ลักษณะการเจริญของแบคทีเรียแลคติกและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีระหว่างการหมักปลาส้มจากปลาน้ำจืดที่เพาะเลี้ยงในจังหวัดกาญจนบุรี

การัณย์ พรหมเทพ[1*], ณัฐณิชา ทวีแสง[1], สุวิมล กะตากูล เรเกอร์ส[1],
ปิ่นธิดา ณ ไธสง[1] และ จินดารัตน์ โตกมลธรรม[1]

[1]สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี, กาญจนบุรี
*ผู้รับผิดชอบบทความ: email kphromthep@kru.ac.th

บทคัดย่อ

การหมักเป็นวิธีการถนอมอาหารประเภทหนึ่ง ปลาส้มถือเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักแบบดั้งเดิม มีส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตปลาส้ม ได้แก่ ปลาน้ำจืด เกลือ ข้าวสวยหรือข้าวนึ่ง และกระเทียม จากนั้นนำไปหมักในภาชนะปิดสนิทเป็นเวลานาน 5-7 วัน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตปลาส้ม โดยใช้กล้าเชื้อผสมของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก ระหว่าง *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 และ *Lactobacillus fermentum* TISTR 055 ในอัตราส่วน 1:1 ที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษาการผลิตปลาส้มจากปลาน้ำจืดต่างชนิดกัน 4 ชนิด ได้แก่ ปลานิล ปลายี่สก ปลากระมัง และปลาตะเพียน ที่เพาะเลี้ยงในจังหวัดกาญจนบุรี และจากผลการวิเคราะห์คลักษณะทางเคมีและระดับของแบคทีเรียแลคติกของตัวอย่างปลาส้ม 4 ชนิด มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงที่คล้ายคลึงกันในระหว่างหมักเป็นเวลา 6 วัน โดยค่าความเป็นกรด-ด่างมีแนวโน้มที่ลดลง ในขณะที่ปริมาณกรดแลคติก และปริมาณแบคทีเรียแลคติกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และภายหลังการหมัก 6 วัน ตัวอย่างปลาส้ม มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 4.50 มีปริมาณกรดแลคติก มากกว่า 1.65 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณแบคทีเรียแลคติกอยู่ในช่วงประมาณ 8.0 log cfu/g นอกจากนี้ปลาส้มที่หมักจากปลาน้ำจืดทั้ง 4 ชนิด มีคุณภาพทางด้านเชื้อจุลินทรีย์เป็นไปตามเกณฑ์กำหนดของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช. 26/2557)

คำสำคัญ: ปลาหมัก ปลาส้ม แบคทีเรียแลคติก

Chemical properties and Lactic acid bacteria growth characteristics among Plaa-som fermentation period of freshwater fish in Kanchanaburi Province

Karan Phromthep[1*], Natnicha Thaweeseang[1], Suwimon Katakul Rekers[1]
Phinthida Na Thaisong[1] and Jindarat Tokamolthom[1]

[1]Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology,
Kanchanaburi Rajabhat University, Kanchanaburi
*corresponding author: email kphromthep@kru.ac.th

Abstract

Fermentation is one of methods of food preservation. Plaa-som is a traditional fermented food product. There are some major ingredients, including freshwater fish, salt, cooked rice and garlic, then are mixed and left to fermentation for 5-7 days in sealed container. This research aimed to study Plaa-som production by mixing of two lactic acid bacteria (LAB) strains *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 and *Lactobacillus fermentum* TISTR 055 with ratio 1:1 and 2 percent additional. The results of the productions of Plaa-som were made from four various kinds of freshwater fish cultured in Kanchanaburi Province including Nile Tilapia, Jullien's golden-price carp, Smith's barb and Silver barb to the changes of pH value and LAB level were observed. The results showed that the analyzed parameters from four Plaa-som samples such as chemical properties and Lactic acid bacteria level had the similar trend during 6 days of fermentation period. There was decreased a pH value, while the percent titratable acidity (lactic acid) and Lactic acid bacteria (LAB) increased. After 6 days of fermentation, the products showed pH value lower than 4.50, the percent titratable acidity (lactic acid) higher than 1.65 percent and LAB number about 8.0 log cfu/g. Additionally, Plaa-som products were produced by four different kinds of freshwater fish had the microbial quality according to the Thai Community Product Standard (CPS 26/2014).

Keywords: Fermented fish, Plaa-som, Lactic acid bacteria

1. บทนำ

ปลาส้มเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักที่ผลิตได้จากเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก เป็นการผลิตอาหารแบบดั้งเดิมที่แพร่หลายออกไปทั่วภูมิภาคของทวีปเอเชีย สำหรับในประเทศไทย ปลาส้มเป็นผลิตภัณฑ์ปลาหมักที่ผลิตตามครัวเรือนในท้องถิ่นโดยเฉพาะภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ ซึ่งส่วนประกอบของการผลิตปลาส้มนั้นจะประกอบด้วยปลาน้ำจืด เกลือ ข้าวนึ่ง (ข้าวเจ้าหรือข้าวเหนียว) และกระเทียม จากนั้นนำส่วนผสมทั้งหมดมาผสมกัน และใส่ในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท นำไปหมักที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30^{O}C) เป็นเวลา 5–7 วัน ภายหลังจากการหมัก ผลิตภัณฑ์ปลาส้มที่ผลิตได้จะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ประมาณ 4.5 ปริมาณแบคทีเรียแลคติกที่ตรวจพบจะอยู่ระหว่าง 7.0–9.0 log cfu/g ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณของเกลือที่ใช้ ซึ่งปริมาณที่ใช้มักจะใช้อยู่ในช่วงระหว่าง 5–7 เปอร์เซ็นต์ ในการผลิตปลาส้มแบบดั้งเดิมการหมักจะเกิดขึ้นโดยอาศัยจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในวัตถุดิบ คือ Lactic acid bacteria (LAB) หรือแบคทีเรียแลคติกเป็นส่วนใหญ่ โดยคุณภาพของผลิตภัณฑ์จะขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์และองค์ประกอบของวัตถุดิบ ซึ่งจะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้มีคุณภาพไม่แน่นอน ไม่สม่ำเสมอ ทำให้ยากต่อการควบคุมคุณภาพโดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อมีการขยายระดับกำลังการผลิตขึ้นสู่อุตสาหกรรมขนาดใหญ่

ดังนั้นหากมีการพัฒนากระบวนการในการหมักจะช่วยทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์มีความสม่ำเสมอ ลดระยะเวลาในการหมัก และลดความเสี่ยงที่การหมักจะเกิดความล้มเหลว ตลอดจนควบคุมกระบวนการหมักให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีมาตรฐาน และการใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นของแบคทีเรียแลคติกบริสุทธิ์ในการผลิตปลาส้มนั้นจะทำให้ผลิตภัณฑ์ปลาส้มมีคุณภาพดีและ

ปลอดภัยมากขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากความสามารถในการควบคุมหรือยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของเชื้อแบคทีเรียแลคติกดังกล่าวนั่นเอง

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

2.1 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีบางประการ ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรด รวมไปถึงศึกษาลักษณะการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักปลาส้ม จากปลาน้ำจืดในจังหวัดกาญจนบุรี โดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์

2.2 เพื่อศึกษาดัชนีคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ปลาส้มภายหลังจากการหมัก

3. ขอบเขตการวิจัย

3.1 เชื้อแบคทีเรียแลคติก *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 และ *Lactobacillus fermentum* TISTR 055 ได้มาจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (Thailand MIRCEN)

3.2 ตัวอย่างปลาน้ำจืด ได้แก่ ปลานิล ปลายี่สก ปลากะมัง และปลาตะเพียน ได้มาจากพื้นที่ในจังหวัดกาญจนบุรี

