

การใช้แบคทีเรียแลคติกที่แยกและจำแนกจากสั้มผักเพื่อเป็นเชื้อเริ่มต้นในการหมัก

วัทธิกร นาถประณีต*

บทคัดย่อ

สั้มผักเป็นอาหารหมักประเภทหนึ่งที่นิยมบริโภคในภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยผลิตจากการหมักส่วนผสมของเนื้อปลา ข้าว เกลือและกระเทียม ด้วยแบคทีเรียแลคติก และในงานวิจัยนี้ได้สุ่มตัวอย่างสั้มผักมา 3 ยี่ห้อ เพื่อนำมาแยกแบคทีเรียแลคติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar ผสมกับบรอมโมครีซอลเพอเพิล (bromocresol purple) และ แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO₃) จากนั้นนำเชื้อที่แยกได้ซึ่งมีโซนสีเหลืองและใสรอบโคโลนีมาศึกษาโดยการย้อมแกรม แล้วทดสอบเอนไซม์อะลาเลส เอนไซม์ออกซิเดส พร้อมทั้งความสามารถในการเคลื่อนที่ จากนั้นนำไปจำแนกเชื้อในระดับสกุลและสปีชีส์ โดยใช้ชุดทดสอบในระบบ API 50 CH พบว่าแบคทีเรียแลคติกที่จำแนกได้ คือ *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* *Lactobacillus brevis* *Lactobacillus fermentum* *Lactobacillus collinoides* *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* *Leuconostoc mesenteroides* และ *Weissella confusa* จากนั้นนำเชื้อที่แยกได้มาศึกษาคุณลักษณะบางประการ ได้แก่ ความสามารถในการผลิตกรด โดยวัดในรูปของความเป็นกรด-ด่างและความเป็นกรด การยับยั้ง *Salmonella* การเจริญที่อุณหภูมิ 10^oซ และการทนต่อสารกันเสีย พบว่า เชื้อ *Lb. brevis* *Lb. collinoides* *L. lactis* ssp. *lactis* และ *W. confusa* ให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่ำที่สุด และไม่แตกต่างกัน (P>0.05) คือ 4.50 4.52 4.52 และ 4.49 ตามลำดับ ที่เวลา 14 ชั่วโมง ขณะที่ *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* และ *Lb. brevis* ให้ค่าความเป็นกรดสูงที่สุดและไม่แตกต่างกัน (P>0.05) คือ 1.29 และ 1.25 เปรอร์เซ็นต์ตามลำดับที่เวลา 14 ชั่วโมง ส่วนความสามารถในการยับยั้ง *Salmonella* พบว่า *Lb. brevis* *L. lactis* ssp. *lactis* และ *W. confusa* สามารถยับยั้งได้ดีที่สุด และไม่แตกต่างกัน (P>0.05) โดยมีโซนยับยั้ง 32.47 32.40 และ 33.40 มิลลิเมตรตามลำดับ ขณะที่การเจริญที่อุณหภูมิ 10^oซ พบว่า *Lb. brevis* และ *W. confusa* สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 10^oซ ได้มากที่สุด และไม่แตกต่างกัน (P>0.05) โดยมีจำนวนเชื้อ 6.51 และ 6.48 ล็อกโคโลนีต่อมิลลิลิตรตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าในสภาวะที่มีโพแทสเซียม ซอร์เบท *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* จะเจริญได้มากที่สุด โดยนับจำนวนได้ 9.53 ล็อกโคโลนีต่อมิลลิลิตร ส่วน *Lb. brevis* *Lb. collinoides* และ *W. confusa* นับจำนวนได้ 8.47 8.61 และ 8.47 ล็อกโคโลนีต่อมิลลิลิตรตามลำดับและไม่แตกต่างกัน (P>0.05) จากนั้นเมื่อนำแบคทีเรียแลคติก 2 สายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือก ไปเป็นเชื้อเริ่มต้นในการผลิตสั้มผักที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อแตกต่างกันพบว่า *Lc. mesenteroides* และเชื้อผสมระหว่าง *Lb. brevis* กับ *Lc. mesenteroides* ให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 4.45 และ 4.43 ตามลำดับและไม่แตกต่างกัน (P>0.05) และมีความเป็นกรดอยู่ในช่วง 0.73-0.89 เปรอร์เซ็นต์ ส่วนระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ 4 5 และ 6 ล็อกโคโลนีต่อกรัม พบว่าจะให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 4.49 4.49 และ 4.43 ตามลำดับที่เวลาในการหมัก 24 ชั่วโมง โดยมีความเป็นกรดอยู่ในช่วง 0.75-0.81 เปรอร์เซ็นต์ และมีจำนวนแบคทีเรียแลคติกในแต่ละตัวอย่างมากกว่า 8 ล็อกโคโลนีต่อกรัม ส่วนผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์สั้มผักที่ใช้แบคทีเรียแลคติกเป็นเชื้อเริ่มต้นต่างชนิดกันที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างกันพบว่าผู้ทดสอบชิมมีความชอบไม่แตกต่างกัน (P>0.05) โดยมีความชอบโดยรวมที่ระดับชอบปานกลาง และเมื่อนำแบคทีเรียแลคติกที่มีความ

* วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการอาหาร) คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 144 หน้า.

เหมาะสมทั้งชนิดและความเข้มข้นมาผลิตส้มฟักโดยแปรปริมาณเกลือและข้าวสุก พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของส้มฟักจะแตกต่างกัน ($P \leq 0.05$) โดยอยู่ในช่วง 4.47-4.58 ซึ่งตัวอย่างที่เติมเกลือ 4 เปอร์เซ็นต์และข้าวสุก 16 เปอร์เซ็นต์จะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีค่าต่ำที่สุดคือเท่ากับ 4.47 ขณะที่ความเป็นกรดของส้มฟักจะอยู่ในช่วง 0.61-0.70 เปอร์เซ็นต์ โดยตัวอย่างที่เติมเกลือ 4 เปอร์เซ็นต์และข้าวสุก 12 เปอร์เซ็นต์กับตัวอย่างส้มฟักที่เติมเกลือ 4 และข้าวสุก 16 เปอร์เซ็นต์มีค่าความเป็นกรดสูงสุดคือ 0.69 และ 0.70 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับและไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) และเมื่อวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียแลคติกในส้มฟักที่เติมเกลือและข้าวสุกที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าจำนวนแบคทีเรียแลคติกอยู่ในช่วง 8.70-8.85 ล็อกโคโลนีต่อกรัมโดยไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ส่วนผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของส้มฟักที่เติมเกลือและข้าวสุกที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันพบว่าผู้ทดสอบชิมมีความชอบไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ในทุกคุณลักษณะที่ทดสอบ โดยมีความชอบที่ระดับชอบปานกลาง จากนั้นก็นำส้มฟักที่มีความเหมาะสมทั้งชนิดและความเข้มข้นของเชื้อ รวมไปถึงปริมาณข้าวและเกลือมาวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียแลคติกพบว่าแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้นจะมีประมาณ 4 ล็อกโคโลนีต่อกรัม จากนั้นก็เพิ่มจำนวนขึ้น เมื่อเวลาการหมักนานขึ้นจนถึงสิ้นสุดการหมักจะมีจำนวนเชื้อเท่ากับ 8.86 ล็อกโคโลนีต่อกรัม ขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) จะอยู่ในช่วง 4.00-6.13 ส่วนเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดจะอยู่ในช่วง 0.31-1.21 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเริ่มการหมักจนถึงสิ้นสุดการหมักที่ เวลา 73 ชั่วโมง และเมื่อทำการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสเปรียบเทียบกับส้มฟักที่มีขายในจังหวัดขอนแก่นพบว่าผู้ทดสอบชิมมีความชอบด้านสี และกลิ่นของส้มฟักที่ได้จากการทดลองสูงกว่า ส้มฟักที่มีขายในจังหวัดขอนแก่น ($P \leq 0.05$) ส่วนลักษณะความชอบด้าน รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) และส้มฟักที่ได้จากการทดลองมีองค์ประกอบทางเคมีคือ โปรตีน 14.02 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 5.38 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 77.48 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 2.38 เปอร์เซ็นต์

Use of Lactic Acid Bacteria Isolated and Identified from Som-fug as Starter Cultures for Fermentation

Vattikon Nadpranil*

Abstract

Som-fug is a type of fermented foods mostly consumed in the central and northeastern region of Thailand. It was made from the mixture of fish rice salt garlic and then fermented with lactic acid bacteria. This research was conducted firstly by sampling three brands of Som-fug for LAB isolation on MRS Agar with bromocresol purple and calcium carbonate, then the isolated colonies with clear yellow zone were determined for gram reaction catalase test oxidase test and motility. Next, the colonies were further identified using API 50 CH system and found that those LAB were *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* *Lactobacillus brevis* *Lactobacillus fermentum* *Lactobacillus collinoides* *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* *Leuconostoc mesenteroides* and *Weissella confusa*. After that, all strains were evaluated on some characteristics including acid producing ability i.e. pH and acidity *Salmonella* inhibition growth at 10°C and tolerance to preservative and it was found that after 14 hrs *Lactobacillus brevis* *Lactobacillus collinoides* *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* and *Weissella confusa* contributed the insignificant lowest pH as 4.50 4.52 4.52 and 4.49 respectively (P>0.05) whereas *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* and *Lactobacillus brevis* contributed the insignificant highest acidity as 1.29 and 1.25 % respectively (P>0.05). For *Salmonella* inhibition, it was found that *Lactobacillus brevis* *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* and *Weissella confusa* could inhibit the most with insignificant inhibition zone as 32.47 32.40 and 33.40 mm respectively (P>0.05) whereas *Lactobacillus brevis* and *Weissella confusa* were found to grow most at 10°C with insignificant numbers as 6.51 and 6.48 Log CFU/ml respectively (P>0.05). Moreover, *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* could grow most to 9.53 Log CFU/ml in a condition with potassium sorbate while *Lb. brevis* *Lb. collinoides* and *W. confusa* grew less than the former one with insignificant numbers as 8.47 8.61 and 8.47 Log CFU/ml respectively (P>0.05). Next, two strains of lactic acid bacteria were selected as starter cultures for Som-fug at different concentration and it was found that *Lc. mesenteroides* and mixed culture of *Lb. brevis* plus *Lc. mesenteroides* contributed insignificant lowest pH as 4.45 and 4.43 respectively (P>0.05) and acidity in a range of 0.73-0.89%. At 24 hrs of fermentation, the cell concentrations at 4 5 and 6 Log CFU/g contributed the pH as 4.49 4.49 and 4.43 respectively with 0.75-0.81% acidity and lactic acid bacteria numbers greater than 8 Log CFU/g. For sensory evaluation of Som-fug produced with different concentrations and types of starter cultures, it was found that the panelists had insignificant likings towards to the products with moderate overall liking. Then, the appropriate type and concentration of LAB were used for making Som-fug with varied amount of salt and cooked rice and it was found that pH of the product were significantly different in a range of 4.47-4.58 (P≤0.05) as Som-fug produced with 4% salt and 16% cooked rice gave the lowest pH as 4.47 and the acidity of 0.61-0.70%. Moreover, Som-fug produced with 4% salt

* Master of Science (Food Technology), Faculty of Technology, Khon Kaen University. 144 pages.

and 12% cooked rice comparing to 4% salt and 16% cooked rice contributed insignificant highest acidity of 0.69 and 0.70% respectively ($P>0.05$). After that, the lactic acid bacteria numbers in Som-fug with different amount of salt and cooked rice were determined and found that the numbers were insignificantly different in a range of 8.70-8.85 Log CFU/g ($P>0.05$). Also, the sensory evaluation of Som-fug with different amount of salt and cooked rice were evaluated and found that the panelists had insignificant likings towards to all attributes with moderated overall liking ($P>0.05$). Next, Som-fug produced with appropriate condition including type and concentration of starter along with suitable amount of salt and cooked rice was monitored for LAB numbers pH and acidity during fermentation at 30°C for 73 hrs and found that the initial LAB numbers were about 4 Log CFU/g and the numbers increased until the end of fermentation with the final number as 8.86 Log CFU/g whereas the pH range were 4.00-6.13 and acidity range were 0.31-1.21%. Finally, Som-fug produced with the best condition was sensory evaluated and compared with commercial product available in Khon Kaen and found that the panelists had significantly higher in color and flavor liking towards to the product produced than the commercial one ($P\leq 0.05$) whereas there were insignificant differences in likings towards to taste texture and overall liking for both products ($P>0.05$). Also, the chemical compositions of Som-fug produced were analyzed and found that there were 14.02% protein 5.38% fat 77.48% moisture and 2.38% ash.