Agricultural Sci. J. 44 : 3 (Suppl.) : 314-317 (2013) ว. วิทย. กษ. 44 : 3 (พิเศษ) : 314-317 (2556)

ผลของการใช้สารเคลือบกรดฟูมาริกต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภค

Effect of Fumaric Acid Coating on the Reduction of Microorganisms on Fresh-cut Broccoli

จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล[1] บุญจิรา เกียวสัมพันธ์[1] และ พริมา พิริยางกูร[2]
Jutatip Poubol[1], Boonjira Kaewsampan[1] and Pharima phiriyangkul[2]

Abstract

This research studied the effect of fumaric acid coating on the reduction of microorganisms of fresh-cut broccoli. Fresh-cut broccoli was dipped in fumaric acid coating solution at a concentration of 0.5, 1 and 2% for 3 min compared with non treated fresh-cut broccoli (control). The growth of total bacteria, coliforms, yeast and molds of fresh-cut broccoli packaged in polypropylene plastic bags stored at 8^{o}C for 8 days was determined during storage. At the 4th day of storage, fumaric acid coating reduced total bacteria and coliforms counts contaminating on fresh-cut broccoli about 2-4 Log CFU/g compared to control, whereas fumaric acid coating reduced yeast and mold counts after 2 days of storage with the reduction of 1 Log CFU/g.

Keywords: fumaric acid coating, fresh-cut broccoli, microorganisms

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของการใช้สารเคลือบกรดฟูมาริกต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ ในบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภค โดยนำบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคจุ่มลงในสารเคลือบกรดฟูมาริกที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1 และ 2 เป็นเวลา 3 นาที เปรียบเทียบกับบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคที่จุ่มในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) ตรวจนับจำนวนแบคทีเรีย โคลิฟอร์ม ยีสต์ และรา ในบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคที่บรรจุในถุงพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีน ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 วัน ผลการทดลองพบว่าในช่วง 4 วันแรกของการเก็บรักษาการใช้สารเคลือบกรดฟูมาริกสามารถลดจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดและโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนในบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคได้ประมาณ 2-4 Log CFU/g เมื่อเปรียบเทียบกับบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคในชุดควบคุม ในขณะที่การใช้สารเคลือบกรดฟูมาริกสามารถลดการเจริญของยีสต์และราได้ในช่วง 2 วันแรกของการเก็บรักษา โดยสามารถลดปริมาณยีสต์และราได้ประมาณ 1 Log CFU/g

คำสำคัญ: สารเคลือบกรดฟูมาริก, บร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภค, จุลินทรีย์

คำนำ

บร็อคโคลี (Broccoli) จัดอยู่ในผักตระกูลกะหล่ำมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Brassica oleracea* var. *Italica* อยู่ในตระกูล Cruciferae ปัจจุบันผู้บริโภคนิยมนำบร็อคโคลีมาประกอบอาหารหลายชนิด ทั้งนี้เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะมี sulforaphane ซึ่งเป็นสารที่มีสมบัติช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วย beta-carotene วิตามินซี และเส้นใย เป็นต้น (Moreno *et.al*., 2006) ปัญหาที่สำคัญของบร็อคโคลีภายหลังการเก็บเกี่ยว คือ การเปลี่ยนสีของดอกจากสีเขียวไปเป็นสีเหลือง และการเน่าเสียของดอกซึ่งมีสาเหตุจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ทำให้บร็อคโคลีมีอายุการเก็บรักษาสั้นและไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค กรดฟูมาริกเป็นกรดอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาผักหลายชนิด เช่น lettuce (Izumi, 2007), alfalfa, clover sprouts (Kim *et.al*., 2009) และใบโหระพา (บุษกร และคณะ, 2555) โดยช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผักได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้กรดฟูมาริกในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด เช่น เนื้อสัตว์ อาหารทะเล (Furukawa, 2011) และแตงกวาดอง (Perez-Diaz, 2011) เป็นต้น แต่ยังไม่มีรายงานการใช้สารเคลือบกรดฟูมาริกในการลดการเจริญของจุลินทรีย์ในบร็อคโคลี ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงได้สนใจศึกษาผลของการใช้สารเคลือบกรดฟูมาริกต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ในบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภค

[1] สาขาวิชาจุลชีววิทยา สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140
[1] Division of Microbiology, Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140
[2] สาขาวิชาชีวเคมี สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140
[2] Division of Biochemistry, Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การใช้สารเคลือบกรดฟูมาริกกับบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภค

คัดเลือกบร็อคโคลีที่ปราศจากตำหนิ หนอน แมลง และโรค ตัดแต่งส่วนของใบออกจนได้กลุ่มดอกบร็อคโคลี จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำประปาและผึ่งให้สะเด็ดน้ำ แล้วใช้มีดปอกผลไม้ตัดออกเป็นช่อเล็กๆ นำบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ได้หนักประมาณ 100 กรัม ไปจุ่มลงในสารเคลือบกรดฟูมาริก “KEEP LONG FC” (บริษัท Ueno Fine Chemical Industry (THAILAND) จำกัด, ประเทศไทย) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1 และ 2 เป็นเวลา 3 นาที โดยเปรียบเทียบกับการจุ่มในน้ำกลั่น (Control) จากนั้นทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ แล้วบรรจุบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคลงในถุงพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีน (polypropylene) ขนาดกว้าง 12 x ยาว 18 เซนติเมตร ปิดปากถุงให้สนิทด้วยเครื่องปิดผนึก (Sealer รุ่น SFM-Two on one, ประเทศไทย) แล้วนำไปเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส สุ่มตรวจวัดผลการทดลองทุก ๆ 2 วัน

2. การตรวจหาจุลินทรีย์ในบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภค

ชั่งบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคหนัก 25 กรัม ใส่ลงในถุง Stomacher ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นเติม peptone water ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher (Masticator Nr2557/400, IUL instruments; Barcelona, Spain) นาน 1 นาที (จุฑาทิพย์ และพนิดา, 2554) แล้วนำสารละลายบร็อคโคลีมาทำ serial dilution เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) สำหรับตรวจหาแบคทีเรียทั้งหมด (total bacteria) อาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin Methylene Blue Agar (EMB) สำหรับตรวจหาโคลิฟอร์ม (coliforms) และอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) (Himedia Laboratories Pvt. Ltd., India) สำหรับตรวจหายีสต์และรา (yeasts and molds) ตามวิธีการของจุฑาทิพย์ และคณะ (2555) โดยดูดสารละลายบร็อคโคลีปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยแท่งแก้วงอที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35$\pm$2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48$\pm$3 ชั่วโมง สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และ EMB ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน ตรวจนับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ที่พบในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ หาค่าเฉลี่ยของโคโลนีที่นับได้และรายงานผลเป็น Colony Forming Unit ต่อกรัม (CFU/g) วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized designs ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ผลการทดลองแบบ Duncan’s multiple range test

ผลและวิจารณ์

1. ผลของการใช้สารเคลือบกรดฟูมาริกต่อการลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์ม ยีสต์และรา

