

แบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากกระบวนการหมักเต้าหู้ยี้ บนอาหาร MRS agar ที่เติม 0.04% Bromocresol purple, 5 mg% sodium azide และเกลือ (NaCl) ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียแลคติกอยู่ระหว่าง  $3.0 \times 10^3$  ถึง  $7.0 \times 10^7$  CFU/กรัม บนอาหารที่ไม่เติมเกลือ โดยพบตั้งแต่เริ่มต้นกระบวนการหมักจนถึง 5 เดือน และพบแบคทีเรียแลคติกอยู่ระหว่าง  $1.1 \times 10^4$  ถึง  $3.0 \times 10^7$  และ  $1.9 \times 10^3$  ถึง  $1.5 \times 10^7$  CFU/กรัม บนอาหารที่มีเกลือ 5% และ 10% ตามลำดับ โดยพบตั้งแต่ เริ่มต้นกระบวนการหมักจนถึง 8 เดือน แต่ตรวจไม่พบแบคทีเรียก่อโรค *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenes*

แบคทีเรียแลคติกที่แยกได้ทั้งหมดมีจำนวน 126 สายพันธุ์ จัดเป็นแบคทีเรียทนเกลือ จำนวน 83 สายพันธุ์ (65.9%) แบคทีเรียชอบเกลือ 43 สายพันธุ์ (34.1%) และแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้ 50 สายพันธุ์ (39.7%) มีสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยโปรตีนและพบเพียง 2 สายพันธุ์ (1.6%) ที่สามารถย่อยไขมันได้ นอกจากนี้แบคทีเรียแลคติกที่แยกได้ยังมีคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติก โดยสามารถทนกรดและเกลือได้ดี และมีบทบาทในการยับยั้งแบคทีเรียอินดิเคเตอร์ *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* TISTR687 และ *Listeria monocytogenes* DMST4553

แบคทีเรียแลคติกที่แยกได้บ่งชี้เป็นสกุล *Lactobacillus* จำนวน 67 สายพันธุ์ (53.2%) และ *Pediococcus* 59 สายพันธุ์ (46.8%) และเมื่อคัดเลือกแบคทีเรียแลคติก 10 สายพันธุ์ ที่มีศักยภาพเป็นโปรไบโอติกมาบ่งชี้ชนิดโดยการทดสอบทางชีวเคมีโดยใช้ API 50CHL system พบว่าแบคทีเรียแลคติกดังกล่าวเป็นสายพันธุ์ *Lactobacillus curvatus* (3 สายพันธุ์), *Lactobacillus delbrueckii* (3 สายพันธุ์), *Lactobacillus plantarum* (1 สายพันธุ์) และ *Pediococcus* (3 สายพันธุ์) และเมื่อคัดเลือกแบคทีเรียแลคติก 2 สายพันธุ์ มาบ่งชี้โดยวิธีการตรวจหาลำดับเบสของ 16S rRNA gene พบว่า *Lactobacillus curvatus* PS1240 บ่งชี้เป็น *Lactobacillus acidipiscis* ส่วน *Pediococcus* PS1231 เป็น *Tetragenococcus halophilus* โดย *L. acidipiscis* ที่แยกได้มีศักยภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *Listeria monocytogenes* DMST4553 ในส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อ โดยผลิตกรดแลคติกเป็นผลผลิตสุดท้ายในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค แต่ตรวจไม่พบแบคทีเรียโอจิน

ส่วนการตรวจคุณภาพของเต้าหู้ยี้พบว่าตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปมีปริมาณแร่ธาตุ 12 ชนิด โดยเรียงตามลำดับปริมาณจากมากไปน้อยดังนี้ Mg, Ca, Li, Fe, Cu, Mn, Zn, Al, Ni, As, Pb และ Cd นอกจากนี้ยังได้ศึกษาโครงสร้างของเนื้อเต้าหู้ยี้สำเร็จรูปโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด SEM พบว่าเนื้อเต้าหู้ยี้หลังหมักมีรูพรุนขนาดใหญ่และจำนวนรูพรุนมากกว่าโครงสร้างของเนื้อเต้าหู้ก่อนหมัก

