การเก็บรักษาน้ำสกัดมันฝรั่งเพื่อทดแทนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) สำเร็จรูปสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการ

The Preservation of potato infusion for the substitute of Potato Dextrose Agar (PDA) culture medium using in laboratory

สุรศักดิ์ บุญรุ่ง[1*]และ ฉวีวรรณ มลิวัลย์[1]
Surasak Bunrung[1*] and Chaweewan maliwan[1]

บทคัดย่อ

อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อราและยีสต์ที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปมักมีราคาแพง การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลการเก็บรักษาน้ำสกัดมันฝรั่งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 150 วัน ต่อการเปลี่ยนแปลงสี พีเอชและการเจริญของเชื้อรา (*Aspergillus niger* ATCC6275) และเชื้อยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae* TISTR5088) เปรียบเทียบกับอาหาร PDA สำเร็จรูปทางการค้าพบว่า เชื้อรา *A. niger* ที่เลี้ยงในอาหาร PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งมีการเจริญใกล้เคียงกันที่ 6.17-6.50 เซนติเมตร การเจริญของเส้นใยมากกว่าอาหาร PDA สำเร็จรูปทางการค้า (4.30 เซนติเมตร) หลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 วัน ส่วนเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ที่เลี้ยงในอาหาร PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งมีการเจริญใกล้เคียงกันที่ 6.87-6.90 log units และใกล้เคียงกับอาหาร PDA สำเร็จรูปทางการค้า (6.90 log units) หลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 2 วัน สีน้ำสกัดมันฝรั่ง (L* a* b*) วันที่ 0 มีค่าเท่ากับ 96.78, -0.45 และ 4.28 ตามลำดับ หลังเก็บรักษาสีของน้ำสกัดมันฝรั่งเปลี่ยนเป็น 93.24, -0.22 และ 5.98 ตามลำดับ ส่วนความเป็นกรดด่าง (พีเอช) ของน้ำสกัดมันฝรั่ง วันที่ 0 มีค่าเท่ากับ 5.52 หลังเก็บรักษา 150 วัน มีค่าเท่ากับ 5.46 ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า การเก็บรักษาน้ำสกัดมันฝรั่งที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส ระยะเวลาเก็บรักษา 150 วัน สามารถนำมาเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อแทนการใช้อาหาร PDA สำเร็จรูปทางการค้าในการเรียนการสอนของห้องปฏิบัติการได้

คำสำคัญ: น้ำสกัดมันฝรั่ง อาหารเลี้ยงเชื้อ การเจริญ การเก็บรักษา

Abstract

Commercial Potato Dextrose Agar (PDA) is one of the principal media for the cultivation of mold and yeast but it is expensive. The objective of this study was to store the potato infusion at -20 °C for 150 days. The growth of mold (*Aspergillus niger*ATCC6275) and yeast (*Saccharomyces cerevisiae*TISTR5088) was measured and compared with that of commercial PDA. The result showed that the growth of *A. niger* that grew in PDA from potato infusion and commercial PDA were similar at 6.17-6.50 cm. The mycelium of mold grew in PDA from potato infusion was greater than that in commercial PDA (4.30cm) after the cultivation at 30 °C for 4 days. The growth of *S. cerevisiae* grew in PDA from potato infusion was at 6.87-6.90 log units, similar to that in commercial PDA (6.90 log unit) after the cultivation at 30 °C for 2 days. The color of the potato infusion (L* a* b*) on day 0 was 96.78, -0.45 and 4.28, respectively. After the storage, the color of the potato infusion changed to 93.24, -0.22 and 5.98, respectively, whereas the pH of the potato infusion on day 0 was 5.52. After 150 days of storage, the pH was 5.46. Therefore, the potato infusion after the storage at -20 °C for 150 days can be used as PDA culture media for laboratory learning.

Keywords: potato infusion, culture medium, growth, storage

[1] คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ สงขลา 90112
[1] Faculty of Agro-Industry, Prince of Songkla University, Hat Yai campus, Songkhla, 90112
*Corresponding author: e-mail: surasak.b@psu.ac.th
Received: *May 25, 2021*, Accepted: *September 3, 2021*, Published: *December 31, 2021*

บทนำ

การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหารนั้น เชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดทั้งยีสต์ รา และแบคทีเรียมีความต้องการสารอาหารที่แตกต่างกันไปตามแต่ละสายพันธุ์ โดยจะแบ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อราทั่วไป เช่น Potato dextrose agar (PDA) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อพื้นฐานสำหรับการเพาะเลี้ยงและเก็บรักษาเชื้อราและยีสต์ที่มีผลกระตุ้นการสร้างสปอร์และ pigment ของเชื้อรา (วัชรมาศ, 2559) เป็นต้น อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จัดเป็นอาหารที่ไม่ทราบองค์ประกอบที่แน่นอนเพราะส่วนประกอบมาจากสิ่งมีชีวิต (Complex media) โดยทั่วไปมีองค์ประกอบหลัก ได้แก่ น้ำสกัดมันฝรั่ง น้ำตาลกลูโคสและวุ้น อย่างไรก็ตาม หัวมันฝรั่งสดถูกเข้าทำลายให้เกิดการเน่าเสียได้ง่ายโดยจุลินทรีย์ และมักมีการงอกรากในระหว่างการเก็บรักษา ทำให้ไม่สามารถเก็บรักษาเพื่อใช้เป็นเวลานานได้ (ประสงค์สม และ สุกฤตา, 2560) โดยทั่วไปในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาจะมีการใช้อาหาร PDA แบบสำเร็จรูปซึ่งสามารถใช้งานได้สะดวก รวดเร็ว แต่มีข้อเสียคือ ราคาแพง เนื่องจากในห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณมาก ผลทำให้ต้นทุนสูงไปด้วย ในอดีตการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แบบดั้งเดิมที่เตรียมจากหัวมันฝรั่งถึงแม้ต้นทุนในการเตรียมจะต่ำ แต่ใช้ระยะเวลานานในการเตรียม

มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* L.) ในมันฝรั่งมีองค์ประกอบและคุณค่าทางอาหารที่สำคัญหลายชนิด โดยในมันฝรั่ง 100 กรัมมีองค์ประกอบ เช่น น้ำ (ร้อยละ 77.8) พลังงาน (83 แคลอรี่) โปรตีน (2 กรัม) คาร์โบไฮเดรต (19.1 กรัม) เถ้า (1 กรัม) กรดแอสคอร์บิก (38 มิลลิกรัม) แคลเซียม (19 มิลลิกรัม) แมกนีเซียม (20 มิลลิกรัม) โพแทสเซียม (370 มิลลิกรัม) ฟอสฟอรัส (56 มิลลิกรัม) โซเดียม (9 มิลลิกรัม) และวิตามินต่าง ๆ เช่น วิตามินเอ ไทอามีน ไรโบฟลาวิน และไนอะซิน (บุญธรรม, 2547)

การเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง โดยการลดอุณหภูมิของอาหารให้ต่ำลงจนถึงระดับที่สิ่งมีชีวิตไม่สามารถจะดำเนินปฏิกิริยาทางชีวเคมีต่อไปได้ โดยทั่วไปมักจะเป็นที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า มีหลักสำคัญ คือ การเปลี่ยนสภาวะของน้ำในอาหารที่เป็นของเหลวให้เป็นน้ำแข็ง เพื่อมิให้น้ำนั้นสามารถทำหน้าที่ต่าง ๆ ในปฏิกิริยาเคมีและไม่เป็นสารตั้งต้นให้กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับอาหารได้ (สายสนม และสงวนศรี, 2559) ปัจจุบันการเก็บรักษาอาหารแช่แข็งส่วนใหญ่ จะให้เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส (หรือ 0 องศาฟาเรนไฮต์) เป็นระยะเวลา 6 เดือน ถึง 2 ปี ด้วยความเย็นระดับนี้จะไม่มีจุลินทรีย์ชนิดใดสามารถเจริญเติบโตได้ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ชนิด Psychophilic organism ที่สามารถเจริญเติบโตได้ในอุณหภูมิต่ำถึง -5 องศาเซลเซียส ทำให้การแช่เย็นทั่วไปป้องกันไม่ได้ (นพรัตน์ และคณะ, 2561)

ดังกล่าวมาแล้วในเบื้องต้นว่าหัวมันฝรั่งถูกเข้าทำลายโดยจุลินทรีย์ได้ง่าย ไม่สามารถเก็บรักษาหัวมันฝรั่งไว้ได้เป็นเวลานานและการเตรียมน้ำสกัดมันฝรั่งต้องใช้ระยะเวลาในการเตรียมนาน ดังนั้นงานวิจัยนี้ต้องการศึกษาระยะเวลาในการจัดเก็บน้ำสกัดมันฝรั่งเพื่อใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในห้องปฏิบัติการ เพื่อนำผลการศึกษาที่ได้มาใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในห้องปฏิบัติการต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำสกัดมันฝรั่งในสภาวะแช่เยือกแข็ง -20 องศาเซลเซียส

2. เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ATCC6275 และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR5088 บนอาหารแข็ง PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งที่เก็บรักษาในสภาวะแช่เยือกแข็ง (-20 องศาเซลเซียส)

ระเบียบวิธีวิจัย

การเตรียมสารสกัดมันฝรั่งและอาหารแข็ง PDA

นำมันฝรั่งมาปอกเปลือกล้างด้วยน้ำให้สะอาด หั่นเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ชั่งมันฝรั่งจำนวน 200 กรัม ใส่ในหม้อ เติมน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร ต้มจนกระทั่งมันฝรั่งนุ่มแต่ไม่เละ (เวลาประมาณ 15 นาที) จากนั้นนำมากรอกด้วยผ้าขาวบาง (ประสงค์สม และ สุกฤตา, 2560) นำน้ำสกัดมันฝรั่งปริมาตร 200 มิลลิลิตร ใส่ในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อแบบฝาเกลียวขนาด 500 มิลลิลิตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การเตรียมอาหารแข็ง PDA

สำหรับการเตรียมอาหารแข็ง PDA ให้นำน้ำสกัดมันฝรั่งจำนวน 500 มิลลิลิตร มาเติมน้ำตาลเดกโทรส ปริมาณ 20 กรัมและผงวุ้น (ตรานางเงือก, หจก.พัฒนาสินเอ็นเตอร์ไพรส์ ประเทศไทย) 17 กรัม ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ระยะเวลา 15 นาที (ประสงค์สม และสุกฤตา, 2560) นำไปวางในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ปรับค่าพีเอชของอาหารด้วยกรดทาร์ทาริก (tartaric acid) (ฆ่าเชื้อ) ร้อยละ 10 ให้ค่าพีเอชของอาหารอยู่ในช่วง 3.5-4.0 แล้วเทลงในจานอาหารปราศจากเชื้อ เพื่อนำไปศึกษาการเจริญของเชื้อต่อไป

ศึกษาผลการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงของสีและค่าพีเอชของน้ำสกัดมันฝรั่ง

นำน้ำสกัดมันฝรั่งที่สกัดด้วยวิธีการต้มวันที่ 0 มาวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี Hunter lab (รุ่น Vista Operation) โดยใช้สภาวะ TTRAN (Total Transmission D65/100) และวัดค่าพีเอชด้วยเครื่องวัดพีเอช (ยี่ห้อ OHAUS, รุ่น STARTER3100) สำหรับตัวอย่างน้ำสกัดมันฝรั่งที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาวะแช่เยือกแข็ง (-20 องศาเซลเซียส) ที่ระยะเวลา 30, 60, 90, 120 และ 150 วัน ก่อนดำเนินการวัดค่าสีและค่าพีเอชให้ละลายตัวอย่างและอุณหภูมิตัวอย่างเท่ากับอุณหภูมิห้อง (25-27 องศาเซลเซียส) ด้วยการวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง

ศึกษาการเจริญของเชื้อรา บนอาหารแข็ง PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งที่เก็บรักษาในสภาวะแช่เยือกแข็ง

นำอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งที่เก็บรักษาในสภาวะแช่เยือกแข็ง (-20 องศาเซลเซียส) ที่ระยะเวลา 0, 30, 60, 90, 120, และ 150 วัน มาทดสอบการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ATCC6275 ด้วยการเจาะโดยการใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะบนเส้นใยของเชื้อราแล้วนำไปวางกึ่งกลางของจานอาหารแข็ง PDA ที่เตรียมไว้แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 วัน จากนั้นวัดการเจริญของเชื้อด้วยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางการเจริญโดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์ (Vernier Calipers) เปรียบเทียบกับอาหาร PDA สำเร็จรูปทางการค้า (Himedia, India)

ศึกษาการเจริญของเชื้อยีสต์บนอาหารแข็ง PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งที่เก็บรักษาในสภาวะแช่เยือกแข็ง

นำอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งที่เก็บรักษาในสภาวะแช่เยือกแข็ง (-20 องศาเซลเซียส) ที่ระยะเวลา 0, 30, 60, 90, 120, และ 150 วัน มาทดสอบการเจริญของเชื้อยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae* TISTR5088) โดยการนำเชื้อยีสต์จำนวน 1 ลูป ถ่ายลงไปในอาหารเหลว Potato Dextrose Broth (PDB) ปริมาตร 100 มิลลิลิตรที่บรรจุในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปรับค่าเชื้อเริ่มต้นให้เท่ากันให้มีความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้น OD 600 นาโนเมตร ($OD_{600\ nm}$) ให้มีค่าเท่ากับ 0.5 ทำการเกลี่ยเชื้อ (spread plate) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ทำการนับเชื้อเปรียบเทียบกับอาหาร PDA สำเร็จรูปทางการค้า (Himedia, India)

ผลการวิจัย

1. ผลการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงของสีและค่าพีเอชของน้ำสกัดมันฝรั่ง

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำสกัดมันฝรั่งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง -20 องศาเซลเซียส ดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่า ระยะเวลาการเก็บรักษามีผลต่อค่า L* value (ค่าความสว่าง/ความมืด) โดยสีของน้ำสกัดมันฝรั่งวันที่ 0 (ชุดควบคุม) มีค่าเท่ากับ 96.78±0.02 และจะมีค่า L* value ลดลงหลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 30, 60, 90, 120 และ 150 วัน มีค่าเท่ากับ 93.32±0.20, 93.78±0.20, 92.88±0.16, 91.89±1.29 และ 93.24±1.29 ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ส่วนค่า a* value (ค่าความเป็นสีแดง/สีเขียว) ของน้ำสกัดมันฝรั่งวันที่ 0 (ชุดควบคุม) มีค่าเท่ากับ-0.45±0.00 และจะมีค่าลดลงหลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 30, 60, 90, 120 และ 150 วัน มีค่าเท่ากับ -0.28±0.01, -0.19±0.02, -0.19±0.00, -0.21±0.03 และ -0.22±0.02 ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ส่วนค่า b* value (ค่าความเป็นสีเหลือง/สีน้ำเงิน) สีของน้ำสกัดมันฝรั่งวันที่ 0 (ชุดควบคุม) มีค่าเท่ากับ 4.28±0.00 เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้นสีเหลืองจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 5.07±0.06, 5.30±0.12, 5.90±0.01, 5.81±0.04 และ

5.98±0.04 ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้เมื่อวัดค่าความเป็นกรดด่าง (พีเอช) ของน้ำสกัดมันฝรั่งพบว่า ค่าพีเอชวันที่ 0 (5.52±0.05) และหลังจากการเก็บรักษาค่าพีเอชไม่มีการเปลี่ยนแปลง (5.46±0.04) หลังการเก็บรักษา 150 วัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 1 ค่าสีระบบ (CIE-Lab scale) และค่าพีเอชของน้ำสกัดมันฝรั่งหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง (-20 องศาเซลเซียส) ที่ระยะเวลาต่างกัน

ระยะเวลา (วัน)	ค่าเฉลี่ย[1]± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	L*	a*	b*	pH
0	96.78±0.02[a]	-0.45±0.00[a]	4.28±0.00[a]	5.52±0.05[ab]
30	93.32±0.20[b]	-0.28±0.01[b]	5.07±0.06[b]	5.54±0.06[ab]
60	93.78±0.20[b]	-0.19±0.02[c]	5.30±0.12[c]	5.58±0.06[b]
90	92.88±0.16[bc]	-0.19±0.00[c]	5.90±0.01[cd]	5.54±0.02[ab]
120	91.89±1.29[c]	-0.21±0.03[c]	5.81±0.04[c]	5.54±0.02[ab]
150	93.24±1.29[b]	-0.22±0.02[c]	5.98±0.04[d]	5.46±0.04[a]

[1] อักษร a, b, c ที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2. ศึกษาการเจริญของเชื้อราบนอาหารแข็ง PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งที่เก็บรักษาในสภาวะแช่เยือกแข็ง

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อรา (*A. niger* ATCC6275) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จากน้ำสกัดมันฝรั่งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง (-20 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 0, 30, 60, 90, 120 และ 150 วัน ด้วยวิธีการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่า ชุดการทดลองที่เลี้ยงเชื้อราในอาหาร PDA สำเร็จรูปทางการค้าและอาหาร PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่ง (ชุดควบคุม) ให้ผลที่แตกต่างกัน โดยการเจริญของเชื้อ *A. niger* ATCC6275 บนอาหาร PDA สำเร็จรูปทางการค้าจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางที่ 4.30±0.10 เซนติเมตร ซึ่งน้อยกว่าอาหาร PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งที่ 6.50±0.27, 6.37±0.16, 6.35±0.19, 6.23±0.06, 6.23±0.16 และ 6.17±0.16 ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

3. ศึกษาการเจริญของเชื้อยีสต์บนอาหารแข็ง PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งที่เก็บรักษาในสภาวะแช่เยือกแข็ง

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อยีสต์ (*S. cerevisiae* TISTR5088) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จากน้ำสกัดมันฝรั่งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง (-20 องศาเซลเซียส) ด้วยวิธีการนับเชื้อ (Spread plate) ดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่า ชุดการทดลองที่เลี้ยงเชื้อยีสต์ในอาหาร PDA สำเร็จรูปทางการค้าและอาหาร PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่ง (ชุดควบคุม) มีค่าใกล้เคียงกันคือ 6.90 และ 6.88 log CFU/ml หลังจากการเก็บรักษาน้ำสกัดมันฝรั่งที่เวลา 30, 60, 90, 120 และ 150 วัน แล้วนำมาเตรียมเป็นอาหาร PDA พบว่า การเจริญของยีสต์ไม่มีความแตกต่างกันที่ 6.88, 6.88, 6.90, 6.87 และ 6.90 log CFU/ml ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 2 ผลการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* ATCC6275 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สำเร็จรูปทางการค้าและอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งที่ระยะเวลาการเก็บรักษาแตกต่างกัน

ตัวอย่าง / เวลาการบ่ม (วัน)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง[1] (เซนติเมตร) (ค่าเฉลี่ย[1]± ส่วนเบี่ยงเบนมาจรฐาน)
PDA สำเร็จรูปทางการค้า	4.30±0.10[a]
PDA เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่ง วันที่ 0 (ชุดควบคุม)	6.50±0.27[c]
PDA เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่ง วันที่ 30	6.37±0.16[bc]
PDA เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่ง วันที่ 60	6.35±0.19[bc]
PDA เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่ง วันที่ 90	6.23±0.06[bc]
PDA เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่ง วันที่ 120	6.23±0.16[bc]
PDA เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่ง วันที่ 150	6.17±0.16[b]

[1] อักษร a, b, c ที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 3 ผลการเจริญของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5088 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สำเร็จรูปทางการค้าและอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งที่ระยะเวลาการเก็บรักษาแตกต่างกัน

ตัวอย่าง	จำนวนยีสต์[1] (log CFU/ml)
PDA สำเร็จรูปทางการค้า	6.90[a]
PDA เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่ง วันที่ 0 (ชุดควบคุม)	6.88[a]
PDA เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่ง วันที่ 30	6.88[a]
PDA เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่ง วันที่ 60	6.88[a]
PDA เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่ง วันที่ 90	6.90[a]
PDA เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่ง วันที่ 120	6.87[a]
PDA เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่ง วันที่ 150	6.90[a]

[1] อักษร a, b, c ที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

สรุปผลการวิจัย

สามารถสรุปผลการวิจัยตามวัตถุประสงค์ของการวิจัยได้ ดังนี้

1. การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภายของน้ำสกัดมันฝรั่งในสภาวะแช่เยือกแข็ง -20 องศาเซลเซียส จากผลการศึกษาเมื่อเก็บรักษาน้ำสกัดมันฝรั่งเวลานานขึ้นมีผลต่อค่าสี โดยค่า L* value วันที่ 0 มีค่าเท่ากับ 96.78±0.02 หลังการเก็บรักษา 150 วัน ค่า L* value เปลี่ยนแปลงเท่ากับ 93.24±1.29 ส่วนค่า a* value เปลี่ยนแปลงจาก -0.45±0.00 (วันที่ 0) หลังการเก็บรักษา 150 วัน มีค่า a* value มีค่าเท่ากับ -0.22±0.02 สำหรับค่า b* value เปลี่ยนแปลงจาก 4.28±0.00 (วันที่ 0) หลังการเก็บรักษา 150 วัน ค่า b* value มีค่าเท่ากับ 5.98±0.04 และจากผลการศึกษาเมื่อเก็บรักษาน้ำสกัดมันฝรั่งเวลานานขึ้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชในระยะเวลาการเก็บรักษา 150 วัน

2. การเจริญของเชื้อรา *A. niger* ATCC6275 และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR5088 บนอาหารแข็ง PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งที่เก็บรักษาในสภาวะแช่เยือกแข็ง (-20 องศาเซลเซียส) จากผลการศึกษาการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ATCC6275 บนอาหารแข็ง PDA หลังการเก็บรักษา 150 วัน มีค่าเท่ากับ 6.17±0.16 เซนติเมตร การเจริญของเส้นใยมากกว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงบนอาหาร PDA สำเร็จรูปทางการค้า (4.30±0.10 เซนติเมตร) ส่วนการเจริญของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR5088 บนอาหารแข็ง PDA หลังการเก็บรักษา 150 วัน มีค่าเท่ากับ 6.90 log CFU/ml การเจริญไม่แตกต่างกับชุดการทดลองที่เลี้ยงบนอาหาร PDA สำเร็จรูปทางการค้า (6.90 log CFU/ml) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 150 วัน

อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สีของน้ำสกัดมันฝรั่งวันที่ 0 (ชุดควบคุม) มีความสว่าง (L*) มากกว่าชุดการทดลองที่ผ่านการเก็บรักษาในอุณหภูมิแช่เยือกแข็ง (-20 องศาเซลเซียส) สำหรับค่า (a*) สีของน้ำสกัดมันฝรั่งวันที่ 0 (ชุดควบคุม)มีค่าในเฉดสีเขียวมากกว่าชุดการทดลองที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และค่า (b*) สีของน้ำสกัดมันฝรั่งวันที่ 0 (ชุดควบคุม) มีค่าเฉดสีเหลืองเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเก็บรักษาที่ระยะเวลานานขึ้น แสดงว่าการเก็บรักษาน้ำสกัดมันฝรั่งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ทำให้สีของน้ำสกัดมันฝรั่งเปลี่ยนแปลง ซึ่งอาจมีสาเหตุเนื่องจากปฏิกิริยาการออกซิเดชัน (oxidation reaction) สารประกอบฟีนอล ไปเป็น o-quinone และเกิดพอลิเมอร์ไรซ์ (polymerized) จนได้สารเชิงซ้อนสีน้ำตาล โดยมี PPO(polyphenol oxidase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Sapers, 1993) นอกจากนี้อาจเกิดจากปัจจัยอื่น เช่น สมบัติเชิงปริมาณ และเชิงคุณภาพของสารประกอบฟีนอล และ PPO ที่มีอยู่ในผักและผลไม้ รวมทั้งค่าความเป็นกรดด่าง (พีเอช) ปริมาณออกซิเจนและอุณหภูมิ (Martinez และ Whitaker, 1995)

สำหรับงานวิจัยนี้เหตุผลที่เลือกใช้เชื้อรา *A. niger* ATCC6275 และใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR5088 เนื่องจากในการเรียนบทปฏิบัติการพื้นฐานทางจุลชีววิทยาอาหารในห้องปฏิบัติการใช้เชื้อรา *A. niger* ATCC6275 และใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR5088 เป็นเชื้อจุลินทรีย์พื้นฐานที่ใช้ศึกษาลักษณะของเชื้อยีสต์และรา จากผลการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ATCC6275 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งที่จัดเก็บในสภาวะแช่เยือกแข็งที่ระยะเวลาต่าง ๆ เมื่อนำข้อมูลมา

วิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า ชุดการทดลองที่ใช้น้ำสกัดมันฝรั่งวันที่ 0 มาเตรียมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ให้ผลการการเจริญของเชื้อ *A. niger* ATCC6275 มากสุด (6.50±0.27 เซนติเมตร) ผลการเจริญไม่แตกต่างกับชุดการทดลองของ PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งที่เก็บรักษาเป็นเวลา 30, 60, 90 และ 120 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) แต่การเจริญของเชื้อราจะสูงกว่าชุดการทดลองของ PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งวันที่เก็บรักษา 150 วันเล็กน้อย แต่อย่างไรก็ตามชุดการทดลองที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งที่ผ่านการเก็บรักษา 150 วัน มีการเจริญที่สูงกว่าอาหาร PDA สำเร็จรูปทางการค้า (4.30±0.10 เซนติเมตร) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) แสดงว่า อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งที่ผ่านการเก็บรักษาที่ -20 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา 150 วัน สามารถนำมาเลี้ยงเชื้อ *A. niger* ATCC6275 ได้โดยมีประสิทธิภาพสูงกว่าอาหาร PDA สำเร็จรูปทางการค้า โดยในการทดลองนี้ใช้ผงวุ้นตรานางเงือกซึ่งเป็นผงวุ้นตามท้องตลาดที่ใช้สำหรับทำอาหารเพื่อลดต้นทุน เนื่องจากในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการมักเตรียมในปริมาณมาก การประยุกต์ใช้วุ้นตามท้องตลาดจะมีราคาถูกกว่าประมาณ 5 เท่าของวุ้นที่คุณภาพดี สำหรับการใช้วุ้นทำอาหารไม่มีผลกับการเจริญของเชื้อรา โดยมีผลการศึกษาใช้วุ้นตามท้องตลาด (ตราโทรศัพท์) เปรียบเทียบกับผงวุ้นสำหรับเลี้ยงเชื้อ (Difco) พบว่า *A. niger* strain N และ *A. niger* strain O มีการเจริญ (เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี) บนอาหาร Sabouraud dextrose agar (SDA) ที่เตรียมจากวุ้นทั้งสองชนิดไม่แตกต่างกัน (เพลินพิศ และคณะ, 2550) เมื่อนำน้ำสกัดมันฝรั่งที่ผ่านการเก็บรักษา มาเตรียมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แล้วทำการศึกษาการเจริญของเชื้อยีสต์ (*S. cerevisiae* TISTR5088) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ เห็นได้ว่าการเจริญของเชื้อยีสต์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สำเร็จรูปทางการค้า เทียบกับการเจริญของยีสต์บนอาหาร PDA ที่เตรียมจากน้ำสกัดมันฝรั่งมีการเจริญที่ใกล้เคียงกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) แสดงให้เห็นว่าการเก็บรักษาน้ำสกัดมันฝรั่งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 150 วัน สามารถนำมาเลี้ยงเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR5088 ได้ โดยมีประสิทธิภาพไม่ต่างจากอาหาร PDA สำเร็จรูปทางการค้า

จากผลการทดลองที่ได้สามารถนำไปใช้ปรับปรุงงานเกี่ยวกับการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยทำการเตรียมน้ำสกัดมันฝรั่งในครั้งเดียวในช่วงปิดภาคการศึกษา ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการมีเวลาในการเตรียมน้ำสกัดจากมันฝรั่ง โดยสามารถทำการเตรียมครั้งเดียวในปริมาณมาก แบ่งบรรจุในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อแบบฝาเกลียวขนาด 500 มิลลิลิตรและเก็บน้ำสกัดมันฝรั่งไว้ในตู้ -20 องศาเซลเซียส ซึ่งโดยปกติตู้ -20 องศาเซลเซียส ก็มีอยู่ภายในห้องปฏิบัติการและมีพื้นที่เพียงพอ และเมื่อต้องการใช้งานก็สามารถนำน้ำสกัดมันฝรั่งมาละลายและเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ตามปกติซึ่งใช้เวลาในการเตรียมเหมือนกับอาหารสำเร็จรูป จากงานวิจัยชิ้นนี้เห็นได้ว่าสามารถนำผลการทดลองที่ได้มาใช้งานได้จริงในห้องปฏิบัติการเรียนการสอน อีกทั้งยังช่วยลดค่าใช้จ่ายในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ให้แก่หน่วยงานได้

ข้อเสนอแนะการวิจัย

จากการทำการวิจัยเห็นว่าในอนาคตสามารถพัฒนางานวิจัยเพิ่มขึ้น คือ เพิ่มความหลากหลายของวัตถุดิบที่หาได้ในประเทศแทนมันฝรั่ง เช่น มันเทศ ฟักทองและมันสำปะหลัง เพิ่มการศึกษาเปรียบเทียบอุณหภูมิการเก็บรักษาสารสกัดมันฝรั่งที่อุณหภูมิ 4 และ -20 องศาเซลเซียส และศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำสกัดของพืชผลชนิดต่าง ๆ ต่อการเจริญของยีสต์และรา รวมถึงเพิ่มสายพันธุ์ของเชื้อราและเชื้อยีสต์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการให้มีความหลากหลายเพิ่มขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ดร.วิยะดา ฆังคจิต ที่ช่วยในการให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะ ขอขอบคุณคุณอาภรณ์ อุไรกุล ที่ช่วยในการจัดเตรียมอุปกรณ์ ขอขอบคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตรที่สนับสนุนการจัดทำงานวิจัย ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ฝ่ายปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่ให้คำแนะนำให้กำลังใจ และข้อเสนอแนะ

เอกสารอ้างอิง

นพรัตน์ มะเห ดลฤดี พิชัยรัตน์ และอุไรวรรณ วัฒนกุล. 2561. กระบวนการผลิตและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยตลับแช่เยือกแข็ง. รายงานการวิจัย. สาขาอุตสาหกรรมอาหารและผลิตภัณฑ์ประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย. ตรัง. 38 หน้า.

บุญธรรม บุญเลา. 2547. คู่มือการปฏิบัติงานเรื่องการปลูกมันฝรั่ง (Potato). ฝ่ายพัฒนาเกษตรที่สูง สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่. 49 หน้า.

เพลินพิศ หานนท์ กิตติพันธุ์ เสมอพิทักษ์ อรัญญา คงถาวร และกฤษณา ตระการไทย. 2550. การประยุกต์ใช้วุ้นตามท้องตลาดเตรียมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในการเรียนการสอนปฏิบัติการจุลชีววิทยา. ศรีนครินทร์เวชสาร. 22(4): 376-383.

วัชรมาศ ม่วงแก้ว ธันวา วงษ์สุก พจมาน ผู้มีสัตย์ สันต์ สุวรรณมณี และนัฏฐเนศวร์ ลับเลิศลบ. 2559. ผลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญเติบโตและสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Scedosporiumboydii* และ *Scedosporiumprolificans*. วารสารการแพทย์และวิทยาศาสตร์สุขภาพ. 23 (2): 16-25.

ประสงค์สม ปุณยอุปพัทธ์ และสุกฤตา ปุณยอุปพัทธ์. 2560. การศึกษาสูตรอาหารจากถั่วเหลืองสกัดในการเจริญของเส้นใยเห็ดขอนขาวและเห็ดกระด้าง. หน้า 2-9. *ใน*: งานประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 9 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม, วันที่ 28 - 29 กันยายน 2560. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม. นครปฐม.

สายสนม ประดิษฐดวง และสงวนศรี เจริญเหรียญ. 2559. กระบวนการแช่เยือกแข็งอาหารในวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. หน้า 194-233. *ใน:* วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารเล่ม 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

Martinez, M. V.and J.R. Whitaker. 1995. The biochemistry and control of enzymatic browning. Trends in Food Science and Technology. 6(6): 195–200.

Sapers, G.M. 1993. Browning of foods control by sulfites, antioxidants and other means. Food Technology. 47(10): 75–84.