บทที่ 4

ผลการวิจัย

1. การคัดเลือกเชื้อ *Lactobacillus* species

นำ *Lactobacillus* species ที่ใช้ในการทดลองทำการเปรียบเทียบกับ *L. plantarum* P7-1 ซึ่งแยกได้จากอาหารหมัก ผลไม้ชนิดต่างๆ และได้จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ รวมทั้งสิ้น 23 สายพันธุ์ ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แหล่งของเชื้อ *Lactobacillus* species

รหัสเชื้อ	ตัวอย่างที่ใช้แยก	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง
62-1	สับปะรด	กรุงเทพฯ
108-1	ลำไย	ราชบุรี
111-1	ลำไย	ราชบุรี
160	มะละกอ	ราชบุรี
85-4	น้ำอ้อย	ราชบุรี
228-4	ลองกอง	กรุงเทพฯ
259-1	ขนุน	กรุงเทพฯ
283-1	น้อยหน่า	กรุงเทพฯ
138-1	แคนตาลูป	กรุงเทพฯ
271-1	เงาะ	กรุงเทพฯ
267-2	ลองกอง	กรุงเทพฯ
L2-1	ชานอ้อย	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ (กทม.)
PM6	นมพาสเจอไรซ์	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ (กทม.)
157	ขนุน	พิจิตร
150	ขนุน	กรุงเทพฯ
P7-1	ผักกาดดอง	กรุงเทพฯ
44-2	ปลาจ่อม	ชัยภูมิ
111	ปลาจ่อม	สุรินทร์
7-2	ปลาร้า	กรุงเทพฯ
73-1	ปลาร้า	อุบลราชธานี
9-3	กุ้งจ่อม	สุรินทร์
56-1	ปลาร้า	ชัยภูมิ
4-1	ปลาจ่อม	นนทบุรี

1.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดจากการใช้กลูโคสของเชื้อที่นำมาคัดเลือก

เชื้อทั้งหมด 23 สายพันธุ์ นำมาเลี้ยงในอาหารเหลว GYPBเป็นเวลา 3 วัน สามารถสร้างกรดแล็กติก 4.50-9.83 มก/มล. ดังตารางที่ 9 จากการใช้กลูโคสของเชื้อ พบว่าเชื้อสามารถสร้างกรดแล็กติกได้ร้อยละ 74.07 - 99.67 ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 9 ปริมาณกรดแล็กติกที่สร้างโดยเชื้อ *Lactobacillus* species และ *L. plantarum*

รหัสเชื้อ	ปริมาตรไทเทรตของ 0.1N NaOH (มล.)	ปริมาณกรดแล็กติก (มก./มล.)
62-1	3.90	8.78
108-1	4.05	9.112
111-1	4.26	9.60
160	4.36	9.83
85-1	3.73	8.40
228-4	4.23	9.53
259-1	3.79	8.54
283-1	4.04	9.09
138-1	4.09	9.22
271-1	4.08	9.20
267-2	3.59	8.09
L2-1	4.07	9.16
PM-6	2.0	4.50
157	4.04	9.10
150	4.01	9.04
P7-1	3.77	8.55
44-2	3.60	8.10
111	2.17	4.90
7-2	3.43	7.72
73-1	3.77	8.5
9-3	3.42	7.70
56-1	2.47	5.56
4-1	2.24	5.04

ตารางที่ 10 แสดงค่าปริมาณกลูโคสที่ใช้ไปและเปอร์เซ็นต์กรดแล็กติกที่เชื้อสร้างขึ้น

รหัสเชื้อ	ปริมาตรไทเทรตของ	กลูโคส (มก.)		เปอร์เซ็นต์กรดแล็กติก
	0.05 N $Na_2S_2O_3$ (มล.)	ที่เหลืออยู่	ที่ใช้ไป	
62-1	20.0	0.311	9.96	88.15
108-1	19.7	0.78	9.50	95.90
111-1	19.81	0.60	9.67	99.27
160	20.0	0.311	9.97	98.99
85-1	19.05	1.78	8.49	98.01
228-4	19.90	0.465	9.815	97.0
259-1	19.3	1.395	8.88	96.17
283-1	19.6	1.24	9.04	99.5
138-1	19.85	0.54	9.73	94.7
271-1	19.89	0.471	9.80	93.87
267-2	19.05	1.78	8.49	95.28
L2-1	19.50	1.08	9.19	99.67
PM-6	17.50	4.20	8.09	74.07
157	19.53	1.03	9.24	98.48
150	19.50	1.08	9.19	98.63
P7-1	19.20	1.53	8.74	97.8
44-2	19.41	1.13	9.14	88.62
111	16.78	5.30	4.97	98.59
7-2	18.68	2.35	7.93	97.3
73-1	19.10	1.736	8.57	99.18
9-3	18.62	2.44	7.83	98.33
56-1	17.20	4.69	5.63	98.75
4-1	16.98	4.97	5.26	95.81
Control	13.6	10.28	-	-

1.2 การทดสอบการสร้างสารไดอะเซตทิลและวิเคราะห์ผนังเซลล์

ผลการทดลองพบว่าเชื้อ 15 สายพันธุ์สามารถสร้างสารประกอบไดอะเซตทิล และ 13 สายพันธุ์มี DAP (*meso*-diaminopimelic acid) ดังตารางที่ 11 โดยเชื้อที่สามารถสร้างสารไดอะเซตทิลได้จะทำให้อาหารหมักดองมีกลิ่นรสดี ส่วนผนังเซลล์ของเชื้อที่มี DAP จะมีโอกาสสร้าง DL-lactic acid ดังนั้นเพื่อยืนยันชนิดของไอโซเมอร์ของกรดแล็กติกจึงวิเคราะห์ด้วยการใช้เอนไซม์ ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 11 การสร้างสารไดอะเซตทิลและองค์ประกอบของ DAP (*meso*-diaminopimelic acid) ของ *Lactobacillus* speices

รหัสเชื้อ	ไดอะซีทิล	DAP
62-1	+	+
108-1	-	+
111-1	+	+
160	-	+
85-1	-	+
228-4	-	+
259-1	+	+
283-1	+	+
138-1	-	+
271-1	+	+
267-2	+	+
L2-1	+	-
PM-6	-	-
157	+	+
150	+	+
P7-1	-	-
44-2	-	-
111	+	-
7-2	+	-
73-1	+	-
9-3	+	-
56-1	+	-
4-1	+	-

+ = ผลบวก - = ผลลบ

1.3 การตรวจสอบวิเคราะห์ไอโซเมอร์ของกรดแล็กติก

ผลการทดลองพบว่าเชื้อที่สร้าง L(+)-lactic acid ได้มี 10 สายพันธุ์ และมี 7 สายพันธุ์ที่สร้าง DL + L-lactic คือเชื้อสามารถสร้างกรดแล็กติกชนิด D และ L แต่ L-lactic acid มีปริมาณมากกว่า D(-)-lactic acid และ 6 สายพันธุ์ที่สร้าง DL+D-lactic acid

ตารางที่ 12 ชนิดของกรดแล็กติกที่เชื้อสร้างขึ้นโดยการทดสอบด้วยเอนไซม์

เชื้อ	10 นาที, OD 340 D/L					isomer
	D-LDH	L-LDH	SR	SR/BR	E	
62-1	0.052	0.129	2.48	1.27	-0.26	DL+D
108-1	0.063	0.236	3.75	1.91	-0.91	DL+D
111-1	0.034	0.095	2.79	0.84	0.16	DL+L
160	0.534	0.046	0.86	0.26	0.73	L
85-1	0.050	0.149	2.98	0.89	0.13	DL+L
228-4	0.074	0.123	1.66	0.85	0.15	DL+L
259-1	0.070	0.74	1.057	0.54	0.46	DL+L
283-1	0.059	0.169	2.86	1.46	-0.46	DL+D
138-1	0.056	0.166	2.96	1.51	-0.51	DL+D
271-1	0.068	0.170	2.50	1.27	-0.27	DL+L
267-2	0.059	0.152	2.57	0.77	0.23	DL+L
L2-1	0.072	0.085	0.847	0.267	0.733	L
157	0.078	0.144	1.84	0.94	0.058	DL+L
150	0.059	0.177	3.0	1.53	-0.53	DL+D
P7-1	0.069	0.151	2.19	0.66	0.34	DL+L
PM-6	0.05	0.086	0.581	0.183	0.817	L
44-2	0.078	0.31	0.25	0.075	0.92	L
111	0.056	0.86	0.065	0.026	0.97	L
7-2	0.058	0.45	0.128	0.04	0.96	L
73-1	0.19	0.74	0.98	0.08	0.92	L
9-3	0.064	0.84	0.076	0.0	0.96	L
56-1	0.057	0.357	0.16	0.06	0.93	L
4-1	0.064	0.84	0.076	0.0315	0.96	L
DL Std.	0.031	0.103	3.32			
DL Std.	0.2	0.063	3.17			

S_R = Sample ratio ; B_R = Basic ratio

1.4 การคัดเลือกเชื้อแล็กติกแอสิดแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารยับยั้งเชื้อทดสอบ

พบว่ามีเชื้อ *Lactobacillus* species 13 สายพันธุ์ ที่สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ *S. aureus* ATCC 25923 และ 2 สายพันธุ์สามารถสร้างสารยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 และไม่มีสายพันธุ์ใดที่สามารถสร้างสารยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ผลของเชื้อ *Lactobacillus* species ในการยับยั้งเชื้อทดสอบ

รหัสเชื้อ	การยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ		
	S. aureus	*B. subtilis*	*E. coli*
62-1	+	-	-
108-1	+	-	-
111-1	-	-	-
160	-	-	-
85-1	+	-	-
228-4	+	-	-
259-1	-	-	-
283-1	-	-	-
138-1	-	-	-
271-1	-	-	-
267-2	+	-	-
L2-1	+	-	-
PM-6	+	+	-
157	-	-	-
150	-	-	-
P7-1	-	-	-
44-2	+	+	-
111	-	-	-
7-2	+	-	-
73-1	+	+	-
9-3	-	-	-
56-1	+	-	-
4-1	+	-	-
Control (MRS broth)	-	-	-

+ = ผลบวก - = ผลลบ

จากผลการทดลองที่กล่าวมาแล้วทำการคัดเลือกเชื้อซึ่งผลิต L(+)-lactic acid ได้สูง ผลิตไดอะเซตทิล และสามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบมา 2 สายพันธุ์ นำมาเปรียบเทียบการผลิตสารยับยั้งการเจริญของเชื้อกับไนซินที่ความเข้มข้น 1:50, 1:200 และ 1:400 พบว่าเชื้อ L2-1 และ 73-1 มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ใกล้เคียงกับไนซินที่ความเข้มข้น 1:50 และฤทธิ์ในการยับยั้ง *B. subtilis* ATCC 6633 พบว่าเชื้อ 73-1 มีประสิทธิภาพดีพอกับไนซินที่ความเข้มข้น 1:50 และพบว่าทุกความเข้มข้นของไนซินไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E coli* ATCC 25922 ได้เช่นกัน ดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 การสร้างสารยับยั้งเชื้อทดสอบของ *Lactobacillus* species L2-1 และ 73-1 เปรียบเทียบกับไนซินที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

รหัสเชื้อที่คัดเลือก และสารควบคุม	ความกว้างของขนาดโซนยับยั้งเชื้อทดสอบ (ซม.)		
	S. aureus	*B. subtilis*	*E. coli*
L2-1	1.04	0.79	0.75
73-1	1.01	1.16	0.75
ไนซิน 1:50	1.04	1.19	0.75
1:200	0.895	0.89	0.75
1:400	0.81	0.79	0.75
Control	0.74	0.79	0.75

Control = Modified MRS broth

2. **การศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา การเจริญ สรีรวิทยา และชีวเคมี**

นำเชื้อ L2-1, 73-1 มาทำการศึกษาเปรียบเทียบกับเชื้อ *L. plantarum* P7-1 ดังตารางที่ 15 และ 16

2.1 การตรวจสอบลักษณะรูปร่างเซลล์และลักษณะโคโลนี พบว่าเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์มีโคโลนีสีขาว กลมนูนเล็กน้อย เซลล์ย้อมติดสีแกรมบวก และมีรูปร่างเป็นแท่ง

2.2 การสร้างเอนไซม์แคตาเลส พบว่า เมื่อนำไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์หยดลงไปบน GYPB agar ซึ่งมีเชื้อเจริญอยู่ จะไม่เกิดฟองแก๊ส แสดงว่าเชื้อไม่สามารถสร้างเอ็นไซม์แคตาเลส

