การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียแลคติกเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตผักดองท้องถิ่นภาคใต้

Selection and Identification of Lactic acid Bacteria for Pickled Vegetable Starter in the Southern Thailand

ธารหทัย มาลาเวช[1]

[1]อาจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

E-mail : tarnhatai@hotmail.com

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตผักดองท้องถิ่นภาคใต้ โดยทำการเก็บตัวอย่างผักดองได้แก่ ผักกาดดอง ผักเสี้ยนดอง หน่อไม้ดอง และสะตอดอง จากตลาดสดอำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 100 ตัวอย่าง มาศึกษาลักษณะทางกายภาพ พบว่ามีค่าความเป็นกรดเบสอยู่ระหว่าง 3.58-3.91 และพบเชื้อแบคทีเรียแลกติกจำนวน 51 ตัวอย่าง (ร้อยละ 51.00) ซึ่งมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลกติก 6.0×10^6 -7.0×10^9 CFU/g สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียแลคติกได้ 55 ไอโซเลต นำไปทดสอบประสิทธิภาพการหมัก พบว่ามีแบคทีเรียแลคติกที่สามารถสร้างกรดแลคติกและมีปริมาณเชื้อสูง จำนวน 5 ไอโซเลต ได้แก่ K14, K15, K20, N10 และ N12 โดยมีค่า pH ระหว่าง 3.56- 3.65 มีปริมาณกรดทั้งหมด 0.68-0.78 N และมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก 5.8×10^6-6.3×10^7 CFU/g จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรียแลคติกที่คัดเลือกได้ โดยการศึกษารูปร่าง การจัดเรียงตัวของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ การเจริญบนอาหาร MRS agar การสร้างเอนไซม์คะตะเลส ความสามารถในการเจริญในโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 6.5 และ 18 % ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิ 10 และ 45 องศาเซลเซียส และความสามารถในการเจริญในสภาพ pH 4.4 และ 9.6 พบว่าแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลตที่คัดเลือกได้ เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นแท่ง การเรียงตัวเป็นสายโซ่สั้นๆ ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส ไม่สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 10 และ45องศาเซลเซียสแต่สามารถเจริญในโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 6.5 และ 18 % สามารถเจริญที่ pH 4.4 แต่ไม่สามารถเจริญที่ pH 9.6 เมื่อนำไปทดสอบการย่อยคาร์โบไฮเดรต 49 ชนิด โดยใช้ API 50 CHL strip จึงสรุปว่าเชื้อแบคทีเรียแลคติกทั้ง 5 ไอโซเลต คือเชื้อ *Lactobacillus plantarum*

คำสำคัญ : แบคทีเรียแลคติก กล้าเชื้อ ผักดอง

Abstract

This research aimed to select lactic acid bacteria in the pickled vegetables and identify the lactic acid bacteria with high efficiency to ferment the pickles. One hundred samples of fermented vegetables (e.g. cabbage, spider weeds, bamboo shoots, twisted cluster beans) were collected from several fresh market locations in Nakhon si Thammarat province. The samples were then analyzed and tested for physical and chemical properties. The result showed the pH value at 3.58 to 3.59. Counts types of lactic acid bacteria found in the samples were 51%, ranging from 6.0 $\times 10^{6}$ to 7.0 $\times 10^{9}$ CFU/g. Then, the bacteria were isolated and purified. The process yielded a total of 55 isolates of lactic acid bacteria, which used to test for fermentation ability. The result showed the selected lactic acid bacteria can build up lactic acid in high doses, ranging up to five isolates, including isolates K14, K15, K20, N10, and N12. The pH ranged from 3.56 to 3.65, with a total acidity ranged from 0.68 to 0.78 N, and the amount of lactic acid bacteria ranging from 5.8 $\times 10^{6}$ to 6.3 $\times 10^{7}$ CFU /g, respectively.

The identification of the Lactic acid bacteria was conducted by studying their shape, the arrangement of the cells under a microscope, the Gram-staining, the growth rate on MRS agar, Catalase test, an ability to grow in NaCl concentrations of 6.5 and 18 percent, an ability to grow in temperatures of 10 and 45 degrees Celsius, and the ability to grow in a pH 4.4 and 9.6, respectively. Through the identification process, the researcher found that all five lactic acid bacterial isolates yielded the same result. They are Gram-positive bacteria, with rod shape, arranged in short chains, do not have the enzyme catalase, cannot grow at 10 and 40 degrees Celsius, but were able to grow in NaCl concentrations of 6.5 and 18 percent. They can grow at pH 4.4, while producing no growth at pH 9.6. Then, 49 types of selected lactic

acid bacteria were tested for digest carbohydrates by using API 50 CHL strip. The results showed that 5 isolates of lactic acid bacteria is *Lactobacillus plantarum.*

Keywords : Lactic acid Bacteria, Starter, Pickled Vegetable

1. บทนำ

การที่ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสำคัญและสนใจเกี่ยวกับอาหารทั้งด้านการผลิต ความปลอดภัยจากเชื้อโรคและสารเคมีที่นำมาใช้ถนอมอาหาร ทำให้มีการศึกษาและพัฒนาเกี่ยวกับการผลิต และมีการใช้สารถนอมอาหาร (preservative) ที่ได้จากธรรมชาติ กันมากขึ้น ซึ่งวิธีการหนึ่งที่นิยมใช้กันมาก คือ การใช้เชื้อจุลินทรีย์หรือสารยับยั้งที่จุลินทรีย์เหล่านี้สร้างขึ้นเพื่อยืดอายุอาหารให้เก็บได้นานขึ้นและเพิ่มความปลอดภัยให้ผู้บริโภคมากขึ้น แบคทีเรียแลกติกเป็นเชื้อที่ได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญในอาหารมายาวนาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอาหารหมักพื้นเมือง โดยช่วยให้รสชาติและลักษณะของอาหารหมักดีขึ้น ทั้งยังสามารถผลิตสารยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิด เช่น กรดอินทรีย์ ไดอะซิทิล ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ คาร์บอนไดออกไซด์ และแบคเทอริโอซิน (Fiorentini *et al*., 2001)

การนำแบคทีเรียแลกติกมาใช้นั้นอาจทำได้โดยการเติมเชื้อในอาหารขณะที่ทำการผลิตโดยตรง เช่น การหมักผัก ผลไม้ เนื้อ นม หรือนำสารที่เชื้อผลิตได้มาใช้ เช่น การเติมกรดอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นต่างๆ ลงในอาหารพวกเนื้อสัตว์เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Escherichia coli* O157 : H7 (Cutter and Siragusa, 1994)

ปัจจุบันพบว่ามีการนำแบคทีเรียแลกติกในกลุ่ม *Lactobacillus* มาใช้ในอาหารเป็นเวลานานแล้ว โดยส่วนใหญ่ถือได้ว่าเป็น biopreservative ในอาหารซึ่งอาจจะนำตัวเชื้อมาใช้ในลักษณะเป็นเชื้อเริ่มต้นในอาหารหมักต่างๆ หรือนำสารยับยั้งที่เชื้อผลิตได้ไปใช้ในอาหารก็ได้ การนำเชื้อเหล่านี้มาใช้โดยตรงมีความสำคัญมากในอาหารหมักทั้งพืช สัตว์ ผลิตภัณฑ์นมต่างๆ นอกจากจะช่วยให้สามารถเก็บรักษาอาหารได้นานแล้วยังช่วยให้เพิ่มมูลค่าและเพิ่ม รส กลิ่น สี ของอาหารด้วย (McMullen and Stile, 1996) ความสำคัญของแบคทีเรียเหล่านี้ เนื่องจากสามารถผลิตกรดซึ่งทำให้ pH ของสิ่งแวดล้อมลดลง เชื้ออื่นที่เจริญได้เฉพาะใน pH เป็นกลางก็ไม่สามารถเจริญปนเปื้อนได้ นอกจากนี้ยังสร้างสารยับยั้งอื่น ได้แก่ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ คาร์บอนไดออกไซด์ ไดอะซิทิล และแบคเทอริโอซิน ได้ด้วย (Wang and Hesseltin, 1981)

โดยกระบวนการผลิตผักดองในปัจจุบันยังเป็นการใช้กระบวนการหมักแบบดั้งเดิม คือ การหมักแบบธรรมชาติที่อาศัยเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับวัตถุดิบเป็นตัวช่วยในกระบวนการหมัก ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ และไม่ได้มาตรฐาน ทำให้ไม่สามารถปรับปรุงประสิทธิภาพของ

กระบวนการหมัก หรือเพิ่มอัตรากำลังการผลิตได้ นอกจากนี้ยังพบว่าในประเทศไทยยังไม่มีการพัฒนาการผลิตกล้าเชื้อสำหรับทำผักดองอย่างจริงจัง จึงทำให้นักวิจัยต้องการศึกษาและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียแลกติกที่มีคุณสมบัติเหมาะสมและมีประสิทธิภาพต่อการผลิตผักดอง เพื่อความสะดวกและลดระยะเวลาในกระบวนการหมัก อีกทั้งยังช่วยให้ได้ผลิตภัณฑ์ผักดองที่มีคุณภาพดี มีความสม่ำเสมอ และเป็นที่ยอมรับแก่ผู้บริโภค

ชนิดของเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่พบในผักดองส่วนใหญ่ ได้แก่ *Streptococcus* sp., *Pediococcus* sp, *Diplococcus* sp., *Leuconostoc* sp. และ *Lactobacillus* sp. และจากการศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่ผ่านมาสายพันธุ์ที่พบมากที่สุดจะเป็นกลุ่ม *Lactobacillus* sp. รองลงมาคือเชื้อ *Pediococcus* และ *Leuconostoc* sp. ซึ่งเป็นกลุ่มที่พบในอาหารหมักเช่นกัน (Oupathumpanont et al., 2009) ซึ่งนอกจากเชื้อจะผลิตกรดแลกติกแล้วยังผลิตสารหอมระเหยจากการหมักกลูโคส จึงช่วยสร้างกลิ่นรสในอาหารหมักดอง Soomro et al., (2002) นักวิจัยจึงสนใจคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียแลคติกในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกที่มีประสิทธิภาพต่อการผลิตในผักดอง

3. วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 สำรวจเก็บข้อมูลทางกายภาพ เคมี จุลชีววิทยาของตัวอย่างผักดองท้องถิ่นภาคใต้

โดยเก็บตัวอย่างผักดองในท้องถิ่นภาคใต้ ได้แก่ สะตอดอง ผักเสี้ยนดอง ผักกาดดอง และหน่อไม้ดองจำนวน 100 ตัวอย่างโดยเก็บทั้งน้ำผักดอง และเนื้อผักดองในระหว่างกระบวนการผลิต และที่ทำการหมักเสร็จแล้ว ตัวอย่างละ 500 กรัม เพื่อศึกษาลักษณะความขุ่นของน้ำผักดอง ค่า pH ปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด และปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผักดองแต่ละชนิด

3.2 การศึกษาเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผักดองแต่ละชนิด

ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดในผักดองแต่ละชนิด โดยนำตัวอย่างผักดอง 25 กรัม แช่ลงในน้ำเกลือ 0.85 % ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ใน MRS agar ที่มีแคลเซียมคาร์บอเนต 1 % และโซเดียมเอไซด์ 0.02 % บ่มที่อุณภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เลือกโคโลนีซึ่งมีวงใสบริเวณรอบ นำมาทำให้บริสุทธิ์อีกครั้ง

3.3. การศึกษาประสิทธิภาพการหมักของเชื้อแบคทีเรียแลคติก โดยนำเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่คัดเลือกได้ มาเลี้ยงใน MRS broth วัดค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมด นำผลที่ได้มาคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแลคติก โดยใช้สูตร

% กรดแลคติก = มิลลิลิตร NaOH X normality ของ NaOH X 90.08 X 100 มิลลิลิตรของตัวอย่าง X 100

และคัดเลือกเชื้อที่มีการสร้างกรดแลคติกสูง และมีปริมาณเชื้อสูง เพื่อทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ (identification) เปรียบเทียบกับ Bergey"s Manual of Systemetic Bacteria volume 2 (1986) และ Bergey"s Manual of Determinative Bacteriology (1996) โดยศึกษาลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ลักษณะโคโลนี สี ขนาด ความขุ่น รูปร่าง ศึกษาสัณฐานวิทยาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ ศึกษาลักษณะทางชีวเคมีบางประการ ได้แก่ การสร้างเอนไซม์คะตะเลส ความสามารถในการเจริญในโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 6.5 และ 18 % ความสามารถในการเจริญในอุณหภูมิ 10 และ 45 องศาเซลเซียส และการทดสอบการย่อยคาร์โบไฮเดรต 49 ชนิด โดยใช้ API 50 CHL strip เพื่อยืนยันชนิดของเชื้อแบคทีเรียแลกติกที่คัดเลือกได้

4. ผลการวิจัย

การแยกเชื้อแบคทีเรียแลคติกจากตัวอย่างผักดองได้แก่ สะตอ ผักเสี้ยน หน่อไม้และผักกาดดอง จากตลาดสดจำนวน 100 ตัวอย่าง มาการศึกษาลักษณะทางกายภาพ พบว่าผักดองทั้งหมดมีลักษณะสีไม่คล้ำ สีของน้ำดองอ่อนและใส มีความเป็นกรดเบสอยู่ระหว่าง 3.58-3.91 และเมื่อทำการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา พบว่ามีตัวอย่างผักดองที่พบแบคทีเรียแลกติกจำนวน 51 ตัวอย่าง และแยกแบคทีเรียแลกติกได้ 55 ไอโซเลต และมีปริมาณแบคทีเรียแลกติกอยู่ระหว่าง 6.0×10^{6} -7.0×10^{9} CFU/g

ภาพที่ 1 ตัวอย่างผักดอง

ตารางที่ 1 ลักษณะทางกายภาพ และค่าเฉลี่ย pH ของผักดอง

ตัวอย่าง	ลักษณะทางกายภาพ	ค่า pH
สะตอดอง	ลักษณะเม็ดสะตอยังคงสภาพ ไม่เปื่อยเละ สีไม่คล้ำ สีของน้ำดองค่อนข้างขุ่น มีฝ้าเล็กน้อย	3.78
ผักกาดดอง	เนื้อผักกาดแข็ง กรอบ ไม่เปื่อยและน้ำผักดองออกสีเหลืองอ่อนและใส	3.65
ผักเสี้ยนดอง	ลักษณะผักดองสีไม่คล้ำ สีของน้ำดองออกสีแดงอ่อนและใส ไม่มีฝ้า	3.91
หน่อไม้ดอง	เนื้อหน่อไม้ดองเป็นชิ้นไม่เละ สีขาวไม่คล้ำ น้ำดองค่อนข้างใส	3.58

ตารางที่ 2 แบคทีเรียแลกติกที่แยกได้จากตัวอย่างผักดอง อำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช

ชนิดผักดอง	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อแบคทีเรียแลกติก	ร้อยละของตัวอย่างทั้งหมดที่แยกได้	จำนวนไอโซเลตทั้งหมดที่แยกได้	ร้อยละของจำนวนไอโซเลตทั้งหมดที่แยกได้	จำนวนแบคทีเรียแลกติกที่พบ (CFU/g)
ผักกาดดอง	25	18	72.00	20	36.36	7.0×10^9
ผักเสี้ยนดอง	25	15	60.00	15	27.27	7.0×10^7
สะตอดอง	25	8	32.00	8	14.55	6.0×10^6
หน่อไม้ดอง	25	10	40.00	12	21.82	6.5×10^6
รวม	**100**	**51**		**55**		

เมื่อแยกเชื้อแบคทีเรียให้บริสุทธิ์โดยวิธี streak plate technigue บนอาหาร MRS agar สามารถแยกโคโลนีเดี่ยว ๆ ที่มีลักษณะแตกต่างกัน ได้แก่ โคโลนีขนาดใหญ่ ขอบเรียบ นูนทึบ โคโลนีขนาดเล็ก ขอบเรียบ นูนทึบ การทดสอบสร้างเอนไซม์คะตาเลสให้ผลลบ ย้อมติดสีแกรมบวก มีลักษณะรูปร่าง และการจัดเรียงตัวหลายแบบ ได้แก่ รูปร่างเป็นแท่ง มีทั้งที่เป็นแท่งสั้นและแท่งยาว การจัดเรียงตัวเป็นโซ่ มีจำนวน 37 ไอโซเลต เซลล์รูปร่างกลม เรียงตัวแบบกระจาย จำนวนแยกได้จำนวน 16 ไอโซเลต และเซลล์รูปร่างกลม เรียงตัวเป็นคู่ที่เซลล์ติดกัน จำนวน 2 ไอโซเลต

ตารางที่ 3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้

ชนิดผักดอง	การติดสีแกรม	การทดสอบคะตะเลส	รูปร่าง	การจัดเรียงตัว	จำนวนไอโซเลตทั้งหมดที่แยกได้	ร้อยละของจำนวนไอโซเลตทั้งหมดที่แยกได้
ผักกาดดอง หน่อไม้ดอง	บวก	ลบ	กลม	กระจาย	16	29.09
ผักกาดดอง ผักเสี้ยนดอง หน่อไม้ดองและสะตอดอง	บวก	ลบ	แท่ง	โซ่สั้น ๆ	37	67.27
ผักกาดดอง	บวก	ลบ	กลม	คู่, tetrad	2	3.64
รวม					**55**	**100.00**

การทดสอบประสิทธิภาพการหมักของแบคทีเรียแลคติกในอาหาร MRS broth วัดค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแลคติก และวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียแลคติกทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน คัดเลือกเชื้อที่มีการสร้างกรดแลคติกสูง พบว่าสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียแลคติกได้ 5 ไอโซเลต ได้แก่ K14, K15, K20, N10 และ N12 โดยมีความเป็นกรดเบสอยู่ในระหว่าง 3.56- 3.65 ปริมาณกรดทั้งหมดอยู่ระหว่าง 0.68-0.78 N และมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกอยู่ระหว่าง 5.8 × 10^6-6.3 × 10^7 CFU/g จากนั้นทำการพิสูจน์เอกลักษณ์แบคทีเรียแลคติกที่คัดเลือกได้โดยนำมาเทียบเคียงชนิดตามวิธีการของ Bergey's Manual determinative bacteriology volume 2 และ Lactic acid bacteria (Salminen and Wright, 1993) พบว่าแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลต เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นแท่ง มีการเรียงตัวเป็นสายโซ่สั้นๆ ไม่พบการจัดเรียงตัวแบบสี่เซลล์ ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส ไม่สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 10 และ40 องศาเซลเซียส แต่มีความสามารถในการเจริญในโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 6.5 และ 18 % มีความสามารถในการเจริญที่ pH 4.4 แต่ไม่สามารถเจริญที่ pH 9.6 ทำการทดสอบการย่อยคาร์โบไฮเดรต 49 ชนิด โดยใช้ API 50 CHL strip เพื่อยืนยันชนิดของเชื้อแบคทีเรียแลกติกที่คัดเลือกได้จากผักดองและมีประสิทธิภาพการหมักสูง พบว่า คือ เชื้อ *Lactobacillus plantarum*

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพการหมักของเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่คัดเลือกได้

ลำดับ	ไอโซเลต	pH	ปริมาณกรดทั้งหมด	จำนวนแบคทีเรียแลคติก CFU/g
1	K14	3.65	0.68 ± 0.01	6.0×10^6
2	K15	3.64	0.73 ± 0.02	4.8×10^7
3	K20	3.60	0.78 ± 0.05	6.3×10^7
4	N10	3.56	0.68 ± 0.02	5.8×10^6
5	N12	3.58	0.75 ± 0.01	6.0×10^7

ตารางที่ 5 คุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมีบางประการของแบคทีเรียแลคติก

ลักษณะที่ศึกษา	รหัสแบคทีเรียแลคติก				
	K14	K15	K20	N10	N12
Tetrad formation	-	-	-	-	-
การเจริญที่ 10°C	-	-	-	-	-
การเจริญที่ 40°C	-	-	-	-	-
การเจริญในร้อยละ 6.5 NaCl	+	+	+	+	+
การเจริญในร้อยละ 18 NaCl	+	+	+	+	+
การเจริญที่ pH 4.4	+	+	+	+	+
การเจริญที่ pH 9.6	-	-	-	-	-

ภาพที่ 2 ผลทดสอบการย่อยคาร์โบไฮเดรต 49 ชนิด โดยใช้ API 50

5. สรุปผล

จากการเก็บตัวอย่างผักดองได้แก่ ผักกาดดอง ผักเสี้ยนดอง หน่อไม้ดอง และสะตอดอง จากตลาดสดอำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 100 ตัวอย่าง พบว่า 1) มีค่าความเป็นกรดเบสอยู่ระหว่าง 3.58-3.91 2) พบเชื้อแบคทีเรียแลกติกจำนวน 51 ตัวอย่าง (ร้อยละ 51.00) 3)ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลกติกอยู่ระหว่าง 6.0×10^{6} -7.0×10^{9} CFU/g และแยกเชื้อแบคทีเรียแลคติกได้ 55 ไอโซเลต 4) นำไปทดสอบประสิทธิภาพการหมัก พบว่ามีแบคทีเรียแลคติกที่สามารถสร้างกรดแลคติกและมีปริมาณเชื้อสูง ได้แก่ ไอโซเลต K14, K15, K20, N10 และ N12 ซึ่งคือเชื้อแบคทีเรียแลคติกสกุล *Lactobacillus plantarum* โดยมีลักษณะดังนี้ เจริญได้ดีที่ช่วง pH 3.56- 3.65 มีปริมาณกรดทั้งหมด 0.68-0.78 N และมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก 5.8×10^{6}-6.3×10^{7} CFU/g เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นแท่ง การเรียงตัวเป็นสายโซ่สั้นๆ ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส ไม่สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 10 และ45องศาเซลเซียส แต่สามารถเจริญในโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 6.5 และ 18 % สามารถเจริญที่ pH 4.4 แต่ไม่สามารถเจริญที่ pH 9.6 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Maneerat (2000) ที่ศึกษาแบคทีเรียแลคติก 91 สายพันธุ์จากอาหารหมักของไทย พบว่าทุกสายพันธุ์ที่คัดแยกได้อยู่ในจีนัส *Lactobacillus* sp. และเจริญได้ดีที่ pH 1.5-3.0 Yang et al.(2010) ทำการคัดแยกแบคทีเรียแลคติกจากเศษผักหมัก พบว่าทั้ง 52 ไอโซเลทเป็นเชื้อ

Lactobacillus plantarum และ Argyri et al.,(2013) ทำการคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกจากมะกอกดองเพื่อใช้เป็นหล้าเชื้อในการปรับปรุงกระบวนการหมักแบบดั้งเดิม พบว่าเชื้อที่คัดแยกได้คือ *Lactobacillus pentosus, Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus paracasei* ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียแลคติกจีนัสที่พบมากที่สุดในผลิตภัณฑ์ผักดอง คือ *Lactobacillus* sp.และมีความเป็นไปได้สูงในการนำไปพัฒนาเป็นกล้าเชื้อในการผลิตผักดองเพื่อลดระยะเวลาและปรับปรุงกระบวนการหมักแบบดั้งเดิมได้

6. ข้อเสนอแนะ

6.1 ควรศึกษาวิธีการเก็บรักษาเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ในรูปเชื้อแห้ง เพื่อประโยชน์ในการใช้งานต่อไป

6.2 ควรศึกษาประสิทธิภาพการหมักผักดองโดยใช้กล้าเชื้อ *L. Plantarum* ที่คัดแยกได้

เอกสารอ้างอิง

Argyri, A.A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K.G., Tsakalidou, E., Nychas, G.E., Panagou, E.Z., Tassou, C.C. 2013. **Selection of potential probiotic lactic acid bacteria fromm fermented olives by in vitro tests**. Food Microbiology. 33 : 282-291.

Fiorentini, A.M., Sant'Anna, E.S., Porto, A.C.S., Mazo, J.Z. and Franco,B.D.G.M. (2001). **Influence of bacteriocins produced by *Labtocacillus plantarum* BN in the shelf-life of refrigerated bovine meat**. Brazillian Journal of Microbiology. 32 : 42-46.

Kandler and Weiss. (1986). **Bergey 's manual determinative bacteriology.2** : 1208-1235.

Maneerat, S. 2000. **Expolysaccharide from Lactic Acid Bacteria.** Songkhlanakarin J. Sci. Technol. 22 : 397-402.

McMullen, L.M. and Stiles, M.E. (1996). **Potential for use of bacteriocin-producing lactic acid bacteria in the preservation meats**. 59 : 64-71.

Oupathumpanont,O.,Chantarapanont,W.,Suwonsichon, T., Haruthaithanasan,V. and Chompreede,P.2009. **Screening of Lactic acid bacteria for improving the Kanom-jeen process**. Kasetsart. J. Nat. Sci.43 :557-565.

Salminen, S. and Wright, A.V. (1993). **Lactic Acid Bacteria. Ist ed.** Marcel Dekker Inc. New York.

Soomro, A.H., Masud, T. and Anwarr, K., (2002). **Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health-a review**. Pakistan Journal of Nutrition. 1 : 20-24.

Wang, H.L.and C.W. Hesseltin. 1981. **Use of microbial culture: Legume and cereal products.** Food Technol. 35(1):79-83.

Yang, J., Cao, Y., Terada, F. 2010. **National population of lacticacid bacteria isolated fromm vegetable residues and silage fermentation**. J. Dairy. Sci. 93(7):3136-45.