3.3 สถานที่ทำการวิจัย สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี

4. วิธีดำเนินการวิจัย

4.1. ศึกษาวิธีการแปรรูปและพัฒนาผลิตภัณฑ์ผลิตจากปลาในจังหวัดกาญจนบุรี ให้มีคุณภาพและปลอดภัย

4.1.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง เปอร์เซ็นต์ความเป็นกรด และปริมาณแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักปลาส้ม ที่ได้จากปลาน้ำจืดต่างชนิดกัน

(1) วิธีการผลิตปลาส้ม (ดัดแปลงจาก ธนพันธ์ น่าบัณฑิต, 2558 และ Paludan-Muller et al., 2001)

การเตรียมปลาส้ม โดยปลาน้ำจืด ได้แก่ ปลานิล ปลายี่สก ปลากะมัง และปลาตะเพียน ใช้ปลาทั้งตัวล้างและควักไส้ออก และหั่นเป็นชิ้นแล้วทำความสะอาดด้วยน้ำ คลุกเคล้ากับเกลือ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด นำชิ้นปลาน้ำจืด มาเติมส่วนผสมของเกลือสินเธาว์ (6 เปอร์เซ็นต์, w/w) ข้าวเจ้า (10 เปอร์เซ็นต์, w/w) กระเทียมบด (10 เปอร์เซ็นต์, w/w) แล้วผสมให้เข้ากัน เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 และ *Lactobacillus fermentum* TISTR 055 อัตราส่วน 1:1 ที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ แล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นบรรจุในถุงพลาสติกใส (Polypropylene: PP) มัดปากถุงให้สนิท แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 6 วัน

(2) การวิเคราะห์ลักษณะทางเคมี และจุลินทรีย์ของตัวอย่างปลาส้ม ที่ได้จากปลาน้ำจืดต่างชนิดกัน

ภายหลังจากการผลิตปลาส้ม จะนำตัวอย่างไปวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมี และการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดแลคติก ในระหว่างการหมักปลาส้ม โดยสุ่มเก็บตัวอย่างไปตรวจวิเคราะห์ ทุก ๆ 24 ชั่วโมง ได้แก่ 1) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ด้วยเครื่อง pH meter 2) เปอร์เซ็นต์ความเป็นกรด (AOAC, 2000) 3) ตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียแลคติก โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar (Piayura et al., 2017)

(3) แผนการทดลอง

การวิเคราะห์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เปอร์เซ็นต์ความเป็นกรด และจำนวนเชื้อแบคทีเรียแลคติก จะศึกษาโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design หรือ CRD) ปัจจัย คือ ชนิดของปลาน้ำจืดที่แตกต่างกัน 4 ชนิด ได้แก่ ปลานิล ปลายี่สก ปลากะมัง และปลาตะเพียน จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

4.1.2 การวิเคราะห์ดัชนีคุณภาพทางจุลินทรีย์ของตัวอย่างปลาส้ม ที่ได้จากปลาน้ำจืดต่างชนิดกัน

ภายหลังจากการหมักปลาส้ม เป็นเวลา 6 วัน จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ตามประกาศสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เรื่อง มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ปลาส้ม มาตรฐานเลขที่ มผช. 26/2557 ได้แก่ 1) *Staphylococcus aureus* 2) *Salmonella* sp. 3) *Clostridium perfringens* 4) *Bacillus cereus* 5) *Escherichia coli* (MPN method) และ 6) ยีสต์และรา ตามวิธีการของ Bacteriological Analytical Manual (U.S. Food and Drug Administration., 2001)

5. ผลการทดลองและอภิปรายผล

ผลการทดลอง

5.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง เปอร์เซ็นต์ความเป็นกรด และปริมาณแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักปลาส้ม ที่ได้จากปลาน้ำจืดต่างชนิดกัน

จากสูตรการผลิตปลาส้ม กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ใช้ในการทดลอง คือ แบคทีเรียแลคติก *L. plantarum* และ *L. fermentum* ในอัตราส่วน 1:1 และปริมาณกล้าเชื้อ 2 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำมาใช้สำหรับหมักปลาส้มจากปลาน้ำจืดต่างชนิดกัน 4 ชนิด ได้แก่ ปลานิล ปลายี่สก ปลากะมัง และปลาตะเพียน โดยได้วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง เปอร์เซ็นต์ความเป็นกรด (กรดแลคติก) และปริมาณแบคทีเรียแลคติก ซึ่งจะแสดงในตารางที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของตัวอย่างปลาส้ม ที่ผลิตมาจากปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ ภายหลังการหมักเป็นเวลา 6 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง			
	ชนิดของปลาน้ำจืด			
	ปลานิล	ปลายี่สก	ปลากะมัง	ปลาตะเพียน
0	6.47±0.04^{a}	6.59±0.04^{bc}	6.65±0.04^{c}	6.55±0.04^{b}
1	6.31±0.02^{a}	6.36±0.02^{b}	6.42±0.02^{c}	6.32±0.02^{a}
2	5.77±0.01^{a}	5.82±0.01^{b}	5.88±0.01^{c}	5.78±0.01^{a}
3	4.98±0.01^{a}	5.03±0.01^{b}	5.09±0.01^{c}	4.99±0.01^{a}
4	4.72±0.01^{a}	4.77±0.01^{b}	4.83±0.01^{c}	4.73±0.01^{a}
5	4.31±0.05^{a}	4.36±0.05^{ab}	4.42±0.05^{b}	4.32±0.05^{a}
6	4.22±0.04^{a}	4.27±0.04^{b}	4.33±0.04^{b}	4.23±0.04^{a}

a,b.c..ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

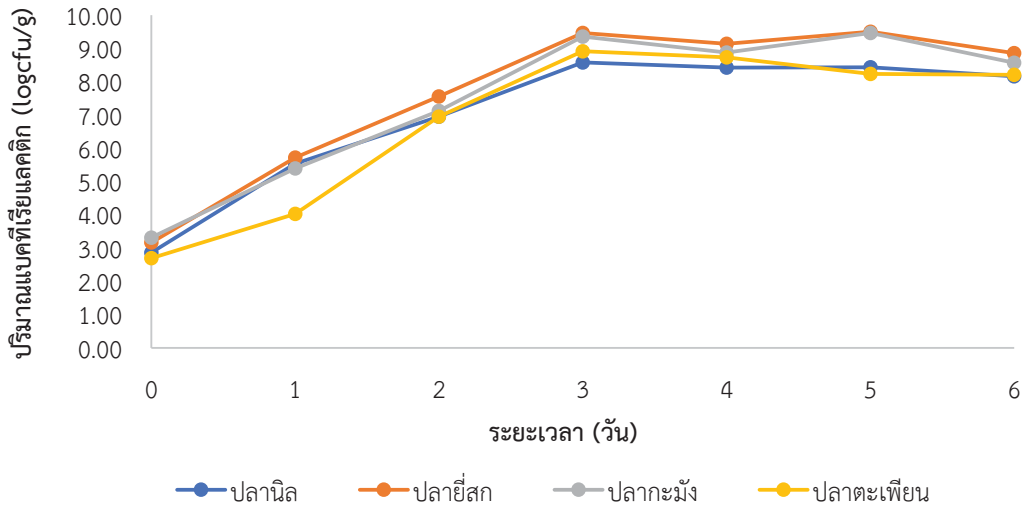
จากตารางที่ 1 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างปลาส้มที่ผลิตจากปลาน้ำจืดแตกต่างกัน 4 ชนิด เห็นได้ว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง มีแนวโน้มที่ลดลงตามลำดับ ภายหลังจากหมักเป็นเวลา 6 วัน โดยในวันเริ่มต้น (วันที่ 0) ของการหมักนั้นปลาส้มทั้ง 4 ตัวอย่าง มีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วงระหว่าง 6.47–6.65 ตามลำดับ โดยที่ปลาส้มจากปลานิลจะมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำที่สุดในวันที่ 0 ($p \leq 0.05$) และภายหลังจากการหมักปลาส้มเป็นเวลา 6 วัน พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของปลาส้มจากปลาน้ำจืดทั้ง 4 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 4.22–4.33 ในขณะที่ปลาส้มจากปลานิล และปลาตะเพียนมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 4.22 และ 4.23 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 2 ค่าเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดแลคติก ตัวอย่างปลาส้ม ที่ผลิตมาจากปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ ภายหลังการหมักเป็นเวลา 6 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณกรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)			
	ชนิดของปลาน้ำจืด			
	ปลานิล	ปลายี่สก	ปลากะมัง	ปลาตะเพียน
0	0.39±0.14^{a}	0.36±0.09^{a}	0.30±0.05^{a}	0.42±0.05^{a}
1	0.54±0.18^{a}	0.57±0.10^{a}	0.57±0.14^{a}	0.66±0.14^{a}
2	0.72±0.18^{a}	0.72±0.09^{a}	0.72±0.18^{a}	0.69±0.14^{a}
3	1.11±0.05^{a}	1.17±0.09^{a}	1.11±0.05^{a}	0.99±0.00^{b}
4	1.08±0.00^{a}	1.20±0.05^{a}	1.08±0.09^{a}	1.05±0.14^{a}
5	1.47±0.05^{a}	1.50±0.14^{a}	1.47±0.05^{a}	1.44±0.14^{a}
6	1.65±0.09^{a}	1.77±0.12^{a}	1.71±0.17^{a}	1.74±0.14^{a}

a,b,c..ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 2 แสดงค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก จากตัวอย่างปลาส้มจากปลาน้ำจืด 4 ชนิด พบว่ามีค่าที่แปรผกผันกับค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยค่าเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดนั้นมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มมากขึ้น และผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 2 พบว่า ในวันที่ 0 ของการหมักปลาส้มนั้น ตัวอย่างปลาส้มทั้ง 4 มีค่าเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดแลคติก อยู่ช่วงระหว่าง 0.30–0.42 เปอร์เซ็นต์ และภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 6 วัน พบว่าตัวอย่างปลาส้มทั้ง 4 ตัวอย่างนั้นมีค่าเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดแลกติกไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 1.65–1.77 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์ปลาส้ม ที่ผลิตจากปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ ภายหลังผ่านการหมัก เป็นเวลา 6 วัน

จากภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก ระหว่างการหมักปลาส้มที่ผลิตจากปลาน้ำจืดที่แตกต่างกัน 4 ชนิด สภาวะที่ใช้หมักคือ ที่ประมาณ 30 °C เป็นเวลา 6 วัน พบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกนั้นมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นตามลำดับ ไปจนถึงจุดที่มีปริมาณเชื้อสูงที่สุดคือในวันที่ 3 ของการหมัก จากนั้นปริมาณเชื้อจะมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย

ตารางที่ 3 ปริมาณแบคทีเรียแลคติกในตัวอย่างปลาส้ม ที่ผลิตจากปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ ภายหลังผ่านการหมักเป็นเวลา 6 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณแบคทีเรียแลคติก (log cfu/g) ชนิดของปลาน้ำจืด			
	ปลานิล	ปลายี่สก	ปลากะมัง	ปลาตะเพียน
0	2.87±0.07^{a}	3.17±0.24^{a}	3.32±0.71^{a}	2.69±0.67^{a}
1	5.53±0.09^{a}	5.72±0.08^{a}	5.39±0.23^{a}	4.02±1.29^{b}
2	6.95±0.06^{b}	7.55±0.03^{a}	7.12±0.27^{b}	6.95±0.07^{b}
3	8.58±0.05^{b}	9.50±0.31^{a}	9.46±0.37^{a}	8.91±0.34^{ab}
4	8.42±0.07^{a}	9.14±0.38^{a}	8.87±0.62^{a}	8.73±0.66^{a}
5	8.43±0.07^{b}	9.46±0.08^{a}	9.35±0.08^{a}	8.23±0.39^{b}
6	8.19±0.08^{b}	8.85±0.27^{a}	8.57±0.49^{ab}	8.21±0.39^{b}

a,b,c..ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียแลคติกที่แสดงในตารางที่ 3 พบว่า ในวันที่ 0 ของการหมัก ตัวอย่างปลาส้ม ทั้ง 4 ตัวอย่าง มีปริมาณแบคทีเรียแลคติกมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 2.69–3.32 log cfu/g

และในวันที่ 3 ของการหมักนั้น พบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกในปลาส้มทั้ง 4 ตัวอย่างมีปริมาณสูงที่สุด โดยตัวอย่างปลาส้มจากปลายี่สก และปลากะมัง มีปริมาณแบคทีเรียแลคติกสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 9.50 และ 9.46 log cfu/g ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) และภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 6 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียแลคติกมีแนวโน้มลดลง โดยมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 8.19–8.85 log cfu/g โดยที่ตัวอย่างปลาส้มจากปลานิล และปลาตะเพียน มีปริมาณแบคทีเรียแลกติกน้อยที่สุดในวันที่ 6 ของการหมัก

ลักษณะที่ต้องการของผู้บริโภคของปลาส้มเมื่อหมักได้ที่จะมีสีชมพู เนื้อแข็ง รสชาติอร่อย โดยทั่วไปปลาแต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบที่สำคัญเหมือนกัน แต่จะแตกต่างกันที่ปริมาณไขมัน และความชื้น ซึ่งจะทำให้ปลาส้มที่ได้จากปลาแต่ละชนิดไม่แตกต่างกันมาก สำหรับปลาน้ำจืดที่นิยมนำมาผลิตเป็นปลาส้ม ได้แก่ ปลาตะเพียน ปลานิล และปลานวลจันทร์ นอกจากนี้ยังรวมไปถึง ปลาขาว ปลาเทโพ ปลายี่สก และปลากราย (ทิพย์กมล ภูมิพันธ์ และอุไรวรรณ อินทร์ม่วง, 2559; อังคณา ชมภูมิ่ง และคณะ, 2553) นอกจากนี้จากการศึกษาของ น้อมจิตต์ สุธีบุตร และคณะ (2560) ที่ได้ศึกษาคุณสมบัติบางประการทั้งในทางด้านกายภาพ เคมี ของปลาส้มฟักจากปลาดุก โดยเปรียบเทียบกับสูตรทางการค้า อีก 3 ตัวอย่าง จากผลการทดลองพบว่า ตัวอย่างปลาส้มฟักจากปลาดุกมีค่าความเป็นกรด-ด่าง กับ 4.50 และมีเนื้อสัมผัสด้านค่าความแข็งและความยืดหยุ่นไม่แตกต่างกันจากตัวอย่างจากทางการค้า และจากผลการศึกษาของ สิรินดา ยุ่นฉลาด และคณะ, (2548) ที่ได้รายงานเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมี และการเปลี่ยนแปลงจำนวนของแบคทีเรียแลคติกระหว่างการผลิตผลิตภัณฑ์ปลาหมักของไทยไว้ว่า การสร้างกรด (กรดแลคติกและอะซีติก) สามารถเกิดขึ้นได้ในระหว่างกระบวนการหมัก และปริมาณกรดดังกล่าวมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับค่าความเป็นกรด-ด่าง ในระหว่าง 3 วันแรกของการหมัก ส่วนจำนวนแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณกรดทั้งหมด โดยที่จำนวนแบคทีเรียที่สร้างกรด จะค่อย ๆ เพิ่มจำนวนขึ้นจาก 2.0×10^7 CFU/g ในวันที่ 0 จนถึง 7.9×10^8 CFU/g ในวันที่ 3 จากนั้นจะลดลงจนเท่ากับ 4.8×10^7 CFU/g ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 8 วัน

5.2 การวิเคราะห์ดัชนีคุณภาพทางจุลินทรีย์ของตัวอย่างปลาส้ม ที่ได้จากปลาน้ำจืดต่างชนิดกัน

