ผลของไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อเชื้อ *Aspergillus fumigatus* ที่ปนเปื้อนบนพริกไทยดำ

EFFECT OF VOLATILE COMPONENTS OF UPLAND RICE VINEGAR ON *Aspergillus fumigatus* CONTAMINATED ON BLACK PEPPER

อนุสรา แหล้หมาน

ANUSARA LEAMAN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการจัดการความปลอดภัยอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2561

KMITL-2018-AI-M-054-313

ผลของไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ต่อเชื้อ *Aspergillus fumigatus* ที่ปนเปื้อนบนพริกไทยดำ

EFFECT OF VOLATILE COMPONENTS OF UPLAND RICE VINEGAR ON *Aspergillus fumigatus* CONTAMINATED ON BLACK PEPPER

อนุสรา แหล้หมาน

ANUSARA LEAMAN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการจัดการความปลอดภัยอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2561

KMITL-2018-AI-M-054-313

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECT OF VOLATILE COMPONENTS OF UPLAND RICE VINEGAR ON *Aspergillus fumigatus* CONTAMINATED ON BLACK PEPPER

ANUSARA LAEMAN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SAFETY MANAGEMENT

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2018

KMITL-2018-AI-M-054-313

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2018

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ต่อเชื้อ *Aspergillus fumigatus* ที่ปนเปื้อนบนพริกไทยดำ

EFFECT OF VOLATILE COMPONENTS OF UPLAND RICE VINEGAR ON *Aspergillus fumigatus* CONTAMINATED ON BLACK PEPPER

ชื่อนักศึกษา นางสาวอนุสรา แหล้หมาน

รหัสประจำตัว 56608018

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา การจัดการความปลอดภัยอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง	
ผศ.ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ	
ดร.วิรามศรี ศรีพจนารถ	
รศ.ดร.สุเมธ ตันตระเธียร	

วัน / เดือน/ ปีที่สอบ 25 กรกฎาคม 2561 เวลา 13.00-16.00 น.

สถานที่สอบ ณ ห้อง A 303 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่...25...เดือน...กรกฎาคม...พ.ศ...2561...

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อเชื้อ *Aspergillus fumigatus* ที่ปนเปื้อนบนพริกไทยดำ
นักศึกษา	นางสาวอนุสรา แหล้หมาน
รหัสประจำตัว	56608018
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	การจัดการความปลอดภัยอาหาร
พ.ศ.	2561
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อศึกษาผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ไอกรดอะซิติก และไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ซึ่งเป็นเชื้อที่พบมากในการปนเปื้อนบนพริกไทยดำ โดยศึกษาด้วยวิธีการรมไอของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติก 8% ไอกรดอะซิติก ความเข้มข้น 8% และไอของส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ได้แก่ อะซิติก เอซิค เอทิล เอสเทอร์ (acetic acid, ethyl ester) ความเข้มข้น 8%, เบต้า ฟีนิลเอทิล อะซิเตท (β-phenylethyl acetate) ความเข้มข้น 0.35%, เบนซีนเอทานอล (benzeneethanol) ความเข้มข้น 0.29% และ ไอโซเอมิล แอลกอฮอล์ (isoamyl alcohol 0.18%) ในจานเพาะเชื้อ Potato Dextrose Agar ภายในกล่องรมไอ (ขนาด 0.25x0.30x0.25 ม.) จากการศึกษาพบว่า การสัมผัสไอของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ที่เวลา 37 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 1.12 มิลลิโมล/ลิตร) และไอกรดอะซิติก ที่เวลา 40 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 1.17 มิลลิโมล/ลิตร) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* ได้อย่างสมบูรณ์ แต่การรมไอด้วยส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ที่เวลา 40 นาที พบว่าไอของ acetic acid, ethyl ester; β-phenylethyl acetate; benzeneethanol และ isoamylalcohol สามารถยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* ได้ 4.6, 12.4, 6.8 และ 5.8% ตามลำดับ ต่อมาได้ทำการรมไอในตัวอย่างพริกไทยดำที่มีการถ่ายสปอร์เชื้อรา *A. fumigatus* 3 log spore/g พบว่า ไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ และไอกรดอะซิติก ที่เวลา 40 นาที สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *A. fumigatus* ได้อย่างสมบูรณ์ แต่ที่เวลา 40 นาที ไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ทั้ง 4 ชนิด คือ acetic acid, ethyl ester; β-phenylethyl acetate; benzeneethanol และ isoamylalcohol สามารถยับยั้งได้เพียง 0.5, 2.9, 0.9 และ 0.7% ตามลำดับ เท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Effect of volatile components of upland rice vinegar on *Aspergillus fumigatus* contaminated on black pepper.
Student	Miss Anusara Laeman
Student ID.	56608018
Degree	Master of Science
Program	Food Safety Management
Year	2018
Thesis Advisor	Prof. Dr.Warawut Krusong

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the efficacy of vapor-phase (V) upland rice vinegar (URV), pure acetic acid (PAA) and volatile components of upland rice vinegar consisting of acetic acid, ethyl ester (AE); β-phenylethyl acetate (PEA); benzeneethanol (BE) and isoamylalcohol (IA) on inhibition of conidia survival of *Aspergillus fumigatus* contaminating on black pepper. Treatment of each vapor on conidia suspension of *A. fumigatus* (10^3conidia/ml) plated on Potato Dextrose Agar and placed on vapor exposure box (0.25x0.35x0.25 m.) were conducted at room temperature (30±1 °C). Results showed that vaporization period affected directly on inhibition of conidia survival of the mold. Complete spore inhibition of *A. fumigatus* after treatment with V-URV for 37 min exposure period (1.12 mmol L^{-1} AA) and V-PAA at 40 min (with 1.17 mmolL^{-1} AA) were achieved for complete inhibition of conidia survival. Meanwhile the exposure for 40 min by V-AE, V-PEA, V-BE or V-IA at for 40 min caused to inhibit only 4.6% 12.4% 6.8% and 5.8% respectively. The effect of vaporizing process with all substances was further applied on inoculated *A. fumigatus* on black pepper at 3 log CFU / g. Results showed that V-URV and V-PAA for 40 min exposure completely inhibited the germination of *A. fumigatus*. While 40 min of exposure by four components of URV caused a little inhibitory effect consisting of V-AE (0.5%), V-PEA (2.9%), V-BE (0.9%), and V-IA (0.7%).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยการให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือ จาก ศาสตราจารย์ ดร. วราวุฒิ ครูส่ง ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำปรึกษาเสนอแนะแนวทางการวิจัย การแก้ไขปัญหา ตลอดจนตรวจสอบ และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ และ ดร. วิรามศรี ศรีพจนารถ ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการในสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ และสอบวิทยานิพนธ์ซึ่งได้ให้คำแนะนำ ให้คำปรึกษา และให้กำลังใจ มาโดยตลอด รวมทั้งรองศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิในการสอบวิทยานิพนธ์ และช่วยตรวจทานทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกท่านที่อำนวยความสะดวก ในการทำวิทยานิพนธ์ให้ผู้วิจัยตลอดมา รวมถึง นางสาวรัตติพร โพธิมล นักศึกษาปริญญาเอก สาขา วิทยาศาสตร์อาหาร ที่ให้ความช่วยเหลือในการปฏิบัติงาน และให้คำแนะนำต่างๆ และเพื่อนนักศึกษาปริญญาโท สาขาการจัดการความปลอดภัยที่ให้ความช่วยเหลือ ตลอดการทำวิทยานิพนธ์ของผู้เขียนในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวของข้าพเจ้าที่เป็นกำลังใจทำให้ข้าพเจ้าทำงานวิจัยนี้จนสำเร็จ คุณค่าและประโยชน์ที่ได้จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ข้าพเจ้าขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

อนุสรา แหล้หมาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... II

กิตติกรรมประกาศ..... III

สารบัญ..... IV

สารบัญตาราง..... VI

สารบัญภาพ..... VIII

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย..... 2

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ..... 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 4

2.1 พริกไทย..... 4

2.2 เชื้อ *Aspergillus fumigatus* 7

2.3 น้ำส้มสายชู..... 11

2.4 กรดอะซิติก..... 11

2.5 สารส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่..... 12

2.6 การรมไอ..... 14

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการทดลอง..... 16

3.1 วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย 16

3.2 อุปกรณ์การทดลอง..... 16

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ 17

3.4 สารเคมี..... 17

3.5 จุลินทรีย์..... 17

3.6 วิธีการทดลอง..... 18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	23
4.1 ผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ และไอกรดอะซิติก ต่อการยับยั้งเชื้อ *Aspergillus fumigatus* ในระดับห้องปฏิบัติการ	23
4.2 ผลของไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งเชื้อ *Aspergillus fumigatus* ในระดับห้องปฏิบัติการ	28
4.3 ผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ไอกรดอะซิติก และไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งเชื้อ *Aspergillus fumigatus* บนพริกไทยดำ	36
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	39
5.1 สรุปผลการวิจัย	39
5.2 ข้อเสนอแนะ	40
เอกสารอ้างอิง	41
ภาคผนวก	45
ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย	45
ข การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสาร	48
ค ภาพการเจริญของเชื้อ *Aspergillus fumigatus*	50
ง ภาพการเจริญของเชื้อ *Aspergillus fumigatus* ที่ผ่านการรมไอส่วนประกอบน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ 24 ชั่วโมง	53
ประวัติผู้เขียน	55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	การปนเปื้อนของเชื้อราในเครื่องเทศ.....	9
2.2	การปนเปื้อนของเชื้อราในอาหารที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ.....	10
4.1	ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่(ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) ต่อการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1˚C……...…	24
4.2	ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่(ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1˚C.....	25
4.3	ผลของการรมไอกรดอะซิติก(ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) ต่อการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1˚C……..…….....	26
4.4	ผลของการรมไอกรดอะซิติก (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1˚C……...……...	28
4.5	ผลของการรมไอ Acetic acid, ethyl ester (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) ต่อการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1˚C……..…….....	29
4.6	ผลของการรมไอ Acetic acid, ethyl ester (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1˚C……...……..……...	30
4.7	ผลของการรมไอ β- phenylethy acetate (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 0.35%) ต่อการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1˚C…….....	31
4.8	ผลของการรมไอ β- phenylethy acetate (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 0.35%) ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1˚C……...……..……...	32
4.9	ผลของการรมไอ Benzenethanol (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 0.29%) ต่อการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1˚C…….....	33
4.10	ผลของการรมไอ Benzenethanol (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 0.29%) ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1˚C ……..……..……..	34
4.11	ผลของการรมไอ Isoamylalcohol (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 0.18%) ต่อการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1˚C…….....	35
4.12	ผลของการรมไอ Isoamylalcohol (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 0.18%) ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1˚C …….	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.13 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ไอกรดอะซิติก และไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* บนพริกไทยดำที่ความเข้มข้นของเชื้อ 103 spore/g ที่อุณหภูมิ 30±1°C…..... 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
3.1	กล่องรมไอขนาด 0.25x0.30x0.25 m.....	20
ค1	การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ เป็นระยะเวลา 0 5 10 15 16 17 18 19 และ 20 นาทีภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30±1°C เป็นเวลา 3 วัน.....	50
ค2	การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอกรดอะซิติกเป็นระยะเวลา 0 5 10 15 16 17 18 19 และ 20 นาที ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30±1°C เป็นเวลา 3 วัน.....	50
ค3	การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ Acetic acid, ethyl ester เป็นระยะเวลา 0 10 20 30 และ 40 นาที ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ30±1°C เป็นเวลา 3 วัน.....	51
ค4	การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ เป็น β- phenylethy acetate ระยะเวลา 0 10 20 30 และ 40 นาที ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ30±1°C เป็นเวลา 3 วัน.....	51
ค5	การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ Benzenethanol เป็นระยะเวลา 0 10 20 30 และ 40 นาที ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ30±1°C เป็นเวลา 3 วัน	51
ค6	การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ Isoamylalcohol เป็นระยะเวลา 0 10 20 30 และ 40 นาที ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ30±1°C เป็นเวลา 3 วัน	52
ง1	การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ Acetic acid, ethyl ester เป็นระยะเวลา 0 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ30±1°C เป็นเวลา 3 วัน.....	53
ง2	การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ เป็น β- phenylethy acetate ระยะเวลา 0 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ30±1°C เป็นเวลา 3 วัน.....	53
ง3	การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ Benzenethanol เป็นระยะเวลา 0 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ30±1°C เป็นเวลา 3 วัน	53
ง4	การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ Isoamylalcohol เป็นระยะเวลา 0 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ30±1°C เป็นเวลา 3 วัน	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

เนื่องจากปัจจุบันพริกไทยดำ มีแนวโน้มในการพัฒนาไปเป็นพืชเศรษฐกิจ ที่ทำรายได้ที่ดีให้กับชาวสวนที่นิยมในการปลูกในพื้นที่เขตภาคตะวันออก และภาคใต้ของไทย จากสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมกับเจริญเติบโต พริกไทยเป็นพืชที่ชอบดินร่วนปนทราย และชอบน้ำ เขตร้อนชื้น และมีราคาที่สูง

พริกไทยที่นิยมบริโภคถูกแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ พริกไทยดำ พริกไทยขาว และพริกไทยอ่อน ซึ่งคนส่วนใหญ่จะนิยมบริโภคพริกไทยดำ เนื่องจากสามารถนำไปประกอบอาหารได้หลายประเภท หรือปรุงรสบนโต๊ะอาหาร การเสื่อมเสียของพริกไทยดำส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อรา ซึ่งในกระบวนการผลิตพริกไทยดำในกระบวนการทำแห้ง ทำให้ความชื้น และ ค่าwater activity (a_w) ในพริกไทยลดลงไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ แต่เมื่อเก็บพริกไทยดำไว้ในสภาวะที่ชื้นและมีอากาศ เชื้อราก็จะเจริญได้อีกครั้ง (สำนักงานมาตฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2556)

Hammami et al.(2014) ได้รายงานว่า พริกไทยดำมีการปนเปื้อนของเชื้อรา *Aspergillus flavus*, *A. tamari* และ *A.* niger ในปริมาณ 1.6 log CFU/g และยังมีรายงานการศึกษาเชื้อราที่พบในตัวอย่างพริกไทยจำนวน 15 ตัวอย่าง พบว่าในทุกๆ ตัวอย่างของพริกไทย มีการปนเปื้อนเชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ *A. fumigatus*, *A. flavus* และ *Mucorales* (Bouakline et al., 2000) ทั้งนี้เชื้อรา *A. fumigatus* ซึ่งเป็นเชื้อราที่พบในพริกไทยนั่นยังพบว่าเป็นเชื้อราที่สามารถทำให้เกิดโรค Aspergillosis ที่เป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ ส่งผลกระทบต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค มีรายงานว่าประเทศไทยพบผู้ป่วยโดยโรคนี้เยอะที่สุด

น้ำส้มสายชูและส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ที่สำคัญได้ ปัจจุบันมีการศึกษาทดลองและนำมาประยุกต์ใช้เกี่ยวกับการรมไอในอุตสาหกรรมผักและผลไม้ เน้นการกำจัดเชื้อราและแบคทีเรียที่ทำให้ผักและผลไม้เกิดการเสื่อมเสีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และใช้ยืดอายุผลผลิตภัณฑ์หลังการเก็บเกี่ยวเป็นหลัก ดังนั้นจึงเล็งเห็นถึงความสำคัญของการลดปริมาณเชื้อรา *A. fumigatus* ด้วยการรมไอของน้ำส้มสายชูและไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูดังกล่าว

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาและเปรียบเทียบผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ไอกรดอะซิติกและไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ประกอบด้วย acetic acid, ethyl ester; β-phenylethyl acetate; benzeneethanol และ isoamylalcohol ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* ในระดับห้องปฏิบัติการ

1.2.2 ศึกษาและเปรียบเทียบระยะเวลาการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ไอกรดอะซิติกและไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ทั้ง 4 ชนิด ต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* บนพริกไทยดำ

1.3 ขอบเขตการศึกษา

งานวิจัยนี้เริ่มจากการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อราบนพริกไทยดำพร้อมบริโภคตามตลาดในเขตลาดกระบัง โดยซื้อพริกไทยดำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และบ่มที่อุณหภูมิ 30±1°C เป็นเวลา 5 วัน เพื่อให้มีการเจริญของเชื้อราแล้วแยกเชื้อรา *A. fumigatus* ที่เจริญจากเมล็ดพริกไทยดำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์เพื่อนำมาใช้ในการทดลอง จากนั้นทำการศึกษาผลของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ไอกรดอะซิติก 8% ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระยะเวลา 0 5 10 15 20 25 30 35 36 37 38 39 และ40 นาที และ รมไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ประกอบด้วย acetic acid, ethyl ester ความเข้มข้น 8%, β-phenylethyl acetate ความเข้มข้น 0.35%, benzeneethanol ความเข้มข้น 0.29% และ isoamylalcohol ความเข้มข้น 0.18% ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ระยะเวลา 0 10 20 30 และ 40 นาที รวมถึงการศึกษาผลของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ไอกรดอะซิติก และไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* ที่ปนเปื้อนบนพริกไทยดำ ที่ระยะเวลา 40 นาที โดยการศึกษาในสภาวะไอนั้น อาศัยปั๊ม (pump) ทำการปั๊มอากาศลงในสารละลายที่ศึกษา จากนั้นจึงปั๊มไอเนื้อสารละลายเข้าไปในกล่องรมไอขนาด 0.25x0.30x0.25 ม. ที่อุณหภูมิ 30±1°C จนอิ่มตัว วางจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อรา *A. fumigatus* บนตะแกรงเหล็กที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วภายในกล่อง ปล่อยไอครบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามเวลาที่กำหนด นำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 30±1°C เป็นเวลา 3 วัน ในการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา และบ่มที่อุณหภูมิ 30±1°C เป็นเวลา 36-48 ชม.ในการศึกษาการยับยั้งการงอกของสปอร์

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ไอกรดอะซิติก และไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus*

1.4.2 ทราบถึงระยะเวลาในการที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* บนพริกไทยดำ

1.4.3 สามารถนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาไปประยุกต์ใช้ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. fumigatus* ในอุตสาหกรรมการผลิตพริกไทยดำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พริกไทย

2.1.1 ลักษณะทั่วไป

สมภพ ประธานธุรารักษ์ (2539) ได้ให้ความหมายของพริกไทยว่าเป็นเครื่องเทศและสมุนไพรชนิดหนึ่งที่คนทั่วโลกนิยมในการบริโภค มีถิ่นกำเนิดในอินเดีย ในประเทศไทยนิยมปลูกมากในภาคตะวันออก เช่น จันทบุรี ตราด ระยอง และในภาคใต้ เช่น ชุมพร และสงขลา เป็นต้น เนื่องจากพริกไทยเป็นพืชที่ชอบอากาศร้อนชื้น น้ำ และดินร่วนปนทราย จึงเหมาะกับพื้นที่ทั้ง 2 ภาค

ชื่อท้องถิ่น: พริกน้อย (ภาคเหนือ) พริก (ภาคใต้) พริกไทยดำ (เรียกทั้งลูก) พริกไทยล่อน พริกขี้นก (เรียกเมล็ดแก่)

ชื่อสามัญ: Pepper, White pepper, Black pepper และ Pepper corn

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Piper nigrum* Linn.

ส่วนที่ใช้: ผลแก่

วงศ์: Piperaceae , Pepper family

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

อรุณรัตน์ ฉวีราช (2548) ได้อธิบายถึงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพริกไทย ดังนี้

ลำต้น เป็นไม้เถาเลื้อยเนื้ออ่อนยืนต้น ไม่สามารถยืนอยู่ได้โดยลำพังต้องเกาะยึดติดอยู่กับคาน โดยใช้รากเล็กๆ ที่เจริญออกมาตามข้อของลำต้นที่เรียกว่า รากตีนตุ๊กแกหรือมือตุ๊กแก หากพริกไทยเจริญอยู่ตามธรรมชาติโดยไม่มีปัญหารบกวนจากการทำลายของโรค และแมลงศัตรูพืชแล้วจะสามารถมีอายุยืนนานกว่า 15 ปี ขณะที่ต้นพริกไทยอายุน้อย เปลือกและลำต้นจะมีสีเขียว และจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลตามอายุที่เพิ่มขึ้น ลำต้นมีข้อและปล้องเห็นได้ชัดเจน บริเวณข้อมักจะมีลักษณะโป่งออก ทำให้มีขนาดใหญ่กว่าส่วนลำต้น

ใบ ใบของพริกไทยเป็นใบเดี่ยวเรียงสลับตามข้อ และตามกิ่งแขนง ใบมีรูปร่างแบบรูปไข่ โคนใบใหญ่ ฐานใบมีหลายแบบ เช่น กลม มน หรือ รูปหยัก ปลายใบแหลม ใบกว้างประมาณ 6-10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซม. ยาว 7-14 ซม. ลักษณะคล้ายใบพลู ผิวใบเรียบ ผิวใบด้านบนเป็นมัน ด้านใต้ใบมีสีจางกว่าบนใบ บางพันธุ์ใบมีลักษณะหยักเป็นคลื่น ขนาดและลักษณะของใบจะแตกต่างกันตามพันธุ์

ดอก ออกดอกเป็นช่อในแนวยาวตรงข้ามกับใบในส่วนของกิ่งแขนง ไม่มีก้านดอก ช่อดอกยาวประมาณ 7-14 ซม. ช่อดอกแต่ละช่อประกอบด้วยดอกย่อยประมาณ 70-85 ดอก ช่อดอกอ่อนมีสีเหลืองอมเขียว เมื่อแก่จะมีสีเขียวและปลายช่อห้อยลง ดอกจะบานหมดทั้งช่อใช้เวลาประมาณ 5-7 วัน ดอกพริกไทยมีทั้งตัวผู้และดอกตัวเมียที่เกิดแยกกัน เป็นดอกไม่สมบูรณ์เพศหรืออาจเป็นดอกสมบูรณ์เพศ แต่ส่วนใหญ่เป็นดอกไม่สมบูรณ์เพศ ปกติพริกไทยเป็นพืชที่มีการผสมตัวเอง

ผล ผลของพริกไทยมีลักษณะค่อยข้างกลม เรียงตัวกันเป็นพวงอัดแน่นอยู่กับแกนของช่อ มีรสเผ็ดร้อน ผลอ่อนมีสีเขียวผลจะเข้มขึ้นตามอายุของผล ผลที่นำมาใช้มีสองชนิด คือ พริกไทยดำและพริกไทยล่อน พริกไทยดำทำได้โดยการเก็บผลที่โตเต็มที่มีสีเขียวแก่มาตากจนแห้ง ซึ่งจะได้พริกไทยสีดำเหี่ยว ส่วนพริกไทยล่อนคือการเก็บผลพริกไทยที่เริ่มสุกมาแช่น้ำแล้วนำมานวด เพื่อลอกเปลือกออกแล้วตากแดด จะได้ผลพริกไทยสีขาวเป็นเงา

เมล็ด โดยทั่วไปเมล็ดจะมีสีขาวนวล มีลักษณะแข็ง รูปร่างค่อนข้างกลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3-4 มิลลิเมตร ภายในเมล็ดมีต้นอ่อนขนาดเล็กอยู่ เมล็ดมีกลิ่นเฉพาะ มีกลิ่นฉุนและมีรสเผ็ด เมล็ดจะสุกไม่เสมอกัน

ราก รากของพริกถ้ายึดตามหน้าที่ของรากจำแนกเป็น 2 ชนิด คือ รากหาอาหาร และรากตีนตุ๊กแก ซึ่งรากหาอาหารเป็นรากที่ทำหน้าที่หาแร่ธาตุอาหารและน้ำจากพื้นดิน เพื่อส่งผ่านลำต้นไปยังใบปรุงอาหารหล่อเลี้ยงส่วนต่างๆ ซึ่งหากปลูกด้วยการใช้เมล็ดจะมีรากแก้ว แต่ปัจจุบันจะปลูกจากการปักชำกิ่งจึงมักจะไม่มีรากแก้ว พริกไทยจะมีรากขนาดใหญ่มากมาย กลุ่มของรากเหล่านี้จะกระจายอยู่บริเวณผิวดิน ส่วนรากตีนตุ๊กแกทำหน้าที่เป็นรากค้ำจุน ซึ่งจะช่วยยึดเกาะ ทำให้พริกไทยเลื้อยสูงได้ รากตีนตุ๊กแกจะเจริญจากข้อในระยะเดียวกับการเจริญของยอดอ่อน รากชนิดนี้สามารถเกาะติดกับค้างในระยะเริ่มต้นงอกออกมาใหม่ๆ เท่านั้น เมื่อรากแก่จนเป็นสีน้ำตาลมักจะไม่เกาะติดกับค้างอีกแล้ว หรือติดได้แต่ติดยากขึ้น

ในประเทศไทยมีการปลูกพริกไทย หลายสายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ใบหนา พันธุ์ใบราณ พันธุ์บางแก้ว พันธุ์ปรางถี่ธรรมดา พันธุ์ปรางถี่ใบหยิก และพันธุ์จากมาเลเซีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 ชนิดของพริกไทย

พริกไทย แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ พริกไทยดำ (Black pepper) ได้จากการนำพริกไทยที่แก่เต็มที่ แต่ยังไม่สุกมาทำให้แห้ง จนออกเป็นสีดำ และไม่ต้องปอกเปลือก และพริกไทยขาว (White pepper) ได้มาจากการนำพริกไทยที่แก่เต็มที่ มาแช่น้ำเพื่อลอกเปลือกออกแล้วนำไปตากให้แห้ง นอกจากนี้ยังสามารถแบ่งตามลักษณะการใช้งานได้ 2 ชนิด คือ พริกไทยชนิดเม็ด และพริกไทยชนิดป่น คือ พริกไทยที่สุกเต็มที่แล้วหรือแก่จัด อาจลอกเปลือกออก นำไปผึ่งแดดหรืออบให้แห้ง แล้วบดละเอียด (สำนักงานมาตฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2556)

2.1.4 การเก็บเกี่ยว

การเก็บเกี่ยวพริกไทยในประเทศนิยมทยอยเก็บตามความแก่ของพริกไทย เพื่อใช้ทำพริกไทยขาวหรือพริกไทยดำ เมื่อปลูกพริกไทยได้ประมาณ 3 ปี จะออกดอกติดผล และแก่พร้อมเก็บเกี่ยวได้ประมาณ 6-7 เดือน ต่อมาการเก็บพริกไทยให้สังเกตสีของเมล็ด คือ เมล็ดเริ่มมีสีเหลืองหรือสีแดงรวงละ 3-4 เมล็ด วิธีการเก็บให้เก็บทั้งรวง แต่พริกไทยจะแก่ไม่พร้อมกัน ทำให้การเก็บต้องทยอยเก็บ เก็บเฉพาะรวงที่แก่ แต่ในฤดูการเก็บเกี่ยวหนึ่งๆ ไม่ควรเก็บมากกว่า 4 ครั้ง เพราะจะทำให้พริกไทยโทรม

สำหรับการเก็บเกี่ยวเพื่อทำพริกไทยขาวหรือพริกไทยล่อนนั้น พริกไทยจะต้องเป็นพริกไทยที่แก่จัดและผลเริ่มสุกเป็นสีแดงที่โคนช่อประมาณ 2-3 ผล ซึ่งมีขั้นตอนในการทำพริกไทยขาวหรือพริกไทยล่อน 3 ขั้นตอน คือ การแช่น้ำ การล้างน้ำ และตากแดด โดยมีรายละเอียดดังนี้

การแช่น้ำ นำพริกไทยที่เด็ดจากค้าง (เสาไม้เลื้อย) มาตากแดดเล็กน้อย นำไปนวดเพื่อแยกเมล็ดออกจากรวง จากนั้นนำเมล็ดพริกไทยบรรจุใส่กระสอบมัดปากกระสอบให้แน่น นำไปแช่ในน้ำ อาจแช่ในน้ำไหลหรือน้ำนิ่ง เช่นในบึง หรือ บ่อ หรือ ในภาชนะอื่นๆ

การล้างน้ำ นำพริกไทยที่แช่น้ำแล้วมานวด ใช้เครื่องนวดเพื่อลอกเอาเปลือกออก นำเมล็ดที่ลอกเปลือกแล้วมาเกลี่ยลงบนตะแกรงที่มีรูพอดีที่เปลือกพริกไทยหลุดออกได้ หลังจากนั้นก็ใช้น้ำล้างเปลือกออกให้หมด

การตากแดด นำพริกไทยที่ล้างทำความสะอาดแล้วไปตากแดดทันที เพราะถ้าปล่อยทิ้งไว้ให้เมล็ดเปียกชื้นนานๆสีคล้ำและไม่สวย แต่ถ้าไม่มีแดดก็แช่น้ำไว้ก่อนเพื่อป้องกันไม่ให้ขึ้นรา การตากจะต้องเกลี่ยให้กระจายอย่างสม่ำเสมอประมาณ 4-5 วัน ก็จะแห้งสนิท ปกติพริกไทยสด 100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิโลกรัมจะทำพริกไทยขาวได้ 27 กิโลกรัม และ หากใช้พริกไทยดำไปทำพริกไทยขาว จะได้พริกไทยขาว 60 กิโลกรัม

ส่วนการทำพริกไทยดำ ต้องเป็นพริกไทยที่ผลยังมีสีเขียวอยู่ แต่เมล็ดผ่านในแก่จัดซึ่งสังเกตได้โดยการใช้เล็บจิกดู ถ้ารู้สึกว่าเมล็ดแข็งเล็บจิกไม่ลงแสดงว่าเมล็ดแก่จัดสามารถเก็บได้แล้ว ขั้นตอนการทำพริกไทยดำเริ่มจากการนำพริกไทยมากองรวมกันบนลาน หรือตะแกรงแล้วผ้าใบคลุมทิ้งไว้3-4 วัน หลังจากนัดนำพริกไทยไปนวดให้เมล็ดหลุดออกจากรวงโดยใช้เครื่องนวด แล้วนำไปร่อนด้วยตะแกรงที่มีรูขนาดใหญ่ พอที่เมล็ดพริกจะลอดได้ นำไปนวดอีกครั้ง เมล็ดพริกไทยร่วงหลุดจากรวงแล้วนำไปตากแดดให้ถูกแสงสม่ำเสมอประมาณ 5-6 วัน เมื่อเมล็ดแห้งสนิทจะเปลี่ยนเป็นสีดำมีสีสม่ำเสมอและดำเป็นมัน พริกไทยสด 100 กิโลกรัม ผลิตพริกไทยดำได้ 33 กิโลกรัม (รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2535)

ประโยชน์และสรรพคุณพริกไทย มีวิตามินซี วิตามินเค โพแทสเซียม วิตามินเอ แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก วิตามินบี1 วิตามินบี2 วิตามินบี3 วิตามินบี5 วิตามินบี6 วิตามินบี9 เบตาแคโรทีน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และเส้นใย

2.2 เชื้อรา *Aspergillus fumigatus*

2.2.1 ลักษณะทั่วไป

A. fumigatus เป็นเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* spp. ซึ่งเป็นเชื้อราที่พบมากที่สุดในการทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินหายใจของผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง ที่เป็นโรคเอดส์และติดเชื้อในปอด เป็นสาเหตุที่ทำให้คนกลุ่มนี้เสียชีวิต โรคที่เกิดขึ้นจาก *Aspergillus* เรียกว่า Aspergillosis ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับองค์ประกอบหลายอย่างแต่สิ่งหนึ่งที่สำคัญ คือ สภาวะภูมิต้านทานโรค สำหรับโรคภูมิแพ้ทางระบบทางเดินหายใจ (Allergic bronchopulmonary aspergillosis, ABPA) เกิดจากสภาวะร่างกายมีปฏิกิริยาภูมิแพ้ต่อสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus* spp. ที่หายใจเข้าไป ทำให้ผู้ป่วยมีอาการหอบหืด ผู้ป่วยหอบหืดอาจมีถึง 5 % ที่เป็นโรคนี้ แหล่งที่พบเชื้อรา *A. fumigatus* พบว่าแพร่หลายในธรรมชาติมักพบในดินและสิ่งที่เกิดจากการสลายตัวของสารอินทรีย์ เช่น กองปุ๋ยหมัก ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการรีไซเคิลคาร์บอนและไนโตรเจน เจริญได้ดีในสภาวะที่มีอุณหภูมิอบอุ่นและมีความชื้นสูง โดยเฉพาะในประเทศเขตร้อนและเขตอบอุ่น (Kwon-Chung and Sugui, 2013; Heinekamp et al., 2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A. fumigatus เป็นเชื้อราที่สร้างก้านชูสปอร์ (conidiophores) และมีการสร้างสปอร์แบบอาศัยเพศ เรียกว่า โคนิเดีย (conidia) รูปร่างค่อนข้างกลมและผิวขรุขระ มีสีเทาอมเขียว (2-3 ไมครอน) (วัชรี เสาร์เทพ และคณะ, 2560)

2.2.2 การปนเปื้อนเชื้อรา *Aspergillus fumigatus*

เชื้อรา *A. fumigatus* ยังสามารถพบได้ทั่วในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร ในอาหารจำพวกถั่วลิสง เนยถั่วลิสง ถั่วลิสงป่น ถั่วลิสงคั่ว น้ำมันถั่วลิสง กุ้งแห้ง ข้าวเปลือก งาดำ กระเทียม ถั่วต้ม ข้าวโพดต้ม ออริกาโน และพริก (วัชรี เสาร์เทพ และคณะ, 2560)

ศศิธร ฐิติเพชรกุล และคณะ (2558) ได้รายงานผลว่า ถั่วลิสงทอด มีการตรวจพบเชื้อรา *A. fumigatus* เช่นกัน

ภัสรา แสนงาม และคณะ (2559) พบการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. fumigatus* ในโรงเก็บข้าวและเมล็ดข้าว จึงได้ทำการศึกษาศักยภาพของสารจากธรรมชาติ กรดอะมิโน และกรดอินทรีย์ ต่อการควบคุมเชื้อรา *A. fumigatus* ของเมล็ดข้าว

2.2.3 การปนเปื้อนของเชื้อราในพริกไทยดำ

เนื่องจากในกระบวนการผลิตพริกไทยดำในอุตสาหกรรม ไม่มีขั้นตอนการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์หรือสปอร์ กระบวนการผลิต เบื้องต้นเป็นการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการล้างทำความสะอาด จากนั้นนำ เข้าเครื่องนวดเพื่อแยกเม็ดออกจากกัน ในกรณีของพริกไทยดำจะไปตากแดดหรืออบให้แห้ง แต่ในกรณีพริกไทยขาว จะต้องแช่น้ำให้เปลือกร่อนออกจากเม็ดออกที่จะนำไปตากแดด หรืออบให้แห้ง

จากกระบวนการข้างต้น ไม่มีกระบวนการที่ใช้ในการฆ่าเชื้อหรือทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับพริกไทยได้ ซึ่งพริกไทยจะมีปัญหากับจุลินทรีย์ในกลุ่มของเชื้อรา

Hammami et al. (2014)ได้รายงานว่า พริกไทยดำมีการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. flavus*, *A. tamari* และ *A.* niger ในปริมาณ 40±12 CFU/g และยังพบรายงานที่ได้ศึกษาเชื้อราในพริกไทยจำนวน 15 ตัวอย่าง พบว่า ในทุกๆตัวอย่างของพริกไทย มีการปนเปื้อนเชื้อรา *A. fumigatus*, *A. flavus* และ *Mucorales* แสดงถึงการปนเปื้อน 100 % (Bouakline et al.,2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mahgubi et al. (2013) ศึกษาการปนเปื้อนและความเป็นพิษของเชื้อ *A. flavus* ในกลุ่มเครื่องเทศของตลาดในเมืองโมรอคโค พบว่า พริกไทยดำและพริกไทยขาวมีการปนเปื้อนของเชื้อราชนิดนี้ 80 % และพบการปนเปื้อนของเชื้อราชนิดอื่นๆ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 การปนเปื้อนของเชื้อราในเครื่องเทศ (ตัวเลข แสดงจำนวนตัวอย่าง)

	spices			
Aspergillus	Paprika	Cumin	Black papper	White pepper
Section *Flavus*	20/20	16/20	16/20	11/20
Section *Niger*	20/20	19/20	19/20	10/20
Section *Circumdata*	10/20	11/20	20/20	3/20
Section *Fumigatus*	1/20	19/20	9/20	2/20
Section *Terreus*	17/20	5/20	4/20	4/20
Section *Versicolor*	0/20	8/20	13/20	6/20
Section *Nidulans*	1/20	11/20	6/20	6/20
Section *Candidus*	0/20	6/20	4/20	0/20
Section *Restricri*	0/20	0/20	6/20	0/20
Eurotium	0/20	20/20	20/20	16/20
***Penicillium* spp.**	1/20	18/20	11/20	14/20
***Fusarium* spp.**	0/20	1/20	1/20	3/20
Mucorales	20/20	17/20	17/20	3/20

ที่มา: Mahgubi et al. (2013)

Bouakline et al. (2000) รายงานว่า เชื้อราในกลุ่มที่ทนความร้อนมีการปนเปื้อนในอาหารที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ (โดยการให้ความร้อน) โดยพบ *A. fumigatus* ในตัวอย่างพริกไทย 100% ชาพื้นเมือง 100% ผลไม้ 12-66% ชาสมุนไพร 27% ซุปแช่แข็ง 20% ของตัวอย่าง ดังตารางที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 การปนเปื้อนของเชื้อราในอาหารที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน

Food	No.of Samples examined	%Contamination	Fungus	Score[a]
Pepper	15	100	*A. fumigatus*	+++
		100	*A. flavus*	+++
		100	*Mucorales*	+++
Regular tea	15	100	*A. fumigatus*	+++
		100	*A. niger*	+++
		33	*Mucorales*	+++
Apricot	15	66	*A. fumigatus*	+
		66	*A .niger*	+
		66	*Trichoderma* sp.	+
Peach	4[b]	50	*A. fumigatus*	+
Kiwi	8[b]	50	*A. fumigatus*	+
		50	*Trichoderma* sp.	+
Banana	15	33.3	*A. fumigatus*	++
Herbal	22	27.3	*Mucorales*	++
Apple	15	20	*A. fumigatus*	+
Orange	15	20	*A. fumigatus*	+
		20	*Aspergillus* sp.	+
Freeze-dried soup	15	20	*A. fumigatus*	++
		20	*A .niger*	++
		20	*Mucorales*	++
Cracker	15	13.3	*Chaetomium* sp.	++
Grapefruit juice	15	13.3	*A. fumigatus*	+
Lemon	8[b]	12.5	*A. fumigatus*	+
Sweet biscuits	15	6.7	*Mucorales*	+
Soft cheese	20	100	*Geotrichum* sp.	+++
		100	*C.norvegensis*	+++

a+, 1 to 5 CFU; + +, 6 to 10 CFU; +++, >10 CFU

b n< 15 เนื่องจากผลิตภัณฑ์เป็นไปตามฤดูกาล.

ที่มา: Bouakline et al. (2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.4 การลดการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus*

Gangneux et al. (2004) ได้ทำการศึกษาค้นคว้าหาวิธีในการฆ่าเชื้อ *A. fumigatus* ในส้มแอปเปิล พริกไทยดำ และซุปแช่แข็ง ด้วยวิธี (1)อุ่นไมโครเวฟ 800 W 2 นาที (2)ให้ความร้อน 220°C ที่เวลา 5 นาที (3)ให้ความร้อน 220°C ที่เวลา 15 นาที (4) ล้างด้วยน้ำ 1 นาที (5)ล้างด้วยน้ำผสมน้ำยาล้าง 1 นาที และ(6)ล้างด้วยน้ำผสมน้ำยาผสม 70% ethanol พบว่า ปริมาณเชื้อลดลง จนตายหมดที่ วิธีการให้ความร้อน 220 °C ที่เวลา 15 นาทีในตัวอย่างพริกไทยดำ และซุปแช่แข็ง

ภัสรา แสนงาม และคณะ (2559) ได้ทดสอบการควบคุมการเจริญของเชื้อ *A. fumigatus* บนเมล็ดข้าวด้วย lactic acid ที่ระดับความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 3 5 และ 7 วันพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยมีเปอร์เซ็นต์การเจริญของเชื้อรา 14 20 และ 32 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

Khonsung (2012) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่ 0.03 % V/V สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. fumigatus* ได้

ภัสจนันท์ หิรัญ และคณะ (2553) ได้ทำการศึกษาการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* spp. โดยน้ำมันหอมระเหยกานพลู และอบเชย พบว่า น้ำมันหอมระเหยอบเชยเข้มข้น 30 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* ได้ดี

2.3 น้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ กรดอะซิติก และส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่

2.3.1 ลักษณะทั่วไป

น้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ คือ น้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักเอทานอลของไวน์ข้าวไร่ มีองค์ประกอบเคมีที่สำคัญเป็นกรดอะซิติก ซึ่งเป็นกรดอ่อนมีสูตรโครสร้าง CH_3COOH มีน้ำหนักโมเลกุล 60.05 กรัมต่อโมล มีลักษณะเป็นของเหลวใส มีสีเหลืองน้ำตาล มีรสชาติเปรี้ยว โดยทั่วไปน้ำส้มสายชูจะมีกรดอะซิติค 4-7% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

2.3.2 ชนิดของน้ำส้มสายชู ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข(ฉบับที่ 204) พ.ศ.2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู

2.3.2.1 น้ำส้มสายชูหมัก ได้แก่ ผลิตผลที่ได้จากธัญพืช ผลไม้ หรือน้ำตาล แล้วหมักกับเชื้อตามกรรมวิธีธรรมชาติ

2.3.2.2 น้ำส้มสายชูกลั่น ได้แก่ การทำสุราขาวเจือจาง หรือ แอลกอฮอร์เจือจางหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีธรรมชาติ หรือได้มาจากการกลั่นน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น

2.3.2.3 น้ำส้มสายชูเทียม การเอากรดอะซิติกมาเจือจางกับน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งตามประกาศนี้กำหนดมาตรฐานของน้ำส้มสายชูหมักและน้ำส้มสายชูกลั่นต้องมีกรดอะซิติกไม่ต่ำกว่า 4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

2.3.3 ส่วนประกอบน้ำส้มสายชู

ส่วนประกอบอื่นๆของน้ำส้มสายชู

สุหัทยา นำชัยสี่วัฒนา และ สิริ ชัยเสรี (2549) ศึกษาสารให้กลิ่นในไวน์ข้าวที่หมักจากกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *Amylomyces* spp.M2 และ *Saccharomyces cerevisiae* พบสารระเหยในไวน์ข้าวมีทั้งหมด 38 ชนิด แต่ที่สำคัญและมีปริมาณมาก มี 12 ชนิด คือ 1-hexanol; benzeneethanol; isoamyl alcohol; 1-Octanol; ethy caprate; isobutyl alcohol; decanal; ethyl caprate; trans-β-Caryophyllene; octyl acetate; 1-decanol และ 2-methylbutyl decanoate

Xiao et al. (2011) รายงานว่า น้ำส้มสายชูหมัก ประกอบไปด้วยสารประกอบที่ระเหยได้หลายชนิด ส่วนประกอบหลักที่พบ ได้แก่ furfural; acetic acid, ethyl acetate; 3-hydroxyl-2-butanone; 3-methyl-1-butanol; isopentyl acetate; benzaldehyde; phenylethyl alcohol

Pornpukdeewattana et al. (2017) ได้รายงานว่า น้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าว มีส่วนประกอบได้แก่ acetic acid,ethy ester; ethyl acetate; 1-Butanol 3-methyl acetate; Isoamylalcohol; acetic acid; β-phenylethyl acetate; benzenneethanol และ hexadecanoic acid; methyl ester ทั้งนี้องค์ประกอบหลักนอกเหนือจากกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ยังประกอบด้วย acetic acid , ethyl ester มีสูตรโครสร้าง $CH_3CH_2COOCH_3$ เป็นสารประกอบกลุ่มเอสเทอร์ มีน้ำหนักโมเลกุล 88 กรัมต่อโมล มีลักษณะเป็นของเหลวใสไม่มี กลิ่นหอมหวาน isoamylalcohol มีสูตรโครงสร้าง $C_5H_{12}O$ มีน้ำหนักโมเลกุล 88 กรัมต่อโมล มีลักษณะเป็นของเหลวใสไม่มี มีกลิ่นเฉพาะ (Api et al., 2017) β-phenylethyl acetate มีสูตรโครงสร้างทางเคมี $C_{10}H_{12}O_2$ เป็นสารประกอบกลุ่มเอสเทอร์ เกิดจากการควบแน่นของกรดอะซิติกและ Phenyl alcohol ลักษณะคล้ายเอสเทอร์ พบในผลไม้และผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์ มีลักษณะเป็นของเหลวใส มีกลิ่นกุหลาบ ,กลิ่นน้ำผึ้ง,กลิ่นราสเบอรรี่ (ทิพย์ธิดา แก้วตาทิพย์, 2556) และ benzenneethanol มีสูตรโครงสร้างทางเคมี $C_8H_{10}O$ เป็นของเหลวใสไม่มีสี มีกลิ่นเฉพาะ (สุหัทยา นำชัยสี่วัฒนา และ สิริ ชัยเสรี, 2549)

Morath et al. (2012) ได้อธิบายถึงสารระเหย volatile organic compounds; VOCs ที่สร้างจากเชื้อรา ว่า เชื้อราหลากหลายชนิดที่ผลิตสารประกอบที่มีลักษณะเป็นไอ ส่วนประกอบหลักเป็นคาร์บอน ซึ่งมีขนาดเล็กที่ฟุ้งกระจายอยู่ระหว่างดินและบรรยากาศ อย่างไรก็ตาม วิธีการและเทคนิคที่ใช้ในการควบคุม ค้นคว้า และตรวจจับสาร VOCs ที่ถูกสร้างขึ้นมากกว่า 250 ชนิด ซึ่งแต่ละชนิดมีลักษณะของกลิ่นเฉพาะ อาจถูกสร้างในขั้นปฐมภูมิ และทุติยภูมิในแมทาบอลิซึม นอกจากนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

VOCs ถูกนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมเชื้อด้วยสารอินทรีย์ป้องกันการเกิดโรคในพืช ในอาหาร ได้นำ VOCs มาใช้ในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลไม้ เช่น 1-butanol-3-methy-acetate; 6-pentyl –α-pyrone; isobutyric acid; benzyl aldehyde และ1,8-cineole ซึ่งทั้ง 5 ชนิดมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อรา

2.3.4 ผลของน้ำส้มสายชูต่อการยับยั้งเชื้อรา

Radi et al. (2010) รายงานว่าการใช้สารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 2 และ 3% ที่อุณหภูมิ 50°C กำหนดเวลา 1 2 และ 3 นาที สามารถลดการเจริญของเชื้อรา *Penicillium expansum* ในแอปเปิลแดงได้

Sholberg and Gaunce (1996) ศึกษาการใช้ไอกรดอะซิติกในการรมเมล็ดพืชที่มีความชื้นสูง ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด และข้าวสาลี พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. flavas* ได้นอกจากนี้การรมไออะซิติกมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากเชื้อราของมะเขือเทศ ส้ม องุ่น กีวี สตอเบอรี่ แพร์ และผลไม้เมล็ดแข็งได้ (Sholberg and Gaunce, 1995; Sholberg and Gaunce, 1996; Sholberg et al, 1996)

เพ็ญนภา กิตติวุฒิเจริญ (2556) รายงานว่า การแพร่ของกรดอะซิติกในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 0-0.45% พบว่า ที่ความเข้มข้นกรด 0.35%สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ได้อย่างสมบูรณ์ และที่ความเข้มกรดอะซิติก 0.85 %.อาหารเหลว PDB สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ได้อย่างสมบูรณ์ และเมื่อความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูเพิ่มมากขึ้น ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ก็มากขึ้นด้วย

ภัทราพรรณ จรูญรัตนสกุล (2553) ได้ศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis cinerea* บนผิวสตอเบอรี่สดด้วยการสเปรย์และรมไอน้ำส้มสายชูหมัก พบว่า น้ำส้มสายชูที่มีความเข้มข้นกรดอะซิติก 10% เวลา 20 นาที สามารถลดการเสื่อมเสียของผลสตอเบอรี่สดได้ถึง 20% เมื่อเปรียบเทียบกับสตอเบอรี่ที่ไม่ผ่านการรมไอ

2.3.5 ผลของส่วนประกอบน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งเชื้อรา

Ando et al. (2012) ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้สายพันธุ์ของยีสต์ *Candida maltose* NP9 ที่แยกได้ในชีสอาหารพื้นบ้านในอิหร่าน ในการศึกษาพบว่า บนอาหาร YPD สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *Aspergillus brasiliensis* โดยใช้วิธีเติมชนิดไอในอาหารวุ้น ซึ่งพบว่า การเติม isoamylalcohol ปริมาณ 80 ไมโครลิตรต่อจานสามารถยับยั้งการเจริญและการเติมปริมาณ 20 ไมโครลิตรต่อจาน สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ราทุกชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mercier and Jimenez (2004) ได้ศึกษาการควบคุมโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของผลไม้โดยวิธีรมไอระเหยของสาร volatile organic compounds (VOCs) ที่ผลิตจากเชื้อรา *Muscodor albus* ซึ่งเป็นเชื้อรากลุ่มเอนโดไฟต์ พบว่า สามารถควบคุมการเกิดโรคเน่าของแอปเปิ้ลที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Penicillium expansom* และ *Botrytis cinerea* รวมทั้งการควบคุมการเกิดโรคผลเน่าของท้อที่เกิดจากเชื้อรา *Monilinia fructicolo* เมื่อวิเคราะห์ชนิดของสาร VOCs พบว่า สารประกอบหลายชนิด เช่น 2-methyl-1-butanol; isobutyric acid; phenethyl alcohol; 2-methylbutyl acetate และ ethyl butyrate เป็นต้น ซึ่งการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคอาจเกิดจากการทำงานร่วมกันของสารประกอบต่างๆเหล่านี้

นครินทร์ สุวรรณราช และคณะ (2554) รายงานว่าสาร VOCs ที่ผลิตจากเชื้อรา *M.albus* ไอโซเลต CMU-Cib 462 สามารถควบคุมโรคผลเน่าของสัมพันธ์สายน้ำผึ้งที่เกิดจากเชื้อรา *Penicillium digitatum* ได้

2.4 การรมไอ

การรมไอเป็นการปล่อยสารให้อยู่ในรูปของไอระเหยให้แพร่กระจาย ครอบคลุมศัตรูพืชที่ต้องการไม่ว่าจะเป็นเชื้อจุลินทรีย์หรือการยับยั้งที่จะก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของพืช โดยเปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นไอ ซึ่งไอมีโมเลกุลขนาดเล็กจึงสามารถแทรกตัวลงไปทำลายจุลินทรีย์เป้าหมายได้ดีกว่า (จริงแท้ ศิริพานิช, 2552)

เพ็ญนภา กิตติวุฒิเจริญ (2556) รายงานว่าการรมไอฟอสฟีนที่ความเข้มข้น 1-3 กรัมต่อลูกบาศก์เมตร ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าไอฟอสฟีนสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. flavus* ได้ทุกความเข้มข้นโดยที่ความเข้มข้นที่ 3 กรัมต่อลูกบาศก์เมตรให้ผลการยับยั้งที่สมบูรณ์

2.4.1 การรมไอน้ำส้มสายชู

น้ำส้มสายชูเป็นกรดอินทรีย์ที่รู้จักดีในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากถูกใช้เพื่อควบคุมการเจริญของเชื้อราและมีการนำมาประยุกต์ใช้เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราในหลายผลิตภัณฑ์โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพวกผักและผลไม้ (Higgins and Brinkhaus, 1999)

Krusong et al. (2015) ศึกษาการใช้นำส้มสายชูในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* ในผักชีสด พบว่า การรมไอของน้ำส้มสายชูที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8 % เป็นเวลา 50 นาที สามารถยับยั้งเชื้อได้สมบูรณ์

Pornpukdeewattana et al. (2017) ศึกษาประสิทธิภาพของไอน้ำส้มสายชูหมัก upland rice vinegar (URV) สามารถลดการเกิดสปอร์และสารพิษจาก *A. flavus* และลดการเจริญของ mycelial

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้อย่างสมบูรณ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการรมไอของ URV (กรดอะซีติก 0.0017 mmol/L) และไอกรดอะซีติก (กรดอะซีติก 0.0023 mmol/L) หลังการรมไอเป็นเวลา 90 นาที และจากการใช้ GC-MS ศึกษาสารประกอบระเหยได้ใน URV พบว่ามีสารประกอบไอระเหย ที่มีสมบัติต้านเชื้อจุลินทรีย์ประกอบด้วย isoamylalcohol; 1-butanol, 3-methyl-,acetate และ ß-phenylethyl acetate และ การรมไอ URV เป็นเวลา 5 ชั่วโมง สามารถกำจัดสปอร์ของ *A. flavus* ในเมล็ดข้าวโพดได้

รัตติพร โพธิมล (2559) รายงานว่าผลของไอเอทานอล ไอน้ำส้มสายชู และไอผสมต่อเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่แยกจากขนมปัง พบว่า การสัมผัสไอในเวลาที่มากขึ้น ประสิทธิภาพในการในการยับยั้งเชื้อราจะเพิ่มสูงขึ้นด้วย การรมไอเอทานอล 95% ที่เวลา 20 นาที และการรมไอน้ำส้มสายชู ที่เวลา 80 นาที พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้อย่างสมบูรณ์ และในการรมไอแบบไอร่วม พบว่าการใช้ไอเอทานอล 10 นาที และไอน้ำส้มสายชู 40 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Penicillium* spp.ได้อย่างสมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย

เม็ดพริกไทยดำพร้อมบริโภคในตลาดเขตลาดกระบัง เพื่อใช้ในการรมไอตลอดการทดลอง

3.2 อุปกรณ์การทดลอง

3.2.1	หม้อนึ่งความดันไอสูง (Autoclave)	Tomy รุ่น ES315	ประเทศญี่ปุ่น
3.2.2	ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow)	Bosstech	ประเทศสหรัฐอเมริกา
3.2.3	ชุดกล่องรมไอขนาด (0.25x0.30x0.25 m)และเครื่องปั๊ม		ประเทศไทย
3.2.4	อ่างควบคุมความร้อน (Water bath)	Memmert	ประเทศเยอรมนี
3.2.5	ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	Heraeus	ประเทศเยอรมนี
3.2.6	ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)	Memmert	ประเทศเยอรมนี
3.2.7	กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)	Nikon	ประเทศญี่ปุ่น
3.2.8	เครื่องตีป่น(Stomacher)	Seward รุ่น BA 7021	ประเทศอังกฤษ
3.2.9	เครื่องหมุนผสม (Vortex mixer)	Vortex Genie 2	ประเทศสหรัฐอเมริกา
3.2.10	เวอร์เนียร์แคลลิปเปอร์ (Vernier Calipers)		ประเทศเยอรมัน
3.2.11	เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง	Mettler Toledo รุ่น Dragon 3002	ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
3.2.12	คอคบอร์เรอร์ (Cork borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 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(mi) กำลัง 900 วัตต์	Sharp	ประเทศเยอรมัน
3.2.16	อุปกรณ์เครื่องแก้วต่างๆ		
3.2.17	ถุงพลาสติกใส		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.3.1 Potato Dextrose Agar (PDA) Merck ประเทศเยอรมัน

3.4 สารเคมี

3.4.1 น้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการ หมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประเทศไทย

3.4.2 กรดอะซิติก ความเข้มข้น 99.8% Sigma ประเทศมาเลเซีย

3.4.3 อะซิติก เอซิด เอททิล อะซิเตต (Acetic acid,Ethyl acetate)ความเข้มข้น 99.8% Sigma ประเทศมาเลเซีย

3.4.4 ไอโซ เอมิล แอลกอฮอล์ (Isoamylalcohol) ความเข้มข้น 99% Sigma ประเทศมาเลเซีย

3.4.5 เบต้า ฟีนิล เอททิล อะซิเตต (β-Phenylethyl acetate) ความเข้มข้น 99% Sigma ประเทศมาเลเซีย

3.4.6 เบนซีนเอททานอล (Benzenneethanol) ความเข้มข้น 99% Sigma ประเทศมาเลเซีย

3.4.7 แอลกอฮอล์ 95% กรมสรรพสามิต ประเทศไทย

3.4.8 กรดทาทาลิค10%(Tartaric acid) Thai Poly Chemicals Company ประเทศไทย

3.4.9 ทวีน80 (Tween 80) Merck ประเทศเยอรมัน

3.4.10 บัตเตอร์ฟิวฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (Butterfield's Phosphate-Buffered)

3.5 จุลินทรีย์

เชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่แยกได้จากตัวอย่างพริกไทยดำ และได้รับการยืนยันจากศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพ (ไบโอเทค) ประเทศไทย เขี่ยเชื้อรา *A. fumigatus* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30±1°C เป็นเวลา 3 วัน จากนั่นเขี่ยเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30±1°C เป็นเวลา 7 วัน และเก็บเชื้อเพื่อใช้ในการทดลองที่อุณหภูมิ 4°C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 วิธีการทดลอง

3.6.1 การเตรียมเชื้อ *Aspergillus fumigatus*

3.6.1.1 การเตรียมเชื้อสำหรับการทดลองการเจริญของเส้นใย (mycelial)ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30±1°C เป็นเวลา 3 วัน

3.6.1.2 การเตรียมสปอร์สำหรับการทดลอง การงอกของสปอร์ เขี่ยเชื้อรา *A. fumigatus* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA slant บ่มที่อุณหภูมิ 30±1°C เป็นเวลา 7 วัน

3.6.2 การเก็บรักษาเชื้อ *Aspergillus fumigatus*

ทำการถ่ายเชื้อลงในอาหาร PDA slant เดือนละ 1 ครั้ง บ่มที่อุณหภูมิ 30±1°C เวลา 7 วัน ระหว่างการทดลอง เมื่อเชื้อเจริญเต็มที่แล้วให้เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C จนกว่าจะใช้งาน

3.6.3 การเตรียมน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ สารละลายกรดอะซิติก และสารละลายสารประกอบของน้ำส้มสารชูจากข้าวไร่

3.6.3.1 น้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ที่ได้จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังปรับความเข้มข้นกรดอะซิติก 8 %

3.6.3.2 สารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 8 % เตรียมได้จาก ปิเปตกรดอะซิติกเข้มข้น 99.8 % จำนวน 40.080 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 500 มิลลิลิตร

3.6.3.3 สารละลาย acetic acid,ethyl ester ความเข้มข้น 8 % เตรียมได้จาก ปิเปต acetic acid,ethyl ester เข้มข้น 99.8 % จำนวน 40.080 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 500 มิลลิลิตร

3.6.3.4 สารละลาย β-phenylethyl acetate ความเข้มข้น 0.35 % เตรียมได้จาก ปิเปต β-phenylethyl acetate เข้มข้น 99 % จำนวน 1.768 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 500 มิลลิลิตร

3.6.3.5 สารละลาย benzenneethanol ความเข้มข้น 0.29 % เตรียมได้จาก ปิเปต benzenneethanol เข้มข้น 99 % จำนวน 1.460 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 500 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.3.6 สารละลาย isoamylalcohol ความเข้มข้น 0.18 % เตรียมได้จาก ปิเปต isoamylalcohol เข้มข้น 99 % จำนวน 0.909 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 500 มิลลิลิตร

3.6.4 ผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ไอกรดอะซิติก และไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ระดับห้องปฏิบัติการ)

3.6.4.1 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ขั้นตอนนี้แบ่งออกเป็น 2 วิธี

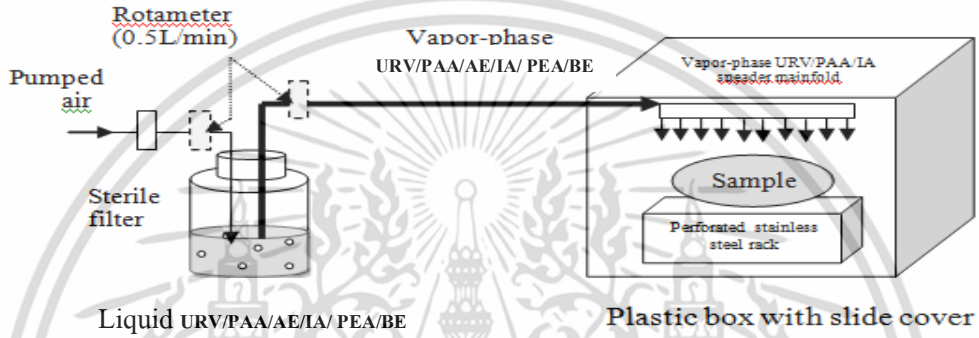
3.6.4.1.1 ระยะเวลาการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. fumigates* (Mycelial growth inhibition) โดยใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อรา *A. fumigatus* ที่ได้จากขั้นตอน 3.6.1.2 มาเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จากนั้นนำไปวางในกล่องรมไอ (ดังภาพที่ 1) รมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ที่มีความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% (โดยเติมน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงในขวดดูแรนขนาด 1000 มิลลิลิตร โดยอาศัยปั๊ม (pump) อากาศ (ความเร็วลม 0.5ลิตร/นาที) เป่าลงในสารละลายเพื่อให้ไอเข้าไปในกล่องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นรมไอเป็นเวลา 0 5 10 15 16 17 18 19 และ 20 นาที ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง จำนวน 2 เพลทต่อช่วงเวลา เมื่อครบเวลาตามที่กำหนด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30±1°C เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นอ่านผลด้วยวิธีการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของแต่ละเพลทด้วยเวอร์เนีย แคลลิปเปอร์ และหาค่าเฉลี่ย เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้รมไอ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยนำระยะเวลาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติไปพิจารณาใช้ในการรมไอในพริกไทยดำต่อไป

3.6.4.1.2 ระยะเวลาในการยับยั้งการงอกของสปอร์(Spore destruction)โดยนำสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* จากขั้นตอน 3.6.1.1 มาเจือจางด้วยสารละลาย Tween 80 ความเข้มข้น 0.01% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ให้มีความเข้มข้นของเชื้อ 10^3สปอร์/มิลลิลิตร จากนั้นดูดสารละลายเชื้อปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เกลี่ยด้วยวิธี Spread plate จะได้เชื้อในจานเพาะเชื้อ 100 โคโลนี/เพลท นำไปวางในกล่องรมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ที่มีความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ปั๊มไอเข้ากล่อง เช่นเดียวกับ ข้อ 3.6.4.1.1 รมไอเป็นเวลา 0 5 10 15 20 25 30 35 36 37 38 39 และ 40 นาที ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 30±1°C จำนวน 2 เพลทต่อช่วงเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด นำจานเพาะเชื้อที่รมไอแล้วผึ่งให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อ 5 นาที บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30±1 °C เป็นเวลา 36-48 ชั่วโมง ตรวจนับสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigates* บนจานเพาะเชื้อที่รมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ในเวลาต่างๆ หาค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อรา *A. fumigatus* ที่ไม่ได้รมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่เป็นตัวอย่างควบคุม ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยนำระยะเวลาที่ทำให้เชื้อ *A. fumigatus* ในจานเพาะเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติไปพิจารณาใช้ในการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ในพริกไทยดำต่อไป

สำหรับการคำนวณหาปริมาณน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่แสดงในภาคผนวก ข.



หมายเหตุ: อักษรย่อ URV, upland rice vinegar; PAA, pure acetic acid; AE, acetic acid, ethyl ester; PEA, β-phenylethyl acetate; BE, benzeneethanol; IA, isoamylalcohol

ภาพที่ 3.1 กล่องรมไอขนาด 0.25x0.30x0.25 m.

ที่มา: ดัดแปลงจาก Krusong et al. (2015).

3.6.4.2 ผลของไอกรดอะซิติก ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ทำการทดลองลักษณะเดียวกันกับข้อ 3.6.4.1 แต่นำจานเพาะเชื้อไปวางไว้ในกล่องที่รมไอด้วยไอกรดอะซิติกที่มีความเข้มข้น 8 % และสำหรับการคำนวณหาปริมาณสารกรดอะซิติกแสดงในภาคผนวก ข.

3.6.4.3 ผลของไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ทำการทดลองลักษณะเดียวกันกับข้อ 3.6.4.1 แต่นำจานเพาะเชื้อไปวางไว้ในกล่องที่รมไอด้วยไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ได้แก่ ไอ acetic acid, ethyl ester ความเข้มข้น 8%,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอ β-phenylethyl acetate ความเข้มข้น 0.35%, ไอ benzenneethanol ความเข้มข้น 0.29% และ isoamylalcohol ความเข้มข้น 0.18% โดยรมเป็นสารเดี่ยวๆ ทำการทดลองกับสารระเหยครั้งละ 1 ชนิด กำหนดเวลาที่ใช้รมเป็น 0 10 20 30 และ 40 นาที ซึ่งสารระเหยแต่ละชนิด เตรียมตามขั้นตอนในข้อ 3.6.3

สำหรับการคำนวณหาปริมาณสารทั้ง 4 ชนิดแสดงในภาคผนวก ข.

3.6.5 ผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* บนพริกไทยดำ

3.6.5.1 การสร้างการปนเปื้อนสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* บนพริกไทยดำ

นำเม็ด พริกไทยดำ ฆ่าเชื้อโดยแช่ด้วย Sodium hypochorite ความเข้มข้น 0.1 % (w/v)นาน 2 นาที ล้างด้วยน้ำ(ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ) จำนวน 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งในถาด เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *A. fumigatus* ความเข้มข้น 1×10^5 สปอร์/มิลลิเมตร มาคลุกให้เข้ากัน และทั่วถึงจะได้พริกไทยดำที่มีสปอร์ของเชื้อรา*A. fumigatus* เป็น 3 log spore/g เพื่อใช้เป็นตัวแทนเชื้อระดับที่พบทั่วไปในพริกไทยดำ

3.6.5.2 ผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ต่อการยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* บนพริกไทยดำ

นำเม็ด พริกไทยดำที่เตรียมได้ใน ข้อ 3.6.5.1 รมด้วยไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ โดยบรรจุเม็ดพริกไทยดำ น้ำหนัก 10 กรัม/เพลท ไปวางในกล่องรมไอ แล้วรมไอที่เวลา 40 นาที ที่อุณหภูมิ30±1°C จำนวน 2 เพลทต่อ 1 ซ้ำ ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ เมื่อครบเวลาตามที่กำหนด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30±1 °C พร้อมกับเม็ดพริกไทยดำชุดควบคุม เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสปอร์เชื้อราที่เหลือรอด และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อระหว่างเม็ดพริกไทยดำที่ผ่านการรมไอ และไม่ผ่านการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่

การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อรา *A. fumigatus* โดยนำเม็ดพริกไทยดำที่ผ่านการรมไอ ซึ่งในแต่เพลทจะมีน้ำหนัก 10 กรัม ใส่ลงในถุงตีป่นแล้วเติมสารละลายบัตเตอร์ฟิวฟอสเฟสบัปเฟอร์ (Butterfield's phosphate-Buffered) ที่ฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 90 มิลลิลิตร ตีป่นด้วยเครื่องตีป่นความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ทำการเจือจาง 10 เท่า (Ten fold dilution) โดยปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มี Tween 80 ปริมาตร 9 มล. จากนั้นดูดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้วย Spread plate technique

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บ่มที่อุณหภูมิ 30±1°C เป็นเวลา 2 วัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ตรวจนับปริมาณเชื้อรา *A. fumigatus* เปรียบเทียบกับเชื้อเริ่มต้นในเม็ดพริกไทยดำชุดควบคุมที่ไม่ได้รมไอ

3.6.5.3 ผลของไอกรดอะซิติก ต่อการยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* บนพริกไทยดำ

ทำการทดลองลักษณะเดียวกันกับข้อ 3.6.5.2 แต่นำพริกไทยดำ น้ำหนัก 10 กรัม/เพลท จำนวน 2 เพลทไปวางไว้ในกล่องที่รมไอด้วยไอกรดอะซิติกที่มีความเข้มข้น 8 % และสำหรับการคำนวณหาปริมาณสารกรดอะซิติกจะแสดงในภาคผนวก ข.

3.6.5.4 การศึกษาผลของไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ต่อการยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* บนพริกไทยดำ

ทำการทดลองลักษณะเดียวกันกับข้อ 3.6.5.2 แต่นำพริกไทยดำน้ำหนัก 10 กรัม/เพลท จำนวน 2 เพลทไปวางไว้ในกล่องที่รมไอด้วยไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ได้แก่ ไอ acitic acid, ethyl ester ความเข้มข้น 8 %, ไอ β-phenylethyl acetate ความเข้มข้น 0.35%, ไอ benzenneethanol ความเข้มข้น 0.29% และ isoamylalcohol ความเข้มข้น 0.18 % โดยรมเป็นสารเดี่ยวๆ ทำการทดลองที่ละสาร กำหนดเวลาเป็น 40 นาที ซึ่งสารแต่ละตัว เตรียมได้จากขั้นตอน 3.6.3

สำหรับการคำนวณหาปริมาณสารทั้ง 4 ชนิดแสดงในภาคผนวก ข.

3.6.6 สรุปและรายงานผลการทดลอง

ทำการออกแบบการทดลองแบบ Compleately Randomized Design (CRD) นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS version 17.0 จากนั้นนำค่าเฉลี่ย มาเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan'New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การศึกษาผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ไอกรดอะซิติก และไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ต่อการยับยั้งเชื้อ *Aspergillus fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ระดับห้องปฏิบัติการ

4.1.1 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

4.1.1.1 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า ไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ระยะเวลา 10 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 0.28±0.03 มิลลิโมล/ลิตร) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 57.6% (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.12±0.02 เซนติเมตร) ที่ระยะเวลา 15 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 0.41±0.04 มิลลิโมล/ลิตร) สามารถยับยั้งเชื้อได้ 76.4 % (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.18 ±0.02 เซนติเมตร) และเมื่อรมไอเป็นระยะเวลา 18 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 0.51±0.05 มิลลิโมล/ลิตร) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* ได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) ดังผลแสดงในตารางที่ 4.1 และแสดงในภาคผนวก ค. ภาพที่ ค1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) ต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1°C

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่* (มิลลิโมล/ลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี** (cm)	การยับยั้ง (%)
0	0	5^{a}±0.01	0
5	0.12±0.02	3.55^{b}±0.01	29.1
10	0.28±0.03	2.12^{c}±0.02	57.6
15	0.41±0.04	1.18^{d}±0.02	76.4
16	0.44±0.04	0.83^{e}±0.03	83.3
17	0.48±0.05	0.53^{f}±0.06	89.3
18	0.51±0.05	0^{g}±0.01	100
19	0.55±0.06	0^{g}±0.01	100
20	0.59±0.06	0^{g}±0.01	100

* การคำนวณปริมาณน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ แสดงในภาคผนวก ข

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

4.1.1.2 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ผลของการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้น 10^{3} สปอร์/มิลลิลิตร โดยการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) พบว่าระยะเวลาการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่และปริมาณสารมีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* โดยเมื่อระยะเวลาการรมไอเพิ่มมากขึ้นสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้สูงขึ้น ซึ่งเมื่อทำการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง *A. fumigatus* ที่ผ่านการรมไอกับชุดควบคุม (รมไอ 0 นาที) ระยะเวลาการรมไอ 37 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 1.12± 0.07 มิลลิโมล/ลิตร) สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ได้อย่างรวดเร็วและสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) ดังผลแสดงในตารางที่ 4.2

จากการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ รัตติพร โพธิมล (2559) ซึ่งได้ทำการศึกษารมไอน้ำส้มสายชู ในการยับยั้งเชื้อ *Penicillium* spp. พบว่า ไอน้ำส้มสายชูสามารถยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ที่เวลา 80 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1°C

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่* (มิลลิโมล/ลิตร)	จำนวนสปอร์ที่งอก** (สปอร์/plate)	การยับยั้ง (%)
0	0	98.67^{a}±1.53	0
5	0.12±0.02	88^{b}±0.01	10.8
10	0.28±0.03	77.33^{c}±3.51	21.6
15	0.41±0.04	52.67^{d}±2.08	46.6
20	0.59±0.06	38.67^{e}±1.15	60.8
25	0.7±0.08	30^{f}±3.46	69.6
30	0.87±0.07	23^{g}±2	76.7
35	0.99±0.08	5^{h}±1.73	94.9
36	1.11±0.07	1.67^{i}±0.58	98.3
37	1.12±0.07	ND^{i}***	100
38	1.12±0.07	ND^{i}***	100
39	1.13±0.07	ND^{i}***	100
40	1.14±0.07	ND^{i}***	100

* การคำนวณปริมาณน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ แสดงในภาคผนวก ข

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 ผลของการรมไอกรดอะซิติกต่อการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

4.1.2.1 ผลของการรมไอกรดอะซิติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ผลของการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. fumigatus* บนจานเพาะเชื้อ พบว่า ยิ่งระยะเวลาในการสัมผัสไอกรดอะซิติกเพิ่มมากขึ้นเท่าใดประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *A. fumigatus* จะเพิ่มมากขึ้นด้วย ระยะเวลาการรมไอกรดอะซิติกให้ผลการยับยั้งเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% การรมไอกรดอะซิติกเป็นระยะเวลา 15 นาที สามารถลดการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* เส้นผ่านศูนย์กลางลดลงเหลือ 1.66 ±0.01 (การยับยั้ง 67.0%) และการรมไอกรดอะซิติกเป็นระยะเวลา 20 นาที ขึ้นไป ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* ได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) ดังผลแสดงในตารางที่ 4.3 และแสดงในภาคผนวก ค. ภาพที่ ค2

ตารางที่ 4.3 ผลของการรมไอกรดอะซิติก (ความเข้มข้น 8%) ต่อการการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1°C

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณกรดอะซิติก* (มิลลิโมล/ลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี** (cm)	การยับยั้ง (%)
0	0	5.03^{a}±0.07	0
5	0.15±0.02	3.72^{b}±0.04	25.9
10	0.32±0.02	2.51^{c}±0.02	50
15	0.47±0.04	1.66^{d}±0.01	67
16	0.52±0.04	1.44^{e}±0.03	71.4
17	0.55±0.05	1.1^{f}±0.02	78.1
18	0.58±0.04	0.75^{g}±0.01	85
19	0.59±0.05	0.5^{h}±0.01	90.1
20	0.6±0.05	0^{i}±0.01	100

* การคำนวณปริมาณกรดอะซิติก แสดงในภาคผนวก ข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

4.1.2.2 ผลของการรมไอกรดอะซิติกต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ผลการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* บนจานเพาะเชื้อที่มีความเข้มข้นของสปอร์เริ่มต้น 10^3 สปอร์/มิลลิลิตร โดยการรมไอกรดอะซิติก ความเข้มข้น 8 % พบว่า ยิ่งระยะเวลาในการสัมผัสไอกรดอะซิติกเพิ่มมากขึ้น ประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* จะเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย ระยะเวลาการรมไอกรดอะซิติกให้ผลการยับยั้งการงอกของสปอร์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อทำการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์กับชุดควบคุม (รมไอ 0 นาที) พบว่า การรมไอกรดอะซิติกเป็นระยะเวลา 35 นาที ทำให้สปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* ลดลงเหลือ 10.33±0.58 สปอร์/เพลท (การยับยั้ง 89.5%) และการรมไอกรดอะซิติกเป็นระยะเวลา 40 นาที ให้ผลในการยับยั้งสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* ได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) ดังผลแสดงในตารางที่ 4.4

จากผลการทดลองรมไอน้ำส้มชายชูจากข้าวไร่ 8 % และ ไอกรดอะซิติก 8% พบว่า ไอน้ำส้มสายชูสามารถยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* ได้ดีกว่าไอกรดอะซิติกเล็กน้อย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งสอดคล้องกับ Pornpukdeewattana et al. (2017) ซึ่งได้ศึกษาประสิทธิภาพของไอน้ำส้มสายชูหมัก upland rice vinegar (URV) (ความเข้มข้นของกรด 8 %) และ ไอกรดอะซิติก ตวามเข้มข้น 8 % ในยับยั้งการงอกของสปอร์และสารพิษจาก *A. flavus* และการยับยั้งการเจริญของ mycelial ได้อย่างสมบูรณ์ หลังการรมไอเป็นเวลา 90 นาที บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการรมไอของ URV (ปริมาณกรดอะซิติก 0.0017 mmol/L) และไอกรดอะซีติก (ปริมาณกรดอะซิติก 0.0023 mmol/L) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% การทดลองนี้ได้เพิ่มความถี่ของเวลาให้มีความแตกต่างของช่วงเวลาน้อยที่สุด กำหนดช่วงระยะเวลา เพียง 1 นาที คือทำการทดลอง ช่วงเวลา 35 36 37 38 39 และ 40 นาที ในการทดลองการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* และช่วงเวลา 15 16 17 18 และ 20 นาที ในการทดลองการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. fumigatus* ซึ่งทำให้เห็นความแตกต่างได้มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบเทียบกับการทดลองของ Pornpukdeewattana et.al. (2017) ที่ใช้ช่วงเวลา 0 30 60 และ 90 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลของการรมไอกรดอะซิติก (ความเข้มข้น 8%) ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1°C

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณกรดอะซิติก* (มิลลิโมล/ลิตร)	จำนวนสปอร์ที่งอก** (สปอร์/plate)	การยับยั้ง (%)
0	0	98^{a}±3.46	0
5	0.15±0.02	91.33^{b}±3.21	6.8
10	0.32±0.02	79.33^{c}±3.21	19
15	0.47±0.04	56^{d}±1.01	42.9
20	0.6±0.05	42.67^{e}±0.58	56.5
25	0.76±0.06	39.67^{e}±1.53	59.5
30	0.89±0.08	28.33^{f}±2.52	71.1
35	0.95±0.08	10.33^{g}±0.58	89.5
36	0.98 ±0.08	7.33^{gh}±0.58	92.5
37	1.02±0.07	6.00^{hi}±0.01	93.9
38	1.07±0.08	3.33^{ij}±0.58	96.6
39	1.12±0.08	1.33^{jk}±0.58	98.6
40	1.17±0.07	ND^{k}***	100

* การคำนวณปริมาณกรดอะซิติกแสดงในภาคผนวก ข

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

4.1.3 ผลของการรมไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

4.1.3.1 ผลของการรมไอ acetic acid, ethyl ester ต่อการยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

4.1.3.1.1 ผลของการรมไอ acetic acid, ethyl ester ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. fumigatus* บนจานเพาะเชื้อที่รมด้วยไอ acetic acid, ethyl ester ความเข้มข้น 8 % พบว่า การสัมผัสไอ acetic acid, ethyl ester ที่เวลาเพิ่มมากขึ้น มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. fumigatus* และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อทำการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกับชุดควบคุม (รมไอ 0 นาที) ทั้งนี้การรมไอ acetic acid, ethyl ester ที่เวลา 10 20 30 และ 40 นาที มีผลในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. fumigatus* ได้เพียง 1.7 4.6 4.7 และ 4.2 % ตามลำดับ ดังผลแสดงในตารางที่ 4.5 และแสดงในภาคผนวก ค. ภาพที่ ค3

ตารางที่ 4.5 ผลของการรมไอสาร acetic acid, ethyl ester (ความเข้มข้น 8%) ต่อการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่ อุณหภูมิ 30±1°C

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณ acetic acid, ethyl ester* (มิลลิโมล/ลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี** (cm)	การยับยั้ง (%)
0	0	4.75^{a}±0.06	0
10	0.042±0.001	4.67^{ab}±0.03	1.7
20	0.079±0.002	4.53^{bc}±0.1	4.6
30	0.124±0.003	4.52^{c}±0.1	4.7
40	0.155±0.003	4.55^{c}±0.01	4.2

* การคำนวณปริมาณ Acetic acid, ethyl ester แสดงในภาคผนวก ข

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

4.1.3.1.2 ผลของการรมไอ acetic acid,ethyl ester ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ผลของการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* บนจานเพาะเชื้อที่มีความเข้มข้นของสปอร์เริ่มต้น 10^3 สปอร์/มิลลิลิตร โดยการรมไอ acetic acid, ethyl ester ความเข้มข้น 8 % พบว่า การสัมผัสไอ acetic acid, ethyl ester ที่เวลาเพิ่มมากขึ้น มีผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อทำการเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รมไอ 0 นาที) โดยพบว่า การรมไอ acetic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

acid, ethyl ester ที่เวลา 10 20 30 และ 40 นาที มีผลในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* ได้เพียง 1.3 2.6 3.0 และ 4.8% ตามลำดับ ดังผลแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ผลของการรมไอ acetic acid, ethyl ester (ความเข้มข้น 8%) ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1°C

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณ acetic acid, ethyl ester* (มิลลิโมล/ลิตร)	จำนวนสปอร์ที่งอก** (สปอร์/plate)	การยับยั้ง (%)
0	0	77[a]±3.61	0
10	0.042±0.001	76[a]±2.65	1.3
20	0.079±0.002	75[a]±1.73	2.6
30	0.124±0.003	74.67[a]±2.08	3
40	0.155±0.003	73.33[a]±1.53	4.8

* การคำนวณปริมาณ Acetic acid, ethyl ester แสดงในภาคผนวก ข

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

4.1.3.2 ผลของการรมไอ β-phenylethyl acetate ต่อการยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

4.1.3.2.1 ผลของการรมไอ β-phenylethyl acetate ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ผลของการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. fumigatus* โดยการรมไอ β-phenylethyl acetate ความเข้มข้น 0.35 % พบว่า ระยะเวลาการรมไอ β-phenylethyl acetate ให้ผลการยับยั้งเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% การรมไอ β-phenylethyl acetate เป็นระยะเวลา 40 นาที ทำให้ลดการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* เส้นผ่านศูนย์กลางลดลงเหลือ 3.83±0.01 (การยับยั้ง 23.0%) ดังผลแสดงในตารางที่ 4.7 และแสดงในภาคผนวก ค.ภาพที่ ค4

จากผลการทดลองรมไอ β -phenylethyl acetate จะเห็นได้ว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. fumigatus* และยับยั้งการงอกของสปอร์ของ ได้ 23 และ 12.1% ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chapla et al. (2014) รายงานว่า β -phenylethyl acetate ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดได้จากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่แยกมาจากใบ ลำต้น และรากของต้นจำปา เป็นสารระเหยที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Cladosporium cladosporiodides* และ *C. sphaerospermum* ได้ซึ่งเชื้อราทั้ง 2 ชนิดเป็นเชื้อราก่อโรคในพืช

ตารางที่ 4.7 ผลของการรมไอสาร β-phenylethyl acetate (ความเข้มข้น 0.35%) ต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1°C

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณ β-phenylethyl acetate* (มิลลิโมล/ลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี** (cm)	การยับยั้ง (%)
0	0	4.98[a]±0.01	0
10	0.062±0.001	4.62[b]±0.01	7.2
20	0.105±0.002	3.95[c]±0.01	20.7
30	0.151±0.002	3.92[d]±0.02	21.2
40	0.236±0.002	3.83[e]±0.01	23

* การคำนวณปริมาณ β-phenylethyl acetate แสดงในภาคผนวก ข

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

4.1.3.2.2 ผลของการรมไอ β-phenylethyl acetate ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ผลของการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* ที่มีความเข้มข้นของสปอร์เริ่มต้น 10^3 สปอร์/มิลลิลิตร โดยการรมไอ β-phenylethyl acetate ความเข้มข้น 0.35 % พบว่าการสัมผัสไอ β-phenylethyl acetate ที่เวลาเพิ่มมากขึ้น ระยะเวลาการรมไอ β-phenylethyl acetate ให้ผลการยับยั้งเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อทำการเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รมไอ 0 นาที) โดยพบว่า การรมไอ β-phenylethyl acetate เป็นระยะเวลา 40 นาที ทำให้สปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* ลดลงเหลือ 67.67±1.53 สปอร์/เพลท (การยับยั้ง 12.1%) ดังผลแสดงในตารางที่ 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ผลของการรมไอสาร β-phenylethyl acetate (ความเข้มข้น 0.35%) ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่ อุณหภูมิ 30±1°C

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณ β-phenylethyl acetate* (มิลลิโมล/ลิตร)	จำนวนสปอร์ที่งอก** (สปอร์/plate)	การยับยั้ง (%)
0	0	77^{a}±1.00	0
10	0.062±0.001	75.33^{a}±1.15	2.2
20	0.105±0.002	72^{b}±1.73	6.5
30	0.151±0.002	69.33^{c}±1.15	10
40	0.236±0.002	67.67^{c}±1.53	12.1

* การคำนวณปริมาณ β-phenylethyl acetate แสดงในภาคผนวก ข

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

4.1.3.3 ผลของการรมไอ benzeneethanol ต่อการยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

4.1.3.3.1 ผลของการรมไอ benzeneethanol ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ผลของการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *A. fumigatus* ด้วยการรมไอ benzeneethanol ความเข้มข้น 0.29 % พบว่า การสัมผัสไอ benzeneethanol ที่เวลาเพิ่มมากขึ้น มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อทำการเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รมไอ 0 นาที) ทั้งนี้การรม benzeneethanol ที่เวลา 10 20 30 และ 40 นาที มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* ได้ 3.9 5.5 8.0 และ 9.1 % ตามลำดับ ดังผลแสดงในตารางที่ 4.9 และแสดงในภาคผนวก ค. ภาพที่ ค5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ผลของการรมไอสาร benzeneethanol (ความเข้มข้น 0.29%) ต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1°C

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณ benzeneethanol* (มิลลิโมล/ลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี** (cm)	การยับยั้ง (%)
0	0	5.07^{a}±0.11	0
10	0.031±0.002	4.87^{b}±0.03	3.9
20	0.072±0.002	4.79^{b}±0.09	5.5
30	0.129±0.003	4.66^{c}±0.03	8
40	0.16±0.005	4.6^{c}±0.03	9.1

* การคำนวณปริมาณ benzeneethanol แสดงในภาคผนวก ข

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

4.1.3.3.2 ผลของการรมไอ benzeneethanol ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ผลของยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* ที่มีความเข้มข้นของสปอร์เริ่มต้น 10^3 สปอร์/มิลลิลิตร โดยการรมไอ benzeneethanol ความเข้มข้น 0.29 % พบว่า การสัมผัสไอ benzeneethanol ที่เวลาเพิ่มมากขึ้น มีผลต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อทำการเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รมไอ 0 นาที) ทั้งนี้การรมไอ benzeneethanol ที่เวลา 10 20 30 และ 40 นาที มีผลในการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* ได้เพียง 3.7 4.1 4.5 และ 7.0% ตามลำดับ ดังผลแสดงในตารางที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ผลของการรมไอสาร benzeneethanol (ความเข้มข้น 0.29%) ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1°C

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณbenzeneethanol* (มิลลิโมล/ลิตร)	จำนวนสปอร์ที่งอก** (สปอร์/plate)	การยับยั้ง (%)
0	0	81^{a}±2.65	0
10	0.031±0.002	78^{b}±1	3.7
20	0.072±0.002	77.67^{b}±0.58	4.1
30	0.129±0.003	77.33^{b}±1.53	4.5
40	0.160±0.005	75.33^{b}±0.58	7

* การคำนวณปริมาณ benzeneethanol แสดงในภาคผนวก ข

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

4.1.3.4 ผลของการรมไอ isoamylalcohol ต่อการยับยั้งเชื้อ *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

4.1.3.4.1 ผลของการรมไอ isoamylalcohol ต่อการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. fumigatus* จากการรมไอ Isoamylalcohol ความเข้มข้น 0.18 % พบว่า การสัมผัสไอ isoamylalcohol ที่เวลาเพิ่มมากขึ้น มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อทำการเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รมไอ 0 นาที) โดยพบว่า การรมไอ isoamylalcohol ที่เวลา 10 20 30 และ 40 นาที มีผลในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย ของเชื้อรา *A. fumigatus* ได้ 3.0 5.2 9.0 และ 10.0 % ตามลำดับ ดังผลแสดงในตารางที่ 4.11 และแสดงในภาคผนวก ค. ภาพที่ ค6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 ผลของการรมไอสาร isoamylalcohol (ความเข้มข้น 0.18%) ต่อการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1°C

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณisoamylalcohol* (มิลลิโมล/ลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี** (cm)	การยับยั้ง (%)
0	0	5.01^{a}±0.02	0
10	0.91±0.02	4.86^{b}±0.02	3
20	3.42±0.02	4.75^{c}±0.01	5.2
30	4.39±0.04	4.56^{d}±0.03	9
40	5.72±0.06	4.51^{e}±0.01	10

* การคำนวณปริมาณ isoamylalcohol แสดงในภาคผนวก ข

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

4.1.3.4.2 ผลของการรมไอ isoamylalcohol ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *A. fumigatus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ผลของการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* ที่มีความเข้มข้นของสปอร์เริ่มต้น 10^3 สปอร์/มิลลิลิตร โดยการรมไอ isoamylalcohol ความเข้มข้น0.18% พบว่า การสัมผัสไอ isoamylalcohol ที่เวลาเพิ่มมากขึ้น มีผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อทำการเปรียบเทียบ กับชุดควบคุม (รมไอ 0 นาที) ทั้งนี้ การรมไอ isoamylalcohol ที่เวลา 10 20 30 และ 40 นาที มีผลในการยับยั้งสปอร์ของเชื้อ *A. fumigatus* ได้เพียง 2.8 3.2 4.8 และ 5.6% ตามลำดับ ดังผลแสดงในตารางที่ 4.12

ผลการทดลองรมไอ isoamylalcohol จะเห็นได้ว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. fumigatus* และการงอกของสปอร์ ได้ 10 และ 5.6% ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *A. fumigatus* รองจากไอ β -phenylethyl acetate ซึ่ง Ando et al. (2012) ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้สายพันธุ์ของยีสต์ *Candida maltose* NP9 (ที่แยกได้จากชีส) ในอาหารพื้นบ้านของอิหร่าน พบว่า การเติมไอ Isoamyl alcohol บนอาหาร YPD ปริมาณ 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครลิตรต่อจาน และการเติมปริมาณ 80 ไมโครลิตรต่อจาน สามารถยับยั้งการเจริญ และยับยั้งการงอกของสปอร์ราทุกชนิด

ตารางที่ 4.12 ผลของการรมไอสาร isoamylalcohol (ความเข้มข้น 0.18%) ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่อุณหภูมิ 30±1°C

ระยะเวลารมไอ (นาที)	ปริมาณisoamylalcohol* (มิลลิโมล/ลิตร)	จำนวนสปอร์ที่งอก** (สปอร์/plate)	การยับยั้ง (%)
0	0	83^{a}±1.73	0
10	0.91±0.02	80.67^{ab}±2.08	2.8
20	3.42±0.02	80.33^{b}±0.58	3.2
30	4.39±0.04	79^{b}±1.00	4.8
40	5.72±0.06	78.33^{b}±0.58	5.6

* การคำนวณปริมาณ isoamylalcohol แสดงในภาคผนวก ข

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

4.2 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ไอกรดอะซิติก และไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชู จากข้าวไร่ ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* บนพริกไทยดำ

พริกไทยดำที่ถ่ายสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* ในระดับทั่วไป 3 log spore/g และนำไปผ่านการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ไอกรดอะซิติก และไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ทั้ง 4 ชนิด กำหนดเวลาในการรม 40 นาที (เป็นเวลาที่เชื้อ *A. fumigatus* ถูกยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ นำไปบ่มเป็นเวลา 3 วัน พริกไทยดำที่ถ่ายสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* ที่ผ่านการรมไอเมื่อเทียบกับชุดควบคุม(ไม่รมไอ) พบว่าไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ไอกรดอะซิติก ไอส่วนประกอบของน้ำส้มจากข้าวไร่ ได้แก่ ไอ acetic acid,ethyl ester; ไอ β –phenylethyl acetate; ไอ benzeneethanol และไอ isoamylalcohol สามารถยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* ได้ 100 100 0.5 2.9 0.7 และ 0.9 % ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองนี้พบว่า การรมไอที่เวลา 40 นาที ไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ และ ไอกรดอะซิติก สามารถยับยั้งเชื้อ *A. fumigatus* ได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) และไอของส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ทั้ง 4 ชนิดนั้น มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *A. fumigatus* ได้เล็กน้อย

ตารางที่ 4.13 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ไอกรดอะซิติก และไอส่วนประกอบแต่ละชนิดเป็นระยะเวลา 40 นาทีต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* บนพริกไทยดำที่มีความเข้มข้นของเชื้อ 10^3 spore/g ที่อุณหภูมิ 30±1°C

สารที่ใช้ในการรมไอ	Control* หลังบ่ม 2 วัน (log spore/g)	จำนวนสปอร์ที่งอก * หลังบ่ม 2 วัน (log spore/g)	% การยับยั้ง
Upland rice vinegar (Conc. 8%)	3.4133 ± 0.02^{a}	ND^{Cb}	100
Pure acetic acid (Conc. 8%)	3.4133 ± 0.02^{a}	ND^{Cb}	100
Acetic acid, ethyl ester (Conc. 8%)	3.4133 ± 0.02^{a}	3.3967 ± 0.02^{Aa}	0.5
β-Phenylethyl acetate (Conc. 0.35%)	3.4133 ± 0.02^{a}	3.3133 ± 0.02^{Bb}	2.9
Benzeneethanol (Conc. 0.29%)	3.4133 ± 0.02^{a}	3.3833 ± 0.04^{Aa}	0.9
Isoamylalcohol (Conc. 0.18%)	3.4133 ± 0.02^{a}	3.39 ± 0.03^{Aa}	0.7

