

ประสิทธิภาพของนาโนซิงค์ออกไซด์ร่วมกับน้ำตาลต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำยาปักแจกันและปรับปรุง  
คุณภาพดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สีนทราຍบูลหลังการเก็บเกี่ยว  
Efficacy of Nano Zinc Oxide Combined with Sugar on Reducing Microbial Load in Vase Solution  
and Improving the Quality of 'Sansai Blue' Vanda orchid after Harvest

วิรัชญา แผงพนม<sup>1,2</sup>, จุฑามาศ พร้อมบุญ<sup>1,2</sup>, ผ่องเพ็ญ จิตอารีรัตน์<sup>1,2</sup> และ มณฑนา บัวทอง<sup>1,2</sup>  
Pangpanom, W.<sup>1,2</sup>, Promboon, J.<sup>1,2</sup>, Jitareerat, P.<sup>1,2</sup> and Buanong M.<sup>1,2</sup>

### Abstract

Efficacy of nano Zinc oxide (ZnO) on microbial load in vase solution of 'Sansai Blue' *Vanda* orchid was investigated in total plate count agar contained with 0.01 and 0.05% nano-ZnO, compared to sterile water, and 0.5% HCl + 95% EtOH (HCl + EtOH) as the solvent of nano-ZnO. The result showed that 0.05% nano-ZnO completely inhibited the microbial growth. The effect of nano-ZnO on the quality of harvested orchid was investigated by holding inflorescences in distilled water (control), 2% sucrose, and 0.05% nano-ZnO + 2% sucrose at 21±2 °C. Treatment of nano-ZnO + sucrose significantly delayed respiration rate and maintained anthocyanin content in petals better than sucrose alone ( $p \leq 0.01$ ), no microbial load was not detectable within 8 days, and the vase life was the longest (9.6 days). Moreover, microbial load was found in control and sucrose treatment, which their vase life was 9.3 and 7.3 days, respectively.

**Keywords:** Vanda, nano Zinc Oxide, sucrose, quality

### บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของนาโนซิงค์ออกไซด์ (nano-ZnO) ต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำยาปักแจกันของดอกกล้วยไม้แวนด้าพันธุ์สีนทราຍบูล ทำการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ Total plate count agar ที่ผสม nano-ZnO เข้มข้น 0.01 และ 0.05% เปรียบเทียบกับน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ และกรดไฮโดรคลอริก 0.5 % ในเอทานอล 95 % (HCl + EtOH, ใช้เป็นตัวทำละลาย nano-ZnO) พบว่า nano-ZnO 0.05% ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้สมบูรณ์ การศึกษาผลของ nano ZnO ร่วมกับน้ำตาลต่อคุณภาพของดอกกล้วยไม้ โดยปักช่อดอกในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม), ซูโครส 2% และ nano-ZnO 0.05% + ซูโครส 2% วางไว้ที่ 21±2 องศาเซลเซียส พบว่า nano-ZnO + ซูโครส ชะลออัตราการหายใจและคงปริมาณแอนโทไซยานินในกลีบดอกได้ดีกว่ากล้วยไม้ที่ปักในซูโครส ( $p \leq 0.01$ ) และไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำยาปักแจกันนาน 8 วัน ตลอดจนมีอายุการปักแจกันนานที่สุด (9.6 วัน) ส่วนชุดควบคุมและชุดที่ปักในซูโครส พบเชื้อจุลินทรีย์เจริญในน้ำปักแจกันเพิ่มขึ้นระหว่างปักแจกัน และมีอายุการปักแจกันเท่ากับ 9.3 และ 7.3 วัน ตามลำดับ

**คำสำคัญ:** กล้วยไม้สกุลแวนด้า นาโนซิงค์ออกไซด์ น้ำตาลซูโครส คุณภาพ

### คำนำ

การอุดต้นของท่อลำเลียงน้ำมีสาเหตุจากฟองอากาศหรือเชื้อจุลินทรีย์นั้น มีผลไปขัดขวางการลำเลียงน้ำ จนทำให้ดอกไม้เกิดสภาวะขาดน้ำและเหี่ยว (Van Meeteren และคณะ, 2001; Henriette และ Clerckx, 2001) โดยเซลล์ของกลีบดอกสูญเสียความเต่งเนื่องจากการดูดน้ำและการคายน้ำไม่สมดุลกัน ดังนั้น การเติมสารส่งเสริมคุณภาพในน้ำปักแจกันจึงสามารถยืดอายุการใช้งานของดอกไม้ได้ สารส่งเสริมคุณภาพมีองค์ประกอบสำคัญ 2 อย่าง คือ สารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ และน้ำตาลซึ่งใช้เป็นแหล่งพลังงานให้แก่ดอกไม้ โดยน้ำตาลที่นิยมใช้มากที่สุดเพราะหาง่ายและราคาไม่แพง คือ ซูโครส สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นของการหายใจ และกระตุ้นให้ดอกบานได้ (Pun และ Ichimura, 2003) สังกะสี (ซิงค์) เป็นธาตุอาหารรองของพืช หากอยู่ในรูป zinc oxide (ZnO) จะมีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ และ ZnO ที่อยู่ในรูปอนุภาคระดับนาโน (nano-ZnO) จะมีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีขึ้น

