

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

4.1 คุณภาพเบื้องต้นของเมล็ดพันธุ์

เตรียมเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ทำความสะอาด แล้วนำไปลดความชื้น นาน 2 วัน จนความชื้นเมล็ดเหลือต่ำกว่า 12 % แล้วนำเมล็ดไปปลูกถ่ายเชื้อด้วยสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา (Spore Suspension) คลุกเมล็ดเป็นเวลาทั้งหมด 16 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อรามีครบทุกระยะการเจริญ (Fungi Growth Stage) ตรวจวัดหาความชื้นเพื่อเตรียมปรับสภาพความชื้นบรรจุลงภาชนะเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 15 °C เป็นเวลา 2 วัน ใช้เวลาในการปรับสภาพเมล็ดพันธุ์ประมาณ 5 วัน เมื่อเริ่มทำการทดลอง นำเมล็ดออกจากห้องเย็นให้อุณหภูมิกลับเข้าสู่อุณหภูมิห้องก่อน นำเมล็ดไปทำทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ทันที

การทดสอบคุณภาพเบื้องต้นของเมล็ดพันธุ์ ก่อนทำการปรับสภาพเมล็ดพันธุ์ เปรียบเทียบกับ เมล็ดที่ผ่านการปรับความชื้น และปลูกถ่ายเชื้อรา *A. flavus* แล้ว

ตารางที่ 4.1 การทดสอบคุณภาพเบื้องต้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดก่อนการทดลอง

ชนิดของเมล็ดพันธุ์	ความงอก (%)		ความแข็งแรง (%)	น้ำหนัก 1,000 เมล็ด (g.)
	ต้นกล้าปกติ	ต้นกล้าผิดปกติ		
เมล็ดพันธุ์ปกติ	99.75	0.25	100.00	255.75
เมล็ดพันธุ์ผ่านการปรับสภาพ	78.00	22.00	97.35	225.0

พบว่า เมล็ดพันธุ์ปกติ มีคุณภาพเบื้องต้นระดับมาตรฐาน ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการปรับสภาพ มีคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ลดลงอันเนื่องมาจากมีความเสียหายจากเชื้อรา *A. flavus* เข้าทำลาย ดังแสดงผลในตารางที่ 4.1

4.2 การตรวจหาเชื้อรา ที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ ตรวจสอบโดยวิธีเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Potato Dextrose Agar

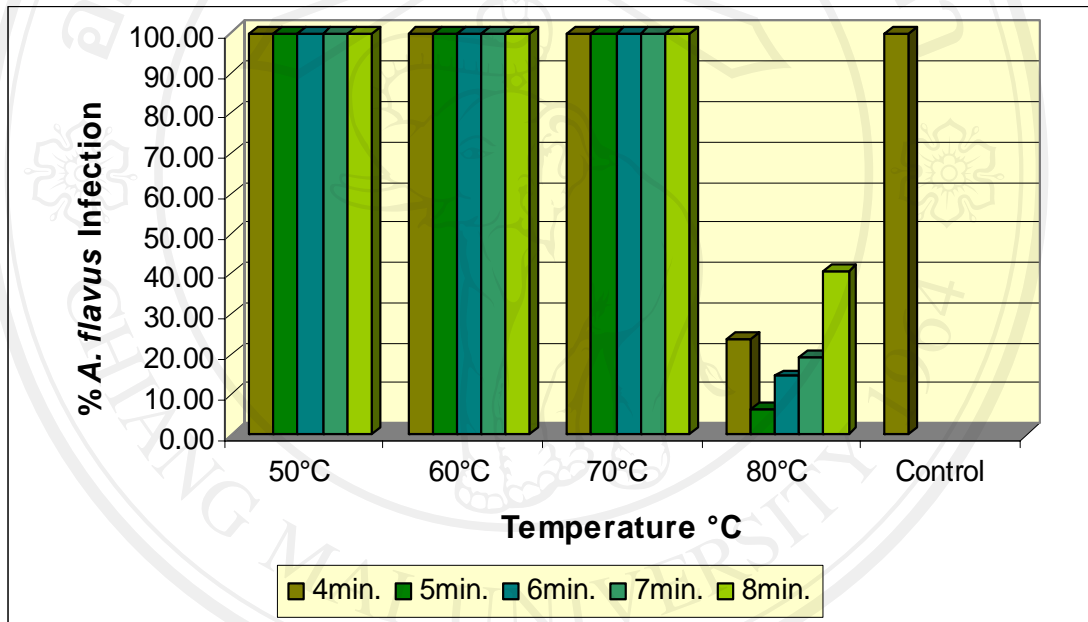
ตารางที่ 4.2 เชื้อราที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ ตรวจสอบโดยวิธีเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เชื้อรา	เชื้อราที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ (Contaminated infection)	
	เมล็ดพันธุ์ปกติ (%)	เมล็ดพันธุ์ผ่านการปรับสภาพ (%)
<i>A. flavus</i>	25.00	100.00
<i>A. niger</i>	6.00	0.00
รวม	31.00	100.00

พบว่า การปนเปื้อนของเชื้อราในเมล็ดพันธุ์ปกติ มีการปนเปื้อนของเชื้อราในตระกูล *Aspergillus spp.* ซึ่งเป็นเชื้อราในโรงเก็บรวมกันเพียง 31.00 % เมล็ดพันธุ์ผ่านการปรับสภาพ จะตรวจพบเชื้อรา *A. flavus* 100.00 % เพราะในเมล็ดทุกเมล็ดจะมี Spore จากการปลูกถ่ายเชื้อโดยใช้ Spore suspension ของ *A. flavus* และมีการตรวจพบเชื้อราในกลุ่ม *Fusarium spp.* โดยจะมีลักษณะของเส้นใยสีขาวเจริญขึ้นมาอย่างไม่สม่ำเสมอ เนื่องจาก เชื้อราในกลุ่ม *Fusarium spp.* จะเป็นเชื้อรา seed borne fungi จะมีการพักตัวและเจริญจากภายในเมล็ด การทำความสะอาดโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ จะไม่สามารถเข้าไปถึงภายในได้ เมื่อทำการทดสอบเชื้อรา เมล็ดจะได้รับความชื้นจาก อาหาร PDA จนงอก เชื้อรา *Fusarium spp.* ภายในเมล็ดก็จะสามารถเจริญขึ้นมาได้ แต่การเจริญของเชื้อรากลุ่ม *Aspergillus spp.* และ *Fusarium spp.* สามารถเจริญในที่เดียวกันได้ ในการวัดผลการทดลองจึงทำการตรวจวัดเพียงแค่ การปนเปื้อนของ *Aspergillus spp.* เท่านั้น

4.3 ประสิทธิภาพของ RF ในการลดปริมาณเชื้อรา *Aspergillus flavus* ที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด

จากการตรวจหาเชื้อรา *A. flavus* ที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่มีค่าเริ่มต้น 100 % โดยวิธีเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า ที่ระดับอุณหภูมิ 50, 60 และ 70 °C ไม่มีการลดลงของปริมาณเชื้อราในทุกๆระยะเวลา แต่ที่ระดับอุณหภูมิ 80 °C การปนเปื้อนของเชื้อรา มีแนวโน้มลดลงทุกระยะเวลา ที่ 4, 5, 6, 7 และ 8 นาที การปนเปื้อนของเชื้อรา มีค่า 23.66, 6.16, 14.58, 19.46 และ 40.76 % ตามลำดับ



ภาพที่ 4.1 การปนเปื้อนเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่มีค่าเริ่มต้น 100 %

จากการตรวจหาเชื้อรา *A. flavus* ที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด โดยวิธีเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อสตาร์ Potato Dextrose Agar พบว่า ที่ระดับอุณหภูมิ 50 °C, 60 °C และ 70 °C ไม่มีการลดลงของปริมาณเชื้อราในทุกๆระยะเวลา แต่ที่ระดับอุณหภูมิ 80 °C จะสามารถกำจัด เชื้อรา *A. flavus* ได้เพียงบางส่วน

