

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุและอุปกรณ์

1. ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง ขนาด 30x50 นิ้ว
2. เครื่องปั่น
3. Hot Air Oven ยี่ห้อ Binder รุ่น FED115
4. Water bath
5. เครื่องชั่ง ยี่ห้อ Denver Instrument รุ่น TB-2002
6. Petri Dish
7. น้ำกลั่น
8. ผงสาหร่าย *Sargassum* sp.
9. กระบอกฉีดยา ขนาด 1 ลิตร
10. ปู่ยาคอก
11. ปู่ยาสูตร 16-16-16
12. ปู่ยาสูตร 15-15-15 ยี่ห้อเฟอर्टิเกด
13. ปู่ยาสูตร 12-8-8
14. เมล็ดพันธุ์คะน้ายอด
15. กระจ่าง ขนาด 12 นิ้ว
16. ถาดหลุม
17. สารจับใบ Apsa-80
18. บัวรดน้ำ ขนาด 1 ลิตร

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

วิธีการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างสาหร่ายทะเล

เก็บตัวอย่างสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล *Sargassum* sp. จากบริเวณหาดอ่าวบาง ตำบลบางกะไชย อำเภอแหลมงสิงห์ จังหวัดจันทบุรี ในเดือนมกราคม พ.ศ. 2563 เก็บสาหร่ายทะเลสดมาจำนวน 46 กิโลกรัม ล้างสาหร่ายทะเลด้วยน้ำจืดให้สะอาด และเลือกเอาเศษต่าง ๆ ที่ติดมากับสาหร่ายทะเลออกให้หมด ผึ่งสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลให้แห้ง จากนั้นนำไปอบด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลมาบดเป็นผงให้ละเอียดด้วยเครื่องบดละเอียด และหาปริมาณสารสำคัญของสาหร่ายทะเล

วิเคราะห์ปริมาณ Free IAA ด้วยวิธี HPLC-RF (ครุณี นาพรหม และกรวรรณ ศรีงาม, 2552), Free amino acid และ Total amino acid ด้วยวิธี In-house method TE-CH-372 based on Official Journal of the European Journal of communities, L257116 by Amino Acid Analyzer Technique และ In-house method TE-CH-373 based on Journal of Food Chemistry, Vol.193 (2016), P26-29 by HPLC Technique

วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืช ในโตรเจนด้วยวิธี Kjeldhal method (Bremner and Mulvaney, 1982), ย่อยตัวอย่างพืชเพื่อหาฟอสฟอรัสด้วยวิธี Mixed acid digestion

วิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธี yellow molybdate method (ทัศนีย์ อัดตะนันท์ และจรงค์ จันทร์เจริญสุข, 2542) และ ย่อยตัวอย่างพืชเพื่อหาโพแทสเซียมด้วยวิธี Mixed acid digestion และหาปริมาณโพแทสเซียมด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (Jackson and Mahmood, 1994) ในผงสาหร่ายทะเล

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

1.1 ปริมาณออกซินอิสระ (Free Indole-3-acetic acid : Free IAA) ของสาหร่ายทะเลในรูปผงแห้ง และสารสกัดสาหร่ายทะเล *Sargassum* sp.

ปริมาณออกซินอิสระของสาหร่ายทะเลในรูปผงแห้งมี 3.486 มก./ลิตร และพบปริมาณออกซินอิสระในสารสกัดสาหร่ายทะเลเท่ากับ 0.016 มก./ลิตร ดังตาราง 1

ตาราง 1 ปริมาณออกซินอิสระของสาหร่ายทะเลในรูปผงแห้งและสารสกัดสาหร่ายทะเล

ชนิดการเตรียมตัวอย่าง	ปริมาณ Free IAA (พีพีเอ็ม)
ผงสาหร่ายทะเลแห้ง	3.486
สารสกัดสาหร่ายทะเล	0.016

1.2 ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด (Total Amino acid) ในสาหร่ายทะเล *Sargassum* sp.

ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดของสาหร่ายทะเลในรูปผงแห้งในการทดลองนี้เท่ากับ 4,032 มก./100 กรัม ดังตาราง 2

ตาราง 2 ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด

ลำดับที่	รายการทดสอบ	ปริมาณ (มก./100 กรัม)
1	Aspartic acid	533.03
2	Threonine	258.74
3	Serine	263.30
4	Glutamic acid	694.01
5	Glycine	298.10
6	Alanine	336.29
7	Cystine	Not Detected
8	Valine	308.85
9	Methionine	<200.00
10	Isoleucine	218.63
11	Leucine	391.43
12	Tyrosine	<250.00
13	Phenylalanine	265.89
14	Histidine	<100.00
15	Hydroxylysine	Not Detected
16	Lysine	238.38
17	Arginine	<250.00
18	Hydroxyproline	Not Detected
19	Proline	226.12
20	Tryptophan	Not Detected
รวม		4,032

1.3 ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ (Free Amino acid) ในสาหร่ายทะเล *Sargassum* sp.

ปริมาณกรดอะมิโนอิสระของสาหร่ายทะเลในรูปผงแห้ง ผลการวิเคราะห์ที่ไม่พบปริมาณกรดอะมิโนอิสระ ดังตาราง 3

ตาราง 3 ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ

ลำดับที่	รายการทดสอบ	ปริมาณ (มก./100 กรัม)
1	Aspartic acid	Not Detected
2	Threonine	Not Detected
3	Serine	Not Detected
4	Glutamic acid	Not Detected
5	Glycine	Not Detected
6	Alanine	Not Detected
7	Cystine	Not Detected
8	Valine	Not Detected
9	Methionine	Not Detected
10	Isoleucine	Not Detected
11	Leucine	Not Detected
12	Tyrosine	Not Detected
13	Phenylalanine	Not Detected
14	Histidine	Not Detected
15	Hydroxylysine	Not Detected
16	Lysine	Not Detected
17	Arginine	Not Detected
18	Hydroxyproline	Not Detected
19	Proline	Not Detected
20	Tryptophan	Not Detected

1.4 ปริมาณธาตุอาหารพืชในสาหร่ายทะเล *Sargassum* sp.

ผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารของสาหร่ายทะเลในรูปผงแห้งพบปริมาณไนโตรเจน 0.91% , ปริมาณฟอสฟอรัส 0.11% และปริมาณโพแทสเซียม 7.82% ดังตาราง 4

ตาราง 4 ปริมาณธาตุอาหารพืช

รายการ	ปริมาณ (%)
ปริมาณไนโตรเจน (Total N)	0.91
ปริมาณฟอสฟอรัส (Total P)	0.11
ปริมาณโพแทสเซียม (Total K)	7.82

1.5 ผลผลิตของสาหร่ายทะเล

ใช้สาหร่ายทะเลสด 46 กิโลกรัม นำไปทำเป็นสาหร่ายทะเลในรูปแบบผงได้ 4.8 กิโลกรัม ดังนั้น %yield ของสาหร่ายทะเลในรูปแบบผง เท่ากับ $\frac{4.8}{46} \times 100 = 10.43\%$

ใช้ผงสาหร่ายทะเล 600 กรัมร่วมกับน้ำกลั่น 6000 มิลลิลิตร เมื่อนำไปสกัด พบว่าได้สารสกัด ในส่วนของน้ำที่แยกออกมาจากผงสาหร่ายทะเล 3800 มิลลิลิตร ดังนั้น %yield ของสารสกัดสาหร่ายทะเล เท่ากับ $\frac{3800}{6600} \times 100 = 57.57\%$

2. การเตรียมสาหร่ายทะเล

นำผงสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลที่บดได้มาแช่ในน้ำกลั่น (อัตราส่วนสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลต่อน้ำ 1:10 น้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นนำสารผสมมาแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาแล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 นำสารสกัดสาหร่ายทะเลที่กรองได้บรรจุลงในขวดสีชาและเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (Sasikala *et al.*, 2016)

3. ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนผักคะน้าในห้องปฏิบัติการ

3.1 แผนการทดลอง

โดยวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design จำนวน 7 กรรมวิธี วิธีละ 3 ซ้ำ
ได้แก่

- 3.1.1 น้ำเปล่า (Control)
- 3.1.2 สารสกัดสาหร่าย 10% (ใช้สารสกัด 0.5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 4.5 มิลลิลิตร)
- 3.1.3 สารสกัดสาหร่าย 20% (ใช้สารสกัด 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 4 มิลลิลิตร)
- 3.1.4 สารสกัดสาหร่าย 30% (ใช้สารสกัด 1.5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 3.5 มิลลิลิตร)
- 3.1.5 สารสกัดสาหร่าย 40% (ใช้สารสกัด 2 มิลลิลิตรต่อน้ำ 3 มิลลิลิตร)
- 3.1.6 สารสกัดสาหร่าย 50% (ใช้สารสกัด 2.5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 2.5 มิลลิลิตร)
- 3.1.7 สารสกัดสาหร่าย 60% (ใช้สารสกัด 3 มิลลิลิตรต่อน้ำ 2 มิลลิลิตร)

3.2 ขั้นตอนการทดลอง

นำเมล็ดคะน้ามาเพาะในจานเพาะเชื้อ โดยใช้กระดาษชำระรองบนภาชนะ นำเมล็ดคะน้า 3 เมล็ด/จานเพาะเชื้อ มาวางบนกระดาษชำระที่เตรียมไว้ พรมน้ำปริมาณ 2 มิลลิลิตรต่อจานเพาะเชื้อ นำสารสกัดสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำมาทดสอบโดยพ่นสารสกัดในตอนเช้าทุกสองวัน ๆ ละ 1 ครั้ง ๆ ละ 1 มิลลิลิตรต่อจานเพาะเชื้อ จนครบ 7 วัน ทำวิธีละ 3 ซ้ำ

เลือกความเข้มข้นของสารสกัดสาหร่ายที่เหมาะสมของการงอกของคะน้า จำนวน 3 ระดับ ความเข้มข้นเพื่อใช้ทดสอบในกระถางในการทดลองถัดไป

4. ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลร่วมกับปุ๋ยเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของผักคะน้าในกระถางทดลอง

4.1 แผนการทดลอง

โดยวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design จำนวน 8 กรรมวิธี วิธีละ 3 ซ้ำ
ได้แก่

- 4.1.1 ฟันเปล่า (Control) 100 มิลลิลิตร
- 4.1.2 ฟันปุ๋ยทางใบสูตร 15-15-15 อัตรา 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 99 มิลลิลิตร
- 4.1.3 ฟันสารสกัดสาหร่ายทะเล 1% (ใช้สารสกัด 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 99 มิลลิลิตร)
- 4.1.4 ฟันสารสกัดสาหร่ายทะเล 2% (ใช้สารสกัด 2 มิลลิลิตรต่อน้ำ 98 มิลลิลิตร)
- 4.1.5 ฟันสารสกัดสาหร่ายทะเล 3% (ใช้สารสกัด 3 มิลลิลิตรต่อน้ำ 97 มิลลิลิตร)
- 4.1.6 ฟันสารสกัดสาหร่ายทะเล 1% (ใช้สารสกัด 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 99 มิลลิลิตร) ร่วมกับปุ๋ยทางใบสูตร 15-15-15 อัตรา 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 99 มิลลิลิตร
- 4.1.7 ฟันสารสกัดสาหร่ายทะเล 2% (ใช้สารสกัด 2 มิลลิลิตรต่อน้ำ 98 มิลลิลิตร) ร่วมกับปุ๋ยทางใบสูตร 15-15-15 อัตรา 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 99 มิลลิลิตร
- 4.1.8 ฟันสารสกัดสาหร่ายทะเล 3% (ใช้สารสกัด 3 มิลลิลิตรต่อน้ำ 97 มิลลิลิตร) ร่วมกับปุ๋ยทางใบสูตร 15-15-15 อัตรา 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 99 มิลลิลิตร

โดยฟันปุ๋ยทางใบและให้สารสกัดสาหร่ายทะเลในตอนเช้าร่วมกับสารจับใบ ต้นกล้ามีความสูงและลักษณะเท่า ๆ กัน (ประมาณ 10 เซนติเมตร) จัดฟันกรรมวิธีทดลองวันเว้นวัน การควบคุมวัชพืช โรคและแมลงศัตรูพืช ดำเนินไปตามคำแนะนำของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, (2551).

4.2 ขั้นตอนการทดลอง

4.2.1 เตรียมแปลงปลูกและทดลองปลูกต้นคะน้า

1) การเพาะกล้า

แช่เมล็ดคะน้าในในน้ำกลั่นนาน 12 ชั่วโมง ก่อนหยอดเมล็ดลงในถาดหลุม เมล็ดจะงอกประมาณ 5 วันหลังจากเมล็ดงอก 10 วัน ให้คัดเลือกต้นกล้าที่สมบูรณ์ และถอนต้นที่ไม่สมบูรณ์ทิ้ง

2) การเตรียมกระถางและดินสำหรับปลูกคะน้า

ทำการปรุงดินโดยใช้ดินและขุยมะพร้าว ในอัตราส่วน 3:1 รวมกัน 10 กิโลกรัม รดน้ำพอชุ่ม คลุกให้เข้ากัน จากนั้นนำกระถางมาใส่ดินให้เต็มเพื่อนำไปใช้ในการปลูกต่อไป

วิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ pH ด้วยวิธี 1:1, soil:water (Attananda and Chancharoensuk, 1999), อินทรีย์วัตถุ ด้วยวิธี Walkley & Black (Attananda and Chancharoensuk, 1999), ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ด้วยวิธี Bray II method (Attananda and Chancharoensuk, 1999) และ โปแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ด้วยวิธี Extraction by 1 N NH₄OAc (Attananda and Chancharoensuk, 1999) and Inductive Couple Plasma analysis (AOAC, 1990)

สมบัติทางเคมีของดินที่ใช้ในการทดลอง

จากผลการวิเคราะห์ดินพบว่า ดินมีความเป็นกรด มีปริมาณอินทรีย์วัตถุอยู่ในระดับต่ำ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553) รวมถึงยังขาดฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และโปแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ดังตาราง 5

ตาราง 5 สมบัติทางเคมีของดินก่อนการทดลอง

รายการ	ค่าวิเคราะห์
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	5.41
อินทรีย์วัตถุ (OM) (%)	0.55
ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (มก./กก.)	< 1
โปแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (มก./กก.)	45.8

3) วิธีการปลูก

การปลูกจะใช้ต้นกล้าที่ต้นสูงประมาณ 10 เซนติเมตร (จำนวน 2 ต้นต่อกระถาง) การย้ายกล้าปลูกควรมีดินติดรากหรือหากไม่มีให้แช่รากในน้ำระหว่างปลูก และที่สำคัญควรปลูกทันทีเมื่อถอนต้นกล้า

4) การใส่ปุ๋ยรองพื้น

การปลูกโดยทั่วไปจะนำปุ๋ยคอกและปุ๋ยเคมีสูตร 16-16-16 เป็นปุ๋ยรองพื้น ตามคำแนะนำค่าวิเคราะห์ดินของกรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงการเกษตร และสหกรณ์, (2551) โดยจะใช้ปุ๋ยคอก อัตรา 50 กรัมต่อ ค่น้ำ 2 ตันต่อกระถาง และปุ๋ยเคมีสูตร 16-16-16 อัตรา 2.5 กรัมต่อ ค่น้ำ 2 ตันต่อกระถาง

4.3 การดูแล

การใส่ปุ๋ย จะใส่ในช่วงอายุ 30 วัน โดยค่น้ำเป็นผักกินใบและลำต้น จึงควรใส่ปุ๋ยที่มีธาตุไนโตรเจนสูง ได้แก่ ปุ๋ยสูตร 12-8-8 ในอัตรา 2.5 กรัมต่อ ค่น้ำ 2 ตันต่อกระถาง

การให้น้ำ จะให้น้ำตั้งแต่หลังการปลูกทุกวัน วันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น ในช่วงระยะเริ่มแรกตั้งแต่อายุ 20-40 วัน และวันละ 1 ครั้ง ก่อนเก็บผลผลิตประมาณ 10-15 วัน การให้น้ำให้ด้วยวิธีรดด้วยมือโดยใช้บัวรดน้ำ ใช้น้ำจำนวน 250 มิลลิตรต่อกระถางต่อครั้ง

เมื่อมีการระบาดของโรครา ฟันสารป้องกันกำจัดโรคพืช เมตาแลกซิลร่วมกับแมนโคเซบ โพรพิเนบร่วมกับไซม็อกซานิล อีออกซาไดซิลร่วมกับแมนโคเซบ ตามอัตราที่ระบุไว้บนฉลาก เมื่อพบศัตรูพืช หนอนกระตุ้ม ให้นำพ่นด้วยไตรอะโซฟอสหรือไซฮาโบทริน และหนอนคืบกะหล่ำ ให้นำพ่นด้วยสารฆ่าแมลง อะบาเม็กติน ตามคำแนะนำของกรมส่งเสริมการเกษตร

5. การเก็บข้อมูล

1) บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นพืชในระยะเริ่มแรก 7 วัน ได้แก่ ความสูงของลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสดของต้นพืชที่อายุ 7 วัน

2) บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นพืช ได้แก่ ความสูง เส้นรอบวงลำต้น ค่าความเขียวใบ และจำนวนใบ ทุก 7 วัน ที่ อายุ 31 38 45 และ 52 วัน บันทึกน้ำหนักสดต้น น้ำหนักแห้งต้น ปริมาณธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมของต้นค่น้ำวันที่เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 53 วัน

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธี โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

7. สถานที่ทำการทดลองและระยะเวลา

ห้องปฏิบัติการกลางคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี 41 หมู่ 5 ตำบลท่าช้าง อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี และ สถานที่ทำการทดลองภาคสนาม บ้านเลขที่ 10/4 หมู่ 1 ตำบลมาบไพ อำเภอลอง จังหวัดจันทบุรี

ระยะเวลาในการทำการทดลอง เดือนมกราคม พ.ศ. 2565 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี