Agricultural Sci. J. 39 : 3 (Suppl.) : 303-306 (2008) ว. วิทย. กษ. 39 : 3 (พิเศษ) : 303-306 (2551)

ผลของสารสกัดข่าร่วมกับกรดอะซิติกต่อการลดปริมาณ *Escherichia coli* O157: H7ปนเปื้อนบนผักชี

Effect of combined galangal extract with acetic acid to reduce *Escherichia coli* O157:H7 contaminated on coriander

ภัทราวดี ศรีปัญญา[1] และ บุษกร ทองใบ[1]
Pattarawadee Sripanya[1] and Bussagon Thongbai[1]

Abstract

This study performed to determine the efficiency of galangal extract, acetic acid and combined treatment of galangal extract with acetic acid on *Escherichia coli* O157:H7 artificially contaminated coriander. The results showed that the combination of galangal extract (15 mg/ml) with acetic acid (0.5, 1.0 and 2.0%v/v), respectively, were more effective than galangal extract (15mg/ml) and acetic acid (0.5 % (v/v)) alone (p<0.05) in decreasing population of *E. coli* O157:H7 by 1.84, 1.79 and 2.03 $\log_{10}$CFU/g, respectively. Since acetic acid at 1.0 and 2.0% (v/v) had adverse effects on coriander. But acetic acid at 0.5% (v/v) showed no visible color different on coriander. Thus, galangal extract (15 mg/ml) with acetic acid (0.5% v/v) was appropriate treatment to control bacterial populations on coriander. When evaluated the appropriate exposure time at 5, 10, 20 and 30 min to inhibit *E. coli* O157: H7 on coriander. The highest reduction of bacterial populations was 2.97 $\log_{10}$CFU/g (p<0.05) for 30 min. There were adverse effects (wilt and brown) on tested corianders at 20 and 30 min of exposure times, meanwhile the exposure time at 10 min decreased in *E. coli* O157: H7 by 2.06 $\log_{10}$CFU/g without adverse effects. Therefore, the appropriate exposure time was 10 min. The efficiency of incorporation of galangal extract with acetic acid was demonstrated in this study has potential applicability as a natural sanitizer for washing fruits and vegetables.
Keywords: Galangal extract, Acetic acid, Coriander

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดข่า กรดอะซิติกและสารผสมของสารสกัดข่าร่วมกับกรดอะซิติกต่อ *Escherichia coli* O157:H7 ที่สร้างสภาพการปนเปื้อนบนผักชี พบว่าเมื่อใช้สารสกัดข่า (15 mg/ml) ร่วมกับกรดอะซิติก (0.5, 1.0 และ 2.0%v/v) ตามลำดับ สามารถลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ได้ 1.84, 1.79 และ 2.03 $\log_{10}$CFU/g ตามลำดับ ซึ่งดีกว่าการใช้สารสกัดข่าและกรดอะซิติกเพียงอย่างเดียว (p<0.05) แต่เนื่องจากกรดอะซิติก 1.0 และ 2.0%(v/v) นั้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏของผักชี แต่กรดอะซิติก 0.5%(v/v) ไม่พบการเปลี่ยนสีของผักชีเลย ดังนั้นสารสกัดข่า 15 mg/ml ร่วมกับกรดอะซิติก 0.5%(v/v) จึงเป็นสารที่เหมาะสมสำหรับควบคุมปริมาณแบคทีเรียบนผักชี เมื่อศึกษาระยะเวลาแช่ผักชีที่เหมาะสมโดยแปรระยะเวลาแช่ 5, 10, 20 และ 30 นาที พบว่าที่ 30 นาทีสามารถลดปริมาณแบคทีเรียได้มากที่สุด (p<0.05) คือ 2.97 $\log_{10}$ CFU/g โดยพบการเปลี่ยนสีและการเหี่ยวของผักชีเมื่อแช่นาน 20 และ 30 นาที ในขณะที่การแช่ที่ 10 นาทีสามารถลดปริมาณ *E. coli*O157:H7 ได้ 2.06 $\log_{10}$ CFU/g และไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏของผักชีเกิดขึ้น ดังนั้นระยะเวลาการแช่ผักชีที่เหมาะสมคือ10 นาที ซึ่งจากประสิทธิภาพของสารสกัดข่าร่วมกับกรดอะซิติกที่รายงานในการศึกษานี้จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาพัฒนาเป็นน้ำยาล้างผักและผลไม้ที่ทำจากสารธรรมชาติ
คำสำคัญ: สารสกัดข่า กรดอะซิติก ผักชี

คำนำ

ในช่วงระหว่างปี1988-1998ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคติดต่อของสหรัฐอเมริกา (Center for Disease Control, CDC) ได้รายงานการระบาดของ *Escherichia coli* O157:H7 และ *Salmonella* spp. ในผักและผลไม้คิดเป็น 45 และ 38% ตามลำดับ (Gerald *et al*., 2006) *E. coli* O157:H7 เป็นแบคทีเรียก่อโรคสายพันธุ์ที่ก่อโรคร้ายแรงในคนได้โดยเฉพาะในเด็กและคนชราทำให้เกิดอาการไตวาย (haemolytic uraemic syndrome, HUS) และตายได้ ผักชี (*Coriandrum sativum* Linn.)

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาสารคาม 44000
[1] Department of Food Technology and Nutrition, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Mahasarakham

เป็นผักที่นิยมบริโภคสดมีการใช้อย่างแพร่หลายในการทำอาหารของคนจีน เม็กซิโก อเมริกาใต้ อินเดีย และประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีรายงานการปนเปื้อนของ *E. coli* O157:H7 บนผักชี, คื่นช่าย, กะหล่ำปลี และเมล็ดแอลฟาฟ่างอก (Beuchat, 1996) ข่า (*Alpinia galanga* (Linn.) เป็นพืชเครื่องเทศของไทยที่นิยมใช้แต่งกลิ่นอาหาร ดับกลิ่นคาวเนื้อสัตว์และมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ เช่น *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*O157:H7, *Campylobacter jejuni* และ *Clostridium perferingens* (Oonmetta-aree *et al*., 2005; Wannissorn *et al*., 2005) และกรดอะซิติกจัดเป็นสารเจือปนอาหารที่ยอมรับว่าปลอดภัยเมื่อใช้ในปริมาณที่กำหนด (generally recognized as safe: GRAS) อีกทั้งมีฤทธิ์ยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ได้ (Karapinar and Gonul, 1992) ดังนั้นในการศึกษานี้จึงสนใจศึกษาผลของสารสกัดข่าร่วมกับกรดอะซิติกต่อการลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ปนเปื้อนบนผักชีเพื่อเพิ่มความปลอดภัยในอาหาร

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียม *E. coli* O157:H7

E. coil O157:H7 Tryptose soya agar (TSA) slant จากภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ลงใน Tryptose soya broth(TSB) บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงและถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ใน TSB อีก 2 ครั้ง วัดค่าการดูดกลืนแสง (OD_{600}) ด้วยเครื่อง spectrophotometer ได้ประมาณ 0.80-0.90 (10^8 CFU/ml) จากนั้นนำมาเจือจางด้วยสารละลายเปปโตน 0.1%(w/v) เพื่อให้ได้เชื้อเริ่มต้น 10^6 CFU/ml

2. การสร้างสภาพการปนเปื้อนเลียนธรรมชาติของ ***E. coli* O157:H7 บนผักชี**

ผักชีซื้อจากตลาดสดในจังหวัดมหาสารคาม โดยคัดเลือกผักชีที่มีขนาดของใบและลำต้นใกล้เคียงกันและล้างด้วยน้ำประปาประมาณ 5 นาที เพื่อกำจัดสิ่งสกปรกออกไป สะเด็ดน้ำให้แห้งวางบนตะแกรงปลอดเชื้อที่เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นแช่ในเซลล์แขวนลอยของ *E. coli* O157:H7 (10^6 CFU/ml) เป็นเวลา 5 นาทีที่อุณหภูมิห้อง ทิ้งให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 30 นาที

3. ศึกษาสารทดสอบที่เหมาะสมของสารสกัดข่าและกรดอะซิติกต่อการลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนบนผักชี

นำผักชีที่สร้างสภาพปนเปื้อนด้วย *E. coli* O157:H7 แล้วมาล้างด้วยสารสกัดข่า(15 mg/ml) กรดอะซิติก (0.5%v/v) สารสกัดข่า (15 mg/ml) ร่วมกับกรดอะซิติก 0.5,1.0 และ 2.0%v/v ตามลำดับและมีน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นชุดควบคุม โดยแช่ผักชี 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อเขย่าเบาๆเป็นเวลา 10 วินาที เพื่อล้างสารทดสอบที่เหลือออก จากนั้นนำผักชีไปตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตด้วยวิธี spread plate method บน Sorbitol MacConKey Agar และบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชม.

4. ศึกษาระยะเวลาแช่ผักที่เหมาะสมของสารสกัดข่าและกรดอะซิติกต่อการลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนบนผักชี

นำผักชีที่สร้างสภาพปนเปื้อนด้วย *E. coli* O157:H7 แล้วมาทดสอบกับสารทดสอบที่เหมาะสมจากข้อ 3 โดยแช่เป็นเวลา 5, 10, 20 และ 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อเขย่าเบาๆเป็นเวลา 10 วินาที เพื่อล้างสารทดสอบที่เหลือออก นำผักชีไปตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตด้วยวิธี spread plate method บน Sorbitol MacConKey Agar และบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชม.

ผล

1. ผลของสารทดสอบที่เหมาะสมของสารสกัดข่าและกรดอะซิติกต่อการลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนบนผักชี

ผลของสารสกัดข่าร่วมกับกรดอะซิติกต่อการลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนบนผักชีแสดงดังตารางที่ 1 พบว่าสารสกัดข่าและกรดอะซิติกสามารถลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ได้ 0.72 และ 0.90 $\log_{10}$ CFU/g ตามลำดับ โดยไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏ สีและกลิ่นของผักชี และเมื่อใช้สารสกัดข่า15mg/ml ร่วมกับกรดอะซิติกพบว่าสามารถลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ได้มากกว่าการล้างด้วยสารสกัดข่าและกรดอะซิติก ($p<0.05$) โดยลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ได้ 1.84 - 2.03 $\log_{10}$ CFU/g แต่เนื่องจากการใช้สารสกัดข่าร่วมกับกรดอะซิติก 1.0 และ 2.0 %(v/v)นั้น พบว่าลักษณะปรากฏสีและกลิ่นของผักชีเกิดการเปลี่ยนแปลง คือ ผักชีมีลักษณะเหี่ยว(สลบ)และมีสีคล้ำ(คล้ายการไหม้ของใบผัก) และยังมีกลิ่นกรดในผักชี ในขณะที่กรดอะซิติก 0.5 %(v/v)ไม่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏและสีของผักชีเลย ดังนั้นสารสกัดข่า15mg/ml ร่วมกับกรดอะซิติก 0.5 %(v/v)จึงเป็นสารทดสอบที่เหมาะสมในการลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนปนผักชี

Table 1 Effect of Galangal extract, acetic acid and combined galangal extract with acetic acid on E. coli O157:H7 contaminated coriander.

Treatment	Viable count (log_{10}CFU/g)	Log reduction(log_{10}CFU/g)
Control	6.29±0.01[c]	
GE	5.58 ±0.25[b]	0.72 ±0.33[a]
AA (0.5%(v/v))	5.41±0.04[b]	0.90±0.07[a]
GE +AA(0.5%(v/v))	4.46±0.03[a]	1.84±0.07[b]
GE +AA 1.0%(v/v))	4.50±0.10[a]	1.79±0.16[b]
GE +AA 2.0%(v/v))	4.26±0.11[a]	2.03 ±0.10[b]

[a, b, c....] Mean in a column with a different letters are significantly different (p<0.05)

GE = galangal extract 15mg/ml, AA = acetic acid, Control = sterile distilled water

2. ผลของระยะเวลาแช่ผักที่เหมาะสมของสารสกัดข่าและกรดอะซิติกต่อการลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนบนผักชี

จากการศึกษาระยะเวลาแช่ผักชีที่เหมาะสมของสารสกัดข่า15mg/mlร่วมกับกรดอะซิติก0.5%(v/v)เมื่อแปรระยะเวลาแช่เป็น 5, 10, 20 และ 30 นาที (ตารางที่ 2) พบว่าระยะเวลาแช่ยิ่งนานประสิทธิภาพในการลดปริมาณแบคทีเรียยิ่งสูงขึ้น โดยระยะเวลาแช่ 30 นาทีสามารถลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ได้มากที่สุด (p<0.05) คือ 2.97 log_{10} CFU/g แต่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏและสีของผักชี (ลักษณะเหี่ยวและสีคล้ำ) เมื่อแช่นาน 20 และ 30 นาที ในขณะที่แช่แค่ 10 นาทีนั้นไม่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏและสีของผักชีเลยและยังสามารถลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ได้ 2.06 log_{10} CFU/g ดังนั้นระยะเวลาการแช่ผักชีที่เหมาะสมคือ10 นาที

Table 2 Exposures time of combined galangal extract (15mg/ml) with acetic acid on *E. coli* O157:H7 contaminated coriander.

Exposures time (min)	Viable count (log_{10} CFU/g)	Log reduction(log_{10} CFU/g)
Control	6.81 ±0.01[e]	
5	5.34 ±0.11[d]	1.47 ±0.12[a]
10	4.75 ±0.06[c]	2.06±0.07[b]
20	4.37 ±0.16[b]	2.44±0.16[c]
30	3.84 ±0.08[a]	2.97±0.08[d]

[a, b, c....] Mean in a column with a different letters are significantly different (p<0.05)

วิจารณ์และสรุปผล

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดข่า กรดอะซิติกและสารสกัดข่าร่วมกับกรดอะซิติกต่อการลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนบนผักชี พบว่าสารสกัดข่าร่วมกับกรดอะซิติกมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ได้ดีกว่าการใช้สารสกัดข่าหรือกรดอะซิติกเพียงอย่างเดียว(p<0.05) ซึ่งเป็นผลจากการทำงานแบบเสริมฤทธิ์กันของสารสกัดข่าและกรดอะซิติกในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยกรดอะซิติกที่ไม่แตกตัวสามารถผ่านเข้าไปในเซลล์จุลินทรีย์ได้และจะแตกตัวมีผลให้ความเป็นกรด-ด่างภายในเซลล์ลดลงทำให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ (Karapinar and Gonul, 1992) จากนั้นเซลล์ที่บาดเจ็บจะถูกสารสกัดข่าซึ่งมี D,L-1′-acetoxychavicol acetate (ACA) เป็นองค์ประกอบหลักและมีฤทธิ์ต่อเซลล์ของแบคทีเรียสามารถผ่านผนังเซลล์ที่บาดเจ็บเข้าไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นในและนอกของแบคทีเรียได้ดียิ่งขึ้น มีผลให้เกิดการสูญเสียไซโตพลาสซึมในเซลล์เนื่องจากสารต่างๆที่อยู่ภายในเซลล์ไหลออกมานอกเซลล์ (Oonmetta-aree *et al*., 2005) จึงพบการตาย

ของแบคทีเรียสูงขึ้น และเมื่อใช้ร่วมกับกรดอะซิติกที่ความเข้มข้นสูงขึ้นยิ่งทำให้ประสิทธิภาพในการทำลาย *E. coli* O157:H7 ยิ่งสูงตามไปด้วย แต่เนื่องจากความเข้มข้นที่สูงขึ้นของกรดอะซิติกนั้นมีผลต่อเปลี่ยนแปลงที่ไม่ต้องการต่อลักษณะปรากฏและสีของผักชี ในขณะที่กรดอะซิติก 0.5% (v/v)ไม่พบการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ ดังนั้นสารที่เหมาะสมในการลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนปนผักชีได้คือ สารสกัดข่า15mg/mlร่วมกับกรดอะซิติก 0.5 %(v/v) ผลของระยะเวลาแช่ผักชีที่เหมาะสมพบว่า**ปริมาณของ** *E. coli* O157:H7**ที่ลดนั้นจะสัมพันธ์กับระยะเวลาแช่ผักโดยที่ 20 และ 30 นาทีจะมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณแบคทีเรียสูงแต่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏและสีของผักชีด้วย ในขณะที่** 10 นาทีไม่มีการเปลี่ยนแปลงของผักชีเลย ดังนั้นระยะเวลาการแช่ที่เหมาะสมคือ 10 นาทีและลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ได้ 2.06 $\log_{10}$ CFU/g จากประสิทธิภาพของสารสกัดข่าร่วมกับกรดอะซิติกที่ในการศึกษานี้ จึงมีความเหมาะสมที่จะพัฒนาเป็นน้ำยาล้างผักและผลไม้จากสารธรรมชาติเพื่อเป็นทางเลือกใหม่ที่ลดความเสี่ยงเรื่องการตกค้างของสารเคมีจากสารฆ่าเชื้อที่ใช้ล้างผักผลไม้สดช่วยเพิ่มความปลอดภัยและปรับปรุงคุณภาพชีวิตของผู้บริโภคให้ดียิ่งขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆในการทำวิจัยและกองส่งเสริมและพัฒนางานวิจัยมหาวิทยาลัยมหาสารคามสำหรับทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ของนิสิตระดับปริญญาโทงบประมาณเงินรายได้ ประจำปี 2551

เอกสารอ้างอิง

Beuchat; LR. 1996. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. Journal of Food Protection 59(2): 204-216.

Burnett, SL and LR. Beuchat, 2000. Review Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices, and difficulties in decontamination. Journal of Industrial Microbiology& Biotechnology 25: 281-287.

Gerald, M.S; R.G. James and E. Y. Ahmed . 2006. Microbiology of fruits and vegetables. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, United States of America. 634 pp.

Karapinar,; M. and S.A. Gonul. 1992. Removal of *Yersinia enterocolitica* from fresh parsley by washing with acetic acid or vinegar. International Journal of Food Microbiology 16: 261-267,

Oonmetta-aree, J; T. Suzuki, P. Gasaluck and G. Eumke. 2006. Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. LWT 39: 1214-1220.

Wannissorn , B; S. Jarikasem, T. Siriwangchai and S. Thubthimthed. .2005. Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants, Fitoterapia 76: 233-236.