ระดับอุณหภูมิ และระยะเวลาในการให้คลื่น Radio frequency แก่เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีผลต่อการกำจัดเชื้อรา *A. flavus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ ผ.3) และมีความสัมพันธ์ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของระดับอุณหภูมิที่ให้แก่เมล็ด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ในวิธีการตรวจหาด้วยวิธีวางเมล็ดบนอาหารวุ้น PDA ในเมล็ดพันธุ์

ข้าวโพด โดยที่ อุณหภูมิ 50 °C, 60 ° C และ 70 °C ไม่สามารถกำจัดเชื้อรา *A. flavus* ได้เลย ไม่ว่าจะเพิ่มระยะเวลาในการให้คลื่นนานเท่าไรก็ตาม โดยจะตรวจพบเส้นใยสีเขียวขึ้นบริเวณผิวเมล็ดข้าวโพดและบนผิวอาหารร่วน เนื่องจาก เชื้อรา *A. flavus* เมื่อขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสีเขียวซึ่งเป็นสีของ conidial head ที่เจริญเส้นใย (hyphae) ส่วนของก้านชูสปอร์จะโป่งออกรูปร่างค่อนข้างกลม (vesicle) เป็นส่วนที่จะให้กำเนิดสปอร์ (sterigme หรือ pialide) ซึ่งอาจมีชั้นเดียว (uniseruate) หรือสองชั้น (diseraiate) ในกรณีที่มี 2 ชั้น ชั้นในส่วนที่ติดกับ vesicle เรียกว่า metulae (primary steraiate) ส่วนชั้นนอก ซึ่งเป็น phailide (secondary sterigma) ตรงส่วนปลายเป็นที่เกิดของสปอร์ (conidia) ซึ่งส่วนมากมีรูปร่างกลมผนังขรุขระเล็กน้อย และเกิดต่อกันเป็นลูกโซ่ (Kenneth and Derothy, 1965 ; Alexophus and Mims, 1979) โครงสร้างเหล่านี้จะมีความสามารถในการทนต่ออุณหภูมิสูง ซึ่งการใช้ความร้อนที่ระดับนี้ จะสามารถกำจัดเชื้อราได้เพียงบางส่วน แต่ สปอร์ของเชื้อรา *A. flavus* จะมีโครงสร้างที่ทนทานต่อความร้อน ทำให้ไม่สามารถกำจัด *A. flavus* ได้ เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม เชื้อรา *A. flavus* ก็จะเจริญขึ้นมาใหม่ได้

แต่เมื่อให้อุณหภูมิแก่เมล็ดที่ 80 °C ซึ่งเป็นระดับอุณหภูมิที่สูงพอที่จะใช้กำจัดเชื้อราสามารถกำจัดเชื้อรา *A. flavus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ โดยที่ระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการกำจัดเชื้อราคือ การให้คลื่นเป็นระยะเวลา 5 นาที ทั้งนี้เนื่องจากว่าที่สภาพความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่ระยะเวลา 5 นาที ความชื้นจะยังคงลดลงไม่มาก ทำให้การให้คลื่น Radio frequency แก่เมล็ด เมล็ดจะมีการดูดซับพลังงานคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าแล้วเปลี่ยนเป็นพลังงานความร้อน ได้ดีกว่าเมล็ดที่มีความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่ระยะเวลา ผ่านไปมากกว่า 6 นาทีขึ้นไป ซึ่ง ความชื้นในเมล็ดจะลดลงมากกว่า มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อรา *A. flavus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ต่ำกว่า ในขณะที่ หากใช้เวลาที่น้อยกว่า 5 นาที คือ ที่ 4 นาที การกำจัดเชื้อราจะเป็นไปได้น้อยกว่า เนื่องจากระยะเวลาในการได้รับความร้อน ไม่นานพอที่จะกำจัดเชื้อรา *A. flavus*

ระยะเวลาในการให้คลื่น RF มีผลต่อการลดลงของเชื้อ *A. flavus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในวิธีการตรวจหาด้วยวิธีวางเมล็ดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในเมล็ดที่มีความชื้นเริ่มต้น 14.25 % เมื่อให้อุณหภูมิแก่เมล็ดที่ 80°C สามารถกำจัดเชื้อรา *A. flavus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ โดยที่เวลา ที่ 4 นาที จะมีการปนเปื้อนของเชื้อราเหลืออยู่ 23.66 %และที่ระยะเวลา ที่ 5 นาที การปนเปื้อนของเชื้อราจะลดลง เหลือ 6.16 % หลังจากนั้น ที่ระยะเวลา 6 ,7 และ 8 นาที การปนเปื้อนของเชื้อรา จะมีแนวโน้มที่เพิ่มมากขึ้น เป็น 4.58, 19.46 และ 40.76 % ตามลำดับ เมื่อเทียบกับที่ระยะเวลาที่ 5 นาที

ซึ่ง เมื่อดูจากการเปลี่ยนแปลงความชื้นจากการให้คลื่น RF แล้ว ทุกๆอุณหภูมิ เมื่อระยะเวลาในการให้คลื่น Radio frequency ที่ยาวนานขึ้น ความชื้นจะมีแนวโน้มที่ลดลง โดยที่

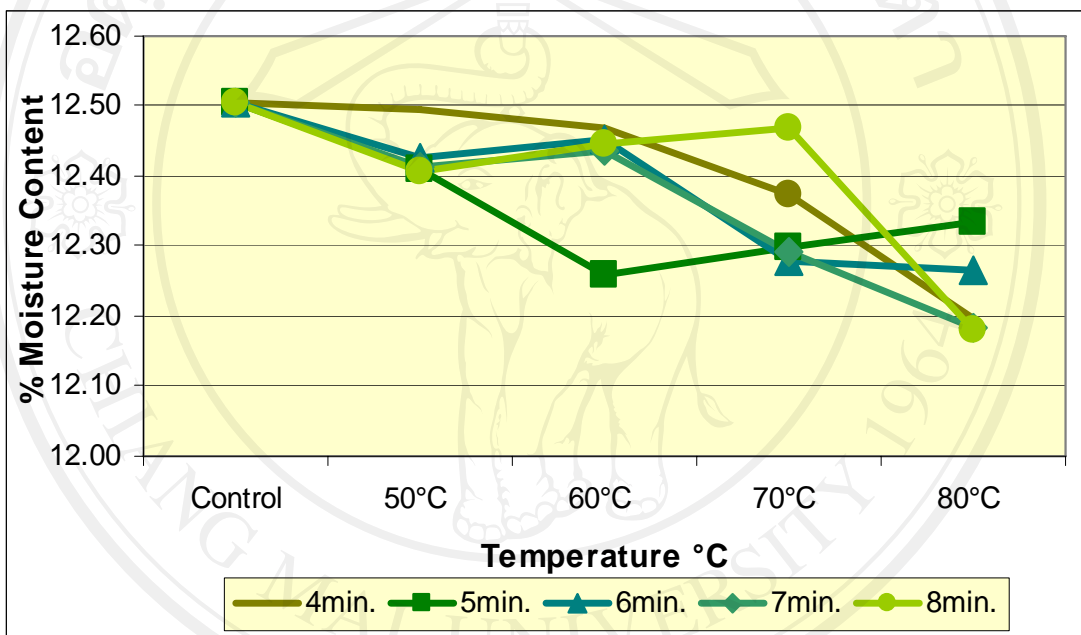
ระยะเวลาที่ 5 นาที จะเป็นระยะเวลาที่ความชื้น จะคงรักษาระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ใกล้เคียงกับ ก่อนที่จะลดลงจนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่ระยะเวลาที่ 6 นาทีเป็นต้น ไป ยิ่งระยะเวลา ในการให้คลื่น RF นานเท่าใด ความชื้นในเมล็ดก็จะเหลือน้อยลงตามลำดับ

ทั้งนี้เนื่องจากว่าที่สภาพความชื้นเมล็ดพันธุ์สูงเมื่อให้ RF แก่เมล็ด เมล็ดจะมีการดูดซับ พลังงานคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าแล้วเปลี่ยนเป็นพลังงานความร้อน ได้ดีกว่าเมล็ดที่มีความชื้นเมล็ดพันธุ์ ต่ำ จึงทำให้เมล็ดที่มีความชื้นเริ่มต้นสูง มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อรา *A. flavus* ที่ติดมากับ เมล็ดพันธุ์ได้สูงกว่า สอดคล้องกับ Cwiklinski and Von Hörsten (1999) ที่ให้คลื่นไมโครเวฟแก่ เมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีที่อุณหภูมิ 70-75 °C เป็นระยะเวลา 150-180 วินาที พบว่า ในเมล็ดที่มีความชื้น เริ่มต้น 10 % สามารถกำจัดเชื้อที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้อย่างสมบูรณ์ และ Cavalcant and Muchavej (1993) ทำการให้คลื่นไมโครเวฟแก่เมล็ดเป็นระยะเวลา 0-7 นาทีสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อรา ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง, ถั่วลิสง, ข้าวสาลี และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ได้ การให้อุณหภูมิสูง สามารถทำลายเชื้อที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ โดยที่ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบ ทางเคมีภายในเมล็ดเพราะในการใช้ความร้อนทำลายเชื้อ เชื้อจะถูกทำลายที่ทุกอุณหภูมิที่เหนือ ระดับต่ำสุดของอุณหภูมิที่สามารถทำลายเชื้อได้ และการทำลายเชื้อจะเกิดได้เร็วขึ้นที่อุณหภูมิสูงๆ และช้าลงที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งที่ระดับอุณหภูมิสูงที่สามารถทำลายเชื้อได้โดยเร็วแต่การเกิดปฏิกิริยาทาง เคมีที่เปลี่ยนไปจะเกิดได้ช้ากว่า ฉะนั้นแล้วการใช้อุณหภูมิสูงในการทำลายเชื้อไม่ส่งผลต่อการเสีย สภาพของสารประกอบทางเคมี แต่ทั้งนี้ขึ้นกับระยะเวลาที่ให้แก่เมล็ดพันธุ์ด้วย ประกอบกับ ทนง (2535) พบว่า ความร้อนชื้นมีผลในการทำลายเชื้อมากกว่าความร้อนแห้งหลายสิบเท่า และในวัตถุ แห้งจะต้องใช้ความร้อน เพื่อการฆ่าเชื้อสูงกว่าและใช้เวลานานกว่าวัตถุที่มีน้ำมากด้วยเช่นกัน

ในการวัดผลการทดลอง การปนเปื้อนของเชื้อ *A. flavus* จะตรวจพบเส้นใยสีขาวของ *Fusarium spp.* ด้วย โดยที่ *Fusarium spp.* จะขึ้นปกคลุมเมล็ดในบางส่วน แต่ *A. flavus* ก็ยังสามารถ เจริญได้ดี และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น จำนวนเมล็ดที่มีเส้นใย และปริมาณเส้นใยก็ลดลงด้วยเช่นกัน จน ที่อุณหภูมิ 80°C ไม่ปรากฏการปนเปื้อนของเชื้อรา *Fusarium spp.*เลยซึ่งมีความเป็นไปได้ว่า *Fusarium spp.* จะสามารถกำจัดโดยการใช้ RF ได้

4.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นในเมล็ด

จากการตรวจหาปริมาณความชื้นในเมล็ดพันธุ์ภายหลังจากให้คลื่น RF ที่ระดับอุณหภูมิ 4 ระดับ คือ 50, 60, 70 และ 80 °C เป็นระยะเวลา 4, 5, 6, 7 และ 8 นาที แก่เมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้นเมล็ดเริ่มต้น 12.51% wet basis พบว่า ความชื้นในเมล็ดมีแนวโน้มลดลงตามระดับของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น และระยะเวลาที่นานขึ้น โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 4.4) และพบว่าทั้งสองปัจจัยต่างมีอิทธิพลร่วมกัน ดังแสดงในภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงความชื้นในเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่มีความชื้นเริ่มต้น 12.51%

การให้คลื่น RF แก่เมล็ดพันธุ์ที่ระดับอุณหภูมิต่างกันมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความชื้นในเมล็ดพันธุ์ โดยการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ และเวลาส่งผลให้เกิดการสูญเสียความชื้นในเมล็ดมากขึ้น พบว่า ในเมล็ดที่มีความชื้นเริ่มต้น 12.51% wb. ที่ระดับอุณหภูมิต่ำสุด 50 °C ความชื้นในเมล็ดลดลงน้อยที่สุด เป็น 12.50 % wb. ที่เวลา 4 นาที และที่อุณหภูมิสูงสุด 80 °C ความชื้นในเมล็ดลดลงมากที่สุด เป็น 12.18 % wb. ที่เวลา 8 นาที

ภายหลังจากการให้คลื่น RF แก่เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด พบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับอุณหภูมิที่ และระยะเวลาในการให้คลื่น RF แก่เมล็ดมีผลต่อการลดลงของความชื้นในเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และปัจจัยทั้งสองต่างมีความสัมพันธ์ต่อกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ระดับของ

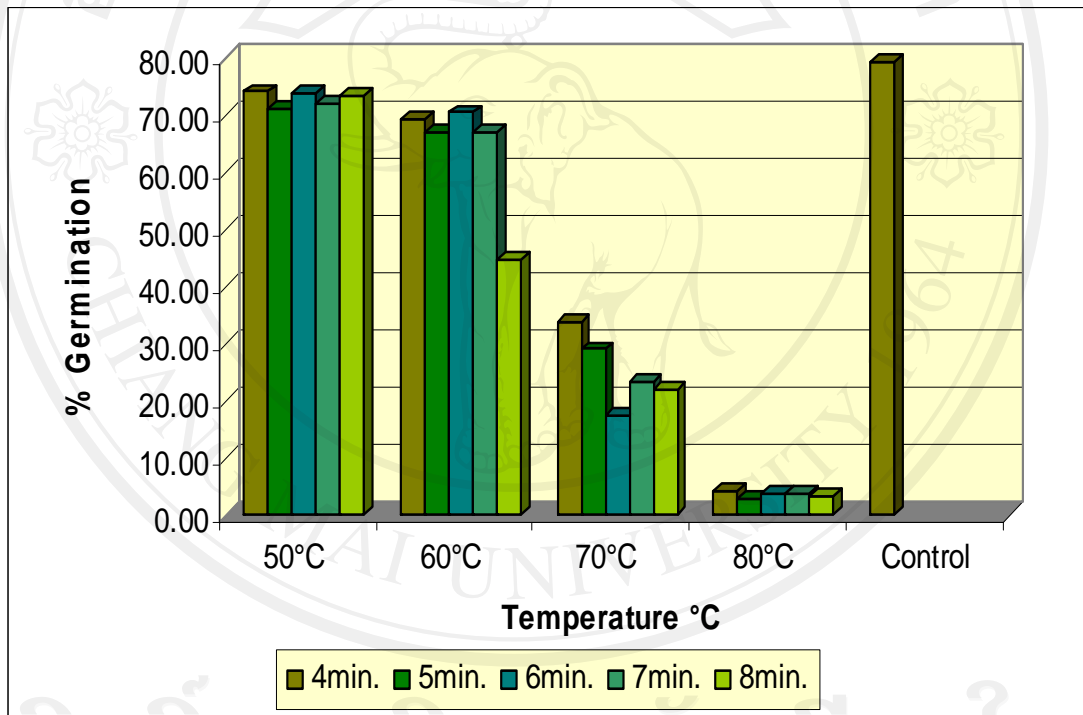
อุณหภูมิที่ให้คลื่น RF แก่เมล็ดพันธุ์ที่ต่างกันมีผลให้ความชื้นเมล็ดลดลงต่างกัน โดยที่อุณหภูมิสูงจะมีผลให้การลดลงของความชื้นตามระยะเวลาที่ให้คลื่น RF ที่ยาวนานขึ้น แต่ระยะเวลาในการให้ความร้อนมีผลต่อความชื้นเมล็ดไม่มากนักเมื่อเทียบกับความชื้นเริ่มต้น

