Agric. Sci. Innov. J. 55 : 2 (Suppl.) : 110 - 113 (2024) ว. วิทย. นวัต. กษ. 55 : 2 (พิเศษ) : 110 - 113 (2567)

ประสิทธิภาพของนาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงน้ำดอกไม้
Efficacy of Sweet Basil Oil Nanoemulsion in Controlling Anthracnose Disease of Nam Dok Mai Mango

เจนจิรา พกาวัลย์[1] พิรุฬห์รัชย์ ไทยสมัคร[1] กิตติคุณ วรรณณะสวาสดิ์[1] และ สุริยัณห์ สุภาพวานิช[2]
Janejira Phakawan[1], Phirunrat Thaisamak[1], Kittikoon Wannasawad[1] and Suriyan Supapvanich[2]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ถูกกักเก็บในรูปของนาโนอิมิลชันในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุของโรคแอนแทรกโนส โดยศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ถูกกักเก็บในรูปของนาโนอิมิลชันที่ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยต่างกัน 2 ระดับ คือ ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 2.0 โดยใช้ Tween 80 เป็นสารลดแรงตึงผิว เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพา จากการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า นาโนอิมัลชันของน้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Colletotrichum gloeosporioides* ได้อย่างสมบูรณ์ เป็นเวลา 7 วัน ส่วนการใช้นาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 พบการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อน้อยกว่าชุดควบคุมเล็กน้อย และเมื่อศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรกโนสที่ผิวของมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองด้วยวิธีการจุ่มและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส พบว่า การใช้นาโนอิมัลชันของน้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 สามารถยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรกโนสได้เป็นเวลา 5 วัน และพบการเจริญของโรคในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา ส่วนการใช้นาโนอิมัลชันของน้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ไม่พบการเจริญของโรคตลอดอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน แต่พบจุดสีน้ำตาลบริเวณผิวเปลือกของมะม่วงตั้งแต่วันที่ 5 ของการเก็บรักษา

คำสำคัญ: น้ำมันหอมระเหยโหระพา โรคแอนแทรกโนส มะม่วงน้ำดอกไม้

Abstract

This research investigated the efficacy of nanoemulsions incorporating sweet basil essential oil in inhibiting the growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, the cause of anthracnose disease. We examined the effectiveness of sweet basil essential oil encapsulated in nanoemulsions at concentrations of 1.0% and 2.0%, with Tween 80 as a surfactant. Nanoemulsions of sweet basil essential oil at a concentration of 2.0% were found to prevent the growth of fungal mycelium on agar plates throughout 7 days. The fungal mycelium growth on the PDA agar was slightly reduced when exposed to a 1.0% sweet basil essential oil nanoemulsion compared to the control. In addition, the efficacy of anthracnose disease inhibiting on 'Nam Dok Mai Si Thong' mango fruits was studied using immersion technique and stored at 25±2°C. The result found that using a nanoemulsion of sweet basil essential oil at a concentration of 1.0% could effectively prevent anthracnose disease for 5 days, with disease symptoms appearing on the 7 days of storage. No disease growth was found throughout the storage life (7 days) for the treatment of sweet basil essential oil nanoemulsion at a concentration of 2.0%. Nevertheless, brown strains were detected on the mango peel during the 5 days of storage.

Keywords: sweet basil oil, anthracnose disease, Nam Dok Mai mango

[1] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และการจัดการเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
39 หมู่ที่ 1 ตำบลคลองหก อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12110
[1] Division of Food Science and Technology Management, Faculty of Science and Technology. Rajamangala University of Technology Thanyaburi,
39 Moo 1, Klong 6, Khlong Luang, Pathum Thani, Thailand 12110
[2] ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
1 ซอยฉลองกรุง 1 แขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520
[2] Department of Agricultural Education, School of Industrial Education and Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang,
1 Chalong Krung 1 Alley, Lat Krabang, Bangkok, Thailand 10520

คำนำ

มะม่วงน้ำดอกไม้จัดเป็นผลไม้เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สร้างรายได้ให้กับประเทศได้เป็นอย่างดี แต่พบปัญหาหลังการเก็บเกี่ยวสำคัญ คือ การเกิดโรคแอนแทรกโนส สาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ในระหว่างการขนส่งและการเก็บรักษา มักมีการแสดงออกของโรคในระยะผลสุก โดยเชื้อจะเริ่มพัฒนาและทำลายผลมะม่วงก่อให้เกิดอาการผลเน่าเสีย เป็นอุปสรรคที่สำคัญในการส่งไปจำหน่ายทั้งตลาดภายในและต่างประเทศ จึงจำเป็นต้องมีการจัดการและควบคุมเพื่อลดความเสียหายจากโรคแอนแทรกโนสอย่างมีประสิทธิภาพ

การใช้สารสกัดหรือน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรเริ่มมีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง ในการนำมาใช้ทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ต่าง ๆ ที่อาจก่อให้เกิดสารตกค้างที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค มีการนำน้ำมันหอมระเหยโระพามาใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคในพืชหลายชนิด เช่น *Botrytis fabae* (Oxenham *et al*., 2005), *Sclerotinia sclerotiorum* (Edris and Farrag, 2003) เป็นต้น โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยโหระพา ได้แก่ สารในกลุ่มฟีนอล (methyl chavicol, chavicol, eugenol, methyl eugenol) และกลุ่ม terpenoids (cineole, camphor, linalool citral) (Abdullah *et al*., 2020) แต่อย่างไรก็ตาม สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมักไม่มีความคงตัวทางชีวภาพ จึงมีการนำเทคโนโลยีการกักเก็บสารสำคัญ (Encapsulation) เข้ามาใช้เพื่อแก้ปัญหาเหล่านี้

นาโนอิมัลชันน้ำมันในน้ำ เป็นหนึ่งในเทคโนโลยีการกักเก็บสารที่ได้รับความสนใจมากขึ้นในปัจจุบัน โดยมีการนำมาประยุกต์ใช้ในยา อาหาร เครื่องดื่ม และผลิตภัณฑ์ฟิล์มบรรจุหรือเคลือบถนอมอาหารต่าง ๆ มีข้อดีคือเป็นระบบกักเก็บน้ำมันที่มีความคงตัวต่อการแยกชั้นได้ดีกว่าอิมัลชันแบบปกติ เนื่องจากอนุภาคขนาดเล็กระดับนาโนเมตร ทำให้กระจายตัวในน้ำได้ดี โดยมีอัตราการเกาะกลุ่มกัน อัตราการรวมหยด และอัตราการแยกเป็นชั้น ต่ำกว่าอิมัลชันที่ประกอบด้วยอนุภาคขนาดใหญ่ (Tadros *et al*., 2004) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงจัดทำขึ้นเพื่อศึกษาการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาในรูปแบบนาโนอิมัลชันในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรกโนสในมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง รวมไปถึงการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) และปริมาณ hydrogen peroxide (H_2O_2) บริเวณเปลือกของมะม่วง ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมนาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพา

เตรียมนาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 2.0 ด้วยการใช้โฮโมจีไนส์เซอร์ ร่วมกับการใช้ร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasound) โดยใช้ Tween 80 เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร เมื่อสารละลายนาโนอิมัลชันมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน ให้ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทดสอบดูความคงตัวของนาโนอิมัลชันหากไม่เกิดการแยกชั้นแสดงว่านาโนอิมัลชันที่เตรียมได้ มีความคงตัวและสามารถนำไปใช้ในการทดสอบสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และควบคุมโรคโรคแอนแทรกโนสในมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง

2. การศึกษาการใช้นาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาในการควบคุมการเจริญของ *C. gloeosporioides* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ศึกษาการควบคุมการเจริญของเส้นใย *C. gloeosporioides* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยการเจาะเส้นใยเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ด้วย cork borer ขนาด 5 มิลลิเมตร มาวางบนอาหารใหม่บริเวณตรงกลางจานอาหาร จากนั้นนำนาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 2.0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาหยดลงรอบ ๆ เส้นใยเชื้อรา แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตุและบันทึกภาพการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

3. การศึกษาการใช้นาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสในมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง

นำมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองระยะผลสุก โดยวัดจากความแน่นเนื้อที่ 13 นิวตัน (Penchaiya *et al*., 2020) มาล้างทำความสะอาด และฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 เป็นเวลา 2 นาที แล้วผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำไปจุ่มในสารละลายนาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 2.0 ที่เตรียมได้จากการทดลองที่ 1 โดยทำการทดลอง 5 ซ้ำ หลังจากนั้นนำไปผึ่งให้แห้ง และเก็บในตะกร้า บ่มที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน บันทึกผลลักษณะปรากฏในวันที่ 0, 3, 5 และ 7 ของการเก็บรักษา และวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ catalase (CAT) และ ascorbate peroxidase (APX) และปริมาณ hydrogen peroxide (H_2O_2) ที่เปลือกของมะม่วง ในวันแรกและวันสุดท้ายของการเก็บรักษา

ผล

1. การศึกษาการใช้นาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาในการควบคุมการเจริญของ *C. gloeosporioides* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

การใช้นาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 สามารถยับยั้งการเจริญของ *C. gloeosporioides* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้อย่างสมบูรณ์ โดยไม่พบการเจริญของเส้นใยตลอดระยะเวลาการบ่ม 7 วัน ส่วนการใช้นาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 สามารถชะลอการเจริญของเส้นใย *C. gloeosporioides* ได้ โดยพบการเจริญของเส้นใยช้ากว่าชุดควบคุมเล็กน้อย โดยที่ชุดควบคุมพบการเจริญจนเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อในระยะเวลา 7 วัน (Figure 1)

2. การศึกษาการใช้นาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสในมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง

การใช้นาโนอิมัลชันของน้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 สามารถยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรกโนสได้เป็นเวลา 5 วัน และเริ่มพบการเจริญของโรคในวันที่ 7 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส โดยที่ชุดควบคุมเริ่มพบการแสดงออกของโรคตั้งแต่วันที่ 3 ของการเก็บรักษา ส่วนการใช้นาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 สามารถยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองได้ตลอดอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน แต่เริ่มพบจุดสีน้ำตาลที่ผิวของมะม่วงในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา และพบจุดสีน้ำตาลมากขึ้นในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา (Figure 1) แต่อย่างไรก็ตามความผิดปกติที่เกิดขึ้นบริเวณผิวของมะม่วงไม่ส่งผลต่อคุณภาพของเนื้อมะม่วง เมื่อนำเปลือกของมะม่วงมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ catalase (CAT) และ ascorbate peroxidase (APX) และปริมาณ hydrogen peroxide (H_2O_2) พบว่า เปลือกของมะม่วงที่ผ่านการใช้อิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาทั้ง 2 ความเข้มข้น มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT และ APX สูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา ซึ่งเป็นไปในทิศทางตรงข้ามกับปริมาณ H_2O_2 ที่ต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้นของนาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาร้อยละ 2.0 มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT และ APX ต่ำกว่าการใช้นาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 ส่งผลให้มีปริมาณ H_2O_2 สะสมบริเวณเปลือกสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงใน Table 1

Figure 1 Mycelium growth of *Colletotrichum gloeosporioides* treated with 1.0 and 2.0% sweet basil oil nanoemulsion compared to control on PDA after storage at 25±2ºC for 7 days.

Figure 2 Visual appearance of mango fruits treated with 1.0 and 2.0% sweet basil oil nanoemulsion compared to control during storage at 25±2ºC for 7 days.

Table 1 Catalase (CAT) activity and ascorbate peroxidase (APX) activity and hydrogen peroxide (H_2O_2) contents in the peel of mangoes treated with 1.0 and 2.0% sweet basil oil nanoemulsion compared to control after storage at 25±2ºC for 7 days.

Treatment	CAT activity (Unit g^{-1})		APX activity (Unit g^{-1})		H_2O_2 contents (mg H_2O_2 kg^{-1})	
	Day 0	Day 7	Day 0	Day 7	Day 0	Day 7
Control	$0.12±0.04^{Aa}$	$0.37±0.11^{Ba}$	$0.24±0.06^{Aa}$	$0.32±0.09^{Ba}$	$2.25±0.11^{Aa}$	$3.18±0.10^{Bc}$
1.0% sweet basil oil nanoemulsion	$0.10±0.04^{Aa}$	$0.85±0.19^{Bc}$	$0.18±0.10^{Aa}$	$0.95±0.12^{Bc}$	$2.38±0.25^{Aa}$	$2.44±0.12^{Aa}$
2.0% sweet basil oil nanoemulsion	$0.12±0.02^{Aa}$	$0.65±0.19^{Bb}$	$0.20±0.08^{Aa}$	$0.71±0.20^{Bb}$	$2.31±0.17^{Aa}$	$2.86±0.18^{Bb}$

Means±SD followed by the same uppercase letter within a column are not significantly between treatments.
Means±SD followed by the same lowercase letter within a row are not significantly between days of storage.

วิจารณ์ผล

จากการทดลองพบว่าการใช้นาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาสามารถควบคุมการเจริญของ *C. gloeosporioides* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้ โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ไม่พบการเจริญของเส้นใยตลอดระยะเวลาการบ่ม 7 วัน ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับการยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรกโนสในมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง ที่ไม่พบการแสดงออกของโรคตลอดอายุการเก็บรักษา ซึ่งเป็นผลมาจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยโหระพา โดยเฉพาะ linalool และ eugenol ที่มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคในพืชหลายชนิด เช่น *Botrytis fabae* (Oxenham *et al*., 2005) และ *C. acutatum* (Danh *et al*., 2021) เป็นต้น นอกจากนี้ การใช้นาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพา ยังสามารถกระตุ้นกลไกการป้องกันตัวเองของพืช โดยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระ เช่น เอนไซม์ CAT และ APX ในการกำจัดอนุมูลอิสระ H_2O_2 แต่อย่างไรก็ตาม การใช้นาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ยังคงสูงเกินไป ทำให้เกิดการแสดงอาการจุดสีน้ำตาลบริเวณผิวเปลือกที่เกิดจากความเครียดของพืช (oxidative stress)

สรุป

นาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยโหระพาความเข้มข้นร้อยละ 2.0 สามารถควบคุมการเจริญของเส้นใย *C. gloeosporioides* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้ ซึ่งให้ผลการทดลองสอดคล้องกับการยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรกโนสในมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง ที่ไม่พบการแสดงออกของโรคตลอดอายุการเก็บรักษา

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยและนวัตกรรมจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ: เลขที่สัญญา N42A661042

เอกสารอ้างอิง

Abdullah, M., A. Abbas, H. Ali, F. Abdelmagid and A. Adam. 2020. Assessment of *Ocimum basilicum* as potentially fruit flies attractant. Agronomy Journal 2: 34-42.

Danh, L.T., B.T. Giao, C.T. Duong, N.T. Nga, D.T.K. Tien, N.T. Tuan, B.T.C. Huong, T.C. Nhan and D.T. Trang. 2021. Use of essential oils for the control of anthracnose disease caused by *Colletotrichum acutatum* on postharvest mangoes of Cat Hoa Loc variety. Membranes 11: 719.

Edris, A.E. and E.S. Farrag. 2003. Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. Molecular Nutrition & Food Research 47(2): 117–121.

Oxenham, S.K., K.P. Svoboda and D.R. Walters. 2005. Antifungal activity of the essential oil of basil (*Ocimum basilicum*). Journal of Phytopathology 153(3): 174–180.

Penchaiya, P., L. M. M. Tijskens, A. Uthairatanakij, V. Srilaong, A. Tansakul and S. Kanlayanarat. 2020. Modelling quality and maturity of 'Namdokmai Sithong' mango and their variation during storage. Postharvest Biology and Technology 159: 111000.

Tadros, T., P. Izquierdo, J. Esquena and C. Solans. 2004. Formation and stability of nanoemulsions. Advances in Colloid and Interface Science 108–109: 303–318.