รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กระทรวงพาณิชย์. 2542. **ปริมาณและมูลค่าการส่งออกผักดองและโยเกิร์ตตั้งแต่ พ.ศ.2537-41.** กรมส่งเสริมการส่งออก.

คงเดช ลีโทชวลิตร. 2540. **สถิติเพื่อการวิจัย.** กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ธรรมสาร.

นภา โล่ห์ทอง. 2534. **กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการหมัก.** พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์ฟันนี่พับบลิสชิ่ง.

วิชัย หฤทัยธนาสันต์. 2538. **หลักการถนอมและแปรรูปผักและผลไม้เบื้องต้น.** กรุงเทพมหานคร : ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 101-103.

ศิริลักษณ์ สินธวาลัย. 2525. **ทฤษฎีอาหาร เล่ม 2.** กรุงเทพมหานคร : คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภาษาอังกฤษ

Albert, B., Hans, G., Martin, D., Wim, H., and Karl, H. 1992. **The Prokaryotes.** 2nd ed. New York : Springer-Verlag.

Albury, M., and Pederson, S. 1961. The effect of pure culture inoculation on fermentation of cucumbers. **Food Technol.** 15 : 351.

A.O.A.C.1990. **Official method of analysis the Association of Official Analytical Chemists.** 14th ed., Washington, DC.

Bate, P. 1970. Lactic acid fermentation of outer celery pectioles. **J. Food Sci.** 35 : 476-478.

Castrol, A., Rejano, L., Sarchez, A., and Montano, R. 1995. Fermentation of Lye-treated carrots by *L. plantarum.* **J. Food Sci.** 60(2) : 316-319.

Catherine, B., Alan, K., and Thomas, Y. 1991. Inhibition of food borne bacterial pathogens by bacterioeins from lactic acid bacteria isolated from meat. **J. Appl. Env. Microbiol.** 57 (6) : 1683-1688.

Chavasit, J. V., Hudson, J. B., Torres, A.B., and Dacschel, A.M. 1991. Evaluation of fermentative bacteria in a model low salt cucumber juice brine. **J. Food Sci.** 56(2) : 462-465.

Christensen, M., Margaret, N., and Pederson, C. 1958. Variation in the acetic acid-lactic acid ratio among the lactic acid bacteria. **J. Bacteriol.** 6 : 316-318.

Cogan, T.A. 1987. Cheese starter culture. **J. Bacteriol.** 34 : 402.

Compbellplatt, G.B.1994. Fermented foods a world perspective. **Food Res. Int.** 27(3) : 253-257.

Concor, H., Woods, H., and Ledingham, Y. 1983. Comparison of the kinetics and utilisation of D(-) and L(+) Sodium lactate in normal man. **Am. J. Med.** 27 : 481-487.

Daeschel, M.S. 1989. Antimicrobial substances from lactic acid bacteria use as food preservatives. **J. Food Technol.** 43 : 164.

Daeschel, M., Fleming, H., and Mefecters, R. 1988. Mixed culture fermentation of cucumber juice with *Lactobacillus plantarum* and yeasts. **J. Food Sci.** 53(3) : 862-872.

Dahiya, S. R., and Specks, B.S., 1968. Hydrogen peroxide formation by *Lactobacilli* and its effect on *Staphylococcus aureus*. **J. Dairy Sci.** 51 : 1568.

Elaine, E., Elizabeth, C., and Looney, R. 1994. Isolation from food sources of lactic acid bacteria that produced antimicrobials. **J. Bacteriol.** 76 : 118-123.

Early. A.B., 1995. **The technology of dairy products**. New York : Beckie Academic & VCH.

FAO/WHO. 1973. Code of Principles concerning. **Milk & Milk Product.** 16 th ed. Rome : Session Press.

Fleming, H., Mefecters, R., Thomson, R., and Seanders, D. 1983. Storage stability of vegetables fermented with pH control. **J. Food Sci.** 48 : 975-981.

Frazier, W., and Westhoff, D. 1979. **Food Microbiology.** 3 rd ed. New Delhi :

Tata Mcgraw-Hill.

Fred, Bredit., and Henery, Fleming, H. 1997. Using Lactic acid bacteria to improve the safety of minimally processed fruits and vegetables. **Food Technol.** 51(9) : 44-48.

Gibbs, A.B., and Skinner. S.A., 1996. **Identification method for Microbiologist.** Part A. London : Academic Press.

Gordana, K., Necketie, A., Boume, M., and Stammer, J. 1973. Preservation of carrots lactic acid fermentation. **J. Food Sci.** 38 : 84-86.

Gunther, B.H., and White, S.H. 1961. The Culture and physiological characteristics of the Pediococcus. **J. Gen. Microbiol.** 26 : 185-196.

Hammes, O.W., and Tichazeak, K.P. 1991. The potential of lactic acid bacteria for the production of safe and wholesome food. **Zeitschift Fur. Lebensmittel-Unters Uchung Und Froscheng.** 198(3) : 193-201.

Hammes, W., Bantlelon, A., and Min, K. 1990. Lactic acid bacteria in meat fermentation. **FEMS. Microbiol. REV.** 87 : 165-174.

Harrigan, E.W., and Bark, Y.W. 1991. **Making safe food a management guide for microbiological quality**. San Diego : Academic Press.

Harvey, O.R., and Collins, P.B. 1963. Roles of citrate and acetoin in the metabolism of *Streptococcus diacetilactis* **J. Bacteriol.** 86 : 1301-1307.

Hertzler, S., Huynh, B., and Savaiano, D. 1996. How much lactose is low lactose. **J. Am. Diet. Assoc.** 96(3) : 243-246.

Hone, B.H., and Nordagaurclandersen, S.I. 1994. Effect of lactic acid bacteria on the intestine production of lactate and short-chain fatty-acids and the absorption of lactose. **Am. J. Clin. Nutr.** 59(1) : 74-79.

Ionel, T.R. 1995. **Milk and Dairy products.** New York : Beckie & VCH.

Jarvis, A.B., and Farr, S.J. 1976. Purification specificity and mechanism of action preservation of food. **J. Food Safety.** 10 : 255-267.

Jay, B.J. 1982. Antimicrobial properties of diacetyl. **J. Appl. Env. Microbiol.** 44 : 525.

June, G.B. 1976. **Basic Foods**. New York : Rinehart and Winston, Inc.

Keith, S. 1996. **Handbook of Indigenous fermented food.** 2nd ed. New York : Marcel Dekker, Inc.

Kempler, S.M., and Mekay, K.L. 1980. Improved medium for detection of citrate fermenting *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis*. **J. Appl. Env. Microbiol.** 39 : 926-927.

Kim, M., Ya, O., and Kim, D. 1993. Fermentation of Chinese cabbage kimchi inocculated with *Lactobacillus acidophilus*. **J. Korea. Soc. Food Nutr.** 22; 2 : 165-174.

Klaehammer, P.T. 1988. Bacteriocin of lactic acid bacteria. **Biochimie.** 79 : 337-349.

Knorr, K.D. 1987. **Food Biotechnology**. New York : Marcel Dekker, Inc.

Komagata, K., and Suzuki, K. 1987. Lipid and cell wall analysis in bacteria systematics. **In Methods in Microbiology.** pp.161-207. London : Cowel & Grigorawa Academic Press.

Lawrence, S., Norman, G., and Syney, F. 1982. D-Lactic acidosis due to abnormal gut flora. **N. Engl. J. Med.** 306 (22) : 1344-1348.

Laye, I., Karleskind, D., and Morr, C. 1993. Chemical microbiological and sensory properties of plain nonfat yoghurt. **J. Food Sci.** 58 : 991-995.

Lehnen, J., and Luecke, F. 1994. Lactic acid fermented beet root manufacturing technique microbiology and market prospects. **Indust. obst. Gem. Evert.** 79(4) : 139-147.

Leland, P.A., and Richard, W.Y. 1970. **Industrial fermentations**. 2nd ed. New York : Chemical Publ. Co, Inc.

Margaret, S.M., and Harriett, T.P. 1979. **Modern Food Preservation**. Los Angles : Plycon Press.

Meade, H.G., and Chen, N.P. 1977. **Cane sugar Handbook** 10th ed. Toronto : Yohn-Willeys and Sons Inc.

Mefecters, R., and Fleming, H. 1997. Balancing macromineral composition of fresh-pack cucumber pickles to improve nutritional quality and maintain flavor. **J. Food Quality**. 20(1) : 81-87.

Merilainea, K.V. 1988. Preparation of starter cultures for fermented milk **Bulletin of the International Dairy federation.** 227 : 1-5.

Nadathur, S., Gould, S., and Bakalinsky, A. 1994. Antimutagenicity of fermented milk. **J. Dairy Sci.** 77(1) : 3287-3295.

Nakazawa, U.J. 1991. **Functions of fermented milk.** London : Elsvier science Publishing. Company, Inc.

Okada, S., Toyoda, T. and Kozaki, M. 1978. An easy method for the determination of the optical types of lactic acid produced by lactic acid bacteria. **Agric. Biol. Chem.** 42(9) : 1781-1783.

Pederson, C.S. 1971. **Microbiology of food Fermentations.** 2nd ed. Westport, Conecticut : AVI publishing company, Inc.

Phalip, V., Schemitt, P., and Dives, C. 1993. A method for screening diacetyl and acetoin bacteria on agar plates. **Food Technol.** 34 (4) : 277-280.

Pinheiro, V.A., 1968. Properties of suostances inhibitory to *Pseudomonas fragi* produced by *Streptococcus citrovorus* and *S. diacetylactis*. **J. Dairy Sci.** 51 : 183-187.

Pragna, D., and Tanvi, S. 1977. Controlled fermentation of vegetables using mixed inoculum of lactic cultures. **J. Food Sci. Technol.** 34(2) : 155-158.

Raymond, B., James, D., and John , C. 1972. **Pickles & Sauce Making.** London : Food Trade Press.

Reddy, W.N., and Peirson, Z.M. 1994. Reduction in antinutritional and toxic component in plant foods by fermentation. **Food Res. Int.** 27(3) : 281-290.

Rehm, C.H., and Reed, Q.G. 1995. **Biotechnology.** 2nd ed. Lee : The Federal Republic of Germany Press.

Robinson, R., and Tamine, A., 1976. Milk and dairy Products propetties and processing. **J. Dairy Technol.** 9 : 59.

Rodrigo, M., Lazaro, J. Alvarruiz, Z., and Vila, R. 1968. Biochemistry of Controlled fermentation of pickling cucumber and quality of the final product. **Revista. de Agro. Technol. Ali.** 26(4) : 539-551.

Rolf, A., Erikson, C., Ann, B., and Theander, O. 1990. Lactic acid fermentation of fresh and stored carrot chemical, microbiol and sensory evaluation of products. **LebensmWiss U-Tchnol.** 23 : 34-40.

Russel, H.N., and Gould, E.G. 1991. **Food Presservaties.** New York : Van Nostrand Reinhold Press.

Samelis,,J., Roller, S., and Metaxopoulos, J. 1994. Sakacin B. a bacteriocin produced *Lactobacillus sake* isolated from Greek dry fermented sausages. **J. Appl. Bacteriol.** 76 : 475-486.

Schillinger, U., and Kral, F. 1989. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. **J. Appl. Env. Microbiol.** 55(8) : 1901-1906.

Seppo, S., and Atte, W. 1993. **Lactic acid bacteria.** New York : John Willey & Sons Press.

Skerman, A.V. 1967. **A Guide to the identification genera of bacteria** 2nd ed. Baltimore : The Williaman - Wilkins Co, Inc.

Stamer, J., Styolya, B., and Dunckel, B. 1971. Growth rates and fermentation patterns of lactic acid bacteria associated with the sauerkraut fermentation. **J. Milk Food Technol.** 34 (11) : 521-525.

Tamine, A. 1978. Processing variable affecting proteolysis in yoghurt during incubation. **J. Dairy Sci.** 71 : 596-603.

Tamine, A., and Deeth, H. 1980. Yoghurt : Technology and biochemistry.

J. Food Prof. 43 : 939.

Tanasupawat, S., and Daengsubha, W. 1983. Pediococcus species and related bacteria found in fermented foods and reeated materials in Thailand **J. Gen. Appl. Microbiol.** 29 : 487-506.

Tanasupawat, S., Ezaki, T., Suzuki, K., Okada, S., Komagata, K., and kozaki, M. 1992. Characterization and identification of *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus plantarum* strains from fermented food in Thailand. **J. Gen. Appl. Microbiol.** 38 : 121-135.

Tanasupawat, S., and Komagata, K. 1995. Lactic acid bacteria in fermented foods in Thailand. **Worid J. Microbiol. Biotechnol.** 11 : 253-256.

Tanasupawat, S., Okada, S., and Komagata, K. 1998. Lactic acid bacteria found in fermented fish in Thailand. **J. Gen. Appl. Microbiol.** 44 : 193-200.

Tanasupawat. S. Okada, S., Suzuki, K., Kojaki, M., and Kamagata, K. 1993. Lactic acid bacteria particularly heterofermentative lactobacilli found in Thailand. **Bull JFCC.** 9 : 65-78.

Vadamuthu, R. 1991. The yoghurt story Past, Present and Future. Part II. **J. Dairy Food Env. San.** 11(4) : 202-203.

Vaughn, R., and Levine, M. 1942. Aesculin hydrolysis. **J. Bacteriol.** 44 : 487-505.

William, F., and Dennis, W. 1988. **Food Microbiology.** 4th ed. Mc Graw Hill Book Company, Inc.

Zeigler, W., Haln, M., and Wallnofer, P. 1994. Influence of food processing on the decrease of biogenic amines in various vegetables. **Deutsche Lebensmitlel Rundshau.** 90(4) : 108-112.

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

สูตรอาหารเหล่านี้ผสมกับน้ำกลั่น 100 มล. นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว (อุณหภูมิ 121°ซ) เป็นเวลา 15 นาที

1. Aesculin broth

Aesculin	1	กรัม
Glucose	0.25	"
Ferric citrate	0.25	"
Beef extract	0.5	"
Yeast extract	0.5	"
$MnSO_4 . 4H_2O$	0.01	"
Tween 80	0.1	"

2. Fermentable carbohydrate broth

Carbohydrate	0.5	กรัม
Yeast extract	0.4	"
Peptone	0.5	"
Salt solution	0.5	มล.
pH	6.8	

Sait solution :

$MgSO_4 . 7H_2O$	4.0	กรัม
$MnSO_4 . 4H_2O$	0.2	"
$FeSO_4 . 7H_2O$	0.2	"
NaCl	0.2	"
น้ำกลั่น	100	มล.

ต้องฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110°ซ เป็นเวลา 10 นาที

3. Gelatin broth

Gelatin	10.0	กรัม
Glucose	1.0	"

Yeast extract	0.5	กรัม
Peptone	0.5	"
Sodium acetate	0.3	"
Salt solution	0.5	มล.
pH	6.8	

4. Glucose yeast extract peptone beef extract broth (GYPB)

Glucose	1.0	กรัม
Yeast extract	0.5	"
Peptone	0.5	"
Beef extract	0.2	"
Sodium acetate	0.3	"
Tween 80	25	มก.
Salt solution	0.5	มล.
pH	6.8	

5. Glucose yeast extract peptone agar (GYPA)

สูตรเดียวกับ GYPB (ข้อ 4) แต่เติม

Agar	1.5	กรัม
$CaCO_3$	0.5	" (เพื่อดูการสร้างกรด)
pH	6.8	

6. MRS medium

Glucose	2.0	กรัม
Peptone	1.0	"
Yeast extract	0.5	"
Beef extract	1.0	"
Tween 80	0.1	"
Sodium acetate	0.5	"
Amonium citrate	0.2	"
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.02	"

$MnSO_4$ $4H_2O$	0.005	กรัม
K_2HPO_4	0.1	"
Agar	1.5	"

7. Nutrient agar (NA)

Peptone	0.5	กรัม
Beef extract	0.3	"
Agar	1.5	"
pH	7.0	

8. Nitrate broth

Peptone	1.0	กรัม
NaCl	1.0	"
KNO_3	0.1	"
Yeast extract	0.5	"

9. Tomato Potato Glucose

Tomato juice	100 มล.	(Tomato 60 กรัม น้ำ 100 มล.)
Potato juice	25 มล.	(Potato 80 กรัม น้ำ 100 มล.)
Glucose	1%	

10. Tryptose blood agar

Bacto-Tryptose	1.0	กรัม
Beef extract	0.3	"
NaCl	0.5	"
Agar	1.5	"

ละลายส่วนผสมทั้งหมดโดยอุ่นให้ร้อน แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที รอจนอาหารมีอุณหภูมิประมาณ 42-45°ซ เติม defibrinated blood ลงไปร้อยละ 5 ผสมให้เข้ากันแล้วเทใส่จานเลี้ยงเชื้อ

ภาคผนวก ข
สารเคมีและวิธีที่ใช้ในการทดสอบเชื้อ

1. สีย้อมแกรม (Hucker modification)

1.1 Ammonium oxalate crystal violet

solution A :	Crystal violet	2.0	กรัม
	Ethyl alcohol	20	มล.
solution B :	Ammonium oxalate	0.8	กรัม
	Distilled water	80	มล.

ผสมสารละลาย A และ B เข้าด้วยกัน

1.2 Lugol's solution

Iodine	1.0	กรัม
KI	2.0	กรัม
Distilled water	300	มล.

1.3 Counterstain solution

Safranin O	10	มล.
(2.5% solution in 95% ethanol)		
Distilled water	100	มล.

วิธีการย้อม

นำสไลด์ที่ smear เชื้อมาทำให้แห้งและ fix แล้วย้อมด้วยสารละลาย ammonium oxalate crystal violet นาน 1 นาที ล้างสีออกด้วยน้ำแล้วหยดสารละลาย Lugol's solution ลงไป ปล่อยไว้นาน 1 นาที ล้างด้วยน้ำ แล้วซับให้แห้ง หยด ethyl alcohol 95% ลงไป decolorize ซับให้แห้งแล้วย้อมทับด้วย counterstain solution นาน 10 วินาที แล้วล้างน้ำและทำให้แห้ง นำไปตรวจสอบดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถ้าเชื้อติดสีของ crystal violet แสดงว่าเป็นเชื้อแกรมบวก แต่ถ้าติดสีแดงของ safranin แสดงว่าเป็นเชื้อแกรมลบ

2. Bromcresol purple solution 1.6%

Bromcresol purple	1.6	กรัม
Ethanol	100	มิลลิลิตร

3. Bromthymol blue solution

Bromthymol blue	1.6	กรัม
Ethanol 95%	100	มิลลิลิตร

4. Hydrogen peroxide solution

Hydrogen peroxide	3.0	กรัม
Distilled water	100	มล.

ผสมให้เข้ากันเก็บในขวดสีชา

5. Nitrate test solution

solution A	:	Sulphanilic acid	0.8	กรัม
		Acetic acid (5N)	100	มล.

ละลาย sulphanilic acid ใน acetic acid โดยให้ความร้อนเล็กน้อย

solution B	:	α-Naphthylamine	0.5	กรัม
		Acetic acid (5N)	100	มล.

6. Mixed indicator

Bromthymol blue	0.2	กรัม
Neutral red	0.1	กรัม
Ethanol	300	มล.

ภาคผนวก ค

สารเคมีและวิธีวิเคราะห์ทางเคมี

1. Cleaning solutions

ใช้ Chromic - Sulfuric Acid วิธีเตรียม : ละลาย Potassium Dichromate 10 กรัม ในน้ำ 25 มิลลิลิตร ใช้ความร้อนอุ่นจนละลายหมด ทำให้เย็นแล้วค่อยๆ เติมกรดกำมะถันเข้มข้น 325 มิลลิลิตร ลงไปอย่างช้าๆ (ภาชนะที่เตรียมสารละลายต้องทนร้อน และแช่อยู่ในน้ำเย็นตลอดเวลา ขณะที่เติมกรดกำมะถันลงไป) ระวังอย่าให้สารละลายนี้ถูกเสื้อผ้าหรือผิวหนัง

2. การหาเปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด

2.1 สารเคมีที่ใช้

2.1.1 NaOH 0.01 N โดยชั่ง NaOH 40.0 กรัม ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 1 ลิตร เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรครบ 1 ลิตรละลายจนหมดจะได้สารละลาย NaOH 1 N จากนั้นทำการเจือจางโดยดูดสารละลาย 1N NaOH มา 10 มิลลิลิตรใส่ลงในน้ำกลั่น 990 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย NaOH 0.01 N.

2.1.2 Phenolphthalein Indicator

Phenolphthalein crystal	1.0	กรัม
Ethanol (95%)	100	มิลลิลิตร

2.1.3 Standard Potassium Hydrogen Phthalate ($KHC_8H_4O_4$) โดยอบ $KHC_8H_4O_4$ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 1 คืน รีบนำออกมาแล้วเก็บไว้ในโถดูดความชื้น (Dessicator) ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้องจากนั้นแบ่ง $KHC_8H_4O_4$ มาชั่ง 3 ครั้ง ครั้งละประมาณ 0.1 กรัม (ใช้ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ห่อแยกกันไว้

2.2 การเทียบมาตรฐาน NaOH (Standardize)

โดยนำ Potassium Hydrogen Phthalate ($KHC_8H_4O_4$) ที่ชั่งน้ำหนักไว้ทั้ง 3 ตัวอย่างมาใส่ลงใน Flask ขนาด 250 มิลลิลิตร 3 ใบ นำ $KHC_8H_4O_4$ จาก Flask ใบที่ 1 มาแล้วเติมน้ำกลั่น (ต้มให้เดือดปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง) จำนวน 50 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้ว

คนจนสารละลายหมด หยดฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยดลงไปเป็นอินดิเคเตอร์รีบทำการไตเตรทด้วย 0.01 N NaOH บันทึกปริมาตรที่ใช้ในการไตเตรทไว้ (ทำ Control เทียบกับน้ำกลั่นที่ไม่มี $KHC_8H_4O_4$ จำนวน 50 มิลลิลิตร) เสร็จแล้วดำเนินการกับ $KHC_8H_4O_4$ อีก 2 flask ที่เหลือตามลำดับ ทำนองเดียวกับ flask แรกที่กล่าวมาแล้ว

นำค่าปริมาตรของNaOHที่ใช้ไปคำนวณหาความเข้มข้นมาตรฐานโดยใช้สูตร

$$\text{Normality} = \frac{\text{gm.}KHC_8H_4O_4 \text{ X } 1000}{\text{ml. NaOH X } 204.229}$$

ที่มา AOAC : , 1975

3. การวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสที่แบคทีเรียใช้ไปเพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดที่แบคทีเรียสร้างขึ้น (Fehlinglehman Schoorl method)