<sup>1</sup> สาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (บางขุนเทียน) 49 ซอยเทียนทะเล 25 ถนนบางขุนเทียน  
ซอยทะเล แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร 10150

<sup>1</sup> Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi (Bangkhuntien),  
49 Tientalay 25, Thakam, Bangkhuntien, Bangkok 10150, Thailand

<sup>2</sup> ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพมหานคร 10400

<sup>2</sup> Postharvest Technology Innovation Center, Office of the Higher Education Commission, Bangkok 10400, Thailand

Priyanka and Arun (2013) พบว่า nano-ZnO มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่า ZnO การใช้ nano-ZnO ยังช่วยลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของมะนาว (ชีวะ และคณะ, 2560) และโรคราแป้งของมะม่วงได้ (สุปราณี, 2558) ในสตรอเบอร์รี่ พบว่า nano-ZnO ช่วยลดการสูญเสียน้ำหนัก, รักษาความแน่นเนื้อ, คงปริมาณแอนโทไซยานิน, วิตามินซี, ปริมาณฟีนอล, กิจกรมสารต้านอนุมูลอิสระ และลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ (Ommol และคณะ, 2016) งานวิจัยนี้ จึงมุ่งศึกษาประสิทธิภาพของนาโนซิงค์ออกไซด์ร่วมกับสารละลายซูโครสเพื่อลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำยาปักแจกันและปรับปรุงคุณภาพดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์สันทรายบูลหลังการเก็บเกี่ยว

### อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียม nano-ZnO - ละลาย nano-ZnO ด้วยกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 0.5 % ในเอทานอล เข้มข้น 95 % จากนั้นปรับค่า pH เท่ากับ 6 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ และเติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

การทดสอบประสิทธิภาพของ nano-ZnO ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในสภาพ *in vitro* - นำเชื้อแบคทีเรีย (ที่แยกจากน้ำปักแจกันกล้วยไม้) ที่ความเข้มข้น  $10^8$  CFU mL<sup>-1</sup> (OD = 0.1) มาเกลี่ยลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่ผสม nano-ZnO เข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0.01 และ 0.05% และบ่มที่ 37°C นาน 24 ชั่วโมง บันทึกผลโดยนับจำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์บนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ และรายงานผลเป็น log CFU mL<sup>-1</sup>

การทดสอบประสิทธิภาพของ nano-ZnO ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในสภาพ *in vivo* - นำช่อดอกกล้วยไม้ที่มีดอกบาน 5-8 ดอก และดอกตูม 2-4 ดอก จากฟาร์มกล้วยไม้สำเนาออร์คิด จ.กาญจนบุรี มาปักแจกันในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม), ซูโครส 2% และ nano-ZnO 0.05% + ซูโครส 2% และวางไว้ที่อุณหภูมิ  $21 \pm 2^\circ\text{C}$  ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70 % ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ นาน 12 ชั่วโมงต่อวัน วางแผนการทดลองแบบ completely in randomized design แต่ละวิธีการทดลองมี 6-8 ช่อดอก (ซ้ำ) และวิเคราะห์ค่าทางสถิติ (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษา พบว่า nano-ZnO มีประสิทธิภาพลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 0.05% ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนที่ความเข้มข้น 0.01% พบเชื้อ  $4.34 \log \text{CFU mL}^{-1}$  ในขณะที่ชุดควบคุม (SDW) และ HCl + EtOH มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์สูงที่สุด เท่ากับ 7.98 และ 7.70 CFU mL<sup>-1</sup> ตามลำดับ (Table 1) ทั้งนี้เนื่องจาก nano-ZnO มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อรา (Snoop และคณะ, 2012) และเชื้อแบคทีเรียบางชนิด (Wahab และคณะ, 2012) ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อยังขึ้นอยู่กับขนาดอนุภาค nano-ZnO ที่มีขนาดน้อยกว่า 12 นาโนเมตร จะมีผลยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่าอนุภาคขนาด 25 นาโนเมตร ขึ้นไป โดยอนุภาคขนาดเล็กกว่าเมื่อเกิด Photocatalytic จะทำให้เกิดอิเล็กตรอนเพิ่มขึ้นได้มากกว่าอนุภาคขนาดใหญ่ ซึ่งอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้ Superoxide radical anion และทำปฏิกิริยาต่อไปกับไฮโดรเจนไดออกไซด์ Hydrogen superoxide และเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องระหว่าง Hydrogen superoxide กับไฮโดรเจนไดออกไซด์และอิเล็กตรอนได้ Hydrogen peroxide ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์แบคทีเรีย (Prasanna และ Vijayaraghavan, 2015) He และคณะ (2011) รายงานว่า nano-ZnO ที่  $3 \text{ mM} \cdot \text{L}^{-1}$  สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. expansum* ในผลแอปเปิ้ลได้ และ nano-ZnO ที่มีขนาดอนุภาค 6 นาโนเมตร ช่วยยับยั้งเชื้อรา *A. Alternata* ในส้มแมนดาริน (Sardella และคณะ, 2017) จากการศึกษา เมื่อนำ nano-ZnO 0.05% มาใช้ร่วมกับซูโครส 2 % (nano-ZnO + Su) เพื่อเป็นน้ำยาปักแจกันโดยเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น (DW, ชุดควบคุม) และซูโครส (Su) เพียงอย่างเดียว พบว่า ดอกกล้วยไม้ที่ปักแจกันใน DW และ nano-ZnO + Su และ Su มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสดและการดูดน้าลดลงตลอดระยะเวลาการปักแจกันและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Figures 1A, 1B) แต่การปักช่อดอกกล้วยไม้ใน Su มีอัตราการหายใจสูงกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ ในช่วง 4 วันแรกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 1C) อาจจะเป็นเนื่องมาจากดอกไม้ใช้น้ำตาลในกระบวนการหายใจและได้พลังงาน (ATP) ซึ่งจะถูกนำไปใช้ในกระบวนการต่างๆ (Halevy and Mayak, 1979) นอกจากนี้ กล้วยไม้ที่ปักแจกันในน้ำยาปักแจกันที่มีซูโครสเป็นองค์ประกอบมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในกลีบดอกมากกว่ากล้วยไม้ที่ปักใน DW (Figure 1D) และการเติม nano-ZnO ทำให้ค่า pH ของน้ำปักแจกันลดลงประมาณ 2.29 ซึ่งสภาพที่เป็นกรดมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะที่ pH 3 หรือต่ำกว่า (Ketsa และ Narkbua, 2001) ในขณะที่ดอกกล้วยไม้ที่ปักแจกันใน DW และ Su มีค่า pH ในน้ำยาปักแจกัน เท่ากับ 6.31 และ 5.05 ตามลำดับ pH ยังมีผลต่อความคงตัวของสารสีแอนโทไซยานิน ในสภาวะ pH ต่ำ จะทำให้สารแอนโทไซยานินมีความคงตัวมากกว่าที่ pH สูง (รัตน และคณะ, 2557) จากการศึกษา nano-ZnO + Su และ DW สามารถคงปริมาณแอนโทไซยานินในกลีบดอกได้ ในขณะที่ดอกกล้วยไม้ที่ปักแจกันใน Su มีปริมาณแอนโทไซยานินลดลงอย่างช้า ๆ ตลอดระยะเวลาการปักแจกัน (Figure 1E) ทั้งนี้การให้น้ำตาลจากภายนอกต่อความเสถียรของแอนโทไซยานินนั้นขึ้นอยู่กับโครงสร้าง, ความเข้มข้น และชนิดของน้ำตาล เช่น ซูโครส 20% สามารถเพิ่ม

ความเสถียรตัวของแอนโทไซยานินในสตรอเบอรี่แช่แข็งได้ (Wrolstad และคณะ, 1990) ในขณะที่ซูโครส  $86 \text{ g L}^{-1}$  ส่งผลให้มีการสลายตัวของแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นในเครื่องดื่มที่ผสมกระหล่ำปลีสีแดง, blackcurrant และ elderberry (Dyrby และคณะ, 2001) การปักแช่ดอกกล้วยไม้ในสารละลาย Su ยังพบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำปักแจกันเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการปักแจกัน (Figure 1F) เนื่องจากน้ำตาลเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ในน้ำปักแจกันเจริญอย่างรวดเร็วและมีผลไปอุดตันท่อลำเลียงน้ำของดอกไม้ (สายชล, 2539) ดอกกล้วยไม้ที่ปักแช่ใน nano-ZnO + Su มีอายุปักแจกันนานที่สุด เท่ากับ 9.6 วัน รองลงมา คือ DW (ชุดควบคุม) เท่ากับ 9.3 วัน และในสารละลาย Su มีอายุปักแจกันสั้นที่สุด เท่ากับ 7.33 วัน (Figure 1G) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Deepshikha และคณะ (2018) ที่รายงานว่า nano-ZnO มีผลลดจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ในน้ำปักแจกันดอกเยอบีร่า ลดการอุดตันของท่อลำเลียงน้ำ และเพิ่มอัตราการดูดน้ำ จึงสามารถชะลอการเสื่อมสภาพของดอกเยอบีร่าได้

### สรุปผล

nano-ZnO ความเข้มข้น 0.05% สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำปักแจกันดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์ ‘สันทรายบุปผา’ ได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้สมบูรณ์ และเมื่อนำมาใช้เป็นน้ำปักแจกันโดย พบว่า nano-ZnO 0.05% + น้ำตาลซูโครส 2% สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำปักแจกัน และรักษาคุณภาพของดอกกล้วยไม้ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กากถั่วและน้ำตาลซูโครสเพียงอย่างเดียว

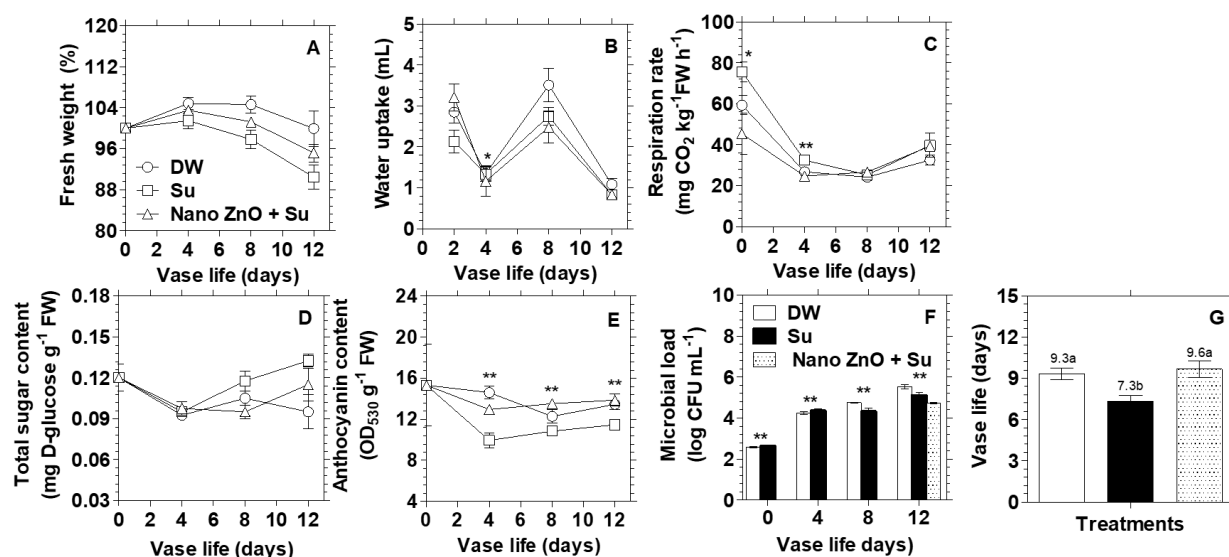
### คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ The United Graduate School of Agricultural Science (UGSAS), Gifu University, Japan ที่สนับสนุนเครื่องมือวิทยาศาสตร์ในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

- วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง, 2559, นาโนซิงค์ออกไซด์ลดโรคแคงเกอร์ในมะนาว, <http://www.nano.kmitl.ac.th/index.php>. [เข้าถึงเมื่อ 30 สิงหาคม 2559]
- รัตนา ม่วงรัตน์, กรวิกา สกุลไกรพิระ, ธัญญารัตน์ บุระคา และลีลาวดี ขมนาน, 2557, ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารแอนโทไซยานินจากข้าวโพดสีม่วง, วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 22 (3): 367-380.
- สายชล เกตุษา, 2531, เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวของดอกไม้, ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 291 หน้า.
- Dyrby, M., Westergaard, N. and Stapelfeldt, H., 2001, Light and Heat Sensitivity of Red Cabbage Extract in Soft Drink Model Systems, Food Chemistry, 72: 431-437.
- He, L., Liu, Y., Mustapha, A. and Lin, M., 2011, Antifungal Activity of Zinc Oxide Nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*, Microbiology Research, 166: 207-215.
- Henriette, M.C. and Clerx, A.C.M., 2001, Anatomy of Cut Rose Xylem Observed by Scanning Electron Microscope, Acta Horticulturae, 547: 329-339.
- Ketsa, S. and Narkbua, N., 2001, Effect of Aminooxyacetic Acid and Sucrose on Vase Life of Cut Roses, Acta Horticulturae, 943: 227-234.
- Prasanna, V.L. and Vijayaraghavan, R., 2015, Insight into the Mechanism of Antibacterial Activity of ZnO: Surface Defects Mediated Reactive Oxygen Species even in the Dark, Langmuir, 31: 9155-9162.
- Priyanka, S. and Arun, N., 2013, Antimicrobial and Antifungal Potential of Zinc Oxide Nanoparticles in Comparison to Conventional Zinc Oxide Particles, Journal of Chemical Pharmaceutical Research, 5: 457-463.
- Pun, U.K. and Ichimura, K., 2003, Role of Sugars in Senescence and Biosynthesis of Ethylene in Cut Flowers, Japan Agricultural Research Quarterly, 4: 219-224.
- Raghupathi, K.R., Koodali, R.T. and Manna, A.C., 2011, Size-dependent Bacterial Growth Inhibition and Mechanism of Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles, Langmuir, 27: 4020-4028.
- Rattanawisalanon, C., Ketsa S. and van Doorn, W.G., 2003, Effect of Aminooxyacetic Acid and Sugars on the Vase Life of Dendrobium Flowers, Postharvest Biology and Technology, 29: 93-100.

- Sanoop, P.K., Mahesh, K.V., Nampoothiri, K.M., Mangalaraja, R.V. and Ananthakumar, S., 2012, Multifunctional ZnO-biopolymer Nanocomposite Coatings for Health-care Polymer Forms and Fabrics, *Journal of Applied Polymer Science*, 126: 232-243.
- Sardella, D., Gatt, R. and Valdramidis, V.P., 2017, Physiological Effects and Mode of Action of ZnO Nanoparticles against Post-harvest Fungal Contaminants, *Food Research International*, 101: 274-279.
- Van Meeteren, U., Van Iberen, W., Nijse, J. and Keijzer, K., 2001, Processes and Xylem Antimicrobial Properties Involved in Dehydration Dynamics of Cut Flowers, *Acta Horticulturae*, 543: 207-211.
- Wahab, R., Mishra, A., Yun, S.-I., Hwang, I.H., Mussarat, J., Al-Khedhairi, A.A., Kim, Y.-S. and Shin, H.S., 2012, Fabrication, Growth Mechanism and Antibacterial Activity of ZnO Micro-spheres Prepared via Solution Process, *Biomass and Bioenergy*, 39: 227-236.
- Wrolstad, R.E., Skrede, G., Lea, P. and Enersen, G., 1990, Influence of Sugar on Anthocyanin Pigment Stability in Frozen Strawberries, *Journal of Food Science*, 55: 1064-1065.



**Figure 1** Fresh weight (A), water uptake (B), respiration rate (C), total sugar content (D), anthocyanin content (E), microbial load (F) and vase life (G) of Vanda orchid ‘Sansai Blue’ holding in distilled water (DW, control), 2% sucrose and 0.05% nano-ZnO + 2% sucrose in an observation room ( $21 \pm 2$  °C, 60-70% RH, under cool-white fluorescence lights for 12 hours) throughout experimental period. The asterisks represent significant differences at  $p \leq 0.05$  (\*) and  $p \leq 0.01$  (\*\*) by Duncan’s Multiple Range Test (DMRT).

**Table 1** Microbial load on total plate count *in vitro*. The treatments included sterile distilled water (control), 0.01%, 0.05% nano-ZnO and 0.05% HCl + 95%EtOH incubated at 37 °C for 24 hours.

Treatments	Microbial load <sup>1/</sup> (Log CFU ml <sup>-1</sup> )
SDW (control)	7.98
HCl + EtOH	7.70
0.01% Nano-ZnO	4.34
0.05% Nano-ZnO	0.00
<b>F-test.</b>	<b>**</b>
<b>C.V. (%)</b>	<b>1.85</b>

<sup>1/</sup> = The results represent means of 4 replicates. Means within the same column with different letters are significantly different by Duncan’s Multiple Range Test (DMRT). Asterisks represent significant differences at  $p \leq 0.01$  (\*\*).