ผลของอบเชยต่อ *Bacillus cereus* และ *Amylomyces rouxii* ในการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง

EFFECT OF CINNAMON ON *Bacillus cereus* AND *Amylomyces rouxii* IN STARTER POWDER FOR KHAO-MAK PRODUCTION

ชาญชัย ผดุงศักดิ์

CHANCHAI PHADUNGSAK

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

พ.ศ. 2550

KMITL-2007-AI-M-054-20

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของอบเชยต่อ *Bacillus cereus* และ *Amylomyces rouxii* ในการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง

EFFECT OF CINNAMON ON *Bacillus cereus* AND *Amylomyces rouxii* IN STARTER POWDER FOR KHAO-MAK PRODUCTION

ชาญชัย ผดุงศักดิ์

CHANCHAI PHADUNGSAK

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....76736
วัน,เดือน,ปี.....- 6 S.H. 2550

.b.....
.i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2550

KMITL-2007-AI-M-054-20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECT OF CINNAMON ON *Bacillus cereus* AND *Amylomyces rouxii* IN STARTER POWDER FOR KHAO-MAK PRODUCTION

CHANCHAI PHADUNGSAK

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SANITATION

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2007

KMITL-2007-AI-M-054-20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2007

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของอบเชยต่อ *Bacillus cereus* และ *Amylomyces rouxii* ในการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง

Effect of Cinnamon on *Bacillus cereus* and *Amylomyces rouxii* in Starter Powder for Khao-Mak Production

ชื่อนักศึกษา นายชาญชัย ผดุงศักดิ์

รหัสประจำตัว 46067903

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา สุขาภิบาลอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ประภาพร	ขอไพบูลย์	
ผศ.ดร.ศศิวิมล	ชื่นอิ่ม อาเหม็ด	
รศ.ดร.อดิศร	เสวตวิวัฒน์	
ผศ.ดร.รมณี	สงวนดีกุล	

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ 18 กันยายน 2550 เวลา 14.00 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ ห้องสัมมนา D 213 อาคารเจ้าคุณทหาร

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(รศ.ดร.จารุวัตร เจริญสุข)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 31 **เดือน** กันยายน **พ.ศ.** 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของอบเชยต่อ *Bacillus cereus* และ *Amylomyces rouxii* ในการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง
ชื่อนักศึกษา	นายชาญชัย ผดุงศักดิ์
รหัสนักศึกษา	46067903
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2550
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ. ดร. ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด

บทคัดย่อ

จากการตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อ *Bacillus cereus* ในลูกแป้งข้าวหมากที่ผลิตในประเทศไทยและผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่วางจำหน่ายตามท้องตลาดโดยวิธี spread plate บนอาหาร MYP agar พบว่ามี *B. cereus* ปนเปื้อนในลูกแป้งข้าวหมาก 2 ใน 10 ตัวอย่าง ซึ่งมีปริมาณเชื้อสูงถึง 10^4 CFU/g และในผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก 6 ใน 10 ตัวอย่าง ซึ่งมี *B. cereus* ปนเปื้อนสูงถึง 10^3 CFU/g จากการศึกษากระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่เหมาะสมโดยแปรผันอุณหภูมิและเวลาในการอบแห้งที่ 37°C นาน 24 ชั่วโมง ที่ 40 และ 45°C นาน 12 และ 24 ชั่วโมง และที่ 50°C นาน 6 ชั่วโมง พบว่าที่อุณหภูมิ 37°C นาน 24 ชั่วโมง ได้กล้าเชื้อข้าวหมากผงที่มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นเท่ากับ 9.43 และมีปริมาณเชื้อราอยู่ในช่วง 10^7 CFU/g ซึ่งไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม (ก่อนอบแห้ง) จากการศึกษาความเข้มข้นของอบเชยที่เติมลงในแป้งข้าวเจ้าเพื่อผลิตเป็นกล้าเชื้อข้าวหมากผงโดยแปรผันตามความเข้มข้นของอบเชยเท่ากับ 0%, 1%, 2% และ 3% โดยน้ำหนักแป้ง พบว่าความเข้มข้นของอบเชยที่มีผลยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้ คือ 2% และ 3% โดยน้ำหนัก ในขณะที่ความเข้มข้นของอบเชย 1% ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* อย่างไรก็ตาม พบว่าความเข้มข้นของอบเชยที่เหมาะสมสำหรับนำไปผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงคือที่ 2% เนื่องจากส่งผลกระทบต่อการรอดชีวิตของกล้าเชื้อรา *Amylomyces rouxii* น้อยกว่าการใช้อบเชยที่ 3% นอกจากนี้ จากการทดสอบประสิทธิภาพของกล้าเชื้อผงผสมอบเชยที่ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3% ในการหมักข้าวหมากเป็นระยะเวลา 30 ชั่วโมง พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (%Brix) ในน้ำต้อยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 2% เพื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ข้าวหมากทางการค้าโดยทดสอบปัจจัยด้าน คุณลักษณะทั่วไป กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความชอบรวม พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ยกเว้นปัจจัยด้านสี จากการประเมินอายุการเก็บรักษากล้าเชื้อข้าวหมากผง พบว่าช่วงระยะเวลาการเก็บรักษากล้าเชื้อข้าวหมากผง 0-90 วัน มีปริมาณเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รา *A. rouxii* อยู่ที่ประมาณ 5 Log cfu/g และเมื่อนำไปผลิตข้าวหมากให้ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำต้อยอยู่ในช่วง 35.5-41.5 เปอร์เซ็นต์ (ที่ระยะเวลาการหมัก 30 ชั่วโมง) นอกจากนี้ ไม่พบการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* ในกล้าเชื้อข้าวหมากผงตลอดอายุการเก็บรักษา 180 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Effect of cinnamon on *Bacillus cereus* and *Amylomyces rouxii* in starter powder for Khao-mak production
Student	Mr. Chanchai Phadungsak
Student ID.	46067903
Degree	Master of Science
Program	Food Sanitation
Year	2007
Thesis Advisor	Assist. Prof. Dr. Sasivimol Chuen-Im Ahmed

ABSTRACT

Contamination of *Bacillus cereus* in traditional Khao-mak starter dough (Loog-paeng) and commercial thai fermented rice (Khao-mak) was examined using spread plate method on MYP agar. The result showed that there was *B. cereus* contamination up to 10^4 cfu/g in two out of ten Loog-paeng Khao-mak samples and up to 10^3 cfu/g in six out of ten commercial Khao-mak products, respectively. An optimal dehydration condition for production of Khao-mak starter powder was studied by varying dehydration temperature and time as follow at 37°C for 24 hours, at 40°C for 12 and 24 hours, at 45°C for 12 and 24 hours and at 50°C for 6 hours. The result showed that the dehydration condition at 37°C for 24 hours could reduce the moisture content of Khao-mak starter powder to 9.43% with retaining the highest number of *Amylomyces rouxii* approximately 10^7 CFU/g, which was similar to that before hydration. Supplementation of cinnamon in rice flour for the production of Khao-mak starter powder in order to inhibit growth of *B. cereus* was found to be effective at 2% and 3% (w/w), whereas at 1% (w/w) cinnamon was unable to inhibit *B. cereus*. However, addition of 2% cinnamon (w/w) in Khao-mak starter powder showed less inhibitory effect on viability of *Amylomyces rouxii* compared to the 3% (w/w) cinnamon addition. Fermentation performance of *A. rouxii* in the Khao-mak starter powder supplemented with 0, 1, 2 and 3% (w/w) cinnamon showed that there was no significant difference in total soluble solid (%Brix) of the saccharified liquid obtained after 30 hours of fermentation. Sensory evaluation of Khao-mak product made from the use of Khao-mak starter powder compared with a commercial Khao-mak product showed no significant difference ($p<0.05$) in appearance, flavor, texture and overall acceptance, except color. The study of shelf life of Khao-mak starter powder showed that during 90 days of

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

storage at room temperature, the number of *A. rouxii* in the starter powder remained at approximately 5 Log cfu/g and the percentage of total soluble solid of the saccharified liquid obtained after 30 hours of fermentation was between 35.5 and 41.5. In addition, there was no sign of *B. cereus* contamination in the Khao-mak starter powder throughout 180 days of storage.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงได้ เนื่องจากได้รับความกรุณาเป็นอย่างสูงจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด ที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และกรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ ชี้แนะในสิ่งที่เป็นประโยชน์มาโดยตลอด อีกทั้งให้ความกรุณาในการตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์ยิ่งขึ้น นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้ที่มีส่วนสำคัญทำให้วิทยานิพนธ์เสร็จสมบูรณ์ดังต่อไปนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ. ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ และ รศ. ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์ ที่ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการในการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ ให้คำแนะนำและแก้ไข ตลอดจนการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ผศ. ดร. รมณี สงวนดีกุล จากภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้เกียรติสละเวลาเป็นคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒินอกสถาบันในการสอบวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ดร. เจริญ เจริญชัย คณบดี คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้ห้องปฏิบัติการในการทดลองและวิจัย ผู้จัดทำรู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่ให้การสนับสนุนทุนในการทำวิจัยแก่ผู้จัดทำจนสำเร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณบุพการี และขอบคุณพี่น้อง เพื่อนๆ ปริญญาโททุกคนที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้มาโดยตลอด ผู้จัดทำขออภัยหากการเขียนวิทยานิพนธ์เล่มนี้มีข้อบกพร่องพร้อมน้อมรับคำแนะนำและติชม

สุดท้ายนี้ คุณค่าและประโยชน์ที่พึงมีจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ผู้จัดทำขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

ชาญชัย ผดุงศักดิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III

กิตติกรรมประกาศ.....V

สารบัญ.....VI

สารบัญตาราง.....VIII

สารบัญภาพ.....XI

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....1

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....3

2.1 ผลิตภัณฑ์ข้าวหมากและลูกแป้งข้าวหมาก.....3

2.2 จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในกระบวนการหมักข้าวหมาก.....5

2.3 บทบาทของยีสต์ต่อการผลิตสารให้กลิ่นรสและสารเคมีที่เป็นโทษ.....7

2.4 แบคทีเรียที่มีความสำคัญในกระบวนการหมักข้าวหมากและไวน์ข้าว.....8

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....10

2.6 อบเชย.....14

2.7 ประสิทธิภาพของอบเชยในการยับยั้งจุลินทรีย์.....17

2.8 แบคทีเรียสกุล *Bacillus cereus*.....18

บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง.....25

3.1 วัตถุดิบและจุลินทรีย์.....25

3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ.....25

3.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....25

3.4 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง.....26

3.5 สถานที่ดำเนินการทดลอง.....26

3.6 วิธีดำเนินการทดลอง.....27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....30

4.1 ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* ในลูกแป้งข้าวหมากและผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก.....30

4.2 ศึกษากระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง.....34

4.3 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอบเชยในการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง.....35

4.4 ศึกษาผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อผงผสมอบเชย.....37

4.5 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก.....38

4.6 ศึกษาอายุการเก็บรักษาและประสิทธิภาพการหมักของกล้าเชื้อข้าวหมากผง.....38

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....40

5.1 สรุปผลการทดลอง.....40

เอกสารอ้างอิง.....42

ภาคผนวก.....46

ภาคผนวก ก.....47

ภาคผนวก ข.....51

ภาคผนวก ค.....58

ภาคผนวก ง.....66

ประวัติผู้เขียน.....73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ชื่อเรียกลูกแป้งตามภาษาท้องถิ่นของประเทศต่างๆ และการใช้ประโยชน์.....4

2.2 เกณฑ์กำหนดของสารเคมีในสุราแช่ตามพระราชบัญญัติกฎหมายสุรา.....7

2.3 ปริมาณสารฟูเซลออยล์ (Fusel oils) ในกิจกรรมการหมัก tape ketan ของเชื้อราและยีสต์.....11

2.4 สมุนไพรที่ใช้ในการทดลองการหมักไวน์ข้าว.....12

2.5 สารประกอบในน้ำมันหอมระเหยอบเชย.....16

2.6 ผลของอบเชยต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ.....17

2.7 การจำแนกลักษณะและคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Bacillus* sp.....21

2.8 ข้อกำหนดในการนำเข้าอาหารที่พบการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus*.....24

3.1 สภาวะที่ใช้ในการอบแห้งกล้าเชื้อข้าวหมากผง.....28

4.1 จำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่ปนเปื้อนในลูกแป้งข้าวหมากที่ผลิตในประเทศไทย.....31

4.2 ผลการตรวจนับจำนวนเชื้อ *B. cereus* ในผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก.....31

4.3 ปริมาณเชื้อราที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์ความชื้นหลังการอบแห้งกล้าเชื้อผงที่อุณหภูมิและเวลาต่างกัน.....34

4.4 จำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 0, 1, 2 และ 3%.....36

4.5 ปริมาณเชื้อรา *A. rouxii* ที่รอดชีวิตในกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 0, 1, 2 และ 3%.....37

4.6 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *A. rouxii* ในกล้าเชื้อผงผสมอบเชยที่ความเข้มข้นต่างๆต่อกิจกรรมการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลในกระบวนหมักข้าวหมาก.....37

4.7 ผลการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสระหว่างข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อผงผสมอบเชย 2% กับผลิตภัณฑ์ข้าวหมากทางการค้า.....38

4.8 อายุการเก็บรักษาและประสิทธิภาพการหมักของกล้าเชื้อผงผสมอบเชย 2%.....39

ภาคผนวก ค. ค.1 จำนวนเชื้อรา *A. rouxii* และปริมาณความชื้นหลังสภาวะการอบแห้ง.....59

ค.2 จำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 0, 1, 2 และ 3%.....59

ค.3 ผลของอบเชยต่อการรอดชีวิตของเชื้อรา *A. rouxii* หลังกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง.....59

ค.4 ผล ANOVA ของสภาวะการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง.....61

ค.5 ผล ANOVA ของเปอร์เซ็นต์ค่าความชื้นในกล้าเชื้อข้าวหมากผง.....61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ภาคผนวก ค. ค.6 ผล ANOVA ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 0%.....61
ค.7 ผล ANOVA ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 1%.....62
ค.8 ผล ANOVA ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 2%.....62
ค.9 ผล ANOVA ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 3%.....62
ค.10 ผล ANOVA ของปริมาณเชื้อรา *A. rouxii* ที่รอดชีวิตในกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 0, 1, 2 และ 3%.....62
ค.11 ผล ANOVA ของการทดสอบประสิทธิภาพกล้าเชื้อข้าวหมากผงในกิจกรรมการหมักข้าวหมาก.....63
ค.12 ผลANOVA ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (คุณลักษณะทั่วไป).....63
ค.13 ผล ANOVA ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (สี).....64
ค.14 ผล ANOVA ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (กลิ่นรส).....64
ค.15 ผล ANOVA ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (เนื้อสัมผัส).....65
ค.16 อายุการเก็บรักษาและประสิทธิภาพการหมักของกล้าเชื้อผงผสมอบเชย 2%..65
ค.17 ผล ANOVA อายุการเก็บรักษาของกล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 2%.....66
ค.18 ผล ANOVA ประสิทธิภาพการหมักของเชื้อรา *A. rouxii* ในกล้าเชื้อข้าวหมากผง (%Brix).....66
ค.19 ผล DUNCAN ของจำนวนเชื้อรา *A. rouxii* ที่มีชีวิตหลังสภาวะการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง.....66
ค.20 ผล DUNCAN ของค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นในกล้าเชื้อข้าวหมากผงหลังกระบวนการอบแห้ง.....67
ค.21 ผล DUNCAN ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 0%.....67
ค.22 ผล DUNCAN ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 1%.....67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ภาคผนวก ค. ค.23 ผล DUNCAN ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 2%.....68
ค.24 ผล DUNCAN ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 3%.....68
ค.25 ผล DUNCAN ของปริมาณเชื้อรา *A. rouxii* ที่รอดชีวิตในกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 0, 1, 2 และ 3%.....68
ค.26 ผล DUNCAN ของการทดสอบประสิทธิภาพกล้าเชื้อข้าวหมากผงในกิจกรรมการหมักข้าวหมาก.....69
ค.27 ผล DUNCAN ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (คุณลักษณะทั่วไป).....69
ค.28 ผล DUNCAN ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (สี).....70
ค.29 ผล DUNCAN ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (กลิ่นรส).....71
ค.30 ผล DUNCAN ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (เนื้อสัมผัส).....72
ค.31 ผล DUNCAN ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (ความชอบรวม).....73
ค.32 ปริมาณเชื้อรา *A. rouxii* ที่มีชีวิตระหว่างการเก็บรักษากล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 2%.....74
ค.33 ค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดระหว่างการเก็บรักษากล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 2%.....74
ภาคผนวก ง. ง.1 หลักเกณฑ์การให้คะแนน.....80
ง.2 คะแนนผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อผงผสมอบเชย 2%.....81
ง.3 คะแนนผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสข้าวหมากทางการค้า.....82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 ลูกแป้งข้าวหมากและผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก....3
2.2 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *A. rouxii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar....8
2.3 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Rh. oryzae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar....8
4.1 (ก-ค) ผลการทดสอบเชื้อ *B. cereus* ในอาหารเพาะเชื้อ Blood agar (รหัส LP01-LP10)....32
4.2 (ก-ข) ผลการทดสอบเชื้อ *B. cereus* ในอาหารเพาะเชื้อ Blood agar (รหัส KM02-KM10)....33
ภาคผนวก ก. ก.3.1 ลักษณะเชื้อ *B. cereus* และ *Bacillus sp.* บนอาหารเพาะเชื้อ MYP agar....50
ก.3.2 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *B. cereus* ที่แยกบนอาหารเพาะเชื้อ MYP agar....50
ก.3.3 ลักษณะ Clear zone จากการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงบนอาหาร Blood agar....50
ภาคผนวก ข. ข.2.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว MYM broth นาน 24 ชั่วโมง....52
ข.2.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว MYM broth นาน 48 ชั่วโมง....52
ข.2.3 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว MYM broth นาน 72 ชั่วโมง....53
ข.3.1 ขั้นตอนการผลิตลูกแป้งข้าวหมาก....54
ข.4.1 ขั้นตอนการผลิตข้าวหมาก....55
ข.5.1 ขั้นตอนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง....56
ข.6.1 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *A. rouxii* ในกล้าเชื้อข้าวหมากผง....57
ข.7.1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *A. rouxii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ DRBC agar....57
ภาคผนวก ค. ค.1.1 กล้าเชื้อข้าวหมากผงไม่เติมอบเชย....60
ค.1.2 กล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 1%....60
ค.1.3 กล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 2%....60
ค.1.4 กล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 3%....61
ค.2.1 การเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในระหว่างการหมักข้าวหมากโดยใช้กล้าเชื้อผงผสมอบเชย 2%....75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์ข้าวหมากไม่เป็นที่นิยมนัก ซึ่งสาเหตุหนึ่งมาจากคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้มาตรฐาน เช่น หวานน้อยไป เกิดรสเปรี้ยวมากเกินไป สีและเนื้อสัมผัสข้าวไม่สม่ำเสมอหรือมีกลิ่นเหม็นบูดของข้าว เป็นต้น ปัญหาเหล่านี้มักมีสาเหตุมาจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์ (food spoilage) ซึ่งได้แก่ *Acetobacter* sp. และ *Bacillus* sp. โดยเฉพาะ *Bacillus cereus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค (food poisoning) ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ไม่ปลอดภัยต่อการบริโภค ผลิตภัณฑ์ข้าวหมากมีปริมาณแอลกอฮอล์เพียงเล็กน้อยซึ่งอาจเกิดจากการผลิตของเชื้อรา เนื่องจากในกระบวนการผลิตข้าวหมากไม่มีขั้นตอนของการผ่าน้ำ (การเติมน้ำเชื่อม) และไม่มีการเติมเชื้อยีสต์เข้าไป จึงไม่เกิดกระบวนการสร้างแอลกอฮอล์จากการผลิตของเชื้อรา ทำให้ไม่สามารถยับยั้งหรือทำลายเชื้อ *B. cereus* ได้ อย่างไรก็ตามในลูกแป้งข้าวหมากที่ใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิต มักมีการผสมเครื่องเทศหรือสมุนไพรบางชนิดเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการผลิตข้าวหมาก โดยสมุนไพรและเครื่องเทศแต่ละชนิดมีผลในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้แตกต่างกัน เช่นทั้งกานพลูและอบเชย มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้ดี แต่กานพลูจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Amylomyces rouxii* ที่ใช้ในการผลิตข้าวหมากด้วย (พุทธรินทร์, 2527) ดังนั้น ในการเลือกใช้ชนิดของสมุนไพร นอกจากจะพิจารณาถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการแล้ว ยังต้องคำนึงถึงผลกระทบต่อจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตอาหารหมักด้วย ซึ่งทั้งชนิดและปริมาณของสมุนไพรที่ใช้เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลโดยตรงต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยหากกระทำควบคู่ไปกับการใช้ระบบการจัดการด้านสุขาภิบาลในการผลิตก็จะทำให้ผลิตภัณฑ์ข้าวหมากมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากยิ่งขึ้นด้วย

ในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* ในลูกแป้งข้าวหมากและผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่จำหน่ายในประเทศไทยและศึกษาผลของอบเชยต่อการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* และการรอดชีวิตของเชื้อรา *A. rouxii* ในกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงเพื่อให้ได้กล้าเชื้อที่มีประสิทธิภาพและได้ผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* ในลูกแป้งข้าวหมากและผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก
2. เพื่อศึกษาสภาวะการอบแห้งที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เพื่อศึกษาผลของอบเชยต่อการรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* และเชื้อรา *A. rouxii* ในกล้าเชื้อข้าวหมากผง

4. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและอายุการเก็บรักษากล้าเชื้อข้าวหมากผง

5. เพื่อศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่ผลิตได้จากกล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

ได้กระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่มีประสิทธิภาพและปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* เพื่อใช้ในการผลิตข้าวหมากที่มีคุณภาพและปลอดภัยตามข้อกำหนดมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ชุมชน กระทรวงอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

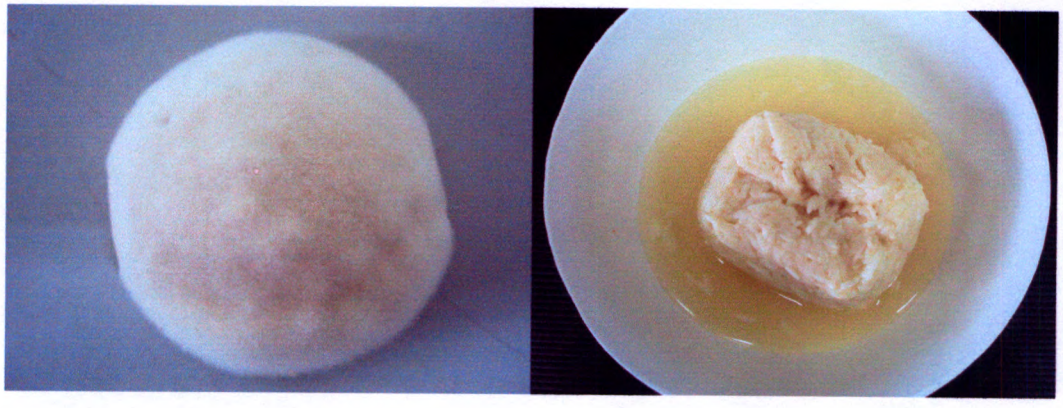
2.1 ผลิตภัณฑ์ข้าวหมากและลูกแป้งข้าวหมาก

2.1.1 ผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก

ข้าวหมากเป็นอาหารหมักพื้นบ้านของไทย ทำมาจากข้าวเหนียวขาวหรือข้าวเหนียวดำ (ข้าวก่ำ) มีลักษณะเป็นของเหลวใสปนกับเมล็ดข้าวเหนียว กลิ่นหอมและรสหวาน โดยกลิ่นที่เกิดขึ้นมาจากการสร้างสารกลุ่มเอสเทอร์ของเชื้อราและยีสต์ในข้าวเหนียว อาหารหมักชนิดนี้มีลักษณะคล้ายกับ tape ketan ซึ่งเป็นอาหารหวานชนิดหนึ่งของประเทศอินโดนีเซียและประเทศในแถบทวีปเอเชีย ประวัติและต้นกำเนิดของข้าวหมากนั้นยังไม่เป็นที่แน่ชัด ในการผลิตข้าวหมากจำเป็นจะต้องใช้ลูกแป้งข้าวหมากที่มีส่วนผสมของวัตถุดิบ คือ แป้งข้าวเจ้า เครื่องเทศ และเชื้อลูกแป้ง ลูกแป้งข้าวหมากตามระเบียบกรมสรรพสามิตว่าด้วยการทำและการขายแป้งข้าวหมัก พ.ศ. 2524 ในมาตรา 4 แห่งพระราชบัญญัติสุรา พ.ศ. 2493 ให้ความหมายว่า เชื้อสุรา เมื่อลูกแป้งข้าวหมากหมักกับวัตถุดิบข้าวจะเกิดแอลกอฮอล์ไม่เกิน 5 ดีกรี ซึ่งต่างจากลูกแป้งเหล้าตรงที่เมื่อหมักกับวัตถุดิบ สามารถทำให้เกิดแอลกอฮอล์ที่ใช้ทำสุราได้ (กรมสรรพสามิต, 2524)

2.1.2 ลักษณะที่ดีของลูกแป้งข้าวหมาก

ลูกแป้งข้าวหมากที่ดีต้องมีลักษณะเป็นก้อนแห้งครึ่งวงกลม สีขาวนวล เนื้อแป้งโปร่ง มีเส้นใยของเชื้อราเกาะอยู่ทั่วไป เมื่อมีอายุมากจะมีสีน้ำตาลเข้มขึ้น ลูกแป้งที่ดีจะต้องใช้แป้งเชื้อที่ดี มีการรักษาความสะอาด ควบคุมอุณหภูมิ และความชื้นขณะทำลูกแป้งให้พอเหมาะดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 ลูกแป้งข้าวหมากและผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 ชื่อเรียกลูกแป้งตามภาษาท้องถิ่นของประเทศต่างๆ

การเรียกชื่อลูกแป้งตามผลิตภัณฑ์ต่างๆในแถบทวีปเอเชียได้มีการใช้ภาษากันออกไปตามท้องถิ่นของประเทศนั้นๆดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ชื่อเรียกลูกแป้งตามภาษาท้องถิ่นของประเทศต่างๆ และการใช้ประโยชน์

ประเทศ	ชื่อท้องถิ่น	ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ลูกแป้ง
จีน	ชิเหยว, เป๊ะเหยว, ชิชุ	ข้าวหมาก, เครื่องดื่มประเภทกระแช่, สุราจากข้าว
ไต้หวัน	เพคค่า (pek-ka)	ข้าวหมาก, เครื่องดื่มประเภทกระแช่, สุราจากข้าว
ทิเบต	พับ (phap)	ข้าวหมาก, เครื่องดื่มประเภทกระแช่, สุราจากข้าว
สิขิม	ลีเวน (levian)	ข้าวหมาก, เครื่องดื่มประเภทกระแช่, สุราจากข้าว
อินเดีย	รามู (ramur) เมอร์ช่า (murcha) บุคคาร์ (bukha)	เครื่องดื่มประเภท กระแช่, สุราจากข้าว
เกาหลี	นูรุก ชิ-ชุ	สุราจากข้าว สุราจากข้าว
อินโดนิเซีย	ราจิทาเป้ ราจิเบราส ราจิพอยยัม ราจิเทมเป้	ข้าวหมาก เครื่องดื่มประเภท กระแช่ มันสำปะหลังหมักแบบข้าวหมาก (tape ketela) เทมเป้
มาเลเซีย	ราจิทาไป, จุเปียง	เครื่องดื่มประเภท กระแช่
ฟิลิปปินส์	บูบอท	เครื่องดื่มประเภท กระแช่
ไทย	ลูกแป้งข้าวหมาก ลูกแป้งเหล้า แป้งเชื้อสุรา ลูกแป้งน้ำส้มสายชู	ข้าวหมาก กระแช่, สาโท, อุ สุราจากข้าว น้ำส้มสายชู

ที่มา : นภา (2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6 สาเหตุของการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก (www.doae.go.th, 2005)

2.6.1.1. สาเหตุจากข้าวและวิธีการเตรียมข้าวสำหรับหมักไม่เหมาะสมจะทำให้ข้าวหมากมีรสไม่หวานเท่าที่ควร และมีรสเปรี้ยวอยู่มาก ข้าวแฉะเมล็ดไม่สวย สาเหตุต่างๆ เหล่านี้ ได้แก่

1) พันธุ์ข้าวที่ใช้และคุณภาพของข้าวไม่ดี

2) นึ่งข้าวนานเกินไปทำให้ข้าวที่นึ่งเละ เมื่อล้างน้ำทำให้ข้าวเหนียวแฉะ

3) ข้าวที่นึ่ง สุกไม่ทั่วถึง ทำให้ข้าวหมากแข็งเป็นไตภายในเมล็ดข้าว เนื่องจากแช่น้ำไม่นานพอหรือนึ่งเร็วเกินไป

4) ล้างข้าวขณะที่ข้าวยังร้อนอยู่ ทำให้ข้าวเหนียวแฉะ

5) การคลุกลูกแป้งกับข้าวเหนียวขณะที่ยังไม่สะเด็ดน้ำ ทำให้ความชื้นของข้าวสูง เกิดการเปรี้ยวเนื่องจากเชื้อแบคทีเรียได้ง่าย

2.1.6.2. สาเหตุจากลูกแป้งข้าวหมาก ได้แก่

1) ลูกแป้งเก่าเกินไป เชื้อข้าวหมากส่วนใหญ่ตายไปแล้ว ทำให้ใช้เวลาหมักนานขึ้น ข้าวหมากมีกลิ่นไม่ค่อยดี รสหวานน้อย และเสียได้ง่าย

2) ลูกแป้งไม่ดี ลูกแป้งเสีย มีเชื้อราและยีสต์ชนิดอื่นปนเปื้อนมาก ทำให้ข้าวหมากเปรี้ยวหรือมีกลิ่นรสผิดไปจากปกติ

3) ใช้ลูกแป้งน้อยเกินไป ทำให้ได้ข้าวหมากช้า เนื้อข้าวไม่นิ่มฟูตลอด และเมล็ดข้าวมีสีไม่น่ารับประทาน ออกสีน้ำตาลมาก

4) ใช้ลูกแป้งมากเกินไป ข้าวหมากได้ที่เร็วเกินไป เก็บไว้ได้ไม่นาน มีกลิ่นของเครื่องเทศแรงเกินไป

2.1.6.3. สาเหตุจากน้ำและภาชนะที่ใช้ไม่สะอาด

หากน้ำและภาชนะที่ใช้ไม่สะอาด จะทำให้เกิดการเสียของข้าวหมากขึ้นได้ ทั้งนี้ การเลือกใช้น้ำคุณภาพดี จะมีผลดีต่อคุณภาพของข้าวหมากที่ได้ เพราะคุณสมบัติและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำ มีผลต่อรสชาติและคุณภาพของข้าวหมาก

2.2 จุลินทรีย์ที่ความสำคัญในกระบวนการหมักข้าวหมาก

กระบวนการผลิตข้าวหมากนั้นจำเป็นต้องอาศัยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในการเกิดผลิตภัณฑ์ ซึ่งได้แก่จุลินทรีย์ประเภทราและยีสต์ เชื้อราที่มีความสำคัญต่อกระบวนการหมักข้าวหมาก คือ *A. rouxii* และ *Rhizopus oryzae* แต่ *Rhizopus* sp. จะไม่ค่อยให้กลิ่นหอมเท่ากับ *A. rouxii* และมักพบในลูกแป้งเหล้าเป็นส่วนใหญ่ ส่วนยีสต์ที่มีความสำคัญต่อกระบวนการหมักได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae, Saccharomycopsis* sp., *Hansenula* sp. และ *Candida* sp. ยีสต์ที่มีความสำคัญในการผลิตสารให้กลิ่นรส คือ *Saccharomycopsis* sp. และ *Hansenula* sp. ซึ่งมักจะพบในลูกแป้งข้าวหมากในขณะที่ *S. cerevisiae* มักจะพบในลูกแป้งเหล้าเหล้าเป็นส่วนใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 บทบาทของยีสต์ต่อการผลิตสารให้กลิ่นรสและสารเคมีที่เป็นโทษ

กระบวนการทำให้เกิดกลิ่นรสและสารประกอบต่างๆในระหว่างการหมักข้าวหมาก มักมีปัจจัยมากมายรวมถึงตัวแปรต่างๆที่เกี่ยวกับกระบวนการผลิต เช่น ชนิดและสายพันธุ์ของยีสต์ อุณหภูมิการหมัก การควบคุมการไหลเวียนของอากาศที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ รวมไปถึงการทำปฏิกิริยาของสารประกอบต่างๆหรือสารเคมีที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักผลิตภัณฑ์ เป็นต้น ยีสต์ที่ให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่ดี คือ *Saccharomycopsis* sp. และ *Hansenula* sp. จากการทดลองของชัยวัฒน์ (2520) พบว่าการใช้เชื้อผสมระหว่าง *A. rouxii* กับ *Hansenula sp.* และ *Saccharomycopsis fibuligera* สามารถให้กลิ่นรสที่ดีในผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก

อนึ่งการเกิดสารเคมีในกลุ่มไฮเออร์แอลกอฮอล์ (Higher alcohols) หรือที่เรียกว่า ฟูเซลออยล์(Fusel oils) ซึ่งเป็นสารเคมีที่กรมสรรพสามิตกำหนดในพระราชบัญญัติกฎหมายสุราว่าด้วยโทษและอันตรายของสารเคมี โดยเกณฑ์กำหนดต้องไม่เกิน 2500 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร (ตารางที่ 2.2) กลไกในการเกิดสาร Fusel oils มาจากการหมักผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิสูงจึงเกิดความร้อนในตัวผลิตภัณฑ์ ทำให้ยีสต์ผลิตสารต่างๆลงสู่ในน้ำหมัก เช่น Acetaldehyde, Ethyl acetate, Amyl alcohols, Iso-amyl alcohols และ Isobutanol เป็นต้น (Bardi *et al.*, 1996) อย่างไรก็ตาม มีผู้วิจัยที่ได้ทำการศึกษาต่างให้ความเห็นไปในทิศทางเดียวกันว่า การเลือกใช้สายพันธุ์ของจุลินทรีย์และการควบคุมอุณหภูมิของการหมักจะช่วยลดการเกิดสารเคมีที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักได้

ตารางที่ 2.2 เกณฑ์กำหนดของสารเคมีในสุราแช่ตามพระราชบัญญัติกฎหมายสุรา

รายการที่	สารเคมี	เกณฑ์ที่กำหนด
1	ฟูเซลออยล์	ไม่เกิน 2500 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
2	เอทิลคาร์บาเมต	ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
3	เอสเทอร์ (คิดเป็นเอทิลอะซิเตต)	ไม่เกิน 1200 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
4	แอลดีไฮด์ (คิดเป็นอะซิทัลดีไฮด์)	ไม่เกิน 160 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
5	เมทิลแอลกอฮอล์	ไม่เกิน 420 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
6	ทองแดง	ไม่เกิน 5 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
7	เหล็ก	ไม่เกิน 15 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
8	ตะกั่ว	ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
9	สารหนู	ไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
10	เฟอร์โรไซยาไนด์	ต้องไม่พบ

หมายเหตุ : เป็นข้อกำหนดจากบางส่วนของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมสุราแช่ (มอก.2089-2544)

ที่มา : (กรมสรรพสามิต, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 แบคทีเรียที่มีความสำคัญในกระบวนการหมักข้าวหมากและไวน์ข้าว

แบคทีเรียที่มีความสำคัญในกระบวนการหมักข้าวหมากและไวน์ข้าว ส่วนใหญ่มักจะเป็นกลุ่ม lactic acid bacteria รองลงมาคือกลุ่ม acetic acid bacteria ซึ่งส่วนใหญ่มักจะเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมเสีย (Food spoilage) มากกว่ากลุ่มที่ก่อให้เกิดโรค (Food poisoning) การเสื่อมเสียมีปัจจัยอยู่หลายอย่าง เช่น การปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตไม่สะอาด สุขลักษณะการผลิตไม่เหมาะสม การใช้อุณหภูมิในการผลิตไม่เพียงพอ การปนเปื้อนมากับอากาศระหว่างการหมักผลิตภัณฑ์ และการปนเปื้อนหลังการผลิตหรือระหว่างการบรรจุผลิตภัณฑ์ เป็นต้น ซึ่งจะส่งผลต่อรสชาติและเนื้อสัมผัสของข้าวหมากรวมถึงความปลอดภัยของผู้บริโภค

2.4.1 แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติก (lactic acid bacteria)

แบคทีเรียแลกติกแบ่งออกเป็น 13 สกุล ได้แก่ *Aerococcus* sp., *Alloiococcus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Carnobacterium* sp., *Enterococcus* sp., *Lactobacillus* sp., *Lactococcus* sp., *Leuconostoc* sp., *Pediococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Tetragenococcus* sp., *Vagococcus* sp. และ *Weisella* sp. (บุษกร, 2545) แบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสามารถในการหมักน้ำตาลให้เกิดกรดแลกติก แบ่งได้เป็น 2 พวก คือ พวกแรก homofermentative เป็นพวกที่หมักน้ำตาลแล้วให้กรดแลกติกเป็นส่วนใหญ่โดยทั่วไป 90 เปอร์เซ็นต์หรือมากกว่า ได้แก่ *Pediococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Leuconostoc* sp., *Lactobocillus* sp. บางชนิด เช่น *Lactobocillus delbrueckii, Lactobocillus leichmannii, Lactobocillus lactis, Lactobocillus bulgaricus, Lactobocillus acidophilus, Lactobocillus casei* และ *Lactobocillus plantarum* เป็นต้น แบคทีเรียพวกนี้สามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดไพรูเวต โดยกระบวนการเอมบ์เดน เมเยอร์ฮอฟ พาร์นาส และรีดิวซ์ไพรูเวตไปเป็นกรดแลกติกโดยอาศัยเอ็นไซม์แลกเตต ดีไฮโดรจีเนส อีกพวกคือ heterofermentative เป็นพวกที่หมักน้ำตาลกลูโคสให้กรดแลกติกประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นยังให้กรดอะซิติก เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยกระบวนการฟอสโฟคีโตเลส แบคทีเรียกลุ่มนี้ ได้แก่ *Leuconostoc* sp. และ *Lactobocillus* sp. บางชนิด เช่น *Lactobocillus fermentum, Lactobocillus cellobiosus, Lactobocillus brevis* และ *Lactobocillus buchneri* เป็นต้น (วิลาวัณย์, 2539) แบคทีเรียแลกติกชนิดที่มีความสำคัญที่พบในข้าวหมากและผลิตภัณฑ์สุราแช่ ได้แก่ *Lactobacillus* sp., *Pediococcus* sp. และ *Leuconostoc* sp. ซึ่งกลไกที่ทำให้ข้าวหมากเกิดการเสื่อมเสียคือ แบคทีเรียแลกติกจะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรดแลกติกเพิ่มสูงขึ้น ทำให้ค่า pH ของอาหารหมักลดลง จึงทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสเปรี้ยวเพิ่มขึ้น และบางชนิดสามารถสร้างเมือกในอาหารทำให้เกิดการเสื่อมเสีย (สถาบันวิจัยไวน์และสุราพื้นบ้าน, 2547) โดยการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ที่มาจากแบคทีเรียเหล่านี้ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) การเกิดกรด (acidification) ได้แก่ กรดอะซิติกและกรดแลกติก (D-lactic acid)

2) การเกิดแมนนิทอล (mannitol taint) เกิดจากน้ำตาลฟรุกโตส (fructose) การเสื่อมเสียในลักษณะนี้ค่อนข้างซับซ้อน เพราะจะเกิดพร้อมกับกรดอะซิติก กรด D-lactic n-propanol 2-butanol และสารอื่นๆ ผลิตภัณฑ์สุราแช่จะมีรสน้ำส้มสายชูและเอสเทอร์

3) โรปีเนส (ropiness) คือ การเกิดเมือกข้นคล้ายน้ำมัน ซึ่งเป็นสารเดกซตริน หรือโพลีแซคคาไรด์ ที่ผลิตโดยแบคทีเรีย มักเกิดก่อนที่จะเกิดการเสื่อมเสียที่รุนแรงขึ้น เช่น การเกิดกรดระเหย และแมนนิทอล มักเกิดกับไวน์ที่มีความเป็นกรดต่ำ ในไวน์ที่เก็บในถังจะเกิดโรปีเนสจากก้นถังแล้วค่อยๆลามสู่ส่วนบน โดยความเป็นกรดของไวน์เหนือตะกอนยีสต์เริ่มเพิ่มขึ้น เนื่องจากการสลายตัวเองของยีสต์ (autolysis) ทำให้เกิดสารอาหารสำหรับแบคทีเรีย

4) การเกิดไดอะซิทิล (diacetyl) สุราแช่และไวน์ที่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียกรดแลกติก ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นรสคล้ายเนยหรือเวย์ ซึ่งเกิดจากการมีปริมาณของไดอะซิทิล (2,3-butandione) มากเกินไป

5) กลิ่นหนู (mousiness) เป็นการเสื่อมเสียแบบมีกลิ่นเหม็นคล้ายกับปัสสาวะหนู หรือ acetamide การตรวจกลิ่นนี้ทำได้โดยถูไวน์ระหว่างนิ้วมือ เพื่อให้กลิ่นระเหยออกมา การเสื่อมเสียนี้มักเกิดขึ้นกับไวน์ที่เป็นกรดต่ำและได้รับสารซัลเฟอร์ไดออกไซด์ไม่เพียงพอต่อการทำลาย (สถาบันวิจัยไวน์และสุราพื้นบ้าน, 2547) สาเหตุมาจากการปนเปื้อนของแบคทีเรียกรดแลกติกและยีสต์ *Brettanomyces* sp.

2.4.2 แบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติก (acetic acid bacteria)

แบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสามารถในการหมักน้ำตาลให้เป็นกรดอะซิติก การเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์จะมีลักษณะเป็นน้ำส้มสายชู (Vinetary taint) ซึ่งเป็นกรดระเหยได้ (volatile acidity) ชนิดที่มีความสำคัญที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์ข้าวหมากและในกลุ่มสุราแช่ คือ *Acetobacter* sp. และ *Gluconobacter* sp. (สถาบันวิจัยไวน์และสุราพื้นบ้าน, 2547) กลไกในการสร้างกรดอะซิติกของ *Acetobacter* sp. คือ สามารถออกซิไดซ์เอทานอลไปเป็นกรดอะซิติก โดยเกิดจากปฏิกิริยา 2 ขั้นตอน ดังนี้ ขั้น แรกจะออกซิไดซ์เอทานอลไปเป็นอะซิทัลดีไฮด์ โดยเอ็นไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส ขั้นที่สองเปลี่ยนอะซิทัลดีไฮด์เป็นกรดอะซิติก โดยอะซิทัลดีไฮด์จะรวมตัวกับน้ำเป็นไฮเดรตอะซิทัลดีไฮด์ หลังจากนั้นจะถูกออกซิไดซ์หรือดีไฮโดรจีเนสไปเป็นกรดอะซิติก โดยเอ็นไซม์อะซิทัลดีไฮด์ ดีไฮโดรจีเนสและสามารถออกซิไดซ์กรดอะซิติกต่อไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ จึงเรียกว่า โอเวอร์ออกซิไดเซอร์ (overoxidizer) สายพันธุ์ที่มีความสำคัญ ได้แก่ *A. aceti* และ *A. pasteurianus* จะเปลี่ยนแอลกอฮอล์ไปเป็นกรดอะซิติก ทำให้เครื่องดื่มแอลกอฮอล์มีรสเปรี้ยว และ *A. aceti* subsp. *xylinum* ซึ่งมีความสามารถในการผลิตเซลลูโลส ทำให้มีลักษณะเกิดเป็นเมือก จึงก่อให้เกิดปัญหาการอุดตันของเครื่องผลิตน้ำส้มสายชู ส่วน *Gluconobacter* sp. สามารถออกซิไดซ์เอทานอลเป็นกรดอะซิติกเช่นเดียวกับ *Acetobacter* sp. แต่ปริมาณกรดที่ได้ต่ำกว่าและไม่สามารถออกซิไดซ์อะซิเตตหรือแลกเตต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ได้ จึงเรียกว่า อันเดอร์ออกซิไดเซอร์ (underoxidizer) *Gluconobacter oxydan* subsp. *industrius* ทำให้เบียร์เกิดลักษณะเป็นเมือกเหนียว เนื่องจากสามารถผลิตสารเมือกจำพวกเดกซ์แทรนและลีแวน (วิลาวัณย์, 2539)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Cronk และคณะ (1977) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีระหว่างกระบวนการหมัก tape ketan ซึ่งเป็นอาหารหมักพื้นบ้านของประเทศอินโดนิเซียที่เกิดจากการหมักของราสายพันธุ์ *A. rouxii* (ชื่อเดิม : *Chlamydomucor oryzae*) กับข้าวเหนียวนึ่งสุก โดยอาจมีกระบวนการหมักร่วมกับยีสต์สายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่ง เช่น *Endomycopsis burtonii* (ชื่อปัจจุบัน : *Saccharomycopsis burtonii*) พบว่า หลังการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36-48 ชั่วโมง เชื้อรา *A. rouxii* สามารถย่อยข้าวได้ถึง 30% ในขณะที่การใช้เชื้อผสมร่วมระหว่าง *A. rouxii* กับ *S. burtonii* สามารถย่อยข้าวได้ถึง 50% ในเวลา 192 ชั่วโมง นอกจากนี้ *A. rouxii* สามารถผลิตเอทานอลได้สูงถึงประมาณ 5.6% (v/v) ที่เวลา 96 ชั่วโมง และความสามารถในการผลิตเอทานอลสูงสุดของเชื้อผสมระหว่าง *A. Rouxii* กับ *S. burtonii* อยู่ที่ 8% (v/v) ที่เวลา 144 ชั่วโมง ระดับ pH ระหว่างการหมักลดลงจาก 6.3-4.0 ที่เวลา 48 ชั่วโมง ในขณะที่มีการหมักร่วมกับยีสต์ *S. burtonii* ให้ค่า pH ลดลงเป็น 4.1 ในเวลา 144 ชั่วโมง

Cronk และคณะ (1979) ได้ทำการศึกษาถึงกระบวนการเกิดไฮเออร์แอลกอฮอล์ (Higher alcohols) ระหว่างกระบวนการผลิต tape ketan พบว่าการใช้เชื้อรา *A. rouxii* เพียงอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับยีสต์ (*Saccharomycopsis* sp., *Candida* sp., และ *Hansenula* sp.) ในการผลิต มีผลต่อการเพิ่มปริมาณของฟูเซลออยล์ (Fusel oils) มากขึ้นในระยะยาวของกระบวนการหมัก (ตารางที่ 2.3) จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ พบไอโซบิวทานอล ไอโซเอมิล และ เอมิลแอลกอฮอล์ (Isobutanol, Isoamyl และ Amylalcohols) แต่ตรวจไม่พบโพรพานอล (Propanol) สารเหล่านี้ทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ดีในผลิตภัณฑ์และเป็นอันตรายต่อสุขภาพหากได้รับเป็นจำนวนมาก เช่น ทำให้เกิดอาการปวดศีรษะอย่างรุนแรงและส่งผลต่อตับ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 ปริมาณสารฟูเซลออยล์ (Fusel oils) ในกิจกรรมการหมัก tape ketan ของเชื้อราและยีสต์

เชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณสาร Fusel oils (mg/L)	ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)
A. rouxii	275	192
A. rouxii + *S. burtonii*	292	192
A. rouxii + *S. fibuligera*	72	32
A. rouxii + *S. fibuligera*	558	192
A. rouxii + *Candida* sp.	618	192
A. rouxii + *Hansenula* sp.	248	192

ที่มา : ดัดแปลงจาก Cronk และคณะ (1979)

นอกจากนี้ ในกระบวนการหมัก tape ketan โดยใช้เชื้อผสมร่วมระหว่าง *A. rouxii*, *H. anomala* และ *H.* sub. *pelliculosa* พบว่ามีสารเอทิลอะซิเตรท (Ethyl acetate) ค่อนข้างมาก อยู่ในช่วงระหว่าง 145-199 มิลลิกรัม ต่อลิตร ในเวลา 36 ชั่วโมง และเพิ่มเป็น 354-369 มิลลิกรัม ต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการหมักที่เวลา 192 ชั่วโมง

Ardhana และ Fleet (1989) ศึกษาการเจริญของยีสต์ ราและแบคทีเรียในกระบวนการหมักทาเป้ (tape ketan) โดยใช้ลูกแป้ง (Raji) พบว่าการเจริญของ *A. rouxii* และ *Candida pelliculosa* อยู่ในช่วง 10^5-10^7 CFU/g ซึ่งน้อยกว่า *S. cerevisiae* เล็กน้อย นอกจากนี้ ยังตรวจพบแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* sp. และ *Acetobacter* sp. มากกว่า 10^5CFU/g

Dung และคณะ (2005) ได้พัฒนาการผลิตกล้าเชื้อราผสม (ลูกแป้งสุราแช่) สำหรับควบคุมกระบวนการผลิตไวน์ข้าว โดยศึกษาการใช้สมุนไพรเป็นส่วนผสมในการผลิตลูกแป้ง ทั้งหมด 10 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2.4 และเมื่อนำลูกแป้งที่ผสมสารสกัดจากสมุนไพรในแต่ละกลุ่มไปหมักไวน์ข้าว พบว่าการเจริญของเชื้อ *A. rouxii* และ *S. cerevisiae* เพิ่มขึ้น และมีผลต่อต้านการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่ม Mesophile ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์ โดยพบว่าสมุนไพรยี่หร่าและกานพลูมีผลส่งเสริมการสร้างมวลชีวภาพ (Biomass) และการเจริญของยีสต์ โดยเฉพาะยี่หร่ามีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์และรามาก นอกจากนี้สารสกัดจากสมุนไพรในลูกแป้งยังให้กลิ่นหอมที่ดีในผลิตภัณฑ์ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 สมุนไพรที่ใช้ในการทดลองการหมักไวน์ข้าว

ลำดับ	ชื่อภาษาไทย	ชื่อภาษาอังกฤษ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้
1.	ดอกจันเทศ	Mace	*Myristica fragrans Houtt*	เมล็ด
2.	-	Bai zhu	*Atractylodes macrocephala Koidz*	หัว
3.	อบเชย	Cinnamon	*Cinnamomum cassia Blume*	เปลือก
4.	กระวาน	Cardamom	*Amomum tsao-ko Crev. Et Lem.*	เมล็ด
5.	ชะเอม	Licorice root	*Glycyrrhiza uralensis Fish*	ราก
6.	สะระแหน่	Mint	*Mentha arvensis L.*	ใบ
7.	ขิง	Ginger	*Asarum sieboldii Miq.*	รากและใบ
8.	ขมิ้น	Tumeric	*Curcuma longa L.*	หัว
9.	ยี่หร่า	Funnel	*Foeniculum vulgare Miller*	ดอก
10.	กานพลู	Clove	*Syzygium aromaticum L.*	ดอก

หมายเหตุ : สมุนไพรในแต่ละกลุ่มการทดลองแบ่งได้ดังนี้ กลุ่ม A : 1-3, กลุ่ม B : 4-6, กลุ่ม C : 7-10, กลุ่ม D : 1-10, กลุ่ม E : 7, กลุ่ม F : 8, กลุ่ม G : 9, กลุ่ม H : 10 และControl

ที่มา : Dung และคณะ (2005)

Dung และคณะ (2006) ศึกษาคุณลักษณะเฉพาะของราและยีสต์บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า (ไวน์ข้าว) ที่มีความสามารถในการทนต่อเอทานอลระหว่างกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์ในการหมักไวน์ข้าว พบว่าสายพันธุ์ของเชื้อราที่แยกจากลูกแป้งเหล้า ได้แก่ *A. rouxi*, *A.* aff. *rouxii*, *R. oligosporus* และ *R. oryzae* เมื่อใช้ในการหมักข้าวเหนียวดำ พบว่า *A. rouxii* มีความสามารถในการผลิตกลูโคสได้สูงถึง 25% (w/w) และสามารถสร้างเอ็นไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (Amyloglucosidase) ได้สูงถึง 0.6 U/g ส่วนยีสต์ที่แยกได้ 5 สายพันธุ์ พบว่าเป็น *S. cerevisiae* ซึ่งให้แอลกอฮอล์ได้สูง และจากผลการทดสอบการหมักของ *S. cerevisiae* ได้ปริมาณแอลกอฮอล์ 9-10% (w/v) ในกระบวนการหมักแบบ batch และ 13.4% (w/v) ในกระบวนการหมักแบบ Fed-batch ส่วนสภาวะที่ดีที่สุดในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลคือ การบ่มเป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณเชื้อราอยู่ที่ 5 log CFU/g และที่อุณหภูมิ 28.3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ปริมาณเชื้อยีสต์อยู่ที่ 5.5 log CFU/ml (สำหรับการหมักแอลกอฮอล์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dung และคณะ (2007) ได้รวบรวมลูกแป้งเหล้าที่วางจำหน่าย ทั้งหมด 29 ตัวอย่าง และคัดแยกจนเหลือ 6 ตัวอย่าง ที่มีความสามารถในการหมักข้าวได้ดี ผลิตเอทานอลสูง และรสชาติที่ผู้บริโภคให้การยอมรับ โดยหมักได้ปริมาณเอทานอล 12 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร มีกลิ่นหอม สีของไวน์มีความแตกต่างกันตั้งแต่แดงไปจนถึงน้ำตาลอ่อน ปริมาณรา ยีสต์และแบคทีเรีย ทั้งหมดที่นับได้จากลูกแป้ง คือ 3.4-6.0, 5.8-7.2 และ 2.6-6.2 log CFU/g ตามลำดับ ผลจากการแยกเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในลูกแป้งเหล้าที่รวบรวมได้ สามารถแยกเชื้อได้ 119 สายพันธุ์ (strains) ประกอบด้วย รา 53 สายพันธุ์, ยีสต์ 51 สายพันธุ์ และแบคทีเรีย 15 สายพันธุ์ ราที่แยกได้ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยเมล็ดข้าวเหนียวดีมาก ได้แก่ *A. rouxii*, *A.* aff. *rouxii*, *R. oligosporus*, *R. oryzae* ส่วนยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการหมักค่อนข้างดี ได้แก่ *S. cerevisiae* และสายพันธุ์อื่นที่มีผลต่อการหมักร่วมกัน คือ *Candida glabrata* และ *Pichia anomala*

มณชัย (2546) ศึกษาถึงคุณสมบัติของยีสต์และราที่มีบทบาทในการหมักข้าวหมากและสาโท โดยจากการเพาะเชื้อราสองสกุล ได้แก่ *Amylomyces* sp. และ *Rhizopus* sp. ที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้า พบว่าราทั้งสองสกุลมีบทบาทในการหมักข้าวต่างกันโดย *Amylomyces* sp. ผลิตกรดได้ประมาณ 0.88-1.29 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Rhizopus sp.* ผลิตกรดได้ประมาณ 3.7-4.3 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ของเชื้อรา *Amylomyces* sp. และ *Rhizopus sp.* ในการย่อยแป้งบนอาหาร Dichloran Rose Bengal Chloramphenical agar (DRBC) ที่มี soluble starch 4 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/น้ำหนัก) พบว่าราทุกไอโซเลตย่อยแป้งได้น้อย โดยมีอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใสและเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีน้อยกว่า 1 แต่ไม่เท่ากับ 0 อย่างไรก็ตามพบว่า *Rhizopus* sp. ย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้น้อยกว่า *Amylomyces* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 อบเชย (รุ่งรัตน์, 2540)

ชื่อสามัญ *Cinnamomum* sp.

วงศ์ Lauraceae

ชื่ออื่น อบเชยต้น มหาปราบ (ภาคกลาง) กระดังงา (กาญจนบุรี) ฝักดาบ (พิษณุโลก) สุรามิด (สุโขทัย) บอกคอก (ลำปาง) พญาปราบ (นครราชสีมา) กระแจงโมง โมงหอม (ชลบุรี) สะวง (ปราจีนบุรี) กระเจียด เจียดกระทังหัน (ยะลา)

2.6.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ราก เป็นระบบรากแก้ว ในกรณีที่ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด

ลำต้น อบเชยเป็นพืชยืนต้นประเภทไม้เนื้อแข็งไม่ผลัดใบ ลำต้นมีทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็ก สามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อน เมื่อเปลือกกิ่งก้านหรือเปลือกลำต้นแห้งจะมีลักษณะเป็นท่อนยาวและม้วนกลม มักจะมีสีเหลืองเข้มหรือสีน้ำตาลเข้ม

ใบ เป็นใบเดี่ยว การเรียงตัวของใบบนกิ่งเป็นแบบออพพอไซร์ (Opposite) หรือใบสลับ (Alternate) ใบขณะอ่อนจะมีสีชมพูอมแดง และเมื่อใบแก่จะเป็นสีเขียวเข้ม รูปร่างของใบเป็นแบบยาวรีรูปไข่ ก้านใบยาวประมาณ 1-2 เซนติเมตร และที่ตัวใบมีขนาด 5-7×3-10 เซนติเมตร บนใบจะมีเส้นใบหลัก 3-5 เส้น

ดอก ออกเป็นช่อ ดอกมีขนาดเล็กสีเหลือง ส่วนใหญ่จะเป็นดอกสมบูรณ์ แต่บางชนิดก็เป็นดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่คนละดอก ดอกตัวผู้จะมีขนาดเล็กกว่าตัวเมียและมักอยู่บนแกนใกล้ๆกับปลายช่อ เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 มิลลิเมตร มีกลิ่นหอม ใต้ดอกมีใบเลี้ยงขนาดเล็กเป็นรูปไข่ กลีบเลี้ยงมี 6 กลีบ ไม่มีกลีบดอก เกสรตัวผู้ประกอบด้วย Stamen 9 อัน เรียงตัวเป็น 2 ชั้น ชั้นนอกมี 6 อัน และชั้นในมี 3 อัน Anther มี 4 cells Ovary เป็นแบบ Superior ovary ภายในมี 1ovule มักจะเริ่มออกดอกในเดือนพฤษภาคมและเริ่มติดผลในเดือนกรกฎาคม

ผล เป็นผลเดี่ยวขนาดเล็กผลรูปไข่มีขนาดยาวประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร ผลจะแก่ภายหลังจากที่ดอกบานแล้วประมาณ 6 เดือน

2.6.2 การจำแนกชนิดของอบเชย

1) อบเชยเทศ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cinnamomum zeylanicum Nees.* เป็นไม้ไม่ผลัดใบ หากปลูกตามธรรมชาติ ลำต้นสูงประมาณ 8-7 เมตร และเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นประมาณ 30-60 เซนติเมตร ถ้าปลูกเพื่อการค้าจำเป็นต้องตัดแต่งกิ่งและลำต้นอยู่เสมอ จะทำให้ได้ลำต้นที่มีความสูงประมาณ 2-2.5 เมตร เท่านั้น เปลือกลำต้นหนามีสีเทา แต่ถ้าเป็นต้นที่มีขนาดเล็กเปลือกจะมีจุดสีเขียวเข้มและสีส้ม กิ่งจะทอดขนานและชันขึ้น ใบมีลักษณะรูปไข่หรือรีๆ ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ มีเส้นใย 3 เส้น เห็นได้ชัดเจน ตัวใบยาวประมาณ 3-10 เซนติเมตร ดอกมีขนาดเล็กมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลีบดอกสีเหลืองมีกลิ่นหอม มักเกิดตามปลายกิ่ง ผลจะมีลักษณะเปลือกนิ่มสีดำ รูปไข่ ยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร

2) อบเชยอินโดนีเซีย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cinnamomum burmamii* เป็นอบเชยที่พบมากที่เกาะสุมาตรา เกาะชวาและทางฝั่งตะวันตกของเกาะติมอร์ สามารถขึ้นได้ในพื้นที่ตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนถึงความสูงประมาณ 2,000 เมตร แต่จะเจริญเติบโตได้ดีในระดับความสูงตั้งแต่ 530-1,300 เมตร

3) อบเชยจีน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cinnamomum cassia* Nees.ex Blume. ซึ่งเป็นไม้ไม่ผลัดใบมีขนาดลำต้นใหญ่กว่าอบเชยเทศ ลำต้นสูงประมาณ 18 เมตร เปลือกเรียบสีเทา ใบมีรูปร่างแบบรูปหอกสีเขียวเข้มเป็นมันใบยาวประมาณ 15 เซนติเมตร กว้างประมาณ 7.5 เซนติเมตร ดอกมีขนาดเล็กออกเป็นช่อยาวประมาณ 3-6 นิ้ว ก้านดอกมีขนและมีลักษณะคล้ายเป็นสี่เหลี่ยม ผลมีเนื้อนิ่มขนาดโตเท่ากับเมล็ดถั่ว

4) อบเชยญวน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cinnamomum loureirii* Nees. อบเชยชนิดนี้เป็นไม้ขนาดกลาง ใบเดี่ยว ขอบใบเรียบ ใบรูปร่างยาวรีและจะยาวเรียวไปจนแหลมที่ปลายใบ ใบมีลักษณะค่อนข้างบาง ก้านใบยาวประมาณ 1/2 นิ้ว ตัวใบกว้างประมาณ 3-5 นิ้ว ดอกมีขนาดเล็กมาก ผลมีขนาดเล็กเนื้อนิ่ม อบเชยชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินเกือบทุกชนิด แต่จะมีคุณภาพดีหากปลูกในบริเวณพื้นที่ลาดเชิงเขาและมีปริมาณน้ำฝนประมาณปีละ 2,500-3,000 มิลลิเมตร

5) อบเชยไทย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cinnamomum iners* Blume. อบเชยชนิดนี้เป็นไม้ขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ลำต้นสูงประมาณ 15 เมตรขึ้นไป เป็นไม้ไม่ผลัดใบพบตามป่าดงดิบทั่วไป เรือนยอดเป็นพุ่มกลมรูปเจดีย์ต่ำทึบ เปลือกเรียบสีเทาปนสีน้ำตาล ใบเป็นใบเดี่ยว ขอบใบขนานกัน ใบมีเนื้อหนาเกลี้ยงแข็งและกรอบ มีเส้นใบขนานจากโคนใบ 3 เส้น ท้องใบมีคราบสีขาวๆ ดอกมีขนาดเล็กสีเหลืองอ่อนหรือสีเขียวอ่อน มักจะเกิดเป็นช่อโตๆตามปลายกิ่ง ผลเป็นผลเดี่ยวขนาดเล็กมีลักษณะแข็งรูปไข่ ตามผิวของผลมีคราบสีขาวๆ (รุ่งรัตน์, 2540)

2.6.3 สรรพคุณ

อบเชยมีฤทธิ์อุ่นร้อน มีรสหอมหวาน ช่วยขับเหงื่อ ให้ความสดชื่น แก้อาการอ่อนเพลีย น้ำมันอบเชยเทศใช้เป็นส่วนผสมในยาขับลม แก้อาการท้องอืดท้องเฟ้อมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อราและเชื้อจุลินทรีย์ แต่มีผลข้างเคียงคือก่อให้เกิดความระคายเคือง ส่วนน้ำมันในอบเชยเทศใช้เป็นส่วนผสมในยาทาถูนวดเพื่อบรรเทาอาการปวดข้อ ข้ออักเสบ น้ำมันอบเชยเทศใช้เป็นยาบำรุงธาตุ ขับลม และมีฤทธิ์ฝาดประสาท ช่วยลดปริมาณของน้ำนม (รุ่งรัตน์, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.4 น้ำมันอบเชย (Cinnamon oils) แบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ

1) Cinnamon bark oils ที่มีคุณภาพดีจะได้จากการกลั่นหรือต้มกลั่น เปลือกของอบเชยแห้งชนิด quills จะมีองค์ประกอบสำคัญเป็นอัลดีไฮด์ (aldehyde) เช่น ชินนามอลดีไฮด์ (cinnamaldehyde) อยู่ในระหว่าง 51-76% และยูจีนอล (eugenol) 5-18%

2) Cinnamon leaf oils ได้จากการกลั่นใบแห้งด้วยวิธีกลั่นแบบไอน้ำและใช้เวลาในการกลั่น 8-24 ชั่วโมง ได้น้ำมันประมาณ 0.5-0.7 ซึ่งจะมีปริมาณยูจีนอล (eugenol) เป็นองค์ประกอบสูงมาก บางครั้งพบได้ถึง 75-90%

3) Cinnamon cassis oils เป็นน้ำมันที่ได้จากการกลั่นส่วนต่างๆของอบเชยจีน (Chinese cassia) ที่ทำมากในประเทศจีน อบเชยจีน (Chinese cassia) จะมีลักษณะที่แตกต่างจากอบเชยศรีลังกา (Ceylon cinnamon) อยู่ประการหนึ่งในส่วนที่เกี่ยวกับน้ำมันที่สกัดได้ คือ ในขณะที่น้ำมันสกัดได้จากแต่ละส่วนของต้นอบเชยศรีลังกา (Ceylon cinnamon) จะมีสัดส่วนของชินนามอลดีไฮด์ (cinnamaldehyde) และยูจีนอล (eugenol) แตกต่างกันในน้ำมันที่ได้จากทุกส่วนของอบเชยจีน (Chinese cassia) ซึ่งมีองค์ประกอบเหมือนกันคือมีชินนามอลดีไฮด์ (cinnamaldehyde) มากที่สุด ดังนั้นน้ำมันที่กลั่นได้จากทุกส่วนของพืชอาจนำมารวมกันได้ แต่ในทางปฏิบัติคาสเซียออยล์ (cassis oils) มักได้จากน้ำมันที่กลั่นจากส่วนของกิ่งอ่อนและใบมากกว่า (พิทยา, 2529) ซึ่งสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยอบเชยแสดงดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 สารประกอบในน้ำมันหอมระเหยอบเชย

กลุ่มสารในน้ำมันหอมระเหยอบเชย					
Monoterpene hydrocarbons	Oxygenated monoterpene	Aromatic monoterpene	Cinnamic derivatives	Aromatic ethers	Sesquiterpenes
Camphene	Borneol	p-cymene	Cinnamaldehyde	Eugenol	β-caryophellene
d-3-carene	Camphor	Cuminaldehyde	Cinnamal alcohol	Eugenol acetate	Cinnamomal
Limonene	1:8-cineole		Cinnamal acetate	Safrole	Combanal
α-phellandrene	Geraniol		Methyl cincnmate		Foliol
β-phellandrene	Linalol				α-humulene
α-pinene	Linaryl isobutyrate				γ-ylangene
β-pinene	Piperitone				
Sabinene	α-terpineol				
α-terpinene					
γ-terpinene					

ที่มา : Purseglove และคณะ (1980)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.7 ประสิทธิภาพของอบเชยในการยับยั้งจุลินทรีย์

อบเชยมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งยีสต์ รา และแบคทีเรียได้ดี สำหรับยีสต์พบว่ายับยั้งการเจริญของ *Saccharomyces* sp., *Saccharomycopces* sp., และ *Hansenula* sp. ในส่วนของรา เช่น *Amylomyces sp., Rhizopus sp., Mucor* sp., *Aspergillus sp., Penicillium sp.* และแบคทีเรียได้แก่ *Bacillus* sp. และ *Acetobacter* sp. เป็นต้น นอกจากนี้ สารสกัดจากน้ำมันหอมระเหยอบเชย เช่น Cinnamaldehyde, Eugenol, α-pinene และ Linalool ยังสามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสาร Aflatoxin ของ *Aspergillus parasiticus* และยังลดการงอกของ Germ tube ของสปอร์หลายชนิด เช่น *Sclerotium rofsii*, *Sclerotium oryzae* และ *Rhizoctonia balaticola* ด้วย (Bullerman *et al.*, 1977 ; Imbert, 1980 ; Mukherjee, 1976)

ตารางที่ 2.6 ผลของอบเชยต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ

ชนิดของจุลินทรีย์	ระดับความเข้มข้นของอบเชย (%)											
	0.5	1	1.5	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Saccharomyces sp.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saccharomycopces sp.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Hansenula sp.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amylomyces sp.	+	+	+	+*	+*	+*	+*	+*	+*	+*	+*	+*
Rhizopus sp.	+	+	+	+	+	+*	+*	+*	+*	+*	+*	+*
Mucor sp.	+	+	+*	+*	+*	+*	+*	+*	+*	+*	-	-
Aspergillus sp.	+	+	+	+	+	+*	+*	+*	+*	+*	+*	+*
Penicillium sp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+*	+*
Bacillus cereus	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacillus megaterium	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetobacter aceti	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetobacter rancens	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : + เจริญ, - ไม่เจริญ, * ลดจำนวนลงตามลำดับ

ที่มา : ดัดแปลงจาก พุทธรินทร์ (2527)

76736

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 แบคทีเรียสกุล *Bacillus cereus*

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียรูปทรงกระบอก (Rod) ติดสีแกรมบวก (Gram positive) สร้างสปอร์ (Spore forming) แต่ไม่สร้างแคปซูล เคลื่อนที่ได้ จัดอยู่ในกลุ่ม Proteolytic bacteria คือ มีความสามารถใช้โปรตีนเป็นแหล่งพลังงาน (Nitrogen source) ในการเจริญเติบโต ทำให้อาหารจำพวกเนื้อสัตว์เกิดการเสื่อมเสีย นอกจากนี้ ยังพบในนมที่เก็บที่อุณหภูมิ 7-21 องศาเซลเซียส (วิลาวัณย์, 2539) และเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ (Helgason *et al.*, 2000)

B. cereus เป็นเชื้อที่มักพบได้ตามธรรมชาติทั่วไปคือ ดิน น้ำ อากาศ และผลิตผลทางการเกษตร โดยเฉพาะผักและผลไม้ที่เกิดการช้ำระหว่างการขนส่งจึงเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อนี้ได้ง่าย เนื่องจากแบคทีเรียสกุล *Bacillus* sp. จะเข้าไปสลาย pectin ซึ่งเป็นสารที่ทำให้ผนังพืชเกาะติดกัน ดังนั้น เมื่อ pectin สลาย ทำให้เซลล์พืชหลุดออกจากกัน เนื้อเยื่ออ่อนตัว (วิลาวัณย์, 2539) ส่งผลให้ผักผลไม้เกิดการช้ำหรือเละและเสื่อมเสียไปในที่สุด นอกจากนี้ยังพบในข้าวหุงสุกที่ทิ้งค้างคืน แล้วนำกลับมาบริโภคใหม่แต่ให้ความร้อนในการอุ่นไม่สูงพอที่จะทำลายเชื้อหรือสปอร์ รวมถึงสารพิษที่เชื้อสร้าง ก็จะส่งผลที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้

2.8.1 การทำให้เกิดโรค

1) อาหารเป็นพิษ (Food poisoning) การก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษนั้น เนื่องจาก *B. cereus* เมื่อมีการรับเข้าสู่ร่างกายโดยการรับประทานอาหารแล้ว ในระยะแรกจะมีการปรับสภาพเซลล์ให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมก่อน (Lag phase) โดยเฉลี่ยประมาณ 2 ชั่วโมง จากนั้นจะมีการแบ่งเซลล์และเพิ่มจำนวนมากขึ้น (Log phase) ในช่วงนี้จะมีการขับสารพิษออกมาร่วมด้วย หรือกรณีหากมีการเพิ่มจำนวนมากเกินไป อาจมีการแตกสลายของเซลล์ (Autolysis) ซึ่งทำให้สารพิษที่อยู่ภายในเซลล์ (Intracellular) เกิดการแพร่กระจายสู่อวัยวะภายใน ซึ่งจะทำให้กระเพาะและลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis) การเกิดโรคจึงเกิดได้ทั้งในรูปของ Food Infection และ Food Intoxication ซึ่งเป็นลักษณะเดียวกันกับเชื้อ *Clostridium* sp. ที่มีการก่อโรคได้ทั้ง 2 แบบ Enterotoxin ของ *B. cereus* พบว่ามี 2 ชนิดคือ สารพิษที่ทนความร้อน (Heat stable enterotoxin) ทำให้อาหารเป็นพิษแบบอาการอาเจียน (Emetic form) และสารพิษที่ไม่ทนความร้อน (Heat labile enterotoxin) ทำให้เกิดอาการโรคท้องร่วง (Diarrheal form) Enterotoxin ที่ไม่ทนความร้อนนี้คล้ายกับ enterotoxin ที่สร้างจาก *Escherichia coli* และ *Vibrio cholerae*

2) อาการตาอักเสบ กลไกที่ทำให้เกิดโรคตาอักเสบจากเชื้อ *B. cereus* พบว่ามีสารพิษที่เกี่ยวข้องด้วยกัน 3 ชนิด คือ 1. Necrotoxin ซึ่งเป็น enterotoxin ที่ไม่ทนความร้อน 2. Cereolysin เป็นสารพิษที่ก่อการสลายเม็ดเลือดแดง (Hemolysis) ที่เป็นอันตรายอย่างมาก 3. Phospholipase C ซึ่งก็คือ Lecithinase สารพิษทั้ง 3 ชนิดนี้มีผลร่วมในการทำลายตาอย่างรวดเร็ว ในกรณีที่มีการปนเปื้อนเข้าสู่ดวงตาโดยตรงจะทำให้สูญเสียการมองเห็นภายใน 48 ชั่วโมง โดยเชื้อจะทำลายเนื้อเยื่อที่เรตินา เนื่องจากการติดเชื้อ *B. cereus* เป็นผลมาจากการทำงานร่วมของท็อกซินเหล่านี้ รวมไปถึงปัจจัยอื่นร่วมด้วย (นงลักษณ์, 2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.2 อาการของโรค

อาการของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อ *B. cereus* มี 2 แบบด้วยกันคือ แบบที่มีอาการอาเจียน และแบบอาการท้องร่วง

1) อาการอาเจียน (Emetic form) มักพบกับผู้ที่บริโภคอาหารประเภทธัญพืช เช่น ข้าว ที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* ในกลุ่มที่สร้าง enterotoxin ที่ทนความร้อน (Heat stable enterotoxin) เข้าไป โดยที่เชื้อส่วนใหญ่จะถูกทำลายไปในระหว่างการให้ความร้อน แต่สปอร์ยังคงมีชีวิตและงอกออกมาเป็นเซลล์ (Vegetative cell) เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ระยะฟักตัว 1-6 ชั่วโมง (โดยเฉลี่ย 2 ชั่วโมง) อาการหลังจากที่ได้รับเชื้อเข้าไปแล้วจะมีอาการอาเจียน คลื่นไส้ ปวดท้อง ระยะเวลาแสดงอาการของโรคอยู่ที่ 8-10 ชั่วโมง (โดยเฉลี่ย 9 ชั่วโมง)

2) อาการท้องร่วง (Diarrheal form) มักพบกับผู้ที่บริโภคอาหารประเภทเนื้อสัตว์หรือผักที่มีการปนเปื้อนของเชื้อในกลุ่มที่สร้าง enterotoxin ที่ไม่ทนความร้อน (Heat labile enterotoxin) ระยะฟักตัวจะนานกว่ากลุ่มแรกประมาณ 6-12 ชั่วโมง (โดยเฉลี่ย 9 ชั่วโมง) มีอาการท้องร่วง คลื่นไส้ ปวดท้อง ระยะเวลาแสดงอาการ 20-36 ชั่วโมง (โดยเฉลี่ย 24 ชั่วโมง) หรือนานกว่านั้น (นงลักษณ์, 2544)

2.8.3 ปัจจัยการเกิดโรค

อาการของโรคจะรุนแรงได้นั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆของผู้บริโภคที่ได้รับเชื้อมาได้แก่

1) ชนิดและสายพันธุ์ ชนิดและสายพันธุ์ที่ได้รับมีความรุนแรงหนักเบาต่างกันตามคุณสมบัติและความสามารถในการสร้างสารพิษของ Strain นั้นๆ

2) ปริมาณเชื้อตั้งต้น ผู้บริโภคได้รับเชื้อที่ปนเปื้อนมาในอาหารปริมาณมากหรือน้อยต่างกัน กรณีมากก็จะแสดงอาการของโรคได้เร็ว แต่หากน้อยก็ต้องใช้ระยะเวลาในการฟักตัว

3) ระยะฟักตัว เมื่อได้รับเชื้อเข้ามาก็จะต้องมีการปรับสภาพเซลล์ให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมก่อน หรือที่เรียกว่า "ระยะฟักตัว" จากนั้นจึงจะเข้าสู่ระยะแสดงอาการของโรค

4) ปัจจัยร่วม เช่น ในระหว่างที่แสดงอาการของโรค หากผู้ป่วยมีการบริโภคอาหารเข้าไป อาหารบางประเภทอาจส่งเสริมการเจริญของเชื้อ และหากมีการปนเปื้อนเชื้อก่อโรคสายพันธุ์อื่นเข้าไปก็จะส่งผลต่ออาการรุนแรงมากยิ่งขึ้นและเสี่ยงต่อการเกิดโรคของกลุ่มเชื้อที่ฉวยโอกาสตามมาด้วย เช่น *Staphylococcus* sp., *Salmonella* sp., *Escherichia coli* และ *Clostridium* sp. เป็นต้น

2.8.4 อุณหภูมิในการเจริญและการทำลาย

เนื่องจากสปอร์ของ *B. cereus* จะทนต่อสภาพความเป็นกรดด่าง ความแห้ง ความร้อน ความเค็ม อุณหภูมิต่ำ และทนต่อรังสีได้ดี (Claus and Berkeley, 1986) อุณหภูมิที่เชื้อสามารถเจริญได้จะอยู่ระหว่าง 5-55 องศาเซลเซียส ช่วงที่เจริญได้ดีอยู่ที่ 35-40 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดในการเจริญเติบโต 45-55 องศาเซลเซียส ต่ำสุด 5-20 องศาเซลเซียส ในภาคอุตสาหกรรมอาหารการทำลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์และสปอร์จะใช้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ในช่วงนี้เซลล์อาจมีการถูกทำลายไปบ้าง แต่สปอร์ยังคงอยู่รอด จากนั้นจะเว้นระยะเวลาประมาณ 30 นาที-1 ชั่วโมง เพื่อให้สปอร์เกิดการงอกออกมาเป็นเซลล์ใหม่อีกครั้ง (Vegetative cell) แล้วจึงใช้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส หรือมากกว่านั้นซ้ำอีกครั้ง ก็จะสามารถทำลายเชื้อ *B. cereus* ได้ (วิลาวัณย์, 2539)

2.8.5 การป้องกัน

เป็นที่ทราบกันดีว่า *B. cereus* ทนต่อสภาวะแวดล้อมได้ทุกสภาพ ดังนั้น การป้องกันสามารถทำได้โดยการป้องกันการงอกของสปอร์ ด้วยการเก็บอาหารที่ปรุงเสร็จแล้วไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 7 องศาเซลเซียส (4-6 องศาฟาเรนไฮต์) หรือเก็บที่อุณหภูมิสูงกว่า 55-60 องศาเซลเซียส (131-140 องศาฟาเรนไฮต์) และควรจะมีการอุ่นอาหารที่เก็บไว้ในตู้เย็น ก่อนที่จะนำมารับประทานเสมอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.7 การจำแนกลักษณะและคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Bacillus* sp.

Biochemical test	*Bacillus* sp.					
	B. megaterium	*B. cereus*	*B. polymyxa*	*B. subtilis*	*B. brevis*	*B. circulans*
Rod – shaped	+	+	+	+	+	+
Endospores	+	+	+	+	+	+
Motile	+	+	+	+	+	+
Gram - positive	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+
Cell diameter>1.0μm	+	+	+	-	+	+
Spores round	-	-	-	-	-	-
Sporangium swollen	-	-	+	-	+	+
V-P test	-	-	+	+	-	-
pH in V-P broth < 6	+	+	-	+	-	-
pH in V-P broth > 7	-	-	-	-	-	-
Acid from glucose	+	+	+	+	+	+
Gas from glucose	-	-	+	-	-	-
Hydrolysis of casein	+	+	+	+	+	+
Hydrolysis of starch	+	+	+	+	+	+
Reduced nitrate	-	+	+	+	+	+
Growth in NaCl 0%	+	+	+	+	+	+
Growth in NaCl 5%	+	+	-	+	-	+
Growth in NaCl 7%	+	-	-	+	-	-
Growth at 5 °C	-	-	-	-	-	-
Growth at 28 °C	+	+	+	+	+	+
Growth at 50 °C	-	-	+	+	+	+
Growth at 65 °C	-	-	-	-	-	-
Isolated	BFM009	BFM029	BRS038	BFP018	BRR026	BRR043

ที่มา: ดัดแปลงจาก สุปรียา (2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.6 รายงานการตรวจพบเชื้อ *B. cereus* ในอาหาร

Iurlina และคณะ (2006) ได้สุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆทั้งหมด 279 ตัวอย่าง ในประเทศอาร์เจนติน่า มาตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อ *Bacillus* sp. พบว่า 28 ใน 70 ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์น้ำผึ้ง 29 ตัวอย่างทั้งหมดจากผลิตภัณฑ์แป้ง 15 ใน 50 ตัวอย่างจากผลิตภัณฑ์เนยแข็ง และ 30 ตัวอย่างทั้งหมดในผลิตภัณฑ์เครื่องเทศ พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Bacillus* sp. โดยในผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งพบ *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. laterosporus* และ *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* ในผลิตภัณฑ์ประเภทแป้งพบ *B. subtilis* โดยพบในแป้งข้าวไรย์มากกว่าแป้งชนิดอื่น และพบการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* ถึง 50% ในผลิตภัณฑ์เนยแข็ง (Port Salut Argentina Cheese) และจากการตรวจวิเคราะห์ในผลิตภัณฑ์เครื่องเทศทั้งหมด พบเชื้อ *B. mycoides* ถึง 38% ของผลิตภัณฑ์ทั้งหมด

Svensson และคณะ (2006) ได้รวบรวมและแยกเชื้อ *B. cereus* ทั้งหมด 5668 ไอโซเลต จากตัวอย่างนมใน 10 ฟาร์ม พบสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ emetic toxin น้อยกว่า 0.2% ในตัวอย่างนมจากฟาร์มปศุสัตว์ และ 1-3.8% ในผลิตภัณฑ์นมจากคอกสัตว์ทั่วไป แสดงให้เห็นว่าการจัดการฟาร์มมีผลในการลดจำนวนเชื้อปนเปื้อนลงด้วย และพบ *B. cereus* 3401 ไอโซเลต ที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์ในสายการผลิตนม ซึ่งมีการสุ่มตัวอย่างทุกเดือน โดยพบว่า 0.05% เป็นสายพันธุ์ที่สร้าง emetic toxin หรือกลุ่มที่สร้างสารพิษที่ทนความร้อน (Heat stable enterotoxin) ดังนั้น การดูแลเรื่องความสะอาดของไซโลและถังเก็บนมอยู่เป็นประจำ รวมไปถึงการควบคุมสภาพแวดล้อมให้สะอาดปลอดภัย จะมีผลช่วยลดจำนวนเชื้อ *B. cereus* ลงได้

2.8.7 การยับยั้งและทำลายเชื้อ *B. cereus*

Rossland และคณะ (2005) ศึกษากระบวนการหมักกรดแลคติก ที่มีผลต่อการเจริญและการสร้างสปอร์ของ *B. cereus* ในนม โดยได้ทำการเพาะเชื้อ *B. cereus* NVH45 ร่วมกับ *Lactobacillus* sp. 2 สายพันธุ์ ในถังหมักที่ควบคุม pH พบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* 2756 และ *L. acidophilus* NCFB 1748 สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสปอร์ของ *B. cereus* ได้ อย่างไรก็ตาม พบว่าค่า pH ได้สูงขึ้นเรื่อยๆ จาก 5.0 เป็น 6.0 ที่เวลา 72 ชั่วโมง โดยที่หลังจาก 7-12 ชั่วโมง ค่า pH จะลดลงอย่างรวดเร็วและมีความเป็นกรดสูงขึ้น

Valero และ Frances (2006) ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้น้ำมันหอมระเหยจากธรรมชาติ 3 ชนิดได้แก่ Carvacrol, Cinnamaldehyde และThymol เพื่อยับยั้งการเน่าเสียของอาหาร จากการศึกษากระบวนการหมักต่อการเจริญและการงอกสปอร์ของ *B. cereus* 4 สายพันธุ์ ในอาหาร Carrot broth การทดสอบระดับความเข้มข้นของ Carvacrol, Cinnamoldehyde และThymol แสดงถึงประสิทธิภาพการยับยั้งและทำลายเชื้อ *B. cereus* ในผักที่ใช้เป็น substrate โดยเติม Cinnamaldehyde 2 ไมโครลิตร,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thymol 20 กรัม หรือ Carvacrol 5 ไมโครลิตร ต่ออาหารเหลว Carrot broth 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วทำให้เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 8 องศาเซลเซียส ซึ่งจะสามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างของสปอร์ *B. cereus* ในกลุ่ม Psychrotrop สายพันธุ์ INRA TZ415 อย่างน้อย 60 วันได้ อย่างไรก็ตาม การทดลองนี้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* ที่อุณหภูมิมากกว่า 8 องศาเซลเซียส ได้

Valero และคณะ (2006) ทำการทดสอบปฏิกิริยาการฉายรังสีอิเล็กตรอนที่มีผลต่อสปอร์ของ *B. cereus* (Distilled-water spore suspension) หลังการฉายรังสีพบว่า ปริมาณรังสี 1.3, 3.1 และ 5.7 กิโลเกรย์ ให้ผลเทียบเท่ากับการใช้อุณหภูมิความร้อนที่ 85-100 องศาเซลเซียส ในการทำลายสปอร์ *B. cereus* เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร

Yadava และคณะ (2006) พบว่าสาร human β-defensin (HBD) มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียสกุล *Bacillus* sp. ได้โดยที่ระดับความเข้มข้นของ peptide มีผลในการเรียงตัวของโปรตีน ซึ่งพบว่า HBD-3 มีประสิทธิภาพในการต่อต้าน *B. subtilis* และ *B. licheniformis* ในขณะที่ HBD-2 มีผลในการต่อต้าน *B. cereus* และ *B. thuringiensis* ได้ดี

2.8.8 ข้อกำหนดในการนำเข้าอาหารที่พบการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus*

เนื่องจากเชื้อ *B. cereus* เป็นเชื้อที่สร้างปัญหาให้แก่ภาคอุตสาหกรรมอาหาร ไม่ว่าจะเป็นอุตสาหกรรมนม อาหารกึ่งสำเร็จรูป ผลิตภัณฑ์ประเภทธัญพืช โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว ซึ่งมีโอกาสพบการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* ได้มากและการควบคุมเป็นไปได้ยาก ด้วยเหตุนี้ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาจึงได้พิจารณาทบทวนข้อกำหนดด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหารประเภทต่างๆ โดยใช้แนวทางมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (codex) และให้จัดทำแบบประเมินความเสี่ยง (Risk assessment) แล้วนำไปกำหนดค่าปฏิบัติงานสำหรับใช้เป็นเกณฑ์ในการควบคุมต่อไป โดยได้พิจารณาเลือกเชื้อ *B. cereus* ในบรรดากลุ่ม pathogens เพื่อดำเนินการแก้ไขก่อน เนื่องจากเชื้อ *B. cereus* มีปัญหาในทางปฏิบัติ คณะอนุกรรมการได้จัดตั้งผู้ทรงคุณวุฒิที่เชี่ยวชาญในเชื้อดังกล่าวเป็นผู้จัดทำเอกสาร Risk profile ของเชื้อและให้ข้อกำหนดมีผลตั้งแต่ เมษายน 2548 เป็นต้นไป ดังนั้น การตรวจเชื้อ *B. cereus* จำเป็นต้องรายงานปริมาณที่ตรวจพบด้วย เพื่อพิจารณาว่าเป็นไปตามเกณฑ์ข้อกำหนด จากแนวทางดังกล่าว สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาจึงกำหนดเกณฑ์การยอมรับการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* ดังตารางที่ 2.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.8 ข้อกำหนดในการนำเข้าอาหารที่พบการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus*

ประเภทอาหาร	ข้อกำหนดปริมาณ *B. cereus*
1. เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทมีธัญพืชเป็นส่วนประกอบ เช่น โกโก้ ข้าวโพด รวมทั้งน้ำนมถั่วเหลือง	
- พร้อมบริโภค ชนิดพลาสเจอร์ไรส์	ไม่พบใน 10 มิลลิลิตร
- ชนิดแห้ง	พบไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม
2. นมโค/นมปรุงแต่ง / ผลิตภัณฑ์ของนม	
- ชนิดแห้ง	พบไม่เกิน 10 ใน 1 กรัม
- ชนิดเหลวพร้อมดื่ม ชนิดพลาสเจอร์ไรส์	ไม่พบใน 1 มิลลิลิตร
- นมดัดแปลงสำหรับทารก / อาหารทารกชนิดผง	พบไม่เกิน 10 ใน 1 กรัม
- อาหารเสริมสำหรับทารกชนิดผง	พบไม่เกิน 10 ใน 1 กรัม
3. อาหารที่บริโภคโดยไม่ต้องผ่านความร้อน	
- อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ตาม 3(2)	พบไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม
- ซอสบางชนิด รวมทั้งเต้าเจี้ยว	พบไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม
- ผลิตภัณฑ์ปรุงรสที่ได้จากการย่อยโปรตีนถั่วเหลือง	พบไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม
- อาหารพร้อมบริโภคที่ทำจากธัญพืชหรือมีแป้งเป็นส่วนประกอบหลัก เช่น คอร์นเฟรก ผงธัญพืช คุกกี้ บิสกิต	พบไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม
4. อาหารกึ่งสำเร็จรูปและสารเคมีที่ใช้กับอาหาร	
- ก๋วยเตี๋ยว ก๋วยจั๊บ บะหมี่ เส้นหมี่	พบไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (เส้น) พบไม่เกิน 1000 ใน 1 กรัม (เครื่องปรุง)
- ข้าวต้ม โจ๊ก	พบไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม
- ซุปชนิดเข้มข้น (ก้อน)	พบไม่เกิน 1000 ใน 1 กรัม
- น้ำพริกแกง	พบไม่เกิน 1000 ใน 1 กรัม
- วัตถุปรุงแต่งรสอาหาร (กรณีไม่ระบุใน spec)	พบไม่เกิน 1000 ใน 1 กรัม

ที่มา : สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (www.fda.moph.go.th, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและจุลินทรีย์

3.1.1 ข้าวเหนียวเขี้ยวงู

3.1.2 แป้งข้าวเจ้า ตราช้างสามเศียร

3.1.3 อบเชยผง ตรางวนสูน

3.1.4 น้ำมะพร้าว

3.1.5 ลูกแป้งข้าวหมาก 10 ตัวอย่าง ในเขตภาคกลาง กรุงเทพฯ และปริมณฑล (ภาคผนวก ก)

3.1.6 ผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก 10 ตัวอย่าง ที่วางจำหน่ายในกรุงเทพฯและปริมณฑล (ภาคผนวก ก)

3.1.7 เชื้อรา *Amylomyces rouxii* จากโรงงานเหล้าสาโท (บริษัท ซีเอ็มโภคภัณฑ์ จำกัด)

3.1.8 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* ที่แยกจากลูกแป้งและผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก

3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1 กรดซิตริก

3.2.2 แอลกอฮอล์

3.2.3 Beef extract powder (Merck, Germany)

3.2.4 Malt extract powder (Merck, Germany)

3.2.5 Yeast extract powder (Merck, Germany)

3.2.6 Peptone from meat (Merck, Germany)

3.2.7 Potato dextrose agar (Merck, Germany)

3.2.8 Nutrient agar (Merck, Germany)

3.2.9 Blood agar (ได้รับความอนุเคราะห์จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข)

3.2.10 Mannitol egg-yolk polymyxin agar (MYP) (Merck, Germany)

3.2.11 Dichloran rose bengal chloramphenicol agar (DRBC) (Merck, Germany)

3.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1 ถุงพลาสติกใสและแบบPP ขนาด 8×12 นิ้ว

3.3.2 หลอดทดลองและฝาหลอด

3.3.3 เข็มและลวดเขี่ยเชื้อ

3.3.4 บีกเกอร์ ขนาด 500 มิลลิลิตร

3.3.5 ปิเปต ขนาด 1 มิลลิลิตร และ 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.7 กระบอกตวงขนาดต่างๆ

3.3.8 ฟลาสก์ ขนาด 200 มิลลิลิตร

3.3.9 ขวดฝาเกลียว ขนาด 500 มิลลิลิตร

3.3.10 แท่งแก้วตัววี

3.3.11 แท่งแก้วสามเหลี่ยม

3.3.12 จานเพาะเชื้อ

3.3.13 ถ้วยอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น (Moisture cans)

3.4 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

3.4.1 เครื่องปั่น (Mixer) (Model G-560E, Scientific industries, INC. USA)

3.4.2 เครื่องชั่งดิจิตอล 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง

3.4.3 เตาไมโครเวฟ (Microwave) (Model R-241, Sharp, Japan)

3.4.4 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) (Binder 02-38813, Germany)

3.4.5 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Heraeus kelvitron, Germany)

3.4.6 เครื่องฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (Autoclave) (Rexell 98207, Taiwan)

3.4.7 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (Inolab pH level 1, Germany)

3.4.8 อ่างน้ำร้อนไฟฟ้า (Water bath) (Memmert, Germamy)

3.4.9 เครื่องบดผสมอาหาร (Stomacher) (Seward 3715, England)

3.4.10 เครื่องนับโคโลนีเชื้อ (Colony counter) (Funke Gerber, Germany)

3.4.11 ตู้เขี่ยเชื้อ (Air Lamina Flow) (Model-CLF 460 EC, Woerden, Belgium)

3.4.12 เครื่องเขย่าสาร (Shaker)

3.4.13 โถดูดความชื้น (Desiccators)

3.4.14 เครื่องวัดปริมาณน้ำตาล (Hand refractometer) (ATAGO, Japan)

3.5 สถานที่ดำเนินการทดลอง

3.5.1 ห้องปฏิบัติการ สถาบันวิจัยไวน์และสุราพื้นบ้าน ศูนย์กลางสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ถนนรังสิต-นครนายก ตำบลคลองหก อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12130

3.5.2 ห้องปฏิบัติการสุขาภิบาลอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เลขที่ 3 หมู่ 2 ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 วิธีดำเนินการทดลอง

3.6.1 ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* ในลูกแป้งและผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก

3.6.1.1 ตรวจนับจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่ปนเปื้อนในลูกแป้งข้าวหมาก

สุ่มตัวอย่างลูกแป้งข้าวหมากจากสถานที่ผลิตในประเทศไทยจำนวน 10 ตัวอย่าง เพื่อตรวจหาเชื้อ *B. cereus* โดยใช้ตัวอย่าง 10 กรัม ในสารละลาย 0.1% เปปโตน 90 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่อง stomacher จากนั้นปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้ว 0.1 มิลลิลิตร (ที่ระดับความเจือจาง 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3}) spread plate บนอาหาร Mannitol egg-yolk polymyxin agar (MYP agar) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จึงตรวจนับจำนวนโคโลนีสีชมพูที่เจริญ (CFU/g) จากนั้นนำโคโลนีที่คาดว่าเป็นเชื้อ *B. cereus* ไปตรวจยืนยันผลทางชีวเคมีโดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อ spot ลงบนอาหาร Blood agar สังเกตการเกิดวงใส (Clear zone) รอบโคโลนี *B. cereus* ที่เจริญบนอาหาร Blood agar ซึ่งเป็นผลมาจากการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (ภาคผนวก ก.3)

3.6.1.2 ตรวจนับจำนวนเชื้อ *B. cereus* ในผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก

ทำการสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่วางจำหน่ายตามท้องตลาดจำนวน 10 ตัวอย่าง เพื่อตรวจหาเชื้อ *B. cereus* โดยใช้วิธีเดียวกับข้อ 3.6.1.1 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.6.2 ศึกษากระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง

3.6.2.1 การเตรียมกล้าเชื้อรา *A. rouxii* ในอาหารเหลว Modified yeast-malt extract broth

เพาะเลี้ยงเชื้อรา *A. rouxii* บนอาหาร PDA agar slant เป็นเวลา 3-5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นใช้เข็มเขี่ยเชื้อลอกแผ่นราใส่ลงในอาหารเหลว Modified yeast-malt extract broth ที่มีการปรับ pH ในช่วง 4.0-4.4 แล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่า (Shaker) ที่ความเร็วรอบ 150 rpm เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

3.6.2.2 การเตรียมกล้าเชื้อข้าวหมากผง (ภาคผนวก ข.5)

นำ suspension ของเชื้อราที่เตรียมได้จากข้อ 3.6.2.1 ผสมลงในแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจากเครื่องฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ในอัตราส่วน 55 มิลลิลิตร ต่อแป้งข้าวเจ้า 100 กรัม คลุกเคล้าส่วนผสมให้เข้ากันในถุงพลาสติกใส แล้วเทลงถาดอลูมิเนียมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีอบแห้ง (70 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง) เกลี่ยแป้งเชื้อให้เสมอกัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในตู้บ่มเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในตู้อบลมร้อน (Hot air oven) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปบดให้เป็นผงในเครื่องปั่นผสมอาหาร บรรจุลงถุงพลาสติกแบบ PP และเก็บรักษาในโถดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.2.3 ศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการอบแห้งกล้าเชื้อข้าวหมากผง

แปรผันอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการอบแห้งกล้าเชื้อข้าวหมากผง ดังแสดงในตารางที่ 3.1 แล้ววิเคราะห์ปริมาณเชื้อราที่มีชีวิตในกล้าเชื้อผงโดยวิธี spread plate บนอาหาร DRBC agar และเปอร์เซ็นต์ความชื้น (Juliano, 1974) หลังอบแห้งเปรียบเทียบกับก่อนอบแห้ง แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวางแผนการทดลองแบบ Complete Random Design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 3.1 สภาวะที่ใช้ในการอบแห้งกล้าเชื้อข้าวหมากผง

อุณหภูมิ (°C)	ระยะเวลาในการอบแห้ง		
	6 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
37			/
40		/	/
45		/	/
50	/		

3.6.3 ศึกษาความเข้มข้นของอบเชยที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง

3.6.3.1 ผลของอบเชยต่อการรอดชีวิตของเชื้อรา *A. rouxii* ในกล้าเชื้อข้าวหมากผง

เตรียมกล้าเชื้อข้าวหมากผงตามวิธี 3.6.2 โดยแปรผันตามความเข้มข้นของอบเชยที่ 0%, 1%, 2% และ 3% โดยน้ำหนักแป้ง และเลือกใช้สภาวะในการอบแห้งที่เหมาะสมจากข้อ 3.6.2.3 จากนั้นนำกล้าเชื้อผงที่ได้มาทำการตรวจนับจำนวนเชื้อราที่มีชีวิตโดยวิธี spread plate บนอาหาร DRBC agar แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวางแผนการทดลองแบบ Complete Random Design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.6.3.2 ผลของอบเชยต่อการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ในกล้าเชื้อข้าวหมากผง

นำเชื้อบริสุทธิ์ของ *B. cereus* ที่แยกได้จากข้าวหมากในข้อที่ 3.6.1.1 มาเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient broth ปริมาตร 9 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วนำมาเจือจางด้วย 0.1% เปปโตน ให้ได้ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 10^5 CFU/ ml ผสมซัสเพนชันของเชื้อ *B. cereus* ที่เตรียมได้ลงในซัสเพนชันของเชื้อรา *A. rouxii* โดยคำนวณให้มีความเข้มข้นของเชื้อ *B. cereus* อยู่ในช่วง 10^3 CFU/กรัมแป้ง จากนั้นผสมซัสเพนชันของเชื้อรา *A. rouxii* กับเชื้อ *B. cereus* ในแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (121°C นาน 15 นาที) และมีอบเชยผสมอยู่ 0%, 1%, 2%, และ 3% โดยน้ำหนักแป้ง คลุกเคล้าส่วนผสมให้เข้ากันในถุงพลาสติกใสขนาด 8×12 นิ้ว แล้วเทลงบนถาดอลูมิเนียมเกลี่ยให้เสมอกัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยสุ่มตัวอย่างแป้งเชื้อ 10 กรัม ในชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 48 และหลังจากผ่านการอบแห้งมาทำการตรวจนับจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่รอดชีวิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยวิธี pour plate ในอาหาร Nutrient agar (NA) บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้ววิเคราะห์จำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิต (CFU/g) นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวางแผนการทดลองแบบ Complete Random Design (CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3.6.4 ศึกษาผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อผงผสมอบเชย

เติมกล้าเชื้อผง 0.5 กรัม ที่มีส่วนผสมของอบเชยในปริมาณที่เหมาะสมจากข้อ 3.6.3 ลงในข้าวเหนียวที่นึ่งสุกและผ่านน้ำแล้ว 100 กรัม คลุกเคล้าให้เข้ากันแล้วใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างน้ำต้อยไปวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Total soluble solid) ด้วย Hand refractometer และวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วย pH meter นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวางแผนการทดลองแบบ Complete Random Design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.6.4.1 ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่ผลิตโดยกล้าเชื้อผงผสมอบเชย

นำผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อผงผสมอบเชยมาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ชิมที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน ทดสอบปัจจัยด้านคุณลักษณะทั่วไป สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความชอบรวม เพื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ข้าวหมากในท้องตลาด 1 ตัวอย่างโดยใช้ระดับคะแนน (Hedonic scale) เท่ากับ 7 (7 = ชอบมากที่สุด และ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด) นำผลการทดลองที่ได้ไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.6.4.2 ศึกษาอายุการเก็บรักษาและประสิทธิภาพการหมักของกล้าเชื้อข้าวหมากผง

เก็บรักษากล้าเชื้อข้าวหมากผงในถุงพลาสติกแบบ PP ขนาด 8×12 นิ้ว ที่อุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น (Desiccator) เก็บตัวอย่างทุกๆ 15 วัน เป็นเวลา 180 วัน เพื่อวิเคราะห์จำนวนเชื้อราที่มีชีวิตและการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* ด้วยวิธี spread plate บนอาหาร MYP agar พร้อมทั้งทดสอบประสิทธิภาพในการหมัก โดยนำกล้าเชื้อผงไปใช้ผลิตข้าวหมากและวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำต้อยหลังจากการหมักครบ 30 ชั่วโมง โดยแสดงผลในรูปของปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (°Brix) นำผลการทดลองที่ได้ไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวางแผนการทดลองแบบ Complete Random Design (CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* ในลูกแป้งข้าวหมากและผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก

จากการสุ่มตัวอย่างลูกแป้งที่ผลิตในประเทศไทยจำนวน 10 ตัวอย่าง เพื่อทำการตรวจหาเชื้อ *B. cereus* ผลจากการตรวจพบลูกแป้งที่คาดว่ามีการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* ทั้งหมด 9 ใน 10 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4.1) โดยมีตัวอย่างลูกแป้งที่คาดว่าพบเชื้อ *B. cereus* ปนเปื้อนสูงถึง 10^4 CFU/g, 10^3 CFU/g และ 10^2 CFU/g และจากผลการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่วางจำหน่ายในท้องตลาดทั้งหมด 10 ตัวอย่าง พบผลิตภัณฑ์ที่คาดว่าปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* ทั้งหมด 7 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4.2) โดยจำนวนนี้มี 6 ตัวอย่าง ที่มีจำนวนเชื้อ *B. cereus* ปนเปื้อนสูงถึง 10^3 CFU/g และผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก 1 ตัวอย่าง พบ *B. cereus* ปนเปื้อนที่ระดับ 10^2CFU/g และเมื่อนำโคโลนีเหล่านี้ที่คาดว่าเป็นเชื้อ *B. cereus* จากลูกแป้งข้าวหมาก 9 ไอโซเลต และจากผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก 7 ไอโซเลต มาตรวจยืนยันโดยการทดสอบการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงของแกะในอาหาร Blood agar พบว่าทุกไอโซเลตเป็นเชื้อ *B. cereus* จริง โดยพิจารณาจากการเกิดวงใส (Clear zone) บริเวณรอบโคโลนี (ภาพที่ 4.1 และ 4.2) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Moravek และคณะ (2004) ที่ใช้วิธีการแยก hemolysin BL enterotoxin complex (HBL) ที่สร้างโดยเชื้อ *B. cereus* ด้วยวิธี Colony immunoblot assay จากอาหารเพาะเชื้อ Blood agar

จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ามีการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* ซึ่งมีปริมาณสูงถึง 10^3 CFU/g ในผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่จำหน่ายอยู่ในท้องตลาด ในขณะที่เกณฑ์ข้อกำหนดของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาที่ให้พบเชื้อ *B. cereus* ได้ไม่เกิน 100 ในอาหาร 1 กรัม ในอาหารพร้อมบริโภคโดยไม่ต้องผ่านความร้อน (www.fda.moph.go.th, 2548) และจากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการปนเปื้อนของ *B. cereus* ในผลิตภัณฑ์ข้าวหมากน่าจะเป็นผลมาจากการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* ในลูกแป้งข้าวหมากที่มีสุขลักษณะการผลิตที่ไม่ถูกต้องหรือปนเปื้อนมาจากวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

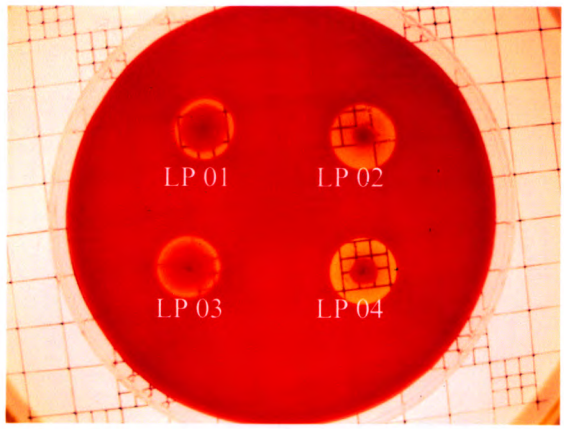
ตารางที่ 4.1 จำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่ปนเปื้อนในลูกแป้งข้าวหมากที่ผลิตในประเทศไทย

รหัสตัวอย่าง	แหล่งที่มา	*B. cereus* CFU/g
LP01	ปากคลองตลาด / กทม.	1.2×10^3
LP02	บางกะปิ / กทม.	1.8×10^3
LP03	จ. นครปฐม	1.4×10^3
LP04	จ. นครปฐม	2.4×10^3
LP05	จ. นครปฐม	2.2×10^3
LP06	จ. นครปฐม	<10
LP07	จ. กาญจนบุรี	2.2×10^4
LP08	จ. ราชบุรี	1.2×10^4
LP09	จ. ชัยนาท	8.0×10^2
LP10	จ. เพชรบุรี	1.0×10^3

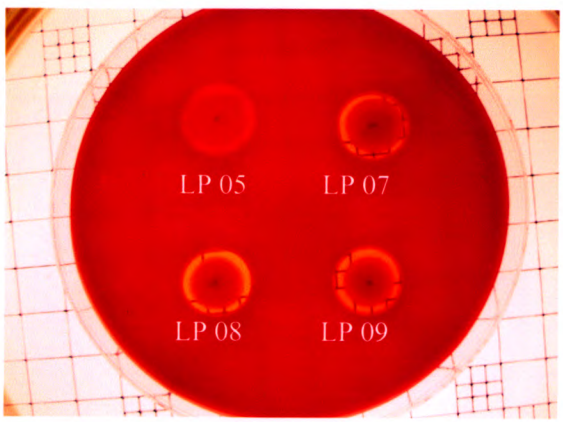
ตารางที่ 4.2 ผลการตรวจนับจำนวนเชื้อ *B. cereus* ในผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก

รหัสตัวอย่าง	แหล่งที่มา	*B. cereus* CFU/g
KM01	บางกะปิ / กทม.	<10
KM02	บางละมุง / ชลบุรี	1.4×10^3
KM03	บางละมุง / ชลบุรี	1.0×10^3
KM04	บางแค / กทม.	1.6×10^3
KM05	จรัญสนิทวงศ์	<10
KM06	บางขุนเทียน / กทม.	2.0×10^3
KM07	ดุสิต / กทม.	3.9×10^3
KM08	ปากคลองตลาด / กทม.	5.0×10^3
KM09	บางขุนเทียน / กทม.	<10
KM10	บางขุนเทียน / กทม.	6.0×10^2

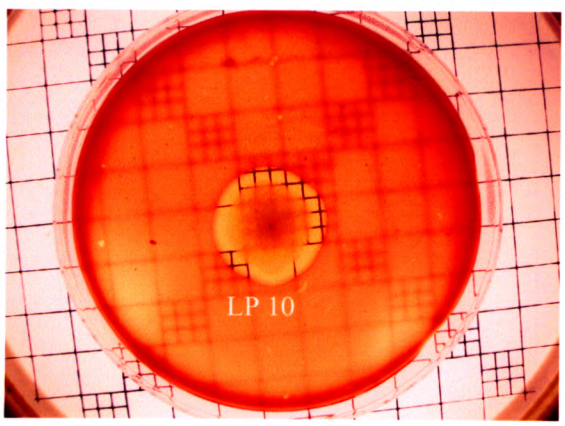
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ก. ผลการทดสอบเชื้อ *B. cereus* ในอาหารเพาะเชื้อ Blood agar (รหัส LP01-LP04)



ภาพที่ 4.1 ข. ผลการทดสอบเชื้อ *B. cereus* ในอาหารเพาะเชื้อ Blood agar (รหัส LP05-LP09)



ภาพที่ 4.1 ค. ผลการทดสอบเชื้อ *B. cereus* ในอาหารเพาะเชื้อ Blood agar (รหัส LP10)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ศึกษากระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง

4.2.1 ศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการอบแห้งกล้าเชื้อผง

อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการอบแห้งกล้าเชื้อข้าวหมากผง มีอิทธิพลต่อปริมาณเชื้อราที่มีชีวิตในกล้าเชื้อผง (ตารางที่ 4.1) โดยพบว่าปริมาณเชื้อราลดลง (อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$) เมื่อใช้อุณหภูมิในการอบแห้งสูงขึ้น นอกจากนี้ ยังพบว่าอุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกันมีผลทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นในกล้าเชื้อข้าวหมากผงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยความชื้นมีแนวโน้มลดลง เมื่อใช้อุณหภูมิสูงขึ้นหรือระยะเวลาในการอบแห้งนานขึ้น ซึ่งการผลิตลูกแป้งข้าวหมากโดยทั่วไปมักลดความชื้นของลูกแป้งให้เหลือน้อยกว่า 12% เพื่อให้สามารถเก็บไว้ได้นาน (นภา, 2535) จากผลการทดลอง พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นของกล้าเชื้อข้าวหมากผงลดลงจากเริ่มต้น 28.06% เหลือน้อยกว่า 12% ที่ทุกสภาวะการอบแห้ง อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาในแง่ของปริมาณเชื้อราที่มีชีวิต พบว่าสภาวะที่ใช้ในการอบแห้งกล้าเชื้อผงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง น่าจะเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด เนื่องด้วยมีปริมาณเชื้อราที่รอดชีวิตมากที่สุดเท่ากับ 7.25 log CFU/g ซึ่งไม่แตกต่างจากปริมาณเชื้อราก่อนอบแห้ง ทั้งนี้ปริมาณเชื้อราที่มากก็มีผลต่อปริมาณของเอ็นไซม์กลูโคอะไมเลส ซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่อกิจกรรมการย่อยสลายแป้งไปเป็นน้ำตาล (ชิดชม, 2528)

ตารางที่ 4.3 ปริมาณเชื้อราที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์ความชื้นหลังการอบแห้งกล้าเชื้อผงที่อุณหภูมิและเวลาต่างกัน

สภาวะการอบแห้ง	จำนวนเชื้อรา *A. rouxii* (Log cfu/g)	เปอร์เซ็นต์ความชื้น (%)
Control (ก่อนอบ)	7.16 ± 0.04^{a} (1.45×10^{7})*	28.06 ± 0.75^{a}
37 °C นาน 24 ชม.	7.25 ± 0.04^{a} (1.59×10^{7})	9.43 ± 0.23^{c}
40 °C นาน 12 ชม.	6.07 ± 0.05^{b} (1.18×10^{6})	10.41 ± 0.06^{b}
40 °C นาน 24 ชม.	5.62 ± 0.37^{c} (7.3×10^{5})	8.34 ± 0.09^{d}
45 °C นาน 12 ชม.	6.10 ± 0.10^{b} (1.28×10^{6})	8.46 ± 0.30^{d}
45 °C นาน 24 ชม.	5.80 ± 0.05^{c} (6.4×10^{5})	7.02 ± 0.08^{e}
50 °C นาน 6 ชม.	5.78 ± 0.02^{c} (4.06×10^{5})	6.85 ± 0.15^{e}

หมายเหตุ : ตัวอักษร a-e ที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

*ค่าในวงเล็บคือจำนวนเชื้อรา (CFU/g)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอบเชยในการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง

4.3.1 ประสิทธิภาพของอบเชยต่อการลดจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่ปนเปื้อนในระหว่างระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของอบเชยต่อการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ในกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของอบเชยเท่ากับ 2 และ 3% โดยน้ำหนักแป้ง มีผลยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4.4) ในขณะที่ความเข้มข้นของอบเชย 1% ไม่มีผลยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ในกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง และเมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาการบ่มกล้าเชื้อผง 12 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณ *B. cereus* เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) จากเริ่มต้น (ที่ 0 ชั่วโมง) แต่หลังจากบ่มกล้าเชื้อเป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง และหลังอบแห้งแล้ว พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของอบเชยเท่ากับ 2 และ 3% มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของอบเชย 0 และ 1% จากรายงานวิจัยของ Varelo และ Frances (2006) พบว่าสารประกอบ cinnamaldehyde ในน้ำมันหอมระเหยอบเชยสามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ *B. cereus* INRA TZ415 ในกลุ่ม Psychotroph ร่วมกับการใช้อุณหภูมิต่ำ พุทธรินทร์ (2527) กล่าวว่า ในการทำลายเชื้อ *B. cereus* ของอบเชยขึ้นอยู่กับส่วนของอบเชยที่ใช้ เช่น ดอก ใบ เปลือก ความอ่อนหรือแก่ รวมถึงชนิดของจุลินทรีย์ เช่น ความทนทานของแต่ละสายพันธุ์ที่ต่างกัน และสภาวะที่ใช้ทดสอบ เช่น ระยะเวลาที่จุลินทรีย์สัมผัสกับอบเชย นอกจากนี้ บัญญัติ (2518) ยังกล่าวว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของอบเชยขึ้นอยู่กับสารประกอบซินนามิคอัลดิไฮด์และยูจีนอลเป็นส่วนสำคัญ โดยเฉพาะยูจีนอลมีส่วนร่วมในการทำลายโปรตีนของผนังเซลล์เมมเบรน ทำให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียเกิดรอยรั่ว ส่งผลให้ Organelle ภายในเซลล์ไหลออกสู่ภายนอกจึงทำให้เซลล์ตาย อย่างไรก็ตาม เนื่องจากในการทดลองนี้ได้ใช้อบเชยผงทางการค้าในการยับยั้ง *B. cereus* จึงอาจส่งผลให้ประสิทธิภาพการยับยั้งไม่ดีเท่ากับการใช้ในรูปของน้ำมันหอมระเหย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 จำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 0, 1, 2 และ 3%

ระยะเวลาในการบ่ม กล้าเชื้อ (ชั่วโมง)	จำนวนเชื้อ *B. cereus* (Log cfu/g) ความเข้มข้นของอบเชย (%)			
	0	1	2	3
0	$2.84 \pm 0.03^{c, a}$ (6.93×10^{2})	$2.66 \pm 0.06^{b, b}$ (4.55×10^{2})	$2.15 \pm 0.07^{c, d}$ (1.42×10^{2})	$2.35 \pm 0.07^{b, c}$ (2.25×10^{2})
12	$3.08 \pm 0.02^{a, b}$ (1.19×10^{3})	$3.17 \pm 0.02^{a, a}$ (1.46×10^{3})	$2.63 \pm 0.01^{a, c}$ (4.30×10^{2})	$2.62 \pm 0.01^{a, c}$ (4.20×10^{2})
24	$3.05 \pm 0.02^{ab, a}$ (1.11×10^{3})	$3.12 \pm 0.02^{a, a}$ (1.30×10^{3})	$2.33 \pm 0.04^{b, b}$ (2.12×10^{2})	$2.30 \pm 0.05^{b, b}$ (1.97×10^{2})
48	$3.03 \pm 0.01^{ab, b}$ (1.06×10^{3})	$3.11 \pm 0.01^{a, a}$ (1.27×10^{3})	$2.34 \pm 0.05^{b, c}$ (2.17×10^{2})	$2.15 \pm 0.00^{c, d}$ (1.40×10^{2})
หลังอบแห้ง 24 ชม.	$3.02 \pm 0.01^{b, a}$ (1.03×10^{3})	$3.08 \pm 0.03^{a, a}$ (1.20×10^{3})	$2.32 \pm 0.01^{b, b}$ (2.07×10^{2})	$2.04 \pm 0.06^{c, c}$ (1.10×10^{2})

หมายเหตุ : ตัวอักษร a - d ในแนวตั้งและตัวอักษร a - d ในแนวนอนแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$), *ค่าในวงเล็บคือจำนวนเชื้อ *B. cereus* (CFU/g)

4.3.2 ผลของอบเชยต่อการรอดชีวิตของเชื้อรา *A. rouxii* ในกล้าเชื้อผง

จากผลการทดลองผสมอบเชยลงในแป้งข้าวเจ้าที่ใช้ในการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ระดับความเข้มข้น 0%, 1%, 2%, และ 3% โดยน้ำหนัก พบว่าความเข้มข้นของอบเชยมีผลต่อการรอดชีวิตของเชื้อรา *A. rouxii* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยที่ระดับความเข้มข้นของอบเชย 1%, 2% และ 3% ส่งผลให้จำนวนเชื้อราที่มีชีวิตในกล้าเชื้อผงลดลงประมาณ 0.9 Log cfu/g, 0.22 Log cfu/g และ 0.39 Log cfu/g ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกล้าเชื้อผงที่ไม่ผสมอบเชย (ตารางที่ 4.5) ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่าอบเชยมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. rouxii* พุทธรินทร์ (2527) กล่าวว่าสารประกอบในอบเชยได้แก่ Cinnamaldehyde, Eugenol, α-pinene และ Linalool มีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา *A. rouxii* โดยพบว่าความเข้มข้นที่ 2% และ 3% มีผลต่อการลดลงของจำนวนเชื้อรา *A. rouxii* ไม่มากนักเมื่อเทียบกับการใช้ความเข้มข้นของอบเชยตั้งแต่ 4% เป็นต้นไป (พุทธรินทร์, 2527) เมื่อพิจารณาผลของอบเชยต่อการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* (ตารางที่4.4) ร่วมกับการรอดชีวิตของเชื้อรา *A. rouxii* (ตารางที่4.5) จึงอาจสรุปได้ว่ากล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 2% เป็นระดับความเข้มข้นของอบเชยที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ได้ใกล้เคียงกับการใช้อบเชยที่ 3% ในขณะที่มีผลต่อการลดลงของปริมาณเชื้อรา *A. rouxii* น้อยกว่าที่ระดับความเข้มข้น 3% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กล่าวคือ มีปริมาณเชื้อราที่รอดชีวิตประมาณ 10^{6} CFU/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ปริมาณเชื้อรา *A. rouxii* ที่รอดชีวิตในกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 0, 1, 2 และ 3%

ความเข้มข้นของอบเชย (%)	จำนวนเชื้อรา *A. rouxii* (Log cfu/g)
0	7.15 ± 0.08^{a} (1.45×10^{7})*
1	6.25 ± 0.19^{b} (1.92×10^{6})
2	6.03 ± 0.14^{b} (1.13×10^{6})
3	5.64 ± 0.07^{c} (4.43×10^{5})

หมายเหตุ : ตัวอักษร a, b และc ที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$), *ค่าในวงเล็บคือจำนวนเชื้อรา (CFU/g)

4.4 ศึกษาผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อผงผสมอบเชย

4.4.1 ทดสอบประสิทธิภาพของกล้าเชื้อผงผสมอบเชยในกิจกรรมการหมักข้าวหมาก

จากการทดสอบประสิทธิภาพของอบเชยต่อการเจริญของเชื้อรา *A. rouxii* ในข้อ 4.3.2 ทำให้ทราบว่าอบเชยมีผลต่อการลดจำนวนของเชื้อราตามอัตราส่วนที่เติมลงในกล้าเชื้อผง และเมื่อนำกล้าเชื้อผงที่ผสมอบเชยมาใช้ในการผลิตข้าวหมากโดยศึกษากิจกรรมของกล้าเชื้อราในกระบวนการหมัก พบว่าการเติมอบเชยที่ความเข้มข้น 0%, 1%, 2% และ 3% โดยน้ำหนักแป้ง ไม่มีผลต่อกิจกรรมการหมักข้าวหมากของกล้าเชื้อผง เนื่องจากพบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($p<0.05$) ทั้งในด้านของค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งที่ละลายได้และความเป็นกรด-ด่าง (pH) กล่าวคือ แม้ว่าจำนวนเชื้อราในกล้าเชื้อผงมีค่าต่างกันประมาณ 1 ถึง 2 log cycle แต่อัตราการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งแสดงให้เห็นจากปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (% Brix) ในน้ำต้อยมีค่าใกล้เคียงกัน ด้วยเหตุนี้จึงเลือกใช้ความเข้มข้นของอบเชย 2% ผสมในกล้าเชื้อผง

ตารางที่ 4.6 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *A. rouxii* ในกล้าเชื้อผงผสมอบเชยที่ความเข้มข้นต่างๆต่อกิจกรรมการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลในกระบวนหมักข้าวหมาก

กล้าเชื้อผง	ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในน้ำต้อย (% Brix) *	ค่าความเป็น กรด-ด่าง (pH) *
อบเชย 0%	39.00 ± 1.00^{a}	3.91 ± 0.18^{a}
อบเชย 1%	39.33 ± 1.53^{a}	3.84 ± 0.60^{a}
อบเชย 2%	38.33 ± 2.08^{a}	3.59 ± 0.41^{a}
อบเชย 3%	38.17 ± 0.29^{a}	3.46 ± 0.18^{a}

* หลังจากหมักครบ 30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก

4.5.1 ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อผงผสมอบเชย 2%

จากการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 2% เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ข้าวหมากทางการค้า โดยทดสอบปัจจัยด้านคุณลักษณะทั่วไป สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความชอบรวมนั้น พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ยกเว้นปัจจัยด้านสี (ตารางที่ 4.7) ทั้งนี้อาจเนื่องจากเมล็ดข้าวของข้าวหมากทางการค้านั้นมีสีขาวกว่าข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อผงผสมอบเชย 2% อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากปัจจัยความชอบรวมแล้ว พบว่าผู้ชิมให้คะแนนผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อผงผสมอบเชย 2% ไม่แตกต่างจากผลิตภัณฑ์ข้าวหมากทางการค้า ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสระหว่างข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อผงผสมอบเชย 2% กับผลิตภัณฑ์ข้าวหมากทางการค้า

