

ผลของมะพร้าวระยะสุกต่าง ๆ และปัจจัยแวดล้อมต่อคุณภาพน้ำมันมะพร้าวหมักด้วยแบคทีเรีย

กรดแลกติก *Lactobacillus plantarum* (BCC 47647)

The Different Stages of Coconut Fruit and Environmental Factors Affect to the Quality of Coconut Oil Fermented by *Lactobacillus plantarum* (BCC 47647)

ฉัตรชัย สังข์ผุด^{1*} จีราภรณ์ สังข์ผุด² และชุตินุช สุจริต³

Chatchai Sungpud^{1*}, Jeeraporn Sungpud² and Chutinut Sujarit³

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาดัชนีการสุกของมะพร้าว (*Cocos nucifera* L.) และการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักสกัดน้ำมันมะพร้าวสกัดเย็นเพื่อเพิ่มคุณภาพและปริมาณผลผลิต ด้วยการนำมะพร้าวระยะสุก 4 ระยะ มาคั้นน้ำกะทิแล้วนำมาผสมกับน้ำ 1:1 กวนผสม 1,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที แช่เย็น -18 °C นาน 2 ชั่วโมง แยกครีมมาบรรจุใส่โถแก้ว เติมน้ำเกลือ *Lactobacillus plantarum* (BCC 47647) ร้อยละ 1.0 บ่มที่อุณหภูมิ 35°C นาน 24 ชั่วโมง พบว่า การใช้มะพร้าวระยะสุกห่ามีกะลา สีดำขึ้น มีร้อยละการเก็บเกี่ยวน้ำมันจากครีมสูงสุดเท่ากับ 81.71 คิดเป็นปริมาณผลผลิตน้ำมันร้อยละ 31.45 ของครีมหลังจากกำจัดน้ำออกจากน้ำมันมะพร้าวแล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง นาน 2 เดือน พบว่า น้ำมันมะพร้าวมีค่าคุณภาพทุกปัจจัยอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของ มพช. 670/2547 และมาตรฐาน อย. ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 57 (พ.ศ. 2524) โดยมีความชื้นร้อยละ 0.11 ค่าซาฟอนิฟิเคชัน 258 mg KOH/g กรดไขมันอิสระในรูปกรดลอริกร้อยละ 0.22 ค่ากรด 0.76 ค่าเปอร์ออกไซด์ 1.48 meq/kg และค่าแอนิซิดิน 0.22

คำสำคัญ: น้ำมันมะพร้าวสกัดเย็น การสกัด การหมัก *Lactobacillus plantarum*

Abstract

The objectives of this research were to select harvest index of the coconut fruit (*Cocos nucifera* L.) and optimal conditions for virgin coconut oil production in order to increase oil quantity and quality. Four different stages of coconut fruit were examined to identify the most suitable stage for oil production. Coconut milk squeezed from coconut kernel was kept separately depending on their maturity. Four sets of milk were mixed at 1,500 rpm with water as 1:1 for 10 min, then stored at -18°C for 2 hrs. After that, coconut cream was separated to transparent glass bowl and fermented by *Lactobacillus plantarum* (BCC 47647). The results signify that Ripe-coconut could maximize the amount of crude-oil as 81.71% and virgin oil recovery as 31.45%, when the coconut cream was fermented by pure 1 % culture at 35°C for 24 hrs. After discarding water retained and storing the oil for 2 months, the chemical properties which are moisture (0.11%), saponification value (258 mg KOH/g), Lauric acid (0.22%), acid value (0.76), peroxide value (1.48 meq/kg) and Anisidine value (0.22), reach the standards of coconut oil set by the Thai Industrial Standards Institute (OTOP standard 670/2004) and the Thai Food and Drug Administration (notification No. 57/1981).

Keywords: Virgin Coconut Oil, Extraction, Fermentation Process, *Lactobacillus plantarum*

¹ ผศ., คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช นครศรีธรรมราช 80280

² นักวิทยาศาสตร์ ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช นครศรีธรรมราช 80280

³ ผศ., คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ตรีัง 92150

* Corresponding author: e-mail: Chatchai-sung@hotmail.com Tel. 089-1542768

บทนำ

ปี พ.ศ. 2556 ไทยมีพื้นที่ปลูกมะพร้าว 1,337,364 ไร่ ให้ผลผลิต 1,056,658 ตัน [1] มีการส่งออกเพียง 51,491 ตัน [2] ในขณะที่ข้อมูลจาก Global Trade Atlas (2012) พบว่าปี พ.ศ. 2554 สหรัฐอเมริกานำเข้าน้ำมันมะพร้าวดิบ 255,510 ตัน คิดเป็นมูลค่า 436,540 พันดอลลาร์สหรัฐฯ ส่วนใหญ่นำเข้าจากฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย และมาเลเซีย สำหรับประเทศไทยผลผลิตมะพร้าวเพียงร้อยละ 2 เท่านั้นที่ถูกแปรรูปเป็นน้ำมันมะพร้าวโดยใช้กระบวนการหมักตามธรรมชาติ [3] น้ำมันมะพร้าวใช้เป็นส่วนผสมอาหารสุขภาพ เครื่องสำอาง และยารักษาโรค เนื่องจากเป็นแหล่งของกรดไขมันสายปานกลางที่สำคัญคือกรดลอริก (C12) ประมาณร้อยละ 50 และกรดคาปริก (C10) ประมาณร้อยละ 10 [4] ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ต่อด้านเชื้อไวรัส HIV, herpes virus, Junin virus, vesicular stomatitis virus, cytomegalovirus และ influenza รวมทั้งยับยั้งแบคทีเรียก่อโรควางชนิด ได้แก่ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenes* [5] วิธีการสกัดน้ำมันมะพร้าวทำได้หลายวิธี ได้แก่ วิธีทางกายภาพ เคมี การใช้เอนไซม์ และการหมัก วิธีทางกายภาพเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุดในระดับอุตสาหกรรมแต่มีข้อจำกัดคือต้องลงทุนเครื่องจักรที่มีราคาแพง มักมีการปนเปื้อนของแมลงและเชื้อราในวัตถุดิบมะพร้าวแห้ง ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายจากสารอะฟลาทอกซินได้ วิธีทางเคมีนิยมสกัดด้วยตัวทำละลายเบนซีน และเฮกเซน วิธีนี้ได้ผลผลิตสูงแต่เป็นวิธีที่เสี่ยงอันตรายและการลงทุนสูง สำหรับการหมักเป็นเทคโนโลยีที่เหมาะสมกับบริบทของเกษตรกรรายย่อยในท้องถิ่นคือเน้นการใช้แรงงานและต้นทุนต่ำ แต่มีข้อจำกัดคือผลผลิตต่ำและคุณภาพทางด้านเคมีคือมีความชื้นและปริมาณกรดไขมันอิสระสูง [6] แต่สามารถส่งเสริมพฤติกรรมการต้านอนุมูลอิสระและเมตาบอลิซึมของไขมันได้ดีกว่าน้ำมันที่สกัดจากมะพร้าวแห้ง [7] การสกัดน้ำมันมะพร้าวด้วยวิธีการหมักได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่องโดยเฉพาะการประยุกต์ใช้เชื้อบริสุทธิ์ เช่น ยีสต์ขนมปัง [8] แบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* 1041 IAM [9] *Lactobacillus bulgaricus* [10] *Bacillus licheniformis* strain BK23 [11] ซึ่งยังไม่มีข้อสรุปที่แน่ชัดเกี่ยวกับชนิดของจุลินทรีย์ที่เหมาะสม แต่ส่วนใหญ่ พบว่าเป็นกลุ่มแบคทีเรียแลคติก นอกจากนี้จากการสัมภาษณ์ผู้ผลิตน้ำมันมะพร้าวในท้องถิ่นจังหวัดนครศรีธรรมราชพบข้อสังเกตว่าดัชนีสุกของมะพร้าวเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลกระทบต่อกระบวนการหมัก

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของดัชนีสุกมะพร้าวและการควบคุมสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักน้ำมันมะพร้าวโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* (BCC 47647) ต่อการเพิ่มปริมาณและคุณภาพของผลผลิตน้ำมันมะพร้าว

วิธีการวิจัย

วัตถุดิบ

มะพร้าว (*Cocos nucifera* L.) พันธุ์หนักเปลือกนอกทรงกลมแป้น ขนาดผลใหญ่ น้ำหนักเฉลี่ย 899 ± 64 กรัม จากสวนเกษตรกรในพื้นที่ตำบลคลองน้อย อำเภอบางแพ จังหวัดนครศรีธรรมราช และเก็บรักษาไว้ในที่ร่ม

กล้าเชื้อและวิธีการเตรียม

นำเชื้อ *Lactobacillus plantarum* (BCC 47647) จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) มาปรับสภาพและเลี้ยงขยายในอาหารสูตรพัฒนาใหม่ [12] ซึ่งประกอบด้วย น้ำกะทิ 1,000 มิลลิลิตร (เตรียมจากการนำเนื้อมะพร้าวขูดมาบดด้วยความดัน 40 ปอนด์/ตารางนิ้ว) น้ำตาลซูโครส 20 กรัม ยีสต์สกัด 5.0 กรัม โพแทสเซียมไฮโดรเจนทาเทรต 2.0 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต 0.1 กรัม และแมงกานีสซัลเฟต 0.1 กรัม ผสมให้เข้ากันบรรจุใส่ขวดแก้วขนาด 100 มิลลิลิตร จำนวน 50 มิลลิลิตร ต่อขวด พร้อมปิดฝา นึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ตั้งให้เย็น เติมน้ำที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำไปนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศทั้งหมด (aerobic plate count, APC) ด้วยวิธี USDA-BAM Online [13] โดยใช้เทคนิคการเกลี่ยบนผิวหน้าของอาหาร Plate Count Agar ได้ประมาณ 1.0×10^5 CFU/ml

วิธีการศึกษาผลของดัชนีการสุกมะพร้าว

1. **กรรมวิธีการเตรียมกะทิและครีม** นำผลมะพร้าวระยะสุกที่แตกต่างกัน 4 ระยะ คือ 1) ระยะเริ่มสุกเมื่อเขย่าจะเริ่มได้ยินเสียงน้ำข้างใน เปลือกข้างนอกสีเขียว กะลาสีขาว 2) ระยะสุกห้าวเปลือกเขียว กะลาสีดำ 3) ระยะสุกหล่น ห้าวเต็มทีเปลือกนอกเป็นสีน้ำตาล และ 4) ระยะเริ่มงอกหน่อ นำมาขูดเอาเนื้อ วัดปริมาณเนื้อมะพร้าวด้วยการชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาปริมาณผลผลิตเนื้อมะพร้าวเฉลี่ยต่อผล และวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ตามวิธี AOAC, 2000, official method 954.02 [14] เข้าเครื่องบีบโดยใช้ความดัน 40 ปอนด์/ตารางนิ้ว นำกะทิที่ได้ผสมกับน้ำกรอง อัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก กวนผสมความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที นาน 15 นาที แล้วบรรจุลงพลาสติก แช่เย็น -18°C เวลา 2 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการแยกชั้นของครีม เก็บส่วนที่เป็นครีมวัดปริมาณไขมัน [14] เพื่อใช้สำหรับการสกัดน้ำมันต่อไป

2. **ขั้นตอนการหมักสกัดน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์** นำครีมของมะพร้าวที่ระยะสุกต่าง ๆ 1,000 กรัม ใส่ขวดแก้วใสทรงกระบอกขนาดบรรจุ 2.0 ลิตร กวนผสมความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที นาน 15 นาที นำมาหมักในตู้บ่มอุณหภูมิ 35 °C นาน 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการแยกชั้นน้ำมัน ตักชั้นน้ำมันกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 เพื่อแยกส่วนครีมที่ติดมาระหว่างการตก บรรจุขวดแก้วใสออกซิเจนบริเวณผิวหน้าขวดด้วยเป่าไล่ด้วยก๊าซไนโตรเจนเพื่อป้องกันการหืนของน้ำมัน ปิดฝาแล้วชั่งน้ำหนักของน้ำมันที่ได้เพื่อวิเคราะห์หาร้อยละผลผลิต (yield) คำนวณร้อยละการเก็บเกี่ยวไขมัน (% oil recovery) เทียบกับเนื้อมะพร้าว จากสูตร

$$\% \text{ yield} = [\text{น้ำมันที่สกัดได้ (g)} / \text{น้ำหนักเนื้อมะพร้าว (g)} \text{ หรือ น้ำหนักครีม (g)}] \times 100$$

$$\% \text{ oil recovery} = [\% \text{ yield} / \% \text{ ไขมันในเนื้อมะพร้าว หรือ \% ไขมันในครีม}] \times 100$$

วิธีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักสกัดด้วยกล้ำเชื้อ

นำผลมะพร้าวระยะที่สุกห้าว กะลาสีดำ มาแยกครีมตามวิธีข้างต้น วัดปริมาณไขมันในครีม [13] ก่อนนำไปศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักสกัดด้วยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* (BCC 47647) ดังนี้

1. **ผลของพีเอช** ปรับค่าพีเอชของครีมเป็น 3 ระดับ คือ 4.0 5.0 และ 6.0 ด้วยกรดอะซิติก 1.0 M. เติมกล้ำเชื้อร้อยละ 1.0 กวนผสมแล้วหมักสกัดในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35°C นาน 24 ชั่วโมง

2. **ผลของอุณหภูมิ** ปรับค่าพีเอชของครีมเป็น 6.0 ด้วยกรดอะซิติก 1.0 M. เติมกล้ำเชื้อร้อยละ 1.0 กวนผสม แล้วหมักสกัดในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 5 ระดับ คือ 20 25 30 35 และ 45°C นาน 24 ชั่วโมง

3. **ผลของระยะเวลาหมัก** ปรับค่าพีเอชของครีมเป็น 6.0 ด้วยกรดอะซิติก 1.0 M. เติมกล้ำเชื้อร้อยละ 1.0 กวนผสม แล้วหมักสกัดในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35°C นาน 4 ระดับ คือ 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง

จากนั้นกรองแยกน้ำมันเพื่อเปรียบเทียบ ร้อยละผลผลิต และร้อยละการเก็บเกี่ยวไขมันเทียบกับครีม

การวิเคราะห์คุณภาพของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

นำน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ที่แยกได้บรรจุใส่ขวดแก้วขนาด 1000 มิลลิลิตร กำจัดความชื้นที่ติดอยู่ในน้ำมัน ด้วยวิธีการอังในอ่างน้ำร้อน นาน 1 ชั่วโมง ไล่ออกซิเจนบริเวณผิวหน้าขวดโดยเป่าไล่ด้วยก๊าซไนโตรเจน เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 2 เดือน วัดค่าคุณภาพเปรียบเทียบกับมาตรฐาน ดังนี้คือ วัดค่าความชื้น (Moisture content, MC) ด้วยวิธี ISO 622: 1998 [15] วัดค่าซาฟอนิฟิเคชัน (Saponification value; SN) ด้วยวิธี IUPAC 2.202 [16] วัดร้อยละกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid; FFA) ด้วยวิธี ISO 660: 1996 [17] วัดค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value; PV) ด้วยวิธี IUPAC 2.501 [16] ค่าแอนิซิติน (AnV) ด้วยวิธี AOCS methods, Cd 18-90 [18] และคำนวณค่าการเกิดออกซิเดชันทั้งหมดหรือ Totox จากสูตร การเกิดออกซิเดชันทั้งหมด = ค่าแอนิซิติน + (2*ค่าเปอร์ออกไซด์) [19]

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (One Way Analysis of Variance; ANOVA) และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของตัวอย่างโดย วิธี Duncan's new Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 20

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

ผลการศึกษาดัชนีการสุกของมะพร้าว

ผลการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์เนื้อมะพร้าวต่อผล พบว่า มะพร้าวตั้งแต่ระยะเริ่มสุกเขย่าได้ยืนเสียงดังของน้ำข้างในจนถึงระยะสุกหล่นมีค่าร้อยละเนื้อมะพร้าวต่อผลสูงสุด (64.8-67.9) ที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในขณะที่มะพร้าวเริ่มงอกหน่อมีค่าร้อยละเนื้อมะพร้าวต่อผลต่ำสุดเพียงร้อยละ 54.0 ± 8.6 แต่อย่างไรก็ตามมีค่าร้อยละน้ำมันในเนื้อมะพร้าวสูงสุดถึงร้อยละ 36.73 ± 2.57 ซึ่งแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) กับระยะอื่น ๆ อย่างชัดเจน (ตารางที่ 1) ซึ่งจะเห็นได้ว่า มะพร้าวที่มีค่าดัชนีการสุกสูงขึ้นมีแนวโน้มให้ร้อยละของเนื้อมะพร้าวต่อผลลดลง แต่ค่าร้อยละน้ำมันในเนื้อมะพร้าวมีแนวโน้มสูงขึ้น ดังนั้นเมื่อนำไปแยกครีมและหมักสกัดน้ำมัน จึงพบว่า มะพร้าวระยะแตกหน่อสามารถหมักให้เกิดการแยกชั้นน้ำมันได้ดีและให้ค่าร้อยละผลผลิตน้ำมันสูงสุด 22.84 ± 1.11 กรัมต่อ 100 กรัมเนื้อมะพร้าว แต่เมื่อคำนวณในรูปของร้อยละการเก็บเกี่ยวน้ำมันจากเนื้อมะพร้าว พบว่า มะพร้าวตั้งแต่ระยะสุกหัวจนถึงระยะงอกหน่อมีค่าร้อยละการเก็บเกี่ยวน้ำมันจากเนื้อมะพร้าวที่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่าในช่วงร้อยละ 59.46-62.38

ตารางที่ 1 ผลของระยะความสุกของมะพร้าวต่อผลได้เนื้อมะพร้าวและน้ำมันมะพร้าว

ดัชนีการสุก	ร้อยละเนื้อมะพร้าวต่อผล	ร้อยละน้ำมันในเนื้อมะพร้าว	ร้อยละผลผลิตน้ำมัน (กรัม/100 กรัมเนื้อ มะพร้าว)	ร้อยละการเก็บเกี่ยวน้ำมันจากเนื้อมะพร้าว
เริ่มสุก	67.9 ± 4.7^a	29.78 ± 0.45^c	13.25 ± 2.80^c	44.45 ± 9.08^b
สุกหัว	66.8 ± 2.5^a	30.26 ± 0.32^{bc}	17.99 ± 0.30^b	59.46 ± 1.46^a
สุกหล่น	64.8 ± 5.0^a	31.89 ± 0.79^b	19.06 ± 1.41^b	59.76 ± 4.11^a
งอกหน่อ	54.0 ± 8.6^b	36.73 ± 2.57^a	22.84 ± 1.11^a	62.38 ± 4.04^a

หมายเหตุ : เครื่องหมาย a, b และ c ในแต่ละสดมภ์ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$)

โดยการทดสอบความแตกต่าง ของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT; ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักสกัดด้วยกล้ำเชื้อ

1. ผลของพีเอชที่ใช้ในการหมักสกัด ผลการนำมะพร้าวระยะสุกหัว มาหมักสกัดด้วยกล้ำเชื้อ *Lactobacillus plantarum* พบว่า การปรับค่าพีเอชของครีมเป็น 4.0 ทำให้น้ำมันมีการแยกชั้นน้อยมาก แต่เมื่อเพิ่มระดับค่าพีเอชเป็น 5.0 6.0 และ 6.2 ซึ่งเป็นชุดควบคุมเกิดการแยกชั้นระหว่างน้ำมันกับน้ำและฝ้าครีมข้างบนค่อนข้างสมบูรณ์ ซึ่งทำให้ง่ายต่อการกรองแยกเพื่อเก็บเกี่ยวน้ำมัน โดยผลการปรับค่าพีเอชของครีมเป็น 6.0 หรือชุดควบคุม (พีเอช 6.2) ให้ค่าร้อยละการเก็บเกี่ยวน้ำมันจากครีมสูงสุดร้อยละ 81 ไม่แตกต่างทางสถิติกับการหมักที่ระดับ พีเอช 5.0 (ตารางที่ 2) การทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์กลุ่มที่ช่วยทำให้เกิดการแยกชั้นของไขมันด้วยการทำลายอิมัลชันคือพีเอช 6.0 หากค่าพีเอชมีสภาพเป็นกรดสูง (พีเอช 4.0) พบว่า จะเกิดการแยกชั้นน้อยมากและยังเกิดกลิ่นหมักอีกด้วย

2. ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักสกัด การควบคุมอุณหภูมิในการหมักสกัดที่ต่ำหรือสูงเกินไปมีผลต่อพฤติกรรมการแยกชั้นของน้ำมันที่แตกต่างกัน กล่าวคือ ผลการหมักสกัดที่อุณหภูมิ 20 °C มีผลทำให้น้ำมันไม่เกิดการแยกชั้นทำให้ไม่สามารถสกัดน้ำมันออกมาได้ แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการหมักให้สูงขึ้นเป็น 25 °C เริ่มมีการแยกชั้นเพียงบางครั้งแต่ไม่สม่ำเสมอ ซึ่งให้ ร้อยละการเก็บเกี่ยวน้ำมันที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับการหมักที่อุณหภูมิอื่น ๆ (ตารางที่ 2) เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการหมักให้สูงขึ้นเป็น 30 35 40 และ 45 °C การแยกชั้นของน้ำมันก็จะดีขึ้นตามลำดับ โดยให้ค่า ร้อยละการเก็บเกี่ยวน้ำมันที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 81.83-82.53 โดยคิดเป็นปริมาณผลผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ประมาณ 32 กรัมต่อ 100 กรัมครีม สำหรับการหมักที่ให้ผลดีที่สุดคืออุณหภูมิในช่วง 30 ถึง 35 °C เนื่องจากบางครั้งพบว่า หากเพิ่มอุณหภูมิสูงเป็น 40 และ 45 °C ผลิตภัณฑ์น้ำมันที่เก็บเกี่ยวได้มีลักษณะสีขุ่นเล็กน้อยทำให้เกิดความยุ่งยากต่อการกรองหรือทำให้ใสในขั้นตอนถัดไป อาจเป็นไปได้ว่าการเพิ่มอุณหภูมิสูงเป็น 45 °C มีผลการเร่งการทำงานของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายไขมันทำให้เกิดกรดไขมันอิสระจึงมีผลทำให้น้ำมันมีลักษณะขุ่น ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการหมัก คือ 30-40 °C ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Che Man และคณะ [20] ที่หมักสกัดโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* 1041 IAM

ตารางที่ 2 ผลการหมักสกัดน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* (BCC 47647)

ตัวแปรที่ใช้ศึกษา	ระดับของตัวแปร	ผลของการหมักสกัด	
		ร้อยละผลผลิต	ร้อยละการเก็บเกี่ยวน้ำมันจากครีม
ค่าพีเอชของครีม	pH 4.0	27.25 ± 1.38	72.06 ± 3.35 ^b
	pH 5.0	29.22 ± 1.44	77.27 ± 3.51 ^a
	pH 6.0	30.76 ± 1.57	81.35 ± 3.82 ^a
	ชุดควบคุม (pH 6.2)	30.72 ± 1.86	81.24 ± 4.60 ^a
อุณหภูมิการหมัก	20°C	ไม่เกิดการแยกชั้น	-
	25°C	29.92 ± 0.43	77.72 ± 0.95 ^b
	30°C	31.50 ± 0.51	81.83 ± 1.45 ^a
	35°C	31.55 ± 0.79	81.97 ± 2.18 ^a
	40°C	31.77 ± 0.59	82.53 ± 1.69 ^a
	45°C	31.64 ± 0.52	82.21 ± 1.31 ^a
ระยะเวลาในการหมัก	12 hrs.	23.07 ± 1.67	59.93 ± 4.34 ^b
	24 hrs.	31.45 ± 0.80	81.71 ± 2.31 ^a
	36 hrs.	31.74 ± 0.65	82.47 ± 1.54 ^a
	48 hrs.	32.17 ± 0.86	83.57 ± 2.39 ^a

หมายเหตุ : เครื่องหมาย a และ b ในแต่ละช่วงสัณฐานแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

โดยการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT; ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ร้อยละไขมันในครีม (AOAC, 2000, official method 954.02) เท่ากับร้อยละ 38.72 ± 1.25

3. ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการหมักสกัด เมื่อระยะเวลาบ่มผ่านไปกระบวนการหมักก็เริ่มเกิดขึ้น การแยกชั้นระหว่างครีมกับน้ำเริ่มเกิดขึ้นในช่วงสองชั่วโมงแรกของการหมัก จากนั้นก็เริ่มเกิดกระบวนการหมักในชั้นบนหรือชั้นของครีมซึ่งจะทำให้เกิดฟองอากาศจำนวนมาก พบว่า หากเติมครีมในภาชนะมากเกินไป ¼ ของความสูงภาชนะก็ทำให้เกิดฟองจนล้นภาชนะ และภายใน

ระยะเวลา 4-6 ชั่วโมง จะเริ่มเกิดการแยกชั้นระหว่างส่วนของน้ำ น้ำมัน และชั้นครีมที่มีลักษณะเป็นฟองจากการหมักอย่างชัดเจน หลังจากนั้นชั้นของครีมก็จะค่อย ๆ ยุบลงด้วยการปลดปล่อยน้ำมันออกมา ซึ่งจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาที่ใช้ในการหมักอย่างน้อย 24 ชั่วโมง และเมื่อเพิ่มระยะเวลาการหมักเป็น 36 และ 48 ชั่วโมง พบว่า จะให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่พบว่าผลผลิตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับการหมักที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่า การเพิ่มระยะเวลาการหมักที่ระยะเวลา 36 และ 48 ชั่วโมง มีแนวโน้มทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นหมักหรือรสเปรี้ยวและมีโอกาสเกิดกลิ่นหืนสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียแลคติกจะเริ่มสร้างกรดอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ และสร้างเอนไซม์ไลเปสออกมาย่อยสลายกรดไขมันซึ่งทำให้น้ำมันมีรสหืนได้ง่าย

ผลการวิเคราะห์คุณภาพของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

ผลการกำจัดความชื้นด้วยวิธีการอังน้ำมันตัวอย่างในอ่างน้ำร้อน เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังเก็บเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าน้ำมันมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพเล็กน้อยแต่มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของ มผช. 670/2547 และมาตรฐาน อย. ทุกพารามิเตอร์ดังแสดงในตารางที่ 3 โดยความชื้นลดลงตามเกณฑ์มาตรฐานคือมีค่าในช่วงร้อยละ 0.12 (มาตรฐาน มผช. 670/2547 กำหนดให้ไม่เกินร้อยละ 0.2) และมีค่าซาฟอนิฟิเคชัน (SN) ไม่แตกต่างกันเท่ากับ 258 มิลลิกรัมโพแทสเซียม-ไฮดรอกไซด์ต่อน้ำมัน 1 กรัม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Marina, et al., [19] พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 250-261 ซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดมาตรฐาน อย. ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 57 (พ.ศ.2524) ที่กำหนดให้ SN เท่ากับ 248-265 น้ำมันมีแนวโน้มเกิดการย่อยสลายกรดไขมันเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยมีค่าร้อยละกรดไขมันอิสระ (%FFA) วัดในรูปกรดลอริก เพิ่มขึ้นในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ จากปริมาณเริ่มต้นร้อยละ 0.19 เพิ่มเป็นร้อยละ 0.22 แต่อย่างไรก็ตามยังไม่เกินมาตรฐาน มผช. 670/2547 ซึ่งกำหนดให้เท่ากับร้อยละ 0.5-1.5

ตารางที่ 3 สมบัติของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์หลังเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 เดือน

ตัวอย่าง	%MC	SN	AV	%FFA	PV	AnV	Totox
ก่อนเก็บรักษา	0.12±0.01	258±1.5	0.66±0.04	0.19±0.06	0.25±0.11	0.07±0.04	1.16±0.25
หลังเก็บ 2 เดือน	0.11±0.00	258±1.5	0.76±0.09	0.22±0.06	1.48±0.37	0.22±0.08	3.71±0.80
ค่ามาตรฐานอ้างอิง	<0.2	248-265	<4	0.5-1.5%	<10	-	-

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

- %MC = ร้อยละน้ำและสิ่งที่ไม่ละลายที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ตามมาตรฐาน มผช. 670/2547
- PV = ค่าเพอร์ออกไซด์ (มิลลิกรัมสมมูลเพอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อกิโลกรัม) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 57 (พ.ศ. 2524)
- AV = ค่ากรด (มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อกรัม) ตามมาตรฐาน มผช. 670/2547
- %FFA = ร้อยละกรดไขมันอิสระในรูปกรดลอริก ตามมาตรฐาน มผช. 670/2547
- SN = ค่าซาฟอนิฟิเคชัน (มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อน้ำมัน 1 กรัม) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 57 (พ.ศ. 2524)
- AnV = Anisidine value

ผลการวัดกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยค่าเพอร์ออกไซด์ (PV) ค่าแอนิซิไดน์ (AnV) และค่าการเกิดออกซิเดชันทั้งหมด พบว่า น้ำมันตัวอย่างมีแนวโน้มในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีค่าเพอร์ออกไซด์เริ่มต้นจาก 0.25 เพิ่มขึ้นเป็น 1.48 มิลลิกรัมสมมูลเพอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อกิโลกรัมน้ำมัน (มาตรฐาน อย. กำหนดให้ไม่เกิน 10) จากนั้นค่อย ๆ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบลูกโซ่ต่อเนื่อง ดังนั้นเมื่อวัดค่าแอนิซิไดน์ พบว่า มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.07 เป็น

0.22 เมื่อคำนวณในรูปค่าการเกิดออกซิเดชันทั้งหมด จึงพบว่าน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีค่า Totox เท่ากับ 3.71 จากรายงานวิจัย Marina, et al., [19] สํารวจพบว่า ค่า Anisidine value ของน้ำมันมะพร้าวในช่วงไม่เกิน 0.50 จัดว่าเป็นน้ำมันที่มีคุณภาพดี

สรุปผลการวิจัย

กรรมวิธีที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์โดยใช้กระบวนการหมัก คือ เลือกใช้ผลมะพร้าวระยะสุกห่าวขึ้นไปมาชุดเอานื้อ ปั่นคั้นเอาน้ำกะทิ ปั่นผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:1 นำไปแช่เย็นเพื่อแยกครีม จากนั้นนำส่วนที่เป็นครีมไปหมักสกัดน้ำมันด้วยการเสริมกล้าเชื้อโดยเฉพาะแบคทีเรียกลุ่มแลคติกเพื่อเร่งกระบวนการหมัก จากการทดลองนี้ พบว่า ผลการเสริมด้วยกล้าเชื้อ *Lactobacillus plantarum* (BCC 47647) ที่เพาะขยายในอาหารเหลวสูตรน้ำกะทิ ปริมาณร้อยละ 1.0 พร้อมกับการปรับค่าพีเอชของครีมเป็น 6.0 หมักสกัดที่อุณหภูมิ 35°C นาน 24 ชั่วโมง ให้เปอร์เซ็นต์การเก็บเกี่ยวน้ำมันจากครีมสูงสุดเท่ากับร้อยละ 81.71±2.31 หรือคิดเป็นปริมาณผลผลิตน้ำมัน 18.24 กรัมต่อเนื้อมะพร้าวสด 100 กรัม น้ำมันที่สกัดได้มีกลิ่นหอมและเกิดกลิ่นหมักน้อย การกำจัดความชื้นด้วยวิธีอังในน้ำร้อน เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สามารถเก็บรักษาได้ดีโดยมีค่าคุณภาพอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของ มพช. 670/2547 และมาตรฐาน อย. ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 57 (พ.ศ. 2524) ทุกพารามิเตอร์

การสกัดน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์โดยใช้กระบวนการหมักมีวัสดุเศษเหลือจำนวนมากจากกระบวนการผลิต ได้แก่ เปลือกมะพร้าว กะลามะพร้าว น้ำมันมะพร้าว กากมะพร้าว ส่วนใสของน้ำกะทิหลังแยกครีม ส่วนใสของครีมหลังหมัก และผ้าครีม ดังนั้นจึงมีข้อเสนอแนะให้ศึกษาวิจัยการใช้ประโยชน์สูงสุดจากเศษเหลือดังกล่าวอย่างคุ้มค่า จะทำให้การลงทุนประกอบธุรกิจผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ด้วยกระบวนการหมักมีมูลค่าเพิ่มมากยิ่งขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่สนับสนุนทุนอุดหนุนการทำวิจัย ผ่านงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2556 ของมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

เอกสารอ้างอิง

- [1] สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2556). **ข้อมูลเศรษฐกิจการเกษตร**. สืบค้นเมื่อ 13 ธันวาคม 2556, จาก http://www.oae.go.th/main.php?filename=agri_production.
- [2] FAO. (2015). **FAOSTAT**. Retrieved November 28, 2015, from <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>.
- [3] Fuangworawong, P., Tripetchkul, S., Koonsrisuk, S. and Akeprathumchai, S. (2008). "Study on availability and utilization of wastes from coconut processing in Prachuapkhirikhan province", **Silapakhon University Journal**. 28(3), 13-31.
- [4] Marina A.M., Che Man Y.B., Nazimah A.H. and Amin I. (2009). "Chemical properties of virgin coconut oil", **Journal of the American Oil Chemists Society**. 86, 301-307.
- [5] Marina, A.M., Che Man, Y.B. and Amin, I. (2009). "Virgin coconut oil: emerging functional food oil", **Trends in Food Science & Technology**. 20, 481-487.
- [6] Soeka, Y.S., Sulisty, J. and Naiola, dan E. (2008). "Analisis biokimia minyak kelapa hasil ekstraksi secara fermentasi", **Biodiversitas**. 9(2), 91-95.
- [7] Nevin, K.G. and Rajamohan, T. (2009). "Wet and dry extraction of coconut oil: impact on lipid metabolic and antioxidant status in cholesterol coadministered rats", **Can J Physiol Pharmacol**, Aug. 87(8), 610-616.

- [8] Suhardiyono. (1992). "Effect of extraction methods on recovery quality, storage stability and frying characteristic of coconut oil", **M.Sc. Thesis, Faculty of Food Science and Biotechnology, Universiti Pertanian Malaysia**, 51-68.
- [9] Che Man, Y.B., Abdul Karim, M.I.B. and Teng, C.T. (1997). "Extraction of Coconut oil with *Lactobacillus plantarum* 1041 IAM", **Journal of the American Oil Chemists Society**. 74(9), 1115-1119.
- [10] Handayani, R., Sulisty, J. and Rahayu, R.D. (2009). "Extraction of coconut oil (*Cocos nucifera* L.) through fermentation system", **Biodiversitas**. 10(3), 151-157.
- [11] Marasabessy, A., Moeis, M.R., Sanders, J.P.M. and Weusthuis, R.A. (2010). "Coconut oil extraction by the traditional java method: An investigation of its potential application in aqueous jatropha oil extraction", **Biomass & Bioenergy**. 34, 1141-1148.
- [12] ฉัตรชัย สังข์ผุด. (2557). "ผลของการเสริมกล้าเชื้อต่อการสกัดน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ด้วยวิธีการหมัก", **วารสารวิชา**. 33(1), 26-38.
- [13] USFDA-BAM. (2001). **Bacteriological Analytical Manual Online**. Retrieved June 22, 2007, from <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/>.
- [14] AOAC. (2000). **Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists**. 17th Volume I. MD, USA : Gaithersburg.
- [15] ISO 662. (1998). **Animal and vegetable fats and oils: Determination of moisture and volatile matter content**.
- [16] IUPAC. (1979). **Standard method for the analysis of oils, fats and derivatives**. 1th supplement to the 7th edition. Retrieved June 22, 2011, from <http://www.iupac.org/publications/pac/1979/pdf/5112x2503.pdf>.
- [17] ISO : 660. (1996). **Animal and vegetable fats and oils: Determination of acid value and acidity**.
- [18] AOCS. (1999). **Official Methods and Recommended Practices of the American Oils Chemists Society**, 5th Ed., AOCS Press, Champaign.
- [19] Marina A.M., Che Man Y.B., Nazimah A.H. and Amin I. (2009). "Chemical properties of virgin coconut oil", **Journal of the American Oil Chemists Society**. 86, 301-307.
- [20] Che Man, Y.B., Abdul Karim, M.I.B. and Teng, C.T. (1997). "Extraction of Coconut oil with *Lactobacillus plantarum* 1041 IAM", **Journal of the American Oil Chemists Society**. 74(9), 1115-1119.