บร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง 2.0-4.4 Log CFU/g ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา โดยบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคในชุดควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดสูงที่สุด รองลงมาคือบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคที่จุ่มในสารเคลือบกรดฟูมาริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 2 และ 1 ตามลำดับ (Figure 1) ทั้งนี้เนื่องจากสารเคลือบกรดฟูมาริกที่ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2 มีค่า pH เท่ากับ 5.40, 5.39 และ 5.37 ตามลำดับ ซึ่งมีความเป็นกรดจึงทำให้ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งหมดที่ปนเปื้อนในบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคได้ เมื่อเก็บรักษาบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน พบว่าการใช้สารเคลือบกรดฟูมาริกสามารถลดการเจริญของแบคทีเรียทั้งหมดได้ประมาณ 4 Log CFU/g เมื่อเทียบกับการไม่จุ่มสารเคลือบกรดฟูมาริก และเมื่อเก็บรักษานานขึ้นพบว่าแบคทีเรียทั้งหมดมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น โดยในวันที่ 8 ของการเก็บรักษาพบว่าการใช้สารเคลือบกรดฟูมาริกทุกระดับความเข้มข้นไม่สามารถลดการเจริญของแบคทีเรียทั้งหมดได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง 5.2-5.8 Log CFU/g อย่างไรก็ตามพบว่าบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคในทุกชุดการทดลองมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดไม่เกิน 7 Log CFU/g ตลอดอายุการเก็บรักษา ซึ่งอยู่ในระดับที่ยังไม่ก่อให้เกิดการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์อาหาร (Olarte *et.al*., 2009)

ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาตรวจไม่พบโคลิฟอร์มในบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคในทุกชุดการทดลอง (Figure 2) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคในทุกวิธีการที่นำมาตรวจวิเคราะห์ไม่มีการปนเปื้อนของโคลิฟอร์ม หรืออาจเนื่องมาจากบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคมีโคลิฟอร์มปนเปื้อนอยู่ในปริมาณที่น้อยมาก ดังนั้นเมื่อผ่านการจุ่มในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และจุ่มในสารเคลือบกรดฟูมาริกจึงทำให้โคลิฟอร์มที่ติดอยู่บนบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคหลุดออก จึงทำให้ตรวจไม่พบโคลิฟอร์มในตัวอย่างดังกล่าว หรืออาจเนื่องมาจากเซลล์ของโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนในบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคได้รับความเสียหายทางกลอันเนื่องมาจากการจุ่มลงในน้ำกลั่นหรือจุ่มในสารเคลือบกรดฟูมาริก นอกจากนี้ยังอาจเกิดจากการแตก

ตัวของ H^+ ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์จึงเป็นเหตุให้เซลล์มีสภาพอ่อนแอจึงไม่สามารถเจริญได้ (บุษกร และคณะ, 2555) เมื่อเก็บรักษาบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ตรวจพบโคลิฟอร์มในตัวอย่างที่จุ่มในน้ำกลั่นและในตัวอย่างที่จุ่มในกรดฟูมาริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 ในขณะที่ตรวจไม่พบในตัวอย่างที่จุ่มในกรดฟูมาริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1 ซึ่งเมื่อเก็บรักษาบร็อคโคลีไว้เป็นเวลา 4 วัน พบว่ามีการตรวจพบโคลิฟอร์มในบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคในทุกชุดการทดลอง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโคลิฟอร์มสามารถฟื้นฟูสภาพของเซลล์ภายหลังจากที่เซลล์ได้รับความเสียหาย โดยมีปริมาณโคลิฟอร์มอยู่ในช่วง 2.6-5.5 Log CFU/g ซึ่งโคลิฟอร์มที่ตรวจพบในตัวอย่างที่จุ่มในสารเคลือบกรดฟูมาริกมีปริมาณต่ำกว่าที่ตรวจพบในตัวอย่างชุดควบคุม และปริมาณโคลิฟอร์มที่ตรวจพบลดต่ำลงเมื่อความเข้มข้นของกรดฟูมาริกเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 8 วัน พบว่าปริมาณโคลิฟอร์มที่ตรวจพบในบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคที่จุ่มในสารเคลือบกรดฟูมาริกเพิ่มสูงขึ้น แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

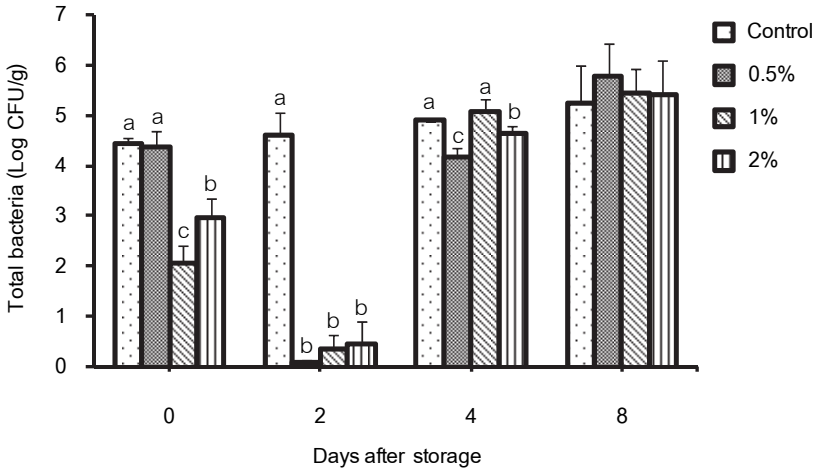

Figure 1 Total bacterial count of fresh-cut broccoli dipped in fumaric acid coating solutions at 0.5, 1 and 2% compared with non-treated fresh-cut broccoli (control) packaged in polypropylene plastic bags and stored at 8°C for 8 days.

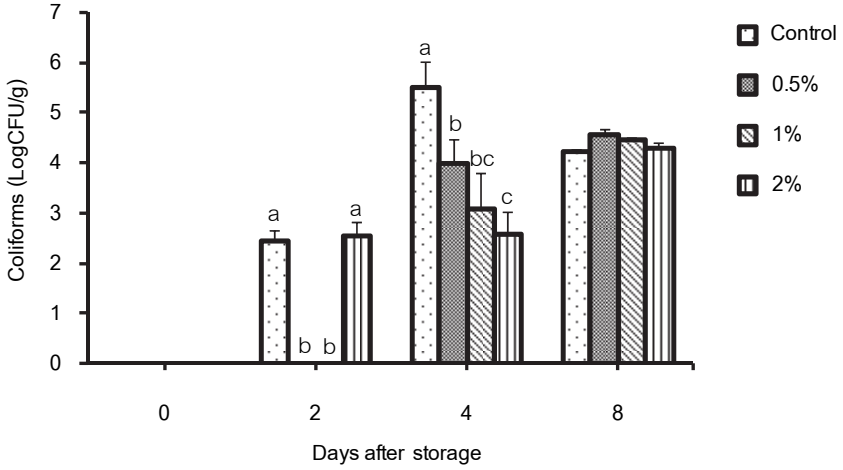

Figure 2 Coliforms count of fresh-cut broccoli dipped in fumaric acid coating solutions at 0.5, 1 and 2% compared with non-treated fresh-cut broccoli (control) packaged in polypropylene plastic bags and stored at 8°C for 8 days.

ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคมีปริมาณยีสต์และราอยู่ในช่วง 4.8-5.8 Log CFU/g โดยบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคที่จุ่มในสารเคลือบกรดฟูมาริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีปริมาณยีสต์และราต่ำที่สุด (Figure 3) เมื่อเก็บรักษาบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน พบว่าบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคที่จุ่มในสารเคลือบกรดฟูมาริก มีปริมาณยีสต์และราต่ำกว่าบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคในชุดควบคุม แสดงให้

เห็นว่าการใช้สารเคลือบกรดฟูมาริกสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์และราได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยสามารถลดจำนวนยีสต์และราได้ประมาณ 1 Log CFU/g และเมื่อเก็บรักษานานขึ้นพบว่ายีสต์และรามีปริมาณเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยในวันที่ 8 ของการเก็บรักษาบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคมีปริมาณยีสต์และราอยู่ในช่วง 5.5-5.8 Log CFU/g ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการใช้สารเคลือบกรดฟูมาริกไม่สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์และราได้ในช่วง 2 วันแรกของการเก็บรักษา เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

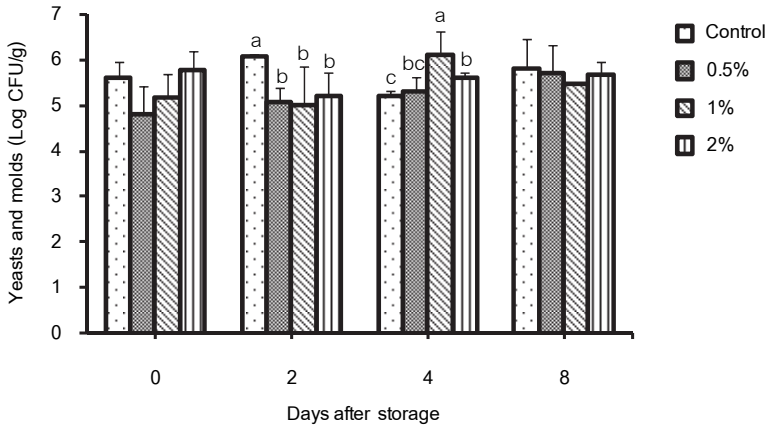

Figure 3 Yeast and molds count of fresh-cut broccoli dipped in fumaric acid coating solutions at 0.5, 1 and 2% compared with non-treated fresh-cut broccoli (control) packaged in polypropylene plastic bags and stored at 8°C for 8 days.

สรุป

การใช้สารเคลือบกรดฟูมาริกสามารถลดจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์ม ยีสต์และราที่ปนเปื้อนในบร็อคโคลีตัดแต่งพร้อมบริโภคได้ในช่วง 2-4 วันแรกของการเก็บรักษา

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ บริษัท Ueno Fine Chemical Industry (THAILAND) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์สารเคลือบกรดฟูมาริก “KEEP LONG FC” เพื่อใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากศูนย์ส่งเสริมการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยี (ศสวท) คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ประจำปี 2556

เอกสารอ้างอิง

จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล, พัทธนันท์ ยาทิพย์ และพริมา พิริยางกูร. 2555. ผลของการฉายรังสีอัลตราไวโอเลตซีต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในถั่วลิสงปน. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 43 (3 พิเศษ): 645-648.

จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล และพนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย. 2554. ผลของสารเคลือบผิวไคโตซานที่มีต่อจุลินทรีย์บนหน่อไม้ฝรั่ง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 42 (3 พิเศษ): 283-286.

บุษกร ทองใบ, ประณต พันธ์โคกกรวด และบุษญา พัตรา. 2555. ผลของกรดฟูมาริกและคลื่นเสียงความถี่สูงต่อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในโหระพา. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 43 (3 พิเศษ): 633-636.

Furukawa, Y. 2011. Application of pH Adjuster “KEEP LONG”. UENO FINE CHEMICALS INDUSTRY (THAILAND), LTD. (Online). Available: www.ueno-fc.co.jp/seminar2011/data/shiryo_furukawa.pdf.

Izumi, H. 2007. Current status of the fresh-cut produce industry and sanitizing technologies in Japan. Acta Horticulturae 746:45-52.

Kim, Y., M. Kim and K.B. Song. 2009. Combined treatment of fumaric acid with aqueous chloride dioxide or UV-C irradiation to inactivate *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Listeria monocytogenes* inoculated on alfalfa and clover sprouts. LWT-Food Science and Technology 42:1654-1658.

Moreno, D.A., M. Carvajal, C. Lopez-Berenguer and C. Garcia-Viguere. 2006. Chemical and biological characterization of nutraceutical compounds of broccoli. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 41:1508-1522.

Olarte, C., S. Sanz, J.F. Echavarri and F. Ayala. 2009. Effect of plastic permeability and exposure to light during storage on the quality of minimally processed broccoli and cauliflower. Food Science and Technology 42:402-411.

Perez-Diaz, I.M. 2011. Preservation of acidified cucumbers with a combination of fumaric acid and cinnamaldehyde that target lactic acid bacteria and yeasts. Journal of Food Science 76:M473-M477.