บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์การทดลอง

3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการทำผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ปูนขาว (Hydrated lime), แป้งมัน (tapioca starch), acitic acid, citric acid, agar, ethanol 95%, acetone, nonyl phenol ethoxylate (NP-40), coconut diethanolamine (CDE), tween 80 sodium lauryl sulfate (SLS) และ kaolinite

3.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ตู้ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (growth chamber) ไมโครปิเปต (micropipette) เครื่องระเหยสุญญากาศ (vacuum rotary evaporator) ตู้อบลมร้อน (hot air oven) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) และเครื่องโม่ยา/บดของแห้ง (swing type grinder)

3.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ บีกเกอร์ พาราฟิล์ม กระบอกตวง ช้อนตักสาร ขวดก้นกลม แท่งแก้วคน กรวยกรอง กระดาษเพาะเมล็ด กระดาษกรอง ขวดเพาะเมล็ด และกระถางเพาะเมล็ด

3.1.4 พืชที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ประยงค์ (*Aglaia Odorata* Lour.) พุทธชาติก้านแดง (*Jasminum officinale* Linn. f. var. *grandiforum* (Linn.) Kob.) ดาวเรือง (*Tagetes erect* Linn.) หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) ถั่วผี (*Phaseolus lathyroides* Linn.) หญ้าตีนนก (*Digitaria adscendens*) ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum*) ผักโขม (*Amaranthus gracillis*) และข้าวโพด (*Zea mays* Linn.)

3.1.5 อุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่ หม้อต้มน้ำ เตาแก๊ส ตู้เย็น ไม้บรรทัด อุปกรณ์ถ่ายภาพ ผ้าขาวบาง และตะแกรงร่อนเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร

3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษากรรมวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์จากประยงค์ที่เหมาะสมต่อการผลิตในเชิงพาณิชย์

การทดลองที่ 1.1 ศึกษาชนิดและสัดส่วนที่เหมาะสมของสารอินทรีย์ในการสกัดสารออกฤทธิ์ ที่รวดเร็ว ประหยัด สะดวก และง่ายต่อการระเหยออก

1.1.1 การวางแผนการทดลอง

ทำการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) วิธีการทดลองละ 4 ซ้ำ ดังนี้ สกัดใบประยงค์ด้วยเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้น 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับการสกัดใบประยงค์ ในน้ำกลั่น จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 ppm มีน้ำกลั่นเป็นวิธีการควบคุม พืชทดสอบ คือ หญ้าข้าวนก

1.1.2 การเตรียมสารสกัดจากประยงค์

เก็บใบประยงค์ที่มีความอุดมสมบูรณ์ ไม่มีโรคและแมลง อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง ตัดใบเป็นชิ้นเล็ก ๆ สกัดด้วยเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยชั่งใบประยงค์ 10 กรัม สกัดทิ้งไว้ 72 ชั่วโมง จากนั้นกรองสารละลายเอทานอลผ่านกระดาษกรอง แยกส่วนกาก (residue) สกัดอีก 4 รอบ แล้วนำสารสกัดที่ได้ระเหยออกให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ชั่งปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดแต่ละครั้ง

1.1.3 การเตรียมเมล็ดวัชพืชทดสอบ

เมล็ดวัชพืชทดสอบ คือ หญ้าข้าวนก เลือกเมล็ดที่มีขนาดเท่า ๆ กัน สมบูรณ์แข็งแรง ทำการขัดด้วยกระดาษทราย เพื่อทำลายการพักตัวของเมล็ด แล้วนำไปแช่น้ำที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และเมล็ดหญ้าข้าวนก แช่ในน้ำสะอาดนาน 24 ชั่วโมง ห่อด้วยผ้าขาวบางเป็นเวลา 48 ชั่วโมง และเลือกเมล็กที่มีรากงอก 0.2 มิลลิเมตร เพื่อใช้เป็นเมล็ดวัชพืชทดสอบ

1.1.4 การทดสอบ

เจือจางความเข้มข้นของสารสกัดจากประยงค์ ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 ppm โดยใช้น้ำกลั่นเป็นวิธีการเปรียบเทียบ ใส่จานทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ซึ่งรองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด 2 ชั้น จานทดลองละ 5 มิลลิลิตร เกลี่ย วางเมล็ดวัชพืชทดสอบ ในจานทดลอง จานละ 20 เมล็ด ปิดฝาและนำไปวางไว้ในตู้ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ที่ตั้งค่าแสงสว่าง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส และไม่มีแสงสว่าง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์

