

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

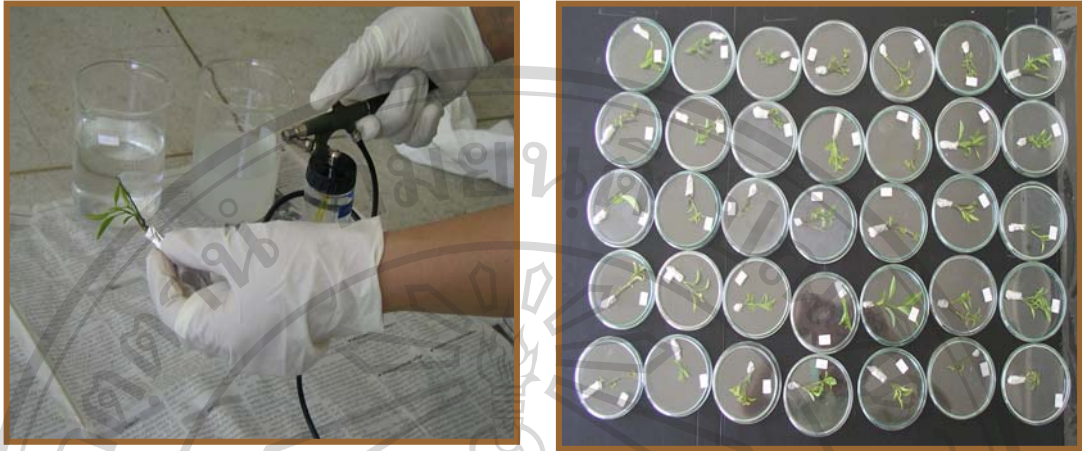
##### 1. ประสิทธิภาพของสารกำจัดแมลงบางชนิดที่ใช้ควบคุมเพลี้ยอ่อน

###### 1.1 การทดลองในห้องปฏิบัติการ

ทำการเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนส้มจากพื้นที่ปลูกส้ม ตำบลโป่งแยง อำเภอแมริ่ม จังหวัดเชียงใหม่ นำมาทดลองที่ห้องปฏิบัติการภาควิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในวันที่ 6 - 9 ตุลาคม 2549 วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 7 กรรมวิธี (ตาราง 1 และภาพ 1) 5 ซ้ำ ใช้น้ำเปล่าเป็นกรรมวิธีควบคุม โดยการฉีดพ่นสารแต่ละกรรมวิธี ลงบนยอดส้มที่มีเพลี้ยอ่อน (ปริมาณเพลี้ยอ่อน 70-130 ตัวต่อยอด) จากนั้นตรวจนับการตายที่เวลา 1, 3, 6, 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ

ตาราง 1 สารกำจัดแมลงและอัตราที่ใช้ทดสอบตามคำแนะนำข้างฉลาก

ชื่อสามัญ	ชื่อการค้า	การออกฤทธิ์	อัตราการใช้
น้ำส้มควันไม้ (wood vinegar)	น้ำส้มควันไม้®	-	100-120 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
น้ำสกัดสมุนไพร (herbal extraction )	ส้มทองAAA®	-	30-40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
บาซิลลัส ทุริงเยนซิส ( <i>Bacillus thuringiensis</i> )	ริติก®	-	150-200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
น้ำมันปิโตรเลียมกลั่น (petroleum spray oil)	ซี ดีตรอน พลัส®	83.9%EC	60-100 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
คลอร์ไพริฟอส (chlopyrifos)	คลอร์ไพริฟอส 40®	40%EC	25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
คาร์โบซัลแฟน (carbosulfan)	พอสซ์®	20%EC	30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร



ภาพ 1 การฉีดพ่นสารกำจัดแมลง (air-brush spraying) ลงบนยอดส้มที่มีเพลี้ยอ่อนเข้าทำลาย และการบันทึกเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยอ่อนที่เวลาต่างๆ

## 1.2 การทดลองในแปลงส้ม

ทำการทดลองในแปลงส้ม ตำบลโป่งแยง อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างวันที่ 11 พฤศจิกายน 2549 ถึง วันที่ 23 ธันวาคม 2549 วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมแบบสุ่มสมบูรณ์ (Factorial 5 x 2 in CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ 1 ซ้ำเท่ากับ 1 ต้น ปัจจัยที่ 1 สารกำจัดแมลง 5 กรรมวิธี คือน้ำส้มคว้นไม้ 120 มิลลิกรัม /20 ลิตร ไวท์ออยล์ 100 มิลลิกรัม/20 ลิตร คาร์โบซัลเฟน 30 มิลลิกรัม/20 ลิตร คลอไพริฟอส 25 มิลลิกรัม/20 ลิตร และน้ำเปล่า ปัจจัยที่ 2 คือ ระยะเวลาการฉีดพ่น ทุก 7 วัน และ ทุก 14 วัน สํารวจปริมาณแมลงศัตรูพืช ก่อนทำการพ่นสารกำจัดแมลง จากนั้นสำรวจหลังพ่นทุก 1 สัปดาห์ สุ่มนับจากกิ่งส้ม สูงจากพื้นดิน 1.5 เมตร จาก 4 ทิศ รอบต้น ทิศละ 4 กิ่ง เริ่มพ่นสารกำจัดแมลงครั้งแรกหลังส้มติดผลแล้ว 121 วัน

### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยโปรแกรม SPSS 14.0 for Window และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยอ่อนส้ม โดยวิธี LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $P \leq 0.05$ )

## 2. ผลของสารกำจัดแมลงต่อคุณภาพของผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง

ทำการเก็บเกี่ยวผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง จากการใช้สารกำจัดแมลงตามกรรมวิธีต่างๆ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ผล โดยสุ่มเก็บผลส้มแบบกระจายทั่วต้น มาวัดคุณภาพผลผลิตดังนี้

2.1 ความกว้าง ความสูงจากขั้วผล และความหนาของเปลือก ด้วยเครื่องเวอร์เนีย แคลลิเปอร์ส

2.2 น้ำหนักของผล เปลือก เนื้อ และเมล็ด ด้วยเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

2.4 วัดสีผิวเนื้อ และสีผิวเปลือก โดยสุ่มวัด ผลละ 3 จุด คือ ด้านขั้วผล กลางผล และใต้ขั้วผล ด้วยเครื่อง Color meter รุ่น CR 300 ซึ่งค่าที่วัดได้จะแสดงเป็นค่า L, C\* และ h\* โดยที่

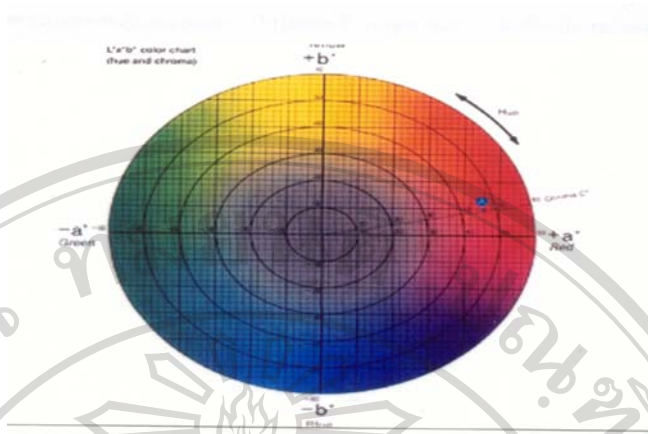
L (Lightness) เป็นค่าความสว่างมีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100

C\*(Chroma) เป็นค่าความเข้มของสี ซึ่งถ้า ค่าเข้าใกล้ 0 วัตถุ จะมีสีจาง ถ้าเข้าใกล้ 60 วัตถุจะมีสีเข้ม

h\* (Hue) เป็นค่ามุมของสี (เฉดสี) เมื่อ ได้ค่าของช่วงสีแล้วจึงนำมาเปรียบเทียบกับแผ่นสี ซึ่งค่า h\* เป็นค่าที่แสดงช่วงของสีวัตถุ (ตาราง 2 และภาพ 2)

ตาราง 2 สีที่แสดงในแผ่นเทียบสี จากค่ามุมของเฉดสี (h\*) ที่วัดได้

มุมของเฉดสี(องศา)	สีที่แสดงในแผ่นเทียบสี
0-45	สีม่วงแดงถึงสีส้มแดง
45-90	สีส้มแดงถึงส้มเหลือง
90-135	สีเหลืองถึงสีเหลืองเขียว
135-180	สีเหลืองเขียวถึงสีเขียว
180-225	สีเขียวถึงสีน้ำเงินเขียว
225-270	สีน้ำเงินเขียวถึงสีน้ำเงิน
270-315	สีน้ำเงินถึงสีม่วง
315-360	สีม่วงถึงสีม่วงแดง



