Agric. Sci. Innov. J. 55 : 2 (Suppl.) : 119 - 122 (2024) ว. วิทย. นวัต. กษ. 55 : 2 (พิเศษ) : 119 - 122 (2567)

ประสิทธิภาพของคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับกรดเพอร์แอซิติก ต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนผักกาดขาวตัดแต่ง
Efficacy of Ultrasonic Treatment Combined with Peracetic Acid on Reduction of Contaminated Microorganisms on Fresh–cut Chinese Cabbage

บุษกร ทองใบ[1] และสิริพร ลาวัลย์[1]
Bussagon Thongbai[1] and Siriporn Lawan[1]

Abstract

This research investigated the efficacy of ultrasonic treatment combined with peracetic acid on reduction of contaminated microorganisms on fresh-cut Chinese cabbage. The experiment was conducted by completely randomized design (CDR). The initial total viable count and coliforms count of fresh-cut Chinese cabbage were 6.06 and 3.96 log CFU/g, respectively. Chinese cabbages were washed with sterile distilled water for 3 min (control) and ultrasonic (40 KHz) combined with peracetic acid (70 ppm) for 3 min (U-PA) stored at 5°C for 7 days. Microbial counts (total viable count and coliforms) and physical changed of Chinese cabbage during storage were assessed. The results indicated that total viable count of control and U-PA treated fresh-cut Chinese cabbage were 5.45-6.15 and 3.43-4.86 log CFU/g, respectively ($p \leq 0.05$) and coliforms count of control cabbage and U-PA cabbage were 3.45-5.04 and 2.00-3.20 log CFU/g, respectively ($p \leq 0.05$). Moreover, control and U-PA treated Chinese cabbage were not significantly changed of appearance, tissue browning, off-odor after subsequent 7 days of storage. Therefore, the combined antimicrobial efficacy of ultrasonic and peracetic acid could potentially be used for the decontamination of fresh-cut Chinese cabbage.
Keywords: coliforms, tissue browning, off-odor

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาประสิทธิภาพของคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับกรดเพอร์แอซิติกต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ (จุลินทรีย์ทั้งหมดและโคลิฟอร์ม) ที่ปนเปื้อนผักกาดขาวตัดแต่ง โดยนำผักกาดขาวตัดแต่งที่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและโคลิฟอร์มปนเปื้อนเริ่มต้น 6.06 และ 3.96 log CFU/g ตามลำดับ มาผ่านกระบวนการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ เป็นเวลา 3 นาที (ชุดควบคุม) และล้างด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (40 KHz) ร่วมกับกรดเพอร์แอซิติก (70 ppm) เป็นเวลา 3 นาที (U-PA) และเก็บรักษาที่ 5°C เป็นเวลา 7 วัน ตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและโคลิฟอร์มในผักกาดตัดแต่งและการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ (ลักษณะปรากฏ การเกิดสีน้ำตาล และกลิ่นผิดปกติ) ของผักกาดขาวตัดแต่งในระหว่างการเก็บรักษา ผลการทดลองพบว่าผักกาดขาวตัดแต่งที่ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ชุดควบคุม) และ U-PA มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 5.45-6.15 และ 3.43-4.86 log CFU/g ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) และมีปริมาณโคลิฟอร์ม 3.45-5.04 และ 2.00-3.20 log CFU/g ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ผักกาดขาวตัดแต่งที่ล้างด้วย U-PA มีลักษณะปรากฏ การเกิดสีน้ำตาล และกลิ่นผิดปกติเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยไม่แตกต่างจากชุดควบคุมอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ สามารถเก็บรักษาได้ 7 วัน ดังนั้น ด้วยประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับกรดเพอร์แอซิติกจึงมีศักยภาพในการใช้เพื่อลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผักกาดขาวตัดแต่งได้
คำสำคัญ: โคลิฟอร์ม การเกิดสีน้ำตาล กลิ่นผิดปกติ

คำนำ

ผักกาดขาวเป็นผักที่ได้รับความนิยมในการบริโภคอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีรสชาติอร่อยและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เช่น วิตามินซี วิตามินเค และกรดโฟลิก อย่างไรก็ตาม การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผักกาดขาวตัดแต่งซึ่งเป็นผักที่ผ่านการแปรรูปขั้นต่ำ (minimally processed vegetable) เป็นปัญหาสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยในการบริโภคและอายุการเก็บรักษาของผักกาดขาวตัดแต่ง (Machado *et al*., 2022) การเลือกใช้วิธีการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยจึง

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาสารคาม 44150
[1]Department of Food Technology and Nutrition, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Mahasarakham, 44150, Thailand

เป็นสิ่งจำเป็นในการล้างผักสดตัดแต่ง (fresh-cut vegetable) นอกจากนี้ในปัจจุบันการใช้สารเคมีในการล้างเพื่อฆ่าจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผักสดอาจทิ้งสารเคมีตกค้างที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม การวิจัยในปัจจุบันจึงมุ่งเน้นไปที่การใช้เทคโนโลยีทางกายภาพและสารเคมีที่ปลอดภัยมากขึ้น เช่น การใช้กรดอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ หรือการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง โดยคลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasonic treatment) เป็น non-thermal processing technology ที่ใช้คลื่นเสียงที่มีความถี่สูงกว่าที่มนุษย์สามารถได้ยินซึ่งสามารถสร้างฟองอากาศขนาดเล็กในของเหลว เมื่อฟองอากาศเหล่านี้แตกตัวจะเกิดแรงกระแทกที่สามารถทำให้จุลินทรีย์หลุดจากการเกาะติดและทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ที่บริเวณผิวผักสดได้ (Dai *et al*., 2020) กรดเพอร์แอซิติก (peracetic acid) เป็นสารเคมีที่มีศักยภาพในการออกซิเดชันสูงสามารถทำลายโครงสร้างโปรตีนและกรดนิวคลีอิกของจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพและยังมีข้อดีที่สามารถย่อยสลายได้ง่ายไม่ทิ้งสารตกค้างที่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและผู้บริโภค (Lippman *et al*., 2020) ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงศึกษาประสิทธิภาพของการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับกรดเพอร์แอซิติกในการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผักกาดขาวตัดแต่ง โดยมุ่งหวังที่จะเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคและยืดอายุการเก็บรักษาผักสดตัดแต่งที่วางจำหน่ายได้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมผักกาดขาวตัดแต่ง

ผักกาดขาวซื้อจากตลาดสดในจังหวัดมหาสารคาม โดยแยกใบผักกาดขาว 2-3 ใบด้านนอกทิ้ง นำใบที่อยู่ด้านในมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปาประมาณ 5 นาที ตัดแต่งผักกาดขาวให้มีขนาด 5×5 ซม สุ่มผักกาดขาวตัดแต่งส่วนหนึ่งมาตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนเริ่มต้น (background flora) (Sagong *et al*., 2013) ด้วยวิธี spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar (PCA) และ violet red bile agar (VRBA) ตามลำดับ บ่มที่ 35-37°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง รายงานปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนเริ่มต้นเป็น log CFU/g

2. ศึกษาประสิทธิภาพของคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับกรดเพอร์แอซิติกต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนผักกาดขาวตัดแต่ง

นำผักกาดขาวตัดแต่งที่เตรียมได้จากข้อ 1. มาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ เป็นเวลา 3 นาที (ชุดควบคุม) และล้างด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (40 KHz) ร่วมกับกรดเพอร์แอซิติก (70 ppm) เป็นเวลา 3 นาที (U-PA) จากนั้นล้างผักกาดขาวตัดแต่งที่ผ่านการทดสอบด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (15 วินาที) จำนวน 2 ครั้ง เพื่อล้างกรดเพอร์แอซิติกที่ตกค้างออกไป ปล่อยให้ผักกาดขาวตัดแต่งสะเด็ดน้ำบนตะแกรงปลอดเชื้อในตู้ปลอดเชื้อ (biosafety cabinet) เป็นเวลา 30 นาที บรรจุผักกาดขาวตัดแต่ง 14-15 กรัมในกล่องพลาสติกใส (polypropylene, PP) แล้วปิดด้วยฟิล์มยืด เก็บรักษาที่ 5°C เป็นเวลา 7 วัน ตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและโคลิฟอร์มที่รอดชีวิต และประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสของผักกาดขาวตัดแต่งในระหว่างการเก็บรักษาวันที่ 0, 1, 4 และ 7 การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผักกาดขาวตัดแต่งในระหว่างการเก็บรักษาทำโดยสุ่มเก็บตัวอย่างผักกาดขาวตัดแต่ง 10 กรัม ใส่ Stomacher bag เติมสารละลาย peptone water (0.1%) 90 มิลลิลิตร และตีผสมให้ตัวอย่างผสมเป็นเนื้อเดียวกัน เจือจางตัวอย่างเป็นชุด (serial dilution) และ spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และ VRBA ประเมินการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของผักกาดขาวตัดแต่งในด้านลักษณะปรากฏ (ความสด) การเกิดสีน้ำตาลของผักตัดแต่ง (tissue browning) และกลิ่นผิดปกติ (off-odor) โดยผู้ทดสอบ 6 คน และใช้ 5-point rating scale โดยกำหนดเกณฑ์คะแนนการประเมินดังนี้ ด้านลักษณะปรากฏ (ความสด) : 1 = ไม่มีความสด (เหี่ยว) และ 5 = มีความสดมากที่สุด ด้านการเกิดสีน้ำตาล : 1 = สีน้ำตาลมากที่สุด และ 5 = ไม่มีสีน้ำตาล และกลิ่นผิดปกติ : 1 = มีกลิ่นผิดปกติมากที่สุด และ 5 = ไม่มีกลิ่นผิดปกติ ถ้ามีคะแนนมากกว่าหรือเท่ากับ 3 ขึ้นไปถือว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CDR) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลและวิจารณ์ผล

ประสิทธิภาพของคลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับกรดเพอร์แอซิติกต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนผักกาดขาวตัดแต่งแสดงใน Figure 1 โดยผักกาดขาวตัดแต่งมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและโคลิฟอร์มปนเปื้อนเริ่มต้น 6.06 และ 3.96log CFU/g ตามลำดับ ผักกาดขาวตัดแต่งที่ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ชุดควบคุม) และ U-PA เก็บรักษาที่ 5°C เป็นเวลา 7 วัน มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 5.45-6.15 และ 3.43-4.86 log CFU/g ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) และโคลิฟอร์ม 3.45-5.04 และ 2.00-3.20

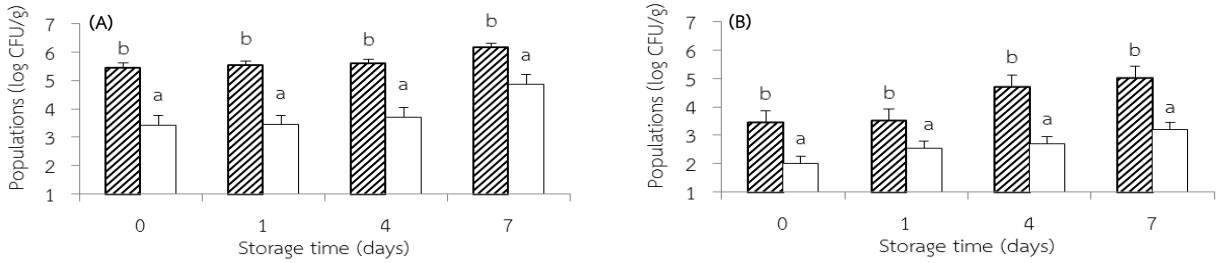

Figure 1. The efficacy of ultrasonic treatment combined with peracetic acid (U-PA) on reducing of contaminated microorganisms on fresh-cut Chinese cabbage stored at 5°C for 7 days. Total viable count (A) and coliforms (B) were evaluated when washed with sterile distilled water (▩) and U-PA (□).
[a-b] mean in the same day followed by different letters are significantly different ($p \leq 0.05$).

log CFU/g ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา พบว่าการล้างผักกาดขาวตัดแต่งด้วย U-PA สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนผักกาดขาวได้ 2.63 และ 1.96 log CFU/g ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่าการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ลดได้เพียง 0.61 และ 0.51 log CFU/g ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะคลื่นเสียงความถี่สูงมีการสร้างและแตกของฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมาก (cavitation bubbles) ทำให้เกิดคลื่นกระแทก (shock wave) ซึ่งจะทำให้จุลินทรีย์หลุดจากการเกาะติดและทำลายผนังเซลล์จุลินทรีย์ทำให้เซลล์จุลินทรีย์เกิดการบาดเจ็บและตาย (Yu *et al*., 2020) ในขณะที่กรดเพอร์แอซิติกเป็นสารฆ่าเชื้อประเภทกรดเมื่อผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์มีผลทำให้โปรตีน DNA และ RNA ภายในเซลล์เกิดการเสียสภาพ (Wang *et al*., 2022) จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้ U-PA มีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผักกาดขาวตัดแต่งได้สูงกว่าน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และไม่ต้องกังวลปัญหาสารตกค้างอันตรายที่อาจเหลือทิ้งไว้ในผักกาดขาวหลังการล้างเพราะกรดเพอร์แอซิติกจะสลายตัวเป็นกรดแอซิติกและออกซิเจนหลังการใช้งาน (Lippman *et al*., 2020)

ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพของผักกาดขาวตัดแต่งในระหว่างเก็บรักษา 7 วัน (Figure 2) พบว่าผักกาดขาวตัดแต่งที่ล้างด้วย U-PA มีคะแนนลักษณะปรากฏและกลิ่นผิดปกติไม่แตกต่างจากชุดควบคุม แต่การเกิดสีน้ำตาลมีคะแนนแตกต่างกันเล็กน้อยในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามในทุกลักษณะทางกายภาพของผักกาดขาวตัดแต่งยังคงมีคะแนนประเมิน $\geq$ 3.00 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผักกาดขาวตัดแต่งมีลักษณะทางกายภาพอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และเมื่อพิจารณาจาก Figure 3A-3D และ Figure 3E-3H จะเห็นว่าลักษณะปรากฏของผักกาดขาวตัดแต่งที่ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อและ U-PA ที่เก็บรักษาที่ 5°C ในวันที่ 0, 1, 4 และ 7 ตามลำดับ ผักกาดขาวยังคงความสดไม่เหี่ยวแต่อาจมีสีน้ำตาลที่รอยตัดเล็กน้อยในวันที่ 7 ดังนั้นการใช้ U-PA ล้างทำความสะอาดทำให้สามารถเก็บรักษาผักกาดขาวตัดแต่งที่ 5°C ได้นาน 7 วัน

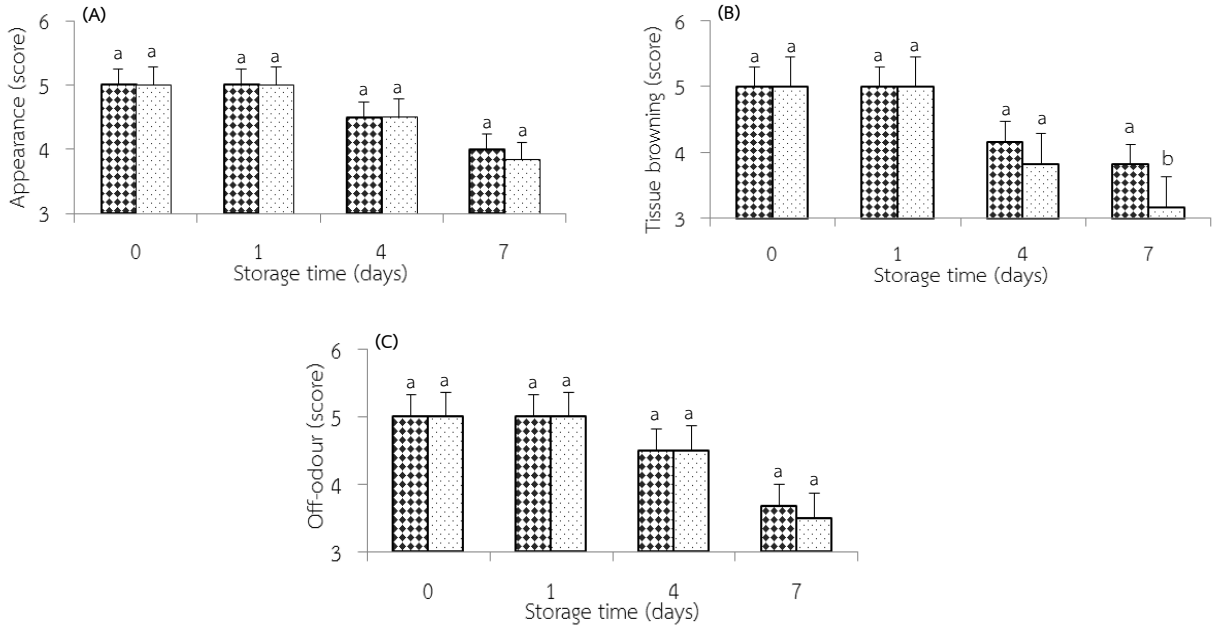

Figure 2. Physical characteristic evaluation of fresh-cut Chinese cabbage washed with U-PA stored at 5°C for 7 days. Appearance (A), tissue browning (B), and off-odor (C) when washed with sterile distilled water (▩) and U-PA (■).
[a-b] mean in the same day followed by different letters are significantly different ($p \leq 0.05$).

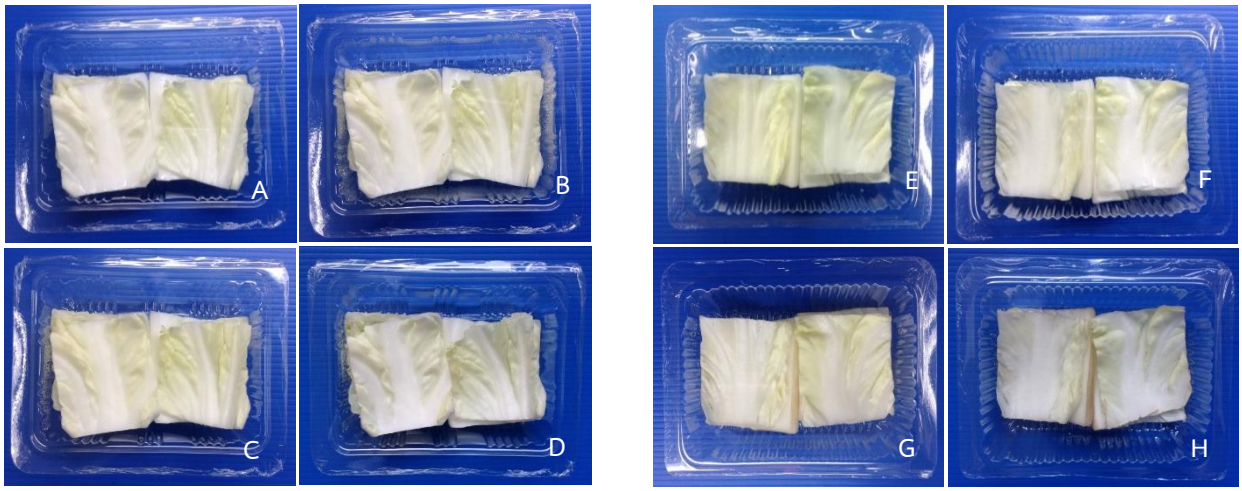

Figure 3. Physical characteristics of fresh-cut Chinese cabbage stored at 5°C after washed with sterile distilled water on day 0 (A), 1 (B), 4 (C), and 7 (D), and washed with U-PA on day 0 (E), 1 (F), 4 (G), and 7 (H).

สรุป

การใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับกรดเพอร์แอซิติกเป็นเวลา 3 นาที มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผักกาดขาวและชะลอการเพิ่มปริมาณในระหว่างการเก็บรักษาได้ จึงเป็นวิธีทางเลือกที่มีศักยภาพในการใช้ล้างทำความสะอาดเพื่อลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์และเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคผักกาดขาวตัดแต่ง

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนาศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่ และสนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Dai, J., M. Bai, C. Li, H. Cui and L. Lin. 2020. Advances in the mechanism of different antibacterial strategies based on ultrasound technique for controlling bacterial contamination in food industry. Trends in Food Science and Technology 105: 211–222.

Machado, M.C.de M.M., B.M. Lepaus, P.C. Bermardes and J.F.B. de Sao Jose. 2022. Ultrasound, acetic acid and peracetic acid as alternatives sanitizers to chlorine compounds for fresh-cut kale decontamination. Molecules 27: 7019.

Lippman, B., S. Yao, R. Huang and H. Chen. 2020. Evaluation of the combined treatment of ultraviolet light and peracetic acid as an alternative to chlorine washing for lettuce decontamination. International Journal of Food Microbiology 323: 108590.

Sagong, H., H. Cheon, S. Kim, S. Lee, K. Park, M. Chung, Y. Choi and D. Kang. 2013. Combined effects of ultrasound and surfactants to reduce *Bacillus cereus* spores on lettuce and carrots. International Journal of Food Microbiology 160: 367-372.

Yu, H., Y. Liu, L. Li, Y. Guo, Y. Xie, Y. Cheng and W. Yao. 2020. Ultrasound-involved emerging strategies for controlling foodborne microbial biofilms. Trends in Food Science and Technology 96: 91–101.

Wang, J., Z. Wu and H. Wang. 2022. Combination of ultrasound-peracetic acid washing and ultrasound-assisted aerosolized ascorbic acid: A novel rinsing-free disinfection method that improves the antibacterial and antioxidant activities in cherry tomato. Ultrasonics sonochemistry 86: 106001.