ตารางที่ 4 ลักษณะคุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างปลาส้มที่ผลิตได้จากปลาน้ำจืดสายพันธุ์ต่าง ๆ ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 6 วัน

การวิเคราะห์ดัชนีจุลินทรีย์	มาตรฐาน มผช.*	ปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจพบ			
		ตัวอย่างปลาส้ม (ชนิดของปลาน้ำจืด)			
		ปลานิล	ปลายี่สก	ปลากะมัง	ปลาตะเพียน
Staphylococcus aureus (cfu/g)	ต้องน้อยกว่า 100 cfu/g	<10	<10	<10	<10
Salmonella sp. (cfu/g)	ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม	nd	nd	nd	nd
Bacillus cereus (cfu/g)	ต้องน้อยกว่า 1×10^3 cfu/g	<10	<10	<10	<10
Clostridium perfringens (cfu/g)	ต้องน้อยกว่า 1×10^3 cfu/g	<10	<10	<10	<10
Escherichia coli (mpn/g)	ต้องน้อยกว่า 3 mpn/g	<3	<3	<3	<3
ยีสต์และรา (cfu/g)	ต้องน้อยกว่า 1×10^3 cfu/g	<10	<10	<10	<10

*****มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ปลาส้ม มาตรฐานเลขที่ มผช. 26/2557
nd = not detected

จากตารางที่ 4 แสดงผลการวิเคราะห์ดัชนีชี้วัดคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างปลาส้มจากปลาน้ำจืดทั้ง 4 ชนิด ซึ่งตัวอย่างปลาส้มทั้ง 4 ตัวอย่าง ได้ถูกวิเคราะห์ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 6 วัน และผลการทดลองพบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ทั้ง 6 ชนิดที่วิเคราะห์ไปนั้นมีปริมาณไม่เกินจากมาตรฐานตามประกาศสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เรื่อง มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ปลาส้ม มาตรฐานเลขที่ มผช. 26/2557 ที่ได้กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของปลาส้มไว้ ทั้งนี้เป็นผลมาจากกิจกรรมของแบคทีเรียแลคติกระหว่างการหมักสามารถสร้างสารเมตาบอไลท์ต่าง ๆ ที่มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค และกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียได้ เช่น กรดอินทรีย์ และแบคทีริโอซินส์ (bacteriocins) ทำให้อาหารที่ผ่านการหมักโดยเชื้อแบคทีเรียแลคติกสามารถเก็บได้นานและมีความปลอดภัยเมื่อนำไปบริโภค (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545: หน้า 286) และผลการทดลองได้สอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ ที่ได้วิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ภายหลังจากการผลิตอาหารหมัก โดยมีผลการทดลองไปในแนวทางเดียวกัน เช่น จากการทดลองของ Piayura et al., (2017) ที่ได้สรุปผลการทดลองไว้ว่ากิจกรรมของเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์ปลาหมักพื้นเมืองของไทย (ส้มฟัก, Som-Fak) นั้นมีผลในการยับยั้งกลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งส่งผลให้ผลิตภัณฑ์อาหารหมักดังกล่าวมีความปลอดภัย และมีอายุการเก็บที่ยืนยาว และจากผลการวิจัยของ ณัฐกฤตา ภู่ทับทิม และวนิดา แซ่จึง (2559) ได้สรุปไว้ว่าการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสม ระหว่าง *L. mesenteroides* LM2, *L. plantarum* LPB3, *L. plantarum* LPB1 และ *Wissella cibaria* WCD ในการผลิตปลาส้มชิ้นนั้นจะได้ปลาส้มที่มีคุณภาพ ผู้บริโภคยอมรับ มีรสชาติไม่ต่างจากการหมักโดยธรรมชาติ และเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* sp. ได้ดี ทำให้ตัวอย่างปลาส้มเก็บได้นาน

6. สรุปผลการทดลอง

ตัวอย่างปลาส้มที่ผลิตจากวัตถุดิบปลาน้ำจืด 4 ชนิด ที่เพาะเลี้ยงในจังหวัดกาญจนบุรี ได้แก่ ปลานิล ปลายี่สก ปลากะมัง และปลาตะเพียน ที่หมักโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ (*L. plantarum* TISTR 543 และ *L. fermentum* TISTR 055 อัตราส่วน 1:1 ที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์) มีลักษณะทางเคมีและปริมาณแบคทีเรียแลคติกเปลี่ยนแปลงและมีแนวโน้มที่คล้ายคลึงกันในระหว่างหมักเป็นเวลา 6 โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วงระหว่าง 4.22–4.33 และค่าเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรด (กรดแลคติก) อยู่ระหว่าง 1.65–1.77 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปริมาณแลกติกมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 8.19–8.85 log cfu/g และผลการวิเคราะห์ดัชนีความปลอดภัยทางด้านจุลินทรีย์พบว่า ตัวอย่างปลาส้มที่หมักจากปลาน้ำจืดทั้ง 4 ชนิด มีคุณภาพทางด้านเชื้อจุลินทรีย์เป็นไปตามเกณฑ์กำหนดของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช. 26/2557)

7. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรีสำหรับงบประมาณในการทำวิจัยครั้งนี้

8. เอกสารอ่างอิง

ณัฐกฤตา ภู่ทับทิม และวนิดา แซ่จึง. (2559). การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกและใช้เป็นต้นเชื้อบริสุทธิ์ในการหมักปลาส้ม. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.** 24 (6), 952-967.

ทิพย์กมล ภูมิพันธ์ และอุไรวรรณ อินทร์ม่วง. (2559). สุขลักษณะของการประกอบกิจการผลิตปลาร้าและปลาส้มในอำเภอหนึ่ง จังหวัดขอนแก่น. **วารสารวิจัย มข.** 16 (2), 75-85.

ธนพันธ์ น่าบัณฑิต. (2558). **ผลของเชื้อแบคทีเรียแลคติคเริ่มต้นและกระเทียมต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคใน ผลิตภัณฑ์ปลาส้ม**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

น้อมจิตต์ สุธีบุตร, ชญาภัทร์ กี่อาริโย, จิตาพร ศรียี่ทอง,ธนภพ โสตรโยม และนพพร สกุลยืนยงสุข. (2560). การพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาส้มฟักจากปลาดุก. **วารสารวิชาการและการวิจัย มทร. พระนคร.** 11 (2), 69-79.

สิรินดา ยุ่นฉลาด, สุกานดา วิชิตพันธุ์, งามนิจ นนทโส และพิกุลทอง ขอเพิ่มทรัพย์. (2548). การเปลี่ยนแปลง ประชากรจุลินทรีย์ และทางเคมีระหว่ากระบวนการหมักปลาส้มที่เป็นผลิตภัณฑ์ปลาหมักของไทย. **วารสารงานวิจัย มข.** 10 (3), 188-198.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. (2545). **จุลชีววิทยาทางอาหาร**. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

อังคณา ชมภูมิ่ง, ตะวัน ฉัตรสูงเนิน และธวัชชัย ชัย ธวัชวิถี. (2553). **รายงานการวิจัยเรื่องการปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ปลาส้มด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ : กรณีศึกษาพื้นที่จังหวัดแพร่และจังหวัดพะเยา.** แพร่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

AOAC. (2000). **Official Methods of Analysis of Chemical AOAC INTERNATIONAL. Volume 2, 17th ed**. AOAC international.

Paludan-Muller C., Madsen M., Sophanodora P., Gram L. and Peter LM. (2001). Fermentation and microflora of plaa-som, a Thai fermented fish product prepared with different salt concentrations**. International Journal of Food Microbiology**. 73, 61-70.

Piayura, S., Worobo, R.W. and Leenanon, B. (2017). Isolation and identification of high potential antimicrobial producing lactic acid bacteria from traditional Thai fermented minced fish (som-fak) products. **Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences**. 19(3), 509-520.

US Food and Drug Administration. (2001). **Bacteriological Analytical Manual (BAM).** Washington DC, USA: New Hampshire Avenue, Department of Health and Human Services.