

อายุการเก็บรักษาของมะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบยับยั้งจุลินทรีย์ Shelf life of tomato coated with antimicrobial coating

ปาริชาติ ธรรมนราทิพย์¹ กมลวรรณ แจ่มชัด¹ อนุวัตร แจ่มชัด¹ และ สุนีย์ นิธิสินประเสริฐ²
Parichart Thummaratip¹, Kamolwan Jangchud¹, Anuvat Jangchud¹ and Sunee Nitisinprasert²

Abstract

Microorganisms are one of the most important factors causing fresh tomato deterioration. Therefore, the antimicrobial coating is significant for shelf life extension of fresh tomatoes. The objective of this research was to study the effect of natural antimicrobial agents incorporated with edible coating on shelf life of tomato. The efficiency of combined antimicrobial compounds was studied using the 2X2 factorial in completely randomized design: 2 levels of nisin concentration (1,000 and 10,000 IU/ml), and 2 levels of eugenol or thymol concentration (500 and 1,000 ppm). The antimicrobial activity of combined compounds was determined using the disc agar diffusion method. The results revealed that 10,000 IU/ml nisin and 1,000 ppm eugenol had the most efficiency to inhibit microorganism. For the study of tomato shelf life, tomatoes were prepared by coating with antimicrobial agents incorporated with 1.5% (w/v) chitosan solution stored at $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ and $65\pm 5\% \text{RH}$. It was showed that the optimum antimicrobial agents used for tomato coating was 10,000 IU/g nisin film and 15,000 ppm eugenol. This antimicrobial coating could delay the color change on surface and reduced percentage of deterioration. The firmness and total titratable acidity of tomato during storage time were 60.77-65.00 N and 0.20-0.37%, respectively. The shelf life of tomato with antimicrobial coating was 21 days whereas non-coated tomato only had shelf life of 14 days.

Keywords: natural antimicrobial agents, coating, tomato

คำนำ

จุลินทรีย์เป็นสาเหตุที่สำคัญอย่างหนึ่งของการเสื่อมเสียของมะเขือเทศสด ดังนั้นสารเคลือบยับยั้งจุลินทรีย์จึงมีความสำคัญในการนำมาใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษามะเขือเทศสด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของสารยับยั้งจุลินทรีย์จากธรรมชาติผสมสารเคลือบที่สามารถรับประทานได้ต่ออายุการเก็บรักษามะเขือเทศ การศึกษาประสิทธิภาพของสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสม โดยจัดสิ่งทดลองแบบแฟคทอเรียล 2X2 ในการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ศึกษาโนซินที่ความเข้มข้น 2 ระดับคือ 1,000 และ 10,000 IU/ml และยูจีนอลหรือไทมอลที่ความเข้มข้น 2 ระดับ คือ 500 และ 1,000 ppm โดยใช้วิธี disc agar diffusion พบว่าโนซิน 10,000 IU/ml ผสมยูจีนอล 1,000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ดีที่สุด เมื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาของมะเขือเทศที่เตรียมโดยเคลือบด้วยสารละลายไคโตแซน 1.5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ และความชื้นสัมพัทธ์ $65\pm 5\%$ พบว่าสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับสารเคลือบผิวมะเขือเทศคือ ไคโตแซนผสมโนซิน 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม และยูจีนอล 15,000 ppm ซึ่งช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงสีผิว ลดปริมาณการเน่าเสีย มะเขือเทศมีค่าความแน่นเนื้อ 60.77-65.00 นิวตัน และปริมาณกรดทั้งหมดจากการไทเทรต 0.20-0.37% ตลอดอายุการเก็บรักษา มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบยับยั้งจุลินทรีย์มีอายุการเก็บรักษา 21 วัน ขณะที่มะเขือเทศไม่เคลือบผิวมีอายุการเก็บรักษา 14 วัน

คำสำคัญ: สารยับยั้งจุลินทรีย์ธรรมชาติ, สารเคลือบผิว, มะเขือเทศ

¹ ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 50 ถนนพหลโยธิน จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

¹ Product Development, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, 50 Phahon Yothin Road, Chatuchak, Bangkok, 10900

² ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 50 ถนนพหลโยธิน จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

² Biotechnology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, 50 Phahon Yothin Road, Chatuchak, Bangkok, 10900

คำนำ

เมื่อการเน่าเสียของอาหารเกิดขึ้น อาหารจะเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทั้งทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และประสาทสัมผัส ซึ่งการใช้สารเคลือบผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์นำมาเคลือบผิวผลผลิตเกษตรสามารถเพิ่มอายุการเก็บรักษาได้ เพราะสารเคลือบช่วยควบคุมการถ่ายเทความชื้น การแลกเปลี่ยนแก๊ส กระบวนการสุก และยังช่วยควบคุมการแพร่ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ไปสู่ผิวของอาหาร เพื่อให้คงความเข้มข้นอยู่ในระดับที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ให้นานขึ้น โดยที่สารยับยั้งจุลินทรีย์ช่วยในยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร

โคโคซานได้มาจากเปลือกแข็งของสัตว์น้ำหรือผนังเซลล์ของยีสต์รา เมื่อนำมาใช้เป็นสารเคลือบผิวผักและผลไม้ โคโคซานมีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ชะลอการสร้างเอธิลีน เพิ่มปริมาณแก๊สคาร์บอนิก และลดแก๊สออกซิเจนในผักและผลไม้ (Lazaridou and Biliaderis, 2002) ไนซินเป็นแบคทีเรียโอสินมีความสามารถในการฆ่าหรือยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก โดยเข้าทำปฏิกิริยาที่เยื่อหุ้มเซลล์ เกิดรู ทำให้แรงในการเคลื่อนที่ของโปรตอนถูกทำลายกับเกิดการไหลออกของส่วนประกอบต่างๆ ในเซลล์ จนกระทั่งเซลล์ตาย (Adams, 2003) สารประกอบฟีนอลิกพบเป็นสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากพืช มีความสามารถในการนำมาใช้เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์และสามารถควบคุมโรคพืชที่เกิดภายหลังการเก็บเกี่ยวได้ โดยการเข้าทำลายเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนสปอร์ เมื่อเอนไซม์เสียหายทำให้อัตราการเจริญและการงอกของสปอร์ช้าลง (Ippolito and Nigro, 2003) การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารยับยั้งจุลินทรีย์จากธรรมชาติต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่เน่ามะเขือเทศ และศึกษาผลของสารเคลือบผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์จากธรรมชาติที่มีต่ออายุการเก็บรักษาของมะเขือเทศ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การศึกษาสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ

ศึกษากิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ที่แยกได้จากมะเขือเทศ ได้แก่ กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ยีสต์ และรา โดยนำเชื้อจุลินทรีย์มาศึกษาด้วยวิธี disc agar diffusion (ใช้กระดาษทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) วางแผนการทดลอง 2X2 factorial in CRD ทดสอบกับสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสม คือ ไนซินที่ความเข้มข้น 1,000 และ 10,000 IU/มิลลิกรัม กับยูจีนอลที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm หรือไทมอลที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm ตรวจลักษณะวงใสที่เกิดขึ้น และวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในหน่วยมิลลิเมตร

2. การศึกษาคุณภาพของมะเขือเทศที่เคลือบด้วยสารเคลือบผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษา

สิ่งทดลองที่ศึกษาอายุการเก็บรักษาของมะเขือเทศเคลือบด้วยสารเคลือบโคโคซาน 1.5% ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์แสดงดังตารางที่ 1 โดยความเข้มข้นของไนซินใช้ได้สูงสุดเพียง 10,000 IU/g เนื่องจากข้อกำหนดให้ใช้ในชีสในอาหาร (ชีส) ได้ไม่เกินจำนวนดังกล่าว (Cleveland *et al.*, 2001) นำมะเขือเทศที่เคลือบผิวและแห้งแล้วไปบรรจุลงในถุงพลาสติกพอลิโพรไพลีน ขนาด 6X9 นิ้ว ที่เจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จำนวน 4 รู ทั้งสองด้านของถุง บรรจุลงละ 3 ลูก เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25±2°C และมะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิวเป็นตัวอย่างควบคุม สุ่มตัวอย่างสัปดาห์ละ 2 ครั้ง (ทุก 3 และ 4 วัน) วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ การเสื่อมเสีย (พิจารณาจากการมีรอยช้ำ การเจริญของเชื้อรา หรือลักษณะที่ผิดปกติ เช่น มีการบวมเต่ง ในขณะที่มีเนื้อเหลวอยู่ภายในของผลมะเขือเทศ ซึ่งความผิดปกติดังกล่าวมากกว่า 10% ของผลมะเขือเทศ) ค่าสี (L* และ hue angle) และค่าความแน่นเนื้อ คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณกรดจากการไทเทรต (AOAC, 2002) คุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่ วิเคราะห์จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ TPC ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA จำนวนกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ยีสต์ และรา และคุณภาพทางประสาทสัมผัส ประเมินโดยวิธีการทดสอบพรรณนาเชิงปริมาณ (Quantitative Descriptive Analysis, QDA) กับผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ร่วมกับการทดสอบโดยวิธี overall quality rating ซึ่งเปรียบเทียบตัวอย่างที่ทดสอบกับตัวอย่างมาตรฐาน (มะเขือเทศสดใหม่) หยุดวิเคราะห์เมื่อมีปริมาณการเสื่อมเสียมากกว่า 25% ของจำนวนมะเขือเทศเริ่มต้นตามข้อกำหนด USDA (1997) หรือมีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสไม่เป็นที่ยอมรับ ยกเว้นคุณภาพทางจุลินทรีย์จะวิเคราะห์จนกระทั่งมีจำนวนเชื้อเกินมาตรฐาน

Table 1 Concentration of coating and antimicrobial agents used in the study of tomato shelf life.

Treatment	Concentration of coating and antimicrobial agents		
	Chitosan (%)	Nisin (IU/g film)	Eugenol (ppm)
Control	-	-	-
Chitosan	1.5	-	-
*Trt1	1.5	10,000	1,000
Trt2	1.5	10,000	10,000
Trt3	1.5	10,000	15,000
Trt4	1.5	10,000	20,000

Note * The concentration of nisin and eugenol from disc agar diffusion

ผล

1. การศึกษาสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ

จากผลการทดลองโดยวิธี disc agar diffusion พบว่าชนิดของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่นำมาผสมกัน และระดับความเข้มข้นของสารผสมที่แตกต่างกันมีผลต่อประสิทธิภาพของการยับยั้งจุลินทรีย์ ซึ่งความเข้มข้นของสารยับยั้งเชื้อที่เหมาะสมสำหรับยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จากมะเขือเทศ คือสารผสมระหว่างไนซินที่ความเข้มข้น 10,000 IU/มิลลิเมตร กับยูจีนอลที่ความเข้มข้น 1,000 ppm

2. การศึกษาคุณภาพของมะเขือเทศที่เคลือบด้วยสารเคลือบผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษา

จากผลการทดลองพบว่าสิ่งทดลอง Control, Chitosan, Trt1, Trt2, Trt3 และ Trt4 มีอายุการเก็บรักษาเท่ากับ 17, 10, 10, 3, 21 และ 14 ตามลำดับ

2.1 คุณภาพทางกายภาพ การเสื่อมเสียหรือการเน่าเสีย พบว่ามะเขือเทศที่เน่าเสียเร็วที่สุด คือ Trt2 รองลงมา คือ Trt1, Chitosan, Trt4, Control และ Trt3 ตามลำดับ โดยต้องคัดทิ้งไปเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 7, 10, 10, 14, 21 และ 24 วัน ตามลำดับ เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น พบว่ามะเขือเทศทุกสิ่งทดลองมีความแน่นเนื้อ ค่าความสว่าง และค่ามุมของสีลดลง ($p \leq 0.05$) โดยค่าสีเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีแดง และค่ามุมของสีของมะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิวมีการเปลี่ยนแปลงเร็วกว่ามะเขือเทศที่เคลือบ

2.2 คุณภาพทางเคมี พบว่าปริมาณกรดจากการไทเทรตลดลงจาก 0.37% ในวันแรกของการเก็บรักษาไปเป็นค่าอยู่ในช่วง 0.20-0.33% ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา

2.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์ พบว่าจำนวน TPC เพิ่มมากขึ้นเมื่อเก็บรักษานานขึ้น โดยมีกำหนดให้มีจำนวน TPC ในอาหารทั่วไปน้อยกว่า 1×10^6 CFU/กรัมของอาหาร ซึ่ง Trt3 มีจำนวนเกินมาตรฐานในวันที่ 24 รองลงมาคือ Control (วันที่ 21) Trt4 (วันที่ 14) Chitosan (วันที่ 10) Trt1 (วันที่ 10) และ Trt2 (วันที่ 10) ขณะที่จุลินทรีย์อื่นมีจำนวนไม่เกินมาตรฐาน

2.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยวิธีการทดสอบ QDA พบว่ามะเขือเทศมีการพัฒนาของสีแดง ความเหี่ยวเพิ่มขึ้น แต่คะแนนความแน่นเนื้อมีค่าลดลง ($p \leq 0.05$) โดย Control มีการเปลี่ยนแปลงสีเร็วกว่าสิ่งทดลองอื่น เมื่อทดสอบ overall quality rating พบว่า Control, Trt3 และ Trt4 มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับเมื่อเก็บรักษาถึงวันที่ 14, 21 และ 10 ตามลำดับ แต่ Chitosan, Trt1 และ Trt2 มีการเสื่อมเสียมากกว่า 25% ก่อนที่คุณภาพทางประสาทสัมผัสไม่เป็นที่ยอมรับ

วิจารณ์ผล

การใช้สารยับยั้งผสมระหว่างไนซินและยูจีนอลในปริมาณที่เหมาะสมช่วยปรับปรุงการทำงานของสาร ทำให้การต่อต้านเชื้อดีขึ้นกว่าการใช้สารยับยั้งเพียงชนิดเดียว จากการศึกษาอายุการเก็บของมะเขือเทศโดยใช้สารเคลือบโคโคแซนร่วมกับสารยับยั้งผสม พบว่าการเคลือบผิวด้วยสารเคลือบโดยไม่ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์มีผลให้มะเขือเทศเน่าเสียมากกว่าไม่เคลือบผิวเนื่องจากการเคลือบผิวมีผลต่อการถ่ายเทของแก๊ส เกิดการสะสมของสารพิษ ทำให้เนื้อเยื่อของมะเขือเทศถูกทำลายได้ง่ายจากเชื้อจุลินทรีย์ (Risse *et al.*, 1987) สำหรับการเลือกใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมพบว่าความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ในสารเคลือบต้องเหมาะสม เพราะปริมาณสารยับยั้งจุลินทรีย์มีผลต่อค่า pH ของสารเคลือบ ซึ่งไนซินและยูจีนอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีที่ค่า pH ต่ำ ความเข้มข้นของยูจีนอลที่น้อยกว่า 15,000 ppm ไม่สามารถยืดอายุการ

เก็บรักษามะเขือเทศได้ และที่ความเข้มข้น 20,000 ppm อาจมีผลต่อค่า pH ของสารเคลือบทำให้ประสิทธิภาพด้อยกว่าเมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 15,000 ppm การเปลี่ยนแปลงสีของมะเขือเทศเนื่องจากคลอโรฟิลล์สลายตัว และมีการสร้างแคโรทีนอยด์ขึ้น และมะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิวมีการเปลี่ยนแปลงค่าสีเร็วกว่ามะเขือเทศที่เคลือบผิว เนื่องจากสารเคลือบผิวโคโตแซนช่วยลดอัตราการหายใจของผลไม้ และกระบวนการสุก (Devlieghere *et al.*, 2004) การลดลงของความแน่นเนื้อของผลมะเขือเทศเกิดขึ้นเนื่องจากการสลายตัวของผนังเซลล์ ปริมาณกรดจากการไทเทรตลดลง เพราะกรดถูกนำไปใช้ในกระบวนการหายใจของมะเขือเทศ คุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า Trt3 มีคุณภาพยังเป็นที่ยอมรับเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 21 วัน ซึ่งนานกว่ามะเขือเทศไม่เคลือบผิวซึ่งมีคุณภาพยังเป็นที่ยอมรับเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน ดังนั้นสารเคลือบโคโตแซน 1.5% ผสมในชั้นที่ความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอลที่ความเข้มข้น 15,000 ppm เหมาะต่อการเคลือบผิวและใช้ยืดอายุการเก็บรักษามะเขือเทศ

สรุป

การศึกษาสารยับยั้งจุลินทรีย์ผสมที่เหมาะสมต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าสารผสมระหว่างในชั้นที่ความเข้มข้น 10,000 IU/มิลลิเมตร กับยูจินอลที่ความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถยับยั้งจุลินทรีย์จากมะเขือเทศได้ดีที่สุด และพบว่ามะเขือเทศที่มีการเคลือบผิวด้วยสารเคลือบโคโตแซน 1.5% ช่วยชะลอการสุกของมะเขือเทศ แต่มีผลให้มะเขือเทศเกิดการเสื่อมเสียเร็วกว่ามะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิว มะเขือเทศที่เคลือบผิวด้วยสารเคลือบผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์มีอายุการเก็บรักษานานกว่ามะเขือเทศที่ไม่เคลือบผิว ซึ่งความเข้มข้นของสารเคลือบยับยั้งจุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการยืดอายุการเก็บรักษาของมะเขือเทศคือ สารเคลือบโคโตแซน 1.5% ผสมในชั้นที่ความเข้มข้น 10,000 IU/กรัมของฟิล์ม กับยูจินอลที่ความเข้มข้น 15,000 ppm โดยสามารถลดการเสื่อมเสียและการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในมะเขือเทศ และเก็บรักษานาน 21 วัน

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณโครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว และศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- จิ่งแท้ ศิริพานิช. 2541. **สรุวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ
- Adams, M. 2003. Nisin in multifactorial food preservation, pp. 11-26. In S. Roller, ed. **Natural antimicrobials for the minimal processing of foods**. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cambridge.
- Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F. and Chikindas, M.L. 2001. Bacteriocins: Safe, natural antimicrobial for food preservative. **International Journal of Food Microbiology** 71: 1-20.
- Devlieghere, F., Vermeulen, A. and Debevere, J. 2004. Chitosan : antimicrobial activity interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetable. **Journal of Food Microbiology**. 21:703-714.
- Ippolito, A. and Nigro, F. 2003. Natural antimicrobial in postharvest storage of fresh fruits and vegetable, pp. 201-224. In S. Roller, ed. **Natural antimicrobials for the minimal processing of foods**. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cambridge and Boca Raton.
- Lazaridou, A. and Biliaderis, C.G. 2002. Thermophysical properties of chitosan, chitosan-starch and chitosan-pullulan films near the glass transition. **Carbohydrate Polymer** 48: 179-190.
- Risse, L.A., Chun, D., McDonald, R.E. and Miller, W.R. 1987. volatile production and decay during storage of cucumbers waxed, imazalil-treated, and film-wrapped. **HortScience** 22: 274-276.