ประสิทธิภาพของสารสกัดกาบมะพร้าวและกรดฟูมาริกต่อโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนใบโหระพา

The Efficiency of Coconut Coir Extract and Fumaric Acid Against Coliforms on Sweet Basil Leaves

บุษกร ทองใบ[1] พิชาภรณ์ แผ้วพลสง[1] และ สาวิตรี ทวีพร[1]

Bussagon Thongbai[1], Pichaporn Phaewphonsong[1] and Sawitree Taweeporn[1]

Abstract

The efficiency of coconut coir extract and fumaric acid against coliforms on sweet basil leaves stored at 7°C for 5 days was studied. The background coliforms flora of unwashed sweet basil leaves was 4.54 log CFU/g. Fresh basil leaves were washed with steriled distilled water (control, W1), 5 mg/ml coconut coir extract (W2), 0.5% (w/v) fumaric acid (W3) and combination of 5 mg/ml coconut coir extract and 0.5% (w/v) fumaric acid (W4) for 15 min. The results showed that coliforms count of sweet basil leaves were reduced to 3.45 log CFU/g (W1) and not detectable (W2, W3, W4), respectively, ($p<0.05$). The results revealed that W2, W3 and W4 were effective in reducing coliforms of sweet basil leaves by 4.54 log reduction. In addition, coliforms populations of the treated leaves during storage (7°C, 5 days) were found as follow; 3.45 – 3.25 log CFU/g (W1), not detectable - 3.78 log CFU/g (W2), not detectable - 3.00 log CFU/g (W3) and not detectable (W4). Thus, the combination of coconut coir extract with fumaric acid was an appropriate treatment to control coliforms population of sweet basil leaves. The treated leaves showed good appearance (green leaves without decay) after subsequent 5 days of storage. The antimicrobial effect of coconut coir extract with fumaric acid has a potential as natural sanitizers for suppressing the microbial activity and enhancing safety of fresh vegetables.

Keywords: coconut coir extracts, fumaric acid, sweet basil leaves

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากกาบมะพร้าวและกรดฟูมาริกต่อการยับยั้งโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนในใบโหระพา ระหว่างการเก็บรักษาที่ 7°ซ เป็นเวลา 5 วัน โดยใบโหระพาที่นำมาทดสอบมีปริมาณโคลิฟอร์มปนเปื้อนเริ่มต้น 4.54 log CFU/g เมื่อนำใบโหระพามาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นชุดควบคุม (W1) สารสกัดกาบมะพร้าว 5 mg/ml (W2) กรดฟูมาริก 0.5% (w/v) (W3) และสารสกัดกาบมะพร้าว 5 mg/ml ร่วมกับกรดฟูมาริก 0.5% (w/v) (W4) เป็นเวลา 15 นาที พบว่าปริมาณโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนใบโหระพาลดลงเป็น 3.45 log CFU/g (W1) และตรวจไม่พบ (W2, W3, W4) ตามลำดับ ($p<0.05$) จากผลการทดลองนี้พบว่าสารสกัดจากกาบมะพร้าว กรดฟูมาริก และสารสกัดจากกาบมะพร้าวร่วมกับกรดฟูมาริกสามารถลดปริมาณโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนใบโหระพาได้ 4.54 log reduction นอกจากนี้เมื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มของใบโหระพาในระหว่างการเก็บรักษาที่ 7°ซ เป็นเวลา 5 วัน พบปริมาณโคลิฟอร์มอยู่ในช่วง 3.45 – 3.25 log CFU/g (W1), ตรวจไม่พบ – 3.78 log CFU/g (W2), ตรวจไม่พบ – 3.00 log CFU/g (W3) และตรวจไม่พบ (W4) ดังนั้นสารสกัดจากกาบมะพร้าวร่วมกับกรดฟูมาริกจึงเหมาะสมในการควบคุมปริมาณโคลิฟอร์มในใบโหระพาโดยใบโหระพายังคงมีลักษณะใบที่สมบูรณ์ สีเขียวสด และไม่มีใบที่เน่าเสียเมื่อเก็บรักษาครบ 5 วัน ซึ่งจากประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากกาบมะพร้าวร่วมกับกรดฟูมาริกนี้จึงมีศักยภาพใช้เป็นสารธรรมชาติที่มีฤทธิ์ฆ่าจุลินทรีย์สำหรับล้างผักสดเพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภคได้

คำสำคัญ: สารสกัดจากกาบมะพร้าว, กรดฟูมาริก, ใบโหระพา

คำนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสำคัญต่อสุขภาพตนเองมากขึ้นจึงหันมาบริโภคผักเพิ่มมากขึ้น เพราะผักมีวิตามินและเกลือแร่ต่างๆ ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายและเป็นแหล่งของใยอาหารที่สำคัญช่วยป้องกันการเป็นโรคท้องผูกและลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ นอกจากนี้ยังมีการรณรงค์ให้คนไทยเพิ่มการบริโภคผักในอาหารทุกมื้อ แต่การบริโภคผักสดอาจพบปัญหาจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ต่างๆ ที่อาจจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคโดยตรง โดยมีรายงานการเกิดโรค

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาสารคาม 44150

[1] Department of Food Technology and Nutrition, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Mahasarakham 44150

อาหารเป็นพิษจากการบริโภคผักสดและมีการแจ้งเตือนจากประเทศผู้นำเข้าว่าได้ตรวจพบจุลินทรีย์ปนเปื้อนในสินค้าพืชผักและผลไม้ส่งออกของประเทศไทย สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้รายงานผลการสุ่มตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ปนเปื้อนกลุ่มที่ใช้บ่งชี้สุขลักษณะการผลิตและกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคในผักสดที่จำหน่ายในตลาดสด และซูเปอร์มาร์เก็ตในเขตกรุงเทพมหานครและนนทบุรีจำนวน 97 ตัวอย่างในช่วงเดือนกรกฎาคม-กันยายน พ.ศ. 2551 พบว่าจุลินทรีย์ที่ใช้บ่งชี้สุขลักษณะการผลิตชนิด coliforms มีปริมาณ MPN ต่อกรัมมากกว่า 1,100 และชนิด *Escherichia coli* มีปริมาณ MPN ต่อกรัมเท่ากับหรือมากกว่า 10 จำนวน 88 ตัวอย่าง (90.7%) และ 44 ตัวอย่าง (45.4%) ตามลำดับ และพบจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อให้เกิดโรค *Salmonella* spp. จำนวน 16 ตัวอย่าง (16.5%) *Vibrio cholerae* non O1/non O139 จำนวน 14 ตัวอย่าง (14.4%) *Listeria monocytogenes* จำนวน 2 ตัวอย่าง (2.1%) และ *Listeria* spp. จำนวน 47 ตัวอย่าง (48.4%) โดยตรวจไม่พบ *Shigella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Vibrio parahaemolyticus* ในผักสดทุกตัวอย่าง (ปรีชา และคณะ, 2553) ดังนั้น ก่อนการบริโภคผักสดจึงควรล้างผักสดให้สะอาดด้วยน้ำสะอาดและน้ำยาล้างผักที่มีส่วนประกอบของสารฆ่าเชื้อที่เป็นสารธรรมชาติเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผักสดและลดการตกค้างของสารเคมีที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ซึ่งทำให้ผู้บริโภคมีความมั่นใจว่าได้รับประทานผักสดที่สะอาดและปลอดภัยต่อสุขภาพอีกด้วย กาบมะพร้าวเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีปริมาณแทนนินสูง สามารถนำมาใช้สกัดสารแทนนิน ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ได้ โดยมีรายงานของ Chakraborty and Mitra (2008) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดเมธานอลจากใยมะพร้าว พบว่าสารสกัดจากใยมะพร้าวมีฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 441, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 7925 ได้ การนำกาบมะพร้าวมาใช้ประโยชน์จึงเป็นการเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและช่วยลดปริมาณขยะได้ ซึ่งสามารถช่วยลดสภาวะโลกร้อน (global warming) ได้อีกด้วย ส่วนกรดฟูมาริกจัดเป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) ประเภทกรดอินทรีย์ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้และยังมีความปลอดภัยถ้าเหลือตกค้างในอาหาร ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากกาบมะพร้าวและกรดฟูมาริกต่อโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนในใบโหระพาเพื่อเพิ่มความปลอดภัยอาหารให้ผู้บริโภค

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมโหระพา

ใบโหระพาสดซื้อจากตลาดสดในจังหวัดมหาสารคาม โดยคัดเลือกโหระพาที่เก็บมาใหม่มีความสดและตัดแต่งให้มีความยาวจากยอดถึงลำต้น 15-18 เซนติเมตร สุ่มเก็บตัวอย่างโหระพาก่อนการทดสอบมาตรวจหาปริมาณโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนเริ่มต้น (background coliforms) ด้วยวิธี spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Violet Red Bile Agar (VRBA) บ่มที่อุณหภูมิ 35 – 37 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รายงานปริมาณโคลิฟอร์มเป็น log CFU/g

การเตรียมสารสกัดกาบมะพร้าว

การเตรียมสารสกัดจากกาบมะพร้าวดัดแปลงจากวิธีของ Israel *et al*. (2011) และภัทราวดี และ บุษกร (2553) นำกาบมะพร้าวพันธุ์กะทิจากจังหวัดบุรีรัมย์ หั่นเป็นชิ้นเล็ก (1.5 x 1.5 เซนติเมตร) อบที่ 50°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมงในตู้อบลมร้อน และนำมาบดเป็นผง สกัดสารสกัดจากกาบมะพร้าวด้วยเอทานอล 95% (v/v) โดยใช้อัตราส่วนของเป็นกาบมะพร้าวผง 12.5 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ต่อเอทานอล 95% (v/v) 500 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง (เขย่า 150 rpm) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง กรองและนำส่วนใสที่ได้ไประเหยเอาเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (vacuum rotary evaporator) ที่ 50°ซ และละลายกลับด้วยเอทานอล 95%(v/v) จะได้สารสกัดหยาบกาบมะพร้าว และทำให้ปลอดเชื้อด้วยการกรองผ่านเยื่อกรอง (∅ 0.22 µm) ได้สารสกัดกาบมะพร้าวปลอดเชื้อ โดยเก็บรักษาที่ -18 °ซ เพื่อใช้ในการทดสอบขั้นต่อไป

ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดกาบมะพร้าวและกรดฟูมาริกต่อโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนใบโหระพา

นำโหระพาที่เตรียมไว้มาแบ่งเป็น 4 ชุด โดยนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ชุดควบคุม) (W1) สารสกัดกาบมะพร้าว (5 mg/ml) (W2) กรดฟูมาริก (0.5 %w/v) (W3) และสารสกัดกาบมะพร้าวร่วมกับกรดฟูมาริก (อัตราส่วน 1:1) (W4) เป็นเวลา 15 นาที (Kim *et al*., 2009) หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 10 วินาที เพื่อล้างสารทดสอบที่เหลือออกไป วางให้โหระพาสะเด็ดน้ำบนตะแกรงปลอดเชื้อภายในตู้ปลอดเชื้อ (biosafety cabinet) ประมาณ 20-30 นาที บรรจุโหระพาในถุงพอลิเอทิลีน (7 x 11 นิ้ว) ที่เจาะรู (4 รู) โดยบรรจุ 13–15 กรัมต่อถุงเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7°ซ เป็นเวลา 5 วัน สุ่มตัวอย่างโหระพาที่เก็บรักษาในวันที่ 0, 1, 3 และ 5 มาตรวจวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มในโหระพาด้วยวิธี spread plate บนอาหารเลี้ยง

เชื้อ VRBA และบ่มที่อุณหภูมิ 35–37°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รายงานปริมาณโคลิฟอร์มเป็น log CFU/g โดยมีการประเมินคุณภาพทางกายภาพของโหระพาด้วยสายตา และวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS วิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลและวิจารณ์

ผลของการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากกาบมะพร้าวและกรดฟูมาริกต่อโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนใบโหระพาที่เก็บรักษาที่ 7°ซ เป็นเวลา 5 วัน (Table 1) พบว่าใบโหระพาที่นำมาทดสอบมีปริมาณโคลิฟอร์มปนเปื้อนเริ่มต้น (background coliforms) 4.54 log CFU/g และเมื่อนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ชุดควบคุม) (W1) เป็นเวลา 15 นาที พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ปนเปื้อนโหระพาลดลงเป็น 3.45 log CFU/g ในขณะที่การล้างโหระพาด้วยสารสกัดจากกาบมะพร้าว 5 mg/ml (W2) กรดฟูมาริก (0.5%w/v) (W3) และสารสกัดจากกาบมะพร้าวร่วมกับกรดฟูมาริก (W4) ตรวจไม่พบโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนโหระพา (p<0.05) (Table 1) ซึ่งจากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า W2, W3, และ W4 สามารถลดปริมาณโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนในโหระพาได้ 3.45 log CFU/g เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (W1) และสามารถลดปริมาณโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนโหระพาได้เท่ากับ 4.54 log CFU/g เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณโคลิฟอร์มเริ่มต้นที่ปนเปื้อนในใบโหระพา ซึ่งจะเห็นได้ว่า W2, W3 และ W4 เป็นสารทดสอบที่มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนได้ดี (p>0.05) นอกจากนี้ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มในใบโหระพาที่ทดสอบในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7°ซ ระหว่างวันที่ 0 - 5 ของการเก็บรักษาอยู่ในช่วง 3.45 – 3.25 log CFU/g (W1), ตรวจไม่พบ – 3.78 log CFU/g (W2), ตรวจไม่พบ – 3.00 log CFU/g (W3) และตรวจไม่พบ (W4) โดยในวันที่ 5 ของการเก็บรักษาโหระพาที่ล้างด้วย W4 ยังคงตรวจไม่พบโคลิฟอร์มเลย ในขณะที่ W1, W2 และ W3 ตรวจพบโคลิฟอร์มมากกว่าหรือเท่ากับ 3 log CFU/g จากผลการทดลองใน Table 1 แสดงให้เห็นว่ามีการลดลงของโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนโหระพา ซึ่งอาจเป็นผลจากฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากกาบมะพร้าวที่มีสารประกอบพอลิฟีนอลและแทนนินเป็นองค์ประกอบหลัก (Viju *et al*., 2013) โดยความเป็นพิษของแทนนินจะมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้โครงสร้างของเซลล์เสียสภาพและเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย (Gracia-Ruiz *et al*., 2012) ในขณะที่กรดฟูมาริกซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ได้โดยการแตกตัวไม่หมดของกรดฟูมาริกนี้ส่งผลให้กรดที่ไม่แตกตัวสามารถซึมผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์และเกิดการแตกตัวของประจุบวก (H^+) ส่งผลให้เกิดภาวะเป็นกรดขึ้นภายในเซลล์ได้ เนื่องจากจุลินทรีย์ไม่สามารถทนสภาวะที่เป็นกรดได้จึงให้เซลล์เกิดการบาดเจ็บและตายในที่สุด (Karapinar and Gonul, 1992)

Table 1 Population of coliforms on treated sweet basil leaves during storage at 7°C for 5 days

Treatments	Populations (log CFU/g)			
	Storage time (days)			
	0	1	3	5
W1	3.45±0.02^{AB}	3.62±0.12^{aA}	3.77±0.18^{aA}	3.25±0.10^{bB}
W2	ND	3.02±0.23^{bB}	3.38±0.08^{aAB}	3.78±0.11^{aA}
W3^{ns}	ND	2.83±0.18^{b}	2.89±0.16^{b}	3.00±0.06^{b}
W4	ND	ND	ND	ND

Background coliforms = 4.54±0.06 log CFU/g

$^{a-b}$ means in the column followed by different letters are significantly different (p< 0.05)

$^{A-B}$means in the row followed by different letters are significantly different (p< 0.05)

^{ns} not significantly different (p>0.05)

W1 = Sterile distilled water (Control),

W2 = Coconut coir extract (5 mg/ml),

W3 = Fumaric acid (0.5% w/v),

W4 = Coconut coir extract (5 mg/ml) with fumaric acid (0.5% w/v)

ND = Not detectable

จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้สารสกัดจากกาบมะพร้าวร่วมกับกรดฟูมาริกมีการทำงานแบบเสริมฤทธิ์กัน (synergistic effect) ของทั้ง 2 สารนี้ในการทำลายจุลินทรีย์ ส่งผลให้พบว่า W4 มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนในใบโหระพาได้สูงที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าใบโหระพาที่ผ่านการล้างด้วย W1, W2, W3 และ W4 เมื่อเก็บรักษาครบ 5 วันมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพเพียงเล็กน้อย โดยใบโหระพายังคงมีใบสีเขียวและมีลักษณะทั่วไปอยู่ในเกณฑ์ดี

สรุป

สารสกัดจากกาบมะพร้าวและกรดฟูมาริกมีประสิทธิภาพในลดปริมาณโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนในใบโหระพาได้ โดยสารผสมของสกัดจากกาบมะพร้าว (5 mg/ml) ร่วมกับกรดฟูมาริก (0.5% w/v) มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการลดปริมาณโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนในใบโหระพาโดยไม่เกิดผลกระทบ (adverse effects) ต่อใบโหระพา จึงน่าสนใจที่จะนำสารนี้มาใช้เป็นสารฆ่าเชื้อธรรมชาติ (natural sanitizer) ในส่วนผสมของน้ำยาล้างผักสดเพื่อเพิ่มความปลอดภัยด้านจุลชีววิทยาของผักสดได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนาศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่สนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆและสถานที่ในการทำวิจัย และโครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากเงินทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2557 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

เอกสารอ้างอิง

ปรีชา จึงสมานุกูล, นวรัตน์ รัตนดิลก ณ ภูเก็ต และกมลวรรณ กันแต่ง. 2553. การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผักสด. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 52 (1-2): 30-39.

ภัทราวดี ศรีปัญญา และบุษกร ทองใบ. 2553. ผลของสารสกัดข่าร่วมกับกรดแอซีซิติกต่อคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผักชี. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 41(1 พิเศษ): 576 – 580.

Chakraborty, M. and A. Mitra. 2008. The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from *Cocos nucifera* mesocarp. Food Chemistry 107(3): 994-999.

Gracia-Ruiz, A., C. Cueva, E.M. Gonza'lez-Rompinelli, M. Yuste, M. Torres, P.J. Marti'n Álvarez, B. Bartolomé and M.V. Moreno-Arribas. 2012. Antimicrobial phenolic extracts able to inhibit lactic acid bacteria growth and wine malolactic fermentation. Food Control 28: 212-219.

Israel, A.U., R.E. Ogali, O. Akaranta and I.B. Obot. 2011. Extraction and characterization of coconut (*Cocos nucifera* L.) coir dust. Songklanakarin Journal of Science and Technology 33 (6): 717 - 724.

Karapinar, M. and S.A. Gonul. 1992. Removal of *Yersinia enterocolitica* from fresh parsley by washing with acetic acid or vinegar. International Journal Food Microbiology 16: 261 - 264.

Kim Y.J., M.H. Kim and K.B. Song. 2009. Efficacy of aqueous chlorine dioxide and fumaric acid for inactivating pre-existing microorganisms and *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* on broccoli sprouts. Food Control 20: 1002 - 1005.

Viju, N., S. Satheesh and S.G.P. Vincent. 2013. Antibiofilm activity of coconut (*Cocos nucifera* Linn.) husk fibre extract. Saudi Journal of Biological Sciences 20: 85–91.