Agricultural Sci. J. 42 : 3 (Suppl.) : 283-286 (2011) ว. วิทย. กษ. 42 : 3 (พิเศษ) : 283-286 (2554)

ผลของสารเคลือบผิวไคโตซานที่มีต่อจุลินทรีย์บนหน่อไม้ฝรั่ง

Effect of chitosan coating on microorganisms of asparagus spears

จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล[1] **และพนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย**[2]
Jutatip Poubol[1] and Panida Boonyaritthongchai[2]

Abstract

The effects of chitosan coating on microorganisms of asparagus spears were studied. Asparagus spears were coated with 0, 0.5, 1.0, and 1.5% chitosan. The samples were placed on foam trays and wrapped with PVC film. Asparagus spears were determined for microbial counts such as mesophilic aerobic bacteria, coliforms and fungi during storage at 10°C, 85±5% for up to 12 days. Populations of mesophilic aerobic bacteria, coliforms and fungi that isolated from asparagus spears after harvesting were 2.5, 2.3 and 0.8 log CFU/g, respectively. The counts of mesophilic aerobic bacteria and coliforms were significantly higher than those of fungi. At the initial day of storage, the populations of mesophilic aerobic bacteria, coliforms and fungi of asparagus spears coated with chitosan were 1.5, 1.3, and 1.5 log CFU/g, respectively. After 3 days of storage, mesophilic aerobic bacteria and coliforms were increased in most coated samples, whereas those of fungi remained constant during 9 days of storage. Microbial populations of asparagus spears treated with 0.5% chitosan were significantly higher than asparagus spears treated with 1.0 and 1.5% chitosan. At least 0.5 log reductions in fungi were observed with 1.0% chitosan. These results suggest that 1.0% chitosan coating can reduce fungi contamination of asparagus spears.

Keywords: Chitosan, asparagus, microorganisms

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาถึงผลของสารเคลือบผิวไคโตซานที่มีต่อจุลินทรีย์บนหน่อไม้ฝรั่ง โดยจุ่มหน่อไม้ฝรั่งในสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 จากนั้นเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งในถาดโฟมหุ้มฟิล์ม PVC ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ คือ mesophilic aerobic bacteria, coliforms และ fungi ในระหว่างที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85±5 เป็นเวลา 12 วัน พบว่าหน่อไม้ฝรั่งภายหลังการเก็บเกี่ยวมีจำนวน mesophilic aerobic bacteria, coliforms และ fungi เท่ากับ 2.5, 2.3 และ 0.8 log CFU/g ตามลำดับ โดยพบว่า mesophilic aerobic bacteria และ coliforms มีจำนวนสูงกว่า fungi อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในวันแรกของการเก็บรักษาพบว่า mesophilic aerobic bacteria, coliforms และ fungi ในหน่อไม้ฝรั่งที่เคลือบด้วยสารละลายไคโตซานมีจำนวน 1.5, 1.3 และ 1.5 log CFU/g ตามลำดับ ภายหลังจากที่เก็บรักษาเป็นเวลา 3 วัน พบว่า mesophilic aerobic bacteria และ coliforms มีจำนวนเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ fungi มีจำนวนคงที่ตลอดระยะเวลา 9 วันที่เก็บรักษา จากการทดลองพบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่เคลือบด้วยไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มสูงกว่าหน่อไม้ฝรั่งที่เคลือบด้วยไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 1.5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 สามารถลดจำนวน fungi ได้ประมาณ 0.5 log CFU/g ดังนั้นการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 สามารถลดจำนวน fungi ที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่งได้

คำสำคัญ: ไคโตซาน หน่อไม้ฝรั่ง จุลินทรีย์

คำนำ

หน่อไม้ฝรั่ง (*Asparagus officinalis* L.) เป็นพืชผักที่ใช้ส่วนยอดอ่อนของลำต้นมาบริโภคเป็นผัก มีรสชาติหวานกรอบ คุณค่าทางอาหารสูง (กรมอนามัย, 2530) สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี การส่งออกหน่อไม้ฝรั่งนิยมส่งออกในรูปของหน่อไม้ฝรั่งสด หน่อไม้ฝรั่งแช่แข็ง และหน่อไม้ฝรั่งบรรจุกระป๋อง โดยมีตลาดหลักที่สำคัญ คือ ประเทศญี่ปุ่น ออสเตรเลีย เม็กซิโก

[1]สาขาวิชาจุลชีววิทยา สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140
[1]Division of Microbiology, Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom, 73140
[2]สายวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพฯ 10140
[2]Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok, 10140

ฟิลิปปินส์ และสหรัฐอเมริกา ตามลำดับ (จิรภา, 2549) แต่เนื่องจากหน่อไม้ฝรั่งที่ส่งออกเมื่อไปถึงยังประเทศปลายทางนั้นมีคุณภาพไม่ดีพอเพราะเกิดการเน่าเสียขึ้น ซึ่งการเน่าเสียที่เกิดขึ้นมีสาเหตุมาจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในแปลงปลูกเป็นหลัก นอกจากนี้การปนเปื้อนและการเพิ่มจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในหน่อไม้ฝรั่งยังสามารถเกิดขึ้นได้ในระหว่างขั้นตอนการคัดคุณภาพ การตัดแต่ง การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการตัดแต่งแล้วบริเวณโคนหน่อ (พนิดา และคณะ, 2548) รวมถึงการบรรจุหีบห่อ การขนส่ง การตรวจสอบสินค้าและการขนถ่ายสินค้าเข้าตู้คอนเทนเนอร์ซึ่งต้องใช้ระยะเวลานาน นอกจากนี้ยังอาจเกิดการปนเปื้อนข้ามของเชื้อจุลินทรีย์จากผลิตผลทางการเกษตรชนิดอื่นมายังหน่อไม้ฝรั่ง ซึ่งบรรจุอยู่ในตู้คอนเทนเนอร์เดียวกัน จากปัญหาที่เกิดขึ้นดังกล่าวทำให้หน่อไม้ฝรั่งเกิดการสูญเสียคุณภาพและมีอายุการวางจำหน่ายสั้น

ไคโตซาน (poly β-(1->4) N-acetyl-D-glucosamine) เป็นอนุพันธ์ของไคติน ซึ่งพบในโครงสร้างแข็งของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เช่น กุ้ง ปู ปลาหมึก และยังสามารถสังเคราะห์ได้จากเชื้อราบางสายพันธุ์ เช่น *Aspergillus niger*, *Mucor rouxii* และ *Penicillium notatum* (Tan และคณะ, 1996; Knorr, 1984) ไคโตซานเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ ไม่เป็นพิษต่อมนุษย์ สามารถย่อยสลายได้ง่าย และมีคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ จึงนิยมใช้ในการเคลือบผิวของผักและผลไม้สด (Devlieghere และคณะ, 2004; El-Ghaouth และคณะ, 1991; El Ghaouth และคณะ; 1992; Li และ Yu, 2001; Romanazzi และคณะ, 2002) นอกจากนี้ยังพบว่าไคโตซานสามารถกระตุ้นให้เกิดกระบวนการป้องกันตนเองของเนื้อเยื่อพืช (El-Ghaouth และคณะ, 1992; Fisk และคณะ, 2008) ช่วยยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ต่าง ๆ (Young และคณะ, 1982) ช่วยชะลอการเน่าเสียและยืดอายุการเก็บรักษาผลิตผลสด เช่น สตรอเบอร์รี (El Ghaouth และคณะ, 1991) พีช (Du และคณะ, 1997) และองุ่น (Romanazzi และคณะ, 2002) แต่อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่ใช้ และชนิดของผลิตผล (Devlieghere และคณะ, 2004; Badawy และ Rabea, 2009) งานวิจัยนี้ศึกษาถึงผลของสารเคลือบผิวไคโตซานที่มีต่อจุลินทรีย์บนหน่อไม้ฝรั่ง

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองนี้ใช้หน่อไม้ฝรั่งซึ่งปลูกในจังหวัดนครปฐมในช่วงเดือนพฤษภาคม ปี พ.ศ. 2553 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณโคนหน่อประมาณ 1 เซนติเมตร (เกรดเอ) โดยคัดเลือกหน่อที่มีลักษณะปลายหน่อตั้งตรง มีความยาวใกล้เคียงกัน ปราศจากตำหนิ โรคและแมลง จากนั้นล้างเศษดินและสิ่งแปลกปลอมบริเวณโคนหน่อออกด้วยน้ำประปา ตัดโคนให้หน่อมีความยาว 12 เซนติเมตร จากนั้นแยกเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ mesophilic aerobic bacteria, coliforms ยีสต์และรา โดยผสมตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่ง 25 กรัม ให้เป็นเนื้อเดียวกันกับ peptone water ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ในถุง stomacher ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นาน 1 นาที ด้วยเครื่อง stomacher (Masticator Nr2557/400, IUL instruments; Barcelona, Spain) จากนั้นทำ dilution plate count สำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ mesophilic aerobic bacteria และ coliforms ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) และ Deoxycholate agar (Himedia Laboratories Pvt. Ltd., India) ตามลำดับ โดยใช้วิธีการ pour plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง สำหรับการตรวจหายีสต์และรา ทำโดยเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) (Himedia Laboratories Pvt. Ltd., India) โดยใช้วิธีการ spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 5-7 วัน และการศึกษาผลของสารเคลือบผิวไคโตซานที่มีต่อจุลินทรีย์บนหน่อไม้ฝรั่งทำโดยจุ่มหน่อไม้ฝรั่งในสารเคลือบผิวไคโตซาน (บริษัท ไบโอเซฟเฟอร์ จำกัด, กรุงเทพฯ) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ทิ้งไว้ให้แห้งในตู้เขี่ยเชื้อนานประมาณ 3 นาที จากนั้นบรรจุหน่อไม้ฝรั่งลงในถาดโฟมถาดละ 15 หน่อ หุ้มด้วยฟิล์ม PVC ความหนา 15 ไมครอนเมตร (CO_2 permeability เท่ากับ 292,862 ml/m^2.d ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 95) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงทุก ๆ 3 วัน โดยตรวจนับจำนวน mesophilic aerobic bacteria, coliforms ยีสต์และรา นับจำนวนโคโลนีแล้วรายงานผลเป็นค่า log CFU/g วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized designs ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ผลการทดลองแบบ Duncan's multiple range test

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาชนิดและจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่งภายหลังการเก็บเกี่ยว โดยใช้หน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการคัดขนาดแล้ว ปราศจากตำหนิ โรคและแมลง มาล้างเศษดินและสิ่งแปลกปลอมบริเวณโคนหน่อออกด้วยน้ำประปา จากนั้นตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์พบว่าหน่อไม้ฝรั่งมีจำนวน mesophilic aerobic bacteria มากที่สุด คือ 2.5 log CFU/g รองลงมาคือ coliforms (2.3 log CFU/g) และ fungi (0.8 log CFU/g) (Figure 1) ตามลำดับ

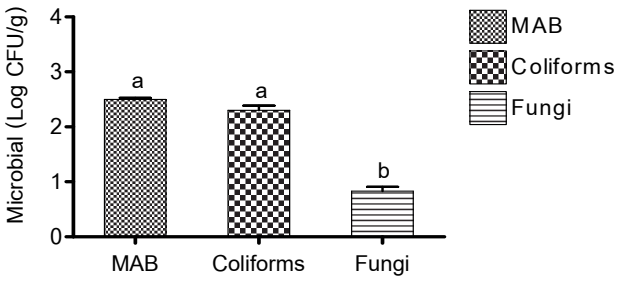

Figure 1 Mesophilic aerobic bacteria (MAB), coliforms and fungi of asparagus spears after harvesting

การศึกษาผลของสารเคลือบผิวไคโตซานต่อจุลินทรีย์บนหน่อไม้ฝรั่ง โดยจุ่มหน่อไม้ฝรั่งในสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 (control), 0.5, 1.0 และ 1.5 พบว่าในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งมีจำนวน mesophilic aerobic bacteria (Figure 2A), coliforms (Figure 2B) และ fungi (Figure 2C) เท่ากับ 1.5, 1.3 และ 1.5 log CFU/g ตามลำดับ ภายหลังจากที่เก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน พบว่าหน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลองมีปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยหน่อไม้ฝรั่งที่เคลือบด้วยไคโตซานทุกความเข้มข้นมีปริมาณ mesophilic aerobic bacteria และ coliforms เพิ่มขึ้นมากกว่าหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่ได้เคลือบด้วยไคโตซาน (control) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเคลือบด้วยไคโตซานเปรียบเสมือนเยื่อเลือกผ่านทำให้การผ่านเข้าออกของก๊าซและไอน้ำเป็นไปได้ยาก ดังนั้นจึงมีความชื้นสะสมอยู่ภายในหน่อไม้ฝรั่งมากเป็นผลให้แบคทีเรียในกลุ่มของ mesophilic aerobic bacteria และ coliforms เจริญได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับ fungi ซึ่งเจริญได้ดีในสภาวะที่มีความชื้นต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าการเคลือบหน่อไม้ฝรั่งด้วยไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นสูงกว่าหน่อไม้ฝรั่งที่เคลือบด้วยไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 1.5 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของไคโตซานที่ใช้อยู่ในระดับต่ำเกินไปทำให้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ แต่มีผลในทางตรงข้ามที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่ง ซึ่งปัจจัยที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์มีหลายปัจจัย ได้แก่ ชนิดและอายุของจุลินทรีย์ ชนิดของไคโตซาน ความเข้มข้นของไคโตซาน มวลโมเลกุลของไคโตซาน และสภาพแวดล้อมภายนอก เช่น pH และอุณหภูมิ เป็นต้น (Kong และคณะ, 2010)

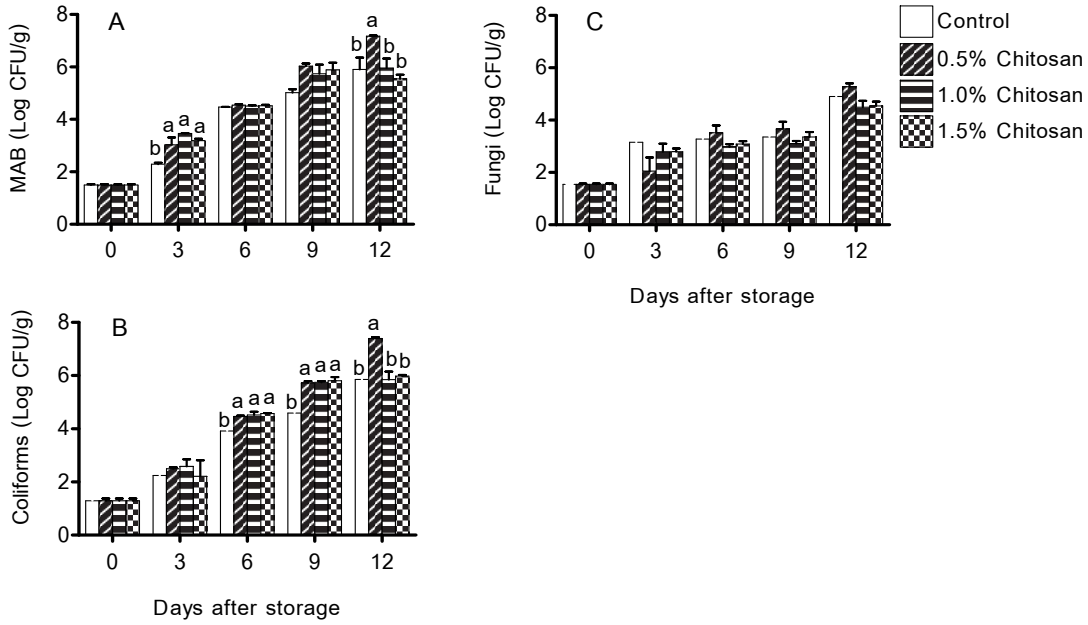

Figure 2 Mesophilic aerobic bacteria (MAB) (A), coliforms (B) and fungi (C) of asparagus spears coated with chitosan at 0 (control), 0.5, 1.0 and 1.5% stored at 10°C for 12 days.

จากการศึกษาประสิทธิภาพของไคโตซาน ในการยับยั้งการเจริญของ fungi พบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่เคลือบด้วยไคโตซานความร้อยละ 1.0 และ 1.5 สามารถยับยั้งการเจริญของ fungi ได้เมื่อเปรียบเทียบกับหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่เคลือบไคโตซานและหน่อไม้ฝรั่งที่เคลือบด้วยไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ซึ่งไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญของ fungi ได้โดยมีผลในการยับยั้งการสร้างและการงอกของสปอร์ (Hernandez-Lauzardo และคณะ, 2008) โดยประสิทธิภาพในการยับยั้งจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อค่า pH ลดต่ำลง (Roller และ Covill, 1999)

สรุป

การใช้สารเคลือบผิวไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 1.5 สามารถยับยั้งการเจริญของ fungi ได้ แต่ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่มของ mesophilic aerobic bacteria และ coliforms บนหน่อไม้ฝรั่ง

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากศูนย์ส่งเสริมการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยี (ศสวท) คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ประจำปี 2553

เอกสารอ้างอิง

กรมอนามัย, กองโภชนาการ. 2530. ตารางแสดงคุณค่าทางอาหารไทยในส่วนที่กินได้ 100 กรัม. กระทรวงสาธารณสุข, โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. กรุงเทพมหานคร. 48 น.

จิรภา จอมไธสง. 2549. หน่อไม้ฝรั่ง. จดหมายข่าว ส่วนส่งเสริมการผลิตผัก ไม้ดอกไม้ประดับและสมุนไพร. 3:11

พนิดา ภัควันต์ จริงแท้ ศิริพานิช ปราโมทย์ สฤษดิ์นิรันดร์ และรุ่งนภา ก่อประดิษฐ์สกุล. 2548. การวิเคราะห์ความเสี่ยงจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ Coliform และ *Escherichia coli* ในแปลงหน่อไม้ฝรั่ง. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43: สาขาพืช. 650-657 น.

Badawy, M.E.I. and E.I. Rabea. 2009. Potential of the biopolymer chitosan with different molecular weights to control postharvest gray mold of tomato fruit. Postharvest Biol. Technol. 51:110-117.

Devlieghere, F., A. Vermeulen and J. Debevere. 2004. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. Food Microbiol. 21: 703-714.

Du, J., H. Gemma and S. Iwahori. 1997. Effects of chitosan coating on the storage of peach, Japanese pear, and kiwifruit. J. Jpn. Hort. Sci. 66:15–22.

El Ghaouth, A., J. Arul, J. Grenier and A. Asselin. 1992. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. Phytopathology. 82:398–402.

El Ghaouth, A., J. Arul., R. Ponnampalam and M. Boulet. 1991. Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. J. Food Sci. 56:1618–1620.

Fisk, C.L., A.M. Silver, B.C. Strik and Y. Zhao. 2008. Postharvest quality of hardy kiwifruit (*Actinidia arguta* 'Ananasnaya') associated with packaging and storage conditions. Postharvest Biol. Technol. 47: 338-345.

Hernandez-Lauzardo, A.N., S. Bautista-Banos, M.G. Velazquez-del Valle, M.G. Mendez-Montealvo, M.M. Sanchez-Rivera and L.A. Bello-Perez. 2008. Antifungal effects of chitosan with different molecular weights on in Vitro development of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. Carbohydr. Polym. 73: 541-547.

Kong, M., X.G. Chen, K. Xing and H.J. Park. 2010. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. Int. J. Food Microbiol. 144: 51-63.

Knorr, D. 1984. Use of chitinous polymers in food-Achallenge for food research and development. Food Technol. 38: 85-97.

Li, H. and T. Yu. 2001. Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. J. Sci. Food Agric. 81:269–274.

Roller, S. and N. Covill. 1999. The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. Int. J. Food Microbiol. 47: 67-77.

Romanazzi, G., F. Nigro, A. Ippolito, D. Di Venere and M. Salerno. 2002. Effects of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. J. Food Sci. Vol. 67:1862–1867.

Tan, S.C., T.K. Tan, S.M. Wong and E. Khor. 1996. The chitosan yield of Zygomycetes at their optimum harvesting time. Carbohyd. Polym. 30: 239-242.

Young, D.H., H. Kohle and H. Kauss. 1982. Effect of chitosan on membrane permeability of suspension cultured Glycine max and *Phaseolus vulgaris* cells. Plant Physiol. 70: 1449-1454.