

ภาคผนวก

1. วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA)

มันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำตาลกลูโคส	20	กรัม
วุ้น	15-17	กรัม
น้ำ	1,000	มิลลิลิตร

ต้มมันฝรั่ง 200 กรัม ในน้ำ 500 มิลลิลิตร จนกระทั่งมันสุก กรองน้ำมันฝรั่งด้วยผ้ากรอง เก็บส่วนน้ำเอาไว้ นำวุ้นมาละลายในน้ำที่เหลืออีก 500 มิลลิลิตร จากนั้นต้มจนวุ้นละลายแล้วใส่น้ำตาลกลูโคส คนให้ละลายแล้วผสมน้ำมันฝรั่งที่กรองไว้ ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร คนให้ส่วนผสมเข้ากัน แบ่งใส่ขวดแก้ว อุดด้วยจุกสำลี แล้วใช้กระดาษหุ้มจุกสำลีอีกชั้น ใช้ยางรัดกระดาษไว้ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

2. วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA)

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH	7-7.2	

ต้มวุ้น 15 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ละลาย Beef extract และ Peptone ในน้ำอีก 500 มิลลิลิตร นำไปต้มพอให้อุ่น จากนั้นผสมกับวุ้นที่ละลายแล้ว คนให้เข้ากัน วัดปริมาตรและเติมน้ำให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร แบ่งใส่ขวดแก้ว อุดด้วยจุกสำลี แล้วใช้กระดาษหุ้มจุกสำลีอีกชั้น ใช้ยางรัดกระดาษไว้ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

3. วิธีเตรียมอาหารผสมสารสกัด

หากต้องการเตรียมอาหารผสมสารสกัดที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ให้เตรียมสารสกัดที่ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ หรือเตรียมที่ความเข้มข้นเป็นสองเท่าของความเข้มข้นที่ต้องการ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นจึงผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมแบบลดน้ำ อีก 50 มิลลิลิตร จะได้อาหารผสมสารสกัดที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

เตรียมอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) แบบลดน้ำ

มันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำตาลกลูโคส	20	กรัม
วุ้น	15-17	กรัม
น้ำ	500	มิลลิลิตร

ต้มมันฝรั่ง 200 กรัมในน้ำ 250 มิลลิลิตร จนกระทั่งมันสุก กรองน้ำมันฝรั่งด้วยผ้ากรอง เก็บส่วนน้ำเอาไว้ นำวุ้นมาละลายในน้ำที่เหลืออีก 250 มิลลิลิตร จากนั้นต้มจนวุ้นละลายแล้วผสมกับน้ำมันฝรั่งที่กรองไว้ ใส่ น้ำตาลกลูโคสคนให้ละลาย ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร แบ่งอาหาร PDA แบบลดน้ำใส่ขวดแก้ว ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปผสมกับสารสกัดที่เตรียมไว้

4. วิธีเตรียมอาหารผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช

นำอาหาร NA และ PDA ปริมาตรขวดละ 150 มิลลิลิตรที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว มาผสมด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช 4 ชนิด ได้แก่ copper oxychloride, iprodione, carbendazim และ metalaxyl+mancozeb ให้ได้อาหาร PDA ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่ความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ

วิธีการเตรียมสาร

ไอโพรไดโอน (iprodione) อัตราแนะนำที่ใช้ 20 g ต่อน้ำ 20 ลิตร มีสารออกฤทธิ์ 75% WG

การคำนวณความเข้มข้นเป็น ppm ตามอัตราแนะนำ

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร ppm} &= \frac{\text{เนื้อยาทั้งหมด (g, ml)}}{\text{ปริมาตรสารละลายทั้งหมด (ml)}} \times 10^6 \times \frac{\text{ai}}{100} \\ \text{ppm} &= \frac{20}{20 \times 10^3} \times 10^6 \times \frac{75}{100} \\ &= 750 \text{ ppm} \end{aligned}$$

ดังนั้นความเข้มข้นตามอัตราแนะนำมีสารออกฤทธิ์ 750 ppm

ต้องการ stock สาร iprodione ที่ความเข้มข้นเป็น 10 เท่า ต้องเตรียม stock = 750 x 10 = 7500 ppm

$$\begin{aligned} 7500 \text{ ppm} &= \frac{\text{เนื้อยาทั้งหมด (g, ml)}}{100} \times 10^6 \times \frac{75}{100} \\ &= 1.0 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

ดังนั้นต้องชั่งสารมา 1.0 กรัม ละลายน้ำ 100 มิลลิลิตร จึงจะได้สาร iprodione ความเข้มข้น 7500 ppm

วิธีคำนวณอัตราการผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืชในอาหาร NA และ PDA

เตรียมอาหาร NA และ PDA ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืชแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ ให้มีปริมาตรสุดท้าย 150 ml

จากสูตร $M_1V_1 = M_2V_2$

สาร iprodione ผสมอาหาร PDA ให้มีความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ (stock ที่ความเข้มข้น 7500 ppm)

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$7500 \times V_1 = 750 \times 150$$

$$V_1 = \frac{750 \times 150}{7500}$$

$$= 15 \text{ มิลลิลิตร}$$

ดังนั้นต้องดูดสาร iprodione 15 มิลลิลิตร ผสมกับอาหาร PDA ปริมาตร 135 มิลลิลิตร จะได้สารที่ความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ ปริมาตร 150 มิลลิลิตร

หมายเหตุ : จำนวนสารเคมีอื่นๆ แบบเดียวกับสารไอโพรไดโอน

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวประไพพิศ สุวิทย์ชยานนท์
วัน เดือน ปีเกิด	3 กรกฎาคม 2527
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาชั้นประถมศึกษา จาก โรงเรียนพุทธนิโสภณ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมต้น จาก โรงเรียนนวมินทราชูทิศ พายัพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมปลาย จาก โรงเรียนนวมินทราชูทิศ พายัพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี (วิทยาศาสตร์บัณฑิต) ปีการศึกษา 2549 จากภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ทุนการศึกษา	ทุนสนับสนุนการทำวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ระดับปริญญาโท
ที่อยู่	99/76 ถนนเชียงใหม่-ลำพูน ตำบลหนองผึ้ง อำเภอสารภี จังหวัดเชียงใหม่ 50140

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved