

Postharvest Newsletter

ปีที่ 20 ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน 2564



เรื่องเต็มงานวิจัย

ผลของฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *Penicillium digitatum* ในสภาพแขวนลอย

Effect of Ozone Microbubbles with Various Temperatures on Growth of *Penicillium digitatum* in Suspension

วิริญญ์ สิงห์ไกรราช¹ จ्ञานงค้ อุกฤษฏ์^{1,2*} และกานดา หวงชัย^{1,2*}

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการใช้ฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *Penicillium digitatum* ในสภาพแขวนลอย โดยนำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *P. digitatum* ที่มีความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มาผสมกับน้ำฟอง-ไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิ 15, 20 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้ น้ำกลั่น โดยนำทุกชุดการทดลองมาวัดค่า pH และค่าประสิทธิภาพในการออกซิเดชัน-รีดักชัน (Oxidation-Reduction Potential; ORP) จากนั้นดูดสารละลายดังกล่าวมาหยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแห้ง (compact dry plate) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการนับจำนวนโคโลนี จากการทดลองพบว่า การใช้ฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที (ค่า pH เท่ากับ 6.9 และค่า ORP เท่ากับ 976 มิลลิโวลต์) ให้ผลดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. digitatum* โดยมีจำนวนโคโลนีน้อยที่สุดเท่ากับ 0.48 logCFU/ml ในขณะที่ชุดควบคุมมีจำนวนโคโลนีเท่ากับ 2.13 logCFU/ml ซึ่งการใช้ฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิต่ำสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. digitatum* นอกจากนี้อุณหภูมิของน้ำที่ลดลงยังมีผลต่อการลดลงของค่า pH และการเพิ่มขึ้นของค่า ORP ดังนั้นการนำน้ำฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิต่ำไปใช้ในการทำความสะอาดผลผลิตทางการเกษตรน่าจะเป็นวิธีที่สามารถควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

คำสำคัญ: ฟองไมโครร่วมกับโอโซน อุณหภูมิต่ำ *Penicillium digitatum*

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

² ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200 / ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา, กรุงเทพฯ 10400

สวัสดีครับผู้อ่านทุกท่าน สำหรับ Postharvest Newsletter ฉบับนี้ ในส่วนของเรื่องเต็มงานวิจัย เราขอแนะนำผลงานเรื่อง ผลของฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *Penicillium digitatum* ในสภาพแขวนลอย และนานาสาระขอแนะนำบทความที่น่าสนใจเรื่อง ราชาผลไม้.....ทุเรียน.....เกิดโรคผลไม้ได้อย่างไร โดย รังสิมันต์ ธีระวงศ์ภิญโญ สมศิริ แสงโชติ และ ปฐวิภา สงกุมาร จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และผลสัมฤทธิ์งานวิจัยศูนย์ฯ แนะนำเรื่อง การลดอุณหภูมิในการผลิตผักมูลนิธิโครงการหลวงตลอดสายโซ่อุปทานเพื่อปรับปรุงคุณภาพและความปลอดภัย โดย รองศาสตราจารย์ ดร.พิชญา พูลลาภ จากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

แล้วพบกันฉบับหน้าครับ ...

เรื่องเต็มงานวิจัย

(ต่อจากหน้า 1)

คำนำ

โรคเน่าของผลส้มที่เกิดจากเชื้อรา *Penicillium digitatum* เป็นโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญของผลส้ม ถึงแม้ว่าอาการเน่าจากเชื้อราชนิดนี้จะเกิดเฉพาะส่วนเปลือกของผลส้มเท่านั้น แต่คุณภาพของน้ำและเนื้อของผลส้มจะเสียไปด้วย (दनัย, 2543) การป้องกันและควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดบนผลส้มในปัจจุบันนิยมใช้สารกำจัดเชื้อรา การจุ่มน้ำร้อน การเคลือบผิวผล และการใช้สารเคมีป้องกัน แม้ว่าการใช้สารเคมีจะมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดเชื้อรา และเป็นที่ยอมรับอย่างมาก แต่สารเคมีเหล่านี้ก่อให้เกิดการตกค้าง ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม เป็นอันตรายต่อระบบนิเวศน์ และส่งผลกระทบต่อชุมชนด้วย (พาณิษฐ์, 2542) ซึ่งในปัจจุบันมีเทคโนโลยีใหม่ๆ เช่น การใช้ฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในผักและผลไม้ได้ และยังมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม ระบบนิเวศน์ และผู้บริโภค

การใช้เทคโนโลยีโอโซนเป็นวิธีการที่น่าสนใจ โดยโอโซนเป็นสารออกซิไดซ์ที่มีประสิทธิภาพสูง สามารถทำปฏิกิริยาได้ดีและมีการสลายตัวอย่างรวดเร็ว อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ดี แต่พบปัญหาคือสามารถละลายน้ำได้น้อย ดังนั้นการใช้อยู่ร่วมกับฟองไมโครซึ่งเป็นระบบผลิตฟองอากาศที่มีขนาดตั้งแต่ 50-200 ไมโครเมตร จะทำให้สารมีความคงตัวสูงขึ้น แตกตัวในน้ำยาก และมีความสามารถในการทำความสะอาดผิวของผลิตผลทางการเกษตรได้มากขึ้น นอกจากนี้อุณหภูมิของน้ำยังเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่ส่งผลต่อการละลายน้ำของโอโซน โดยที่อุณหภูมิต่ำจะช่วยเพิ่มการละลายน้ำของโอโซน ส่งผลให้หาเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ งานวิจัยนี้จึงนำเทคโนโลยีโอโซนมาประยุกต์ใช้ร่วมกับฟองไมโคร เพื่อให้โอโซนที่ละลายในน้ำอยู่ได้นานขึ้น เป็นการเพิ่มความสามารถในการออกซิไดซ์และเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อรา *Penicillium digitatum* ในสภาพแขวนลอยได้อย่างดี

อุปกรณ์และวิธีการ

นำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *P. digitatum* ที่มีความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร จำนวน 0.1 มิลลิลิตร มาผสมกับน้ำฟองไมโครร่วมกับโอโซน จำนวน 0.9 มิลลิลิตร โดยมีการผลิตน้ำดังกล่าวจากเครื่อง ozone generator (OZONIZER รุ่น SO5AE) ที่ต่อกับระบบฟองไมโครในอ่างล้าง (รุ่น 15KED02S) ที่อุณหภูมิ 15, 20 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที แล้วเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่น จากนั้นนำทุกชุดการทดลองมาวัดค่า pH และค่าประสิทธิภาพในการออกซิเดชัน-รีดักชัน (Oxidation-Reduction Potential; ORP) แล้วดูการละลายดังกล่าวมาหยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแห้ง (compact dry plate) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นพิจารณาการเกิดขึ้นของโคโลนีที่สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาจำนวนของเชื้อรา *P. digitatum* โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design, CRD

ผล

จากการศึกษาแนวโน้มของค่า pH ในชุดทดลองที่ได้รับฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าค่า pH ของชุดทดลองที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มคงที่ตลอดระยะเวลาการทดลอง ส่วนชุดทดลองที่ได้รับฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 10 นาที มีค่า pH ลดลงเพียงเล็กน้อย จากนั้นมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาการทดลอง และชุดทดลองที่ได้รับฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีค่า pH เพิ่มขึ้นที่เวลา 20 นาที และมีแนวโน้มคงที่ตลอดระยะเวลาการทดลอง (Figure 1A) ส่วนค่า ORP ในทุกชุดทดลองที่ได้รับฟองไมโครร่วมกับโอโซนพบว่ามีการเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาผ่านไปนาน 10 นาที และมีแนวโน้มคงที่ตลอดระยะเวลาการทดลอง โดยชุดทดลองที่ได้รับฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีค่า ORP สูงที่สุดเท่ากับ 964 มิลลิโวลต์ (Figure 1B)

นอกจากนี้เมื่อศึกษาผลของการใช้ฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *P. digitatum* ในสภาพแขวนลอย เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ล้างด้วยน้ำกลั่น พบว่าที่เวลา 20 นาที ชุดทดลองที่ได้รับฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ซึ่งมีค่า pH เท่ากับ 6.7 และค่า ORP เท่ากับ 964 มิลลิโวลต์ มีจำนวนของเชื้อรา *P. digitatum* น้อยที่สุดเท่ากับ 0.08 logCFU/ml รองลงมาคือชุดที่ได้รับฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ซึ่งมีค่า pH เท่ากับ 7.1 ส่วนค่า ORP เท่ากับ 723 มิลลิโวลต์ และที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีค่า pH เท่ากับ 7.1 ค่า ORP เท่ากับ 704 มิลลิโวลต์ มีจำนวนเชื้อรา *P. digitatum* เท่ากับ 1.09 logCFU/ml และ 1.85 log CFU /ml ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมมีจำนวนเชื้อรา *P. digitatum* เท่ากับ 2.13 logCFU/ml (Figure 2)

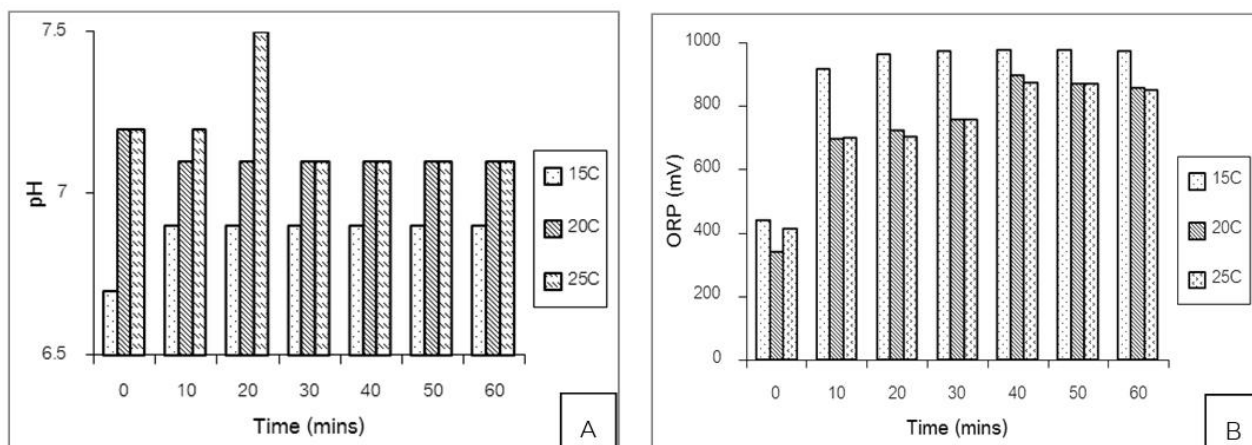


Figure 1 pH (A) and ORP (oxidation-reduction potential) (B) after ozone microbubbles application

