

การใช้น้ำออกซิไดซ์ที่ผ่านการแยกด้วยไฟฟ้าในการควบคุมเชื้อแบคทีเรียเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผักอินทรีย์

Using Electrolyzed Oxidizing Water in Controlling Bacteria for Prolonging Storage-life of Organic Vegetables

วันวิสา เตชะวงศ์^{1/} และ เกวลิน คุณาศักดากุล^{1/*}
Wanwisa Techawong^{1/} and Kaewalin Kunasakdakul^{1/*}

Abstract: The purpose of this study was to examine the effects of electrolyzed oxidizing water (EO water) on reduction of rot disease in organic vegetables. EO water was produced in various concentrations of NaCl at 0.00625, 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 and 0.5 percent. Then the free chlorine concentrations and pH values were measured in the range of 0.40-137.00 ppm and 3.65-4.11, respectively. While the electrolyte conductivity (EC) showed in the range of 0.49-6.23 mS/cm. *Erwinia carotovora*, bacterial pathogens of soft rot disease were isolated from Chinese cabbage and were used for inhibitory effect trials of EO water. Bacterial suspension cells were soaked for 1 and 5 min into each concentration of EO water. After incubated on NA medium for 24-48 hrs., results showed that the bacterial growth was completely inhibited except the trial of EO water at concentration of 0.00625 percent which was found very few colonies grew up. In addition, magnification observed on the bacterial cell size, revealed that those the EO treated trials showed smaller size than in the control (distilled water) treatment, except in the concentrations of 0.00625 and 0.0125 percent. Applications of various concentrations of EO water for reduction of soft rot disease were done on organic vegetables (Chinese cabbage and Cos lettuce) and the results showed that the 0.3 percent EO treatment was the best to reduce soft rot incident. Then, soft rot inhibitory effect of EO water at 0.3 percent was compared to other disinfectants; Ozone water (0.02 percent), potassium permanganate (0.05 g/l), sodium bicarbonate (2.5 g/l) and chlorinated water (0.02 percent). The results revealed that EO water could reduce soft rot disease and prolong shelf-life of organic vegetables (Chinese cabbage and Cos lettuce) better than other disinfectant solutions.

Keywords: Prolonging shelf-life, electrolyzed oxidizing water (EO water), organic vegetables

^{1/} ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

^{1/} Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

* Corresponding author: E-mail address: kaewalin.k@cmu.ac.th

บทคัดย่อ: วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้เพื่อตรวจสอบผลของน้ำออกซิไดซ์ที่ผ่านการแยกด้วยไฟฟ้า (electrolyzed oxidizing water: น้ำ EO) ต่อการลดการเกิดโรคเน่าและเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของผักอินทรีย์ โดยการผลิตน้ำ EO ด้วยเครื่อง Super Oxseed Labo ที่เตรียมได้จากสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ระดับความเข้มข้น 0.00625, 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าน้ำ EO มีค่าความเข้มข้นของคลอรีนอิสระอยู่ในช่วง 0.40-137.00 ppm และมีค่า pH ระหว่าง 3.65-4.11 เมื่อวัดค่าความสามารถในการแตกตัวของสารละลาย (electrolyte conductivity; EC) พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 0.49-6.23 mS/cm เมื่อนำเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* ที่แยกได้จากอาการเน่าและของผักกาดขาวปลี แช่น้ำ EO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 และ 5 นาที หลังจากบ่มเชื้อบนอาหาร NA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าเชื้อแบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ทุกกรรมวิธี คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้น 0.00625 เปอร์เซ็นต์ ที่พบโคโลนีของแบคทีเรียเจริญบนจานอาหารจำนวนน้อย นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ของแบคทีเรียที่แช่ร่วมกับน้ำ EO ทุกความเข้มข้นมีขนาดเล็กลง ยกเว้นความเข้มข้น 0.00625 และ 0.0125 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นมาแช่ และจากการคัดเลือกระดับความเข้มข้นของน้ำ EO ที่นำมาใช้ในการฉีดโคนและรอยตัดของผักอินทรีย์ 2 ชนิด ได้แก่ ผักกาดกวางตุ้งและผักกาดหวาน พบว่าที่ความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์สามารถลดการเกิดโรคเน่าและของผักได้ดีที่สุด โดยไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษกับพืช และเมื่อนำน้ำ EO ความเข้มข้นดังกล่าวมาประยุกต์ใช้เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลดโรคเน่าและกับกับสารฆ่าเชื้อชนิดอื่น ๆ ได้แก่ น้ำไอโซน (ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์) น้ำผสมด่างทับทิม (อัตราส่วน 0.05 กรัมต่อลิตร) น้ำผสมผงฟู (อัตราส่วน 2.5 กรัมต่อลิตร) และน้ำผสมคลอรีน (ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์) พบว่าสามารถลดการเกิดโรคเน่าและและยืดอายุการเก็บรักษาผักกาดกวางตุ้งและผักกาดหวานได้ดีกว่าสารฆ่าเชื้อที่นำมาทดสอบ ยกเว้นผักกาดฮ่องเต้เล็กที่พบว่าการใช้น้ำผสมคลอรีนได้ผลดีที่สุด

คำสำคัญ: ยืดอายุการเก็บรักษา น้ำออกซิไดซ์ที่ผ่านการแยกด้วยไฟฟ้า ผักอินทรีย์

คำนำ

การผลิตและการตลาดของเกษตรอินทรีย์ในประเทศไทยมีแนวโน้มเติบโตขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่ยังคงพบปัญหาความสูญเสียของผักและผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะในพื้นที่เขตร้อนซึ่งเป็นปัญหาใหญ่ที่เกี่ยวข้องกับการตลาดของผลิตผลเหล่านี้โดยตรง พบว่าความเสียหายที่เกิดกับผักในระหว่างการขนส่งและการวางจำหน่ายเป็นจำนวนมาก จากการประเมินมูลค่าความเสียหายของผักสดหลังการเก็บเกี่ยวและการขนส่ง โดยผู้ประกอบการคิดเป็นประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ ของมูลค่าโดยรวมหรือประมาณ 10,000 ล้านบาทต่อปี (ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ, 2556) โดยมีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถเข้าทำลายผลิตผลและก่อให้เกิดความเสียหายในระหว่างกระบวนการดังกล่าว ทำให้ผลิตผลที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย

เกิดการเน่าเสียอย่างรวดเร็ว การหาแนวทางใหม่ในการควบคุมโรคเพื่อลดหรือหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี เช่น การนำน้ำออกซิไดซ์ที่ผ่านการแยกด้วยไฟฟ้าซึ่งมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด และมีการทดสอบแล้วว่าไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค เนื่องจากไม่มีสารพิษตกค้างในผลผลิตและสภาพแวดล้อม (Sakurai *et al.*, 2003) จึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่น่าสนใจ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาค่าความเข้มข้นของเกลือในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของพืชผักในหองปฏิบัติการ รวมถึงทดสอบหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการยับยั้งการเกิดโรคบนผักและยืดอายุการเก็บรักษา เพื่อเป็นแนวทางในการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมและทดแทนการใช้สารเคมีในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าและ (soft rot) ของผัก

สำรวจและเก็บตัวอย่างผักตระกูลกะหล่ำ ได้แก่ ผักกาดขาวปลี ผักกาดกวางตุ้ง ผักกาดฮ่องเต้ และ คื่นห่าน ที่แสดงอาการเน่าและจากร้านขายผักในท้องตลาด อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ นำมาแยกเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธี cross streak โดยใช้ loop เผลาไฟรอให้เย็นกดปลาย loop ลงที่ชั้นพีช ก่อนนำไปลากลงไปบนหน้าอาหาร Nutrient Agar (NA) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแบคทีเรียมาเพิ่มปริมาณบนอาหารเดิมให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่ได้มา cross streak บนอาหาร NA และ Endo-Agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจสอบลักษณะการเจริญเติบโต รูปร่างและสีของโคโลนี ที่เจริญบนอาหารชนิดต่าง ๆ ทดสอบการทำปฏิกิริยากับ สารละลาย KOH 3 เปอร์เซ็นต์ การติดสีย้อมของแกรม และตรวจความสามารถในการทำให้เกิดโรคเน่าและด้วยวิธีปลูกเชื้อลงบนมันฝรั่ง แครอท แตงกวา และผักกาดขาว จากนั้นนำตัวอย่างที่แสดงอาการโรคเน่ามาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ เพื่อยืนยันการเป็นเชื้อสาเหตุโรคตามกฎการพิสูจน์โรคของ Koch (Johnson and Case, 2013)

2. การเตรียมและการศึกษาสมบัติทางกายภาพของน้ำออกซิไดซ์ที่ผ่านการแยกด้วยไฟฟ้า

ผลิตน้ำออกซิไดซ์ที่ผ่านการแยกด้วยไฟฟ้าโดยใช้เครื่องผลิตยี่ห้อ SUPER OXSEED LABO (บริษัท Amano. Co., Yokohama, Japan) โดยใช้สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นดังนี้ 0.00625, 0.0125, 0.25, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากนั้นผ่านกระแสไฟฟ้า 110 โวลต์เป็นเวลา 15 นาที (จามรี และคณะ, 2553) นำน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด (electrolyzed oxidizing water; น้ำ EO) ที่ได้แต่ละความเข้มข้นส่วนหนึ่งไปวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH), ค่าความสามารถในการแตกตัวของสารละลาย (electrolyte conductivity; EC) และค่าความเข้มข้นของคลอรีนอิสระ (available free chlorine; AFC) เก็บน้ำ EO

แต่ละความเข้มข้นไว้ในภาชนะปิดที่ฆ่าเชื้อแล้ว (ขวด Duran) เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3. ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำ EO ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าและ

นำเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากการทดลองที่ 1 ความเข้มข้น 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำ EO แต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex แช่ไว้เป็นเวลา 1 และ 5 นาที จากนั้นนำเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย ปริมาตร 200 ไมโครลิตรมา spread plate บนผิวหน้าอาหาร NA ส่วนชุดควบคุมใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแทน น้ำ EO บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตการเจริญและวัดเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเชื้อแบคทีเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

4. การประยุกต์ใช้น้ำ EO เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผักอินทรีย์

4.1 การศึกษาผลความเข้มข้นเกลือของน้ำ EO

นำผักกาดหวานอินทรีย์ที่เก็บเกี่ยวจากศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่สะป๊อก อำเภอแม่วาง และ ผักกาดฮ่องเต้อินทรีย์จากศูนย์พัฒนาโครงการหลวงทุ่งเริง อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ ที่มีขนาดต้นใกล้เคียงกัน ต้นสมบูรณ์ ไม่มีบาดแผล ไม่มีโรคและไม่มีแมลงทำลาย ตัดแต่งใบแก่และใบที่ซ้ำออก โดยไม่มีการล้างทำความสะอาด นำน้ำ EO แต่ละความเข้มข้นที่ได้จากการทดลองที่ 2 มาล้างผักทั้งต้น นำผักวางผึ่งบนตะแกรงให้สะเด็ดน้ำ แล้วจึงนำไปใส่ไว้ในกล่องพลาสติกใส สังเกตลักษณะความเป็นพิษต่อพืช ได้แก่ อาการใบช้ำและอาการเหลืองบนส่วนต่างๆ ของพืชทดสอบ

จากนั้นนำน้ำ EO ที่ระดับความเข้มข้นที่ไม่ก่อให้เกิดพิษกับพืชมาทำการทดสอบลดโรคเน่าและเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผักอินทรีย์ โดยใช้สาลิจุ่มลงไปบนน้ำ EO แต่ละความเข้มข้น แล้วเด็ดเบา ๆ ที่บริเวณโคนและรอบรอยตัด และใช้น้ำผสมคลอรีนความเข้มข้น 0.02

เปอร์เซ็นต์ (U. S. Food and Drug Administration, 2001) เป็นชุดเปรียบเทียบ ระวังอย่าให้น้ำไหลเข้าไปในบริเวณชอกใบ นำผักวางผึ่งบนตะแกรงให้สะเด็ดน้ำ แล้วจึงนำไปใส่ในถุงพลาสติกขนาด 25×30 เซนติเมตร ที่เจาะรูไว้แล้วจำนวน 18 รู ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ถุงละ 4 ต้น ปิดปากถุงให้สนิท เพื่อให้มีลักษณะและสภาพแวดล้อมคล้ายกับการวางจำหน่าย และบันทึกลักษณะของผักก่อนการเก็บรักษา วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยแบ่งการทดลองเป็น 6 กรรมวิธี ๆ ละ 4 ซ้ำ นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-4 วัน และอุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส บันทึกผลเปอร์เซ็นต์ จำนวนต้นที่เกิดอาการเน่าและระยะเวลาการเก็บรักษา เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นเกลือที่เหมาะสมที่สุดของน้ำ EO และนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

4.2 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำ EO กับสารฆ่าเชื้อชนิดต่าง ๆ ในการควบคุมโรคเน่าและ

นำผักกาดฮ่องเต้เล็กอินทรีย์ที่เก็บเกี่ยวจากศูนย์พัฒนาโครงการหลวงอินทนนท์ อำเภอจอมทอง ผักกาดกวางตุ้งอินทรีย์จากศูนย์พัฒนาโครงการหลวงทุ่งเริง อำเภอหางดง และผักกาดหวานอินทรีย์จากศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่สะป๊อก อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่ ที่มีขนาดต้นใกล้เคียงกัน ต้นสมบูรณ์ ไม่มีบาดแผล ไม่มีโรคและไม่มีแมลงทำลาย นำมาตัดแต่งเช่นเดียวกับการทดลองที่ 4.1 โดยไม่มีการล้างทำความสะอาดผลิตผล จากนั้นนำไปแช่โคนและรอยตัด โดยวิธีการใช้สาลิจุ่มลงไปในน้ำสารละลายฆ่าเชื้อชนิดต่าง ๆ ได้แก่ น้ำไอโซน (ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์) น้ำผสมต่างทับทิม (อัตราส่วน 0.05 กรัมต่อลิตร) น้ำผสมผงฟู (อัตราส่วน 2.5 กรัมต่อลิตร) และน้ำผสมคลอรีน (ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์) เปรียบเทียบกับน้ำ EO ความเข้มข้นที่คัดเลือกได้จากข้อ 4.1 โดยแช่เบา ๆ ที่บริเวณโคนและรอยตัด ระวังอย่าให้น้ำไหลเข้าไปในบริเวณชอกใบ นำผักวางผึ่งบนตะแกรงให้สะเด็ดน้ำ แล้วจึงนำไปใส่ในถุงพลาสติก จากนั้นปิดปากถุงให้สนิทด้วยเทปกาวยึดติด ผัก เพื่อให้มีลักษณะและสภาพแวดล้อมคล้ายกับการวางจำหน่าย วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยแบ่งการทดลองเป็น 6 กรรมวิธี ๆ ละ 9 ซ้ำ ตามกรรมวิธีดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่มีการล้างและแช่ผลิตผล)
- กรรมวิธีที่ 2 การแช่ด้วยน้ำไอโซน (ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์)
- กรรมวิธีที่ 3 การแช่ด้วยน้ำ EO (ความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์)
- กรรมวิธีที่ 4 การแช่ด้วยน้ำผสมต่างทับทิม (อัตราส่วน 0.05 กรัมต่อลิตร)
- กรรมวิธีที่ 5 การแช่ด้วยน้ำผสมผงฟู (อัตราส่วน 2.5 กรัมต่อลิตร)
- กรรมวิธีที่ 6 การแช่ด้วยน้ำผสมคลอรีน (ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์)

บันทึกผลเปอร์เซ็นต์จำนวนต้นที่เกิดอาการเน่าและระยะเวลาการเก็บรักษา เปรียบเทียบผลของสารละลายฆ่าเชื้อชนิดต่าง ๆ กับชุดควบคุมที่ไม่มีการล้างและแช่ผลิตผล

ผลและวิจารณ์

1. การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าและ (soft rot) ของผัก

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเน่าและของผักกาดขาวปลี นำไปศึกษาลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า เชื้อที่เจริญบนอาหาร Endo-Agar มีโคโลนีสีแดงเข้มเหลืองโลหะ (metallic sheen) รูปร่างกลม พื้นผิวของโคโลนีเป็นเมือกเยิ้มและเหลืองแสง เมื่อตรวจดูลักษณะของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า รูปร่างของเชื้อเป็นแบบท่อนสั้น ไม่สร้างสปอร์ ขนาดประมาณ 0.5-1.0×1.0-2.0 ไมครอน ซึ่งเป็นลักษณะของแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* (วิลลาร์ธ, 2551) เมื่อนำไปทดสอบการติดสีย้อมของแกรม แบคทีเรียจะติดสีแดงของ safranin-O และเมื่อทดสอบการทำปฏิกิริยากับสารละลาย KOH 3 เปอร์เซ็นต์ เชื้อแบคทีเรียเป็นเมือกเหนียวติดขึ้นมากับปลาย loop จึงพิสูจน์ได้ว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้เป็นแบคทีเรียแกรมลบ และเมื่อนำทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคกับพืชทั้ง 4 ชนิด พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ทำให้เกิดแผลเน่าและรุนแรงบนพืชที่นำมาทดสอบ แสดงให้เห็นว่าเชื้อ

E. carotovora สามารถก่อให้เกิดโรคเน่าและได้กับพืชอาศัยหลายชนิดโดยโรคจะเกิดขึ้นกับทุกส่วนของพืช จึงได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรครุนแรง เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2. การเตรียมและการศึกษาสมบัติทางกายภาพของน้ำออกซิไดซ์ที่ผ่านการแยกด้วยไฟฟ้า

จากการศึกษาคุณสมบัติของน้ำ EO ที่ผลิตได้และเก็บไว้ในภาชนะปิดที่อุณหภูมิห้องพบว่าค่า pH ของน้ำ EO แต่ละความเข้มข้นมีค่าอยู่ในช่วง 4.11-3.65 และมีค่า EC อยู่ในช่วง 0.49-6.23 mS/cm โดยค่าที่ได้จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเกลือ เช่นเดียวกับค่า AFC ที่เพิ่มขึ้นที่เพียงพอสำหรับการยับยั้งการเจริญหรือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี (Hoon *et al.*, 2004) แต่ค่า pH, EC และค่า AFC ที่วัดได้นี้ไม่เสถียรและมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงแคบ ๆ อาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระหว่างการดำเนินงาน กำลังไฟฟ้า ระยะเวลา ความเข้มข้น และชนิดของเกลือที่ใช้ (จามรี และคณะ, 2553) จึงทำให้คุณสมบัติของน้ำ EO จากแต่ละแหล่งการทดลองมีความแตกต่างกัน ดังรายงานของ Muhammad *et al.* (2002) ได้เตรียมน้ำ EO ขึ้นจากสารละลาย NaCl โดยผ่านกระแสไฟฟ้า 8-10 แอมแปร์ และ 9-10 โวลต์ตามลำดับ พบว่าค่า pH ของน้ำ EO อยู่ในช่วง 2.6-3.6 และค่า oxidation-reduction potential (ORP) เท่ากับ 1170 ± 20 มิลลิโวลต์ ชนัญชิตา และคณะ (2551) พบว่าการใช้ NaCl ที่เข้มข้นมากขึ้นทำให้มีค่า pH ต่ำลง และ

การใส่สารละลายเกลืออิมิตัวโดยการผ่านกระแสไฟฟ้าเป็นเวลา 60 นาทีจะมีค่า pH 3.9 และค่าความเข้มข้นคลอรีนอิสระเท่ากับ 102 ppm

3. ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำ EO ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าและ

จากการศึกษาและทดสอบผลของน้ำ EO ต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. carotovora* โดยแช่เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียร่วมกับน้ำ EO ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าน้ำ EO ทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้น 0.00625 เปอร์เซ็นต์ ที่พบโคโลนีของแบคทีเรียเจริญบนจานอาหารจำนวนน้อย สอดคล้องกับรายงานของ Hoon *et al.* (2004) พบว่าการใช้น้ำ EO ที่มีค่าความเข้มข้นเกลือที่สูงขึ้น และค่า pH ที่ต่ำลง จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 และ *Listeria monocytogenes* ได้ดีขึ้นตามลำดับ นอกจากนั้นเมื่อตรวจดูเซลล์แบคทีเรียที่ผ่านการแช่ร่วมกับน้ำ EO ทุกความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่ามีขนาดเล็กลงและติดสีย้อมน้อย ซึ่งแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างชัดเจน ยกเว้นความเข้มข้น 0.00625 และ 0.0125 เปอร์เซ็นต์ ที่เซลล์แบคทีเรียมีลักษณะไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (ภาพที่ 1) ทั้งนี้ Bearson *et al.* (1997) ได้อธิบายว่าสารอินทรีย์ที่มีสภาพเป็นกรดสามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้เพราะละลายได้ในไขมัน เมื่อเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลายสารภายในเซลล์จะเกิดการรั่วไหลออกมา เซลล์แบคทีเรียจึงมีขนาดเล็กลงและติดสีย้อมได้น้อยลง

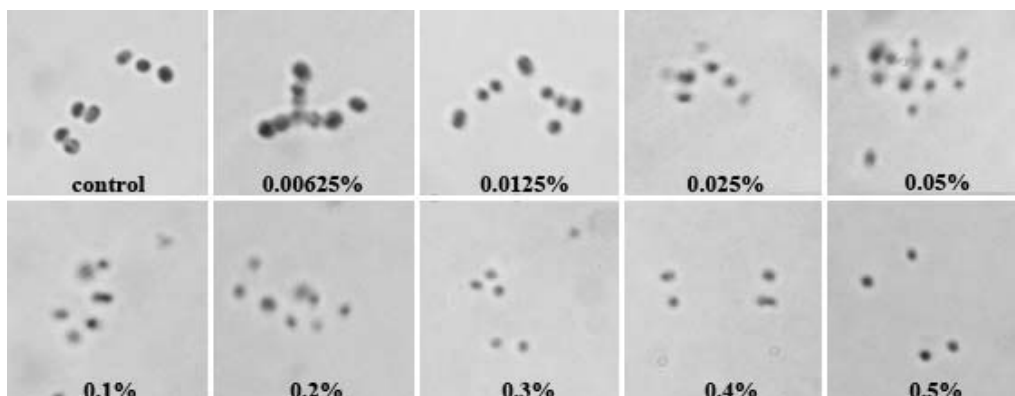


Figure 1 Safranin-O staining and decreasing in size of *Erwinia carotovora* cells after soaking in electrolyzed oxidizing water at various concentrations of sodium chloride

นอกจากนั้นยังทำให้กรด HOCl ซึมเข้าสู่ภายในเซลล์แบคทีเรียได้ง่ายขึ้น และไปมีผลยับยั้งกระบวนการ metabolism ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรีย โดยจะเกิดปฏิกิริยากับเซลล์ทำให้มีผลในการทำลายเซลล์แบคทีเรีย (Fuller, 1989)

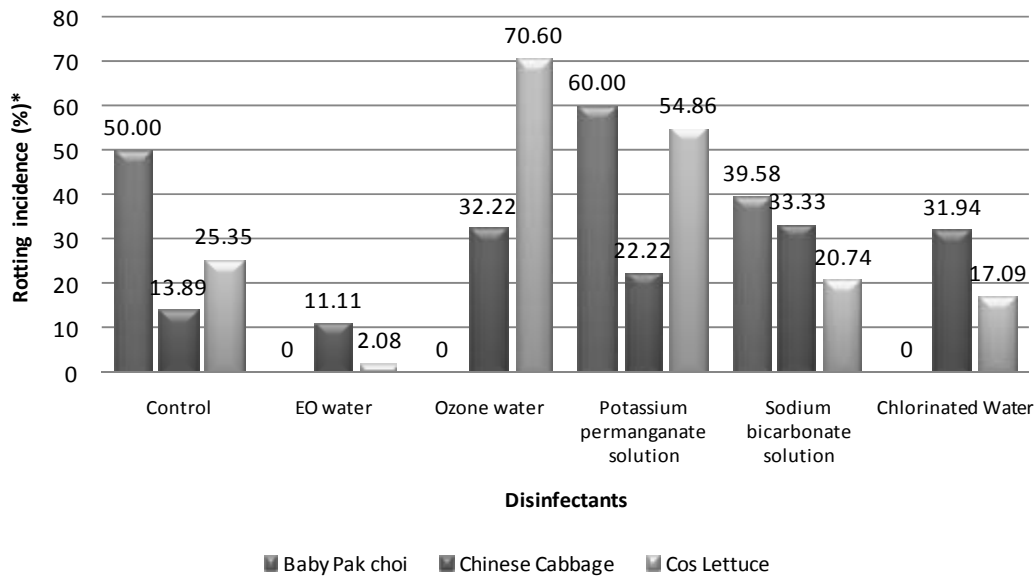
4. การประยุกต์ใช้น้ำ EO เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผักอินทรีย์

4.1 การศึกษาผลความเข้มข้นเกลือของน้ำ EO

จากการทดสอบความเป็นพิษของน้ำ EO ที่ความเข้มข้นของสารละลายเกลือ 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยนำน้ำ EO แต่ละความเข้มข้นมาล้างผักทั้งต้น พบว่าความเข้มข้น 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ใบพืชแสดงอาการช้ำ หลังจากล้างด้วยน้ำ EO เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สอดคล้องกับงานวิจัยของสุจิตพรธน (2556) พบว่าน้ำ EO ความเข้มข้น 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ใบของต้นกล้าแตงกวาญี่ปุ่นเกิดอาการยอดไหม้ และเมื่อทำการทดลองเช็ดโคนและรอยตัดของผักกาดหวานอินทรีย์และผักกาดฮ่องเต้อินทรีย์ด้วยน้ำ EO ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ใช้น้ำ EO และการเช็ดด้วยน้ำผสมคลอรีนความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ พบว่าผักกาดหวานในทุกกรรมวิธีแสดงอาการเน่าและมีจุดสีน้ำตาลคล้ำบนใบ 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม แสดงให้เห็นว่าน้ำ EO ไม่สามารถยืดอายุการเก็บรักษาผักกาดหวานที่อุณหภูมิห้องได้ ซึ่งแตกต่างจากการทดลองในผักกาดฮ่องเต้ พบว่าทุกกรรมวิธีที่เช็ดด้วยน้ำ EO ไม่แสดงอาการเน่า แตกต่างจากชุดควบคุมที่แสดงอาการเน่าภายใน 2 วัน

4.2 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำ EO กับสารฆ่าเชื้อชนิดต่าง ๆ ในการควบคุมโรคเน่าและ

จากการใช้น้ำ EO ความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ เช็ดโคนและรอยตัดของผักอินทรีย์ เปรียบเทียบกับสารละลายฆ่าเชื้อชนิดต่าง ๆ พบว่าน้ำ EO สามารถป้องกันโรคเน่าและในผักกาดฮ่องเต้เล็กได้ดีมาก โดยไม่พบอาการเน่าหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน ซึ่งแตกต่างจากกรรมวิธีที่เช็ดด้วยน้ำผสมต่างทั้งหมัมน้ำผสมผงฟู และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ที่พบเปอร์เซ็นต์การเน่าเท่ากับ 60.00, 39.58 และ 50.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับการทดลองในผักกาดกวางตุ้ง พบว่าการใช้น้ำ EO ความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การเน่าเท่ากับ 11.11 ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติจาก 13.89 เปอร์เซ็นต์ ของชุดควบคุม แต่แตกต่างจากการใช้น้ำไอโซน น้ำผสมผงฟู น้ำผสมคลอรีน และน้ำผสมต่างทั้งหมัมน้ำที่มีเปอร์เซ็นต์การเน่าเท่ากับ 32.22, 33.33, 31.94 และ 22.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในการทดลองกับผักกาดหวานพบว่าน้ำ EO สามารถลดการเกิดโรคเน่าและได้ดีกว่าการใช้สารละลายฆ่าเชื้อชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยพบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเน่าและเพียง 2.08 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน (ภาพที่ 2) นอกจากนั้นยังพบว่าผักกาดกวางตุ้งและผักกาดหวานจะเน่าทั้งหมดภายใน 3 วัน หลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง มีเพียงผักกาดฮ่องเต้เล็กที่พบว่าหลังการทดลองเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4-5 วัน ในกรรมวิธีที่เช็ดด้วยน้ำไอโซนแสดงอาการเน่าทั้งหมดภายใน 4 วัน ขณะที่การเช็ดด้วยน้ำ EO และน้ำผสมคลอรีน สามารถชะลอการเน่าให้ช้าลงได้ โดยแสดงอาการเน่าทั้งหมดภายใน 5 วัน



*average of 4 replications

Figure 2 Rot incidences of 3 organic vegetables after wiping by disinfectant solutions comparing with 0.3 percent electrolyzed oxidizing water (EO water) and untreated control prior to store at room temperature (28°C) for 3 days

สรุป

น้ำ EO สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. carotovora* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากแช่รวมกับน้ำ EO ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.0125, 0.25, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้น 0.00625 เปอร์เซ็นต์ ที่พบโคโลนีของแบคทีเรียเจริญบนจานอาหารจำนวนน้อย ซึ่งการประยุกต์ใช้น้ำ EO กับผักอินทรีย์ โดยทดลองล้างผักอินทรีย์ทั้งต้นด้วยน้ำ EO ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าที่ความเข้มข้น 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์มีความเป็นพิษต่อพืช ทำให้ใบพืชแสดงอาการซ้ำ แต่การใช้น้ำ EO ความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ เช็ดโคนและรอยตัดของผักอินทรีย์ พบว่าจะสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเน่าและได้มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองที่ระดับความเข้มข้น 0.05, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่าการใช้น้ำ EO ความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการเกิดโรคเน่าและของผักกาดฮ่องเต้เล็กได้มากที่สุด รองลงมาได้แก่ผักกาดหวาน และผักกาด

กวางตุ้ง และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผักกาดฮ่องเต้เล็กได้เป็นเวลา 5 วัน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) โครงการวิจัยและพัฒนาการเพิ่มผลผลิตและคุณภาพผลผลิตพืชผักในพื้นที่โครงการหลวง และพื้นที่ขยายผลโครงการหลวงที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัย และโรงงานแปรรูปและพัฒนาผลิตภัณฑ์มูลนิธิโครงการหลวงที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ในการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

จามรี เกติมา เกวลิน คุณาศักดากุล วิลาวัลย์ คำปวน และ เจริญ คุ่มสุภา. 2553. ผลของน้ำอ็อกซิไดซ์ต่อการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของ

- มะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว. รวบรวมผลงาน
โครงการที่ได้รับทุนโครงการ IRPUS ประจำปี
2552. หน้า 626. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล:
web.agri.cmu.ac.th/qa/intra/SAR/2553-
54/sms/.../2552/2552_16.pdf (14 พฤษภาคม
2556).
- ชนัญชิตา สิงคมณี กานดา หวังชัย และ จ่านง อุทัยบุตร.
2551. การใช้โอโซนและน้ำอิเล็กโทรไลต์ในการ
ควบคุมเชื้อรา *Penicillium digitatum* ของส้ม
พันธุ์สายน้ำผึ้ง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร
39(3) พิเศษ: 257-260.
- วิลาวรรณ เชื้อบุญ. 2551. ลักษณะและการทดสอบ
ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ควบคุม
เชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*
สาเหตุโรคเน่าและของกะหล่ำดอก. วิทยานิพนธ์
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 121 หน้า.
- ศุภยเทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ. 2556. นวัตกรรม
ยืดอายุผักผลไม้บรรจุภัณฑ์ฉลาด. (ระบบ
ออนไลน์). แหล่งข้อมูล :
<http://www.mtec.or.th/index.php/2013-05-29-09-06-21/2013-05-29-09-39-49/84-> (2
สิงหาคม 2557).
- สุจิตพรณ บุญมี. 2556. ผลของน้ำออกซิไดส์ที่ผ่านการ
แยกด้วยไฟฟ้าต่อการลดโรคราแป้งในพืชวงศ์
แตง. วารสารเกษตร (29)3: 257-266.
- Bearson, S., B. Bearson and J. W. Foster. 1997. Acid
stress responses in enterobacteria. pp. 135-
164. In: S. Salminen and A. Von Wright
(eds.). Lactic Acid Bacteria. Marcel Dekker,
Inc. New York.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in human and animals.
Journal of Applied Bacteriology 66: 1430-
1434.
- Hoon, P., Y. C. Hung and D. Chung. 2004. Effects of
chlorine and pH on efficacy of electrolyzed
water for inactivating *Escherichia coli*
O157:H7 and *Listeria monocytogenes*.
Food Microbiology 91: 13-18.
- Johnson T. R. and C. L. Case. 2013. Koch's
Postulates. Laboratory experiments in
microbiology, Tenth Edition. 317-325.
(Online). Available:
[http://www.learningace.com/doc/7755731/d0da6c21dc5ca6eca71df599500bea97/40-](http://www.learningace.com/doc/7755731/d0da6c21dc5ca6eca71df599500bea97/40-koch-s-postulates)
koch-s-postulates (August 18, 2014).
- Muhammad, I. A., Y. Seo, S. Oshits and Y. Kawagoe.
2002. Disinfection effects of electrolyzed
oxidizing water on suppressing fruit rot of
pear caused by *Botryosphaeria*
berengeriana. Food Research International
35: 657-664.
- Sakurai, Y. M., N. Y. Sato and K. Sato. 2003.
Endoscope contamination from HBV- and
HCV- positive patients and evaluation of a
cleaning/disinfecting method using strongly
acidic electrolyzed water. Digestive
Endoscopy 15: 19-24.
- U. S. Food and Drug Administration. 2001.
Microbiological safety of controlled and
modified atmosphere packaging of fresh
and fresh-cut produce. In Analysis and
Evaluation of Preventive Control Measures
for the Control and Reduction/Elimination of
Microbial Hazards on Fresh and Fresh-cut
Produce. (Online). Available:
<http://www.fda.gov> (June 3, 2014).