ผลของนาโนซิลเวอร์ร่วมกับสารเคลือบผิวเพื่อควบคุมเชื้อราที่ก้านขั้วผลสับปะรด

Effect of Nano-Silver Combined with Coating Substance on the Control of Fungal Invasion at the Stem End of Pineapple Fruits

ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์[1, 2, *] อภิรดี อุทัยรัตนกิจ[1, 2] และ ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์[3]
Pongphen Jitareerat[1, 2, *], Apiradee Uthairatanakij[1, 2] and Piyasak Chaumpluek[3]

Abstract

Fungal invasion at the cut surface of pineapple stem end often occur during storage and it affects on the decision of buyer. Thus, the objective of this research was to investigate the effect of nano-silver (Ag) combined with coating substance on the control of fungal invasion at the cut surface of pineapple stem end. Mixed spore suspension of three fungi (*Fusarium* sp., *Lasiodiplodia theobromae* and *Penicillium* sp. that isolated from pineapple stem end) was applied on the stem end of pineapple cv. Trad Sri Thong before treating with 3 ppm nano-Ag or 3 ppm nano-Ag mixed with 1 or 2% sucrose fatty acid ester (SFE). Pineapple stem ends treated with 500 ppm prochloraz or water were used as the controls. All treated pineapple fruits were then kept at 13°C. After storage for 7 days, there was no fungal mycelium appeared on the stem end of pineapple fruits treated with nano-Ag mixed with 2% SFE or prochloraz, while the control fruits found 100% infection. Moreover, the application of nano-Ag mixed with 2% SFE was able to delay the respiration rate and ethylene production and it did not affect on weight loss, change in peel color, TSS and TA of pineapple.

Keywords: nano-silver, sucrose fatty acid ester, decay

บทคัดย่อ

การเข้าทำลายของเชื้อราบริเวณรอยตัดของก้านสับปะรดมักพบเสมอในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งมีผลต่อการเลือกซื้อของผู้บริโภค ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้นาโนซิลเวอร์ (nano-Ag) ร่วมกับสารเคลือบผิวเพื่อควบคุมการเจริญของเชื้อราบริเวณรอยตัดของก้านผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง ทำโดยพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราผสมทั้ง 3 ชนิด (*Fusarium* sp., *Lasiodiplodia theobromae* และ *Penicillium* sp. ที่แยกได้จากก้านสับปะรด) บริเวณแผลรอยตัดของก้านผล จากนั้นป้ายก้านสับปะรดด้วย nano-Ag ความเข้มข้น 3 ppm หรือ nano-Ag ความเข้มข้น 3 ppm ผสมกับสารเคลือบผิว sucrose fatty acid ester (SFE) ความเข้มข้น 1 หรือ 2% ส่วนชุดควบคุม คือ สับปะรดที่ป้ายด้วยสารกำจัดเชื้อราโปรคลอราซ 500 ppm และน้ำ และเก็บรักษาสับปะรดไว้ที่ 13°C พบว่า หลังจากการเก็บรักษา 7 วัน ก้านสับปะรดที่ป้ายด้วย nano-Ag ผสม 2% SFE และสารกำจัดเชื้อราไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อราที่ก้านผล ในขณะที่สับปะรดชุดควบคุม พบการเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้พบว่าการใช้ nano-Ag ผสม 2% SFE สามารถช่วยชะลออัตราการหายใจ และการผลิตเอทิลีนของสับปะรด และไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของสับปะรด ได้แก่ การสูญเสียน้ำหนัก การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และปริมาณกรดที่ไตเตรตได้

คำสำคัญ: นาโนซิลเวอร์ สารเคลือบผิว การเน่าเสีย

[1] สาขาวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพฯ
[1] Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok
[2] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา, กรุงเทพฯ
[2] Postharvest Technology Innovation Center, Office of the Higher Education Commission, Bangkok
[3] ภาควิชาพฤกษาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ
[3] Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok
[*] corresponding author : pongphen.jit@kmutt.ac.th

คำนำ

สับปะรดเป็นสินค้าเกษตรที่สำคัญ และทำรายได้เข้าสู่ประเทศไทยในลำดับต้นๆ ปัจจุบันการส่งออกสับปะรดสดของไทยมีแนวโน้มสูงขึ้น ดังจะเห็นได้จากมูลค่าการส่งออกสับปะรดสด และแช่แข็งมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดยในปี 2552, 2553 และ 2554 มีมูลค่าการส่งออกเท่ากับ 65.5, 75.76 และ 101 ล้านบาท ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2555) การขนส่งสับปะรดสดนิยมขนส่งทางเรือโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ อย่างไรก็ตามระหว่างการขนส่งมักพบปัญหาการเน่าเสียที่มีสาเหตุจากเชื้อรากลุ่ม wound pathogens โดยเฉพาะบริเวณขั้วผลซึ่งเป็นช่องเปิดขนาดใหญ่ เมื่อสปอร์ หรือเส้นใยของเชื้อราตกลงไปก็จะเจริญเติบโต และปรากฏเส้นใยของเชื้อราบริเวณรอยตัดของขั้วผล ทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค จากการจำแนกเชื้อราบริเวณขั้วผล และบาดแผลของผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองของคณะผู้วิจัย ในปี 2554 พบเชื้อราหลายชนิด ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Curvularia* sp., *Penicillium* sp., *Furasium* sp., *Lasiodipodia theobromea* และ *Pestalotiopsis* sp. เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาหาวิธีการควบคุมการเจริญของเชื้อราบริเวณขั้วผลสับปะรดอย่างจริงจังนัก รายงานการใช้นาโนซิลเวอร์ เพื่อการป้องกัน และกำจัดจุลินทรีย์ในผลิตผลการเกษตร และในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น การผลิตยาสำหรับผู้ป่วย ทำน้ำให้บริสุทธิ์ การลดการปนเปื้อนของเชื้อในผัก น้ำยาปักแจกัน เครื่องสำอาง สิ่งทอ เสื้อผ้า และสีทาบ้าน เป็นต้น (Davies and Etric, 1997; Klaus *et al*., 1999; Jiang *et al*., 2004; Rai *et al*., 2009) นักวิจัยหลายหน่วยงานได้พิสูจน์ให้เห็นว่า ซิลเวอร์นั้นมีความเป็นพิษต่อเซลมนุษย์ และสัตว์ต่ำแต่มีความเป็นพิษต่อเชื้อจุลินทรีย์สูง (Wen *et al*., 2007; Melaiye, 2005) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของนาโนซิลเวอร์ เพื่อควบคุมเชื้อราที่ก้านขั้วผล และผลกระทบที่มีต่อคุณภาพของสับปะรด และเพื่อให้นาโนซิลเวอร์ยึดติดกับบาดแผลที่ก้านขั้วผลดียิ่งขึ้น จึงทำการศึกษาเปรียบเทียบกับการใช้นาโนซิลเวอร์ร่วมกับสารเคลือบผิว sucrose fatty acid ester (SFE) อีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บเกี่ยวสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองจากสวนที่ได้รับ GAP ในระยะ middle stage (เปลือกมีสีเหลือง ½ ของผล) มาตัดปลายก้านขั้วผลอีกครั้ง (re-cut) และทำการปลูกขั้วผลด้วยสปอร์ผสมของเชื้อรา *Fusarium* sp., *L. theobromae*, และ *Penicillium* sp. (เชื้อราที่แยกได้จากขั้วผลสับปะรด) ความเข้มข้น 10^5 conidia/ml นาน 4 ชั่วโมง จากนั้นป้ายขั้วผลด้วยนาโนซิลเวอร์ (nano-Ag) ความเข้มข้น 3 ppm ผสมกับสารเคลือบผิว SFE ความเข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ก่อนเก็บรักษาในห้องเย็นที่ 13°C นาน 21 วัน (จำลองการขนส่งทางเรือ) แล้วจึงย้ายออกไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน (จำลองการวางจำหน่าย) ชุดควบคุม คือ ผลสับปะรดที่ปลูกเชื้อรา และป้ายด้วยน้ำ หรือผลสับปะรดที่ปลูกเชื้อรา และป้ายด้วยสารกำจัดเชื้อรา Prochloraz ความเข้มข้น 500 ppm วางแผนการทดลองแบบ Complete randomized design (CRD) แต่ละชุดการทดลองมี 4 ซ้ำๆ ละ 2 ผล บันทึกการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพ และชีวเคมีของสับปะรดระหว่างการเก็บรักษา และวางจำหน่าย ทุกๆ 7 วัน ดังนี้ เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ระดับความรุนแรงของโรค (0 คะแนน = ไม่ปรากฏอาการโรค, 1 คะแนน = พบอาการของโรค 0.1-5% ของพื้นที่ก้านผล, 2 คะแนน = พบอาการของโรค 5.1-10% ของพื้นที่ก้านผล, 3 คะแนน = พบอาการของโรค 10.1-15% ของพื้นที่ก้านผล, 4 คะแนน = พบอาการของโรค 15.1-20% ของพื้นที่ก้านผล, 5 คะแนน = พบอาการของโรคมากกว่า 20% ของพื้นที่ก้านผล) อัตราการหายใจ การผลิตเอทิลีน การสูญเสียน้ำหนักสด การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) และปริมาณกรดที่ไตเตรตได้ (TA)

ผลและวิจารณ์ผล

การป้ายขั้วผลสับปะรดด้วย nano-Ag ผสม 2% SFE มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราที่ขั้วผลได้ดีเทียบเท่ากับการป้ายด้วยสารกำจัดเชื้อรา Prochloraz โดยพบว่าว่าสามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ 100% หลังการเก็บรักษาที่ 13°C นาน 7 วัน ในขณะที่ขั้วผลของสับปะรดชุดควบคุม (ป้ายด้วยน้ำ) ที่ปรากฏเส้นใยของเชื้อรา หรือปรากฏว่าเกิดโรค 100% เมื่อเก็บไว้นาน 14 วัน พบว่าสับปะรดในทุกชุดการทดลองมีการเกิดโรคเพิ่มขึ้นเท่ากับ 100% เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นการใช้ Prochloraz และ nano-Ag ที่มีการเกิดโรค 75% แต่หลังจากวันที่ 14 ของการเก็บรักษาต้นไป พบว่าผลสับปะรดในทุกชุดการทดลองมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 100 (Figure 1a) เมื่อพิจารณาระดับความรุนแรงของเกิดโรค หรือความกว้างของพื้นที่ที่เส้นใยของเชื้อราเจริญคลอบคลุม พบว่า ขั้วผลสับปะรดที่ป้ายด้วย nano-Ag ผสม 2% SFE มีระดับความรุนแรงของโรค และป้ายด้วย Prochloras มีระดับความรุนแรงของโรคน้อยที่สุดตลอดการเก็บรักษา (Figure 1b) ทั้งนี้ Wright (2002) รายงานว่าไอออนของซิลเวอร์จะสัมผัสกับเซลเมมเบรมของเชื้อ และไปจับกับหมู่ –SH ของเอ็นไซม์ ทำให้การทำงานของเอ็นไซม์ต่างๆ ลดลง จึงส่งผลให้เมตาบอลิซึมต่างๆ ของเชื้อเปลี่ยนแปลงไป จนมีผลไปยับยั้งการเจริญหรือทำให้เชื้อตายได้ ในขณะที่ Kim *et*

al. (2007) ระบุว่าไอออนของซิลเวอร์จะ catalyze น้ำ และ O_2 ให้กลายเป็น H_2O_2 และ O^- ซึ่งมีผลทำให้เซลของเชื้อได้รับความเสียหาย นอกจากนี้ไอออนของซิลเวอร์ยังมีผลทำลายโปรตีน และทำให้เซลล์ตาย โดยไปทำปฏิกิริยากับ nucleophillic amino acid residues ในโปรตีน และไปจับกับ sulfhydryl, amino, imidazole, phosphate และหมู่ carboxyl ของเมนเบรน หรือเอนไซม์ (Kaur *et al*., 1985) ตลอดจนอาจไปขัดขวางการหายใจเนื่องจากการสร้างพันธะ R-S-R-S ขึ้น ซึ่ง Kumer *et al*. (2004) ได้เสนอว่าพันธะเหล่านี้อาจสร้างจากปฏิกิริยาระหว่างซิลเวอร์ที่อยู่ในรูป oxidic form และ sulfhydryl (-S-H) group

เมื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวเคมีของสับปะรด พบว่าการใช้ nano-Ag ผสม 2% SFE ช่วยชะลอการผลิตเอทิลีนและอัตราการหายใจของสับปะรดได้ในช่วง 7 และ 14 วันแรกของการเก็บรักษาที่ 13˚C แต่หลังจากย้ายออกมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าการผลิตเอทิลีน และอัตราการหายใจของสับปะรดที่ป้ายด้วย nano-Ag ผสม 2% SFE เพิ่มสูงขึ้นและมากกว่าชุดควบคุม (Figure 1c and 1d) อย่างไรก็ตามการใช้ nano-Ag ผสม 2% SFE ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของสับปะรด ได้แก่ การสูญเสียน้ำหนัก การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และปริมาณกรดที่ไตเตรตได้ (ไม่ได้แสดงผลการทดลอง)

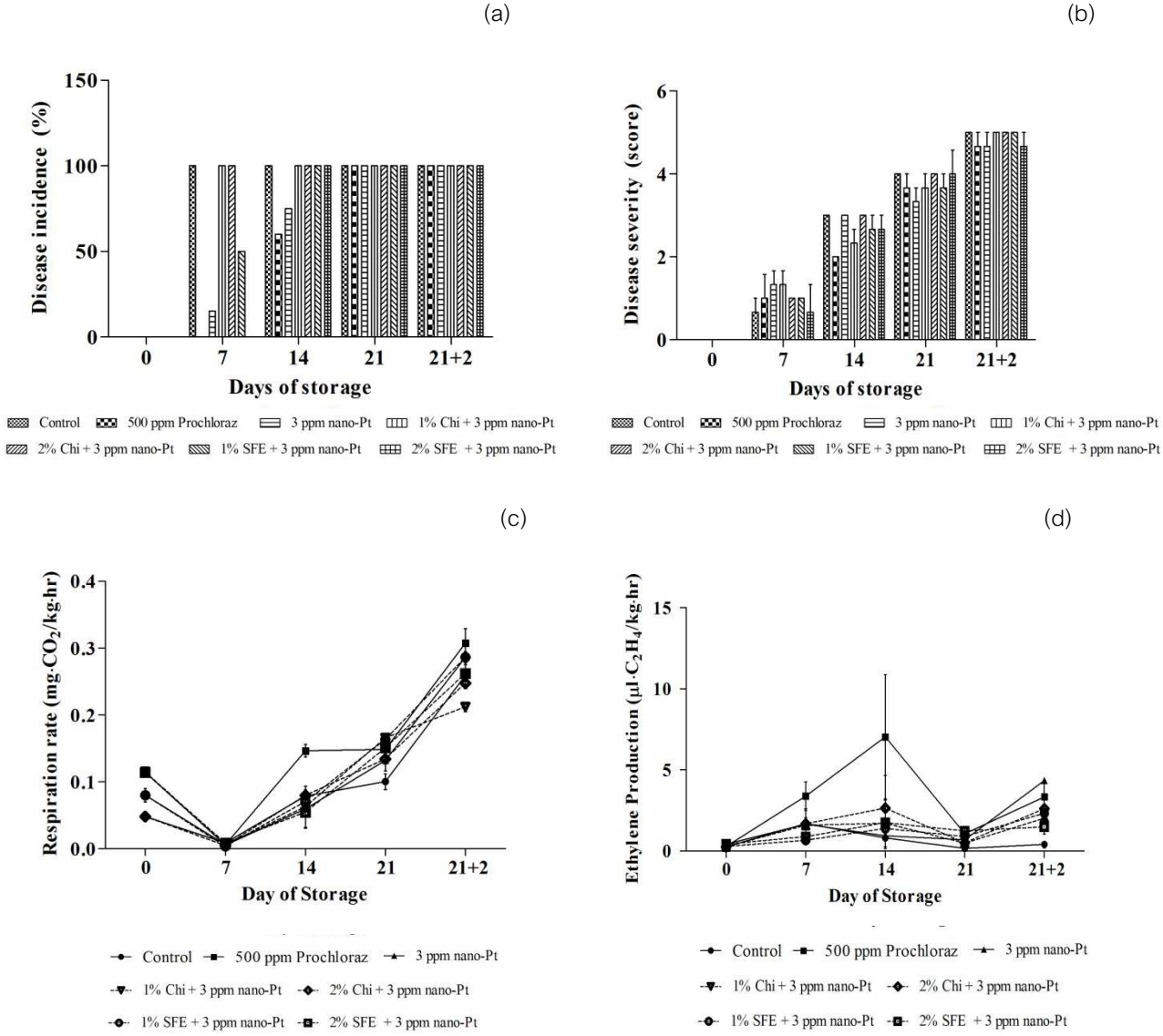

Figure 1 Disease incidence (a), disease severity (b), respiration rate (c) and ethylene production (d) of pineapple fruits. The stem ends of pineapple fruits were inoculated with mixed spore suspension of three fungal pathogens before treating with 3% Nano-silver (Ag) colloid mixed with 0 (control), 1 and 2% sucrose fatty acid ester (SFE). The fruit treated with Prochloraz at 500 ppm were served as positive control.

สรุป

การป้ายขั้วผลสับปะรดด้วย nano-Ag ผสม 2% SFE มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเจริญของเชื้อราที่ขั้วผลได้ดีเทียบเท่ากับการใช้สารกำจัดเชื้อรา Prochloraz 500 ppm และมีผลช่วยชะลออัตราการหายใจ และการผลิตเอทิลีนของสับปะรดใน 7-14 วันแรกของการเก็บรักษา และการป้ายขั้วผลด้วย nano-Ag ผสม 2% SFE ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของสับปะรด ได้แก่ การสูญเสียน้ำหนัก การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และปริมาณกรดที่ไตเตรตได้

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. สถิติการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export.php. (18 สิงหาคม 2555)

Davies, R.L. and S.F. Etric. 1997. The development and functions of silver in water purification and disease control. Catal. Today 36: 107-114.

Jiang, H., S. Manolache, A.C.L. Wong and F.S. Dense. 2004. Plasma-enhancing deposition of silver nanoparticles onto polymer and metal surfaces for the generation of antimicrobial characteristics. J. Appl. Polym. Sci. 93: 1411-1422.

Kaur, P., M. Saxena and D.V. Vadehra. 1985. Plasmid mediated resistance to silver ions in *Escherichia coli*. Indian J. of Med. Res. 82: 122-126.

Kim, J.S., E. Kuk, K.N. Yu, J.S. Kim, S.J. Park, H.J. Lee, Y.K. Park, Y.H. Park and C.Y. Hwang. 2007. Antimicrobail effects of silver nanoparticles. Nanomedicine: Nanotech. Biol. and Med. 3: 95-101.

Kluse, T., R. Joerger, E. Olsson and C.G. Granquvist. 1999. Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated. Proc. Natl. Acad. Sci, USA. 96: 13611-13614.

Kumer, V.S., B.M. Nagaraja, V. Shashikala, A.H. Padmasri, S.S. Madhavendra and B.D. Raju. 2004. Highly efficient Ag/C catalyst prepared by electro-chemical deposition method in controlling microorganisms in water. Journal of Molecular Catalysis A-Chemical 223: 313-319.

Melaiye, A. 2005. Silver and its application as an antimicrobial agent. Expert Opinion on therapeutic Patents Informa Healthcare 15 (2): 125-130.

Rai, M., A. Yadav and A. Gade. 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnology Advances 27 (1): 76-83.

Wen, H.C., Y.N. Lin, S.R. Jian, S.C. Tseng, V.P. Weng, Y.P. Liu, P.T. Lee, P.Y. Chen, R.Q. Hsu, W.F. Wu and C.P. Xhou. 2007. Observation of growth of human fibroblasts on silver nanoparticles. Journal of Physics: Conference Series 61: 445-449.

Wrigth, T. 2002. Alphasan a termally stable silver-based inorganic antimicrobial technology. Chemical Fiber International 25 (2): 125-132.