2.3 การทดสอบไนเตรทรีดักชั่น เมื่อนำเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์มาเลี้ยงใน Nitrate broth พบว่า เชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ ให้ผลลบต่อการทดสอบไม่สามารถรีดิวส์ไนเตรทไปเป็นไนไตรท์ได้

2.4 การสลายเจลาติน พบว่าเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ไม่สามารถทำให้เจลาตินเหลวได้ที่ 20°ซ

2.5 การสลายเอสคิวลิน พบว่าเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถเปลี่ยนสีอาหารเหลวเอสคิวลิน ให้เป็นสีน้ำตาลดำและเกิดผลึก แสดงว่าเชื้อสามารถสลายเอสคิวลินได้

2.6 การสลายเม็ดเลือดแดง เมื่อเลี้ยงเชื้อใน Tryptose blood agar เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 37°ซ พบว่า เชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ไม่ก่อให้เกิดโซนใส แสดงว่า เชื้อไม่สามารถสร้างฮีโมไลซินออกมาย่อยสลายเม็ดเลือดแดงได้

2.7 การศึกษาผลของอุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ต่อการเจริญ

- ผลของอุณหภูมิพบว่าเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถเจริญได้ที่ 40°ซ และไม่มีสายพันธุ์ใดสามารถเจริญได้ที่ 10°ซ
- ผลของความเป็นกรดด่าง เมื่อปรับอาหารเลี้ยงเชื้อ GYPB ให้มีความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 3.0-9.0 พบว่า เชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถเจริญเติบโตได้
- ผลของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ เมื่อเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นด่างๆ ลงใน GYPB พบว่า เชื้อ L2-1, P7-1 และ 73-1 เจริญได้ในอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์ไม่มากกว่าร้อยละ 5, 6 และ 8 ตามลำดับ

2.8 การสร้างกรดจากการใช้คาร์โบไฮเดรต พบว่า เชื้อ L2-1 และ P7-1 ไม่สามารถใช้น้ำตาล L-Raffinose และพบว่าเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถใช้น้ำตาลที่ทดสอบทุกตัวที่ทดสอบ แต่ไม่สามารถใช้แป้งได้

ข้อ 2.1 - 2.7 แสดงในตารางที่ 15 ข้อ 2.8 แสดงในตารางที่ 16

ตารางที่ 15 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Lactobacillus* species L2-1, 73-1 และ P7-1

ลักษณะเชื้อ	L2-1	73-1	P7-1
รูปร่างเซลล์	rod	rod	rod
ขนาดของเซลล์ μm	0.5-0.7 x 1.5-4.0 μm	0.7-1.9 x 1-1.5 μm	0.7-1.0 x 1-4.5 μm
การจัดเรียงตัวของเซลล์	single, chain	single, chain	single, chain
การย้อมติดสีแกรม	+	+	+
การสลายเอสคิวลิน	+	+	+
การสลายเม็ดเลือดแดง	-	-	-
การสลายเจลาติน	-	-	-
การรีดิวส์ไนเตรท	-	-	-
การสร้างเอนไซม์แคตาเลส	-	-	-
การเจริญที่อุณหภูมิ 10°C	-	-	-
30°C	+	+	+
40°C	+	+	+
การเจริญที่ระดับ pH 3.0	+	+	+
4.0	+	+	+
5.0	+	+	+
6.0	+	+	+
8.0	+	+	+
9.0	+	+	+
การเจริญในเกลือ (%) 1.0	+	+	+
2.0	+	+	+
3.0	+	+	+
4.0	+	+	+
5.0	-	+	+
6.0	-	+	+
7.0	-	+	-
8.0	-	+	-
9.0	-	-	-

+ = ผลบวก - = ผลลบ

ตารางที่ 16 การสร้างกรดจากการใช้คาร์โบไฮเดรตชนิดต่างๆของ *Lactobacillus* species L2-1, 73-1 และ P7-1,

เชื้อ / น้ำตาล	ปริมาณกรดแล็กติก (มก./มล.)		
	L2-1	73-1	P7-1
Lactose	5.04	4.38	4.83
Sucrose	2.92	4.5	4.38
Maltose	2.02	2.97	4.5
D-Fructose	4.83	4.38	4.59
Mellibiose	1.57	1.80	2.25
L-Arabinose	1.35	1.12	3.26
D-Cellobiose	1.12	2.7	1.91
L-Raffinose	0	1.8	0
D-Xylose	1.46	1.12	1.12
D-Galactose	2.25	2.7	1.5
D-Ribose	1.91	2.85	3.37
Starch	0	0	0

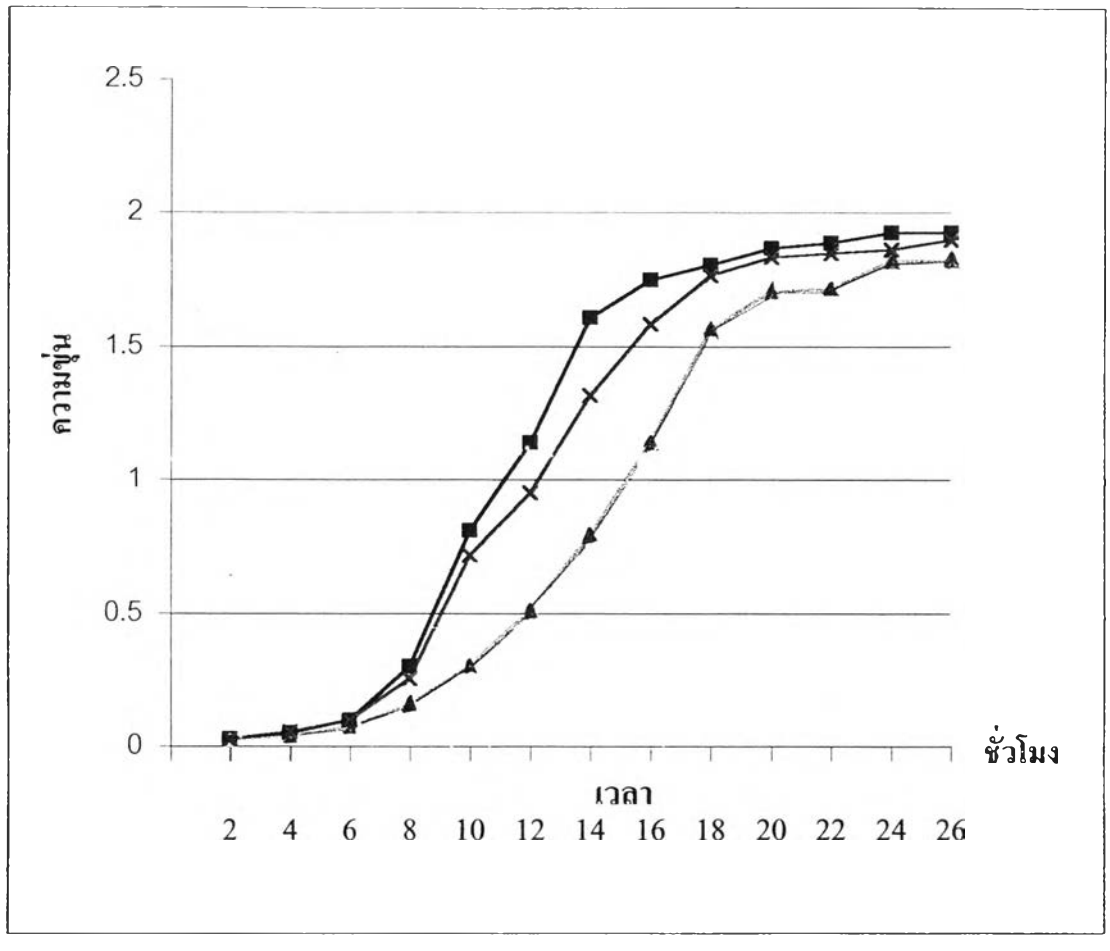
2.9 การศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ L2-1 และ 73-1 กับเชื้อเปรียบเทียบ P7-1 ทุก 2 ชม. เป็นเวลา 26 ชม. พบว่า lag phase ของเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ อยู่ในชั่วโมงที่ 6 log phase อยู่ในช่วง 8-18 ชั่วโมง และ stationary phase อยู่ในช่วง 20 ชั่วโมงขึ้นไป ดังตารางที่ 17 และรูปที่ 5 และ 6

นอกจากนี้ พบว่า การสร้างกรดมีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญ คือ เมื่อเชื้อเจริญถึง stationary phase จะมีปริมาณกรดเริ่มคงที่ การศึกษาอัตราการเจริญนี้ทำให้ทราบระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อเพื่อนำไปผลิตเป็นสตาร์ทเตอร์ โดยจะใช้เชื้อที่มีอายุ 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 17 อัตราการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus* species L2-1, 73-1 และ P7-1 ที่เวลาต่างๆกัน ภายในเวลา 26 ชม.

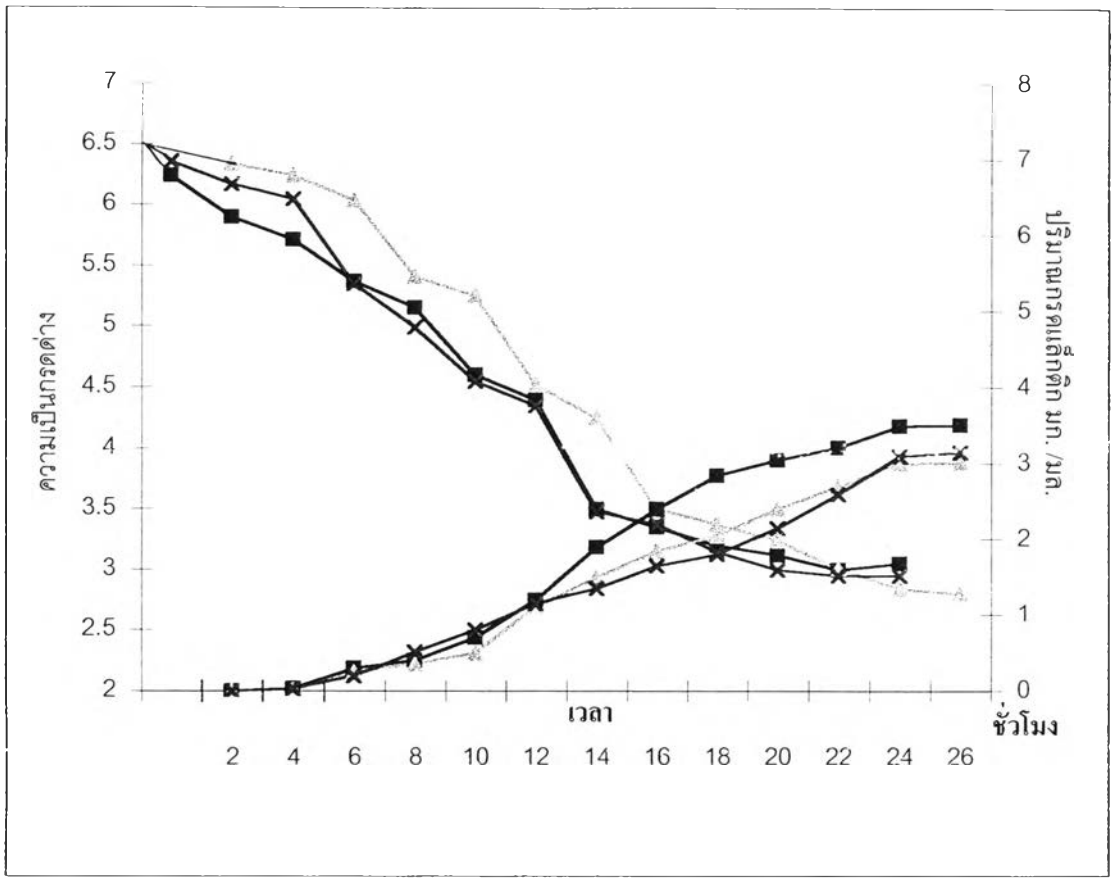
เวลา (ชม)	L2-1			73-1			P7-1		
	pH	acidity* (มก/มล)	OD	pH	acidity* (มก/มล)	OD	pH	acidity* (มก/มล)	OD
2	6.34	0	0.021	6.36	0	0.030	6.24	0	0.030
4	6.24	0.02	0.04	6.17	0.03	0.055	5.9	0.03	0.05
6	6.04	0.25	0.072	6.05	0.20	0.10	5.71	0.30	0.099
8	5.41	0.35	0.159	5.35	0.51	0.256	5.37	0.40	0.301
10	5.25	0.50	0.303	4.99	0.80	0.718	5.15	0.70	0.81
12	4.52	1.10	0.511	4.55	1.15	0.951	4.60	1.20	1.14
14	4.25	1.50	0.794	4.35	1.35	1.318	4.40	1.90	1.609
16	3.50	1.85	1.14	3.48	1.65	1.584	3.50	2.40	1.75
18	3.38	2.05	1.567	3.38	1.80	1.767	3.35	2.85	1.806
20	3.24	2.40	1.709	3.15	2.15	1.835	3.20	3.05	1.87
22	3.01	2.70	1.719	3.00	2.60	1.85	3.12	3.21	1.89
24	2.84	3.00	1.823	2.95	3.10	1.865	3.00	3.50	1.928
26	2.80	3.02	1.825	2.95	3.15	1.90	3.05	3.51	1.929

acidity = ปริมาณกรดแล็กติก



กราฟแสดงค่าความขุ่นของเชื้อที่เวลาต่าง ๆ

รูปที่ 5 อัตราการเจริญของเชื้อ P7-1, L2-1, และ 73-1 โดยวัดความขุ่น (OD)



รูปที่ 6 (ซ้าย) อัตราการเจริญของเชื้อ P7-1, L2-1, และ 73-1 โดยวัดจากความเป็นกรดด่าง (ขาว) อัตราการเจริญของเชื้อ P7-1, L2-1 และ 73-1 โดยวัดจากปริมาณกรดแล็กติกที่เชื้อสร้างขึ้น

3. การเตรียมสตาร์ทเตอร์ในรูปเชื้อเหลวและผงเชื้อ

3.1 การเตรียมสตาร์ทเตอร์ในรูปเชื้อเหลว นำเชื้อที่คัดเลือกได้ 2 สายพันธุ์ คือ เชื้อ L2-1 และ 73-1 กับเชื้อเปรียบเทียบ คือ P7-1 มาเลี้ยงในอาหารเหลวที่ได้พัฒนาสูตรโดยใช้มะเขือเทศและมันฝรั่งที่ปลูกในประเทศ เพื่อให้ได้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีราคาถูก ไม่จำเป็นต้องซื้อจากต่างประเทศ พบว่าเชื้อทั้ง 3 ชนิด มีจำนวนเชื้อเริ่มต้นในปริมาณสูง และใกล้เคียงกัน เมื่อนำเชื้อเหลวไปเก็บอุณหภูมิ 10°ซ เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าเชื้อทั้ง 3 ยังมีอัตราการรอดชีวิตสูงพอสมควร ดังตารางที่ 18

ตารางที่ 18 การรอดชีวิตของสตาร์ทเตอร์เหลวของเชื้อ L2-1,73-1 และ P7-1

เชื้อ	อายุ (วัน)	อุณหภูมิ (°ซ)	จำนวนเชื้อ (เซลล์ / มล.)
L2-1	1	30	$4.4x10^{16}$
	30	10	$2.8x10^{8}$
	60	10	$5.5x10^{7}$
73-1	1	30	$2.9x10^{16}$
	30	10	$2.7x10^{8}$
	60	10	$1x10^{6}$
P7-1	1	30	8.5×10^{16}
	30	10	$5x10^{5}$
	60	10	$5x10^{4}$

3.2 การเตรียมสตาร์ทเตอร์ในรูปเชื้อผง นำเชื้อ L2-1, 73-1 และ P7-1 มาเลี้ยงในอาหารเหลว GYPB บ่มที่ 30°ซ 24 ชม. และโยเกิร์ตสตาร์ทเตอร์ (*L. bulgaricus* และ *St. thermophilus*) เติมน้ำตาลแล็กโทส และหางนม

ผลการทดลองพบจำนวนเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ L2-1, 73-1 และ P7-1 ปริมาณสูงกว่าโยเกิร์ตสตาร์ทเตอร์ และเมื่อนำเชื้อที่เตรียมได้มาศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อโดยเก็บ

รักษาที่อุณหภูมิ -20°ซ 10°ซ และ 30°ซ เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า เชื้อที่รอดชีวิตมีปริมาณใกล้เคียงกับจำนวนเชื้อเริ่มต้น ดังตารางที่ 19

ตารางที่ 19 การรอดชีวิตของสตาร์ทเตอร์ผงของเชื้อ L2-1, 73-1 และ P7-1 และโยเกิร์ตสตาร์ทเตอร์

เชื้อ	อายุ (วัน)	จำนวนเซลล์/กรัม		
		ที่ 30°ซ	10°ซ	-20°ซ
L2-1	0	$4x10^{20}$		
	7	$2x10^{20}$	$3x10^{20}$	$3x10^{20}$
	14	$1x10^{20}$	$2x10^{20}$	$3x10^{20}$
	21	$1x10^{19}$	$2.7x10^{20}$	$4.2x10^{20}$
	28	$4x10^{18}$	$1.5x10^{19}$	$4.5x10^{20}$
73-1	0	$6x10^{20}$		
	7	$4x10^{20}$	$1.2x10^{20}$	$4x10^{20}$
	14	$4.5x10^{20}$	$1x10^{20}$	$4x10^{20}$
	21	$8x10^{19}$	$1.5x10^{20}$	$2.5x10^{20}$
	28	$2x10^{19}$	$6x10^{19}$	$2.6x10^{20}$
P7-1	0	$4x10^{20}$		
	7	$4x10^{20}$	$4x10^{20}$	$4x10^{20}$
	14	$1.8x10^{20}$	$2x10^{20}$	$1x10^{20}$
	21	$1x10^{20}$	$3x10^{20}$	$2x10^{20}$
	28	$3.5x10^{19}$	$9x10^{19}$	$2.8x10^{19}$
Yoghurt	0	$2x10^{11}$		
starter	7	$2.0x10^{11}$	$1.9x10^{11}$	$2.1x10^{11}$
	14	$1.5x10^{10}$	$1x10^{10}$	$2x10^{11}$
	21	$1x10^{10}$	$5x10^{9}$	$2x10^{10}$
	28	$2.5x10^{9}$	$1.5x10^{9}$	$1.4x10^{9}$

4. การใช้เชื้อในการหมักอาหาร

4.1 การหมักผักดอง ใช้สตาร์ทเตอร์ของเชื้อเหลว *Lactobacillus* sp. L2-1 และ73-1 หมักผักเปรียบเทียบกับการใช้ *L. plantarum* P7-1 ในการทดลองหมักผักกาดเขียวปลีดอง ใช้เกลือความเข้มข้นร้อยละ 1 และ 2 และน้ำตาลความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 4 เปรียบเทียบกับการหมักผักตามธรรมชาติที่ไม่เติมเชื้อบริสุทธิ์ความเข้มข้นของเชื้อเหลวเริ่มต้นร้อยละ 2 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและชีวภาพของน้ำผักเมื่อหมักในวันที่ 3, 7 และ 14 แสดงในตารางที่ 31 (ภาคผนวก ง) การทดสอบรสชาติของผลิตภัณฑ์ ประเมินในวันที่ 3 ของการหมัก เนื่องจากผักดองที่ได้มีความเปรี้ยวถึงระดับที่รับประทานได้ ส่วนการหมักในวันที่ 7 นั้นไม่นำมาวิเคราะห์เพราะผักกาดเขียวปลีดองบางตัวอย่างที่ทำการหมักโดยธรรมชาติเริ่มมียีสต์เจริญเติบโต วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี ชีวภาพและรสชาติทางสถิติในวันที่ 3 ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range test ดังตารางที่ 20 และ 21

เมื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงในตารางที่ 32 (ภาคผนวก ง) พบว่าปริมาณเกลือ น้ำตาล และชนิดของเชื้อมีผลร่วมต่อค่าความเป็นกรดด่าง และปริมาณกรดแล็กติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อจำนวนเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 7 และ 8 ในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผักกาดเขียวปลีดองที่มีสูตรต่างๆกันแสดงดังตารางที่21 เมื่อนำไปวิเคราะห์ความแปรปรวนและวิเคราะห์ความแตกต่าง พบว่าปริมาณเกลือ ปริมาณน้ำตาล และชนิดของเชื้อมีผลร่วมต่อความชอบของผักดองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) แต่ไม่มีผลต่อความเปรี้ยวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 33 (ภาคผนวก ง)

จากการวิเคราะห์ทางสถิติในด้านความชอบ (ตารางที่ 21) พบว่า ปริมาณเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2 มีผู้ชิมชอบมากกว่าปริมาณเกลือและน้ำตาลที่ความเข้มข้นอื่น ดังนั้น จึงทำการทดลองหมักผักกาดเขียวปลีดองที่ความเข้มข้นนี้ดังรูปที่ 9 วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและชีวภาพ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในวันที่ 1, 2, 3, 5 และ 7 ดังตารางที่ 34 (ภาคผนวก ง)

ผลการทดลองพบว่าในการหมักผักโดยใช้วิธีธรรมชาติที่ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 1 และน้ำตาลร้อยละ 2 จะให้ค่าความเป็นกรดด่างสูงกว่าการหมักโดยใช้สตาร์ทเตอร์เหลว แต่มีปริมาณกรดแล็กติกต่ำกว่าการหมักโดยใช้กล้าเชื้อเหลว ดังตารางที่ 34 (ภาคผนวก ง) และรูปที่ 10, 11 เมื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงในตารางที่ 35 (ภาคผนวก ง) พบว่าชนิดของเชื้อมีผลต่อค่าความเป็น

กรดด่างและปริมาณกรดแล็กติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อจำนวนของเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) การศึกษาอายุการเก็บของผักกาดเขียวปลีดองที่หมักที่ความเข้มข้นเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2 พบว่า ผักกาดเขียวปลีดองที่หมักโดยวิธีธรรมชาติจะมีสีคล้ำ ไม่สามารถนำมารับประทานเมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ ส่วนผักกาดเขียวปลีดองที่หมักโดยใช้กล้าเชื้อจะเก็บได้นาน 5 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง ดังตารางที่ 22

ผักรวมดอง : ในการทดลองวิเคราะห์ผักรวมดองทำเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ผักกาดเขียวปลีดอง ซึ่งผลการทดลองแสดงใน ตารางที่ 23 และตารางที่ 36 (ภาคผนวก ง) ส่วนการทดสอบด้านรสชาติของผักรวมดองแสดงในตารางที่ 24 และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเกี่ยวกับคุณสมบัติทางเคมี ชีวภาพและรสชาติดังตารางที่ 37 และ 38 (ภาคผนวก ง)

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ปริมาณเกลือ น้ำตาล และชนิดของเชื้อมีผลต่อค่าความเป็นกรดด่างและปริมาณกรดแล็กติก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อจำนวนเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 12 และ 13 ส่วนการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่าปริมาณเกลือ น้ำตาล และชนิดของเชื้อมีผลร่วมต่อความชอบของผักรวมดองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อความเปรี้ยวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ตารางที่ 38 (ภาคผนวก ง)

จากการวิเคราะห์ทางสถิติในด้านความชอบ (ตารางที่ 24) พบว่า ปริมาณเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2 มีผู้ชิมชอบมากกว่าที่ปริมาณเกลือและน้ำตาลที่ความเข้มข้นอื่น ดังนั้นจึงทำการทดลองหมักผักรวมที่ความเข้มข้นนี้ดังรูปที่ 9 ตารางที่ 39 (ภาคผนวก ง)

เมื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อย 95 แสดงในตารางที่ 40 (ภาคผนวก ง) พบว่า ชนิดของเชื้อมีผลต่อค่าความเป็นกรดด่างและปริมาณกรดแล็กติกอย่างมีนัยสำคัญทาง ($p \leq 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อจำนวนเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังในรูปที่ 14, 15

การศึกษาอายุการเก็บของผักรวมดองที่หมักที่ความเข้มข้นเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2 พบว่า ผักรวมดองที่หมักโดยวิธีธรรมชาติจะมีสีน้ำตาลคล้ำไม่สามารถนำมารับประทานเมื่อเก็บเป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ที่อุณหภูมิห้อง ส่วนผักรวมดองที่หมัก โดยวิธีใช้สตาร์ทเตอร์เหลวจะเก็บได้นาน 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้องดังตารางที่ 25

4.2 การผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่มโดยใช้สตาร์ทเตอร์เหลวเชื้อ L2-1, 73-1 ที่เตรียมขึ้น (ในข้อ3.1) เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตสตาร์ทเตอร์เชื้อผงโดยแปรปริมาณน้ำตาลที่ใช้ในการหมักเป็นร้อยละ 6, 8 และ 10 และบ่มเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง โดยใช้เชื้อเหลวร้อยละ 5 ปริมาตร/ปริมาตร และเชื้อผงประมาณร้อยละ 0.01 น้ำหนัก/ปริมาตร ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี กายภาพและชีวภาพ แสดงในตารางที่ 26 และ 27

เมื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงในตารางที่ 41 และ 42 (ภาคผนวก ง) พบว่า ปริมาณน้ำตาลและชนิดของเชื้อมีผลร่วมต่อค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดแล็กติก และความหนืด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อจำนวนเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังในรูปที่ 16, 17 และ 18

การหาปริมาณน้ำตาลชนิดของเชื้อและเวลาที่เหมาะสมในการบ่มโยเกิร์ตเพื่อให้โยเกิร์ตมีลักษณะ curd ที่ดี และมีปริมาณกรดแล็กติกอยู่ในช่วงร้อยละ 0.7-1.1 เพื่อนำมาผลิตนมเปรี้ยว พบว่าเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตโยเกิร์ต คือ โยเกิร์ตสตาร์ทเตอร์และเชื้อ L2-1 ส่วนเชื้อ 73-1 ไม่สามารถผลิตโยเกิร์ตได้เนื่องจาก curd เกาะตัวไม่แน่นมีเวย์แยกตัวออกมา ส่วนปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมในการทำโยเกิร์ต คือ ร้อยละ 10 เนื่องจากได้กรดปริมาณที่ต้องการและมีลักษณะที่ดีของโยเกิร์ต คือ curd เกาะตัวแน่น เวลาที่เหมาะสมในการบ่ม คือ 24 ชั่วโมง ส่วนที่ 48 ชั่วโมง โยเกิร์ตมีความเปรี้ยวมากและใช้เวลาบ่มนาน ดังรูปที่ 19

ทดลองนำผงเชื้อร้อยละ 0.01 น้ำหนัก/ปริมาตรและเชื้อ L2-1 ปริมาณร้อยละ 5 ปริมาตร/ปริมาตร ปริมาณน้ำตาลร้อยละ 10 บ่ม 24 ชั่วโมง เมื่อได้โยเกิร์ตแล้วให้นำมาผสมกับน้ำในอัตราส่วนโยเกิร์ต : น้ำเป็น 1 : 0.3 โยเกิร์ตส่วนหนึ่งเติมเพคตินร้อยละ 0.05 นำมาเปรียบเทียบคุณภาพทางประสาทสัมผัสและความหนืดโดยใช้นมเปรี้ยวพร้อมดื่มตราโยโมสต์เป็นตัวเปรียบเทียบดังตารางที่ 28 และ 29

เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติในด้านความชอบ และความเปรี้ยว พบว่า นมเปรี้ยวที่ผลิตโดยเชื้อ L2-1 ที่ไม่เติมเพคติน มีรสชาติใกล้เคียงกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มยี่ห้อโยโมสต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังตารางที่ 43 (ภาคผนวก ง)

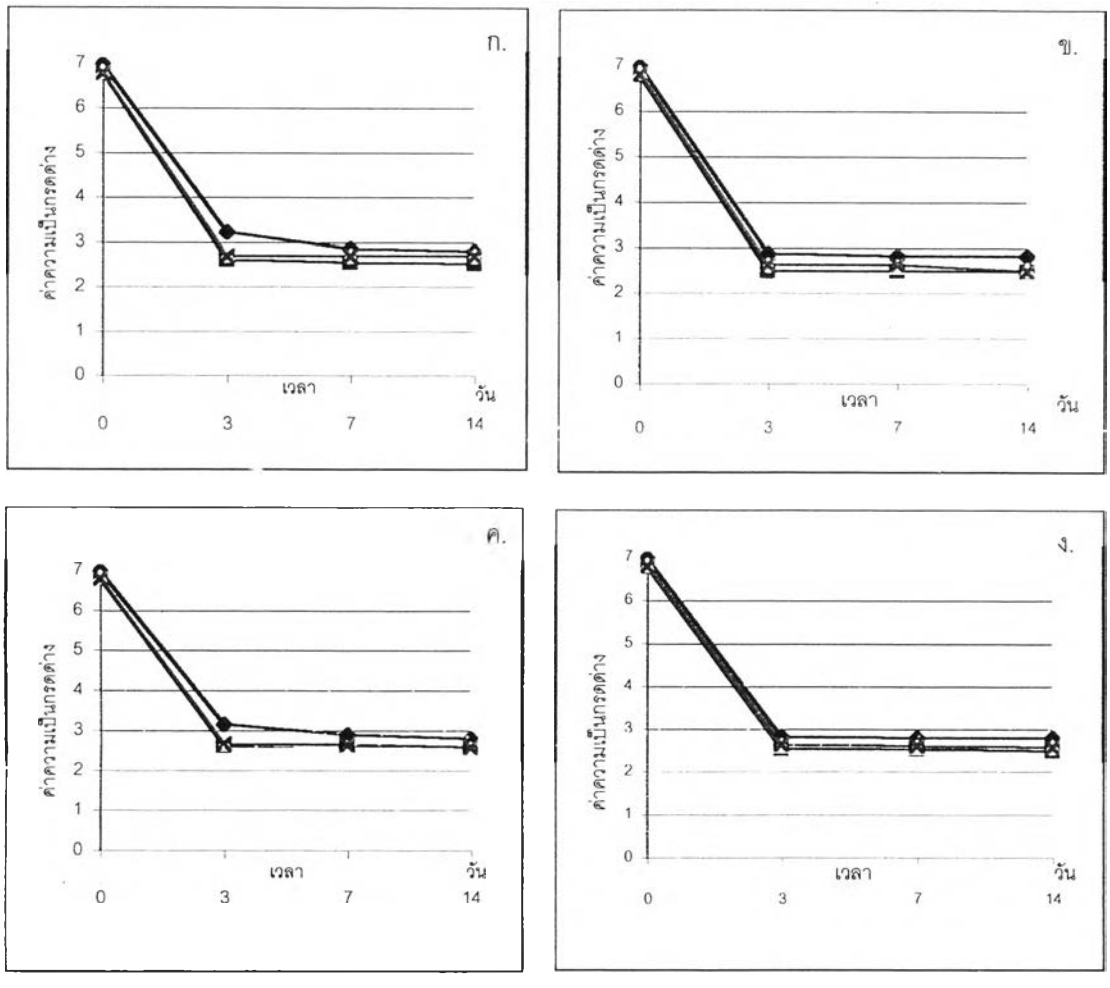
ตารางที่ 20 ค่าเฉลี่ยของความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดแล็กติกและจำนวนเชื้อแล็กติกแอสิดแบคทีเรียในผักกาดเขียวปลีดองที่หมัก 3 วัน

เกลือ (%)	น้ำตาล (%)	ชนิดของเชื้อ	ค่าเฉลี่ย		
			ค่าความเป็นกรดด่าง	ปริมาณกรดแล็กติก(มก/มล)	จำนวนเชื้อ NS (เซลล์/มล.)
1	2	Natural	$3.22^{h} \pm 0.01$	$1.63^{f} \pm 0.10$	$3.19x10^{10} \pm 3.1x10^{9}$
		P7-1	$2.60^{bcd} \pm 0.07$	$2.75^{abd} \pm 0.03$	$1.19x10^{10} \pm 1.19x10^{9}$
		L2-1	$2.72^{de} \pm 0.06$	$2.30^{f} \pm 0.03$	$4.75x10^{8} \pm 2.76x10^{7}$
		73-1	$2.75^{de} \pm 0.07$	$2.42^{e} \pm 0.03$	$1.18x10^{10} \pm 1.9x10^{9}$
1	4	Natural	$2.87^{f} \pm 0.02$	$2.23^{e} \pm 0.00$	$2.95x10^{12} \pm 3.53x10^{10}$
		P7-1	$2.5^{a} \pm 0$	$3.09^{a} \pm 0.10$	$3.9x10^{11} \pm 2.68x10^{8}$
		L2-1	$2.62^{be} \pm 0.02$	$2.71^{abe} \pm 0.03$	$8.5x10^{9} \pm 3.5x10^{6}$
		73-1	$2.65^{bcd} \pm 0.00$	$2.76^{abe} \pm 0.03$	$4.60x10^{10} \pm 3.2x10^{9}$
2	2	Natural	$3.08^{g} \pm 0.11$	$1.91^{e} \pm 0.04$	$2x10^{10} \pm 7.07x10^{8}$
		P7-1	$2.60^{c} \pm 0.02$	$3.03^{ab} \pm 0.07$	$2.9x10^{9} \pm 1.41x10^{9}$
		L2-1	$2.65^{c} \pm 0.06$	$2.64^{cd} \pm 0.03$	$1.5x10^{10} \pm 7.78x10^{8}$
		73-1	$2.67^{cd} \pm 0.01$	$2.7^{be} \pm 0.00$	$3.0x10^{12} \pm 1.97x10^{8}$
2	4	Natural	$2.82^{ef} \pm 0.02$	$2.36^{de} \pm 0.07$	$5.3x10^{11} \pm 7.3x10^{10}$
		P7-1	$2.55^{ab} \pm 0.002$	$2.99^{abe} \pm 0.09$	$1.05x10^{12} \pm 4.9x10^{8}$
		L2-1	$2.61^{be} \pm 0.01$	$2.86^{abe} \pm 0.03$	$3.0x10^{8} \pm 2.1x10^{6}$
		73-1	$2.65^{be} \pm 0.01$	$3.09^{a} \pm 0.03$	$2.4x10^{10} \pm 1.5x10^{9}$

a, b, c --- ตัวเลขที่มีอักษรกำกับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

NS ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ค่า ± เป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ 2 ครั้ง



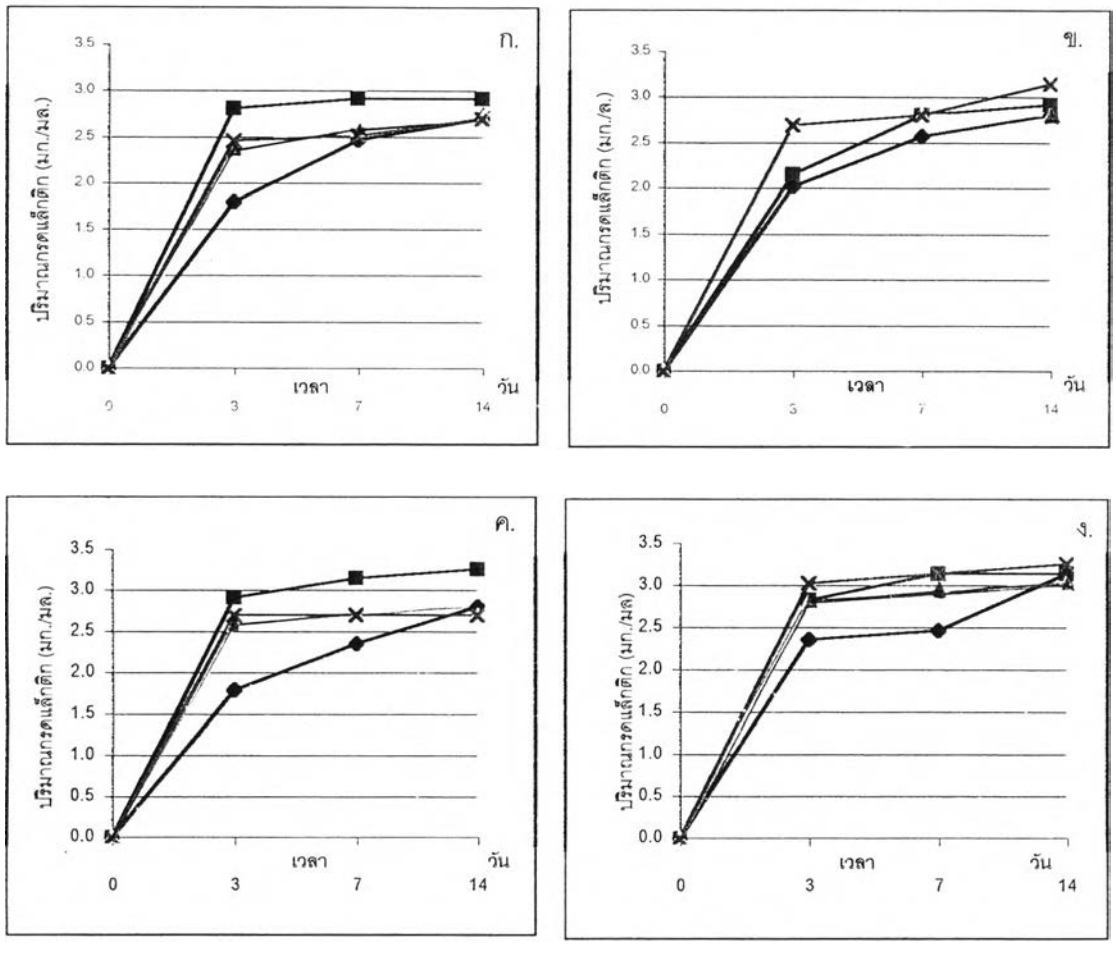
รูปที่ 7 ค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่างของผักกาดเขียวปลีดองที่หมักโดยใช้เกลือ น้ำตาล และเชื้อชนิดต่าง ๆ กัน จากการหมัก 3, 7 และ 14 วัน

ก. ปริมาณเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2

ข. ปริมาณเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 4

ค. ปริมาณเกลือร้อยละ 2 น้ำตาลร้อยละ 2

ง. ปริมาณเกลือร้อยละ 2 น้ำตาลร้อยละ 4



รูปที่ 8 ค่าเฉลี่ยปริมาณกรดแล็กติกของผักกาดเขียวปลีดองที่หมักโดยใช้เกลือ น้ำตาล และเชื้อชนิดต่าง ๆ จากการหมัก 3,7 และ14 วัน

ก. ปริมาณเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2

ข. ปริมาณเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 4

ค. ปริมาณเกลือร้อยละ 2 น้ำตาลร้อยละ 2

ง. ปริมาณเกลือร้อยละ 2 น้ำตาลร้อยละ 4

ตารางที่ 21 ผลการประเมินคุณภาพด้านรสชาติของผักกาดเขียวปลีดองหมัก 3 วัน

เกลือ (%)	น้ำตาล (%)	ชนิดของเชื้อ	ความชอบ	ความเปรี้ยว^{NS}
1	2	Natural	5.98^{a} ± 1.83	3.50 ± 0.42
		P7-1	6.59^{a} ± 1.40	4.28 ± 0.62
		L2-1	6.05^{a} ± 1.34	4.11 ± 0.62
		73-1	6.35^{a} ± 1.32	4.08 ± 0.70
1	4	Natural	5.17^{bc} ± 1.76	3.90 ± 0.91
		P7-1	6.08^{a} ± 1.69	4.05 ± 0.18
		L2-1	5.96^{a} ± 1.61	4.30 ± 0.50
		73-1	5.89^{a} ± 2.17	4.25 ± 0.52
2	2	Natural	3.17^{c} ± 1.33	3.85 ± 0.25
		P7-1	4.64^{bc} ± 1.93	4.25 ± 0.12
		L2-1	5.88^{a} ± 1.76	4.20 ± 0.10
		73-1	6.52^{a} ± 1.54	4.15 ± 0.21
2	4	Natural	4.88^{bc} ± 1.56	3.95 ± 0.17
		P7-1	5.94^{bc} ± 1.59	4.12 ± 0.15
		L2-1	6.11^{a} ± 1.31	4.10 ± 0.55
		73-1	5.35^{a} ± 1.99	4.20 ± 0.10

a, b, c --- ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

NS ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ค่า ± เป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ 2 ครั้ง

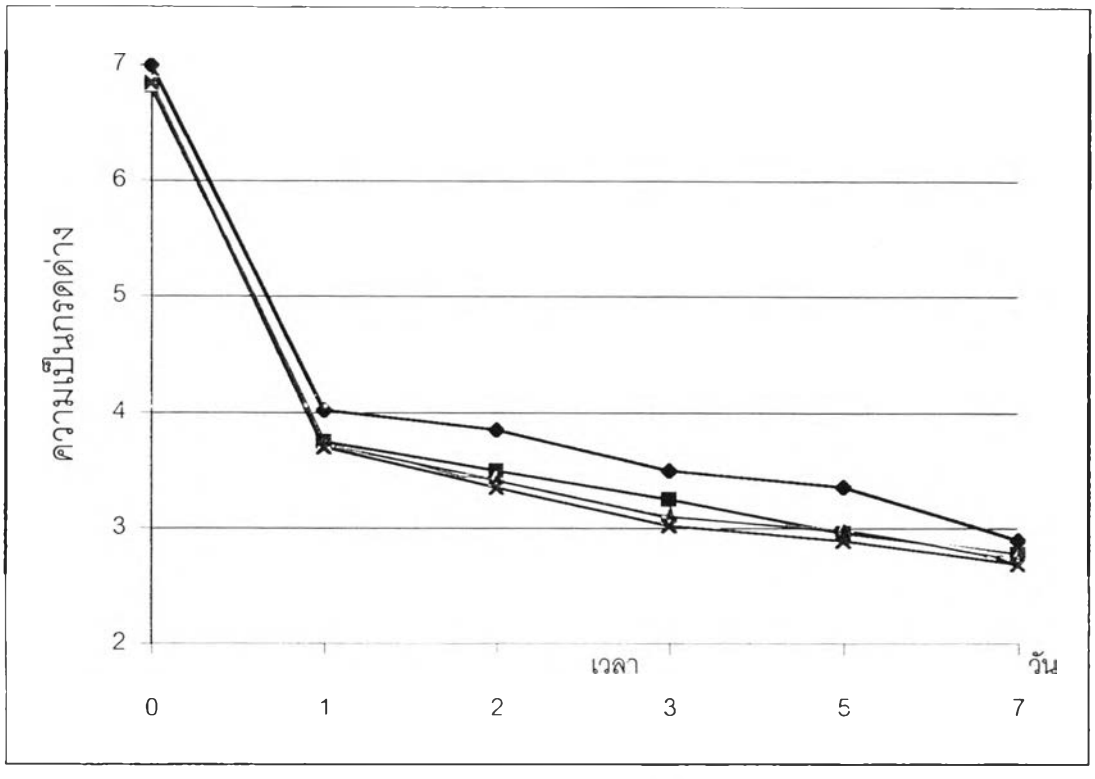
ก

ข

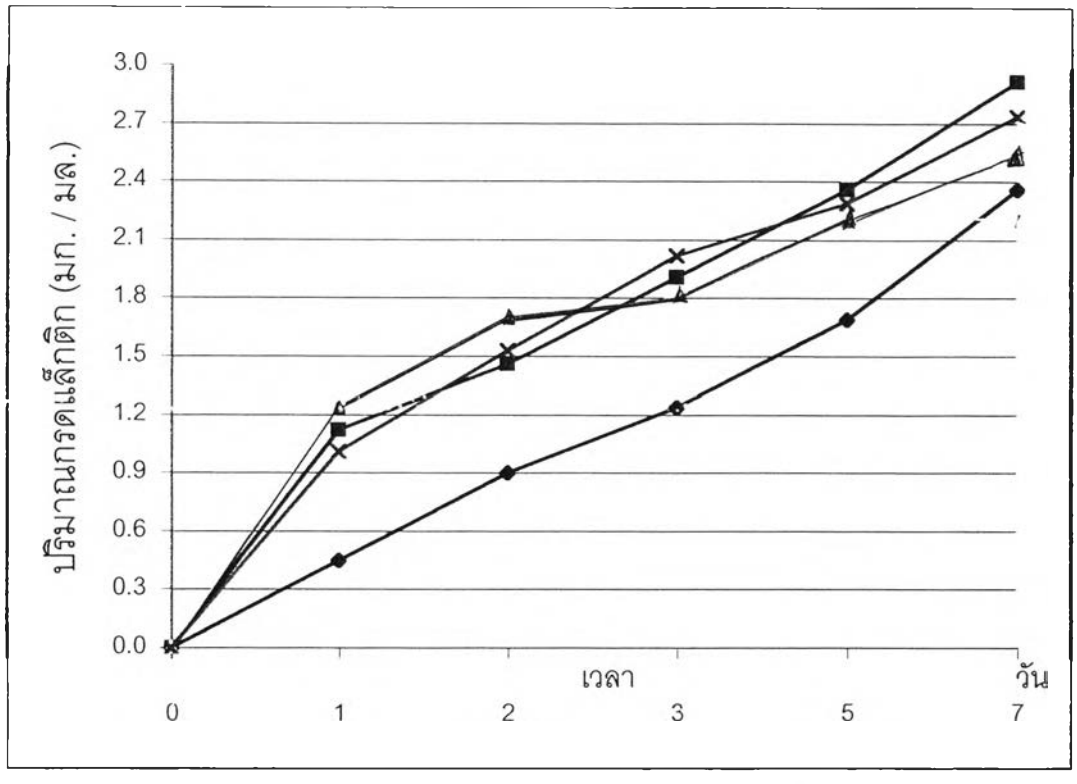
รูปที่ 9 ผักดองที่หมักด้วยเกลือความเข้มข้นร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2 โดยการหมักตามวิธีธรรมชาติ และการหมักโดยใช้สทาร์ตเทอร์เหลว P7-1, L2-1, 73-1

ก. ผักกาดเขียวปลีดอง

ข. ผักรวมดอง



รูปที่ 10 ค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่างของผักกาดเขียวปลีดองที่หมักเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2 โดยเชื้อชนิดต่าง ๆ กัน จากการหมัก 1,2,3,5 และ 7 วัน



รูปที่ 11 ค่าเฉลี่ยปริมาณกรดแล็กติกของผักกาดเขียวปลีดองที่หมักเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2 โดยเชื้อชนิดต่าง ๆ กัน จากการหมัก 1,2,3,5 และ 7 วัน

ตารางที่ 22 การศึกษาอายุการเก็บผักกาดเขียวปลีดองที่หมักโดยความเข้มข้นเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2

ชนิดของเชื้อ	ระยะเวลา (สัปดาห์)	ลักษณะของผักดอง
Natural	1	ผักดองมีสีเขียวน่ารับประทาน
	2	ผักดองมีสีเขียวน่ารับประทาน
	3	ผักดองเริ่มมีสีเขียวเข้มขึ้นเล็กน้อย
	4	ผักดองมีสีเขียวคล้ำออกดำเล็กน้อยไม่น่ารับประทาน
	5	-
P7-1	1	ผักดองมีสีเขียวน่ารับประทาน
	2	ผักดองมีสีเขียวน่ารับประทาน
	3	ผักดองมีสีเขียวออกน้ำตาลบางก้าน รับประทานได้
	4	ผักดองมีสีเขียว มีสีน้ำตาลรับประทานได้
	5	ผักดองมีสีเขียวและสีน้ำตาลออกดำเล็กน้อยไม่น่าทาน
L2-1	1	ผักดองมีสีเขียวน่ารับประทาน
	2	ผักดองมีสีเขียวน่ารับประทาน
	3	ผักดองมีสีเขียวออกน้ำตาลเล็กน้อยในบางก้าน
	4	ผักดองมีสีเขียวอ่อนมีสีน้ำตาลปน
	5	ผักดองมีสีเขียวและน้ำตาลปนดำเล็กน้อย
73-1	1	ผักดองมีสีเขียวน่ารับประทาน
	2	ผักดองมีสีเขียวน่ารับประทาน
	3	ผักดองมีสีเขียวน้ำตาลเล็กน้อยในบางก้าน
	4	ผักดองมีสีเขียวอ่อนมีสีน้ำตาลปน
	5	ผักดองมีสีเขียวและน้ำตาลปนดำเล็กน้อย

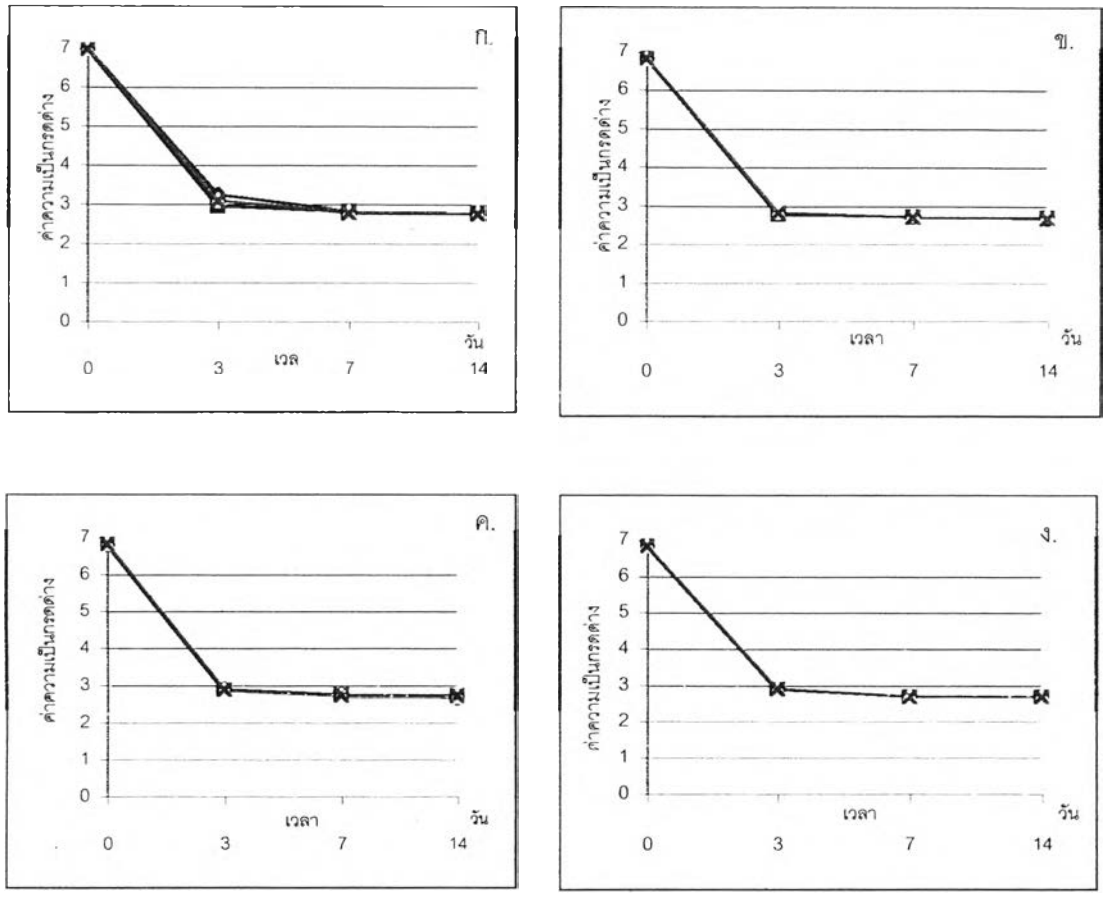
ตารางที่ 23 ค่าเฉลี่ยของความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดแล็กติกและจำนวนเชื้อแล็กติกแอสิดแบคทีเรียในผักรวมดองที่หมัก 3 วัน

เกลือ (%)	น้ำตาล (%)	ชนิดของเชื้อ	ค่าเฉลี่ย		
			ค่าความเป็นกรดด่าง	ปริมาณกรดแล็กติก(มก/มล)	จำนวนเชื้อ NS (เซลล์/มล.)
1	2	Natural	$3.25^{c} \pm 0.77$	$1.78^{e} \pm 0.07$	$3.9x10^{10} \pm 1.48x10^{9}$
		P7-1	$2.80^{a} \pm 0.42$	$2.25^{c} \pm 0.03$	$5.0x10^{9} \pm 0$
		L2-1	$2.90^{ab} \pm 0.02$	$2.025^{de} \pm 0.17$	$3.0x10^{10} \pm 3.5x10^{6}$
		73-1	$2.93^{ab} \pm 0.07$	$2.92^{c} \pm 0.03$	$2.95x10^{9} \pm 1.9x10^{6}$
1	4	Natural	$2.96^{ab} \pm 0.02$	$2.27^{d} \pm 0.03$	$4.9x10^{11} \pm 3.11x10^{9}$
		P7-1	$2.80^{a} \pm 0.03$	$3.15^{c} \pm 0.07$	$5.0x10^{10} \pm 1.76x10^{8}$
		L2-1	$2.87^{a} \pm 0.06$	$3.33^{a} \pm 0.07$	$2.9x10^{11} \pm 2.13x10^{9}$
		73-1	$2.90^{ab} \pm 0.02$	$2.92^{c} \pm 0.03$	$2.85x10^{9} \pm 1.87x10^{8}$
2	2	Natural	$3.11^{c} \pm 0.07$	$1.687^{e} \pm 0.02$	$1.0x10^{10} \pm 3.53x10^{8}$
		P7-1	$2.86^{a} \pm 0.04$	$3.12^{c} \pm 0.02$	$1.95x10^{12} \pm 1.34x10^{9}$
		L2-1	$2.88^{ab} \pm 0.09$	$3.26^{b} \pm 0.03$	$1.20x10^{11} \pm 5.65x10^{9}$
		73-1	$2.92^{ab} \pm 0.07$	$2.835^{d} \pm 0.65$	$8.5x10^{9} \pm 5.9x10^{8}$
2	4	Natural	$3.10^{c} \pm 0.07$	$2.02^{de} \pm 0.07$	$2.05x10^{13} \pm 7.07x10^{10}$
		P7-1	$2.85^{a} \pm 0.1$	$2.925^{c} \pm 0.00$	$2.10x10^{10} \pm 1.05x10^{9}$
		L2-1	$2.88^{ab} \pm 0.00$	$3.24^{b} \pm 0.02$	$1.9x10^{10} \pm 3.53x10^{5}$
		73-1	$2.92^{ab} \pm 0.09$	$2.812^{d} \pm 0.00$	$1.8x10^{9} \pm 7.78x10^{5}$

a, b, c --- ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

NS ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ค่า ± เป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ 2 ครั้ง



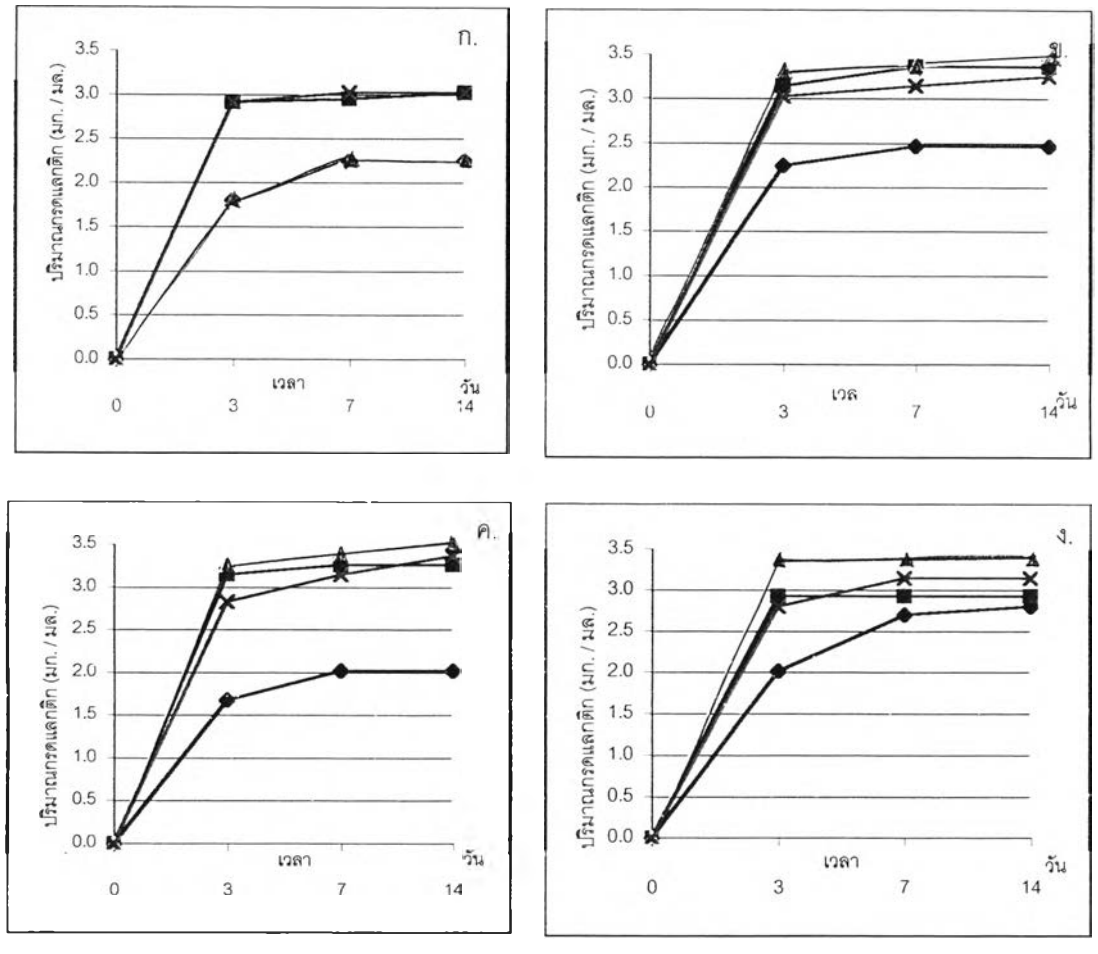
รูปที่ 12 ค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่างของผักรวมที่หมักโดยใช้เกลือ น้ำตาล และเชื้อชนิดต่าง ๆ กัน จากการหมัก 3,7 และ 14 วัน

ก. ปริมาณเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2

ข. ปริมาณเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 4

ค. ปริมาณเกลือร้อยละ 2 น้ำตาลร้อยละ 2

ง. ปริมาณเกลือร้อยละ 2 น้ำตาลร้อยละ 4



รูปที่ 13 ค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดแล็กติกของผักรวมที่หมักโดยใช้เกลือ น้ำตาล และเชื้อชนิดต่าง ๆ กัน จากการหมัก 3,7 และ 14 วัน

ก. ปริมาณเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2

ข. ปริมาณเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 4

ค. ปริมาณเกลือร้อยละ 2 น้ำตาลร้อยละ 2

ง. ปริมาณเกลือร้อยละ 2 น้ำตาลร้อยละ 4

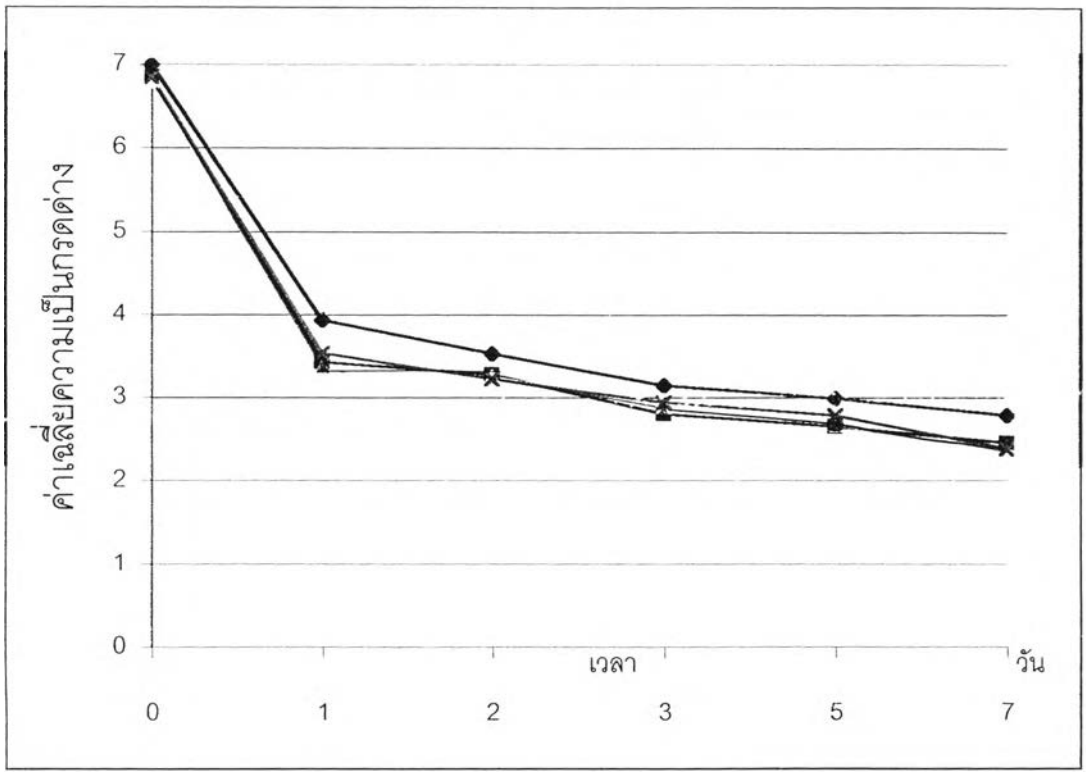
ตารางที่ 24 ผลการประเมินคุณภาพด้านรสชาติของผักรวมดองหมัก 3 วัน

เกลือ (%)	น้ำตาล (%)	ชนิดของเชื้อ	ความชอบ	ความเปรี้ยว^{NS}
1	2	Natural	5.29^{a} ± 1.40	3.75 ± 0.51
		P7-1	6.58^{a} ± 1.69	4.30 ± 0.18
		L2-1	6.05^{a} ± 1.48	4.25 ± 0.50
		73-1	6.23^{a} ± 1.61	4.29 ± 0.20
1	4	Natural	3.47^{c} ± 1.73	3.65 ± 0.45
		P7-1	6.00^{a} ± 1.69	4.25 ± 0.56
		L2-1	6.00^{a} ± 1.48	4.05 ± 0.70
		73-1	6.88^{a} ± 1.65	4.15 ± 0.51
2	2	Natural	4.17^{bc} ± 2.03	3.95 ± 0.18
		P7-1	5.41^{bc} ± 1.73	4.25 ± 0.25
		L2-1	6.23^{a} ± 1.61	4.00 ± 0.55
		73-1	6.70^{a} ± 1.09	4.20 ± 0.25
2	4	Natural	3.94^{c} ± 1.78	4.00 ± 0.46
		P7-1	5.94^{bc} ± 1.59	4.10 ± 0.36
		L2-1	5.82^{bc} ± 1.34	4.05 ± 0.78
		73-1	6.00^{a} ± 2.06	4.00 ± 0.24

