สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เปรียบเทียบการตรวจหาปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG 18 และผลการยับยั้งของวัตถุกันเสียต่อเชื้อราบางชนิด

(Comparison of PDA and DG18 medium for Mold Enumeration in Dried agricultural products and fungisidal effect on selected mold)

นางสาวกนกพร	ทองมาเอง	รหัสนักศึกษา 43040208
นางสาวสุชาดา	สวนศิริ	รหัสนักศึกษา 43040284
นางสาวสุภามาศ	มูสิกะ	รหัสนักศึกษา 43040291

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2546

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

19743

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

T096642

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

เปรียบเทียบการตรวจหาปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG 18 และผลการยับยั้งของวัตถุกันเสียต่อเชื้อราบางชนิด

(Comparison of PDA and DG18 medium for Mold Enumeration in Dried agricultural products and fungisidal effect on selected mold)

โดย

นางสาวกนกพร ทองมาเอง รหัส 43040208

นางสาวสุชาดา สวนศิริ รหัส 43040284

นางสาวสุภามาศ มูสิกะ รหัส 43040291

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

.... 5 / มิ.ย. / 47 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(ผศ.อดิศร เสวตวิวัฒน์)

ปพ.
ก124ป
2546

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

....

(ผศ.ดร.ระติพร หาเรือนกิจ)

คณบดีโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

เลขหมู่..............................

เลขทะเบียน......96642......

วัน,เดือน,ปี.....- 7 JUN 2009.....

วันที่......เดือน..................พ.ศ...........

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

กนกพร ทองมาเอง,สุชาดา สวนศิริ และสุภามาศ มูสิกะ 2546.:เปรียบเทียบการตรวจหาปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDAและDG18 และผลการยับยั้งของวัตถุกันเสียต่อเชื้อราบางชนิด (Comparison of PDA and DG18 medium for Mold Enumeration in Dried agricultural products and fungisidal effect on selected mold). สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.อดิศร เสวตวิวัฒน์, 54 หน้า.

ในการทดลองนี้ได้ทำการตรวจหาปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งจำนวน 16 ตัวอย่างแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ซึ่งได้แก่ กลุ่มผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ กลุ่มธัญพืช กลุ่มเครื่องเทศ และกลุ่มพืช กลุ่มผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำได้แก่ กุ้งแห้ง ปลาหมึกแห้ง กลุ่มธัญพืชได้แก่ ถั่วลิสง ข้าวคั่ว เมล็ดทานตะวัน งาดำ กลุ่มเครื่องเทศได้แก่ พริกแห้ง พริกไทดำ กระเทียมกลีบเล็ก กลุ่มพืชได้แก่ ใบชา ใบยาสูบ สาหร่าย เห็ดหูหนูดำ เห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน กระเจี๊ยบ

โดยทำการตรวจหาปริมาณเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด คือ PDA (Potato Dextrose Agar) และ DG18 (Dichloran Glycerol Agar) จากนั้นทำการทดสอบหาค่าความแตกต่างโดยใช้ t-test (t-distribution) พบว่า ในการตรวจนับเชื้อรา บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 จะให้ผลการตรวจนับได้ดีกว่า PDA เนื่องจากโคโลนีมีขนาดเล็กและเห็นชัดกว่า PDA แต่จากการสังเกตในแง่ของการเจริญของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่าขนาดโคโลนีของเชื้อราที่เจริญนั้นมีเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีกว้างกว่าขนาดของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 ดังนั้น ในการศึกษาการยับยั้งเชื้อรา การใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA น่าจะมีความเหมาะสมกว่า DG18

เนื่องจากเชื้อราในกลุ่ม *Penicillium citrinum* เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ใบยาสูบโดยทำให้เกิดความน่ารังเกียจในผลิตภัณฑ์ใบยาสูบ การทดลองนี้จึงได้ทำการเลือกวัตถุกันเสียโพแทสเซียมซอร์เบทและโซเดียมโพรพิโอเนทมาใช้ในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* เพื่อเปรียบเทียบหาชนิดวัตถุกันเสียที่เหมาะสมในการผสมลงในใบยาสูบเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรากลุ่มดังกล่าว นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาหาอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบขั้นตอนดังกล่าวที่เหมาะสม ระหว่าง PDA ที่ปรับลดค่าพีเอชเป็น 3.5 ด้วยกรดทาร์ทาริก 10 % และไม่ปรับลดค่าพีเอช (pH=5.6) กับ DG18 ที่ปรับลดค่า water activity (A_w= 0.95) ด้วย Glycerol และไม่ปรับลดค่า water activity (A_w=0.99) โดยในทุกสภาวะจะศึกษาผลการยับยั้งเชื้อรา โดยแบ่งกลุ่มอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละสภาวะออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม (control) โดยเป็นกลุ่มที่ไม่มีการเติมวัตถุกันเสีย กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่เติมวัตถุกันเสียโพแทสเซียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซอร์เบทในระดับความเข้มข้น 2,000 ppm. กลุ่มที่ 3 เติมวัตถุกันเสียโซเดียมโพรพิโอเนทในระดับความเข้มข้น 3,000 ppm.

ทำการละลายสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium citrinum* ในน้ำ steriled แล้วใช้ autopipette ดูดสปอร์มา 0.01 มิลลิลิตร spot บริเวณจุดกึ่งกลางจานเพาะเชื้อ เมื่อบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน และทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี พบว่า วัตถุกันเสียโพแทสเซียมซอร์เบทและโซเดียมโพรพิโอเนท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Penicillium citrinum* ได้ดีในสภาวะที่อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18 มีการปรับสภาวะโดยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีมีขนาดเท่ากัน แต่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18 ที่ไม่ได้ทำการปรับสภาวะนั้นโซเดียมโพรพิโอเนท สามารถยับยั้งการเจริญได้ดีกว่าโพแทสเซียมซอร์เบท เนื่องจากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีขนาดเล็กกว่า โดยอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่ได้ทำการปรับพีเอชเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเหมาะสมที่สุดในการเลือกนำมาศึกษาถึงผลการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum*

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ลายมือชื่อนักศึกษา	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา	วัน เดือน ปี
กนกพร ทองมาเอง สุชาดา สานส่ง สุภาพร มุสิกะ	(signature)	5 ม.ค. 47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจาก ผศ.อดิศร เสวตวิวัฒน์ อาจารย์ผู้ควบคุมปัญหาพิเศษ ที่ให้ความเอาใจใส่ ตลอดจนแนะนำแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ คณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณอย่างสูง และขอขอบพระคุณ ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง ที่กรุณาให้เกียรติเป็นกรรมการสอบปัญหาพิเศษ เพื่อความสมบูรณ์ของปัญหาพิเศษฉบับนี้

ขอบคุณพี่ เพื่อน และน้องภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สำหรับกำลังใจและกำลังกายที่มีให้ตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนทางด้านกำลังใจและกำลังทรัพย์เสมอมา

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณทางโรงงานยาสูบที่ให้ความสนับสนุน ทุนการวิจัยศึกษาทำการทดลองปัญหาพิเศษในครั้งนี้

คุณค่าและประโยชน์อันมีจากปัญหาพิเศษฉบับนี้ คณะผู้จัดทำขอมอบแด่ครู อาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน

คณะผู้จัดทำ
นางสาว กนกพร ทองมาเอง
นางสาว สุชาดา สวนศิริ
นางสาว สุภามาศ มูสิกะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	I
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญรูป	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.3 วัตถุประสงค์	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 รา	3
2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการศึกษาเชื้อรา	6
2.3 *Penicillium* spp.	7
2.4 *Penicillium citrinum*	7
2.5 วัตถุเจือปนอาหาร	9
2.6 วัตถุกันเสีย	10
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	14
3.1 วัตถุดิบ	14
3.2 อุปกรณ์	14
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ	15
3.5 สารเคมี	15
3.6 วิธีดำเนินการทดลอง	16
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	18
4.1 เปรียบเทียบการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium citrinum* ในผลิตภัณฑ์ใบยาสูบโดยใช้วัตถุกันเสียโพแทสเซียมซอร์เบทและโซเดียมโพรพิโอเนทในปริมาณสูงสุดตามที่ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 อนุญาตให้ใช้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDAที่ปรับและไม่ปรับพีเอช และDG18ที่ปรับและไม่ปรับA_w........ 25

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ........ 29

เอกสารอ้างอิง........ 31

ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี........ 32

ภาคผนวก ข การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์โดยวิธี viable plate count........ 35

ภาคผนวก ค ข้อมูลผลการทดลอง........ 36

ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ทางสถิติ........ 42

ภาคผนวก จ รูปภาพผลการทดลอง........ 50

ประวัติผู้เขียน........ 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 1 ปริมาณเชื้อราที่ตรวจนับได้ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งทั้ง16ตัวอย่าง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18	18
ตารางที่ 2 ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเษตรชนิดแห้ง ทั้ง 16 ตัวอย่างที่ตรวจนับได้ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18	19
ตารางที่ 3 ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งในกลุ่มผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ2ตัวอย่างที่ตรวจนับได้ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18	20
ตารางที่ 4 ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งในกลุ่มธัญพืช4ตัวอย่างที่ตรวจนับได้ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18	20
ตารางที่ 5 ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งในกลุ่มเครื่องเทศ3ตัวอย่างที่ตรวจนับได้ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18	20
ตารางที่ 6 ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งในกลุ่มพืช7ตัวอย่างที่ตรวจนับได้ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18	21
ตารางที่ 7 ปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งทั้ง 16 ตัวอย่างที่ตรวจนับได้ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG1	21
ตารางที่ 8 ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งทั้ง16 ตัวอย่างที่ตรวจนับได้ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18	22
ตารางที่ 9 ความแตกต่างทางสถิติของการตรวจนับปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรกลุ่มผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ2ตัวอย่างที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18	23
ตารางที่ 10 ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งในกลุ่มธัญพืช4ตัวอย่างที่ตรวจนับได้ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18	23
ตารางที่ 11 ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งในกลุ่มเครื่องเทศ3ตัวอย่างที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18	24
ตารางที่ 12 ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งในกลุ่มพืช7ตัวอย่างที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18	24
ตารางที่ 13 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium citrinum* โดยใช้โพแทสเซียมซอร์เบทและโซเดียมโพรพิโอเนท บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ปรับและไม่ปรับค่าพีเอชและ DG18ที่ปรับและไม่ปรับค่า A_w	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ตารางที่ 14 ผลข้อมูลดิบปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง ทั้ง16ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18.. 36

ตารางที่ 15 ผลข้อมูลดิบปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งทั้ง16ตัวอย่างที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18 39

ตารางที่ 16 ตารางที (t-distribution).. 43

ตารางที่ 17 การคำนวณค่าทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งทั้ง 16 ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18.. 44

ตารางที่ 18 การคำนวณค่าทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง กลุ่มผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ2ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18........... 45

ตารางที่ 19 การคำนวณค่าทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง กลุ่มธัญพืช4ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18 45

ตารางที่ 20 การคำนวณค่าทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง กลุ่มเครื่องเทศ3ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18 46

ตารางที่ 21 การคำนวณค่าทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง กลุ่มพืช7ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18 46

ตารางที่ 22 การคำนวณค่าทางสถิติของปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งทั้ง 16 ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18 47

ตารางที่ 23 การคำนวณค่าทางสถิติของปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งกลุ่มผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ2ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18.. 48

ตารางที่ 24 การคำนวณค่าทางสถิติของปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งกลุ่มธัญพืช4ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18 48

ตารางที่ 25 การคำนวณค่าทางสถิติของปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งกลุ่มเครื่องเทศ3ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18 49

ตารางที่ 26 การคำนวณค่าทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง กลุ่มพืช7ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
รูปที่ 1 แสดงรูปร่างลักษณะเชื้อรา *Penicillium citrinum* จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน....	8
รูปที่ 2 สารพิษและโครงสร้างของสารพิษ citrinin	8
รูปที่ 3 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium citrinum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ปรับและไม่ปรับลดค่าพีเอช..	27
รูปที่ 4 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium citrinum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 ที่ปรับและไม่ปรับลดค่า A_w..	27
รูปที่ 5 ผลการเจริญของเชื้อราและยีสต์ทางการเกษตรชนิดแห้งกลุ่มผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18..	50
รูปที่ 6 ผลการเจริญของเชื้อราและยีสต์ทางการเกษตรชนิดแห้งกลุ่มธัญพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18..	51
รูปที่ 7 ผลการเจริญของเชื้อราและยีสต์ทางการเกษตรชนิดแห้งกลุ่มเครื่องเทศบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18..	52
รูปที่ 8 ผลการเจริญของเชื้อราและยีสต์ทางการเกษตรชนิดแห้งกลุ่มพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18..	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันการตรวจหาเชื้อราจากอาหารต่างๆ สามารถทำได้โดยการเลี้ยงเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในภาวะที่เหมาะสมตามระยะเวลาที่กำหนด ถึงแม้ว่าเชื้อแต่ละชนิดจะมีความต้องการอาหารแตกต่างกัน แต่เชื้อในสกุลหรือชนิดเดียวกันสามารถเจริญได้ดีในอาหารอย่างเดียวกัน สิ่งที่มีผลต่อการเจริญจึงได้แก่อาหารหรือสารอาหาร พีเอช water activity (A_w) อุณหภูมิ แสง และอากาศ อาหารที่เชื้อส่วนใหญ่เจริญได้ มีหลากหลายชนิด เช่น Czapek's Agar, Steer Agar, และMalt Extract Agar ใช้เลี้ยง *Penicillia* และ*Aspergilli* เชื้อพวก *Mucorales* เจริญดีบนMalt Agar แต่ไม่เจริญบน Czapek's Agar Potato Carrot Agar (PCA) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่อุดม เชื้อจะสร้างสปอร์ได้ดี เชื้อ *Fusarium* เจริญดีบน Potato sucrose Agar

เชื้อราหลายชนิดเจริญได้บน Potato Dextrose Agar (PDA) อาหารนี้อุดมมาก ทำให้เส้นใยเจริญดีและเชื้อไม่สร้างสปอร์ ทำให้การวัดการเจริญทางเส้นใยจะสะดวกเพราะเส้นใยเติบโตออกจากจุดศูนย์กลาง ดังนั้นอัตราการเติบโตหรืออัตราลดการเติบโต วัดได้ไม่ยากนัก ด้วยการวัดค่าของเส้นผ่าศูนย์กลางหรือรัศมีของโคโลนี

อาหารเลี้ยงเชื้อ Dichloran Glycerol (DG18) Agar เหมาะสำหรับการจำแนก xelophilic mold ในอาหารแห้งและกึ่งแห้ง เช่น ผลไม้แห้ง เนื้อและปลาแห้ง เครื่องเทศ ธัญพืชเป็นต้น โดย DG18 จะทำให้เชื้อไม่มีการแผ่ลามของโคโลนี ดังนั้นจึงสามารถตรวจนับเชื้อยีสต์และราในอาหารแห้งได้โดยง่าย

เนื่องจากผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งง่ายต่อการปนเปื้อนจากเชื้อรา ดังนั้นคณะผู้จัดทำจึงเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18 มาทำการเปรียบเทียบการตรวจหาเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง โดยเปรียบเทียบหาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการตรวจนับปริมาณเชื้อรา นอกจากนี้ได้มีการตรวจพบเชื้อราบางกลุ่มปนเปื้อนมากับผลิตภัณฑ์ใบยาสูบ หนึ่งในกลุ่มนั้นก็คือเชื้อราสายพันธุ์ *Penicillium citrinum* จึงได้ทำการศึกษาผลการยับยั้งเชื้อราสายพันธุ์ *Penicillium citrinum* นี้โดยใช้วัตถุกันเสียโพแทสเซียมซอร์เบทและโซเดียมโพรพิโอเนทเพื่อเปรียบเทียบหาชนิดของวัตถุกันเสียที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อราดังกล่าว นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาหาอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบขั้นตอนดังกล่าวที่เหมาะสม ระหว่าง PDA ที่ปรับและไม่ปรับลดค่าพีเอช กับ DG18 ที่ปรับและไม่ปรับลดค่า water activity

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเปรียบเทียบการตรวจหาปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18 เพื่อศึกษาชนิดของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการตรวจนับ และเนื่องจากกลุ่มเชื้อราที่ปนเปื้อนลงในผลิตภัณฑ์ใบยาสูบเป็นกลุ่มของ *Penicillium citrinum* ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาความน่ารังเกียจในผลิตภัณฑ์ จึงเลือกใช้วัตถุกันเสียโพแทสเซียมซอร์เบท และโซเดียมโพรพิโอเนทมาใช้ในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* เพื่อเปรียบเทียบหาชนิดวัตถุกันเสียที่เหมาะสมในการผสมลงในใบยาสูบเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรา นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาหาอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบขั้นตอนดังกล่าวที่เหมาะสม ระหว่าง PDA ที่ปรับลดค่า พีเอชเป็น 3.5 และไม่ปรับลดค่าพีเอช (pH=5.6) กับ DG18 ที่ปรับลดค่า water activity (A_w= 0.95) และไม่ปรับลดค่า water activity (A_w=0.99)

1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 เพื่อเปรียบเทียบการตรวจหาปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18

1.3.2 ศึกษาผลการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ใบยาสูบ โดยใช้วัตถุกันเสียโพแทสเซียมซอร์เบทและโซเดียมโพรพิโอเนทในปริมาณสูงสุดตามที่ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 อนุญาติให้ใช้ เพื่อเปรียบเทียบหาชนิดวัตถุกันเสียที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* และได้ทำการศึกษาหาอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อราในขั้นตอนของการยับยั้งที่เหมาะสม ระหว่าง PDA ที่ปรับและไม่ปรับลดค่าพีเอช กับ DG18 ที่ปรับและไม่ปรับลดค่า water activity

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 รา (Molds)

เชื้อรา (mold) เป็น fungi ชนิดหนึ่งที่มีอยู่ทั่วไป มีรูปร่างลักษณะและสีต่าง ๆ กัน เชื้อรามีทั้งชนิดที่เป็นประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร และอุตสาหกรรมเกษตร ใช้ในการผลิตอาหาร เช่น ซีอิ๊ว เต้าเจี้ยว เนยแข็ง มิโส และเทมเป เป็นต้น เชื้อราบางชนิดใช้ในการผลิตเอนไซม์ เช่น เอนไซม์อไมเลสที่ใช้ในอุตสาหกรรมขนมปัง ผลิตกรดซิตริก (กรดส้ม) ที่ใช้ในเครื่องดื่มและผลิตสารปฏิชีวนะต่าง ๆ เป็นต้น เชื้อราที่ให้โทษคือ เป็นแหล่งสำคัญที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย ทำให้เครื่องอุปโภคบริโภคเสียหาย ก่อให้เกิดการสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจมากมาย นอกจากเชื้อราเป็นตัวที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย ทำให้อาหารมีสีและกลิ่นผิดปกติแล้วบางชนิดยังสร้างสารพิษลงในอาหารด้วย เช่นอะฟลาท๊อกซิน(aflatoxin) ปรากฏอยู่ในอาหารนั้น ผู้บริโภคอาหารที่มีเชื้อราปะปนอยู่อาจจะได้รับอันตรายได้ (อ้างอิงโดย ปรียา,2524)

เมื่อราเจริญในอาหารจะมีลักษณะคล้ายปุยฝ้าย บางชนิดก็มีสีซึ่งทำให้อาหารมีลักษณะไม่น่ารับประทาน ราที่เกี่ยวข้องกับอาหารมีทั้งพวกที่ทำให้อาหารเสีย และพวกที่มีประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารหรือเป็นส่วนประกอบของอาหารบางชนิด เช่นเนยแข็งบางชนิดต้องใช้ราในการบ่มเพื่อให้เกิดกลิ่นรส ได้แก่เนยแข็งชนิดต่างๆ (Blue,Brie,Gammelost) (อ้างอิงโดย สมบูรณ์,2544)

2.1.1 ลักษณะทั่วไปของรา

ราเป็นจุลินทรีย์ที่อยู่ในกลุ่มฟันไจ (fungi) ซึ่งเป็นพวกที่มีเมแทบอลิซึมเป็นแบบเฮเทอโรโทรป (heterotrop) คือสร้างอาหารเองไม่ได้ แต่ได้พลังงานและคาร์บอนจากการออกซิไดส์ของอินทรียวัตถุต่างๆ รามีโครงสร้างที่เรียกว่า ทาลลัส (thallus) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ยังไม่แบ่งเป็นราก ลำต้น ใบเหมือนพืช ราแตกต่างจากสาหร่ายและพืชชั้นสูงตรงที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ และแตกต่างจากแบคทีเรียตรงที่มีมีโครงสร้างซับซ้อนและมีขนาดใหญ่กว่าอาจมีเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์ก็ได้ (อ้างอิงโดย สมบูรณ์,2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 โครงสร้างพื้นฐานของรา

ราเป็นจุลินทรีย์ที่มีเซลล์เป็นแบบยูคาริโอต (eukaryote) ที่ประกอบกันเป็นเส้นใย (hyphae) มีลักษณะคล้ายท่อใสหรือสีเทาอ่อน เส้นใยอาจเป็นแบบที่มีผนังกั้นตามขวาง ที่บริเวณผนังกั้นจะมีช่องที่ยอมให้ไซโทพลาซึมไหลไปมาระหว่างเซลล์ได้หรือเป็นเส้นใยแบบที่มีผนังกั้นเมื่อเส้นใยเจริญขึ้นที่ปลายหรือภายในเส้นใยก็จะมีการแตกแขนงแล้วรวมกันเป็นกลุ่มเรียกว่า มัยซีเลียม (mycelium) บางส่วนของมัยซีเลียมจะเจริญลงไปในอาหารแล้วดูดซับอาหารไปใช้ประโยชน์ในการเจริญ มัยซีเลียมบางส่วนจะเจริญชูขึ้นไปในอากาศแล้วสร้างสปอร์ซึ่งถ้าสปอร์แพร่กระจายไปตกอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมก็จะงอกเป็นเส้นใยหรือมัยซีเลียมใหม่ได้ (อ้างอิงโดย สมบูรณ์,2544)

ราสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและแบบไม่อาศัยเพศหรือทั้ง 2 แบบ ราที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเรียกว่า ราสมบูรณ์ (perfect fungi) ส่วนราที่ไม่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เรียกว่า ราไม่สมบูรณ์ (imperfect fungi) ราผลิตสปอร์ได้หลายชนิดซึ่งมักจะมีสีต่างๆกันเช่น แดง ดำ เขียว เหลือง เทา สปอร์แบบไม่อาศัยเพศที่เกิดจากมัยซีเลียมโดยตรง ได้แก่ ทาลโลสปอร์ (thallospore) คอนิดิโอสปอร์หรือคอนิเดีย (conidiospore) หรือ (conidia) และสปอร์แรนจิโอสปอร์(sporangiospore) ทาลโลสปอร์ยังแบ่งย่อยได้อีก 3 แบบ คือ บลาสโทสปอร์ (blastospore) คลามัยโดสปอร์ (chlamydospore) และอาร์โทสปอร์ (arthospore) ส่วนสปอร์แบบอาศัยเพศ ได้แก่ โอโอสปอร์ (oospore) ไซโกสปอร์ (zygospore) แอสโค สปอร์ (ascospore) และเบสิดิโอสปอร์ (basidiospore) (อ้างอิงโดย เอกสารการสอนวิชาเคมีและจุลชีววิทยาของอาหารมหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช หน่วยที่ 6-10,2539)

2.1.3 การเจริญของรา

กลุ่มมัยซีเลียมของราที่เกิดขึ้นบนอาหารเรียกว่า โคโลนี (colony) อาจเกิดจากเซลล์เพียงเซลล์เดียว สปอร์เดี่ยว ชิ้นส่วนของเส้นใยหรือกลุ่มของเซลล์ก็ได้ จึงเป็นปัญหาในการประเมินจำนวนของรา เมื่อราเจริญบนอาหารจะมีลักษณะการเกาะกันของมัยซีเลียมแตกต่างกัน เช่น ราบางชนิดมีมัยซีเลียมเกาะกันหลวมๆมองเห็นเป็นปุยคล้ายสำลี แต่ราบางชนิดมีมัยซีเลียมที่เกาะกันแน่นจนคล้ายกำมะหยี่ ในขณะที่ราบางชนิดมีลักษณะคล้ายกองแป้งฝุ่นและบางชนิดมีลักษณะเปียก เป็นเมือกเหนียวคล้ายเจลาทิน โคโลนีของราบางชนิดมีขนาดจำกัด แต่บางชนิดขยายขนาดไปได้เรื่อยๆจนเต็มภาชนะบรรจุอาหาร โคโลนีของเชื้อราอาจมีสีขาว ดำ แดง เขียว น้ำเงิน เทา เหลือง ส้ม น้ำตาล ชมพู ม่วง สีที่เห็นมักเป็นสีของสปอร์ชนิดไม่อาศัยเพศ นอกจากนี้ราบางชนิดยังอาจสร้างรง ควัตถุสีต่างๆกันละลายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย (อ้างอิงโดย เอกสารการสอนวิชาเคมีและจุลชีววิทยาของอาหารมหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช หน่วยที่ 6-10,2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 ลักษณะทางสรีรวิทยาของเชื้อรา

ราต้องการปัจจัยหลายอย่างในการเจริญเติบโตที่เหมาะสม ได้แก่ (อ้างอิงโดยสมบูรณ์,2544)

1) อุณหภูมิ

เชื้อราส่วนใหญ่เป็น mesophilic เจริญในช่วงอุณหภูมิ 10-40 องศาเซลเซียส และเจริญได้ที่อุณหภูมิห้อง (15-30 องศาเซลเซียส) บางเชื้อสามารถเจริญที่อุณหภูมิสูงกว่านี้ แต่ก็ยังเจริญได้ที่อุณหภูมิภายในช่วงของ mesophilic เรียกพวกนี้ว่า thermotolerant พวกที่เจริญและสร้างสปอร์ที่ 45 องศาเซลเซียส และไม่สามารถเจริญที่ต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส เรียกว่า thermophilic เชื้อราที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำเรียกว่า psychrophilic จะไม่เจริญที่ 20 องศาเซลเซียส และสูงกว่านี้ พวก psychrotolerant เจริญที่อุณหภูมิต่ำและยังเจริญในช่วงของ mesophilic

2) แสง

ถึงแม้บางเชื้อจะเจริญได้ดีในตู้บ่มเชื้อทั่วไปซึ่งมืด หลายชนิดเจริญได้ดีกว่าในที่มีแสง บางชนิดสร้างสปอร์ได้ดีภายใต้แสงมืด (ใกล้แสง UV) ที่ CMI เชื้อส่วนใหญ่เจริญในที่มีแสง เชื้อราที่อยู่ตามใบไม้และลำต้นพืชจะไวต่อแสง

3) อากาศ

เชื้อราเป็นพวกต้องการอากาศ เมื่อเจริญบนอาหารภายใต้หลอดหรือขวดปกติจะได้รับอากาศเพียงพอ โดยผ่านจากสำลีหรือฝาเกลียว (ไม่ควรปิดฝาแน่นเกินไป) อย่างไรก็ตามเชื้อราในน้ำบางชนิดต้องการอากาศโดยการให้อากาศแบบ bubbling

4) Water activity (A_w)

เชื้อทุกชนิดต้องการน้ำในการเจริญเชื้อแต่ละชนิดต้องการ available water ต่างกัน ส่วนใหญ่ต้องการน้ำปริมาณสูง เชื้อราบางชนิดเจริญที่ A_w ต่ำ พวกที่ขึ้นได้ในแยม หรือปลาเค็มจะไวต่อน้ำและเจริญได้ดีบนอาหารที่มีน้ำตาลหรือเกลือสูง เรียกพวกนี้ว่า xerophile osmophile หรือ halophile พวกที่ต้องการเกลือ (NaCl) เรียกว่า halophile

5) พีเอช (pH)

เชื้อราเจริญได้ที่ pH ต่างกัน แต่มักเจริญได้ดีที่สุดในภาวะเป็นกรด pH 5-6 บางเชื้อเจริญได้ดีที่ pH เป็นกรดมาก เช่น pH 2 หรือต่ำกว่า *Monilliella acetoabutans* เจริญในผักดองและเชื้อ *Aspergillus niger* ใช้ผลิตกรดซิตริก

6) สารอาหาร

ราสามารถใช้อาหารได้หลายชนิดตั้งแต่อาหารที่มีองค์ประกอบง่ายๆ จนถึงอาหารที่มีโครงสร้างซับซ้อน เนื่องจากราสามารถสังเคราะห์เอนไซม์ได้หลายชนิด เช่น อะไมเลส (amylase) โพรทีเนส (proteinase) และไลเพส (lipase) ดังนั้น ราจึงเป็นสาเหตุให้อาหารเสียเป็นอันดับสองรองจากแมลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7) สารยับยั้งการเจริญ

ราบางชนิดเมื่อเจริญในอาหารจะสังเคราะห์สารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ได้แก่ ยาปฏิชีวนะและกรดบางชนิดซึ่งเป็นประโยชน์อย่างสูงในวงการแพทย์ และยังใช้ในการถนอมอาหารด้วย ในขณะที่ราเริ่มเจริญ การเจริญจะเป็นไปอย่างช้าๆเมื่อเทียบกับการเจริญของแบคทีเรียหรือยีสต์ ดังนั้นถ้าอาหารมีสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิด รามักเจริญแข่งกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นไม่ได้ แต่ถ้าราเจริญได้แล้วราจะเจริญอย่างรวดเร็ว ดังนั้นถ้าต้องการให้ราเจริญได้ดีตั้งแต่แรก ควรปรับสภาพของอาหารให้เป็นกรด หรือเติมยาปฏิชีวนะที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งจะทำให้แบคทีเรียไม่เจริญมารบกวน

2.1.5 ผลของการใช้สารยับยั้งและอุณหภูมิในการเพาะเชื้อที่มีต่อการนับจำนวนฟันไจในอาหาร

Whito และ Hood ได้แนะนำว่าในการตรวจนับเชื้อยีสต์และเชื้อราในเนยเหลว ควรใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มี pH 3.5 เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของบักเตรี แต่อย่างไรก็ตาม มีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้สังเกตเห็นว่า pH 3.5 นี้มีส่วนไปยับยั้งการเจริญเติบโตของฟันไจที่มีอยู่ในอาหารเหมือนกัน แต่การยับยั้งการเจริญเติบโตที่เกิดขึ้นในอาหารนั้นเห็นได้ชัดกว่าการยับยั้งฟันไจที่ทดลองในห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตามเรื่องนี้ไม่ได้รับความสนใจเท่าที่ควรเนื่องจากมีปัญหาในการควบคุมการปะปนของบักเตรีที่เกิดขึ้นในตัวอย่างอาหาร จนกระทั่งในปี 1970 Koburger ได้ทดลองใช้สารยับยั้งคือสารปฏิชีวนะเพื่อเปรียบเทียบกับการเติมกรดลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อในการนับจำนวนฟันไจที่มีอยู่ในอาหารชนิดต่าง ๆ (อ้างอิงโดยปรียา,2524)

2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการศึกษาเชื้อรา

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการศึกษาเชื้อรามีมากมาย เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละอย่างเหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อราแต่ละชนิด แต่อย่างไรก็ตาม อาหารเลี้ยงเชื้อที่นำมาใช้นั้น มีวัตถุประสงค์อย่างเดียวกันคือ ต้องการให้เชื้อราเจริญเติบโตได้ดีที่สุด โดยทั่วไป อาหารเลี้ยงเชื้อรามีคุณสมบัติแตกต่างจากอาหารสำหรับเลี้ยงบักเตรี โดยที่อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมเฉพาะบักเตรีจะมีคุณสมบัติค่อนข้างเป็นด่างเล็กน้อย แต่เชื้อราชอบอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสภาพค่อนข้างเป็นกรดมากกว่า นอกจากนี้ยังมีเชื้อราบางชนิดที่สามารถทนความเป็นกรดได้สูงมาก แหล่งคาร์บอนที่สำคัญของเชื้อราคือ คาร์โบไฮเดรต เชื้อราใช้กลูโคสได้ดีที่สุดเพื่อเป็นพลังงานและใช้ในการเสริมสร้างส่วนต่าง ๆ ของเซล ส่วนแหล่งไนโตรเจนของเชื้อราได้มาจากสารประกอบอนินทรีย์ของไนโตรเจน เช่น เกลือแอมโมเนีย และเกลือไนเตรท เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีธาตุต่าง ๆ ที่เชื้อราต้องการใช้ในการเจริญเติบโตคือ คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ซัลเฟอร์ ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม แมกนีเซียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และธาตุเหล็ก เชื้อราต้องการธาตุต่าง ๆ ดังกล่าวเพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่ก็เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับใช้ในการเจริญเติบโต

อาหารเลี้ยงเชื้อที่นิยมใช้ในการศึกษาเชื้อรามี โปเตโตเดกซ์โตรสอะการ์ (Potato Dextrose Agar,PDA) มอลต์อะการ์ (Malt Agar) และซาเพคอะการ์ (Czapek solution Agar) (อ้างอิงโดย ปรียา,2524)

2.3 *Penicillium* spp.

เป็นราสกุลหนึ่งที่แพร่กระจายทั่วไปในธรรมชาติและในอาหารหลายชนิดและมีความสำคัญในด้านอาหาร (อ้างอิงโดย Richard,2002)

ลักษณะสำคัญของ *Penicillium* spp. คือ

- เซพเทตมัยซีเลียมซึ่งมีการแตกแขนงมักจะไม่มีสี
- มีโคนิดิโอฟอร์เป็นแบบเซตเทตชูขึ้นสู่อากาศตั้งฉากกับอาหาร อาจแตกแขนงหรือไม่ก็ได้
- ส่วนที่ติดกับสปอร์มีลักษณะคล้ายกับแปรง ประกอบด้วยกลุ่มของสเทอริกมาทาหรือไฟอะลายและสายของโคนิเดียที่เกิดบนสเทอริกมาทาแต่ละอัน
- โคนิเดียของบางสปีชีส์จะมีสีเขียวเมื่ออายุยังน้อย แต่พออายุมากขึ้นก็จะมีสีน้ำตาล

2.4 *Penicillium citrinum*

เป็นราที่แพร่กระจายทั่วไปในธรรมชาติและในอาหารหลายชนิดแต่ในการเป็นสาเหตุของการเน่าเสียของอาหารนั้นพบได้ไม่บ่อยนัก

สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของ *Pennicillium citrinum* (รูปที่1) นั้นจะคล้ายๆ *Pennicillium* ทั่วไปแต่จะแตกต่างกันที่ อุณหภูมิที่ *Pennicillium citrinum* เจริญคือจะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

Pennicillium citrinum สามารถสร้างสารพิษที่ชื่อ citrinin (รูปที่2) ซึ่งเป็นสารที่มีสีเหลือง ซึ่งจะเป็นสาเหตุทำให้เกิดความผิดปกติในไตของสัตว์เช่น หมูคือจะทำให้เกิดอาการอักเสบของไตในหมู

แต่ไม่พบผลกระทบของ citrinin ในคน (อ้างอิงโดย Richard,2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 1 แสดงรูปร่างลักษณะของเชื้อรา *Penicillium citrinum* ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

(ที่มา :Richard,2002)

รูปที่ 2 โครงสร้างของสารพิษ citrinin ที่ได้จาก *Penicillium citrinum*

(ที่มา :Richard,2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 วัตถุเจือปนอาหาร

วัตถุเจือปนอาหาร หมายความว่า วัตถุตามปกติมิได้ใช้เป็นอาหาร หรือเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหาร ไม่ว่าวัตถุนั้นจะมีคุณค่าทางอาหาร หรือไม่ก็ตาม แต่ใช้เจือปนในอาหารเพื่อประโยชน์ทางเทคโนโลยีการผลิต การบรรจุ การเก็บรักษา หรือการขนส่ง ซึ่งมีผลต่อคุณภาพหรือมาตรฐาน หรือลักษณะของอาหาร และให้ความหมายรวมถึง วัตถุที่มิได้เจือปนในอาหาร แต่ใช้รวมอยู่กับอาหารเพื่อประโยชน์ดังกล่าวข้างต้นด้วย

มีการกำหนดค่า ADI (Acceptable Daily Intake) สำหรับวัตถุเจือปนอาหารที่ไม่สะสมในร่างกาย และขับออกได้ใน 24 ชั่วโมง ส่วนสารปนเปื้อน (Food contaminants) ทาง JCEFA ได้เสนอแนะให้ใช้ PTWI (Provisional tolerable weekly intake) กับสารที่อาจสะสมในร่างกายช่วงระยะเวลาหนึ่ง และให้ใช้ PMTDI (Provisional maximum tolerable daily intake) กับสารที่ไม่สะสมในร่างกาย เพราะคิดว่าไม่เหมาะสมหากจะใช้เป็น ADI เนื่องจากว่า สารปนเปื้อนไม่ใช้สิ่งที่จะยอมรับ แต่ควรจะเป็นการทนได้เพียงใดมากกว่า

แม้ว่าค่า ADI จะเป็นตัวเลขบ่งบอก หรือประมาณว่า การบริโภคสารเคมีนั้นๆ ถ้าไม่เกินค่า ADI แล้วควรจะปลอดภัยพอ แต่ทางองค์การอนามัยโลกได้ให้ข้อเสนอแนะว่า คนแต่ละชาติแต่ละประเทศควรจะมีการตรวจเช็คว่า Total intake ของ Food Contaminants แต่ละตัวมีค่าประมาณเท่าใด โดยทำการสำรวจจากอาหารที่บริโภค และรัฐบาลของแต่ละประเทศสามารถจะกำหนดว่าจะยอมให้ ADI ของสารนั้นเป็นเท่าใด โดยดูจากข้อมูลที่สำรวจ อาจใช้ค่าเฉลี่ย หรือใช้ค่าสูงสุดเป็นเกณฑ์ก็ได้ วัตถุเจือปนอาหาร แบ่งเป็นหมวดๆ ตามวัตถุประสงค์ของการใช้ ได้แก่ (อ้างอิงโดย ชลดา และ ดวงกมล,2544)

หมวดที่ 1 ใช้ปรับความเป็นกรด-ด่าง (Acidity regulator)

หมวดที่ 2 ใช้เพื่อกันการรวมตัวเป็นก้อน (Anticaking agents)

หมวดที่ 3 ใช้กันหืนและเสริมฤทธิ์วัตถุที่ใช้กันหืน (Antioxidants and Antioxidant Synergists)

หมวดที่ 4 ใช้เป็นเกลือ (Salts)

หมวดที่ 5 ใช้เป็นอีมัลซิไฟเออร์สเตอบิไลเซอร์ และสารทำให้ข้น (Emulsifiers Stabilizers and thickeners)

หมวดที่ 6 ใช้เพื่อกันเสีย (Preservatives หรือ Antimicrobial agents)

หมวดที่ 7 ใช้เพื่อทำให้คงรูป (Firming agent)

หมวดที่ 8 ใช้เป็นแคริ่เออร์โซลเวนต์ (Carrier solvents)

หมวดที่ 9 อื่นๆ (Miscellaneous) เช่น Colorant, Flavoring agent, Sequestrants เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 วัตถุกันเสีย

การศึกษาเพื่อค้นหาวิธีการถนอมอาหารที่เหมาะสมนั้น ได้เริ่มมีมาตั้งแต่สมัยโบราณแล้ว ทั้งนี้เนื่องจากบางครั้งอาหารที่มีอยู่ไม่สามารถบริโภคให้หมดในคราวเดียวได้ หรือบางครั้งอาจต้องการจะเก็บอาหารนั้นไว้บริโภคนอกฤดูกาล หรือต้องการจะส่งไปจำหน่ายยังท้องถิ่นอื่น ฉะนั้นเพื่อให้สามารถเก็บอาหารได้เป็นระยะเวลานาน และสามารถส่งไปขายในเขตท้องที่อื่นโดยอาหารไม่เน่าเสีย จึงได้มีการเก็บถนอมอาหาร โดยการอาศัยกรรมวิธีการแปรรูปอาหารต่างๆ ช่วย กรรมวิธีการแปรรูปที่ใช้อาจเป็นกรรมวิธีที่ใช้ความร้อน ความเย็น รังสี หรือการทำให้แห้งเป็นต้น แต่ผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิดไม่เหมาะที่จะเก็บถนอมด้วยวิธีการที่กล่าว วัตถุกันเสียจึงก้าวเข้ามามีบทบาทสำคัญ (อ้างอิงโดย ศิวาพร,2524)

2.6.1 ความสำคัญของวัตถุกันเสีย

วัตถุกันเสียเป็นสารประกอบเคมีหรือของผสมของสารประกอบเคมี ที่ใช้ช่วยในการถนอมหรือยืดอายุการเก็บของอาหาร หรืออีกนัยหนึ่งคือสารที่ช่วยในการยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายจุลินทรีย์ชนิดต่างๆที่เป็นสาเหตุให้อาหารเกิดการเน่าเสีย

การใช้วัตถุกันเสียเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยในการถนอมหรือยืดอายุการเก็บของอาหารได้ เนื่องจากการเสียของอาหารนั้น ส่วนใหญ่มักจะมีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับอาหาร เพราะอาหารนั้นนอกจากจะเป็นอาหารสำหรับมนุษย์แล้ว ในขณะเดียวกันก็เป็นอาหารตามธรรมชาติของจุลินทรีย์ด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารที่มีคุณค่าทางอาหารครบถ้วน มีความชื้นและความเป็นกรด-ด่างพอเหมาะ วัตถุกันเสียที่ใช้จะช่วยชะงักการเจริญเติบโตหรือทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมา (อ้างอิงโดย ศิวาพร,2524)

2.6.2 กลไกลของวัตถุกันเสียในการช่วยยืดอายุการเก็บของอาหาร

วัตถุกันเสีย จะช่วยยืดอายุการเก็บของอาหาร ได้โดยการไปควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ หรือไปทำลายส่วนใดส่วนหนึ่งหรือทุกส่วนของจุลินทรีย์ซึ่งโดยทั่วไปแล้วกลไกลจะเป็นดังนี้ ตามรายงานของ Branen และคณะ, 1980 ; Davidson และ Branen, 1981 และ Wyss, 1948 (อ้างอิงโดย ศิวาพร,2524) วัตถุกันเสียที่ใช้จะไปมีผลต่อ

1) ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ วัตถุกันเสียที่ใช้อาจมีผลทำให้ความสามารถในการให้อาหารแทรกซึมผ่านผนังเซลล์เสียไป หรือมีการเกิดการฉีกขาดที่ผนังเซลล์เกิดขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุให้จุลินทรีย์ตายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) การทำงานของเอนไซม์ วัตถุกันเสียที่ใช่อาจมีผลทำให้ประสิทธิภาพของเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์เสียไป ทำให้การเจริญเติบโตหยุดชะงักหรือตายได้

3) กลไกลทางด้านพันธุกรรม วัตถุกันเสียที่ใช้จะไปทำลายหรือมีผลต่อสารที่ความสำคัญในด้านพันธุกรรม เช่น DNA RNA ทำให้ขบวนการการแบ่งเซลล์หยุดชะงักหรือผิดปกติไปซึ่งเป็นวิธีการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาได้

2.6.3 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของวัตถุกันเสีย

การที่วัตถุกันเสียจะมีประสิทธิภาพดีหรือไม่ดีอย่างไรในการยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์นั้น จะขึ้นกับปัจจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้ คือ (อ้างอิงโดย ศิวาพร,2524)

1) ชนิดของวัตถุกันเสีย เนื่องจากวัตถุกันเสียแต่ละชนิด จะมีคุณสมบัติไม่เหมือนกัน จึงมีความสามารถในการยับยั้งหรือทำลายได้ไม่เหมือนกัน

2) ความเข้มข้นของวัตถุกันเสีย โดยทั่วไปประสิทธิภาพของวัตถุกันเสีย จะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มข้นของวัตถุกันเสีย แต่การจะใช้ในปริมาณเท่าใดนั้น นอกจากจะขึ้นกับชนิดของอาหารแล้วยังต้องปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขด้วย

3) ชนิด จำนวน อายุ และประวัติของจุลินทรีย์ ชนิด จำนวน อายุ และประวัติของจุลินทรีย์ ที่ปนเปื้อนมากับอาหารล้วนมีผลต่อประสิทธิภาพของวัตถุกันเสียทั้งนั้น การมีจุลินทรีย์หลายๆชนิดปนเปื้อนมา ถ้าจะให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด ควรจะใช้วัตถุกันเสียมากกว่า 1 ชนิด เนื่องจากวัตถุกันเสียแต่ละชนิดจะสามารถทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาเป็นจำนวนมากนั้น ปริมาณของวัตถุกันเสียที่ใช้จะต้องเพิ่มมากขึ้นด้วย ส่วนในกรณีของอายุของจุลินทรีย์นั้นถ้าหากจุลินทรีย์อยู่ในช่วงที่อ่อนแอ การยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายจะง่ายขึ้น แต่ถ้าหากอยู่ในช่วงที่แข็งแรงการยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายจะยากขึ้น จึงสามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการกำหนดชนิดและปริมาณวัตถุกันเสียได้

4) อุณหภูมิ สำหรับอุณหภูมิจัดเป็นปัจจัยที่สำคัญอีกปัจจัยหนึ่ง ที่มีผลต่อประสิทธิภาพของวัตถุกันเสียโดยเฉพาะอย่างยิ่งอุณหภูมิที่ใส่วัตถุกันเสีย

5) องค์ประกอบ คุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของอาหาร ปัจจัยนี้จัดเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญที่สุดตัวอย่างเช่น ความเป็นกรด-ด่างของอาหาร เพราะจะเป็นดรรชนีบ่งชี้ปริมาณของวัตถุกันเสียที่ใช้โดยเฉพาะอย่างยิ่ง วัตถุกันเสียชนิดที่เป็นกรดเพราะวัตถุกันเสียชนิดนี้จะมีประสิทธิภาพสูงสุดในรูปที่ไม่แตกตัว (undissociated form) ถ้าอาหารที่จะใส่วัตถุกันเสีย มีลักษณะเป็นสารแขวนลอยหรือมีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ หรือมีองค์ประกอบที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับวัตถุกันเสียได้ การเลือกชนิดและปริมาณของวัตถุกันเสียที่จะใช้จะต้องมีการระมัดระวังมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6) สภาวะการเก็บอาหาร ประสิทธิภาพของวัตถุกันเสียในการทำลายจุลินทรีย์ จะขึ้นกับระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บอาหารนั้นด้วย เพราะประสิทธิภาพอาจจะลดลงเนื่องจากการระเหยหรือการทำปฏิกิริยากับอาหารได้

2.6.4 วัตถุกันเสียที่มีประสิทธิภาพดี

วัตถุกันเสียที่มีประสิทธิภาพดี ควรจะมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้คือ

1) ควรมีความสามารถในการทำลายมากกว่าเพียงแค่การชะงักการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

2) ควรสามารถทำลายจุลินทรีย์ชนิดที่ทำให้อาหารเป็นพิษได้

3) อาหารหรือองค์ประกอบของอาหารหรือผลิตผลพลอยได้ (by product) จากการ เมตาโบลิซึม (metabolism) ของจุลินทรีย์ไม่ทำให้ประสิทธิภาพของวัตถุกันเสียนั้นเปลี่ยนแปลง

4) ถ้าหากเป็นวัตถุกันเสียประเภทที่สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ วัตถุกันเสียชนิดนี้ควรจะถูกเปลี่ยนสภาพให้เป็นสารที่ไม่มีอันตรายต่อร่างกาย หรือถูกทำให้สลายตัวได้ด้วยกรรมวิธีที่ใช้ในการแปรรูปอาหารได้

วัตถุกันเสียที่ใช้ ไม่ควรเป็นสาเหตุให้เกิดการดื้อยาของจุลินทรีย์ และควรมีราคาถูก (อ้างอิงโดย ศิวาพร,2524)

2.6.5 กรดซอร์บิค (sorbic acid) หรือเกลือซอร์เบท (Sorbate)

กรดซอร์บิค และเกลือซอร์เบทเป็นสารกันเชื้อราชนิดหนึ่ง ที่นิยมใช้กันมากเนื่องจาก เป็นสารที่ไม่มีกลิ่น ไม่มีรส และไม่ทำให้กลิ่นรสของอาหารเปลี่ยนแปลง กรดซอร์บิคมีสูตรทางเคมี CH_3 – CH –CH –CH –COOH ชื่อทางวิทยาศาตร์ –unsatured trans – trans,2,4-hexxadienoic monocarboxylic aliphatic acid กลุ่ม carboxyl ของกรดซอร์บิคสามารถรวมตัวเป็นเกลือได้ เช่นรวมตัวกับ โซเดียม อิออน เป็น โซเดียมซอร์เบท (Sodium sorbate) พบว่าโพแทสเซียมซอร์เบทถูก metabolized ได้แบบเดียวกับกรดไขมันซึ่งเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติเช่น caproic acid และ butyric acid ฉะนั้นอันตรายที่จะได้รับจากสารกันเชื้อราชนิดนี้จึงน้อย โพแทสเซียมซอร์เบทสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายจุลินทรีย์พวกยีสต์และราได้ดีกว่าแบคทีเรีย และประสิทธิภาพของสารนี้จะสูงสุดในช่วง pH ต่ำกว่า 6.5 สำหรับอาหารทั่วไปนิยมใช้โพแทสเซียมซอร์เบทในการยืดอายุการเก็บ ได้แก่ เนยแข็ง มาการีน ผลิตภัณฑ์ขนมอบ น้ำผลไม้ ไวน์ แยม ผลไม้แห้ง ผักแห้ง ผักดอง ผลิตภัณฑ์เนื้อ ผลิตภัณฑ์ปลาเป็นต้น

สำหรับปริมาณที่อนุญาตให้ใส่ในอาหารตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 อนุญาตให้ใช้กรดซอร์บิคหรือ โซเดียมซอร์บิค หรือเกลือของกรดซอร์เบทอื่นๆ ได้ในปริมาณสูงสุดไม่เกิน 2,000 มิลลิกรัม ต่อ 1 กิโลกรัมอาหาร (อ้างอิงโดย ชลดา และดวงกมล,2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.6 กรดโพรพิโอนิค (propionic acid) และเกลือโพรพิโอเนท (propionate)

เป็นกรดอินทรีย์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ แต่ไม่สามารถยับยั้งยีสต์ได้ ซึ่งจะสามารถเกิดขึ้นเองได้ตามธรรมชาติในอาหารบางชนิด เช่นใน swiss cheese จะสามารถผลิตกรดโพรพิโอนิคได้ที่ความเข้มข้น 1% โดยกรดโพรพิโอนิคจะถูกสังเคราะห์จากแบคทีเรียที่ชื่อ *Proprioni bacterium shermanii*

เราสามารถเติมกรดโพรพิโอนิคลงไปในส่วนประกอบของขนมปังโดยจะไม่มีผลในการขึ้นฟูของขนมปัง

ในอุตสาหกรรมอาหารกรดโพรพิโอนิคจะใช้อยู่ในรูป โซเดียม หรือ แคลเซียม โพรพิโอเนท จะเป็นตัวที่นิยมใช้ในการยับยั้งเชื้อราในอาหารประเภท เบเกอร์รี่

เนื่องจากกรดโพรพิโอนิคเป็นกรดอ่อน จึงมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับกรดอินทรีย์ชนิดอื่น ดังนั้นจึงต้องใช้โพรพิโอเนทในความเข้มข้นที่สูงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้ง

ค่า pH ของอาหารจะมีผลในการกระทำของแบคทีเรีย เพราะถ้าอาหารมี pH ต่ำจะทำให้การแตกตัวคงที่ โพรพิโอเนทมีประสิทธิภาพที่ค่า pH ใกล้เคียงกับ sorbic acid (Depak et.al,1992)

สำหรับปริมาตรที่อนุญาตให้ใส่ในอาหารตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 อนุญาตให้ใช้กรดโพรพิโอนิค (propionic acid) และเกลือโพรพิโอเนท (propionate)อื่นๆ ได้ในปริมาณสูงสุดไม่เกิน 3,000 มิลลิกรัม ต่อ 1 กิโลกรัมอาหาร (อ้างอิงโดย ศิวาพร,2524)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัตถุดิบ

แบ่งเป็น 4 กลุ่ม

1) กลุ่มผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ ได้แก่ กุ้งแห้ง ปลาหมึกแห้ง
2) กลุ่มธัญพืช ได้แก่ ถั่วลิสง ข้าวคั่ว เมล็ดทานตะวัน งาดำ
3) กลุ่มเครื่องเทศ ได้แก่ พริกแห้ง พริกไทดำ กระเทียมกลีบเล็ก
4) กลุ่มพืช ได้แก่ ใบชา ใบยาสูบ สาหร่าย เห็ดหูหนูดำ เห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน กระเจี๊ยบ

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 เครื่องแก้ว

1) ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (Steriled pipets) ขนาด 1,5 และ 10 มิลลิลิตร
2) หลอดทดลองขนาด 16 x 150 มิลลิลิตร
3) บีกเกอร์ขนาด 50,100 และ 1000 มิลลิลิตร
4) แท่งแก้วคน,แท่งแก้วรูปตัวแอล
5) กระบอกตวงขนาด 10 และ 500 มิลลิลิตร
6) จานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (Steriled petridishes) ขนาด 100x15 มิลลิลิตร
7) ขวดแก้วสำหรับใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1) บีกเกอร์สแตนเลส ขนาด 200 มิลลิลิตร
2) ช้อนตักสาร
3) เข็มฉีดยา ขนาด 10 มิลลิลิตร
4) Filter sterilization
5) ตู้อบลมร้อน
6) Autoclave รุ่น SS-330
7) กระบอกใส่ปิเปต
8) ที่ใส่หลอดทดลอง (rack)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9) เข็มเขี่ยเชื้อ (needle)
10) ลวดเขี่ยเชื้อ (loop)
11) ตะเกียงแอลกอฮอล์
12) ไฟแช็ค
13) แอลกอฮอล์ 95%
14) จุกยาง
15) เครื่องตีปั่นไฟฟ้า
16) น้ำกรอง
17) น้ำกลั่น
18) autopipette ขนาด 0.01 มิลลิลิตร

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1) Potato Dextrose Agar (PDA) ของบริษัท Merck,Germany
2) Dichloran Glycerol 18 agar (DG18) ของบริษัท Merck,Germany

3.4. สารเคมี

1) โพแทสเซียมซอร์เบท
2) โซเดียมโพรพิโอเนท
3) กลีเซอรอล
4) สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85
5) กรดทาร์ทาริก เข้มข้นร้อยละ 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 วิธีดำเนินการทดลอง

3.5.1 เปรียบเทียบการตรวจหาปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งโดยใช้ อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18

3.5.1.1 ทำ viable plate count โดยวิธี pour plate

3.5.1.2 บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

3.5.1.3 ตรวจนับปริมาณเชื้อราและยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง PDA และ DG18ในช่วง 30–300 โคโลนี

3.5.1.4 นำค่าปริมาณเชื้อราและยีสต์ที่ตรวจนับได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง PDA และ DG18 มาทดสอบความแตกต่างโดยใช้การแจกแจงแบบที (t-test) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3.5.2 การยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* ในผลิตภัณฑ์ใบยาสูบ โดยใช้วัตถุกันเสีย โพแทสเซียมซอร์เบท และโซเดียมโพรพิโอเนทในปริมาณสูงสุดตามที่ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 อนุญาตให้ใช้ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDAที่ปรับและไม่ปรับพีเอช และ DG18 ที่ปรับและไม่ปรับ water activity

3.5.2.1 ปรับสภาวะอาหารเลี้ยงเชื้อPDA และ DG18 เป็นดังนี้

1) PDA ปรับค่า พีเอช (pH) ให้เป็นกรด (pH = 3.5)
2) PDA ไม่ปรับค่า พีเอช (pH = 5.6)
3) DG18 ปรับค่า water activity (A_w)ให้เป็น 0.95
4) DG18 ไม่ปรับค่า water activity (A_w = 0.99)

3.5.2.2 ผสมวัตถุกันเสียในระดับความเข้มข้น ตาม ที่กระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 กำหนด คือ โพแทสเซียมซอร์เบท ใช้ในระดับ 2,000 ppm. และโซเดียมโพรพิโอเนทใช้ในระดับ 3,000 ppm. ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อข้อ 3.5.2.1

3.5.2.3 เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ปรับและไม่ปรับพีเอช และ อาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 ที่ปรับและไม่ปรับA_w ที่ผสมวัตถุกันเสียทั้ง 2 ชนิดเรียบร้อยแล้ว ลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

3.5.2.4 แบ่งอาหารเลี้ยงเชื้อในแต่ละสภาวะออกเป็น 3 กลุ่มคือ

1) กลุ่มที่ 1 : กลุ่มควบคุม ไม่เติมวัตถุกันเสีย
2) กลุ่มที่ 2 : กลุ่มเติมวัตถุกันเสียโพแทสเซียมซอร์เบทเข้มข้น 2,000 ppm.
3) กลุ่มที่ 3 : กลุ่มเติมวัตถุกันเสียโซเดียมโพรพิโอเนทเข้มข้น 3,000 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2.5 ทำการละลายสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium citrinum* ที่ได้เลี้ยงไว้ในหลอดทดลองด้วยน้ำ steriled ใช้ เข็มเขี่ยเชื้อ เขี่ยเชื้อภายในหลอดให้สปอร์กระจายทั่วกัน แล้วเขย่าให้สปอร์กระจายทั่วหลอด จากนั้นใช้ autopipette ดูดสปอร์มา 0.01 มิลลิลิตร แล้ว spot สปอร์ของเชื้อรา *Penicillium citrinum* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 สภาวะ โดย spot บริเวณกึ่งกลางจานเพาะเชื้อ

3.5.2.6 บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน แล้วสังเกตการเจริญและลดการเจริญของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDAที่ปรับและไม่ปรับพีเอช และ DG18 ที่ปรับและไม่ปรับ A_w โดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี(เซนติเมตร) ที่เกิดขึ้น แล้วเปรียบเทียบว่าวัตถุกันเสียชนิดใดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* ได้ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96642

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 เปรียบเทียบการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18

การตรวจหาปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18 ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณเชื้อราที่ตรวจนับได้ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งทั้ง 16 ตัวอย่าง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18

ตัวอย่างอาหาร	จำนวนต่อกรัมอาหาร (cfu/g)	
	PDA	DG18
ผภ.สัตว์น้ำ :		
กุ้งแห้ง	350	34,000
ปลาหมึกแห้ง	150	470
ธัญพืช :		
ถั่วลิสง	220	310
ข้าวคั่ว	10	280
เมล็ดทานตะวัน	20	40
งาดำ	840	340
เครื่องเทศ :		
พริกแห้ง	6,500	29,000
พริกไทดำ	280	9,200
กระเทียมกลีบเล็ก	640	29,000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ตัวอย่างอาหาร	**จำนวนต่อกรัมอาหาร (cfu/g)**	
	PDA	**DG18**
พืช :		
ใบชา	120	200
ใบยาสูบ	30	10
สาหร่าย	130	450
เห็ดหูหนูดำ	7,000	20,000
เห็ดหูหนูขาว	10	190
ดอกไม้จีน	15	160
กระเจี๊ยบ	10	140

จากผลการตรวจนับปริมาณเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวข้างต้น เมื่อนำมาคำนวณค่าความแตกต่างทางสถิติของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสอง ด้วยวิธี t-test ได้ผลดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 2 ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งทั้ง 16 ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18

อาหารเลี้ยงเชื้อ	Mean ± SD
PDA	1020.31 ± 5237968.33
DG18	7736.88 ± 158167283.2*

* significant 0.05

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง ทั้ง 16 ตัวอย่างโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18 พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 โดยอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 สามารถตรวจนับปริมาณเชื้อราได้มากกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งในกลุ่มผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ 2 ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18

อาหารเลี้ยงเชื้อ	Mean ± SD
PDA	250 ± 20000
DG18	17235 ± 562130450

no significant 0.05

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อราในกลุ่มของผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง PDA และDG18 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เป็นเพราะจำนวนตัวอย่างในกลุ่มของผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำมีน้อยเกินไป จึงทำให้ผลการคำนวณทางสถิติมีความผิดพลาดสูง

ตารางที่ 4 ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งในกลุ่มธัญพืช 4 ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18

อาหารเลี้ยงเชื้อ	Mean ± SD
PDA	272.5 ± 152491.67
DG18	242.5 ± 93688408.3

no significant 0.05

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อราในกลุ่มของธัญพืช พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง PDA และDG18 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เป็นเพราะปริมาณเชื้อราที่นับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสอง ไม่ห่างกันมากนัก และจำนวนตัวอย่างที่นำมาทดสอบมีน้อยเกินไป

ตารางที่ 5 ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งในกลุ่มเครื่องเทศ 3 ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18

อาหารเลี้ยงเชื้อ	Mean ± SD
PDA	2473.33 ± 12192933.3
DG18	22400 ± 130680000*

* significant 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

19743

จากตารางที่ 5 พบว่า การตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อราในกลุ่มของเครื่องเทศ อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18 มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 โดยอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 สามารถตรวจนับปริมาณเชื้อราได้มากกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ตารางที่ 6 ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งในกลุ่มพืช 7 ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18

อาหารเลี้ยงเชื้อ	Mean $\pm$ SD
PDA	1045 $\pm$ 6898075
DG18	3021.43 $\pm$ 56070114.7

no significant 0.05

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อราในกลุ่มของพืช พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง PDA และDG18 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เป็นเพราะตัวอย่างที่นำมาทดสอบมีน้อยเกินไป

ในการทดลองเพื่อตรวจนับปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งนั้นได้พบยีสต์ด้วย จึงทำการตรวจนับปริมาณยีสต์ ได้ผลดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงปริมาณยีสต์ที่ตรวจนับได้ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งทั้ง 16 ตัวอย่าง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18

ตัวอย่างอาหาร	จำนวนต่อกรัมอาหาร (cfu/g)	
	PDA	DG18
ผภ.สัตว์น้ำ :		
กุ้งแห้ง	10	2,000
ปลาหมึกแห้ง	10	10
ธัญพืช :		
ถั่วลิสง	10	200
ข้าวคั่ว	10	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้มีการดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

ตารางที่ 7 (ต่อ)

ตัวอย่างอาหาร	จำนวนต่อกรัมอาหาร (cfu/g)	
	PDA	**DG18**
ธัญพืช (ต่อ) :		
เมล็ดทานตะวัน	100	10
งาดำ	1,000	10
เครื่องเทศ :		
พริกแห้ง	2,000	10
พริกไทดำ	200	20
กระเทียมกลีบเล็ก	10	10
พืช :		
ใบชา	320	10
ใบยาสูบ	10	10
สาหร่าย	10	10
เห็ดหูหนูดำ	920	2,800
เห็ดหูหนูขาว	10	10
ดอกไม้จีน	10	10
กระเจี๊ยบ	3,000	10

จากผลการทดลองการตรวจนับปริมาณยีสต์ ดังตารางข้างต้น เมื่อนำค่ามาคำนวณความแตกต่างทางสถิติของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสอง ด้วยวิธี t-test ได้ผลดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 8 ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งทั้ง 16 ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18

อาหารเลี้ยงเชื้อ	Mean ± SD
PDA	476.88 ± 48268.33
DG18	321.25 ± 693785

no significant 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง ทั้ง 16 ตัวอย่าง พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง PDA และDG18 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เป็นเพราะปริมาณเชื้อราที่นับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสอง ไม่ห่างกันมากนัก

ตารางที่ 9 ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งในกลุ่มของผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ 2 ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18

อาหารเลี้ยงเชื้อ	Mean ± SD
PDA	10 ± 0
DG18	1005 ± 1980050

no significant 0.05

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณยีสต์ในกลุ่มของผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เป็นเพราะตัวอย่างที่นำมาทดสอบมีน้อยเกินไป ทำให้ค่าทางสถิติผิดพลาดสูง

ตารางที่ 10 ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งในกลุ่มของธัญพืช 4 ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18

อาหารเลี้ยงเชื้อ	Mean ± SD
PDA	280 ± 232200
DG18	57.5 ± 9025

no significant 0.05

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณยีสต์ในกลุ่มของธัญพืช พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในการตรวจนับ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เป็นเพราะตัวอย่างที่นำมาทดสอบมีน้อยเกินไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งในกลุ่มของเครื่องเทศ 3 ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18

อาหารเลี้ยงเชื้อ	Mean ± SD
PDA	736.67 ± 1206033.33
DG18	13.33 ± 33.33

no significant 0.05

จากตารางที่ 11 พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติในการตรวจนับที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เป็นเพราะ ตัวอย่างที่นำมาทดสอบมีน้อยเกินไป

ตารางที่ 12 ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งในกลุ่มของพืช 7 ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และDG18

อาหารเลี้ยงเชื้อ	Mean ± SD
PDA	880 ± 1920333.33
DG18	140 ± 118300

no significant 0.05

ผลการตรวจนับปริมาณยีสต์ดังตารางที่ 12 พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง PDA และ DG18 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เป็นเพราะตัวอย่างที่นำมาทดสอบมีน้อยเกินไป และปริมาณยีสต์ที่นับได้ไม่ห่างกันมากนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium citrinum* ในผลิตภัณฑ์ใบยาสูบ โดยใช้วัตถุกันเสียโพแทสเซียมซอร์เบท และโซเดียมโพรพิโอเนทในปริมาณสูงสุดตามที่ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 อนุญาตให้ใช้ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDAที่ปรับและไม่ปรับพีเอช และ DG18 ที่ปรับและไม่ปรับ A_w

เนื่องจากผลการทดลองในตอนที่ 4.1 พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 สามารถตรวจนับปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง (จำนวน16ตัวอย่าง) ได้ดีกว่า PDA อย่างมีนัยสำคัญที่ 0.05 เนื่องจากโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 มีขนาดเล็ก ชัดเจนและนับได้ง่าย ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA นั้นพบว่าขนาดโคโลนีของเชื้อราที่เกิดขึ้นมีรัศมีที่กว้างกว่า DG18 ทำให้โคโลนีรวมทั้งสปอร์ของเชื้อราทับถมกันจึงนับได้ยาก แต่การที่จะศึกษาการเจริญหรือลดการเจริญของเชื้อรา ควรที่จะเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำให้โคโลนีมีขนาดใหญ่ ดังนั้นจึงได้ทำการปรับสภาวะอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิดเป็น PDA ที่ปรับและไม่ปรับพีเอช และDG18 ที่ปรับและไม่ปรับ water activity เพื่อที่จะศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการศึกษาการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* ได้อย่างเหมาะสม โดยใช้วัตถุกันเสียโพแทสเซียมซอร์เบทความเข้มข้น 2,000 ppm.และโซเดียมโพรพิโอเนทควมเข้มข้น 3,000 ppm. ซึ่งผลการทดลองที่ได้ ดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium citrinum* โดยใช้โพแทสเซียมซอร์เบทและโซเดียมโพรพิโอเนทบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ปรับและไม่ปรับพีเอช และDG18ที่ปรับและไม่ปรับA_w

กลุ่มอาหารเลี้ยงเชื้อ	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา (เซนติเมตร)			
	PDA		DG18	
	ปรับ pH (pH = 3.5)	ไม่ปรับ pH (pH = 5.6)	ปรับ A_w (A_w= 0.95)	ไม่ปรับ A_w (A_w = 0.99)
กลุ่มควบคุม	6.3	7.3**	1.9	3.6
โพแทสเซียมซอร์เบท	0.4	2.3	0.6	2.4
โซเดียมโพรพิโอเนท	0.4	1.6*	0.6	1.7*

หมายเหตุ :

กลุ่มควบคุม หมายถึง กลุ่มอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ใส่วัตถุกันเสีย

โพแทสเซียมซอร์เบท หมายถึง กลุ่มอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่โพแทสเซียมซอร์เบท 2,000 ppm.

โซเดียมโพรพิโอเนท หมายถึง กลุ่มอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่โซเดียมโพรพิโอเนท 3,000 ppm.

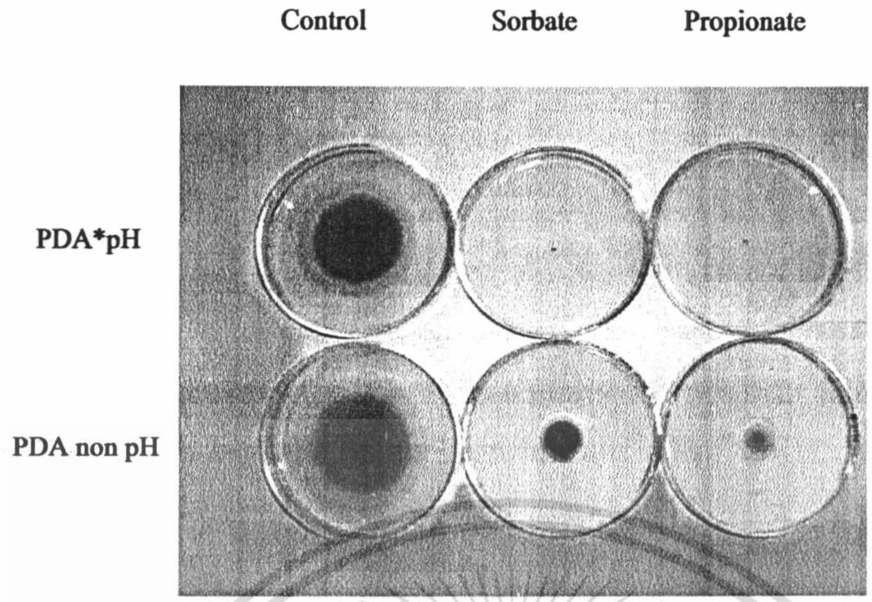
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 13 พบว่า เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Penicillium citrinum* ในกลุ่มควบคุมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่ปรับพีเอช มีขนาดใหญ่ที่สุดคือ 7.3 เซนติเมตร(**) แสดงว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่ปรับพีเอชสามารถวัดการเจริญของโคโลนีของเชื้อรา *Penicillium citrinum* ได้ดีที่สุด

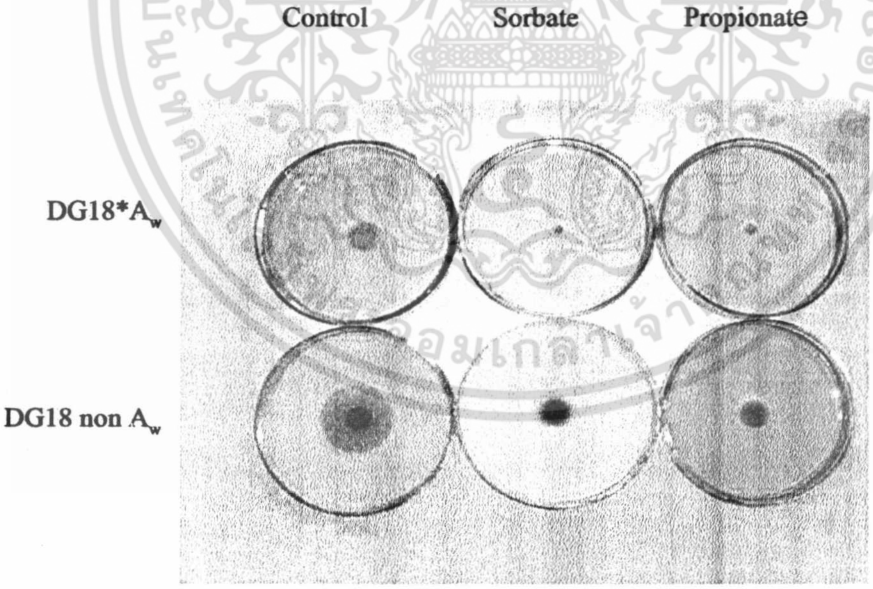
เมื่อเติมวัตถุกันเสียเพื่อจุดประสงค์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium citrinum* พบว่า โพแทสเซียมซอร์เบทความเข้มข้น 2,000 ppm. และโซเดียมโพรพิโอเนทความเข้มข้น 3,000 ppm. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดังกล่าวได้ เนื่องจากขนาดโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDAที่ปรับและไม่ปรับพีเอช และDG18 ที่ปรับและไม่ปรับA_w ในกลุ่มของโพแทสเซียมซอร์เบทและโซเดียมโพรพิโอเนท มีขนาดเล็กกว่ากลุ่มควบคุม และนอกจากนี้ยังพบว่าโซเดียมโพรพิโอเนทสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium citrinum* ได้ดีกว่าโพแทสเซียมซอร์เบทเนื่องจากขนาดเส้นผ่าศูนยกลางโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่ปรับพีเอช ในกลุ่มของโซเดียมโพรพิโอเนท มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 1.6 เซนติเมตร(*) ซึ่งมีขนาดเล็กกว่ากลุ่มของโพแทสเซียมซอร์เบทคือ 2.3 เซนติเมตร และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 ที่ไม่ปรับ A_w ในกลุ่มของโซเดียมโพรพิโอเนทเท่ากับ 1.7 เซนติเมตร(*) ซึ่งมีขนาดเล็กกว่ากลุ่มของโพแทสเซียมซอร์เบทคือ 1.4 เซนติเมตร (ดูผลการทดลองดังรูปที่ 5 และ 6) ดังนั้น สรุปได้ว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการวัดการเจริญหรือลดการเจริญของเชื้อรา *Penicillium citrinum* คือ PDA ที่ไม่ปรับพีเอช และวัตถุกันเสียที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* ที่เหมาะสม คือ โซเดียมโพรพิโอเนทความเข้มข้น 3,000 ppm.

นอกจากนี้จากตารางที่ 13 ยังพบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ปรับพีเอช (pH=3.5) จะมีผลในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum*เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบขนาดของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่ปรับพีเอช (pH=5.6) มีขนาดใหญ่กว่าขนาดโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ปรับพีเอช ซึ่งการที่ปรับพีเอช ให้เป็นกรดนั้นมีผลในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* แสดงว่าเชื้อรา *Penicillium citrinum* ไม่ทนกรด และอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 ที่มีการปรับค่า wateractivity มีผลในการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบขนาดของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 ที่ไม่มีการปรับค่า wateractivity (A_w=0.99) มีขนาดใหญ่กว่าขนาดโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 ที่มีการปรับค่า A_w (A_w=0.95) แสดงว่าเชื้อรา *Penicillium citrinum* ไม่ทนสภาวะแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5 ผลการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการปรับและไม่ปรับพีเอช โดยใช้วัตถุกันเสีย โพแทสเซียมซอร์เบท และโซเดียมโพรพิโอเนท



รูปที่ 6 ผลการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 ที่มีการปรับและไม่ปรับ A_w โดยใช้วัตถุกันเสีย โพแทสเซียมซอร์เบท และโซเดียมโพรพิโอเนท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ :

PDA *pH	หมายถึง	อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการปรับpH เป็น 3.5
DG18*A_w	หมายถึง	อาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 ที่มีการปรับ A_w เป็น 0.95
PDA non pH	หมายถึง	อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่ปรับ pH (pH=5.6)
DG18 non A_w	หมายถึง	อาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 ที่ไม่ปรับ A_w (A_w =0.99)
Control	หมายถึง	กลุ่มควบคุม ไม่เติมวัตถุกันเสีย
Sorbate	หมายถึง	กลุ่มเติมวัตถุกันเสีย โพแทสเซียมซอร์เบทเข้มข้น 2,000 ppm.
Propionate	หมายถึง	กลุ่มเติมวัตถุกันเสีย โซเดียมโพรพิโอเนทเข้มข้น 3,000 ppm.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

1. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้ง 16 ตัวอย่าง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18 พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิด มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 สามารถตรวจนับปริมาณเชื้อราได้มากกว่า PDA

2. ผลิตผลทางการเกษตรกลุ่มผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ ในการตรวจนับปริมาณเชื้อราพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. ผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งกลุ่มธัญพืช ในการตรวจนับปริมาณเชื้อราพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4. ผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งกลุ่มเครื่องเทศ ในการตรวจนับปริมาณเชื้อราพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18 มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 โดยอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 สามารถตรวจนับปริมาณเชื้อราได้มากกว่า PDA

5. ผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งกลุ่มพืช ในการตรวจนับปริมาณเชื้อราพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

6. ผลิตผลทางการเกษตรชนิด ทั้ง 16 ตัวอย่าง ในการตรวจนับปริมาณยีสต์ พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และเมื่อแยกเป็นกลุ่มผลิตผลทางการเกษตรคือ กลุ่มผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ กลุ่มธัญพืช กลุ่มเครื่องเทศ และกลุ่มพืช พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง PDA และ DG18 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

7. ในการศึกษาผลการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* โดยใช้วัตถุกันเสีย โพแทสเซียมซอร์เบทความเข้มข้น 2,000 ppm. และโซเดียมโพรพิโอเนทความเข้มข้น 3,000 ppm. พบว่า วัตถุกันเสียโซเดียมโพรพิโอเนทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่ดีกว่าโพแทสเซียมซอร์เบท โดยอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่มีการปรับลดค่าพีเอช เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่สุดในการศึกษาการเจริญและการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium citrinum*

8. เชื้อรา *Penicillium citrinum* เป็นเชื้อราที่ไม่ทนกรด และไม่ทนสภาวะแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. ในการตรวจนับปริมาณเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งควรเลือกใช้ DG18

2. ในการตรวจนับปริมาณยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งสามารถเลือกใช้ได้ทั้ง PDA และ DG18

3. จากการศึกษาการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* สามารถยับยั้งได้ในห้องทดลอง ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้ โซเดียมโพรพิโอเนทความเข้มข้น 3,000 ppm. ผสมลงในใบยาสูบ เพื่อแก้ปัญหาในเรื่องของการปนเปื้อนอันนำมาซึ่งความน่ารังเกียจของผลิตภัณฑ์

4. จากข้อมูลของการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* ในการทดลองนี้ พบว่า เชื้อรา *Penicillium citrinum* ไม่ทนกรด ในการศึกษาการเจริญหรือการยับยั้งเชื้อรา *Penicillium citrinum* ครั้งต่อไป ควรเลือกใช้ อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่ปรับลดค่า pH

5. ในการศึกษาการเจริญของเชื้อราที่ทนกรดควรเลือกใช้ อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ปรับพีเอช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ชลดา โพธิ์ขำ และดวงกมล สระน้ำ. 2544. ศึกษาการควบคุมเชื้อราในผลิตภัณฑ์ปลาหมึกอบปรุงรส. ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร : 48 น.

ชูศรี วงศ์รัตนะ,รศ. 2537. เทคนิคการใช้สถิติเพื่อการวิจัย. พิมพ์ครั้งที่6. ศูนย์หนังสือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.

ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์. 2524. จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เกษตร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร : 282 น.

ศิวาพร ศิวเวชช,รศ. 2524. วัตถุเจือปนอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร. พิมพ์ครั้งที่1. โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร : 328 น.

สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์. 2544. เทคนิคการเก็บรักษาจุลินทรีย์. พิมพ์ครั้งที่2. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร : น.91-92.

เอกสารประกอบการสอนวิชาเคมีและจุลชีววิทยาอาหาร. หน่วยที่6-10. 2539. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช. โรงพิมพ์ชวนพิมพ์. กรุงเทพมหานคร.

Deepak, B. E.,B. Lillehoj, Dilip, K. A. 1992. Hanbook of Appled Mycology (Mycotoxin in Ecological system volume 5. USA : Marcell Dekker, Inc. 443:259.

"Dichloran Glycerol (DG18) Agar" [Online]. Available : http://service.merck.de/microbiology/tedisdata/prods/4985-1_00465_0100.html.

Hawksoworth, D.L., Kirk, P. M., Sutton B. C., and D. N. Pegler. Dictionary of the fungi. UK. 1995.

Michael, J. C., and Sarah, C. W. 1996. The fungi. Third edition. USA : Academic press limited.

"Potato Dextrose Agar" [Online]. Available : http://service.merck.de/microbiology/tedisdata/prods/4985-1_10130_0500.html.

Richard, K. R., 2002. Encyclopedia of food microbiology volume 3. USA :Academic press. p. 1651-1670.

Ronald, M. A., 1993. Handbook of Microbiological Media. Lawrence, C. P., USA : CRC Press, Inc., p.305,722.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. วิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar

เตรียม 1 ลิตร

Glucose	20.0 กรัม
Agar	15.0 กรัม
Potato, imfusion from	4.0 กรัม
Tartaric acid solution	10.0 มิลลิลิตร

ละลายอาหาร 39 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มให้วุ้นละลาย แล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เติม tartaric acid คนให้เข้ากัน

1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA Agar)

เตรียม 1 ลิตร

Glucose	20.0 กรัม
Agar	15.0 กรัม
Potato, imfusion from	4.0 กรัม

ละลายอาหาร 39 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มให้วุ้นละลาย แล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ Dichloran Glycerol Agar (DG18 Agar)

เตรียม 1 ลิตร

Agar	15.0 กรัม
Glucose	10.0 กรัม
Peptone	5.0 กรัม
KH_2PO_4	1.0 กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5 กรัม
Dichloran	2.0 มิลลิกรัม
Chloramphenicol solution	10.0 มิลลิลิตร

ละลาย Glycerol 220 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 780 มิลลิลิตร ละลายอาหาร 31.6 กรัมในน้ำกลั่นผสม Glycerol ต้มให้วุ้นละลาย แล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. วิธีเตรียมสารเคมี

2.1.วัตถุกันเสียโพแทสเซียมซอร์เบท (Potassium Sorbate)

โพแทสเซียมซอร์เบท (Potassium Sorbate)	4.0 กรัม
น้ำกลั่น	20.0 มิลลิลิตร

ละลายโพแทสเซียมซอร์เบท 4.0 กรัม ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 20 มิลลิลิตร กรองผ่าน Filter sterilization แล้วผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ 990 มิลลิลิตรในปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2.2 วัตถุกันเสียโซเดียมโพรพิโอเนท (Sodium Propionate)

โซเดียมโพรพิโอเนท (Sodium Propionate)	6.0 กรัม
น้ำกลั่น	20.0 มิลลิลิตร

ละลายโซเดียมโพรพิโอเนท 6.0 กรัม ในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร กรองผ่าน Filter sterilization แล้วผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ 990 มิลลิลิตร ในปริมาตร 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 น้ำยาเจือจาง (โซเดียมคลอไรด์ 0.85%)

NaCl	0.85 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

ละลาย NaCl 0.85 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์โดยวิธี viable plate count

1. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อรา โดยวิธี viable plate count

นำตัวอย่างผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งมาตรวจหาปริมาณเชื้อรา โดยใช้กรรไกรตัดผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ปริมาณ 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85 % ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปตีปั่นนาน 1 นาที ดูดตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่บรรจุสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85 % 9 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อเจือจางตัวอย่างอาหารจนได้ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 1x10-2 และ 1x10-3 แล้วดูดตัวอย่างอาหารปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากแต่ละระดับความเข้มข้นใส่ลงในจานเพาะเชื้อ แต่ละระดับทำ 3 ซ้ำ

ทำการ acidified PDA โดยการเติมกรดทาร์ทาริกเข้มข้น 10 % ปริมาณ 1 มิลลิลิตรต่อ PDA 100 มิลลิลิตร แกว่งเบา ๆ ให้เข้ากัน ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ เท acidified PDA และ DG18 ลงในจานอาหาร หมุนวนจานอาหารเบา ๆ เพื่อให้ตัวอย่างอาหารและอาหารเลี้ยงเชื้อเข้ากันดี ตั้งทิ้งไว้ให้วุ้นแข็ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นตรวจนับปริมาณโคโลนีจากจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ในช่วง 30-300 โคโลนี คำนวณหาปริมาณเชื้อราและยีสต์ ที่มีในตัวอย่างอาหาร 1 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ข้อมูลผลการทดลอง

ตารางที่ 14 ตารางข้อมูลดิบปริมาณเชื้อราที่ตรวจนับได้ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งทั้ง 16 ตัวอย่าง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18

ตัวอย่างอาหาร	PDA			DG18			จำนวนต่อกรัมอาหาร (cfu/g)	
ผภ.สัตว์น้ำ :	1:10	1:100	1:1000	1:10	1:100	1:1000	PDA	DG18
กุ้งแห้ง	36	4	0	>300	116	10	350	34,000
	37	3	0	>300	132	20		
	32	7	1	>300	109	15		
ปลาหมึกแห้ง	16	2	0	45	7	0	150	470
	17	4	1	57	3	0		
	13	5	0	38	4	2		
ธัญพืช :	1:10	1:100	1:1000	1:10	1:100	1:1000	PDA	DG18
ถั่วลิสง	21	0	1	32	5	0	220	310
	27	4	0	30	4	0		
	19	4	0	33	0	0		
ข้าวคั่ว	0	0	0	27	0	0	10	280
	0	0	0	19	0	0		
	0	0	0	37	0	0		
เมล็ดทานตะวัน	2	0	1	4	0	0	20	40
	0	0	0	0	0	0		
	0	0	0	0	0	0		
งาดำ	71	32	7	34	1	0	840	340
	98	28	7	27	0	0		
	84	42	8	42	1	0		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่14 (ต่อ)

ตัวอย่างอาหาร	PDA			DG18			จำนวนต่อกรัมอาหาร (cfu/g)	
เครื่องเทศ :	1:10	1:100	1:1000	1:10	1:100	1:1000	PDA	DG18
	>300	56	19	>300	291	21		
พริกแห้ง	>300	73	23	>300	284	15	6,500	29,000
	>300	66	16	>300	294	28		
	27	4	1	>300	78	7		
พริกไทดำ	24	8	2	>300	74	10	280	9,200
	32	3	0	>300	123	13		
	60	8	1	>300	285	42		
กระเทียมกลีบเล็ก	64	6	0	>300	296	44	640	29,000
	67	10	5	>300	279	50		
พืช :	1:10	1:100	1:1000	1:10	1:100	1:1000	PDA	DG18
ใบชา	13	0	0	20	0	0		
	14	0	0	17	0	0	120	200
	10	0	0	22	0	0		
	0	0	0	0	0	0		
ใบยาสูบ	0	0	0	0	0	0	30	10
	3	0	0	0	0	0		
	16	4	0	48	1	0		
สาหร่าย	14	4	0	34	2	0	130	450
	10	1	0	52	0	0		
	>300	77	5	>300	212	15		
เห็ดหูหนูดำ	>300	62	8	>300	167	10	7,000	20,000
	>300	70	6	>300	226	0		
	0	0	0	21	0	0		
เห็ดหูหนูขาว	0	0	0	17	0	0	10	190
	0	0	0	18	0	0		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ตัวอย่างอาหาร	PDA			DG18			จำนวนต่อกรัมอาหาร (cfu/g)	
พืช (ต่อ) :	1:10	1:100	1:1000	1:10	1:100	1:1000	PDA	DG18
	2	0	0	10	0	0		
ดอกไม้จีน	1	0	1	21	0	0	15	160
	0	0	0	16	0	0		
	0	0	0	10	0	0		
กระเจี๊ยบ	0	0	0	19	0	0	10	140
	0	0	0	12	0	0		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 ตารางข้อมูลดิบปริมาณยีสต์ที่ตรวจนับได้ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งทั้ง 16 ตัวอย่าง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18

ตัวอย่างอาหาร	PDA			DG18			จำนวนต่อกรัมอาหาร (cfu/g)	
ผภ.สัตว์น้ำ :	1:10	1:100	1:1000	1:10	1:100	1:1000	PDA	DG18
	0	0	0	0	0	0		
กุ้งแห้ง	0	0	0	0	0	0	10	2,000
	0	0	0	0	0	2		
	0	0	0	0	0	0		
ปลาหมึกแห้ง	0	0	0	0	0	0	10	10
	0	0	0	0	0	0		
ธัญพืช :	1:10	1:100	1:1000	1:10	1:100	1:1000	PDA	DG18
ถั่วลิสง	0	0	0	0	0	0		
	0	0	0	0	0	0	10	200
	0	0	0	0	2	0		
	0	0	0	0	0	0		
ข้าวคั่ว	0	0	0	0	0	0	10	10
	0	0	0	0	0	0		
เมล็ด	0	7	0	2	0	0		
ทานตะวัน	0	1	0	1	0	0	100	10
	0	2	0	1	0	0		
	0	0	1	0	0	0		
งาดำ	0	0	0	0	0	0	1,000	10
	0	0	0	0	0	0		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 (ต่อ)

ตัวอย่างอาหาร	PDA			DG18			จำนวนต่อกรัมอาหาร (cfu/g)	
เครื่องเทศ :	1:10	1:100	1:1000	1:10	1:100	1:1000	PDA	DG18
	0	0	3	0	0	0		
พริกแห้ง	0	0	0	0	0	0	2,000	10
	0	0	3	0	0	0		
	0	2	0	0	0	0		
พริกไทดำ	0	0	0	2	0	0	200	20
	0	0	0	4	0	0		
	0	0	0	0	0	0		
กระเทียมกลีบเล็ก	0	0	0	0	0	0	10	10
	0	0	0	0	0	0		
พืช :	1:10	1:100	1:1000	1:10	1:100	1:1000	PDA	DG18
	32	5	0	0	0	0		
ใบชา	30	4	0	0	0	0	320	10
	33	3	0	0	0	0		
	0	0	0	0	0	0		
ใบยาสูบ	0	0	0	0	0	0	10	10
	0	0	0	0	0	0		
	0	0	0	0	0	0		
สาหร่าย	0	0	0	0	0	0	10	10
	0	0	0	0	0	0		
	104	0	0	0	24	0		
เห็ดหูหนูดำ	93	0	0	0	31	0	920	2,800
	78	0	0	0	28	0		
	0	0	0	0	0	0		
เห็ดหูหนูขาว	0	0	0	0	0	0	10	10
	0	0	0	0	0	0		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 (ต่อ)

ตัวอย่างอาหาร	PDA			DG18			จำนวนต่อกรัมอาหาร (cfu/g)	
พืช (ต่อ) :	1:10	1:100	1:1000	1:10	1:100	1:1000	PDA	DG18
	0	0	0	0	0	0		
ดอกไม้จีน	0	0	0	0	0	0	10	10
	0	0	0	0	0	0		
	0	0	6	0	0	0		
กระเจี๊ยบ	0	0	1	0	0	0	3,000	10
	0	0	2	0	0	0		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การทดสอบความแตกต่างโดยวิธีการแจกแจงแบบที (t-distribution)

การคำนวณค่าทางสถิติโดยวิธี t-test เนื่องจากกลุ่มตัวอย่างมีขนาดเล็ก ($n_1 \leq 30$, $n_2 \leq 30$) โดยคิดในกรณีที่ค่าเฉลี่ยประชากรทั้ง 2 กลุ่มเป็นอิสระกัน (อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18)

สูตรคำนวณ $$t = \frac{\overline{x_1} - \overline{x_2}}{\sqrt{S^2p(1/n_1 + 1/n_2)}}$$

เมื่อ $$S^2p = \frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1)}$$

คำนวณ d.f. $d.f = (n_1-1)+(n_2-1)$

กำหนดระดับความมีนัยสำคัญที่ 0.05

การพิจารณาขอบเขตวิกฤติ (ปฏิเสธ H_0)

พิจารณาที่ขอบเขตสองทาง : ปฏิเสธ H_0 เมื่อค่า t ที่คำนวณได้มากกว่าหรือเท่ากับ t ที่เปิดจาก ตาราง หรือเมื่อค่า t ที่คำนวณได้น้อยกว่าหรือเท่ากับ –t ที่เปิดจากตาราง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 16 ตารางที (t-distribution)

df	Level of significance for one-tailed test					
	.10	.05	.025	.01	.005	.0005
	Level of significance for two-tailed test					
df	.20	.10	.05	.02	.01	.001
1	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657	636.619
2	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925	31.598
3	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	12.941
4	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	8.610
5	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	6.859
6	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	5.959
7	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	5.405
8	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355	5.041
9	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	4.781
10	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	4.587
11	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	4.437
12	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	4.318
13	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	4.221
14	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	4.140
15	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	4.073
16	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	4.015
17	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.965
18	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.922
19	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.883
20	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.850
21	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.819
22	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.792
23	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.767
24	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.745
25	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.725
26	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.707
27	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.690
28	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.674
29	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.659
30	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.646
40	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704	3.551
60	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660	3.460
120	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617	3.373
∞	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576	3.291

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 17 การคำนวณค่าทางสถิติของปริมาณเชื้อรา ของผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งทั้ง 16 ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18

ตัวอย่างอาหาร	ปริมาณเชื้อรา (cfu/g)		การคำนวณ			
	อาหารเลี้ยงเชื้อ		PDA		DG18	
	PDA	DG18	$(x_i - \overline{x})^2$	s_1^2	$(x_i - \overline{x})^2$	s_2^2
กุ้งแห้ง	350	34000	1144900	5237968.33	724369317.1	158167283.2
ปลาหมึกแห้ง	150	470	1612900		43770000.49	
ถั่วลิสง	220	310	1440000		45912685.29	
ข้าวคั่ว	10	280	1988100		46320138.69	
เมล็ดทานตะวัน	20	40	1960000		49644565.89	
งาดำ	840	340	336400		45507031.89	
พริกแห้ง	6500	29000	25806400		480228217.1	
พริกไทดำ	280	9200	1299600		4469461.092	
กระเทียมกลีบเล็ก	640	29000	608400		480228217.1	
ใบชา	120	200	1690000		47415481.09	
ใบยาสูบ	30	10	1932100		50068219.29	
สาหร่าย	130	450	1664100		44035036.09	
เห็ดหูหนูดำ	7000	20000	31136400		166774237.1	
เห็ดหูหนูขาว	10	190	1988100		47553298.89	
ดอกไม้จีน	15	160	1974025		47967952.29	
กระเจี๊ยบ	10	140	1988100		48245387.89	
เฉลี่ย	1020.31	7736.88	รวม 78569525	รวม	2372509247	

S^2p = 81704473.2 d.f. = 30 $t_{คำนวณ}$ = -2.1* $t_{ตาราง}$ = -2.04

* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 18 การคำนวณค่าทางสถิติปริมาณเชื้อรากลุ่มผภ.สัตว์น้ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อPDA และ DG18

ตัวอย่างอาหาร	ปริมาณเชื้อรา (cfu/g) อาหารเลี้ยงเชื้อ		การคำนวณค่า					
	PDA	DG18		PDA $(x_i-\bar{x})^2$	PDA s_1^2		DG18 $(x_i-\bar{x})^2$	DG18 s_2^2
กุ้งแห้ง	350	34000		10000	20000		281065225	562130450
ปลาหมึกแห้ง	150	470		10000			281065225	
เฉลี่ย	250	17235	รวม	20000		รวม	562130450	

Sp^2 = 281075225

d.f. = 2

$t_{คำนวณ}$ = -1.0131

$t_{ตาราง}$ = -4.303

ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ 19 การคำนวณค่าทางสถิติปริมาณเชื้อรากลุ่มธัญพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18

ตัวอย่างอาหาร	ปริมาณเชื้อรา (cfu/g) อาหารเลี้ยงเชื้อ		การคำนวณค่า					
	PDA	DG18		PDA $(x_i-\bar{x})^2$	PDA s_1^2		DG18 $(x_i-\bar{x})^2$	DG18 s_2^2
ถั่วลิสง	220	310		2756.25	152491.667		4556.25	93688408.3
ข้าวคั่ว	10	280		68906.25			1406.25	
เมล็ดทานตะวัน	20	40		63756.25			41006.25	
งาดำ	840	340		322056.25			9506.25	
เฉลี่ย	272.5	242.5	รวม	457475		รวม	56475	

Sp^2 = 46920450

d.f. = 6

$t_{คำนวณ}$ = 0.0061938

$t_{ตาราง}$ = 2.447

ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 20 การคำนวณค่าทางสถิติปริมาณเชื้อรากลุ่มเครื่องเทศบนอาหารเลี้ยงเชื้อPDA และ DG18

ตัวอย่างอาหาร	ปริมาณเชื้อรา (cfu/g)		การคำนวณ				
	อาหารเลี้ยงเชื้อ		PDA			DG18	
	PDA	DG18		$(x_i-\overline{x})^2$	s_1^2	$(x_i-\overline{x})^2$	s_2^2
พริกแห้ง	6500	29000		16214071	12192933.3	43560000	130680000
พริกไทดำ	280	9200		4810696.5		174240000	
กระเทียม	640	29000		3361098.9		43560000	
เฉลี่ย	2473.33	22400	รวม	24385867	รวม	261360000	

S^2p = 71436466.67 d.f. = 4

$t_{คำนวณ}$ = -2.887489*

$t_{ตาราง}$ = -2.776

* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ 21 การคำนวณค่าทางสถิติปริมาณเชื้อรากลุ่มพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18

ตัวอย่างอาหาร	ปริมาณเชื้อรา(cfu/g)		การคำนวณค่า				
	อาหารเลี้ยงเชื้อ		PDA			DG18	
	PDA	DG18		$(x_i-\overline{x})^2$	s_1^2	$(x_i-\overline{x})^2$	s_2^2
ใบชา	120	200		855625	6898075	7957234.21	56070114.7
ใบยาสูบ	30	10		1030225		9065259.87	
สาหร่าย	130	450		837225		6609305.71	
เห็ดหูหนูดำ	7000	20000		35462025		288291297	
เห็ดหูหนูขาว	10	190		1071225		8013751.35	
ดอกไม้จีน	15	160		1060900		8184502.77	
กระเจี๊ยบ	10	140		1071225		8299337.05	
เฉลี่ย	1045	3021.429	รวม	41388450	รวม	336420688	

Sp^2 = 31484094.83 d.f. = 12

$t_{คำนวณ}$ = -0.658976

$t_{ตาราง}$ = -2.179

ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 22 การคำนวณค่าทางสถิติของปริมาณยีสต์ ของผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งทั้ง 16 ตัวอย่าง ที่ตรวจนับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18

ตัวอย่างอาหาร	ปริมาณยีสต์ (cfu/g)			การคำนวณ			
	อาหารเลี้ยงเชื้อ			PDA		DG18	
	PDA	DG18		$(x_i - \bar{x})^2$	s_1^2	$(x_i - \bar{x})^2$	s_2^2
กุ้งแห้ง	10	2000		342225	48268.3333	3181764.063	693785
ปลาหมึกแห้ง	10	10		342225		42539.0625	
ถั่วลิสง	10	200		342225		264.0625	
ข้าวคั่ว	10	10		342225		42539.0625	
เมล็ดทานตะวัน	100	10		245025		42539.0625	
งาดำ	1000	10		164025		42539.0625	
พริกแห้ง	2000	10		1974025		42539.0625	
พริกไทดำ	200	20		156025		38514.0625	
กระเทียมกลีบเล็ก	10	10		342225		42539.0625	
ใบชา	320	10		75625		42539.0625	
ใบยาสูบ	10	10		342225		42539.0625	
สาหร่าย	10	10		342225		42539.0625	
เห็ดหูหนูดำ	920	2800		105625		6675764.063	
เห็ดหูหนูขาว	10	10		342225		42539.0625	
ดอกไม้จีน	10	10		342225		42539.0625	
กระเจี๊ยบ	3000	10		5784025		42539.0625	
เฉลี่ย	476.875	321.25	รวม	724025	รวม	10406775	

S^2p = 371026.67 d.f. = 30 $t_{คำนวณ}$ = 0.723 $t_{ตาราง}$ = 2.064

ไม่มีมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 23 การคำนวณค่าทางสถิติปริมาณยีสต์กลุ่มผภ.สัตว์น้ำ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18

ตัวอย่างอาหาร	ปริมาณเชื้อยีสต์ (cfu/g) อาหารเลี้ยงเชื้อ		การคำนวณค่า				
			PDA			DG18	
	PDA	DG18		$(x_i - \bar{x})^2$	s_1^2	$(x_i - \bar{x})^2$	s_2^2
กุ้งแห้ง	10	2000		0	0	990025	1980050
ปลาหมึกแห้ง	10	10		0		990025	
เฉลี่ย	10	1005	รวม	0	รวม	1980050	

Sp^2 = 990025

d.f. = 2

$t_{\text{คำนวณ}}$ = -1

$t_{\text{ตาราง}}$ = -4.303

ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ 24 การคำนวณค่าทางสถิติปริมาณยีสต์กลุ่มธัญพืช บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18

ตัวอย่างอาหาร	ปริมาณเชื้อยีสต์ (cfu/g) อาหารเลี้ยงเชื้อ		การคำนวณค่า				
			PDA			DG18	
	PDA	DG18		$(x_i - \bar{x})^2$	s_1^2	$(x_i - \bar{x})^2$	s_2^2
ถั่วลิสง	10	200		72900	232200	20306.25	9025
ข้าวคั่ว	10	10		72900		2256.25	
เมล็ดทานตะวัน	100	10		32400		2256.25	
งาดำ	1000	10		518400		2256.25	
เฉลี่ย	280	57.5	รวม	696600	รวม	27075	

Sp^2 = 120612.5

d.f. = 6

$t_{\text{คำนวณ}}$ = 0.906043092

$t_{\text{ตาราง}}$ = 2.447

ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 25 การคำนวณค่าทางสถิติปริมาณยีสต์กลุ่มเครื่องเทศ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18

ตัวอย่างอาหาร	ปริมาณเชื้อยีสต์ (cfu/g)			การคำนวณค่า			
	อาหารเลี้ยงเชื้อ			PDA		DG18	
	PDA	DG18		$(x_i - \bar{x})^2$	s_1^2	$(x_i - \bar{x})^2$	S_2^2
พริกแห้ง	2000	10		1596002.7	1206033.33	11.0889	33.33335
พริกไทดำ	200	20		288014.69		44.4889	
กระเทียมกลีบเล็ก	10	10		528049.29		11.0889	
เฉลี่ย	736.66667	13.333333	รวม	2412066.7	รวม	66.6667	

Sp^2 = 603033.3334 d.f. = 4

$t_{คำนวณ}$ = 1.140810341

$t_{ตาราง}$ = 2.776

ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ 26 การคำนวณค่าทางสถิติปริมาณยีสต์กลุ่มพืช บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ DG18

ตัวอย่างอาหาร	ปริมาณเชื้อยีสต์ (cfu/g)			การคำนวณค่า			
	อาหารเลี้ยงเชื้อ			PDA		DG18	
	PDA	DG18		$(x_i - \bar{x})^2$	s_1^2	$(x_i - \bar{x})^2$	s_2^2
ใบชา	320	10		313600	1920333.33	16900.0	118300
ใบยาสูบ	10	10		756900		16900.0	
สาหร่าย	10	10		756900		16900.0	
เห็ดหูหนูดำ	2800	920		3686400		608400.0	
เห็ดหูหนูขาว	10	10		756900		16900.0	
ดอกไม้จีน	10	10		756900		16900.0	
กระเจี๊ยบ	3000	10		4494400		16900.0	
เฉลี่ย	880	140	รวม	11522000	รวม	709800.0	

S^2p = 1019316.667 d.f. = 12

$t_{คำนวณ}$ = 1.37123275

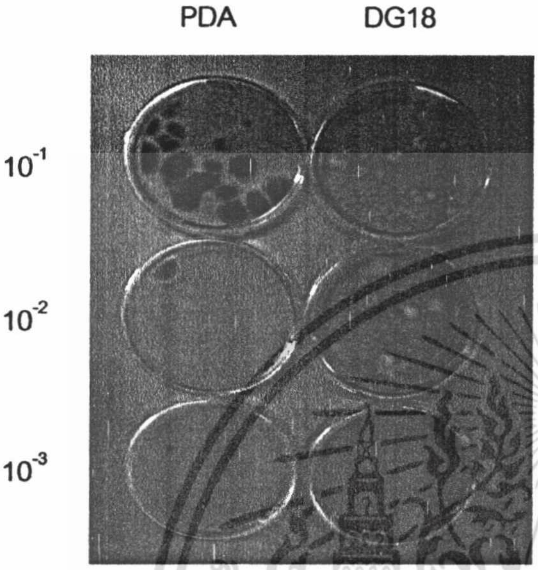
$t_{ตาราง}$ = 2.179

ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

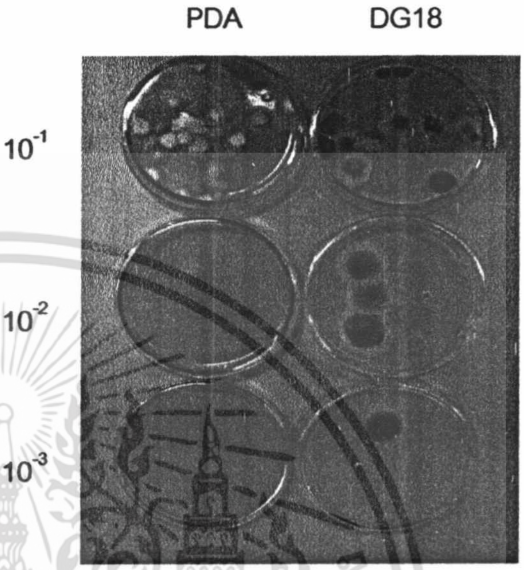
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

รูปภาพผลการทดลอง



กุ้งแห้ง



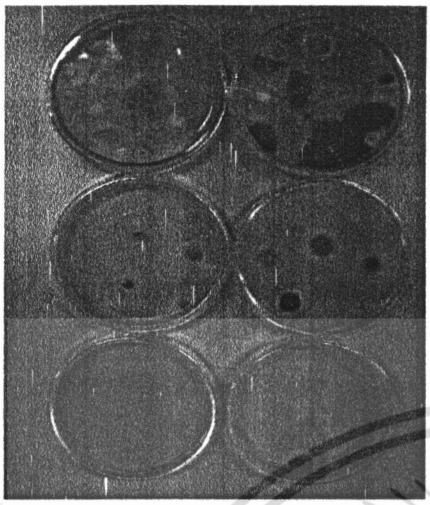
ปลาหมึกแห้ง

รูปที่ 5 ผลการเจริญของเชื้อราและยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งกลุ่มผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PDA DG18

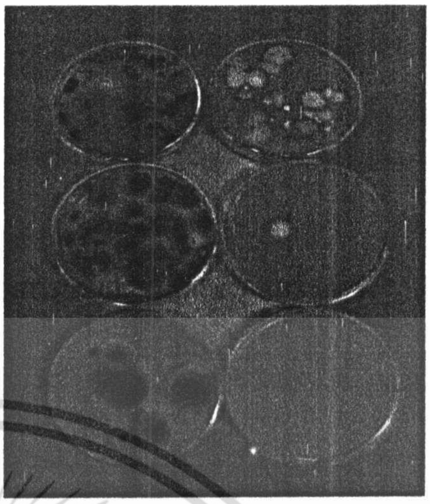
10^{-1} 10^{-2} 10^{-3}



ถั่วลิสง

PDA DG18

10^{-1} 10^{-2} 10^{-3}



งาดำ

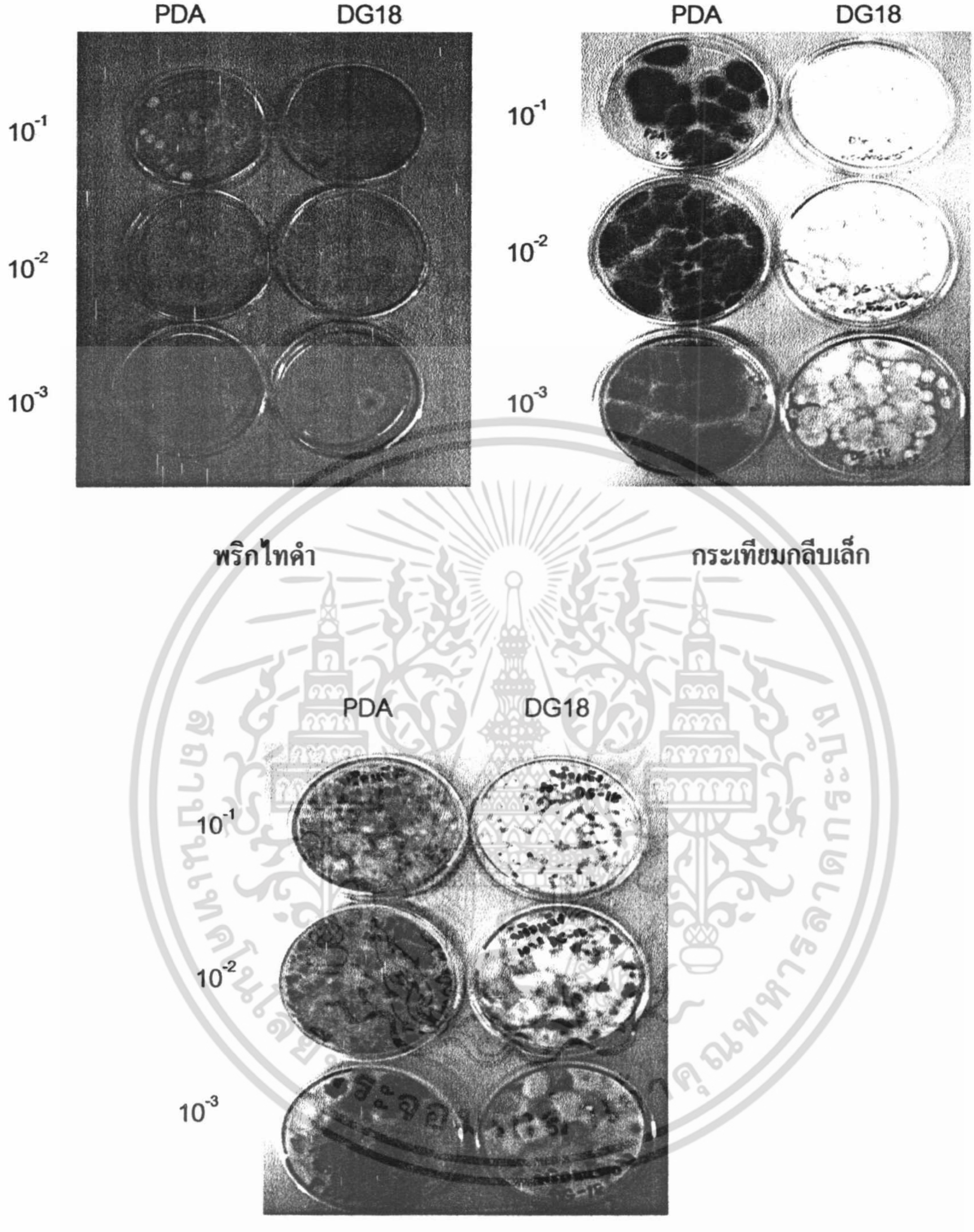
PDA DG18

10^{-1} 10^{-2} 10^{-3}

เมล็ดทานตะวัน

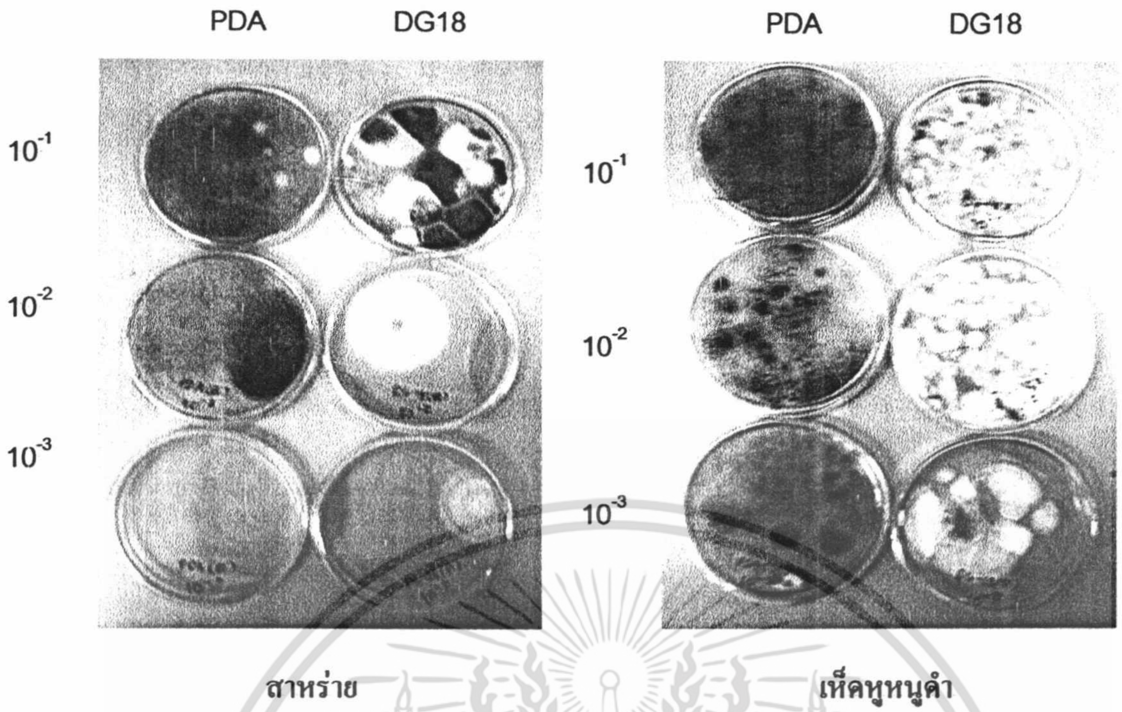
รูปที่ 6 ผลการเจริญของเชื้อราและยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งกลุ่มธัญพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 7 **ผลการเจริญของเชื้อราและยีสต์ในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งกลุ่มเครื่องเทศ**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 8 ผลการเจริญของเชื้อราในผลิตผลทางการเกษตรชนิดแห้งกลุ่มพืช

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวกนกพร ทองมาเอง เกิดวันที่ 16 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2524 ที่จังหวัดสุพรรณบุรี สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้น จากโรงเรียนสามชุกรัตนโภคารามจังหวัดสุพรรณบุรีในปี พ.ศ.2539 และสำเร็จการศึกษาในระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสงวนหญิง จังหวัดสุพรรณบุรี ในปี พ.ศ.2542 และสำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร) จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังในปี พ.ศ.2546

นางสาวสุชาดา สวนศิริ เกิดวันที่ 10 เมษายน พ.ศ.2525 ที่จังหวัดสระบุรี สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้นจากโรงเรียนสระบุรีวิทยาคม จังหวัดสระบุรี ในปี พ.ศ.2539 และสำเร็จการศึกษาในระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสระบุรีวิทยาคม จังหวัดสระบุรีในปี พ.ศ.2542 และสำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร) จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังในปี พ.ศ.2546

นางสาวสุภามาศ มูสิกะ เกิดวันที่ 28 พฤษภาคม พ.ศ.2525 ที่จังหวัดยะลา สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้น จากโรงเรียนสตรียะลาจังหวัดยะลา ในปี พ.ศ.2539 และสำเร็จการศึกษาในระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนคณะราษฎรบำรุง จังหวัดยะลา ในปี พ.ศ.2542 และสำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร) จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังในปี พ.ศ.2546

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้