ภายในเมล็ดจะประกอบไปด้วยโมเลกุลของน้ำที่เป็นความชื้นในเมล็ด เมื่อให้คลื่น Radiofrequency แก่เมล็ด ซึ่งเป็นไปตามหลักการให้ความร้อนด้วยพลังงานจากคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ที่กล่าวไว้ว่าการดูดซับพลังงานจากคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้ามีความสัมพันธ์กับ ค่าไดอิเล็กทริก K' ของวัตถุที่ได้รับคลื่นแม่เหล็ก (ค่าที่แสดงถึงความสามารถของสารประกอบในวัตถุที่สามารถกักเก็บพลังงานไฟฟ้าไว้ได้เมื่อนำสารประกอบนั้นไปไว้ในสนามไฟฟ้า กระแสสลับ), แฟกเตอร์การสูญเสียไดอิเล็กทริก K'' (ค่าพลังงานที่สูญเสียไปเพื่อเปลี่ยนเป็นพลังงานความร้อนในวัตถุ) หากค่านี้สูงแสดงว่าเกิดความร้อนได้สูง และค่า Loss tangen ซึ่งคือค่า $\tan \delta = K'' / K'$ (Hastea *et al.*, 1988) จะสามารถดูดซับพลังงานคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าได้สูงเกิดการเปลี่ยนแปลงของพลังงานจลน์ที่เกิดจากการเคลื่อนที่ของโมเลกุลของน้ำเปลี่ยนเป็นพลังงานความร้อนได้ ซึ่งความร้อนที่เกิดขึ้นนี้จะไปทำให้อุณหภูมิภายในเมล็ดสูงขึ้น แรงดันภายในของเมล็ดอันเนื่องมาจาก โมเลกุลของน้ำได้รับพลังงานจนเกิดการเคลื่อนที่กลายเป็นความดันที่สูงกว่าภายนอกเมล็ดที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า จะทำให้น้ำในเมล็ดเคลื่อนออกมาจากภายในเมล็ดเพื่อรักษาสมดุลความดันนี้ ทำให้ ความชื้นในเมล็ดลดลง ยิ่งอุณหภูมิสูงมากเท่าไร การเคลื่อนที่ของน้ำจากในเมล็ดออกสู่ภายนอกก็จะเป็นไปได้มากเท่านั้น สอดคล้องกับ Christoph *et al.* (2000) รายงานว่าในกระบวนการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์โดยใช้คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า คลื่น RF และ ไมโครเวฟ ระดับพลังงานที่เกิดจากการให้คลื่นความแม่เหล็กไฟฟ้าแก่เมล็ดพันธุ์จะมีความสัมพันธ์อย่างสูงกับปริมาณความชื้นในเมล็ด โดยที่ระดับความชื้นในเมล็ดที่สูงส่งผลให้เมล็ดมีการดูดซับพลังงานและเอื้อต่อการเกิดประสิทธิภาพในการถ่ายเทและนำพาความร้อนในเมล็ดเกิดได้สูง และ Shivhare *et al.* (1992) รายงานว่า การลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจะมีความสัมพันธ์กับ ค่า การดูดซับพลังงานของวัตถุ ระยะเวลาที่ให้แก่เมล็ด ซึ่งจะมีความสัมพันธ์อย่างมากต่อระดับอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นของเมล็ดและอัตราการลดความชื้นที่เกิดขึ้น และ Jolicoeur *et al.* (1982) พบว่า ความชื้นเมล็ดพันธุ์จะมีความสัมพันธ์อย่างมากต่อระดับอุณหภูมิสุดท้ายของเมล็ดภายหลังจากที่ได้รับคลื่นไมโครเวฟ โดยพบว่าในเมล็ดถั่วเหลืองที่มีความชื้นเริ่มต้นต่ำจะมีการดูดซับพลังงานจาก คลื่นไมโครเวฟน้อยกว่าเมล็ดที่มีความชื้นเริ่มต้นสูง

4.5 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

4.5.1 ความงอกของเมล็ดพันธุ์ (Seed Germination)

การตรวจสอบความงอกมาตรฐานในเมล็ดพันธุ์แสดงในรูปของต้นกล้าปรกติ ภายหลังจากให้คลื่น RF พบว่า ความงอกของเมล็ดเปลี่ยนแปลงตามระดับของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นและระยะเวลาที่นานขึ้น โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ ๘.5) ระดับอุณหภูมิที่ให้แก่เมล็ด มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความงอก และพบว่าทั้งสองปัจจัยต่างมีอิทธิพลร่วมกัน



ภาพที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงความงอกในเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่มีความงอกเริ่มต้น 78.00 %

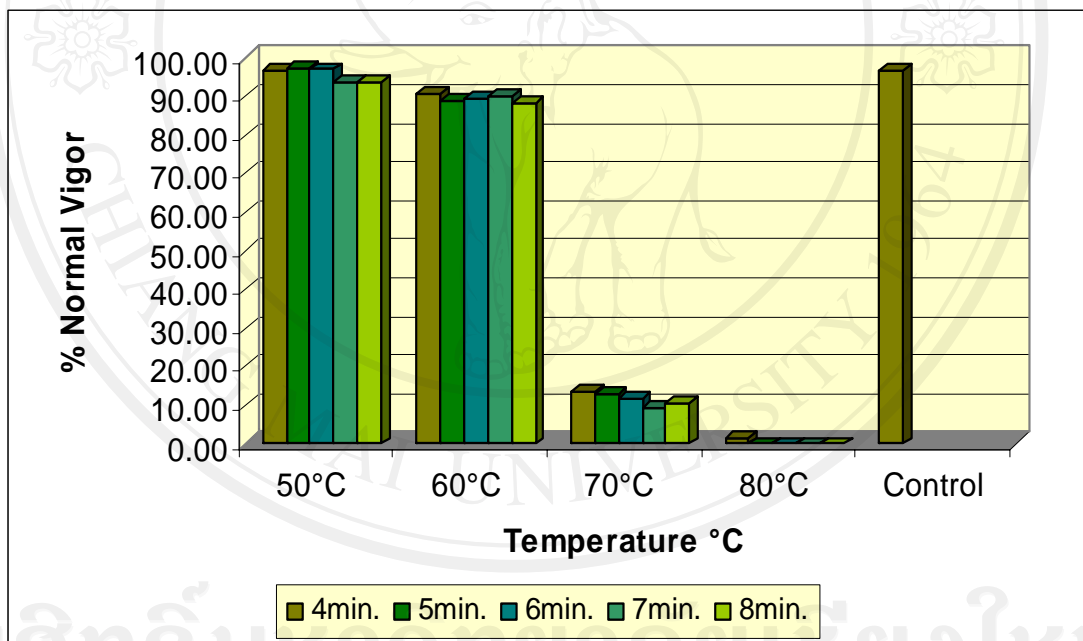
การให้คลื่น RF ที่ระดับอุณหภูมิสูง 50 และ 60 °C แก่เมล็ดมีผลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดต่ำลง การให้คลื่น RF ที่ระดับอุณหภูมิ 70 °C ขึ้นไป มีผลให้ความงอกของเมล็ดลดลงอย่างมาก โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงมากกว่าครึ่ง และที่ระดับอุณหภูมิ 80 °C ความงอกของเมล็ดจะลดลงเกือบสิ้นเชิง ระยะในการให้ RF เวลา มีผลต่อการงอกเล็กน้อย ดังแสดงในภาพที่ 4.3