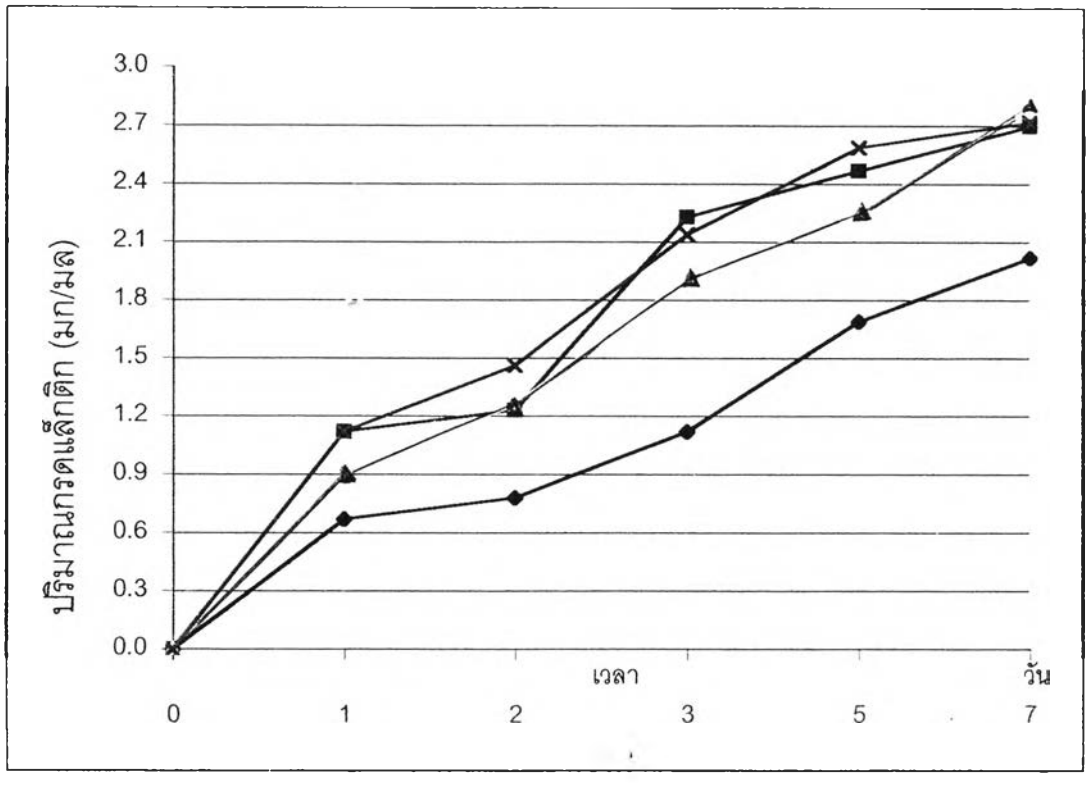
a, b, c --- ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

NS ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ค่า ± เป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ 2 ครั้ง



รูปที่ 14 ค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่างของผักกาดรวมที่หมักเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2 เชื้อชนิดต่าง ๆ กัน จากการหมัก 1,2,3,5 และ 7 วัน



รูปที่ 15 ค่าเฉลี่ยปริมาณกรดแล็กติกของผักรวมที่หมักเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2 และเชื้อชนิดต่าง ๆกัน จากการหมัก 1,2,3,5 และ 7 วัน

ตารางที่ 25 การศึกษาอายุการเก็บของผักรวมดองที่หมักโดยความเข้มข้นเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2

ชนิดของเชื้อ	ระยะเวลา (สัปดาห์)	ลักษณะของผักดอง
Natural	1	กะหล่ำปลีมีสีเขียวอ่อน แครอทสีส้ม
	2	กะหล่ำปลีมีสีเขียวอ่อน แครอทสีส้ม
	3	กะหล่ำปลีสีน้ำตาลปนเหลือง แครอทสีส้มออกน้ำตาล
	4	-
P7-1	1	กะหล่ำปลีสีเขียวอ่อน แครอทสีส้ม
	2	กะหล่ำปลีมีสีเขียวอ่อน แครอทสีส้ม
	3	กะหล่ำปลีมีสีเหลือง แครอทสีส้มเข้มขึ้น
	4	กะหล่ำปลีมีสีเหลืองออกน้ำตาลแครอทสีส้มออกน้ำตาล
L2-1	1	กะหล่ำปลีสีเขียวอ่อน แครอทสีส้ม
	2	กะหล่ำปลีมีสีเขียวอ่อน แครอทสีส้ม
	3	กะหล่ำปลีมีสีเหลือง แครอทสีส้มเข้มขึ้น
	4	กะหล่ำปลีมีสีเหลืองออกน้ำตาลแครอทสีส้มออกน้ำตาล
73-1	1	กะหล่ำปลีสีเขียวอ่อน แครอทสีส้ม
	2	กะหล่ำปลีมีสีเขียวอ่อน แครอทสีส้ม
	3	กะหล่ำปลีมีสีเหลือง แครอทสีส้มเข้มขึ้น
	4	กะหล่ำปลีมีสีเหลืองออกน้ำตาลแครอทสีส้มออกน้ำตาล

ตารางที่ 26 ค่าเฉลี่ยของความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดแล็กติก ความหนืด และปริมาณเชื้อในโยเกิร์ตที่บ่ม 24 ชั่วโมง

น้ำตาล (%)	ชนิดของเชื้อ	ค่าความเป็นกรดด่าง	ปริมาณกรดแล็กติก(มก/มล)	ความหนืด (mpas) (มิลลิพาสคาล)	ปริมาณเชื้อ NS (เซลล์/มล.)
6	Yoghurt starter	$4.05^{b} \pm 0.07$	$0.47^{cd} \pm 0.35$	$611.44^{d} \pm 0.69$	$1.2x10^{9} \pm 1.0x10^{5}$
	L2-1	$3.93^{b} \pm 0.02$	$0.45^{cd} \pm 0.14$	$604.05^{d} \pm 62.29$	$2.5x10^{9} \pm 1.0x10^{6}$
	73-1	$4.10^{bc} \pm 0.14$	$0.42^{d} \pm 0.35$	$421.78^{f} \pm 11.62$	$5x10^{10} \pm 2.5x10^{6}$
8	Yoghurt starter	$3.77^{ab} \pm 0.03$	$0.77^{b} \pm 0.03$	$1115.42^{b} \pm 12.78$	$1.0x10^{10} \pm 1.5x10^{3}$
	L2-1	$3.80^{b} \pm 0$	$0.72^{b} \pm 0.03$	$950.83^{c} \pm 2003$	$1.2x10^{11} \pm 1.00x10^{2}$
	73-1	$3.83^{b} \pm 0.03$	$0.50^{cd} \pm 0.00$	$559.8^{d} \pm 7.89$	$1.2x10^{11} \pm 6.5x10^{6}$
10	Yoghurt starter	$3.70^{a} \pm 0.21$	$0.92^{a} \pm 0.70$	$1344.51^{a} \pm 66.30$	$1.2x10^{9} \pm 5.0x10^{5}$
	L2-1	$3.62^{a} \pm 0.17$	$0.82^{a} \pm 0.35$	$1203.11^{b} \pm 35.46$	$2.5x10^{11} \pm 6.7x10^{8}$
	73-1	$3.75^{b} \pm 0.07$	$0.60^{c} \pm 0.07$	$675.07^{d} \pm 0.559$	$3.5x10^{10} \pm 5.0x10^{9}$

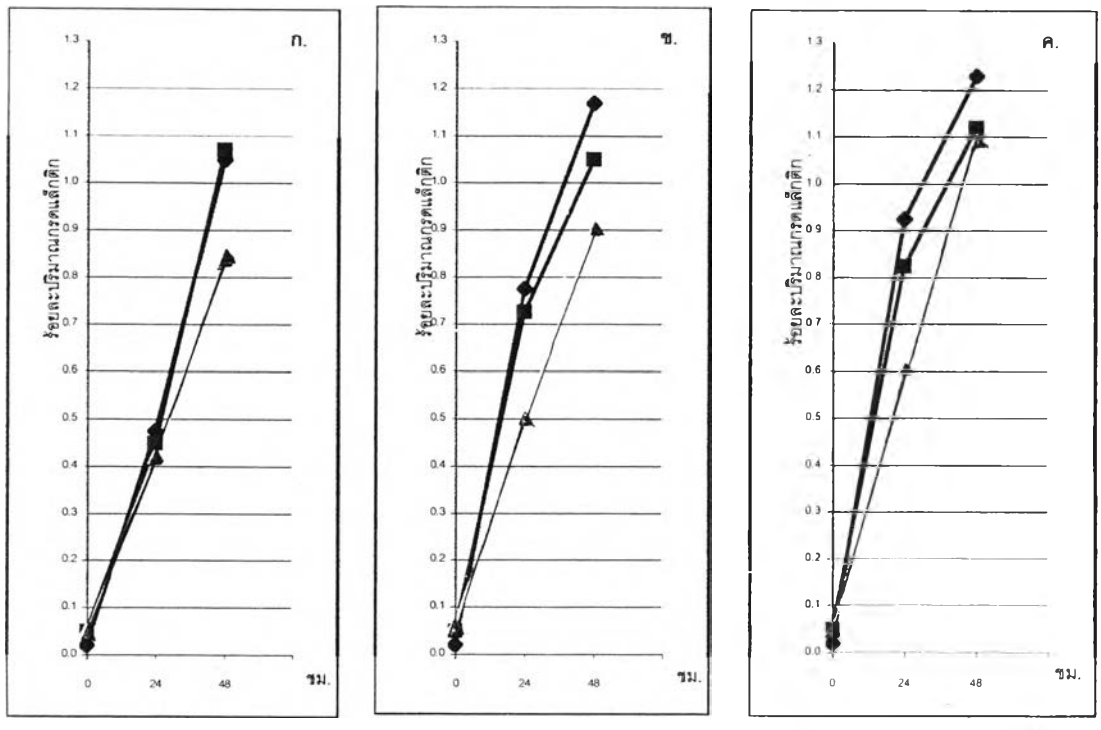
ตารางที่ 27 ค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดแล็กติก ความหนืด และปริมาณเชื้อในโยเกิร์ตที่บ่ม 48 ชั่วโมง

น้ำตาล (%)	ชนิดของเชื้อ	ค่าความเป็นกรดด่าง	ปริมาณกรดแล็กติก(มก/มล)	ความหนืด (mpas) (มิลลิพาสคาล)	ปริมาณเชื้อ NS (เซลล์/มล.)
6	Yoghurt starter	$3.25^{b} \pm 0.07$	$1.05^{c} \pm 0.07$	$910.13^{e} \pm 0.18$	$3.5x10^{9} \pm 1.0x10^{8}$
	L2-1	$3.26^{b} \pm 0.84$	$1.07^{c} \pm 0.28$	$707.21^{g} \pm 60.51$	$2.9x10^{10} \pm 1.6x10^{9}$
	73-1	$3.53^{c} \pm 0.04$	$0.84^{d} \pm 0.00$	$589.78^{h} \pm 1.10$	$3.2x10^{11} \pm 2.5x10^{5}$
8	Yoghurt starter	$3.24^{ab} \pm 0.07$	$1.17^{ab} \pm 0.03$	$1649.08^{b} \pm 12.78$	$1.4x10^{10} \pm 5.0x10^{3}$
	L2-1	$3.28^{b} \pm 0.00$	$0.75^{c} \pm 0.13$	$1072.50^{d} \pm 20.0$	$5.5x10^{10} \pm 6.5x10^{6}$
	73-1	$3.27^{b} \pm 0.10$	$0.90^{d} \pm 0.00$	$724.50^{g} \pm 7.89$	$3.5x10^{9} \pm 1.9x10^{5}$
10	Yoghurt starter	$3.22^{a} \pm 0.03$	$1.23^{a} \pm 0.70$	$1820.50^{a} \pm 0.70$	$1.2x10^{10} \pm 7.0x10^{3}$
	L2-1	$3.22^{a} \pm 0.14$	$1.12^{b} \pm 0.35$	$1372.0^{c} \pm 19.79$	$2.5x10^{10} \pm 6.7x10^{2}$
	73-1	$3.29^{b} \pm 0.00$	$1.09^{b} \pm 0.04$	$805.07^{f} \pm 6.96$	$5.5x10^{9} \pm 2.0x10^{9}$

a, b, c --- ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

NS ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ค่า ± เป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ 2 ครั้ง

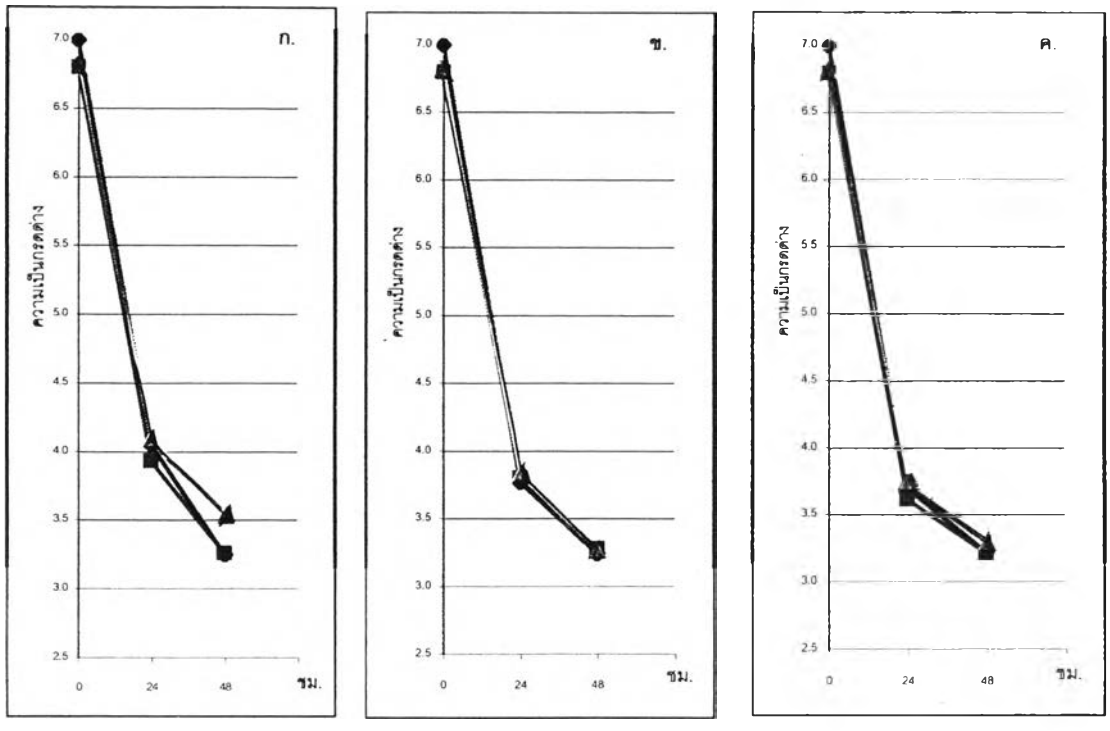


รูปที่ 16 ค่าเฉลี่ยปริมาณกรดแล็กติกของโยเกิร์ตที่หมักโดยใช้น้ำตาล และเชื้อชนิดต่าง ๆ กัน จากการบ่ม 24 และ 48 ชั่วโมง

ก. ปริมาณน้ำตาลร้อยละ 6

ข. ปริมาณน้ำตาลร้อยละ 8

ค. ปริมาณน้ำตาลร้อยละ 10

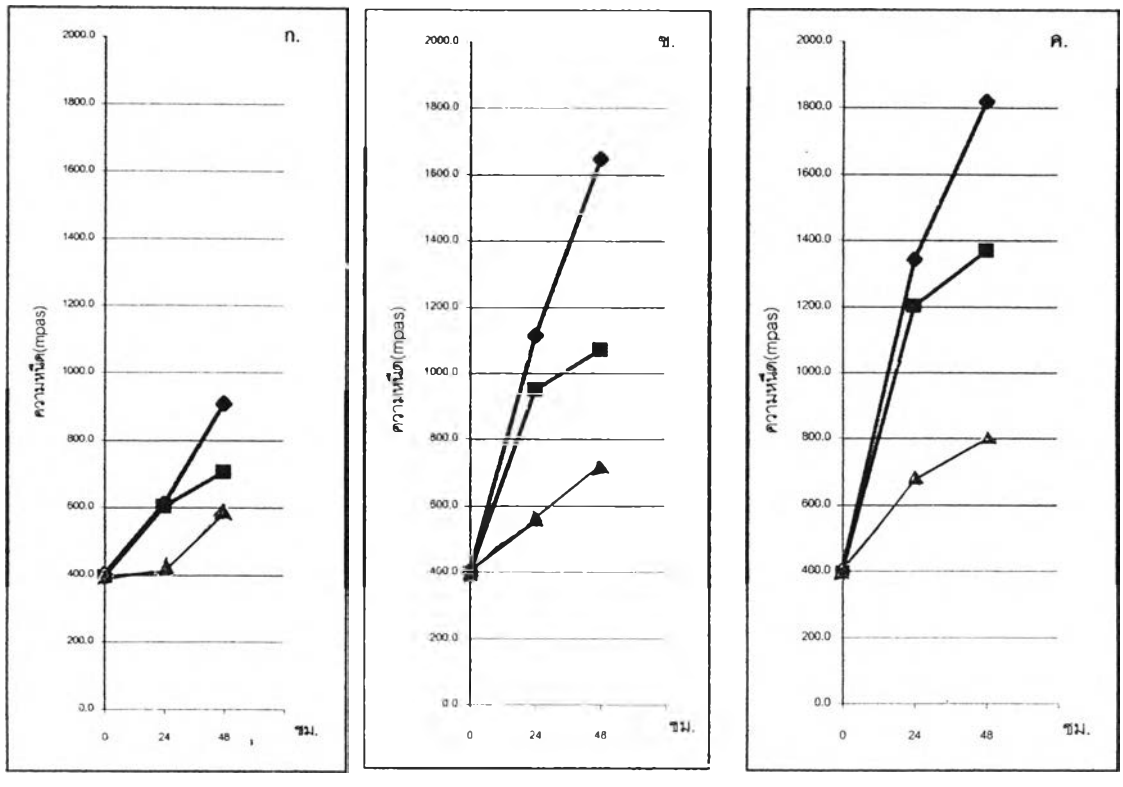


รูปที่ 17 ค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่างของโยเกิร์ตที่หมักโดยใช้น้ำตาลและเชื้อชนิดต่าง ๆ กัน

ก. ปริมาณน้ำตาลร้อยละ 6

ข. ปริมาณน้ำตาลร้อยละ 8

ค. ปริมาณน้ำตาลร้อยละ 10



รูปที่ 18 ค่าเฉลี่ยความหนืดของโยเกิร์ตที่หมักโดยใช้น้ำตาลและเชื้อชนิดต่าง ๆ กัน

ก. ปริมาณน้ำตาลร้อยละ 6

ข. ปริมาณน้ำตาลร้อยละ 8

ค. ปริมาณน้ำตาลร้อยละ 10

ตารางที่ 28 ผลการประเมินคุณภาพด้านรสชาติของนมเปรี้ยว

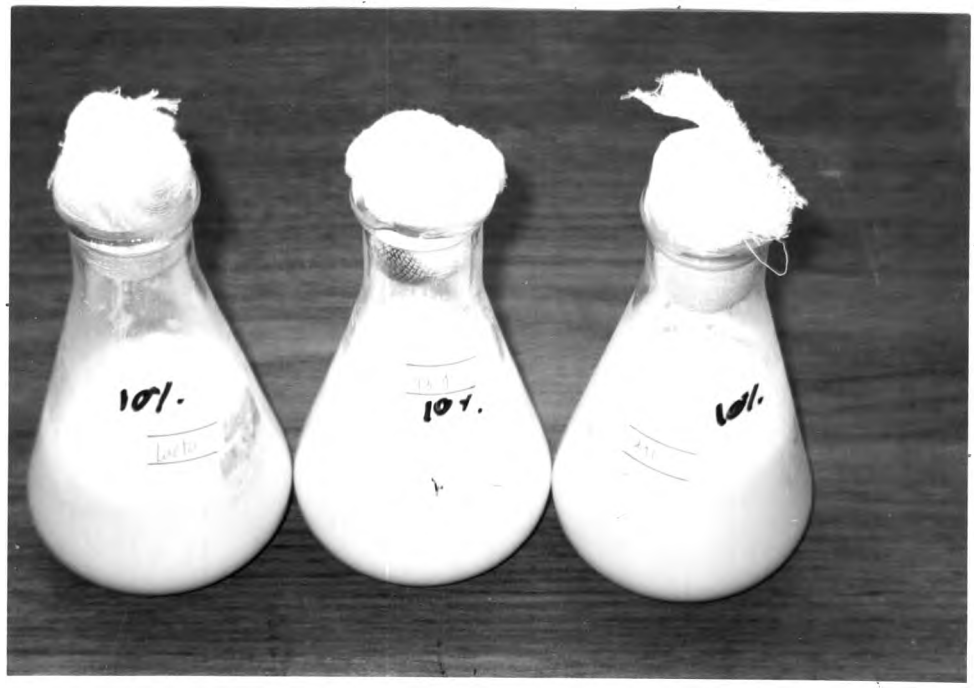
ชนิดของเชื้อ	ความชอบ	ความเปรี้ยว
Yoghurt starter	$6.95^{b} \pm 0.1743$	$4.10^{b} \pm 0.6489$
L2-1	$7.26^{a} \pm 0.1973$	$4.25^{a} \pm 0.489$
Yoghurt starter + Pectin	$5.10^{c} \pm 0.6156$	$3.80^{b} \pm 0.485$
L2-1 + Pectin	$5.50^{c} \pm 0.648$	$3.95^{b} \pm 0.458$
Yomost	$7.30^{a} \pm 0.725$	$4.50^{a} \pm 0.410$

a, b, c --- ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

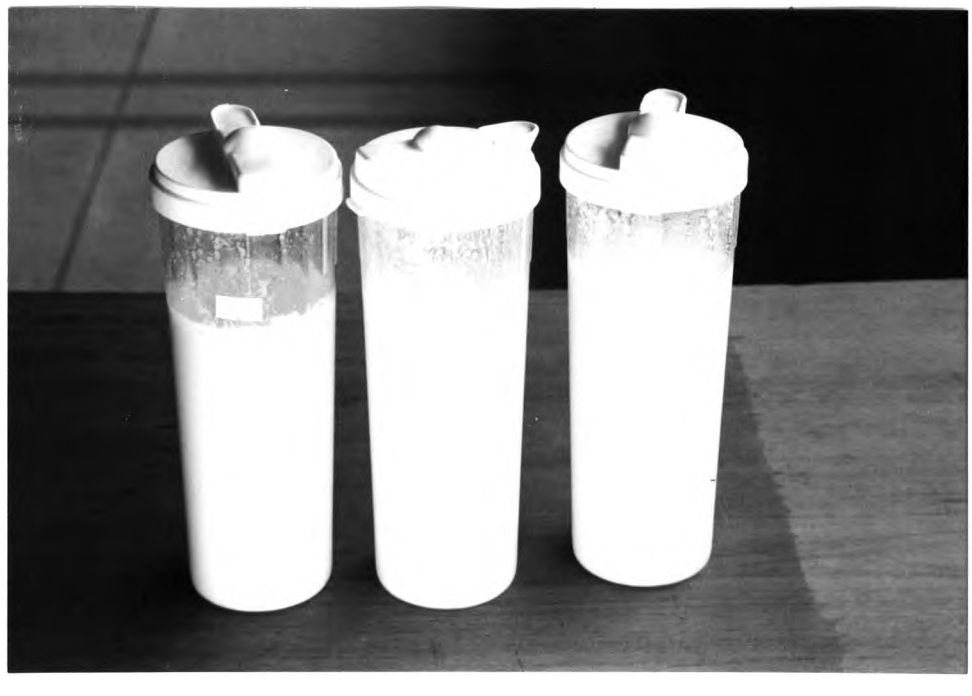
ค่า ± เป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ 2 ครั้ง

ตารางที่ 29 ผลการวิเคราะห์ความหนืดของนมเปรี้ยวสูตรต่างๆกัน

ชนิดของเชื้อ	ความหนืด (มิลลิพาสคาล)
Yoghurt starter	779.11
L2-1	615.18
Yoghurt starter + Pectin	869.40
L2-1 + Pectin	760.15
Yomost	664.43



ก



ข

รูปที่ 19 ก. โยเกิร์ตที่ผลิตโดย L2-1, 73-1 และโยเกิร์ตสทาร์ตเทอร์ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 10 บ่ม 24 ชั่วโมง

ข. นมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่ผลิตโดย L2-1, 73-1 และโยเกิร์ตสทาร์ตเทอร์