Agricultural Sci. J. 42 : 1 (Suppl.) : 643-646 (2011) ว. วิทย. กษ. 42 : 1 (พิเศษ) : 643-646 (2554)

ประสิทธิภาพของวานิลลินและใยเปลือกมะม่วงในการต้านจุลินทรีย์ในเนื้อมะม่วงบด

Application of Vanillin and Mango Peel Dietary Fiber as Antimicrobial Agents in Mango Pureé

ธนเดช โตธนาภรณ์[1,2], **จิตศิริ ราชตนะพันธุ์**[1,3], **พรชัย ราชตนะพันธุ์**[1,4] **และ ศศิธร ตรงจิตภักดี**[3]
Thanadet Tothanaporn[1 2], **Chitsiri Rachtanapun**[1,3], Pornchai Rachtanapun[1,4] **and Sasitorn** Tongchitpakdee[3]

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of vanillin and mango peel dietary fibre (MPDF) as antimicrobial agents in mango pureé against food spoilage microorganisms. Mango pureé was prepared from *Mangifera indica* L. c.v. Nam-Dok-Mai. L-ascorbic acid (0.05%, w/w) was added to the pureé which was artificially inoculated *Zygosaccharomyces bailii* at 4 log CFU/g. After that 80 mM vanillin, 5% and 10% (w/w) MPDF were added to mango pureé samples. Control sample comprised *Z. bailii* and L-ascorbic acid 0.05% (w/w). Samples were vacuum-packed and stored at 4°C for 5 days. The number of *Z. bailii* and total microorganisms were enumerated by spread plate method. The appearance of mango pureé was also evaluated by sight. The results showed that vanillin could reduce *Z. bailii* by 1-2 log CFU/g and slow down the enzymatic browning reaction. MPDF at 5% could reduce total microorganisms by 2 logs. The antimicrobial activity of MPDF at 5% (log reduction = 2.10 log CFU/g) and 10% (log reduction = 2.38 log CFU/g) were not different, but 10% MPDF accelerated the browning reaction in mango pureé. Thus, 80 mM vanillin and 5% MPDF are the natural antimicrobial agents that can inhibit the growth of microorganisms and the enzymatic browning in mango pureé. Therefore, they can be applied as natural preservatives in minimally processed fruit.

Keywords: natural antimicrobial agents, mango, *Mangifera indica* L., pureé

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาประสิทธิภาพของวานิลลินและเยื่อใยอาหารจากเปลือกมะม่วง (MPDF) ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เนื้อมะม่วงบดเน่าเสีย โดยเฉพาะเชื้อ *Zygosaccharomyces bailii* ในขั้นแรกเตรียมเนื้อมะม่วงบดจากมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้ เติม L-ascorbic acid 0.05% (w/w) และจำลองการปนเปื้อนของ *Z. bailii* ในเนื้อมะม่วงบด จำนวน 4 CFU/g และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์โดยเติมสารประกอบวานิลลินความเข้มข้น 80 mM, MPDF ร้อยละ 5 และ 10 โดยสูตรควบคุม คือ สูตรที่เติมจุลินทรีย์และกรดแอสคอร์บิก บรรจุตัวอย่างในถุงสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี spread plate method และตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพด้วยสายตา ผลการทดลอง พบว่า วานิลลินสามารถลดจำนวน *Z. bailii* ได้ 1-2 log CFU/g ตลอดระยะการเก็บรักษา 5 วัน และชะลอการเกิดสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ในมะม่วง ส่วน MPDF ความเข้มข้น 5% สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ดี สูตรที่เติม MPDF ความเข้มข้น 5 และ 10% ให้ผลการยับยั้งจุลินทรีย์ไม่ต่างกัน โดยมีค่า log reduction เท่ากับ 2.10 และ 2.38 ตามลำดับ แต่สูตรที่เติม MPDF 10% มีผลทำมะม่วงมีสีเข้มขึ้น ดังนั้นวานิลลินและ MPDF 5% จึงเป็นสารสกัดจากธรรมชาติที่มีศักยภาพในการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์มะม่วงบดเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียและชะลอการเกิดสีน้ำตาลจากเอนไซม์ โดยสามารถนำไปประยุกต์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลไม้สดแปรรูป

คำสำคัญ: สารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติ, มะม่วง, *Mangifera indica* L , เนื้อผลไม้บด

