

ผลของการเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วย Rhodamine B ต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์และการเรืองแสง เพื่อป้องกันการปลอมแปลงเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ

Effect of Seed Coating with Rhodamine B on Seed Quality and Fluorescence for Anti-Counterfeiting of Tomato Seed

ชนกเนตร ชัยวิชา¹ และบุญมี ศรี¹

บทคัดย่อ

การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารเรืองแสงเป็นแนวทางหนึ่งในการสร้างเอกลักษณ์ และป้องกันการปลอมแปลงให้กับเมล็ดพันธุ์ที่มีมูลค่าสูง การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบผลของการเคลือบสารเรืองแสง rhodamine B บนเมล็ดพันธุ์ต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์และการเรืองแสงของเมล็ดพันธุ์และต้นกล้ามะเขือเทศ ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ โรงงานปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์ คณะเกษตรศาสตร์ และตรวจการเรืองแสงของเมล็ดพันธุ์ ณ ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น เตรียมสูตรสารเคลือบเมล็ดพันธุ์โดยใช้ Polyvinylpyrrolidone (K30) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นพอลิเมอร์ จากนั้นเติม rhodamine B ความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ อัตรา 0.125, 0.150, 0.175 และ 0.200 เปอร์เซ็นต์ ต่อสารละลายพอลิเมอร์ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารเคลือบมาเคลือบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศด้วยเครื่องเคลือบระบบจานหมุน รุ่น SKK 10 หลังการเคลือบแบ่งเมล็ดพันธุ์ออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนที่ 1 นำไปตรวจสอบการเรืองแสงบนผิวของเมล็ดพันธุ์ และต้นกล้ามะเขือเทศที่อายุ 14 วันหลังปลูก โดยใช้เครื่องฉายแสงอัลตราไวโอเล็ต Model SPECTRA-300 ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร และเครื่อง Spectrophotometer ส่วนที่ 2 นำไปตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ผลการทดสอบด้วยเครื่องฉายแสงอัลตราไวโอเล็ตพบว่า เมล็ดที่เคลือบด้วย rhodamine B มีการเรืองแสงเป็นสีส้มบนผิวของเมล็ดพันธุ์และต้นกล้ามะเขือเทศที่อายุ 14 วัน นอกจากนี้ พบว่าสาร rhodamine B ที่ใช้เคลือบเมล็ดพันธุ์ไม่มีผลต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง ผลจากการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่า rhodamine B สามารถใช้เคลือบเมล็ดพันธุ์เพื่อสร้างเอกลักษณ์ให้กับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศได้ และยังสามารถตรวจพบการเรืองแสงของ rhodamine B ในระยะต้นกล้าได้อีกด้วย

คำสำคัญ : ต้นกล้ามะเขือเทศ การเรืองแสง Rhodamine B การปลอมปนเมล็ดพันธุ์

Abstract

Seeds coated with fluorescent compound is an alternative method for identity and providing securing for the high value seeds. The objective of this experiment was examined seeds coating of rhodamine B fluorescing on seed and seedling of tomato. The experiment was conducted at Seed Technology Section of Seed Processing Plant, Faculty of Agriculture, and tested detection of the fluorescence on the seed at Central Laboratory, Faculty of Technology Khon Kaen University. Seed coating substance were prepared by using 5% of Polyvinylpyrrolidone (K30) as a polymer. After that, rhodamine B was added at four different label rates: 0.125, 0.150, 0.175 and 0.200% per 100 ml of polymer solution subsequently, tomato seeds were coated used of the Centric Coater, Model SKK 10. After coating

¹ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

process, the coated seeds were divided into 2 parts. The first part was evaluated and detected for fluorescence on seeds and the 14-days seedlings of tomato using hand-UV (Model UVGL-58; $\lambda=365$ nm.) and Spectrophotometer. The second part was evaluated seed quality after coating. The results showed that the coated seeds with rhodamine B had orange fluorescence light both on seeds and the 14-days seedlings. Additionally, the coated seed with rhodamine B had no effects on seed germination and vigor when tested under laboratory and greenhouse conditions. The conclusion of this experiment is rhodamine B can be used as seed coating substance for identity of tomato seeds. In addition, it can be detected the fluorescent of rhodamine B on the seedlings.

Keywords: tomato seedling, fluorescent, rhodamine B, anti-counterfeiting

คำนำ

ในปัจจุบันการค้าและอุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์ได้เจริญเติบโตขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งไทยเป็นผู้ส่งออกเมล็ดพันธุ์พืชมากที่สุดเป็นอันดับ 1 ของภูมิภาคเอเชีย-แปซิฟิก และเป็นอันดับ 12 ของโลก คิดเป็นมูลค่าประมาณ 7,000 ล้านบาท (สมาคมการค้าเมล็ดพันธุ์ไทย, 2555) การผลิตพืชที่มีประสิทธิภาพนั้นควรใช้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพดี ซึ่งจะทำให้เพิ่มผลผลิตพืชได้ทั้งปริมาณและคุณภาพ เมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการปลูกควรมีความงอก ความแข็งแรง และความสม่ำเสมอในการงอกที่สูง มีสิ่งเจือปนเป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ ซึ่งเมล็ดพันธุ์ที่มีลักษณะที่กล่าวมานี้เป็นเมล็ดพันธุ์ที่มีราคาสูง จึงทำให้มีบุคคลบางภาคกลุ่มแสวงหาผลประโยชน์จากการปลอมแปลงเมล็ดพันธุ์ที่มีมูลค่าสูง ส่งผลกระทบต่อระบบเศรษฐกิจ (Wu *et al.*, 2007) และส่งผลกระทบต่อคุณภาพในการผลิตพืชทางการเกษตร (Gao and Zhou, 2005) จึงมีการหาวิธีเพื่อป้องกันการปลอมแปลง การลอกเลียนแบบหลากหลายวิธี ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการป้องกันที่บรรจุกภัณฑ์ (Cai, 2009; Wang, 2009) ซึ่งวิธีนี้มีการลอกเลียนแบบได้ง่าย หรือหากบรรจุกภัณฑ์มีการเปิดออกก็ไม่สามารถยืนยันตัวตนที่แท้จริงของเมล็ดพันธุ์ได้ (Wu *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2007; Cai, 2009) ดังนั้นจึงมีการนำสารเรืองแสงมาใช้ในการป้องกันการปลอมแปลงเมล็ดพันธุ์ ที่ง่ายต่อการติดตามเมล็ดพันธุ์ (Remya *et al.*, 2011) มีการนำสารเรืองแสงมาใช้ในงานวิจัยทางด้านพืชโดย Hapner (1978) ได้รายงานการตรวจสอบของ agglutinin ที่ล้อมรอบปลายรากด้วยการเรืองแสงของสาร rhodamine B และต่อมามีการติดตามการขยายพันธุ์ โดยการย้อมเกสรด้วยสารเรืองแสง (Waser and Price, 1982) และยังมีการใช้สาร rhodamine B ในการทดสอบ mitochondria ของยอดกะหล่ำปลีในกระบวนการขาดน้ำ (Wu, 1987) นอกจากนี้ Shi *et al.* (2001) ได้ใช้ rhodamine B ในการศึกษาการเคลื่อนที่ของน้ำเข้าไปในเมล็ดของข้าวสาลี

จากการศึกษาการเรืองแสงของสาร rhodamine B จึงได้นำเอาเทคโนโลยีการเคลือบมาใช้ร่วมกับสารเรืองแสง rhodamine B เพื่อป้องกันการปลอมแปลงเมล็ดพันธุ์ ซึ่งมีการรายงานครั้งแรกโดย Guan *et al.* (2011) ได้นำเอาเทคโนโลยีการเคลือบเมล็ดพันธุ์มาใช้ร่วมกับสารเรืองแสง พบว่ามีการเรืองแสงที่ผิวของเมล็ดพันธุ์และในระยะต้นกล้าซึ่งไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า แต่สามารถตรวจสอบได้โดยแสงยูวีที่มีความยาวคลื่นจำเพาะ และงานทดลองของ Tian *et al.* (2014) ที่ทำการเคลือบเมล็ดพันธุ์ถั่วปากอ้าร่วมกับสารเรืองแสง rhodamine B โดยตรวจสอบการเรืองแสงในระยะต้นกล้าและการตกค้างของสารที่อยู่ในดิน พบว่า การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารเรืองแสง rhodamine B ไม่มีผลทางลบต่อความงอก ความเร็วในการงอกและไม่ก่อให้เกิดมลพิษทางดิน เนื่องจากสามารถย่อยสลายได้ในที่สุด และมีการเรืองแสงในต้นกล้าที่มีอายุ 16 วันหลังปลูก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความงอก ความแข็งแรงในการงอก ตลอดจนการเรืองแสงในระยะต้นกล้า 14 วันหลังปลูก เพื่อสร้างความจำเพาะให้กับเมล็ดพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

ดำเนินการทดลองที่โรงงานปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์ คณะเกษตรศาสตร์ และห้องปฏิบัติการกลาง คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น ในเดือน มกราคม-เมษายน 2558 ใช้เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศลูกผสมพันธุ์ SPP05 ได้รับจากบริษัท เอจี ยูนิเวอร์แซล จำกัด

เตรียมสารเคลือบเมล็ดพันธุ์โดยใช้ Polyvinylpyrrolidone (PVP-K30) เป็นพอลิเมอร์ ใช้ Polyethylene glycol 6000 (PEG6000) เป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่น (plasticizer) ของฟิล์ม titanium dioxide และ Iriodin เป็นสารเติมแต่งที่ช่วยในการห่อหุ้มและเพิ่มความเนียน สีผสมอาหาร และ rhodamine B เป็นสารเติมแต่ง โดยละลาย PVP-K30 ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 1 °C) เติมน้ำเพิ่มความยืดหยุ่น (plasticizer) คือ Polyethylene glycol ที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สารเติมแต่งที่จะช่วยในการห่อหุ้มและเพิ่มความเนียน คือ Titanium dioxide และ Iriodin ความเข้มข้น 2 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผสมด้วยสีผสมอาหาร ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ และสร้างความเป็นเอกลักษณ์ให้กับเมล็ดพันธุ์ด้วยการเติม rhodamine B ในความเข้มข้นต่างกัน คือ T0 (เมล็ดควบคุม), T1 (เมล็ดที่เคลือบโดยไม่มีสาร rhodamine B), T2 (rhodamine B, 0.125%), T3 (rhodamine B, 0.150%), T4 (rhodamine B, 0.175%) และ T5 (rhodamine B, 0.200%)

นำสารเคลือบที่เตรียมขึ้นมากลึงบนผิวของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ด้วยอัตรา 150 มิลลิกรัมต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม โดยใช้เครื่องเคลือบระบบจานหมุน รุ่น SKK10 จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์มาลดความชื้นให้มีความชื้นใกล้เคียงกับความชื้นของเมล็ดพันธุ์ก่อนการเคลือบ (7.00%) ด้วยเครื่องลดความชื้นระบบลมแห้ง SKK09 ที่อุณหภูมิ 35°C แล้วจึงนำเมล็ดไปตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบ หลังการเร่งอายุและการเรียงแสงที่ผิวของเมล็ดพันธุ์ ตลอดจนการเรียงแสงในระยะต้นกล้า 14 วันหลังปลูก

นำเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่ผ่านและไม่ผ่านการเคลือบทุก กรรมวิธี ละ 100 เมล็ด จำนวน 4 ซ้ำ มาตรวจสอบคุณภาพเบื้องต้นของเมล็ดพันธุ์หลังจากการเคลือบในลักษณะต่างๆ ได้แก่ ความงอกและความเร็วในการงอกของเมล็ดที่เพาะในสภาพห้องปฏิบัติการ และสภาพเรือนทดลอง ดังนี้

ความงอกของเมล็ดที่เพาะในห้องปฏิบัติการ โดยสูบน้ำเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจำนวน 100 เมล็ดต่อซ้ำ มาเพาะด้วยวิธี top of paper (TP) โดยวางเมล็ดบนกระดาษที่มีความชุ่มชื้นในภาชนะที่มีฝาปิด แล้วปิดฝาภาชนะเพื่อรักษาความชื้น จากนั้นนำไปไว้ในตู้เพาะที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 25-30 องศาเซลเซียส และประเมินผลของความงอกหลังเพาะเมื่ออายุ 5 วัน ทุกวันจนถึง 14 วัน โดยการตรวจนับต้นกล้าที่งอกปกติ (normal seedling)

ความงอกของเมล็ดพันธุ์ที่เพาะในสภาพเรือนทดลอง สูบน้ำเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ 100 เมล็ดต่อซ้ำ จำนวน 4 ซ้ำ เพาะลงในถาดเพาะที่มีพีทมอส (peat moss) และนำไปไว้ในสภาพโรงเรือน ประเมินความงอกหลังจากการเพาะเมื่ออายุ 5 วัน นับทุกวันจนถึง 14 วัน โดยการตรวจนับจำนวนเฉพาะต้นกล้าที่งอกปกติ ส่วนดัชนีในการงอกของเมล็ดพันธุ์ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง คำนวณดัชนีในการงอกของเมล็ดพันธุ์จากเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ โดยสามารถคำนวณจากสูตร

$$\text{ดัชนีในการงอก} = \left(\frac{\text{จ.น.ต้นกล้าปกติ 5 วันหลังเพาะ}}{\text{จ.น.วันที่ตรวจนับครั้งแรก (5 วัน)}} + \dots + \frac{\text{จ.น.ต้นกล้าปกติ 14 วันหลังเพาะ}}{\text{จ.น.วันที่ตรวจนับครั้งสุดท้าย (14 วัน)}} \right)$$

เพื่อตรวจสอบความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์หลังจากการเคลือบ จึงนำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเคลือบแล้วมาเร่งอายุ โดยนำเมล็ดพันธุ์ใส่ในถุงผ้าวางบนตะแกรงที่อยู่ในกล่องเร่งอายุ ที่มีน้ำ 100 มิลลิลิตร โดยให้ระดับน้ำอยู่ต่ำกว่าตะแกรง 2 เซนติเมตร ปิดกล่องให้สนิทนำไปไว้ในตู้เร่งอายุเมล็ดพันธุ์ที่มีอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 96 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุแล้วมาตรวจสอบความงอกและความเร็วในการงอกของเมล็ดพันธุ์ที่เพาะในสภาพห้องปฏิบัติการ

นำเมล็ดที่ผ่านการเคลือบด้วยพอลิเมอร์ร่วมกับสารเรืองแสงหลังการเคลือบและเร่งอายุ จำนวน 20 เมล็ด ไปตรวจสอบการเรืองแสงด้วยเครื่องฉายแสงอัลตราไวโอเลตแบบพกพา Model SPECTRA-300 ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร และตรวจสอบคลื่นแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer

ทดสอบการเรืองแสงของต้นกล้ามะเขือเทศ โดยนำต้นกล้ามะเขือเทศอายุ 14 วันหลังเพาะ จำนวน 1 ต้น/กรรมวิธี มาตรวจสอบการเรืองแสงของต้นกล้าด้วยเครื่องฉายแสงอัลตราไวโอเลตแบบพกพา Model SPECTRA-300 ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ของการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์และการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ โดยวิเคราะห์ตามแผนการทดลอง completely randomized design (CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) การวิเคราะห์ความงอกของเมล็ดพันธุ์มีการแปลงค่าโดย arcsine ก่อนการวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของการเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ rhodamine B ต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบและการเร่งอายุ จากการตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศหลังการเคลือบร่วมกับสารเรืองแสงพบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเคลือบร่วมกับสารเรืองแสงไม่มีผลต่อความงอกและความเร็วในการงอกของเมล็ดพันธุ์ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพเรือนทดลองเมื่อเทียบกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้เคลือบ (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Tian *et al.* (2013) ที่เคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารเรืองแสง rhodamine - B (RB) และ safranin - T (ST) ในอัตราที่แตกต่างกัน รายงานว่าไม่มีผลต่อกระทบต่อการงอกและการเจริญเติบโตต้นกล้า เช่นเดียวกันกับพจนานและคณะ (2556) ขณะที่บุญมีและพรทิศา (2556) ศึกษาการเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารเรืองแสง riboflavin ในอัตราต่างๆ รายงานผลทำนองเดียวกันว่าการเคลือบไม่มีผลต่อความงอกและความเร็วในการงอกของเมล็ดพันธุ์

เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเคลือบมาตรวจสอบความแข็งแรงด้วยวิธีการเร่งอายุที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าเมื่อเร่งอายุเป็นเวลา 96 ชั่วโมง ความงอกและความเร็วในการงอกไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (Table 2) สอดคล้องกับงานของ Almeida *et al.* (2005) ซึ่งได้ทำการเคลือบเมล็ดพันธุ์บรีดโคลิดด้วย hydroxyethyl cellulose (HEC) พบว่าคุณภาพเมล็ดพันธุ์ด้านการงอกและความเร็วในการงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

Table 1 Effects of seed coat substance with the different concentrations of rhodamine B on seed germination and germination index tested under laboratory and greenhouse conditions after coating.

Coating substance	Germination (%) ^{1/}		Germination index	
	Laboratory	Greenhouse	Laboratory	Greenhouse
T0	98	98	15.2	15.0
T1	98	99	14.7	14.7
T2	98	97	14.6	14.4
T3	98	98	15.1	15.5
T4	98	97	15.2	15.6
T5	97	97	14.6	14.9
F-test	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	1.51	1.13	5.9	2.9

ns = non statistical significant difference Transform data by arcsine before statistical analysis

T0: control, T1: Coating substance, T2-T5 Coating substance added with 0.125, 0.150, 0.175 and 0.200 gram rhodamine B, respectively

^{1/} Data were transformed by arcsine

Table 2 Effects of seed coat substance with the different concentrations of rhodamine B on seed germination and germination index tested under laboratory and greenhouse conditions after accelerated aging.

Coating substance	Germination (%) ^{1/}		Germination index	
	Laboratory	Greenhouse	Laboratory	Greenhouse
T0	83	80	10.56	10.58
T1	81	82	10.54	10.32
T2	82	81	10.30	10.66
T3	82	82	10.53	10.38
T4	82	80	10.45	10.65
T5	83	80	10.63	10.42
F-test	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	1.70	1.28	2.97	2.56

ns = non statistical significant difference

Transform data by arcsine before statistical analysis

T0: control, T1: Coating substance, T2-T5 Coating substance added with 0.125, 0.150, 0.175 and 0.200 gram rhodamine B, respectively

^{1/} Data were transformed by arcsine

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของการเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ rhodamine B ต่อการเรืองแสงของเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบและเร่งอายุ นำเมล็ดที่ผ่านการเคลือบด้วยพอลิเมอร์ร่วมกับสารเรืองแสงไปตรวจสอบการเรืองแสงที่ผิวของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ (Figure 1) โดยใช้เครื่องฉายแสงอัลตราไวโอเล็ต (Hand-UV) (รูป A,D) ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร จากการสังเกต การเรืองแสงของแสงฟลูออเรสเซนต์ด้วยตาเปล่าภายพบว่าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศร่วมกับสารเรืองแสง rhodamine B มีการเรืองแสงเป็นสีส้ม เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ไปเร่งอายุที่ 96 ชั่วโมงพบว่าเมล็ดพันธุ์ยังมีการเรืองแสงใกล้เคียงกับเมล็ดพันธุ์ก่อนการเคลือบ เมื่อนำเมล็ดไปตรวจสอบคลื่นแสงภายใต้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นกระตุ้น 450 นาโนเมตร (รูป C,F) พบว่าเมล็ดที่เคลือบด้วยสารเรืองแสง rhodamine B มีคลื่น Wavelength ที่ 610 นาโนเมตร ส่วนเมล็ดพันธุ์ควบคุมและเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้เคลือบร่วมกับสารเรืองแสง rhodamine B มีคลื่น Wavelength ที่ต่างออกไป จากเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบร่วมกับสารเรืองแสง rhodamine B

จากการติดตามการเรืองแสงที่ติดอยู่กับผิวเมล็ดพันธุ์ด้วยเครื่องฉายแสงอัลตราไวโอเล็ต จะเห็นว่าการเคลือบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศด้วยพอลิเมอร์ร่วมกับสารเรืองแสงที่ผิวของเมล็ดพันธุ์นั้น มีสารเรืองแสงติดอยู่ที่ผิวของเมล็ดและสามารถตรวจสอบได้ ดังนั้นการเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารเรืองแสงจึงสามารถบ่งบอกถึงเอกลักษณ์ ป้องกันการลอกเลียนแบบ ซึ่งสอดคล้องกับงานของกับ Tian *et al.* (2013) ที่เคลือบเมล็ดร่วมกับสารเรืองแสง rhodamine B และ safranine-T บนเมล็ดถั่วลิสง เพื่อป้องกันการปลอมแปลงเมล็ดพันธุ์ และ Guan *et al.* (2013) ใช้ rhodamine B ในการเคลือบเมล็ดยาสูบ ในการสร้างความเป็นเอกลักษณ์ให้กับเมล็ดพันธุ์ เช่นเดียวกันชนกนตร และบุญมี (2557) พบว่าการเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารเรืองแสง rhodamine B สามารถนำไปใช้เพื่อป้องกันการลอกเลียนแบบเมล็ดพันธุ์ได้เช่นกัน

จากการตรวจสอบการเรืองแสงของต้นกล้าหลังเคลือบและเร่งอายุโดยการ นำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเคลือบและไม่ผ่านการเคลือบร่วมกับสารเรืองแสง และหลังการเร่งอายุไปเพาะความงอกเพื่อนำต้นกล้ามาตรวจสอบการเรืองแสงที่ระยะ 14 หลังปลูก โดยตรวจสอบการเรืองแสงของแสงฟลูออเรสเซนต์ด้วยตาเปล่าภายใต้เครื่องฉายแสงอัลตราไวโอเล็ต ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร(รูป B, C) พบว่า ต้นกล้าของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่เคลือบด้วยสาร rhodamine B มีการเรืองแสงเป็นสีส้ม ต้นกล้าควบคุมและต้นกล้าที่ไม่ได้เคลือบสารเรืองแสง (T0,T1) ต้นกล้าไม่มีการเรืองแสง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sellei. (1941), Guan *et al.* (2011) และ Guan *et al.* (2013) ที่ทำการทดลองในเมล็ดยาสูบและเมล็ดดาวเรืองหลังจากการตรวจสอบการเรืองแสงในต้นกล้า พบว่า rhodamine B มีการเรืองแสงเป็นสีส้มเมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงสีเขียว และ Tian *et al.* (2014) ได้เคลือบเมล็ดพันธุ์ถั่วปากอ้า ร่วมกับสารเรืองแสง rhodamine B เพื่อติดฉลากให้กับเมล็ดพันธุ์และตรวจสอบการเคลื่อนย้ายของสาร rhodamine B พบว่าในเมล็ดพันธุ์และต้นกล้าถั่วปากอ้า เมื่อต้นกล้ามีอายุ 10 วันหลังเพาะยังสามารถตรวจสอบการเรืองแสงในต้นพืชได้ แต่การเรืองแสงค่อยๆน้อยลงเมื่อต้นกล้ามีอายุมากขึ้น การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารเรืองแสง rhodamine B สารจะถูกดูดซึมเข้าไปโดยรากและถูกส่งขึ้นไปใบ ผ่านทางท่อลำเลียงไปยังก้านใบพร้อมกับการงอกของเมล็ดพันธุ์ซึ่งการเรืองแสงของต้นกล้าเป็นข้อได้เปรียบเมื่อเทียบกับเทคโนโลยีต่อต้านการปลอมแปลงโดยใช้ผลิตภัณฑ์ภายนอก ซึ่งสามารถตรวจสอบได้บนเมล็ดพันธุ์และต้นกล้าโดยตรงนอกจากนี้เนื่องจากสารเรืองแสงและความยาวคลื่นของแสงกระตุ้นที่เฉพาะเจาะจง เทคโนโลยีนี้จึงมีประสิทธิภาพในการป้องกันการลอกเลียนแบบสูง ตรวจสอบได้ง่ายและรวดเร็วซึ่งเป็นประโยชน์อย่างมากกับผู้ใช้ และสารเรืองแสง rhodamine B มีการพิสูจน์แล้วว่ามีความปลอดภัยสำหรับพืชและแสดงให้เห็นการเรืองแสงที่ดีในเมล็ดและต้นกล้ามะเขือเทศ

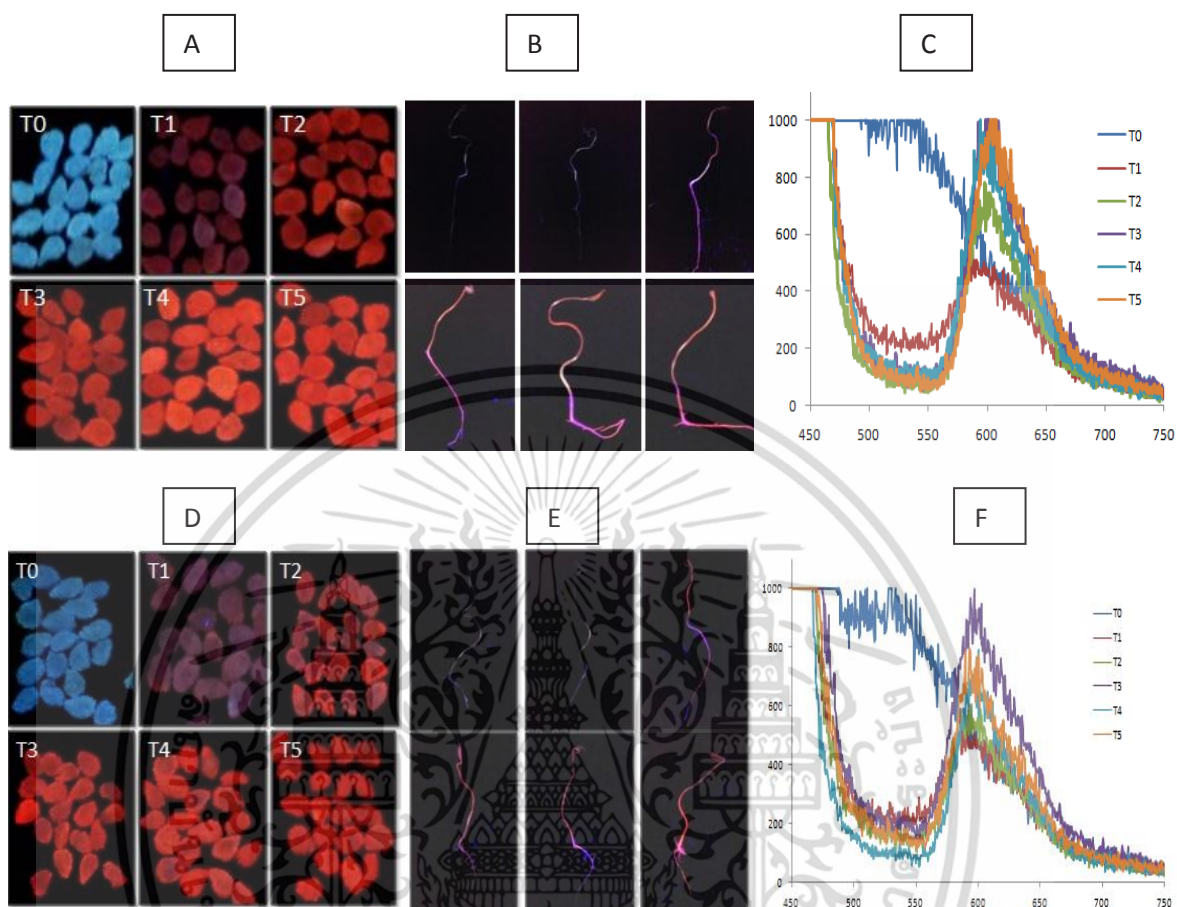


Figure 1 Visible fluorescence viewed under long-UV light of non-aged. (A). Seedling fluorescence viewed under long-UV light of non-aged. (B) Fluorescence emission spectra from a Spectrophotometer of non-aged. (C) Visible fluorescence viewed under long-UV light after accelerated aging. (D) Seedling fluorescence viewed under long-UV light after accelerated aging. (E) Fluorescence emission spectra from a spectrophotometer after accelerated aging (F) of coated Tomato seeds. T0, T1, T2, T3, T4 and T5 correspond to rhodamine B in the coating formulation at 0, 0.125, 0.150, 0.175 and 0.2 respectively;

สรุปผลการทดลอง

การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับสารเรืองแสง rhodamine B ไม่มีผลต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง และมีการเรืองแสงของต้นกล้าที่อายุ 14 วันหลังปลูก สามารถตรวจสอบการเรืองแสงโดยใช้เครื่องฉายแสงอัลตราไวโอเล็ตที่มีความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร และเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นกระตุ้น 450 นาโนเมตร สามารถสร้างความเป็นเอกลักษณ์ให้กับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศได้และสามารถนำไปพัฒนาใช้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ได้รับทุนสนับสนุนในการศึกษา ปริญญาโท และการทำวิจัยจาก โครงการพัฒนาศักยภาพเพื่อการวิจัยและพัฒนา สำหรับภาคอุตสาหกรรม (NUI-RC) จากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และขอขอบคุณ หน่วยงานปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และอุปกรณ์ในการทำทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- ชนกเนตร ชัยวิธา และบุญมี ศิริ. 2557. การเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยเพอริลเมอริร่วมกับ Rhodamine-B ต่อการเรืองแสงและคุณภาพเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศลูกผสม. แก่นเกษตร 42 ฉบับพิเศษ 1.
- บุญมี ศิริ และพรทิวา สิมะคร. 2556. ศึกษาการสร้างสารเคลือบร่วมกับสารเรืองแสงต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ. การประชุมวิชาการเมล็ดพันธุ์พืชแห่งชาติ ครั้งที่ 10 หน้า 111-117 วันที่ 20-24 พฤษภาคม 2556 ณ โรงแรม Hansa JB Hotel, จังหวัดสงขลา.
- พจนาน สีขาว, พัฒนา วีรพรชัยสิทธิ์ และบุญมี ศิริ. 255. การเคลือบเมล็ดด้วยไรโบฟลาวินต่อเอกลักษณ์และคุณภาพของเมล็ดพันธุ์แตงกวาลูกผสม. การประชุมวิชาการเมล็ดพันธุ์พืชแห่งชาติ ครั้งที่ 10 หน้า 46-54.
- สมาคมการค้าเมล็ดพันธุ์ไทย. 2555. ชูยุทธศาสตร์บูรณาการค้าอุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์ปี 2554 ผู้รักเมล็ดพันธุ์เอเชีย. สืบค้นข้อมูลเมื่อ 4 มกราคม 2557 จาก http://www.thannews.th.com/index.php?option=com_content&view=article&id=51753:2554-&catid=171:pr&Itemid=512.
- Almeida, C de., Rocha, C.D.R. and Razera, L.F. 2005. Polymer coating, germination and vigor of broccoli seed. [Online]. Available at: <http://www.scielo.br/scielo.php>. cited Dec 15,2005.
- Cai, Y.L. 2009. Several new anti-counterfeiting technologies for packaging. Shanghai Packaging 2: 40-41.
- Gao, H. and Zhou, R. 2005. The development trend of seed anti-counterfeiting packaging. Seed World 9: 6-7.
- Guan, Y., Hu, J., Li, Y., Ma, W. and Zheng, Y. 2011. A new anti-counterfeiting method: fluorescent labeling by safranin T in tobacco seed. Acta Phys. Plant 33: 1271-1276.
- Guan, Y., Wang, J., Hu, J., Li, Y., Ma, W., Hu, W. and Zhu, S. 2013. Pathway to keep seed security: the application of fluorescent to identify true and fake pelleted seed in tobacco. Ind. Crop Prod. 45, 367-372.
- Hapner, S.J. and Hapner, K.D. 1978. Rhosamine immune his to fluorescence applied to plant tissue. J Histochem Cytochem 26:478-482.
- Remya, N.A.C., Poulouse Y.N., Yasuhiko, Y.T.M.D. and Sakthi, K. 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.
- Sellei, J. 194. Further growth experiments with fluorescent dyes. Growth 5: 27-52.
- Shi, Y.X., Hareland, G.A. and Appolonia, B.L.D. 2001. The use of fluorescent dye to study the movement of water into wheat kernels. J Zhengzhou Institute of Technol 22:17-20
- Tian, Y., Wang, Q., Hu, J., Wang J. and Guan Y. 2013. Application of fluorescent dyes for falsification-preventing of pea seeds (Pisum sativum L). Australian Journal of Crop Science 7(1): 147-151.
- Tian Y.B., Zhan, L., Fei, H., Yajing, G., Shuijin, Z. and Jin, H. (2014) A novel anti-counterfeiting method: Application and decomposition of RB for broad bean seeds (Vicia faba L.) Industrial Crops and Products 61: 278-283
- Wang, Z.H. 2009. Anti-counterfeiting technologies grow by leaps and bounds in the market. Print Today 2: 76-79.
- Waser, N.M. and Price, M.V. 1982. A comparison of pollen and fluorescent dye carryover by natural pollinators of Ipomopsis aggregata (Polemoniaceae). Ecology 63: 1168-1172
- Wu, F.S. 1987. Localization of mitochondria in plant cells by vital staining with rhodamine 123. Planta 171: 346-357.
- Wu, P., Song, C.H. and Zheng, X.Y. 2007. An advanced seed anti-counterfeiting technology and its application prospects. Vegetables 11: 34-35.
- Zhang, Y.M., Sun, W.Y. and Xu, M. 2007. The application of anticounterfeiting packaging to seed industry. China Seed Ind 11:16-17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้