ภาพ 2 แผ่นภาพที่ใช้เปรียบเทียบกับค่าองศาของสี (hue)

2.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solids; TSS) นำน้ำคั้นที่สุ่มได้นำไปวัดด้วยเครื่อง digital refractometer โดยมีหน่วยเป็นองศาบริกซ์

2.6 ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (titratable acidity; A) ใช้น้ำคั้นจำนวน 10 มิลลิลิตร ไตเตรทด้วยสารละลายด่างมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 0.1 N วัดค่า pH ของสารละลาย เท่ากับ 8.1 นำค่าที่อ่านได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกโดยใช้สูตร

$$\% \text{Titratable acidity} = \frac{(\text{ml NaOH}) (\text{N NaOH}) (\text{meq. wt. acid})}{\text{ml sample}} \times 100$$

ml NaOH = ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ใช้ในการไตเตรทกับน้ำคั้น (มิลลิลิตร)

N NaOH = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

Miliea uivalent of citric acid = 1 มิลลิกรัมสมมูลของน้ำหนักรวด  
Miliea uivalent of citric acid = 0.064 (citric acid)

ml sample = ปริมาตรน้ำคั้นที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์โปรแกรม SPSS 14.0 for Windows

### 3. การวิเคราะห์การตกค้างของสารคลอไพริฟอส และคาร์โบซัลเฟนในผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง

#### 3.1 การเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่าง 9 ผล ต่อกรรมวิธี นำตัวอย่างมาสกัดโดยแยกสกัดเปลือกตามกรรมวิธีของกรมวิชาการเกษตร (2546) และเนื้อตามกรรมวิธีของ Montemurro *et al.* (2002) (ภาพที่ 3 และ ภาพที่ 5) เพื่อวิเคราะห์หาสารตกค้างในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต (ภาพ4 และ ภาพ 6)

#### 3.2 วิธีการสกัดตัวอย่าง

##### 3.2.1 วิธีการสกัดเนื้อส้ม

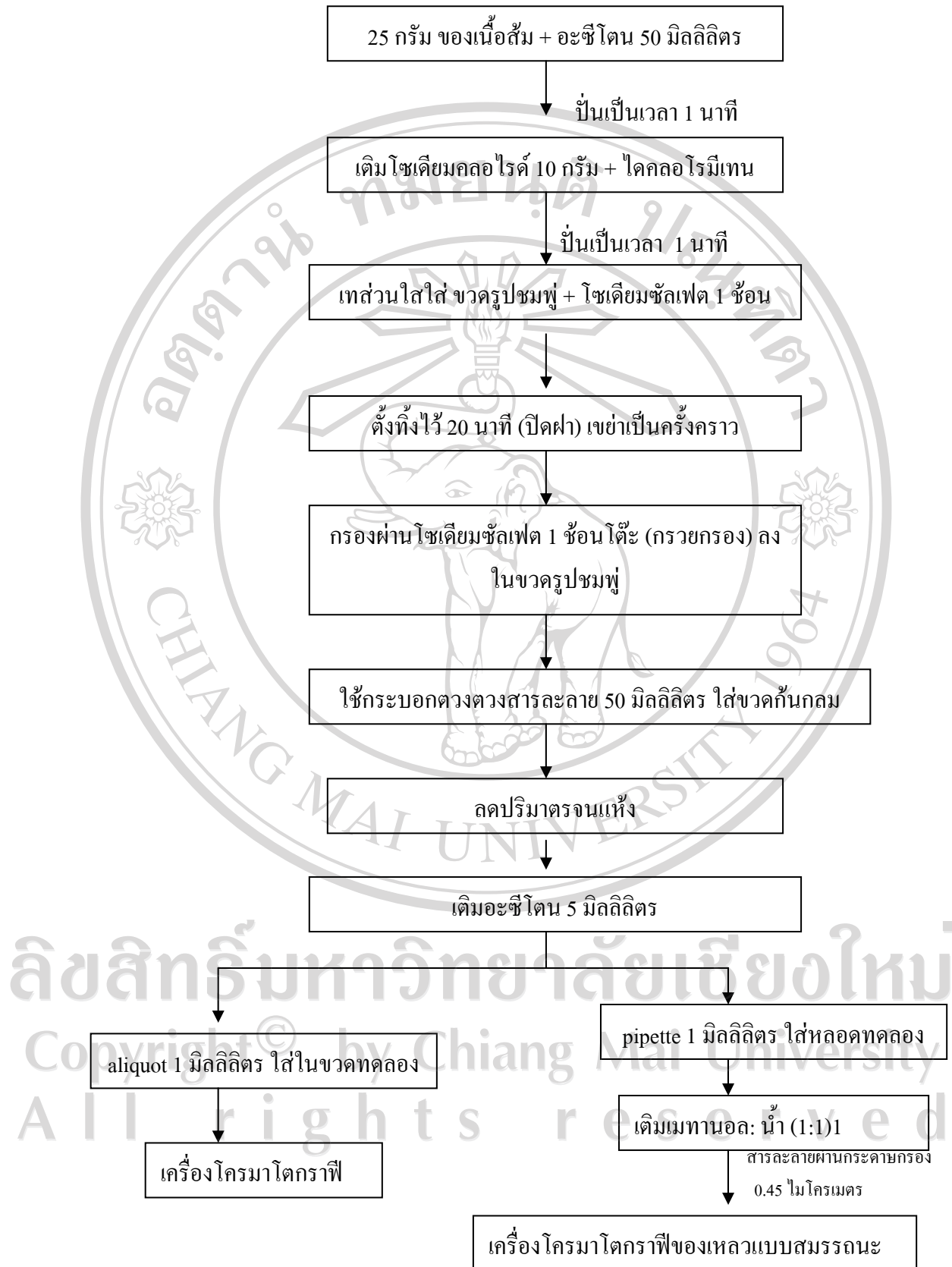
1. นำเนื้อส้มมาปั่นจนละเอียด ชั่งจำนวน 25 กรัม ใส่ ขวดแก้ว ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมอะซีโตน 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาปั่นโดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยง 1 นาที
2. เติมไดคลอโรมีเทน 40 มิลลิลิตร ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ 10 กรัม ปั่น 1 นาที เทส่วนใสใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 300 มิลลิลิตร รวมกับโซเดียมซัลเฟต 1 ซ้อนโต๊ะ ทิ้งไว้ 20 นาที (เปิดฝา) เขย่าเป็นครั้งคราว
3. จากนั้นนำมากรองผ่านกรวยที่ใส่โซเดียมซัลเฟต 1 ซ้อนโต๊ะ ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วใช้กระบอกตวง ขนาด 100 มิลลิลิตร ตวงสารละลายมา 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดก้นกลม ลดปริมาตรจนแห้ง เติมอะซีโตน 5 มิลลิลิตร
4. นำสารละลายจาก ข้อ 3 จำนวน 1 มิลลิลิตรใส่ลงใน ขวดทดลอง เพื่อวิเคราะห์หาสารตกค้างในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟีของ SHIMAZU รุ่น 2010

Column	RTX-OPP2
Detector	Flame Phosphorus Detector
Injector temperature	250°C
Detector temperature	290°C
Oven temperature	90°C
Flow rate	90 ml/min
Carrier gas	H <sub>2</sub>

5. นำสารละลายจาก ข้อ 3 จำนวน 1 มิลลิลิตร เป่าให้แห้งด้วยไนโตรเจนจากนั้น เติมเมทานอล: น้ำ (1:1) 1 มิลลิลิตร เทสารละลายผ่านกระดาษกรอง 0.45 ไมโครเมตร ลงใน ขวดทดลอง เพื่อวิเคราะห์หาสารตกค้างในกลุ่มคาร์บาเมตด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ดัดแปลงจากกรรมวิธีของ Makihata *et al.* (2003)

Colum	Ultra Carbamate 4.6x250 mm
Mobile phase	Distiled water 88 %
Flow rate	Acetonitrile 12 %
Detector	Fluorescence

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
 Copyright© by Chiang Mai University  
 All rights reserved



ภาพ 3 วิธีการสกัดเนื้อสั้ม



1. ตัวอย่างเนื้อส้ม



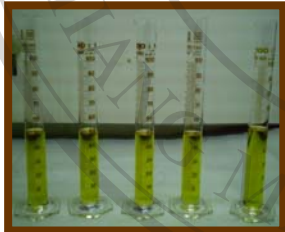
2. นำตัวอย่างเนื้อส้มนำมาปั่นจนละเอียด



3. ชั่งเนื้อส้ม จำนวน 25 กรัม



4. เติมอะซิโตน 50 มิลลิลิตรปั่น 1 นาที เติม โซเดียมคลอไรด์ 10 กรัม + ไดคลอโรมีเทน ปั่นเป็นเวลา 1 นาที



5. ตวงสารละลาย 50 มิลลิลิตร



6. ใส่ในขวดกั้นกมลลดปริมาตรจนแห้ง



7. วิเคราะห์ปริมาณคลอไพริฟอส ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟี



8. วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบซัลเฟนด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ภาพ 4 การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในเนื้อส้มโดยใช้เครื่อง GC และ HPLC



### 3.2.2 วิธีการสกัดเปลือกส้ม

1. นำเปลือกส้มมาปั่นจนละเอียด ชั่งจำนวน 20 กรัม ใส่ขวดแก้ว เดิมเอ็น - เฮกเซน ที่อิมตัวด้วยอะซีโตรไนโตร 80 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาปั่นโดยเครื่องปั่น 1 นาที
2. กรองส่วนใสใส่ กรวยแยก ขนาด 500 มิลลิลิตร
3. แยกส่วน ด้วยอะซีโตรไนโตร ที่อิมตัวด้วยเอ็น - เฮกเซน 50 มิลลิลิตร
4. นำสารละลายชั้นล่าง ใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร นำสารละลายชั้นบนมา แยกส่วน อีกครั้ง นำสารละลายชั้นล่างใส่ ขวดรูปชมพู่ รวมกับครั้งแรก
5. นำสารละลายในขวดรูปชมพู่มากรองผ่าน โซเดียมซัลเฟต รองรับขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เทใส่กระบอกตวง ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยอะซีโตรไนโตรที่อิมตัวด้วย เอ็น - เฮกเซน
6. นำสารละลายมา 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดก้นกลม ลดปริมาตรจนแห้ง เดิมอะซีโตน 5 มิลลิลิตร
7. นำสารละลายจาก ข้อ 6 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดทดลอง เพื่อวิเคราะห์หาสารตกค้างในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี
8. นำสารละลายจาก ข้อ 6 จำนวน 1 มิลลิลิตร เป่าให้แห้งด้วยไนโตรเจน จากนั้น เดิมเมทานอล: น้ำ (1:1) 1 มิลลิลิตร เทสารละลายผ่านกระดาษกรอง 0.45 ไมโครเมตร ลงในขวดทดลอง เพื่อวิเคราะห์หาสารตกค้างในกลุ่มคาร์บาเมตคาร์บาเมต ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง



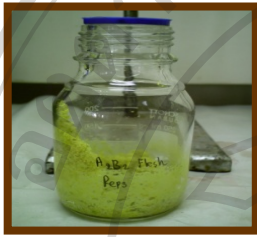
ภาพ 5 วิธีการสกัดเปลือกส้ม



1. ตัวอย่างเปลือกส้ม



2. นำตัวอย่างเนื้อส้มนำมาปั่นจนละเอียด



3. ชั่งตัวอย่างเปลือกส้ม 20 กรัม



4. เติมเอ็น - เฮกเซนที่อิ่มตัวด้วย อะซีโตไนโตร 80 มิลลิลิตร แยกส่วนด้วยอะซีโตรไนโตร ที่อิ่มตัวด้วย เอ็น - เฮกเซน 50 มิลลิลิตร



5. นำสารละลายชั้นล่างมากรองผ่านโซเดียมซัลเฟต



6. ใส่ในขวดก้นกลมลดปริมาตรจนแห้ง



7. วิเคราะห์ปริมาณคลอไพริฟอสด้วยเครื่องโครมาโตกราฟี



8. วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบซัลเฟนด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ภาพ 6 การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในเปลือกส้มโดยใช้เครื่อง GC และ HPLC

### สถานที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล

1. แปลงเกษตรกร ตำบลโป่งแยง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ห้องปฏิบัติการภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

### ระยะเวลาดำเนินการ

เดือนมิถุนายน 2548 – เดือนเมษายน 2550



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved