การเตรียมกล้าเชื้อผงสำหรับการผลิตแหนม

Preparation of Powder Inoculum for Nham Production

ศุภศิลป์ มณีรัตน์

Suppasil Maneerat

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biotechnology

Prince of Songkla University

2541

Order Key 15905

BIB Key 144136

QR82.L3 ศ 44

2541

- 2 ก.ค. 2541

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเตรียมกล้าเชื้อผงสำหรับการผลิตแหนม

ผู้เขียน นายศุภศิลป์ มณีรัตน์

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2540

บทคัดย่อ

การศึกษาการเจริญของ *Lactobacillus plantarum* *Pediococcus cerevisiae* และ *Micrococcus varians* ซึ่งใช้เตรียมกล้าเชื้อผงสำหรับการผลิตแหนม พบว่า *L. plantarum* ผลิตกรดแลกติกมากในช่วงแรกของการเจริญ เข้าสู่ระยะ mid-log late-log และ stationary ที่เวลา 6 12 และ 21 ชั่วโมงตามลำดับ และมีค่าความขุ่นสูงสุด (OD_{500}) คือ 18.5 *P. cerevisiae* ผลิตกรดแลกติกมากในช่วงหลังของการเจริญ เข้าสู่ระยะ mid-log late-log และ stationary ที่เวลา 5 9 และ 18 ชั่วโมงตามลำดับ และมีค่าความขุ่นสูงสุดคือ 4.8 ส่วน *M. varians* ผลิตกรดแลกติกน้อยมาก เข้าสู่ระยะ mid-log late-log และ stationary ที่เวลา 6 12 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับและมีค่าความขุ่นสูงสุดคือ 13.1

เมื่อนำเชื้อ *L. plantarum* *P. cerevisiae* และ *M. varians* ที่เจริญอยู่ในระยะต่างๆ เตรียมกล้าเชื้อผง นำซัสเพนชั่นของเซลล์ที่ได้จากการเหวี่ยงแยกเซลล์ผสมกับแป้งข้าวเจ้าในอัตราส่วน 1:20 โดยมีจำนวนเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^8 10^9 และ 10^9 CFU/g ตามลำดับ กล้าเชื้อผง *L. plantarum* และ *P. cerevisiae* ที่เตรียมจากเชื้อซึ่งเจริญอยู่ในระยะ stationary และเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 วัน มีจำนวนเชื้อรอดชีวิตมากที่สุดประมาณ 10^7 และ 10^8 CFU/g ตามลำดับ ในขณะที่กล้าเชื้อผง *M. varians* ที่เตรียมจากเชื้อซึ่งเจริญอยู่ในระยะ late-log และ stationary ที่เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 เดือน มีจำนวนเชื้อรอดชีวิตไม่แตกต่างกันคือ 10^8 CFU/g

การใช้แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียว และแป้งข้าวเจ้าผสมกับแป้งข้าวเหนียวในอัตราส่วน 3:1 เป็นตัวพยุงในการเตรียมกล้าเชื้อผง พบว่าจำนวนของเชื้อ *L. plantarum* *P. cerevisiae* และ *M. varians* ที่รอดชีวิตในกล้าเชื้อผงไม่แตกต่างกัน เมื่อมีการเติมสารเพิ่มความคงตัวในกล้าเชื้อผงคือ น้ำตาลแลกโตส โมโนโซเดียมกลูตาเมต น้ำตาลซูโครส วิตามินซี และหางนม พบว่าไม่ช่วยเพิ่มการรอดชีวิตของกล้าเชื้อผงทั้ง 3 ชนิดในขณะเก็บ

รักษา ปริมาณความชื้นที่เหมาะสมของกล้าเชื้อผงต่อการรอดชีวิตของ *L. plantarum* อยู่ระหว่างร้อยละ 5-12 ของกล้าเชื้อผง *P. cerevisiae* อยู่ระหว่างร้อยละ 9-19 และของ *M. varians* คือ ความชื้นร้อยละ 18

กล้าเชื้อผง *L. plantarum* *P. cerevisiae* และ *M. varians* ที่บรรจุในถุงโพลีโพรพีลีนและถุงโพลีเอธิลีนฉาบด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ แล้วเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 เดือน พบว่ามีจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตไม่แตกต่างกันคือ 10^7 10^8 และ 10^8 CFU/g ตามลำดับ กล้าเชื้อผงของ *L. plantarum* และ *P. cerevisiae* ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสมีการรอดชีวิตมากกว่ากล้าเชื้อผงที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง อย่างไรก็ตามกล้าเชื้อผง *M. varians* สามารถเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 เดือนมีจำนวนเชื้อที่รอดชีวิต 10^7 CFU/g นอกจากนี้กล้าเชื้อผงทั้ง 3 ชนิด เมื่อเก็บในถุงที่มีการปิดผนึกแบบสุญญากาศและการปิดผนึกแบบธรรมดามีจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตไม่แตกต่างกัน

