ราและอะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ

นายอดิพล ดิลกพิมล

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-3670-3

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

MOLDS AND AFLATOXIN IN CURRY PASTES AND THEIR SPICES

Mr. Adiphol Dilokpimol

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of The Requirements

for the Degree of Master of Science in Biotechnology

Program of Biotechnology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2003

ISBN 971-17-3670-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ราและอะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ
โดย	นายอดิพล ดิลกพิมล
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รมณี สงวนดีกุล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย โพธิ์พิจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. พันธิพา จันทวัฒน์)

.... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์)

.... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล)

.... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นาตยา งามโรจนวณิชย์)

.... กรรมการ
(นางสาวแสงมณี ชิงดวง)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อดิพล ดิลกพิมล : ราและอะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ. (MOLDS AND AFLATOXIN IN CURRY PASTES AND THEIR SPICES) อ.ที่ปรึกษา ผศ. สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ดร. รมณี สงวนดีกุล, 97 หน้า. ISBN 971-17-3670-3

แกงเป็นอาหารที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั้งในหมู่ชาวไทยและชาวต่างชาติ เครื่องปรุงหลักในการประกอบอาหารประเภทนี้ ได้แก่ น้ำพริกแกงซึ่งทำให้แกงแต่ละชนิดมีกลิ่นรสและสีสันที่แตกต่างกัน ดังนั้นน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบจึงมีความสำคัญต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษารา และอะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ ตรวจวิเคราะห์ปริมาณเบนโซเอตและซอร์เบตในน้ำพริกแกง รวมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงในระหว่างการเก็บเพื่อการปรับปรุงด้านคุณภาพและความปลอดภัย โดยศึกษาน้ำพริกแกง 4 ชนิด ได้แก่ น้ำพริกแกงเผ็ด น้ำพริกแกงเขียวหวาน น้ำพริกแกงส้ม และน้ำพริกแกงมัสมั่น ชนิดละ 30 ตัวอย่าง และเครื่องเทศหลัก ได้แก่ พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้าเขียว หอม กระเทียม ข่า ตะไคร้ ผิวมะกรูด รากผักชี กระชาย ในรูปของสด และพริกชี้ฟ้าแห้ง ชนิดละ 18 ตัวอย่าง ใน 3 ฤดู ซึ่งจำหน่ายในตลาดขายส่งในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ผลการทดลองพบว่ากระเทียมเป็นเครื่องเทศที่พบราปริมาณสูงที่สุด 4.92 ± 0.39 logCFU/g ส่วนข่าพบราปริมาณต่ำที่สุด 0.08 ± 0.20 logCFU/g ราที่พบมากในเครื่องเทศ ได้แก่ *Aspergillus niger Penicillium citrinum P. corylophilum Cladosporium spp. A. aculeatus* และ *A. flavus* ตามลำดับ สำหรับปริมาณราในน้ำพริกแกงพบว่าแกงส้มพบราปริมาณเฉลี่ยสูงที่สุด 2.40 ± 1.07 logCFU/g รองลงมาได้แก่แกงเผ็ด 1.44 ± 1.12 logCFU/g แกงมัสมั่น 0.78 ± 0.79 logCFU/g และแกงเขียวหวาน 0.68 ± 1.09 logCFU/g ตามลำดับ ซึ่งราที่พบมากที่สุดได้แก่ *A. niger Monascus spp.* และ *Paecilomyces spp.* ตามลำดับ ทั้งนี้พบว่าฤดูกาลไม่มีผลต่อปริมาณราในเครื่องเทศและน้ำพริกแกงแต่ละชนิด ($p>0.05$) ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเบนโซเอตและซอร์เบตพบการใช้เบนโซเอตสูงกว่า 1000 ppm ถึงร้อยละ 40 ของตัวอย่างทั้งหมด ในขณะที่ร้อยละ 20 ไม่พบการใช้เบนโซเอต ทั้งนี้ไม่พบการใช้ซอร์เบตในทุกตัวอย่าง การตรวจสอบปริมาณอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบพบว่า พริกชี้ฟ้าแห้ง พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้าเขียว ตะไคร้ และ กระชาย พบอะฟลาทอกซินปนเปื้อนต่ำกว่า 5 ppb ข่าและผิวมะกรูดปนเปื้อนต่ำกว่า 20 ppb ในขณะที่หอมแดง กระเทียม และรากผักชี ไม่พบอะฟลาทอกซินปนเปื้อน นอกจากนี้พบว่าน้ำพริกแกงทุกตัวอย่างที่ทำการตรวจสอบพบอะฟลาทอกซินปนเปื้อนต่ำกว่า 20 ppb สำหรับอายุการเก็บที่อุณหภูมิห้อง เมื่อใช้การประเมินทางประสาทสัมผัสเป็นเกณฑ์ พบว่าน้ำพริกแกงส้มมีอายุการเก็บ 2 วัน แกงเขียวหวานมีอายุการเก็บ 3 วัน น้ำพริกแกงเผ็ดมีอายุการเก็บ 5 และน้ำพริกแกงมัสมั่นมีอายุการเก็บนานถึง 13 วัน ทั้งนี้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงปริมาณราในระหว่างการเก็บและพบว่าการใช้เบนโซเอตและซอร์เบตที่ความเข้มข้น 500 ppm ไม่ช่วยยืดอายุการเก็บน้ำพริกแกงสูตรที่ใช้ในการทดสอบ ($p>0.05$)

สาขาวิชา ......เทคโนโลยีชีวภาพ...... ลายมือชื่อนิสิต..

หลักสูตร ......เทคโนโลยีชีวภาพ...... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..

ปีการศึกษา ....2546.............. ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..

4472479323 : MAJOR Biotechnology

KEYWORD: MOLD / AFLATOXIN / CURRY PASTE / SPICE / PRESERVATIVE

ADIPHOL DILOKPIMOL : MOLDS AND AFLATOXIN IN CURRY PASTES AND THEIR SPICES. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. SUTTISAK SUKNAISILP, THESIS COADVISOR : ASST. PROF. ROMANEE SANGUANDEEKUL, Ph.D., 97 pp. ISBN 971-17-3670-1.

Thai curry is one of the most famous Thai foods. The main ingredient to prepare this kind of food is the curry paste, the mixture of grinded spices, which can be made to the different kind of curries and food products, so the quality of these products depend on the curry pastes and their spices. The objective of this research was to determine the amount and kind of molds in curry pastes and their spices, including the determination of the amount of benzoate sorbate and aflatoxin in curry pastes and to study of the change of curry pastes during storage at room temperature. Four kinds of curry pastes i.e. red curry paste, green curry paste, sour curry paste, and Thai-Indian curry paste were selected and each one comprised of 30 samples collected in 3 seasons. Ten kinds of main spices i.e. fresh cayenne pepper, green chili spur pepper, shallot, garlic, galangal, lemongrass, kaffir lime (skin), coriander (root), and lesser ginger and dried chili spur pepper were evaluated and each one comprised of 18 samples collected in 3 seasons The samples were taken from wholesale market in Bangkok metropolis and vicinity. According to the amount and kind of molds in spices, garlic had the highest mold contamination (4.92±0.39 logCFU/g), whereas, galangal had the least (0.08±0.20 log CFU/g). The contaminated molds in spices were *Aspergillus niger, Penicillium citrinum, P. corylophilum, Cladosporium spp., A. aculeatus*, and *A. flavus*, respectively. For the curry pastes, sour curry paste had the highest amount of mold contamination (2.40±1.07 logCFU/g), then, red curry paste (1.44±1.12 log CFU/g), Thai-Indian curry paste (0.78±0.79 logCFU/g) and green curry paste (0.68±1.09 logCFU/g), respectively. *A. niger, Monascus spp.* and *Paecilomyces spp.* were the most contaminated molds in curry pastes. For the determination of benzoate and sorbate, 40% of the curry paste had benzoate more than 1,000 ppm, whereas, 20 % of the curry paste had no benzoate. Moreover, sorbate was not detected in all samples. On the other hand, the use of sorbate and benzoate were not effective to inhibit the growth of molds because the pH range was not appropriate for these preservatives. According to the determination of aflatoxin, dried chili, cayenne pepper, green chili spur pepper, lemongrass, and lesser ginger were contaminated by aflatoxin less than 5 ppb while galangal and kaffir lime (skin) were contaminated less than 20 ppb. No aflatoxin was detected in shallot, garlic, and coriander (root). For the curry pastes, all samples were contaminated by aflatoxin less than 20 ppb. According to the sensory evaluation, the shelf-life of sour curry paste, green curry paste, red curry paste and Thai-Indian curry paste were 2, 3, 5, and 13 days, respectively. Furthermore, there is no change of mold counts during the storage time tested and the use of 500 ppm sodium benzoate and potassium sorbate can not extend the storage life of those tested curry paste (p>0.05)

Program ……Biotechnology…….	Student's signature ……………………………………
Field of study …Biotechnology…	Advisor's signature ……………………………………
Academic year ………2003……..	Co-Advisor's signature ………………………………..

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม เป็นอย่างสูง ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นด้านวิชาการ และให้ความช่วยเหลือสนับสนุนในการทำวิจัยจนสำเร็จ ตลอดจนช่วยตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. พันธิพา จันทวัฒน์ ในฐานะประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นาตยา งามโรจนวณิชย์ และ คุณแสงมณี ชิงดวง ที่ได้สละเวลาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ตลอดจนแก้ไขงานวิทยานิพนธ์จนสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พลกฤษณ์ แสงวณิช ที่ได้อนุเคราะห์และให้ความช่วยเหลือในการตรวจวิเคราะห์เบนโซเอตและซอร์เบตด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) และ ดร. อมรา ชินภูติ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและความอนุเคราะห์ในการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินด้วยวิธี ELISA รวมทั้งเจ้าหน้าที่สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตรที่ได้ให้ความช่วยเหลือแก่ผู้วิจัย

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร และสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ ตลอดจนบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือแก่ผู้วิจัย

ขอขอบคุณ คุณเกศ พูลเจริญ คุณมาโปรด ศรีสุข พี่ๆ และเพื่อนๆ ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร และสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้กำลังใจและความช่วยเหลือในด้านต่างๆ เป็นอย่างดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และคุณยาย ที่สนับสนุนทางด้านการศึกษาและให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านตลอดจนให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฐ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วารสารปริทัศน์	2
2.1 น้ำพริกแกง	2
2.2 ราในอาหาร	6
2.2.1 การจัดกลุ่มรา	6
2.2.2 การปนเปื้อนของราในเครื่องเทศและผลิตภัณฑ์อาหาร	7
2.2.3 การจำแนกชนิดของรา	9
2.3 สารพิษจากรา	11
2.3.1 ปัจจัยที่ทำให้มีการสร้างสารพิษ	13
2.3.2 การวิเคราะห์สารพิษจากรา	15
2.4 สารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์	18
2.5 วัตถุกันเสีย	20
2.5.1 กลไกการออกฤทธิ์ของวัตถุกันเสีย	20
2.5.2 การตรวจวิเคราะห์กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในอาหาร	22
3. วิธีทดลอง	24
วัตถุดิบ	24
วิธีดำเนินงานวิจัย	25
3.1 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของราในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ	25

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.1.1 การเก็บตัวอย่างเครื่องเทศ.......... 25
3.1.2 การเก็บตัวอย่างน้ำพริกแกง.......... 25
3.1.3 การเตรียมตัวอย่างเครื่องเทศ.......... 25
3.1.4 การตรวจสอบปริมาณราในเครื่องเทศและน้ำพริกแกง.......... 26
3.1.5 การจัดจำแนกชนิดของราในเครื่องเทศและน้ำพริกแกง.......... 26
3.1.6 การตรวจสอบความสามารถในการผลิตอะฟลาทอกซินของราบางชนิด.......... 27
3.2 การวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมเบนโซเอตและโพแทสเซียมซอร์เบตในน้ำพริกแกง... 27
3.3 การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็น.......... 28
องค์ประกอบ
3.3.1 การสกัดตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์.......... 28
3.3.2 การวิเคราะห์อะฟลาทอกซินโดยชุดตรวจสอบสำเร็จรูป.......... 28
3.4 การเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงแต่ละชนิดในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง...... 28
3.5 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราบางชนิดโดยน้ำพริกแกง.......... 29
3.5.1 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราโดยน้ำพริกแกง.......... 29
3.5.2 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราโดยน้ำมันหอมระเหยจาก.......... 30
น้ำพริกแกง
3.5.3 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราโดยสารสกัดด้วยน้ำจาก.......... 30
น้ำพริกแกง
4. ผลการทดลองและการวิจารณ์.......... 31
4.1 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของราในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบใน...... 31
น้ำพริกแกง
4.2 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของราในน้ำพริกแกงแต่ละชนิด.......... 37
4.3 การวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมเบนโซเอตและโพแทสเซียมซอร์เบตในน้ำพริกแกง.... 40
4.4 การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์.......... 41
ประกอบ
4.5 การเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง.......... 45
4.6 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราบางชนิดด้วยน้ำพริกแกง.......... 49

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.. 53
รายการอ้างอิง.. 55
ภาคผนวก... 66
ภาคผนวก ก.. 67
ภาคผนวก ข.. 71
ภาคผนวก ค.. 73
ภาคผนวก ง.. 74
ภาคผนวก จ.. 75
ภาคผนวก ฉ.. 77
ภาคผนวก ช.. 81
ภาคผนวก ซ.. 82
ภาคผนวก ฌ.. 85
ภาคผนวก ญ.. 86
ภาคผนวก ฎ.. 88
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.. 97

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

2.1 (ก) ส่วนประกอบของน้ำพริกแกงจากตำรับแกงไทยและเทศ..................................... 3

2.1 (ข) ส่วนประกอบของน้ำพริกแกงจากตำรับอาหารวิทยาลัยในวัง..................................... 3

2.1 (ค) ส่วนประกอบของน้ำพริกแกงจากน้ำพริก : อาชีพแก้จน.. 4

2.1 (ง) ส่วนประกอบของน้ำพริกแกงจาก The Food of Asia... 4

2.1 (จ) ส่วนประกอบของน้ำพริกแกงจากกับข้าวจานเครื่องแกง.. 5

2.2 สารพิษจากราสำคัญที่พบในอาหารทั่วไป.. 12

2.3 สารประกอบสำคัญในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในน้ำพริกแกง........................ 19

4.1 ปริมาณราเฉลี่ยของเครื่องเทศต่างๆ ใน 3 ฤดู.. 32

4.2 ปริมาณราและค่า a_w เฉลี่ยของเครื่องเทศต่างๆ.. 32

4.3 ร้อยละของราที่พบในเครื่องเทศหลักต่างๆ... 34

4.4 ราที่สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้ในเครื่องเทศ... 35

4.5 รา *Aspergillus flavus* ที่พบในเครื่องเทศและความสามารถในการผลิต.................. 35
อะฟลาทอกซิน

4.6 ปริมาณ ชนิดของรา และปริมาณอะฟลาทอกซินของเครื่องเทศแห้ง (a_w<0.6)........... 36

4.7 ปริมาณราทั้งหมดของน้ำพริกแกงต่างๆ ใน 3 ฤดู.. 38

4.8 ร้อยละของราแต่ละสายพันธุ์ที่พบในน้ำพริกแกง 4 ชนิด... 39

4.9 รา *Aspergillus flavus* ที่พบในน้ำพริกแกงและความสามารถในการผลิต.................. 40
อะฟลาทอกซิน

4.10 ปริมาณเบนโซเอตในน้ำพริกแกงต่างๆ ใน 3 ฤดู วิเคราะห์ด้วยวิธี Reverse Phase...... 41
Liquid Chromatography

4.11 ปริมาณเบนโซเอต ปริมาณรา และ pH ในน้ำพริกแกงแต่ละชนิด.............................. 42

4.12 ปริมาณอะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ.................... 44
วิเคราะห์ด้วยชุดตรวจสอบอะฟลาทอกซินสำเร็จรูป

4.13(ก) เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียและผลวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสในน้ำพริกแกง........ 48
เผ็ดแต่ละชนิดที่ทำการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

4.13(ข) เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียและผลวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสในน้ำพริกแกง........ 48
เขียวหวานแต่ละชนิดที่ทำการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

4.13(ค) เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียและผลวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสในน้ำพริกแกง........ 49
ส้มแต่ละชนิดที่ทำการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

4.13(ง) เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียและผลวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสในน้ำพริกแกง........ 49
มัสมั่นแต่ละชนิดที่ทำการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

4.14 ประสิทธิภาพของน้ำพริกแกงที่ผ่านและไม่ผ่านความร้อนในการยับยั้งการเจริญ....... 50
ของราบางชนิด

ข.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอตและโพแทสเซียมซอร์เบต.......... 72
ที่ความเข้มข้นต่างๆ วิเคราะห์ด้วยวิธี Reverse Phase Liquid Chromatography

ฉ.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณราในเครื่องเทศต่างๆ 77
ในแต่ละฤดู

ฉ.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณราและเบนโซเอตในน้ำพริกแกง.. 77
แต่ละฤดู

ฉ.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของ pH ปริมาณรา และแบคทีเรียใน.......... 78
น้ำพริกแกงระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

ฉ.4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของ pH ปริมาณรา และแบคทีเรียใน.......... 78
น้ำพริกแกงที่ผสมโซดียมเบนโซเอต 500 ppm, โพแทสเซียมซอร์เบต 500 ppm และไม่ผสมวัตถุกันเสีย

ฉ.5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติค่าการประเมินทางประสาทสัมผัสด้วย......... 79
การดมกลิ่นน้ำพริกแกงที่ไม่ผสมวัตถุกันเสีย, ผสมโซดียมเบนโซเอต 500 ppm และโพแทสเซียมซอร์เบต 500 ppm ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

ฉ.6.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติค่าการประเมินทางประสาทสัมผัสด้วย......... 79
การดมกลิ่นน้ำพริกแกงที่ผสมโซดียมเบนโซเอต 500 ppm, โพแทสเซียมซอร์เบต 500 ppm และไม่ผสมวัตถุกันเสีย เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงเผ็ดที่ผสมและไม่ผสมวัตถุกันเสียระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

ฉ.6.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติค่าการประเมินทางประสาทสัมผัสด้วย......... 79
การดมกลิ่นน้ำพริกแกงที่ผสมโซดียมเบนโซเอต 500 ppm, โพแทสเซียมซอร์เบต 500 ppm และไม่ผสมวัตถุกันเสีย เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงเขียวหวานที่ผสมและไม่ผสมวัตถุกันเสียระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

ฉ.6.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติค่าการประเมินทางประสาทสัมผัสด้วย........ 80
การดมกลิ่นน้ำพริกแกงที่ผสมโซดียมเบนโซเอต 500 ppm, โพแทสเซียมซอร์เบต 500 ppm และไม่ผสมวัตถุกันเสีย เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงส้มที่ผสมและไม่ผสมวัตถุกันเสียระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

ฉ.6.4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติค่าการประเมินทางประสาทสัมผัสด้วย........ 80
การดมกลิ่นน้ำพริกแกงที่ผสมโซดียมเบนโซเอต 500 ppm, โพแทสเซียมซอร์เบต 500 ppm และไม่ผสมวัตถุกันเสีย เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงมัสมั่นที่ผสมและไม่ผสมวัตถุกันเสียระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

ฌ ร้อยละของราสายพันธุ์ต่างๆ ที่จำแนกได้จากเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบหลักใน...... 85
น้ำพริกแกงในแต่ละฤดู

ญ.1 ปริมาณราทั้งหมดของน้ำพริกแกงต่างๆ ใน 3 ฤดู.. 86

ญ.2 ปริมาณเบนโซเอตในน้ำพริกแกงต่างๆ ใน 3 ฤดู.. 87

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพประกอบ

2.1 วิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของราที่ปนเปื้อนในอาหาร........................... 9
2.2 สมการและปฏิกิริยาในการวิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA.. 17
4.1 การเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงเผ็ดระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง...................... 46
4.2 การเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงเขียวหวานระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง.............. 46
4.3 การเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงส้มระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง....................... 47
4.4 การเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงมัสมั่นระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง.................. 47
4.5 ประสิทธิภาพของน้ำพริกแกงในการยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus niger*............ 51
4.6 ประสิทธิภาพของน้ำพริกแกงในการยับยั้งการเจริญของ *Monascus* sp. 51
4.7 ประสิทธิภาพของน้ำพริกแกงในการยับยั้งการเจริญของ *Paecilomyces* sp. 52
4.8 ประสิทธิภาพของน้ำพริกแกงในการยับยั้งการเจริญของ *Penicillium citrinum*.......... 52
ข.1 กราฟมาตรฐานของโซเดียมเบนโซเอตและโพแทสเซียมซอร์เบต วิเคราะห์ด้วยวิธี....... 72
Reverse Phase Liquid Chromatography
ซ.1 *Aspergillus niger* (ก,ข) conidial head ของ *A. niger* ของ *A. niger* บน PDA....... 82
5 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส
ซ.2 *Penicillium citrinum* (ก) โคโลนีของ *P. citrinum* บน PDA, 7 วัน ที่ 30 82
องศาเซลเซียส (ข,ค) conidial head ของ *P. citrinum* (ง-ฉ) *P. corylophilum*
(ง) โคโลนีของ *P. corylophilum* บน PDA, 7 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส
(จ,ฉ) conidial head ของ *P. corylophilum*
ซ.3 *Paecilomyces* sp. (ก) โคโลนีของ *Paecilomyces* sp. บน PDA, 7 วัน ที่ 30 82
องศาเซลเซียส (ข) conidial head ของ *Paecilomyces* sp.
ซ.4 *Monascus* spp. (ก,ข) โคโลนีของ *Monascus* spp. บน PDA, 7 วัน ที่ 30 83
องศาเซลเซียส (ค-จ) cleistothecia ของ *Monascus* spp. (ฉ) aleurioconidia
ของ *Monascus* spp.
ซ.5 โคโลนีของ *Aspergillus flavus* บน PDA, 7 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส..................... 83
ซ.6 (ก) sporangium ของ *Mucor* sp. (ข) sporangia ของ *Syncephalastrum* sp. 83
ซ.7 (ก,ข) conidiophores และ conidia ของ *Cladosporium* sp. 84

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพประกอบ

ซ.8(ก) phialide และ conidia ของ *Fusarium* sp. ………………………………………….... 84
ซ.8(ข) phialides และ conidia ของ *Acremonium* sp. ……………………………….... 84
ซ.9 (ก,ข) conidia ของ *Alternaria* sp. ……………………………………………………... 84
ซ.9 (ค) conidia ของ *Curvularia* sp. …………………….. 84

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

อาหารไทยได้รับเลือกให้เป็นหนึ่งในสี่อาหารยอดนิยมทั่วโลก เนื่องจากมีรสชาติกลมกล่อมและสีสันกลมกลืน โดยอาหารประเภทแกงเป็นที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั้งในหมู่ชาวไทยและชาวต่างชาติ หัวใจหลักในการปรุงอาหารประเภทนี้อยู่ที่น้ำพริกแกงซึ่งทำให้แกงแต่ละชนิดมีกลิ่นรสและสีสันที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวแตกต่างกันไป นอกจากนี้น้ำพริกแกงยังสามารถนำไปปรุงเป็นอาหารอย่างอื่นได้อีกหลายชนิด เช่น พะแนง ห่อหมก ขนมจีนน้ำยา ผัดเผ็ดรวมถึงข้าวผัดต่างๆ ซึ่งก็ได้รับความนิยมอย่างมากเช่นเดียวกัน แต่ด้วยความหลากหลายของส่วนผสมจึงต้องใช้เวลาในการเตรียมนาน ผนวกกับขั้นตอนในการผลิตที่ยุ่งยากทำให้ปัจจุบันมีการผลิตน้ำพริกแกงพร้อมปรุงออกมาจำหน่ายกันมากขึ้น ซึ่งช่วยประหยัดเวลาและลดความยุ่งยากในการประกอบอาหารประเภทนี้ไปได้อย่างมากทั้งยังได้รสชาติที่ดีจึงมีการบริโภคกันอย่างแพร่หลายรวมทั้งยังส่งออกขายต่างประเทศอีกด้วย ซึ่งมูลค่าโดยรวมในการส่งออกน้ำพริกแกงสำเร็จรูปทั่วโลกในปี 2544 มีมูลค่ากว่าห้าร้อยล้านบาท และในระยะ 5 ปีที่ผ่านมามีการขยายตัวเพิ่มขึ้นทุกปี (ศูนย์สารสนเทศเศรษฐกิจการค้า, 2545) แต่เนื่องจากส่วนประกอบต่างๆ ในน้ำพริกแกงมีความหลากหลาย และขั้นตอนในการผลิตต้องใช้เวลานาน จึงมีโอกาสเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากแหล่งต่างๆ ได้ง่าย และราก็เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งที่อาจมีผลต่อคุณภาพของอาหารและความปลอดภัยของผู้บริโภคได้ ถ้าใช้วิธีถนอมอาหารที่ไม่เหมาะสมหรือเพียงพอ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณและชนิดของราและสารพิษจากราในน้ำพริกแกงพร้อมปรุงต่างๆ รวมทั้งศึกษาผลของน้ำพริกแกงต่อราเหล่านั้น เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการควบคุมคุณภาพของน้ำพริกแกงและความปลอดภัยของน้ำพริกแกงพร้อมปรุงอันเนื่องจากราและสารพิษจากราต่อไป

ข้อมูลจากงานวิจัยนี้สามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกงในส่วนของชนิดและปริมาณรารวมทั้งสารอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในเครื่องเทศและน้ำพริกแกงที่จำหน่ายในท้องตลาด รวมทั้งการใช้วัตถุกันเสียในน้ำพริกแกง ซึ่งสามารถนำไปสู่การหาวิธีการที่จะใช้ลดหรือป้องกันการปนเปื้อนของราและสารอะฟลาทอกซินในระหว่างการผลิตและการเก็บรักษา รวมทั้งการเตรียมและการเก็บรักษาเครื่องเทศหรือน้ำพริกแกงเพื่อความปลอดภัยในการบริโภคน้ำพริกแกงและผลิตภัณฑ์อย่างปลอดภัย

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

1. **น้ำพริกแกง** (Curry paste)

น้ำพริกแกง (curry paste) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเครื่องเทศและส่วนประกอบอื่นๆ ที่บดแล้ว อาจผสมกับกะทิหรือน้ำมันบริโภคชนิดอื่นก็ได้ แล้วนำไปให้ความร้อนจนแห้งหรือไม่ก็ได้ แล้วแต่ประเภทของน้ำพริกแกง โดยรักษาคุณภาพและกลิ่นรสของน้ำพริกแกงนั้นๆ ไว้ นำไปใช้ได้ทันที (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2525) ทั้งนี้การแบ่งชนิดของน้ำพริกแกงนั้นให้ถือหลักการเรียกชื่อโดยเอาเครื่องปรุงและรสของแกงเป็นหลัก เช่น แกงเผ็ดหมายถึงแกงที่ใส่กะทิและเครื่องปรุงรสโดยใช้พริกแห้งโขลกทำให้มีสีแดงจึงเรียกว่าแกงเผ็ด แต่ถ้าใช้พริกสดสีเขียวอาจเป็นพริกชี้ฟ้าหรือพริกขี้หนูก็จะเรียกว่าแกงเขียวหวาน เพราะฉะนั้นการแยกชนิดของแกงจึงควรแยกตามเครื่องปรุงที่โขลกละลายน้ำแกงซึ่งเป็นรสนำ (สภาสตรีแห่งชาติ, 2516)

แกงที่รับประทานกันจนเป็นที่รู้จักกันโดยทั่วไป แบ่งได้เป็น 2 ประเภท (Prayad Saiwichian, 1995) ประเภทแรก ได้แก่ แกงต้ม (sour soup) เป็นแกงที่มีรสเผ็ดและเปรี้ยวนำ ต้มในน้ำแกงที่ปรุงด้วย พริก ข่า ตะไคร้ ใบมะกรูด และน้ำมะนาว เป็นต้น ใส่เนื้อสัตว์ เช่น ไก่ หมู ปลา หรือเนื้อสัตว์ทะเลอื่น ร่วมด้วยก็ได้ เช่น แกงต้มส้ม แกงต้มโคล้ง แกงต้มยำ แกงต้มปลาร้า แกงต้มกะทิ แกงเลียง และแกงบวน เป็นต้น ส่วนประเภทที่ 2 ได้แก่ แกงเผ็ด (curry) เป็นแกงที่มีลักษณะเป็นน้ำข้น รสชาติกลมกล่อม ใช้น้ำพริกแกงเป็นเครื่องปรุงรสหลัก เช่น แกงเผ็ด แกงเขียวหวาน แกงส้ม แกงคั่ว แกงคั่วส้ม แกงฉู่ฉี่ แกงกะหรี่ และแกงมัสมั่น เป็นต้น

ส่วนประกอบที่ใช้ทำน้ำพริกแกงต้องมีคุณสมบัติเหมาะสมและไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค ส่วนประกอบที่สำคัญในน้ำพริกแกง ได้แก่ เครื่องเทศต่างๆ เช่น พริกแห้ง พริกสด หอมแดง กระเทียม ข่า ตะไคร้ ผิวมะกรูด รากผักชี พริกไทย ลูกผักชี และยี่หร่า เป็นต้น นอกจากนี้ยังอาจมีส่วนผสมที่เป็นเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรสอื่นๆ เช่น เกลือ กะปิ กะทิ น้ำมันบริโภค น้ำปลา น้ำตาล หรือมะขามเปียก จากการศึกษาส่วนประกอบของเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบของน้ำพริกแกงในปัจจุบันมีหลายชนิดและส่วนผสมของน้ำพริกแกงในอดีตและปัจจุบันมีความแตกต่างกันดังในตารางที่ 2.1(ก) - (จ) จึงต้องศึกษาส่วนผสมจากตำราที่เชื่อถือได้ ในงานวิจัยนี้ยึดตามตำรับแกงไทยและเทศ ของ สภาสตรีแห่งชาติ (2516) ซึ่งรวบรวมสูตรของน้ำพริกแกงโดยผู้เชี่ยวชาญที่ได้รับการยอมรับ เมื่อพิจารณาความหลากหลายของเครื่องเทศที่เป็นส่วนประกอบหลักทำให้แบ่งน้ำพริกแกงได้เป็น 4 ประเภท โดยจัดแบ่งตามความหลากหลายของเครื่องเทศที่เป็น

ตารางที่ 2.1(ก) ส่วนประกอบของน้ำพริกแกงจากตำรับแกงไทยและเทศ (สภาสตรีแห่งชาติ, 2516)

ส่วนผสม	ปริมาณ			
	แกงเผ็ด	เขียวหวาน	แกงส้ม	มัสมั่น
พริกชี้ฟ้าแห้ง	11 เม็ด	-	5 เม็ด	10 เม็ด
พริกขี้หนูสด	-	15 เม็ด	-	-
พริกชี้ฟ้าสด	-	5 เม็ด	-	-
หอม	1/4 ถ้วยตวง	2 ช้อนโต๊ะ	3 ช้อนโต๊ะ	1/4 ถ้วยตวง
กระเทียม	1/2 ถ้วยตวง	4 ช้อนโต๊ะ	1 ช้อนโต๊ะ	2 ช้อนโต๊ะ
ข่า	1 ช้อนชา	1/2 ช้อนชา	-	1/2 ช้อนชา
ตะไคร้	4 ช้อนชา	2 ช้อนโต๊ะ	-	1 ช้อนโต๊ะ
ผิวมะกรูด	1 ช้อนชา	1/4 ช้อนชา	-	-
รากผักชี	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	-	2 ช้อนชา
กระชาย	-	-	1 ช้อนชา	-
พริกไทย	1 ช้อนชา	15 เม็ด	-	15 เม็ด
ลูกผักชี	2 ช้อนโต๊ะ	2 ช้อนชา	-	1 ช้อนโต๊ะ
ยี่หร่า	1 ช้อนโต๊ะ	1 ช้อนชา	-	2 ช้อนชา
กะปิ	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา
เกลือ	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา
เครื่องเทศอื่นๆ	-	-	-	*

* ลูกจันทน์ 1/3 ช้อนชา, ดอกจันทน์ 1 ดอก, อบเชย (1 ซม) 1ชิ้น, กานพลู 5 ดอก, กระวาน 5 เมล็ด

ตารางที่ 2.1(ข) ส่วนประกอบของน้ำพริกแกงจากตำรับอาหารวิทยาลัยในวัง (คณาจารย์จากวิทยาลัยในวัง, 2536)

ส่วนผสม	ปริมาณ			
	แกงเผ็ด	เขียวหวาน	แกงส้ม	มัสมั่น
พริกชี้ฟ้าแห้ง	10 เม็ด	-	10 เม็ด	11 เม็ด
พริกขี้หนูสด	10 เม็ด	10 เม็ด	-	-
พริกชี้ฟ้าสด	-	15 เม็ด	-	-
หอม	4 ช้อนโต๊ะ	5 ช้อนโต๊ะ	1/2 ถ้วยตวง	20 หัว
กระเทียม	5 ช้อนโต๊ะ	6 ช้อนโต๊ะ	1 ช้อนโต๊ะ	20 หัว
ข่า	2 ช้อนชา	1 ช้อนชา	-	1 ช้อนชา
ตะไคร้	2 ช้อนโต๊ะ	2 ช้อนโต๊ะ	-	2 ช้อนโต๊ะ
ผิวมะกรูด	1/2 ช้อนชา	1/2 ช้อนชา	-	-
รากผักชี	1 ช้อนโต๊ะ	1 ช้อนโต๊ะ	-	9 ราก
กระชาย	-	-	-	-
พริกไทย	20 เม็ด	15 เม็ด	-	15 เม็ด
ลูกผักชี	1 ช้อนโต๊ะ	1 ช้อนโต๊ะ	-	2 ช้อนโต๊ะ
ยี่หร่า	1 ช้อนโต๊ะ	1 ช้อนชา	-	1 ช้อนชา
กะปิ	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	1 ช้อนโต๊ะ
เกลือ	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา
เครื่องเทศอื่นๆ	*	ลูกจันทน์1/2ช้อนชา	-	**

* ลูกจันทน์ป่น 1/2 ช้อนชา, หัวเปราะ 1 ช้อนชา

** ลูกจันทน์ 1/2 ลูก, ดอกจันทน์ 1 ดอก, อบเชย (1 นิ้ว) 1ชิ้น, กานพลู 5 ดอก, กระวาน 5 เมล็ด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.1(ค) ส่วนประกอบของน้ำพริกแกงจากน้ำพริก: อาชีพแก้จน (ทวีศักดิ์ เกษปทุม, 2538)

ส่วนผสม	ปริมาณ			
	แกงเผ็ด	เขียวหวาน	แกงส้ม	มัสมั่น
พริกชี้ฟ้าแห้ง	150 กรัม	-	200 กรัม	200 กรัม
พริกขี้หนูสด	-	60 กรัม	-	-
พริกชี้ฟ้าสด	-	1000 กรัม	-	-
หอม	400 กรัม	200 กรัม	500 กรัม	1000 กรัม
กระเทียม	120 กรัม	70 กรัม	100 กรัม	800 กรัม
ข่า	8 ช้อนโต๊ะ	4 ช้อนโต๊ะ	-	4 ช้อนโต๊ะ
ตะไคร้	20 ช้อนโต๊ะ	20 ช้อนโต๊ะ	-	20 ช้อนโต๊ะ
ผิวมะกรูด	2 ช้อนโต๊ะ	4 ช้อนโต๊ะ	-	-
รากผักชี	4 ช้อนโต๊ะ	4 ช้อนโต๊ะ	-	150 กรัม
กระชาย	-	-	150 กรัม	-
พริกไทย	3 ช้อนโต๊ะ	2 ช้อนโต๊ะ	-	4 ช้อนโต๊ะ
ลูกผักชี	10 ช้อนโต๊ะ	10 ช้อนโต๊ะ	-	20 ช้อนโต๊ะ
ยี่หร่า	2 ช้อนโต๊ะ	4 ช้อนโต๊ะ	-	4 ช้อนโต๊ะ
กะปิ	4 ช้อนโต๊ะ	4 ช้อนโต๊ะ	10 ช้อนโต๊ะ	4 ช้อนโต๊ะ
เกลือ	4 ช้อนโต๊ะ	4 ช้อนโต๊ะ	-	100 กรัม
เครื่องเทศอื่นๆ	ลูกจันทน์2ช้อนโต๊ะ	ลูกจันทน์2ช้อนโต๊ะ	-	*

* ลูกจันทน์ 5 ลูก, ดอกจันทน์ 8 ดอก, อบเชย (1 นิ้ว) 10 ชิ้น, กานพลู 10 กรัม, กระวาน 40 กรัม

ตารางที่ 2.2(ง) ส่วนประกอบของน้ำพริกแกงจาก The Food of Asia (Chia, 1998)

ส่วนผสม	ปริมาณ			
	แกงเผ็ด	เขียวหวาน	แกงส้ม	มัสมั่น
พริกชี้ฟ้าแห้ง	13 เม็ด	-	3 เม็ด	3 เม็ด
พริกขี้หนูสด	-	-	-	-
พริกชี้ฟ้าสด	-	15 เม็ด	-	-
หอม	3 ช้อนโต๊ะ	3 ช้อนโต๊ะ	2 ช้อนชา	3 ช้อนโต๊ะ
กระเทียม	4 ช้อนโต๊ะ	1 ช้อนโต๊ะ	2 ช้อนชา	1 ช้อนโต๊ะ
ข่า	1 ช้อนโต๊ะ	1 ช้อนชา	-	1 ช้อนชา
ตะไคร้	2 ช้อนโต๊ะ	1 ช้อนโต๊ะ	-	1 ช้อนโต๊ะ
ผิวมะกรูด	2 ช้อนชา	1/2 ช้อนชา	-	-
รากผักชี	1 ช้อนโต๊ะ	1 ช้อนชา	-	-
กระชาย	-	-	2 ช้อนชา	-
พริกไทย	20 เม็ด	5 เม็ด	-	5 เม็ด
ลูกผักชี	1 ช้อนโต๊ะ	1 ช้อนโต๊ะ	-	1 ช้อนโต๊ะ
ยี่หร่า	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	-	1 ช้อนชา
กะปิ	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	-	1 ช้อนชา
เกลือ	-	1 ช้อนชา	-	1 ช้อนชา
เครื่องเทศอื่นๆ	-	-	-	กานพลู 2 ดอก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.1(จ) ส่วนประกอบของน้ำพริกแกงจากกับข้าวจานเครื่องแกง (ศรีสมร คงพันธุ์, 2543)

ส่วนผสม	ปริมาณ			
	แกงเผ็ด	เขียวหวาน	แกงส้ม	มัสมั่น
พริกชี้ฟ้าแห้ง	5 เม็ด	-	8 เม็ด	9 เม็ด
พริกขี้หนูสด	-	20 เม็ด	-	-
พริกชี้ฟ้าสด	-	-	-	-
หอม	5 หัว	5 หัว	7 หัว	7 หัว
กระเทียม	10 กลีบ	10 กลีบ	10 กลีบ	12 กลีบ
ข่า	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	-	1 ช้อนชา
ตะไคร้	1 ช้อนโต๊ะ	1 ช้อนโต๊ะ	-	2 ช้อนโต๊ะ
ผิวมะกรูด	1/2 ช้อนชา	1/2 ช้อนชา	-	-
รากผักชี	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	-	1 ช้อนโต๊ะ
กระชาย	-	-	1 ช้อนชา	-
พริกไทย	5 เม็ด	5 เม็ด	-	12 เม็ด
ลูกผักชี	1 ช้อนโต๊ะ	1 ช้อนโต๊ะ	-	1 ช้อนโต๊ะ
ยี่หร่า	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	-	1 ช้อนชา
กะปิ	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	1 ช้อนโต๊ะ
เกลือ	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	1 ช้อนชา	-
เครื่องเทศอื่นๆ	-	-	-	*

* ลูกจันทน์ 1/4 ลูก, อบเชย (1*1/2 ซม) 1ชิ้น, กานพลู 5 ดอก, กระวาน 5 เมล็ด

ส่วนประกอบหลักในน้ำพริกแกง ได้แก่ น้ำพริกแกงส้ม น้ำพริกแกงเผ็ด น้ำพริกแกงเขียวหวาน และน้ำพริกแกงมัสมั่น ซึ่งความซับซ้อนของชนิดเครื่องเทศจะเพิ่มขึ้นตามลำดับ และจะเห็นได้ว่าองค์ประกอบหลักของน้ำพริกแกง คือ เครื่องเทศ ดังนั้นจุลินทรีย์ต่างๆ ที่ปนเปื้อนในน้ำพริกแกงส่วนหนึ่งน่าจะมาจากเครื่องเทศที่ใช้เป็นส่วนผสมในน้ำพริกแกงนั้นๆ

คุณลักษณะของน้ำพริกแกงที่ต้องการ คือ มีสีและกลิ่นรสเฉพาะตามชนิดของน้ำพริกแกง ไม่มีกลิ่นรสผิดไปจากปกติ โดยเฉพาะกลิ่นหืนและกลิ่นอับ นอกจากนี้ในน้ำพริกแกงยังห้ามใช้วัตถุเจือปนอาหารประเภทสีสังเคราะห์ แต่สามารถใช้วัตถุกันเสียได้ตามชนิดและปริมาณที่กำหนดไว้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องวัตถุเจือปนอาหาร (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2525)

ในด้านสุขลักษณะของน้ำพริกแกงผู้ผลิตต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์และวิธีการที่ดีในการผลิต เพื่อจะไม่ให้มีสิ่งแปลกปลอมในผลิตภัณฑ์ นอกจากนั้นปริมาณจุลินทรีย์ก็ต้องเป็นไปตามที่กำหนด ปริมาณราที่ตรวจพบในน้ำพริกแกงต้องไม่เกิน 10 โคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง และปริมาณสารอะฟลาทอกซินต้องไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ที่ 429-2525 (2525) สำหรับในปัจจุบันมีการนำระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (Hazard Analysis and Critical Control Point; HACCP)

และหลักเกณฑ์ที่ดีในการผลิต (Good Manufacturing Practice; GMP) มาใช้กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งเป็นระบบการประกันคุณภาพด้านความปลอดภัยของอาหารที่ยอมรับกันว่าสามารถป้องกันอันตรายหรือป้องกันสิ่งปนเปื้อนทางด้านชีวภาพ เคมี และกายภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Harrigan, 1998; สุวิมล กีรติพิบูล, 2543)

2. **ราในอาหาร** (Food fungi)

รา (mould หรือ fungi) จัดเป็นจุลินทรีย์พวกหนึ่ง ปัจจุบันมีการค้นพบมากกว่า 200,000 สายพันธุ์ (species) ดังนั้นจึงพบราได้ทั่วทุกแห่งบนโลก ทั้งในรูปของสายใยที่เจริญเติบโตในอินทรีย์วัตถุและปนเปื้อนในบรรยากาศในรูปของสปอร์ ราส่วนใหญ่จะมีวงจรชีวิตอิสระเป็นตัวช่วยย่อยสลายซากพืชที่ตายแล้วและอาจรวมไปถึงซากสัตว์ด้วย แต่มีราจำนวนน้อยไม่กี่สกุล (genus) และสายพันธุ์ที่จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพมนุษย์และสัตว์

2.1 **การจัดกลุ่มรา**

การจำแนกราตามลักษณะของปัญหาที่จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพมนุษย์ สัตว์และพืช สามารถแบ่งได้เป็น 5 กลุ่ม (Charlie and Watkinson, 1994) ได้แก่

2.1.1 **ราที่มีวงจรชีวิตอิสระ** (free living mould) ราพวกนี้จะพบได้ทั่วไปในซากพืชและสัตว์ที่เน่าเปื่อย ผุพัง ไม่มีรายงานถึงโทษที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของคน สัตว์ และพืช ในทางตรงกันข้ามกลับมีคุณประโยชน์ในการช่วยย่อยสลายซากสิ่งมีชีวิต และหลายชนิดมีประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม เช่น การผลิตเอนไซม์, กรดอินทรีย์, กรดอะมิโน, รงควัตถุ, วิตามิน และสารแต่งกลิ่นรส เป็นต้น (ดวงพร คันธโชติ, 2530; บุษบา ยงสมิทธิ์, 2542 และ Waites et al., 2001)

2.1.2 **ราที่เป็นพวกปรสิต** (parasitic mould) มีราหลายชนิดที่แฝงตัวในลักษณะที่เป็นปรสิตภายในร่างกายสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ส่วนใหญ่พบว่าแทรกอยู่ตามเยื่อบุอวัยวะต่างๆ เช่น โพรงปาก โพรงจมูก กระเพาะ ลำไส้ อวัยวะสืบพันธุ์ และผิวหนัง เป็นต้น ปกติราพวกนี้จะไม่เป็นราก่อโรคโดยตรงต่อมนุษย์และสัตว์ที่เป็นตัวอาศัย (host) แต่บางโอกาสจะก่อโรคได้ บางครั้งจึงเรียกราพวกนี้เป็นราฉวยโอกาสในการก่อโรค (opportunistic pathogen)

2.1.3 **ราที่เป็นตัวก่อโรค** (pathogenic mould) ราพวกนี้เป็นราก่อโรคซึ่งอาจรวมไปถึงพวกราที่เป็นปรสิตและราฉวยโอกาสในการก่อโรคด้วย ลักษณะของโรคเป็นได้ตั้งแต่การติดเชื้อตามผิวหนัง จนถึงการติดเชื้อที่อวัยวะภายในร่างกาย เช่น โรคติดเชื้อราที่สมองและปอด เป็นต้น ทั้งนี้รวมถึงราหลายชนิดที่ก่อโรคในพืชด้วย

2.1.4 **ราที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย** (food spoilage mould) อาจกล่าวได้ว่าราทุกชนิดสามารถทำให้อาหารเกิดการเสื่อมเสียได้ เนื่องจากแหล่งอาหารหลักของรา คือ สารที่มี

โครงสร้างเป็นคาร์โบไฮเดรต แต่ก็มีราหลายชนิดที่สามารถใช้โปรตีนและไขมันเป็นแหล่งอาหารได้ เพราะสามารถสร้างเอนไซม์ได้หลายชนิดโดยเฉพาะ amylase, protease และ lipase จึงทำให้อาหารและวัตถุดิบอาหารที่มีราเจริญมีคุณภาพลดลง

2.1.5 **ราที่สร้างสารพิษ** (toxins producing mould) ราทุกชนิดมีการสร้างสารเมตาบอไลท์จากกระบวนการเมตาบอลิซึมและสารที่ราผลิตขึ้นนั้นบางครั้งอาจมีพิษต่อคนและสัตว์ด้วย ราแต่ละชนิดสามารถสร้างสารพิษได้แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ เช่น สภาพแวดล้อม อุณหภูมิ และความชื้น เช่น ราในกลุ่ม *Fusarium* ที่อุณหภูมิ 10 – 12 องศาเซลเซียส สามารถสร้างสารพิษในกลุ่ม trichothecenes แต่ถ้าอุณหภูมิสูงขึ้นจะสร้างสาร fumonisins และ zearalenone (Burmeister, 1971)

ปัจจุบันพบว่าสารพิษที่สำคัญถูกสร้างจากราเพียง 5 genus เท่านั้นซึ่งได้แก่ *Aspergillus, Fusarium, Penicillium, Chaetomium* และ *Claviceps* พบสารพิษจากรามากกว่า 140 ชนิด แต่ที่สำคัญและก่อพิษรุนแรงในสัตว์มีประมาณ 12 ชนิด ซึ่งจะได้กล่าวต่อไป (เกรียงศักดิ์ พูนสุข, 2540)

สำหรับราที่เกี่ยวข้องกับอาหารนั้นโดยทั่วไปจะสนใจรากลุ่มที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียและราที่สร้างสารพิษ เพราะราทั้ง 2 กลุ่มนี้มีผลต่อคุณภาพของอาหารและความปลอดภัยของผู้บริโภคโดยตรง ส่วนราในกลุ่มที่เหลือก็มีโอกาสพบในอาหารได้บ้างโดยเฉพาะราที่มีวงจรชีวิตอิสระเพราะเป็นราที่พบปนเปื้อนในอากาศทั่วไป แต่ราในกลุ่มเหล่านี้นั้นไม่ค่อยมีผลกระทบต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

2.2 การปนเปื้อนของราในเครื่องเทศและผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ

การปนเปื้อนของราในอาหารจะมาจาก 2 สาเหตุ ได้แก่ การปนเปื้อนในระหว่างการปลูกซึ่งจะเข้าทำลายในระหว่างการเพาะปลูกถึงระยะเก็บเกี่ยว ส่วนใหญ่เป็นราก่อโรคในพืช ส่วนอีกสาเหตุได้แก่ การปนเปื้อนในระหว่างการเก็บ ได้แก่ ราที่ปนเปื้อนหลังการเก็บเกี่ยวหรือการแปรรูปและรอจำหน่ายรวมไปถึงราที่ปนเปื้อนในระหว่างการเพาะปลูกบางชนิดที่สร้างความเสียหายในระหว่างการเก็บด้วย (Christensen, 1987 และ Nijs and Notermans, 2000)

2.2.1 ราที่ปนเปื้อนในระหว่างการเพาะปลูก (field fungi)

มีราเป็นจำนวนมากที่พบในระหว่างการเพาะปลูกส่วนใหญ่แทบไม่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์และมักเป็นพวก saprophyte แต่ราที่มักก่อปัญหา คือ ราก่อโรคพืช (pathogenic mould) เช่น รา *Fusarium* สามารถก่อโรคในพืชได้หลายชนิดโดยก่อโรคเหี่ยวหรือโคนเน่า (*Fusarium* wilt) ในพริกและพืชอีกหลายชนิด เช่น กล้วยหอม, ถั่วเหลือง และขิง เป็นต้น (นิตยา กันหลง, 2543; มณีฉัตร นิกรพันธุ์, 2541; Agrios, 1988 และ Raabe, Conners, and Martinez, 1981) นอกจากนี้ยังมีราก่อโรคพืชที่สำคัญอีกหลายชนิด เช่น *Collectotrichum* spp. ซึ่งก่อโรคกุ้งแห้ง (anthracnose) ในพริก หอม กระเทียมและพริกไทย (คำนึง คำอุดม, 2530; จุมพล

สาระนาค อรพรรณ วิเศษสังข์ และ จักรพงษ์ เจิมศิริ, 2540 และ มณีฉัตร นิกรพันธุ์, 2541) *Alternaria solani, Collectotrichum capsici, Diaporthe phaseolorum* และ *Phomopsis* sp. ก่อโรคผลเน่า (fruit rot) ในพริก *Pythium* sp. และ *Rhizoctonia solani* ก่อโรคเน่าคอดิน (damping-off) (มณีฉัตร นิกรพันธุ์, 2541) เป็นต้น ราเหล่านี้แม้จะไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคแต่ก็มีโอกาสสร้างสารพิษที่เป็นอันตรายได้โดยเฉพาะราในกลุ่ม *Fusarium* ราที่พบในระหว่างการปลูกนี้จะสร้างความเสียหายต่อพืชผลในระหว่างการเพาะปลูกจนถึงการเก็บเกี่ยวเท่านั้น ตามปกติราที่ปนเปื้อนก่อนการเก็บเกี่ยวจะไม่เจริญต่อระหว่างการเก็บเพราะราเหล่านั้นไม่สามารถเจริญได้ที่ water activity (a_w) ต่ำกว่า 0.90 ยกเว้นในบางกรณีที่มีความชื้นเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บ ราเหล่านี้อาจสร้างความเสียหายหลังการเก็บเกี่ยวได้ จึงเรียกราเหล่านี้ว่าเป็นราที่พบในระหว่างการปลูก (Christensen, 1987)

2.2.2 **ราที่ปนเปื้อนในระหว่างการเก็บ** (storage fungi)

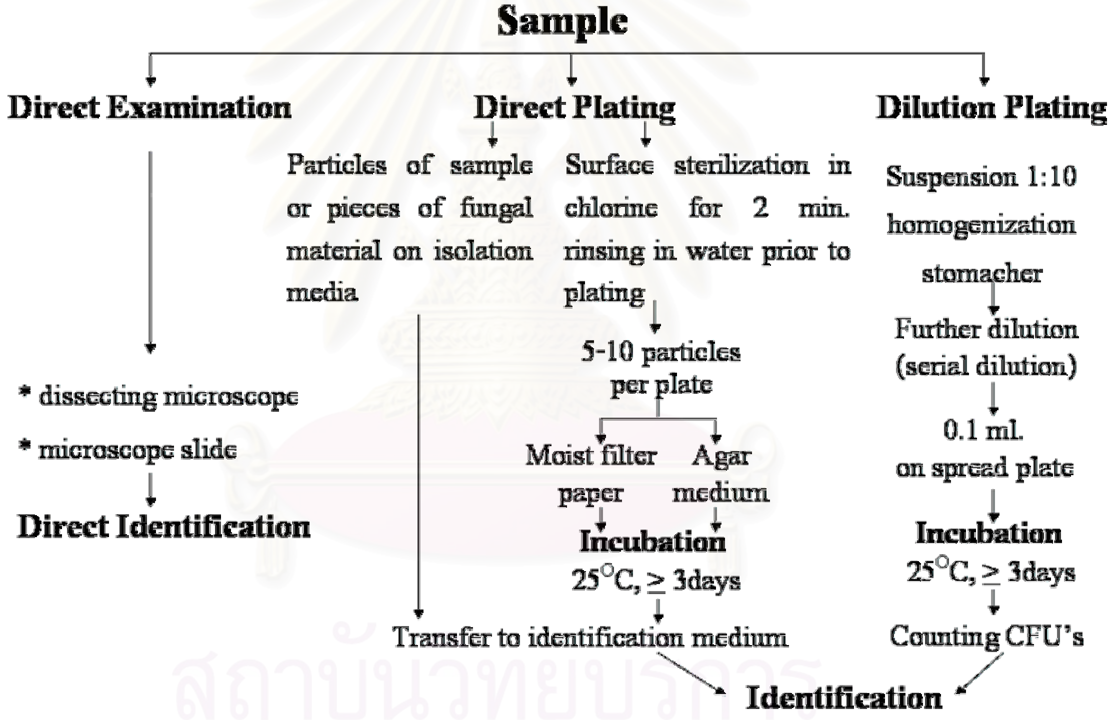
ราในกลุ่มนี้เป็นราที่พบทั่วไปในอาหาร สำหรับในเครื่องเทศนั้นมีรายงานวิจัยการสำรวจไว้หลายฉบับ เช่น สุดารัตน์ บุญจันทร์ และ อุษณีย์ เพชรสุรีย์ (2537) ศึกษาการปนเปื้อนของราในเครื่องเทศและสมุนไพร 30 ชนิดในประเทศไทย พบว่าราที่แยกได้จากเครื่องเทศและสมุนไพรบ่อยที่สุด ได้แก่ *Aspergillus, Penicillium* และ *Rhizopus* โดยพบร้อยละ 56.7, 11.7 และ 10.8 ตามลำดับ ในจำนวนนั้นสามารถจำแนกรากลุ่ม *Aspergillus* ได้ 9 species โดยพบ *A. niger* มากที่สุด 23.5%, *A. ornatus* 17.7% และ *A. flavus* 14.7 % ตามลำดับ และจาก *A. flavus* 14 isolates ที่แยกได้มีเพียง 3 isolates เท่านั้นที่สร้างสารอะฟลาทอกซิน และมีเครื่องเทศ 4 ชนิด ที่ไม่พบการปนเปื้อนของราเลย ได้แก่ กานพลู เก๋ากี้ ขมิ้นชันและโป๊ยกั๊ก ในขณะที่ อัจฉรา พัฒนเดช และคณะ (2544) ศึกษารา *Aspergillus* ในพืชสมุนไพรตากแห้งสามารถแยกรา *Aspergillus* ได้ 25 spices โดยแยกรา *A. niger, A. flavus, A. terreus* และ *A. oryzae* ได้มากที่สุด ตามลำดับ สำหรับในต่างประเทศพบว่าการปนเปื้อนของราในเครื่องเทศชนิดต่างๆ ส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม *Aspergillus Eurotium* และ *Penicillium* (Bullerman, 2000) ขณะที่ Aziz et al. (1998) ศึกษาการปนเปื้อนของราในเครื่องเทศและสมุนไพรในประเทศอียิปต์พบว่าราส่วนใหญ่ที่พบได้แก่ *Aspergillus Penicillium* และ *Fusarium* ตามลำดับ โดยรา *Aspergillus* ที่พบมากที่สุดได้แก่ *A. flavus A. parasiticus* และ *A. niger* โดยพบในทุกตัวอย่างที่ทำการทดลอง ซึ่งจะเห็นได้ว่าราในกลุ่ม *Aspergillus, Penicillium, Fusarium* และ *Rhizopus* เป็นราที่พบมากในเครื่องเทศและสมุนไพร โดยเฉพาะ 3 genus แรกเป็นราที่สามารถสร้างสารพิษได้ ซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ หากราเหล่านี้สามารถเจริญและสร้างสารพิษในผลิตภัณฑ์อาหารจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาและจำแนกราที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์อาหาร รวมทั้งสารพิษจากราที่ตกค้างในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อการลดและป้องกันการปนเปื้อนในอาหารต่อไป

2.3 การจำแนกชนิดของรา

การจำแนกชนิดของรามีความจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการศึกษาการปนเปื้อนของราในอาหาร ทั้งนี้เพราะราส่วนใหญ่ แม้จะไม่เป็นอันตรายต่อคนแต่จะมีผลในด้านคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร ในทางตรงกันข้ามราส่วนน้อยที่เหลือเป็นราที่สามารถสร้างสารพิษได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องจำแนกชนิดของราที่ปนเปื้อนในอาหาร เพื่อการป้องกันและกำจัดราเหล่านั้นอย่างถูกต้องและเหมาะสม

2.3.1 การแยกรา

การแยกราให้ได้เชื้อบริสุทธิ์มีหลายวิธี การเลือกใช้วิธีใดนั้นขึ้นกับชนิดของราที่ต้องการ วัตถุประสงค์ในการแยก และตัวอย่างที่จะนำมาแยก แต่อย่างไรก็ตามควรเลือกวิธีที่ง่าย สะดวก และเหมาะสม (Barnett and Hunter, 1998) สำหรับวิธีที่นิยมใช้ในทางอาหารมีดังนี้ (King et al., 1986 และ Samson et al., 2002) (รูปที่ 2.1)



รูปที่ 2.1 วิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของราที่ปนเปื้อนในอาหาร (Samson et al., 2002)

2.3.1.1 Direct examination ในผลิตภัณฑ์อาหารที่พบราเจริญ อาจสามารถสังเกตเห็นโครงสร้างของราได้ด้วยตาเปล่าหรือส่องผ่านกล้อง stereomicroscope ทั้งนี้เนื่องจากโคโลนีของรามีขนาดพอสังเกตเห็นได้และปกติราจะขึ้นที่ผิวของผลิตภัณฑ์ การทำ direct examination ควรทำทันทีหลังพบการเจริญของราเพราะโคโลนีเหล่านั้นถูกทำให้เสียรูปได้ง่าย การส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์สามารถทำได้โดยการเขี่ยส่วนของราวางบนแผ่นสไลด์และหยดด้วยน้ำยาย้อม เช่น lactic acid ผสม aniline blue ทั้งนี้สามารถเขี่ยราเพื่อเพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมก่อนก็ได้

2.3.1.2 Direct plating วิธีนี้เป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบราในอาหาร โดยเฉพาะถั่วและธัญพืช โดยทำการฆ่าเชื้อที่ผิวตัวอย่างด้วยคลอรีนที่เตรียมขึ้นใหม่ ความเข้มข้น 0.4% เขย่าประมาณ 2 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ววางตัวอย่าง 5 - 10 ชิ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม บ่มและทำการตรวจสอบผ่านกล้องจุลทรรศน์ต่อไป

2.3.1.3 Dilution plating เป็นวิธีที่เหมาะสำหรับการนับปริมาณเชื้อปนเปื้อนในตัวอย่าง โดยปกติหากตัวอย่างมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันอาจใช้ตัวอย่างเพียง 5 กรัมได้ แต่ถ้าตัวอย่างไม่มีความสม่ำเสมออาจต้องใช้ตัวอย่างถึง 40 กรัม ทำการเจือจางด้วย peptone ความเข้มข้น 0.1% หรือน้ำเกลือความเข้มข้น 0.85% (normal saline) สำหรับตัวอย่างแห้งควรแช่ในสารละลายที่ใช้เจือจางอย่างน้อย 30 นาทีก่อนนำเข้าเครื่องตีป่น (stomacher) หรือเครื่องปั่นผสม (blender) จากนั้นนำตัวอย่างเข้าเครื่องตีป่น 2 นาที หรือสำหรับตัวอย่างที่แข็งมากๆ นำเข้าเครื่องปั่นผสม 1 นาที เพื่อให้ตัวอย่างเข้ากันดี เจือจางที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม แล้ว spread plate ด้วยสารละลายเจือจาง 0.1ml./plate บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

2.3.2 การจำแนกชนิดของรา

ราจัดอยู่ใน Kingdom Fungi ประกอบด้วย 4 Phylum ได้แก่ Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota และ Basidiomycota และ 1 Form-class ได้แก่ Form-class Deutromycetes ซึ่งราในอาหารส่วนใหญ่จัดอยู่ใน Form-class Deutromycetes, Phylum Zygomycota และ Phylum Ascomycota ตัวอย่างราในอาหารที่สำคัญเช่น *Aspergillus, Penicillium, Paecilomyces* และ *Trichoderma* จัดอยู่ใน Form-class Deutromycetes, Subclass Hyphomycetidae, Order Moniliales และ Family Moniliaceae รา *Fusarium* อยู่ใน Form-class Deutromycetes, Subclass Hyphomycetidae, Order Moniliales Family Tuberculariaceae ส่วนรา *Alternaria, Cladosporium, Curvularia, Helminthosporium* อยู่ใน Form-class Deutromycetes, Subclass Hyphomycetidae, Order Moniliales Family Dematiaceae รา *Rhizopus, Mucor* และ *Absidia* อยู่ใน Class Zygomycetes Order Mucorales Family Mucoraceae ส่วน *Syncephalastrum* อยู่ใน Class Zygomycetes Order Mucorales Family Syncephalastraceae ในขณะที่รา *Monascus* จัดอยู่ใน Class Ascomycetes Subclass Plectomycetidae Order Eurotiales Family Monascaceae (Alexopoulos, Mims and Blackwell, 1996) เป็นต้น

การจัดจำแนกราส่วนใหญ่ใช้วิธีพื้นฐานเพื่อศึกษาลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆ และสัณฐานวิทยาของโครงสร้างต่างๆ ของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยวิธี (Koneman et al., 1994; 1997; Mahon and Manuselis, 2000 และ Pitt and Hocking, 1997)

2.3.2.1 Tease mount โดยการเขี่ยชิ้นราจากอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ววางบนกลางแผ่นสไลด์แก้ว หยดด้วยน้ำยาย้อมสี เช่น lactophenol aniline blue จากนั้นวางแผ่น coverslip ปิด แล้วนำสไลด์ที่ได้ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์

2.3.2.2 Transparency tape preparation โดยใช้แผ่นเทปกาวชนิดใส (cellophane tape) แปะบนผิวของโคโลนีราอย่างเบามือ แล้วดึงแผ่นเทปออก สายใยและสปอร์ของราจะติดกับแผ่นเทป หยดน้ำยาย้อมสี lactophenol aniline blue บนแผ่นสไลด์แก้ว แล้วแปะแผ่นเทปใสที่ขอบด้านหนึ่งของแผ่นสไลด์ ลูบแผ่นเทปใสผ่านหยดน้ำยาย้อมให้ปิดทับแผ่นสไลด์ส่วนที่หยดน้ำยาย้อมอย่างเบามือ จากนั้นนำแผ่นสไลด์ที่ได้ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ วิธีนี้จะช่วยคงลักษณะของสปอร์และสายใยของราให้อยู่ในสภาพที่เหมาะแก่การสังเกตรายละเอียดเบื้องต้นได้ดี แต่ไม่สามารถเก็บสไลด์ราที่เตรียมด้วยวิธีนี้ให้เป็นแบบถาวรได้

2.3.2.3 Slide culture เป็นวิธีที่แตกต่างจากวิธีข้างต้น โดยจะให้ลักษณะของราอย่างถูกต้องและเหมาะกับการใช้ทำสไลด์ถาวรเพื่อการศึกษาโดยเฉพาะ โดยวางแผ่นกระดาษกรองหรือผ้าก๊อซที่ก้นจานอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งเทน้ำกลั่นฆ่าเชื้อไว้ วางแท่งแก้วงอหรือไม้จิ้มฟันที่ได้ขนาดบนกระดาษกรองเพื่อเป็นฐานวางแผ่นสไลด์ แล้ววางแผ่นสไลด์ที่สะอาดบนแท่งแก้ว ตัดชิ้นวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมขนาดประมาณ 1 ตารางเซนติเมตร วางบนแผ่นสไลด์ เขี่ยชิ้นราวางที่ริมด้านทั้ง 4 ของชิ้นวุ้น วางแผ่น coverslip ปิดบนชิ้นวุ้นและปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ประมาณ 3 วัน แล้วนำแผ่น coverslip ที่มีสายใยและสปอร์ของราติดอยู่วางบนแผ่นสไลด์ใหม่ที่หยดน้ำยาย้อมไว้ แล้วส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ต่อไป

3. **สารพิษจากรา** (Mycotoxins)

สารพิษจากราเป็นสารที่ได้จาก secondary metabolite ของรา เมื่อคนหรือสัตว์กินเข้าไปอาจก่อโรคได้ ราส่วนใหญ่ที่สามารถสร้างสารพิษได้อยู่ใน genus *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Chaetomium*, *Alternaria* และ *Claviceps* (อินทิรา กระหม่อมทอง, 2540 และ Bullerman, Lieu, and Seier, 1997) ซึ่งสารพิษจากราที่สำคัญแสดงไว้ในตารางที่ 2.2

สำหรับประเทศไทยมีปัญหาเกี่ยวกับสารพิษจากราอยู่มากโดยเฉพาะสารอะฟลาทอกซินซึ่งพบในอาหารหลายอย่าง (พรรณกร อิ่มวิทยา, 2535) ทั้งปัญหาด้านการส่งออกและปัญหาทางการแพทย์ เพราะสารอะฟลาทอกซินเป็นสารก่อมะเร็งที่สำคัญโดยเฉพาะที่ตับ และยังเป็นพิษต่อระบบการสร้างเลือด, ไต และอวัยวะสำคัญอีกหลายแห่ง รวมทั้งปัญหาด้านการทหารและการเมือง เช่น ใช้สารพิษจากราเป็นอาวุธสงคราม (ศมนีย์ ศุขรุ่งเรือง, 2529; อนงค์ บิณฑวิหค, 2543 และ Seelos, 1999)

ตารางที่ 2.2 สารพิษจากราสำคัญที่พบในอาหารทั่วไป

สารพิษ	ราผลิตสารพิษ	ความเป็นพิษ
Aflatoxin (Turkey X)	*A. flavus, A. parasiticus, A. nomius, A. tamarii, A. niger**	Carcinogen, Mutagen, Teratogen, hepatotoxin
Fumonisins	*F. verticillioides (moniliforme), F. proliferatum, F. subglutinans*	Neurotoxin, esophageal cancer, leukoencephalomalacia(Hole-in-the-head)
Ochratoxins (OA)	*A. ochraceus, P. viridicatum, P. ochraceus, P. commune, Aspergillus* other species	Nephrotoxin & hepatotoxin
Trichothecenes (T-2 toxin)	*F. tricinctum, sporotrichoides F. poae, F. oxysporum*	Skin irritant, emetic
Zearalenone (F-2 toxin)	*F. graminearum, F. moniliforme, Gibberella zeae*	Hyperestrogenism, Oestrogenic
Patulin	*P. patulum, P. expansum, P. urticae, Byssochlamys nivea*	Sarcoma
Sterigmatocystin	*A. versicolor, A. rugulosum, A. nidulans, Bipolaris sp.*	Hepatotoxin (like Aflatoxin)
Ergot alkaloids	*Claviceps purpurea, and Claviceps other species*	Ergotism
Citrinin	*P. viridicatum, P. citrinum*	Nephrotoxin (like OA)
Cyclopizonic acid (CPA)	*A. flavus, A. tamarii, A. versicolor P. aurantiogriseum, P. commune P. chrysogenum, P. viridicatum*	Neurotoxin
Deoxynivalenol, nevalenol	*F. graminearum*	Vomitoxin
Moniliformin	*F. verticillioides, F. subglutinans, F. avennaceum*	Neurotoxin
Oosporein	*Chaetomium spp.*	Nephrotoxin & gaut
Fusarocromanone	*F. equiseti, F. roseum*	Osteochonolrosis

แหล่งที่มา: Jay, 2000; Nijs and Notermans, 2000; Samson et al., 2002 and Wyllie and Morehouse, 1997

* produce little toxin

ราที่สร้างสารพิษนี้อยู่ในสกุล *Aspergillus* (ตารางที่ 2.2) ราที่สำคัญได้แก่ *A. flavus* และ *A. parasiticus* สารอะฟลาทอกซินที่สำคัญที่สุดคืออะฟลาทอกซิน B1 สารพิษนี้ก่อให้เกิดโรคที่รุนแรงมานานแล้ว ได้แก่ Turkey X disease ซึ่งทำให้ไก่งวงตายเป็นจำนวนมหาศาล สำหรับโรคที่สัมพันธ์กับคน มีรายงานหลายครั้งรวมทั้งในประเทศไทยเชื่อว่าสารอะฟลาทอกซินเป็นตัวการสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคกลุ่มอาการไรย์ (Reye's syndrome) ซึ่งทำให้เด็กไทยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตายหลายราย (Olsen et al., 1971) นอกจากนี้ยังก่อโรคอีกหลายชนิด ได้แก่ โรคอะฟลาทอกซิโคซิส (aflatoxicosis), โรคตับแข็ง (cirrhosis), โรคมะเร็งตับ (hepatocellular carcinoma) และ โรคตับอักเสบ (hepatitis) เป็นต้น (Amla et al., 1971; Krogh, 1976; Lancaster, Jerkins, and Philip, 1961; Madhavan, Tupule, and Gopalan, 1965 และ Saad, 2001)

นอกจากนี้ยังมีสารพิษจากราที่น่าสนใจอีกกลุ่ม คือ สารพิษจากรา *Fusarium* ได้แก่ Trichotecenes, Zearalenone, Fumonisin และ Deoxynivalinol สารในกลุ่มนี้พบว่าเกิดในธรรมชาติและเป็นพิษต่อทั้งคนและสัตว์ ซึ่งได้มีการกล่าวอ้างว่าถูกใช้เป็นอาวุธสงครามในประเทศเพื่อนบ้านของไทยด้วย (ศมนีย์ ศุขรุ่งเรือง, 2529) และยังพบว่าสารในกลุ่ม Fusarium toxin กำลังจะเป็นปัญหาการปนเปื้อนในอาหารและวัตถุดิบหลายชนิด (เกรียงศักดิ์ พูนสุข, 2540)

ราเพียงบางชนิดเท่านั้นที่สามารถสร้างสารพิษซึ่งก่อโรคในคนและสัตว์ที่กินอาหารซึ่งปนเปื้อนด้วยสารพิษ การสร้างสารพิษจากราจะเกิดขึ้นเมื่อมีสภาวะที่เหมาะสม เช่น มีอาหารสมบูรณ์ อุณหภูมิและความชื้นพอเหมาะ อาจเป็นระยะก่อนการเก็บเกี่ยวหรือแม้แต่ในขั้นตอนการแปรรูป, การขนส่ง หรือระหว่างการเก็บรักษา การตรวจพบเชื้อที่ปนเปื้อนในอาหารนั้นไม่ได้หมายความว่าอาหารนั้นมีสารพิษปนเปื้อนอยู่ แต่เป็นเพียงข้อบ่งชี้ว่าอาหารนี้อยู่ในสภาวะเหมาะที่เชื้อราจะเติบโต (อินทิรา กระหม่อมทอง, 2540) จึงจำเป็นต้องมีการตรวจสอบสารพิษจากราที่ปนเปื้อนในอาหารต่อไป

3.1 ปัจจัยที่ทำให้มีการสร้างสารพิษจากรา

ราที่เจริญบนอาหารชนิดต่างๆ นั้น จะนำเอาสารที่ดูดซึมเข้าสู่เซลล์ไปสร้างสารเคมีชนิดต่างๆ ที่เรียกว่า สาร metabolite ซึ่งบางชนิดจะสามารถทำให้เกิดอาการเป็นพิษในคนและสัตว์ที่ได้รับเข้าไป ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างสารพิษต่างๆ ของรามีความแตกต่างกันไปซึ่งสามารถสรุปได้ดังนี้ (นภาพร โออริยกุล, 2530; วิทยา สังข์ทอง, 2543; อมรา ชินภูติ, 2546 และ FAO,1990)

3.1.1 ชนิดของรา (fungi) ราที่สร้างสารพิษได้แต่ละชนิดจะมีความสามารถในการสร้างสารพิษเฉพาะอย่างหรือหลายอย่างขึ้นอยู่กับความสามารถของรานั้นๆ นอกจากนี้ยังมีอิทธิพลของราที่อาศัยอยู่ร่วมกัน กล่าวคือถ้ามีราที่สร้างสารพิษขึ้นปะปนกับราอื่นๆ ในอาหารการสร้างสารพิษส่วนใหญ่จะลดน้อยลง หรือไม่พบการสร้างเลย

3.1.2 **สารอาหาร** (substrate) โดยทั่วไปรากลุ่มที่สร้างสารพิษได้มักเป็นรากลุ่ม storage fungi ส่วนใหญ่สามารถเจริญบนอาหารได้เกือบทุกชนิด ไม่ว่าจะเป็นอาหารสดหรืออาหารแห้ง ตลอดจนอาหารแปรรูปและอาหารสัตว์หลายชนิด สารอาหารที่ราต้องการในการเจริญและสร้างสารพิษ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน วิตามิน และแร่ธาตุบางชนิด ซึ่งในผลผลิตทางการเกษตรมีสารเหล่านี้อยู่

3.1.3 **สภาพแวดล้อม** (environment) เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลอย่างมากต่อการสร้างสารพิษ และปริมาณสารพิษที่สร้าง ดังนั้นในการป้องกันการเกิดสารพิษสามารถนำปัจจัยเหล่านี้ไปใช้ได้ ปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการสร้างสารพิษที่สำคัญ ได้แก่

3.1.3.1 **ความชื้น** (moisture) ความชื้นในอาหารถือว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการเจริญเติบโตของราราวมทั้งการสร้างสารพิษด้วย โดยความชื้นที่เหมาะสมจะแปรผันไปตามประเภทของอาหารที่รานั้นเจริญอยู่ ความชื้นที่เหมาะสมแก่การเจริญและสร้างสารพิษ คือที่ความชื้นสัมพัทธ์ (relative humidity) ร้อยละ 80 ขึ้นไป หรือ ค่า water activity (a_w) ประมาณ 0.70-0.99 แต่การผลิต aflatoxin จะลดลงอย่างมากเมื่อเจริญที่ a_w ต่ำกว่า 0.85 (Northolt, Van Egmond, and Paulsch, 1977)

3.1.3.2 **อุณหภูมิ** (temperature) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของราอยู่ในช่วง 25-40 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสร้างสารอะฟลาทอกซินอยู่ระหว่าง 25-35 องศาเซลเซียส

3.1.3.3 **ปริมาณออกซิเจน** (oxygen) storage fungi ส่วนใหญ่ต้องการออกซิเจนในการเจริญและสร้างสารพิษ

สำหรับในต่างประเทศให้ความสำคัญกับสารพิษจากราที่ปนเปื้อนในอาหารเป็นอย่างมาก โดยในแต่ละประเทศมีนโยบายที่แตกต่างกัน (Joint mycotoxin committee, 2001) เช่นในญี่ปุ่นมีปัญหาเรื่องข้าวเหลือง (yellow rice) จากรากลุ่ม *Penicillium* และยังพบปัญหา aflatoxin โดยเฉพาะในอาหารหมักดองของญี่ปุ่น แต่ในปัจจุบันสามารถควบคุมได้แล้ว ทางด้านลาตินอเมริกา พบว่า 37 % ของอาหารที่นำมาทดสอบพบสารพิษจากราปนเปื้อนโดยเฉพาะ aflatoxin (B และ G), zearalenone, trichothecenes และ ochratoxin ตามลำดับ ซึ่งพบมากในข้าวโพด ถั่วลิสง ธัญพืช และผลิตภัณฑ์ ส่วนประเทศที่กำลังพัฒนา เช่น มาเลเซียและแอฟริกาใต้พบปัญหา aflatoxin เช่นเดียวกับประเทศไทย โดยเฉพาะในถั่วและข้าวโพด ปัญหา fumonisin B1 ในข้าวโพด aflatoxin M1 ในนม ochratoxin ในกาแฟ และ trichothecenes ในข้าวโพดและข้าวสาลี ส่วนสหรัฐอเมริกาให้ความสำคัญกับ aflatoxin deoxynivalenol (DON) และ fumonisins โดยเฉพาะในเครื่องปรุงรสต่าง ๆ นอกจากนี้แต่ละประเทศยังให้ความสนใจ เกี่ยวกับการวิเคราะห์สารพิษจากรา

ที่ปนเปื้อนในอาหาร เช่น ในสหภาพยุโรปและญี่ปุ่นมีการพัฒนาวิธีการตรวจสารพิษจากราหลายชนิด เช่น fumonisins, patulin, aflatoxin และ ochratoxin ในอาหารชนิดต่างๆ ส่วนในประเทศอเมริกามีการพัฒนาทั้งชุดทดสอบ (test kit) และวิธีวิเคราะห์ที่ได้มาตรฐาน โดยเฉพาะการทดสอบสารพิษ DON และ fumonisins รวมถึงการพัฒนาวิธีวิเคราะห์สำหรับสารพิษจากราชนิดอื่น ๆ ด้วย ดังจะเห็นได้ว่าในปัจจุบันมีการพัฒนาการตรวจสอบสารพิษจากรา เพื่อความถูกต้องแม่นยำในการตรวจวิเคราะห์แต่วิธีที่เป็นที่ยอมรับและนิยมในปัจจุบันมีเพียงไม่กี่วิธี

3.2 การวิเคราะห์สารพิษจากรา

การตรวจสอบสารพิษจากราในอาหารและผลผลิตทางการเกษตรสามารถทำได้หลายวิธี ในแต่ละวิธีมีข้อดีข้อด้อยต่างกันไป การเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ตัวอย่างให้ได้ผลดี ขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ว่ามีความต้องการจะวิเคราะห์ในระดับใด แล้วจึงเลือกวิธีวิเคราะห์มาใช้อย่างมีประสิทธิภาพและเหมาะสมต่อไป วิธีวิเคราะห์ที่ดีต้องมีความเจาะจงสูง มีความไวในการตรวจจับ และควรเป็นวิธีที่ง่าย ไม่ยุ่งยากซับซ้อน โดยทั่วไปวิธีการวิเคราะห์ที่ใช้กันมานาน (conventional methods) มี 2 วิธี ได้แก่ วิธีทางชีววิทยา และ วิธีทางเคมี ส่วนวิธีที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ คือ วิธีทางเซรุ่มวิทยา (สุวิชา คุประดินันท์, 2540; อนงค์ บิณฑวิหค, 2543; อมรา ชินภูติ, 2546; FAO, 1990 และ Wylie and Morehouse,1977)

3.2.1 วิธีทางชีววิทยา หรือ ชีววิธี (Biological method หรือ Bio assay)

วิธีการนี้จะใช้สิ่งมีชีวิตที่อ่อนแอต่อสารพิษมาเป็นตัวชี้วัด โดยทั่วไปวิธีนี้จะเหมาะสำหรับการคัดเลือกความเป็นพิษและความรุนแรงของสารพิษ สิ่งมีชีวิตที่นิยมนำมาใช้ในการทดสอบสามารถแบ่งได้เป็น 5 กลุ่ม คือ

3.2.1.1 Micro-organisms เช่น แบคทีเรีย *Bacillus sp.*, *Salmonella sp.*

3.2.1.2 Aquatic animal เช่น กุ้ง ปลา (ปลาเทราส์ ปลาม้าลาย และ ปลาหางนกยูง)

3.2.1.3 Terrestrial animal เช่น ลูกเป็ด ตัวอ่อนของไก่

3.2.1.4 Cell culture เช่น การใช้เซลล์ตับ ไต หรือ กล้ามเนื้อ โดยการเติมสารพิษที่สงสัยลงในเซลล์ที่เลี้ยงไว้

3.2.1.5 Plants เช่น การใช้สารพิษทดสอบการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืช เป็นต้น

อย่างไรก็ตามวิธีเหล่านี้จะขาดความเฉพาะเจาะจง ความสอบกลับได้ และต้องใช้เวลานาน

3.2.2 วิธีทางเคมี (Chemical method)

เนื่องจากข้อจำกัดทางด้านชีววิธีในการวิเคราะห์สารพิษ จึงได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์ที่สอบกลับได้และเฉพาะเจาะจงเพิ่มขึ้น โดยทั่วไปวิธีวิเคราะห์ทางเคมีมีขั้นตอนพื้นฐานดังนี้ คือ การสุ่มตัวอย่าง การสกัดตัวอย่าง การทำสารสกัดตัวอย่างให้สะอาด การแยกสารพิษออก

จากสารสกัดตัวอย่าง การวิเคราะห์ และการตรวจสอบ ซึ่งรูปแบบการวิเคราะห์ทางเคมีที่นิยมใช้กัน ได้แก่

3.2.2.1 Open Column Chromatography (Minicolumn)

3.2.2.2 Thin Layer Chromatography (TLC)

3.2.2.3 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

3.2.2.4 Gas Chromatography (GC)

3.2.2.5 Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS)

แม้ว่าวิธีทางเคมีจะได้รับความนิยมใช้ในการวิเคราะห์กันมากเพราะมีความไวในการตรวจวิเคราะห์และมีความคงตัวที่ดี (sensitivity and reproducibility) แต่ยังมีปัญหาในการวิเคราะห์ เช่น ตัวอย่างที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์ต้องมีการทำให้บริสุทธิ์ก่อน ไม่สามารถวิเคราะห์หลายตัวอย่างพร้อมกัน เครื่องมือมีราคาแพงมาก สารที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็นอันตรายต่อผู้ปฏิบัติและสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ผู้ทำการวิเคราะห์จำเป็นต้องได้รับการฝึกอบรมอย่างดี

ทั้งนี้จากปัญหาดังกล่าวจึงมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารพิษจากรา โดยให้มีความเฉพาะเจาะจงสูง วิเคราะห์ได้ง่ายสะดวก และตรวจจับสารพิษได้รวดเร็ว เพื่อการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารพิษจากราในผลิตผลทางการเกษตรต่างๆ ซึ่งวิธีดังกล่าวได้แก่วิธีทางเซรุ่มวิทยา หรือ วิธีทางอิมมูนวิทยา (immunological assay)

3.2.3 วิธีทางเซรุ่มวิทยา หรือ วิธีทางอิมมูโนวิทยา (Immunological method)

การตรวจสอบสารพิษด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา มีหลักการตรวจสอบที่แตกต่างจากวิธีการตรวจที่ใช้หลักทางเคมีโดยสิ้นเชิง วิธีการนี้อาศัยการทำปฏิกิริยาเฉพาะเจาะจงระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี้ ซึ่งหลักการวิเคราะห์เกี่ยวข้องกับการแข่งขัน (competitive immunoassay) ระหว่างสารพิษจากราในตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์กับสารพิษจากราซึ่งมีเครื่องหมายชี้บอก (labeled toxin) ในการเกาะจับ (binding) หรือทำปฏิกิริยากับแอนติบอดี้ของสารพิษนั้นๆ แสดงในรูปที่ 2.2

วิธีทางเซรุ่มวิทยาที่นิยมใช้ในการตรวจสอบสารพิษจากรา ได้แก่

3.2.3.1 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

3.2.3.2 Radio Immuno Assay (RIA)

3.2.3.3 Immuno-affinity Column Method (IAC)

ทั้งนี้วิธี Radio Immuno Assay ใช้สารรังสีเป็นตัวชี้บอกซึ่งเป็นสารอันตรายจึงไม่เป็นที่นิยมใช้เพื่อการวิเคราะห์ สำหรับวิธี Immuno-affinity column method ใช้หลักการเดียวกับวิธี ELISA แต่นิยมใช้เพื่อการสกัดตัวอย่างให้สะอาด (clean up) ก่อนการวิเคราะห์ทางเคมี

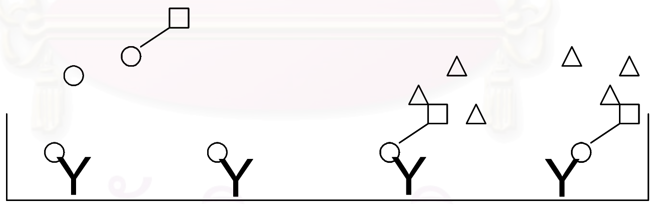
เนื่องจาก column มีราคาแพง ดังนั้นวิธีที่ได้รับความนิยมในปัจจุบันจึงได้แก่วิธี Enzyme Linked Immunosorbent Assay

<u>หลักการวิเคราะห์โดยวิธี competitive ELSA</u> (อมรา ชินภูติ, 2546 และ Sharma and Pillai, 2000)

วิธี ELISA ที่นิยมใช้ในการตรวจสอบสารพิษจากราเป็นวิธีวิเคราะห์แบบ การแข่งขัน (competitive ELISA) โดยอาศัยพื้นฐานของการแข่งขันระหว่างสารพิษในตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ หรือสารพิษมาตรฐาน ซึ่งเป็นสารพิษอิสระ กับสารพิษที่จับกับเอนไซม์ชี้บอก (enzyme labeled toxin) ในการจับกับแอนติบอดี้อย่างเฉพาะเจาะจงที่ถูกเคลือบไว้ในหลุมทดสอบ (microtitration plate) สารที่ไม่จับกับแอนติบอดี้ดังกล่าวจะถูกล้างออกไป ส่วนสารพิษที่จับกับเอนไซม์ชี้บอกซึ่งจับอยู่ในหลุมทดสอบสามารถวิเคราะห์ได้โดยการบ่มกับสารตั้งต้น (substrate) ซึ่งจะทำปฏิกิริยาเฉพาะเจาะจงกับเอนไซม์ชี้บอกนั้นๆ โดยความเข้มของสีจากผลของปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับสารตั้งต้น สามารถดูได้ด้วยสายตาเปรียบเทียบกับสารพิษมาตรฐาน (qualitative result) หรืออ่านผลแบบ quantitative result ได้ โดยอ่านความเข้มของสีจากปฏิกิริยาด้วยเครื่อง micro plate reader ความเข้มของสีที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น แต่มีความสัมพันธ์แบบผกผันกับสัดส่วนของปริมาณสารพิษที่ปนเปื้อนในตัวอย่างนั้นๆ

$$An + An^* + 2Ab \Longrightarrow AbAn^* + AbAn$$

(free phase) (bound phase)



Microtitration plate

An* = labeled mycotoxin (○—□)

Ab = antibody ต่อสารพิษนั้นๆ (Y)

An = สารพิษจากราที่ต้องการวิเคราะห์ (○)

□ = เอนไซม์ชี้บอก

△ = สารตั้งต้นทำปฏิกิริยากับอนไซม์ (substrate)

<u>รูปที่ 2.2</u> สมการและปฏิกิริยาในการวิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. สารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Antimicrobial agent)

แม้ว่าเครื่องเทศส่วนใหญ่ที่เป็นส่วนประกอบในน้ำพริกแกงจะพบการปนเปื้อนของรา แต่เครื่องเทศหลายชนิดมีสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ (ตารางที่ 2.3) ซึ่งสารต้านจุลชีพจากพืชเหล่านี้มีการศึกษาอย่างกว้างขวางและได้จัดแบ่งสารออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ในเครื่องเทศและสมุนไพรได้เป็น 5 กลุ่ม (สุรัตนา อำนวยผล, 2537 และ Cowan, 1999) กลุ่มแรกคือ phenolic acid และ polyphenols ซึ่งมีฤทธิ์ในการออกซิไดซ์สารชีวโมเลกุลต่างๆ ในเซลล์ของจุลินทรีย์ สารในกลุ่มนี้แบ่งย่อยได้อีกเป็น 5 ชนิด ตามลักษณะของโมเลกุล ได้แก่ simple phenols และ phenolic acids, quinones, flavonoids, tannins และ coumarins สำหรับกลุ่มที่ 2 ได้แก่terpenoids และ essential oils หรือสารให้กลิ่นในพืช กลไกการออกฤทธิ์ยังไม่ทราบแน่ชัด กลุ่มที่ 3 คือ alkaloids ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายไนโตรเจนเบส คาดว่าสารกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ยับยั้งโดยมีผลต่อการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ (DNA) กลุ่มที่ 4 คือ lectins และ polypeptides สารกลุ่มนี้สามารถทำปฏิกิริยากับเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เกิดช่องของประจุหรือยับยั้งการยึดติดของเยื่อหุ้มเซลล์ และกลุ่มสุดท้ายคือสารประกอบอื่นๆ นอกเหนือจากที่ได้กล่าวมา เช่น fructose จากน้ำ cranberry และ blueberry สามารถจับกับ pathogenic *Eschericia coli* ที่ urinary tract ช่วยป้องกันการเกิดโรคปัสสาวะอักเสบจากเชื้อ *E. coli* ได้ (Zafriri et al., 1989)

สำหรับการสกัดสารออกฤทธิ์ต่างๆ ในระดับปฏิบัติการนิยมใช้ 2 วิธี คือ การกลั่นและการสกัดด้วยตัวทำละลาย ทั้งนี้ขึ้นกับส่วนของพืชที่ใช้และสารสกัดที่ต้องการ ส่วนการตรวจฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ มี 2 วิธีหลัก (Nester et al., 1998) ได้แก่

4.1 Agar diffusion method อาศัยหลักการแพร่ (diffusion) ของสารละลายในชั้นอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยสารละลายจะกระจายจากที่มีความเข้มข้นสูงไปสู่ที่มีความเข้มข้นต่ำ จากหลักการนี้จึงใช้แผ่น filter paper disc ชุบสารทดสอบแล้วนำไปวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมเชื้อนั้นจะถูกยับยั้งการเจริญหรือถูกทำลาย

4.2 Broth dilution method วิธีนี้เป็นการวิเคราะห์ความสามารถของสารทดสอบที่ออกฤทธิ์ยับยั้งและทำลายเชื้อ โดยทำการเจือจางสารทดสอบ เพื่อหาปริมาณสารทดสอบที่น้อยที่สุดที่มีผลในการยับยั้งและทำลายเชื้อ ค่าที่วิเคราะห์ได้จากวิธีนี้ คือ Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Lethal Concentration (MLC)

<u>Minimum Inhibitory Concentration</u> (MIC) คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ยับยั้งจุลินทรีย์ไม่ให้เจริญ โดยสังเกตจากความขุ่น (turbidity) ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของสารในหลอดแรกที่ใสเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าหรือหลอดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ

Minimum Lethal Concentration (MLC) คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ทำให้เชื้อตาย โดยนำสารละลายในหลอดที่ใสทุกหลอดมาเทบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ค่าความเข้มข้นของสารในหลอดแรกที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ คือค่า MLC

ตารางที่ 2.3 สารประกอบสำคัญในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในน้ำพริกแกง

Common name	Scientific name	Compound	Class	Activity
พริกชี้ฟ้า (Chili Spur Pepper) พริกขี้หนู (Cayenne Pepper)	*Capsicum annuum* Linn. *Capsicum frutescens* Linn.	Capsicum	Terpenoids	Bacteria
หอมแดง (Shallot)	*Allium ascalonicum* Linn.	Methylpropyl disulfide, Dipropyl trisulfide, Allyl propyl disulfide	Terpenoids	Bacteria / Fungi
กระเทียม (Garlic)	*Allium sativum* Linn.	Allicin, Diallytrisulfide	Terpenoids	Bacteria / Fungi / Yeast
ข่า (Galangal or Siamese ginger)	*Alpinia galanga* SW.	Cineol, Camphor, Methyl cinnamate	Terpenoids	Bacteria / Fungi / Yeast
ตะไคร้ (Lemongrass)	*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.	Citral, Linalool, Eugenol	Terpenoids	Bacteria / Fungi / Yeast
มะกรูด (Kaffir lime or Leech lime)	*Citrus hystrix* DC.	beta-pinene, Limonene Sabinene	Terpenoids	Bacteria / Fungi
รากผักชี / ลูกผักชี (Coriander or Chinese parsley)	*Coriandrum sativum* Vern. Dhania	Coriandrol, Linalool	Terpenoids	Bacteria / Fungi
กระชาย (Lesser ginger)	*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr.	Limonene, Pinene, Chalcone, alpha-thujene	Terpenoids	Bacteria / Fungi
กระวาน (Round Siam Cardamon)	*Amomum krervanh* Pierre	Camphor, Myrcene, Limonene	Terpenoids	Bacteria / Fungi / Yeast
กานพลู (Cloves)	*Eugenia caryophyllus* (Sprengel) Bullock et Harrison	Eugenol	Terpenoids	Bacteria / Fungi / Yeast
ลูกจันทน์เทศ / ดอกจันทน์ (Nutmeg / mace)	*Myristica fragrans* Houtt	Myristic acid, Safrole, Elemicin	Terpenoids	Bacteria / Fungi / Yeast
อบเชยเทศ (Ceylon cinnamon)	*Cinnamomum verum* J.S. Presl	Cinnamaldehyde Eugenol, Benzaldehyde	Terpenoids	Bacteria / Fungi / Yeast
ยี่หร่า หรือ เทียนขาว (Cumin)	*Cuminum cyminum* Linn.	Cuminic aldehyde Cumene, p-cymene	Terpenoids	Bacteria / Fungi
พริกไทย (Pepper)	*Piper nigrum* Linn.	Piperine Monoterpenes	Alkaloid Terpenoids	Bacteria / Fungi

แหล่งที่มา: นิจศิริ เรืองรังษี, 2542; สมศรี เจริญเกียรติกุล et al., 2545; Cowan, 1999; Ozean and Erkmen, 2001; Shelef, 1983 และ Zaika, 1988

5. วัตถุกันเสีย (Preservatives)

แม้ว่าเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในน้ำพริกแกงหลายชนิดจะมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และน่าจะสามารถออกฤทธิ์แทนวัตถุกันเสียในอาหารได้โดยเฉพาะ กระเทียม กานพลู และอบเชย ซึ่งมีน้ำมันหอมระเหย (essential oil) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้ออย่างรุนแรง (Neilsen and Rios, 2000) แต่ก็ยังมีการใช้วัตถุกันเสียร่วมด้วย ทั้งนี้เนื่องจากน้ำพริกแกงแต่ละชนิดมีเครื่องเทศเป็นองค์ประกอบแตกต่างกันดังนั้นสารออกฤทธิ์ก็น่าจะมีปริมาณต่างกันด้วย

ในประเทศไทยมีการอนุญาตให้ใช้วัตถุกันเสียในน้ำพริกแกงได้ 2 ชนิด ได้แก่ โซเดียมเบนโซเอต (sodium benzoate) และ โพแทสเซียมซอร์เบต (potassium sorbate) ซึ่งจากประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 (2527) สรุปได้ว่าปริมาณโซเดียมเบนโซเอตไม่ให้ใช้มากกว่า 1,000 ppm และโพแทสเซียมซอร์เบตไม่มากกว่า 500 ppm ตามลำดับ

5.1 กลไกการออกฤทธิ์ของวัตถุกันเสีย

การออกฤทธิ์ของวัตถุกันเสียต่อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียนั้นมีหลายกลไก ทั้งทางด้านกายภาพ ปฏิกิริยาเคมีและปฏิกิริยาชีวเคมี นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์เฉพาะตัวของวัตถุกันเสียแต่ละชนิดด้วย วัตถุกันเสียบางชนิดสามารถออกฤทธิ์ได้หลายทาง โดยกลไกการออกฤทธิ์ของวัตถุกันเสียหลักๆ มี 6 วิธี (Luck and Jager, 1997) ได้แก่ มีผลต่อ

1. ดีเอ็นเอ (DNA)
2. การสังเคราะห์โปรตีน (protein synthesis)
3. การทำงานของเอนไซม์ (enzyme activity)
4. ผนังเซลล์
5. เยื่อหุ้มเซลล์
6. กลไกการขนส่งสารอาหารของเซลล์

นอกจากนี้ยังมีสารอื่นๆ ที่มีผลต่อการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น สารที่มีสมบัติลดค่า water activity ในอาหาร, สารเคลือบผิว (coating), น้ำมัน และก๊าซบางชนิดที่สามารถป้องกันการผ่านของก๊าซออกซิเจนเข้าสู่อาหาร เป็นต้น แต่ทั้งนี้ไม่มีสารใดในกลุ่มนี้ที่ออกฤทธิ์ทำลาย จุลินทรีย์เป็นเพียงยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เท่านั้น หากกลไกการยับยั้งนั้นถูกรบกวนหรือยับยั้งจุลินทรีย์ก็สามารถเจริญและก่อความเสียหายแก่อาหารได้ (Eklund, 1980; Freese and Levin, 1978 และ Gould, Brown, and Fletcher, 1983)

นอกจากนี้วัตถุกันเสียควรมีสมบัติละลายได้ทั้งในน้ำและไขมัน เพราะปกติจุลินทรีย์เจริญได้ในที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ วัตถุกันเสียจึงจำเป็นต้องละลายน้ำ และต้องมีความสามารถในการละลายผ่านเข้าเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งเป็นชั้นไขมันได้ (Brannen, Davidson, and Katz, 1980 และ

Robach, 1980) ส่วนประสิทธิภาพของวัตถุกันเสียขึ้นกับปริมาณและการออกฤทธิ์ของวัตถุกันเสียที่ใช้ซึ่งต้องใช้ในความเข้มข้นที่เหมาะสม (Luck and Jager, 1997)

โพแทสเซียมซอร์เบต (potassium sorbate : CH3-CH=CH-CH=CH-COOK) เป็นอนุพันธ์ของกรดซอร์บิก (sorbic acid) มีการใช้ตั้งแต่ปี 1945 ซอร์เบตมีค่า pKa เท่ากับ 4.76 ทำให้ซอร์เบตออกฤทธิ์ได้ดีแม้ในอาหารที่มี pH สูงถึง 6.0 และที่ pH 4.0-6.0 จะออกฤทธิ์ได้ดีกว่าเบนโซเอต ดังนั้นจึงใช้ได้กับอาหารหลายประเภท ซอร์เบตออกฤทธิ์สำคัญ 2 ส่วน โดย ส่วนแรก ได้แก่ กลไกการผ่านชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งทำให้โปรตอน (H^+) ไหลเข้าสู่เซลล์มากขึ้นทำให้ภายในเซลล์จุลินทรีย์มี pH ลดลง ซึ่งจะมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์และจุลินทรีย์จำเป็นต้องใช้พลังงานจำนวนมากในการขับ H^+ เหล่านั้นออก (Eklund, 1985) กรดซอร์บิกสามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เมื่ออยู่ในรูป undissociated form ค่า dissociation constant ประมาณ 1.73×10^{-5} ทำให้ออกฤทธิ์ได้แม้ในอาหารที่เป็นกรดอ่อนหรือมีค่า pH ประมาณ 5.5 แต่พบว่าในรูป dissociated form ฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของกรดซอร์บิกลดลงถึง 10 เท่าเมื่อเทียบกับที่อยู่ในรูป undissociated form (Eklund, 1983) และ ส่วนที่สอง ได้แก่ การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับวัฏจักรเครปส์ (Kreb's cycle) เช่น isocitrate dehydrogenase, α-ketoglutarate dehydrogenase, succinate dehydrogenase และ aspartase เป็นต้น และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเมตาโบไลต์คาร์โบไฮเดรต (carbohydatre metabolism) เช่น enolase, lactate dehydrogenase และ malate dehydrogenase เป็นต้น (Luck and Jager, 1997) โดยกรด ซอร์บิกสามารถสร้างหมู่โควาเลนต์ (covalent) ระหว่างหมู่ sulphydryl group (SH) ของเอนไซม์กับพันธะคู่ของกรดซอร์บิก ทำให้เอนไซม์ที่มีหมู่ SH เสียสภาพได้ (Martoadiprawito and Whitaker, 1963) ซอร์เบตออกฤทธิ์ยับยั้งยีสต์ รา และแบคทีเรีย โดยเฉพาะราในกลุ่ม *Aspergillus* และ *Penicillium* (Luck and Jager, 1997) แต่มีผลค่อนข้างต่ำต่อ *Clostridium* ซึ่งมักเจริญในอาหารที่มี pH ประมาณ 7 ที่ pH ดังกล่าว ซอร์เบตมีฤทธิ์ต่ำอยู่แล้ว นอกจากนี้ซอร์เบตยังสามารถใช้ในอาหารได้อย่างปลอดภัย (GRAS) และมีความเป็นพิษต่ำกว่าเบนโซเอตแต่จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถทนต่อซอร์เบตทำให้เสียสภาพและเกิดกลิ่นแปลกปลอมอย่างรุนแรง โดยสามารถกำจัดหมู่คาร์บอกซิล (decarboxylation) ของกรดซอร์บิกได้เป็น trans-1,3-pentadiene (Hartog, Samson, and Veric, 1986; Kinderlerer and Hatton, 1990; Liewen and Marth, 1985 และ Samson, 1989)

โซเดียมเบนโซเอต (sodium benzoate : C_6H_5COONa) เป็นอนุพันธ์ของกรดเบนโซอิก (benzoic acid) มีการใช้ครั้งแรกในปี 1875 เป็นสารประกอบที่พบทั่วไปในธรรมชาติ โดยเฉพาะในผลไม้และเครื่องเทศบางชนิด โซเดียมเบนโซเอตมี pKa เท่ากับ 4.19 ทำให้มีประสิทธิภาพเหมาะสม เมื่อใช้กับอาหารที่มี pH ต่ำกว่า 4.0 เบนโซเอต ออกฤทธิ์สำคัญ 2 ส่วน

ได้แก่ กลไกการการผ่านชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ โดยกรดเบนโซอิกจะมีผลต่อค่า pH และปริมาณโปรตอน ลักษณะเดียวกับกรดซอร์บิก กรดเบนโซอิกสามารถออกฤทธิ์ต้านจุลชีพได้เฉพาะในรูป undissociated acid เท่านั้น เพราะมีค่า dissociation constant เท่ากับ 6.46×10^{-5} จึงทำให้กรดเบนโซอิกทำงานได้ที่ pH ต่ำๆ ซึ่งที่ pH นี้นอกจากจะทำให้กรดเบนโซอิกอยู่ในรูป undissociated acid แล้วยังช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อบางส่วนได้ด้วย และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เช่นเดียวกับของกรดซอร์บิกโดยเฉพาะในวัฏจักรเครปส์ (Kreb's cycle) เช่น α-ketoglutarate dehydrogenase, succinic dehydrogenase และ tyrosinase เป็นต้น (Luck and Jager, 1997) และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเมตาโบไลต์กรดอะซิติก (acetic acid metabolism) (Bosund, 1960) นอกจากนี้ Rusul และ Marth (1987) พบว่าเบนโซเอตออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญและการผลิตอะฟลาทอกซิน ของเชื้อ *A. parasiticus* ได้ต่ำกว่าซอร์เบต ที่ pH 4.5 และ 5.5 โซเดียมเบนโซเอตสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์และราโดยตรง โดยเฉพาะกับราที่สร้างสารอะฟลาทอกซิน (Uraih and Chipley, 1976 และ Uraih, Cassity, and Chipley, 1977) แต่ออกฤทธิ์ต่อ lactic acid bacteria และ *Clostridium* เพียงเล็กน้อย เบนโซเอตสามารถใช้ในอาหารได้อย่างปลอดภัย (GRAS) เช่นเดียวกับซอร์เบตและราคาถูกเมื่อเทียบกับวัตถุกันเสียชนิดอื่นแต่ข้อเสียของเบนโซเอต คือ เมื่อใช้ปริมาณมากจะมีผลต่อกลิ่นของอาหาร (Davidson and Juneja, 1989 และ Luck and Jager, 1997)

5.2 การตรวจวิเคราะห์กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในอาหาร

กรดทั้ง 2 นี้มีสมบัติระเหยได้ด้วยไอน้ำดังนั้นจึงสามารถแยกได้โดยการกลั่น นอกจากนี้ในการเตรียมตัวอย่างสามารถทำ solid phase extraction ได้ เมื่อผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีที่เหมาะสมแล้วสามารถวิเคราะห์ได้หลายวิธีทั้ง spectrophotometry, gas chromatography (GC), thin layer chromatography (TLC) และ high performance liquid chromatography (HPLC) วิธีเหล่านี้สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งด้านปริมาณและคุณภาพของสารดังกล่าว (AOAC, 2000; Bui and Kooper, 1987; Kahn, Murawski, and Sherma, 1994; Kantasubrata and Imamkhasani, 1991; Kupper and Jans, 1988 และ Olea, Lopes, and Revilla, 1991) สำหรับการวิเคราะห์ด้วย HPLC เป็นวิธีที่นิยมที่สุดในปัจจุบันทั้งในการวิเคราะห์ด้านปริมาณและคุณภาพ เนื่องจากสามารถวิเคราะห์ได้ในระดับความเข้มข้นต่ำๆ รวดเร็ว และเป็น multimethod ซึ่งสามารถวิเคราะห์วัตถุกันเสียหรือสารอื่นๆ ได้หลายชนิดในครั้งเดียว เช่น salicylic acid, paraben, citric acid, saccharin, tartarzine, sunset yellow, caffeine, ascorbic acid, quinine และ aspartame เป็นต้น (Kupper and Jans, 1988; Puttemans, Dryon and Massart, 1984 และ Puttemans et al., 1985) โดยส่วนใหญ่จะใช้ reverse phase – C18 เป็น stationary phase นิยมใช้ acetonitrile หรือ methanol เป็น mobile phase และใช้ UV detector

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ที่ 260 nm สำหรับกรดซอร์บิก และที่ 229 nm. สำหรับกรดเบนโซอิก (Kupper and Jans, 1988) ซึ่งแต่ละสภาวะจะใช้ความยาวคลื่นต่างๆ กัน เช่น Puttemans, Dryon และ Massart (1984) แนะนำให้วิเคราะห์ที่ความยาวคลื่น 254 nm เพื่อวิเคราะห์ได้ทั้งกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะและ mobile phase ที่ใช้

ดังนั้นในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะทำการศึกษาชนิดและปริมาณของเชื้อราวมทั้งสารพิษจากเชื้อราที่ปนเปื้อนในเครื่องเทศที่เป็นส่วนผสมของน้ำพริกแกงและน้ำพริกแกงประเภทต่างๆ นอกจากนี้ยังทำการศึกษาผลของเครื่องเทศและน้ำพริกแกงเหล่านั้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบางชนิดที่พบปนเปื้อนในเครื่องเทศและน้ำพริกแกง เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการควบคุมคุณภาพของน้ำพริกแกง ความปลอดภัยของผู้บริโภค และนำไปสู่การปรับปรุงคุณภาพของน้ำพริกแกงเพื่อประโยชน์ในการส่งออกผลิตภัณฑ์ที่ได้มาตรฐานไปจำหน่ายยังต่างประเทศ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีทดลอง

วัตถุดิบ

เครื่องเทศที่เป็นส่วนประกอบของน้ำพริกแกงในงานวิจัยนี้มีจำนวนทั้งสิ้น 18 ชนิด โดยเครื่องเทศชนิดที่ 1- 10 และน้ำพริกแกง 4 ชนิด เก็บตัวอย่างจากตลาดสดในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล เครื่องเทศชนิดที่ 11-18 เก็บตัวอย่างจากร้านง่วนสูน เยาวราช กรุงเทพมหานคร

1. พริกชี้ฟ้าแห้ง
2. พริกขี้หนู
3. พริกชี้ฟ้าเขียว
4. หอมแดง
5. กระเทียม
6. ข่า
7. ตะไคร้
8. ผิวมะกรูด
9. รากผักชี
10. กระชาย
11. พริกไทย
12. ลูกผักชี
13. ยี่หร่า
14. กระวาน
15. กานพลู
16. ลูกจันทน์
17. ดอกจันทน์
18. อบเชย
19. น้ำพริกแกงส้ม
20. น้ำพริกแกงเผ็ด
21. น้ำพริกแกงเขียวหวาน
22. น้ำพริกแกงมัสมั่น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของราในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ

3.1.1 การเก็บตัวอย่างเครื่องเทศ

เก็บตัวอย่างเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำพริกแกง 10 ชนิด ได้แก่ พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้าเขียว หอม กระเทียม ข่า ตะไคร้ ผิวมะกรูด รากผักชี กระชาย ในรูปของสด และพริกชี้ฟ้าแห้ง ชนิดละ 18 ตัวอย่างๆ ละ 1 กิโลกรัม ใน 3 ฤดู โดยเก็บในเดือนมีนาคม กรกฎาคม และธันวาคม ที่จำหน่ายในตลาดขนาดใหญ่ 4 แห่ง ได้แก่ ปากคลองตลาด ตลาดคลองเตย ตลาดมหานาค และ ตลาดสี่มุมเมือง โดยเลือกร้านค้าที่ขายเครื่องเทศครบทั้ง 10 ชนิด ภายในตลาดๆ ละ 1 ร้านค้า ส่วนตลาดสี่มุมเมืองเลือกเก็บ 3 ร้านค้า รวมเป็น 6 ร้านค้า เก็บตัวอย่างจากร้านค้าเดิมทั้ง 3 ฤดู เก็บเครื่องเทศทั้ง 10ชนิดๆละ 1 กิโลกรัม ในแต่ละร้านค้า ใส่ถุงพลาสติก polypropylene แยกตัวอย่างแต่ละชนิด เก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และตรวจวิเคราะห์ภายใน 3 วัน เครื่องเทศอื่นๆ ที่ไม่ใช่องค์ประกอบหลัก ได้แก่ พริกไทย ลูกผักชี ยี่หร่า กานพลู กระวาน อบเชย ลูกจันทน์ และดอกจันทน์ เก็บตัวอย่างๆ ละ 1 กิโลกรัม จากร้านง่วนสูน เยาวราช กรุงเทพมหานคร วิเคราะห์ปริมาณและชนิดของราเพียงหนึ่งครั้งและเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ตลอดการทดลอง

3.1.2 การเก็บตัวอย่างน้ำพริกแกง

น้ำพริกแกงที่เลือกมาทำการตรวจสอบได้แก่ น้ำพริกแกงส้ม น้ำพริกแกงเผ็ด น้ำพริกแกงเขียวหวาน และน้ำพริกแกงมัสมั่น ชนิดละ 30 ตัวอย่าง ใน 3 ฤดู โดยเก็บในเดือนมีนาคม กรกฎาคม และธันวาคม เก็บตัวอย่างน้ำพริกแกงจากร้านค้าในตลาด 5 แห่ง ได้แก่ ตลาดสี่มุมเมือง จำนวน 3 ร้านค้า ตลาดคลองเตย และ ตลาดมหานาค จำนวน 2 ร้านค้า ปากคลองตลาด ตลาดสามย่าน และ ตลาดนัดจุฬาฯ ตลาดละ 1 ร้านค้า รวมเป็น 10 ร้านค้า เก็บตัวอย่างจากร้านค้าเดิมทั้ง 3 ฤดู เก็บน้ำพริกแกงทั้ง 4 ชนิดๆ ละ 1 กิโลกรัม ในแต่ละร้านค้า ใส่ถุงพลาสติก polypropylene แยกตัวอย่างแต่ละชนิด เก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และตรวจวิเคราะห์ภายใน 3 วัน

3.1.3 การเตรียมตัวอย่างเครื่องเทศ

นำเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำพริกแกงมาคัดแยกของเสียและตัดแต่ง โดยตัดขั้วพริกชี้ฟ้าแห้งและผ่าครึ่งตามแนวยาวของผล พริกชี้ฟ้าเขียวและพริกขี้หนูสดเด็ดขั้วออก หอมแดงตัดรากและลอกเปลือกออก กระเทียมแยกเปลือกที่ร่อนออก ข่าตัดลำต้นและส่วนที่เป็นบาดแผลออก และตะไคร้ตัดส่วนใบและรากออก ล้างตัวอย่างทั้งหมด 1 ครั้ง ด้วยน้ำประปา ยกเว้น

พริกชี้ฟ้าแห้ง รากผักชีและกระเทียม โดยแยกล้างทีละตัวอย่างนำขึ้นแล้วสะเด็ดน้ำ ส่วนพริกชี้ฟ้าแห้งที่ตัดแต่งเรียบร้อยแล้ว ขยำน้ำเล็กน้อยแล้วนำขึ้นสะเด็ดน้ำ รากผักชีแช่น้ำไว้ 15 นาทีก่อนล้างด้วยน้ำประปา 2-3 ครั้ง ส่วนกระเทียมไม่ล้างน้ำ จากนั้นปอกผิวมะกรูด ส่วนตัวอย่างอื่นๆ ตัดให้เล็กลง เตรียมสำหรับการตรวจปริมาณราในเครื่องเทศต่อไป

3.1.4 การตรวจสอบปริมาณราในเครื่องเทศและน้ำพริกแกง

วิเคราะห์ปริมาณราในเครื่องเทศที่เตรียมจากข้อ 3.1.3 และ เครื่องเทศอื่นๆ ได้แก่ พริกไทย ลูกผักชี ยี่หร่า กระวาน กานพลู ลูกจันทน์ ดอกจันทน์ และอบเชย รวมทั้งน้ำพริกแกงทั้ง 4 ชนิด ด้วยวิธี dilution plating (ภาคผนวก ก.1) บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) แล้วแยกราแต่ละ isolate เก็บใน PDA slant รวมทั้งวิเคราะห์ค่า water activity ของเครื่องเทศและน้ำพริกแกงด้วยเครื่องวัดค่า a_w NOVASINA AW SPRINT (TH500) และค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำพริกแกงด้วยเครื่องวัดค่า pH cyberscan 1000 (RS232 meter)

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูล 6 ซ้ำ สำหรับเครื่องเทศ และ 10 ซ้ำ สำหรับน้ำพริกแกง โดยนับตัวอย่างที่เก็บในแต่ละร้านค้าเป็นซ้ำ วิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1992)

3.1.5 การจัดจำแนกชนิดของราในเครื่องเทศ

นำราที่แยกได้จากตัวอย่างเครื่องเทศและน้ำพริกแกงมาศึกษาลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆ ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA) Malt Extract Agar (MEA) Czapek Yeast Extract Agar (CYA) หรืออาหารอื่นๆ ตามความเหมาะสมขึ้นกับชนิดของรา (ภาคผนวก ก.3) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ของราด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สังเกตลักษณะ สี ขนาด และรูปร่างของโคโลนี เส้นใย ผนังกั้นเส้นใย สปอร์ทั้งแบบอาศัยเพศ (sexual spore) และแบบไม่อาศัยเพศ (asexual spore) อับสปอร์ ก้านชูสปอร์ และโครงสร้างพิเศษอื่นๆ เช่น stolons, rhizoids, foot cells, apophysis, chlamydospores และ sclerotia เป็นต้น เตรียมสไลด์โดยใช้เทคนิดต่างๆ (Koneman et al.; 1994, 1997, Mahon and Manuselis; 2000 และ Pitt and Hocking; 1997)

นำลักษณะที่ได้เปรียบเทียบกับราสกุลต่างๆ ในหนังสือสำหรับจัดจำแนก, หนังสืออ่านประกอบ และ websites ดังนี้

1. A Laboratory Guide to the Common *Aspergillus* Species (Klich and Pitt, 1992)
2. A manual of the *Penicillium* (Raper, Thom and Fennel, 1949)
3. Dematiaceous Hyphomycetes (Ellis, 1971)
4. Fungi and Food Spoilage (Pitt and Hocking, 1997)

5. Illustrated Genera of Imperfect Fungi (Barnett and Hunter, 1998)
6. Introduction to Food- and Airborne Fungi (Samson et al., 2002)
7. The Genus *Aspergillus* (Raper and Fennell, 1965)
8. http://www.botany.utoronto.ca/ResearchLabs/MallochLab/Malloch/Moulds/Contents.html (Malloch, 1997)
9. http://www.doctorfungus.org (Doctorfungus Corporation, 2001)
10. http://www.mycology.adelaide.au (Adelaide Sci. and Gailead Sci., n.d.)

3.1.6 การตรวจสอบความสามารถในการผลิตอะฟลาทอกซินของราบางชนิด (Samson et al., 2002)

แยกราพวก *Aspergillus flavus*, *A. oryzae* และ *A. parasiticus* นำมาทดสอบการสร้างอะฟลาทอกซินโดยเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Aspergillus Flavus and Parasiticus Agar (AFPA) และ Coconut Agar (ภาคผนวก ก.3) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน แล้วตรวจการเรืองแสงภายใต้แสง Ultraviolet (UV) หากพบการเรืองแสงรอบๆ โคโลนี แสดงว่ามีการสร้างสารอะฟลาทอกซิน บันทึกผลการวิเคราะห์

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมเบนโซเอตและโพแทสเซียมซอร์เบตในน้ำพริกแกง

วิเคราะห์โซเดียมเบนโซเอตและโพแทสเซียมซอร์เบตตามวิธีของ Kupper และ Jans (1988) (ภาคผนวก ข.) โดยชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วเติม extraction mixture 90 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่อง ultrasonic bath 20 นาที เติมสาร Carrez I solution 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วผสม Carrez II solution 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วย extraction mixture ผสมให้เข้ากัน ปล่อยไว้ 10 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 2 แล้วกรองด้วย filter membrane ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 ไมโครเมตร วิเคราะห์ด้วย reverse phase liquid chromatography เปรียบเทียบพื้นที่ใต้ peak ที่ได้กับ peak ของสารละลายมาตรฐาน

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูล 10 ซ้ำ โดยนับตัวอย่างที่เก็บในแต่ละร้านค้าเป็นซ้ำ วิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1992)

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ

3.3.1 การสกัดตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างเครื่องเทศ (จากข้อ 3.1.3) ที่บดแล้วหรือตัวอย่างน้ำพริกแกง 20 กรัม ใส่ใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติม 70% methanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปิดปาก flask ด้วย aluminum foil เขย่าด้วยเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ตั้งตัวอย่างที่เขย่าแล้วไว้ประมาณ 5-10 นาที เพื่อให้ตกตะกอน กรองส่วนใสผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 4 เก็บส่วนที่กรองได้ในขวดแก้วสีชาปิดสนิท เจือจางสารละลายที่สกัดได้ด้วย phosphate buffer saline-Tween 20 (PBS-T) (ภาคผนวก ค.) ในสัดส่วน สารสกัด1ส่วน ต่อ PBS-T 3 ส่วน ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยชุดตรวจสอบสำเร็จรูปของกรมวิชาการเกษตร (aflatoxin ELISA test kit; ภาคผนวก ค.)

3.3.2 การวิเคราะห์อะฟลาทอกซินโดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป (กรมวิชาการเกษตร)

หยดอะฟลาทอกซินมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0, 4, 10, 20, 40 และ 100 ppb ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบและหยดสารสกัดที่เตรียมไว้ลงในหลุมที่เหลือ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร แล้วเติม AFB_1-HRP conjugate (ภาคผนวก ค.) 50 ไมโครลิตร ลงในทุกหลุม เขย่าเล็กน้อย แล้วบ่มในที่มืด อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที คว่ำเทสารในหลุมทิ้งแล้วล้างด้วย washing buffer (ภาคผนวก ค.) 3 ครั้ง หยด substrate solution 100 ไมโครลิตร ลงในทุกหลุมปฏิกิริยาเกิดเป็นสีฟ้า บ่มในที่มืด อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติม stopping solution 100 ไมโครลิตร ปฏิกิริยาเกิดเป็นสีเหลือง อ่านค่าความเข้มของสีที่ช่วงความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader และวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินด้วยโปรแกรม kinetic calculation แบบ Log/Logit-Log ซึ่งแสดงผลเป็นค่าอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในตัวอย่าง

3.4 การเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงแต่ละชนิดในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

ผลิตน้ำพริกแกงส้ม, น้ำพริกแกงเผ็ด, น้ำพริกแกงเขียวหวาน และน้ำพริกแกงมัสมั่น ตามสัดส่วนในภาคผนวก ช. ชนิดละ 10 กิโลกรัม โดยใช้เครื่องเทศจากตลาดสี่มุมเมือง ส่งบดที่ร้านน้ำพริกแกงในตลาดเตาปูน เขตบางซื่อ กรุงเทพมหานคร แบ่งน้ำพริกแกงแต่ละชนิดที่ได้ออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนควบคุมโดยไม่ผสมวัตถุกันเสีย ส่วนที่ 2 ผสมโซเดียมเบนโซเอต 500 ppm และส่วนที่ 3 ผสมโพแทสเซียมซอร์เบต 500 ppm แล้วแบ่งตัวอย่างทั้ง 3 ส่วน บรรจุใส่ถุง polypropylene ถุงละ 100 กรัม รัดด้วยหนังยาง เก็บที่อุณหภูมิห้อง สุ่มตัวอย่างน้ำพริกแกงเพื่อวิเคราะห์คุณภาพวันเว้นวันจนกว่าจะไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงดังนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- ปริมาณราและยีสต์ (Yeast mold count) (ภาคผนวก ก.1)
- ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total bacterial count) (ภาคผนวก ก.2)
- ค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัดค่า pH cyberscan1000 (RS232meter)
- ค่า water activity ด้วยเครื่องวัดค่า a_w NOVASINA AW SPRINT (TH500)
- ประเมินผลทางประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน (สุมณฑา วัฒนสินธุ์ และคณะ, 2543) ฝึกอบรมผู้ฝึกทดสอบในการประเมินผลน้ำพริกแกงด้วยการดมกลิ่นจำนวน 10 ครั้ง ฝึกอบรมครั้งละ 1 ชั่วโมงต่อวัน อธิบายคุณสมบัติของน้ำพริกแกง ฝึกการดมกลิ่นของเครื่องเทศและเครื่องปรุงต่างๆ ในน้ำพริกแกงเพื่อให้สามารถจำแนกกลิ่นได้ ฝึกดมกลิ่นน้ำพริกแกงตัวอย่างแต่ละชนิดและประเมินผลให้คะแนนกลิ่นโดยรวมของน้ำพริกแกง ทั้งนี้อาศัยการเปรียบเทียบกับน้ำพริกแกงมาตรฐานที่จัดให้ ทำการประเมินผลในแบบประเมินผล (ภาคผนวก ง.) โดยผู้ทดสอบจะต้องดมกลิ่นในทันทีที่เปิดถุงและดม 3 ครั้งก่อนประเมินผล โดยตัดสินให้คะแนนตามลักษณะของกลิ่นที่ปรากฏ นอกจากนี้ฝึกประเมินกลิ่นน้ำพริกแกงที่เปลี่ยนไปเนื่องจากการเก็บรักษาพร้อมทั้งให้ข้อคิดเห็นเกี่ยวกับการประเมินผล ฝึกให้ผู้ฝึกทดสอบคุ้นเคยกับวิธีการประเมินน้ำพริกแกงโดยสามารถบอกความแตกต่างของกลิ่นแต่ละกลิ่นที่ใกล้เคียงกันได้และสามารถบอกความแตกต่างของกลิ่นของน้ำพริกแกงได้

ในการประเมินกลิ่นของน้ำพริกแกงแต่ละวันที่ทำการทดสอบให้ผู้ทดสอบประเมินผลน้ำพริกแกงแบบให้คะแนน (scoring test) ใช้แบบทดสอบในภาคผนวก ง. ทำซ้ำใน 2 ช่วงเวลา ห่างกันอย่างน้อย 1 ชั่วโมง จากนั้นรวบรวมแบบประเมินของผู้ทดสอบแต่ละคนเพื่อหาค่าเฉลี่ยและนำไปวิเคราะห์ต่อไป

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1992)

3.5 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราบางชนิดโดยน้ำพริกแกง

3.5.1 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราโดยน้ำพริกแกง

ชั่งน้ำพริกแกง 2 กรัม ใส่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อเปล่าที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เททับด้วย PDA ที่มีอุณหภูมิประมาณ 50-55 องศาเซลเซียส ประมาณ 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย spreader ปล่อยไว้จน PDA แข็งตัวดี ตัดแบ่งชิ้น PDA ที่ผสมน้ำพริกแกงออกเป็นสองส่วนเท่ากันด้วย spatula ที่ฆ่าเชื้อแล้ว นำชิ้น PDA หนึ่งส่วนใส่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ที่ฆ่าเชื้อแล้ว เท PDA ที่มีอุณหภูมิประมาณ 50-55 องศาเซลเซียส แทนบริเวณที่ตักวุ้นออกโดยให้ระดับความสูงของ PDA ใหม่เท่ากับระดับความสูงของ PDA ผสมน้ำพริกแกง ปล่อยไว้จน PDA แข็งตัวดี แล้วใช้ loop inoculate suspension ของสปอร์ราเข้มข้น 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร (ภาคผนวก จ.2) แตะบริเวณกึ่งกลางรอยต่อของชิ้นวุ้นทั้งสอง แล้วลากเป็นแนวผ่านกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสอง

ด้าน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ตรวจความสามารถในการเจริญของราเปรียบเทียบกับขนาดโคโลนีของราที่เพาะบน PDA plate ที่ไม่ผสมน้ำพริกแกง ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ทำการเปรียบเทียบน้ำพริกแกงที่ไม่ผ่านความร้อนและน้ำพริกแกงที่ผ่านความร้อน โดยชั่งน้ำพริกแกง 50 กรัม ใส่ใน บิกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส ใน water bath เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำน้ำพริกแกงที่ผ่านการให้ความร้อนจำนวน 2 กรัม ผสมใน PDA ทำเช่นเดียวกับน้ำพริกแกงที่ไม่ผ่านความร้อนดังที่ได้กล่าวไปแล้ว ราที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ *Aspergillus niger, Monascus* sp. 2 species, *Paecilomyces* sp. และ *Penicillium citrinum* ที่แยกได้จากข้อ 3.1.5 (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2518 และ Mei-Chin Yin and Wen-Shen Cheng, 1998)

3.5.2 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราโดยน้ำมันหอมระเหยจากน้ำพริกแกง

ประเมินค่า minimal inhibitory concentration (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยจากน้ำพริกแกงที่สกัดได้จากวิธี Clevenger distillation (ภาคผนวก จ.1) ด้วยวิธี disk diffusion assay บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มี suspension ของสปอร์ราเข้มข้น 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร (ภาคผนวก จ.2) ราที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ *Aspergillus niger, Monascus* sp. 2 species, *Paecilomyces* sp. และ *Penicillium citrinum* ที่จำแนกได้จากข้อ 3.1.4 และ 3.2.3 โดยเจือจางน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 250, 500, 1000 และ 2000 ppm ลงบน filter paper disk (เส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร วางบนผิวของ PDA plate ที่ inoculate suspension ของราทดสอบซึ่งบ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน แล้ววัด inhibitory zone รายงานเป็นค่าเฉลี่ยจากการวัด 3 ครั้ง (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2518; Nester et al., 1998)

3.5.3 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราโดยสารสกัดด้วยน้ำจากน้ำพริกแกง

ประเมินค่า MIC ของสารสกัดด้วยน้ำจากน้ำพริกแกงที่สกัดได้ โดยชั่งน้ำพริกแกง 50 กรัม ผสมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 50 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:1) เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 300 rmp เป็นเวลา 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วกรองผ่าน filter membrane ขนาด 0.22 ไมโครเมตร ทำการเจือจางสารสกัดดังกล่าวด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อด้วยอัตราส่วน 1:1 1:2 1:4 1:8 1:16 และ 1:32 ลงบน filter paper disk ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เช่นเดียวกับข้อ 3.6.2 วางบนผิวของ PDA plate ที่ inoculate suspension ของราทดสอบ ซึ่งบ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน แล้ววัด inhibitory zone รายงานเป็นค่าเฉลี่ยจากการวัด 3 ครั้ง (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2518; Mei-Chin Yin and Wen-Shen Cheng, 1998)

บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิจารณ์

1. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของราในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในน้ำพริกแกง

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณราในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำพริกแกง ได้แก่ พริกชี้ฟ้าแห้ง พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้าเขียว หอมแดง กระเทียม ข่า ตะไคร้ ผิวมะกรูด รากผักชี และกระชาย จากตลาด 4 แห่ง ในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ซึ่งมีปริมาณการขายเครื่องเทศเหล่านี้มาก โดยเลือกร้านค้าภายในตลาดคลองเตย ปากคลองตลาด และตลาดมหานาค ตลาดละ 1 ร้านค้า ส่วนตลาดสี่มุมเมืองเลือกเก็บ 3 ร้านค้า เนื่องจากเมื่อสอบถามร้านค้าที่จำหน่ายน้ำพริกแกงส่วนใหญ่รับเครื่องเทศจากตลาดสี่มุมเมืองเป็นหลักและตลาดแห่งนี้ยังเป็นตลาดจำหน่ายเครื่องเทศขนาดใหญ่ที่สุดแห่งหนึ่งของประเทศไทย เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณราในเครื่องเทศแต่ละฤดู เลือกร้านค้าที่จำหน่ายเครื่องเทศครบทุกชนิด โดยเก็บตัวอย่างจากร้านเดิมใน 3 ฤดู ทั้งนี้นับตัวอย่างที่เก็บจากแต่ละร้านค้าเป็น 1 ซ้ำ รวมเป็น 6 ซ้ำ ใน 1 ฤดู ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 4.1 ซึ่งพบว่าฤดูกาลไม่มีผลต่อปริมาณราในเครื่องเทศแต่ละชนิดทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้งนี้ส่วนหนึ่งน่าจะเนื่องมาจากสภาพอากาศและความชื้นของประเทศไทยโดยเฉพาะในเขตกรุงเทพและปริมณฑลไม่แตกต่างกันซึ่งอุณหภูมิเฉลี่ยตลอดปีประมาณ 29 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 74 จากข้อมูลของกรมอุตุนิยมวิทยา[1] เดือนกรกฎาคม ธันวาคม พ.ศ. 2545 และเดือนมีนาคม พ.ศ. 2546 อุณหภูมิเฉลี่ยเท่ากับ 29.9, 28.7 และ 29.4 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ในขณะที่ความชื้นสัมพัทธ์ในเดือนดังกล่าวมีค่าเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 77, 71 และ 75 ตามลำดับ ซึ่งจากการวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของแต่ละตลาดพบว่าไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละตลาดและมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลจากกรมอุตุนิยมวิทยา นอกจากนี้เครื่องเทศแต่ละชนิดจะมีการเพาะปลูกเฉพาะในบางพื้นที่ของประเทศดังนั้นปริมาณราปนเปื้อนจึงไม่แตกต่างกัน

เครื่องเทศที่ตรวจพบราปริมาณมากที่สุด ได้แก่ กระเทียม โดยพบรา 4.92 ± 0.39 logCFU/g ดังในตารางที่ 4.2 รองลงมาได้แก่ หอมแดง รากผักชี พริกชี้ฟ้า และตะไคร้ ตามลำดับ ซึ่งพบราสูงกว่า 3 logCFU/g เครื่องเทศที่พบราน้อยที่สุด ได้แก่ ข่าพบราเพียง 0.08 ± 0.20 logCFU/g ส่วน พริกขี้หนู กระชาย ผิวมะกรูด และพริกชี้ฟ้าเขียว พบราในช่วง 1-2 logCFU/g ดังนั้นเครื่องเทศที่ควรควบคุมด้านความสะอาด ได้แก่ เครื่องเทศในกลุ่ม กระเทียม หอมแดง รากผักชี พริกชี้ฟ้าแห้ง และตะไคร้ เนื่องจากพบราในปริมาณสูงมากดังกล่าว

---

[1]Climatology division, Monthly Temperature in Celsius and Monthly Relative Humidity (%): Station 455201: Bangkok Metropolis. Bangkok: Meteorological Department (Mimeographed)

ตารางที่ 4.1 ปริมาณราเฉลี่ยของเครื่องเทศต่างๆ ใน 3 ฤดู*

เครื่องเทศ	ปริมาณราทั้งหมดเฉลี่ย (logCFU/g)[ns]		
	ฤดูฝน	ฤดูหนาว	ฤดูร้อน
พริกชี้ฟ้าแห้ง	3.21 ± 1.36	2.72 ± 0.76	3.19 ± 1.40
พริกขี้หนูสด	1.98 ± 0.64	2.72 ± 1.13	1.70 ± 0.64
พริกชี้ฟ้าสด	0.76 ± 0.44	1.05 ± 0.71	0.89 ± 0.96
หอม	4.18 ± 1.07	3.19 ± 0.69	3.96 ± 0.58
กระเทียม	4.79 ± 0.42	5.02 ± 0.30	4.94 ± 0.47
ข่า	0.06 ± 0.12	0.09 ± 0.21	0.11 ± 0.26
ตะไคร้	2.51 ± 0.89	2.93 ± 1.18	3.57 ± 0.42
ผิวมะกรูด	1.87 ± 0.71	1.18 ± 0.28	1.40 ± 0.57
รากผักชี	3.34 ± 0.36	3.63 ± 0.44	3.48 ± 0.39
กระชาย	1.86 ± 0.72	1.72 ± 0.70	2.35 ± 1.39

[ns] ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

จำนวนซ้ำของตัวอย่างในแต่ละฤดู (n) = 6

*เลี้ยงราบนอาหาร PDA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 5-7 วัน

ตารางที่ 4.2 ปริมาณราและค่า a_w เฉลี่ยของเครื่องเทศต่างๆ*

เครื่องเทศ	ค่า a_w	ปริมาณราเฉลี่ย** (logCFU/g)
กระเทียม (กลีบ)	0.977	4.92 ± 0.39
หอม	0.990	3.78 ± 0.88
รากผักชี	0.987	3.49 ± 0.39
พริกชี้ฟ้าแห้ง	0.692	3.04 ± 1.15
ตะไคร้	0.991	3.00 ± 0.95
พริกขี้หนูสด	0.991	2.13 ± 0.90
กระชาย	0.995	1.98 ± 0.97
ผิวมะกรูด	0.991	1.48 ± 0.60
พริกชี้ฟ้าสด	0.989	0.90 ± 0.70
ข่า	0.996	0.08 ± 0.20

*เลี้ยงราบนอาหาร PDA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 5-7 วัน

**ปริมาณราเฉลี่ยจากตัวอย่างทั้งหมด (n) = 18

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ราที่พบในเครื่องเทศได้ถูกนำมาจำแนกชนิดดังแสดงในตารางที่ 4.3 พบว่ารา *Aspergillus* และ *Penicillium* เป็นรากลุ่มที่พบมากที่สุด โดย *A. niger* เป็นราที่พบมากที่สุดและปนเปื้อนในตัวอย่างเครื่องเทศทุกชนิดที่นำมาทดลอง รองลงมาได้แก่ *P. citrinum* และ *P. corylophilum* ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบ *A. aculeatus A. flavus* และ *Cladosporium* spp. มากรองลงมา ซึ่งราที่พบดังกล่าวสอดคล้องกับผลการวิจัยเกี่ยวกับราในเครื่องเทศ สมุนไพรและอาหารต่างๆ โดย สุดารัตน์ บุญจันทร์ และ อุษณีย์ เพชรสุรีย์ (2537) King, Hocking, และ Pitt (1981) และ Shirvastava และ Jain (1992) รายงานไว้ว่าราที่ปนเปื้อนในเครื่องเทศและสมุนไพรมากที่สุด ได้แก่ รากลุ่ม *Aspergillus* รองลงมาเป็นกลุ่ม *Penicillium Fusarium* และ *Rhizopus* ทั้งนี้เนื่องจาก *Aspergillus* เป็นราที่พบได้ทั่วไปและจัดเป็น storage fungi ที่สำคัญสามารถเจริญได้ในสิ่งแวดล้อมทั่วโลก (Rippon, 1982) โดยเฉพาะในเขตร้อนชื้น เช่น ประเทศไทย ซึ่งมีสภาพอากาศที่เหมาะสมในการดำเนินกิจกรรมและการเจริญ (พรรณกร อิ่มวิทยา, 2535) นอกจากนี้ยังพบรา 6 ชนิด ที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ (unidentified fungi) ในตารางที่ 4.3 ซึ่งพบในพริกขี้หนูและตะไคร้ชนิดละ 2 isolates และในผิวมะกรูดและรากผักชีชนิดละ 1 isolate โดยลักษณะของราบนอาหาร PDA ที่พบในพริกขี้หนู isolate แรก มีโคโลนีสีขาวเทาจนถึงดำ เส้นใยฟู มีผนังกั้น (septate) ผลิตรงควัตถุสีดำ ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับ isolate ที่พบในผิวมะกรูด ส่วน isolate ที่ 2 โคโลนีเป็นเส้นใยบาง สีขาว มีผนังกั้น สำหรับราที่พบในตะไคร้ isolate แรก โคโลนีสีดำผสมส้ม เส้นใยฟูมีผนังกั้น ผลิตรงควัตถุสีแดงเข้มจนถึงดำ และ isolate ที่ 2 โคโลนีเป็นเส้นใยบาง สีน้ำตาลอ่อน มีผนังกั้นเส้นใย ส่วนราที่ไม่สามารถจำแนกได้ที่พบในรากผักชีมีการสร้างโครงสร้างคล้าย sclerotium ซึ่งเป็นเม็ดแข็งสีน้ำตาลเข้มกระจายทั่วโคโลนี สร้างเส้นใยสีเข้มมีผนังกั้นและสร้างรงควัตถุสีชมพูอ่อน ซึ่งราทั้ง 6 ชนิดนี้ไม่พบการสร้าง conidiogenous cell ในรูปแบบปกติจึงไม่สามารถจัดจำแนกได้ สำหรับรา *A. flavus* ซึ่งพบในพริกชี้ฟ้าแห้ง พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้าเขียว กระเทียม ผิวมะกรูด รากผักชี และกระชาย ทั้งนี้ได้นำมาทดสอบความสามารถในการผลิตอะฟลาทอกซินพบว่าร้อยละ 52.38 ของสายพันธุ์เหล่านี้สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้ ดังตารางที่ 4.4 โดยเป็น *A. flavus* ที่พบในตัวอย่าง พริกชี้ฟ้าแห้ง (100%) พริกขี้หนู (60%) ผิวมะกรูด (100%) และกระชาย (40%) ดังตารางที่ 4.5 สำหรับ *A. paprasiticus* สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้ทั้ง 2 isolates ส่วน *A. oryzae* ไม่ผลิตอะฟลาทอกซินเลยเมื่อทดสอบบน coconut agar

สำหรับเครื่องเทศอื่นๆ ที่ทำการศึกษา ได้แก่ พริกไทย ลูกผักชี ยี่หร่า กระวาน กานพลู ลูกจันทน์ ดอกจันทน์ และอบเชย ซึ่งเก็บตัวอย่างละ 1 กิโลกรัม จากร้านง่วนสูน เยาวราช ค่า water activity (a_w) ของเครื่องเทศเหล่านี้มีค่าต่ำกว่า 0.6 ซึ่งเป็นสภาวะที่จุลินทรีย์ทุกชนิดไม่สามารถเจริญเติบโตได้ (Frazier and Westhoff, 1988) ปริมาณราที่พบในเครื่องเทศดังกล่าวแสดงในตารางที่ 4.6 พบว่าลูกจันทน์ ยี่หร่า และกระวาน เป็นเครื่องเทศที่พบรามากที่สุด โดยพบราในปริมาณที่สูงกว่า 3 logCFU/g ราที่พบมากที่สุดได้แก่ *A. niger* *A. flavus* และ *Rhizopus oligosporus*

ตารางที่ 4.3 ร้อยละของราที่พบในเครื่องเทศหลักต่างๆ

รา	ร้อยละของราที่พบในเครื่องเทศ*									
	พริกชี้ฟ้าแห้ง	พริกขี้หนู	พริกชี้ฟ้าเขียว	หอมแดง	กระเทียม	ข่า	ตะไคร้	ผิวมะกรูด	รากผักชี	กระชาย
Acremonium spp.	-	5.6	5.6	-	-	5.6	-	-	16.7	-
Aspergillus aculeatus	5.6	44.4	5.6	22.2	5.6	-	22.2	44.4	-	-
Aspergillus flavus	16.7	27.8	5.6	-	5.6	-	-	16.7	16.7	27.8
Aspergillus niger	94.4	66.7	55.6	88.9	77.8	16.7	66.7	83.3	55.6	77.8
Aspergillus oryzae	5.6	5.6	-	-	-	-	-	11.1	-	5.6
Aspergillus spp.	5.6	11.1	11.1	5.6	5.6	-	5.6	5.6	22.2	22.2
Aspergillus terreus	5.6	-	5.6	-	-	-	-	11.1	27.8	22.2
Cladosporium spp.	11.1	5.6	22.2	-	-	-	44.4	5.6	27.8	5.6
Curvularia spp.	11.1	-	5.6	-	-	-	-	16.7	16.7	-
Fusarium proliferatum	-	5.6	5.6	-	-	-	5.6	-	16.7	5.6
Fusarium solani	-	5.6	5.6	-	-	5.6	22.2	5.6	22.2	-
Fusarium spp.	-	5.6	-	5.6	-	-	11.1	-	33.3	-
Fusarium verticillioides	-	-	-	-	-	-	5.6	-	22.2	-
Helminthosporium spp.	16.7	-	-	-	-	-	-	5.6	-	11.1
Monascus spp.	11.1	-	-	-	-	-	-	-	16.7	5.6
Monilia spp.	5.6	11.1	5.6	5.6	-	-	-	-	5.6	5.6
Mucor circinelloides	5.6	5.6	-	-	-	-	11.1	-	16.7	
Mucor hiemalis	5.6	11.1	5.6	-	-	-	11.1	-	27.8	5.6
Mucor spp.	-	5.6	-	-	-	-	-	-	11.1	5.6
Paecilomyces spp.	-	11.1	-	-	-	-	5.6	-	5.6	16.7
Penicillium citrinum	11.1	16.7	5.6	72.2	72.2	-	27.8	44.4	11.1	44.4
Penicillium corylophilum	5.6	16.7	5.6	5.6	11.1	-	5.6	16.7	-	11.1
Penicillium funiculosum	-	-	-	-	-	-	61.1	5.6	5.6	-
Penicillium glabrum	-	-	-	11.1	-	-	5.6	-	5.6	-
Penicillium janthinellium	-	-	22.2	-	-	-	-	5.6	5.6	5.6
Penicillium oxalicum	5.6	16.7	11.1	-	-	-	-	5.6	5.6	16.7
Penicillium spp.	11.1	5.6	5.6	-	5.6	-	5.6	5.6	16.7	22.2
Phoma spp.	-	-	11.1	-	-	-	-	-	22.2	5.6
Rhizopus spp.	11.1	-	-	-	-	-	-	5.6	11.1	5.6
Syncephalastrum racemosum	11.1	-	-	-	-	-	-	-	11.1	-
Trichoderma spp.	5.6	5.6	-	-	-	-	44.4	11.1	38.9	38.9
Other fungi**	-	16.7	11.1	-	5.6	-	11.1	5.6	22.2	22.2
Unidentified fungi	-	11.1	-	-	-	-	11.1	5.6	5.6	-

(-) ไม่พบรา

* ร้อยละของราที่พบในเครื่องเทศชนิดละ 18 ตัวอย่าง (n = 18)

** แสดงในภาคผนวก ฌ.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>ตารางที่ 4.4</u> ราที่สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้ในเครื่องเทศ

ชนิดของรา	จำนวนราที่พบ	จำนวนราที่สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้*
Aspergillus flavus	21	11 ,(52.38%)
Aspergillus parasiticus	2	2 ,(100%)
Aspergillus oryzae	5	0 ,(0%)
รวม	28	13

* เลี้ยงบนอาหาร coconut agar บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 4 วัน

<u>ตารางที่ 4.5</u> รา *Aspergillus flavus* ที่พบในเครื่องเทศและความสามารถในการผลิตอะฟลาทอกซิน

เครื่องเทศ	จำนวน *A. flavus*	จำนวนสายพันธุ์ที่สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้*
พริกชี้ฟ้าแห้ง	3	3 ,(100%)
พริกขี้หนู	5	3 ,(60%)
พริกชี้ฟ้าเขียว	1	0 ,(0%)
กระเทียม	1	0 ,(0%)
ผิวมะกรูด	3	3 ,(100%)
รากผักชี	3	0 ,(0%)
กระชาย	5	2 ,(40%)
รวม	21	11 ,(52.38%)

* เลี้ยงบนอาหาร coconut agar บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 4 วัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.6 ปริมาณ ชนิดของรา และปริมาณอะฟลาทอกซินของเครื่องเทศแห้ง (water activity < 0.6)

เครื่องเทศ	ค่า a_w	ปริมาณราทั้งหมด** (logCFU/g)	อะฟลาทอกซิน (ppb)	ชนิดของรา							
				Absidia sp.	*Aspergillus aculeatus*	*Aspergillus flavus**	*Aspergillus fumigatus*	*Aspergillus niger*	*Pen. brevi-compactum*	*Rhizopus oligosporus*	*Tricho-derma* sp.
พริกไทย	0.502	1.97	1.97	-	-	-	+	-	+	+	-
ลูกผักชี	0.495	1.16	0.00	-	-	-	-	-	+	+	-
ยี่หร่า	0.517	3.56	8.81	+	-	+	-	+	+	+	-
กระวาน	0.488	3.43	4.16	-	-	+	+	+	-	+	+
กานพลู	0.521	2.88	46.21	-	-	+	-	+	-	-	-
ลูกจันทน์เทศ	0.499	3.78	42.28	+	-	+	-	+	-	-	-
ดอกจันทน์	0.473	1.07	10.07	-	+	+	+	+	-	-	-
อบเชย	0.558	2.21	11.12	+	-	-	-	-	-	+	-
			ราที่พบ (%)***	37.50	12.50	62.50	37.50	62.50	37.50	62.50	12.50

* *A. flavus* ทุกสายพันธุ์สามารถผลิตสารอะฟลาทอกซินได้เมื่อทดสอบบน coconut agar บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 4 วัน

** เลี้ยงบนอาหารPDA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 5 วัน

*** ร้อยละของราที่พบในเครื่องเทศทั้ง 8 ชนิด (n=8)

(+) ตรวจพบราสายพนัธุ์ที่ระบุ

(-) ไม่พบราสายพันธุ์ที่ระบุ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นอกจากนี้ยังพบ *A. fumigatus Absidia* spp. *P. brevicompactum Trichoderma* spp. และ *A. aculeatus* ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ อัจฉรา พัฒนเดช และคณะ (2544) ที่พบ *A. niger* ในสมุนไพรตากแห้งมากที่สุด รองลงมา ได้แก่ *A. flavus A. terreus* และ *A. oryzae* ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Aziz et al. (1998) ที่พบ *A. niger A. flavus* และ *A. parasiticus* มากที่สุดในเครื่องเทศและสมุนไพรของอินเดีย รองลงมาได้แก่ *Absidia corymbifea Aspergillus* spp. *Fusarium oxysporum Penicillium* spp. *Rhizopus stolonifer* และ *Scopulariopsis brevicaulasis* ตามลำดับ และ Freire, Kozakiewicz และ Paterson (2000) ก็พบ *A. niger* และ *A. flavus* มากที่สุดในพริกไทยและถั่วของประเทศบราซิล นอกจากนี้ยังพบ *A. ochraceus A. tamarii A. versicolor Chaetomium globosum Emericella nidulans P. brevicompactum P. citrinum P. islandicum* และ *P. glabrum* เช่นเดียวกับ Delcourt, Rousset และ Lemaitre (1994) ที่พบราในตัวอย่างพริกไทยที่จำหน่ายในประเทศฝรั่งเศส ซึ่งส่วนใหญ่เป็นรา *A. fumigatus A. flavus A. niger* และ *A. ochraceus* โดยพริกไทยดำจะมีการปนเปื้อนมากกว่าพริกไทยขาว และตรวจพบอะฟลาทอกซินในทุกตัวอย่างที่ทดสอบ สำหรับ *A. flavus* ซึ่งพบในยี่หร่า กระวาน กานพลู ลูกจันทน์ และดอกจันทน์สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้ทุก isolates เมื่อผสมเครื่องเทศที่พบราชนิดนี้กับผลิตภัณฑ์อาหารชนิดอื่นๆ และอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมราชนิดนี้มีโอกาสที่จะเจริญและสร้างอะฟลาทอกซินได้ แต่อย่างไรก็ตาม *A. flavus* จะผลิตอะฟลาทอกซินในอาหารได้ก็ต่อเมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมเท่านั้น (นภาพร โออริยะกุล, 2530; วิทยา สังข์ทอง, 2543 และ อมรา ชินภูติ, 2546) ดังนั้นการที่เครื่องเทศต่างๆ ปนเปื้อนด้วย *A. flavus* สายพันธุ์ดังกล่าว จึงไม่จำเป็นจะต้องตรวจพบอะฟลาทอกซินในตัวอย่างเหล่านั้นทุกครั้ง

2. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของราในน้ำพริกแกงแต่ละชนิด

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณราในน้ำพริกแกง 4 ชนิด ได้แก่ น้ำพริกแกงส้ม น้ำพริกแกงเผ็ด น้ำพริกแกงเขียวหวาน และน้ำพริกแกงมัสมั่น จากตลาด 5 แห่ง โดยเก็บตัวอย่างจากร้านเดิมใน 3 ฤดูในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล เพื่อศึกษาความแตกต่างของปริมาณราในน้ำพริกแกงแต่ละฤดู ดังตารางที่ 4.7 พบว่าฤดูกาลไม่มีผลต่อปริมาณราในน้ำพริกแกงแต่ละชนิด ($p>0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากส่วนประกอบหลักในน้ำพริกแกง คือ เครื่องเทศ ซึ่งมีปริมาณการปนเปื้อนของราในแต่ละฤดูกาลไม่แตกต่างกันและราที่ปนเปื้อนในน้ำพริกแกงส่วนหนึ่งมาจากเครื่องเทศที่ใช้ เพราะเครื่องเทศเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำพริกแกง ส่วนน้ำพริกแกงจากร้านค้าในตลาดบางแห่งตรวจพบปริมาณรามากหรือน้อยจนไม่พบเลยแตกต่างกันน่าจะสืบเนื่องจากสุขลักษณะในการผลิตและสถานที่จัดจำหน่าย ทั้งนี้สัดส่วนของเครื่องเทศในตำรับน้ำพริกแกงของแต่ละร้านก็น่าจะมีผลร่วม

ด้วย นอกจากนี้พบว่าน้ำพริกแกงส้มเป็นน้ำพริกแกงที่มีโอกาสพบราปนเปื้อนมากที่สุดถึง 2.40±1.03 logCFU/g รองลงมา ได้แก่น้ำพริกแกงเผ็ดพบรา 1.44±1.12 logCFU/g ส่วนน้ำพริกแกงมัสมั่นและน้ำพริกแกงเขียวหวานเป็นน้ำพริกแกงที่พบราในปริมาณต่ำ 0.78±0.79 และ 0.68±1.09 logCFU/g ตามลำดับ ซึ่งสาเหตุที่น้ำพริกแกงส้มมีปริมาณราปนเปื้อนสูงเนื่องจากส่วนผสมของน้ำพริกแกงชนิดนี้ประกอบด้วยเครื่องเทศ 3-4 ชนิด ได้แก่ พริกชี้ฟ้าแห้ง หอมแดง กระเทียม และกระชาย ซึ่งพบว่าเครื่องเทศหลัก 3 ชนิดแรกเป็นเครื่องเทศกลุ่มที่พบราปนเปื้อนในปริมาณสูง นอกจากนี้องค์ประกอบหลักอีกชนิดหนึ่งในน้ำพริกชนิดนี้ ได้แก่ กะปิ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับจุลินทรีย์และกะปิเองก็มีการปนเปื้อนในปริมาณสูง (สิริพร สธนเสาวภาคย์, ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ และ กาญจนิจ วาจนะวินิจ, 2539) เมื่อผสมในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบจึงช่วยให้น้ำพริกแกงส้มมีโอกาสเสื่อมเสียเนื่องจาก จุลินทรีย์ได้มากขึ้นด้วย สำหรับน้ำพริกแกงเขียวหวานและน้ำพริกแกงมัสมั่นพบราปริมาณน้อยน่าจะเนื่องมาจากน้ำพริกแกงเขียวหวานมีพริกชี้ฟ้าเขียวสดเป็นองค์ประกอบหลักซึ่งพบราในปริมาณที่ต่ำกว่า 1 logCFU/g จึงมีส่วนทำให้น้ำพริกแกงเขียวหวานพบราในปริมาณต่ำ สำหรับน้ำพริกมัสมั่นในกระบวนการผลิตมักมีการให้ความร้อนหรือคั่วเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบบางชนิด เช่น หอมแดง กระวาน กานพลู อบเชย และจันทน์เทศ ซึ่งความร้อนดังกล่าวสามารถช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ได้ นอกจากนี้น้ำพริกแกงมัสมั่นที่ทำเสร็จแล้วยังนิยมนำไปคั่วก่อนแล้วจึงผสมกับน้ำมันซึ่งจะช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ได้บางส่วน (สิริพร สธนเสาวภาคย์, ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ และ กาญจนิจ วาจนะวินิจ, 2539) ทั้งนี้ค่า water activity (a_w) ของน้ำพริกแกงที่ตรวจสอบร้อยละ 80 มีค่ามากกว่า 0.80 ดังนั้นจึงไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของรา (Frazier and Westhoff, 1988)

ตารางที่ 4.7 ปริมาณราทั้งหมดของน้ำพริกแกงต่างๆ ใน 3 ฤดู*

น้ำพริกแกง	a_w เฉลี่ย	ปริมาณราแต่ละฤดู (logCFU/g)^{ns} ฤดูฝน	ฤดูหนาว	ฤดูร้อน	เฉลี่ย
น้ำพริกแกงเผ็ด	0.91	1.38 ± 1.28	1.47 ± 1.10	1.46 ± 1.10	1.44 ± 1.12
น้ำพริกแกงขียวหวาน	0.94	0.74 ± 1.24	0.60 ± 0.84	0.70 ± 1.26	0.68 ± 1.09
น้ำพริกแกงส้ม	0.85	2.52 ± 0.90	2.23 ± 1.42	2.44 ± 0.74	2.40 ± 1.03
น้ำพริกแกงมัสมั่น	0.85	0.95 ± 0.77	0.59 ± 0.62	0.79 ± 0.98	0.78 ± 0.79

*เลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 5-7วัน

^{ns} ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

SD : ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ชนิดของราในน้ำพริกแกงแสดงในตารางที่ 4.8 ซึ่ง *A. niger* เป็นราที่พบมากที่สุด รองลงมาได้แก่ *Monascus* spp. และ *Paecilomyces* spp. ตามลำดับ ซึ่งราทั้ง 3 ชนิดนี้พบได้ในน้ำพริกแกงทุกชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าราทั้งหมดที่พบในน้ำพริกแกงเป็นรากลุ่มเดียวกับที่พบปนเปื้อนในเครื่องเทศที่ใช้ในการผลิต จึงสนับสนุนว่าราที่ปนเปื้อนในน้ำพริกแกงส่วนหนึ่งมาจากเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ สำหรับรา *A. flavus* ซึ่งพบเฉพาะในน้ำพริกแกงส้ม (26.7%) และน้ำพริกแกงมัสมั่น (10%) เป็นสายพันธุ์ที่สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ ร้อยละ 37.5 ในน้ำพริกแกงส้ม และ ร้อยละ 33.3 ในน้ำพริกแกงมัสมั่นดังในตารางที่ 4.9 ดังที่ได้กล่าวไปแล้วว่าการปนเปื้อนของราในน้ำพริกแกงน่าจะมีสาเหตุหลักมาจากส่วนผสมของเครื่องเทศและสุขลักษณะในการผลิต ทั้งนี้พบว่าราส่วนใหญ่ซึ่งพบในน้ำพริกแกงจากร้านค้าเดียวกันมักจะเป็นราชนิดเดียวกัน จึงสนับสนุนว่าสุขลักษณะในการผลิตและสถานที่จัดจำหน่ายน่าจะมีส่วนสำคัญต่อปริมาณและชนิดของราในน้ำพริกแกง ดังนั้นควรควบคุมด้านสุขลักษณะในการผลิตและสถานที่ผลิตเพื่อให้ได้น้ำพริกแกงที่มีคุณภาพ

<u>ตารางที่ 4.8</u> ร้อยละของราแต่ละสายพันธุ์ที่พบในน้ำพริกแกง 4 ชนิด*

รา	ร้อยละของราที่พบในน้ำพริกแกง**			
	น้ำพริกแกงเผ็ด	น้ำพริกแกงเขียวหวาน	น้ำพริกแกงส้ม	น้ำพริกแกงมัสมั่น
Absidia spp.	-	-	-	10.0
Aspergillus clavatus	-	-	-	3.3
Aspergillus flavus	-	-	26.7	10.0
Aspergillus niger	43.3	23.3	90.0	66.7
Aspergillus oryzae	3.3	3.3	-	-
Eurotium spp.	-	-	6.7	-
Hyphopichia spp.	-	-	-	3.3
Monascus spp.	73.3	30.0	76.7	30.0
Mucor hiemalis	-	-	-	6.7
Paecilomyces spp.	6.7	3.3	23.3	13.3
Penicillium citrinum	-	-	10.0	3.3
Penicillium funiculosum	3.3	-	-	-
Rhizopus oligosporus	-	-	-	3.3
Scopulariopsis spp.	-	3.3	3.3	-
Syncephalastrum spp.	-	-	-	6.7

* เลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 5-7 วัน

** ร้อยละของราที่พบในน้ำพริกแกงชนิดละ 30 ตัวอย่าง (n = 30)

(-) ไม่พบราสายพันธุ์ดังกล่าว

ตารางที่ 4.9 รา *Aspergillus flavus* ที่พบในน้ำพริกแกงและความสามารถในการผลิตอะฟลาทอกซิน

น้ำพริกแกง	จำนวน *A. flavus*	จำนวนสายพันธุ์ที่สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้*
น้ำพริกแกงส้ม	8	3 (37.52%)
น้ำพริกแกงมัสมั่น	3	1 (33.33%)
รวม	11	4 (36.36%)

* เลี้ยงบนอาหาร coconut agar บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 4 วัน

3. การวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมเบนโซเอตและโพแทสเซียมซอร์เบตในน้ำพริกแกง

ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเบนโซเอตแสดงในตารางที่ 4.10 และพบว่าไม่มีการใช้ซอร์เบตในทุกตัวอย่างที่ทำการตรวจสอบ และในแต่ละฤดูกาลมีการใช้เบนโซเอตในปริมาณที่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) เมื่อพิจารณาปริมาณเบนโซเอตที่ใช้ในแต่ละร้านค้า พบว่าร้อยละ 20 ของน้ำพริกแกงที่ทำการตรวจสอบไม่มีการใช้เบนโซเอต ซึ่งได้แก่ ร้าน คลองเตย1 และ มหานาค1 ในขณะที่ร้อยละ 40 ของน้ำพริกแกงทั้งหมดที่ทำการตรวจสอบพบปริมาณการใช้เบนโซเอตเกินกว่ามาตรฐาน (1,000 ppm) แต่เบนโซเอตและซอร์เบตเป็นวัตถุกันเสียในกลุ่มกรดอินทรีย์อ่อน (weak organic acid) ออกฤทธิ์โดยตรงกับราและประสิทธิภาพขึ้นกับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหาร (Luck and Jager, 1997) แต่จากตารางที่ 4.11 พบว่า pH ของน้ำพริกแกงร้อยละ 75 มีค่ามากกว่า 4.5 ซึ่งที่ค่าดังกล่าววัตถุกันเสียที่ใช้สามารถออกฤทธิ์ได้ไม่ดี เนื่องจากกลไกการออกฤทธิ์ของเบนโซเอตขึ้นกับความสามารถในการผ่านชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งเมื่อเข้าไปในเซลล์จะแตกตัวเนื่องจากภายในเซลล์มี pH ประมาณ 7 ทำให้ภายในเซลล์มี pH ลดลง มีผลต่อปฏิกิริยาภายในเซลล์ จุลินทรีย์จำเป็นต้องใช้พลังงานจำนวนมากในการขับโปรตอนที่เกิดจากการแตกตัวของกรด ส่งผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เหล่านี้ (Eklund, 1985) ซึ่งจะสามารถผ่านได้เมื่ออยู่ในรูป undissociated form โดยมีค่า dissociation constant ของเบนโซเอตเท่ากับ 6.46×10^{-5} (pKa เท่ากับ 4.18) จึงแตกตัวได้ดีที่ pH สูง ดังนั้นจึงพบว่าตัวอย่างส่วนใหญ่มีการใส่เบนโซเอตในปริมาณมากขณะที่ปริมาณรากลับไม่ลดน้อยลง และพบว่าแม้มีการใส่เบนโซเอตเกินกว่ากำหนดก็ไม่สามารถลดปริมาณราให้ต่ำกว่าระดับที่กำหนดได้ (10 CFU/g) เมื่อพิจารณาทั้งผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของรารวมทั้งปริมาณการใช้เบนโซเอตในน้ำพริกแกงจะเห็นได้ว่าการควบคุมความสะอาดของเครื่องเทศและสุขลักษณะในการผลิตเป็นสิ่งจำเป็นในการผลิตน้ำพริกแกงเพื่อให้มีคุณภาพและมาตรฐานแทนการใช้วัตถุกันเสียในน้ำพริกแกง

ตารางที่ 4.10 ปริมาณเบนโซเอตในน้ำพริกแกงต่างๆ ใน 3 ฤดู วิเคราะห์ด้วยวิธี Reverse Phase liquid Chromatography

น้ำพริกแกง	pH	ปริมาณเบนโซเอตแต่ละฤดู (ppm)^{ns}			
		ฝน	หนาว	ร้อน	เฉลี่ย
น้ำพริกแกงเผ็ด	4.85	1117.85±1221.75	1027.89±1075.75	1143.60±1431.59	1096.44±1208.71
น้ำพริกแกงขียวหวาน	4.85	1283.33±1477.73	1216.04±1373.26	1125.60±1251.88	1208.32±1324.25
น้ำพริกแกงส้ม	4.91	1129.91±1230.36	1107.48±1135.86	1073.21±1302.83	1103.54±1182.17
น้ำพริกแกงมัสมั่น	4.41	942.92±861.19	1146.30±1121.76	1200.15±1112.50	1096.45±1008.71

^{ns} ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

SD : ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4. การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ

จากการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำพริกแกงโดยใช้ Aflatoxin ELISA test kit ที่พัฒนาโดยกรมวิชาการเกษตร ซึ่งอาศัยหลักการทางอิมมูโนวิทยาเกี่ยวข้องกับการแข่งขัน (competitive immunoassay) ระหว่างสารพิษจากราในตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์กับสารพิษจากราซึ่งมีเครื่องหมายชี้บอก (labeled toxin) ในการเกาะจับหรือทำปฏิกิริยากับแอนติบอดี้ของสารพิษนั้นๆ พบว่าเครื่องเทศหลักทั้ง 10 ชนิดมีปริมาณอะฟลาทอกซินไม่เกินกำหนด (20 ppb) ผลการตรวจวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 4.12 จะเห็นได้ว่า หอมแดง กระเทียม และรากผักชีตรวจไม่พบสารอะฟลาทอกซินปนเปื้อนในทุกตัวอย่าง สำหรับพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้าเขียว ตะไคร้ กระชาย และพริกชี้ฟ้าแห้ง พบอะฟลาทอกซินต่ำกว่า 5 ppb ส่วนข่าและผิวมะกรูดพบ อะฟลาทอกซินปนเปื้อน 0-12.05 และ 3.46-13.07 ppb ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับที่ Martins, Martins และ Bernando (2001) ตรวจพบในเครื่องเทศของประเทศโปรตุเกสด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) มีค่าอยู่ในช่วง 2-32 ppb ในพริกขี้หนู (cayenne pepper) และ 1-5 ppb ในพริกชี้ฟ้า (chili) และสอดคล้องกับที่ Aziz et al. (1998) ตรวจพบอะฟลาทอกซินในเครื่องเทศของประเทศอินเดียด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ในปริมาณที่ใกล้เคียงกับที่พบในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในน้ำพริกแกง กล่าวคือ พบในขิง 10 ppb ส่วนกระชายตรวจไม่พบอะฟลาทอกซินปนเปื้อน แต่ Stroka และ Anklane (2002) พบอะฟลาทอกซิน ปนเปื้อนในพริกจากประเทศปากีสถานร้อยละ 66 โดยมีปริมาณปนเปื้อนสูงสุดเท่ากับ 80 ppb ซึ่งสูงกว่าในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในน้ำพริกแกงของไทย

ตาราง 4.11 ปริมาณเบนโซเอต ปริมาณรา และ pH ในน้ำพริกแกงแต่ละชนิด

ร้านค้า	น้ำพริกแกงเผ็ด*			น้ำพริกแกงเขียวหวาน*			น้ำพริกแกงส้ม*			น้ำพริกแกงมัสมั่น*		
	pH	เบนโซเอต (ppm)	รา (logCFU/g)**	pH	เบนโซเอต (ppm)	รา (logCFU/g)**	pH	เบนโซเอต (ppm)	รา (logCFU/g)**	pH	เบนโซเอต (ppm)	รา (logCFU/g)**
คลองเตย๑	4.52	0	0	4.46	0	0	4.68	0	3.51±0.57	3.99	0	0.25±0.44
คลองเตย๒	4.89	417.41±31.24	1.64±0.34	4.61	377.7±11.84	0	5.06	353.22±168.47	1.69±0.49	4.78	772.83±330.57	2.05±0.01
ปากคลอง	4.55	568.98±65.92	2.49±0.91	4.65	688.23±9.80	0.41±0.53	4.63	636.45±23.52	3.67±0.87	4.14	649.89±24.72	0.53±0.73
มหานาค๑	4.70	0	2.361.42	4.45	0	0	5.31	0	0.61±0.53	4.77	0	0.33±0.47
มหานาค๒	5.16	2386.53±226.46	1.07±0.34	5.34	4051.08±88.27	0	4.93	2702.98±313.36	3.39±1.51	4.89	2391.65±150.51	1.72±0.55
สี่มุมเมือง๑	4.84	378.77±24.18	0	4.90	446.8±51.52	0	4.74	364.59±10.58	2.39±1.42	4.40	375.1±7.36	0.73±0.11
สี่มุมเมือง๒	5.26	1352.39±136.76	3.01±0.71	5.27	1323.62±82.12	2.22±0.18	5.19	1406.86±11.95	2.54±1.17	3.93	1902.08±439.38	0
สี่มุมเมือง๓	4.46	3951.01±731.82	1.48±0.20	4.23	3006.49±987.53	1.25±0.23	4.75	3631.5±125.33	1.54±1.34	4.02	2967.45521.75	0
สามย่าน๑	4.97	704.28±127.53	1.71±0.28	5.00	609.16±16.97	0	4.56	467.09±217.15	3.68±1.12	4.17	562.00±39.62	0.93±0.54
สามย่าน๒	5.14	1205.0647.09	0.61±0.53	5.57	1580.16±80.01	2.92±1.04	5.22	1472.66±237.58	1.23±1.39	4.96	1334.54±76.18	1.01±0.18

* ค่าเฉลี่ยจาก 3 ฤดู

** เลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 5-7 วัน

SD : ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

0 = ไม่พบ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในเครื่องเทศอื่นๆ ได้แก่ พริกไทย ลูกผักชี ยี่หร่า กระวาน กานพลู ลูกจันทน์ ดอกจันทน์ และอบเชย ด้วยวิธีเดียวกันพบว่า ลูกผักชีตรวจไม่พบอะฟลาทอกซินปนเปื้อน ในขณะที่พริกไทย กระวาน ยี่หร่า ดอกจันทน์ และอบเชยตรวจพบต่ำกว่า 20 ppb ซึ่งจากประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน (2529) กำหนดให้อาหารทั่วไปมีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนได้ไม่เกิน 20 ppb ดังตารางที่ 4.6 ยกเว้นในกานพลูและลูกจันทน์ซึ่งพบอะฟลาทอกซินปนเปื้อน 48.21 และ 42.28 ppb ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับ El-Kady, El-Maraghy และ Eman (1995) ตรวจพบในพริกไทย ลูกผักชีและยี่หร่าด้วยวิธี TLC มีค่าอยู่ในช่วง 8-35 ppb นอกจากนี้ Aziz และ Youssef (1991) ตรวจสอบปริมาณอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์จากสัตว์และเครื่องเทศที่เป็นส่วนผสมพบว่าพริกไทยมีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนประมาณ 22 ppb ขมิ้นผงและลูกผักชีพบอะฟลาทอกซิน 8-12 ppb นอกจากนี้พบว่าผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่ตรวจพบอะฟลาทอกซินปนเปื้อน 5-10 ppb แต่พบสูงสุด 150 ppb Aziz et al. (1998) ตรวจสอบสารพิษจากราในเครื่องเทศของอินเดียด้วยวิธี TLC พบว่าอบเชยไม่มีอะฟลาทอกซินปนเปื้อน ในขณะที่ Martins, Martins และ Bernando (2001) พบว่าลูกจันทน์ของประเทศโปรตุเกสมีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนตั้งแต่ 1-58 ppb ยี่หร่าและพริกไทยพบอะฟลาทอกซิน 1-5 ppb และไม่พบอะฟลาทอกซินในกระวานและกานพลู นอกจากนี้พบว่า black cumin และ fennel ซึ่งเป็นเครื่องเทศกลุ่มเดียวกับยี่หร่าพบอะฟลาทอกซิน 20-30 ppb และ 80-160 ppb สำหรับเครื่องเทศและสมุนไพรของประเทศไทย Llewellyn et al. (1992) ศึกษาอะฟลาทอกซิน บี1 พบว่ามีการปนเปื้อนร้อยละ 18 ของตัวอย่างทั้งหมดและปริมาณอะฟลาทอกซินที่พบอยู่ในช่วง 40-160 ppb ซึ่งสูงกว่าค่าที่วิเคราะห์ได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากวิธีการเตรียมเครื่องเทศต่างกันหรือความสดของตัวอย่างเครื่องเทศที่เก็บมาวิเคราะห์ต่างกัน ส่วน Stroka และ Anklane (2002) ศึกษาแนวโน้มปริมาณอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในอาหารของหลายประเทศพบว่าลูกจันทน์ของประเทศญี่ปุ่นร้อยละ 43 ตรวจพบอะฟลาทอกซิน ปริมาณปนเปื้อนสูงสุดเท่ากับ 666 ppb ทั้งนี้พบว่าอะฟลาทอกซินในเครื่องเทศที่ตรวจสอบมีปริมาณการปนเปื้อนใกล้เคียงกับเครื่องเทศจากงานวิจัยอื่นๆ

นอกจากนี้พบว่าอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในเครื่องเทศแห้งส่วนใหญ่มีปริมาณสูงกว่าในเครื่องเทศสด เนื่องจากราที่สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้จัดอยู่ในกลุ่ม storage fungi ซึ่งเจริญได้ดีระหว่างการเก็บรักษา (Christensen, 1987 และ Nijs and Notermans, 2000) ส่วนเครื่องเทศบางชนิดที่ตรวจไม่พบราที่สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้แต่กลับพบอะฟลาทอกซินปนเปื้อนอาจเนื่องจากมีราที่สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้เจริญและสร้างสารพิษในระหว่างการเพาะปลูกซึ่งเป็นระยะที่พืชยังไม่มีการผลิตสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หรือมีการผลิตสารดังกล่าวแต่ยังมีปริมาณต่ำ และเมื่อพืชมีอายุมากขึ้นจึงมีการผลิตสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้เพิ่มขึ้นจึงตรวจไม่พบราที่ปนเปื้อนแต่กลับพบสารพิษดังกล่าว (Kawashima et al., 1990 และ Lee, Bayman, and Bennett, 1992)

ตารางที่ 4.12 ปริมาณอะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ วิเคราะห์ด้วยชุดตรวจสอบอะฟลาทอกซินสำเร็จรูป*

ตัวอย่าง	ปริมาณอะฟลาทอกซิน (ppb)			
	ฤดูฝน	ฤดูหนาว	ฤดูร้อน	เฉลี่ย
พริกชี้ฟ้าแห้ง	0	0 - 4.03	0 - 2.12	0.39 ± 0.94
พริกขี้หนูสด	0 - 0.32	0 - 2.02	0 - 1.17	0.30 ± 0.36
พริกชี้ฟ้าสด	0 - 1.17	0 - 0.44	0 - 0.69	0.22 ± 0.25
หอม	0	0	0	0
กระเทียม	0	0	0	0
ข่า	1.15 - 10.62	0 - 11.03	0 - 12.05	3.99 ± 1.77
ตะไคร้	0 - 2.06	0 - 2.29	0 - 2.99	0.48 ± 0.72
ผิวมะกรูด	4.45 - 13.07	3.95 - 12.47	3.46 - 12.95	8.52 ± 1.20
รากผักชี	0	0	0	0
กระชาย	0 - 0.80	0 - 1.27	0	0.12 ± 0.32
น้ำพริกแกงเผ็ด	0 - 6.49	0 - 2.49	0 - 13.20	2.11 ± 1.91
น้ำพริกแกงเขียวหวาน	0 - 12.72	0 - 16.36	0 - 14.78	5.83 ± 2.28
น้ำพริกแกงส้ม	1.17 - 6.19	0 - 8.21	3.31 - 5.82	3.50 ± 0.92
น้ำพริกแกงมัสมั่น	0.78 - 6.16	0 - 5.93	0 - 9.61	2.72 ± 1.18

* Limit of detection : 0.4 ppb

SD : ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

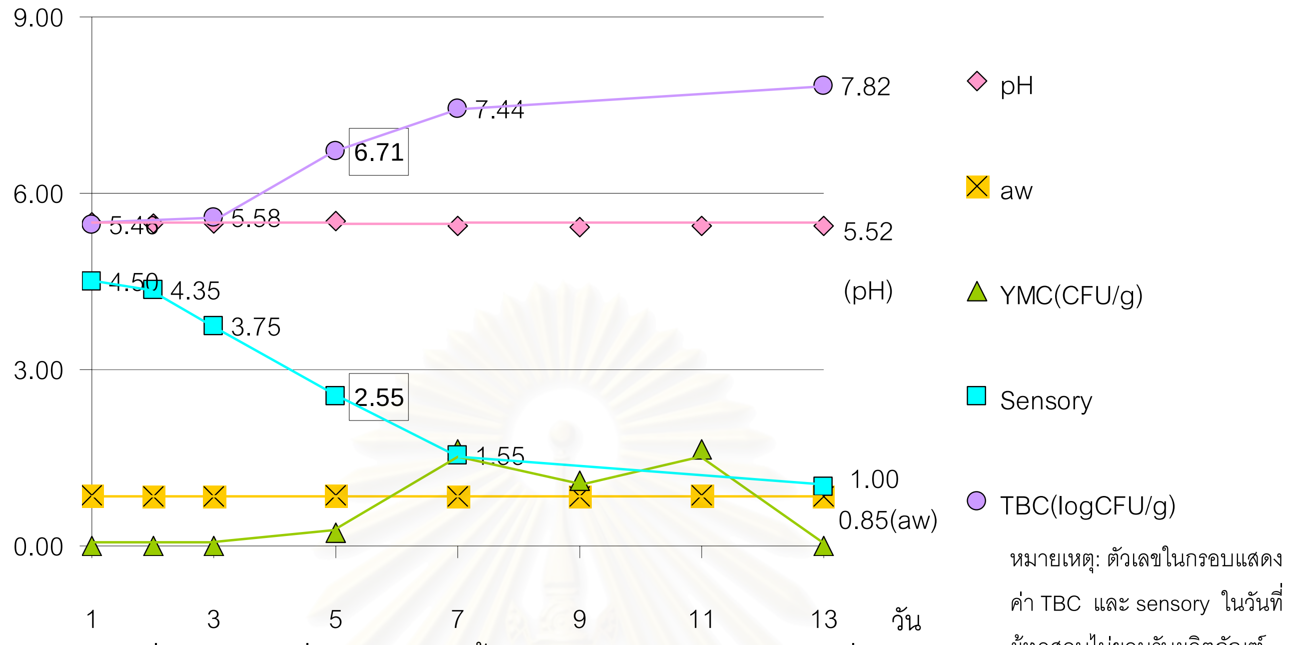
สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงพบว่าน้ำพริกแกงทั้ง 4 ชนิด มีปริมาณอะฟลาทอกซินปนเปื้อนไม่เกิน 20 ppb ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ที่ 429-2525 (2525) ดังตารางที่ 4.12 โดยน้ำพริกแกงเผ็ดพบอะฟลาทอกซินปนเปื้อน 0-13.20 ppb น้ำพริกแกงเขียวหวาน 0-16.36 ppb น้ำพริกแกงส้ม 0-8.21 ppb และน้ำพริกแกงมัสมั่น 0-9.16 ppb มีค่าเฉลี่ยของปริมาณอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนเท่ากับ 2.11±1.91, 5.83±2.28, 3.50±0.92 และ 2.72±1.18 ตามลำดับ ทั้งนี้ในการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงด้วยวิธี ELISA อาจพบความคลาดเคลื่อนบ้างเนื่องจากเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบบางชนิด เช่น ผิวมะกรูด มีสารประกอบบางชนิดที่อาจส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์ด้วยวิธีดังกล่าวซึ่งทำให้ค่าที่ได้สูงกว่าความเป็นจริงบ้างในบางตัวอย่าง แต่ทั้งนี้จากการตรวจวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงพบว่าปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินต่ำกว่าเกณฑ์ที่กฎหมายกำหนด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน้ำพริกแกงทุกตัวอย่างมีอะฟลาทอกซินในระดับที่ปลอดภัย นอกจากนี้ในการปรุงแกงส่วนมากจะต้องเจือจางด้วยน้ำหรือกะทิปริมาณมากจึงทำให้อะฟลาทอกซินเจือจางมากขึ้นและมักผ่านการคั่ว

ผัดหรือให้ความร้อนด้วยวิธีอื่นๆ เพื่อกระตุ้นกลิ่นหอมของเครื่องเทศในน้ำพริกแกงซึ่งช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์และอะฟลาทอกซินได้อีกทางหนึ่ง (อมรา ชินภูติ, 2546)

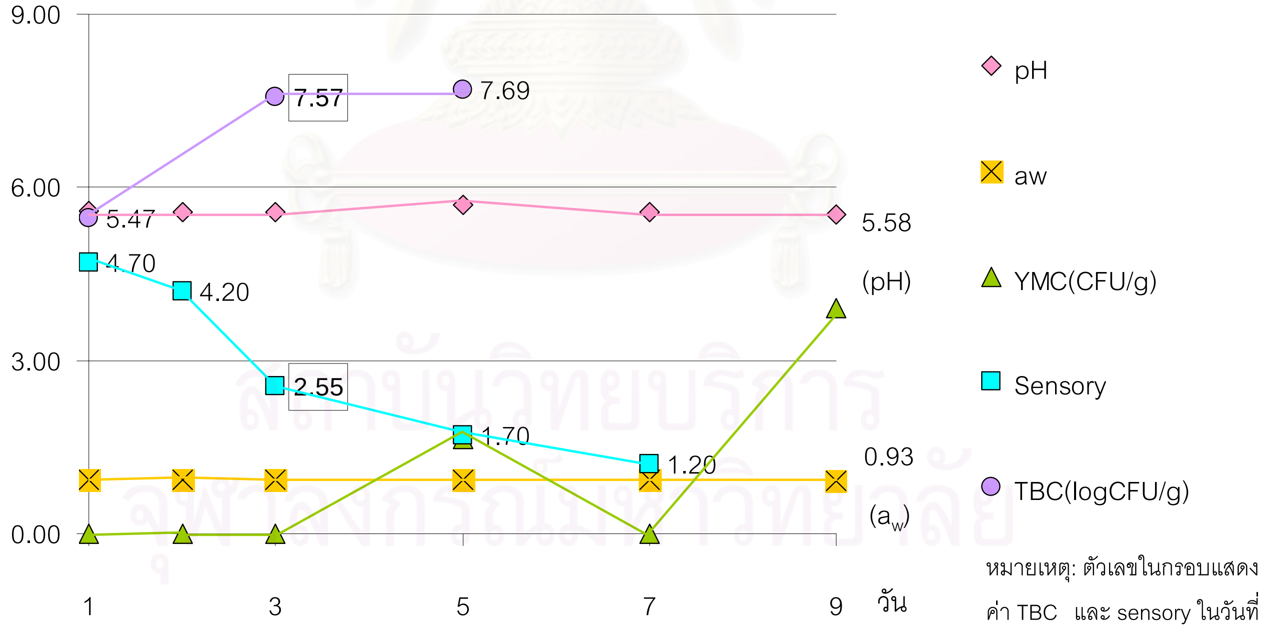
5. การเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงแต่ละชนิดในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

เตรียมน้ำพริกแกงในสัดส่วนตามภาคผนวก ช. แบ่งเป็น 3 ส่วน โดยส่วนที่ 1 เป็นตัวอย่างควบคุมไม่ผสมวัตถุกันเสีย ส่วนที่ 2 ผสมโซเดียมเบนโซเอต 500 ppm และ ส่วนที่ 3 ผสมโพแทสเซียมซอร์เบต 500 ppm เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวัตถุกันเสียทั้ง 2 ชนิด เก็บในถุงพลาสติก polypropylene รัดปากถุงด้วยหนังยางเก็บที่อุณหภูมิห้อง (29 องศาเซลเซียส) เช่นเดียวกับที่จำหน่ายตามท้องตลาด ตรวจปริมาณจุลินทรีย์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) water activity (a_w) และการประเมินทางประสาทสัมผัสด้วยการดมกลิ่นของน้ำพริกแกงตามแบบประเมินในภาคผนวก ง. ระบุเป็นคะแนนตั้งแต่ 1-5 โดยให้ 1 คะแนนสำหรับน้ำพริกแกงที่มีกลิ่นเน่าเสียชัดเจน และ 5 คะแนนสำหรับน้ำพริกแกงที่มีกลิ่นเครื่องเทศสดไม่ต่างจากตัวอย่างควบคุม ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงแสดงในรูปที่ 4.1-4.4 สำหรับน้ำพริกแกงเผ็ดพบว่าผู้ทดสอบได้กลิ่นผิดปกติและให้คะแนนการประเมินทางประสาทสัมผัสต่ำกว่า 3 คะแนน ซึ่งแสดงถึงการไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ในวันที่ 5 โดยมีคะแนนเฉลี่ยในการประเมินทางประสาทสัมผัสเท่ากับ 2.55 และมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 6.71 logCFU/g สำหรับน้ำพริกแกงเขียวหวานคะแนนเฉลี่ยในการประเมินทางประสาทสัมผัสเท่ากับ 2.55 ในวันที่ 3 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 7.57 logCFU/g ส่วนน้ำพริกแกงส้มมีคะแนนเฉลี่ยในการประเมินทางประสาทสัมผัสเท่ากับ 3.00 ในวันที่ 2 ในขณะที่น้ำพริกแกงมัสมั่นมีคะแนนเฉลี่ยในการประเมินทางประสาทสัมผัสเท่ากับ 2.40 ในวันที่ 13 และมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 7.89 logCFU/g ทั้งนี้ปริมาณยีสต์และรา pH และ a_w มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยในน้ำพริกแกงทุกชนิดระหว่างการเก็บ

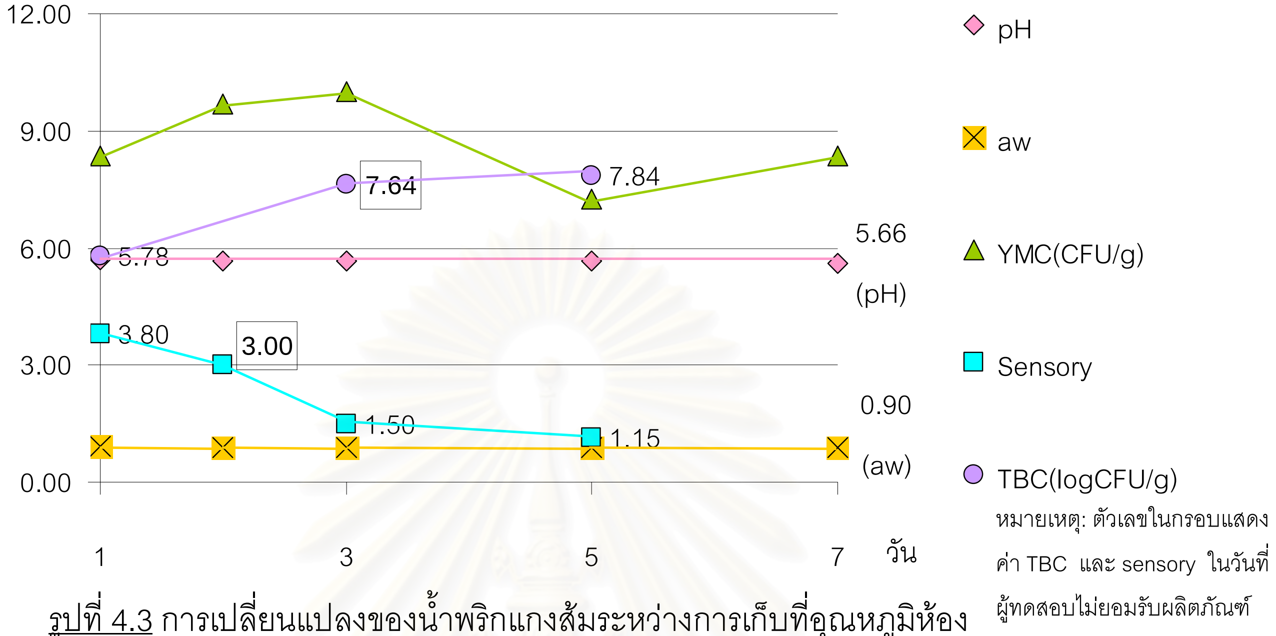
จากการทดลองจะเห็นได้ว่าคะแนนการประเมินทางประสาทสัมผัสมีค่าลดลงในขณะที่ปริมาณแบคทีเรียกลับเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่วนค่าการวิเคราะห์อื่นๆ มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าการเสื่อมเสียของน้ำพริกแกงเกิดขึ้นเนื่องจากปริมาณแบคทีเรียเพิ่มขึ้น ในขณะที่ราไม่มีผลต่อการเสื่อมเสียของน้ำพริกแกงอย่างเด่นชัด นอกจากนี้อาจมีปฏิกิริยาเคมีเช่น การออกซิเดชั่น โดยไขมันที่ผิวหน้าของน้ำพริกแกงทำให้เกิดสารคาร์บอนิลซึ่งสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับโปรตีนในน้ำพริกแกงเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีขึ้น และปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ต่างๆ ร่วมด้วย (Meyer, 1971) สำหรับน้ำพริกแกงมัสมั่นคะแนนเฉลี่ยในการประเมินทางประสาทสัมผัสต่ำกว่า 3 คะแนน ในวันที่ 13 เนื่องจากน้ำพริกแกงมัสมั่นมีส่วนผสมของเครื่องเทศกลิ่นฉุนหลายชนิด เช่น กระวาน กานพลู ลูกจันทน์ ดอกจันทน์ และอบเชย กลบกลิ่นผิดปกติของน้ำพริกแกงซึ่งผู้ทดสอบสามารถแยกกลิ่นผิดปกติของน้ำพริกแกงได้เมื่อกลิ่นของเครื่องเทศดังกล่าวจางลง



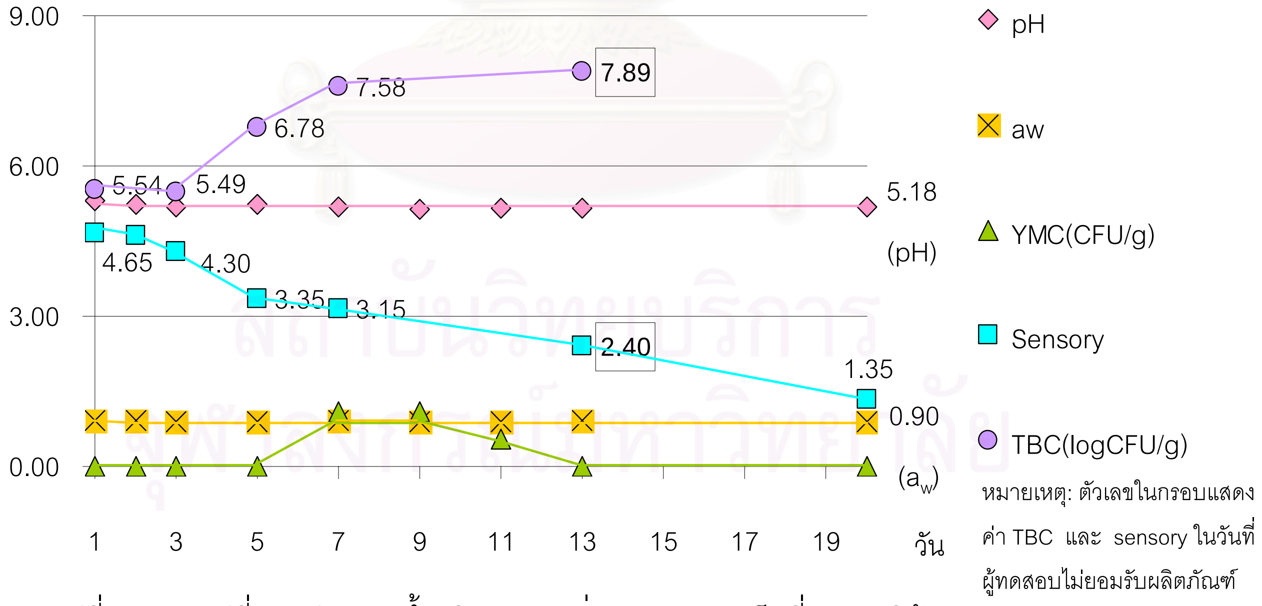
<u>รูปที่ 4.1</u> การเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงเผ็ดระหว่างการเก็บที่อุณภูมิห้อง



<u>รูปที่ 4.2</u> การเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงเขียวหวานระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง



รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงส้มระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง



รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงมัสมั่นระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

สำหรับการศึกษาความสามารถในการชะลอการเสื่อมเสียของน้ำพริกแกงที่ผสมโซเดียมเบนโซเอตและโพแทสเซียมซอร์เบต ความเข้มข้น 500 ppm ในน้ำพริกแกงสูตรดังกล่าว (ภาคผนวก ซ.) เปรียบเทียบกับน้ำพริกแกงสูตรควบคุมที่ไม่ผสมวัตถุกันเสีย โดยใช้การประเมินทางประสาทสัมผัสด้วยกลิ่นเป็นเกณฑ์หลักในการประเมิน พบว่าทั้งโซเดียมเบนโซเอตและโพแทสเซียมซอร์เบตที่ความเข้มข้น 500 ppm ไม่มีผลต่อการชะลอความเสื่อมเสียของน้ำพริกแกงทั้ง 4 ชนิด ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.13 (ก)-(ง) ทั้งนี้เนื่องจาก pH ของน้ำพริกแกงตำรับที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีค่าสูงกว่า 5.0 ซึ่งที่ pH นี้วัตถุกันเสียทั้งสองออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ไม่ดี (Luck and Jager, 1997) จึงไม่สามารถยืดอายุการเก็บได้

ตาราง 4.13(ก) เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียและผลวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสในน้ำพริกแกงเผ็ดที่ทำการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

	น้ำพริกแกงเผ็ด Control				น้ำพริกแกงเผ็ด benzoate 500ppm				น้ำพริกแกงเผ็ด sorbate 500ppm			
วันที่	pH	YMC(CFU/g)	TBC(logCFU/g)	S.E.	pH	YMC(CFU/g)	TBC(logCFU/g)	S.E.	pH	YMC(CFU/g)	TBC(logCFU/g)	S.E.
1	5.50	0	5.46	4.50	5.50	0	5.28	4.55	5.50	0	5.20	4.45
2	5.49	0	-	4.35	5.48	0	-	4.30	5.51	0	-	4.40
3	5.49	0	5.58	3.75	5.48	0	5.55	3.50	5.51	0	5.47	3.80
5	*5.52*	*0.22*	*6.71*	*2.55*	*5.52*	*1.10*	*6.64*	*2.55*	*5.53*	*2.20*	*6.73*	*2.55*
7	5.44	1.65	7.44	1.55	5.44	0.55	7.56	1.50	5.45	0.55	7.39	1.50
13	5.44	0	7.82	1.00	5.45	0	7.79	1.00	5.45	0	7.82	1.10

ตาราง 4.13(ข) เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียและผลวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสในน้ำพริกแกงเขียวหวานที่ทำการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

	น้ำพริกแกงเขียวหวาน Control				น้ำพริกแกงเขียวหวาน benzoate 500ppm				น้ำพริกแกงเขียวหวาน sorbate 500ppm			
วันที่	pH	YMC(CFU/g)	TBC(logCFU/g)	S.E.	pH	YMC(CFU/g)	TBC(logCFU/g)	S.E.	pH	YMC(CFU/g)	TBC(logCFU/g)	S.E.
1	5.59	0	5.47	4.70	5.60	0	5.52	4.60	5.60	0	5.42	4.70
2	5.58	0	-	4.20	5.56	0	-	4.10	5.56	0	-	4.20
3	*5.58*	*0*	*7.57*	*2.55*	*5.59*	*0*	*7.59*	*2.55*	*5.60*	*0*	*7.57*	*2.75*
5	5.69	1.65	7.69	1.70	5.65	0.55	7.66	1.45	5.68	3.35	7.67	1.60
7	5.58	0	-	1.20	5.58	0	-	1.20	5.58	0	-	1.20

S.E. : sensory evaluation

YMC (Yeast Mold Count) เลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 7 วัน

TBC (Total Bacterial Count) เลี้ยงบนอาหาร PCA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 1 วัน

หมายเหตุ: ตัวเลขที่ขีดเส้นใต้แสดงผลวิเคราะห์ต่างๆ ในวันที่ผู้ทดสอบไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>ตาราง 4.13(ค)</u> เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียและผลวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสในน้ำพริกแกงส้มที่ทำการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

	น้ำพริกแกงส้ม Control				น้ำพริกแกงส้ม benzoate 500ppm				น้ำพริกแกงส้ม sorbate 500ppm			
วันที่	pH	YMC(CFU/g)	TBC(logCFU/g)	S.E.	pH	YMC(CFU/g)	TBC(logCFU/g)	S.E.	pH	YMC(CFU/g)	TBC(logCFU/g)	S.E.
1	5.71	8.35	5.78	3.80	5.70	11.65	5.64	3.80	5.69	11.65	5.60	3.70
<u>2</u>	***5.66***	***9.70***	-	***<u>3.00</u>***	***5.64***	***10.00***	-	***<u>3.00</u>***	***5.64***	***10.00***	-	***<u>2.85</u>***
3	5.66	10.00	7.64	1.50	5.63	6.70	7.44	1.55	5.63	11.65	7.72	1.60
5	5.68	7.25	7.84	1.15	5.68	11.65	7.72	1.25	5.67	10.00	8.02	1.20

<u>ตาราง 4.13(ง)</u> เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียและผลวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสในน้ำพริกแกงมัสมั่นที่ทำการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

	น้ำพริกแกงมัสมั่น Control				น้ำพริกแกงมัสมั่น benzoate 500ppm				น้ำพริกแกงมัสมั่น sorbate 500ppm			
วันที่	pH	YMC(CFU/g)	TBC(logCFU/g)	S.E.	pH	YMC(CFU/g)	TBC(logCFU/g)	S.E.	pH	YMC(CFU/g)	TBC(logCFU/g)	S.E.
1	5.30	0	5.54	4.65	5.29	0	5.44	4.60	5.28	0	5.48	4.60
2	5.23	0	-	4.60	5.21	0	-	4.50	5.22	0	-	4.50
3	5.19	0	5.49	4.30	5.20	0	5.48	4.45	5.18	0	5.52	4.40
5	5.23	0	6.78	3.55	5.22	1.10	6.82	3.55	5.23	2.20	6.85	3.55
7	5.17	1.10	7.58	3.15	5.17	1.10	7.52	3.30	5.17	0	7.56	3.30
<u>13</u>	***5.16***	***0***	***<u>7.89</u>***	***<u>2.40</u>***	***5.15***	***0***	***<u>7.90</u>***	***<u>2.40</u>***	***5.17***	***0.55***	***<u>7.94</u>***	***<u>2.40</u>***
20	5.18	0	-	1.35	5.17	0	-	1.35	5.16	0	-	1.25

S.E. : sensory evaluation

YMC (Yeast Mold Count) เลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 7 วัน

TBC (Total Bacterial Count) เลี้ยงบนอาหาร PCA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 1 วัน

หมายเหตุ: ตัวเลขที่ขีดเส้นใต้แสดงผลวิเคราะห์ต่างๆ ในวันที่ผู้ทดสอบไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์

6. ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราบางชนิดด้วยน้ำพริกแกง

การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราที่พบในน้ำพริกแกงและผลของความร้อนต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราดังกล่าว โดยผสมน้ำพริกแกงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar เปรียบเทียบระหว่างน้ำพริกแกงที่ไม่ผ่านความร้อนและน้ำพริกแกงที่ผ่านความร้อน พบว่าน้ำพริกแกงที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ใน water bath ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของราได้ดังในตารางที่ 4.11 ทั้งนี้เนื่องจากการให้ความร้อนทำให้น้ำพริกแกงสูญเสียน้ำมันหอมระเหยบางส่วนซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของรา ส่วนน้ำพริกแกงที่ไม่ผ่านความร้อนสามารถยับยั้งการเจริญของรา *Paecilomyces* sp. ได้บางส่วน แต่ยับยั้งรา *Penicillium citrinum* ได้ดียกเว้นน้ำพริกแกงส้ม ทั้งนี้ บัญญัติ สุขศรีงาม (2518) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของรา *Penicillium* sp. โดยเครื่องเทศหลายชนิด พบว่า กานพลู ข่า ตะไคร้ และผิวมะกรูด มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของราดังกล่าว ส่วนพริกไทย กระวาน อบเชย หอมแดง และกระเทียม พบฤทธิ์ยับยั้งได้ต่ำถึงไม่ยับยั้งเลย นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำพริกแกงทุกชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของรา

Monascus sp. 2 สายพันธุ์ และ *Aspergillus niger* ได้ไม่ดีจนถึงไม่พบการยับยั้งเลย ทั้งนี้ บัญญัติ สุขศรีงาม (2518) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของรา *Aspergillus* sp. พบว่า กานพลู ข่า และ อบเชย มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของราดังกล่าวแต่ออกฤทธิ์ได้น้อยกว่ารา *Penicllium* sp. ส่วนผิวมะกรูดและกระเทียมมีฤทธิ์ยับยั้งเล็กน้อย สำหรับ ดอกจันทน์ ตะไคร้ พริกขี้หนู พริกไทย และลูกจันทน์ ไม่พบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของราทุกชนิดที่ใช้ทดสอบ ในขณะที่หอมแดงมีฤทธิ์ส่งเสริมการสร้างสปอร์ของ *Aspergillus* sp. นอกจากนี้ยังพบว่าเครื่องเทศส่วนใหญ่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Rhizopus* sp. ได้ดีซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ จากการศึกษาราในน้ำพริกแกงจะเห็นได้ว่ามีรา *A. niger Monascus* sp. และ *Paecilomyces* sp. ปนเปื้อนในปริมาณมาก เนื่องจากน้ำพริกแกงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของราดังกล่าวต่ำ ส่วนรา *Penicillium citrinum* ซึ่งพบมากในเครื่องเทศแต่กลับพบเพียงเล็กน้อยในน้ำพริกแกงและพบเฉพาะในน้ำพริกแกงส้มและน้ำพริกแกงมัสมั่นซึ่งเป็นไปตามผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่าน้ำพริกแกงส้มมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของรา *Penicillium* ได้ต่ำส่วนในน้ำพริกแกงมัสมั่นน่าจะเป็นเพราะกระบวนการผลิตน้ำพริกแกงชนิดนี้ซึ่งมีการให้ความร้อนก่อนทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของราดังกล่าวลดลง

ส่วนการสกัดน้ำมันหอมระเหยในน้ำพริกแกงทั้ง 4 ชนิด โดยการกลั่นด้วยน้ำ (hydro distillation) สามารถสกัดน้ำมันได้ในปริมาณต่ำ โดยน้ำพริกแกงเผ็ดสกัดได้ 0.25 มิลลิลิตร น้ำพริกแกงเขียวหวานสกัดได้ 0.30 มิลลิลิตร น้ำพริกแกงส้มสกัดได้ 0.05 มิลลิลิตร และน้ำพริกแกงมัสมั่นสกัดได้ 0.40 มิลลิลิตร ซึ่งไม่เพียงพอต่อการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญของรา ทั้งนี้เนื่องจากเครื่องเทศหลัก เช่น พริก หอม กระเทียมข่า และ กระชาย มีน้ำมันหอมระเหยในปริมาณต่ำ (นิจศิริ เรื่องรังษี, 2542 และ บัญญัติ สุขศรีงาม, 2518) นอกจากนี้เมื่อสกัดสารจากน้ำพริกแกงด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อพบว่าสารสกัดดังกล่าวไม่พบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของราทั้ง 5 ชนิด ดังนั้นควรเลือกใช้ตัวทำละลายให้เหมาะสมในการสกัดสารดังกล่าว

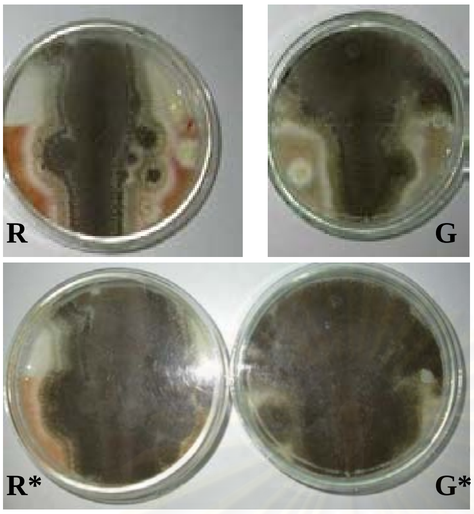
<u>ตารางที่ 4.14</u> ประสิทธิภาพของน้ำพริกแกงที่ผ่านและไม่ผ่านความร้อนในการยับยั้งการเจริญของราบางชนิด

น้ำพริกแกง	ประสิทธิภาพของน้ำพริกแกงในการยับยั้งรา				
	Aspergillus niger	*Monascus* sp.(1)	*Monascus* sp.(2)	*Paecilo-myces* sp.	*Penicillium citrinum*
น้ำพริกแกงเผ็ด	3	4	4	2	0
น้ำพริกแกงเขียวหวาน	3	4	4	2	0
น้ำพริกแกงส้ม	3	4	4	2	4
น้ำพริกแกงมัสมั่น	3	4	4	2	0
น้ำพริกแกงเผ็ด*	4	4	4	4	4
น้ำพริกแกงเขียวหวาน*	4	4	4	4	4
น้ำพริกแกงส้ม*	4	4	4	4	4
น้ำพริกแกงมัสมั่น*	4	4	4	4	4

0 - 4 : ระดับการเจริญของรา จากไม่พบการเจริญเลยถึงมีการเจริญเท่ากับในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ผสมน้ำพริกแกง

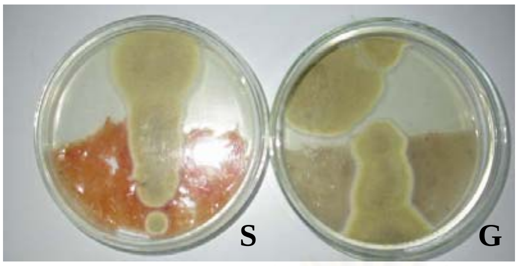
* ผ่านความร้อน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

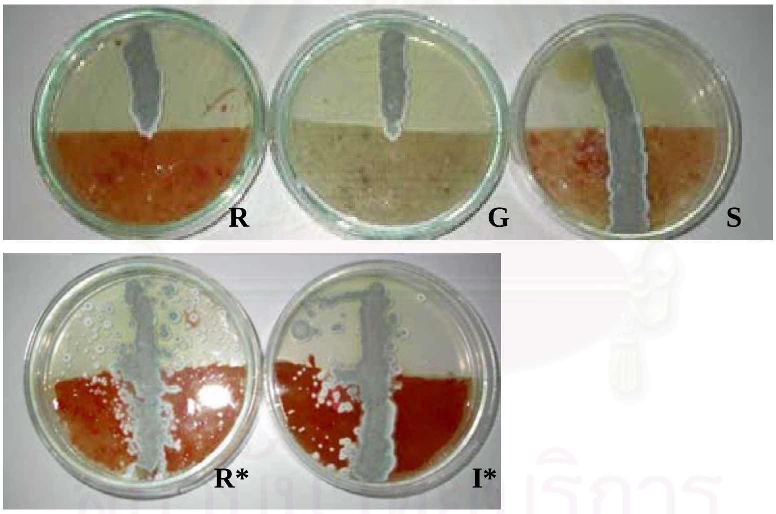


<u>รูปที่ 4.5</u> ประสิทธิภาพของน้ำพริกแกงในการยับยั้ง
การเจริญของ *Aspergillus niger*
เลี้ยงบน PDA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 5วัน
R : น้ำพริกแกงเผ็ด R* : น้ำพริกแกงเผ็ด(ผ่านความร้อน)
G : น้ำพริกแกงเขียวหวาน G* : น้ำพริกแกงเขียวหวาน(ผ่านความร้อน)

<u>รูปที่ 4.6</u> ประสิทธิภาพของน้ำพริกแกงในการยับยั้ง
การเจริญของ *Monascus* spp.
เลี้ยงบน PDA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 5วัน
G : น้ำพริกแกงเขียวหวาน G* : น้ำพริกแกงเขียวหวาน(ผ่านความร้อน)



รูปที่ 4.7 ประสิทธิภาพของน้ำพริกแกงในการยับยั้ง
การเจริญของ *Paecilomyces* sp.
เลี้ยงบน PDA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 5วัน
S : น้ำพริกแกงส้ม G : น้ำพริกแกงเขียวหวาน



รูปที่ 4.8 ประสิทธิภาพของน้ำพริกแกงในการยับยั้งการเจริญของ
Penicillium citrinum
เลี้ยงบน PDA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 5วัน
R : น้ำพริกแกงเผ็ด G : น้ำพริกแกงเขียวหวาน S : น้ำพริกแกงส้ม
R* : น้ำพริกแกงเผ็ด(ผ่านความร้อน) I* : น้ำพริกแกงมัสมั่น(ผ่านความร้อน)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การตรวจปริมาณราในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำพริกแกงพบว่ากระเทียมเป็นเครื่องเทศที่พบราปริมาณมากที่สุด (4.92 $\pm$ 0.39 logCFU/g) ส่วนข่าเป็นเครื่องเทศที่พบราน้อยที่สุด (0.08 $\pm$ 0.20 logCFU/g) นอกจากนี้ หอมแดง รากผักชี พริกชี้ฟ้าแห้ง และตะไคร้ พบราสูงกว่า 3 logCFU/g ส่วนพริกขี้หนูสด กระชาย ผิวมะกรูด และพริกชี้ฟ้าเขียว พบราต่ำกว่า 3 logCFU/g ราที่พบมากที่สุด ได้แก่ *Aspergillus niger Penicillium citrinum* และ *P. corylophilum* ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ *A. aculeatus A. flavus* และ *Cladosporium* spp. สำหรับรา *A. flavus* สายพันธุ์ที่สามารถผลิตอะฟลาทอกซินได้นั้นพบในพริกชี้ฟ้าแห้ง ผิวมะกรูด พริกขี้หนู และกระชาย ทั้งนี้พบว่าเครื่องเทศทั้ง 10 ชนิด มีปริมาณอะฟลาทอกซินปนเปื้อนต่ำกว่า 20 ppb ซึ่งจากประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน (2529) กำหนดให้อาหารทั่วไปมีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนได้ไม่เกิน 20 ppb โดยพบว่าพริกชี้ฟ้าแห้ง พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้าเขียว ตะไคร้ และกระชาย ปนเปื้อนอะฟลาทอกซินต่ำกว่า 5 ppb ข่าและผิวมะกรูดพบอะฟลาทอกซินปนเปื้อนสูงในบางตัวอย่างแต่ไม่เกิน 20 ppb ส่วนหอมแดง กระเทียม และรากผักชีตรวจไม่พบอะฟลาทอกซินปนเปื้อน

สำหรับเครื่องเทศอื่นๆ ซึ่งใช้ในปริมาณน้อยและมีค่า water activity ต่ำกว่า 0.6 ซึ่งได้แก่ พริกไทย ลูกผักชี ยี่หร่า กานพลู กระวาน อบเชย ลูกจันทน์ และดอกจันทน์ พบว่าลูกจันทน์ ยี่หร่า และกระวาน เป็นเครื่องเทศที่พบราในปริมาณมากกว่า 3 logCFU/g ในขณะที่กานพลูและอบเชยพบรามากกว่า 2 logCFU/g ส่วนพริกไทย ลูกผักชี และดอกจันทน์พบราประมาณ 1-2 logCFU/g ทั้งนี้ราที่พบส่วนใหญ่ ได้แก่ *A. niger A. flavus และ Rhizopus oligosporus* ซึ่งรา *A. flavus* ที่พบทุก isolatesสามารถผลิต อะฟลาทอกซินได้ โดยพบใน ยี่หร่า กระวาน กานพลู ลูกจันทน์ และดอกจันทน์ นอกจากนี้พบว่ากานพลูและลูกจันทน์เป็นเครื่องเทศที่ตรวจพบอะฟลาทอกซินปนเปื้อนสูงที่สุดที่ 46.21 และ 42.28 ppb ตามลำดับ ส่วนเครื่องเทศอื่นๆพบ อะฟลาทอกซินปนเปื้อนต่ำกว่ามาตรฐานและตรวจไม่พบ อะฟลาทอกซินในลูกผักชี

การตรวจปริมาณราในน้ำพริกแกงพบว่าน้ำพริกแกงส้มเป็นน้ำพริกแกงที่มีโอกาสพบราปนเปื้อนมากที่สุด (2.40 $\pm$ 1.03 logCFU/g) รองลงมาได้แก่ น้ำพริกแกงเผ็ด (1.44 $\pm$ 1.12 logCFU/g) ราที่พบในน้ำพริกแกงส่วนใหญ่ ได้แก่ *A. niger, Monascus* spp. และ *Paecilomyces* spp. ตามลำดับ ทั้งนี้พบว่าน้ำพริกแกงทุกตัวอย่างมีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนต่ำกว่า 20 ppb ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ที่ 429-2525 (2525) สำหรับการวิเคราะห์การใช้วัตถุกันเสียพบว่ามีการใช้เบนโซเอตเกินกว่า 1000 ppm ถึงร้อยละ 40 ของน้ำพริกแกง

ทั้งหมด ส่วนร้อยละ 20 ไม่พบการใช้ เบนโซเอต และไม่พบการใช้ซอร์เบตในน้ำพริกแกงทุกตัวอย่างที่ทำการตรวจสอบ น้ำพริกแกงส่วนใหญ่มี pH สูงกว่า 4.5 ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการใช้วัตถุกันเสียดังกล่าวเนื่องจากมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ต่ำ

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องพบว่าน้ำพริกแกงส้มมีอายุการเก็บ 2 วัน น้ำพริกแกงเขียวหวานมีอายุการเก็บ 3 วัน น้ำพริกแกงเผ็ดมีอายุการเก็บ 5 วัน และน้ำพริกแกงมัสมั่นมีอายุการเก็บนานถึง 13 วัน นอกจากนี้พบว่าการใช้โซเดียมเบนโซเอตและการใช้โพแทสเซียมซอร์เบตที่ความเข้มข้น 500 ppm ไม่มีผลต่อการชะลอการเสื่อมเสียของน้ำพริกแกงตำรับที่ใช้ในการวิจัยนี้ ส่วนฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของราด้วยน้ำพริกแกงพบว่าน้ำพริกแกงเผ็ด น้ำพริกแกงเขียวหวาน และน้ำพริกแกงมัสมั่นมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *P. citrinum* ในขณะที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของรา *Paecilomyces* sp. *A. niger* และ *Monascus* sp. ได้ต่ำจนไม่พบฤทธิ์ยับยั้งเลย ตามลำดับ ดังนั้นจึงแทบไม่พบรา *Penicillium* ในน้ำพริกแกงดังกล่าว แต่พบรา *A. niger* *Monascus* spp. และ *Paecilomyces* spp. เนื่องจากน้ำพริกแกงออกฤทธิ์ยับยั้งราเหล่านั้นได้ไม่ดี ส่วนน้ำพริกแกงส้มยับยั้งราทุกชนิดไม่ได้เลยดังนั้นจึงพบรามากกว่าน้ำพริกแกงชนิดอื่นๆ

การประกอบอาหารด้วยน้ำพริกแกงโดยผ่านความร้อนจะสามารถช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์และอะฟลาทอกซินได้ในบางส่วน นอกจากนี้การใช้น้ำพริกแกงในการปรุงแกงต่างๆ ยังมีการผสมน้ำหรือกะทิเพื่อให้ได้แกงที่มีความเข้มข้นตามต้องการ ซึ่งจะช่วยเจือจางสารเคมีและจุลินทรีย์ได้อีกทาง แต่ในปัจจุบันมีการใช้น้ำพริกแกงในการปรุงอาหารประเภทอื่นๆ มากขึ้นดังที่ได้กล่าวข้างต้น เช่น ข้าวผัด ผัดเผ็ด หรือไส้ของว่างต่างๆ ทำให้มีโอกาสที่ผู้บริโภคจะได้รับสารต่างๆ ในปริมาณที่มากขึ้นด้วย ส่วนที่ต้องเน้นคือการให้การควบคุมปริมาณการใช้วัตถุกันเสียและวัตถุเจือปนอาหารอื่นๆ ในน้ำพริกแกงเนื่องจากการผสมสารเหล่านั้นในปริมาณมาก เป็นการสูญเปล่าดังที่ได้กล่าวไปแล้วโดยเฉพาะวัตถุกันเสีย และอาจมีผลกระทบคุณภาพของน้ำพริกแกงและความปลอดภัยของผู้บริโภค

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาปริมาณและชนิดของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ ตลอดจนปริมาณแบคทีเรียที่ทำให้น้ำพริกแกงเกิดการเสื่อมเสีย เพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมปริมาณแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในน้ำพริกแกง เนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มีการกำหนดมาตรฐานสำหรับปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำพริกแกง

2. ควรศึกษาการปรับลดค่า water activity และ pH ของน้ำพริกแกง รวมทั้งศึกษาการเก็บน้ำพริกแกงที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อชะลอความเสื่อมเสียของน้ำพริกแกง

3. ควรพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์อะฟลาทอกซินและสารพิษจากราอื่นๆ สำหรับน้ำพริกแกงและเครื่องเทศ เพื่อความรวดเร็วและความถูกต้องในการตรวจวิเคราะห์ เนื่องจากเครื่องเทศบางชนิดมีสารประกอบที่อาจรบกวนการวิเคราะห์

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

เกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2540. สารพิษจากเชื้อรา: อดีต ปัจจุบัน และอนาคต. ใน เปล่งศรี อิงคนินันท์ (บรรณาธิการ), สารพิษจากเชื้อรา: ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์ / การประชุมวิชาการในวาระ 80ปี แห่งการสถาปนาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จัดโดยคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, หน้า 1-11.

คณาจารย์จากวิทยาลัยในวัง. 2536. ตำรับอาหารวิทยาลัยในวัง. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แสงแดด.

คำนึง คำอุดม. 2530. พริกไทย: พืชกลุ่มน้อยที่มีค่า. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม.

จุมพล สาระนาค, อรพรรณ วิเศษสังข์ และ จักรพงษ์ เจิมศิริ. 2540. คู่มือนักวิชาการภาคสนามโรคผัก. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: ฝ่ายวิเคราะห์และบริการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขต6 กรมวิชาการเกษตร.

ดวงพร คัณธโชติ. 2530. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม: ผลิตภัณฑ์ของจุลินทรีย์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮ้า.

ทวีศักดิ์ เกษปทุม. 2538. น้ำพริก: อาชีพแก้จน. กรุงเทพมหานคร: บริษัท แม่บ้าน จำกัด.

นภาพร โออริยกุล. 2530. การวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา. เล่ม 1. เชียงใหม่: ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

นิจศิริ เรืองรังษี. 2542. เครื่องเทศ. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นิตยา กันหลง. 2543. สมุดภาพโรคสำคัญของพืชสกุลหอมกระเทียมในประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2518. ประสิทธิภาพของเครื่องเทศบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527. เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร. เล่มที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์อมรการพิมพ์.

บุษบา ยงสมิทธ์. 2542. จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร:

สำนักพิมพ์มาหวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พรรณกร อิ่มวิทยา. 2535. เชื้อราก่อโรคในคน. กรุงเทพมหานคร: คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.

มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2541. พริก. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2535. พืชเครื่องเทศและสมุนไพร: ตำราเอกสารวิชาการ ฉบับที่ 59. กรุงเทพมหานคร: ภาคพัฒนาตำราและเอกสารวิชาการ หน่วยศึกษานิเทศก์ กรมการฝึกหัดครู.

วิทยา สังข์ทอง. 2543. สารพิษอะฟล่าในน้ำนม. ใน กองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์, การแก้ปัญหาอะฟลาทอกซินในอาหารโคนมตามโครงการแก้ปัญหาอะฟลาทอกซินในอาหารและอาหารสัตว์แบบครบวงจรในส่วนรับผิดชอบของกรมปศุสัตว์ ปีงบประมาณ 2539-2543. หน้า 123-129. กองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์.

ศมนีย์ ศุขรุ่งเรือง. 2529. เชื้อราก่อโรคและโรคเชื้อรา. กรุงเทพมหานคร: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ศรีสมร คงพันธุ์. 2543. กับข้าว จานเครื่องแกง. พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แสงแดด.

ศูนย์สารสนเทศเศรษฐกิจการค้า. 2545. ตลาดส่งออกเครื่องแกงสำเร็จรูป 10 ประเทศแรกของไทย. กรุงเทพมหานคร: กรมเศรษฐกิจการพาณิชย์. (อัดสำเนา)

สภาสตรีแห่งชาติ. 2516. ตำรับแกงไทยและเทศของสภาสตรีแห่งชาติ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ส่วนท้องถิ่นกรมการปกครอง.

สมศรี เจริญเกียรติกุล, วงสวาท โกศัลวัฒน์, วิสิฐ จะวะสิต, สมเกียรติ โกศัลวัฒน์, วนิภา โรจน์รุ่งวศินกุล และ อทิตาดา บุญประเดิม. 2545. รายงานวิจัยเรื่องคุณค่าอาหารไทยเพื่อสุขภาพ (Nutritive Values of Healthy Thai Foods). กรุงเทพมหานคร: สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สิริพร สธนเสาวภาคย์, ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ และ กาญจนิจ วาจนะวินิจ. 2539. การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในวัตถุดิบสำหรับผลิตน้ำพริกสำเร็จรูปและการศึกษาระยะเวลาในการอบเพื่อลดปริมาณ. วิทยาสารเกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์ 30: 193-199.

สุดารัตน์ บุญจันทร์ และ อุษณีย์ เพชรสุรีย์. 2537. การศึกษาการปนเปื้อนของราและความสามารถในการสร้างสารอะฟลาทอกซินโดย *Aspergillus flavus* สายพันธุ์ที่แยกได้จากเครื่องเทศและสมุนไพร. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

สุพจน์ ศิวานเภสัช. 2543. สมุนไพรเครื่องเทศและพืชปรุงแต่งกลิ่นรส. กรุงเทพมหานคร: บริษัทสำนักพิมพ์ประสานพันธ์สาส์น จำกัด.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สุมณฑา วัฒนสินธุ์, สมโภช พจนพิมล, วรางคณา สมพงษ์, สิริพร พิพัฒน์สัตยานุวงศ์ และ สายสนม ประดิษฐ์ดวง. 2543. การพัฒนาเทคโนโลยีการเก็บรักษาเครื่องแกงเผ็ดและอาหารเครื่องปรุงแต่งกลิ่น-รสของไทย (Application of Hurdle Technology to Extend the Shelf-life of Thai Food Flavouring Ingredients). ปทุมธานี: ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

สุรัตนา อำนวยผล. 2537. สมุนไพรที่ใช้ในโรคติดเชื้อและโรคมะเร็ง. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สุวิชา คุประดินันท์. 2540. การตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา. ใน เปล่งศรี อิงคนินันท์ (บรรณาธิการ), สารพิษจากเชื้อรา: ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์ / การประชุมวิชาการในวาระ 80ปี แห่งการสถาปนาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จัดโดยคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, หน้า 211-214.

สุวิมล กีรติพิบูล. 2543. GMP ระบบการจัดการและควบคุมการผลิตอาหารให้ปลอดภัย. กรุงเทพมหานคร: สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, กระทรวงสาธารณสุข. 2527. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84. เรื่อง "วัตถุเจือปนอาหาร".

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, กระทรวงสาธารณสุข. 2529. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98. เรื่อง "มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน".

สำนักงานมาตรผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2525. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำพริกแกง. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

อนงค์ บินฑวิหค. 2543. ผลของสารพิษจากเชื้อราที่มีต่อคุณภาพอาหารสัตว์ และ อะฟลาท็อกซิน: การเกิดมะเร็งตับ. ใน กองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์. การแก้ปัญหาอะฟลาทอกซินในอาหารโคนมตามโครงการแก้ปัญหาอะฟลาทอกซินในอาหารและอาหารสัตว์แบบครบวงจรในส่วนรับผิดชอบของกรมปศุสัตว์ ปีงบประมาณ 2539-2543 กองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์. หน้า 149-157, 167-172.

อมรา ชินภูติ. 2546. ปัญหาสารพิษ Aflatoxin ในถั่วลิสงและการวิเคราะห์สารพิษ Aflatoxin ในถั่วลิสง. ใน สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. เอกสารประกอบการฝึกอบรม: การถ่ายทอดเทคโนโลยีการแปรรูปถั่วลิสงปลอดสารพิษ Aflatoxin. หน้า 14-27. กรุงเทพมหานคร: สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อัจฉรา พัฒนเดช, วสันณ์ เพชรรัตน์, เสมอใจ ชื่นจิตต์, สุทธิรักษ์ แซ่หลิม และ อมรา ชินภูติ. 2544. เชื้อรา *Aspergillus* ที่สร้างแอฟลาทอกซินบี 1 ในพืชสมุนไพรตากแห้ง. วารสารสงขลา

นครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 23: 499-514.

อินทิรา กระหม่อมทอง. 2540. เชื้อราที่สร้างสารพิษ. ใน เปล่งศรี อิงคนินันท์ (บรรณาธิการ), สารพิษจากเชื้อรา: ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์ / การประชุมวิชาการในวาระ 80ปี แห่งการสถาปนาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จัดโดยคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, หน้า 61-84.

ภาษาอังกฤษ

Adelaide Science Online, and Gailead Science. Mycology Online [Online]. (n.d.) Available from: http://www.mycology.adelaide.edu.au [2003, July, 17]

Agrios, G. N. 1988. Plant Pathology. 3 rd ed. New York: Academic Press.

Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., and Blackwell, M. 1996. Introductory Mycology. 4 th ed. New York: John Wiley & Sons Inc.

Amla, I., Kamala, C. S., Dopalakrishna, G. S., Jayaraj, P. S., Murthy, V., and Parpia, H. A. B. 1971. Cirrhosis in children from peanut meal contaminated by aflatoxin. Am. J. Clin. Nutr. 24: 609-614.

American Spice Trade Association (ASTA). 1960. Official Analytical Methods of the American Spice Trade Association (First and Final Action). New York: American Spice Trade Association Inc.

Aziz, N. H., and Youssef, Y. A. 1991. Occurrence of aflatoxins and aflatoxin-producing moulds in fresh and processed meat in Egypt. Food Addit. Contam. 3: 321-331.

Aziz, N. H., Youssef, Y. A., El-Fouly, M. Z., and Moussa, L. A. 1998.Contamination of some common medicinal plant samples and spices by fungi and their mycotoxins. Bot. Bull. Acad. Sin. 39: 279-285.

Barnett, H. L., and Hunter, B. B. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4 th ed. Minnesota: The American Phytopathological Society Press.

Booth, C. 1971. Methods in Microbiology, Vol.4. London: Academic Press.

Bosund, I. 1960. The bacteriostatic action of benzoic and salicylic acids on the metabolism of microorganisms. Adv. Food Res. 11:331-353.

Brannen, A. L., Davidson, P. M., and Katz, B. 1980. Antimicrobial properties of phenolic antioxidants and lipids. Food Technol. 34:5,42.

Bremness, L. 1994. Herbs. London: Darling Kindersley.

Bui, L. and Kooper, C. 1987. Reverse-phase liquid chromatographic determination of benzoic and sorbic acids in foods. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 70:892-896.

Bullerman, L. B. 2000. Mycotoxins: Classification. In R. K. Robinson, C. A. Batt, P. D. Patel. (eds.), Encyclopedia of Food Microbiology, pp.1512-1520. Bath: Academic Press.

Bullerman, L. B., Lieu, F. Y., and Seier, S. A. 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. J. Food Science. 42: 1107-1109, 1116.

Burmeister, R. 1971. T-2 toxin producing by *Fusarium tricintum* on solid substrates. Appl. Microbiol. 21: 739-742.

Charlie, M. L., and Watkinson, S. 1994. The Fungi. London: Academic Press.

Chia, M. 1998. The Food of Asia: authentic recipes from China, India, Indonesia, Japan, Singapore, Malaysia, Thailand and Vietnam. Singapore: Periplus.

Chinaphuti, A., Trikarunasawat, C. Wongurai, A., and Kositcharoenkul, S. 2002. Production of in-house ELISA test kit for detection of aflatoxin in agricultural commodities and their validations. Kasetsart J. (Nat.Sci.) 36: 179-186.

Christensen, C. M. 1987. Field and storage fungi. In L. R. Beuchat. (ed.), Food and Beverage Mycology. 2 nd ed., pp. 211-237. New York: Van Nostrand Reinhold.

Cochran, W. G., and Cox, G. M. 1992. Experimental Design. 2 nd ed. New York: John Wiley and Sons.

Cowan, M. M. 1999. Plant productions as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews. 12: 564-582.

Davidson, P. M., and Juneja, V. K. C. 1989. Antimicrobial Agents. In A. L. Branen, P. M. Davidson, and S. Salmine. (eds.), Food Additives. New York: Marcel Dekkel, Inc.

Delcourt, A. Rousset, A., and Lemaitre, J. P. 1994. Microbial and mycotoxic contamination of peppers and food safety. Boll. Chin. Farm. 133: 235-238.

Doctor Fungus Corporation. Doctor Fungus [Online]. 2001. Available from: http://www.doctorfungus.org[2003, July, 17]

Eklund, T. 1980. Inhibition of growth and uptake processes in bacteria by some chemical food preservatives. J. Appl. Bacteriol. 48:423-432.

Eklund, T. 1983. The antimicrobial effect of dissociated and undissociated sorbic acid at different pH levels. J. Appl. Bacteriol. 54:383-389.

Eklund, T. 1985. The effect of sorbic acid and esters of p-hydroxybenzoic acid on the proton-motive force in *Escherichia coli* membrane vesicles. J. Gen. Microbiol. 131:73-76.

El-Kady, I. A., El-Maraghy, S. S., and Eman, M. M. 1995. Natural occurrence of mycotoxins in different spices in Egypt. Folia Microbial (Praha). 40: 297-300.

Ellis, M. B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Surrey: CAB International.

FAO. 1990. Manuals of Food Quality Control 10: Training in Mycotoxins Analysis. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Fraizer, W. C., and Westhoff, D. C. 1988. Food Microbiology. 4 th ed. Singapore: McGraw-Hill.

Freese, E., and Levin, B. C. 1978. Action mechanisms of preservatives and antiseptics. Dev. Ind. Microbiol. 19:207-227.

Freire, F. C., Kozakiewicz, Z., and Paterson, R. R. 2000. Mycoflora and mycotoxins in Brazilian black pepper, white pepper and Brazil nuts. Mycopathologia. 149: 13-19.

Gould, G. W., Brown, M. H., and Fletcher, B. C. 1983. Mechanisms of action of preservation procedures. Soc. Appl. Bacteriol. Symp. Series 11:67-84.

Hartog, B. J., Samson, R. A., and Veric, J. D. 1986. Serious impairment of raliable preservative systems by sorbic acid resistance fungi. Proc XIV. Int. Congr. Microbiol. pp. 98

Harrigan, W. F. 1998. Laboratory Methods in Food Microbiology. San Diego: Academic Press.

Horwitz, W., ed. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17 th ed. Gaithersburg. AOAC International.

International Commission on Microbiological Specifications for Food (ICMSF). 1982. Microorganisms in Food. 2 nd ed. New York: Academic Press.

Jay, J. M. 2000. Modern Food Microbiology. 6 th ed. Gaithersburg: Aspen Publishers.

Johnson, M. G., and Uaught, R. H. 1969. Death of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* in the presence of freshly reconstituted dehydrated garlic and onion. Appl. Microbiol. 17: 903-905.

Joint Mycotoxin Committee. 2001. Technical Committee report. J. AOAC International. 84: 303-308.

Kahn, S. Murawski, M., and Sherma, J. 1994. Quantitative high performance thin layer chromatographic determination of organic preservatives in beverages. J. Liquid Chromatogr. 17:855-865.

Kantasubrata, J., and Imamkhasani, S. 1991. Analysis of additives in fruit juice using HPLC. ASEAN Food J. 6:155-158.

Kawashima, K., Siriacha, P., Kawasugi, S., Saito, M., Okazaki, H., Tanboon-Ek, P., Manaba, M., and Buangsuwan, D. 1990. Studies on Quality Preservation of Maize by the Prevention of Aflatoxin Contamination in Thailand Part II. Bangkok: Department of Agriculture.

Kinderlerer, J. and Hatton, P. V. 1990. Fungal metabolites of sorbic acid. Food Addit. Contam. 7: 657-669.

King, A. D., Hocking, A. D., and Pitt, J. T. 1981. The mycoflora of some Australian foods. Food Technol. Aust. 33: 55-60.

King, A. D., Pitt, J. I., Beuchat, L. R., and Corry, J. E. L. 1986. Methods for the Mycological Examination of Food. New York: Plenum Press.

Klich, M. A., and Pitt, J. I. 1992. A Laboratory Guide to Common Aspergillus species and their teleomorphs. New South Wales: Common Wealth Scientific and Industrial Research Organisation, Division of Food Processing.

Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C., Winn, W. C. Jr. 1994. Introduction to Diagnostic Microbiology. Philadelphia: J. B. Lippincott Company.

Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C., Winn, W. C. Jr. 1997. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5 th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers.

Krogh, B. 1976. Mycotoxic nephropathy. In C. A. Brancly, C. E. Cornelius and W. I. B. Beveridge (eds.), Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine, Vol.20. pp. 147-170. New York: Academic Press.

Kupper, F. J., and Jans, J. A. 1988. Reverse-phase liquid chromatographic determination of benzoic and sorbic acids in fresh cheese. J. Assoc. Off. Anal.

Chem. 71:1068-1071.

Lancaster, M. C., Jerkins, F. B., and Philip, J. M. 1961. Toxicity associated with certain samples of ground nuts. Nature. 192: 1095-1096.

Lee, L. S., Bayman, P., and Bennett, J. W. 1992. Mycotoxins. In D. B. Finkelstein and C. Ball (eds.), Biotechnology of Filamentous Fungi: Technology and Products, pp. 463-499. Boston: Butterworth-Heinemann.

Liewen, M. B., and Marth, E. H. 1985. Growth and inhibition of micro-organisms in the presence of sorbic acid: a review. J. Food Protect. 48: 364-375.

Lin, M. T., and Dianease, J. C. 1976. Coconut agar medium for rapid detection of aflatoxin production by *Aspergillus* spp. Phytopathology. 66:1466-1469.

Llewellyn, G. C., Mooney, R. L., Cheatle, T. F., and Flannigan, B. 1992. Mycotoxin contamination of spices – an update. Int. Biodeter. Biodegr. 29: 111-121.

Luck, E., and Jager, M. 1997. Antimicrobial Food Additives: Characteristics, Uses, Effects. 2 nd ed. Translated by Laichena, S. F. Berlin: Spinger.

Madhavan, T. V., Tupule, P. G., and Gopalan, C. 1965. Aflatoxin induced hepatic fibrosis in rhesus monkeys. Arch. Pathol. 79: 466-469.

Mahon, C. R., and Manuselis, G. 2000. Textbook of Diagnostic Microbiology. 2 nd ed. Philadelphia. W. B. Asunder Company.

Malloch, D. Moulds: Isolation, Cultivation, Identification [Online]. 1997. Available from: http://www.botany.utoronto.ca/ResearchLabs/MallochLab/Malloch/Moulds/ Contents.htm[2003, July, 17]

Martins, M. L., Martins, H. M., and Bernando, F. 2001. Aflatoxin in spices marketed in Portugal. Food Addit. Contam. 18: 315-319.

Martoadiprawito, W., and Whitaker, J. R. 1963. Potassium sorbate inhibition of yeast alcohol dehydrogenase. Biochem. Biophys. Acta. 77:536-544.

Mei-Chin Yin, and Wen-Shen Cheng. 1998. Inhibition of *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* by some herbs and spices. J. Food Protect. 61: 123-125.

Meyer, L. H.1971. Food Chemistry. 2 nd ed. New York: Reinhold.

Mishra, A. K., and Dubey, N. K. 1994. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causes deterioration of stored food commodities. Applied and Environmental Microbiology. 60: 1101-1105.

Nester, E. W., Robert, C. E., Pearsall, N. N., Anderson, D. G., and Nester, M. T. 1998. Microbiology :A Human Perspective. 2 nd ed. New York: McGraw-Hill.

Nielsen, P. V., and Rios, R. 2000. Inhibitory of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. Int. J. of Food Microbiol. 60: 219-229.

Nijs, M. D., and Notermans, S. H. W. 2000. Mycotoxins: Occurrence. In R. K. Robinson, C. A. Batt, P. D. Patel. (eds.), Encyclopedia of Food Microbiology, pp.1520-1526. Bath: Academic Press.

Northolt, M. D., Van Egmond, H. P., and Paulsch, W. E. 1977. Differences between *Aspergillus flavus* strains in growth and aflatoxin B1 production in relation to water activity and temperature. J. Food Protect. 70: 778-781.

Olea, S. Lopes, F., and Revilla, N. 1991. High performance liquid chromatography determination of chemical preservatives in yogurt. J. Liquid Chromatogr. 14:709-717.

Olsen, L. C., Bourgeouis, C. H., Cotton, R. B., Harikul, S., Grossman, R. A., and Smith, T. J. 1971. Encephalopathy and fatty degeneration of the viscera in north-eastern Thailand. Clinical Syndrome and Epidermiology, Pediatrics. 47: 707-716.

Onawunmi, G. O. 1989. Evaluation of the antimicrobial activity of citral. Letters in Applied Microbiology. 9:105-108.

Ozean, M., and Erkmen, O. 2001. Antimicrobial activity of the essential oils of Turkish plant spices. Eur. Food Res. Technol. 212: 658-660.

Pitt, J.I., and Hocking, A. D. 1997. Fungi and Food Spoilage. London: Blackie Academic & Professional.

Prayad Saiwichian. 1995. Thai Recipes I. 3 rd ed. Chiang Mai: Faculty of Education, Chiang Mai University.

Puttemans, M. L., Branders, C., Dryon, L., and Massart, D. L. 1985. Extraction of organic acids by ion-pair with tri-n-octylamine. Part 6. Determination of sorbic acid, benzoic acid, and saccharin in yogurt. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 68: 80-82.

Puttemans, M. L., Dryon, L., and Massart, D. L. 1984. Extraction of organic acids by ion-pair formation with tri-n-octylamine. Part V. Simultaneous determination of synthetic

dyes, benzoic acid, sorbic acid, and saccharin in soft drinks and lemonade syrups. J. Assco. Off. Anal. Chem. 67: 880-885.

Raabe, R. D., Conners, I. L., and Martinez, A. P. 1981. Checklist of plant diseases in Hawaii: including records of microorganisms, principally fungi, found in the state. Information Text Series 022. Hawaii Institue of Tropical Agriculture and Human Resource.

Raper, K. B., Thom, C., and Fennel, D. I. 1949. A Manual of the Penicillia. Baltimore: The Williams & Wilkins Company.

Raper, K. B., and Fennell, D. I. 1965. The Genus *Aspergillus*. Baltimore: The Williams & Wilkins Company.

Rippon, J. W. 1982. Medical Mycology. Philadelphia: W. B. Saunders Company.

Robach, M. C. 1980. Use of preservatives to control microorganisms in food. Food Technol. 34:10,81.

Rusul, G., and Marth, E. H. 1987. Growth and aflatoxin production by *A. parasiticus* NRRL 2999 in the presence of potassium benzoate or potassium sorbate at different initial pH values. J. Food Protect. 50: 820-825.

Saad, N. Aflatoxins: Occurrence and Health Risk [Online]. 2001. Available from: http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/aflatoxin/aflatoxin.html[2003, August, 1]

Samson, R. A. 1989. Filamentous fungi in food and feed. J. Appl. Bacteriology. Symposium suppl. 27s-35s.

Samson, R. A., Hoekstra, E. S., Frisvad, J. C., and Filtenborg, O. 2002. Introduction to Food- and Airborne Fungi. 6 th ed. Utrecht: Centraalbureau Voor Schimmelcultures (CBS).

Seelos, C. 1999. Lesson from Iraq on bioweapons. Nature. 398:187-188.

Sharma, A., and Pillai, M. R. A. 2000. Mycotoxins: Immunological techniques for detection and analysis. In R. K. Robinson, C. A. Batt, P. D. Patel. (eds.), Encyclopedia of Food Microbiology, pp.1532-1539. Bath: Academic Press.

Sharma, A., Tewari, G. M., Shrikhande, A. J., Padwal-Desai, S. R., and Bandyopadhyay, C. 1979. Inhibition aflatoxin producing fungi by onion extracts. J. Food Science 44: 1545-1547.

Shelef, L. A. 1983. Antimicrobial effects of spices. J. Food Safety. 6: 29-44.

Shrivastava, A., and Jain, P. C. 1992. Seed mycoflora of some spices. J. Food. Sci. Technol. India 29: 228-230.

Stroka, J., and Anklane, E. 2002. New strategies for the screening and determination of aflatoxins and the detection of aflatoxin-producing moulds in food and feed. Trends in Analytical Chemistry. 21: 90-95.

Uraih, N., and Chipley, J. R. 1976. Effect of various acids and salts on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* NRRL 314s. Microbios. 17: 51-59, 67.

Uraih, N., Cassity, T. R., and Chipley, J. R. 1977. Partial characterization of the mode of Action of benzoic acid on aflatoxin biosynthesis. Can. J. Microbiol. 23:1580-1584.

Waites, M. J., Morgan, N. L., Rockey, J. S., and Higton, G. 2001. Industrial Microbiology: an Introduction. London: Blackwell Science Ltd.

Wyllie, T. D., and Morehouse, L.,eds. 1997. Mycotoxic Fungi Mycotoxins, Mycotoxicoses: An Encyclopedia Handbook. New York: Marcel Dekker.

Zafriri, D., Ofek, I., Adar, R., Pocino, M., and Sharon, N. 1989. Inhibitory activity of cranberry juice on adherence of type 1 and type P fimbriated *E. coli* to eucaryotic cells. Antimicrobial Agants Chemotherapy. 33: 92-98.

Zaika, L. L. 1988. Spices and Herbs: Their antimicrobial activity and its determination. J. Food Safety. 9: 97-118.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก.

ก.1 การตรวจจำนวนยีสต์และราด้วยวิธี dilution plating **(ดัดแปลงจาก** ICMSF; 1982 **และ** Booth; 1997)

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี</u>

- Potato Dextrose Agar (PDA)
- สารละลายกรดทาร์ทาริก ความเข้มข้น 10 %
- สารละลายเกลือ (saline) ความเข้มข้น 0.85%

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อโดยละลาย PDA ในน้ำกลั่น จากนั้นฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที ปล่อยให้เย็นจนมีอุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส ปรับ pH ด้วยกรดทาร์ทาริก จนกระทั่งได้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มี pH ประมาณ 3.8

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. เตรียมตัวอย่างอาหารเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยชั่งตัวอย่างอาหารหนัก 25 กรัม ผสมสารละลายเกลือ (saline) ความเข้มข้น 0.85 % (v/w) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ใส่ในถุง stomacher
2. ตีตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่อง stomacher สารละลายนี้ถือเป็น dilution 10^{-1}
3. เจือจางสารละลาย 10^{-1} ด้วยสารละลายเกลือ จนได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยใช้ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ต่อสารละลายเกลือ 9 มิลลิลิตร
4. ปิเปตสารละลายเจือจางปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อเปล่าแล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 20 มิลลิลิตร ทับบนตัวอย่าง ผสมให้เข้ากัน หรือ ปิเปตสารละลายเจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ แล้วผสมให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วรูปตัว L ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ
5. ตั้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน โดยไม่กลับจานเพาะเชื้อ
6. นับจำนวนโคโลนีที่เจริญในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ หาค่าเฉลี่ยแล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง

ก.2 การตรวจจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (Total bacterial count) (ICMSF, 1982)

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี</u>

- Plate Count Agar (PCA)
- สารละลายเกลือ (saline) ความเข้มข้น 0.85%

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อโดยละลาย PCA ในน้ำกลั่น จากนั้นฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที ปล่อยให้เย็นจนมีอุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส ปรับ pH อาหารเลี้ยงเชื้อมี pH ประมาณ 6.8 $\pm$ 0.2

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. เตรียมตัวอย่างอาหารเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยชั่งตัวอย่างอาหารหนัก 25 กรัม ใส่ลงในสารละลายเกลือ (saline) ความเข้มข้น 0.85 % (v/w) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร
2. ตีตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่อง stomacher สารละลายนี้ถือเป็น dilution 10^{-1}
3. เจือจางสารละลาย 10^{-1} ด้วยสารละลายเกลือ จนได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยใช้ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ต่อสารละลายเกลือ 9 มิลลิลิตร
4. ปิเปตสารละลายเจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่เตรียมไว้ แล้วผสมให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วรูปตัว L ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ
5. กลับจานเพาะเชื้อแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง
6. นับจำนวนโคโลนีที่เจริญในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนเชื้อ 30-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยแล้วคำนวณผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง

ก.3 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (Samson et al., 2002)

1. <u>Potato Dextrose Agar (PDA)</u>

Potato Dextrose Agar (Powder)	39	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกัน ฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อมี pH ประมาณ 5.6 $\pm$ 0.1

2. <u>Plate Count Agar (PCA)</u>

Plate Count Agar (Powder)	23	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกัน ฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อมี pH ประมาณ 6.8 $\pm$ 0.2

3. Malt Extract Agar (MEA)

Malt extract	20	กรัม
Peptone	1	กรัม
Glucose	20	กรัม
Agar	20	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกัน ฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อมี pH ประมาณ 5.4 $\pm$ 0.2

4. Czapek Yeast Extract Agar (CYA)

K_2HPO_4	1	กรัม
Czapek concentrate	10	มิลลิลิตร
Trace metal solution	1	มิลลิลิตร
Yeast extract	5	กรัม
Sucrose	30	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

- Czapek concentrate

$NaNO_3$	30	กรัม
KCl	5	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	5	กรัม
$FeSO_4.7H_2O$	0.1	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

- Trace metal solution

$CuSO_4.5H_2O$	0.5	กรัม
$ZnSO_4.7H_2O$	1	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ละลายส่วนประกอบใน czapek concentrate และ trace metal solution เก็บแยกไว้ในขวดสีชาไม่ต้องฆ่าเชื้อ

สำหรับ CYA ละลายส่วนประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกัน ฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อมี pH ประมาณ 6.0 - 6.5

5. 25% Glycerol Nitrate Agar (G25N)

K_2HPO_4	0.75	กรัม
Czapek concentrate	7.5	มิลลิลิตร
Yeast extract	3.7	กรัม
Glycerol	250	กรัม
Agar	12	กรัม
น้ำกลั่น	750	มิลลิลิตร

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกัน ฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อมี pH ประมาณ 7.0

6. Aspergillus Flavus and Parasiticus Agar (AFPA)

AFPA base	22.75	กรัม
น้ำกลั่น	500	มิลลิลิตร
Chloramphenicol selective supplement	1	vial

ละลาย AFPA base กับน้ำ ฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปล่อยให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส ฉีด Chloramphenicol supplement ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ AFPA ผสมให้เข้ากันแล้วใช้ทันที อาหารเลี้ยงเชื้อมี pH ประมาณ 6.3 $\pm$ 0.2

7. Coconut Agar (CNA) (สุดารัตน์ บุญจันทร์ และ อุษณีย์ เพชรสุรีย์; 2537, และ Lin and Dianease; 1976)

น้ำกะทิจากเนื้อมะพร้าวขูด : น้ำกลั่น	1 : 3	(v/w)
Agar	1	%

ผสมน้ำกะทิและน้ำกลั่นด้วยเครื่อง blender นาน 2 นาที กรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วละลาย agar ตามสูตร ฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อมี pH ประมาณ 6.9

ภาคผนวก ข.

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมเบนโซเอตและโพแทสเซียมซอร์เบตด้วยวิธี Reverse phase chromatography (Kupper and Jans, 1988)

<u>อุปกรณ์และสารเคมี</u>

1. Ultrasonic bath : Branson DHA-1000
2. Liquid chromatography : Waters™ 600s controller with 20 μL injector
3. Column : Hypersil BDS, C18, 250x4.6 mm., particle size 5 μm
4. Detector : Waters™ 486 MS Tunable Absorbance
5. Mobile phase : สารละลายผสมระหว่าง acetonitrile ต่อ sodium acetate 0.0185 โมล/ลิตร ใน glacial acetic acid อัตราส่วน 20:80

   เตรียมโดย ละลาย sodium acetate 2.5 กรัม ในน้ำ 2 ลิตร เติม glacial acetic acid 2.4 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH เป็น 4.5 ด้วย acetic acid ความเข้มข้น1 โมล่าร์ ผสม acetonitrile ดังปริมาตรที่กำหนด แล้วปรับ pH เป็น 4.5
6. Extraction mixture : สารละลายผสมระหว่าง methanol ต่อ sodium acetate 0.0185 โมล/ลิตร ใน glacial acetic acid อัตราส่วน 37:63
7. Carrez I solution : ละลาย potassium hexacyanoferrate II trihydrate 106 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร
8. Carrez II solution : ละลาย zinc acetate dihydrate 220 กรัม ผสม glacial acetic acid 32 มิลลิลิตร ในน้ำ 1 ลิตร
9. Standard solution : ชั่ง sodium benzoate 1180 มิลลิกรัม (99.0-100.5% purity) และ potassium sorbate 1340 มิลลิกรัม (99.0-101% purity) ละลายในน้ำ 1 ลิตร แล้วปิเปตสารละลายที่ได้ 2 มิลลิลิตร ผสม extraction mixture ให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ละลายสารละลายปริมาตร 1.00, 2.00, 4.00, 6.00, 8.00 และ 10.00 มิลลิลิตร ผสม extraction mixture ให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 10.0, 20.0, 40.0, 60.0, 80.0 และ 100.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

<u>วิธีเตรียมตัวอย่าง</u>

1. ชั่งตัวอย่าง 2 กรัมผสม extraction mixture 90 มิลลิลิตร ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. นำเข้าเครื่อง ultrasonic bath นาน 10 นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส
3. เติม Carrez I solution 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
4. เติม Carrez II solution 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
5. ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วย extraction mixture ผสมให้เข้ากัน
6. ปล่อยไว้ 10 นาที แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 2
7. กรองสารสกัดที่ได้ผ่าน filter membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ (HPLC condition)</u>

Isocratic elution flow rate 1.0 ml/min, system equilibrate 45 นาที

ฉีดตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน 20 ไมโครลิตร ด้วย injector

ตรวจตัวอย่างด้วย UV detector ที่ 232 nm. สำหรับ sorbic และ benzoic acid

229 nm. สำหรับ benzoic acid

262 nm. สำหรับ sorbic acid

เปรียบเทียบพื้นที่ของ peak ที่ได้ กับ พื้นที่ของ peak ของสารละลายมาตรฐาน โดย

unknown, mg/L (mg/kg) = C x PR/PR'

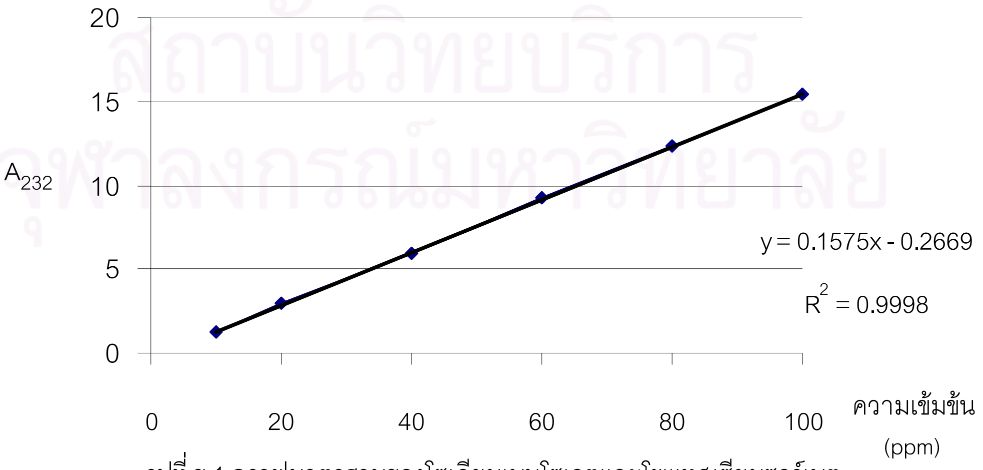
C = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (mg/L)

PR = peak response (พื้นที่) ของตัวอย่าง

PR'= peak response (พื้นที่) ของสารละลายมาตรฐาน

<u>ตารางที่ ข.1</u> ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอต และโพแทสเซียมซอร์เบตที่ความเข้มข้นต่างๆ วิเคราะห์ด้วยวิธี reverse phase chromatograph

ความเข้มข้นของโซเดียมเบนโซเอต และโพแทสเซียมซอร์เบต (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 232 nm.
10	1.225
20	3.005
40	5.964
60	9.212
80	12.354
100	15.453



<u>รูปที่ ข.1</u> กราฟมาตรฐานของโซเดียมเบนโซเอตและโพแทสเซียมซอร์เบต วิเคราะห์ด้วยวิธี reverse phase liquid chromatography

ภาคผนวก ค.

ชุดตรวจสารอะฟลาทอกซินสำเร็จรูป (Aflatoxin ELISA test kit), กรมวิชาการเกษตร

ส่วนประกอบของชุดตรวจสารอะฟลาทอกซินสำเร็จรูป

1. Micro ELISA plate เคลือบด้วย antibody ต่อ aflatoxin
2. สารพิษมาตรฐานอะฟลาทอกซิน 6 ระดับความเข้มข้น (0, 4, 10, 20, 40 และ 100 ppb)
3. Enzyme conjugate 1 vial
4. Conjugate buffer 1 ขวด
5. Substrate solution A และ B อย่างละ 1 ขวด
6. Stopping solution 1 ขวด
7. Washing buffer (phosphate buffer saline-Tween 20: PBS-T) 1 ซอง

การเตรียม washing buffer

ละลาย washing buffer 1 ซอง ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ใช้สำหรับเจือจางสารสกัดตัวอย่างและใช้ล้าง Micro ELISA plate

การเตรียม substrate solution

ผสม substrate A และ B ในอัตราส่วน 1:1 ในปริมาณที่ต้องการและใช้ภายใน 1 ชั่วโมง ตัวอย่างการเตรียม โดย1 หลุม ใช้ 100 μL ถ้าต้องการใช้ 8 หลุม ก็ใช้ substrate = 8 x 100 = 800 μL ดังนั้นใช้ substrate A และ B อย่างละ 400 μL

การเตรียม enzyme conjugate

เจือจาง enzyme conjugate 1 vial ด้วย conjugate buffer 1 ml. ส่วนที่เหลือเก็บในภาชนะปิดสนิทที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยชุดตรวจสารอะฟลาทอกซินสำเร็จรูป

1. หยดสารพิษมาตรฐาน 50 μL และ สารสกัดตัวอย่าง 50 μL ลงในหลุมที่ต้องการ
2. หยด enzyme conjugate 50 μL ในทุกหลุม แล้วบ่มในที่มืด อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
3. คว่ำ plate เทสารทิ้งแล้วล้างด้วย PBS-T 3-4 ครั้ง
4. หยด substrate solution 100 μL แล้วบ่มในที่มืด อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที จะเกิดปฏิกิริยาเป็นสีฟ้าในหลุมที่ไม่มีสารพิษหรือมีน้อยส่วนหลุมที่มีสารพิษจะจางหรือใสตามความเข้มของสารพิษที่ตรวจ
5. หยุดปฏิกิริยาด้วย stopping solution 100 μL จะทำให้สีเปลี่ยนเป็นสีเหลือง
6. อ่านค่าความเข้มของแสงด้วยเครื่อง micro plate reader ที่ความยาวคลื่น 450 nm และวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินด้วยโปรแกรม kinetic calculation แบบ Log/Logit-Log

ภาคผนวก ง.

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

แบบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ชื่อผู้ทดสอบ………………………..

วันที่………………………

โปรดประเมินผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกงเผ็ด แกงเขียวหวาน แกงส้ม และ แกงมัสมั่น เพื่อทดสอบกลิ่นของน้ำพริกแกงแต่ละชนิด โดยระบุตัวอย่างที่มีกลิ่นแตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างไร โปรดให้คำเสนอแนะด้วยจักขอบพระคุณอย่างสูง

ลักษณะ		โปรดใส่เครื่องหมาย / ใน ☐ กำกับรหัสตัวอย่าง ที่มีกลิ่นแตกต่างไปจาก Control		
น้ำพริกแกงเผ็ด	คะแนน	รหัส ______	______	______
กลิ่นของเครื่องเทศสดไม่ต่างจาก C	5	☐	☐	☐
กลิ่นเครื่องเทศลดลงเล็กน้อย	4	☐	☐	☐
กลิ่นผิดปกติเล็กน้อย	3	☐	☐	☐
กลิ่นหมัก กลิ่นหืน หรือกลิ่นอับเล็กน้อย	2	☐	☐	☐
กลิ่นเน่าเสียชัดเจน	1	☐	☐	☐
น้ำพริกแกงเขียวหวาน	คะแนน	รหัส ______	______	______
กลิ่นสดของเครื่องเทศไม่ต่างจาก C	5	☐	☐	☐
กลิ่นเครื่องเทศลดลงเล็กน้อย	4	☐	☐	☐
กลิ่นผิดปกติเล็กน้อย	3	☐	☐	☐
กลิ่นหมัก กลิ่นหืน หรือกลิ่นอับเล็กน้อย	2	☐	☐	☐
กลิ่นเน่าเสียชัดเจน	1	☐	☐	☐
น้ำพริกแกงส้ม	คะแนน	รหัส ______	______	______
กลิ่นสดของเครื่องเทศไม่ต่างจาก C	5	☐	☐	☐
กลิ่นเครื่องเทศลดลงเล็กน้อย	4	☐	☐	☐
กลิ่นผิดปกติเล็กน้อย	3	☐	☐	☐
กลิ่นหมัก กลิ่นหืน หรือกลิ่นอับเล็กน้อย	2	☐	☐	☐
กลิ่นเน่าเสียชัดเจน	1	☐	☐	☐
น้ำพริกแกงมัสมั่น	คะแนน	รหัส ______	______	______
กลิ่นสดของเครื่องเทศไม่ต่างจาก C	5	☐	☐	☐
กลิ่นเครื่องเทศลดลงเล็กน้อย	4	☐	☐	☐
กลิ่นผิดปกติเล็กน้อย	3	☐	☐	☐
กลิ่นหมัก กลิ่นหืน หรือกลิ่นอับเล็กน้อย	2	☐	☐	☐
กลิ่นเน่าเสียชัดเจน	1	☐	☐	☐

ข้อเสนอแนะ ……………………………………………………………………………………………………...

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก จ.

การตรวจวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราโดยน้ำมันหอมระเหยจากน้ำพริกแกง

จ.1 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากน้ำพริกแกง (ASTA, 1960)

<u>อุปกรณ์และสารเคมี</u>

1. น้ำกลั่น
2. Clevenger trap และ ชุด hydrodistillator
3. ฟลาสก์ก้นกลมขนาด 1 ลิตร
4. Condenser
5. เตาไฟฟ้า

<u>วิธีสกัดน้ำมันหอมระเหย</u>

1. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนจำนวน 100 กรัม ใส่ในขวดก้นกลม
2. เติมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วประกอบขวดก้นกลมเข้ากับชุด Clevenger hydrodistillator
3. ต้มให้เดือดและปล่อยให้กลั่นอย่างช้าๆ ประมาณ 1-1½ หยดต่อวินาที
4. กลั่น จนระดับน้ำมันใน Clevenger trap คงที่ หรือประมาณ 3 ชั่วโมง
5. ไล่น้ำที่อาจระเหยมาเกาะที่ condenser ด้วยการเท toluene ประมาณ 5 มิลลิลิตร ลงทางด้านบนของ condenser
6. ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งมองเห็นชั้นน้ำมันหอมระเหยอย่างชัดเจน
7. อ่านปริมาตรน้ำมันที่กลั่นได้และคำนวณเป็นร้อยละของน้ำมันหอมระเหย (%volatile oil, v/w)
8. เก็บน้ำมันหอมระเหยที่ได้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จ.2 การเตรียม suspension ของสปอร์รา (ดัดแปลงจาก Mei-Chin Yin and Wen-Shen Cheng, 1998)

<u>อุปกรณ์และสารเคมี</u>

1. Haemacytometer
2. น้ำกลั่นปลอดเชื้อผสม Tween 80 1%
3. Potato Dextrose Agar plate

4. เครื่อง Centrifuge

วิธีเตรียม suspension ของสปอร์รา

1. เพาะราบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA
2. บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง
3. นำน้ำกลั่นปลอดเชื้อผสม Tween 80 1% เทบนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเก็บสปอร์
4. Centrifuge ที่ 1000 x g 25 นาที
5. ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 10 มิลลิลิตร แล้ว centrifuge ที่ 1000 x g ทำซ้ำ 3 ครั้ง
6. เก็บสปอร์ที่ได้ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน
7. เจือจาง suspension ของสปอร์ราที่ได้ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ
8. ตรวจนับสปอร์ราด้วย haemacytometer ให้มีปริมาณเชื้อช่วง 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ฉ.

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ฉ.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณราในเครื่องเทศชนิดต่างๆ ในแต่ละฤดู

เครื่องเทศ	SOV	df	MS	เครื่องเทศ	SOV	df	MS
พริกชี้ฟ้าแห้ง	ฤดูกาล	2	0.462	ข่า	ฤดูกาล	2	0.004
	error	15	1.449		error	15	0.043
พริกขี้หนู	ฤดูกาล	2	1.686	ตะไคร้	ฤดูกาล	2	1.708
	error	15	0.699		error	15	0.788
พริกชี้ฟ้าเขียว	ฤดูกาล	2	0.127	ผิวมะกรูด	ฤดูกาล	2	0.743
	error	15	0.541		error	15	0.305
หอมแดง	ฤดูกาล	2	1.635	รากผักชี	ฤดูกาล	2	0.125
	error	15	0.655		error	15	0.156
กระเทียม	ฤดูกาล	2	0.080	กระชาย	ฤดูกาล	2	0.642
	error	15	0.161		error	15	0.982

ตารางที่ ฉ.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณราและเบนโซเอตในน้ำพริกแกงในแต่ละฤดู

น้ำพริกแกง	SOV	df	MS	
			ปริมาณรา	เบนโซเอต
น้ำพริกแกงเผ็ด	ฤดูกาล	2	0.028	36,907.876
	error	27	1.347	1,566,455
น้ำพริกแกงเขียวหวาน	ฤดูกาล	2	0.049	62,644.080
	error	27	1.277	1,878,903
น้ำพริกแกงส้ม	ฤดูกาล	2	0.215	8,152.464
	error	27	1.120	1,500,436
น้ำพริกแกงมัสมั่น	ฤดูกาล	2	0.309	184,049.800
	error	27	0.650	1,079,223

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ฉ.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของ pH ปริมาณราและแบคทีเรียในน้ำพริกแกงระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

น้ำพริกแกง	SOV	pH df	pH MS	ปริมาณรา df	ปริมาณรา MS	ปริมาณแบคทีเรีย df	ปริมาณแบคทีเรีย MS
น้ำพริกแกงเผ็ด	storage time	6	$1.327x10^{-2}$	9	1.715	4	7.502
	block	2	$4.310x10^{-4}$	2	0.241	2	$1.662x10^{-2}$
	error	33	$1.313x10^{-3}$	48	0.409	23	$7.305x10^{-3}$
น้ำพริกแกงเขียวหวาน	storage time	6	$1.709x10^{-2}$	9	4.239	2	9.321
	block	2	$9.286x10^{-5}$	2	3.062	2	$1.961x10^{-3}$
	error	33	$6.292x10^{-4}$	48	2.052	13	$8.195x10^{-4}$
น้ำพริกแกงส้ม	storage time	6	$2.382x10^{-2}$	9	2.626	2	8.933
	block	2	$1.564x10^{-3}$	2	4.376	2	$1.043x10^{-2}$
	error	33	$8.815x10^{-4}$	48	5.507	13	$9.961x10^{-3}$
น้ำพริกแกงมัสมั่น	storage time	6	$1.488x10^{-2}$	9	1.436	4	7.689
	block	2	$4.071x10^{-4}$	2	0.504	2	$3.868x10^{-3}$
	error	33	$2.713x10^{-4}$	48	0.521	23	$2.045x10^{-3}$

ตารางที่ ฉ.4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของ pH ปริมาณราและแบคทีเรียในน้ำพริกแกงผสมโซเดียมเบนโซเอต 500 ppm, โพแทสเซียมซอร์เบต 500 ppm และไม่ผสมวัตถุกันเสีย

น้ำพริกแกง	SOV	pH df	pH MS	ปริมาณรา df	ปริมาณรา MS	ปริมาณแบคทีเรีย df	ปริมาณแบคทีเรีย MS
น้ำพริกแกงเผ็ด	preservative	2	$4.310x10^{-4}$	2	0.241	2	$1.662x10^{-2}$
	block	6	1.327x10-2	9	1.715	4	7.502
	error	33	$1.313x10^{-3}$	48	0.409	23	$7.305x10^{-3}$
น้ำพริกแกงเขียวหวาน	preservative	2	$9.286x10^{-5}$	2	3.062	2	$1.961x10^{-3}$
	block	6	$1.709x10^{-2}$	9	4.239	2	9.321
	error	33	$6.292x10^{-4}$	48	2.052	13	$8.195x10^{-4}$
น้ำพริกแกงส้ม	preservative	2	$1.564x10^{-3}$	2	4.376	2	$1.043x10^{-2}$
	block	6	$2.382x10^{-2}$	9	2.626	2	8.933
	error	33	$8.815x10^{-4}$	48	5.507	13	$9.961x10^{-3}$
น้ำพริกแกงมัสมั่น	preservative	2	$4.071x10^{-4}$	2	0.504	2	$3.868x10^{-3}$
	block	6	$1.488x10^{-2}$	9	1.436	4	7.689
	error	33	$2.713x10^{-4}$	48	0.521	23	$2.045x10^{-3}$

ตารางที่ ฉ.5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติค่าการประเมินทางประสาทสัมผัสด้วยการดมกลิ่นน้ำพริกแกงที่ไม่ผสมวัตถุกันเสีย, ผสมโซเดียมเบนโซเอต 500 ppm, และ โพแทสเซียมซอร์เบต 500 ppm ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

น้ำพริกแกง	SOV	df	MS		
			ไม่ผสมวัตถุกันเสีย	เบนโซเอต 500 ppm	ซอร์เบต 500 ppm
น้ำพริกแกงเผ็ด	storage time	5	43.700	42.940	44.560
	block	9	0.207	0.256	0.263
	error	105	0.203	0.208	0.196
น้ำพริกแกงเขียวหวาน	storage time	4	46.890	46.865	47.660
	block	9	0.290	0.351	0.410
	error	86	0.199	0.192	0.180
น้ำพริกแกงส้ม	storage time	3	31.246	29.100	26.379
	block	9	0.457	0.217	0.613
	error	67	0.278	0.387	0.347
น้ำพริกแกงมัสมั่น	storage time	6	30.314	29.900	30.998
	block	9	0.190	0.842	0.254
	error	124	0.280	0.239	0.323

ตารางที่ ฉ.6.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติค่าการประเมินทางประสาทสัมผัสด้วยการดมกลิ่นน้ำพริกแกงผสมโซเดียมเบนโซเอต 500 ppm, โพแทสเซียมซอร์เบต 500 ppm และไม่ผสมวัตถุกันเสียเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงเผ็ดที่ผสมและไม่ผสมวัตถุกันเสียระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

น้ำพริกแกง	SOV	df	MS					
			1	2	3	5	7	13
น้ำพริกแกงเผ็ด	preservative	2	0.117	0.117	0.517	0.000	1.667×10^{-2}	0.000
	block	9	1.128	0.474	0.498	0.557	1.017	0.000
	error	48	9.583×10^{-2}	0.197	0.156	0.205	0.121	0.000

ตารางที่ ฉ.6.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติค่าการประเมินทางประสาทสัมผัสด้วยการดมกลิ่นน้ำพริกแกงผสมโซเดียมเบนโซเอต 500 ppm, โพแทสเซียมซอร์เบต 500 ppm และไม่ผสมวัตถุกันเสียเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงเขียวหวานที่ผสมและไม่ผสมวัตถุกันเสียระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

น้ำพริกแกง	SOV	df	MS				
			1	2	3	5	7
น้ำพริกแกงเขียวหวาน	preservative	2	6.667×10^{-2}	6.667×10^{-2}	0.297	0.317	0.000
	block	9	0.519	0.593	0.557	0.898	0.141
	error	48	0.178	5.972×10^{-2}	0.180	0.122	0.174

ตารางที่ ฉ.6.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติค่าการประเมินทางประสาทสัมผัสด้วยการดมกลิ่นน้ำพริกแกงผสมโซเดียมเบนโซเอต 500 ppm, โพแทสเซียมซอร์เบต 500 ppm และไม่ผสมวัตถุกันเสียเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงส้มที่ผสมและไม่ผสมวัตถุกันเสียระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

น้ำพริกแกง	SOV	df	MS			
			1	2	3	5
น้ำพริกแกงส้ม	preservative	2	6.667×10^{-2}	0.15	5.000×10^{-2}	5.000×10^{-2}
	block	9	3.081	0.743	2.076	0.363
	error	48	0.143	0.164	4.306×10^{-2}	0.130

ตารางที่ ฉ.6.4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติค่าการประเมินทางประสาทสัมผัสด้วยการดมกลิ่นน้ำพริกแกงผสมโซเดียมเบนโซเอต 500 ppm, โพแทสเซียมซอร์เบต 500 ppm และไม่ผสมวัตถุกันเสียเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำพริกแกงมัสมั่นที่ผสมและไม่ผสมวัตถุกันเสียระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

น้ำพริกแกง	SOV	df	MS						
			1	2	3	5	7	13	20
น้ำพริกแกงมัสมั่น	preservative	2	0.217	0.000	0.200	0.000	0.150	0.000	6.667×10^{-2}
	block	9	1.400	0.563	0.896	1.113	2.269	0.970	0.498
	error	48	0.123	0.194	0.165	0.101	9.444×10^{-2}	0.118	0.174

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ช.

ส่วนประกอบของน้ำพริกแกงที่ใช่ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลง ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง

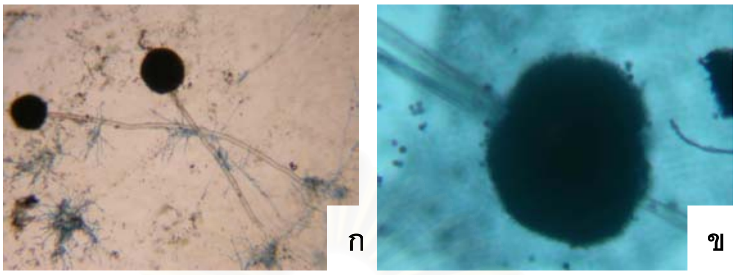
ส่วนผสม	ปริมาณ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)			
	แกงเผ็ด	เขียวหวาน	แกงส้ม	มัสมั่น
พริกชี้ฟ้าแห้ง	15.67	-	14.81	15.13
พริกขี้หนูสด	-	3.08	-	-
พริกชี้ฟ้าสด	-	21.73	-	-
หอม	17.14	14.65	42.45	16.13
กระเทียม	39.18	34.18	16.78	35.29
ข่า	2.15	0.98	-	2.02
ตะไคร้	8.33	7.81	-	7.56
ผิวมะกรูด	2.15	0.49	-	2.02
รากผักชี	1.67	1.46	-	1.51
กระชาย	-	-	3.65	-
พริกไทย	2.45	0.49	-	2.52
ลูกผักชี	-	2.93	-	3.53
ยี่หร่า	-	1.46	-	4.54
กะปิ	6.37	5.86	12.83	4.54
เกลือ	4.90	4.88	9.48	4.54
เครื่องเทศอื่นๆ	-	-	-	0.68

** เครื่องเทศอื่นๆ : กระวาน 23.13%, กานพลู 14.93%, ลูกจันทน์เทศ 17.16%, ดอกจันทน์ 29.85% และ อบเชย 14.93%

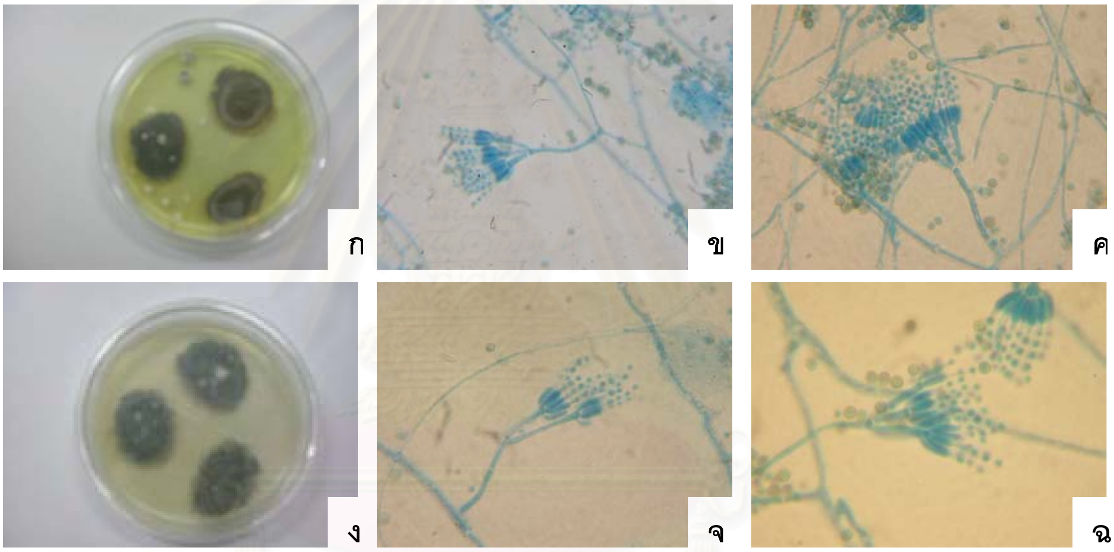
ดัดแปลงจาก สภาสตรีแห่งชาติ, 2516

ภาคผนวก ซ.

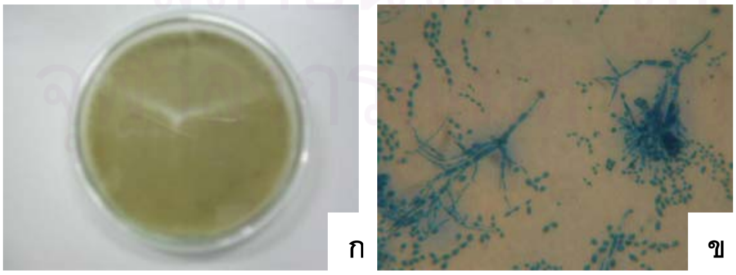
ราบางชนิดที่พบในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในน้ำพริกแกง



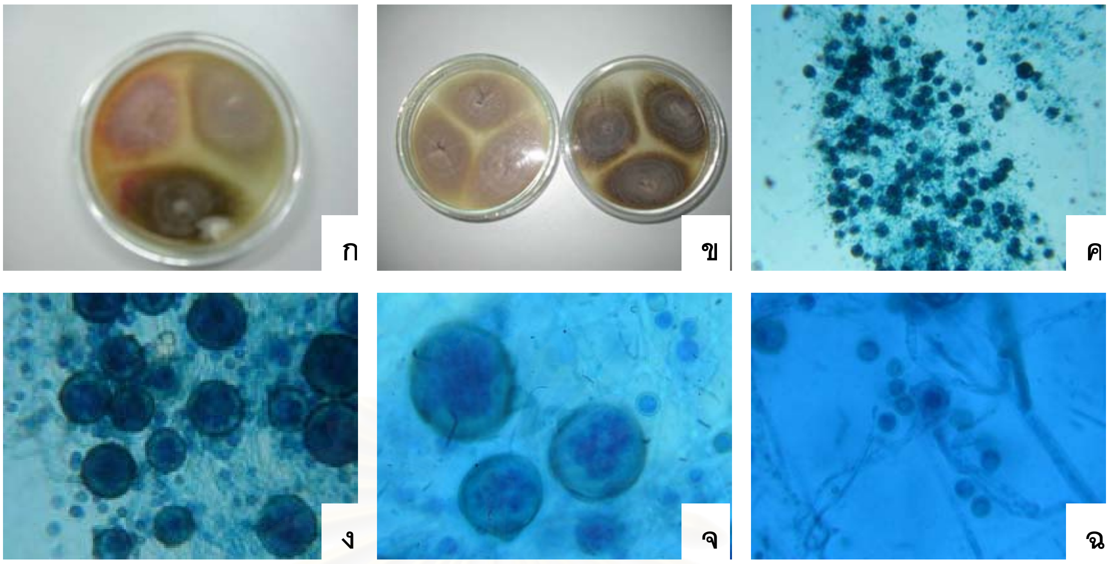
รูปที่ ซ.1 *Aspergillus niger* (ก,ข) conidial head ของ *A. niger* ของ *A. niger* บน PDA, 5 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส



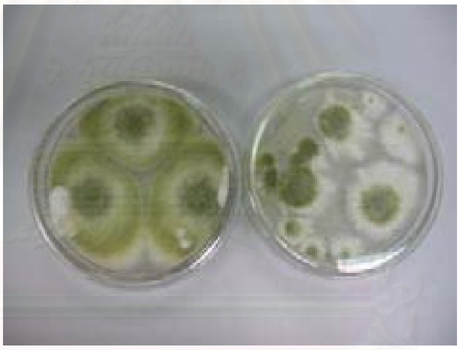
รูปที่ ซ.2 (ก-ค) *Penicillium citrinum* (ก) โคโลนีของ *P. citrinum* บน PDA, 7 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส (ข,ค) conidial head ของ *P. citrinum* (ง-ฉ) *P. corylophilum* (ง) โคโลนีของ *P. corylophilum* บน PDA, 7 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส (จ,ฉ) conidial head ของ *P. corylophilum*



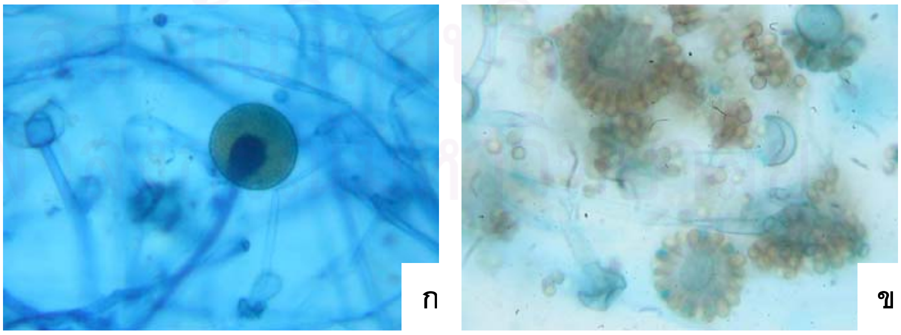
รูปที่ ซ.3 *Paecilomyces* sp. (ก) โคโลนีของ *Paecilomyces* sp. บน PDA, 7 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส (ข) conidial head ของ *Paecilomyces* sp.



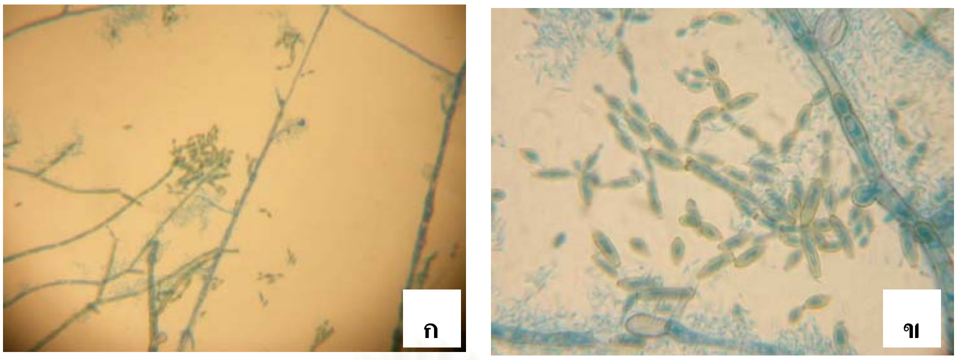
<u>รูปที่ ซ.4</u> *Monascus* spp. (ก,ข) โคโลนีของ *Monascus* spp. บน PDA, 7 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส (ค-จ) cleistothecia ของ *Monascus* spp. (ฉ) aleurioconidia ของ *Monascus* spp.



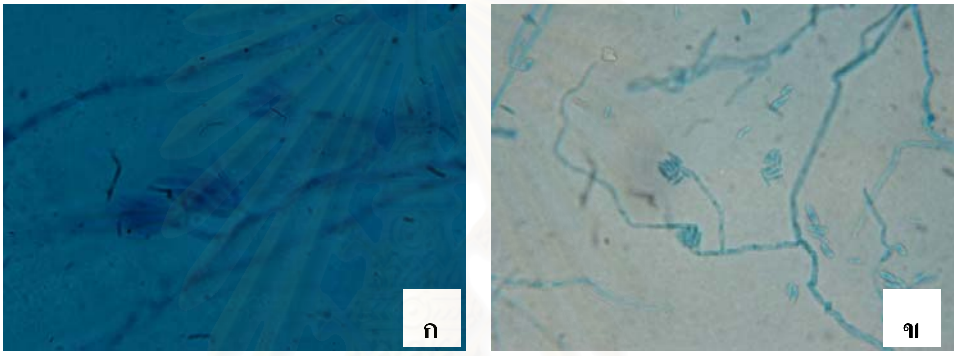
<u>รูปที่ ซ.5</u> โคโลนีของ *Aspergillus flavus* บน PDA, 7 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส



<u>รูปที่ ซ.6</u> (ก) sporangium ของ *Mucor* sp. (ข) sporangia ของ *Syncephalastrum* sp.



รูปที่ ซ.7 (ก,ข) conidiophores และ conidia ของ *Cladosporium* sp.



รูปที่ ซ.8 (ก) phialide และ conidia ของ *Fusarium* sp. (ข) phialides และ conidia ของ *Acremonium* sp.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ ซ.9 (ก,ข) conidia ของ *Alternaria* sp. (ค) conidia ของ *Curvularia* sp.

ภาคผนวก ณ.

ราสายพันธุ์ต่าง ๆที่จำแนกได้จากเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำพริกแกง

ตารางที่ ณ ร้อยละของราสายพันธุ์ต่างๆที่จำแนกได้จากเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำพริกแกงในแต่ละฤดู

รา	ร้อยละของราที่พบในเครื่องเทศ*									
	พริกชี้ฟ้าแห้ง	พริกขี้หนู	พริกชี้ฟ้าเขียว	หอมแดง	กระเทียม	ข่า	ตะไคร้	ผิวมะกรูด	รากผักชี	กระชาย
Absidia spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6	11.1
Acremonium spp.	-	5.6	5.6	-	-	5.6	-	-	16.7	-
Alternaria spp.	11.1	-	5.6	-	-	-	-	-	-	-
Asppergillus aculeatus	5.6	44.4	5.6	22.2	5.6	-	22.2	44.4	-	-
Aspergillus candidus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6
Aspergillus clavatus	-	5.6	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus deflectus	-	-	-	-	5.6	-	-	-	-	-
Aspergillus flavipes	-	-	-	5.6	-	-	-	-	-	-
Aspergillus flavus	16.7	27.8	5.6	-	5.6	-	-	16.7	16.7	27.8
Aspergillus foetidus	-	-	-	-	-	-	5.6	-	11.1	5.6
Aspergillus fumigatus	5.6	-	-	-	-	-	-	-	-	11.1
Aspergillus niger	94.4	66.7	55.6	88.9	77.8	16.7	66.7	83.3	55.6	77.8
Aspergillus ochraceus	-	-	5.6	-	-	-	5.6	-	5.6	-
Aspergillus oryzae	5.6	5.6	-	-	-	-	-	11.1	-	5.6
Aspergillus parasiticus	-	5.6	-	-	-	-	-	5.6	-	-
Aspergillus sparsus	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6	-
Aspergillus sydowii	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6	-
Aspergillus terreus	5.6	-	5.6	-	-	-	-	11.1	27.8	22.2
Aspergillus versicolor	-	-	5.6	-	-	-	-	-	5.6	-
Aspergillus wentii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6
Bipolaris spp.	-	-	-	-	-	-	5.6	-	-	-
Botrytis spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6	-
Cephalospporium spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6
Chaetomium spp.	-	5.6	-	-	-	-	-	-	-	-
Chalaropsis spp.	-	-	-	-	-	-	5.6	-	-	-
Chrysospporium spp.	-	-	-	-	-	-		-	-	5.6
Cladospporium spp.	11.1	5.6	22.2	-	-	-	44.4	5.6	27.8	5.6
Cunninghamella spp.	5.6	11.1	-	-	-	-	-	-	-	-
Curvularia spp.	11.1	-	5.6	-	-	-	-	16.7	16.7	-
Emericella nidulans	-	5.6	-	-	5.6	-	-	-	-	-
Epicoccum nigrum	-	-	5.6	-	-	-	-	-	-	-
Eurotium spp.	5.6	-	-	-	-	-	-	-	5.6	5.6
Fusarium chlamydosporum	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6	-
Fusarium moniliforme	-	5.6	-	-	-	-	-	-	5.6	-
Fusarium oxysporum	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6	-
Fusarium poae	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6	-
Fusarium proliferatum	-	5.6	5.6	-	-	-	5.6	-	16.7	5.6
Fusarium sambucinum	-	-	-	5.6	-	-	-	-	5.6	-
Fusarium solani	-	5.6	5.6	-	-	5.6	22.2	5.6	22.2	-
Fusarium sporotrichioides	-	-	-	-	-	-	11.1	-	5.6	-
Fusarium verticillioides	-	-	-	-	-	-	5.6	-	22.2	-
Geotrichum candidum	-	-	-	-	-	-	-	5.6	-	5.6
Gliocladium spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6	-
Helminthospporium spp.	16.7	-	-	-	-	-	-	5.6	-	11.1
Hyphopichia spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6	-
Monascus spp.	11.1	-	-	-	-	-	-	-	16.7	5.6
Monilia spp.	5.6	11.1	5.6	5.6	-	-	-	-	5.6	5.6
Moniliella acetoabutans	-	11.1	-	-	-	-	-	-	-	-
Mucor circinelloides	5.6	5.6	-	-	-	-	11.1	-	16.7	-
Mucor hiemalis	5.6	11.1	5.6	-	-	-	11.1	-	27.8	5.6
Mucor piriformis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6
Mucor racemosus	-	5.6	-	-	-	-	-	-	11.1	-
Paecilomyces spp.	-	11.1	-	-	-	-	5.6	-	5.6	16.7
Penicillium cammemberti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6
Penicillium chrysogenum	5.6	5.6	-	-	-	-	-	5.6	-	-
Penicillium citreonigrum	-	-	-	-	-	-	-	5.6	5.6	-
Penicillium citrinum	11.1	16.7	5.6	72.2	72.2	-	27.8	44.4	11.1	44.4
Penicillium corylophilum	5.6	16.7	5.6	5.6	11.1	-	5.6	16.7	-	11.1
Penicillium decumbens	-	-	-	-	-	-	5.6	-	-	5.6
Penicillium digitatum	5.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Penicillium expansum	-	-	-	-	5.6	-	-	-	-	-
Penicillium funiculosum	-	-	-	-	-	-	61.1	5.6	5.6	-
Penicillium glabrum	-	-	-	11.1	-	-	5.6		5.6	-
Penicillium janthinellium	-	-	22.2	-	-	-	-	5.6	5.6	5.6
Penicillium lividum	-	5.6	-	-	-	-	-	-	-	-
Penicillium nalgiovense	-	-	5.6	-	-	-	-	-	-	-
Penicillium oxalicum	5.6	16.7	11.1	-	-	-	-	5.6	5.6	16.7
Penicillium pinophilum	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6	-
Penicillium purpurogenum	5.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Penicillium simplicissimum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6
Penicillium steckii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6
Penicillium variabile	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6	-
Penicillium viridicatum	5.6	-	-	-	-	-	-	-		-
Phoma spp.	-	-	11.1	-	-	-	-	-	22.2	5.6
Rhizopus microsporus	5.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhizopus oligosporus	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6	-
Rhizopus oryzae	5.6	-	-	-	-	-	-	5.6	5.6	-
Rhizopus stolonifer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6
Scedospporium spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6
Spicaria violacea	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6	-
Syncephalastrum racemosum	11.1	-	-	-	-	-	-	-	11.1	-
Trichoderma spp.	5.6	5.6	-	-	-	-	44.4	11.1	38.9	38.9
Ulocladium spp.	5.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Unidentified fungi	-	11.1	-	-	-	-	11.1	5.6	5.6	-

(-) ไม่พบรา

* ร้อยละของราที่พบในเครื่องเทศชนิดละ 18 ตัวอย่าง (n = 18)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ญ.

ปริมาณราและเบนโซเอตในน้ำพริกแกงพริกแกงต่างๆ ใน 3 ฤดู

ตารางที่ ญ.1 ปริมาณราทั้งหมดของน้ำพริกแกงต่างๆ ใน 3 ฤดู*

	น้ำพริกแกงเผ็ด*				น้ำพริกแกงเขียวหวาน*			
	a_w	ปริมาณราแต่ละฤดู (logCFU/g)[ns]			a_w	ปริมาณราแต่ละฤดู (logCFU/g)[ns]		
ร้านค้า	เฉลี่ย	ฝน	หนาว	ร้อน	เฉลี่ย	ฝน	หนาว	ร้อน
คลองเตย๑	0.90	0	0	0	0.93	0	0	0
คลองเตย๒	0.93	1.28	1.70	1.95	0.95	0	0	0
ปากคลอง	0.85	2.04	3.54	1.89	0.93	0.22	1.00	0
มหานาค๑	0.94	3.90	2.04	1.12	0.97	0	0	0
มหานาค๒	0.94	0.75	1.04	1.43	0.95	0	0	0
สี่มุมเมือง๑	0.88	0	0	0	0.91	0	0	0
สี่มุมเมือง๒	0.88	2.66	2.54	3.82	0.93	2.07	2.17	2.42
สี่มุมเมือง๓	0.92	1.70	1.30	1.43	0.94	1.52	1.12	1.11
สามย่าน๑	0.92	1.43	1.73	1.99	0.93	0	0	0
สามย่าน๒	0.93	0	0.83	1.00	0.93	3.57	1.73	3.47
เฉลี่ย	0.91	1.38	1.47	1.46	0.94	0.74	0.60	0.70
SD	0.03	1.28	1.10	1.10	0.02	1.24	0.84	1.26

	น้ำพริกแกงส้ม*				น้ำพริกแกงมัสมั่น*			
	a_w	ปริมาณราแต่ละฤดู (logCFU/g)[ns]			a_w	ปริมาณราแต่ละฤดู (logCFU/g)[ns]		
ร้านค้า	เฉลี่ย	ฝน	หนาว	ร้อน	เฉลี่ย	ฝน	หนาว	ร้อน
คลองเตย๑	0.88	3.24	4.16	3.12	0.91	0	0.75	0
คลองเตย๒	0.89	1.95	1.12	1.99	0.95	2.14	1.95	2.67
ปากคลอง	0.71	3.20	3.11	3.12	0.77	1.37	0.22	0
มหานาค๑	0.94	0.92	0	0.90	0.85	0.87	0	0.12
มหานาค๒	0.92	2.40	2.39	2.64	0.85	1.89	1.10	2.18
สี่มุมเมือง๑	0.70	3.78	2.10	2.15	0.71	0.78	0.80	0.60
สี่มุมเมือง๒	0.71	2.92	2.23	3.48	0.89	0	0	0
สี่มุมเมือง๓	0.90	2.14	3.22	2.48	0.91	0	0	0
สามย่าน๑	0.92	3.13	3.77	2.52	0.81	1.30	0.30	1.18
สามย่าน๒	0.91	1.48	0.22	2.00	0.85	1.11	0.80	1.12
เฉลี่ย	0.85	2.52	2.23	2.44	0.85	0.95	0.59	0.79
SD	0.10	0.90	1.42	0.74	0.07	0.77	0.62	0.98

* เลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส, 5-7วัน

[ns] ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

SD : ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ ญ.2 ปริมาณเบนโซเอตในน้ำพริกแกงต่างๆ ใน 3 ฤดู*

	น้ำพริกแกงเผ็ด				น้ำพริกแกงขียวหวาน			
		ปริมาณเบนโซเอตแต่ละฤดู (ppm)[ns]				ปริมาณเบนโซเอตแต่ละฤดู (ppm)[ns]		
ร้านค้า	pH	ฝน	หนาว	ร้อน	pH	ฝน	หนาว	ร้อน
คลองเตย๑	4.52	0	0	0	4.46	0	0	0
คลองเตย๒	4.89	396.61	453.33	402.28	4.61	389.21	378.32	365.56
ปากคลอง	4.55	623.14	588.23	495.58	4.65	687.83	698.22	678.63
มหานาค๑	4.70	0	0	0	4.45	0	0	0
มหานาค๒	5.16	2629.71	2348.22	2181.67	5.34	4027.88	3976.73	4148.63
สี่มุมเมือง๑	4.84	401.02	382.24	353.04	4.90	452.74	392.84	494.82
สี่มุมเมือง๒	5.26	1502.11	1321.02	1234.05	5.27	1239.27	1328.29	1403.31
สี่มุมเมือง๓	4.46	3766.29	3329.25	4757.50	4.23	3825.43	3284.21	1909.84
สามย่าน๑	4.97	667.23	599.38	846.24	5.00	628.39	602.81	596.28
สามย่าน๒	5.14	1192.34	1257.21	1165.64	5.57	1582.57	1498.97	1658.94
เฉลี่ย	4.85	1117.85	1027.89	1143.60	4.85	1283.33	1216.04	1125.60
SD	0.29	1221.75	1075.75	1431.59	0.44	1477.73	1373.26	1251.88

	น้ำพริกแกงส้ม				น้ำพริกแกงมัสมั่น			
		ปริมาณเบนโซเอตแต่ละฤดู (ppm)[ns]				ปริมาณเบนโซเอตแต่ละฤดู (ppm)[ns]		
ร้านค้า	pH	ฝน	หนาว	ร้อน	pH	ฝน	หนาว	ร้อน
คลองเตย๑	4.68	0	0	0	3.99	0	0	0
คลองเตย๒	5.06	339.21	528.26	192.20	4.78	421.08	820.35	1077.07
ปากคลอง	4.63	659.58	637.22	612.56	4.14	656.38	622.58	670.72
มหานาค๑	5.31	0	0	0	4.77	0	0	0
มหานาค๒	4.93	2827.11	2346.57	2935.25	4.89	2227.43	2523.04	2424.48
สี่มุมเมือง๑	4.74	372.84	352.66	368.26	4.40	369.51	383.44	372.35
สี่มุมเมือง๒	5.19	1401.26	1420.58	1398.75	3.93	1426.03	1988.15	2292.05
สี่มุมเมือง๓	4.75	3649.31	3498.22	3746.97	4.02	2376.87	3327.26	3225.23
สามย่าน๑	4.56	620.21	562.49	218.57	4.17	607.38	544.29	534.32
สามย่าน๒	5.22	1429.56	1728.84	1259.58	4.96	1344.50	1253.87	1405.25
เฉลี่ย	4.91	1129.91	1107.48	1073.21	4.41	942.92	1146.30	1200.15
SD	0.27	1230.36	1135.86	1302.83	0.41	861.19	1121.76	1112.50

* วิเคราะห์ด้วยวิธี Reverse Phase liquid Chromatography

[ns] ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

SD : ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ภาคผนวก ฏ

ลักษณะและคุณประโยชน์ของเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในน้ำพริกแกง

(นิจศิริ เรืองรังษี; 2542, บัญญัติ สุขศรีงาม; 2527, รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ; 2535,
สมศรี เจริญเกียรติกุล et al.; 2545, สุพจน์ ศิวานเภสัช; 2543)

กระเทียม (Common Garlic, Allium)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Allium sativum* Linn.

ส่วนที่นำมาใช้บริโภค หัวสดหรือหัวแห้ง ใบสด น้ำมันกระเทียม (garlic oil)

สารสำคัญ กระเทียมมีน้ำมันร้อยละ 0.1-0.36 มีสารอินทรีย์กลุ่ม sulfide และ thiols หลายชนิด ได้แก่ allicin, allylpropyl disulfide, diallyl trisulfide เป็นสารหลัก และเอนไซม์หลายชนิดเช่น alliinase, peroxidase และ myrosinase ทั้งนี้ allicin สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ดี เนื่องจากไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับระบบหายใจหรือการเจริญของเซลล์ ซึ่งเป็นผลทำให้จุลินทรีย์ถูกทำลาย

ประโยชน์

1. ช่วยขับลมในลำไส้ ช่วยการดูดซึมในลำไส้ ขับเหงื่อ ขับเสมหะ แก้กลากเกลื้อน แก้ท้องเดิน ปวดท้อง จุกเสียด ท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับพยาธิเส้นด้าย
2. ใช้เป็นยาฆ่าเชื้อโรคในปาก แก้คออักเสบ เสียงแหบแห้ง
3. แก้ไขมันอุดตันในเส้นเลือด แก้ความดันโลหิตสูง ลดระดับคอเลสเตอรอลในเส้นเลือด
4. ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิด เช่น *Salmonella typhimurium, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, B. subtilis, Candida albicans,* mycotoxigenic *Aspergillus, Chaetomium spp., Fusarium spp., Mucor spp., Penicillium spp., Rhizopus spp., Trichoderma spp., Trichophyton spp., Syncephalastrum spp.*, และ *Sporodochia spp*. เป็นต้น

อาหารไทยที่มีการใช้กระเทียม กระเทียมเป็นเครื่องเทศประจำครัวของคนไทยมาช้านาน อาหารแทบทุกชนิดมักมีกระเทียมรวมอยู่ด้วยเสมอ บางชนิดต้องทุบกระเทียมลงเจียวให้หอมก่อนใส่เนื้อสัตว์และผัก กระเทียมเป็นหนึ่งในส่วนประกอบที่ขาดไม่ได้ในน้ำพริกแกงและน้ำพริกทุกชนิด

กระชาย (Lesser Ginger)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr.

ส่วนที่นำมาใช้บริโภค รากและเหง้าใช้เป็นเครื่องเทศในส่วนผสมของน้ำพริกแกงต่างๆ โดยเฉพาะใช้กลบกลิ่นคาวของเนื้อและปลา

สารสำคัญ น้ำมันหอมระเหย ได้แก่ limonene pinene myrcene camphene เป็นต้น ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม phenols รวมทั้ง chalcone และ flavonoids อื่นๆ ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม polyphenols

ประโยชน์

1. ขับลม แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับปัสสาวะ
2. แก้ไข้ ลดการอักเสบ
3. สาร cardamonin ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกและมะเร็ง
4. ต้านแบคทีเรียและรา เช่น *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Esherichia coli, Cunninghamella sp., Curvularia sp., Mucor sp., Penicillium sp.* และ *Rhizopus sp.*

อาหารไทยที่มีการใช้กระชาย เหง้ากระชายใช้เป็นส่วนผสมในน้ำพริกแกงบางอย่าง ส่วนใหญ่เป็นแกงที่ใช้ปลา เช่นน้ำยาขนมจีน น้ำยาป่า แกงส้ม เนื่องจากกลิ่นรสที่เผ็ดร้อนและขมของกระชายจะช่วยดับกลิ่นคาวปลาได้ดี จึงนิยมใส่ในอาหารที่มีปลาเป็นส่วนประกอบหลัก เช่นผัดเผ็ดปลาดุก แกงเขียวหวานลูกชิ้นปลากรายเป็นต้น

ข่า (Galangal, Siamese Ginger)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Alpinia galanga* SW., *Languas galanga* SW.

ส่วนที่นำมาใช้บริโภค เหง้าใช้แต่งกลิ่นอาหาร

สารสำคัญ น้ำมันหอมระเหย ได้แก่ cineol, eugenol, methyl cinnamate และ 1-acetoxychavicol

ประโยชน์

1. ขับลม แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ
2. ยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกมะเร็ง
3. ต้านแบคทีเรีย ยีสต์และรา เช่น *Alternaria sp., Aspergillus flavus* (Mishra and Dubey, 1994), *Cunninghamella sp., Fusarium sp., Mucor sp., Penicillium sp.* และ *Rhizopus sp.*

อาหารไทยที่มีการใช้ข่า ส่วนที่นำมาใช้เป็นอาหารคือ ราก และ เหง้า โดยเหง้าอ่อนและดอกข่านำมาใช้เป็นผัก เหง้าแก่ซึ่งมีรสเผ็ดร้อนและปร่า ใช้เป็นเครื่องปรุงรสและแต่งกลิ่นสำหรับน้ำพริก

แกงหลายชนิด ผัดเผ็ด แกงไตปลา ในลาบต่างๆ ต้มยำและต้มอื่นๆ เช่นต้มเครื่องในวัว ใช้เป็นส่วนผสมของลูกแป้งที่ใช้ทำข้าวหมาก เหง้าอ่อนนำมาใช้ปรุงเป็นอาหาร เช่น ต้มข่าไก่

ตะไคร้ (Lemongrass)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., *Andropogon citratus* DC.

ส่วนที่นำมาใช้บริโภค ลำต้นและโคนใบ ใช้แต่งกลิ่นอาหารคาวได้หลายชนิด

สารสำคัญ น้ำมันหอมระเหย ได้แก่ citral, linalool, myrcene, eugenol, citronellal, geraniol เป็นต้น

ประโยชน์

1. ขับลม แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับปัสสาวะ
2. ต้านเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และรา เช่น *Candida sp., Absidia sp., Alternaria alternata, Aspergillus sp., Cladosporium sp., Fusarium sp., Mucor sp.* และ *Penicillium citrinum*

อาหารไทยที่มีการใช้ตะไคร้ ตะไคร้มีรสเผ็ดร้อนและขม ใช้เป็นเครื่องแต่งกลิ่นรสอาหารไทย เป็นส่วนประกอบสำคัญของน้ำพริกแกงแทบทุกชนิด เช่นน้ำพริกแกงเผ็ด น้ำยาขนมจีน ข้าวยำปักษ์ใต้ น้ำพริกอ่อง แกงไตปลา น้ำพริกตะไคร้ เป็นต้น ใช้สดในอาหารจานพล่า ยำ และเป็นส่วนประกอบสำคัญในต้มยำ

ผักชี (Coriander, Chinese Parsley)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Coriandrum sativum* Vern. Dhania

ส่วนที่นำมาใช้บริโภค ใช้รากและใบแต่งกลิ่นอาหาร ลูกหรือผลใช้เป็นเครื่องเทศประกอบของน้ำพริกแกง

สารสำคัญ น้ำมันหอมระเหย ได้แก่ coriandrol และ d-linalool

ประโยชน์

1. มีฤทธิ์ในการขับลม
2. ขับปัสสาวะ
3. ต้านแบคทีเรียและรา เช่น *Esherichia coli, Lactobacillus sp., Pseudomonas aeruginosa, Vibrio parahaemolyticus, Saccharomyces cerevisiae, Alternaria sp., Cunninghamella sp., Fusarium sp.* และ *Rhizopus sp.*

อาหารไทยที่มีการใช้ผักชี ผักชีใช้ประโยชน์ทั้งลำต้น ราก ใบ และ ลูก อาหารไทยส่วนมากมักโรยหน้าด้วยผักชี เพื่อแต่งกลิ่น และช่วยให้อาหารน่ารับประทาน ลูกผักชีใช้ผสมในน้ำพริกแกง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เช่นแกงเผ็ด แกงเขียวหวาน แกงกะหรี่ แกงมัสมั่น ทำให้แกงมีกลิ่นหอม รากผักชีมักใช้ร่วมกับกระเทียมแต่งกลิ่นแกงจืดให้หอม ใช้ทำไส้ขนม เช่น ปั้นขลิบ สาคูไส้หมู ขนมเทียนไส้เค็ม

พริก (Chili, Capsicum)

ชื่อวิทยาศาสตร์ พริกขี้หนู (Cayenne Pepper) *Capsicum frutescens* Linn. (*C. minimum* Roxb.)
พริกชี้ฟ้า (Chili Spur Pepper) *Capsicum annuum* Linn. var. *acuminatum* Fingarh
พริกหยวก (Red, Sweet Pepper) *Capsicum annuum* Linn.

ส่วนที่นำมาใช้บริโภค ผล

สารสำคัญ สารรสเผ็ดได้แก่ capsaicin, dihydrocapsaicin, nordihydrocapsaicin, homocapsaicin และ homodihydrocapsaicin ส่วนสาร carotenoid ที่ทำให้พริกมีสีส้มแดง ได้แก่ capsanthin capsarubin carotene และ luteolin เป็นต้น และสาร alkaloid เช่น solanine และ solanidine

ประโยชน์

1. ช่วยกระตุ้นการทำงานของกระเพาะอาหาร ทำให้เจริญอาหาร ถ้ารับประทานในปริมาณไม่มากช่วยลดการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร
2. ช่วยขับลมขับเสมหะ แก้อาเจียน แก้ปวดเมื่อย
3. ช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งและอาจช่วยป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด จากผลการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า สามารถลดระดับไตรกลีเซอไรด์ในหนู ช่วยเพิ่มเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชั่นในเยื่อบุปอด
4. ต้านเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Bacillus cereus, B. subtilis, Esherichia coli, Lactobacillus sp., Micrococcus sp., Salmonella sp.* และ *Staphylococcus aureus* แต่สำหรับราพบทั้งฤทธิ์ยับยั้งและส่งเสริมการเจริญขึ้นกับความเข้มข้นของสารที่มีอยู่ โดยส่งเสริมการเจริญของราบางชนิด เช่น *Alternaria sp., Aspergillus sp., Cunninghamella sp., Fusarium sp., Penicillium sp.* และ *Rhizopus sp.* เป็นต้น

อาหารไทยที่มีการใช้พริก พริกที่นิยมนำมาใช้ในอาหารไทย ได้แก่ พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้าแดงและเขียว พริกเหลือง พริกหนุ่ม และพริกหยวก ซึ่งพริกแต่ละชนิดมีความเผ็ดมากน้อยต่างกัน สามารถใช้ได้ทั้งในรูปพริกสด พริกแห้ง พริกป่น หรือนำมาดองกับน้ำส้ม พริกเป็นส่วนประกอบหลักของน้ำพริกแกง น้ำพริกต่างๆ อาหารประเภทยำ พล่า ต้มยำ ใช้ปรุงรสอาหารให้มีรสเผ็ดตามต้องการ พริกบางชนิดนำมาใช้ในการแต่งกลิ่นอาหารและดับกลิ่นคาวของอาหาร เช่นการใช้พริกขี้หนูแห้งคั่วในลาบเพื่อดับกลิ่นคาวของเนื้อสัตว์ หรือใช้ปรุงแต่งให้อาหารมีสีสันสวยงามมากขึ้น

พริกไทย (Pepper)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Piper nigrum* Linn.

ส่วนที่นำมาใช้บริโภค ผลอ่อนและผลแก่

สารสำคัญ น้ำมันหอมระเหยมีสารจำพวก monoterpene และ sesquiterpene ทำให้พริกไทยมีกลิ่นหอมอ่อนๆ oleoresin ทำให้พริกไทยมีรสเผ็ด และสาร alkaloid ได้แก่ piperine เป็นสารมีกลิ่นรสเผ็ดร้อนและฉุน

ประโยชน์

1. ใช้ขับลม ขับปัสสาวะ ช่วยระงับอาการปวดท้อง จุกเสียด
2. ขับเสมหะ
3. ช่วยกระตุ้นให้กระเพาะอาหารหลั่งน้ำย่อยได้มากขึ้น
4. ต้านแบคทีเรียและรา เช่น *Alternaria sp., Aspergillus sp., Cunninghamella sp., Curvularia sp., Fusarium sp., Penicillium sp.* และ *Rhizopus sp.*

อาหารไทยที่มีการใช้พริกไทย พริกไทยเป็นส่วนผสมในน้ำพริกแกงทุกชนิด ใส่แกงจืดโดยตำร่วมกับรากผักชีและกระเทียม โรยบนอาหารหลายประเภทเพื่อให้มีกลิ่นหอม คนไทยใช้พริกไทยสดประกอบอาหารหลายชนิด เช่น แกงป่า แกงเผ็ด ผัดเผ็ด

มะกรูด (Kaffir Lime, Leech Lime)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus hystrix* DC.

ส่วนที่นำมาใช้บริโภค ใบ ผิว และ น้ำ

สารสำคัญ น้ำมันหอมระเหยจากผิว ได้แก่ β-pinene, limonene และ sabinene
น้ำมันหอมระเหยจากใบ ได้แก่ citronellal, linalool และ isopulegol
ในน้ำมีวิตามินซีและกรดซิตริก

ประโยชน์

1. ช่วยขับลม
2. แก้ไอ ขับเสมหะ
3. ต้านแบคทีเรียและรา เช่น *Alternaria sp., Aspergillus sp., Cunninghamella sp., Curvularia sp., Fusarium sp., Penicillium sp.* และ *Rhizopus sp.*

อาหารไทยที่มีการใช้มะกรูด คนไทยใช้ผิวมะกรูดเป็นเครื่องเทศผสมในน้ำพริกแกงหลายชนิดทั้งแกงเผ็ด ผัดเผ็ด และน้ำพริก(ขนมจีน) น้ำมะกรูดมีรสเปรี้ยว ใช้ปรุงรสอาหารดับกลิ่นคาว นิยมใส่น้ำมะกรูดในปลาร้า หลน แกงส้ม แกงเทโพ ใบมะกรูดฉีกหรือหั่นฝอยเพื่อกลบคาวหรือแต่งกลิ่นในแกงเผ็ด ผัดเผ็ด ฉู่ฉี่ปลา แกงต้มส้ม ต้มยำ ห่อหมก ตำขนุน ข้าวยำปักษ์ใต้ ใส่ใน

น้ำพริกแกงทำทอดมันปลากราย ใช้โรยหน้าอาหารที่ปรุงเสร็จแล้วเพื่อแต่งกลิ่น เช่น โรยหน้าข้าวเหนียวหน้ากุ้ง

ยี่หร่า (Cumin)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cuminum cyminum* Linn.

ส่วนที่นำมาใช้บริโภค ส่วนผลหรือเมล็ด

สารสำคัญ น้ำมันหอมระเหยที่มีกลิ่นรสเผ็ดร้อนและขม สารประกอบสำคัญ ได้แก่ cuminic aldehyde, p-cymene, pinene, dipentene, cumene, cuminic alcohol, β-phellandrene และ α-terpeneol

ประโยชน์

1. ใช้ขับลมขับเสมหะ
2. ต้านแบคทีเรียและรา เช่น *Mucor sp.* และ *Rhizopus sp.* เป็นต้น

อาหารไทยที่มีการใช้ยี่หร่า อาหารไทยใช้ยี่หร่าในการปรุงแต่งกลิ่นอาหาร โดยคั่วเมล็ดโขกผสมกับน้ำพริกแกง เช่น แกงกะหรี่ แกงเผ็ด แกงเขียวหวาน เป็นต้น

หอมแดง (Shallot)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Allium ascalonicum* Linn.

ส่วนที่นำมาใช้บริโภค หัว ต้น ใบ

สารสำคัญ หัวมีน้ำมันหอมระเหยที่มี sulfides และ thiols ได้แก่ dipropyl trisulfide และ allyl propyl disulfide สารประกอบที่ทำให้เกิดการระคายเคืองตาและจมูกเมื่อปอกหอม ได้แก่ thiopropanal sulfoxide และ ethenesulfonic acid ใบสดมีสาร flavonoid ได้แก่ quercetin และ spiraeoside

ประโยชน์

1. ขับลม แก้ปวดท้อง
2. ลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนู
3. แก้หวัด คัดจมูก
4. ต้านแบคทีเรีย ยีสต์ และรา เช่น *Saccharomyces cerevisiae, Aspergillus niger, Botrytis sp., Fusarium solani, Penicillium italicum, Phytophthora sp.* และ *Rhizopus nigricans*

อาหารไทยที่มีการใช้หอมแดง หอมแดงช่วยดับกลิ่นคาวและเพิ่มรสชาติ เป็นส่วนประกอบสำคัญในน้ำพริกแกงทุกชนิด ใช้ในอาหารประเภทแกงเผ็ด ต้มโคล้ง แกงเลียง ต้มยำ อาหารประเภทหลน ยำ ลาบ น้ำพริกต่างๆ อาจาด เหมี่ยง เครื่องเคียงของข้าวซอย ใช้ในขนมหวาน เช่น ขนมหม้อแกง ใช้หอมแดงซอย เจียวให้เหลืองโรยหน้า ต้นและใบใช้เป็นผักสดสำหรับเป็นเครื่องเคียงพวกหลนต่างๆ

กระวาน (Round Siam Cardamon, Best Cardamon, Clustered Cardamon, Camphor seeds)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Amomum krervanh* Pierre, *A. cardamomum* L.

ส่วนที่นำมาใช้บริโภค ผลแก่จัด เมล็ดจากผลที่สุกและแห้ง

สารสำคัญ เมล็ดกระวานจะให้น้ำมันหอมระเหยประมาณร้อยละ 4.5 ประกอบด้วย camphor, α-pinene, myrcene, limonene, linalool, borneol, α-terpineol limonene เป็นองค์ประกอบสำคัญ

ประโยชน์

1. รักษาโรคท้องเดิน ท้องอืด ท้องเฟ้อ แน่น จุก เสียด และช่วยขับลมในกระเพาะอาหาร
2. ต้านแบคทีเรีย ยีสต์ และรา เช่น *Alternaria sp., Cunninghamella sp., Penicillium sp.* และ *Rhizopus sp.* นอกจากนี้ยังพบว่ากระวานสามารถลดความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินได้

อาหารไทยที่มีการใช้กระวาน ผลกระวานมีกลิ่นหอมคล้ายการบูรและพิมเสน จึงใช้แต่งกลิ่นอาหารได้หลายชนิดโดยใช้เป็นเครื่องเทศในน้ำพริกแกงเผ็ด แกงกะหรี่ แกงมัสมั่น โดยเฉพาะในอาหารอินเดีย รวมทั้งแต่งกลิ่นเหล้าบางชนิด

กานพลู (Clove)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Eugenia caryophyllus* (Sprengel) Bullock & Harrison, *Syzygium aromaticum* (Linn.) Merr. & Perry

ส่วนที่นำมาใช้บริโภค ดอกตูมแห้ง

สารสำคัญ ดอกกานพลูแห้งประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 14-20 น้ำมันกานพลูเป็นสารพวก phenolic compound ร้อยละ 85 ซึ่งสาวนใหญ่เป็น eugenol (ร้อยละ 70-90) รวมทั้ง eugenol acetate และ caryophyllene

ประโยชน์

1. เป็นส่วนผสมของยารักษาโรค เช่น ยาแก้ไอ ยาแก้โรคเลือดออกตามไรฟัน ขับลม แก้ปวดท้อง จุก เสียด ท้องเสีย ยาระงับอาการปวดฟัน ตลอดจนยาบำรุงธาตุ
2. มีฤทธิ์เป็นยาชา ยาฆ่าเชื้อ แก้ปวดฟัน

3. ใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง สบู่ สังเคราะห์กลิ่นวานิลา ทำน้ำมันสำหรับล้างแผ่นสไลด์กล้องจุลทรรศน์
4. เป็นส่วนผสมของอาหารเพื่อปรุงแต่งกลิ่นและรสชาติ ช่วยถนอมอาหาร ใช้ในอาหารหมักดอง อาหารกระป๋อง และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ มีฤทธิ์ในการฆ่าและยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น *Acetobacter aceti, Mycoderma vino, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella sp., Candida albican, Saccharomyces cerevisiae, Alternaria sp.,* Mycotoxigenic *Aspergillus, Cunninghamella sp., Curvularia sp., Fusarium sp., Mucor sp., Penicillium sp.* และ *Rhizopus sp.*

อาหารไทยที่มีการใช้กานพลู กานพลูมีกลิ่นหอมและรสเผ็ดร้อน ใช้เป็นเครื่องเทศ เป็นส่วนผสมในน้ำพริกแกง ซอสมะเขือเทศ ผักดอง แต่งกลิ่นไส้กรอก และหมูแฮมเป็นต้น นอกจากนี้ยังใช้เป็นของขบเคี้ยวร่วมกับหมาก พลู ปูน ที่เรียกว่ากินหมาก โดยกานพลูช่วยแต่งกลิ่นให้หอม ทั้งยังใช้แต่งกลิ่นยาสีฟันหรือยาอมบ้วนปาก

จันทน์เทศ (ลูกจันทน์ Nutmeg หรือ Myristica, ดอกจันทน์ Mace หรือ Macis)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Myristica fragrans* Houttuyn

ส่วนที่นำมาใช้บริโภค ส่วนของเมล็ดมีเปลือกแข็ง สีน้ำตาลเข้ม รูปร่างยาวรี และ รกหุ้มเมล็ดลักษณะคล้ายร่างแหแผ่เป็นสีแดงและรัดติดแน่นอยู่กับเมล็ดเมื่อแก่มีสีน้ำตาลเหลือง ซึ่งต้องลอกก่อนนำไปใช้ประโยชน์

สารสำคัญ จันทน์เทศมีน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 2-6 เป็น fixed oil ร้อยละ 25-40 ประกอบด้วย myristic acid และ triglyceride ของกรด lauric, tridecanoic, palmitic, stearic และ myristic

ประโยชน์

1. ใช้แต่งกลิ่นและใช้เป็นเครื่องเทศที่มีรสเผ็ดทำให้เจริญอาหาร
2. แก้ไข้ บำรุงหัวใจ ขับลม แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ช่วยย่อยอาหาร แก้อาการคลื่นไส้
3. ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องหอม เครื่องสำอาง สบู่ และ สุรา
4. ใช้ถนอมอาหาร ยับยั้งจุลินทรีย์ เช่น *Bacillus subtilis, Esherichia coli, Salmonella enteritidis, Staphylococcus aureus, Alternaria sp., Aspergillus sp., Cunninghamella sp.* และ *Penicillium vulgaris*

อาหารไทยที่มีการใช้จันทน์เทศ ใช้เป็นเครื่องเทศแต่งกลิ่นอาหารได้หลายชนิด รวมทั้งแต่งกลิ่นเครื่องดื่ม ชนิดที่มีและไม่มีแอลกอฮอล์ แต่งกลิ่นอาหารจำพวกเนื้อ ซุป ของหวาน และของว่าง

อบเชยเทศ (Ceylon Cinnamon, True Cinnamon)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cinnamomum verum* J.S. Presl, *C. zeylanicum* Garc. ex. Bl.

ส่วนที่นำมาใช้บริโภค เปลือกแห้งส่วนลำต้น

สารสำคัญ เปลือกอบเชยเทศประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.5–1.0 ประกอบด้วย cinnamaldehyde (ร้อยละ 60-75), eugenol, benzaldehyde, methyl amyl ketone, phellandrene, pinene, cymene, linalool, cumic aldehyde, caryphyllene และ ester ของ isobutyric acid

ประโยชน์

1. แก้จุก เสียด แน่นท้อง ท้องเดิน ใช้ขับลมในลำไส้ได้ดี
2. มีรสหอมหวานให้ความสดชื่น แก้อ่อนเพลีย ใช้เป็นส่วนผสมของยาบำรุงกำลัง บำรุงธาตุ
3. ต้านแบคทีเรีย ยีสต์ และรา เช่น *Alternaria sp.,* Mycotoxigenic *Aspergillus, Cunninghamella sp., Curvularia sp., Fusarium sp., Mucor sp.* และ *Penicillium sp.*

อาหารไทยที่มีการใช้อบเชย ใช้แต่งกลิ่นลูกกวาด ขนมหวาน ผักดอง ซอส เหล้า คุกกี้ ขนมเค้ก แยม ไส้กรอก เบคอน และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ต่างๆ เป็นส่วนผสมของเครื่องพะโล้ ผงกะหรี่ เภสัชภัณฑ์ สบู่ ยาเตรียมที่ใช้สำหรับช่องปาก น้ำมันมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียและรา แต่ทำให้เกิดความระคายเคือง

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายอดิพล ดิลกพิมล เกิดวันที่ 4 มกราคม 2523 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต จากภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2543 และเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2544

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย