รายงานผลการวิจัย
มหาวิทยาลัยแม่โจ้

เรื่อง

การปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ปลาส้ม ด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ : กรณีศึกษาพื้นที่จังหวัดแพร่ และจังหวัดพะเยา

THE QUALITY IMPROVEMENT OF PLAA SOM PRODUCTS BY BIOTECHNOLOGICAL PROCESSES : A CASE STUDY OF PHRAE AND PHA YAO PROVINCE.

โดย

อังคณา ชมภูมิ่ง
ตะวัน ฉัตรสูงเนิน
ธวัชชัย ชัยธวัชวิถี

2553

รายงานผลการวิจัย
มหาวิทยาลัยแม่โจ้

เรื่อง การปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ปลาส้ม ด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ : กรณีศึกษาพื้นที่จังหวัดแพร่ และจังหวัดพะเยา

THE QUALITY IMPROVEMENT OF PLAA SOM PRODUCTS BY BIOTECHNOLOGICAL PROCESSES : A CASE STUDY OF PHRAE AND PHA YAO PROVINCE.

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2552
จำนวนเงิน 350,000 บาท

หัวหน้าโครงการ นางสาวอังคณา ชมภูมิ่ง
ผู้ร่วมโครงการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ตะวัน ฉัตรสูงเนิน
นายธวัชชัย ชัยธวัชวิถี

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์
13 กุมภาพันธ์ 2553

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยเรื่อง การปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ปลาส้ม ด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ : กรณีศึกษาพื้นที่จังหวัดแพร่ และจังหวัดพะเยา สำเร็จได้ เนื่องจากบุคคลหลายท่านได้กรุณาช่วยเหลือให้ข้อมูลเสนอแนะ คำปรึกษา และกำลังใจ

ผู้เขียนขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านที่ได้ให้คำชี้แนะและตรวจสอบรายงานการวิจัยทุกขั้นตอนให้สำเร็จได้ตามวัตถุประสงค์

ขอขอบเจ้าหน้าที่ทุกท่านของ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ที่ได้ให้ความช่วยเหลือประสานงานติดต่อเป็นอย่างดีด้วยอัธยาศัยไมตรีที่อบอุ่นเป็นกันเอง

ขอขอบพระคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ที่สนับสนุนทุนวิจัยประจำปีงบประมาณ 2552 ในครั้งนี้

ท้ายที่สุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณพ่อ พระคุณแม่ ซึ่งเป็นที่สุดของผู้ให้เป็นผู้มีพระคุณหาที่เปรียบมิได้ ท่านเป็นทั้งพ่อ – แม่ และเพื่อน ที่คอยฟูมฟักทนุถนอม คอยให้กำลังใจปลุกปลอบขวัญยามท้อแท้ ขอขอบพระคุณพี่น้อง และญาติพี่น้องทุกท่านที่เคารพรัก ซึ่งคอยสนับสนุน ให้กำลังใจตลอดมาให้ผู้เขียนจัดทำรายงานการวิจัย

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

หน้า

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ที่มาและความสำคัญ..... 1

1.2 จุดมุ่งหมายของการศึกษา 4

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4

1.4 ขอบเขตของการศึกษา 4

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (ตรวจเอกสาร)..... 5

2.1 การหมัก (Fermentation) 5

2.2 ผลิตภัณฑ์ปลาส้ม 7

2.3 วัตถุดิบสำคัญที่ใช้การผลิตปลาส้ม..... 8

2.4 กระบวนการผลิตปลาส้ม 10

2.5 ลักษณะของผลิตภัณฑ์ปลาส้ม 12

2.6 แบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria - LAB)..... 13

2.7 กลไกการเกิดปลาส้ม 22

2.8 คุณสมบัติทางโภชนา..... 25

2.9 การเก็บรักษาปลาส้ม 26

บทที่ 3 วิธีดำเนินการศึกษา 28

3.1 ขั้นเตรียมการ..... 28

3.2 การวางแผนการทดลอง 31

3.3 วิธีการทดลอง 32

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลอง 52

4.1 การคัดเลือกจุลินทรีย์หัวเชื้อบริสุทธิ์ 52

4.2 การศึกษาการจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติก..... 56

4.3 การทดสอบประสิทธิภาพหัวเชื้อที่ดี 62

4.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักปลาส้ม และคุณสมบัติด้านประสาทสัมผัส 67

4.5 การศึกษาโภชนศาสตร์จากตัวอย่างปลาส้ม 79

บทที่ 5 สรุป อภิปรายผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ 82

5.1 ศึกษาการคัดแยกจุลินทรีย์หัวเชื้อบริสุทธิ์ 82

5.2 การจำแนกแบคทีเรียแลคติก 82

5.3 การทดสอบประสิทธิภาพหัวเชื้อที่ดี 83

5.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักปลาส้ม และคุณสมบัติด้านประสาทสัมผัส 85

5.5 การศึกษาโภชนศาสตร์จากตัวอย่างปลาส้ม 86

5.6 ข้อเสนอแนะ 86

บรรณานุกรม 87

ภาคผนวก 90

ภาคผนวก ก สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 91

ภาคผนวก ข วิธีการศึกษาปริมาณกรดอินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ปลาส้ม..... 94

ภาคผนวก ค วิธีการวิเคราะห์โภชนศาสตร์ 97

ภาคผนวก ง การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส 102

ภาคผนวก จ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.26/2546) 108

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1.1 แสดงผลิตภัณฑ์ปลา และเนื้อหมักของประเทศต่างๆ 2

1.2 แสดงปริมาณ และมูลค่าการผลิตปลาส้ม 2

1.3 แสดงผลิตภัณฑ์ปลาส้มจังหวัดลพบุรี 3

2.1 แสดงปริมาณแร่ธาตุในเนื้อปลาโดยเฉลี่ย..... 8

2.2 ผลการทดสอบการเจริญของแลคติกที่คัดเลือกได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่สภาวะต่างๆ และผลการจัดจำแนกสกุลเบื้องต้น 20

2.3 คุณภาพทางเคมี และจุลชีววิทยาของปลาส้มจากปลานวลจันทร์ทะเลที่ใช้เกลือและมีรูปแบบการแล่ต่างกัน 26

4.1 แสดงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติก 54

4.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ 55

4.3 สมบัติทางสัณฐานวิทยา การสร้างเอนไซม์แคตาเลส และค่า OD_{600} ของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ 59

4.4 ค่า OD_{600} ของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 5 60

4.5 การจำแนกสายพันธุ์จุลินทรีย์ 62

4.6 ผลการทดสอบการต้านเชื้อก่อโรคของแบคทีเรียแลคติก 63

4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดในระหว่างการเจริญของแบคทีเรียแลคติก 64

4.8 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในระหว่างการเจริญของแบคทีเรียแลคติก ... 66

4.9 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณกรดแลคติกในระหว่างการหมักปลาส้มด้วยความเข้มข้นต่างๆ ของกล้าเชื้อ 67

4.10 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณกรดแลคติกในระหว่างการหมักปลาส้มด้วยความเข้มข้นต่างๆ ของกล้าเชื้อ 70

4.11 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของปลาส้มด้วยการหมักแบบไม่เติมกล้าเชื้อ และเติมกล้าเชื้อ ที่อุณหภูมิห้อง 30 และ37 องศาเซลเซียส 73

4.12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติกของปลาส้มด้วยการหมักแบบไม่เติมกล้าเชื้อ และเติมกล้าเชื้อ ที่อุณหภูมิห้อง 30 และ37 องศาเซลเซียส 73

4.13 การประเมินผลทางด้านประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ปลาส้ม 77

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.14 ผลการเลือกปลาส้มจากการประเมินผลทางด้านประสาทสัมผัส 79

4.15 แสดงโภชนศาสตร์ของปลาส้ม 80

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 ลักษณะปลาส้ม 7

2.2 แสดงขั้นตอนในการผลิตปลาส้ม 11

2.3 แสดงวิถีทางเคมีของการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ และเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ..... 14

2.4 กลไกการเกิดกรดแลคติก 24

2.5 โครงสร้างของแลคเตท ($C_3H_5O_3$)..... 25

2.6 โครงสร้างของกรดแลคติก ($C_3H_6O_3$)..... 25

3.1 ผังการศึกษาการเตรียมตัวอย่างปลาส้ม 32

3.2 ผังการศึกษาหาปริมาณจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติก 33

3.3 ผังการศึกษาหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 34

3.4 ผังการศึกษาการแยกและเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ 34

3.5 ผังการศึกษาแคตาเลส 35

3.6 ผังการศึกษารูปร่าง และการติดสีแกรมของแบคทีเรีย 36

3.7 ผังการศึกษาความทนเกลือโซเดียมคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ 37

3.8 ผังการศึกษาวิธีการสร้างกรด 39

3.9 ผังการศึกษาเชื้อที่สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค 41

3.10 ผังการศึกษาการสร้างกรดแลคติก 42

3.11 ผังการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกล้าเชื้อ 44

3.12 ผังการศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของกล้าเชื้อ 46

3.13 ผังการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักปลาส้ม 48

4.1 แสดงลักษณะแบคทีเรียแลคติกที่เจริญบนอาหาร MRS agar ที่เติม Bromcresol purple 53

4.2 แสดงลักษณะแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร PCA 53

4.3 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียแลคติกที่มีรูปร่างเป็นท่อน 57

4.4 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียแลคติกที่มีรูปร่างกลม 58

4.5 แสดงผลการทดสอบแคตาเลส 58

4.6 แสดงผลการทดสอบการสร้างแก๊ส 61

4.7 แสดงการต้านเชื้อก่อโรคของแบคทีเรียแลคติก 63

4.8 กราฟแสดงปริมาณกรดในระหว่างการเจริญของแบคทีเรียแลคติก 65

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

4.9 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในระหว่างการเจริญของแบคทีเรียแลคติก 66
4.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการหมักปลาส้มด้วยความเข้มข้นของกล้าเชื้อที่แตกต่างกัน..... 69
4.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ระหว่างการหมักปลาส้มด้วยปริมาณกล้าเชื้อที่ต่างกัน 72
4.12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ระหว่างการหมักปลาส้มที่อุณหภูมิห้อง 30 , 37 องศาเซลเซียส ด้วยการเติมกล้าเชื้อและไม่เติมกล้าเชื้อ 75

การปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ปลาส้ม ด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ : กรณีศึกษาพื้นที่จังหวัดแพร่ และจังหวัดพะเยา

THE QUALITY IMPROVEMENT OF PLAA SOM PRODUCTS BY BIOTECHNOLOGICAL PROCESSES : A CASE STUDY OF PHRAE AND PHA YAO PROVINCE.

อังคณา ชมภูมิ่ง
ตะวัน ฉัตรสูงเนิน
ธวัชชัย ชัยธวัชวิถี
UNGKANA CHOMPUMING
TAWAN CHATSUNGNOEN
TAWATCHAI CHAITHAWATWITHI

มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ

บทคัดย่อ

ปลาส้มเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการหมักเนื้อปลา โดยมีการทำงานของจุลินทรีย์เข้ามาเกี่ยวข้อง การศึกษานี้มีจุดมุ่งหมาย เพื่อคัดแยกจุลินทรีย์บริสุทธิ์จากปลาส้ม, ทดสอบประสิทธิภาพ, และสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตปลาส้ม ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างปลาส้มที่ขึ้นชื่อ 12 ตัวอย่าง คัดแยกจุลินทรีย์ได้ 57 ไอโซเลต แล้วทดสอบการทนเกลือโซเดียมคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าแบคทีเรียทั้ง 57 ไอโซเลต มีการเจริญเติบโตต่างกัน จากนั้นคัดเลือกมา 12 ไอโซเลต ทำการทดสอบการสร้างแก๊ส พบว่ามี 11 ไอโซเลต ไม่สร้างแก๊ส จากนั้นจำแนกสายพันธุ์ พบว่าเป็นกลุ่ม *Lactobacillus* spp. จำนวน 8 ไอโซเลต กลุ่ม *Streptococcus* spp. จำนวน 2 ไอโซเลต และกลุ่ม *Corynebacterium* spp. จำนวน 1 ไอโซเลต พบว่าแบคทีเรียทั้ง 11 ไอโซเลต สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ และมีการสร้างกรดได้แตกต่างกัน แต่กลุ่ม *Lactobacillus* spp. สามารถสร้างกรดได้สูงถึง 1.986 เปอร์เซ็นต์ จึงใช้เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Lactobacillus* spp. มาทำการหมักปลาส้ม โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมัก พบว่าการเติมเชื้อที่ความเข้มข้น 10^6 CFU/ml ปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นปริมาณที่เหมาะสมต่อการหมัก และบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วันทำให้ปลาส้มมีรสชาติที่ผู้บริโภคนิยมรับประทานมากที่สุด

คำสำคัญ:ปลาส้ม, แบคทีเรียแลคติก, การแยกเชื้อ, การหมัก

ABSTRACT

A pickled fish products from fermented fish. The work of microorganisms is involved. This study aims. Microorganisms isolated from fresh to pickled fish And examine the effectiveness of microbial purity. And to study the optimal conditions to produce pickled fish The study sample pickled fish at Phayao found pickled fish at the a 12 samples and isolated microorganisms 57 isolates and tested to endure salt sodium chloride, 5 percent were bacteria and 57 isolates grow differently. Then the bacteria, 12 isolates were tested for a gas found 11 isolates not create gas. Then be classified species Found that a group Lactobacillus spp. A group of eight isolates of Streptococcus spp. 2 isolates and group Corynebacterium spp. Number 1 isolates showed that all 11 bacterial isolates to inhibit pathogens. And the acid has a different group, but Lactobacillus spp. Can create up to 1.986 per cent acid and the Lactobacillus spp. To make fermented pickled fish By studying the optimal conditions for fermentation. The bacteria were added at a concentration 106 CFU / ml amount of 1 percent is the appropriate amount of fermentation And incubated at 30 ° C for 3 days were pickled fish taste that consumers have the most popular.

Keywords: Phaa som, Lactic acid bacteria, Isolation, Fermented

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ปลาส้มเป็นอาหารหมักที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายซึ่งปลาส้มมีการผลิตกันมากในเขตภาคเหนือโดยเฉพาะในจังหวัดพะเยา เนื่องจากนี้มีแหล่งน้ำที่อุดมไปด้วยปลาหลายชนิดที่เหมาะสมในการทำปลาส้ม เช่น อ่างเก็บน้ำห้วยไฟ อ่างเก็บน้ำแม่ต๋ำ แม่น้ำอิง แม่น้ำยม และกว๊านพะเยา โดยส่วนใหญ่จะเป็นการผลิตในระดับครัวเรือนและอุตสาหกรรมขนาดเล็ก เพื่อส่งขายในจังหวัดใกล้เคียง ในอดีตคนมักจะตั้งหมู่บ้านอยู่ตามริมฝั่งแม่น้ำ เพื่อการดำรงชีวิต เช่น ใช้เป็นเส้นทางสัญจร เดินทาง ไปมาหาสู่กัน และอาศัยสัตว์น้ำที่อยู่ในแม่น้ำ ลำคลองเป็นอาหาร สัตว์น้ำที่นิยมรับประทานคือ ปลา ซึ่งแม่น้ำหลาย ๆ แห่งจะอุดมสมบูรณ์ไปด้วยปลามากมายหลายชนิด และการประมงในอดีตจะเป็นการประมงในแหล่งน้ำธรรมชาติ เช่น แม่น้ำ หนองบึง อ่างเก็บน้ำ เป็นต้น ด้วยเหตุเมื่อมีสัตว์น้ำจืดเป็นจำนวนมาก การแปรรูปสัตว์น้ำจืดจึงเกิดขึ้นในกลุ่มชาวบ้านต่าง ๆ เพื่อที่จะเก็บรักษาสัตว์น้ำเหล่านั้น เช่น การทำปลาร้า ปลาเจ่า ปลาจ่อม ปลาย่าง ปลาเค็ม และปลาส้ม เป็นต้น เพื่อที่จะใช้บริโภคได้ในช่วงฤดูกาลที่ไม่สามารถจะจับสัตว์น้ำได้ วิธีการเก็บรักษาและถนอมอาหารนี้เป็นวิธีการที่สืบทอดกันมานาน

อาหารประเภทปลาหมักเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำมากันตั้งแต่เดิม เป็นการถนอมอาหารเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นั้น หรือเก็บไว้รับประทานนอกฤดูกาลมีการผลิต และบริโภคในท้องที่ใดท้องที่หนึ่งสืบทอดกันมา มีการใช้วัตถุดิบ วิธีการผลิต และชื่อที่ใช้เรียกแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับภูมิศาสตร์แถบนั้นๆ และในการผลิตอาหารประเภทปลาหมัก เนื้อหมักไม่ใช่เฉพาะประเทศไทยเท่านั้นที่มีการผลิตอาหารประเภทปลาหมัก เนื้อหมักแต่ยังมีหลายๆประเทศที่มีการผลิตอาหารประเภทปลาหมัก เนื้อหมัก เช่น ประเทศญี่ปุ่น ประเทศเกาหลี และฟิลิปปินส์ เป็นต้น Tanasupawat *et al.* (1991) ได้กล่าวถึงการเก็บรักษาปลา และเนื้อโดยวิธีการหมักด้วยการเติมเกลือ และคาร์โบไฮเดรต (ข้าว ธัญพืช แป้งสาลี และน้ำตาลปี๊บ) ทำให้เกิดรสเปรี้ยว ซึ่งหลายๆประเทศได้มีการผลิตผลิตภัณฑ์ปลา และเนื้อหมัก ดังตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 แสดงผลิตภัณฑ์ปลา และเนื้อหมักของประเทศต่างๆ

Product name	Country	Major ingredients	Microorganisms	Usage
Sikhae	Korea	Sea-water fish, cooked millet, salt	*L.mesenteroides, L.plantarum*	Side-dish
Narezushi	Japan	Sea-water fish, cooked millet, salt	*L.mesenteroides, L.plantarum*	Side-dish
Burong-isda	Philippines	Fresh-water fish, rice, salt	*Streptococcus* sp., *L.brevis*	Side-dish
Pla-ra	Thailand	Fresh-water fish, salt , roasted rice	*Pediococcus* sp.	Side-dish
Balao-balao	Philippines	Shrimp, rice, salt	*L.mesenteroides, P.cerevisiae*	Condiment
Pla-som	Thailand	Fresh-water fish, garlic, salt, rice	*L.lactis, Pediococcus* sp.	Side-dish
Nham	Thailand	Pork, garlic, salt, rice	*P. cerevisiae, L.plantarum, L.brevis*	Pork meat in banana leavrs
Sai-krok-prieo	Thailand	Pork, garlic, salt, rice	*L. plantarum, L.salivarius,*	Sausage
Nem-chua	Vietnam	Pork, salt, cooked rice	*Pediococcus* sp., *Lactobacillus*	Sausage
Salami	Europe	Pork	*Lactobacillus , Micrococcus*	Sausage

ที่มา : Tanasupawat, *et al.* (1991)

ในภาคอีสานได้มีการผลิตปลาส้ม ซึ่งปริมาณการผลิตอยู่ในช่วง 1,170-1,352 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่ากว่า 60 ล้านบาทต่อปี ด้านการตลาด แหล่งผลิต จะสามารถจำแนกปริมาณและมูลค่าของผลิตภัณฑ์ปลาส้ม ในภาคอีสาน ที่ทำการสำรวจ 30 ราย ดังตารางที่ 1.2

ตารางที่ 1.2 แสดงปริมาณ และมูลค่าการผลิตปลาส้ม

ระดับการผลิต	**ปริมาณการผลิตต่อปี (กิโลกรัม / ปี)**			**มูลค่าการผลิตต่อปี (บาท / ปี)**	
	ต่ำสุด	**สูงสุด**	**เปอร์เซ็นต์**	**ต่ำสุด**	**สูงสุด**
1. ระดับครัวเรือน	1,865	1,915	0.15	70,310	72,196
2. ระดับอุตสาหกรรมในครัวเรือน	160,336	180,504	13.51	6,464,748	7,277,921
3. ระดับอุตสาหกรรม	1,008,403	1,169,748	86.34	46,164,689	53,551,063
รวม	1,170,604	1,352,167	100.0	52,699,747	60,901,180

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2551 : ออนไลน์)

จังหวัดลพบุรีเป็นจังหวัดหนึ่งที่มีชื่อเสียงในการผลิตปลาส้ม และได้มีการผลิตผลิตภัณฑ์ปลาหมักอื่นๆ คือน้ำปลา โดยปลาส้มฟัก และปลาตะเพียนจะมีปริมาณการผลิต 30,000 กิโลกรัม และ 10,000 กิโลกรัมตามลำดับ ดังตารางที่ 1.3

ตารางที่ 1.3 แสดงผลิตภัณฑ์ปลาส้มจังหวัดลพบุรี

ลำดับที่	ชื่อผลิตภัณฑ์ / ประเภทอาหาร	ปริมาณการผลิตต่อเดือน
1.	ปลาส้มฟัก	30,000 กิโลกรัม
2 .	ปลาส้มปลาตะเพียน	10,000 กิโลกรัม

ที่มา : กองอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ. 2551 : ออนไลน์

ในปัจจุบันการผลิตปลาส้มจะอาศัยเทคนิควิธีที่มีการถ่ายทอดสืบต่อกันมาจึงทำให้รสชาติ หรือคุณภาพของปลาส้มแต่ละแห่ง จึงมีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสูตรการผลิต อย่างไรก็ตาม แม้สูตรการผลิตเดียวกันในแต่ละครั้ง ก็อาจไม่ได้คุณภาพเท่ากัน ทั้งนี้เพราะการผลิตปลาส้มจะเป็นการหมักเพื่อให้เกิดจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ ไม่สามารถควบคุมคุณภาพและรสชาติได้ จึงทำให้มีโอกาสเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากองค์ประกอบหลายๆ ด้าน รวมทั้งสภาพแวดล้อมของสถานที่ผลิต และความสะอาดยังมีส่วนสำคัญทำให้ปลาส้ม ซึ่งเป็นสาเหตุให้ปลาส้มไม่สามารถก้าวสู่มาตรฐานการส่งออกได้ ดังนั้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาส้มให้เป็นที่ยอมรับนั้นจะต้องมีการศึกษาถึงกระบวนการผลิตทุกขั้นตอนเพื่อที่จะได้ผลิตภัณฑ์ปลาส้มมีรสชาติ และคุณภาพที่แน่นอน เพราะว่าหลักการในการผลิตปลาส้มในปัจจุบันจะใช้จุลินทรีย์ธรรมชาติภายใต้การปรับสภาวะ เช่น ความเข้มข้นของเกลือ โดยให้แบคทีเรียกลุ่มแลคติกเจริญเติบโต แล้วสร้างกรดทำให้มีรสเปรี้ยวเกิดขึ้น ถ้ามีจุลินทรีย์ปนเปื้อนเกิดขึ้นมาในกระบวนการผลิตก็จะทำให้คุณภาพของปลาส้มมีรสชาติไม่สม่ำเสมอ แต่ถ้ามีการใช้จุลินทรีย์บริสุทธิ์ก็จะทำให้รสชาติ สี กลิ่นของปลาส้มคงที่ นอกจากนั้นยังเป็นการควบคุมจุลินทรีย์ที่เป็น จุลินทรีย์ก่อโรคที่จะมีผลทำให้เกิดโทษกับผู้บริโภคได้ด้วย (วิชัย ลีลาวัชรมาศ. 2551 : ออนไลน์)

1.2 จุดมุ่งหมายของการศึกษา

1.2.1 เพื่อคัดแยกจุลินทรีย์บริสุทธิ์จากปลาส้ม และทำการตรวจสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์บริสุทธิ์

1.2.2 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตปลาส้ม

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ทราบถึงชนิด และประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในปลาส้ม

1.3.2 ทราบสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตปลาส้ม

1.4 ขอบเขตของการศึกษา

ศึกษาผลิตภัณฑ์ปลาส้มในเขตจังหวัดพะเยา โดยตัวอย่างปลาส้มที่นำมาทำการทดลองจะเป็นปลาส้มแบบเส้น ที่ผ่านการหมักมาแล้ว 3-4 วัน โดยมีการนำตัวอย่างปลาส้มมาศึกษาจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญต่อกระบวนการหมักปลาส้ม โดยมีการแยกเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดให้บริสุทธิ์ และนำจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติกมาทดสอบประสิทธิภาพและเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตปลาส้ม

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (ตรวจเอกสาร)

2.1 การหมัก (Fermentation)

การหมัก (fermentation) ในความหมายดั้งเดิม หมายถึง กระบวนการผลิตแอลกอฮอล์หรือกรดแลคติกจากน้ำตาลกลูโคส แต่ในความหมายสมัยใหม่ หมายถึง กระบวนการแปรสภาพของสารประกอบอินทรีย์ที่ถูกควบคุมด้วยการทำงานของเอนไซม์ (ตะวัน ฉัตรสูงเนิน. 2546)

ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการหมักจากจุลินทรีย์ หรือกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์เรียกว่าผลิตภัณฑ์หมักดอง (fermented products)

2.1.1 การแบ่งประเภทกระบวนการหมักตามกระบวนการผลิต (ตะวัน ฉัตรสูงเนิน. 2546)

2.1.1.1 กระบวนการหมักแบ่งตามความต้องการออกซิเจน แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

1) Aerobic fermentation คือ กระบวนการหมักที่ต้องใช้จุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจน เช่น การหมักกรดซิติก (cetic acid) และกรดอะซิติก (acetic acid)

2) Anaerobic fermentation คือ การหมักที่จุลินทรีย์ไม่ต้องการออกซิเจน เช่น การหมักอะซิโตน (acetone) และบิวทานอล (butanol) เป็นต้น

2.1.1.2 กระบวนการหมักอาจแบ่งตามสภาพการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อ ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ

1) Septic fermentation เป็นการหมักในสภาพเปิดซึ่งไม่จำเป็นต้องกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมากับวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก หรือปนเปื้อนในระหว่างการหมัก แต่ใช้วิธีการปรับสภาพให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการ และไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ

2) Semi-septic fermentation เป็นการหมักในสภาพปิดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้ออื่นจากภายนอก แต่ไม่จำเป็นต้องฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก และใช้วิธีการปรับสภาพให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการ และไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ

3) Aseptic fermentation เป็นการหมักในสภาพปิดซึ่งต้องทำให้วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักปราศจากเชื้อปนเปื้อน นอกจากนี้ยังต้องระวังไม่ให้มีการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นในระหว่างการหมักด้วย

2.1.1.3 กระบวนการหมักอาจแบ่งตามลักษณะ หรือปริมาณน้ำในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

1) Solid state fermentation คือการหมักบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีลักษณะแข็ง เช่น รำข้าว ซึ่งมีการเติมน้ำเพียงเล็กน้อยเพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการเท่านั้น

2) Submerged fermentation คือการหมักที่ทำโดยการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารลี้ยงเชื้อที่มีลักษณะเหลว

2.1.1.4 กระบวนการหมักอาจแบ่งตามลักษณะของกระบวนการที่ใช้ แบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ

1) Batch fermentation คือ การหมักแบบไม่ต่อเนื่อง ซึ่งทำในระบบปิดที่มีสารอาหารตั้งต้นในปริมาณจำกัด เมื่อใส่จุลินทรีย์ที่ต้องการเพาะเลี้ยงลงไปในระบบแล้ว จะไม่มีการเติมสารอาหารอื่นเพิ่มลงไปอีก

2) Continuous fermentation คือ การหมักแบบต่อเนื่อง โดยมีการเติมสารอาหารใหม่และถ่ายอาหารเก่าออกจากระบบในอัตราเดียวกันตลอดเวลา จึงทำให้จุลินทรีย์สามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างต่อเนื่อง โดยไม่มีข้อจำกัดเรื่องอาหาร

3) Fed-batch fermentation คือ การหมักที่มีการเติมสารอาหารบางอย่างเพิ่มลงไปในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เป็นระยะๆ เพื่อให้จุลินทรีย์เจริญ และใช้สารอาหารได้อย่างเต็มที่ โดยไม่มีการถ่ายเทอาหารเก่าออก การหมักแบบนี้ส่วนมากใช้เพื่อแก้ปัญหาเกี่ยวกับข้อจำกัดในเรื่องความเข้มข้นของสารอาหารตั้งต้น ซึ่งหากใช้มากเกินไปอาจมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ หรืออาจทำให้มีปัญหาในการให้ออกซิเจนในปริมาณที่เพียงพอได้ยาก

2.1.2 ผลิตภัณฑ์ที่หมักจากปลาแบ่งออกเป็น 3 ประเภท

2.1.2.1 Fermented fish ผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ได้จากการนำปลาทั้งตัว หรือเพียงบางส่วนมาหมัก การหมักอาจจะใช้เวลา 2-3 วัน หรืออาจมากกว่า 1 ปี อาจมี หรือไม่มีการเติมเครื่องปรุงแต่งบางอย่าง เช่น ข้าวคั่ว ยีสต์ สับปะรด และมะละกอก็ได้ อาหารชนิดนี้ได้แก่ ปลาร้า ปลาเจ่า ปลาจ่อม ปลาส้ม

2.1.2.2 Fermented fish paste ผลิตภัณฑ์ชนิดนี้อาจใช้ปลา กุ้ง หรือหอย ใส่เกลือตาก และบดให้ละเอียด แล้วนำไปหมักไว้ระยะหนึ่ง อาจกินเวลาหลายเดือนจนได้กลิ่นรสที่ต้องการ อาจมีการเติมเครื่องปรุง หรือไม่เติมก็ได้ เช่น กะปิ ปะเดก (padec) ของลาว และ มัมกะเซต (mam-ca-sat) ของกัมพูชา เป็นต้น

2.1.2.3 Fermented fish sauce ผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ได้จากการนำปลามาหมักเกลือแล้วปล่อยให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นเวลาหลายเดือน เนื้อปลาย่อยสลายเป็นของเหลวที่มีโปรตีนสูง แยกเอาเฉพาะส่วนที่ใส อาจปรุง หรือไม่ปรุงแต่งรสก็ได้

2.2 ผลิตภัณฑ์ปลาส้ม

ปลาส้ม หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากปลาที่ผ่านกรรมวิธีการหมักด้วยเกลือ ข้าวสวย หรือข้าวเหนียวนึ่ง และกระเทียม จนมีรสเปรี้ยว อาจทำจากปลาทั้งตัว หรือ เฉพาะเนื้อปลาก็ได้ ปลาส้มจัดเป็นผลิตภัณฑ์ปลาหมักชนิดหนึ่งที่ผลิตมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ ผลิตจากปลาทั้งตัวนำมาล้างเอาไส้ และพุงปลาออกแล้วจึงนำส่วนผสมต่างๆ (กระเทียม เกลือ ข้าวสุก) มาหมักให้เกิดรสเปรี้ยว ดังภาพต่อไปนี้

ภาพที่ 2.1 ลักษณะปลาส้ม

นอกจากนั้นผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากปลาที่ได้จากการบดเนื้อปลากับส่วนผสมอื่นๆ แล้วห่อด้วยใบตองหมักจนเกิดรสชาติเปรี้ยว จะเรียกว่า ส้มฟัก หรือส้มปลา ว่าปลาส้มจะได้จากการหมักปลาสดที่ตัดแต่งแล้วกับส่วนผสมต่างๆ เช่น ข้าวเหนียว กระเทียม และเกลือ เป็นหลัก จนเกิดรสเปรี้ยว และที่สำคัญคือเนื้อปลาสดที่ใช้ในการผลิตจะไม่มีการถูกบดให้ละเอียด ในบางท้องถิ่นอาจเรียกปลาส้มอีกชื่อหนึ่งว่าปลาข้าวสุก จากรายงานของ Paludan-Miller (2002) ได้กล่าวถึง ผลิตภัณฑ์ปลาหมักของประเทศเพื่อนบ้านอย่างประเทศฟิลิปปินส์มีผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า Burong-isda เกาหลีมีผลิตภัณฑ์เรียกว่า Jol-kal และญี่ปุ่นมีผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า Funa - shushi (ปลาส้มภูมิปัญญาท้องถิ่นอีสาน เสริมความแข็งแรงให้กับชุมชนพึ่งพาตนเองได้ ปลาส้ม. 2551 : ออนไลน์) ปลาส้มแบ่งออกเป็น 4 ชนิด คือ

