แหนมเห็ด

FERMENTED MUSHROOM

การะเกต เมฆแฉน
ธัญชนก ชาตุรนต์
ชกฤตเทพ บรรจงสัย์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2554

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

แหนมเห็ด

FERMENTED MUSHROOM

T123246

การะเกด เมฆแสน

ธัญชนก จาตุรนต์

สกุลเทพ บรรจงสัตย์

2 ฉบ.
ว 531 ส
2554
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....123246
วัน, เดือน, ปี...1 พย 2555

b.12424154
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2554

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

FERMENTED MUSHROOM

KARAKET MEKSAEN

THANCHANOK JATURONT

SAKULTHAP BUNJOUGSAT

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKARBANG

ACADEMIC YEAR 2011

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	แหนมเห็ด		
Special Project Title	Fermented mushroom		
ชื่อนักศึกษา	การะเกด	เมฆแสน	51050917
	ธัญชนก	จาตุรนต์	51050944
	สกุลเทพ	บรรจงสัตย์	51050994
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต		
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม		
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2554

คณะกรรมการ	ลายมือชื่อ
ผศ.วีนา ชูโชติ	
ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ	
รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ แหนมเห็ด

ชื่อนักศึกษา การะเกด เมฆแสน 51050917

ธัญชนก จาตุรนต์ 51050944

สกุลเทพ บรรจงสัตย์ 51050994

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตแหนมจากเห็ดนางฟ้าและเห็ดหูหนู โดยทำการศึกษาปริมาณของเห็ดนางฟ้า เห็ดหูหนู โปรตีนเกษตรและข้าวที่ใช้ในการผลิตแหนม พบว่าสูตรที่เหมาะสมประกอบด้วย เห็ดนางฟ้า 600 กรัม เห็ดหูหนู 100 กรัม โปรตีนเกษตร 150 กรัม ข้าวแดง 100 กรัม ต่อเห็ด 1 กิโลกรัม เมื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณจุลินทรีย์ของแหนมเห็ดที่บ่มเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าแหนมเห็ดที่ได้มี ความชื้น 79.69 % โปรตีน 3.68 % ไขมัน 10.65 และเถ้า และ 1.76% มีจุลินทรีย์ทั้งหมด 2.14×10^7 cfu/g แบคทีเรียกรดแลคติก 5.60×10^6 cfu/g ค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลงเหลือ 4.01 และปริมาณกรดแลคติก 0.69 % เมื่อนำแหนมมาประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสพบว่ามีคะแนนด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม เท่ากับ 6.8667, 5.8667, 5.3333 , 5.4000 แหนมเห็ดที่ผลิตได้มีเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

คำสำคัญ : แหนมเห็ด เห็ดนางฟ้า เห็ดหูหนู โปรตีนเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Fermented mushroom		
Students	Karaket	Meksaen	51050917
	Thanchanok	Jaturont	51050944
	Sakulthap	Bunjongsat	51050994
Degree	Bachelor of Science		
Major Program	Industrial Microbiology		
Academic Year	2011		
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Naunphan Naranong		

Abstract

This research aims to study the production of fermented mushroom from sajor-caju mushroom and jew's ear mushroom. The amounts of sajor-caju mushroom , jew's ear mushroom , textured vegetable protein and rice were determined. It was found that the suitable formula contained (g/kg) : sajor-caju mushroom , 600 ; jew's ear mushroom , 100 ; textured vegetable protein , 150 and red rice, 100. Chemical composition and microbial qualities of fermented mushroom were analyzed after 72 hours incubation at room temperature . The results showed that moisture , protein, fat and ash contents were 79.69, 3.68 , 10.65 and 1.76 %, respectively. Total plate count and lactic acid bacteria were 2.14 x 10^7cfu/g and 5.60 x 10^6 cfu/g , respectively. The pH was decreased to 4.01 with 0.69 % lactic acid at the end of fermentation. Sensory evaluation of fermented mushroom was evaluated. The scores of appearance ,odor, flavor and overall acceptance were 6.8667 ,5.8667 , 5.3333 and 5.4000, respectively. Fermented mushroom was produced at levels acceptable to consumers.

Keywords : fermented mushroom, sajor-caju mushroom , jew's ear mushroom, textured vegetable protein

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงงานพิเศษในหัวข้อเรื่อง แหนมเห็ด ซึ่งโครงงานพิเศษฉบับนี้จะไม่สามารถบรรลุจุดประสงค์ไปได้ด้วยดี หากไม่ได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลดังต่อไปนี้ ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ผู้ให้คำแนะนำแนวทางในการค้นคว้า และจัดทำวิจัย รวมทั้งช่วยในการแก้ไข และตรวจทานโครงงานพิเศษ ฉบับนี้ให้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์วีนา ชูโชติ และผู้ช่วยศาสตราจารย์มงคล เพ็ญสายใจ ที่ได้ช่วยตรวจทานแก้ไข และเป็นคณะกรรมการสำหรับการสอบวิชาโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ได้ช่วยเหลือในการเบิกอุปกรณ์ สารเคมี และให้คำแนะนำวิธีการใช้เครื่องมือต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการที่ได้อำนวยความสะดวกในการดำเนินงาน พี่ๆ ปริญญาโท ที่ช่วยให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน

ขอขอบพระคุณคุณลุงและคุณป้า เจ้าของแหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน จังหวัดเพชรบูรณ์ ที่เป็นกำลังใจและสนับสนุนการทำโครงงานพิเศษฉบับนี้ด้วย

สุดท้ายนี้ขอขอบ พระคุณ คุณพ่อ คุณแม่และญาติพี่น้อง ที่เป็นกำลังกายและกำลังใจให้กับคณะผู้จัดทำจนกระทั่งก้าวมาถึงวันนี้ได้ ตลอดจนขอขอบคุณเพื่อนๆ ที่ให้ความช่วยเหลือและคอยเป็นกำลังใจให้กันเสมอมา

การะเกด เมฆแสน
ธัญชนก จาตุรนต์
สกุลเทพ บรรจงสัตย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญรูป	VII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตการศึกษา	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎี และหลักการ	3
2.1 แหนม	3
2.1.1 ส่วนประกอบของแหนม	3
2.1.2 กรรมวิธีการผลิตแหนม	4
2.2 จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการผลิตแหนม	6
2.2.1 การสร้างสารยับยั้งโดยแบคทีเรียกรดแลคติก	7
2.2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาแหนม	11
2.3 จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในการผลิตแหนม	13
2.3.1 *Salmonella*	14
2.3.2 *Staphylococcus aureus*	15
2.3.3 *Escherichia coli*	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4 เห็ด 18

2.4.1 คุณค่าทางอาหารของเห็ด 19

2.4.2 ชนิดและแหล่งผลิตเห็ดในประเทศไทย 17

2.4.3 เห็ดนางฟ้า 20

2.4.4 เห็ดหูหนู 22

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 26

3.1 อุปกรณ์และการทดลอง 26

3.1.1 วัสดุ 26

3.1.2 อุปกรณ์ 26

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี 27

3.2 วิธีการทดลอง 28

3.2.1 การผลิตแหนมเห็ด 28

3.2.2 ศึกษาสัดส่วนของเห็ดนางฟ้าและเห็ดหูหนูในการผลิตแหนมเห็ 29

3.2.3 ศึกษาปริมาณโปรตีนเกษตรและชนิดของข้าวในการผลิตแหนมเห็ด 29

3.2.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก ค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 30

3.2.5 ศึกษาองศ์ประกอบทางด้านเคมีของแหนมเห็ด 30

3.2.6 ศึกษาจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในแหนมเห็ด 30

3.2.7 ศึกษาการยอมรับด้านประสาทสัมผัส 30

3.3 สถานที่ทำการวิจัย 30

3.4 ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 31

4.1 ผลการศึกษาสัดส่วนของเห็ดนางฟ้าและเห็ดหูหนูในการผลิตแหนมเห็ด 31

4.2 ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนเกษตรและชนิดของข้าวในการผลิตแหนมเห็ด 34

4.3 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก ค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 42

4.4 ผลการศึกษาองค์ประกอบทางด้านเคมีของแหนมเห็ด 44

4.5 ผลการศึกษาจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในแหนมเห็ด 45

4.6 ผลการศึกษาการยอมรับด้านประสาทสัมผัส 48

บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ 51

เอกสารอ้างอิง 53

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก 58

ภาคผนวก ข 68

ภาคผนวก ค 69

ภาคผนวก ง 70

ภาคผนวก จ 75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ตารางแสดงผลผลิตของเห็ดฟางและมูลค่าของเห็ดชนิดต่างๆ ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2524 19

ตารางที่ 2.2 ตารางแสดงคุณค่าของเห็ดนางฟ้าต่อน้ำหนัก 100 กรัม 22

ตารางที่ 2.3 ตารางแสดงคุณค่าของเห็ดหูหนูชนิดหนาต่อน้ำหนัก 100 กรัม 25

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 31

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 33

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 33

ตารางที่ 4.4 ตารางแสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 35

ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 35

ตารางที่ 4.6 ตารางแสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 37

ตารางที่ 4.7 ตารางแสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 37

ตารางที่ 4.8 ตารางแสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 38

ตารางที่ 4.9 ตารางแสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 39

ตารางที่ 4.10 ตารางแสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 4.11 ตารางแสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 40

ตารางที่ 4.12 ตารางแสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 41

ตารางที่ 4.13 ตารางแสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนแบคทีเรียแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกของแหนมเห็ดจากสูตรพื้นฐานระยะเวลาทุก 12 ชั่วโมง 43

ตารางที่ 4.14 ตารางแสดงค่าการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี 44

ตารางที่ 4.15 ตารางแสดงผลการตรวจหาจำนวน Staphylococcus aureus โดยวิธี MPN 45

ตารางที่ 4.16 ตารางแสดงผลการตรวจหาจำนวน E. coli ด้วยวิธี MPN 46

ตารางที่ 4.17 ตารางแสดงการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลา 47

ตารางที่ 4.18 ตารางแสดงคะแนนความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของแหนมเห็ดทั้ง 3 สูตร 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1 แสดงขั้นตอนการเกิดไนโตรโซฮีโมโครมในผลิตภัณฑ์ 6

ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของไดอะซิทิล 9

ภาพที่ 2.3 เชื้อที่ผลิตแบคทีริโอซิน 10

ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของไนซิน 11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

อาหารประเภทมังสวิรัติ (vegetarian food) เป็นอาหารที่เป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้บริโภคที่รักษาสุขภาพในปัจจุบันนี้ เนื่องจากเป็นอาหารที่ละเว้นจากการนำเนื้อสัตว์ทุกชนิดมาประกอบเป็นอาหารทั้งนี้อาจรวมไข่หรือผลิตภัณฑ์จากนมด้วย อาหารมังสวิรัติเป็นอาหารจำพวกข้าว ถั่ว ผัก และผลไม้ ซึ่งเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางอาหารสูง สมาคมโภชนาการของอเมริกาประกาศว่า "อาหารมังสวิรัติดีต่อสุขภาพและให้คุณค่าทางโภชนาการเพียงพอ หากได้รับการจัดวางแผนอย่างถูกต้องและเหมาะสม" เห็ดจัดเป็นอาหารประเภทผักชนิดหนึ่งที่ปราศจากไขมัน มีปริมาณน้ำตาลและเกลือค่อนข้างต่ำ และยังเป็นแหล่งโปรตีนที่ดี เมื่อเทียบกับผักอีกหลายชนิด อีกทั้งยังมีรสชาติและกลิ่นที่ชวนรับประทาน เนื่องจากเห็ดมีกรดอะมิโนกลูตามิกเป็นองค์ประกอบ ทำให้มีรสชาติคล้ายกับเนื้อสัตว์ นอกจากนี้เห็ดยังอุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุชนิดต่างๆ ซึ่งจะช่วยควบคุมการทำงานของระบบย่อยอาหาร ช่วยต้านอนุมูลอิสระ ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง และโรคอื่นๆ (ชฎาพร, 2549)

แหนมเป็นอาหารประเภทหมักดองที่นิยมบริโภคมาก เนื่องจากอาหารประเภทนี้มีเนื้อสัมผัสและรสชาติที่แตกต่างไปจากอาหารสดและยังให้กลิ่นรสเป็นที่ยอมรับต่อผู้บริโภค นอกจากนี้อาหารประเภทนี้ยังสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานอีกด้วย (ศิวาพร, 2535) ดังนั้นจึงมีการให้ความสนใจในผลิตภัณฑ์แหนมกันมากขึ้น แหนมเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ เช่น หมู ไก่ ปลา โดยนำมาคลุกเคล้ากับเกลือบริโภคและผสมกับส่วนผสมชนิดอื่นๆ เช่น กระเทียม ข้าวเหนียวสุกหรือข้าวสุก เกลือไนไตรท มาทำการหมักให้เกิดรสเปรี้ยวจากกรดแลคติก แหนมเป็นผลิตภัณฑ์ที่หาได้ง่าย สะดวก ให้รสชาติดีและแปลกใหม่ จึงได้รับความนิยมมากในปัจจุบัน แหนมสามารถรับประทานสดๆ ได้หรือจะนำไปดัดแปลงเป็น ออเดิร์ฟต่างๆ ก็ได้เช่นกัน (ศรีเมือง, 2524)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจุบันมีการผลิตแหนมเห็ดออกมาจำหน่ายเพิ่มขึ้น การบริโภคแหนมเห็ดเป็นวิธีการหลีกเลี่ยงการเสี่ยงอันตรายจากสารเคมีที่หลงเหลือและโรคต่างๆ ที่ปนมากับเนื้อสัตว์ นอกจากนี้ยังเป็นอาหารทางเลือกหนึ่งของผู้บริโภคที่ไม่รับประทานเนื้อสัตว์ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาความเป็นไปได้และความเหมาสมในการทำแหนมเห็ด

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการผลิตแหนมจากเห็ดนางฟ้าและเห็ดหูหนู

2. ศึกษาจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการผลิตแหนมเห็ด

3. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของแหนมเห็ด ได้แก่ ค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้า ปริมาณไขมัน และปริมาณโปรตีน

1.3 ขอบเขตการศึกษา

1. หาสูตรของแหนมเห็ดนางฟ้าและเห็ดหูหนูที่เหมาะสมและเป็นที่ยอมรับต่อผู้บริโภค

2. ศึกษาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์กรดแลคติก ในขั้นตอนการหมักแหนม

3. ตรวจหาจุลินทรีย์ที่ก่อโรคบางชนิดในแหนมเห็ด ได้แก่ *Salmonella* spp. *Staphylococcus aureus* และ *E. coli*

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถผลิตแหนมเห็ดที่มีสูตรและรสชาติเป็นที่ยอมรับได้

2. เป็นทางเลือกสำหรับผู้ที่ไม่รับประทานเนื้อสัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎี และหลักการ

2.1 แหนม

แหนมเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักที่ขึ้นชื่อของประเทศไทย เป็นอาหารพื้นเมืองของประชาชนทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ต่อมาได้แพร่หลายไปแทบทุกภาคเพราะแหนมมีรสชาติอร่อย สามารถนำมาปรุงเป็นอาหารได้หลายชนิด (ภัทรี, 2540) ทั้งยังเป็นอาหารประเภทกับแกล้ม แหนมจัดเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่มีลักษณะกึ่งแห้ง (semi - dry fermented sausage) (อรนุช, 2530) แหนมที่นิยมรับประทานทั่วไปจะใช้เนื้อหมู อาจใช้เนื้อวัวหรือเนื้อควายแทนก็ได้ ส่วนผสมโดยทั่วไป ได้แก่ เนื้อหมูบด หนังหมู ข้าวเหนียวนึ่ง ดินประสิว (praque powder) พริกไทย และเกลือ ในปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งจะมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทำให้เนื้อหมูเน่าเสีย (กมลวัลย์, 2541) ผลิตภัณฑ์แหนมในประเทศไทยเกิดจากการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติโดยเฉพาะเชื้อจุลินทรีย์ประเภทที่ไม่ทนเกลือแต่สามารถเจริญได้ในที่ไม่มีอากาศ เชื้อจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการหมักแหนมคือ แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) (Comenuanta, 1966) ระยะเวลาในกระบวนการหมักจะเสร็จสิ้นประมาณ 3 – 5 วัน โดยขึ้นอยู่กับฤดูกาล

2.1.1 ส่วนประกอบของแหนม

ส่วนประกอบหลักในการผลิตแหนมควรประกอบด้วยเนื้อหมูไม่น้อยกว่าร้อยละ 52 เกลือบริโภค กระเทียม ข้าวสุก ไนไตรท์ นอกจากนี้อาจมีส่วนประกอบอื่นๆ คือ พริกสด น้ำตาล ในผลิตภัณฑ์แหนมตามมาตรฐานอุตสาหกรรม มอก. 1219 – 2547 อนุญาตให้มีฟอสเฟสในรูปโมโน-, ได- และโพลีของเกลือโซเดียม หรือโพแทสซียมอย่างใดอย่างหนึ่ง หรือรวมกันในผลิตภัณฑ์สำเร็จ (คำนวณจากฟอสเฟตทั้งหมดในรูป P_2O_5) ให้ใช้ได้ไม่เกิน 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และอนุญาตให้มีโซเดียมหรือโพแทสเซียมไนเตรท ไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือโซเดียมหรือโพแทสเซียมไนเตรท ไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และต้องไม่มีการเจือสีใดๆ วัตถุเจือปนใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารอื่นๆ ที่ไม่ได้ระบุจะไม่อนุญาตให้ใช้ โซเดียมไนเตรทที่เติมลงไปยังมีประโยชน์ในแง่ของการไปยับยั้งแบคทีเรียที่ไม่พึงประสงค์ได้โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ (Bacus, 1984 ; มอก. 1219 – 2547 ; เยาวลักษณ์, 2536)

คุณลักษณะของแหนมต้องมีเนื้อแน่น คงรูป เนื้อหมู จมูกหมู หูหมู และส่วนประกอบต่างๆ ต้องผสมรวมกันอยู่อย่างทั่วถึง มีสีชมพูตามธรรมชาติของแหนมที่พร้อมบริโภค มีกลิ่นและรสชาติดีปราศจากกลิ่นแปลกปลอม เช่น กลิ่นเหม็นอับ และต้องปราศจากสิ่งแปลกปลอมอื่นๆ เช่น ผม ขน กระดูก ยกเว้นขนที่อยู่ในหนังหมู และ กระดูกอ่อนของใบหู แหนมควรมีโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 20 ไขมันต้องไม่เกินร้อยละ 8 และความเป็นกรด – ด่าง เมื่อถึงกำหนดวัน เดือน ปี ที่บริโภคต้องไม่เกิน 4.6 (มอก. 1219 - 2547)

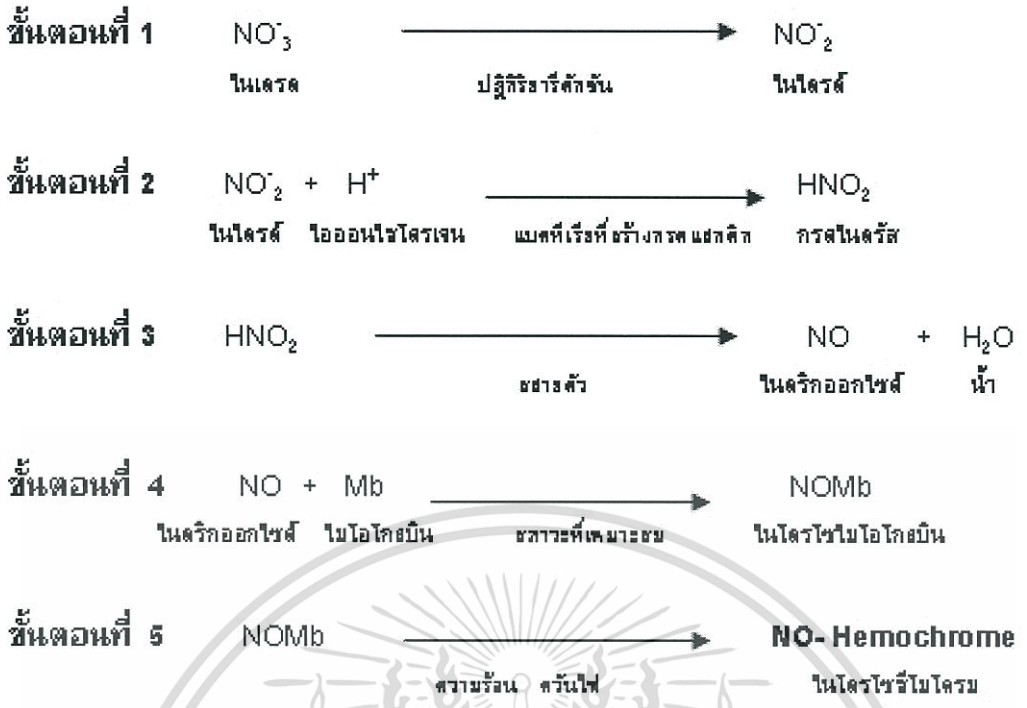
2.1.2 กรรมวิธีการผลิตแหนม

นำเนื้อหมูมาแล่เอามันออกให้หมด นำมาสับหรือบดให้ละเอียดเพื่อที่จะทำให้ปริมาณความชื้นในเนื้อหมูลดน้อยลง และควรจะซับด้วยผ้าขาวบางที่แห้งละสะอาดหลายครั้ง (เยาวลักษณ์, 2536) จากนั้นเติมโพแทสเซียมไนเตรทลงในเนื้อ ผสมทั้งหมดให้เข้ากันดี เติมพริก กระเทียม ข้าวเหนียวนึ่งที่บดละเอียดแล้วผสมลงไป จากนั้นใส่หนังหมูที่สับเป็นชิ้นเล็กและผ่านการต้มจนเดือดประมาณ 10 – 15 นาที แล้วผสมให้เข้ากันอีกครั้ง การห่อแหนมปริมาณที่ใส่ในแต่ละห่อขึ้นอยู่กับแต่ละโรงงาน เช่น อาจจะห่อในถุงพลาสติกประมาณ 30 – 40 กรัม พร้อมทั้งใส่พริกขี้หนูสดลงไปอีก 1 – 2 เม็ด เพื่อให้ดูน่ารับประทาน ห่อให้เป็นรูปทรงกระบอกขนาด 1 นิ้ว ยาง 2.5 – 3.0 นิ้ว จากนั้นห่อทับด้วยใบตอง 3 – 5 ชั้น รัดให้แน่นด้วยเชือกเพื่อกำจัดอากาศในห่อ เนื่องจากจุลินทรีย์จะทำงานได้ดีถ้ามีปริมาณออกซิเจนน้อยที่สุด (อดิศร, 2533) การหมักของแหนมขึ้นอยู่กับเชื้อที่มีอยู่ในธรรมชาติ โดยเฉพาะ Lactic acid bacteria ในวัตถุดิบแต่ละแหล่งจะมีปริมาณเชื้อที่แตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ นอกจากนี้อาจมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนที่ไม่ต้องการซึ่งล้วนแต่มีผลต่อคุณภาพของแหนม Lactic acid bacteria บางสายพันธุ์มีคุณสมบัติเด่นในการผลิตกรด บางสายพันธุ์ผลิตสารให้เกิดกลิ่น ซึ่งความแตกต่างของชนิดของเชื้อทำให้แหนมที่ผลิตได้มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ แหนมมีอายุการเก็บรักษาค่อนข้างสั้นประมาณ 1 สัปดาห์ที่อุณหภูมิห้อง เพราะมีความเหมาะสมต่อการเกิดกระบวนการหมักหากเก็บไว้นานกว่านี้จะเกิดรสเปรี้ยวมากขึ้นถึงระดับหนึ่ง และจะเกิดการเน่าเสีย เนื่องจากสารอาหารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเพื่อสร้างกรดหมดไป Lactic acid bacteria เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่พึงประสงค์ เช่น รสเปรี้ยว การเกิดสีชมพู เนื้อแน่น และมีกลิ่นรสเฉพาะที่ไม่พบในอาหารชนิดอื่น การเกิดรสเปรี้ยวในแหนมเกิดขึ้นเนื่องจากการผลิตกรดแลคติกของ Lactic acid bacteria ที่สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่ไม่มีเกลือและไม่มีอากาศ กรดแลคติกถ้ามีมากจะทำให้ค่าพีเอชลดลง ผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะมีปริมาณกรดทั้งหมดคิดเทียบกับกรดแลคติกเป็นร้อยละ 0.5 – 1.0 และมีค่าพีเอชเท่ากับ 4.45 – 4.55 (จรูญ, 2509 ; Wiriyacharee et al., 1991) การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชหรือความเป็นกรดทั้งหมดของแหนม การเปลี่ยนแปลงในรสชาติของแหนมมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช และปริมาณ Lactic acid bacteria ทั้งหมดของแหนม ซึ่งมีค่าพีเอชประมาณ 4.55 – 4.72 สามารถรีดิวซ์ไนเตรทไปเป็นไนไตรท์ (Nitrate reducing micrococci) โดยช่วงแรกของการหมักจะต้องมีเชื้อ *Micrococcus varians* อยู่ในปริมาณที่เหมาะสมที่จะเปลี่ยนไนเตรทไปเป็นไนไตรท์ การเปลี่ยนแปลงของสียังเกิดจาก โซเดียมไนเตรทที่เติมลงไป ซึ่งจะช่วยให้เกิดสีชมพูได้ดีขึ้น โดย *Micrococcus varians* จะเปลี่ยนโซเดียมไนเตรทให้เป็นโซเดียมไนไตรท์ ที่จะทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบินของเนื้อซึ่งมีสีแดงเข้มให้กลายเป็นสีแดงของไนโตรโซไมโอโกลบิน และเปลี่ยนเป็นสีชมพูของไนโตรโซฮีโมโครม (Klettner and Baumgartner, 1980) ขั้นตอนการเกิดไนโตรโซฮีโมโครมในผลิตภัณฑ์ แสดงดังรูปที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 แสดงขั้นตอนการเกิดไนโตรโซฮีโมโครมในผลิตภัณฑ์

ที่มา : http://www.nsru.ac.th/e-learning/meattech/lesson/less10_2.html

2.2 จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการผลิตแหนม

แบคทีเรียที่มีผลต่อขบวนการหมัก คือ Lactic acid bacteria ซึ่งจัดอยู่ใน Family Lactobacillaceae Lactic acid bacteria เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างกลม (cocci) หรือท่อน (rods) ไม่สร้างสปอร์ เป็นพวก microaerophilic หรือ facultative anaerobe ไม่มีไซโตโครม (cytochrome) ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase) และมีค่า G + C content น้อยกว่า 55 โมลเปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยจีนัสต่างๆ ได้แก่ *Streptococcus, Lactococcus, Enterococcus, Pediococcus, Leuconostoc, Lactobacillus, Carnobacterium, Aerococcus, Tetragenococcus, Vagococcus, Oenococcus* และ *Weissella* (Stiles and Holzapfel, 1997) Lactic acid bacteria จะเปลี่ยนอาหารที่มีน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติกประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ และผลิตภัณฑ์อื่น เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไดอะเซทิลอะเซโทอิน (acetoin) และกรดอินทรีย์ Lactic acid bacteria ได้รับการยอมรับว่าเป็นแบคทีเรียที่ปลอดภัย (generally recognized as safe bacteria; GRAS status) และใช้ในการหมักอาหารและถนอมอาหาร ซึ่งอาจหมักตามธรรมชาติโดยใช้ Lactic acid bacteria ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีอยู่ในวัตถุดิบหรืออาจเติม Lactic acid bacteria ในรูปเชื้อตั้งต้น (starter culture) เติมลงในอาหารภายใต้ภาวะควบคุม ตัวอย่างของจีนัสที่ใช้เป็นเชื้อตั้งต้นในกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์นม เนื้อ และผัก ได้แก่ *Lactococcus, Streptococcus, Pediococcus, Leuconostoc, Lactobacillus* และ *Carnobacterium* (Stiles and Hastings, 1991 ; ศศิวิมล และคณะ, 2548) Lactic acid bacteria ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อย (microaerophile) บางชนิดเป็นพวกไม่ต้องการอากาศเลย (strickly anaerobe) เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่ได้พลังงานจากการหมักน้ำตาลโดยไม่ใช้ออกซิเจน มีความต้องการอาหารค่อนข้างสลับซับซ้อนและอุดมสมบูรณ์ (Prescott and Dunn, 1959) ใช้กรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจนเชื้อจะเจริญได้ในอาหารที่มี growth factor (Tittsler et al., 1952) และวิตามินหลายชนิด เช่น ไบโอติน (biotin) ไรโบฟลาวิน (riboflavin) และส่วนใหญ่ต้องการสารอนินทรีย์ในปริมาณค่อนข้างสูง เช่น แมงกานีส แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส เป็นต้น

การหมักแหนมในระยะ 24 – 72 ชั่วโมง เป็นเวลาที่จุลินทรีย์บางชนิดจะเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว จากการศึกษาพบว่าแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ คือ *Pediococcus cerevisiae* และ *Lactobacillus brevis* ซึ่งสามารถผลิตกรดแลคติกอย่างรวดเร็ว หลังจาก 72 ชั่วโมงของการหมัก จุลินทรีย์ประเภท Heterofermentative lactobacilli เช่น *Lactobacillus plantarum* และ *Lactococcus lactis* จะมีการเจริญเติบโตและสร้างกรด ในขณะที่ยังเหลือ *Pediococcus* และ Heterofermentative lactobacilli อยู่บ้าง จากรายงานพบว่าในแหนมที่รับประทานได้คือ วันที่ 3 จะมีค่าพีเอชต่ำกว่า 4.5 ซึ่งค่าพีเอชที่ต่ำลงจะมีผลยับยั้งจุลินทรีย์ที่ปะปนมาในแหนม และเปอร์เซ็นต์กรดสูงกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทำให้จุลินทรีย์บางชนิดเช่น *Bacillus*, *Escherichia* และ *Pseudomonas* รวมทั้งแบคทีเรียโคลิฟอร์มและซัลโมเนลลา ถูกทำลายเกือบหมด (สมบุญ, 2518)

2.2.1 การสร้างสารยับยั้งโดยแบคทีเรียกรดแลคติก

จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารหมัก มีทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และรา แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมักมากที่สุด คือ Lactic acid bacteria ซึ่งมีบทบาทในอาหารหมักมากมายหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์นมหมัก เนย ผักดอง ไส้กรอก และแหนม เป็นต้น ในกระบวนการหมัก Lactic acid bacteria มีความสามารถในการสร้างสารหลายชนิด ซึ่งมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่น สารยับยั้งเหล่านี้ ได้แก่ กรดแลคติก (lactic acid) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ไดอะซิทิล (diacetyl) และแบคทิริโอซิน (bacteriocin)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. กรดแลคติก (lactic acid)

กรดแลคติกเป็นผลผลิตที่เกิดขึ้นในกระบวนการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต เกิดจากการเปลี่ยนไพรูเวตไปเป็นกรดแลคติก โดยใช้เอนไซม์แลคเตรทดีไฮโดรจีเนต (lactate dehydrogenase) ซึ่งกรดที่เกิดขึ้นเมื่อมีการสะสมมากขึ้นจะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในบริเวณนั้นลดลงส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ โดยพบว่ากรดแลคติกจะสามารถแทรกผ่านเข้าไปภายในเซลล์จุลินทรีย์ได้ และเมื่อสภาพภายในเซลล์มีค่าความเป็นกรด – ด่างสูงกว่าภายนอกเซลล์ กรดแลคติกจะเกิดการแตกตัวได้เป็นไฮโดรเจนไอออน ซึ่งจะไปมีผลต่อกระบวนการเมทาบอลิซึม ต่างๆ ภายในเซลล์

2. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

แบคทีเรียแลคติกจะผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซม์เมื่อเจริญในสภาวะที่มีออกซิเจนในระหว่างกระบวนการถ่ายเทอิเล็กตรอน ซึ่งพบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซม์ จะทำปฏิกิริยากับไขมันที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เซลล์ไม่สามารถควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่างๆ ได้ นอกจากนี้ยังมีผลในการทำลายโครงสร้างของกรดนิวคลีอิกและโปรตีนที่อยู่ภายในเซลล์ และยังพบอีกว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซม์สามารถรวมตัวกับสารอื่นๆ และเกิดเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดใหม่ขึ้นมาได้อีกด้วย เช่น ในน้ำนมดิบ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับไทโอไซยาเนต โดยมีเอนไซม์แลกโตเปอร์ออกซิเดส (lactoperoxidase) เป็นตัวเร่ง ได้ผลิตผลที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบ

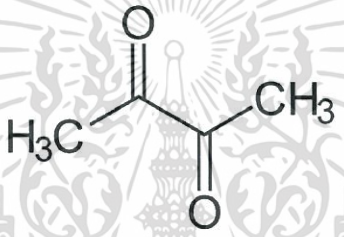
3. คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2)

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลผลิตส่วนใหญ่ที่เกิดจากกระบวนการการหมัก น้ำตาลแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเตทีฟ (Heterofermentative) โดย Lactic acid bacteria ซึ่งคาร์บอนไดออกไซม์ที่เกิดขึ้นนี้จะไปแทนที่ก๊าซออกซิเจนในสภาวะแวดล้อมรอบๆ ทำให้เกิดสภาวะไม่มีอากาศ (anaerobe) ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจน โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อรา นอกจากนี้ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ยังจะทำให้ค่าความเป็นกรด – ด่าง ภายในเซลล์และรอบๆ เซลล์ลดลงมีผลทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ไดอะซิทิล (diacetyl)

ไดอะซิทิล หรือ 2,3 butanedione เป็นผลผลิตจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของไพรูเวต โดย Lactic acid bacteria ในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน ซึ่งพบว่าเมื่อ Lactic acid bacteria เจริญในสภาวะที่มีซิเตรตอยู่ด้วย จะสร้างไพรูเวตออกมาในปริมาณมาก ซึ่งสารนี้จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น diacetyl และ acetone โดย diacetyl สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสียได้ ซึ่งผลในการยับยั้งของสารกลุ่มนี้จะมีผลต่อแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์และรา มากกว่าแบคทีเรีย แกรมบวก เนื่องจาก diacetyl จะไปขัดขวางการใช้อาร์จีนีนของแบคทีเรียแกรมลบ โดยไปแทนที่อาร์จีนีนในการรวมตัวกับ arginine-binding protein โครงสร้างของไดอะซิทิล แสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของไดอะซิทิล

ที่มา : http://chemistry.about.com/od/factsstructures/ig/Chemical-Structures---D/Diacetyl-or-Butanedione.htm

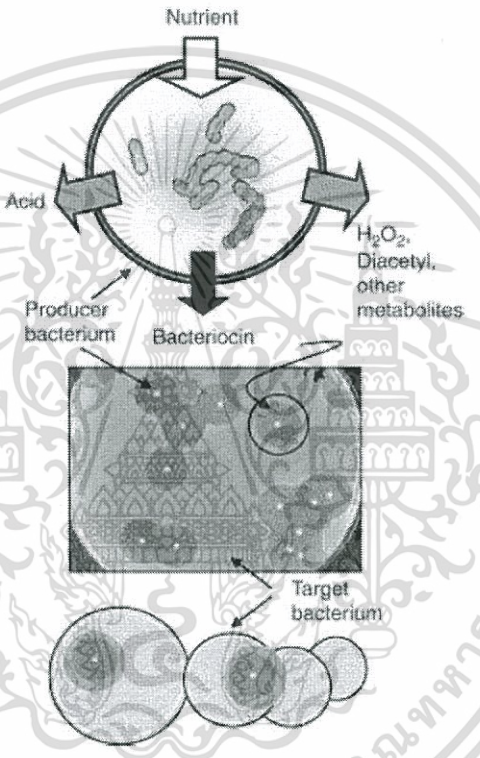
5. แบคทิริโอซิน (bacteriocin)

แบคทีริโอซิน หมายถึง เปปไทด์หรือโปรตีนที่สังเคราะห์จากไรโบโซม และมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย แบคทีริโอซินแตกต่างจากสารปฏิชีวนะ (antibiotics) คือ แบคทีริโอซินมีฤทธิ์การยับยั้งแคบและเป็นพิษกับแบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกัน (Tagg et al, 1976 ; Klaenhammer, 1988) แบคทีริโอซินสามารถสร้างได้จากแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบและแกรมบวกหลายสปีชีส์ แต่แบคทีริโอซินที่สร้างจากกลุ่ม Lactic acid bacteria กลับเป็นที่ได้รับความสนใจมากที่สุด (Nettles and Barefoot, 1993)

Lactic acid bacteria ที่สร้างแบคทีริโอซินแยกได้จากอาหาร ดังนั้นจึงเหมาะที่จะมาใช้ในการประยุกต์ทางด้านอาหาร การสร้างแบคทีริโอซินนี้มีข้อดีแก่ Lactic acid bacteria เองคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีริโอซินสามารถฆ่าหรือยับยั้งแบคทีเรียอื่นที่อยู่ในแหล่งอาหารนั้นๆ (Jack et al., 1995) (รูปที่ 2.3) แบคทีริโอซินที่สร้างขึ้นโดย Lactic acid bacteria บางชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งค่อนข้างกว้าง การนำแบคทีริโอซินไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจะช่วยลดการใช้สารกันเสียที่เป็นสารเคมี รวมทั้งลดการใช้ความร้อน ทำให้อาหารยังคงอุดมไปด้วยคุณค่าของสารอาหาร ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งที่ผู้บริโภคต้องการ เนื่องจากมีความปลอดภัย มีรสชาติสดใหม่ และพร้อมรับประทาน (Deegan et al., 2006)

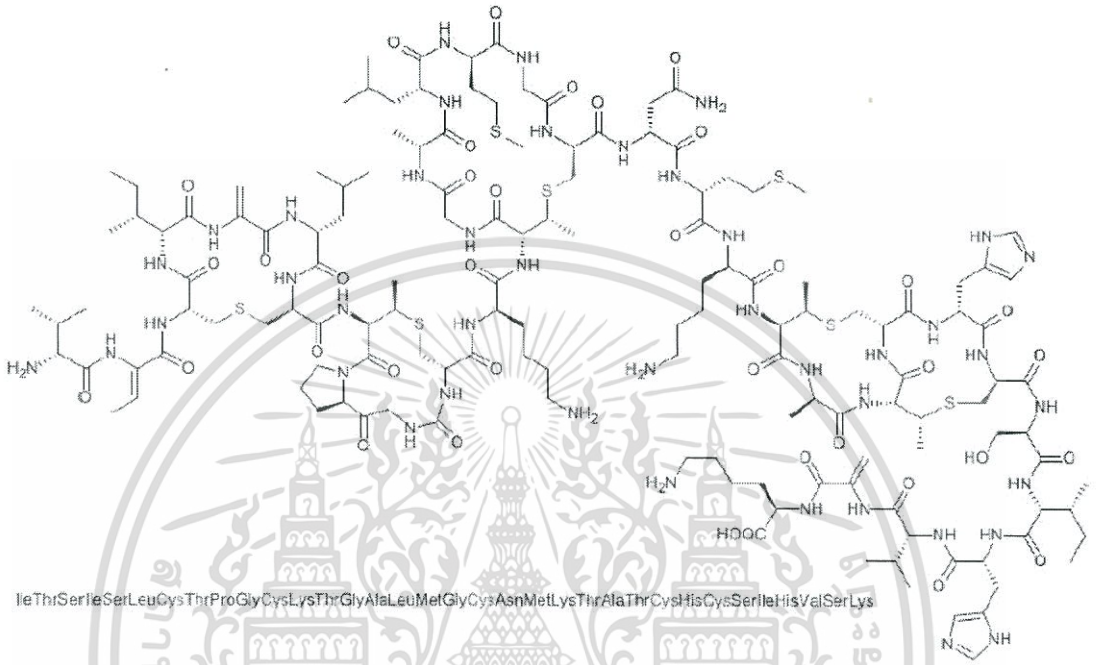


รูปที่ 2.3 เชื้อที่ผลิตแบคทีริโอซิน (รูปบน) จะทำให้เกิดบริเวณยับยั้งกับแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ (รูปล่าง) ที่มา : (Deegan et al., 2006)

ปัจจุบันแบคทีริโอซินบางชนิดมีขายในรูปผงแห้ง ที่รู้จักกันดี เช่น ไนซิน (nisin) โดยใช้ชื่อทางการค้าว่า NisaplinTM (บริษัท Aplin and Barrett Ltd., UK) ซึ่งสร้างจาก *Lactoccocus lactis* และเพดดิโอซิน PA-1/AcH (pediocin PA-1/AcH) โดยใช้ชื่อทางการค้าว่า ALTATM 2431 (บริษัท Quest International, Australia) ซึ่งสร้างจาก *Pediococcus acidilactici* ไนซิน ถูกค้นพบเป็นครั้งแรกโดย Rogers และ Whittier ในปี 1928 (Rogers and Whittier, 1928) ประกอบด้วยเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโน 34 ตัว (รูปที่ 2.4) ให้ผลในการยับยั้งได้ในอาหารหลายประเภท โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีค่าพีเอชต่ำ (O'Sullivan et al., 2002) ไนซินมีการใช้แพร่หลายมากกว่า 48 ประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์ชีส นม และอาหารกระป๋อง (Delves-Broughton, 1990) โดยองค์การทางอาหารและยา (Food and Drug Administration) ได้ยอมรับว่า NisaplinTM สามารถใช้ในรูปของสารป้องกันการเน่าเสียที่มาจากธรรมชาติ (O'Sullivan และคณะ, 2002)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของไนซิน

ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/Nisin

แบคทีริโอซินบางชนิดที่มีฤทธิ์กว้าง เช่น ไนซิน จะมีประสิทธิภาพในการใช้มากกว่า โดยพบว่า ไนซินมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกได้หลายชนิด รวมถึงกลุ่มที่ก่อโรคด้วย (Tagg et al., 1976) ซึ่งมักจะก่อโรคในอาหารกระป๋องและผลิตภัณฑ์นม โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์นมที่นำมาแปรรูปเป็นเนยซึ่งความร้อนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อจะแพร่ผ่านได้ลำบาก ในขณะที่แบคทีริโอซินที่มีฤทธิ์แคบก็สามารถยับยั้งเชื้อเฉพาะกลุ่ม โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในอาหาร เช่น *Listeria monocytogenes* โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายกับเชื้อประจำถิ่นชนิดอื่น

2.2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาแหนม

อรนุช (2530) ได้คัดเลือกแบคทีเรียแลคติกจากแหนมจำนวนทั้งสิ้น 112 ไอโซเลท ได้แก่ *Pediococcus* spp. 78 ไอโซเลท *Lactobacillus* spp. 34 ไอโซเลท พบว่าเชื้อแต่ละไอโซเลทให้ผลแตกต่างกันในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Salmonella ทั้ง 3 serotype ได้แก่ *S. anatum,*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

S. brevis – morbificans, S. derby Lactic acid bacteria ที่คัดเลือกได้ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้ง Salmonella เช่น การทนต่อเกลือน้ำดี 15 เปอร์เซ็นต์ ความสามารถในการเจริญในอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 3 – 5 เปอร์เซ็นต์ ความสามารถในการเจริญที่มีอุณหภูมิสูง 45 องศาเซลเซียส สามารถคัดเลือกได้เชื้อ *Pediococcus* รหัส P_{42} และ *Lactobacillus* รหัส L_{23} และได้นำเชื้อแต่ละชนิดดังกล่าวมาผลิตเป็นเชื้อผง

มณฑา (2543) ศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อแหนมมังสวิรัติ ที่ใช้โปรตีนเกษตรทดแทนเนื้อสัตว์และข้าวเหนียวในอัตราส่วนแตกต่างกัน ผลการศึกษาพบว่า สัดส่วนของโปรตีนเกษตรและข้าวเหนียวในแหนมที่แตกต่างกัน ไม่มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยจากคะแนนเฉลี่ยขอแหนมสูตรที่ใช้อัตราส่วนโปรตีนเกษตรต่อข้าวเหนียวเป็น 80 : 20 ผู้ชิมให้ความชอบด้วยสีมากที่สุด เมื่อตั้งหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 2 วันแล้วนำมาวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรดได้ 1.33 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าพีเอช 4.67 และอัตราส่วนโปรตีนเกษตรต่อข้าวเหนียวเป็น 70 : 30 ผู้ชิมให้ความชอบในด้านกลิ่นรส ความชุ่มฉ่ำ เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมมากที่สุด เมื่อตั้งหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 2 วันแล้วนำมาวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรดได้ 1.31 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าพีเอช 4.92 นอกจากนี้ยังศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อแหนมมังสวิรัติโดยใช้โปรตีนเกษตรที่มีกรรมวิธีการเตรียมโปรตีนเกษตรที่แตกต่างกัน คือ ต้มในน้ำเดือกและแบบแช่น้ำ พบว่า มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากคะแนนเฉลี่ยพบว่าแหนมที่ทำจากโปรตีนเกษตรต้มในน้ำเดือด ผู้ชิมให้ความชอบในด้านสีมากที่สุด เมื่อตั้งหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 2 วันแล้วนำมาวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรดได้ 1.31 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าพีเอช 4.92 ส่วนในด้านกลิ่นรส ความชุ่มฉ่ำ เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม ผู้ชิมให้ความชอบแหนมที่ทำจากโปรตีนเกษตรแบบแช่น้ำมากที่สุด เมื่อตั้งหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 2 วันแล้วนำมาวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรดได้ 0.99 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าพีเอช 4.86 แหนมทั้งสองแบบจะมีปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นหลังจากวันที่ผลิตและค่าพีเอชจะลดลงตามระยะเวลาในการหมัก

สุณีย์ (2546) ศึกษาการใช้ข้าวแดง (Ang - kak) เพื่อปรับปรุงสีผลิตภัณฑ์แหนม เนื่องจากการใช้ข้าวแดงแทนการใช้ไนไตรท์ในการทำแหนมช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งได้ เพราะข้าวแดงเป็นสีที่ได้จากธรรมชาติ โดยปริมาณข้าวแดงที่ใช้ในการปรับปรุงสีของแหนมที่ไม่เติมไนเตรท ไนไตรท์ ใช้ข้าวแดง 0.3 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรจะให้ผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสีของแหนมและความเปรี้ยวใกล้เคียงกับสูตรที่มีการเติมไนไตรท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กฤติกา และคณะ (2548) ศึกษาจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการทำแหนมหน่อไม้ตามธรรมชาติที่มีส่วนผสมตามสูตรพื้นบ้าน 2 สูตร คือ ใส่ข้าวและไม่ใส่ข้าว ผลการศึกษาพบว่าสามารถแยกแบคทีเรียได้ 17 ไอโซเลท ซึ่งเป็นแบคทีเรียในจีนัส *Lactobacillus* 16 ไอโซเลท ส่วนอีก 1 ไอโซเลท (GS2) อยู่ในระหว่างการบ่งบอกชนิดชนิดการตรวจสอบลักษณ์ทางกายภาพและเคมี แหนมหน่อไม้ที่ได้มีสีเหลืองอ่อน มีกลิ่นหอมของกระเทียม กลิ่นเปรี้ยวคล้ายแหนม รสชาติเปรี้ยว เนื้อสัมผัสของแหนมนุ่ม ค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 4.2 – 4.3 และมีปริมาณกรดทั้งหมด 0.75 – 0.95 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บได้ 6 สัปดาห์ แต่สีของแหนมหน่อไม้จะเริ่มคล้ำลงในสัปดาห์ที่ 5

นิตยา และคณะ (2548) ได้ศึกษาการทำแหนมเห็ดไข่ห่าน เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพ ซึ่งผลการศึกษาพบว่า สูตรแหนมเห็ดไข่ห่านที่ผู้ทดสอบให้การยอมรับรวมมากที่สุดหลังจากประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ประกอบด้วย เห็ดไข่ห่าน 1000 กรัม เกลือ 15 กรัม และกระเทียม 35 กรัม โดยหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน มีจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมักจำนวน 6 ชนิด คือ *Bacillus* sp., *Leuconostoc* sp., *Pediococcus* sp., *Lactobacillus* sp., แบคทีเรียรูปแท่งติดสีแกรมบวก และยีสต์ ซึ่งมีผลการวิเคราะห์ทางคุณค่าอาหารดังนี้ แหนมเห็ดไข่ห่านมีปริมาณไขมัน 0.81 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 3.11 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 4.5 เปอร์เซ็นต์ เส้นใย 1.26 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 88.65 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณของแคลเซียมและเหล็ก 79.68 และ 12.69 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ มีค่า antioxidant index 0.75 แหนมเห็ดไข่ห่านสามารถเก็บที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ได้ 3 วัน หากเก็บไว้นานกว่านี้จะมีเชื้อราปนเปื้อน แต่เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส สามารถเก็บได้นานถึง 30 วัน

2.3 จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในการผลิตแหนม

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า พบอยู่ทั่วไปทั้งในดิน น้ำ อากาศ ผลิตผลทางการเกษตรและอาหาร จุลินทรีย์สามารถแบ่งออกได้เป็นหลายกลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ รา ไวรัส เป็นต้น จุลินทรีย์มีความสัมพันธ์กับสิ่งมีชีวิตในลักษณะที่ก่อให้เกิดประโยชน์ เช่น การผลิตยาปฏิชีวนะ การผลิตอาหารหมักดอง การผลิต เอนไซม์ และทำให้เกิดโทษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้แก่ การทำให้อาหารเน่าเสีย การก่อให้เกิดโรค เช่นโรคที่ติดต่อทางระบบหายใจ โรคที่ ติดต่อระบบทางเดินอาหาร (วชิราภรณ์, 2553)จุลินทรีย์ที่อาจพบมากในแหนม ได้แก่

2.3.1 *Salmonella*

Salmonella จัดอยู่ใน แฟมิลี่ Enterbacterlaceae มีรูปร่างเป็นท่อน ย้อมสีติดแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้โดยมี peritrichous flagella (ยกเว้น *Salmonella pullurum* และ *Salmonella gallinarum*) สามารถย่อยสลายกลูโคสได้กรดกับก๊าซ แต่ไม่ย่อยสลายแลคโตสหรือซูโครส การแยกชนิดโดยการใช้วิธีทาง serology เพราะเชื้อมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน *Salmonella* จะเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 5 – 47 องศาเซลเซียส Aw ขั้นต่ำประมาณ 0.93 – 0.95 การทนความร้อนและผลกระทบที่มีปัจจัยต่างๆ ของสิ่งแวดล้อมในการเจริญจะแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์และชนิดของอาหาร *Salmonella* มีค่า $D_{60\ องศาเซลเซียส}$ อยู่ในช่วง 0.06 – 11.3 นาที โดยทั่วไป *Salmonella* จะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 66 องศาเซลเซียส นานอย่างน้อย 12 นาที

แบคทีเรียในกลุ่มนี้ประกอบด้วยเชื้อหลายสปีชีส์ สามารถทำให้เกิดโรคได้ทั้งคนและสัตว์ *Salmonella* ที่ทำให้เกิดโรค ได้แก่ *S. typhi, S. paratyphi* และ *S. enteritidis* เป็นต้น ซึ่งทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารแต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความต้านทานของผู้บริโภค ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ โรคของเชื้อและจำนวนเชื้อที่ผู้บริโภคได้รับ เช่น *S. enteritidis* ที่ถูกบริโภคเข้าไปเพียงล้านเซลล์ก็ทำให้เกิดโรคได้แล้ว การเจริญของ *Salmonella* ในอาหารหมักทำให้เกิดลักษณะของอาหารเปลี่ยนแปลงไม่ว่าจะเป็นกลิ่นหรือรส ดังนั้นถ้ามีเชื้อนี้อยู่ในปริมาณมากเท่าใดก็จะทำให้ผู้บริโภคเกิดโรคติดเชื้อได้มากขึ้นและมีระยะฟักตัวเร็วขึ้นโดยผู้บริโภคไม่สามารถทราบได้

Salmonella มีความทนต่อสภาวะที่แช่แข็งและทนต่อสารเคมี เช่น brilliant green, sodium tetrathionate และ sodium deoxycholate ซึ่งสารเคมีเหล่านี้สามารถยับยั้งการเจริญของ Coliform bacilli

การจำแนกสปีชีส์ของ *Salmonella* ใช้การทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมีและการทดสอบทาง antigen ของเซลล์ สำหรับการแยก strain ต่างๆ ในแต่ละสปีชีส์ อาจใช้วิธี Phage typing โดยใช้ specific bacteriophage ทำปฏิกิริยากับเซลล์ ถ้า specific กันจะทำให้เซลล์แตกสลายในที่สุด (ปาริชาติ และคณะ, 2540 ; อดิศร, 2533 ; อรุณ และนพรัตน์, 2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus เป็นจุลินทรีย์ในแฟมิลี่ Micrococcaceae ซึ่งมีคุณสมบัติย้อมติดสีแกรมบวก เป็นแบคทีเรีย ที่มีลักษณะกลม (0.5 – 1.0 ไมครอน) เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น แต่อาจจะพบเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ (โดยมากไม่เกิน 4 เซลล์) อยู่ปะปนด้วยกันเสมอเวลาย้อมแกรม

Staphylococcus aureus ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ ลักษณะโคโลนีกลม ขอบเรียบนูน มีสีครีม เหลือง ส้ม (ขึ้นอยู่กับชนิดของคาโรตินอยด์ในเซลล์เมมเบรน รวมถึงอุณหภูมิ อาหารเลี้ยงเชื้อ และสภาวะแวดล้อมที่ทำให้เชื้อเจริญ) *Staphylococcus aureus* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 6 – 46 องศาเซลเซียส โดยมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 – 37 องศาเซลเซียส ทนความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที สามารถสร้างสารพิษที่อุณหภูมิมากกว่า 10 องศาเซลเซียส ค่าพีเอช ที่สามารถเจริญได้อยู่ในช่วง 4.0 – 10.0 โดยมีช่วงที่เหมาะสมคือ 7.0 – 7.5 ส่วนค่า Aw อยู่ในช่วง 0.85 – 0.999 ถ้าค่า Aw น้อยกว่า 0.94 จะเจริญได้อย่างช้าๆ สามารถทนเกลือที่ 18 – 20 % *Staphylococcus aureus* ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม Facultative anaerobe คือ สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนมากกว่าในสภาพไม่มีออกซิเจน และสามารถสร้างสารพิษ enterotoxin แบ่งออกเป็น 8 ชนิด ได้แก่ A , B , C1 , C2 , C3 , D , E และ H ชนิดที่พบบ่อยซึ่งเป็นสาเหตุของอาหารเป็นพิษคือ A กับ D สารพิษนี้มีคุณสมบัติพิเศษ ทนความร้อน ไม่ถูกทำลายแม้ต้มเดือดครึ่งชั่วโมง และทนความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที สารพิษนี้ละลายได้ในน้ำและสารละลายเกลือ *Staphylococcus aureus* จะสร้างสารพิษดังกล่าวที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ได้ดีกว่าที่ 25 และ 10 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ทั้งสามารถทนต่อรังสีแกมมาในปริมาณที่อนุญาตให้ใช้กับอาหารอีกด้วย

แหล่งที่พบ *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อที่สามารถพบได้ที่ผิวหนัง โพรงจมูก เยื่อบุทางเดินหายใจ ทางเดินอาหาร และบาดแผลที่เป็นฝี หนอง รวมถึงในดินฝุ่นละออง อาหารที่มักพบ *Staphylococcus aureus* ปนเปื้อนได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ เนื้อสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์จากไข่ อาหารประเภทสลัดเช่น ไข่ ทูน่า เนื้อไก่ มันฝรั่ง และมักกะโรนี ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ครีมพายเอแคลร์ ช็อกโกแลต แซนวิช และผลิตภัณฑ์นม ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม และเก็บไว้เป็นเวลานานก่อนรับประทาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Staphylococcus aureus ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งเกิดจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษแม้ในปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม ก็สามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ สารพิษชนิดนี้จะมีปริมาณสูงมากเมื่อมี *Staphylococcus aureus* ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร 100,000 เซลล์ต่อกรัมอาหาร ทำให้เกิดโรค Acute infection (ฝี หนอง แผลติดเชื้อ septicemia) และ Acute toxaemias (heat stable enterotoxin) (ศิวาพร, 2542 ; ศูนย์ข้อมูลโรคติดเชื้อและพาหะนำโรค)

2.3.3 *Escherichia coli*

Escherichia coli เป็นเชื้อจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีแหล่งอาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น อีกทั้งยังพบได้ในสิ่งแวดล้อม เช่น น้ำ พืช อากาศ และดิน ทำให้สามารถพบเชื้อนี้ได้ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำแช่เยือกแข็ง โดยอาจเกิดการปนเปื้อนของเชื้อในวัตถุดิบที่นำมาผลิต พนังงาน แมลง สัตว์กัดแทะ อุปกรณ์ต่างๆ น้ำ และน้ำแข็งที่ใช้ในกระบวนการผลิต เป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ถ้าควบคุมไม่ดีพออาจทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดความเสี่ยงที่จะเกิดการปนเปื้อนเชื้อ *Escherichia coli* ได้

Escherichia coli ส่วนใหญ่ไม่ทำให้เกิดโรค แต่การตรวจพบ *Escherichia coli* ในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำแช่เยือกแข็ง แสดงให้เห็นถึงโอกาสที่จะพบเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคซึ่งเจริญที่สภาวะเดียวกันกับ *Escherichia coli* ได้ อย่างไรก็ตาม *Escherichia coli* บางสายพันธุ์ทำให้เกิดโรคอุจาระร่วง และบางสายพันธุ์ เช่น *E. coil* O157:H7 อาจทำให้ผู้ที่ได้รับเชื้อนี้เสียชีวิตได้

Escherichia coli มีรูปร่างเป็นแท่ง ขนาด 1 – 2 ไมโครเมตร ติดสีแกรมลบ สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobic bacteria) เคลื่อนที่โดยใช้ peritrichous flagella ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 10 – 40 องศาเซลเซียส โดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35 – 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิภายในร่างกายของสัตว์เลือดอุ่น พีเอช 7 – 7.5 ค่าปริมาณน้ำอิสระ (water activity) 0.96

Escherichia coli สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอุจจาระร่วง จำแนกได้ 5 กลุ่ม ดังนี้

1. Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) สารพิษ (toxin) ที่เชื้อกลุ่มนี้สร้างขึ้นมามีทั้งทนความร้อน (heat - stable) และไม่ทนความร้อน (heat labile) ระยะฟักตัวของเชื้อ 10 – 20 ชั่วโมง สำหรับสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษมีระยะพักตัวมากกว่าคือ 24 – 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

อาการของโรคที่เกิดจาก ETEC อุจจาระร่วงเป็นน้ำโดยไม่พบมูกเลือด อาเจียน ปวดท้อง เหงื่อออกมาก และมีอาการขาดน้ำ แต่อาจไม่มีไข้ ทั้งนี้อาการต่างๆ ที่ปรากฏ จะเกิดอยู่ประมาณ 3 – 5 วัน

2. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) โรคที่เกิดจากการบริโภค EPEC สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยสายพันธุ์ที่ผลิตสารพิษในบริเวณลำไส้เล็กตอนบน ทำให้เกิดอาการท้องเสียคล้ายกันอหิวาตกโรค กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการคล้ายโรคบิดโดยไม่มีการสร้างสารพิษ เชื้อจะเจริญในลำไส้ใหญ่ และแทรกตัวไปที่ epithelial cell ของลำไส้

อาการของโรคที่เกิดจาก EPEC มีไข้ หนาวสั่น ปวดศีรษะ ปวดท้อง อุจจาระเหมือนน้ำซาวข้าว อาเจียน มีอาการขาดน้ำ ช็อก โดยส่วนมากผู้ป่วยจะไม่เสียชีวิตจากพิษของ *Escherichia coli* แต่ละเสียชีวิตเนื่องจากการขาดน้ำ ระยะฟักตัว 8 – 24 ชั่วโมง

3. Enterohemorrhagic *E. coil* (EHEC) serotype ที่สำคัญคือ *E. coil* O157:H7 เป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ *E. coil* O157:H7 ไม่หมักย่อยน้ำตาล sorbitol ภายใน 18 – 24 ชั่วโมง ก่อให้เกิดโรคโดยสร้างสารพิษ Shiga toxin (Stx) สามารถทำให้เกิดโรคได้แม้จะได้รับเชื้อเข้าสู่ร่างกายในปริมาณน้อย การติดเชื้ออาจเนื่องมาจากรับประทานเนื้อที่ปรุงไม่สุก ดื่มนมดิบหรือนมที่ผ่านกรรมวิธีพาสเจอไรส์แล้วแต่ปนเปื้อนเชื้อภายหลัง ติดเชื้อจากสัตว์เลี้ยงหรือสัตว์ในฟาร์ม และสัมผัสกับแหล่งน้ำที่มีเชื้อปนเปื้อน

อาการของโรคที่เกิดจาก *E. coil* O157:H7 อุจจาระร่วงบ่อยครั้ง อุจจาระเป็นมูกเลือด ปวดท้อง นอกจากนี้ผู้ป่วยอาจมีอาการซีด เนื่องจากสารพิษของเชื้อจะไปทำลายเม็ดเลือดแดง จึงเกิดภาวะไตวายได้ ส่วนในผู้สูงอายุเกิดภาวะเลือดออกง่าย เนื่องจากเกร็ดเลือดถูกทำลายทำให้เสียชีวิตได้ ผู้ติดเชื้ออาจไม่แสดงออกอาการของโรคแต่สามารถถ่ายทอดเชื้อให้ผู้อื่นได้

4. Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) สายพันธุ์ต่างๆ ของ *Escherichia coli* ที่แสดงคุณสมบัติรุกล้ำเข้าเซลล์ mucosal ที่พบบ่อยๆ จาก O Sero group ได้แก่ O28ac, O29, O112, O124, O136, O143, O144, O152, O164 และ O167 เชื้อกลุ่มนี้มีคุณสมบัติคล้าย Shigella มาก ต้องตรวจ O และ H antigen

อาการของโรคที่เกิดจาก EIEC ปวดบิดในท้อง ถ่ายเป็นน้ำ ปวดเบ่ง เป็นไข้ ถ่ายอุจจาระบ่อย ลักษณะเป็นมูกเลือดเนื่องจากเซลล์ถูกทำลาย มีอาการคล้ายโรคบิดที่เกิดจากเชื้อ *Shigella*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
123246

5. Enteroaggregative *E. coli* (EaggEC) เป็นสาเหตุที่สำคัญของโรคอุจจาระร่วงในเด็กขวบปีแรกในบางพื้นที่ของโลก และโรคอุจจาระร่วงยืดเยื้อด้วย ระยะฟักตัว 20 – 48 ชั่วโมง (สุมาลี, 2535 ; ศิวาพร, 2535)

2.4 เห็ด

เห็ดจัดเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูงชนิดหนึ่ง ประชาชนทั่วโลกรู้จักกันดีและนิยมนำมาทำอาหารรับประทานกันมาก แต่ความนิยมรับประทานเห็ดในแต่ละท้องถิ่นทั่วโลกจะแตกต่างกันออกไป เช่น ชาวยุโรปรู้จักและนิยมรับประทานเห็ดฝรั่ง (เห็ดแชมปิญอง) คนจีนรู้จักและนิยมรับประทานเห็ดหอม ส่วนคนไทยรู้จักและนิยมรับประทานเห็ดฟางกันมาก เนื่องจากเห็ดเกือบทุกชนิดมีรสชาติดี มีคุณค่าทางอาหารสูงและเห็ดบางชนิดมีสรรพคุณเป็นยารักษาโรค จึงทำให้ประชาชนส่วนใหญ่หันมานิยมรับประทานเห็ดเพิ่มมากขึ้น เห็ดที่นิยมรับประทานได้แก่ เห็ดฟาง เห็ดหูหนู เห็ดนางฟ้า เป็นต้น (ปัญญา ,2538)

2.4.1 คุณค่าทางอาหารของเห็ด

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของเห็ดหลายชนิด พบว่า เห็ดเป็นอาหารที่มีปริมาณของโปรตีนค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับพืชผัก นอกจากนี้เห็ดยังมีกรดอะมิโน (amino acid) เป็นส่วนประกอบมากกว่า 20 ชนิด ในปริมาณที่แตกต่างกัน กรดอะมิโนเหล่านี้มีอยู่ 9 ชนิด ที่มีความสำคัญต่อร่างกายและร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นได้ ได้แก่ lysine, methionine, tryptophane, threonine, valine, leucine, isoleucine, cystine และ phenylalanine กรดอะมิโนเหล่านี้ มีความสำคัญต่อการสร้างโปรตีนในร่างกายมนุษย์ ตามปกติแล้วโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์จะมีปริมาณสูงกว่าพืช แต่ในเห็ดจะมีกรดอะมิโนที่สำคัญต่อร่างกายมนุษย์ครบทั้ง 9 ชนิด นอกจากนี้เห็ดยังมีคุณค่าทางอาหารอีกหลายอย่าง ได้แก่ ไขมัน ฟอสฟอรัส เหล็ก thiamin (B_4) riboflavin (B_2) และ niacin เห็ดจัดว่าเป็นอาหารที่มีปริมาณของแคลอรี่ คาร์โบไฮเดรต และแคลเซียมต่ำ แต่มีปริมาณ ascorbic acid (vitamin c) สูง ในเห็ดสกุล Agaricus (เห็ดแชมปิญอง) และมี ergosterine (vitamin d) สูง ในเห็ดสกุล Lentinus (เห็ดหอม) และเห็ดสกุล Volvariella (เห็ดฟาง) (ปัญญา, 2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 ชนิดและแหล่งผลิตเห็ดในประเทศไทย

จากการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของเห็ด ตลอดจนแหล่งผลิตเห็ดในประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2524 พบว่าประเทศไทยมีการผลิตเห็ดฟางมากที่สุด รองลงมาเป็นเห็ดตระกูลเห็ดนางรม เห็ดหูหนู ฯลฯ ส่วนปริมาณของผลผลิตเห็ดแต่ละชนิดแสดงไว้ในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ตารางแสดงผลผลิตของเห็ดฟางและมูลค่าของเห็ดชนิดต่างๆ ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2524

ชนิดของเห็ด	จำนวนผลิต (ตัน)	มูลค่า (ล้านบาท)
เห็ดฟาง	60,000	900.00
เห็ดนางรม นางฟ้า เป๋าฮื้อ	115.20	5,760
เห็ดหูหนูสด	3.888	69.98
เห็ดหูหนูแห้ง	12	2.16
เห็ดแชมปิญอง	300	7.20
รวม	69,960	1,094.54

ที่มา : ยุกติ, 2526

ส่วนแหล่งผลิตของเห็ดมีกระจายอยู่ทั่วประเทศ แต่ส่วนใหญ่อยู่บริเวณชานเมืองของกรุงเทพมหานคร และชานเมืองตามจังหวัดใหญ่ๆ แหล่งผลิตของเห็ดแต่ละชนิดจะแตกต่างกันดังนี้ (กรมอาชีวศึกษา, 2525)

1. เห็ดฟาง แหล่งผลิตของเห็ดฟางจะกระจายอยู่ทั่วประเทศ แต่แหล่งที่สำคัญมากที่สุด ได้แก่ บริเวณชานเมืองกรุงเทพมหานคร แถบกระทุ่มแบน หนองแขม หนองจอก รังสิต ฯลฯ เพราะตลาดกรุงเทพฯ เป็นตลาดเห็ดฟางที่ใหญ่ที่สุดและเป็นเมืองท่าส่งสินค้าออกจำหน่ายไปยังต่างประเทศ

2. เห็ดนางรม แหล่งผลิตส่วนใหญ่ คือ บริเวณชานเมืองกรุงเทพมหานคร คล้ายเห็ดฟาง และตามชานเมืองหลายจังหวัดทั่วประเทศ

3. เห็ดเป๋าฮื้อ แหล่งผลิตที่สำคัญ คือ บริเวณชานเมืองกรุงเทพมหานคร จังหวัดผลิตที่สำคัญ คือ จังหวัดทางภาคเหนือ ได้แก่ เชียงใหม่ ลำปาง ฯลฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. เห็ดแชมปิญอง เป็นเห็ดที่ชอบเจริญเติบโตในบริเวณที่มีอุณหภูมิต่ำ แหล่งผลิตที่สำคัญ คือ จังหวัดทางภาคเหนือ ได้แก่ เชียงใหม่ ลำปาง ฯลฯ

5. เห็ดหูหนู แหล่งผลิตกระจายอยู่แทบทุกภาคแต่เป็นการผลิตรายย่อยๆ

6. เห็ดหอม เป็นเห็ดที่ชอบอุณหภูมิต่ำ และมีราคาแพง แหล่งผลิตที่สำคัญจะอยู่ทางภาคเหนือ ได้แก่ เชียงใหม่ ลำปาง ฯลฯ

2.4.3 เห็ดนางฟ้า

เห็ดนางฟ้าเป็นเห็ดนางรมชนิดหนึ่ง มีถิ่นกำเนิดแถบภูเขาหิมาลัย ซึ่งมีอากาศชื้นและเย็น ในธรรมชาติจะขึ้นอยู่กับต้นไม่ที่ผุพัง บางครั้งพบว่าขึ้นกับต้นไม้ มีดอกหนาปานกลาง เนื้อแน่น แต่ขนาดไม่ใหญ่และสีไม่คล้ำเท่ากับเห็ดเป๋าฮื้อ รสชาติดีพอสมควร

เห็ดนางฟ้าได้เข้านำเข้ามาในประเทศไทยเมื่อปี พ.ศ. 2518 โดย ดร.สิริพงศ์ บุญหลง พบว่าสามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารหลายชนิด แต่การเกิดดอกของเห็ดจะเกิดได้ดีเมื่ออากาศเริ่มหนาวเย็น ช่วงที่อากาศร้อนเห็ดจะออกดอกได้ยาก ระยะที่เห็ดออกดอกได้ดี คือ ปลายฤดูฝนต่อกับต้นฤดูหนาว เรียกเห็ดชนิดนี้ว่านางรมอินเดียหรือนางนมแขก ในปี พ.ศ. 2520 ได้มีการทดลองร่วมกันระหว่างมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์และสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ประยุกต์แห่งประเทศไทย ผลการทดลองพบว่าเห็ดนางฟ้ามาสามารถขึ้นได้บนอาหารบางชนิด เช่น ปุ๋ยหมัก ฟาง ขี้เลื่อย ไส้นุ่น หญ้าแห้งสับเป็นชิ้นเล็กๆ ได้มีการนำเห็ดชนิดนี้เผยแพร่สู่ประชาชนพร้อมกับตั้งชื่อใหม่ว่า เห็ดนางฟ้า (ปัญญา, 2538)

2.4.3.1 ลักษณะทางชีววิทยา

ชื่อทางวิทยาศาสตร์	:	*Pleurotus Sajor – caju (Fr.) Sing.*
ชื่อสามัญภาษาไทย	:	เห็ดนางฟ้า
ชื่อภาษาอังกฤษ	:	Sajor – caju
Class	:	Basidiomycetes
Subclass	:	Holobasidiomycetidae
Order	:	Agaricales
Family	:	Tricholomataceae

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Genus : *Pleurotus*

Species : *Sajor – caju*

(กลุ่มบัณฑิตเกษตรก้าวหน้า, 2537 ; ปัญญา, 2538)

2.4.3.2 รูปร่างลักษณะ

เห็ดนางฟ้าดอกหนาเนื้อแน่นกว่าเห็ดนางรม ดอกมีสีคล้ำคล้ายเห็ดเป๋าฮื้อแต่อ่อนกว่า ก้านดอกมีสีเดียวกับหมวก เกิดเป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นกระจุกก็ได้ ครีบสีขาวยาวตลอด ดอกเห็ดกว้างประมาณ 3 – 6 นิ้ว หรือ 8 นิ้ว ถ้าขั้นบนท่อนไม้จะเรียงลดหลั่นเป็นชั้นๆ ดอกมีก้านหรือไม่มีก้านก็ได้ ลักษณะเส้นใยสีขาวกว่าเห็ดนางรมเล็กน้อย (กลุ่มบัณฑิตเกษตรก้าวหน้า, 2537)

2.4.3.3 คุณค่าทางโภชนาการของเห็ดนางฟ้า

สภาวะการขาดแคลนอาหารของประเทศไทย ยังเป็นปัญหาใหญ่สำหรับประเทศโดยเฉพาะภาคตะวันออดเฉียงเหนือ มีเด็กก่อนวันเรียนเป็นโรคขาดสารอาหารกันเป็นจำนวนมาก และพบว่าเกิดจากการขาดโปรตีนเป็นหลัก เห็ดชนิดต่างๆ เป็นแหล่งอาหารจากพืชที่มีโปรตีนสูง และเป็นพืชที่สามารถเพาะปลูกได้ง่ายและให้ผลผลิตได้อย่างรวดเร็ว คุณค่าทางอาหารในเห็ด ได้แก่ น้ำ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เกลือแร่ วิตามิน และส่วนประกอบของกรดอะมิโน ดังแสดงในตารางที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 ตารางแสดงคุณค่าของเห็ดนางฟ้าต่อน้ำหนัก 100 กรัม

คุณค่าทางอาหาร	ปริมาณ
โปรตีน (กรัม)	3.36
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	4.79
กาก (กรัม)	0.642
ไขมัน (กรัม)	0.071
น้ำ (กรัม)	90.27
พลังงานความร้อน (แคลอรี่)	33.32
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	1.90
เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.86
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	87.44
วิตามินบีหนึ่ง (มิลลิกรัม)	0.006
วิตามินบีสอง (มิลลิกรัม)	0.08
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	3.56
ไนอาซีน (มิลลิกรัม)	3.56

ที่มา : กรมส่งเสริมการเกษตร (2540)

2.4.4 เห็ดหูหนู

เห็ดหูหนูเป็นเห็ดชนิดหนึ่งที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพดินฟ้าอากาศของประเทศไทย และเป็นเห็ดที่ประชาชนทั่วไปนิยมรับประทานกันมาก เพราะเห็ดหูหนูเป็นเห็ดที่มีรสชาติดี กลิ่นหอม กินอร่อย และเห็ดหูหนูยังมีคุณสมบัติพิเศษคือ ไม่ว่าจะนำมาปรุงอาหารประเภทไหนเห็ดหูหนูก็ยังคงสภาพความกรอบอยู่เสมอ นอกจากนี้เห็ดหูหนูยังมีปริมาณโปรตีน วิตามิน เกลือแร่ ฯลฯ ในปริมาณที่สูง และยังมีคุณสมบัติเป็นยาอายุวัฒนะอีกด้วย ชาวจีนเชื่อว่าเห็ดหูหนูสามารถรักษาโรคคอเจ็บ โรคโลหิตจาง และแก้ร้อนในเป็นอย่างดี เห็ดหูหนูเมื่อนำมาตากแห้งจะสามารถเก็บไว้ได้เป็นเวลานานโดยไม่เสื่อมคุณภาพ

เห็ดหูหนูเจริญได้ดีในเขตร้อน โดยเฉพาะสภาพภูมิอากาศเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เห็ดหูหนูจะเจริญเติบโตบนขอนไม้ที่เริ่มเปื่อยผุพัง ชาวจีนเป็นชาติแรกที่รู้จักวิธีเพาะและบริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เห็ดหูหนูกันมานานแล้ว สำหรับประเทศไทยได้ทดลองเพาะเห็ดหูหนูโดยการตัดไม้แคมากองสุมกันไว้ พอถึงฤดูฝนไม้จะเริ่มผุและมีเห็ดหูหนูเกิดขึ้น จากนั้นก็สามารถเก็บดอกเห็ดหูหนูได้เรื่อยๆ จนกว่าขอนไม้จะผุ เห็ดหูหนูจัดเป็นเห็ดที่เจริญเติบโตได้ดีในสภาพภูมิอากาศแทบทุกภาคของประเทศไทย วัสดุเหลือที่นำมาใช้ ได้แก่ ฟางข้าว ไม้เนื้ออ่อน ขี้เลื่อย ขุยมะพร้าว ซังข้าวโพด ฯลฯ (กรมชีวศึกษา, 2525)

2.4.4.1 ลักษณะทางชีววิทยา

เห็ดหูหนูที่นิยมเพาะกันในประเทศไทย ตามปกติจะมีอยู่ 2 พันธุ์ คือ

1. เห็ดหูหนูชนิดบาง

ชื่อทางวิทยาศาสตร์	:	*Auricularia auricular Judae Schrot*
ชื่อสามัญภาษาไทย	:	เห็ดหูหนู
ชื่อภาษาอังกฤษ	:	tree ear, wood ear
Class	:	Basidiomycetes
Subclass	:	Heterobasidiomycetidae
Order	:	Tremellales (Auriculariales)
Family	:	Auriculariaceae
Genus	:	*Auricularia*
Species	:	*Auricula*

2. เห็ดหูหนูชนิดหนา

ชื่อทางวิทยาศาสตร์	:	*Auricularia polytricha Saac.*
ชื่อสามัญภาษาไทย	:	เห็ดหูหนูชนิดหนา
ชื่อภาษาอังกฤษ	:	Jew's ear mushroom
Class	:	Basidiomycetes
Subclass	:	Heterobasidiomycetidae
Order	:	Tremellales (Auriculariales)
Family	:	Auriculariaceae

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Genus : *Auricularia*

Species : *Polytricha*

(กลุ่มบัณฑิตเกษตรก้าวหน้า, 2537 ; ปัญญา, 2538)

2.4.4.2 รูปร่างลักษณะ

1. เห็ดหูหนูชนิดบาง (*Auricularia auricular*) เป็นเห็ดที่สามารถเกิดได้ตามธรรมชาติทั่วทุกภาคของประเทศไทย เห็ดชนิดนี้ถ้าเกิดในบริเวณที่สูงจากระดับน้ำทะเลมากๆ จะมีสีค่อนข้างคล้ำ คล้ายเห็ดหูหนูของจีน เห็ดหูหนูพันธุ์นี้ลักษณะของดอกจะบาง มีสีน้ำตาลอ่อนหรือสีดำคล้ายเยลลี่ การออกดอกส่วนมากเป็นดอกเดี่ยวๆ ผิวเรียบ ไม่มีขนทั้งด้านบนและด้านล่าง บางพันธุ์ดอกมีลักษณะหยิกบางชนิดมีขนาดดอกใหญ่มาก ดอกเห็ดหูหนูสดจำนวน 10 – 13 กิโลกรัม เมื่อนำมาตากแห้งจะได้น้ำหนัก 1 กิโลกรัม (ปัญญา, 2538)

2. เห็ดหูหนูชนิดหนา (*Auricularia polytricha*) ดอกเห็ดชนิดนี้จะมีความหนามากกว่าเห็ดชนิดแรกมาก เมื่อตัดขอบดอกออกก็สามรถลอกดอกเห็ดออกเป็น 2 ชั้น ได้ง่าย ผิวด้านบนของหมวกดอกมีลักษณะเรียบ ส่วนผิวด้านล่างของหมวกดอกจะเป็นริ้วมีขนละเอียด เห็ดแต่ละชนิดจะมีลักษณะขนและสีของขนแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์เห็ด และที่สำคัญก็คือเห็ดหูหนูชนิดหนามีสรรพคุณทางยา และคุณค่าทางอาหารสูงกว่าชนิดบาง เห็ดพันธุ์นี้มีก้านดอกสั้นมากหรือแทบไม่มีเลย ดอกเห็ดจะบานคงทนกว่า น้ำหนักดี ดอกเห็ดสด 6 – 8 กิโลกรัม เมื่อนำมาตากแห้งจะได้น้ำหนัก 1 กิโลกรัม (ปัญญา, 2538)

2.4.4.3 คุณค่าทางโภชนาการของเห็ดหูหนู

เห็ดหูหนูชนิดประกอบด้วยกรดอะมิโนทั้งชนิดที่จำเป็น และไม่จำเป็น ในปริมาณที่แตกต่างกันมาก กรดอะมิโน วิตามิน และเกลือแร่ในเห็ดส่วนใหญ่พบว่า ส่วนใหญ่มีอยู่ในอัตราส่วนค่อนข้างสูง สำหรับการตรวจสอบความสามารถในการย่อยโปรตีนจากเห็ดพบว่าจะมีการย่อยร้อยละ 80 – 85 ในขณะที่เห็ดสดให้ค่าการย่อยของโปรตีนเพียงร้อยละ 70 – 75 (วิเคราะห์โดยใช้เอนไซม์ย่อยโปรตีนร่วมหลายชนิดโดยทำการทดลองภายนอกร่างกาย) (Krause and Mahan, 1979) ดังตารางที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 ตารางแสดงคุณค่าของเห็ดหูหนูชนิดหนาต่อน้ำหนัก 100 กรัม

คุณค่าทางอาหาร	ปริมาณ
โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	7.25
คาร์โบไฮเดรต (เปอร์เซ็นต์))	71.50
กาก (เปอร์เซ็นต์))	18.70
ไขมัน (เปอร์เซ็นต์))	0.07
ความชื้น (เปอร์เซ็นต์))	85.70
พลังงานความร้อน (แคลอรี่)	321.50
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	333.60
เหล็ก (มิลลิกรัม)	14.30
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	122.10
วิตามินบีหนึ่ง (มิลลิกรัม)	0.008
วิตามินบีสอง (มิลลิกรัม)	1.173
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	0.38
ไนอาซีน (มิลลิกรัม)	0.43

ที่มา : วารสารสถาบันอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัสดุ

เห็ดนางฟ้า ซื้อจากตลาดนัดสุวรรณภูมิ เขตลาดกระบัง

เห็ดหูหนู ซื้อมาจากตลาดนัดสุวรรณภูมิ เขตลาดกระบัง

โปรตีนเกษตร ผลิตโดย สถาบันค้นคว้าและวิจัยพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซื้อจากตลาดนัดหัวตะเข้ เขตลาดกระบัง

เกลือบริโภคเสริมไอโอดีน ตราทหาร

ซีอิ๊วขาวสูตร 1 ตราเด็กสมบูรณ์

กระเทียม ซื้อจากตลาดนัดสุวรรณภูมิ เขตลาดกระบัง

พริกขี้หนู ซื้อจากตลาดนัดสุวรรณภูมิ เขตลาดกระบัง

3.1.2 อุปกรณ์

หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (Autoclave) ; Harvey รุ่น Hydroclave MC 10

ตู้เขี่ยเชื้อ (Larminar air flow) ; ISSCO Lamimar air flow รุ่น BVT 123

ตู้บ่มอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (incubator) ; Memmert วท-29-306-36-01

ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส (Hot air oven); รุ่น ED 53

เครื่องสกัดไขมัน(Soxtherm apparatus) รุ่น BUCHI 810

เครื่องกลั่นไนโตรเจน (Gerhardt) รุ่นVapodest 30

เตาเผา (Carbolite Furnaces); Bamford Sheffied S30 2AU

เครื่องย่อย (Block digestor)

เครื่องตีป่น (Stomacher) ; Seward Medical London SE 1PP รุ่น BA 7021

เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง ; Shimazu รุ่น Libror EB-4000H

เครื่องชั่งละเอียด 3 ตำแหน่ง ; Sartorius analytic รุ่น A200S

เครื่องเขย่าผสม (vortex mixer) ;Vortex Genie 2 รุ่น G-560E

กล้องจุลทรรศน์ (microscope) ; Olympus รุ่น CH5

เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ; Denver Instrument รุ่น 215

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โถดูดความชื้น (Desiccator)

เตาเผา (Muffle Furnace)

ครก

หลอดย่อย (Distilling unit)

เซลลูโลส ทิมเบิล (Cellulose thimble)

ถ้วยอบตัวอย่างพร้อมฝา

ถ้วยสำหรับเผาเถ้า (Porcelain dish)

บิวเรต

ช้อนสแตนเลส

หลอดทดลอง

ผ้าขาวบาง

อุปกรณ์ทำครัว

เครื่องแก้วชนิดต่างๆ

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

Bromocresol purple -Alibaba

อาหาร Baird Parker Agar (BPA) (BioMARK)

อาหาร Bismuth Sulfite (BS) Agar (Difco)

อาหาร Braub Heart Infusion (BHI) broth (BioMARK)

อาหาร Escherichia coli broth (EC) (Himedia)

อาหาร Hektoen Enteric (HE) Agar (Himedia)

อาหาร Lactabacillus MRS Broth (MRS broth) (Sisco)

อาหาร Lauryl Sulphate Trytose (LST) broth (Scharlau Microbiology)

อาหาร Levine's Eosin Methylene Blue (L-EMB) Agar (BioMARK)

อาหาร Luria-Bertani (LB) broth (BioMARK)

อาหาร Lysine Indole Motility (LIM) (BioMARK)

อาหาร Plate count Agar (PCA) (ภาคผนวก ข)

อาหาร Rapport- vassiliadis (RV) broth (BioMARK)

อาหาร Tetrathionate (TT) Broth (BioMARK)

อาหาร Triple sugar Iron (TSI) (BioMARK)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) (BioMARK)

อาหาร Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) (BioMARK)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การผลิตแหนมเห็ด

ส่วนประกอบในการผลิตแหนมเห็ด ดังนี้

1. เห็ด	700	กรัม
2. โปรตีนเกษตร	200	กรัม
3. ข้าวสุก	50	กรัม
4. กระเทียม	50	กรัม
5. เกลือ	1	ช้อนโต๊ะ
6 ซีอิ้วขาว	2	ช้อนโต๊ะ
7. พริกขี้หนู	เล็กน้อย (แล้วแต่ความชอบ)	

การเตรียมวัตถุดิบ

กระบวนการผลิตแหนมเห็ดอุปกรณ์ต่างๆ ต้มฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิน้ำเดือดเป็นเวลา 1 – 2 นาที

1.เห็ดนางฟ้า นำมาล้างด้วยน้ำที่สะอาด ประมาณ 5 นาที แล้ว ฉีกออกเป็นเส้นๆละเอียด นำไปนึ่ง ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

2. เห็ดหูหนู นำมาล้างด้วยน้ำที่สะอาด ประมาณ 5 นาที แล้ว หั่นออกเป็นเส้นๆละเอียด นำไปนึ่ง ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

3.ข้าวแดง และปลายข้าวหอมนำไปแช่น้ำ 15 นาที ส่วนข้าวเหนียวนำไปแช่น้ำเป็นเวลา 30 นาทีก่อนนำไปนึ่งให้สุกใช้เวลา 30 นาที เมื่อสุกแล้วบดให้มีขนาดเล็กลง แต่อย่ามีความละเอียดมากเกินไป เพราะจะทำให้แหนมเห็ดแฉะ

4.โปรตีนเกษตร ต้มน้ำให้เดือด ด้วยอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เมื่อน้ำเดือดแล้วนำโปรตีนเกษตรไปต้ม ประมาน 10 นาที เมื่อโปรตีนเกษตรนิ่มแล้วบีบน้ำออกให้หมด สับด้วยมีดเป็นชิ้นเล็กละเอียด จะได้โปรตีนเกษตรที่มีความละเอียดคล้าย เนื้อสับ หลังจากนั้นนำไปชั่งในสัดส่วนที่คิดคำนวณไว้แล้วในการผลิตแหนมเห็ด

5. กระเทียม ปอกเปลือกออกให้หมดสับด้วยมีด แบบละเอียด

6. พริกขี้หนู ล้างให้สะอาด หั่นด้วยมีดเป็นชิ้นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 ศึกษาสัดส่วนของเห็ดนางฟ้าและเห็ดหูหนูในการผลิตแหนมเห็ด

นำสูตรที่ใช้ในการผลิตแหนมเห็ดจากข้อที่ 3.2.1 มาแปรผันสัดส่วนของเห็ดนางฟ้าและ เห็ดหูหนู ดังนี้

สูตรที่ 1 ประกอบด้วยเห็ดนางฟ้า 400 กรัมต่อเห็ดหูหนู 300 กรัม

สูตรที่ 2 ประกอบด้วยเห็ดนางฟ้า 500 กรัมต่อเห็ดหูหนู 200 กรัม

สูตรที่ 3 ประกอบด้วยเห็ดนางฟ้า 600 กรัมต่อเห็ดหูหนู 100 กรัม

การเตรียมแหนมเห็ดแต่ละสูตร ดังนี้

1. นำเห็ดนางฟ้าและเห็ดหูหนู ที่ผ่านการฉีกและนึ่งแล้ว มาชั่งแล้วใส่ลงในชามผสมปริมาณสัดส่วนที่คำนวณไว้

2. นำโปรตีนเกษตรที่สับอย่างละเอียด ชั่งและใส่ลงในชามผสม หลังจากนั้นนำข้าวสุกใส่ลงไป ตามด้วยกระเทียมสับละเอียด แล้วทำการนวด คลุกเคล้า

3. การนวด ต้องนวดเพื่อให้ส่วนผสมรวมตัวกัน และจะทำให้แหนมเห็ดมีลักษณะที่เหนียวขึ้น

4. นำส่วนผสมของแหนมเห็ดที่ผ่านการนวดแล้ว แบ่งออกมาห่อด้วยถุงพลาสติก ห่อละ 15 กรัม เติมพริกขี้หนูที่หั่นไว้ห่อละ 1 เม็ด ไล่อากาศออกให้หมดแล้วรัดให้แน่นด้วยหนังยาง เพราะจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในระหว่างการหมักสามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ ซึ่งแหนมที่ได้จะมีลักษณะการห่อแบบแหนมตุ้ม

5. เก็บแหนมไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน ตรวจหาค่าพีเอช จุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

3.2.3 ศึกษาปริมาณโปรตีนเกษตรและชนิดของข้าวในการผลิตแหนมเห็ด

เตรียมแหนมเห็ดโดยใช้อัตราส่วนของเห็ดนางฟ้าและเห็ดหูหนูที่เหมาะสมที่ให้ผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดที่ดีที่สุดจากข้อ 3.2.2 และใช้โปรตีนเกษตรกับชนิดของข้าวดังนี้

สูตรที่ 4 ประกอบด้วยโปรตีนเกษตร 200 กรัมและปลายข้าวหอม 50 กรัม

สูตรที่ 5 ประกอบด้วยโปรตีนเกษตร 150 กรัมและปลายข้าวหอม 100 กรัม

สูตรที่ 6 ประกอบด้วยโปรตีนเกษตร 100 กรัมและปลายข้าวหอม 150 กรัม

สูตรที่ 7 ประกอบด้วยโปรตีนเกษตร 200 กรัมและข้าวแดง 50 กรัม

สูตรที่ 8 ประกอบด้วยโปรตีนเกษตร 150 กรัมและข้าวแดง 100 กรัม

สูตรที่ 9 ประกอบด้วยโปรตีนเกษตร 100 กรัมและข้าวแดง 150 กรัม

สูตรที่ 10 ประกอบด้วยโปรตีนเกษตร 200 กรัมและข้าวเหนียว 50 กรัม

สูตรที่ 11 ประกอบด้วยโปรตีนเกษตร 150 กรัมและข้าวเหนียว 100 กรัม

สูตรที่ 12 ประกอบด้วยโปรตีนเกษตร 100 กรัมและข้าวเหนียว 150 กรัม

วิธีเตรียมแหนมเห็ดเหมือนข้อ 3.2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก ค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

เตรียมแหนมเห็ดที่ได้จากข้อ 3.2.3 บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน เก็บผลทุกๆ 12 ชั่วโมงเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก ค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

3.2.5 ศึกษาองค์ประกอบทางด้านเคมีของแหนมเห็ด

เตรียมแหนมที่ได้จากข้อ 3.2.3 บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน นำมาชั่งน้ำหนัก 2 กรัม และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้า ปริมาณไขมัน ปริมาณโปรตีน (ภาคผนวก ก) เปรียบเทียบกับแหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน และแหนมเห็ดตรานายอุทัย

3.2.6 ศึกษาจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในแหนมเห็ด

เตรียมแหนมที่ได้จากข้อ 3.2.3 บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน นำมาชั่งน้ำหนัก 25 กรัม และนำไปตรวจหา *Staphylococcus aureus Salmonella E. coli* (ภาคผนวก ก)

3.2.7 ศึกษาการยอมรับด้านประสาทสัมผัส

การศึกษาการยอมรับของผู้บริโภค ทางด้านประสาทสัมผัสที่มีต่อแหนมเห็ดที่ผลิตเอง เปรียบเทียบกับแหนมเห็ดที่ซื้อตามท้องตลาด 2 ชนิด และแหนมเห็ดที่ทำขึ้นเอง เป็นการศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อแหนมเห็ด จะใช้ผู้ชิมจำนวน 15 คน ทำการทดสอบชิม 3 ครั้ง โดยให้คะแนนแบบความชอบ (Hedonic Preference Test) ซึ่งมีแบบฟอร์มการให้คะแนน (ภาคผนวก ค)

3.3 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยา อาคารจุฬาภรณวลัยลักษณ์ 1 และอาคารวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4 ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย

ธันวาคม 2554- เมษายน 2555

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาสัดส่วนของเห็ดนางฟ้าและเห็ดหูหนูในการผลิตแหนมเห็ด

แหนมเห็ดสูตรที่ 1 ซึ่งมีส่วนผสมของเห็ดนางฟ้า 400 กรัม และเห็ดหูหนู 300 กรัม โปรตีนเกษตร 200 กรัม ข้าวสุก 50 กรัม กระเทียม 50 กรัม พริกขี้หนูเล็กน้อย เกลือ 1 ช้อนโต๊ะ และซีอิ้วขาว 2 ช้อนโต๊ะ ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน พบว่าวันที่ 0 ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.46 และลดลงเรื่อยๆจนวันที่ 3 มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.68 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่าในวันที่ 0 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ $0.30x10^5$ CFU/กรัม และมีการเพิ่มขึ้นจนวันที่3 พบว่ามีจุลินทรีย์เท่ากับ $1.16x10^8$ CFU/กรัม จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 0 ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 3 พบการเจริญของแบคทีเรียกรด แลคติกเท่ากับ $1.20x10^8$ CFU/กรัม และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกพบว่าในวันที่ 0 มีปริมาณเท่ากับ 0.06 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มขึ้นถึงวันที่ 3 มีปริมาณกรดแลคติก 0.36 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตในแต่ละวันมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช (ตารางที่ 4.1) ลักษณะโดยรวมของแหนมเห็ดสูตรนี้สีค่อนข้างคล้ำและไม่ค่อยเกาะตัวกัน เนื่องจากมีส่วนผสมของเห็ดหูหนูในปริมาณมาก

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

วันที่	พีเอช	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/กรัม)	แบคทีเรียกรดแลคติก(CFU/กรัม)	กรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)
0	6.46	$0.30x10^5$	-	0.06
1	4.89	$3.35x10^5$	$2.90x10^5$	0.21
2	3.96	$1.26x10^7$	$1.25x10^7$	0.27
3	3.68	$1.16x10^8$	$1.20x10^8$	0.36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหนมเห็ดสูตรที่ 2 ซึ่งมีส่วนผสมของเห็ดนางฟ้า 500 กรัม และเห็ดหูหนู 200 กรัม โปรตีนเกษตร 200 กรัม ข้าวสุก 50 กรัม กระเทียม 50 กรัม พริกขี้หนูเล็กน้อย เกลือ 1 ช้อนโต๊ะ และซีอิ้วขาว 2 ช้อนโต๊ะ ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน พบว่าวันที่ 0 ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.52 และลดลงเรื่อยๆจนวันที่ 3 มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.66 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่าในวันที่ 0 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ $0.20x10^5$ CFU/กรัม และมีการเพิ่มขึ้นจนวันที่3 พบว่ามีจุลินทรีย์เท่ากับ $2.01x10^8$ CFU/กรัมจำนวนแบคทีเรียกรด แลคติกในวันที่ 0 ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 3 พบการเจริญของแบคทีเรียกรด แลคติกเท่ากับ $1.98x10^8$ CFU/กรัม และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกพบว่าในวันที่ 0 มีปริมาณเท่ากับ 0.09 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มขึ้นถึงวันที่ 3 มีปริมาณกรดแลคติก 0.39 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตในแต่ละวันมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช (ตารางที่ 4.2) ลักษณะโดยรวมของแหนมเห็ดสูตรนี้มีการเกาะตัวกันดีกว่าสูตรที่ 1 เนื่องจากมีลักษณะการเกาะตัวที่ดีกว่า และสีของแหนมเห็ดมีความคล้ำน้อยลง

แหนมเห็ดสูตรที่ 3 ซึ่งมีส่วนผสมของเห็ดนางฟ้า 600 กรัม และเห็ดหูหนู 100 กรัม โปรตีนเกษตร 200 กรัม ข้าวสุก 50 กรัม กระเทียม 50 กรัม พริกขี้หนูเล็กน้อย เกลือ 1 ช้อนโต๊ะ และซีอิ้วขาว 2 ช้อนโต๊ะ ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน พบว่าวันที่ 0 ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.12 และลดลงเรื่อยๆจนวันที่ 3 มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.69 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่าในวันที่ 0 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ $0.30x10^5$ CFU/กรัม และมีการเพิ่มขึ้นจนวันที่3 พบว่ามีจุลินทรีย์เท่ากับ $1.92x10^7$CFU/กรัมจำนวนแบคทีเรียกรด แลคติกในวันที่ 0 ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 3 พบการเจริญของแบคทีเรียกรด แลคติกเท่ากับ $1.89x10^7$CFU/กรัม และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกพบว่าในวันที่ 0 มีปริมาณเท่ากับ 0.03 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มขึ้นถึงวันที่ 3 มีปริมาณกรดแลคติก 0.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตในแต่ละวันมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช (ตารางที่ 4.3) ลักษณะโดยรวมของแหนมเห็ดสูตรนี้สีนี้มีการเกาะตัวเป็นก้อนเนื่องจากเห็ดนางฟ้าที่ใช้มีการฉีกเป็นเส้นๆ ช่วยในการยึดเกาะกันดียิ่งขึ้น สีของแหนมเห็ดไม่คล้ำน่ารับประทาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

วันที่	พีเอช	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/กรัม)	แบคทีเรียกรดแลคติก(CFU/กรัม)	กรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)
0	6.52	$0.20x10^5$	-	0.09
1	4.55	$6.10x10^5$	$2.90x10^5$	0.30
2	3.98	$1.81x10^7$	$1.15x10^7$	0.33
3	3.66	$2.01x10^8$	$1.98x10^8$	0.39

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

วันที่	พีเอช	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/กรัม)	แบคทีเรียกรดแลคติก(CFU/กรัม)	กรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)
0	6.12	$0.30x10^5$	-	0.03
1	4.51	$2.75x10^5$	$3.05x10^6$	0.15
2	3.81	$1.47x10^7$	$2.31x10^7$	0.33
3	3.69	$1.92x10^7$	$1.89x10^7$	0.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนเกษตรและชนิดของข้าวในการผลิตแหนมเห็ด

แหนมเห็ดสูตรที่ 4 ซึ่งมีส่วนผสมของเห็ดนางฟ้า 600 กรัม และเห็ดหูหนู 100 กรัม โปรตีนเกษตร 200 กรัม ปลายข้าวหอม 50 กรัม กระเทียม 50 กรัม พริกขี้หนูเล็กน้อย เกลือ 1 ช้อนโต๊ะ และซีอิ้วขาว 2 ช้อนโต๊ะ ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน พบว่าวันที่ 0 ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5.22 และลดลงเรื่อยๆจนวันที่ 3 มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.31 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่าในวันที่ 0 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 4.01×10^5 CFU/กรัม และมีการเพิ่มขึ้นจนวันที่3 พบว่ามีจุลินทรีย์เท่ากับ 1.30×10^7 CFU/กรัมจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 0 ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 3 พบการเจริญของแบคทีเรียกรด แลคติกเท่ากับ 8.40×10^5 CFU/กรัม และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกพบว่าในวันที่ 0 มีปริมาณเท่ากับ 0.24 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มขึ้นถึงวันที่ 3 มีปริมาณกรดแลคติก 0.54 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตในแต่ละวันมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช (ตารางที่ 4.4) ลักษณะโดยรวมของแหนมเห็ดสูตรนี้สีนี้มีลักษณะร่วน ไม่เกาะตัว เมื่อนำไปทอดจะแตกไม่เป็นก้อน เนื่องจากมีประมาณโปรตีนเกษตรมาก

แหนมเห็ดสูตรที่ 5 ซึ่งมีส่วนผสมของเห็ดนางฟ้า 600 กรัม และเห็ดหูหนู 100 กรัม โปรตีนเกษตร 150 กรัม ปลายข้าวหอม 200 กรัม กระเทียม 50 กรัม พริกขี้หนูเล็กน้อย เกลือ 1 ช้อนโต๊ะ และซีอิ้วขาว 2 ช้อนโต๊ะ ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน พบว่าวันที่ 0 ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5.40 และลดลงเรื่อยๆจนวันที่ 3 มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.86 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่าในวันที่ 0 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 3.24×10^5 CFU/กรัม และมีการเพิ่มขึ้นจนวันที่3 พบว่ามีจุลินทรีย์เท่ากับ 1.72×10^7 CFU/กรัมจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 0 ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 3 พบการเจริญของแบคทีเรียกรด แลคติกเท่ากับ 1.72×10^7 CFU/กรัม และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกพบว่าในวันที่ 0 มีปริมาณเท่ากับ 0.18 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มขึ้นถึงวันที่ 3 มีปริมาณกรดแลคติก 0.54 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตในแต่ละวันมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช (ตารางที่ 4.5) ลักษณะโดยรวมของแหนมเห็ดสูตรนี้สีนี้มีลักษณะการเกาะตัวที่ดีขึ้นแต่ยังพบการแตกตัวเมื่อนำไปทอด เนื่องมาจากปลายข้าวหอมมะลิมีขนาดเล็กและไม่ยึดเกาะกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

วันที่	พีเอช	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/กรัม)	แบคทีเรียกรดแลคติก(CFU/กรัม)	กรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)
0	5.22	$4.01x10^5$	-	0.24
1	4.49	$4.91x10^5$	$7.21x10^4$	0.45
2	4.47	$9.50x10^6$	$6.20x10^5$	0.48
3	4.31	$1.30x10^7$	$8.40x10^5$	0.54

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

วันที่	พีเอช	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/กรัม)	แบคทีเรียกรดแลคติก(CFU/กรัม)	กรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)
0	5.40	$3.24x10^5$	-	0.18
1	4.46	$1.21x10^6$	$1.01x10^4$	0.36
2	4.37	$2.23x10^6$	$1.24x10^6$	0.45
3	3.86	$1.72x10^7$	$1.72x10^7$	0.54

แหนมเห็ดสูตรที่ 6 ซึ่งมีส่วนผสมของเห็ดนางฟ้า 600 กรัม และเห็ดหูหนู 100 กรัม โปรตีนเกษตร 100 กรัม ปลายข้าวหอม 150 กรัม กระเทียม 50 กรัม พริกขี้หนูเล็กน้อย เกลือ 1 ช้อนโต๊ะ และซีอิ้วขาว 2 ช้อนโต๊ะ ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน พบว่าวันที่ 0 ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5.43 และลดลงเรื่อยๆจนวันที่ 3 มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.27 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่าในวันที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 2.10x10^{5}CFU/กรัม และมีการเพิ่มขึ้นจนวันที่ 3 พบว่ามีจุลินทรีย์เท่ากับ 2.10x10^{7}CFU/กรัมจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 0 ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 3 พบการเจริญของแบคทีเรียกรด แลคติกเท่ากับ 4.20x10^{6}CFU/กรัม และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกพบว่าในวันที่ 0 มีปริมาณเท่ากับ 0.12 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มขึ้นถึงวันที่ 3 มีปริมาณกรดแลคติก 0.63 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตในแต่ละวันมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช (ตารางที่ 4.6) ลักษณะโดยรวมของแหนมเห็ดสูตรนี้สีนี้มีลักษณะเนื้อสัมผัสไม่เกาะตัวกัน ปลายข้าวหอมมะลิในปริมาณมากทำให้แหนมแตกเมื่อทำไปทอด

แหนมเห็ดสูตรที่ 7 ซึ่งมีส่วนผสมของเห็ดนางฟ้า 600 กรัม และเห็ดหูหนู 100 กรัม โปรตีนเกษตร 200 กรัม ข้าวแดง 50 กรัม กระเทียม 50 กรัม พริกขี้หนูเล็กน้อย เกลือ 1 ช้อนโต๊ะ และซีอิ้วขาว 2 ช้อนโต๊ะ ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน พบว่าวันที่ 0 ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.21 และลดลงเรื่อยๆจนวันที่ 3 มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.19 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่าในวันที่ 0 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 0.25x10^{5}CFU/กรัม และมีการเพิ่มขึ้นจนวันที่ 3 พบว่ามีจุลินทรีย์เท่ากับ 1.20x10^{8}CFU/กรัมจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 0 ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 3 พบการเจริญของแบคทีเรียกรด แลคติกเท่ากับ 3.22x10^{7}CFU/กรัม และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกพบว่าในวันที่ 0 มีปริมาณเท่ากับ 0.09 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มขึ้นถึงวันที่ 3 มีปริมาณกรดแลคติก 0.54 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตในแต่ละวันมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช (ตารางที่ 4.7) ลักษณะโดยรวมของแหนมเห็ดสูตรนี้สีนี้มีลักษณะเนื้อสัมผัสเกาะตัวกันอย่างดี มีกลิ่นที่พึงประสงค์ เมื่อนำไปทอดเกาะตัวกันอย่างดี

แหนมเห็ดสูตรที่ 8 ซึ่งมีส่วนผสมของเห็ดนางฟ้า 600 กรัม และเห็ดหูหนู 100 กรัม โปรตีนเกษตร 150 กรัม ข้าวแดง 100 กรัม กระเทียม 50 กรัม พริกขี้หนูเล็กน้อย เกลือ 1 ช้อนโต๊ะ และซีอิ้วขาว 2 ช้อนโต๊ะ ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน พบว่าวันที่ 0 ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.26 และลดลงเรื่อยๆจนวันที่ 3 มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.69 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่าในวันที่ 0 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 1.08x105CFU/กรัม และมีการเพิ่มขึ้นจนวันที่ 3 พบว่ามีจุลินทรีย์เท่ากับ 1.00x108CFU/กรัมจำนวนกรดแบคทีเรียแลคติกในวันที่ 0 ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 3 พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกเท่ากับ 4.67x107CFU/กรัม และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกพบว่าในวันที่ 0 มีปริมาณเท่ากับ 0.15 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มขึ้นถึงวันที่ 3 มีปริมาณกรดแลคติก 0.54 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตในแต่ละวันมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช (ตารางที่ 4.8) ลักษณะโดยรวมของแหนมเห็ดสูตรนี้สีนี้มีลักษณะเนื้อสัมผัสเกาะตัวกันอย่างดี ไม่แตกตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

วันที่	พีเอช	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/กรัม)	แบคทีเรียกรดแลคติก(CFU/กรัม)	กรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)
0	5.43	$2.10x10^5$	-	0.12
1	4.42	$4.20x10^6$	$3.14x10^5$	0.45
2	4.37	$1.30x10^7$	$1.20x10^6$	0.54
3	4.27	$2.10x10^7$	$4.20x10^6$	0.63

ตารางที่ 4.7 แสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

วันที่	พีเอช	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/กรัม)	แบคทีเรียกรดแลคติก(CFU/กรัม)	กรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)
0	6.21	$0.25x10^5$	-	0.09
1	4.44	$3.21x10^5$	$2.89x10^5$	0.36
2	4.26	$4.26x10^7$	$3.21x10^6$	0.45
3	4.19	$1.20x10^8$	$3.22x10^7$	0.54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

วันที่	pH	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/กรัม)	แบคทีเรียกรดแลคติก(CFU/กรัม)	กรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)
0	6.26	$1.08x10^5$	-	0.15
1	4.56	$3.05x10^5$	$2.85x10^5$	0.21
2	4.38	$1.82x10^7$	$3.22x10^6$	0.33
3	3.69	$1.00x10^8$	$4.62x10^7$	0.54

แหนมเห็ดสูตรที่ 9 ซึ่งมีส่วนผสมของเห็ดนางฟ้า 600 กรัม และเห็ดหูหนู 100 กรัม โปรตีนเกษตร 100 กรัม ข้าวแดง 150 กรัม กระเทียม 50 กรัม พริกขี้หนูเล็กน้อย เกลือ 1 ช้อนโต๊ะ และซีอิ้วขาว 2 ช้อนโต๊ะ ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน พบว่าวันที่ 0 ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.27 และลดลงเรื่อยๆจนวันที่ 3 มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.65 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่าในวันที่ 0 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ $1.08x10^5$CFU/กรัม และมีการเพิ่มขึ้นจนวันที่ 3 พบว่ามีจุลินทรีย์เท่ากับ $1.01x10^8$CFU/กรัมจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 0 ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 3 พบการเจริญของแบคทีเรียกรด แลคติกเท่ากับ $5.21x10^7$CFU/กรัม และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกพบว่าในวันที่ 0 มีปริมาณเท่ากับ 0.18 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มขึ้นถึงวันที่ 3 มีปริมาณกรดแลคติก 0.54 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตในแต่ละวันมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช (ตารางที่ 4.9) ลักษณะโดยรวมของแหนมเห็ดสูตรนี้สีนี้มีลักษณะเนื้อสัมผัสเกาะตัวกันอย่างดี มีกลิ่นที่พึงประสงค์

แหนมเห็ดสูตรที่ 10 ซึ่งมีส่วนผสมของเห็ดนางฟ้า 500 กรัม และเห็ดหูหนู 200 กรัม โปรตีนเกษตร 200 กรัม ข้าวเหนียว 50 กรัม กระเทียม 50 กรัม พริกขี้หนูเล็กน้อย เกลือ 1 ช้อนโต๊ะ และซีอิ้วขาว 2 ช้อนโต๊ะ ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน พบว่าวันที่ 0 ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5.31 และลดลงเรื่อยๆจนวันที่ 3 มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.01 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่าในวันที่ 0 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ $7.85x10^4$ CFU/กรัม และมีการเพิ่มขึ้นจนวันที่3 พบว่ามีจุลินทรีย์เท่ากับ $7.45x10^6$ CFU/กรัม จำนวนแบคทีเรียกรด แลคติกในวันที่ 0 พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก $1.07x10^4$ ในวันที่ 3 พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกเท่ากับ $1.56x10^6$ CFU/กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกพบว่าในวันที่ 0 มีปริมาณเท่ากับ0.06 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มขึ้นถึงวันที่ 3 มีปริมาณกรดแลคติก 0.48 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตในแต่ละวันมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช (ตารางที่ 4.10) ลักษณะโดยรวมของแหนมเห็ดสูตรนี้มีการเกาะตัวกันไม่ค่อยแน่นเท่าที่ควร

แหนมเห็ดสูตรที่ 11 ซึ่งมีส่วนผสมของเห็ดนางฟ้า 500 กรัม และเห็ดหูหนู 200 กรัม โปรตีนเกษตร 150 กรัม ข้าวเหนียว 100 กรัม กระเทียม 50 กรัม พริกขี้หนูเล็กน้อย เกลือ 1 ช้อนโต๊ะ และซีอิ้วขาว 2 ช้อนโต๊ะ ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน พบว่าวันที่ 0 ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.20 และลดลงเรื่อยๆจนวันที่ 3 มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.36 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่าในวันที่ 0 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ $2.65x10^4$ CFU/กรัม และมีการเพิ่มขึ้นจนวันที่3 พบว่ามีจุลินทรีย์เท่ากับ $9.90x10^5$ CFU/กรัม จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 0 พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก $1.03x10^4$ ในวันที่ 3 พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกเท่ากับ $7.20x10^5$ CFU/กรัม และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกพบว่าในวันที่ 0 มีปริมาณเท่ากับ0.06 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มขึ้นถึงวันที่ 3 มีปริมาณกรดแลคติก 0.42 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าปริมาณกรด แลคติกที่ผลิตในแต่ละวันมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช (ตารางที่ 4.11) ลักษณะโดยรวมของแหนมเห็ดสูตรนี้มีการเกาะตัวไม่ดีเท่าที่ควร

ตารางที่ 4.9 แสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

วันที่	พีเอช	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/กรัม)	แบคทีเรียกรดแลคติก(CFU/กรัม)	กรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)
0	6.27	$1.08x10^5$	-	0.18
1	4.62	$3.21x10^5$	$3.01x10^5$	0.21
2	4.40	$1.85x10^7$	$1.66x10^7$	0.48
3	3.65	$1.01x10^8$	$5.21x10^7$	0.54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 แสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

วันที่	พีเอช	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/กรัม)	แบคทีเรียกรดแลคติก(CFU/กรัม)	กรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)
0	5.31	$7.85x10^4$	$1.07x10^4$	0.06
1	458	$5.80x10^4$	$8.40x10^3$	0.15
2	4.33	$2.06x10^5$	$5.80x10^5$	0.39
3	4.01	$7.45x10^6$	$1.56x10^6$	0.48

ตารางที่ 4.11 แสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

วันที่	พีเอช	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/กรัม)	แบคทีเรียกรดแลคติก(CFU/กรัม)	กรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)
0	6.20	$2.65x10^4$	$1.03x10^4$	0.06
1	4.61	$6.20x10^4$	$2.21x10^4$	0.18
2	4.61	$1.56x10^5$	$2.15x10^5$	0.33
3	4.36	$9.90x10^5$	$7.20x10^5$	0.42

แหนมเห็ดสูตรที่ 12 ซึ่งมีส่วนผสมของเห็ดนางฟ้า 500 กรัม และเห็ดหูหนู 200 กรัม โปรตีนเกษตร 100 กรัม ข้าวเหนียว 150 กรัม กระเทียม 50 กรัม พริกขี้หนูเล็กน้อย เกลือ 1 ช้อนโต๊ะ และซีอิ้วขาว 2 ช้อนโต๊ะ ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน พบว่าวันที่ 0 ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5.38 และลดลงเรื่อยๆจนวันที่ 3 มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.38 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่าในวันที่ 0 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ $0.14x10^4$ CFU/กรัม และมีการเพิ่มขึ้นจนวันที่3 พบว่ามีจุลินทรีย์เท่ากับ $7.60x10^6$ CFU/กรัม จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 0 พบการเจริญของแบคทีเรียกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แลคติก $0.14x10^4$ ในวันที่ 3 พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกเท่ากับ $1.66x10^6$ CFU/กรัม และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกพบว่าในวันที่ 0 มีปริมาณเท่ากับ0.18 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มขึ้นถึงวันที่ 3 มีปริมาณกรดแลคติก 0.42 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าปริมาณกรด แลคติกที่ผลิตในแต่ละวันมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช (ตารางที่ 4.12) ลักษณะโดยรวมของแหนมเห็ดมีการเกาะตัวกันทีดี และมีกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์เท่าที่ควร

ตารางที่ 4.12 แสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

วันที่	พีเอช	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/กรัม)	แบคทีเรียกรดแลคติก(CFU/กรัม)	กรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)
0	5.38	$0.27x10^4$	$0.14x10^4$	0.18
1	4.48	$1.82x10^5$	$1.69x10^5$	0.36
2	4.43	$6.40x10^6$	$9.20x10^5$	0.39
3	4.38	$7.60x10^6$	$1.66x10^6$	0.42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก ค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

นำสูตรแหนมเห็ดที่เหมาะสมซึ่งประกอบด้วยเห็ดนางฟ้า 600 กรัม เห็ดหูหนู 100 กรัม โปรตีนเกษตร 150 กรัม ข้าวแดง 100 กรัม กระเทียม 50 กรัม พริกขี้หนู 5 กรัม เกลือ 2 ช้อนโต๊ะ และซีอิ้วขาว 1 ช้อนโต๊ะ นำแหนมที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน และมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก ค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก เป็นเวลา 5 วัน โดยทำการเก็บผลทุก 12 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.13 พบว่าค่าพีเอชเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 0 นั้นเท่ากับ 5.38 และมีการลดลงมากเริ่มต้นของการหมักคือในชั่วโมงที่ 24 และ 36 จากนั้นจะลดลงเรื่อยๆ ถึงจนชั่วโมงที่ 132 มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.33 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในชั่วโมงที่ 0 มีจำนวนเท่ากับ 1.70 x 10^4 CFU/กรัม จุลินทรีย์เริ่มต้นที่พบนี้อาจเกิดการปนเปื้อนมาจากจุลินทรีย์ในอากาศและจุลินทรีย์ที่อยู่ในส่วนผสมต่างๆ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นมาในชั่วโมงที่ 72 – 96 พบมากที่สุดในชั่วโมงที่ 132 มีจำนวน 2.05 x 10^9 CFU/กรัม จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในชั่วโมงที่ 0 ตรวจไม่พบการเจริญ และมีเพิ่มขึ้นมากในชั่วโมงที่ 24 จากนั้นจึงเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ พบมากที่สุดในชั่วโมงที่ 132 มีจำนวน 1.84 x 10^9 CFU/กรัม ค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามปริมาณของจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก มีปริมาณสูงสุดในชั่วโมงที่ 132 เท่ากับ 1.38 เปอร์เซ็นต์1

แหนมเห็ดสูตรนี้สามารถนำไปบริโภคได้ในชั่วโมงที่ 48 – 60 เนื่องจากเป็นช่วงที่ผลิตภัณฑ์มีค่า พีเอชเหมาะสมต่อการบริโภค ผลิตภัณฑ์แหนมต้องมีค่าพีเอชเมื่อถึงวัน เดือน ปี ที่ควรบริโภคต้องไม่เกิน 4.6 (มอก. 1219 - 2547) เนื่องจากพีเอชในระดับต่ำกว่า 4.6 จะมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ ถ้าหลังจากชั่วโมงที่ 60 เป็นต้นไปควรเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในอุณหภูมิต่ำเพื่อหยุดการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในการสร้างกรดแลคติกซึ่งจะทำให้แหนมมีรสเปรี้ยวมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 ตารางแสดงค่าพีเอช จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกของแหนมเห็ดจากสูตรที่เหมาะสม

วันที่	เวลา (ชั่วโมง)	ค่าพีเอช	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/กรัม)	แบคทีเรียกรดแลคติก (CFU/กรัม)	กรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)
0	0	5.38	1.70×10^{4}	*	0.06
	12	5.31	1.82×10^{4}	2.30×10^{3}	0.08
1	24	5.04	2.01×10^{5}	1.05×10^{6}	0.15
	36	4.58	4.01×10^{5}	1.50×10^{6}	0.30
2	48	4.40	1.00×10^{6}	**	0.42
	60	4.27	2.09×10^{6}	1.57×10^{6}	0.63
3	72	4.01	2.14×10^{7}	5.60×10^{6}	0.69
	84	3.64	1.65×10^{8}	8.90×10^{6}	0.81
4	96	3.54	7.30×10^{8}	6.85×10^{7}	1.02
	108	3.44	8.45×10^{8}	5.70×10^{8}	1.05
5	120	3.40	9.50×10^{8}	7.50×10^{8}	1.17
	132	3.33	2.05×10^{9}	1.84×10^{9}	1.38

หมายเหตุ : * คือ ไม่พบการเจริญ

** คือ ไม่สามารถตรวจนับได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการศึกษาองค์ประกอบทางด้านเคมีของแหนมเห็ด

นำแหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสมและทำการบ่มเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง มาศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้า ปริมาณไขมัน และปริมาณโปรตีน โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างแหนมเห็ดที่วางจำหน่ายในท้องตลาด 2 ตัวอย่าง ได้แก่ แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน จังหวัดเพชรบูรณ์ และ แหนมเห็ด ตรานายอุทัย จังหวัดเชียงราย ผลการศึกษาการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของแหนมเห็ดแสดงดังตารางที่ 4.14

ตารางที่ 4.14 ตารางแสดงค่าการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี

แหนมเห็ด	ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	เถ้า (เปอร์เซ็นต์)	ไขมัน (เปอร์เซ็นต์)	โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)
สูตรที่เหมาะสม	79.69	1.76	10.65	3.68
ปาบัว แคมป์สน	83.62	3.64	14.58	2.88
ตรานายอุทัย	78.46	4.11	9.58	3.06

จากตารางแสดงค่าการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีพบว่า ปริมาณความชื้นของแหนมเห็ดปาบัว แคมป์สม มี ปริมาณสูงที่สุดเท่ากับ 83.62 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือแหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสม และแหนมเห็ดตรานายอุทัย มีปริมาณความชื้นเท่ากับ 79.69 และ 78.46 ตามลำดับ แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน มีความชื้นสูงสุดเนื่องมาจากมีปริมาณน้ำในเนื้อของผลิตภัณฑ์มากที่สุด โดยที่แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน มีการใช้หนังหมูเป็นส่วนผสมด้วย และขนาดของเห็ดก็มีขนาดใหญ่จึงทำให้มีปริมาณความชื้นสูงที่สุด

ปริมาณเถ้าของแหนมเห็ดตรานายอุทัย มีปริมาณสูงที่สุดเท่ากับ 4.11 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือแหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน และแหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสม มีปริมาณเถ้าเท่ากับ 3.64 เปอร์เซ็นต์ และ 1.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แหนมเห็ดตรานายอุทัย มีปริมาณเถ้าสูงที่สุดเนื่องมาจากขนาดของเห็ดมีขนาดใหญ่ รองลงมาคือแหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน ส่วนในแหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสมนั้นมีการฉีกเห็ดเป็นเส้นจึงทำให้มีปริมาณเถ้าน้อยที่สุด

ปริมาณไขมันของแหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน มีปริมาณไขมันสูงที่สุดเท่ากับ 14.58 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือแหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสม และแหนมเห็ดตรานายอุทัย มีปริมาณไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 10.65 เปอร์เซ็นต์ และ 9.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน มีปริมาณไขมันสูงที่สุดนั้นเนื่องมาจากส่วนผสมมีการใช้หนังหมูเป็นส่วนผสมรวมอยู่ด้วยจึงมีปริมาณไขมันสูงที่สุด

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีชนิดสุดท้ายคือ การหาปริมาณโปรตีน ปริมาณโปรตีนที่สูงที่สุดคือแหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสม เท่ากับ 3.68 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือแหนมเห็ดตรานายอุทัยและแหนมเห็ดปาบัว แคมป์สนมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 3.06 เปอร์เซ็นต์ และ 2.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสม มีปริมาณโปรตีนสูงสุดเนื่องจากมีการใช้โปรตีนเกษตรเป็นส่วนผสมรวมอยู่ด้วยจึงพบว่ามีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด

4.5 ผลการศึกษาจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในแหนมเห็ด

นำแหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสมและทำการบ่มเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง มาชั่งด้วยเทคนิคปลอดเชื้อปริมาตร 25 กรัมต่อเชื้อหนึ่งชนิด ใส่ลงในถุงตีป่นเติมสารละลายเปปโตนซาลีน 225 มิลลิลิตร ทำการเจือจางตามระดับความเจือจางที่ต้องการ และทำไปการวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดที่ก่อให้เกิดโรคในแหนม ได้แก่ *Staphylococcus aureus* *E. coli* และ *Salmonella* spp. ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.15 – 4.17

ตารางที่ 4.15 ตารางแสดงผลการตรวจหาจำนวน *Staphylococcus aureus* โดยวิธี MPN

ระดับความเจือจาง	ปริมาณตัวอย่างต่อหลอด (กรัม)	จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก (มี *S. aureus*)			
		หลอดที่ 1	หลอดที่ 2	หลอดที่ 3	รวม
10^{-1}	0.1	-	-	-	0
10^{-2}	0.01	-	-	-	0
10^{-3}	0.001	-	-	-	0

รูปแบบที่เลือก 0-0-0 (จากปริมาณตัวอย่างที่วิเคราะห์ 0.1, 0.01 และ 0.001 กรัม)

การคำนวณหาค่า MPN ต่อกรัม และค่า Confidence limit ของ S. *aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า MPN ต่อกรัม (จากตาราง) = < 3.0

ค่าMPN ต่อกรัมของตัวอย่าง = $\frac{3.0}{0.1}$ x 0.01 = 0.3

Confidence limit(จากตาราง) =(-)infinity – 9.5

Confidence limit ของตัวอย่าง = (-)infinity – 0.95

จากตารางการตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยวิธี MPN พบว่า หลอดทดลองทั้ง 3 ความเจือจาง คือ 10^{-1} 10^{-2} และ 10^{-3} ไม่มีหลอดที่ให้ผลบวก เมื่อนำผลการทดสอบไปเปิดตารางค่า MPN ต่อกรัม พบว่าจากตารางได้ < 3.0 และได้ ค่า MPN ต่อกรัม ของตัวอย่าง เท่ากับ 0.3 ค่า Confidence limit อยู่ที่ (–)infinity -9.5

ตารางที่ 4.16 ตารางแสดงผลการตรวจหาจำนวน *E. coli* ด้วยวิธี MPN

ระดับความเจือจาง	ปริมาณตัวอย่างต่อหลอด (กรัม)	จำนวนหลอด EC broth ที่มี *E. coli*			
		หลอดที่ 1	หลอดที่ 2	หลอดที่ 3	รวม
10^{-1}	0.1	+	-	-	1
10^{-2}	0.01	+	+	-	2
10^{-3}	0.001	-	+	-	1
10^{-4}	0.0001	-	-	-	0
10^{-5}	0.00001	-	-	-	0

รูปแบบที่เลือก 2-1-0 (จากปริมาณตัวอย่างที่วิเคราะห์ 0.01, 0.001 และ 0.0001 กรัม)

การคำนวณหาค่า MPN ต่อกรัม และค่า Confidence limit ของ *E. coli*

ค่า MPN ต่อกรัม (จากตาราง) = 6.8

ค่าMPN ต่อกรัมของตัวอย่าง = $\frac{6.8}{0.01}$ x0.001 = 0.68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Confidence limit(จากตาราง) = 1.8 – 17

Confidence limit ของตัวอย่าง = 0.18 – 1.7

จากตารางแสดงผลการตรวจหาเชื้อ *E.coli* พบว่า เกิดผลบวกในหลอดความเข้มข้น 10^{-1} 1 หลอด หลอดความเข้มข้น 10^{-2} 2 หลอด หลอดความเข้มข้น 10^{-3} 1 หลอด เมื่อนำผลการทดสอบไปเปิดตารางค่า MPN พบว่ามีค่า MPN ต่อกรัมจากตาราง เท่ากับ 6.8 และเมื่อเทียบจากกรัมของตัวอย่าง เท่ากับ 0.68 ค่า Confidence limit อยู่ที่ 1.8 – 17 ในความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95

ตารางที่ 4.17 ตารางแสดงการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp.

Triple sugar iron agar (TSI)				Lysine indole motility (LIM)		
slant	butt	H_2S	Gas	Lysine	Indole	Motile
K	-	-	-	-	+	-

จากการทำการทดลองหาเชื้อ *Salmonella* spp.ในแหนมเห็ดนางฟ้าและเห็ดหูหนูผลการทดลอง คือ ตัวอย่างอาหารในหลอด RV broth และ TT broth ที่บ่มใช้เวลา 24 ชั่วโมง นำมา steak ลง plate ผลที่ได้ออกมาคือ บนอาหาร XLD ถ้าเป็น *Salmonella* spp. โคโลนีจะมีสีชมพู มีหรือไม่มีจุดดำตรงกลาง ในการทดลองครั้งนี้โคโลนีไม่มีสีชมพู จึงนำโคโลนีในอาหาร XLD ที่สงสัยว่าเป็นเชื้อมาแทงลงในหลอด TSI เป็นหลอดที่มีสีเหลืองทั้งหลอด ผลปรากฏว่าไม่มีตะกอนสีดำที่ปลายหลอด ไม่มีฟองอากาศในหลอด TSI และในหลอดทดลอง LIM หลอดอาหารมีสีเหลือง เนื่องจากเชื้อไม่มีเอนไซม์ lysine decarboxylase แต่มีเอนไซม์ lysine deaminase ซึ่งจะไปย่อย lysine ไม่มีสีแดงหลังจากหยดโคแวกซ์ (KOVAC) หลอดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจะมีแต่รอย stab เท่านั้น

K = alkaline ปลายหลอด (slant) ของอาหาร TSI จะมีสีแดง (ชมพูบานเย็น)

A = acid ก้นหลอด (butt) TSI จะมีสีเหลืองเกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟต์

H_2S (+) = ในหลอด TSI จะเกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟต์ ซึ่ง *Salmonella* ส่วนใหญ่จะให้ผลบวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

H_2S (-) = ไม่มีตะกอนสีดำในหลอดอาหาร TSI เนื่องจากไม่มีไฮโดรเจนซัลไฟต์

Gas (+) = มีฟองอากาศดันวุ้นของอาหาร TSI เนื่องจาก *Salmonella* spp.ส่วนใหญ่จะหมักน้ำตาลกลูโคสแล้วได้กรดเพียงเล็กน้อย

Gas (-) = ไม่มีฟองอากาศให้เห็นในหลอดอาหาร TSI

Lysine (+) = จะมีสีม่วงทั้งหลอดเนื่องจากเชื้อ *Salmonella* มีเอนไซม์ lysine decarboxylase

Lysine (-) = หลอดอาหารมีสีเหลือง เนื่องจากเชื้อไม่มีเอนไซม์ lysine decarboxylase แต่มีเอนไซม์ lysine deaminase ซึ่งจะไปย่อย lysine

Indole (+) = มีสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากหยดน้ำยา KOVAC

Indole (-) = ไม่มีสีแดงหลังจากหยดน้ำยา KOVAC

Motile (+) = หลอดอาหาร LIM จะขุ่นทั้งหลอด ทั้งนี้เนื่องจาก *Salmonella* มีแฟลกเจลลาในการเคลื่อนที่ ดังนั้นเมื่อทำการแทงเชื้อลงในหลอดอาหาร LIM แล้วบ่มเชื้อ *Salmonella* จะเจริญเคลื่อนที่ออกจากรอยแทงไปทุกทิศทาง จึงเห็นหลอดมีลักษณะขุ่น

Motile (-) = หลอดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจะมีบริเวณรอยแทงเท่านั้น ส่วนบริเวณอาหารรอบรอยแทง จะใสเนื่องจากเชื้อไม่มีแฟลกเจลลาที่ใช้ในการเคลื่อนที่

จากการศึกษาจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในแหนมเห็ดทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* *E. coli* และ *Salmonella* spp. พบว่า *E. coli* มีการตรวจพบเชื้อบางเล็กน้อย ส่วน *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. ตรวจไม่พบการเจริญของเชื้อ สรุปว่าจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดไม่เกินมาตรฐานการผลิตแหนม ผู้บริโภคสามารถบริโภคได้อย่างปลอดภัย

4.6 ผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสม แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สม แหนมเห็ดตรานายอุทัยไปทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยทำการประเมินความชอบในด้านลักษณะปรากฏ ด้านกลิ่น ด้านรสชาติ และด้านความชอบโดยรวม ของผู้บริโภคจำนวน 15 คน โดยใช้แบบทดสอบ 9 – point hedonic scale ได้ผลดังตารางที่ 4.18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 ตารางแสดงคะแนนความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของแหนมเห็ดทั้ง 3 ตัวอย่าง

แหนมเห็ด	ลักษณะปรากฏ	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
1. แหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสม	6.8667[a]	5.8667[a]	5.3333[b]	5.4000[b]
2. แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน	7.4667[a]	7.2667[a]	7.5333[a]	7.4667[a]
3. แหนมเห็ด ตรานายอุทัย	6.4000[a]	6.8000[a]	6.8667[a]	6.8667[a]

หมายเหตุ : a,b อักษรต่างกันในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(P 0.05)

จากตารางแสดงคะแนนความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของแหนมเห็ดทั้ง 3 ตัวอย่างการประเมินความชอบด้านลักษณะปรากฏพบว่า คะแนนของแหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสมได้คะแนน 6.8667 แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สนได้คะแนน 7.4667 แหนมเห็ดตรานายอุทัยได้คะแนน 6.4000 จะเห็ดได้ว่าแหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน ได้รับคะแนนสูงสุด แต่แหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสม เมื่อเทียบกับตัวอย่างเห็ดตามท้องตลาดทั้ง 2 ชนิดแล้วไม่มีความแตกต่างทางนัยสำคัญทางสถิติ **($P \leq 0.05$)**

การประเมินความชอบด้านกลิ่น พบว่า คะแนนของแหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสมได้คะแนน 5.8667 แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สนได้คะแนน 7.2667 แหนมเห็ดตรานายอุทัยได้คะแนน 6.8000 จะเห็ดได้ว่าแหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน ได้รับคะแนนสูงสุด แต่แหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสม เมื่อเทียบกับตัวอย่างเห็ดตามท้องตลาดทั้ง 2 ชนิดแล้วไม่มีความแตกต่างทางนัยสำคัญทางสถิติ **($P \leq 0.05$)**

การประเมินความความชอบด้านรสชาติพบว่า คะแนนของแหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสมได้คะแนน 5.3333 แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สนได้คะแนน 7.5333 แหนมเห็ดตรานายอุทัยได้คะแนน 6.8667 แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน และ แหนมเห็ด ตรานายอุทัย มีคะแนนความชอบรสชาติที่ใกล้เคียงกันแต่แหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสมได้คะแนนความชอบด้านรสชาติที่ต่างกัน ซึ่งผู้บริโภคให้ความเห็นว่า ผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดที่ได้มีรสชาติเปรี้ยวมากจนเกินไป นอกจากนี้ยังมีรสชาติของซอสปรุงรส และยังไม่กลมกล่อม จึงทำให้คะแนนความชอบของผลิตภัณฑ์ลดลง

ดังนั้นเมื่อพิจารณาความชอบโดยรวมของแหนมเห็ดทั้ง 3 สูตรแล้วจึงพบว่าคะแนนความชอบโดยรวมของแหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสมได้คะแนน 5.4000 แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สนได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คะแนน 7.4667 และ แหนมเห็ด ตรานายอุทัยได้คะแนน 6.8667 แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน และแหนมเห็ด ตรานายอุทัย มีคะแนนความชอบโดยรวมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีคะแนนความชอบโดยรวมโดยเฉลี่ยรวมอยู่ระหว่าง 6.8667 - 7.4667 (ชอบปานกลาง) ในขณะที่แหนมเห็ดที่ผลิตได้ มีคะแนนความชอบโดยรวมเท่ากับ 5.4000 (เฉยๆ) ซึ่งผู้บริโภคให้ความเห็นว่าผลิตภัณฑ์แหนมเห็ดที่ได้มีลักษณะเละ เนื่องจากมีการฉีกเห็ดเส้นเล็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

1. การผลิตแหนมเห็ด ได้มีการหาสัดส่วนของเห็ดนางฟ้าต่อเห็ดหูหนู สัดส่วนที่เหมาะสมที่สุดคือ ปริมาณเห็ดนางฟ้า 600 กรัม และเห็ดหูหนู 100 กรัม โปรตีนเกษตร 150 กรัม ข้าวแดง 100 กรัม กระเทียม 50 กรัม พริกขี้หนูเล็กน้อย เกลือ 1 ช้อนโต๊ะ และซีอิ้วขาว 2 ช้อนโต๊ะ และนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีและทางจุลชีววิทยา

2. การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของแหนมเห็ด พบว่า พีเอชที่เหมาะสมสำหรับบริโภคอยู่ในช่วง พีเอช 4.40 - 4.01 กรดแลคติกอยู่ระหว่าง 0.42-0.69 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 79.69 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 1.76 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 10.65 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีน 3.68 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน และแหนมเห็ดตรานายอุทัย

3. เมื่อศึกษาจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียกรดแลคติกของแหนมเห็ดสูตรที่เหมาะสมเมื่อบ่มเป็นเวลา 72 ชั่วโมงพบว่ามีจำนวนจุลินทรียทั้งหมด 2.14×10^{7} แบคทีเรียกรดแลคติก ในช่วง $1.57 \times 10^{6} - 5.60 \times 10^{6}$ CFU ต่อกรัม เมื่อตรวจจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในตัวอย่างแหนมไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. *Staphylococcus aureus*,แต่ตรวจพบเชื้อ *E.coli* ได้ 0.68 MPNต่อกรัม ไม่เกินมาตรฐานการผลิตแหนม

4. การประเมินความชอบทางบ่มด้านประสาทสัมผัสพบว่า แหนมเห็ดที่ผลิตได้มีคะแนนด้านลักษณะปรากฏเท่ากับ 6.8667 คะแนน ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับตัวอย่างแหนมเห็ดที่นำมาทดสอบด้านกลิ่นเท่ากับ 5.8667 คะแนน ในด้านกลิ่นแหนมเห็ดที่ผลิตได้มีค่าใกล้เคียงกับตัวอย่างแหนมเห็ดที่นำมาทดสอบ ด้านรสชาติเท่ากับ 5.3333 และคะแนนด้านความชอบโดยรวมเท่ากับ 5.4000 ซึ่งเป็นคะแนนที่ได้น้อยที่สุด

ข้อเสนอแนะ

1.ในการผลิตแหนมเห็ดนั้นควรจะมีการควบคุมอุณหภูมิในการบ่มแหนมให้มีค่าคงที่เนื่องจากอุณหภูมิห้องปกติมีค่าสูงเกินไปอาจทำให้แหนมเสียง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ควรมีการคัดเลือกจุลินทรีย์กรดแลคติกจากแหนมเห็ดที่ขายตามท้องตลาด เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตแหนมเห็ด

3. การทำการประเมินทางด้านประสาทสัมผัสควรจะตัวอย่างแหนมเห็ดจากท้องตลาดที่ส่วนผสมที่ใกล้เคียงกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กมลวัลย์ ทองลิ่ม. 2541. สไลด์ประกอบคำบรรยายเรื่องกรรมวิธีการผลิตแหนมหนังหมู. กรุงเทพฯ : ปัญหาพิเศษ ปริญญาครุศาสตร์อุตสาหกรรมบัณฑิต. 43 น.

กลุ่มบัณฑิตเกษตรก้าวหน้า. 2537. คู่มือเทคนิคการเพาะเห็ดในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : 176 น.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2540. อาหารจานเห็ด. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : กองเกษตรสัมพันธ์. 46 น.

กรมอาชีวศึกษา. กระทรวงศึกษาธิการ. 2525. หลักการถนอมผลิตผลเกษตร. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์อักษรเจริญทัศน์ . 195 น.

กฤติกา ณ เชียงใหม่ ฉัตรชัย กิติพรชัย และมรกต สุกโชติรัตน์. 2548. จุลชีววิทยาของการหมักแหนม. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จรูญ คำนวณตา. 2509. แหนม1 จุลชีววิทยาของแหนม. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

ชฎาพร นุชจังหรีด. 2549. ประโยชน์ของเห็ดนานาชนิด. [Online] Available : http://www.uniserv.buu.ac.th /forum2/topic.asp?TOPIC_ID=1393. [10 April 2012].

นิตยา บุญทิม ธิดา ศรีป่วน ปริญญา จันทรศรี และสายสมร ลำยอง. 2548. การศึกษาการทำแหนมเห็ดไข่ ห่านเพื่อพัฒนาให้มีคุณภาพ. [Online] Available : http://www.scisoc.or.th/stt/31/sec_f/paper/stt31_F0012.pdf [11 April 2012].

ปัญญา โพธิ์จิติรัตน์. 2538. เทคโนโลยีการเพาะเห็ด. พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์รั้วเขียว. 421 น.

ปาริชาติ พนมศรีสกุล อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และบัญญัติ สุขศรีงาม. 2540. การเปรียบเทียบวิธีการตรวจวิเคราะห์ Salmonella จากอุจจาระด้วยวิธี MSRV กับวิธี Conventional culture. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. ชลบุรี. 21 – 32 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภัทรี เฮนะเกษตร. 2540. หลักการประกอบอาหาร. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีราชมงคลวิทยาเขตโชติ เวช. 226 น.

มณฑา ล้อดี. 2543. การพัฒนาผลิตภัณฑ์แหนมมังสวิรัติโดยใช้โปรตีนเกษตรทดแทนเนื้อสัตว์. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต. ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์. 2536. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระ จอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 230 น.

วชิราภรณ์ ผิวล่อง. 2553. การตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในแหนม. กลุ่มวิจัยและพัฒนานิวเคลียร์. สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน). [Online] Available : http://www.tint. or.th/nkc/nkc53/content/nstkc53-017.html. [05 April 2012].

วารสารสถาบันอาหาร. คุณค่าของเห็ดหูหนู. 2549.

ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด และอดิศร เสวตวิวัฒน์. 2548. การใช้ประโยชน์และการตรวจหาแบคทีเรียแลกติกในอาหาร. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 23(1): 88-101.

ศิวาพร ศิวเวช. 2535. วัตถุเจือปนอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร. นครปฐม : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 328 น.

ศรีเมือง มาลีหวล. 2524. การใช้โปรตีนถั่วเหลืองในการทำไส้กรอก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร-มหาบัณฑิต. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุณีย์ สิงหเสนี. 2546. การพัฒนาผลิตภัณฑ์แหนมโดยใช้ข้าวแดงเพื่อปรับปรุงสีผลิตภัณฑ์แหนม. ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สุมาลี เหลืองสกุล. 2536. จุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาชีววิทยา คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร กรุงเทพฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุรีย์ นานาสมบัติ. 2553. ปฏิบัติการจุลชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแปรรูปอาหาร. โครงการตำรา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2518. การศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการในระหว่างการทำแหนม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม. 2547. แหนม. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. มอก. 1219 – 2547 พี.เอ็น. เซ็นเตอร์เพรส, กรุงเทพฯ 8 น.

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2533. ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในการหมักแหนม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และนพรัตน์ หมานริน. 2542. การเปรียบเทียบ pre – enrichment 4 ชนิด ในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาจากอาหาร โดยวิธี MSRV. อาหาร. 29(3). 193 – 201 น.

อรนุช อุตภิชาติ. 2530. การคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติคที่สามารถยับยั้งการเจริญของซัลโมเนลลาและการผลิตกล้าเชื้อผงในการหมักแหนม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์บางเขน.

Association of Official Analysis Chemists, 2002, Official Methods of Analysis, 17th ed. AOAC, Gaithersburg

Bacus, J. N. 1984. Utilization of Microorganisms in Meat Processing. Researh studies Press, Ltd., England.

Comenuanta, J. 1966. Thai Fermented Pork. I. Microbiology of the Thai Fermented Pork. B.Sc. thesis, Kasetsart University, Thailand.

Deegan, L. H., Cotter, P. D., Hill, C. and Ross, P. 2006. Bacteriocins : Biological Tools for Bio-Preservation and Shelf-Life Extension. International Dairy Journal 16(9): 1058-1071

Delves-Broughton, J. 1990. Nisin and Its Use as Food Preservative. International Journal of Dairy Technology 43(3): 73-76.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Jack, R. W., Tagg, J. R. and Ray, B. 1995. Bacteriocins of Gram-Positive Bacteria. Microbiological Reviews 59: 171-200.

Klaenhammer, T. R. 1988. Bacteriocins of lactic acid bacteria. Biochimie 70 : 337 - 349.

Klettner, P.G., and Banmgartner, P.A. 1980. The technology of raw dry sausage manufacture. Food Technol. In Australia, 32(8) : 380 – 384

Krause, M.V. and Mahan, K.L. (1979). Food, Nutrition and Diet Therapy 6th Ed. W. B. Saunders Company, 7.FMOH. pp. 278-279.

Nettles, C. G. and Barefoot, S. F. 1993. Biochemical and Genetic Characteristics of Bacteriocins of Food-Associated Lactic Acid Bacteria. Journal of Food Protection 56: 338-356.

O'Sullivan, L., Ross, R. P. and Hill, C. 2002. Potential of Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria for Improvements in Food Safety and Quality. Biochimie 84(5-6): 593-604

Prescott, S.C. and Dann, C.G. 1959. Industrial Microbiology. MsGraw – Hill, New York.

Rogers, L. A. and Whittier, E. D. 1928. Limiting Factors in Lactic Fermentation. Journal of Bacteriology 16: 211-229.

Stiles, M. E. and Hastings, J. W. 1991. Bacteriocin Production by Lactic Acid Bacteria : Potential for Use in Meat Preservation. Trends in Food Science and Technology 2: 247-251.

Stiles, M. E. and Holzapfel, W. H. 1997. Lactic Acid Bacteria of Foods and Their Current Taxonomy. International Journal of Food Microbiology 36: 1-29.

Tagg, J. R., Dajani, A. S. and Wannamaker, L. W. 1976. Bacteriocins of Gram - Positive Bacteria. Microbiological Reviews 40: 722-756

Tittslerr., P., Pederson, C. S., Snelle, . E., Hendlxdn., and Nivenc,. F., JR (1952). Symposium on the lactic acid bacteria. Bacteriological Reviews 16, 227-260.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wikimedia Foundation, Inc. [Online] Available: http://en.wikipedia.org/wiki/Nisin. [17 April 2012].

Wiriyacharee, P.,Earle, M. D., Brooks, D. J., Page, G.and Rujanakraikarn , L. 1991

[Online] Available : http://chemistry.about.com/od/factsstructures/ig/Chemical-Structures---D/Diacetyl- or-Butanedione.htm. [28 April 2012].

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ก.1 วิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติก Lactic acid Bacteria (LAB) (ดัดแปลงจาก AOAC.,2002)

สารเคมี

- สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน เตรียมละลายฟีนอล์ฟธาลีน (AR grade) 5 กรัม ในเอธานอล

ร้อยละ96 ปริมาตร 400 มิลลิลิตรปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร

- สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล

การเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล

1. ต้มน้ำกลั่นให้เดือดประมาณ 20 นาที เพื่อไล่แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ทิ้งให้เย็นโดยเก็บในภาชนะที่มีฝาปิด

2. ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH, AR grade) ที่มีโซเดียมคาร์บอเนตน้อยกว่าร้อยละ 5 ละลายด้วยน้ำกลั่นในข้อ 1. ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก ลงในขวดเออร์เลนเมเยอร์ เขย่าให้ละลาย ปิดปากขวดไม่ให้สัมผัสอากาศ ตั้งทิ้งให้โซเดียมคาร์บอเนตตกตะกอนจนได้สารละลายใส (ประมาณ 10 วัน)

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยใช้สารละลายในข้อ 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในข้อ 1. จนได้ 1 ลิตร

วิธีการ

- ชั่งตัวอย่างแหนม 3 กรัม บดให้ละเอียดเติมน้ำกลั่นที่ต้มไล่คาร์บอนไดออกไซด์ 50 มิลลิลิตร
- กรองด้วยกระดาษกรองนำน้ำใสที่ได้เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 2 - 3 หยด
- ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล จนกระทั่งถึงจุดยุติ เกิดสีชมพู คำนวณหาปริมาณกรดแลคติกตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก} = \frac{N \times V \times 90.01 \times 100}{1{,}000 \times \text{กรัมของตัวอย่าง}}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH

V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.2 การวัดค่าพีเอช (ดัดแปลงจาก AOAC.,2002; นภา,2529)

นำตัวอย่างแหนม 20 กรัม มาบดให้ละเอียด เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน วัดด้วยเครื่องวัด pH meter

ก.3 การวิเคราะห์เชื้อ Lactic Acid Bacteria (LAB) (ดัดแปลงจาก AOAC.,2002; นภา,2529)

วิธีการ

- ชั่งตัวอย่างแหนม 25 กรัม นำไปใส่ในน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ในถุงสเตอร์ไลต์

- นำไปตีด้วยเครื่อง Stomacher ซึ่งขั้นตอนดังกล่าวจะได้สารละลายตัวอย่าง 1:10 จากนั้นทำการเจือจางต่อแบบ 10 ความเจือจาง จนได้ความเจือจาง $1:10^2$ จนถึง $1:10^7$ โดยดูดสารละลายจาก

ถุงสเตอร์ไรด์มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่มีเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ อยู่ 9 มิลลิลิตรทำการเจือจางต่อจนได้ความเจือจางในระดับ $1:10^7$

- ใช้ปิเปตดูดสารจาก ทุกระดับความเจือจางมา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในเพลตเทอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar + Bromocersol purple 0.5 เปอร์เซ็นต์เททับลงไปเพลต ทำการ pour plate นำเพลต ที่ทำการ pour plate แล้วไปบ่มแบบไร้อากาศในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมานับเชื้อโดยตรวจนับโคโลนีที่มีโซนสีเหลืองรอบโคโลนี

ก.4 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (Moisture) วิธีการนี้ดัดแปลงมาจาก Moisture in Animal Feed. (7.007) Official Methods of Analysis. 2002.

วิธีการ

- นำถ้วยอบตัวอย่างพร้อมฝา ที่ล้างสะอาดและแห้งอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง นำออกใส่ในโถดูดความชื้นและทิ้งให้เย็น ไม่เกิน 2 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งบันทึกน้ำหนัก

- ชั่งตัวอย่างอาหารที่บดละเอียดขนาด 1 มิลลิเมตร ประมาณ 2 กรัม ใส่ลงในถ้วยอบบันทึก

น้ำหนัก ปิดฝาถ้วย แล้วเขย่าเล็กน้อยให้ตัวอย่างกระจายเต็มพื้นที่สม่ำเสมอ นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมงหรือจนน้ำหนักคงที่ โดยให้มีระยะห่าง 1 ถ้วย ต่อความจุของตู้ 1 ลิตร ขณะที่อบต้องเปิดฝาถ้วย

- เมื่อครบกำหนดเวลา นำถ้วยอบออกใส่ในโถดูดความชื้นและปิดฝาถ้วย แล้วปล่อยให้เย็น ไม่เกิน 2 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(W_1 - W_2) \times (100)}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

W_1 คือ น้ำหนักถ้วยอบ + น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

W_2 คือ น้ำหนักถ้วยอบ + น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

ก.5 การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า ดัดแปลงมาจาก Moisture in Animal Feed. (7.007) Official Methods of Analysis. 2002.

วิธีการ

- นำถ้วยเปล่าอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เอาออกใส่ในโถดูดความชื้นปล่อยให้เย็น แล้วชั่งน้ำหนัก
- ชั่งตัวอย่างใส่ลงในถ้วยที่ทราบน้ำหนักแล้วประมาณ 2 กรัม นำไปท้าการเผาบนเตาไฟฟ้า จนหมดควัน
- นำตัวอย่างที่เผาไล่ควัน แล้วไปเผาต่อในเตาเผา (muffer furnace) อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง แล้วปิดสวิทช์เตาเผา เปิดฝาเตาออกรอจนอุณหภูมิภายในเตาลดเหลือประมาณ 100 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันมิให้ถ้วยสัมผัสอากาศเย็นกะทันหัน ซึ่งอาจทำให้ถ้วยแตกได้
- นำถ้วยออกมาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า} = \frac{(W_2 - W_1) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

W_1 คือ น้ำหนักถ้วย

W_2 คือ น้ำหนักถ้วย + น้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.6 การหาปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl method

สารเคมี

- กรดซัลฟูริกเข้มข้น 95-98 % ตวงกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 N (AR grade) 5.5 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 2 ลิตร

- กรดบอริค 4% ละลายกรดบอริก (AR grade) 40 กรัม ด้วยน้ำกลั่นร้อน รอจนสารละลายเย็นปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

วิธีการ

- ชั่งตัวอย่างมาประมาณ 0.5 – 1.0 กรัมใส่ลงในหลอดย่อย ใส่ตัวเร่งปฏิกิริยาประมาณ 10 กรัม

- เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น ลงไปประมาณ 10 – 15 มิลลิลิตร แล้วเขย่าเบาๆ

- เปิดเครื่องย่อย แล้วตั้งหลอดย่อยในเครื่อง สวมเครื่องดักจับไอกรดลงบนส่วนบนของหลอดย่อย เมื่ออุณหภูมิได้ 420 องศาเซลเซียสแล้ว เครื่องจะทำการย่อยต่อไปอีก 1 ชั่วโมง จนตัวอย่างเป็นสารละลายสีเขียวใส (หากเมื่อครบ 1 ชั่วโมงแล้วยังไม่เป็นสีเขียวใสให้ทำการย่อยต่อ ยกหลอดย่อยออกมา) - ตั้งพักไว้ให้เย็นเปิดเครื่องดักจับไอกรดไว้เพื่อดักจับไอกรดที่ยังคงเหลืออยู่ ทำการกลั่นแล้วเปิดเครื่องกลั่นทำการล้างระบบด้วยการล้างน้ำกลั่นตวงกรดบอริค 4% 25 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร พร้อมหยดอินดิเคเตอร์ ซึ่งจะทำให้กลายเป็นสารละลายสีแดงออกชมพูนำหลอดย่อยประกอบเข้ากับเครื่องกลั่น และวางไว้บริเวณ Plateform ให้แท่งแก้วจุ่มอยู่ใต้กรดบอริก ปิด Safety door ลง เครื่องกลั่นจะทำการกลั่นเป็นเวลาประมาณ 4 นาที

- เอาขวดรูปชมพู่ และหลอดย่อยออกจากเครื่อง นำสารละลายในขวดรูปชมพู่ไปไทเทรตกับสารละลายไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนได้สารละลายเป็นสีชมพู่อ่อน

คำนวณผลการวิเคราะห์ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน} = \frac{14 \times (v1 - v2) \times Normality\ of\ HCL\ (mol/L) \times 100}{Weight\ of\ Sample\ (g) \times 1000}$$

v1 = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ไตเตรทตัวอย่าง

v2 = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ไตเตรท blank

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์โปรตีน = เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน ×conversion factor

เมื่อ Conversion factor = 6.25

ก.7 การหาปริมาณไขมัน (ดัดแปลงจาก AOAC.,2002; นภา,2529)

สารเคมี

- กรดซัลฟูริกเข้มข้น 95 – 98% (H_2SO_4conc., AR grade)
- สารเร่งปฏิกิริยา [สารผสมระหว่าง copper sulfate ($CuSO_4.5H_2O$) กับ potassium sulfate (K_2SO_4) ในอัตราส่วน 1 : 9]
- สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล
- สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.1 นอร์มอล
- โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($C_8H_5KO_4$, AR grade)
- ฟีนอล์ฟธาลีน (Phenolphthalein)
- สกรีนเมทธิล เรด อินดิเคเตอร์ (Screened methyl red indicator)
- กรดบอริกความเข้มข้น 4% (w/v)
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 40% (w/v)

วิธีการ

- ชั่งน้ำหนักของฟลาสต์สกัดไขมัน แล้วจดน้ำหนักที่แน่นอนไว้ด้วย ชั่งตัวอย่างอาหาร 5 กรัม (จดน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ทิมเบิล (thimble)
- เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในฟลาสต์สำหรับสกัดไขมัน 150 มล. จากนั้นนำทิมเบิลใส่ลงไปวาง

ฟลาสต์ลงในเครื่องสกัดไขมัน ทำการสกัดประมาณ 2 ชั่วโมงแยก

- เอาฟลาสต์ออกจากเครื่องสกัดแล้วใช้คีมคีบทิมเบิลที่ใส่ตัวอย่างอาหารออกจากฟลาสต์ นำฟลาสต์ไประเหยเอาปิโตรเลียมอีเทอร์ออก แล้วอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนกว่าตัวทำละลายจะระเหยหมด จากนั้นทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก

คำนวณหาปริมาณไขมัน

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างกรัม(น้ำหนักแห้ง)}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.8 การตรวจหาจำนวน *Staphylococcus aureus* โดยวิธี Most Probable Mumber (สุรีย์,2553)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ เทใส่ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อแล้วเติมสารละลายเปปโตนซาลีนปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปตีป่นเป็นเวลา 2 นาที ทำการเจือจางตัวอย่างต่อไปที่ 10^{-2} และ 10^{-3} ด้วยสารละลายเปปโตนซาลีน

2. ถ่ายเชื้อแต่ละระดับความเจือจางปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร TSB ที่มีโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 และโซเดียมไพรูเวตความเข้มข้นร้อยละ 1 ระดับความเจือจางละ 3 หลอด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง

3. ถ่ายเชื้อ 1 ลูป จากหลอดที่มีการเจริญซึ่งเกิดความขุ่น ถ้าสังเกตเห็นจากเจริญเฉพาะที่ก้นหลอดหรือด้านข้างหลอดให้ผสมให้เข้ากันก่อนลากลงบนอาหาร BPA ที่มีผิวหน้าแห้ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4. ถ่ายเชื้อจากจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีที่น่าจะเป็นโคโลนีของ *Staphylococcus aureus* อย่างน้อย 1 โคโลนี ลงในอาหารเหลว BHI ทำการทดสอบการสร้างเอนไซต์โคแอกกลูเลส

5. นำจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกมาคำนวณหาจำนวน *Staphylococcus aureus* ในรูปของค่า MPN ต่อกรัมโดยใช้ตาราง MPN สำหรับ 3 หลอดในภาคผนวก

ก.9 การวิเคราะห์โดยตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp. (สุรีย์, 2553)

วิธีการ

การเตรียมตัวอย่างอาหารสำหรับการแยกเชื้อ *Salmonella*

1. เนื้อ และ ผลิตภัณฑ์เนื้อ เนื้อเทียม ผลพลอยได้จากเนื้อสัตว์

1.1 ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ด้วยเทคนิคปราศจากเชื้อใส่ลงในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ เติมอาหาร LB ปริมาตร 225 มิลลิลิตร

1.2 ตีป่นด้วยเครื่องตีป่นอาหารเป็นเวลา 2 นาที ถ่ายส่วนผสมที่ตีป่นแล้วลงในขวดปากกว้างที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 500 มิลลิลิตร หรือภาชนะอื่นที่เหมาะสม แล้วปิดฝาขวดให้แน่น ตั้งทิ้งไว้ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 ± 5 นาที (สำหรับตัวอย่างอาหารที่เป็นผงหรือบดละเอียดมาแล้วอาจไม่จำเป็นต้องตีป่น)

1.3 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจหาเชื้อและแยกเชื้อ *Salmonella*

1. ปิดฝาขวดตัวอย่างอาหารให้แน่นและเขย่าตัวอย่างอาหารที่บ่มแล้ว แหนม ปิเปตอาหารที่บ่มแล้ว 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว RV ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และปิเปตตัวอย่างอาหารเดิมอีก 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว TT ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2. บ่ม Selective enrichment media ในข้อ 1 ดังนี้

อาหารที่มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนมาก ให้บ่มอาหารเหลว RV ที่อุณหภูมิ 42 ± 0.2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมงในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิและบ่มอาหารเหลว TT ที่อุณหภูมิ 43 ± 0.2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมงในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

อาหารที่มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนน้อย ให้บ่มอาหารเหลว RV ที่อุณหภูมิ 42 ± 0.2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมงในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิและบ่มอาหารเหลว TT ที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมงในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

3. ผสมอาหารที่บ่มแล้วในหลอดจากข้อ 2 ให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมใช้ลูปปราศจากเชื้อแตะอาหาร TT ที่บ่มแล้วลากลงบนอาหาร Selective agar ที่มีผิวหน้าแห้ง 3 ชนิด (ชนิดละ 1 ลูปเต็ม) ด้วยเทคนิคการแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้แก่อาหาร BSA (ควรเตรียมก่อนใช้ 1 วัน และเก็บที่มืด ที่อุณหภูมิห้องจนกว่าจะใช้) อาหาร XLD และอาหาร HE สำหรับอาหาร RV หรือ SC ที่บ่มแล้วทำเช่นเดียวกับอาหาร TT นำจานอาหารทั้งหมดไปบ่มที่ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง

4. ตรวจดูโคโลนีบนอาหาร Selective agar ทั้ง 3 ชนิดว่า มีโคโลนีที่น่าจะเป็นโคโลนีของ *Salmonella* หรือไม่ ในลักษณะเฉพาะของโคโลนี *Salmonella* (typical *Salmonella* colony) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทั้ง 3 ชนิด เป็นดังนี้ (ให้เขี่ยเชื้อจากโคโลนีมีที่สงสัย $\geq$ 2 โคโลนี ถ้าพบลักษณะเฉพาะของโคโลนี *Salmonella* ในอาหารแต่ละชนิด)

ก. Hektoen Enteric (HE) Agar

โคโลนีสีน้ำเงินเขียวหรือน้ำเงินที่มีหรือไม่มีจุดสีดำตรงกลาง *Salmonella* อาจสร้างโคโลนีที่มีจุดสีดำขนาดใหญ่ตรงกลางหรืออาจมีสีดำเกือบทั้งโคโลนี

ข. Xylose lysine Desaxycholate (XLD) Agar

โคโลนีสีชมพูที่มีหรือไม่มีจุดสีดำตรงกลาง *Salmonella Salmonella* อาจสร้างโคโลนีที่มีจุดสีดำขนาดใหญ่ตรงกลางหรืออาจมีสีดำเกือบทั้งโคโลนี

ค. Bismuth Sulfite (BS) Agar

โคโลนีสีน้ำตาล เทา หรือ ดำ บางครั้งมันวาว คล้ายโลหะ บริเวณผิวของอาหารโดยรอบมักมีสีน้ำตาลตอนแรกอาจเปลี่ยนเป็นสีดำ เมื่อบ่มนานขึ้น (เรียกว่า Halo effect)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในกรณีที่ไม่พบลักษณะที่น่าจะเป็นโคโลนีของ *Salmonella* ให้เขี่ยเชื้อจากโคโลนีที่มีลักษณะอื่นๆที่ไม่ใช่ลักษณะโคโลนี *Salmonella* (typical *Salmonella* Colony) บนอาหารเลี้ยงเชื้อดังนี้

ก) HE และ XLD Agar โคโลนีที่มีลักษณะอื่นที่ไม่ใช่ลักษณะของโคโลนี *Salmonella* จะมีสีเหลืองโดยมีหรือไม่มีจุดดำบน HE และ XLD ถ้าไม่พบลักษณะที่น่าจะเป็นโคโลนีของเชื้อ *Salmonella* บน HE หรือ XLD หลังจากบ่ม 24 ± 2 ชั่วโมง ให้เขี่ยเชื้อจากโคโลนีที่มีลักษณะอื่นมาจำนวน 2 โคโลนี

ข) BS Agar โคโลนีที่มีลักษณะอื่นที่ไม่ใช่ลักษณะของโคโลนี *Salmonella* จะมีสีเขียวและอาหารรอบๆจะมีสีคล้ำเล็กน้อยหรือไม่มีเลย ถ้าไม่พบลักษณะที่น่าจะเป็นโคโลนี ของ *Salmonella* บน BSA หลังจากบ่ม 24 ± 2 ชั่วโมง ให้บ่มต่อไป อีก 24 ± 2 ชั่วโมง ถ้ายังไม่พบอีกให้เขี่ยเชื้อจากลักษณะอื่นมาจำนวน 2 โคโลนี

5.ใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้วแตะตรงกลางโคโลนีเบาๆ ถ่ายเชื้อลงใน Triple Sugar Iron (TSI) slant โดยการลาก (streak) ที่ผิวหน้าของบริเวณที่ลาดเอียง (Slant) และแทง (Stab) ลงไปจนถึงก้นหลอด จากนั้นใช้เข็มอันเดิมไม่ต้องเผาไฟ แทงลงในหลอดอาหาร Lysine Indole Motility (LIM) medium

6. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง คลายฝาหลอดอาหารเพื่อให้มีอากาศขณะที่บ่มและเพื่อป้องกันการสร้างไฮโดรเจนซัลไฟต์มีมากเกินไป ตรวจผลหลังการบ่มดังนี้

- ใน TSI *Salmonella* จะทำให้ส่วนของบริเวณที่ลาดเอียง มีสีแดง (Alkaline) และส่วนของก้นหลอด (butt) มีสีเหลือง (acid) โดยมีหรือไม่มีการสร้างไฮโดรเจนซัลไฟต์ ซึ่งสังเกตได้จากการที่วุ้นมีสีดำหรือไม่ ถ้าพบลักษณะดังกล่าว เก็บหลอดอาหาร TSI ไว้ทดสอบทางซีโรวิทยาต่อไป

- ใน LIM ทดสอบ 3 ชนิด คือ ไลซีน อินโดล และการเคลื่อนที่ โดยจะตรวจดูสีของอาหารก่อนเพื่อดูผลของการทดสอบไลซีน เชื้อ *Salmonella* ส่วนใหญ่จะให้ผลของไลซีนเป็นสีม่วง แต่ถ้าผลลบจะมีสีเหลือง จากนั้นตรวจดูการเคลื่อนที่ *Salmonella*

แฟลกเจลลาจะให้ผลการเคลื่อนที่เป็นบวก สังเกตจากความขุ่นของอาหารรอบรอยแทง ยกเว้น *S. pullorum* และ *S. gallinarum* ซึ่งไม่มีแฟลกเจลลาจะให้ผลการเคลื่อนที่เป็นลบ อาหารจะไม่ขุ่น จากนั้นทดสอบอินโดลโดยเปิดฝาหลอดทดลองแล้วหยดโคแวกซ์รีเอเจนท์ปริมาตร 0.2 –

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.3 มิลลิลิตร (3-4 มิลลิลิตร) ลงไปบนผิวหน้าของอาหาร LIM ถ้าเป็น *Salmonella* จะต้องให้ผลลบ คือเกิดสีเหลือง ถ้าให้ผลบวกจะเป็นสีแดง

ถ้าผลการทดสอบในอาหาร TSI ไม่พบปฏิกิริยาที่อาจชี้ว่าเป็น *Salmonella* ให้เขี่ยเชื้อจากโคโลนีอื่นในอาหาร Selective agar ทั้ง 3 ชนิดข้างต้นที่มีลักษณะที่ไม่ใช่ลักษณะโคโลนี *Salmonella* มาทดสอบโดยถ่ายเชื้อลงในอาหาร TSI และ LIM ด้วยวิธีการเช่นเดียวกัน

7. เลือกเชื้อในหลอดอาหาร TSI ที่คาดว่าจะเป็น *Salmonella* จำนวน 3 หลอด ที่ถ่ายเชื้อมาจากหลอดอาหาร RV และอีก 3 หลอด ที่ถ่ายเชื้อมาจากอาหาร TTโดยนำมาทดสอบทางชีวเคมีและซีโรวิทยา เพื่อจำแนกชนิด *Salmonella*

ก.10 การวิเคราะห์โดยตรวจหาเชื้อ *E. coli* (สุรีย์,2553)

วิธีการ

1. Presumptive test

1.1 ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัมด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ใส่ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ

1.2 เติมสารละลายบัตเตอร์ฟิลด์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปตีป่นด้วยเครื่องตีป่นอาหารเป็นเวลา 2 นาที ได้ตัวอย่างอาหารที่ระดับความเจือจาง 10 เท่า ทำการเจือตางต่อไปจนถึงระดับความเจือจางที่ 10^{-5}

1.3 ปิเปตตัวอย่างที่แต่ละระดับความเจือจาง (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} และ10^{-5}) ลงในหลอดอาหาร LST ที่มีหลอดดักแก๊ส หลอดละ 1 มิลลิลิตร ระดับความเจือจางละ 3 หลอด รวม 15 หลอด

1.4 นำหลอดอาหารทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง หลอดที่เกิดแก๊สอย่างน้อย 10 เปอร์เซ็นต์ ของหลอดดักแก๊สถือว่าให้ผลบวก ส่วนหลอดที่เกิดแก๊สน้อยและหลอดที่ไม่เกิดแก๊สให้บ่มต่อไปอีก 24 ± 2 ชั่วโมง นับเป็นจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกแล้วนำหลอดที่เกิดแก๊สไปทดสอบยืนยันในขั้นต่อไป

2. Confirmed test

2.1 นำลูปเขี่ยเชื้อจากหลอดบรรจุอาหาร LST ที่ให้ผลบวก ใส่ลงในอาหาร EC Broth หลอดต่อหลอด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดแก๊ส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 นับจำนวนหลอดที่เกิดแก๊สเพื่อยืนยันการเกิดแก๊สของหลอดอาหาร LST ในขั้นตอนของการบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส ตรวจการเกิดกรดและก๊าซภายใน 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ คำนวณค่า coliform bacteria จากตาราง MPN

3.Completedtestสำหรับการตรวจหา *E. coli*

3.1 เขี่ยเชื้อจากหลอดที่ให้ผลบวกในอาหาร EC broth ลากลงบนผิวหน้าอาหาร EMB ด้วยเทคนิคการแยกเชื้อบริสุทธิ์

3.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตรวจดูลักษณะโคโลนีที่สงสัยว่าจะเป็นโคโลนีของ *E. coli* โคโลนีของ *E. coli* จะมีขนาดเล็ก ลักษณะกลมสีเขียวตรงกลางเกือบมีสีดำและที่ผิวมีสีเขียวเหลือบเป็นเงาโลหะ (metallic sheen) ถ้าเป็น *Enterobacter* จะมีโคโลนีขนาดใหญ่ สีชมพูหรือชมพูม่วง มีลักษณะเยิ้มเป็นเมือก

3.3 เขี่ยเชื้อจากโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *E. coli* จากอาหาร EMB มาลากลงบนผิวอาหารหน้าของอาหาร PCA slant นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 -24 ชั่วโมง นำเชื้อที่เจริญบนอาหาร PCA มาย้อมแกรม สังเกตรูปร่างของเซลล์จากกล้องจุลทรรศน์ซึ่งจะเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ไม่สร้างสปอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

อาหารเลี้ยงเชื้อ

Plate Count Agar (PCA)

ส่วนประกอบ

Tryptone	5	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Dextrose	1	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	กรัม

วิธีเตรียม

ผสมส่วนผสมทุกชนิดในน้ำกลั่น ให้ความร้อนจนวุ้นละลาย นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พีเอช7.0 ± 0.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ชุดที่.....

ชื่อ.....

วันที่.....

ผลิตภัณฑ์ : ....

คำแนะนำ : มีผลิตภัณฑ์อยู่ 3 ตัวอย่างที่ทำการให้รหัสแล้ว กรุณาชิมทีละตัวอย่างตามลำดับจากซ้ายไปขวา แล้วใส่คะแนนลงในช่องว่างให้ตรงกับระดับความชอบของท่าน และกรุณาดื่มน้ำทุกครั้งก่อนชิมตัวอย่างถัดไป การให้คะแนนถือหลักเกณฑ์ต่อไปนี้

ชอบมากที่สุด	9	คะแนน	ไม่ชอบเล็กน้อย	4	คะแนน
ชอบมาก	8	คะแนน	ไม่ชอบปานกลาง	3	คะแนน
ชอบปานกลาง	7	คะแนน	ไม่ชอบมาก	2	คะแนน
ชอบเล็กน้อย	6	คะแนน	ไม่ชอบมากที่สุด	1	คะแนน
เฉยๆ	5	คะแนน			

คุณลักษณะ	รหัสของตัวอย่าง		
ลักษณะปรากฏ			
กลิ่น			
รสชาติ			
ความชอบโดยรวม			

ข้อเสนอแนะ :

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

"ขอบคุณ"

ภาคผนวก ง

Most Probable Number from Serial Dilution

ตารางแสดงค่า MPN ต่อกรัม สำหรับ 3 หลอดทดลอง ความเข้มข้น 0.1, 0.01 และ0.001 MPN/กรัม ที่ระดับนัยสำคัญร้อยละ 95

จำนวนหลอดทดสอบที่ให้ผลบวก			MPN / กรัม หรือ มิลลิลิตร
0.1 กรัม	0.01 กรัม	0.001 กรัม	
0	0	0	น้อยกว่า 3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
3	0	0	23
3	0	1	39
3	1	0	43
3	1	1	75
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	มากกว่า 1100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่า MPN ต่อกรัม สำหรับ 5 หลอดทดลอง ความเข้มข้น 0.1, 0.01 และ0.001 MPN/กรัม ที่ระดับนัยสำคัญร้อยละ 95

จำนวนหลอดทดสอบที่ให้ผลบวก			MPN / กรัม หรือ มิลลิลิตร
0.1 กรัม	0.01 กรัม	0.001 กรัม	
0	0	0	น้อยกว่า 1.8
0	0	1	1.8
0	1	0	1.8
0	1	1	3.6
0	2	1	3.7
0	2	1	5.5
0	3	0	5.6
1	0	0	2
1	0	1	4
1	1	2	6
1	1	0	4
1	1	1	6.1
1	1	2	8.1
1	2	0	6.1
1	2	1	8.2
1	3	0	8.3
1	3	1	10
1	4	0	11
2	0	0	4.5
2	0	1	6.8
2	0	2	9.1
2	1	0	6.8
2	1	1	9.2
2	1	2	12
2	2	0	9.3
2	2	1	12
2	2	2	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2	3	0	12
2	3	1	14
2	4	0	15
3	0	0	7.8
3	0	1	11
3	0	2	13
3	1	0	11
3	1	1	14
3	1	2	17
3	2	0	14
3	2	1	17
3	2	2	20
3	3	0	17
3	3	1	21
3	3	2	24
3	4	0	21
3	4	1	24
3	3	2	24
3	4	0	21
3	5	0	25
4	0	0	13
4	0	1	17
4	0	2	21
4	0	3	25
4	1	0	17
4	1	1	21
4	1	2	26
4	1	3	31
4	2	0	22
4	2	1	26
4	2	2	32
4	2	3	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4	3	0	27
4	3	1	33
4	3	2	39
4	4	3	34
4	4	0	40
4	4	1	47
4	5	2	41
4	5	3	48
5	0	0	23
5	0	1	31
5	0	2	43
5	0	3	58
5	1	0	33
5	1	1	46
5	1	2	63
5	1	3	84
5	2	0	49
5	2	1	74
5	2	2	94
5	2	3	120
5	2	4	150
5	3	0	79
5	3	1	110
5	3	2	140
5	3	3	180
5	3	4	210
5	4	0	130
5	4	1	170
5	4	2	220
5	4	3	280
5	4	4	350
5	4	5	430

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5	5	0	240
5	5	1	350
5	5	2	540
5	5	3	920
	5	4	1600
	5	5	มากกว่า 1600

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

1. ความชอบด้านลักษณะปรากฏ

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Point

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	54.889[a]	16	3.431	1.251	.293
Intercept	2149.356	1	2149.356	784.073	.000
Block	46.311	14	3.308	1.207	.324
Trement	8.578	2	4.289	1.565	.227
Error	76.756	28	2.741		
Total	2281.000	45			
Corrected Total	131.644	44			

a. R Squared = .417 (Adjusted R Squared = .084)

Post Hoc Tests

Trement

Homogeneous Subsets

Point

Duncan[a,b]

Trement	N	Subset 1
แหนมเห็ด ตรานายอุทัย	15	6.4000
แหนมเห็ดทำเอง	15	6.8667
แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน	15	7.4667
Sig.		.106

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 2.741.

. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Point

Duncan[a,b]

Trement	N	Subset 1
แหนมเห็ด ตรานายอุทัย	15	6.4000
แหนมเห็ดทำเอง	15	6.8667
แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน	15	7.4667
Sig.		.106

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 2.741.

. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

2. ความชอบด้านกลิ่น

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Point

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	72.889[a]	16	4.556	1.145	.365
Intercept	1986.689	1	1986.689	499.248	.000
Block	57.644	14	4.117	1.035	.450
Trement	15.244	2	7.622	1.915	.166
Error	111.422	28	3.979		
Total	2171.000	45			
Corrected Total	184.311	44			

a. R Squared = .395 (Adjusted R Squared = .050)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Trement

Homogeneous Subsets

Point

Duncan[a,,b]

Trement	N	Subset 1
แหนมเห็ดทำเอง	15	5.8667
แหนมเห็ด ตรานายอุทัย	15	6.8000
แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน	15	7.2667
Sig.		.079

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3.979.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = 0.05.

3. ความชอบด้านรสชาติ

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Point

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	91.156[a]	16	5.697	1.737	.097
Intercept	1947.022	1	1947.022	593.719	.000
Block	52.978	14	3.784	1.154	.360
Trement	38.178	2	19.089	5.821	.008
Error	91.822	28	3.279		
Total	2130.000	45			
Corrected Total	182.978	44			

a. R Squared = .498 (Adjusted R Squared = .211)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Trement

Homogeneous Subsets

Point

Duncan[a,,b]

Trement	N	Subset 1	Subset 2
แหนมเห็ดทำเอง	15	5.3333	
แหนมเห็ด ตรานายอุทัย	15		6.8667
แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน	15		7.5333
Sig.		1.000	.322

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3.279.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = 0.05.

4. ความชอบด้านความชอบโดยรวม

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Point

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	80.889[a]	16	5.056	1.571	.143
Intercept	1947.022	1	1947.022	605.143	.000
Block	46.978	14	3.356	1.043	.444
Trement	33.911	2	16.956	5.270	.011
Error	90.089	28	3.217		
Total	2118.000	45			
Corrected Total	170.978	44			

a. R Squared = .473 (Adjusted R Squared = .172)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Trement

Homogeneous Subsets

Point

Duncan[a,,b]

Trement	N	Subset 1	Subset 2
แหนมเห็ดทำเอง	15	5.4000	
แหนมเห็ด ตรานายอุทัย	15		6.8667
แหนมเห็ดปาบัว แคมป์สน	15		7.4667
Sig.		1.000	.367

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3.217.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = 0.05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้