

ผลของพลาสมาแบบไดอิเล็กทริกแบรีเออร์ติสซาร์ต่อการเจริญเติบโต และปริมาณสารทุติยภูมิของต้นอ่อนผักกาดหอม

Effect of Dielectric Barrier Discharge Plasma on Growth and Secondary Metabolite Contents of Lettuce Sprout

ภาณุมาศ ฤทธิชัย*, เยาวพา จิระเกียรติกุล และมนิรัตน์ สิงหวิบูลย์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

นพพร พูลยรัตน์

ศูนย์ความเป็นเลิศเทคโนโลยีนิวเคลียร์ขั้นสูง สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

ตำบลทรายมูล อำเภองครักษ์ จังหวัดนครนายก 26120

Panumart Rithichai*, Yaowapha Jirakaittikul and Maneerat Singhawiboon

Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,

Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

Nopporn Poolyarat

Center of Advanced Nuclear Technology, Thailand Institute of Nuclear Technology (Public Organization),

Saimool, Ongkarak, Nakhon Nayok 26120

บทคัดย่อ

ศึกษาการเจริญเติบโตและสารทุติยภูมิในต้นอ่อนผักกาดหอม โดยนำเมล็ดพันธุ์ Sweet Green และ Seafresh มาผ่านการฉาย DBD พลาสมา นาน 0, 60 และ 240 วินาที พบว่าการเจริญเติบโตและการสะสมสารทุติยภูมิของต้นอ่อนผักกาดหอมมีการตอบสนองต่อการฉาย DBD พลาสมาต่างกันไปตามพันธุ์และระยะเวลาในการฉายพลาสมา โดยเมล็ดพันธุ์ผ่านการฉาย DBD พลาสมา นาน 60 และ 240 วินาที ส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นอ่อนพันธุ์ Sweet Green ซึ่งมีน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น 18.28 และ 30.11 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ฉายพลาสมา ส่วนต้นอ่อนพันธุ์ Seafresh จากเมล็ดไม่ผ่านและผ่านการฉาย DBD พลาสมา มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในต้นอ่อนพันธุ์ Sweet Green จากเมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมา นาน 240 วินาที มีปริมาณเพิ่มขึ้น 25 % เมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อนจากเมล็ดไม่ฉายพลาสมา แต่ต้นอ่อนพันธุ์ Seafresh จากเมล็ดที่ฉายและไม่ฉายพลาสมา มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันทางสถิติ สารฟลาโวนอยด์ในต้น

อ่อนจากเมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมา นาน 240 วินาที มีปริมาณเพิ่มขึ้น 8.32 % เมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อนจากเมล็ดไม่ฉายพลาสมา ต้นอ่อนจากเมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมาทุกระยะเวลามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ตีขึ้น ผลการทดลองจะเห็นได้ว่า DBD พลาสมา เป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณสารพฤกษเคมีของต้นอ่อนผักกาดหอม

คำสำคัญ : DBD พลาสมา; ผักกาดหอม; ฟีนอลิก; ฟลาโวนอยด์

Abstract

Growth and secondary metabolite contents in lettuce sprouts were investigated. Seeds of ‘Sweet Green’ and ‘Seafresh’ were treated to DBD plasma for 0, 60 and 240 s. Results indicated that the responses of growth and secondary metabolite accumulation in lettuce sprouts to DBD plasma differed depending on lettuce cultivars and DBD plasma exposure times. The 60 and 240 s DBD plasma treated seeds improved growth of ‘Sweet Green’ sprouts as dry weight increased 18.28 and 30.11 %, respectively, comparing to non-plasma treatment. However, growth of ‘Seafresh’ sprouts was not significantly different regardless of plasma treatments. Total phenolic contents of ‘Sweet Green’ sprouts grown from seeds exposed to 240 s DBD plasma enhanced by 25 % as compared with control, while those of ‘Seafresh’ sprouts were not statistically different among the treatments. Flavonoid contents of lettuce sprouts developed from seeds treated to 240 s DBD plasma was 8.32 % higher than that of the control. The greater DPPH scavenging capacities of lettuce sprouts occurred in DBD plasma treatments. The results obtained from this research indicated that DBD plasma was one of effective methods to enhance growth and secondary metabolite contents in lettuce sprout.

Keywords: DBD plasma; lettuce; phenolic; flavonoid

1. บทนำ

พลาสมาแบบไดอิเล็กทริกแบริเออร์ดิสชาร์จ (DBD พลาสมา) เป็นพลาสมาเย็นที่สร้างจากเครื่องกำเนิดพลาสมาแบบ DBD โดยอาศัยหลักการสะสมและคายประจุไอออนบนไดอิเล็กทริกด้วยไฟฟ้ากระแสสลับ ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้าสูง ในสภาพความดันบรรยากาศ การใช้เทคโนโลยีพลาสมากับสิ่งที่มีชีวิตนั้นสามารถใช้ได้อย่างปลอดภัย เนื่องจากการฉายพลาสมาใช้ระยะเวลาสั้น จึงก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลง

โครงสร้างทางเคมีของผิววัสดุอย่างรวดเร็ว แต่ไม่ทำให้คุณลักษณะดั้งเดิมเปลี่ยนไป [1, 2, 3, 4] ในทางเกษตรได้มีการใช้ DBD พลาสมาเพื่อกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์พืช โดยระยะเวลาในการฉายพลาสมาเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ด เมล็ดที่ตอบสนองต่อการฉายพลาสมาในระยะเวลาที่เหมาะสมจะมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงหรืองอกได้เร็ว ส่งผลให้ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตดีขึ้นตามไปด้วย เช่น รายงานในถั่วเหลือง

[5] หรือ ปวยเล้ง [6] เป็นต้น สำหรับเมล็ดผักกาดหอม ได้มีการศึกษาผลของ DBD พลาสมาต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดแล้ว โดย Singhawiboon et al. [7] พบว่าการใช้ DBD พลาสมาความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์นาน 60 วินาที ทำให้เมล็ดผักกาดหอม ทั้งที่เป็นสลัดคอสพันธุ์ Sweet Green และผักกาดหอมใบพันธุ์ Green Salad Bowl งอกได้เร็วขึ้น หากเพิ่มระยะเวลาในการฉาย DBD พลาสมายาวนานขึ้นเป็น 120 และ 240 วินาที เมล็ดผักกาดหอมจะงอกช้าลง แต่ไม่มีผลกระทบกับเปอร์เซ็นต์ความงอก ส่วนการใช้ DBD พลาสมาเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นกล้า ได้มีรายงานในพืชหลายชนิด โดยมีระยะเวลาที่เหมาะสมในการฉายพลาสมาแตกต่างกันไป เช่น การฉายพลาสมาให้กับเมล็ดพริกนาน 2 นาที [8] เมล็ดถั่วเหลืองผ่านการฉายพลาสมาเย็นกำลังไฟฟ้า 80 วัตต์ นาน 15 วินาที [5] เมล็ดข้าวสาลีผ่านการฉายพลาสมานาน 15 นาที [9] เมล็ดผักกาดหัวผ่านการฉายพลาสมาความต่างศักย์ไฟฟ้า 9.2 กิโลโวลต์นาน 180 วินาที [10] ส่งผลให้ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ การใช้ DBD พลาสมาเพื่อเพิ่มปริมาณสารทุติยภูมิในพืชได้มีรายงานบ้างแล้ว โดยส่วนใหญ่ใช้ได้ผลเมื่อพืชอยู่ในระยะต้นกล้า เช่น เมล็ดปวยเล้งผ่านการฉาย DBD พลาสมาความต่างศักย์ไฟฟ้า 6 กิโลโวลต์นาน 30 ถึง 60 วินาที ส่งผลให้ต้นกล้ามีปริมาณคลอโรฟิลล์และสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น [6] เมล็ดข้าวสาลีผ่านการฉาย DBD พลาสมา กำลังไฟฟ้า 80 วัตต์ นาน 15 วินาที ส่งผลให้ต้นกล้ามีปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ [11] จากรายงานดังกล่าวข้างต้นพบว่า ระยะเวลาที่เหมาะสมในการฉายพลาสมาเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณสารทุติยภูมิในพืชชนิดต่าง ๆ จะแตกต่างกันไป อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานผลของ DBD พลาสมาต่อการเจริญเติบโตและปริมาณสารทุติยภูมิในต้นอ่อนผักกาดหอม จาก

การรายงานของ Singhawiboon et al. [7] พบว่าการกระตุ้นการงอกของเมล็ดผักกาดหอมด้วยการใช้ DBD พลาสมามีความต่างศักย์ไฟฟ้าและระยะเวลาที่เหมาะสม คือ 20 กิโลโวลต์นาน 60 วินาที ในการทดลองนี้จึงศึกษาการเจริญเติบโตและปริมาณสารทุติยภูมิในต้นอ่อนผักกาดหอม โดยสร้าง DBD พลาสมาที่มีความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ และนำเมล็ดมาผ่านการฉาย DBD พลาสมานาน 60 วินาที รวมทั้งในระยะเวลาที่ยาวนานขึ้น คือ 240 วินาที ซึ่งระยะเวลาดังกล่าวทำให้เมล็ดผักกาดหอมงอกช้าลง แต่ไม่มีผลกระทบต่อเปอร์เซ็นต์ความงอก นอกจากนี้ อาจส่งผลให้พืชเกิดความเครียดและกระตุ้นการสร้างสารทุติยภูมิ ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและปริมาณสารทุติยภูมิในต้นอ่อนผักกาดหอม เมื่อเมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมานาน 60 และ 240 วินาที เปรียบเทียบกับการไม่ฉายพลาสมา

2. อุปกรณ์และวิธีการ

นำเมล็ดผักกาดหอม 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ Sweet Green เป็นสลัดคอส (*L. sativa* var. *longifolia*) และ พันธุ์ Seafresh เป็นผักกาดหอมใบ (*L. sativa* var. *crispa*) มาฉาย DBD พลาสมา ความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์นาน 60 และ 240 วินาที โดยมีวิธีการเช่นเดียวกับ Singhawiboon และคณะ [7] เปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ฉายพลาสมาเป็นทรีตเมนต์ควบคุม วางแผนการทดลองแบบ 2×3 factorial in CRD มี 2 ปัจจัย คือ พันธุ์ผักกาดหอม 2 พันธุ์ และระยะเวลาในการฉาย DBD พลาสมา 3 ระยะเวลา

การเพาะต้นอ่อน นำเมล็ดผักกาดหอมทั้ง 2 พันธุ์ ที่ผ่านการฉาย DBD พลาสมาและไม่ฉายพลาสมา มาเพาะในกล่องพลาสติกขนาด $10 \times 15 \times 5$ เซนติเมตร ที่บรรจุพีทมอสสูงประมาณ 2 เซนติเมตร และเติมน้ำ

ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปิดทับด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นหว่านเมล็ด 2 กรัม/กล่อง นำไปวางในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 20 °C ให้แสง 8 ชั่วโมง และมีมืด 16 ชั่วโมงให้น้ำทุกวัน ทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 กล่อง เก็บเกี่ยวต้นอ่อน เมื่ออายุ 7 วันหลังเพาะเมล็ด บันทึกข้อมูล ดังนี้

2.1 การเจริญเติบโตของต้นอ่อน โดยบันทึกความสูงต้นเฉลี่ยจาก 10 ต้น บันทึกน้ำหนักสดต้นทั้งหมดที่เก็บเกี่ยว จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักแห้งต้น

2.2 สารทุติยภูมิ

2.2.1 การเตรียมสารสกัด สกัดตามวิธีของ Worawattananutai และคณะ [12] โดยนำตัวอย่างที่ได้จากการอบแห้งมาจำนวน 2 กรัม สกัดด้วย 95 % ethanol โดยใช้อัตราส่วน 1 : 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หมักไว้ 72 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 สกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง นำสารสกัดที่ได้มาระเหยที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะแห้ง เก็บที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อศึกษาปริมาณสารทุติยภูมิ

2.2.2 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric โดยดัดแปลงจากวิธีของ Folin และ Ciocalteu [13] นำสารสกัดมาละลายด้วย absolute ethanol ให้มีความเข้มข้น 1 mg/mL จากนั้นนำไป sonicate นาน 1 นาที ปิเปตสารละลายปริมาตร 20 µL ใส่ใน 96 well-microplate เติมน้ำ 2M Folin-Ciocalteu's reagent เจือจาง 10 เท่า ปริมาตร 100 µL และเติมน้ำละลาย 7.5 % Na₂CO₃ ปริมาตร 80 µL บ่มไว้ในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ด้วยเครื่อง microplate reader รุ่น PowerWave XS ยี่ห้อ Biotek คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน gallic acid

2.2.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์ ทั้งหมด

วิเคราะห์โดยดัดแปลงจากวิธีของ Zhu และคณะ [14] นำสารสกัดมาละลายด้วย absolute ethanol ให้มีความเข้มข้น 1 mg/mL จากนั้นนำไป sonicate นาน 1 นาที ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 500 µL ลงหลอด microcentrifuge เติมน้ำ 5 % (w/v) NaNO₂ ปริมาตร 75 µL ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมน้ำ 10 % (w/v) AlCl₃ ปริมาตร 150 µL ผสมให้เข้ากัน บ่ม 5 นาที เติมน้ำ 1 M NaOH ปริมาตร 500 µL และน้ำกลั่น ปริมาตร 275 µL ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นปิเปตสารละลาย 200 µL ลงใน 96 well-microplate นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm ด้วยเครื่อง microplate reader คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน catechin

2.2.4ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging activity ดัดแปลงจากวิธีของ Yamasaki และคณะ [15] นำสารสกัดมาละลายด้วยตัวทำละลาย absolute ethanol ให้มีความเข้มข้น 1 mg/mL จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้นเป็น 1000 µg/mL ปิเปตสารละลายปริมาตร 100 µL ลงใน 96 well-microplate เติมน้ำละลาย DPPH ปริมาตร 100 µL บ่มไว้ในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm ด้วยเครื่อง microplate reader คำนวณหา % inhibition จากสูตร $\% \text{ inhibition} = \frac{(\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}})}{\text{Abs}_{\text{control}}} \times 100$ เมื่อ $\text{Abs}_{\text{control}}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของ control และ $\text{Abs}_{\text{sample}}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของ sample

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามวิธี 2 × 3 factorial in CRD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple

range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรม SAS

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การเจริญเติบโตของต้นอ่อน

เมล็ดพันธุ์ Sweet Green และ Seafresh เมื่อผ่านการฉาย DBD พลาสมา นาน 0, 60 และ 240 วินาที พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และระยะเวลาในการฉาย DBD พลาสมาต่อความสูงและน้ำหนัก

สดของต้นอ่อน แต่มีปฏิสัมพันธ์ต่อน้ำหนักแห้งของต้นอ่อน (ตารางที่ 1)

ความสูง ต้นอ่อนพันธุ์ Seafresh สูง 3.53 ± 0.20 เซนติเมตร ซึ่งมีความสูงมากกว่าพันธุ์ Sweet Green ที่มีความสูง 3.33 ± 0.15 เซนติเมตร เมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมาและไม่ฉายพลาสมาให้ต้นอ่อนที่มีความสูงไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าอยู่ในช่วง 3.37 ± 0.24 ถึง 3.46 ± 0.17 เซนติเมตร (ตารางที่ 1)

Table 1 Plant height, fresh and dry weight of lettuce sprouts ‘Sweet Green’ and ‘Seafresh’ grown from seeds treated with DBD plasma for 60 and 240 s comparing to control

Cultivars	Exposure time (s)	Plant height (cm)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)
‘Sweet Green’		3.33 ± 0.15^b	16.59 ± 1.60^a	1.08 ± 0.18^a
‘Seafresh’		3.53 ± 0.20^a	12.15 ± 1.09^b	0.61 ± 0.10^b
	0	3.37 ± 0.24	13.59 ± 2.76^b	0.80 ± 0.20
	60	3.46 ± 0.17	14.26 ± 2.42^{ab}	0.84 ± 0.28
	240	3.45 ± 0.17	15.27 ± 2.77^a	0.88 ± 0.37
Cultivar (A)		*	**	**
Exposure time (B)		ns	*	ns
A x B		ns	ns	**

Means $\pm$ S.D. within column followed by the same letters were not significantly different at $p < 0.05$ level by DMRT; ns = non-significantly different; * = significantly different at $p < 0.05$; ** = significantly different at $p < 0.01$

น้ำหนักสด พันธุ์ Sweet Green ต้นอ่อนมีน้ำหนักสด 16.59 ± 1.60 กรัม ซึ่งมีค่าสูงกว่าพันธุ์ Seafresh ที่มีน้ำหนักสด 12.15 ± 1.09 กรัม เมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมา นาน 240 วินาที ให้ต้นอ่อนที่มีน้ำหนักสดสูงสุด 15.27 ± 2.77 กรัม ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดที่ผ่านการฉาย DBD พลาสมา นาน 60 วินาที ให้ต้นอ่อนที่มีน้ำหนักสด 14.26 ± 2.42 กรัม ส่วนเมล็ดไม่ฉายพลาสมาให้ต้นอ่อนที่มีน้ำหนักสดต่ำที่สุด 13.59 ± 2.76 กรัม (ตารางที่ 1)

น้ำหนักแห้ง พบว่าเมล็ดพันธุ์ Sweet Green ผ่านการฉาย DBD พลาสมา นาน 240 วินาที ให้ต้นอ่อนที่มีน้ำหนักแห้งสูงที่สุด 1.21 ± 0.03 กรัม ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมา นาน 60 วินาที ให้ต้นอ่อนที่มีน้ำหนักแห้ง 1.10 ± 0.11 กรัม ส่วนเมล็ดไม่ฉายพลาสมาให้ต้นอ่อนที่มีน้ำหนักแห้ง 0.93 ± 0.24 กรัม สำหรับเมล็ดพันธุ์ Seafresh ผ่านการฉาย DBD พลาสมาทุกระยะเวลา และไม่ฉายพลาสมา ให้ต้นอ่อนที่มีน้ำหนักแห้งต่ำที่สุด คือ $0.59 \pm$

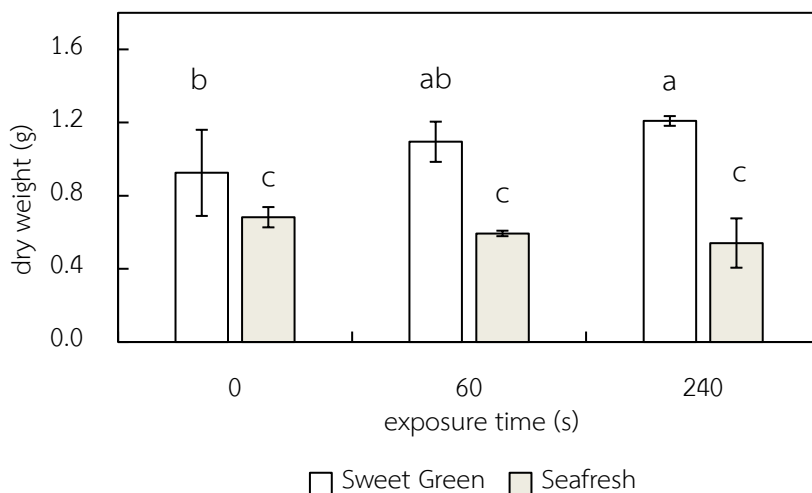


Figure 1 Dry weight of lettuce sprouts ‘Sweet Green’ and ‘Seafresh’ grown from seeds treated with DBD plasma for 60 and 240 s comparing to control

0.01 ถึง 0.68 ± 0.06 กรัม (รูปที่ 1)

ผลทดลองพบว่าพันธุ์ Seafresh ซึ่งเป็น ผักกาดหอมใบ (*L. sativa* var. *crispa*) เมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมาและไม่ฉายพลาสมาจะให้ต้นอ่อนที่มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนพันธุ์ Sweet Green ซึ่งเป็น สลัดคอส (*L. sativa* var. *longifolia*) เมล็ดผ่านการฉายพลาสมานาน 60 และ 240 วินาที ให้ต้นอ่อนที่มีการเจริญเติบโตดีขึ้น โดยมี น้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น 18.28 และ 30.11 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อนจากเมล็ดไม่ฉายพลาสมา แสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตของต้นอ่อนผักกาดหอมมีการตอบสนองต่อการฉาย DBD พลาสมาต่างกันในแต่ละพันธุ์และระยะเวลาในการฉายพลาสมา เช่นเดียวกับงานทดลองของ Dobrin และคณะ [9] ที่พบว่า เมล็ดข้าวสาลีผ่านการฉายพลาสมานาน 15 นาที ต้นอ่อนที่มีรากยาวและน้ำหนักต้นสูงกว่าต้นอ่อนที่ได้จากเมล็ดไม่ฉายพลาสมา ขณะที่ Šerá และคณะ [16] รายงานว่าเมล็ดข้าวสาลีผ่านการฉายพลาสมานานเกิน 5 นาที จะได้ต้นอ่อนที่มีการเจริญเติบโตลดลง

นอกจากนี้การฉายพลาสมาให้กับเมล็ด เมื่อนำไปเพาะ จะส่งเสริมการเจริญเติบโตในระยะต้นกล้าของพืชหลายชนิด ได้แก่ พริก [8] ถั่วลิสง [17] ผักกาดหัว [10,18,19] ถั่วเหลือง [5] เป็นต้น การที่พลาสมาสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้า เนื่องจากพลาสมาทำให้เปลือกเมล็ดสีกร่อน แตก และมีรูเปิด [6,10] จึงทำให้น้ำและออกซิเจนสามารถผ่านเข้าไปในเมล็ดได้ง่าย ประกอบกับน้ำสามารถเกาะติดกับผิวเมล็ดได้ดีขึ้น ส่งผลให้เมล็ดดูดน้ำได้สะดวก [5,9,20] ทำให้กระบวนการ metabolism ในระหว่างการงอกเกิดขึ้นได้ดี อีกทั้งเมล็ดที่ผ่านการฉายพลาสมาจะมีการใช้อาหารสะสมในเมล็ดได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพราะเมล็ดเหล่านั้นมีการกระตุ้นการสร้าง GA_3 ส่งเสริมให้ hydrolytic enzymes ทำงานเพิ่มขึ้น ทำให้ต้นอ่อนนำอาหารสะสมมาใช้ในการเจริญเติบโตได้ดี [5,6] อย่างไรก็ตาม การฉายพลาสมาให้กับเมล็ดก็ไม่สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชอีกหลายชนิด เช่น *Lupinus angustifolius* [21] *Fagopyrum aesculinum* [22] ข้าวโอ๊ต [16]

3.2 สารพฤกษเคมี

สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของต้นอ่อนผักกาดหอมทั้งสองพันธุ์จากการเพาะเมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมาที่ระยะเวลาต่าง ๆ พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และระยะเวลาในการฉาย DBD พลาสมา (ตารางที่ 2) เมล็ดพันธุ์ Seafresh ผ่านการฉาย DBD พลาสมานาน 60 และ 240 วินาที และไม่ฉายพลาสมา รวมทั้งเมล็ดพันธุ์ Sweet Green ผ่านการฉาย DBD พลาสมานาน 240 วินาที ต้นอ่อนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงและมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 33.38 ± 1.03

ถึง 36.34 ± 2.55 mg GAE/g dry extract ซึ่งสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นอ่อนพันธุ์ Sweet Green จากเมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมานาน 60 วินาที และไม่ฉายพลาสมา โดยมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 25.20 ± 1.70 และ 26.70 ± 1.64 mg GAE/g dry extract ตามลำดับ (รูปที่ 2) ผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการฉาย DBD พลาสมา สามารถกระตุ้นการสร้างสารประกอบฟีนอลิกได้เฉพาะในพันธุ์ Sweet Green โดยเมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมานาน 240 วินาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น 25 % เมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อนจากเมล็ดไม่ฉายพลาสมา

Table 2 Total phenolic and flavonoid contents, and DPPH radical scavenging capacities of lettuce sprouts ‘Sweet Green’ and ‘Seafresh’ grown from seeds treated with DBD plasma for 60 and 240 s comparing to control

Cultivars	Exposure times (s)	Total phenolic content (mg GAE/g dry extract)	Total flavonoid content (mg CE/g dry extract)	DPPH (%)
‘Sweet Green’		28.43 ± 3.95^b	30.11 ± 2.16	94.38 ± 0.64^a
‘Seafresh’		35.46 ± 2.70^a	30.84 ± 1.93	93.61 ± 1.29^b
	0	31.06 ± 4.96^b	29.22 ± 2.19^b	93.26 ± 1.20^b
	60	30.77 ± 6.28^b	30.55 ± 1.84^{ab}	94.56 ± 0.63^a
	240	34.01 ± 2.65^a	31.65 ± 1.42^a	94.17 ± 0.95^a
Cultivar (A)		**	ns	*
Exposure time (B)		*	*	*
AxB		**	ns	ns

Means $\pm$ S.D. within column followed by the same letters were not significantly different at $p < 0.05$ level by DMRT; ns = non-significantly different; * = significantly different at $p < 0.05$; ** = significantly different at $p < 0.01$

ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในต้นอ่อนพบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และระยะเวลาในการฉาย DBD พลาสมา ต้นอ่อนผักกาดหอมทั้งสองพันธุ์มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดไม่แตกต่างกัน

ทางสถิติ คือ 30.11 ± 2.16 และ 30.84 ± 1.93 mg CE/g dry extract ในพันธุ์ Sweet Green และ Seafresh ตามลำดับ สำหรับเมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมานาน 240 วินาที ต้นอ่อนมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์

ทั้งหมดสูงที่สุด 31.65 ± 1.42 mg CE/g dry extract แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมานาน 60 วินาที ที่ต้นอ่อนมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 30.55 ± 1.84 mg CE/g dry extract ส่วนเมล็ดไม่ฉายพลาสมา ต้นอ่อนมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดต่ำที่สุด 29.22 ± 2.19 mg CE/g dry extract (ตารางที่ 2) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการฉาย DBD พลาสมาสามารถกระตุ้นการสร้างสารฟลาโวนอยด์ในต้นอ่อนผักกาดหอม โดยเมล็ดผักกาดหอมผ่านการฉาย DBD พลาสมา นาน 60 และ 240 วินาที ให้ต้นอ่อนที่มีสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น 4.55 และ 8.32 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อนจากเมล็ดไม่ฉายพลาสมา

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า ไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และระยะเวลาในการฉายพลาสมาต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในต้นอ่อนผักกาดหอม โดยพันธุ์ Sweet Green มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าพันธุ์ Seafresh เมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมานาน 60 และ 240 วินาที ให้ต้นอ่อนที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 94.56 ± 0.63 และ 94.17 ± 0.95 % ตามลำดับ ส่วนเมล็ดไม่ฉายพลาสมาให้ต้นอ่อนที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำที่สุด 93.26 ± 1.20 % (ตารางที่ 2) แสดงให้เห็นว่าต้นอ่อนที่ได้จากเมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีกว่าต้นอ่อนจากเมล็ดไม่ฉายพลาสมา

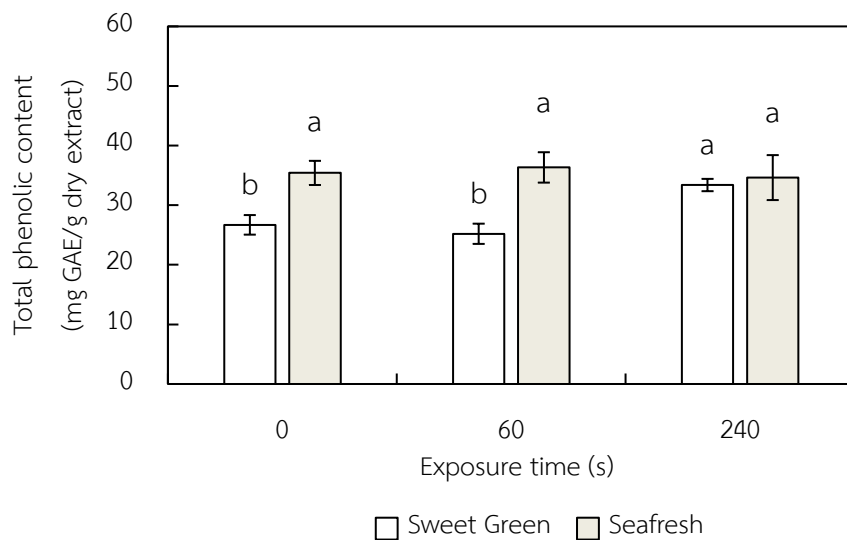


Figure 2 Total phenolic contents of lettuce sprouts ‘Sweet Green’ and ‘Seafresh’ grown from seeds treated with DBD plasma for 60 and 240 s comparing to control

การทดลองนี้เมื่อนำเมล็ดผักกาดหอมมาผ่านการฉาย DBD พลาสมาที่ระยะเวลาต่าง ๆ จะกระตุ้นให้ต้นอ่อนของพืชทั้งสองชนิดสร้างสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นต่างกันไปขึ้นกับพันธุ์และระยะเวลาที่เมล็ดผ่าน

การฉายพลาสมา ทั้งนี้เนื่องจากในกระบวนการเกิดพลาสมาจะก่อให้เกิดความร้อนสะสม ก๊าซโอโซน รังสียูวี และอนุมูลอิสระ [17,23] เมื่อเมล็ดผ่านการฉายพลาสมา จึงทำให้เซลล์ต่างๆ เกิดสภาวะเครียด และเพื่อป้องกันตัวเองให้อยู่รอดจึงกระตุ้นการสร้าง

ทุติยภูมิเพิ่มขึ้น ผลการทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับเมล็ด ปวยเล้งผ่านการฉาย DBD พลาสมา นาน 30 ถึง 60 วินาที [6] หรือเมล็ดข้าวสาลีผ่านการฉาย DBD พลาสมา นาน 60 วินาที [23] พบว่าต้นกล้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น และเมล็ดพริกผ่านการฉาย DBD พลาสมา นาน 120 วินาที ต้นกล้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในใบเพิ่มขึ้น 82.3 % เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ฉายพลาสมา [8]

3.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของต้นอ่อนผักกาดหอมที่เมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมา ระยะเวลาต่าง ๆ พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ($r = 0.53$) แต่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดไม่มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ตารางที่ 3) แสดงว่าเมื่อต้นอ่อนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นตามไปด้วย เนื่องจากฟลาโวนอยด์เป็นสารหลักในกลุ่มฟีนอลิกที่พบในพืชเช่นเดียวกัน ดังนั้นเมื่อพบสารประกอบฟีนอลิกมากก็จะพบสารฟลาโวนอยด์มากตามไปด้วย

โดยทั่วไปสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [24] แต่การทดลองนี้การเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ไม่ทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีขึ้น ซึ่งพืชที่มีสารประกอบฟีนอลิกสูง มักมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะดีขึ้นตามไปด้วย แต่ในการทดลองนี้ให้ผลไม่สอดคล้องกัน อาจเป็นเพราะสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มีหลายชนิด แต่ละชนิดมีความสามารถในการทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้ต่างกัน โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารฟลาโวนอยด์จะขึ้นอยู่กับหมู่แทนที่ตรงตำแหน่งวง B ถ้าหมู่แทนที่เป็นสารประเภทฟีนอลหรือเมทอกซีฟีนอลจะส่งผลให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำ [25] จึงทำให้ค่าการยับยั้งสารอนุมูลอิสระไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการเพิ่มของสารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ เช่นเดียวกับสารสกัดจากเปลือกผลของส้มซ่า (*Citrus aurantium* L.) ที่มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูง แต่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำ [26] ซึ่งต่างจากดอกพระจันทร์ (*Ipomoea alba* L.) ที่พบว่าเมื่อดอกมีการสะสมสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณสูงจะทำให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงตามไปด้วย [27]

ผลการทดลองสามารถกล่าวได้ว่า DBD พลาสมา เป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณสารทุติยภูมิของต้นอ่อนผักกาดหอม และควรมีการศึกษาผลของ

Table 3 Correlation coefficient (r) between total phenolic and flavonoid contents and DPPH radical scavenging capacities of lettuce sprouts ‘Sweet Green’ and ‘Seafresh’ grown from seeds non-treated and treated with DBD plasma.

	Total flavonoid content	DPPH (%)
Total phenolic content	0.53**	-0.18 ^{ns}
Total flavonoid content	-	0.059 ^{ns}

Ns = non-significantly different; ** = significantly different at $p < 0.01$

DBD พลาสมาต่อคุณภาพของผักกาดหอมในระยะที่เจริญเติบโตเต็มที่ เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มสารทุติยภูมิและพัฒนาเป็นอาหารเพื่อสุขภาพต่อไป

4. สรุป

4.1 การเจริญเติบโตของต้นอ่อนผักกาดหอมมีการตอบสนองต่อการฉาย DBD พลาสมาแตกต่างกันไปตามพันธุ์ และระยะเวลาในการฉายพลาสมา ต้นอ่อนพันธุ์ Sweet Green มีการเจริญเติบโตดีขึ้น เมื่อเมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมานาน 60 และ 240 วินาที แต่เมล็ดพันธุ์ Seafresh ผ่านการฉาย DBD พลาสมาไม่มีผลต่อการเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นอ่อน

4.2 ต้นอ่อนผักกาดหอมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น เมื่อเมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมานาน 240 วินาที ยกเว้นต้นอ่อนพันธุ์ Seafresh ที่เมล็ดผ่านการฉายพลาสมา ไม่สามารถเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด นอกจากนี้ต้นอ่อนจากเมล็ดผ่านการฉาย DBD พลาสมามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าต้นอ่อนจากเมล็ดไม่ฉายพลาสมา

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ภายใต้ “ทุนวิจัยทั่วไป” ตามสัญญาเลขที่ 2/22/2561

6. References

- [1] Chirokov, A., Gutsol, A. and Fridman A., 2005, Atmospheric pressure plasma of dielectric barrier discharges, Pure Appl. Chem. 77: 487-495.
- [2] Moreau, M., Orange, N. and Feuilletoy, M. G.J., 2008, Non- thermal plasma techno

logy: New tools for biodecontamination, Biotechnol. Adv. 26: 610-617.

- [3] Butscher, D., Loon, H. V., Waskov, A., von Rohr, P.R., and Schuppler, M., 2016, Plasma inactivation of microorganisms on sprout seeds in a dielectric barrier discharge, Int. J. Food Microbiol. 238: 222-232.
- [4] Štěpánová, V., Slaviček, P., Kelar, J., Prášil, J., Smékal, M., Stupavská, M., Jurmanová, J. and Černák, M., 2018, Atmospheric pressure plasma treatment of agricultural seeds of cucumber (*Cucumis sativus* L.) and pepper (*Capsicum annuum* L.) with effect on reduction of diseases and germination improvement, Plasma Process Polym. 15: e1700076.
- [5] Ling, L., Jiafeng, J., Jiangang, L., Minchong, S., Xin, H., Hanliang, S. and Yuanhua, D., 2014, Effects of cold plasma treatment on seed germination and seedling growth of soybean, Sci. Rep. 4: 5859.
- [6] Ji, S.H., Choi, K.H., Pengkit, A., Im, J.S., Kim, J. S., Kim, Y. H., Park, Y., Hong, E. J., Jung, S.K., Choi, E.H. and Park, G., 2016, Effects of high voltage nanosecond pulsed plasma and micro DBD plasma on seed germination growth development and physiological activities in spinach, Arch. Biochem. Biophys. 605: 117-128.
- [7] Singhawiboon, M., Rithichai, P., Jirakaitikul, Y. and Poolyarat, N., 2018, Effect of dielectric barrier discharge plasma on

- germination and vigor of lettuce (*Lactuca sativa*) seed, Thai Sci. Technol. J. 26(5): 815-822. (in Thai)
- [8] Iranbakhsh, A., Oraghi Ardebili, Z., Oraghi Ardebili, N., Ghoranneviss, M. and Safari, N., 2018, Cold plasma relieved toxicity signs of nano zinc oxide in *Capsicum annuum* cayenne via modifying growth, differentiation, and physiology, Acta Physio. Plant. 40: 154.
- [9] Dobrin, D., Magureanu M., Mandache, N. B. and Ionita, M.D., 2015, The effect of non-thermal plasma treatment on wheat germination and early growth, Innov. Food Sci. Emerg. 29: 255-260.
- [10] Kitazaki, S., Sarinont, T., Kago, K., Hayashi, N. and Shiratani, M., 2014, Plasma induced long-term growth enhancement of *Raphanus sativus* L. using combinatorial atmospheric air dielectric barrier discharge, Curr. Appl. Phys. 14: 149-153.
- [11] Jiafeng, J., Xin, H., Ling, I., Jiangang, L., Hanliang, S., Qilai, X., Renhong, Y. and Yuanhua, D., 2014, Effect of cold plasma treatment on seed germination and growth of wheat, Plasma Sci. Technol. 16: 54-58.
- [12] Worawattananutai, P., Itharat, A. and Ruangnoo, S., 2014, *In vitro* antioxidant, anti-inflammatory, cytotoxic activities against prostate cancer of extracts from *Hibiscus sabdariffa* leaves, J. Med. Assoc. Thai. 97: 81-87.
- [13] Folin, O. and Ciocalteu, V., 1927, On tyrosine and tryptophane determinations in proteins, J. Biol. Chem. 73: 627-650.
- [14] Zhu, H., Wang, Y., Liu, Y., Xia, Y. and Tang, T., 2010, Analysis of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV-Vis spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies, Food Anal. Methods 3: 90-97.
- [15] Yamasaki, K., Hashimoto, A., Kokusenya, Y., Miyamoto, T. and Sato, T., 1994, Electrochemical method for estimating the antioxidative effect of methanol feeding, Enzyme Microb. Tech. 36: 133-138.
- [16] Šerá, B., Špatenka, P., Šerý, M., Vrchotová, N. and Hrušková, I., 2010, Influence of plasma treatment on wheat and oat germination and early growth, IEEE Trans. Plasma Sci. 38: 2963-2968.
- [17] Bußler, S., Herppich, W.B., Neugart, S., Schreiner, M., Ehlbeck, J., Rohn, S. and Schlüter, O., 2015, Impact of cold atmospheric pressure plasma on physiology and flavonol glycoside profile of peas (*Pisum sativum* 'Salamanca'), Food Res. Int. 76: 132-141.
- [18] Mihai, A.L., Dobrin, D., Măgureanu, M. and Popa, M.E., 2014, Positive effect of non-thermal plasma treatment on radish seeds, Rom. Rep. Phys. 66: 1110-1117.
- [19] Matra, K., 2016, Non-thermal plasma for germination enhancement of radish seeds,

- Procedia Comput. Sci. 86: 132-135.
- [20] da Silva, A. R. M., Fariasa, M. L., da Silva, D.L.S., Vitorianoa, J.O., de Sousab, R.C. and Alves, C.Jr., 2017, Using atmospheric plasma to increase wettability, imbibition and germination of physically dormant seeds of *Mimosa caesalpiniaefolia*, Colloids Surf. B 157: 280-285.
- [21] Filatova, I., Azharonok, V., Lushkevich, V., Zhukovsky, A., Gadzhieva, G., Spasić, K., Živković, S., Puač, N., Lazović, S., Malović, G. and Petrović, Z.L., 2013, Plasma seeds treatment as a promising technique for seed germination Improvement, 31st ICPIG, Granada.
- [22] Šerá, B., Gajdová, I., Černák, M., Gavril, B., Hnatiuc, E., Kováčik, D., Kříha, V., Sláma, J., Šerý, M. and Špatenka, P., 2012, How various plasma sources may affect seed germination and growth, IEEE Trans. Plasma Sci. 40: 1365-1370.
- [23] Iranbakhsh, I., Ghoranneviss, M., Oraghi Ardebili, Z., Oraghi Ardebili, N., Hesami Tackallou, S. and Nikmaram, H., 2017, Non-thermal plasma modified growth and physiology in *Triticum aestivum* via generated signaling molecules and UV radiation, Biol. Plantarum 61: 702-708.
- [24] Rice-Evans, C.A. and Miller, N.J., 1996, Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food, Biochem. Soc. Trans. 24: 790-795.
- [25] Barreca, D., Bellocco, E., Caristi, C., Leuzzi, U. and Gattuso, G., 2011, Distribution of C- and O-glycosyl flavonoids, (3-hydroxy-3-methylglutaryl) glycosyl flavanones and furocoumarins in *Citrus aurantium* L. juice, Food Chem. 124: 576-582.
- [26] Rodglin, C., Srisook, E. and Srisook, K., 2017, Effects of extraction conditions on total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activities of different parts of *Citrus aurantium* L., Burapha Sci. J. 22(1): 211-225. (in Thai)
- [27] Rithichai, P., Khemwichai, P. Jirakiattikul, Y. and Youngvises, N., 2015, Flower development and antioxidant capacity in moonflower (*Ipomoea alba* L.), Thai Sci. Technol. J. 23(3): 497-506. (in Thai)