การเปรียบเทียบแหนมที่ผลิตโดยการใช้กล้าเชื้อผงและกล้าเชื้อสด กับแหนมที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิม พบว่าแหนมที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อผง กล้าเชื้อสดและแหนมที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิมมีค่าพีเอช 3.64 3.64 และ 4.64 ตามลำดับ ค่าร้อยละกรดแลกติก 1.32 1.33 และ 0.97 ตามลำดับ และตรวจไม่พบแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนค่าสี ความแน่นเนื้อ ความเปรี้ยวและความชอบรวมของแหนมที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อผงและกล้าเชื้อสดมากกว่าแหนมที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่คะแนนค่าสี ความแน่นเนื้อ ความเปรี้ยวและความชอบรวมของแหนมที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อผงและแหนมที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อสดมีค่าไม่แตกต่างกัน

Thesis Title Preparation of Powder Inoculum for Nham Production

Author Mr. Suppasil Maneerat

Major Program Biotechnology

Academic Year 1997

Abstract

Lactobacillus plantarum, *Pediococcus cerevisiae* and *Micrococcus varians* are used as starter cultures for Nham production. These bacteria were used to prepare powder inoculum. The growth of the starter cultures was determined. It was found that *L. plantarum* produced lactic acid rapidly in early stage of fermentation. Mid-log phase, late-log phase and stationary phase of *L. plantarum* were at 6, 12 and 21 h of cultivation time, respectively. The highest optical density was 18.5 (OD_{500}). *P. cerevisiae* produced lactic acid in the final stage of cultivation. *P.* cerevisiae had mid-log phase late-log phase and stationary phase at 5, 9 and 18 h of cultivation time, respectively. The highest optical density was 4.8. *M. varians* produced less lactic acid than the other two bacteria. Mid-log phase late-log phase and stationary phase of *M. varians* were at 6, 12 and 24 h of cultivation time, respectively. The highest optical density was 13.1.

Cultures of *L. plantarum*, *P. cerevisiae* and *M. varians* harvested at different growth phases were used to prepare the powder inoculums. Powder inoculums were prepared by mixing rice flour with harvested cells that had been centrifuged. The ratio cells:rice flour was 1:20. The initial viable cell counts in the powder inoclum were 10^8, 10^9 and 10^9 CFU/g, respectively. When stored at 4 °C for 10 days, the highest survival of *L. plantarum* and *P. cerevisiae* in the powder inoculums were obtained using stationary phase cultures, with the resulting count of 10^7 and 10^8 CFU/g, respectively. For *M. varians* the survival of late-log phase and stationary phase harvested cultures in the powder inoculums were the same, 10^8 CFU/g after 2 months storage at 4 °C.

The viability of *L. plantarum*, *P. cerevisiae* and *M. varians* in powder inoculums was not different when using various supporting materials (rice flour, sticky rice flour and mixed flour in ratio 3:1). When stabilizing agents (lactose, monosodiumglutamate, sucrose, vitamin C and skim milk) were added, they did not improve the viability of the cultures in the powder inoculums. The moisture contents for the survival of *L. plantarum*, *P.* cerevisiae and *M. varians* in the powder inoculums were 5-12 %, 9-19 % and 18 % , respectively.

Bags of polypropylene or polyethylene laminated with aluminium foil were used to store the powder inoculums of *L. plantarum*, *P. cerevisiae* and *M. varians*. There was no difference in survival with the viable cell counts of 10^7, 10^8 and 10^8 CFU/g, respectively when stored at 4 ^{o}C for 2 months. Storage of powder inoculums of *L. plantarum* and *P. cerevisiae* at 4 ^{o}C had higher survival than storage at room temperature. However, the powder inoculum of *M. varians* stored at room temperature had viable cell count of 10^7 CFU/g after 2 months. In addition powder inoculums of these bacteria in vacuum sealed and normal sealed bags showed no difference in viable counts.

Nham produced using powder inoculums, fresh cultures and without starter culture had pH 3.64, 3.64 and 4.64, and total acidity as lactic acid of 1.32, 1.33 and 0.97%, respectively. Enterobacteriaceae was not detected in Nham produced with and without starter culture. Panelists gave higher score with regards to colour, firmness, sour and overall acceptibility of Nham produced with powder inoculums and Nham produced with fresh cultures than Nham produced without starter culture ($p>0.05$). Colour, firmness, sour and overall acceptibility of Nham produced with powder inoculums and Nham produced with fresh cultures were not significantly different ($p<0.05$).