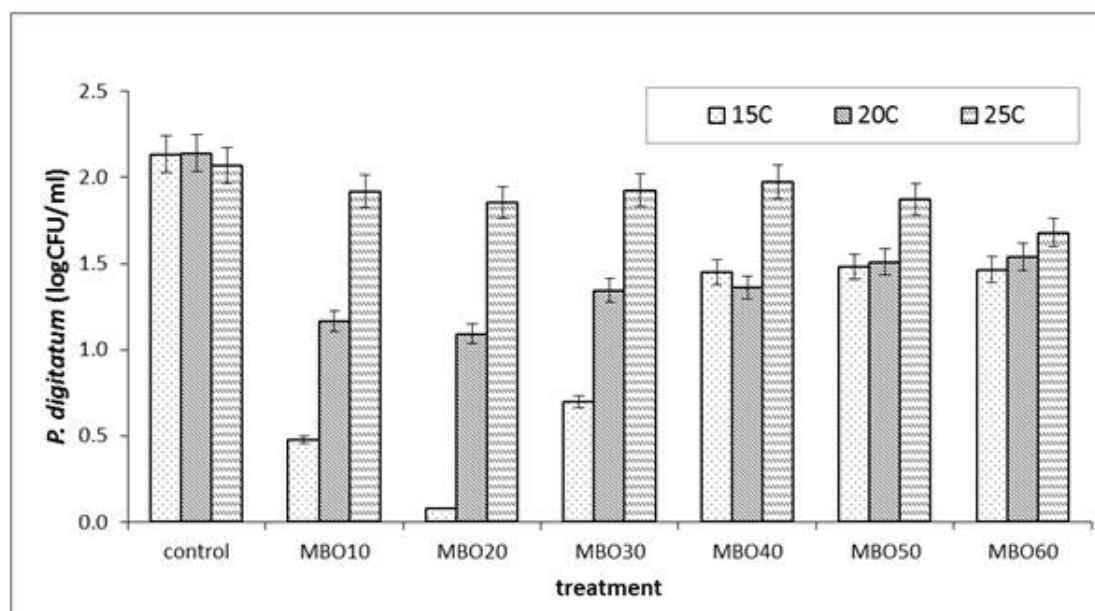


Figure 2 Effect of ozone microbubbles with various temperatures on growth of *Penicillium digitatum* in suspension after incubated for 48 hrs.

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาแนวโน้มของค่า pH ในชุดทดลองที่ได้รับฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าทุกชุดทดลองมีแนวโน้มของค่า pH ค่อนข้างคงที่ โดยชุดทดลองที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีค่า pH ต่ำที่สุด เท่ากับ 6.7 ในขณะที่ชุดทดลองที่อุณหภูมิ 20 และ 25 องศาเซลเซียส มีค่า pH เท่ากับ 7.1 ซึ่งค่า pH ที่ต่ำแสดงถึงการสลายตัวของโอโซนในน้ำอย่างช้าๆ ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในน้ำเล็กน้อย (Graham, 1997) นอกจากนี้จากอุณหภูมิของน้ำที่ต่ำจะมีผลต่อการลดลงของค่า pH แล้วยังมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า ORP อีกด้วย จากการทดลองพบว่าค่า ORP ของชุดทดลองที่ได้รับฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีค่า ORP สูงที่สุด เท่ากับ 964 มิลลิโวลต์ ในขณะที่ชุดทดลองที่อุณหภูมิ 20 และ 25 องศาเซลเซียส มีค่า ORP เท่ากับ 723 และ 704 มิลลิโวลต์ โดยค่า ORP เป็นค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการละลายน้ำของโอโซน (Graham, 1997) และความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของการใช้ฟองไมโครร่วมกับโอโซน หากมีค่าสูงขึ้นหมายถึงการเพิ่มขึ้นของไฮดรอกซิลเรดิคัล (hydroxyl radical; $\bullet\text{OH}$) ที่เหมาะแก่การเข้าทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน อีกทั้งค่า ORP ที่เพิ่มขึ้นยังแสดงถึงความสามารถในการเพิ่มการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์อีกด้วย จากการศึกษาของ Suslow (2004) พบว่าความสามารถในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์นั้นขึ้นอยู่กับค่า ORP ในสารละลาย โดย ORP ที่ 650-700 มิลลิโวลต์ สามารถลดเวลาการฆ่าเชื้อ *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. และ *Listeria* sp. ได้ถึง 10 เท่า เมื่อเทียบกับสารละลายที่มีค่า ORP ต่ำกว่า 485 มิลลิโวลต์

ส่วนผลของการศึกษาการใช้ฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อรา *P. digitatum* ในสภาพแขวนลอย เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ล้างด้วยน้ำกลั่น พบว่า ชุดทดลองที่ได้รับฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที มีจำนวนเชื้อรา *P. digitatum* น้อยที่สุดเท่ากับ 0.08 logCFU/ml ในขณะที่ชุดควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่นมีจำนวนเชื้อรา *P. digitatum* เท่ากับ 2.13 logCFU/ml จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของการใช้ฟองไมโครร่วมกับโอโซนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. digitatum* ขึ้นอยู่กับระยะเวลาและอุณหภูมิของน้ำ โดยอุณหภูมิมีความสัมพันธ์กับการละลายของโอโซนในน้ำ ซึ่งอุณหภูมิต่ำสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการละลายน้ำของโอโซนได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Kobayashi *et al.* (2011) ที่พบว่าการใช้ฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที สามารถเพิ่มการละลายน้ำของโอโซนได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้มากขึ้น (Graham, 1997) โดยที่อุณหภูมิดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* และ *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* แบบแขวนลอยได้ดีที่สุด นอกจากนี้ Fukumoto *et al.* (2010) ได้รายงานว่าการใช้ฟองไมโครร่วมกับโอโซนสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในมะเขือเทศ ผักกาดกวางตุ้ง และสตรอเบอร์รี่ โดยไม่ทำให้เกิดการสูญเสียคุณภาพของผลิตผล และจากการศึกษาของ Lee *et al.* (2016) พบว่าการล้างเกาลัดด้วยฟองไมโครร่วมกับโอโซนเป็นเวลา 10 นาที สามารถลดโรคเน่าและยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของเกาลัดได้อีกทั้ง Tamaki *et al.* (2018) ได้รายงานว่าการใช้ฟองไมโครร่วมกับโอโซนเป็นเวลา 30 วินาที สามารถยับยั้งการออกของสปอร์ *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melonis* ได้ และทำลายสปอร์ได้ทั้งหมดที่เวลา 180 วินาที

สรุปผลการทดลอง

การใช้ฟองไมโครร่วมกับโอโซนที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส โดยมีค่า pH เท่ากับ 6.7 และค่า ORP เท่ากับ 964 มิลลิโวลต์ เป็นเวลา 20 นาที มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. digitatum* ในสภาพแขวนลอยได้ดีที่สุด

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย และศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- दनय बुनยเกียรติ. 2543. โรคหลังการเก็บเกี่ยวของพืชสวน. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 156 หน้า.
- พานิชย์ ยศปัญญา. 2542. ศาสตร์แห่งส้ม. พิมพ์ครั้งที่ 4. บริษัท พิมพ์สนเทศรุ่งเรือง จำกัด. กรุงเทพมหานคร. 188 หน้า.
- Fukumoto, Y., K. Hashizume and Y. Nishimura. 2010. Development of supply system of microbubble ozoned water in agriculture. Horticulture Environment and Biotechnology 51(1): 21-27.
- Graham, D.M. 1997. Use of ozone for food processing. Food Technology 51: 72-75.
- Kobayashi, F., H. Ikeura, S. Ohsato, T. Goto and M. Tamaki. 2011. Disinfection using ozone microbubbles to inactivate *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. Crop Protection 30: 1514-1518.
- Lee, U., S. Joo, N.B. Klopfenstein and M.S. Kim. 2016. Efficacy of washing treatments in the reduction of postharvest decay of chestnuts (*Castanea crenata* 'Tsukuba') during storage. Plant Science 96: 1-5.
- Suslow, T.V. 2004. Oxidation-Reduction Potential (ORP) for water disinfection monitoring, control and documentation. University of California, Davis: p.1-5.
- Tamaki, M., F. Kobayashi, H. Ikeura and M. Sato. 2018. Disinfection by ozone microbubbles can cause morphological change of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* Spores. Journal of Plant Pathology 34(4): 335-340.

ความสัมพันธ์ของกิจกรรมเอนไซม์ Protease ที่สร้างจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. (Sacc) ต่อความรุนแรงในการเกิดโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง

สณัฐติ บินคาเดอร์^{1,2} รัตยา พงศ์พิสุทธา^{1,2} และชัยณรงค์ รัตนกริธากุล^{1,2}

บทคัดย่อ

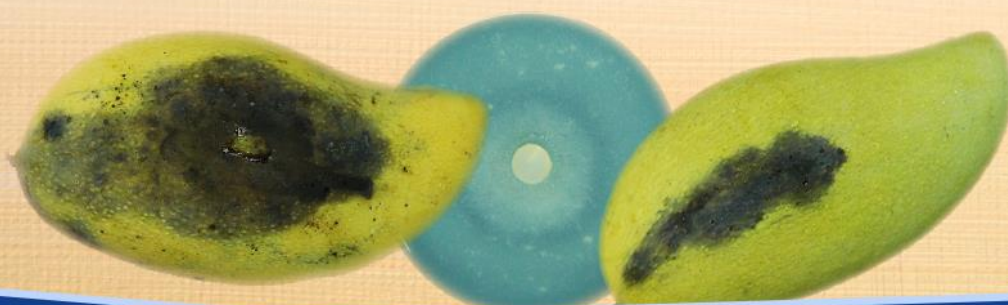


เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. (Sacc) จัดเป็นปัญหาที่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการผลิตมะม่วง ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว งานวิจัยในครั้งนี้ มีเป้าหมายเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเอนไซม์ protease ที่สร้างจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 19 ไอโซเลท ซึ่งแยกได้จากมะม่วงที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส ในพื้นที่ 3 จังหวัด คือ ฉะเชิงเทรา ราชบุรี และพิจิตร ต่อความรุนแรงในการเกิดโรค โดยทำการเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ casein hydrolysis medium (CHM) ที่มีส่วนผสมของ 10 % skim milk ผลการทดลอง พบว่าเชื้อราทุกไอโซเลท มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ protease โดยสังเกตได้จากส่วนใส (clear zone) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และเมื่อตรวจสอบกิจกรรมเอนไซม์ พบว่าเชื้อราทั้ง 19 ไอโซเลท มีค่าเฉลี่ยกิจกรรมเอนไซม์ระหว่าง 1.6702 - 2.3448 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทำการทดสอบความรุนแรงในการเกิดโรค โดยนำเชื้อราไอโซเลทที่มีค่ากิจกรรมเอนไซม์มาก และน้อยที่สุดมาปลูกเชื้อลงบนผลมะม่วง พบว่าเชื้อราที่มีกิจกรรมเอนไซม์มาก มีการเกิดโรคที่รุนแรงกว่าไอโซเลทที่มีกิจกรรมเอนไซม์น้อย ซึ่งการทดลองดังกล่าวจะนำไปสู่การหาวิธีการป้องกัน ควบคุม และจัดการสภาพแวดล้อม เพื่อรักษาผลผลิตของมะม่วงให้มีคุณภาพที่ดีต่อไป

คำสำคัญ: มะม่วง เอนไซม์โปรติเอส *Colletotrichum gloeosporioides*

¹ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

²ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10400



ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียในการลดสารพิษ ซีราลีโนนในสภาพหลอดทดลอง

พิสุทธิ์ เบี้ยวมนั^{1,2} สรรเสริญ รังสุวรรณ^{1,2} ชัยณรงค์ รัตนกริธากุล^{1,2} และ รัตยา พงศ์พิสุทธา^{1,2}

บทคัดย่อ

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และธัญพืช พบการปนเปื้อนของสารพิษซีราลีโนนมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ทั่วโลก โดยสารพิษซีราลีโนนสร้างจากเชื้อรา *Fusarium graminearum* เป็นหลัก เมื่อเกิดการปนเปื้อนในระบบการผลิตจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ และสัตว์ การใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ที่ผลิตได้จากเชื้อจุลินทรีย์เป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถลดการปนเปื้อนของสารพิษซีราลีโนนในระบบการผลิตได้ จากการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากธรรมชาติ จำนวน 21 แหล่ง และนำมาทดลองด้วยวิธีการ acclimatization ในสารละลายสารพิษซีราลีโนนความเข้มข้น 25 ppm หลังจากทำการทดลองเป็นระยะเวลา 30 วัน พบเชื้อจุลินทรีย์จาก 4 แหล่งที่สามารถลดปริมาณสารพิษซีราลีโนนได้ และแยกเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 7 ชนิด จากนั้นทดสอบความสามารถในการลดสารพิษซีราลีโนนในสภาพสารละลาย ที่ความเข้มข้น 25 ppm พบว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท Z1, Z3 และ Z4 มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารพิษซีราลีโนนได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 30 วัน การย้อมแกรมพบว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และเมื่อทำการระบุชนิดด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้ส่วน 16S ribosomal RNA พบว่าไอโซเลท Z1 และ Z3 มีความใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* และ ไอโซเลท Z4 มีความใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *B. velezensis* โดยเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมีแนวโน้มที่จะเป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารพิษซีราลีโนน

คำสำคัญ: ซีราลีโนน การลดสารพิษ อาหารปลอดภัย

¹ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัด นครปฐม 73140

²ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10400

ราชาผลไม้.....ทุเรียน.....เกิดโรคผลเน่าได้

เชื้อรา *Lasiodiplodia species* สาเหตุโรคผลเน่าทุเรียน ในประเทศไทย

รังสิมันต์ ธีระวงศ์ภิญโญ สมศิริ แสงโชติ และ ปวีณา สงกุมาร
ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

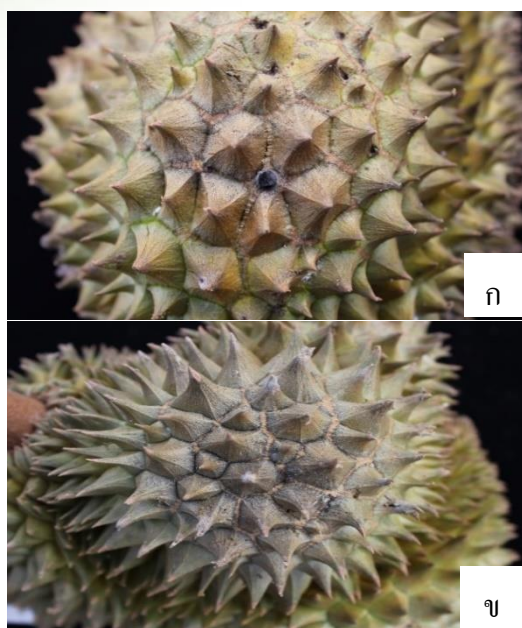
ทุเรียน ไม้ผลเศรษฐกิจที่สร้างมูลค่าการส่งออกสูง ประเทศไทยส่งออกทุเรียนผลสดพันธุ์หมอนทอง ไปยังประเทศจีนเป็นหลัก แต่การส่งออกนั้น เลี่ยงไม่ได้กับปัญหาคุณภาพของผลผลิตและการเกิด “โรคผลเน่า” ก่อนถึงตลาดปลายทาง ซึ่งเกิดได้จากหลายสาเหตุ ทั้งปัจจัยทางการขนส่งและการเข้าทำลายของเชื้อราหลายชนิด เชื้อราที่มักพบว่าก่อให้เกิดโรคผลเน่าทุเรียนมากที่สุดคือ *Lasiodiplodia* sp. ซึ่งพบได้ทั่วไปบนเศษซากพืช บริเวณโคนต้นทุเรียนในแปลงปลูก มีลักษณะคล้ายผงสีดำ เมื่อติดไปกับผลทุเรียนขณะเก็บเกี่ยว ทุเรียนจะแสดงอาการโรคในระยะสุกแก่เต็มที่ นอกจากนี้เชื้อราชนิดนี้ยังเป็นสาเหตุโรคลำต้นเน่า canker และ die back กับไม้ยืนต้นและไม้ผลหลายชนิดในพื้นที่เขตร้อนและเขตกึ่งร้อน (Ismail et al., 2012) ประเทศไทยมีรายงานการพบเชื้อรา *L. theobromae* ก่อโรคผลเน่าทุเรียนในปี พ.ศ. 2539 ซึ่งจำแนกชนิดของเชื้อราโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเท่านั้น (สมศิริ และ คณะ, 2539) ในปัจจุบันมีการใช้เครื่องมือทางชีวโมเลกุลประกอบกับข้อมูลทางสัณฐานวิทยาเพื่อจัดจำแนกชนิดของเชื้อราสกุลนี้ ซึ่งมีความแม่นยำและเป็นที่ยอมรับในระดับสากล จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า การวิเคราะห์ข้อมูลทาง phylogenetic ของตำแหน่ง ITS ร่วมกับ EF1- α มีประสิทธิภาพในการจำแนกสปีชีส์ของเชื้อราสกุล *Lasiodiplodia* ได้ดี (Alves et al., 2008)

จากข้อมูลข้างต้นจึงนำมาซึ่งการวิจัยจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา *Lasiodiplodia* สาเหตุโรคผลเน่าทุเรียนในประเทศไทย ด้วยข้อมูลทางสัณฐานวิทยาาร่วมกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS และ EF1- α เพื่อยืนยันชนิดของเชื้อราให้ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน

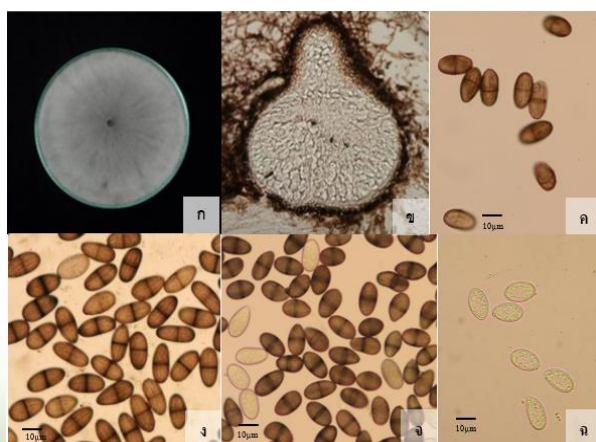


พิสูจน์ความสามารถการเกิดโรค ผลเน่า

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา โดยทำการปลูกเชื้อราด้วยเส้นใยบนชิ้นส่วนของผลทุเรียนหลังการเก็บเกี่ยว สามารถก่อให้เกิดแผลสีน้ำตาลถึงดำบนผลทุเรียนในระยะสุกแก่เต็มที่และอาจพบเส้นใยสีเทาของเชื้อราขึ้นบริเวณแผล (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 อาการโรคผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Lasiodiplodia* spp.



ภาพที่ 2 โคโลนีของเชื้อรา *Lasiodiplodia* (ก)
pycnidia (ข) ลักษณะโคนิเดียของเชื้อรา *L. theobromae* (ค)
L. pseudotheobromae (ง) *L. parva* (จ) *L. lignicola* (ฉ)

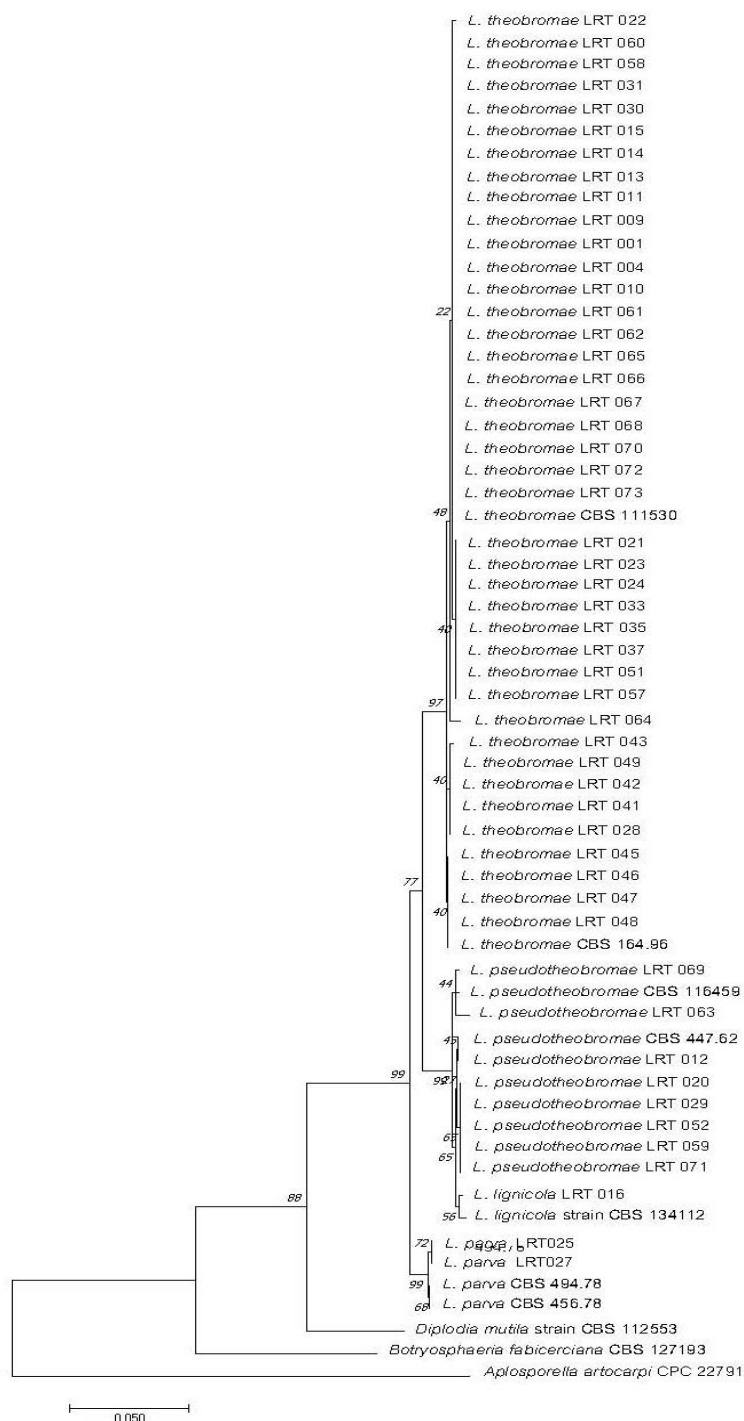
ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา

เส้นใยเชื้อรา *Lasiodiplodia* spp. มีสีเทาเจริญเร็ว (ภาพที่ 2 ก) โครงสร้าง pycnidia เป็น flask shape (ภาพที่ 2 ข) โดยภายใน pycnidia มีการสร้างโคนิเดียในระยะ immature ใสไม่มีสีและไม่มีผนังกันตามขวาง จากนั้นเปลี่ยนเป็นระยะ mature สีน้ำตาลดำ 1 septum มีรอยขีดลักษณะขรุขระตามยาว ที่ผิวด้านนอก โดยลักษณะรูปร่างและขนาดของโคนิเดียสามารถจำแนกชนิดของเชื้อราได้ดังนี้ *L. theobromae* โคนิเดียรูปร่าง subovoid ถึง ellipsoid-ovoid ขนาด 22.24-26.68 x 12.24-13.66 μm มี 1 septate (ภาพที่ 2 ค) *L. pseudotheobromae* โคนิเดียรูปร่าง ellipsoid ขนาด 21.32-27.71 x 9.57-13.64 μm มี 1-2 septate (ภาพที่ 2 ง) และ *L. parva* โคนิเดียรูปร่าง ovoid ขนาด 13-24.01 x 8.82-13.79 μm (ภาพที่ 2 จ) และ พบ 1 ไอโซเลทใกล้เคียงกับเชื้อรา *L. lignicola* ขนาดเท่ากับ 26.13-28.68 x 14.16-16.21 μm และพบว่าไม่เปลี่ยนเป็นระยะ mature conidia (ภาพที่ 2 ฉ)

