จุลินทรีย์ที่พบในโรตีปาแย

Microorganisms in Roti Payae

ธนุสรา เหล่าเจริญสุข[1*] และ จรรยา ท้าวเชื้อลาว[1]

[1]ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี จังหวัดปัตตานี 94000

[*]Corresponding Author, E-mail: tanussara.l@psu.ac.th

บทคัดย่อ

ศึกษาจุลินทรีย์ในโรตีปาแยซึ่งมีส่วนประกอบได้แก่ แป้งสาลี (5 กิโลกรัม) น้ำตาลทราย (1.5 ถ้วยตวง) นมข้นหวาน (200 กรัม) เกลือป่น (5 ช้อนชา) ยีสต์ผง (5-6 ช้อนชา) เนย (1 ช้อนโต๊ะ) และน้ำเปล่า (2 ลิตร) เก็บตัวอย่างเมื่อเริ่มต้นหมักจากแหล่งผลิต 3 แหล่งในอำเภอเมืองจังหวัดปัตตานี เพื่อศึกษาชนิดของจุลินทรีย์และสมบัติทางเคมี ที่ระยะเวลาหมัก 9 ชั่วโมง ผลการศึกษาโรตีปาแยพบว่ามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดแบคทีเรียกรดแลคติคและยีสต์ในช่วง 6.13 - 6.96, 4.60 - 5.47 และ 7.56 - 8.32 log CFU/g ตามลำดับ พบแบคทีเรียสร้างสปอร์และรา <1log CFU/g แบคทีเรียกรดแลคติค จำนวน 16 ไอโซเลท จำแนกได้เป็น *Leuconostoc* sp. 15 ไอโซเลท (94 เปอร์เซนต์) และ *Lactobacillus* sp. 1 ไอโซเลท (6 เปอร์เซนต์) สมบัติทางเคมีของโรตีปาแยมีค่าความเป็นกรด ด่างปริมาณกรดทั้งหมดและความชื้น คือ 4.94 - 5.27, 0.35 - 0.38 เปอร์เซ็นต์ และ 42.13 – 45.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ABSTRACT

Microorganisms in Roti Payae were investigated. Main ingredients of Roti Payae are wheat flour (5 kilograms), sugar (1.5 cups), sweetened condensed milk (200 grams), salt (5 teaspoons), baker yeast (5-6 teaspoons), butter (1 tablespoon) and water (2 litres). Samples of Roti Payae were collected after preparation from 3 production sources in Amphur Muang, Pattani Province. Microorganisms and chemical analyses were performed during 9 hour fermentation. The results showed that total bacterial count, lactic acid bacteria and yeast were 6.13 - 6.96, 4.60 - 5.47 and 7.56 - 8.32 log CFU/g, respectively. Spore forming bacteria and mold were <1log CFU/g. From sixteen isolates of lactic acid bacteria, *Leuconostoc* sp. were identified in 15 isolates (94%) and *Lactobacillus* sp. was found in 1 isolate (6%). As for chemical analysis of Roti Payae, it was found that pH, total acidity and moisture content were 4.94 - 5.27,0.35 - 0.38 % and 42.13 – 45.20%, respectively.

คำสำคัญ: โรตีปาแย แบคทีเรียกรดแลคติก ยีสต์

Keywords: Roti Payae, Lactic acid bacteria, Yeast

บทนำ

แป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มาจากเมล็ดธัญพืช เช่น แป้งสาลี แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวโพด ฯลฯ ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญในโภชนาการของมนุษย์ อาหารส่วนใหญ่จะมีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักของทุกชนชาติ โดยการนำแป้งมาประกอบอาหารทั่วๆ ไป เช่น ขนมปัง ก๋วยเตี๋ยว และพาสต้า ฯลฯ (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล, 2550) อาหารอีกชนิดหนึ่งที่ทำจากแป้งสาลีได้แก่ โรตี คำว่า “โรตี” เป็นคำศัพท์ที่พบได้ในหลายภาษา ได้แก่ ภาษาฮินดู อินโดนีเซีย มาลายู ซึ่งหมายถึงขนมปัง โรตีเป็นอาหารที่ทำจากแป้งที่ผ่านการนวดแล้วนำไปทอดหรือปิ้งเป็นแผ่นบางๆ รับประทานเป็นของหวานหรือรับประทานพร้อมอาหารคาวอื่นๆ ในประเทศไทยจะคุ้นเคยกับโรตีที่ทอดเป็นแผ่นนุ่ม ราดด้วยนมข้นหวานและน้ำตาลทราย บริโภคเป็นอาหารหวานซึ่งชาวไทยมุสลิมในสามจังหวัดชายแดนภาคใต้ของประเทศไทยเรียกโรตีชนิดนี้ว่า โรตีจาไน ส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตโรตีจาไนได้แก่ แป้งสาลี ไข่ นมข้นหวาน เนย และน้ำเปล่าการนำแป้งมาทอดจะเหวี่ยงแป้งโรตีจนเป็นแผ่นแบนมากแล้วพับ นำแป้งที่พับแล้วมาทอดในน้ำมัน (กองบรรณาธิการนานมีบุ๊ค, 2556; วิกิพีเดีย, 2560) นอกจากนี้มีโรตีอีกชนิดหนึ่งมีชื่อเรียกว่าโรตีปาแย ซึ่งโรตีปาแยเป็นอาหารพื้นบ้านของชาวไทยมุสลิมในสามจังหวัดชายแดนภาคใต้ของประเทศไทย โรตีปาแยทำให้สุกโดยการย่างหรือปิ้ง สมัยก่อนจะย่างหรือปิ้งบนปากโอ่งจึงเรียกว่าโรตีปาแย (ปาแย แปลว่า โอ่ง) หรือโรตีปากโอ่ง การบริโภคโรตีปาแยนิยมรับประทานเป็นอาหารเช้าหรืออาหารเย็นโดยบริโภคเป็นอาหารคาวหรืออาหารหวานการบริโภคเป็นอาหารคาวจะรับประทานกับน้ำสะเต๊ะหรือน้ำแกง ถ้าบริโภคเป็นอาหารหวานจะจิ้มกับนมข้นหวาน (สำนักงานส่งเสริมการปกครองท้องถิ่น จังหวัดปัตตานี, 2556) โรตีปาแยส่วนใหญ่มีการผลิตเป็นอุตสาหกรรมระดับครัวเรือน แป้งหมักโรตีปาแยมีกลิ่นหมักที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะมีความเหนียวนุ่มส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตโรตีปาแย ได้แก่ แป้งสาลี เกลือป่น นมข้นหวาน น้ำตาลทราย เนย ผงเชื้อยีสต์และน้ำเปล่า การทำแป้งหมักโรตีปาแยโดยการนำส่วนผสมมาคลุกเคล้าให้เข้ากัน นวดแป้งเป็นเวลาประมาณ 20-30 นาทีทิ้งไว้ให้เกิดการหมักเป็นเวลา 5-6 ชั่วโมง นำแป้งมาปั้นให้เป็นก้อนกลม (รูปที่ 1ก) ทำให้แบนนำมาทอดจะได้โรตีปาแย โรตีปาแยจะแตกต่างจากโรตีชนิดอื่นคือเป็นโรตีชิ้นใหญ่หนา เนื้อโรตีจะฟูนุ่ม (รูปที่ 1ข) ส่วนประกอบของวัตถุดิบและวิธีการผลิตมีรายละเอียดแตกต่างกันไป ส่วนใหญ่ถูกเก็บเป็นความลับในท้องถิ่นนั้นๆ โดยทั่วไปการผลิตแป้งหมักโรตีปาแยมีการเติมผงเชื้อยีสต์ที่จำหน่ายในท้องตลาดทำให้ไม่สามารถควบคุมคุณภาพของแป้งหมักได้อย่างสม่ำเสมอ แป้งหมักที่ได้อาจมีความแตกต่างในด้านสี ลักษณะเนื้อสัมผัส และกลิ่นรส ในระหว่างการหมักมีจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องหลายชนิดซึ่งอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญต่อคุณภาพของแป้งหมักโรตีปาแย แป้งที่เลือกใช้อาจมีจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการปะปนอยู่มาก (บุญศรี, 2552) เนื่องจากยังไม่มีผู้ศึกษาจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับแป้งหมักโรตีปาแย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาจุลินทรีย์ในแป้งหมักโรตีปาแยเพื่อต้องการทราบชนิดของจุลินทรีย์ในแป้งหมักสำหรับเป็นแนวทางในการนำจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ไปประยุกต์ใช้เพื่อปรับปรุงการผลิตให้มีรสชาติตามความต้องการของผู้บริโภค

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างแป้งหมักโรตีปาแย

เก็บตัวอย่างแป้งหมักจากแหล่งผลิตโรตีปาแยที่นิยมบริโภคจำนวน 3 แหล่งในอำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี โดยผู้ผลิตทั้งสามรายนวดแป้งให้เข้ากัน แล้วนำตัวอย่างบรรจุใส่ในภาชนะที่สะอาดนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ

2. การศึกษาปริมาณจุลินทรีย์จากแป้งหมักโรตีปาแย

เก็บตัวอย่างแป้งหมักที่ระยะเวลา 0, 3, 6 และ 9 ชั่วโมง นำตัวอย่างมา 25 กรัม เจือจางด้วยเปปโตน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 225 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องตีป่นอาหารและเจือจางตัวอย่างต่อในระดับที่เหมาะสม ตรวจนับปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดโดยเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร plate count agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจหาปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร de Man Rogosa Sharpe agar (MRS) เติม 0.004 % bromcresol purple และ 0.02 % sodium azide บ่มจานเพาะเชื้อใน anaerobic jar ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นับจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก เลือกโคโลนีที่มีบริเวณสีเหลืองรอบโคโลนี เก็บโคโลนีเดี่ยวไว้ใน MRS agar slant ตรวจหาแบคทีเรียสร้างสปอร์ใช้ตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 1/10 นำไปต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที แล้วแช่น้ำเย็นทันที ตรวจนับปริมาณแบคทีเรียสร้างสปอร์โดยเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหาร plate count agar บ่มที่อุณหภูมิ

37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจนับปริมาณยีสต์และรา โดยเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหาร Malt extract yeast extract (MY) agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง (Collins and Lyne, 1995)

3. การจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากกระบวนการผลิตโรตีปาแย

แบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดแยกได้นำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาสรีรวิทยาและสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ ได้แก่ การย้อมสีแกรมเพื่อศึกษารูปร่างการจัดเรียงตัว ตรวจสอบการสร้างเอนโดสปอร์ การเคลื่อนที่ การสร้างเอนไซม์คะตะเลส การสร้างเอนไซม์ออกซิเดส การรีดิวส์ไนเตรท การย่อยเจลาติน ความสามารถในการเจริญในอาหารที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 4.5 และ 9.6 ความสามารถในการหมักน้ำตาลชนิดต่างๆ ตามวิธีการของ Collins and Lyne (1995) และ Delost (1998) นำผลการตรวจสอบมาจำแนกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในระดับสกุลโดยใช้อนุกรมวิธานของแบคทีเรีย Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (De Vos et al., 2009)

4. การศึกษาสมบัติทางเคมีจากแป้งหมักโรตีปาแย

ตัวอย่างแป้งหมักที่ระยะเวลาเริ่มหมักและ 9 ชั่วโมง นำมาหาค่าความเป็นกรดด่างปริมาณกรดทั้งหมดและความชื้น (AOAC, 2000)

ผลการวิจัย

จากการสอบถามผู้ผลิตโรตีปาแยจำนวน 3 แหล่งผลิต พบว่าการผลิตโรตีปาแยมีส่วนประกอบ ได้แก่ แป้งสาลี 5 กิโลกรัม น้ำตาลทราย 1.5 ถ้วยตวง นมข้นหวาน 200 กรัม เกลือป่น 5 ช้อนชา ยีสต์ผง 5-6 ช้อนชา เนย 1 ช้อนโต๊ะ และน้ำเปล่า 2 ลิตร นำส่วนผสมมาคลุกเคล้าให้เข้ากัน นวดแป้งเป็นเวลาประมาณ 20-30 นาที ทิ้งไว้ให้เกิดการหมัก เป็นเวลา 5-6 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาทอดผู้ผลิตจาก 3 แหล่ง ใช้แป้งสาลีที่มีเครื่องหมายทางการค้าแตกต่างกัน ผู้ผลิตแหล่งที่ 3 เติมยีสต์ผงในปริมาณมากกว่าผู้ผลิตอีก 2 แหล่ง ตัวอย่างแป้งหมักโรตีปาแย จำนวน 3 แหล่งผลิต เมื่อเริ่มหมักมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 3.13 - 3.84 Log CFU/กรัม แบคทีเรียกรดแลคติก 2.48 Log CFU/กรัม เมื่อระยะเวลาผ่านไป 3 และ 6 ชั่วโมงมีปริมาณเพิ่มขึ้นและจะลดจำนวนลงที่ระยะเวลาหมัก 9 ชั่วโมง โดยแบคทีเรียทั้งหมดมีจำนวน 6.13 - 6.96 Log CFU/กรัม แบคทีเรียกรดแลคติก 4.60 – 5.47 Log CFU/กรัม เมื่อเริ่มหมักยีสต์มีจำนวน 7.25 - 8.09 Log CFU/กรัม และเพิ่มจำนวนตลอดระยะเวลาการหมักที่ระยะเวลาหมัก 9 ชั่วโมง ยีสต์มีจำนวน 7.56 – 8.32 Log CFU/กรัม พบราและแบคทีเรียสร้างสปอร์ <1Log CFU/กรัม ตลอดระยะเวลาการหมักทั้งสามแหล่งผลิต (ตารางที่ 1) สมบัติทางเคมีของแป้งหมักโรตีปาแย จำนวน 3 แหล่งผลิต ค่าความเป็นกรดด่างเมื่อเริ่มต้นหมักมีค่า 5.08 - 6.02 เมื่อหมักเป็นเวลา 9 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรดด่างลดลงเป็น 4.94 - 5.27 ปริมาณกรดทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นหมักมีค่า 0.27 - 0.36 เปอร์เซนต์ เมื่อหมักเป็นเวลา 9 ชั่วโมง ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 0.35 - 0.38 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณความชื้นเมื่อเริ่มต้นหมักมีค่า 42.06 - 45.15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อระยะเวลาผ่านไป 9 ชั่วโมง ปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (ตารางที่ 2) แบคทีเรียกรดแลคติกคัดแยกได้จำนวน 16 ไอโซเลท จำแนกเป็น *Leuconostoc* sp. จำนวน 15 ไอโซเลท (94 เปอร์เซนต์) เป็นแบคทีเรีย รูปร่างกลม เซลล์ต่อกันเป็นสายสั้นๆ หรือเป็นคู่ส่วน *Lactobacillus* sp. จำนวน 1 ไอโซเลท (6 เปอร์เซนต์) เป็นแบคทีเรียรูปร่างท่อนเซลล์ต่อกันเป็นสายสั้นๆแบคทีเรียทั้งสองสกุลมีความสามารถในการใช้น้ำตาลบางชนิดแตกต่างกัน (ตารางที่ 3)

(ก)

(ข)

รูปที่ 1 (ก) แป้งหมักโรตีปาแยจากแหล่งผลิต อำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี (ข) โรตีปาแยทอด **ที่มา:** รูปถ่ายโดยผู้วิจัย

ตารางที่ 1 จุลินทรีย์ในแป้งหมักโรตีปาแยจากแหล่งผลิตต่างๆ

จุลินทรีย์ (log cfu/g)	**ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)**			
($\overline{X}$ ±SD)	**0**	**3**	**6**	**9**
แหล่งผลิตที่ 1				
Total aerobic plate count	3.13± 0.91	4.21± 0.13	7.27± 0.20	6.96± 0.03
Lactic acid bacteria	2.48± 0.0	4.69 ± 0.05	5.72± 0.06	4.60± 0.09
Yeast	7.4± 0.08	7.46± 0.06	7.54± 0.06	7.56± 0.06
Mold	<1	<1	<1	<1
Endospore forming bacteria	<1	<1	<1	<1
แหล่งผลิตที่ 2				
Total aerobic plate count	3.84± 0.04	4.65± 0.34	6.28± 0.21	6.2± 0.13
Lactic acid bacteria	2.48± 0.0	5.42± 0.24	6.13± 0.21	5.47± 0.03
Yeast	7.25± 0.04	7.43± 0.01	7.47± 0.01	7.56± 0.01
Mold	<1	<1	<1	<1
Endospore forming bacteria	<1	<1	<1	<1
แหล่งผลิตที่ 3				
Total aerobic plate count	3.58± 0.14	4.96± 0.01	7.13± 0.03	6.13± 0.17
Lactic acid bacteria	2.48± 0.0	5.28± 0.02	6.06± 0.06	5.17± 0.06
Yeast	8.09± 0.01	8.17± 0.06	8.23± 0.01	8.32± 0.38
Mold	<1	<1	<1	<1
Endospore forming bacteria	<1	<1	<1	<1

ค่าเฉลี่ย ($\overline{X}$) จากการทดลองจำนวน 2 ซ้ำ

ตารางที่ 2 สมบัติทางเคมีของแป้งหมักโรตีปาแยจากแหล่งผลิตต่างๆ

สมบัติทางเคมี	**แหล่งผลิตที่ 1**		**แหล่งผลิตที่ 2**		**แหล่งผลิตที่ 3**	
($\overline{X}$ ±SD)	**0 ชั่วโมง**	**9 ชั่วโมง**	**0 ชั่วโมง**	**9 ชั่วโมง**	**0 ชั่วโมง**	**9 ชั่วโมง**
ความเป็นกรดด่าง	6.02± 0.22	5.27± 0.74	5.08± 0.10	4.94± 0.01	5.49± 0.33	4.94± 0.16
ปริมาณกรดทั้งหมด (เปอร์เซนต์)	0.27± 0.07	0.35± 0.11	0.36± 0.04	0.38± 0.08	0.32± 0.01	0.38± 0.01
ความชื้น (เปอร์เซนต์)	42.55± 0.05	42.57± 0.04	45.15± 0.04	45.20± 0.13	42.06± 0.04	42.13± 0.01

ค่าเฉลี่ย ($\overline{X}$) จากการทดลองจำนวน 2 ซ้ำ

ตารางที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดแยกจากแป้งหมักโรตีปาแย จำนวน 3 แหล่งผลิต

ลักษณะที่ศึกษา		
Colony color	white	white
Shape	cocci	bacilli
Gram reaction	+	+
Arrangement	pairs or chains	short chains
Aerobic growth	+	+
Anaerobic growth	+	+
Endospore forming	-	-
Motility test	-	-
Catalase reaction	-	-
Oxidase reaction	-	-
Nitrate reduction	-	-
Gelatin liquefaction	-	-
Growth in broth pH 4.4	+	+
Growth in broth pH 9.6	-	-
Substrate fermentation		
Glucose	+	+
Lactose	+	+
Sucrose	+	+
Rhamnose	-	+
Raffinose	-	+
Sorbitol	-	+
Isolates	1-15	16
Identification	*Leuconostoc*spp.	*Lactobacillus* sp.

+ หมายถึง ผลการทดสอบเป็นบวก - หมายถึง ผลการทดสอบเป็นลบ

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการสอบถามผู้ผลิตโรตีปาแยระยะเวลาที่ใช้หมักแป้งคือ 5-6 ชั่วโมง การศึกษาครั้งนี้เก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้น 3, 6 และ 9 ชั่วโมง เพื่อดูแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงทางจุลชีววิทยาและสมบัติทางเคมีหลังจาก 6 ชั่วโมงไปแล้ว แป้งหมักโรตีปาแยจากสามแหล่งผลิตเมื่อเริ่มต้นหมักมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและยีสต์แตกต่างกัน แบคทีเรียทั้งหมดปะปนมากับแป้ง น้ำ อากาศ มือของผู้ผลิตและสิ่งของอื่นๆ ที่สัมผัสกับแป้งหมัก

(Gadaga et al., 2013; Hall, 2011) เช่นเดียวกับ Wink (2009) รายงานว่าแบคทีเรียที่พบในขั้นตอนการเตรียมแป้งขนมปังจะปะปนมากับแป้งที่ใช้ผลิต ทำให้แหล่งผลิตที่ต่างกันพบแบคทีเรียทั้งหมดในปริมาณที่แตกต่างกัน แป้งหมักโรตีปาแยจากแหล่งผลิตที่ 3 มีปริมาณยีสต์มากกว่าแหล่งผลิตที่ 1 และ 2 เนื่องจากมีการเติมผงยีสต์ในปริมาณมากกว่า อีกทั้งแป้งหมักโรตีจากแหล่งที่ 3 มีสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์มากกว่าแป้งโรตีจากอีกสองแหล่ง แบคทีเรียกรดแลคติกมีปริมาณเท่ากันทั้งสามแหล่งผลิตแบคทีเรียทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์มีปริมาณเพิ่มขึ้นที่ระยะเวลาหมัก 3 และ 6 ชั่วโมง แต่แบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียกรดแลคติกลดลงที่ระยะเวลาหมัก 9 ชั่วโมง พบราและแบคทีเรียสร้างสปอร์ปริมาณน้อยตลอดระยะเวลาการหมักทั้งสามแหล่งผลิตอาจเป็นเพราะมีการเลือกใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพ นอกจากนี้ในก้อนแป้งหมักโรตีมีออกซิเจนในปริมาณจำกัดซึ่งไม่เหมาะกับราและแบคทีเรียสร้างสปอร์ที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญและระยะเวลาในการบ่มสำหรับการหมักแป้งเพื่อทำโรตีนั้นใช้ระยะเวลาสั้นทำให้พบการเจริญของจุลินทรีย์ดังกล่าวในปริมาณน้อย ยีสต์มีบทบาทในแป้งหมักโรตีปาแยทำให้แป้งมีลักษณะฟู เหนียวนุ่มมีรูพรุนซึ่งเกิดจากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่สร้างจากยีสต์ แบคทีเรียกรดแลคติกที่มีความสามารถย่อยแป้ง (Amylolytic lactic acid bacteria) พบได้จากการคัดแยกจุลินทรีย์ในอาหารหมักจากแป้ง แบคทีเรียสามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลสย่อยแป้งทำให้เกิดกลูโคสและซูโครสโดยเกิดขึ้นตามธรรมชาติจากแป้งที่ใช้หมักซึ่งเป็นประโยชน์ต่อกระบวนการหมักแบคทีเรียดังกล่าวได้แก่ *Leuconostoc* sp. และ *Lactobacillus* sp. (Kohajdova and Karovicova, 2007; Reddy et al., 2008; Guyot, 2012) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้แบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดแยกได้คือ *Leuconostoc* sp. และ *Lactobacillus* sp. นอกจากนี้ Blandino et al. (2003) Kohajdova and Karovicova (2007) และ Asmahan and Muna (2009a) กล่าวถึงความสัมพันธ์แบบถ้อยทีถ้อยอาศัยของยีสต์กับแบคทีเรียกรดแลคติกในอาหารหมักจากแป้งว่าการเพิ่มจำนวนของยีสต์ในอาหารหมักเกิดจากสภาพแวดล้อมเป็นกรดที่สร้างโดยแบคทีเรียกรดแลคติก ขณะที่การเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกได้รับสารเสริมการเจริญ เช่น วิตามิน สารประกอบไนโตรเจนที่ละลายได้จากยีสต์ การเจริญร่วมกันของจุลินทรีย์ดังกล่าวระหว่างการหมักจะสร้างสารที่ทำให้เกิดกลิ่นรสของอาหารหมักแป้งหมักโรตีปาแยมีค่าความเป็นกรดด่างลดลง ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับรายงานของ Kohajdova and Karovicova (2007) และ Ray and Montet (2015) ที่กล่าวถึงกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักทำให้ค่าความเป็นกรดด่างลดลง ปริมาณกรดทั้งหมด เช่นกรดแลคติกเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Asmahan and Muna (2009b) กล่าวถึงการหมัก kisra ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์แป้งหมักจากแป้งข้าวฟ่างโดยวิธีการหมักตามธรรมชาติในประเทศซูดาน ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพไม่แน่นอนแต่ถ้าหากทำการหมักโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์ทำให้สามารถควบคุมกระบวนการหมักได้และผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพดีมีรสชาติสม่ำเสมอ (Asmahan and Muna, 2009a) ซึ่งจากการศึกษาแป้งหมักโรตีปาแยในครั้งนี้เป็นการหมักตามธรรมชาติมีเฉพาะการเติมยีสต์ ถ้าหากมีการเติมแบคทีเรียกรดแลคติกจากที่คัดแยกได้ในแป้งหมักโรตีปาแยจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีและมีรสชาติสม่ำเสมอ

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาจุลินทรีย์ในแป้งหมักโรตีปาแยจากแหล่งผลิตจำนวน 3 แหล่งในอำเภอเมืองจังหวัดปัตตานี ที่ระยะเวลาหมักเริ่มต้น 3, 6 และ 9 ชั่วโมง พบแบคทีเรียทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มขึ้นจากเริ่มหมักจนถึง 6 ชั่วโมงหลังจากนั้นจะลดจำนวนลง ส่วนยีสต์เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาหมัก แบคทีเรียกรดแลคติกมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการหมักทำให้ค่าความเป็นกรดด่างของผลิตภัณฑ์ลดลงในขณะที่ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น แบคทีเรียกรดแลคติกที่พบได้แก่ *Leuconostoc* sp. และ *Lactobacillus* sp. ทั้งแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์เจริญเติบโตในแป้งหมักทำให้เกิดกลิ่นรสและเนื้อสัมผัสของโรตีปาแยอย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยขั้นพื้นฐานที่ทำให้ทราบจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการหมักแป้งโรตีปาแย เพื่อเป็นแนวทางในการนำแบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดแยกได้ไปเติมในรูปกล้าเชื้อบริสุทธิ์ร่วมกับยีสต์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพสม่ำเสมอ มีกลิ่นรส และเนื้อสัมผัสที่ดี หากมีการนำแบคทีเรียกรดแลคติกไปใช้ประโยชน์ในรูปกล้าเชื้อบริสุทธิ์ควรมีการศึกษาทางอนุกรมวิธานเพื่อระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียก่อนนำไปใช้ประโยชน์ในขั้นตอนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. (2550). เทคโนโลยีของแป้ง. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 1-102.

กองบรรณาธิการนานมีบุ๊คส์. (2556). พิสดารตำนานอาหารอาเซียน. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์นานมีบุ๊คส์. หน้า 54-55.

บุญศรี จงเสรีจิตต์. (2552). จุลชีววิทยาทางอาหาร. นครปฐม: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร. หน้า 1-7.

วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. (2560). โรตีจาไน, แหล่งข้อมูล: http://wikivisually.com/lang-th/wiki/ ค้นเมื่อวันที่ 21 พฤษภาคม 2560.

สำนักงานส่งเสริมการปกครองท้องถิ่นจังหวัดปัตตานี. (2556). โรตีปาแย (โรตีจิ้มน้ำแกง), แหล่งข้อมูล: http://www.pattanilocal.go.th/hotel3/view.php?album_id=40. ค้นเมื่อวันที่ 15 ตุลาคม 2559.

AOAC. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Washington. DC: Association of Official Analytical Chemists. chapter 32. pp. 1-12.

Asmahan, A.A. and Muna, M.M. (2009a). Use of starter culture of lactic acid bacteria and yeasts in the preparation of kisra, a Sudanese fermented food. Pakistan Journal of Nutrition 8(9): 1349-1353.

Asmahan, A.A. and Muna, M.M. (2009b). Isolation, characterization and identification of lactic acid bacteria from fermented soghum dough used in Sudanese *Kisra* preparation. Pakistan Journal of Nutrition 8(11): 1814-1818.

Blandino, A., Al-Aseeri, M.E., Pandiella, S.S., Cantero, D. and Webb, C. (2003). Cereal-based fermented foods and beverages. Food Research International 36: 527-543.

Collins, C.H. and Lyne, P.M. (1995). Collins and Lyne's Microbiological Methods. 7th ed. Oxford: Butterworth – Heinemann. pp. 94-374.

Delost, M. D. (1998). Introduction to Diagnost Microbio-logy: A Text and Workbook. St. Louis: Mosby-Year Book Inc. pp. 265-266.

De Vos, P., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.-H. and Whitman, W.B. (2009). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd ed. Volume Three. New York: Springer. pp. 465-626.

Gadaga, T.H., Lehohla, M. and Ntuli, V. (2013). Traditional fermented foods of Lesotho. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences 2(6): 2387- 2391.

Guyot, J.P. (2012). Cereal-based fermented foods in developing countries: Ancient foods for modern research. International Journal of Food Science and Technology 47(6): 1109–1114.

Hall, S. (2011). Why Bread has holes and grows mold. from http://www. The science of bread making. com. Retrieved October, 11, 2016.

Kohajdova, Z. and Karovicova, J. (2007). Fermentation of cereals for specific purpose. Journal of food and Nutrition Research 46(2): 51-57.

Ray, R.C. and Montet, D. (2015). Microorganisms and fermentation of Traditional Foods. New York: CRC Press Taylor & Francis Group. pp. 78-88.

Reddy, G., Altaf, M.D., Naveena, B.J., Venkateshwar, M. and Kumar, E.V. (2008). Amylolytic bacterial lactic acid fermentation-A review. Biotechno-logy Advances 26: 22-34.

Wink, D. (2009). Lactic Acid fermentation in Sourdough. from http://www. thefreshloaf. com. Retrieved October, 15, 2016.

❑❑❑❑❑