ประสิทธิภาพของฟิล์มไฮดรอกซีโพรพิล เมธิลเซลลูโลสร่วมกับน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

Antifungal Performance of Hydroxypropyl Methylcellulose Film Incorporated with Essential Oil Against *Colletotrichum gloeosporioides*

พลอย กลางเมือง[1] และ รังสินี โสธรวิทย์[1]
Ploy Klangmuang[1] and Rungsinee Sothornvit[1]

Abstract

Colletotrichum gloeosporioides causes anthracnose disease on mango during storage after harvesting. This research was aimed to study the effect of using fingerroot, ginger and plai essential oils with hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)-based composite film for prevention of anthracnose disease. It was found that the fingerroot, ginger and plai oils were effective inhibitors of *C. gloeosporioides.* Therefore, fingerroot, ginger and plai oils at a concentration of 15,000 mg/L were added in HPMC-based composite solution to form edible films. Film water activity (a_w), moisture content, color (L*, a* and b*), gloss and water vapor permeability (WVP) were evaluated. WVP values of HPMC-based composite films containing the essential oils were also higher than films without essential oil. The antifungal activity of the edible films was also tested. The HPMC-based composite films containing fingerroot, ginger and plai oils could inhibit *C. gloeosporioides*. Thus, the antifungal edible films and coatings can be applied to mango fruit to inhibit the growth of *C. gloeosporioides* and extend its shelf life.

Keywords: essential oil, hydroxypropyl methylcellulose, edible film

บทคัดย่อ

เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสที่พบในผลมะม่วงระหว่างการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยว งานวิจัยนี้ศึกษาผลของการนำน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ กระชาย ขิง และไพล มาใช้ร่วมในการผลิตฟิล์ม ไฮดรอกซีโพรพิล เมธิลเซลลูโลส (HPMC-based composite film) เพื่อยับยั้งโรคแอนแทรคโนส จากการทดลองพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกระชาย ขิง และไพลมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* ดังนั้นจึงนำน้ำมันหอมระเหยจากกระชาย ขิง และไพลที่ระดับความเข้มข้น 15,000 mg/L มาผสมในสารละลาย HPMC-based composite เพื่อผลิตฟิล์มบริโภคได้ ตรวจสอบค่า a_W ความชื้น สี (L*, a* และ b*) ความเงา และค่าการแพร่ผ่านของไอน้ำ (WVP) ของฟิล์ม ค่า WVP ของฟิล์ม HPMC-based composite ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยมีค่ามากกว่าฟิล์มที่ไม่ใช้น้ำมันหอมระเหย รวมทั้งตรวจสอบค่าประสิทธิภาพการต้านการเจริญของเชื้อรา ฟิล์ม HPMC-based composite ที่มีน้ำมันหอมระเหยกระชาย ขิง และไพลสามารถยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* ดังนั้นฟิล์มและสารเคลือบต้านเชื้อรา สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับผลมะม่วงในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และยืดอายุการเก็บรักษามะม่วงได้

คำสำคัญ: น้ำมันหอมระเหย ไฮดรอกซีโพรพิล เมธิลเซลลูโลส ฟิล์มบริโภคได้

[1] ภาควิชาวิศวกรรมการอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140
[1] Department of Food Engineering, Faculty of Engineering at Kamphaengsaen, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakhon Pathom 73140

คำนำ

ปัญหาสำคัญภายหลังการเก็บเกี่ยวมะม่วงน้ำดอกไม้ คือ การเน่าเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ โดยสาเหตุหลักมาจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส ส่งผลต่อคุณภาพ และอายุการเก็บของผลมะม่วง การส่งออก และราคาของผลผลิต ทำให้เกษตรกรแก้ปัญหาโดยใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา แต่ผลผลิตที่มีการปนเปื้อนสารเคมีเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค การใช้น้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา เช่น ขิง (Supreetha *et al*., 2011) มาใช้ทดแทนสารเคมีเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ ปลอดภัย เป็นมิตรต่อผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้การใช้ฟิล์มหรือสารเคลือบผิวจากไบโอพอลิเมอร์ เช่น ไฮดรอกซีโพรพิล เมธิลเซลลูโลส (Hydroxypropyl Methylcellulose, HPMC) พบว่า สามารถรักษาคุณภาพและยืดอายุการเก็บของพลัม (plum) (Perez-Gago *et al*., 2003) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยที่ใช้ร่วมกับ HPMC เพื่อขึ้นรูปเป็นฟิล์มต่อสมบัติทางกายภาพและสมบัติของฟิล์มในการป้องกันการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ก่อนนำมาใช้เป็นสารเคลือบผิวผลไม้

อุปกรณ์และวิธีการ

ศึกษาวิธีการผลิตแผ่นฟิล์มจากไฮดรอกซีโพรพิล เมธิลเซลลูโลสร่วมกับน้ำมันหอมระเหยสมุนไพรต่อสมบัติของแผ่นฟิล์มที่ได้

นำน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด ได้แก่ กระชาย (fingerroot oil, F) ขิง (ginger oil, G) และไพล (plai oil, P) ที่ความเข้มข้น 15,000 mg/L มาใช้ร่วมในการผลิตฟิล์ม HPMC-based composite ได้แก่ ฟิล์ม HPMC (2% HPMC ร่วมกับ 30% กลีเซอรอล (Gly) ในอัตราส่วน HPMC: Gly = 3: 1, 40% beeswax (BW) ในอัตราส่วน HPMC: BW = 4: 1, stearic acid, SA ในอัตราส่วน BW: SA = 4: 1 และ 5% clay) ซึ่งใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์มร่วมกับน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ชนิด โดยกำหนดสัญลักษณ์เป็นดังนี้ ฟิล์ม HPMC+Gly+BW+Clay (30B) = HPMC และได้สูตรจำนวน 4 สูตร ได้แก่ ฟิล์ม HPMC, ฟิล์ม HPMC+P, ฟิล์ม HPMC+G และ ฟิล์ม HPMC+F ศึกษาสมบัติของแผ่นฟิล์ม ได้แก่ ความชื้น, a_w, สมบัติการป้องกันการแพร่ผ่านของไอน้ำ (water vapor permeability, WVP) ตามวิธี ASTM E96-85 (ASTM, 1996), สี และความเงา (color and gloss) และคำนวณหาความแตกต่างของสีเทียบกับค่าสีของฟิล์ม HPMC ที่ไม่ได้ใส่น้ำมันหอมระเหย (total color difference, ΔE^*) จากสูตร ดังนี้

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

การทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรกโนสของมะม่วง

เลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28°C เป็นเวลา 5 วัน หรือจนกว่าราจะเจริญสร้างโคโลนีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 7 cm ตัดเส้นใยที่บริเวณขอบโคโลนีของเชื้อ *C. gloeosporioides* เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm วางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จำนวน 5 จุด ตัดแผ่นฟิล์มเป็นสี่เหลี่ยมขนาด 10 mm x 10 mm วางทับบนเชื้อรา บ่มที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมงทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราที่ผิวหน้าวัสดุในแต่ละวัน และบันทึกผลการทดลอง การทดลองทั้งหมดทำ 3 ซ้ำ (เจิมขวัญ และคณะ, 2554)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRD) แล้วนำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ด้วยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SPSS (version 12.0) และเปรียบเทียบความแตกต่างตามวิธีการแบบดันแคน (Duncan's multiple range test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผล

สมบัติของแผ่นฟิล์มจากไฮดรอกซีโพรพิล เมธิลเซลลูโลสร่วมกับน้ำมันหอมระเหยสมุนไพร

ชนิดของน้ำมันหอมระเหยไม่มีผลต่อค่าความชื้นของฟิล์ม HPMC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ค่าความชื้นของฟิล์มมีค่าระหว่าง 9-13%db ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการขึ้นรูปแผ่นฟิล์ม ฟิล์มที่มีความชื้นต่ำสุด คือ ฟิล์ม HPMC+G นอกจากนี้การใช้น้ำมันหอมระเหยไม่มีผลต่อค่า a_w ของฟิล์ม HPMC ค่า a_w ของฟิล์มอยู่ในช่วง 0.46-0.58 ยกเว้นการใช้ไพลทำให้ฟิล์ม HPMC+P มีค่า a_w ลดลง เมื่อเทียบกับฟิล์มชนิดอื่น