ลักษณะทางชีวโมเลกุลของเชื้อรา

จากตัวอย่าง *Lasiodiplodia* spp. นำมาสกัด DNA จากนั้นทำ PCR เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA ที่บริเวณตำแหน่ง ITS และ EF1- α พบว่าสามารถ amplify ได้ 50 ไอโซเลทเมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS และ EF1- α ที่ได้ตรวจสอบกับฐานข้อมูลใน GenBank ร่วมกับข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคนิเดีย จัดจำแนกได้ว่าแต่ละไอโซเลทมีความใกล้เคียงกับเชื้อรา *L. theobromae* *L. pseudotheobromae* *L. parva* และ *L. lignicola*

เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสองบริเวณของไอโซเลทตัวแทนมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ตามแผนภาพ phylogenetic tree พบว่ากลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่อยู่ใน clade A ซึ่งมีความใกล้ชิดกับเชื้อรา *L. theobromae* ในส่วนของ clade B มีความใกล้ชิดกับเชื้อรา *L. pseudotheobromae* clade C ตัวอย่างมีความใกล้ชิดกับเชื้อรา *L. parva* และนอกจากนี้พบเชื้อรา 1 ไอโซเลท คือ LRT 016 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใกล้เคียงกับเชื้อรา *L. lignicola* CBS134112 clade D (ภาพที่ 3)



Clade A

ภาพที่ 3 Maximum-likelihood tree จากการรวมกันของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ internal transcribed spacer region (ITS) และ translation elongation factor 1- α (EF1- α)

Clade B

Clade D

Clade C

จากผลการศึกษาทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Lasiodiplodia* spp. พบว่า ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา pycnidia รูปทรง สี และขนาดของโคนเดี่ยวแต่ละไอโซเลทมีความใกล้เคียงกันมากทำให้ยากต่อการจำแนกชนิดของเชื้อรา (Slippers *et al.*, 2013) จึงนำข้อมูลมาวิเคราะห์ร่วมกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS และ EF1- α จากนั้นหาความสัมพันธ์บนแผนภาพ Phylogenetic tree พบว่าตัวอย่างเชื้อราที่มีความใกล้เคียงกับ *L. theobromae* *L. pseudotheobromae* *L. parva* และ *L. lignicola* ซึ่งบ่งชี้ว่าการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS และ EF1- α นั้นมีประสิทธิภาพในการระบุชนิดของ เชื้อราในสกุลนี้ได้สอดคล้องกับรายงานของ Ismail *et al.* (2012) จากผลการวิจัยนี้กล่าวได้ว่าในปัจจุบันเชื้อรา *Lasiodiplodia* spp. ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคผลเน่าทุเรียนในประเทศไทยนั้นมีความหลากหลายมากขึ้นจากอดีตที่พบเพียง *L. theobromae* เมื่อจำแนกโดยลักษณะสัณฐานเพียงอย่างเดียว (สมศิริ และ คณะ, 2539)

นอกจากนี้ Trakunyingcharoen *et al.* (2015) ได้รายงานว่า ในประเทศไทยพบ *L. pseudotheobromae* ก่อโรคผลเน่ากับโอคาโตและโรค canker บนลำต้นของยางพารา *L. theobromae* ก่อโรค canker กับมะม่วงและโรค dieback กับสนสามใบ ละมุด ชมพู และเงาะ เป็นต้น (Chirawut, 2014) ข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของพืชอาศัยที่เชื้อราในกลุ่มนี้สามารถเข้าทำลายได้ ฉะนั้นการระบุชนิดของเชื้อสาเหตุโรคให้ชัดเจนเพื่อประโยชน์ในการป้องกันควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคอย่างตรงจุดและมีประสิทธิภาพต่อไป

เชื้อรา *Lasiodiplodia* spp. สามารถก่อให้เกิดโรคผลเน่าทุเรียนได้ การจัดจำแนกชนิดของเชื้อราดังกล่าว ด้วยวิธีทางสัณฐานวิทยาประกอบกับข้อมูลทางชีวโมเลกุล พบว่า *L. theobromae*, *L. pseudotheobromae* *L. parva* และ *L. lignicola* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคที่แพร่กระจายอยู่ในภาคตะวันออก ภาคใต้ และภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทยในปัจจุบัน โดยส่วนใหญ่พบ *L. theobromae* มากที่สุด (ร้อยละ 87)

เอกสารอ้างอิง

- สมศิริ แสงโชติ, รัตติยา พงศ์พิสุทธา และรณภพ บรรเจิดเชิดชู. 2539. โรคที่เกิดกับผลทุเรียนหลังการเก็บเกี่ยว. รายงานการ ประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 34: 148-152.
- Alves, A., P. W. Crous, A. Correia and A. J. L. Phillips. 2008. Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*. Fungal Divers. 28:1-13.
- Chirawut, B. 2014. Fruit rot disease of harvested rambutan and its control. Thai Agricultural Research Journal 32 (1):89-109.
- Ismail, A. M., G. Cirvilleri, G. Polizzi, P.W. Crous, J.Z. Groenewald and L. Lombard. 2012. *Lasiodiplodia* species associated with dieback disease of mango (*Mangifera indica*) in Egypt. Australasian Plant Pathol 41: 649-660.
- Slippers, B., E. Boissin and A.J.L. Phillips. 2013. Phylogenetic lineages in the Botryosphaerales: a systematic and evolutionary framework. Studies in Mycology 76: 31-49.
- Trakunyingcharoen, T., L. Lombard, J.Z. Groenewald, R. Cheewangkoon, C. To-anun and P.W. Crous. 2015. Caulicolous Botryosphaerales from Thailand. Persoonia 34 : 87-99.

การลดอุณหภูมิในการผลิตผักมูลนิธิโครงการหลวง ตลอดสายโซ่อุปทาน เพื่อปรับปรุงคุณภาพและความปลอดภัย

รองศาสตราจารย์ ดร.พิชญา พูลลาภ
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการลดอุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อรักษาคุณภาพและความปลอดภัยของผักมูลนิธิโครงการหลวง 3 ชนิด ได้แก่ ปวยเล้ง บรอกโคลี และคะน้าฮ่องกง พบว่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศปวยเล้ง คือการกำหนดความดันสุดท้ายภายในห้องลดอุณหภูมิ 6 มิลลิบาร์ โดยให้ผลผลิตอยู่ภายใต้ความดันที่กำหนดเป็นระยะเวลา 25 นาที ซึ่งสามารถลดอุณหภูมิปวยเล้งได้เร็วกว่าการลดอุณหภูมิโดยการผ่านอากาศเย็นแบบบังคับที่ใช้อุณหภูมิอากาศ 4 องศาเซลเซียส และความเร็วลม 1.55 เมตรต่อวินาที เมื่อนำตัวอย่างผักไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส พบว่าปวยเล้งที่ผ่านการลดอุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศมีปริมาณวิตามินซี และคลอโรฟิลล์สูงกว่า ปวยเล้งที่ผ่านการลดอุณหภูมิโดยการผ่านอากาศเย็นแบบบังคับและชุดควบคุม ($P \leq 0.05$) สำหรับการลดอุณหภูมิบรอกโคลี พบว่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศ คือการกำหนดความดันสุดท้ายภายในห้องลดอุณหภูมิ 6 มิลลิบาร์ โดยให้ผลผลิตอยู่ภายใต้ความดันที่กำหนดเป็นระยะเวลา 30 นาที และพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิโดยใช้น้ำแข็งของบรอกโคลี คือ ที่อัตราส่วนของบรอกโคลีต่อน้ำแข็งเท่ากับ 1 : 1 โดยสามารถลดการสูญเสียน้ำหนัก สามารถคงปริมาณคลอโรฟิลล์ ปริมาณวิตามินซี กิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลไว้ได้ดี ส่งผลให้คะแนนด้านประสาทสัมผัสของบรอกโคลีที่ผ่านการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศและการลดอุณหภูมิโดยใช้น้ำแข็งมีคะแนนด้านประสาทสัมผัสที่ดีกว่าบรอกโคลีชุดควบคุมในการลดอุณหภูมิของคะน้าฮ่องกง พบว่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศ คือการกำหนดความดันสุดท้ายภายในห้องลดอุณหภูมิ 6.5 มิลลิบาร์ โดยให้ผลผลิตอยู่ภายใต้ความดันที่กำหนดเป็นระยะเวลา 20 นาที และพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการลดอุณหภูมิโดยใช้น้ำแข็งของคะน้าฮ่องกง คือ ที่อัตราส่วนของคะน้าฮ่องกงต่อน้ำแข็งเท่ากับ 1 : 1 โดยสามารถลดการสูญเสียน้ำหนัก และคงปริมาณคลอโรฟิลล์ ปริมาณวิตามินซี และปริมาณสารประกอบฟีนอลไว้ได้ดี ส่งผลให้คะแนนด้านประสาทสัมผัสของคะน้าฮ่องกงที่ผ่านการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศและการลดอุณหภูมิโดยใช้น้ำแข็งดีกว่าคะน้าฮ่องกงชุดควบคุม ทั้งนี้การลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศสามารถลดอุณหภูมิได้รวดเร็ว นิยมใช้กับผลผลิตปริมาณมากเพื่อให้คุ้มค่ากับค่าใช้จ่าย ในขณะที่การลดอุณหภูมิโดยใช้น้ำแข็งต้องใช้ระยะเวลานานกว่า จึงนิยมใช้กับผลผลิตปริมาณน้อยและในระหว่างการขนส่งผลผลิต

ด้านคุณภาพของปวยเล้งพบว่าชุดควบคุมมีปริมาณจุลินทรีย์ (ปริมาณเชื้อ Aerobic bacteria ทั้งหมด ปริมาณเชื้อ Coliform bacteria ปริมาณยีสต์ ปริมาณเชื้อรา และปริมาณเชื้อ Lactic acid bacteria) สูงกว่าปวยเล้ง ที่ผ่านการลดอุณหภูมิโดยการผ่านอากาศเย็นและการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศ ด้านคุณภาพของบรอกโคลีและ คะน้าฮ่องกงพบว่า ชุดควบคุมมีปริมาณจุลินทรีย์สูงกว่ากะน้าฮ่องกงที่ผ่านการลดอุณหภูมิโดยใช้น้ำแข็ง และการลด อุณหภูมิด้วยระบบสุญญากาศ นอกจากนั้นยังไม่พบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ *Listeria monocytogenes* ในผัก ทั้ง 3 ชนิดทุกจุดตลอดสายโซ่อุปทานและตลอดการเก็บรักษา ดังนั้นการลดอุณหภูมิสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับ พืชผักทั้ง 3 ชนิดได้ โดยสามารถรักษาคุณภาพของผลิตผลในระหว่างกระบวนการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว การขนส่ง การเก็บรักษาและการวางจำหน่าย



การลดอุณหภูมิ ปวยเล้ง บรอกโคลี และกะน้าฮ่องกง ระหว่างกระบวนการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว จนถึงการจัดวางจำหน่าย



Postharvest Newsletter

ผู้อำนวยการศูนย์ฯ : ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.ณีย์ บุณยเกียรติ

คณะบรรณาธิการ : ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธิยา รัตนพานนท์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เยาวลักษณ์ จันทร์บาง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุษาวดี ชนสุต
นางจุฑานันท์ ไชยเรืองศรี

ผู้ช่วยบรรณาธิการ : นายบัณฑิต ชุมภูสัย
นางปัทมิกา จันทาสุน
นางสาวปิยภรณ์ จันจรมานิตย์
นางละอองดาว วาณิชสุขสมบัติ

ฝ่ายจัดพิมพ์ : นางสาวรัชกร ยาลังกาญจน์

สำนักงานบรรณาธิการ : PHT Newsletter ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
239 ถนนห้วยแก้ว ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์ +66(0)5394-1448 โทรสาร +66(0)5394-1447
E-mail : phtic@phtnet.org



<https://www.phtnet.org>