3.1 สารเคมีที่ใช้และวิธีเตรียม

a. ชั่ง $CuSO_4 . 5H_2O$ 70 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 350 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำจนครบ 1 ลิตร

b. Rochelle Salt (Potassium sodium tartate) ละลาย 350 กรัม ในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร ผสมกับ NaOH 100 กรัม ในน้ำกลั่น 150 มิลลิลิตร เติมน้ำจนครบ 1 ลิตร

c. 25 เปอร์เซ็นต์ H_2SO_4 (W/W)ใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้นจำนวน 85 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร แล้วทำให้เย็นด้วยน้ำก๊อกที่กำลังไหล

d. 25 เปอร์เซ็นต์ KI solution ละลาย KI 125 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร

e. $Na_2S_2O_3 . 5 H_2O$ ใช้สาร 12.4 กรัมละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เติม 80 มิลลิกรัม เพื่อให้เก็บรักษาได้นาน

f. mixed indicator

Bromthymol blue	0.2	กรัม
Neutral red	0.1	กรัม
ละลายใน ethanol	300	มิลลิลิตร

g. Starch indicator

Soluble starch	1	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

3.2 วิธีวิเคราะห์

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว GYPB บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน นำไปปั่นให้เซลล์ตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (SCR 20B-Centrifuge) ความเร็ว 7,000 rpm นาน 15 นาที ดูด supernatant 4 มิลลิลิตร (ทำเทียบกับ blank ที่ไม่ได้เลี้ยงเชื้อ) ไทเทรตกับ 0.1 N. NaOH โดยใช้ mixed indicator (ข้อ 3.1 f) นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณกรดแล็กติกจากสูตร

$$\text{Lactic acid (mg/ml)} = \frac{9.0 \times (\text{titration value} - \text{blank}) \times F}{4}$$

อีกส่วนหนึ่งนำ supernatant 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้วขนาดใหญ่ นำไปหาปริมาณกลูโคสที่ใช้และที่เหลือโดยทำปฏิกิริยากับรีเอเจนท์ตามลำดับดังนี้ หยดสารละลาย b และ a อย่างละ 2 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากันนำไปต้มในน้ำที่กำลังเดือดนาน 15 นาที แล้วทำให้เย็นหยดสารละลาย c และ d อย่างละ 2 มิลลิลิตรนำไปไทเทรตกับสารละลาย e โดยใช้ g เป็น indicator ทำเทียบกับ blank อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้เติมน้ำตาลกลูโคส นำค่าที่ได้ไปเทียบหาปริมาณกลูโคสจากกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ค.) แล้วหา Consumed glucose ได้จาก Initial glucose-remained glucose นำค่าที่ได้ทั้งหมดไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดแล็กติกได้จากสูตร

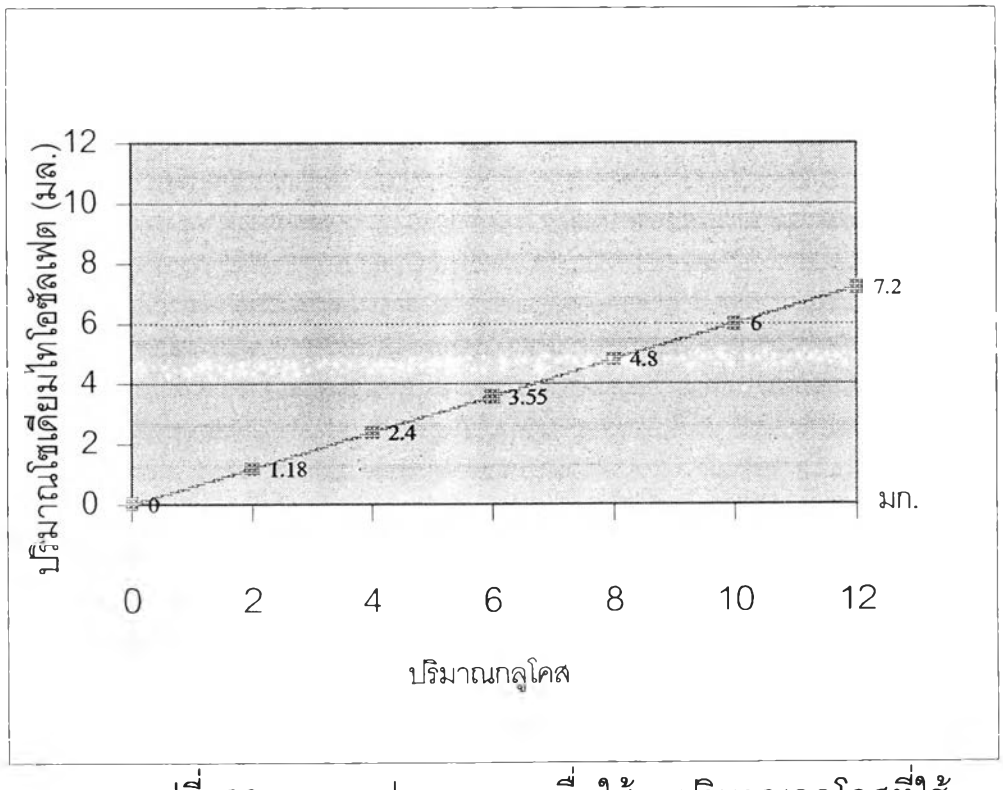
$$\text{ปริมาณกรดแล็กติก (\%)} = \frac{\text{ปริมาณกรดแล็กติกที่สร้าง (mg/ml)} \times 100}{\text{Consumed glucose}}$$

3.3 ข้อมูลสำหรับใช้วิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์กรดแล็กติก

ก. ค่ามาตรฐานของกราฟเพื่อใช้หาปริมาณกลูโคสที่ใช้

ตารางที่ 30 ค่ามาตรฐานของกราฟเพื่อใช้หาปริมาณกลูโคสที่ใช้

Glucose (mg)	Titration value (0.05 N. $Na_2S_2O_3$, ml)		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย
0	10.8	10.9	10.85
2	9.7	9.9	9.80
4	8.4	8.5	8.45
6	7.4	7.3	7.35
8	5.9	5.9	5.9
10	5.0	5.0	5.0
12	7.6	7.8	7.7



รูปที่ 20 กราฟมาตรฐานเพื่อใช้หาปริมาณกูลโคสที่ใช้

4. การวิเคราะห์ไอโซเมอร์ของกรดแล็กติก

4.1 การสกัดกรดแล็กติก

วิธีการ

4.1.1 เพาะเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว GYPB 15 มล. (ที่ไม่ใส่โซเดียมอะซิเทต) บ่มไว้ที่ 30°ซ เป็นเวลา 5 วัน

4.1.2 นำไปปั่นให้เซลล์แบคทีเรียตกตะกอน ดูดของเหลวส่วนบนเก็บไว้ แล้วนำมาปรับให้ได้ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2 แล้วเติมผงถ่านลงไปให้มากพอ

4.1.3 นำส่วนผสมที่ได้จากข้อ 4.1.2 ไปต้มในน้ำเดือดนาน 2-3 นาที แล้วกรองคาร์บอนออก

4.1.4 นำสารละลายที่ได้จากข้อ 4.1.3 ไปทำแห้งโดยใช้ไลโอฟีไลซ์แล้วหยด 1 นอร์มอล HCl 2 หยด และอีเธอร์ 4-5 มล. ปั่นผสมและเก็บไว้ค้างคืน

4.1.5 เมื่อเกิดชั้นของอีเธอร์แล้วนำไปใส่หลอดใหม่

4.1.6 เติมน้ำ 5 มล. ลงไปในส่วนที่เหลือนำไปปั่น แล้วนำไปแช่ในน้ำร้อน

4.2 การเตรียมสารละลาย Na-lactate

4.2.1 ไทเทรต 1 มล. กรดแล็กติกด้วย 0.01 นอร์มอล NaOH โดยใช้ฟีนอล์ฟธาลีนเป็นอินดิเคเทอร์ และนำสารละลายที่มีกรดแล็กติกประมาณ 8-12 มก. ปรับความเป็นกรดด่างเป็น 7.5 ด้วย 0.01 นอร์มอล NaOH

4.2.2 ทำให้เจือจางด้วยน้ำ และให้มีปริมาณ 10 มล. ซึ่งจะได้สาร Na-lactate ที่จะใช้เป็นสารตั้งต้นในการทำปฏิกิริยากับ D- และ L-LDH

4.3 ปฏิกิริยาของเอนไซม์

4.3.1 นำสารตั้งต้น Na-lactate10 มล. แบ่งใส่หลอดทดลองหลอดละ 3 มล. โดยหลอดที่ 1 เติมน้ำกลั่น 0.4 มล. และ NAD 0.3 มล. เพื่อเป็น blank

หลอดที่ 2 เติม Tris buffer ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 8.1 0.4 มล. และ NAD 0.3 มล. แล้วเติม D-LDH 0.1 มล. ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ 100 หน่วย / มล.

หลอดที่ 3 เติม Tris buffer ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 7.5 0.4 มล. และ NAD 0.3 มล. แล้วเติม L-LDH 0.1 มล. ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ 100 หน่วย / มล.

4.3.2 ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที นำไปวัดด้วย spectrophotometer ที่ 340 นาโนเมตร

4.3.3 การหาค่าอัตราส่วน D/L คำนวณได้จากค่าปฏิกิริยาของกรดกับ D-LDH และกรดกับ L-LDH ถ้าเป็นปฏิกิริยากรดที่เชื้อสร้างขึ้น เรียกค่าอัตราส่วนที่ได้ว่า S_R (Sample Ratio) และถ้าเป็น DL-Lactic acid เรียกค่าอัตราส่วนที่ได้ว่า B_R (Basic Ratio)

การสรุปผล นำค่าต่างๆที่ได้จากปฏิกิริยาของเอนไซม์มาแทนค่าในสูตร

$$E = 1 - S_R / B_R$$

แล้วตัดสินว่าเป็นไอโซเมอร์ชนิดใดตามข้อกำหนดข้างล่างนี้

$+ 1.00 \geq E \geq + 0.54$: L

$+ 0.54 > E \geq 0.005$: DL + L

$+ 0.05 > E \geq -0.15$: DL

$- 0.15 \geq E > 1.00$: DL + D

$-1.00 \geq E > -16.00$: D + DL

$-16.00 \geq E >$: D

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ทางสถิติ และตารางค่าเฉลี่ยจากการทดลอง

ตารางที่ 31 ค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดแล็กติกและจำนวนเชื้อของผักกาดเขียวปลีดองที่ความเข้มข้นเกลือ น้ำตาล และเชื้อทดสอบต่างๆกัน หลังจากการหมัก 3, 7 และ 14 วัน

ชนิดของเชื้อ	เกลือ (%)	น้ำตาล (%)	วันที่	ความเป็นกรดด่าง	กรดแล็กติก (มก/มล.)	จำนวนเชื้อ (เซลล์/มล.)
Natural	1	2	3	3.23	1.8	$3x10^{9}$
			7	2.86	2.47	$1x10^{8}$
			14	2.80	2.70	$1x10^{8}$
	1	4	3	2.89	2.02	$3x10^{12}$
			7	2.83	2.58	$1x10^{8}$ +ยีสต์
			14	2.83	2.81	$1x10^{8}$ +ยีสต์
	2	2	3	3.16	1.8	$2x10^{10}$
			7	2.90	2.36	$1x10^{8}$
			14	2.81	2.81	$1x10^{8}$
	2	4	3	2.83	2.36	$1.05x10^{12}$
			7	2.80	2.47	$1x10^{10}$ +ยีสต์
			14	2.80	3.15	$1x10^{8}$ +ยีสต์
P7-1	1	2	3	2.61	2.81	$1.2x10^{9}$
			7	2.56	2.925	$3x10^{8}$
			14	2.53	2.925	$3x10^{8}$
	1	4	3	2.50	2.16	$4.0x10^{11}$
			7	2.50	2.81	$1x10^{10}$
			14	2.50	2.925	$1x10^{8}$ +ยีสต์
	2	2	3	2.62	2.925	$3x10^{10}$
			7	2.59	3.15	$1x10^{8}$
			14	2.55	3.26	$1x10^{8}$

ชนิดของเชื้อ	เกลือ (%)	น้ำตาล (%)	วันที่	ความเป็นกรดด่าง	กรดแล็กติก (มก/มล.)	จำนวนเชื้อ (เซลล์/มล.)
	2	4	3	2.55	2.83	$1.05x10^{12}$
			7	2.55	3.15	$1x10^{10}$
			14	2.50	3.15	$1x10^{7}$
L2-1	1	2	3	2.72	2.36	$5x10^{8}$
			7	2.70	2.59	$1x10^{10}$
			14	2.70	2.7	$5x10^{8}$
	1	4	3	2.64	2.70	$8.6x10^{9}$
			7	2.60	2.81	$1x10^{8}$
			14	2.54	2.81	$1x10^{8}$
	2	2	3	2.68	2.59	$1.5x10^{10}$
			7	2.58	2.70	$1x10^{8}$
			14	2.55	2.70	$4x10^{8}$
	2	4	3	2.62	2.81	$3x10^{8}$
			7	2.60	2.92	$3x10^{9}$
			14	2.60	3.03	$3x10^{8}$
73-1	1	2	3	2.71	2.46	$1.25x10^{10}$
			7	2.70	2.52	$1x10^{11}$
			14	2.70	2.7	$1x10^{11}$
	1	4	3	2.65	2.7	$5x10^{10}$
			7	2.65	2.81	$3x10^{8}$
			14	2.50	3.15	$3x10^{8}$
	2	2	3	2.68	2.7	$3x10^{12}$
			7	2.66	2.7	$2x10^{11}$
			14	2.59	2.7	$2x10^{11}$
	2	4	3	2.65	3.03	$2.5x10^{10}$
			7	2.62	3.15	$3x10^{9}$
			14	2.60	3.26	$3x10^{8}$

ตารางที่ 32 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดแล็กติกและปริมาณเชื้อในผักกาดเขียวปลีดองหมัก 3 วัน

Response	SOV	df	SS	MS	F
ค่าความเป็น	เกลือ (A)	1	0.026	0.026	8.32*
กรดด่าง	น้ำตาล (B)	1	0.203	0.203	64.96*
	A x B	1	0.15	0.15	48.00*
	ชนิดของเชื้อ(c)	3	0.35	0.12	38.4*
	A x C	3	0.22	0.07	23.46*
	B x C	3	0.05	0.016	5.30*
	A x B x C	3	0.22	0.07	23.46*
	Error	16	0.05	0.003	
ปริมาณกรด	เกลือ (A)	1	0.121	0.121	31.73*
แล็กติก	น้ำตาล (B)	1	0.173	0.173	45.37*
	A x B	1	0.066	0.066	17.31*
	ชนิดของเชื้อ(c)	3	0.781	0.260	68.19
	A x C	3	0.27	0.09	23.60*
	B x C	3	0.24	0.08	20.98*
	A x B x C	3	0.066	0.18	47.21*
	Error	16	0.061	0.003	
จำนวนเชื้อ	เกลือ (A)	1	3.21×10^{21}	3.21×10^{21}	0.941^{NS}
แล็กติกแอสิด	น้ำตาล (B)	1	3.77×10^{21}	3.77×10^{21}	1.06^{NS}
แบคทีเรีย	A x B	1	3.17×10^{21}	3.17×10^{21}	0.89^{NS}
	ชนิดของเชื้อ(c)	3	9.96×10^{21}	3.32×10^{21}	0.93^{NS}
	A x C	3	1.06×10^{21}	3.55×10^{21}	0.099^{NS}
	B x C	3	1.03×10^{21}	3.45×10^{20}	0.096^{NS}
	A x B x C	3	2.42×10^{22}	8.06×10^{21}	1.010^{NS}
	Error	16	5.69×10^{22}	3.56×10^{21}	