1) ปลาส้มตัว เป็นปลาส้มที่ทำจากปลาทั้งตัวที่ผ่าท้องควักไส้ออกแล้ว

2) ปลาส้มชิ้น เป็นปลาส้มที่ทำจากเนื้อปลาล้วนที่หั่นเป็นชิ้นตามขวางของลำตัวปลา

3) ปลาส้มเส้น เป็นปลาส้มที่ทำจากเนื้อปลาล้วนที่หั่นเป็นเส้น

4) ปลาส้มฟัก หรือ แหนมปลา เป็นปลาส้มที่ทำจากเนื้อปลาล้วนที่บดหรือสับ

2.3 วัตถุดิบสำคัญที่ใช้การผลิตปลาส้ม

2.3.1 ปลาสด ปลาน้ำจืดที่นิยมทำปลาส้มตัวมากที่สุดคือ ปลาตะเพียน รองลงมาคือ ปลาขาว ปลาจีน ปลาสร้อย ปลานวลจันทร์ ก็นำมาทำได้แต่จะทำในลักษณะเป็นปลาส้มชิ้น หลังหมักปลาจนเป็นปลาส้มสามารถรับประทานได้ ลักษณะปลาส้มที่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค คือ มีสีชมพู เนื้อแข็ง รสชาติอร่อย โดยทั่วไปปลาแต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบที่สำคัญเหมือนกัน แต่จะแตกต่างกันที่ปริมาณไขมัน และความชื้น โดยเฉลี่ยแล้วจะมีปริมาณโปรตีน 19 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 74.8 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 5 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 1.2 เปอร์เซ็นต์ และแร่ธาตุอาหารต่างๆ ดังตารางที่ 2.1 (Stansby. 1962 อ้างถึงในอังคณา รัตนพันธ์. 2549)

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณแร่ธาตุในเนื้อปลาโดยเฉลี่ย

แร่ธาตุ	**มิลลิกรัมต่อเนื้อปลา 100 กรัม**
K	300
Cl^-	200
P	200
S	200
Na	63
Mg	25
Ca	15
Fe	1.5
Mn	1
Zn	1
F	0.5
As	0.4
Cu	0.1
I	0.1

ที่มา : Stansby. 1962 อ้างถึงใน อังคณา รัตนพันธ์. 2549

2.3.2 เกลือ แบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ เกลือบริสุทธิ์ (purified salt) เกลือสมุทรหรือเกลือทะเล (solar salt) และเกลือเหมืองหรือเกลือสินเธาว์ (rock salt) เกลือที่นิยมใช้ในการทำปลาส้มที่ดี ควรเป็นเกลือทะเล ป่น ขาว สะอาด และมีความเค็มสูง แต่จะมีราคาแพง หรือบางแหล่งอาจใช้เกลือสินเธาว์ เกลือเม็ด เกลือต้ม ซึ่งเกลือทำหน้าที่ควบคุมและรักษาสภาวะการหมักให้จุลินทรีย์ที่ต้องการ จำพวกแบคทีเรียแลคติก ปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในเกลือ
จุลินทรีย์ที่มีบทบาททำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอาหารหมักส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์ที่ติดมากับเกลือ (Amano. 1962)

2.3.2.1 ลักษณะสำคัญที่ใช้ในการเลือกใช้เกลือในอุตสาหกรรมการหมัก

1) ส่วนประกอบทางเคมีของเกลือ มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) ของผลิตภัณฑ์ การซึมซาบของเกลือเข้าไปในเนื้อปลา กลิ่นรส และคุณสมบัติในการเก็บรักษา เกลือที่ใช้อยู่ในประเทศไทยนั้นเป็นเกลือที่ยังไม่ได้ฟอก มีฝุ่นละออง ดิน ทราย และอัลคาไลท์เอิร์ทซอลท์ (alkaline earth salts) เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียมซัลเฟต และคาร์บอเนต โดยที่แมกนีเซียมคลอไรด์ และแคลเซียมคลอไรด์จะดูดความชื้นจากอากาศได้ดี เมื่อเกลือมีความชื้นมากจะทำให้ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ต่ำลง เมื่อนำมาใช้ในอุตสาหกรรมปลาหมักจะทำให้ปลาเสียได้ง่ายเนื่องจากความเค็มไม่พอ

2) ลักษณะทางฟิสิกส์ของเกลือ ขนาดของเกลือมีผลต่อการซึมซาบของเกลือ ถ้าเกลือมีขนาดใหญ่การซึมซาบของเกลือก็จะช้า ทำให้ปลาเสียได้ง่าย แต่ถ้าใช้เกลือที่มีความละเอียดมากเกินไป เกลือจะถูกละลายด้วยน้ำในกล้ามเนื้อปลา (muscle fluids) ทำให้ความชื้นของเนื้อเยื่อบริเวณผิวหมดไปอย่างรวดเร็วทำให้โปรตีนเกิดการรวมตัวเป็นก้อน (coagulate) ป้องกันไม่ให้เกลือซึมซาบเข้าไปในเนื้อปลาได้ง่าย ในอุตสาหกรรมปลาหมักจึงควรใช้เกลือที่มีความละเอียดพอดี

3) ปริมาณ และชนิดของแบคทีเรียในเกลือ จุลินทรีย์ที่มีบทบาททำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอาหารปลาหมักส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์ที่ติดมากับเกลือ

2.3.3 ข้าวสวย หรือข้าวเหนียวนึ่ง จะใช้ข้าวเหนียวใหม่มาทำการนึ่ง และล้างในน้ำสะอาดเพื่อให้เมล็ดข้าวแยกไม่เกาะติดกันเป็นก้อน โดยข้าวสวย หรือข้าวเหนียวนึ่งนี้จะทำหน้าที่เป็นตัวเร่งให้จุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรียแลคติกเจริญได้รวดเร็วในช่วงแรกของการหมักและทำให้เกิดกลิ่นรสเปรี้ยวของผลิตภัณฑ์ ก่อนที่จุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการจะเจริญเติบโตทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการ พูลทรัพย์ วิรุฬหกุลมและคณะ (2542) รายงานว่าข้าวคั่วมีบทบาทในการทำงานของจุลินทรีย์ โดยทำให้มีการสร้างกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก หรือสารอื่นๆ ที่กลบกลิ่นเหม็นของสารที่เกิดจากการย่อยสลายของโปรตีน

2.3.4 กระเทียม เป็นตัวช่วยในการปรับปรุงกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ปลาส้ม และยังพบว่าในกระเทียมมีวัตถุดิบที่เป็น Fructooligosaccharides ในรูปที่เรียกว่า อินูลิน (Inulin) ที่ จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ ด้วยการสังเคราะห์เอนไซม์ Inulinase จะทำให้ได้ Fructose (Van Loo, *et al.* 1995) และมีสาร Allicin ที่ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ อีกทั้งยังช่วยกระตุ้นให้ จุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียแลคติกเจริญ เนื่องจากพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณกระเทียมในการผลิตผลิตภัณฑ์ปลาหมักของเกาหลีที่เรียกว่า Gajami sikhae จะทำให้สภาพความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ลดลง (Feldbreg,*et al*. 1988)

2.3.5 ส่วนผสมอื่นๆ เช่น ผงชูรส น้ำตาล ดินประสิว และสีผสมอาหาร เป็นต้น เพื่อช่วยปรุงแต่งรสชาติ และสีสันให้น่ารับประทานมากขึ้น

2.4 กระบวนการผลิตปลาส้ม

2.4.1 สูตรการผลิตปลาส้มของปลาส้มศรีทน

เนื้อปลาสด	920	กรัม (92 เปอร์เซ็นต์)
กระเทียมสับ	5	กรัม (0.5 เปอร์เซ็นต์)
เกลือ	30	กรัม (3 เปอร์เซ็นต์)
ข้าวเหนียว	40	กรัม (4 เปอร์เซ็นต์)

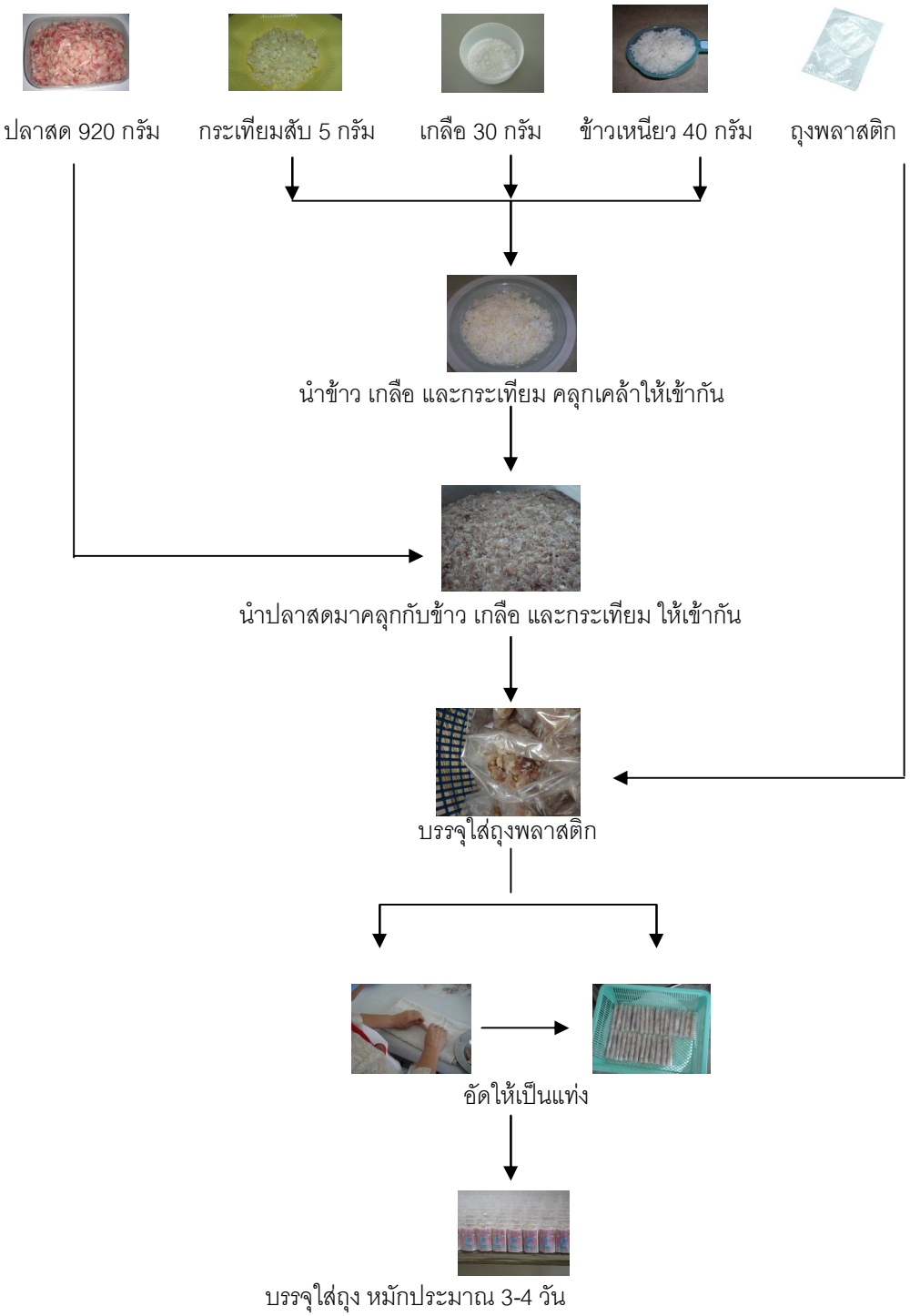
2.4.2 กระบวนการผลิตปลาส้ม

1. นำปลาสดมาทำการขอดเกร็ด ตัดหัวพร้อมแล่เอาหนัง เอาไส้ และพุงปลาออกให้หมด ล้างน้ำทำความสะอาด นำปลามาหั่นเป็นชิ้นๆ ชิ้นละประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร

2. ล้างน้ำอีก 3-4 ครั้ง หรือจนน้ำที่ล้างไม่มีสีเลือด นำไปแช่ในน้ำแป้งข้าวจ้าว หรือน้ำซาวข้าว เพื่อช่วยในการดับกลิ่นคาวปลา ล้างน้ำให้สะอาดอีกครั้งทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ

3. นำกระเทียม เกลือ และข้าวสุกมาคลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วทำการหมัก

4. บรรจุใส่ถุงพลาสติก อัดเป็นแท่ง หมักไว้ 3-4 วันสามารถบริโภคได้ ดังภาพต่อไปนี้



ภาพที่ 2.2 แสดงขั้นตอนในการผลิตปลาส้ม

ที่มา : ศรีทนปลาส้ม. (2552)

2.5 ลักษณะของผลิตภัณฑ์ปลาส้ม

2.5.1 ลักษณะของผลิตภัณฑ์ปลาส้มที่ดี

ผลิตภัณฑ์ปลาส้มที่ดีตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช. 26/2546) จะต้องมีลักษณะดังต่อไปนี้

1) ต้องเป็นปลาชนิดเดียวกัน หรือ เป็นปลาที่มีลักษณะของขนาดที่เหมาะสม

2) สีต้องเป็นสีตามธรรมชาติของปลาส้มแต่ละประเภท ไม่มีสีคล้ำ หรือสีผิดปกติ ไม่พบการเจือสีสังเคราะห์

3) กลิ่นต้องมีกลิ่นเป็นไปตามธรรมชาติของปลาส้มแต่ละประเภท มีกลิ่นเปรี้ยวของผลิตภัณฑ์หมัก มีกลิ่นหอมของกระเทียม ไม่มีกลิ่นอับ กลิ่นหืน หรือกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์

4) รสต้องมีรสเปรี้ยวที่เหมาะสมตามธรรมชาติของปลาส้ม

5) ลักษณะเนื้อ

5.1) ปลาส้มตัว ต้องคงสภาพเป็นตัว เนื้อแน่น ไม่ยุ่ย

5.2) ปลาส้มชิ้น ต้องคงสภาพเป็นชิ้น เนื้อแน่น ไม่ยุ่ย

5.3) ปลาส้มเส้น ต้องคงสภาพเป็นเส้น ไม่แตกยุ่ย

5.4) ปลาส้มฟักหรือแหนมปลา ต้องมีเนื้อเนียนแน่นยืดหยุ่นดี ไม่มีฟองอากาศ

6) สิ่งแปลกปลอมต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอม เช่น เส้นผม ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลของแมลง หนอน หนู และนก ดิน ทราย และกรวด เป็นต้น

7) วัตถุเจือปนอาหาร ต้องไม่พบโซเดียมหรือโพแทสเซียมไนเทรต โซเดียมหรือโพแทสเซียมไนไทรต์ โซเดียมบอเรต (บอแรกซ์) และสีสังเคราะห์ทุกชนิด แต่อนุญาตให้ใช้ฟอสเฟตในรูปของโมโน ได และ โพลี ของเกลือโซเดียม หรือโพแทสเซียมอย่างใดอย่างหนึ่ง หรือรวมกันในผลิตภัณฑ์ (คำนวณเป็น P_2O_5 จากฟอสฟอรัสทั้งหมด) ไม่เกิน 5,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

8) ความเป็นกรด-ด่าง ต้องมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 4.0 ถึง 6.0

9) จุลินทรีย์

9.1) *Salmonella* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

9.2) *Clostridium* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม

9.3) *Escherichia coli* โดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า 10 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม

9.4) รา ต้องไม่มีปรากฏให้เห็น

9.5) พยาธิ ต้องไม่พบ

2.5.2 ลักษณะของผลิตภัณฑ์ปลาส้มที่ไม่ดี

ผลิตภัณฑ์ปลาส้มที่ไม่เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช. 26/2546) จะมีลักษณะดังต่อไปนี้

1) น้ำที่ได้จากการหมักปลาส้มมีสีขุ่น ฟองมาก กลิ่นเหม็น

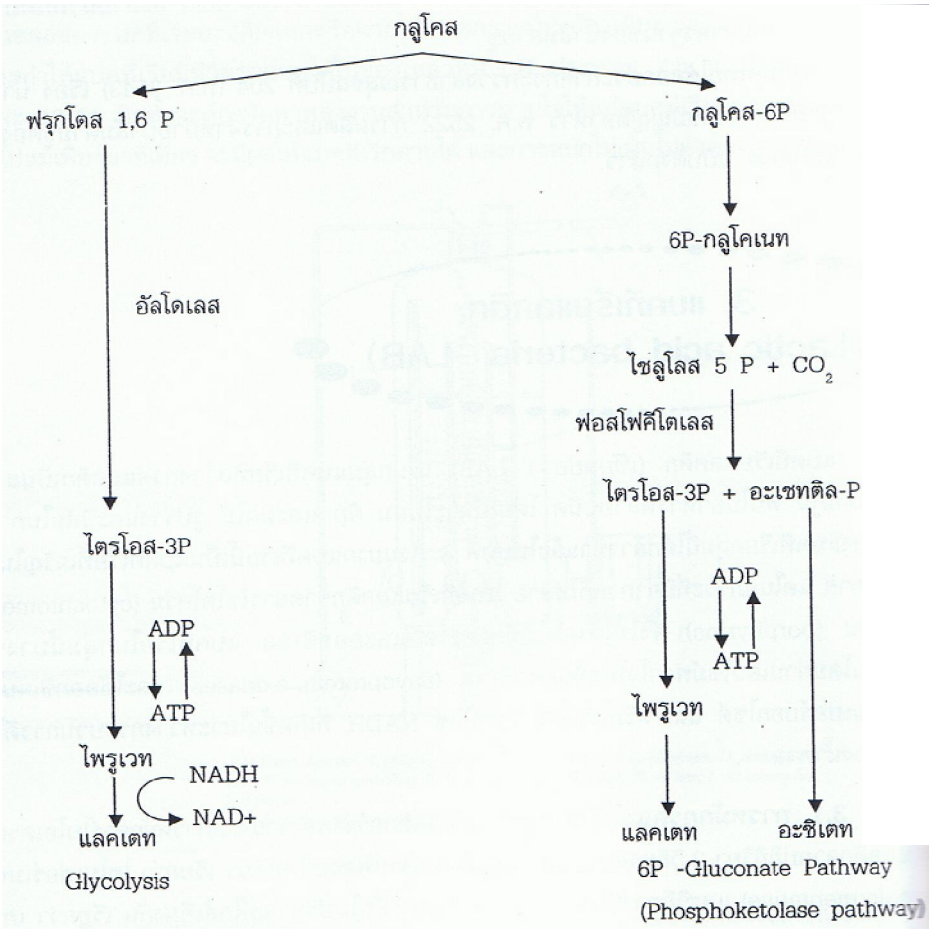
2) เนื้อปลาเหม็น และข้าวเหนียวมีกลิ่นบูด

2.6 **แบคทีเรียแลคติก** (Lactic acid bacteria - LAB)

แบคทีเรียแลคติกเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกเป็นสารเมตาบอไลท์ทุติยภูมิ พบในอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะในนม ผัก และผลไม้ ส่วนมากแบคทีเรียนี้เป็นแบคทีเรียที่เจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ แต่ในสภาวะที่มีอากาศก็ไม่ตาย แบคทีเรียแลคติกขาดสารไซโตโครม (cytochromes) และพอร์ไฟรินส์ (porphyrins) จึงไม่ให้เอนไซม์แคตาเลส และออกซิเดส แบคทีเรียกลุ่มนี้บางชนิดได้ออกซิเจนโดยผ่านเอนไซม์ฟลาโวโปรตีนออกซิเดส (flavoprotein oxidases) และใช้ออกซิเจนนี้สร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือใช้เพื่อรีออกซิไดซ์ NADH ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการดีไฮโดรจิเนชั่นของน้ำตาล

2.6.1 การหมักกรดแลคติก

แบคทีเรียแลคติกสร้างพลังงานจากการหมักคาร์โบไฮเดรต เกิดกรดแลคติกจากปฏิกิริยา 2 วิถีทาง คือ วิถีทางที่ได้แลคเตทเพียงอย่างเดียว เรียกว่า โฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (homofermentative) และวิถีทางที่ได้แลคเตทร่วมกับสารอื่นในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน เรียกว่า เฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (heterofermentative) ดังภาพต่อไปนี้



ภาพที่ 2.3 แสดงวิถีทางเคมีของการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ และเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ

ที่มา : (สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545)

2.6.1.1 การหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ เป็นการหมักที่ได้แลคแตทอย่างเดียว เป็นผลผลิตสำคัญผ่านกระบวนการไกลโคไลซีส (Emden-Meyerhof-Parnas glycoytic pathway) หรือ EMP pathway เริ่มจากกลูโคสที่มีคาร์บอน 6 อะตอม (C-6) ถูกเติมฟอสฟอรัสและเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเกิดขึ้นก่อนที่เอนไซม์อัลโดเลส (aldolase) จะเข้าทำปฏิกิริยา เป็นผลให้โมเลกุลกลูโคสแตกออก เป็นกลีเซอรัลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต (ซึ่งมีคาร์บอน 3 อะตอม) 2 โมเลกุล จากนั้นจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไพรูเวท โดยเกิด ATP ขึ้น 2 โมเลกุล จากการหมักกลูโคส 1 โมเลกุล (เนื่องจากมีการเติมฟอสฟอรัสให้กับซับสเตรต 2 แห่ง) ในขั้นสุดท้ายเป็นการรีดิวซ์ไพรูเวท เป็นแลคเตท ในขั้นตอนนี้ต้องใช้ NADH ได้ NAD^+ กลับคืนมาจากที่ใช้ไปในการออกซิเดชันกลีเซอรัลดีไฮด์ - 3 - ฟอสเฟต

2.6.1.2 การหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททิฟ เป็นการหมักที่ได้แลคเตท เอทธานอล หรืออะซิเตท และคาร์บอนไดออกไซด์จากกลูโคส เนื่องจากแบคทีเรียขาดเอนไซม์อัลโดเลส จึงเปลี่ยนรูปจากกลูโคสที่มีคาร์บอน 6 อะตอม ไปเป็นเพนโตส (ไรโบส) ซึ่งมีคาร์บอน 5 อะตอม โดยการสร้างโครงสร้างภายในโมเลกุลที่มีการออกซิเดชัน และดีคาร์บอก-ซิเลชันร่วมด้วย น้ำตาลที่มี 5 อะตอม นี้จะถูกทำให้แตกออกเป็นกลีเซอรัลดีไฮด์ฟอสเฟต
(ซึ่งเป็นสารประกอบฟอสเฟตที่มีคาร์บอน 3 อะตอม) และอะเซทติลฟอสเฟตโดยเอนไซม์ ฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase) กลีเซอรัลดีไฮด์ฟอสเฟต จะเปลี่ยนไปเป็นแลคเตท เช่นเดียวกับการเกิดไกลโคไลซีสในการหมักโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (แต่เนื่องจากการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททิฟมีกลีเซอรัลดีไฮด์ฟอสเฟตเพียง 1 โมเลกุล จึงเกิด ATP เพียง 1 โมเลกุล) ส่วนอนาคตของอะเซทติลฟอสเฟตนั้น ขึ้นอยู่กับว่าจะมีสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนอยู่ด้วยหรือไม่ในสภาวะที่ขาดตัวรับอิเล็กตรอน อะเซทติลฟอสเฟตจะทำหน้าที่นี้เสียเอง ทำให้ถูกรีดิวซ์เป็นเอทานอล และได้ NAD^+ ขึ้นมาใหม่ 2 โมเลกุลจากเอนไซม์ NADH แต่ในสภาวะที่มีออกซิเจน NAD^+ สามารถสร้างขึ้นใหม่จากเอนไซม์ NADH oxidases และ peroxidases ปล่อยให้อะเซทติลฟอสเฟตมีมากพอสำหรับการเปลี่ยนให้เป็นอะซิลเตท จึงเท่ากับเป็นการเติมฟอสเฟตให้กับซับสเตรตอีกทางหนึ่ง เป็นผลให้ได้ ATP เพิ่มขึ้นมาอีก 1 โมเลกุล เป็น 2 โมเลกุล จากกลูโคส 1 โมเลกุล เช่นเดียวกับการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททิฟ ในกรณีที่มีการเพิ่มขึ้นของ ATP สะท้อนให้เห็นได้จากอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นไปอย่างรวดเร็ว ผลเช่นเดียวกันนี้สามารถเกิดขึ้นกับตัวรับออกซิเจนอื่นๆ ด้วย เช่น ฟรุกโตส ซึ่งจะถูกรีดิวซ์ไปเป็นแมนนิตอล (สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545)

2.6.2 แบคทีเรียแลคติกสามารถจัดจำแนกเป็นสกุลได้ 12 สกุล ดังนี้

2.6.2.1 *Streptococcus* สกุลนี้เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8-1.2 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นสายโซ่หรือคู่ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักเท่านั้น จากการหมักกลูโคส ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญ มีหลายชนิดเป็นปรสิตในคนหรือสัตว์ และบางชนิดสามารถทำให้เกิดโรคได้เจริญที่อุณหภูมิ 20-41 องศาเซลเซียส ปัจจุบันประกอบด้วย 39 สปีชีส์ มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ guanine (G)+ cytosine (c) ระหว่าง 34-46 เปอร์เซ็นต์

2.6.2.2 *Lactococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-1 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่หรือต่อกันเป็นสายโซ่ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) จากการหมักกลูโคส สามารถเจริญได้ที่ 10 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่ 45 องศาเซลเซียส ปัจจุบัน

ประกอบด้วย 5 สปีชีส์ ได้แก่ *L. lactis subsp. lactis, L. lactis subsp. cremoris, L. lactis subsp. hordiniae, L. garvieae, L. plantarum, L. raffinolactis* และ *L. piscium* มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G+C ระหว่าง 34 - 43 เปอร์เซ็นต์

2.6.2.3 *Vagococcus* เป็นแบคทีเรียแลคติก ซึ่งเคลื่อนที่ได้ประกอบด้วย 2 สปีชีส์ คือ *Vagococcus flauvialis* ซึ่งเดิมอยู่ใน *Streptococci* กลุ่ม N และ *V.salmoninarum* ซึ่งแยกได้จากปลาแซลมอนที่เป็นโรค

2.6.2.4 *Enterococcus* เซลล์มีรูปร่างไข่ จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว หรือสายโซ่สั้นๆ ผลิตกรดแลคติก ชนิด L(+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการหมักกลูโคส ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญ สามารถเจริญที่ 10 และ 45 องศาเซลเซียส บางสายพันธุ์ผลิตเอนไซม์แคตาเลสเทียมได้ และบางชนิดทำให้เกิดโรค ปัจจุบันประกอบด้วย 5 สปีชีส์ ได้แก่ *Enterococcus faecalis, E. faecium, E. avium, E. galinarum* และ *E. cecorum* มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G+C ระหว่าง 37- 40 เปอร์เซ็นต์

2.6.2.5 *Pediococcus* เซลล์มีรูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.36-1.43 ไมครอน แบ่งตัวลักษณะ 2 ทิศทางบนระนาบเดียวกัน โดยแบ่งตัวครั้งที่ 2 ในทิศด้านขวามือของครั้งแรก ทำให้เกิดลักษณะเฉพาะเป็นเซลล์เป็นเซลล์ 4 เซลล์ติดกัน (tetra formation) ในสภาวะไร้อากาศ ผลิตกรดแลกติกชนิด DL และ L (+) จากการหมักกลูโคส บางชนิดทำให้เบียร์ และไวน์เสีย ปัจจุบันประกอบด้วย 6 สปีชีส์ ได้แก่ *Pediococcus acidilactici, P. damonosus, P. dextrinicus, P. inopinatus, P. parvulus* และ *P. pentosaceus* มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G+C ระหว่าง 34 - 44 เปอร์เซ็นต์

2.6.2.6 *Tetragenococcus* มีลักษณะการแบ่งตัวเหมือนสกุล *Pediococcus* เนื่องจากเดิมคือ *P. halophilus* ซึ่งจัดจำแนกใหม่จากการเจริญในอาหาร ซึ่งมีเกลือโซเดียม คลอไรด์สูงถึง 18 เปอร์เซ็นต์ และมีลำดับเบสบน 16S rRNA ใกล้เคียงกับเชื้อสกุล *Enterococcus* และ *Carnobacterium* มากกว่าสกุลเดิม

2.6.2.7 *Aerococcus* มีลักษณะการแบ่งตัวเหมือน *Pediococcus* ประกอบด้วย 2 สปีชีส์ คือ *Aerococcus viridans* และ *A. urinae* ซึ่งเปลี่ยนแปลงจาก *P. homari* และ *P. urinaeequi* ตามลำดับ โดย *A. viridans* ทำให้กุ้งลอบสเตอร์ (lobster) เกิดโรค และ เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในมนุษย์

2.6.2.8 *Leuconostoc* เซลล์มีสัณฐานวิทยาขึ้นกับอาหารเลี้ยงเชื้อ ในอาหารซึ่งมีกลูโคส เซลล์มีลักษณะยืดออกคล้ายกลุ่ม Lactobacilli แต่ในน้ำนมเซลล์จะมีรูปร่างกลม การจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดียว อยู่เป็นคู่หรือสายโซ่สั้นถึงปานกลาง ผลิตกรดแลกติกชนิดD(-) เอทานอล

คาร์บอนไดออกไซด์ และสารหอมระเหยจากการหมักกลูโคส จึงช่วยสร้างกลิ่น รส ในอาหารหมักดอง การเจริญต้องการสารอาหารสูง ปัจจุบันประกอบด้วย 8 สปีชีส์ ได้แก่ *Leuconostoc mesenteroides, L. lactis, L. gelidum, L. carnosum, L. pseudomesenteroides, L. citreum, L. argentinum* และ *L. fallax* มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G+C ระหว่าง 37-40 เปอร์เซ็นต์

2.6.2.9 *Oenococcus* สกุลนี้มีเพียงชนิดเดียวคือ *Oenococcus oeni* ซึ่งเปลี่ยนมาจาก *Leuconostoc oenos* ด้วยคุณสมบัติการทนต่อกรด และเอทานอลปริมาณสูง รวมทั้งข้อมูลทางพันธุกรรมจากดีเอ็นเอ: ดีเอ็นเอไฮบริไดเซชัน (DNA : DNA hybridisation) และลำดับเบสของ 16S rRNA ต่างจากสปีชีส์อื่นในสกุล *Leuconostoc* อย่างชัดเจน

2.6.2.10 *Weissella* รูปร่างเป็นแท่งและกลม ซึ่งมีลักษณะคล้าย *Leuconostoc* เป็นชนิด ซึ่งเดิมอยู่ในสกุล *Leuconostoc* และ *Lactobacillus* ประกอบด้วย 7 สปีชีส์ คือ *Leuconostoc* paramesenteroides (*Weissella paramesenteroides*), *Lactobacillus confuses* (*W. confuses*), *L. halotolerans* (*W. halotolerans*), *L. kandleri* (*W. kandleri*), *L. minor* (*W. minor*), *L.viridescens* (*W. viridescens*) และชนิดใหม่ ซึ่งแยกได้จากได้จากไส้กรอกหมัก คือ *W. hellenica*

2.6.2.11 *Lactobacillus* เป็นแบคทีเรียแลคติกกลุ่มใหญ่ที่สุด มีความหลากหลายของลักษณะทางฟีโนไทป์ สมบัติทางชีวเคมี และสรีระ เนื่องจากความแตกต่างของโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G+C ภายในโมเลกุลสูงคือระหว่าง 32-35 เปอร์เซ็นต์ พบในแหล่งต่างๆ เช่น เยื่อเมือกของมนุษย์ พบในสัตว์ พืช และน้ำทิ้ง เป็นต้น บางชนิดเป็นสาเหตุของโรคในมนุษย์ เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนกลม (coccobacilli) ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญ ประกอบด้วย 55 สปีชีส์ ซึ่งแบ่งเป็น 3 กลุ่มคือ

กลุ่ม Obligately homofermentative lactobacilli หมักน้ำตาลแลกโตส (มากกว่า 85 เปอร์เซ็นต์) เป็นกรดแลคติกโดยวิถี Embden-Meyerhof-Parnas Pathway (EMP) ผลิตเอนไซม์ 1,6 ไบฟอสเฟต-แอลโดเลส (1-6 biphosphate - aldolase) แต่ไม่ผลิตเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase) จึงหมักน้ำตาลเพนโทส และ กลูโคเนตไม่ได้

กลุ่ม Facultatively heterofermentative lactobacilli หมักน้ำตาลเฮกโซสเป็นกรดแลคติกผ่านวิถี EMP มีการผลิตเอนไซม์ทั้งแอลโดเลส และฟอสโฟคีโตเลส จึงหมักน้ำตาลเพนโทสได้

กลุ่ม Obligately heterofermentative lactobacilli หมักน้ำตาลเฮกโซส และ เพนโทสผ่านวิถีฟอสโฟกลูโคเนทเป็นแล็กเทต เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์

2.6.2.12 *Carnobacterium* เซลล์มีรูปร่างท่อนตรง ขนาดสั้นถึงปานกลาง หรือท่อนเรียว (slender rod) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.7 ไมครอน และยาว 1.1-3.0 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยวหรือคู่ มักไม่พบการเรียงตัวเป็นสายโซ่ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) คาร์บอนไดออกไซด์ แอซีเตต และเอทานอลจากการหมักน้ำตาลเฮกโซส มีทั้งหมด 6 สปีชีส์ คือ *Carnobacterium divergens, C. piscicola, C. gallnarum, C. mobile, C. funditum* และ *C. alterfunditum* มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G+C ระหว่าง 31.6-37.2 เปอร์เซ็นต์ (อังคณา รัตนพันธ์. 2549)

