ผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วง

EFFECT OF UPLAND RICE VINEGAR VAPORS ON INHIBITION OF SPORE GERMINATION OF *Colletotrichum gloeosporioides* ON MANGO FRUIT

นรภัทร ชื่นรุ่ง

ปฏิภาณ นามจันทร์

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

ผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วง

EFFECT OF UPLAND RICE VINEGAR VAPORS ON INHIBITION OF SPORE GERMINATION OF *Colletotrichum gloeosporioides* ON MANGO FRUIT

จัดทำโดย

นรภัทร ชื่นรุ่ง รหัสนักศึกษา 58080104

ปฏิภาณ นามจันทร์ รหัสนักศึกษา 58080111

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 12/ ก.ค./ 62

(ศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ	ผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วง
ชื่อนักศึกษา	นรภัทร ชื่นรุ่ง รหัสนักศึกษา 58080104
	ปฏิภาณ นามจันทร์ รหัสนักศึกษา 58080111
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
พ.ศ.	2562
อาจารย์ที่ปรึกษา	ศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง

บทคัดย่อ

การยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสที่เป็นปัญหาหลักในการส่งออกผลไม้ โดยใช้การรมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% เพื่อยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วงพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยการรมไอน้ำส้มสายชู ใช้ระยะเวลา 15 นาที ในการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ การทดการรมไอด้วยไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่กรด 8% เพื่อยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วง พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา โดยการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ใช้ระยะเวลา 60 นาที ในการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อราได้ การใช้น้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ในการรมไอนั้นสามารถลดต้นทุนลงได้ เนื่องจากน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่มีราคาไม่สูงมาก และยังมีสารประกอบที่มีคุณประโยชน์และไม่มีผลกระทบต่อร่างกาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem title	Effect of upland rice vinegar vapors on inhibition of spore germination of *Colletotrichum gloeosporioides* on mango fruit.
Student name	Norraphatt Chuenrung Student ID 58080104
	Patiparn Namchan Student ID 58080111
Program	Bachelor of Science in Industrial Fermentation Technology
Year	2019
Advisor	Prof.Dr. Warawut Krusong

ABSTRACT

Inhibition of spore germination in *Colletotrichum gloeosporioides*. Anthracnose is infected by *C. gloeosporioides* the main problem in exporting fruits to abroad. Vaporization was applied by using upland rice vinegar 8% acetic acid (URV 8% AA), on mango fruit. The result from vaporization was found that when contact time of vaporization was increased. Vaporization time for completed inhibition of *C. gloeosporioides* by URV 8% AA and showed that the vaporization time to completed spore germination inhibition at 15 minutes. In case of the efficiency of inhibited spore germination on mango fruit by using URV 8% AA completely inhibited at 60 minutes of vaporization time. In addition the advantages of upland rice vinegar are cost reduction because is a relatively low cost and vinegar there are a lot of health benefits.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำรายงานวิชาปัญหาพิเศษเรื่องผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลละม่วง ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจาก ศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษที่ได้ให้คำแนะนำ แนวคิด และช่วยแก้ไขข้อผิดพลาดต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นมาโดยตลอด จนทำให้รายงานวิชาปัญหาพิเศษฉบับนี้มีความสมบูรณ์และสำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ ดร.ระจิตร สุวพานิช คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยให้การสนับสนุน คำแนะนำ แนวคิด และช่วยแก้ไขข้อผิดพลาดต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นจนทำให้รายงานวิชาปัญหาพิเศษสำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตรที่ให้การสนับสนุนห้องปฏิบัติการในการทำการทดลอง

นรภัทร ชื่นรุ่ง

ปฏิภาณ นามจันทร์

25 มิถุนายน 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญภาพ	VII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	1
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
2.1 เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*	2
2.2 น้ำส้มสายชู (Vinegar)	8
2.3 ผลของมู้ส้มสายชูหรือกรดอะซิติกต่อเซลล์ของเชื้อรา	10
2.4 การรมไอ	11
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	13
3.1 วัตถุดิบและเชื้อจุลินทรีย์	13
3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	13
3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ	14
3.4 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	16
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	25
4.1 การรมไอด้วยน้ำส้มสายชูข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% (URV 8%)	25
4.2 การรมไอด้วยน้ำส้มสายชูข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% (URV 8%) บนผลมะม่วง	26
4.3 การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของมะม่วงที่ผ่านการรมไอด้วยน้ำส้มสายชูข้าวไร่กรด8% แช่น้ำร้อน และมะม่วงที่ไม่ผ่านการทดลอง	30
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	35
5.1 สรุปผล	35
5.2 ข้อเสนอแนะ	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม 37
ภาคผนวก 47
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 48
ประวัติผู้เขียน 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
ตารางที่ 4.1	ผลจากการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides*	25
ตารางที่ 4.2	ผลจากการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วง	27
ตารางที่ 4.3	ผลจากตรวจสอบเคมีมะม่วง (T1)มะม่วงที่ไม่ผ่านการทดลอง (T2)การแช่น้ำร้อน 60 องศาเซลเซียส (T3)การรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% วันที่ 0	31
ตารางที่ 4.4	ผลจากตรวจสอบเคมีมะม่วง (T1)มะม่วงที่ไม่ผ่านการทดลอง (T2)การแช่น้ำร้อน 60 องศาเซลเซียส (T3)การรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% วันที่ 3	32
ตารางที่ 4.5	ผลจากตรวจสอบเคมีมะม่วง (T1)มะม่วงที่ไม่ผ่านการทดลอง (T2)การแช่น้ำร้อน 60 องศาเซลเซียส (T3)การรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% วันที่ 5	33
ตารางที่ 4.6	ผลจากตรวจสอบค่าสีมะม่วง (T1)มะม่วงที่ไม่ผ่านการทดลอง (T2)การแช่น้ำร้อน 60 องศาเซลเซียส (T3)การรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ของวันที่ 0, 3, 5	33
ตารางที่ 4.7	ผลจากตรวจสอบความแน่นของเนื้อมะม่วง (T1)มะม่วงที่ไม่ผ่านการทดลอง (T2)การแช่น้ำร้อน 60 องศาเซลเซียส (T3)การรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ของวันที่ 0, 3, 5	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
ภาพที่ 2.1	เชื้อรา *C. gloeosporioides*: (ก) ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (ข) ลักษณะโคนิเดียว *C. gloeosporioides*	2
ภาพที่ 2.2	การเจริญของเส้นใยเชื้อรา (Hyphal Growth)	3
ภาพที่ 2.3	การงอกของสปอร์เชื้อรา (Spore Germination)	4
ภาพที่ 2.4	ลักษณะโรคแอนแทรคโนส บนส่วนต่างๆของพืช : (ก) ใบของพืช; (ข) ลำต้นของพืช; (ค) ผลของพืช	5
ภาพที่ 2.5	ลักษณะของโรคแอนแทรคโนสที่เกิดในมะม่วง: (ก) กล้าของมะม่วง; (ข) ใบของมะม่วง; (ค) ลำต้นของมะม่วง; (ง) ช่อดอกของมะม่วง; (จ) ผลของมะม่วง	7
ภาพที่ 2.6	ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชู	9
ภาพที่ 2.7	*Acetobacter aceti* ออกซิไดส์เอทิลแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก	10
ภาพที่ 2.8	สูตรโครงสร้างของกรดแอซิติก	10
ภาพที่ 3.1	กล่องรมไอน้ำส้มสายชูข้าวไร่	17
ภาพที่ 3.2	ตู้รมไอขนาด (62 X 125 X 112 m)	17
ภาพที่ 3.3	ขั้นตอนการเตรียมเชื้อราเพื่อนำไปรมไอ	18
ภาพที่ 3.4	ขั้นตอนการเตรียมมะม่วงก่อนทำการรมไอ : (ก) ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ระยะความแก่ทางการค้า; (ข) ตัดขั้วผลมะม่วง ด้วยกรรไกร; (ค) คว่ำผลมะม่วงบนกระดาษ เพื่อซับยางมะม่วง ใช้เวลาประมาณ 30 นาที; (ง) ล้างทำความสะอาดผลมะม่วงด้วยน้ำประปาที่ไหลผ่าน; (จ) เรียงมะม่วงในตะกร้าพลาสติก ผึ่งผลมะม่วงให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง; (ฉ) ทำการกำจัดเชื้อที่ผิวมะม่วง ด้วยการแช่มะม่วงในสารละลาย Oxania 2 % นาน 10 นาที; (ช) ผึ่งผลมะม่วงให้แห้งในตู้ laminar flow เพื่อรอการถ่ายสปอร์ลงบนผลมะม่วง	19
ภาพที่ 3.5	ขั้นตอนการใส่เชื้อในมะม่วง : (ก) ทำแผลครั้งที่ 1 ด้วย cork borer ขนาด 3 ม.ม.; (ข) ทำแผลครั้งที่ 2 ด้วย cork borer ขนาด 10 ม.ม.; (ค) ลักษณะของแผลบนผลมะม่วง; (ง) ทำการถ่ายสปอร์ของเชื้อราลงบนแผลที่ผลมะม่วง; (จ) รมด้วยไอน้ำส้มที่ระยะเวลา 0, 30, 45 และ 60 นาที; (ฉ) บรรจุใส่กล่องพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 %	21
ภาพที่ 3.6	ลักษณะการตัดชิ้นมะม่วง	22
ภาพที่ 3.7	มะม่วงที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ	23
ภาพที่ 3.8	มะม่วงที่ผ่านการฆ่าเชื้อจากการแช่น้ำร้อน	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3.9 มะม่วงที่ผ่านการฆ่าเชื้อจากการรมไอ 24
ภาพที่ 3.10 ขั้นตอนการตรวจสอบทางเคมีในมะม่วง : (ก) วัดอัตราการหายใจของมะม่วงภายในกล่อง; (ข) ขั้นตอนการวัดสีของเปลือกและเนื้อมะม่วง; (ค) ขั้นตอนการวัดเนื้อสัมผัสของมะม่วง 24
ภาพที่ 4.1 ผลจากการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ปริมาณกรด 8% ที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ทำการบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส 26
ภาพที่ 4.2 ลักษณะผลมะม่วงที่ผ่านการถ่ายสปอร์ของเชื้อราและรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ปริมาณกรด 8% ที่ระยะเวลา 0, 30, 45 และ 60 นาที ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วงที่ทำการบ่มเป็นเวลา 0 วัน ที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส 28
ภาพที่ 4.3 ลักษณะผลมะม่วงที่ผ่านการถ่ายสปอร์ของเชื้อราและรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ปริมาณกรด 8% ที่ระยะเวลา 0, 30, 45 และ 60 นาที ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วงที่ทำการบ่มเป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส 29
ภาพที่ 4.4 ลักษณะผลมะม่วงที่ผ่านการถ่ายสปอร์ของเชื้อราและรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ปริมาณกรด 8% ที่ระยะเวลา 0, 30, 45 และ 60 นาที ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วงที่ทำการบ่มเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส 29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันตลาดการส่งออกผลไม้ทำรายได้ให้กับประเทศไทยได้อย่างมหาศาล เนื่องจากประเทศไทยตั้งอยู่ในภูมิภาคที่สามารถทำการเกษตรได้อย่างต่อเนื่อง และหลากหลายคุณภาพของสินค้าในการส่งออกประเภทผลไม้จึงเป็นสิ่งสำคัญในการแข่งขันกับตลาดโลกแต่ภาพรวมของการส่งออกยังคงประสบปัญหาด้านของการเน่าเสียในผลไม้และการเสื่อมคุณภาพของผลไม้โดยมีเชื้อจุลินทรีย์เป็นสาเหตุหลักดังนั้นผู้ศึกษาจึงทำการศึกษาและทำความเข้าใจในบทบาทของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสียและสามารถค้นหาวิธีการเพื่อควบคุมและ ป้องกันการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหารได้ และปัญหาการเน่าเสียส่วนใหญ่ในผลไม้นั้นมาจากโรคแอนแทรกโนสเป็นโรคที่ทำความเสียหายทั้งปริมาณและคุณภาพของผลผลิตพืชเศษฐกิจ ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งสามารถเข้าทำลายได้ในทุกระยะการเจริญเติบโตของผลไม้ส่งผลให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพลดลงและอาจส่งผลเสียต่อการส่งออกผลไม้เศรษฐกิจ ทางผู้จัดทำจึงสนใจในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวโดยทำการทดลองรมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ เนื่องจากเป็นสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อร่างกายของผู้บริโภคและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของการรมไอต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยใช้ การรมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของการรมไอต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วง โดยใช้การรมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่

1.2.3 เพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้เพื่อลดการเสื่อมเสียที่เกิดขึ้นจากเชื้อจุลินทรีย์ในการส่งออกผักและ ผลไม้ ให้มีคุณภาพตามมาตรฐาน

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ได้ศึกษาการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการรมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่

1.3.2 ได้ศึกษาการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วง จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการรมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่

1.3.3 ได้รับความรู้และประสบการณ์จากการปฏิบัติงาน ฝึกความอดทนและมีวินัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

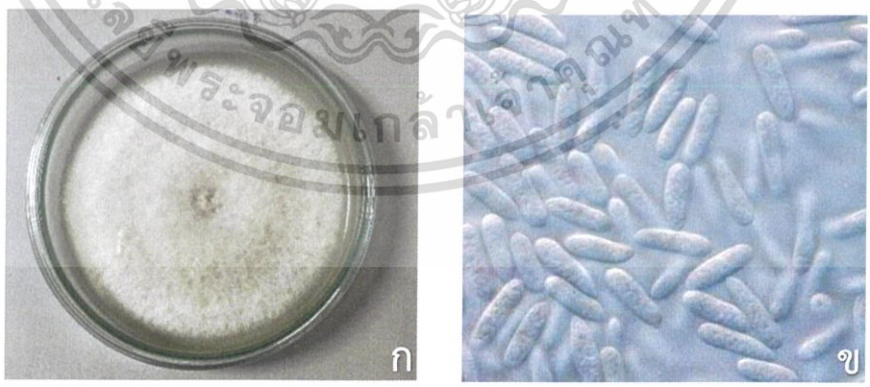
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

Colletotrichum spp. เป็นเชื้อราที่อยู่ใน Subdivision Deuteromycotina, Class Coelomycetes, Order Melanconiales, Family Melanconiaceae (Ainsworth, 1973) เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตทางการเกษตรหลายชนิด เช่น มะม่วง พริก กล้วย เป็นต้น

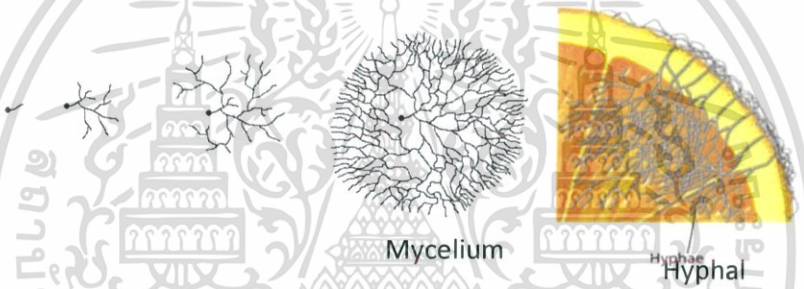
2.1.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โคโลนีมีการเจริญเป็นลักษณะ วงแหวนหลายชั้น เส้นใยมีสีเทาอ่อนจนเทาแก่ เส้นใยเจริญฟูแต่ไม่หนาแน่น กลุ่มของสปอร์มีสีส้ม (ภาพที่ 2.1:ก) เมื่อเชื้อเจริญเต็มที่จะเห็นโคนิเดียวรวมกันเป็นกลุ่มมีลักษณะคล้ายหยดน้ำข้นๆ สีส้มอมชมพูเจริญ เป็นวงซ้อนกันเป็นชั้นๆ โคนิเดียวเดี่ยวมีรูปร่างทรงกระบอกหัวท้ายมนหรือแหลม (ภาพที่ 2.1:ข) ขนาดเฉลี่ย 3.23 x 13.4 ไมโครเมตร เกิดบนก้านชูสปอร์ภายในโครงสร้างที่เรียกว่า acervulus ซึ่งมีขนาด 39.5 x 41.21ไมโครเมตร (จรรยา จริยานุสรณ์, 2545; ธารทิพย์ ภาสบุตร และคณะ, 2548) บางชนิดมีการสร้าง sterile hypha สีน้ำตาลผนังหนาเรียบ ปลายแหลมคล้ายหนามเรียกว่า setae เกิดบริเวณขอบของ acervulus หรือปะปนอยู่กับก้านชูโคนิเดีย ลักษณะการสร้าง setae ของรานี้เป็นลักษณะที่ไม่คงที่ เปลี่ยนแปลงได้ตามสภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ (Sutton, 1980) ดำรงชีวิตแบบ saprophyte และ parasite จัดเป็นราที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากเป็นสาเหตุของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด สามารถ เข้าทำลายพืชได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช โดยเชื้อนี้จะแพร่กระจายในระยะฝนชุก (พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ, 2554)



ภาพที่ 2.1 เชื้อรา *C. gloeosporioides*: (ก) ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
(ข) ลักษณะโคนิเดียว *C. gloeosporioides*
ที่มา: Weir et al.(2012), McKenzie (2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

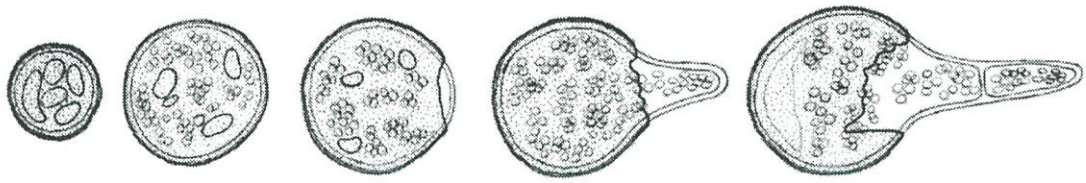
2.1.1.1 การเจริญของเส้นใยเชื้อรา (Hyphal Growth) การเจริญของเส้นใยของเชื้อรา เจริญมาจากส่วนปลาย (hyphal tip) ซึ่งเป็นส่วนที่ active ที่สุดของเส้นใย โดย hyphal tip จะผลิต เอนไซม์ออกมาในรูปของ extracellular enzyme เพื่อย่อยสลายโมเลกุลของสารตั้งต้นที่มีขนาดโมเลกุล ใหญ่เกินกว่าที่จะซึมผ่านเข้าสู่เซลล์ได้ บริเวณที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตถูกเรียกว่า Apical growth region (Najiha, 2012) ลักษณะเส้นใยจะมีการเจริญออกไปได้สองทิศทางคือ ทางขวางจะเจริญไปจน เต็มที่แล้วจึงหยุด ส่วนการเจริญทางด้านยาวนั้น เส้นใยของราจะงอกยาวออกไปและแตกแขนงอย่างไม่ จำกัด ตราบเท่าที่สภาพแวดล้อมยังเหมาะสม เส้นใยเหล่านี้เรียกว่า mycelium ทำให้รามีขนาดใหญ่จน มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (ภาพที่ 2.2) mycelium มีสองชนิดคือ vegetatave mycelium เป็นส่วนที่ยึดเกาะ กับอาหาร เพื่อทำหน้าที่นำอาหารไปสู่ส่วนต่างๆ ของทัลลัส อีกชนิดหนึ่งได้แก่ aerial mycelium เป็น ส่วนที่ยื่นไปในอากาศ ทำหน้าที่สร้างสปอร์ จึงเรียก mycelium แบบนี้ว่า reproductive mycelium (cowboy, 2007)



ภาพที่ 2.2 การเจริญของเส้นใยเชื้อรา (Hyphal Growth)
ที่มา: Spencer (2016)

2.1.1.2 การงอกของสปอร์เชื้อรา (Spore Germination) เป็นกลไกเพื่อการอยู่รอดที่ขึ้นกับพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมทางสรีรวิทยาที่เหมาะสม (ภาพที่ 2.3) สิ่งแวดล้อมมีทั้งภายนอกและ ภายในที่จำเป็นในการสร้างสปอร์สภาพทางกายภาพ ได้แก่ ช่วงอุณหภูมิที่พอเหมาะกับการเจริญของเซลล์ ปกติ ช่วงของ pH ใกล้เคียงกับ pH ที่เหมาะสมของการเจริญของเซลล์ปกติ ปริมาณออกซิเจนเพียงพอต่อ ความต้องการ องค์ประกอบทางเคมีของสปอร์ มีน้ำอิสระน้อยมาก มีแคลเซียมไดพิโคลิเนต (Calcium dipicolinate) ประมาณ 10 % ของน้ำหนักแห้งของสปอร์ ซึ่งไม่พบในเซลล์อื่นๆเลย ในบริเวณแกนกลาง ประกอบด้วย DNA เป็นหลัก มีเอนไซม์และ RNA น้อย ไม่มี mRNA ชั้นผนังสปอร์และคอร์เทกซ์มีไกลโค เพปไทด์ ชั้นสปอร์โคทมีโปรตีนมาก ซึ่งมีกรดอะมิโนซีสทีนมากทำให้เกิดพันธะเชื่อม ทำให้สปอร์ทนความ ร้อนได้ดี ความทนทานต่อความร้อนของสปอร์เกิดจากองค์ประกอบพิเศษที่ทนความร้อนได้ดี เช่น เอนไซม์ ที่ทนความร้อน ไม่มีน้ำอิสระ มีแร่ธาตุมาก โดยเฉพาะแคลเซียม มีกรดไดพิโคลินิก (นิรนาม, 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.3 การงอกของสปอร์เชื้อรา (Spore Germination)
ที่มา: de Silva et al. (2010)

2.1.2 การก่อโรคแอนแทคโนส (Anthracnose) ที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* spp. มีผลต่อพืช ตระกูลถั่ว หญ้า ผัก ธัญพืช ไม้ผล และไม้ประดับหลากหลายชนิดโดยเฉพาะในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน (Bailey and Jeger, 1992; Hyde et al. 2009; Wikee et al. 2011; Cannon et al. 2012) สามารถเข้า ทำลายเซลล์พืชโดยตรงไม่ต้องผ่านช่องเปิดธรรมชาติหรือบาดแผลจัดเป็นการเข้าทำลายแบบแฝง (quiescent infection) จะแสดงอาการชัดเจนเมื่อผลผลิตแก่หรือเริ่มสุก ดังนั้น การเข้าทำลายจะเริ่มตั้งแต่ อยู่ในแปลงปลูก โรคนี้พบกระจายอยู่ทั่วโลก โดยการระบาดของเชื้อจะอาศัยลม ฝน หรือแมลงที่บินมาเกาะ บริเวณแผลทำให้สปอร์แพร่กระจายไปยังที่ต่างๆ เมื่อถูกความชื้นก็สามารถงอกเจริญได้ (Allkaset, ม.ป.ป.) ลักษณะทั่วไปของโรคแอนแทรคโนสจะเป็นจุดสีดำ รูปร่างกลม หรือรูขนาดตั้งแต่เล็กเท่าหัวเข็ม หมุด จนถึงขนาดใหญ่เส้นผ่าศูนย์กลาง 2 - 4 ซม. แล้วแต่ความรุนแรง บริเวณแผลจะพบรอยแตกและมีเม็ดเล็ก ๆ สีดำเรียงรายเป็นวงภายในแผล เมื่อผลไม้เริ่มแก่ในระหว่างการบ่มหรือขนส่งจุดแผลเหล่านี้จะขยาย ใหญ่ขึ้น และลุกลามออกไป ทำให้ผลเน่าทั้งผลได้ เชื้อราโรคแอนแทรคโนสยังสามารถติดอยู่กับผลโดยไม่แสดงอาการใด แต่เมื่อสภาพแวดล้อมภายหลังเหมาะสม เช่น ผลสุก หรือมีความชื้นสูง ในระหว่างการเก็บ รักษา หรือบรรจุหีบห่อเพื่อการขนส่ง ก็จะแสดงอาการได้ (กรมวิชาการเกษตร, 2014) โดยความรุนแรง ของโรคมี 2 ลักษณะคือ หากเกิดโรคในระยะก่อนเก็บเกี่ยวส่งผล ต่อการเจริญของผลแต่หากเกิดโรคในช่วง ระยะการเก็บรักษาจะทำให้ผลผลิตเสียหาย ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการผลิต ส่วนใหญ่การเกิดโรคมักเกิด กับส่วนของพืชที่อยู่เหนือดินจำพวกใบ ลำต้น และผล (ภาพที่ 2.4) บางครั้งส่วนที่อยู่ใต้ ดิน เช่น ราก หรือ หัวก็มีโอกาสได้รับผลกระทบเช่นกัน (Freeman et al., 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2.4 ลักษณะโรคแอนแทรคโนส บนส่วนต่างๆของพืช :

(ก) ใบของพืช; (ข) ลำต้นของพืช; (ค) ผลของพืช

ที่มา: Kohler (1997) and Jackson, G. (1997)

2.1.3 มะม่วง (*Mangifera indica* L.) เป็นหนึ่งในพืชปลูกที่มีความสำคัญในเขตร้อน และกึ่งร้อน ของโลก โดยเฉพาะในทวีปเอเชียและมีแนวโน้มในการส่งออกสูงจัดเป็นรายได้อันดับต้นๆในการส่งออก ผลไม้ของไทย (วิลาสินี แสงนาค และ สรัญยา ณ ลำปาง, 2556) พันธุ์มะม่วงที่เป็นที่นิยมได้แก่ น้ำดอกไม้ หนัง กลางวัน และทองดำ เป็นต้น การรักษาคุณภาพของผลมะม่วงในระหว่างการขนส่งและการเก็บรักษาจึงมี ความสำคัญ เพื่อให้เกิดการยอมรับจากผู้บริโภค (ศิริรัตน์ ตรีกาญจนวัฒนาและคณะ, 2549) ปัจจัยที่ส่งผล เสียต่อมะม่วงมีหลายปัจจัย ไม่ว่าจะเป็นการทำลายของแมลงวันทอง ความเสียหายขณะเก็บเกี่ยว การ ขนส่งและบรรจุหีบห่อ ความผิดปกติทางสรีรวิทยาของมะม่วงและความเสียหายภายหลังการเก็บเกี่ยว (พร ประพา คงตระกูล และสรัญยา ณ ลำปาง, 2553) โดยปัญหาส่วนใหญ่เกิดจากโรคหลังการเก็บเกี่ยว ทำให้ เกิดความเสียหายต่อผลมะม่วงที่จะส่งไปยังตลาดลูกค้า ซึ่งโรคที่สำคัญ ได้แก่ โรคแอนแทรคโนส ที่เกิดจาก เชื้อรา *C. gloeosporioides* (Penz. 1882). และโรคขั้วผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Botryodiplodia theobromae* Pat. (จินันทนา จอมดวง และคณะ, 2555) การควบคุมโรคแอนแทรคโนส หลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงน้ำดอกไม้นิยมใช้สารเคมีกำจัดราพวก Benzimidazole เช่น Benomyl จุ่มผลก่อนการบรรจุลงภาชนะซึ่งสารเคมีดังกล่าวสามารถถูกดูดซึมเข้าในผลมะม่วงได้ จึงไม่ปลอดภัยต่อ ผู้บริโภคและยังพบว่าเชื้อสาเหตุโรคอาจต้านทานต่อสารเคมีได้ (Chung et al., 2010)

2.1.4 โรคแอนแทคโนสในมะม่วงเป็นโรคที่ทำความเสียหายทั้งปริมาณและคุณภาพของผลผลิต มะม่วงเป็นอย่างมาก เพราะโรคนี้ทำความเสียหายต่อต้นมะม่วงตั้งแต่ที่อยู่ในสวนไปจนถึงผลมะม่วงหลัง เก็บเกี่ยวที่ออกจากสวนแล้ว นักวิชาการจึงจัดว่าโรคแอนแทรคโนส เป็นโรคที่เกิดทั้ง ก่อนเก็บเกี่ยว (Pre-harvest disease) และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังเก็บเกี่ยว (Post-harvest disease) โรคแอนแทรคโนสในมะม่วงเกิด จากเชื้อรา *C. gloeosporioides* เชื้อราชนิดนี้ สามารถเข้าทำลายมะม่วงได้ทุกส่วนได้แก่ ใบ กิ่ง ก้าน ช่อดอก และผลอ่อน โดยเฉพาะใบอ่อนมีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อราและเป็นแหล่งของเชื้อราที่จะแพร่กระจายไปยังผล ส่งผลให้ผลเน่าร่วงตลอดจนผลเน่าหลังเก็บเกี่ยวเชื้อรา *C. gloeosparioides* จะเข้าทำลายผลมะม่วงตั้งแต่ผลยังอ่อนสปอร์ของเชื้องอก germ tube และสร้าง appressorium บนผิวผลภายในเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเชื้อราจะสร้าง infection hypha ผ่านชั้น cuticle เข้าไปในผิวผลแล้วพักแฝงตัวอยู่ในผลมะม่วงในรูปเส้นใยที่เจริญแทรกอยู่ระหว่างเซลล์ ในชั้น epidermis และ sub epidermis ลึกลงไปจากผิวผลมะม่วง 2-3 ชั้นของเซลล์จากผิวนอกสุดหรืออยู่ ในช่วงไม่เกิน 1 มิลลิเมตรจากผิวนอก เชื้อราจะเจริญทำลายผลมะม่วงต่อไปเมื่อผลเริ่มสุกถึงสุกเต็มที่

นอกจากนี้ยังทำให้เกิดอาการเป็นจุดแผลบนใบ กิ่ง ผล และหากการเข้าทำลายของโรครุนแรงก็จะเกิดอาการ ใบแห้ง ใบบิดเบี้ยว และร่วงหล่น ช่อดอกแห้งไม่ติดผล (อังสุมา ชยสมบัติ, 1990; วราภรณ์ สุทธิสา และคณะ, 2014)

อาการระยะกล้า จะพบอาการของโรคทั้งที่ใบและลำต้น ซึ่งถ้าต้นกล้าที่เป็นโรคอ่อนแอจะไม่สามารถทำเป็นต้นตอได้ (ภาพที่ 2.5:ก) ทำความเสียหายแก่การผลิตกิ่งทาบเพื่อการค้าอย่างมาก อาการบน ใบ เริ่มแรกจะเป็นจุดเล็ก ๆ บนใบอ่อน มองดูใสกว่าเนื้อใบรอบ ๆ จุดนี้จะขยายออกเป็นวงขนาดต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับความชื้นและความแก่อ่อนของใบ ขยายออกได้รวดเร็ว และมีจำนวนแผลมากติดต่อกันทั้งผืนใบ ทำให้ใบแห้งทั้งใบหรือใบบิดเบี้ยว (ภาพที่ 2.5:ข) อาการที่ลำต้นอ่อนจะเป็นแผลที่ค่อนข้างดำ ลักษณะ แผลเป็นรูปไข่ยาวไปตามความยาวของลำต้น อาการของโรครุนแรง แผลจะขยายอย่างรวดเร็ว จนกระทั่ง รอบลำต้น ทำให้ต้นแห้งตาย (ภาพที่ 2.5:ค) อาการที่ช่อดอกจะเห็นลักษณะอาการเป็นจุดสีน้ำตาลดำ ประปรายบนก้านช่อดอก และก้านดอก ซึ่งทำให้ดอกเหี่ยวและหลุดร่วง (ภาพที่ 2.5:ง) ลักษณะอาการบน ผลจะเป็นจุดสีดำ รูปร่างกลม หรือรูขนาดตั้งแต่เล็กเท่าหัวเข็มหมุดจนถึงขนาดใหญ่เส้นผ่าศูนย์กลาง 2 - 4 ซม. แล้วแต่ความรุนแรง บริเวณแผลจะพบรอยแตกและมีเม็ดเล็ก ๆ สีดำเรียงรายเป็นวงภายใน แผล เมื่อ มะม่วงเริ่มแก่ในระหว่างการบ่มหรือขนส่งจุดแผลเหล่านี้จะขยายใหญ่ขึ้นและลุกลามออกไป ทำให้ผลเน่า ทั้งผลได้ (ภาพที่ 2.5:จ) (สุจินต์ จันทรสอาดม, 2019)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2.5 ลักษณะของโรคแอนแทรคโนสที่เกิดในมะม่วง: (ก) กล้าของมะม่วง; (ข) ใบของมะม่วง;
(ค) ลำต้นของมะม่วง; (ง) ช่อดอกของมะม่วง; (จ) ผลของมะม่วง

ที่มา: Andra Pradesh . (2013)

2.1.5 การยับยั้ง *C. gloeosporioides*

จากการศึกษาของ พรพนา นาคสิงห์ (2007) พบว่าสารสกัดจากเปลือกผลทับทิมทุกระดับความเข้มข้นสามารถ ยับยั้งการเจริญของโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ รัตติรส เชียงสิน และคณะ (2016) ทำการศึกษาการเข้าทำลายของ *C. gloeosporioides* บนใบของมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง โดยทดสอบ ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ รา 3 ชนิด ได้แก่ prochloraz, propineb และ azoxystrobin โดยพ่นลงบน ใบอ่อน พบว่าการพ่น propineb ก่อนการปลูกเชื้อราสามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อราได้ดีที่สุด จรรยา จริยานุสรณ์ (2545) พบว่า ผลิตภัณฑ์สารออกฤทธิ์ที่ดีที่สุดจะต้องอยู่ในรูปของ emulsifier concentrate (EC) โดยมีส่วนผสมหลัก ได้แก่เนื้อสารออกฤทธิ์ 23.8% ผสมกับ Triton X-100 3.5%, Agrisol P-135 3.2%, และ Xylene 69.5% สารผสมที่ได้นี้จะมีอัตราการใช้ที่เหมาะสมที่ระดับความ เข้มข้น 540 ส่วนต่อล้าน ซึ่งจะควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* (Penz) Sacc. ได้ดีมากโดยผลมะม่วงมี ค่าความเสียหายเนื่องจากเชื้อราดังกล่าว ลดลงต่ำกว่าการใช้สาร benomyl ซึ่งเป็นสารเคมีสังเคราะห์ที่ใช้ ควบคุมเชื้อราชนิดนี้กับมะม่วงเพื่อการส่งออกในปัจจุบัน

นอกจากนี้ เนตรนภิส เขียวขำ และคณะ (2553) พบว่าสารสกัดเมทานอลและอะซีโตนมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยสารสกัดหยาบจากเมทานอลมี ประสิทธิภาพดีกว่าในการ ยับยั้งการงอกของสปอร์ *C. gloeosporio*ides เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสที่แยกได้จากผลพริก องุ่น มะม่วง มังคุด มีค่า MIC ที่ความเข้มข้น 2500 1250 2500 และ 625 µg/mL ตามลำดับ ที่เวลา 24 ชั่วโมง สามารถใช้ ควบคุมการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสได้ แต่อย่างไรก็ตามยังคงมีบางรายงานการยับยั้งที่สามารถยับยั้งได้เพียง การสร้างเส้นใย ดังการทดลองของ สิริวรรณ สมิทธิอาภรณ์ และ ศานิต สวัสดิกาญจน์ (2010) ไม่พบการ ยับยั้งการงอกของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ราจากการใช้สารสกัดจากมะรุมแต่มีผลทำให้เส้นใยที่งอกมีความผิดปกติ ผลการ ทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรอาจนำมาใช้ในการป้องกันการสร้างเส้นใยของเชื้อรา ซึ่ง เป็นสาเหตุที่1 ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสของผลพริกได้ อังสุมา ชยสมบัติ (1990) พบว่าในการควบคุมโรค แอนแทรคโนสบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้ ปรากฏว่าการจุ่มผลมะม่วงในสารเคมี benomyl ความเข้มข้น 500 ppm มีประสิทธิภาพดีที่สุด ส่วนการใช้น้ำร้อนในการควบคุมโรคปรากฏว่าการจุ่มผลมะม่วงลงในน้ำร้อน อุณหภูมิ 55 หรือ 57 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมโรค รองลงมาคือ การจุ่มผลมะม่วงลงในน้ำร้อนอุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส และการจุ่มผลมะม่วงลงในสารเคมี benomyl เข้มข้น 500 ppm ที่อุณหภูมิ 51, 53, 55 และ 57 องศาเซลเซียส ซึ่งให้ผลในการควบคุมโรคได้ดีไม่ แตกต่างกัน

2.2 น้ำส้มสายชู (Vinegar)

น้ำส้มสายชูเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่พบได้ทั่วไปตามท้องตลาดแบ่งได้ 2 ประเภท (1) Cider น้ำส้มสายชูที่ทำมาจากน้ำผลไม้ (2) น้ำส้มสายชูทั่วไป ทำมาจากผลผลิตจากการเพาะปลูก อย่างเช่น ธัญพืช ข้าว องุ่น อ้อย น้ำส้มสายชูเป็นผลิตภัณฑ์ของเหลวที่เกิดจากกระบวนการหมัก คาร์โบไฮเดรตให้ได้เป็นแอลกอฮอล์และกรด ซึ่งมีรายงานว่าน้ำส้มสายชูนั้นมีประโยชน์ต่อสุขภาพของ ผู้บริโภค ซึ่งประโยชน์นั้นจะขึ้นอยู่กับชนิดของ polyphenol, micronutrients และ bioactive compounds เป็นต้น นอกจากนี้สารประกอบเหล่านั้นยังทำให้น้ำส้มสายชูมีฤทธิ์เป็น antimicrobial, antidiabetic และ antioxidative โดยน้ำส้มสายชูจะมีความแตกต่างกันก็ต่อเมื่อ มีการใช้วัตถุดิบที่ แตกต่างกัน เชื้อจุลินทรีย์ที่ต่างกัน และอาจเป็นกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน ซึ่งจะทำให้เกิดรสชาติและ กลิ่นรสที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะ สารประกอบหลักในน้ำส้มสายชู คือ กรดอะซิติก ที่ทำให้มีกลิ่นรสที่มีรสเปรี้ยวและกลิ่นรสเฉพาะตัวของตัวน้ำส้มสายชูเอง และยังมีสารประกอบหลักอื่นที่สำคัญมักจะอยู่ในรูป ของ alcohol, acid, ester, aldehyde และ ketone เป็นต้น (Madrera et al., 2010; Junior et al., 2014; Wai et al., 2016) น้ำส้มสายชูจึงจัดเป็นสารทางชีวภาพที่ปลอดภัยและส่วนประกอบที่สำคัญคือกรดอะซิติก ซึ่งเป็นที่รู้จักกันดีทั้งด้านความปลอดภัยและมีคุณสมบัติต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Sholberg, et al. 2000; Kilonzo-Nthenge, 2006; Chang and Fang, 2007; Sengun and Karapinar, 2004; Krusong et al., 2015).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

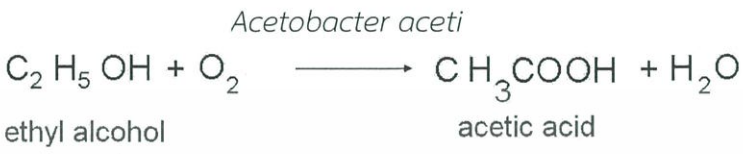
ภาพที่ 2.6 ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชู
ที่มา: Sari Harrar (2018)

2.2.1 น้ำส้มสายชูหมัก เป็นน้ำส้มที่ได้จากหมักน้ำตาล ผลไม้หรือน้ำผลไม้กับยีสต์ (yeast) แล้ว นำมาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชู (acetic acid bacteria) ตามกรรมวิธีตามธรรมชาติ ผลไม้หรือน้ำผลไม้ที่มี กลูโคสหรือให้กลูโคสได้ ย่อมนำมาหมักได้ทั้งนั้น ผลไม้ที่ใช้ควรมีน้ำตาลประมาณร้อยละ 8-10 เมื่อหมักให้ เกิดแอลกอฮอล์แล้วควรจะได้แอลกอฮอล์ราวร้อยละ 4.5-5.5 โดยปริมาตร ซึ่งถ้านำไปหมักน้ำส้มสายชู แล้ว จะได้น้ำส้มสายชูที่มีกรดน้ำส้มประมาณร้อยละ 4.0-5.2 (สำหรับในการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์และ การหมักน้ำส้มที่เป็นไปอย่างปรกติ) ตัวอย่างของผลไม้และน้ำผลไม้ เช่น องุ่น แอปเปิล สับปะรด ส้มคั้น ส่วนของพืชที่จะใช้ทำน้ำตาล เช่น น้ำอ้อย น้ำตำล น้ำตาลสด หรือน้ำเหลืองน้ำตาล (Molass) น้ำจากจั่น มะพร้าว ฯลฯ เมื่อเอาน้ำตาลหรือน้ำผลไม้ตั้งทิ้งไว้จะมีแบคทีเรียในอากาศที่เรียกว่า Acetobacter ตกลง ไป เป็นวุ้นขาวๆ ลอยอยู่ข้างบน หรือจะหมักน้ำตาล น้ำผลไม้เหล่านั้นกับยีสต์ (แป้งข้าวหมาก) ก็ได้ ซึ่งทั้ง Acetobacter และยีสต์ ทำให้น้ำตาลหรือน้ำผลไม้ที่หมักนั้นเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ จำพวกเอธิล แอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) หรือไวน์ (wine) ก่อน ซึ่งเมื่อทิ้งไว้ต่อไป หรือนำมาหมักต่อกับเชื้อ น้ำส้มสายชูที่เป็นแบคทีเรียมีชื่อว่า อะซิติกแอซิดแบคทีเรียตามกรรมวิธีตามธรรมชาติแอลกอฮอล์ก็จะถูก เปลี่ยนให้เป็นกรดน้ำส้มสายชู (acetic acid) ในที่สุด การหมักนี้จะใช้เวลานานประมาณ 3 เดือน หลังจาก หมักแล้วจึงกรองแยกเอาที่เป็นน้ำส้มสายชูออกมา เรียกว่าน้ำส้มสายชูหมัก (ค้วน ขาวหนู, ม.ป.ป)

2.2.2 กรดอะซิติก (acetic acid) หรือ กรดน้ำส้ม คือกรดอินทรีย์หรือสารประกอบเคมีอินทรีย์ที่ พบได้ในธรรมชาติมีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน มีลักษณใส ไม่มีสี มีกลิ่นฉุนที่เป็นเอกลักษณ์ มีรสเปรี้ยว ระเหยง่าย ละลายได้ในน้ำ แอลกอฮอล์ กลีเซอรีน มีความเสถียร มีสูตรทางเคมี CH3COOH (ภาพที่ 2.6) มีคุณสมบัติ ทางเคมีดังนี้ น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 60.05 กรัมต่อโมล ความหนาแน่น 1.05 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร จุดเดือด 118.1 องศาเซลเซียส และจุดแข็งตัว 16.67 องศาเซลเซียส เมื่อแข็งตัวมีลักษณะเป็นผลึกใส ผลึก ของกรดอะซิติกนั้นจะมีความบริสุทธิ์สูงมากเรียกว่า หัวน้ำส้มหรือกรดกลาเซียอะซิติก(glacial Acid) (นิร นาม, 2018) นอกจากนี้กรดอะซิติกยังถูกจัดเป็นกรดอินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพเป็นสารควบคุมทางชีวภาพ และราคาไม่แพง (Higgins and Brinkhaus,

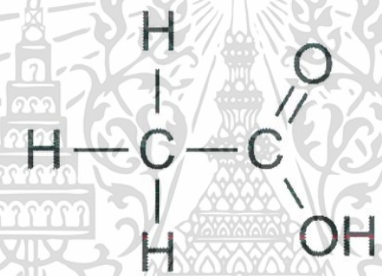
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1999) ซึ่งฤทธิ์ของกรดอะซิติกสามารถยับยั้งการเจริญของ เส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราได้ (Morsy et al., 2000) กรดอะซิติกอาจเกิดจากกระบวนการหมัก เอทิลแอลกอฮอล์ ด้วยแบคทีเรีย Acetobacter (ภาพที่ 2.5) หรือจากการสังเคราะห์ทางเคมี



ภาพที่ 2.7 Acetobacter aceti ออกซิไดส์เอทิลแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก

ที่มา: พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์ (2012)



ภาพที่ 2.8 สูตรโครงสร้างของกรดแอซิติก

ที่มา: นิรนาม (2007)

2.3 ผลของฝ้สัมสายชูหรือกรดอะซิติกต่อเซลล์ของเชื้อรา

น้ำส้มสายชูกรดอินทรีย์เป็นสารต้านเชื้อราที่มีประสิทธิภาพโดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดอ่อน หรือกรดอินทรีย์สายสั้น ในรูปที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ซึ่งสามารถกระจายเข้าไปในเซลล์เชื้อราได้ง่าย (Davidson and Juneja, 1990) นอกเหนือจาก กรดอะซิติก ยังมีสารระเหยที่มีนัยสำคัญอีกจำนวนหนึ่งซึ่ง อยู่ในรูปของสารระเหย ได้แก่ เอทิลเอสเตอร์ของกรดอะซิติก 1-butanol, 3-methyl-, acetate; isoamylalcohol, b-phenylethyl acetate; benzeneethanol และ hexadecanoic, methyl ester (Mitchell et al., 2010; Morath et al., 2012; Pornpukdeewatana et al. 2017) บางทีอาจเป็น เพราะสารอื่น ๆ ที่มีอยู่ในน้ำส้มสายชูจากงานวิจัยสารระเหยที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ใน การยับยั้งเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยว บางชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์ หรือตัวยับยั้งการเจริญเของสปอร์ (Stinson et al., 2003; Fredlund

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

et al., 2004) นอกจากนี้ยังมีสารอื่นที่จะป้องกันไม่ให้เกิดการผลิตสารพิษในสารระเหย โดยการใช้ เบต้า - phenyl ethyl acetate ที่มีคุณสมบัติเกี่ยวข้องกับการต้านเชื้อราโดยสารระเหยชนิดนี้มีความเป็นพิษต่อเชื้อรา อาจ รวมถึงเป้าหมายต่างๆ ได้แก่ การรบกวนการสังเคราะห์ผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงความสามารถในการซึมผ่านของเซลล์ การรบกวนการขนส่งอิเล็กตรอน การดูดซึมสารอาหารและกระบวนการเผาผลาญอาหารของ เซลล์ การเสื่อมสภาพของเอนไซม์ และการเปลี่ยนแปลงของสภาพโปรตีน (Cowan, 1999; Marjorie,1996; Feng and Zheng, 2007; Al-Amiery et al., 2012) อย่างไรก็ตามกรดแอซิติกเป็นสำเหตุที่ทำให้เซลล์ตาย เนื่องจากการลดลงของค่า PH สามารถทำให้เยื่อหุ้มเซลล์อ่อนแอลงด้วยปฏิกิริยาสะเทิน โดยเมื่อความเข้มข้นของโปรตอนเพิ่มสูงขึ้นทำให้เกิดการ เปลี่ยนแปลงศักยภาพทางเคมีไฟฟ้า ส่งผลให้เกิดการแพร่และการซึมผ่านของกรดในบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ และไซโทรพลาสซึมเพิ่มสูงขึ้น (Dalie te al., 2012) นอกจากนี้กรดอะซิติกมีผลเนื่องจากค่า PH สามารถ ส่งผลกระทบต่อเยื่อหุ้มเซลล์และสภาวะกระตุ้นของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายสารตั้งต้น โดยทั่วไปกรดแอซิติกเป็นสารที่ปลอดภัยและสามารถเจือปนในอาหารได้ ซึ่งกรดแอซิติกนี้สามารถลด PH ของ cytoplasmic และหยุดกระบวนการเมทาบอลิซึมต่างๆ (Hassan, 2015)

2.4 การรมไอ

การรมไอ คือ การบรรจุก๊าซเข้าไปในที่ๆมีการรั่วไหล และสามารถเก็บกักก๊าซนั้นๆไว้ให้ได้ในระยะเวลาที่ต้องการ เพื่อวัตถุประสงค์ต่างๆ สารรมไอ คือ สารที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในรูปของไอ หรือควัน (Vapor) ซึ่งเมื่ออยู่ในอุณหภูมิและความดันที่เหมาะสมจะอยู่ในสถานะที่เป็นแก๊สและสามารถคงสภาพเป็น แก๊สอยู่ได้ หากความเข้มข้นและเวลาเหมาะสมจะสามารถทำลายสิ่งมีชีวิตได้ (Batty, 2013)

2.4.1 การรมไอด้วยน้ำส้มสายชูหรือกรดอะซิติก Sholberg et al. (2000) รายงานว่าน้ำส้มสายชูสามารถส่งผลกระทบต่อเซลล์ของเชื้อรา โดยพบว่าไอระเหยจากน้ำส้มสายชูสามารถป้องกันการงอกของโคนิเดียในจุลินทรีย์ *Penicillium expansum, Monilinia fructicola* และ *Botrytis cinerea* ซึ่งเป็นสาเหตุของการเน่าเสียในแอปเปิ้ล สต อรเบอรี่ และผลไม้ตระกูลพีชได้

Tzortzakis (2010) ทำการทดลองพบว่าการรมไอด้วย น้ำส้มสายชู เอทานอล คลอรีน และ ออริกาโน ออยสามารถลดการงอกของสปอร์ได้ถึง 92% โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 95% ภายในระหว่างการรมไอ หรือภายหลังจากการรมไอ

การศึกษาจำนวนมากชี้ให้เห็นว่ากรดอินทรีย์เป็นสารต้านจุลชีพที่มีประสิทธิภาพโดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดอ่อนหรือกรดอินทรีย์สายสั้น ซึ่ง โดยเฉพาะ AA น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากสามารถกระจายเข้าสู่เซลล์จุลินทรีย์ได้ง่าย (Sholberg, 2009) โดยแน่นอนว่าน้ำส้มสายชู AA ที่เจือจางถูกนำมาใช้ในการปกป้องผลิตภัณฑ์อาหารจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเก็บเกี่ยวมานานแล้วเน่าเสีย การใช้น้ำส้มสายชูนี้ยังทำให้ผู้บริโภคได้รับรู้ของความปลอดภัย อีกทั้งยังรายงานอีกว่า vapor-phase AA ยังเป็นสารที่มีประโยชน์ในการรมควันต้านเชื้อรา ควบคุมเชื้อราในระหว่างการเก็บรักษา โดยย่าจะเกิดจากการ vapor-phase AA ฆ่าสปอร์ของจุลินทรีย์ที่ผิวและทำให้พื้นผิวปลอดเชื้อในผักและผลไม้e (Sholberg & Gaunce, 1996) ซึ่งนอกจากนี้การรมไอจากน้ำส้มสายชูที่มี AA 4-6% ก็ทำให้เกิดประสิทธิภาพเช่นกัน(Sholberg et al., 2000)

จากการศึกษาของ Pornpukdeewattana, S และคณะปี2017 ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของไอน้ำ (VP) ด้วยน้ำส้มสายชู (URV) โดยตรวจสอบด้วยการทำ bio-fumigant ในข้าวโพดเพื่อลดความเสี่ยงต่อสุขภาพของผู้บริโภคที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสปอร์และสารพิษโดย *Aspergillus flavus* โดยเกิดการลดลงอย่างสมบูรณ์ของการเจริญเติบโตของเส้นใยเกิดขึ้นในหลอดแก้ว VP ที่ได้รับ URV (ประกอบด้วย 0.0017, 0.0023 mmol/L กรดอะซิติก) หรือด้วย VP การสัมผัสกับกรดอะซิติกบริสุทธิ์ (PAA) ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างทั้งสองหลังจากการ 90 นาที ดังนั้น VP-URV จึงแสดงให้เห็นว่าเป็นสารควบคุมที่มีประสิทธิภาพสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* และการสร้าง aflatoxin บนข้าวโพดดังนั้นจึงลดโอกาสที่จะเกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

นิธิภัทร บุญปก (2011) ทำการศึกษาผลของการรมผลลำไยพันธุ์อีดอดวยไอของกรดอะซิติกความเข้มข้น 99.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาทีเพื่อควบคุมโรคผลเน่าของลำไยที่เกิดจากเชื้อรา *Aspergillus niger* พบว่าการรมลำไยด้วยไอของกรดอะซิติกสามารถชะลอการเกิดโรคผลเน่าของลำไยได้

นฤมล นกพรหม และคณะ (2015) รายงานว่าการรมด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 99.5 % นาน 40 นาทีสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* spp. ในฝักมะขามหวานพันธุ์สีทองได้อย่าง สมบูรณ์

Krusong et al. (2015) พบว่าประสิทธิภาพของของเหลวและไอระเหยของน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโพดฝักอ่อน สามารถควบคุมการเน่าเสียหลังการเก็บเกี่ยวในสตรอเบอรี่ได้ โดยพบว่าการรมไอ ด้วยน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโพดฝักอ่อนหรือการรมไอด้วยน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโพดฝักอ่อนกลิ่นสตรอเบอรี่ช่วยลดการเน่าเสียได้อย่างมีนัยสำคัญ และทำการทดลองโดยการลงเชื้อ *Botrytis cinerea* ลงในสตรอเบอรี่ อายุการเก็บรักษาสตรอเบอรี่ที่สุก โดยการรมไอด้วยน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโพดฝักอ่อนกลิ่นสตรอเบอรี่ ถูกยืดระยะเวลาออกไป 7 วัน ในส่วนของการรมไอด้วยน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโพดฝักอ่อน สามารถยืดระยะเวลาการเก็บรักษาได้นานถึง 11 วัน

Krusong et al. (2015) ทำการทดลองยับยั้งแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* บนผักชี สำหรับการสัมผัสด้วยกรดแอซิติกในรูปของเหลว ระดับสูงกว่า 2.4% (v/v) สามารถยับยั้ง *K. pneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ การรมไอด้วยกรดแอซิติกใช้ระยะเวลา 50 นาที ด้วยกรดแอซิติกความ เข้มข้น 8% สามารถยับยั้ง *K. pneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและเชื้อจุลินทรีย์

3.1.1 วัตถุดิบ

น้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% (ได้รับจากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง)

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporiodes* s (ได้รับจากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง)

3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1 สารเคมี

Tartaric Acid

Sodium hydroxide (CARLO ERBA Reagents, Italy)

Oxania

3.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

Potato dextrose agar (BAM Media M127)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.3.1 อุปกรณ์

กล่องพลาสติกขนาด (0.25 X 0.30 X 0.25m)

ฮีโมไซโตมิเตอร์ (Haemocytometer)

เวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ (VernierCaliper)

จานเพาะเชื้อ (Petri dish)

กระบอกตวง (Cylinder)

เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle)

ช้อนตักสาร (Spatula)

ขวดแก้วใส่แอลกอฮอล์

ขวดดูแรน (Laboratory bottle)

ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)

ถุงมือกันร้อน

แท่งแก้วคนสาร (Glass rod)

ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol burner)

ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ (Steriled plastic bag)

บีกเกอร์ (Beaker)

ปิเปต (Graduated pipette)

ปิเปตทิป (Pipette tips)

ไมโครปิเปต (Micropipette) cork borer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลูกยาง (Rubber bulb)

หลอดฉีดยา (Syringe)

หลอดทดลอง (Test tube)

ที่วางหลอดทดลอง (Test tube rack)

กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)

เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (analytical balance)

ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)

ตู้ปลอดเชื้อ (Biological safety cabinet : BSC)

หม้อนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดันไอน้ำ (Autoclave)

เครื่องตีปั่นตัวอย่าง (Stomacher)

ตู้รมไอขนาด (62 X 125 X 112 m)

เครื่องวัด Texture analyzer หัวทรงกระบอก P/5(TA Xt plus,HD plus)

เครื่องวัดสีแบบสารละลาย Hunter Lab

เครื่อง Head space analyzer หัวเข็ม (Needle probe)

Cork borer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.4.1 วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อรา

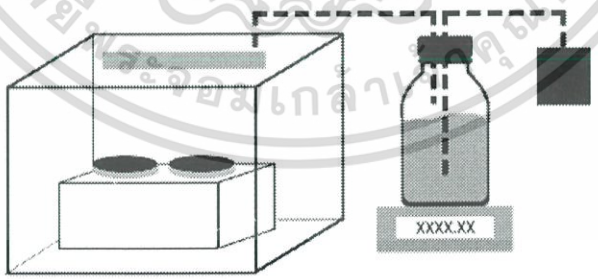
โดยทำการเขี่ยเชื้อราจากมะม่วงสุกที่เกิดแผลเน่ามาทำการเลี้ยงลงในหลอดทดลองและเพลตทดลองโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato dextrose agar) มาทำการเลี้ยงเชื้อราจากนั้นนำเชื้อราไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-7 วันเพื่อให้เชื้อราโตเต็มที่จากนั้นทำการแยก เชื้อรา *C. gloeosporiodes* ที่บริสุทธิออกมาโดยใช้ cork borer ตัดเชื้อรามาวางลงไปใน เพลตอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และใช้ needle เขี่ยเชื้อราบริสุทธิ์แล้วทำ streak ลงในหลอดอาหารเลี้ยง PDA จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3-7 วันจึงจะได้เชื้อรา *C. gloeosporiodes* ที่บริสุทธิ์ พร้อมทำการทดลอง

3.4.2 ขั้นตอนการรมไอ

3.4.2.1 ไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% กรดอินทรีย์หรือสารประกอบเคมีอินทรีย์ที่พบได้ในธรรมชาติมีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน น้ำส้มสายชูกรดอินทรีย์เป็นสารต้านเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเของสปอร์ และสามารถกระจายเข้าไปในเซลล์เชื้อราได้ง่าย นอกจากนี้กรดอะซิติกยังถูกจัดเป็นกรดอินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพเป็นสารควบคุมทางชีวภาพ และราคาไม่แพง

3.4.2.2 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการรมไอ

1. กล่องพลาสติกขนาด (0.25× 0.30 × 0.25 m) และปริมาตรภายในกล่อง 37.5 พร้อมฝาปิดสไลด์และมีช่องระบายอากาศเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดความดันที่เกิดขึ้นในระหว่าง (วราวุฒิ ครูส่ง,2017)

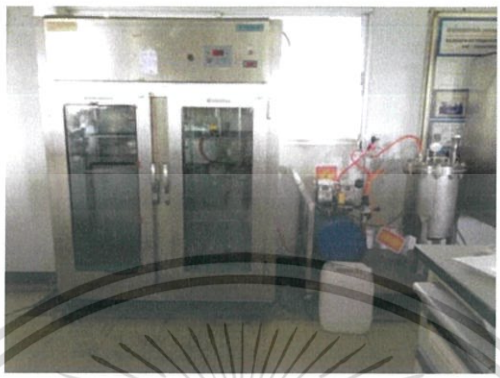


ภาพที่ 3.1 กล่องรมไอน้ำส้มสายชูข้าวไร่ (ดัดแปลงจากจากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ขวดแก้วบรรจุน้ำส้มสายชูจากข้าวไร้ในขวดจะมีปริมาตร 2000 ml

3. ตู้รมไอขนาด (62 X 125 X 112 m)



ภาพที่ 3.2 ตู้รมไอขนาด (62 X 125 X 112 m) (ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง)

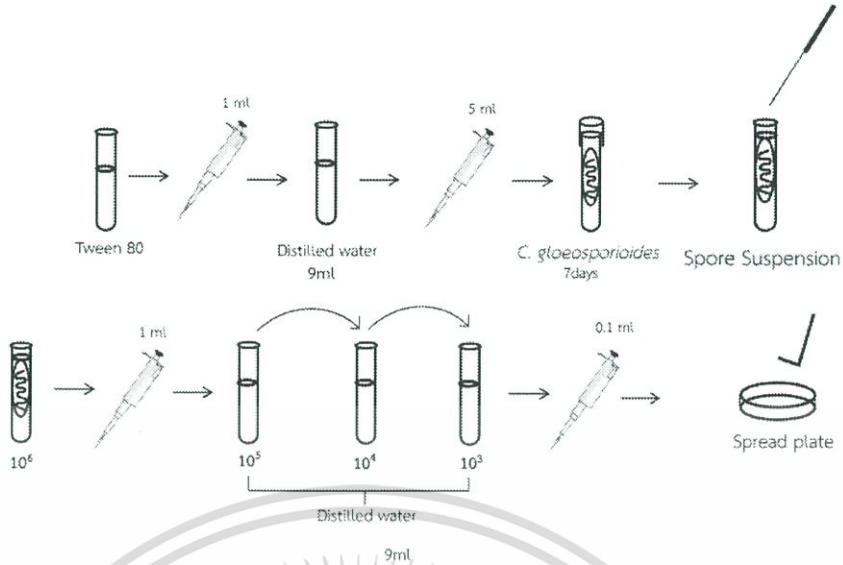
3.4.3 วิธีการรมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%

3.4.3.1. ทำการฆ่าเชื้อภายในกล่องรมไอและที่วางหลอดทดลอง (ที่วางจานอาหารเลี้ยง เชื้อ) โดยทำการมไอสารที่จะใช้ในการทดลองลงในกล่องรมไอ เป็นระยะเวลา 30 นาที เพื่อทำการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์อื่นที่อาจเกิดการปนเปื้อนขึ้นภายในกล่อง

3.4.3.2 เตรียมสปอรแขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยเลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA นาน 7 วัน หลังจากนั้นเตรียมสปอรแขวนลอยโดยกวาดสปอรของเชื้อใสในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อปรับให้ได้ความเข้มข้น 10^3 สปอรต่อมิลลิลิตร ด้วย haemazytometer

ทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA โดยใช้ micropipette ดูดสารละลายสปอร์มา 100 ไมโครลิตร แล้วหยดลงบนผิวหน้าอาหาร จากนั้นเกลี่ยสารละลายสปอร์ให้ทั่วผิวหน้าอาหารโดยใช้แท่งแก้วงอที่ลนไฟแล้ว ทำการทดสอบหาระยะเวลาที่เหมาะสมของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ที่มีต่อการเจริญของสปอร์ *C. gloeosporioides* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ระยะเวลาของการรมไอ 0 1 2 3 4 5 6 7 8 และ 9 นาที บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บันทึกการเจริญของสปอร์จากการนับจำนวนสปอร์ แล้วนำมาคำนวณปริมาณสปอร์ที่ลดลงหลังจากทำการรมไอสารระเหย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



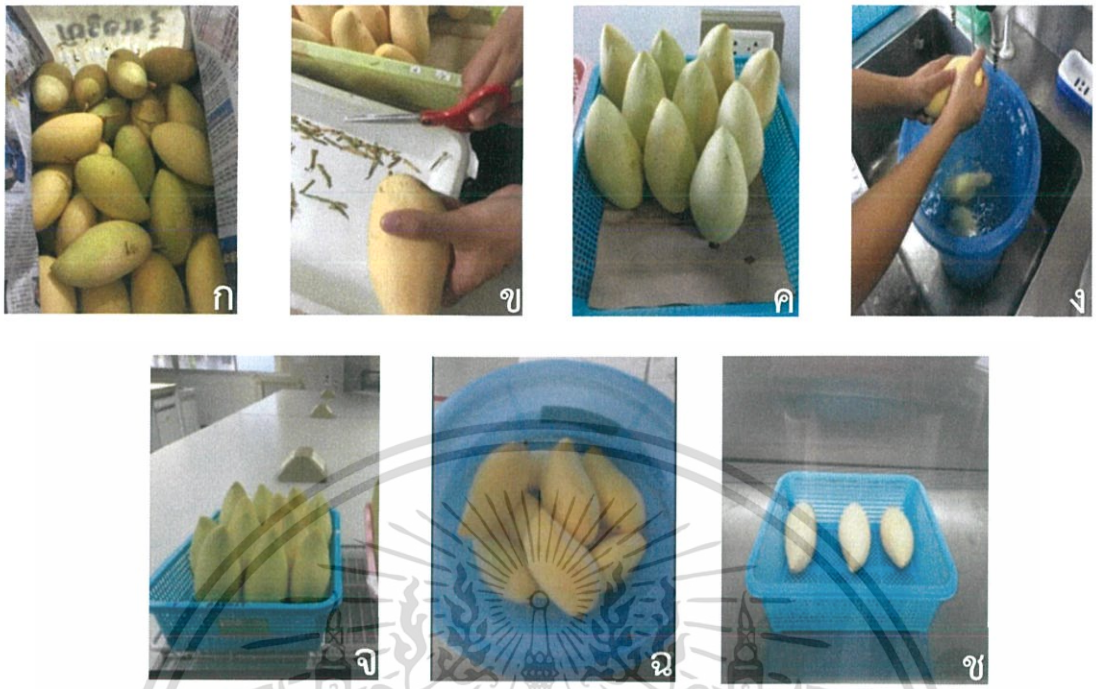
ภาพที่ 3.3 ขั้นตอนการเตรียมเชื้อราเพื่อนำไปรมไอ

3.4.4 วิธีการรมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% บนมะม่วง

3.4.4.1. ทำการฆ่าเชื้อภายในตู้รมไอและที่วางหลอดทดลอง (ที่วางจานอาหารเลี้ยง เชื้อ) โดยทำการรมไอสารที่จะใช้ในการทดลองลงในตู้รมไอสาร เป็นระยะเวลา 60 นาที เพื่อทำการ ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์อื่นที่อาจเกิดการปนเปื้อนขึ้นภายในตู้รมไอ

3.4.4.2. การเตรียมผลมะม่วงคัดขนาดของผลมะม่วงน้ำดอกไม้ให้มีขนาดผลที่ใกล้เคียงกัน มาทำการตัดขั้ว แล้วคว่ำลงบนกระดาษ เพื่อให้ยางไหลออกจากก้านผล ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที ล้างทำความสะอาดมะม่วงและทำการคัดแยกความแก่ของมะม่วงเลือกเฉพาะผลมะม่วงที่จมน้ำ ผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำผลมะม่วงที่ผ่านไปล้างทำความสะอาดด้วยน้ำยา Oxania ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 15 นาที ผึ่งให้แห้งในตู้ laminar นำผลมะม่วงที่ผ่านการล้างฆ่าเชื้อแล้วไปทำการถ่ายเชื้อลงบนผิวมะม่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.4 ขั้นตอนการเตรียมมะม่วงก่อนทำการรมไอ : (ก) ผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ระยะความแก่ทางการค้า; (ข) ตัดขั้วผลมะม่วงด้วยกรรไกร; (ค) คว่ำผลมะม่วงบนกระดาษ เพื่อซับยางมะม่วง ใช้เวลาประมาณ 30 นาที; (ง) ล้างทำความสะอาดผลมะม่วงด้วยน้ำประปาที่ไหลผ่าน; (ฉ) เรียงมะม่วงในตะกร้าพลาสติก ผึ่งผลมะม่วงให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง; (ง) ทำการกำจัดเชื้อที่ผิวมะม่วง ด้วยการแช่มะม่วงในสารละลาย Oxania 2 % นาน 10 นาที; (G) ผึ่งผลมะม่วงให้แห้งในตู้ laminar flow เพื่อรอการถ่ายสปอร์ลงบนผลมะม่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

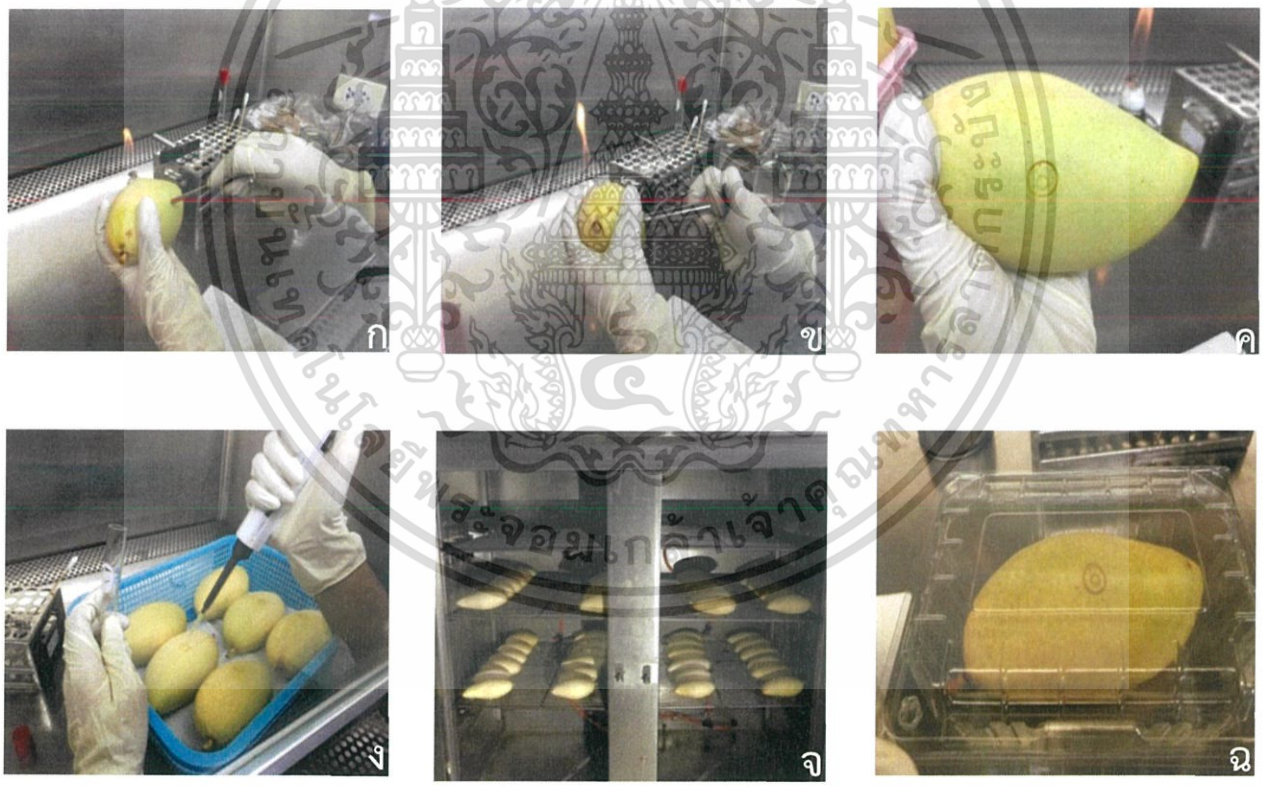
3.4.4.3 การเตรียมผลมะม่วงและการถ่ายสปอร์ลงบนผลมะม่วง มีขั้นตอนดังในรายละเอียดตามข้อ 3.4.4.2 และ 3.4.4.4 ตามลำดับ แต่ในการศึกษาครั้งนี้แบ่งผลมะม่วงออกเป็น 16 ชุดทดลองดังนี้

ชุดทดลอง	อธิบาย
T1	Control + No VF*
T2	Lesion by cork borer + No VF
T3	Control + inoc with H_2O + No VF
T4	Control + inoc *C. gloeosporioides* + No VF
T5	Control + VF 30 mins
T6	Lesion by cork borer + VF 30 mins
T7	inoc H_2O + VF 30 mins
T8	inoc *C. gloeosporioides* + VF 30 mins
T9	Control + VF 45 mins
T10	Lesion by cork borer + VF 45 mins
T11	inoc H_2O + VF 45 mins
T12	inoc *C. gloeosporioides* + VF 45 mins
T13	Control + VF 60 mins
T14	Lesion by cork borer + VF 60 mins
T15	inoc H_2O + VF 60 mins
T16	inoc *C. gloeosporioides* + VF 60 mins

*VF หมายถึง รมไอน้ำส้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4.5. การถ่ายสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วง มีขั้นตอนการทำดังนี้ ทำแผลที่ผลมะม่วงตรงตำแหน่งกลางผล ด้วยการใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.3 มิลลิเมตร ทำแผลครั้งที่ 1 และ ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10.0 มิลลิเมตร ทำแผลครั้งที่ 2 หลังจากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที หากมียางมะม่วงไหลออกมาบนแผลที่ทำ ให้ใช้สำลีพันก้านที่ผ่านการฆ่าเชื้อเช็ดยางมะม่วงบนบาดแผลแล้วจึงถ่ายสารละลายสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* (ขั้นตอนการเตรียมดังรายละเอียดในข้อ 3.4.3.2) ความเข้มข้น 10^3 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงไปบนผลมะม่วงตรงตำแหน่งที่ทำแผล หลังจากนั้นนำผลมะม่วงไปผ่านการรมไอน้ำส้มที่ระยะเวลา 0 30 45 และ 60 นาที ในตู้รมไอขนาดใหญ่ เมื่อครบระยะเวลาที่รมไอนำผลมะม่วงบรรจุลงในกล่องพลาสติก และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการตรวจวัดจำนวนของสปอร์ที่พบบนผลมะม่วง ภายหลังการถ่ายเชื้อแล้ว 0, 3, 5 และ 7 วัน ในแต่ละชุดทดลองใช้มะม่วงจำนวน 6 ผล และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง โดยใช้ผลมะม่วงที่ได้จากแหล่งปลูกทางการค้าจากจังหวัดฉะเชิงเทรา



ภาพที่ 3.5 ขั้นตอนการใส่เชื้อในมะม่วง : (ก) ทำแผลครั้งที่ 1 ด้วย cork borer ขนาด 3 ม.ม.; (ข) ทำแผลครั้งที่ 2 ด้วย cork borer ขนาด 10 ม.ม.; (ค) ลักษณะของแผลบนผลมะม่วง; (ง) ทำการถ่ายสปอร์ของเชื้อราลงบนแผลที่ผลมะม่วง; (จ) รมด้วยไอน้ำส้มที่ระยะเวลา 0, 30, 45 และ 60 นาที; (ฉ) บรรจุใส่กล่องพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4.4. การหาจำนวนเชื้อที่พบบนผลมะม่วงทำโดยการตัดเนื้อมะม่วงตรงตำแหน่งที่ทำการถ่ายเชื้อ (ภาพที่ 3.6) ชั่งน้ำหนักของชิ้นเนื้อมะม่วง 10±0.1 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ เติม 0.1% Peptone water (PW) 100 มิลลิลิตร ตีให้ตัวอย่างกระจายทั่วสารละลายด้วยเครื่องตีตัวอย่าง (stomacher) เป็นเวลา 30 วินาที สารละลายตัวอย่างที่ได้ถือว่ามีระดับความเจือจาง 10^{-1} ใช้ micropipette ดูดสารละลายมา 100 ไมโครลิตร แล้วหยดลงบนผิวหน้าอาหาร PDA จากนั้นเกลี่ยสารละลายให้ทั่วผิวหน้าอาหารโดยใช้แท่งแก้วงอที่ลนไฟแล้ว บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บันทึกการเจริญของสปอร์จากการนับจำนวนสปอร์ แล้วนำมาคำนวณปริมาณสปอร์ที่ลดลงหลังจากทำการรมไอสารระเหย และทำการหาจำนวนเชื้อที่พบบนผลมะม่วงภายหลังการบ่ม 5 และ 7 วันต่อไป

ภาพที่ 3.6 ลักษณะการตัดชิ้นมะม่วง

3.4.5 วิธีการตรวจสอบเคมีในมะม่วง

การตรวจสอบเคมีมะม่วงเพื่อให้ทราบถึงคุณภาพมะม่วงหลังจากที่ผ่านการฆ่าเชื้อราจาก 3 วิธีการทดลอง 1. มะม่วงที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 2. การฆ่าเชื้อจากการแช่ในน้ำร้อน 3. การฆ่าเชื้อจากการรมไอสารระเหย เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพของมะม่วงที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อมีความแตกต่างกันอย่างไร

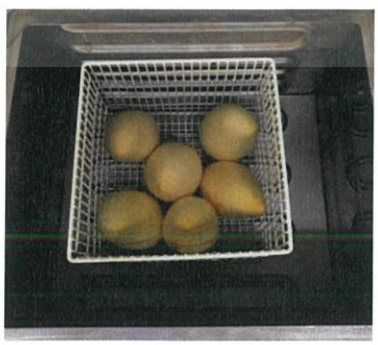
3.4.5.1 การเลือกมะม่วงเพื่อทำการทดลอง (ทำตามขั้นตอนการเตรียมดังรายละเอียดในข้อ 3.4.4.2) จากนั้นแบ่งมะม่วงออกเป็น 3 กลุ่มดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มะม่วงกลุ่มที่ 1 ที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยนำมะม่วงที่ถูกคัดเลือกไปใส่กล่องที่มีการควบคุมออกซิเจน ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง และนำไปวัดอัตราการหายใจของมะม่วงภายในกล่องด้วยเครื่อง Head space analyzer หัวเข็ม หลังจากนั้นนำมะม่วงไปวัดสีของมะม่วงด้วยเครื่องวัดสีแบบสารละลาย Hunter Lab วัดเนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวัด Texture analyzer หัวทรงกระบอก P/5 ตามลำดับ นำเนื้อมะม่วงไปบดให้ละเอียดแล้วจึงนำไปวัด TSS, Titration, pH จากนั้นบันทึกผลการทดลอง

ภาพที่ 3.7 มะม่วงที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

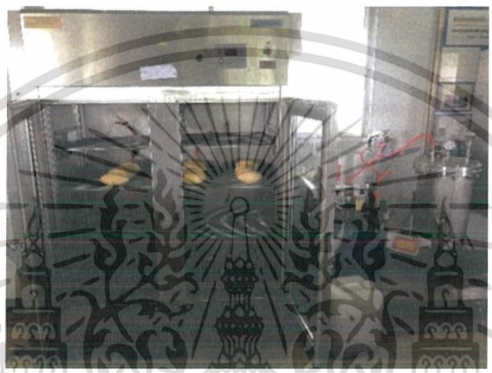
มะม่วงกลุ่มที่ 2 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อจากการแช่น้ำร้อน โดยนำมะม่วงที่ถูกคัดเลือกไปแช่น้ำร้อนในอ่างน้ำร้อนเป็นเวลา 5 นาที แล้วทิ้งมะม่วงไว้ให้แห้งนำไปใส่กล่องที่มีการควบคุมออกซิเจน ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง และนำไปวัดอัตราการหายใจของมะม่วงภายในกล่องด้วยเครื่อง Head space analyzer หัวเข็ม หลังจากนั้นนำมะม่วงไปวัดสีของมะม่วงด้วยเครื่องวัดสีแบบสารละลาย Hunter Lab วัดเนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวัด Texture analyzer หัวทรงกระบอก P/5 ตามลำดับ นำเนื้อมะม่วงไปบดให้ละเอียดแล้วจึงนำไปวัด TSS, Titration, pH จากนั้นบันทึกผลการทดลอง



ภาพที่ 3.8 มะม่วงที่ผ่านการฆ่าเชื้อจากการแช่น้ำร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มะม่วงกลุ่มที่ 3 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อจากการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% โดยนำมะม่วงที่ถูกคัดเลือกไปรมไอเป็นเวลา 45 นาที แล้วจึงนำไปใส่กล่องที่มีการควบคุมออกซิเจน ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง และนำไปวัดอัตราการหายใจของมะม่วงภายในกล่องด้วยเครื่อง Head space analyzer หัวเข็ม หลังจากนั้นนำมะม่วงไปวัดสีของมะม่วงด้วยเครื่องวัดสีแบบสารละลาย Hunter Lab วัดเนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวัด Texture analyzer หัวทรงกระบอก P/5 ตามลำดับ นำเนื้อมะม่วงไปบดให้ละเอียดแล้วจึงนำไปวัด TSS, Titration, pH จากนั้นบันทึกผลการทดลอง



ภาพที่ 3.9 มะม่วงที่ผ่านการฆ่าเชื้อจากการรมไอสารระเหย ที่มา : (ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง)

ภาพที่ 3.10 ขั้นตอนการตรวจสอบทางเคมีในมะม่วง : (ก) วัดอัตราการหายใจของมะม่วงภายในกล่อง; (ข) ขั้นตอนการวัดสีของเปลือกและเนื้อมะม่วง; (ค) ขั้นตอนการวัดเนื้อสัมผัสของมะม่วง ที่มา : (ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การรมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% (URV 8%)

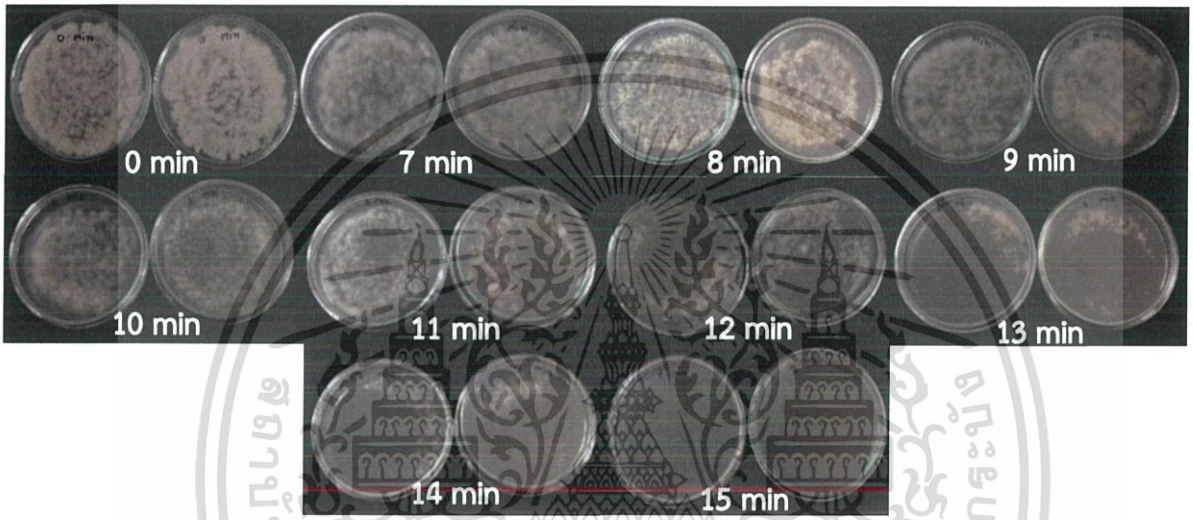
จากการทดสอบประสิทธิภาพการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% โดยทำการเลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* และนำมาทำการทดสอบ หาระยะเวลาที่เหมาะสมของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ที่มีผลต่อการเจริญของสปอร์ *C. gloeosporioides* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ระยะเวลาของการรมไอต่างๆ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยจะทำการนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา ที่ระยะเวลาต่างๆ แล้วจึงนำมาคำนวณอัตราการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ชั่งน้ำหนักสารระเหยที่หายไป

ตารางที่ 4.1 ผลจากการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides*

ระยะเวลาในการรมไอ (นาที)	ปริมารเชื้อที่นับได้ใน plate (CFU/ml)	ปริมาณสารที่ลดลง (g)	% การยับยั้ง
0	TNTC	0	0
7	TNTC	0.06	0
8	TNTC	0.13	0
9	TNTC	0.18	0
10	TNTC	0.28	0
11	3.75×10^3	0.42	62.50
12	1.85×10^3	0.63	81.50
13	0.85×10^3	0.81	91.50
14	0.73×10^3	1.02	92.70
15	0	1.24	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางแสดงผลจากการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา ซึ่งพบว่าเมื่อทำการรมไอที่ระยะเวลา 11, 12, 13, 14, 15 นาที มีการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยทำการนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรามีจำนวนลดลง 3.75×10^3, 1.85×10^3, 0.85×10^3, 0.73×10^3 ตามลำดับ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์เชื้อรา 0, 62.50%, 81.50%, 91.50%, 92.70%, 100% ตามลำดับ จากการรมไอจนถึงระยะเวลา 15 นาที พบว่ามีการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้อย่างสมบูรณ์



ภาพที่ 4.1 ผลจากการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ทำการบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส

จากภาพที่ 4.1 แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ว่าสามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ โดยจะสังเกตได้จากจำนวนสปอร์เชื้อรา ที่มีจำนวนลดลงตามระยะเวลาที่ทำการรมไอ จนถึงนาทีที่ 15 สามารถการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อราได้อย่างสมบูรณ์

4.2 การรมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% (URV 8%) บนผลมะม่วง

จากการทดสอบประสิทธิภาพการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% โดยทำการเลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* และนำมาทำการทดสอบ หาระยะเวลาที่เหมาะสมของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ที่มีผลต่อการเจริญของสปอร์ *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วง ที่ระยะเวลาของการรมไอต่าง ๆ บ่มผลมะม่วงที่นำมาทำการทดสอบไว้ที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 - 7 วัน โดยจะทำการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง นับจำนวนสปอร์ของเชื้อราที่ระยะเวลาต่างๆ แล้วจึงนำมาคำนวณอัตราการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลจากการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วง

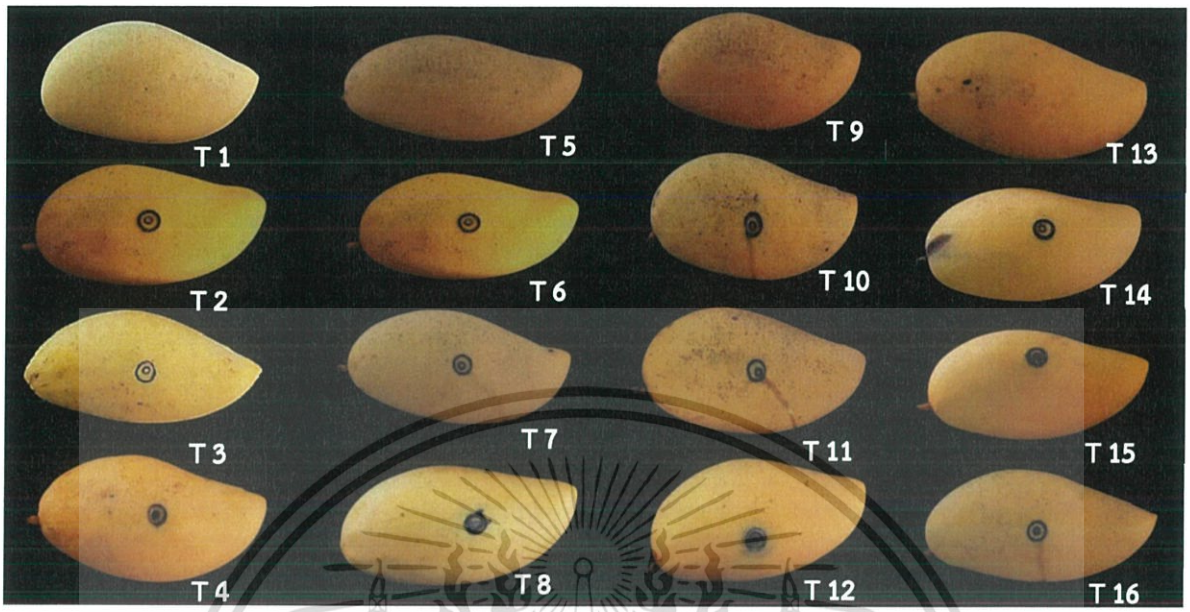
Treatment	ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลางแผล บนผลมะม่วง (ม.ม.)		จำนวนเชื้อ x 10^{-3}	
	วันที่7	% inhibition	วันที่ 5	วันที่7
T1	0	0	9	3
T2	0	0	6	4
T3	0	0	7	4
T4	54	0	5	>300
T5	0	0	1	3
T6	0	0	3	4
T7	0	0	3	12
T8	41	23	4	>300
T9	0	0	3	11
T10	0	0	5	2
T11	0	0	3	19
T12	41	23	3	>300
T13	0	0	6	7
T14	0	0	8	5
T15	0	0	4	6
T16	26	51	1	>300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

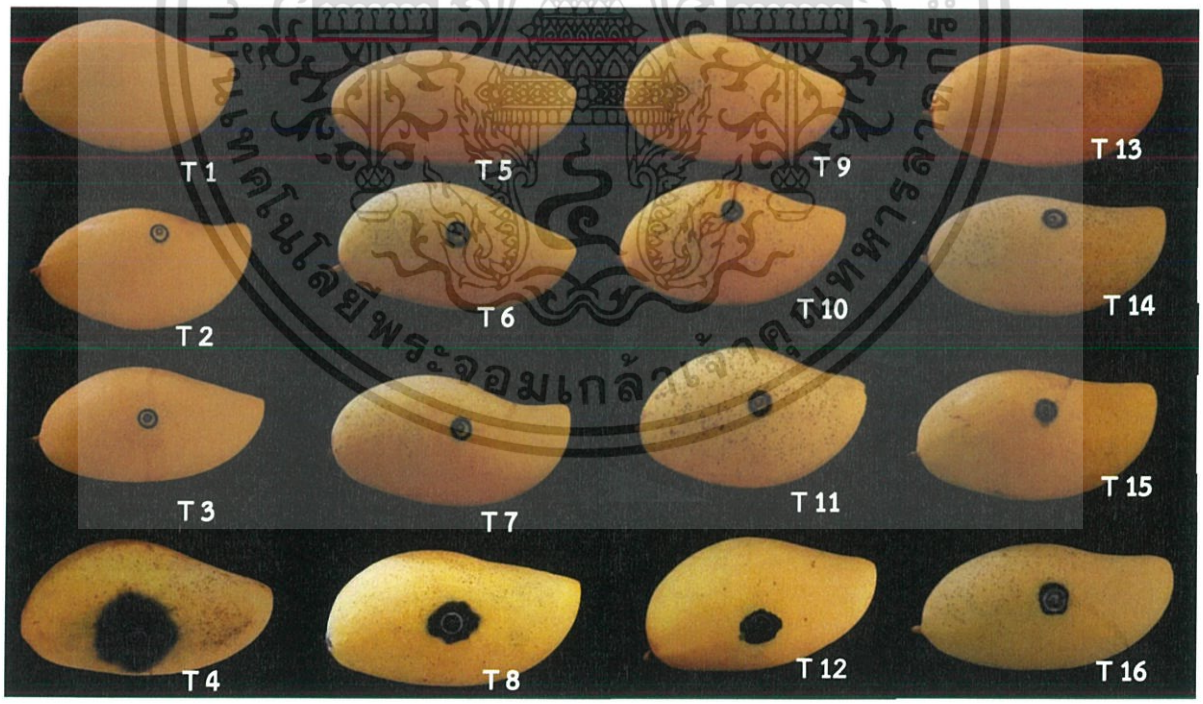
จากตารางแสดงผลจากการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อราบนผลมะม่วง ซึ่งพบว่าเมื่อทำการรมไอสารระเหยที่ระยะเวลา 0 30 45 และ 60 นาที และทำการบ่มมะม่วงไว้ 5 - 7 วัน มีการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยทำการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 54, 41, 41, 26 เซนติเมตร ตามลำดับ นับจำนวนสปอร์ของเชื้อราที่พบบนผลมะม่วง ภายหลังจากการถ่ายเชื้อแล้วมีจำนวนเชื้อลดลงและมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์เชื้อรา 0%, 23%, 23%, 51% ตามลำดับ จากการรมไอจนถึงระยะเวลา 60 นาที พบว่ามีการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อราบนผลมะม่วงได้ดีที่สุด

ภาพที่ 4.2 ลักษณะผลมะม่วงที่ผ่านการถ่ายสปอร์ของเชื้อราและรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ปริมาณกรด 8% ที่ระยะเวลา 0, 30, 45 และ 60 นาที ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วงที่ทำการบ่มเป็นเวลา 0 วัน ที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 ลักษณะผลมะม่วงที่ผ่านการถ่ายสปอร์ของเชื้อราและรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ปริมาณกรด 8% ที่ระยะเวลา 0, 30, 45 และ 60 นาที ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วงที่ทำการบ่มเป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.4 ลักษณะผลมะม่วงที่ผ่านการถ่ายสปอร์ของเชื้อราและรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ปริมาณกรด 8% ที่ระยะเวลา 0, 30, 45 และ 60 นาที ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วงที่ทำการบ่มเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากภาพที่ 4.2, 4.3, 4.4 แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ว่าสามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ โดยจะสังเกตได้จากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของมะม่วงที่ผ่านการรมไอนาน 60 นาที (T16) จะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของแผลเท่ากับ 26 มิลลิเมตร ในขณะที่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ มะม่วงที่ผ่านการรมไอนาน 30 (T8) และ 45 (T12) นาที จะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของแผลเท่ากับ 41 และ 41 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ผลมะม่วงที่ผ่านการถ่ายสปอร์แต่ไม่ได้รมไอน้ำส้ม (T4) จะมีขนาดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของแผลเท่ากับ 54 มิลลิเมตร

4.3 การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของมะม่วงที่ผ่านการรมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% แช่น้ำร้อน และมะม่วงที่ไม่ผ่านการทดลอง

ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของมะม่วงภายหลัง 1. การรมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% เป็นเวลา 40 นาที 2. มะม่วงที่ผ่านการแช่น้ำร้อน 60 องศาเซลเซียสระยะ 5 นาที 3. มะม่วงที่ไม่ผ่านการทดลอง วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 3 และ 5 วัน โดยจะทำการวัดอัตราการหายใจ สีของมะม่วง เนื้อสัมผัส %ความเป็นกรด TSS pH เพื่อตรวจสอบองค์ประกอบเคมีมะม่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลจากตรวจสอบเคมีมะม่วง (T1)มะม่วงที่ไม่ผ่านการทดลอง (T2)การแช่น้ำร้อน 60 องศาเซลเซียส (T3)การรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ปริมาณกรด 8 % วันที่ 0

Treatment	Fr.Wt (g)	Fr.Vol (mL)	Respiration		TSS	Weight of fresh sample (g)	pH	Acidity
			CO_2	O_2				
T1/6	352.24	350	0.5	20.95	9.70	158.11	2.95	3.60
T1/8	382.25	400	1.6	20.95	9.47	231.03	2.94	2.83
T1/12	411.79	400	1.0	20.95	10.97	189.28	3.22	2.53
T2/4	346.74	350	0.9	20.95	9.47	157.50	2.99	3.00
T2/7	422.05	400	0.7	20.95	12.93	180.53	3.53	1.55
T2/11	377.51	400	1.4	18.31	17.23	178.04	3.61	0.92
T3/1	372.63	400	0.5	20.95	11.20	179.36	3.26	1.93
T3/6	429.44	350	0.6	20.95	9.27	221.88	2.91	3.27
T3/9	336.75	250	1.1	20.95	9.27	172.96	2.94	2.97

Fr.Wt = Fruit Weight (g)

Fr.Vol = Volume of fruit (ml)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลจากตรวจสอบเคมีมะม่วง (T1)มะม่วงที่ไม่ผ่านการทดลอง (T2)การแช่น้ำร้อน 60 องศาเซลเซียส (T3)การรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ปริมาณกรด 8 % วันที่ 3

Treatment	Fr.Wt (g)	Fr.Vol (mL)	Respiration		TSS	Weight of fresh sample (g)	pH	Acidity
			CO_2	O_2				
T1/1	334.80	300	2.2	20.95	21.23	187.21	3.91	3.98
T1/5	409.43	290	0.5	18.86	21.37	185.63	4.12	3.18
T1/11	322.67	390	0.6	20.95	15.77	127.80	3.13	12.20
T2/1	378.54	360	2.2	20.95	24.20	164.17	4.03	3.47
T2/3	406.33	340	0.6	20.53	21.20	187.18	3.74	3.60
T2/8	355.16	350	2.2	20.95	21.37	155.23	3.88	3.87
T3/3	363.87	310	2.4	20.95	22.17	182.50	4.10	4.83
T3/8	356.34	310	2.4	20.95	20.20	176.75	3.63	4.52
T3/12	314.87	310	2.6	20.95	16.20	130.25	2.09	11.50

Fr.Wt = Fruit Weight (g)

Fr.Vol = Volume of fruit (ml)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลจากตรวจสอบเคมีมะม่วง (T1)มะม่วงที่ไม่ผ่านการทดลอง (T2)การแช่น้ำร้อน 60 องศาเซลเซียส (T3)การรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ปริมาณกรด 8 % วันที่ 5

Treatment	Fr.Wt (g)	Fr.Vol (mL)	Respiration		TSS	Weight of fresh sample (g)	pH	Acidity
			CO_2	O_2				
T1/4	345.85	360	3.1	18.22	21.27	159.24	5.64	1.07
T1/7	360.82	320	3.2	17.82	22.20	175.10	4.90	1.93
T1/10	357.84	400	3.3	17.85	20.80	167.65	5.78	1.20
T2/5	370.31	400	4.5	16.24	24.80	154.78	5.53	1.38
T2/10	369.15	390	3.9	17.39	19.43	150.58	5.21	1.40
T2/12	392.08	360	3.5	17.63	21.33	184.77	4.81	2.57
T3/7	338.93	300	3.7	17.88	18.80	164.32	4.00	2.98
T3/10	299.80	300	2.09	18.38	18.80	148.94	3.43	4.37
T3/11	308.13	310	3.6	17.88	17.50	148.52	4.19	6.57

Fr.Wt = Fruit Weight (g)

Fr.Vol = Volume of fruit (ml)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลจากตรวจสอบความแน่นของเนื้อมะม่วง (T1)มะม่วงที่ไม่ผ่านการทดลอง (T2)การแช่น้ำร้อน 60 องศาเซลเซียส (T3)การรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ปริมาณกรด 8 % ของวันที่ 0, 3, 5

Day	Treatment 1	Treatment 2	Treatment 3
0	1904.92 ± 93.87 a	1918.19 ± 87.30 a	2123.67 ± 158.16 a
3	162.50 ± 51.54 a	147.09 ± 5.39a	113.87 ± 44.65 a
5	129.25 ± 18.78 b	102.25 ± 2.80 a	99.20 ± 2.64 a

ตารางที่ 4.7 ผลจากตรวจสอบค่าสีมะม่วง (T1)มะม่วงที่ไม่ผ่านการทดลอง (T2)การแช่น้ำร้อน 60 องศาเซลเซียส (T3)การรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ปริมาณกรด 8 % ของวันที่ 0, 3, 5

Day	Treatment	L*	a*	b*
0	T1	78.91 ± 1.77 b	2.58 ± 2.00 a	29.23 ± 6.39 a
	T2	78.57 ± 2.40 b	2.76 ± 2.14 a	28.61 ± 6.43 a
	T3	75.91 ± 3.12 a	4.96 ± 3.12 b	35.17 ± 7.19 b
3	T1	70.96 ± 8.14 a	7.016 ± 2.61 a	41.94 ± 6.32 ab
	T2	70.44 ± 7.50 a	7.03 ± 3.15 a	40.82 ± 8.91 a
	T3	69.42 ± 5.08 a	7.69 ± 1.746 a	45.28 ± 5.54 b
5	T1	72.47 ± 4.58 b	8.77 ± 1.73 a	44.72 ± 5.21 a
	T2	67.65 ± 4.81 a	12.22 ± 1.74 c	48.89 ± 6.68 b
	T3	68.51 ± 4.23 a	11.16 ± 1.70 b	46.82 ± 7.85 ab

จากตารางที่ 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7 พบว่าผลมะม่วงในทุกชุดทดลองมีการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ ผลมะม่วงจะมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) เพิ่มขึ้น ดังจะเห็นได้จากในวันที่ 0 มะม่วงจะมีค่า TSS โดยประมาณ 11.08 และเพิ่มเป็น 20.41 – 20.54 สอดคล้องกับลักษณะปรากฏของผลมะม่วงที่มีสีเปลือกเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมส้ม ความแน่นเนื้อของผลมะม่วงลดลง เนื่องจากผลมะม่วงเข้าสู่กระบวนการสุก จึงมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นน้ำตาล สอดคล้องกับปริมาณกรดซิตริกที่มีค่าลดลง และค่าความเป็นกรดด่างของน้ำมะม่วง มีค่าเพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% โดยทำการเลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* และนำมาทำการทดสอบหาระยะเวลาที่เหมาะสมของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ พบว่าการรมไอจากสารระเหยสามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ โดยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% (URV 8%) ใช้เวลาในการรมไอ 15 นาที ในการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อราอย่างสมบูรณ์ และใช้ปริมาณน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ไป 1.24 กรัม

จากการทดสอบประสิทธิภาพการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% โดยทำการเลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* และนำมาทำการทดสอบหาระยะเวลาที่เหมาะสมของการรมไอ บนผลมะม่วง แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่กรด 8% ว่าสามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนมะม่วงได้ โดยจะสังเกตได้จากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของมะม่วงที่ผ่านการรมไอนาน 60 นาที จะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของแผลเท่ากับ 26 มิลลิเมตร ในขณะที่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของมะม่วงที่ผ่านการรมไอนาน 30 และ 45 นาที จะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของแผลเท่ากับ 41 และ 41 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ผลมะม่วงที่ผ่านการถ่ายสปอร์แต่ไม่ได้รมไอน้ำส้ม จะมีขนาดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของแผลเท่ากับ 54 มิลลิเมตร ดังนั้นสรุปได้ว่าการรมไอที่ระยะเวลา 60 นาที เป็นระยะเวลาที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของสปอร์ *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วง เนื่องจากมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของแผลของเชื้อรา *C. gloeosporioides* เท่ากับ 26 มิลลิเมตรซึ่งน้อยที่สุด

ผลจากการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของมะม่วงภายหลังการรมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% เป็นเวลา 40 นาที มะม่วงที่ผ่านการแช่น้ำร้อน 60 องศาเซลเซียสระยะ 5 นาที และมะม่วงที่ไม่ผ่านการทดลอง วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 3 และ 5 วัน พบว่าผลมะม่วงในทุกชุดทดลองมีการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ ผลมะม่วงจะมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) เพิ่มขึ้น ดังจะเห็นได้จากในวันที่ 0 มะม่วงจะมีค่า TSS โดยประมาณ 11.08 และเพิ่มเป็น 20.41 – 20.54 สอดคล้องกับลักษณะปรากฏของผลมะม่วงที่มีสีเปลือกเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมส้ม ความแน่นเนื้อของผลมะม่วงลดลง เนื่องจากผลมะม่วงเข้าสู่กระบวนการสุก จึงมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นน้ำตาล สอดคล้องกับปริมาณกรดซิตริกที่มีค่าลดลง และค่าความเป็นกรดด่างของน้ำมะม่วงมีค่าเพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ก่อนทำการรมไอและในระหว่างการรมไอ ควรทำความสะอาดอุปกรณ์ เครื่องมือ และ มือสัมผัสให้สะอาดอยู่เสมอ เช่น เช็ดอุปกรณ์การรมไอ ด้วยเอทานอล 70% ทำการล้างมือ ใส่ถุงมือและฉีดน้ำยาฆ่าเชื้อทุกครั้งก่อนที่จะนำมือลงไปในกล่องรมไอเพื่อทำการเปิดจานเพาะเชื้อและปิดจานเพาะเชื้อเพื่อลดการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์จากภายนอกและที่อยู่บนผิวหนัง

5.2.2 ควรบ่มเชื้อราในตู้บ่มที่มีอุณหภูมิคงที่ประมาณ 30 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเจริญที่ มีสภาพเครียด ทำให้การสร้างเส้นใย หรือการสร้างสปอร์ไม่เจริญอย่างสมบูรณ

5.2.3 ก่อนทำการรมไอมะม่วงในตู้รมไอใหญ่ต้องทำการรมไอตู้รมไอใหญ่ก่อนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนนำมะม่วงเข้าไปวางในตู้รมไอใหญ่เสมอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

ค้วน ข้าวนู. ม.ป.ป. น้ำส้มสายชู(Vinegar). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.healthcarethai.com/vinegar/. 18 มิถุนายน 2562

จรรยา จริยานุสรณ์. 2545. การพัฒนาสูตรผสมสารสกัดจากข่า ว่านน้ำ และทองพันชั่ง เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต.สาขาวิชาพืชสวน. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 11 มิถุนายน 2562

จินันทนา จอมดวง, สันติ ช่างเจรจา และทิพวรรณ มานนท์. 2006. การใช้ยีสต์ Issatchenkia orientalis ป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว. หน้า 96-103. ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 18 มิถุนายน 2562

ธารทิพย ภาสบุตร, กรรณิการ เพี้ยนภักตร และธนิตย์ ปลองบรรจง. 2548. รวบรวมและจัดจำแนกชนิดเชื้อราสกุล *Colletotrichum* สำเหตุโรคแอน แทรคโนสของไม้ผลและพืชเศรษฐกิจ. กลุ่มวิจัยโรคพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรุงเทพฯ. 11 มิถุนายน 2562

นฤมล นกพรหม, ขนิษฐา สุทินเผือก, อลิษา สุนทรวัฒน์, นิธิภัทร บุญปก และ เฉลิมชัย วงษ์อารีย์. 2015. การรมด้วยไอของกรดอะซิติกร่วมกับการอบลมร้อนต่อคุณภาพของมะขามหวานพันธุ์สีทอง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 46: 873-876 18 มิถุนายน 2562

นิรนาม. 2010. เชื้อรา (Fungi). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://microorganismcowboy2007.blogspot.com/2010/06/fungi.html. 18 มิถุนายน 2562

นิรนาม. 2018. กรดอะซิติกคืออะไรและมีประโยชน์อย่างไร. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://amprohealth.com/nutrition/acetic-acid/. 11 มิถุนายน 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิธิภัทร บุญปก, ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์, อภิรดี อุทัยรัตนกิจ, วาริช ศรีละออง และ ทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย. 2010. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 41: 377-380. 18 มิถุนายน 2562

นิธิภัทร บุญปก. 2011. ผลของการรมไอกรดอะซิติกและรังสีแกมมาตอการควบคุมโรคผลเน่าจากเชื้อรา *Aspergillus niger* และคุณภาพของลำไยพันธุดอ. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.139. 18 มิถุนายน 2562

เนตรนภิส เขียวขำ, บัณฑิต โสภณ และ สมัคร แก้วสุกแสง. 2553. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gleosporioides* จากผลไม้ 4 ชนิด ด้วยสารสกัดหยาบข่า. วารสาร วิทยาศาสตร์เกษตร 41: 437-440. 11 มิถุนายน 2562

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และ ชนินทร ดวงสอาด. 2554. การจำแนกชนิดของราสกุล *Colletotrichum* สาเหตุโรคพืช โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม. หน้า 1901. ในการรายงานผลการวิจัยประจำปี 2554 สำนักวิจัยพัฒนาอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร 18 มิถุนายน 2562

พรพนา นาคสิงห์. 2007. ผลการยับยั้งเชื้อราของส่วนสกัดเอทานอลจากเปลือกผลทับทิม ต่อเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร. คณะเกษตร กำแพงแสน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 18 มิถุนายน 2562

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. 2012. Acetobacter. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1129/acetobacter. 18 มิถุนายน 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รัตติรส เชียงสิน, กวิศร์ วานิชกุล, David Guest และ สมศิริ แสงโชติ. 2016. กระบวนการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสบนใบมะม่วง พันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง และการควบคุมโรคด้วยสารฆ่าเชื้อรา. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์. 3: 49-55. 11 มิถุนายน 2562

วราภรณ์ สุทธิสา, ภานุวัฒน์ เทพคำราม , วัชรา กาญจนรัช และ พนิดา อริมัตสี. 2014.ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของมะม่วง. แก่นเกษตร. 42(1): 665-670. 18 มิถุนายน 2562

วิลาสินีแสงนาค และ สรัญยา ณ ลำปาง. 2556. ระยะเวลาการบ่มเชื้อแอกติโนไมซีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. 31:152-166. 18 มิถุนายน 2562

สุจินต์ จันทรสอาด. 2019. โรคแอนแทรคโนสในเขตร้อน. [Online]. เข้าถึงได้จาก: http://www.dynamicseeds.com/ดูบทความ-35634-โรคแอนแทรคโนสในเขตร้อน.html 18 มิถุนายน 2562

สิริวรรณ สมิทธิอาภรณ์ และ ศานิต สวัสดิกาญจน์. 2010. ผลของสารสกัดมะรุมและฟ้าทะลายโจรต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรกโนสพริก. สาขาวิทยาศาสตร์เกษตร. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา. 18 มิถุนายน 2562

ศิริรัตน์ ตรีกาญจนวัฒนา, อุดม ฟ้ารุ่งสาง, ชลิดา เล็กสมบูรณ์, จริงแท้ ศิริพานิช และ นวลวรรณ ฟ้ารุ่งสาง. 2549. การคัดเลือกและศักยภาพของจุลินทรีย์ผิวพืชในการต่อต้านการเข้าทำลายโดยรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว. หน้า 422-429. ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 18 มิถุนายน 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อารีย์. 2017. การรมด้วยไอของกรดอะซิติกร่วมกับการอบลมร้อน. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 48:873-876. 18 มิถุนายน 2562

อังสุมา ชยสมบัติ. 2533. โรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. และการควบคุม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. เกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 18 มิถุนายน 2562

Alia, N. 2012. classification of fungi. [Online]. Accessed at: https://www.slideshare.net/AliaNajiha1/chap-1-classification-of-fungi. Accessed on 18 June 2019

Allkaset. (Anthracnose). [Online]. Accessed at: http://www.allkaset.com/diseases/โรคแอนแทรคโนส.php. Accessed on 18 June 2019

Ainsworth, G. C., Austwick, P. K. C. 1973. Fungal diseases of animals. Fungal diseases of animals. Accessed on 18 June 2019

Al-Amiery, A. A., Kadhum, A. A. H., and Mohamad, A. B. 2012. Antifungal activities of new coumarins. Molecules. 17: 5713-5723. Accessed on 18 June 2019

Andra , P., 2013. A little leaf symptom on mango from Karimnagar district. [Online]. Accessed at: http://www.pestnet.org/SummariesofMessages/NonPests/Nutritionalproblems/Mango,littleleaf,AndraPradesh,India.aspx Accessed on 18 June 2019

Batty. 2013. เมทริลโบรไมด์ สารรมยาเพื่อปกป้องสินค้าทางการเกษตร. [Online]. Accessed at: http://oknation.nationtv.tv/blog/DIVING/2013/07/11/entry-1. Accessed on 18 June 2019

Bailey, J.A., and Jeger M.J. 1992. *Colletotrichum*: biology, pathology and control. England: CAB Internacional Wallingford. Accessed on 11 June 2019

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bai, J., Baldwin, E. A., Fortuny, R. C. S., Mattheis, J. P., Stanley, R., Perera, C., and Brecht, J. K. 2004. Effect of Pretreatment of IntactGala'Apple with ethanol vapor, heat, or 1-methylcyclopropene on quality and shelf life of fresh-cut slices. Accessed on 18 June 2019

Bai J., Plotto A., Spotts R., and Rattanapanone N. 2011. Ethanol vapor and saprophytic yeast treatments reduce decay and maintain quality of intact and fresh-cut sweet cherries. Postharvest biology and technology, 62.2: 204-212. Accessed on 18 June 2019

Chung, W. H., Chung, W. C., Peng, M. T., Yang, H. R. and Huang, J. W. 2010. Specific detection of benzimidazole resistance in *Colletotrichum gloeosporio*ides from fruit crops by PCR-RFLP. New Biotechnology, 27, 17:24. Accessed on 18 June 2019

Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12: 564-582. Accessed on 18 June 2019

Chang, J. M., and Fang, T. J. 2007. Survival of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E. coli* O157: H7. Food Microbiology, 24:745-751 Accessed on 18 June 2019

Davidson, P. M., and Juneja, V. K. 1990. Antimicrobial agents. Food additives., 83:137. Accessed on 18 June 2019

Dalie, D. K. D.; A. M. Deschamps and F. R. Forget. 2012. Lactic acid bacteria – potential for control of mold growth and mycotoxins: A review, Food Control, Vol. 21. 370-380. Accessed on 11 June 2019

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

De Silva, A.S.M., Pôrto, K.C. and Simabukuro, E.A. 2010.

Effects of Light and Nutrients on Different Germinati on phases of the Cosmopolitan Moss Bryum argenteum Hedw.(Bryaceae). Brazilian Archives of Biology and Tecnology. 763-769. Accessed on 11 June 2019

Freeman, S., Katan, T., and Shabi, E. 1998. Characterization *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. Plant Dis. 82: 596-605. Accessed on 18 June 2019

Fredlund, E., Druvefors, U. Ä., Olstorpe, M. N., Passoth, V., and Schnürer, J. 2004. Influence of ethyl acetate production and ploidy on the anti-mould activity of Pichia anomala. FEMS microbiology letters, 238: 133-137. Accessed on 18 June 2019

Feng, W., and Zheng, X. 2007. Essential oils to control *Alternaria alternata* in vitro and in vivo. Food control. 18: 1126-1130. Accessed on 18 June 2019

Hassan, R., El-Kadi, S., and Sand, M. 2015. Effect of some organic acids on some fungal growth and their toxins production. Int J Adv Biol, 2: 1-11. Accessed on 18 June 2019

Hyde, K. D., Cai, L., Cannon, P. F., Crouch, J. A., Crous, P. W., Damm, U., and Zhang, J. Z. 2009. *Colletotrichum*-Names in current use. Fungal Diversity, 39: 147–182. Accessed on 18 June 2019

Higgins, C., and Brinkhaus, F. 1999. Efficacy of several organic acids against molds. Journal of applied poultry research, 8: 480-487. Accessed on 11 June 2019

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Jackson , G., 1997. Mango anthracnose [Online]. Accessed at: http://www.pestnet.org/fact_sheets/mango_anthracnose_009.htm Accessed on 18 June 2019

Junior, M.M.S., Silva, L.O.B., Leao, D.J., and Ferreira, S.L.C. 2014. Analytical strategies for determination of cadmium in Brazilian vinegar samples using ET AAS. Food Chemistry, 160: 209-213. Journal of the American society for Horticultural science, 129: 583-593. Accessed on 11 June 2019

Kohler , F., 1997. Mango anthracnose [Online]. Accessed at: http://www.pestnet.org/fact_sheets/mango_anthracnose_009.htm Accessed on 18 June 2019

Krusong, W., Jindaprasert, A., Laosinwattana, C., and Teerarak, M. 2015. Baby corn fermented vinegar and its vapour control postharvest decay in strawberries. New Zealand journal of crop and horticultural science, 43: 193-203. Accessed on 11 June 2019

Krusong, W., Teerarak, M., and Laosinwattana, C. 2015. Liquid and vapor-phase vinegar reduces *Klebsiella pneumoniae* on fresh coriander. Food Control, 50: 502-508. Accessed on 18 June 2019

Kilonzo-Nthenge, A., Chen, F. C., and Godwin, S. L. 2006. Efficacy of home washing methods in controlling surface microbial contamination on fresh produce. Journal of food protection, 69: 330-334. Accessed on 18 June 2019

Lackeene, Z. S. 1999. Delaying tomato fruit ripening using ethanol vapor though a dynamic AIR-flow system. Accessed on 18 June 2019

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

LaMotte, S., 2017. Apple cider vinegar: What the experts say. [Online]. Accessed at: https://edition.cnn.com/2017/04/18/health/apple-cider-vinegar-uses/index.html. Accessed on 18 June 2019

McKenzie, E. 2014. *Colletotrichum gloeosporioides*. [Online]. Accessed at: http://www.padil.gov.au/maf-border/pest/main/143016/51031. Accessed on 18 June 2019

Morsy, A. A., Abd-El-Kareem, F., and Abd-Alla, M. A. 2000. Effect of acetic acid fumigation on common storage fungi of some grains. Egypt. J. Phytopathol, 28: 95-106. Accessed on 18 June 2019

Mitchell, A. M., Strobel, G. A., Moore, E., Robison, R., and Sears, J. 2010. Volatile antimicrobials from *Muscodor crispans*, a novel endophytic fungus. Microbiology, 156: 270-277. Accessed on 11 June 2019

Morath, S. U., Hung, R., and Bennett, J. W. 2012. Fungal volatile organic compounds: a review with emphasis on their biotechnological potential. Fungal Biology Reviews, 26: 73-83. Accessed on 11 June 2019

Madrera, R. R., Lobo, A. P., and Alonso, J. J. M. 2010. Effect of cider maturation on the chemical and sensory characteristics of fresh cider spirits. Food research international, 43: 70-78. Accessed on 18 June 2019

Penzig AGO. 1882. Fungi agrumicoli. Contribuzione allo studio dei funghi parassiti degli agrumi. Michelia 2: 385–508. Accessed on 18 June 2019

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pornpukdeewattana, S., Kerdpiboon, S., Jindaprasert, A., Pandee, P., Teerarak, M., & Krusong, W. (2017). Upland rice vinegar vapor inhibits spore germination, hyphal growth and aflatoxin formation in *Aspergillus flavus* on maize grains. Food Control, 71, 88–93. Accessed on 18 June 2019

Sari , H., 2018. Is Vinegar Good for You? The truth about whether it helps you detox. [Online]. Accessed at: https://www.consumerreports.org/healthy-eating/is-vinegar-good-for-you/ Accessed on 11 June 2019

Sholberg, P. L., & Gaunce, A. P. (1996). Fumigation of high moisture seed with acetic acid to control storage mold. Canadian Journal of Plant Science, 76, 551-555. Accessed on 11 June 2019

Sholberg, P. L., Haag, P., Hocking, R., & Bedford, K. (2000). The use of vinegar vapor to reduce post harvest decay of harvested fruit. Journal of Horticultural Science, 35, 898-903. Accessed on 18 June 2019

Sholberg, P. L. (2009). Control of postharvest decay by fumigation with acetic acid or plant volatile compounds. Fresh Produce, 3(Special issue 1), 80-86. Accessed on 18 June 2019

Stinson, M., Ezra, D., Hess, W. M., Sears, J., and Strobel, G. 2003. An endophytic *Gliocladium* sp. of *Eucryphia cordifolia* producing selective volatile antimicrobial compounds. Plant Science, 165: 913-922. Accessed on 18 June 2019

Sutton, B. C. 1980. Fungi imperfecti with pycnidia, aervuli and stromata. Kew: Commonwealth Mycological Institute. Accessed on 11 June 2019

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tzortzakis, N. G., and Economakis, C. D. 2007. Maintaining postharvest quality of the tomato fruit by employing methyl jasmonate and ethanol vapor treatment. Journal of Food Quality, 30: 567-580. Accessed on 18 June 2019

Ward, S., 2016. Fungi. [Online]. Accessed at: http://slideplayer.com/slide/9361210. Accessed on 11 June 2019

Wai, H.C., Lazim, M.A., Fazry, S., Zaki, K.H.H.U.,and Lim, J.S., 2016. Varieties production composition and health benefits of vinegars: A review, Food Chemistry. Accessed on 18 June 2019

Wikee, S., Cai, L., Pairin, N., McKenzie, E. H. C., Su, Y. Y., Chukeatirote, E., Thi, H. N., Bahkali, A. H., Moslem, M. A., Abdelsalam, K., and Hyde, K.D. 2011. *Colletotrichum* spp. from Jasmine (*Jasminum sambac*). Fungal Diversity, 46: 171–182. Accessed on 18 June 2019

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

ก.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก.1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

Potato dextrose agar (PDA) 39 กรัม

น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

ก.1.2 สารเคมี

Tartaric Acid 10 กรัม

น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

ก.1.3 อุปกรณ์

1. บีกเกอร์
2. ช้อนตักสาร
3. กระบอกตวง
4. ขวดแก้ว
5. ปิเปต
6. Autoclave 55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.1.4 วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อPotato dextrose agar (PDA)

นำอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ชั่งน้ำหนัก ปริมาตร 39 กรัม ใส่ลงใน บีกเกอร์ และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร คนให้ละลายทั่วกัน จากนั้นนำไปวางบนเตาแก๊สให้ความร้อนจนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ละลายน้ำกลั่นจนใส จากนั้นทำการเทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลงใน กระบอกตวง วัดปริมาตร 150 มิลลิลิตร และทาการเทลงในขวดแก้วที่เตรียม พร้อมทำการเข้าเครื่อง Autoclave เพื่อทำการฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์เวลา 15 นาที

ก.1.5 วิธีการเตรียมสารละลายTartaric Acid

นำ Tartaric Acid ชั่งน้ำหนัก ปริมาตร 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ และเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร คนให้ละลายทั่วกัน จากนั้นนำไปใส่ขวดแก้ว พร้อมทำการเข้าเครื่อง Autoclave เพื่อทำการฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เวลา 15 นาที

ก.1.6 วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (พร้อมใช้งาน)

1. เติมกรดทาร์ทาริก 1 มิลลิลิตร ลงในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ที่หลอมเหลวและปล่อยให้อุณหภูมิลดลง 45 องศาเซลเซียส

2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อทุกเพลตทันที พร้อมเอียงเพลตไปมาให้อาหาร เลี้ยงเชื้อสม่ำเสมอและเท่ากัน

3. ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อเย็นและแข็งตัว พร้อมใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นาย นรภัทร ชื่นรุ่ง
วัน เดือน ปี	3 กันยายน 2539
ประวัติการศึกษา	ระดับประถมศึกษา - โรงเรียนดาราคาม
	ระดับมัธยมศึกษา - โรงเรียนปทุมคงคา
	ระดับปริญญาตรี - สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์ทำงาน	ฝึกงานที่ บริษัท เอก-ชัย ดีสทริบิวชั่น ซิสเทม จำกัด
ผลงานวิจัย	ผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลละม่วง

ชื่อ-นามสกุล	นาย ปฏิภาณ นามจันทร์
วัน เดือน ปี	3 กรกฎาคม 2539
ประวัติการศึกษา	ระดับประถมศึกษา - โรงเรียนอัสสัมชัญระยอง
	ระดับมัธยมศึกษา - โรงเรียนอัสสัมชัญระยอง
	ระดับปริญญาตรี - สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์ทำงาน	ฝึกงานที่ บริษัท สยามแม็คโคร จำกัด (มหาชน)
ผลงานวิจัย	ผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลละม่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้