Treatment	ลักษณะทางประสาทสัมผัส				
	ลักษณะทั่วไป	สี	กลิ่นรส	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
ข้าวหมากทางการค้า (Control)	5.07 ± 0.58^{a}	5.20 ± 0.66^{a}	4.57 ± 0.73^{a}	4.77 ± 0.77^{a}	4.73 ± 0.52^{a}
ข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อผงผสมอบเชย 2%	4.80 ± 0.55^{a}	4.93 ± 0.69^{b}	4.70 ± 0.54^{a}	4.87 ± 0.78^{a}	4.90 ± 0.55^{a}

หมายเหตุ : ตัวอักษร a และ b ที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.6 ศึกษาอายุการเก็บรักษาและประสิทธิภาพการหมักของกล้าเชื้อข้าวหมากผง

4.6.1 ศึกษาอายุการเก็บรักษาต่อการลดจำนวนของเชื้อรา *A. rouxii* และประสิทธิภาพของกล้าเชื้อข้าวหมากผงต่อกิจกรรมการหมักข้าวหมาก

จากการศึกษาระยะเวลาในการเก็บรักษากล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 2% พบว่าปริมาณเชื้อรา *A. rouxii* ที่เวลา 0, 90 และ 150 วัน มีจำนวนลดลงจากประมาณ 6.18 Log cfu/g เป็น 5.90 Log cfu/g และ 5.02 Log cfu/g ตามลำดับ (ตารางที่ 4.9) และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 180 วัน พบว่าปริมาณเชื้อราที่มีชีวิตลดจำนวนลงเหลือเพียง 4.72 Log cfu/g หากพิจารณาการลดจำนวนลงของเชื้อรา *A. rouxii* ตามอายุการเก็บรักษาแล้ว จำนวนเชื้อราที่ระดับ 10^5 CFU/g สามารถเก็บรักษาในสภาวะที่อุณหภูมิห้องได้นานถึง 150 วัน เมื่อเทียบกับลูกแป้งข้าวหมากที่ผลิตทั่วไปมีปริมาณเชื้อรา *A. rouxii* อยู่ที่ 10^5 CFU/g โดยอายุการเก็บรักษาประมาณ 60 วัน (นภา, 2535) และเมื่อพิจารณาถึงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำต้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่ากล้าเชื้อผงที่มีอายุ 0 วัน เมื่อนำไปใช้ผลิตข้าวหมาก หลังจากหมักครบ 30 ชั่วโมง ได้น้ำต้อยที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้เท่ากับ 41.5% และค่อยๆลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษากล้าเชื้อผง โดยกล้าเชื้อผงที่มีอายุการเก็บรักษา 180 วัน เมื่อนำมาผลิตข้าวหมากสามารถให้น้ำต้อยที่มีค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งเท่ากับ 28.5% อย่างไรก็ตามจากข้อกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.) ได้กำหนดให้ผลิตภัณฑ์ข้าวหมากควรมีเปอร์เซ็นต์ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดอยู่ระหว่าง 40-50 โดยน้ำหนัก ดังนั้นจากการทดลองนี้ เมื่อพิจารณาปริมาณกล้าเชื้อราที่มีชีวิตในระหว่างการเก็บรักษาร่วมกับเปอร์เซ็นต์ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด จึงอาจสรุปได้ว่าอายุการเก็บรักษากล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 2% ที่เหมาะสมคือ ประมาณ 90 วัน โดยที่เมื่อนำมาใช้ผลิตข้าวหมากให้น้ำต้อยที่มีค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งไม่น้อยกว่า 35% ที่ระยะเวลาการหมัก 30 ชั่วโมง ซึ่งหากระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นก็จะส่งผลให้ได้น้ำต้อยที่มีค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งสูงขึ้นอีก ดังแสดงในภาคผนวก ค. (ภาพ ค.2.1) และจากผลการตรวจสอบกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผลิตได้ในการทดลองนี้ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus*

ตารางที่ 4.9 อายุการเก็บรักษาและประสิทธิภาพการหมักของกล้าเชื้อผงผสมอบเชย 2%

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณเชื้อรา *A. rouxii* (Log cfu/g)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำต้อย** (%Brix)
0	6.18 ± 0.04^{a} (1.49×10^{6})*	41.5 ± 0.71^{a}
15	6.14 ± 0.04^{ab} (1.38×10^{6})	39.5 ± 3.54^{ab}
30	6.11 ± 0.06^{abc} (1.28×10^{6})	39 ± 2.12^{abc}
45	6.09 ± 0.07^{abc} (1.23×10^{6})	38 ± 0.00^{bcd}
60	6.06 ± 0.06^{abc} (1.14×10^{6})	37 ± 0.71^{bcde}
75	5.94 ± 0.06^{bcd} (8.75×10^{5})	36 ± 0.00^{cdef}
90	5.90 ± 0.07^{cd} (7.95×10^{5})	35.5 ± 0.71^{def}
105	5.80 ± 0.11^{de} (6.3×10^{5})	34.5 ± 0.71^{ef}
120	5.63 ± 0.13^{e} (4.4×10^{5})	34 ± 0.00^{efg}
135	5.18 ± 0.18^{f} (1.57×10^{5})	33.5 ± 0.71^{fg}
150	5.02 ± 0.17^{fg} (1.09×10^{5})	31 ± 1.41^{gh}
165	4.91 ± 0.01^{gh} (8.05×10^{4})	30 ± 1.41^{h}
180	4.72 ± 0.04^{h} (5.2×10^{4})	28.5 ± 0.71^{h}

หมายเหตุ : ตัวอักษร a - h ในแนวตั้งแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

*ค่าในวงเล็บคือจำนวนเชื้อรา (CFU/g)

** วิเคราะห์หลังการหมัก 30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 จากการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* ในลูกแป้งข้าวหมากและผลิตภัณฑ์ข้าวหมากพบการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* ในลูกแป้งข้าวหมากและผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่ผลิตในประเทศไทย โดย 2 ใน 10 ตัวอย่างของลูกแป้งข้าวหมากมีปริมาณเชื้อ *B. cereus* ปนเปื้อนสูงสุดที่ระดับ 10^4 CFU/g ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด 6 ใน 10 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* สูงสุดที่ระดับ 10^3 CFU/g

5.2 จากผลการศึกษากระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง พบว่าอุณหภูมิและเวลาในการอบแห้งที่ดีที่สุดในการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงคือ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง โดยได้กล้าเชื้อผงที่มีปริมาณเชื้อรา *A. rouxii* ที่มีชีวิตอยู่ที่ระดับ 10^7 CFU/g และค่าความชื้นเท่ากับ 9.43 เปอร์เซ็นต์

5.3 จากการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอบเชยในการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง พบว่าการใช้อบเชยที่ความเข้มข้น 2 และ 3% โดยน้ำหนักแป้ง มีผลต่อการลดจำนวนเชื้อ *B. cereus* ในขณะที่ความเข้มข้นของอบเชย 1% ไม่มีผลยับยั้งเชื้อ *B. cereus* เลย อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของอบเชยที่เหมาะสมในการนำไปผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงคือ 2% เนื่องจากมีผลต่อการลดลงของปริมาณเชื้อรา *A. rouxii* น้อยกว่าที่ความเข้มข้นของอบเชย 3%

5.4 จากผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 2% เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ข้าวหมากทางการค้า โดยทดสอบปัจจัยด้านคุณลักษณะทั่วไป สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความชอบรวม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ยกเว้นปัจจัยด้านสีที่พบว่าข้าวหมากทางการค้ามีคะแนนความชอบมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

5.5 จากการศึกษาระยะเวลาในการเก็บรักษากล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 2% เป็นเวลา 180 วัน พบว่าช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 0-90 วัน มีปริมาณเชื้อราที่มีชีวิตอยู่ในช่วง 6-5 Log cfu/g และเปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในน้ำต้อย ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อผงที่มีอายุการเก็บรักษาดังกล่าวอยู่ในช่วง 35.5-41.5 และจากการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 180 วัน ปรากฏว่าไม่พบเชื้อ *B. cereus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ :

ในการทดลองนี้ได้ใช้อบเชยผงทางการค้า โดยจากการทดสอบเบื้องต้นพบว่าอบเชยผงแต่ละยี่ห้อมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมสรรพสามิต. 2524. ระเบียบว่าด้วยการทำและขายแป้งข้าวหมาก. กระทรวงการคลัง. กรุงเทพฯ. 773 หน้า

กรมสรรพสามิต. 2547. เอกสารประกอบการประชุมเรื่อง "มาตรฐานการตรวจวิเคราะห์คุณภาพสุรา" ณ ห้องประชุมราชวัตร. กระทรวงการคลัง. กรุงเทพฯ.

ชิดชม วิทวัสวงศ์. 2528. สายพันธุ์และสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอ็นไซม์กลูโคอมัยเลส โดย *Amylomyces* sp. จากลูกแป้ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตรการอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ชัยวัฒน์ จาติเสถียร. 2520. การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราและยีสต์ในลูกแป้งสำหรับการหมักข้าวหมาก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2544. แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 400 หน้า.

นภา โล่ห์ทอง. 2535. กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ 159 หน้า.

บุษกร อุตรภิชาติ. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. การผลิตเอกสารและตำรา มหาวิทยาลัยทักษิณ. สงขลา. 425 หน้า.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2518. ประสิทธิภาพของเครื่องเทศบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

พิทยา สรรวมศิริ. 2529. พืชเครื่องเทศ. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

พุทธรินทร์ วรรณิสสร. 2527. ผลของเครื่องเทศต่อชนิดของจุลินทรีย์ในลูกแป้งข้าวหมาก.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

มณชัย เดชสังกรานนท์. 2546. คุณสมบัติของยีสต์และราที่มีบทบาทในการหมักข้าวหมากและสาโท. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540. พืชเครื่องเทศและสมุนไพร โอเดียนสโตร์ กรุงเทพฯ. 200 หน้า.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2539. จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร. โอเดียนสโตร์ กรุงเทพฯ. 258 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันวิจัยไวน์และสุราพื้นบ้าน. 2547. เอกสารประกอบการอบรม การผลิตสุรากลั่นชุมชนโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์. ศูนย์กลางสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. ปทุมธานี

สุปรียา หมื่นกุล. 2547. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *Bacillus* sp. จากแหล่งต่างๆและประสิทธิภาพการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคบางชนิด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

Ardhana, M.M., and Fleet, G.H. 1989. The Microbial Ecology of Tape Ketan Fermentation, International Journal of Food Microbiology, Vol.9, Issue3, November, p.157-165

Bardi, E.P., Bakoyianis, A., Koutinas, A., and Wanellaki, M.B. 1996c. Effect of Temperature on the Formation of Volatile by Product in Brewing by Immobilized Cell, Food Biotechnology Vol.10, Issue3, p.203-217

Bullerman, L.B., Lien, F.Y. and Sally, S.A. 1977. Inhibition of Growth and Aflatoxin Production by Cinnamon and Clove Oils, Cinnamic Aldehyde and Eugenol, Journal of Food Science, Vol.42 (4) p.1107-1109

Claus, D., and Berkeley, R.C.W. 1986. Genus *Bacillus* sp. Cohn 1872, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol.2, p.1105-1139

Cronk, T.C., Steinkraus, K.H., Hackler, L.R., and Mattick L.R. 1977. Indonesian Tape Ketan Fermentation, Appl Environ Microbiol, May:33 (5), p.1067-1073

Cronk, T.C., Mattick, L.R., Steinkraus, K.H., and Hackler, L.R. 1979. Production of Higher Alcohols During Indonesian Tape Ketan Fermentation, Appl Environ Microbiol, May:37 (5) p.892-896

Department of Medical Science. 2003. Compendium of Method for Food Analysis, Ministry of Public Health, Nonthaburi, Thailand

Dung, N.T.P., Rombouts, F.M., and Nout, M.J.R. 2005. Development of Defined Mixed-Culture Fungal Fermentation Starter Granulate for Controlled Production of Rice Wine, Innovative Food Science & Emerging Technologies, Vol.6, Issue4, December, p.429-441

Dung, N.T.P., Rombouts, F.M., and Nout, M.J.R. 2006. Functionality of Selected Strains of Moulds and Yeasts from Vietnamese Rice Wine Starters, Food Microbiology, Vol.23, Issue4, June, p.331-340

Dung, N.T.P., Rombouts, F.M., and Nout, M.J.R. 2007. Characteristics of Some Traditional Vietnamese Starch-Based Rice Wine Fermentation Starters (*men*), LWT-Food Science and Technology, Vol.40, Issue1, January, p.130-135

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Helgason, E., Okstad, O.A., Caugant, D.A., Johansen, H.A., Fouet, A., Mock M. *et al.* 2000. *Bacillus anthracis, Bacillus cereus, Bacillus thuringiensis* on Species on the Basis of Genetic Evidence, Applied and Environmental Microbiology, 66 (6), p.2627-2630

Imbert, M.P. 1980. Some Aspects of the Antioxidant and Fungicidal Properties of Certain Carribian Spices, The Fourth Asian Symposium on Medicinal Plants and Spices, Mahidol University, Bankok, Thailand

Iurlina, M.O., Saiz, A.I., Fuselli, S.R., and Fritz, R. 2006. Prevalence of *Bacillus* spp. In Different Food Product Collected in Argentina, LWT-Food Science and Technology, Vol.39, Issue2, March, p.105-110

Juliano, B.O. 1974. Rice Chemistry Procedure, International Rice Research Institute, Laguna, Los Banos, Philippines

Moravek, M., Wegscheider, M., Schulz, A., Dietrich, R., Burk, C., and Martlbauer, E. 2004. Colony Immunoblot Assay for the Detection of Hemolysin BL Enterotoxin Producing *Bacillus cereus*, FEMS Microbiology Letters, Vol.238, Issue1, September, p. 107-113

Mukherjee, N. 1976. Antifungal Activities of Some Oils and Detergents, II, Effect on Germ-Tube Growth, Sclerotial Germination and Growth of Sclerotial Plant Pathogens, Biol. Abs., 62:68892

Purseglove, J.W., Brown, E.G., Green, C.L., and Robbins, S.R.J.. 1980. Spices, Vol.1, London: Longman

Rosovitz, M.J., Voskuil, M.I., and Chambliss, G.H. 1998. *Bacillus*, Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections Systematic Bacteriology, Vol.2, p.709-729

Rossland, E. 2005. Influence of Controlled Lactic Fermentation on Growth and Sporulation of *Bacillus cereu s* in Milk, International Journal of Food Microbiology, Vol.103, Issue1, August, p. 69-77

Svensson, B., Monthan, A., Shaheen, R., Andersson, M.A., Salkinoja Salonen, M., and Christiansson, A. 2006. Occurrence of Emetic Toxin Producing *Bacillus cereus* in Dairy Production Chain, International Dairy Journal, Vol.16, Issue7, July, p.740-749

Turnbull, P.C.B., Kramer, J.M., and Melling, J. 1990. *Bacillus*, Topley & Wilson's Principle of Bacteriology, Virology and Immunity, Vol.2, p.187-210

Valero, M., and Frances, E. 2006. Synergistic Bactericidal Effect of Carvacrol, Cinnamondehyde or Thymol and Refrigeration to Inhibit *Bacillus cereus* in Carrot Broth, Food Microbiology, Vol. 23, Issue1, February, p.68-73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Valero, M., Sarrias, J.A., Alvarez, D., and Salmeron, M.C. 2006. Modeling the Influence of Electron Beam Irradiation on the Heat Resistance of *Bacillus cereus* Spores, Food Microbiology, Vol.23, Issue4, June, p.367-371

Yadava, P., Zhang, C., Sun, J., and Hughes, J.A. 2006. Antimicrobial Activities of Human β-Defensins Against *Bacillus* Species, International Journal of Antimicrobial Agents, Vol.28, Issue2, August, p.132-137

www.fda.moph.go.th. 2005. 'Import of food products contaminated with *Bacillus cereus*'. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเข้าได้ถึงจาก www.fda.moph.go.th/depart/divinspc/html/Bacillus.html (18/7/2005)

www.geocities.com. 2003. การหาปริมาณความชื้น เข้าถึงได้จาก www.geocities.com/thaikeramos/index/moisturetest.html (16/11/2003)

www.doae.go.th. 2005. วิธีการทำผลิตภัณฑ์ข้าวหมากและลูกแป้งข้าวหมาก เข้าถึงได้จาก www.doae.go.th/library/html/detail/KUmagazine/january_44/kantum/kmak.html (30/8/2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

แหล่งที่มาของลูกแป้งข้าวหมาก, แหล่งที่มาของผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก, วิธีการตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *B. cereus* และภาพลักษณะโคโลนีของเชื้อ *B. cereus*

ก.1 แหล่งที่มาของลูกแป้งข้าวหมาก

1) LP01 ที่มา ปากคลองตลาด กรุงเทพฯ
2) LP02 ที่มา เขตบางกะปิ กรุงเทพฯ
3) LP03 ที่มา ตลาดสามควายเผือก จังหวัดนครปฐม
4) LP04 ที่มา ตลาดสวนพลู จังหวัดนครปฐม
5) LP05 ที่มา ตลาดห้วยพลู จังหวัดนครปฐม
6) LP06 ที่มา ตลาดนครปฐม อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม
7) LP07 ที่มา ตลาดท่าเรือ อำเภอท่าเรือ จังหวัดกาญจนบุรี
8) LP08 ที่มา หน้าอำเภอเมือง อำเภอเมือง จังหวัดราชบุรี
9) LP09 ที่มา ตลาดสรรคบุรี อำเภอสรรคบุรี จังหวัดชัยนาท
10) LP10 ที่มา ตำบลหนองกะปุ อำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี

ก.2 แหล่งที่มาของผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก

1) KM01 ที่มา (ข้าวหมากรสสุคนธ์) 22 ถนนลาดพร้าว คลองจั่น เขตบางกะปิ กรุงเทพฯ
2) KM02 ที่มา (ข้าวหมากวรมน) 296/86 ตำบลนาเกลือ อำเภอบางละมุง จังหวัดชลบุรี (ขาว)
3) KM03 ที่มา (ข้าวหมากวรมน) 296/86 ตำบลนาเกลือ อำเภอบางละมุง จังหวัดชลบุรี (ดำ)
4) KM04 ที่มา (ข้าวหมากเพชรบุรี) 425/19 หมู่ 5 แขวงบางแคเหนือ เขตบางแค กรุงเทพฯ
5) KM05 ที่มา (ข้าวหมากคุณเบญ) 86/88 ซอย 86/2 ถนนจรัญสนิทวงศ์ กรุงเทพฯ
6) KM06 ที่มา (ข้าวหมากอู่ทอง) 131/1235 ถนนพระราม2 แสมดำ เขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ
7) KM07 ที่มา (หาบเร่) ชุมชนสวนอ้อย เขตสวนดุสิต กรุงเทพฯ
8 KM08 ที่มา ปากคลองตลาด กรุงเทพฯ
9) KM09 ที่มา (ข้าวหมากไทยสูตรบรมครู) 131/1235 ถนนพระราม2 แสมดำ เขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ
10) KM10 ที่มา (ข้าวหมากไทยไอยรา) 131/1235 ถนนพระราม2 แสมดำ เขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.3 วิธีการตรวจหาเชื้อ *B. cereus* (Compendium of method for food analysis, 2003, Thailand)

1) เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ

2) เทน้ำยาสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วย stomacher

3) ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับตามความเหมาะสมด้วยน้ำยาสำหรับเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร

4) ดูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางใส่ลงในจานอาหารเพาะเชื้อ Mannitol egg-york polymyxin agar (MYP) ระดับความเจือจางละ 2 จานเพาะเชื้อ จานเพาะเชื้อละ 0.1 มิลลิลิตร

5) ใช้แท่งแก้วรูปตัว L เกลี่ยตัวอย่างอาหารแต่ละระดับความเจือจางให้ทั่วจาน

6) คว่ำจานเพาะเชื้อแล้วนำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

7) ตรวจนับโคโลนีของเชื้อที่ให้ลักษะดังนี้คือโคโลนีสีชมพู เนื่องจากเชื้อดังกล่าวไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาล mannitol ให้เป็นกรดได้โคโลนีที่เจริญบนอาหารนี้จึงยังคงเป็นสีชมพูเหมือนสีของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังเดิมมี opaque zone รอบโคโลนี เนื่องจากเชื้อดังกล่าวสร้างเอ็นไซม์ lecithinase เช่นเดียวกับ *S. aureus* และ *Cl. perfringens* ดังนั้น เมื่อเชื้อเจริญบนอาหารเพาะเชื้อ MYP agar ซึ่งมีส่วนผสมของ egg yolk อยู่เอ็นไซม์ lecithinase จะไปทำปฏิกิริยากับ เลซิทินในไข่แดงทำให้เกิดตะกอนขุ่น (opaque zone) รอบๆโคโลนีของเชื้อจะมีลักษณะคล้ายกับ *S. aureus* และ *Cl. perfringens* แต่สีของ opaque zone ยังคงเป็นสีชมพูเหมือนเดิมเหมือนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกัน

8) นำลักษณะโคโลนีดังกล่าวไปทำการตรวจยืนยันโดยดูปฏิกิริยา hemolytic activity test เพื่อดูการสลายเม็ดเลือดแดงของแกะบนอาหารแข็งที่มีส่วนผสมของเลือดแกะ (blood agar)

9) นับจำนวนโคโลนีที่ให้ผลการทดสอบ hemolytic positive ไปคำนวณหาปริมาณของเชื้อ *B. cereus* ต่อกรัมของตัวอย่างอาหาร

การทำปฏิกิริยา hemolytic activity test

1) แบ่งจานเพาะเชื้อออกเป็น 6 หรือ 8 ส่วนเท่าๆ กัน

2) ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ เขี่ยโคโลนีของเชื้อที่สงสัยว่าเป็น *B. cereus* บน MYP agar ใช้เชื้อที่ติดปลายเข็มเพียงเล็กน้อย

3) นำเชื้อที่ติดอยู่ปลายเข็มไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเพาะเชื้อ Trypticase soy sheep blood agar โดยแตะเชื้อลงบนผิวของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าว (1ช่อง ต่อเชื้อ 1โคโลนี)

4) คว่ำจานเพาะเลี้ยงเชื้อทั้งหมดแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องซาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) ดูผลปฏิกิริยา hemolytic positive ซึ่ง *B. cereus* จะให้ผลดังนี้ คือ รอบๆโคโลนีของเชื้อจะมีลักษณะที่เรียกว่า clear zone ทั้งนี้เนื่องจากระหว่างที่เชื้อเจริญบนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าว เชื้อจะสร้างเอ็นไซม์ hemolysin ซึ่งเอ็นไซม์ที่ *B. cereus* ผลิตขึ้นนี้จัดว่าเป็น strongly hemolysin จะมีผลในการสลายเม็ดเลือดแดงของแกะซึ่งเป็นส่วนผสมอยู่ในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ จึงมีผลทำให้เม็ดเลือดแดงที่อยู่ใต้และรอบๆโคโลนีสลาย ดังนั้น รอบโคโลนีของเชื้อจะใส (clear zone) เป็นวงกว้าง 2-4 มิลลิเมตร นับจากขอบโคโลนี ซึ่งลักษณะรอบโคโลนีที่ใสนี้อาจเรียกว่า beta-hemolytic แต่ถ้าเป็นเชื้อในกลุ่มอื่นที่ให้ลักษณะโคโลนีที่คล้ายกับ *B. cereus* บน MYP agar เช่น *B. thuringiensis* และ *B. anthracis* การเกิด hemolysis จะให้ผลแตกต่างจาก *B. cereus* กล่าวคือ *B. thuringiensis* จะให้ผล beta-hemolytic เช่นเดียวกับ *B. cereus* แต่ clear zone รอบโคโลนีของเชื้อจะน้อยกว่า *B. cereus* (ประมาณ 1-2 มิลลิเมตร) ทั้งนี้เนื่องจาก *B. thuringiensis* จะผลิตเอ็นไซม์ hemolysin ได้เพียงเล็กน้อย (weakly hemolysin) ส่วน *B. anthracis* จะไม่มี clear zone รอบๆโคโลนี เนื่องจากว่าเชื้อดังกล่าวไม่สามารถผลิตเอ็นไซม์ hemolysin ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Yeast extract Malt broth และวิธีการเตรียม, ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมซัสเพนชันของเชื้อรา *A. rouxii* , ขั้นตอนการผลิตลูกแป้งข้าวหมาก, ขั้นตอนการผลิตข้าวหมาก และขั้นตอนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง

ข.1 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Yeast extract Malt broth

1. Yeast extract powder	0.5 กรัม	5 กรัม
2. Malt extract powder	0.5 กรัม	5 กรัม
3. น้ำมะพร้าว	100 กรัม	1 ลิตร
4. กรด Citric (ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 4.0-4.5)		

วิธีการเตรียม

1. เตรียมสารอาหารตามปริมาณที่ต้องการ
2. ผสมลงในน้ำมะพร้าว แล้วคนให้เข้ากัน
3. ปรับ pH ด้วยกรด Citric โดยให้อยู่ในช่วง 4.0-4.5
4. บรรจุลง flask แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

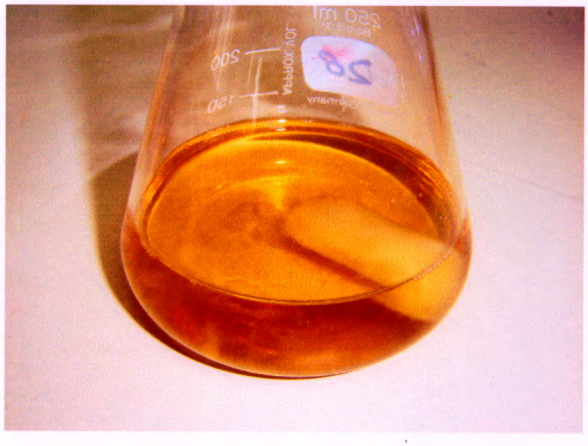
ข้อแนะนำการเตรียม

1. การปรับกรดหาก pH ต่ำกว่า 4.0 อาจส่งผลต่อการเจริญของรา เช่น เจริญได้ไม่ดี ทำให้เชื้อราที่ได้มีลักษณะก้อนเล็ก หรืออาจจะไม่เจริญเลย
2. มะพร้าวที่ใช้ หากเป็นมะพร้าวแก่จะดีมาก เพราะสารอาหารในน้ำมะพร้าวจะส่งผลต่อการเจริญของราทำให้ราที่ได้มีลักษณะเป็นก้อนใหญ่เมื่อเทียบกับการใช้มะพร้าวอ่อน
3. ในการเตรียมย่อมมีโอกาสปนเปื้อนและเสียได้จากเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ แม้ว่าจะมีการปรับ pH ให้ต่ำกว่า 4.5 แล้วก็ตาม โดยเฉพาะการปนเปื้อนของยีสต์ ซึ่งจะทำให้อาหารเหลวขุ่น รวมไปถึงแบคทีเรียกลุ่ม Lactic acid bacteria และ Acetic acid bacteria เพราะฉะนั้น ในขั้นตอนการเตรียมจะต้อง Aceptic technique ทุกครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.2 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมซัสเพนชันของเชื้อรา *A. rouxii*

ในการทดลองผู้วิจัยได้อ้างอิงวิธีการผลิตกล้าเชื้อผงจากสำนักวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (วว.) สำหรับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นได้ปรับเปลี่ยนปริมาณสูตรอาหารเล็กน้อยตามความเหมาะสม จากการทดลองเบื้องต้นโดยการเลี้ยงเชื้อรา *A. rouxii* ในอาหารเหลว Modified yeast-malt extract broth (MYM broth) แล้วนำไปเหวี่ยงที่เครื่อง Shaker เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ ขนาดของรามีการเกาะกันเป็นกลุ่มก้อนที่ใหญ่ขึ้นตามช่วงเวลาของการเลี้ยง คือ 24, 48 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ ผู้วิจัยจึงเลือกสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เวลา 72 ชั่วโมง เพื่อใช้ในการศึกษาสภาวะการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงในขั้นตอนถัดไป



ภาพที่ ข. 2.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว MYM broth นาน 24 ชั่วโมง

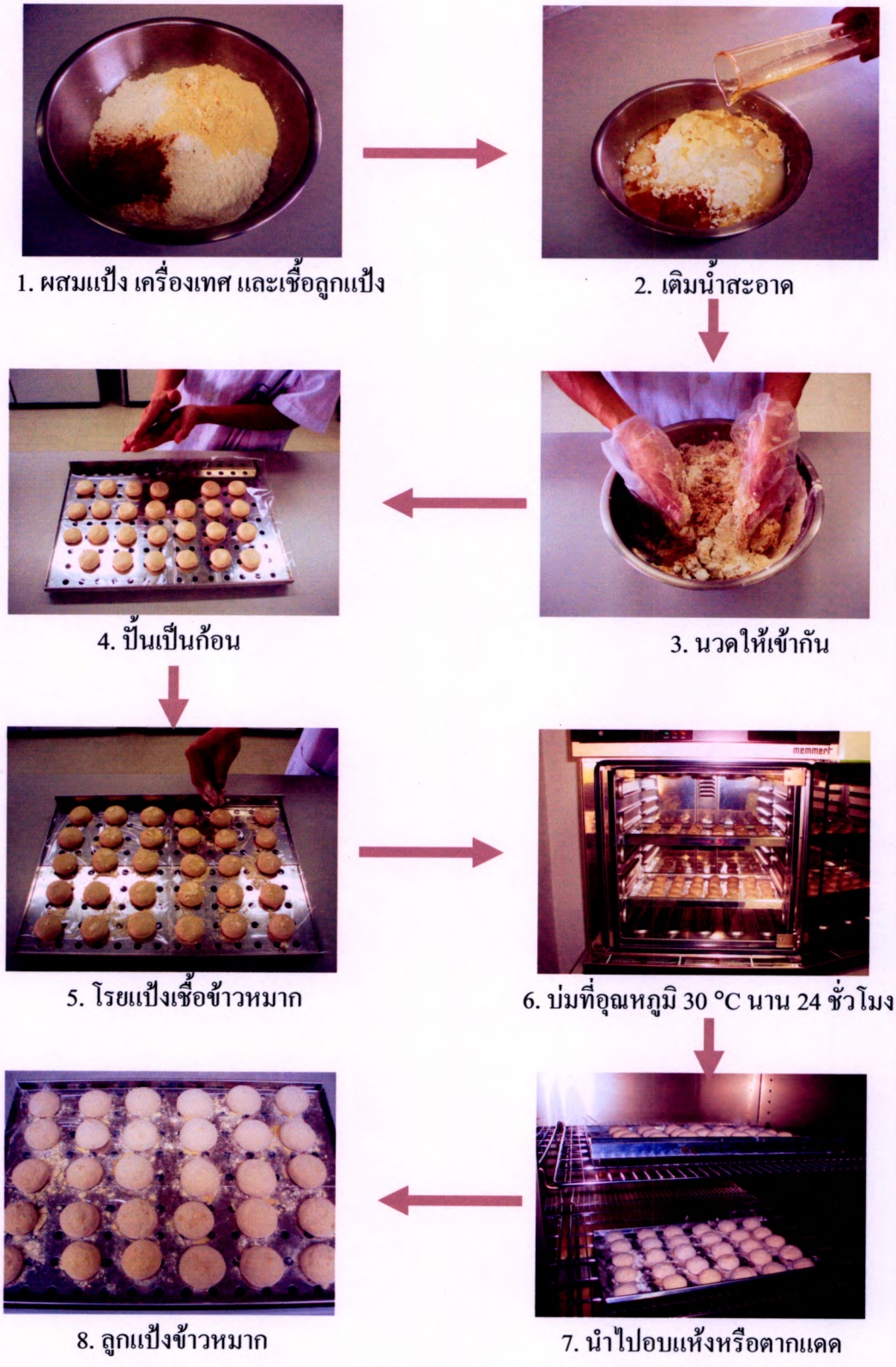
ภาพที่ ข. 2.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว MYM broth นาน 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ ข. 2.3 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว MYM broth นาน 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.3 ขั้นตอนการผลิตลูกแป้งข้าวหมาก



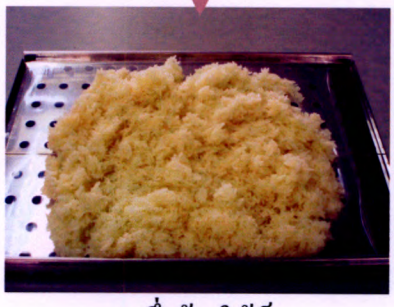
ภาพที่ ข. 3.1 (1-8) ขั้นตอนการผลิตลูกแป้งข้าวหมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.4 ขั้นตอนการผลิตข้าวหมาก

1.ข้าวเหนียวแช่น้ำ 4-6 ชั่วโมง

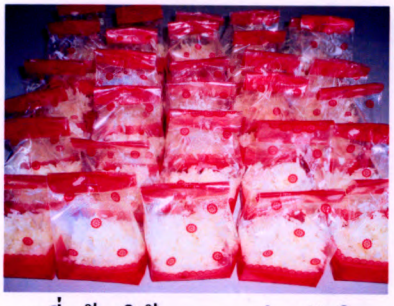
2. สะเด็ดน้ำและนึ่ง 30-45 นาที



3. ผึ่งข้าวให้เย็น

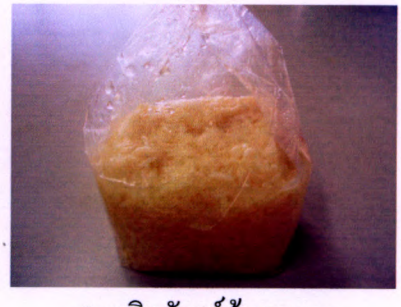
4.ล้างยางด้วยน้ำสะอาด

5. คลุกแป้งเชื้อกับข้าวเหนียว (0.5%)



6. เกลี่ยข้าวให้กระจายเท่าๆกันในถุง

7. บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C นาน 2-3วัน

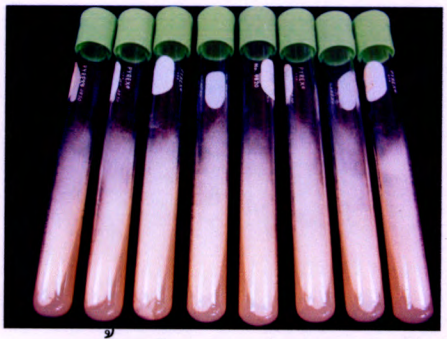


8. ผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก

ภาพที่ ข. 4.1 (1-8) ขั้นตอนการผลิตข้าวหมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.5 ขั้นตอนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง

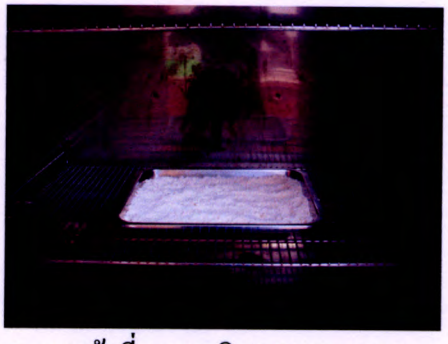


1. เพาะเชื้อราใน slant ประมาณ 3-5 วัน และเขี่ยลงในอาหารเหลว MYM broth

2. นำไปเหวี่ยงที่ Shaker 72 ชม.

3. คลุกซัสเพนชันกับแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 15 นาที

4. บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C นาน 48 ชม.



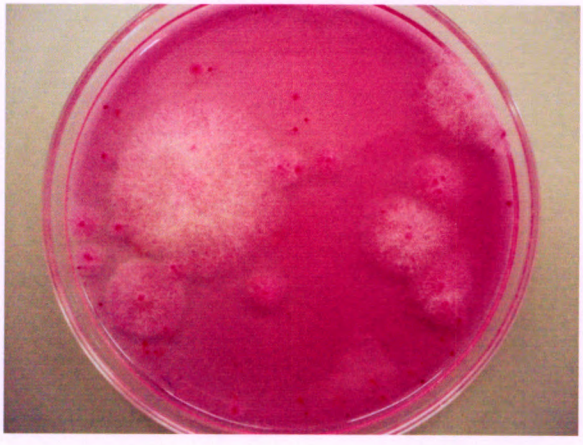
5. อบแห้งที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชม.

6. นำกล้าเชื้อไปปั่นให้เป็นผง

ภาพที่ ข. 5.1 (1-6) ขั้นตอนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ ข. 5.2 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *A. rouxii* ในกล้าเชื้อข้าวหมากผง



ภาพที่ ข. 5.3 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *A. rouxii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ DRBC agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

สูตรการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ค่าความชื้น, จำนวนเชื้อรา *A. rouxii* และปริมาณความชื้นหลังสภาวะการอบแห้ง, ผลของอบเชยต่อเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 0, 1, 2 และ 3%, ผลของอบเชยต่อการรอดชีวิตของเชื้อรา *A. rouxii* หลังกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 0, 1, 2 และ 3%, ภาพกล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 0%, 1%, 2% และ 3%, ผล ANOVA และ DUNCAN จากการวิเคราะห์ทางสถิติของทุกการทดลอง และภาพค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในระหว่างการหมักข้าวหมากโดยใช้กล้าเชื้อผงผสมอบเชย 2%

ค.1 สูตรการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ค่าความชื้น (www.geocities.com, 2003)

1. เปอร์เซ็นต์ความชื้น (ต่อน้ำหนักเปียก) = (มวลวัตถุเริ่มต้น-มวลวัตถุที่แห้ง) × 100 / มวลวัตถุเริ่มต้น
2. เปอร์เซ็นต์ความชื้น (ต่อน้ำหนักแห้ง) = (มวลวัตถุเริ่มต้น-มวลวัตถุที่แห้ง) × 100 / มวลวัตถุที่แห้ง

วิธีการหาค่าความชื้น

1. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ในกระป๋องหาความชื้น (Moisture can) ที่ทราบค่าน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 130 ± 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยเปิดฝากระป๋องไว้ เมื่อครบกำหนดเวลานำกระป๋องออกใส่เครื่องดูดความชื้น (Desiccators) ปิดฝาให้สนิทรอจนเย็นถึงอุณหภูมิห้องจึงชั่ง แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น

ตัวอย่างการคำนวณ

1. สมมุติตัวอย่างเริ่มต้น (น้ำหนักเปียก) 1.0042 กรัม หลังจากอบแห้งที่อุณหภูมิ 130 ± 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักได้ 0.7150 กรัม เปอร์เซ็นต์ความชื้นมีค่าเท่าไรให้ขึ้นกับน้ำหนักเริ่มต้น

เปอร์เซ็นต์ความชื้น (น้ำหนักเปียก) = (1.0042-0.7150) × 100 / 1.0042 = 28.80%

2. สมมุติตัวอย่างเริ่มต้น (น้ำหนักแห้ง) 1.0030 กรัม หลังจากอบแห้งที่อุณหภูมิ 130 ± 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักได้ 0.9266 กรัม เปอร์เซ็นต์ความชื้นมีค่าเท่าไรให้ขึ้นกับน้ำหนักเริ่มต้น

เปอร์เซ็นต์ความชื้น (น้ำหนักแห้ง) = (1.0030-0.9266) × 100 / 0.9266 = 8.24%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.1 จำนวนเชื้อรา *A. rouxii* และปริมาณความชื้นหลังสภาวะการอบแห้ง

สภาวะการอบแห้ง		จำนวนเชื้อรา *A. rouxii*	ปริมาณความชื้น
อุณหภูมิ (°C)	เวลา (ชั่วโมง)	(CFU/g)	(%)
ก่อนอบ	-	1.45×10^{7}	28.05
37	24	1.77×10^{7}	9.43
40	12	1.18×10^{6}	10.41
	24	7.33×10^{5}	8.34
45	12	1.28×10^{6}	8.46
	24	6.40×10^{5}	7.02
50	6	6.06×10^{5}	6.85

ตารางที่ ค.2 จำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 0, 1, 2 และ 3%

ระยะเวลาในการบ่มกล้าเชื้อ (ชั่วโมง)	จำนวนเชื้อ *B. cereus* (CFU/g) ระดับความเข้มข้นของอบเชย (%)			
	0	1	2	3
0	7.23×10^{2}, 6.63×10^{2}	4.1×10^{2}, 5.0×10^{2}	1.6×10^{2}, 1.25×10^{2}	2.0×10^{2}, 2.5×10^{2}
12	1.22×10^{3}, 1.16×10^{3}	1.42×10^{3}, 1.51×10^{3}	4.4×10^{2}, 4.2×10^{2}	4.3×10^{2}, 4.1×10^{2}
24	1.14×10^{3}, 1.08×10^{3}	1.26×10^{3}, 1.35×10^{3}	2.0×10^{2}, 2.25×10^{2}	2.15×10^{2}, 1.8×10^{2}
48	1.08×10^{3}, 1.05×10^{3}	1.25×10^{3}, 1.29×10^{3}	2.35×10^{2}, 2.0×10^{2}	1.4×10^{2}, 1.4×10^{2}
หลังอบ 24 ชม.	1.04×10^{3}, 1.02×10^{3}	1.16×10^{3}, 1.25×10^{3}	2.1×10^{2}, 2.05×10^{2}	1.2×10^{2}, 1.0×10^{2}

ตารางที่ ค.3 ผลของอบเชยต่อการรอดชีวิตของเชื้อรา *A. rouxii* หลังการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง

สภาวะการทดลอง (Treatment)	ผลของอบเชยต่อการลดจำนวนเชื้อ *A. rouxii*			ค่าเฉลี่ย CFU/g
	1	2	3	
Control	1.35×10^{6}	1.23×10^{6}	1.77×10^{6}	1.45×10^{6}
อบเชย 1%	1.16×10^{5}	2.72×10^{5}	1.90×10^{5}	1.92×10^{5}
อบเชย 2%	7.90×10^{4}	1.45×10^{5}	1.15×10^{5}	1.13×10^{5}
อบเชย 3%	4.70×10^{4}	4.90×10^{4}	3.70×10^{4}	4.43×10^{4}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

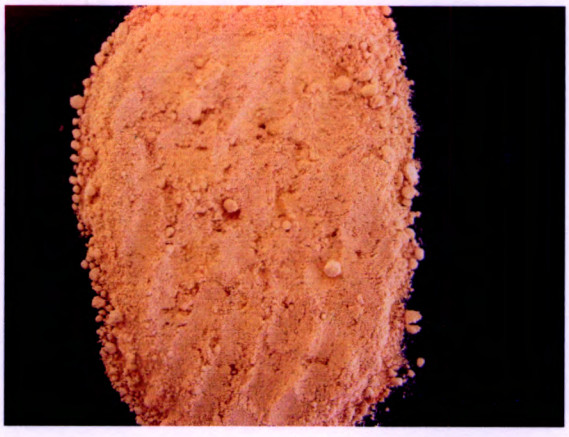
กล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 0%, 1%, 2% และ3%

ภาพที่ ค. 1.1 กล้าเชื้อข้าวหมากผงไม่เติมอบเชย

ภาพที่ ค. 1.2 กล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 1%

ภาพที่ ค. 1.3 กล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 2%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค. 1.4 กล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 3%

ตารางที่ ค.4 ผล ANOVA ของสภาวะการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Group	8.067	6	1.345	59.975	0.000
Within Group	0.314	14	0.022		
Total	8.381	20			

ตารางที่ ค.5 ผล ANOVA ของเปอร์เซ็นต์ค่าความชื้นในกล้าเชื้อข้าวหมากผง

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Group	1019.723	6	169.954	1600.606	0.000
Within Group	1.487	14	0.106		
Total	1021.210	20			

ตารางที่ ค.6 ผล ANOVA ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 0%

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Group	0.068	4	0.017	47.361	0.000
Within Group	0.002	5	0.000		
Total	0.070	9			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.7 ผล ANOVA ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 1%

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Group	0.348	4	0.087	75.009	0.000
Within Group	0.006	5	0.001		
Total	0.354	9			

ตารางที่ ค.8 ผล ANOVA ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 2%

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Group	0.241	4	0.060	33.651	0.001
Within Group	0.009	5	0.002		
Total	0.250	9			

ตารางที่ ค.9 ผล ANOVA ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 3%

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Group	0.389	4	0.097	44.843	0.000
Within Group	0.011	5	0.002		
Total	0.400	9			

ตารางที่ ค.10 ผล ANOVA ของปริมาณเชื้อรา *A. rouxii* ที่รอดชีวิตในกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 0, 1, 2 และ 3%

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Group	3.683	3	1.228	76.169	0.000
Within Group	0.129	8	0.016		
Total	3.812	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.11 ผล ANOVA ของการทดสอบประสิทธิภาพกล้าเชื้อข้าวหมากผงในกิจกรรมการหมักข้าวหมาก

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Brix	Between Groups	2.729	3	.910	.470	.712
	Within Groups	15.500	8	1.937		
	Total	18.229	11			
pH	Between Groups	.393	3	.131	2.262	.158
	Within Groups	.463	8	.058		
	Total	.856	11			

ตารางที่ ค.12 ผล ANOVA ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (คุณลักษณะทั่วไป)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	11.800 (a)	30	.393	1.438	.166
Intercept	1460.267	1	1460.267	5337.950	.000
TREAT	1.067	1	1.067	3.899	.058
BLOCK	10.733	29	.370	1.353	.210
Error	7.933	29	.274		
Total	1480.000	60			
Corrected Total	19.733	59			

a R Squared = .598 (Adjusted R Squared = .182)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.13 ผล ANOVA ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (สี)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	22.800 (a)	30	.760	4.468	.000
Intercept	1540.267	1	1540.267	9054.270	.000
TREAT	1.067	1	1.067	6. 270	.018
BLOCK	21.733	29	.749	4.405	.000
Error	4.933	29	.170		
Total	1568.000	60			
Corrected Total	27.733	59			

a R Squared = .822 (Adjusted R Squared = .638)

ตารางที่ ค.14 ผล ANOVA ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (กลิ่นรส)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	14.200 (a)	30	.473	1.410	.179
Intercept	1288.067	1	1288.067	3837.733	.000
TREAT	.267	1	.267	.795	.380
BLOCK	13.933	29	.480	1.432	.170
Error	9.733	29	.336		
Total	1312.000	60			
Corrected Total	23.933	59			

a R Squared = .593 (Adjusted R Squared = .173)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.15 ผล ANOVA ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (เนื้อสัมผัส)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	24.633 (a)	30	.821	2.301	.014
Intercept	1392.017	1	1392.017	3900. 337	.000
TREAT	.150	1	.150	.420	.522
BLOCK	24.483	29	.844	2.366	.012
Error	10.350	29	.357		
Total	1427.000	60			
Corrected Total	34.983	59			

a R Squared = .704 (Adjusted R Squared = .398)

ตารางที่ ค.16 อายุการเก็บรักษาและประสิทธิภาพการหมักของกล้าเชื้อผงผสมอบเชย 2%

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณเชื้อ (cfu/g)		ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำต้อย* (%Brix)
	A. rouxii	*B. cereus*	
0	1.50×10^{6}	<10	41.5
15	1.40×10^{6}	<10	39.5
30	1.30×10^{6}	<10	39.0
45	1.20×10^{6}	<10	38.0
60	1.20×10^{6}	<10	37.0
75	8.75×10^{5}	<10	36.0
90	7.95×10^{5}	<10	35.5
105	6.30×10^{5}	<10	34.5
120	4.40×10^{5}	<10	34.0
135	1.57×10^{5}	<10	33.5
150	1.09×10^{5}	<10	31.0
165	8.05×10^{4}	<10	30.0
180	5.20×10^{4}	<10	28.5

* จากการหมัก 30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.17 ผล ANOVA อายุการเก็บรักษาของกล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 2%

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Group	6.585	12	0.549	61.655	0.000
Within Group	0.116	13	0.009		
Total	6.700	25			

ตารางที่ ค.18 ผล ANOVA ประสิทธิภาพการหมักของเชื้อรา *A. rouxii* ในกล้าเชื้อข้าวหมากผง (%Brix)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Group	357.615	12	29.801	16.142	0.000
Within Group	24.000	13	1.846		
Total	381.615	25			

ตารางที่ ค.19 ผล DUNCAN ของจำนวนเชื้อรา *A. rouxii* ที่มีชีวิตหลังสภาวะการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผง

LOGCFU

Duncan[a]

TREAT	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
4	3	5.6200		
7	3	5.7833		
6	3	5.8033		
3	3		6.0733	
5	3		6.1000	
1	3			7.1600
2	3			7.2467
Sig.		.176	.830	.490

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.20 ผล DUNCAN ของค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นในกล้าเชื้อข้าวหมากผงหลังกระบวนการอบแห้ง

LOGCFU

Duncan [a]

TREAT	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
7	3	6.8533				
6	3	7.0233				
4	3		8.3400			
5	3		8.4600			
2	3			9.4333		
3	3				10.4133	
1	3					28.0567
Sig.		.533	.659	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ค.21 ผล DUNCAN ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 0%

LOGCFU

Duncan [a]

TREAT	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
อบเชย 0% ที่ 0 ชม.	2	2.84		
อบเชย 0% หลังอบแห้ง ที่ 24 ชม.	2		3.02	
อบเชย 0% ที่ 48 ชม.	2		3.03	3.03
อบเชย 0% ที่ 24 ชม.	2		3.05	3.05
อบเชย 0% ที่ 12 ชม.	2			3.08
Sig.		1.000	0.185	0.051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ตารางที่ ค.22 ผล DUNCAN ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 1%

LOGCFU

Duncan [a]

TREAT	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
อบเชย 1% ที่ 0 ชม.	2	2.66	
อบเชย 1% หลังอบแห้ง ที่ 24 ชม.	2		3.08
อบเชย 1% ที่ 48 ชม.	2		3.11
อบเชย 1% ที่ 24 ชม.	2		3.12
อบเชย 1% ที่ 12 ชม.	2		3.17
Sig.		1.000	0.062

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.23 ผล DUNCAN ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 2%

LOGCFU

Duncan [a]

TREAT	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
อบเชย 2% ที่ 0 ชม.	2	2.15		
อบเชย 2% หลังอบแห้ง ที่ 24 ชม.	2		2.32	
อบเชย 2% ที่ 24 ชม.	2		2.33	
อบเชย 2% ที่ 48 ชม.	2		2.34	
อบเชย 2% ที่ 12 ชม.	2			2.63
Sig.		1.000	0.663	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ตารางที่ ค.24 ผล DUNCAN ของจำนวนเชื้อ *B. cereus* ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการผลิตกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 3%

LOGCFU

Duncan [a]

TREAT	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
อบเชย 3% ที่ 0 ชม.	2	2.04		
อบเชย 3% หลังอบแห้ง ที่ 24 ชม.	2	2.15		
อบเชย 3% ที่ 48 ชม.	2		2.30	
อบเชย 3% ที่ 24 ชม.	2		2.35	
อบเชย 3% ที่ 12 ชม.	2			2.62
Sig.		0.065	0.291	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ตารางที่ ค.25 ผล DUNCAN ของปริมาณเชื้อรา *A. rouxii* ที่รอดชีวิตในกล้าเชื้อข้าวหมากผงที่ผสมอบเชย 0, 1, 2 และ 3%

LOGCFU

Duncan [a]

TREAT	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
อบเชย 3%	3	5.6400		
อบเชย 2%	3		6.0333	
อบเชย 1%	3		6.2533	
Control	3			7.1500
Sig.		1.000	.067	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.26 ผล DUNCAN ของการทดสอบประสิทธิภาพกล้าเชื้อข้าวหมากผงในกิจกรรมการหมักข้าวหมาก

Duncan [a]

สภาวะการผลิต	N	Subset for alpha = .05	
		Brix	pH
อบเชย 3 %	3	38.1667	3.4667
อบเชย 2 %	3	38.3333	3.5933
อบเชย 1 %	3	39.3333	3.8400
Control	3	39.0000	3.9133
Sig.		.361	.065

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ค.27 ผล DUNCAN ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (คุณลักษณะทั่วไป)

Duncan [a, b]

BLOCK	N	Subset	
		1	2
4	2	4.00	
9	2	4.00	
8	2	4.50	4.50
18	2	4.50	4.50
19	2	4.50	4.50
21	2	4.50	4.50
24	2	4.50	4.50
25	2	4.50	4.50
29	2	4.50	4.50
2	2	5.00	5.00
5	2	5.00	5.00
6	2	5.00	5.00
7	2	5.00	5.00
10	2	5.00	5.00
11	2	5.00	5.00
13	2	5.00	5.00
15	2	5.00	5.00
16	2	5.00	5.00
17	2	5.00	5.00
22	2	5.00	5.00
23	2	5.00	5.00
27	2	5.00	5.00
30	2	5.00	5.00
1	2		5.50
3	2		5.50
12	2		5.50
14	2		5.50
20	2		5.50
26	2		5.50
28	2		5.50
Sig.		.119	.118

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is mean Squares (Error) = .274.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.
b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.28 ผล DUNCAN ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (สี)

Duncan [a, b]

BLOCK	N	Subset		
		1	2	3
4	2	4.00		
21	2	4.00		
25	2	4.00		
2	2	4.50	4.50	
5	2	4.50	4.50	
8	2	4.50	4.50	
9	2	4.50	4.50	
19	2	4.50	4.50	
24	2	4.50	4.50	
1	2	5.00	5.00	5.00
3	2	5.00	5.00	5.00
6	2	5.00	5.00	5.00
11	2	5.00	5.00	5.00
13	2	5.00	5.00	5.00
14	2	5.00	5.00	5.00
15	2	5.00	5.00	5.00
16	2	5.00	5.00	5.00
17	2	5.00	5.00	5.00
23	2	5.00	5.00	5.00
7	2		5.50	5.50
10	2		5.50	5.50
12	2		5.50	5.50
18	2		5.50	5.50
20	2		5.50	5.50
22	2		5.50	5.50
26	2			6.00
27	2			6.00
28	2			6.00
29	2			6.00
30	2			6.00
Sig.		.052	.053	.053

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is mean Squares (Error) = .170.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.
b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.29 ผล DUNCAN ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (กลิ่นรส)

Duncan [a, b]

BLOCK	N	Subset		
		1	2	3
4	2	3.50		
6	2	3.50		
21	2	3.50		
9	2	4.00	4.00	
2	2	4.50	4.50	4.50
5	2	4.50	4.50	4.50
8	2	4.50	4.50	4.50
13	2	4.50	4.50	4.50
14	2	4.50	4.50	4.50
17	2	4.50	4.50	4.50
19	2	4.50	4.50	4.50
22	2	4.50	4.50	4.50
23	2	4.50	4.50	4.50
24	2	4.50	4.50	4.50
25	2	4.50	4.50	4.50
27	2	4.50	4.50	4.50
1	2		5.00	5.00
3	2		5.00	5.00
7	2		5.00	5.00
10	2		5.00	5.00
11	2		5.00	5.00
12	2		5.00	5.00
15	2		5.00	5.00
16	2		5.00	5.00
18	2		5.00	5.00
20	2		5.00	5.00
28	2		5.00	5.00
29	2		5.00	5.00
30	2		5.00	5.00
26	2			5.50
Sig.		.157	.155	.155

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is mean Squares (Error) = .336.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.
b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.30 ผล DUNCAN ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (เนื้อสัมผัส)

Duncan [a, b]

BLOCK	N	Subset			
		1	2	3	4
4	2	3.50			
24	2	3.50			
9	2	4.00	4.00		
14	2	4.00	4.00		
17	2	4.00	4.00		
2	2	4.50	4.50	4.50	
6	2	4.50	4.50	4.50	
10	2	4.50	4.50	4.50	
18	2	4.50	4.50	4.50	
19	2	4.50	4.50	4.50	
21	2	4.50	4.50	4.50	
22	2	4.50	4.50	4.50	
25	2	4.50	4.50	4.50	
27	2	4.50	4.50	4.50	
3	2		5.00	5.00	5.00
5	2		5.00	5.00	5.00
8	2		5.00	5.00	5.00
11	2		5.00	5.00	5.00
12	2		5.00	5.00	5.00
13	2		5.00	5.00	5.00
16	2		5.00	5.00	5.00
23	2		5.00	5.00	5.00
1	2			5.50	5.50
7	2			5.50	5.50
15	2			5.50	5.50
26	2			5.50	5.50
29	2			5.50	6.00
30	2			5.50	6.00
20	2				
28	2				
Sig.		.168	.169	.168	.169

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is mean Squares (Error) = .357.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.
b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.31 ผล DUNCAN ของคุณภาพทางประสาทสัมผัส (ความชอบรวม)

Duncan [a, b]

BLOCK	N	Subset		
		1	2	3
4	2	4.00		
8	2	4.00		
9	2	4.00		
24	2	4.00		
26	2	4.00		
5	2	4.50	4.50	
16	2	4.50	4.50	
19	2	4.50	4.50	
21	2	4.50	4.50	
25	2	4.50	4.50	
1	2		5.00	5.00
2	2		5.00	5.00
3	2		5.00	5.00
7	2		5.00	5.00
11	2		5.00	5.00
12	2		5.00	5.00
13	2		5.00	5.00
14	2		5.00	5.00
15	2		5.00	5.00
17	2		5.00	5.00
18	2		5.00	5.00
22	2		5.00	5.00
23	2		5.00	5.00
27	2		5.00	5.00
29	2		5.00	5.00
30	2		5.00	5.00
6	2			5.50
10	2			5.50
20	2			5.50
28	2			5.50
Sig.		.265	.266	.266

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is mean Squares (Error) = .141.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.
b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.32 ปริมาณเชื้อรา *A. rouxii* ที่มีชีวิตระหว่างการเก็บรักษากล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 2%

Duncan [a]

ระยะเวลา	N	Subset for alpha = .05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
180 วัน	2	4.7150							
165 วัน	2	4.9050	4.9050						
150 วัน	2		5.0200	5.0200					
135 วัน	2			5.1800					
120 วัน	2				5.6300				
105 วัน	2				5.7950	5.7950			
90 วัน	2					5.9000	5.9000		
75 วัน	2					5.9400	5.9400	5.9400	
60 วัน	2						6.0550	6.0550	6.0550
45 วัน	2						6.0900	6.0900	6.0900
30 วัน	2						6.1050	6.1050	6.1050
15 วัน	2							6.1400	6.1400
0 วัน	2								6.1750
Sig.		.065	.245	.114	.104	.167	.069	.075	.267

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

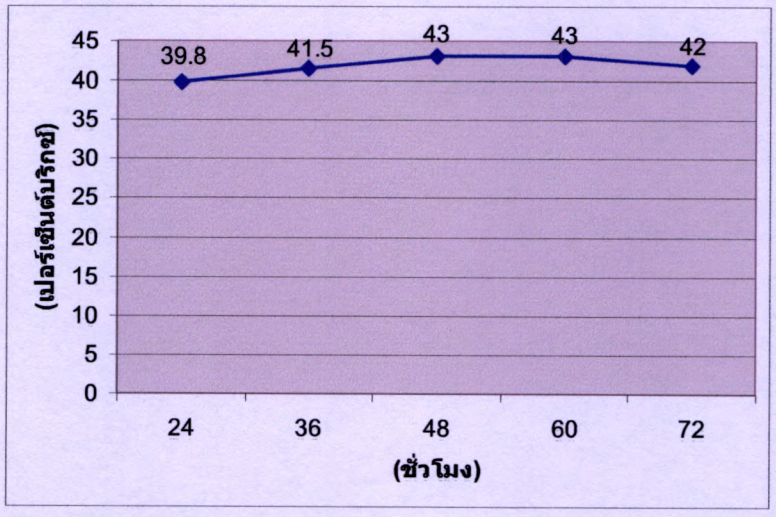
ตารางที่ ค.33 ค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดระหว่างการเก็บรักษากล้าเชื้อข้าวหมากผงผสมอบเชย 2%

Duncan [a]

ระยะเวลา	N	Subset for alpha = .05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
180 วัน	2	4.7150							
165 วัน	2	4.9050	4.9050						
150 วัน	2		5.0200	5.0200					
135 วัน	2			5.1800					
120 วัน	2				5.6300				
105 วัน	2				5.7950	5.7950			
90 วัน	2					5.9000	5.9000		
75 วัน	2					5.9400	5.9400	5.9400	
60 วัน	2						6.0550	6.0550	6.0550
45 วัน	2						6.0900	6.0900	6.0900
30 วัน	2						6.1050	6.1050	6.1050
15 วัน	2							6.1400	6.1400
0 วัน	2								6.1750
Sig.		.065	.245	.114	.104	.167	.069	.075	.267

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค. 2.1 การเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในระหว่างการหมักข้าวหมาก เป็นเวลา 0-72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องโดยใช้กล้าเชื้อผงผสมอบเชย 2%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

ตัวอย่างแบบทดสอบทางประสาทสัมผัส, มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (ข้าวหมาก) และคะแนนผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ง.1 ตัวอย่างแบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

HEDONIC SCALE SCORING TEST

PREFERENCE

ชื่อผู้ทดสอบชิม.....

วันที่.....

ชื่อผลิตภัณฑ์ .....ผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก.....

คำชี้แจง : โปรดทดสอบตัวอย่างต่อไปนี้ เพื่อให้ระดับคะแนนความชอบและไม่ชอบต่อผลิตภัณฑ์ในแต่ละตัวอย่าง โดยหลักเกณฑ์การให้คะแนนจะพิจารณาจากคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ดังต่อไปนี้ 1.ลักษณะทั่วไป : เมล็ดข้าวเหนียวยังคงรูปเดิม ปริมาณน้ำพอท่วม และ น้ำควรมีลักษณะใสไม่มีราปรากฏให้เห็นเด่นชัด 2.สี : ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้ 3.กลิ่นรส : ต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติที่เกิดจากการหมัก มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย อาจมีรสชาติแอลกอฮอล์เล็กน้อย และปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่นกลิ่นเหม็นบูด รสเปรี้ยวจัด 4.ลักษณะเนื้อสัมผัส : เมล็ดข้าวจะต้องนุ่มไม่แข็ง

ระดับการให้คะแนน : 7 = ชอบมากที่สุด, 6 = ชอบมาก, 5 = ชอบ, 4 = เฉยๆ, 3 = ไม่ชอบ, 2 = ไม่ชอบมาก, 1= ไม่ชอบมากที่สุด

รหัสตัวอย่าง	คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ข้าวหมาก				
	คุณลักษณะทั่วไป	สี	กลิ่นรส	ลักษณะเนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
729					
456					

คำแนะนำและข้อคิดเห็น

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง.2 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (ข้าวหมาก)

มผช.162/2546

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน
ข้าวหมาก

1. ขอบข่าย

1.1 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ครอบคลุมข้าวหมาก ที่หมักข้าวเหนียวกับลูกแป้งข้าวหมากในระยะเวลาที่จำกัดที่บรรจุในภาชนะบรรจุ

2. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มีดังต่อไปนี้

2.1 ข้าวหมาก หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากข้าวเหนียวขาวหรือข้าวเหนียวดำ ที่ผ่านการล้าง นำมานึ่ง และล้างอีกครั้ง แล้วหมักกับลูกแป้งข้าวหมากในระยะเวลา 2 วันถึง 3 วัน เพื่อเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล และยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์

2.2 ลูกแป้งข้าวหมาก หมายถึง ลูกแป้งที่เป็นแหล่งของกล้าเชื้อราและยีสต์ที่เหมาะสมโดยการเติมสมุนไพรบางชนิด เมื่อนำมาหมักกับข้าวเหนียวนึ่ง แล้วสามารถทำให้เกิดน้ำตาลและแอลกอฮอล์

3. คุณลักษณะที่ต้องการ

3.1 ลักษณะทั่วไป

เมล็ดข้าวเหนียวยังคงรูปเดิม ปริมาณน้ำพอท่วมก้อนข้าวเหนียว และน้ำควรมีลักษณะใส และไม่มีราปรากฏให้เห็นเด่นชัด

3.2 สี

ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้

3.3 กลิ่นรส

ต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติที่เกิดจากการหมัก มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย อาจมีรสชาติของแอลกอฮอล์เล็กน้อย และปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นเหม็นบูด รสเปรี้ยวจัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 ลักษณะเนื้อสัมผัส

ต้องนุ่ม ไม่เป็นไตแข็ง เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ 8 แล้ว ต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคนไม่น้อยกว่า 3 คะแนน และไม่มีลักษณะใดได้ 1 คะแนน จากผู้ตรวจสอบคนหนึ่ง

3.5 สิ่งแปลกปลอม

ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์

3.6 เอทิลแอลกอฮอล์

ต้องไม่เกิน 0.5 โดยน้ำหนัก

3.7 วัตถุเจือปนอาหาร

ห้ามใช้วัตถุกันเสียและสีทุกชนิด

3.8 ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

ต้องอยู่ระหว่างร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก ถึงร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก

3.9 ความเป็นกรด – ด่าง

ต้องอยู่ระหว่าง 4.0 ถึง 4.5

3.10 จุลินทรีย์

3.10.1 *Escherichia coli* โดยวิธี MPN ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม

3.10.2 ยีสต์และรา ต้องไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

4. สุขลักษณะ

4.1 สุขลักษณะในการทำข้าวหมาก ให้เป็นไปตามหลัก GMP

5. การบรรจุ

5.1 ให้บรรจุข้าวหมากในภาชนะที่เหมาะสม สะอาด แห้ง ผนึกได้เรียบร้อย และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกภายนอกได้

5.2 น้ำหนักสุทธิของข้าวหมากในแต่ละภาชนะบรรจุ ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. เครื่องหมายและฉลาก

6.1 ที่ภาชนะบรรจุข้าวหมากทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดให้เห็นง่ายและชัดเจน ดังต่อไปนี้

1. ชื่อข้าวหมาก
2. น้ำหนักสุทธิ
3. วัน เดือน ปีที่ทำ และวัน เดือน ปีที่หมดอายุ หรือข้อความว่า "ควรบริโภคก่อน (วัน เดือน ปี)"
4. ข้อแนะนำในการเก็บรักษา เช่น เก็บไว้ในตู้เย็น เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส
5. ชื่อผู้ผลิต หรือสถานที่ผลิต พร้อมสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าจดทะเบียน ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

7. การชักตัวอย่างและเกณฑ์การตัดสิน

7.1 รุ่น ในที่นี้ หมายถึง ข้าวหมากที่มีส่วนประกอบเดียวกัน ทำในระยะเวลาเดียวกัน

7.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้

7.2.1 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบสิ่งแปลกปลอม การบรรจุ เครื่องหมายและฉลาก ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 3 หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 3.5 ข้อ 5 และข้อ 6 จึงจะถือว่าข้าวหมากรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

7.2.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบลักษณะทั่วไป สี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัส ให้ใช้ตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบตามข้อ 7.2.1 แล้ว จำนวน 3 หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 3.1 ถึง 3.4 จึงจะถือว่าข้าวหมากรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

7.2.3 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบเอทิลแอลกอฮอล์ ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 3 หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 3.6 จึงจะถือว่าข้าวหมากรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

7.2.4 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบวัตถุเจือปนอาหาร ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ความเป็นกรด – ด่างและจุลินทรีย์ ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 5 หน่วยภาชนะบรรจุ นำมาทำเป็นตัวอย่างรวม โดยมีน้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า 500 กรัม เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 3.7 ถึงข้อ 3.10 จึงจะถือว่าข้าวหมากรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

7.3 เกณฑ์การตัดสิน

ตัวอย่างข้าวหมากต้องเป็นไปตามข้อ 7.2.1 ข้อ 7.2.2 ข้อ 7.2.3 และข้อ 7.2.4 ทุกข้อ จึงจะถือว่าข้าวหมากรุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. การทดสอบ

8.1 การทดสอบลักษณะทั่วไป สี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัส

8.1.1 ให้แต่ตั้งคณะผู้ตรวจสอบ ประกอบด้วยผู้ที่มีความชำนาญในการตรวจสอบข้าวหมากอย่างน้อย 5 คน แต่ละคนจะแยกกันตรวจและให้คะแนนโดยอิสระ

8.1.2 เทตัวอย่างข้าวหมากลงในจานกระเบื้องสีขาว ตรวจสอบโดยการตรวจพินิจและชิม

8.1.3 หลักเกณฑ์การให้คะแนนให้เป็นไปตามตารางที่

ตารางที่ ง.1 หลักเกณฑ์การให้คะแนน (8.1.3)

ลักษณะที่ตรวจสอบ	เกณฑ์ที่กำหนด	ระดับการตัดสิน (คะแนน)			
		ดีมาก	ดี	พอใช้	ต้องปรับปรุง
ลักษณะทั่วไป	เมล็ดข้าวยังคงรูปเดิม ปริมาณน้ำพอท่วมก้อนข้าวเหนียว และน้ำควรมีลักษณะใส และไม่มีราปรากฏให้เห็นเด่นชัด	4	3	2	1
สี	ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้	4	3	2	1
กลิ่นรส	ต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติที่เกิดจากการหมัก มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย อาจมีรสชาติของแอลกอฮอล์เล็กน้อย และปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นเหม็นบูด รสเปรี้ยวจัด	4	3	2	1
ลักษณะเนื้อสัมผัส	ต้องนุ่ม ไม่เป็นไตแข็ง	4	3	2	1

8.2 การทดสอบสิ่งแปลกปลอม ภาชนะบรรจุ เครื่องหมายและฉลาก ให้ตรวจพินิจ

8.3 การทดสอบเอทิลแอลกอฮอล์ วัตถุเจือปนอาหาร ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และความเป็น กรด – ด่าง ให้ใช้วิธีทดสอบตาม AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นโดยเป็นที่ยอมรับ

8.4 การทดสอบจุลินทรีย์ ให้ใช้วิธีทดสอบตาม AOAC, BAM หรือวิธีทดสอบอื่นโดยเป็นที่ยอมรับ

8.5 การทดสอบน้ำหนักสุทธิ ให้ใช้เครื่องชั่งที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง.3 คะแนนผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ตารางที่ ง.2 ข้าวหมากที่ผลิตจากกล้าเชื้อผงผสมอบเชย 2%

ลักษณะทางประสาทสัมผัส	ผู้ทดสอบผลิตภัณฑ์														
	๑	๒	๓	๔	๕	๖	๗	๘	๙	๑๐	๑๑	๑๒	๑๓	๑๔	๑๕
ลักษณะทั่วไป	5	5	5	4	5	5	5	4	4	5	5	5	4	5	5
สี	5	4	5	4	4	5	5	4	4	5	5	5	5	5	5
กลิ่นรส	5	4	5	4	5	4	5	5	4	5	5	5	4	4	5
เนื้อสัมผัส	6	4	5	4	6	5	6	5	4	4	5	5	5	4	6
ความชอบรวม	5	5	5	4	5	6	5	4	4	5	5	5	5	5	5

ลักษณะทางประสาทสัมผัส	ผู้ทดสอบผลิตภัณฑ์														
	๑๖	๑๗	๑๘	๑๙	๒๐	๒๑	๒๒	๒๓	๒๔	๒๕	๒๖	๒๗	๒๘	๒๙	๓๐
ลักษณะทั่วไป	5	5	4	5	5	4	5	5	4	5	6	5	6	4	5
สี	5	5	6	5	5	4	5	5	4	4	6	6	6	6	6
กลิ่นรส	5	4	5	5	6	4	5	5	4	4	5	5	5	5	5
เนื้อสัมผัส	5	4	5	5	6	5	4	5	3	4	5	5	6	5	5
ความชอบรวม	5	5	5	5	6	5	5	5	4	4	4	5	6	5	5

ผลคะแนนของการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัส	ลักษณะทั่วไป	สี	กลิ่นรส	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
	144	148	141	146	147

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.3 ข้าวหมากทางการค้า

ลักษณะทางประสาทสัมผัส	ผู้ทดสอบผลิตภัณฑ์														
	๑	๒	๓	๔	๕	๖	๗	๘	๙	๑๐	๑๑	๑๒	๑๓	๑๔	๑๕
ลักษณะทั่วไป	6	5	6	4	5	5	5	5	4	5	5	6	6	6	5
สี	5	5	5	4	5	5	6	5	5	6	5	6	5	5	5
กลิ่นรส	5	5	5	3	4	3	5	4	4	5	5	5	5	5	5
เนื้อสัมผัส	5	5	5	3	4	4	5	5	4	5	5	5	5	4	5
ความชอบรวม	5	5	5	4	4	5	5	4	4	6	5	5	5	5	5

ลักษณะทางประสาทสัมผัส	ผู้ทดสอบผลิตภัณฑ์														
	๑๖	๑๗	๑๘	๑๙	๒๐	๒๑	๒๒	๒๓	๒๔	๒๕	๒๖	๒๗	๒๘	๒๙	๓๐
ลักษณะทั่วไป	5	5	5	4	6	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5
สี	5	5	5	4	6	4	6	5	5	4	6	6	6	6	6
กลิ่นรส	5	5	5	4	4	3	4	4	5	5	6	4	5	5	5
เนื้อสัมผัส	5	4	4	4	6	4	5	5	4	5	6	4	6	6	6
ความชอบรวม	4	5	5	4	5	4	5	5	4	5	4	5	5	5	5

ผลคะแนนของการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัส	ลักษณะทั่วไป	สี	กลิ่นรส	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
	152	156	137	143	142

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นายชาญชัย ผดุงศักดิ์ เกิดวันที่ 23 พฤศจิกายน 2523 ที่จังหวัดขอนแก่น สำเร็จการศึกษาสาขาวิชาอาหารและโภชนาการ จากศูนย์กลางสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล จังหวัดปทุมธานี ศึกษาต่อในระดับบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีพ.ศ.2546 และสำเร็จการศึกษาในปีพ.ศ.2550

ประวัติการทำงาน

ปีพ.ศ.2546-2548 ปฏิบัติงานในตำแหน่งผู้ช่วยวิจัย ณ สถาบันวิจัยไวน์และสุราพื้นบ้าน ศูนย์กลางสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล จังหวัดปทุมธานี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้