ตารางที่ 33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความชอบ และรสชาติเปรี้ยว ของผักกาดเขียวปลีดองหมัก 3 วัน

Response	SOV	df	SS	MS	F
ค่าความชอบ	เกลือ (A)	1	46.40	46.40	36.2*
	น้ำตาล (B)	1	38.76	38.76	30.25*
	A x B	1	35.59	35.59	27.7*
	ชนิดของเชื้อ(c)	3	32.27	10.75	8.39*
	A x C	3	36.04	12.01	9.37*
	B x C	3	27.65	9.21	7.19*
	A x B x C	3	29.13	9.71	7.57*
	Error	16			
ความเปรี้ยว	เกลือ (A)	1	0.55	0.55	0.92^{NS}
	น้ำตาล (B)	1	0.50	0.50	0.84^{NS}
	A x B	1	0.12	0.12	0.20^{NS}
	ชนิดของเชื้อ(c)	3	0.04	0.01	0.016^{NS}
	A x C	3	0.12	0.04	0.06^{NS}
	B x C	3	0.51	0.17	0.28^{NS}
	A x B x C	3	0.24	0.08	0.134^{NS}
	Error	16	9.5	0.50	

ตารางที่ 34 ค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดแล็กติก และจำนวนเชื้อของผักกาดเขียวปลีดอง ที่ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2 เมื่อหมักเป็นระยะเวลา 1, 2, 3, 5 และ 7 วัน

ชนิดของเชื้อ	เกลือ (%)	น้ำตาล (%)	วันที่	ความเป็นกรดด่าง	กรดแล็กติก (มก/มล.)	จำนวนเชื้อ (เซลล์/มล.)
Natural	1	2	1	$4.02^{d} \pm 0.01$	$0.45^{d} \pm 0.01$	$1x10^{11} \pm 2x10^{9}$
			2	$3.85^{c} \pm 0.05$	$0.9^{c} \pm 0.02$	$2x10^{10} \pm 8x10^{6}$
			3	$3.50^{c} \pm 0.10$	$1.24^{bc} \pm 0.05$	$8x10^{10} \pm 2x10^{10}$
			5	$3.36^{b} \pm 0.20$	$1.69^{b} \pm 0.05$	$2x10^{8} \pm 4x10^{7}$
			7	$2.90^{a} \pm 0.13$	$2.36^{a} \pm 0.08$	$2x10^{8} \pm 2x10^{7}$
P7-1	1	2	1	$3.75^{c} \pm 0.10$	$1.12^{bc} \pm 0.01$	$2.5x10^{11} \pm 1x10^{10}$
			2	$3.50^{b} \pm 0.02$	$1.46^{bc} \pm 0.09$	$3x10^{11} \pm 2x10^{10}$
			3	$3.25^{b} \pm 0.05$	$1.91^{b} \pm 0.0$	$2.9x10^{11} \pm 5x10^{10}$
			5	$2.96^{a} \pm 0.06$	$2.36^{a} \pm 0.04$	$2.0x10^{9} \pm 1x10^{9}$
			7	$2.78^{a} \pm 0.02$	$2.92^{a} \pm 0.03$	$1x10^{9} \pm 1x10^{12}$
L2-1	1	2	1	$3.72^{c} \pm 0.03$	$1.24^{bc} \pm 0.05$	$4x10^{10} \pm 8x10^{9}$
			2	$3.43^{b} \pm 0.10$	$1.69^{b} \pm 0.01$	$1.5x10^{12} \pm 1.2x10^{11}$
			3	$3.10^{b} \pm 0.09$	$1.8^{b} \pm 0.01$	$1.2x10^{14} \pm 2x10^{10}$
			5	$2.99^{a} \pm 0.02$	$2.21^{b} \pm 0.10$	$5x10^{11} \pm 2x10^{10}$
			7	$2.76^{a} \pm 0.05$	$2.01^{a} \pm 0.05$	$2x10^{10} \pm 2x10^{9}$
73-1	1	2	1	$3.70^{c} \pm 0.0$	$1.01^{bc} \pm 0.09$	$1.5x10^{12} \pm 3x10^{10}$
			2	$3.35^{b} \pm 0.02$	$1.53^{bc} \pm 0.1$	$3x10^{8} \pm 1x10^{8}$
			3	$3.02^{b} \pm 0.08$	$2.02^{b} \pm 0.02$	$2x10^{11} \pm 1x10^{11}$
			5	$2.89^{a} \pm 0.06$	$2.29^{a} \pm 0.12$	$2.8x10^{11} \pm 2x10^{9}$
			7	$2.69^{a} \pm 0.09$	$2.74^{a} \pm 0.12$	$2.5x10^{10} \pm 2x10^{9}$

ตารางที่ 35 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดแล็กติกและจำนวนเชื้อของผักกาดเขียวปลีดองที่ความเข้มข้นเกลือร้อยละ 1 และน้ำตาล 2

Response	SOV	df	SS	MS	F
ค่าความเป็นกรดด่าง	ชนิดของเชื้อ(A)	3	0.1484	0.049	49.46*
	ระยะเวลา (B)	4	1.88	0.47	156.66*
	A x B	12	0.98	0.08	27.22*
	Error	20	0.06	0.003	
ปริมาณกรดแล็กติก	ชนิดของเชื้อ(A)	3	0.3883	0.1244	9.95*
	ระยะเวลา (B)	4	0.45	0.011	0.8
	A x B	12	1.95	0.16	128*
	Error	20	0.25	0.012	
จำนวนเชื้อแล็กติกแอสิดแบคทีเรีย	ชนิดของเชื้อ(A)	3	8.712×10^{20}	2.09×10^{19}	0.44^{NS}
	ระยะเวลา (B)	4	6.7×10^{20}	1.67×10^{19}	0.94^{NS}
	A x B	12	4.5×10^{20}	3.75×10^{19}	0.42^{NS}
	Error	20	9.51×10^{21}	4.70×10^{20}	

ตารางที่ 36 ค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดแล็กติก จำนวนเชื้อของผักรวมดอง ที่ความเข้มข้นของเกลือ น้ำตาล และเชื้อทดสอบต่างๆกัน หลังจากการหมัก 3, 7 และ 14 วัน

ชนิดของเชื้อ	เกลือ (%)	น้ำตาล (%)	วันที่	ความเป็นกรดด่าง	กรดแล็กติก (มก/มล.)	จำนวนเชื้อ (เซลล์/มล.)
Natural	1	2	3	3.25	1.8	$4x10^{10}$
			7	2.83	2.25	$2x10^{10}$
			14	2.80	2.25	$2.5x10^{8}$
	1	4	3	2.96	2.25	$5x10^{11}$
			7	2.83	2.47	$6x10^{7}$
			14	2.80	2.47	$5x10^{8}$
	2	2	3	3.11	1.687	$1x10^{10}$
			7	2.81	2.02	$1.05x10^{10}$
			14	2.80	2.02	$2x10^{9}$ +ยีสต์
	2	4	3	3.10	2.02	$2x10^{13}$
			7	2.80	2.7	$3x10^{7}$
			14	2.79	2.81	$2x10^{9}$ +ยีสต์
P7-1	1	2	3	2.81	2.95	$5x10^{9}$
			7	2.75	2.92	$5x10^{10}$
			14	2.70	3.03	$5x10^{9}$
	1	4	3	2.80	3.15	$5x10^{8}$
			7	2.75	3.37	$3x10^{7}$
			14	2.73	3.37	$2x10^{11}$
	2	2	3	2.86	3.15	$2x10^{12}$
			7	2.78	3.26	$1x10^{10}$
			14	2.77	3.26	$2x10^{10}$ + ยีสต์
	2	4	3	2.85	2.93	$2x10^{10}$
			7	2.72	2.93	$2x10^{10}$
			14	2.70	2.93	$2x10^{10}$

ชนิดของเชื้อ	เกลือ (%)	น้ำตาล (%)	วันที่	ความเป็นกรดด่าง	กรดแล็กติก (มก/มล.)	จำนวนเชื้อ (เซลล์/มล.)
L2-1	1	2	3	2.90	1.8	$3x10^{10}$
			7	2.77	2.25	$8x10^{6}$
			14	2.70	2.25	$1x10^{8}$
	1	4	3	2.87	3.33	$3x10^{11}$
			7	2.73	3.37	$3.3x10^{11}$
			14	2.71	3.49	$4x10^{8}$
	2	2	3	2.88	3.26	$1.2x10^{11}$
			7	2.75	3.40	$2x10^{9}$
			14	2.73	3.49	$4x10^{8}$
	2	4	3	2.90	3.37	$1x10^{9}$
			7	2.76	3.37	$1.5x10^{7}$
			14	2.75	3.37	$1x10^{8}$
73-1	1	2	3	2.93	2.925	$3x10^{9}$
			7	2.73	3.03	$3x10^{11}$
			14	2.73	3.03	$1x10^{12}$
	1	4	3	2.90	3.03	$3x10^{9}$
			7	2.70	3.15	$3.5x10^{9}$
			14	2.70	3.26	$1x10^{10}$
	2	2	3	2.92	2.83	$2.5x10^{9}$
			7	2.72	3.15	$1x10^{12}$
			14	2.72	3.37	$2.5x10^{10}$
	2	4	3	2.92	2.81	$1.8x10^{9}$
			7	2.71	3.15	$8.5x10^{7}$
			14	2.71	3.15	$1x10^{10}$

ตารางที่ 37 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดแล็กติก และจำนวนเชื้อของผักรวมดองที่หมัก 3 วัน

Response	SOV	df	SS	MS	F
ค่าความเป็นกรดด่าง	เกลือ (A)	1	0.27	0.27	54*
	น้ำตาล (B)	1	0.20	0.20	40*
	A x B	1	0.15	0.15	30*
	ชนิดของเชื้อ(c)	3	0.283	0.09	18*
	A x C	3	0.27	0.09	18*
	B x C	3	0.35	0.11	22*
	A x B x C	3	0.22	0.07	14*
	Error	16			
ปริมาณกรดแล็กติก(มก/มล)	เกลือ (A)	1	0.16	0.16	32.8*
	น้ำตาล (B)	1	0.15	0.15	30.76*
	A x B	1	0.029	0.029	5.94^{NS}
	ชนิดของเชื้อ(c)	3	0.81	0.27	55.38*
	A x C	3	0.24	0.24	49.23*
	B x C	3	0.19	0.19	38.97*
	A x B x C	3	0.138	0.046	9.43*
	Error	16	0.078	0.004	
จำนวนเชื้อ(เซลล์/กรัม)	เกลือ (A)	1	$1.63x10^{21}$	$1.63x10^{21}$	0.27^{NS}
	น้ำตาล (B)	1	$3.74x10^{21}$	$3.74x10^{21}$	0.63^{NS}
	A x B	1	$1.05x10^{21}$	$1.05x10^{21}$	0.17^{NS}
	ชนิดของเชื้อ(c)	3	$8.06x10^{21}$	$2.68x10^{21}$	0.45^{NS}
	A x C	3	$1.3x10^{21}$	$4.3x10^{20}$	0.725^{NS}
	B x C	3	$1.57x10^{21}$	$3.3x10^{20}$	0.55^{NS}
	A x B x C	3	$3.35x10^{21}$	$1.16x10^{21}$	0.19^{NS}
	Error	16	$9.5x10^{22}$	$5.93x10^{21}$	

ตารางที่ 38 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความชอบ และรสชาติเปรี้ยวของผักรวมดอง

Response	SOV	df	SS	MS	F
ค่าความชอบ	เกลือ (A)	1	30.51	30.51	52.37*
	น้ำตาล (B)	1	44.06	44.06	75.63*
	A x B	1	40.40	40.40	69.35*
	ชนิดของเชื้อ(c)	3	9.32	3.10	5.32*
	A x C	3	14.45	4.81	8.25*
	B x C	3	15.5	5.16	8.85*
	A x B x C	3	28.3	9.43	16.22*
	Error	16	9.32	0.58	
ความเปรี้ยว	เกลือ (A)	1	5.50	5.50	1.136^{NS}
	น้ำตาล (B)	1	4.50	4.50	0.92^{NS}
	A x B	1	3.81	3.81	0.78^{NS}
	ชนิดของเชื้อ(c)	3	5.15	1.71	0.35^{NS}
	A x C	3	3.29	1.09	0.22^{NS}
	B x C	3	4.05	1.35	0.27^{NS}
	A x B x C	3	6.10	2.03	0.18^{NS}
	Error	16	77.46	4.84	

ตารางที่ 39 ค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดแล็กติก และจำนวนเชื้อของผักรวมที่ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2 เมื่อหมักเป็นระยะเวลา 1, 2, 3, 5 และ 7 วัน

ชนิดของเชื้อ	เกลือ (%)	น้ำตาล (%)	วันที่	ความเป็นกรดด่าง	กรดแล็กติก (มก/มล.)	จำนวนเชื้อ (เซลล์/มล.)
Natural	1	2	1	$3.94^{c} \pm 0.35$	$0.675^{d} \pm 0.02$	$6x10^{8} \pm 1x10^{5}$
			2	$3.53^{c} \pm 0.12$	$0.78^{d} \pm 0.06$	$1.8x10^{11} \pm 2x10^{9}$
			3	$3.15^{b} \pm 0.10$	$1.12^{c} \pm 0.08$	$4.5x10^{11} \pm 3x10^{9}$
			5	$2.99^{b} \pm 0.05$	$1.69^{ab} \pm 0.12$	$1x10^{12} \pm 0$
			7	$2.79^{ab} \pm 0.06$	$2.02^{b} \pm 0.13$	$1.5x10^{10} \pm 1x10^{9}$
P7-1	1	2	1	$3.43^{c} \pm 0.51$	$1.12^{c} \pm 0.15$	$2x10^{8} \pm 1x10^{7}$
			2	$3.28^{b} \pm 0.15$	$1.23^{c} \pm 0.10$	$1x10^{10} \pm 1x10^{9}$
			3	$2.81^{ab} \pm 0.17$	$2.23^{b} \pm 0.20$	$3x10^{13} \pm 1x10^{12}$
			5	$2.66^{a} \pm 0.12$	$2.47^{a} \pm 0.10$	$7.5x10^{11} \pm 1x10^{10}$
			7	$2.46^{a} \pm 0.20$	$2.70^{a} \pm 0.11$	$7x10^{11} \pm 1x10^{11}$
L2-1	1	2	1	$3.35^{c} \pm 0.04$	$0.90^{cd} \pm 0.12$	$2x10^{8} \pm 2x10^{8}$
			2	$3.25^{b} \pm 0.03$	$1.26^{c} \pm 0.024$	$3x10^{10} \pm 2x10^{8}$
			3	$2.9^{b} \pm 0.10$	$1.91^{b} \pm 0.123$	$2.5x10^{13} \pm 1x10^{12}$
			5	$2.68^{a} \pm 0.20$	$2.25^{a} \pm 0.02$	$2x10^{12} \pm 1x10^{11}$
			7	$2.35^{a} \pm 0.15$	$2.81^{a} \pm 0.10$	$1x10^{11} \pm 2x10^{10}$
73-1	1	2	1	$3.54^{c} \pm 0.25$	$1.12^{c} \pm 0.26$	$1x10^{9} \pm 5x10^{8}$
			2	$3.23^{b} \pm 0.35$	$1.46^{ab} \pm 0.01$	$3.5x10^{11} \pm 6x10^{10}$
			3	$2.95^{b} \pm 0.09$	$2.14^{b} \pm 0.29$	$1x10^{12} \pm 9x10^{10}$
			5	$2.79^{ab} \pm 0.08$	$2.59^{a} \pm 0.145$	$1.2x10^{12} \pm 7x10^{10}$
			7	$2.39^{a} \pm 0.10$	$2.72^{a} \pm 0.138$	$1.2x10^{9} \pm 6x10^{8}$

ตารางที่ 40 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดแล็กติก จำนวนเชื้อของผักรวมดองที่ความเข้มข้นเกลือร้อยละ 1 น้ำตาลร้อยละ 2

Response	SOV	df	SS	MS	F
ค่าความเป็นกรดด่าง	ชนิดของเชื้อ(A)	3	0.15	0.05	16.94*
	ระยะเวลา (B)	4	11.81	0.10	33.89*
	A x B	12	7.06	0.06	20.33*
	Error	20	0.59	0.003	
ปริมาณกรดแล็กติก	ชนิดของเชื้อ(A)	3	0.79	0.26	20.25*
	ระยะเวลา (B)	4	0.42	0.10	7.78*
	A x B	12	0.25	0.02	1.57*
	Error	20	0.30	0.01	
จำนวนเชื้อแล็กติกแอสิดแบคทีเรีย	ชนิดของเชื้อ(A)	3	$2.92x10^{20}$	$9.73x10^{19}$	0.938^{NS}
	ระยะเวลา (B)	4	$1.0x10^{21}$	$2.5x10^{20}$	0.19^{NS}
	A x B	12	$4.0x10^{20}$	$3.3x10^{19}$	0.56^{NS}
	Error	20	$9.5x10^{21}$	$4.75x10^{20}$	

ตารางที่ 41 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นกรดด่างปริมาณกรดแล็กติกความหนืด และปริมาณเชื้อในโยเกิร์ตที่บ่ม 24 ชั่วโมง

Response	SOV	df	SS	MS	F
ค่าความเป็นกรดด่าง	น้ำตาล (A)	2	0.346	0.173	54.99*
	ชนิดของเชื้อ(B)	2	0.156	0.078	22.28*
	A x B	4	0.081	0.020	14.32
	Error	9	0.596	0.035	
ปริมาณกรดแล็กติก	น้ำตาล (A)	2	0.282	0.140	11.41*
	ชนิดของเชื้อ(B)	2	0.063	0.031	2.56^{NS}
	A x B	4	0.037	0.009	0.76^{NS}
	Error	9	0.110	0.012	
ค่าความหนืด	น้ำตาล (A)	2	85422.03	427110.15	122.52*
	ชนิดของเชื้อ(B)	2	740856.16	37428.08	106.26*
	A x B	4	134447.02	33611.75	15.38*
	Error	9	31372.78	348.58	
ปริมาณเชื้อ	น้ำตาล (A)	2	$3.5x10^{20}$	$1.75x10^{20}$	0.93^{NS}
	ชนิดของเชื้อ(B)	2	$3.39x10^{20}$	$1.69x10^{20}$	0.90^{NS}
	A x B	4	$1.03x10^{21}$	$2.5x10^{20}$	1.03^{NS}
	Error	9	$1.69x10^{22}$	$1.87x10^{21}$	

ตารางที่ 42 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรดแล็กติก ความหนืด และจำนวนเชื้อในโยเกิร์ตที่บ่ม 48 ชั่วโมง

Response	SOV	df	SS	MS	F
ค่าความเป็นกรดด่าง	น้ำตาล (A)	2	0.30	0.15	5.045*
	ชนิดของเชื้อ(B)	2	0.095	0.047	15.881*
	A x B	4	0.031	0.008	2.644*
	Error	9	0.27	0.003	
ปริมาณกรดแล็กติก	น้ำตาล (A)	2	0.089	0.044	32.254
	ชนิดของเชื้อ(B)	2	0.123	0.061	44.520
	A x B	4	0.034	0.009	6.258
	Error	9	0.012	0.001	
ค่าความหนืด	น้ำตาล (A)	2	1094972.31	547486.159	962.741*
	ชนิดของเชื้อ(B)	2	1720460.137	860230.06	1512.694*
	A x B	4	336437.469	84109.369	147.904*
	Error	9	5118.067	568.674	
ปริมาณเชื้อ	น้ำตาล (A)	2	$4.82x10^{20}$	$5.65x10^{20}$	0.44^{NS}
	ชนิดของเชื้อ(B)	2	$5.12x10^{20}$	$5.65x10^{20}$	0.46^{NS}
	A x B	4	$8.74x10^{20}$	$8.37x10^{20}$	0.39^{NS}
	Error	9	$4.91x10^{22}$	$1.57x10^{21}$	0.67^{NS}

ตารางที่ 43 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับความชอบ และความเปรี้ยวของนมเปรี้ยวที่ผลิตจากเชื้อ L2-1 และโยเกิร์ตสตาร์ทเตอร์ ที่เติมเพคตินร้อยละ 0.05 และไม่เติมเพคติน โดยทำการเปรียบเทียบกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มตราโยโมสต์

Response	SOV	df	SS	MS	F-test
ความชอบ	ชนิดของนมเปรี้ยว	4	73.60	18.40	23.46*
	ผู้ทดสอบ	19	9.80	0.50	0.66
	Error	100	78.0	0.78	
ความเปรี้ยว	ชนิดของนมเปรี้ยว	4	18.86	4.71	17.97*
	ผู้ทดสอบ	19	4.36	0.23	0.87
	Error	100	26.0	0.26	

ภาคผนวก จ

แบบสอบถามการประเมินผลทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์ผักกาดดอง / นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม

ชื่อผู้ทดสอบ ..... **วันที่** .....

เพศ ..... **อายุ** .....

แบบสอบถามมีทั้งหมด 2 ตอน

ตอนที่ 1 เมื่อท่านได้รับผลิตภัณฑ์ กรุณาให้คะแนนความชอบของท่าน โดยการมอง/ดม/ชิม แล้วขีดเครื่องหมาย / ลงในช่องที่ตรงกับความคิดเห็นของท่านมากที่สุด

	ผลิตภัณฑ์ตัวอย่างรหัส		
	664	**758**	**925**
ชอบมากที่สุด	.....	.....	.....
ชอบมาก	.....	.....	.....
ชอบปานกลาง	.....	.....	.....
ชอบเล็กน้อย	.....	.....	.....
อยู่ระหว่างชอบและไม่ชอบ	.....	.....	.....
ไม่ชอบเล็กน้อย	.....	.....	.....
ไม่ชอบปานกลาง	.....	.....	.....
ไม่ชอบมาก	.....	.....	.....
ไม่ชอบที่สุด	.....	.....	.....

ข้อเสนอแนะผลิตภัณฑ์ตัวอย่างรหัส

664 .....

754 .....

925 .....

ตอนที่ 2 กรุณาให้คะแนนโดยขีดเครื่องหมาย / ลงในช่องที่ตรงกับความรู้สึกในรสชาติเปรี้ยว

	ผลิตภัณฑ์ตัวอย่างรหัส		
	664	**758**	**925**
รสเปรี้ยวมากเกินไป	.....	.....	.....
รสเปรี้ยวไป	.....	.....	.....
รสเปรี้ยวกำลังดี	.....	.....	.....
รสเปรี้ยวน้อยไป	.....	.....	.....
รสเปรี้ยวน้อยไปมาก	.....	.....	.....

ข้อเสนอแนะผลิตภัณฑ์ตัวอย่างรหัส

664 .....

754 .....

925 .....

ประวัติผู้เขียน

นางสาว สุชาดา จงรุ่งเรืองโชค เกิดเมื่อวันที่ 24 มกราคม 2515 ได้รับปริญญาเภสัชศาสตร์บัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2538 เข้าเรียนต่อในหลักสูตรเภสัชศาสตร์มหาบัณฑิตสาขาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2540