Agricultural Sci. J. 46 : 3/1 (Suppl.) : 396-399 (2015) ว. วิทย. กษ. 46 : 3/1 (พิเศษ) : 396-399 (2558)

ผลของการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อพื้นผิวต่อการพัฒนาของราบนผลิตผลกะเพราหลังการเก็บเกี่ยว

Effect of Surface Disinfecting Treatments on Postharvest Colonization of Holy Basil Commodity by Fungi

อุดม ฟ้ารุ่งสาง[1] นวลวรรณ ฟ้ารุ่งสาง[2]และ ญาณี มั่นอ้น[2]

Udom Farungsang[1], Nuanwan Farungsang[2] and Yanee Munon[2]

Abstract

Nowadays, hygiene as well as sanitation of commodities are very important, particularly for fresh produces for export and supermarkets. Effects of three washing treatments, potassium permanganate solution alone, and in combination with chlorinated or ozonated water on postharvest development of fungi on holy basil (*Ocimum sanctum*) commodity were determined in this research. After the commodity was treated and stored at 12°C for 0,2 and 7 days, the leaves and axillary shoots were separated from treated spikelets and incubated in sterilized transparent moist chambers, under fluorescence and near ultraviolet lights, 12 hr/day, 26-28°C. Fungal development was observed and identified using stereo and compound microscopes. Fungal colonization of non-treated holy basil commodity was also examined following the same procedure. It was indicated by the results that colonization of the commodity by fungi could not be coped by these investigated washing treatments and cold storage. The highest frequency of fungal colonization was detected on commodity treated with ozonated water. Longer storage duration led to more aggressive fungal colonization on both treated and non-treated commodities. *Bipolaris* spp., *Cladosporium* spp., *Colletotrichum* spp., *Corynespora* sp., *Curvularia* spp., and *Fusarium* spp. were predominant fungi detected during this study.

Keywords: postharvest disease, basil, *Ocimum sanctum*

บทคัดย่อ

ปัจจุบันสุขอนามัยและความสะอาดของผลิตผลเกษตรมีความสำคัญมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตผลสดที่ผลิตเพื่อการส่งออกและวางจำหน่ายในห้างสรรพสินค้า งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของกรรมวิธีการล้างผลิตผลกะเพรา 3 กรรมวิธี คือการล้างด้วยสารละลายด่างทับทิม, การล้างด้วยสารละลายด่างทับทิมตามด้วยการล้างน้ำด้วยคลอรีน หรือ น้ำโอโซน แล้วเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 12°C เป็นเวลา 0, 2 และ 7 วัน เพื่อตรวจสอบการพัฒนาของราบนผลิตผลกะเพรา โดยการนำใบและยอดจากตาข้างของผลิตผลที่ผ่านการล้างมาวางในสภาพชื้นในภาชนะโปร่งใสและปลอดเชื้อ ให้แสง fluorescence และ near ultraviolet เป็นเวลา 12 ชั่วโมง/วัน ในสภาพอุณหภูมิ 26-28°C ตรวจและจำแนกการพัฒนาของราบนผลิตผลด้วย stereo และ compound microscope ผลการวิจัยพบว่ากรรมวิธีการล้างและสภาพการเก็บรักษา (12°C) ไม่สามารถชะลอการพัฒนาของราเมื่อเปรียบเทียบกับผลิตผลที่ไม่ได้ผ่านการล้าง ยังตรวจพบว่ารามีความถี่สูงที่สุดในผลิตผลที่ล้างด้วยน้ำโอโซน และเมื่อระยะเวลาเก็บรักษานานขึ้นมีผลทำให้การพัฒนาของราหลังการเก็บรุนแรงมากขึ้นทั้งบนผลิตผลที่ไม่ผ่านขั้นตอนการล้างและผลิตผลที่ผ่านการล้างทุกกรรมวิธี ราที่มีความถี่ของการตรวจพบสูงมาก ได้แก่ *Bipolaris* spp., *Cladosporium* spp., *Colletotrichum* spp., *Corynespora* sp., *Curvularia* spp., และ *Fusarium* spp.