[1]โครงการส่งเสริมอัจฉริยภาพทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี รุ่นเยาวชน ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ 111 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120
[1]Junior Science Talent Project National Science and Technology Development Agency 111 Thailand Science Park, Paholyothin Road Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120
[2]โรงเรียนอำนวยศิลป์ 304/1 ถนนศรีอยุธยาม ราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
[2]Amnuay Silpa School 304/1 Sri Ayutthaya Road, Ratchathewee, Bangkok 10400
[3]ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 50 ถนนพหลโยธิน, จตุจักร, กรุงเทพฯ 10900
[3]Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, 50 Phaholyothin Rd., Jatujak Bangkok 10900
[4]สาขาเทคโนโลยีการบรรจุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ต. แม่เหียะ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ 50100
[4]Division of Packaging Technology, Faculty of Agro-Industry, Chiang Mai University, Chiang Mai 50100

คำนำ

มะม่วงเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมมากทั้งในและต่างประเทศ โดยมีการบริโภคทั้งผลสุกและดิบ และมีการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิด เช่น น้ำมะม่วง มะม่วงดอง ซอสมะม่วง แยมมะม่วง มะม่วงดอง เนื้อมะม่วงบด (mango pureé) เป็นต้น เนื้อมะม่วงบดเป็นผลิตภัณฑ์จากมะม่วงสุกที่เริ่มเป็นที่รู้จักในประเทศไทย โดยเนื้อมะม่วงบดสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทต่างๆ เช่น ไอศกรีมและผลิตภัณฑ์เบเกอรี เป็นต้น ในประเทศไทย การบริโภคและการแปรรูปเนื้อมะม่วงบดไม่เป็นที่นิยมเพราะผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษาค่อนข้างสั้น เนื่องจากเกิดสีคล้ำได้ง่ายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์หากไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยกระบวนการพาสเจอร์ไรส์หรือสเตอริไลส์ แต่การสเตอริไลส์มีผลทำให้สารอาหารบางชนิดเสื่อมคุณภาพ และมีผลต่อลักษณะทางประสาทสัมผัส เช่น เนื้อสัมผัสและมีกลิ่นรสไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค ในบางกรณี อาจมีการเติมสารกันเสีย เช่น โพแทสเซียมซอร์เบต โซเดียมซอร์เบต เป็นต้น (López-Malo and Palou, 2000) อย่างไรก็ตาม หากผู้บริโภคได้รับสารกันเสียในปริมาณมากติดต่อกัน อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาในการใช้สารจากธรรมชาติ ได้แก่ สารสกัดจากเปลือกมะม่วง (MPDF) และ สารประกอบวานิลลินเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเสื่อมเสียและเพื่อทดแทนสารกันเสียในผลิตภัณฑ์เนื้อมะม่วงบด

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมะม่วง

นำผลมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้จำนวน 10 กิโลกรัม มาปอกเปลือก เตรียมตัวอย่างในรูปแบบเส้นใยและสกัดสารสกัดตามวิธีของ พงศธร (2552) โดยลวกเปลือกมะม่วงด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 นาที แล้วลดขนาดขณะเปียกโดยใช้เครื่องปั่น (blender; Moulinex AY46) จากนั้นนำไปลวกด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที ที่อัตราส่วนระหว่างเปลือกมะม่วง:น้ำเท่ากับ 1:2 แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำกากที่ได้ไปทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้ง (dehydration machine; DÖur Automat ABS 601.107) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสนาน 12 ชั่วโมง ตัวอย่างเปลือกมะม่วงที่ผ่านการทำแห้ง ถูกนำมาสกัดด้วยเครื่องกำเนิดคลื่นเสียงความถี่สูง (high intensity sonicator; Bandelin Sonorex RK 52) ในเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary evaporator; Buchi Rotavapor R-114) จนได้ปริมาตรสุดท้ายเป็นครึ่งหนึ่งของปริมาตรทั้งหมด

2. การศึกษาสารสกัดจากธรรมชาติที่มีผลต่อจำนวนจุลินทรีย์ที่พบในผลิตภัณฑ์มะม่วงบด

นำเนื้อมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สุกบด มาเติม L-ascorbic acid (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO) ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 และจำลองการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ *Zygosaccharomyces bailii* ให้มีจำนวนเริ่มต้นที่ 4 log CFU/g และเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ในแต่ละชุดการทดลอง 4 ชุดการทดลอง ได้แก่ สูตรควบคุม สูตรที่เติมวานิลลิน สูตรที่เติมเยื่อใยอาหารจากเปลือกมะม่วงร้อยละ 5 และ 10โดยน้ำหนัก โดยเติมสารประกอบวานิลลิน (Sigma-Aldrich) ความเข้มข้น 80 mM, สารสกัดจากเปลือกมะม่วงความเข้มข้นร้อยละ 5 หรือ 10 โดยน้ำหนัก ลงในตัวอย่าง บรรจุลงถุง polyethylene ปลอดเชื้อในสภาวะสุญญากาศ ถุงละ 25 กรัม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ทำการตรวจสอบจำนวนยีสต์และจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี Spread plate method บนอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast malt agar (Merck, Darmstadt, Germany) และ plate count agar (Merck) ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพด้วยสายตาทุกวัน ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

ผลการทดลองและวิจารณ์

เมื่อตรวจสอบจำนวนของจุลินทรีย์ *Z. bailii* ในผลิตภัณฑ์ ณ วันแรกที่เริ่มทำการทดลอง พบว่า จุลินทรีย์มีจำนวนเท่ากับ 4.13 log CFU/g สูตรควบคุมมีจำนวน *Z. bailii* ค่อนข้างคงที่และลดลงเล็กน้อยในช่วงการเก็บรักษา 5 วัน ที่ 4 องศาเซลเซียส เนื่องจาก *Z. bailii* เป็นยีสต์ที่เจริญในช่วงอุณหภูมิปานกลาง (mesophile) อุณหภูมิต่ำสุดที่สามารถเจริญได้จึงอยู่ที่ 5 องศาเซลเซียส (Querol and Fleet, 2006) เชื้อจึงไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ในอุณหภูมิต่ำแต่ยังมีชีวิตรอด ดังนั้นจำนวนจุลินทรีย์จึงไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก ในสูตรที่เติมสารประกอบวานิลลิน ที่ 2 วัน พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ลดลง 2.04 log CFU/g และหลังจากนั้น มีจำนวนค่อนข้างคงที่ สำหรับสูตรที่เติม MPDF ร้อยละ 5 และ10 พบว่า ทั้งสองสูตรลดจำนวนเชื้อใกล้เคียงกัน จำนวนจุลินทรีย์ลดลงสูงสุด 1.1 และ 0.84 log CFU/g ในวันที่ 4 และ 3 ตามลำดับ สารประกอบวานิลลินมีประสิทธิภาพในการลด *Z. bailii* ได้ดีกว่า MPDF เนื่องจากวานิลลินเป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก แต่ MPDF เป็นสารสกัดหยาบประกอบด้วยสารประกอบหลายชนิด เช่น สารประกอบแมนจิเฟอร์ริน สารประกอบฟลาโวนอยด์ (พงศธร, 2552) แครอทีนอยด์

และเควอซิติน (พงศธร, 2552; Duad *et al*., 2010) และมีโครงสร้างโมเลกุลใหญ่กว่าสารประกอบวานิลลิน (ภาพที่ 1) ดังนั้นวานิลลินจึงสามารถผ่านเปปติโดไกลแคนบนผนังเซลล์ยีสต์และแบคทีเรียแกรมบวกได้ อีกทั้งวานิลลิน มีฤทธิ์ทำลายโครงสร้างผนังเซลล์ของจุลินทรีย์และทำให้เซลล์เมมเบรนผิดปกติ (Fitzgerald *et al*., 2005)

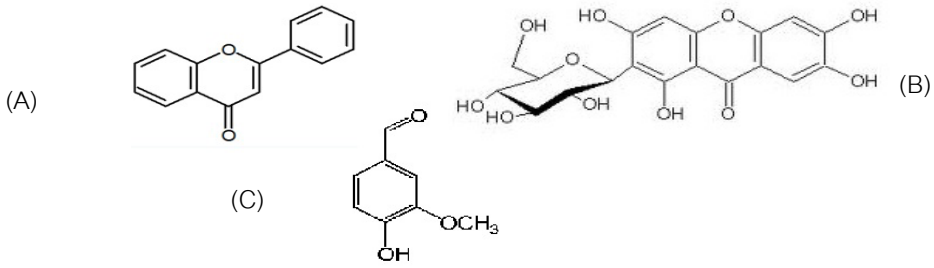

Figure 1 Chemical structure of flavonoid (A), mangiferin (B) and vanillin (C)

เมื่อตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์ ณ วันแรกที่เริ่มทำการทดลอง พบว่า จุลินทรีย์มีจำนวนเท่ากับ 4.90 log CFU/g ในสูตรควบคุมพบว่าจำนวนจุลินทรีย์มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยตั้งแต่วันแรกจนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ซึ่งอาจเป็นผลจากอุณหภูมิการเก็บรักษาต่ำที่ 4 องศาเซลเซียส ในสูตรที่เติมสารประกอบวานิลลินพบว่าจุลินทรีย์ทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องใน 4 วันแรกที่ทำการเก็บรักษา (Figure 2A) โดยลดจุลินทรีย์ได้ประมาณ 3 log CFU/g เมื่อเทียบกับวันแรก สำหรับ MPDF ร้อยละ 5 และ 10 สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ลงได้สูงสุด 2.1 และ 2.4 log CFU/g ตามลำดับใน 2 วันแรก MPDF ลดจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ดีกว่าวานิลลินเนื่องจากผลไม้มีจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., *Streptrococcus* spp., *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp. และ *Saccharomyces* spp. โดยส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียกรดแลกติก ยีสต์ หรือ รา (นงลักษณ์และปรีชา, 2552) และ MPDF เป็นสารสกัดหยาบมีองค์ประกอบหลายชนิดเป็นสารต้านจุลินทรีย์ เช่น ฟลาโวนอยด์ แครอทีนอยด์ แมนจิเฟอร์ริน และเควอซิติน ซึ่งอาจเกิดการเสริมฤทธิ์และออกฤทธิ์ร่วมกัน (Duad *et al*., 2010) ส่งผลให้เกิดการยับยั้งเชื้อโดยรวมมากกกว่าวานิลลิน ส่วนวานิลลินสามารถยับยั้งจุลินทรีย์แกรมบวกและยีสต์ได้ดี แต่อาจไม่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ (Rupasinghe *et al*., 2006)

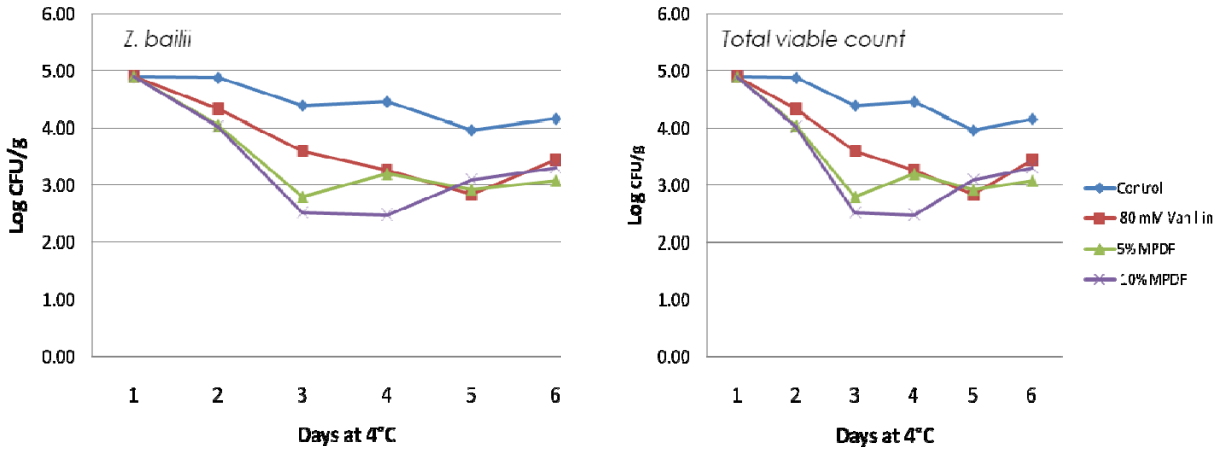

Figure 2 Number of *Z. bailii* and total microorganism in mango pureé

จากการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อมะม่วงบดด้วยสายตาพบว่าในวันที่เริ่มทำการทดลอง (Day 0) เนื้อมะม่วงบดมีสีเหลืองสด ในสูตรควบคุมและ MPDF ร้อยละ 5 นั้นลักษณะทางกายภาพยอมรับได้ถึงวันที่ 2 (ตารางที่1) สูตรที่เติมสารประกอบวานิลลินช่วยยืดอายุการเกิดสีน้ำตาล ในขณะที่ MPDF ร้อยละ 10 เกิดสีน้ำตาลเร็วที่สุด ซึ่งอาจเป็นผลมาจากสารประกอบฟีนอลในเปลือกมะม่วงทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยาออกซิเดชันจึงอาจจะมีผลในการเร่งปฏิกิริยาการเกิดสีคล้ำขึ้นได้ เมื่อเทียบกับสูตรอื่นๆ ที่มีสารกลุ่มฟีนอลน้อยกว่า เมื่อตรวจสอบลักษณะเนื้อสัมผัสของมะม่วงบดพบว่าสูตรควบคุมและสูตรเติม MPDF ร้อยละ 5 มีเนื้อสัมผัสของมะม่วงบดไม่ต่างกัน แต่สูตรที่เติมวานิลลินพบเกล็ดสีขาวบนผิวหน้ามะม่วงเนื่องจากวานิลลินบางส่วนไม่ละลายในน้ำ และสูตรที่เติม MPDF ร้อยละ 10 พบว่า เนื้อมะม่วงมีการแยกชั้น

Table 1 Visual inspection of mango pureé added with 80mM vanillin, 5% MPDF and 10% MPDF

Day	Characteristic of mango pureé			
	Control	80mM Vanillin	5% MPDF	10% MPDF
0	G : Bright yellow color	G : Bright yellow color	G : Bright yellow color	G= Bright yellow color
1	A : Light Brown color	G : Pale yellow color, vanillin odor	A : Light Brown color	NA : Brown color, mango peel odor
2	NA : Brown color	A : Light Brown color, vanillin odor	NA : Brown color, slight mango peel odor	NA : Brown color, mango peel odor
3	NA : Brown color	NA : Brown color and white crystal on the top, vanillin odor	NA : Brown color, slight mango peel odor	NA : Brown color, mango peel odor and phase separation
4	NA : Brown color	NA : Brown color and white crystal on the top, vanillin odor	NA : Brown color, slight mango peel odor	NA : Brown color, mango peel odor and phase separation
5	NA : Brown color	NA : Brown color and white crystal on the top, vanillin odor	NA : Brown color, slight mango peel odor	NA : Brown color, mango peel odor and phase separation

G=Good
A=Acceptable
NA = Not acceptable

สรุป

เยื่อใยอาหารจากเปลือกมะม่วงและสารประกอบวานิลลินมีศักยภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อมะม่วงบด โดยเยื่อใยอาหารจากเปลือกมะม่วงร้อยละ 5 สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ดี แต่สารประกอบวานิลลิน 80 mM สามารถยับยั้งยีสต์ *Z. bailii* และการเกิดสีคล้ำในมะม่วงบด ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์ผลไม้บดได้ดี จึงมีศักยภาพนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารกันเสียในอาหารต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ที่ให้การสนับสนุนเงินทุนบางส่วนสำหรับงานวิจัยครั้งนี้ โครงการส่งเสริมอัจฉริยภาพทางวิทยาศาสตร์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำหรับสถานที่ทำการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2552. จุลชีววิทยาทั่วไป. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร. 504 น.

พงศธร ล้อสุวรรณ. 2552. ผลของระยะการเจริญเติบโตและสายพันธุ์ต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันและสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของเยื่อใยมะม่วง (MPDF). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Duad, H.N., S.C. Aung, K.A. Hewavitharana, S.A. Wilhinson, J. Pierson, J.S. Robert-Thomson, N.P. Shaw, R.G. Monteith, J.M. Gidley and M. Parat. 2010. Mango extract and the mango component mangiferin promote endothelial cell migration. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58(8): 5181-5186.

Fitzgerald, J.D., M. Stradford, J.M.Gasson and A. Narbad. 2005. Structure-function analysis of the vanillin molecule and its antifungal properties. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53(5): 1769-1775.

Lopéz-Malo, A. and E. Palou. 2000. Modeling the growth/no-growth interface of *Zygosaccharomyces bailii* in mango pureé. Journal of Food Science 65(3): 516-520.

Querol, A. and H.G. Fleet. 2006. Yeast in Food and Beverages. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York. 360p.

Rupasinghe, V.H.P., J. Boulter-Bitzer, T. Ahn and A.J. Odumeru. 2006. Vanillin inhibits pathogenic and spoilage microorganisms *in vitro* and aerobic microbial growth in fresh-cut apples. Food Research International 39(5): 575-580.