ภายหลังจากการให้คลื่น RF แก่เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด พบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับอุณหภูมิ และระยะเวลาที่ให้คลื่นแก่เมล็ดพันธุ์ที่มีผลต่อการลดลงของเปอร์เซ็นต์ ความงอกในรูปของต้นกล้า ปรกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับอุณหภูมิที่ให้แก่เมล็ด และระยะเวลาในการให้คลื่นของเมล็ดมีความสัมพันธ์ต่อกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน พบว่าที่ระดับอุณหภูมิ 50 °C เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดยังคงอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับชุดควบคุมแต่ก็มีแนวโน้มลดลง เมื่อระยะเวลาในการให้คลื่นเพิ่มขึ้น โดยที่บางระยะเวลา เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่าชุดควบคุม ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของระดับอุณหภูมิที่ให้แก่เมล็ดมีผลให้ปริมาณเชื้อสาเหตุโรคที่มีผลต่อการงอกและการพัฒนาเป็นต้นกล้าปรกติที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ลดลง ประกอบกับภายหลังจากการให้คลื่น RF เมื่อเมล็ดได้รับอุณหภูมิสูงขึ้นน้ำที่อยู่ภายในเมล็ดจะเป็นเสมือนตัวกลางที่ช่วยป้องกันการเกิดความเสียหายแก่เซลล์ภายในเมล็ด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Jolicoeur *et al.* (1982) ที่ทดลองให้คลื่นไมโครเวฟแก่เมล็ดที่มีความชื้นเริ่มต้นสูง การดูดซับพลังงานจากคลื่นไมโครเวฟที่ให้เกิดขึ้นจากโมเลกุลของน้ำอิสระภายในเมล็ดเป็นหลัก ซึ่งจะช่วยป้องกันไม่ให้เกิดความเสียหายแก่เมล็ดเมื่อเมล็ดได้รับอุณหภูมิสูงขึ้น ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดยังคงสูงอยู่ แต่ที่ระดับอุณหภูมิที่ให้แก่เมล็ดที่ 60 °C และ 70 °C เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดลดลง ในขณะที่ระดับอุณหภูมิ 80°C เมล็ดจะถูกทำลายเนื่องจากความร้อนจนหมด และแนวโน้มของความเสียหายจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ให้คลื่น RF

เนื่องจากว่า ที่ระดับอุณหภูมิที่ให้แก่เมล็ดที่สูง ในช่วงเริ่มต้นของการให้คลื่น RF แก่เมล็ด ทำให้อุณหภูมิภายในเมล็ดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งก่อให้เกิดการสูญเสียน้ำในเมล็ดอย่างรวดเร็ว เมื่อระยะเวลาในการให้คลื่น RF มากขึ้น น้ำในเมล็ดก็จะมีการสูญเสียน้ำออกไปจากเมล็ด ทำให้ช่วงท้ายของการให้คลื่น RF เมล็ดมีปริมาณน้ำอิสระที่เป็นเสมือนตัวช่วยป้องกันความเสียหายแก่เมล็ดลดลง ประกอบกับตลอดช่วงระยะเวลาที่ทำการให้คลื่น RF แก่เมล็ด ต้องรักษาระดับอุณหภูมิของเมล็ดให้คงที่ เมื่อโมเลกุลของน้ำอิสระในเมล็ดลดลงแต่การดูดซับพลังงานยังดำเนินการต่อเนื่องเพื่อรักษาอุณหภูมิในเมล็ดให้คงที่ การดูดซับพลังงานในเมล็ดจะเกิดจากน้ำที่เป็นองค์ประกอบของสารประกอบทางเคมีภายในเซลล์ที่เป็นส่วนประกอบของโปรตีนและไขมันในส่วนที่มีชีวิตของเมล็ด ก่อให้เกิดความเสียหายแก่เมล็ดและได้ต้นกล้าที่ผิดปกติมากขึ้น (Shivhare *et al.* 1991; Schiffman, 1987; Wilson and McDonald, 1986) ซึ่ง Wilson and McDonald (1986) พบว่า ที่ระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์เริ่มต้นต่ำเมื่อให้อุณหภูมิที่สูงแก่เมล็ดส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อองค์ประกอบทางเคมีภายในเมล็ดและเซลล์ภายในเมล็ดเพิ่มมากขึ้น Nelson and Walker (1961) พบว่า ในการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์โดยคลื่น RF ปริมาณความชื้นในเมล็ดเป็นปัจจัยสำคัญอย่างยิ่งที่มีผลต่อความสามารถในการงอกและการตั้งตัวของต้นกล้า

4.5.2 ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ (Seed Vigor)

ทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยวิธีเพาะเมล็ดในกระบะทรายขึ้น พบว่าความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ มีแนวโน้มลดลงตามระดับของอุณหภูมิที่ให้แก่เมล็ดที่เพิ่มขึ้นโดยมีความแตกต่างกันทางสถิติ ระดับอุณหภูมิที่ให้แก่เมล็ด ที่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงความแข็งแรงของเมล็ด พบว่า ที่ระดับอุณหภูมิ 50 และ 60°C ความแข็งแรงของเมล็ดข้าวโพดจะยังคงสูง โดยลดลงเมื่อเทียบกับเมล็ดที่ยังไม่ได้รับคลื่น RF เล็กน้อย แต่ก็มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางภาคผนวกที่ ผ.6) แต่เมื่อระดับอุณหภูมิ สูง 70°C ความแข็งแรงของเมล็ดข้าวโพดจะลดต่ำลงมาก และเมื่อระดับอุณหภูมิ สูง 80°C เมล็ดจะสูญเสียความแข็งแรงของเมล็ดไปอย่างสิ้นเชิง ต้นอ่อนจะตายไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ ดังแสดงในภาพที่ 4.4



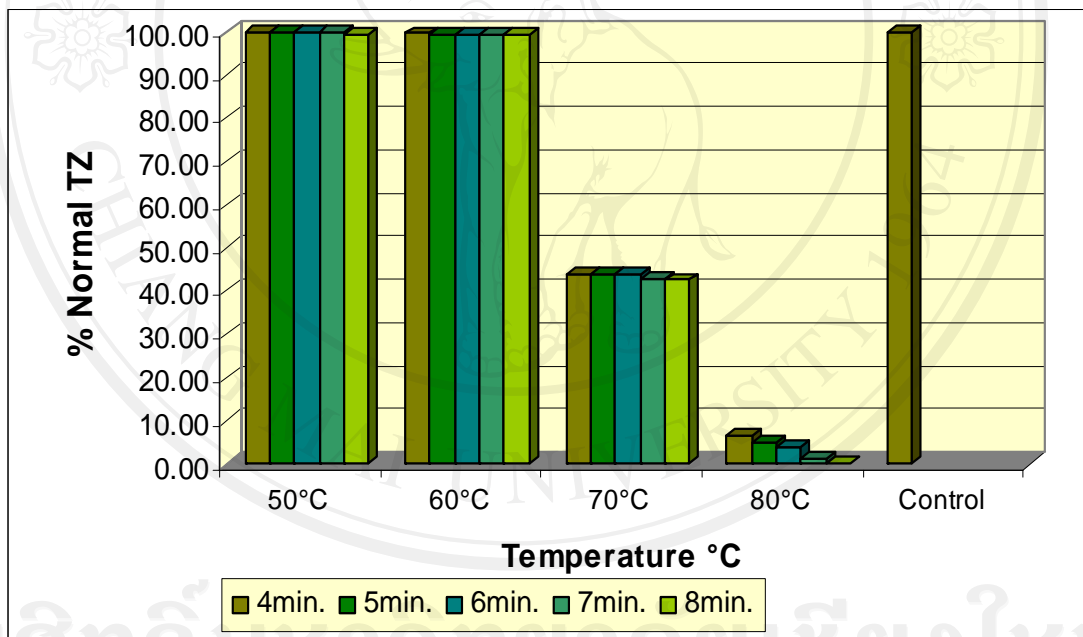
ภาพที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่มีความแข็งแรงเริ่มต้น 97.35%

การเพิ่มขึ้นของระดับอุณหภูมิที่ให้แก่เมล็ดมีผลให้ความแข็งแรงของเมล็ดลดลง ทั้งนี้เนื่องจากว่า ความร้อนที่เกิดขึ้นจะไปทำให้ไขมันซึ่งมีโครงสร้างโมเลกุลที่สามารถรับพลังงานได้ เช่นเดียวกับน้ำ ซึ่งเมื่อได้รับพลังงานจากการให้คลื่น RF จะเกิดความร้อนขึ้นจนกระทั่ง โมเลกุลของไขมันในเมล็ดมีการแตกตัวออกปริมาณกรดไขมันอิสระ และที่อุณหภูมิเดียวกัน แต่ระยะเวลาในการให้คลื่น RF ที่นานขึ้น จะทำให้ไขมันในเมล็ดมีการแตกตัวเป็นกรดไขมันอิสระมากขึ้น

เช่นกัน เมื่อมีปริมาณที่เพิ่มขึ้น จะส่งผลให้เกิดการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์ เพราะเมื่อปริมาณกรดไขมันอิสระในเมล็ดเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัวซึ่งจะเป็นเสมือนตัวกลางในการเกิดกระบวนการ autoxidation ก่อให้เกิดสารอนุมูลอิสระหรือสารพิษที่มีผลในการทำลายโครงสร้างต่างๆ หรือเนื้อเยื่อภายในเมล็ดโดยเกิดการรวมตัวของอนุมูลอิสระกับ โปรตีนมีผลให้ lipoprotein ที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มผนังเซลล์ สูญเสียความสามารถในการควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร (permeability) ก่อให้เกิดการรั่วไหลของสารประกอบทางเคมีภายในเซลล์ในขณะเดียวกัน DNA จะเกิดการสูญเสียสภาพและหน้าที่ไป หากปรากฏการณ์นี้เกิดบริเวณส่วนที่มีชีวิตของเมล็ดหรือต้นอ่อน จะส่งผลให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลง ทำให้ได้ต้นกล้าที่มีลักษณะผิดปกติจนไม่สามารถงอกเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ได้ (Copeland, 1976; Harrington, 1972; Harrington, 1973, Delouche, 1981; Yaklich and Barla-Szabo, 1993) Nelson and Walker (1961) พบว่า การให้คลื่น Radio frequency แก่เมล็ดพันธุ์ navy bean ที่มีความชื้นเมล็ดที่สูง ส่งผลให้เกิดการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับ Wilson and McDonald (1986) กล่าวถึงการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์ที่เกิดขึ้นภายหลังจากการให้คลื่นไมโครเวฟจะสัมพันธ์กับการเกิด lipid peroxidation ที่เพิ่มขึ้น

4.5.3 ความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ (Seed Viability)

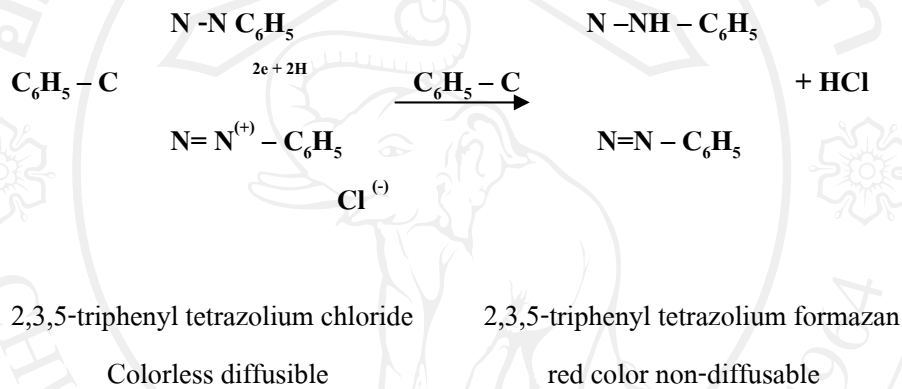
ทดสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์โดยวิธีย้อมสีต้นอ่อนด้วยสารเตตระโซเลียม (Tetrazolium salt) พบว่าความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ มีแนวโน้มลดลงตามระดับของอุณหภูมิที่ให้แก่เมล็ดที่เพิ่มขึ้นโดยมีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ ผ.7) ระดับอุณหภูมิที่ให้แก่เมล็ดที่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงความมีชีวิตของเมล็ด และพบว่าทั้งสองปัจจัยต่างมีอิทธิพลร่วมกัน พบว่า ที่ระดับอุณหภูมิ 50 และ 60 °C ความมีชีวิตของเมล็ดข้าวโพดจะยังไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับเมล็ดที่ยังไม่ได้รับคลื่น RF ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 3) แต่เมื่อระดับอุณหภูมิ สูง 70 °C ความมีชีวิตของเมล็ดข้าวโพดจะลดต่ำลงมากกว่าครึ่ง และเมื่อระดับอุณหภูมิ สูง 80 °C เมล็ดจะสูญเสียความมีชีวิตของเมล็ดไปอย่างสิ้นเชิง ดังแสดงในภาพที่ 4.5



ภาพที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงความมีชีวิตในเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่มีความมีชีวิตเริ่มต้น 99.98%

พบว่า การเพิ่มขึ้นของระดับอุณหภูมิที่ให้แก่เมล็ดมีผลให้ความมีชีวิตของเมล็ดลดลง ทั้งนี้ การวัดความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ โดยการใช้การย้อมสีต้นอ่อนด้วยสารเตตระโซเลียม (Tetrazolium salt) โดยอาศัยปฏิกิริยาของเอนไซม์ ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase enzyme) ซึ่งปลดปล่อยไฮโดรเจนไอออน (H^+) เมื่อทำปฏิกิริยาในเซลล์และเนื้อเยื่อที่มีชีวิต หากเมล็ดที่ยังมีชีวิต กระบวนการสร้างและปลดปล่อยไฮโดรเจนไอออนก็จะยังคงมีอยู่เรื่อยๆ แต่ถ้าเมล็ดเริ่มมีการเสื่อมสภาพ ไฮโดรเจนไอออนก็จะมีน้อยลง และเมื่อเมล็ดตายก็จะไม่มีไฮโดรเจนไอออนเกิดขึ้นใน

เมล็ด Byrd (1970) พบว่า dehydrogenase enzyme ของเมล็ดข้าวโพดจะลดลงเมื่อเมล็ดเสื่อมสภาพ (deteriorate) การตรวจสอบ activity ของ dehydrogenase enzyme นี้สามารถกระทำได้โดยวิธีการที่เรียกว่า tetrazolium test ซึ่งอาศัยหลักสำคัญที่ว่าในเนื้อเยื่อหรือ cell แต่ละ cell ของเมล็ดแต่ละชนิด จะมี enzyme ตัวนี้ปรากฏอยู่เพื่อทำปฏิกิริยากับ tetrazolium salt ที่มีชื่อเต็มว่า 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride ซึ่งไม่มีสีและอยู่ในรูปของ diffusible ก็จะเปลี่ยนเป็นสีแดงและเป็น non diffusible form ฉะนั้น cell หรือเนื้อเยื่อที่มี dehydrogenase enzyme ก็จะติดสีแดงดังปฏิกิริยา (ภาพที่ 4.1)



