แก่นเกษตร 47 (2) : 361-370 (2562). KHON KAEN AGR. J. 47 (2) : 361-370 (2019). /doi: 10.14456/kaj.2019.28

ผลของการเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยสารเรืองแสงต่อคุณภาพและการเรืองแสงของเมล็ดพันธุ์แตงกวาลูกผสม

Effects of Seed Coating with Fluorescent Compound on Quality and Fluorescence of Hybrid Cucumber Seeds

เกศินี ถนอมขวัญ[1*], คณิต วิชิตพันธุ์[2] และ บุญมี ศิริ[1*]

Kaesinee Thanomkwan[1], Kanit Vichitphan[2] and Boonmee Siri[1*]

บทคัดย่อ: การป้องกันการปลอมเมล็ดพันธุ์โดยวิธีการสร้างเอกลักษณ์ให้กับเมล็ดพันธุ์แตงกวา โดยการเคลือบร่วมกับสารเรืองแสง เป็นการทำเครื่องหมายเมล็ดพันธุ์ในรูปแบบที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาชนิดและความเข้มข้นของสารเรืองแสงที่เหมาะสมในการเคลือบเมล็ดพันธุ์แตงกวา โดยการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ และการเรืองแสงของเมล็ดพันธุ์แตงกวาหลังการเคลือบร่วมกับสารเรืองแสงชนิดต่างๆ โดยดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีทางเมล็ดพันธุ์ โรงงานปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์ คณะเกษตรศาสตร์ และตรวจสอบคลื่นการเรืองแสงของเมล็ดพันธุ์ที่ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ โดยใช้ Polyvinylpyrrolidone (PVP-K30) ที่ความเข้มข้น 7 % เป็นสารเคลือบ และเคลือบร่วมกับสารเรืองแสง 3 ชนิด คือ rhodamine B, curcumin และ auramine O โดยแต่ละชนิดใช้ความเข้มข้นเท่ากันคือ 0.1%, 0.5% และ 1.0% จากการทดลองพบว่า เมล็ดพันธุ์แตงกวาที่ผ่านการเคลือบด้วยสารเรืองแสงทั้ง 3 ชนิด ไม่ทำให้ความงอก และความเร็วในการงอกของเมล็ดพันธุ์แตกต่างกัน แต่เมื่อนำไปเร่งอายุพบว่า เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วย auramine O ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0% ทำให้ความงอกและความเร็วในการงอกลดลงมากกว่าวิธีการอื่นๆ เมื่อตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการส่วนการเรืองแสงลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อตรวจสอบการเรืองแสงภายใต้แสงยูวี และจากการตรวจด้วยเครื่อง Spectrophotometer พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วย rhodamine B, curcumin และ auramine O จะปรากฏที่ช่วงความยาวคลื่น 610, 540 และ 525 นาโนเมตร ตามลำดับ ดังนั้นจากการทดลองนี้สรุปได้ว่าการเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารเรืองแสง rhodamine B ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นวิธีการที่เหมาะสมในการเคลือบเมล็ดพันธุ์แตงกวาเพื่อการป้องกันการปลอมแปลงเมล็ดพันธุ์ทำให้ยากต่อการเลียนแบบ และสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์ได้

คำสำคัญ: เมล็ดพันธุ์ปลอม ความงอก การเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ อัลตราไวโอเลต ความยาวคลื่น

ABSTRACT: The Anti-counterfeit on cucumber seeds made by coating with fluorescent compound creates the invisible mark onto the surface of the seed; in a format that can't be seen with the naked eye. The objective of this experiment was to study the optimum type and concentration of fluorescent substances to identify the cucumber seeds including the quality and efficiency of the fluorescence of cucumber seeds after coating with different types of

Received August 20, 2018
Accepted December 19, 2018

[1] สาขาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002
Program in Agronomy, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002
[2] ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002
Department of Biotechnology, Faculty of Technology, Khon Kaen University, Khon Kaen40002
* Corresponding author: boonmee@kku.ac.th

fluorescent substances. The experiment was conducted at Seed Technology Section of Seed Processing Plant, Faculty of Agriculture while the detection of the fluorescence on the seed was implemented at Central Laboratory, Faculty of Technology Khon Kaen University. The experimental design was completely randomized design with three replications. Seed coating were used Polyvinylpyrolidone (PVP-K30) at 7% concentration for coating substances. Three types of fluorescent substances were used: rhodamine B, curcumin and auramine O at the rates of 0.1%, 0.5% and 1.0%. After seed coating and accelerated ageing, the evaluation and detection on seed quality showed the result that germination and speed of germination of coated seeds with three types of fluorescent compound at all three concentration rates were not significantly different. But which accelerated aging coated seed with auramine O at the rates of 0.5 and 1.0% showed decline of the germination percentage and speed of germination more than any other methods, when tested in laboratory. The fluorescence decreased slightly when detected under UV-light. Then the detection by spectrophotometer found that coated seed with rhodamine B, curcumin and auramine O had fluorescence at the maximum wavelength of 610, 540 and 525 nm, respectively. The experiment concluded that the seed coating with rhodamine B at the rate of 0.5% the most suitable method for coating cucumber seeds in prevention of counterfeit seeds and is difficult to imitate which could be used in the seed industry.
Keywords: counterfeit seed, germination, accelerated aging, ultraviolet, wavelength

