธิ์

ทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียกรดอะซิติกในอาหาร Hestrin & Schramm medium และยีสต์ในอาหาร Yeast malt extract medium บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน นำเชื้อแบคทีเรียกรดอะซิติกและยีสต์มาผสมกันในอัตราส่วน 2:1 เพื่อเป็นหัวเชื้อ จากนั้นต้มน้ำให้เดือด แล้วเติมใบชาดำ 10 g/L ปิดไฟทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้นกรองใบชาทิ้ง เติมน้ำตาลทราย 100 g/L คนให้น้ำตาลทรายละลาย นำไปกรองตะกอนอีกครั้ง เทน้ำชาใส่โหลหมักชาที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปิดด้วยผ้าขาวบาง ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมหัวเชื้อ 10% ลงในชาดำแล้วบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

การวิเคราะห์คอมบูชา

ตรวจนับปริมาณแบคทีเรียกรดอะซิติก และยีสต์ในชาหมักโดย spread technique ลงบนอาหาร Bromcresol purple ethanol agar และYeast malt agar ตามลำดับบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน วิเคราะห์ปริมาณกรด และแอลกอฮอล์ของชาหมักในวันที่ 0, 1, 2, 4, 6, 9, 12, 15, 18 และ 21 โดยวัดค่า pH ด้วย pH meter และตรวจวัดปริมาณกรดทั้งหมดโดยการไตเตรทด้วย 0.1 M สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และใช้ฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ วิเคราะห์ปริมาณ เอทานอล (ethanol) ด้วยเครื่องมือ Ebulliometer (ธารินี, 2557) เก็บตัวอย่างชาหมักในวันที่ 0, 1, 2, 4, 6, 9, 12, 15, 18 และ 21 ตรวจวิเคราะห์ phenolic compound ด้วย Folin-Ciocalteu Colorimetric method (ปรียานันท์, 2549) ตรวจวิเคราะห์ antioxidant activity ด้วย DPPH radical scavenging assay (ปรียานันท์, 2549)

ผลการวิจัย

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียกรดอะซิติกจากหัวเชื้อคอมบูชาของโรงงาน และน้ำหมักผลไม้

การนำตัวอย่างจากหัวเชื้อคอมบูชาของโรงงาน น้ำหมักผลไม้ ทำการคัดแยกเชื้อบนอาหาร Bromcresol purple ethanol agar โดยการ spread plate technique สามารถแยกได้ทั้งหมด 117 ไอโซเลท เมื่อตรวจสอบลักษณะโคโลนีขนาดเล็ก มีสีขาวขุ่น หรือ สีขาวอมเหลือง ลักษณะกลมนูน ขอบเรียบ และทำการย้อมสีแกรม พบว่าติดสีแดง มีลักษณะเป็นแท่งสั้น มีทั้งหมด 38 ไอโซเลท นำมาเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 cm บนอาหาร Bromocresol green ethanol agar และสังเกตภายใน 14 วัน จากทั้งหมด 38 ไอโซเลท เกิดการเปลี่ยนสีอาหารจากสีเขียวเป็นสีเหลือง และเปลี่ยนกลับเป็นสีเขียวสามารถจัดแบ่งจีนัสได้เป็น *Acetobacter* ในแบคทีเรียที่ให้ผลบวกได้ 34 ไอโซเลท และแบคทีเรียที่เปลี่ยนสีอาหารจากสีเขียวเป็นสีเหลืองแล้วไม่มีการเปลี่ยนกลับเป็นสีเขียวในแบคทีเรียที่ให้ผลลบได้ 4 ไอโซเลท *Gluconacetobacter* จากการทดสอบทางชีวเคมีบางประการพบว่าทั้งหมด 38 ไอโซเลท สามารถสร้างเอนไซม์แคตาเลส, ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ออกซิเดส, สามารถเจริญในอาหารที่มีเอทานอลเป็นแหล่งคาร์บอน, สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส, สามารถเกิดการไดไฮดรอกซอะซิโตนจากกลีเซอรอลได้ 34 ไอโซเลท และสามารถสร้างเซลลูโลสได้ 19 ไอโซเลท

การคัดแยกเชื้อยีสต์จากน้ำหมักของโรงงาน

การนำตัวอย่างจากน้ำหมักของโรงงาน ทำการคัดแยกเชื้อบนอาหาร Yeast malt agar โดยการ spread plate technique พบว่า ไอโซเลท KY304 มีลักษณะโคโลนีใหญ่ มีสีขาวขุ่น กลมนูน ขอบเรียบ และทำการส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่ามีเซลล์ขนาดใหญ่ รูปทรงรี

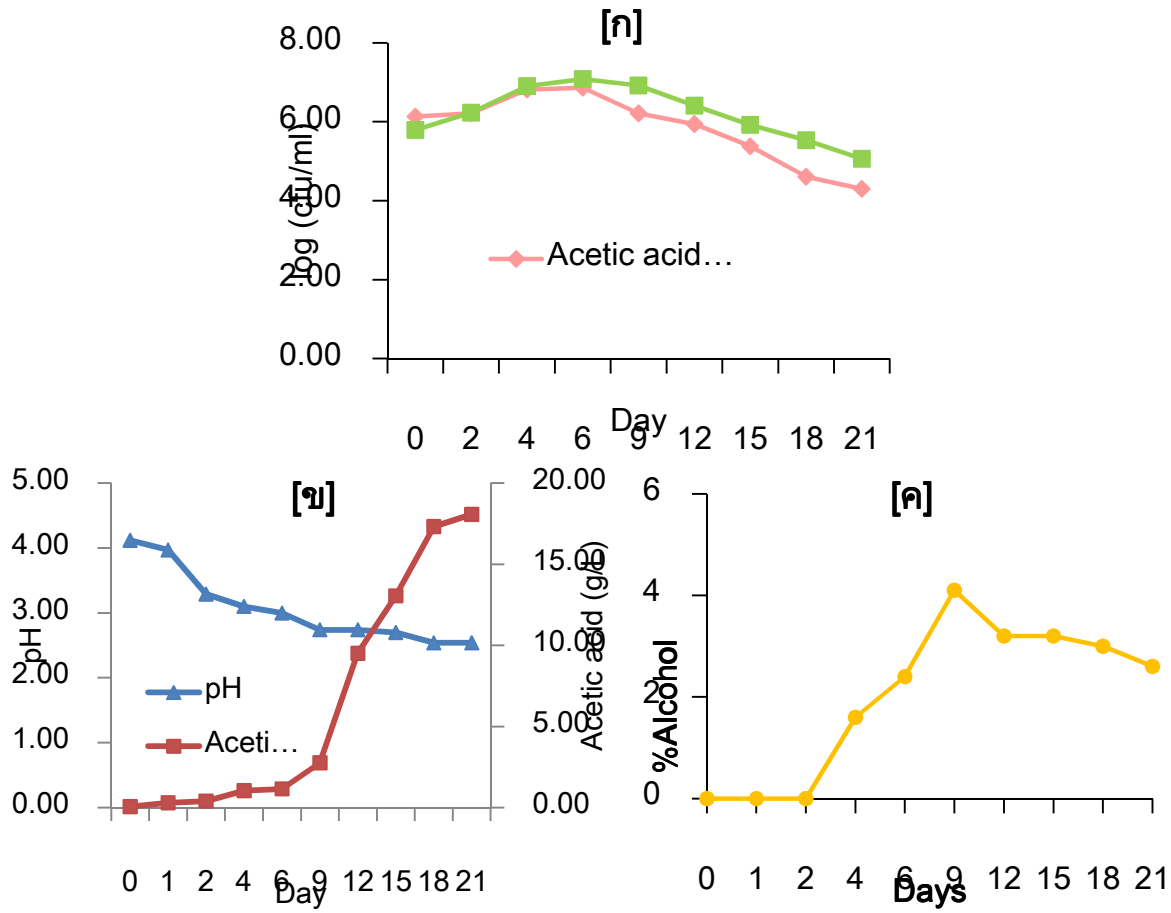
การคัดเลือกแบคทีเรียเพื่อใช้ในการผลิตคอมบูชา

การคัดเลือกเชื้อที่สามารถสร้างกรดได้ในอาหาร Ethanol yeast extract medium เป็นเวลา 7 วัน พบว่ามี 4 ไอโซเลทสามารถผลิตกรดอะซิติกได้สูงสุด โดยไอโซเลท K3-13, K3-02, K6-04 และK2-03 ให้ปริมาณกรดอะซิติกคือ 7.44, 6.92, 4.68 และ 3.90 g/L ตามลำดับ

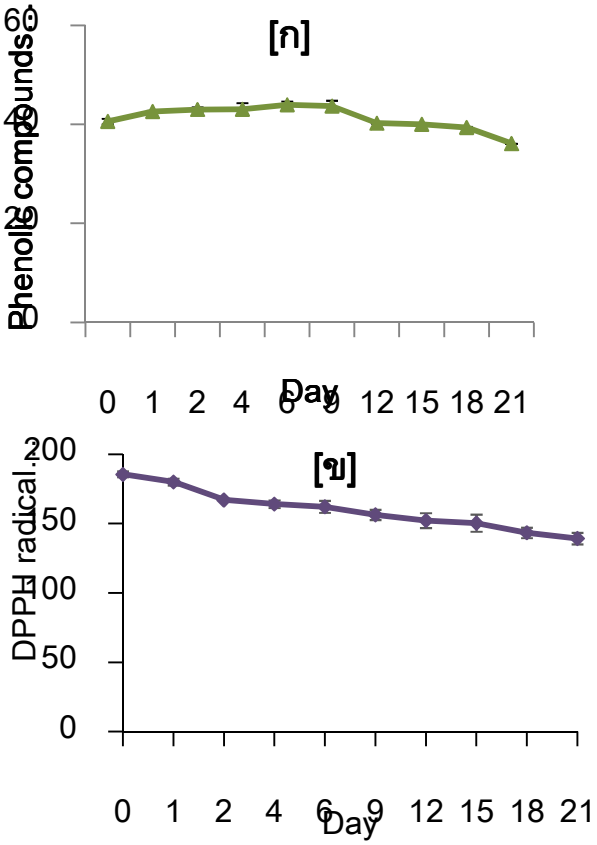
การทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อในอาหารที่มีความเข้มข้นของแอทานอล 0, 2, 4, 6, 8 และ 10% ในอาหารที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6% พบว่าทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นของเอทานอล 2, 4 และ 6% สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1% และ 2% ไอโซเลท K2-07 และ K3-13 สามารถเจริญได้ในอาหารที่ความเข้มข้นของแอทานอลสูงสุด 8% ไอโซเลท K3-13 สามารถเจริญได้ในอาหารที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกสูงสุด 3%

การวิเคราะห์สารประกอบในคอมบูชา

ในการผลิตคอมบูชาจากชาดำกับแบคทีเรียกรดอะซิติกไอโซเลท K3-13 และยีสต์ที่คัดแยกได้จากหัวเชื้อของโรงงาน พบว่าการเจริญของจุลินทรีย์แบคทีเรียกรดอะซิติก และยีสต์มีปริมาณสูงสุดในวันที่ 6 ของการหมัก คือ 6.86 และ 7.08 log CFU/ml ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักในวันที่ 21 ปริมาณจุลินทรีย์แบคทีเรียกรดอะซิติก และยีสต์ลดลงเหลือ 4.30 และ 5.06 log CFU/ml ตามลำดับ เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ปริมาณกรดอะซิติกจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุด 18.08 g/L ค่า pH ลดลงเหลือ 2.54 ปริมาณแอลกอฮอล์มีปริมาณสูงสุดคือ 4.1% ในวันที่ 9 ของการหมัก ดังแสดงในภาพ 1



ภาพ 1 การวิเคราะห์สารประกอบในการหมักคอมบูชาจากชาดำกับแบคทีเรียกรดอะซิติกไอโซเลท K3-13 และยีสต์ที่คัดแยกได้จากหัวเชื้อของโรงงาน **[ก] :** ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์, **[ข]** : การเปลี่ยนแปลงค่า pH และปริมาณกรดอะซิติก และ **[ค]** : ปริมาณแอลกอฮอล์



ภาพ 2 การวิเคราะห์สารประกอบในการหมักคอมบูชาจากชาดำกับแบคทีเรียกรดอะซิติกไอโซเลท K3-13 และยีสต์ที่คัดแยกได้จากหัวเชื้อของโรงงาน **[ก] :** phenolic compound และ **[ข]** : antioxidant activity

เมื่อวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric method พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 43.98 ± 0.6 mg gallic acid /ml และวิเคราะห์กิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่าในวันสุดท้ายของการหมักมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 139.31 ± 1.2 mg gallic acid/ml ดังแสดงในภาพ 2

อภิปรายผลการวิจัย

จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียกรดอะซิติกจากหัวเชื้อคอมบูชาของโรงงาน และน้ำหมักผลไม้ สามารถคัดแยกแบคทีเรียกรดอะซิติกได้ทั้งหมด 38 ไอโซเลท โดยทำการจำแนกแบคทีเรีย จากการทดสอบทางชีวเคมีพบแบคทีเรียกรดอะซิติกในจีนัส *Acetobacter* 34 ไอโซเลทและ *Gluconacetobacter* 4 ไอโซเลท ซึ่งเป็นจีนัสที่พบได้บ่อยในตัวอย่างน้ำหมัก สอดคล้องกับงานวิจัยของ Puspita et al. (2003) ทำการคัดแยกและจัดจำแนกแบคทีเรียกรดอะซิติกในประเทศอินโดนีเซีย ไทย และฟิลิปปินส์ ได้ทั้งหมด 331 โซเลท พบว่าอยู่ในจีนัส *Acetobacter* 157 ไอโซเลท และอยู่ในจีนัส *Gluconacetobacter* 67 ไอโซเลท รายงานของ Ilkin

และ Seniz (2011) พบว่า *Acetobacter* และ *Gluconacetobacter* ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มอย่างแพร่หลาย

จากการทดสอบความสามารถในการผลิตกรด พบว่าไอโซเลท K3-13, K3-02, K6-04 และK2-03 ให้ปริมาณกรดอะซิติกคือ 7.44, 6.92, 4.68 และ 3.90 g/L ตามลำดับน้อยกว่างานวิจัยของ กุลวดี (2552) พบว่าไอโซเลทที่ 37 สามารถผลิตกรดได้สูง 13.53 g/L ความสามารถในการเจริญในอาหารที่มีความเข้มข้นของแอทานอล 0, 2, 4, 6, 8 และ 10% ในอาหารที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6% พบว่าทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1% และ 2% ความเข้มข้นของเอทานอล 2, 4 และ 6% แต่ไอโซเลท K3-13 สามารถเจริญได้ในอาหารที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกสูงสุด 3% และในอาหารที่ความเข้มข้นของแอทานอลสูงสุด 8% ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัย Romero-Cortes *et al.* (2012) พบว่าเชื้อ *A. tropicalis* ITV61 ที่แยกได้จากโกโก้หมักทนเอทานอลได้สูงสุด 7 % และธารินี (2557) พบว่ามี 19 ไอโซเลทที่สามารถเจริญได้มนอาหารที่มีความเข้มข้นของเอทานอล 4-12% และกรดอะซิติก 1-3% แต่มีเพียงไอโซเลท P1, P4, P6, P8, S3, S8 และ S11 ที่ให้ปริมาณกรดอะซิติกสูง 16.92-18.12 g/L

จากการผลิตชาหมักจากชาดำกับแบคทีเรียกรดอะซิติกไอโซเลท K3-13 และยีสต์ไอโซเลท KY304 พบว่าการเจริญของจุลินทรีย์แบคทีเรียกรดอะซิติก และยีสต์มีปริมาณสูงสุดในวันที่ 6 ของการหมัก คือ 6.86 และ 7.08 log CFU/ml ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักในวันที่ 21 ปริมาณจุลินทรีย์แบคทีเรียกรดอะซิติก และยีสต์ลดลงเหลือ 4.30 และ 5.06 log CFU/ml ตามลำดับ เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นปริมาณกรดอะซิติกจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุด 18.08 g/L ค่า pH ลดลงเหลือ 2.54 ปริมาณแอลกอฮอล์มีปริมาณสูงสุดคือ 4.1% ในวันที่ 9 ของการหมัก โดยปริมาณกรดที่ได้น้อยกว่างานวิจัย Zhiwei *et al.* (2010) ทำการผลิตชาหมักจากชาดำกับเชื้อผสม พบว่ามีปริมาณของแบคทีเรียกรดอะซิติกสูงสุดในวันที่ 4 คือ 7.87 log CFU/ml และลดลงจากการลดลงของ pH เหลือ 2.5 สามารถผลิตกรดได้ 34.06 g/L เนื่องจากอาจมีการสนับสนุนกันในการผลิตกรดของเชื้อผสม

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก Folin-Ciocalteu Colorimetric method พบว่ามีการเพิ่มขึ้นและลดลงเล็กน้อย โดยมีปริมาณสูงสุดคือ 43.98 ± 0.6 mg gallic acid equivalent/ml และวิเคราะห์กิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่าในวันสุดท้ายของการหมักมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 139.31 ± 1.2 mg gallic acid equivalent/ml ซึ่งจากเช่นเดียวกับงานวิจัยของ Panee *et al.* (2015) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีการลดลง 0.446-0.854 mg gallic acid equivalent/ml และมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 0.377-0.512 mg gallic acid equivalent/ml

ข้อเสนอแนะ

ในการผลิตชาหมักโดยเชื้อแบคทีเรียกรดอะซิติก ควรศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์เพื่อให้เชื้อมีประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

Bhattacharya S., Gachhui R. and Sil C.P. (2013). Effect of Kombucha, a fermented black tea in attenuating oxidative stress mediated tissue damage in alloxan induced diabetic rats. Food and Chemical Toxicology, 60, 328-340.

Dufresne C. and Farnworth E. (1999). Tea, Kombucha, and health: a review. Food Research International, 33, 409-421.

Ilkin Yucel Sengun and Seniz Karabiyikli. (2011). Importance of acetic acid bacteria in food industry. Food Control, 22 (2011), 647-656.

Jayabalan R., Marimuthu S. and Swaminathan K. (2007). Changes in content of organic acids and tea polyphenols during Kombucha tea fermentation. Food Chemistry, 102, 392–398.

Jayabalan R., Marimuthu S., Thangaraj P., Sathishkumar M., Binupriya A.R., Swaminathan K. and Sei E.Y. 2008. Preservation of Kombucha tea - effect of temperature on tea components and free radical scavenging properties. Journal of Agricultural Food Chemistry, 56(19), 9064–9071.

Panee Sririsa, Sakunnee Bovvonsombut, Chatchai Kitipornchai, Surapol Natakarnkitkul, Yingmanee Tragoolpua, Wipawan Pukampong, Tharinee Klawpiyapamornkun and Suwalee Kiatkarun. (2015). Development of Kombucha: Fermented tea beverage. International Journal of Tae Science, 11(1-2), 9-13.

Puspita Lisdiyanti, Kazushige Katsura, Wanchern Potacharoen, Richard R. Navarro, Yuzo Yamada, Tai Uchimura and Kazuo Komagata. (2003). Diversity of Acetic Acid Bacteria in Indonesia, Thailand, and the Philippines. Microbiology and Culture Collections, 19(2), 91-99.

Radomir V.M., Eva S.L., Jasmina S.V. and Jasna M.C. (2011). Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. Food Chemistry, 127, 1727–1731.

Romero C.T., Robles O.V., Rodriguez J.G. and RamírezL.M. (2012). Isolation and characterization of acetic acid bacteria in cocoa fermentation. African Journal of Microbiology Research, 6(2), 339-347.

Zhiwei Yang, Feng Zhou, Baoping Ji, Bo Li, Yangchao Luo and Li Yang. (2010). Symbiosis between Microorganisms from Kombucha and Kefir: Potential Significance to the Enhancement of Kombucha Function. Appl Biochem Biotechnology, 160, 446-455.

กุลวดี คตชนะเลขา. (2552). การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเวย์เต้าหู้และน้ำเวย์เนยแข็ง. ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ธารินี กล่าวปิยะภมรกุล. (2557). การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากผลลำไยอบแห้งเปลือก. ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ปรียานันท์ บัวสด. (2549). การตรวจสอบความสามารถในการเป็นแอนตี้ออกซิแดนของเครื่องดื่มชาโดยวิธีไซคลิกโวลแทมเมตรี. ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีวิเคราะห์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร.