



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

ภาคผนวก ก

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อราบนแผ่นสไลด์ (Slide culture technique)

และการ mount เชื้อราด้วยสี Methylene blue (บงกชวรรณ, 2550)

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อราบนแผ่นสไลด์ (Slide culture technique) เป็นวิธีที่นำมาใช้ช่วยตรวจพิสูจน์ชนิดของเชื้อราที่ก่อโรคซึ่งไม่สามารถระบุชนิดของเชื้อได้จากการทำ tease mount เนื่องจากส่วนประกอบของเชื้อหลุดจากกันได้ง่ายจากการเขี่ยเชื้อ การเพาะเลี้ยงเชื้อบนแผ่นสไลด์จะช่วยให้เห็นลักษณะและการเรียงตัวของสปอร์ที่แท้จริง และยังสามารถเก็บรักษาสไลด์ไว้สำหรับอ้างอิงและตั้งแสดงเพื่อการเรียนการสอนได้

วิธีทำ

1. การเตรียม sterilized culture plates

- วางแผ่นกระดาษซับหรือกระดาษทิชชูที่กั้นงานแก้วเพาะเลี้ยงเชื้อ
- วางแท่งแก้วรูปตัววี (ใช้แทนได้ด้วยค้ำ capillary pipette ที่มีปลายหักแล้วนำไปลงไฟให้งอ) บนกระดาษซับ
- วางแผ่นสไลด์ที่สะอาดบนแท่งแก้วและวางแผ่นแก้วปิดสไลด์บนกระดาษซับ ปิดฝาจานอาหารแล้วนำไปอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

- เตรียม Potato dextrose agar plate ให้มีความหนาของวุ้นประมาณ 2 – 3 มิลลิเมตร
- วางจาน PDA ลงบนแผ่นตารางกระดาษที่ดีช่องกว้างยาวด้านละ 1 เซนติเมตร
- ตัดวุ้นตามเส้นตารางด้วยใบมีดผ่าตัดที่ปราศจากเชื้อให้ได้ก้อนวุ้นกว้างยาวด้านละ 1 เซนติเมตรเพื่อเตรียมนำไปเพาะเชื้อ

3. การ inoculate เชื้อ

- ใช้ใบมีดหรือเข็มเขี่ยตัดก้อนวุ้น นำไปวางบนแผ่นสไลด์ที่อยู่ในงานแก้วให้ทับบนเส้นแบ่งที่ 1
- ใช้ needle ปลายงอเขี่ยเชื้อจากโคโลนีขนาดประมาณหัวไม้ขีดไฟ นำไป inoculate ลงด้านข้างแต่ละด้านของก้อนวุ้นจนครบ 4 ด้าน
- กีบแผ่นกระดาษปิดสไลด์ที่อยู่ในงานแก้วปิดลงบนก้อนวุ้น

- เติมน้ำกลั่น (ประมาณ 5 มิลลิลิตร) ให้กระดาศับมีความชื้นทั่วแผ่น หลังจากนั้นพับรอยต่อของปากจานเพาะเลี้ยงให้รอบด้วยแผ่นกระดาศากาว เพื่อให้จานมีความชื้นป้องกันน้ำระเหย แล้วนำไปเพาะเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งเชื้อสร้างสปอร์ตรวจสอบได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำสุด 40 เท่า

4. การ mount สไลด์

- หลังจากตรวจพบว่ามีการสร้างสปอร์ของเชื้อแล้ว ให้ใช้คีมคีบยกแผ่นกระจกปิดสไลด์ออกจากก้นวุ้น นำแผ่นกระจกวางหงายบนกระดาศับจากนั้นค่อยๆจิกก้นวุ้นทิ้งลงในน้ำยาฆ่าเชื้อด้วยเข็มเย็บเชื้อ จะได้แผ่นกระจกปิดสไลด์และสไลด์ที่มีส่วนของเชื้อราเจริญติดอยู่รวม 2 ชิ้น
- ค่อยๆ หยด 95 % แอลกอฮอล์ลงบนสไลด์และแผ่นกระจกปิดสไลด์จนทั่วบริเวณที่มีเชื้อ (ให้หยดตรงกลางของรอยก้นวุ้นเพื่อไม่ให้เชื้อเสียรูปร่างการเรียงตัว) จะได้เชื้อติดแน่นกับแผ่นกระจกไม่เกิดฟองอากาศเมื่อนำไป mount
- หยด Lactophenol cotton blue (LPC) ลงบนสไลด์ที่สะอาด 1 – 2 หยด ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ที่มีเชื้อ จะได้ slide culture แผ่นที่หนึ่ง หลังจากนั้นหยด LPC อีก 1-2 หยด ลงบนสไลด์ที่มีเชื้อแล้วปิดด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ที่สะอาด จะได้ slide culture แผ่นที่สอง
- นำสไลด์ทั้งสองแผ่นไปตรวจดูรูปร่างลักษณะสำคัญของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ หากต้องการเก็บเป็นสไลด์ถาวรให้ใช้กระดาศับชุบ LPC ที่ล้นออกมา รอข้ามคืนจนแห้งสนิทก่อนทาทับบอบแผ่นกระจกปิดสไลด์ด้วยน้ำยาทาเล็บทั้งสี่ด้าน เพื่อป้องกันน้ำยา LPC ละเหยและเก็บสไลด์ไว้ได้นาน

เทคนิคการดึงเชื้อราจากโคโลนีด้วยแผ่นเทปกาวใส (Scotch tape technic)

การใช้เทคนิคการดึงเชื้อจากโคโลนีขึ้นมาตรวจดูลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยแผ่นเทปกาวใส เป็นวิธีที่ทำได้ง่ายไม่เสียเวลา ไม่มีความยุ่งยาก ได้โครงสร้างและลักษณะการเรียงตัวของสปอร์ชัดเจนใกล้เคียงกับการเพาะเลี้ยงเชื้อบนแผ่นสไลด์ แต่ต้องใช้เชื้อที่เพาะเลี้ยงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เจริญได้เวลาพอดี โคโลนีไม่แก่หรืออ่อนเกินไปจึงจะได้ผลดี

การดำเนินการ

1. เตรียมอุปกรณ์

- สไลด์
- คีมคีบ
- Lactophenol cotton blue (LPC)
-

- เทปกาวใสชนิดเหนียว (3M)
- แท่งแก้วปลายตัด/ก้นปากกาเคมีที่แบนราบ
- เชื้อราที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

2. วิธีทำ

- 1.1 หยคน้ำยา LPB บนสไลด์ 1 หยด
- 1.2 ตัดเทปกาวใสให้มีขนาดใกล้เคียงกับขนาด แผ่นกระจกปิดสไลด์ (1.5x1.5cm)
- 1.3 ใช้คีมคีบแผ่นเทปกาวใสวางทาบบนโคโลนีของฟังไจในจุดที่ 2 ซึ่งเป็นบริเวณที่เชื้อเจริญสร้างสปอร์
- 1.4 ใช้ปลายด้านตัดของแท่งแก้วหรือก้นของปากกาเคมีกดเบาๆ ให้ทั่วแผ่นเทปกาว แล้วคีบดึงขึ้น นำด้านที่มีเชื้อติดอยู่ไปวางบนหยดน้ำยา LPB ที่เตรียมไว้ในข้อ 1.1 นำสไลด์ไปตรวจดูโครงสร้างและลักษณะสำคัญของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์

การ mount เชื้อราด้วยสี Methylene blue

ในการตรวจรูปร่างลักษณะเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์นั้น เชื้อในกลุ่ม hyaline fungi ซึ่งมีสีใสเมื่อ mount โดยไม่ย้อมสีจะเห็นลักษณะรายละเอียดของเชื้อได้ไม่ชัดเจน เชื้อจะติดสีน้ำเงินเมื่อนำมาย้อมด้วยสี Lactophenol cotton blue (LPC) แต่พบว่าเชื้อบางตัวในกลุ่มนี้ยังคงติดสีได้ไม่ค่อยดีได้ทดลองใช้สีย้อมหลายชนิดแทนน้ำยา LPC พบว่าเส้นใยและโคนเดี่ยวของเชื้อราสามารถดูดซึมสี Methylene blue ได้เป็นอย่างดี ทำให้เห็นรูปร่างลักษณะของเชื้อติดสีน้ำเงินได้สวยงามเห็นรายละเอียดชัดเจน แต่อย่างไรก็ตามสี Methylene blue ไม่เหมาะที่จะนำไปใช้ mount เชื้อราในกลุ่ม dematiaceous fungi ซึ่งเป็นกลุ่มราดำที่ปกคลุมเส้นใยและโคนเดี่ยวมีสีเข้มเห็นโครงสร้างชัดเจนอยู่แล้ว ถึงแม้ไม่ได้ย้อมสี ดังนั้นหากใช้สีย้อมจะทำให้เชื้อติดสีเข้มมากขึ้นจนเห็นโครงสร้างของเชื้อได้ยาก

ภาคผนวก ข

การแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ (คณาจารย์, 2551)

การใช้ Single spore technique

1. ใช้เข็มเย็บ (needle) เขี่ยกลุ่ม โคนิเดียเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ลงในขวดแก้ว (vial) ที่มีน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อแล้ว
2. เขย่าขวดแก้วให้เกิดโคนิเดียแขวนลอย (conidia suspension) ตรวจสอบความหนาแน่นของสปอร์โดยใช้ห่วงลวด (loop) โดยแตะสปอร์แขวนลอยมาหยดบนแผ่นแก้วสไลด์
3. ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้ objective กำลังขยายต่ำกำลังขยาย (x10) ให้มีปริมาณสปอร์ประมาณ 10 โคนิเดีย ต่อ 1 ห่วงลวด
4. จากนั้นใช้ห่วงลวดที่ปลอดเชื้อจุ่มลงใน โคนิเดียแขวนลอย แล้วลากเส้น (streak) ลงบนผิวหน้าของอาหาร WA
5. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง ได้แสงฟลูออเรสเซนซ์และแสง NUV (Near Ultraviolet) ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 23-27 องศาเซลเซียส
6. ตัดสปอร์ เดี่ยวที่งอก มาเลี้ยงบนอาหาร PDA

การใช้ Hyphal tip technique

1. เลี้ยงเชื้อราบนอาหารวุ้น PDA ให้ได้เชื้อบริสุทธิ์
2. ใช้เข็มเย็บ (needle) ตัดปลายเส้นใย และนำมาเลี้ยงบนอาหารวุ้น PDA งานใหม่
3. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง จนเส้นใยเจริญ
4. สามารถแยกเชื้อด้วยการตัดปลายเส้นใยได้หลายครั้งเพื่อให้เชื้อบริสุทธิ์

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหาร Potato Dextrose Agar (ประพันธ์, 2553)

สูตรอาหารวุ้น PDA

มันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำตาลเดกซ์โทรสหรือน้ำตาลทรายขาว	20	กรัม
วุ้นผง	15-20	กรัม
น้ำสะอาด(น้ำกลั่น)	1000	กรัม

วิธีทำ

1. ปอกเปลือกมันฝรั่ง ล้างน้ำ แล้วหั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดลูกเต๋า ชั่ง 200 กรัมแล้วล้างน้ำสะอาดอีกครั้ง
2. ตวงน้ำ 1000 มิลลิลิตรใส่หม้อและใส่มันฝรั่งต้มที่เตรียมไว้ลงไป ต้มให้เดือด แล้วลดไฟลงใช้ไฟอ่อนๆจึงเริ่มจับเวลา 15 นาที เพราะถ้าใช้ไฟแรงมันฝรั่งอาจเปื่อยยุ่ยและละลายออกมา ทำให้อาหารวุ้นมีลักษณะขุ่นขาว ซึ่งยากต่อการสังเกตการณ์เดินของเส้นใย แล้วกรองเอาแต่น้ำต้มมันฝรั่ง
3. ใช้ผ้าขาวบาง 2-3 ชั้น กรองเอามันฝรั่งออก
4. ละลายวุ้นผง 15 กรัมผสมกับน้ำเย็นเล็กน้อยเทใส่หม้อน้ำต้มมันฝรั่งแล้วยกตั้งไฟ คนตลอดเวลา 10 นาที(หรือวุ้นละลายหมด)
5. ตวงมา 1 ลิตรหลังจากที่กรองเอามันฝรั่งออก หากได้ไม่ครบให้เติมน้ำร้อนจนครบยกตั้งไฟอ่อนๆ เติมน้ำตาลลงไป 20 กรัม คนจนกระทั่งน้ำตาลละลายหมดแล้วยกลงจากเตา (ไม่ต้องรอเดือด) ก็จะได้อาหารวุ้น PDA
6. เอาขวดเห้าแบนที่ล้างจนสะอาดและตากแดดแห้งดี เทอาหารวุ้น พีดีเอลงไปที่สูงจากก้นขวดประมาณ 1 ใน 6 หรือ 1 นิ้ว(ระวังอย่าให้วุ้นเลอะเลอะปากขวด หากเลอะต้องใช้ผ้าสะอาดเช็ดออกให้เกลี้ยงหรือถ่ายอาหารลงขวดใหม่)
7. ปิดสำลีอุดปากขวด และเอากระดาษปิดทับอีกที ใช้ยางรัดไว้
8. นำไปนั่งฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดันเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารวุ้น
9. วางขวดวุ้นไว้จนกระทั่งเย็นลงจนพอจับขวดได้ด้วยมือเปล่าแล้วจึงนำขวดไปเอียงเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวของอาหารวุ้น เมื่อวุ้นแข็งตัวดีแล้วจึงนำไปใช้เลี้ยงเชื้อเห็ดได้ด้วยวิธีต่อไป

ภาคผนวก ง

การผลิตหัวเชื้อจากเมล็ดธัญพืช ศูนย์วิจัยเห็ดเขตหนาว (2544, 2550)

จะใช้เมล็ดธัญพืช เช่น เมล็ดข้าวฟ่าง เมล็ดข้าวสาลี เมล็ดข้าวเจ้า ข้าวเหนียว ฯลฯ ปัจจุบันนิยมใช้เมล็ดข้าวฟ่าง ซึ่งมีวิธีการเตรียม ดังนี้

วิธีการเตรียมข้าวฟ่างเพื่อผลิตเป็นหัวเชื้อเห็ด

1. นำเมล็ดข้าวฟ่างที่ไม่มีสารป้องกันและกำจัดศัตรูพืชทั้งโรคและแมลงตกค้างอยู่มาทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกและเลือกใช้เมล็ดข้าวฟ่างที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า 85 % มาใช้งาน โดยทดสอบอย่างง่าย ๆ คือ แช่ข้าวฟ่าง 100 เมล็ดไว้ในน้ำ 1 ถังหรืออาจทำหลายๆ ถัง นำมาห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ที่พรมน้ำให้ชื้น เก็บไว้ในที่ๆ อากาศค่อนข้างร้อน แต่ต้องมีความชื้นสูงนาน 2-3 ถัง จากนั้นคอยตรวจนับจำนวนเมล็ดที่งอก หากสูงกว่า 85 % (85 เมล็ดจาก 100 เมล็ด) ให้ถือว่าใช้ได้
2. นำเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการทดสอบความงอกมาแช่น้ำทิ้งไว้ 1 ถัง เพื่อให้เมล็ดข้าวฟ่างอ่อนตัวลง จากนั้นนำไปต้มไฟปานกลาง ในขณะที่ต้มควรจะคนด้วยเพื่อให้เมล็ดข้าวฟ่างสุกอย่างสม่ำเสมอ ใช้เวลาประมาณ 15 นาทีจากน้ำเดือด เมื่อบิดเมล็ดให้แตกจะเห็นเนื้อแป้งของเมล็ดรอบนอกใส ส่วนภายในของเมล็ดครึ่งหนึ่งยังขาวขุ่นเป็นแป้งอยู่ก็ใช้ได้ นำขึ้นตรงให้สะเด็ดน้ำบนตะแกรง
3. เมื่อเมล็ดข้าวฟ่างเย็นตัวลงให้กรอกใส่ขวดแบนในปริมาณประมาณหนึ่งในสอง หรือสามของขวดแล้วปิดจุกสำลี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน โดยใช้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 30 นาที เมื่อครบกำหนดแล้ว ทิ้งขวดเมล็ดข้าวฟ่างไว้ให้เย็น
4. ตัดเชื้อบริสุทธิ์(แม่เชื้อ)ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นให้มีขนาดประมาณ 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วใส่แม่เชื้อเห็ดลงไปตรงกึ่งกลางขวดเมล็ดข้าวฟ่าง การใส่เชื้อบริสุทธิ์จะต้องปฏิบัติอย่างระมัดระวังในห้องสะอาด หรือ ในตู้เขี่ยเชื้อ โดยใช้หลักการเขี่ยเชื้อบริสุทธิ์เข้าช่วย
5. เมื่อเขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ลงไปแล้วให้นำขวดเชื้อไปพักบ่มในห้องบ่มเชื้อนาน 10-15 วัน เมื่อพบว่าเชื้อเดินเต็มขวดแล้วแสดงว่าหัวเชื้อนั้นพร้อมที่จะนำไปถ่ายใส่ในวัสดุเพาะให้เป็นดอกเห็ดได้ต่อไป
6. หัวเชื้อที่ผลิตได้ไม่ควรเก็บไว้ใช้นานเกิน 2 เดือน เพราะเชื้อเห็ดจะแก่เกินไป ควรใช้หัวเชื้อให้หมดภายใน 1 อาทิตย์(หลังจากที่เชื้อเดินเต็มวัสดุที่ใช้ทำหัวเชื้อแล้ว) หัวเชื้อ 1 ขวดแบนสามารถนำไปเขี่ยเชื้อได้ 50-60 ถุง

ภาคผนวก จ

การทำหัวเชื้อขี้เลื่อยและก้อนเชื้อเห็ด

สูตรวัสดุเพาะ ศูนย์วิจัยเห็ดเขตหนาว (2544)

ขี้เลื่อยไม้ยางพารา	100	กิโลกรัม
รากมอลต์	15	กิโลกรัม
รำมอลต์	15	กิโลกรัม
เมล็ดข้าวฟ่างป่นละเอียด	1	กิโลกรัม
กากน้ำตาล	1	กิโลกรัม
ปูนขาว	0.5	กิโลกรัม
ดีเกลือ (แมกนีเซียมซัลเฟต)	0.5	กิโลกรัม

วิธีการผลิตก้อนเชื้อเห็ด

- นำส่วนผสมตามสูตรอาหารทั้งหมดมาผสมให้เข้ากัน ขณะผสมให้เติมน้ำเข้าไปเป็นระยะๆ ตามอัตราที่กำหนด
- เมื่อผสมเสร็จแล้ว ให้กลับกองขี้เลื่อยทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที ทำอย่างนี้ประมาณ 3-4 ครั้ง เพื่อให้ส่วนผสมและน้ำเข้ากัน
- ทดลองจับดูว่าส่วนผสมที่ได้แน่นเปียกหรือแห้งเกินไปหรือเปล่า โดยใช้มือจับและบีบดู ถ้าปล่อยมือแล้วขี้เลื่อยแตกไม่เกาะตัวแสดงว่าส่วนผสมที่ได้แห้งเกินไป ควรเติมน้ำเข้าไปตามความเหมาะสม (บีบดูแล้วไม่แตก มีความชื้นพอประมาณ)
- กรอกขี้เลื่อยที่ผสมแล้วลงในถุงที่เตรียมไว้ อัดก้อนเชื้อให้แน่น แล้วใส่คอขวด ปิดทับด้วยกระดาษและใช้ยางรัดให้แน่น
- นำก้อนเชื้อที่เตรียมได้นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในถังน้ำถึงนึ่งหรือหม้อนึ่งความดันตามเวลาที่กำหนด ถ้าเป็นถังนึ่งธรรมดาจะนึ่งต่อเนื่องหลังจากน้ำเดือดเป็นเวลา 5-8 ชั่วโมง ถ้าเป็นหม้อนึ่งความดันใช้ความดัน 15 ปอนด์ นึ่งนาน 1-2 ชั่วโมง
- ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำออกจากถังเก็บไว้ในห้องเชื้อ

ภาคผนวก จ

เทคนิคการเขี่ยเชื้อ (ดัดแปลงจากสมบัติ, 2550)

เทคนิคการเขี่ยเชื้อให้ตกลงบนอาหารวุ้น

การเขี่ยเชื้อและการย้ายชิ้นเนื้อเชื้อลงเลี้ยงบนอาหารวุ้น จะต้องระมัดระวังไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้ออื่นๆ เป็นสำคัญ ซึ่งมีเทคนิคที่ควรต้องปฏิบัติตามดังต่อไปนี้

เทคนิคการปลอดเชื้อ

ก่อนใช้เข็มเขี่ยเชื้อทุกครั้งให้นำเข็มที่ทำจากลวดนิโครมไปลนไฟจนปลายร้อนแดงก่อนทุกครั้ง รวมทั้งต้องลนแบบเร็วๆ ผ่านไปมาตลอดปลายด้ามใกล้มือที่จับอยู่ แล้วต้องรอให้เข็มเขี่ยเย็นตัวในอากาศประมาณ 5 วินาที จึงจะนำไปเขี่ยเชื้อได้ และต้องให้แน่ใจก่อนว่าเข็มนั้นเย็นตัวแล้วจริงๆ ก่อนนำไปเขี่ย เพราะถ้าเขี่ยขณะที่เข็มร้อนจะกลายเป็นการฆ่าเชื้อให้ตายได้

การเปิดขวดทั้งก่อนและหลังการเขี่ยเชื้อ ต้องลนไฟที่ปากขวดด้วยทุกครั้งเพื่อเป็นการฆ่าเชื้อที่อาจปนเปื้อนอยู่บริเวณปากขวด โดยการหมุนปากขวดลนไฟ กลับไปกลับมา 2-3 รอบก่อน เพื่อฆ่าเชื้อและเป็นการช่วยเผาเศษสำลีที่ติดอยู่ตามปากขวด

เทคนิคการจับเข็มเขี่ยเชื้อ

การจับเข็มเขี่ยเชื้อ ให้จับเหมือนกับการจับปากกา โดยจับที่ปลายด้ามให้ปลายด้ามวางอยู่บนง่ามนิ้วระหว่างนิ้วหัวแม่มือกับนิ้วชี้ เว้นระยะตัวจากปลายด้ามเข็มเข้ามาประมาณ 2 นิ้ว วางบนปลายนิ้วกลาง แล้วใช้นิ้วชี้กับนิ้วหัวแม่มือช่วยในการยึดเข็มเขี่ยเชื้อ แล้วใช้นิ้ววางกับนิ้วก้อยในการหยิบจับจุกสำลี

เทคนิคการจับจุกสำลี

การเปิดขวดอาหารจะต้องระมัดระวังไม่ให้จุกสำลีเปื้อนหรือ มีเชื้อจากภายนอกปลอมปน เพราะจะกลายเป็นช่องทางที่เชื้อจะสะสมและเข้าไปปะปนในอาหารวุ้นได้ง่าย วิธีการจับจุกสำลี ให้ใช้มือที่จับเข็มเขี่ยเชื้อหยิบจับจุกสำลี โดยการหงายมือข้างดังกล่าว แล้วจับจุกด้วยปลายนิ้วก้อยกับฝ่ามือส่วนที่หงายขึ้น เปิดจุกสำลีด้วยการบิดหมุนเล็กน้อย เพื่อให้ดึงออกได้โดยง่าย การดึงควรดึงออกจากปากขวดช้าๆ อย่าดึงเร็วหรือแรง เพราะจะทำให้เกิดลมย้อนเข้าไปในขวด เป็นเหตุให้เชื้อในอากาศแทรกตัวเข้าไปปนเปื้อนในอาหารได้ง่าย เมื่อดึงจุกสำลีออกมาแล้ว ให้จับจุกไว้ในอุ้งมือตลอดเวลาที่เขี่ยเชื้อ ไม่ควรให้จุกแตะต้องโดนสิ่งใดระหว่างการเขี่ยเชื้อ จนกว่าจะเขี่ยเชื้อเสร็จจึงให้ปิดจุกด้วยสำลีอย่างเดิม

เทคนิคการหยอดเชื้อเห็ดลงในถุงก้อนเชื้อ ศูนย์ประสานงานพัฒนาเกษตรที่สูง (2545)

1. หัวเชื้อเห็ดที่มีคุณภาพดีที่สุด ควรเป็นหัวเชื้อที่เส้นใยเห็ดเจริญเต็มขวดใหม่ ๆ ไม่มีเชื้อราอื่นปน เชื้อไม่แก่จนเกินไป สังเกตได้จากเชื้อจะย่อยตัวเองเป็นน้ำสีเหลือง และห้องเย็บเชื้อ ต้องเป็นห้องที่สะอาดมิดชิด ไม่มีลมพัด

2. วิธีการหยอดเชื้อลงในถุงก้อนเชื้อ เริ่มจากวางก้อนเชื้อเรียงเป็นแถว ให้สามารถเข้าทำงานได้สะดวกและรวดเร็ว เปิดเอากระดาษหุ้มสำล่ออก แต่ยังไม่ต้องดึงจุกสำล่ออก เช็ดมือให้สะอาดด้วยแอลกอฮอล์ให้ทั่ว แล้วนำขวดหัวเชื้อเมล็ดข้างฟางที่คัดเลือกไว้แล้ว มาเขย่าขณะที่มีจุกสำลืออยู่ เพื่อให้เมล็ดข้างฟางมีการกระจายตัว จากนั้นถอดจุกสำลือออกแล้วลนปากขวดหัวเชื้อเมล็ดข้างฟางด้วยไฟจากตะเกียงแอลกอฮอล์

3. จากนั้นใช้มืออีกข้างหนึ่งเปิดจุกสำลือที่ก้อนเชื้อออก แล้วเทหัวเชื้อเมล็ดข้างฟางลงไป ในถุงก้อนเชื้อ ถุงละ 15-20 เมล็ด แล้วรีบปิดจุกสำลือที่ก้อนเชื้อให้แน่นทันทีโดยไม่ต้องใช้กระดาษปิดทับ ขณะที่หยอดเมล็ดข้างฟางลงในถุงก้อนเชื้อนั้นควร ลนปากด้วยไฟจากตะเกียงแอลกอฮอล์เป็นระยะๆ

4. สำหรับหัวเชื้อที่เปิดขวดแล้วควรใช้ให้หมดในครั้งเดียว หากใช้ไม่หมดไม่ควรนำกลับมาใช้อีกในครั้งต่อไป เพราะอาจมีเชื้ออื่นปนเข้ามาก็เป็นได้ หัวเชื้อข้างฟาง 1 ขวด สามารถหยอดลงในถุงก้อนเชื้อได้ประมาณ 35 -40 ก้อน

ภาคผนวก ข

การบ่มเชื้อและการเปิดดอก ศูนย์วิจัยเห็ดเขตหนาว (2550)

การบ่มก้อนเชื้อ

หลังจากหยอดเชื้อลงในก้อนเชื้อเห็ดแล้ว ต้องนำก้อนเชื้อเห็ดไปบ่มในห้องเก็บที่อุณหภูมิปกติ หรือนำไปเก็บไว้ในโรงบ่มที่ทำไว้โดยเฉพาะ เพื่อรอให้เส้นใยเดินเต็มถุง ปกติจะใช้เวลา 2-3 สัปดาห์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเห็ดด้วยเช่นกัน ก้อนเชื้อที่เส้นใยเห็ดสีขาวจะเจริญลูกกลามไปอย่างเสมอทั้งก้อน หากเส้นใยเดินชะงักหรือไม่เดินลงมา อาจมีสาเหตุมาจากเชื้อราต่างๆ ขึ้นปะปนจากการนึ่งก้อนเชื้อไม่ดี หรืออาจแทรกเข้ามาในช่วงที่เก็บหัวเชื้อลงในก้อนเชื้อเห็ด แสดงว่าก้อนเชื้อนั้นเสีย ควรคัดแยกออกไปเผาทำลายทันทีเพื่อป้องกันการแพร่ระบาดไปสู่ก้อนเชื้อเห็ดก้อนอื่นๆ อาการที่บ่งบอกว่าก้อนเชื้อเห็ดนั้นเสียอีกลักษณะหนึ่งก็คือ ก้อนเชื้อจะบริเวณก้นถุง

การเปิดดอก (ประพันธ์, 2553)

การเปิดดอกเห็ด จะทำเมื่อเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดเจริญจนเต็มถึงก้นถุงซึ่งสามารถทำได้โดย

1. การเปิดจุกเพื่อให้เห็ดออกที่ปากถุง วางถุงในแนวนอนให้น้ำโดยการพ่นเป็นฝอยละเอียด เห็ดจะเกิดและโผล่ออกมาจากปากถุง วิธีนี้สามารถผลิตเห็ดออกมาได้หลายรุ่นจนกว่าอาหารเห็ดในก้อนเชื้อจะหมด
2. การกรีดข้างถุง คือการใช้มีดคมๆ หรือคัตเตอร์มากรีดเป็นแนวตรงลง แนวเฉียง หรือกากบาทเป็นจุดเล็กๆ
3. การเปลือยถุง คือการแกะพลาสติกออกให้เหลือแต่ก้อนเชื้อเปล่าๆ วิธีนี้ต้องรักษาความชื้นในห้องเพาะให้สูงมาก เพราะก้อนเชื้อจะเหี่ยวและสูญเสียความชื้นอย่างรวดเร็ว ดอกเห็ดจะออกรอบก้อนเชื้อเป็นจำนวนมาก แต่ขนาดของดอกเห็ดจะเล็กเพราะมีการแย่งอาหารกัน
4. การเพาะในถุงหรือในกระถาง คือการนำก้อนเชื้อเห็ดเปลือยใส่ในถุงเพาะชำหรือกระถางปลูกต้นไม้ คลุมก้อนเชื้อด้วยขี้เลื่อยหรือดินร่วนจนมิดและสูงจากผิวบนประมาณ 1 ซม. เก็บไว้ในที่ร่ม รดน้ำแบบปลูกต้นไม้ทั่วไป ดอกเห็ดที่ได้จะมีขนาดดอกใหญ่คล้ายเห็ดในธรรมชาติ
5. การเพาะในกระบะ ถาด พื้นดิน คือการใช้ก้อนเชื้อเปลือยถุง ออกเหมือนการเพาะในกระถาง แต่วางในถาดหลายๆ ก้อน ติดๆกัน คลุมดิน รดน้ำ เพาะบริเวณดินใต้ต้นไม้ วิธีนี้เมื่อก้อนเห็ดหมดอายุแล้ว ยังกลายสภาพเป็นปุ๋ยบำรุงดินไปด้วยในตัว

6. การเพาะแบบแขวน คือการใช้เชือกไนลอนพิเศษ 4 เส้นที่หัวท้ายผูกติดกัน ตรงกลางใส่พลาสติกแข็งๆ เจาะรูร้อยเชือกทั้ง 4 เส้นต่างให้ห่างจากกัน เอาก้อนเชื้อวางซ้อนๆ กันได้หลายถุงแขวนห้อยจากคานด้านบน วิธีนี้พื้นโรงเรือน จะสะอาด ศัตรูเห็ดมีน้อยเก็บและดูแลรักษาง่าย

7. การเพาะในโรงเรือน วิธีนี้ความสำเร็จอยู่ที่การจัดระบบโรงเรือนให้มีการระบายที่ดี สามารถควบคุมอุณหภูมิความชื้นได้



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved

ภาคผนวก ข

Calcium chloride

ชื่อเคมีทั่วไป	:	Calcium chloride
ชื่อพ้องอื่นๆ	:	Calcium dichloride ; Calcium chloride anhydrous ; Caltae ; Dowflake ; Calcosan
สูตรโมเลกุล	:	CaCl ₂
สูตรโครงสร้าง	:	Cl ⁻ Cl ¹² Cl ⁻
การใช้ประโยชน์ (Use)	:	ใช้เป็นสารเคมีในห้องปฏิบัติการ

ค่ามาตรฐานและความเป็นพิษ (Standard and Toxicity)

และคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี (Physical and Chemical Properties)

สถานะ	:	เม็ด, ของแข็ง
สี	:	สีขาว หรือ เทา-ขาว
กลิ่น	:	ไม่มีกลิ่น
น้ำหนักโมเลกุล	:	110.98
จุดเดือด(°ซ.)	:	> 1600
จุดหลอมเหลว/จุดเยือกแข็ง(°ซ.)	:	772
ความถ่วงจำเพาะ(น้ำ = 1)	:	2.15
ความสามารถในการละลายน้ำที่ (กรัม/100 มล.)	:	ละลายน้ำได้, 74.5
ความเป็นกรด-ด่าง(pH)	:	8-9 ที่ 20°ซ.
แฟกเตอร์แปลงหน่วย 1	:	= 4.54
มก./ม ³ หรือ 1 มก./ม ³	:	= 0.22 ppm ที่ 25 °ซ
LD ₅₀ (มก./กก.)	:	1000 (หนู)

Material Safety Data Sheet
Calcium chloride, Anhydrous MSDS

Section 1: Chemical Product and Company Identification

Product Name: Calcium chloride, Anhydrous

Catalog Codes: SLC5011, SLC2221, SLC4012, SLC4798, SLC1006

CAS#: 10043-52-4

RTECS: EV9800000

TSCA: TSCA 8(b) inventory: Calcium chloride, Anhydrous

CI#: Not available.

Synonym:

Chemical Name: Calcium Chloride, Anhydrous

Chemical Formula: CaCl₂

Contact Information:

Sciencelab.com, Inc. 14025 Smith Rd. Houston, Texas 77396

US Sales: 1-800-901-7247

International Sales: 1-281-441-4400

Order Online: ScienceLab.com

CHEMTREC (24HR Emergency Telephone), call: 1-800-424-9300

International CHEMTREC, call: 1-703-527-3887

For non-emergency assistance, call: 1-281-441-4400

Section 2: Composition and Information on Ingredients**Composition:**

Name : Calcium chloride, Anhydrous

CAS # : 10043-52-4

% by Weight :100

Toxicological Data on Ingredients: Calcium chloride, Anhydrous: ORAL (LD50): Acute: 1000 mg/kg [Rat]. 1940 mg/kg .

Section 3: Hazards Identification**Potential Acute Health Effects:**

Hazardous in case of skin contact (irritant), of eye contact (irritant), of ingestion, of inhalation.

Slightly hazardous in case of skin contact (permeator).

Potential Chronic Health Effects:

CARCINOGENIC EFFECTS: Not available. MUTAGENIC EFFECTS: Mutagenic for mammalian somatic cells. Mutagenic for bacteria and/or yeast. TERATOGENIC EFFECTS: Not available.

DEVELOPMENTAL TOXICITY: Not available. The substance may be toxic to heart, cardiovascular system. Repeated or prolonged exposure to the substance can produce target organs damage.

Section 4: First Aid Measures**Eye Contact:**

Check for and remove any contact lenses. In case of contact, immediately flush eyes with plenty of water for at least 15 minutes. Cold water may be used. Get medical attention.

Skin Contact:

In case of contact, immediately flush skin with plenty of water. Cover the irritated skin with an emollient. Remove contaminated clothing and shoes. Cold water may be used. Wash clothing before reuse. Thoroughly clean shoes before reuse. Get medical attention.

Serious Skin Contact:

Wash with a disinfectant soap and cover the contaminated skin with an anti-bacterial cream. Seek immediate medical attention.

Inhalation:

If inhaled, remove to fresh air. If not breathing, give artificial respiration. If breathing is difficult, give oxygen. Get medical attention.

Serious Inhalation: Not available.

Ingestion:

Do NOT induce vomiting unless directed to do so by medical personnel. Never give anything by mouth to an unconscious person. If large quantities of this material are swallowed, call a physician immediately. Loosen tight clothing such as a collar, tie, belt or waistband.

Serious Ingestion: Not available.

Section 5: Fire and Explosion Data

Flammability of the Product: Non-flammable.

Auto-Ignition Temperature: Not applicable.

Flash Points: Not applicable.

Flammable Limits: Not applicable.

Products of Combustion: Not available.

Fire Hazards in Presence of Various Substances: Not applicable.

Explosion Hazards in Presence of Various Substances:

Risks of explosion of the product in presence of mechanical impact: Not available. Risks of explosion of the product in presence of static discharge: Not available.

Fire Fighting Media and Instructions: Not applicable.

Special Remarks on Fire Hazards: Not available.

Special Remarks on Explosion Hazards: Furan-2-peroxycarboxylic acid + calcium chloride causes explosion at room temperature.

Section 6: Accidental Release Measures

Small Spill:

Use appropriate tools to put the spilled solid in a convenient waste disposal container. Finish cleaning by spreading water on the contaminated surface and dispose of according to local and regional authority requirements.

Large Spill:

Use a shovel to put the material into a convenient waste disposal container. Finish cleaning by spreading water on the contaminated surface and allow to evacuate through the sanitary system.

Section 7: Handling and Storage

Precautions:

Keep locked up.. Do not ingest. Do not breathe dust. Wear suitable protective clothing. In case of insufficient ventilation, wear suitable respiratory equipment. If ingested, seek medical advice

immediately and show the container or the label. Avoid contact with skin and eyes. Keep away from incompatibles such as moisture.

Storage:

Hygroscopic. Keep container tightly closed. Keep container in a cool, well-ventilated area. Do not store above 30°C (86°F).

Section 8: Exposure Controls/Personal Protection

Engineering Controls:

Use process enclosures, local exhaust ventilation, or other engineering controls to keep airborne levels below recommended exposure limits. If user operations generate dust, fume or mist, use ventilation to keep exposure to airborne contaminants below the exposure limit.

Personal Protection: Safety glasses. Synthetic apron. Gloves (impervious).

Personal Protection in Case of a Large Spill:

Splash goggles. Full suit. Boots. Gloves. Suggested protective clothing might not be sufficient; consult a specialist BEFORE handling this product.

Exposure Limits: Not available.

Section 9: Physical and Chemical Properties

Physical state and appearance: Solid. (Crystalline solid.)

Odor: Odorless.

Taste: Saline.

Molecular Weight: 110.99 g/mole

Color: Colorless. White. Off-white.

pH (1% soln/water): 9 [Basic.]

Boiling Point: 1670°C (3038°F)

Melting Point: 772°C (1421.6°F)

Critical Temperature: Not available.

Specific Gravity: 2.15 (Water = 1)

Vapor Pressure: Not applicable.

Vapor Density: Not available.

Volatility: Not available.

Odor Threshold: Not available.

Water/Oil Dist. Coeff.: Not available.

Ionicity (in Water): Not available.

Dispersion Properties: See solubility in water, acetone.

Solubility:

Easily soluble in cold water, hot water, acetone. Freely soluble in alcohol. Soluble in Acetic Acid.

Section 10: Stability and Reactivity Data

Stability: The product is stable.

Instability Temperature: Not available.

Conditions of Instability: Incompatible materials, moisture.

Incompatibility with various substances: Reactive with moisture.

Corrosivity: Non-corrosive in presence of glass.

Special Remarks on Reactivity:

Hygroscopic. Reacts violently (violent boiling) with water, generating heat. Forms flammable gases and evolves hydrogen when reacted with zinc. Solutions attack some metals. Generates heat and violent polymerization occurs when mixed with methyl vinyl ether. Bromine trifluoride reacts violently with and attacks calcium chloride.

Special Remarks on Corrosivity: Not available.

Polymerization: Will not occur.

Section 11: Toxicological Information

Routes of Entry: Absorbed through skin. Inhalation. Ingestion.

Toxicity to Animals: Acute oral toxicity (LD50): 1000 mg/kg [Rat].

Chronic Effects on Humans:

MUTAGENIC EFFECTS: Mutagenic for mammalian somatic cells. Mutagenic for bacteria and/or yeast. May cause damage to the following organs: heart, cardiovascular system.

Other Toxic Effects on Humans:

Hazardous in case of skin contact (irritant), of ingestion, of inhalation. Slightly hazardous in case of skin contact (permeator).

Special Remarks on Toxicity to Animals:

Lowest Published Lethal Dose: LDL [Rabbit] - Route: Oral; Dose: 1384 mg/kg

Special Remarks on Chronic Effects on Humans:

May affect genetic material based on animal data. May cause cancer (tumorigenic) based on animal data.

Special Remarks on other Toxic Effects on Humans:

Acute Potential Health Effects: Skin: May cause severe irritation and possible burns, especially if skin is wet. Contact with dry skin causes mild irritation. Contact of solid with moist/wet skin or skin contact with strong solutions may cause marked irritation or possible burns. Eyes: May cause severe irritation, possible transient corneal injury, and possible eye burns. Inhalation: May cause severe irritation of the upper respiratory tract with pain, inflammation and possible burns. Ingestion: May cause severe gastrointestinal (digestive) tract irritation with nausea, vomiting and possible burns. May affect cardiovascular system (cardiac disturbances, slow heart beat), behavior (seizures), metabolism, blood, and brain, respiration (rapid respiration). Chronic Potential Health Effects: effects may be delayed.

Section 12: Ecological Information

Ecotoxicity: Ecotoxicity in water (LC50): 100 mg/l 96 hours [Fish].

BOD5 and COD: Not available.

Products of Biodegradation:

Possibly hazardous short term degradation products are not likely. However, long term degradation products may arise.

Toxicity of the Products of Biodegradation: The products of degradation are less toxic than the product itself.

Special Remarks on the Products of Biodegradation: Not available.

Section 13: Disposal Considerations

Waste Disposal:

Waste must be disposed of in accordance with federal, state and local environmental control regulations.

Section 14: Transport Information

DOT Classification: Not a DOT controlled material (United States).

Identification: Not applicable.

Special Provisions for Transport: Not applicable.

Section 15: Other Regulatory Information

Federal and State Regulations: TSCA 8(b) inventory: Calcium chloride, Anhydrous

Other Regulations: EINECS: This product is on the European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances.

Other Classifications:

WHMIS (Canada): CLASS D-2B: Material causing other toxic effects (TOXIC).

DSCL (EEC):

R36- Irritating to eyes. S2- Keep out of the reach of children. S22- Do not breathe dust. S24- Avoid contact with skin.

HMIS (U.S.A.):

Health Hazard: 2

Fire Hazard: 0

Reactivity: 1

Personal Protection: C

National Fire Protection Association (U.S.A.):

Health: 2

Flammability: 0

Reactivity: 2

Specific hazard:

Protective Equipment:

Gloves (impervious). Synthetic apron. Wear appropriate respirator when ventilation is inadequate.

Safety glasses.

Section 16: Other Information

References: Not available.

Other Special Considerations: Not available.

Created: 10/09/2005 04:31 PM

Last Updated: 11/01/2010 12:00 PM

The information above is believed to be accurate and represents the best information currently available to us. However, we make no warranty of merchantability or any other warranty, express or implied, with respect to such information, and we assume no liability resulting from its use. Users should make their own investigations to determine the suitability of the information for their particular purposes. In no event shall ScienceLab.com be liable for any claims, losses, or damages of any third party or for lost profits or any special, indirect, incidental, consequential or exemplary damages, howsoever arising, even if ScienceLab.com has been advised of the possibility of such damages.

การเตรียมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

1. เตรียมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งแคลเซียมคลอไรด์มา 5.0 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลาย แคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งแคลเซียมคลอไรด์มา 10.0 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร
3. เตรียมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งแคลเซียมคลอไรด์มา 15.0 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร
4. เตรียมสารละลาย แคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 2.0 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งแคลเซียมคลอไรด์มา 20.0 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร
5. เตรียมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งแคลเซียมคลอไรด์มา 25.0 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ณ

การใช้งานเครื่องวัดสี (ศราวุฒิ, 2552)

การใช้งานเครื่องวัดสี (Color meter “Hunterlab” รุ่น Color Quest XE)

1. เปิดโปรแกรม Universal Software

2. การสร้าง Database

2.1 เข้าเมนู File เลือก New Data Base

2.2 เข้า path c : \ universe ที่ช่อง Directions

2.3 ตั้งชื่อที่ต้องการในช่อง New Data Base Name แล้วคลิกปุ่ม OK เมื่อหน้าจอปรากฏหน้าต่าง Finished ให้กดปิดหน้าต่าง

3. Standardization

3.1 กดปุ่ม Standardization หรือไปที่เมนู Sensor แล้วเลือก Standardization

3.2 ตั้ง Mode, Area View และ Port Size ที่ต้องการ แล้วคลิกปุ่ม OK

3.3 ใส່ Light trap เสร็จแล้วคลิก OK

3.4 ใส່ White Standard เสร็จแล้วคลิก OK

4. การวัดสีตัวอย่าง

ให้หัววัดทาบให้สนิทกับตัวอย่าง กดปุ่ม แสดงค่าออกมาเป็นค่า L*

5. วิเคราะห์ผลที่ได้

ภาคผนวก ญ

การใช้งานเครื่องวัดความแน่นเนื้อ (ศราวุฒิ, 2552)

การใช้งานเครื่องวัดความแน่นเนื้อ (Texture analyser รุ่น TA-Xii / 50)

1. เปิดเครื่อง Computer
2. เปิดเครื่อง Texture Analyzer
3. เข้าโปรแกรม Texture Exponent 32
4. เปิด Graph Texture โดยเลือก File Menu คลิก New และคลิก Graph
5. Calibrate Force ตั้งค่า Capacity ว่าถูกต้องหรือไม่ คลิก Next พิมพ์น้ำหนักลูกตุ้มที่ใช้ วางคัม น้ำหนัก คลิก Next และคลิก Finish
6. Calibrate Height ควรตั้ง Return Distance สูงกว่าความสูงของตัวอย่าง
7. T.A. Setting เลือก Library เพื่อกำหนดรูปแบบการวัด และตั้งค่า Value เพื่อกำหนดการเคลื่อนที่ของ Probe
8. T.A. Run a Test
เขียนรายละเอียด และเลือก Drive ที่ต้องการบันทึกข้อมูล เพื่อให้สามารถเรียกใช้ได้
เลือกชนิด Probe ให้ตรงกับ Probe ที่ใช้เสมอ
เลือก Parameter ที่ต้องการวัดขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ที่ต้องการวัด
เลือก Data acquisition เพื่อกำหนดอัตราการเก็บข้อมูล
9. การ Run Macro กด Run Macro
10. วิเคราะห์ผลที่ได้

ภาคผนวก ก

วัสดุที่ได้รับความเสียหาย

ตาราง 7.1 จำนวนวัสดุที่ได้รับความเสียหายที่เกิดขึ้นในแต่ละขั้นตอนการผลิตเห็ด

เดือน	จำนวนวัสดุที่ได้รับความเสียหาย				จำนวนสูญเสีย
	หัวเชื้อวัน	หัวเชื้อข้าวฟ่าง	หัวเชื้อขี้เลื่อย	ก้อนเชื้อ	
กุมภาพันธ์	78(160)	32(720)	26(480)	1,913(3,200)	2,049(4,560)
มีนาคม	32(160)	100(720)	28(480)	1,284(3,200)	1,444(4,560)
เมษายน	34(160)	153(720)	31(480)	656(3,200)	874(4,560)
พฤษภาคม	31(160)	32(720)	71(480)	752(3,200)	886(4,560)
มิถุนายน	34(160)	126(720)	54(480)	791(3,200)	1,005(4,560)
กรกฎาคม	40(140)	46(630)	25(480)	951(3,200)	1,062(4,450)
สิงหาคม	36(140)	59(630)	27(420)	597(2,800)	719(3,990)
กันยายน	36(140)	53(630)	82(420)	367(2,800)	538(3,990)
ตุลาคม	34(140)	128(630)	136(420)	344(2,800)	642(3,990)
ค่าเฉลี่ย/เดือน	39 ขวด	81 ขวด	53 ขวด	850 ก้อน	9,219(39,220)

ตาราง 7.2 ร้อยละของวัสดุที่ได้รับความเสียหายที่เกิดขึ้นในแต่ละขั้นตอนการผลิตเห็ด

เดือน	หัวเชื้อวัน	หัวเชื้อข้าวฟ่าง	หัวเชื้อขี้เลื่อย	ก้อนเชื้อ
กุมภาพันธ์	49	4	5	59
มีนาคม	20	14	9	40
เมษายน	21	21	6	21
พฤษภาคม	19	4	15	24
มิถุนายน	21	18	11	25
กรกฎาคม	29	7	5	30
สิงหาคม	26	9	6	21
กันยายน	26	8	20	13
ตุลาคม	24	20	32	12

ภาคผนวก ฎ

การจัดจำแนกชนิดและปริมาณของเชื้อปนเปื้อน

ตาราง 7.3 ผลการจัดจำแนกชนิดและปริมาณของเชื้อปนเปื้อนในหัวเชื้อวุ้น

ชนิดของเชื้อ	หมายเลข ISOLATE	จำนวน isolate
<i>Aspergillus fumigatus</i>	AG2, AG4, AG7, AG24, AG28	5
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	AG5, AG23	2
<i>Aspergillus</i> sp.	AG19	1
<i>Botryodiplodia</i> sp.	AG13	1
<i>Penicillium citrinum</i>	AG1, AG27, AG8, AG12, AG15, AG16, AG18, AG20, AG22,	9
<i>Penicillium</i> sp.	AG6, AG9, AG14, AG17	4
<i>Monilia</i> sp.	AG3	1
<i>Rhizopus stolonifer</i>	AG10, AG11, AG21, AG25	4
<i>Trichoderma atroviride</i>	AG29	1
<i>Thichoderma viride</i>	AG26, AG30	2

* หมายเลข : AG = หัวเชื้อวุ้น

ตาราง 7.4 ผลการจัดจำแนกชนิดและปริมาณของเชื้อปนเปื้อนในหัวเชื้อข้าวฟ่าง

ชนิดของเชื้อ	หมายเลข ISOLATE	จำนวน isolate
<i>Aspergillus fumigatus</i>	SB4, SB10, SB28	3
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	SB30	1
<i>Aspergillus</i> sp.	SB27	1
<i>Botryodiplodia</i> sp.	SB29	1
<i>Penicillium citrinum</i>	SB5, SB11, SB16, SB17, SB21, SB23	6
<i>Penicillium</i> sp.	SB1, SB2, SB6, SB7, SB9, SB13, SB14, SB15, SB19, SB20, SB24, SB25, SB26	13
<i>Monilia</i> sp.	SB3, SB12	2
<i>Rhizopus stolonifer</i>	SB8,	1
<i>Trichoderma atroviride</i>	SB18	1
<i>Thichoderma viride</i>	SB22	1

*หมายเหตุ : SB = หัวเชื้อข้าวฟ่าง

ตาราง 7.5 ผลการจัดจำแนกชนิดและปริมาณของเชื้อปนเปื้อนในหัวเชื้อกล้วย

ชนิดของเชื้อ	หมายเลข ISOLATE	จำนวน isolate
<i>Aspergillus fumigatus</i>	SD1, SD9, SD20	3
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	SD2	1
<i>Aspergillus</i> sp.	SD3	1
<i>Botryodiplodia</i> sp.	SD4	1
<i>Penicillium citrinum</i>	SD7, SD14, SD16, SD11	4
<i>Penicillium</i> sp.	SD5, SD10, SD15, SD17, SD19, SD21, SD22, SD23, SD24,SD25, SD26, SD27, SD28, SD29	14
<i>Monilia</i> sp.	SD8, SD12	2
<i>Rhizopus stolonifer</i>	SD6, SD13	2
<i>Trichoderma atroviride</i>	SD18	1
<i>Thichoderma viride</i>	SD30	1

*หมายเหตุ : SD = หัวเชื้อกล้วย

ตาราง 7.6 ผลการจัดจำแนกชนิดและปริมาณของเชื้อปนเปื้อนในก้อนเชื้อ

ชนิดของเชื้อ	หมายเลข ISOLATE	จำนวน isolate
<i>Aspergillus fumigatus</i>	CP16, CP17, CP18, CP27, CP29, CP31, CP42, CP43, CP44, CP48, CP49	11
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	CP39, CP46	2
<i>Aspergillus</i> sp.	CP50, CP60	2
<i>Botryodiplodia</i> sp.	CP38, CP45	2
<i>Penicillium citrinum</i>	CP2, CP3, CP6, CP11, CP13, CP19, CP20, CP23, CP24, CP26, CP35, CP36, CP37, CP53 , CP55, CP58	16
<i>Penicillium</i> sp.	CP1, CP4, CP5, CP7, CP8, CP9, CP10, CP12, CP14, CP15, CP51, CP52, CP54, CP56, CP57	15
<i>Monilia</i> sp.	CP59	1
<i>Rhizopus stolonifer</i>	CP21, CP22, CP25, CP28, CP47	5
<i>Trichoderma atroviride</i>	CP30, CP34, CP40, CP41	4
<i>Thichoderma viride</i>	CP32, CP33	2

*หมายเหตุ : CP = ก้อนเชื้อ

ภาคผนวก ฐ

ค่าความแน่นเนื้อและความสว่างของดอกเห็ดนางรมคอย

ตาราง 7.7 ค่าความแน่นเนื้อและความสว่างของดอกเห็ดนางรมคอยที่อายุการเก็บรักษาและอุณหภูมิต่างๆ โดยเฉลี่ยทั้ง 3 ขนาด จากก้อนเชื้อที่ถูกทำให้ปนเปื้อนด้วยเชื้อ *Aspergillus fumigatus* isolate AG2 หลังการฉีดพ่นด้วย CaCl_2 2.5% ระยะ 2 วันก่อนการเก็บเกี่ยว เทียบกับชุดควบคุม

อุณหภูมิ (°C)	อายุการเก็บ รักษา (วัน)	Tr1*		Tr2**		Tr3***		Tr4****	
		F ⁺	L ⁺⁺	F ⁺	L ⁺⁺	F ⁺	L ⁺⁺	F ⁺	L ⁺⁺
4	4	38	79	21	75	33	77	24	77
	8	37	77	15	72	22	77	21	74
	12	35	75	13	72	18	76	14	71
10	4	35	78	13	74	29	74	23	74
	8	33	76	11	72	20	72	20	73
	12	32	76	7	71	16	72	14	71
15	4	20	78	13	75	27	73	21	75
	8	17	75	10	73	23	72	21	74
	12	14	69	6	72	19	70	13	73

* ค่าเฉลี่ยผลผลิตจากก้อนเชื้อที่ถูกทำให้ปนเปื้อนด้วย *Aspergillus fumigatus* ในระยะเส้นใยหลังการฉีดพ่นด้วย CaCl_2 จำนวน 6 ชั่วโมง

** ค่าเฉลี่ยผลผลิตจากก้อนเชื้อที่ถูกทำให้ปนเปื้อนด้วย *Aspergillus fumigatus* ในระยะเส้นใยจำนวน 6 ชั่วโมง

*** ค่าเฉลี่ยผลผลิตจากก้อนเชื้อหลังการฉีดพ่นด้วย CaCl_2 ความเข้มข้น 1.0 % จำนวน 6 ชั่วโมง

**** ค่าเฉลี่ยผลผลิตจากก้อนเชื้อปกติ จำนวน 6 ชั่วโมง

+ ความแน่นเนื้อ (Percentage)

++ ความสว่าง (Newton)

ตาราง 7.8 ค่าความแน่นเนื้อและความสว่างของดอกเห็ดนางรมคอกที่อายุการเก็บรักษาและอุณหภูมิต่างๆ โดยเฉลี่ยทั้ง 3 ขนาด จากก้อนเชื้อที่ถูกทำให้ปนเปื้อนด้วยเชื้อ *Aspergillus fumigatus* isolate AG2 หลังการฉีดพ่นด้วย CaCl_2 2.5% ระยะ 3 วันก่อนการเก็บเกี่ยว เทียบกับชุดควบคุม

อุณหภูมิ (°C)	อายุการเก็บ รักษา (วัน)	Tr1*		Tr2**		Tr3***		Tr4****	
		F ⁺	L ⁺⁺	F ⁺	L ⁺⁺	F ⁺	L ⁺⁺	F ⁺	L ⁺⁺
4	4	29	81	21	75	33	77	24	77
	8	28	80	15	72	22	77	21	74
	12	26	78	13	72	18	76	14	71
10	4	27	76	13	74	29	74	23	74
	8	24	74	11	72	20	72	20	73
	12	22	72	7	71	16	72	14	71
15	4	20	76	13	75	27	73	21	75
	8	18	74	10	73	23	72	21	74
	12	14	71	6	72	19	70	13	73

* ค่าเฉลี่ยผลผลิตจากก้อนเชื้อที่ถูกทำให้ปนเปื้อนด้วย *Aspergillus fumigatus* ในระยะเส้นใยหลังการฉีดพ่นด้วย CaCl_2 จำนวน 6 ชั่วโมง

** ค่าเฉลี่ยผลผลิตจากก้อนเชื้อที่ถูกทำให้ปนเปื้อนด้วย *Aspergillus fumigatus* ในระยะเส้นใยจำนวน 6 ชั่วโมง

*** ค่าเฉลี่ยผลผลิตจากก้อนเชื้อหลังการฉีดพ่นด้วย CaCl_2 ความเข้มข้น 1.0 % จำนวน 6 ชั่วโมง

**** ค่าเฉลี่ยผลผลิตจากก้อนเชื้อปกติ จำนวน 6 ชั่วโมง

+ ความแน่นเนื้อ (Percentage)

++ ความสว่าง (Newton)

ประวัติผู้เขียน

- ชื่อ-สกุล** นาย ศราวุฒิ ปิงเขียว
- วัน เดือน ปี เกิด** 2 มิถุนายน 2527
- ประวัติการศึกษา**
- สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนมงคลวิทยา จังหวัดลำพูน ปีการศึกษา 2541
 - สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนบ้านแป้นพิทยาคม จังหวัดลำพูน ปีการศึกษา 2544
 - สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2548
- ประสบการณ์**
- สหกรณ์โคนมลำพูน จังหวัดลำพูน ปี พ.ศ. 2547-2548
ตำแหน่ง ผู้ช่วยพนักงานรับน้ำนมดิบ
 - สหกรณ์โคนมศรีบุญชัย จังหวัดลำพูน ปี พ.ศ. 2548-2549
ตำแหน่ง พนักงานรับน้ำนมดิบ
 - กองทัพอากาศ สังกัดกองพันทหารอากาศโยธินกองบิน 41
กองพลบินที่ 3 กองบัญชาการยุทธทางอากาศ ปี 2549
ตำแหน่ง ทหารกองประจำการ
 - ศูนย์วิจัยเห็ดเขตหนาว มูลนิธิโครงการหลวง จังหวัดเชียงใหม่
ปี 2549-2550
ตำแหน่ง หัวหน้าศูนย์วิจัยเห็ดเขตหนาว
 - ศูนย์อำนวยการโครงการพระราชดำริอำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่
ปี 2550-2551
ตำแหน่ง ผู้ประสานงานโครงการเห็ด

ประสบการณ์ (ต่อ)

- สถานพัฒนาที่ดินเชียงใหม่ กรมพัฒนาที่ดิน ปี 2552

ตำแหน่ง เจ้าพนักงานการเกษตร

- ฝ่ายเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
แห่งประเทศไทย (วว.) กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปี 2552

- 2554

ตำแหน่ง ผู้ช่วยนักวิจัย

- ศูนย์ฝึกและอบรมเด็กและเยาวชนเขต 6 จังหวัดนครสวรรค์

กรมพินิจและคุ้มครองเด็กและเยาวชน กระทรวงยุติธรรม ปี 2554 –

2555

ตำแหน่ง นักวิชาการอบรมและฝึกวิชาชีพ

ผลงานวิจัย

- เสนอผลงานภาคบรรยาย

เรื่อง ปัจจัยที่มีผลต่อความแน่นเนื้อและความสว่างของเห็ดนางรมดอย
ในการสัมมนาทางวิชาการ วิทยาการหลังการหลังการเก็บเกี่ยวแห่งชาติ

ครั้งที่ 7

- เสนอผลงานภาคโปสเตอร์

เรื่อง ผลของแคลเซียมคลอไรด์ต่อคุณภาพบางประการของดอกเห็ดนางรม
ดอย

ในก้อนเชื้อที่ถูกทำให้ปนเปื้อนจาก *Aspergillus fumigatus*

ในการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ครั้งที่ 2