Agricultural Sci. J. 53 : 3 (Suppl.) : 8 - 11 (2022) ว. วิทย. กษ. 53 : 3 (พิเศษ) : 8 - 11 (2565)

ผลของน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรดต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดในผลกาแฟสดหลังการเก็บเกี่ยว

Effects of Acidic Electrolyzed Water on Microbial Contamination and Some Bioactive Compounds in Coffee Cherry after Harvest

วาสนา อำมาตย์มณี[1] ภูมิพงษ์ ชูช่วยสุวรรณ[2] อังคณา เชื้อเจ็ดตน[3] และกานดา หวังชัย[1,4,5]
Wasana Ammatmanee[1], Poompong Chuchouisuwan[2], Angkhana Chuajedton[3] and Kanda Whangchai[1,4,5]

Abstract

Effects of acidic electrolyzed water (AEW) concentration and washing time of fresh coffee cherry on the reduction of the microbial contamination and bioactive compound content, including caffeine and chlorogenic acid, were studied. The concentration of AEW was prepared at 50, 100, and 150 ppm and washing time for 15 and 30 min. The results showed that the highest microbial reduction, caffeine, and chlorogenic acid were found at a 150 ppm of AEW concentration for 30 min. The microbial population was $1.33x10^5$ CFU/g and bioactive compounds such as caffeine and chlorogenic acid were 2.06 and 2.27 mg/g. In contrast, control treatment was found the highest microbial population at $6.96x10^6$ CFU/g but caffeine and chlorogenic acid were 1.20 and 0.48 mg/g. The caffeine and chlorogenic acid in fresh coffee cherry tended to rise with an increase in AEW concentration and washing time. However, AEW treatment had no effects on the total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA), and peel color changes (CIE L* a* b*).

Keywords: acidic electrolyzed water, bioactive compounds, coffee cherry

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของความเข้มข้นน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด และระยะเวลาที่ใช้ในการล้างผลกาแฟสด ต่อการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิด เช่น คาเฟอีน และกรดคลอโรจินิกภายหลังจากการเก็บเกี่ยว โดยใช้น้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรดที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 50, 100 และ 150 ppm มาล้างเป็นระยะเวลา 15 และ 30 นาที พบว่าการล้างผลกาแฟสดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรดที่ความเข้มข้น 150 ppm เป็นเวลา 30 นาที สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ และพบปริมาณคาเฟอีน และกรดคลอโรจินิกสูงสุด โดยปริมาณจุลินทรีย์ที่พบภายหลังจากการล้างผลกาแฟสด คือ $1.33x10^5$ CFU/g ส่วนปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น คาเฟอีน และกรดคลอโรจินิก เท่ากับ 2.06 และ 2.27 มิลลิกรัมต่อกรัม ในขณะที่ชุดควบคุมพบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนสูงสุดคือ $6.96x10^6$ CFU/g แต่พบปริมาณคาเฟอีนและกรดคลอโรจินิก เท่ากับ 1.20 และ 0.48 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยปริมาณคาเฟอีนและกรดคลอโรเจนิกมีแนวโน้มสูงขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรดและระยะเวลาในการล้างที่เพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการล้างด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรดไม่ส่งผลต่อปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ และการเปลี่ยนแปลงสีของเปลือกผลของกาแฟ (CIE L* a* b*)

คำสำคัญ: น้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด สารออกฤทธิ์ ผลกาแฟสด

[1] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200
[1] Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200
[2] ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200
[2] Postharvest Technology Research Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200
[3] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง จ.ลำปาง 50210
[3] Department of Biology, Faculty of Science, Lampang Rajabhat University, Lampang 52100
[4] ศูนย์วิจัยชีวภาพเพื่อการเกษตร อุตสาหกรรม และการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200
[4] Center of Excellence in Bioresources for Agriculture, Industry and Medicine, Ching Mai University, Chiang Mai 50200
[5] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม กรุงเทพฯ 10400
[5] Postharvest Technology Innovation Center, Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation, Bangkok 10400

คำนำ

กาแฟเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของไทยโดยเฉพาะกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า เป็นกาแฟที่ปลูกบนพื้นที่สูงทางภาคเหนือของไทย กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าจากตำบลเทพเสด็จ ซึ่งปลูกบนพื้นที่ตำบลเทพเสด็จ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ ได้ขึ้นทะเบียนสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ (GI) ซึ่งเป็นเครื่องหมายของทรัพย์สินทางปัญญาที่ออกให้แก่ผู้ผลิตสินค้าที่ใช้กับสินค้าที่มาจากแหล่งผลิตเฉพาะเจาะจงคุณภาพหรือชื่อเสียงของสินค้านั้นๆ แต่ปัญหาที่พบจากการลงสำรวจพื้นที่ คือระหว่างการเก็บรักษาและกระบวนการผลิตพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพของกาแฟ ทำให้ต้องหาวิธีการทางเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมมาใช้ในการแก้ปัญหาเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

น้ำอิเล็กโทรไลต์เป็นเทคโนโลยีที่พัฒนาเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในโรงพยาบาล และมีการศึกษาวิจัยเพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ จากศึกษาของ Al-Haq *et al*. (2002) ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อ *Botryosphaeria berengeriana* ซึ่งเป็นสาเหตุของการเน่าเสียในสาลี่พันธุ์ La-France โดยทำการปลูกเชื้อลงบริเวณผิวผลไม้และบ่มเป็นเวลา 10 วัน จากนั้นนำไปจุ่มในน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลง เช่นเดียวกับ Paola *et al*. (2005) ทำการทดลองโดยใช้น้ำอิเล็กโทรไลต์ล้างทำความสะอาดผักกาด พบว่าการล้างเป็นเวลา 5 นาทีสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้ดีที่สุด ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงจัดทำเพื่อหาความเข้มข้นและเวลาในการล้างของน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสมต่อการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาเรื่องปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดในผลกาแฟ เช่น คาเฟอีน และกรดคลอโรจินิก ที่อาจมีการเปลี่ยนแปลงหลังจากล้างด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ด้วยเช่นกัน รวมถึงคุณภาพหลังการล้าง

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด

นำสารละลายเกลือความเข้มข้น 1% มาบรรจุในเครื่องอิเล็กโทรไลต์ที่มีขั้วทำจากแผ่นไทเทเนี่ยม ทำการผลิตด้วยการใช้กระแสไฟฟ้า 13 โวลต์เป็นเวลา 30 นาที จะได้น้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรดในฝั่งขั้วบวกซึ่งจะนำไปวัดหาปริมาณความเข้มข้นของคลอรีนอิสระด้วยเครื่องวัดปริมาณคลอรีน ได้ความเข้มข้น 300 ppm. pH 3.4 และ ORP +1,200 mV.

2. ผลของน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรดต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และคุณภาพของผลกาแฟสด

กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า จากตำบลเทพเสด็จ ที่สุกเต็มที่นำมาคัดเลือกขนาดที่เท่ากัน แล้วแบ่งผลกาแฟสดออกเป็น 7 ชุดการทดลอง แต่ละชุดประกอบด้วยกาแฟ 500 กรัม จากนั้นนำไปแช่ในน้ำอิเล็กโทรไลต์ 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 50, 100 และ 150 ppm และแต่ละความเข้มข้นแช่เป็นเวลา 15 และ 30 นาที จากนั้นนำผลกาแฟสดที่แช่น้ำอิเล็กโทรไลต์เรียบร้อยแล้วมาผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงนำไปวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยด้วย compact dry plate (NISSUI, Japan) โดยบ่มที่ 35 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รายงานผลเป็นหน่วย CFU/g ส่วนการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น คาเฟอีน และกรดคลอโรจินิก ทำโดยเครื่อง HPLC มี mobile phase ที่ใช้แบบเคลื่อนที่ (gradient) ระหว่าง 0.1% formic acid ในน้ำ (A) และ 0.1% formic acid ใน acetonitrile (B) ดังนี้ โดยเริ่มจาก 95 % (A) และ 5% (B) เป็นเวลา 12.5 นาที จากนั้นคงสัดส่วน 90% (A) และ 10% (B) เป็นเวลา 10 นาที โดยใช้ปริมาตรการฉีดที่ 10 µl มีอัตราการไหลคือ 1 ml/min detector คือ DAD ใช้ความยาวคลื่น 280 nm และ 330 nm ในการวัดปริมาณคาเฟอีน และกรดคลอโรจินิกตามลำดับ สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพทำการวัดค่าดังนี้คือ การเปลี่ยนแปลงสีผลโดยใช้เครื่อง chroma meter รายงานผลเป็นค่า L* a* b* ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ (TSS) และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA) รายงานค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ one-way ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละชุดทดลองโดยวิธี Tukey's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ

ผลการทดลอง

จากผลการทดสอบน้ำอิเล็กโทรไลต์ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในผลกาแฟสดพบว่า การล้างทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ความเข้มข้น 150 ppm เวลา 30 นาที ให้ผลดีที่สุดในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ โดยสามารถลดปริมาณการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด มีค่าเท่ากับ 1.33×10^5 CFU/g รองลงมาคือน้ำอิเล็กโทรตไลต์ความเข้มข้น 150 ppm เวลา 15 นาทีพบเชื้อ 4.13×10^5 CFU/g ในขณะที่ชุดควบคุมพบเชื้อจุลินทรีย์เท่ากับ 6.96×10^6 CFU/g ที่ความเข้มข้นของน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่สูงขึ้น มีแนวโน้มว่าจำนวนจุลินทรีย์จะลดลง (Figure 1)

จากการศึกษาคุณภาพของผลกาแฟสด ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และการเปลี่ยนแปลงของสีผลกาแฟ พบว่าทุกชุดการทดลองที่ล้างด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นและเวลาต่างกัน ค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Table 1) และจากการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์บางชนิด อย่างเช่น คาเฟอีนและกรดคลอโรจินิก พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับน้ำอิเล็กโทรไลต์ โดยเมื่อล้างด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่มีความเข้มข้น 150 ppm เป็นเวลา 30 นาที มีปริมาณคาเฟอีนและกรดคลอโรจินิกสูงที่สุด เท่ากับ 2.06 และ 2.27 mg/g ในขณะที่ล้างน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้น 150 ppm เป็นเวลา 15 นาทีพบปริมาณคาเฟอีนและกรดคลอโรจินิกรองลงมาเท่ากับ 1.99 และ 1.48 mg/g ส่วนชุดควบคุมพบปริมาณสารคาเฟอีนและกรดคลอโรจินิกน้อยสุด เท่ากับ 1.2 และ 0.48 mg/g (Table 1)

