บทที่ 5
อภิปรายผลการวิจัย

ในการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและจุลินทรีย์ในตัวอย่างแหนมเห็ด ตั้งแต่ช่วงเริ่มต้นถึงระยะสุดท้ายของการหมัก (0-72 ชั่วโมง) มีการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงจาก 6.20 เป็น 4.55 เนื่องจากมีปริมาณกรดแลคติคเพิ่มขึ้นจาก 0.11 เป็น 0.57 กรดแลคติคในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดและอาหารหมักดองอีกหลายชนิดเป็นผลจากการเจริญและการหมักของแลคติคแอสิดแบคทีเรีย (ไพโรจน์ และคณะ, 2537) ปริมาณแลคติคแอสิดแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจาก 1.34×10^{2} cfu/g เป็น 1.06×10^{9} cfu/g ในชั่วโมงที่ 36 หลังจากนั้นมีแนวโน้มที่คงที่ถึง 9.10×10^{8} cfu/g ในชั่วโมงที่ 72 ทั้งนี้แลคติคแอสิดแบคทีเรียมีการเจริญต่อเนื่องจนครอบคลุมและมีบทบาทต่อการสร้างกรดอย่างเต็มที่ตั้งแต่ช่วงการบ่มในชั่วโมงที่ 9 เป็นต้นไป ซึ่งคล้ายกับผลิตภัณฑ์แหนมหมู ค่าความเป็นกรด-ด่างจะลดลงอย่างรวดเร็ว ในช่วงหลัง 6-18 ชั่วโมง (ไพโรจน์ และคณะ, 2537) ส่วนปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงจาก 1.40×10^{3} cfu/g เป็น 6.00×10^{7} cfu/g ในชั่วโมงที่ 72 คล้ายคลึงกับจันทร์สุดา (2523) พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในระหว่างการหมักไส้กรอกเปรี้ยว (ชั่วโมงที่ 0-72) 1.20×10^{3} cfu/g และ 2.30×10^{8} cfu/g ปริมาณแลคติคแอสิดแบคทีเรีย 8.00×10^{2} cfu/g และ 5.60×10^{9} cfu/g มีค่าความเป็นกรด-ด่างเมื่อสิ้นสุดการหมักเป็น 4.60 มีปริมาณกรดแลคติคร้อยละ1.25 นงเยาว์และวิเชียร (2534) พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในระหว่างการหมักไส้กรอกเปรี้ยว 2.00×10^{3} cfu/g และ 1.00×10^{10} cfu/g แลคติคแอสิดแบคทีเรีย 1.07×10^{2} cfu/g และ2.21×10^{9} cfu/g ผลิตภัณฑ์มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.58

จากการจัดจำแนกแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร MRS agar พบ *Lactobacillus plantarum* เจริญนำเชื้อชนิดอื่นในปริมาณที่มากที่สุดตลอดระยะเวลาหมัก รองลงมาคือ *Lb. brevis* พบในชั่วโมงที่ 3 จนสิ้นสุดระยะเวลาการหมักที่ 72 ชั่วโมง ในช่วงท้ายของการหมัก (ชั่วโมงที่ 48-72) จะพบ *Pediococcus pentosaceus* และ *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* ในปริมาณเพียงเล็กน้อย ชนิดของแลคติคแอสิดแบคทีเรียตามระยะต่างๆ แตกต่างกันไปขึ้นกับผลิตภัณฑ์ ตัวอย่างเช่นการทดลองของ พัชรินทร์ (2538) ในไส้กรอกช่วงแรกพบ *Micrococcus spp.*, *Lactobacillus plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. fermentum* ในช่วงสุดท้ายของการหมักพบ*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* และ *Pediococcus pentosaceus* ในปริมาณเล็กน้อยต่างจากจรูญ (2509) ได้ศึกษาแหนมจากตลาดพบว่าในระยะแรกของการหมักจะมีแลคติคแอสิดแบคทีเรียพวก *Pediococcus spp.* เจริญขึ้นมา ทำให้เปอร์เซนต์กรดสูงขึ้น ความเป็นกรด - ด่างลดลง และตรวจพบ *Lactobacillus* spp. เจริญต่อมาหลังจากการเจริญของจุลินทรีย์พวกแรกได้ลดน้อยลง ทำให้แหนมมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงยิ่งขึ้นและเปอร์เซนต์กรดสูงขึ้นไปอีก ขณะที่สมบุญ (2518) ได้แยกแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่เป็นตัวการในการหมักแหนมบนอาหารทดสอบ MRS agar พบว่า ในระยะแรกของการทดลองพบ *Pediococcus cereviviae* และพวก heterofermentative Lactobacilli เจริญและสร้างกรดขึ้น ในช่วงถัดไปพบ *Lactobacillus plantarum* และ *Lb. brevis* ในการทดลองของ Pairat *et al.* (2000) ในการหมักปลาส้มตรวจพบแลคติคแอสิดแบคทีเรียและยีสต์ แลคติคแอสิดแบคทีเรียที่พบอยู่ในสกุล *Pediococcus pentosaceus, Lb. alimentarius, Weisella confusa, Lb. plantarum* และ *Lactococcus gaviae* ส่วนในไส้กรอกเปรี้ยวตรวจพบ *Leuconostoc spp., Lb plantarum, lb casei* และ *Lactobacillus spp.* อื่นๆ Kittikun *et al.* (1988) ได้จัดจำแนกแลคติคแอสิดแบคทีเรียจากแหนม ที่จำหน่ายในตลาดจังหวัดเชียงใหม่ พบว่าแหนมจากตลาด ประกอบด้วย homofermentative lactobacilli ในปริมาณที่มากซึ่งส่วนใหญ่เป็น *Lb. plantarum* ขณะที่แหนมจากตลาดอีกแห่ง พบ *Pediococcus spp.* ในปริมาณที่มากแต่ในระหว่างการเก็บรักษาปริมาณของพวก homofermentative lactobacilli จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบเชื้อจุลินทรีย์ประเภท *Streptococcus, Leuconostoc* และ heterofermentative lactobacilli ในปริมาณน้อย

การเปลี่ยนแปลงของ *Lactobacillus* ทั้ง 2 สายพันธ์ที่พบในระหว่างการหมักแหนมเห็ดคือ *Lb. plantarum* และ *Lb. brevis* ในปริมาณมากที่สุดและรองลงมาตามลำดับ แสดงนัยว่าในแหนมเห็ดนั้นมี *Lb. plantarum* และ *Lb. brevis* เป็นเชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียตัวหลักที่มีบทบาทในการสร้างกรดแลคติคตลอดระยะเวลาหมัก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Lb. plantarum* ซึ่งสอดคล้องกับ Clarke (1991) ที่รายงานว่า การมีปริมาณของแหล่งคาร์บอนสูงจะพบแบคทีเรียพวก homofermentative lactobacilli มากกว่า heterofermentative lavtobacilli มีรายงานว่า *Lb. plantarum* มีเอนไซม์ aldolase, glucose 6- phosphate dehydrogenase และ 6- phosphogluconate dehydrogenase เปลี่ยนน้ำตาลเป็น D, L-lactic acid เป็นการหมักแบบ homofermentative น้ำตาลถูกเปลี่ยนเป็นกรดแลคติคได้เกือบทั้งหมด Gilliland (1988) ในขณะที่ *Lb. brevis* จะเปลี่ยนน้ำตาลโดยวิถีฟอสโฟคีโตเลส (Phospho-ketolase pathway) เปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดแลคติคได้เพียงร้อยละ 50 เป็นการหมักแบบ heterofermentative และจะได้เอทธานอล และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Thornhill and Cogan, 1984)

Leuconostoc mesenteroides subsp. *dextranicum* ที่พบในช่วงท้ายของการหมักจำนวนเล็กน้อย เชื้อนี้เป็นกลุ่มเฟคัลเททีฟแอนแอโรป ต้องการกรดอะมิโน และสารเร่งการเจริญเติบโต *Leuconostoc* ทุกชนิดต้องการกรดนิโคตินิก ไทอามีน ไบโอติน และกรดเพนโททินิก มีการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ หมักน้ำตาลกลูโคสให้กรดแลคติค เอทธานอล และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คาร์บอนไดออกไซด์ (วิลาวัณย์, 2536) และการที่ *Leuconostoc spp.* ต้องการกรดอะมิโน และสารเร่งการเจริญเติบโตทำให้พบในช่วงท้ายของการหมัก

ในช่วงท้ายของการหมักยังพบ *P. pentosaceus* ซึ่งเป็นพวกที่ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อย เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-40 องศาเซลเซียส จัดอยู่ในพวกเคโมออร์แกนโนโทรพ (chemoorganotroph) ต้องการกรดอะมิโนและสารเร่งการเจริญ Pediococci ทุกชนิดต้องการกรดนิโคตินิก กรดเพนโททินิก และไบโอติน *P. pentosaceus* ต้องการไนอะซิน และกรดโฟลินิกในการเจริญ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 28-32 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 5.0 ดังนั้นสภาพแวดล้อมของการหมักช่วงท้ายจึงเหมาะสมที่เชื้อชนิดนี้จะเจริญได้ (Buchanan and Baker, 1974)

ในการแยกเชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียทั้งหมด 110 isolate สามารถจัดจำแนกออกเป็น spicies ที่แน่นอนได้ 34 isolateใน 4 สายพันธุ์ คือ *Lb. plantarum* (10 isolate) *Lb. brevis* (10 isolate) *P. pentosaceus* (7 isolate)และ *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* (7 isolate) เมื่อนำแลคติคแอสิดแบคทีเรียเหล่านี้ตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดแลคติคโดยทดสอบอัตราการลดลงของความเป็นกรดด่างอย่างรวดเร็ว ได้คัดเลือกแลคติคแอสิดแบคทีเรีย 2 สายพันธ์คือ *Lb. plantatum* 100 และ *P. pentosaceus* 140

ในการทดลองทำแหนมเห็ดด้วยการเติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นของ *Lb. plantatum* 100 และ *P. pentosaceus* 140 ที่คัดเลือกได้ลงไปในส่วนผสมของแหนมเห็ด เปรียบเทียบการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นมีการใช้แบบเชื้อเดี่ยว และเชื้อผสมในอัตราส่วน 1:1 โดยมีแหนมเห็ดที่ไม่มีการเติมเชื้อเริ่มต้นเป็นตัวควบคุม พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของชุดการทดลองที่เติมเชื้อบริสุทธิ์ผสมมีค่าต่ำสุดที่เวลาหมัก 72 ชั่วโมง คือ 4.21 แสดงว่ามีการสร้างกรดได้มากกว่าชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p< 0.05$ เช่นเดียวกับปริมาณกรดแลคติค (0.81 เปอร์เซ็นต์) ของชุดการทดลองนี้ที่มีการผลิตได้สูงกว่าชุดการทดลองอื่น ซึ่งสอดคล้องกับจำนวนแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่มีปริมาณสูงถึง 3.60×10^{10} เซลล์/กรัมเมื่อหมักได้ 72 ชั่วโมง ชนิดของเชื้อเมื่อคัดเลือกจึงมีผลต่อการหมักแหนมเห็ด ดังการทดลองของ Houle *et al.* (1989) พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เติม *Lb. plantarum* มีอัตราการลดลงของความเป็นกรด-ด่างสูงกว่าผลิตภัณฑ์ที่เติม *P. acidilactici* ส่วน Smith and Polumbo (1983) รายงานว่าเชื้อ *P. pentosaceus* สามารถผลิดกรดได้มากกว่าและเร็วกว่า *P. acidolactici*

เมื่อเปรียบเทียบการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นทุกชุดการทดลอง โดยพิจารณาผลการวิเคราะห์ทางเคมี จุลินทรีย์ และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแล้วพบว่าแหนมเห็ดที่เติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นของ *P. pentosaceus* 140 ผสมกับ *Lb. plantatum* 100 ในอัตราส่วน 1:1 มีแนวโน้มดีที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สุด หากนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักแหนมเห็ดจะช่วยลดระยะเวลาการหมักให้สั้นลงโดยผู้ทดสอบชิมมีความพอใจในแหนมเห็ดที่เติมเชื้อบริสุทธิ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อผสมทั้ง 2 ดังกล่าว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved