

ผลของน้ำอิเล็กโทรไลต์ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium digitatum* และการควบคุมการเน่าเสียของ
ผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งหลังการเก็บเกี่ยว

Effect of electrolyzed oxidizing (EO) water on growth and development of *Penicillium digitatum* and
postharvest decay control of tangerine cv. " Sai Nam Pung"

ชนัญชิตา สิงคมณี¹ กานดา หวังชัย² และ จำนงค์ อุทัยบุตร²

Chananchida Singkamaneem¹ Kanda Whangchai² and Jamnong Uthaibutra²

Abstract

A study of electrolyzed oxidizing (EO) water on growth and development of *Penicillium digitatum* causing postharvest fruits decay in tangerine fruits. EO water was generated by electrolytic cell for 20, 40, 60 minutes with different NaCl concentrations (5%, 25%, 50% and 100%). Then, spore suspension of *P. digitatum* was incubated into EO water for 1, 2, 4, 8, 16 and 32 minutes. It was found that EO water produced for 60 minutes with 100% NaCl which had pH 3.9 and total free chlorine concentration of 102 ppm significantly inhibited the growth and development of the fungus. Under microscopic observation, abnormal mycelial and spore of *P. digitatum* were also observed. Moreover, the fruits inoculated with *P. digitatum* were washed with EO water for 4, 8 and 16 minutes and stored at 5 °C for 18 days. The results showed that washing fruits for 8 minutes was the most effective in reducing the disease incidence.

Keyword : EO water, postharvest disease, tangerine

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของน้ำอิเล็กโทรไลต์ (EO) ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium digitatum* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของส้มสายน้ำผึ้ง โดยการใช้ น้ำ EO ที่ผลิตจากการแยกด้วยกระแสไฟฟ้าที่ขั้วบวกและลบเป็นเวลา 20, 40 และ 60 นาที โดยใช้ความเข้มข้นของ NaCl ต่างๆกัน (5%, 25%, 50% และ 100 %) หลังจากนั้นนำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *P. digitatum* ไปบ่มกับน้ำ EO เป็นเวลา 1, 2, 4, 8, 16 และ 32 นาที พบว่าน้ำ EO ที่ผลิตเป็นเวลา 60 นาที ด้วย NaCl ความเข้มข้น 100% ซึ่งมีค่า pH 3.9 และค่า total free chlorine เท่ากับ 102 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อทำการศึกษากายใต้กล้องจุลทรรศน์ยังพบความผิดปกติของโครงสร้างเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา นอกจากนี้ได้นำผลส้มมาทำการปลูกเชื้อ *P. digitatum* ก่อนนำไปล้างน้ำ EO ที่ 4, 8 และ 16 นาที และเก็บรักษาไว้ที่ 5°C เป็นเวลา 18 วัน จากการทดลองพบว่า การล้างน้ำ EO เป็นเวลา 8 นาทีสามารถลดการเกิดโรคในผลส้มได้ดีที่สุด

คำสำคัญ : น้ำอิเล็กโทรไลต์, โรคหลังการเก็บเกี่ยว, ส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง

คำนำ

ส้มเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยส้มสายน้ำผึ้งเป็นสายพันธุ์ที่ได้รับความนิยมสูงสุด แต่เมื่อถึงฤดูการเก็บเกี่ยว มักเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวทำให้เกิดการเน่าเสีย ซึ่งเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราและแบคทีเรีย เนื่องจากปัจจุบันได้มีกระแสตื่นตัวเกี่ยวกับการบริโภคอาหารปลอดภัย (food safety) จึงต้องควรมีการพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยหากรรมวิธีที่เหมาะสมที่จะนำมาทดแทนการใช้สารเคมีโดยมีผลกระทบต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด ซึ่งน้ำอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyzed Oxidizing Water ; EO) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อโรคต่างๆและเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่พัฒนาจากนักวิจัยของประเทศไทยขึ้นโดยการแยกสลายสารด้วยขั้วไฟฟ้า สารที่ได้คือ chlorine gas และ hypochlorous ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารออกซิไดซ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ เช่น แบคทีเรียในอุตสาหกรรมต่างๆ ได้แก่ การผลิตนม เนื้อ ผักและผลไม้ เช่น Deza *et al.* (2003) ได้ศึกษาถึงผลของการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*

¹ สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว / ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

¹ Postharvest Technology Research Institute / Postharvest Technology Innovation Center, Chiang Mai University, Chiang Mai

² ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ / ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

² Department of biology, Faculty of Science / Postharvest Technology Innovation Center, Chiang Mai University, Chiang Mai

O157:H7, *Salmonella enteritidis* และ *Listeria monocytogenes* ที่อยู่บนผิวของมะเขือเทศโดยใช้ น้ำอิเล็กโทรไลต์พบว่า น้ำอิเล็กโทรไลต์สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้โดยไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ในการศึกษานี้ได้ศึกษาหาวิธีการผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสมที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Penicillium digitatum* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุในการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญของส้ม เพื่อทดแทนการใช้สารเคมี

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ศึกษาหาความเข้มข้นของ NaCl และระยะเวลาการผลิตน้ำ EO ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Penicillium digitatum*

ผลิตน้ำ EO จากการปล่อยกระแสไฟฟ้า 8 แอมแปร์และความต่างศักย์ 8 volt เป็นเวลา 20, 40 และ 60 นาที โดยใช้ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (5%, 25%, 50%, 100%) วัดค่า pH, total free chlorine และ ค่าความสามารถในการแตกตัวของสารละลาย (EC) ต่อมาเตรียม spore suspension 1 ml จากเชื้อราที่มีอายุ 4 – 5 วัน ผสมกับน้ำ EO ที่ผลิตได้ทิ้งไว้เป็นเวลา 1, 2, 4, 8, 16 และ 32 นาที จากนั้นใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายในข้างต้น มา 0.1 ml ผสมกับ 0.1N sodium thiosulfate ปริมาตร 0.9 ml แล้วใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายที่ผสมกันแล้ว มา 0.1 ml แล้วทำการ spread plate บน PDA แล้วนำไปบ่มที่ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และ บันทึกการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยการนับจำนวนโคโลนีทั้งหมด

2. ผลของน้ำ EO ต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเส้นใยเชื้อรา

ทำการแยกเชื้อราที่มีอายุ 4 – 5 วัน มาใส่ในแผ่น สไลด์ที่ทำความสะอาดแล้ว จากนั้นหยดน้ำ EO ที่ผลิตได้ แล้วใช้แผ่น cover ปิดทับลงไป ทิ้งไว้เป็นเวลา 32 นาที จากนั้น นำแผ่นสไลด์ไปตรวจจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (Olympus Bx – 51)

3. ศึกษาผลของน้ำEO ต่อการควบคุมโรคของส้มสายน้ำผึ้ง

นำส้มสายน้ำผึ้งที่มีขนาดสม่ำเสมอจากสวนในอำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ จากนั้นนำผลส้มมาทำบาดแผลประมาณ 2 มิลลิเมตร จากนั้นหยดสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Penicillium digitatum* ที่ปรับความเข้มข้นได้ 10^5 conidia / ml จำนวน 10 μ l หลังจากนั้น 3 ชั่วโมงจึงนำส้มไปจุ่มล้างด้วยน้ำ EO ที่เวลา 0, 4, 8 และ 16 นาทีแล้วนำผลส้มเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 °C นานเป็นเวลานาน 18 วัน โดยวัดค่าน้ำหนักการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA) เพอร์เซ็นต์การเกิดโรค และสีเปลือกด้านนอกของผล

ผล

1. ศึกษาหาของ NaClและระยะเวลาการผลิตน้ำ EO ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Penicillium digitatum*

หลังจากนำ เตรียม spore suspension มาทำปฏิกิริยากับน้ำ EO ที่เวลาต่างๆพบว่า น้ำ EO ที่มีความเข้มข้น NaCl 100% และผ่านกระแสไฟฟ้านาน 60 นาที ซึ่งมีค่า pH = 3.9 และค่า total free chlorine = 102 ppm (ตาราง 1) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดีที่สุดโดยฆ่าเชื้อได้หมดภายใน 1 นาที รองลงมาคือ น้ำEO ที่ผลิตจาก NaCl 50% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้หมดภายใน 4 นาที ตามมาด้วย NaCl 25% และ 5 % สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้หมดภายใน 16 นาที

2. ผลของน้ำ EO ต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเส้นใยเชื้อรา

หลังจากนำเชื้อราไปตรวจจสอบใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ พบว่าเส้นใยเชื้อรามีลักษณะที่ผิดปกติ และสปอร์มีลักษณะโป่งพวม (Fig2)

3. ศึกษาผลของน้ำEO ต่อการควบคุมโรคของส้มสายน้ำผึ้ง

เพอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมื่อเก็บรักษาผลส้มที่อุณหภูมิ 5 °C ทุกกรรมวิธีไม่พบการเกิดโรคในช่วง 6 วันแรกและในวันที่ 9 ผลส้มที่เก็บรักษาไว้จะมีจุดดำน้ำหรือรอยขีดและมีการเจริญของเชื้อราเกิดขึ้นบริเวณรอบๆ ของบาดแผลที่ทำไว้ และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 18 วัน พบว่าชุดควบคุมมีการเกิดโรคมามากที่สุดคือ 83.3% รองลงมาคือ ชุดกรรมวิธีที่จุ่มล้างผลด้วยน้ำEO เป็นเวลา 4 และ 16 นาที โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากันคือ 16.7% และ กรรมวิธีที่จุ่มล้าง 8 นาที พบการเกิดโรคน้อยที่สุดเท่ากับ 8.3% (Fig 3)

Table 1 pH, free chlorine and electrical conductivity (EC) of EO water produced from different NaCl concentrations

Treatment	pH	EC(ms/cm)	Free chlorine(ppm)
control	7.11	71.9	0.8
NaCl 5%	6.87	103.9	52.2
NaCl 25%	4.12	239	87.5
NaCl 50%	4.03	251	96.4
NaCl 100%	3.9	259	102

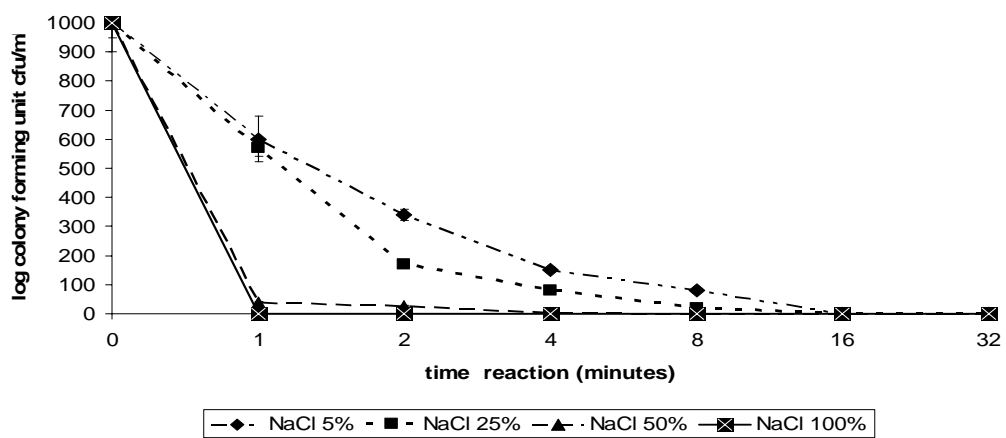


Figure 1 Mycelial growth of *Penicillium digitatum* after treated with EO water (different NaCl concentrations) Vertical bars represent \pm SE



Figure 2 Light micrograph of *Penicillium digitatum* showing noticeable changes with abnormal mycelial cell after treated with EO water (Fig. 2B) when compared with untreated cell (Fig. 2A).

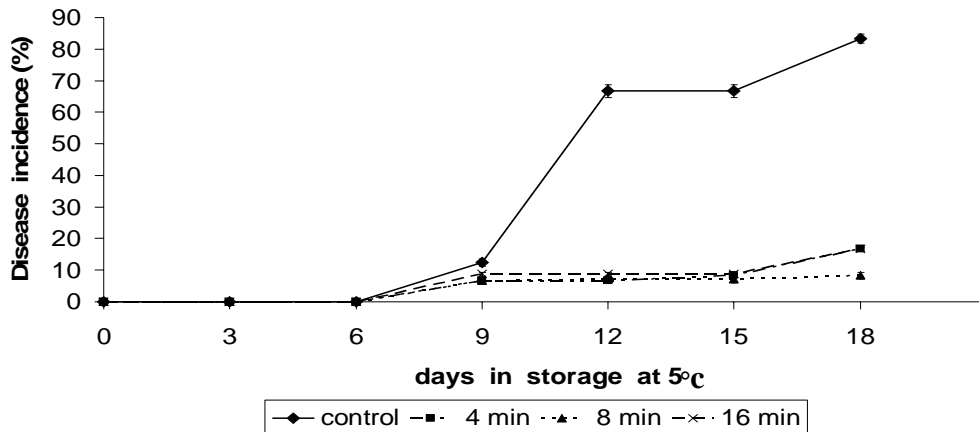


Figure 3 Percentage of disease incidence after washing the fruit in EO water for 4, 8 and 16 minutes and stored at 5° C for 18 days.

วิจารณ์ผล

จากผลการทดสอบน้ำ EO ต่อการเจริญของเชื้อ *Penicillium digitatum* พบว่าน้ำ EO สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเน่าราสีเขียวบนผลส้มสายน้ำผึ้งมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันคือน้ำ EO ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด คือ น้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ผลิตนาน 60 นาทีโดยใช้ NaCl 100% ที่มีค่า pH 3.9 และค่า total free chlorine เท่ากับ 102 ppm โดยเป็นค่า pH ที่ต่ำที่สุดและมีค่า free chlorine สูงที่สุดที่เพียงพอต่อการทำลายเชื้อ โดยไปทำให้โครงสร้างเซลล์ของเชื้อถูกทำลายเนื่องจากน้ำ EO ที่ผลิตได้จะมี HOCl ซึ่งมีประสิทธิภาพมากที่สุดในกลุ่มของคลอรีนทั้งหมดซึ่งจะเข้าไปออกซิไดซ์กรดนิวคลีอิกและโปรตีนทำให้เซลล์เสียหาย (Acher, 1997) จะเห็นได้ว่าการใช้ความเข้มข้นของ NaCl มากและใช้เวลาในการผลิตนานจะทำให้ได้น้ำ EO ที่มีประสิทธิภาพสูงในการฆ่าและยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ส่วนการล้างผลส้มด้วยน้ำ EO นาน 8 นาที จะช่วยควบคุมการเกิดโรคในส้มสายน้ำผึ้งได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่นๆเช่นเดียวกับการทดลองของ Al-Haq et al.(2002) ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อ *Botryosphaeria berengeriana* ซึ่งเป็นสาเหตุของการเน่าเสียในสาลี่พันธุ์ La-france โดยใช้ น้ำ EO ล้างแช่ผลหลังจากปลูกเชื้อลงบริเวณผิวของผลสาลี่พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลง ดังนั้นการล้างผลส้มด้วยน้ำ EO จึงเป็นทางเลือกใหม่ในการลดสารพิษตกค้างในผลผลิตได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์ และศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนทุน อุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Acher, A., Fisher, E., Turnheim, R. and Manor, Y. 1997. Ecologically friendly wastewater disinfection techniques. Water research 31:6: 1398-1404.
- Al-Haq, M.I., Y. Seo, S. Oshita and Y. Kawagoe. 2002. Disinfection effect of electrolyzed oxidizing water on suppressing fruit rot of pear caused by *Botryosphaeria berengeriana*. Food Research International 35 : 657-664.
- Deza, M.A., M. Araujo and M.J.Garido. 2003. Inactivation of *Escherichia Coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* on the surface of tomatoes by neutral electrolyzed water. The Society of Applied Microbiology 37:482-487.