

การศึกษาส่วนผสมที่เหมาะสมและบทบาท ของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในแตงกวาดองหวาน

ดวงพร คันธโชติและนัตยา ทับกะแตะ
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ 90112

บทคัดย่อ

การศึกษาการทำแตงกวาดองหวานได้สูตรซึ่งมีกลีนิรสติ ประกอบด้วยน้ำตาล 40 องศาบริกซ์ เกลือ 2.3% น้ำส้มสายชู 1.75% แคลเซียมคลอไรด์ 1.0% เชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* 5×10^6 เซลล์ต่อแตงกวา 425 กรัม เวลาในการลวกแตง 5 นาที ใช้เวลาหมัก 5 วัน ได้แตงกวาดองหวานมีค่า pH 3.5 กรดแลคติก 0.76 % มีน้ำตาลและเกลือเหลือ 15 องศาบริกซ์ และ 0.68% ตามลำดับแตงกวาดองหวานที่ได้มีลักษณะสีเขียวขี้ม้า เนื้อแตงกวาใสและกรอบ

เมื่อเปรียบเทียบชนิดของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ในแตงกวาดองหวาน สูตรเหมาะสมซึ่งใช้เป็นสูตรเปรียบเทียบและสูตรเหมาะสมที่เติม *Leuconostoc mesenteroides* พบว่าแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการหมักคือ *Lactobacillus fermenti* L. *plantarum* และ *L. viridescens* ซึ่งจะพบทั้ง 2 สูตร ส่วน *L. brevis* พบเฉพาะในสูตรเปรียบเทียบ ขณะที่ *Leu. mesenteroides* พบเฉพาะในสูตรที่เติมสูตรเปรียบเทียบเมื่อหมักได้ 1 วัน มี *L. viridescens* ในปริมาณมากที่สุด วันที่ 2 จะมี *L. plantarum* และ *L. brevis* มากที่สุด โดยที่ *L. fermenti* ยังคงที่อยู่และอายุ 3-5 วัน จะมี *L. plantarum* มากที่สุด รสชาติทางประสาทสัมผัสยังไม่ได้เท่าที่ควรเพราะรสเปรี้ยวเกินไป มีเมือกและก๊าซเกิดขึ้นด้วย ส่วนสูตรที่เติมเชื้อเมื่อเริ่มการหมักได้ 1 วัน จะมี *L. viridescens* และ *L. plantarum* พอ ๆ กัน อายุ 2-3 วัน *L. viridescens* เป็นเชื้อที่พบในปริมาณสูงเมื่ออายุได้ 3 วัน ส่วนใหญ่จะเป็น *L. plantarum* และ *L. mesenteroides* เมื่ออายุ 4-5 วัน เชื้อที่มีปริมาณมากยังเหมือนเดิม แต่ไม่พบเชื้อ *L. viridescens* แตงกวาดองหวานสูตร เติมเชื้อจะมีกลีนิรสติ

The Study of the Most Suitable Constituents of Sweet-Pickled Cucumber : The Role of Lactic Acid Bacteria

Duangporn Kantachote and Nattaya Tumkadae

Department of Microbiology, Faculty of Science,
Prince of Songkla University, Hat-Yai 90112

Abstract

From this story, it was found that flavour constituents of sweet-pickled cucumber were as follows :40° Brix sugar, 2.3 % salt, 1.75 % vinegar, 1.0 % CaCl₂, 5 minute blanching time need in the process and 5×10^6 *Leuconostoc mesenteroides* cells were added to every 425 grams of cucumber After being fermented for 5 days, the pH of the product was 3.5 acidity of 0.76% as lactic acid. In addition sugar and salt were reduced to 15° Brix and 0.68%, respectively. The product was olive green translucent and crunchy.

It was shown that in both formulations, *Lactobacillus fermenti*, *L. plantarum* and *L. viridescens* played the key roles. *L. brevis* was found only in the controlled pickles, while *L. mesenteroides* was found only in the controlled pickles, *L. viridescens* was found in the largest quantities of *L. plantarum* and *L. brevis* increased where as the quantity of *L. fermenti* remained the same. The most quantity of *L. plantarum* was found during the third and the fifth day. The taste was too sour and there was mucous and gas formation for the culture-added pickles, the quantities of *L. viridescens* and *L. plantarum* were equal on the first day. On the second and the third day, *L. viridescens* was prominent, *L. plantarum* and *L. mesenteroides* were found the most on the third day. At day 4 and 5 *L. plantarum* and *L. mesenteroides* remained the most, however *L. viridescens* disappeared. The taste of the culture added is flavourous.

คำนำ

เนื่องจากแตงกวาเป็นผลิตผลทางการเกษตร ผลผลิตที่ได้ขึ้นกับฤดูกาล ดังนั้นในช่วงที่เป็นฤดูกาลของแตงกวาผลผลิตที่ได้มากเกินความต้องการของท้องตลาด การแปรรูปแตงกวาโดยการหมัก ซึ่งเป็นวิธีการถนอมอาหารวิธีหนึ่งที่เหมาะสมกับแตงกวา การหมักแตงกวาดองแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ แตงกวาหมักเกลือ และแตงกวาดองปรุงรส การเตรียมแตงกวาดองปรุงรส อาจจะเตรียมจากแตงกวาสด หรือแตงกวาหมักเกลือ ในการทดลองครั้งนี้ใช้วิธีการหมักแตงกวาดองหวานจากแตงกวาสด เพื่อศึกษาหากรรมวิธีการผลิตที่เหมาะสมให้ได้แตงกวาดองหวานตามรสนิยมของผู้บริโภค ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของเกลือ น้ำตาล น้ำส้มสายชูและแคลเซียมคลอไรด์ เวลาที่ใช้ในการลวกแตง ปริมาณเชื้อที่เติม เพื่อทำแตงกวาดองหวาน เทียบเคียงกับชนิดของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในแตงกวาดองหวาน และมีบทบาทในกระบวนการหมักแตงกวาดองหวาน

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. ขวดกาแพขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.5 ซม. ความสูง 17.3 ซม.
 2. เครื่องแก้วที่ใช้ทดลองทางจุลชีววิทยาและวิเคราะห์ทางเคมี
 3. อุปกรณ์เตรียมแตงกวาเพื่อหมักได้แก่ มีด เขียง กะละมัง กาดัมน้ำ สามขา ผ้าขาวบาง เป็นต้น
 4. อุปกรณ์สูดตัวอย่างได้แก่ ซ้อน ปากคีบ กรรไกร ถุงพลาสติก แอลกอฮอล์ 95%
 5. เครื่องชั่งชนิดหยาบและละเอียด
 6. Vortex mixer
 7. เครื่องปั่น (Blender)
 8. Hand refractometer สำหรับวัดปริมาณน้ำตาล
 9. pH meter
 10. Haemocytometer
 11. อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์
1. การผลิตแตงกวาดองหวานสูตรต่าง ๆ เพื่อหาสูตรที่เหมาะสม ทำทั้งหมด 7 การทดลองการทดลองละ 2 ข้ำ
 - 1.1 สูตรดั้งเดิมและใช้เป็นสูตรเปรียบเทียบ ส่วนผสมมีน้ำตาล 3% (5.2 องศาบริกซ์) เกลื่อน้ำส้มสายชูอย่างละ 2% กระเทียม 20 กรัม/น้ำปรุงรส 100 มล.
 - 1.2 การแปรผันปริมาณน้ำตาลโดยใช้ 20, 30, 40 และ 50 องศาบริกซ์ ส่วนผสมอื่นเหมือนสูตรดั้งเดิม แต่เพิ่มพริกไทยเม็ด 10 กรัม/น้ำปรุงรส 100 มล.
 - 1.3 การแปรผันปริมาณเกลือโดยใช้เกลือแกง 1.5, 2.0, 2.3 และ 2.5 % น้ำตาล 40 องศาบริกซ์ ส่วนผสมอื่นเหมือนเดิม
 - 1.4 การแปรผันปริมาณน้ำส้มสายชูโดยใช้ 1.2, 1.5, 1.75 และ 2.0% เกลือ 2.3% ส่วนผสมอื่นเหมือนเดิม

- 1.5 การแปรผันปริมาณแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) โดยใช้ 0.3, 0.5, 0.75, 1.0 และ 1.25% น้ำส้มสายชู 1.75% ส่วนผสมอื่นเหมือนเดิม
- 1.6 การแปรผันเวลาที่ใช้ลวกเต่างวาสดโดยใช้ 5,10, และ 15 นาที CaCl_2 1.0% ส่วนผสมอื่นเหมือนเดิม
- 1.7 การแปรผันปริมาณ *Leuconostoc mesenteroides* 478 MSDS โดยใช้ 5×10^4 , 5×10^5 , 5×10^6 และ 5×10^7 เซลล์/เต่างวา 425 กรัม ลวกเต่าง 5 นาที ส่วนผสมอื่นเหมือนเดิม

การทดลองที่ 1.1-1.5 ใช้เวลาลวกเต่างวา 10 นาที

การทำเต่างวาของหวานจะเริ่มจากนำเต่างวาสดมาคัดขนาดตามต้องการล้างทำความสะอาด ผ่าตามยาวผ่านใจกลาง ลูกหนึ่งจะได้ 4 ชิ้น เอาไส้ออกให้หมด ลวกด้วยน้ำร้อนขนาด 60 องศาเซลเซียส เวลาตามที่กำหนด ผึ่งให้แห้งบรรจุขวดให้แน่นจนเต็มขวดเติมน้ำปรุงรสขณะร้อน 78 องศาเซลเซียส ให้ท่วมเต่างวาพอดี ปิดฝาให้แน่น หมักที่อุณหภูมิห้องนาน 5 วัน สูตรดั้งเดิมหมักนาน 10 วัน เพื่อหาอายุการหมักที่เหมาะสม การเตรียมน้ำปรุงรสทุบกระเทียมให้แตกรวมกับพริกไทยเม็ดห่อด้วยผ้าขาวบาง ต้มในน้ำกลั่น 1 ชั่วโมง โดยใช้น้ำส้มสายชูเป็นตัวสกัดสารจากนั้นเอาผ้าขาวบางออกไป เติมน้ำตาลเกลือปรับปริมาตรน้ำปรุงรสให้ได้ตามกำหนดเทลงในขวดซึ่งบรรจุเต่างวาไว้ขณะยังร้อนอยู่

2. การติดตามกระบวนการหมักเต่างวาของหวาน

การทดลองที่ 1.1 - 1.7 แต่ละการทดลองเก็บตัวอย่างทุกวัน ตั้งแต่วันที่ 0 (เริ่มต้นการหมัก) จนถึงวันที่ 5 เพื่อศึกษาในหัวข้อ

- 2.1 นับจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียและจำนวนยีสต์⁽⁶⁾ โดยนำตัวอย่างมาเจือจางที่กำลังเจือจางต่าง ๆ นำกำลังเจือจางที่เหมาะสมมา pour plate ด้วยอาหาร MRS และ MY เพื่อตรวจนับแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และยีสต์ตามลำดับ
- 2.2 วัด pH โดยใช้ pH meter
- 2.3 หาปริมาณกรดแลคติก ซึ่งตัวอย่าง 5 กรัม (เนื้อเต่างวาและน้ำหมัก) แล้ววิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ กรดแลคติกโดยการไตเตรทด้วย NaOH ⁽²⁾
- 2.4 วัดปริมาณน้ำตาลโดยใช้ Hand refractometer
- 2.5 วัดปริมาณเกลือโดยวิธีไตเตรทด้วย KSCN ⁽²⁾
- 2.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยดูสีด้วยแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ความขุ่นของน้ำหมัก การเกิดก๊าซ รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัสและกลิ่น ใช้กลุ่มผู้ทดสอบประมาณ 10 คน เป็นนักศึกษาและอาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์โดยได้รับการแนะนำในการชิมตามแบบทดสอบทางประสาทสัมผัส ซึ่งเป็นแบบพรรณนา (descriptive test)⁽¹⁰⁾

3. การศึกษาแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง

3.1 การทดลองนี้จะใช้แตงกวาดองหวาน 2 สูตร คือสูตรเหมาะสมที่ไม่เติมเชื้อ *L. mesenteroides* 478 MSDS และอีกสูตรคือสูตรเหมาะสมซึ่งเติมเชื้อดังกล่าวปริมาณ 5×10^6 เซลล์/แตงกวา 425 กรัม สุ่มตัวอย่างแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ตั้งแต่เริ่มต้นจนอายุการหมัก 5 วัน โดยสุ่มจากกำลังเจือจางที่ให้โคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี/สุ่มมาจานเพาะเลี้ยงละ 8 ไอโซเลทที่แตกต่างกัน แต่ละวันสุ่มมา 32 ไอโซเลท (8+8+8+8) และเพื่อที่จะสุ่มให้ได้ตัวแทนที่เหมาะสม จะแบ่งจานเพาะเลี้ยงเป็น 4 ส่วน แต่ละส่วนเลือกเอาโคโลนีที่ต่างกันขึ้นมา 2 โคโลนี ทำให้บริสุทธิ์เก็บไว้ใน MRS agar

3.2 การทดสอบเพื่อเทียบเคียงแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (3,8,13)

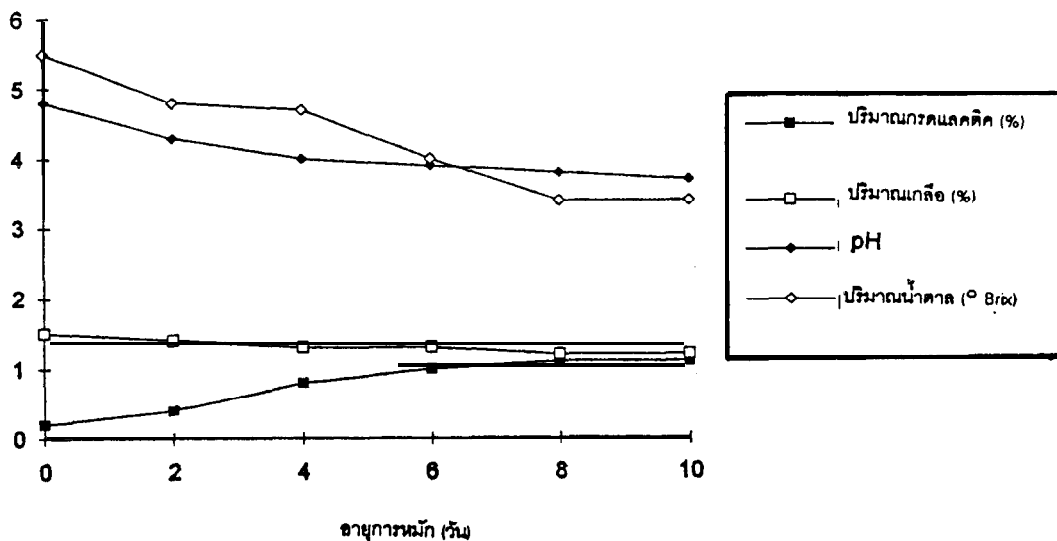
ผลการทดลอง

สำหรับผลทดสอบทางประสาทสัมผัสจากการผลิตแตงกวาดองหวานสูตรต่างๆ ของชุดทดลองทั้งหมด 7 การทดลอง แสดงผลเฉพาะสูตรที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดของแต่ละการทดลองดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่าสูตรดั้งเดิมที่ใช้เปรียบเทียบมีรสเปรี้ยวจัด เนื้อแตงนึมน้ำหนักชูนมากซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่ต้องการ และจากการทดลองทั้งหมดจึงได้แตงกวาดองหวานสูตรเหมาะสมที่สุดคือมีน้ำตาล 40° บริกซ์ เกลือ 2.3 % น้ำส้มสายชู 1.75 % CaCl_2 1% ลวกแตง 5 นาที และเติมเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* 478 MSDS 5×10^6 เซลล์ต่อแตงกวา 425 กรัมและทุกการทดลองตรวจพบยีสต์เมื่อเริ่มต้นการหมักปริมาณอยู่ในช่วง Log ที่มีค่า 2-3 และเมื่ออายุการหมักได้ 1 วัน พบเฉพาะในการทดลองที่แปรผันปริมาณน้ำส้มสายชูเท่านั้น และทุกการทดลองเมื่ออายุการหมัก 2 วันไม่พบยีสต์เลย (ไม่ได้แสดงข้อมูล)

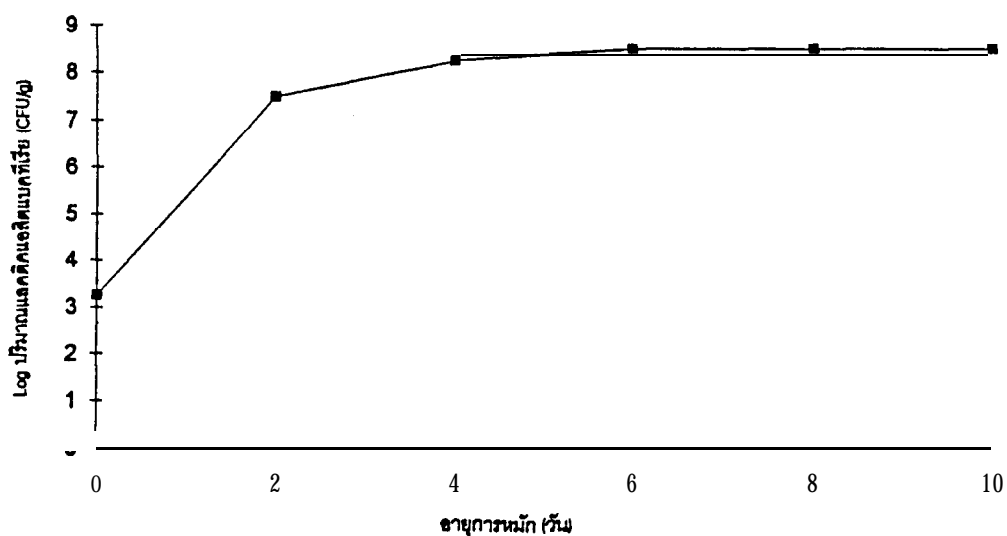
ตารางที่ 1 ลักษณะทางประสาทสัมผัสของแตงกวาดองสูตรต่างๆ

ลักษณะ	สูตรเปรียบเทียบ	น้ำตาล 40 องศาบริกซ์	เกลือ 2.3%	น้ำส้มสายชู 1.75%	CaCl_2 1%	am 5 นาที	เติมเชื้อ 5×10^6 เซลล์/425g
กลิ่นรส	เปรี้ยวจัด	เปรี้ยวอมหวาน	เปรี้ยวอมหวาน	เปรี้ยวอมหวาน	เปรี้ยวอมหวาน	เปรี้ยวอมหวาน	เปรี้ยวอมหวาน
สี	เขียวขี้ม้า	เขียวขี้ม้า	เขียวขี้ม้า	เขียวขี้ม้า	เขียวขี้ม้า	เขียวขี้ม้า	เขียวขี้ม้า
เนื้อสัมผัส	นิ่ม	กรอบ นุ่มบริเวณด้านใน	กรอบ นุ่มบริเวณด้านใน	กรอบ นุ่มบริเวณด้านใน	กรอบ	กรอบ	กรอบ
ความชุ่ม	ชุ่มมาก	ชุ่มมาก	ชุ่มมาก	ชุ่มมาก	ค่อนข้างใส	ค่อนข้างใส	ค่อนข้างใส
ก๊าซ	น้อย	น้อย	น้อย	ปานกลาง	น้อย	ปานกลาง	ไม่เกิด

สูตรดั้งเดิมมีรสเปรี้ยวจัดเมื่ออายุการหมัก 8 วันขึ้นไป เพราะมีค่า pH ประมาณ 3.6 มีกรดแลคติกประมาณ 1% เกลือ 1.5% ปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรียในรูปของ log มีค่า 8.5 และเชื้อไม่สามารถใช้น้ำตาลได้หมด ถึงแม้ปริมาณน้ำตาลต่ำ อาจเป็นเพราะสภาวะที่เป็นกรดมากได้ยับยั้งการเจริญของเชื้อ⁽¹¹⁾ ดังรูปที่ 1 และ 2

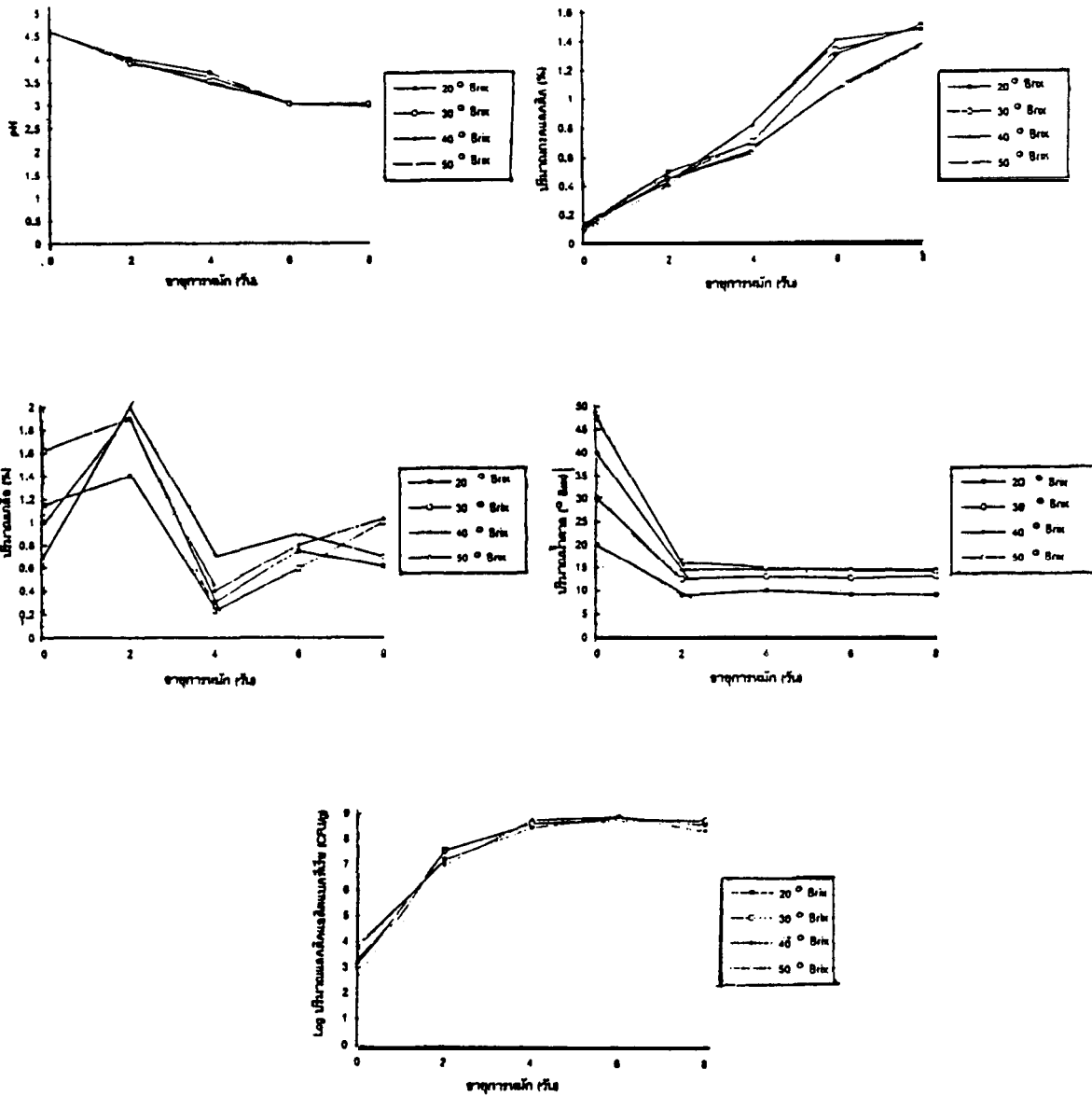


รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรด เกลือ น้ำตาล และค่า pH กับอายุการหมักของแตงกวาดองหวานสูตรดั้งเดิม



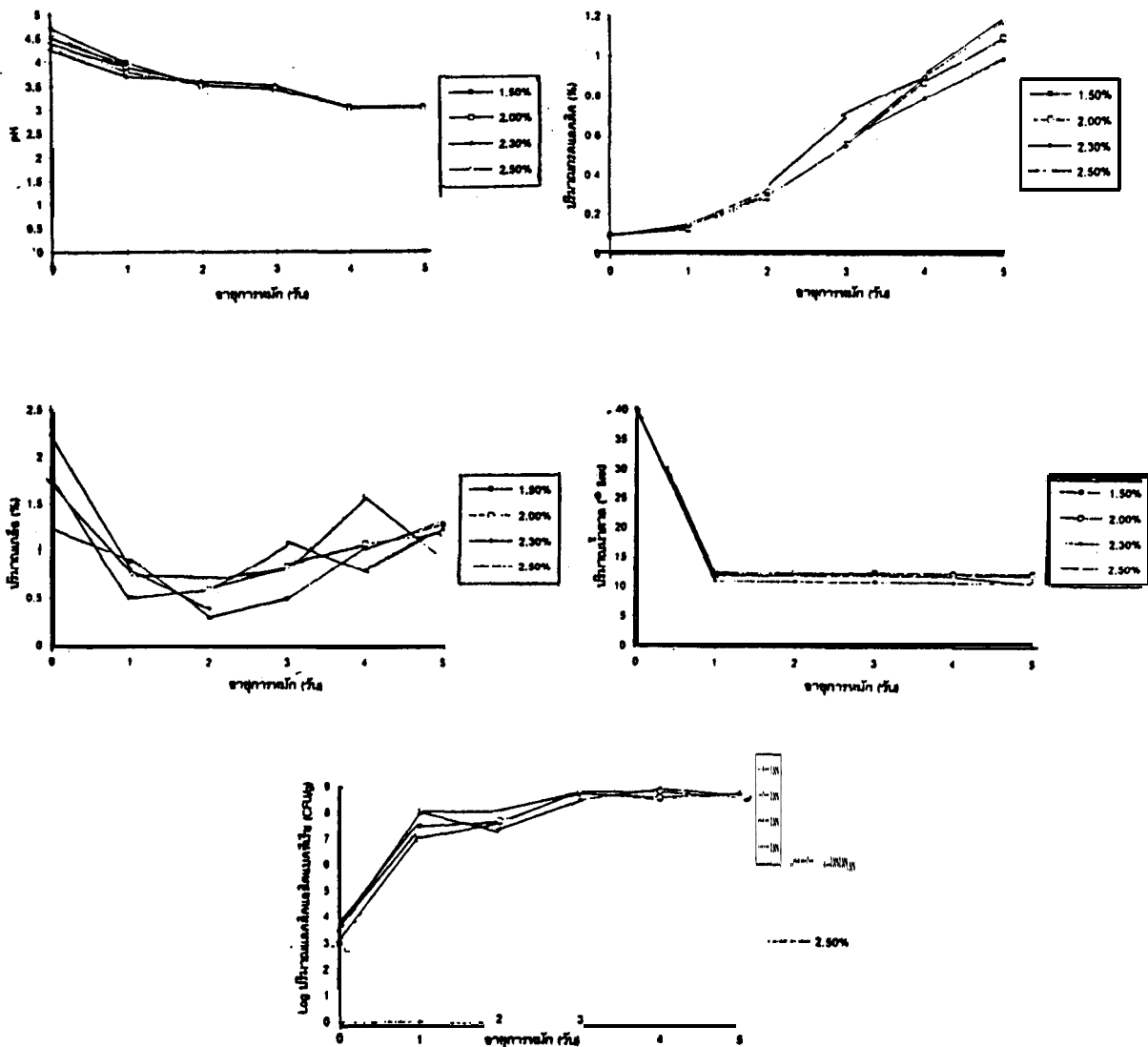
รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรียกับระยะเวลาในการหมักแตงกวาดองหวานสูตรดั้งเดิม

ผลการทดลองเมื่อแปรผันปริมาณน้ำตาลพบว่าปริมาณน้ำตาล 40° บริกซ์ มีรสชาติเปรี้ยวอมหวาน ได้ผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมเมื่ออายุการหมัก 5 วัน การลดลงของค่า pH สอดคล้องกับปริมาณกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้น การหมักเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วสังเกตจากปริมาณน้ำตาลถูกใช้มากในช่วง 2 วันแรก ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มปริมาณของเชื้อในช่วง 2 วันแรก จากรูปที่ 3 ส่วนน้ำตาล 20 และ 30° บริกซ์ เนื้อแตงนึ่ง ขณะที่ 50° บริกซ์ เนื้อแตงกรอบแต่นำหมักหนักมาก (ข้อมูลไม่ได้แสดง) จึงเลือกใช้น้ำตาล 40° บริกซ์



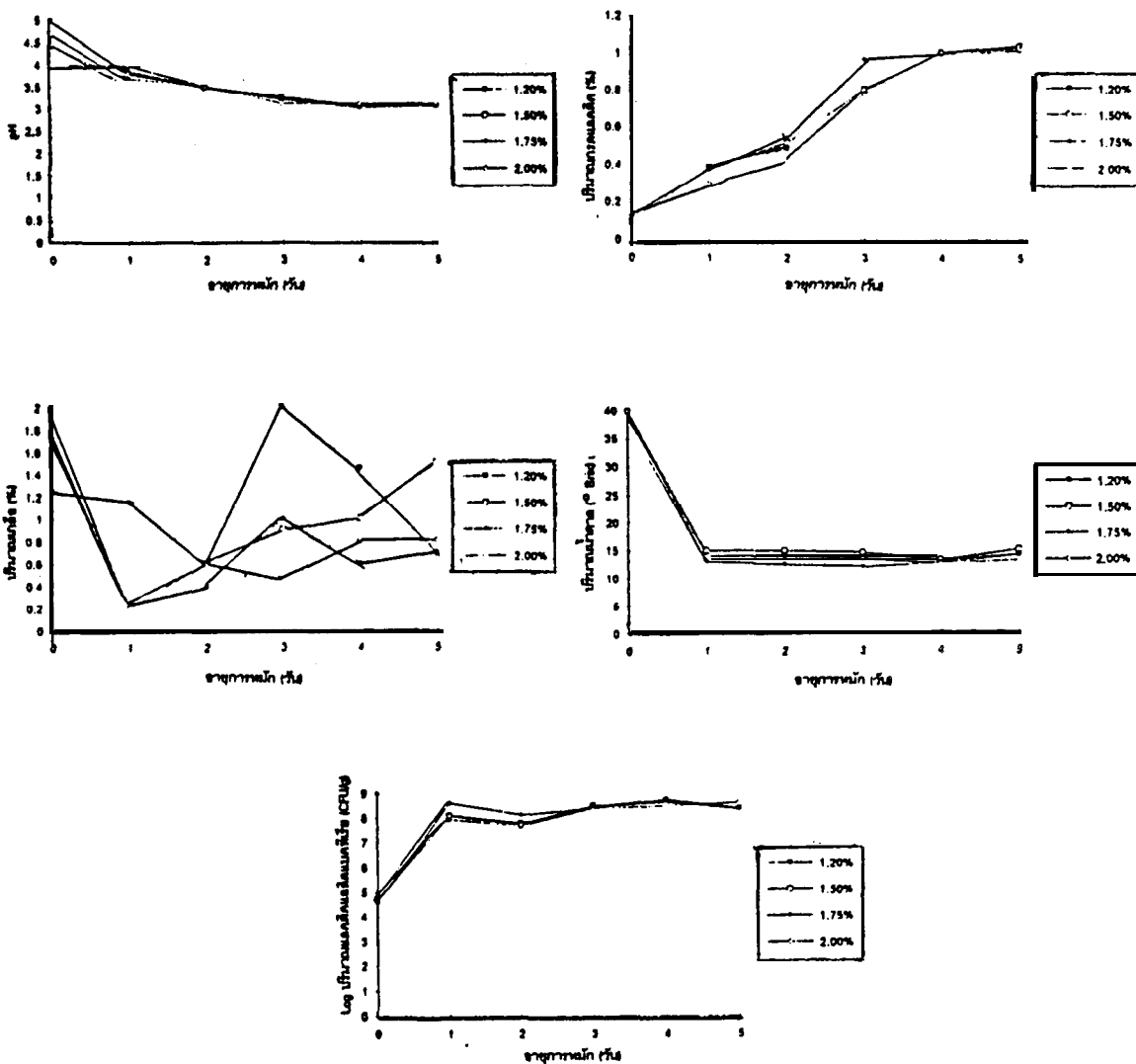
รูปที่ 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ปริมาณกรดแลคติก เกลือ น้ำตาล และจำนวนของแลคติกแอซิดแบคทีเรียเมื่อแปรผันปริมาณน้ำตาลของแตงกวาดองหวาน

ผลการทดลองเมื่อแปรผันปริมาณเกลือ โดยปริมาณน้ำตาลที่ใช้คือ 40° บริกซ์ การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี และแลคติกแอซิดแบคทีเรียเป็นลักษณะเดียวกับการแปรผันปริมาณน้ำตาล สิ่งที่เกิดขึ้นได้ปริมาณเกลือลดลงภายใน 2 วันแรก หลังจากนั้นปริมาณเกลือก็เพิ่มขึ้น จากรูปที่ 4 ปริมาณเกลือ 2.3% เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุดเพราะให้ปริมาณกรดแลคติกประมาณ 1% ได้แดงกวาดองหวานที่มีรสชาติเปรี้ยวอมหวาน ดุตารางที่ 1 ขณะที่ความเข้มข้นอื่นๆ มีรสเปรี้ยว และน้ำหมักมีลักษณะหนืด (ข้อมูลไม่ได้แสดง)

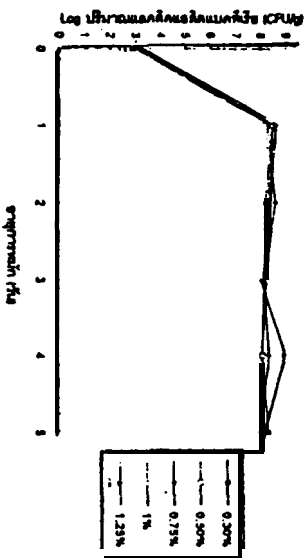
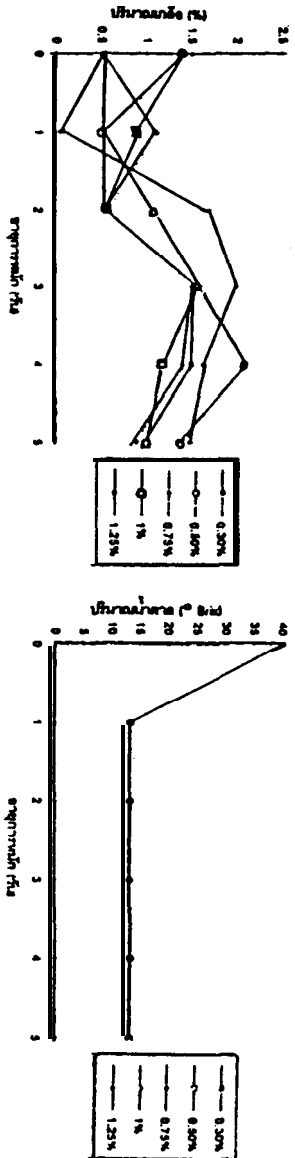
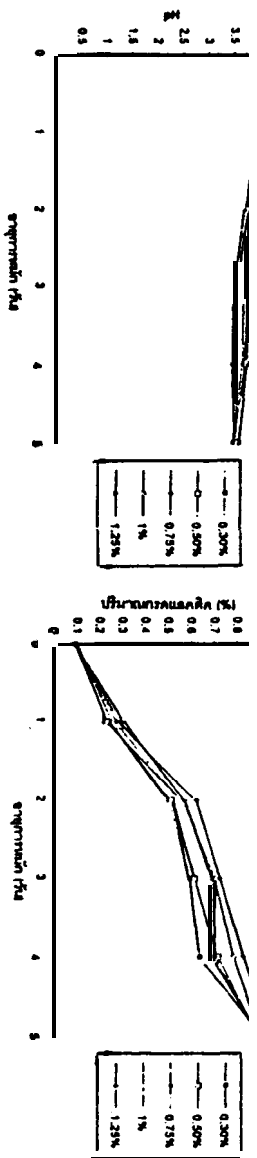


รูปที่ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ปริมาณกรดแลคติก เกลือ น้ำตาล และจำนวนของแลคติกแอซิดแบคทีเรียเมื่อแปรผันปริมาณเกลือของแดงกวาดองหวาน

ผลการทดลองเมื่อแปรผันปริมาณน้ำส้มสายชู โดยปริมาณน้ำตาล 40° บริกซ์เกลือ 2.3% แต่งกวาดองหวานที่ได้มีความคงตัวเมื่ออายุการหมักได้ 4 วัน มีปริมาณกรดสูง ซึ่งสาเหตุอาจมาจากปริมาณน้ำส้มที่ใช้ส่วนหนึ่ง และอีกส่วนอาจเป็นเพราะปริมาณน้ำส้มสายชูที่เติมไปสร้างสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ซึ่งเห็นได้ว่าภายในวันแรกปริมาณเชื้ออยู่ในรูปของ log มีค่าประมาณ 8-9 โดยปริมาณเชื้อขึ้นกับปริมาณน้ำส้มสายชูในช่วง 1.20-1.75% ดูปที่ 5 และสาเหตุที่เลือกใช้ปริมาณน้ำส้มสายชู 1.75% เพราะให้แต่งกวาดองที่มีรสชาติเปรี้ยวอมหวาน ขณะที่ความเข้มข้นอื่นมีเพียงรสเปรี้ยว และที่ 2.0% มีรสเปรี้ยวจัดซึ่งเป็นเรื่องที่ไม่ต้องการ

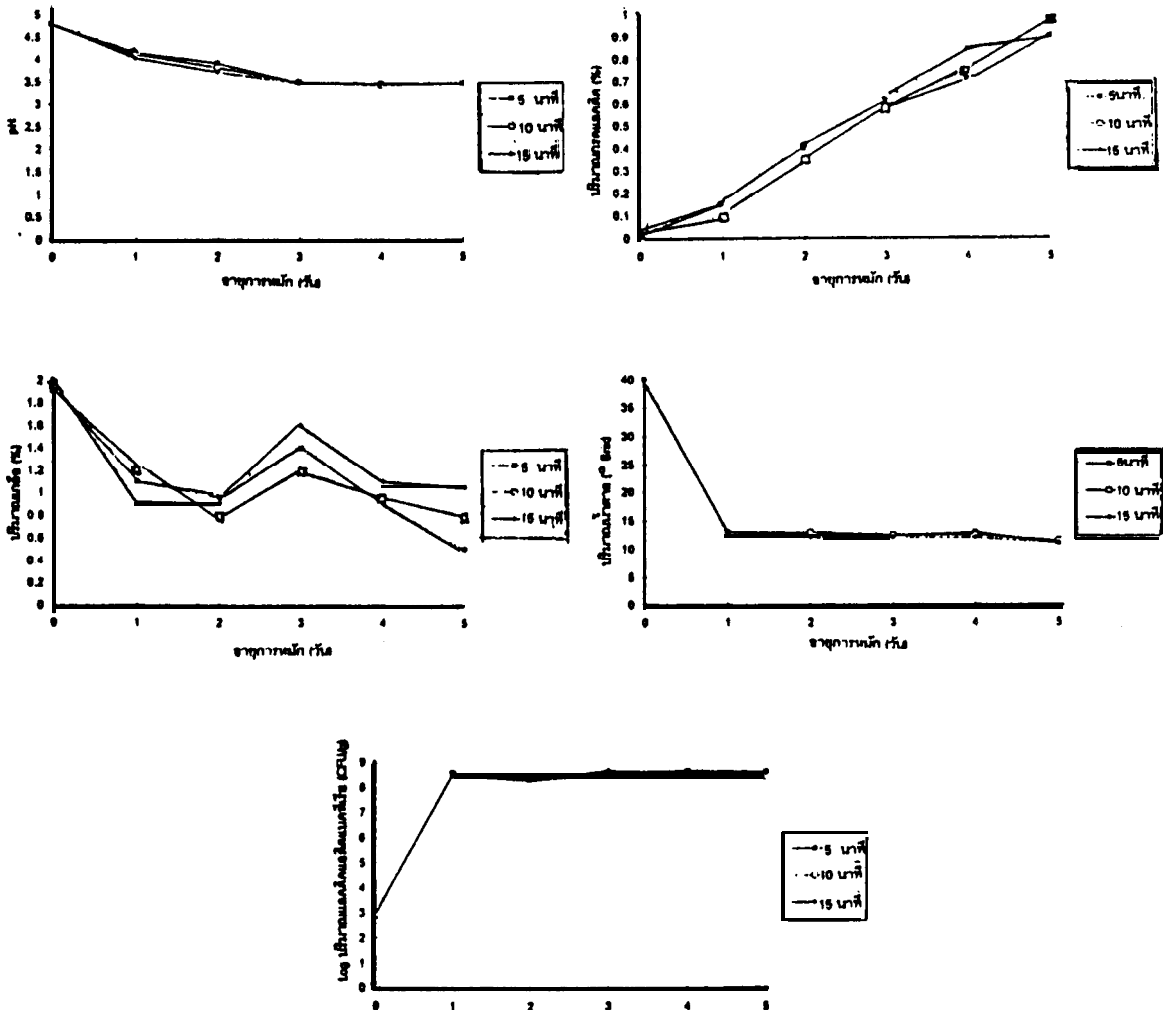


รูปที่ 5 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ปริมาณกรดแลคติก เกลือ น้ำตาล และจำนวนของแลคติกแอซิดแบคทีเรียเมื่อแปรผันปริมาณน้ำส้มสายชูของแต่งกวาดองหวาน



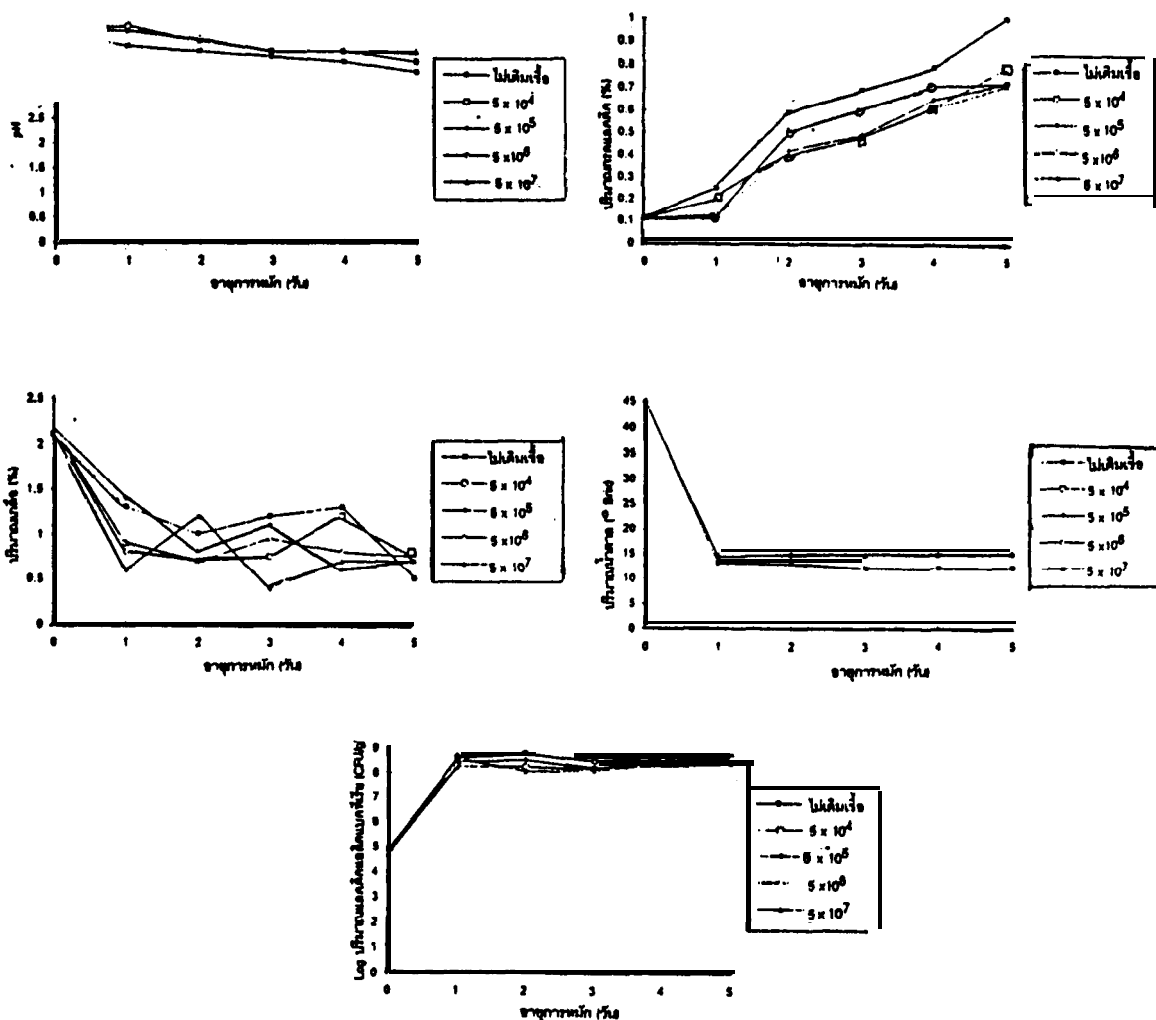
รูปที่ 6 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ปริมาณกรดแลคติก เกลือ น้ำตาล และจำนวนของ แลคติกแอซิดแบคทีเรียเมื่อแปรผันปริมาณแคลเซียมคลอไรด์ของแตรกวางทองหวาน

ผลของเวลาลวกแดงควาสดก่อนการหมักพบว่าเวลาที่เหมาะสมที่สุดคือ 5 นาที เพราะถ้าหากใช้เวลามากขึ้นความกรอบบริเวณด้านในของเนื้อแดงจะน้อยลง น้ำหมักมีลักษณะหนืดมาก (ข้อมูลไม่ได้แสดง) ขณะเดียวกันเมื่อใช้เวลาลวกแดงมากขึ้นทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความเปรี้ยวมากขึ้นซึ่งน่าจะมาจากผลทางกายภาพของเนื้อแดงที่ยอมให้สารต่างๆ ผ่านเข้าเนื้อแดงได้มาก เพราะปริมาณของแลคติกแอซิดแบคทีเรียก็ไม่แตกต่างกันมาก ดูรูปที่ 7



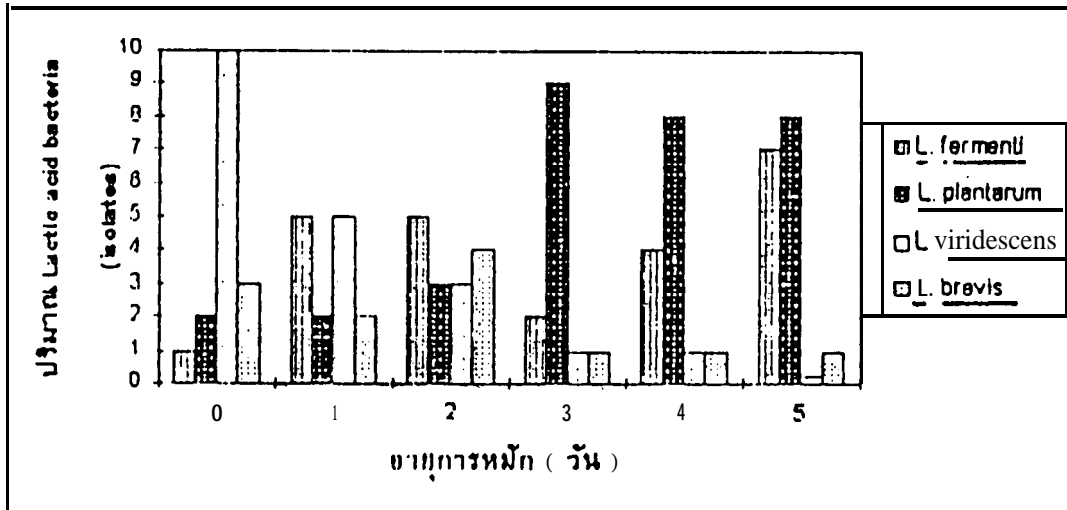
รูปที่ 7 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ปริมาณกรดแลคติก เกลือ น้ำตาล และจำนวนของแลคติกแอซิดแบคทีเรียเมื่อใช้เวลาลวกแดงควาสดต่างกันของแดงควาดองหวาน

ผลของการเติมเชื้อ *L. mesenteroides* ในปริมาณที่ต่างกันของสูตรแตงกวาดองหวานที่เหมาะสม พบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่เติมเชื้อ รูปที่ 8 เป็นเพราะเชื้อที่เติมมีคุณสมบัติเป็นพวก *heterofermentative* คือผลจากการใช้แหล่งคาร์บอนได้กรดแลคติก และสารอื่นๆ อีกเช่นสารให้กลิ่นรสที่ดีกับผลิตภัณฑ์หมัก พบว่าปริมาณเชื้อ *L. mesenteroides* 5×10^6 เซลล์/แตงกวา 425 กรัม ได้แตงกวาดองหวานมีรสชาติเปรี้ยวอมหวาน ไม่มีก๊าซเกิดขึ้นกับการหมักช่วงสุดท้าย (ตารางที่ 1) อาจเป็นเพราะปริมาณของเชื้อที่เติมอยู่ในช่วงพอเหมาะไปลดบทบาทของแลคติกแอซิดแบคทีเรียชนิดที่สร้างก๊าซมาก เช่น *L. brevis*⁽¹²⁾

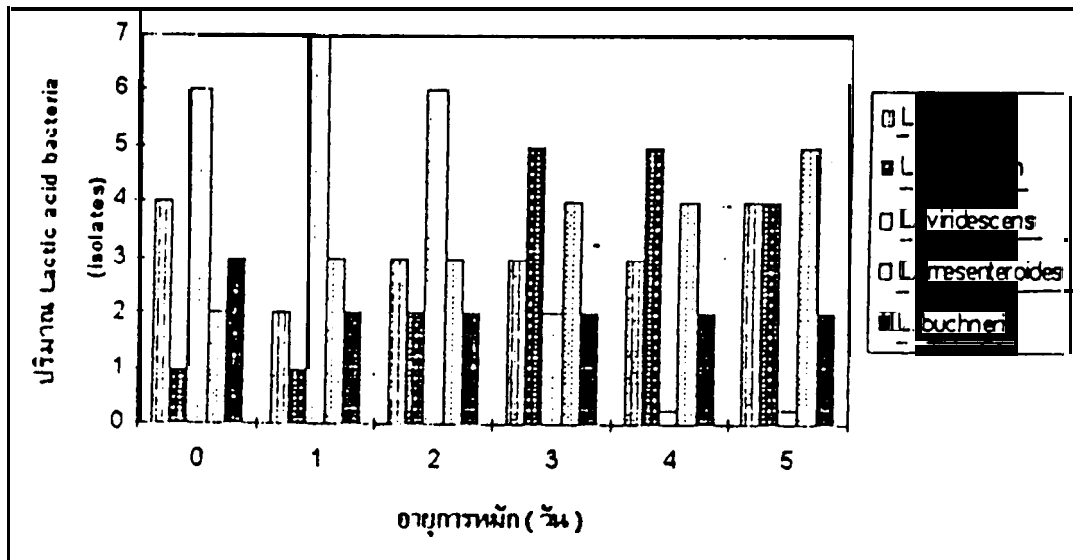


รูปที่ 8 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ปริมาณกรดแลคติก เกลือ น้ำตาล และจำนวนของแลคติกแอซิดแบคทีเรียเมื่อเติมเชื้อในปริมาณต่าง ๆ ของแตงกวาดองหวาน

ผลของชนิดและปริมาณของแลคติกแอซิดแบคทีเรียเปรียบเทียบกับระหว่างการเติมเชื้อ *L. mesenteroides* และไม่เติมเชื้อ แสดงในรูปที่ 9 และ 10 เชื้อที่พบเฉพาะในสูตรที่ไม่เติมเชื้อ คือ *L. brevis* และพบทุกช่วงของการหมัก ขณะที่สูตรเติมเชื้อที่พบเฉพาะในสูตรนี้เท่านั้น คือ *L. brevis* และพบทุกช่วงของการหมัก ขณะที่สูตรเติมเชื้อ เชื้อที่พบเฉพาะในสูตรนี้เท่านั้น คือ *L. buchneri* และ *L. mesenteroides* ซึ่งเติมลงไปส่วนเชื้อที่พบทั้ง 2 สูตร คือ *L. fermenti*, *L. plantarum* และ *L. viridescens*



รูปที่ 9 ชนิดและปริมาณของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ระยะเวลาต่างๆ ในการหมักของแตงกวาดองหวานซึ่งไม่เติมเชื้อ



รูปที่ 10 ชนิดและปริมาณของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ระยะเวลาต่างๆ ในการหมักแตงกวาดองหวานซึ่งเติมเชื้อ

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองเมื่อแปรผันส่วนประกอบต่างๆ ของการทำแต่งกวาดองหวานโดยติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าพารามิเตอร์เหล่านี้คือ pH ปริมาณกรดแลคติก น้ำตาล เกลือ และปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรีย พบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลมีค่า 40° และ 50° บริกซ์ เนื้อแต่งมีความกรอบขึ้นเมื่อเทียบกับความเข้มข้นที่ต่ำกว่า เป็นเพราะความเข้มข้นที่สูงขึ้นทำให้น้ำจากเนื้อแต่งซึมออกจากภายนอกมากขึ้น แต่น้ำตาล 50° บริกซ์ น้ำหมักมีลักษณะหนืดมาก การทดลองเมื่อไม่ได้เติมแคลเซียมคลอไรด์พบว่าเมื่อหมักได้ประมาณ 3-4 วัน เนื้อแต่งกวาดองจะนิ่ม แต่เมื่อเติมแคลเซียมคลอไรด์ ปัญหาการอ่อนตัวของเนื้อแต่งหมดไปซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Buescher และคณะ^(4,5,9) เพราะแคลเซียมคลอไรด์ไปยับยั้ง polygalacturonase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำให้เนื้อแต่งนิ่ม ปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างที่ทำให้เนื้อแต่งนิ่มคือระยะเวลาการลวกแต่งกวาดอง พบว่าถ้าหากเวลาการลวกแต่งกวาดองนานกว่า 5 นาทีเนื้อแต่งจะนิ่ม เพราะการลวกทำให้เนื้อแต่งอ่อนนุ่มลง แต่การลวกก็จำเป็นเพราะช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ของผักง่ายในการบรรจุลงในภาชนะและทำลายแบคทีเรียอื่นๆ ที่ไม่ต้องการ⁽¹⁾

การติดตามค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ของการหมักผลการทดลองสอดคล้องกันโดยช่วงวันแรกของการหมักปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในรูปของ log มีค่าประมาณ 3-4 เป็น 8 ภายในวันที่ 2 หรือ 3 ขณะเดียวกันปริมาณน้ำตาลลดลงอย่างรวดเร็วจาก 40° บริกซ์เหลือประมาณ $13-14^{\circ}$ บริกซ์ ทั้งนี้เพราะเชื้อใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน⁽³⁾ และผลจากการใช้น้ำตาลของแลคติกแอซิดแบคทีเรียจึงเกิดกรดแลคติกขึ้นมากส่งผลให้ค่า pH ลดลง ซึ่งพบว่าค่า pH ลดลงเรื่อยๆ จนมีค่าประมาณ 3 จะคงที่โดยใช้เวลา 5 วัน ส่วนปริมาณเกลือในน้ำหมักค่าไม่คงที่ แต่สังเกตได้ว่าปริมาณลดลงใน 2 วันแรก หลังจากนั้นปริมาณเกลือเพิ่มขึ้น ซึ่งสาเหตุมาจากเกลือดูดนํ้าจากเนื้อแต่งออกมาซึ่งมีผลทำให้เนื้อแต่งแน่นขึ้น และเกลือบางส่วนก็แพร่เข้าสู่เนื้อแต่ง และมีบ้างที่ถูกใช้โดยเชื้อปริมาณเกลือจึงลดลง เมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่งเกลือที่อยู่ในรูปอิสระมีมากขึ้น ขณะเดียวกันก็มีน้ำส่วนหนึ่งระเหยออกสู่บรรยากาศปริมาณเกลือจึงสูงขึ้นในช่วงหลัง

ปัญหาที่พบในการทดลองคือการเกิดก๊าซระหว่างการหมักถึงแม้จะไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์เสีย แต่มีส่วนทำให้น้ำหมักมีลักษณะขุ่นดูไม่น่ารับประทาน ผลจากการเทียบเคียงพบเชื้อ *Lactobacillus brevis* เฉพาะในสูตรที่ไม่เติมเชื้อเท่านั้น เชื้อชนิดนี้สร้างก๊าซ นอกจากนี้ยีสต์ก็สร้างก๊าซได้⁽⁶⁾ แต่ผลการทดลองสนับสนุนว่าก๊าซที่เกิดขึ้นไม่ได้เกิดจากยีสต์เพราะพบยีสต์ภายในวันแรกของการหมักเท่านั้น แสดงว่าก๊าซที่เกิดขึ้นมาจากพวก *Lactobacillus sp.* โดยเฉพาะ *L. brevis* เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Etchells และคณะ⁽⁷⁾ และปัญหาอีกอย่างคือน้ำแต่งกวาดองหนืดสาเหตุเกิดจากเชื้อ *L. plantarum*⁽¹²⁾ เพราะเชื้อชนิดนี้สร้างเมือก แต่ธรรมชาติของการหมักมักพบเชื้อชนิดนี้เสมอ^(1,12) ซึ่งในการทดลองก็พบเชื้อชนิดนี้ทั้ง 2 สูตร การเติมเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* ซึ่งก็เป็นเชื้อที่สร้างก๊าซแต่ขณะเดียวกันก็สร้างสารที่หักล้างรสที่ติดกับผลิตภัณฑ์หมัก⁽¹¹⁾ ก็เพื่อไปลดบทบาทของแลคติกแอซิดแบคที

เรียที่ไม่ต้องการให้มีมากจนเกินไป ซึ่งในการทดลองนี้ก็คือ *L. brevis* และ *L. plantarum* ผลการทดลองพบว่าเมื่อเติมเชื้อชนิดนี้ในปริมาณที่เหมาะสมคือ 5×10^6 เซลล์ต่อแตงกวา 425 กรัม ส่งผลให้ก๊าซหมดไป และความหนืดก็ลดลงมาก แทบไม่มีความหนืดอยู่เลย น้ำหมักที่ได้มีลักษณะใสจนให้น้ำรับประทานมากยิ่งขึ้น ซึ่งก็เป็นไปได้ว่าเชื้อ *L. mesenteroides* เจริญร่วมกับกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรียอื่นๆ โดยเฉพาะ *L. plantarum* และ *L. brevis* แบบแข่งขัน จึงไปลดจำนวนของ *L. plantarum* ได้พอสมควรส่วน *L. brevis* ไม่สามารถเจริญได้เลยดูรูปที่ 9 และรูปที่ 10 ประกอบ และในสูตรที่ไม่เติมเชื้อไม่พบ *L. mesenteroides* แสดงว่าเชื้อชนิดนี้ไม่ได้ติดมากับวัตถุดิบ การเติมลงไปจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการหมักแตงกวาดองหวาน นอกจากนี้เชื้อที่พบเฉพาะในสูตรที่เติมเชื้อเท่านั้นคือ *L. buchneri* ซึ่งพบในปริมาณคงที่เมื่ออายุการหมัก 1 วันขึ้นไป อาจเป็นเพราะถูกควบคุมโดยเชื้อที่เติม ส่วนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในกระบวนการหมักของทั้งสองสูตร คือ *L. fermenti* *L. plantarum* และ *L. viridescens* ซึ่งมีเพียง *L. plantarum* เท่านั้นที่เป็นพวก homofermentative (ใช้แหล่งคาร์บอนแล้วเกิดกรดแลคติกเท่านั้น)

เอกสารอ้างอิง

1. ประสิทธิ์ อติวีระกุล 2537 ผลิตภัณฑ์ผลไม้และผักดอง เทคโนโลยีของผลไม้และผัก ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หน้า 232-250
2. AOAC. 1990. **Official Methods of Analysis of the Association of official analytical chemists 15th ed.** Vol 2. USA.
3. Buchanan, R.E., Gibbons, N.E., Cowan, S.T., Holt, J.G., Liston, J., Murray, R.G.E., Ravin, A.W., and Stanier, R.Y. 1974. **Bergey's Manual of Determinative bacteriology. 8th ed.** Baltimore. The Williams and Wilkins Co.
4. Buescher, R.W. and Burgin, C. 1988. Effect of calcium chloride and alum on fermentation, desalting, and firmness retention of cucumber pickles. J. Food Science. 53(1):296-297
5. Buescher, R.W., Hudson, J.M., and Adanes, J.R. 1979. Inhibition of polygalacturonase softening of cucumber pickle by calcium chloride. J. Food Science. 44: 1786- 1787.
6. Collins, C.H., Patricia, M.L. and Grange, J.M. **1989. Microbiological methods. 6 th ed. Butterwoth & Co.** 93,129-131.
7. Etchells, J.L., Borg, A.F. and Bell, T.A. 1968. Bloater formation by gas-forming lactic acid bacteria in cucumber fermentations. Applied Microbiology. 16(7): 1029-1035.

8. Gibbs, B.M. and Skinner, F.A. 1966. *Identification Method for Microbiologists part A*. Academic Press London and NewYork: 65-79
9. Hudson, J.M., and Buescher, R.W. 1980. Prevention of soft center development in large whole cucumbers pickles by calcium. *J. Food Sciencce*. 45:1450-1451
10. Lamand, E. 1977. *Laboratory methods for sensory evaluation of food*. Kromar Printing : 48-51
11. Pederson, C.S. 1971. *Microbiology of food fermentations*. AVI. Publishing Company, West Port, Connecticut: 109- 151
12. Ronald, M.A. 1988. *Microbiology: Fundamentals and Application* 2nd ed. MacMillan Publishing Company. : 463-524.
13. Sharp, M.E. 1962. Taxonomy of the lactobacilli. *Dairy Sciencce Abstracts* 24(3) : 110-118.