Agricultural Sci. J. 47 : 3 (Suppl.) : 51-54 (2016) ว. วิทย. กษ. 47 : 3 (พิเศษ) : 51-54 (2559)

การใช้สารละลายคลอรีนไดออกไซด์ร่วมกับฟองอากาศละเอียดของคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นของต้นอ่อนทานตะวันพร้อมบริโภค

Application of Chlorine Dioxide Solution with CO_2 Fine Bubbles to Reduce Initial Microbial Load of Ready-to-eat Sunflower Sprout

ธรรมนูญ พลสิทธิ์[1] ชาลินี สังค์ขจร[1] นิภาดา ราญมีชัย[1] ทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย[1,2] และ เฉลิมชัย วงษ์อารี[1,2]

Thummanoon Ponsit[1], Chalinee Sungkajorn[1], Nipada Ranmeechai[1], Songsin Photchanachai[1] and Chalermchai Wongs-Aree [1,2]

Abstract

Nowadays, fresh green sprouts of sunflower are in demand, which microorganisms contaminated during the production processes is a crucial factor to be concerned. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of using chlorine dioxide (ClO_2) combined with fine bubbles of carbon dioxide (CO_2) on reducing initial microbial load and maintaining the quality of fresh-cut sunflower sprouts. The experiment was designed using factorial in CRD, with 4 replications per treatment. Sunflower sprouts dipped in 50 ppm ClO_2 for 5 min prior to storage at 10°C significantly reduced in microbial load at the first periods (day 0 to 6), compared with the distilled water-dipped control. Whereas CO_2 fine bubbles in the solution had no effect on the reduction. Nevertheless, ClO_2 applications reduced consumer acceptance scores of the sprouts. This is due probably to the excessing concentration of ClO_2 solution, leading loss of greenness and generation of disorder on the cotyledons during storage. However using CO_2's fine bubbles declined severity of the disorder. As the results, ClO_2 at lower concentrations suspended with fine bubbles of CO_2 could be potentially applied for reducing initial microbial load of fresh produce after harvest.

Keywords: chlorine dioxide, CO_2 fine bubbles, sunflower babygreen

บทคัดย่อ

ปัจจุบันการรับประทานต้นอ่อนทานตะวันตัดสดได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก ทำให้เชื้อโรคที่อาจติดมาในระหว่างกระบวนการผลิตเป็นปัจจัยคุณภาพที่สำคัญ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงศึกษาผลของการใช้สารละลายคลอรีนไดออกไซด์ (ClO_2) ร่วมกับการใช้ฟองอากาศละเอียดของคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เพื่อลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของต้นอ่อนทานตะวันพร้อมบริโภค โดยวางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD จำนวน 4 ซ้ำ ทำการแช่ต้นอ่อนทานตะวันในสารละลาย ClO_2 ความเข้มข้น 50 ppm นาน 5 นาที ก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°ซ สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นได้อย่างมีนัยสำคัญในช่วง 6 วันแรก เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองควบคุม (น้ำกลั่น) โดยฟองอากาศละเอียดของ CO_2 ในสารละลายไม่มีผลต่อการควบคุมเชื้อ อย่างไรก็ตามการใช้ ClO_2 ทำให้ต้นอ่อนทานตะวันมีคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคลดลง ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องจากปริมาณความเข้มข้นของ ClO_2 ที่มากเกินไปจึงส่งผลต่อความเขียวของใบเลี้ยง และอาการผิดปกติ แต่การใช้ฟองอากาศละเอียดของ CO_2 ช่วยลดความรุนแรงของอาการนี้ได้ดี ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะประยุกต์ใช้ ClO_2 ที่มีความเข้มข้นต่ำร่วมกับการใช้ฟองอากาศละเอียดของ CO_2 เพื่อใช้ในการลดเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นของผลผลิตสดหลังการเก็บเกี่ยว

คำสำคัญ: คลอรีนไดออกไซด์, ฟองอากาศละเอียดของคาบอนไดออกไซด์, ต้นอ่อนทานตะวัน

[1] สาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (บางขุนเทียน) 49 ซอยเทียนทะเล 25 ถนนบางขุนเทียนชายทะเล แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร 10150

[1]Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi (Bangkhuntien), 49 Tientalay 25, Thakam, Bangkhuntien, Bangkok 10150, Thailand

[2]ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพมหานคร 10400

[2]Postharvest Technology Innovation Center, Office of the Higher Education Commission, Bangkok 10400, Thailand

คำนำ

ต้นอ่อนทานตะวัน (*Helianthus annuus* L.) จัดเป็นผักสลัดที่นิยมรับประทานเป็นอย่างมาก เพราะอุดมไปด้วยสารพฤษเคมีที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย อย่างเช่น วิตามิน, สารประกอบฟีนอล, เส้นใยอาหาร, และกรดอะมิโนกาบ้า (GABA: Gamma aminobotyric acid) แต่อย่างไรก็ตามการรับประทานต้นอ่อนทานตะวันในรูปแบบที่ไม่ได้ผ่านความร้อนนั้น ทำให้ผู้บริโภคกังวลเรื่องการปนเปื้อนของเชื้อโรคที่ติดมากับผลผลิตซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพ โดยเชื้อที่พบส่วนใหญ่เป็นจำพวก Enterobacteria ที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Salmonella* spp. และ *E. coli* ซึ่งสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วจนถึงประมาณ 6-8 log CFU/g ระหว่างการงอกของเมล็ดพันธุ์ และกระบวนการผลิต (Robertson *et al*., 2002) การทำความสะอาดผลผลิตของผักผลไม้ด้วยน้ำธรรมดาที่ผ่านมานั้นไม่สามารถลดเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงนิยมหันมาใช้สารฆ่าเชื้อของสารประกอบคลอรีนในการล้างผลผลิต มีรายงานว่าการใช้สารประกอบคลอรีน บางชนิดเช่น คลอรีนไดออกไซด์ (ClO_2) สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นลงได้เพียง 0.5–1.5 log CFU/g เมื่อเทียบกับการล้างด้วยน้ำธรรมดา แต่ยังไม่สามารถลดปริมาณเชื้อให้มาอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุขได้ (ไม่เกิน 10^4 CFU/g) ในปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีใหม่โดยการใช้ฟองอากาศละเอียดของคาบอนไดออกไซด์ (CO_2) ที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคจากสารเคมีตกค้างมาประยุกต์ใช้เพื่อช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น และมีรายงานถึงประสิทธิภาพในการลดเชื้อได้เป็นอย่างดี (ณัฐชัยและคณะ, 2555) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงมีความสนใจที่จะใช้สารละลาย ClO_2 ร่วมกับการใช้ฟองอากาศละเอียดของ CO_2 เพื่อศึกษาการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของต้นอ่อนทานตะวันพร้อมบริโภค

อุปกรณ์และวิธีการ

ในการทดลองนี้ใช้ต้นอ่อนทานตะวันอายุ 7 วัน ความยาว 8-10 เซนติเมตร จากการเพาะปลูกของฟาร์มในกรุงเทพมหานคร เมื่อขนส่งมายังห้องปฏิบัติการ ต้นอ่อนทานตะวันถูกนำมาแยกออกจากวัสดุปลูกและทำการคัดเลือกเอาต้นที่สมบรูณ์ปราศจากโรคและแมลงเพื่อที่จะใช้ในการทดลองต่อไป หลังจากนั้นนำต้นอ่อนทานตะวันที่เตรียมไว้มาแช่สารละลายต่างๆ โดยวางแผนการทดลองออกเป็นแบบ 2x2 Factorial in CRD ดังนี้คือ (1) การแช่ในน้ำธรรมดา (DW) (2) การแช่ใน ClO_2 ที่ความเข้มข้น 50 ppm (ClO_2) (3) การแช่ในน้ำเปล่าร่วมกับการใช้ฟองอากาศละเอียดของ CO_2 (DW+ CO_2) และ (4) การแช่ใน ClO_2 ที่ความเข้มข้น 50 ppm ร่วมกับการใช้ฟองอากาศละเอียดของ CO_2 (ClO_2+CO_2) โดยทุกการทดลองแช่นาน 5 นาที จากนั้นนำมาสะเด็ดน้ำด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ก่อนบรรจุในถุงโพลีเอทิลีน (PE) ที่เจาะรูขนาด 0.5 ซ.ม จำนวน 16 รู ปริมาณ 100 กรัมต่อถุง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°ซ ความชื้นสัมพันธ์ 90-95 % เป็นเวลา 9 วัน และสุ่มตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ผลในทุกๆ 3 วัน โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย (Madigan *et al.,* 2003) ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Moran, 1982) ส่วนความเขียวของใบเลี้ยง และการทดสอบทางประสาทสัมผัส ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน (semi-trained panelists) จำนวน 5 คน โดยใช้แบบสอบถาม hedonic score ซึ่งกำหนดคะแนนจาก 1–5 (1= คะแนนต่ำสุด และ 5=คะแนนสูงสุด) จากนั้นนำคะแนนที่ได้จากผู้ทดสอบทั้งหมดมาหาค่าเฉลี่ย และวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test at $P < 0.05$ โดยโปรแกรม SPSS statistical software ver. 17.0

ผล

จากการศึกษาผลของการทดลองพบว่าการแช่ต้นอ่อนทานตะวันในสารละลาย ClO_2 ความเข้มข้น 50 ppm นาน 5 นาที ก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°ซ นั้นมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นได้อย่างมีนัยสำคัญ Figure 1A แสดงให้เห็นว่าต้นอ่อนทานตะวันที่แช่ในสารละลาย ClO_2 มีประสิทธิภาพสามารถลดเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในช่วง 6 วันแรกได้ดีกว่าการแช่ในน้ำกลั่น และน้ำกลั่นร่วมกับการใช้ฟองอากาศละเอียดของ CO_2 อย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผ่านไปในชุดควบคุมมีแนวโน้มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น ในขณะที่การใช้สารละลาย ClO_2 ร่วมกับฟองอากาศละเอียดของ CO_2 นั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในการช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เมื่อเทียบกับการแช่ในสารละลาย ClO_2 เพียงอย่างเดียว

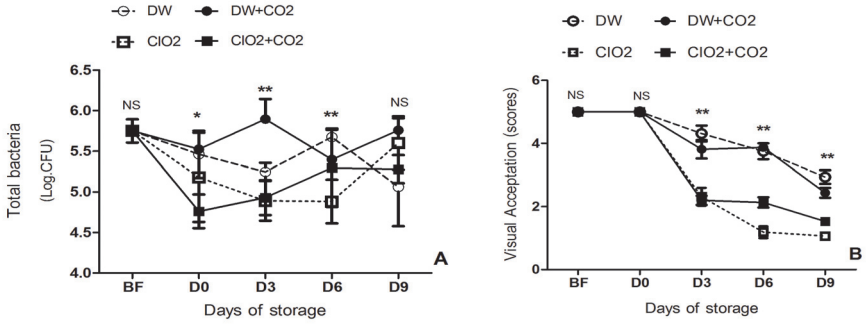

Figure 1 Total bacteria (A) and visual acceptation scores (B) of fresh-cut sunflower sprouts soaked in different treatments then storage at 10 C° for 9 days

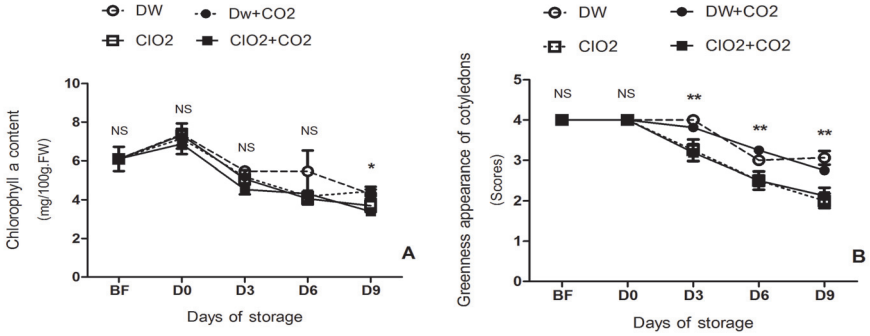

Figure 2 Chlorophyll a content (A) and Greenness appearance of cotyledons scores (B) of fresh-cut sunflower sprouts soaked in different treatments then storage at 10 C° for 9 days

เมื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงคุณภาพพบว่าต้นอ่อนทานตะวันมีคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคลดลง จากรูป Figure 1B แสดงให้เห็นว่าการใช้สารละลาย ClO_2 เพียงอย่างเดียว มีคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคน้อยที่สุด รองลงมาคือการใช้สารละลาย ClO_2 ร่วมกับฟองอากาศละเอียดของ CO_2 ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของต้นอ่อนทานตะวันในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติตลอดช่วงอายุการเก็บรักษา (Figure 2A) ในขณะที่การวิเคราะห์ความเขียวของใบเลี้ยงพบว่าการใช้สารละลาย ClO_2 เพียงอย่างเดียวหรือการใช้ร่วมกับฟองอากาศละเอียดของ CO_2 มีคะแนนความเขียวน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (Figure 2B)

วิจารณ์ผล

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นหลังจากแช่ด้วยสารละลาย ClO_2 ความเข้มข้น 50 ppm นาน 5 นาที สามารถลดเชื้อลงได้ 0.5–1.0 log CFU/g ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kim *et al*. (2009) ว่าการใช้สารละลายข้างต้นในต้นอ่อนของบร็อกโคลี่สามารถลดปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ *E. coli* O157:H7 และ *S. typhimurium* ได้ 1.6 และ 1.5 log CFU/g นอกจากนั้นยังมีรายงานว่าการล้างผัก iceberg lettuce ด้วย ionic ClO_2- ที่ความเข้มข้น 200 ppm นาน 2 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ *E. coli* O157:H7 ได้เพียง 1.13 log CFU/g (Keskinen *et al*., 2009) ซึ่งไม่แตกต่างกับการใช้สารละลาย ClO_2 ที่ความเข้มข้น 50 ppm อย่างไรก็ตาม จากการทดลองการใช้ฟองอากาศละเอียดของ CO_2 ไม่มีผลต่อการลดเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นนี้ ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ ณัฐชัย และคณะ (2555) รายงานว่าการใช้ฟองอากาศละเอียดสามารถลดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนเริ่มต้นในผักกาดหอมตัดแต่งพร้อมบริโภคได้ดี (2.0 log CFU/g) เมื่อเทียบกับน้ำธรรมดา และยังพบว่าสามารถลดเชื้อจุลินทรีย์ได้ดียิ่งขึ้นเมื่อใช้ร่วมกับสารประคลอรีน (NaOCl) ที่ความเข้มข้น 50 ppm นาน 5 นาที

นอกจากนั้น เมื่อศึกษาการเปลี่ยนคุณภาพหลังการเก็บรักษาพบว่าการใช้สารละลาย ClO_2 ที่ความเข้มข้น 50 ppm ทำให้ต้นอ่อนทานตะวันมีคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคลดลง โดยเกิดอาการช้ำและเหลืองของใบเลี้ยง เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งได้ผลคล้ายกับการทดลองของ Gómez-López *et al*. (2008) พบว่าการแช่ผักกาดหั่นฝอยด้วยสารละลาย ClO_2 ที่

ความเข้มข้น 20 ppm นาน 5 นาที มีคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคลดลง อาจเนื่องจากปริมาณความเข้มข้นของ ClO_2 มากเกินไปจึงส่งผลต่อการเสื่อมสลายของคลอโรฟิลล์ เอ ทำให้ใบเลี้ยงเกิดอาการเหลือง สอดคล้องกับคะแนนความเขียวของใบเลี้ยงที่ลดลงในระหว่างการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ดีการใช้สารละลาย ClO_2 ร่วมกับฟองอากาศละเอียดของ CO_2 สามารถช่วยลดอาการช้ำนี้ลงได้ และช่วยให้คะแนนการยอมรับสูงกว่าการใช้สารละลาย ClO_2 เพียงอย่างเดียว ซึ่งอาจเกิดจากฟองอากาศของ CO_2 ไปช่วยไม่ให้สารละลาย ClO_2 เข้าไปสัมผัสกับผิวของต้นอ่อนทานตะวันมากเกินไป

สรุป

การใช้ ClO_2 สามารถลดปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ติดมากับต้นอ่อนทานตะวันได้ ซึ่งการใช้ที่ความเข้มข้น 50 ppm นั้นส่งผลกระทบต่อคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคให้ลดน้อยลง แต่การใช้ฟองอากาศละเอียดของ CO_2 สามารถเข้าไปช่วยลดความรุนแรงของอาการให้ดีขึ้นได้ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะประยุกต์ใช้ ClO_2 ที่มีความเข้มข้นต่ำร่วมกับการใช้ฟองอากาศละเอียดของ CO_2 เพื่อใช้ในการลดเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นของผลผลิตสดหลังการเก็บเกี่ยวในอนาคตต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) ที่สนับสนุนงบประมาณสำหรับการดำเนินงานวิจัยโครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ เรื่องการเก็บรักษาคุณภาพผักและผลไม้ตัดแต่งพร้อมบริโภคด้วยเทคโนโลยี Hurdle ประจำปีงบประมาณ 2558 และศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพมหานคร ที่สนับสนุนเครื่องมือในงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

ณัฐชัย พงษ์ประเสริฐ, นพรัตน์ ทัดมาลา และ วาริช ศรีละออง. 2555. การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีฟองอากาศขนาดนาโนและไมโครร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เพื่อลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์และรักษาคุณภาพของผักกาดหอมตัดแต่งพร้อมบริโภค. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 43(2)(พิเศษ): 61-64.

Gómez-López V. M., F. Devlieghere, P. Ragaert and J. Debevere. 2008. Reduction of microbial load and sensory evaluation of minimally processed vegetables treated with chlorine dioxide and electrolysed water. Italian Journal of Food Science 20(3): 321-331.

Keskinen, L. A., A. Burke and B. A. Annous. 2009. Efficacy of chlorine, acidic electrolyzed water and aqueous chlorine dioxide solutions to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7 from lettuce leaves. International Journal of Food Microbiology 132: 134-140.

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.

Madigan, M., M. John and J. Parker. 2003. Brock: Biología de los microorganismos. 10ª edición. Ed. Pearson-Prentice-Hall. Madrid. 1-20 p.

Moran, R. 1982. Formula for determination of chlorophyllous pigments extracted with *N,N*-dimethyl formamide. Journal of Plant Physiology 69: 1376-1381.

Robertson, L.J., G.S. Johannessen, B.K. Gjerde and S. Loncarevic. 2002. Microbiological analysis of seed sprouts in Norway. International Journal of Food Microbiology 75 (1-2): 119–126.