บทนำ

แตงกวาเป็นพืชผักที่นิยมนำมาประกอบอาหารและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ จึงมีพื้นที่ปลูกทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย ด้วยเหตุนี้แตงกวาจึงจัดเป็นพืชผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากเป็นอันดับต้น ๆ ของไทย และมีการผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อส่งออกถึง 64,321 กิโลกรัม ซึ่งมีมูลค่ากว่า 291.49 ล้านบาท (สมาคมการค้าเมล็ดพันธุ์ไทย, 2560) และพบรายงานว่าเมล็ดพันธุ์แตงกวามีมูลค่าสูง อีกทั้งยังเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ จากความสำคัญดังกล่าวทำให้บุคคลบางกลุ่มแสวงหาผลประโยชน์จากธุรกิจการค้าเมล็ดพันธุ์ โดยนำเมล็ดพันธุ์ที่ไม่มีคุณภาพมาทำการปลอมแปลง หรือลอกเลียนแบบ (พจนา และคณะ 2557) ซึ่งเมล็ดพันธุ์ปลอมนี้อาจเป็นเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพต่ำกว่ามาตรฐานหรือมีคุณภาพไม่ตรงตามสายพันธุ์ ทำให้ผลผลิต และคุณภาพของผลผลิตทางการเกษตรลดลงอย่างมาก (Gao and Zhou, 2005 อ้างถึงใน Guan et al., 2013b) จากปัญหาดังกล่าวทำให้หน่วยงานต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับเมล็ดพันธุ์ พยายามที่จะป้องกัน และกำจัดเมล็ดพันธุ์ปลอมเหล่านี้ออกไปจากตลาด แต่เป็นเรื่องยากที่จะประสบความสำเร็จเนื่องจากการพัฒนาที่บรรจุภัณฑ์ไม่สามารถป้องกันการปลอมเมล็ดพันธุ์ได้และยังสามารถลอกเลียนแบบได้ง่าย (Cai, 2009; Wang, 2009 อ้างถึงใน Guan et al., 2013c)

ดังนั้นการนำเทคโนโลยีการเคลือบเม็ดยามาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์จัดเป็นเทคนิคหนึ่งที่จะช่วยต่อต้านการปลอมเมล็ดพันธุ์ได้ โดยการเคลือบ (coating) เป็นการนำพาสารให้ติดไปกับเมล็ดพันธุ์อย่างบางเบา สม่ำเสมอ และติดแน่นรอบผิวของเมล็ด (Taylor and Harman, 1990) และถ้าเติมสารที่มีคุณสมบัติในการเรืองแสงเข้าไปจะยิ่งยากต่อการลอกเลียนแบบ เนื่องจากเป็นวิธีที่มนุษย์ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า แต่จะมองเห็นเมื่อนำมาตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (UV) ซึ่งจะสามารถแก้ปัญหา และป้องกันการปลอมเมล็ดพันธุ์ได้ดียิ่งขึ้น เนื่องจากสารเรืองแสงจะสามารถระบุแหล่งที่มาของเมล็ดพันธุ์ได้ และง่ายต่อการติดตาม (Nair et al., 2011) ดังนั้นการนำเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพสูงมาทำการแช่ เคลือบ หรือพอกเมล็ดด้วยสารเรืองแสงจะทำให้สามารถตรวจสอบการปลอมเมล็ดพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว (Guan et al., 2013b)

สารเรืองแสงที่นำมาใช้ในการสร้างเอกลักษณ์ให้กับเมล็ดพันธุ์มีหลากหลายชนิดเช่น การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารเรืองแสงไรโบฟลาวิน (Sikhao et al., 2014b) ซึ่งเป็นวิธีการที่ง่ายไม่มีผลต่อคุณภาพ

ของเมล็ดพันธุ์ และยังสามารถเรืองแสงได้นานถึง 10 เดือน (พจนา และคณะ, 2557, 2558) แต่ไรโบฟลาวินมีความจำเพาะต่อพอลิเมอร์เจลาตินเท่านั้น นอกจากนี้ยังมี DNA ที่สามารถสร้างเอกลักษณ์ได้เนื่องจากมีการเรืองแสง (Sikhao et al., 2014a) แต่การใช้ DNA มีข้อจำกัดในเรื่องของราคาต้นทุนที่สูง และกระบวนการต่างๆ ซับซ้อน ทำให้มีการศึกษาหาสารเรืองแสงที่สามารถทำได้ง่าย ต้นทุนต่ำ มีเสถียรภาพในการเรืองแสง ไม่เป็นพิษต่อการงอก และการเจริญเติบโตของต้นกล้า และสารเรืองแสงชนิดหนึ่งที่นิยมนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อป้องกันการปลอมแปลงเมล็ดพันธุ์ คือ rhodamine B ซึ่งเป็นสารที่มีเสถียรภาพสูง ไม่เป็นพิษต่อเมล็ดพันธุ์ สามารถเรืองแสงได้ยาวนาน (ชนกเนตร, 2559ค; Guan et al., 2013a; Tian et al., 2013; Tian et al., 2014) และมีการพิสูจน์แล้วว่าปลอดภัย (Tian et al., 2014) นอกจากนี้ยังมีการนำสารเรืองแสงอีกหลายชนิดมาใช้เพื่อสร้างเอกลักษณ์ให้กับเมล็ดพันธุ์ เช่น curcumin, safranine-T (ชนกเนตร และบุญมี, 2557) และ fluorescein (Guan et al., 2013b) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสารเรืองแสงอีกหลายชนิดแต่สารเรืองแสงในปัจจุบันมีราคาค่อนข้างแพง ทำให้มีการค้นหาสารเรืองแสงที่มีราคาถูก และปริมาณที่เหมาะสมกับการงอก และการเจริญเติบโตของต้นกล้า

ดังนั้นงานทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาชนิดและความเข้มข้นของสารเรืองแสงที่เหมาะสมในการเคลือบร่วมกับเมล็ดพันธุ์แตงกวา และติดตามการเรืองแสงของเมล็ดพันธุ์แตงกวาทั้งหลังการเคลือบและหลังการเร่งอายุของเมล็ดที่เคลือบด้วยสารเรืองแสงชนิดต่างๆ ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นอีกหนึ่งทางเลือกเพื่อป้องกันการปลอมแปลงหรือลอกเลียนแบบเมล็ดพันธุ์ ทำให้เมล็ดพันธุ์มีคุณภาพและตรงตามสายพันธุ์ อีกทั้งทำให้ผลผลิตและคุณภาพของผลผลิตทางการเกษตรเพิ่มขึ้น