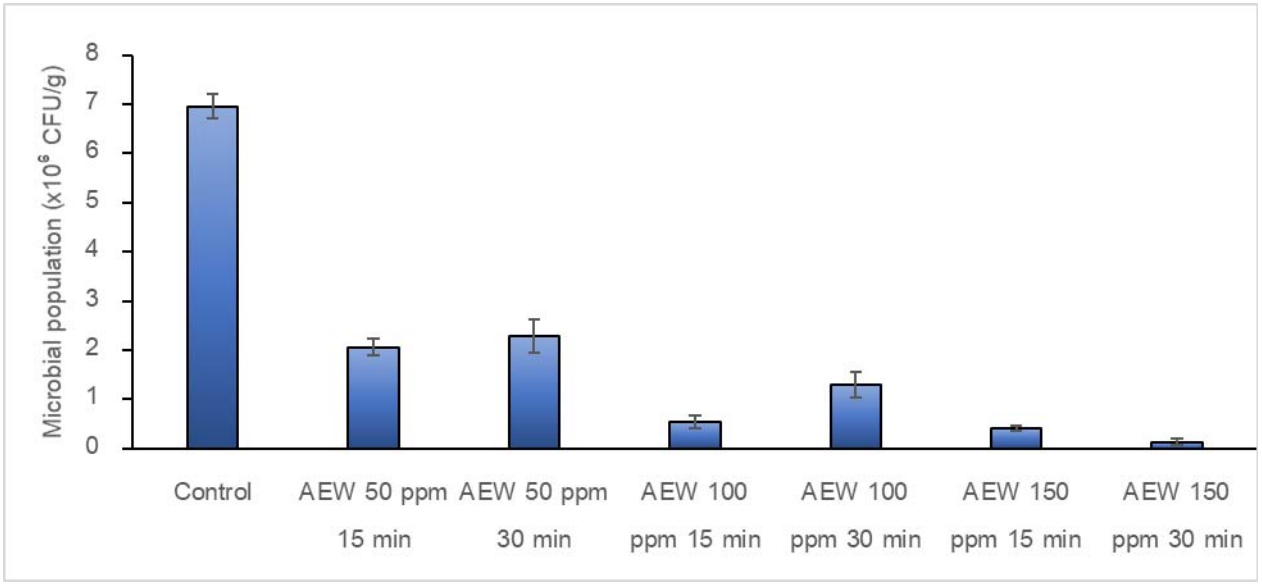

Figure 1 The microbial population after being treated with acidic electrolyzed water at 50, 100 and 150 ppm. for 15 and 30 minutes

Table 1 Changes in caffeine, chlorogenic acid, TSS, TA and peel color of coffee cherry after treating with acidic electrolzyed water at 50, 100 and 150 ppm. for 15 and 30 minutes.

Treatment	Chlorogenic acid	Caffeine	TSS	TA	Peel color		
	mg/g	mg/g	(%)	(%)	L*	a*	b*
Control	0.48 d	1.20 d	15.7	0.60	16.39	1.56	1.33
AEW 50 ppm. 15 min.	1.05 bc	1.69 abc	16.9	0.52	16.37	1.86	1.55
AEW 50 ppm. 30 min.	0.82 bc	1.38 cd	15.3	0.62	16.09	2.17	1.67
AEW 100 ppm. 15 min.	0.64 bc	1.46 cd	16.7	0.57	16.17	2.17	1.75
AEW 100 ppm. 30 min.	0.98 c	1.53 bcd	16.4	0.57	16.05	1.48	1.67
AEW 150 ppm. 15 min.	1.48 b	1.99 ab	17.1	0.53	16.58	1.80	1.72
AEW 150 ppm. 30 min.	2.27 a	2.06 a	17.0	0.53	15.95	1.66	1.59

Different letters in a column represent difference according to Turkey's test at $p \leq 0.05$

วิจารณ์ผล

การล้างผลกาแฟสดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี เช่นเดียวกับ Deza *et al*. (2003) ได้ศึกษาถึงผลของการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis* และ *Listeria monocytogenes* ที่อยู่บนผิวของมะเขือเทศโดยใช้น้ำอิเล็กโทรไลต์ล้าง พบว่าสามารถลดเชื้อแบคทีเรียได้โดยไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม รวมถึง Whangchai *et al*. (2010) ได้ทำการล้างผลส้มพันธุ์เขียวหวานเป็นเวลา 16 นาที สามารถยับยั้งเชื้อ *Penicillium digitatum* ได้ดี ซึ่งประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ขึ้นกับความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำอิเล็กโทรไลต์กับเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากน้ำอิเล็กโทรไลต์เป็นสารออกซิไดซ์ มีการแตกตัวให้ hypochlorous hydroxy และ chlorine radical ไปมีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์ถูกทำลายโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์จนเสียสภาพและบางส่วนสามารถเข้าไปในเซลล์ซึ่งผลให้กรดนิวคลีอิกและโปรตีนถูกออกซิไดซ์ ทำให้โครงสร้างเหล่านั้นเสื่อมสภาพลง จึงทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ (Al-Haq *et al*., 2005) ส่วนคุณภาพด้านอื่นๆเช่น ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (TA) และค่าสีของเปลือกกาแฟสด (L* a* b*) ไม่มีความแตกต่างกันในระหว่างชุดควบคุมและชุดที่ล้างด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ แสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำอิเล็กโทรไลต์นั้นไม่ส่งผลต่อคุณภาพของผลกาแฟสด และจากการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญบางชนิดอย่างคาเฟอีนและคลอโรจินิก พบว่าเมื่อล้างด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ส่งผลให้คาเฟอีนและกรดคลอโรเจนิกเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลมาจากอนุมูลอิสระในน้ำอิเล็กโทรไลต์ เข้าไปทำให้พืชเกิด oxidative stress โดยสารอนุมูลอิสระเข้าไปกระตุ้นการทำงานของระบบอนุมูลอิสระของพืชโดยเฉพาะกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก โดยคาเฟอีนและคลอโรจินิกจัดเป็นสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกจึงทำให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อล้างด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ ซึ่งสอดคล้องกับ Navarro-Rico *et al*. (2014) ทำการล้างตัวอย่างบลอคโคลีสดที่ตัดใหม่ด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์โดยไม่คำนึงถึงค่า pH หรือระดับคลอรีนอิสระ พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าตัวอย่างที่ล้างด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อจากคลอรีนถึง 30%

สรุป

การล้างผลกาแฟสดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรดที่ความเข้มข้น 150 ppm. เป็นเวลา 30 นาที สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้มากสุด และสามารถช่วยเพิ่มปริมาณสารคาเฟอีนและกรดคลอโรจินิกได้สูงสุดถึง 1.7 และ 4.7 เท่าตามลำดับ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการสรีระวิทยาหลังการเก็บเกี่ยว และห้องปฏิบัติการการกลาง ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ รวมถึง ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือในการทำวิจัย และขอบคุณโครงการยกระดับเศรษฐกิจรายตำบลแบบบูรณาการ (มหาวิทยาลัยสู่ตำบล) ภายใต้มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ในปี 2564 สำหรับทุนสนับสนุนในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Al–Haq, M.I., Y. Seo, S. Oshita and Y. Kawagoe. 2002. Disinfection effects of electrolyzed oxidizing water on suppressing fruit rot of pear caused by *Botryosphaeria berengeriana*. Food Research International 35(7) : 657–664.

Al-Haq, M.I., J. Sugiyama and S. Isobe. 2005. Applications of electrolyzed water in agriculture & food industries. Food Science and Technology Research 11(2): 135-150.

Deza, M.A., M. Araujo and J.M. Garido. 2003. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* on the surface of tomatoes by neutral electrolyzed water. Letter in Applied Microbiology 37: 482-487.

Navarro-Rico, J., F. Artes-Hernandez, P.A. Gomez, M.A. Nunez-Sanchez, F. Artes and G.B. Martinez-Hernandez. 2014. Neutral and acidic electrolysed water kept microbial quality and health promoting compounds of fresh-cut broccoli throughout shelf life. Innovative Food Science and Emerging Technologies 21: 74-81.

Paola, C. L., R.C. Vivian, M. Mercado, M. Deaz and M. Carrascal. 2005. Effectiveness of electrolyzed oxidizing water for inactivating *Listeria monocytogenes* in lettuce. Universitas Scientiarum 10(1): 97-108.

Whangchai, K., K. Saengnil, C. Singkamanee and J. Uthaibutra. 2010. Effect of electrolyzed oxidizing water and continuous ozone exposure on the control of *Penicillium digitatum* on tangerine cv. Sai Nam Pung during storage. Crop Protection 29: 386-389.