Agricultural Sci. J. 42 : 1 (Suppl.) : 167-170 (2011) ว. วิทย. กษ. 42 : 1 (พิเศษ) : 167-170 (2554)

ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดใบฝรั่งร่วมกับกรดอินทรีย์ต่อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนผลมะเขือเทศ

Antimicrobial Efficacy of Guava Leaf Extract with Organic Acids Against Contaminated Microorganisms on Tomato Fruits

บุษกร ทองใบ[1] และ ลักขณา บรรณสาร[1]
Bussagon Thongbai[1] and Lakkhana Bannasan[1]

Abstract

The aim of this work was to evaluate the antimicrobial activity of guava leaf extract (GE) and organic acids [lactic acid (LA) and citric acid (CA)] to inhibit microorganisms on tomato. Tomatoes were washed with sterile distilled water (T1), GE (10mg/ml) plus LA (1%v/v) (T2) and GE (10mg/ml) in combination with LA (0.4%v/v) and CA (0.5%w/v) (T3) for 30 min and then stored at 4-7°C for 30 days. The results demonstrated that T1, T2 and T3 were effective in reducing total aerobic bacteria by 0.53, 3.20 and 4.21 log reduction, respectively and decreasing coliforms by 1.39, 3.83 and 3.83 log reduction, respectively. Population of contaminated microorganisms on treated tomatoes were then determined during storage. Total aerobic bacteria were 4.68-7.19 logCFU/tomato fruit (T1), 2.01-5.25 logCFU/tomato fruit (T2) and <1.0-3.58 logCFU/tomato fruit (T3). Coliforms were also found 2.44-4.74 logCFU/tomato fruit (T1), 0-1.79 logCFU/tomato fruit (T2) and not detected (T3). Appearance, bruises and presence of free liquid within package, undesirable odor and soft rot were found after 25 days of storage. These tests indicated that it was possible to control population of microorganisms on tomato with GE and organic acids (lactic acid and citric acid) to enhance microbiological safety of tomato.

Keywords: guava leaf extract, organic acids, tomato

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อประเมินความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดใบฝรั่งและกรดอินทรีย์ (กรดแลกติกและกรดซิตริก) เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมะเขือเทศ ล้างมะเขือเทศด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (T1) สารสกัดใบฝรั่ง (10mg/ml) และกรดแลกติก (1%v/v) (T2) และสารสกัดใบฝรั่ง (10mg/ml) ร่วมกับกรดแลกติก (0.4%v/v) และกรดซิตริก (0.5%w/v) (T3) เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่ 4-7°C เป็นเวลา 30 วัน จากผลการทดลองพบว่า T1, T2 และ T3 สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ปนเปื้อนมะเขือเทศได้ 0.53, 3.20 และ4.21 log reduction ตามลำดับ และลดโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนได้ 1.39, 3.83 และ 3.83 log reduction ตามลำดับ เมื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมะเขือเทศในระหว่างการเก็บรักษา พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 4.68-7.19 logCFU/ผล (T1), 2.01-5.25 logCFU/ผล (T2) และ <1.0-3.58 logCFU/ผล (T3) และมีปริมาณโคลิฟอร์ม 2.44-4.74 logCFU/ผล (T1), 0-1.79 logCFU/ผล (T2) และไม่พบการเจริญของโคลิฟอร์ม (T3) โดยพบว่าภายหลังการเก็บรักษาวันที่ 25 เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏของผลมะเขือเทศโดยมีลักษณะช้ำและมีน้ำไหลออกมาภายในบรรจุภัณฑ์ กลิ่นผิดปกติและผลเริ่มเน่าเสีย ซึ่งจากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้สารสกัดใบฝรั่งร่วมกับกรดอินทรีย์ (กรดแลกติกและกรดซิตริก) ในการควบคุมปริมาณของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมะเขือเทศเพื่อเพิ่มความปลอดภัยด้านจุลินทรีย์ของมะเขือเทศได้

คำสำคัญ: สารสกัดใบฝรั่ง, กรดอินทรีย์, มะเขือเทศ

คำนำ

มะเขือเทศเป็นพืชที่นิยมบริโภคแพร่หลายไปทั่วโลกและจัดเป็นพืชผักเศรษฐกิจและอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทยที่ส่งไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศทั้งในรูปของผลสดและการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ (น้ำมะเขือเทศ ซอสมะเขือเทศ) มีมูลค่านับพันล้านบาทต่อปี (ประสิทธิ์, 2544) แต่ปัญหาสำคัญของผลิตผลสด เช่น มะเขือเทศคือมักพบการ

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

ปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากน้ำและดินจากแปลงเพาะปลูก ในปี 2006 สำนักงานควบคุมและป้องกันโรคประเทศสหรัฐอเมริกา รายงานการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจาก *Salmonella* ที่ปนเปื้อนมะเขือเทศที่นำไปประกอบอาหารในภัตตาคารพบผู้ป่วยถึง 183 ราย ซึ่งการพยายามลดปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จึงมีความสำคัญยิ่งต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค การล้างด้วยน้ำยาล้างผักเป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมมาก แต่เนื่องจากน้ำยาล้างผักส่วนใหญ่เป็นสารเคมี เช่น สารประกอบคลอรีน ซึ่งอาจทำให้ผักและผลไม้มีกลิ่นของคลอรีนตกค้างและยังกระตุ้นให้เกิดสารก่อมะเร็งที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ (Ames,1979) ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงได้เลือกใช้สารจากธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ในอาหาร โดยศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดใบฝรั่งซึ่งมีแทนนินและเคอซิตินเป็นส่วนประกอบและมีคุณสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ได้ โดยการใช้ร่วมกับกรดอินทรีย์ (กรดแลกติกและกรดซิตริก)เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมะเขือเทศที่เก็บรักษาที่ 4-7°Cเป็นเวลา 30วัน เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ในการใช้สารจากธรรมชาติช่วยยืดอายุการเก็บรักษาและเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคผักผลไม้สดของผู้บริโภคได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสารสกัดใบฝรั่ง

นำใบฝรั่ง(ใบเพสลาด) อบแห้งที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บดให้ละเอียด นำใบฝรั่งอบแห้งจำนวน 50 กรัม เติมเอทานอลความเข้มข้น 95% ปริมาตร 500 ml เขย่าด้วยเครื่องเขย่า(100 rpm) เป็นเวลา 2 วัน (ศราวุฒิ และ ศันสนีย์, 2547) จากนั้นกรองและระเหยเอทานอลออกด้วย rotary vacuum evaporator ละลายกลับด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อและทำให้สารสกัดใบฝรั่งปลอดเชื้อด้วยการกรอง (filtration, ϕ 0.2 µm) เก็บที่อุณหภูมิ -18°C

การเตรียมตัวอย่างมะเขือเทศ

มะเขือเทศสดซื้อจากตลาดสดในจังหวัดมหาสารคาม คัดเลือกผลมะเขือเทศที่มีน้ำหนักและขนาดที่ใกล้เคียงกัน (60-70 กรัม/ผล) ล้างมะเขือเทศด้วยน้ำประปาเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกที่ติดมาออกจากผลมะเขือเทศ สะเด็ดน้ำให้แห้งบนตะแกรงที่ปลอดเชื้อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมงใน biological safety cabinet (จิตศิริ, 2543) โดยแบ่งผลมะเขือเทศไปตรวจหา background flora ที่ปนเปื้อนมะเขือเทศก่อนทำการทดสอบโดยใช้วิธี swab ผิวมะเขือเทศ ตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total aerobic bacteria) และปริมาณโคลิฟอร์ม (coliforms) บน standard method agar (SMA) และ violet red bile agar (VRBA) ตามลำดับ บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง และรายงานปริมาณจุลินทรีย์เป็น logCFU/ผล

ศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดใบฝรั่งร่วมกับกรดอินทรีย์ต่อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมะเขือเทศ

แบ่งมะเขือเทศที่เตรียมได้ข้างต้นเป็น 3 ชุด โดยชุดที่ 1 ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (T1) ชุดที่ 2 ล้างด้วยสารสกัดใบฝรั่ง(GE) 10 mg/ml และกรดแลกติก(LA) 0.4% (v/v) (T2) และชุดที่ 3 ล้างด้วย GE (10 mg/ml) ร่วมกับ LA (0.4% w/v) และกรดซิตริก (CA) (0.5% v/v) (T3) เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 10 วินาทีเพื่อล้างสารทดสอบที่เหลือออกไป นำมะเขือเทศไปสะเด็ดน้ำบนตะแกรงปลอดเชื้อใน biological safety cabinet ที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง บรรจุมะเขือเทศในถาดโฟม 3 ผล/ถาด หุ้มด้วยฟิล์มยืดและเก็บที่อุณหภูมิ 4-7°C เป็นเวลา 30 วัน โดยสุ่มตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและโคลิฟอร์มทุกๆ 5 วัน

ผลและวิจารณ์

ผลการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดบนผลมะเขือเทศที่เก็บที่ 4-7°Cเป็นเวลา 30 วัน พบว่ามะเขือเทศที่ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (T1) มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดบนมะเขือเทศ 4.68-7.19 log CFU/ผล และล้างด้วย T2 พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 2.01 - 5.25 logCFU/ผล แต่เมื่อล้างด้วย T3 พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่รอดชีวิตลดลงเหลือ <1 log CFU/ผล ในการเก็บรักษาวันที่ 0, 1, 5, 10 และ15 และจะเพิ่มขึ้นเป็น 1.59, 2.56 และ 3.58 logCFU/ผล ในวันที่ 20, 25 และ 30 ตามลำดับ (Table 1) และผลการศึกษาปริมาณโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนบนมะเขือเทศเก็บที่ 4-7°C นาน 30 วัน ที่ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (T1) พบว่ามีปริมาณโคลิฟอร์ม 2.44-4.74 logCFU/ผล แต่เมื่อล้างด้วย T2 จะไม่พบโคลิฟอร์มเลยในการเก็บรักษาวันที่ 0 และพบ < 1 logCFU/ผล ในวันที่ 1 โดยปริมาณโคลิฟอร์มเพิ่มขึ้นในวันที่ 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 ของการเก็บรักษา (1.72, 1.86, 1.78, 1.46, 1.78 และ 1.79 logCFU/ผล ตามลำดับ) และเมื่อล้างด้วย T3 ก็ไม่พบการรอดชีวิตของโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนบนมะเขือเทศเลยตั้งแต่วันที่ 0 - 30 ของการเก็บรักษา (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับ Allende *et al*. (2009) ที่รายงานผลของการใช้กรดซิตริก 0.6% เป็นเวลา 1 นาที สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนผักชีตัดแต่งได้ โดยพบการ

รอดชีวิตของ *E. coli* O157:H7 และ aerobic mesophilic bacteria <1 logCFU/g และยีสต์และรา < 2 logCFU/g นอกจากนี้ Rattanachaikunsopol and Phumkhachorn (2007) ได้รายงานว่าสารสกัดใบฝรั่งมีสารประกอบ flavonoids (tannin และ quercetin) เป็นส่วนประกอบซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ต่อเยื่อหุ้มเซลล์และการทำงานของเอนไซม์ของจุลินทรีย์ ดังนั้น เมื่อใช้สารสกัดใบฝรั่งร่วมกับกรดอินทรีย์ (กรดแลกติกและกรดซิตริก) จึงให้ผลในการยับยั้งจุลินทรีย์แบบเสริมฤทธิ์กัน (synergistic effect) โดยสารสกัดใบฝรั่งซึมผ่านเซลล์จุลินทรีย์ที่บาดเจ็บจากกรดอินทรีย์เข้าไปทำลายเซลล์ได้มากยิ่งขึ้น

Table 1 Population of total aerobic bacteria and coliforms on tomato stored at 4-7°C for 30 days

Day	Population (logCFU/tomato fruit)					
	Total aerobic bacteria			Coliforms		
	T1	T2 ^{ns}	T3	T1	T2 ^{ns}	T3 ^{ns}
0	4.68±0.29^{a}	2.01±0.28	<1.00^{ab}	2.44±0.28^{a}	ND	ND
1	4.49±0.28^{a}	1.41±0.34	<1.00^{ab}	2.93±0.03^{ab}	<1.00	ND
5	4.87±0.31^{a}	1.42±0.17	<1.00^{ab}	2.91±0.16^{ab}	1.72±0.03	ND
10	4.99±0.74^{ab}	3.72±0.67	<1.00^{ab}	2.91±0.15^{ab}	1.86±0.29	ND
15	4.93±0.02^{a}	3.77±0.65	<1.00^{a}	2.75±0.07^{ab}	1.78±0.43	ND
20	5.10±0.00^{ab}	3.35±0.05	1.59±0.16^{ab}	2.78±0.34^{ab}	1.49±0.45	ND
25	5.38±0.30^{ab}	3.82±1.82	2.56±0.09^{ab}	4.42±0.56^{ab}	1.78±0.34	ND
30	7.19±0.09^{b}	5.25±1.00	3.58±0.52^{b}	4.74±0.64^{b}	1.79±0.12	ND

T1 = control (sterile distilled water), T2 = GE 10 mg/ml + LA 1%(v/v),

T3 = GE 10 mg/ml + LA 0.4%(v/v) + CA 0.5%(w/v)

ND = Not detected

^{ns} not significantly different at p>0.01

$^{a-b}$ means in the same column followed by different letters are significantly different at p<0.01

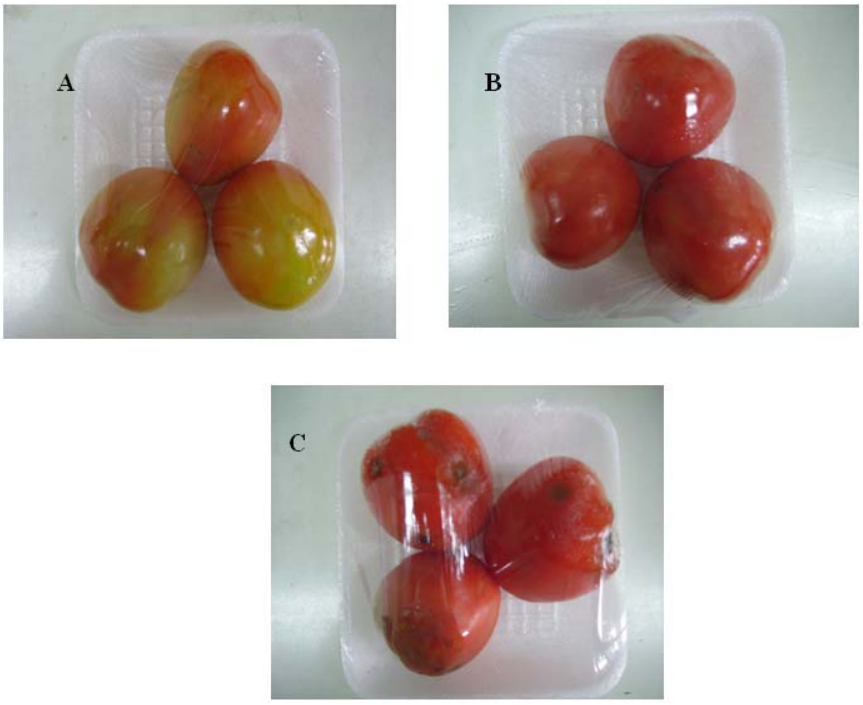

Figure 1 Changes in general appearance of tomatoes treated with guava leaf extract (10mg/ml) in combination with lactic acid (0.4%) and citric acid (0.5%) and stored at 4-7°C. A = 0 day, B = 15 days, C = 30 days.

การเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏของผลมะเขือเทศระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-7°C เป็นเวลา 30 วัน (Figure 1) พบว่าผลมะเขือเทศที่ผ่านการทดสอบด้วย T1, T2 และ T3 มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏไม่แตกต่างกันตลอดการเก็บรักษา 30 วัน โดยลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของมะเขือเทศในวันที่ 0 - 20 พบว่ามีลักษณะของผลมะเขือเทศเป็นปกติ (Figure 1A) แต่มีลักษณะของผลที่สุกและมีสีแดงเพิ่มขึ้น (Figure 1B) เมื่อระยะเวลาในการเก็บเพิ่มขึ้น และเริ่มพบการเสื่อมเสียของมะเขือเทศปรากฏให้เห็นในวันที่ 25 ของการเก็บซึ่งผลมะเขือเทศมีลักษณะเริ่มเหี่ยว ช้ำนิ่มที่ผิวและเน่า มีกลิ่นผิดปกติ และมีน้ำไหลออกมา (free liquid) ในบรรจุภัณฑ์ (Figure 1C) นอกจากนี้ยังพบการเจริญของจุลินทรีย์บนผิวของมะเขือเทศบริเวณที่เกิด soft rot

สรุป

จากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่าสารสกัดใบฝรั่ง (10mg/ml) ร่วมกับกรดแลกติก (0.4%v/v) และกรดซิตริก (0.5%w/v) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมดและโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนมะเขือเทศที่เก็บรักษาที่ 4 - 7°C เป็นเวลา 30 วันได้ดีที่สุด โดยประสิทธิภาพที่ดีในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมะเขือเทศได้ดีนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพที่ดีในการนำสารสกัดใบฝรั่งและกรดอินทรีย์เหล่านี้มาใช้เป็นสารฆ่าเชื้อจากธรรมชาติ(natural sanitizers) เพื่อใช้ลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารและผลิตผลทางการเกษตรซึ่งสามารถช่วยยืดอายุการวางจำหน่ายและเพิ่มความปลอดภัยอาหารได้อีกด้วย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนาศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ และสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

จิตศิริ ทองสอน. 2543. ประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนร่วมกับกรดอินทรีย์ในการลด *Salmonella* Typhimurium ในผักสด. วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 101 น.

ประสิทธิ์ ชุติชูเดช. 2544. เทคโนโลยีการผลิตผัก. ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 288 น.

ศราวุฒิ ตันติชัยวนิช และ ศันสนีย์ บ้านใหม่. 2547. ฤทธิ์ต้านเชื้อสแตฟิโลคอคคัสออเรียสจากสมุนไพร. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 74 น.

Allende, A., J. McEvoy, T. Yang and Y. Luo. 2009. Antimicrobial effect of acidified sodium chlorite, sodium chlorite, sodium hypochlorite, and citric acid on *Escherichia coli O157:H7* and natural microflora of fresh-cut cilantro. Food control 20: 230 - 234.

Ames, B.N. 1979. Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. p. 111. Cited by C. I. Wei, D. L. Wei, D. L. Cook and J. R. Kirk. Use of chlorine compounds in the food industry. Food Technology 39: 107-115.

Rattanachaikunsopon, P. and P. Phumkhachorn. 2007. Bacteriostatic effect of flavonoids isolated from leaves of *Psidium guajava* on fish pathogens. FITOTERAPIA. 78: 434-436.