ผลการใช้พลาสมาระบบความดันบรรยากาศกำจัดเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์พริก พันธุ์จักรพรรดิ

Effects of Atmospheric Pressure Plasma for Pepper Seed (Cv.Jakkra-pat) Fungal Decontamination

อังคณา สบบง[1] ภาณุพงศ์ ยอดวงศ์[2] ธีรวรรณ บุญญวรรณ[2,5] อรอุมา เรืองวงษ์[3] ชนม์เจริญ แสวงรัตน์[4,5]และสงวนศักดิ์ ธนาพรพูนพงษ์[1,6]

Aungkhana Sobbong[1] Panupong Yordwong[2] Dheerawan Boonyawan[2, 4] On-Uma Ruangwong[3] Choncharoen Sawangrat[4] and Sa-nguansak Thanapornpoonpong[1, 6]

Abstract

Effect of atmospheric-pressure plasma for fungal decontamination of pepper seed (cv. Jakkra-pat) was studied. The experiment was conducted by using a completely randomized design (CRD), with 4 replications. The pepper seeds were treated with plasma electric power at 120 and 180 watts for 5, 7 and 10 minutes. Gas flow rate was set up at 20.0± 0.2 lite per minutes. The seeds without plasma treatment were served as control. The result showed that plasma electric power at 120 watts for 5, 7 and 10 min and 180 watts for 5 and 7 min could reduce fungal contamination on seeds. Particularly plasma electric power at 180 watts 5 min could reduce the contamination of *Curvularia* sp., *Aspergillus* sp. and *Cladosporium* sp. on pepper seeds by 100 percentages. However, the seeds qualities after treated with plasma were determined by germination percentage and index (GI). The seed germination after treated with 120 watts of plasma for 5, 7 and 10 min were equal to the control treatment. While, the highest seed germination index was found on the control and seed that treated with plasma at 120 watts for 10 min. This experiment can be concluded that plasma electric power at 120 watts for 10 min was an appropriate condition to reduce fungal contamination on pepper seeds without negative effect on seed qualities.

Keywords: atmospheric pressure plasma, seed quality, pepper seed

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการใช้พลาสมาระบบความดันบรรยากาศ เพื่อกำจัดเชื้อราที่ปนเปื้อนบนเมล็ดพริกพันธุ์จักรพรรดิ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ ทำการทดลอง โดยนำเมล็ดพันธุ์พริกมาผ่านพลาสมาที่กำลังไฟฟ้า 120 และ 180 วัตต์ ระยะเวลานาน 5, 7 และ 10 นาที และกำหนดอัตราการไหลของแก๊ส 20.0 ± 0.2 ลิตรต่อนาที และมีเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านพลาสมาเป็นชุดควบคุม ผลการทดสอบการกำจัดเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์พบว่า เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านพลาสมา 120 วัตต์ นาน 5, 7 และ 10 นาที และ 180 วัตต์ นาน 5 และ 7 นาที สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อราได้ โดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านพลาสมา 180 วัตต์ นาน 5 นาที สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อรา *Curvularia* sp., *Aspergillus* sp. และ *Cladosporium* sp. บนเมล็ดพันธุ์พริกได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามเมื่อทำการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกและค่าดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านพลาสมาที่ 120 วัตต์ นาน 5, 7 และ 10 นาที มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเทียบเท่ากับชุดควบคุม ขณะที่เมล็ดพันธุ์ผ่านพลาสมาที่กำลังไฟฟ้า 120 วัตต์ นาน 10 นาที มีค่าดัชนีการงอกสูงที่สุดเทียบเท่าเมล็ดพันธุ์ชุดควบคุม ดังนั้นการทดลองในครั้งนี้จึงสรุปได้ว่า การใช้พลาสมา 120 วัตต์ ระยะเวลานาน 10 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการลดการปนเปื้อนของเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์พริก โดยไม่มีผลต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์

คำสำคัญ: พลาสมาระบบความดันบรรยากาศ คุณภาพเมล็ดพันธุ์ เมล็ดพันธุ์พริก

---

[1] ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

[1]Department of Plant Science and Soil Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

[2]ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

[2]Department of Physics, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

[3]ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

[3]Department of Entomology and Plant pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

[4]ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

[4]Department of Industrial Engineering, Faculty of Engineering, Chiang Mai University 50200

[5]อุทยานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

[5]Science and Technology Park Chiang Mai University 50200

[6]สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว / ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

[6]Postharvest Technology Research Institute/ Postharvest Technology Innovation Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

บทนำ

เมล็ดพันธุ์พริก มักประสบปัญหาในการเข้าทำลายของเชื้อรา เชื้อสาเหตุที่สำคัญคือ เชื้อ *Curvularia* sp. และ *Aspergillus* sp. ที่ส่งผลทำให้เมล็ดพันธุ์มีความงอกลดลงถึง 30 % เพราะเชื้อราสองชนิดนี้จะทำให้เมล็ดพันธุ์เน่าและตาย โดยเชื้อราจะเริ่มทำลายบริเวณผิวภายนอกของเมล็ดพันธุ์ (seed coat) แหล่งสะสมอาหาร (endosperm) และคัพภะ(embryo) (Madsen and Neergaard, 1999) ส่งผลทำให้เกษตรกรนิยมใช้สารเคมีคลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนนำไปปลูก รวมไปถึงการใช้สารเคมีเพื่อกำจัดเชื้อราในแปลงปลูก แต่การใช้สารกำจัดเชื้อรา ในบางครั้งส่งผลกระทบต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ อีกทั้งการใช้สารเคมีในปริมาณที่มากและติดต่อกันเป็นเวลานาน จะส่งผลให้เชื้อราเกิดการกลายพันธุ์มีความต้านทานต่อสารเคมี เป็นต้น (ธนวัฒน์, 2549) ปัจจุบันผู้คนให้ความสนใจต่อผลกระทบของการใช้สารเคมีทางการเกษตร ที่มีต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม ทำให้มีการหาวิธีการที่ปลอดภัยและเป็นมิตรต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อมมาทดแทนการใช้สารเคมี

เทคโนโลยีพลาสมา ถือเป็นนาโนเทคโนโลยีแขนงหนึ่ง สามารถกำจัดเชื้อราได้และมีการใช้อย่างแพร่หลาย ทั้งในการการแพทย์ (Svetlana *et al*., 2011) ทางอุตสาหกรรมอาหาร (Brian *et al*., 2012) เป็นต้น ปัจจุบันมีการนำเอาเทคโนโลยีพลาสมา มาประยุกต์ใช้ในทางการเกษตรมากขึ้น (Mitra *et al*., 2013) เนื่องจาก การใช้พลาสมาไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของตัวอย่าง (Moreau *et al*., 2008) ในพลาสมาประกอบด้วย ไอออนบวก ไอออนลบ โฟตอน และอนุมูลอิสระ เป็นต้น โดยอนุมูลอิสระ จะเข้าไปจับกับเซลล์เชื้อราที่อยู่บริเวณผิวเมล็ดพันธุ์ ทำให้เกิดปฏิกริยา oxidaton กับสารชีวโมเลกุลในเซลล์เชื้อรา ส่งผลให้เกิดการยับยั้งกระบวนการทางชีวเคมีของเชื้อราและถูกทำลายในที่สุด (ธีรวรรณ, 2557) ดังนั้น งานวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้พลาสมาในการกำจัดเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์พริก โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1 เปรียบเทียบปริมาณของอนุมูลไฮดรอกซิล (OH radical) และอนุมูลออกไซด์ (O radical)

ทำการวัดปริมาณไฮดรอกซิล และอนุมูลออกไซด์ของพลาสมา ที่กำลังไฟฟ้า 120 และ 180 วัตต์ ด้วยเครื่อง spectrometer รุ่น avaspec 2048 ทำการวัดในช่วง 200 – 800 นาโนเมตร และแปลผลโดยใช้โปรแกรม Origin pro 8 (ดัดแปลงจาก Panngom *et al*., 2014)

การทดลองที่ 2 ตรวจสอบเชื้อรา, ทดสอบความงอกและดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์

ทำการทดลองโดย ใช้เมล็ดพันธุ์พริกพันธุ์ จักรพรรดิ จากบริษัทเพื่อนเกษตร จำกัด และเครื่องกำเนิดพลาสมา Dielectric Barrier Discharge (DBD) รุ่น PMU 330 (LG, ประเทศเกาหลี) นำเมล็ดพันธุ์พริกมาผ่านพลาสมาที่กำลัง 120 และ 180 วัตต์ ระยะเวลานาน 5, 7 และ10 นาที และใช้เมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านพลาสมาเป็นชุดควบคุม โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomize Design (CRD) มีทั้งหมด 7 กรรมวิธีๆละ 4 ซ้ำ จากนั้นนำตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านพลาสมา ทุกกรรมวิธี มาทำตรวจสอบเชื้อรา ด้วยวิธี Blotter method (Dhingra and Sinclair, 1995) การทดสอบลักษณะทางคุณภาพ โดยการทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี Top of paper (ISTA, 2006) และการวัดดัชนีความงอก (AOSA, 2009) จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีโดยวิธีหาค่า Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$)

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 เปรียบเทียบปริมาณของอนุมูลไฮดรอกซิล(OH radical) และอนุมูลออกไซด์ (O radical) ที่กำลังไฟฟ้า 120 และ 180 วัตต์

พบว่า อนุมูลไฮดรอกซิล อยู่ในช่วงความยาวคลื่น 309 นาโนเมตร และอนุมูลออกไซด์ อยู่ในช่วงความยาวคลื่นที่ 778 นาโนเมตร โดยพลาสมาที่กำลังไฟฟ้า 180 วัตต์ มีปริมาณของอนุมูลไฮดรอกซิลและอนุมูลออกไซด์ เท่ากับ 3931 และ 3952 atom unit (a.u.) สูงกว่าพลาสมาที่เกิดจากกำลังไฟฟ้า 120 วัตต์ ที่มีค่าเท่ากับ 2850 และ 2191 a.u. ตามลำดับ เนื่องจากกำลังไฟฟ้าที่สูงขึ้น ทำให้อิเล็กตรอนได้รับพลังสูงขึ้น เมื่ออะตอมของแก๊สและอิเล็กตรอนชนกัน จะทำให้เกิดการแตกตัวได้มากขึ้น (อาหลี และคณะ, 2555)

a b

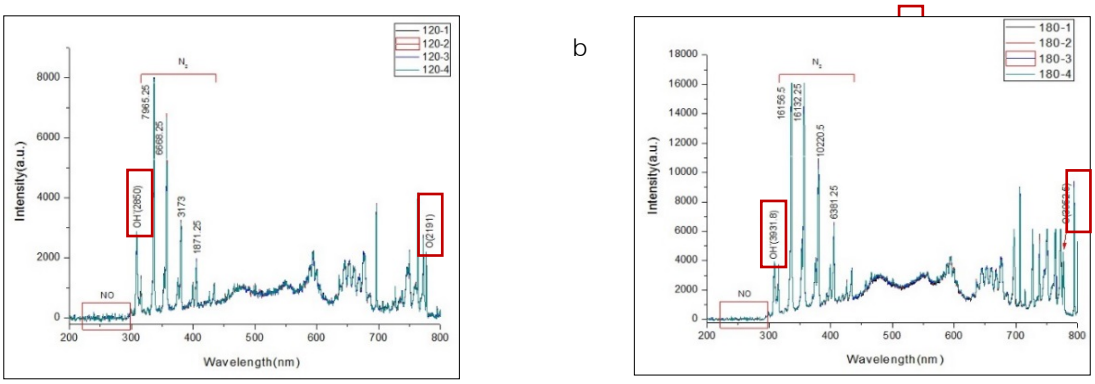

Figure 1 Optical emission spectrum (OES) of plasma generated using argon (Ar) gas at electric power 120 W (a) and 180 W (b)

การทดลองที่ 2 ตรวจสอบเชื้อราและทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์

พบว่า เมล็ดพันธุ์ผ่านพลาสมาที่กำลังไฟฟ้า 120 วัตต์ นาน 5,7 และ10 นาที และเมล็ดพันธุ์ผ่านพลาสมาที่กำลังไฟฟ้า 180 วัตต์ นาน 5 และ 7 นาที สามารถลดเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ได้สูงที่สุด (Table 1) โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ เพียง 1.00, 2.50, 0.25, 0.00 และ 0.25% ตามลำดับ โดยกำลังไฟฟ้าและระยะเวลาในการผ่านพลาสมาที่ต่างกัน มีผลต่อการกำจัดเชื้อรา (Kordas *et al*., 2015) สอดคล้องกับการทดลองของอังคณา และคณะ (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์) รายงานว่า เมล็ดพันธุ์พริกที่ผ่านพลาสมากำลังไฟฟ้า 150 วัตต์ นาน 8 นาที มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อราดีที่สุด เมื่อเทียบกับเมล็ดพันธุ์พริกผ่านพลาสมาที่กำลังไฟฟ้าต่ำและระยะเวลาที่สั้น ในด้านคุณภาพเมล็ดพันธุ์ พบว่า เมล็ดพันธุ์ในชุดควบคุมและเมล็ดพันธุ์ผ่านพลาสมาที่กำลังไฟฟ้า 120 วัตต์ นาน 5, 7 และ 10 นาที มีเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนดัชนีการงอก ในเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านพลาสมากำลังไฟฟ้า 120 วัตต์ นาน 10 นาที และเมล็ดพันธุ์ในชุดควบคุม มีดัชนีการงอกสูงที่สุด เท่ากับ 6.07 และ 6.79 (Table 2) ในขณะที่ เมล็ดพันธุ์ผ่านพลาสมาที่กำลังไฟฟ้า 180 วัตต์ นาน 5, 7 และ 10 นาที มีเปอร์เซ็นต์ความงอกและดัชนีการงอกต่ำที่สุด เนื่องจากเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านพลาสมากำลังไฟฟ้าสูงและระยะเวลานานเปลือกของเมล็ดพันธุ์จะเกิดความเสียหาย เพราะพลาสมาจะเข้าไปกร่อนผิวเมล็ดพันธุ์ ทำให้ผิวเมล็ดพันธุ์บางลง (Filatova *et al*., 2013) ส่งผลให้คุณภาพลดลงและไวต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา เป็นเหตุให้เมล็ดพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ความงอกและดัชนีการงอกลดลง (Mitra *et al*., 2013)

Table 1 The percentage of fungal contamination on pepper seeds after plasma treatment

		Duration of exposure					
		120 W			180 W		
Species	Control (%)	5 min	7 min	10 min	5 min	7 min	10min
Curvularia sp.	0.25	-	-	-	-	-	3.25
Aspergillus sp.	6.75	0.75	2.25	-	-	-	2.00
Cladosporium sp.	4.75	-	-	-	-	-	3.00
Other	0.25	0.25	0.25	-	-	0.25	-
total	12.00a	1.00b	2.50b	0.25b	0.00b	0.25b	8.25a
F-test				*			
$LSD_{0.05}$				5.38			
CV %				105.64			

[1]Mean values within a column followed by the same letter do not differ significantly LSD at P ≤ 0.05

Table 2 Effect of plasma on germination and germination index

Treatment	Germination (%)[1]	Germination Index[1]
Control	67a	6.79a
120W 5 min	60a	5.39b
120W 7 min	63a	5.70b
120W 10 min	66a	6.07ab
180W 5 min	42b	3.23c
180 W 7 min	40b	3.09c
180 W 10 min	43b	3.43c
F-test	*	*
$LSD_{0.05}$	7.83	0.83
CV %	9.75	11.24

[1]Mean values within a column followed by the same letter do not differ significantly to LSD at P ≤ 0.05

สรุปผลการทดลอง

เมล็ดพันธุ์พริกผ่านพลาสมาที่กำลังไฟฟ้า 120 วัตต์ ระยะเวลานาน10 นาที มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดการปนเปื้อนของเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ และไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์พริก

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ บริษัท เพื่อนเกษตร จำกัด และ สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว/ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ธนวัฒน์ อัมรามร. 2549. พริกผักกินผลร้อนแรงแห่งปี. เคหการเกษตร. 30(4): 70-90.

ธีรวรรณ บุญยวรรณ. 2557. เจ็ทพลาสมาความดันบรรยากาศแบบดิจิตอลเพื่อ การปลอดเชื้อชิ้นงานการแพทย์ และทันตกรรม. [ระบบออนไลน์]. แหล่งข้อมูล: http://www.nstda.or.th/investorsday/2014/wp-content/uploads/2014/06/1-5_JetPlasma.pdf. (29 มกราคม 2558).

อังคณา สบบง, ภาณุพงศ์ ยอดวงศ์, ธีรวรรณ บุญญวรรณ, อรอุมา เรืองวงษ์, ชนม์เจริญ แสวงรัตน์ และสงวนศักดิ์ ธนาพรพูนพงษ์. อยู่ระหว่างตีพิมพ์. ผลของกำลังไฟฟ้า และระยะเวลาในการประยุกต์ใช้ Non-thermal plasma กำจัดเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์พริก. *ใน*: การประชุมวิชาการเมล็ดพันธุ์แห่งชาติ ครั้งที่ 12 วันที่ 9-11 มิถุนายน 2558. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีล้านนา, ลำปาง.

อาหลี ตำหมัน, ประจักษ์ แซ่อึ้ง และ ยุทธนา ฏิระวณิชย์กุล. 2555. ผลการควบคุมกำลังของพลาสมาโดยการเปลี่ยนแปลงแรงดันไฟฟ้า ความถี่ และการปรับเปลี่ยนความหนาแน่นของพัลส์ที่ความดันบรรยากาศ. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา 17(2) : 167-173

AOSA. 2009. Seedling evaluation handbook. Contribution.No.35.Association of Official Seed Analysts, Lincoln, Nebraska. pp. 20-73.

Brian. P.D., D. Dobrynin, G. Fridman, Y. Mukhin, A. Friman and J.J. Quialan. 2012. Treatment of raw poultry with non-thermal dielectric barrier discharge plasma to reduce *Campylobacter jejuni* and *Salmonella enterica*. Journal of Food Protect. 75(1): 22-28.

Kordas, L., W. Pusz, T. Czapka and R. Kacprzyk. 2015. The effect of low-temperature plasma on fungus colonization of winter wheat grain and seed quality. Polish Journal of Environmental Studies 24(1): 433-438.

Dhingra, D. O. and J. B. Sinclair. 1995. Basic plant pathology methods. 2nd Edition. CRC press, USA.

Filatova. I., V. Azharonok, A. Zhukovsky, K. Spasic, S.Zivkovic, N. Puac, S. lazovic, G. Malovic and Z. L. Petrovic. 2013.

Plasma seeds treatment as a promising technique for seed germination improvement. ICPIG. 31:1-4.

ISTA. 2006. International Rules for Seed Testing, Seed Science and Technology. The International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.

Madsen, A.M. and E. de Neergaard. 1999. Interactions between the mycoparasite *Pythium oligandrum* and sclerotia of the plant pathogen *Sclerotin sclerotiorum*. European Journal of Plant Pathology.105: 761-768.

Mitra. A., Y.F. Li, T.G. Klampfl, T. Shimizu, J. Jeon, G.E. Morfill and J.L. Zimmermann. 2013. Interaction of surface – borne microorganisms and increase germination of seed specimen by cold atmospheric plasma. Food Bioprocess Technology 7(3): 645-653.

Moreau.M., N. Orange and M.G.J. Feuilloley. 2008. Non-thermal plasma technology: new tools for bio-decontamination. Biotechnology Advances 26: 610-617.

Panngom, K., S.H. Lee, D.H. Park, G.B. Sim, Y.H. Kim, H.S. Uhm, G. Park and E.H. Choi. 2014. Non-thermal plasma treatment diminishes fungal viability and up- regulates resistance genes in plant host. PLOS ONE. 9(6): 1-12.

Svetlana A.E., F.A. Varfolomeev,M.Y. Chernukha, D.S. Yurov, M.M. Vasiliev, A.A. Kaminskaya, M.M. Moisenovich, J.M. Romanova, A.N. Murashev, I.I. Selezneva, T. Shimizu, E.V. Sysolyatina, I.A. Shaginyan, O.F. Petrov, E.I. Mayevsky, V.E. Fortov, G.E. Morfill, B.S. Naroditsky and A.L. Gintsburg. 2011. Bactericidal effects of non-thermal argon plasma invitro, in biofilms and in the animal model of infected wounds. Journal of medical microbiology 60: 75-83.