* Mean±SD; ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันตามแนวตั้งคือค่าเฉลี่ยผลของชนิดของสารที่ใช้รมไอและตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันตามแนวนอนคือผลของการยับยั้งเชื้อของสารแต่ละชนิดเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

จากผลการทดลอง พบว่า ผลของของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* ได้ดีกว่าไอของกรดอะซิติก ทั้งการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการและในพริกไทยดำ เนื่องจากน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่มีส่วนประกอบหลักคือ กรดอะซิติกซึ่งสามารถยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญ และทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยแทรกซึมเข้าไปในเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้โปรตีนที่ผนังเซลล์จุลินทรีย์เสียสภาพ ส่งผลต่อการสร้างพลังงานภายใน และการขนส่งสารเมทาบอไลท์ไปยังเซลล์ของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพของกรดอะซิติกจะสูงมากถ้ายังอยู่ในรูปของกรดที่ไม่แตกตัว เช่น กรดอะซิกติกที่มีความเข้มข้นสูง ผลการทำลายเชื้อขึ้นอยู่กับเปอร์เซ็นต์กรดที่ไม่แตกตัว เมื่อความเข้มข้นของกรดเพิ่มขึ้นจะมีปริมาณกรดที่ไม่แตกตัวสูงขึ้น เพราะสามารถละลายไขมันได้ดี และประสิทธิภาพของกรดอะซิติกในการยับยั้งจุลินทรีย์นั้น โดยจะเปลี่ยนแปลงไปตามผลิตภัณฑ์อาหาร สิ่งแวดล้อมและชนิดของจุลินทรีย์ (Davidson et al., 2005) น้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ยังประกอบไปด้วย acetic acid, ethyl ester; β-phenylethyl acetate; benzeneethanol และ isoamylalcohol ซึ่งจากการทดลองพบว่าส่วนประกอบทั้ง 4 ชนิดนี้ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigtus* ได้เช่นเดียวกัน จากส่วนประกอบเหล่านี้จึงเป็นผลให้ไอของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่สามารถยับยั้งเชื้อรา *A. fumigtus* ได้ดีกว่า ไอกรดอะซิติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) ไอกรดอะซิติก 8 % และไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ต่อการยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* พบว่า การสัมผัสไอของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ และไอกรดอะซิติก สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. fumigatus* ที่เวลา 18 และ 20 นาที ได้อย่างสมบูรณ์ และ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. fumigatus* ได้อย่างสมบูรณ์ ที่เวลา 37 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 1.12 มิลลิโมล/ลิตร) และที่เวลา 40 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 1.17 มิลลิโมล/ลิตร) ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จะเห็นได้ว่า ไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* ได้ดีกว่า ประกอบกับในน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่นั้น มีส่วนประกอบของกลุ่มสารระเหยหลัก 4 ชนิด ซึ่งในการทดลองนี้ได้ทำการทดลองรมไอ acetic acid,ethyl ester; β-phenylethyl acetate; benzeneethanol และ isoamylalcohol สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. fumigatus* ได้ 4.2 23 9.1 และ 10 % ตามลำดับ รวมถึงสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *A. fumigatus* ได้ 4.6 12.4 6.8 และ 5.8 % ตามลำดับ ซึ่งพบว่าสารส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ สามารถยับยั้งได้เล็กน้อย จึงเป็นผลให้การรมไอด้วยน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* ดีกว่าการรมไอกรดอะซิติก 8% ที่เวลาเดียวกัน ส่วนการรมไอในตัวอย่างพริกไทยดำที่มีการถ่ายสปอร์เชื้อรา *A. fumigatus* 3 log spore/g พบว่า ไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ และไอกรดอะซิติก ที่เวลา 40 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา *A. fumigatus* ได้อย่างสมบูรณ์ แต่ไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ทั้ง 4 ชนิด คือ acetic acid,ethyl este; β-phenylethyl acetate; benzeneethanol และ isoamylalcohol สามารถยับยั้งได้เพียง 0.5 2.9 0.9 และ 0.7 % ตามลำดับ ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *A. fumigates* บนพริกไทยดำ ของไอส่วนประกอบจะลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาพบว่าไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราได้จริง แต่เปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งน้อย เนื่องจากความเข้มข้นที่เลือกใช้ เป็นความเข้มข้นที่น้อย หากมีการเพิ่มความเข้มข้นของสาร ประสิทธิภาพของการยับยั้งเชื้อราก็จะดีขึ้น แต่ถึงอย่างไรก็ตามหากต้องเลือกใช้ส่วนประกอบทั้ง 4 ชนิดจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในปริมาณสารที่ปลอดภัยไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้และผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงสาธาณสุข. 2543. ประกาศกระทรวงสาธาณสุข ฉบับที่ 204 เรื่องน้ำส้มสายชู.

จริงแท้ ศิริพานิช. 2552. ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวของการตายของพืช. ภาควิชาพื้นสวนเกษตร กำแพงแสน,มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, โรงพิมพ์ศูนย์สงเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติม, กรุงเทพฯ.

นครินทร์ สุวรรณราช บุญสม บุษบรรณ์ วิพรรพรรณ์ เนื่องเม็ก วาสนา พิทักษ์พล และสายสมร ลำยอง. 2554. การยับยั้งราเขียวบนผลส้มโดยไอระเหยจากราเอนโดไฟต์ *Muscodor albus* CMU-Cib 462. ว. วิทย. กษ.42 (พิเศษ) : 125-128.

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

ทิพย์ธิดา แก้วตาทิพย์. 2556. สารระเหยให้กลิ่นในอาหารหมัก. วารสารอาหาร. 43(4): 30-39.

ภัทราพรรณ จรูญรัตนสกุล. 2553. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis cinerea* บนผิวของสตอเบอรี่สดด้วยน้ำส้มสายชูหมัก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัญฑิต สาขาสุขาภิบาล สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

ภัสจนันท์ หิรัญ อรพิน เกิดชูชื่น และณัฏฐา เลาหกุลจิตต์. 2553. การยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* spp. โดยน้ำมันหอมระเหยกานพลูและอบเชย. ว. วิทย. กษ.41(3/1) (พิเศษ) : 21-24.

ภัสรา แสนงาม รัติยา พงศ์พิสุทธา และ ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล. 2559. ศักยภาพของสารจากธรรมชาติ กรดอะมิโน และกรดอินทรีย์ต่อการควบคุมเชื้อราของเมล็ดข้าว. ว. วิทย. กษ.47 (พิเศษ) : 67-70.

รัตติพร โพธิมล. 2559. ผลของไอเอทานอล ไอน้ำส้มสายชู และไอผสมต่อเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่แยกจากขนมปัง.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัญฑิต สาขาการจัดการความปลอดภัยอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2535. พืชเครื่องเทศและสมุนไพร. การศาสนากรมการศาสนา, กรุงเทพ ฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัชรี เสาร์เทพ อรอุมา เพียซ้าย และพัชรวิภา ใจจักรคำ. 2559. การจำแนกชนิดของเชื้อรา *Aspergillus* spp. และ *Penicillium* spp. ที่ปนเปื้อนในอาหารผลิตผลทางการเกษตร และดินเพาะปลูก และการสร้างสารพิษอะฟลาท็อกซิน บี1. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 1: 127-138.

ศศิธร ฐิติเพชรกุล กนกพรรณ สมยูรทรัพย์ ก่อเกียรติ ศาสตรินทร์ ประภาศรี บุณยประภาพันธ์ และนันทวรรณ เมฆา. 2558. การปนเปื้อนเชื้อราและอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ถั่วพร้อมบริโภค. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2: 244-253.

สมภพ ประธานธุรารักษ์. 2539. อนุกรมวิธานพืชสมุนไพร. โอเดียนสโตร์,กรุงเทพฯ.

สุหัทยา นำชัยสี่วัฒนา และ สิริ ชัยเสรี. 2549. สารให้กลิ่นในไวน์ข้าวที่หมักจากล้าเชื้อบริสุทธิ์ *Amylomyces* sp. M2 และ *Saccharomyces cerevisiae*. หน้า 421-429. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44. กรุงเทพฯ :มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานมาตฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. พริกไทย. มอก.297-2556.

อรุณรัตน์ ฉวีราช. 2548. พืชสกุลพริกไทยในประเทศไทย. ขอนแก่นการพิมพ์, ขอนแก่น.

Ando, H., Hatanaka, K., Ohata, I., Kitaguchi, Y. Y., Kurata, A., and Kishimoto, N. 2012. Antifungal activities of volatile substances generated by yeast isolated from Iranian commercial cheese. Food Control. 26: 472-478.

Api, A. M., Belsito, D., Botelho, D., Browne, D., Bruze, M., Burton, Jr.G. A., Buschmann. J., Dagli, L.M., Date, M., Dekant, W., Deodhar, C., Fryer, D. A., Joshi, K., La Cava, S., Lapczynski, A., Liebler, C.D., O'Brien, D., Parakhia, R., Patel, A., Penning, M. T., Ritacco,G., Romani, J., Salvito, D., Schultz, W. T., Sipes, G. I., Thakkar, Y., Tokura, Y., Tsang, S., and Wahler, J. 2017. RIFM fragrance ingredient safety assessment, isoamyl alcohol CAS Registry Number 123-51-3. Food and Chemical Toxicology. 110 : S421-S430.

Bouakline, A., Lacroix, C., Roux, N. Gangneux, P. J., and Derouin, F. 2000. Fungal contamination of food in hematology units. Clinical microbiology. 38: 4272-4273.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chapla, V. M., Zeraik, M. L., Leptokarydis, I. H, Silva, G. H., Bolzani, V. S., Young, M. C. M., et al. 2014. Antifungal compounds produced by *Colletotrichum gloeosporioides*, an endophytic fungus from michelia champaca. Molecules. 19: 19243-19252.

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.

Gangneux, P. J., Noussair, L., Bouakline, A., Rouk, N., Lacroix, C., and Derouin, F. 2004. Experimental assessment of disinfection procedures for eradication of *Aspergillus fumigatus* in food. Blood. 104: 2000-2002.

Hammami, W., Fiori, S., Thani, A. R., Kali, A. N., Balmas, B., Migheli, Q., and Jaoua, S. 2014. Fungal and aflatoxin contamination of marketed spice. Food Control. 37:177-181

Heinekamp, T., Schmidt, H., Lapp K., Pahiz, V., Shopova, I., Eiserfunke, K. N., Kruger T., Kniemeyer, O., and Brakhage A. A. 2015. Interference of *Aspergillus fumigatus* with the immune response. Semin Immunopathol. 37: 141-152.

Higgins, C., and Brinkhaus, F. 1999. Efficacy of several organic against molds. Journal of Applied Poultry Research. 8: 480-487.

Khonsung, P. 2012. Cymbopogon citrates (DC) Stapf. Thai Journal of Pharmacology. 34: 37-51.

Krusong, W., Teerarak, M., and Laosinwattana, C. 2015. Liquid and vapor phase vinegar reduced *Klebsiella pneumonia* on fresh coriander. Food Control. 50: 502-508.

Kwon-Chung, J. K., and Sugui, A. J. 2013. *Aspergillus fumigatus* –What Makes the species a Ubiquitous Human Fungal Phathogen. Plos Pathogens. 9: 12. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003743

Mahgubi, A. E., Puel, O., Billy, S., Tadrist., S., Querin, A., Oswald, I. P., and Bailly, J. D. 2013. Distribution and toxigenicity of *Aspergillus* section Flavi in spices marketed in morocco. Food control. 32: 143-148.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Morath, S. U., Hung, B., and Bennett, J. W. 2012. Fungal volatile organic compounds: A review with emphasis on their biotechnology potential. Fungal Biology Review. 26: 73-83.

Mercier, J., and Jimenez, J. I. 2004. Control of fungal decay of apples and peaches by the biofumigant fungus Muscodor albus. Postharvest Biology and Technology. 31: 1-8.

Pornpukdeewattana, S., Kerdpiboon, S., Jindaprasert, A., Pandee, P., Teerasak, M., Krusong, W. 2017. Upland rice vinegar vapor inhibits spore germination, hyphal growth and aflatoxin formation in *Aspergillus flavus* on maize grains. Food Control. 71: 88-93.

Radi, A., Jouybari, A. H., Mesbahi, G., Farahnaky, A., and Amiri, S. 2010. Effect of hot acetic acid solutions on postharvest decay caused by *Penicilium expansum* on red dilicious apples. Scientia Horticulturae. 126 : 421-425.

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 posthaevest decay. Plant Disease. 80: 1425-1428.

Xiao, Z., Dai, S., Niu, Y., Yu, H., Zhu, J., Tian, H., and Gu, Y. 2011. Discrimination of Chinese vinegar based on headspace solid-phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry of volatile compounds and multivariate analysis. Journal of Food Science. 76: 1125-135.

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. Acetic acid,ethyl ester 8 %

Acetic acid,ethyl ester 99.8 %	40.080	มิลลิลิตร
น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ	500	มิลลิลิตร

ปิเปต acetic acid,ethyl ester 99.8 % ปริมาณ 40.080 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร เทใส่ขวดดูแลนที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

2. β-Phenylethyl acetate 0.35%

β-Phenylethyl acetate 99 %	1.768	มิลลิลิตร
น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ	500	มิลลิลิตร

ปิเปต β-phenylethyl acetate 99 % ปริมาณ 1.768 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร เทใส่ขวดดูแลนที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3 Benzeneethanol 0.29 %

Benzeneethanol 99 %	1.460	มิลลิลิตร
น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ	500	มิลลิลิตร

ปิเปต benzeneethanol 99 % ปริมาณ 1.460 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร เทใส่ขวดดูแลนที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

4 Isoamylalcohol 0.18%

Isoamylalcohol 99 %	0.909	มิลลิลิตร
น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ	500	มิลลิลิตร

ปิเปต isoamylalcohol 99 % ปริมาณ 0.909 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร เทใส่ขวดดูแลนที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

5. Tartaric acid 10 %

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

6. Butterfield's Phosphate-Buffered

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

นำ potassium dihydrogenphospphate ละลายในน้ำกลั่น 500 กรัม 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 90มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่างอาหาร 10 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 M ด้วยตัวอย่างน้ำส้มสายชู 6 มิลลิลิตร แล้วคำนวณดังสูตรต่อไปนี้

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

ข.2. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติก และไอส่วนประกอบน้ำส้มสายชูที่เข้าไปในระบบกล่องรมไอ

ข 2.1 การหาปริมาณสารกรดอะซิติก

กรดอะซิติกมีมวลโมเลกุล	60	กรัม/โมล
กล่องรมไอมีปริมาตร	37.5	ลิตร
ปริมาณกรดอะซิติกที่เข้าไปในระบบ	A	กรัม

*ปริมาณกรดอะซิติกที่เข้าไปในระบบหาได้จากการชั่งปริมาณกรดอะซิติกที่หายไป (weight loss) แล้วคำนวณดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณกรดอะซิติก (มิลลิโมล/ลิตร)} = \left[\frac{A}{60} \times \frac{1}{37.5} \right] \times 1000$$

ข 2.2 การหาปริมาณสาร acetic acid,ethyl ester

Acetic acid, ethyl ester มีมวลโมเลกุล	88	กรัม/โมล
กล่องรมไอมีปริมาตร	37.5	ลิตร
ปริมาณ acetic acid, ethyl ester ที่เข้าไปในระบบ	A	กรัม

*ปริมาณ acetic acid, ethyl ester ที่เข้าไปในระบบหาได้จากการชั่งปริมาณ acetic acid, ethyl ester ที่หายไป (weight loss) แล้วคำนวณดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณ acetic acid, ethyl ester (มิลลิโมล/ลิตร)} = \left[\frac{A}{88} \times \frac{1}{37.5} \right] \times 1000$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข 2.3 การหาปริมาณสาร β-phenylethyl acetate

β-phenylethyl acetate มีมวลโมเลกุล	164	กรัม/โมล
กล่องรมไอมีปริมาตร	37.5	ลิตร
ปริมาณ β-phenylethyl acetate ที่เข้าไปในระบบ	A	กรัม

*ปริมาณ β-phenylethyl acetate ที่เข้าไปในระบบหาได้จากการชั่งปริมาณ β-Phenylethyl acetate ที่หายไป (weight loss) แล้วคำนวณดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณ β-phenylethyl acetate (มิลลิโมล/ลิตร)} = \left[\frac{A}{164} \times \frac{1}{37.5} \right] \times 1000$$

ข 2.4 การหาปริมาณสาร benzeneethanol

Benzeneethanol มีมวลโมเลกุล	122	กรัม/โมล
กล่องรมไอมีปริมาตร	37.5	ลิตร
ปริมาณ benzeneethanol ที่เข้าไปในระบบ	A	กรัม

*ปริมาณ benzeneethanol ที่เข้าไปในระบบหาได้จากการชั่งปริมาณ Benzeneethanol ที่หายไป (weight loss) แล้วคำนวณดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณ benzeneethanol (มิลลิโมล/ลิตร)} = \left[\frac{A}{122} \times \frac{1}{37.5} \right] \times 1000$$

ข 2.5 การหาปริมาณสาร isoamylalcohol

Isoamylalcohol มีมวลโมเลกุล	88	กรัม/โมล
กล่องรมไอมีปริมาตร	37.5	ลิตร
ปริมาณ isoamylalcohol ที่เข้าไปในระบบ	A	กรัม

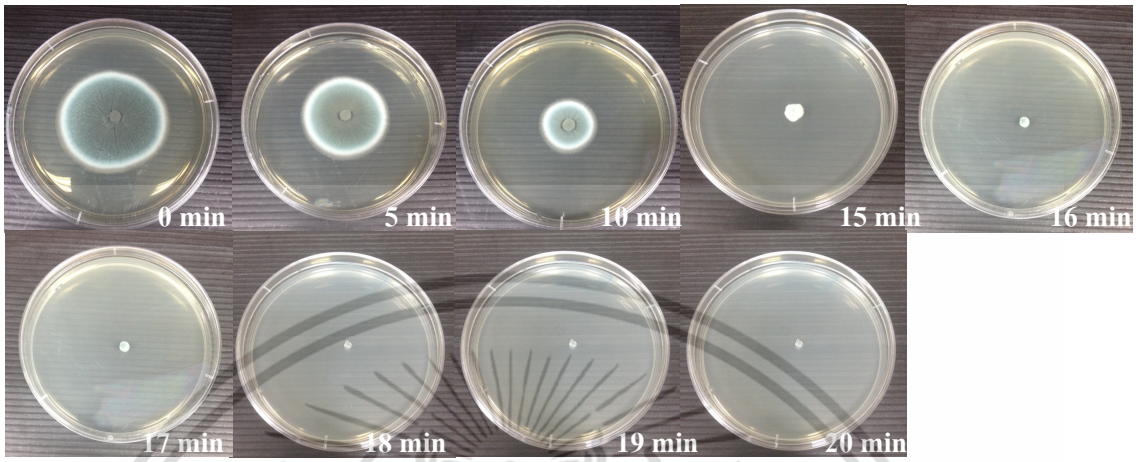
*ปริมาณ isoamylalcohol ที่เข้าไปในระบบหาได้จากการชั่งปริมาณ Isoamylalcohol ที่หายไป (weight loss) แล้วคำนวณดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณ isoamylalcohol l (มิลลิโมล/ลิตร)} = \left[\frac{A}{88} \times \frac{1}{37.5} \right] \times 1000$$

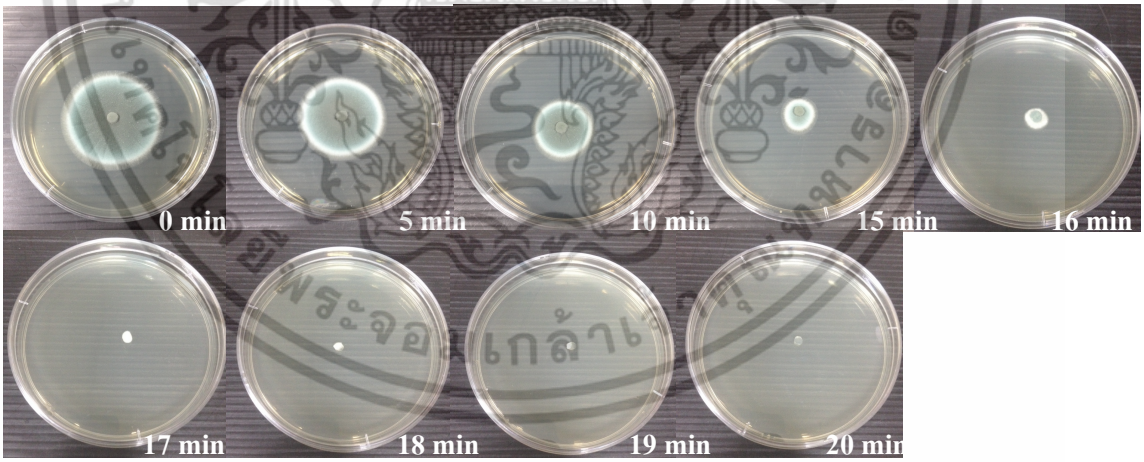
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

ภาพการเจริญของเชื้อรา

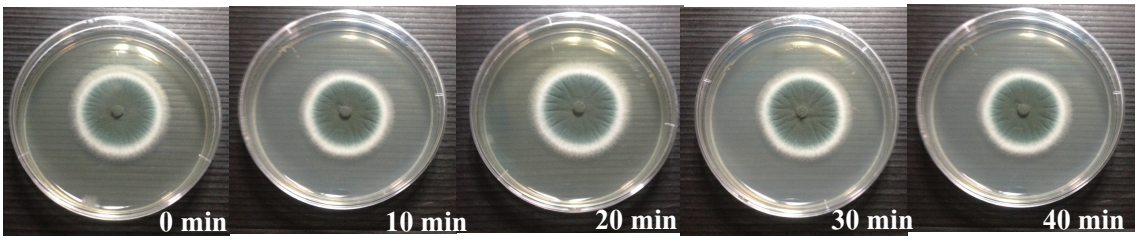


ภาพที่ ค1. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ เป็นระยะเวลา 0 5 10 15 16 17 18 19 และ 20 นาที ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30 ±1°C เป็นเวลา 3 วัน

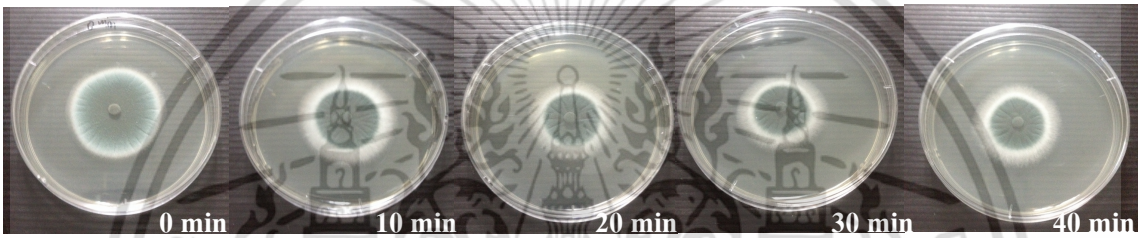


ภาพที่ ค2. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอกรดอะซิติกเป็นระยะเวลา 0 5 10 15 16 17 18 19 และ 20 นาที ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30 ±1°C เป็นเวลา 3 วัน

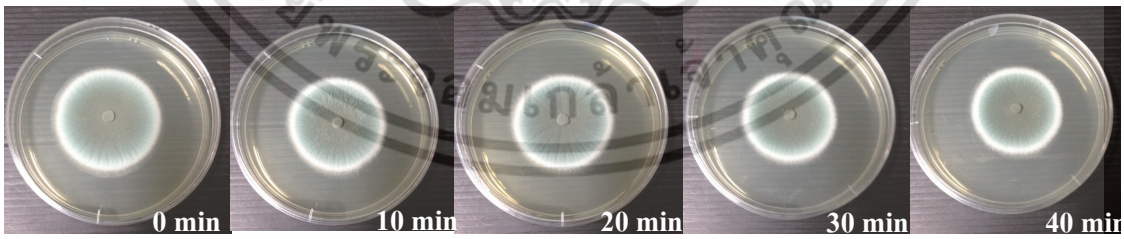
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค3. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ Acetic acid, ethyl ester เป็นระยะเวลา 0 10 20 30 และ 40 นาที ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30 ±1°C เป็นเวลา 3 วัน

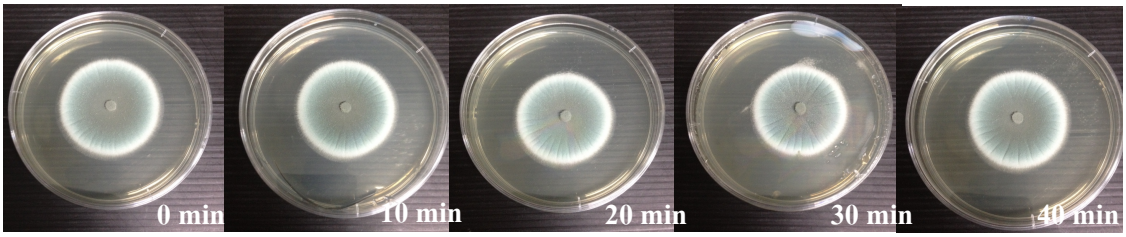


ภาพที่ ค4. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ β-Phenylethyl acetate เป็นระยะเวลา 0 10 20 30 และ 40 นาที ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30 ±1°C เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ ค5. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ Benzeneethanol เป็นระยะเวลา 0 10 20 30 และ 40 นาที ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30 ±1°C เป็นเวลา 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

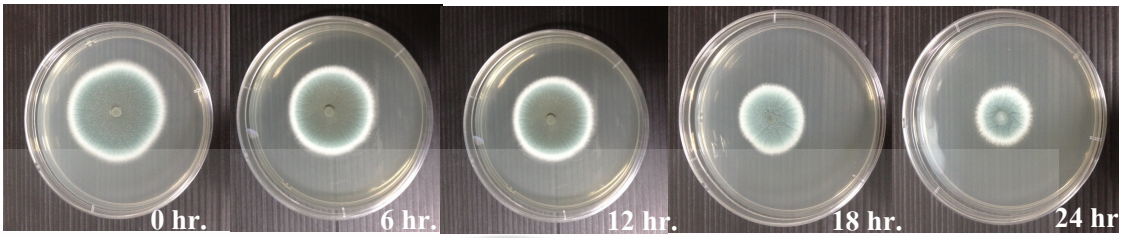


ภาพที่ ค6. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ Isoamylalcohol เป็นระยะเวลา 0 10 20 30 และ 40 นาที ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30 ±1°C เป็นเวลา 3 วัน

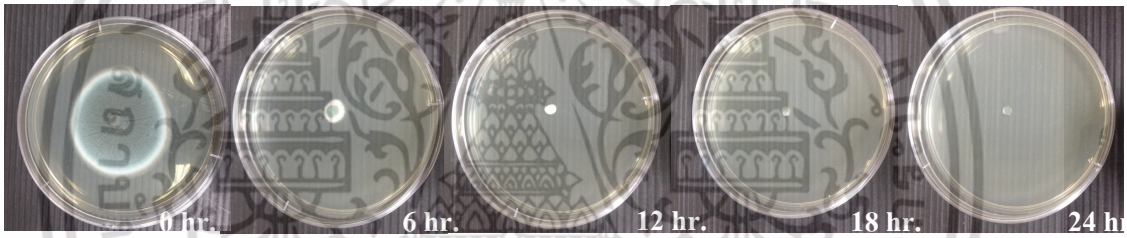
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

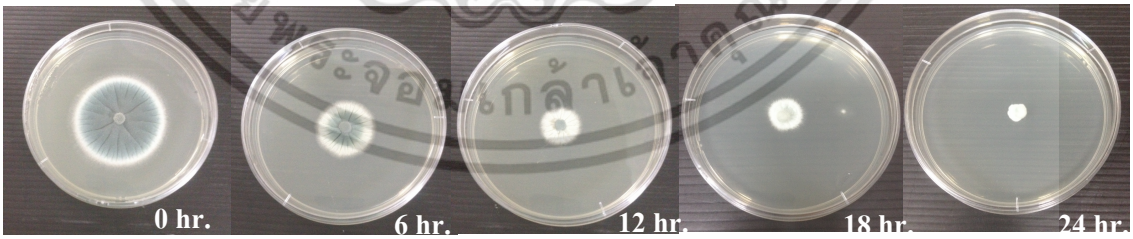
ภาพการเจริญของเชื้อราผ่านการรมไอส่วนประกอบจากข้าวไร่ เวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่ ง1. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ Acetic acid, ethyl ester เป็นระยะเวลา 0 6 12 18 และ 24 ชม. ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30 ±1°C เป็นเวลา 3 วัน

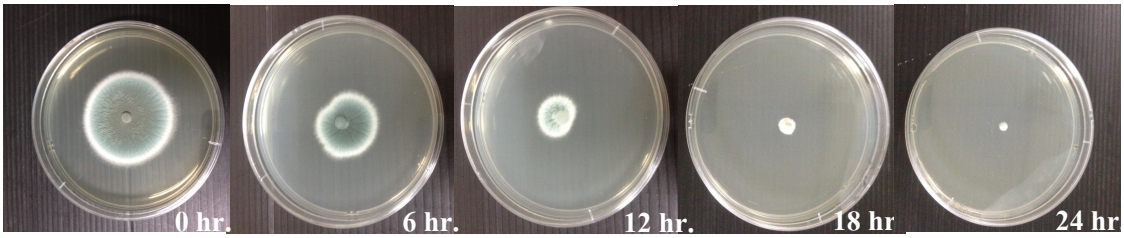


ภาพที่ ง2. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ β-Phenylethyl acetate เป็นระยะเวลา 0 6 12 18 และ 24 ชม. ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30 ±1°C เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ ง3. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ Benzeneethanol เป็นระยะเวลา 0 6 12 18 และ 24 ชม. ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30 ±1°C เป็นเวลา 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ง4. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* โดยวิธีรมไอ Isoamylalcohol เป็นระยะเวลา 0 6 12 18 และ 24 ชม. ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30 ±1°C เป็นเวลา 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาว อนุสรา แหล้หมาน
วัน เดือน ปีเกิด	23 กรกฎาคม 2528
ที่อยู่	131 หมู่ 7 ต.ท่าศาลา อ.ท่าศาลา จ.นครศรีธรรมราช 80160
ประวัติการศึกษา	2551 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
	2560 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการจัดการความปลอดภัยอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์ทำงาน	2559-ปัจจุบัน ฝ่ายประกันคุณภาพและควบคุมคุณภาพ บริษัท พีเคเอฟบี ฟาร์มาซูติคอล แมนูแฟคเจอริ่ง จำกัด
	2552-2558 ฝ่ายประกันคุณภาพและควบคุมคุณภาพ บริษัท ไอบีเอฟ ฮาลาล ฟู้ดส์ จำกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้