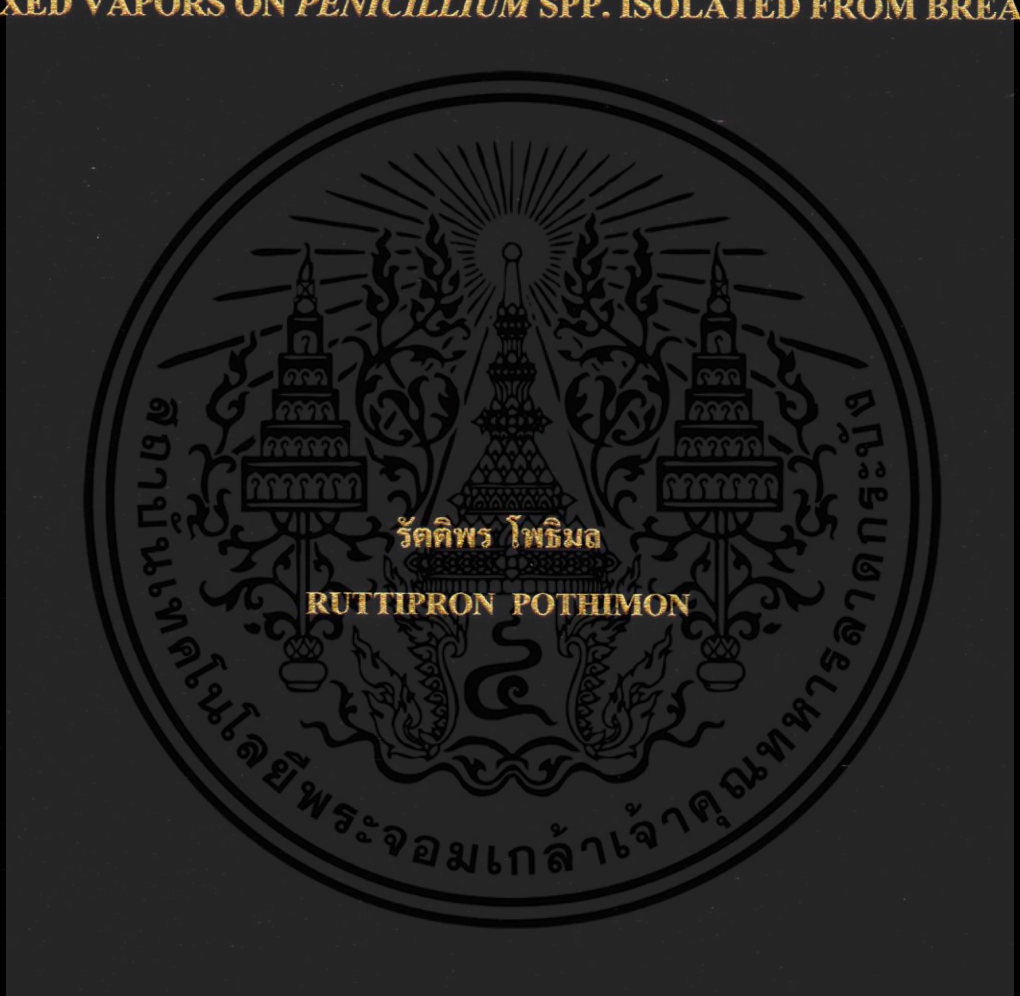
ผลของไอเอทานอล ไอน้ำส้มสายชู และไอผสมต่อเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่แยกจากขนมปัง

EFFECT OF VAPOR PHASE-ETHANOL, VINEGAR, AND THEIR MIXED VAPORS ON *PENICILLIUM* SPP. ISOLATED FROM BREAD



รัตติพร โพธิมล

RUTTIPRON POTHIMON

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการจัดการความปลอดภัยอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

KMITL-2016-AT-M-054-257

ผลของไอเอทานอล ไอน้ำส้มสายชู และไอผสมต่อเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่แยกจากขนมปัง

EFFECT OF VAPOR PHASE-ETHANOL, VINEGAR, AND THEIR MIXED VAPORS ON *PENICILLIUM* SPP. ISOLATED FROM BREAD

รัตติพร โพธิมล

RUTTIPRON POTHIMON

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการจัดการความปลอดภัยอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

KMITL-2016-AT-M-054-257

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECT OF VAPOR PHASE-ETHANOL, VINEGAR, AND THEIR MIXED VAPORS ON *PENICILLIUM* SPP. ISOLATED FROM BREAD

RUTTIPRON POTHIMON

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN FOOD SAFETY MANAGEMENT

FACULTYS OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2016

KMITL-2016-AT-M-054-257

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2016

FACULTYS OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของไอเอทานอล ไอน้ำส้มสายชู และไอผสมต่อเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่แยกจากขนมปัง

EFFECT OF VAPOR PHASE-ETHANOL, VINEGAR, AND THEIR MIXED VAPORS ON *Penicillium* spp. ISOLATED FROM BREAD

ชื่อนักศึกษา นางสาวรัตติพร โพธิมล

รหัสประจำตัว 56608025

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา การจัดการความปลอดภัยอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง	
ผศ.ดร.สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา	
ดร.วิรามศรี ศรีพจนารถ	
รศ.ดร.สุเมธ ตันตระเธียร	

วัน / เดือน/ ปีที่สอบ 25 กรกฎาคม 2559 เวลา 09.30 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ ห้อง A 303 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 29 เดือน ก.ค. พ.ศ. 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของไอเอทานอล ไอน้ำส้มสายชู และไอผสมต่อเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่แยกจากขนมปัง Effect of Vapor Phase- Ethanol, Vinegar, and Their Mixed Vapors on *Penicillium* spp. Isolated from Bread
ชื่อนักศึกษา	นางสาว รัตติพร โพธิมล
รหัสประจำตัว	56608025
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	การจัดการความปลอดภัยอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย เพื่อศึกษาผลของไอเอทานอล ไอน้ำส้มสายชู และไอผสมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปัง ซึ่งราชนิดนี้เป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์ขนมปัง การศึกษาวิธีการรมไอเอทานอลความเข้มข้น 95% ไอน้ำส้มสายชูความเข้มข้นกรดอะซิติก 10% และไอผสมของสารร่วมทั้งสองชนิด ที่อุณหภูมิ 30±1°C ในจานเพาะเชื้อภายในกล่องรมไอ (ขนาด 0.25x0.30x0.25 เมตร) สำหรับการรมไอของสารร่วมนั้นถูกแบ่งออกเป็น 3 วิธี คือ (1) การรมไอผสมพร้อมกัน (2) การรมไอเอทานอลตามด้วยไอน้ำส้มสายชู และ (3) การรมไอน้ำส้มสายชูตามด้วยไอเอทานอล จากการศึกษาพบว่า ยิ่งสัมผัสไอของสารมากเท่าใดประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราจะเพิ่มสูงขึ้น โดยใช้ไอเอทานอลความเข้นข้น 95% และไอน้ำส้มสายชู เป็นเวลา 20 นาที (ปริมาณเอทานอล 3.60 ± 0.56 มิลลิโมล/ลิตร) และ80 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 2.32 ± 0.1 มิลลิโมล/ลิตร) ตามลำดับ ให้ผลการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้อย่างสมบูรณ์ ในการรมไอผสมของสารร่วมแบบตามลำดับ พบว่า สารทั้ง 2 มีอิทธิพลร่วมต่อการอยู่รอดของเชื้อรา *Penicillium* spp. โดยการรมไอเอทานอล 10 นาที ร่วมกับการรมไอน้ำส้มสายชู 40 นาที ให้ผลการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้อย่างสมบูรณ์ และลำดับก่อนหลังไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) และเมื่อศึกษาเปรียบเทียบระยะเวลาและลักษณะทางกายภาพโดยวิธีไม่ปรับและปรับความชื้นสัมพัทธ์ในขนมปังที่มีการถ่ายเชื้อรา *Penicillium* spp. ปริมาณระดับทั่วไป (3 log CFU/g) และในระดับปริมาณสูง (5 log CFU/g) พบว่า การรมไอในผักทั่วไปจะให้ผลการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ดีกว่าในขนมปังที่ถ่ายเชื้อในระดับสูง โดยที่ความชื้นสัมพัทธ์ไม่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลต่อลักษณะทางกายภาพและการเปลี่ยนแปลงค่า a_w และกายภาพของขนมปัง และยังพบว่าการรมไอขนมปังด้วยวิธีปรับความชื้นสัมพัทธ์ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Penicillium* spp. ต่ำลง เมื่อเปรียบเทียบกับการรมไอเอทานอลแบบไม่ปรับความชื้นและมีอายุการเก็บรักษาของวิธีการรมไอแบบปรับและไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์เป็น 7 และ 15 วัน ตามลำดับ การศึกษาคุณลักษณะของขนมปังทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดสอบ ระดับความชอบ วิธี five points hedonic scale ของขนมปังเมื่อผ่านการรมไอเอทานอล พบว่า ขนมปังที่ผ่านการรมไอมีกลิ่นของเอทานอล ตกค้างเล็กน้อย ส่วนรสชาติและความชอบโดยรวมไม่มีความแตกต่างกันกับขนมปังที่ไม่ได้รมไอเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Effect of Vapor Phase- Ethanol, Vinegar, and Their Mixed Vapors on *Penicillium* spp. Isolated from Bread
Student	Ms. Ruttipron Pothimon
Student ID.	56608025
Degree	Master of Science
Program	Food Safety Management
Year	2015
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Warawut Krusong

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the *in vitro* inhibitory impact of vapor phase-ethanol (VE) and vinegar (VV) on conidial inhibition of *Penicillium* spp. causing a problem of food spoilage on bread. *Penicillium* spp. was isolated and identified from spoilage bread. Treatment of each vapor and subsequent combined vapors on conidial suspension of *Penicillium* spp. plated on Potato Dextrose Agar and placed on vapor exposure box (0.25x0.30x0.25 m) were conducted at 30±1°C. To generate the evaporated vapor phase, the ambient cleaned air was pumped to liquid ethanol (95% v/v; 500 ml) or liquid upland rice vinegar (10% acetic acid content; AAC; 500 ml) in a 1,000 ml closed bottle and, then, the delivery of VE or VV from the headspace of the bottle was pump to the box. Results showed that vaporization period affected directly in conidial inhibition of the mold. Complete conidial inhibition of *Penicillium* spp. after treatment with VE at 20 min exposure period (3.60 ± 0.56 $mmolL^{-1}$ ethanol content) or with VV at 80 min (2.32 $mmolL^{-1}$ AAC) were observed. Additionally, in combined treatment of both vapors, complete conidial inhibition was obtained after treatment with VE at 10 min (1.59 $mmolL^{-1}$ ethanol content) and subsequently followed by VV at 40 min (1.05 $mmolL^{-1}$ AAC). No singnificant effect ($p>0.05$) between sequence of VE and VV in process was noticed. The effect of vaporizing process with both substance was further applied on inoculated *Penicillium* spp. on bread. Two levels of *Penicillium* spp. consisting of normol at 3 log CFU/g and high at 5 log CFU/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

were taken. Additionally, the study was comparison of vaporizing time and appearance of bread after treatment was conducted between two conditions, the increase and non-increase of relative humidity (RH) during treatments. Results indicated that the increase of RH caused no effect of the appearance, physical and chemical changes of bread. Vaporization of ethanol with no increment of RH provided a better inhibition than vaporization with high RH. Shelf life of bread was 7 and 15 days for both conditions, with the increment and no increment of RH, respectively. Under sensory testing by five points hedonic scale, vapor-ethanol treated bread was acceptable with slight smell ethanol remained.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยการให้ความช่วยเหลือแนะนำของ รองศาสตราจารย์ ดร.วราวุฒิ ครูส่ง ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำปรึกษา ช่วยแก้ปัญหา ให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์สำหรับการศึกษานี้ ตลอดจนตรวจสอบ และแก้ไขร่างวิทยานิพนธ์มาโดยตลอด ผู้วิจัยจึงขอ กราบขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา และดร.วิรามศรี ศรีพจนารถ ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการในการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ และสอบวิทยานิพนธ์ซึ่งได้ให้คำแนะนำข้อเสนอแนะ รวมทั้งรองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิในการสอบวิทยานิพนธ์ และช่วยตรวจทาน ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกท่านที่อำนวยความสะดวก ช่วยประสานงานในการทำวิทยานิพนธ์ให้ผู้วิจัยตลอดมา รวมถึงนายมหัทธน ทวีฤกษ์ขวัญ และนางสาวภคฐมน ปาลกะวงศ์ ณ อยุธยา ที่ให้ความช่วยเหลือในการปฏิบัติงานคำแนะนำต่างๆ และช่วยค้นคว้าหาข้อมูลในการจัดทำวิทยานิพนธ์ของผู้เขียนครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ ผู้เขียนขอขอบคุณบิดามารดา น้าชาย น้องสาว ครอบครัวของผู้วิจัย และเพื่อนๆที่ห่วงใยเป็นกำลังใจ ช่วยเหลือสนับสนุนการศึกษาแก่ผู้วิจัยเสมอมา ตลอดจนผู้เขียนหนังสือ งานวิจัยต่างๆ ที่ให้ความรู้แก่ผู้วิจัยจนสามารถทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้

รัตติพร โพธิมล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย……..…..I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ……..…..……III

กิตติกรรมประกาศ……..……..V

สารบัญ……..…..…....VI

สารบัญตาราง……...VIII

สารบัญภาพ…….……X

บทที่ 1 บทนำ…….…..1

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย……..…….....1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย…….....2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย…….……....2

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ…….……..……...3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง……....4

2.1 ขนมปัง…….....4

2.2 เชื้อรา *Penicillium* spp…….....6

2.3 น้ำส้มสายชู……..…….....9

2.4 เอทานอล……..……..10

2.5 การรมไอ……...……..……...……11

บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ……..……15

3.1 วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย…….…....15

3.2 อุปกรณ์การทดลอง……..……...…….....15

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ……...……..…….....15

3.4 สารเคมี……..……...……16

3.5 จุลินทรีย์……...……..……16

3.6 วิธีการทดลอง…….…….....16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์……..……...…..…..21

4.1 การศึกษาและเปรียบเทียบผลและระยะเวลาของไอเอทานอล ไอน้ำส้มสายชู และไอผสม ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในระดับห้องปฏิบัติการ…….....…..21

4.2 ผลของความชื้นในระหว่างการรมไอต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปัง……..……..……..…….…….....33

4.3 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และทางเคมีของขนมปังที่ผ่านการรมไอเอทานอล โดยวิธีการปรับ และไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ภายหลังการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิห้อง……40

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ……..……..……...43

5.1 สรุปผลการทดลอง…...……..……..……....43

5.2 ข้อเสนอแนะ……...……..…….....44

เอกสารอ้างอิง……...45

ภาคผนวก…….....48

ก. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย……...……...51

ข. การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสาร……...…….....53

ค. ภาพการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp……..54

ง. เอกสารแบบประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัส……....58

ประวัติผู้วิจัย……..59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ชนิดของเชื้อราในขนมปัง…….....5

4.1 ผลของระยะเวลาการรมไอเอทานอลต่อการรอดชีวิตของสปอร์เชื้อรา *Penicillium* spp. ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)…….....21

4.2 ผลของระยะเวลาในการรมไอเอทานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C) และบ่มระยะเวลา 3 วัน……...22

4.3 ผลของระยะเวลาการรมไอน้ำส้มสายชูต่อการรอดชีวิตของสปอร์เชื้อรา *Penicillium* spp. ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)……...….24

4.4 ผลของระยะเวลาในการรมไอน้ำส้มสายชูต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C) และบ่มระยะเวลา 3 วัน ในระยะเวลาต่างๆ ณ อุณหภูมิห้อง (30±1°C) และบ่มระยะวัน……..……..…..25

4.5 ผลของระยะเวลาในการรมไอผสมของไอเอทานอลและตามด้วยไอน้ำส้มสายชูต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)…….……...27

4.6 ผลของระยะเวลาในการรมไอผสมของไอน้ำส้มสายชูและตามด้วยไอเอทานอลต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)…….……..……28

4.7 ผลของระยะเวลาในการรมไอผสมของไอเอทานอลและตามด้วยไอน้ำส้มสายชูต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)……..30

4.8 ผลของระยะเวลาในการรมไอผสมของไอน้ำส้มสายชูและตามด้วยไอเอทานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)……..31

4.9 ผลของระยะเวลาในการรมไอเอทานอลเป็นระยะเวลา 20 นาที ต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปังที่มีความเข้มข้นของเชื้อในปริมาณต่ำ (ความเข้มข้น 10^3 CFU/g) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)……...…33

4.10 ผลของระยะเวลาในการรมไอเอทานอลเป็นระยะเวลา 20 นาที ต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปังที่มีความเข้มข้นของเชื้อในปริมาณสูง (ความเข้มข้น 10^5 CFU/g) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)…….……33

4.11 ผลของระยะเวลาในการรมไอเอทานอลและไอน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 20 นาที ต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปังที่มีความเข้มข้นของเชื้อในปริมาณต่ำ (ความเข้มข้น 10^3 CFU/g) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)……...….35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.12 ผลของระยะเวลาในการรมไอเอทานอลและไอน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 20 นาที ต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปังที่มีความเข้มข้นของเชื้อในปริมาณสูง (ความเข้มข้น 10^5 CFU/g) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)……..…35

4.13 ผลของระยะเวลาในการรมไอเอทานอลและไอน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 35 นาที ต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปังที่มีความเข้มข้นของเชื้อในปริมาณต่ำ (ความเข้มข้น 10^3 CFU/g) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)……..…37

4.14 ผลของระยะเวลาในการรมไอเอทานอลและไอน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 35 นาที ต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปังที่มีความเข้มข้นของเชื้อในปริมาณสูง (ความเข้มข้น 10^5 CFU/g) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)……..…37

4.15 ผลของการรมไอเอทานอลต่อการยอมรับของผู้บริโภคเมื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดสอบ ระดับความชอบ วิธี Five Points Hedonic Scale……..……40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

4.1 ปริมาณสารเอทานอลที่เข้าไปในระบบแบบมีไอน้ำและไม่มีไอน้ำ..……..…36
4.2 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของขนมปังที่ผ่านการรมไอโดยวิธีการปรับและ
ไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ภายหลังการเก็บรักษาโดยการวัดค่า Aw……...…...39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

ในปัจจุบันผู้คนส่วนใหญ่ใช้ชีวิตด้วยความเร่งรีบเพื่อแข่งขันกับเวลา ขนมปังจึงเข้ามามีบทบาทสำคัญเป็นอย่างมากในการดำรงชีวิต เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่หาซื้อได้ง่าย สะดวกในการรับประทาน และมีความหลากหลายต่อความต้องการของผู้บริโภค แต่ขนมปังเป็นผลิตภัณฑ์กึ่งเน่าเสียง่าย (Pateras, 2007) โดยส่วนใหญ่พบการเสื่อมเสียจากเชื้อรา ซึ่งปกติเชื้อราที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบจะถูกทำลายในขั้นตอนการอบให้สุก ดังนั้นขนมปังที่ขึ้นเชื้อราจึงเกิดจากการปนเปื้อนหลังกระบวนการทำให้สุก (Ponte และ Tsen, 1978) เช่น การปนเปื้อนของสปอร์เชื้อราในอากาศรอบๆ ระหว่างการพักเย็น การสไลด์แผ่น การบรรจุ และการเก็บรักษา โดยเชื้อราในขนมปังที่พบมากที่สุด คือ *Penicillium* spp. รองลงมาคือ *Aspergillus* spp. ซึ่งพบมากในประเทศเขตร้อน (Legan, 1993) เชื้อรา *Penicillium* spp. เป็นเชื้อราที่มีสีเขียวและสีฟ้า มักพบในขนมปัง ผัก ผลไม้ ข้าวสาลี ธัญพืช และอาหารสัตว์ ซึ่งเป็นเชื้อราที่ทำให้ผักและผลไม้เกิดการเสื่อมเสียและยังสร้างสารพิษ ochratoxin A, critinin, patulin, mycophenolic และ penicillic acid ซึ่งส่งผลกระทบต่อไตและระบบหายใจและยังเส่งผลต่ออุตสาหกรรมอาหารสัตว์ (Braunberg และคณะ, 1994; Oh และคณะ, 2012; Schmidt และคณะ, 2012)

การยับยั้งเชื้อราในขนมปังทำได้โดยการเติมสารกันเสียจำพวกกรดซอบิกและกรดโพรพิโอนิกลงไปในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อรา แต่การบริโภคสารเหล่านี้ติดต่อกันเป็นเวลานานอาจจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตและอาจส่งผลให้เกิดพฤติกรรมสมาธิสั้นในเด็ก (สุรินทร์, 2557) ในประเทศไทยอนุญาตให้ใช้แคลเซียมโปรปิโอเนตได้ไม่เกิน 0.2 % ซึ่งมีการสำรวจปริมาณแคลเซียมโปรปิโอเนตในขนมปัง โดยเก็บตัวอย่างขนมปังจากแหล่งขายที่เป็นร้านค้าท้องถิ่นในปริมณฑลรอบกรุงเทพมหานคร ทั้งหมด 3 แหล่ง จำนวนรวมทั้งสิ้น 23 ตัวอย่าง พบว่ามี 20 ตัวอย่าง (คิดเป็น 87 %) ที่ตรวจพบปริมาณแคลเซียมโปรปิโอเนตสูงเกิน 0.2 % ซึ่งส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค ดังนั้นในการศึกษานี้จึงเน้นการศึกษาการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. เพื่อลดการปนเปื้อนและยับยั้งการเจริญของสปอร์ไม่ให้สร้างสารพิษที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค โดยการนำสารที่ปลอดภัยมาประยุกต์ใช้ในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปัง

น้ำส้มสายชูและเอทานอลต่างเป็นสารที่ปลอดภัยสามารถใช้ในอาหารและยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่สำคัญได้ ปัจจุบันมีการศึกษาทดลองและนำมาประยุกต์ใช้เกี่ยวกับการรมไอในอุตสาหกรรมผักและผลไม้ซึ่งเป็นที่สนใจมากขึ้น และส่วนมากมุ่งเน้นที่การกำจัดเชื้อราและแบคทีเรียที่ทำให้ผักและผลไม้เกิดการเสื่อมเสียและใช้ยืดอายุผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวเป็นหลัก โดยยัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่มีผู้ใดศึกษาเกี่ยวกับการรมไอเพื่อยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่เจริญบนขนมปังมาก่อน ประกอบกับการรมไอสามารถทำได้หลังกระบวนการอบให้สุก ซึ่งจะช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่ปนเปื้อนหลังกระบวนการอบให้สุกได้ และคาดหวังว่าการนำสารทั้งสองชนิดมารมขนมปังเพื่อยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. จะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการยับยั้งเชื้อ *Penicillium* spp. ในระดับอุตสาหกรรมต่อไปได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาและเปรียบเทียบผลของไอเอทานอล ไอน้ำส้มสายชูและไอผสมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium spp.* ในระดับห้องปฏิบัติการ

1.2.2 ศึกษาและเปรียบเทียบระยะเวลาการรมไอเอทานอล ไอน้ำส้มสายชูและไอผสมต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium spp.* จากขนมปัง

1.2.3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของขนมปังที่ผ่านการรมไอทั้งแบบปรับความชื้นและไม่ได้ปรับความชื้น

1.2.4 ศึกษาอายุการเก็บรักษาขนมปังที่ผ่านการรมไอที่เหมาะสม

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้เริ่มจากการศึกษาเชื้อราที่เจริญบนขนมปังตามท้องตลาดทั่วไป เพื่อให้ทราบชนิดของเชื้อราที่เจริญบนขนมปัง โดยซื้อขนมปังมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทิ้งไว้จนเชื้อราเจริญบนผิวหน้าของขนมปังและแยกเชื้อราดังกล่าวซึ่งพบว่าเป็น *Penicillium* spp. จานนั้นจึงทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์เพื่อนำมาใช้ตลอดงานวิจัย ในการทดลองนี้ใช้เอทานอลความเข้มข้น 95 % และน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 10 % เป็นสารตั้งต้นในการทดสอบ ในการศึกษาประสิทธิภาพในสภาวะการรมไอในจานเพาะเชื้อ โดยการศึกษาในสภาวะไอนั้น อาศัยปั๊ม (pump) อากาศเป่าลงในสารละลายที่ศึกษาจากนั้นจึงปั๊มไอเนื้อสารละลายเข้าไปในกล่องรมไอขนาด (0.25x0.30x0.25 ม.) ที่ อุณหภูมิ (30±1°C) จนอิ่มตัว วางจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อรา *Penicillium* spp. บนตะแกรงเหล็กที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วภายในกล่อง ในการรมไอนี้แบ่งเป็นการรมไอของสารเดี่ยว ได้แก่ ไอเอทานอลและไอน้ำส้มสายชู และการรมไอของสารร่วม โดยการรมไอของสารร่วมนั้นแบ่งออกเป็น 3 วิธี ได้แก่ (1) ไอเอทานอลพร้อมกับไอน้ำส้มสายชู (2) ไอเอทานอลตามด้วยไอน้ำส้มสายชู และ (3) ไอน้ำส้มสายชูและตามด้วยไอเอทานอล โดยเปรียบเทียบผลการยับยั้งเชื้อของแต่ละวิธีเพื่อพิจารณาความเหมาะสมต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในการรมไอขนมปัง สำหรับการศึกษาผลของการยับยั้งเชื้อราในขนมปังตามระยะเวลาและวิธีที่เหมาะสม โดยทำการเปรียบเทียบผลการยับยั้งระหว่างการรมไอที่ไม่ได้ปรับความชื้นกับการรมไอที่มีการปรับความชื้น และประเมินคุณภาพทางประสาท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัมผัส (การเน่าเสีย กลิ่น เนื้อสัมผัส และลักษณะโดยรวม) ของขนมปังหลังผ่านการรมไอที่เหมาะสม และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ (30±1°C) เป็นเวลา 0 3 6 และ 9 วัน ตามลำดับ

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงประสิทธิภาพของไอเอทานอล ไอกรดอะซิติกและไอของสารร่วมต่อการ ยับยั้ง เชื้อ *Penicillium* spp.

1.4.2 ทราบถึงระยะเวลาที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อ P*enicillium* spp. ในขนมปัง

1.4.3 สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Penicillium* spp. ในขนมปัง ทำให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

1.4.4 ยืดอายุการเก็บรักษาขนมปัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ขนมปัง

2.1.1 ลักษณะทั่วไป

ขนมปังถือเป็นอาหารที่นิยมแพร่หลายในแถบประเทศทางตะวันตกและยุโรปถือได้ว่าเป็นอาหารหลักของคนเกือบทั่วโลก และมีการผลิตมากมายหลายสูตร แตกต่างกันไปตามความนิยมของแต่ละประเทศ ซึ่งส่วนประกอบหลักของขนมปังทำจากแป้งสาลีที่ผสมกับน้ำและยีสต์ หรือผงฟู นอกจากนี้ยังมีการใช้ส่วนผสมอื่นๆเพื่อแต่งสี รสชาติและกลิ่น แตกต่างกันไปตามแต่ละประเภทของขนมปัง นำส่วนผสมมาตีให้เข้ากันและนำไปอบ ทั้งนี้แป้งสาลีจะมีคุณสมบัติในการเกิดโครงสร้างและกักเก็บแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ได้ดี ส่งผลให้ขนมปังมีคุณภาพดี (Dendy และ Dobraszcyk, 2001) ซึ่งขนมปังโดยทั่วไปมีค่า water activity 0.95 - 0.98 ความชื้น 38 – 42 % และมีค่าพีเอช 5.3 – 5.7 (จินตนา และอรอนงค์, 2539)

2.1.2 ชนิดของขนมปัง

ขนมปังแบ่งออกเป็น 4 ชนิด ตามปริมาณน้ำตาลและไขมัน (จรูญรัตน์, 2553) ได้แก่

(1) ขนมปังผิวแข็ง (Hard bread) เป็นขนมปังที่มีปริมาณไขมันและปริมาณน้ำตาลน้อย มีลักษณะผิวเปลือกนอกแข็ง กรอบ และมีเนื้อค่อนข้างแห้ง รสจืด ได้แก่ ขนมปังขาไก่ ขนมปังฝรั่งเศส ขนมปังอิตาเลียน เป็นต้น

(2) ขนมปังจืด (Loaf bread) เป็นขนมปังที่มีปริมาณไขมันและปริมาณน้ำตาลปานกลาง เนื้อของขนมปังมีลักษณะละเอียด นุ่ม รสจืด รูปร่างเป็นแท่งยาวตามพิมพ์ที่ใส่อบ ได้แก่ ขนมปังแซนด์วิช ขนมปังปอนด์ เป็นต้น

(3) ขนมปังกึ่งหวาน (Soft roll) เป็นขนมปังที่มีปริมาณไขมันและปริมาณน้ำตาลสูง เนื้อของขนมปังมีลักษณะละเอียด นุ่ม รสชาติค่อนข้างหวาน นิยมทำเป็นรูปทรงกลม มีทั้งชนิดมีไส้และไม่มีไส้ ได้แก่ ขนมปังไส้กรอก ขนมปังแฮมเบอร์เกอร์ ขนมปังไส้ไก่ เป็นต้น

(4) ขนมปังหวาน (Sweet dough) เป็นขนมปังที่มีปริมาณไขมันและปริมาณน้ำตาลสูงกว่าชนิดอื่น เนื้อของขนมปังละเอียด นุ่ม รสชาติหวานมัน ขนมปังสามารถดัดแปลงให้เกิดความหลากหลายตามไส้ที่แตกต่างกัน เช่นขนมปังไส้ผลไม้ ขนมปังไส้ลูกเกด ขนมปังไส้ถั่วแดง เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 การเสื่อมเสียของขนมปังจากเชื้อรา (Mold spoilage)

ขนมปังและผลิตภัณฑ์ขนมอบแต่ละชนิดจะมีการเสื่อมเสียได้เร็วหรือช้าแตกต่างกัน เนื่องจากคุณสมบัติ หรือองค์ประกอบที่แตกต่างกัน โดยทั่วไปการเสื่อมเสียมี 3 สาเหตุหลัก คือ การเสื่อมเสียทางจุลินทรีย์ ทางเคมี และทางกายภาพ ซึ่งการเสื่อมเสียทางจุลินทรีย์เป็นสาเหตุหลัก เกิดจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่มีอยู่ทั่วๆ ไปในดิน น้ำ อากาศ ปัญหาของการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ขนมปังทางจุลินทรีย์มีอิทธิพลมาจากปัจจัยร่วมหลายปัจจัย เช่น สภาวะการจัดเก็บ ความชื้นสัมพัทธ์ ปริมาณของสารวัตถุกันเสีย ค่าพีเอช ชนิดของบรรจุภัณฑ์ และปัจจัยที่สำคัญ คือ ความชื้น และค่า Water activity (a_w) ของผลิตภัณฑ์ (Pateras, 2007)

เชื้อราเป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมเสียของขนมปัง โดยการเสื่อมเสียจากเชื้อราสามารถสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน เนื่องจากเกิดเส้นใยเชื้อรา (Mycelium) ขึ้นปกคลุมที่ผิวนอกของผลิตภัณฑ์ มีลักษณะคล้ายๆ เส้นไหม อาจอยู่เป็นหย่อมๆ หรือแผ่เป็นวงกว้างก็ได้ โดยปกติเชื้อราที่ปนเปื้อนมาจะถูกทำลายได้ในช่วงของการอบให้สุก ดังนั้น ผลิตภัณฑ์ขนมอบที่เกิดเชื้อราขึ้นจึงเกิดจากการปนเปื้อนภายหลังจากการอบให้สุก (Ponte และ Tsen, 1978) เช่น การปนเปื้อนของสปอร์เชื้อราในอากาศรอบๆ ระหว่างการพักเย็น การสไลด์แผ่น การบรรจุ และการเก็บรักษา โดยที่เปลือกหรือบริเวณผิวนอกของขนมปังจะแห้งมากกว่าเนื้อขนมปัง (Cauvain และ Yung, 2000) การเจริญของเชื้อรามีความแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับสูตรส่วนผสมและเทคนิคที่ใช้ในการผลิต (Seiler, 1992) ชนิดของราที่ปนเปื้อนในขนมปังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ชนิดของเชื้อราในขนมปัง

Mould	Colony colour	Colony appearance	Comments
Penicillium spp.	Blue/green	Flat, spreads rather slowly	The most common type of bread mould
Aspergillus niger	Black	Fluffy, spreading with spore heads often clearly visible	Frequently present
Aspergillus flavus	Olive green		
Aspergillus candidus	Cream		
Aspergillus glaucus	Pale green		
Cladosporium spp.	Dark olive green	Flat, spreads slowly	Often present on damp bakery walls, commonly encountered
Neurospora sitophila	Salmon pink	Very fluffy and fast spreading	Will grow very rapidly on moist bread
Rhizopus nigricans	Grey/black	Very fluffy and fast spreading	Will grow very rapidly on moist bread
Mucor spp.	Grey		

ที่มา : Seiler (1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนใหญ่เชื้อราที่เป็นสาเหตุหลักทำให้ขนมปังเกิดการเสื่อมเสีย คือเชื้อรา *Penicilium* spp. รองลงมาคือเชื้อ *Aspergillus* spp. อีกกลุ่มที่มักพบในขนมปัง คือ *Rhizopus* (*nigricans*) *stolonifer* (Pateras, 2007) และมีรายงานว่าพบเชื้อ *Aspergillus* spp. เป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมเสียของขนมปังในประเทศอินเดีย ในขณะที่พบเชื้อ *Penicilium* spp. กว่า 90 % ที่เป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมเสียของขนมปังในแถบตอนเหนือของไอร์แลนด์ (Legan, 1993)

2.2 เชื้อรา *Penicillium* spp.

2.2.1 ลักษณะทั่วไป

เชื้อรา *Penicillium spp.* เป็นเชื้อราชนิดหนึ่งที่อยู่ในอาณาจักรฟังไจ พบได้ทั่วไป มีชื่อเรียกว่า Green mold และ Blue mold ตามสีสปอร์ของรา เป็นสิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอต (Eukaryote) ที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ สร้างอาหารเองไม่ได้ จัดเป็นเฮเทอโรโทรฟ (Heterotroph) ซึ่งต้องการสารอินทรีย์เป็นอาหาร ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตเป็นแซโพรไฟต์ (Saprophyte) ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เน่าเปื่อยให้เป็นสารโมเลกุลเล็กลง มีลักษณะเป็นเส้นใย (Mycelium) ที่ประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์เรียงเป็นเส้นใย เส้นใยโดยทั่วไปมีขนาดความกว้าง 5-10 ไมโครเมตร และมีความยาวมาก เส้นใยประกอบด้วยผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์และช่องว่างภายในที่บรรจุโพรโทพลาสซึม ผนังเซลล์ประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) หรือไคทิน (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2559) เส้นใยมีหน้าที่ดูดซึมอาหารที่ย่อยแล้วไปเลี้ยงส่วนต่างๆ และทำหน้าที่สร้างสปอร์เพื่อการสืบพันธุ์ โดยเชื้อรา *Penicillium* spp. มีการสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ มีชื่อเรียกสปอร์ว่า Conidia เชื้อรา *Penicillium* spp. เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. อยู่ที่ 20-30 °C สามารถเจริญในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูง และเป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ ส่วนใหญ่เชื้อรา *Penicillium* spp. *ชอบ*เจริญที่มีพีเอชค่อนข้างเป็นกรดซึ่งค่าพีเอชที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 4-6 นอกจากนี้ยังสามารถทนต่อสภาพความเป็นกรดได้ดีกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นด้วย (เชาวน์ และพรรณ, 2541)

2.2.2 การก่อโรคและการปนเปื้อนเชื้อ *Penicillium* spp.

เชื้อรา *Penicillium* spp. สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ โดยส่วนใหญ่พบในผลไม้ ข้าวโพด ข้าวสาลี ธัญพืช และอาหารสัตว์ เชื้อรา *P. digitatum* และ *P. italicum* เป็นสาเหตุหลักของโรคเน่าในผลส้ม โดยพบราสีเขียวและราสีฟ้าเจริญบนผลส้มหลังกระบวนการเก็บเกี่ยว ซึ่งทำให้ขาดทุนกว่า 90% ทั้งในกระบวนการขนส่ง การเก็บรักษา และหลังการขาย (Agrios, 2005) ต่อมา EFSA (2012) ได้รายงานการตรวจพบสารพิษ Citrinin ในผลิตภัณฑ์อาหารและอาหารสัตว์ ซึ่งผลิตโดยเชื้อรา *Penicillium* spp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารพิษ Citrinin เป็นพิษต่อไต ซึ่งผลิตขึ้นหลังการเก็บเกี่ยวและส่วนใหญ่เกิดขึ้นในเมล็ดและยังอยู่ในผลิตภัณฑ์จากพืชอื่น ๆ เช่น ถั่ว ผลไม้ น้ำผักสมุนไพร เครื่องเทศและยังอยู่ในผลิตภัณฑ์นมบูด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Schmidt และคณะ (2015) พบว่าเชื้อรา *P. verrucosum* เป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ Ochratoxin A และ Citrinin ซึ่งสารพิษทั้งสองชนิดเป็นพิษต่อไต โดยจะทำลายเซลล์ไต และเยื่อบุหลอดไตฝ่อมีพังผืดบริเวณ Cortex และ Glomerulus ทำให้โปรตีนรั่วออกทางปัสสาวะ อาการที่เกิดขึ้นจะค่อยเป็นค่อยไป มีอาการปวดศีรษะ อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร ถ่ายปัสสาวะเป็นเลือด และไตวาย มีการรายงานว่าพบการสร้างสารพิษของ *Penicillium* spp. ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ โดยสารพิษที่พบได้แก่ Citrinin, Ochratoxin A, Patulin, Mycophenolic และ Penicillic acids (Oh และคณะ, 2012) โดย Ochratoxin A จัดเป็นสารก่อมะเร็ง (กลุ่ม 2B) ตามรายงานของหน่วยงานระหว่างประเทศของการวิจัยมะเร็ง (IARC, 1993) นอกจากนี้เชื้อรา *P. expansum* และ *P. patulum* ยังสร้างสารพิษ Patulin ซึ่งเป็นสาเหตุโรคเน่า (Blue mold rot) ของผลไม้ เช่น แอปเปิ้ล สาลี่ องุ่น แตงเมล่อน สตรอเบอร์รี่ และผลไม้ในกลุ่ม Stone fruit เช่น พรุน และท้อ โดยสารพิษ Patulin เป็นสารพิษที่มีเป็นพิษต่อระบบประสาท (Neurotoxin) เป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็ง (Carcinogen) และสามารถสร้างสารพิษซึ่งที่ทำหน้าที่คล้ายแอนติเจน (Antigen) โดยไปส่งผลกระตุ้นร่างกายให้สร้างแอนติบอดี้ (Antibody) ชนิด IgE ก่อให้เกิดความผิดปกติลักษณะคล้ายปฏิกิริยาภูมิไวเกิน (Hypersentivity reaction type I) หรือมีอาการแสดงออกคล้ายกับภาวะหอบหืด (Asthmatic like symptoms) (Pumirat และคณะ, 2013)

2.2.3 การปนเปื้อนในขนมปัง

โดยปกติเชื้อราจะปนเปื้อนมากับวัตถุดิบที่ใช้ผลิตขนมปัง รวมถึงปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการผลิต แต่จะถูกทำลายในขั้นตอนของการอบให้สุก ดังนั้น ผลิตภัณฑ์ขนมอบที่เกิดเชื้อราขึ้นจึงเกิดจากการปนเปื้อนภายหลังจากการอบให้สุก (Ponte และ Tsen, 1978) เช่น การปนเปื้อนของสปอร์เชื้อราในอากาศรอบๆ ระหว่างการพักเย็น การสไลด์แผ่น การบรรจุ และการเก็บรักษา และการเสียหายจากรูรั่วจะทำให้มีการเพิ่มจำนวนของเชื้อรา เพราะเชื้อรา *Penicillium* spp. เป็นเชื้อราที่ต้องการอากาศในการเจริญ

Lay และคณะ (2016) ศึกษาการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ พบเชื้อ *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Eurotium*, *Wallemia*, *Fusarium* และ *Cladosporium* ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ โดยปนเปื้อนระหว่างกระบวนการพักเย็นและสไลด์ก่อนเก็บรักษามากที่สุด เนื่องจากในอากาศมีปริมาณเชื้อปนเปื้อนค่อนข้างสูงบวกกับกระบวนการพักเย็นก่อนเก็บใช้เวลานานทำให้เชื้อสัมผัสกับขนมปังได้นานขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Saranraj และ Geetha (2012) รายงานการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อราที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่เกิดการเสื่อมเสียพบเชื้อรา *Penicillium* spp., *Eurotium* spp., *Aspergillus* spp. และ *Monilia sitophilia* รวมถึง *Rhizopus stolonifer* ซึ่งมักถูกเรียกว่า ราขนมปัง เป็นสาเหตุทำให้ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่เกิดการเสื่อมเสีย 1-5 % ขึ้นอยู่กับฤดูกาล ชนิดของผลิตภัณฑ์และกระบวนการผลิต

2.2.4 การลดการเจริญของเชื้อ *Penicillium* ssp.

Venditti และคณะ (2009) ใช้ไอกรดอะซิติกในการยับยั้งเชื้อรา *P. digitatum* เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาส้มแมนดาริน ขณะที่มีนักวิจัยหลายท่านได้มุ่งเน้นไปที่การใช้งานของกรดคาร์บอนิกเป็นทางเลือกในการควบคุมการเจริญเชื้อราสีเขียวในส้มแมนดาริน (Palou และคณะ, 2001)

Dao และ Dantigny (2011) รายงานการใช้เอทานอลในการยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหาร โดยพบว่าเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญและการงอกของสปอร์ได้ ซึ่งช่วยลดการเสื่อมเสียที่อาจเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ได้

Radia และคณะ (2010) ศึกษาการใช้กรดอะซิติกในการปรับปรุงประสิทธิภาพของน้ำแอปเปิ้ล สายพันธุ์ Red delicious โดยใช้สารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 1 2 และ 3% ที่อุณหภูมิ 50 ˚C ระยะเวลา 1, 2 และ 3 นาที พบว่าสารละลายกรดอะซิติกที่อุณหภูมิ 50 ˚C สามารถลดการเจริญของสปอร์เชื้อรา *P. expansum* อย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะในสารละลายกรดอะซิติก 2 % เป็นเวลา 3 นาที หรือสารละลายกรดอะซิติก 3 % เป็นเวลา 2 นาที ส่งผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญต่อการยับยั้งการเสื่อมเสียของแอปเปิ้ลในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาในช่วงระยะเวลาสั้นๆ

Samson และคณะ (2002) รายงานว่ามีการเติมสารกันบูด จำพวกกรดซอบิกและโพรพิโอนิกในหลายผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อรา ซึ่งการลดการเจริญของเชื้อราในขนมปังทำโดยเติมสารกันราซึ่งเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ผู้ผลิตนิยมใช้เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อรา เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น สารที่นิยมใช้เป็นสารกันเชื้อราในผลิตภัณฑ์ขนมปัง ได้แก่ กรดโปรปิโอเนต เกลือโปรปิโอเนต แคลเซียมโปรปิโอเนต ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มสารปรุงแต่งอาหารที่ปลอดภัยตามประกาศของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ปี 2547 โดยเติมลงในอาหารได้ในปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งหมายถึงปริมาณที่น้อยที่สุดที่ทำให้เกิดผลที่ต้องการภายใต้กระบวนการผลิตที่ดี (GMP) แม้ว่ากฎหมายจะไม่ได้ระบุปริมาณสูงสุดที่อนุญาตให้ใช้ได้ เนื่องจากกรดโปรปิโอนิก และเกลือโปรปิโอเนตไม่ทำให้เกิดพิษที่เฉียบพลันหรือรุนแรงหากบริโภคในปริมาณน้อย แต่มีรายงานการวิจัยว่าการบริโภคอาหารที่มีสารแคลเซียมโปรปิโอเนตปริมาณสูงติดต่อกันเป็นเวลานาน จะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตในสัตว์ทดลอง และอาจส่งผลให้เกิดพฤติกรรมสมาธิสั้นในเด็กได้ ในประเทศไทยเคยมีการระบุปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ได้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 (พ.ศ. 2527) และฉบับที่ 119 (พ.ศ. 2532) อนุญาตให้ใช้แคลเซียมโปรปิโอเนตได้ไม่เกิน 0.2 % (สุรินทร์, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการสร้างเสริมสุขภาพ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ได้ทำการสำรวจปริมาณแคลเซียมโปรปิโอเนตในขนมปัง โดยเก็บตัวอย่างขนมปังจากแหล่งขายที่เป็นร้านค้าท้องถิ่นในปริมณฑลรอบกรุงเทพมหานคร ทั้งหมด 3 แหล่ง จำนวนรวมทั้งสิ้น 23 ตัวอย่าง พบว่ามี 20 ตัวอย่าง (คิดเป็น 87 %) ที่ตรวจพบปริมาณแคลเซียมโปรปิโอเนตสูงเกิน 0.2 % และตัวอย่างส่วนใหญ่ที่นำมาตรวจสอบไม่มีเลขที่อนุญาต ไม่ระบุสถานที่ผลิต วันผลิต และวันหมดอายุ (สุรินทร์, 2557)

ทั้งนี้ในปัจจุบันผู้บริโภคเรียกร้องให้ลดปริมาณการใช้สารกันเสียลง เนื่องจากส่งผลกระทบต่อร่างกายระยะยาวและสารกันเสียบางตัวยังไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Hyphopichia burtonii*, *Candida guilliermondii*, *Eurotium* และ *Aspergillus flavus* ซึ่งอาจนำไปสู่การกระตุ้นการผลิตสารพิษจากเชื้อราได้ (Magan และ Lacey, 1986; Mutasa และ Magan, 1990) แต่สำหรับการลดการปนเปื้อนเชื้อ *Penicillium* spp. ในขนมปังด้วยไอเอทานอล และไอน้ำส้มสายชูนั้นยังไม่พบการรายงาน

2.3 น้ำส้มสายชู

2.3.1 ลักษณะทั่วไป

น้ำส้มสายชูมีองค์ประกอบสำคัญทางเคมีเป็นกรดอะซิติกหรือเรียกว่า กรดน้ำส้ม ซึ่งเป็นกรดอ่อน มีสูตรโครงสร้างทางเคมีคือ CH_3COOH มีน้ำหนักโมเลกุล 60.05 กรัมต่อโมล มีลักษณะเป็นของเหลวใส ให้กลิ่นรสเปรี้ยว น้ำส้มสายชูโดยทั่วไปจะมีกรดอะซิติกประมาณ 4.2-6 % เป็นกรดที่เหมาะสมในการรักษาคุณภาพอาหาร จัดเป็นสารประเภทเจือปนอาหารที่ได้รับการยอมรับว่าปลอดภัยให้ใช้ภายใต้การควบคุม (General Recognized as Safe; GRAS) นิยมใช้ทั่วไปในครัวเรือนเพราะไม่มีพิษต่อร่างกาย การแบ่งชนิดของน้ำส้มสายชู ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู ระบุว่า น้ำส้มสายชูแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ น้ำส้มสายชูหมัก น้ำส้มสายชูกลั่น และน้ำส้มสายชูเทียม โดยการควบคุมคุณภาพของน้ำส้มสายชูหมักและน้ำส้มสายชูกลั่นนั้นระบุต้องมีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 27 °C (อภิรดี, 2548)

Davidson และคณะ (2005) รายงานผลของกรดอะซิติกสามารถยับยั้งการเจริญ และทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยแทรกซึมเข้าไปในเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้โปรตีนที่ผนังเซลล์จุลินทรีย์เสียสภาพ ส่งผลต่อการสร้างพลังงานภายใน และการขนส่งสารเมทาบอไลท์ไปยังเซลล์ของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพของกรดอะซิติกจะสูงมากถ้ายังอยู่ในรูปของกรดที่ไม่แตกตัว เช่น กรดอะซิกติกที่มีความเข้มข้นสูง ผลการทำลายเชื้อขึ้นอยู่กับเปอร์เซ็นต์กรดที่ไม่แตกตัว เมื่อความเข้มข้นของกรดเพิ่มขึ้นจะมีปริมาณกรดที่ไม่แตกตัวสูงขึ้น เพราะสามารถละลายไขมันได้ดี และประสิทธิภาพของกรดอะซิติกในการยับยั้งจุลินทรีย์นั้น โดยจะเปลี่ยนแปลงไปตามผลิตภัณฑ์อาหาร สิ่งแวดล้อมและชนิดของจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 ผลของน้ำส้มสายชูต่อการยับยั้งเชื้อรา

น้ำส้มสายชูหรือกรดอะซิติกถูกนำมาใช้ในการยับยั้งเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผักและผลไม้ โดยใช้น้ำส้มสายชูหมักยับยั้งเชื้อรา *A. flavus* ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พบว่าความเข้มข้นกรดอะซิติก 0.35 และ 0.85 % สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและสปอร์ได้สมบูรณ์ (เพ็ญนภา, 2556)

สุธนัย และอุราภรณ์ (2550) ศึกษาผลของการใช้กรดอะซิติก และกรดเปอร์อะซิติกในการควบคุมเชื้อรา *P. digitatum* ซึ่งเป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวของส้ม พบว่าสารทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งเชื้อราได้ โดยความเข้มข้นน้อยสุดที่สามารถยับยั้งได้ของกรดอะซิติกและกรดเปอร์อะซิติก คือ 0.5 และ 0.1 % (v/v) ตามลำดับ และเมื่อทดสอบด้วยวิธีจุ่ม พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อราได้โดยไม่มีผลต่อลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของส้ม

Sholberg และ Gaunce (1996) รายงานการใช้ไอกรดอะซิติกรมเมล็ดพืชที่มีความชื้นสูง ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด และข้าวสาลี โดยสามารถยังยั้งการเริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavas* ได้ นอกจากนี้การรมไออะซิติกยังมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากเชื้อราของแอปเปิ้ล มะเขือเทศ ส้ม องุ่น กีวี สตรอเบอร์รี แพร์และผลไม้เมล็ดแข็งได้ (Sholberg และ Gaunce, 1995; Sholberg และ Gaunce, 1996b; Sholberg และคณะ, 1996; Sholberg และคณะ, 2000)

ภัทราพรรณ (2553) ได้ศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis cinerea* บนผิวสตรอเบอร์รีสดด้วยการสเปรย์และรมไอน้ำส้มสายชูหมัก พบว่าวิธีการรมไอน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นของกรดอะซิติก 10 % เป็นเวลา 20 นาที สามารถลดการเสื่อมเสียของผลสตรอเบอร์รีสดได้ถึง 20 % เมื่อเปรียบเทียบกับสตรอเบอร์รีที่ไม่ได้ผ่านการรมไอ

ตวงพร และคณะ (2545) ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการติดเชื้อและการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสบนมะละกอพันธุ์ฮาวายหลังการเก็บเกี่ยว โดยใช้ไอที่ได้จากน้ำส้มสายชูหมักจากแอปเปิ้ล น้ำส้มสายชูกลั่นและกรดน้ำส้มพบว่า ไอจากน้ำส้มสายชูหมักปริมาตร 5 มิลลิลิตรของน้ำส้มสายชูแต่ละชนิดสามารถลดการเน่าเสียบนผลมะละกอจาก 100 % เป็น 3.4, 6.9 และ10 % ตามลำดับ

Yair และ Stadelbacher (1973) รายงานการใช้ไอ Acetaldehyde ในการยับยั้งเชื้อที่ทำให้เกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยว พบว่า ความเข้มข้น 0.25-20 % ภายในเวลา 0.5-120 นาที สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคได้ 6 ชนิด

2.4 เอทานอล

2.4.1 ลักษณะทั่วไป

เอทานอล (Ethanol) หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) เป็นแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่ง สูตรโครงสร้าง คือ CH_3CH_2OH น้ำหนักโมเลกุล 46.07 กรัมต่อโมล มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี ระเหยได้ จุดไฟติด มีพีเอชเป็นกลาง มีจุดเดือดที่ 78°C แต่สามารถระเหยได้แม้ที่อุณหภูมิต่ำ สามารถผสมเข้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กันได้ดีกับน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ เช่น อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม โดยทั่วไปเอทานอลที่ใช้จะมีความเข้มข้น 70 และ 95 % เอทานอลจัดเป็นน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพปานกลาง คือ ไม่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรีย แต่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญ เช่น เชื้อวัณโรค และไวรัส (ฐิตินันท์, 2555)

2.4.2 ผลของเอเทานอลต่อการยับยั้งเชื้อรา

เอทานอลมีฤทธิ์ที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ จึงถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย โดยทั่วไปเอทานอลถูกนำใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร ซึ่งเอทานอลที่มีความเข้มข้น 70-95% มีประสิทธิภาพการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้สูงสุด (วราวุฒิ, 2538)

กฤษฎา และดนัย (2545) ศึกษาการรมไอระเหยเอทานอลบนส้มเขียวที่อุณหภูมิห้อง พบว่าการรมไอเอทานอลความเข้มข้น 0.05% เป็นเวลา 3 วัน สามารถชะลอการเข้าไปทำลายของเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่ทำให้เกิดโรคเน่าราสีเขียวได้นาน 4.25 วัน โดยไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนสีของผิวส้มและไม่สงผลต่อปริมาณวิตามินซีในส้ม

Siddiqui และคณะ (2005) รายงานการรมไอเอทานอลบริสุทธิ์และไอกรดอะซิติกในผลฝรั่ง โดยรมไอเอทานอลบริสุทธิ์ และไอกรดอะซิติกเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และการรมไอน้ำ เป็นเวลา 5 นาที พบว่าทุกวิธีสามารถลดการสร้างโคโลนีสีเขียวของเชื้อราและยังกำจัดเชื้อโคลิฟอร์มที่ผิวของผลฝรั่ง

Lihandra (2007) ศึกษาการรมไอเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในผลพีช โดยใช้เอทานอล 70-100 % ระยะเวลา 30 นาที เก็บที่อุณหภูมิห้องหรือที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อราได้ถึง 30 วัน เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งป้องกันได้ 2-3 วัน แต่ส่งผลให้ลูกพีชเกิดสีน้ำตาลอย่างรุนแรง ซึ่งแตกต่างจากการรมไอเอทานอลที่ความเข้มข้น 20 % สามารถป้องกันราได้ 10 วัน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4°C และ 2 วันเมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้อง โดยไม่ทำให้เกิดสีน้ำตาล และเมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างการรมไอและการจุ่มลูกพีชด้วยเอทานอล พบว่าการจุ่มลูกพีชให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราไม่ดีเท่าการรมไอ แต่ไม่ทำให้เกิดสีน้ำตาลและมีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องนาน 10 วัน

2.5 การรมไอ

การรมไอเป็นการปล่อยสารให้อยู่ในรูปไอระเหยให้แพร่กระจายครอบคลุมศัตรูพืชที่ต้องการกำจัด ไม่ว่าจะเป็นเชื้อจุลินทรีย์หรือการยับยั้งสารที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของพืช โดยเปลี่ยนสถานะจากของเหลวไปเป็นก๊าซหรือเรียกว่าไอ ซึ่งสารที่อยู่ในรูปของก๊าซมีโมเลกุลขนาดเล็กจึงสามารถแทรกตัวเข้าไปทำลายจุลินทรีย์เป้าหมายได้ดีกว่า (จริงแท้, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีรายงานว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยควบคุมเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวในผลิตผลหลายชนิด เนื่องจากสารสกัดจากพืชมีสารประกอบที่สำคัญหลายชนิดเช่น Eugenol, Cinnamaldehyde และ Thymol (Mondal และ Khalequezzman, 2010) สารประกอบเหล่านี้จะออกฤทธิ์ต่อเชื้อรา โดยจะทำปฏิกิริยาต่อเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีนภายในเซลล์ ส่งผลให้การเจริญและการงอกของสปอร์ช้าลง ทำให้เชื้อราตายได้ (Di และคณะ, 2007)

Tzortzakis (2010) ศึกษาการรมไอเอทานอลสัมบูรณ์ (100 % (v/v)) น้ำส้มสายชู และน้ำมันออริกาโนในมะเขือเทศ พบว่าการรมไอเอทานอลและน้ำมันอาริกาโนสามารถยับยั้งการพัฒนาของเชื้อรา anthracnose rot ที่ทำให้มะเขือเทศเน่าได้ ส่วนน้ำส้มสายชูให้ผลการยับยั้งไม่แตกต่างกันในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

Portner และ Hoffman (1986) ศึกษาการใช้ไอของกรดอะซิติกในการฆ่าสปอร์ของ *B. subtilis* ver.niger ที่กระดาษและผิวเครื่องแก้ว โดยความชื้นสัมพัทธ์ 20, 40, 60 และ80 % ณ อุณหภูมิ 25 °C พบว่าที่ความชื้นสัมพัทธ์สูง 80 % ให้ผลการยับยั้งเชื้อได้ดีสุด

2.5.1 การรมไอน้ำส้มสายชู

น้ำส้มสายชูเป็นกรดอินทรีย์ที่รู้จักกันดีในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากถูกใช้เพื่อควบคุมการเจริญของเชื้อราและมีการนำมาประยุกต์ใช้เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราในหลายผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผักและผลไม้ (Higgins และ Brinkhaus, 1999)

Krusong และคณะ (2015) ศึกษาการใช้ไอน้ำส้มสายชูในการยับยั้งเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ในผักชีสด พบว่ารมไอน้ำส้มสายชูความเข้มข้นกรดอะซิติก 8 % เป็นเวลา 50 นาที สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumonia* ได้สมบูรณ์

Sholberg และคณะ (2004) รายงานการรมไอน้ำส้มสายชูหมักที่มีกรดอะซิติก 4-6 % สามารถป้องกันการเน่าเสียของผักผลไม้ มีความปลอดภัยและยังคงประสิทธิภาพดีกว่าการรมไอกรดอะซิติก

Moyls และคณะ (1996) ศึกษาการดัดแปลงสภาพอากาศร่วมกับการรมกรดอะซิติกในการลดการเกิดโรคเน่าขององุ่นและสตรอเบอร์รี พบว่าการดัดแปลงสภาพอากาศร่วมกับกรดอะซิติกในอัตรา 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 0 °C เป็นเวลา 74 วัน สามารถลดการเกิดโรคเน่าขององุ่นจาก 92 % เหลือเพียง 2 % ส่วนสตรอเบอร์รีใช้กรดอะซิติกในอัตรา 5.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นเวลา 14 วัน สามารถลดการเน่าของสตรอเบอร์รีได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งเกิดโรค 89 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sholberg และคณะ (2004) Tzortzakis (2010) และ Krusong และคณะ (2012) ศึกษาการใช้ไอน้ำส้มสายชูในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้ผักและผลไม้เกิดการเสื่อมเสีย พบว่าไอน้ำส้มสายชูมีประสิทธิภาพเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราในผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น ไข่ มะเขือเทศ แอปเปิ้ล แอพริคอท และสตรอเบอร์รี

จิราวรรณ (2552) ศึกษาการใช้น้ำส้มสายชูหมัก โดยเปรียบเทียบการจุ่ม สเปรย์และการรมไอ ในการลดเชื้อ *Salmonella* Enteridids บนผิวเปลือกไข่ ณ อุหภูมิห้อง พบว่าวิธีการรมไอน้ำส้มสายชูหมักไม่ทำให้ลักษณะทางกายภาพของไข่เสียหายแต่ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อนานที่สุด โดยการรมไอน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้น 2 และ 10 % ใช้เวลา 6 และ 5 ชั่วโมง ตามลำดับ และไม่พบการปนเปื้อนหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 4 °C และอุณหภูมิห้อง (30±1°C)

2.5.2 การรมไอเอทานอล

Dantigny และคณะ (2005) รายงานการใช้ไอเอทานอลที่ได้จากสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 4-6 % (w/w) สามารถยับยั้งการงอกของเชื้อรา *P. chrysogenum* ได้ 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 25 °C นอกจากนี้ยังมีการศึกษาอีกจำนวนมากที่แสดงให้เห็นว่าของเหลวและไอของเอทานอลสามารถยับยั้งการเสื่อมสภาพของดอกบร็อคโคลี่ (Suzuki และคณะ, 2004) และยับยั้งการสร้างเอทิลีนในบร็อคโคลี่ได้อีกด้วย (Asoda และคณะ, 2009)

Krusong และคณะ (2016) ศึกษาการใช้ของเหลวและไอเอทานอลในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในใบผักชี พบว่าการรมไอเอทานอลความเข้มข้น 18% เป็นเวลา 15 นาที (ปริมาณเอทานอล 9.00 ± 0.8 มิลลิโมลต่อลิตร) สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้สมบูรณ์

Suzuki และคณะ (2004) รายงานการใช้ผงเอทานอลในการยืดอายุการเก็บรักษาบร็อคโคลี่ โดยใช้ผงเอทานอล 0 3 6 และ 12 กรัม ที่อุณหภูมิ 20°C พบว่า ผงเอทานอล 6 และ 12 กรัม ทำให้บร็อคโคลี่มีกลิ่นผิดปกติ อ่อนนิ่ม และมีสีเขียวเข้ม ส่วนการใช้ผงเอทานอล 3 กรัม กลับช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้ดี เนื่องจากผงเอทานอลไประงับการสร้างเอทิลีน

Daifas และคณะ (2007) รายงานการใช้เอทานอลในการควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษของ *Clostridium botulinum* ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ที่มีความชื้นสูง ที่อุณหภูมิ 25°C โดยใช้เอทานอลที่มีชื่อเรียกทางการค้าว่า Ethicap 2 4 และ 6 กรัม กับถุงผ้าที่อิ่มตัวด้วยเอทานอล 95 % 24 และ 6 กรัม พบว่า Ethicap 4 และ 6 กรัม กับถุงผ้าที่อิ่มตัวด้วย 2 4 และ 6 กรัมของเอทานอล 95 % สามารถควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษของ *C. botulinum* ได้อย่างสมบูรณ์ คือ มากกว่า 21 วัน เปรียบเทียบกับตัวควบคุมที่สามารถควบคุมได้ 5 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dao และคณะ (2008) รายงานการรมไอเอทานอลความเข้มข้น 0.16 % เป็นเวลา 5 วัน สามารถชะลอการเกิดโรคจากเชื้อรา *P. digitatum* และ *P. italicum* ได้ถึง 10 วัน และ 8 วัน ตามลำดับ

Corcuff และคณะ (1996) รายงานการมไอเอทานอลในการยับยั้งเชื้อราบนบร็อคโคลี่ พบว่าเอทานอลที่มีความเข้มข้น 2,500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังพบว่าทำให้ผักยังคงความเขียวได้นานกว่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม แต่เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์เนื่องจากมีเอทานอลในเนื้อเยื่อสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย

ขนมปังสไลด์ไม่ใส่สารกันเสียระหว่างกระบวนการผลิตในตลาดเขตมีนบุรี เพื่อใช้ในการสำรวจเชื้อราที่เจริญบนผิวหน้าขนมปังและใช้ในการรมไอตลอดการทดลอง

3.2 อุปกรณ์การทดลอง

3.2.1 หม้อนึ่งความดันไอสูง (Autoclave) (Tomy รุ่น ES315 ประเทศญี่ปุ่น)

3.2.2 เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง (Mettler Toledo รุ่น Dragon 3002 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)

3.2.3 อ่างควบคุมความร้อน (Water bath) (Memmert ประเทศเยอรมนี)

3.2.4 เครื่องหมุนผสม (Vortex mixer) (Vortex Genie 2 ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.2.5 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Heraeus ประเทศเยอรมนี)

3.2.6 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow) (Bosstech ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.2.7 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) (Nikon ประเทศญี่ปุ่น)

3.2.8 เครื่องตีป่น (Seward รุ่น BA 7021 ประเทศอังกฤษ)

3.2.9 เวอร์เนียร์แคลลิปเปอร์ (Vernier Calipers) (ประเทศเยอรมัน)

3.2.10 ชุดกล่องรมไอขนาด (0.25x0.30x0.25 m) และเครื่องปั๊ม (ประเทศไทย)

3.2.11 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) (Memmert ประเทศเยอรมนี)

3.2.12 คอคบอร์เรอร์ (Cork borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร (ประเทศเยอรมัน)

3.2.13 ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer) (BOECO ประเทศเยอรมนี)

3.2.14 เครื่องดูดจ่ายสารละลาย (Micro pipette) (Thermo scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.2.15 ไฮโกรมิเตอร์ (Hygrometer) (ประเทศเยอรมัน)

3.2.16 ไมโครเวฟ กำลัง 900 วัตต์ (Sharp ประเทศเยอรมัน)

3.2.16 อุปกรณ์เครื่องแก้วต่างๆ

3.2.17 ถุงพลาสติกใส

3.2.18 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.3.1 Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck ประเทศเยอรมัน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 สารเคมี

3.4.1 น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวไร่ ความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 % จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมักคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4.2 แอลกอฮอล์ 95 % จากกรมสรรพสามิต ประเทศไทย

3.4.3 กรดทาร์ทาลิก 10 % (Tartaric acid) จาก Thai Poly Chemicals Company ประเทศไทย

3.4.4 บัตเตอร์ฟิวฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (Butterfield's Phosphate-Buffered)

3.5 จุลินทรีย์

เชื้อ *Penicillium* spp. ที่แยกได้จากตัวอย่างขนมปัง และได้รับการยืนยันจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพ (ไบโอเทค) ประเทศไทย เขี่ยเชื้อรา *Penicillium* spp. ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ (30±1°C) เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นเขี่ยเชื้อลงบนอาหาร PDA บ่มที่ อุณหภูมิ (30±1°C) เป็นเวลา 7 วัน และเก็บเชื้อเพื่อใช้ในการทดลองที่อุณหภูมิ 5±2 °C

3.6 วิธีการทดลอง

3.6.1 การเตรียมเชื้อรา *Penicillium* spp.

3.6.1.1 เขี่ยเชื้อ *Penicillium* spp. ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เช่นเดียวกับข้อ 3.5

3.6.1.2 ใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราที่มีอายุ 3 วัน จากนั้นเพาะเชื้อลงบนอาหาร PDA และบ่มที่อุณหภูมิ (30±1°C) เป็นเวลา 3 วัน

3.6.2 การก็บรักษาเชื้อรา *Penicillium* spp.

ทำการถ่ายเชื้อลงในอาหาร PDA slant เดือนละ 1 ครั้ง ระหว่างการทดลอง

3.6.3 การศึกษาและเปรียบเทียบผลและระยะเวลาของไอเอทานอล ไอน้ำส้มสายชู และไอ ผสมต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในระดับห้องปฏิบัติการ

3.6.3.1 ระยะเวลาการรมไอเอทานอลต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในจานเพาะเชื้อ PDA

โดยในขั้นตอนนี้แบ่งออกเป็น 2 วิธี

3.6.3.1.1 ระยะเวลาในการยับยั้งสปอร์ (Spore destruction) โดยนำเชื้อ *Penicillium* spp. จากขั้นตอน 3.6.1.1 มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้มีความเข้มข้นของเชื้อ 10^3สปอร์/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นดูดสารละลายเชื้อปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เกลี่ยด้วยวิธี Spread plate ให้ได้เชื้อในจานเพาะเชื้อ 100 โคโลนี/เพลท นำไปวางในกล่องที่รมไอด้วยไอเอทานอลความเข้มข้น 95 % (โดยเติมเอทานอลปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วขนาด 1 ลิตร จากนั้นอาศัยปั๊ม (pump) อากาศเป่าลงในสารละลายเอทานอลเพื่อให้ไอเอทานอลเข้าไปในกล่องรมไอในอัตรา 4 ลิตร/นาที) รมไอเป็นเวลา 0 5 10 15 และ 20 นาที ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง จำนวน 4 เพลทต่อช่วงเวลา เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด นำจานเพาะเชื้อที่รมไอแล้วผึ่งให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อ 5 นาที บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30±1 °C เป็นเวลา 36-48 ชั่วโมง ตรวจนับปริมาณเชื้อ *Penicillium* spp. ในจานเพาะเชื้อที่รมไอเอทานอลในเวลาต่างๆ โดยนับโคโลนีที่เจริญบนจานเพาะเชื้อและหาค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่ไม่ได้รมไอเอทานอลเป็นตัวอย่างควบคุม ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยนำระยะเวลาที่ทำให้เชื้อ *Penicillium* spp. ในจานเพาะเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติไปพิจารณาใช้ในการรมไอเอทานอลในขนมปังต่อไป

สำหรับการคำนวณหาปริมาณสารเอทานอลจะแสดงในภาคผนวก ข.

3.6.3.1.2 ระยะเวลาในการยับยั้งการเจริญ (Mycelial growth inhibition) โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดขอบโคโลนีของเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่ได้จากขั้นตอน 3.6.1.2 เพาะเชื้อลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA นำไปวางในกล่องที่รมไอด้วยไอเอทานอลความเข้มข้น 95 % รมเป็นเวลา 0 5 10 15 และ 20 นาที ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง จำนวน 4 เพลทต่อช่วงเวลา บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30±1 °C เป็นเวลา 3 วัน วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของแต่ละเพลท และหาค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้รมไอ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยนำระยะเวลาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติไปพิจารณาใช้ในการรมไอเอทานอลในขนมปังต่อไป

3.6.3.2 ระยะเวลาการรมไอน้ำส้มสายชูต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในจานเพาะเชื้อ PDA

ทำการทดลองลักษณะเดียวกันกับข้อ 3.6.3.1 แต่นำจานเพาะเชื้อไปวางไว้ในกล่องที่รมไอด้วยไอน้ำส้มสายชูที่มีความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 % รมเป็นเวลา 0 10 20 30 40 50 60 70 80 และ 90 นาที ตามลำดับ และสำหรับการคำนวณหาปริมาณสารกรดอะซิติกจะแสดงในภาคผนวก ข.

3.6.3.3 ระยะเวลา และลำดับการรมไอผสม (ไอเอทานอล และไอน้ำส้มสายชู) ต่อการยับยั้งเชื้อ *Penicillium* spp. ในจานเพาะเชื้อ PDA

การรมไอแบ่งออกเป็น 3 วิธี คือ (1) การรมไอผสมพร้อมกัน (2) การรมไอเอทานอลตามด้วยไอน้ำส้มสายชู และ (3) การรมไอน้ำส้มสายชูตามด้วยไอเอทานอลต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในจานเพาะเชื้อ โดยทำการทดลองลักษณะเดียวกันกับข้อ 3.6.3.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การรมไอผสมแบบพร้อมกัน ทำโดยปล่อยไอจากเอทานอลความเข้มข้น 95 % และไอน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 % เข้าไปในกล่องพร้อมกันจนอิ่มตัว นำจานเพาะเชื้อไปวางรมไอตามระยะเวลาที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 3.6.3.1 และ 3.6.3.2

การรมไอผสมตามลำดับ ทำโดยนำจานเพาะเชื้อไปวางรมไอในกล่องที่อิ่มตัวด้วยสารรมชนิดหนึ่งตามระยะเวลาที่เหมาะสมจากการทดลองก่อนหน้า จากนั้นปิดไอของสารรมชนิดแรก และปล่อยไอของสารรมอีกชนิดหนึ่งเข้าไปทันทีตามระยะเวลาที่เหมาะสมของการทดลองข้อ 3.6.3.1 และ 3.6.3.2

เปรียบเทียบระยะเวลารมไอทั้ง 3 วิธี ที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อดีที่สุด เพื่อพิจารณาในการนำไปใช้ในการรมไอขนมปังต่อไป

3.6.4 การสร้างการปนเปื้อนสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปัง

นำขนมปังปอนด์หั่นสไลด์ที่ไม่ใส่สารกันเสียระหว่างกระบวนการผลิตโดยมีขนาดและน้ำหนักใกล้เคียงกัน (25 กรัมต่อแผ่น) วางบนตะแกรงปลอดเชื้อในตู้ laminar flow หยดสารละลายสปอร์เชื้อ *Penicillium* spp. ที่มีความเข้มข้น 10^3 และ 10^5 (สปอร์/มิลลิลิตร) ลงบนผิวหน้าของขนมปัง อย่างละ 1 มิลลิลิตร ได้ขนมปังที่มีเชื้อรา *Penicillium* spp. เป็น 3 และ 5 log CFU/g ตามลำดับ เพื่อใช้เป็นตัวแทนเชื้อระดับที่พบทั่วไปในปริมาณต่ำและในระดับสูง ตามลำดับ

นำขนมปังที่หยดเชื้อแล้วใส่ลงในถุงพลาสติกปลอดเชื้อแล้วนำไปบ่ม ที่อุณหภูมิ 30±2 °C เป็นเวลา 0 1 2 และ 3 วัน ได้เชื้อที่มีอายุ 0 1 2 และ 3 วัน ตามลำดับ

3.6.5 ผลของความชื้นในระหว่างการรมไอต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปัง

เนื่องจากการรมไออิ่มตัวโดยวิธีไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์เช่นในการทดลองในจานเพาะเชื้อ PDA เป็นวิธีที่ไอของสารที่มีความเข้มข้นสูงสัมผัสกับขนมปังโดยตรง ซึ่งอาจทำให้ลักษณะทางกายภาพเกิดการเปลี่ยนแปลง การทดสอบต่อไปจึงเพิ่มความชื้นสัมพัทธ์ เพื่อลดการเปลี่ยนสภาพของขนมปัง โดยเปรียบเทียบผลของวิธีปรับและไม่ปรับความชื้นต่อประสิทธิภาพการยับยั้ง และลักษณะปรากฏของขนมปังควบคู่กัน โดยการศึกษาแบ่งการปนเปื้อนของเชื้อรา *Penicillium* spp. ออกเป็น 2 ระดับ คือ ปริมาณเชื้อที่พบทั่วไปในปริมาณต่ำ (3 log CFU/g) และในปริมาณสูง (5 log CFU/g) ทำการรมไอโดยใช้ขนมปังทั้งแผ่นที่มีขนาดเท่าๆกัน น้ำหนัก 25 กรัม ต่อแผ่น วางลงในกล่อง 4 แผ่นต่อกล่อง ทำการตรวจวัดปริมาณสปอร์ด้วยวิธี Total Plate Count

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.5.1 ผลของการรมไอเอทานอลต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปังโดยวิธีไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์

เตรียมขนมปัง ตามข้อ 3.6.4 วางขนมปังในกล่องรมไอ 2 แผ่น โดยรมไอด้วยสารที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 3.6.3.1 ตามระยะเวลาที่มีผลในการยับยั้งเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ วิเคราะห์เชื้อของวันที่ 0 1 2 และ 3 โดยนำขนมปังที่ผ่านการรมไอมาหาปริมาณเชื้อที่เหลือรอดเทียบกับตัวอย่างควบคุม ส่วนขนมปังอีกหนึ่งชุด ที่ผ่านการรมไอ นำไปบ่มต่อพร้อมกับขนมปังชุดควบคุม ที่อุณหภูมิ 30±1 °C เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสปอร์เชื้อราที่เหลือรอด และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อระหว่างการรมไอวันแรก และการรมไอแล้วนำไปบ่มอีก 2 วัน เพื่อดูว่าเชื้อราที่รมแล้วจะมีการเพิ่มจำนวนหรือลดลงเท่าใดเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อโดยนำขนมปังที่ผ่านการรมไอ ซึ่งในแต่ละแผ่นจะมีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 25 กรัม ใส่ลงในถุงตีป่นแล้วเติมสารละลายบัตเตอร์ฟิวฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (Butterfield's Phosphate-Buffered; **BAM- R**11) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ตีปั่นด้วยเครื่องตีป่น ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 นาที ทำการเจือจาง 10 เท่า (Ten fold dilution) โดยปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 9 มิลลิลิตร จากนั้นดูดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้วย Spread plate technique บ่มที่อุณหภูมิ 30±1 °C เป็นเวลา 36-48 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ตรวจนับปริมาณเชื้อรา *Penicillium* spp. เปรียบเทียบกับเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปังชุดควบคุมที่ไม่ได้รมไอ

3.6.5.2 การเพิ่มระยะเวลาการรมไอเอทานอลต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปัง โดยวิธีปรับความชื้นสัมพัทธ์

ทำการทดลองในลักษณะเดียวกับข้อ 3.6.5.1 แต่มีการเพิ่มระยะเวลาและมีการเพิ่มความชื้นสัมพัทธ์โดยเติมไอของน้ำกลั่นปลอดเชื้อเข้าไปในระบบ โดยบรรจุน้ำกลั่นปริมาตร 500 ml ในขวดแก้วปริมาตร 1 L และใช้ปั๊มพาไอเข้าไปในระบบ วัดความชื้นสัมพัทธ์ด้วย Hygrometer

3.6.6 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และทางเคมีของขนมปังที่ผ่านการรมไอโดยวิธีการปรับ และไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ภายหลังการเก็บรักษา

ศึกษาลักษณะทางกายภาพของขนมปัง ได้แก่ กลิ่น เนื้อสัมผัสและลักษณะทั่วไป โดยวิธีประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบ Five Point Hedonic Scale Test และศึกษาลักษณะทางเคมี โดยวัดค่า water activity ของขนมปัง หลังผ่านการรมไอที่อุณหภูมิห้องบรรจุขนมปังใส่ในถุงพลาสติกปลอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2 °C ตรวจดูลักษณะทางกายภาพในวันที่ 0 3 5 7 10 13 และ 15 ตามลำดับ เปรียบเทียบกับขนมปังที่ไม่ได้ผ่านการรมไอที่เป็นตัวควบคุม

3.6.7 การออกแบบการทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ทำการออกแบบการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ในขั้นตอนการรมไอสารเดี่ยว แบบ Factorials in CRD ในการรมไอผสมแบบลำดับ นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS version 17.0 จากนั้นนำค่าเฉลี่ยมาเปรียบเทียบ ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง และวิจารณ์

4.1 การศึกษาและเปรียบเทียบผลและระยะเวลาของไอเอทานอล ไอน้ำส้มสายชู และไอผสมต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในระดับห้องปฏิบัติการ

4.1.1 ระยะเวลาการรมไอเอทานอลต่อเชื้อรา *Penicillium* spp. ในจานเพาะเชื้อ PDA

4.1.1.1 ระยะเวลาการรมไอเอทานอลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในจานเพาะเชื้อ PDA

ผลการศึกษาระยะเวลาการยับยั้งสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. บนจานเพาะเชื้อที่มีความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้น 10^3 สปอร์/มิลลิลิตร โดยการรมไอเอทานอลความเข้มข้น 95% เป็นระยะเวลา 0 5 10 15 และ 20 นาที ตามลำดับ พบว่าระยะเวลาการรมไอเอทานอลและปริมาณสารมีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. โดยเมื่อระยะเวลาการรมไอเพิ่มมากขึ้นสามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ได้สูงขึ้น ซึ่งเมื่อทำการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของจานเพาะเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่ผ่านการรมไอกับชุดควบคุม (รมไอ 0 นาที) พบว่าระยะเวลาการรมไอ 15 นาที (ปริมาณเอทานอล 2.70 ± 0.43 มิลลิโมล/ลิตร) ยังพบการเจริญของสปอร์ 28.33± 1.64 โคโลนี/เพลท (การยับยั้ง 38.4%) และเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 20 นาที (ปริมาณเอทานอล 3.60 ± 0.56 มิลลิโมล/ลิตร) พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ได้อย่างรวดเร็วและสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) ดังผลแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลของระยะเวลาการรมไอเอทานอลต่อการรอดชีวิตของสปอร์เชื้อรา *Penicillium* spp. ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณเอทานอล มิลลิโมล/ลิตร	จำนวนสปอร์ที่รอดชีวิต* (Colony/plate)	การยับยั้ง (%)
0	0.00	43.67^{a} ± 1.21	0.0
5	0.93 ± 0.14	38.33^{ab} ± 2.51	16.3
10	1.84 ± 0.30	34.33^{bc} ± 3.21	25.7
15	2.70 ± 0.43	28.33^{c} ± 1.64	38.4
20	3.60 ± 0.56	ND^{d}**	100.0

***** Mean±SD ; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT; ** ND (not detected) หมายถึง ไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอทานอลมีคุณสมบัติต้านเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการเสียน้ำของเซลล์ (Dehydration effect) ส่งผลต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ (วราวุฒิ, 2538) โดยทั่วไปเมื่อเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์สัมผัสกับไอเอทานอล ไอเอทานอลจะซึมผ่านเข้าไปในชั้นไขมัน และเข้าไปทำลายชั้นไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ เมื่อเซลล์สัมผัสกับไอเอทานอลเพิ่มมากขึ้น เอทานอลจะเข้าไปทำลายส่วนประกอบต่างๆภายในเซลล์ทำให้โปรตีนตกตระกอนเสียสภาพและทำให้เซลล์ของเชื้อ *Penicillium* spp. (Segura และคณะ, 2012)

ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yuen และคณะ (1995) พบว่า รายงานการใช้ไอเอทานอลในการยับยั้งการเจริญและการงอกของสปอร์เชื้อรา โดยรมไอเอทานอล 0.61% โดยปริมาตร เป็นระยะเวลา 5 วัน สามารถชะลอการเสื่อมเสียของผลส้มที่เกิดจากเชื้อรา *P. digitatum* และ *P. itallicum* เป็นเวลา 10 และ 8 วัน ตามลำดับ

4.1.1.2 ระยะเวลาการรมไอเอทานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในจานเพาะเชื้อ PDA

ผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. บนจานเพาะเชื้อ โดยใช้ cork borer ขนาด 0.5 เซนติเมตร ตัดที่ขอบโคโลนีของเชื้อรา *Penicillium* spp. และนำมารมไอเอทานอลเป็นระยะเวลา 0 5 10 15 และ 20 นาที ตามลำดับ พบว่าไอเอทานอลให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยการรมไอเอทานอลระยะเวลา 10 นาที (ปริมาณเอทานอล 1.84 ± 0.30 มิลลิโมล/ลิตร) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ถึง 72.2% (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.82± 0.14 เซนติเมตร) การรมไอเอทานอลระยะเวลา 15 นาที (ปริมาณเอทานอล 2.70 ± 0.43 มิลลิโมล/ลิตร) สามารถยับยั้งเชื้อได้ 97.6 % (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.07 ± 0.11 เซนติเมตร) และเมื่อรมไอเอทานอลเป็นระยะเวลา 20 นาที (ปริมาณเอทานอล 3.60 ± 0.56 มิลลิโมล/ลิตร) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้สมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) ดังผลแสดงในตารางที่ 4.2

เอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดีกว่าการงอกของสปอร์ เนื่องจากสปอร์ทนต่อสภาพแวดล้อมและสารยับยั้งได้ดีกว่าเส้นใย ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบผลของระยะเวลาต่อการยับยั้งสปอร์กับการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในตารางที่ 4.1 และ 4.2 พบว่า ที่ระยะเวลาการรมไอเอทานอล 10 นาที ปริมาณสารเอทานอล 1.84 ± 0.30 มิลลิโมล/ลิตร เท่ากัน ไอเอทานอลสามารถยับยั้งสปอร์และการเจริญของเส้นใยได้ 25.7% และ 72.2% ตามลำดับ ดังแสดงในภาคผนวก ค.1 ภาพที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลของระยะเวลาในการรมไอเอทานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C) และบ่มระยะเวลา 3 วัน

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณเอทานอล มิลลิโมล/ลิตร	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี* (cm)	การยับยั้ง (%)
0	0.00	3.00^{a}± 0.28	0.0
5	0.93 ± 0.14	1.65^{b} ± 0.09	44.8
10	1.84 ± 0.30	0.82^{c}± 0.14	72.2
15	2.70 ± 0.43	0.07^{d}± 0.11	97.6
20	3.60 ± 0.56	0.00^{d}± 0.00	100.0

* Mean±SD ; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

สำหรับการติดตามค่าความชื้นสัมพัทธ์ในกล่องรมไอ พบว่า ความชื้นสัมพัทธ์ (34%) ในกล่องรมไอที่อิ่มตัวด้วยเอทานอลที่เปลี่ยนแปลงจากความชื้นสัมพัทธ์บรรยากาศทั่วไป (80-90%) ทั้งนี้อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การเจริญของสปอร์เชื้อรา *Penicillium* spp. ถูกยับยั้งได้นอกเหนือจากฤทธิ์ในการยับยั้งของไอเอทานอล ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ฐิตินันท์ (2555) รายงานการรมไอเอทานอลในผักชีสด พบว่า ความชื้นสัมพัทธ์ที่เปลี่ยนแปลงไปจากความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ส่งผลต่อการอยู่รอดของ เชื้อ *Klebsiella pneumoniae*

4.1.2 ระยะเวลาการรมไอน้ำส้มสายชูต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในจานเพาะเชื้อ PDA

4.1.2.1 ระยะเวลาการรมไอน้ำส้มสายชูต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในจานเพาะเชื้อ PDA

ผลการศึกษาระยะเวลาการยับยั้งสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. บนจานเพาะเชื้อที่มีความเข้มข้นของสปอร์เริ่มต้น 10^3 สปอร์/มิลลิลิตร โดยการรมไอน้ำส้มสายชู (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 10%) เป็นระยะเวลา 0 10 20 30 40 50 60 70 80 และ 90 นาที ตามลำดับ พบว่า ยิ่งระยะเวลาในการสัมผัสไอน้ำส้มสายชูเพิ่มมากขึ้นประสิทธิภาพในการยับยั้งสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. จะเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย ระยะเวลาการรมไอน้ำส้มสายชูให้ผลการยับยั้งเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อทำการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของจานเพาะเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่ผ่านการรมไอกับชุดควบคุม (รมไอ 0 นาที) พบว่า การรมไอน้ำส้มสายชูเป็นระยะเวลา 70 นาที ทำให้สปอร์ของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Penicillium* spp. ลดลงเหลือ 2.33 ± 1.52 โคโลนี/เพลท (การยับยั้ง 94.2%) และการรมไอน้ำส้มสายชูเป็นระยะเวลา 80 นาที ขึ้นไป ให้ผลในการยับยั้งสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) ดังผลแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลของระยะเวลาการรมไอน้ำส้มสายชูต่อการรอดชีวิตของสปอร์เชื้อรา *Penicillium* spp. ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณน้ำส้มสายชู มิลลิโมล/ลิตร	จำนวนสปอร์ที่รอดชีวิต* (Colony/plate)	การยับยั้ง (%)
0	0.00	$40.00^{a} \pm 2.00$	0.0
10	0.38 ± 0.07	$34.67^{ab} \pm 2.77$	13.3
20	0.69 ± 0.03	$31.67^{b} \pm 1.21$	20.8
30	0.97 ± 0.04	$24.33^{c} \pm 2.03$	39.2
40	1.26 ± 0.07	$13.00^{d} \pm 1.73$	67.5
50	1.53 ± 0.07	$8.67^{de} \pm 2.08$	78.3
60	1.81 ± 0.09	$5.00^{ef} \pm 1.00$	87.5
70	2.09 ± 0.08	$2.33^{ef} \pm 1.52$	94.2
80	2.32 ± 0.15	$ND^{f} \pm 0.00$	100.0
90	2.51 ± 0.07	$ND^{f} \pm 0.00$	100.0

* Mean±SD ; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT; ** ND (not detected) หมายถึง ไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เมื่อไอของน้ำส้มสายชูซึ่งมีปริมาณกรดอะซิติกความเข้มข้น 10% สัมผัสกับเชื้อรา *Penicillium* spp. กรดอะซิติกจะเข้าละลายไขมัน (lipophilic Layer) ที่อยู่ในผนังเซลล์ และแทรกซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปในเซลล์ ทำให้ค่ากรด-ด่างภายในเซลล์ลดลงส่งผลต่อการเมทาบอลิซึม ทำให้โปรตีนเสียสภาพและเซลล์จะถูกทำลายในที่สุด (Mills และคณะ, 2009; Roe และคณะ, 1998; Garbutt, 1997)

ความชื้นสัมพัทธ์ (77%) ในกล่องรมไอที่อิ่มตัวด้วยน้ำส้มสายชูที่เปลี่ยนแปลงจากความชื้นสัมพัทธ์บรรยากาศทั่วไป (80-90%) อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การเจริญของสปอร์เชื้อรา *Penicillium* spp. ถูกยับยั้งได้นอกเหนือจากฤทธิ์ในการยับยั้งของน้ำส้มสายชู แต่น้อยกว่าการยับยั้งของไอเอทานอล เนื่องจากการรมไอเอทานอลทำให้ความชื้นในกล่องรมไอเปลี่ยนแปลงจากความชื้นบรรยากาศทั่วไปลดต่ำลงเป็นอย่างมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ ภัทราพรรณ (2553) ซึ่งได้ศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis cinerea* บนผิวสตรอเบอรีสดด้วยการสเปรย์และรมไอน้ำส้มสายชูหมัก พบว่าวิธีการรมไอน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นของกรดอะซิติก 10 % เป็นเวลา 20 นาที สามารถลดการเสื่อมเสียของผลสตรอเบอร์รีสดได้ถึง 20 % เมื่อเปรียบเทียบกับสตรอเบอร์รีที่ไม่ได้ผ่านการรมไอ

4.1.2.2 ระยะเวลาการรมไอน้ำส้มสายชูต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Penicillium* spp. ในจานเพาะเชื้อ PDA

ผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. บนจานเพาะเชื้อ โดยใช้ cork borer ขนาด 0.5 เซนติเมตร ตัดที่ขอบโคโลนีของเชื้อรา *Penicillium* spp. โดยการรมไอน้ำส้มสายชูความเข้มข้นกรดอะซิติก 10% เป็นระยะเวลา 0 10 20 30 40 50 60 70 80 และ 90 นาที ตามลำดับ พบว่ายิ่งระยะเวลาในการสัมผัสไอน้ำส้มสายชูเพิ่มมากขึ้นเท่าใดประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *Penicillium* spp. จะเพิ่มมากขึ้นด้วย ระยะเวลาการรมไอน้ำส้มสายชูให้ผลการยับยั้งเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% การรมไอน้ำส้มสายชูเป็นระยะเวลา 60 นาที ทำให้ลดการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. ลดลงเหลือ 0.21± 0.19 (การยับยั้ง 93.0%) และการรมไอน้ำส้มสายชูเป็นระยะเวลา 80 นาที ขึ้นไป ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) ดังผลแสดงในตารางที่ 4.4 และแสดงในภาคผนวก ค.1 ภาพที่ 2 จากผลการทดลองจะพบว่าไอน้ำส้มสายชูสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่าการยับยั้งสปอร์และเมื่อเปรียบเทียบกับการรมไอเอทานอลพบว่า ไอเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญและยับยั้งสปอร์ได้ดีกว่าการรมไอน้ำส้มสายชู สาเหตุที่ไอเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ดีกว่าไอน้ำส้มสายชูนั้น เนื่องจากเอทานอลเป็นน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่แรงกว่าน้ำส้มสายชูซึ่งเป็นกรดอ่อนประกอบกับไออิ่มตัวเอทานอลมีความชื้นสัมพัทธ์ 34% ซึ่งต่ำกว่าไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 77% ดังนั้นความชื้นที่เปลี่ยนแปลงไปต่างจากความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Penicillium* spp. อาจส่งผลให้เชื้อปรับตัวในการอยู่รอดได้ยากกว่าสภาวะที่เหมาะสม สอดคล้องกับงานของ Krusong และคณะ (2016) ซึ่งรายงานว่าความชื้นสัมพัทธ์ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของเอทานอล โดยความชื้นสัมพัทธ์สูงจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของเอทานอลลดลง และจากผลการทดลองพบว่าระยะเวลาในการรมไอน้ำส้มสายชูที่ทำให้สามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ต้องใช้ระยะเวลาถึง 80 นาที ซึ่งใช้เวลานานเกินไปเมื่อเทียบกับการรมไอเอทานอลที่ใช้เวลาแค่ 20 นาที ดังนั้นการรมไอน้ำส้มสายชูวิธีนี้จึงไม่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ในการรมไอขนมปังในขั้นตอนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลของระยะเวลาในการรมไอน้ำส้มสายชูต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C) และบ่มระยะเวลา 3 วัน

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณน้ำส้มสายชู มิลลิโมล/ลิตร	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี* (cm)	การยับยั้ง (%)
0	0.00	$3.00^{a} \pm 0.13$	0.0
10	0.38 ± 0.07	$2.06^{b} \pm 0.20$	31.3
20	0.69 ± 0.03	$1.73^{c} \pm 0.36$	42.3
30	0.97 ± 0.04	$1.27^{d} \pm 0.15$	57.7
40	1.26 ± 0.07	$1.17^{d} \pm 0.20$	61.0
50	1.53 ± 0.07	$0.34^{e} \pm 0.22$	88.7
60	1.81 ± 0.09	$0.21^{e} \pm 0.19$	93.0
70	2.09 ± 0.08	$0.01^{e} \pm 0.00$	99.7
80	2.32 ± 0.15	$0.00^{e} \pm 0.00$	100.0
90	2.51 ± 0.07	$0.00^{e} \pm 0.00$	100.0

* Mean±SD ; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

4.1.3 ผลของระยะเวลาและลำดับการรมไอผสม (ไอเอทานอล และไอน้ำส้มสายชู) ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในจานเพาะเชื้อ PDA

วิธีการรมไอสารร่วมแบบพร้อมกันโดยปล่อยไอจากเอทานอลความเข้มข้น 95 % และไอน้ำส้มสายชูความเข้มข้นกรดอะซิติก 10% เข้าไปในกล่องรมไอจนอิ่มตัวจะมีความชื้นสัมพัทธ์ 64 % ณ อุณหภูมิ (30±2 °C) โดยที่ใช้เชื้อรา *Penicillium* spp. เริ่มต้น 10^{3} สปอร์/มิลลิลิตร ผลของการรมไอเป็นระยะเวลา 16 17 18 19 และ 20 นาที พบว่า การรมไอระยะเวลาการรมไอ 20 นาที ไม่ส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. สาเหตุเกิดจากเมื่อปล่อยไอสารทั้งสองพร้อมกันทำให้ความชื้นของไอน้ำส้มสายชูเข้าไปแทนที่ไอเอทานอลรวมถึงความเข้มข้นของเอทานอลในสภาวะไอถูกเจือจางลงประกอบกับไอเอทานอลจะมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อได้ดีที่ความชื้นสัมพัทธ์ 34% แต่การรมไอผสมทำให้ความชื้นสัมพัทธ์ในระบบเพิ่มเป็น 66% จึงสนับสนุนการเจริญของเชื้อได้มากขึ้น ทำให้เมื่อรมไอผสมของสารร่วมพร้อมกันเป็นระยะเวลา 20 นาที จึงไม่สามารถยับเชื้อการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ ดังนั้นการรมไอของสารร่วมวิธีนี้จึงไม่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ในการรมไอขนมปังในขั้นตอนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การรมไอของสารร่วม (ไอเอทานอลและไอน้ำส้มสายชู) แบบตามลำดับถูกแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ (1) การรมไอเอทานอล (ความชื้นสัมพัทธ์ 34%) ตามด้วยไอน้ำส้มสายชู (ความชื้นสัมพัทธ์ 77%) และ (2) การรมไอน้ำส้มสายชู และตามด้วยไอเอทานอล โดยใช้ไอเอทานอล 10 15 และ 20 นาที และไอน้ำส้มสายชู 10 20 30 40 50 และ 60 นาที เมื่อนำจำนวนสปอร์ที่รอดชีวิตมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้แผนการทดลองแบบ Factorial in CRD (6×3) พบว่าไอเอทานอลและไอน้ำส้มสายชูมีอิทธิพลร่วมต่อการอยู่รอดของสปอร์เชื้อรา *Penicillium* spp. และลำดับในการรมของสารก่อนหลังไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.005$) การรมไอเอทานอล 15 นาที และตามด้วยไอน้ำส้มสายชู 20 นาที และการรมไอน้ำส้มสายชู 20 นาที ตามด้วยไอเอทานอล 15 นาที ให้ผลการยับยั้งสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ 100 % และ 94.8 % ตามลำดับ การรมไอเอทานอล 10 นาที ตามด้วยไอน้ำส้มสายชู 30 นาที และการรมไอน้ำส้ม 30 นาที ตามด้วยไอเอทานอล 10 นาที ให้ผลการยับยั้งสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ 81.7 % และ 90.5 % ตามลำดับ ส่วนการรมไอเอทานอล 10 นาที ตามด้วยไอน้ำส้มสายชู 40 นาที และการรมไอน้ำส้มสายชู 40 นาที ตามด้วยไอเอทานอล 10 นาที ทั้งสองวิธีให้ผลการยับยั้งสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp ได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100 %) โดยผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.5 และ 4.6

จากผลการทดลองการใช้ไอเอทานอล 10 นาที ร่วมกับการใช้ไอน้ำส้มสายชู 40 นาที สามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้สมบูรณ์ และมีข้อได้เปรียบในการลดค่าใช้จ่าย เนื่องจากเอทานอลมีต้นทุนที่สูง แต่ระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อเมื่อร่วมทั้งหมดจะใช้เวลาถึง 50 นาที ซึ่งใช้ระยะเวลานานเกินไปเมื่อเทียบกับการรมไอเอทานอลเพียงสารเดียว 20 นาที สามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้สมบูรณ์ รวมถึงเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สภาวะความชื้นต่ำ ดังนั้นวิธีการรมไอผสมของสารร่วมจึงไม่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ในการรมไอขนมปังในขั้นตอนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลของระยะเวลาในการรมไอผสมของไอเอทานอลและตามด้วยไอน้ำส้มสายชูต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)

ระยะเวลารมไอ (นาที)		ปริมาณสารในระบบ (มิลลิโมล/ลิตร)		จำนวนสปอร์ที่รอดชีวิต* (โคโลนี/เพลท)	การยับยั้ง (%)
สาร E	สาร V	สาร E	สาร V	ลำดับ EV	
0	0	0.00	0.00	$31.00^{a} \pm 3.18$	0.0
10	10	1.59 ± 0.25	0.34 ± 0.11	$19.00^{b} \pm 2.74$	38.7
	20		0.63 ± 0.13	$17.66^{c} \pm 2.08$	43.0
	30		0.83 ± 0.18	$5.66^{e} \pm 1.08$	81.7
	40		1.05 ± 0.20	ND^{f}	100.0
	50		1.17 ± 0.30	ND^{f}	100.0
	60		1.40 ± 0.40	ND^{f}	100.0
15	10	2.37 ± 0.06	0.77 ± 0.12	$8.00^{d} \pm 2.21$	74.2
	20		0.92 ± 0.23	ND^{f}	100.0
	30		1.18 ± 0.19	ND^{f}	100.0
	40		1.34 ± 0.25	ND^{f}	100.0
	50		1.61 ± 0.38	ND^{f}	100.0
	60		1.72 ± 0.28	ND^{f}	100.0
20	10	3.17 ± 0.37	0.63 ± 0.24	ND^{f}	100.0
	20		0.84 ± 0.23	ND^{f}	100.0
	30		1.07 ± 0.24	ND^{f}	100.0
	40		1.28 ± 0.25	ND^{f}	100.0
	50		1.67 ± 0.30	ND^{f}	100.0
	60		1.16 ± 0.44	ND^{f}	100.0

* Mean±SD ; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT; ** ND (not detected) หมายถึง ไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

หมายเหตุ : อักษรย่อ E คือ ไอเอทานอล; V คือ ไอน้ำส้มสายชู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลของระยะเวลาในการรมไอผสมของไอน้ำส้มสายชูและตามด้วยไอเอทานอลต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)

ระยะเวลาการรมไอ (นาที)		ปริมาณสารในระบบ (มิลลิโมล/ลิตร)		จำนวนสปอร์ที่รอดชีวิต* (Colony/plate)	การยับยั้ง (%)
สาร V	สาร E	สาร V	สาร E	ลำดับ VE	
0	0	0.00	0.00	$31.67^{a} \pm 5.03$	0.0
10	10	0.13 ± 0.09	1.95 ± 0.01	$15.33^{b} \pm 3.05$	51.6
	15		3.05 ± 0.13	$4.33^{d} \pm 1.13$	86.3
	20		4.03 ± 0.05	ND^{f}	100.0
20	10	0.27 ± 0.20	2.04 ± 0.11	$10.00^{c} \pm 1.29$	68.4
	15		2.97 ± 0.09	$1.66^{e} \pm 0.88$	94.8
	20		3.84 ± 0.00	ND^{f}	100.0
30	10	0.56 ± 0.03	2.03 ± 0.01	$3.00^{e} \pm 0.19$	90.5
	15		2.93 ± 0.04	ND^{f}	100.0
	20		3.78 ± 0.04	ND^{f}	100.0
40	10	0.63 ± 0.03	2.16 ± 0.11	ND^{f}	100.0
	15		3.08 ± 0.16	ND^{f}	100.0
	20		3.97 ± 0.13	ND^{f}	100.0
50	10	0.91 ± 0.16	2.06 ± 0.63	ND^{f}	100.0
	15		3.07 ± 0.37	ND^{f}	100.0
	20		3.86 ± 0.28	ND^{f}	100.0
60	10	1.06 ± 0.18	1.65 ± 0.54	ND^{f}	100.0
	15		2.50 ± 0.57	ND^{f}	100.0
	20		3.05 ± 0.99	ND^{f}	100.0

* Mean±SD ; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT; ** ND (not detected) หมายถึง ไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

หมายเหตุ : อักษรย่อ E คือ ไอเอทานอล; V คือ ไอน้ำส้มสายชู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาระยะเวลาของสารร่วมแบบตามลำดับต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยใช้ระยะเวลาและสภาวะเดียวกันกับการศึกษาระยะเวลาของสารร่วมต่อการยับยั้งสปอร์ของเชื้อรา พบว่าไอเอทานอลและไอน้ำส้มสายชูมีอิทธิพลร่วมต่อการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. และลำดับในการรมของสารก่อนหลังไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

เอทานอลและน้ำส้มสายชูต่างมีฤทธิ์ในการทำลายเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ทำให้โปรตีนเสียสภาพและยังทำให้เซลล์หยุดการเจริญและตายในที่สุด การรมไอเอทานอล 10 นาที ตามด้วยไอน้ำส้มสายชู 30 นาที และการรมไอน้ำส้มสายชู 30 นาที ตามด้วยไอเอทานอล 10 นาที ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ 96.7 % และ 95.0 % ตามลำดับ ส่วนการรมไอเอทานอล 10 นาที ตามด้วยไอน้ำส้ม 40 นาที และ การรมไอน้ำส้ม 40 นาที ตามด้วยไอเอทานอล 10 นาที ทั้งสองวิธีให้ผลการยับยั้งเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) ให้ผลเหมือนกันกับระยะเวลาการรมไอในการยับยั้งสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. แต่การรมไอผสมระหว่างไอเอทานอลและไอน้ำส้มสายชูจะมีประสิทธิภาพของการยับยั้งการเจริญของเส้นใยที่ดีกว่าการยับยั้งสปอร์ ดังแสดงผลในตารางที่ 4.7 และ 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ผลของระยะเวลาในการรมไอผสมของไอเอทานอลและตามด้วยไอน้ำส้มสายชูต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)

ระยะเวลารมไอ (นาที)		ปริมาณสารในระบบ (มิลลิโมล/ลิตร)		เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี* (เซนติเมตร)	การยับยั้ง (%)
สาร E	สาร V	สาร E	สาร V	ลำดับ EV	
0	0	0.00	0.00	$3.30^{a} \pm 0.09$	0.0
10	10	1.59 ± 0.25	0.34 ± 0.11	$0.55^{b} \pm 0.12$	83.3
	20		0.63 ± 0.13	$0.47^{c} \pm 0.13$	85.8
	30		0.83 ± 0.18	$0.10^{d} \pm 0.11$	96.7
	40		1.05 ± 0.20	0.00^{e}	100.0
	50		1.17 ± 0.30	0.00^{e}	100.0
	60		1.40 ± 0.40	0.00^{e}	100.0
15	10	2.37 ± 0.06	0.77 ± 0.12	0.00^{e}	100.0
	20		0.92 ± 0.23	0.00^{e}	100.0
	30		1.18 ± 0.19	0.00^{e}	100.0
	40		1.34 ± 0.25	0.00^{e}	100.0
	50		1.61 ± 0.38	0.00^{e}	100.0
	60		1.72 ± 0.28	0.00^{e}	100.0
20	10	3.17 ± 0.37	0.63 ± 0.24	0.00^{e}	100.0
	20		0.84 ± 0.23	0.00^{e}	100.0
	30		1.07 ± 0.24	0.00^{e}	100.0
	40		1.28 ± 0.25	0.00^{e}	100.0
	50		1.67 ± 0.30	0.00^{e}	100.0
	60		1.16 ± 0.44	0.00^{e}	100.0

***** Mean±SD ; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

หมายเหตุ : อักษรย่อ E คือ ไอเอทานอล; V คือ ไอน้ำส้มสายชู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ผลของระยะเวลาในการรมไอผสมของไอน้ำส้มสายชูและตามด้วยไอเอทานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)

ระยะเวลาการรมไอ (นาที)		ปริมาณสารในระบบ (มิลลิโมล/ลิตร)		เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี* (เซนติเมตร)	การยับยั้ง (%)
สาร V	สาร E	สาร V	สาร E	ลำดับ VE	
0	0	0.00	0.00	$3.37^{a} \pm 0.09$	0.0
10	10	0.13 ± 0.09	1.95 ± 0.01	$0.47^{b} \pm 0.28$	86.1
	15		3.05 ± 0.13	$0.07^{e} \pm 0.08$	97.9
	20		4.03 ± 0.05	0.00^{e}	100.0
20	10	0.27 ± 0.20	2.04 ± 0.11	$0.34^{c} \pm 0.13$	89.9
	15		2.97 ± 0.09	$0.04^{e} \pm 04$	98.8
	20		3.84 ± 0.00	0.00^{e}	100.0
30	10	0.56 ± 0.03	2.03 ± 0.01	$0.17^{d} \pm 0.04$	95.0
	15		2.93 ± 0.04	0.00^{e}	100.0
	20		3.78 ± 0.04	0.00^{e}	100.0
40	10	0.63 ± 0.03	2.16 ± 0.11	0.00^{e}	100.0
	15		3.08 ± 0.16	0.00^{e}	100.0
	20		3.97 ± 0.13	0.00^{e}	100.0
50	10	0.91 ± 0.16	2.06 ± 0.63	0.00^{e}	100.0
	15		3.07 ± 0.37	0.00^{e}	100.0
	20		3.86 ± 0.28	0.00^{e}	100.0
60	10	1.06 ± 0.18	1.65 ± 0.54	0.00^{e}	100.0
	15		2.50 ± 0.57	0.00^{e}	100.0
	20		3.05 ± 0.99	0.00^{e}	100.0

* Mean±SD ; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

หมายเหตุ : อักษรย่อ E คือ ไอเอทานอล; V คือ ไอน้ำส้มสายชู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของความชื้นในระหว่างการรมไอต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปัง

4.2.1 ผลของการรมไอเอทานอลต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. โดยวิธีไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์

ขนมปังที่ถ่ายเชื้อรา *Penicillium* spp. ในระดับทั่วไป (3 log CFU/g) และบ่มเป็นเวลา 0 1 2 และ 3 วัน นำไปผ่านการรมไอที่เหมาะสมจากการทดลองก่อนหน้า คือ รมไอเอทานอลระยะเวลา 20 นาที พบว่าขนมปังที่ถ่ายเชื้อราเป็นเวลา 0 1 2 และ 3 วัน ที่ผ่านการรมไอเมื่อเทียบกับชุดควบคุมไม่รมไอเอทานอล พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ 16.6 12.7 10.5 และ 6.2 % ตามลำดับ และเมื่อนำขนมปังที่ผ่านการรมไอเอทานอลไปบ่มที่ตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30±2 °C เป็นระยะเวลา 2 วัน เทียบกับชุดควบคุม พบว่า ขนมปังที่ถ่ายเชื้อราเป็นเวลา 0 1 2 และ 3 วัน ที่ผ่านการรมไอและนำไปบ่มไอเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ 73.5 72.3 38.8 และ 14.77 % ตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้นี้พบว่า เมื่อเชื้อราที่เจริญในขนมปังเป็นเวลานานขึ้นจะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราของไอเอทานอลลดลง เนื่องจากเชื้อมีการสร้างสปอร์เส้นใยเพิ่มจำนวนสูงขึ้นทำให้มีความแข็งแรงและทนต่อสภาพแวดล้อมและสารยับยั้งได้ดีกว่าเชื้อราที่เจริญในวันเริ่มต้น ดังแสดงผลในตางรางที่ 4.9 นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อรมไอขนมปังแล้วนำไปบ่มต่อ เชื้อราจะไม่เพิ่มจำนวนแต่มีแนวโน้มที่ลดลงเมื่อเทียบกับขนมปังที่ผ่านการรมไอในวันเริ่มต้น ขนมปังอายุ 2 วัน มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6.53 log (CFU/g) เมื่อผ่านการรมไอเอทานอลแล้วนำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 30±1 °C เป็นระเวลา 2 วัน พบปริมาณเชื้อในขนมปัง 4.75 log (CFU/g) ซึ่งไม่เพิ่มจำนวนและลดลงจากเดิม 1 log CFU/g

เชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปังเมื่อสัมผัสกับไอเอทานอลเป็นเวลา 20 นาที สปอร์และเส้นใยของเชื้อราบางส่วนจะถูกไอเอทานอลทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้โปรตีนในเซลล์เสียสภาพและยังทำให้กระบวนการเมทาบอลิซึมหยุดทำงาน แต่เมื่อเซลล์อยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญ สปอร์ของเชื้อราบางส่วนก็จะกลับมางอกได้อีกครั้ง ดังสปอร์ของเชื้อราในขนมปังที่ผ่านการรมไอในวันเริ่มต้น พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้น้อย เมื่อเทียบกับขนมปังที่รมไอแล้วบ่ม 2 วัน ประกอบกับไอเอทานอลแทรกแซงเข้าไปในเนื้อขนมปังที่มีลักษณะเป็นรูพรุน ทำให้สปอร์และเส้นใยของเชื้อรา *Penicillium* spp. สัมผัสกับไอเอทานอลได้นานขึ้นในระยะเวลาการบ่ม 2 วัน จึงทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้สูงกว่าการรมไอขนมปังในวันเริ่มต้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dantigny และคณะ (2005) ได้ทำการรมไอเอทานอลความเข้มข้น 4-6% โดยปริมาตร ในการยับยั้งการงอกของเชื้อรา *P. chrysogenum* พบว่าสามารถยับยั้งการของเชื้อรา *P. chrysogenum* ได้ถึง 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 25 °C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ผลของระยะเวลาในการรมไอเอทานอลเป็นระยะเวลา 20 นาที ต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปังที่มีความเข้มข้นของเชื้อในปริมาณต่ำ (ความเข้มข้น 10^3 CFU/g) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)

อายุเชื้อ (วัน)	จำนวนเชื้อ *Penicillium* spp. (log CFU/g)					
	Control* (0 วัน)	เอทานอล* (0 วัน)	การยับยั้ง (%)	Control* (หลังบ่ม 2 วัน)	เอทานอล* (หลังบ่ม 2 วัน)	การยับยั้ง (%)
0	$2.04^{Ba} \pm 0.08$	$1.70^{Bb} \pm 0.06$	16.6	$6.60^{Aa} \pm 0.07$	$1.75^{Ab} \pm 0.02$	73.5
1	$1.66^{Aa} \pm 0.08$	$1.45^{Ab} \pm 0.10$	12.7	$6.87^{Ba} \pm 0.03$	$1.90^{Bb} \pm 0.04$	72.3
2	$6.53^{Ca} \pm 0.06$	$5.88^{Cb} \pm 0.07$	10.5	$7.73^{Ca} \pm 0.05$	$4.75^{Cb} \pm 0.20$	38.4
3	$7.85^{Da} \pm 0.09$	$7.38^{Db} \pm 0.04$	6.2	$7.92^{Da} \pm 0.03$	$6.75^{Db} \pm 0.11$	14.7

* Mean±SD ; ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันตามแนวตั้งคือผลของอายุเชื้อและตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันตามแนวนอนคือผลของไอเอทานอล หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

ขนมปังที่ถ่ายเชื้อรา *Penicillium* spp. ในระดับสูง (5 log CFU/g) เป็นเวลา 0 1 2 และ 3 วัน รมไอเอทานอลระยะเวลา 20 นาที พบว่า ขนมปังที่ถ่ายเชื้อเป็นเวลา 0 1 2 และ 3 วัน ที่ผ่านการรมไอเมื่อเทียบกับชุดควบคุม พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ 11.4 30.2 7.5 และ 5.1 % ตามลำดับ และเมื่อนำขนมปังที่ผ่านการรมไอเอทานอลไปบ่มที่ตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30±1 °C เป็นระเวลา 2 วัน เทียบกับชุดควบคุม พบว่า ขนมปังอายุเชื้อ 0 1 2 และ 3 วันที่ผ่านการรมไอและนำไปบ่มนั้น ไอเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ 73.6 70.5 28.2 และ 10.8 % ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.10 และแสดงในภาคผนวก ค.2 ภาพที่ 3 จากผลการทดลองการรมไอขนมปังที่มีปริมาณความเข้มข้นของเชื้อสูงพบว่าไอเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อลดลงเมื่อเทียบกับประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อในขนมปังที่มีปริมาณความเข้มข้นต่ำหรือในระดับทั่วไป เนื่องจากการถ่ายเชื้อในปริมาณต่ำทำให้มีปริมาณของสปอร์น้อยกว่าและจะเจริญบนผิวหน้าของขนมปังได้ช้ากว่า จึงเป็นสาเหตุให้ไอเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อราในปริมาณการปนเปื้อนที่ต่ำได้ดีกว่าการปนเปื้อนของเชื้อในปริมาณสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ผลของระยะเวลาในการรมไอเอทานอลเป็นระยะเวลา 20 นาที ต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปังที่มีความเข้มข้นของเชื้อในปริมาณสูง (ความเข้มข้น 10^5 CFU/g) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)

อายุเชื้อ (วัน)	จำนวนเชื้อ *Penicillium* spp. (log CFU/g)					
	Control* (0 วัน)	เอทานอล* (0 วัน)	การยับยั้ง (%)	Control* (หลังบ่ม 2 วัน)	เอทานอล* (หลังบ่ม 2 วัน)	การยับยั้ง (%)
0	$3.85^{Ba} \pm 0.03$	$3.41^{Bb} \pm 0.08$	11.4	$6.88^{Aa} \pm 0.02$	$1.81^{Ab} \pm 0.25$	73.6
1	$3.27^{Aa} \pm 0.15$	$2.26^{Ab} \pm 0.30$	30.2	$7.67^{Ba} \pm 0.04$	$2.26^{Bb} \pm 0.26$	70.5
2	$7.22^{Ca} \pm 0.07$	$6.67^{Cb} \pm 0.03$	7.5	$7.74^{BCa} \pm 0.08$	$5.55^{Cb} \pm 0.07$	28.2
3	$7.63^{Da} \pm 0.04$	$7.24^{Db} \pm 0.07$	5.1	$7.81^{Ca} \pm 0.08$	$6.96^{Db} \pm 0.05$	10.8

* Mean±SD ; ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันตามแนวตั้งคือผลของอายุเชื้อและตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันตามแนวนอนคือผลของไอเอทานอล หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

4.2.2 การเพิ่มระยะเวลาการรมไอเอทานอลต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปัง โดยวิธีปรับความชื้นสัมพัทธ์

ขนมปังที่ถ่ายเชื้อรา *Penicillium* spp. ในระดับทั่วไป (3 log CFU/g) เป็นเวลา 0 1 2 และ 3 วัน รมไอเอทานอลระยะเวลา 20 นาที ปรับความชื้นโดยรมไอน้ำกลั่นปลอดเชื้อ เป็นระยะเวลา 20 นาที พร้อมกันกับการรมไอเอทานอล พบว่าขนมปังที่ถ่ายเชื้อราเป็นเวลา 0 1 2 และ 3 วัน ที่ผ่านการรมไอเมื่อเทียบกับชุดควบคุม สามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ 9.5 17.3 8.4 และ 2.2 % ตามลำดับ และเมื่อนำขนมปังที่ผ่านการรมไอเอทานอลแบบปรับความชื้นไปบ่มที่ตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30±1 °C เป็นระเวลา 2 วัน เทียบกับชุดควบคุม พบว่า ขนมปังที่ถ่ายเชื้อราเป็นเวลา 0 1 2 และ 3 วันที่ผ่านการรมไอแบบปรับความชื้นแล้วนำไปบ่ม สามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ 69.1 68.0 21.1 และ 10.9 % ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าเมื่ออายุของเชื้อราที่เจริญในขนมปังเพิ่มมากขึ้นจะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของไอเอทานอลลดลง ดังแสดงผลในตางรางที่ 4.11

ขนมปังที่ถ่ายเชื้อรา *Penicillium* spp. ในระดับสูง (5 log CFU/g) ที่ถ่ายเชื้อราเป็นเวลา 0 1 2 และ 3 วัน รมไอเอทานอลระยะเวลา 20 นาที ปรับความชื้นโดยการรมไอน้ำกลั่นปลอดเชื้อ เป็นระยะเวลา 20 นาที พร้อมกันกับการรมไอเอทานอล พบว่าขนมปังที่ถ่ายเชื้อเป็นเวลา 0 1 2 และ 3 วัน ที่ผ่านการรมไอแบบปรับความชื้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุม พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ 0.4 5.0 3.9 และ 3.5 % ตามลำดับ และเมื่อนำขนมปังที่ผ่านการรมไอแบบปรับความชื้นไปบ่มที่ตู้บ่มที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิ 30±2 °C เป็นระเวลา 2 วัน เทียบกับชุดควบคุม พบว่า ขนมปังที่ถ่ายเชื้อราปีนเวลา 0 1 2 และ 3 วันที่ผ่านการรมไอและนำไปบ่ม การรมไอแบบปรับความชื้นสามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ 56.4 70.4 21.1 และ 10.9 % ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.12 จากผลการทดลองยังพบว่าเมื่อรมไอเอทานอลโดยวิธีปรับความชื้นสัมพัทธ์ทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับการรมไอเอทานอลแบบไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ ในวันเริ่มต้น ที่ระดับการปนเปื้อนทั่วไป (จาก 16.6 12.7 10.5 และ 6.2 % ตามลำดับ จากตารางที่ 4.9 เป็น 9.5 17.3 8.4 และ 2.2 % ตามลำดับ ในตารางที่ 4.11) และที่ระดับการปนเปื้อนของเชื้อสูง (จาก 11.4 30.2 7.5 และ 5.1 % ตามลำดับ จากตารางที่ 4.10 เป็น 0.4 5.0 3.9 และ 3.5% ตามลำดับ ในตารางที่ 4.12) สาเหตุเกิดจากการรมรมไอเอทานอลแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์ทำให้ประสิทธิภาพของไอเอทานอลลดลง เนื่องจากไอเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ (34%) แต่การรมไอแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์มีความชื้นในระบบสูงมาก (85%) รวมทั้งไอน้ำที่เติมลงไปในระบบยังไปเจือจางไอเอทานอลและเข้าไปแทนที่สารเอทานอล ทำให้ไอเอทานอลเข้าไปในระบบได้น้อยลง ดังนั้นในการรมไอเอทานอลแบบปรับความชื้นจึงเป็นต้องเพิ่มระยะเวลาการรมไอให้มากขึ้นเพื่อให้ไอเอทานอลได้เข้าในระบบได้มากขึ้นและเพิ่มระยะเวลาในการสัมผัสเชื้อให้มากขึ้นเนื่องจากไอเอทานอลถูกเจือจางด้วยน้ำให้มีความเข้มข้นต่ำลง

ตารางที่ 4.11 ผลของระยะเวลาในการรมไอเอทานอลและไอน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 20 นาที ต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปังที่มีความเข้มข้นของเชื้อในปริมาณต่ำ (ความเข้มข้น 10^3 CFU/g) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)

อายุเชื้อ (วัน)	จำนวนเชื้อ *Penicillium* spp. log (CFU/g)					
	Control* (0 วัน)	เอทานอล* (0 วัน)	การยับยั้ง (%)	Control* (หลังบ่ม 2 วัน)	เอทานอล* (หลังบ่ม 2 วัน)	การยับยั้ง (%)
0	$1.78^{Ba} \pm 0.16$	$1.60^{Bb} \pm 0.11$	9.5	$5.79^{Aa} \pm 0.10$	$1.79^{Ab} \pm 0.12$	69.1
1	$1.57^{Aa} \pm 0.16$	$1.31^{Ab} \pm 0.07$	17.3	$6.85^{Ba} \pm 0.17$	$2.19^{Bb} \pm 0.15$	68.0
2	$6.73^{Ca} \pm 0.13$	$6.16^{Cb} \pm 0.12$	8.4	$7.52^{Ca} \pm 0.16$	$5.93^{Cb} \pm 0.19$	21.1
3	$7.66^{Da} \pm 0.24$	$7.49^{Db} \pm 0.07$	2.2	$7.97^{Da} \pm 0.05$	$7.10^{Db} \pm 0.21$	10.9

***** Mean±SD ; ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันตามแนวตั้งคือผลของอายุเชื้อและตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันตามแนวนอนคือผลของไอเอทานอล หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

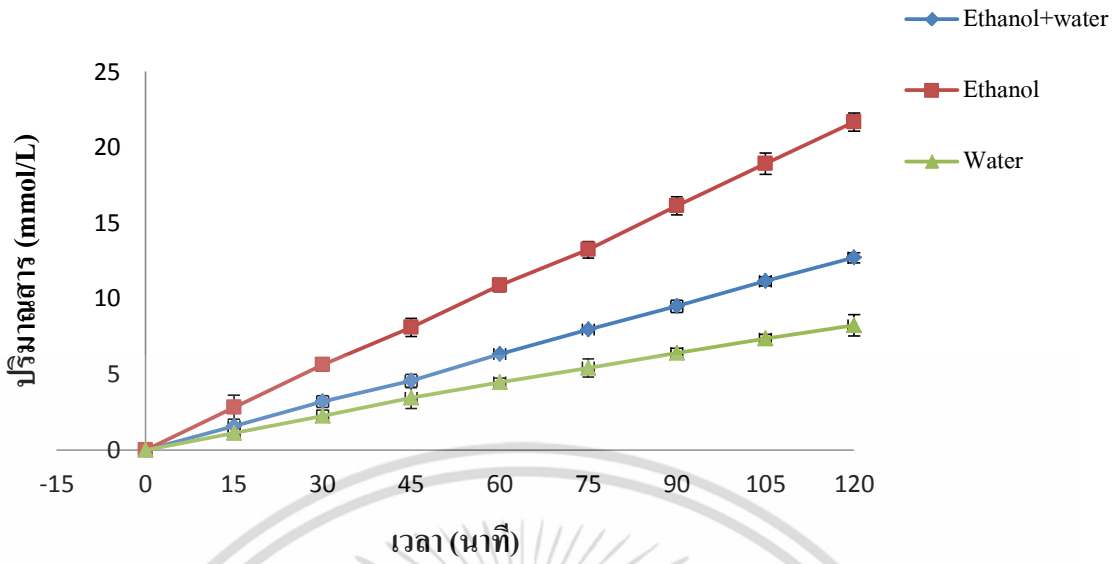
ตารางที่ 4.12 ผลของระยะเวลาในการรมไอเอทานอลและไอน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 20 นาที ต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปังที่มีความเข้มข้นของเชื้อในปริมาณสูง (ความเข้มข้น 10^5 CFU/g) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)

อายุเชื้อ (วัน)	จำนวนเชื้อ *Penicillium* spp. log (CFU/g)					
	Control * (0 วัน)	เอทานอล* (0 วัน)	การยับยั้ง (%)	Control* (หลังบ่ม 2 วัน)	เอทานอล* (หลังบ่ม 2 วัน)	การยับยั้ง (%)
0	$3.45^{Ba} \pm 0.11$	$3.43^{Bb} \pm 0.12$	0.4	$7.14^{Aa} \pm 0.13$	$3.10^{Bb} \pm 0.16$	56.4
1	$2.59^{Aa} \pm 0.13$	$2.46^{Ab} \pm 0.18$	5.0	$7.47^{ABa} \pm 0.20$	$2.21^{Ab} \pm 0.05$	70.4
2	$7.19^{Ca} \pm 0.11$	$6.91^{Cb} \pm 0.18$	3.9	$7.87^{BCa} \pm 0.06$	$6.99^{Cb} \pm 0.16$	11.1
3	$7.77^{Da} \pm 0.18$	$7.49^{Db} \pm 0.03$	3.5	$8.17^{Ca} \pm 0.12$	$7.69^{Db} \pm 0.18$	5.8

* Mean±SD ; ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันตามแนวตั้งคือผลของอายุเชื้อและตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันตามแนวนอนคือผลของไอเอทานอล หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

การหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการรมไอแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์ทำโดยเปรียบเทียบกับการรมไอเอทานอลแบบไม่ปรับความชื้น ดังแสดงในภาพที่ 4.1 พบว่าการรมไอเอทานอล 20 นาที มีปริมาณเนื้อสารเอทานอลเข้ามาในระบบ 3.60 ± 0.56 มิลลิโมล/ลิตร ส่วนการรมไอเอทานอลแบบปรับความชื้น 20 นาที มีปริมาณเนื้อสารเอทานอลเข้ามาในระบบ 2.14 ± 0.16 มิลลิโมล/ลิตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการรมไอเอทานอลแบบปรับความชื้นทำให้ปริมาณสารเข้าในระบบน้อยลง จึงส่งผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ ดังนั้นระยะเวลาการรมไอแบบปรับความชื้นที่ทำให้ไอเอทานอลมีปริมาณสารเข้าในระบบเท่ากับการรมไอแบบไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ คือ 35 นาที ซึ่งจะนำระยะเวลาที่ได้ไปใช้ในการทดลองการปรับความชื้นสัมพัทธ์ในขนมปังในขั้นตอนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ปริมาณสารเอทานอลที่เข้าไปในระบบแบบมีไอน้ำและไม่มีไอน้ำ*สัญลักษณ์ Ethanol+water คือ ปริมาณเอทานอลแบบปรับความชื้น; Ethanol คือ ปริมาณเอทานอลแบบไม่ปรับความชื้น และ Water คือ ปริมาณน้ำ

จากการทดลองนำระยะเวลาที่เหมาะสมจากการทดลองก่อนหน้าไปใช้ในการรมไอเอทานอลแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์ โดยใช้ระยะเวลาในการรมไอ 35 นาที พบว่าการรมไอแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์ที่ระยะเวลา 35 นาที ให้ผลการยับยั้งเชื้อ *Penicillium* spp. ได้ดีกว่าการรมไอเอทานอลแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์ที่ระยะเวลา 20 นาที โดยให้ผลการยับยั้งที่ดีกว่าทั้งในการปนเปื้อนของเชื้อในปริมาณต่ำและปริมาณสูง แต่ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อน้อยกว่าการรมไอเอทานอลแบบไม่ปรับความชื้น ผลแสดงในตารางที่ 4.13 และ 4.14

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Krusong และคณะ (2016) ทำการเปรียบเทียบปริมาณสารที่เข้าไปในระบบ พบว่าไอเอทานอลเมื่อผ่านการรมไอแบบมีความชื้นสัมพัทธ์จะมีปริมาณสารเอทานอลเข้าไปในระบบน้อยกว่าการรมไอเอทานอลแบบไม่ปรับความชื้น เนื่องจากการรมไอเอทานอลพร้อมกับไอน้ำจะทำให้อากาศภายในกล่องรมไอมีความดันไอน้ำสูงและความดันไอน้ำจะพาให้ความชื้นสัมพัทธ์ภายในกล่องเพิ่มสูงขึ้น จึงทำให้เอทานอลมีความดันไอต่ำและทำให้สารเข้าไปในกล่องรมไอได้น้อยลง เป็นสาเหตุให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ต่ำลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 ผลของระยะเวลาในการรมไอเอทานอลและไอน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 35 นาที ต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปังที่มีความเข้มข้นของเชื้อในปริมาณต่ำ (ความเข้มข้น 10^3 CFU/g) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)

อายุเชื้อ (วัน)	เชื้อ *Penicillium* spp. log (CFU/g)					
	Control* (0 วัน)	เอทานอล* (0 วัน)	การยับยั้ง (%)	Control* (หลังบ่ม 2 วัน)	เอทานอล* (หลังบ่ม 2 วัน)	การยับยั้ง (%)
0	$1.67^{Aa} \pm 0.15$	$1.41^{Aa} \pm 0.18$	15.1	$6.12^{Aa} \pm 0.12$	$1.68^{Ab} \pm 0.20$	72.5
1	$1.53^{Aa} \pm 0.10$	$1.32^{Aa} \pm 0.08$	13.2	$6.87^{ABa} \pm 0.19$	$1.94^{Bb} \pm 0.05$	71.7
2	$6.16^{Bb} \pm 0.13$	$5.63^{Ba} \pm 0.11$	8.5	$7.37^{BCa} \pm 0.15$	$4.84^{Cb} \pm 0.21$	33.7
3	$7.38^{Ca} \pm 0.03$	$6.96^{Ca} \pm 0.26$	5.6	$7.74^{Ca} \pm 0.18$	$6.89^{Db} \pm 0.18$	11.0

* Mean±SD ; ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันตามแนวตั้งคือผลของอายุเชื้อและตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันตามแนวนอนคือผลของไอเอทานอล หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

ตารางที่ 4.14 ผลของระยะเวลาในการรมไอเอทานอลและไอน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 35 นาที ต่อการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปังที่มีความเข้มข้นของเชื้อในปริมาณสูง (ความเข้มข้น 10^5 CFU/g) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)

อายุเชื้อ (วัน)	เชื้อ *Penicillium* spp. (log CFU/g)					
	Control* (0 วัน)	เอทานอล* (0 วัน)	การยับยั้ง* (%)	Control* (หลังบ่ม 2 วัน)	เอทานอล* (หลังบ่ม 2 วัน)	การยับยั้ง (%)
0	$3.13^{Ba} \pm 0.21$	$2.94^{Bb} \pm 0.13$	6.0	$6.85^{Aa} \pm 0.11$	$2.85^{Bb} \pm 0.30$	78.7
1	$2.45^{Aa} \pm 0.14$	$2.35^{Ab} \pm 0.15$	3.8	$7.39^{Ba} \pm 0.27$	$1.74^{Ab} \pm 0.14$	74.7
2	$6.93^{Ca} \pm 0.16$	$6.69^{Cb} \pm 0.19$	3.4	$7.72^{Ca} \pm 0.03$	$6.28^{Cb} \pm 0.13$	21.1
3	$7.35^{Da} \pm 0.23$	$7.13^{Db} \pm 0.17$	3.0	$8.03^{Da} \pm 0.11$	$7.01^{Db} \pm 0.06$	10.9

* Mean±SD ; ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันตามแนวตั้งคือผลของอายุเชื้อและตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันตามแนวนอนคือผลของไอเอทานอล หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

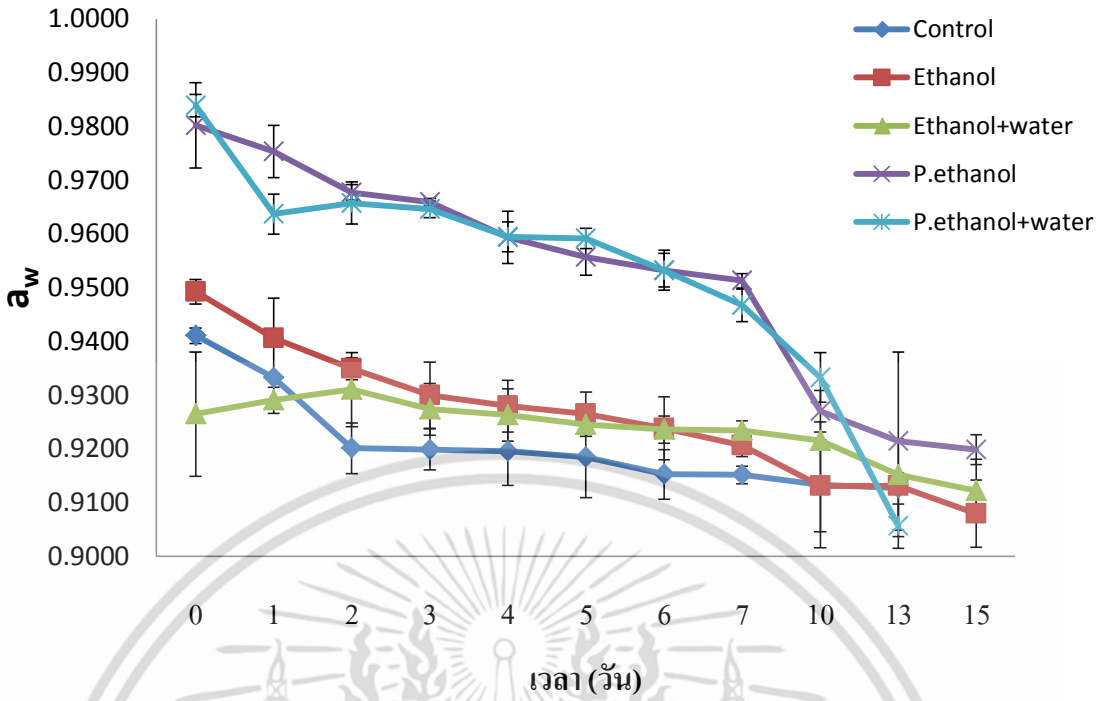
4.3 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และทางเคมีของขนมปังที่ผ่านการรมไอเอทานอลโดยวิธีการปรับ และไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

4.3.1 การหาปริมาณน้ำในขนมปังโดยการวัดค่า a_w เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของขนมปังที่ผ่านการรมไอโดยวิธีการปรับ และไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ภายหลังการเก็บรักษา

ผลการศึกษาการรมไอเอทานอลแบบปรับและไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ โดยทำการศึกษาในขนมปัง 5 ตัวอย่าง คือ ขนมปังไม่ถ่ายเชื้อรา *Penicillium* spp. ไม่รมไอ (Control, C) ขนมปังรมไอเอทานอลแบบไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์และไม่ถ่ายเชื้อรา (Ethanol, E) ขนมปังรมไอเอทานอลแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์ไม่ถ่ายเชื้อรา (Ethanol + Water, EW) ขนมปังลงเชื้อรมไอเอทานอลแบบไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ (*Penicillium* spp. + Ethanol, PE) และขนมปังลงเชื้อรมไอเอทานอลแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์ (*Penicillium* spp. + Ethanol + Water, PEW) ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำในขนมปังเป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่าในวันที่ 0 ขนมปังแต่ละตัวอย่างมีค่า a_w 0.94 0.94 0.93 0.98 และ 0.98 ตามลำดับ วันที่ 3 มีค่า a_w 0.92 0.93 0.93 0.96 และ 0.96 ตามลำดับ วันที่ 5 มีค่า a_w 0.92 0.93 0.93 0.96 และ 0.96 ตามลำดับ และวันที่ 7 มีค่า a_w 0.92 0.92 0.92 0.95 และ 0.95 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.1 เมื่อเปรียบเทียบขนมปังที่ปรับและไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ พบว่ามีค่า a_w ไม่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบระหว่าง E กับ WE และ PE กับ PEW อีกทั้งยังพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นค่า a_w มีแนมโน้มที่ลดลงอย่างช้าๆ เมื่อเปรียบเทียบ E และ EW กับชุดควบคุม (C) ซึ่งมีค่า a_w ไม่แตกต่างกัน

โดยทั่วไปขนมปังมีความชื้น 38 – 42 % ดังนั้นเมื่อรมไอเอทานอลที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 34% จึงไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า a_w ของขนมปัง ส่วนการรมไอเอทานอลแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์นั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อลดความรุนแรงของเอทานอลเพื่อไม่ให้ส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพของขนมปัง แต่จากการทดลองพบว่าไอเอทานอลเพียงสารเดียวไม่ได้ส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพของขนมปังในด้านเนื้อสัมผัสขนมปังไม่ได้ทำให้ขนมปังแข็งกระด้างหรือเกิดการสูญเสียน้ำ รวมทั้งยังพบว่าการรมไอเอทาออลแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์ไม่ได้ส่งต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีและกายภาพของขนมปังและยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ต่ำกว่าการรมไอเอทานอลแบบไม่ปรับความชื้น ดังนั้นการรมไอขนมปังแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์จึงไม่ถูกพิจารณาในการนำไปประยุกต์ใช้ในขั้นตอนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่า Water activity (a_w) ของขนมปังที่ผ่านการรมไอโดยวิธีการปรับและไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C) *สัญลักษณ์ Control คือ ชุดควบคุม; Ethanol คือ การรมไอเอทานอลแบบไม่ปรับความชื้น; Ethanol + Water คือ การรมไอเอทานอลแบบปรับความชื้น; P.+ Ethanol คือ ขนมปังลงเชื้อรมไอเอทานอลแบบไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ และ P.+ Ethanol + Water คือ ขนมปังลงเชื้อรมไอเอทานอลแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์

4.3.2 ผลการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของขนมปัง โดยวิธีประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบ Hedonic Scale Test

ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างขนมปัง 2 ตัวอย่าง ได้แก่ ขนมปังแผ่นทั่วไป และขนมปังทานมกับโอวัลติน ที่ผ่านการรมไอเอทานอล 20 นาที โดยไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ และทำการเปรียบเทียบกับชุดควบคุมขนมปังที่ไม่ได้ผ่านการรมไอเอทานอล พบว่า ในตัวอย่างขนมปังแผ่นทั่วไปที่ผ่านการรมไอมีกลิ่นและเนื้อสัมผัสแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ส่วนรสชาติและความชอบโดยรวมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และผลของตัวอย่างขนมปังทานมโอวัลวัลตินที่ผ่านการรมไอเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าคุณลักษณะของ กลิ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงผลในตารางที่ 4.15

ตัวอย่างขนมปังที่ผ่านการรมไอเอทานอลพบว่ามีกลิ่นของเอทานอลตกค้างอยู่ในแผ่นขนมปังเล็กน้อยและเนื้อสัมผัสของขนมปังเมื่อผ่านการรมไอจะมีเนื้อสัมผัสที่นุ่มกว่าขนมปังที่ไม่ผ่านการรมไอ ส่วนตัวอย่างขนมปังที่ทานมโอวัลตินผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ เนื่องจากมีกลิ่นและรสชาติความหวานหอมของนมโอวัลตินทำให้กลบกลิ่นเอทานอลจึงเป็นสาเหตุให้ผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างของขนมปังที่ผ่านการรมไอเอทานอลได้

ตารางที่ 4.15 ผลของการรมไอเอทานอลต่อการยอมรับของผู้บริโภค (จำนวนผู้ทดสอบ 100 คน) เมื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดสอบ ระดับความชอบ วิธี 5 points hedonic scale ใช้ขนมปังที่ผ่านการรมไอเอทานอลในวันเริ่มต้น

คุณลักษณะ	ขนมปังแผ่นธรรมดา		ขนมปังแผ่นทานมโอวัลติน	
	ไม่รมไอ	รมไอ	ไม่รมไอ	รมไอ
กลิ่นขนมปัง	$3.97^{a} \pm 0.89$	$3.59^{b} \pm 0.94$	$4.31^{a} \pm 0.80$	$4.34^{a} \pm 0.75$
รสชาติ	$4.16^{a} \pm 0.78$	$4.11^{a} \pm 0.83$	$4.38^{a} \pm 0.77$	$4.43^{a} \pm 0.60$
เนื้อสัมผัส	$3.99^{a} \pm 0.77$	$4.27^{b} \pm 0.77$	$4.30^{a} \pm 0.84$	$4.36^{a} \pm 0.67$
ความชอบโดยรวม	$4.04^{a} \pm 0.75$	$4.07^{a} \pm 0.65$	$4.41^{a} \pm 0.68$	$4.48^{a} \pm 0.62$

* Mean±SD ; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอน หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 การศึกษาและเปรียบเทียบผลและระยะเวลาของไอเอทานอล ไอน้ำส้มสายชู และไอผสมต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อและนำข้อมูลไปปรับใช้ในการลดเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปัง

การศึกษาการรมไอเอทานอล 95% และไอน้ำส้มสายชูความเข้มข้นกรดอะซิติก 10% และไอของสารร่วม (เอทานอลและน้ำส้มสายชู) ในจานเพาะเชื้อ ระดับเชื้อเริ่มต้น 10^3 สปอร์/มิลลิลิตร พบว่า ยิ่งสัมผัสไอของสารเป็นเวลานานขึ้นประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Penicillium* spp. ก็จะเพิ่มสูงขึ้น โดยสรุปผลการทดลองดังนี้

การรมไอเอทานอล (ความชื้นสัมพัทธ์ 34%) เป็นเวลา 20 นาที และการรมไอน้ำส้มสายชู (ความชื้นสัมพัทธ์ 77%) เป็นเวลา 80 นาที ให้ในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้อย่างสมบูรณ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สำหรับการรมไอของสารร่วมนั้น การรมแบบพร้อมกัน (ความชื้นสัมพัทธ์ 64%) เป็นเวลา 20 นาที ไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้สมบูรณ์ จึงไม่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ในการรมไอขนมปังในขั้นตอนต่อไป ขณะที่การรมไอแบบลำดับ โดยใช้ไอเอทานอล 10 15 และ 20 นาที และไอน้ำส้มสายชู 10 20 30 40 50 และ 60 นาที พบว่าสารทั้ง 2 มีอิทธพลร่วมต่อการอยู่รอดของเชื้อรา *Penicillium* spp. แต่ลำดับในการรมของสารร่วมดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) และการใช้ไอเอทานอล 10 นาที ร่วมกับการใช้ไอน้ำส้มสายชู 40 นาที ให้ผลการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้อย่างสมบูรณ์ แต่ใช้ระยะเวลาในการรมไอนานเกินไปเมื่อเทียบกับการรมไอเอทานอลเพียงสารเดียว วิธีรมไอผสมของสารร่วมจึงไม่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ในการรมไอขนมปังในขั้นตอนต่อไป

5.1.2 การศึกษาระยะเวลา และลักษณะทางกายภาพของการรมไอเอทานอลของวิธีที่เหมาะสม โดยวิธีไม่ปรับและปรับความชื้นต่อการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ในขนมปัง สรุปผลการทดลองดังนี้

ประสิทธิภาพของไอเอทานอลในการยับยั้งเชื้อในขนมปังที่ปนเปื้อนเชื้อระดับทั่วไปดีกว่าขนมปังที่ปนเปื้อนเชื้อในระดับสูงและการรมไอเอทานอลแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์ให้ผลการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ต่ำกว่าการรมไอเอทานอลแบบไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ การปรับและไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่ได้ส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพของขนมปัง ดังนั้นวิธีการรมไอแบบปรับความชื้นจึงไม่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ในการรมไอขนมปังในขั้นตอนต่อไป

5.1.3 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และทางเคมีของขนมปังที่ผ่านการรมไอโดยวิธีการปรับ และไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ภายหลังการเก็บรักษา

ขนมปังที่ผ่านการรมไอเอทานอล 20 นาที ทั้งปรับและไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์มีค่า a_w ไม่แตกต่างกันเมื่อเทียบกับชุดควบคุม เมื่อจำลองการปนเปื้อนของเชื้อในขนมปังแล้วนำไปผ่านการรมไอทั้งแบบปรับและไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์ ขนมปังที่ไม่ปรับความชื้นสัมพัทธ์มีอายุการเก็บรักษา 15 วัน ส่วนขนมปังที่รมไอแบบปรับความชื้นมีอายุการเก็บรักษา 7 วัน

ขนมปังเมื่อผ่านการรมไอเอทานอล 20 นาที มีกลิ่นตกค้างของเอทานอลและมีเนื้อสัมผัสที่นุ่มกว่าเดิมเล็กน้อย และมีอายุการเก็บรักษา 30 วัน

5.2 ข้อเสนอแนะ

การรมไอเอทานอล 20 นาที สามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้สมบูรณ์และทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาขนมปังได้นานกว่าการใช้สารกันเสีย แต่การรมไอเอทานอลยังพบกลิ่นตกค้างในขนมปังเล็กน้อย ดังนั้นควรมีการปรับแต่งวิธีให้เหมาะสมยิ่งขึ้นโดยการเติมกลิ่นลงเพื่อให้ช่วยระงับกลิ่นเอทานอลที่ตกค้างในขนมปัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กฤษฎา บุตรพลอย และ ดนัย บุณยเกียรติ. 2545. ผลของเอทานอลและอะซีตัลดีไฮด์ต่อการควบคุมโรคเน่าราสีเขียวและคุณภาพของผลส้มเขียวหวาน.วารสารเกษตร, 18: 110-118.

จรูญรัตน์ ดังเสนาะ. 2553. เบเกอรี่เบื้องต้น. ภาควิชาอาหารและโภชนาการ วิทยาลัยเทคนิคสมุทรสงคราม สำนักงานคณะกรรมการการอาชีวศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ.

จินตนา แจ่มเมฆ และ อรอนงค์ นัยวิกุล. 2539. เบเกอรี่เทคโนโลยีเบื้องต้น. (พิมพ์ครั้งที่ 4). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จิราวรรณ ยี่สิบแสน. 2552. การลด *Salmonella Enteritidis* บนผิวเปลือกไข่ด้วยน้ำส้มสายชูหมัก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

จริงแท้ ศิริพานิช. 2552. ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวของการวายของพืช. ภาควิชาพืชสวน เกษตรกำแพงแสน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

เชาวน์ ชิโนรักษ์ และ พรรณ ชิโนรักษ์. 2541. ชีววิทยา 3 คณะวิยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ฐิตินันท์ ชยาวัชรกุล. 2555. ประสิทธิภาพไอกรดน้ำส้มสายชูหมัก เอทานอล และสารร่วมต่อการลดลงของ *Klebsiella pneumoniae* ในผักชี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาล สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

ตวงพร โรจนวงศ์ โชคพิศิษฐ์ ชาญนันทพิพัฒน์ และวิไลภรณ์ บุญญกิจจินดา. 2545. ผลของไอน้ำส้มสายชูต่อการลดการเน่าเสียหลังการเก็บเกี่ยวของมะละกอ. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยศิลปากร, นครปฐม.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. Penicillium / เพนิซิเลียม. Food Network Solution. เข้าถึงได้จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1497/penicillium (8 พฤษภาคม 2559).

เพ็ญนภา กิตติวุฒิเจริญ. 2556. การควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยน้ำส้มสายชูหมัก และฟอสฟีนภายใต้ความชื้น. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาล สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

ภัทราพรรณ จรูญรัตนสกุล. 2553. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis cinerea* บนผิวของสตรอเบอรีสดด้วยน้ำส้มสายชูหมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสุขาภิบาล สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วราวุฒิ ครูส่ง. 2538. จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์โอเดียสโตร์, กรุงเทพฯ.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ. 454 หน้า.

สุรินทร์ อยู่ยง. 2557. สารกันราในขนมปัง. บทความเผยแพร่ความรู้สู่ประชาชน, ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

สุธนัย ภักดี และ อุราภรณ์ สอาดสุด. 2550. การใช้กรดอะซิก กรดเปอร์อะติกและเกลืออะซิเตทในการควบคุมราเขียวบนส้มสายน้ำผึ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อภิรดี ปิลันธนภาคย์. 2548. น้ำส้มสายชู. บทความรายการวิทยาศาสตร์เพื่อประชาชน. สำนักบริการวิชาการ มหาวิทยาลัยบูรพา เข้าถึงได้จาก http://www.uniserv.buu.ac.th/forum2/topic.asp?TOPIC_ID=1229 (8 พฤษภาคม 2559)

Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology 5th ed. Elsevier Academic Press, Fl, USA.

Asoda, T., Terai, H., Kato, M. and Suzuki, Y. 2009. Effects of postharvest ethanol vapor treatment on ethylene responsiveness in broccoli. Postharvest Biology and Technology, 52: 216–220.

Braunberg, R.C., Barton, C.N., Gantt, O.O. and Friedman, L. 1994. Interaction of citrinin and ochratoxin A. Natural Toxins, 2: 124–131.

Cauvain, S.P. and Young, L.S. 2000. Bakery Food Manufacture & Quality: Water Control & Effects, Blackwell Science, Oxford, UK.

Corcuff, R., Ad, E.H., Castaigne, F. and Makhlouf, J. 1996. Storage of broccoli florets in ethanol vapor enriched atmospheres. Postharvest Biology and Technology, 7: 219-229.

Daifas, D. P., Smith, J. P., Tarte, I., Blanchfield, B. and Austin, J.W. 2007. Effect of ethanol vapor om growth and toxin production by *Clostridium botulinum* in a high moisture bakery produce. Journal of Food Safety, 20: 111-125.

Dantigny, P., Tchobanov, I., Bensoussan, M. and Zwietering, M.H. 2005. Modeling the effect of ethanol vapor on the germination time of *Penicillium chrysogenum*. Journal of Food Protection, 68: 1203–1207.

Davidson, K. E., Roberts, E. C., Wilson, A. M. and Mitchell, E. 2005. The role of prey nutritional status in governing protozoan nitrogen regeneration efficiency. Journal of Protistology, 156: 45–62.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dao, T., Bensoussan, M., Gervais, P. and Dantigny, P. 2008. Inactivation of conidia of *Penicillium chrysogenum, P. digitatum and P. Italicum* by ethanol solutions and vapours. Food Microbiology, 122: 68-73.

Dao, T. and Dantigny, P. 2011. Control of food spoilage fungi by ethanol. Food Control, 22: 360-368.

Dendy, D.A.V. and Dobraszczyk, B. J. 2001. Cereals and Cereal Products, Chemistry and Technology. Aspen Publishers Inc., Gaitsburg, Maryland, USA.

Di, P. R., Betts, G., Hoskins, N., Edwards, M., Ercolini, D. and Maurello, G. 2007. Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. Journal of agricultural and food chemistry, 55: 4863-4870.

EFSA. 2012. Scientific Opinion on the risks for public and animal health related to the presence of citrinin in food and feed. European Food Safety Authority Journal, 10: 2605–2687.

Gurbutt, J. 1997. Essential of Food Microbiology. Amold, London. 54-78.

Higgins, C. and Brinkhaus, F. 1999. Efficacy of several organic against molds. Journal of applied poultry research, 8: 480-487.

IARC (International Agency for Research on Cancer). 1993. Ochratoxin A. In: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans volume 56. IARC Press, Lyon, pp. 489–521.

Krusong, W., Dansai, P. and Itharat, A. 2012. Combination impact of turmeric extract and fermented vinegar on reduction of inoculated *Salmonella* Typhimurium on fresh lettuce. KMITL Science and Technology, 12: 77-84.

Krusong, W., Teerarak, M. and Laosinwattana, C. 2015. Liquid and vaporphase vinegar reduced *Klebsiella pneumoniae* on fresh coriander. Food Control, 50: 502–508.

Krusong,W., Pornpukdeewatana, S. and Teerarak, M. 2016. Susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* on coriander leaves to liquid- and vapor-phase ethanol. FEMS Microbiology Letters, doi: 10.1093/femsle/fnw072

Lay, L.C., Conton, E. and Blay. L.G. 2016. Identification and quantification of antifungal compounds produced by lactic acid bacteria and propionibacteria. International Journal of Food Mycological, doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.020.

Legan, J.D. 1993. Mould spoilage of bread: the problem and some solutions. Biodeterioration and Biodegradation, 32: 33–53.

Lihandra, E. M. 2007. Assessment of ethanol, honey, milk and essential oils as potential postharvest treatment of New Zealand fruits [PhD Thesis]. Auckland University of Technolology.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Magan, N. and Lacey, J. 1986a. Water relations and metabolism of propionate in two yeasts from hay. Journal of Applied Bacteriology, 60: 169–173.

Mills, T.Y., Sandoval, N.R. and Gill, R.T. 2009. Cellulosic hydrolysate toxicity and tolerance mechanisms in *Escherichia coli*. Journal of Biotechnology for Biofuel, 2: 1-11

Mondal, M. and Khalequezzman, M. 2010. Toxicity of naturally occurring compounds of plant essential oil aginst Tribolium castaneum (Herbst). Journal of Microbiology Science, 10: 10-17.

Moyls, A. L., Sholberh, P. L. and Gaunce, A. D. 1996. Modified atmosphere packaging of grapes and strawberries fumigated with acetic acid. Journal of Horticultural Science, 31: 414-416.

Mutasa, E.S. and Magan, N. 1990. Utilization of potassium sorbate by tobacco spoilage fungi. Mycological Research, 94: 965– 970.

Oh, S.Y., Boermans, H.J., Swamy, H.V.L.N., Sharma, B.S. and Karrow, N.A. 2012. Immunotoxicity of *Penicillium mycotoxins* on viability and proliferation of bovine macrophage cell line (BOMACs). Open Mycology Journal, 6: 11–16.

Palou, L., Smilanick, J.L., Usall, J., Vinas, I., 2001. Control of postharvest blue and green molds of oranges by hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate. Plant Disease, 85: 371–376.

Pateras, I.M.C. 2007. Bread spoilage and staling. Technology of Bread making, 2nd ed. Springer Science+Business Media. UK: Stanley.

Ponte, J.G. and Tsen, C.C. 1978. Bakery products. In Food and Beverage Mycology ed. by L.R. Beuchat, AVI Publishing Co., Westport, CT, pp. 191–223.

Portner, D. and Hoffman, R. 1986. Sporicidal effect of peracetic acid vapor. Journal of Applied Microbiology, 16: 1782-1787.

Pumirat, P., Tunyong, W. and Luplertlop, N. 2013. Medical Mycology. Journal of Medicine and Health Sciences, 20: 31-34

Radia, M., Jouybaria, H. A. and Mesbahia, G. 2010. Effect of hot acetic acid solutions on postharvest decay caused by *Penicillium expansum* on Red Delicious apples. Asgar Farahnakya, Sedigheh Amirib Scientia Horticulturae, 126: 421–425.

Roe, A.J., McLaggan, D., Davidson, I., OByrne, C. and Booth, I.R. 1998. Perturbation of anion balance during inhibition of growth of *Escherichia coli* by weak acids. Journal of Bacteriology, 180: 767–772.

Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C. and Filtenborg, O. 2002. Introduction to food and airborne fungi. Centraalbureax voor Schimmelcultures. Utrech, The Netherlands.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Saranraj, P. and Geetha, M. 2012. Microbial spoilage of bakery products and its control by preservatives. International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives, 3: 38-48.

Schmidt, H.M., Stoll, D., Schütz, P. and Geisen, R. 2015. Oxidative stress induces the biosynthesis of citrinin by *Penicillium verrucosum* at the expense of ochratoxin. Food Microbiology, 192: 1–6.

Segura, A., Molina, L., Fillet, S., Krell, T., Bernal, P., Muñoz-Rojas, J. and Ramos, JL.2012. Solvent tolerance in Gram-negative bacteria. Journal of Environmental Biotechnology, 23: 415–421.

Seiler, D. 1992. Basic guide to product spoilage and hygiene. Part 1: Mould growth on bread. Chorleywood Digest No. 121, CCFRA, Chipping Campden, UK, pp. 117–119.

Sholberg, P. L. and Gaunce, A. P. 1995. Fumigation of fruit with acetic acid to prevent postharvest decay. Journal of Horticultural Science, 30: 1271-1275.

Sholberg, P. L. and Gaunce, A. P. 1996. Fumigation of stone fruit with acetic acid to control postharvest decay. Crop Protection, 15: 681-686.

Sholberg, P. L., Reynolds, A. G., and Gaunce, A. P. 1996. Fumigation of table grapes with acetic acid to prevent postharvest decay. Plant Disease, 80: 1425-1428.

Sholberg, P. L., Haag, P., Hocking, R. and Bedford, K. 2000. The use of vinegar vapor to reduce post harvest decay of harvested fruit. Journal of Horticultural Science, 35: 898-903.

Sholberg, P. L., Shephard, T., Randall, P. and Moyls, L. 2004. Use of measured concentrations of acetic vapor to control postharvest decay in d'Anjou pear. Journal of Postharvest Biology and Technology, 32: 89-98.

Siddiqui, S., Kovacs, E., Beczner, J., Goyal, R. K. and Garg, F. C. 2005. Effect of ethanol, acetic acid and hot water vapors on the shelf-life of guava. Journal of Acta Alimentaria, 34: 49-57.

Suzuki, Y., Uji, T. and Terai, H. 2004. Inhibition of senescence in broccoli florets with ethanol vapor from alcohol powder. Postharvest Biology and Technology, 31: 177–182.

Tzortzakis, N. G. 2010. Ethanol, vinegar and Origanum vulgare oil vapor suppress the development of anthracnose rot in tomato fruit and vegetables. Journal of Food Microbiology, 142: 14-18.

Venditti, T., Dorea, A., Molinua, M.G., Agabbiob, M. and D'hallewina, G. 2009. Combined effect of curing followed by acetic acid vapour treatments improves postharvest control of *Penicillium digitatum* on mandarins. Postharvest Biology and Technology, 54: 111–114.

Yair, A. and Stadelbacher, G.J. 1973. The toxicity of acetaldehyde vapors to postharvest pathogens of fruits and vegetables. Journal of Phytopathology, 63: 544-545.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yuen, C.M.C., Paton, J.E., Hanawati, R. and Shen, L.Q. 1995. Effects of ethanol, acetaldehyde and ethylformate vapour on the growth of *Penicillium italicum* and *P. digitatum* on oranges. Journal of Horticultural Science, 70: 81–84.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย

ก.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck, ประเทศเยอรมัน)

Potatoes infusion from	200	กรัม/ลิตร
Dextose	20	กรัม/ลิตร
Agar	15	กรัม/ลิตร

ชั่ง PDA 39.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ทำให้ละลายด้วยความร้อนเพื่อละลายวุ้นให้เข้ากัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที ปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 3.5±0.2 ด้วยกรดทาร์ทาลิก 10 %

ก.2 การเตรียมสารละลาย

1. Tartaric acid 10 %

ละลาย Tartaric acid 10 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ปิเปตลงในหลอดทดลอง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

2. Butterfield's Phosphate-Buffered

Potassium Dihydrogenphospphate (KH_2PO_4)	34	กรัม
น้ำกลั่น	500	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)		

นำ Potassium Dihydrogenphospphate ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 7.2 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และ ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจือจาง Butterfield's Phosphate-Buffered

Butterfield's Phosphate-Buffered	1.25	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1	ลิตร

นำ Butterfield's Phosphate-Buffered และน้ำกลั่นปรับให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร ใส่ขวดดูแลน 225 มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่างอาหาร 25 กรัม) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสาร

ข.1. การวิเคราะห์หาปริมาณกระอะซิติกในน้ำส้มสายชู

คำนวณโดยใช้วิธีไทเทตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 N ด้วยตัวอย่างน้ำส้มสายชู 6 มิลลิลิตร แล้วคำนวณดังสูตรต่อไปนี้

$$\% \text{ กรด} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ NaOH (N)} \times \text{ปริมาตรที่ไทเทรตได้} \times \text{มวลโมเลกุลกรด} \times 100}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง} \times 100}$$

ข.2. การวิเคราะห์หาปริมาณสารเอทานอลและกรดอะซิติกที่เข้าไปในระบบกล่องรมไอ

2.1 การหาปริมาณสารเอทานอล

เอทานอลมีมวลโมเลกุล	46	กรัม/โมล
กล่องรมไอมีปริมาตร	37.5	ลิตร
ปริมาณเอทานอลที่เข้าไปในระบบ	A	กรัม

*ปริมาณเอทานอลที่เข้าไปในระบบหาได้จากการชั่งปริมาณเอทานอลที่หายไป (weight loss) แล้วคำนวณดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณสารเอทานอล (มิลลิโมล/ลิตร)} = \left[\frac{A}{46} \times \frac{1}{37.5}\right] \times 100$$

2.1 การหาปริมาณสารกรดอะซิติก

กรดอะซิติกมีมวลโมเลกุล	60	กรัม/โมล
กล่องรมไอมีปริมาตร	37.5	ลิตร
ปริมาณเอทานอลที่เข้าไปในระบบ	A	กรัม

*ปริมาณเอทานอลที่เข้าไปในระบบหาได้จากการชั่งปริมาณเอทานอลที่หายไป (weight loss) แล้วคำนวณดังสูตรต่อไปนี้

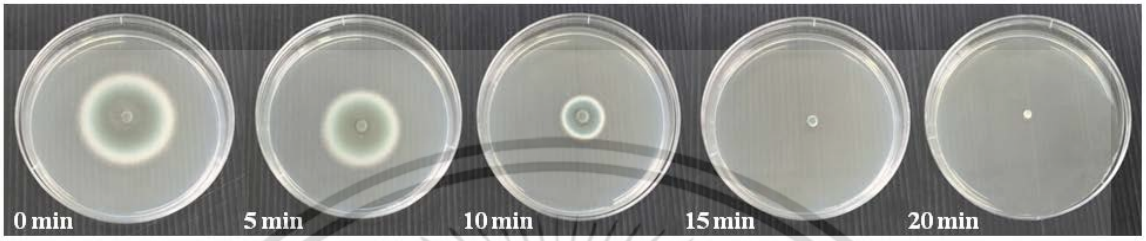
$$\text{ปริมาณสารเอทานอล (มิลลิโมล/ลิตร)} = \left[\frac{A}{60} \times \frac{1}{37.5}\right] \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

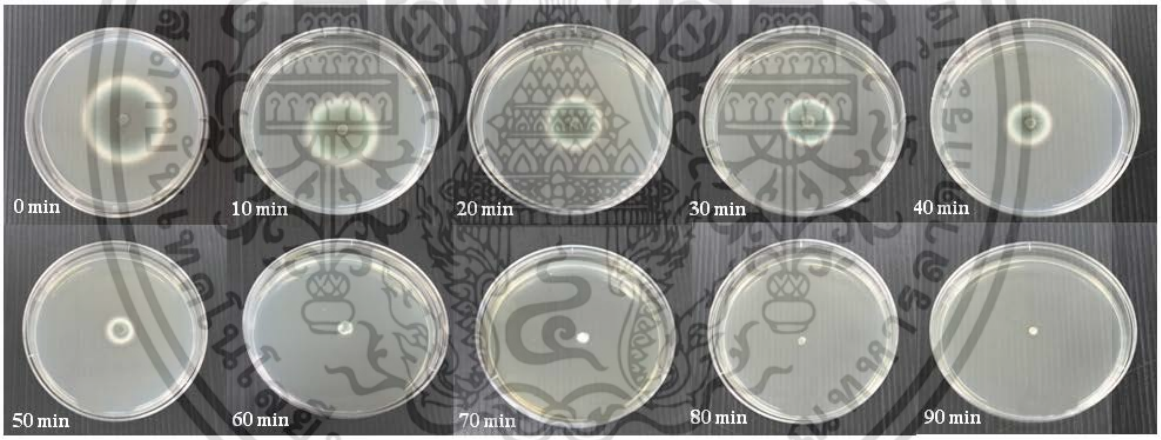
ภาคผนวก ค.

ภาพการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp.

ค.1 การรมไอเอทานอลและไอน้ำส้มสายชูบนจานเพาะเชื้อ PDA



ภาพที่ 1. การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Penicillium* spp. โดยวิธีรมไอเอทานอลเป็นระยะเวลา 0 5 10 15 และ 20 นาที อายุเชื้อ 3 วัน



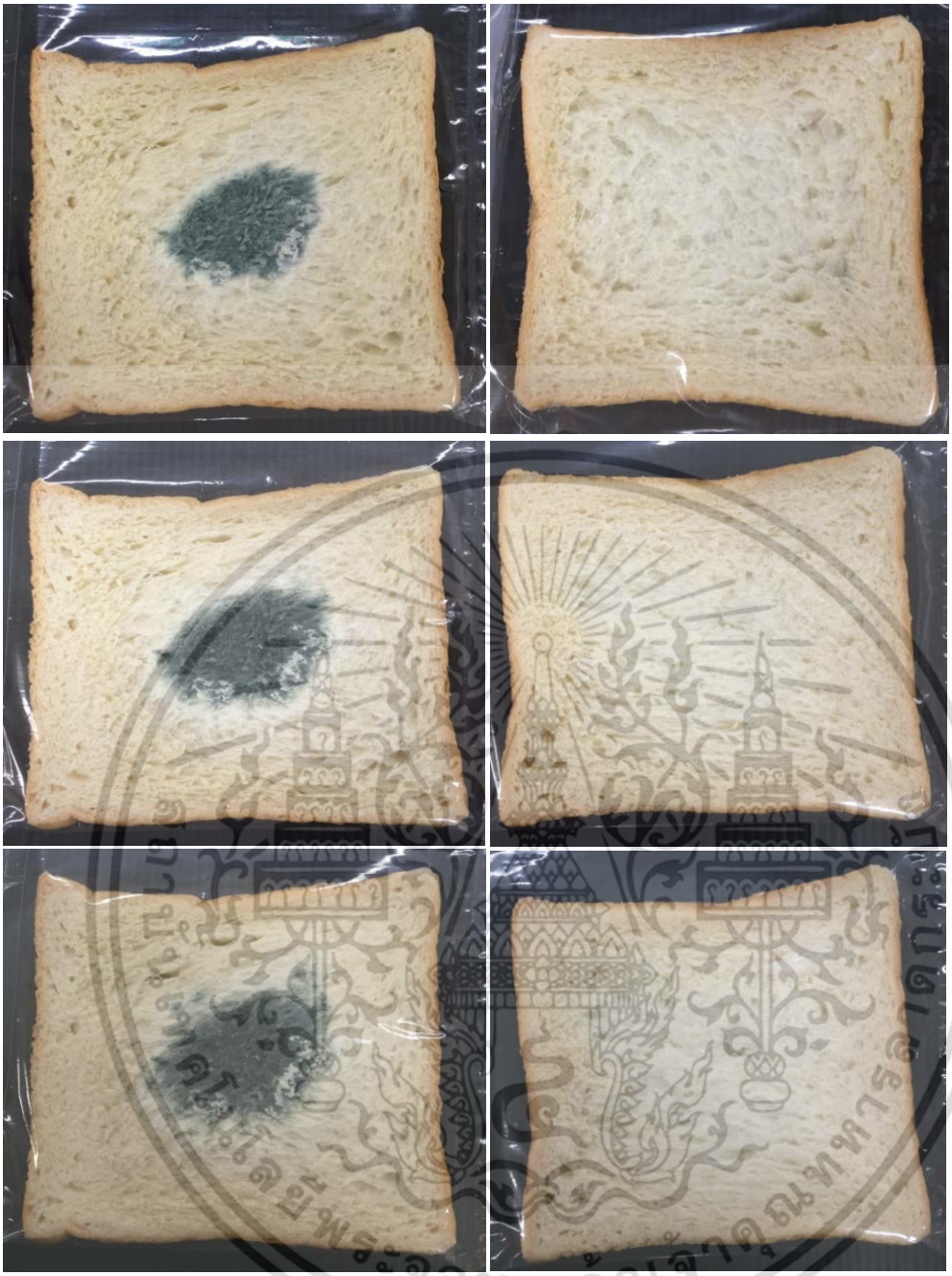
ภาพที่ 2. การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Penicillium* spp. โดยวิธีรมไอน้ำส้มสายชูเป็นระยะเวลา 0 10 20 30 40 50 60 70 80 และ 90 นาที อายุเชื้อ 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.2 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการยับยั้งเชื้อ *Penicillium* spp. ในขนมปัง

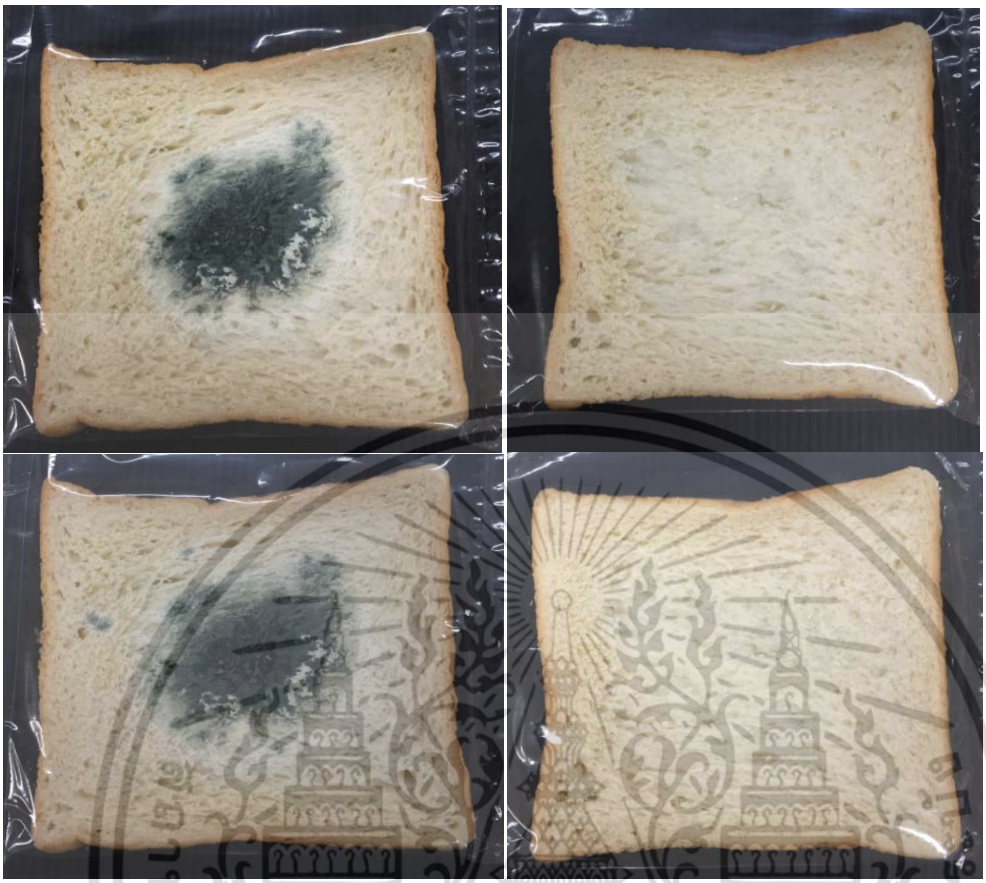
ภาพที่ 3 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการยับยั้งเชื้อ *Penicillium* spp. ในขนมปัง โดยวิธีรมไอเอทานอลเป็นระยะเวลา 20 นาที กับชุดควบคุม โดยจำลองการปนเปื้อนของเชื้อ *Penicillium* spp. ในขนมปังระดับสูง โดยหยดเชื้อลงตรงกลางแผ่นขนมปัง และเก็บรักษาขนมปังที่ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการยับยั้งเชื้อ *Penicillium* spp. ในขนมปัง โดยวิธีรมไอเอทานอลเป็นระยะเวลา 20 นาที กับชุดควบคุม โดยจำลองการปนเปื้อนของเชื้อ *Penicillium* spp. ในขนมปังระดับสูง โดยหยดเชื้อลงตรงกลางแผ่นขนมปัง และเก็บรักษาขนมปังที่ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



วันที่ 6

วันที่ 7

ชุดควบคุม **รมไอเอทานอล**

ภาพที่ 3 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการยับยั้งเชื้อ *Penicillium* spp. ในขนมปัง โดยวิธีรมไอเอทานอลเป็นระยะเวลา 20 นาที กับชุดควบคุม โดยจำลองการปนเปื้อนของเชื้อ *Penicillium* spp. ในขนมปังระดับสูง โดยหยดเชื้อลงตรงกลางแผ่นขนมปัง และเก็บรักษาขนมปังที่ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

เอกสารแบบประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ทางด้านความชอบโดยวิธี 5 points hedonic scale

ชื่อผลิตภัณฑ์…… **ชุดที่…….**

วันที่……..

คำแนะนำ กรุณาทดสอบตัวอย่างตามลำดับของตัวเลขรหัสในตาราง จากซ้ายไปขวาแล้วให้คะแนนความชอบ (1-5) กำหนดให้

สเกลความชอบ 1-5

1 = ไม่ชอบมาก 2 = ไม่ชอบเล็กน้อย 3 = ชอบปานกลาง 4 = ชอบมาก 5 = ชอบมากที่สุด

คุณลักษณะ	รหัส……	รหัส……
กลิ่นขนมปัง		
รสชาติ		
เนื้อสัมผัส		
ความชอบโดยรวม		

ข้อเสนอแนะ

……

……

……

……

ขอขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาว รัตติพร โพธิมล
วัน เดือน ปีเกิด	18 ตุลาคม 2533
ที่อยู่	39 หมู่ 6 ถนนรามคำแหง ซอยรามคำแหง 184 เขตมีนบุรี แขวงมีนบุรี กรุงเทพฯ 10510
ประวัติการศึกษา	2555 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2558 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการจัดการความปลอดภัยอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้