Agricultural Sci. J. 42 : 3 (Suppl.) : 315-318 (2011) ว. วิทย. กษ. 42 : 3 (พิเศษ) : 315-318 (2554)

ผลยับยั้งของปฏิกิริยาเคมีที่ใช้แสงเป็นตัวเร่งของไททาเนียมไดออกไซด์ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงน้ำดอกไม้หลังการเก็บเกี่ยว

Inhibitory effect of titanium dioxide (TiO_2) photocatalysis on controlling anthracnose disease of mango fruit (*Mangifera indica* L.)

ป้องเกียรติ ถาแก้ว[1, 2] จำนงค์ อุทัยบุตร[1,3] และกานดา หวังชัย[1,3]
Pongkiart Thakaew,[1,2] Jamnong Uthaibutra[1,3] and Kanda Whangchai[1,3]

Abstract

The effect of TiO_2 photocatalysis on growth inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose disease of mango fruit was studied. The $2.6x10^6$ spores/ml spore suspension of *C. gloeosporioides* was mixed with 1, 5 and 10 mg/ml of TiO_2 powder. Then, 0.1 ml of the mixture suspension were spread out on a PDA plate under ultraviolet (UV) illumination (20 W) for 15, 30 and 60 min. After that, the samples were analyzed for fungal development after incubation for 3 days at 25 °C. The results showed that the concentrations of titanium dioxide had no effect on fungal inhibition while the longer UV illumination time was the better inhibition of the fungal development. For the second experiment, mango fruit with artificial inoculation were immersed in 1 mg/ml of titanium dioxide photocatalysis-containing water for 30, 60, 120 and 240 min and stored at 13 °C for 1 month. The results showed that TiO_2 photocatalysis had effect on the reduction of anthracnose disease of mango fruit, when compared with the control (distilled water).

Keywords : *Colletotrichum gloeosporioides*, titanium dioxide photocatalysis, *Mangifera indica* L

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของปฏิกิริยาเคมีที่ใช้แสงเป็นตัวเร่งของไททาเนียมไดออกไซด์ร่วมกับโอโซนต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุการเกิดโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงน้ำดอกไม้ โดยเตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อ *C. gloeosporioides* ที่มีปริมาณ $2.6x10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร และนำมาทดสอบกับชุดปฏิกิริยาเคมีที่ใช้แสงเป็นตัวเร่ง โดยผสมผง TiO_2 ปริมาณ 1, 5 และ10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ดูดสารละลายมา 0.1 มิลลิลิตรเกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แล้วนำไปวางภายใต้แสง UV (20 W) เป็นเวลา 15, 30 และ 60 นาที หลังจากนั้นสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์การเจริญเติบโตของเชื้อราหลังจากบ่มเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 25 °C จากการทดลองพบว่าทุกความเข้มข้นของไททาเนียมไดออกไซด์ให้ผลไม่แตกต่างกัน แต่การให้แสง UV เป็นเวลานานขึ้นมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรามากขึ้น สำหรับการทดลองที่ 2 นำผลมะม่วงมาทำการปลูกเชื้อด้วย *C. gloeosporioides* จากนั้นนำผลมะม่วงไปจุ่มกับน้ำที่มีปฏิกิริยาเคมีที่ใช้แสงเป็นตัวเร่งของไททาเนียมไดออกไซด์ความเข้มข้น 1 mg/ml นาน 30, 60, 120 และ 240 นาที และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 °C เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าการใช้ ไททาเนียมไดออกไซด์ในปฏิกิริยาเคมีที่ใช้แสงมีผลทำให้การเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม(น้ำกลั่น)

คำสำคัญ : *Colletotrichum gloeosporioides*, ปฏิกิริยาเคมีที่ใช้แสงเป็นตัวเร่งของไททาเนียมไดออกไซด์, มะม่วงน้ำดอกไม้

คำนำ

มะม่วงน้ำดอกไม้เป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เพราะมีพื้นที่เพาะปลูกมากเป็นอันดับที่ 4 ของโลกรองจากประเทศอินเดีย เม็กซิโก และจีน เป็นผลไม้ที่สามารถส่งออกนำเงินตราเข้าประเทศปีละหลายร้อยล้านบาท โดยมีประเทศมาเลเซีย สิงคโปร์ ฮ่องกง และญี่ปุ่น ฯลฯ เป็นตลาดส่งออกที่สำคัญ ผลผลิตใช้บริโภคภายในประเทศและยังส่ง

[1] สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว / ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา, กรุงเทพ, 10400
[1] Postharvest Technology Research Institute / Postharvest Technology Innovation Center, Commission on Higher Education, Bangkok, 10400
[2] บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200
[2] The Graduate School Chiang Mai University, Chiang Mai 50200
[3] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ / ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200
[3] Department of Biology, Faculty of Science / Postharvest Technology Innovation Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200
Corresponding author: kanda@chiangmai.ac.th

จำหน่ายไปยังยุโรป และอเมริกาในรูปผลสด และการแปรรูป ปริมาณการส่งออกในปี 2545 มีจำนวน 16,129 เมตริกตัน มูลค่า 393 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2549) ในบรรดาผลไม้ในตลาดโลกมะม่วงนับว่าเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากชนิดหนึ่ง ทั้งนี้เนื่องจาก ผลมะม่วงเมื่อสุกจะมีรสชาติดีเยี่ยม มีกลิ่นหอม สีสันสวยงาม และคุณค่าทางอาหารสูง แต่ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มีอายุการเก็บรักษาที่สั้น เนื่องจากเป็นผลไม้ที่มีการหายใจ และการผลิตเอทิลีนที่สูง ทำให้ผลมะม่วงมีการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพที่ไม่ดี นอกจากนี้ยังมีความอ่อนแอต่อการเกิดโรคแอนแทรค-โนส (anthracnose) ได้ง่าย ซึ่งเป็นอุปสรรคในการส่งออกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ไปยังตลาดต่างประเทศที่ต้องใช้เวลาขนส่งที่นาน โดยเฉพาะการขนส่งทางเรือทำให้เกิดปัญหาด้านคุณภาพของมะม่วงและอายุการวางจำหน่ายที่สั้น โรคแอนแทรค-โนส เป็นโรคที่แพร่ระบาดกว้างขวาง ทำความเสียหายให้กับมะม่วงในทุกประเทศ โดยเฉพาะในแหล่งปลูกที่มีความชื้นสูงการระบาดจะรุนแรงโรคนี้เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. สามารถเข้าทำลายมะม่วงในทุกระยะของการเจริญเติบโต

ปฏิกิริยาเคมีที่ใช้แสงเป็นตัวเร่ง (photocatalysis) ที่ผิวของไททาเนียมไดออกไซด์ (TiO2) เป็นเทคโนโลยีใหม่ที่นำมาใช้บำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม ทำความสะอาดน้ำดื่ม ดิน และอากาศได้โดยไม่ต้องใช้สารเคมี Otaki et al. (2000) US FDA ได้ยอมรับว่า TiO2 เป็นสารที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค เป็นสารเคมีที่ดูดซับรังสีจากแสงอาทิตย์หรือรังสี UV เกิดเป็น super oxide anion และ hydroxyl radical (OH-) สามารถจะออกซิไดซ์คาร์บอนในสารอินทรีย์เกิดเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ Fujishima et al. (2000) พบว่าเมื่อนำมาเคลือบบนผิววัตถุก่อนทำการล้าง เพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพของ TiO2 โดยที่ทำการให้แสงไปกระตุ้นที่ผิวของ TiO2 ในการใช้เป็นตัวยับยั้งแบคทีเรีย และเป็นตัวทำความสะอาดอากาศ และดินได้ เช่นเดียว กับ Kim et al. (2003) ได้ทำการทดสอบคุณสมบัติขอ TiO2 ในการยับยั้งเชื้อ Salmonella cholearesui, Vibrio parahaemoly- ticus และ Listeria monocytogenes โดยเปรียบเทียบกับจานเพาะเชื้อที่เคลือบ และไม่เคลือบด้วย TiO2 ใส่สารละลายเชื้อข้างต้นลงไปแล้วนำไปให้แสง UV พบว่าจานเพาะเชื้อที่เคลือบด้วย TiO2 นั้น มีความสามารถในการยับยั้งและฆ่าเชื้อได้ดีกว่าจานเพาะเชื้อที่ไม่เคลือบ TiO2 ดังนั้นจึงสนใจศึกษาประสิทธิภาพของปฏิกิริยาเคมีที่ใช้แสงเป็นตัวเร่งของ TiO2 ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงน้ำดอกไม้หลังการเก็บเกี่ยว

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของไททาเนียมไดออกไซด์ร่วมกับระยะเวลาแสง UV ที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อ *C. gloeosporioides* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

นำเชื้อ *C. gloeosporioides* ความเข้มข้น 2 x 10^6 spores/ml ผสมกับสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์ที่ความเข้มข้น 1, 5 และ 10 mg/ml ดูดสารละลายมา 0.1 ml เกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แล้วนำไปวางภายใต้แสง UV เป็นเวลา 15,30 และ 60 นาทีหลังจากนั้นนำแต่ละตัวอย่างมาวางไว้ในอุณหภูมิห้อง 25°C แล้วเปรียบเทียบกับเชื้อ *C. gloeosporioides* ที่ไม่ได้ผสมสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์(ชุดควบคุม) โดยการนับจำนวนสปอร์ทุกวัน เป็นเวลา 3 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลการยับยั้งเชื้อ *C. gloeosporioides* ในผลมะม่วงด้วยสารไททาเนียมไดออกไซด์ร่วมกับระยะเวลาแสง UV ที่เหมาะสม

ผลมะม่วงน้ำดอกไม้เก็บเกี่ยวจากสวนเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่นำมาสะกิดผิวเปลือกให้เกิดบาดแผลแล้วปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* ความเข้มข้น 5 x 10^6 spores/ml เข้าไปทางบาดแผลแล้วบ่มมะม่วงให้เชื้อเจริญที่อุณหภูมิห้อง 25 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 95% เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นจุ่มมะม่วงลงในสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์ความเข้มข้น 1 mg/ml ร่วมกับการให้แสง UV เป็นเวลา 30, 60, 120 และ 240 นาที แล้วนำผลมะม่วงไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 13 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 95% หลังจากนั้นนำตัวอย่างมะม่วงออกมาทำการวัดการเกิดโรคบนผิวเปลือกมะม่วงบริเวณบาดแผลที่กำหนด โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ผล

จากการนับจำนวนสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* ที่เพิ่มขึ้นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่าจำนวนสปอร์ของเชื้อที่มีอยู่น้อยที่สุดคือ ชุดที่ใช้สารละลายไททาเนียมไดออกไซด์ความเข้มข้น 1 mg/ml โดยมีค่าเท่ากับ 1.11 CFU/ml รองลงมาคือชุดที่มีความเข้มข้นของไททาเนียมไดออกไซด์ 5 และ 10 mg/ml เท่ากับ 1.69 และ 3.25 CFU/ml ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยมีค่าเท่ากับ 10.83 CFU/ml (Figure 1)

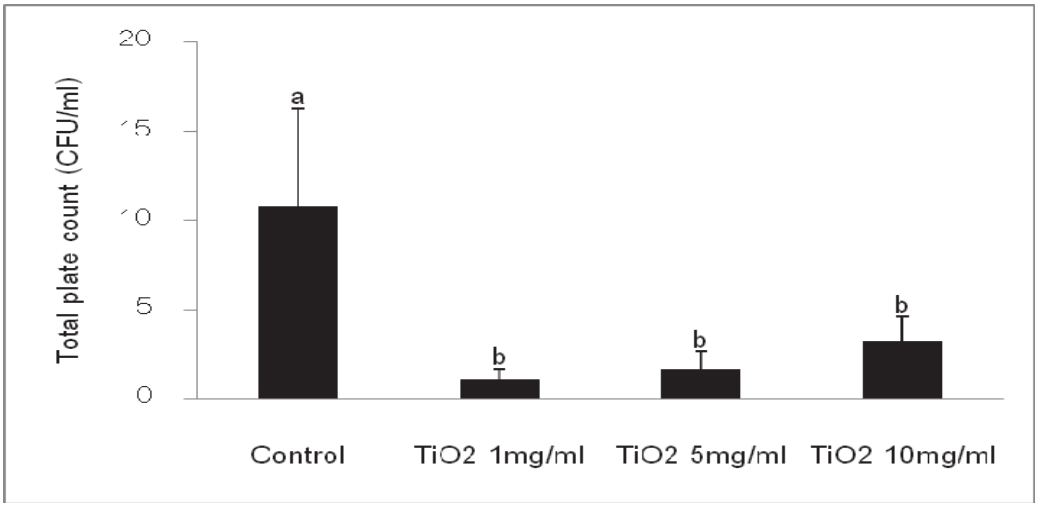

Figure 1 Inhibitory effect of TiO_2 at different concentrations on the growth *C. gloeosporioides*

