บทคัดย่อ

T 156106

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อ ผลิตหัวเชื้อสำหรับกระบวนการหมักผักกาดเขียวปลีดอง โดยสำรวจและตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ เคมีและจุลชีววิทยาของผักกาดเขียวปลีดองจากแหล่งต่างๆ ในจังหวัด พิษณุโลก รวมทั้งแยก และคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่มีประสิทธิภาพต่อกระบวนการหมัก พิสูจน์เอกลักษณ์เชื้อที่คัดเลือกได้ รวมทั้งคัดเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อจากธรรมชาติเพื่อใช้ทดแทน MRS Broth จากนั้นนำเชื้อที่คัดเลือกได้มาหมักผักกาดเขียวปลีดอง ตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพ จุลชีววิทยา และเคมี นำมาผลิตเป็นหัวเชื้อโดยศึกษาอัตราส่วนระหว่างผงแป้งกับน้ำสกัดที่เหมาะสม อุณหภูมิในการอบและชนิดของสาร supplement คัดเลือกปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตหัวเชื้อผักกาดดอง และนำข้อมูลที่ได้เสนอแนะแนวทางในการผลิตหัวเชื้อ

ผลการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียแลคติกจากผักกาดเขียวปลีดองพบ 35 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อดังกล่าวมาทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างกรดแลคติก และปริมาณเชื้อต่อการเจริญใน MRS Broth พบว่าเชื้อสายพันธุ์ Homofermentative NU 152 สามารถสร้างกรดแลคติกสูงสุดเท่ากับ 2.08 เปอร์เซ็นต์ค่าพีเอช 3.18 และมีปริมาณเชื้อ 11.0 Log cfu/ml สามารถเจริญได้ใน Bile salt ที่ระดับ 2.5 % และเชื้อ Heterofermentative species NU 351 สามารถสร้างกรดแลคติก 0.82 เปอร์เซ็นต์ค่าพีเอช 3.89 และมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 8.6 Log cfu/ml สามารถเจริญได้ใน Bile salt ที่ระดับ 2.0 % จึงทำการคัดเลือกเชื้อรหัส NU 251 และ NU 351 ไว้ทำการทดสอบในขั้นต่อไป และเมื่อทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ พบว่าเชื้อ NU152 เป็น *Lactobacillus plantarum* และเชื้อNU 351 เป็น *Lactobacillus fermentum* ตามลำดับ

ผลการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในการหมักผักกาดเขียวปลีดอง พบว่าการใช้กล้าเชื้อผสมระหว่าง *L. plantarum*NU 152 ร่วมกับ *L. fermentum* NU 351 มีประสิทธิภาพสูงสุดโดย

ใช้ระยะเวลาในการหมักเพียง 5 วัน ได้ค่าพีเอช และ ปริมาณกรดแลคติก เท่ากับ 3.78 และ 1.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก และจุลินทรีย์ทั้งหมด มีค่าเท่ากับ 9.9 และ 9.6 Log cfu/ml ตามลำดับ ลดระยะเวลาในการหมักได้ 48 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักแบบไม่เติมกล้าเชื้อ (Control) ($p<0.05$) โดยพบว่ากล้าเชื้อ *L. plantarum* NU152 ผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการหมักได้ค่าพีเอช และ ปริมาณกรดแลคติก เท่ากับ 3.24 และ 1.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก และจุลินทรีย์ทั้งหมด มีค่าเท่ากับ 10.0 และ 9.8 Log cfu/ml สามารถลดระยะเวลาในการหมักได้ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ

เมื่อใช้กล้าเชื้อ *L. fermentum* NU351 ในการหมักผักกาดเขียวปลีดอง ผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการหมักได้ค่าพีเอช และปริมาณกรดแลคติก เท่ากับ 3.46 และ 0.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณแบคทีเรียแลคติก และจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 9.6 และ 9.7 Log cfu/ml ตามลำดับ ($p<0.05$) ส่วนการหมักแบบไม่เติมกล้าเชื้อ (Control) เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักทำให้ได้ค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก เท่ากับ 3.54 และ 1.25 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก และจุลินทรีย์ทั้งหมด เท่ากับ 8.9 และ 8.3 Log cfu/ml ตามลำดับ โดย ค่าพีเอช กรดแลคติก แบคทีเรียแลคติก และจุลินทรีย์ทั้งหมดของผักกาดเขียวปลีดองที่หมักด้วย *L. plantarum* NU152 และ *L. fermentum*NU351 มีความแตกต่างจากการหมักโดยไม่เติมกล้าเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ผลการศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อจากผัก ผลไม้และธัญชาติ จำนวน 24 สูตร พบว่าเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถเจริญในน้ำมะพร้าวที่มีส่วนผสมของกลูโคส 1 % ได้ดีกว่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยเชื้อ *L. plantarum*NU152 ได้ค่าพีเอช และ ปริมาณกรดแลคติก เท่ากับ 3.14 และ 0.98 เปอรเซ็นต์ตามลำดับ ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกเท่ากับ 8.5 Log cfu/ml ภายในระยะเวลา 48 ชั่วโมง เชื้อ *L. fermentum*NU351 ได้ค่าพีเอช และ ปริมาณกรดแลคติก 3.23 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก 8.1 Log cfu/ml

