รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ b00046118

เรื่อง

การประยุกต์ใช้สารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งยีสต์ในผักกาดดอง

The Potential Application of Herbal Extract as Inhibited Yeast in Pickle Leafy

RMUTSV
SK071013

โดย

วราวุฒิ ดวงศิริ หัวหน้าโครงการ

ดาวริน สุขเกษม นักวิจัย

579.562
2172
2551

รายงานนี้ได้รับทุนสนับสนุนวิจัยจากเงินรายได้
คณะศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย สงขลา
ประจำปีงบประมาณ 2550

บทคัดย่อ

การยับยั้งการเกิดฟิล์มยีสต์ในน้ำผักกาดดองของสารสกัดอบเชยและสารสกัดกานพลู(เนื้อ) และ สารสกัดกานพลู(น้ำมันหอมระเหย) พบว่า สารสกัดกานพลู (น้ำมันหอมระเหย) สามารถยับยั้งการเกิดฟิล์มยีสต์ได้ดีที่สุดโดยความเข้มข้น 200 และ 240 ppm สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ ได้ ประมาณ 2 log ที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเชื้อจะเพิ่มจำนวนจนสามารถสร้างฟิล์มยีสต์บนผิวหน้าของน้ำผักกาดดองได้ ที่ความเข้มข้น 280 320 และ360 ppm สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ ได้ ประมาณ 2 log ที่เวลา 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง และเชื้อยีสต์สามารถเพิ่มจำนวนและสร้างฟิล์มยีสต์ได้ ที่เวลา 72 ชั่วโมง ส่วน ที่ความเข้มข้น 400 ppm สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ ได้ ประมาณ 2 log ที่เวลา 24 ชั่วโมง และ สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ให้อยู่ในปริมาณที่ไม่ทำให้เกิดฟิล์มยีสต์ได้เป็นเวลา มากกว่า72 ชั่วโมง หรือ มากกว่า 3 วัน นอกจากนั้นยังพบว่าเมื่อเติมในน้ำผักกาดดองแล้ว ทำให้สีและกลิ่นของน้ำผักกาดดองเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด ดังนั้นสารสกัดกานพลูส่วนที่เป็นน้ำมันหอมระเหย น่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำมาประยุกต์ใช้ในการถนอมอาหารประเภทอาหารหมักดอง แทนการใช้วัตถุกันเสียได้

Abstract

The crude ethanolic extracts of herbal 2 species including *Cinnamomum zeylanicum* (cinnamon) and *Eugenia aromatica* (clove) were used to study the antimicrobial activity against the film yeasts in pickle leafy vegetable. Ethanolic extract of clove essential oil showed activity is the best. The ethanolic extract of clove essential oil showed activity against film yeasts with 200 ppm and 240 ppm for 24 hours with 280 ppm 320 ppm and 360 ppm for 48 hours and 400 ppm for more 72 hours. Furthermore, the test of the sensory as colour and odur characteristics of the final product suggests that the use of clove essential oil can be considered as an alternative to traditional food preservatives for fermented foods.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยครั้งนี้ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากงบรายได้ปี 2550 คณะศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล สงขลา เพื่อเป็นทุนในการดำเนินการวิจัย

ขอขอบคุณอาจารย์ถนอมศรี เจนวิถีสุข คณะบดีคณะศิลปศาสตร์ที่ให้การสนับสนุนทั้งงบประมาณและคำแนะนำการดำเนินงานตลอดการทำวิจัย

ขอขอบคุณหลักสูตรวิทยาศาสตร์ที่ให้ความสนับสนุนห้องปฏิบัติการในการดำเนินการวิจัยตลอดระยะเวลาที่ดำเนินงาน

ขอขอบคุณ คุณดาวริน สุขเกษม นักวิชาการ 7 ว. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์สุราษฎร์ธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการสกัดสารสกัดที่นำมาวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อนอาจารย์ในหลักสูตรวิทยาศาสตร์ที่ได้ให้คำแนะนำการทำงานวิจัยครั้งนี้ และความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ตลอดมา

วราวุฒิ ดวงศิริ

ดาวริน สุขเกษม

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(2)
กิตติกรรมประกาศ	(4)
สารบาญ	(5)
สารบาญตาราง	(6)
สารบาญภาพ	(7)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 บทนำต้นเรื่อง	1
1.2 บทตรวจเอกสาร	2
1.3 วัตถุประสงค์	7
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	7
1.5 ขอบเขตงานวิจัย	7
บทที่ 2 วิธีวิจัย	8
2.1 วัสดุอุปกรณ์	8
2.2 หลักการและทฤษฎี	9
2.3 วิธีดำเนินงานวิจัยและวิธีทดลอง	10
บทที่ 3 ผลการทดลอง	12
3.1 ศึกษาผลการทดลองของสารสกัดอบเชยและกานพลูต่อการยับยั้งที่ทำให้เกิดฟิล์มยีสต์ในน้ำผักกาดดอง	12
3.2 ลักษณะทางกายภาพของน้ำผักกาดดองเมื่อเติมสารสกัดอบเชยและกานพลูที่ความเข้มข้นต่างๆ	12
3.3 การยับยั้งการเกิดฟิล์มยีสต์ในน้ำผักกาดดองของสารสกัดอบเชยและกานพลู	14
3.4 การยับยั้งเชื้อยีสต์ในน้ำผักกาดดองของสารสกัดกานพลู (น้ำมัน)	15
บทที่ 4 วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย	16
เอกสารอ้างอิง	17

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สายพันธุ์ของยีสต์ที่มีการปนเปื้อนที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในอาหารและเครื่องดื่ม	4
2	ชนิดและลักษณะของอาหารที่เกิดการเน่าเสียโดยยีสต์	5
3	การยับยั้งการเกิดฟิล์มยีสต์ของสารสกัดอบเชยและกานพลู	14
4	ผลการยับยั้งยีสต์ในน้ำผักกาดดองของสารสกัดกานพลู (น้ำมัน)	15

สารบาญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	สารสกัดสมุนไพรชนิดที่สกัดได้	12
2	ลักษณะสีของน้ำผักกาดดอง	13

บทที่ 1 บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

ผลิตภัณฑ์ผักดองที่ผลิตและจำหน่ายกันมากในประเทศไทย ได้แก่ผักกาดดองส่วนผักอื่น ๆ ที่นำมาใช้ดองได้แก่ หน่อไม้ หน่อถั่วลิสง ผักบุ้ง หอมแดง ผักเสี้ยนและสะตอ เป็นต้น (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2536) ซึ่งผักกาดดอง ชนิดดองเปรี้ยว เป็นผักดองที่นิยมรับประทานกันมากในทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยมากจะบรรจุในปี๊บแล้วนำจำหน่ายปลีกโดยการเทใส่กะละมัง ซึ่งพบมีการทำให้ผักกาดดองมีลักษณะที่ไม่น่ารับรับประทานเนื่องจากมีการเจริญของยีสต์ ทำให้เกิดฝ้าขาวบนผิวหน้าของน้ำผักกาดดอง ผู้ผลิตจึงมักนิยมใส่สารกันเสีย ชนิด กรดซอร์บิก และกรดเบนโซอิกเพื่อยับยั้งการเจริญของยีสต์ และจากการสำรวจปริมาณของกรดซอร์บิก และกรดเบนโซอิกในผักและผลไม้ดอง พบว่ามีการเติมสารกันเสียดังดังกล่าวในปริมาณที่เกินมาตรฐานกำหนด (กองอาหารส่งออก, 2541) และยังพบมีการใช้กรดซาลิซัยลิกซึ่งเป็นสารที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในอาหารมาใช้ในการยับยั้งยีสต์ในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ดองอีกด้วยซึ่งการใช้สารกันเสียเกินมาตรฐานกำหนดและใช้สารกันเสียชนิดที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในอาหารทำให้อันตรายต่อผู้บริโภคได้

ปัจจุบันผู้บริโภคไม่นิยมบริโภคอาหารที่มีการเติมสารกันเสียที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ แต่ต้องการบริโภคอาหารที่ใช้วิธีการถนอมอาหารแบบธรรมชาติมากขึ้น เช่น การลดความชื้นของอาหาร โดยการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์หรือน้ำตาลซูโครส และการทำให้อาหารมีพีเอชต่ำลงโดยการเติมกรดซีตริกหรือกรดฟอสฟอริก รวมทั้งการสนใจที่จะนำเครื่องเทศ หรือสารสกัดจากพืชมาใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร สารสกัดดังกล่าวนอกจากจะใช้เพื่อการแต่งกลิ่นและรส แล้วยังมีประโยชน์ในทางการแพทย์ และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านการเกิดอนุมูลอิสระอีกด้วยทั้งยังมีความปลอดภัยในการที่จะนำมาใช้ในการถนอมอาหารและเครื่องดื่มได้ (Lopez-Malo *et al.*, 1997) จากการศึกษาวิจัยพบว่าน้ำมันหอมระเหยของอบเชยและกานพลูสามารถยับยั้งยีสต์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียได้ถึง 13 สายพันธุ์ (Conner and Beuchat, 1984) และมีรายงานสารประกอบซินนามอลดีไฮด์จากอบเชยและยูจีนอลจากกานพลูมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (Burt, 2004) และยังพบว่าเมื่อนำสารสกัดสมุนไพรผสมระหว่างอบเชย corni fructus และ chinese chive มาประยุกต์ใช้ในการถนอมอาหาร โดยการเติมในผลิตภัณฑ์ น้ำฝรั่ง ชาเขียว ชาดำ น้ำส้มคั้น และนม พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ยีสต์ ราที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสียได้ ทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ดังกล่าวได้ (Hsieh *et al.*, 2001 and Mau *et al.*, 2001)

ดังนั้นโครงการการทำวิจัยในครั้งนี้ จึงมุ่งเน้นการนำสารสกัดพืชสมุนไพรชนิดอบเชยและกานพลูมาประยุกต์ใช้ในการยับยั้งยีสต์ที่ทำให้เกิดฝ้าขาวในผักกาดดองแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ เพื่อให้ผู้บริโภคมีความปลอดภัยในการบริโภคผักกาดดอง

1.2 บทตรวจเอกสาร

อาหารเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความจำเป็นต่อการดำเนินชีวิตของมนุษย์ การถนอมอาหารได้เข้ามามีบทบาทสำคัญต่อมนุษย์เป็นอย่างมากเนื่องจากพฤติกรรมการบริโภคอาหารมีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เนื่องจากคนส่วนใหญ่ต้องการความสะดวก รวดเร็ว และต้องการเก็บรักษาอาหารไว้บริโภคได้นานๆ การถนอมอาหารนั้นมีมาตั้งแต่สมัยโบราณ โดยชาวโรมันค้นพบการรมควันเนื้อสัตว์ การหมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ การทำเนยแข็ง จนกระทั่งปี ค.ศ. 1864 หลุยส์ ปาสเตอร์ ได้พบว่าไวน์ และเบียร์ เกิดการบูดเสียจากสิ่งมีชีวิตเล็กๆ ที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่าที่เรียกว่า จุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์จะทำให้อาหารเน่าเสียเมื่ออาหารนั้นอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์นั้น การถนอมอาหารเป็นกระบวนสำคัญในการเก็บรักษาอาหารไว้ให้ได้นาน โดยไม่ทำให้อาหารนั้นเกิดการเสื่อมเสีย และยังคงอยู่ในสภาพที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค การถนอมอาหารเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคมีหลายวิธีได้แก่ การถนอมอาหารโดยการทำให้แห้ง เป็นการกำจัดน้ำส่วนใหญ่ที่อยู่ในอาหารออกจากอาหารซึ่งมีผลให้กระบวนการเมตตาบอลิซึม (metabolism) และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ช้าลงและยังเป็นการลดอัตราปฏิกิริยาการหืนของไขมันอันเนื่องมาจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส (hydrolysis) การถนอมอาหารโดยใช้ความเย็นเป็นการลดอุณหภูมิของอาหารลงให้ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียสเพื่อทำให้กระบวนการ เมตาบอลิซึม และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์รวมไปถึงกิจกรรมของเอ็มไซน์ ซึ่งเป็นการชะลอการเน่าเสียของอาหาร การถนอมอาหารโดยการใช้สารเคมี มีจุดประสงค์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร โดยมีผลยับยั้งการเน่าเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ สารเคมีที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ได้แก่ เกลือ น้ำตาล กรด สารกันเสีย สารกันหืน เป็นต้น และอีกวิธีหนึ่งที่กำลังเป็นที่สนใจในการถนอมอาหารคือการถนอมอาหารโดยการใช้รังสีเป็นวิธีถนอมอาหารวิธีหนึ่งที่เป็นการเลี่ยงการใช้ความร้อน ซึ่งการใช้ความร้อนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติบางประการของอาหารได้ รังสีเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะหลีกเลี่ยงปัญหานี้ เนื่องจากรังสีที่มีการแตกตัวที่ให้ความยาวคลื่นในช่วงสั้นนั้นสามารถที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ การทำงานของเอ็มไซน์ และการเจริญเติบโตของไข่และตัวอ่อนของแมลงได้ดี ทั้งยังสามารถป้องกันการงอกของผักและผลไม้และยังคงทรงคุณค่าทางโภชนาการ และรสชาติของอาหารได้ดี โดยรังสีที่ใช้ในการถนอมอาหารมี 3 ชนิดคือ รังสีแกมมา

(gamma radiation)รังสีเอ็กส์ (X- radiation) และอิเล็กตรอนกำลังสูง (high speed electron) นอกจากนี้แล้ววิธีการถนอมอาหารที่อยู่คู่กับสังคมไทยมายาวนานคือ การถนอมอาหารแบบหมักดองเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นเนื่องจากจุลินทรีย์ย่อยสลายคาร์โบร์ไฮเดรตหรือสารอื่นภายใต้สภาวะที่มีหรือไม่มีอากาศ ซึ่งแตกต่างจากการถนอมวิธีอื่นที่มีวัตถุประสงค์ในการทำลายเอ็มไซน์ธรรมชาติในอาหาร การหมักดองทำให้ พีเอช (pH) ของอาหารต่ำลง ซึ่งเป็นการป้องกันไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคเจริญเติบโตได้

ผลิตภัณฑ์ผักดองเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตและจำหน่ายกันมากในประเทศไทยเพื่อใช้ในการบริโภค ซึ่งนำพืชผลทางการเกษตรมาถนอมอาหารแบบหมักดอง ได้แก่ผักกาดดองส่วนผักอื่น ๆ ที่นำมาใช้ดองได้แก่ หน่อไม้ หน่อถั่วลิสง ผักบุ้ง หอมแดง ผักเสี้ยนและสะตอ เป็นต้น (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2536) ซึ่งผักกาดดองเป็นผักชนิดดองเปรี้ยวชนิดหนึ่ง เป็นผักดองที่นิยมรับประทานกันมากในทั่วทุกภาคของประเทศไทยและวางจำหน่ายทั่วไปในท้องตลาดทั่วไป โดยพบว่าการจำหน่ายในท้องตลาดนั้นภาชนะที่บรรจุผักกาดดองนั้นจะเป็นการบรรจุภัณฑ์ในปี๊บและเทวางขายในกะละมัง ผักกาดดองสัมผัสกับอากาศจะทำให้เกิดฟิล์มยีสต์ ซึ่งยีสต์เป็นตัวการสำคัญในการเน่าเสียในของผลิตภัณฑ์ผักกาดดอง โดยยิสต์ที่เกิดขึ้นนั้นอยู่ในกลุ่มจีนัส *Pichia Hansenula Debaryomyces Candinia* และ *Tricosporon* (สาวิตรี ลิ่มทอง, 2540) ซึ่งยีสต์กลุ่มนี้ทำให้อาหารจำพวก เช่น น้ำผลไม้ น้ำเชื่อม น้ำผึ้ง แยม ไวน์ เบียร์ เนื้อสัตว์ ผักดอง และอื่นๆ (วิลาวัลย์ เจริญจิระตระกูล, 2537) นอกจากกลุ่มยิสต์ดังกล่าวแล้วในปี 2003 (Loureiro and Ferrreira) รายงานว่าสามาถจำแนกยีสต์ตามอนุกรมวิธานได้ 761 สปีชีส์ หนึ่งในสี่แยกได้จากอาหารแต่ไม่ทั้งหมดที่ทำให้อาหารและเครื่องดื่มเน่าเสีย ซึ่งยีสต์ที่พบมีการปนเปื้อนและทำให้อาหารเน่าเสีย โดยสายพันธ์ที่พบบ่อยแสดงดังตารางที่ 1 และลักษณะของอาหารที่เน่าเสียที่เกิดจากการปนเปื้อนของยีสต์ จะมีลักษณะสีกลิ่นของอาหารมีการเปลี่ยนแปลงไปหรืออาจมีแก๊สหรือฟลีล์มเกิดขึ้นในอาหาร ซึ่งลักษณะที่เกิดขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารดังตารางที่ 2 (Loureiro and Ferrreira, 1999)

สำหรับยีสต์ที่มีบทบาทสำคัญในการทำให้อาหารประเภทผักดอง เช่น แตงกวาดอง ผักกาดดอง ได้แก่ยีสต์สายพันธุ์ *Pichia Hansenula Debaryomyces Candinia* และ *Tricosporon* และทำให้เกิดฝ้าขาวบนผิวหน้าของอาหารดังกล่าว ซึ่งยีสต์เหล่านี้จะออกซิไซด์กรดอินทรีย์ทำให้เกิดความเป็นกรดลดลง ส่งผลให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ทนกรดได้น้อยกว่าสามารถเจริญทำให้เกิดการเน่าเสียต่อไป (สาวิตรี ลิ่มทอง, 2540) และยีสต์แต่ละสายพันธุ์สามารถเจริญและทำให้เกิดฝ้าบนผิวหน้าของอาหารได้แตกต่างกันขึ้นกับความเข้มข้นของเกลือในอาหารแต่ละชนิด เช่น *C. mycoderma* และ *P. membranefaciens* จะทำให้เกิดฝ้าบนผิวหน้าของผักดองที่มีความเข้มข้นของเกลือต่ำกว่า ร้อยละ

10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในขณะที่ *D. hansenii* เป็นพวกทนเกลือและสามารถเจริญเติบโตในสารละลายที่มีเกลือร้อยละ 15-20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ดังนั้นมักพบยีสต์พวกนี้ในอาหารที่มีเกลือหรือน้ำเกลือ ทำให้เกิดฝ้าขาวในผักดองเช่นแตงกวาดอง (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2537) นอกจากนี้แล้วยังมีการรายงานของ Savard และ คณะ (2002) พบว่า สายพันธุ์หลักของยีสต์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย คือ *S. bayanus* และ *S. unisporus* รองลงมา คือ *H. anomala* และ *Debarymyces* sp.

ตารางที่ 1 สายพันธุ์ของยีสต์ที่มีการปนเปื้อนที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในอาหารและเครื่องดื่ม

Most Frequent contaminanats (Deck and Beuchat, 1996)	Spoilage species (Pitt and Hocking ,1985)	Additional spoilage species (Tudor and Board, 1993)
Saccharomyces cerevisiae	*Brettanomyces intermeditus*	*Candida dattila*
Debaryomyces hansenii	*Candida holmii*	*Candida globosa*
Pichia anomala	*Candida krusei*	*Candida humicola*
Pichia membranifaciens	*Debaryomyces hansenii*	*Candida lactis-condensi*
Rhodotorula glutinis	*Kloeckera apiculata*	*Candida lipolytica*
Rhodotorula mucilaginosa	*Pichia membranifaciens*	*Candida parapsilosis*
Toruaspola delbrueckii	*Saccharomyces cerevisiae*	*Candida sake*
Kluyveromyces marxianus	*Schizosaccharomyces pombe*	*Candida versatilis*
Issatchenkia orientalis	*Zygosaccharomyces bailii*	*Candida zeylanoides*
Zygosaccharomyces bailii	*Zygosaccharomyces bisporus*	Cryptococcus *spp.*
Candida parapsilosis	*Zygosaccharomyces rouxii*	*Hunsenula anomala*
Zygosaccharomyces rouxii		*Hunsenula subpelliculoxa*
Candida guilliermondii		*Kluyveromyces marxianus*
Candida albidus		*Pichia burlonii*
Candida tropicalis		*Pichia fermentans*
Saccharomyces exiguous		*Sporobolomyces roseus*
Pichia fermentans		*Toruaspola delbrueckii*
Trichosporon pullutans		*Trichosporon cultaneum*
Hanseniapola uvarum		*Trycosporum pullnulans*
Candida zeylanoides		

ที่มา : Loureiro และ Ferreira (2003)

ตารางที่ 2 ชนิดและลักษณะของอาหารที่เกิดการเน่าเสียโดยยีสต์

Type of food	Spoilage effect						
	Surface Growth	Discolouration	Gas production	Haze/ Cloudiness	Films	Off - Flavours	Texture changes
Fresh vegetables	X	X				X	X
Brined vegetables	X	X	X		X	X	X
"Ready-to-eat" Vegetables	X		X			X	
Fresh Fruits		X	X			X	X
Fruit juices			X	X		X	
"Ready-to-eat" Fruits	X		X			X	
Mayonnaise		X	X		X	X	X
Wine, Beer			X	X	X	X	
Soft drinks			X	X		X	
Confectionery,Jams	X	X	X	X	X	X	X
Syrups,honey, fruit concentrates			X	X	X	X	
Butter , cream		X				X	
Cheese		X	X			X	
Yoghurts			X		X	X	
Sliced bread	X	X				X	
Unbaked bread Dough	X	X				X	
Sausage	X	X	X			X	

