Agricultural Sci. J. 49 : 4 (Suppl.) : 163-166 (2018) ว. วิทย. กษ. 49 : 4 (พิเศษ) : 163-166 (2561)

การทดสอบคุณสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเศษฝุ่นเส้นใยมะพร้าวเพื่อยืดอายุน้ำมะพร้าวสด

Microbial Inhibition Properties in Coconut Coir Dust Extraction for Prolonging Shelf-Life of Coconut Water

ธิติมา วงษ์ชีรี[1] พรพรรณ สิระมนต์[2] วชิรญา อิ่มสบาย[3] สารภี ยวดยง[4] และปิยะนาถ สิริรัตนาวงศ์[1]

Thitima Wongsheree[1], Pornpun Siramon[2], Wachiraya Imsabai[3], Sarapee Yuadyong[4] and Piyanat Sirirattanawong[1]

Abstract

Aromatic coconut is one of economic product in Thailand which export value over billions Baht per year. So, it is classified one of three Thai agricultural commodity with a future in the world market follow rice and durian. Nowadays, the consumer trend focus on healthy or green product. They prefer to consume fresh product, non-heating processing and no preservative chemical. However, the coconut compositions are suitable for microorganism growth caused short shelf-life. Furthermore, the objectives in this study were studied using coconut coir dust extraction for extending fresh coconut water. The optimum water extraction condition was coconut coir dust at the ratio 1:100 (w/v) at 30°C for 60 minutes by ultrasonic bath. The extracts yield was 21.42±0.31% (w/v), total phenolic 791.68±2.33 (GAE) or 831.82±2.45 µg/g (TAE) in dry weight. Antimicrobial studies by agar well diffusion and broth test with *Bacillus cereus, Staphylocoocus aurea, Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* showed clear zone in all microbial compared with control water was no clear zone appearance. The broth test showed the minimum inhibitory concentration (MIC) of extraction was 25 mg/mL. The addition of extraction in coconut water is extended product shelf-life for 4 hours at room temperature (27°C). Precooling the coconut water at 10°C could extend shelf-life in double with panel acceptance in color and flavor.

Keywords: coconut water, coir dust, microbial inhibition

บทคัดย่อ

มะพร้าวน้ำหอมเป็นผลผลิตที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย โดยมีมูลค่าการส่งออกกว่าพันล้านบาท จึงทำให้มะพร้าวน้ำหอมกลายเป็นหนึ่งในสามของสินค้าเกษตรไทยที่มีอนาคตในตลาดโลก รองมาจาก ข้าวแปรรูปและทุเรียน ซึ่งแนวโน้มผู้บริโภคในปัจจุบัน ต้องการผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพหรือผลิตภัณฑ์สีเขียว ที่ไม่ผ่านการแปรรูป หรือไม่ใช้ความร้อนในการแปรรูป รวมทั้งไม่ใช้สารเคมีสังเคราะห์เป็นวัตถุกันเสียหรือสารยับยั้งจุลินทรีย์ แต่องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมะพร้าวสดเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จึงมีอายุการเก็บรักษาสั้น ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อหาแนวทางการใช้สารสกัดจากเศษฝุ่นเส้นใยและขุยมะพร้าว (coir dust) ในการยืดอายุน้ำมะพร้าวสด โดยทำการสกัดสดด้วยน้ำกลั่น อัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:100 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ซึ่งที่สภาวะนี้ให้ % yield ของสารสกัดเท่ากับ 21.42% ปริมาณฟีนอลิคทั้งหมดที่สกัดได้เท่ากับ 791.68 (GAE) หรือ 831.82 µg/g ของน้ำหนักตัวอย่างแห้ง เมื่อตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัด ที่มีความเข้มข้นกรดแทนนิค 2.18 mg/ml ด้วยวิธี agar well diffusion ในเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus cereus, Staphylocoocus aurea, Escherichia coli* และ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าสารสกัดสามารถควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ทุกชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำกลั่น) โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะพร้าวที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration : MIC) เท่ากับ 25 mg/mL ทดสอบการยืดอายุน้ำมะพร้าวสดที่อุณหภูมิห้อง (27°C) ด้วยการผสมสารสกัดอัตราส่วน 1 ต่อ 50 โดยปริมาตร พบว่าน้ำมะพร้าวมีอายุการเก็บรักษา 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง แต่การลดอุณหภูมิน้ำมะพร้าว

[1] สำนักวิจัยและบริการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (มจธ.) กรุงเทพฯ 10140

[1] Institute for Scientific and Technological Research and Services, King Mongut's University of Technology Thonburi, Bangkok 10140

[2] มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี) อ.จอมบึง จ.ราชบุรี 70150

[2] King Mongkut's University of Technology Thonburi. Ratchaburi Campus, Ratchaburi70150

[3] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[3] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

[4] บริษัทชีวาดี จำกัด 59 อาคารพิทักษ์ หมู่ 6 ถ.ศรีนครินทร์ ต.บางเมืองใหม่ อ.เมือง จ.สมุทรปราการ 10270

[4] Chiwadi Products Co.,Ltd, 59 Pitak Building, M.6, T. Bangmuangmai, A. Muang, Sumutprakan 10270

ด้วยน้ำเย็น ที่อุณหภูมิ 10°C นาน 4 ชั่วโมง ก่อนนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง มีอายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นสองเท่า โดยมีลักษณะสีและกลิ่น ที่ผู้ประเมินยอมรับได้
คำสำคัญ: น้ำมะพร้าว, สารสกัดเศษฝุ่นเส้นใยมะพร้าว, การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

คำนำ

มะพร้าวน้ำหอมเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศ น้ำมะพร้าวถูกเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ ต้องมีการพัฒนารูปแบบและกระบวนการผลิตให้ตอบสนองต่อความต้องการผู้บริโภค ได้แก่ กระบวนการแปรรูปไม่ใช้ความร้อน การลดปริมาณวัตถุเจือปน การไม่ใช้วัตถุกันเสียหรือสารยับยั้งจุลินทรีย์ ในอดีตได้มีการศึกษาการสกัดสารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติหรือผลผลอยได้ของอุตสาหกรรมมะพร้าว โดยพบว่าเศษฝุ่นจากใยมะพร้าว (coir dust) มีปริมาณลิกนินและเซลลูโลสสูงกว่าผลพลอยได้จากวัสดุเกษตรชนิดอื่นๆ เช่น ฟางข้าว ลำต้นฝ้าย หรือ ชานอ้อย นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจาก coir dust ที่สกัดด้วยน้ำและอะซีโตน ประกอบด้วยสารที่มีคุณสมบัติด้านพฤษเคมี ได้แก่ tannin, flavonoids, polyphenols (Israel *et al*., 2011) และ Brigda and Rosa (2004) ทดสอบสกัดสารแทนนินจากเปลือกมะพร้าวสด โดยการใช้น้ำร้อนในการสกัด พบว่ามีปริมาณแทนนิน 6.03% ต่อน้ำหนักแห้ง ทั้งนี้ทางมาตรฐาน CODEX (CODE STAN 247-2005) อนุญาติให้ใช้สารแทนนินในผลิตภัณฑ์ประเภทน้ำผลไม้และน้ำหวาน ในการเป็นสารที่ทำให้ตกตะกอนหรือทำให้ใส อย่างไรก็ตามสารแทนนินที่สกัดจากเมล็ดองุ่นและเปลือกทับทิมที่ความเข้มข้น 2% มีคุณสมบัติในการเป็นวัตถุกันเสีย โดยสามารถควบคุมจุลินทรีย์ ได้หลายชนิด (Mohamed *et al*., 2008) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาแนวทางการใช้สารสกัดจากเศษฝุ่นเส้นใยและขุยมะพร้าว (coir dust) ในการยืดอายุน้ำมะพร้าวสด

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารกลุ่มฟีนอลิคจากตัวอย่างเปลือกมะพร้าวด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

ทำการสกัดตัวอย่างเศษฝุ่นเส้นใยและขุยมะพร้าว (coir dust) ด้วยน้ำกลั่น โดยใช้อัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:100 (น้ำหนัก/ปริมาตร) หาสภาวะที่เหมาะสม โดยการสกัดที่อุณหภูมิ 30 และ 50°C ระยะเวลา 30 และ 60 นาที โดยจัดการทดลองแบบ Factorial in CRD หาปริมาณผลผลิตสารสกัด (% yield) และตรวจวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิคทั้งหมด (total phenolic content) ที่สกัดได้จากสภาวะต่างๆ และวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี Duncan's New Multiple-Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดแทนนินจาก coir dust และสารมาตรฐาน ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ด้วยวิธี agar well diffusion

เลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *Bacillus cereus, Staphylococcus aurea, Escherichia coli* และ *Saccharomyces cerevisiae* ใน Nutrient Broth (NB) เป็นเวลา 24 ชม. เตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อที่ความเข้มข้น 10^3 spores/ml นำมา spread เชื้อบนอาหาร NA เจาะรูบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 รู ด้วยปลายหลอดปิเปตฆ่าเชื้อ แล้วเติมสารสกัด สารมาตรฐาน ความเข้มข้น 2.18 mg/mL น้ำกลั่นลงในแต่ละหลุม หลุมละ 40 ไมโครลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชม. วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณวงใส (clear zone) ที่เกิดขึ้น เป็นหน่วย มิลิเมตร (mm) ทดสอบ 3 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

3. การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะพร้าวที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* ด้วยวิธี Minimum Inhibitory Concentrations (MIC)

หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะพร้าว ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration : MIC) เจือจางสารสกัดจาก coir dust ด้วยน้ำกลั่นที่ความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13 mg/mL เติมเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ความเข้มข้น 10^3 spores/ml บ่มที่ 37°C นาน 18 ชั่วโมง บันทึกสี ความขุ่นหรือการตกตะกอนของสารแขวนลอยเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

ผล

1.สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารกลุ่มฟีนอลิคจากตัวอย่างเปลือกมะพร้าวด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารตัวอย่างเปลือกใน (mesocarp) และเศษฝุ่นมะพร้าว (coir dust) ด้วยตัวทำละลายน้ำ เนื่องจากมาตรฐานเครื่องดื่มฮาลาลซึ่งไม่อนุญาติให้ใช้เอทานอลในส่วนผสมในเครื่องดื่ม จึงเลือกใช้ตัวสกัดคือ น้ำกลั่น อัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:100 (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยทำการสกัดด้วยเครื่อง ultrasonic bath สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดคือ ที่อุณหภูมิ 30^{0}C ระยะเวลา 60 นาที ซึ่งให้ % yield ของสารสกัดเท่ากับ 21.42 % ไม่แตกต่างทางสถิติกับการสกัดที่อุณหภูมิ 50^{0}C และ ปริมาณฟีนอลิคทั้งหมดที่สกัดได้เท่ากับ 791.68±2.33 (GAE) และ 791.68±2.33 ไมโครกรัม/กรัม (TAE) ของน้ำหนักตัวอย่างแห้ง (ไม่แสดงผล)

2. ประสิทธิภาพของสารสกัดแทนนินจาก coir dust และสารมาตรฐาน ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ด้วยวิธี Agar well diffusion

จากการคัดเลือกผลจากวิธี agar - well diffusion พบว่าสารสกัดจากเศษฝุ่น (coir dust) ของเปลือกมะพร้าวแก่ที่สกัดด้วยน้ำ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ได้ดีที่สุด เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน tannic โดยพบว่าสารสกัดมีปริมาณ tannic acid เข้มข้น 2.18 mg/mL มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อทุกชนิดน้อยกว่าสารมาตรฐาน tannic acid ที่ความเข้มข้นเดียวกัน (Figure 1) แต่เมื่อเปรียบเทียบ สารสกัดจากเปลือกมะพร้าวกับชุดควบคุม (น้ำกลั่น) พบว่าสารสกัด สามารถควบคุมจุลินทรีย์ได้ทุกชนิด โดยเกิด clear zone ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 0.7 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่า สารสกัดจากเปลือกมะพร้าว มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อทุกชนิดน้อยกว่าสารมาตรฐาน tannic acid ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

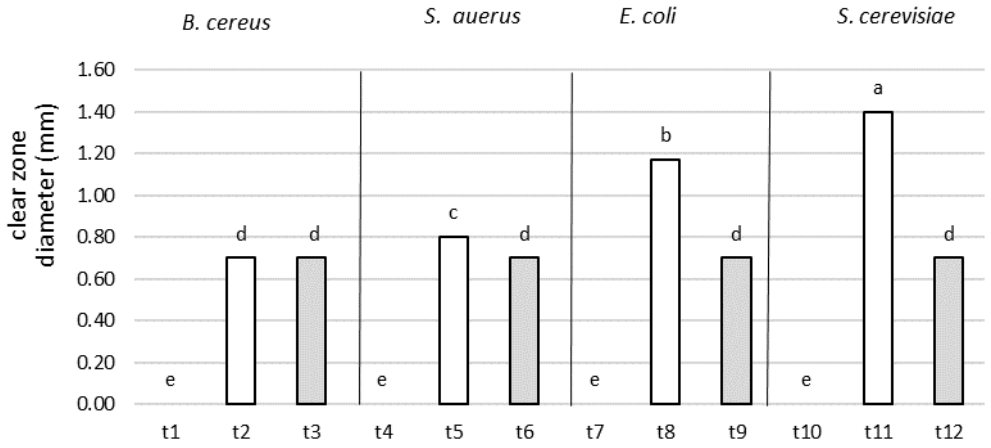

Figure 1 Clear zone of tannic acid standard (White) and coir dust extract (Gray) and water control (t1, t4, t7 and t10) on inhibition of *B. cereus, S. auerus, E. coli* and *S. cerevisiae* by agar well diffusion.

3.ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะพร้าวที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Minimum Inhibitory Concentrations (MIC)

หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะพร้าวที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration : MIC) ในเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่า ที่ความเข้มข้นของสารสกัดจาก coir dust เท่ากับ 25, 50, และ100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีการตกตะกอนของสารสกัด และสารละลายด้านบนมีลักษณะใส แสดงว่า ไม่สามารถเจริญได้ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่น้อยกว่า 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารละลายขุ่นทั้งหลอด แสดงเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* สามารถเจริญได้ จึงสรุปได้ว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Figure 2)

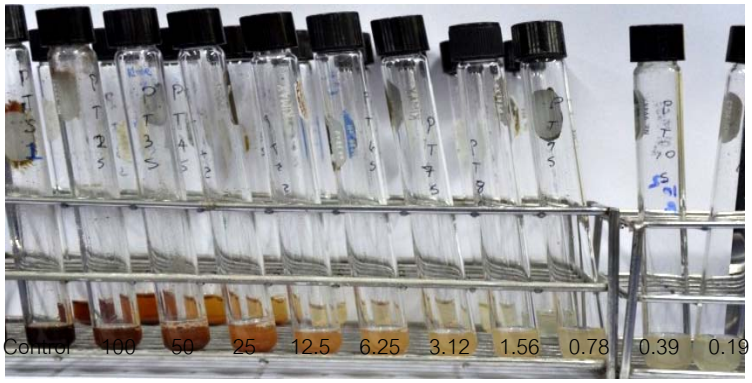

Figure 2 Microbial growth of *S. cerevisiae* in culture broth mixed with coir dust extraction in various concentration (mg/mL) after incubated at 37°C for 18 hours.

ทำการทดสอบสารสกัดแทนนินเพื่อยังยั้งเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุการเน่าเสียของน้ำมะพร้าวสด โดยใช้ความเข้มข้นของสารแทนนินที่สกัดจาก เส้นใยและฝุ่นเปลือกมะพร้าวน้ำหอมแห้ง (coir dust) ซึ่งมีความเข้มข้น/ปริมาณแทนนิน 2.18 mg/ml แต่ความเข้มข้นของสาร additive ที่ Codex อนุญาติให้ใช้สูงสุด (additive residue) 10 mg/L หรือ 0.01 mg/ml ทำการทดสอบผสมสารสกัดจาก coir dust มะพร้าวอ่อน เปลือกมะพร้าวแก่ และเปรียบเทียบกับไม่ใส่สารสกัดในน้ำมะพร้าว และประเมิน สี ความใส กลิ่นน้ำมะพร้าว กลิ่นรสน้ำมะพร้าวและความชอบโดยรวม โดยใช้ผู้ทดสอบ (นักวิชาการ) ที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 19 คน พบว่าน้ำมะพร้าวผสมสารสกัด coir dust มะพร้าวน้ำหอมอ่อน มีคะแนนความชอบรวม กลิ่นและรสชาติสูงกว่าน้ำมะพร้าวที่ไม่ผสมสารสกัด และสารสกัดเปลือกมะพร้าวแก่ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุป

สารสกัดจาก coir dust เปลือกมะพร้าว มีคุณสมบัติควบคุมจุลินทรีย์อาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) แต่มีประสิทธิภาพในการควบคุมจุลินทรีย์น้อยกว่าสารมาตรฐาน tannic acid ที่ความเข้มข้นเดียวกัน นอกจากนี้ยังพบปัญหาการเปลี่ยนสีของน้ำมะพร้าว อาจหลีกเลี่ยงนำสารสกัดมาผสมในผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น น้ำตาลสด น้ำตาลปีบหรือน้ำตาลโตนด ซึ่งสีหรือความใสไม่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์

คำขอบคุณ

การศึกษานี้ เป็นส่วนหนึ่งของ โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยแห่งชาติ ภายใต้โครงการวิจัยและพัฒนาภาครัฐร่วมเอกชนในเชิงพาณิชย์ สนับสนุนโดย สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) เครือข่ายอุดมศึกษาภาคกลางตอนล่าง ร่วมกับบริษัท ชีวาดี โปรดักส์ จำกัด ปีงบประมาณ 2560

เอกสารอ้างอิง

Brígida, A.I.S. and M.de F. Rosa. 2004. Determination of the level of tannins in green coconut husk (*Cocos nucifera*). Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture 47: 25-27.

CODEX STAN 247 – 2005. Codex General Standard for Fruit Juices and Nectars, 1-19.

Mohammed H. S., M.I. Al-Zubaidy Mazin and B. Al-Aswad Majjid. 2008. Inhibitory effect of tannic acid extracted from grape seeds and pomegranate peels on some microorganisms. Mesoppotamia Journal of Agriculture 36(1): 12-18.

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