คำสำคัญ: โรคพืชหลังเก็บเกี่ยว, กะเพรา, *Ocimum sanctum*

คำนำ

ปัจจุบัน ถึงแม้ว่าเทคโนโลยีการเก็บรักษาที่เหมาะสมสามารถยืดอายุหลังเก็บเกี่ยวของผลิตผลเกษตรออกไปได้ด้วยการชะลอการวาย (จริงแท้, 2549) แต่ความเสียหายของผลิตผลที่เกิดจากจุลินทรีย์ยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญ (Schirra *et al.,* 2000; Ben-Yehoshua, 2005) นอกจากนี้ สุขอนามัยและความสะอาดของผลิตผลยังมีความสำคัญมาก (Matuszek, 2014; Tiwari, *et al*., 2014) โดยเฉพาะอย่างยิ่งผัก-ผลไม้สดที่ผลิตเพื่อการส่งออกและวางจำหน่ายในห้างสรรพสินค้า ขั้นตอนรวมทั้ง

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[1] Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaengsaen, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakhon Pathom 73140

[2] ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[2] Central Laboratory and Greenhouse Complex, Faculty of Agriculture at Kamphaengsaen, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakhon Pathom

วิธีการทำความสะอาดผิวของผลิตผลผักสดได้มีการศึกษาและแนะนำไว้ (Palou, *et al*., 2007; Gulati, *et al*., 2001; Carletti, *et al*., 2013) งานวิจัยจริงจังด้านโรคหลังเก็บเกี่ยวของผลิตผลผักสดและการควบคุมยังไม่สามารถสืบค้นได้ สำหรับพืชผักสกุล *Ocimum* มีเพียงการรายงานว่าผลิตผลใบโหระพา (*Ocimum basilicum*) ที่เก็บเกี่ยวจากแปลงที่มีปัญหาโรคมีการเน่าเสียอย่างรวดเร็วหลังการบรรจุเนื่องจากจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียและรา (Hamasaki, *et al*., 1994) งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษากรรมวิธีการล้างผลิตผลกะเพรา (*Ocimum sanctum*) เพื่อลดปัญหาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียหลังเก็บเกี่ยวและเพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

อุปกรณ์และวิธีการ

กรรมวิธีการล้างผลิตผลกะเพรา 3 กรรมวิธี คือ 1) การล้างด้วยสารละลายด่างทับทิม โดยการแช่ผลิตผลในสารละลายด่างทับทิมที่มีความเข้มข้นของ $KMnO_4$ 25,000 ppm เป็นเวลา 3 นาที ตามด้วยการแช่ในน้ำประปา เป็นเวลา 3 นาที 2) การล้างด้วยสารละลายด่างทับทิมร่วมกับการล้างด้วยน้ำคลอรีน โดยนำกะเพราที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายด่างทับทิมแช่ในน้ำคลอรีนที่มีความเข้มข้นของ NaOCl 100 ppm เป็นเวลา 15 นาที 3) การล้างด้วยสารละลายด่างทับทิมร่วมกับการล้างด้วยน้ำโอโซน โดยนำกะเพราที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายด่างทับทิมแช่ในน้ำโอโซนที่มีความเข้มข้น 700-750 mV เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นปล่อยให้สะเด็ดน้ำแล้วบรรจุผลิตผลในถุงพลาสติก โดยมีน้ำหนักถุงละ 150 กรัม และเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 12°C เป็นเวลา 0, 2, และ 7 วัน

ผลของสารละลายที่ใช้ล้างต่อการปรากฏของราบนผลิตผล: ตัวอย่างผลิตผลที่ใช้ในการทดลอง คือ ผลิตผลที่ไม่ผ่านการล้าง จำนวน 150 กรัม และที่ผ่านการล้างกรรมวิธีละ 150 กรัม สุ่มตัวอย่างผลิตผลที่ไม่ล้างจำนวน 10 กิ่ง และจากแต่ละกรรมวิธีการล้างกรรมวิธีละ 10 กิ่ง หลังจากนั้นเลือกใบและยอดที่เจริญจากตาข้าง (axillary shoot) ที่ไม่มีลักษณะอาการของโรค จากทุกข้อ ข้อละ 1 ใบ/ยอด จาก 5 ตำแหน่งของกิ่ง โดยนับตั้งแต่ตาข้างตำแหน่งบนสุดของกิ่ง

นำตัวอย่างใบและยอดวางแยกกันในสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 100% ปลอดเชื้อ และโปร่งใส อุณหภูมิ 26-28°C ให้แสงด้วยหลอด fluorescence ร่วมกับหลอด near ultraviolet เป็นเวลา 12 ชั่วโมง/วัน ติดตามและจำแนกราที่เจริญบนตัวอย่างใบและยอดกะเพราด้วย stereo และ compound microscope

ผลของสภาพการเก็บรักษา (cold storage) ต่อการปรากฏของราบนผลิตผล: ในการทดลอง ใช้ตัวอย่างผลิตผลทั้งที่ไม่ผ่านการล้างและผ่านการล้างทุกกรรมวิธีที่เก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 12°C เป็นเวลา 2 และ 7 วัน โดยใช้ขนาดและการสุ่มตัวอย่าง รวมทั้งขั้นตอนการติดตามราเช่นเดียวกับที่กล่าวข้างต้น

ผล

ราที่เจริญบนผลิตผลกะเพราที่ตรวจพบในการวิจัยครั้งนี้มีความหลากหลายสูงมาก ทั้งกลุ่ม Hyphomycetes, Coelomycetes, Ascomycetes รวมทั้งราที่ไม่สามารถระบุสกุลเนื่องจากไม่พบการพัฒนา reproductive structure รากลุ่ม Hyphomycetes ที่มีความถี่ในการตรวจพบสูง ได้แก่ *Bipolaris* spp., *Corynespora* sp. (สาเหตุโรคใบจุด/ไหม้), *Curvularia* spp., *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., และเส้นใยที่ไม่พบการสร้าง reproductive structure กลุ่ม Coelomycetes ได้แก่ *Colletotrichum* spp.

ผลของการล้างต่อการตรวจพบราบนผลิตผล: โดยภาพรวม การตรวจพบรามีความถี่สูงสุดในผลิตผลที่ล้างด้วยโอโซน (Fig. 1) และราที่ตรวจพบบ่อยที่สุดตามลำดับ 2 สกุลคือ *Fusarium* spp. และ *Colletotrichum* spp. บนส่วนของใบ และ *Fusarium* spp. และ *Curvularia* spp. บนส่วนของยอด

ผลของการเก็บรักษาผลิตผลในสภาพอุณหภูมิ 12°C: ผลิตผลเมื่อเริ่มต้น (0 วัน) พบว่าผลิตผลที่ไม่ผ่านขั้นตอนการล้างและผลิตผลที่ล้างด้วยน้ำด่างทับทิมมีความถี่ของการตรวจพบราต่ำและไม่แตกต่างกัน ขณะที่ในผลิตผลที่ล้างด้วยน้ำคลอรีนหรือน้ำโอโซนมีความถี่ของการตรวจพบราสูงขึ้น (Fig. 2A) ส่วนผลิตผลที่เก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน พบว่าผลิตผลที่ล้างด้วยน้ำคลอรีนมีความถี่ของการตรวจพบราต่ำเมื่อเทียบกับ treatment อื่น (Fig. 2B) และในผลิตผลที่เก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน มีความถี่ของการตรวจพบราในทุกกรรมวิธีสูงกว่า 60 (Fig. 2C)

ผลของการล้างและการเก็บรักษาต่อการตรวจพบราบนส่วนของพืชที่ศึกษา: ส่วนของใบเมื่อเริ่มต้น การตรวจพบรามีความใกล้เคียงกันในผลิตผลที่ล้างด้วยน้ำคลอรีนหรือโอโซน (โดยมีค่าความถี่ของการตรวจพบ 58 และ 68 ตามลำดับ) และสูงกว่าการตรวจพบในผลิตผลที่ล้างด้วยน้ำด่างทับทิมและผลิตผลที่ไม่ผ่านการล้าง (ซึ่งมีค่าค่าความถี่ของการตรวจพบ 32 และ 34 ตามลำดับ) การตรวจพบราในผลิตผลใบที่เก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน มีความใกล้เคียงกัน (คือมีความถี่ของการตรวจพบ

ระหว่าง 101-118) (Fig. 3A) ความถี่ของการตรวจพบราบนผลิตผลส่วนที่เป็นยอดที่ไม่มีการเก็บรักษามีค่าใกล้เคียงกับใบ ผลของการล้างต่อความถี่ในการตรวจพบรามีความแตกต่างที่สังเกตได้ในผลิตผลที่เก็บรักษาเป็นเวลา 2 และ 7 วัน โดยผลิตผลที่ไม่ผ่านการล้างมีค่าความถี่ของการตรวจพบราต่ำที่สุด ผลิตผลที่ล้างด้วยน้ำด่างทับทิมหรือน้ำโอโซนมีค่าความถี่ของการตรวจพบราสูงและสูงที่สุดตามลำดับ การตรวจพบรามีความถี่ลดลงชัดเจนในผลิตผลที่ล้างด้วยน้ำคลอรีนหลังเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน (Fig. 3B)

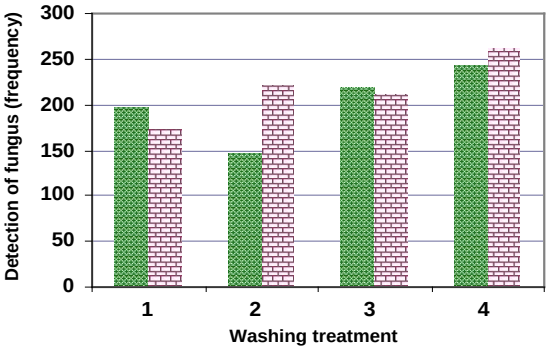

Fig. 1 Total frequency of fungal detection on leaves ( ) and axillary shoots ( ) of *Ocimum sanctum* commodity (total of all storage treatments).

Washing treatments:
1 no washing,
2 25,000 ppm $KMnO_4$ solution in tap water,
3 100 ppm NaOCl in tap water,
4 700-750 mV ozone circulating in tap water.

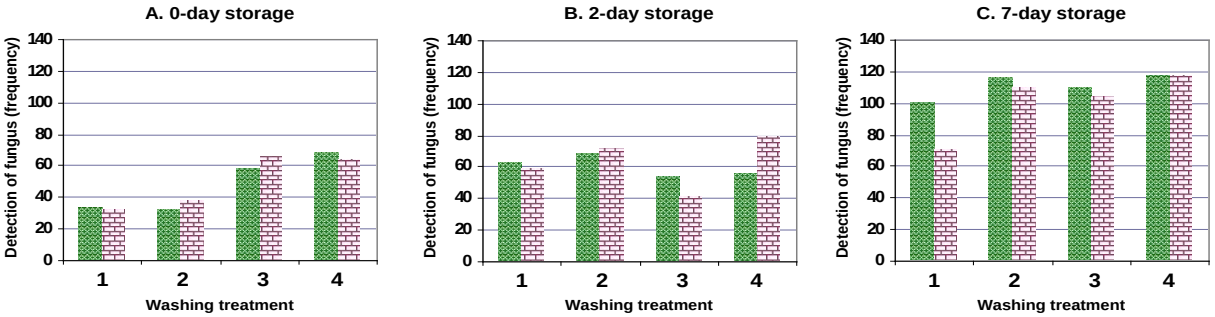

Fig. 2 Numbers of fungi detected on leaves ( ) or axillary shoots ( ) of *Ocimum sanctum* after the commodity was stored under 12°C.

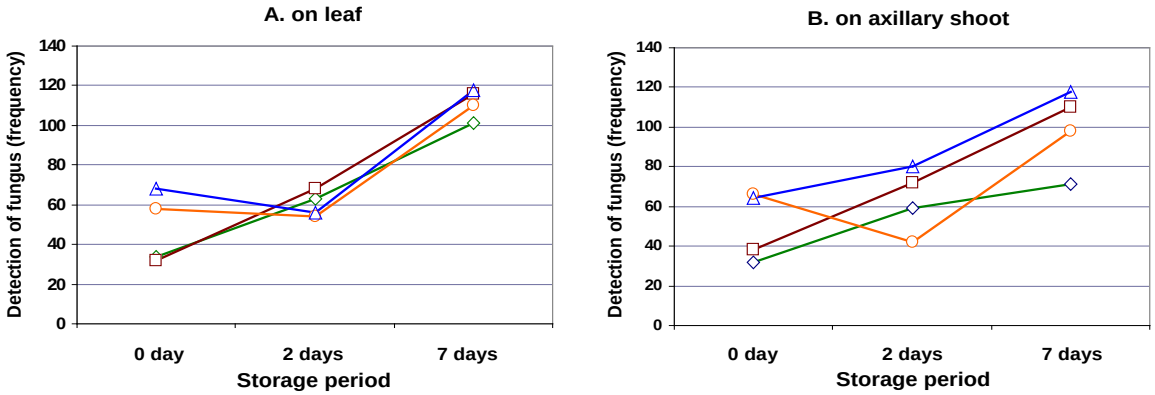

Fig. 3 Total number of fungi detected in *Ocimum sanctum* after the commodity was stored under 12°C for 0, 2, or 7 days (total frequency of all washing treatments).

วิจารณ์ผล

การล้างผลิตผลผักสดด้วยน้ำคลอรีนหรือน้ำโอโซนเป็น postharvest recommendation ที่ได้รับการยอมรับและแนะนำให้ใช้เพื่อลดจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคซึ่งปนเปื้อนอยู่ที่ผิวของผลิตผล และในน้ำที่ใช้ล้างผลิตผล (Mermelstein, 1999; Barkai-Golan, 2001; NSW Food Authority, 2006; D'Acunzo *et al.*, 2012) สำหรับโอโซนมีรายงานว่ามีประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนของเคมีเกษตรที่ตกค้างบนผิวของผลิตผลรวมทั้งสารพิษของราได้ (Mermelstein, 1999;

Ikeura *et al*., 2013; Chen *et al*., 2013) แต่ในกรณีของราที่เป็นสาเหตุโรคพืชซึ่งมีกลไกพิเศษในการยึดเกาะผิวและเข้าไปอยู่ภายในพืช วิธีการดังกล่าวอาจให้ผลเพียงการชะล้าง spore หรือเส้นใยของราบางส่วนที่ปะปนอยู่บนผิวพืช แต่ไม่มีผลต่อราที่เข้าไปอยู่ภายในพืชก่อนการล้าง (Barkai-Golan, 2001) ดังนั้น ถึงแม้ว่ากระบวนการล้างและอุณหภูมิขณะเก็บรักษาอาจจะมีผลต่อการพัฒนาของเชื้อโรคในระยะแรกหลังการล้างหรือหลังการเก็บรักษาซึ่งทำให้มีการปรากฏของโรคระดับต่ำในช่วงเวลาดังกล่าวแต่ไม่สามารถยับยั้งการพัฒนาของเชื้อโรคพืชที่อยู่ภายในพืชซึ่งเป็นสาเหตุของอาการของโรครุนแรงที่ปรากฏขึ้นภายหลัง ความเสียหายรุนแรงที่ปรากฏขึ้นกับผลิตผลที่ผ่านขั้นตอนการล้างนอกจากมีสาเหตุจากบาดแผล การชอกช้ำรวมทั้งความเสียหายใดๆที่เกิดขึ้นกับผลิตผลระหว่างกระบวนการล้างซึ่งล้วนมีผลทำให้ผลิตผลอ่อนแอหรือง่ายต่อการทำลายโดยรามากขึ้นแล้ว ยังอาจเกิดจากการสะสมของจุลินทรีย์ในน้ำที่ใช้ล้าง (Suslow, 1997; Barkai-Golan, 2001) นอกจากนี้ ยังมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเก็บเกี่ยวและกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยวอื่นๆรวมทั้งปัจจัยด้านสรีระของผลิตผลที่มีผลต่อประสิทธิภาพของคลอรีนและโอโซน (Barkai-Golan, 2001)

สรุป

การล้างด้วยน้ำคลอรีนหรือน้ำโอโซนทำให้ความเสียหายของผลิตผลกะเพารุนแรงมากขึ้น ความถี่ในการตรวจพบราพบสูงบนผลิตผลที่ได้รับความเสียหาย ได้แก่ *Bipolaris* spp., *Cladosporium* spp., *Colletotrichum* spp., *Corynespora* sp., *Curvularia* spp., และ *Fusarium* spp.

เอกสารอ้างอิง

จริงแท้ ศิริพานิช. 2549. ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและการวายของพืช. โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, นครปฐม. 453 หน้า.

Barkai-Golan, R. 2001. Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables: Development and Control. Elsevier. 442 p.

Ben-Yehoshua, S. 2005. Environmentally Friendly Technologies for Agricultural Produce Quality. Taylor & Francis, ACRC Press Book.

Carletti, L., R. Botondi, R. Moscetti, E. Stella, D. Monarca, M. Cecchini and R. Massantini. 2013. Use of ozone in sanitation and storage of fresh fruits and vegetables. Journal of Food, Agriculture & Environment 11:585-589.

Chen, J.Y., Y.J. Lin and W.C. Kuo. 2013. Pesticide residue removal from vegetables by ozonation. Journal of Food Engineering 14:404-411.

D'Acunzo, F., A. Del Cimmuto, L. Marinelli, C. Aurigemma and M. De Giusti. 2012. Ready-to-eat vegetables production with low-level water chlorination. An evaluation of water quality, and of its impact on end products. Ann Ist Super Sanita. 48(2):151-160.

Gulati, B.R., P.B. Allwood, C.W. Hedberg and S.M. Goyal. 2001. Efficacy of commonly used disinfectants for the inactivation of Calicivirus on strawberry, lettuce, and a food-contact surface. Journal of Food Protection 9:1279-1445.

Hamasaki, R.T., H.R. Valenzuela, D.M. Tsuda and J.Y. Uchida. 1994. Fresh Basil Production Guidelines for Hawai'i. Research Extension Series 154-12/94. Hawaii Institute of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawai'I, Honolulu, Hawaii. 13 p.

Ikeura, H., S. Hamasaki and M. Tamaki. 2013. Effects of ozone microbubble treatment on removal of residual pesticides and quality of persimmon leaves. Food Chemistry 138(1):366-371.

Mermelstein, N.H. 1999. Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables. FoodTechnology 53(10):53-61.

Matuszek, T. 2014. Basic factors for food processing equipment hygienic design and its cleanabilities with minimal contamination risk. Journal of Hygienic Engineering and Design 6:38-45.

NSW Food Authority. 2006. Cleaning and Sanitising Fresh Produce. *In*: Chapter 7, Section 6, Industry Guide to Developing a Food Safety Program (Hospital and Aged Care).

Palou, L., J.L. Smilanick and D.A. Margosan. 2007. Ozone application for sanitation and control of postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. pp. 39-70. *In*: R. Troncoso-Rojas, M.E. Tiznado-Hernández and A. González-León. (eds.). Recent Advances in Alternative Postharvest Technologies to Control Fungal Disease in Fruits and Vegetables. Transworld Research Network, Trivandrum, India.

Schirra, M., G. D'Hallewin, S. Ben-Yehoshua and E. Fallik. 2000. Host-pathogen interactions modulated by heat treatment. Postharvest Biolology and Technology 21:71-85.

Suslow, T. 1997. Postharvest Chlorination, Basic Properties and Key Points for Effective Disinfection. Publication 8003. The Regent of the University of California. [Online]. Available source: http://danrcs.ucdavis.edu. (14 June, 2015).

Tiwari, B.K., T. Norton and N.M. Holden. 2014. Sustainable Food Processing. John Wiley & Sons. Chichester, UK. 581 p.