การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum spp.* ในพริกขี้หนูด้วยพลาสมาเจ็ท

An Effect of Treatment Time for Inactivation of *Colletotrichum spp.* using Plasma Jet

พณิดา เพชรศักดิ์สูง[1]* กฤติมา คธาเพ็ชร[1] สุมาลี เลี่ยมทอง[2] ชัยภรณ์ แก้วอ่อน[3]

[1]สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช 80280

*อีเมล์ phanida3186@gmail.com

[2]สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช 80280

อีเมล์ somsom9@hotmail.com

3สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช 80280

อีเมล์ banparksiew@hotmail.com

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichumspp.*จากผิวของพริกขี้หนู โดยวางเชื้อราบนจานอาหาร PDA จำนวน 18 จาน และนำมาฉายพลาสมาโดยควบคุมกำลังในการกำเนิดพลาสมาที่ 40 วัตต์อัตราการไหลของแก๊สอาร์กอนที่ 0.5 ลิตร/นาที ระยะห่างระหว่างปลายหัวเจ็ทกับตัวอย่าง 5 มิลลิเมตร อุณหภูมิแวดล้อมและความชื้นสัมพัทธ์ขณะทดลองอยู่ที่ 25 องศาเซลเซียส และ 51-53 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยใช้เวลาในการฉายพลาสมาเป็นเวลา 2, 4, 6, 8 และ 10 นาทีตามลำดับ แล้วสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทุก ๆ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าการเพิ่มเวลาในการฉายพลาสมาสามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichumspp.* จากพริกขี้หนูได้ และที่เวลา 8 นาทีสามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์

คำสำคัญ : พลาสมาเจ็ท เชื้อรา *Colletotrichum spp.* การยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum spp.*

Abstract

This research aim to study the effect of treatment time from plasma jet to inactivate *Colletotrichumspp.* selected from Bird Chilli past on PDA plate for 18 plates. The plasma jet was set at the power of 40 watt, the flow rate of Argon gas of 0.5 L/min and the distance between the tip of the jet and the sample of 5 mm. The temperature and relative humidity were 25℃ and 51-53%, respectively. The samples were irradiated with the plasma jet for 2, 4, 6, 8 and 10 minutes, respectively. The growth of the fungus was obtained by measuring the diameter of the colony every 24, 48 and 72 hours, showed that the increase of treatment time could inactivate *Colletotrichum spp*. from the Bird Chilli and the treatment time of 8 minutes can completely inactivate the fungus.

Keyword: plasma jet, *Colletotrichum spp*, inactivation of *Colletotrichum spp.*

บทนำ

พริกเป็นพืชผักที่มีความสำคัญในการประกอบอาหารประจำวันสำหรับคนไทยเป็นอย่างมากเนื่องจากคนไทยนิยมรับประทานอาหารที่มีรสชาติค่อนข้างเผ็ด จึงนิยมปลูกพริกเพื่อบริโภคในครัวเรือนและนอกจากนี้ยังมีการปลูกพริกเพื่อการค้าในรูปพริกสด ผลิตภัณฑ์แปรรูปเครื่องปรุงแต่งรส เช่น พริกแห้ง พริกป่น น้ำพริกเผา น้ำพริกแกง และซอสพริก เป็นต้น [1] ในการปลูกพริกนอกจากการให้น้ำ ใส่ปุ๋ย และการกำจัดวัชพืชแล้ว ยังมีศัตรูพริกต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่อผลผลิตการปลูกพริกเป็นอย่างมาก ซึ่งศัตรูพริกที่สำคัญที่พบได้ทั่วไป ได้แก่ แมลง เช่น เพลี้ยไฟ แมลงวันพริก เพลี้ยอ่อนพริก แมลงหวี่ขาเรียว ไรขาว และโรคต่าง ๆ เช่น โรคเหี่ยว โรคใบจุด โรครากและโคนเน่า และ โรคแอนแทรคโนส (โรคกุ้งแห้ง) ซึ่งเป็นโรคที่พบเป็นส่วนใหญ่ในพืชตระกูลพริก [2] ผลพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนสมีสาเหตุมาจากกลุ่มรา *Colletotrichumspp.*จำนวน3 ชนิดได้แก่ *C. gloeosporioides C. capsici* และ *C. piperatum* เมื่อแห้งแล้วมีอาการหงิกงอ และสีของพริกเปลี่ยนไปด้วย [3] จึงมีการคิดค้นวิธีการกำจัดเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืชหลายวิธี เช่น การใช้สารเคมีฉีดพ่นบริเวณที่เป็นโรคแอนแทรคโนส สามารถกำจัดเชื้อรา *Colletotrichum spp.* ได้จริง แต่ก็มีสารพิษตกค้างขึ้นอยู่กับชนิดของสารเคมีที่ใช้ [4] การใช้น้ำหมักสมุนไพรที่มีรสฝาดมาหมัก ใช้ในการกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราได้ผลดียิ่ง โดยใช้พืชรสฝาดผสมกับกากน้ำตาลและน้ำเปล่า หมักทิ้งไว้เป็นเวลา 30 วัน [5] ซึ่งเห็นได้ชัดว่าวิธีนี้เป็นวิธีที่ต้องใช้เวลานาน

พลาสมา (Plasma) เป็นสถานะแก๊สที่แตกตัวเป็นประจุไฟฟ้าอยู่รวมกันมากมาย ทั้งที่เป็นอุณหภูมิต่ำ (พลาสมา-เย็น) ระดับอุณหภูมิห้องไปจนถึงอุณภูมิสูง (พลาสมาร้อน) ระดับหลายพันเคลวิน อีกทั้งยังมีคุณสมบัติที่หลากหลายแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับแหล่งกำเนิดและปัจจัยหลายประการ นักวิทยาศาสตร์จึงกำหนดให้พลาสมาเป็นสถานะที่ 4 ของสสาร ซึ่งโดยทั่วไปพลาสมาสามารถเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติภายใต้ความดันและอุณหภูมิที่เหมาะสม บริเวณต่าง ๆ ในอวกาศ เช่น ช่องว่างระหว่างดวงดาวในกาแล็กซี่ กลุ่มแก๊สร้อน ดาวฤกษ์ทุกดวง หรือแม้กระทั่งแสงเหนือแสงใต้ที่เกิดขึ้นที่ขั้วโลกก็ล้วนแล้วแต่เป็นพลาสมาที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ แต่อย่างไรก็ตาม มนุษย์ก็สามารถประดิษฐ์พลาสมาขึ้นเองได้ [6]

พลาสมาเย็น ถือเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่สามารถใช้ในการยับยั้งหรือกำจัดเชื้อโรค ไวรัส และแบคทีเรีย เป็นต้น ซึ่งนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร การแพทย์ และอุตสาหกรรมด้านอื่น ๆ ซึ่งพลาสมาสามารถเกิดได้โดยใช้สนามไฟฟ้าปริมาณมากแก่แก๊ส เมื่อพลังงานส่งผ่านไปยังอิเล็กตรอนอิสระมากพอจะทำให้อิเล็กตรอนอิสระชนกับอะตอมและทำให้เกิดกระบวนการแตกตัวเป็นไอออน ซึ่งเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและกลายเป็นพลาสมาในที่สุดซึ่งพลาสมาประกอบไปด้วยไอออน กลุ่มอิเล็กตรอน โอโซน รังสี UV และผลลัพธ์ดังกล่าวส่งผลให้การยับยั้งหรือกำจัดเชื้อโรค ไวรัส และแบคทีเรียต่าง ๆ เช่น โอโซน ซึ่งมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรค เชื้อรา ไวรัส และแบคทีเรียได้ดีกว่าคลอรีน รังสี UV มีความยาวคลื่น 2,000 – 3,900 แองสตรอม โดยสามารถฆ่าเชื้อโรคได้ดีในช่วงความยาว 2,500 – 2,950 แองสตรอม และกลุ่มประจุลบ สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อโรคต่าง ๆ ได้โดยกลุ่มประจุลบจะไปดักจับกับเชื้อโรคต่าง ๆ ได้[7]เทคโนโลยีพลาสมาที่นำมาใช้ทางการแพทย์ในประเทศไทยครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2556 คือพลาสมาอุณหภูมิต่ำ มีด้วยกัน 2 ระบบ คือ ระบบพลาสมาเย็นแบบสัมผัส มีหัวจ่ายพลาสมาเป็นแบบลูกกลิ้ง และระบบเจ็ทพลาสมา มีหัวจ่ายพลาสมาเป็นท่อทรงกระบอก ที่ส่วนปลายของหัวจ่ายเป็นท่อแก้วสำหรับจ่ายพลาสมา ซึ่งมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรค [8] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาวิจัยการใช้พลาสมาอุณหภูมิต่ำในการกำจัดเชื้อไวรัส และแบคทีเรีย ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำพลาสมาอุณหภูมิต่ำ (พลาสมาเจ็ท) มาใช้ในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum spp.* ในพริกขี้หนู

วัตถุประสงค์

1 เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum spp.* โดยใช้พลาสมาเจ็ท

2 เพื่อศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้พลาสมาเจ็ทยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum spp.* ในพืชตระกูลพริก

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมเชื้อรา

1.1 การเตรียมอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA)

ในการเตรียมเชื้อรา *Colletotrichum spp.* จะต้องมีอาหารในการเลี้ยงเชื้อรา ซึ่งใช้อาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เพื่อทำการทดลอง โดยนำมันฝรั่งมาหั่นเต๋าขนาดประมาณหนึ่งลูกบาศก์เซนติเมตรเติมน้ำพอท่วมแล้วนำไปต้มให้พอสุกโดยใช้ไฟระดับกลางนำมากรองเพื่อใช้เฉพาะน้ำ แล้วใส่ส่วนผสมโดยใช้อัตราส่วนดังนี้ น้ำมันฝรั่ง 40 mlAgar 7.5 gน้ำตาล glucose 10 gเติมน้ำกลั่นให้ครบ 500 ml แล้วนำไปต้มให้ส่วนผสมเข้ากัน จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง auto clave แล้วนำอาหารที่ได้มาเทใส่ Plate ในตู้ Laminar flow เพื่อป้องกันการปนเปื้อน ดังภาพที่ 1

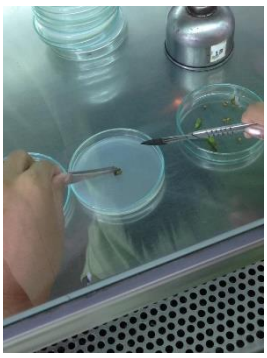
ก.

ข.

ภาพที่ 1เทอาหาร PDA ใส่ Plate ในตู้ Laminar flow ก. ลนปากขวดอาหาร PDA เพื่อฆ่าเชื้อ ข. เทอาหารให้ทั่วก้น Plate

1.2 การเลี้ยงเชื้อรา

นำพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนส (โรคกุ้งแห้ง) มาล้างทำความสะอาด ตัดผลพริกส่วนที่เป็นโรคกุ้งแห้งแล้วผ่านำเมล็ดออก จากนั้นนำผิวของผลพริกส่วนที่เป็นโรคกุ้งแห้งวางบนอาหาร PDA เลี้ยงไว้ 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องดังภาพที่ 2



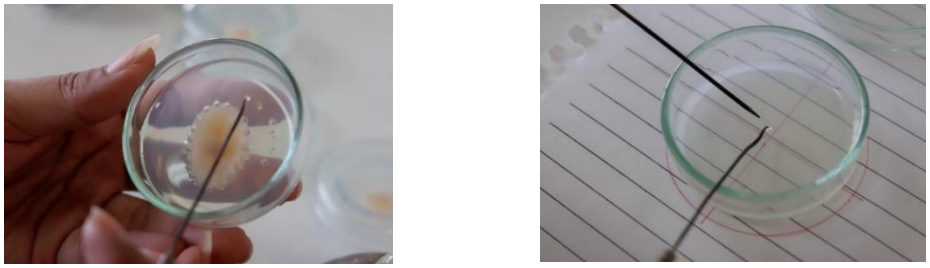
ภาพที่ 2 การวางพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนสใน Plate PDA

1.3 การแยกเชื้อราบริสุทธิ์

สังเกตการงอกของเชื้อราที่เลี้ยงไว้แล้วเลือกส่วนที่เป็นเชื้อรา *Colletotrichumspp.* (มีลักษณะเป็นสีส้ม)ดังภาพที่ 3 จากนั้นนำเข็มเขี่ยปลายงอมาฆ่าเชื้อโดยการนำไปเผาไฟเขี่ยส่วนปลายเส้นใยเชื้อราไปวางใน plate อาหาร PDA แล้วเลี้ยงไว้ 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะทำการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ลง plate เพื่อใช้ในการทดลอง โดยใช้ด้านปลายของหลอดหยด (Dropper) จิ้มบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อราเพื่อกำหนดขนาดเริ่มต้นของเชื้อราในการทดลอง ดังภาพที่ 4 และใช้เข็มเขี่ย เขี่ยเชื้อราที่จิ้มไว้ไปวางคว่ำใน plate ที่ต้องการทดลอง จำนวน 18 plate ดังภาพที่ 5

ภาพที่ 3 เชื้อรา *Colletotrichumspp.* จากผลพริก

ภาพที่ 4 การกำหนดขนาดเริ่มต้นของเชื้อราโดยการใช้ Dropper



ก. ข.

ภาพที่ 5 การวางเชื้อราที่บริสุทธิ์ ก. ใช้เข็มเขี่ยเชื้อราที่กำหนดขนาดเริ่มต้นแล้ว ข. วางเชื้อราลงใน Plate PDA แบบคว่ำ

2. การฉายพลาสมา

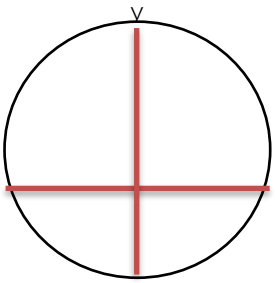
ติดตั้งอุปกรณ์พลาสมาโดยกำหนดเงื่อนไขดังนี้ อัตราการไหลของแก๊สอาร์กอน 0.5 ลิตร/นาทีกำลังไฟฟ้าในการ

กำเนิดพลาสมา 40 วัตต์ระยะจากหัวเจ็ทถึงเชื้อรา 5 มิลลิเมตรอุณหภูมิห้องทดลอง 25 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 51-53%และทำการฉายพลาสมาให้กับเชื้อราตามเงื่อนไขเวลา โดยกำหนดตัวอย่างควบคุม เงื่อนไขเวลา 2, 4, 6, 8 และ 10 นาที โดยใช้เชื้อราบริสุทธิ์ในการทดลองเงื่อนไขละ 3 plateดังภาพที่ 6 จากนั้นบ่มเชื้อราไว้ที่อุณหภูมิแวดล้อม

ภาพที่ 6 การฉายพลาสมาตามเงื่อนไขเวลา

3.การวัดและวิเคราะห์ผล

วัดการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยวัดจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทั้งสองแนว (แกน x , y) ทุก ๆ 24, 48 และ 72 ชั่วโมงดังภาพที่ 7แล้วหาค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราพร้อมบันทึกผล



ก.

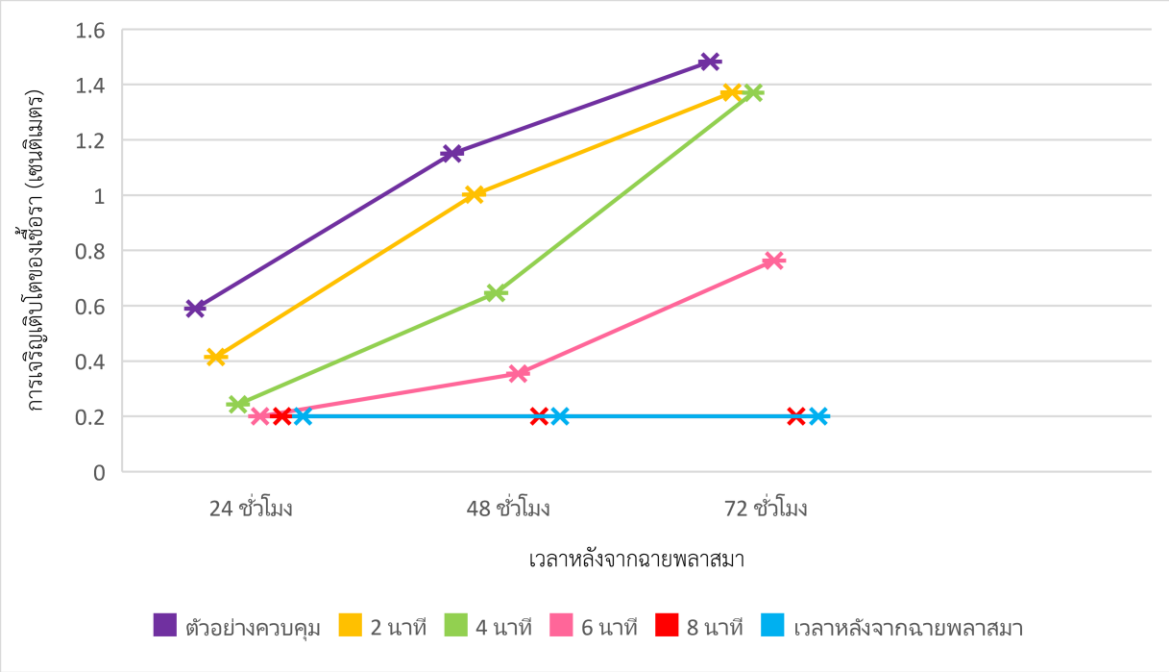
ข.

ค.

ภาพที่ 7การวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทั้งสองแนว ก. แนวการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อรา ข. วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราในแนวแกน x ค. วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราในแนวแกน y

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

จากการตรวจวัดและวิเคราะห์ผลการทดลอง ผู้วิจัยได้นำเสนอผลการศึกษาโดยเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum spp.* หลังจากได้รับการฉายพลาสมาที่เงื่อนไขเวลา 2, 4, 6, 8 และ 10 นาที ตามลำดับและทำการวัดการเจริญเติบโตของเชื้อราทุก ๆ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 การเจริญเติบโตของเรื้อรา *Colletotrichum spp.* หลังจากได้รับการฉายพลาสมาที่เงื่อนไขเวลา 2, 4, 6, 8 และ 10 นาที

จากภาพแสดงให้เห็นว่า ในช่วงเวลา 8 นาทีเป็นต้นไป ไม่พบการเจริญเติบโตของเรื้อรา *Colletotrichumspp.* ดังนั้น เวลาที่เหมาะสมที่สุดในการฉายพลาสมาสำหรับการควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อรา คือ 8 นาที

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากผลการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum spp.* ในพริกขี้หนูโดยใช้พลาสมาเจ็ท พบว่าพลาสมาเจ็ทสามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum spp.* ในพริกขี้หนูได้ ซึ่งเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum spp.* นั้นอยู่ที่ 8 นาที

จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum spp.* ในพริกขี้หนูด้วยพลาสมาเจ็ทแล้ว ผู้วิจัยเห็นว่า สามารถนำไปศึกษาต่อในประเด็นต่าง ๆ ได้อีก เช่น ประสิทธิภาพของแก๊สในการยับยั้งเชื้อรา กำลังไฟฟ้าที่เหมาะสม เป็นต้น

การนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำพลาสมาเจ็ทไปยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum spp.* ในพริกขี้หนูเพื่อให้เกษตรกรชาวไร่พริกได้รับผลผลิตอย่างเต็มที่

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะครุศาสตร์ และศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการใช้สถานที่ รวมไปถึงอุปกรณ์ให้แก่ผู้วิจัยตลอดจนงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

[1] สำนักงานเกษตรอำเภอเมืองเลย,(2560),พริก,[ออนไลน์]. จาก:
http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2589/capsicum

[2] อุดม ฟ้ารุ่งสาง, (มปป),โรคของพริกในประเทศไทย,[ออนไลน์]. จาก: http://www.thaikasetsart.com

[3] ลักษณา วรรณภีร์, (2536),โรคแอนแทรคโนส,[ออนไลน์].จาก:
http://www.agriqua.doae.go.th/plantclinic/Clinic/plant/mango/anthracnose.html

[4] ไทยรัฐ, (2559),โรคพริกหน้าฝน,[ออนไลน์].จาก:https://www.thairath.co.th/content/654199

[5] รักบ้านเกิด, (2558),เตือนผู้ปลูกพริก ควรเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของโรคแอนแทรคโนส,[ออนไลน์].จาก:
http://rakbankerd.com/agriculture/

[6] รังสรรค์ ศรีสาคร, (2543),พลาสมา (สถานะของสสาร),[ออนไลน์]. จาก: http://www.wigipedia. org/wigi

[7] เมธาวุฒิ สมอุ่นจารย์, (2559),การสร้างระบบฆ่าเชื้อเครื่องมือแพทย์ด้วยพลาสมา,[ออนไลน์].
จาก http://medicaldevices.oie.go.th/box/Article/2899/ETE1737.pdf

[8] ธีรวรรณ บุญญวรรณ,“เทคโนโลยีพลาสมา,” ปริญญานิพนธ์, ศูนย์วิจัยนิวตรอนพลังงานสูง ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่, 2550.