ฟิล์ม HPMC และฟิล์ม HPMC ร่วมกับน้ำมันหอมระเหย มีลักษณะโปร่งแสง การเติมน้ำมันหอมระเหยในฟิล์มส่งผลให้ฟิล์ม HPMC ร่วมกับน้ำมันหอมระเหย มีค่า L* และ b* เพิ่มขึ้น (Table 1) และค่า a* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของค่าสีโดยรวมเทียบกับฟิล์ม HPMC ในรูปของ ΔE^* ฟิล์ม HPMC ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยมีค่า ΔE^* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) การเติมน้ำมันหอมระเหยไพลและขิงให้ค่า ΔE^* มากกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยกระชาย

การเติมน้ำมันหอมระเหยในฟิล์ม HPMC มีผลต่อค่าการแพร่ผ่านไอน้ำ (water vapor permeability, WVP) ของฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ฟิล์ม HPMC+P มีค่า WVP เพิ่มขึ้นจาก 56.37 g-mm/kPa day-m^2 เป็น 77.73 g-mm/kPa day-m^2 ในขณะที่ฟิล์ม HPMC+G และฟิล์ม HPMC+F ให้ค่า WVP ไม่แตกต่างจากค่า WVP ของฟิล์ม HPMC

Table 1 Effect of essential oil types (Plai, P; Ginger, G; Fingerroot, F) on the color of HPMC-based composite film

Films	L*	a*	b*	ΔE*
HPMC	36.69±0.20$^{a\,1}$	-0.20±0.03^{c}	-0.87±0.06^{a}	-
HPMC+P	45.82±3.14^{b}	-0.93±0.10^{b}	1.12±0.36^{b}	9.65±1.76^{a}
HPMC+G	39.73±6.32^{ab}	-1.23±0.27^{a}	3.40±0.59^{c}	7.96±0.16^{a}
HPMC+F	38.11±0.40^{a}	-0.34±0.03^{c}	-0.53±0.04^{a}	1.07±0.08^{b}

[1]The different superscript letters in each column are significantly different ($p \leq 0.05$)

ความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา ของฟิล์ม HPMC-based composite ร่วมกับน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยระดับความเข้มข้น 15,000 mg/L ที่ใส่ลงในฟิล์ม HPMC-based composite สามารถชะลอการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสในมะม่วงได้ โดยฟิล์มร่วมกับน้ำมันหอมระเหย ขิง กระชาย และไพล สามารถชะลอการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (Table 2) เชื้อรา *C. gloeosporioides* ใต้แผ่นฟิล์ม HPMC และฟิล์ม HPMC ร่วมกับน้ำมันหอมระเหย มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีในวันที่ 2 ต่ำกว่าชุดควบคุม

Table 2 Effect of essential oil types (Plai, P; Ginger, G; Fingerroot, F) on the growth of fungi (*C. gloeosporioides*) of HPMC-based composite film

Type of film	Colony diameter (mm)	
	Day 1	Day 2
Control	5±0$^{a\,1}$	16.3±4^{a}
HPMC	5±0^{a}	15.2±3^{a}
HPMC+P	5±0^{a}	10±0^{b}
HPMC+G	5±0^{a}	10±0^{b}
HPMC+F	5±0^{a}	10±0^{b}

[1]The different superscript letters in each column are significantly different ($p \leq 0.05$)

วิจารณ์ผล

ฟิล์ม HPMC ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยให้ ค่า L* เพิ่มขึ้น ส่วนค่า a* ลดลง และ b* เพิ่มขึ้น โดยการใช้ไพลและขิงในฟิล์ม HPMC ให้ค่า b* แตกต่างจากฟิล์ม HPMC ในขณะที่การใช้กระชายให้ค่าสี b* ไม่แตกต่างจากฟิล์ม HPMC แสดงว่าสีของแผ่นฟิล์มขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยระหว่างการขึ้นรูปฟิล์ม ดังนั้นสีของฟิล์มจึงเป็นตัวกำหนดการนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหาร

โดยปกติการเติมน้ำมันหอมระเหย หรือสารประเภทไขมันที่มีสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิค จะมีผลให้ค่าความชื้นและความสามารถในการแพร่ผ่านไอน้ำของฟิล์มลดลง Gontard *et al.* (1995) กล่าวว่าปริมาณไขมันที่เติมในฟิล์มหากมากพอจะสามารถป้องกันการแพร่ผ่านของไอน้ำ ในการทดลองนี้ฟิล์ม HPMC+P ให้ค่า WVP แตกต่างจากฟิล์มชนิดอื่น อาจเนื่องมาจากสารสำคัญในไพลทำปฏิกิริยากับสายพอลิเมอร์ หรืออาจทำหน้าที่เป็นสารพลาสติไซเซอร์ได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นๆ ทำให้การจัดเรียงตัวของโมเลกุลลดลงเกิดเป็นช่องว่างภายในโครงสร้างของฟิล์ม โมเลกุลของไอน้ำจึงสามารถแพร่ผ่านฟิล์มในอัตราที่รวดเร็วขึ้น (Pranoto *et al*., 2005)

ฟิล์ม HPMC ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยสามารถชะลอการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากไพลมีสาร zerumbone ที่สามารถยับยั้งการต้านเชื้อราได้ (Kishore and Dwivedi, 1991) และในน้ำมันกระชายและขิงมีสาร geraniol ซึ่งมีสมบัติในการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* (ชัยณรงค์ และคณะ, 2548) อย่างไรก็ตามการเติมน้ำมันหอมระเหยต้องคำนึงถึงปริมาณของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ต้องไม่กระทบต่อผลทางประสาทสัมผัส เมื่อนำฟิล์มไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป

สรุป

ฟิล์ม HPMC-based composite ที่มี clays ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยไพล (HPMC+P) ขิง (HPMC+G) และกระชาย (HPMC+F) สามารถชะลอการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม การเติมน้ำมันหอมระเหยในการผลิตฟิล์ม HPMC-based composite มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของฟิล์ม โดยฟิล์มมีสีเหลืองและสว่างเพิ่มขึ้น ในขณะที่ไพลและขิง ให้ค่าสีของแผ่นฟิล์มเปลี่ยนแปลงมากกว่าการเติมน้ำมันหอมระเหยกระชาย ดังนั้นฟิล์มที่ได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นวัสดุบรรจุภัณฑ์ หรือสารเคลือบบริโภคได้กับผลิตผลทางการเกษตร เช่น ผลไม้สด ต่อไป

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และโครงการร่วมให้ทุนปริญญาเอกกาญจนาภิเษก (คปก.) ระหว่างสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

เจิมขวัญ สังข์สุวรรณ, สุพัฒน์ คำไทย และ เปรม ทองชัย. 2554. การใช้ประโยชน์ผงเปลือกมังคุดสำหรับผลิตวัสดุบรรจุภัณฑ์ยับยั้งโรคแอนแทรกโนสในกล้วยหอมทอง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 42: 579-582.

ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล, สุภัทรา จามกระโทก, ชลิดา เล็กสมบูรณ์ นวลวรรณ ฟ้ารุ่งสาง และ อุดม ฟ้ารุ่งสาง. 2548. องค์ประกอบทางเคมีบางประการของน้ำมันกระชาย และฤทธิ์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช, *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43 สาขาพืช, 1-4 กุมภาพันธ์ 2548, กรุงเทพฯ. หน้า 697-704.

ASTM. 1996. Standard test method for water vapor transmission of materials E96-95. In: Annual Book of American Standard Testing Method, ASTM, Philadelphia, PA, American Society for Testing and Materials.

Gontard, N., S. Marchesseau, J.L. Cuq and S. Guilbert. 1995. Water vapour permeability of edible bilayer films of wheat gluten and lipids. *International Journal* of *Food Science* and *Technology* 30: 49-56.

Kishore, N. and R.S. Dwivedi. 1991. Zerumbone apotential fungitoxic agent isolated from *Zingiber cassumunar* Roxb. Mycopathologia 120: 155-159.

Perez-Gago, M.B., C. Rojas and M.A. del Rio. 2003. Effect of hydroxypropyl methylcellulose-lipid edible composite coatings on plum (cv. *Autumn giant*) quality during storage. Journal of Food Science 68: 879-883.

Pranoto, Y., S.K. Rakshit and V.M. Salokhe. 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. LWT-Food Science and Technology 38: 859-865.

Supreetha, S., S. Mannur, S.P. Simon, J. Jain, S. Tikare and A. Mahuli. 2011. Antifungal activity of ginger extract on candida albicans: An in-vitro study. Journal of Dental Sciences and Research 2 (2): 1-5.