1.1.5 การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผล

ชั่งปริมาณสารสกัดจากประยงค์ที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นต่าง ๆ ในแต่ละครั้ง และวัดอัตราการงอก อัตราการรอด ความยาวต้น ความยาวราก ของพืชทดสอบ วันที่ 7 หลังจากทำการทดสอบ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's Studentized Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

การทดลองที่ 2 ศึกษาและพัฒนาการเพิ่มประสิทธิภาพผลิคภัณฑ์จากประยงค์

การทดลองที่ 2.1 ศึกษารูปแบบของสารผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสม

2.1.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 4 replication ทดสอบผลิตภัณฑ์จากประยงค์ในรูปสารละลายเข้มข้น (Water Soluble Concentrate; WSC) และ รูปผงเปียกน้ำ (wettable powder; WP) ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1,000, 2,000, และ 4,000 ppm โดยมีน้ำกลั่นเป็นกรรมวิธีควบคุม

2.1.2 การเตรียมสารผลิตภัณฑ์

นำใบประยงค์ มาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำใบประยงค์ที่อบแห้งแล้วมาสกัดด้วยเอทานอล จากนั้นระเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ (vacuum rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบ (crude ethanol extract) ของพืชออกมา จากนั้นนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์

เตรียมสารผลิตภัณฑ์รูปแบบสารละลายเข้มข้น (SC) เตรียมได้จากสารสกัดหยาบจากประยงค์ผสมกับ tween 80, NP-40, coconut diethanolamide, ethanol และ น้ำ ในอัตราส่วน 30 : 0.625 : 3.125 : 25 : 15 : 26.25 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องกวนสาร จะได้ผลิตภัณฑ์จากประยงค์ในรูปสารละลายเข้มข้น (soluble concentrate; SC) ที่มีสารออกฤทธิ์ 30 เปอร์เซ็นต์ (30% active ingradient)

เตรียมสารผลิตภัณฑ์รูปแบบผงเปียกน้ำ (WP) เตรียมได้จาก นำผง kaolinite, sodium lauryl sulfate และ tween 80 ในอัตราส่วน 97 : 1.5 : 1.5 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ผสมส่วนผสมในโกร่งบดสาร โดยมีอะซีโตนเป็นตัวช่วยทำละลาย บดส่วนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จนอะซีโตนระเหยแห้งหมด จะได้ผงเปียกน้ำ นำสารสกัดหยาบจากประยงค์ ผสมกับผงเปียกน้ำในอัตราส่วน 30 : 70 โดยน้ำหนัก ผสมส่วนผสมในโกร่งบดสารโดยมีเอทานอลเป็นตัวช่วยทำละลาย บดส่วนผสมจนกว่า เอทานอลระเหยจนแห้ง จะได้ผลิตภัณฑ์จากประยงค์ที่อยู่ในรูปผงเปียกน้ำ (wettable powder; WP) ที่มีสารออกฤทธิ์ 30 เปอร์เซ็นต์ สารออกฤทธิ์ (30% active ingradient)

2.1.3 การเตรียมเมล็ดวัชพืชทดสอบ

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1.3

2.1.4 การทดสอบ

ทดสอบผลิตภัณฑ์จากประยงค์ในจานทดลอง ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1,000, 2000 และ 4,000 ppm (สารออกฤทธิ์) โดยมีน้ำกลั่นเป็นวิธีการเปรียบเทียบ ใส่จานทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ซึ่งรองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด 2 ชั้น จานทดลองละ 5 มิลลิลิตร เกลี่ยผลิตภัณฑ์ให้ทั่วจานทดลอง จากนั้นวางเมล็ดวัชพืชทดสอบ คือ หญ้าข้าวนก และถั่วผี ในจานทดลอง จานละ 20 เมล็ด ปิดฝาและนำไปวางไว้ในตู้ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ที่ตั้งค่าแสงสว่าง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีแสงสว่าง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์

2.1.5 การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง

- วัดอัตราการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนกและถั่วผี วันที่ 7 หลังวันเพาะเมล็ด เมล็ดที่มีราก งอกออกมา 0.2 มิลลิเมตร นับว่างอก

- วัดอัตราการรอดชีวิตของต้นกล้าหญ้าข้าวนกและถั่วผี ในวันที่ 7 หลังวันเพาะเมล็ด โดยมีเกณฑ์วัดการตายของต้นกล้า คือ 1) รากเน่า มีสีน้ำตาล 2) ต้นกล้าไม่ยืดยาว หงิก งอ ไม่มีใบเลี้ยง