ผลการศึกษาสูตรการผลิตหัวเชื้อผักกาดดอง พบว่า การใช้อัตราส่วนระหว่างแป้งข้าวกล้อง 2 ส่วนต่อน้ำมะพร้าว 1 ส่วน อบแห้งที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยการใช้ supplement ต่ออัตราการรอดชีวิตของหัวเชื้อ สามารถเรียงลำดับอัตราการรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียแลคติกจากมากไปน้อยดังต่อไปนี้ หัวเชื้อที่เติมกรดอะมิโนโพรลีน, หัวเชื้อที่เติมหางนมผง และหัวเชื้อที่เติมกลีเซอรอล ตามลำดับ หัวเชื้อผงที่ไม่มีการเติมสาร supplement (Control) มีปริมาณเชื้อลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับการทดลองอื่น และการเก็บหัวเชื้อไว้ที่อุณหภูมิต่ำทำให้หัวเชื้อมีอัตราการรอดชีวิตของเชื้อสูงกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้องอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Abstract

TE 156106

This research aims to produce starter (dry inoculum) for pickled green mustard production by selection and identification of appropriate lactic acid bacteria (LAB) from pickled green mustard of traditional fermentation. Firstly, the studies on physical, chemical and microbiological preparation of pickled green mustard from traditional fermentation, were investigated. The selected suitable broths prepared from natural sources to substitute of MRS broth for enrichment medium of LAB, were also studied. The fermentation using the selective strain was performed and monitored.

The selected culture was prepared in a powder form (rice flour and unpolished rice flour). The ratio between flour and coconut juice, drying temperature (35, 40 and 45 °C), temperature of storage and type of supplements (0.1 % L-proline ,10 % skim milk and 10 %glycerol) were examined. The suitable factors for pickled green mustard production using a dryed inoculum was suggested.

Thirty five isolates of LAB were selected and subjected to test for the fermentation effectiveness and bile salt resistance. It was found that the homofermentative strain (NU152) and the heterofermentative strain (NU351) in were the most effective strain. The pH, lactic acid content and LAB count of green mustard fermented with NU 152 were 3.18, 2.08 % and 10.9 Log cfu/ml, respectively, and it resisted to 2.5 % bile salt while those using NU 351 were 3.89, 0.87 % and 8.6

Log cfu/ml, respectively The NU351 strain resisted to 2.0 % bile salt. The identification of NU 152 and NU 351 found that they were *Lactobacillus plantarum* NU152 and *Lactobacillus fermentum* NU351, respectively. The comparative studies using these mixed LAB culture resulted in shorter time of fermentation five days.The pH and lactic acid content of this fermentation were 3.78 and 1.25 %,respectively.

The pickled green mustard contained LAB and total microbial count of 9.9 and 9.6 Log cfu/ml respectively and could reduce 48 hour fermentation time compared to the control ($p<0.05$). The fermentation using *L. plantarum* NU 152 could reduce the fermentation time for 24 hours and the pH, lactic acid content, LAB count and Total microbial count were 3.24,1.41 %, 10.0 and 9.8 Log cfu/ml, respectively while that value of pickle green mustard using to *L. fermentum*NU 351 the value were 3.86, 0.87 % ,9.6 and 9.7 Log cfu/ml ,respectively, and then were significant different from the control ($p<0.05$)

The studies on preparation of fourty-eight different formular broths using certain vegetables, friut and cereals found that LAB could grow best in the broth contained coconut juice with 1 % glucose supplement ($p<0.05$).Within 48 hours, the pH, lactic acid content and LAB count of the media inoculated with *L. plantarum* NU152 were 3.14. 0.93 % and 8.5 Log cfu/ml ,respectively, while those of the media inoculated with *L. fermentum* NU 351 were 0.89,3.23 % and 8.0 Log cfu/ml, ,respectively.

The studies on dry inoculum preparation were found that the best condition to produce dry inoculum that allowed the maximum recovery of the culture were following, the ratio between unpolished flour and coconut juice of 2:1,drying temperature 35 °C and supplement with0.1 % L-Proline onto dry inoculum (powder) provide better culture survival of 15 °C temperature ($p<0.05$).