ว.วิทย. มข. 44(1) 111-123 (2559) KKU Sci. J. 44(1) 111-123 (2016)

การต้านทานกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกของ *Aspergillus flavus* ในน้ำพริกตาแดง

Resistance of *Aspergillus flavus* against Benzoic Acid and Sorbic Acid in Chili Paste (Num Prik Ta–Dang)

ยศยา ทุริสุทธิ์[1] อรรณพ ทัศนอุดม[4] ลัดดา วัฒนศิริธรรม[3] ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ์[2] และ วราภา มหากาญจนกุล[1*]

[1] ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ 10900

[2] ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ 10900

[3] สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ 10900

[4] สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา พิษณุโลก, พิษณุโลก 65000

* Corresponding Author, E-mail: fagiwpm@ku.ac.th

บทคัดย่อ

น้ำพริกตาแดงเป็นน้ำพริกที่นิยมบริโภค ผู้ผลิตมักเติมวัตถุกันเสียเพื่อยืดอายุการเก็บและชะลอการเสื่อมเสียจากเชื้อรา จึงพบกรดเบนโซอิกเจือปนในผลิตภัณฑ์น้ำพริกเกินปริมาณที่กำหนดเสมอ งานวิจัยนี้ศึกษาการต้านทานต่อกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกของเชื้อราในน้ำพริกตาแดง เพื่อเป็นแนวทางในการลดปริมาณและใช้วัตถุกันเสียอย่างเหมาะสม จากการสำรวจคุณภาพและความปลอดภัยของน้ำพริกตาแดงจำนวน 60 ตัวอย่าง จำหน่ายใน 20 จังหวัดของภาคกลางและภาคตะวันออกของประเทศไทย พบว่าน้ำพริกตาแดงมีค่า pH 4.0–6.25 มีค่า a_w 0.63–0.93 ตรวจพบปริมาณกรดเบนโซอิกร้อยละ 78 ตั้งแต่ 169–5,302 มก./กก. ซึ่งพบปริมาณกรดเบนโซอิกเกินมาตรฐานกำหนด (>1,000 มก./กก.) ร้อยละ 40 (23 ใน 60 ตัวอย่าง) พบกรดซอร์บิกร้อยละ 13 ตั้งแต่ 2–1,760 มก./กก. น้ำพริกส่วนใหญ่ร้อยละ 95 พบการปนเปื้อนเชื้อรามากกว่า 100 CFU/g ร้อยละ 58 มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดปนเปื้อนมากกว่า 10^5 CFU/g และร้อยละ 22 พบ *C. perfringens* มากกว่า 100 CFU/g เมื่อนำไอโซเลทเชื้อรา *Aspergillus flavus* 0701 ที่แยกได้จากน้ำพริกตาแดงเพาะเลี้ยงใน Potato Dextrose Agar (PDA) ที่ปรับค่า a_w 0.90 และ 0.85 และค่า pH 5.0 และ 4.5 พบว่าต้องเติมกรดซอร์บิกที่ความเข้มข้น 800 มก./กก. หรือมากกว่า จึงยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. flavus* 0701 ในสภาวะของ PDA ที่ค่า a_w 0.9 และค่า pH 4.5 และ 5.0 และหากลดค่า a_w ของ PDA เป็น 0.85 ที่ค่า pH ทั้ง 2 ระดับ พบว่าการเติมกรดเบนโซอิกปริมาณต่ำกว่าคือ 500 มก./กก. ช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* 0701 ได้ การเติมวัตถุกันเสียทั้งสองชนิดนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยร่วมของชนิดเชื้อรา ค่า a_w และ pH ของอาหารเป็นสำคัญ ในอาหารจำลองนี้พบว่าการเติมกรดซอร์

บิกเพียงชนิดเดียวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด และดีกว่าการเติมกรดเบนโซอิกร่วมกับกรดซอร์บิกและการเติมกรดเบนโซอิกเพียงชนิดเดียว

ABSTRACT

Num Prik Ta Dang , a traditional chili paste, is a popular condiment among Thai consumer. This product has a short shelf-life which common preservatives such as benzoate and/or sorbate are added by manufacturers, therefore often found these preservatives exceed the maximum limit according to food regulation. The aim of this study was to investigate the resistance of contaminated mold in Num Prik Ta Dang against benzoic acid and/or sorbic acid in order to recommend the proper use of these preservatives. Survey of 60 samples of Num Prik Ta Dang sold in 20 provinces of Central and Eastern part of Thailand was conducted. Results found that the pH value of chili paste ranged from 4.0–6.35, while a_w value was 0.63–0.93. Benzoic acid and sorbic acid were added as 78% and 13%, ranging from 169–5,302 mg/kg and 2–1,760 mg/kg, respectively. Whereas 23 of 60 samples (40%) contained benzoic exceed the maximum limit (at 1000 mg/kg). High load of yeast and mold (95%, $>10^2$ CFU/g) and total bacteria (58%, $>10^5$ CFU/g) was found. Moreover pathogenic bacteria such as *C. perfringens* was found 21.7% ($>10^2$ CFU/g). Then *Aspergillus flavus* 0701, isolated from chili paste, were cultured on Potato Dextrose Agar adjusted pH at 4.5 and 5, and a_w at 0.85 and 0.9. Isolate was inhibited by sorbic acid at concentration 800 mg/kg (pH 5.0 or 4.5, a_w 0.90). At both level of pH when reduced a_w to 0.85, the growth of *A. flavus* 0701 was inhibited completely by adding benzoic acid at 500 mg/kg. Using of both preservatives to prolong shelf-life of food depends on combination factors of mold strain, a_w and pH of food. In this simulated conditions in food model results showed adding only sorbic acid was the best effective against preservative resistant mold, following by the combination of benzoic and sorbic acid, and lastly only benzoic acid added.

คำสำคัญ: น้ำพริก เชื้อรา กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก การเน่าเสีย เชื้อราต้านทานวัตถุกันเสีย
Keywords: Chili paste, Mold, Benzoic acid, Sorbic acid, Spoilage, Preservative resistance mold

บทนำ

น้ำพริกตาแดงเป็นผลิตภัณฑ์พร้อมบริโภค ที่ได้จากการนำพริกแห้ง หอมแดง และกระเทียม ที่ผ่านการอบ เผา ทอดหรือคั่วให้แห้ง มาบดและผสมเข้ากับเครื่องปรุงรส เช่น น้ำปลา เกลือ น้ำตาล น้ำมะขามเปียก หรืออาจมีการเติม แมงดา ปลาย่าง หรืออื่น ๆ ลงไปในส่วนผสมด้วย (นิจศิริ, 2542) จากผลการสำรวจในช่วงปี 2546–2555 พบว่าน้ำพริกที่วางจำหน่ายภายในประเทศไทยกว่าร้อยละ 70 มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เกินกว่าที่มาตรฐานกำหนด

(รวิวรรณและคณะ, 2546; ชิดชมและคณะ, 2547, 2548, 2549; พัชราวัลย์และคณะ, 2549; จิรวัฒน์และคณะ, 2549; วลัยและคณะ, 2550; นิจฉราและคณะ, 2551; ฐิตินันท์, 2552; ปิยวรรณและวริพัสย์, 2554; อรรณพและคณะ, 2552, 2555; อรรณพและวรรณภา, 2553ก, 2553ข; Mahakarnchanakul et al., 2011) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อรา ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์หลักที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของน้ำพริก เชื้อราอาจปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ หรือจากสุขลักษณะที่ไม่ดีในระหว่างกระบวนการผลิต ทั้งนี้จากรายงานการปนเปื้อนของเชื้อราในวัตถุดิบที่ใช้ในการแปรรูปน้ำพริกจำนวน 180 ตัวอย่าง ได้แก่ พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า พริกชี้ฟ้าแห้ง หอม กระเทียม และข่า พบเชื้อราตั้งแต่ 0.80–4.92 log CFU/g โดยเชื้อราที่พบมากในวัตถุดิบเหล่านี้ ได้แก่ *Aspergillus niger A. flavus Penicillium citrinum* และ *P. corylophilium* (อดิพล, 2546) ส่วนชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ที่พบในเครื่องเทศที่จำหน่ายในท้องตลาด ได้แก่ พริกชี้ฟ้าแห้ง หอมแดง กระเทียม พบการปนเปื้อนของยีสต์ และราปริมาณสูง คือ 2.34–6.10 log CFU/g) (ฐิตินันท์, 2552) การละเลยสุขลักษณะในการผลิตและกระบวนการลดเชื้อราที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบที่ไม่เหมาะสม ตลอดจนการคัดเลือกวัตถุดิบที่ไม่ดีพอ ย่อมส่งผลต่อการเสื่อมเสียจากเชื้อราและอายุการเก็บรักษาของน้ำพริกประเภทนี้ได้ ด้วยเหตุนี้การใช้วัตถุกันเสียจึงเข้ามามีบทบาทในผลิตภัณฑ์น้ำพริกในแง่ของการยืดอายุการเก็บรักษา ช่วยชะลอและควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์โดยเฉพาะเชื้อรา แต่การใช้วัตถุกันเสียทั้งกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในปริมาณสูงเกินกว่าที่มาตรฐานกำหนด (>1,000 มก./กก.) อาจส่งผลต่อความปลอดภัยของผู้บริโภคในระยะยาวเมื่อรับประทานบ่อยครั้ง

ดังนั้นปริมาณการใช้และการเลือกใช้ชนิดของวัตถุกันเสียที่ถูกต้อง และมีประสิทธิภาพดีในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา จึงมีความจำเป็นต้องทำการศึกษา โดยเฉพาะการยับยั้งเชื้อราชนิดที่มีความสามารถต้านทานต่อวัตถุกันเสียที่นิยมเติมในน้ำพริกชนิดนี้ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการปรับลดหรือควบคุมปริมาณการใช้วัตถุกันเสียตลอดจนการเลือกใช้วัตถุกันเสียชนิดที่เหมาะสมในการผลิตน้ำพริกตาแดงต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

เก็บตัวอย่างน้ำพริกตาแดงจำนวน 60 ตัวอย่าง (500 กรัมต่อตัวอย่าง) ผลิตจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนหรือผลิตภัณฑ์ชุมชนหนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์ (One tambon one product: OTOP) จาก 20 จังหวัดในเขตภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดกรุงเทพมหานคร กาญจนบุรี ชัยนาท นครนายก นครปฐม นครสวรรค์ นนทบุรี ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา พิษณุโลก เพชรบุรี ราชบุรี สมุทรปราการ สมุทรสงคราม สระบุรี สิงห์บุรี สุพรรณบุรี และ อ่างทอง รวมทั้งจังหวัดชายฝั่งทะเลตะวันออก ได้แก่ ชลบุรี และ ตราด

1. การตรวจคุณภาพของน้ำพริกตาแดง

นำตัวอย่างน้ำพริกตาแดงตรวจวัดค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ (a_w) ด้วยเครื่องวัดค่า a_w (AQUA LAB series 3, USA) ค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter (Jenco model 6071, Taiwan) ปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก (AOAC, 2000) จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อยีสต์และรา และเชื้อ *Clostridium perfringens* (Downes and Ito, 2001)

2. การแยกเชื้อราและระบุสายพันธุ์

แยกเชื้อราจากตัวอย่างน้ำพริกตาแดงที่มีปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกมากกว่า 700 มก./กก. (Zaini et al., 2010) ทำให้บริสุทธิ์โดยการ

เขี่ยลงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เพาะเชื้อที่ 30°C เป็นเวลา 5–7 วัน แล้วแยกโอโซเลทเชื้อรา (ฆรณี, 2550) นำแต่ละไอโซเลทที่แยกได้จำนวน 20 ไอโซเลท ส่งตรวจวินิจฉัยเพื่อบ่งชี้สายพันธุ์เชื้อรา ณ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ คัดเลือกสายพันธุ์ราที่สามารถทนต่อกรดเบนโซอิกและ/หรือซอร์บิกได้ในปริมาณสูงกว่า 700 มก./กก. เพื่อศึกษาขั้นต่อไป

3. การเตรียมสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* 0701

เตรียมสปอร์แขวนลอย (spore suspension) เชื้อรา *Aspergillus flavus* 0701 โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Merck, Germany) ภายใต้สภาวะแบบมีอากาศที่ 25–30°C เป็นเวลา 10 วัน เก็บเกี่ยวสปอร์ด้วยการชะที่ผิวหน้าอาหาร PDA ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่มีสารละลาย Tween 80 (0.1%, 1–2 หยด) ครั้งละ 5 ml ใช้แท่งแก้วงอที่ฆ่าเชื้อขูดที่ผิวหน้าจนทั่ว ดูดสปอร์แขวนลอยกรองผ่านใยแก้ว (glass wool, Supply chem, USA) ใส่ในหลอดเหวี่ยงที่อบฆ่าเชื้อขนาด 50 ml ขูดจนกระทั่งเชื้อราบนจานอาหารหมด ชะล้าง glass wool ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3–4 ครั้ง รวบรวมสารละลายที่มีสปอร์แขวนลอยประมาณ 30 ml นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 รอบต่อนาที เวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง ล้างและปั่นเหวี่ยงด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 20 ml อีกครั้ง เทส่วนใสทิ้งและปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 5 ml ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ตรวจนับความเข้มข้นของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วย Haemacytometer (Neubauer, Germany) เจือจางสปอร์แขวนลอยด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ให้อยู่ที่ระดับ 10^3–10^4 spore/ml (Malo et al., 2007) ตรวจยืนยันจำนวนแน่นอนด้วยการเพาะในอาหาร PDA

4. ความสามารถในการต้านทานต่อกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกของเชื้อรา *Aspergillus flavus* 0701

จากการตรวจวัดค่า pH และค่า a_w ในน้ำพริกตาแดง ส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 4.5–5.0 และ 0.9–0.85 ตามลำดับ ดังนั้นการศึกษาปัจจัยของค่า pH และค่า a_w ที่มีผลต่อการต้านทานกรดเบนโซอิกและ/กรดซอร์บิกของเชื้อราในระบบอาหารเลี้ยงเชื้อเลียนแบบน้ำพริกตาแดง จึงเตรียมอาหาร PDA ปรับ pH ที่ 4.5 และ 5.0 ด้วยกรดซิตริก และปรับค่า a_w เป็น 0.9 และ 0.85 ด้วยกลีเซอรอล หลังจากนำไปนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจึงเติมกรดเบนโซอิกในรูปโซเดียมเบนโซเอต (มีกรดเบนโซอิก 500 800 และ 1,000 มก./กก.) หรือกรดซอร์บิกในรูปโพแทสเซียมซอร์เบต (มีกรดซอร์บิก 500 800 และ 1,000 มก./กก.) หรือเติมทั้งสองชนิดคือโซเดียมเบนโซเอตร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบตใน 3 สัดส่วน คือ 900:100 700:300 และ 500:500 มก./กก. สารละลายวัตถุกันเสียจะผ่านการกรองด้วย cellulose acetate filter ขนาด 0.45 µm (Stedim Biotech GmbH 37070, Sartorius, Germany) ก่อนผสมลงในอาหาร PDA ทดสอบการเจริญของเชื้อราในอาหารโดยหยดสปอร์แขวนลอยจุดละ 2 µl จำนวน 3 จุด บนอาหาร PDA (มีปริมาณสปอร์ 10^3 spore/ml ต่อจุด) เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 7 วัน (ปิยวรรณและวริพัสย์, 2554) ครบกำหนดให้วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราด้วยเวอร์เนียมิเตอร์ ทั้ง 3 จุด บันทึกค่าเฉลี่ยผลการเจริญของเชื้อราบนอาหาร PDA ชุดควบคุมคืออาหารที่ไม่เติมกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อ 1 ทรีตเมนต์

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเปรียบเทียบความแตกต่างของ

ค่าเฉลี่ยระหว่างชุดทดลองโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) (ปราณี, 2547)

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. การตรวจคุณภาพของน้ำพริกตาแดง

สามารถแบ่งน้ำพริกตาแดง 60 ตัวอย่างตามลักษณะกายภาพเป็น 3 ประเภทคือ น้ำพริกตาแดงชนิดเปียก ชนิดกึ่งเปียก และชนิดแห้ง ส่วนใหญ่ร้อยละ 72 ที่จำหน่ายในท้องตลาดเป็นน้ำพริกชนิดกึ่งเปียกและมักมีค่า pH ค่อนไปทางกรด (ตารางที่ 1) เมื่ออ้างอิงตามสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (2546) ที่กำหนดค่า a_w ของน้ำพริกตาแดงต้องไม่เกิน 0.85 พบว่ามากกว่าครึ่งหนึ่งของน้ำพริกตาแดง (34 ตัวอย่าง หรือ 57% ของตัวอย่างทั้งหมด) มีค่า a_w ต่ำกว่า 0.85 สอดคล้องกับค่ามาตรฐานที่กำหนด ที่เหลือมีค่า a_w เกินค่ามาตรฐานที่ระบุไว้

ผลการตรวจสอบปริมาณวัตถุกันเสียในตัวอย่างน้ำพริกตาแดง พบว่ามีการเติมกรดเบนโซอิกมากที่สุดถึง ร้อยละ 78.3 ที่น่าสังเกตคือร้อยละ 38.3 หรือหนึ่งในสามมีปริมาณกรดเบนโซอิกเกินมาตรฐาน (>1,000 มก./กก.) อ้างอิงจาก 3 องค์กรคือประกาศกระทรวงสาธารณสุข (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2543), มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (สำนักงานมาตรฐานผลิตชุมชน, 2546) และมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548) และบางตัวอย่างมีการเติมกรดซอร์บิกเป็นวัตถุกันเสียเพียงชนิดเดียวแต่พบในจำนวนน้อยเพียง 8 ตัวอย่าง (13.3%) โดยพบ 1 ตัวอย่างที่ปริมาณกรดซอร์บิกสูงมากคือ 1,759 มก./กก. (ตารางที่ 2) จากรายงานการปนเปื้อนของวัตถุกันเสียในน้ำพริกชนิดอื่นโดยอดิพล และคณะ (2546) พบปริมาณกรดเบนโซอิกร้อยละ 40 (48 ใน 120 ตัวอย่าง) ในน้ำพริกแกงได้แก่แกงเผ็ด แกงเขียวหวาน แกงส้ม และแกงมัสมั่น ซึ่งเป็นนำพริกที่มี a_w ค่อนข้างสูงเสียได้ง่าย เช่นเดียวกับ พัจนภาและคณะ (2552) ที่รายงานว่าพบกรดเบนโซอิกในน้ำพริกแกง ที่จำหน่ายในเขตกรุงเทพมหานคร และจังหวัดสุพรรณบุรีถึงร้อยละ 52 (17 ใน 33 ตัวอย่าง) และพบกรดซอร์บิกใน 1 ตัวอย่าง แต่ไม่เกินมาตรฐานที่กำหนด (25.94 มก./กก.) ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานทั้งสองฉบับและยังพบว่ามีการเติมวัตถุกันเสียสองชนิดร่วมกันคือเติมกรดเบนโซอิกร่วมกับกรดซอร์บิกในตัวอย่างน้ำพริกตาแดง (8.4% หรือ 5 ใน 60 ตัวอย่าง)

การอนุญาตให้เติมกรดซอร์บิกเป็นวัตถุกันเสียเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาในผลิตภัณฑ์น้ำพริกเนื่องจากมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเสื่อมเสียจากเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีในอาหารที่มีค่า pH ต่ำกว่า 4.75 (ค่า pKa เท่ากับ 4.75) (Brul and Coote, 1999) สอดคล้องกับค่า pH ของน้ำพริกตาแดงที่พบคืออยู่ในช่วง 4.0–4.70 แต่กรดซอร์บิกมีราคาสูงกว่ากรดเบนโซอิก 2 เท่า จึงคาดว่าเป็นสาเหตุให้พบการใช้กรดเบนโซอิกเป็นวัตถุกันเสียในน้ำพริกตาแดงมากกว่ากรดซอร์บิก และพบบ่อยครั้งกว่าในผลิตภัณฑ์น้ำพริก

ผลการตรวจสอบคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของน้ำพริกตาแดงจำนวน 60 ตัวอย่างพบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และเชื้อยีสต์และรา มีจำนวนที่เกินมาตรฐานถึงร้อยละ 95 (>10^5 CFU/g) และร้อยละ 58.3 (>10^2 CFU/g) ตามลำดับ (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548; สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2552) ทั้งนี้ยังพบการปนเปื้อนของเชื้อ *C. perfringens* ในปริมาณที่เกินมาตรฐานกำหนดถึงร้อยละ 21.7 (ตารางที่ 3) สอดคล้องกับรายงานของรวิวรรณและคณะ (2546) ที่พบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำพริกตาแดงบางตัวอย่างปริมาณมากถึง 6–7 log CFU/g (6 ใน 62

ตัวอย่าง) และยังมีรายงานในผลิตภัณฑ์น้ำพริกของประเทศมาเลเซีย (Chili bo) ที่พบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดค่อนข้างสูงคือ 5–9 log CFU/g และจำนวนยีสต์และรา 3–7 log CFU/g (Zaini et al., 2010)

จะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีแนวโน้มที่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์มากจึงเก็บรักษาได้ไม่นานและนิยมเติมวัตถุกันเสีย สาเหตุคือวัตถุดิบหลักสำหรับผลิตน้ำพริก ได้แก่ พริกแห้ง หอมแดง และกระเทียม มักพบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นก่อนผ่านกระบวนการผลิตเป็นจำนวนมาก อดิพล (2546) พบราปนเปื้อนในกระเทียมปริมาณสูง 4 log CFU/g ส่วนในหอมแดงและพริกชี้ฟ้าปนเปื้อนรามากกว่า 3 log CFU/g เช่นเดียวกันในวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต Chili bo ในประเทศมาเลเซีย โดยพริกแดงสด และพริกป่นพบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและเชื้อราเริ่มต้น 6–8 log CFU/g และ 7 log CFU/g ตามลำดับ ซึ่งเป็นปริมาณที่สูง พบเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp. เป็นจำนวนมาก ราเหล่านี้เป็นเชื้อราที่พบได้ทั่วไปสามารถเจริญได้ในสิ่งแวดล้อมทั่วไปและในระหว่างการเก็บ (storage fungi) (อดิพล, 2546; Zaini et al., 2010)

สรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์นี้มีแนวโน้มการปนเปื้อนของจุลินทรีย์มาก จึงมีการใช้วัตถุกันเสียเพื่อควบคุมเชื้อราในน้ำพริกตาแดงปริมาณสูงเกินกว่าที่มาตรฐานกำหนดมากถึงหนึ่งในสามของตัวอย่าง ซึ่งอาจส่งผลต่อความปลอดภัยของผู้บริโภคในระยะยาวเมื่อรับประทานบ่อยครั้ง ดังนั้นการลดปริมาณการใช้วัตถุกันเสียให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัย และมีประสิทธิภาพเพียงพอต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อราที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์น้ำพริกจึงเป็นสิ่งที่ต้องทำการศึกษาอย่างจริงจังเพื่อเป็นแนวทางในการลดการใช้วัตถุกันเสียดังกล่าว

ตารางที่ 1 ค่า pH และ a_w เฉลี่ยของน้ำพริกตาแดงจำหน่ายใน 20 จังหวัดของประเทศไทย

ประเภทน้ำพริกตาแดง	ช่วง a_w	ค่าเฉลี่ย a_w	ช่วง pH	ค่าเฉลี่ย pH
ชนิดเปียก (n=5)	>0.90–0.93	0.91±0.01	4.5–4.8	4.67±0.21
ชนิดกึ่งเปียก (n=43)	>0.80–0.90	0.84±0.03	4.0–5.5	4.70±0.36
ชนิดแห้ง (n=12)	<0.63–0.80	0.75±0.06	4.3–6.3	4.82±0.54

ตารางที่ 2 ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในน้ำพริกตาแดง

วัตถุกันเสีย	ช่วงปริมาณที่พบ (mg/kg)	ค่าเฉลี่ยปริมาณที่พบ (mg/kg)	จำนวนตัวอย่างที่พบปริมาณวัตถุกันเสีย mg/kg (ร้อยละที่พบจากตัวอย่างทั้งหมด)[a]			
			ไม่พบ	<500	500 -1000	>1000
กรดเบนโซอิก	2–5,302	1,504	13 (21.7%)	13 (21.7%)	11 (18.3%)	23 (38.3%)
กรดซอร์บิก	3–1,760	627	52 (86.7%)	4 (6.7%)	3 (5.0%)	1 (1.6%)
กรดเบนโซอิกร่วมกับกรดซอร์บิก	2–987	794	10 (16.7%)	1 (1.7%)	4 (6.7%)	0 (0%)

หมายเหตุ ND คือตรวจไม่พบกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่ LOD 3.0 และ 2.0 มก./กก. ตามลำดับ

[a] ตัวอย่างทั้งหมด 60 ตัวอย่าง

ตารางที่ 3 คุณภาพด้านจุลินทรีย์ของน้ำพริกตาแดงที่จำหน่ายใน 20 จังหวัดของประเทศไทย

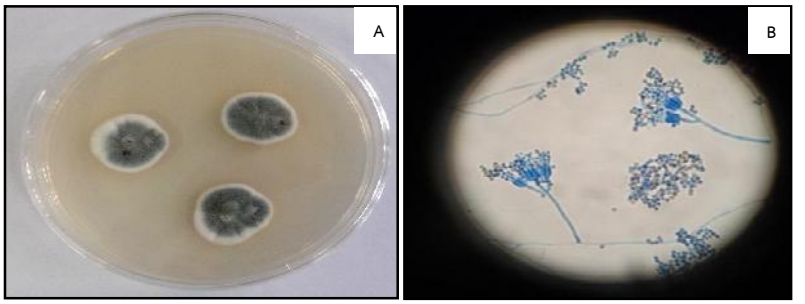
ชนิดจุลินทรีย์	ปริมาณกำหนด (CFU/g)	ช่วง (log CFU/g)	ค่าเฉลี่ยที่พบ (log CFU/g)	จำนวนตัวอย่างที่พบในแต่ละช่วงของ CFU/g (ร้อยละที่พบจากตัวอย่างทั้งหมด)				
				ไม่พบ	10-<100	100-<1,000	1,000-<10,000	>10,000
ยีสต์และรา	<100[a,b]	2.40–5.46	4.10	1 (1.7%)	2 (3.3%)	0 (0%)	15 (25%)	42 (70.0%)
จุลินทรีย์ทั้งหมด	<10,000[a]	0–5.36	3.48	3 (5.0%)	1 (1.7%)	5 (8.3%)	16 (26.7%)	35 (58.3%)
C. perfringens	<100[a,b]	0–2.28	1.52	41 (68.3%)	6 (10%)	13 (21.7%)	0 (0%)	0 (0%)

หมายเหตุ [a]สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2548) [b] สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2552)

2. การแยกเชื้อราและระบุสายพันธุ์

ผลการตรวจวินิจฉัยเชื้อรา 20 ไอโซเลท ยืนยันว่าเป็นสายพันธุ์ *Aspergillus flavus* (12 ไอโซเลท) *Penicillium citrinum* (7 ไอโซเลท) และ *Aspergillus sydowii* (1 ไอโซเลท) เนื่องจาก *A. flavus* สามารถสร้างสารพิษเชื้อราและพบมากในตัวอย่าง และสามารถทนปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกมากกว่า 700 มก./กก. ในการศึกษาครั้งนี้จึงนำสายพันธุ์ดังกล่าวเป็นตัวแทนเชื้อราในน้ำพริก โดยลักษณะสัณฐานวิทยาและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อ *A. flavus* 0701 แสดงในรูปที่ 1

A. flavus อยู่ในรากลุ่มทนแล้ง (Xerophilic mold) สามารถเจริญภายใต้สภาวะ a_w ช่วง 0.70–0.85 อุณหภูมิ 22–25°C และ pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญคือช่วง 6.5–6.8 (Martin et al., 2002) ราชนิดนี้จึงมีโอกาสเจริญในน้ำพริก นอกจากจะทำให้อาหารเสื่อมเสีย บางสายพันธุ์ยังอาจมีโอกาสสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน (Aflatoxin) ซึ่งสารพิษมีความรุนแรงและมีผลต่อตับ อดิพล (2546) พบการปนเปื้อนราในน้ำพริกแกงส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ *A. niger* ไม่ใช่ *A. flavus* แต่มีรายงานการปนเปื้อนเชื้อรา *A. flavus* ในวัตถุดิบหลักที่ผลิตน้ำพริก ได้แก่ พริกแห้ง หอมแดง และกระเทียม



รูปที่ 1 ไอโซเลทเชื้อรา *Aspergillus flavus* 0701: ลักษณะสัณฐานวิทยา (A) และลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (B)

3. ความสามารถในการต้านทานต่อกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกของเชื้อ *A. flavus* 0701

พบการเจริญของรา *A. flavus* 0701 ในทุกระดับความเข้มข้นของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในอาหาร PDA ที่ปรับค่า a_w เป็น 0.9 ที่ pH 5.0 (รูปที่ 2A) การเติมกรดซอร์บิกเพียงชนิดเดียวสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่าการเติมกรดเบนโซอิกร่วมกับกรดซอร์บิก และกรดเบนโซอิกเพียงชนิดเดียว ($p \leq 0.05$) ตามลำดับ จึงสามารถลดการใช้กรดเบนโซอิก โดยเลือกใช้กรดเบนโซอิกร่วมกับกรดซอร์บิกในสัดส่วน 3 ระดับคือ ที่ 900:100 700:300 และ 500:500 มก./กก. เนื่องจากพบว่าให้ผลการยับยั้งการเจริญ *A. flavus* 0701 ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ในที่นี้ยังพบว่าการเติมกรดเบนโซอิกเพียงชนิดเดียวในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้น 500 และ 800 มก./กก. ยับยั้งการเจริญรา *A. flavus* 0701 ได้น้อยกว่าการใช้กรดเบนโซอิกร่วมกับกรดซอร์บิก

รูปที่ 2B แสดงการเจริญของ *A. flavus* 0701 บนอาหาร PDA ปรับค่า a_w เป็น 0.90 ลดค่า pH เป็น 4.5 พบว่าเมื่อเติมกรดเบนโซอิกหรือกรดซอร์บิกจะสามารถยับยั้งการเจริญของรา *A. flavus* 0701 ได้ดีที่ปริมาณกรดเบนโซอิกหรือกรดซอร์บิกตั้งแต่ 800 มก./กก. ขึ้นไป หากใช้วัตถุกันเสีย 2 ชนิดร่วมกัน พบว่าการเติมกรดเบนโซอิกร่วมกับกรดซอร์บิกที่สัดส่วนของกรดเบนโซอิกมากกว่าหรือเท่ากับ 500 มก./กก. ขึ้นไปเช่นที่ 500:500 มก./กก. สามารถยับยั้งการเจริญของราได้ดีขึ้น ในขณะเดียวกันก็สามารถลดปริมาณกรดซอร์บิกลง ช่วยลดค่าใช้จ่ายและมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ที่กรดเบนโซอิกที่ความเข้มข้น 1,000 มก./กก. เพียงอย่างเดียว ทั้งยังอยู่ภายใต้ข้อกำหนดของกฎหมาย เนื่องจากการเติมกรดเบนโซอิกเพียงชนิดเดียวจะมีแนวโน้มที่เติมในปริมาณมากกว่าเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อในสภาวะของค่า a_w ในอาหาร PDA ที่ลดลงเป็น 0.85 พบว่าเชื้อ *A. flavus* 0701 เจริญได้น้อยมากอย่างเห็นได้ชัด (รูปที่ 2C และ 2D) ปัจจัยของ a_w มีผลอย่างยิ่งต่อการเจริญของเชื้อราและส่งผลต่อการเจริญมากกว่าการเติมวัตถุกันเสีย โดยทุกทรีตเมนต์สังเกตพบการเจริญของเชื้อ *A. flavus* น้อยมากหรือไม่พบการเจริญ ในสภาวะที่ค่า a_w 0.85 ซึ่งเลียนแบบน้ำพริกกึ่งเปียก เชื้อราสามารถเจริญได้น้อยลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่ค่า a_w สูงขึ้นคือ 0.90 หรือน้ำพริกชนิดเปียก แม้ว่าไม่เติมกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ (รูปที่ 2C) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับที่ pH 4.5 และ5.0 เชื้อ *A. flavus* 0701 ในสภาวะที่ไม่เติมวัตถุกันเสียมีแนวโน้มเจริญได้ดีกว่าในสภาวะความเป็นกรดสูงกว่าเล็กน้อย ที่สภาวะ a_w 0.90 และความเป็นกรดเพิ่มขึ้นคือที่ pH 4.5 พบว่าสามารถลดการเติมกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกความเข้มข้นลดลงเป็น 800 มก./กก. ช่วยยับยั้งการเจริญเชื้อรา *A. flavus* 0701 ได้ดี อย่างไรก็ดีที่ pH 4.5 ในกรณี *Aspergillus* ซึ่งทนกรดและทน a_w ได้ดีจำเป็นต้องมีการเติมกรดเบนโซอิกมากกว่า 500 มก./กก. เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (รูปที่ 2D)

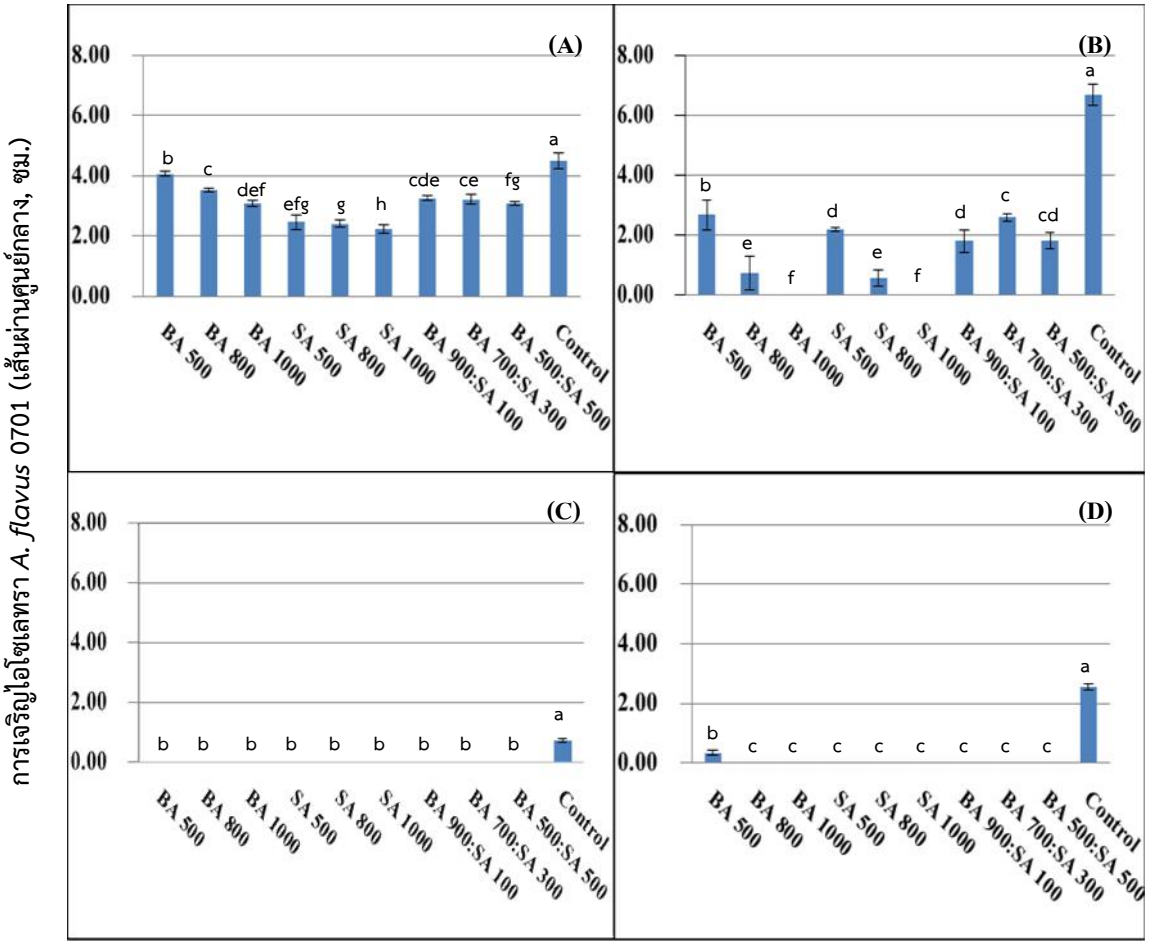
การศึกษานี้พบว่ากรดซอร์บิกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของราที่ดีกว่ากรดเบนโซอิก อธิบายได้ว่าความสามารถในการแตกตัวแตกต่างกันของทั้ง 2 ชนิดซึ่งมีความสัมพันธ์กับค่า pKa ของกรด กรดซอร์บิก และกรดเบนโซอิก มีค่า pKa อยู่ที่ 4.75 และ 4.19 (Jorge and Guillermo, 1992) โดยปกติค่า pKa ของกรดที่ต่ำกว่าค่า pH ของระบบอาหารจะทำให้กรดดังกล่าวเกิดการแตกตัวได้ดี และเหลือปริมาณกรดในรูปไม่แตกตัวน้อย เช่นในระบบอาหารที่มี pH 4.0 กรดเบนโซอิกจะอยู่ในรูปไม่แตกตัวร้อยละ 66 ในขณะที่กรดซอร์บิกจะอยู่ในรูปไม่แตกตัวร้อยละ

84 (Jorge and Guillermo, 1992) ทั้งนี้ปริมาณกรดในรูปไม่แตกตัวนี้เองที่สามารถผ่านเข้าไปในชั้นเมมเบรนและเกิดการแตกตัวภายในเซลล์ ส่งผลต่อการทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์ (Guynot et al., 2005)

กรดซอร์บิกมีค่า pKa มากกว่ากรดเบนโซอิก ดังนั้นที่ pH 4.5 กรดซอร์บิกในรูปไม่แตกตัวจึงเหลืออยู่มากกว่า ทำให้ลดค่า pH ภายในเซลล์ ส่งผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไกลโคไลซิส เนื่องจากโมเลกุลของกรดในรูปที่ไม่แตกตัวนี้ส่วนใหญ่มีสมบัติเป็นสารที่ชอบไขมัน หรือสามารถละลายได้ในไขมัน (lipophilic) ดังนั้นจึงสามารถผ่านเข้าไปในชั้นเมมเบรนไปยังส่วนไซโตพลาสซึม และเกิดแตกตัวภายในเซลล์ได้ (โดยปกติค่า pH ภายในเซลล์มีค่าใกล้เคียง 7) การแตกตัวดังกล่าวได้ไอออนของ H^+ และไอออนลบ (Guynot et al., 2005) ไอออนของ H^+ ที่เกิดขึ้นนี้ไม่สามารถผ่านชั้นเมมเบรนออกมาได้ ทำให้เกิดการสะสมไอออนภายในเซลล์ เมื่อเซลล์พยายามผลักดันไอออนที่สะสมออกไป จึงต้องใช้พลังงาน ATP ทำให้พลังงานไม่เพียงพอต่อการดำเนินกิจกรรมภายในเซลล์ สุดท้ายทำให้เซลล์ไม่สามารถรอดชีวิตได้ (Brul and Coote, 1999) นอกจากความสามารถในการแตกตัวของกรดแล้ว ในกรณีของรา *A. flavus* ค่า a_w และ pH นับเป็นปัจจัยสำคัญยิ่งในการควบคุมการเจริญ โดยปริมาณการใช้วัตถุกันเสียสามารถลดปริมาณลงได้หากควบคุมปัจจัยร่วมดังกล่าวได้

ชนิดของวัตถุกันเสียเป็นปัจจัยที่สำคัญอีกประการในการควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Malo et al. (2005, 2007) ที่ทำการศึกษาโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับค่า a_w เป็น 0.80 0.85 0.90 และ 0.95 ด้วยกลีเซอรอล และปรับค่า pH เป็น 4.5 6.0 และ 7.5 ด้วยกรดซิตริก พบว่าต้องเติมโซเดียมเบนโซเอตที่ความเข้มข้นมากถึงร้อยละ 0.3 (3,000 มก./กก.) ที่สภาวะค่า pH เท่ากับ 4.5 ทุกระดับของค่า a_w จึงจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* ได้ แต่ในขณะที่เกลือซอร์เบตในรูปโพแทสเซียมซอร์เบตที่ความเข้มข้นเดียวกัน ไม่ว่าในสภาวะ pH เท่ากับ 4.5 และ 6.0 ก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดังกล่าวได้ทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราสายพันธุ์ต่างกันมีความสามารถต้านทานต่อปริมาณของเบนโซเอตได้ต่างกัน

แม้ว่าจะอนุญาตให้ใช้กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอตนิยมใช้เป็นวัตถุกันเสียในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด ได้แก่ เครื่องดื่ม น้ำผลไม้ ผลิตภัณฑ์ขนมปัง ซอสถั่วเหลือง น้ำสลัด ผลไม้อบแห้ง มาการีน มายองเนส แยม และเยลลี่ โดยส่วนใหญ่ปริมาณกรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอตที่เติมไม่เกิน 1,000 มก./กก. แต่ในอาหารต่างกันประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ย่อมต่างกัน กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบตมักนิยมเติมในกลุ่มอาหารประเภทผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์ขนมปัง ผลิตภัณฑ์ผัก ผลไม้ ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์เนื้อและปลา รวมทั้งผลิตภัณฑ์ลูกกวาดหรือขนมหวาน โดยปริมาณที่เติมในอาหารอยู่ในช่วง 200–3,000 มก./กก. (Davison and Branen, 1993) อย่างไรก็ตามในกลุ่มผลิตภัณฑ์น้ำพริกมักนิยมใช้โซเดียมเบนโซเอตเป็นวัตถุกันเสียมากกว่าโพแทสเซียมซอร์เบตเนื่องจากสารดังกล่าวมีราคาถูกและเป็นที่รู้จักแพร่หลายของผู้ผลิตในการใช้มากกว่า ในที่นี้พบว่าหากผลิตภัณฑ์น้ำพริกหรืออาหารมีค่า pH ในช่วง 4.0–4.5 หรือค่า pH ที่ต่ำกว่านี้ คาดว่าการเติมโพแทสเซียมซอร์เบตมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลิทรีย์ได้ดีกว่าโซเดียมเบนโซเอต เนื่องจากโพแทสเซียมซอร์เบตจะมีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีในช่วงที่ค่า pH ที่กว้างกว่าโซเดียมเบนโซเอต คือ ที่ค่า pH 4.0 ถึง 6.0 (Martin et al., 2002)



หมายเหตุ BA หมายถึง ความเข้มข้นของกรดเบนโซอิกเติมในรูปโซเดียมเบนโซเอต
SA หมายถึง ความเข้มข้นของกรดซอร์บิกเติมในรูปโพแทสเซียมซอร์เบต

รูปที่ 2 ผลการเจริญของไอโซเลทรา *A. flavus* รหัส 0701 เพาะเชื้อบนอาหาร PDA ที่ปรับค่า a_w เป็น 0.9 ที่ pH 5.0 (A) และ 4.5 (B) และที่ปรับค่า a_w เป็น 0.85 ที่ pH 5.0 (C) และ 4.5 (D) ในสภาวะเติมกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 7 วัน

สรุปผลการวิจัย

ในอาหารแบบจำลองนี้พบว่าสามารถลดการใช้วัตถุกันเสียทั้ง 2 ชนิด จากปริมาณที่มาตรฐานกำหนดไว้ คือ ไม่เกิน 1,000 มก./กก. ได้ โดยการเติมกรดซอร์บิกเพียงชนิดเดียวที่ความเข้มข้นมากกว่า 800 มก./กก. ในสภาวะของ PDA ที่ค่า a_w เป็น 0.9 ทั้งที่ระดับค่า pH 4.5 และ 5.0 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* 0701 ซึ่งเป็นตัวแทนของเชื้อราทนวัตถุกันเสียในน้ำพริกตาแดง หรืออาจเลือกใช้กรดเบนโซอิกร่วมกับกรดซอร์บิกแทน ในสัดส่วน 3 ระดับ คือ 900:100 700:300 และ 500:500 มก./กก. ซึ่งพบว่าให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* 0701 ได้ใกล้เคียง

กัน ส่วนในสภาวะของ PDA ที่ปรับลดค่า a_w เป็น 0.85 ที่ค่า pH ทั้ง 2 ระดับ พบว่าส่วนใหญ่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราลงได้แม้ไม่เติมสารกันเสียทั้ง 2 ชนิด แต่เพื่อมั่นใจว่าสามารถยืดอายุอาหารได้ดีอาจเติมกรดเบนโซอิกที่ความเข้มข้นมากกว่า 500 มก./กก. จึงจะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* 0701 ได้ทั้งหมด

จากการศึกษาในเบื้องต้นนี้พบว่ามีความเป็นไปได้ในการลดปริมาณการเติมวัตถุกันเสียเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำพริกที่เกิดการเสื่อมเสียโดยเชื้อรา ทั้งนี้การควบคุมปัจจัยของอาหารที่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อรา ได้แก่ ค่า a_w และค่า pH ร่วมด้วย ลำดับต่อไปจะได้ทำการศึกษาความสามารถในการต้านทานของเชื้อราในสภาวะจริงของน้ำพริกตาแดงที่มีการปรับสภาวะของการใช้วัตถุกันเสียร่วมกับการควบคุมค่า a_w และค่า pH ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม: พวอ. ระดับปริญญาโท ประจำปี 2556 (RRI Grants-MAG) ที่สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินงาน และสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ อุปกรณ์ และเครื่องมือในระหว่างปฏิบัติงานทดลอง

เอกสารอ้างอิง

ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ์. (2550). จุลชีววิทยาทางอาหาร (ปฏิบัติการ). ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จิรวัฒน์ กันต์เกรียงวงศ์ วรพจน์ สุนทรสุข และประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์. (2549). การพัฒนากระบวนการขยายอายุการเก็บรักษาน้ำพริกหนุ่ม. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 37(2 พิเศษ): 134–137.

ชิดชม ฮิรางะ วราภา มหากาญจนกุล สิริพร สธนเสาวภาคย์ และสุขเกษม สิทธิพจน์. (2547). การพัฒนาคุณภาพและมาตรฐานความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ประเภทน้ำพริกในโครงการหนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชิดชม ฮิรางะ สุขเกษม สิทธิพจน์ สิริพร สธนเสาวภาคย์ และวราภา มหากาญจนกุล. (2548). การพัฒนากระบวนการผลิตและบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์น้ำพริกชนิดเปียก. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชิดชม ฮิรางะ สุขเกษม สิทธิพจน์ สิริพร สธนเสาวภาคย์ และวราภา มหากาญจนกุล. (2549). การพัฒนากระบวนการผลิตและผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกงไทยสำเร็จรูป. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ฐิตินันท์ บัวบาน. (2552). ชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ในเครื่องเทศและการเหลือรอดของจุลินทรีย์ในระหว่างการแปรรูปน้ำพริกตาแดงและการเก็บรักษา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

นิจฉรา ทูลธรรม มุทิตา มีนุ่น และวิลัศนา โพธิ์ศรี. (2551). ผลของพริกแห้งและกระเทียมที่มีต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำพริกตาแดงและการยอมรับของผู้บริโภค. วารสารวิจัย มข. ฉบับบัณฑิตศึกษา 8(1): 7–17.

นิจศิริ เรืองรังสี. (2542). เครื่องเทศ. พิมพ์ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ปิยวรรณ บูรณะพิมพ์ และ วริพัสย์ อารีกุล. (2554). ผลการยับยั้งราของเบนโซเอตและซอร์เบตต่อ *Penicillium citrinum* ที่คัดแยกจากเส้นก๋วยเตี๋ยว. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49 (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 465–472.

ปราณี อ่านเปรื่อง. (2547). หลักการวิเคราะห์อาหารด้วยประสาทสัมผัส. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

พัจนภา วงษาพรหม เวณิกา เบ็ญจพงษ์ วีรยา การพานิช และปารณี พัฒนกุลอนันต์. (2552). การประเมินความเสี่ยงของการได้รับสัมผัสของกรดเบนโซอิกและซอร์บิก จาก

การบริโภคเครื่องแกงเผ็ดของประชากรในกรุงเทพมหานคร และสุพรรณบุรี. วารสารพิษวิทยาไทย 24(1): 17–26.

พัชราวัลย์ ตรังตรีชาติ จิรวัฒน์ กันต์เกรียงวงศ์ ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์ และวรพจน์ สุนทรสุข. (2549). การศึกษาลักษณะทางจุลชีววิทยาของน้ำพริกหนุ่ม (บาทวิถี). ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 (สาขาวิทยาศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 207–214.

รวิวรรณ พรหมเจริญ ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์ ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ์ และสุรางค์ สุธิราวุธ. (2546). ผลของปัจจัยภายในต่อการสร้างสารพิษของ *Bacillus cereus* ในน้ำพริก. ใน: เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 (สาขาวิทยาศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 221–229.

วลัย หุตะโกวิท วาสนา ขวยเขิน เกศรินทร์ เพ็ชรรัตน์ น้อมจิตต์ สุธีบุตร เจตนิพัทธ์ บุณยสวัสดิ์ และนพพร สกุลยืนยง สุข. (2550). การพัฒนาผลิตภัณฑ์พริกแกงสำเร็จรูปเพื่ออุตสาหกรรมการส่งออก. วิชาการและวิจัย มทร. พระนคร 1(1): 9–20.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2552). ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค กระทรวงสาธารณสุข, กรุงเทพฯ.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2543). ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง อาหารกึ่งสำเร็จรูป, กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตชุมชน. (2546). มาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกง. มผช.129/2546.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2548. น้ำพริกแกงและเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรส. มอก. 429–2548, กรุงเทพฯ.

อดิพล ดิลกพิมล. (2546). ราและอะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ. วิทยา นิพนธ์ปริญญาโท จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

อรรณพ ทัศนอุดม และ วรรณภา สระพินครบุรี. (2553ก). ผลของแสงอัลตราไวโอเลตต่อการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำพริก. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 38(4): 555–571.

อรรณพ ทัศนอุดม และ วรรณภา สระพินครบุรี. (2553ข). ปัจจัยที่ส่งผลต่อการลดจำนวนเชื้อ จุลินทรีย์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลตในผลิตภัณฑ์น้ำพริก. วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร 18(2): 31–39.

อรรณพ ทัศนอุดม วรรณภา สระพินครบุรี และสุริยาพร นิพรรัมย์. (2552). การปรับปรุงกระบวนการผลิตเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำพริก. วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร 17(2): 136–144.

อรรณพ ทัศนอุดม ยศยา ทุริสุทธิ์ และวราภา มหากาญจนกุล. (2555). ความสำคัญของ *Clostridium perfringens* ต่อความปลอดภัยในอาหาร. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 40 (3): 668–691.

AOAC. (2000). Association of Official Analytical Chemists. Official Method of Analytical. 17th ed. Gaithersburg Maryland, USA: AOAC international.

Brul, S. and Coote, P. (1999). Preservative agents in foods mode of action and microbial resistance mechanisms. International Journal of Food Microbiology 50: 1–17.

Davison, P.M. and Branen, A.L. (1993). Antimicrobial in Foods. 2nd ed., New York, USA: Marcel dekker Inc.

Downes, F.P. and Ito, K.. (2001). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed. Washington D.C., USA: American Public Health Association.

Guynot, M.E., Ramos, A.J., Sanchis, V. and Martin, S. (2005). Study of benzoate, propionate, and sorbate salts as mould spoilage inhibitors on intermediate moisture bakery products. International Journal of Food Microbiology 101: 161–168.

Jorge, C. and Guillermo, J.F. (1992). Some physioco-chemical basic of food preservation by combined methods. Food Research International 25: 389–396.

Mahakarnchanakul, W., Tassanaudom, U. and Toorisut, Y. (2011). A survey of the microbiological quality of fresh/dried chili and chili paste products in

Bangkok (eds.). In: Proceeding of the 2nd Conference Food Scienc & Technology-Mekong Del Ta, 9-12 November 2011, Can Tho University. Can Tho city, Vietnam. 188–196.

Malo, A.L., Alzamora, S.M. and Palou, E. (2005). *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally antimicrobial compounds. International Journal of Food Microbiology 99: 119–128.

Malo, A.L., Jamine, B., Enrique, P. and Fernanda, S.M. (2007). *Aspergillus flavus* growth response to cinnamon extract and sodium benzoate mixtures. Journal of Food Control 18: 1358–1362.

Martin, S., Guynot, M.E., Neira, P., Bernado, M., Sacanchis, V. and Ramos, A.J. (2002). Risk assessment of use of sub-optimal levels of weak-acid preservatives in the control of mould growth on bakery products. International Journal of Food Microbiology 79: 203–211.

Zaini, N.A., Hanis, H.H., Akanbi, T.O., Anwarul, H.Z., Fatimah, A.B., Azizah, O., Azizah, A.H. and Nazamid, S. (2010). Level of chemical and microbiology contaminations in chili *Bo* (paste). Journal of Food Protection 73: 541–546.

❑❑❑❑❑