ส่วนการตรวจหา *Bacillus* Diarrhoeal Enterotoxin (BDE) จากตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป 9 ตัวอย่าง โดยใช้ชุดทดสอบ TECRA *Bacillus* Diarrhoeal Enterotoxin Visual Immunoassay พบว่ามี 5 ตัวอย่าง (CSF1, CSF2, CSF6, CSF8 และ CSF9) ที่ตรวจพบ BDE เมื่อตรวจโดยใช้ enriched medium แต่ตรวจไม่พบ BDE โดยวิธี direct assay

ส่วนการตรวจหา Staphylococcal enterotoxin จากตัวอย่างเต้าหู้ยี้สำเร็จรูป โดยใช้ TECRA UNIQUE Staphylococcal enterotoxin พบว่า ในทุกตัวอย่างตรวจไม่พบ Staphylococcal enterotoxin

## ABSTRACT

204782

The lactic acid bacteria (LAB) in fermenting soybean curds (sufu) were quantitated on MRS agar added with 0.04% Bromocresol purple, 5 mg% sodium azide and NaCl with varying concentrations. The LAB found during 5 months of fermentation were between  $3.0 \times 10^3$  to  $7.0 \times 10^7$  CFU/g on medium containing 0% NaCl and during 8 months of fermentation were between  $1.1 \times 10^4$  to  $3.0 \times 10^7$  CFU/g and  $1.9 \times 10^3$  to  $1.5 \times 10^7$  CFU/g on medium containing 5% NaCl and 10% NaCl, respectively. In addition, the foodborne bacteria as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* were not detected

The 126 strains of the isolated LAB were 83 strains (65.9%) halotolerants and 43 strains (34.1%) of halophilic LAB. The 50 isolated strains (39.7%) could produce proteolytic enzymes and only 2 strains (1.6%) had lipolytic activity. The isolated LAB also showed probiotic properties in terms of acid and bile salts tolerance. The roles of the isolated LAB were able to antagonize indicator bacteria as *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* TISTR687 and *Listeria monocytogenes* DMST4553.

The isolated LAB were identified as 67 strains of *Lactobacillus* and 59 strains of *Pediococcus*. The 10 potential probiotic LAB strains were selected and identified biochemically using API 50CHL system as *Lactobacillus curvatus* (3 strains), *Lactobacillus delbrueckii* (3 strains), *Lactobacillus plantarum* (1 strain) and *Pediococcus* (3 strains). Additionally, identification using DNA sequence of 16S rRNA gene, the *Lactobacillus curvatus* PS1240 and *Pediococcus* PS1231 were identified as *Lactobacillus acidipiscis* and *Tetragenococcus halophilus*, respectively. The potential *L. acidipiscis* could produced lactic acid as a major end product but did not produce bacteriocin in the culture supernatant. However, the *L. acidipiscis* was able to inhibit the foodborne pathogen as *Listeria monocytogenes* DMST4553.

In term of quality, there were 12 metal ions found in the commercial sufu from high to low concentrations as follows Mg, Ca, Li, Fe, Cu, Mn, Zn, Al, Ni, As, Pb and Cd. And additionally, the microstructures of tofu and sufu were evaluated by using SEM, which showed many larger hallows in the commercial sufu than the homogeneous tofu.

All commercial sufu were also investigated for *Bacillus* Diarrhoeal Enterotoxin (BDE) production by using TECRA *Bacillus* Diarrhoeal Enterotoxin Visual Immunoassay. The BDE was found in five samples of commercial sufu (CSF1, CSF2, CSF6, CSF8 and CSF9) using enriched medium but could not be detected in the non-enriched medium by direct sample assay.

In addition, the Staphylococcal enterotoxin could not be detected by using TECRA UNIQUE Staphylococcal enterotoxins in all commercial sufu which showed safety from *Staphylococcus* food poisoning.