Agricultural Sci. J. 48 : 3 (Suppl.) : 72-75 (2017) ว. วิทย. กษ. 48 : 3 (พิเศษ) : 72-75 (2560)

การลดปริมาณเชื้อรา *Aspergillus spp.* ระหว่างการเก็บรักษาเพชรสังฆาตอบแห้งด้วยเทคนิคฟลูอิไดเซชัน

Reduction of *Aspergillus spp*. during Storage, a *Cissus quadrangularis* Linn. Dried by Fluidization Techniques

จุฑามาศ พรมนุช[1] นิตยา จันกา[2] พรประพา คงตระกูล[3] และ ชัยวัฒน์ รัตนมีชัยสกุล[1]

Jutamas Promnuch[1], Nittaya Junka[2], Pornprapa Kongtragoul[3] and Chaiwat Rattanamechaiskul[1]

Abstract

This research aims to study the reduction of the fungus *Aspergillus spp*. During storage, a *cissus quadrangularis* dried. The optimum conditions for efficient drying it storage of a *cissus quadrangularis* dried. This has no effect on the amount diosmin quantity. The freshly sample of a *cissus quadrangularis* disinfected with Clorox 10% concentration for 10 minutes and then sprayed with a spore suspension of the fungus *Aspergillus spp*., the concentration $1x10^6$ spores/ml using quantity in spraying 5 ml/process and curing 24 h at room temperature. Prior to the trial by hot air Fluidization at tempters of 90, 110, 130 and 150ºC to the final moisture content 5% (w.b.), compared to the actual use methods. Dried with of the tray drying at a low temperature (50ºC), following a method by Tha Sae Hospital in Chumphon province, Thailand. The results showed that the drying a *cissus quadrangularis* by fluidization techniques can reduce the fungus *Aspergillus spp*., during storage has better than tray drying. At a temperature of 110, 130 and 150ºC but the most suitable is at temperature of 150ºC, which low effect of the amount diosmin quantity.

Keywords: *Cissus quadrangularis*, fluidization, *Aspergillus spp*.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการศึกษาการลดปริมาณเชื้อรา *Aspergillus spp.* ระหว่างการเก็บรักษาเพชรสังฆาตอบแห้ง โดยหาเงื่อนไขการอบแห้งที่เหมาะสมที่มีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาเพชรสังฆาตอบแห้ง ซึ่งไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณสาร diosmin โดยการนำเพชรสังฆาตสดฆ่าเชื้อด้วย Clorox ความเข้มข้น 10% นาน 10 นาที แล้วฉีดพ่นด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Aspergillus spp.* ความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร โดยใช้ปริมาณในการฉีดพ่น 5 มิลลิลิตร/กรรมวิธี และบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชม. ก่อนนำไปทดลองด้วยการนำเทคนิคฟลูอิไดเซชันแบบลมร้อนที่อุณหภูมิอบแห้ง 90, 110, 130 และ 150ºC จนความชื้นลดลงเหลือ 5% (w.b.) เปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้งานจริง ซึ่งอบแห้งด้วยกระบวนการอบแห้งแบบลมร้อนอุณหภูมิต่ำ (50ºC) จากโรงพยาบาลท่าแซะ จังหวัดชุมพร ผลการทดลองพบว่า การอบแห้งเพชรสังฆาตด้วยเทคนิคฟลูอิไดเซชันสามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus spp.* ในระหว่างการเก็บรักษาได้ดีกว่ากระบวนการอบแห้งแบบลมร้อนอุณหภูมิต่ำ ที่อุณหภูมิ 110, 130 และ 150ºC แต่อุณหภูมิที่เหมาะสุดคือ 150ºC ซึ่งส่งผลกระทบต่อปริมาณสาร diosmin น้อยที่สุด

คำสำคัญ: เพชรสังฆาต ฟลูอิไดเซชัน แอสเปอร์จิลลัส

คำนำ

เพชรสังฆาต (*Cissus quadrangularis*) เป็นพืชสมุนไพร ประกอบด้วยสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (diosmin 90% และ hesperidin 10%) ซึ่งสารในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ช่วยเพิ่มความแข็งแรงของหลอดเลือด (venotonics) (Panthong *et al*., 2007) ช่วยบรรเทาโรคริดสีดวงทวาร ภายในเถาเพชรสังฆาตมีผลึก calcium oxalate ลักษณะรูปทรงต่างๆ อยู่จำนวนมาก (Ghouse, 2015) ทำให้ระคายเคืองช่องปากและลำคอ (นฤมล, 2557) ผู้บริโภคจึงนิยมรับประทานในรูปแบบของยาแคปซูล เพชรสังฆาตสดจะมีความชื้นสูง 90 ± 2 %(w.b.) จำเป็นต้องลดความชื้นในการเก็บรักษาก่อนนำไปแปรรูปเป็นยา การเก็บ

[1] ภาควิชาวิศวกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร 86160

[1] Department of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Prince of Chumphon Campus, Chumphon, 86160

[2] สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม จังหวัดนครปฐม 73000

[2] Division of Crop Production Technology, Faculty of Science and Technology, Nakhon Pathom Rajabhat University, Nakhon Pathom, 73000

รักษาเพชรสังฆาตอบแห้งพบว่ามีการเกิดการปนเปื้อนของเชื้อรา ซึ่งเชื้อราชนิดหนึ่งที่เกิดขึ้นระหว่างการเก็บรักษาที่มีสำคัญ คือ *Aspergillus spp.*

Aspergillus spp. เป็นกลุ่มเชื้อราที่ทำหน้าที่คล้ายแอนติเจน (antigen) โดยไปส่งผลกระตุ้นร่างกายให้สร้างแอนติบอดี้ (antibody) ชนิด IgE ก่อให้เกิดความผิดปกติลักษณะคล้ายปฏิกิริยาภูมิไวเกิน (hypersentivity reaction type I) หรือ มีอาการและอาการแสดงของความผิดปกติคล้ายกับภาวะหอบหืด (asthmatic like symptoms) (Pumirat *et al*., 2013) ซึ่งทำให้เกิดโรคการติดเชื้อที่ระบบทางเดินหายใจ

เทคนิคการอบแห้งด้วยลมร้อนแบบฟลูอิไดซ์เบด (fluidized bed) โดยเครื่องอบแห้งแบบนี้ มีสัมประสิทธิ์การถ่ายเทความร้อนมีค่าสูง โดยนำเพชรสังฆาตที่หั่นเป็นชิ้นลมร้อนถูกเป่าด้วยความเร็วสูงพอที่จะเอาชนะแรงโน้มถ่วงของเพชรสังฆาต และทำให้เพชรสังฆาตลอยอยู่ในอากาศร้อนตลอดเวลาในท่อแนวดิ่ง ทำให้เพชรสังฆาตสัมผัสกับอากาศร้อนอย่างทั่วถึง และปริมาณความชื้นในเพชรสังฆาตลดลงเท่ากันทั้งหมด และส่งผลให้คุณภาพของเพชรสังฆาตที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน นอกจากนี้การใช้อุณหภูมิอบแห้งที่สูง ทำให้ระยะเวลาในการอบแห้งน้อยกว่าการอบแห้งวิธีอื่นๆ (Sivakumar *et al*., 2016)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการศึกษาการลดปริมาณเชื้อรา *Aspergillus spp.* ระหว่างการเก็บรักษาเพชรสังฆาตอบแห้ง โดยหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการอบแห้งที่มีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาเพชรสังฆาตอบแห้ง ซึ่งไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณสาร diosmin

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างสำหรับการทดลอง

งานวิจัยดำเนินการโดยใช้เพชรสังฆาตสดที่ได้มาจากโรงพยาบาลท่าแซะ อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร ประเทศไทย ซึ่งกลุ่มตัวอย่างที่นำมาใช้ได้มาจากพื้นที่เพาะปลูกและระยะเวลาการเก็บเกี่ยวเช่นเดียวกับการใช้งานจริง ตัวอย่างที่ได้นำไปล้างทำความสะอาด แล้วจึงหั่นตัวอย่างที่ขนาดความหนา 1-2 เซนติเมตร ยาว 0.5-1 เซนติเมตร (เช่นเดียวกับวิธีการของโรงพยาบาลท่าแซะ) ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ที่ความสูงเบด 5 เซนติเมตร (781.2 ± 1 กรัม)

นำตัวอย่างสดที่ฆ่าเชื้อด้วย Clorox ความเข้มข้น 10% นาน 10 นาที แล้วฉีดพ่นด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Aspergillus spp.* ความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร โดยใช้ปริมาณในการฉีดพ่น 5 มิลลิลิตร/กรรมวิธี และบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องภายใต้แสง near-UV 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง (ภัสรา และคณะ, 2559)

2. การศึกษาการลดปริมาณเชื้อรา *Aspergillus spp.*

ตัวอย่างสดที่บ่มครบ 24 ชั่วโมง เพชรสังฆาตสดจะมีความชื้นสูง 90 ± 2 % (w.b.) ดังนั้นจึงต้องทำการลดความชื้นโดยใช้เทคนิควิธีการอบแห้งด้วยลมร้อนแบบฟลูอิไดซ์เบดที่มาใช้ ซึ่งเครื่องอบแห้งแบบฟลูอิไดซ์เบด (fluidized bed) นี้ มีสัมประสิทธิ์การถ่ายเทความร้อนมีค่าสูง ลมร้อนถูกเป่าด้วยความเร็ว 10.12 m/s เพื่อเอาชนะแรงโน้มถ่วงของเพชรสังฆาต และทำให้เพชรสังฆาตลอยอยู่ในอากาศร้อนตลอดเวลาในท่อแนวดิ่ง ที่อุณหภูมิ 90, 110, 130 และ 150°C เป็นเวลา 104, 67, 44 และ 27 นาที ตามลำดับ เพื่อให้มีความชื่นสุดท้าย 5% (w.b.) (Promnuch *et al*., 2017) เปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้งานจริง ซึ่งอบแห้งด้วยกระบวนการอบแห้งแบบลมร้อนอุณหภูมิต่ำ (50°C) จากโรงพยาบาลท่าแซะ จังหวัดชุมพร

นำชิ้นตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการลดความชื้นแล้ว วางใน plates ซึ่งภายใน plates มีอาหารเลี้ยงเชื้อ water agar (WA) ใน 1 plates จะวางตัวอย่าง 5 ชิ้น บันทึกผลการทดลองโดยตรวจนับจำนวนชิ้นของตัวอย่างที่มีการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus spp.* โดยใช้กล้อง stereo microscope ที่ 3, 5 และ 7 วัน จากนั้นคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเจริญของเชื้อราโดยสูตร (ภัสรา, 2559)

$$\%Aspergillus = (Disease \times 100) / Total$$

%Aspergillus แทนเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของ *Aspergillus spp.* หาได้จาก *Disease* แทนจำนวนชิ้นที่เกิดโรคคูณด้วย 100 หารด้วย *Total* แทนจำนวนชิ้นตัวอย่างทั้งหมด

3. การศึกษาปริมาณสาร *Diosmin*

นำตัวอย่างอบแห้งบด 0.1 กรัม ละลายใน Dimethyl sulfoxide (DMSO) 1 ml. ปั่นใน vortex 1 นาที ใส่เครื่อง sonicated เพื่อแยกสารระดับโมเลกุล 30 นาที ใส่เครื่องปั่นเหวี่ยง centrifuge ที่ 20,000 รอบต่อนาที กรองด้วย filter นำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองใส่ขวด vial และนำใส่เครื่องวิเคราะห์ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ด้วยวิธี In-house method refer to WI-RES-HPLC-001 30 นาที (Saeidi *et al*., 2011) ดูผลการทดลอง

ผล

1. ปริมาณเชื้อรา

จากผลการทดลองเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus spp.* ในเพชรสังฆาตอบแห้ง โดยใช้เทคนิควิธีการอบแห้งด้วยลมร้อนแบบฟลูอิไดซ์เบดที่อุณหภูมิ 90, 110, 130 และ 150°C พบว่าที่ระยะเวลา 3 วัน เชื้อรามีการเจริญเติบโต 82^{a}, 5 ± 1.4^{b}, 3^{b} และ 0^{c} ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 5 วัน เชื้อรามีการเจริญเติบโต 96 ± 2.8^{a}, 9 ± 1.4^{c}, 3 ± 1.4^{d} และ 2^{d} ตามลำดับ และที่ระยะเวลา 7 วัน เชื้อรามีการเจริญเติบโต 99 ± 1.4^{a}, 11 ± 1.4^{c}, 3 ± 1.4^{d} และ 2^{d} ตามลำดับ เปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้งานจริง ซึ่งอบแห้งด้วยกระบวนการอบแห้งแบบลมร้อนอุณหภูมิต่ำ (50ºC) จากโรงพยาบาลท่าแซะ จังหวัดชุมพร พบว่าที่ระยะเวลา 3, 5, และ 7 วัน อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรา 82^{a}, 92^{b} และ 98^{a} ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเทคนิควิธีการอบแห้งด้วยลมร้อนแบบฟลูอิไดซ์เบดที่อุณหภูมิ 130 และ 150°C ผลต่อการลดปริมาณการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus spp.* (Table 1)

Table 1 Growth percentage of *Aspergillus spp.* on a *Cissus quadrangularis* drying after 3, 5 and 7 days

Treatment	*Aspergillus spp.* growth (%)		
	3 days	5 days	7 days
Control	0^{c}	9 ± 1.4^{c}	25 ± 1.4^{b}
Aspergillus spp.	81 ± 1.4^{a}	88.5 ± 2.1^{b}	98.5 ± 0.7^{a}
Aspergillus spp. + T.50°C	82^{a}	92^{b}	98^{a}
Aspergillus spp. + T.90°C	82^{a}	96 ± 2.8^{a}	99 ± 1.4^{a}
Aspergillus spp. + T.110°C	5 ± 1.4^{b}	9 ± 1.4^{c}	11 ± 1.4^{c}
Aspergillus spp. + T.130°C	3^{b}	3 ± 1.4^{d}	3 ± 1.4^{d}
Aspergillus spp. + T.150°C	0^{c}	2^{d}	2^{d}

a,b,c,d mean with different superscripts in the same column are significantly different ($p \leq 0.05$).

2. ปริมาณสาร Diosmin

การวิเคราะห์หาปริมาณ diosmin ด้วยวิธี In-house method refer to WI-RES-HPLC-001 โดยใช้เทคนิควิธีการอบแห้งด้วยลมร้อนแบบฟลูอิไดซ์เบดที่อุณหภูมิ 90, 110, 130 และ 150°C พบว่าปริมาณ diosmin ในตัวอย่างมีค่าเฉลี่ย 0.049 ± 0.002^{d}, 0.053 ± 0.003^{c}, 0.054 ± 0.001^{c} และ 0.058 ± 0.001^{b} ตามลำดับ เปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้งานจริง ซึ่งอบแห้งด้วยกระบวนการอบแห้งแบบลมร้อนอุณหภูมิต่ำ (50ºC) จากโรงพยาบาลท่าแซะ จังหวัดชุมพร พบว่าปริมาณ diosmin ในตัวอย่างมีค่าเฉลี่ย 0.072 ± 0.001^{a} จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิมีผลต่อปริมาณสาร diosmin (Table 2)

Table 2 The results of the amount diosmin average

Drying temperature	Diosmin average (mg/g ± SD)
90°C	0.049 ± 0.002[d]
110°C	0.053 ± 0.003[c]
130°C	0.054 ± 0.001[c]
150°C	0.058 ± 0.001[b]
Tray drying	0.072 ± 0.001[a]

a,b,c,d mean with different superscripts in the same column are significantly different ($p \leq 0.05$).

วิจารณ์ผล

การอบแห้งเพชรสังฆาตโดยใช้เทคนิควิธีการอบแห้งด้วยลมร้อนแบบฟลูอิไดเซชัน สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus spp.* ระหว่างการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 3, 5 และ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 110, 130 และ 150ºC ได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการอบแห้งแบบลมร้อนอุณหภูมิต่ำ แต่การอบแห้งเพชรสังฆาตโดยใช้เทคนิควิธีการอบแห้งด้วยลมร้อนแบบฟลูอิไดเซชันที่อุณหภูมิ 110, 130 และ 150ºC นาน 67, 44 และ 27 นาที ตามลำดับ ไม่สามารถกำจัดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus spp.* ระหว่างการเก็บรักษาได้หมด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ (Promnuch *et al*., 2017)

สรุป

การอบแห้งเพชรสังฆาตด้วยเทคนิคฟลูอิไดเซชันสามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus spp.* ระหว่างการเก็บรักษาดีกว่ากระบวนการอบแห้งแบบลมร้อนอุณหภูมิต่ำ ที่อุณหภูมิ 110, 130 และ 150ºC แต่อุณหภูมิที่เหมาะสุดคือ 150ºC ซึ่งส่งผลกระทบต่อปริมาณสาร diosmin น้อยที่สุด

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ และห้องคลินิกโรคพืช หลักสูตรพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย ขอขอบคุณกองทุนวิจัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สำหรับการสนับสนุนทางการเงินในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

นฤมล ผิวเผื่อน. 2557. ผลึกแคลเซียมออกซาเลตและปริมาณออกซาเลตในพืชผักบางชนิดในจังหวัดหนองคาย. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 42(4): 820-829.

ภัสรา แสนงาม, รัติยา พงศ์พิสุทธา และ ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล. 2559. ศักยภาพของสารจากธรรมชาติ กรดอะมิโน และกรดอินทรีย์ต่อการควบคุมเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ของเมล็ดข้าว. ว. วิทย. กษ. 47(3): 67-70.

Ghouse, M.S. 2015. A Pharmacognostical Review on *Cissus quadrangularis* Linn. International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences ISSN 2394-5893: 28-35.

Panthong, A., W. Supraditaporn, D. Kanjanapothi, T. Taesotikul and V. Reutrakul. 2007. Analgesic, anti-inflammatory and venotonic effects of *Cissus quadrangularis* Linn. J Ethnopharmacology 110: 264–70.

Promnuch, J., N. Junka, C. Wongs-Aree, S. Soponronnarit, N. Srisang and C. Rattanamechaiskul. 2017. Increasing energy efficiency of the *Cissus quadrangularis* drying by hot air fluidization technique. 2017 International Conference on Alternative Energy in Developing Countries and Emerging Economies. 290 p.

Pumirat, P., W. Tunyong and N. Luplertlop. 2013. Medical Mycology. Journal of Medicine and Health Sciences 20(2): 31-44.

Saeidi, I., M.R. Hadjmohammadi, M. Peyrovi, M. Iranshahi, B. Barfi, A.B. Babaei and A.M. Dust. 2011. HPLC determination of hesperidin, diosmin and eriocitrin in Iranian lime juice using polyamide as an adsorbent for solid phase extraction. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 56: 419– 422.

Sivakumar, R., R. Saravanan, A. Elaya Perumal and S. Iniyan. 2016. Fluidized bed drying of some agro products – A review. Journal Renewable and Sustainable Energy Reviews: 280–301.