ที่มา : Loureiro และ Querol (1999)

การที่จะถนอมอาหารโดยการหมักดองนั้น พบว่ายีสต์มีส่วนสำคัญในการทำให้เกิดการเน่าเสียโดยการเกิดฟิล์มยีสต์ หรือฝ้าขาวทำให้ของหมักดองนั้นไม่น่าบริโภค เพื่อลดปัญหาดังกล่าวจึงได้เติมสารกันเสียที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ เพื่อต้านการเจริญเติบโตจุลินทรีย์ เช่น ซอร์เบท และเบนโซเอท ซึ่งเป็นสารเคมีสังเคราะห์ ซึ่งอาจไม่มีความปลอดภัยหากใช้ในปริมาณที่มากเกินไป (ศิวาพร ศิวเวช, 2529) ผู้บริโภคต้องการบริโภคอาหารที่ใช้วิธีการถนอมอาหารแบบธรรมชาติมากขึ้น เช่น การลดความชื้นของอาหาร โดยการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์หรือน้ำตาลซูโครส และการทำให้อาหารมีพีเอชต่ำลงโดยการเติมกรดซีตริกหรือกรดฟอสฟอริก รวมทั้งการสนใจที่จะนำเครื่องเทศ หรือสารสกัดจากพืชมาใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร

พืชเกือบทั้งหมดมีความสามารถจำกัดในการผลิตสารอะโรมาติก (aromatic) และสารอะโรมาติกที่พืชผลิตขึ้นทั้งหมดเป็น ฟีนอล (phenol) หรือ ออกซิเจนซับสติติท เดอริเวทีพ(oxygen-substituted derivatives) ซึ่งเป็นสารทุติยภูมิพบมากถึง 12,000 ชนิด โดยพืชสร้างสารดังกล่าวเพื่อเป็นกลไกในการป้องกันตัวเองจากการทำลายของจุลินทรีย์ แมลง และ พวกสัตว์กินพืช กลุ่มสารสำคัญในพืชที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ ฟีนอลิค (phenolic) และโพลีฟีนอล (polyphenols) ซิมเปิลฟีนอลิค (Simple phenolics) ฟีนอลิคแอซิด (Phenolic acid) ควิโนน (Quinones) ฟลาโวน (Flavones) ฟลาโวนอย (Flavonoids) ฟลาโวโนน (Flavonols) แทนนิน (Tannins) คูมาริน (Coumarins) อัลคาลอย (alkaloids) เลคติน (lectins) และโพลีเปปไทด์ (polypeptides) กลไกการทำงานในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสำคัญแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน มีรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิคจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ATPase บนไซโตพลาสมิกเมมเบรนของ *S. aureus* ซึ่งจะรบกวนการส่งผ่านสารอาหาร ส่วนน้ำมันหอมระเหยจะทำลายเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์องค์ประกอบโครงสร้างของเซลล์ยีสต์และการสร้างพลังงาน นอกจากนั้นน้ำมันหอมระเหยยังขัดขวางการซ่อมแซมเมตาบอลิซึมของเซลล์ยีสต์ที่บาดเจ็บหรือโครงสร้างถูกทำลายโดยความร้อน (Cerrutti , 1996)

สำหรับการนำสารสกัดสมุนไพรที่ได้จากพืชนำมาใช้ในการช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์นั้นพบว่าได้นำมาใช้เพิ่มมากขึ้นโดย Roller (1995) นำกรดซินนามิค ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิค ที่พบในเครื่องเทศหลายชนิด รวมทั้งอบเชย มาใช้แช่หรือสเปรย์ผลไม้ทั้งผลหรือผลไม้ที่หั่นชิ้น และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น พบว่ากรดซินนามิคสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลไม้ได้หลายชนิด และจากการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยกานพลูต่อการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อและเนยแข็ง (Memon and Garg, 2001) นอกจากนี้แล้ว Valero และSalmeron (2003) ศึกษาการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* สายพันธุ์ INRAL 2104 ของน้ำมันหอมระ

เหยจากพืช 11 ชนิด ได้แก่ จันทน์เทศ (nutmeg) สาระแหน่ (mint) กานพลู (clove) ออริกาโน (oregano) อบเชย (cinnamon) แซสซะเฟรซ (sassafras) เซจ (sage) ไทม์ (thyme) หรือ โรสเมรี (rosemary) พบว่าน้ำมันหอมระเหยของอบเชย มีประสิทธิภาพในการยับยั้งดดีที่สุดรองลงมา คือ ออริกาโน โทม์ กานพลู เซจ โรสเมรี

โครงการการทำวิจัยในครั้งนี้ จึงมุ่งเน้นการนำสารสกัดพืชสมุนไพรชนิดอบเชยและกานพลูมาประยุกต์ใช้ในการยับยั้งยีสต์ที่ทำให้เกิดฝ้าขาวในผักกาดดองแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ เพื่อให้ผู้บริโภคมีความปลอดภัยในการบริโภคผักกาดดอง

1.3 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งยีสต์ในน้ำผักกาดดอง
2. ศึกษาความเข้มที่เหมาะสมของสารสกัดสมุนไพรในการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ผักกาดดอง

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.สามารถนำสารสกัดอบเชยและกานพลูมาประยุกต์ในการถนอมอาหารในผักกาดดองแทนสารกันเสียชนิดเคมีสังเคราะห์เพื่อให้ผู้บริโภคมีทางเลือกในการบริโภคอาหารที่ปลอดภัย

2. สามารถเผยแพร่องค์ความรู้เกี่ยวกับการใช้สารสกัดในการถนอมอาหารตลอดจนน่าจะนำไปประยุกต์ในการถนอมอาหารระดับอุตสาหกรรมได้

1.5 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. ศึกษาผลของสารสกัดอบเชยและกานพลู ต่อการยับยั้งยีสต์ที่ทำให้เกิดฝ้าขาวในน้ำผักกาดดอง

2. ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดอบเชยและกานพลู ประยุกต์ใช้ในการยับยั้งยีสต์ที่ทำให้เกิดฝ้าขาวในผักกาดดองแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ เพื่อให้ผู้บริโภคมีความปลอดภัยในการบริโภคผักกาดดอง

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

2.1 วัสดุและอุปกรณ์

2.1.1 ตัวอย่าง

- ผักกาดดองชนิดดองเปรี้ยว บรรจุปี๊บ เก็บจากแหล่งจำหน่ายในเขตตลาดสดโพธิ์หวาย อ.เมือง จ. สุราษฎร์ธานี

2.1.2 พืชสมุนไพร

- กานพลู (Clove)
- อบเชย (Cinnamon)

2.1.3 สารเคมี

- เอทานอล (C_2H_5OH, AR Grade: Merk, Germany)
- โซเดียมคลอร์ไรด์ (NaCl, AR Grade: Fluka, Swizerland)
- Potato dextrose agar (PDA, Difco: USA)
- สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4.0 pH 7.0 และ pH 10 (AR Grade: Merk, Germany)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH, AR Grade, Merk: Germany)
- ทาทาลิค ($HOOC(CH_2O)_2COOH$, AR Grade, Merk: Germany)

2.1.4 อุปกรณ์

- เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง
- เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ
- ตู้ปราศจากเชื้อจากลมเป่า
- ตู้อบลมร้อน
- เครื่องบดปั่น
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ
- เครื่องนับโคโลนี
- ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิต่ำ
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดพีเอช

- เตาไฟฟ้าพร้อมเครื่องกวนแม่เหล็ก
- บิกเกอร์ขนาด 1000 500 250 100 50 และ 10 มิลลิลิตร
- ปิเปต ขนาด 10 และ 5 มิลลิลิตร

2.2 หลักการและทฤษฎี

การเน่าเสียในน้ำผลไม้ที่เกิดขึ้นได้บ่อยเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง โดยยีสต์เป็นตัวการสำคัญในการหมักน้ำตาลในน้ำผลไม้ได้เป็นแอลกอฮอล์และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งยีสต์ที่มีบทบาทสำคัญได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2536) ส่วนในผักดอง เช่น แตงกวาดองและผักกาดดองจะเกิดฟิล์มยีสต์ขึ้นบนอาหารซึ่งเกิดโดยยีสต์ในจีนัส *Pichia Hansenula Debaryomyces Candida* และ *Trichosporon* ที่เจริญบนผิวหน้าของอาหารที่มีความเป็นกรด (สาวิตรี ลิ่มทอง. 2540) นอกจากสายพันธุ์ข้างต้นแล้วยังพบว่าสายพันธุ์หลักที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในผักดองคือ *S. bayanas* และ *S. unisporus* รองลงมาคือ *H. anomala* และ *Debarymyces* sp. (Savard *et al.*, 2002) เพื่อป้องกันการเกิดฟิล์มยีสต์ที่เกิดขึ้นผู้ผลิตจึงมักนิยมใส่สารกันเสียชนิด กรดซอร์บิก และกรดเบนโซอิก เพื่อยับยั้งการเจริญของยีสต์ และจากการสำรวจปริมาณของกรดซอร์บิก และกรดเบนโซอิกในผักและผลไม้ดอง ตรวจพบมีการเติมสารกันเสียดังกล่าวในปริมาณที่เกินมาตรฐานกำหนด (กองอาหารส่งออก, 2541) และเนื่องจากมีการนำสารสกัดสมุนไพรมาประยุกต์ใช้ในการถนอมอาหาร พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ตลอดจนมีความปลอดภัยในการถนอมอาหารและเครื่องดื่ม (Lopez-Malo *et al.*, 1997, Hsieh *et al.*, 2001 and Mau *et al.*, 2001)

สำหรับพืชสมุนไพรที่ได้นำมาใช้สกัดสารเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการถนอมอาหารเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของยิสต์หรือจุลินทรีย์อื่นๆ รากพืช *Landolphia owerrience* ไทม์ อาริกาโน อบเชย และกานพลู (Okeke *et. al,*. 2001, Cerrutti, 1996, Corner and Beuchat, 1984) สำหรับอบเชยและกานพลูนั้นเป็นพืชที่พบมากในประเทศไทยและสามารถหาได้ง่าย และองค์ประกอบของสารสกัดที่ได้จากสมุนไพรทั้งสองมีคุณสมบัติที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หรือยีสต์ได้ โดยมีรายละเอียดดังนี้

อบเชย (Cinnamon) เป็นพืชในตระกูล Lauraceae ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cinnamomum zeylanicum Breyn*

อบเชยมีน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.7-1.8 ซึ่งประกอบด้วย ซินนามิคอัลดีไฮด์มากที่สุดประมาณร้อยละ 65-70 รองลงมาได้แก่ยูจินอลร้อยละ 10-12 สารเคมีที่พบจะแตกต่างกันไปในส่วนต่างๆ ของอบเชย กล่าวคือ น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากใบประมาณร้อยละ 0.9-1.5 มียูจินอลมากที่สุด โดยไม่น้อยกว่าร้อยละ 80 ส่วนในน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกอบเชยจะมีซินนามิคอัลซีไฮด์ร้อยละ 75-

90 และมียูจีนอลเพียงเล็กน้อยเท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยของอบเชยในใบและรากจะแตกต่างกันไปขึ้นกับอายุของพืช ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ของอบเชยขึ้นอยู่กับซินนามิคอัลดีไฮด์และยูจีนอลเป็นสำคัญ โดยยูจีนอลจะทำลายโปรตีนในเซลล์และทำให้เกิดการบาดเจ็บที่เซลล์เมมเบรนเป็นผลให้สารต่างๆภายในเซลล์ไหลออกสู่ภายนอกเซลล์ เซลล์จึงตายได้ แต่กลไกในการยับยั้งการเจริญของซินนามิคอัลดีไฮด์และสารอื่นๆ ดังกล่าวนี้ยังไม่ทราบชัด (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2527)

กานพลู (Clove) เป็นพืชในตระกูล Myrtaceae ชื่อวิทยาศาสตร์ *Eugenia aromatica* Baill หรือ *Eugenia caryophyllata* Thunb หรือ Syzygium aromaticum

กานพลู มีองค์ประกอบที่เป็นน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ ยูจีนอล (eugenol) ร้อยละ 80.87 เบตา-คารีโอฟิลลีน (B-caryophyllene) ร้อยละ 9.12 และ อะซีตีล ยูจีนอล (acetyl eugenol) ร้อยละ 7.33 สำหรับปริมาณสารต่างๆ ที่พบในน้ำมันหอมระเหยนี้พบว่ายูจีนอลจะมีปริมาณแตกต่างกันไปตามส่วนที่นำมาสกัด เช่น น้ำมันหอมระเหยจากส่วนของลำต้นและตาจะมียูจีนอลประมาณร้อยละ 80-92 ส่วนที่ใบจะมีน้อยกว่านี้เป็นต้น สำหรับประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ ของกานพลูขึ้นอยู่กับยูจีนอล ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของฟีนอล สารนี้จะไปขัดขวางขบวนการละลายของไขมันที่เซลล์เมมเบรน เป็นผลให้บทบาททางด้านออสโมติคแบร์ริเออร์ (osmotic barrier) ลดลง และขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2527)

2.3 วิธีการดำเนินการวิจัยและวิธีการทดลอง

วิธีดำเนินการวิจัย

2.3.1 การสกัดสารสกัดพืชสมุนไพร (อภิราม ส่งศรี และคณะ, 2545)

นำอบเชย และกานพลูมาปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น ชั่งมา 100 กรัม แช่ในเอทานอล 95% ปริมาตร 500 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 : 5) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน นำมากรองด้วยผ้าขาวบางแล้วจึงนำไปปั่นตกตะกอน ดูดเอาส่วนใสมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำไประเหยให้แห้งภายใต้ความดันต่ำด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ เก็บสารสกัดใส่ขวดเก็บสารขนาดประมาณ 20 มิลลิลิตร ใส่ในตู้ระเหยสุญญากาศอุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 1 คืน นำสารสกัดมาหาร้อยละของความชื้นและเก็บสารสกัดไว้ในตู้เย็น

2.3.2 การศึกษาผลของสารสกัดอบเชยและกานพลูต่อการยับยั้งยีสต์ที่ทำให้เกิดฟิล์มยีสต์ในน้ำผักกาดดอง

2.3.2.1 ศึกษาลักษณะทางกายภาพของน้ำผักกาดดองเมื่อเติมสารสกัดอบเชยและกานพลูที่ความเข้มข้นต่าง

นำสารสกัดอบเชยและกานพลูมาละลายในเอทานอล 95% ให้ได้ความเข้มข้นเป็น 10 % (w/v) แล้วนำสารสกัดมาเติมในน้ำผักกาดดองให้ได้ความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับ คือ 200 400 600 800 และ 1000 ppm สังเกตสีและดมกลิ่นของน้ำผักกาดดองก่อนและหลังเติมสารสกัด

2.3.2.2 ศึกษาการยับยั้งการเกิดฟิล์มยีสต์ในน้ำผักกาดดองของสารสกัดอบเชยและกานพลูที่ความเข้มข้นต่างๆ

นำสารสกัดอบเชยและกานพลูมาละลายในเอทานอล 95% ให้ได้ความเข้มข้นเป็น 10 % (w/v) แล้วนำสารสกัดมาเติมในน้ำผักกาดดอง ปริมาตร 250 มิลลิลิตรให้ได้ความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับ คือ 200 400 600 800 และ 1000 ppm ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง สังเกตการณ์เกิดฟิล์มยีสต์ทุกวัน

2.3.3 ศึกษาการยับยั้งเชื้อยีสต์ในน้ำผักกาดดองของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ

2.3.3.1 คัดเลือกสารสกัดที่เมื่อเติมลงในน้ำผักกาดดองลักษณะทางกายภาพเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดในการทดสอบข้อ 2.3.2.1 และให้ผลการยับยั้งการเกิดฟิล์มยีสต์ดีที่สุดในการทดสอบข้อ 2.3.2.2

2.3.3.2 เลือกช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดดังกล่าวมาศึกษาการยับยั้งเชื้อยีสต์ในน้ำผักกาดดอง

2.3.3.3 นำสารสกัดมาเติมในน้ำผักกาดดอง ปริมาตร 250 มิลลิลิตรให้ได้ความเข้มข้นต่างๆกันในช่วงที่เหมาะสม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน

2.3.3.4 ตรวจวิเคราะห์หาจำนวนเชื้อยีสต์ ทุกๆ 24 ชั่วโมงโดยใช้ชุดทดสอบของยี่ห้อ 3 M

บทที่ 3

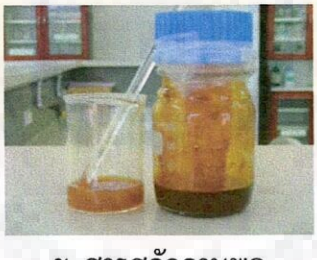
ผลการทดลอง

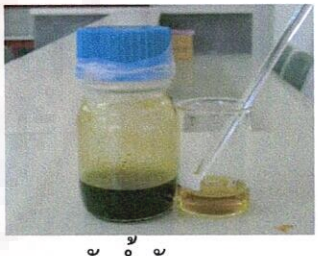
3.1 ศึกษาผลการผลของสารสกัดอบเชยและกานพลูต่อการยับยั้งยีสต์ที่ทำให้เกิดฟ้าขาวในน้ำผักกาดดอง

3.1.1 สารสกัดอบเชยและการพลู

เมื่อนำสมุนไพรสองชนิดได้แก่ อบเชย และการพลู มาทำการสกัดด้วยเอทานอล 95 % 500 มิลลิลิตร ในการสกัดสมุนไพรอบแห้ง 100 กรัม ซึ่งหลังจากทำการอบแห้งเมื่อทำการหาปริมาณความชื้นพบว่ามีความชื้นร้อยละ 12.06 เมื่ออบเชยและกานพลูมาทำการสกัดด้วยเอทานอล และนำไประเหยจนแห้ง ร้อยละของสารสกัดที่ได้และร้อยละความชื้นของสารสกัดของอบเชยและกานพลูได้ค่าร้อยละของสารสกัด 7.45 และ 15.20 ตามลำดับ ส่วนร้อยละความชื้นของสารสกัดมีค่าเท่ากับ 20.13 และ 35.83 ตามลำดับ ซึ่งจากการสกัดเมื่อสังเกตลักษณะของสารที่สกัดได้หลังจากทำการระเหยจนแห้งนั้น สารสกัดอบเชยจะจับตัวกันเป็นก้อนมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันและมีสีเป็นสีน้ำตาลอมแดง (ภาพที่ 1 ก) ส่วนสารสกัดกานพลูจะได้สารออกมาสองส่วนด้วยกัน คือส่วนแรกได้เป็นสารสะลายของกานพลูหรือสารสกัดกานพลู มีสักษณะเป็นของเหลวข้นมีสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 1 ข) ส่วนที่สองคือสารกัดที่ได้อยู่ในรูปของน้ำมันกานพลู ดังภาพที่ 1 ค.

ก. สารสกัดอบเชย


ข. สารสกัดกานพลู

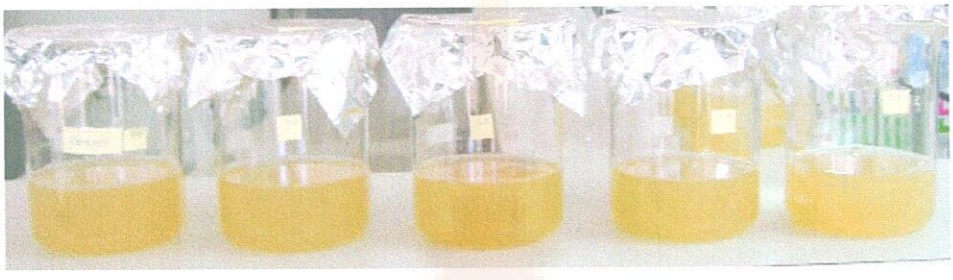

ค. สารสกัดน้ำมันกานพลู

ภาพที่ 1 สารกัดสมุนไพรชนิดที่สกัดได้ ก. สารสกัดอบเชย ข. สารสกัดกานพลู ค. สารสกัดน้ำมันกานพลู

3.2 ลักษณะทางกายภาพของน้ำผักกาดดองเมื่อเติมสารสกัดอบเชยและกานพลูที่ความเข้มข้นต่าง

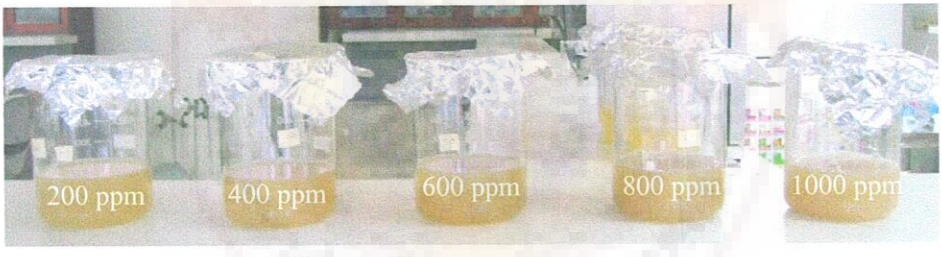
ลักษณะทางกายภาพของน้ำผักกาดดองก่อนเติมสารสกัดและหลังจากเติมสารสกัดอบเชยและกานพลู ที่ความเข้มข้นต่างๆ ผลดังภาพที่ 2 น้ำผักกาดดองก่อนเติมสารสกัดจะมีสีเหลืองขุ่น (ภาพที่ 2 ก) และน้ำผักกาดองที่เติมสารสกัด อบเชย กานพลู(เนื้อ) และกานพลู(น้ำมัน) โดยการเติมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่างกันคือ 200 400 600 800 และ 1000 ppm ตามลำดับ ต่อสาร

สกัดแต่ละชนิด (ภาพที่ 2) ลักษณะทางกายภาพของน้ำผักกาดดอง เมื่อเติมน้ำมันกานพลูสีของน้ำผักกาด ดองจะมีสีเปลี่ยนไปจากเดิมเล็กน้อยคือมีสีเหลือง (ภาพที่ 2 ข) ส่วนที่เติมสารสกัดเนื้อกานพลูจะมีสีเหลืองเข้ม (ภาพที่ 2 ค) ในส่วนที่เติมสารสกัดอบเชยน้ำผักกาดดอง จะมีสีเปลี่ยนไปจากเดิมอย่างชัดเจนคือมีสีส้มแดง และสี จะเข้มเพิ่มมากขึ้นจนเป็นสีส้มแดงซึ่งจะมีค่าความเข้มมากขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดอบเชย (ภาพที่ 2 ง)ในส่วนของกลิ่นของน้ำผักกาดดองจะมีลักษณะแตกต่างไปจากเดิมเล็กน้อยส่วนรสชาติจะมีรสฝาดเล็กน้อย

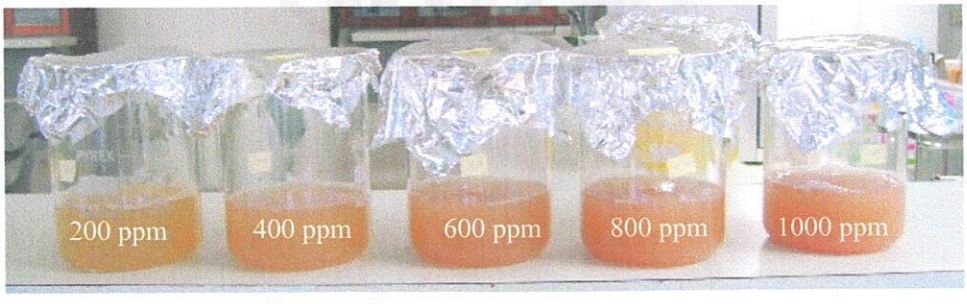


ก. ชุดควบคุม

ข. เติมสารสกัดน้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



ค. เติมสารสกัดกานพลู



ง. เติมสารสกัดอบเชย

ภาพที่ 2 ลักษณะสีของน้ำผักกาดดอง

3.3 การยับยั้งการเกิดฟิล์มยีสต์ในน้ำผักกาดดองของสารสกัดอบเชยและกานพลูที่ความเข้มข้นต่างๆ

การเกิดฟิล์มยีสต์ในน้ำผักกาดดองที่ไม่เติมสารสกัดและเติมสารสกัดอบเชยและกานพลูที่ความเข้มข้นต่างๆ ผลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การยับยั้งการเกิดฟิล์มยีสต์ของสารสกัดอบเชยและกานพลู

เวลา (ชม)	ชนิดของสารสกัด	ความเข้มข้นของสารสกัด					
		0	200	400	600	800	1000
24	ไม่เติม	✓	-	-	-	-	-
	กานพลู	-	✓	✓	×	×	×
	น้ำมันกานพลู	-	×	×	×	×	×
	อบเชย	-	✓	✓	✓	×	×
48	ไม่เติม	●	-	-	-	-	-
	กานพลู	-	●	●	○	×	×
	น้ำมันกานพลู	-	✓	×	×	×	×
	อบเชย	-	●	●	●	●	●
72	ไม่เติม	●	-	-	-	-	-
	กานพลู	-	●	●	●	○	×
	น้ำมันกานพลู	-	✓	×	×	×	×
	อบเชย	-	●	●	●	●	●

หมายเหตุ × ไม่เกิดฟิล์มยีสต์ ✓ เกิดฟิล์มยีสต์ ○ เกิดฟิล์มยีสต์แต่ไม่เต็มผิวหน้า
● เกิดฟิล์มยีสต์เต็มผิวหน้า

ลักษณะทางกายภาพของผักกาดดองที่ไม่เติมและเติมสารสกัดสมุนไพร (ตารางที่ 1) พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชม. น้ำผักกาดดองที่ไม่เติมสารสกัดนั้นเริ่มเกิดฟิล์มยีสต์ซึ่งมีลักษณะเป็นฝ้าขาว น้ำผักกาดดองที่เติมสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 200 และ 600 ppm จะเริ่มเกิดฟิล์มยีสต์เมื่อตั้งไว้ 24 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 800 และ 1000 ppm จะเกิดฟิล์มยีสต์เมื่อตั้งไว้ 48 ชั่วโมง น้ำผักกาด

ดองที่เติมสารสกัดกานพลู(เนื้อ)ที่ความเข้มข้น 200 และ 400 ppm จะเริ่มเกิดฟิล์มยีสต์เมื่อตั้งไว้ 24 ชั่วโมงและที่ความเข้มข้น 600 และ 800 ppm จะเกิดฟิล์มยีสต์เมื่อตั้งไว้ 48 ชม. และที่ความเข้มข้น 1000 ppm จะไม่เกิดฟิล์มยีสต์เมื่อตั้งไว้ 72 ชั่วโมง สำหรับน้ำผักกาดดองที่เติมสารสกัดกานพลู (น้ำมัน) ที่ความเข้มข้น 200 ppm จะเกิดฟิล์มยีสต์เมื่อตั้งไว้ 48 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 400 600 800 และ 1000 ppm จะไม่เกิดฟิล์มยีสต์เมื่อตั้งไว้ 72 ชั่งโมง

3.4 การยับยั้งเชื้อยีสต์ในน้ำผักกาดดองของสารสกัดกานพลู(น้ำมัน)

การศึกษาการยั้บยั้งเชื้อยีสต์ในในน้ำผักกาดดองของสารสกัดกานพลู(น้ำมัน)ที่ความเข้มข้นในช่วง 200 และ400 ppm ได้ผลดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการยับยั้งเชื้อยีสต์ในน้ำผักกาดดองของสารสกัดกานพลู (น้ำมัน)

ความเข้มข้นสารสกัด (ppm)	จำนวนเชื้อยีสต์ (CFU/ml)			
	เชื้อเริ่มต้น	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	1.8×10^5	เกิดฟิล์มยีสต์	เกิดฟิล์มยีสต์	เกิดฟิล์มยีสต์
200	1.8×10^5	2.8×10^3	เกิดฟิล์มยีสต์	เกิดฟิล์มยีสต์
240	1.8×10^5	1.8×10^3	เกิดฟิล์มยีสต์	เกิดฟิล์มยีสต์
280	1.8×10^5	1.3×10^3	2.8×10^3	เกิดฟิล์มยีสต์
320	1.8×10^5	2.8×10^3	1.8×10^3	เกิดฟิล์มยีสต์
360	1.8×10^5	1.8×10^3	1.3×10^3	เกิดฟิล์มยีสต์
400	1.8×10^5	1.3×10^3	2.5×10^2	1.0×10^2

ผลจากตารางที่ 4 พบว่าสารสกัดกานพลู(น้ำมัน) ที่ความเข้มข้นในช่วง 200 และ 240 ppm สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ ได้ ประมาณ 2 log ที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเชื้อจะเพิ่มจำนวนจนสามารถสร้างฟิล์มยีสต์บนผิวหน้าของน้ำผักกาดดองได้ สารสกัดกานพลู (น้ำมัน) ที่ความเข้มข้น 280 320 และ360 ppm สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ ได้ ประมาณ 2 log ที่เวลา 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง และเชื้อยีสต์สามารถเพิ่มจำนวนและสร้างฟิล์มยีสต์ได้ ที่เวลา 72 ชั่วโมง ส่วนสารสกัดกานพลู (น้ำมัน)ที่ความเข้มข้น 400 ppm สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ ได้ ประมาณ 2 log ที่เวลา 24 ชั่วโมง และ สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ให้อยู่ในปริมาณที่ไม่ทำให้เกิดฟิล์มยีสต์ได้เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

บทที่ 4

วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

การศึกษาการยับยั้งเชื้อยีสต์กลุ่มที่สร้างฟิล์มยีสต์ในน้ำผักกาดดองของสารสกัดอบเชยและกานพลู ลักษณะทางกายภาพของน้ำผักกาดดองเมื่อเติมสารสกัด สารสกัดกานพลู ในส่วนที่เป็นน้ำมันหอมระเหยจะยังคงสภาพของน้ำผักกาดดองคือสีและกลิ่นไว้ได้ดีกว่าสารสกัดกานพลูส่วนที่เป็นเนื้อและสารสกัดอบเชยตามลำดับ และการศึกษาการยับยั้งการเกิดฟิล์มยีสต์ในน้ำผักกาดดองเมื่อเติมสารสกัดกานพลู ในส่วนที่เป็นน้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งการเกิดฟิล์มยีสต์ได้ดีกว่าสารสกัดกานพลูส่วนที่เป็นเนื้อและสารสกัดอบเชย ทั้งนี้เนื่องจากกานพลูมีองค์ประกอบที่เป็นน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ ยูจีนอล (eugenol) ร้อยละ 80.87 (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2527) สารประกอบที่พบและมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ในกานพลูร้อยละ 75-85 เป็นยูจีนอล (Burt, 2004)โดยน้ำมันหอมระเหยจะไปทำลายเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์องค์ประกอบกับโครงสร้างของเซลล์ยีสต์และการสร้างพลังงานนอกจากนั้นน้ำมันหอมระเหยยังขัดขวางการซ่อม แซมเมตาบอซิซึมของเซลล์ยีสต์ที่บาดเจ็บหรือโครงสร้างถูกทำลายโดยความร้อน (Cerrutti,1996)

สารสกัดกานพลูส่วนที่เป็นน้ำมันหอมระเหยเมื่อเติมในน้ำผักกาดดองแล้ว ทำให้สีและกลิ่นของน้ำผักกาดดองเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดและสามารถยับยั้งการเกิดฟิล์มยีสต์ได้ดีที่สุด ซึ่งเมื่อนำสารสกัดดังกล่าวมาศึกษาการยับยั้งเชื้อยีสต์พบว่าที่ความเข้มข้นต่างๆสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ที่ทำให้เกิดฟิล์มยีสต์ได้ระยะเวลาต่างกัน ทำให้สามารถนำไปใช้ในการตัดสินใจเลือกใช้ความเข้มข้นของสารสกัดในการยับยั้งการเกิดฟิล์มยีสต์ให้เหมาะสมกับระยะเวลาการจำหน่าย ในการเปิดปี๊บผักกาดดองในแต่ละครั้ง ดังนั้นสารสกัดกานพลูน่าจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้การถนอมอาหารประเภทหมักดองแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ได้ อย่างไรก็ตาม สีและกลิ่นที่เปลี่ยนไปของน้ำผักกาดดอง อาจทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค จึงควรศึกษาการกำจัดสีและกลิ่นของสารสกัด รวมทั้งการศึกษาความเป็นพิษเพิ่มเติมเพื่อให้มั่นใจว่าปลอดภัยต่อผู้บริโภคต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กองอาหารส่งออก. 2541. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. ฉบับที่ 4 : 461-463.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527. เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร. ศิลปาบรรณาคาร. กรุงเทพฯ.

วารสารสุขาภิบาลอาหาร. ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 ตุลาคม 2542 – มกราคม 2543.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2536. ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากจุลินทรีย์. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.

ศิวาพร ศิวาเวช. 2529. วัตถุเจือปนอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

สาวิตรี ลิ่มทอง. 2540. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 305 หน้า.

อภิร่าม ส่งศรี และมณฑล เลิศคณาวนิชกุล. 2545. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Candida albicans* และ *Cryptococcus neoformans* ของสารสกัดสมุนไพร. ว. กรมวิทย.พ. 44 (4) 250 : 260.

Burt, S., 2004. *Essential oil : their antibacterial properties and potential application in food a review*. Int. J. Food. Microbiol. 94 : 223-253.

Cerrutti P. and Alzamora S.M., 1996. *Inhibition effects of vanillin on some food spoilage yeasts in laboratory media and fruit purees*. Int. J. Food. Microbiol. 29: 379-386.

Conner, D.E. and Beuchat, L.R., 1984. *Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts*. J. Food. Sci. 49 : 429-434

Loureiro V. and Querol A., 1999. *The prevalence and control of spoilage yeast in foods and beverage. Trends*. Food. Sci. Tech. 10:356-365.

Loureiro V. and Ferreira M.M., 2003. *Spoilage yeasts in the wine industry*. Int. J. Food. Microbiol. 86:23-50.

Lopez-Malo, A., Alzamora, S.M. and Palou, E., 2005. *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. Int. J.Food. Microbiol. 99 : 119-128.

Hsieh, P.C., Mau, J.L. and Huang, S.H., 2001. *Antimicrobial effect of various combinations of plant extracts*. Food. Microbiol. 18 : 35-43.

Menon K.V. and Garg S.R., 2001. *Effect of clove oil on Listeria monocytogenes in meat and cheese*. Food. Microbiol. 18 : 647-650.

Okeke M.I., Iroegbu C.U., Eze E.N., Okoli A.S. and Esimone C.O., 2001. *Evaluation of extracts of the root of Landolphia owerrience antibacterial activity*. J. Ethnopharmacol. 78:199-127.

Roller, S. 1995. *The quest for natural antimicrobials as novel means of food preservation.* Int. Biodete. Biodegr. 333-345

Savard, T., Beaulieu, C., Gardner, N.J. and Champagne, C.P., 2002. *Characterization of spoilage yeasts isolated from fermented vegetables and inhibition by lactic, acetic and propionic acids*. Food. Microbiol. 19: 363-373.