2.6.3 ลักษณะของแบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติกจะเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างเอนไซม์แคตาเลส ไม่ต้องการอากาศ ลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่า มีทั้งรูปร่างแท่ง และรูปร่างกลม การจัดเรียงกลุ่มแบคทีเรียแลคติกในสกุลต่างๆ ขึ้นอยู่กับรูปร่างลักษณะรูปแบบของการหมักน้ำตาลกลูโคส การใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ และการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ การผลิตกรดแลคติกเจริญในที่มีเกลือความเข้มข้นสูง และการทนต่อกรดหรือด่าง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้จากการใช้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นกรดแลคติกได้แก่ *Lactobacillus, Pediococcus, Streptococcus* และ *Leuconostos*

แบคทีเรียแลคติก ถูกใช้ในการเตรียม และ ถนอมอาหารประเภทเนื้อ,นม และ ผัก มาเป็นเวลานาน และ เป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่ามีความปลอดภัย (generally recognized as safe , GPRS) ซึ่งแบคทีเรียแลคติกจะผลิตสารต่างๆ เช่น กรดอินทรีย์, Protease, Flavor compound และ สารที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะแบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดที่รู้จักดีก็คือ แบคเทอริโอซิน (bacteriocin) ซึ่งเป็น Bactericidal protein จากการทดลองของ Yang, *et al*. (1997) พบว่า *Lactobacillus* 13 สายพันธุ์ และ *Pediococcus* 5 สายพันธุ์ สามารถสร้างสารยับยั้งได้คือ 2-pyrrodone-5-carboxylic acid (PCA) ซึ่ง PCA จะสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้หลายชนิดเช่น *Enterobactor cloaoae* 1575 , *Pseudomonas fluorescens* KJLG. และ *P. putida* 1560 - 2 ผลการยับยั้งของ PCA ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับอุณหภูมิขึ้น แต่จะถูกทำลายเมื่อเติม Ammonium hydroxide และ PCA จะมีผลการยับยั้งน้อยกว่ากรดแลคติกเล็กน้อยแบคทีเรียแลคติกมีบทบาทสำคัญ ในการถนอมอาหาร และ ผลิตอาหารที่ดีต่อสุขภาพอนามัย (Yang, *et al*. 1997) ซึ่งแบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียชนิดที่สามารถเติบโตได้ในแหล่งอาหารทั่วๆ ไป และจะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารต่ำลงอย่างรวดเร็วจนถึงจุดที่ทำให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นไม่

สามารถเติบโตได้ พบว่า *Leuconostoc* และ *Streptococcus* ที่สร้างกรดแลคติกจะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดที่ 4-4.5 ส่วน *Lactobaacillus* และ *Pediococcus* บางสายพันธุ์ จะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำประมาณ 3.5 ก่อนจะมีการยับยั้งการเติบโตของตัวเอง

2.6.4 จุลินทรีย์ที่พบในระหว่างการหมักปลาส้ม

การคัดแยกจุลินทรีย์จากวัตถุดิบ และผลิตภัณฑ์ปลาส้มฟัก ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่คล้ายกับการผลิตปลาส้ม แต่แตกต่างกันที่ลักษณะของปลาที่นำมาผลิตคือ ในปลาส้มฟักจะมีการนำปลามาบดให้ละเอียดก่อนนำไปผสมกับส่วนผสมอื่นๆ พบว่าจุลินทรีย์ที่แยกได้จากปลาเส้นหรือปลาบดคือ *Lactobacillus lactis* และ *Leuconostoc citreum* ที่แยกได้จากข้าวสุกคือ *Lactobacillus paracasci* แยกได้จากกระเทียม และใบตอง คือ *Weisella confuse* นอกจากนั้นยังพบ *Lactobacillus pentosus, Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus pentosaceus* ในวัตถุดิบ (Paludan-Muller,*et al*. 2001)

อังคณา รัตนพันธ์ (2549) ได้ทำการทดลองคัดแยกแบคทีเรียแลคติกในปลาส้มจากปลานวลจันทร์ทะเลที่ใช้เกลือ 6 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปลา โดยทำการคัดแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ที่เติมโบรโมครีซอลเพอร์เพิล 0.004 เปอร์เซ็นต์ และแคลเซียมคาร์บอเนต 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยคัดเลือกโคโลนีที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถเปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์จาก สีม่วงเป็นสีเหลือง และเกิดบริเวณใสของแคลเซียมคาร์บอเนต สามารถคัดแยกได้ 20 ไอโซเลต และศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของเชื้อ โดยดูจากการติดสีแกรม สัณฐานวิทยาของเซลล์ และการสร้างเอนไซม์แคตาเลส ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ผลการทดสอบการเจริญของแบคทีเรียแลคติกที่คัดเลือกได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่สภาวะต่างๆ และผลการจัดจำแนกสกุลเบื้องต้น

ลำดับที่	รูปร่าง	การผลิต CO_2 จากน้ำตาลกลูโคส	การเจริญที่ 10 องศาเซลเซียส	การเจริญที่ 45องศาเซลเซียส	การเจริญที่เกลือ6.5 เปอร์เซ็นต์	การเจริญที่เกลือ 18 เปอร์เซ็นต์	การเจริญที่ pH 4.4	การเจริญที่ pH 9.6	ชื่อสกุล
1	ท่อนสั้น	-	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
2	ท่อนสั้น	-	+	-	+	+	+	-	*Carnobacterium*
3	ท่อนสั้น	-	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
4	ท่อนสั้น	-	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
5	ท่อนสั้น	+	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
6	ท่อนสั้น	-	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
7	ท่อนสั้น	-	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
8	ท่อนสั้น	+	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
9	ท่อนสั้น	+	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
10	ท่อนสั้น	-	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
11	ท่อนสั้น	-	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
12	ท่อนสั้น	-	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
13	ท่อนสั้น	-	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
14	ท่อนสั้น	-	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
15	ท่อนสั้น	+	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
16	ท่อนสั้น	-	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
17	ท่อนสั้น	+	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
18	ท่อนสั้น	-	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
19	ท่อนสั้น	-	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*
20	ท่อนสั้น	-	+	-	+	-	+	-	*Lactobacillus*

ที่มา : อังคณา รัตนพันธ์ (2549)

นาถสุดา วิศววงศ์ (2552) ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างปลาส้ม ซึ่งแบคทีเรียที่แยกได้เป็นแบคทีเรียแลคติก ได้แก่ *Pediococcus, Lactobacillus, Staphylococcus, Micrococcus* และ *Bacillus*

ปวีณา สังสีโห และเพ็ญแข วิจิตโชติ (2546) ทำการศึกษาแบคทีเรียแลคติกจาก ปลาส้มทำให้ทราบจีนัสที่พบ และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียแลคติกดังนี้

Lactobacillus พบมากที่สุด โดยสามารถสุ่มพบทุกวันของการหมักคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียกรดแลคติกเท่ากับ 67

Pediococus พบในวันที่ 2, 3, 4 และ5 ของการหมัก โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียกรดแลคติกเท่ากับ 24

Carnobacterium พบในวันที่ 2 ของการหมัก โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียกรดแลคติกเท่ากับ 6

Enterococus พบในวันที่ 1 ของการหมัก โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียกรด แลคติกเท่ากับ 3

2.6.5 ประโยชน์ของแบคทีเรียแลคติกทีมีต่ออาหารหมัก

2.6.5.1 ช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ ในกลุ่มของธัญพืช และ พบคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้นมาจากกิจกรรมมากขึ้นที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิต โดยเฉพาะการเพิ่มองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็น นอกจากนั้นคุณค่าทางด้านโปรตีนในอาหารที่มีส่วนของธัญพืช และ ถั่วยังเพิ่มขึ้นอีกด้วย องค์ประกอบของวิตามินในอาหารบางชนิดยังพบได้ในระหว่างการหมัก เพราะจุลินทรีย์บ้างชนิดสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญ จึงทำให้องค์ประกอบของวิตามินในอาหารที่ผ่านกระบวนการหมักสูงกว่าอาหารที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก เช่น ในเทมเป้จากข้าวสาลีพบว่าปริมาณของไนอะซิน ไรโบฟลาวิน และ ไทอะมินก่อนการหมักเท่ากับ 46.0, 3.2 และ 3.2 ไมโครกรัม/กรัม เพิ่มเป็น 135, 3.2 และ3.2 ไมโครกรัม/กรัม ภายหลังการหมัก โดยส่วนใหญ่จะมีปริมาณของวิตามินเพิ่มขึ้น (Wang and Hesseltin, 1981)

2.6.5.2 บทบาทของแบคทีเรียแลคติก และ การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารหมักที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้ก่อโรค ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสูงขึ้น ตลอดจนมีการเก็บรักษาให้ได้นานที่สูง โดยปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งคือ การสร้างกรด และ การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง กรดอินทรีย์ที่เกิดจากกระบวนการ เมแทบอลิซึมของแบคทีเรียแลคติก และกรดแอซิติก นอกจากนี้ยังมีสารประกอบอื่นๆ ที่เกิดขึ้นและ มีการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่เกิดขึ้น และ ยังมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ

จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แบคเทอริโอซิน ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ประเภท พอลีเปปไทด์ โครงสร้างทางเคมีเกิดจากการเรียงตัวของกรด อะมิโนเป็นสายยาว และยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มนี้ที่ใกล้เคียงกัน โดยที่แบคทีเรียแลคติกแต่ละสายพันธุ์จะให้คุณสมบัติของแบคเทอริโอซินที่แตกต่างกันไปทั้งคุณสมบัติในการยับยั้งของแบคทีเรียชนิดอื่น โครงสร้างโมเลกุลสมบัติทางพันธุกรรม และ สมบัติทางชีวเคมี

2.6.5.3 แบคทีเรียแลคติกมีกิจกรรมในการลดปริมาณคอเลสเตอรอลในกระแสเลือด การบริโภคผลิตภัณฑ์นมหมักจะช่วยในการยับยั้งการเกิดคอเลสเตอรอลในร่างกายได้ นอกจากนี้อาจมีผลในการลดน้ำหนักได้ ภายในสัปดาห์จะต้องบริโภคผลิตภัณฑ์พร้อมกับการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้ในการทำโยเกิร์ตยังมีองค์ประกอบของสารในการยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล ดังนั้นการบริโภคผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ซึ่งจะช่วยให้คอเลสเตอรอลในเลือดลดลง ในการที่จะบริโภคคีเฟอร์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักประเภทหนึ่งที่มีผลดีต่อสุขภาพหลายประการ เพราะมีคุณค่าทางโภชนาการหลายอย่าง และ ยังส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย ทำให้ระบบการอาหารดีขึ้นโดยเฉพาะการย่อยแลคโตส (Hertzler and Clancy, 2003)

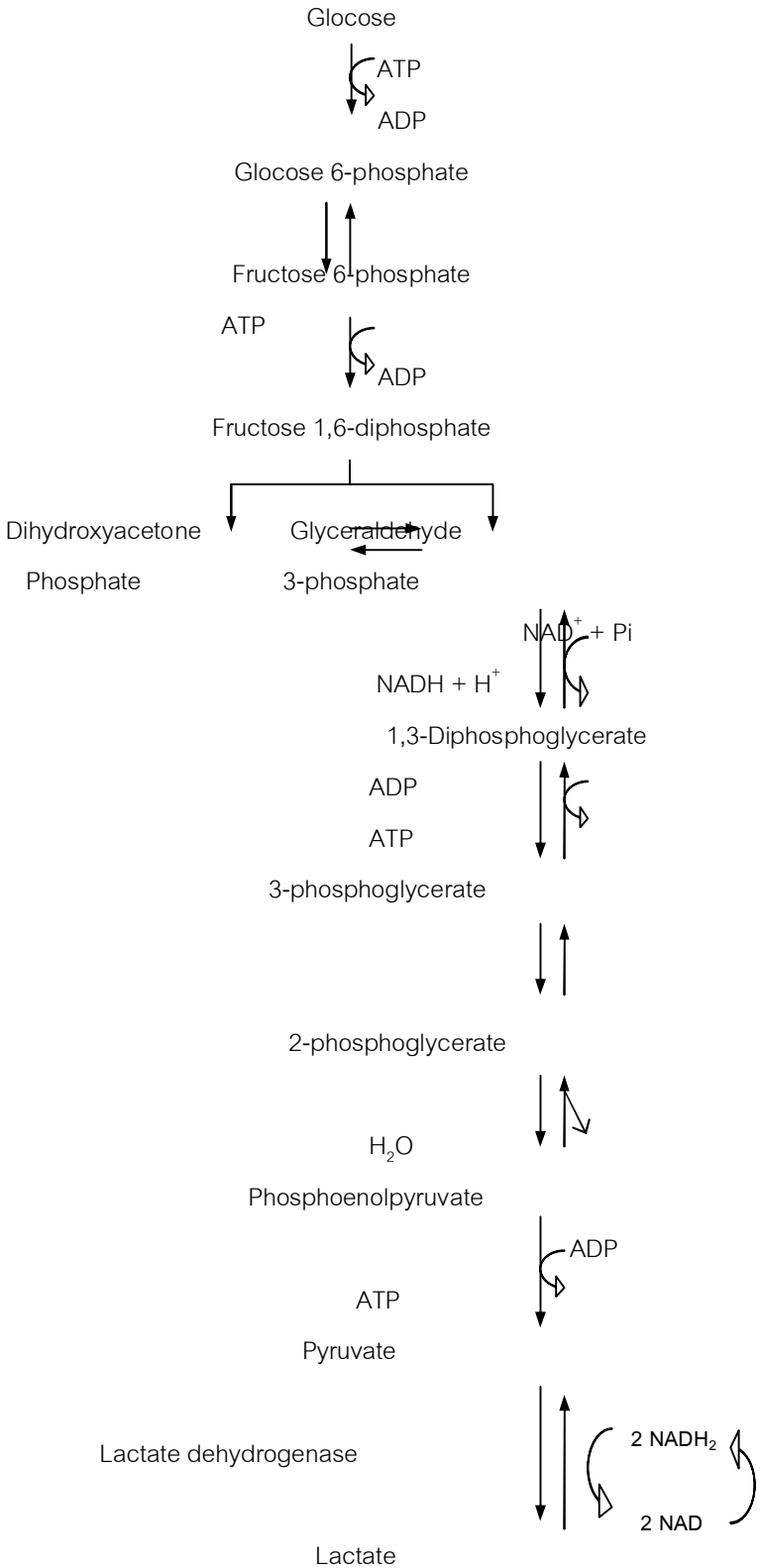
2.6.5.4 ช่วยในการป้องกันการเกิดมะเร็ง โดยเฉพาะ *Lactobacillus acidophilus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งในลำไส้ใหญ่ ในการศึกษาการบริโภคอาหารประเภทเนื้อแดง พบว่าระดับของเอมไซม์เบต้า-Lucuroniase, Azoreductase และเอมไซม์ Introreductase เพิ่มสูงกว่าการบริโภคอาหารประเภทผัก และ เอมไซม์เหล่านี้ยังมีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มการเปลี่ยนแปลงของ Procacinogen ไปเป็น Carcinogen ในส่วนปลายของลำไส้สิ่งเหล่านี้ทำให้มีโอกาสในการเกิดโรคมะเร็งของผู้บริโภคลดลง

2.6.5.5 ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน มีการศึกษาพบว่าแบคทีเรียแลคติกเป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยมีความไวต่อ Microphage lymcocyte ทำให้เพิ่มระดับของ Immunogiobulin (lgA) และผลิต Gamma interferon ซึ่งผลดังกล่าวทำให้มีความต้านทานต่อความให้เกิดโรค (pathogens) และยังมีคุณสมบัติเป็น Antitumor โดยเฉพาะ *Lactobacillus acidophilus* (Adam and Moss,1995)

2.7 กลไกการเกิดปลาส้ม

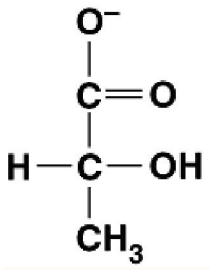
การเกิดรสเปรี้ยวในปลาส้มเป็นกลไกการทำงานของจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียแลคติก ซึ่งในระยะแรกของการหมักปลาส้มจะพบแบคทีเรียพวก *Staphylococcus Micrococcus* และ *Bacillus* ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลา ส่วนแบคทีเรียที่พบในปริมาณมาก และพบตลอดระยะเวลาในการหมัก คือ *Pediococcus cerevisiae* ซึ่งเชื้อนี้จะเติบโตอย่างรวดเร็ว และสร้างกรดแลคติกขึ้น ส่วน *Lactobacillus plantarum* และ *L. brevis* ในระยะแรกจะเติบโตอย่างช้าๆ จึงมีจำนวนน้อย หลังจากหมักประมาณ 2-3 วัน *Pediococcus* ซึ่งทนกรดได้ไม่มากนักจะเติบโตได้ช้าลง และหยุดเติบโตในที่สุด ในระยะนี้ *Lactobacillus* จะเติบโตและสร้างกรดต่อไป ซึ่งเชื่อว่าแบคทีเรียแลคติกเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการสร้างกรด และกลิ่น รส ในปลาส้ม (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2536) จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตกรดแลคติกระดับอุตสาหกรรม คือ มีวิถีของการสังเคราะห์กรดแลคติกตามวิถีการสร้างและสลายที่เรียกว่า ไกลโคไลซิส ที่ทำให้ได้กรดแลคติก 2 โมลจากน้ำตาลกลูโคส 1 โมล

น้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสถูกใช้เป็นสารตั้งต้นในการทำให้เกิดกระบวนการหมัก (ensilage) เพื่อให้ได้กรดแลกติก กลูโคสหนึ่งโมเลกุลเมื่อเกิดการหมักจะได้กรดแลกติกหนึ่งหรือสองโมเลกุล ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติกว่าเป็นชนิด Homofermentative หรือ ชนิด Heterofermentative ดังภาพที่ 2.4, 2.5 และ 2.6 ตามลำดับ

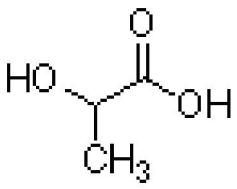


ภาพที่ 2.4 กลไกการเกิดกรดแลคติก

ที่มา : สุนันทา ภิญญาวัธน์ (2547)



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของแลคเตท ($C_3H_5O_3$)
ที่มา : สุนันทา ภิญญาวัธน์ (2547)



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างของกรดแลคติก ($C_3H_6O_3$)
ที่มา : สุนันทา ภิญญาวัธน์ (2547)

2.8 **คุณสมบัติทางโภชนา**

ปลาส้มเป็นอาหารที่ให้โปรตีน ไขมัน วิตามิน และ เกลือแร่เช่นเดียวกับปลาสดโดยทั่วไป แต่ผลจากการหมักโดยเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกที่มีอยู่ในธรรมชาติจะย่อยสลายโปรตีนบางส่วนของปลาไปเป็นกรดอะมิโน จากนั้นกรดอะมิโนจะสลายตัวไปเป็น เอมีน กรดคีโต แอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ และไขมันบางส่วนของเนื้อปลาจะย่อยสลายไปเป็นกรดไขมัน กลีเซอรอล นอกจากนั้นยังเกิดสารพวกคีโตนและอัลดีไฮด์ด้วย

อังคณา รัตนพันธ์ (2549) ได้ทำการทดลองวิเคราะห์ทางเคมี และจุลชีววิทยาของปลาส้มจากปลานวลจันทร์ทะเลที่ใช้เกลือ และมีรูปแบบการแล่ที่ต่างกันดัง ตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 คุณภาพทางเคมี และจุลชีววิทยาของปลาส้มจากปลานวลจันทร์ทะเลที่ใช้เกลือและมีรูปแบบการแล่ต่างกัน

ลักษณะคุณภาพ	เกลือ 5 เปอร์เซ็นต์		เกลือ 6 เปอร์เซ็นต์		เกลือ 7 เปอร์เซ็นต์	
	แล่แบบผีเสื้อ	บั้งและแล่แบบผีเสื้อ	แล่แบบผีเสื้อ	บั้งและแล่แบบผีเสื้อ	แล่แบบผีเสื้อ	บั้งและแล่แบบผีเสื้อ
เถ้า (เปอร์เซ็นต์)	23.47	24.51	24.17	24.25	23.43	23.28
ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	6.59	7.47	6.68	7.50	8.83	9.83
โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	48.91	47.69	48.86	49.04	48.55	49.27
ไขมัน (เปอร์เซ็นต์)	12.92	12.94	11.86	10.88	11.76	12.81
คาร์โบไฮเดรต (เปอร์เซ็นต์)	8.11	7.39	9.41	7.83	8.39	6.81
ความเป็นกรด-เบส	5.01	5.28	4.96	5.17	5.52	5.77
จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/g)	$1.7x10^8$	$1.3x10^8$	$5.7x10^7$	$4.4x10^7$	$1.6x10^7$	$1.4x10^7$

ที่มา : อังคณา รัตนพันธ์ (2549)

2.9 การเก็บรักษาปลาส้ม

คณิต วิชิตพันธุ์ (2548) ได้ทำการศึกษาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่ถูกวิธี โดยศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ทางเคมีและชีวเคมี และจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ผลการทดลองพบว่าปริมาณกรดรวมมีปริมาณเพิ่มขึ้นในระหว่างการหมักและเก็บรักษา จากการทดลองเก็บปลาส้มดิบที่อุณหภูมิห้องพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของปลาส้มมีค่าอยู่ในช่วง 6.5 - 4.2 ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างของปลาส้มเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าอยู่ในช่วง 6.5 - 6.4 ในการทดสอบค่าความหืนในตัวอย่าง ปลาส้มดิบ โดยวัดในรูปของค่าเปอร์ออกไซด์ พบว่าในทุกการทดลองตัวอย่างปลาส้มดิบมีค่าเปอร์ออกไซด์ที่วัดได้มีค่าต่ำอยู่ระหว่าง 14 – 18 มิลลิกรัมสมมูล/กิโลกรัม ซึ่งถือว่าไม่มีความหืนเกิดขึ้น (ค่าเปอร์ออกไซด์ต้องมากกว่า 20 มิลลิกรัมสมมูล/กิโลกรัม จึงถือว่าหืน ผลจากการทดลองเปรียบเทียบการเก็บรักษาปลาส้มดิบและปลาส้มแปรรูปที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยการติดตามผลการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในเนื้อปลา พบว่าการเก็บปลาส้มดิบและปลาส้มแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในเนื้อปลาให้ช้าลงได้ดีกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ส่วนผลการทดลองการเปลี่ยนแปลงทางจุลชีววิทยา ของปลาส้มดิบและปลาส้มแปรรูป พบว่าไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคและไม่พบเชื้อรา ในตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ

4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ส่วนปลาส้มแปรรูปที่เก็บที่อุณหภูมิห้องจะพบเชื้อราเกิดขึ้นในตัวอย่างวันที่ 4 ของการเก็บ ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลและแนวทางในการเก็บรักษาและกำหนดระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ปลาส้ม เพื่อเพิ่มความปลอดภัยและให้ความมั่นใจให้กับผู้บริโภคในการบริโภคผลิตภัณฑ์ปลาส้ม

แต่โดยทั่วไปแล้วมักจะเก็บรักษาปลาส้ม โดยวิธีง่ายๆ ดังนี้

1) เก็บรักษาในห้องธรรมดา หรือในอุณหภูมิห้อง โดยไม่ถูกแสงแดดจะสามารถเก็บรักษาได้นานประมาณ 1 - 3 วัน

2) เก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 -10 องศาเซลเซียส จะสามารถเก็บรักษาปลาส้มได้นานประมาณ 3 – 4 สัปดาห์

3) เก็บรักษาในช่องแช่แข็งที่อุณหภูมิประมาณ -18 องศาเซลเซียส จะสามารถเก็บรักษาปลาส้มได้นานประมาณ 3 เดือน

อังคณา รัตนพันธ์ (2549) ทำการทดลองเก็บรักษาปลาส้มที่อุณหภูมิต่างๆ คือ อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส พบว่า

การเก็บรักษาปลาส้มที่อุณหภูมิห้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดก่อนและหลังการเก็บรักษา คือ 6.1×10^7 และ 6.7×10^7 CFU/g ตามลำดับ ปริมาณแบคทีเรียแลคติกก่อนและหลังการเก็บรักษา คือ 3.4×10^7 และ 3.9×10^7 CFU/g ตามลำดับ ปริมาณยีสต์และราก่อนและหลังการเก็บรักษา คือ 1.2×10^3 และ 2.5×10^4 CFU/g ตามลำดับ และไม่พบจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้

เก็บรักษาปลาส้มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดก่อน และหลังการเก็บรักษา คือ 6.1×10^7 และ 8.3×10^7 CFU/g ตามลำดับ ปริมาณแบคทีเรียแลคติกก่อนและหลังการเก็บรักษา คือ 3.4×10^7 และ 7.4×10^5 CFU/g ตามลำดับ ปริมาณยีสต์ และราก่อนและหลังการเก็บรักษา คือ 1.2×10^3 และ 1.5×10^4 CFU/g ตามลำดับ และไม่พบจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้

เก็บรักษาปลาส้มที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดก่อนและหลังการเก็บรักษา คือ 6.1×10^7 และ 6.2×10^7 CFU/g ตามลำดับ ปริมาณแบคทีเรียแลคติกก่อนและหลังการเก็บรักษา คือ 3.4×10^7 และ 8.7×10^7 CFU/g ตามลำดับ ปริมาณยีสต์ และราก่อนและหลังการเก็บรักษา คือ 1.2×10^3 และ 8.6×10^4 CFU/g ตามลำดับ และไม่พบจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการศึกษา

3.1 ขั้นเตรียมการ

การเตรียมวัสดุและอุปกรณ์ในการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตปลาส้มต้องใช้วัสดุอุปกรณ์ดังนี้

3.1.1 เครื่องแก้ว

3.1.1.1 กระบอกตวง (cylinder)

3.1.1.2 ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)

3.1.1.3 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (petri dish)

3.1.1.4 ช้อนตักสารเคมี (spatula)

3.1.1.5 แท่งแก้วเกลี่ยเชื้อ (spreader)

3.1.1.6 แท่งแก้วคนสาร (stirrer rod)

3.1.1.7 บีกเกอร์ (beaker)

3.1.1.8 บิวเรต (burrette)

3.1.1.9 ปิเปต (pipette)

3.1.1.10 หลอดดักแก๊ส (durham tube)

3.1.1.11 หลอดทดลอง (test tube)

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.2.1 กล้องจุลทรรศน์ (microscope)

3.1.2.2 เครื่องเขย่า (shaker)

3.1.2.3 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (balance, 2 points)

3.1.2.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (balance, 4 points)

3.1.2.5 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

3.1.2.6 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

3.1.2.7 เครื่องให้ความร้อน (hot plate)

3.1.2.8 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (alcohol lamp)

3.1.2.9 ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (rack)

3.1.2.9 ตู้ถ่ายเชื้อ (laminar flow)

3.1.2.10 ตู้บ่ม (incubator)

3.1.2.11 ตู้เย็น (refrigerator)

3.1.2.12 โถดูดความชื้น (desiccators)

3.1.2.13 ถุงพลาสติก (polyethylene)

3.1.2.14 ห่วงถ่ายเชื้อ (loop)

3.1.2.15 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave)

3.1.3 สารเคมี

3.1.3.1 กระดาษกรอง (filter paper)

3.1.3.2 กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)

3.1.3.3 กรดอซิตริก (acetic acid)

3.1.3.4 กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid, HCl)

3.1.3.5 ไกลซีน (glycine)

3.1.3.6 แคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate, $CaCO_3$)

3.1.3.7 คลอโรฟีนอล เรด (chlorophenol red)

3.1.3.8 โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride, NaCl)

3.1.3.9 โซเดียมอะซิเตท (sodium acetate, $CH_3COONa\ 3H_2O$)

3.1.3.10 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide, NaOH)

3.1.3.11 ไดโพแทสเซียม ไฮโดรเจน ฟอสเฟต
(di-potassium hydrogen phosphate, K_2HPO_4)

3.1.3.12 ไตรแอมโมเนียมซิเตรท (tri-ammonium citrate)

3.1.3.13 น้ำกลั่น (distilled water)

3.1.3.14 น้ำตาลกลูโคส (glucose, $C_6H_{12}O_6$)

3.1.3.15 โบรโมครีซอลกรีน (bromocresol green)

3.1.3.16 โบรโมครีซอลเพอร์เพิล (bromocresol purple)

3.1.3.17 เปปโตน (peptone)

3.1.3.18 ผงวุ้น (agar)

3.1.3.19 โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH)

3.1.3.20 แมงกานีสซัสเฟต (manganese sulphate, $MnSO_4.H_2O$)

3.1.3.21 แมกนีเซียมซัลเฟต (magnesium sulphate, $MgSO_4.7H_2O$)

3.1.3.22 สารสกัดจากเนื้อ (beef/meat extract)

3.1.3.23 สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)

3.1.3.24 แอลกอฮอล์ (alcohol)

3.1.3.25 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2)

3.1.3.26 Acetone alcohol

3.1.3.27 Crystal violet

3.1.3.28 Glass bead

3.1.3.29 Gram's iodine

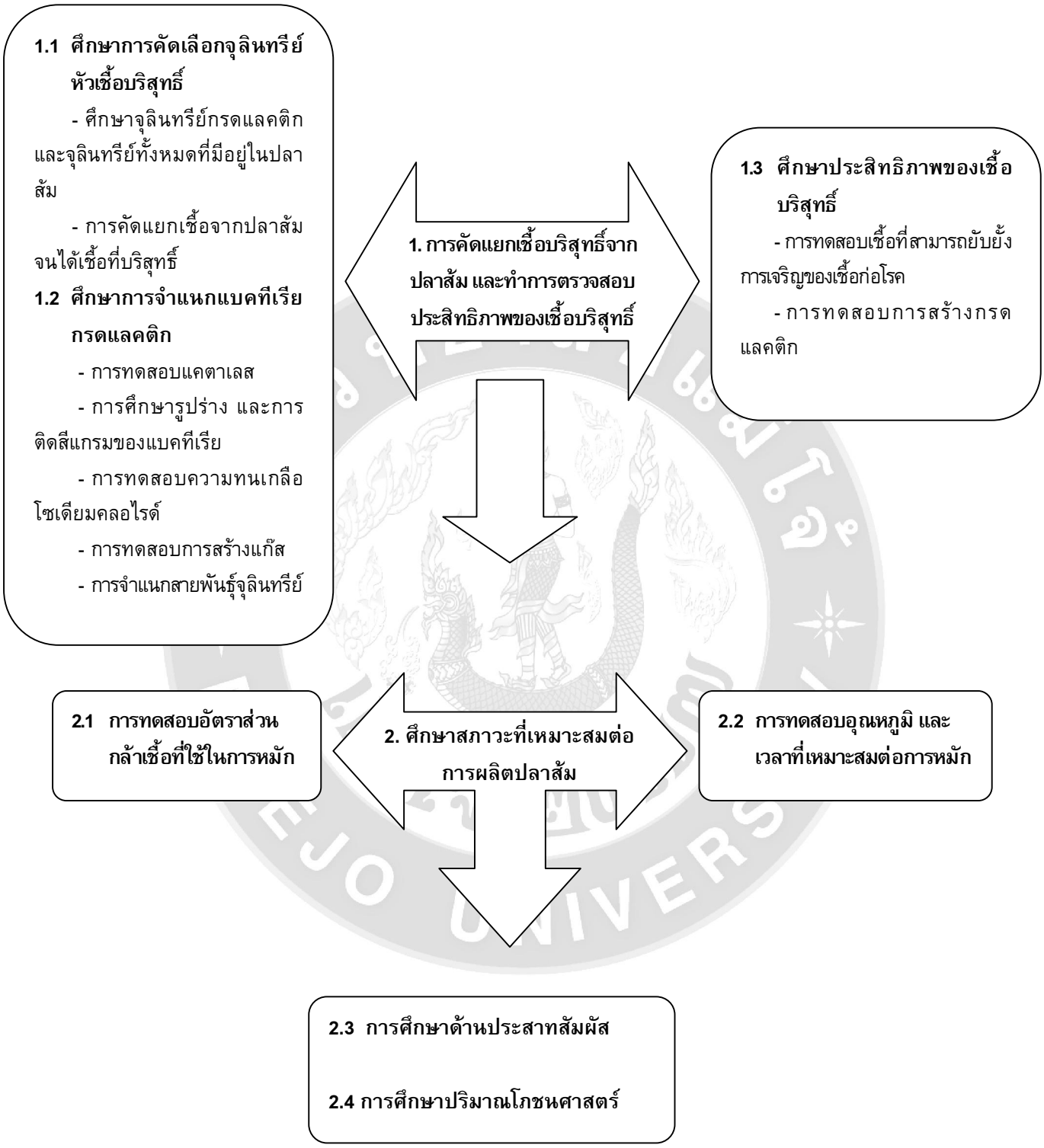
3.1.3.30 Safanin

3.1.3.31 Tween 80

3.1.4 **สถานที่ และระยะเวลาในการวิจัย**

สถานที่ทำการวิจัย ห้องปฏิบัติการทางเทคโนโลยีชีวภาพ
ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีทางสัตว์ อาคารวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ

3.2 การวางแผนการทดลอง



3.3 วิธีการทดลอง

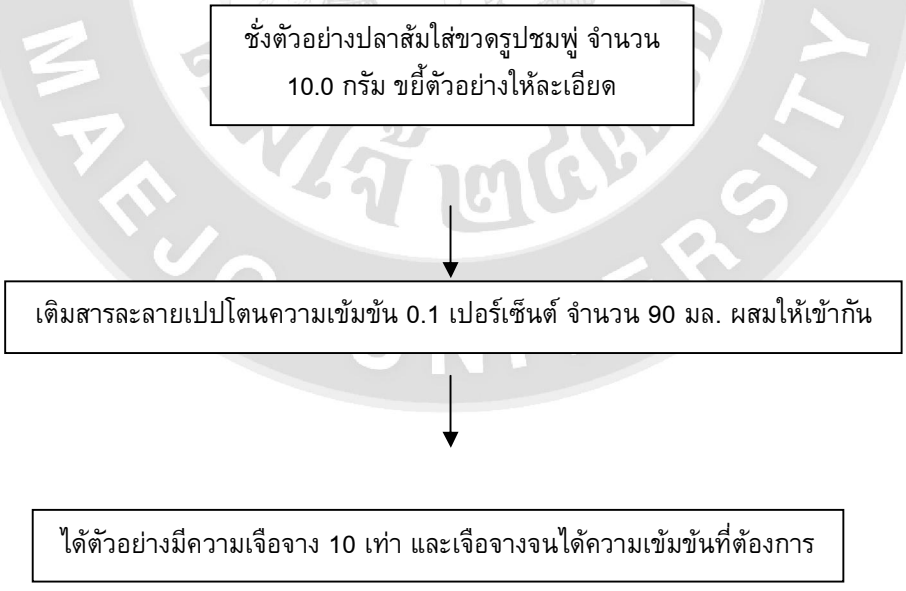
3.3.1 การคัดเลือกจุลินทรีย์หัวเชื้อบริสุทธิ์

3.3.1.1 การเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บรวบรวมตัวอย่างปลาส้มที่จังหวัดพะเยา โดยตัวอย่างปลาส้มที่เก็บรวบรวมเป็นปลาส้มที่มีการผลิต และจำหน่ายค่อนข้างมากในท้องตลาด

3.3.1.2 การเตรียมตัวอย่าง

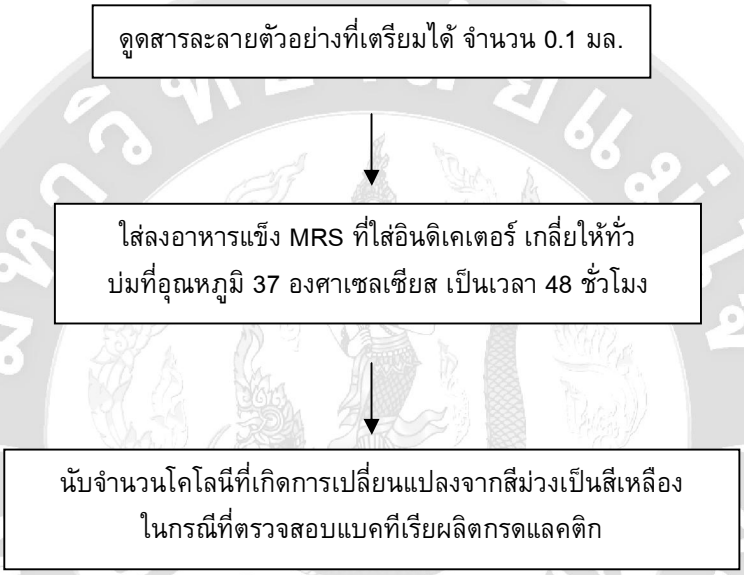
ชั่งตัวอย่างปลาส้มใส่ในขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) จำนวน 10.0 กรัม ขยี้ตัวอย่างให้ละเอียด เติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 90 มิลลิลิตร ผสมสารละลายเปปโตนกับตัวอย่างให้เข้ากันดี โดยการเขย่าอย่างแรง ประมาณ 1 นาที จะได้ตัวอย่างมีความเจือจาง 10 เท่า จากนั้นดูดสารละลายตัวอย่าง และเจือจางจนได้ความเข้มข้นที่ต้องการ ดังภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 ผังการศึกษาการเตรียมตัวอย่างปลาส้ม

3.3.1.3 การหาปริมาณจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติก (ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2546)

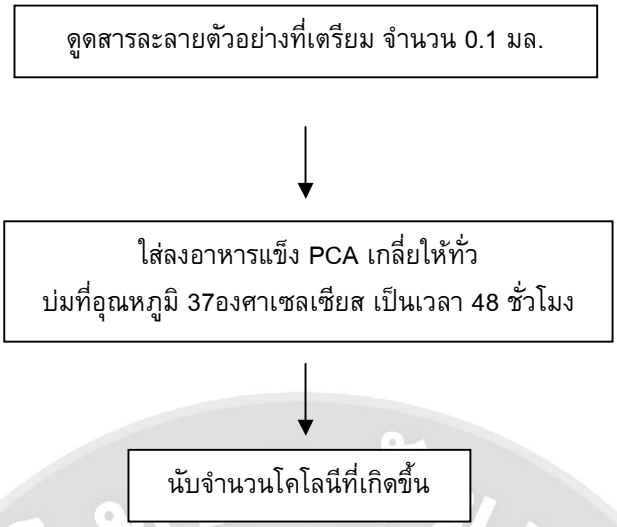
ใช้ปิเปตที่ปลอดเชื้อดูดสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.1.2 จำนวน 0.1 มิลลิลิตรใส่ลงบนผิวหน้าอาหารแข็ง MRS ที่ใส่อินดิเคเตอร์ เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารโดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เกิดการเปลี่ยนแปลงจากสีม่วง (bromocresol purple) เป็นสีเหลืองในกรณีที่ตรวจสอบแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก ดังภาพที่ 3.2



ภาพที่ 3.2 ผังการศึกษาหาปริมาณจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติก

3.3.1.4 การหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

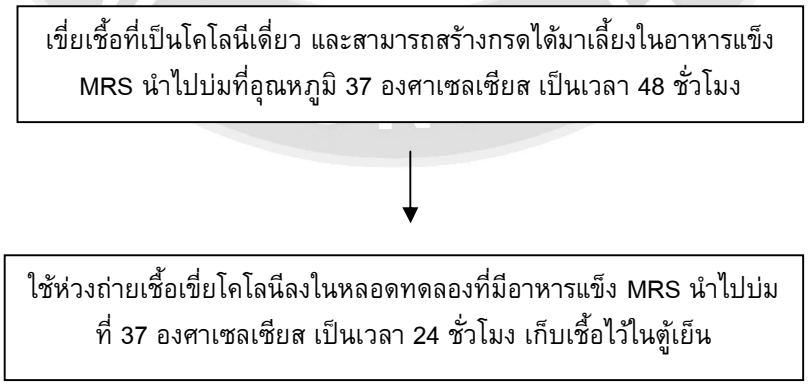
ใช้ปิเปตที่ปลอดเชื้อดูดสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.1.2 จำนวน 0.1 มิลลิลิตรใส่ลงบนผิวหน้าอาหารแข็ง PCA เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารโดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นดังภาพที่ 3.3



ภาพที่ 3.3 ผังการศึกษาหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

3.3.1.5 การแยก และเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์

เขี่ยเชื้อที่เป็นโคโลนีเดี่ยว และสามารถสร้างกรดได้มาเลี้ยงในอาหารแข็ง MRS นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ทำจนเชื้อบริสุทธิ์) จากนั้นใช้เข็มเขี่ยเชื้อเขี่ยโคโลนีที่อยู่เดี่ยวๆ มาแทง (Stap) ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารสูตรเดียวกัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บเชื้อไว้ในตู้เย็น ดังภาพที่ 3.4



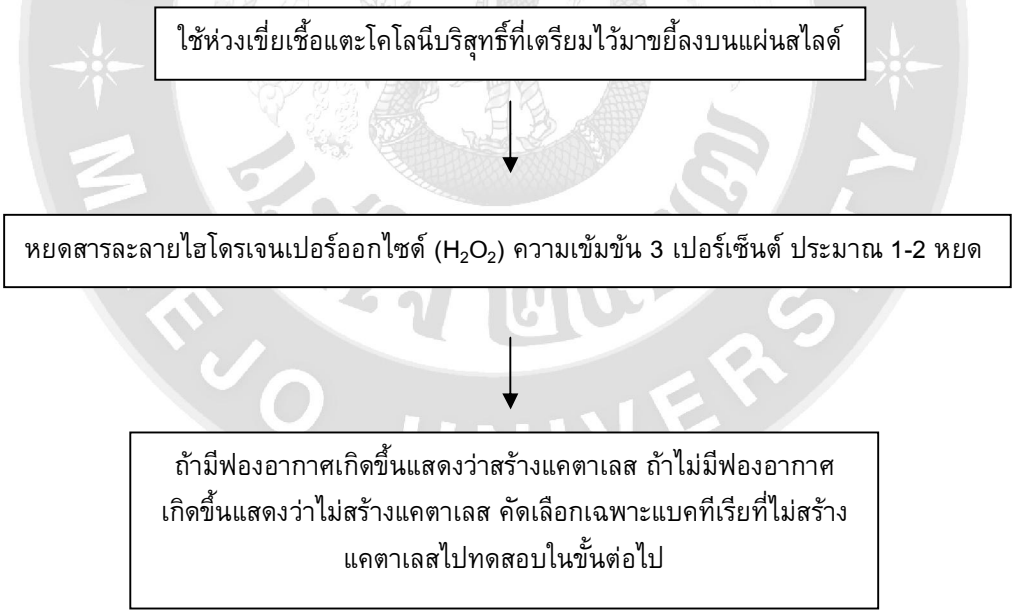
ภาพที่ 3.4 ผังการศึกษาการแยก และ เก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์

3.3.2 การศึกษาการจำแนกแบคทีเรียแลคติก

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.1.5 มาเลี้ยงในอาหารแข็ง MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการตรวจสอบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งมีวิธีดังนี้

3.3.2.1 การทดสอบแคตาเลส (ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2546)

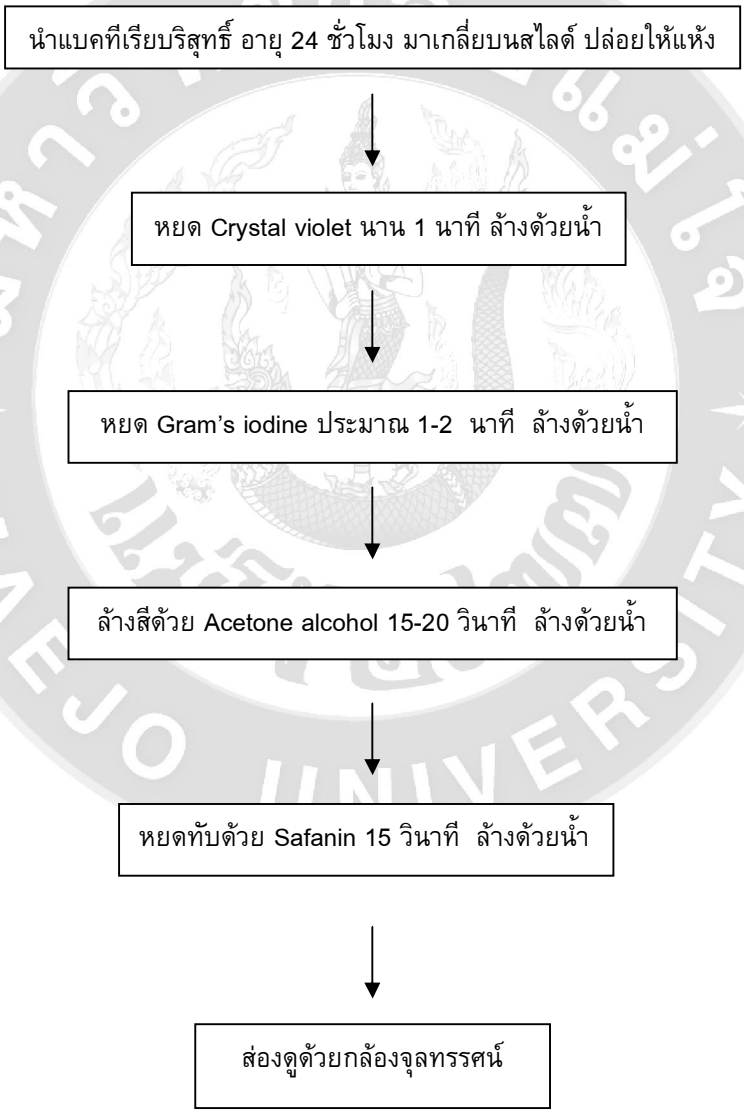
ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อแตะโคโลนีบริสุทธิ์ที่เตรียมไว้มาขยี้ลงบนแผ่นสไลด์ที่หยดด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 1-2 หยด ดังภาพที่ 3.5 ถ้ามีฟองอากาศเกิดขึ้นแสดงว่าการทดสอบแบคทีเรียกรดแลคติกชนิดนั้นให้ผลเป็นบวกหรือสร้างแคตาเลส ถ้าไม่มีฟองอากาศเกิดขึ้นแสดงว่าให้ผลเป็นลบ หรือไม่สร้างแคตาเลส คัดเลือกเฉพาะแบคทีเรียที่ไม่สร้างแคตาเลสไปทดสอบในขั้นต่อไป



ภาพที่ 3.5 ผังการศึกษาแคตาเลส

3.3.2.2 การศึกษารูปร่าง และการติดสีแกรมของแบคทีเรีย

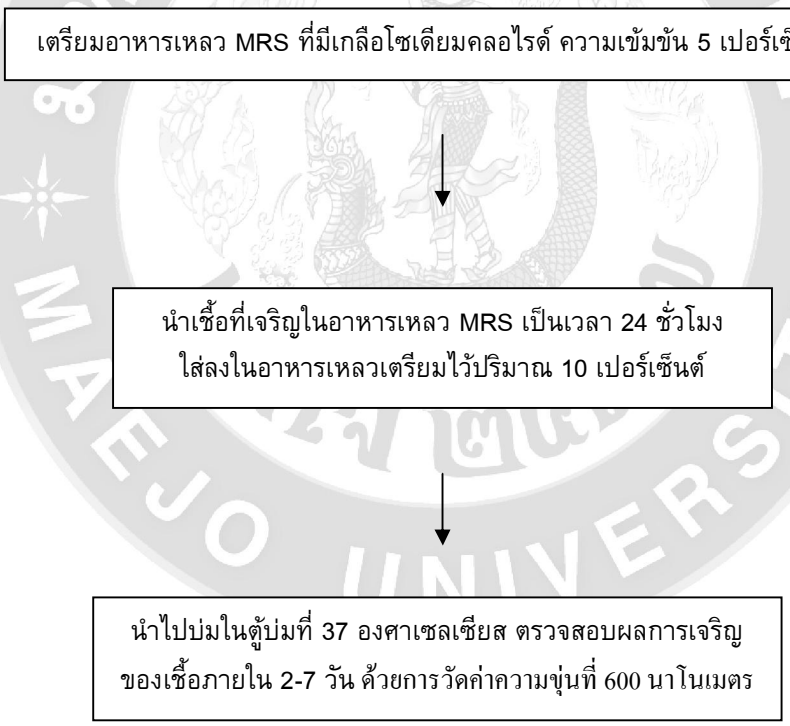
นำแบคทีเรียบริสุทธิ์ อายุ 24 ชั่วโมง มาเกลี่ย (smear) บนสไลด์ปล่อยให้แห้งในอากาศ นำสไลด์ผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง เพื่อตรึงเซลล์ให้ติดกับสไลด์ หยด Crystal violet ให้ท่วมรอยที่เกลี่ยไว้ นาน 1 นาที ล้างด้วยน้ำประปาแล้วเทน้ำออกให้หมด หยด Gram's iodine ประมาณ 1-2 นาที ล้างด้วยน้ำประปา ล้างสีด้วย Acetone alcohol 15-20 วินาที ล้างด้วยน้ำประปา หยดทับด้วย Safanin 15 วินาที ล้างน้ำประปา แล้วซับให้แห้งก่อนส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังภาพที่ 3.6



ภาพที่ 3.6 ผังการศึกษารูปร่าง และการติดสีแกรมของแบคทีเรีย

3.3.2.3 **การทดสอบความทนเกลือโซเดียมคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ (ชลันธร วิชาศิลป์**. 2546)

เตรียมอาหารเหลว MRS ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ โดยอบเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง นำไปเติมลงในอาหารเหลว MRS โดยให้มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) แล้วนำไปฆ่าเชื้อ นำเชื้อที่เจริญในอาหารเหลว MRS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใส่ลงในอาหารเหลวเตรียมไว้ปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลการเจริญของเชื้อภายใน 2-7 วัน โดยการวัดค่าความขุ่นที่ 600 นาโนเมตร (OD_{600}) บันทึกผล ดังภาพที่ 3.7



ภาพที่ 3.7 ผังการศึกษาความทนเกลือโซเดียมคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์

1) การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (complete randomized design , CRD) โดยมีทรีทเมนต์ (treatment : t) คือ เชื้อที่คัดแยกได้ ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ (replication : r) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ด้วยวิธีของ ดันแคน (ducan's multiple range test : DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2) ผังการทดลอง

จากข้อมูลข้อ 1) จะได้ ทรีทเมนต์ (treatment : t) t = 57 และจำนวนซ้ำ (replication : r) r = 3 ดังนั้นจำนวนหน่วยทดลองทั้งหมด (total experimental unit : N) N = 171 จะได้ผังการทดลองดังนี้

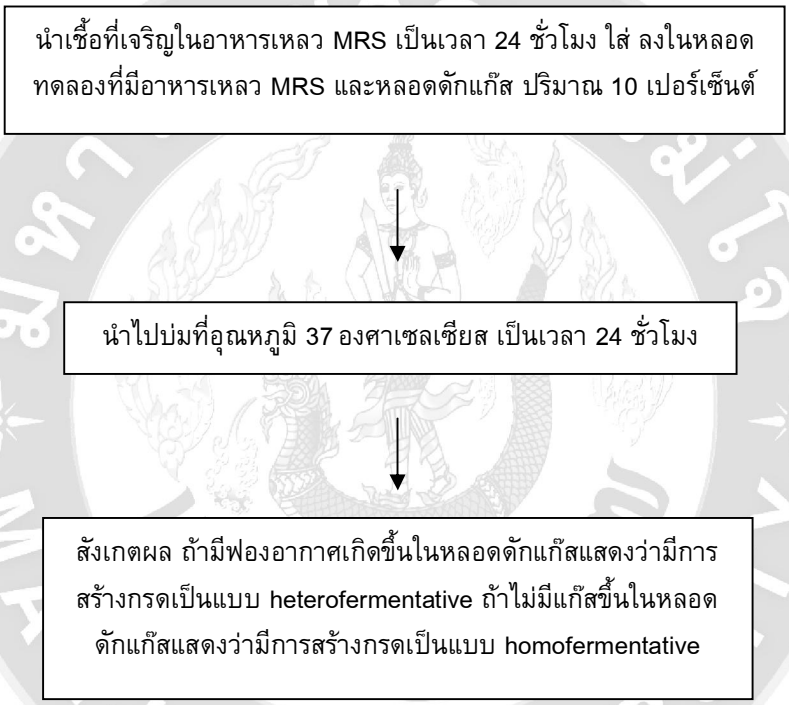
ไอโซเลต (t)	**จำนวนการทดลอง**		
	ซ้ำที่ 1 (r_1)	**ซ้ำที่ 2 (r_2)**	**ซ้ำที่ 3 (r_3)**
1 (t_1)	t_1r_1	t_1r_2	t_1r_3
2 (t_2)	t_2r_1	t_2r_2	t_2r_3
3 (t_3)	t_3r_1	t_3r_2	t_3r_3
.			
.			
.			
57 (t_{57})	$t_{57}r_1$	$t_{57}r_2$	$t_{57}r_3$

3) การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติ จะใช้การวางแผนการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

3.3.2.4 **การทดสอบวิธีการสร้างกรด (ปิ่นมณี ขวัญเมือง**. 2546)

นำเชื้อที่เจริญในอาหารเหลว MRS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว MRS และหลอดดักแก๊ส ปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตดูการเจริญของเชื้อในหลอดทดสอบ ถ้ามีฟองอากาศเกิดขึ้นในหลอดดักแก๊สแสดงว่ามีการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์จากน้ำตาลกูลโคส ถ้าไม่มีแก๊สขึ้นในหลอดดักแก๊สแสดงว่าไม่มีการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์จากน้ำตาลกูลโคสบันทึกผล ดังภาพที่ 3.8



ภาพที่ 3.8 ผังการศึกษาวิธีการสร้างกรด

3.3.2.5 **การจำแนกสายพันธุ์จุลินทรีย์**

ทำการส่งจุลินทรีย์ที่ผ่านการทดสอบไปส่งตรวจเพื่อทำการจำแนกสายพันธุ์จุลินทรีย์

3.3.3 **การทดสอบประสิทธิภาพหัวเชื้อที่ดีดังนี้**

3.3.3.1 **คัดเลือกเชื้อที่สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค**

นำแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้มาเลี้ยงในอาหารเหลว MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางเชื้อที่ความเข้มข้นที่ต้องการ นำสารละลายเชื้อมาเลี้ยงบนอาหารแข็ง MRS บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลือกจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อประมาณ 30 – 50 โคโลนี มาเททับด้วยอาหารแข็งที่มีเชื้อ อินดิเคเตอร์ผสมอยู่ (อาหารสูตร NB สำหรับ *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Bacillus cereus* TISTR 687, *Staphylococcus aureus* TISTR 118) และมีความเข้มข้นของวุ้น 0.70 เปอร์เซ็นต์ ปล่อยให้อาหารแข็งตัว จากนั้นนำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตการณ์เจริญของเชื้อที่ใช้เป็นอินดิเคเตอร์บริเวณรอบโคโลนีของเชื้อที่ทดสอบ ถ้าบริเวณรอบๆ โคโลนีของเชื้อที่ทดสอบเป็นวงใส และไม่มีการเจริญของเชื้อที่ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ แสดงว่าเชื้อที่ใช้ทดสอบมีคุณสมบัติในการสร้างสารต่อต้านแบคทีเรียมายับยั้งการเจริญของเชื้ออินดิเคเตอร์ได้ ดังภาพที่ 3.9

ภาพที่ 3.9 ผังการศึกษาเชื้อที่สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค

3.3.3.2 การทดสอบการสร้างกรดแลคติก

นำเชื้อที่เจริญในอาหารเหลว MRS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาเลี้ยงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว MRS จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจสอบการสร้างกรดแลคติก และการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ทุกๆ 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ดังภาพที่ 3.10

ภาพที่ 3.10 ผังการศึกษาการสร้างกรดแลคติก

1) การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (complete randomized design , CRD) โดยจะแบ่งการวิเคราะห์เป็น 2 ชุด

ทรีทเมนต์ (treatment : t) คือ เชื้อที่คัดแยกได้ ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ (replication : r) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ด้วยวิธีของดันแคน (ducan's multiple range test : DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ทรีทเมนต์ (treatment : t) คือ เวลา ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ (replication : r) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ด้วยวิธีของดันแคน (ducan's multiple range test : DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2) ผังการทดลอง

จากข้อมูลข้อ 1) จะได้ ทรีทเมนต์ (treatment : t) t = 11 จำนวนซ้ำ (replication : r) r = 3 ดังนั้นจำนวนหน่วยทดลองทั้งหมด (total experimental unit : N) N = 33

ทรีทเมนต์ (treatment : t) t = 7 จำนวนซ้ำ (replication : r) r = 3 ดังนั้นจำนวนหน่วยทดลองทั้งหมด (total experimental unit : N) N = 21 จะได้ผังการทดลองดังนี้

ไอโซเลต (a)	**จำนวนการทดลอง**		
	ซ้ำที่ 1 (r_1)	**ซ้ำที่ 2 (r_2)**	**ซ้ำที่ 3 (r_3)**
1 (a_1)	a_1r_1	a_1r_2	a_1r_3
2 (a_2)	a_2r_1	a_2r_2	a_2r_3
3 (a_3)	a_3r_1	a_3r_2	a_3r_3
.	.	.	.
.	.	.	.
.	.	.	.
11 (a_n)	$a_{11}r_1$	$a_{11}r_2$	$a_{11}r_3$

เวลา (a)	**จำนวนการทดลอง**		
	ซ้ำที่ 1 (r_1)	**ซ้ำที่ 2 (r_2)**	**ซ้ำที่ 3 (r_3)**
0 (a_1)	a_1r_1	a_1r_2	a_1r_3
12 (a_2)	a_2r_1	a_2r_2	a_2r_3
24(a_3)	a_3r_1	a_3r_2	a_3r_3
36 (a_4)	a_4r_1	a_4r_2	a_4r_3
48 (a_5)	a_5r_1	a_5r_2	a_5r_3
60 (a_6)	a_6r_1	a_6r_2	a_6r_3
72 (a_7)	a_7r_1	a_7r_2	a_7r_3

3) การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติ จะใช้การวางแผนการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

3.3.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักปลาส้ม และคุณสมบัติด้านประสาทสัมผัส

นำเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่คัดแยกได้ และมีคุณสมบัติสร้างสารต่อต้านเชื้อก่อโรคมาศึกษาการหมักปลาส้ม โดยทำการศึกษา ดังนี้

3.3.4.1 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกล้าเชื้อ

นำแบคทีเรียแลคติกที่ผ่านการทดสอบคุณสมบัติต่างๆ มาเป็นกล้าเชื้อในการหมักปลาส้ม โดยใช้ความเข้มข้นของเชื้อที่ต่างกันคือ Control, 10^4, 10^6, 10^8 และ 10^{10} CFU/mlโดยเติมกล้าเชื้อปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ ทำการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ในเวลาชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ดังภาพที่ 3.11

ภาพที่ 3.11 ผังการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกล้าเชื้อ

1) การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (complete randomized design , CRD) โดยมีทรีทเมนต์ (treatment : t) คือ ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ (replication : r) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ด้วยวิธีของดันแคน (ducan's multiple range test : DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2) ผังการทดลอง

จากข้อมูลข้อ 1) จะได้ ทรีทเมนต์ (treatment : t) t = 5 และจำนวนซ้ำ (replication : r) r = 3 ดังนั้นจำนวนหน่วยทดลองทั้งหมด (total experimental unit : N) N = 15 จะได้ผังการทดลองดังนี้

Concentation (t)	จำนวนการทดลอง		
	ซ้ำที่ 1 (r_1)	ซ้ำที่ 2 (r_2)	ซ้ำที่ 3 (r_3)
1 (t_1)	t_1r_1	t_1r_2	t_1r_3
2 (t_2)	t_2r_1	t_2r_2	t_2r_3
3 (t_3)	t_3r_1	t_3r_2	t_3r_3
4 (t_4)	t_4r_1	t_4r_2	t_4r_3
5 (t_5)	t_5r_1	t_5r_2	t_5r_3

3) การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติ จะใช้การวางแผนการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

3.3.4.2 การศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของกล้าเชื้อ

นำแบคทีเรียแลคติกที่ผ่านการทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสม มาทดสอบปริมาณกล้าเชื้อที่ต่างกันคือ 0.5, 0.6 และ 1 เปอร์เซ็นต์ โดยทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เก็บตัวอย่างวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ในเวลาชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ดังภาพที่ 3.12

ภาพที่ 3.12 ผังการศึกษาความปริมาณที่เหมาะสมของกล้าเชื้อ

1) การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (complete randomized design , CRD) โดยมีทรีทเมนต์ (treatment : t) คือ ปริมาณของเชื้อ ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ (replication : r) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ด้วยวิธีของ ดันแคน (ducan's multiple range test : DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2) ผังการทดลอง

จากข้อมูลข้อ 1) จะได้ ทรีทเมนต์ (treatment : t) t = 3 และจำนวนซ้ำ (replication : r) r = 3 ดังนั้นจำนวนหน่วยทดลองทั้งหมด (total experimental unit : N) N = 9 จะได้ผังการทดลองดังนี้

ปริมาณกล้าเชื้อ (t)	จำนวนการทดลอง		
	ซ้ำที่ 1 (r_1)	ซ้ำที่ 2 (r_2)	ซ้ำที่ 3 (r_3)
1 (t_1)	t_1r_1	t_1r_2	t_1r_3
2 (t_2)	t_2r_1	t_2r_2	t_2r_3
3 (t_3)	t_3r_1	t_3r_2	t_3r_3

3) การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติ จะใช้การวางแผนการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบบล็อกสุ่ม (CRD) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

3.3.4.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักปลาส้ม

นำแบคทีเรียแลคติกที่ผ่านการทดสอบจากข้อ 3.3.5.1 และ 3.3.5.2 มาเป็นกล้าเชื้อในการหมักปลาส้ม โดยการหมักจะแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ

1. หมักแบบพื้นบ้าน
2. หมักแบบกล้าเชื้อเดี่ยว

โดยทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง 30 และ 37 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักโดยวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ ปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ในเวลาชั่วโมงที่ 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ดังภาพที่ 3.13

ภาพที่ 3.13 ผังการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักปลาส้ม

1) การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล 3 ปัจจัยในการทดลองแบบสุ่มตลอด (factorial in CRD) โดยทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักปลาส้ม โดยมีความเข้มข้นและปริมาณเชื้อที่จะนำมาทำการทดลองทั้งหมด 2 ความเข้มข้น ให้เป็นปัจจัย A ซึ่งปัจจัย A ที่แตกต่างกันทั้ง 2 แบบ คือ

a_1 = ปริมาณเชื้อ 0

a_2 = ปริมาณเชื้อที่เหมาะสม

ทำการหมักไว้ในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 แบบ ให้เป็นปัจจัย B ซึ่งปัจจัย B ที่แตกต่างกัน 3 แบบ คือ

b_1 = อุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส

b_2 = อุณหภูมิในการหมัก 37 องศาเซลเซียส

b_3 = อุณหภูมิในการหมัก อุณหภูมิห้อง

และทำการหมักในระยะเวลาที่แตกต่างกัน 6 แบบ ให้เป็นปัจจัย C ซึ่งปัจจัย C ที่แตกต่างกัน 6 แบบ คือ

c_1 = ระยะเวลาในการหมัก 0 ชั่วโมง

c_2 = ระยะเวลาในการหมัก 24 ชั่วโมง (1 วัน)

c_3 = ระยะเวลาในการหมัก 48 ชั่วโมง (2 วัน)

c_4 = ระยะเวลาในการหมัก 72 ชั่วโมง (3 วัน)

c_5 = ระยะเวลาในการหมัก 96 ชั่วโมง (4 วัน)

c_6 = ระยะเวลาในการหมัก 120 ชั่วโมง (5 วัน)

การทดลองทั้งหมดจำนวน 3 ซ้ำ (replication : r) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ด้วยวิธีของดันแคน (ducan's multiple test : DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2) ผังการทดลอง

จากข้อมูลข้อ 1) จะได้การทดลองหมักปลาส้มที่เหมาะสม โดยทำการทดลองที่ปริมาณเชื้อ (A) อุณหภูมิในการหมัก (B) และระยะเวลา (C) ที่แตกต่างกันโดย a = 2, b = 3 และ C = 6 ซึ่งจำนวนซ้ำของการทดลอง (replication : r) r = 3 ดังนั้นจำนวนหน่วยทดลองทั้งหมด (total experimental unit : N) N = abcr = 2 x 3 x 6 x 3 = 108 จะได้ผังการทดลองดังนี้

ความเข้มข้นเชื้อ (a)	อุณหภูมิ (b)	เวลา (c) (ชั่วโมง)	จำนวนซ้ำ 1 (r_1)	จำนวนซ้ำ 2 (r_2)	จำนวนซ้ำ 3 (r_3)
0 (a_1)	อุณหภูมิห้อง (b_1)	0 (c_1)	$a_1b_1c_1r_1$	$a_1b_1c_1r_2$	$a_1b_1c_1r_3$
		24 (c_3)	$a_1b_1c_3r_1$	$a_1b_1c_3r_2$	$a_1b_1c_3r_3$
		48 (c_5)	$a_1b_1c_5r_1$	$a_1b_1c_5r_2$	$a_1b_1c_5r_3$
		72 (c_6)	$a_1b_1c_6r_1$	$a_1b_1c_6r_2$	$a_1b_1c_6r_3$
		96 (c_7)	$a_1b_1c_7r_1$	$a_1b_1c_7r_2$	$a_1b_1c_7r_3$
		120 (c_8)	$a_1b_1c_8r_1$	$a_1b_1c_8r_2$	$a_1b_1c_8r_3$
	30 °C (b_2)	0 (c_1)	$a_1b_2c_1r_1$	$a_1b_2c_1r_2$	$a_1b_2c_1r_3$
		24 (c_3)	$a_1b_2c_3r_1$	$a_1b_2c_3r_2$	$a_1b_2c_3r_3$
		48 (c_5)	$a_1b_2c_5r_1$	$a_1b_2c_5r_2$	$a_1b_2c_5r_3$
		72 (c_6)	$a_1b_2c_6r_1$	$a_1b_2c_6r_2$	$a_1b_2c_6r_3$
		96 (c_7)	$a_1b_2c_7r_1$	$a_1b_2c_7r_2$	$a_1b_2c_7r_3$
		120 (c_8)	$a_1b_2c_8r_1$	$a_1b_2c_8r_2$	$a_1b_2c_8r_3$
	37 °C (b_3)	0 (c_1)	$a_1b_3c_1r_1$	$a_1b_3c_1r_2$	$a_1b_3c_1r_3$
		24 (c_3)	$a_1b_3c_3r_1$	$a_1b_3c_3r_2$	$a_1b_3c_3r_3$
		48 (c_5)	$a_1b_3c_5r_1$	$a_1b_3c_5r_2$	$a_1b_3c_5r_3$
		72 (c_6)	$a_1b_3c_6r_1$	$a_1b_3c_6r_2$	$a_1b_3c_6r_3$
		96 (c_7)	$a_1b_3c_7r_1$	$a_1b_3c_7r_2$	$a_1b_3c_7r_3$
		120 (c_8)	$a_1b_3c_8r_1$	$a_1b_3c_8r_2$	$a_1b_3c_8r_3$
10^6 (a_2)	อุณหภูมิห้อง (b_1)	0 (c_1)	$a_2b_1c_1r_1$	$a_2b_1c_1r_2$	$a_2b_1c_1r_3$
		24 (c_3)	$a_2b_1c_3r_1$	$a_2b_1c_3r_2$	$a_2b_1c_3r_3$
		48 (c_5)	$a_2b_1c_5r_1$	$a_2b_1c_5r_2$	$a_2b_1c_5r_3$
		72 (c_6)	$a_2b_1c_6r_1$	$a_2b_1c_6r_2$	$a_2b_1c_6r_3$
		96 (c_7)	$a_2b_1c_7r_1$	$a_2b_1c_7r_2$	$a_2b_1c_7r_3$
		120 (c_8)	$a_2b_1c_8r_1$	$a_2b_1c_8r_2$	$a_2b_1c_8r_3$
	30 °C (b_2)	0 (c_1)	$a_2b_2c_1r_1$	$a_2b_2c_1r_2$	$a_2b_2c_1r_3$
		24 (c_3)	$a_2b_2c_3r_1$	$a_2b_2c_3r_2$	$a_2b_2c_3r_3$
		48 (c_5)	$a_2b_2c_5r_1$	$a_2b_2c_5r_2$	$a_2b_2c_5r_3$
		72 (c_6)	$a_2b_2c_6r_1$	$a_2b_2c_6r_2$	$a_2b_2c_6r_3$
		96 (c_7)	$a_2b_2c_7r_1$	$a_2b_2c_7r_2$	$a_2b_2c_7r_3$
		120 (c_8)	$a_2b_2c_8r_1$	$a_2b_2c_8r_2$	$a_2b_2c_8r_3$
	37 °C (b_3)	0 (c_1)	$a_2b_3c_1r_1$	$a_2b_3c_1r_2$	$a_2b_3c_1r_3$
		24 (c_3)	$a_2b_3c_3r_1$	$a_2b_3c_3r_2$	$a_2b_3c_3r_3$
		48 (c_5)	$a_2b_3c_5r_1$	$a_2b_3c_5r_2$	$a_2b_3c_5r_3$
		72 (c_6)	$a_2b_3c_6r_1$	$a_2b_3c_6r_2$	$a_2b_3c_6r_3$
		96 (c_7)	$a_2b_3c_7r_1$	$a_2b_3c_7r_2$	$a_2b_3c_7r_3$
		120 (c_8)	$a_2b_3c_8r_1$	$a_2b_3c_8r_2$	$a_2b_3c_8r_3$

3) การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้แผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล 3 ปัจจัยในการทดลองแบบสุ่มตลอด (factorial in CRD) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

3.3.4.4 **การศึกษาด้านประสาทสัมผัส**

โดยเลือกปลาส้มที่มีปริมาณกรดตั้งแต่ 0.20 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปมาทดสอบประสาทสัมผัส จากการชิมของผู้บริโภค ตรวจการยอมรับด้วยผู้ชิมโดยใช้ Hedonic scale (มีคะแนน 1-9)

3.3.4.5 **การศึกษาปริมาณโภชนศาสตร์** (ตามภาคผนวก ค)

การศึกษาโภชนศาสตร์จากตัวอย่างปลาส้มได้ผู้บริโภคนิยมรับประทานมากที่สุด โดยประเมินผลทางด้านประสาทสัมผัส ซึ่งการหาโภชนศาสตร์นี้จะเป็นการหาเปอร์เซ็นต์เถ้า ความชื้น โปรตีน ไขมัน และ คาร์โบไฮเดรต

บทที่ 4
ผลการทดลอง

การศึกษาการแยกแบคทีเรียแลคติกจากตัวอย่างปลาส้ม เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อ เริ่มต้นด้วยการรวบรวมตัวอย่างปลาส้มที่จำหน่ายตามท้องตลาดในเขตจังหวัดพะเยา แล้วนำตัวอย่างปลาส้มมาแยกแบคทีเรียแลคติกในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารแข็งสูตร MRS จนได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นนำแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้มาจัดจำแนกโดยการเทียบเคียงลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และการทนเกลือโซเดียมคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นคัดเลือกตัวแทนของแบคทีเรียแลคติกกลุ่มที่ไม่มีการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์จากน้ำตาลกูลโคส แล้วนำแบคทีเรียแลคติกส่งตรวจสายพันธุ์ด้วยวิธีชีวเคมีที่มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ นำแบคทีเรียแลคติกที่มีการยับยั้งเชื้อก่อโรค และแบคทีเรียแลคติกที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้สูง มาศึกษาปริมาณที่เหมาะสมต่อการผลิตปลาส้ม จากนั้นนำปลาส้มที่หมักได้มาประเมินผลิตภัณฑ์โดยการชิมจากผู้บริโภคที่รับประทานปลาส้ม และสุดท้ายเป็นการศึกษาโภชนศาสตร์จากปลาส้ม ผลการศึกษาในแต่ละส่วนมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

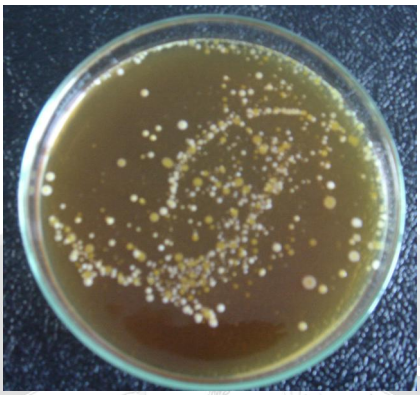
4.1 การคัดเลือกจุลินทรีย์หัวเชื้อบริสุทธิ์

เก็บรวบรวมตัวอย่างปลาส้มที่จำหน่ายตามท้องตลาดในเขตจังหวัดพะเยา จำนวน 12 ตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างปลาส้มมาทำการคัดแยกแบคทีเรียแลคติก

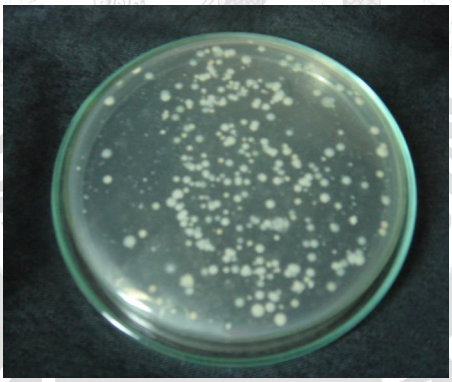
ศึกษาปริมาณโคโลนีของแบคทีเรียทั้งหมด และแบคทีเรียแลคติก โดยการตรวจนับแบคทีเรียแลคติกจะเปลี่ยนสีอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ที่เติม Bromcresol purple 0.004 เปอร์เซ็นต์ จากสีม่วงเป็นสีเหลือง ดังภาพที่ 4.1และตรวจนับแบคทีเรียทั้งหมดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ดังภาพที่ 4.2

นำตัวอย่างปลาส้มที่รวบรวมได้มาตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณแบคทีเรียแลคติก โดยปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีปริมาณ $9.4 \times 10^{4} - 18.5 \times 10^{6}$ CFU/g และปริมาณแบคทีเรียแลคติกมีปริมาณ $3.27 \times 10^{9} - 5.96 \times 10^{9}$ CFU/g ดังตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าในตัวอย่างปลาส้มแต่ละแห่งพบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีปริมาณที่แตกต่างกัน และพบว่ามีแบคทีเรียแลคติกมีปริมาณที่ไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเกี่ยวข้องกับปัจจัยการผลิตหลายประการ เช่น วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต ส่วนผสม และเครื่องปรุง ตลอดจนความสะอาดในการผลิต

การคัดแยกแบคทีเรียแลคติกจากตัวอย่างปลาส้ม โดยคัดเลือกโคโลนีที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถเปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์จากสีม่วงเป็นสีเหลือง สามารถคัดแยกได้ 57 ไอโซเลตซึ่งได้ผลดังตารางที่ 4.2



ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะแบคทีเรียแลคติกที่เจริญบนอาหาร MRS agar ที่เติม Bromcresol purple



ภาพที่ 4.2 แสดงลักษณะแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร PCA

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติก

ตัวอย่าง	ปริมาณจุลินทรีย์กรดแลคติก (เฉลี่ย)		ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (เฉลี่ย)			
	10^{-8}	CFU/g	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	CFU/g
FPS_1	48	4.8×10^9	161	83.33	> 30	83.3×10^4
FPS_2	40.67	4.07×10^9	173.67	85.33	> 30	85.3×10^4
FPM_1	40.67	4.07×10^9	95	38	> 30	38×10^4
FPM_2	59.67	5.97×10^9	104.67	> 30	> 30	10.4×10^4
FPN_1	47	4.7×10^9	< 300	116	> 30	116×10^4
FPN_2	39.67	3.97×10^9	< 300	141	> 30	141×10^4
FPT_1	32.67	3.27×10^9	94	> 30	> 30	9.4×10^4
FPT_2	35.67	3.57×10^9	90.33	> 30	> 30	9.03×10^4
FSG_1	43.67	4.37×10^9	< 300	80.33	> 30	79×10^4
FSG_2	44	4.4×10^9	< 300	82	> 30	82×10^4
$FPSJ_1$	43	4.3×10^9	< 300	107.67	> 30	10.7×10^5
$FPSJ_2$	38.67	3.86×10^9	< 300	105	> 30	10.5×10^5
FPP_1	59.67	5.96×10^9	63.33	> 30	> 30	6.33×10^4
FPD_1	32.67	3.26×10^9	< 300	165	76.33	16.5×10^5
FPD_2	36.33	3.63×10^9	< 300	168.33	70	16.8×10^5
FPR_1	55.67	5.56×10^9	< 300	< 300	185.33	18.5×10^6
FPR_2	51.33	5.13×10^9	< 300	< 300	173.67	17.3×10^6
FPJ_1	46.67	4.66×10^9	130.33	> 30	> 30	13×10^4
FPJ_2	42	4.2×10^9	121	> 30	> 30	12.1×10^5
$FPNT_1$	48	4.8×10^9	< 300	159.33	57.67	15.9×10^5
$FPNT_2$	53.67	5.36×10^9	< 300	165.33	68	16.5×10^5
$FPSN_1$	53	5.3×10^9	< 300	< 300	195	19.5×10^6
$FPSN_2$	59.33	5.93×10^9	< 300	< 300	207.67	20.7×10^6

ตารางที่ 4.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้

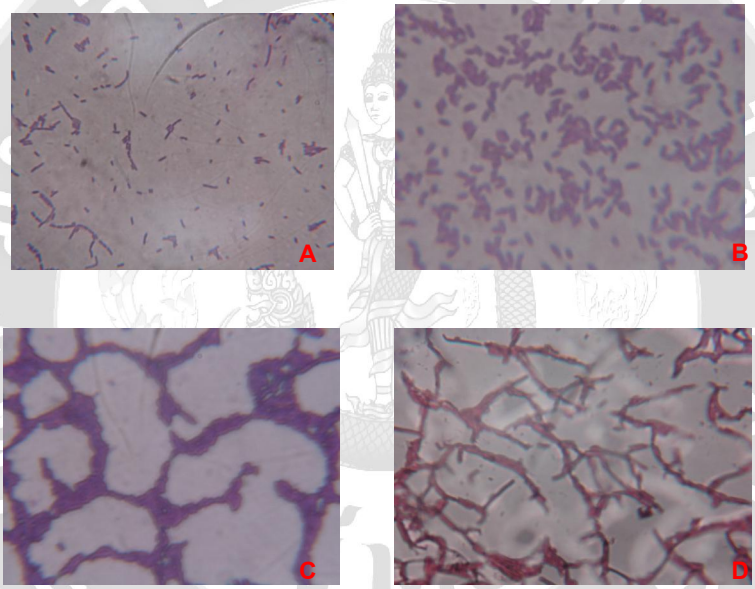
ไอโซเลตที่	รหัสเชื้อ	ยี่ห้อปลาส้ม	ลักษณะโคโลนี
1	FPN_1 1/1	นงคราญ	โคโลนีสีขาวปนเหลืองขุ่น มันวาว
2	FPN_1 2/1	นงคราญ	โคโลนีสีเหลืองขุ่น มันวาว
3	FPN_1 2/2	นงคราญ	โคโลนีสีเหลืองปนดำ มันวาว
4	FPN_1 3/1	นงคราญ	โคโลนีสีขาวปนเหลือง (เหลืองอยู่ตรงกลาง)
5	FPN_1 3/2	นงคราญ	โคโลนีสีเหลืองปนดำ มันวาว
6	FPM_1 2/1	แม่ลัย	โคโลนีสีเหลืองขุ่น มันวาว
7	FPM_1 2/2	แม่ลัย	โคโลนีสีเหลืองปนดำ มันวาว
8	FPM_1 2/3	แม่ลัย	โคโลนีสีเหลืองขุ่น มันวาว
9	FPM_2 2/1	แม่ลัย	โคโลนีสีขาวเหลืองปนดำ (ดำอยู่ตรงกลาง)
10	FPM_2 3/1	แม่ลัย	โคโลนีสีขาวขุ่น มันวาว
11	FPM_2 3/2	แม่ลัย	โคโลนีสีขาวปนเหลือง (เหลืองอยู่ตรงกลาง)
12	FPM_2 3/3	แม่ลัย	โคโลนีสีเหลืองขุ่น มันวาว
13	FPT_1 1/1	ทองปอน	โคโลนีสีขาวขุ่น มันวาว
14	FPT_1 1/2	ทองปอน	โคโลนีสีขาวขุ่น มันวาว
15	FPT_1 1/3	ทองปอน	โคโลนีสีขาวปนเหลือง มันวาว
16	FPT_2 1/1	ทองปอน	โคโลนีสีเหลืองขุ่น มันวาว
17	FPT_2 2/1	ทองปอน	โคโลนีสีเหลืองขุ่น มันวาว
18	FPS_2 2/1	ศรีทน	โคโลนีสีขาวปนเหลือง มันวาว
19	FPS_2 2/2	ศรีทน	โคโลนีสีเหลืองขุ่น มันวาว
20	FPS_2 3/1	ศรีทน	โคโลนีสีขาวขุ่น มันวาว
21	FSG_1 1/1	กลุ่มแม่บ้าน	โคโลนีสีเหลืองขุ่น มันวาว
22	FSG_1 1/2	กลุ่มแม่บ้าน	โคโลนีสีเหลืองขาว มันวาว
23	FSG_1 1/3	กลุ่มแม่บ้าน	โคโลนีสีขาวปนเหลือง มันวาว
24	FSG_1 2/1	กลุ่มแม่บ้าน	โคโลนีสีขาวปนเหลือง (เหลืองอยู่ตรงกลาง)
25	FSG_1 3/1	กลุ่มแม่บ้าน	โคโลนีสีขาวขุ่น มันวาว
26	FSG_1 3/2	กลุ่มแม่บ้าน	โคโลนีสีเหลืองขุ่น มันวาว
27	$FPSJ_1$ 2/1	สมจิตร	โคโลนีสีเหลืองปนดำ
28	$FPSJ_2$ 1/1	สมจิตร	โคโลนีสีเหลืองปนดำ
29	$FPSJ_2$ 1/2	สมจิตร	โคโลนีสีขาวปนเหลืองขุ่น มันวาว
30	$FPSJ_2$ 2/1	สมจิตร	โคโลนีสีเหลือง มันวาว
31	FPR_1 1/1	รวมรส	โคโลนีสีขาวปนเหลือง มันวาว

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

ไอโซเลตที่	รหัสเชื้อ	ยี่ห้อปลาส้ม	ลักษณะโคโลนี
32	FPR_1 2/1	รวมรส	โคโลนีสีขาวขุ่น มันวาว
33	FPR_2 1/2	รวมรส	โคโลนีสีเหลืองขุ่น มันวาว
34	FPR_2 1/1	รวมรส	โคโลนีสีเหลืองขุ่น มันวาว
35	FPD_1 2/1	ดาวเรือง	โคโลนีสีขาวปนเหลือง (เหลืองอยู่ตรงกลาง)
36	FPD_1 2/2	ดาวเรือง	โคโลนีสีขาวขุ่น มันวาว
37	FPD_2 1/1	ดาวเรือง	โคโลนีสีขาวปนเหลือง มันวาว
38	FPP_1 2/2	พ่อหลวงแสวง	โคโลนีสีขาวปนเหลืองขุ่น
39	FPP_2 1/1	พ่อหลวงแสวง	โคโลนีสีขาวปนเหลือง (เหลืองอยู่ตรงกลาง)
40	FPP_1 2/2	พ่อหลวงแสวง	โคโลนีสีเหลืองปนดำ มันวาว
41	$FPNT_1$ 2/1	นงคราญ (แท่ง)	โคโลนีสีขาวขุ่น มันวาว
42	$FPNT_2$ 1/1	นงคราญ (แท่ง)	โคโลนีสีขาวปนเหลือง (เหลืองอยู่ตรงกลาง)
43	$FPNT_2$ 2/1	นงคราญ (แท่ง)	โคโลนีสีขาวปนเหลือง มันวาว
44	$FPNT_2$ 2/2	นงคราญ (แท่ง)	โคโลนีสีขาวปนเหลือง มันวาว
45	$FPNT_2$ 2/3	นงคราญ (แท่ง)	โคโลนีสีเหลืองปนดำ
46	FPJ_1 1/1	จันทร์เพ็ญ	โคโลนีสีขาวปนเหลือง มันวาว
47	FPJ_1 1/2	จันทร์เพ็ญ	โคโลนีสีขาวขุ่น มันวาว
48	FPJ_1 1/3	จันทร์เพ็ญ	โคโลนีสีเหลือง มันวาว
49	FPJ_1 2/1	จันทร์เพ็ญ	โคโลนีสีขาวปนเหลือง (เหลืองอยู่ตรงกลาง)
50	FPJ_2 2/1	จันทร์เพ็ญ	โคโลนีสีขาวขุ่น มันวาว
51	FPJ_2 2/2	จันทร์เพ็ญ	โคโลนีสีเหลืองปนดำ มันวาว
52	$FPSN_1$ 1/1	สมศักดิ์-นงเยาว์	โคโลนีสีขาวเหลืองปนดำ (ดำอยู่ตรงกลาง)
53	$FPSN_1$ 1/2	สมศักดิ์-นงเยาว์	โคโลนีสีขาวเหลืองปนดำ (ดำอยู่ตรงกลาง)
54	$FPSN_1$ 1/3	สมศักดิ์-นงเยาว์	โคโลนีสีขาวปนเหลือง (ขาวอยู่ตรงกลาง)
55	$FPSN_1$ 2/1	สมศักดิ์-นงเยาว์	โคโลนีสีขาวปนเหลือง (ขาวอยู่ตรงกลาง)
56	$FPSN_2$ 1/2	สมศักดิ์-นงเยาว์	โคโลนีสีขาวเหลืองปนดำ
57	$FPSN_2$ 1/3	สมศักดิ์-นงเยาว์	โคโลนีสีขาวเหลืองปนดำ (ขาวอยู่ตรงกลาง)

4.2 การศึกษาการจำแนกแบคทีเรียแลคติก

เมื่อแยกแบคทีเรียแลคติกทั้ง 57 ไอโซเลต จนบริสุทธิ์ นำแบคทีเรียแลคติกในแต่ละ ไอโซเลตมาศึกษาการติดสีแกรม สัณฐานวิทยา การสร้างเอนไซม์แคตาเลส และการทนเกลือโซเดียมคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าแบคทีเรียที่คัดแยกได้ติดสีแกรมบวกทั้งหมด โดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียแลคติกจะติดสีแกรมบวก ส่วนสัณฐานวิทยาแบคทีเรียที่คัดแยกได้ จะมีทั้งรูปร่างท่อนจำนวน 45 ไอโซเลต และรูปร่างกลมจำนวน 12 ไอโซเลต ซึ่งแบคทีเรียแลคติกจะมีรูปร่างแบบท่อน และแบบกลม ดังภาพที่ 4.3 และภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.3 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียแลคติกที่มีรูปร่างเป็นท่อน

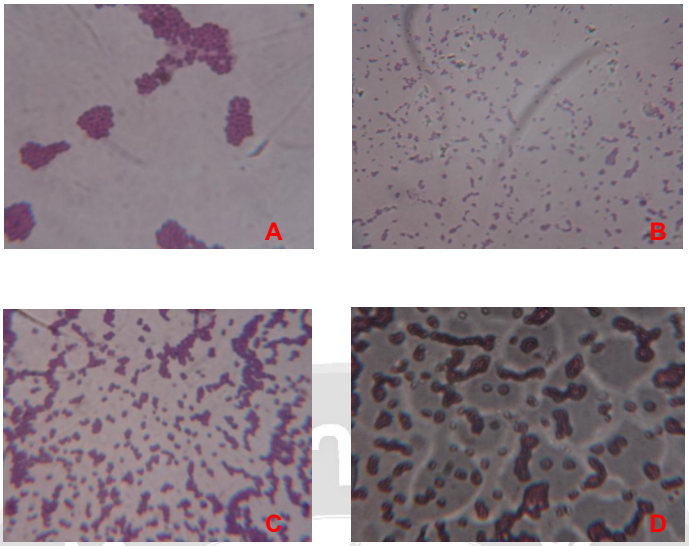
<u>หมายเหตุ</u> A = $FPSJ_2$ 1/2 , FPT_2 2/1 , FPR_2 1/1 , FPR_2 1/2 , FPR_2 2/2

B = FPP_2 2/2 , FPJ_2 2/1 , FPR_1 2/1 , FPD_2 1/1 , $FPSJ_2$ 1/1

$FPSJ_2$ 2/1 , $FPSN_1$ 1/2

C = FPP_1 2/2 , FPP_2 1/1 , FPR_2 1/3 , FPJ_1 1/3

D = FPD_1 2/1 , FPJ_1 1/1



ภาพที่ 4.4 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียแลคติกที่มีรูปร่างกลม

<u>หมายเหตุ</u> A = FPD_1 2/2 , $FPSN_1$ 1/1 , $FPSN_1$ 1/3 , $FPSN_2$ 1/2

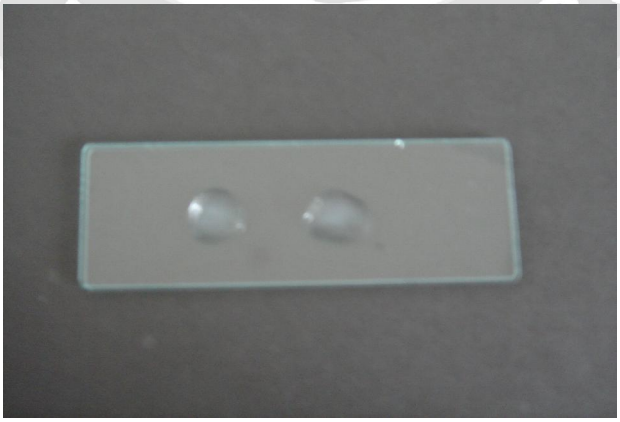
B = FPT_1 2/1 , $FPSN_2$ 1/1

C = FPD_2 2/1 , FPT_2 2/2 , FPR_1 1/1 , FPJ_1 1/2

D = FPT_2 2/3 , FPJ_1 2/1

แบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้ง 57 ไอโซเลต ไม่มีการสร้างเอนไซม์แคตาเลส เพราะแบคทีเรียแลคติกจะไม่มีการสร้างเอนไซม์แคตาเลส ดังภาพที่ 4.5

\



ภาพที่ 4.5 แสดงผลการทดสอบแคตาเลส

การทนเกลือโซเดียมคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้ง 57 ไอโซเลต สามารถเจริญในอาหารที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($P \leq 0.05$) โดยวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร มีค่าการดูดกลืนแสงตั้งแต่ 0.166 ถึง 2.455 จากนั้นได้ทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติจึงเลือกค่าการดูดกลืนแสงที่สูงกว่า 2.200 ขึ้นไป มาทำการทดสอบในระดับต่อไป ซึ่งสามารถคัดเลือกได้ 12 ไอโซเลต ดังตารางที่ 4.3 และตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.3 สมบัติทางสัณฐานวิทยา การสร้างเอนไซม์แคตาเลส และค่าความขุ่น (OD_{600}) ของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้

รหัสเชื้อ	รูปร่าง	การติดสีแกรม	การสร้างเอนไซม์แคตาเลส	ค่า OD_{600} เกลือ 5เปอร์เซ็นต์
FPJ_1 1/1	ท่อน	แกรมบวก	-	$2.455^{a} \pm 0.0086$
FPT_1 1/2	ท่อน	แกรมบวก	-	$1.688^{st} \pm 0.0049$
FPN_1 1/1	ท่อน	แกรมบวก	-	$2.166^{hi} \pm 0.00$
FPN_1 2/2	กลม	แกรมบวก	-	$0.166^{v} \pm 0.001$
FPP_2 2/2	ท่อน	แกรมบวก	-	$1.576^{u} \pm 0.002$
FPS_2 2/1	ท่อน	แกรมบวก	-	$1.925^{op} \pm 0.002$
FPN_1 3/1	ท่อน	แกรมบวก	-	$2.230^{defg} \pm 0.0045$
FPT_1 1/3	ท่อน	แกรมบวก	-	$2.109^{ij} \pm 0.0026$
$FPNT_2$ 2/3	กลม	แกรมบวก	-	$1.670^{st} \pm 0.006$
FPR_2 1/2	ท่อน	แกรมบวก	-	$2.279^{bcd} \pm 0.0028$
$FPSJ_2$ 1/1	กลม	แกรมบวก	-	$1.621^{st} \pm 0.0034$
$FPSJ_2$ 1/2	ท่อน	แกรมบวก	-	$1.688^{t} \pm 0.0015$
FSG_1 2/1	ท่อน	แกรมบวก	-	$2.263^{bcde} \pm 0.0057$
FSG_1 3/2	ท่อน	แกรมบวก	-	$2.271^{bcd} \pm 0.0032$
FPR_1 2/1	ท่อน	แกรมบวก	-	$2.165^{hi} \pm 0.001$
FPS_2 3/1	ท่อน	แกรมบวก	-	$2.160^{hi} \pm 0.0005$
FPT_1 2/1	ท่อน	แกรมบวก	-	$2.262^{bcde} \pm 0.0073$
FPD_1 2/1	ท่อน	แกรมบวก	-	$2.058^{jkl} \pm 0.005$
FPN_1 2/1	ท่อน	แกรมบวก	-	$2.177^{gh} \pm 0.0034$
FPJ_1 1/2	ท่อน	แกรมบวก	-	$2.180^{gh} \pm 0.010$
FPT_2 1/1	ท่อน	แกรมบวก	-	$2.010^{lmn} \pm 0.0034$
FSG_1 1/3	กลม	แกรมบวก	-	$1.765^{r} \pm 0.0026$

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

รหัสเชื้อ	รูปร่าง	การติดสีแกรม	การสร้างเอนไซม์แคตาเลส	ค่า OD_{600}เกลือ 5เปอร์เซ็นต์
$FPSN_1$ 2/1	ท่อน	แกรมบวก	-	2.211^{efgh} ± 0.006
FPM_2 3/3	ท่อน	แกรมบวก	-	2.095jk ± 0.0005
FPP_1 2/2	ท่อน	แกรมบวก	-	2.097jk ± 0.0028
$FPNT_2$ 2/2	ท่อน	แกรมบวก	-	2.200^{fgh} ± 0.0005
FPD_1 2/2	กลม	แกรมบวก	-	2.037^{klm} ± 0.0028
FPR_2 1/1	ท่อน	แกรมบวก	-	2.059^{jkl} ± 0.003
FPM_1 2/3	ท่อน	แกรมบวก	-	2.069^{jk} ± 0.005
$FPNT_2$ 2/1	ท่อน	แกรมบวก	-	2.157^{hi} ± 0.0026
FPR_2 2/2	กลม	แกรมบวก	-	1.596^{t} ± 0.0035
FSG_1 1/2	กลม	แกรมบวก	-	1.825^{rs} ± 0.0037
FPS_2 2/2	ท่อน	แกรมบวก	-	1.995^{q} ± 0.0025
FPM_2 2/1	ท่อน	แกรมบวก	-	2.292^{b} ± 0.005
FPM_2 2/2	กลม	แกรมบวก	-	2.186^{gh} ± 0.002
FPM_2 3/2	ท่อน	แกรมบวก	-	1.912^{p} ± 0.0005
FPD_2 2/1	กลม	แกรมบวก	-	2.122^{ij} ± 0.0028
$FPSJ_1$ 2/1	กลม	แกรมบวก	-	2.317^{cdef} ± 0.005
FPJ_1 2/1	ท่อน	แกรมบวก	-	2.212^{efgh} ± 0.0032
FPT_1 2/1	กลม	แกรมบวก	-	2.089^{jk} ± 0.0028
FPJ_1 1/3	กลม	แกรมบวก	-	2.209^{efgh} ± 0.0037
FSG_1 3/1	ท่อน	แกรมบวก	-	2.195^{gh} ± 0.00

ตารางที่ 4.4 ค่า OD_{600} ของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์5 เปอร์เซ็นต์

รหัสเชื้อ	รูปร่าง	ค่า OD_{600}เกลือ 5 เปอร์เซ็นต์
FPJ_1 1/1	ท่อน	2.455^{a} ± 0.0086
$FPSJ_1$ 2/1	ท่อน	2.317^{b} ± 0.005
FPM_2 2/1	ท่อน	2.292^{bc} ± 0.005
FPR_2 1/2	ท่อน	2.279^{bcd} ± 0.0028
FSG_1 3/2	ท่อน	2.271^{bcd} ± 0.0032

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

รหัสเชื้อ	รูปร่าง	ค่า OD_{600}เกลือ 5 เปอร์เซ็นต์
FSG_1 2/1	ท่อน	2.263^{bcde} ± 0.0057
FPT_1 2/1	กลม	2.255^{cdef} ± 0.0073
FPN_1 3/1	ท่อน	2.230^{defg} ± 0.0045
FPJ_1 2/1	ท่อน	2.212^{efgh} ± 0.0032
FPN_1 2/1	ท่อน	2.211^{efgh} ± 0.006
FPJ_1 1/3	กลม	2.209^{efgh} ± 0.0037
$FPNT_2$ 2/2	ท่อน	2.200^{fgh} ± 0.0005

นำแบคทีเรีย 12 ไอโซเลต ที่คัดแยกได้เบื้องต้นมาทำการทดสอบการสร้างแก๊ส ดังภาพที่ 4.6 พบว่าแบคทีเรีย 11 ไอโซเลต ไม่มีการสร้างแก๊ส แสดงว่าไม่มีการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์จากน้ำตาลกูลโคส และมีเพียง 1 ไอโซเลต ที่มีการสร้างแก๊ส แสดงว่ามีการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์จากน้ำตาลกูลโคส ซึ่งในแบคทีเรียแลคติกจะไม่มีการสร้างแก๊ส หรือไม่มีการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์จากน้ำตาลกูลโคส คือสามารถผลิตกรดแลคติกออกมาเพียงอย่างเดียว โดยไม่มีผลิตภัณฑ์อื่นๆ ออกมาด้วย ดังนั้นจึงทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่ไม่มีการสร้างแก๊สหรือไม่มีการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์จากน้ำตาลกูลโคสทำการศึกษาต่อไป

ภาพที่ 4.6 แสดงผลการทดสอบการสร้างแก๊ส

4.2.1 การจำแนกสายพันธุ์จุลินทรีย์

จากการส่งแบคทีเรียทั้ง 11 ไอโซเลต ไปตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีทางชีวเคมีที่มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ทำให้ทราบว่ามีแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* spp. จำนวน 8 ไอโซเลต *Streptococcus* spp. จำนวน 2 ไอโซเลต และ *Corynebacterium* spp. จำนวน 1 ไอโซเลต ดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 การจำแนกสายพันธุ์จุลินทรีย์

รหัสเชื้อ	สกุล
FPJ_1 1/1	*Lactobacillus* spp.
$FPSJ_1$ 2/1	*Lactobacillus* spp.
FPR_2 1/2	*Lactobacillus* spp.
FSG_1 3/2	*Lactobacillus* spp.
FSG_1 2/1	*Lactobacillus* spp.
FPT_1 2/1	*Streptococcus* spp.
FPN_1 3/1	*Lactobacillus* spp.
FPJ_1 2/1	*Lactobacillus* spp.
FPN_1 2/1	*Lactobacillus* spp.
FPJ_1 1/3	*Streptococcus* spp.
$FPNT_2$ 2/2	*Corynebacterium* spp.

4.3 การทดสอบประสิทธิภาพหัวเชื้อที่ดี

4.3.1 การทดสอบการต้านเชื้อก่อโรค

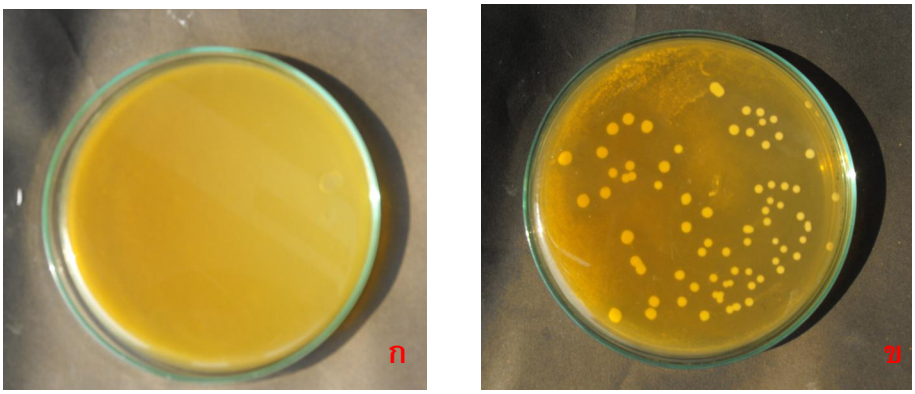
จากการทดสอบการต้านเชื้อก่อโรคของแบคทีเรียแลคติกทั้ง 11 ไอโซเลต โดยเชื้อก่อโรคที่นำมาทดสอบประกอบด้วย *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Bacillus cereus* TISTR 687, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 โดยตามธรรมชาติแล้วแบคทีเรีย แลคติกจะสามารถสร้างสารมายับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ได้ ซึ่งส่วนใหญ่แล้วเป็นเชื้อ

แบคทีเรียกลุ่มที่มีความเกี่ยวข้องกัน เช่น แกรมบวกเหมือนกัน โดยกลไกการยับยั้งมีความจำเพาะสูง สารที่แบคทีเรียสร้างขึ้นนี้เรียกว่า แบคเทอริโอซิน จัดเป็นสารประกอบโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการให้มีในผลิตภัณฑ์ การศึกษาในขั้นตอนนี้เป็นการนำแบคทีเรียแลคติกทั้ง 11 ไอโซเลต มาศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้ ซึ่งแบคทีเรียแลคติกทั้ง 11 ไอโซเลตสามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus cereus* TISTR 687, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 ได้ ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.7

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบการต้านเชื้อก่อโรคของแบคทีเรียแลคติก

รหัสเชื้อ	**การยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค**		
	Bacillus cereus TISTR 687	*Salmonella typhimurium* TISTR 292	*Staphylococcus aureus* TISTR 118
FPJ_1 1/1	+	+	+
$FPSJ_1$ 2/1	+	+	+
FPR_2 1/2	+	+	+
FSG_1 3/2	+	+	+
FSG_1 2/1	+	+	+
FPT_1 2/1	+	+	+
FPN_1 3/1	+	+	+
FPJ_1 2/1	+	+	+
FPN_1 2/1	+	+	+
$FPNT_2$ 2/2	+	+	+
FPJ_1 1/3	+	+	+

หมายเหตุ + = มีการยับยั้งเชื้อก่อโรค



ภาพที่ 4.7 แสดงการต้านเชื้อก่อโรคของแบคทีเรียแลคติก

<u>หมายเหตุ</u> ก = จานเพาะเชื้อที่มีแต่เชื้อก่อโรค

ข = จานเพาะเชื้อที่มีแบคทีเรียแลคติกยับยั้งเชื้อก่อโรค

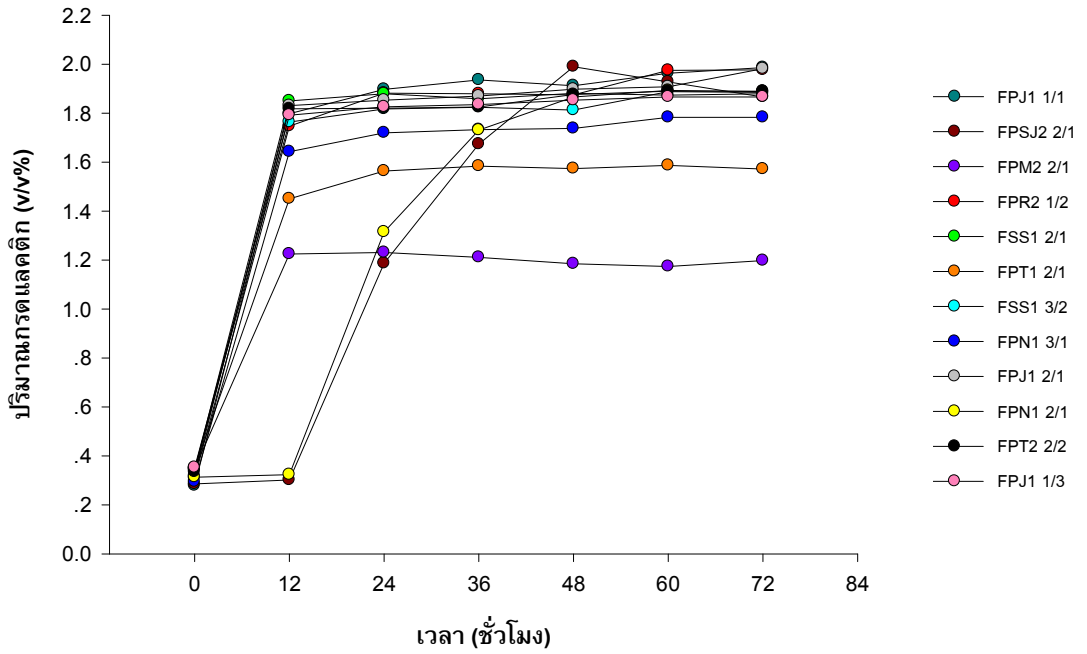
4.3.2 การทดสอบการสร้างกรด และการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง

4.3.2.1 การทดสอบการสร้างกรด

จากการคัดแยกแบคทีเรียแลคติกได้ทั้งหมด 11 ไอโซเลต จึงได้นำมาทำการทดสอบการสร้างกรดแลคติก พบว่าแบคทีเรียแลคติกทั้ง 11 ไอโซเลต มีความสามารถในการผลิตกรดแลคติกที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($P \leq 0.05$) โดยชั่วโมงที่ 0 จะมีปริมาณกรดใกล้เคียงกัน แต่พอเวลาเพิ่มขึ้นปริมาณกรดจะมีความแตกต่างกันไป ดังชั่วโมงที่ 72 เชื้อที่ผลิตกรดได้มากที่สุด คือ FPJ_1 1/1 , FPJ_1 2/1 , FPR_2 1/2 ผลิตกรดได้ 1.986 , 1.982 , 1.977 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเชื้อที่ผลิตกรดได้น้อยที่สุด คือ FPT_1 2/1 ผลิตกรดได้ 1.572 เปอร์เซ็นต์ และในช่วงเวลาชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 36, 48, 60 และ72 จะมีการผลิตกรดแลคติกประมาณ 0.323, 1.462, 1.665, 1.746, 1.788,1.810 และ1.814 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังภาพที่ 4.8 ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการผลิตกรดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($P \leq 0.05$) คือ ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 12 จะมีการผลิตกรด แลคติกที่แตกต่างกับชั่วโมงอื่นๆ ส่วนชั่วโมงที่ 24, 36, 48, 60 และ 72 จะมีการผลิตกรด แลคติกที่ไม่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดในระหว่างการเจริญของแบคทีเรียแลคติก

รหัสเชื้อ	ปริมาณกรดแลกติก (%v/v) ระยะเวลา (ชั่วโมง)							ค่าเฉลี่ย
	0	12	24	36	48	60	72	
FPJ_1 1/1	0.279	1.798	1.897	1.936	1.912	1.963	1.986	$1.681^{a} \pm 0.621$
$FPSJ_1$ 2/1	0.286	0.302	1.187	1.674	1.990	1.928	1.866	$1.319^{cd} \pm 0.748$
FPR_2 1/2	0.310	1.747	1.882	1.879	1.875	1.975	1.977	$1.663^{ab} \pm 0.601$
FSG_1 2/1	0.343	1.850	1.879	1.859	1.881	1.874	1.879	$1.652^{ab} \pm 0.577$
FPT_1 2/1	0.350	1.450	1.564	1.584	1.574	1.587	1.572	$1.383^{bc} \pm 0.458$
FSG_1 3/2	0.346	1.764	1.817	1.8243	1.813	1.888	1.885	$1.619^{ab} \pm 0.563$
FPN_1 3/1	0.295	1.643	1.720	1.733	1.738	1.783	1.783	$1.527^{abc} \pm 0.545$
FPJ_1 2/1	0.319	1.831	1.853	1.870	1.898	1.908	1.982	$1.665^{ab} \pm 0.595$
FPN_1 2/1	0.313	3.247	1.315	1.731	1.866	1.893	1.888	$1.332^{cd} \pm 0.721$
$FPNT_2$ 2/2	0.335	1.818	1.820	1.825	1.876	1.890	1.890	$1.636^{ab} \pm 0.574$
FPJ_1 1/3	0.353	1.792	1.826	1.835	1.853	1.866	1.866	$1.627^{ab} \pm 0.562$
ค่าเฉลี่ย	0.323^{c}	1.462^{b}	1.665^{a}	1.746^{a}	1.788^{a}	1.810^{a}	1.814^{a}	



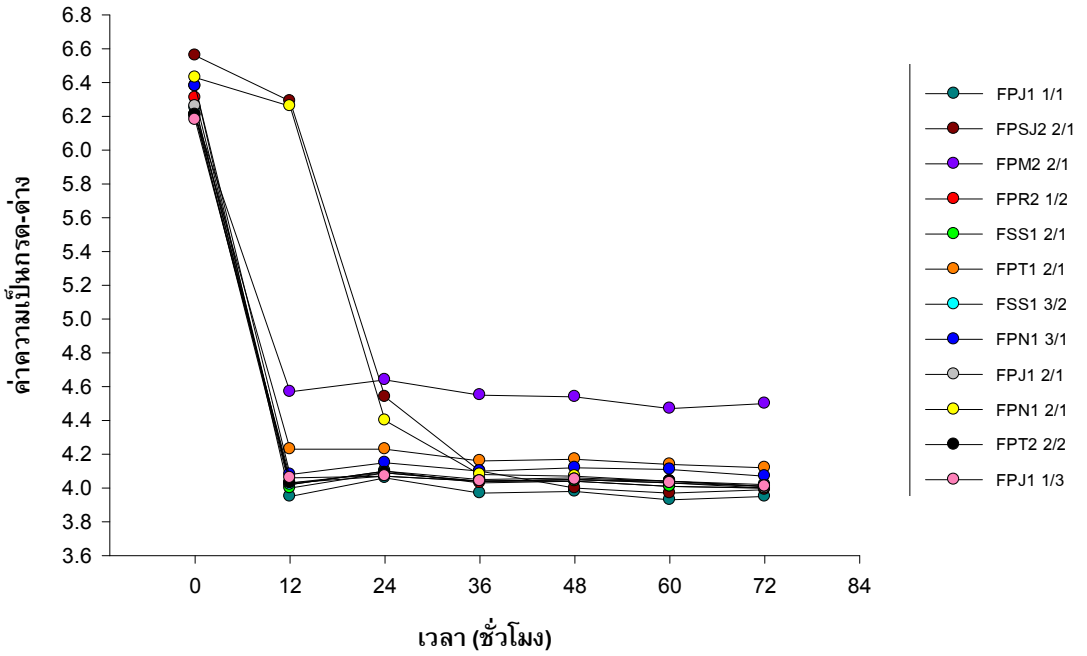
ภาพที่ 4.8 กราฟแสดงปริมาณกรดในระหว่างการเจริญของแบคทีเรียแลคติก

4.3.2.2 การทดสอบการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการคัดแยกแบคทีเรียแลคติกได้ทั้งหมด 11 ไอโซเลต จึงได้นำมาทำการทดสอบการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่าแบคทีเรียแลคติกทั้ง 11 ไอโซเลต มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($P \leq 0.05$) จะเห็นได้ว่าผลของความเป็นกรด-ด่างในชั่วโมงแรกๆ จะมีค่าเป็นกลาง และจะค่อยๆ ลดลงจนอยู่ในสภาวะที่เป็นกรดในเวลาต่อมา ดังชั่วโมงที่72 เชื้อที่ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดต่ำที่สุด คือ FPJ_1 1/1 , $FPSJ_1$ 2/1 , FPR_2 1/2 มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.95 , 3.99 และ 4.00 ตามลำดับ และเชื้อที่ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดน้อยที่สุด คือ FPT_1 2/1 มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.12 และในช่วงเวลาชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 จะมีการการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.298, 4.461, 4.211, 4.100, 4.097, 4.068 และ 4.056 ตามลำดับ ดังภาพที่ 4.9 ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($P \leq 0.05$) ซึ่งชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 12 จะมีการผลิตกรดแลคติกที่แตกต่างกับชั่วโมงอื่นๆ ส่วนชั่วโมงที่ 24, 36, 48, 60และ 72 จะมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างที่ไม่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในระหว่างการเจริญของแบคทีเรียแลคติก

รหัสเชื้อ		ระยะเวลา (ชั่วโมง)							ค่าเฉลี่ย
		0	12	24	36	48	60	72	
FPJ_1 1/1	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	6.38	3.95	4.06	3.97	3.98	3.93	3.95	$4.31^{b} \pm 0.916$
$FPSJ_1$ 2/1		6.56	6.29	4.54	4.10	4.00	3.97	3.99	$4.77^{a} \pm 1.144$
FPR_2 1/2		6.31	4.02	4.10	4.03	4.04	4.01	4.00	$4.35^{b} \pm 0.861$
FSG_1 2/1		6.21	4.00	4.09	4.04	4.04	4.01	4.00	$4.34^{b} \pm 0.824$
FPT_1 2/1		6.21	4.23	4.23	4.16	4.17	4.14	4.12	$4.46^{ab} \pm 0.770$
FSG_1 3/2		6.25	4.02	4.10	4.05	4.06	4.04	4.02	$4.36^{b} \pm 0.832$
FPN_1 3/1		6.38	4.08	4.15	4.10	4.12	4.11	4.07	$4.43^{ab} \pm 0.860$
FPJ_1 2/1		6.26	4.03	4.07	4.04	4.05	4.03	4.00	$4.35^{b} \pm 0.840$
FPN_1 2/1		6.43	6.26	4.40	4.08	4.07	4.04	4.01	$4.75^{a} \pm 1.094$
$FPNT_2$ 2/2		6.21	4.03	4.09	4.04	4.05	4.04	4.01	$4.35^{b} \pm 0.819$
FPJ_1 1/3		6.18	4.06	4.07	4.04	4.05	4.03	4.01	$4.34^{b} \pm 0.807$
ค่าเฉลี่ย		6.298^{c}	4.461^{b}	4.211^{ab}	4.100^{a}	4.097^{a}	4.068^{a}	4.056^{a}	



ภาพที่ 4.9 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในระหว่างการเจริญของแบคทีเรียแลคติก

4.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักปลาส้ม และคุณสมบัติด้านประสาทสัมผัส

การศึกษาการหมักปลาส้มด้วยกล้าเชื้อเริ่มต้น โดยการคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้ และผลิตกรดแลคติกได้ในปริมาณที่สูง ซึ่งเป็น ไอโซเลตที่ 46 (FPJ_1 1/1) มาศึกษาความเข้มข้น ปริมาณ อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมต่อการหมักปลาส้ม แล้วนำไปทำการประเมินผลทางประสาทสัมผัสโดยการชิม โดยแต่ละส่วนของการศึกษาการหมักปลาส้มด้วยกล้าเชื้อมีรายละเอียดดังนี้

4.4.1 การศึกษาความเข้มข้นของกล้าเชื้อที่เหมาะสมต่อการหมักปลาส้ม

การศึกษาเริ่มต้นด้วยการเตรียมกล้าเชื้อให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0, 10^4, 10^6, 10^8 และ 10^{10} CFU/ml นำมาทำการหมักปลาส้มในความเข้มข้นต่างๆ โดยใส่เชื้อปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ บรรจุในถุงพลาสติก ถุงละ 20 กรัม หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างวิเคราะห์

ปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ทุกๆ 12 ชั่วโมง การเปลี่ยนแปลงการหมักแสดงในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณกรดแลคติกในระหว่างการหมักปลาส้มด้วยความเข้มข้นต่างๆ ของกล้าเชื้อ

ความเข้มข้นของกล้าเชื้อ (CFU/ml)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณกรดแลคติกที่เวลาการหมัก (ชั่วโมง)							ค่าเฉลี่ย
		0	12	24	36	48	60	72	
0	pH	6.42	6.03	5.47	5.26	5.18	4.96	4.81	
	LA (%)	0.037	0.097	0.130	0.200	0.215	0.234	0.378	0.378±0.0004^{c}
10^4	pH	6.33	5.68	5.30	5.09	4.93	4.76	4.62	
	LA (%)	0.027	0.128	0.129	0.223	0.233	0.366	0.520	0.520±0.0006^{b}
10^6	pH	6.24	5.57	5.11	4.83	4.93	4.51	4.52	
	LA (%)	0.037	0.113	0.124	0.253	0.313	0.457	0.573	0.573±0.0002^{a}
10^8	pH	6.31	5.72	5.21	4.81	4.74	4.56	4.54	
	LA (%)	0.036	0.130	0.132	0.260	0.348	0.456	0.575	0.575±0.0003^{a}
10^{10}	pH	6.40	5.67	5.19	4.87	4.64	4.56	4.53	
	LA (%)	0.025	0.146	0.146	0.286	0.376	0.499	0.577	0.577±0.0001^{a}

จากตารางที่ 4.9 การหมักปลาส้มโดยการเติมกล้าเชื้อที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0, 10^4, 10^6, 10^8 และ 10^{10} CFU/ml พบว่าแต่ละระดับความเข้มข้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($P \leq 0.05$) คือ ความเข้มข้นที่ 10^6, 10^8 และ10^{10} CFU/ml สามารถผลิตกรดแลคติกไม่แตกต่างกัน และที่ความเข้มข้น 0 และ10^4 CFU/ml ผลิตกรด แลคติกแตกต่างกัน ผลการศึกษาพบว่า ความเข้มข้น 0 CFU/ml เป็นชุดควบคุมเป็นการหมักปลาส้มโดยไม่เติมกล้าเชื้อ มีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.42 เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.037 ที่อายุการหมัก 12 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 6.03 เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มขึ้นเป็น 0.097 ที่อายุการหมัก 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง ค่าความเป็น กรด-ด่างลดลงเป็น 5.47, 5.26, 5.18, 4.96 และ 4.81 ส่วนเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 0.130, 0.200, 0.215, 0.234 และ 0.378 %w/v ตามลำดับ ดังภาพที่ 4.10

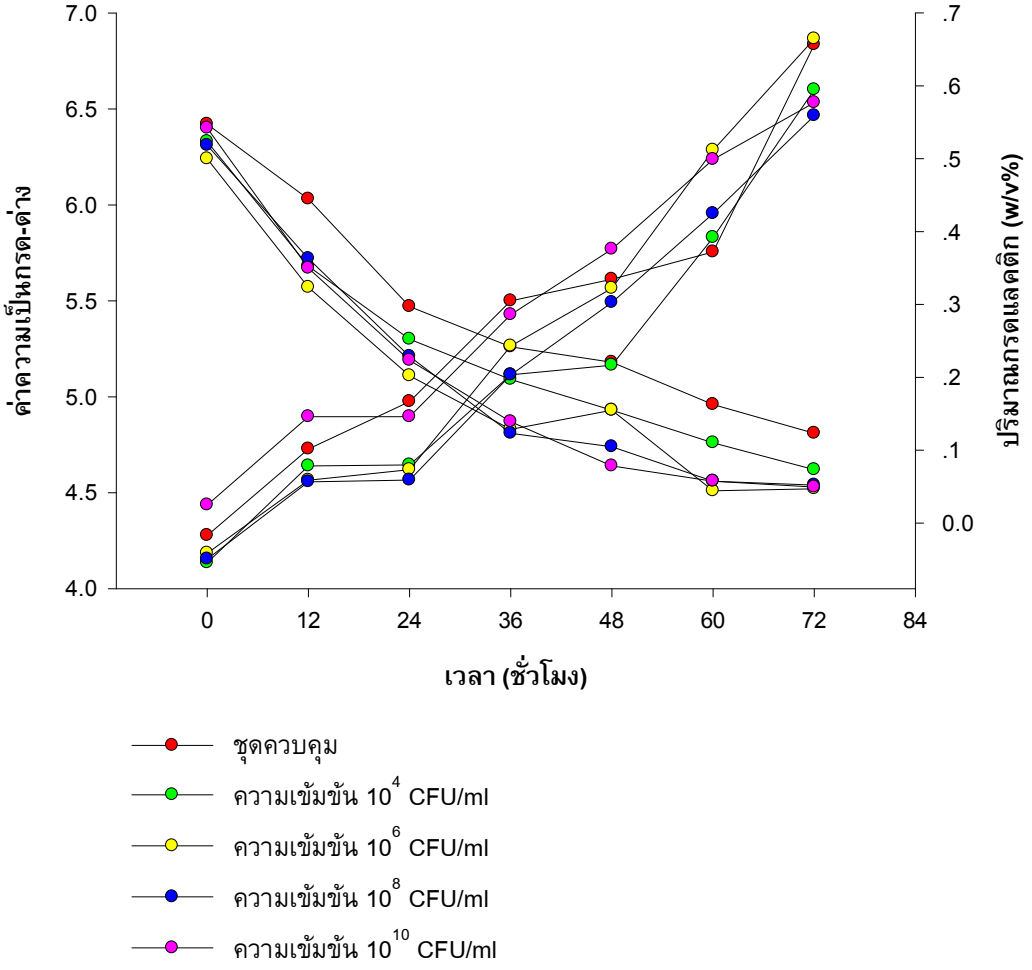
การหมักโดยใช้กล้าเชื้อความเข้มข้น 10^4 CFU/ml ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของการหมักเท่ากับ 6.33 และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.027 การเปลี่ยนแปลงที่อายุการหมัก 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.68, 5.30, 5.09, 4.93, 4.76 และ 4.62 มีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.128, 0.129, 0.223, 0.233, 0.366 และ 0.520 %w/v ตามลำดับ ดังภาพที่ 4.10

การหมักโดยใช้กล้าเชื้อความเข้มข้น 10^6 CFU/ml ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของการหมักเท่ากับ 6.24 และ เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.037 การเปลี่ยนแปลงที่อายุการหมัก 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.57, 5.11, 4.83, 4.93, 4.51 และ 4.52 มีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.113, 0.124, 0.253, 0.313, 0.457 และ 0.573 %w/v ตามลำดับ ดังภาพที่ 4.10

การหมักโดยใช้กล้าเชื้อในความเข้มข้น 10^8 CFU/ml ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของการหมักเท่ากับ 6.31 และ เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.036 การเปลี่ยนแปลงที่อายุการหมัก 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.72, 5.21, 4.81, 4.74, 4.56 และ 4.54 มีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.130, 0.132, 0.260, 0.348, 0.456 และ 0.575 %w/v ตามลำดับ ดังภาพที่ 4.10

การหมักโดยใช้กล้าเชื้อในความเข้มข้น 10^{10} CFU/ml ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของการหมักเท่ากับ 6.40 และ เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.025 การเปลี่ยนแปลงที่อายุการหมัก 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.67, 5.19, 4.87, 4.64, 4.56 และ 4.53 มีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.146, 0.146, 0.286, 0.376, 0.499 และ 0.577 %w/v ตามลำดับ ดังภาพที่ 4.10

การคัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมของกล้าเชื้อในผลิตปลาส้ม โดยใช้ความเข้มข้นที่ต่างกัน 5 ระดับ จะเห็นได้ว่าทุกชุดที่เติมกล้าเชื้อเกิดการหมักได้เร็วกว่าชุดควบคุม ส่วนความเข้มข้นที่ 10^6, 10^8 และ10^{10} CFU/ml มีการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง และเปอร์เซ็นต์กรด ให้ผลวิเคราะห์ทางสถิติไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการศึกษาการหมักปลาส้มในขั้นต่อไปจึงเลือกใช้ความเข้มข้นที่ 10^6 CFU/ml เพื่อเป็นการประหยัดกล้าเชื้อในการหมักปลาส้ม ในครั้งต่อไป



ภาพที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการหมักปลาส้มด้วยความเข้มข้นของกล้าเชื้อที่แตกต่างกัน

4.4.2 การศึกษาปริมาณกล้าเชื้อที่เหมาะสมต่อการหมัก

การศึกษาปริมาณกล้าเชื้อที่เหมาะสมต่อการหมัก โดยมีปริมาณที่ต่างกัน คือ 0.5, 0.6 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ นำมาทำการหมักปลาส้มในปริมาณต่างๆ บรรจุในถุงพลาสติก ถุงละ 20 กรัม หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่างทุกๆ 12 ชั่วโมง การเปลี่ยนแปลงการหมักแสดงในตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณกรดแลคติกในระหว่างการหมักปลาส้มด้วยปริมาณต่างๆ ของกล้าเชื้อ

ปริมาณกล้าเชื้อ	ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณกรดแลคติกที่เวลาการหมัก (ชั่วโมง)								ค่าเฉลี่ย
		0	12	24	36	48	60	72	
0	pH	6.45	6.03	5.57	5.21	5.14	4.92	4.82	
	LA (%)	0.038	0.097	0.113	0.132	0.217	0.289	0.334	0.334 ± 0.0004^{d}
0.5	pH	6.31	5.63	5.53	5.41	4.92	4.78	4.64	
	LA (%)	0.041	0.124	0.143	0.225	0.278	0.393	0.463	0.463 ± 0.0008^{c}
0.6	pH	6.41	5.60	5.58	5.23	4.86	4.72	4.62	
	LA (%)	0.038	0.123	0.132	0.231	0.298	0.412	0.486	0.486 ± 0.0000^{b}
1	pH	6.26	5.61	5.47	5.04	4.72	4.53	4.55	
	LA (%)	0.042	0.123	0.147	0.267	0.325	0.457	0.540	0.540 ± 0.0004^{a}

จากตารางที่ 4.10 การหมักปลาส้มโดยการเติมกล้าเชื้อในปริมาณ 0, 0.5, 0.6 และ 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณกล้าเชื้อแต่ละปริมาณมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($P \leq 0.05$) ผลการศึกษาพบว่า การหมักปลาส้มโดยไม่เติมกล้าเชื้อ มีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.45 เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.038 ที่อายุการหมัก 12 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 6.03 เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มขึ้นเป็น 0.097 ที่อายุการหมัก 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.57, 5.21, 5.14, 4.92 และ 4.82 ส่วนเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 0.113, 0.132, 0.217, 0.289 และ 0.334 ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 4.11

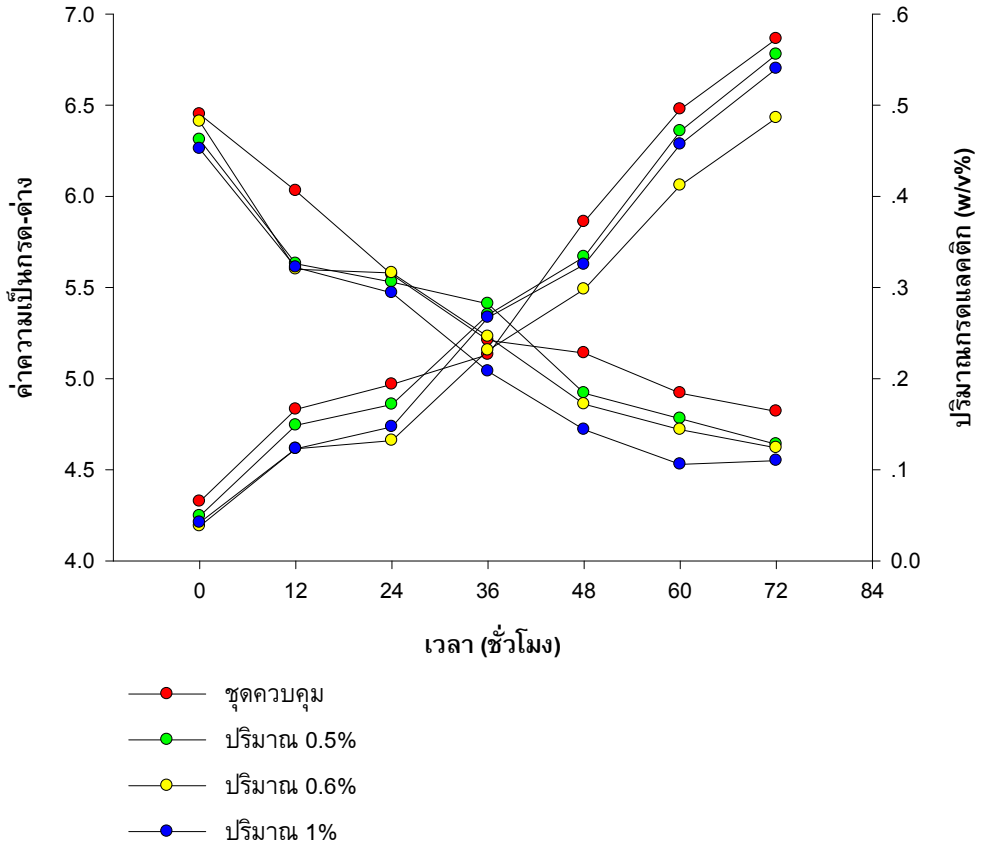
การหมักโดยใช้กล้าเชื้อปริมาณ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเป็น กรด-ด่างเริ่มต้นของการหมักเท่ากับ 6.31 และ เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.041 การเปลี่ยนแปลงที่อายุการหมัก 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.63, 5.53, 5.41, 4.92, 4.78 และ 4.64 มีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.124, 0.143, 0.225, 0.278, 0.393 และ 0.463 ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 4.11

การหมักโดยใช้กล้าเชื้อปริมาณ 0.6 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของการหมักเท่ากับ 6.41 และ เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.038 การเปลี่ยนแปลงที่อายุการหมัก 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.60, 5.58, 5.23, 4.86,

4.72 และ 4.62 มีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.123, 0.132, 0.231, 0.298, 0.412 และ0.486 ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 4.11

การหมักโดยใช้กล้าเชื้อปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของการหมักเท่ากับ 6.26 และ เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.042 การเปลี่ยนแปลงที่อายุการหมัก 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.61, 5.47, 5.04, 4.72, 4.53 และ 4.55 มีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.123, 0.147, 0.267, 0.325, 0.457 และ0.540 ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 4.11

การคัดเลือกปริมาณที่เหมาะสมของกล้าเชื้อในผลิตปลาส้ม โดยใช้ปริมาณที่แตกต่างกัน 4 ระดับ จะเห็นได้ว่าทุกชุดที่เติมกล้าเชื้อเกิดการหมักได้เร็วกว่าชุดควบคุม ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเติมกล้าเชื้อเริ่มต้นที่ 1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงต่ำสุด และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกมากที่สุด ดังนั้นการศึกษาการหมักปลาส้มในขั้นต่อไปจึงเลือกใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นที่ปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ในการหมักครั้งต่อไป



ภาพที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ระหว่างการหมักปลาส้มด้วยปริมาณกล้าเชื้อที่ต่างกัน

4.4.3 การศึกษาอุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมต่อการหมัก

การศึกษาต่อไปเป็นการหมักปลาส้มโดยการหมักแบบพื้นบ้าน (ทรีทเมนต์ที่ 1) และการหมักโดยเติมกล้าเชื้อในความเข้มข้น 10^6 และปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ (ทรีทเมนต์ที่ 2) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 3 ระดับได้แก่ อุณหภูมิห้อง, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง โดยข้อมูลการหมักในแต่ละสภาวะแสดงในตารางที่ 4.11 และ 4.12

ตารางที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของปลาส้มด้วยการหมักแบบไม่เติมกล้าเชื้อ และ เติมกล้าเชื้อ ที่อุณหภูมิห้อง 30 และ 37 องศาเซลเซียส

ทรีทเมนต์	อุณหภูมิ	ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เวลาต่างๆ (ชั่วโมง)						เฉลี่ย
		0	24	48	72	96	120	
1	อุณหภูมิห้อง	6.40	5.48	5.14	4.82	4.49	4.44	$4.443^{f} \pm 0.004$
2		6.28	5.49	4.31	3.94	4.01	4.00	$4.000^{c} \pm 0.000$
1	30 องศา	6.37	5.45	5.09	4.79	4.41	4.38	$4.376^{e} \pm 0.004$
2	เซลเซียส	6.31	5.34	4.28	4.06	4.02	3.98	$3.980^{b} \pm 0.000$
1	37 องศา	6.33	5.42	5.10	4.77	4.36	4.32	$4.320^{d} \pm 0.000$
2	เซลเซียส	6.40	5.32	4.06	4.13	4.04	3.96	$3.960^{a} \pm 0.000$

หมายเหตุ ทรีทเมนต์ที่ 1 คือการหมักแบบพื้นบ้าน

ทรีทเมนต์ที่ 2 คือการหมักโดยเติมกล้าเชื้อความเข้มข้น 10^6 และปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติกของปลาส้มด้วยการหมักแบบไม่เติมกล้าเชื้อ และ เติมกล้าเชื้อ ที่อุณหภูมิห้อง 30 และ 37 องศาเซลเซียส

ทรีทเมนต์	อุณหภูมิ	ปริมาณกรดแลคติกที่เวลาต่างๆ (ชั่วโมง)						เฉลี่ย
		0	24	48	72	96	120	
1	อุณหภูมิห้อง	0.037	0.131	0.217	0.377	0.456	0.467	$0.467^{f} \pm 0.0004$
2		0.041	0.150	0.331	0.547	0.563	0.570	$0.570^{c} \pm 0.0004$
1	30 องศา	0.036	0.132	0.218	0.379	0.467	0.475	$0.474^{e} \pm 0.0008$
2	เซลเซียส	0.042	0.153	0.344	0.557	0.567	0.575	$0.575^{b} \pm 0.0008$
1	37 องศา	0.038	0.142	0.232	0.386	0.477	0.482	$0.482^{d} \pm 0.000$
2	เซลเซียส	0.042	0.160	0.348	0.568	0.573	0.583	$0.583^{a} \pm 0.0004$

หมายเหตุ ทรีทเมนต์ที่ 1 คือการหมักแบบพื้นบ้าน

ทรีทเมนต์ที่ 2 คือการหมักโดยเติมกล้าเชื้อความเข้มข้น 10^6 และปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์

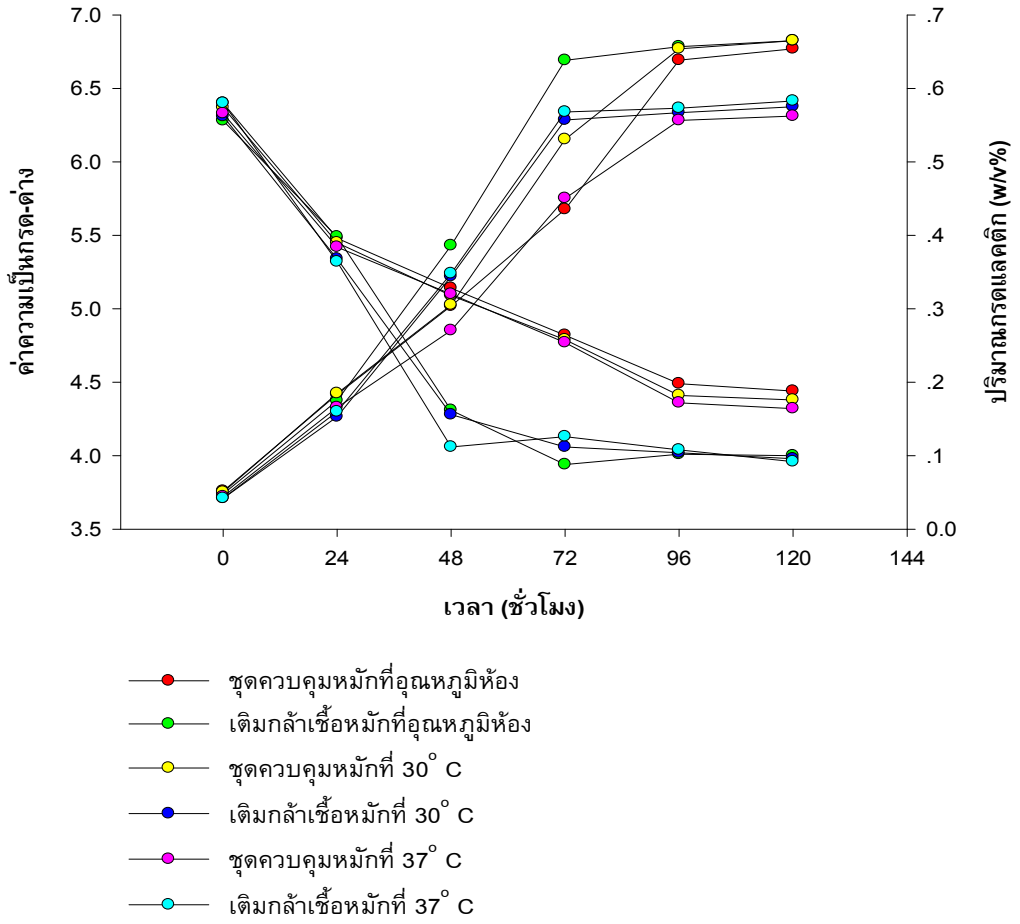
ผลของการหมักปลาส้มระหว่างสูตรพื้นบ้าน และเติมกล้าเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง, 30 และ 37 องศาเซลเซียส จากตารางที่ 4.11 และตารางที่ 4.12 พบว่าการหมักทั้ง 2 แบบ คือการเติมกล้าเชื้อ และไม่เติมกล้าเชื้อ และอุณหภูมิต่างๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($P \leq 0.05$)

การหมักที่อุณหภูมิห้อง พบว่าทรีทเมนต์ที่ 1 เป็นชุดควบคุมที่ไม่เติมกล้าเชื้อ การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.40 ปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 0.037 ที่อายุการหมัก 24 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.48 ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นเป็น 0.131 ที่อายุการหมัก 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.14, 4.82, 4.49 และ 4.44 ส่วนปริมาณกรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 0.217, 0.377, 0.456 และ 0.467 ตามลำดับ ส่วนจำนวนเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงจากจำนวนเริ่มต้น 4.5×10^6 เป็น 8.76×10^8, 29.63×10^8, 87.31×10^8, 145.96×10^8 และ 245×10^8 CFU/g พบว่าทรีทเมนต์ที่ 2 เป็นชุดควบคุมที่เติมกล้าเชื้อ การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.28 ปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 0.041 ที่อายุการหมัก 24 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.49 ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นเป็น 0.150 ที่อายุการหมัก 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 4.31, 3.94, 4.01 และ 4.00 ส่วนปริมาณกรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 0.331, 0.547, 0.563 และ 0.570

ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.12) ส่วนจำนวนเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงจากจำนวนเริ่มต้น 8.15 x 10^6 เป็น 13.84 x 10^8, 72.45 x 10^8, 102.31 x 10^8, 188.12 x 10^8 และ 289.23 x 10^8 CFU/g

การหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าทรีทเมนต์ที่ 1 เป็นชุดควบคุมที่ไม่เติมกล้าเชื้อ การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.37 ปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 0.036 ที่อายุการหมัก 24 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.45 ปริมาณกรด แลคติกเพิ่มขึ้นเป็น 0.132 ที่อายุการหมัก 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.09, 4.79, 4.41 และ 4.38 ส่วนปริมาณกรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 0.218, 0.379, 0.467 และ 0.475 ตามลำดับ ส่วนจำนวนเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงจากจำนวนเริ่มต้น 5.48 x 10^6 เป็น 8.11 x 10^8, 30.12 x 10^8, 94.31 x 10^8, 132.23 x 10^8 และ 2.36 x 10^8 CFU/g พบว่า ทรีทเมนต์ที่ 2 เป็นชุดควบคุมที่เติมกล้าเชื้อ การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.31 ปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 0.042 ที่อายุการหมัก 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.34, 4.28, 4.06, 4.02 และ 3.98 ส่วนปริมาณกรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 0.153, 0.344, 0.557, 0.567 และ0.575 ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.12)ส่วนจำนวนเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงจากจำนวนเริ่มต้น 10.91 x 10^6 เป็น 24.10 x 10^8, 57.23 x 10^8, 103.57 x 10^8, 158.32 x 10^8 และ 281.20 x 10^8 CFU/g

การหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าทรีทเมนต์ที่ 1 เป็นชุดควบคุมที่ไม่เติมกล้าเชื้อ การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.33 ปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 0.038 ที่อายุการหมัก 24 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.42 ปริมาณกรด แลคติกเพิ่มขึ้นเป็น 0.142 ที่อายุการหมัก 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.10, 4.77, 4.36 และ 4.32 ส่วนปริมาณกรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 0.232, 0.386, 0.477 และ 0.482 ตามลำดับ ส่วนจำนวนเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงจากจำนวนเริ่มต้น 4.89 x 10^6 เป็น 29.81 x 10^8, 72.64 x 10^8, 124.78 x 10^8, 256.35 x 10^8 และ 288.79 x 10^8 CFU/g พบว่าทรีทเมนต์ที่ 2 เป็นชุดควบคุมที่เติมกล้าเชื้อ การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.40 ปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 0.042 ที่อายุการหมัก 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 5.32, 4.06, 4.13, 4.04 และ 3.96 ส่วนปริมาณกรด แลคติกมีค่าเท่ากับ 0.160, 0.348, 0.568, 0.573 และ0.583 ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.12) ส่วนจำนวนเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงจากจำนวนเริ่มต้น 4.89 x 10^6 เป็น 35.16 x 10^8, 98.12 x 10^8 , 187.31 x 10^8, 263.24 x 10^8 และ 296.76 x 10^8 CFU/g



ภาพที่ 4.12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ระหว่างการหมักปลาส้มที่อุณหภูมิห้อง 30 , 37 องศาเซลเซียส ด้วยการเติมกล้าเชื้อ และ ไม่เติมกล้าเชื้อ

4.4.4 การประเมินผลทางด้านประสาทสัมผัส

จากการศึกษาการประเมินผลทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ปลาส้ม โดยตัวแทนผู้ที่รับประทานปลาส้ม การศึกษาส่วนนี้เริ่มต้นด้วยนำตัวอย่างปลาส้มมาหมักโดยชุดควบคุม คือ ไม่เติมกล้าเชื้อ และเติมกล้าเชื้อสกุล *Lactobacillus* ที่ความเข้มข้น 10^6 และปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ แล้วหมักที่อุณหภูมิห้อง 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2, 3 และ 4 วัน นำตัวอย่างมาให้ผู้ชิมจำนวน 30 คน การทดสอบครั้งนี้มีปลาส้ม 18 ตัวอย่าง โดยชุดที่ 1 เป็นชุดควบคุม เป็นตัวอย่างปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน ชุดที่ 2 เป็นชุดควบคุม เป็นตัวอย่างปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน ชุดที่ 3 เป็นชุดควบคุม เป็นตัวอย่าง

ปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน ชุดที่ 4 เป็นชุดควบคุม เป็นตัวอย่างปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน ชุดที่ 5 เป็นชุดควบคุม เป็นตัวอย่างปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน ชุดที่ 6 เป็นชุดควบคุม เป็นตัวอย่างปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน ชุดที่ 7 เป็นชุดควบคุม เป็นตัวอย่างปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน ชุดที่ 8 เป็นชุดควบคุม เป็นตัวอย่างปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน ชุดที่ 9 เป็นชุดควบคุม เป็นตัวอย่างปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน ชุดที่ 10 เป็นตัวอย่างปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน ชุดที่ 11 เป็นตัวอย่างปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน ชุดที่ 12 เป็นตัวอย่าง ปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน ชุดที่ 13 เป็นตัวอย่างปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน ชุดที่ 14 เป็นตัวอย่างปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน ชุดที่ 15 เป็นตัวอย่างปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน ชุดที่ 16 เป็นตัวอย่างปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน ชุดที่ 17 เป็นตัวอย่างปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน ชุดที่ 18 เป็นตัวอย่างปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อ หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน ผลการประเมินแสดงดังตาราง 4.13 ซึ่งปลาส้ม 18 ตัวอย่างจะถูกแบ่งเป็น 6 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 จะเป็นตัวอย่างปลาส้มชุดที่ 1, 2 และ3 ซึ่งชุดที่ 1 ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากที่สุด กลุ่มที่ 2 จะเป็นตัวอย่างปลาส้มชุดที่ 4, 5 และ6 ซึ่งชุดที่ 5 ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากที่สุด กลุ่มที่ 3 จะเป็นตัวอย่างปลาส้มชุดที่ 7, 8 และ9 ซึ่งชุดที่ 9 ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากที่สุด กลุ่มที่ 4 จะเป็นตัวอย่างปลาส้มชุดที่ 10, 11 และ12 ซึ่งชุดที่ 12 ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากที่สุด กลุ่มที่ 5 จะเป็นตัวอย่างปลาส้มชุดที่ 13, 14 และ15 ซึ่งชุดที่ 14 ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากที่สุด กลุ่มที่ 6 จะเป็นตัวอย่างปลาส้มชุดที่ 16, 17 และ18 ซึ่งชุดที่ 17 ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากที่สุด แล้วนำปลาส้มแต่ละชุดที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมาประเมินอีกครั้งดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 4.13 การประเมินผลทางด้านประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ปลาส้ม

รหัสตัวอย่าง	ลักษณะคุณภาพ			
	สี	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
218	6.83 [a]	6.50 [b]	6.23 [ab]	6.57 [b]
352	5.50 [b]	7.10 [a]	5.93 [b]	6.50 [b]
784	6.33 [a]	7.86 [a]	6.83 [a]	7.03 [a]
141	6.33 [ab]	6.83 [a]	6.20 [ab]	6.43 [a]
945	6.83 [a]	6.97 [a]	6.68 [a]	6.87 [a]
647	6.17 [b]	6.20 [a]	6.17 [ab]	6.23 [a]
913	7.33 [ab]	5.43 [b]	5.73 [b]	6.97 [b]
497	7.50 [a]	7.63 [a]	7.43 [a]	7.63 [a]
512	6.33 [b]	5.17 [b]	5.33 [b]	5.30 [c]
389	6.13 [b]	6.03 [a]	5.73 [b]	6.47 [b]
523	7.33 [b]	6.20 [a]	6.20 [a]	6.33 [b]
874	7.33 [b]	6.43 [a]	6.43 [a]	6.50 [b]
411	5.83 [c]	5.96 [b]	6.10 [b]	6.21 [ab]
795	7.33 [a]	6.83 [a]	7.39 [a]	7.23 [a]
674	6.83 [b]	6.03 [b]	7.21 [a]	7.08 [a]
193	5.33 [b]	6.17 [a]	5.93 [b]	5.87 [b]
947	5.50 [b]	6.08 [a]	6.17 [ab]	6.22 [ab]
251	6.33 [a]	6.23 [a]	6.83 [a]	6.76 [a]

หมายเหตุ : รหัส 389 = ปลาส้มจากชุดที่ 1 รหัส 218 = ปลาส้มจากชุดที่ 10
รหัส 523 = ปลาส้มจากชุดที่ 2 รหัส 352 = ปลาส้มจากชุดที่ 11
รหัส 874 = ปลาส้มจากชุดที่ 3 รหัส 784 = ปลาส้มจากชุดที่ 12
รหัส 411 = ปลาส้มจากชุดที่ 4 รหัส 141 = ปลาส้มจากชุดที่ 13
รหัส 795 = ปลาส้มจากชุดที่ 5 รหัส 945 = ปลาส้มจากชุดที่ 14
รหัส 674 = ปลาส้มจากชุดที่ 6 รหัส 647 = ปลาส้มจากชุดที่ 15
รหัส 193 = ปลาส้มจากชุดที่ 7 รหัส 913 = ปลาส้มจากชุดที่ 16
รหัส 947 = ปลาส้มจากชุดที่ 8 รหัส 497 = ปลาส้มจากชุดที่ 17
รหัส 251 = ปลาส้มจากชุดที่ 9 รหัส 512 = ปลาส้มจากชุดที่ 18

การประเมินผลทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ปลาส้ม โดยตัวแทนผู้ที่รับประทานปลาส้ม โดยนำตัวอย่างปลาส้มที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภค คือชุดที่ 1, 5, 9, 12, 14 และ17 มีผลการประเมินในแต่ละลักษณะมีค่าเฉลี่ยดังนี้

สีของปลาส้มรหัสที่ได้รับคะแนนความชอบมากที่สุด คือ รหัส 945 คือ ปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วันได้คะแนนความชอบเท่ากับ 7.83 รองลงมาคือรหัส 784, 497, 389 และ 795 คือปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน, ปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน, ปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน และ ปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน ได้คะแนนความชอบเท่ากับ 7.33, 7.33 ,7.33 และ 6.83 ตามลำดับ และรหัส 251 คือปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน ได้คะแนนความชอบน้อยที่สุดเท่ากับ 6.33

กลิ่นของปลาส้มรหัสที่ได้รับคะแนนความชอบมากที่สุด คือ รหัส 497 คือ ปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วันได้คะแนนความชอบเท่ากับ 6.96 รองลงมาคือรหัส 945, 389, 795 และ 784 คือปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน, ปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน, ปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน และ ปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน ได้คะแนนความชอบเท่ากับ 6.83, 6.43, 6.33 และ 6.20 ตามลำดับ และรหัส 251 คือปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน ได้คะแนนความชอบน้อยที่สุดเท่ากับ 6.17

รสชาติของปลาส้มรหัสที่ได้รับคะแนนความชอบมากที่สุด คือ รหัส 945 คือ ปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วันได้คะแนนความชอบเท่ากับ 7.39 รองลงมาคือรหัส 795, 497, 389 และ784 คือปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน, ปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน, ปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน และ ปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน ได้คะแนนความชอบเท่ากับ 7.21, 6.93, 6.43 และ 6.20 ตามลำดับ และรหัส 251 คือปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน ได้คะแนนความชอบน้อยที่สุดเท่ากับ 5.93

ความชอบโดยรวมของปลาส้มรหัสที่ได้รับคะแนนความชอบมากที่สุด คือ รหัส 945 คือ ปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วันได้คะแนนความชอบเท่ากับ 7.23 รองลงมาคือรหัส 784, 389, 795และ497 คือปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิห้องเป็น

เวลา 4 วัน, ปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน, ปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน และปลาส้มที่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วันได้คะแนนความชอบเท่ากับ 7.08, 6.50, 6.33 และ 6.21 ตามลำดับ และรหัส 251 คือปลาส้มที่ไม่เติมกล้าเชื้อหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน ได้คะแนนความชอบน้อยที่สุดเท่ากับ 5.87

เมื่อพิจารณาจากค่าเฉลี่ยของการชิมปลาส้มจากผู้บริโภคแล้วจะเห็นได้ว่าตัวอย่าง ปลาส้มชุดที่ 1, 5, 9, 12, 14 และ17 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($P \leq 0.05$) ซึ่งปลาส้มชุดที่ 5, 14 และ 17 เป็นตัวอย่างปลาส้มที่มีค่าเฉลี่ยของ สี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.14 ผลการเลือกปลาส้มจากการประเมินผลทางด้านประสาทสัมผัส

รหัสตัวอย่าง	ลักษณะคุณภาพ			
	สี	**กลิ่น**	**รสชาติ**	**ความชอบโดยรวม**
784	7.33 ^{a}	6.20 ^{a}	6.20 ^{b}	7.08^{a}
945	7.83 ^{a}	6.83 ^{a}	7.39 ^{a}	7.23^{a}
497	7.33 ^{a}	6.96 ^{a}	6.93 ^{ab}	6.21^{ab}
389	7.33 ^{a}	6.43 ^{a}	6.43 ^{b}	6.50 ^{ab}
795	6.83 ^{ab}	6.33 ^{a}	7.21 ^{a}	6.33 ^{ab}
251	6.33 ^{ab}	6.17 ^{a}	5.93 ^{c}	5.87^{b}

หมายเหตุ : รหัส 389 = ปลาส้มจากชุดที่ 1 รหัส 784 = ปลาส้มจากชุดที่ 12
รหัส 795 = ปลาส้มจากชุดที่ 5 รหัส 945 = ปลาส้มจากชุดที่ 14
รหัส 251 = ปลาส้มจากชุดที่ 9 รหัส 497 = ปลาส้มจากชุดที่ 17

4.5 การศึกษาโภชนศาสตร์จากตัวอย่างปลาส้ม

จากการศึกษาโภชนศาสตร์จากตัวอย่างปลาส้มที่ผู้บริโภคนิยมรับประทานมากที่สุด โดยประเมินผลทางด้านประสาทสัมผัส ซึ่งการหาโภชนศาสตร์นี้จะเป็นการหาเปอร์เซ็นต์เถ้า ความชื้น โปรตีน ไขมัน และ คาร์โบไฮเดรต โดยปลาส้มที่นำมาศึกษามีปริมาณเถ้า เท่ากับ 23.89 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเท่ากับ 7.54 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนเท่ากับ 46.12 เปอร์เซ็นต์ ไขมันเท่ากับ 12.38 เปอร์เซ็นต์ และคาร์โบไฮเดรตเท่ากับ 10.07 เปอร์เซ็นต์แสดงดังตารางที่ 4.15

ตารางที่ 4.15 แสดงโภชนศาสตร์ของปลาส้ม

รายการวิเคราะห์	**ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)**
เถ้า	23.89
ความชื้น	7.54
โปรตีน	46.12
ไขมัน	12.38
คาร์โบไฮเดรต	10.07

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

5.1 ศึกษาการคัดแยกจุลินทรีย์หัวเชื้อบริสุทธิ์

จากการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และแบคทีเรียแลคติก จากตัวอย่างปลาส้ม 12 ตัวอย่าง พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 1.85×10^7 CFU/g และปริมาณแบคทีเรียแลคติกเท่ากับ 4.27×10^9 CFU/g และสามารถคัดแยกแบคทีเรียได้ 57 ไอโซเลต ซึ่งได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Paludan-Muller, *et al.* (2001) ที่ได้ทำการศึกษาปริมาณแบคทีเรียแลคติกจากตัวอย่างปลาส้ม โดยจะมีแบคทีเรียแลคติกประมาณ $10^8 - 10^9$ CFU/g ทั้งนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ ปวีณา สังสีโห และ เพ็ญแข วิจิตโชติ (2546) ที่ได้ทำการศึกษาหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และ แบคทีเรียแลคติกจากตัวอย่างปลาส้ม โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 1.02×10^7 CFU/g และแบคทีเรียแลคติกเท่ากับ 1.96×10^6 CFU/g

5.2 การจำแนกแบคทีเรียแลคติก

โดยทั่วไปแบคทีเรียแลคติกจะติดสีแกรมบวก มีรูปร่างกลม อยู่เดี่ยวๆ หรืออยู่เป็นกลุ่มและท่อนยาว มักต่อกันเป็นสาย ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างเอนไซม์แคตาเลส จะเจริญได้ดีในอาหารที่มีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545) จากการศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้ง 57 ไอโซเลต พบว่าแบคทีเรียทั้ง 57 ไอโซเลต ติดสีแกรมบวก และไม่สร้างเอนไซม์แคตาเลส มีรูปร่างท่อนจำนวน 45 ไอโซเลต และรูปร่างกลมจำนวน 12 ไอโซเลต และได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียจนเหลือ 12 ไอโซเลต แล้วได้ทำการทดสอบการสร้างกรด โดยไม่มีการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์จากน้ำตาลกูลโคส จำนวน 11 ไอโซเลต และมีการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์จากน้ำตาลกูลโคส จำนวน 1 ไอโซเลต ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ปิ่นมณี ขวัญเมือง (2546) ได้นำแบคทีเรียแลคติก 196 ไอโซเลต ที่คัดแยกได้มาศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา และการสร้างกรด พบว่ามีแบคทีเรียแลคติกรูปร่างท่อน และไม่มีการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์จากน้ำตาลกูลโคส จำนวน 117 ไอโซเลต ส่วนแบคทีเรียแลคติกรูปร่างกลม และไม่มีการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์จากน้ำตาลกูลโคส จำนวน 40 ไอโซเลต แบคทีเรียแลคติกรูปร่างท่อน และมีการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์จากน้ำตาลกูลโคส จำนวน 30 ไอโซเลต และแบคทีเรียแลคติกรูปร่าง กลม และมีการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์จากน้ำตาลกูลโคส จำนวน 9 ไอโซเลต

5.2.1 การจำแนกสายพันธุ์จุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักปลาส้มคือแบคทีเรียพวก *Staphylococcus Micrococcus*, *Bacillus*, *Pediococcus cerevisiae, Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus brevis* (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2536) จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีทางชีวเคมี ทำให้ทราบว่ามีแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* spp. จำนวน 8 ไอโซเลต *Streptococcus* spp. จำนวน 2 ไอโซเลต และ *Corynebacterium* spp. จำนวน 1 ไอโซเลต และได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Phikunthong Kopermsub, *et al*. (2006) ได้ทำการตรวจสอบสายพันธุ์แบคทีเรียแลคติกจากตัวอย่างปลาส้มพบว่ามีแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* spp. 79 เปอร์เซ็นต์, *Pediococcus* spp. 18 เปอร์เซ็นต์ และ *Aerococcus* spp. 3 เปอร์เซ็นต์ และ Paludan-Muller,*et al*. (2001) ได้ทำการศึกษาแบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ในตัวอย่างปลาส้ม พบว่ามีแบคทีเรียพวก *Lactobacillus acidophilus, Pediococcus pentosaceus* และ *Weisella confusa* จะพบมากในตัวอย่างปลาส้ม

5.3 การทดสอบประสิทธิภาพหัวเชื้อที่ดี

5.3.1 การทดสอบการต้านเชื้อก่อโรค

จากการศึกษานี้ได้นำแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้ง 11 ไอโซเลต มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคทั้ง 3 สายพันธุ์ ประกอบด้วย *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Bacillus cereus* TISTR 687, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 โดยทั้ง 3 สายพันธุ์นี้เป็นแบคทีเรียที่มีการปนเปื้อนในอาหาร และทำให้อาหารเป็นพิษ P. Singleton (1997) ซึ่งแบคทีเรียแลคติกทั้ง 11 ไอโซเลตสามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus cereus* TISTR 687, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 ได้ โดยธรรมชาติแบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างสารมายับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ได้ ซึ่งส่วนใหญ่แล้วเป็นเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่มีความเกี่ยวข้องกัน โดยกลไกการยับยั้งมีความจำเพาะมากกว่าสารปฏิชีวนะ สารที่แบคทีเรียสร้างขึ้นมานี้ถูกเรียกว่า แบคเทอริโอซิน จัดเป็นสารประกอบโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการให้มีในผลิตภัณฑ์ ซึ่งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติกจะให้กรดอินทรีย์ คือกรดแลคติกเป็นสาร เมตาบอไลด์ทุติยภูมิ ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของซับสเตรตลดต่ำลง ความเป็นกรดสูง และค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ

จึงมีผลยับยั้งจุลินทรีย์ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2549) และได้สอดคล้องกับการศึกษาของ ปิ่นมณี ขวัญเมือง(2546) ได้มีการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคด้วยแบคทีเรียแลคติกทั้ง 14 ไอโซเลต โดยเชื้อก่อโรคประกอบด้วย *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 25953 และ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473 พบว่ามีแบคทีเรียแลคติกจำนวน 7 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคทั้ง 3 ชนิดได้ มี 2 ไอโซเลตที่ยับยั้ง *B. cereus* และ *S. aureus* แต่ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญ *L. mesenteroides* มี 1 ไอโซเลตที่ยับยั้ง *L. mesenteroides* และ *S. aureus* แต่ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญ *B. cereus* มี 2 ไอโซเลตที่ยับยั้ง *B. cereus* และ *L. mesenteroides* แต่ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญ *S. aureus* มี 1 ไอโซเลตที่ยับยั้ง *B. Cereus* แต่ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญ *L. mesenteroides* และ *S. aureus* และมี 1 ไอโซเลต ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคทั้ง 3 ชนิด ซึ่ง Zychowicz, *et al*. (1975) ได้ศึกษาว่าการบริโภคแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* จะช่วยลดการเป็นพาหะของเชื้อ *Salmonella* ในเด็ก และผู้ใหญ่ที่เคยได้รับเชื้อนี้มาก่อน

5.3.2 การทดสอบการสร้างกรด และการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง

5.3.2.1 การทดสอบการสร้างกรด และการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการทดสอบการสร้างกรดแลคติกของแบคทีเรียแลคติก พบว่าไอโซเลต FPJ_1 1/1 ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่ม *Lactobacillus* spp. สามารถผลิตกรดแลคติกได้มากที่สุดได้ร้อยละ 1.986 และไอโซเลต FPT_1 2/1 เป็นแบคทีเรียกลุ่ม *Streptococcus* spp. สามารถผลิตกรดได้น้อยที่สุด ได้ร้อยละ 1.572 และค่าความเป็นกรด-ด่างในชั่วโมงแรกๆ จะมีค่าเป็นกลาง และจะค่อยๆ ลดลงจนอยู่ในสภาวะที่เป็นกรดในเวลาต่อมา โดยไอโซเลต FPJ_1 1/1 ที่เป็นแบคทีเรียกลุ่ม *Lactobacillus* spp. ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดต่ำที่สุดมีค่าความเป็น กรด-ด่างเท่ากับ 3.95 และไอโซเลต FPT_1 2/1 ที่เป็นแบคทีเรียกลุ่ม *Streptococcus* spp. ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดน้อยที่สุดมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.12 ซึ่งได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ อำนาจ เจรีรัตน์ (2540) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการสร้างกรดแลคติกของแบคทีเรียแลคติก พบว่า *Lactobacillus* sp.I4 ให้ปริมาณกรดแลคติกสูงสุดร้อยละ 4.68 และทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเป็น 3.93

5.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักปลาส้ม และคุณสมบัติด้านประสาทสัมผัส

5.4.1 การศึกษาความเข้มข้น และปริมาณของกล้าเชื้อที่เหมาะสมต่อการหมักปลาส้ม

จากการทดลองหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกล้าเชื้อต่อการหมักปลาส้ม ซึ่งความเข้มข้นที่ได้ทำการทดลอง คือ 0, 10^4, 10^6, 10^8 และ 10^{10} CFU/ml พบว่าความเข้มข้นที่ 10^6, 10^8 และ 10^{10} CFU/ml สามารถผลิตกรดแลคติกได้สูงใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงทำการเลือกใช้ความเข้มข้นที่ 10^6 CFU/ml ไปทำการทดลอง และทำการทดลองหาปริมาณกล้าเชื้อที่เหมาะสมต่อการหมัก ซึ่งปริมาณที่ได้ทำการทดลอง คือ 0.5, 0.6 และ1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเติมกล้าเชื้อลงไป 1 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ผลิตกรดแลคติกได้สูงที่สุด และได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ ชลันธร วิชาศิลป์ (2548) ที่ได้ทำการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกล้าเชื้อ โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของกล้าเชื้อเท่ากับ 10^6 CFU/ml และได้เติมกล้าเชื้อลงไปปริมาณ 0.66 เปอร์เซ็นต์

5.4.2 การศึกษาอุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมต่อการหมักปลาส้ม

ปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่สำคัญประการหนึ่งต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์โดยทั่วไป คือ อุณหภูมิ การหมักที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นการหมักโดยควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกจะต่างกันในบางช่วงของระยะเวลาการหมัก จากการทดลองจะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ทำให้แบคทีเรียแลคติกเติบโตได้ไว และทำให้ผลิตกรดแลคติกได้มากที่สุด แต่เป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการหมัก เพราะจะทำให้น้ำจากปลาส้มออกมามากเกินกว่าปกติ และอุณหภูมิห้องจะทำให้แบคทีเรียแลคติกผลิตกรดได้น้อยที่สุด เพราะอุณหภูมิห้องจะไม่คงที่ และเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมัก คือหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะทำให้การหมักปลาส้มดีที่สุด ซึ่งได้สอดคล้องกับการศึกษาของ ปิ่นมณี ขวัญเมือง (2546) ได้ทำการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการหมัก พบว่าอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการหมัก เพราะในการหมักของอุณหภูมิห้องจะมีอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงได้ตลอด และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะได้ให้เกิดการหมักได้เร็วมากทำให้มีน้ำออกมามาก ดังนั้นในช่วงอุณหภูมิดังกล่าวจึงไม่เหมาะสมต่อการหมัก เท่ากับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

5.4.3 การตรวจสอบคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ปลาส้ม

จากการตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยวิธีการให้คะแนนความชอบซึ่งพิจารณาลักษณะคุณภาพในด้าน สี, กลิ่น, รสชาติ และความชอบโดยรวม พบว่าปลาส้มชุดที่ 14 เป็นการหมักปลาส้มโดยเติมกล้าเชื้อเป็นเวลา 3 วันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำให้ ได้รับคะแนนความชอบมากที่สุด โดยผู้ทดสอบนิยมบริโภคมากที่สุด

5.5 การศึกษาโภชนศาสตร์จากตัวอย่างปลาส้ม

จากการศึกษาโภชนศาสตร์จากตัวอย่างปลาส้ม โดยเป็นการหาเปอร์เซ็นต์เถ้า ความชื้น โปรตีน ไขมัน และ คาร์โบไฮเดรต โดยมีปริมาณเท่ากับ 23.89, 7.54, 46.12, 12.38 และ 10.07 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ อังคณา รัตนพันธ์ (2549) ได้ทำการศึกษา โภชนศาสตร์จากปลาส้ม โดยการเติมเกลือ 5, 6 และ 7 เปอร์เซ็นต์ การเติมเกลือ 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเถ้า 23.47 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 6.59 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 48.91 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 12.92 เปอร์เซ็นต์ และ คาร์โบไฮเดรต 8.11 เปอร์เซ็นต์ การเติมเกลือ 6 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเถ้า 24.17 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 6.68 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 48.86 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 11.86 เปอร์เซ็นต์ และ คาร์โบไฮเดรต 9.41 เปอร์เซ็นต์ และ การเติมเกลือ 7 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเถ้า 23.43 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 8.83 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 48.55 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 11.76 เปอร์เซ็นต์ และ คาร์โบไฮเดรต 8.39 เปอร์เซ็นต์

5.6 ข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ข้อมูลเบื้องต้นที่สามารถนำไปศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต ได้อีกหลายแนวทาง เช่น การศึกษาการสร้างสารต่อต้านแบคทีเรีย ซึ่งส่วนนี้ควรศึกษาถึงผลการยับยั้งของแบคทีเรียแลคติกต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในเนื้อสัตว์ การนำแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้ไปใช้ประโยชน์จริงในอุตสาหกรรมการผลิตปลาส้มควรมีการศึกษาถึงสภาวะต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการผลิต โดยอาจทำการวิจัยร่วมกับโรงงานผลิตปลาส้ม ส่วนสุดท้ายที่ควรศึกษาต่อไปคือ การนำแบคทีเรียแลคติกมาศึกษาการผลิตกล้าเชื้อที่นำไปใช้ประโยชน์ได้ง่าย ไม่ซับซ้อน เพื่อความสะดวกต่อการนำไปใช้ในอุตสาหกรรม และยังเป็นแนวทางการพัฒนาการผลิตปลาส้มด้วยกล้าเชื้อต่อไปในอนาคต

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กองอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ. (2551). [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล :http://209.85.175.104/search?q=cache:HUsDSOdWd9AJ: www.pangmapha.com (วันที่ทำการค้น : 3 ตุลาคม 2551).

คณิต วิชิตพันธุ์ วิชัย ลีลาวัชรมาศ และไพบูลย์ ด่านวิรุทัย. (2548). การศึกษาวิธีการเก็บรักษาและการบรรจุปลาส้มเพื่อขยายเวลาในการเก็บและคงคุณลักษณะปลาส้มคุณภาพสูง. [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : http://ora.kku.ac.th/res_kku/Abstract/AbstractView.asp?Qid=2046658546 (วันที่ทำการค้น :28 กรกฎาคม 2551).

ชลันธร วิชาศิลป์. (2548). การคัดแยกแบคทีเรียแลคติกและการนำไปใช้ประโยชน์เป็นกล้าเชื้อในการหมักปลาร้าปลาทะเล. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ตะวัน ฉัตรสูงเนิน. (2546). เอกสารประกอบการสอนวิชาเทคโนโลยีการหมัก. พิมพ์ครั้งที่ 1 เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยแม่โจ้

นาถสุดา วิศวงศ์. (2522). การศึกษาจุลชีววิทยาของอาหารหมักพื้นเมือง ปลาเจ่า ปลาส้ม และส้มฟัก. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปวีณา สังสีโห และ เพ็ญแข วิจิตโชติ. (2546). การศึกษาปริมาณ ชนิดของแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในระหว่างการหมักปลาส้ม. ปัญหาพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ). ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ปลาส้มภูมิปัญญาท้องถิ่นอีสาน เสริมความแข็งแรงให้กับชุมชนพึ่งพาตนเองได้ปลาส้ม. (2551). [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : http://khonkaen.doae.go.th/banhad/data/ (วันที่ทำการค้น : 26 กรกฎาคม 2551).

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. (2546). การแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างแหนมของประเทศไทย เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อ. วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พลูทรัพย์ วิรุฬหกุลม, จิราวรรณ แย้มประยูร, และอมรรัตน์ สุขโข. (2542). ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตปลาร้า. วารสารการประมง. 52(6): 580-585.

วิชัย ลีลาวัชรมาศ. (2551). ปลาส้มคุณภาพ มาตรฐานครัวไทยสู่ครัวโลก. [ออนไลน์]

แหล่งข้อมูล : http://ibc.rid.go.th/web/other_re/oth1.htm
(วันที่ทำการค้น : 26 กรกฎาคม 2551).

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. (2536). ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากจุลินทรีย์. พิมพ์ครั้งที่ 1 สงขลานครินทร์ : มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ศรีทน อาริยา. (2552). การทำปลาส้ม. แหล่งข้อมูล : บ. สันเวียงใหม่ หมู่ 4 ต. บ้านสาง อ. เมือง พะเยา จ.พะเยา 56000

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนจังหวัดราชบุรี. (2546). [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : http://ind-ratburi.thaigov.net/Dsupport/main2.htm (วันที่ทำการค้น : 30 กรกฎาคม 2551)

สุนันทา ภิญญาวัธน์. (2547). ชีวเคมี 2. พิมพ์ครั้งที่ 7 กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยรามคำแหง

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. (2545). จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2551). [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : http://www.oae.go.th/jobs.htm(วันที่ทำการค้น : 30 กรกฎาคม 2551).

อำพล วริทธธรรม. (2547). การศึกษาโภชนะบางประการของวัตถุดิบทางการเกษตรบางชนิด. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อังคณา รัตนพันธ์. (2549). การปรับปรุงคุณภาพและการเก็บรักษาปลาหมัก: ปลาส้ม. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อำนาจ เจรีรัตน์. (2540). การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการหมักไซเลจ. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Adam, M.R. and M.O.Moss. (1995). Food Microbiology . The Royal Society of Chemistry. Cambridge: pp. 232-248.

Amano, K (1962). The influence of fermentation on the nutritive value of fish with special reference to fermented fish production of Southeast Asia. pp. 188-191.

Feldbreg, R.S., Chang, S.C., Kotik, A.N., Nadler, M., Neuwirth, Z., Sundastrom, D.C., Thompson, N.H. (1988). In vitro mechanism of inhibition of bacterial cell growth by allicin. Antimicrob. Agents. Chemother. 32, 1763-1768.

Hertzler, S.R. and Clancy, S.M. (2003). Kefir improves lactosedigestion and tolerace in adults with lactose maldigestion. Research. 103(5):582-586

Paludan-Muller Christine, Hans Henrik Huss, Lone Gram (2001). Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Thai low-salt fermented fish product and the role of garlic as substrate for fermentation. Journal of Food Microbiology. 46: 219-229

Phikunthong Kopermsub, Sukanda Vichitphan and Sirinda Yunchalard. (2006). Lactic Acid Bacteria isolated from plaa-som, a Thai Fermented Fish Product. ISSN 1513-3478:32-39

Siebert, G. (1957). Enzymes of marine fish muscle and their role in fish spoilage. In R. Kreuzer, ed. The technology of fish utilization contribution from research. Fishing News. (Books) Ltd., England

Singleton, P. (1997). Chromosome and plasmid. Bacteria in biology and molecularbiology 2nd ed. John Wiley and Sons, New York. Pp. 96-97

Tanasupawat, S., Hashimoto, Y., Ezaki, M. and Komagata, K. (1991). Identification of *staphylococcus carnosus* strains from fermented fish and soy sauce mash. Journal of General and Applied Microbiology 37, 479-494.

Van Loo J., Coussement,P., De Leenheer, L., Hoebregs, H., Smits. G. (1995). On the presence of inulin and oligofructose as nutural in ingredients in the western diet. Crit. Rev.Food Sci. Technol.35:525-529

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

Yang,Z.Suomalainen,T.Maeyrae-Maekinen,A.,Huttunen,E. (1997). Antimicrobial Activity of 2-Pyrolidone-5-Carboxylic Acid Produce by Lactic Acid Bacteria. J.Appl.Environ.Microbiol.,60:786-790.

Zychowicz, C., A. Surazynska, B. Siewierska, *et al*. (1974). Effect of *Lactobacillus acidophilus* cultures (acidophilus milk) on the carrier state of Shigella and *Salmonella* organisms in Children. Pediatria Polska, 49 : 997-1003.

Zychowicz, C., S. Kowalczyk, and T. Cieplinska. (1975). Result of administration of *Lactobacillus acidophilus* cultures (acidophilus milk) in an endemic focus of dysentery. Pediatria Polska, 50 : 429-435.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ภาคผนวก ก
สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. MRS-Medium

Glucose	20.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
Yeast extract	5.0	กรัม
Beef/Meat extract	10.0	กรัม
Sodium acetate	5.0	กรัม
Tri-ammonium citrate	2.0	กรัม
Di-potassium hydrogen phosphate	2.0	กรัม
$MnSO_4.H_2O$	0.2	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.15	กรัม
Tween 80	1.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.5-6.6 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ใช้สูตรนี้สำหรับเพาะเลี้ยงแบคทีเรียกรดแลคติกเป็นทั้งอาหารเหลว และอาหารแข็ง ถ้าใช้เป็นอาหารแข็งเติมวุ้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ และเติม Bromocresol purple 0.04 กรัม สำหรับอาหารที่ใช้เป็นอินดิเคเตอร์

2. Plate count Agar (PCA)

Tryptone	5.0	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Glucose	1.0	กรัม
Agar	15	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน (ยกเว้นผงวุ้น) ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7.0 เติมผงวุ้น และให้ความร้อนจนผงวุ้นละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ใช้สูตรนี้สำหรับเพาะเลี้ยงแบคทีเรียทั้งหมด

3. HHD medium

Fructose	2.5	กรัม
$KH_2 PO_4$	2.5	กรัม
Tryptone peptone	10	กรัม
Phytone peptone	1.5	กรัม
Casamino acids	3.0	กรัม
Yeast extract	1.0	กรัม
Tween 80	1.0	กรัม
Bromcresol green	20	มล.
Agar	20	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน (ยกเว้นผงวุ้น) ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เติมผงวุ้น และให้ความร้อนจนผงวุ้นละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ใช้สูตรนี้สำหรับเพาะเลี้ยงแบคทีเรียแลคติก

ภาคผนวก ข
วิธีการศึกษาปริมาณกรดอินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ปลาส้ม

ภาคผนวก ข
วิธีการศึกษาปริมาณกรดอินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ปลาส้ม

1. วิธีการวัดปริมาณกรดแลคติกโดยวิธีการไตเตรท (ของเหลว)

นำตัวอย่างอาหารเหลวที่เลี้ยงแบคทีเรียแลคติกมาปริมาณ 9 มิลลิลิตร มาละลายกับน้ำที่ต้มไล่แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันในขวดรูปชมพู่ที่จะทำการวิเคราะห์ หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ลงไป 2-3 หยด นำไปไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล จนถึงจุดยุติ และนำไปคำนวณเป็นปริมาณกรดแลคติก ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก (\%v/v)} = \frac{V_1 \times N \times 90 \times 100}{V_2 \times 1{,}000}$$

V_1 = ปริมาณสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ (มิลลิลิตร)

N = นอร์มัลลิตี้ (nomality) ของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์

V_2 = ปริมาณของตัวอย่างอาหารเหลวที่เลี้ยงแบคทีเรียแลคติกที่นำมาไตเตรท (มิลลิลิตร)

2. วิธีการเตรียมสารละลายตัวอย่างปลาส้ม

นำตัวอย่างปลาส้มที่บดละเอียดแล้วมา 20 กรัม แล้วละลายด้วยน้ำกลั่น ปริมาณ 180 มิลลิลิตร (อัตราส่วนของปลาส้มต่อน้ำ 10 กรัม : 90 มิลลิลิตร) เขย่าให้เข้ากัน กรองสารละลายปลาส้ม นำส่วนใสที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง

3. วิธีการวัดปริมาณกรดแลคติกโดยวิธีการไตเตรท (ของแข็ง)

นำสารละลายตัวอย่างปลาส้มมาใส่ฟลาก์ส 3 ฟลากส์ๆ ละ 50 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ลงไป 2-3 หยด นำไปไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 นอร์มัล จนถึงจุดยุติ และนำไปคำนวณเป็นปริมาณกรดแลคติก ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก (\%w/v)} = \frac{N \times V}{W} \times 0.09 \times 100$$

W = น้ำหนักตัวอย่างเป็นกรัมในสารละลายที่ใช้

V = ปริมาณสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ (มิลลิลิตร)

N = นอร์มัลลิตี้ (nomality) ของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์

4. **วิธีการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง**

นำสารละลายตัวอย่างปลาส้มใส่ฟลาก์สพอประมาณ เปิดเครื่อง pH meter แล้วจุ่มปลายอิเล็กโทรดลงในสารละลายตัวอย่างปลาส้ม รอจนกระทั่งตัวเลขที่หน้าจอหยุดนิ่งแล้วบันทึกผล

ภาคผนวก ค
วิธีการวิเคราะห์โภชนศาสตร์

ภาคผนวก ค
วิธีการวิเคราะห์โภชนศาสตร์

1. วิธีการหาปริมาณความชื้น (อำพล วริทธธรรม. 2547)

วิธีทดลอง

1. ใช้จานโลหะที่อบแห้งสนิทในตู้อบประมาณ 20-30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งหาน้ำหนักตัวอย่างปลาส้มมา 5 กรัม ใส่ในจานโลหะ

2. นำไปอบในตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิแน่นอน ให้อยู่ในช่วง 100-105 องศาเซลเซียส นานประมาณ 3 ชั่วโมง

3. นำออกจากตู้ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งหาน้ำหนัก

4. นำไปอบหลายๆ ครั้งจนน้ำหนักคงที่ ค่าที่ได้ต้องไม่ต่างกันเกิน 0.05 กรัม

5. ชั่งหาน้ำหนักของแข็งที่เหลืออยู่

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้}} \times 100$$

2. วิธีการหาปริมาณเถ้า (อำพล วริทธธรรม. 2547)

วิธีทดลอง

1. เผาจานกระเบื้องซิลิก้าก้นแบนที่ใช้ในการวิเคราะห์ในเตาเผาอุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2. ชั่งตัวอย่างปลาส้มมา 5 กรัม ใส่ลงในจานกระเบื้องซิลิก้าแบน นำไปเผาโดยใช้ตะเกียงบุนเสนจนไม่มีควันดำ แล้วจึงนำไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น

3. ใช้กระจกนาฬิกาปิดเพื่อป้องกันเถ้าฟุ้งกระจายนำไปชั่งหาน้ำหนักเถ้า

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

3. การหาปริมาณเส้นใย (อำพล วริทธธรรม. 2547)

โดยเครื่องสกัดเส้นใย ยี่ห้อ VELP Extraction Unit for Determining Raw Filter Content (FIWE)

วิธีทดลอง

1. ทำความสะอาด Filter crucible โดยการเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

2. ชั่งตัวอย่างปลาส้ม (W_1) ที่บดละเอียดมา 1 กรัม ลงใน Filter Crucible

3. นำ Filter Crucible เข้าไปในเครื่องสกัดเส้นใย

4. เติม 1.25 เปอร์เซ็นต์กรดซัลฟุริคที่ต้มให้ร้อนปริมาตร 150 มิลลิลิตร ลงไปในหลอดย่อย

5. เติม Octanol 3-5 หยด เพื่อป้องกันการเกิดฟอง แล้วให้ความร้อนจนสารเดือด เมื่อเดือดให้ลดความร้อนลงเป็นการเดือดอ่อนๆ เป็นเวลา 30 นาที

6. กรองและล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง

7. เติม 1.25 เปอร์เซ็นต์โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ต้มให้ร้อนปริมาตร 150 มิลลิลิตร ลงไปในหลอดย่อย

8. เติม Octanol 3-5 หยด เพื่อป้องกันการเกิดฟอง แล้วให้ความร้อนจนสารเดือด เมื่อเดือดให้ลดความร้อนลงเป็นการเดือดอ่อนๆ เป็นเวลา 30 นาที

9. กรองและล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง

10 นำเอา Filter Crucible ออกจากเครื่องสกัดเส้นใย มาวางไว้ที่ cold Extraction Unit โดยใช้ crucible holder

11. ล้างด้วยอะซิโตน 3 ครั้ง ครั้งละ 25 มิลลิลิตร

12 นำ Filter Crucible ไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นชั่งน้ำหนักของ Filter Crucible (W_2)

13. นำ Filter Crucible ไปเผาที่ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก Filter Crucible (W_3)

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์เส้นใย} = \frac{\text{น้ำหนักเส้นใย}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

$$\text{หรือ เปอร์เซ็นต์เส้นใย} = W_3 - \frac{W_1 \times 100}{W_2}$$

4. การหาปริมาณไขมัน (อำพล วริทธธรรม. 2547)

โดยเครื่องสกัดไขมัน ยี่ห้อ VELP Extractor Unit by Solvents SER 148

วิธีทดลอง

1. ทำความสะอาด Extractor cup อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ชั่งหาน้ำหนักของ Extractor cup (W_1)

2. ชั่งตัวอย่างปลาส้ม (W_2) ประมาณ 3 กรัม ลงบนกระดาษกรองและพับกระดาษเพื่อห่อตัวอย่าง แล้วใส่ลงใน Thimble

3. นำ Thimble ใส่ลงในเครื่องสกัดไขมัน

4. เติมตัวทำละลายลงไปประมาณ 50-70 มิลลิลิตร

5. เปิดเครื่องทำการสกัดไขมัน

6. นำ Extraction cup อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนัก (W_3)

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

$$\text{หรือ เปอร์เซ็นต์ไขมัน} = W_3 - \frac{W_1 \times 100}{W_2}$$

5. การหาปริมาณโปรตีน (อำพล วริทธธรรม. 2547)

โดยวิธี Kjedahl Method ด้วยเครื่องย่อยโปรตีน ยี่ห้อ VELP Automatic stem digester DK 6 และเครื่องกลั่นโปรตีน ยี่ห้อ VELP Automatic stem distilling unit UDK 142

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างปลาส้มมา 0.5 กรัม ใส่ลงใน Kjedahl digestion flask
2. เติม catalyze ผสม 0.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวอย่าง และกรดกำมะถันเข้มข้น 4 มิลลิลิตร
3. นำไปต้มให้เดือด จนกระทั่งไม่มีฟอง เพิ่มความร้อนให้สูงขึ้น เขย่าเป็นครั้งคราว
4. ย่อยจนส่วนผสมใส (ประมาณ 2-4 ชั่วโมง) ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น
5. ละลายส่วนผสมด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อยลงใน distillating flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
6. เติม Glass bead 2-3 เม็ด ลงไป ต่อขุดกลั่นให้ปลาย Condenser จุ่มอยู่ต่ำกว่าระดับของสารละลายกรดบอริก จำนวน 10 มิลลิลิตร เติมเมทิลเรด 2-3 หยด
7. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 40 เปอณ์เซ็นต์ จำนวน 20 มิลลิลิตร ในกรวยที่อยู่เหนือ distillating flask
8. กลั่นจนได้ของเหลวอย่างน้อย 50 มิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นล้าง Condenser และส่วนใส่ลงใน flask
9. นำสารละลายทั้งหมดไปไทเรตกับกรดไฮโดรคลอริก 0.1 N ได้จุดยุติเป็นสีชมพู

การคำนวณ หาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน และโปรตีนรวม ดังนี้

1 มิลลิลิตร ของกรดไฮโดรคอริก = 0.014 กรัมของไนโตรเจน

$$\text{ไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(\text{Sample} - \text{Blank}) \times N \times 0.014 \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

เมื่อ Sample = ปริมาตร HCl ที่ใช้ไตรเตรตตัวอย่าง (มล.)

Blank = ปริมาตรที่ใช้ไตรเตรต Blank (มล.)

N = ความเข้มข้นของ HCl

โปรตีนเปอร์เซ็นต์ = ไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์) x 6.25

6. การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรต (อำพล วริทธธรรม. 2547)

การคำนวณ

เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต = 100 - เปอร์เซ็นต์ความชื้น - เปอร์เซ็นต์เถ้า – เปอร์เซ็นต์โปรตีน - เปอร์เซ็นต์ไขมัน

ภาคผนวก ง
การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

ภาคผนวก ง
การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยวิธีการให้คะแนนความชอบ เป็นดังนี้

1. วิธีการทดสอบ

1.1 เขียน Master Sheet

1.2 เขียนหมายเลขตัวอย่างโดยใช้เลขสุ่ม 3 ตัว เพื่อป้องกันการเกิดการคาดเดาคำตอบของผู้ทดสอบ

1.3 ออกแบบใบประเมิน

1.3.1 เรียงลำดับการนำเสนอตัวอย่างแบบสุ่ม

1.3.2 เสนอตัวอย่างแก่ผู้ทดสอบ พร้อมทั้งอธิบายวิธีการในการทดสอบแก่ผู้ทดสอบ

1.3.3 รวบรวมใบประเมินเพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

แสดงใบทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ใช้ในการทดสอบปลาส้ม

ความหมายของคะแนน

9 = ชอบมากที่สุด

8 = ชอบมาก

7 = ชอบปานกลาง

6 = ชอบเล็กน้อย

5 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย

3 = ไม่ชอบปานกลาง

2 = ไม่ชอบมาก

1 = ไม่ชอบมากที่สุด

เกณฑ์ในการพิจารณาลักษณะคุณภาพในแต่ละด้านโดยสังเขป

สี ให้พิจารณาสีของปลาส้ม

กลิ่น ให้พิจารณากลิ่นหอมของปลาส้ม

รสชาติ จะต้องมีรสชาติของปลาส้มที่ไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

ความชอบโดยรวม เป็นการประเมินความรู้สึกโดยรวมของผู้ทดสอบที่มีต่อปลาส้ม โดยพิจารณาจากกลิ่นและรสชาติ

ใบรายงานการทดสอบ 9 – points hedonic scale

ตัวอย่าง : ปลาส้ม ชุดที่ .....

ชื่อผู้ทดสอบ ..... วันที่ .....

เวลา .....

<u>คำแนะนำ</u> กรุณาประเมินคุณภาพของตัวอย่างปลาส้ม โดยการให้คะแนนในลักษณะต่างๆ ตามความพึงพอใจ

9 = ชอบมากที่สุด 8 = ชอบมาก 7 = ชอบปานกลาง

6 = ชอบเล็กน้อย 5 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย

3 = ไม่ชอบปานกลาง 2 = ไม่ชอบมาก 1 = ไม่ชอบมากที่สุด

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส	**คะแนนความชอบ**								
	รหัส 218	**รหัส** 352	**รหัส** 784	**รหัส** 141	**รหัส** 945	**รหัส** 647	**รหัส** 913	**รหัส** 497	**รหัส** 512
สี									
กลิ่น									
กลิ่นรส									
ความชอบโดยรวม									

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส	**คะแนนความชอบ**								
	รหัส 389	**รหัส** 523	**รหัส** 874	**รหัส** 411	**รหัส** 795	**รหัส** 674	**รหัส** 193	**รหัส** 947	**รหัส** 251
สี									
กลิ่น									
กลิ่นรส									
ความชอบโดยรวม									

ตารางบันทึกผลการทดลอง

คุณลักษณะด้าน .....

ผู้ทดสอบ	ระดับคะแนน																	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
1																		
2																		
3																		
4																		
5																		
6																		
7																		
8																		
9																		
10																		
11																		
12																		
13																		
14																		
15																		
16																		
17																		
18																		
19																		
20																		
21																		
22																		
23																		
24																		

ผู้ทดสอบ	ระดับคะแนน																	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
25																		
26																		
27																		
ผู้ทดสอบ	ระดับคะแนน																	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
28																		
29																		
30																		
ผลรวม																		

<u>หมายเหตุ</u>

ภาษาอังกฤษเป็นรหัสของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดที่แตกต่างกัน

ภาคผนวก จ

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.26/2546)

ภาคผนวก จ
มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.26/2546)

1.ขอบข่าย

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ครอบคลุมปลาส้มที่มีลักษณะเป็นปลาทั้งตัว เป็นชิ้น เป็นเส้น และที่บดหรือสับแล้ว

2.บทนิยาม

ปลาส้ม หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากปลาที่ผ่านกรรมวิธีการหมักด้วยเกลือ ข้าวสวยหรือข้าวเหนียวนึ่งและกระเทียม จนมีรสเปรี้ยว อาจทำจากปลาทั้งตัว หรือเฉพาะเนื้อปลาก็ได้

3. ประเภท

3.1 ปลาส้ม แบ่งออกเป็น 4 ประเภท คือ

3.1.1 ปลาส้มตัว เป็นปลาส้มที่ทำจากปลาทั้งตัวที่ผ่าท้องควักไส้ออกแล้ว

3.1.2 ปลาส้มชิ้น เป็นปลาส้มที่ทำจากเนื้อปลาล้วนที่หั่นเป็นชิ้นตามขวางของลำตัวปลา

3.1.3 ปลาส้มเส้น เป็นปลาส้มที่ทำจากเนื้อปลาล้วนที่หั่นเป็นเส้น

3.1.4 ปลาส้มฟัก หรือ แหนมปลา เป็นปลาส้มที่ทำจากเนื้อปลาล้วนที่บดหรือสับ

4. คุณลักษณะที่ต้องการ

4.1 ลักษณะทั่วไป

ต้องเป็นปลาชนิดเดียวกัน และมีลักษณะเฉพาะถูกต้องตรงตามชื่อประเภทปลาส้มที่ระบุไว้ที่ฉลาก

4.2 สี กลิ่น รส ต้องมีสี กลิ่น รส เป็นไปตามธรรมชาติของปลาส้มแต่ละประเภท ไม่มีกลิ่นอับ กลิ่นหืน หรือกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์

4.3 ลักษณะเนื้อ

4.3.1 ปลาส้มตัว ต้องคงสภาพเป็นตัว เนื้อแน่น ไม่ยุ่ย

4.3.2 ปลาส้มชิ้น ต้องคงสภาพเป็นชิ้น เนื้อแน่น ไม่ยุ่ย

4.3.3 ปลาส้มเส้น ต้องคงสภาพเป็นเส้น ไม่แตกยุ่ย

4.3.4 ปลาส้มฟัก หรือแหนมปลา ต้องมีเนื้อเนียน แน่น ยืดหยุ่นดี ไม่มีฟองอากาศ

เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ 9.2 แล้ว ต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคนไม่น้อยกว่า 3 คะแนน และไม่มีลักษณะใดได้ต่ำกว่า 2 คะแนน จากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

4.4 สิ่งแปลกปลอมต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอม เช่น เส้นผม ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลของแมลง หนอน หนู และนก ดิน ทรายและกรวด

4.5 วัตถุเจือปนอาหารห้ามใช้โซเดียมหรือโพแทสเซียมไนเทรต โซเดียมหรือโพแทสเซียมไนไทรต์ โซเดียมบอเรต (บอแรกซ์)

ฟอสเฟต และสี

4.6 ความเป็นกรด-ด่างต้องมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 4.0 ถึง 6.0

4.7 จุลินทรีย์

4.7.1 ซาลโมเนลลา ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

4.7.2 คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม

4.7.3 อี. โคไล โดยวิธีเอ็นพีเอ็น ต้องน้อยกว่า 10 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม

4.7.4 ต้องไม่มีราปรากฏให้เห็น

4.8 พยาธิ ต้องไม่พบ

5. สุขลักษณะ

5.1 สุขลักษณะในการทำปลาส้ม ให้เป็นไปตามคำแนะนำของสาธารณะสุข

6 การบรรจุ

6.1 ให้บรรจุปลาส้มในภาชนะบรรจุที่สะอาด ผนึกได้เรียบร้อย ป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอกได้ โดยส่วนที่สัมผัสกับปลาส้มต้องไม่มีสี (ยกเว้นวัสดุจากธรรมชาติ)

6.2 น้ำหนักสุทธิของปลาส้มในแต่ละภาชนะบรรจุ ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก

7. เครื่องหมายและฉลาก

7.1 ที่ภาชนะบรรจุปลาส้มทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมี เลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้ให้เห็นได้ง่าย ชัดเจน

7.1.1 ชื่อเรียกผลิตภัณฑ์ เช่น ปลาส้มทั้งตัว ปลาส้มชิ้น

7.1.2 น้ำหนักสุทธิ เป็นกรัมหรือกิโลกรัม

7.1.3 ข้อแนะนำในการเก็บรักษา และการบริโภค

7.1.4 วัน เดือน ปีที่ทำ และวัน เดือน ปีที่หมดอายุ หรือข้อความว่า “ควรบริโภคก่อน (วัน เดือน ปี)”

7.1.5 ชื่อผู้ทำ หรือสถานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

8. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

8.1 รุ่น ในที่นี้ หมายถึง ปลาส้มประเภทเดียวกัน ที่ทำหรือส่งมอบหรือซื้อขายในระยะเวลาเดียวกัน

8.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้

8.2.1 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบสิ่งแปลกปลอม การบรรจุและเครื่องหมายและฉลาก ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 3 หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 4.4 ข้อ 6 และข้อ 7 จึงจะถือว่าปลาส้มรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

8.2.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบลักษณะทั่วไป สี กลิ่น รส และลักษณะเนื้อ ให้ใช้ตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบตามข้อ 8.2.1 แล้ว จำนวน 3 หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 4.1 ถึงข้อ 4.3 จึงจะถือว่าปลาส้มรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

8.2.3 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบวัตถุเจือปนอาหาร ความเป็นกรด-ด่าง จุลินทรีย์และพยาธิ ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 5 หน่วยภาชนะบรรจุ นำมาทำเป็นตัวอย่างรวม เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 4.5 ถึงข้อ 4.8 จึงจะถือว่าปลาส้มรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

8.3 เกณฑ์ตัดสินตัวอย่างปลาส้มต้องเป็นไปตามข้อ 8.2.1 ข้อ 8.2.2 และข้อ 8.2.3 ทุกข้อ จึงจะถือว่าปลาส้มรุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้

9 การทดสอบ

9.1 การทดสอบลักษณะทั่วไป สิ่งแปลกปลอม ภาชนะบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก ให้ตรวจพินิจ

9.2 การทดสอบ สี กลิ่น รส และลักษณะเนื้อ

9.2.1 ให้แต่งตั้งคณะผู้ตรวจสอบ ประกอบด้วยผู้ที่มีความชำนาญในการตรวจสอบปลาส้มอย่างน้อย 5 คนแต่ละคนจะแยกกันตรวจและให้คะแนนโดยอิสระ

9.2.2 หลักเกณฑ์การให้คะแนน ให้เป็นไปตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 หลักเกณฑ์การให้คะแนน

(ข้อ 9.2.2)

ลักษณะที่ตรวจสอบ	เกณฑ์ที่กำหนด	ระดับการตัดสิน (คะแนน)			
		ดีมาก	ดี	พอใช้	ปรับปรุง
สี	เป็นไปตามธรรมชาติของปลาส้มแต่ละประเภท	4	3	2	1
กลิ่น	เป็นไปตามธรรมชาติของปลาส้มแต่ละประเภท ไม่มีกลิ่นอับ กลิ่นหืน หรือกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์	4	3	2	1
รส	เป็นไปตามธรรมชาติของปลาส้มแต่ละประเภท	4	3	2	1
ลักษณะเนื้อ	ปลาส้มตัว ต้องคงสภาพเป็นตัว เนื้อแน่น ไม่ยุ่ย	4	3	2	1
	ปลาส้มชิ้น ต้องคงสภาพเป็นชิ้น เนื้อแน่น ไม่ยุ่ย	4	3	2	1
	ปลาส้มเส้น ต้องคงสภาพเป็นเส้น ไม่แตกยุ่ย	4	3	2	1
	ปลาส้มฟัก หรือแหนมปลา ต้องมีเนื้อเนียน แน่น ยืดหยุ่นดี ไม่มีฟองอากาศ	4	3	2	1

9.3 การทดสอบวัตถุเจือปนอาหารให้ใช้วิธีทดสอบตาม AOAC หรือ IFU หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

9.4 การทดสอบความเป็นกรด-ด่างให้ทดสอบโดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

9.5 การทดสอบจุลินทรีย์ให้ใช้วิธีทดสอบตาม AOAC หรือ BAM หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

9.6 การทดสอบพยาธิให้วิธีทดสอบโดยใช้กล้องจุลทรรศน์

9.7 การทดสอบน้ำหนักสุทธิให้ใช้เครื่องชั่งที่เหมาะสม