- วัดความยาวลำต้นของต้นกล้าที่รอดชีวิต ในวันที่ 7 หลังวันเพาะเมล็ด

- วัดความยาวรากของต้นกล้าที่รอดชีวิต ในวันที่ 7 หลังวันเพาะเมล็ด

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's Studentized Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

การทดลองที่ 2.2 ศึกษาชนิดและสัดส่วนของสารเสริมประสิทธิภาพ (additive agent)

2.2.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 5 x 2 factorial in completely randomized design 4 replication ที่อัตรา 15.6 และ 31.25 มิลลิกรัมต่อจานเพาะโดยมีตัวเปรียบเทียบเป็นเมล็ดวัชพืชทดสอบที่เพาะด้วยน้ำกลั่น โดยกำหนดให้ (Pa) ใบประยงค์แห้ง (Pa_1) ใบประยงค์แห้งผสมกับกรดซิตริกที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (Pa_2) ใบประยงค์แห้งที่ผสมกับกรดซิตริก 20 เปอร์เซ็นต์ (Pa_3) ใบประยงค์ที่ผสมกับกรดอะซิตริก 10 เปอร์เซ็นต์ และ (Pa_4) ใบประยงค์ที่ผสมกับกรดอะซิตริก 20 เปอร์เซ็นต์

2.2.2 การเตรียมสารผลิตภัณฑ์

การเตรียมสารผลิตภัณฑ์จากใบประยงค์แห้งผสมกับกรดซิตริกและกรดอะซิติก โดยนำใบประยงค์แห้งผสมกับกรดซิตริกและกรดอะซิติกที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ละลายด้วยอะซิโตนและบดผสมให้เข้ากันจนอะซิโตนระเหยออกจนแห้งเป็นผงละเอียด

2.2.3 การเตรียมเมล็ดวัชพืชทดสอบ

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1.3

2.2.4 การทดสอบ

ทดสอบผลิตภัณฑ์จากประยงค์ในรูป WP ในจานทดลอง ที่อัตรา 15.6 และ31.25 มิลลิกรัมต่อจานเพาะ โดยมีน้ำกลั่นเป็นวิธีการเปรียบเทียบ ใส่จานทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ซึ่งรองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด 2 ชั้น จานทดลองละ 5 มิลลิลิตร เกลี่ยผลิตภัณฑ์ให้ทั่วจานทดลอง จากนั้นวางเมล็ดวัชพืชทดสอบ คือ หญ้าข้าวนก และถั่วผี ในจานทดลองจานละ 20 เมล็ด ปิดฝาและนำไปวางไว้ในตู้ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ที่ตั้งค่าแสงสว่าง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีแสงสว่าง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์

2.2.5 การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1

การทดลองที่ 2.3 ศึกษาชนิดและสัดส่วนที่เหมาะสมของการใช้สารสกัดสารออกฤทธิ์จากพืชชนิดอื่นเป็นส่วนผสม

2.3.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 4 replication โดยผสมสารสกัดหยาบในอัตราส่วน 1 : 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ดังนี้ (ประยงค์ : ประยงค์), (พุทธชาติก้านแดง : พุทธชาติก้านแดง), (ดาวเรือง : ดาวเรือง), (ประยงค์ : พุทธชาติก้านแดง) และ (ประยงค์ : ดาวเรือง) ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้น 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 ppm โดยมีน้ำกลั่นเป็นวิธีเปรียบเทียบ พืชทดสอบ 2 ชนิดคือ หญ้าข้าวนก และถั่วผี

2.3.2 การเตรียมสารสกัดหยาบ

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1.2

2.3.3 การเตรียมเมล็ดวัชพืชทดสอบ

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1.3

2.3.3 การทดสอบ

ละลายสารสกัดหยาบชนิดต่าง ๆ ด้วยเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 ppm โดยมีน้ำกลั่นเป็นวิธีการเปรียบเทียบ ใส่ในจานทดลองขนาดเส้น

ผ่านศูนย์กลางขนาด 9 เซนติเมตร ซึ่งรองด้วยกระดาษเพราะเมล็ด 2 ชั้น จากนั้นระเหย เอทานอลออกจนหมด แล้วใส่น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตรต่อจานทดลอง วางเมล็ดวัชพืชทดสอบคือ หญ้าข้าวนก และถั่วผี ในจานทดลอง จานละ 20 เมล็ด ปิดฝาและนำไปวางไว้ในตู้ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ที่ตั้งค่าแสงสว่าง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส และไม่มีแสงสว่าง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์

2.3.4 การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1.5

การทดลองที่ 3 ศึกษาพฤติกรรมและวิธีการใช้สารผลิตภัณฑ์ให้มีประสิทธิภาพสูงสุดในสภาพแวดล้อมระดับแปลงทดลอง

การทดลองที่ 3.1 ศึกษาพฤติกรรมและประสิทธิภาพของสารผลิตภัณฑ์ในดินชนิดต่าง ๆ

3.1.1 การวางแผนการทดลอง

การวางแผนการทดลองแบบ 3 x 2 factorial in completely randomized design 4 replication ที่อัตรา 62.5 และ 125 มิลลิกรัมต่อจานทดลอง ในวัสดุปลูกคือ ดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (sterile soil) ดินที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ (fertile soil) ทรายที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (sterile sand) ทรายที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ (fertile sand) กระดาษเพาะเมล็ด โดยมีน้ำกลั่นเป็นวิธีเปรียบเทียบ (control) พืชทดสอบ 2 ชนิดคือ หญ้าข้าวนกและถั่วผี

3.1.2 การเตรียมผลิตภัณฑ์

การเตรียมใบประยงค์ ทำการคัดเลือกใบอ่อนของต้นประยงค์ โดยกำหนดให้วัดความยาวจากปลายยอดมีความยาวประมาณ 20 เซนติเมตร ลักษณะใบสมบูรณ์ ไม่มีโรคและแมลงรบกวน นำใบที่ได้รับการคัดเลือก มาล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิท นำส่วนของใบประยงค์มาบดให้เป็นชิ้นขนาดเล็กด้วยเครื่องบดไฟฟ้า

การเตรียมสารผลิตภัณฑ์ โดยมีอัตราส่วนดังนี้ ปูนขาว 1 ส่วน แป้งมัน 1 ส่วน ใบประยงค์แห้งบดละเอียด 2 ส่วน (สุธีรดา ฉิมน้อย. 2550) โดยนำแป้งมันมาละลายน้ำตั้งไฟเคี่ยวจนเป็นแป้งเปียก ผสมตามด้วยปูนขาวทิ้งไว้ให้เย็นสักครู่จึงใส่ใบประยงค์แห้งบดละเอียด คนส่วนผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนำไปบดซ้ำอีกครั้งเพื่อให้เป็นผงละเอียดการทดสอบสารผลิตภัณฑ์

3.1.3 การเตรียมเมล็ดวัชพืชทดสอบ

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1.3

3.1.4 การทดสอบ

การทดสอบการดูดซับของสารผลิตภัณฑ์ โดยใช้เมล็ดหญ้าข้าวนกและหญ้าข้าวนก กรรมวิธีการทดลองประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ วัสดุเพาะ ประกอบด้วย ดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (sterile soil) ดินที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ (fertile soil) ทรายที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (sterile sand) ทรายที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ (fertile sand) กระดาษเพาะเมล็ด และ ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ 62.5 และ 125 มิลลิกรัมต่อจานทดลอง การทดสอบผลทำโดยการเตรียมดินและทรายปลอดเชื้อด้วยวิธี autoclave โดยใช้ไอน้ำร้อนที่ 250 องศาฟาเรนไฮต์และความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทำการทดสอบในจานทดลอง โดยใส่ดินและทรายที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อลงในจานเพาะ และโรยผลิตภัณฑ์ที่ปริมาณ 62.5 และ 125 มิลลิกรัมต่อจานทดลอง เกลี่ยให้ทั่วและวางเมล็ดวัชพืชทดสอบจำนวน 20 เมล็ดต่อจานเพาะ ปิดฝาครอบและนำไปวางไว้ในตู้ควบคุมการเจริญเติบโต ที่ตั้งค่าแสงสว่าง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีแสง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์

3.1.5 การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1.5

การทดลองที่ 3.2 ศึกษาระยะเวลาตกค้าง (soil residue) ของสารผลิตภัณฑ์ในดิน

3.2.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 4 replication ทดสอบผลิตภัณฑ์ที่ระดับอัตรา 10 และ 20 มิลลิกรัมสารออกฤทธิ์ต่อจานทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ในวัสดุปลูก 3 ชนิดคือ ดินเหนียว ดินร่วน และ ทราย ทดสอบในสัปดาห์ที่ 1, 2, 3 และ 4 โดยมีน้ำกลั่นเป็นวิธีเปรียบเทียบ (control) พืชทดสอบ 2 ชนิดคือ หญ้าข้าวนกและถั่วผี

3.2.2 การเตรียมผลิตภัณฑ์

เตรียมผลิตภัณฑ์ในรูป SC เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1.2

3.2.3 การเตรียมเมล็ดวัชพืชทดสอบ

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1.3

3.2.4 การทดสอบ

เตรียมผลิตภัณฑ์จากประยงค์ในรูป WSC ที่ อัตรา 10 และ 20 มิลลิกรัมสารออกฤทธิ์ต่อจานทดลอง ผสมกับดินเหนียว ดินร่วน และทราย 10 กรัมต่อจานทดลอง จากนั้นเติมน้ำ 10 มิลลิลิตร ในจานทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร และวางเมล็ดพืชทดสอบจำนวน 20 เมล็ด ในสัปดาห์ที่ 1, 2, 3 และ 4 เกลี่ยให้เรียบ ปิดฝาครอบและนำไปวางไว้ในตู้ growth chamber ที่ตั้งค่าแสงสว่าง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีแสง 12

ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ ปลูกเมล็ดพืชทดสอบหลังจากผสมสารผลิตภัณฑ์กับดินชนิดต่างๆ ในสัปดาห์ที่ 1, 2, 3 และ 4

3.2.5 การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1.5

การทดลองที่ 3.3 การถูกดูดยึดของสารผลิตภัณฑ์ในดินชนิดต่าง ๆ

3.3.1 การวางแผนการทดลอง

การวางแผนการทดลอง การบันทึกผล และวิเคราะห์ผลการทดลองใช้การจัดกลุ่มการทดลองแบบ 3 x 2 factorial in completely randomized design 4 replication ทดสอบผลิตภัณฑ์ที่อัตรา 125, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อขวดเพาะเมล็ด ในวัสดุปลูก 3 ชนิดคือ ดินเหนียว ดินร่วน และ ทราย ทดสอบในสัปดาห์ที่ 1, 2, 3 และ 4 โดยมีน้ำกลั่นเป็นวิธีเปรียบเทียบ (control) พืชทดสอบ 2 ชนิดคือ หญ้าข้าวนกและถั่วผี

3.3.2 การเตรียมผลิตภัณฑ์

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.1.2

3.3.3 การเตรียมเมล็ดวัชพืชทดสอบ

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1.3

3.2.4 การทดสอบ

การเตรียมวุ้นด้วยวิธี autoclave โดยนำสารละลายวุ้น 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในน้ำกลั่น มาทำการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเครื่อง autoclave โดยใช้ไอน้ำร้อนที่ 250 องศาฟาเรนไฮต์และความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเทสารละลายวุ้น (ปริมาตร 5 มิลลิลิตร) ลงในขวดเพาะเมล็ด ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.8 เซนติเมตร สูง 1 เซนติเมตร ปล่อยให้วุ้นแข็งตัว วางกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วค่อยๆ โรยผลิตภัณฑ์ ในรูปผงละเอียดที่ปริมาณ 125, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อขวดเพาะเมล็ด ปิดทับด้วยกระดาษเพาะเมล็ดหลังจากนั้นเทวุ้นทับกระดาษเพาะให้วุ้นมีความสูง 1 เซนติเมตร เท่ากัน ปล่อยให้แข็งตัว วางกระดาษเพาะและเมล็ดวัชพืชทดสอบ ปิดปากขวดด้วยพาราฟิล์ม วางไว้ที่ตู้ควบคุมการเจริญเติบโต ที่ตั้งค่าแสงสว่าง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีแสง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์

3.2.5 การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1.5

การทดลองที่ 3.4 ศึกษาปริมาณน้ำฝนและระยะเวลาปลอดฝน ต่อการออกฤทธิ์ของสาร ในสภาพแปลง

3.4.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) 4 replication ฉีดพ่นสารควบคุมวัชพืชจากประยงค์ที่อัตรา 20 กรัมสารออกฤธิ์ต่อตารางเมตร อัตราการใช้น้ำเท่ากับ 200 ลิตรต่อไร่ กำหนดให้ปริมาณน้ำฝนเท่ากับ 1, 5, 10 และ 20 มิลลิเมตร และกำหนดให้ช่วงระยะเวลาปลอดฝนเท่ากับ 1, 3, 6 12 และ 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับพื้นที่ที่ไม่มีการสร้างฝนจำลอง

3.4.2 การเตรียมผลิตภัณฑ์

เตรียมผลิตภัณฑ์ในรูป SC เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1

3.4.3 การทดสอบ

<u>ปริมาณน้ำฝน</u>

ทำการฉีดพ่นสารในอัตรา 20 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อตารางเมตร อัตราการใช้น้ำ 200 ลิตรต่อไร่ ในแปลงทดลองที่มีเมล็ดวัชพืชอยู่ และทำการสร้างฝนจำลองหลังจากฉีดพ่นสารไปแล้ว 1 ชั่วโมง โดยมีปริมาณน้ำฝนเท่ากับ 1, 5, 10 และ 20 มิลลิเมตร ในขณะฉีดพ่นสารแปลงทดลองต้องมีความชื้นสูง

<u>ช่วงระยะเวลาปลอดฝน</u>

ทำการฉีดพ่นสารในอัตรา 20 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อตารางเมตร อัตราการใช้น้ำ 200 ลิตรต่อไร่ ในแปลงทดลองที่มีเมล็ดวัชพืชอยู่ และทำการสร้างฝนจำลองหลังจากฉีดพ่นสารไปแล้ว 1, 3, 6 12 และ 24 ชั่วโมง ในขณะฉีดพ่นสารแปลงทดลองต้องมีความชื้นสูง โดยใช้ปริมาณน้ำฝนจากข้อมูลการทดลองปริมาณน้ำฝน

3.4.4 การบันทึกผล และการวิเคราะห์ผลการทดลอง

- บันทึกจำนวนการงอกของวัชพืช ที่ 7 และ 14 วัน
- บันทึกการเจริญเติบโตของวัชพืช ที่ 7 และ 14 วัน
- บันทึกน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน โดยตัดส่วนเหนือดินของวัชพืชในวันที่หลังจากฉีดพ่นสาร ไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's Studentized Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

การทดลองที่ 4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติควบคุมวัชพืชจากประยงค์ที่พัฒนาได้กับสารเคมีป้องกันควบคุมวัชพืชที่เกษตรกรใช้อยู่ในปัจจุบัน

4.1.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) 4 replication โรยผลิตภัณฑ์จากประยงค์ 0.25, 1 และ 2.5 ตันสารออกฤทธิ์ต่อเฮกตาร์ และฉีดพ่นสารเคมีกำจัดวัชพืช (อาทราซีน) 2.5 กิโลกรัมสารออกฤทธิ์ต่อเฮกตาร์ โดยมีพื้นที่ที่ไม่โรยสารผลิตภัณฑ์เป็นวิธีเปรียบเทียบ (control)

4.1.2 การเตรียมผลิตภัณฑ์

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.3

4.1.3 การทดสอบ

เตรียมดินและทำการแบ่งเป็นแปลงย่อยขนาด 4 x 4 เมตร ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 รองพื้นอัตรา 200 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ และทำการปลูกข้าวโพดจำนวน 6 แถวต่อแปลงทดลอง ระยะห่างระหว่างต้น 75 เซนติเมตร จากนั้นทำการโรยจากประยงค์ในอัตรา 0.25, 0.5 และ 1 ตันต่อเฮกตาร์ เปรียบเทียบกับการฉีดพ่นสารเคมีกำจัดวัชพืช (อาทราซีน) 2.5 กิโลกรัมสารออกฤทธิ์ต่อเฮกตาร์ เมื่อข้าวโพดมีอายุ 30 วัน ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 100 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ จากนั้นดูแลจนถึงวันที่เก็บเกี่ยวข้าวโพด

4.1.4 การบันทึกผลและการวิเคราะห์ผลการทดลอง

- บันทึกการงอกของวัชพืชในสัปดาห์ที่ 3 หลังใช้สารผลิตภัณฑ์
- บันทึกน้ำหนักแห้งของวัชพืชในสัปดาห์ที่ 3 หลังจากใช้สารผลิตภัณฑ์
- บันทึกน้ำหนักแห้งของวัชพืชในสัปดาห์ที่ 12 หลังจากใช้สารผลิตภัณฑ์
- บันทึกผลผลิตข้าวโพดในสัปดาห์ที่ 12 หลังจากใช้สารผลิตภัณฑ์

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's Studentized Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3.3 สถานที่ดำเนินการทดลอง

ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4 ระยะเวลาดำเนินการ

ใช้ระยะเวลาในการทดลองทั้งหมด 12 เดือน