นอกจากนี้การนับจำนวนสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* ที่เพิ่มขึ้นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ยังพบว่าจำนวนสปอร์ของเชื้อที่มีอยู่น้อยที่สุดคือ ชุดที่ได้รับแสง UV เป็นระยะเวลา 60 นาที โดยมีค่าเท่ากับ 1.67 CFU/ml รองลงมาคือชุดที่ได้รับแสง UV เป็นเวลา 30 และ 15 นาที เท่ากับ 1.88 และ 2.51 CFU/ml ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยมีค่าเท่ากับ 10.83 CFU/ml (Figure 2)

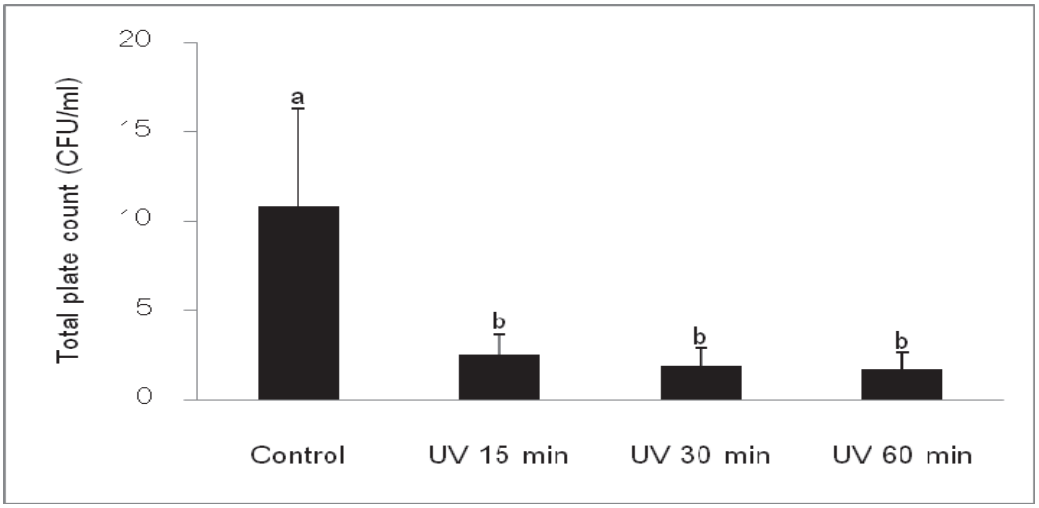

Figure 2 Inhibitory effect of UV irradiation at various times on the growth *C. gloeosporioides*

จากการวัดความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสด้วยเชื้อ *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วง พบว่าหลังจากเก็บรักษาประมาณ 5 วัน ที่อุณหภูมิ 13 °C ผลมะม่วงจะเริ่มสังเกตเห็นการเกิดโรคแอนแทรคโนสเป็นจุดสีดำบนผิวเปลือกมะม่วง โดยมะม่วงที่มีความรุนแรงของโรคน้อยที่สุดหรือเป็นจุดสีดำขนาดเล็กที่สุดคือ มะม่วงที่ได้รับแสง UV เป็นระยะเวลา 60 นาที มีค่าเท่ากับ 0.698 มิลลิเมตร โดยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และชุดที่ได้รับแสง UV เป็นเวลา 30, 120, 240 นาที ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.872, 0.832, 0.745, และ 0.859 มิลลิเมตร ตามลำดับ (Figure 3)

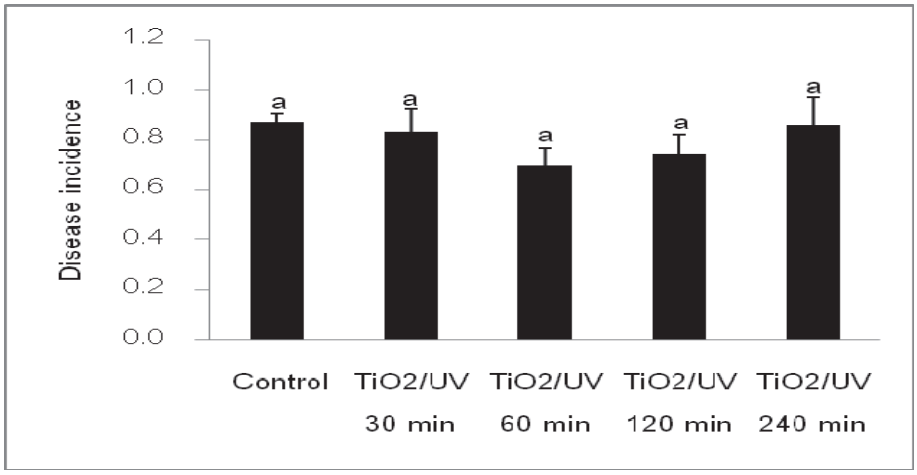

Figure 3 Disease incidence of mango fruit after TiO_2 photocatalysis at different UV irradiation times

วิจารณ์ผล

จากผลการใช้ปฏิกิริยาเคมีที่ใช้แสงเป็นตัวเร่งของไททาเนียมไดออกไซด์ เพื่อควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. gloeosporioides* พบว่าในการใช้ชุดทดลองด้วยปฏิกิริยาเคมีที่ใช้แสงเป็นตัวเร่งของ TiO_2 ที่เวลา 60 นาที สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อได้ โดยยับยั้งการเจริญของเส้นใยและลดเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อให้ลดลงได้เมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆ ซึ่งอาจเกิดจากการแตกตัวของ TiO_2 เมื่อได้รับแสง และไปออกซิไดซ์สารประกอบในเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อราทำให้เชื้อได้รับความเสียหาย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kim *et al.* (2003) ได้ศึกษาคุณสมบัติ และประสิทธิภาพในการทำงานของปฏิกิริยาเคมีที่ใช้แสงเป็นตัวเร่งของ TiO_2 ในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella cholearesui*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Listeria monocytogenes* โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ใช้ TiO_2 พบว่าในการใช้ปฏิกิริยาเคมีที่ใช้แสงเป็นตัวเร่งสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อโรคได้ดีกว่าในชุดที่ไม่ได้ใช้ TiO_2 จากการศึกษาในครั้งนี้ยังพบว่าเมื่อทำการให้แสง UV เป็นเวลานานขึ้น ทำให้มีความสามารถในการฆ่าเชื้อได้มากยิ่งขึ้น ดังนั้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ TiO_2 ในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์จึงต้องอาศัยแสงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เช่นเดียวกับ Dunlop *et al.* (2008) ได้ศึกษาพบว่าการให้ระยะเวลาของแสง UV เป็นเวลานานร่วมกับการใช้ปฏิกิริยาเคมีที่ใช้แสงเป็นตัวเร่งของ TiO_2 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของสปอร์ของเชื้อ *Clostridium perfringens* ได้ถึง 99.70 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 120 นาที

สรุป

ความเข้มข้นของไททาเนียมไดออกไซด์ 1 mg/ml และการใช้แสง UV เป็นเวลา 60 นาทีให้ผลดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. gloeosporioides* รวมทั้งการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในผลมะม่วงน้ำดอกไม้

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2549. การส่งออกผลไม้ที่สำคัญของประเทศไทย. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://plantpro.doae.go.th/export/veget_fruit_export.doc (14 กุมภาพันธ์ 2549)

Dunlop, P. S. M., T. A. McMurray, J. W. J. Hamilton and J. A. Byrne. 2008. Photocatalytic inactivation of Clostridium perfringens spore on TiO_2 electrodes. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 196: 113 – 119.

Fujishima, A., T. N. Rao and D. A. Tryk. 2000. Titanium dioxide photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* 1(1): 1 – 21.

Kim, B., D. Kim, D. Cho and S. Cho. 2003. Bactericidal effect of TiO_2 photocatalyst on selected food-borne pathogenic bacteria. *Chemosphere* 52: 277 - 281.

Otaki M., T. Hirata and S. Ohgaki. 2000. Aqueous microorganisms inactivation by photocatalytic reaction. *Water Science and Technology* 42(3-4): 103 - 108.