วิธีการศึกษา

ดำเนินงานทดลองที่ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ โรงงานปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์ คณะเกษตรศาสตร์ และห้องปฏิบัติการเทคโนโลยี คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยใช้เมล็ดพันธุ์แตงกวาลูกผสม และทำการวิจัยระหว่างเดือน เมษายน – ธันวาคม 2560 โดยดำเนินวิธีการทดลองดังนี้

การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารเรืองแสง

เตรียมสารเคลือบโดยใช้ Polyvinylpyrrolidone (PVP-K30) ที่ความเข้มข้น 7% โดยน้ำหนัก จากนั้นเติมสารออกฤทธิ์ที่มีคุณสมบัติในการเรืองแสง 3 ชนิด คือ rhodamine B (RB), curcumin (CM) และ auramine O (AO) ของ sigma-aldrich ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 0.1%, 0.5% และ 1.0 % โดยน้ำหนัก จากนั้นนำไปเคลือบร่วมกับเมล็ดพันธุ์แตงกวา โดยใช้เครื่องเคลือบระบบจานหมุนรุ่น SKK 10 และลดความชื้นของเมล็ดหลังการเคลือบด้วยเครื่องลดความชื้นระบบลมแห้งแบบหมุนเหวี่ยงรุ่น SKK 40-2 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จนกระทั่งความชื้นเมล็ดพันธุ์มีความชื้นเท่ากับความชื้นของเมล็ดพันธุ์เริ่มต้น (7%)

การประเมินความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยวิธีการเร่งอายุหลังการเคลือบเมล็ด

นำเมล็ดที่ผ่านการเคลือบและไม่เคลือบร่วมกับสารเรืองแสงของแต่ละกรรมวิธีทดลองใส่ในถุงผ้าขนาด 10x20 เซนติเมตร วางลงบนตะแกรงที่อยู่ในกล่องเร่งอายุ ภายในกล่องมีน้ำปริมาณ 100 มิลลิลิตร โดยให้ระดับน้ำอยู่ต่ำกว่าตะแกรง 2 เซนติเมตร ปิดกล่องให้สนิทแล้วนำไปไว้ในตู้เร่งอายุเมล็ดพันธุ์ที่มีอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบคุณภาพเมล็ดในลักษณะต่าง ๆ คือ การงอกราก ความงอก และความเร็วในการงอก ตามหัวข้อการตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

การตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

1. การตรวจสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ในสภาพห้องปฏิบัติการ

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 50 เมล็ด นำมาทดสอบความงอกแบบ between of paper (BP) และประเมินผลความงอกโดยการตรวจนับต้นกล้าปกติครั้งแรก (first count) ที่ 4 วันหลังเพาะ และตรวจนับต้นกล้าปกติครั้งสุดท้าย (final count) ที่ 8 วันหลังเพาะ (ISTA, 2013)

2. การตรวจสอบความงอกในสภาพเรือนทดลอง

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ

50 เมล็ด มาทดสอบโดยใช้พีทมอสเป็นวัสดุเพาะ ประเมินผลความงอก ที่ 4-8 วันหลังเพาะเช่นเดียวกันกับการตรวจสอบในภาพห้องปฏิบัติการ (ISTA, 2013)

3. การตรวจสอบความเร็วในการงอกในสภาพห้องปฏิบัติการ และสภาพเรือนทดลอง

ความเร็วในการงอกเป็นการวัดความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ โดยตรวจนับต้นกล้าปกติทุกวันตั้งแต่การตรวจนับครั้งแรก (first count) จนถึงวันสุดท้ายของการตรวจนับ (final count) (4-8 วัน) จากนั้นนำมาคำนวณหาความเร็วในการงอกตามสูตรดังนี้ (ISTA, 2013)

ความเร็วในการงอก (ต้นต่อวัน) = ผลรวมของ <u>จำนวนต้นกล้าปกติที่งอกในแต่ละวัน</u>

จำนวนวันหลังเพาะเมล็ด

การตรวจสอบการเรืองแสงที่ผิวของเมล็ดพันธุ์

1. การตรวจสอบการเรืองแสงของเมล็ดพันธุ์

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเคลือบร่วมกับสารเรืองแสงทุกชนิดและทุกระดับความเข้มข้นจำนวน 7 กรัมของแต่ละกรรมวิธีทดลอง มาตรวจสอบการเรืองแสงที่ผิวของเมล็ดพันธุ์แตงกวา โดยใช้เครื่องฉายแสงอัลตราไวโอเลตแบบพกพา (Hand UV) CHROMATO-VUE CABINET รุ่น UVGL-58 Handheld UV Lamp ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร

2. การตรวจสอบช่วงคลื่นการเรืองแสง

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเคลือบร่วมกับสารเรืองแสงจำนวน 10 เมล็ดของแต่ละกรรมวิธีทดลองมาตรวจสอบช่วงคลื่นการเรืองแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ PerkinElmer รุ่น Fluorescence Spectrometer LS-55 ที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลการเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารเรืองแสงด้วยชนิดและระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) แปลงข้อมูลความงอกของเมล็ดพันธุ์เพื่อวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้วิธี arcsine transformation วิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติสำเร็จรูป

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การเคลือบเมล็ดพันธุ์แตงกวาร่วมกับสารเรืองแสงด้วยชนิดและระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันทำให้มีผลต่อการเปลี่ยนคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ทั้งด้านความงอกและเสถียรภาพในการเรืองแสงของเมล็ดพันธุ์แตงกวาหลังการเคลือบแตกต่างกัน โดยมีผลการทดลองหลังการเคลือบ และหลังการเร่งอายุดังนี้

คุณภาพของเมล็ดพันธุ์แตงกวาหลังเคลือบร่วมกับสารเรืองแสง และหลังการเร่งอายุ

ตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์แตงกวาในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า เมล็ดไม่เคลือบ และการเคลือบเมล็ดร่วมกับสารเรืองแสงทุกชนิดและทุกระดับความเข้มข้นไม่ทำให้ความงอกและความเร็วในการงอกของเมล็ดพันธุ์แตงกวาแตกต่างกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์หลังการเร่งอายุเห็นได้ชัดว่า เมล็ดพันธุ์แตงกวามีความงอกและความเร็วในการงอกลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในวิธีการเคลือบเมล็ดร่วมกับ auramine O ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 1.0% ทำให้ความงอกและความเร็วในการงอกลดลงมากกว่าวิธีการอื่นๆ เนื่องจากต้นกล้ามีลักษณะผิดปกติมากขึ้น และไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ได้จึงส่งผลให้ความงอก และความเร็วในการงอกลดลง (Figure 1A, 1C) ส่วนการตรวจสอบความงอกในสภาพเรือนทดลองพบว่า หลังการเคลือบเมล็ดทุกกรรมวิธีไม่ทำให้ความงอกและความเร็วในการงอกของเมล็ดพันธุ์แตงกวาแตกต่างกัน (Figure 1B, 1D) เช่นเดียวกับวิธีการเร่งอายุ ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันในทางสถิติ แต่เห็นได้ชัดว่าความงอกของเมล็ดพันธุ์แตงกวาลดลง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างหลังการเคลือบและหลังการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์แตงกวา

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ rhodamine B, curcumin และ auramine O ไม่ส่งผลต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบเนื่องจากสารเรืองแสงไม่เป็นพิษต่อเมล็ดพันธุ์ โดยการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัย

ของ ชนกเนตร และบุญมี (2557) ที่รายงานว่าการเคลือบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศด้วย rhodamine B, curcumin และ safranine T ไม่ส่งผลกระทบต่อความงอกหลังการเคลือบ นอกจากนี้ Guan et al. (2013a) พบว่าการแช่เมล็ดพันธุ์ยาสูบในสารละลาย rhodamine B ไม่ส่งผลต่อกระทบต่อความงอกและการตั้งตัวของต้นกล้า

ส่วนเมล็ดพันธุ์แตงกวาที่ผ่านการเคลือบร่วมกับสารเรืองแสงแล้วนำมาตรวจสอบความแข็งแรงด้วยวิธีการเร่งอายุพบว่า ความงอก และความเร็วในการงอกของเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเคลือบด้วย auramine O ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 1.0% ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบร่วมกับสารเรืองแสงชนิดอื่นๆ เนื่องจากการเร่งอายุทำให้เมล็ดพันธุ์มีความแข็งแรงลดลง ทำให้ส่งผลกระทบต่อเมล็ดพันธุ์ในด้านความงอก และความเร็วในการงอก โดย Al-Maskri et al. (2003) รายงานว่าในขณะที่เร่งอายุเมล็ดพันธุ์แครอท (*Daucus carota* L.) ทำให้เกิด lipid peroxidation เพิ่มขึ้น ซึ่งนำไปสู่การสูญเสียคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ (Basra et al., 2003) และเมื่อพิจารณาในงานทดลองนี้ พบว่าเมื่อปริมาณความเข้มข้นของ auramine O เพิ่มสูงขึ้น จะส่งผลต่อความงอกและความแข็งแรงของต้นกล้า ทำให้ต้น

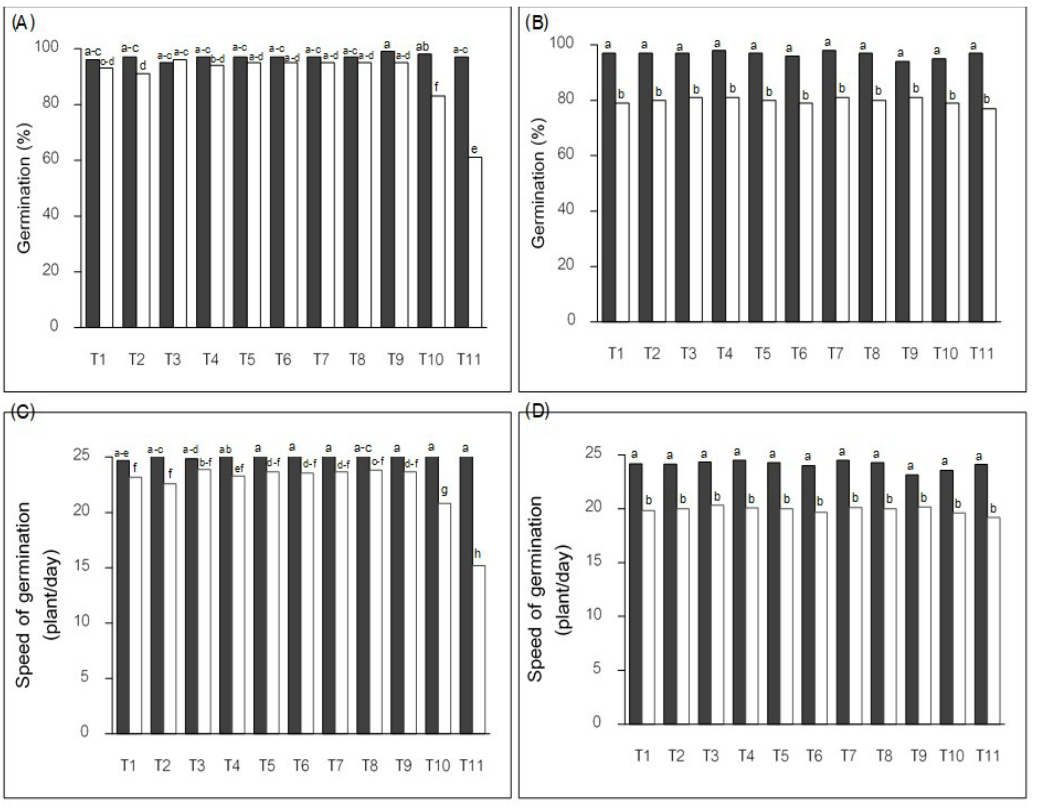

Figure 1 Effect of accelerated ageing (open bars) and non-aged (solid bars) coated cucumber seeds under the laboratory (A, C) and greenhouse (B, D) on germination and speed of germination. T1: non-coated, T2: coated seed with PVP-K30 alone, and T3-T5: coated with rhodamine B at the rate 0.1%, 0.5% and 1.0%, respectively, T6-T8: coated with curcumin at the rate 0.1%, 0.5% and 1.0%, respectively, and T9-T11: coated with auramine O at the rate 0.1%, 0.5% and 1.0%, respectively in the coating formulation.

กล้าแสดงอาการผิดปกติ และไม่สามารถเติบโตเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ได้ อย่างไรก็ตามการนำสารเรืองแสงมาใช้กับเมล็ดพันธุ์ควรเลือกใช้ในปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสม (Guan et al., 2011อ้างถึงใน Guan et al., 2013b) ซึ่งเมื่อพิจารณาทั้งความงอกและความเร็วในการงอกเห็นได้ชัดว่าการเคลือบเมล็ดร่วมกับ rhodamine B และ curcumin ทุกระดับความเข้มข้นไม่ทำให้คุณภาพของเมล็ดพันธุ์แตงกวาเปลี่ยนแปลงไป แต่การเคลือบเมล็ดด้วย auramine O จะพบความแตกต่างทางสถิติเมื่อนำมาตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีการเร่งอายุ ซึ่งมีผลทำให้ความงอกของเมล็ดพันธุ์แตงกวาลดลงมากกว่าวิธีการอื่นๆ เมื่อตรวจสอบทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง

เสถียรภาพในการเรืองแสงของเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบและหลังการเร่งอายุ

จากการเคลือบเมล็ดพันธุ์แตงกวาร่วมกับสารเรืองแสงต่างชนิดกันด้วยความเข้มข้นที่แตกต่างกันเพื่อค้นหาสารเรืองแสงที่เหมาะสมในการนำมาสร้างเอกลักษณ์ให้กับเมล็ดพันธุ์แตงกวาเพื่อป้องกันการปลอมแปลงเมล็ดพันธุ์ และนำเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบร่วมกับสารเรืองแสงไปตรวจสอบการเรืองแสงด้วยเครื่องฉายแสงอัลตราไวโอเลตแบบพกพา และเครื่อง spectrophotometer ซึ่งผลการทดลองพบว่าเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเคลือบร่วมกับสารเรืองแสง rhodamine B, curcumin และ auramine O ไปตรวจสอบการเรืองแสงด้วยเครื่องฉายแสงอัลตราไวโอเลตแบบพกพา (Hand-UV) จะสังเกตเห็นเมล็ดพันธุ์ในที่มืดภายใต้แสงยูวีด้วยตาเปล่าโดยเมล็ดพันธุ์แตงกวาที่ไม่ได้เคลือบ (T1) และเคลือบด้วยพอลิเมอร์เพียงอย่างเดียว (T2) จะเห็นว่าเรืองแสงเป็นสีน้ำเงิน แต่เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบร่วมกับ rhodamine B ทุกระดับความเข้มข้น (T3-T5) มีการเรืองแสงเป็นสีส้มแดง และที่ความเข้มข้น 1.0% (T5) มีการเรืองแสงชัดที่สุดแต่ก็ใกล้เคียงกับที่ความเข้มข้น 0.5% (T4) ผลการทดลองนี้เช่นเดียวกันกับเคลือบเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตา (Tian et al., 2013) และมะเขือเทศ (ชนกเนตรและบุญมี, 2559ข) ด้วย rhodamine B ซึ่งพบว่าการเรืองแสงเป็นสีส้มแดง ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบร่วมกับ curcumin ที่ความเข้มข้น 0.1% (T6) ไม่สามารถสังเกตเห็นการเรืองแสงได้ เนื่องจาก curcumin มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำ (Stanic, 2017) และปริมาณความเข้มข้น 0.1% ที่นำมาใช้น้อยมากและละลายในแอลกอฮอล์ได้ดีกว่าน้ำ (Compound interest, 2016) ทำให้ไม่เห็นการเรืองแสง แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 0.5% (T7) และ 1.0% (T8) ทำให้เห็นการเรืองแสงเป็นสีเหลืองอมเขียวชัดเจนมากยิ่งขึ้น

นอกจากนี้พบว่าการเคลือบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศด้วย curcumin จะเห็นการเรืองแสงเป็นสีเหลือง (ชนกเนตร และบุญมี, 2557) และสำหรับเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบร่วมกับ auramine O ทุกระดับความเข้มข้น (T9-T11) จะเห็นการเรืองแสงเป็นสีเหลืองอมเขียว และที่ความเข้มข้น 0.5% และ 1.0% มีการเรืองแสงชัดเจนที่สุด เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเคลือบร่วมกับสารเรืองไปเร่งอายุพบว่า การเรืองแสงของเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยสารเรืองแสงต่างชนิดกันมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย แต่ยังคงมีการเรืองแสงเป็นสีส้มแดง (rhodamine B) สีเหลืองอมเขียว (curcumin และ auramine O) อย่างชัดเจน และใกล้เคียงกับหลังการเคลือบ (Figure1B) เช่นเดียวกันกับ พจนาและคณะ (2557) พบว่าความเข้มในการเรืองแสงของเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบร่วมกับสารเรืองแสง ribroflavin หลังการเร่งอายุใกล้เคียงกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้เร่งอายุ ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลจากงานวิจัยนี้ แสดงให้เห็นว่า ความชื้น และอุณหภูมิสูงจากการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์มีผลต่อความเข้มของการเรืองแสงเพียงเล็กน้อย ซึ่ง Compound interest (2016) ได้อธิบายว่าการเรืองแสงนั้นเกิดจากการที่อิเล็กตรอนในโมเลกุลของสารได้ดูดกลืนพลังงานรังสีอัลตราไวโอเลตจากไฟยูวี ทำให้ระดับพลังงานหรืออิเล็กตรอนเกิดการเคลื่อนที่ไปยังระดับพลังงานที่สูงขึ้น ซึ่งอยู่ในสภาวะที่ไม่เสถียร (excited state) ทำให้อิเล็กตรอนพยายามที่จะกลับสู่สภาวะเดิม และในระหว่างลดระดับพลังงานลงสู่สภาวะพื้น (ground state) เกิดพลังงานส่วนเกินขึ้นจึงปลดปล่อยพลังงานนี้ออกมาในรูปของสเปกตรัมหรือแสงที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

การนำเมล็ดพันธุ์แตงกวาที่ผ่านการเคลือบด้วยสารเรืองแสงต่างชนิดกันทั้งเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบ และหลังการเร่งอายุมาตรวจสอบการเรืองแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer พบว่า เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วย rhodamine B ปรากฏการเรือง

แสงที่ช่วงความยาวคลื่น (wavelength) 610 nm ทุกระดับความเข้มข้น (Figure 2B, 2F) เมล็ดที่เคลือบด้วย curcumin ปรากฏการเรืองแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 540 nm (Figure 2C, 2G) แต่เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วย curcumin ที่ความเข้มข้น 0.1% (T6) ไม่ปรากฏความยาวคลื่นในการเรืองแสง ซึ่งผลการตรวจสอบเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการตรวจสอบด้วยเครื่อง Hand UV คือเห็นการเรืองแสงสีน้ำเงินซึ่งเป็นการเรืองแสงของเปลือกเมล็ดพันธุ์แตงกวา และเมล็ดที่เคลือบด้วย auramine O จะปรากฏการเรืองแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 525 nm ทุกระดับความเข้มข้น (Figure 2D, 2H) ซึ่งคล้ายกับงานทดลองของ ชนกเนตร และบุญมี (2557) ที่รายงานว่าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่เคลือบด้วย rhodamine B และ curcumin มีการเรืองแสงเป็นสีแดงอมส้ม และเหลือง ตามลำดับ และเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้เคลือบร่วมกับสารเรืองแสงจะปรากฏความยาวคลื่นแสงในช่วงอื่น ซึ่งช่วงความยาวคลื่นในการเรืองจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสารเรืองแสงและช่วงความยาวคลื่นในการเรืองแสงจะมีความจำเพาะต่อชนิดของสารเรืองแสง ดังนั้นถ้าเป็นสารชนิดเดียวกันจะปรากฏในช่วงความยาวคลื่นแสงที่ใกล้เคียงกัน การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารเรืองแสงชนิดต่างๆ สามารถสร้างเอกลักษณ์ให้กับเมล็ดพันธุ์ได้อย่างจำเพาะเจาะจงเพื่อใช้สำหรับป้องกันการลอกเลียนแบบได้ (ชนกเนตร และบุญมี, 2559ก; Guan et al., 2013a) และยังเป็นการยกระดับการป้องกันการปลอมแปลงให้ซับซ้อนยิ่งขึ้น และยากต่อการเลียนแบบ

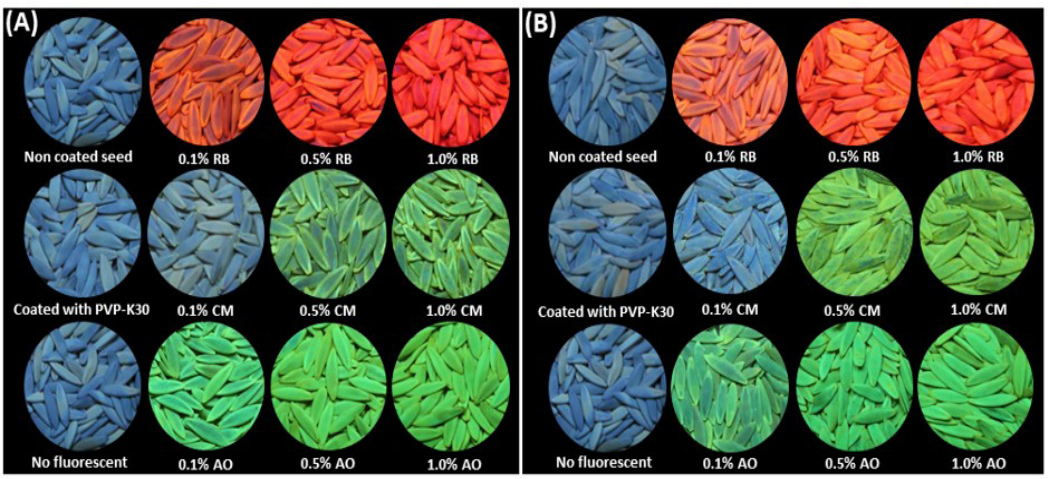

Figure 2 The fluorescence of cucumber seed under long-UV light of non-accelerated aging coated seeds (A) and accelerated aging after coated seeds (B), T1: Non coated seed, T2: coated with polymer, T3-T5: coated with rhodamine-B at 0.1%, 0.5% and 1.0% respectively, T6-T8: coated with curcumin at 0.1%, 0.5% and 1.0% respectively, T9-T11: coated with auramine-O at 0.1%, 0.5% and 1.0% respectively.

ผลการทดลองเป็นการศึกษาเบื้องต้นพบว่าเมล็ดพันธุ์แตงกวาที่ผ่านการเคลือบด้วย rhodamine B และ curcumin ไม่ทำให้คุณภาพของเมล็ดพันธุ์เปลี่ยนแปลง และยังคงเรืองแสงอย่างชัดเจนเมื่อผ่านการเร่งอายุ ดังนั้น rhodamine B และ curcumin จึงมีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการสร้างเอกลักษณ์ให้กับเมล็ดพันธุ์แตงกวาลูกผสม แต่สารเรืองแสงที่น่าสนใจในการนำมาใช้สร้างเอกลักษณ์มากที่สุดคือ rhodamine B เนื่องจากมีการเรืองแสงชัดเจน ยาวนาน และมีราคาต่ำกว่าเมื่อเทียบกับสารเรืองแสงอีก 2 ชนิด คือ curcumin และ auramine O ถึงแม้ว่า curcumin เป็นสารที่ได้มาจากธรรมชาติ สามารถเรืองแสงได้ดี และไม่เป็นพิษต่อเมล็ดพันธุ์ อย่างไรก็ตาม curcumin สามารถ

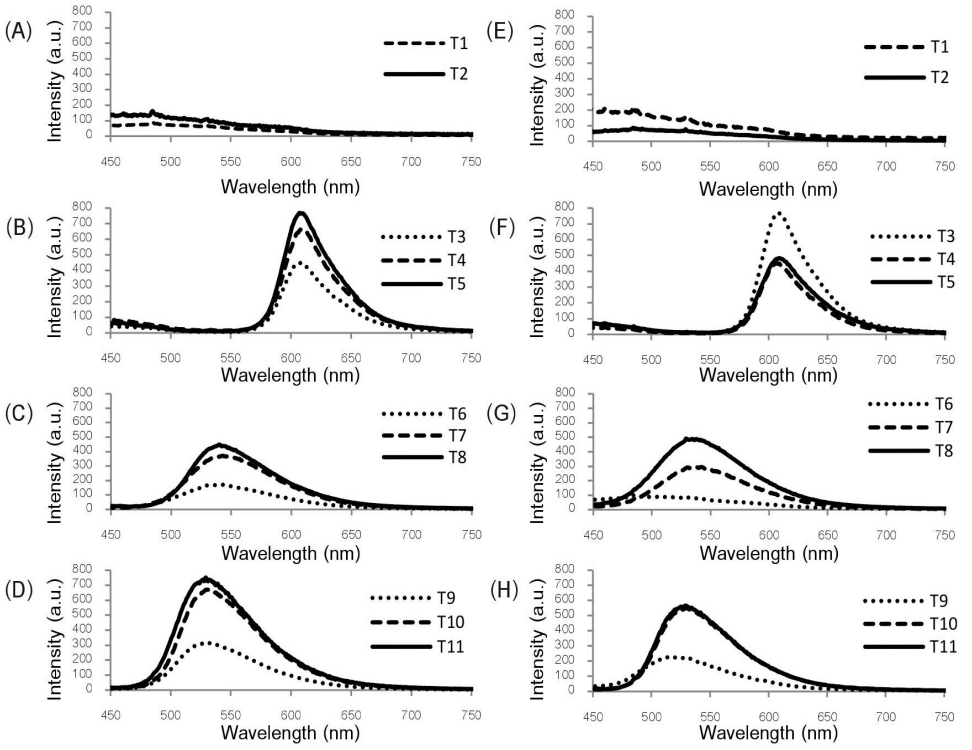

Figure 3 The fluorescence emission spectra from a spectrophotometer of after coated seeds; (A) T1: non-coated, T2: coated seed with PVP-K30 alone, (B) T3-T5: mixed with rhodamine B at the rate 0.1%, 0.5% and 1.0%, (C) T6-T8: mixed with curcumin at the rate 0.1%, 0.5% and 1.0% respectively, (D) T9-T11: mixed with auramine O at the rate 0.1%, 0.5% and 1.0% in the coating formulation, respectively. And accelerated aging; (E) T1: non-coated, T2: coated seed with PVP-K30 alone, (F) T3-T5: mixed with rhodamine B at the rate 0.1%, 0.5% and 1.0%, (G) T6-T8: mixed with curcumin at the rate 0.1%, 0.5% and 1.0% respectively, (H) T9-T11: mixed with auramine O at the rate 0.1%, 0.5% and 1.0% respectively.

นำมาใช้ได้แต่มีราคาต้นทุนสูงกว่า rhodamine B ดังนั้นผู้วิจัยจึงขอแนะนำให้ใช้ในระบบเกษตรอินทรีย์มากกว่า และสำหรับ auramine O สามารถเรืองแสงได้ดีถึงแม้ว่าจะใช้ในระดับความเข้มข้นต่ำ แต่ราคาต้นทุนก็ยังสูงกว่า rhodamine B อย่างไรก็ตามการเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารเรืองแสงจะยังมีการรายงานเพิ่มเติมเกี่ยวกับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยสารเรืองแสงในด้านของการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและการเรืองแสงของเมล็ดพันธุ์หลังการเก็บรักษาเพื่อเป็นเกณฑ์ทางเลือกในการตัดสินใจสำหรับนำมาใช้ในเชิงการค้าเพื่อป้องกันการปลอมแปลงเมล็ดพันธุ์ในระยะยาวได้

สรุป

การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารเรืองแสงชนิดต่าง ๆ สามารถสร้างเอกลักษณ์ให้กับเมล็ดพันธุ์ได้อย่างจำเพาะเจาะจง และยังเป็นการป้องกันการปลอมเมล็ดพันธุ์ได้ดียิ่งขึ้น และยากต่อการเลียนแบบ ซึ่งจากงานวิจัยสรุปได้ดังนี้ การเคลือบเมล็ดพันธุ์แตงกวาร่วมกับ rhodamine B ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันไม่มีผลต่อการงอกราก ความงอก และความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์เมื่อทดสอบในห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง ความเข้มในการเรืองแสง ของเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยสารเรืองแสงชนิดต่าง ๆ มีการ

เปลี่ยนแปลงเล็กน้อยหลังการเร่งอายุ แต่ช่วงความยาวคลื่นในการเรืองแสงยังคงอยู่ในช่วงความยาวคลื่นเดียวกัน การเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วย rhodamine B ที่ความเข้มข้น 0.5% เป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดสำหรับนำมาใช้สร้างความเป็นเอกลักษณ์ให้กับเมล็ดพันธุ์แตงกวามากที่สุด

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว) บริษัท เจียไต๋ จำกัด ที่อนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์แตงกวาเพื่อใช้ในการวิจัยในครั้งนี้ และบุคลากรของโรงงานปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่อนุเคราะห์สถานที่ใช้ในการดำเนินงานทดลองในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ชนกเนตร ชัยวิชา และ บุญมี ศิริ. 2557. การเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยสารเรืองแสง Rhodamine-B, Safranine-T และ Curcumin ต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ. น. 40-47. ใน: การประชุมทางวิชาการเมล็ดพันธุ์พืชแห่งชาติ ครั้งที่ 11 20-23 พฤษภาคม 2557. ณ โรงแรมแกรนด์ จอมเทียน พาเลซ เมืองพัทยา, ชลบุรี.

ชนกเนตร ชัยวิชา และ บุญมี ศิริ. 2559ก. ผลของการเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วย Rhodamine B ต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์และการเรืองแสงเพื่อป้องกันการปลอมแปลงเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ. วารสารพระจอมเกล้า. 34: 51-58.

ชนกเนตร ชัยวิชา และ บุญมี ศิริ. 2559ข. ผลของการเคลือบร่วมกับสารเรืองแสง Rhodamin B ต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ. แก่นเกษตร. 44: 334-338.

ชนกเนตร ชัยวิชา. 2559ค. ผลของการเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยพอลิเมอร์ร่วมกับสารเรืองแสงต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

พจนา สีขาว, พัฒนา ธีรพรชัยสิทธิ์ และบุญมี ศิริ. 2557.การเคลือบเมล็ดพันธุ์แตงกวาด้วยสารเรืองแสง: ไรโบฟวาวิน เพื่อป้องกันการปลอมแปลงเมล็ดพันธุ์. น. 66-78. ใน: การประชุมทางวิชาการเมล็ดพันธุ์พืชแห่งชาติ ครั้งที่ 11 20-23 พฤษภาคม 2557. ณ โรงแรมแกรนด์ จอมเทียน พาเลซ เมืองพัทยา, ชลบุรี.

พจนา สีขาว, พัฒนา ธีรพรชัยสิทธิ์ และบุญมี ศิริ. 2558. เสถียรภาพของการเรืองแสงหลังการเคลือบและคุณภาพเมล็ดพันธุ์ของเมล็ดพันธุ์แตงกวา. แก่นเกษตร. 43: 89-95.

สมาคมการค้าเมล็ดพันธุ์ไทย. 2560. ปริมาณและมูลค่าการส่งออกเมล็ดพันธุ์ควบคุมฯ ตาม พ.ร.บ.พันธุ์พืช พ.ศ.2518. แหล่งข้อมูล: https://www.thasta.com/pdf/2017/pastatvovaexseed60.pdf. ค้นเมื่อ 22 เมษายน 2561.

Al-Maskri, A.Y., M.M. Khan, I.A. Khan, and K. Al Habsi. 2003. Effect of accelerated ageing on viability, vigor (RGR), lipid peroxidation and leakage in carrot (*Daucus carota* L.) seeds. Int. J. of Agri. Biol. 5: 580-584.

Basra, S.M.A., N. Ahmad, M.M. Khan, N. Iqbal, and M.A. Cheema. 2003. Assessment of cottonseed deterioration during accelerated ageing. Seed Sci. &Technol. 31: 531-540

Cai, Y.L. 2009. Several new anti-counterfeiting technologies for packaging. Shanghai Packaging. 2: 40-41.

Compound interest. 2016. The Chemistry of Turmeric. Available: http://www.compoundchem.com/wp-content/uploads/2016/11/Chemistry-of-Turmeric.pdf. Accessed Jan.9, 2018.

Gao, H. and R. Zhou. 2005. The development trend of seed anti-counterfeiting packaging. Seed World. 9: 6-7.

Guan, Y., J. Hu, and Y. Li. 2011. A new anti-counterfeiting method: fluorescent labeling by safranine T in tobacco seed. Acta Physiol Plant. 33: 1271-1276.

Guan, Y., Y. Li, J. Hu, W. Ma, Y. Zheng, and S.

Zhu. 2013a. A new effective fluorescent labeling method for anti-counterfeiting of tobacco seed using Rhodamine B. Aust. J. Crop Sci. 7: 234-240.

Guan, Y., J.C. Wang, J. Hu, Y.P. Li, W.G. Ma, W.M. Hu, and S.J. Zhu. 2013b. Pathway to keep seed security: The application of fluorescein to identify true and fake pelleted seed in tobacco. Ind. Crops Prod. 45: 367-372

Guan, Y., J. Wang, Y. Tian, W. Hu, L. Zhu, S. Zhu, and J. Hu. 2013c. The Novel Approach to Enhance Seed Security: Dual Anti-Counterfeiting Methods Applied on Tobacco Pelleted Seeds. PLOS One. 8: doi: 10.1371/journal. pone. 0057274.

ISTA. 2013. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association. Zurich, Switzerland.

Nair, R., A. C. Poulose, Y. Nagaoka, Y. Yoshida, T. Maekawa, and DS. Kumar. 2011. Uptake of FITC labeled silica nanoparticles and quantum dots by rice seedlings: Effects on seed germination and their potential as biolabels for plants. J Fluoresc. 21: 2057-2068.

Sikhao, P., P. Chaumpluk, and B. Siri. 2014a. Seed coating with DNA for anti-counterfeiting of cucumber seeds. Khon Kaen Agr. J. 42: 473-477.

Sikhao, P., P. Teerapornchaisit, A.G Taylor, and B. Siri. 2014b. Seed coating with riboflavin, a natural fluorescent compound, for authentication of cucumber seeds. Seed Sci. Technol. 42: 171-179.

Stanic, Z. 2017. Curcumin, a compound from natural sources, a true scientific challenge - a review. Plant Foods Hum Nutr. 72: 1-12.

Taylor, A.G. and G.E. Harman. 1990. Concept and technologies of selected seed treatments. Annu. Rev. Phytopathol. 28: 321-339.

Tian, Y., Q. Wang, Q. Hu, J. Wang, and Y. Guan. 2013. Application of fluorescent dyes for falsification-preventing of pea seeds (*Pisum sativum* L.). Aust. J. Crop. 7: 147-151.

Tian, Y., Z. Li., F. He, Y. Guan, S. Zhu, and J.Hu. 2014. A novel anti-counterfeiting method: Application and decomposition of RB for broad bean seeds (*Vicia faba* L.). Ind. Crops Prod. 61: 278-283.

Wang, ZH. 2009. Anti-counterfeiting technologies grow by leaps and bounds in the market. Print Today, 2: 76–79.