ภาพที่ 4.6 ปฏิกิริยา dehydrogenase enzyme activity โดย tetrazolium salt (นงลักษณ์, 2528)

tetrazolium salt นี้เป็น oxidation-reduction indicator ปกติเป็นผงใช้ในรูปของสารละลายที่ไม่มีสีและ diffusible เมื่อซึมผ่านเข้าไปใน cell ที่มีชีวิตซึ่งมีการหายใจ dehydrogenase enzyme ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจจะมี H^+ transferred ออกมา tetrazolium chloride ก็จะถูก reduce ไปเป็น tetrazolium formazan ซึ่ง non-diffusible และมีสีแดง

ซึ่งที่อุณหภูมิ 50°C และ 60°C เมล็ดจะยังคงความมีชีวิตไว้ได้อยู่เนื่องจากระดับอุณหภูมิไม่สูงพอที่จะทำให้ให้น้ำในเมล็ดมีการเคลื่อนที่ออกจากเมล็ดมากนัก เมล็ดจะยังมีน้ำเป็นตัวรับพลังงานไว้ได้อยู่ซึ่งเมื่อเกิดความร้อนจากการรับคลื่น RF เข้าไปแล้ว ส่วนของ dehydrogenase enzyme จะยังคงสภาพไว้ได้ กิจกรรมของเอนไซม์จะยังคงมีอยู่ การสร้าง และปลดปล่อยไฮโดรเจนไอออน จะยังคงอยู่ การย้อมติดสีโดยใช้ tetrazolium จึงยังได้ผลการย้อมใกล้เคียงกับชุดควบคุม แต่เมื่อเวลาที่ให้คลื่นนานมากขึ้น การย้อมติดสีก็มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย เพราะอาจมีน้ำโดนดึงออกจากเมล็ดไปได้บ้าง ทำให้ความร้อนที่เกิดขึ้นมีผลกระทบกับ dehydrogenase enzyme บ้างเล็กน้อย แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 70°C ความมีชีวิตจะลดลงมาก และเมื่อ อุณหภูมิเพิ่มขึ้น

เป็น 80°C ความมีชีวิตแทบจะหมดไปอย่างสิ้นเชิง เพราะว่า ที่ระดับอุณหภูมิ 70°C เป็นต้นไปนั้น น้ำในเมล็ดจะมีการสูญเสียออกจากเมล็ดได้มาก และ ที่ 80°C ก็จะสูญเสียน้ำในเมล็ดมากขึ้นไปอีก ทำให้เมล็ดมีน้ำในการดูดซับพลังงานที่น้อยลง อีกทั้ง ขณะน้ำในเมล็ดมีอุณหภูมิที่สูงขึ้นนั้น ความร้อนก็จะมีการแผ่ไปทั่วเมล็ด ทำให้ dehydrogenase enzyme ถูกทำลาย กิจกรรมของเอนไซม์ ในการสร้าง และปลดปล่อยไฮโดรเจนอออน ก็จะลดน้อยลง ทำให้การย้อมสีโดย Tetrazolium salt จะย้อมติดได้น้อย แสดงให้เห็นถึงความมีชีวิตที่ลดลง (นงลักษณ์, 2528)

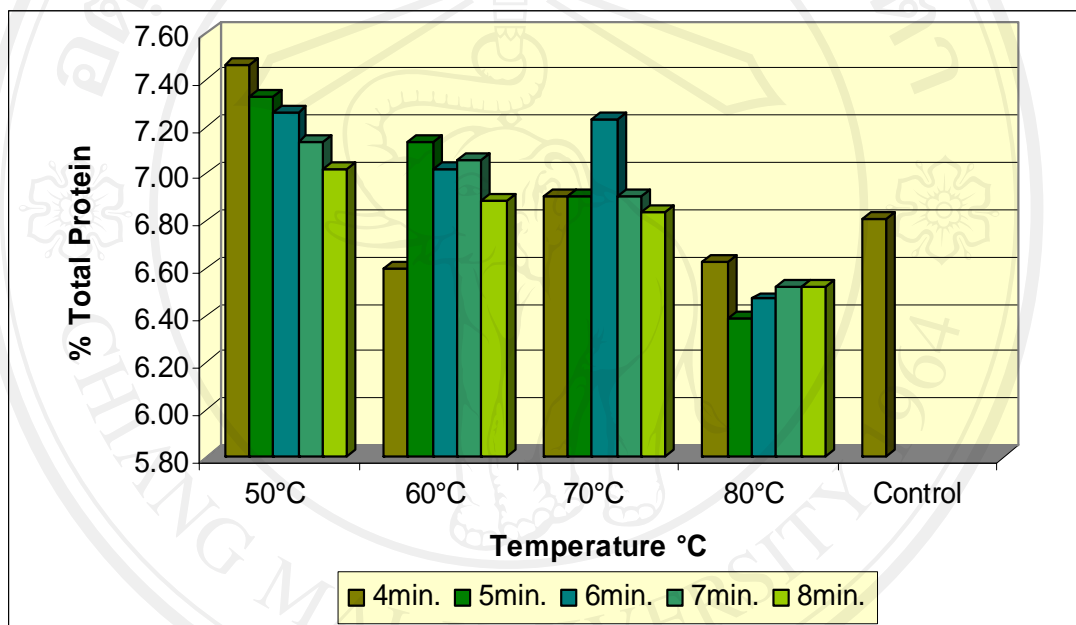


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.5 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีของเมล็ดพันธุ์

4.5.1 รูปแบบของโปรตีนในเมล็ด

วัดปริมาณโปรตีนรวมหรือ โปรตีนหยาบ (Crude protein) ตามวิธีของ Kjeldahl and Soxhlet Method ปรากฏว่า การปล่อยคลื่น RF ระดับอุณหภูมิ และระยะเวลาในการปล่อยคลื่น ไม่มีผลต่อความเปลี่ยนแปลงคุณภาพ (ตารางภาคผนวกที่ ผ.8) โดยปริมาณโปรตีนรวม จะไม่มีการเปลี่ยนแปลง ดังแสดงในภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.7 ภาพแสดงเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนรวมในเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่มีค่าเริ่มต้น 7.09 %

ภายหลังจากการให้คลื่น RF แก่เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด พบว่าการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิและระยะเวลาที่ให้คลื่น RF แก่เมล็ด ปริมาณโปรตีนรวมในเมล็ดลดลงเพียงเล็กน้อย โดยค่าที่วัดได้ยังใกล้เคียงกับชุดควบคุม แต่เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ของระดับอุณหภูมิที่ให้แก่เมล็ดและความชื้นเมล็ดพันธุ์เริ่มต้นกลับไม่มีความสัมพันธ์ต่อกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เนื่องจากการดูดซับพลังงานจากคลื่น RF ของเมล็ด การเปลี่ยนรูปของพลังงานคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าไปเป็นพลังงานความร้อนเกิดเป็นอุณหภูมิสะสมในเมล็ด และช่วงระยะเวลาที่ให้คลื่น RF แก่เมล็ดไม่เพียงพอที่จะชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบโปรตีนรวมภายในเมล็ด ซึ่งเป็นองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดในส่วนของต้นอ่อน, สารประกอบโปรตีนที่อยู่ในส่วนอื่นๆของ

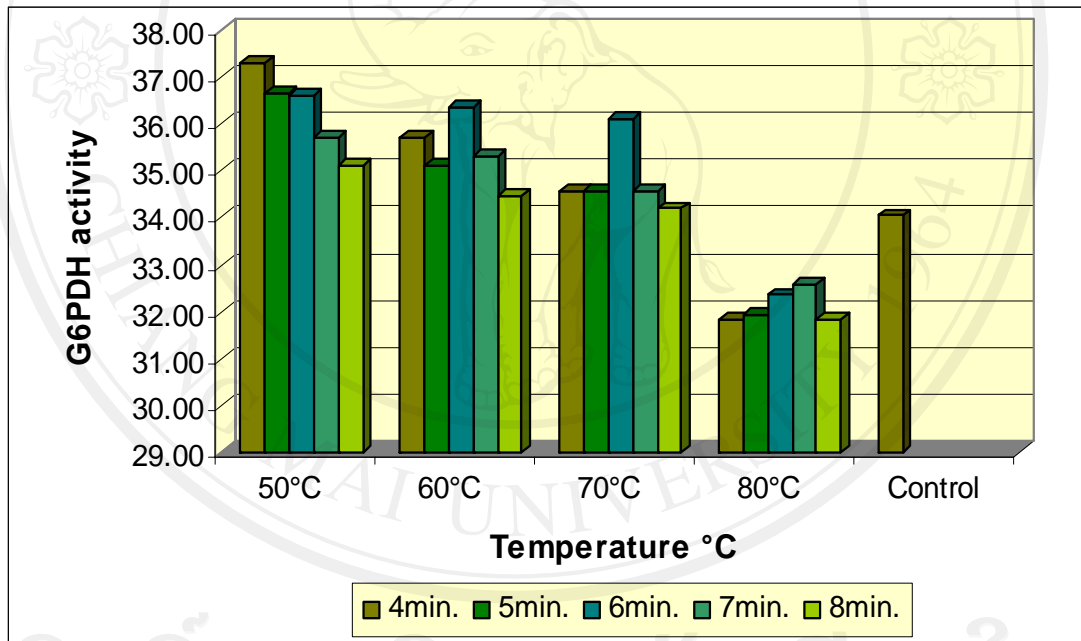
เมล็ด รวมทั้ง กรดอมิโนเป็นลักษณะที่ถูกกำหนดทางพันธุกรรมซึ่งการเปลี่ยนแปลงจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในเมล็ดพันธุ์เพราะว่าอุณหภูมิและระยะเวลาที่ให้แก่เมล็ดไม่เพียงพอที่จะทำให้อุณหภูมิสะสมในเมล็ดสูงถึงจุดที่สามารถชักนำให้เกิดการสังเคราะห์ Heat shock proteins ขึ้นในเมล็ดได้ (दनัย, 2539) ประกอบกับภายหลังจากเมล็ดได้รับ Radio frequency จะเกิดการกระจายพลังงานความร้อนที่เกิดขึ้นไปทั่วเมล็ด หากต้องการศึกษาถึงการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์ Heat shock proteins ควรให้ Radio frequency เฉพาะจุดที่ต้องการศึกษาโดยเฉพาะส่วนของเอ็มบริโอที่มีชีวิตเพื่อที่จะสามารถชักนำให้มีการสังเคราะห์ Heat shock proteins เกิดขึ้นได้



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.5.2 กิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (Dehydrogenase enzyme activity)

ทดสอบอัตราการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (Dehydrogenase Activity) ตามวิธีของ Karl Hostetler lab, UCSD, 1980s. โดยใช้วิธีการสกัดเอาสารละลาย แล้วนำมาวัดค่าดูดกลืนแสงโดยเครื่อง Spectrophotometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ปรากฏว่าการปล่อยคลื่น RF ระดับอุณหภูมิต่างๆ และระยะเวลาในการปล่อยคลื่นไม่มีผลต่อความเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (ตารางภาคผนวกที่ ผ.9) โดยผลที่วัดได้จะใกล้เคียงกันทุกๆ กรรมวิธี ดังแสดงในภาพที่ 4.7



ภาพที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลง กิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนสในเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่มีค่าเริ่มต้น

35.84 mmol/min/mg-protein

ภายหลังจากการให้คลื่น RF แก่เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด และตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (Dehydrogenase enzyme activity) ในรูปของ G6PDH (glucose-6-phosphate dehydrogenase) หรือ G6PDH enzyme activity พบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับอุณหภูมิที่ให้คลื่น RF แก่เมล็ดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนสในเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ระยะเวลาในการให้คลื่น RF ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง

การเพิ่มอุณหภูมิที่ให้แก่เมล็ด ส่งผลให้การเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส ลดลงตามระดับอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น โดยที่ระยะเวลาที่ให้คลื่น RF เท่ากันการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนสในเมล็ดที่มีอุณหภูมิต่ำ จะลดลงในปริมาณที่น้อยกว่าเมล็ดที่มีอุณหภูมิสูง ซึ่งสัมพันธ์กับหลักการทำงานของเอนไซม์ที่ว่า การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิในระดับหนึ่งจะมีผลไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ให้สูงขึ้นส่งผลให้ประสิทธิภาพในการทำงานได้ของเอนไซม์เพิ่มขึ้น แต่เมื่ออุณหภูมิสูงถึงระดับหนึ่งจะมีผลให้ประสิทธิภาพ การทำงานของเอนไซม์สูงสุด เมื่อให้อุณหภูมิในระดับที่สูงกว่านี้เอนไซม์ซึ่งเป็นสารประกอบประเภทโปรตีนจะเริ่มเสถียรภาพธรรมชาติ เป็นเหตุให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาลดลง ทำให้ประสิทธิภาพในการทำงานได้ลดลงเช่นกัน (สุริย์ และคณะ, 2540) ที่ระดับอุณหภูมิ 50°C การเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ยังคงอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับชุดควบคุมเพราะว่า ที่ระดับอุณหภูมินี้เมล็ดยังมีความชื้นในเมล็ดอยู่สูงซึ่งปริมาณของความชื้นในเมล็ดจะเป็นเสมือนตัวช่วยป้องกันความเสียหายที่จะเกิดแก่เซลล์แต่ที่ระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้น ตั้งแต่ 60°C โดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 80°C เป็นต้นไป ณ ระดับอุณหภูมินี้ปริมาณความชื้นที่มีอยู่ในเมล็ดเหลืออยู่น้อย การดูดซับพลังงานจากคลื่น RF ที่ให้แก่เมล็ดจะถูกดูดซับไว้โดยน้ำที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ด โดยเฉพาะน้ำที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีน ส่งผลให้เกิดความเสียหายแก่โครงสร้างโปรตีนในเมล็ด ซึ่งจะมีผลให้เกิดการเสถียรภาพของเอนไซม์ด้วยเช่นกัน และ Christoph *et al.* (2000) ให้ข้อสังเกตว่าการให้คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าแก่เมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้นสูง ณ ระดับเริ่มต้นของการให้คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าแก่เมล็ด เมล็ดจะเกิดการดูดซับพลังงานอย่างสูงทำให้ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนรูปของพลังงานเป็นพลังงานความร้อนเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วนี้มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างขนาดเล็กในเมล็ดและส่งผลให้เอนไซม์ในเมล็ดไม่สามารถเกิดกิจกรรมได้ Kozhevnikova and Stank (1966) พบว่า การให้คลื่นความถี่สูง สามารถยับยั้งการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์บางชนิดในผักและผลไม้ได้ และ Pour *et al.* (1981) แสดงให้เห็นว่าการให้คลื่นไมโครเวฟแก่เมล็ดถั่วเหลืองที่ระดับ 250-300 cal/g มีผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ urease, lipoxygenase ลดลง

ในส่วนของระยะเวลาที่ให้คลื่น Radio frequency ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส เพราะว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีอื่นเนื่องมาจากความร้อนจากการให้คลื่น RF นั้น enzyme ซึ่งเป็นโครงสร้างของโปรตีน จะได้รับความร้อนในระดับอุณหภูมิเป้าหมาย (Target temperature) ตั้งแต่ช่วงแรกที่เริ่มทำการนับเวลา ซึ่งภายในเมล็ดทุกเมล็ด จะมีอุณหภูมิเท่ากันทั้งหมด การเปลี่ยนแปลงใดๆก็ตามจากความร้อน ก็จะมีการเปลี่ยนแปลงมาตั้งแต่เริ่มแรกอยู่แล้ว แม้จะให้คลื่น RF ไปนานอีกเท่าไรก็ตาม ก็จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆอีก