



การพัฒนาสารกำจัดวัชพืชจากอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพร่วมกับ ลิกนิน น้ำมัน  
พืช และสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธี



อนาวินต์ จันสว่าง

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร  
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม  
ปีการศึกษา 2566  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

การพัฒนาสารกำจัดวัชพืชจากอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพร่วมกับ ลิกนิน น้ำมัน  
พืช และสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธี



วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนครสวรรค์  
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม  
ปีการศึกษา 2566  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนครสวรรค์

วิทยานิพนธ์ เรื่อง "การพัฒนาสารกำจัดวัชพืชจากอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพร่วมกับ ลิกนิน  
น้ำมันพืช และสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธี"

ของ อนาวินต์ จินสว่าง

ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

### คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์  
(รองศาสตราจารย์ ดร.เอกวิทย์ ลือพร้อมชัย)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณิชากร คอนดี)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพรรณิกา อินต๊ะนนท์)

..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วภากร ศิริวงศ์)

..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นवलมล อารมณ์พงษ์)

### อนุมัติ

.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.กรองกาญจน์ ชูทิพย์)  
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	การพัฒนาสารกำจัดวัชพืชจากอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพร่วมกับ ลิกนิน น้ำมันพืช และสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธี
ผู้วิจัย	อนาวินต์ จันสว่าง
ประธานที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณิชากร คอนดี
กรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพรรณิกา อินตะนนท์
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ วท.ม. ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2566
คำสำคัญ	สารกำจัดวัชพืชชีวภาพ, สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, ไมโครอิมัลชัน, อัลลีโลพาธี, วัชพืช

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีเป้าหมายในการพัฒนาสารกำจัดวัชพืชชีวภาพจากอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพร่วมกับ ลิกนิน น้ำมันพืช และสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธี สารลดแรงตึงผิวชีวภาพผลิตด้วยแบคทีเรีย *Brevibacterium casei* NK8 และใช้เปลือกทุเรียนเป็นสารตั้งต้น ภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง ส่วนสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธีนั้นสกัดมาจากใบมะม่วง พบว่าเมื่อมีการใช้ซ้ำของเปลือกทุเรียน ผลผลิตของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพรวมถึงลิกนินที่เป็นผลผลิตพลอยได้และจำนวนของแบคทีเรีย มีอัตราที่เพิ่มขึ้นอย่างสอดคล้องกัน โดยให้ค่าสูงสุดที่ 55 mg/gds, 39 mg/gds, และ  $1.E+11$  CFU/gds ตามลำดับ ต่อมาพัฒนาสูตรของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพโดยเริ่มจากศึกษาการเปลี่ยนวัฏภาค (Phase behavior study) โดยแปรผันชนิดของน้ำมันพืชต่อการเกิดไมโครอิมัลชันชนิด Winsor Type I จากนั้นนำ DOE-RSM ชนิด Box-Behnken มาใช้ในการหาส่วนผสมที่เหมาะสม พบว่าอิมัลชันของน้ำมันมะพร้าวมีขนาดอนุภาคเท่ากับ 79.93 นาโนเมตร น้ำมันปาล์ม 69.41 นาโนเมตร และน้ำมันดอกทานตะวัน 66.20 นาโนเมตร โดยน้ำมันปาล์มให้อิมัลชันที่มีขนาดเล็กใกล้เคียงกับน้ำมันมะพร้าวแต่มีต้นทุนต่ำกว่า จึงนำมาศึกษาชนิดของอิมัลซิโพลีเมอร์ที่เหมาะสม พบว่าสูตรที่ใช้โซเดียมคลอไรด์ให้ขนาดของอิมัลชันใหญ่กว่าแอมโมเนียมซัลเฟต และสามารถลดมูมสัมผัสน้ำมันพืชของดินตึกแก้วได้ดีกว่า (16.5 องศา) แต่แอมโมเนียมซัลเฟตสามารถลดมูมสัมผัสน้ำมันพืชในใบหญ้าปากควายได้ดีกว่า (72.1 องศา) ต่อมาศึกษาชนิดของสารลดแรงตึงผิวผสมที่เหมาะสม พบว่าลอริลกลูโคไซด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่าแซนแทนกัมให้ขนาดของอิมัลชันน้อยกว่า เมื่อนำสูตรผสมมาทำการทดสอบการฉีดพ่นบนวัชพืชจำนวน 2 ครั้ง พบว่าสูตร E2 ที่ประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.3 %, ลิกนิน 0.2 %, แอมโมเนียมซัลเฟต 3 %, ลอริลกลูโคไซด์ 0.4 %, น้ำมันปาล์ม 0.3 %, และสารสกัดจากใบ

มะม่วง 50 % สามารถยับยั้งตีนตุ๊กแกโดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (Inhibition %) สูงที่สุด 78% หลังจากฉีดพ่น 14 วัน และมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งหญ้าปากควาย 28% เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่เป็นน้ำ สูตรผสมนี้อีเอ็มลชันมีขนาดเล็ก จึงสามารถซึมลงเนื้อเยื่อบริเวณใบพืชได้ดี ทำลายเนื้อเยื่อวัชพืช และยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช ดังนั้นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้ มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งตีนตุ๊กแก อีกทั้งมีแนวโน้มในการยับยั้งหญ้าปากควายได้ และยังเป็น การนำของเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด มีส่วนช่วยลดพิษจากการกำจัดวัชพืชอย่างผิดวิธี อีกทั้งยังมีส่วนในการส่งเสริมระบบเกษตรแบบปลอดภัยอย่างยั่งยืน

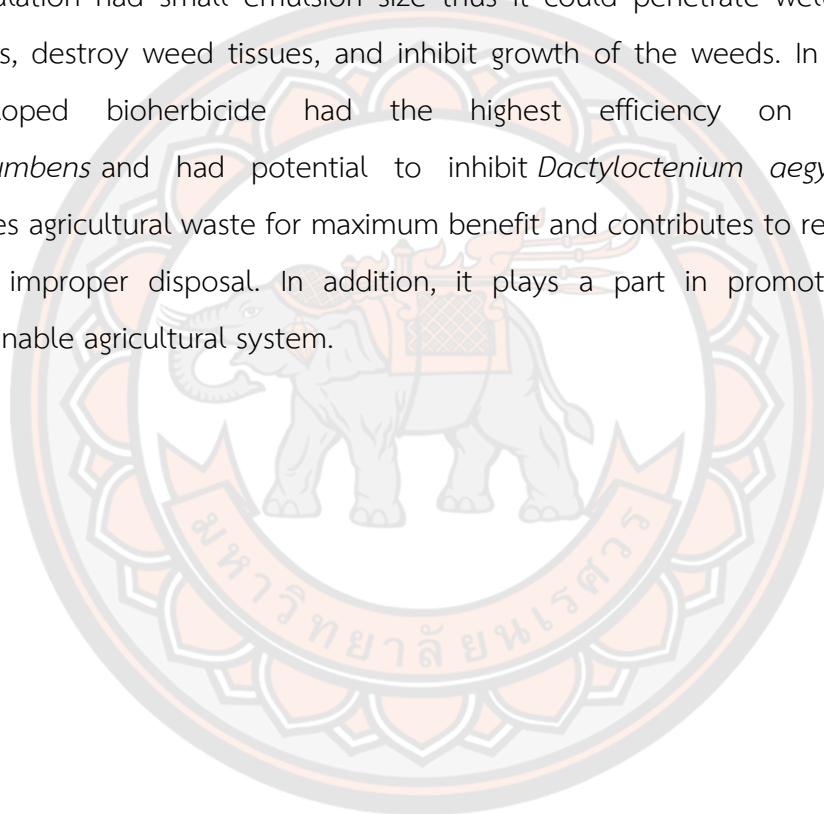


<b>Title</b>	DEVELOPMENT OF BIOHERBICIDE FROM EMULSION OF BIOSURFACTANT, LIGNIN, VEGETABLE OILS AND EXTRACTS OF ALLELOPATHIC PLANTS
<b>Author</b>	Anawin Junsawang
<b>Advisor</b>	Assistant Professor Nichakorn Khondee, Ph.D.
<b>Co-Advisor</b>	Assistant Professor Suphannika Intanon, Ph.D.
<b>Academic Paper</b>	M.S. Thesis in Natural Resources and Environment, Naresuan University, 2023
<b>Keywords</b>	Bioherbicide, Biosurfactant, Microemulsion, Allelopathy, Weeds

### ABSTRACT

This research aims to develop a bioherbicide from emulsion of biosurfactant mixed with lignin, vegetable oil, and plant extracts with allelopathic properties. The biosurfactant was produced from *Brevibacterium casei* NK8 by using durian peels as substrate under solid-state fermentation. The plant extracts with allelopathic properties were obtained from mango leaves. The reused of durian peels increased the yields of biosurfactants and lignin by-products and corresponded with the increased bacterial number, where the highest values were 55 mg/gds, 39 mg/gds, and 1.E+11 CFU/gds, respectively. The bioherbicide formulations were later developed by a phase behavior study, which varied the types of vegetable oils on forming Winsor Type I emulsion. Then, DOE-RSM with Box-Behnken design was used to find the optimal compositions, which showed that the emulsion of coconut oil, palm oil and sunflower oil had particle sizes of 79.93 nm, 69.41 nm, and 66.20 nm, respectively. Palm oil was cheaper than coconut oil but gave similar emulsion size, thus it was selected to investigate the optimal electrolyte. The formulation with sodium chloride had larger emulsion size than ammonium sulfate and reduced the contact angle on the surface of *Tridax procumbens* better (16.5°). However, ammonium sulfate reduced the contact angle on the leaf of *Dactyloctenium*

*aegyptium* better (72.1°). The suitable surfactant mixture was later investigated and found that lauryl glucoside with lower molecular weight than xanthan gum gave the smaller emulsion size. When the formulations were sprayed twice on weeds, E2 formulation consisted of 0.3% biosurfactant, 0.2% lignin, 3% ammonium sulfate, 0.4% lauryl glucoside, 0.3% palm oil, and 50% mango leaf extract had the highest %inhibition (78%) toward *Tridax procumbens* after 14 days and was able to inhibit *Dactyloctenium aegyptium* at 28% compared to the water control. This formulation had small emulsion size thus it could penetrate well into the plant leaves, destroy weed tissues, and inhibit growth of the weeds. In conclusion, the developed bioherbicide had the highest efficiency on inhibiting *Tridax procumbens* and had potential to inhibit *Dactyloctenium aegyptium*. It also utilizes agricultural waste for maximum benefit and contributes to reduced pollution from improper disposal. In addition, it plays a part in promoting a safe and sustainable agricultural system.



## ประกาศคุณูปการ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณิชากร คอนดี ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้อุทิศสละเวลาอันมีค่ามาเป็นทีปรึกษา พร้อมทั้งให้คำแนะนำตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และขอกราบขอบพระคุณคณะกรรมการ วิทยานิพนธ์อันประกอบไปด้วย รองศาสตราจารย์ ดร.เอกวัฒน์ ลือพร้อมชัย กรรมการที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพรรณิกา อินตะนนท์ กรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วภากร ศิริวงษ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นवलกมล อาภรณ์พงษ์ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ด้วยความเอาใจใส่ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์และทรงคุณค่า

กราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพรรณิกา อินตะนนท์ เป็นอย่างสูง ที่ได้กรุณาให้ความอนุเคราะห์เกี่ยวกับความแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ รวมไปถึงโรงเรือนสำหรับปลูกพืช และสถานที่บริเวณโรงเรือน รวมไปถึงอุปกรณ์ เครื่องมือ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของมหาวิทยาลัยนเรศวรทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและอำนวยความสะดวกแก่ผู้วิจัยเป็นอย่างดีในการดำเนินงาน การยื่นเอกสารต่างๆของมหาวิทยาลัยนเรศวร

เหนือสิ่งอื่นใดขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ของผู้วิจัยที่เฝ้าเลี้ยงดูและให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้านอย่างดีที่สุดเสมอมา

คุณค่าและคุณประโยชน์อันพึงจะมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบและอุทิศแด่ผู้มีพระคุณทุกๆ ท่าน ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า งานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ที่มีส่วนช่วยในการนำของเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ให้เกิดประโยชน์อย่างสูงสุด สนับสนุนเกษตรแบบยั่งยืน ลดการใช้สารเคมี อีกทั้งยังมีความปลอดภัยทั้งต่อผู้ใช้งานและสิ่งแวดล้อมในระยะยาว

อนาวินต์ จันสว่าง



## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
ประกาศคุณูปการ.....	ช
สารบัญ.....	ซ
สารบัญตาราง.....	ฐ
สารบัญภาพ.....	ฒ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาของปัญหา.....	1
1.2 จุดมุ่งหมายของการศึกษา.....	3
1.3 ความสำคัญของการวิจัย.....	3
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย.....	4
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 วัชพืชและวิธีการกำจัดวัชพืช.....	5
2.1.1 พืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่.....	5
2.1.1.1 ลักษณะของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว.....	5
2.1.1.2 ลักษณะของพืชใบเลี้ยงคู่.....	6
2.1.2 การกำจัดวัชพืชด้วยวิธีเขตกรรม.....	7
2.1.3 การกำจัดโดยใช้สารกำจัดวัชพืชทางเคมี.....	7

2.2 กลไกการออกฤทธิ์ของสารกำจัดวัชพืช .....	11
2.2.1 กลไกการออกฤทธิ์ของสารกำจัดวัชพืชทางเคมี .....	11
2.2.2 กลไกของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ.....	12
2.3 สารเสริมประสิทธิภาพที่ใช้ร่วมกับสารกำจัดวัชพืช.....	18
2.4 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ .....	23
2.4.1 ความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์ (Critical Micellar Concentration, CMC).....	23
2.4.2 การเกิดอิมัลชัน (Emulsification Index).....	25
2.4.3 ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ .....	25
2.4.4 ความต่างชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	26
2.5 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร.....	29
2.6 ประโยชน์ของลิกนินและสารประกอบฟีนอลที่ได้จากการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสำหรับใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ .....	33
2.7 การประยุกต์ใช้อิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพร่วมกับน้ำมันในสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ.....	35
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย .....	52
3.1 วัสดุสารเคมีและแบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัย .....	53
3.1.1 แบคทีเรียชอบต่าง .....	53
3.1.1.1 อาหารเลี้ยงแบคทีเรียชอบต่าง .....	53
3.1.1.1.1 อาหารเหลวแบบที่มีการเติมน้ำตาลกลูโคส สำหรับกระตุ้นหัวเชื้อ .....	53
3.1.1.1.2 อาหารเหลวแบบที่ไม่เติมน้ำตาลกลูโคสสำหรับผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ .....	54

3.1.2	ลิกโนเซลลูโลสเหลือทิ้ง.....	54
3.1.3	การเตรียมสารสกัดอัลลีโลพาธีจากไบโอมะม่วงที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งวัชพืช .....	54
3.1.4	การเตรียมวัชพืชสำหรับทดสอบการยับยั้งด้วยการฉีดพ่นสูตรที่ เหมาะสมและชุดควบคุม .....	55
3.1.5	สารเคมี และอุปกรณ์ในการทดลอง .....	55
3.1.5.1	สารเคมีในการทดลอง.....	55
3.1.5.2	อุปกรณ์ในการทดลอง.....	56
3.2	ช่วงที่ 1 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนินจากการหมักเปลือกทุเรียน ร่วมกับ <i>Brevibacterium casei</i> NK8 ภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง .....	57
3.2.1	การใช้เปลือกทุเรียนซ้ำสำหรับผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนิน จาก <i>Brevibacterium casei</i> NK8.....	57
3.2.2	การพัฒนากระบวนการสกัดแยกด้วยวิธีการตกตะกอนแยกลิกนินออก จากน้ำชะจากเปลือกทุเรียนปลอดเชื้อ .....	59
3.3	ช่วงที่ 2 การพัฒนาอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อใช้เป็นสารกำจัดวัชพืช ชีวภาพ.....	61
3.3.1	การศึกษาหาส่วนผสมหลักของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพในรูปแบบ อิมัลชันโดยศึกษาการเปลี่ยนวัฏภาค (Phase behavior study).....	61
3.3.2	การศึกษาหาส่วนผสมของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพในรูปแบบอิมัลชันโดย ใช้ DOE ชนิด Box-Behnken.....	62
3.3.2.1	ผลของชนิดน้ำมันต่อประสิทธิภาพการเกิดไมโครอิมัลชันและ การแผ่กระจายบนใบวัชพืช .....	62
3.3.2.2	ผลของชนิดสารลดแรงตึงผิวผสมต่อประสิทธิภาพการเกิดไม โครอิมัลชันและการแผ่กระจายบนใบวัชพืช.....	63

3.3.2.3 ผลของชนิดอิเล็กโตรไลต์ต่อประสิทธิภาพการเกิดไมโครอิมัลชันและการแผ่กระจายบนใบวุ้นพืช .....	63
3.4 ช่วงที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพของอิมัลชันจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากสูตรที่เหมาะสมที่นำมาใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ .....	64
3.4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกได้ต่อการยับยั้งต้นตึกแกและหญ้าปากควาย .....	64
3.4.2 การทดสอบผลของแต่ละส่วนผสมในการกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันต่อการยับยั้งต้นตึกแกและหญ้าปากควาย .....	64
3.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์.....	65
3.5.1 การศึกษาการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย .....	65
3.5.2 การคำนวณหาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนิน.....	65
3.5.3 การศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารตั้งต้นโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM).....	66
3.5.4 การวัดขนาดของอิมัลชันโดยใช้ (Zetasizer Nano-ZS).....	66
3.5.5 การวัดมุมสัมผัส (Contact angle).....	66
3.5.6 การคำนวณน้ำหนักแห้งของวัชพืชหลังฉีดพ่นต่อการเทียบกับชุดควบคุม .....	67
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	68
4.1 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนินจากการหมักเปลือกทุเรียนร่วมกับ <i>Brevibacterium casei</i> NK8 ภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง.....	68
4.1.1 การใช้ซ้ำของสารตั้งต้นในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนินจาก <i>Brevibacterium casei</i> NK8.....	68

4.1.2 การตกตะกอนแยกกลีกรินออกจากน้ำชะเปลือกทุเรียนโดยการแปรผัน ชนิดของกรด และค่าพีเอช.....	71
4.2 การพัฒนาอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ	72
4.2.1 การศึกษาหาส่วนผสมหลักของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพในรูปแบบ อิมัลชัน โดยศึกษาการเปลี่ยนวัฏภาค (Phase behavior study).....	72
4.2.2 การศึกษาหาส่วนผสมของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพในรูปแบบอิมัลชันโดย ใช้ DOE ชนิด Box-Behnken.....	78
4.2.2.1 การศึกษาผลของชนิดอิเล็กทรอนิกส์ต่อการเกิดไมโครอิมัลชันที่ เหมาะสมสำหรับเป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ .....	78
4.3 การศึกษาการทดสอบประสิทธิภาพของอิมัลชันจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากสูตร ที่เหมาะสมที่นำมาใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ .....	89
4.3.1 ประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่ คัดเลือกได้ต่อการยับยั้งหญ้าตีนตุ๊กแกและหญ้าปากควาย.....	89
4.3.2 ผลของแต่ละส่วนผสมในสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชัน ต่อการยับยั้งตีนตุ๊กแกและหญ้าปากควาย .....	94
บทที่ 5 บทสรุป.....	101
5.1 สรุปการวิจัยและอภิปรายผล.....	101
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	102
บรรณานุกรม.....	103
ภาคผนวก.....	ท
ภาคผนวก ก การเปรียบเทียบค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จาก DOE-RSM ชนิด Box- Behnken.....	ธ
ประวัติผู้วิจัย .....	ฮ

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 อันตรายของการใช้สารกำจัดวัชพืชทางเคมี .....	8
ตาราง 2 สรุปสารกำจัดวัชพืชชีวภาพในปัจจุบันที่ได้จาก สารสกัดและน้ำมันหอมระเหย จากพืชหลายชนิด .....	16
ตาราง 3 การใช้สารกำจัดวัชพืชทางเคมีที่มีในตลาดที่ใช้ร่วมกับสารเสริมประสิทธิภาพ ...	21
ตาราง 4 สารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและสูง องค์ประกอบทางเคมี และจุลินทรีย์ที่ผลิต .....	27
ตาราง 5 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากวัสดุภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง .....	30
ตาราง 6 เปรียบเทียบองค์ประกอบเซลล์ูโลส เฮมิเซลล์ูโลส และลิกนิน ของวัสดุกลุ่มลิกโน เซลล์ูโลสเหลือทิ้งทางการเกษตร .....	34
ตาราง 7 การประยุกต์ใช้อิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพร่วมกับน้ำมันพืชและน้ำมัน หอมระเหยสำหรับกำจัดวัชพืช.....	39
ตาราง 8 การออกแบบการทดลอง CCD โดยมีตัวแปรต้น 5 ตัวแปร ที่ระดับการแปรผัน 3 ระดับ สำหรับส่วนผสมที่เหมาะสมในการเกิดอิมัลชัน .....	62
ตาราง 9 การออกแบบการทดลอง CCD โดยมีตัวแปรต้น 5 ตัวแปร ที่ระดับการแปรผัน 3 ระดับ สำหรับสูตรที่มีการแปรผันโซเดียมคลอไรด์ในการเกิดอิมัลชันเพื่อใช้เป็นสารกำจัด วัชพืชชีวภาพ .....	79
ตาราง 10 การออกแบบการทดลอง CCD โดยมีตัวแปรต้น 5 ตัวแปร ที่ระดับการแปรผัน 3 ระดับ สำหรับสูตรที่มีการแปรผันแอมโมเนียมซัลเฟตในการเกิดอิมัลชันเพื่อใช้เป็นสาร กำจัดวัชพืชชีวภาพ .....	80

ตาราง 11 การออกแบบการทดลอง CCD โดยมีตัวแปรต้น 5 ตัวแปร ที่ระดับการแปรผัน 3 ระดับ สำหรับสูตรที่มีการแปรผันลอริทึมโคไซน์ในการเกิดอิมัลชันเพื่อใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ .....	86
ตาราง 12 การออกแบบการทดลอง CCD โดยมีตัวแปรต้น 5 ตัวแปร ที่ระดับการแปรผัน 3 ระดับ สำหรับสูตรที่มีการแปรผันแซนแทนกัมในการเกิดอิมัลชันเพื่อใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ .....	86
ตาราง 13 สารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกได้ในการยับยั้งวัชพืช	90
ตาราง 14 การจำแนกแต่ละส่วนผสมในการกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันต่อการยับยั้งวัชพืช .....	95



## สารบัญภาพ

### หน้า

ภาพ 1 กายวิภาคและโครงสร้างเบื้องต้นของใบพืชชนิดใบเลี้ยงเดี่ยว - ใบหญ้า.....	5
ภาพ 2 กายวิภาคและโครงสร้างเบื้องต้นของใบพืชชนิดใบเลี้ยงคู่ - ใบทานตะวัน .....	6
ภาพ 3 การจำแนกประเภทการทำงานของสารกำจัดวัชพืชในปี 2020 .....	12
ภาพ 4 ภาพประกอบของผลกระทบหลักที่เกิดจากการใช้สารกำจัดวัชพืชชีวภาพกับวัชพืช .....	13
ภาพ 5 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลที่พบในใบมะม่วงแก่หลังวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ประกอบไปด้วย (ก) gallic acid (ข) methyl gallate และ (ค) isoquercitrin isomers.....	15
ภาพ 6 การผสมสารที่เข้ากันไม่ได้ให้เข้ากันได้โดยสารลดแรงตึงผิวในสารเสริมประสิทธิภาพสารเคมีทางการเกษตร.....	19
ภาพ 7 ผลของขนาดละอองสารเสริมประสิทธิภาพสารเคมีทางการเกษตรต่อการเกาะติด การกระดอน และการแตกกระจาย.....	20
ภาพ 8 มุมสัมผัสของหยดบนพื้นผิวใบที่เปียกโดย (a) ไม่มีสารลดแรงตึงผิว และ (b) มีสารลดแรงตึงผิว .....	20
ภาพ 9 การดูดซึมและแพร่ในโครงสร้างใบพืช .....	21
ภาพ 10 ค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเกิด CMC .....	24
ภาพ 11 แผนการดำเนินงานวิจัย ช่วงที่ 1 ถึง ช่วงที่ 3 .....	53
ภาพ 12 เปลือกทุเรียนที่นำมาใช้เป็นสารตั้งต้นก่อนการปรับสภาพ และภายหลังการปรับสภาพ.....	59
ภาพ 13 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง .....	59



ภาพ 14 แผนการศึกษาหาส่วนผสมการเกิดไมโครอิมัลชันและการแพร่กระจายบนใบพืชที่เหมาะสมต่อการเป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ.....	61
ภาพ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของไมโครอิมัลชันและค่า Interfacial tension (Rongsayamanont et al., 2017, หน้า168-177).....	62
ภาพ 16 ผลผลิตของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, ผลผลิตของลิกนิน และการวิเคราะห์นับจำนวน <i>Brevibacterium casei</i> NK8 จากการใช้วัสดุผลิตซ้ำภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง .....	69
ภาพ 17 เปลือกทุเรียนที่นำมาใช้เป็นสารตั้งต้นก่อนการปรับสภาพ และภายหลังการปรับสภาพที่นำมาศึกษาลักษณะทางกายภาพโดย SEM ที่กำลังขยาย 750x และ 3,000x.....	69
ภาพ 18 ลักษณะทางกายภาพของสารตั้งต้นในการผลิตภายหลังการนำมาใช้ซ้ำโดยมีในสภาวะที่ผ่านการใช้ซ้ำในแต่ละรอบโดยมี รอบการผลิตที่ 1, รอบการผลิตที่ 2 และรอบการผลิตที่ 3 ที่กำลังขยาย 500x, 1,500x, และ 3,000x.....	70
ภาพ 19 ลักษณะทางกายภาพของสารตั้งต้นในการผลิตภายหลังการนำมาใช้ซ้ำในขณะที่แบคทีเรียเกาะติดอยู่กับสารตั้งต้นในระหว่างการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนิน โดยมี รอบการผลิตที่ 1, รอบการผลิตที่ 2 และรอบการผลิตที่ 3 ที่กำลังขยาย 500x, 1,500x, 3,000x, และ 10,000x.....	71
ภาพ 20 กราฟแสดงการแปรผันชนิดของกรด และแปรผันค่าพีเอชที่ส่งผลต่อการตกตะกอนของลิกนิน.....	72
ภาพ 21 การเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ลิกนิน โซเดียมคลอไรด์ และน้ำมันมะพร้าว.....	73
ภาพ 22 การเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ลิกนิน โซเดียมคลอไรด์ และน้ำมันปาล์ม.....	73
ภาพ 23 การเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ลิกนิน โซเดียมคลอไรด์ และน้ำมันดอกทานตะวัน.....	73
ภาพ 24 ขนาดของอิมัลชันที่มีการแปรผันชนิดของน้ำมันในส่วนผสม.....	75

ภาพ 25 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ  
 ลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันมะพร้าวและโซเดียมคลอ  
 ไรด์ ต่อค่าขนาดของไมโครอิมัลชัน.....76

ภาพ 26 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ  
 ลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันปาล์มและโซเดียมคลอ  
 ไรด์ ต่อค่าขนาดของไมโครอิมัลชัน.....77

ภาพ 27 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ  
 ลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันดอกทานตะวันและ  
 โซเดียมคลอไรด์ ต่อค่าขนาดของไมโครอิมัลชัน .....78

ภาพ 28 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ  
 ลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันปาล์มและแอมโมเนียม  
 ซัลเฟต ต่อค่าขนาดของไมโครอิมัลชัน .....81

ภาพ 29 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ  
 ลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันปาล์มและโซเดียมคลอ  
 ไรด์ ต่อค่ามุมสัมผัสบนใบดินตุ๊กแก .....82

ภาพ 30 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ  
 ลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันปาล์มและแอมโมเนียม  
 ซัลเฟต ต่อค่ามุมสัมผัสบนใบดินตุ๊กแก.....83

ภาพ 31 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ  
 ลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันปาล์มและโซเดียมคลอ  
 ไรด์ ต่อค่ามุมสัมผัสบนใบหญ้าปากควาย .....84

ภาพ 32 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ  
 ลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันปาล์มและแอมโมเนียม  
 ซัลเฟต ต่อค่ามุมสัมผัสบนใบหญ้าปากควาย 4.2.2.2 แปรผันสารลดแรงตึงผิวผสมต่อการเกิดไม  
 โครอิมัลชันที่เหมาะสม.....85

ภาพ 33 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ  
 ลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและแซนแทนกัม (ค) น้ำมันปาล์มและแอมโมเนียม  
 ซัลเฟต ต่อค่าขนาดของไมโครอิมัลชัน .....87

ภาพ 34 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ  
 ลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและแซนแทนกัม (ค) น้ำมันปาล์มและแอมโมเนียม  
 ซัลเฟต ต่อค่ามุมสัมผัสบนใบหญ้าตีนตุ๊กแก.....88

ภาพ 35 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ  
 ลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและแซนแทนกัม (ค) น้ำมันปาล์มและแอมโมเนียม  
 ซัลเฟต ต่อค่ามุมสัมผัสบนใบหญ้าปากควาย .....89

ภาพ 36 กราฟแสดงน้ำหนักแห้งของดินตุ๊กแกหลังจากฉีดพ่นด้วยสูตรของสารกำจัดวัชพืช  
 ชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกเป็นระยะเวลา 14 วัน .....91

ภาพ 37 กราฟแสดงผลการยับยั้งแต่ละสูตรของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโคร  
 อิมัลชันที่คัดเลือกได้ต่อการยับยั้งดินตุ๊กแกที่ระยะหลังการฉีดพ่นครบ 14 วัน .....91

ภาพ 38 กราฟแสดงน้ำหนักแห้งของหญ้าปากควายหลังจากฉีดพ่นด้วยสูตรของสารกำจัด  
 วัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกเป็นระยะเวลา 14 วัน.....92

ภาพ 39 กราฟแสดงผลการยับยั้งแต่ละสูตรของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโคร  
 อิมัลชันที่คัดเลือกได้ต่อการยับยั้งหญ้าปากควายที่ระยะหลังการฉีดพ่นครบ 14 วัน .....92

ภาพ 40 ความเป็นพิษต่อพืชของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกได้  
 ต่อการยับยั้งหญ้าตีนตุ๊กแก ที่ระยะก่อนการฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นครบ 14 วัน .....93

ภาพ 41 ความเป็นพิษต่อพืชของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกได้  
 ต่อการยับยั้งหญ้าปากควาย ที่ระยะก่อนการฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นครบ 14 วัน .....94

ภาพ 42 ผังแสดงตำแหน่งของการทดลองที่มี 17 ทรีตเมนต์มีซ้ำเท่ากับ 3 ซ้ำที่ออกแบบ  
 การทดลองแบบบล็อกสุ่ม (Randomized Completely Block Design, RCBD).....96

ภาพ 43 ความเป็นพิษต่อพืชของแต่ละส่วนผสมในสารวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชัน  
 ที่คัดเลือกได้ต่อการยับยั้งดินตุ๊กแก ในก่อนการฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นครบ 14 วัน .....97

ภาพ 44 ความเป็นพิษต่อพืชของแต่ละส่วนผสมในสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโคร  
 อิมัลชันที่คัดเลือกได้ต่อการยับยั้งหญ้าปากควาย ในก่อนการฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นครบ 14  
 วัน .....99



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาของปัญหา

การสูญเสียผลผลิตทางการเกษตรในประเทศไทย มีผลจากวัชพืชที่เกิดขึ้นในบริเวณแปลงปลูกที่ทำการเกษตร เนื่องจากวัชพืชนั้นมีการเจริญเติบโตในพื้นที่ทำการเกษตรโดยไม่ต้องการ และเมื่อวัชพืชเกิดขึ้นจึงส่งผลให้เกิดความเสียหายหลากหลายประการ ไม่ว่าจะเป็น การบดบังแสงแดด การแย่งแย่งธาตุอาหารและน้ำของพืชประธาน และยังเป็นที่อยู่อาศัยของศัตรูพืชทำให้เกิดโรคและแมลง จึงทำให้ส่งผลกับผลผลิตทางการเกษตรมีทั้งปริมาณและคุณภาพที่ลดลง อีกทั้งยังมีการผสมร่วมระหว่างเมล็ดวัชพืชปนไปเมล็ดของผลผลิตทางการเกษตรหลังเก็บเกี่ยวได้ทำให้มีความเสียหายขาดทุนโดยการถูกกดราคา ประเภทของวัชพืชที่มักพบสามารถจำแนกได้ออกเป็น 2 ชนิด คือ 1) วัชพืชกลุ่มใบแคบ (Narrow-leaf weeds) มีลักษณะลำต้นเป็นข้อและปล้อง ใบประกอบด้วย กาบใบและใบ เส้นใบขนานความกว้างใบยาวกว่าความยาวใบ และ 2) วัชพืชกลุ่มใบกว้าง (Broadleaf weeds) ใบจะมีหลายรูปแบบเช่น รูปกลม รูปไข่ รูปลูกศร เส้นใบสานเป็นร่างแห โดยวิธีการยับยั้งวัชพืชที่ใช้โดยทั่วไปมีวิธี คือ 1) การเกษตรกรรม (Cultural control) เช่น การไถเตรียมดิน การใช้แรงงาน การใช้เครื่องมือ เครื่องจักรกล การใช้วัสดุคลุมดิน ซึ่งอาจจะมีค่าใช้จ่ายที่สูงและระยะเวลาในการกำจัดวัชพืช และ 2) การใช้สารเคมี (Chemical control) โดยมักใช้สารเคมีสังเคราะห์ในการกำจัดวัชพืช ที่สารเคมีกำจัดวัชพืชส่วนใหญ่เป็นพิษต่อพืช อันตรายต่อสุขภาพของเกษตรกร และตกค้างในสิ่งแวดล้อม

งานวิจัยนี้สนใจพัฒนาสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ (Bioherbicide) ที่มีความปลอดภัยสูงกว่าทั้งต่อทั้งผู้ใช้งาน สิ่งมีชีวิต และสิ่งแวดล้อม โดยจะเลือกใช้ส่วนผสมที่ปลอดภัยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ประกอบไปด้วย 6 ส่วนผสม คือ 1) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactant) ช่วยลดแรงตึงผิว เพิ่มการซึมเข้าสู่ใบวัชพืช 2) ลิกนิน (Lignin) มีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิวผสมเพิ่มประสิทธิภาพการเกิดไมเซลล์และอิมัลชัน 3) โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ทำให้ขนาดของไมเซลล์มีขนาดเล็กลง ลดแรงตึงผิว เพิ่มการซึมเข้าสู่ใบวัชพืช 4) น้ำมันพืช (Vegetable oil) เพิ่มการเกาะติดที่ใบพืช 5) แซนแทนกัม (Xanthan gum) ช่วยคงการเกิดอิมัลชันที่เสถียรมากขึ้น และ 6) สารสกัดจากใบมะม่วง (Mango leaf extract) ที่มีสารออกฤทธิ์ในการกำจัดวัชพืช จึงคาดว่าสารกำจัดวัชพืชชีวภาพมีความปลอดภัยและไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม โดยจะพัฒนาให้มีประสิทธิภาพในการกำจัด

ว้ชพีซได้เทียบเท่าสารก้จัดว้ชพีซเคมี ส่วนผสมทั้งหมดจะท้ให้อยู่ในรูปการเกิดอิมัลชัน (Emulsification) นั่นคือ การผสมเข้ากันได้ดีของส่วนผสมที่ไม่สามารถละลายเข้ากันได้ เพื่อท้ให้เกิดความเสถียรของสารก้จัดว้ชพีซชีวภาพและส่งเสริมประสิทธิภาพของการก้จัดว้ชพีซ อิมัลชันของสารก้จัดว้ชพีซชีวภาพจะช่วยเหลือลดมูสมัผัสเมื่อหยดบนใบว้ชพีซจึงแผ่บนใบว้ชพีซได้ท้ว้ถึง ลดการกระดอนออกจากใบพีชหลังพ่นได้ เกาะติดที่ใบว้ชพีซได้ดี และซึมเข้าเนื้อเยื่อใบว้ชพีซได้ดี ส่งผลให้สามารถออกฤทธิ์ในการก้จัดและลดการเจริญเติบโตของว้ชพีซได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังสนใจใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากแบคทีเรียชอบด่าง (*Brevibacterium casei* NK8) จากคลังของ ดร.ณิชากร คอนดี เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มี 2 ประจุผสมระหว่างลิโปเปปไทด์และฟอสโฟลิพิด (Zwitterionic lipopeptides and phospholipids) (Khondee et al., 2022) จึงท้ให้สามารถเกิดอิมัลชันของสารก้จัดว้ชพีซได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีความเสถียรของอิมัลชัน และไม่ทำปฏิกิริยากับสารออกฤทธิ์ก้จัดว้ชพีซ โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในงานวิจัยนี้จะผลิตโดยใช้ลิกโนเซลลูโลสเหลือทิ้งทางการเกษตรมาเป็นสารตั้งต้น นั่นคือ เปลือกทุเรียน เนื่องจากมีองค์ประกอบของ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน มากท้ 3 ส่วน จึงท้ให้เมื่อผ่านการปรับสภาพจะท้ให้เกิดการแตกตัวของโครงสร้างและได้น้ตาลออกมาเป็นสารตั้งต้นให้กับแบคทีเรียเพื่อผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ทั้งนี้ นอกจากผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้แล้วระหว่างกระบวนการปรับสภาพยังได้ลิกนินออกมาเป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้อีกด้วย ซึ่งมีประโยชน์ต่อการพัฒนาสูตรสารก้จัดว้ชพีซชีวภาพโดยสามารถใช้เป็นสารลดแรงตึงผิวผสมร่วมกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อส่งเสริมการเกิดอิมัลชันกับน้มันได้มากยิ่งขึ้น รวมทั้งลิกนินเองยังเป็นพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างประกอบด้วยโพลิเมอร์ของ Propyl phenol หลายหน่วยเชื่อมต่อกัน (Velmurugan และ Incharoensakdi, 2018) จึงอาจช่วยเสริมประสิทธิภาพการก้จัดว้ชพีซร่วมกับสารสกัดของใบมะม่วงได้อีกทางหนึ่ง วิธีการหมักเปลือกทุเรียนร่วมกับ *Brevibacterium casei* NK8 เพื่อผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะใช้วิธีการหมักภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง (Solid state fermentation) เนื่องจากเป็นวิธีที่มีสภาวะการหมักที่ใกล้เคียงกับแหล่งที่มาของแบคทีเรีย ท้ให้จะมีการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูง และจะสามารถลดปริมาณน้อาหารเลี้ยงเชื้อจึงช่วยลดต้นทุนในการผลิต

งานวิจัยนี้แบ่งขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยออกเป็น 3 ช่วงหลัก ช่วงที่ 1 เป็นการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนินจากการหมักเปลือกทุเรียนร่วมกับ *Brevibacterium casei* NK8 ภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง ประกอบด้วย การใช้เปลือกทุเรียนช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตสาร

ลดแรงดึงผิวชีวภาพจาก *Brevibacterium casei* NK8 ภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง การพัฒนากระบวนการสกัดแยกด้วยวิธีการตกตะกอนแยกกลีนินออกจากน้ำชะเปลือกทุเรียนด้วยกรด และการพัฒนากระบวนการสกัดแยกสารลดแรงดึงผิวชีวภาพออกจากน้ำชะเปลือกทุเรียนด้วยวิธี Salting-out ช่วงที่ 2 เป็นการพัฒนาอิมัลชันของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพเมื่อใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ ประกอบด้วย การศึกษาหาส่วนผสมของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพในรูปแบบอิมัลชันโดยใช้ (Design of experiments: DOE) ชนิด Box-Behnken การวิเคราะห์คุณสมบัติของอิมัลชันจากสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดวัชพืช และการทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดวัชพืชของอิมัลชันจากสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ ช่วงที่ 3 เป็นการศึกษาหาวิธีการใช้งานอิมัลชันของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพชีวภาพในการกำจัดวัชพืช นั่นคือ การศึกษาหาปริมาณการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ โดยคาดว่ากระบวนการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพและกลีนินจากแบคทีเรียชอบต่างโดยใช้เปลือกทุเรียนเป็นสารตั้งต้นจะสามารถทำซ้ำได้เพื่อลดต้นทุนการผลิตส่วนผสมหลักในสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ ส่วนการกำจัดวัชพืชชีวภาพที่พัฒนาได้จะเสถียรและมีประสิทธิภาพ โดยคงรูปอิมัลชันได้นานและสามารถกำจัดวัชพืชได้เทียบเท่าสารกำจัดวัชพืชทางเคมี

## 1.2 จุดมุ่งหมายของการศึกษา

1. เพื่อทดสอบการผลิตและสกัดแยกสารลดแรงดึงผิวชีวภาพและกลีนินในน้ำชะเปลือกทุเรียนหลังการหมักแบบอาหารแข็งร่วมกับ *Brevibacterium casei* NK8
2. เพื่อพัฒนาสูตรไมโครอิมัลชันของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพเพื่อใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ
3. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของอิมัลชันของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่คัดเลือกได้ในการยับยั้งวัชพืชใบกว้างและใบแคบ

## 1.3 ความสำคัญของการวิจัย

1. ได้ประโยชน์จากการนำกลีนินเซลล์ูลอสเหลือทิ้งทางการเกษตร คือ เปลือกทุเรียนมาเป็นสารตั้งต้น เมื่อมีการปรับสภาพกลีนินเซลล์ูลอสเหลือทิ้ง จะมีการแตกตัวของโครงสร้าง ได้ น้ำตาลและโปรตีนที่สูงเพียงพอต่อการเป็นสารตั้งต้นในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างและมีประสิทธิภาพในการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ
2. การใช้แบคทีเรียชนิด *Brevibacterium casei* NK8 มาผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพผลิตได้เป็นสารลดแรงดึงผิวที่มี 2 ประจุสมระหว่างลิโปเปปไทด์และฟอสโฟลิพิด จึงทำให้เกิดการส่งเสริมการเกิดอิมัลชันของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพได้ดี และมีความเสถียรของอิมัลชัน

3. ส่วนผสมของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพในงานวิจัยนี้ประกอบด้วย สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ลิกนิน โซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมซัลเฟต น้ำมันพืช แชนแทนกัม ลอริลกลูโคไซด์ และสารสกัดจากใบมะม่วง
4. ประโยชน์จากการพัฒนาสารกำจัดวัชพืชชีวภาพในงานวิจัยนี้ จะช่วยทำให้ได้สารกำจัดวัชพืชชีวภาพในรูปแบบอิมัลชันที่เสถียรและมีประสิทธิภาพการกำจัดวัชพืชได้เทียบเท่าสารกำจัดวัชพืชทางเคมี อีกทั้งยังมีความปลอดภัยและไม่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม

#### 1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

1. แบคทีเรียชนิดต่าง *Brevibacterium casei* NK8 ที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้ นำมาจากคลังของ ดร. ณิชากร คอนดี
2. ลิกโนเซลลูโลสเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในงานวิจัย คือ เปลือกทุเรียน พันธุ์หมอนทอง *Durio zibethinus* L. 'Moan Thong' ที่ได้จากจังหวัดพิษณุโลกและจังหวัดใกล้เคียง
3. การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในงานวิจัยนี้ คือ การผลิตภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง เนื่องจากมีการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณน้อย และมีการผลิตในสภาวะใกล้เคียงกับแหล่งที่มาของแบคทีเรีย จึงทำให้ประหยัดต้นทุน และส่งเสริมการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพ
4. ส่วนผสมของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพร่วมกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ จะเกี่ยวข้องกับการเพิ่มประสิทธิภาพออกฤทธิ์กำจัดวัชพืช รวมทั้งเสริมประสิทธิภาพการแผ่ เกาะติด และซึมเข้าไปวัชพืช โดยจะเลือกส่วนผสมที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้งาน สิ่งมีชีวิต และไม่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม
5. การทดลองส่วนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ การสกัดแยกสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ ลิกนิน และการผสมสูตรสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ ดำเนินการในระดับห้องปฏิบัติการ
6. การทดสอบการกำจัดวัชพืช จะดำเนินการกับต้นหญ้าปากควายและตีนตุ๊กแก โดยทดสอบในระดับกระถางในโรงเรือน

#### 1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

สารกำจัดวัชพืชชีวภาพ (Bioherbicide) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactant) ไมโครอิมัลชัน (Microemulsion) อัลลีโลพาธี (Allelopathy) วัชพืช (Weeds)



## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 วัชพืชและวิธีการกำจัดวัชพืช

##### 2.1.1 พืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่

##### 2.1.1.1 ลักษณะของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว

พืชใบเลี้ยงเดี่ยว (Monocot หรือ Monocotyledonous leaves) จะมีลักษณะของใบที่แคบและยาว ลายเส้นของใบจะเป็นรูปแบบคู่ขนาน (Parallel venation) จากโคนใบจนถึงปลายใบ โดยจะสามารถทำให้จำแนกออกได้ง่ายเมื่อเปรียบเทียบระหว่างใบเลี้ยงคู่ เนื่องจากส่วนของสีใบและพื้นผิวใบอาจจะมีลักษณะที่คล้ายกันของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ในบางชนิด และในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวจะมีกาบหุ้ม (Sheath) จะมีใบเดี่ยวต่อหนึ่งข้อ (Node) เพราะเนื่องมาจากฐานของใบพืชกินพื้นที่มากกว่าครึ่งหนึ่งของรอบวงลำต้นซึ่งมาจากผลของการพัฒนาส่วนของลำต้นที่บริเวณฐานแต่มีข้อยกเว้นหลายประการที่อาจจะมีความแตกต่างกันของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่อาจจะทำให้มีโครงสร้างไม่เหมือนกัน (Nelissen et al., 2016) (ภาพ 1)

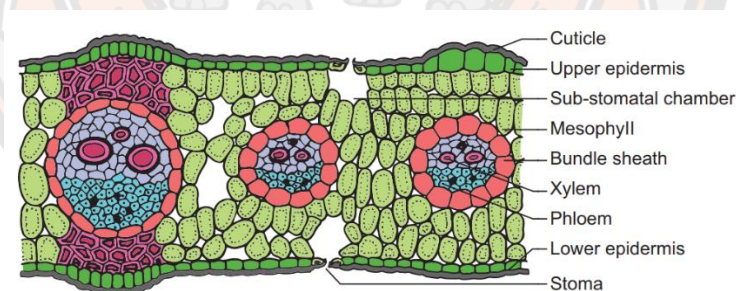


Figure 9.25: T.S. of monocot leaf (Grass)

ภาพ 1 กายวิภาคและโครงสร้างเบื้องต้นของใบพืชชนิดใบเลี้ยงเดี่ยว – ใบหญ้า

ที่มา : Anupama (2023). <https://www.brainkart.com>

### 2.1.1.2 ลักษณะของพืชใบเลี้ยงคู่

พืชใบเลี้ยงคู่ (Dicot หรือ Dicotyledonous leaves) จะมีลักษณะโค้งมน มีแผ่นใบที่กว้าง ด้านหลังของใบ (Dorsal side) และด้านท้องใบหรือด้านล่าง (Ventral side) โดยมีความแตกต่างด้านเม็ดสี (Pigmented) ที่ด้านท้องใบจะมีเม็ดสีที่น้อยกว่าด้านหลังใบ และจะมีลักษณะลายเส้นของใบเป็นรูปแบบตาข่าย (Reticulate venation) จำนวนใบบนข้อ (Node) จะขึ้นอยู่กับแต่ละชนิดพืชแต่ส่วนใหญ่แล้วจะมีตั้งแต่ 2 ใบขึ้นไป ซึ่งทำให้สามารถจำแนกแยกจากพืชใบเลี้ยงเดี่ยวได้จากหลายโครงสร้างดังข้างต้น (Nelissen et al., 2016) (ภาพ 2)

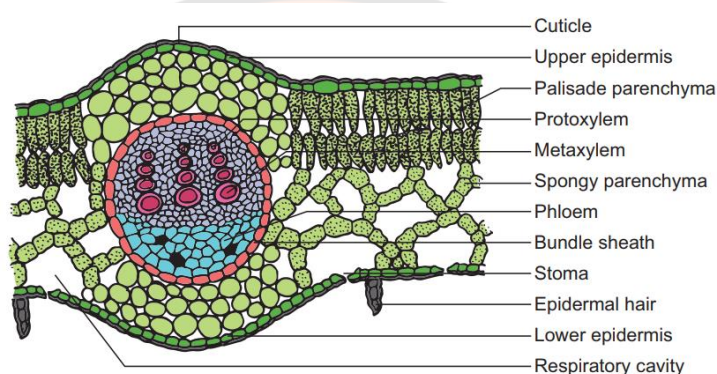


Figure 9.24: T.S. of Dicot Leaf (Sunflower)

ภาพ 2 กายวิภาคและโครงสร้างเบื้องต้นของใบพืชชนิดใบเลี้ยงคู่ – ใบทานตะวัน

ที่มา : Anupama (2023). <https://www.brainkart.com>

จากข้อมูลของพืชใบเลี้ยงคู่และใบเลี้ยงเดี่ยวข้างต้นจะเห็นได้ถึงความแตกต่างทางโครงสร้างภายในรวมไปถึงวัชพืชที่มีใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่เช่นเดียวกัน เมื่อวัชพืชที่เกิดขึ้นภายในบริเวณแปลงปลูกหรือพื้นที่ทำการเกษตร โดยที่อาจจะไปรบกวนการเจริญเติบโตของพืชประธาน บดบังแสงแดด รวมถึงแก่งแย่งธาตุอาหารในการเจริญเติบโต จึงส่งผลเสียโดยตรงต่อเกษตรกรที่หวังผลผลิตที่ค่อนข้างสูง แต่กลับได้ผลผลิตที่ค่อนข้างต่ำจากการรบกวน หรือเจริญของวัชพืชทั้งชนิดใบแคบและใบกว้าง จึงทำให้ต้องมีการจัดการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชที่จะสามารถทำให้ลดการรบกวนพืชประธานและเพิ่มผลผลิตในพื้นที่ทำการเกษตรให้สูงมากขึ้น

### 2.1.2 การกำจัดวัชพืชด้วยวิธีเขตกรรม

การกำจัดวัชพืชด้วยวิธีเขตกรรมเป็นวิธีการที่นิยมปฏิบัติ และยังถือว่ามีประสิทธิภาพ อาทิ เช่น การถอน จะเหมาะสำหรับพื้นที่ที่มีวัชพืชน้อย รากหยั่งดินไม่ลึก เพราะเนื่องจากถ้าวัชพืชมีอายุข้ามปีอาจจะทำให้รากขาดระหว่างการถอนทำให้อาจจะเกิดการงอกใหม่ได้ง่ายมากขึ้น การใช้มีด โดยเนื่องจากเครื่องมือเหล่านี้ เสียม และจอบ โดยจะทำได้ในพื้นที่ตั้งแต่ขนาดเล็กจนถึงขนาดใหญ่ การขุดทำลายแบบนี้อาจจะช่วยทำให้ รากวัชพืชขึ้นมาอยู่เหนือดิน แต่ถ้าไม่มีการกำจัดเก็บทิ้งก็อาจจะทำให้สามารถกลับมาเจริญเติบโตได้อีก เป็นการพรวนดินให้แก่พืชที่ปลูกได้อีกทางหนึ่งด้วย การใช้เครื่องทุ่นแรงทางการเกษตร เช่น การใช้รถแทรกเตอร์ หรือพรวนดิน ก่อนลงมือปลูกพืช นอกจากเป็นการเตรียมดินแล้ว ทำให้สามารถลดอัตราการเกิดของวัชพืช อาจจะต้องมีการไถพรวน 2-3 ครั้ง ก่อนทำการเพาะปลูก ในบริเวณพื้นที่แปลง

### 2.1.3 การกำจัดโดยใช้สารกำจัดวัชพืชทางเคมี

การกำจัดโดยใช้สารกำจัดวัชพืชทางเคมีเป็นวิธีที่แพร่หลายอย่างมากในปัจจุบันเพราะเป็นการกำจัดวัชพืชที่ได้ผล เนื่องจากถ้ามีการเพาะปลูกในพื้นที่จำนวนมาก การใช้วิธีการกำจัดแบบเขตกรรมนั้นอาจจะต้องใช้แรงงานจำนวนมาก อาจจะทำให้เกิดการสิ้นเปลืองในส่วนของต้นทุนที่สูงมากขึ้น อีกทั้งยังมีกรพัฒนาให้มีฤทธิ์ในการกำจัดวัชพืช ได้ทั้งใบแคบ ใบกว้าง แต่ละชนิดก็เป็นอันตรายต่อพืช คน สัตว์ ซึ่งอันตรายที่จะได้รับต่อผู้ใช้งานได้ง่าย จากการศึกษาค้นคว้าข้อมูลของ ศิริพร ซึ่งสนธิพร (2564) รายงานว่าสารกำจัดวัชพืชทางเคมีแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ สารกำจัดวัชพืชใบกว้าง สารกำจัดวัชพืชใบแคบ และสารกำจัดวัชพืชที่สามารถกำจัดได้ทั้งชนิดใบกว้างและใบแคบ โดยสารกำจัดวัชพืชใบกว้าง ได้แก่ แบบดูดซึม อามีทริน50 (Ametryn) เอซโซนัต95 (2,4-D Sodium) แบบสัมผัสและดูดซึม เอราบาส (Glufosinate-ammonium) สารกำจัดวัชพืชชนิดใบแคบ ได้แก่ แบบดูดซึม ฟลูอะซิฟอป-พี-บิวทิล (Fluazifop-P-butyl) โพรพาควิซาฟอป (Propaquizafop) ควิซาโลฟอป-พี-เทฟูริล (Quizalofop-P-tefuryl) ฮาลอกซีฟอป-พี-เมทิล (Haloxypop-p-methyl) แบบสัมผัสและดูดซึม ฟีนอกซาพรอป-พี-เอทิล (Fenoxaprop-P-ethyl) และโดยสารกำจัดวัชพืชที่สามารถยับยั้งได้สองชนิด ได้แก่ แบบสัมผัส พาราควอท (paraquat) แบบดูดซึม ไกลโฟเสท (Glyphosate) ไดยูรอน (Diuron) ออกซีฟลูอร์เฟน (Oxyfluorfen) ทั้งนี้ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสารและของเสียอันตราย (2020) มีการรายงานความอันตรายของการใช้สารกำจัดวัชพืชทางเคมี (ตาราง 1)

จากข้อมูลดังกล่าวจึงทำให้มีความสนใจพัฒนาสารกำจัดวัชพืชชีวภาพเพื่อลดอันตรายจากการใช้สารกำจัดวัชพืชทางเคมีที่จะเกิดขึ้นได้จากข้อมูลดังกล่าว และหากมีการใช้สารกำจัดวัชพืชทางเคมีเป็นเวลานาน นอกจากจะเป็นอันตรายต่อผู้ใช้แล้วยังมีผลทำให้เป็นผลเสียต่อสภาพแวดล้อม และในปัจจุบันจึงมีการพยายามนำสารที่ได้จากพืช มาควบคุมการเจริญ หรือการจัดการเจริญเติบโตของวัชพืชมากขึ้น

### ตาราง 1 อันตรายของการใช้สารกำจัดวัชพืชทางเคมี

สารกำจัดวัชพืชทางเคมี	รหัสอันตราย	ความอันตราย
ไดยูรอน (Diuron)	H302	1) เป็นอันตราย เมื่อกลืนกินเข้าไป (Harmful if swallowed)
	H373	2) อาจทำอันตรายต่ออวัยวะ เมื่อรับสัมผัสเป็นเวลานานหรือรับสัมผัสซ้ำ (May causes damage to organs through prolonged or repeated exposure)
	H410	3) เป็นพิษร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ และมีผลกระทบระยะยาว (Very toxic to aquatic life with long lasting effects)
อามีทริน50 (Ametryn)	H302	1) เป็นอันตราย เมื่อกลืนกินเข้าไป (Harmful if swallowed)
	H410	2) เป็นพิษร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ และมีผลกระทบระยะยาว (Very toxic to aquatic life with long lasting effects)
พาราควอท (Paraquat)	H330	1) เป็นอันตรายถึงตายได้เมื่อหายใจเข้าไป (Fatal if inhaled)
	H372**	2) ทำอันตรายต่ออวัยวะ เมื่อรับสัมผัสเป็นเวลานาน หรือรับสัมผัสซ้ำ (Causes damage to organs through prolonged or repeated exposure) 3) เป็นพิษเมื่อสัมผัสผิวหนัง

สารกำจัดวัชพืชทางเคมี	รหัสอันตราย	ความอันตราย
	H311	(Toxic in contact with skin)
ไกลโฟเสท (Glyphosate)	H318	1) ทำลายดวงตาอย่างรุนแรง (Cause serious eye damage)
	H410	2) เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ และมีผลกระทบระยะยาว (Toxic to aquatic life with long lasting effects)
เทพราลอกซิดิม (Tepraloxymidim)	H351	1) มีข้อสงสัยว่าอาจก่อให้เกิดมะเร็ง (Suspected of causing cancer)
	H361	2) มีข้อสงสัยว่าอาจเกิดอันตรายต่อการเจริญพันธุ์และทารกในครรภ์ (Suspected of damaging fertility. Suspected of damaging the unborn child)
ฮาลอกซีฟอป-อาร์-เมทิล (Haloxypop-R-methyl)	H302	1) เป็นอันตราย เมื่อกลืนกินเข้าไป (Harmful if swallowed)
	H410	2) เป็นพิษร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ และมีผลกระทบระยะยาว (Very toxic to aquatic life with long lasting effects)
ฟีนอกซาพรอป-พี-เอทิล (Fenoxaprop-p-ethyl)	H317	1) อาจทำให้เกิดการแพ้ที่ผิวหนัง (May cause an allergic skin reaction)
	H373	2) ทำอันตรายต่ออวัยวะ เมื่อรับสัมผัสเป็นเวลานาน หรือรับสัมผัสซ้ำ (Causes damage to organs through prolonged or repeated exposure)
	H410	3) เป็นพิษร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ และมีผลกระทบระยะยาว (Very toxic to aquatic life with long lasting effects)
โคลไดนาฟอป-โพรพิโอ นิล (Clodinafop-propargyl)	H302	1) เป็นอันตราย เมื่อกลืนกินเข้าไป (Harmful if swallowed)
	H373**	2) ทำอันตรายต่ออวัยวะ เมื่อรับสัมผัสเป็นเวลานาน หรือรับสัมผัสซ้ำ (Causes damage to organs through prolonged or repeated exposure)

สารกำจัดวัชพืชทางเคมี	รหัสอันตราย	ความอันตราย
		prolonged or repeated exposure)
	H317	3) อาจทำให้เกิดการแพ้ที่ผิวหนัง (May cause an allergic skin reaction)
	H410	4) เป็นพิษร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ และมีผลกระทบระยะยาว (Very toxic to aquatic life with long lasting effects)
โพรฟอกซิดิม (Profoxydim)	H351	1) มีข้อสงสัยว่าอาจก่อให้เกิดมะเร็ง (Suspected of causing cancer)
	H361	2) มีข้อสงสัยว่าอาจเกิดอันตรายต่อการเจริญพันธุ์และทารกในครรภ์ (Suspected of damaging fertility. Suspected of damaging the unborn child)
	H317	3) อาจทำให้เกิดการแพ้ที่ผิวหนัง (May cause an allergic skin reaction)
ไดคลอฟอป-เมทิล (Diclofop-methyl)	H302	1) เป็นอันตราย เมื่อกลืนกินเข้าไป (Harmful if swallowed)
	H317	2) อาจทำให้เกิดการแพ้ที่ผิวหนัง (May cause an allergic skin reaction)
	H410	3) เป็นพิษร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ และมีผลกระทบระยะยาว (Very toxic to aquatic life with long lasting effects)
ฟลูอะซิฟอป-พี-บิวทิล (Fluazifob-P-butyl)	H361	1) มีข้อสงสัยว่าอาจเกิดอันตรายต่อการเจริญพันธุ์และทารกในครรภ์ (Suspected of damaging fertility. Suspected of damaging the unborn child)
	H410	2) เป็นพิษร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ และมีผลกระทบระยะยาว

สารกำจัดวัชพืชทางเคมี	รหัสอันตราย	ความอันตราย
		(Very toxic to aquatic life with long lasting effects)
คลีโทติม (Clethodim)	H302	1) เป็นอันตราย เมื่อกินเข้าไป (Harmful if swallowed)
	H317	2) อาจทำให้เกิดการแพ้ที่ผิวหนัง (May cause an allergic skin reaction)
	H410	3) เป็นพิษร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ และมีผลกระทบต่อระยะยาว (Very toxic to aquatic life with long lasting effects)
	EUHO66	4) เมื่อสัมผัสซ้ำ อาจทำให้ผิวหนังแห้งหรือแตก (Repeated exposure may cause skin dryness or cracking)
ทาโคซีติม (Tralkoxydim)	H302	1) เป็นอันตราย เมื่อกินเข้าไป (Harmful if swallowed)
	H351	2) มีข้อสงสัยว่าอาจก่อให้เกิดมะเร็ง (Suspected of causing cancer)
	H410	3) เป็นพิษร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ และมีผลกระทบต่อระยะยาว (Very toxic to aquatic life with long lasting effects)

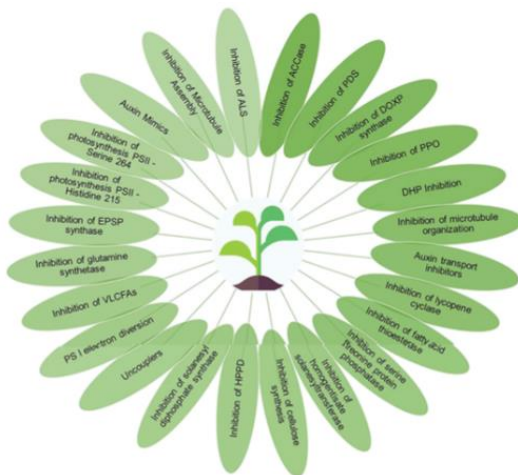
ที่มา: ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสารและของเสียอันตราย, 2020

## 2.2 กลไกการออกฤทธิ์ของสารกำจัดวัชพืช

### 2.2.1 กลไกการออกฤทธิ์ของสารกำจัดวัชพืชทางเคมี

สารกำจัดวัชพืชทางเคมีทั่วไปที่ใช้ในปัจจุบันมีผลต่อกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน แต่ในปัจจุบันมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์สารกำจัดวัชพืชชีวภาพขึ้นมา โดยมุ่งเป้าหมายที่มีประสิทธิภาพและศักยภาพมากขึ้นในการกำจัดวัชพืช โดยจำแนกการออกฤทธิ์ต่อวัชพืชดังนี้ การกระตุ้นเมแทบอลิซึมของเซลล์ การแบ่งเซลล์ และการเจริญเติบโต การทราบลักษณะเฉพาะ จะทำให้สารกำจัดวัชพืชมีผลอย่างมากต่อการกำจัดของวัชพืช จึงเป็นไปได้ที่จะปรับให้เหมาะสมสำหรับการทำลาย และสามารถ

เปรียบเทียบกับสารเคมีกำจัดวัชพืช (Pugazhendhi et al., 2019) (ภาพ 1) และยังพบข้อเท็จจริงว่า วัชพืชหลายชนิดสร้างสารไฟโตทอกซินที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่น แต่กลไกการออกฤทธิ์ยังไม่เป็นที่แน่ชัด (Koodkaew et al., 2018)



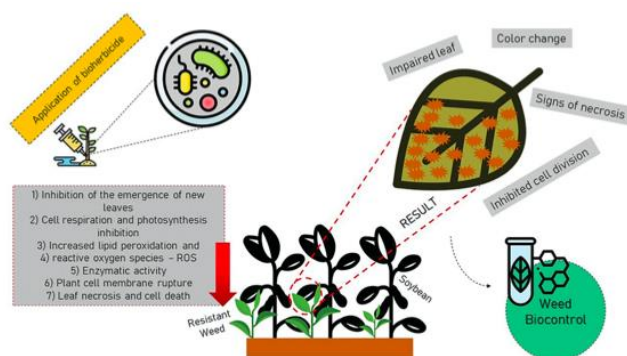
ภาพ 3 การจำแนกประเภทการทำงานของสารกำจัดวัชพืชในปี 2020

ที่มา: HRAC et al., 2020

### 2.2.2 กลไกของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ

กลไกที่เกี่ยวข้องกับสารกำจัดวัชพืชทางชีวภาพ ส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากพืชซึ่งแต่เดิมใช้เพื่อวัตถุประสงค์ทางการแพทย์หรือทางโภชนาการที่ปลอดภัย แต่อาจใช้เป็นทางเลือกสำหรับการพัฒนาสารกำจัดวัชพืชชีวภาพเพื่อการปฏิบัติทางการเกษตรอย่างยั่งยืนในการจัดการวัชพืช สารกำจัดวัชพืชชีวภาพที่ผลิตจากสารสกัดจากแหล่งธรรมชาติได้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการต่อต้านวัชพืช สารประกอบสารสกัดจากพืชหลายชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชโดยเฉพาะ แต่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตของพืช (El-Darier et al., 2014) อาจอธิบายได้จากความแตกต่างของความไวในการทำลายเอนไซม์เป้าหมายหรือการมีอยู่ของตัวรับเฉพาะในวัชพืชที่จดจำและทำปฏิกิริยากับสารประกอบ (Hosni et al., 2013) พืชบางชนิดมีความสามารถในการหลั่งสารเมแทบอลิต์ต่างๆ ที่เรียกว่า สารเคมีอัลลีโล เช่น แอลกอฮอล์ กรดไขมัน ฟีนอล ฟลาโวนอยด์ เทอร์พีนอยด์ และสเตอรอยด์ ซึ่งช่วยลดการสืบพันธุ์ การเติบโต และการพัฒนาของพืชที่อยู่ใกล้เคียง รวมถึงสายพันธุ์วัชพืช (Soltys et al., 2013) ดังแสดงในภาพ 2





ภาพ 4 ภาพประกอบของผลกระทบหลักที่เกิดจากการใช้สารกำจัดวัชพืชชีวภาพกับวัชพืช

ที่มา: Radhakrishnan et al., 2018

สารในกลุ่มอัลลีโลพาธี (Allelopathy) ที่สามารถพบได้ในพืชทั่วไปและมีสารเหล่านี้อยู่ในตัวเองและจะสามารถขับเคลื่อนหรือปลดปล่อย และจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชข้างเคียง หรือสิ่งมีชีวิตบริเวณใกล้เคียงได้ เรียกกระบวนการนี้ว่าอัลลีโลพาธีและจะเรียกสารที่มีในต้นพืชนั้นว่า Allelopathic ซึ่งจะสามารถมีผลทั้งด้านบวก หรือด้านลบ ไม่ว่าจะเป็นการกระตุ้นการเจริญเติบโต หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชได้ โดยถูกค้นพบโดย Molish ในปี 1937

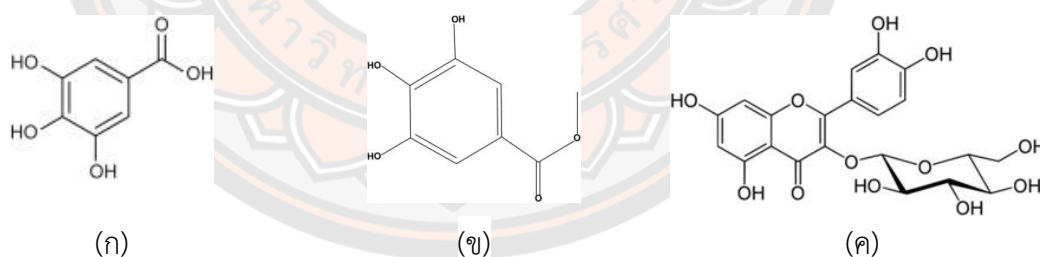
International Allelopathy Society (IAS) (1996) ได้มีการให้ความหมายว่า อัลลีโลพาธี ในทุกกระบวนการ จะมีการปลดปล่อยสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary Metabolites Produced) และสารนั้นจะมีผลต่อด้านการพัฒนาการ หรือการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต โดยเป็นผลมาจากปรากฏการณ์ทางชีวเคมีระหว่างพืช ออกมาเป็นสารทุติยภูมิและมีผลในการกำจัด การเจริญเติบโตของพืช คือ กรดฟีนอลิก (Phenolic acids) Putnam (1986) ได้กล่าวว่าการผลิตขึ้นจากในพืชและจะสามารถกำจัดการเจริญเติบโตของวัชพืชได้ จะมีอยู่ 5 กลุ่ม คือ Alkaloids, Steroids, Terpenoids, Acetogenins และ Phenylpropanes ซึ่งสารทุติยภูมิที่พืชผลิตได้มีหลายชนิดและเป็นสาร aromatic รวมถึง flavonoids, tannins, alkaloids, coumarins และกรด aromatic อื่นๆ อีกหลายชนิด อัลลีโลพาธียังมีรายงานว่าสามารถ ควบคุมวัชพืชในแปลงผลิตผลทางการเกษตรได้ (Badmus และ Afolayan, 2012)

สารสกัดฟีนอลของ *C. cardunculus* มีคุณสมบัติที่เป็นพิษต่อพืชเนื่องจากมีวงแหวนอะโรมาติกในองค์ประกอบ ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มไฮดรอกซิลหลายกลุ่ม (Kaab et al., 2020) คุณสมบัติที่เป็นพิษต่อพืชเหล่านี้ทำลายพลาสมาเมมเบรน ซึ่งก่อให้เกิดผลกระทบเบื้องต้นและผลกระทบพื้นฐาน

ของออกซิเดชัน สารสกัดจากน้ำที่เป็นพิษต่อพืชจาก *S. bicolor* เป็นตัวอย่างของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพที่มีความสามารถในการควบคุมวัชพืชโดยไม่สูญเสียผลผลิต (Dayan et al., 2009) การใช้สารสกัดจากน้ำข้าวฟ่างทำให้มวลชีวภาพของ *E. crus-galli* ลดลง 40% ส่งผลให้ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้น 18% (Salama et al., 2014) อีกทั้งสารสกัดจากใบ ลำต้น ดอก และรากของ *Brassica nigra* (L.) K. Koch พบว่ายับยั้งการงอก การเติบโต และความยาววัชพืชของ *Avena fatua* L. (Kruidhof et al., 2009 , Tsiamis et al., 2016 , Malik et al., 2012) อย่างมากผลการยับยั้งมีสาเหตุหลักมาจากความเข้มข้นสูงของกลูโคซิโนเลต ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีกำมะถันซึ่งมีอยู่มากใน *Brassica* sp. สารประกอบเหล่านี้สามารถถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์เป็นไอโซไทโอไซยาเนต ไทโอไซยาเนต และไนไตรล์ ทำให้เกิดอนุภาคใหม่ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีศักยภาพในการลดวัชพืชต่างๆ ไอโซไทโอไซยาเนตเมื่อทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่มีส่วนประกอบของซัลไฟดริลที่สร้างความเสียหายต่อเซลล์ นอกจากนี้ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งเชื้อราหลายชนิดและแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคและอาหารเน่าเสียแล้ว ยังแสดงฤทธิ์ยับยั้งการงอกของ *Matricaria inodora* L., *E. crus-galli*, *Sonchus asper* L. , *A. hybridus* และ *Alopecurus myosuroides* Huds (Tsiamis et al., 2016) พืชอื่นๆ ที่มีสารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งพืชจากพืชอย่างเข้มข้น ได้แก่ *Pisum sativum* L. ที่ด้านการงอก การเติบโต และการพัฒนาของ *Polygonum persicaria* L., *A. hybridus*, *Galinsoga parviflora* Cav., *C. album* และ *Medicago sativa* L. ที่ด้านการงอกของ *Artemisia vulgaris* L. มีประสิทธิภาพสูงถึง 83% ในการตรวจงานเพาะเชื้อ และสูงถึง 89% ภายใต้สภาพภาคสนาม (Travaini et al., 2016)

โดยยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยเป็นสารระเหยตามธรรมชาติที่ได้จากส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบ เปลือก ดอก ผล เมล็ด ราก และจากทั้งต้น (Rios, 2016) Terpenoids (ส่วนใหญ่เป็น mono และ sesquiterpenes) เป็นสารประกอบหลักของกิจกรรมของน้ำมันหอมระเหยซึ่งอาจเป็นตัวเลือกที่มีศักยภาพสำหรับการพัฒนา สารกำจัดวัชพืชชีวภาพใหม่ เนื่องจากมีฤทธิ์เป็นพิษต่อพืชต่อวัชพืชชนิดต่าง ๆ (Verdeguer et al., 2020) ศักยภาพที่เป็นพิษต่อพืชของน้ำมันหอมระเหยเกี่ยวข้องกับคลอโรซิส การไหม้ของใบ และการลดลงของจำนวนพืช เช่นเดียวกับการยับยั้งแบบไมโทซิส การสลับขั้วของเมมเบรน การลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ การหายใจของเซลล์ และความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Raveau et al., 2020) และมีรายงานว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจาก *Cistus ladanifer* L. พบว่าสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของ *A. hybridus*, *Portulaca oleracea* L., *C. album*, *Conyza Canadensis*, *Parietaria judaica* L. (Verdeguer et al., 2012) ดังตาราง 2

มะม่วง (*Mangifera indica* L.) อยู่ในวงศ์ Anacardiaceae เป็นพืชเขตร้อนที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ นิยมบริโภคอย่างแพร่หลาย ทั้งทางด้านรสชาติ และคุณค่าทางโภชนาการที่สูง การปลูกมีทั้งในรูปแบบปลูกตามธรรมชาติและปลูกเพื่อค้าขายสำหรับส่งออก (Berreto et al., 2008) และมีการศึกษาพบว่าใบมะม่วงประกอบไปด้วยสารประกอบฟีนอล รวมถึงกรดฟีนอลิก (Ge et al., 2011) โดยสารประกอบฟีนอลเป็นส่วนหนึ่งที่ถูกจำแนกออกมาจากอัลลีโลเคมีคอล (Singh et al., 2003) ซึ่งสารอัลลีโลเคมีคอล เป็นสารที่เกิดขึ้นกระบวนการจากอัลลีโลพาธี คือ สารทุติยภูมิที่เกิดขึ้นจากพืช จุลินทรีย์ ไวรัส และเชื้อรา ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช สารอัลลีโลเคมีคอลจะถูกปลดปล่อยออกมาจากราก ลำต้น และใบ หรือรวมถึงการย่อยสลายของเศษจากพืช (McCalla, 1971) นั้นมีคุณสมบัติที่สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดพืช การเจริญเติบโตของพืช (Rice 1984; Lovett and Ryuntyu 1992; Rizvi and Rizvi, 1992) มีรายงานในการวิเคราะห์ที่ใบมะม่วงแก่ทั้งหมด 15 สายพันธุ์ ด้วยเครื่องมือโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง (HPLC) ที่สกัดใบมะม่วงแก่ด้วยเมทานอล พบว่าไม่มีความแตกต่างกันมากในแต่ละสายพันธุ์ และพบสารประกอบหลักที่เป็นสารประกอบฟีนอล คือ gallic acid, methyl gallate, isoquercitrin isomers (Berreto et al., 2008) ดังแสดงในภาพ 5 ในงานวิจัยนี้จึงสนใจจะใช้สารที่มีฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธีจากใบมะม่วงต่อการยับยั้งวัชพืชร่วมกับอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อคงความเสถียรภาพ มีประสิทธิภาพที่ดี และส่งผลให้สามารถออกฤทธิ์ต่อการยับยั้งวัชพืชได้ดีมากยิ่งขึ้น



ภาพ 5 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลที่พบในใบมะม่วงแก่หลังวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ประกอบไปด้วย (ก) gallic acid (ข) methyl gallate และ (ค) isoquercitrin isomers

ที่มา : (ก) Omar (2018) (ข) Liang et al. (2023) และ (ค) Sirotkin et al. (2022)

นอกจากนี้ในงานวิจัยของ M'barek et al. (2019) ได้พบว่าพืชสายพันธุ์ Cupressaceae มีความเป็นพิษต่อพืชสูง จึงมีการศึกษาการประเมินผลที่เป็นสารสกัดจากใบพืชในรูปแบบน้ำจำนวน 3 ชนิดในสายพันธุ์เดียวกัน คือ *Cupressus sempervirens* L., *Juniperus phoenicea* L., และ *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. ต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาและชีวเคมีกับ *Lactuca sativa* L. (ผักกาดหอม) ผลการวิจัยพบว่าความเข้มข้นในการใช้สารสกัดจากใบในรูปแบบน้ำมีความสอดคล้องกับ IC50 (50%) โดยยับยั้งการเจริญเติบโตของราก และมีความเป็นพิษต่อพืชอย่างมาก จึงทำให้มีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา การรบกวนกระบวนการ oxidative อีกทั้ง Chlollphyll a และ Chlophyll b ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ จึงสรุปได้ว่าการใช้สารสกัดจากใบในรูปแบบน้ำมีผลต่อความยาวรากและส่วนการเจริญของยอดที่ลดลง จึงมีแนวโน้มที่งานวิจัยนี้จะนำสารสกัดจากใบมะม่วงที่มีฤทธิ์ทางอัลลิโลพาธิมาใช้ร่วมกับอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสำหรับใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพในการยับยั้งวัชพืชชนิดใบแคบและใบกว้างได้เช่นเดียวกัน และอาจจะสามารถยับยั้งได้จนวัชพืชไม่สามารถกลับมาเจริญเติบโตได้อีกเนื่องจากในงานวิจัยนี้ยังไม่มีรายงานผลวิจัยว่าสามารถยับยั้งพืชทดสอบที่เป็นผักกาดหอมได้ 100% แต่มีแนวโน้มที่จะนำสารอัลลิโลเคมีคอลจากพืชในสายพันธุ์ Cupressaceae ทั้ง 3 ชนิดที่แตกต่างกันมาใช้และแสดงผลลัพธ์ว่าสารสกัดจากใบพืชของ *C. sempervirens* L., *J. phoenicea* L., และ *T. articulata* (Vahl) Mast., สามารถมีประสิทธิภาพในความเป็นพิษต่อพืชสูง จึงมีแนวโน้มเป็นแนวทางในการนำสารสกัดจากใบพืชที่มีสารออกฤทธิ์จากอัลลิโลพาธิมาใช้ยับยั้งพืชได้สำหรับงานวิจัยนี้

## ตาราง 2 สรุปสารกำจัดวัชพืชชีวภาพในปัจจุบันที่ได้จาก สารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิด

แหล่งที่มา	ความเป็นพิษ	วัชพืชที่กำจัด	ที่มา
<i>Carum carvi</i> L.	Leaf lesions and biochemical changes in plant tissues	<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P.Beauv.	Synowiec et al., 2019
<i>Chrysanthemum coronarium</i> L.	Inhibit germination and Growth	<i>Sinapis arvensis</i> L., <i>Phalaris canariensis</i> L.	Hosni et al., 2013
<i>Cynara cardunculus</i> L.	Suppress germination and growth and cause	<i>Trifolium incarnatum</i> L., <i>Silybum marianum</i>	Kaab et al., 2020

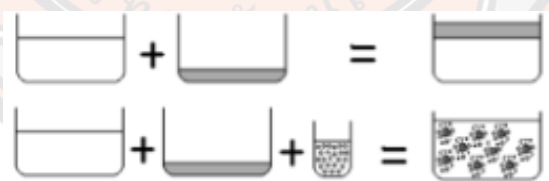
แหล่งที่มา	ความเป็นพิษ	วัชพืชที่กำจัด	ที่มา
	necrosis or chlorosis Inhibit germination and plant	(L.) Gaertn., <i>P. minor</i>	
<i>Cymbopogon nardus</i> (L.) Rendle.	development and reduce chlorophyll and protein content	<i>Digitaria horizontalis</i> Willd., <i>Cenchrus</i> <i>echinatus</i> L.	Ootani et al., 2017
<i>Mimosa pigra</i> L.	Root growth retardation	<i>Lactuca sativa</i> L., <i>Ruellia tuberosa</i> L.	Koodkaew et al., 2018
<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	Seed germination, growth, and development	<i>Oryza sativa</i> f. <i>Spontanea</i> Roshev., <i>Echinochloa colona</i> (L.) Link., <i>Euphorbia</i> <i>hirta</i> L., <i>Ageratum</i> <i>conyzoides</i> L.	Motmainna et al., 2021
<i>Pinus densiflora</i> Siebold & Zucc.	Suppressed shoot and root growth	<i>Lolium multiflorum</i> Lam., <i>Digitaria</i> <i>sanguinalis</i> (L.) Scop.	Kato-Noguchi et al., 2017
<i>Pinus nigra</i> J.F.Arnold	Inhibited germination and growth	<i>P. canariensis</i> , <i>Trifolium campestre</i> Schreb., <i>S. arvensis</i>	Amri et al., 2017
<i>Sinapis alba</i> L.	Reduced dry biomass	<i>Amaranthus powellii</i> S.Watson, <i>Setaria</i> <i>viridis</i> (L.) P.Beauv.	Morra et al., 2018
<i>Ammi visnaga</i> (L.) Lam.	Inhibit germination, growth, photosynthesis	<i>L. multiflorum</i> , <i>E.</i> <i>crus-galli</i> , <i>D.</i> <i>sanguinalis</i> , <i>Setaria</i> <i>italic</i> (L.) P.Beauv.	Travaini et al., 2016
<i>Juglans nigra</i> L.	Pre- and post- emergent and inhibit growth	<i>Conyza</i> <i>Canadensis</i> (L.) Cronquist, <i>Conyza</i> <i>bonariensis</i> (L.) Cronquist	Shrestha, 2009
<i>Aglaia odorata</i> Lour.	Inhibit growth and development	<i>E. crus-galli</i> , <i>Lolium</i> <i>perenn</i> L.	Kato-Noguchi et al., 2016

แหล่งที่มา	ความเป็นพิษ	วัชพืชที่กำจัด	ที่มา
<i>Ailanthus altissima</i> (Mill.) Swingle	Inhibit germination and growth	<i>M. sativa</i>	Tsao et al., 2002
<i>Origanum syriacum</i> L.	Inhibit seed germination	<i>Triticum aestivum</i> L., <i>Amaranthus palmeri</i> S.Watson, <i>B. nigra</i>	Dudai et al., 1999
<i>Micromeria fruitcosa</i> L. and <i>Cymbopogon citratus</i> DC.			
<i>A. vulgaris</i> , <i>Mentha spicata</i> L., <i>Ocimum basilicum</i> L., <i>Salvia officinalis</i> L., and <i>Thymbra spicata</i> L.	Phytotoxic to germination and plant growth	<i>Agrostemma githago</i> L., <i>Cardaria draba</i> (L.) Desv., <i>C. album</i> , <i>E. crus-galli</i> , <i>Reseda lutea</i> L.	Onen et al., 2002
<i>Eucalyptus</i> spp., <i>Chamaecyparis lawsoniana</i> (A.Murray bis) Parl., <i>Rosmarinus officinalis</i> L. and <i>Thuja occidentalis</i> L.	Pre-emergent and seed germination inhibitor	<i>A. retroflexus.</i> , <i>P. oleracea.</i> , <i>Acroptilon repens</i> (L.) DC.	Ramezani et al., 2008
<i>Leptospermum scoparium</i> J.R.Forst. & G.Forst	Post-emergent and control seed emergence	<i>Digitaria</i> spp.	Dayan et al., 2011
<i>Eucalyptus citriodora</i> Hook.	Inhibit germination and seedling growth	<i>P. hysterophorus</i>	Singh et al., 2005
<i>Oryza sativa</i> L	Inhibit germination, seedling growth	<i>E. crus-galli</i>	Ahn et al., 2000

### 2.3 สารเสริมประสิทธิภาพที่ใช้ร่วมกับสารกำจัดวัชพืช

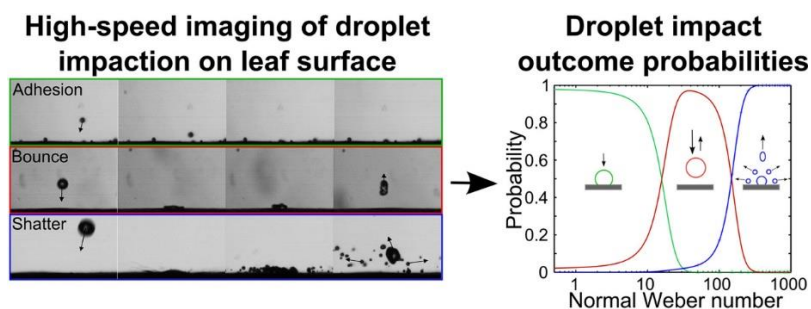
สารกำจัดวัชพืชไม่ว่าจะเป็นทางเคมีหรือชีวภาพยังมีปัญหาเรื่องการใช้งานในหลายด้าน เช่น การไม่ละลายน้ำ การตกตะกอน การแพร่กระจายได้ไม่ดี มีการระเหยที่ไว การไม่สามารถเกาะติดใบพืชได้

ดี ดังนั้นจึงมีการใช้สารเสริมประสิทธิภาพสารเคมีทางการเกษตร (agricultural adjuvant) เติมลงในสารละลายเพื่อแก้ไขปัญหาเหล่านี้ โดยสารเสริมประสิทธิภาพสารเคมีทางการเกษตรส่วนใหญ่จะประกอบไปด้วยส่วนผสมหลัก 3 ชนิด ได้แก่ สารลดแรงตึงผิว น้ำมัน และ กัม (Somerville et al., 2012) โดยสามารถแบ่งกลุ่มของสารเสริมประสิทธิภาพ ได้ 2 กลุ่ม คือ 1) Compatibility agents ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่รวมกันไม่ได้สามารถรวมกันได้ดียิ่งขึ้น ส่วนมากจะเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ทำให้สารที่เข้ากันไม่ได้ (สารที่มีขี้วและไม่มีขี้ว) ให้เข้ากันได้ดียิ่งขึ้น (ภาพ 1) เพื่อเพิ่มความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรของสารกำจัดวัชพืชก่อนการฉีดพ่น และ 2) Drift retardant ที่เป็นสารช่วยลดการกระดอนของละอองจากสเปรย์ออกจากพื้นที่ผิวใบวัชพืชหลังจากการพ่น โดยขนาดของละอองจากสเปรย์ (ภาพ 2) มีผลต่อการกระดอน (Bounce) ของสารกำจัดวัชพืชออกจากใบวัชพืช โดยละอองที่มีขนาดใหญ่จะเพิ่มการตกลงใบวัชพืชและเกาะติดได้ดีขึ้น แต่ถ้ามีขนาดใหญ่เกินไปจะเกิดการแตกกระจาย (Shatter) ออกจากใบวัชพืชเช่นกัน (Massinon et al., 2017) โดยทั่วไปแล้วสารเสริมประสิทธิภาพที่ช่วยลดการกระดอนจะเป็นพอลิเมอร์สายยาว (long chain polymer) หรือ กัม (gum) ที่จะช่วยเพิ่มความหนืดของสารกำจัดวัชพืช ปรับขนาดของละอองให้สม่ำเสมอ และลดการกระดอนออกจากใบวัชพืช (Somerville et al., 2012) นอกจากนี้หยดละอองที่มีแรงตึงผิวสูงจะมีแนวโน้มที่จะกระเด็นออกจากพื้นผิวได้ง่าย ในขณะที่หยดละอองที่มีแรงตึงผิวต่ำจะมีแนวโน้มที่จะแผ่บนใบวัชพืช (Spreading) เกาะติดใบวัชพืช (Adhesion) และคงอยู่กับใบวัชพืช (Retention) ได้นานมากกว่าดังภาพ 3 (Somerville et al., 2012)



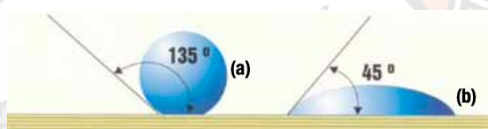
**ภาพ 6** การผสมสารที่เข้ากันไม่ได้ให้เข้ากันได้โดยสารลดแรงตึงผิวในสารเสริมประสิทธิภาพสารเคมีทางการเกษตร

ที่มา : Somerville et al., 2012



ภาพ 7 ผลของขนาดละอองสารเสริมประสิทธิภาพสารเคมีทางการเกษตรต่อการเกาะติด การกระดอน และการแตกกระจาย

ที่มา : Massinon et al., 2017



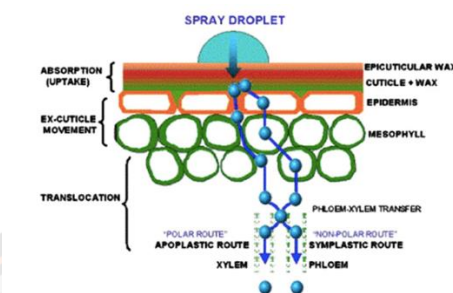
ภาพ 8 มุมสัมผัสของหยดบนพื้นผิวใบที่เปียกโดย (a) ไม่มีสารลดแรงตึงผิว และ (b) มีสารลดแรงตึงผิว

ที่มา : Somerville et al., 2012

สารเสริมประสิทธิภาพของสารเคมีทางการเกษตรกลุ่มน้ำมัน (Oil adjuvant) จะช่วยเพิ่มการแทรกซึมของสารกำจัดวัชพืชที่ละลายได้ในน้ำมันในพืช และมักใช้เมื่อสภาวะร้อนและแห้ง และหรือเมื่อน้ำค้างหรือไอน้ำหนา ส่วนใหญ่ได้มาจากน้ำมันปิโตรเลียมกลั่น (แร่) และน้ำมันพืช (รวมถึงน้ำมันเมล็ดพืช) ดังนั้นจึงไม่สามารถละลายผสมกับน้ำได้ เมื่อผสมสารเสริมประสิทธิภาพกลุ่มน้ำมันกับน้ำในถังสเปรย์ ต้องเติมอิมัลซิไฟเออร์หรือสารเสริมประสิทธิภาพกลุ่มสารลดแรงตึงผิวด้วย (Surfactant adjuvant) ซึ่งจะละลายน้ำมันให้อยู่ในไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิว (Surfactant micelle) ส่วนผสมอิมัลชันของน้ำมันประกอบด้วยน้ำมัน (โดยทั่วไปจะอยู่ที่ 80 ถึง 99%) และสารลดแรงตึงผิว (1 ถึง 20%) และเติมลงในถังสเปรย์โดยปกติเพียง 1% ของปริมาณสเปรย์ทั้งหมด (Hess, 1999) สารเสริมประสิทธิภาพในรูปแบบของอิมัลชันของน้ำมันสามารถเพิ่มการดูดซึมของสารกำจัดวัชพืชที่ละลายในน้ำมันในพืชได้มากกว่าสารเสริมน้ำมันโดยตัวมันเอง การเพิ่มสารลดแรงตึงผิวให้กับ



ส่วนผสมไม่เพียงแต่ทำให้น้ำมันเป็นอิมัลชันในสารละลายสเปรย์แบบน้ำ แต่ยังช่วยลดแรงตึงผิวของละอองสารละลายระหว่างการฉีดพ่นได้อีกด้วย สารเสริมประสิทธิภาพเหล่านี้ยังสามารถเพิ่มการซึมผ่าน (Diffusion) ของสารกำจัดวัชพืชผ่านทางหนังกำพร้าของใบวัชพืช เพิ่มการคงอยู่ของละอองบนพื้นผิวใบ และลดเวลาที่ต้องใช้สำหรับผสมสารกำจัดวัชพืช (Abribat et al., 2007) ดังแสดงในภาพ 4



ภาพ 9 การดูดซึมและแพร่ในโครงสร้างใบพืช

ที่มา : Abribat et al., 2007

ศึกษาหาข้อมูลการใช้สารกำจัดวัชพืชทางเคมี สารลดแรงตึงผิว น้ำมัน และสารเสริมประสิทธิภาพ ดังแสดงในตาราง 2 โดยจากข้อมูลดังกล่าว พบว่า สารลดแรงตึงผิวเคมีที่ใช้เป็นชนิดไม่มีประจุ (NIS) เพราะเนื่องจากถ้ามีประจุอาจจะเกิดการทำปฏิกิริยากับสารออกฤทธิ์ได้ และพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Brevibacterium casei* NK8 เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มี 2 ประจุผสมระหว่างลิโปเปปไทด์และฟอสโฟลิพิด เพราะเนื่องจากต้องการลดความเสี่ยงจากการไปทำปฏิกิริยากับสารออกฤทธิ์ อาจจะทำให้เกิดอันตราย หรือผลเสียที่ตามมา จึงสนใจที่จะใช้ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และน้ำมันที่เป็นน้ำมันพืชแทนน้ำมันปิโตรเลียมเนื่องจากมีความปลอดภัย ต้นทุนต่ำ และไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม

ตาราง 3 การใช้สารกำจัดวัชพืชทางเคมีที่มีในตลาดที่ใช้ร่วมกับสารเสริมประสิทธิภาพ

สารกำจัดวัชพืชทางเคมี	สารออกฤทธิ์	สารเสริมประสิทธิภาพ
Asset <sup>TM</sup>	Haloxypfrop-R-methyl	Impel <sup>TM</sup> Spray Adjuvant or Petroleum spray oil +

สารกำจัดวัชพืชทางเคมี	สารออกฤทธิ์	สารเสริมประสิทธิภาพ
		Chemwet 1000 or Chemwet 1000
Correct <sup>®</sup>	Propaquizafop	BS1000 or Hasten <sup>®</sup> or Kwickin <sup>®</sup>
Di-Grass	Diclofop-methyl	NIS
Hoegrass <sup>®</sup>	Diclofop-methyl	BS1000
Shogun <sup>®</sup>	Propaquizafop	BS1000 or Hasten <sup>®</sup> or Kwickin <sup>®</sup>
Verdict <sup>®</sup> 520	Haloxypop-R-methyl	Uptake <sup>™</sup> Spraying Oil or Petroleum spray oil + BS 1000 or BS1000
Sertin <sup>®</sup> 186 EC	Sethoxydim	Crop oil e.g. D-C-Trate <sup>®</sup> or Rulvapon or D-C-Treat <sup>®</sup> + BS1000 or Rulvapon + BS1000 <sup>1</sup>
Wildcat <sup>®</sup>	Fenoxaprop-p-ethyl	BS1000

หมายเหตุ : NIS = สารลดแรงตึงผิวเคมีกลุ่มไม่มีประจุ (non-ionic surfactant) ; Chemwet 1000 = สารเสริมประสิทธิภาพกลุ่มไม่มีประจุ (Liquid Herbicide Adjuvant) ; BS1000 = สารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มไม่มีประจุ (Bio-Degradable Surfactant) ; Petroleum spray oil = น้ำมัน-

ปิโตรเลียม ; Crop oil = น้ำมันพืช ; % v/v = Per cent of adjuvant, in terms of volume (e.g. ml/L), in the final spray mix; <sup>1</sup> Not for application to vegetables (use surfactant only)

ที่มา: Somerville et al., 2012

## 2.4 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

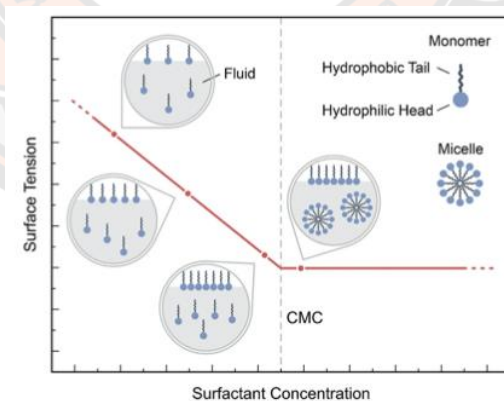
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ คือ สารที่มีการผลิตจากจุลินทรีย์ โดยจะเป็นสารที่ลดแรงตึงผิวได้ มีโครงสร้างเป็นแบบแอมฟิพาติก (Amphipatic Structure) ซึ่งจะประกอบด้วยส่วนที่มีขั้วและชอบน้ำ (Hydrophilic Portion) ได้แก่ โปรตีน และน้ำตาล และส่วนที่ไม่มีขั้วและไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic Portion) หรือส่วนที่ชอบไขมัน (Lipophilic Portion) เป็นโมเลกุลพวกไฮโดรคาร์บอน เช่น กรดไขมัน อิมิตัวและไม่อิมิตัว โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดแอมฟิพาติกจึงสามารถละลายได้ดีทั้งในส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว (Hausmann et al., 2014)

ในปัจจุบัน สารลดแรงตึงผิวชีวภาพถูกสนใจอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีการผลิตได้จากจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ รา ทำให้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีความปลอดภัยกว่าสารลดแรงตึงผิวทางเคมี เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ย่อยสลายได้ง่าย (จันทรา ทองคำเภา, 2019) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพที่ดีจะสามารถลดแรงตึงผิว ของน้ำจาก 72 ได้เหลือน้อยกว่า 35 mN/m และลดแรงตึงผิวสัมผัสร่วม (Interfacial tension) จาก 40 ได้เหลือน้อยกว่า 1 mN/m (Santos et al., 2016) นอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังมีความหลากหลายทางโครงสร้าง ความเป็นพิษต่ำ ถูกย่อยสลายทางชีวภาพได้ รวมทั้งยังคงประสิทธิภาพการทำงานที่การแปรผันของอุณหภูมิ พีเอช และความเค็มได้ (Santos AS et al., 2016) คุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาสารกำจัดวัชพืชชีวภาพมีดังนี้

### 2.4.1 ความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์ (Critical Micellar Concentration, CMC)

ความเข้มข้นของไมเซลล์ (CMC) คือความเข้มข้นเริ่มต้นของสารลดแรงตึงผิวที่ทำให้เกิดการรวมตัวกันเป็นไมเซลล์ โดย CMC นั้นมีผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิว บนพื้นผิว ความหนาแน่น ความชุ่ม แรงดันออสโมติก การนำไฟฟ้า และการเปลี่ยนแปลงทางเคมี โดยเมื่อค่าเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยไม่ว่าจะสูงหรือต่ำกว่า CMC (ภาพที่ 5) ไมเซลล์ถูกกำหนดให้เป็นกลุ่มโมเลกุลที่กระจายตัวในสารละลายคอลลอยด์โดยจะหันส่วนหัวของสารลดแรงตึงผิวที่ชอบน้ำออกสู่น้ำ และส่วนหางที่ไม่ชอบน้ำจะถูกหันชนกันอยู่ภายในแกน (Sun et al., 2019) โดยทั่วไปมักพบไมเซลล์

ที่มีรูปร่างเป็นทรงกลมโตนจะมีเส้นผ่านศูนย์กลาง (ขนาด) หลายนาโนเมตร แต่เมื่อมีการรวมตัวระหว่างหลายโมเลกุลอาจทำให้เกิดรูปแบบโครงสร้างที่เป็นเอกลักษณ์ เช่น ทรงกลมขนาดเล็ก ทรงกระบอกยืด (Elongated Cylindrical) ไมเซลล์ทรงแท่ง (Prolate Ellipsoid) ทรงแบนราบขนาดใหญ่ (Flat Lamellar) และทรงกลมโพล (Vesicles) คุณสมบัติที่มีการรวมโมเลกุลกันเหล่านี้ควบคุมโดยดุลยภาพที่ค่าความชอบน้ำไม่ชอบน้ำ (Hydrophile-lipophile Balance, HLB) ของสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพ เมื่อทราบค่า CMC แล้วจะสามารถกำหนดความเข้มข้นในการใช้งานสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ (ภาพ 6) โดยเพื่อให้เกิดการละลายของสารออกฤทธิ์และสารที่ไม่ชอบน้ำในสารกำจัดวัชพืชชีวภาพได้ดีจึงจำเป็นต้องเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้นสูงกว่าค่า CMC ในขณะที่ประสิทธิภาพของ CMC เป็นตัววัดความสามารถในการลดแรงตึงผิว โดยที่ความเข้มข้นสูงกว่าและเท่ากับ CMC จะเป็นความเข้มข้นที่สามารถลดแรงตึงผิวได้มากที่สุด ดังนั้นจึงมีแนวโน้มที่จะเกิดการแผ่บนใบวัชพืช การเกาะติด และการซึมผ่าน ได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นต่ำกว่า CMC Santos et al. (2016) รายงานว่าค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมักจะอยู่ในช่วงระหว่าง 1 ถึง 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นอยู่กับโครงสร้างโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ทำการตรวจวัด Lin et al. (2017) รายงานค่า CMC ของ แรมโนลิพิด (Rhamnolipids) อยู่ที่ค่า 56 มิลลิกรัมต่อลิตร Elshikh et al. (2017) รายงานค่า CMC ของ แลคโทนิค โซโฟโรลิพิด (Lactonic sophorolipids) ที่ 48 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพ 10 ค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเกิด CMC

ที่มา : Vieira et al., 2021

#### 2.4.2 การเกิดอิมัลชัน (Emulsification Index)

มีการศึกษาคุณสมบัติการออกฤทธิ์ที่พื้นผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยมีรายละเอียดเกี่ยวกับลักษณะของการเกิดอิมัลชัน คือ การกระจายตัวของ ของเหลวหนึ่งชนิดที่ไม่สามารถผสมกัน ได้ ผ่านการก่อตัวของหยดขนาดไมโคร (Microdroplets) กระบวนการนี้เกิดจากการสร้างอนุภาคที่สามารถกระจายตัวในน้ำได้ คือ ไมเซลล์ ที่มีขนาด  $> 0.1$  มิลลิเมตร อิมัลชันส่วนใหญ่ มี 2 ประเภท ได้แก่ 1) อิมัลชันของน้ำในน้ำมัน (Water in oil emulsion, W/O) 2) อิมัลชันของน้ำมันในน้ำ (Oil in water emulsion, O/W) ความเสถียรในระบบอิมัลชันสามารถแปรผันได้จาก 2-3 วัน จนถึง 2-3 สัปดาห์ ผ่านการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โกลโคลิพิดหลายชนิดเป็นที่ทราบกันดีว่ามีการเกิดอิมัลชันที่ดี และสามารถละลายไฮโดรคาร์บอนในน้ำได้ง่าย เช่น โซโฟลิพิดและแรมโนลิพิด เป็นที่รู้จักสำหรับดัชนีการเกิดอิมัลชันที่สูงขึ้นและค่าแรงตึงผิวที่ลดลงได้ดี ในการศึกษาแรมโนลิพิดที่ผลิตจาก *Pseudomonas aeruginosa* AP02-1 พบว่าสามารถเกิดอิมัลชันกับน้ำมันพืชได้ในระหว่างการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดแรมโนลิพิด (Perfumo et al., 2006)

สารกำจัดวัชพืชชีวภาพที่จะพัฒนาในงานวิจัยนี้สนใจรูปแบบอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำจากการที่อิมัลชันสามารถละลายน้ำมันในไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวเป็นขนาดเล็กทำให้มีจุดเด่นทั้งการแผ่บนใบวัชพืช การเกาะติดบนใบวัชพืช และการซึมผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อวัชพืช (Bai et al., 2017) Knowles (2008) ได้มีรายงานว่าอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำกำลังได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากจำเป็นต้องลดหรือกำจัดตัวทำลายอินทรีย์ระเหยง่ายที่ใช้ละลายน้ำมันในสารกำจัดวัชพืช เพื่อการจัดการที่ปลอดภัยยิ่งขึ้น สารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มที่ไม่มีประจุและสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มโพลีเมอร์ ถูกนำมาใช้เพื่อสร้างอิมัลชันที่เสถียร การผสมสารลดแรงตึงผิวหลายชนิดร่วมกันมีประโยชน์จากการรวมสารลดแรงตึงผิวที่มี HLB ต่ำและสูงเพื่อให้ส่วนผสมของอิมัลชันของน้ำมันในน้ำมีค่า HLB เฉลี่ย 11-16 เพื่อความคงตัวของอิมัลชันที่เหมาะสมที่สุด ขนาดของไมเซลล์หรืออิมัลชันของน้ำมันในน้ำยังเป็นตัวบ่งชี้ที่ดีของความเสถียรของอิมัลชันและควรมีขนาดต่ำกว่า 2 ไมครอน (Tadros, 1995) นอกจากนี้ยังพบว่าแซนแทนกัมที่เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดหนึ่งจึงมักถูกนำมาใช้เพิ่มการคงตัวของอิมัลชันของน้ำมันในน้ำ (Wang et al., 2018)

#### 2.4.3 ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ

สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์นั้นย่อยสลายได้ยากจึงอาจจะทำให้นำไปสู่การสะสมของสารประกอบเหล่านี้ในสิ่งแวดล้อมและทำให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ผลิตจากจุลินทรีย์ จึงย่อยสลายทางชีวภาพได้ดี โดยมีการศึกษา

ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพของโซโฟโลลิพิดผลิตโดยยีสต์สายพันธุ์ *Candida bombicola* ที่ผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงการย่อยสลายทางชีวภาพของโซโฟโลลิพิดได้สูงกว่าเมื่อเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์หลังจากการบ่มเป็นระยะเวลา 8 วัน (Ahn et al., 2016) อีกทั้งยังพบว่าแรมโนลิพิดถูกย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ภายใต้สภาวะแอโรบิก และไม่ใช้ออกซิเจน แต่อย่างไรก็ตามสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ (Triton X-100) ถูกย่อยสลายบางส่วนภายใต้สภาวะแอโรบิกและไม่สลายตัวแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Liu et al., 2018) ดังนั้นในงานวิจัยนี้ที่จะใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นส่วนผสมหลักในสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ จึงมีความปลอดภัย ย่อยสลายได้ และไม่ตกค้างสิ่งแวดล้อม

#### 2.4.4 ความต่างชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ สามารถแบ่งชนิดได้ 2 แบบคือ 1) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ คือ แรมโนลิพิด ทรีฮาโลลิพิด โซโฟโลลิพิด ฟอสโฟลิพิด และเซอพेคติน เป็นต้น กลุ่มนี้มีคุณสมบัติการลดแรงตึงผิวได้ดี และ 2) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง คือ อิมัลชัน ไลโปซาน และเวสสิเคิล ซึ่งเป็นกลุ่มที่เกิดอิมัลชันได้ดี (Ibrahim Khan et al., 2019) (ตาราง 4) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยส่วนใหญ่สามารถมีได้ทั้งคุณสมบัติการลดแรงตึงผิวและการเกิดอิมัลชัน แต่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพแต่ละกลุ่มจะมีคุณสมบัติเด่นต่างกัน โดยส่วนใหญ่แล้วสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะลดแรงตึงผิวได้ดี ในขณะที่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มที่มีมวลโมเลกุลสูงจะก่อให้เกิดอิมัลชันได้ดี (Santos et al., 2016; Drakontis et al., 2020; Shakeri et al., 2020) ดังนั้น ในงานวิจัยนี้ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก *Brevibacterium casei* NK8 ซึ่งพบว่าเป็นชนิดผสมกันระหว่างลิโปเปปไทด์และฟอสโฟลิพิด ซึ่งอยู่ในกลุ่มมวลโมเลกุลต่ำ ดังนั้นเพื่อให้สารกำจัดวัชพืชชีวภาพมีคุณสมบัติเด่นทั้งการลดแรงตึงผิวและการเกิดอิมัลชัน งานวิจัยนี้จึงจะผสมแทนแทนกันซึ่งอยู่กลุ่มเดียวกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีมวลโมเลกุลสูง ตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพแต่ละชนิดมีดังนี้

1) แรมโนลิพิด (Rhamnolipids) สามารถลดแรงตึงผิวของน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพจาก 72 mN/m เป็น 27 mN/m ด้วย CMC ที่แตกต่างกัน 5-200 mg/L (Ceresa et al., 2015) มีส่วนหัวที่ชอบน้ำประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาล Rhamnose หนึ่งถึงสองโมเลกุล เรียกว่า Mono-rhamnolipid (monoRL) และ di-rhamnolipids (diRL) ตามลำดับ ในขณะที่ส่วนหางที่ไม่ชอบน้ำประกอบด้วยสายกรดไขมันหนึ่งหรือสองสายที่มีความยาวและความซับซ้อนที่ต่างกัน

2) โซโฟลลิพิด (Sphorolipids) ประกอบด้วยน้ำตาล sophorose ที่ชอบน้ำ 2 โมโนเมอร์ เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\beta$ -1,2 เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก กับ สายกรดไขมันไฮดรอกซีเลท C16 หรือ C18

3) ทรีฮาโลลิพิด (Trehalolipids) ประกอบด้วย Trehalose disaccharides ที่เป็นส่วนหัวที่ชอบน้ำ ติดกับส่วนหางที่ไม่ชอบน้ำเป็นกรดไขมัน (Mycolic acid) มีความหลากหลายทางโครงสร้างสูง ส่วนใหญ่ผลิตโดยสายพันธุ์ *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Mycobacterium* และ *Corynebacterium* (Rawat et al., 2020) Trehalolipids จาก *Arthrobacter* spp. และ *Rhodococcus erythropolis* พบว่าสามารถลดความตึงของพื้นผิว ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลือ 25 – 40 และ 1 – 5 mN/m ตามลำดับ (Santos et al., 2016)

4) Mannosylerythritol lipids (MEL) เป็นหนึ่งในสารลดแรงตึงผิวที่มีการผลิตจากน้ำมันพืช โดย *Pseudozyma antarctica* MEL มีลักษณะเฉพาะด้วยน้ำตาลแมนโนสที่เชื่อมกับกรดไขมัน และแบ่งย่อยตามความยาวของสายโซ่ของกรดไขมันที่ไม่ชอบน้ำ (Ribeiro et al., 2020)

5) ลิโปเปปไทด์ (Lipopeptide) เชื้อรา แบคทีเรีย ยีสต์ ผลิตลิโปเปปไทด์ เซอพาคติน อินทูลิน และ ฟิงจีซิน เป็นที่รู้จักกันว่าเป็นกลุ่มหนึ่งของลิโปเปปไทด์ โดยส่วนใหญ่มักผลิตจาก *Bacillus subtilis* (Hoffmann et al., 2021)

6) กรดไขมัน ฟอสโฟลิพิด และไขมัน (Fatty acids, phospholipids and neutral lipids) แบคทีเรียและยีสต์บางชนิดสามารถผลิตกรดไขมันและสารลดแรงตึงผิวฟอสโฟลิพิด ฟอสฟอรัสเป็นหนึ่งในองค์ประกอบโครงสร้างแบบไดนามิกของเยื่อหุ้มจุลินทรีย์ออกมาภายนอกเซลล์ได้

7) อิมัลชันและไลโปซาน (Emulsan และ Liposan) เมื่อพิจารณาถึงสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง โพลีเมอร์สามารถปรับเปลี่ยนคุณสมบัติสารละลายในน้ำได้ แม้ในระดับความเข้มข้นต่ำ เพื่อใช้เป็นสารเพิ่มความข้น สารช่วยกระจายตัว และความคงตัวของอิมัลชัน

#### ตาราง 4 สารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและสูง องค์ประกอบทางเคมีและจุลินทรีย์ที่ผลิต

น้ำหนักโมเลกุล	ประเภทของสารลดแรงตึงผิว	จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
น้ำหนักโมเลกุลต่ำ (Low molecular weight)	แรมโนลิพิด Rhamnolipids	<i>Pseudomonas</i> sp. <sup>1</sup>  <i>Aspergillus</i> sp. <sup>3</sup>	Phulpoto et al., 2021  Kiran et al., 2010

น้ำหนักโมเลกุล	ประเภทของสารลดแรงตึงผิว	จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
		<i>Planococcus</i> sp. <sup>1</sup>	Gaur et al., 2020
	ทรีฮาโลลิพิด	<i>Rhodococcus</i> sp. <sup>1</sup>	Bages-Estopa et al., 2018
	Trehalose lipids		
	โซโฟโรลิพิด	<i>Starmarella</i>	Ceresa et al., 2020
	Sophorolipids	<i>bombicala</i> <sup>2</sup> (previously <i>Candida bombicola</i> )	Kaur et al., 2019
	Mannosylerythritol lipids (MELs)	<i>Pseudozyma tsukubaensis</i> <sup>2</sup>	De Andrade et al., 2017
		<i>Ustilago maydis</i> <sup>3</sup>	Becker et al., 2021
	กลูโคส ลิพิด	<i>Alcanivorax borkumensis</i> <sup>1</sup>	Yakimov et al., 1998
	Glucose lipids		
	เซลโลไบโอส ลิพิด	<i>Pseudozyma aphidis</i> <sup>2</sup>	Morita et al., 2013
	Cellobiose lipids	and <i>P. hubeiensis</i> <sup>2</sup>	
	กรดไขมัน	<i>Corynebacterium lepus</i> <sup>1</sup>	Cooper et al., 1979
	Fatty acid		
	ฟอสโฟลิพิด	<i>Sphingobacterium</i> sp. <sup>1</sup>	Burgos-Díaz et al., 2011
	Phospholipid		
	เซอเฟคติน	<i>Bacillus subtilis</i> <sup>1</sup>	Arima et al., 1968
	Surfactin / iturine / fengycin		
	เซอเฟคติน	<i>Alcaligenes aquatilis</i> <sup>1</sup>	Yalaoui-Guellal et al., 2021
	Surfactin / fengycin		
	โพลีไมซิน	<i>Paenibacillus polymyxa</i> <sup>1</sup>	Muthusamy et al., 2008
	Polymyxines		
	วิสโคซิน	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <sup>1</sup>	Alsohim et al., 2014
	Viscosin		
	เซอราเวทติน	<i>Serratia marcescens</i> <sup>1</sup>	Sunaga et al., 2004
	Serrawettin		
น้ำหนักโมเลกุลสูง (High molecular	อิมัลชัน	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> RAG-1 <sup>1</sup>	Zosim et al., 1982
	Emulsan		



น้ำหนักโมเลกุล	ประเภทของสารลดแรงตึงผิว	จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
weight)	ไลโปซาน Liposan	<i>Candida lipolytica</i> <sup>2</sup>	Cirigliano et al., 1985
	เวสสิเคิล Vesicle	<i>Acinetobacter</i> sp. <sup>1</sup>	Kappeli et al., 1979

1 – แบคทีเรีย ; 2 – ยีสต์ ; 3 – เชื้อรา (filamentous fungus)

## 2.5 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

การใช้ประโยชน์วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถลดต้นทุน ลดของเสีย และลดการเผาไหม้ในพื้นที่เปิดโล่งได้ โดยพบว่ามีหลายงานวิจัยนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรหลายชนิดมาใช้เป็นสารตั้งต้น (ตาราง 4) โดยจะพบว่า มีการนำ ฟางข้าว กากบิบน้ำมันถั่วลิสง รำข้าวสาลี ชานอ้อย และกากบิฟางข้าว โดยได้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพออกมาหลายชนิด เช่น เซอร์เฟคติน ลิโปเปปไทด์ ไกลโคลิพิด แรมโนลิพิด และโซโฟลิพิด ตามลำดับ ดังนั้นในหลายงานวิจัยจะมีการนำวัสดุเหลือทิ้งมาใช้ โดยจะถูกนำมาปรับสภาพเพื่อให้ได้น้ำตาลออกมาเป็นสารตั้งต้นให้กับจุลินทรีย์ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เช่นเดียวกับงานวิจัยนี้ใช้วิธีการปรับสภาพด้วยต่างร่วมกับไฮโดรเทอร์มอล เนื่องจากการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนั้นจะต้องมีการผ่านกระบวนการนึ่งฆ่าเชื้อพร้อมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ Horikoshi medium ที่มีพีเอช 10 จากนั้นจึงเติม *Brevibacterium casei* NK8 เป็นแบคทีเรียชอบด่างที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ทันทีโดยไม่ต้องปรับพีเอชเป็นกลางจึงเป็นการลดความซับซ้อนของกระบวนการผลิตได้ ส่วนรูปแบบการหมักเพื่อผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ งานวิจัยนี้สนใจวิธีการหมักแบบอาหารแข็ง (Solid state) โดยข้อดีของวิธีการหมักนี้คือสภาวะการหมักคล้ายคลึงกับแหล่งที่มาของแบคทีเรียทำให้มีประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสูง และสามารถใส่สารตั้งต้นซ้ำได้ง่ายจึงเป็นการลดต้นทุนจากการลดระยะเวลาการเตรียมหัวเชื้อไปได้

ในปัจจุบันวิธีการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นสารตั้งต้นมีสองกระบวนการ คือ 1) กระบวนการหมักแบบอาหารเหลว (Submerged fermentation, SMF) และ 2) กระบวนการหมักแบบอาหารแข็ง (Solid-state fermentation, SSF) โดยการหมักแบบอาหารแข็งเป็นกระบวนการทางจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวของแข็งของลิกโนเซลลูโลสเหลือทิ้ง มีคุณสมบัติในการดูดซับ หรือ กักเก็บของเหลว โดยมีสารอาหารหรือไม่มีสารอาหารที่ละลายน้ำได้ (He

et al., 2019; Pandey, 2003) ส่วนการหมักแบบอาหารเหลว เป็นกระบวนการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่มีการใช้ปริมาณอัตราส่วนของน้ำอาหารปริมาณมาก ทำให้ลิกโนเซลลูโลสแขวนลอยดังนั้นกระบวนการของจุลินทรีย์จึงไม่ได้เกิดขึ้นที่พื้นผิวของแข็งของลิกโนเซลลูโลส และทำให้อาจจะมีค่าใช้จ่ายสูงกว่าการหมักแบบอาหารแข็ง (Sadh et al., 2018) เนื่องจากปริมาณน้ำอาหารที่ต่ำในการหมักแบบอาหารแข็งมีประโยชน์อย่างมากต่อการลดต้นทุนของกระบวนการหมักเนื่องจากใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ

ตาราง 5 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากวัสดุภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง

จุลินทรีย์	ประเภทของสาร ลดแรงตึงผิว	วัสดุ	ขนาดการผลิต	อ้างอิง
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> XZ-173	เซอร์เฟคติน	แป้งข้าวเหลืองและ ฟางข้าว	พลาสติก	Zhu et al., 2012
			เครื่องปฏิกรณ์ ชีวภาพแบบเติม อากาศและเขย่า อย่างแรง (9 กก.)	Zhu et al., 2013
<i>Bacillus cereus</i> SNAU01	ลิโปเปปไทด์	กากบีบน้ำมันถั่วลิสง	พลาสติก	Nalini et al., 2016
<i>Bacillus subtilis</i> DM- 03	ลิโปเปปไทด์	เปลือกมันฝรั่ง	พลาสติก	Das และ Mukherjee, 2007
<i>Bacillus subtilis</i> NB22	Iturin A	กากข้าวเหลือง	ขวด 8 L (3 kg)	Ohno et al., 1996
<i>Bacillus subtilis</i> RB14-CS	Iturin A	กากข้าวเหลือง	พลาสติก	Mizumoto et al., 2006

จุลินทรีย์	ประเภทของสาร ลดแรงตึงผิว	วัสดุ	ขนาดการผลิต	อ้างอิง
<i>Bacillus subtilis</i> SPB1	ลิโพเปปไทด์	แป้งปลาทูน่า และ แป้งมันฝรั่ง	พลาสติก	Mnif et al., 2013
<i>Bacillus subtilis</i> iso 1	Iturin A	กากถั่วเหลือง , รำ ข้าวสาลี และ เปลือก ข้าว	คอแลมน์	Piedrahita- Aguirre et al., 2014
<i>Bacillus subtilis</i> TrigorCor 1448	Iturin A, fengycin	Wheat middlings	เครื่องปฏิกรณ์ ชนิดแพคเกจ	Pryor et al., 2007
<i>Candida</i> <i>guilliermondii</i>	ไม่ระบุแน่ชัด	กากถั่วเหลือง	พลาสติก	Sitohy et al., 2010
<i>Candida tropicalis</i>	ไม่ระบุแน่ชัด	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป เหลือทิ้ง	พลาสติก	Ribeaux et al., 2020
<i>Nocardiopsis</i> sp. MSA13A	ไม่ระบุแน่ชัด	กากน้ำตาลที่ผ่านการ บำบัดแล้ว	พลาสติก	Kiran et al., 2014
<i>Nocardiopsis</i> <i>lucentensis</i> MSA04	ไกลโคลิพิด	รำข้าวสาลี	พลาสติก	Kiran et al., 2014
<i>Pleurotus ostreatus</i>	ไม่ระบุแน่ชัด	เปลือกเมล็ด ทานตะวัน และ น้ำมันเมล็ด ทานตะวัน	พลาสติก	Velioglu และ Urek, 2016
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Hydrophobin like proteins	งา และ กากบีบ น้ำมันมะพร้าว	พลาสติก	Kulkarni et al., 2020
<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> IRMD- 2010	แรมโนลิพิด	น้ำมันจุกข้าวโพด และ รำข้าวโพด	เครื่องปฏิกรณ์ ชนิดแพคเกจ	Ranjbar และ Hejazi, 2019

จุลินทรีย์	ประเภทของสาร ลดแรงตึงผิว	วัสดุ	ขนาดการผลิต	อ้างอิง
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFPEDA 614	แรมโนลิพิด	ชานอ้อย และ รำข้าวโพด	พลาสติก	Camilios-Neto et al., 2011
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> RG18	ไม่ระบุแน่ชัด	กากเมล็ดเรพซี้ด รำข้าวสาลี และกลีเซอรอล	พลาสติก	Wu et al., 2017
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SS14	แรมโนลิพิด	กากข้าวเอทานอล	พลาสติก	Borah et al., 2019
<i>Serratia rubidaea</i> SNAU02	แรมโนลิพิด	กากบีบน้ำมันมะฮั้ว	พลาสติก	Nalini และ Parthasarathi, 2014
<i>Starmarella bombicola</i>	โซโฟโลลิพิด	อาหารเสริม สุขอนามัยเสริมด้วยน้ำตาลและไขมัน , น้ำมันที่ผ่านการแยก ไข และกากน้ำตาล ปีท	เครื่องปฏิกรณ์ ชนิดแพคเบต	Cerda et al., 2019
<i>Starmella Bombicola</i> ATCC 22,214	โซโฟโลลิพิด	เค้กน้ำมัน ที่ผ่านการ แยกไข, กากน้ำตาลปีทและ กากบิบฟางข้าวสาลี ที่ผ่านการแยกไข , กากน้ำตาลปีทและ ฟางข้าวสาลี	เครื่องปฏิกรณ์ ชนิดแพคเบต	Jimenez-Penalver et al., 2020
				Jimenez-Penalver et al., 2016
				Rodriguez et al., 2020

จุลินทรีย์	ประเภทของสาร ลดแรงตึงผิว	วัสดุ	ขนาดการผลิต	อ้างอิง
<i>Trametes versicolor</i> CECT 20,817	ไม่ระบุแน่ชัด	ของเหลือจากการะ บวนการทำน้ำมัน มะกอก, รำข้าวสาลี และ เมล็ดมะกอกบด	พลาสติก	Lourenco et al., 2018

ที่มา : Banat et al., 2021

## 2.6 ประโยชน์ของลิกนินและสารประกอบฟีนอลที่ได้จากการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสำหรับใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนอกจากจะได้น้ำตาลเป็นสารตั้งต้นยังมีผลิตภัณฑ์อื่น (By products) ที่ยังออกมาจากกระบวนการผลิตด้วย เช่น ลิกนิน และสารประกอบฟีนอล เป็นต้น โดยลิกนิน (Lignin) เป็นสารประกอบระหว่างคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน รวมกันเป็นหน่วยย่อยหลายชนิด มีสูตรโมเลกุลคือ  $C_{10}H_{12}O_4$  จนกลายเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ลิกนินมีคุณสมบัติที่ไม่ละลายน้ำ แข็งแรงทนทานสูง ประโยชน์ทางอ้อมของลิกนิน คือมีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิวได้ มีโครงสร้างโมเลกุลขนาดใหญ่ และสามารถเกิดอิมัลชันได้ดี อีกทั้งยังมีการวัดแรงตึงผิวพบว่าลิกนินมีคุณสมบัติในการลดแรงตึงผิวได้ดี และสามารถเป็นสารลดแรงตึงผิวร่วมได้ (Delgado et al., 2019) ส่วนสารประกอบฟีนอลเป็นตัวอย่างที่พบบ่อยที่สุดของเมตาบอไลต์ทุติยภูมิที่เกี่ยวข้องกับ อัลลีโลพาธีจากพืช และกิจกรรมที่เป็นพิษต่อพืชเป็นอย่างดี (Einhellig, 2004; Li et al., 2010; De Albuquerque et al., 2011; Rial et al., 2014; Scavo et al., 2019) อีกทั้งยังมีการระบุสารประกอบฟีนอลิก และการศึกษาความเป็นพิษต่อพืชสามารถนำไปสู่การพัฒนาสารกำจัดวัชพืชจากธรรมชาติชนิดใหม่ได้ (Flamini, 2012; Dayan et al., 2012; Cordeau et al., 2016) ทำให้การที่มีสารประกอบฟีนอลผสมไปกับลิกนินอาจจะทำให้เสริมประสิทธิภาพการกำจัดวัชพืชของสารสกัดจากใบมะม่วงได้ดียิ่งขึ้น จาก(ตาราง 5) จะพบว่าเปลือกทุเรียนมีสัดส่วนเยาะทั้ง เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน และเมื่อผ่านการปรับสภาพเปลือกทุเรียน โดยเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ถูกปรับเปลี่ยนทำให้ได้ น้ำตาล ที่เป็นสารตั้งต้นให้จุลินทรีย์นำไปใช้เจริญเติบโตและผลิตสารลดแรงตึงผิว

ชีวภาพ ส่วนลิกนินมีปริมาณมากเช่นเดียวกัน และมีแนวโน้มในการสกัดแยกและนำไปพัฒนาสูตรสารกำจัดวัชพืชชีวภาพได้

งานวิจัยนี้จึงเป็นการนำผลิตผลพลอยได้ที่เกิดจากการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมาใช้ประโยชน์โดยไม่ต้องทำการกำจัดทิ้ง โดยสามารถลิกนินเป็นสารลดแรงตึงผิวผสมในการเพิ่มประสิทธิภาพสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ส่วนสารประกอบฟีนอลที่ออกจากเปลือกทุเรียนจะมีชนิดต่างจากที่ได้จากสารสกัดจากใบมะม่วง จึงอาจจะช่วยเสริมฤทธิ์ให้เกิดการกำจัดกาบเจอร์กูเตบโตของวัชพืชได้ดียิ่งขึ้น

ตาราง 6 เปรียบเทียบองค์ประกอบเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ของวัสดุกลุ่มลิกโนเซลลูโลสเหลือทิ้งทางการเกษตร

วัสดุ	ลิกโนเซลลูโลส			อ้างอิง
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน	
ฟางข้าวสาลี	49.7	26.4	8.4	Delges et al., 1990
ฟางข้าว	32	24	13	Roberto et al., 1994
ผักตบชวา	18	48	3	Aswathy et al., 2010
ใบข้าวโพด	45	35	15	Howard et al., 2003
ใบข้าวโพด	33.64	24.4	8.65	Xing et al., 2009
สับปะรด	64.57	4.59	20.55	ณัตติยา จันทวงษา et al., 2553
เปลือกทุเรียน	34.28	8.29	35.16	ณัตติยา จันทวงษา et al.,

วัสดุ	ลิกโนเซลลูโลส			อ้างอิง
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน	
				2553
เปลือกทุเรียน	33.3	17.7	8.5	Wang et al., 2022
เปลือกทุเรียน	25.7	18.5	15.9	Siwina et al., 2021
เปลือกทุเรียน	11.8	33.7	5.9	Zhao et al., 2017
เปลือกทุเรียน	20.2	23.4	10.6	Shen et al., 2019
เปลือกสับปะรด	19.0	10.2	11.5	Wang et al., 2022
ต้นกก	21.7	18.4	2.8	Rosado et al., 2021
ต้นกก	20.8	29.3	2.5	Rosado et al., 2021

## 2.7 การประยุกต์ใช้อิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพร่วมกับน้ำมันในสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ

อิมัลชันคือกระบวนการเกิดการรวมตัวของของเหลวสองชนิดที่มีความไม่เข้าหรือผสมเป็นเนื้อเดียวกัน โดยในสภาวะปกติจะมีการแยกวัฏภาค โดยจะต้องมีการรวมตัวกันเป็นอิมัลชัน โดยมีตัวประสาน หรือเรียกว่า สารก่ออิมัลชัน โดยส่วนใหญ่ คือ สารลดแรงตึงผิว ทั้งนี้มีการจำแนกชนิดอิมัลชันตามขนาดของอิมัลชัน แบ่งได้ 3 ประเภท คือ

- 1) แมโครอิมัลชัน (Macroemulsion) คือ อิมัลชันมีการใช้อย่างแพร่หลาย มีขนาดใหญ่กว่า 400 นาโนเมตร
- 2) นาโนอิมัลชัน (Nanoemulsion) คือ อิมัลชันขนาดเล็ก มีขนาดอยู่ในช่วงระหว่าง แมโครอิมัลชัน และไมโครอิมัลชัน ขนาดอยู่ในช่วง 20-500 นาโนเมตร

3) ไมโคร อิมัลชัน (Microemulsion) จะมีการกระจายตัว ลักษณะใส อนุภาคนาขนาดอยู่ในช่วงเล็กกว่า 100 นาโนเมตร

แต่อย่างไรก็ตาม การเกิดอิมัลชันก็ต้องประกอบไปด้วย 3 องค์ประกอบ คือ น้ำ น้ำมัน สารก่ออิมัลชัน หรือสารลดแรงตึงผิว โดยจะส่งผลให้ระบบที่ไม่เสถียร เกิดความเสถียรได้ดีมากขึ้น และในเวลาที่มากขึ้น (จันทรา ทองคำภี, 2562) วิธีในการส่งเสริมอิมัลชันได้ดี จำเป็นจะต้องมีการผสมสารอื่นๆ ร่วมด้วย ได้แก่ 1) การเติมอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyte) เมื่อมีการเติมอิเล็กโทรไลต์ อาทิ  $\text{Na}^+$  ร่วมกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่หุ้มประจุ เมื่อมีการเติม  $\text{Na}^+$  ผสม จะทำให้เกิดการประสานระหว่างประจุลบของสารลดแรงตึงผิวที่ด้านบนหัวโมโนเมอร์ จึงทำให้ส่วนหัวมีแรงผลักต่อกันระหว่างประจุที่น้อยลง ทำให้เกิดการรวมตัวของไมเซลล์ที่เพิ่มมากขึ้น 2) การเติมสารลดแรงตึงผิวผสม (Mixed surfactant) โดยการเติมสารลดแรงตึงผิวร่วม จะทำหน้าที่ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว โดยจะเป็นการเข้าไปแทรกบริเวณระหว่างไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวจึงทำให้เกิดการรวมตัวของไมเซลล์ที่เล็กลงกว่าปกติที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวผสม (Bai et al., 1997)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ไปผสมกับแซนแทนกัมที่เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มโพลีเมอร์โมเลกุลใหญ่ช่วยเพิ่มความเสถียรของอิมัลชัน รวมทั้งยังผสมลิกนินที่เป็นผลผลิตพลอยได้ลงไปด้วยเพื่อส่งเสริมประสิทธิภาพการเกิดไมเซลล์และอิมัลชัน ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าระบบของอิมัลชันที่จะเกิดขึ้นในงานวิจัยนี้ก็มาจากการผสมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลายชนิด นอกจากนี้จะมีการแปรผันความเข้มข้นของ อิเล็กโทรไลต์ เช่น โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride, NaCl) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชันได้มากขึ้น ส่วนของน้ำมันที่จะใช้ในการพัฒนาอิมัลชันในงานวิจัยนี้สนใจน้ำมันพืชที่หาได้ง่ายในประเทศไทย เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเกาะติดและเสริมการออกฤทธิ์กำจัดวัชพืช

ดังตาราง 6 สรุปข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ พบว่างานวิจัยของ Batish et al. (2004) มีการใช้น้ำมันยูคาลิปตัสเป็นสารกำจัดวัชพืช โดยศึกษาค่า Lethal Concentration fifty (LC50) มีการยับยั้ง ข้าวสาลี ข้าวโพด แรดิช ซีเล็คเทค หย้าปล้อง ละมาน ผักโขม ได้ที่ค่า 0.32 , 0.41 , 1.20 , 0.53 และ 0.40 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ Vaughn et al. (2014) มีการใช้น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้เป็นสารกำจัดวัชพืชร่วมกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ อีกทั้งได้เปรียบเทียบกับการใช้สารลดแรงตึงผิวทางเคมี และสารยับยั้งวัชพืชทางเคมี โดยทดสอบกับมะขามแขก เมื่อวิเคราะห์ค่า Herbicide damage ratings (HDR) หลังการพ่นแล้วพบว่า ชุดควบคุมที่ไม่พ่นสารกำจัดวัชพืชและสารลดแรงตึงผิว มีค่า HDR เท่ากับ 0 นั่นคือไม่มีการยับยั้งวัชพืช การใช้สารลดแรงตึงผิวเคมี Polyoxyethylene tallow amine (POEA) T15 ผสมกับ



น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ มีค่า HDR เท่ากับ 6 และการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก *C. kuoi* sophorolipid (Ck) ผสมกับน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ มีค่า HDR เท่ากับ 7 เมื่อมีการทดสอบกับมะขามแขก และเมื่อมีการทดสอบโดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้เพียงอย่างเดียวให้ค่าเท่ากับ 20 และมีการนำน้ำมันตะไคร้ผสมกับสารลดแรงตึงผิวทางเคมี POEA T15 ให้ค่าเท่ากับ 60 และยังมีการนำน้ำมันตะไคร้มาผสมกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 2 ชนิด คือ Ck และ Sb ให้ค่าเท่ากับ 77 และ 66 ตามลำดับ จึงเห็นได้ว่าจากผลการทดลองนี้ เมื่อมีการผสมทั้งสารออกฤทธิ์ที่ได้จากน้ำมันหอมระเหย และ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เมื่อทดสอบกับมะขามแขก พบว่า ได้ค่าสูงกว่า เมื่อเทียบกับ ชุดการทดลองที่ไม่ผสมสารทั้งสองชนิดเข้าด้วยกัน จึงเห็นได้ว่า ในส่วนชุดทดลองที่มีการผสมสารออกฤทธิ์จากน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ กับ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มีประสิทธิภาพการกำจัดวัชพืชดีกว่าชุดการทดลองที่ใช้สารกำจัดวัชพืชทางเคมี ทั้งแบบไม่ผสมและผสมกับสารลดแรงตึงผิวเคมี อย่างไรก็ตามน้ำมันหอมระเหยที่มีในตลาดยังมีราคาสูงจึงอาจทำให้ต้นทุนของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพค่อนข้างสูงและไม่คุ้มกับการนำมาใช้ของเกษตรกร

Toderò et al. (2018) ทดสอบการใช้น้ำมันปาล์มและสารกำจัดวัชพืชจากเชื้อรา *Phoma* sp. ผสมร่วมกับสารลดแรงตึงผิวทางเคมี 2 ชนิดผสมกันคือ Tween 80 และ Span 80 จากนั้นทดสอบการฉีดพ่นกับวัชพืช 3 ชนิด คือ ดอกบานไม่รู้รุ่ย (*Amaranthus retroflexus*) ปีกนกไส้ (*Bidens Pilosa*) และ ฮอร์สวูด (*Conyza canadensis*) ด้วยวิธีการทดสอบความเป็นพิษต่อวัชพืช (Phytotoxicity) ได้ค่าในช่วง 60-80% 20-40% และ 40-60 % ตามลำดับ นอกจากนี้ยังศึกษาผลของอัตราการฉีดพ่นโดยพบว่าที่การฉีดพ่น 300 ลิตรต่อเฮกแตร์ ช่วยให้เกิดความเป็นพิษต่อดอกบานไม่รู้รุ่ย มากที่สุด คือ 60-80%

Hodge et al. (2019) ทดสอบการใช้น้ำมันพืชในการกำจัดวัชพืช 4 ชนิด คือ น้ำมันเรพซิด น้ำมันแฟลกซ์ น้ำมันมะกอก และน้ำมันดอกทานตะวัน โดยเปรียบเทียบทั้งกับน้ำมันพืชที่ผ่านกระบวนการทำบริสุทธิ์และไม่ผ่านกระบวนการทำบริสุทธิ์ และทดสอบกับวัชพืช 6 ชนิดคือ แคลิฟอร์เนียป๊อปปี (*Eschscholzia californica* Cham.) โคลเวอร์สีขา (*Trifolium repens* L.) อลิสซัม (*Lobularia maritima*(L.) Desv.) ลูปินสีน้ำเงิน (*Lupinus angustifolius* L.) มัสตาร์ด (*Sinapis alba* L.) และ ไรย์ (*Avena sativa* L.) ด้วยวิธีการวิเคราะห์ค่าอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ (%) จากผลการทดลอง พบว่า ทั้งน้ำมันพืชที่ผ่านกระบวนการทำบริสุทธิ์และไม่ผ่านกระบวนการทำบริสุทธิ์มีประสิทธิภาพการกำจัดวัชพืชใกล้เคียงกัน ส่วนน้ำมันพืชแต่ละชนิดจะมีผลกำจัดวัชพืชต่างกัน โดยพบว่าแคลิฟอร์เนียป๊อปปีถูกกำจัดการเจริญเติบโตได้มากที่สุดจากน้ำมัน

แฟลกซ์ โคลเวอร์สีขาวถูกกำจัดการเจริญเติบโตได้มากที่สุดจากน้ำมันดอกทานตะวัน อลิสซัมถูกกำจัด  
การเจริญเติบโตได้มากที่สุดจากน้ำมันแฟลกซ์ ลูปินสีน้ำเงินถูกกำจัดการเจริญเติบโตได้มากที่สุดจาก  
น้ำมันดอกทานตะวัน มัสตาร์ดจากน้ำมันแฟลกซ์ โอ๊ตถูกกำจัดการเจริญเติบโตได้มากที่สุดจากน้ำมัน  
มะกอก นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้น้ำมันพืชสามารถกำจัดวัชพืชได้ดีในกลุ่มใบกว้าง ส่วนวัชพืชกลุ่มใบ  
แคบจะยังมีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชไม่เท่าที่ควร ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาสูตรและ  
ผสมส่วนผสมที่ครอบคลุมทั้งวัชพืชกลุ่มใบแคบและใบกว้าง



ตาราง 7 การประยุกต์ใช้มีลชันของสารลดแรงตึงผิวร่วมกับน้ำมันพืชและน้ำมันหอมระเหยสำหรับกำจัดวัชพืช

สารออกฤทธิ์	สารลดแรงตึงผิว	วัชพืช	การทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดวัชพืช	เอกสารอ้างอิง
น้ำมันยูคาลิปตัส ( <i>E. citriodora</i> )	-	ข้าวสาลี ( <i>Triticum aestivum</i> L.)	LC50 0.32 mg/l	
น้ำมันยูคาลิปตัส ( <i>E. citriodora</i> )	-	ข้าวโพด ( <i>Zea mays</i> L.)	LC50 0.41 mg/l	
น้ำมันยูคาลิปตัส ( <i>E. citriodora</i> )	-	แรดิช ( <i>Raphanus sativus</i> L.)	LC50 1.20 mg/l	Batish et al., 2004
น้ำมันยูคาลิปตัส ( <i>E. citriodora</i> )	-	ซีเหล็กเทศ ( <i>cassia occidentalis</i> L.)	LC50 0.53 mg/l	
น้ำมันยูคาลิปตัส ( <i>E. citriodora</i> )	-	หญ้าปล้องงฆมาน ( <i>Echinochloa crus-galli</i> [L.]	LC50 0.40 mg/l	

สารออกฤทธิ์	สารลดแรงตึงผิว	วัชพืช	การทดสอบประสิทธิภาพกำจัดวัชพืช	เอกสารอ้างอิง
น้ำมันยูคาลิปตัส ( <i>E. citriodora</i> )	-	Beauv.) ผักโขม ( <i>Amaranthus viridis</i> L.)	LC50 0.17 mg/l	
น้ำ + 4% (v/v) น้ำมัน ตะไคร้	-	มะขามแขก	HDR 0	
-	1% POEA T15	มะขามแขก	HDR 6	
-	1% <i>C. kuoi</i> sophorolipid (Ck)	มะขามแขก	HDR 7	
-	1% <i>S. bombicola</i> sophorolipid (Sb)	มะขามแขก	HDR 3	Vaugh et al., 2014
4% (v/v) น้ำมันตะไคร้	-	มะขามแขก	HDR 20	
4% (v/v) น้ำมันตะไคร้	1% POEA T15	มะขามแขก	HDR 60	
4% (v/v) น้ำมันตะไคร้	1% <i>C. kuoi</i> sophorolipid (Ck)	มะขามแขก	HDR 77	

สารออกฤทธิ์	สารลดแรงตึงผิว	วัสดุพืช	การทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดวัชพืช	เอกสารอ้างอิง
4% (v/v) น้ำมันตะไคร้	1% <i>S. bombicola</i> sophorolipid (Sb)	มะขามแขก	HDR 66	
น้ำ + 4% (v/v) น้ำมันตะไคร้	-	ข้าวโพด	HDR 0	
	1% POEA T15	ข้าวโพด	HDR 6	
	1% <i>C. kuoi</i> sophorolipid (Ck)	ข้าวโพด	HDR 0	
	1% <i>S. bombicola</i> sophorolipid (Sb)	ข้าวโพด	HDR 0	
4% (v/v) น้ำมันตะไคร้	-	ข้าวโพด	HDR 18	
4% (v/v) น้ำมันตะไคร้	1% POEA T15	ข้าวโพด	HDR 35	
4% (v/v) น้ำมันตะไคร้	1% <i>C. kuoi</i> sophorolipid (Ck)	ข้าวโพด	HDR 50	
4% (v/v) น้ำมันตะไคร้	1% <i>S. bombicola</i> sophorolipid	ข้าวโพด	HDR 53	

สารออกฤทธิ์	สารลดแรงตึงผิว	วัสดุพืช	การทดสอบประสิทธิภาพกำจัดวัชพืช	เอกสารอ้างอิง
น้ำ + 4% (v/v) น้ำมันตะไคร้	(Sb)	มะขามแขก	HDR 0	
-	1% POEA T15	มะขามแขก	HDR 4	
-	1% <i>C. kuoi</i> sophorolipid (Ck)	มะขามแขก	HDR 6	
-	1% <i>S. bombicola</i> sophorolipid (Sb)	มะขามแขก	HDR 0	
1 mg/ml PT (glufosinate-ammonium)	-	มะขามแขก	HDR 16	
1 mg/ml PT (glufosinate-	1% POEA T15	มะขามแขก	HDR 63	

สารออกฤทธิ์	สารลดแรงตึงผิว	วัสดุพืช	การทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดวัชพืช	เอกสารอ้างอิง
ammonium)				
1 mg/ml PT (glufosinate-ammonium)	1% <i>C. kuoi</i> sophorolipid (Ck)	มะขามแขก	HDR 93	
1 mg/ml PT (glufosinate-ammonium)	1% <i>S. bombicola</i> sophorolipid (Sb)	มะขามแขก	HDR 78	
น้ำ + 4% (v/v) น้ำมันตะไคร้	-	ข้าวโพด	HDR 0	
-	1% POEA T15	ข้าวโพด	HDR 2	
-	1% <i>C. kuoi</i> sophorolipid (Ck)	ข้าวโพด	HDR 1	
-	1% <i>S. bombicola</i> sophorolipid	ข้าวโพด	HDR 0	

สารออกฤทธิ์	สารลดแรงตึงผิว	วิธีพืช	การทดสอบประสิทธิภาพกำจัดวัชพืช	เอกสารอ้างอิง
	(Sb)			
1 mg/ml PT (glufosinate-ammonium)	-	ข้าวโพด	HDR 13	
1 mg/ml PT (glufosinate-ammonium)	1% POEA T15	ข้าวโพด	HDR 34	
1 mg/ml PT (glufosinate-ammonium)	1% <i>C. kuoi</i> sophorolipid (Ck)	ข้าวโพด	HDR 37	
1 mg/ml PT (glufosinate-ammonium)	1% <i>S. bombicola</i> sophorolipid (Sb)	ข้าวโพด	HDR 9	



สารออกฤทธิ์	สารลดแรงตึงผิว	วัชพืช	การทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดวัชพืช	เอกสารอ้างอิง
ammonium)				
น้ำมันปาล์ม + Culture filtrate from <i>Phoma</i> sp.	Span 80 + Tween 80	ดอกบานไม่รู้โรย ( <i>Amaranthus retroflexus</i> )	ความเข้มข้นต่อวัชพืช 60-80 %	Todero et al., 2018
น้ำมันปาล์ม + Culture filtrate from <i>Phoma</i> sp.	Span 80 + Tween 80	ปีกนกไล่ ( <i>Bidens Pilosa</i> )	ความเข้มข้นต่อวัชพืช 20-40 %	
น้ำมันปาล์ม + Culture filtrate from <i>Phoma</i> sp.	Span 80 + Tween 80	อีร์สวิต ( <i>Conyza canadensis</i> )	ความเข้มข้นต่อวัชพืช 40-60 %	
น้ำมันทีแปรรูป และ น้ำมันดิบ	-	แคลีฟอร์เนียปีอบี้ ( <i>Eschscholzia californica</i> )	อัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ (%)	Hodge et al., 2019

สารออกฤทธิ์	สารลดแรงตึงผิว	พืช	การทดสอบประสิทธิภาพกำจัดวัชพืช	เอกสารอ้างอิง
น้ำมันเรพซีด		โคเลเวอร์ลีทาว ( <i>Trifolium repens</i> L.) อติสซั่ม ( <i>Lobularia maritima</i> (L.) Desv.) ดูปินสีน้ำเงิน ( <i>Lupinus angustifolius</i> L.) มัสตาร์ด ( <i>Sinapis alba</i> L.)	-  25% & 45%  83% 100%  83% 65%	
		ไธต		
		( <i>Avena sativa</i> L.)		

สารออกฤทธิ์	สารลดแรงตึงผิว	พืชพืช	การทดสอบประสิทธิภาพ กำจัดวัชพืช	เอกสารอ้างอิง
น้ำมันแปรรูป และ น้ำมันดิบ	-	แคสซิโพรเนียปอปปี้ ( <i>Eschscholzia californica</i> Cham.)	92% 100%	
		โคลเวอร์สีขาว ( <i>Trifolium repens</i> L.)	19% 18%	
น้ำมันแฟลกซ์		อลิสซั่ม ( <i>Lobularia maritima</i> (L.) Desv.)	40% 40%	
		ดูป็นสีน้ำเงิน ( <i>Lupinusangustifolius</i> L.)	0% 19%	
			120% 98%	
				มัสตาร์ด

สารออกฤทธิ์	สารลดแรงตึงผิว	พืช	การทดสอบประสิทธิภาพ กำจัดวัชพืช	เอกสารอ้างอิง
น้ำมันแปรรูป และ น้ำมันดิบ น้ำมันมะกอก		ไ้ต ( <i>Sinapis alba</i> L.)	51% 65%	
		( <i>Avena sativa</i> L.)	100% 100%	
		แคลิฟอร์เนียปีบี่ ( <i>Eschscholzia californica</i> Cham.)	30% 20%	
		โคเลเวอร์สีเทา ( <i>Trifolium repens</i> L.)	21% 21%	
		อลิสซั่ม ( <i>Lobularia maritima</i> (L.)	25% 40%	

สารออกฤทธิ์	สารลดแรงตึงผิว	พืช	การทดสอบประสิทธิภาพ กำจัดวัชพืช	เอกสารอ้างอิง
		(Desv.) คูปินสีน้ำเงิน ( <i>Lupinus angustifolius</i> L.) มัสตาร์ด ( <i>Sinapis alba</i> L.) โยเอิต ( <i>Avena sativa</i> L.)	80% 110% 75% 48% 90% 92%	
น้ำมันแปรรูป และ น้ำมันดิบ	-	แคลิฟอร์เนียบ็อบบี้	31% 30%	
น้ำมันดอกทานตะวัน		( <i>Eschscholzia californica</i> )		

Cham.)

โคลเวอร์สีขาว 20% 21%

(*Trifolium repens* L.)

อลิสซั่ม

42% 32%

(*Lobularia maritima*(L.)

Desv.)

ลูปินสีน้ำเงิน

100% 90%

(*Lupinus angustifolius* L.)

มัสตาร์ด

88% 80%

(*Sinapis alba* L.)

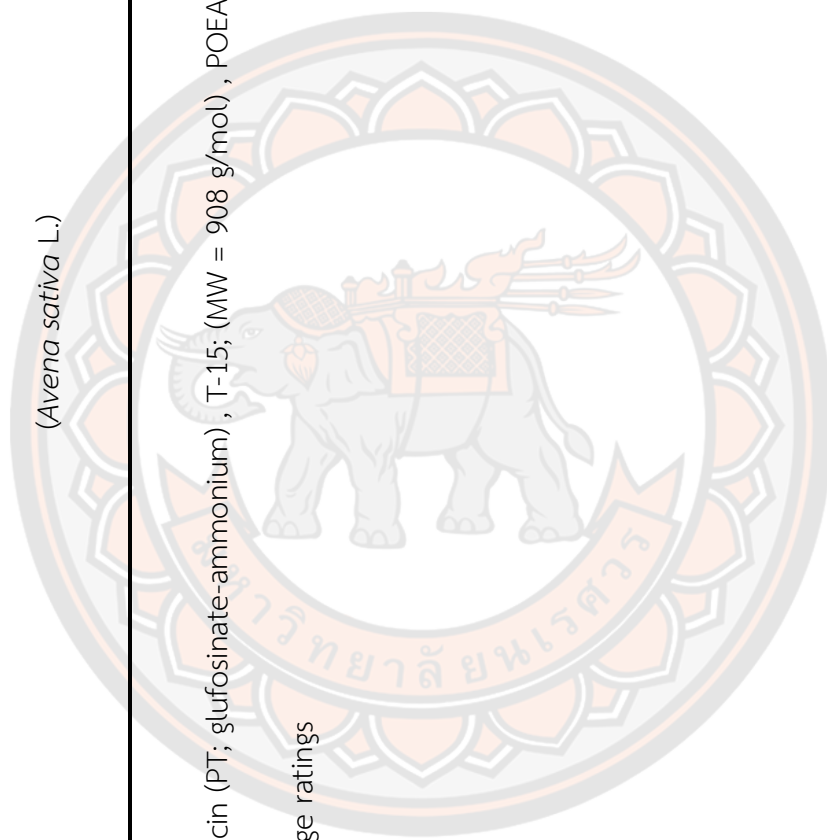


โอดี 110% 110%

(*Avena sativa* L.)

**หมายเหตุ :** PT : DL-Phosphinothricin (PT; glufosinate-ammonium) , T-15; (MW = 908 g/mol) , POEA ; (polyethoxylated tallowamin,

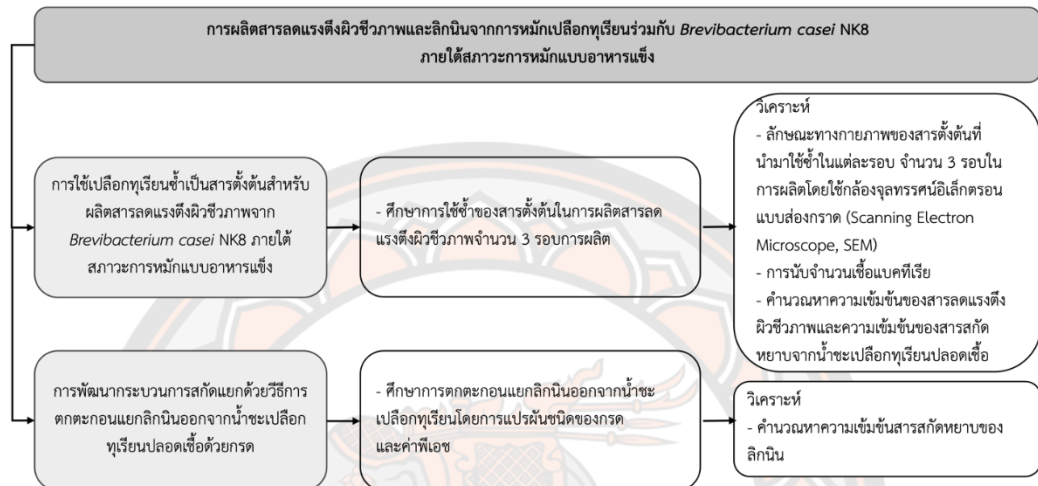
HDR ; Herbicide damage ratings



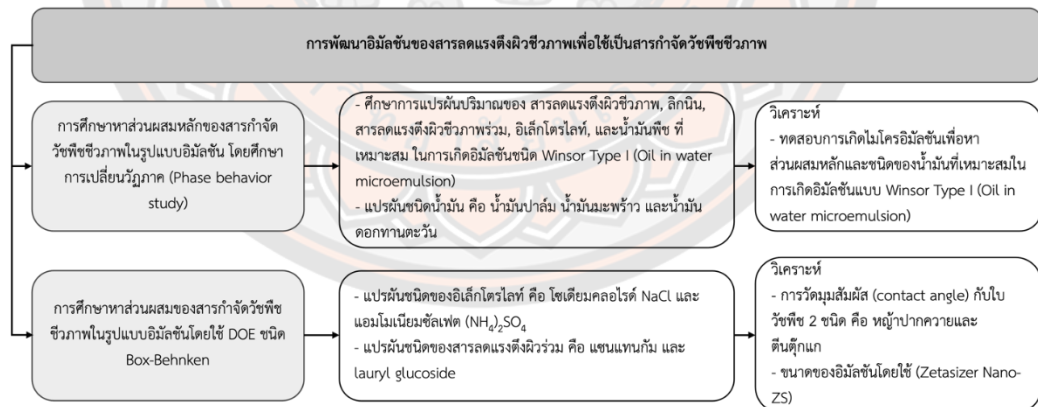
### บทที่ 3

## วิธีดำเนินงานวิจัย

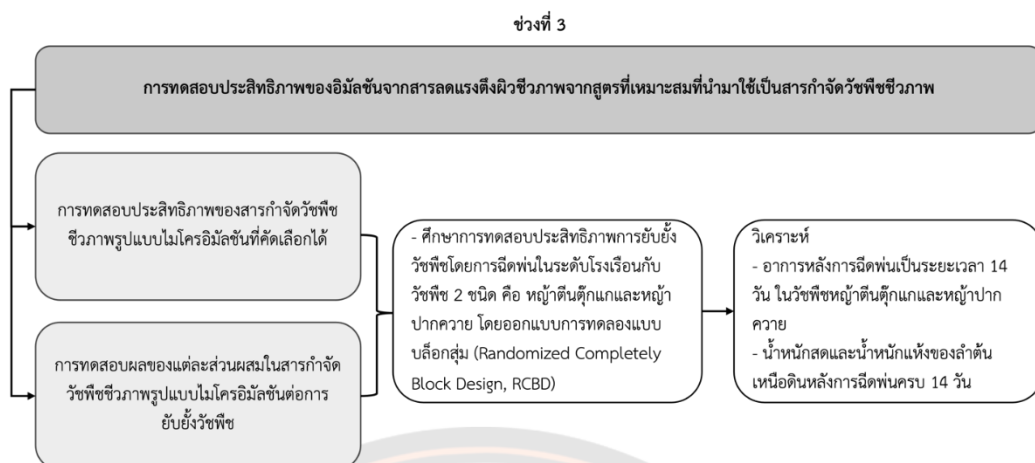
#### ช่วงที่ 1



#### ช่วงที่ 2







ภาพ 11 แผนการดำเนินงานวิจัย ช่วงที่ 1 ถึง ช่วงที่ 3

### 3.1 วัสดุสารเคมีและแบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัย

#### 3.1.1 แบคทีเรียชอบด่าง

แบคทีเรียชอบด่าง *Brevibacterium casei* NK8 ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ นำมาจากคลั่งแบคทีเรียชอบด่างผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ ดร.ณิชากร คอนดี โดยคัดแยกจากดินปนเปื้อนไขสบู่กับแวกซ์จากโรงงานผลิตน้ำมันรำข้าวในจังหวัดสิงห์บุรี และเก็บรักษาในกลีเซอรอลที่แช่แข็งที่ -80 องศาเซลเซียส

#### 3.1.1.1 อาหารเลี้ยงแบคทีเรียชอบด่าง

อาหารเลี้ยงแบคทีเรียชอบด่าง ในงานวิจัยนี้ นำสูตรมาจาก Horioishi (Horikoshi, 1999 หน้า 735-750) โดยอาหารสำหรับแบคทีเรียชอบด่าง แบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ แบบเติมน้ำตาลกลูโคส และแบบไม่เติมน้ำตาลกลูโคส

3.1.1.1.1 อาหารเหลวแบบที่มีการเติมน้ำตาลกลูโคส สำหรับกระตุ้นหัวเชื้อ แบ่งออกเป็นสองส่วน ส่วนแรกผสมในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร มีดังนี้

กลูโคส	10	กรัม
เปปโตน	5	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	5	กรัม
ไดโอฟอสเฟต	1	กรัม

แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต	0.2	กรัม
สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 10 %	100	มิลลิลิตร

ส่วนที่สอง เป็นส่วนของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 10 % ที่ต้องมีการเตรียมแยก 10 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ในส่วนอาหารเหลวส่วนแรกที่ต้องผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 20 นาที ส่วนโซเดียมคาร์บอเนต นั้นต้องผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และหลังจากนั้นนำมาเติมลงในอาหารเหลว Horikoshi ส่วนแรก ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่เตรียมไว้ก่อนหน้า

#### 3.1.1.1.2 อาหารเหลวแบบที่ไม่เติมน้ำตาลกลูโคสสำหรับผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ

เตรียมโดยใช้สูตรอาหาร Horikoshi เช่นเดียวกับสูตรอาหารเหลวที่มีการเติมน้ำตาลกลูโคส แต่จะไม่มี การเติมน้ำตาลกลูโคส แต่จะมีการเติมลิโนเชลลูโลสเหลือทิ้ง ร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก และเติมโซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 1 โดยน้ำหนักในอาหารเหลว Horikoshi นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 20 นาที

#### 3.1.2 ลิโนเชลลูโลสเหลือทิ้ง

ลิโนเชลลูโลสที่นำมาใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ คือ เปลือกทุเรียนพันธุ์หมอนทอง *Durio zibethinus* L. 'Moan Thong' โดยนำมาอบแห้งโดยใช้เครื่อง Hot Air Oven ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำมาบดโดยใช้เครื่องบดให้ได้ขนาด 0.7 ถึง 1 มิลลิเมตร

#### 3.1.3 การเตรียมสารสกัดอัลลีโลพาธีจากใบมะม่วงที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งวัชพืช

ใบมะม่วงที่นำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสกัดสารอัลลีโลพาธีในงานวิจัยนี้เป็นใบมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ ซึ่งสามารถหาได้ง่ายภายในบริเวณใกล้เคียงกับมหาวิทยาลัยนเรศวร และภายในจังหวัดพิษณุโลก โดยจะเก็บใบมะม่วงแก่ที่หลุดร่วงตามบริเวณใต้ต้น จากนั้นนำไปมะม่วงมาอบโดยใช้ตู้อบลมร้อน ตั้งอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส อบทิ้งไว้เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และนำไปบดโดยใช้เครื่องบดวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรให้ใบมะม่วงอยู่ในรูปแบบผงละเอียด จากนั้นนำไปสกัดด้วยน้ำเปล่าที่

อัตราส่วนระหว่างผงไบโอมะม่วง 1 กรัม ต่อน้ำ 10 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ในตู้แช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงและนำมากรองหยาบในรอบแรกเพื่อแยกเศษผงไบโอมะม่วงออกจากน้ำ สารสกัดที่มีสารอัลลีโลพาตีด้วยผ้าขาวบาง และกรองละเอียดครั้งที่สองและครั้งที่สามด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 และ Whatman No.5 ตามลำดับ จะได้สารสกัดอัลลีโลพาตีจากไบโอมะม่วงที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งวัชพืชสำหรับนำไปใช้ผสมร่วมกับอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ

### 3.1.4 การเตรียมวัชพืชสำหรับทดสอบการยับยั้งด้วยการฉีดพ่นสูตรที่เหมาะสมและชุด

#### ควบคุม

วัชพืชสำหรับการทดสอบแบ่งเป็นวัชพืชชนิดใบแคบและวัชพืชชนิดใบกว้าง คือ หญ้าปากควาย และตีนตุ๊กแก โดยจะเก็บเมล็ดวัชพืชที่มีอายุแก่เหมาะสมและนำมาเพาะโดยเตรียมวัสดุปลูกด้วยพีทมอสจะทำให้เกิดความชื้นของวัสดุที่เหมาะสมต่อการเพาะเมล็ด จากนั้นนำพีทมอสใส่ในถาดหลุมดำสำหรับเพาะชำ และหยอดเมล็ดวัชพืชหลุมละ 1 เมล็ด จากนั้นรดน้ำจนกว่าเมล็ดของวัชพืชจะงอก เมื่องอกและเจริญเติบโตแล้วมีอายุประมาณหนึ่งสัปดาห์จะย้ายจากถาดหลุมเพาะชำเป็นกระถางพลาสติกดำสำหรับปลูกต้นไม้ขนาด 3 นิ้ว โดยย้ายวัชพืชจำนวนหนึ่งต้นต่อหนึ่งกระถางปลูกดูแลรดน้ำจนวัชพืชมีใบจริงประมาณ 10 ใบ จะนำมาพ่นด้วยสูตรที่เหมาะสมและชุดควบคุม การฉีดพ่นจะฉีดพ่นจำนวนสองครั้งคือ ในวันที่ 1 และวันที่ 7 โดยปริมาตรในการฉีดพ่นต่อครั้งคือ 10 มิลลิลิตรต่อ 1 ต้น ในระหว่างการฉีดพ่นจะมีการรดน้ำกระถางปลูกอยู่เสมอโดยจะไม่ให้น้ำสัมผัสกับใบพืชหรือต้นพืช ในระหว่างการทดสอบการฉีดพ่น การทดสอบการหลังการฉีดพ่นในทุกวันจะดูความเป็นพิษต่อพืชด้วยสายตาและเปรียบเทียบกับตารางความเป็นพิษต่อวัชพืชจนครบ 14 วัน (Toderó et al., 2018) ในวันที่ 14 จะตัดลำต้นของวัชพืชเหนือดินไปชั่งน้ำหนักสด และนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมงและชั่งน้ำหนักแห้งของลำต้นวัชพืชเหนือดิน และคำนวณเป็นอัตราความเป็นพิษต่อพืชเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่พ่นด้วยน้ำ

### 3.1.5 สารเคมี และอุปกรณ์ในการทดลอง

#### 3.1.5.1 สารเคมีในการทดลอง

- 1) กลูโคส ของบริษัท E.Merk, Dramstadt, Germany
- 2) สารสกัดจากยีสต์ (Yeast Extract) ของบริษัท Himedia Laboratories, India
- 3) โซเดียมไนเตรต (NaNO) บริษัท Ajax Finechem, Australia

- 4) โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) บริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- 5) ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) บริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- 6) โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- 7) แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- 8) แคลเซียมคลอไรด์ ( $\text{CaCl}_2$ ) ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- 9) เฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- 10) กรดบอริก ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- 11) คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- 12) แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) E. Merk, Dramstadt, Germany
- 13) โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) ของบริษัท Carlo Eros reagent, Italy
- 14) ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ของบริษัท Carlo Eros reagent, Italy
- 15) ทริสไฮโดรคลอริก ของบริษัท Sigma Chemical Co., USA
- 16) โซเดียมคลอไรด์ ( $\text{NaCl}$ ) ของบริษัท Fisher Chemical, Belgium
- 17) คลอโรฟอร์ม ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- 18) เมทานอล ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- 19) กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (35.9% w/w) ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- 20) กรดฟอสฟอริก ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- 21) โซเดียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{NaOH}$ ) ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- 22) น้ำมันปาล์ม ตรา หยก จากบริษัท ล้ำสูง (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน)

#### 3.1.5.2 อุปกรณ์ในการทดลอง

- 1) เครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อ (Autoclave) รุ่น S5-325 และรุ่น ES-315 ของบริษัท Tomy Seiko, Ltd. รุ่น MLS 3020 ของบริษัท Sanyo Co., Ltd.
- 2) เครื่องชั่งหยاب รุ่น PG 2002-S ของบริษัท Metler Toledo, Switzerland
- 3) เครื่องชั่งละเอียด รุ่น AG 265 ของบริษัท Metler Toledo, Switzerland

- 4) ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) รุ่น BE 800 ของบริษัท Memmert, Germany
- 5) เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) รุ่น Innova 4300 ของบริษัท New Brunswick Scientific, UK
- 6) เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge) รุ่น J2-21 ของบริษัท BECKMAN, USA
- 7) เครื่องวัดค่าแรงตึงผิวแบบอัตโนมัติ (Digital tensiometer) ของบริษัท Kruss, Germany
- 8) เครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter) ของบริษัท Metler Toledo, Switzerland
- 9) เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Spectronic 20 Genesys ของบริษัท Thermo Spectronic, USA
- 10) เครื่องระเหยแห้งแบบสุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) รุ่น N-N ของบริษัท Eyela, Japan
- 11) เครื่องระเหยแห้งแบบสุญญากาศ (Centrifuge evaporator) รุ่น eppendorf concentrator 5301 ของบริษัท Modotech, Germany
- 12) ตู้อบ (Hot air oven) รุ่น UE 600 ของบริษัท Memmert, Germany
- 13) ไมโครปิเปต (Micropipette) รุ่น P10, P20, P100, P200, P1000 และ P5000 ของบริษัท Gilson, USA
- 14) อ่างคลื่นความถี่สูง (Ultrasonic bath) ของบริษัท Elma Schmidbauer GmbH, Germany
- 15) เครื่องเขย่าสาร (Voetex) ของบริษัท Scientific Industries, USA

### 3.2 ช่วงที่ 1 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนินจากการหมักเปลือกทุเรียนร่วมกับ *Brevibacterium casei* NK8 ภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง

#### 3.2.1 การใช้เปลือกทุเรียนสำหรับผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนินจาก *Brevibacterium casei* NK8

งานวิจัยนี้มีการนำลิกโนเซลลูโลสเหลือทิ้ง คือ เปลือกทุเรียนขนาด 0.7 ถึง มิลลิเมตร ปริมาณ 5 กรัม ลงในอาหารเหลว Horikoshi พีเอช 10 ปริมาตร 50 มิลลิตร ปรับสภาพด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อวัสดุร่วมกับการเติมลงในอาหารเหลว แล้วนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อแรงดันไอน้ำ อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที (ภาพ 9) จากนั้นทำการกระตุ้นเชื้อแบคทีเรียชนิดที่เรียกชื่อบ้าง *Brevibacterium casei* NK8 โดยนำเชือบนอาหารแข็ง Horikoshi พีเอช 10 ที่บ่มมา 5 วัน ไป

กระตุ้นด้วยอาหารเหลว Horikoshi ตามข้อ 3.1.1.1.1 ที่มีการเติมโซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก เพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าพีเอช 10 เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นทำการกระตุ้นรอบที่ 2 เป็นเวลา 1 วัน แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เจือจางให้มีค่าเท่ากับ 1 จากนั้นเติมหัวเชื้อ *Brevibacterium casei* NK8 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร ลงในเปลือกทุเรียนที่ฆ่าเชื้อร่วมกับอาหารเหลวแล้ว และเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน (ภาพ 10) และแบคทีเรียจะผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเปลือกทุเรียนที่เป็นสารตั้งต้น

ในงานวิจัยนี้จะทดสอบการใช้เปลือกทุเรียนสำหรับผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตจากการลดระยะเวลาในการเตรียมหัวเชื้อ โดยจะใช้อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (Solid: liquid) คือ เปลือกทุเรียนบด 1 กรัม ต่อ ปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อแบบไม่เติมกลูโคส (ข้อ 3.1.1.1.2) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร หรือ (1:10) โดยในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Brevibacterium casei* NK8 ที่กระตุ้นหัวเชื้อแล้วจำนวน 2 ครั้ง และนำมาผลิตร่วมกับการใช้เปลือกทุเรียนเป็นสารตั้งต้นภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที จำนวน 4 วันการผลิต จากนั้นจะทำการชะสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วย 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ที่อัตราส่วน 1:10 เติมลงในฟลาสก์ผลิต (ภาพ 12) และนำไปใส่ในอ่างคลื่นความถี่สูงเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพถูกชะได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุดเพราะอาจจะติดอยู่ที่เปลือกทุเรียนในระหว่างการผลิตได้ และจะนำมาแยกส่วนของเปลือกทุเรียนออกด้วยผ้าขาวบางและจะนำเปลือกทุเรียนที่กรองด้วยผ้าขาวบางมาทำการชะตามขั้นตอนดังกล่าวเช่นเดิมอีกจำนวน 2 ครั้ง เพื่อจะช่วยชะสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังการผลิตที่อาจจะติดอยู่กับเปลือกทุเรียนให้ออกมาให้ได้มากที่สุด และในส่วนของเปลือกทุเรียนหลังการชะนั้นจะนำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นจะนำมาชั่งน้ำหนักที่เหลือจากการผลิตรอบแรกและทำการคำนวณอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวว่าจะสามารถผลิตได้ปริมาณเท่าไรจากเปลือกทุเรียนที่เหลือจากการผลิตในครั้งแรกจากนั้นทำการผลิตและชะสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังการผลิตดังรายละเอียดขั้นตอนข้างต้นที่กล่าว และรวมไปถึงการนำเปลือกทุเรียนที่เหลือจากการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในครั้งที่ 2 มาทำการคำนวณอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวและทำการผลิตอีกจำนวน 1 ครั้ง รวมทั้งสิ้นทั้งหมด 3 รอบของการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพภายในสภาวะการหมักแบบอาหารแข็งโดยใช้เปลือกทุเรียนเป็นสารตั้งต้น

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Brevibacterium casei* NK8 ภายใต้สภาวะอาหารแข็ง ในแต่รอบการใช้ซ้ำจะวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวเปลือกทุเรียนและการเกาะติดของแบคทีเรียด้วย

วิธี จุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนนิ่ง หรือ (Scanning Electron Microscopy, SEM) และยังนำ ส่วนของน้ำชะเปลือกทุเรียนปลอดเชื้อไปทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดหยาบของสารลดแรงตึงผิว ชีวภาพและลิกนินโดยจะมีการเก็บตัวอย่างของแต่ละรอบการผลิตเพื่อสำหรับวิเคราะห์โดยมี กระบวนการตั้งชื่อ 3.5.2 และในส่วนของน้ำชะเปลือกทุเรียนในแต่ละรอบของการผลิตทั้ง 3 รอบ หลังจากเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและผลผลิตลิกนินแล้วนั้นจะ นำมารวมกันและนำไปสำหรับใช้งานในส่วนของกรมสูตรสารกำจัดวัชพืชชีวภาพร่วมกับสารลด แรงตึงผิวชีวภาพต่อไป



ภาพ 12 เปลือกทุเรียนที่นำมาใช้เป็นสารตั้งต้นก่อนการปรับสภาพ และภายหลังการปรับสภาพ



ภาพ 13 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง

### 3.2.2 การพัฒนากระบวนการสกัดแยกด้วยวิธีการตกตะกอนแยกลิกนินออกจากน้ำชะจาก เปลือกทุเรียนปลอดเชื้อ

การวิเคราะห์ปริมาณลิกนินจะใช้วิธีการตกตะกอนด้วยกรด (Acid precipitation) (Wang และ Chen, 2013) ส่วนการวิเคราะห์สารสกัดหยาบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะใช้วิธีการสกัดด้วย ตัวทำละลายอินทรีย์ (Solvent extraction) โดยทั้ง 2 กระบวนการวิเคราะห์จะทำต่อเนื่องกัน

หลังจากที่ทำการนึ่งฆ่าเชื้อและปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเซลล์แบคทีเรียของน้ำชะเปลือกทุเรียนแล้ว จะนำมาปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 4 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 6 โมลาร์ แล้วจึงปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 รอบ ระยะเวลา 15 นาที เพื่อตกตะกอนลิกนินออกจากน้ำชะเปลือกทุเรียนปลอดเชื้อ นำไปอบแห้งที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักเพื่อนำไปคำนวณความเข้มข้นของลิกนินเทียบกับปริมาตรของตัวอย่างดังสมการ 1 จากนั้นนำน้ำชะเปลือกทุเรียนที่ไม่มีลิกนินไปผสมกับตัวทำละลายอินทรีย์ (คลอโรฟอร์ม กับ เมทานอล อัตราส่วน 2 : 1) ในอัตราส่วน 1 : 1 นำไปเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 30 นาที โดยจะทำซ้ำทั้งหมด 2 รอบ นำสารผสมไปแยกชั้นใสในกรวยแยกสาร (Separating funnel) เพื่อแยกเอาส่วนใสชั้นล่างของตัวทำละลายอินทรีย์ออก หลังจากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายอินทรีย์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และทำการชะด้วยเมทานอลและอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักและคำนวณปริมาณสารสกัดหยาบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากน้ำหนักสารที่สกัดได้เทียบกับปริมาตรของตัวอย่างดังสมการ 2 คำนวณความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

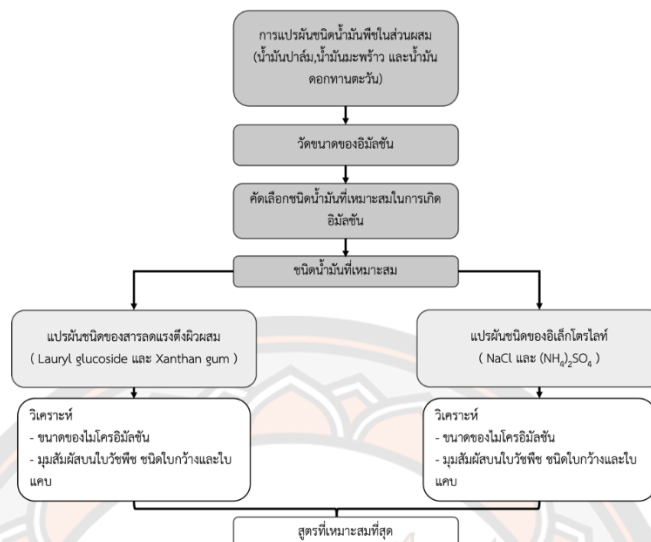
$$\text{น้ำหนักของลิกนิน (กรัม)} = \text{น้ำหนักของตะกอนลิกนิน (กรัม)} - \text{น้ำหนักของภาชนะก่อนคำนวณ (กรัม)} \dots\dots(1)$$

$$\text{ความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (กรัม/ลิตร)} = \left( \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดหยาบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (กรัม)}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}} \right) \times 1000 \dots\dots(2)$$

เมื่อผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยลิกโนเซลลูโลสเหลือทิ้งแล้ว ตามข้อ 1.1 แล้วได้น้ำชะจากเปลือกทุเรียนปลอดเชื้อมาแล้ว มาทำการทำการแปรผันค่าพีเอช 1-5 โดยเปรียบเทียบกรดที่ใช้ 2 ชนิด คือ กรดไฮโดรคลอริก (HCl) และ กรดฟอสฟอริก ( $H_2PO_4$ ) จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนลิกนินออก ที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนของของเหลวออกจากตะกอนลิกนินที่ผ่านการปั่นเหวี่ยง นำส่วนของตะกอนลิกนินไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักของตะกอนลิกนินแล้วคำนวณเป็นความเข้มข้นของลิกนินที่ตกตะกอนได้ดังสมการ



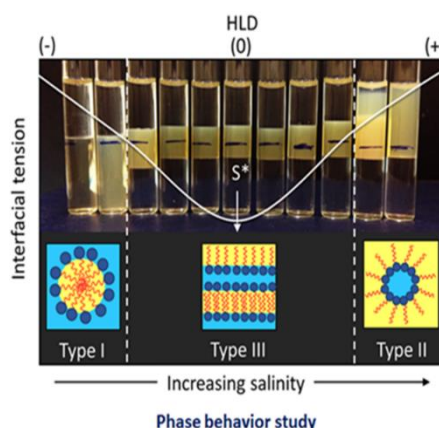
### 3.3 ช่วงที่ 2 การพัฒนาอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ



ภาพ 14 แผนการศึกษาหาส่วนผสมการเกิดไมโครอิมัลชันและการแพร่กระจายบนใบพืชที่เหมาะสมต่อการเป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ

#### 3.3.1 การศึกษาหาส่วนผสมหลักของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพในรูปแบบอิมัลชันโดยศึกษาการเปลี่ยนวัฏภาค (Phase behavior study)

การศึกษาหาส่วนผสมหลักในการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยศึกษาการเปลี่ยนวัฏภาค (Phase behavior study) ที่มีส่วนผสมคือ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, ลิกนิน, ลอริลกลูโคไซด์, โซเดียมคลอไรด์, และแปรผันชนิดของน้ำมันพืช (น้ำมันปาล์ม, น้ำมันมะพร้าว, และน้ำมันดอกทานตะวัน) โดยผสมส่วนของสารละลายด้วยเครื่องผสมสารเป็นเวลา 2 นาทีจนส่วนผสมทั้งหมดเข้ากันและจึงนำส่วนของสารละลายใส่น้ำมันพืชที่มีการแปรผันชนิดในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 และผสมด้วยเครื่องผสมสารเป็นเวลา 3 นาที ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วันและทำการผสมด้วยเครื่องผสมสารซ้ำอีก 1 รอบ เป็นเวลา 3 นาที และตั้งทิ้งไว้ 3 สัปดาห์รอดูการเกิดอิมัลชันชนิด Winsor Type I (Oil in water microemulsion) โดยจะวัดความสูงของชั้นสารละลาย ชั้นที่เกิดอิมัลชัน และชั้นน้ำมันแล้วคำนวณหาสัดส่วนของปริมาตรในแต่ละชั้น และนำไปวิเคราะห์ขนาดของอิมัลชันด้วยเครื่อง Zetasizer Nano-ZS และคัดเลือกสูตรที่มีขนาดของไมโครอิมัลชันที่อยู่ในช่วง 200-400 นาโนเมตร และชนิดของน้ำมันที่เหมาะสมต่อการเกิดไมโครอิมัลชันชนิด Winsor Type I (ภาพ 12)



ภาพ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของไมโครอิมัลชันและค่า Interfacial tension (Rongsayamanont et al., 2017, หน้า168-177)

### 3.3.2 การศึกษาหาส่วนผสมของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพในรูปแบบอิมัลชันโดยใช้ DOE ชนิด Box-Behnken

#### 3.3.2.1 ผลของชนิดน้ำมันต่อประสิทธิภาพการเกิดไมโครอิมัลชันและการแพร่กระจายบนใบวัชพืช

การศึกษาการแปรผันชนิดของน้ำมันพืชในส่วนผสมต่อการเกิดไมโครอิมัลชัน โดยจะทำการแปรผัน 3 ชนิดของน้ำมัน คือ น้ำมันมะพร้าว น้ำมันปาล์ม และน้ำมันดอกทานตะวัน เนื่องจากจำนวนของ fatty acid profile มีความแตกต่างกันและออกแบบการทดลองร่วมกับ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ลิกนิน โซเดียมคลอไรด์ และแซนแทนกัม ดังแสดงในตาราง 8

ตาราง 8 การออกแบบการทดลอง CCD โดยมีตัวแปรต้น 5 ตัวแปร ที่ระดับการแปรผัน 3 ระดับ สำหรับส่วนผสมที่เหมาะสมในการเกิดอิมัลชัน

ตัวแปรต้น	หน่วย	ระดับ			ตัวแปรตาม
		-1	0	+1	
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ร้อยละ	0.3	0.4	0.5	- ขนาดของไมโครอิมัลชัน - มุมสัมผัสบนพื้นผิววัชพืช
ลิกนิน	ร้อยละ	1	1.5	2	
โซเดียมคลอไรด์	ร้อยละ	4	6	8	
น้ำมันพืช (น้ำมัน)	ร้อยละ	2	3	4	

ตัวแปรต้น	หน่วย	ระดับ			ตัวแปรตาม
		-1	0	+1	
ปาล์ม, น้ำมัน มะพร้าว และ น้ำมันดอก ทานตะวัน)	ร้อยละ	0.1	0.3	0.5	

### 3.3.2.2 ผลของชนิดสารลดแรงตึงผิวผสมต่อประสิทธิภาพการเกิดไมโครอิมัลชันและการแพร่กระจายบนใบพืช

การศึกษาชนิดของสารลดแรงตึงผิวผสมร่วมกับส่วนผสมอื่นๆ เพื่อหาความเหมาะสมของชนิดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพผสมที่มีความแตกต่างกัน น้ำหนักของโมเลกุลโดยแซนแทนกัมมีน้ำหนักโมเลกุลสูง ค่าละลายน้ำสูง สามารถเกิดความหนืดได้ที่ความเข้มข้นต่ำ โดยมีค่าน้ำหนักของโมเลกุลเท่ากับ 933.74 g/mol อีกทั้งยังมีความเสถียรสูง (Hu et al., 2019; Lopes et al., 2015) และในส่วนของลอริลกลูโคไซด์มีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่ำมีค่าเท่ากับ 348.5 g/mol โดย Shah et al. (2022) ได้ทำการศึกษาการใช้ลอริลกลูโคไซด์ (lauryl glucoside) กับ Alpha Olefin Sulfonate (AOS) พบว่าลอริลกลูโคไซด์สามารถนำมาใช้เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วมได้ สามารถเปลี่ยนค่า HLB ของส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิว ซึ่งเพิ่มศักยภาพในการเกิดไมโครอิมัลชัน Winsor Type III ได้อีกด้วย จึงคาดว่า จะสอดคล้องกับขนาดของไมโครอิมัลชันที่เล็กเมื่อมีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่ำ แต่น้ำหนักโมเลกุลที่สูงจะส่งผลต่อขนาดอิมัลชันที่ใหญ่สอดคล้องกันกับน้ำหนักของโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวผสมและส่วนผสมที่มีขนาดของอิมัลชันที่ใหญ่จะสามารถเกาะติดที่ใบพืชได้ดี และในโมเลกุลที่เล็กจะทำให้อิมัลชันสามารถแพร่กระจายบนใบพืชและซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อพืชได้ดีมากยิ่งขึ้น

### 3.3.2.3 ผลของชนิดอเล็กโตรไลต์ต่อประสิทธิภาพการเกิดไมโครอิมัลชันและการแพร่กระจายบนใบพืช

การศึกษาชนิดอเล็กโตรไลต์ที่มีการแตกตัวของประจุที่ต่างกัน โดยจะแปรผันชนิดของอเล็กโตรไลต์ 2 ชนิดคือ โซเดียมคลอไรด์ และ แอมโมเนียมซัลเฟต โดยพบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตมีการแตกตัวของประจุที่มากกว่า โซเดียมคลอไรด์จึงคิดว่ามีความสอดคล้องกับความเข้มข้นของการใช้ที่น้อยลงสำหรับแอมโมเนียมซัลเฟต เพื่อจะสามารถลดการตกค้างในสิ่งแวดล้อมในปริมาณที่ความ

เข้มข้นมากเกินไปและเมื่อประจุที่เยาะจะสามารถทำให้ขนาดของอิมัลชันมีขนาดที่เล็กโดยที่ใช้ปริมาณของอิเล็กโตรไลต์น้อยลงกว่าอิเล็กโตรไลต์ชนิดที่มีการแตกตัวของประจุที่น้อย

### 3.4 ช่วงที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพของอิมัลชันจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากสูตรที่เหมาะสมที่นำมาใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ

3.4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกได้ต่อการยับยั้งต้นตึกแกและหญ้าปากควาย

จากสูตรไมโครอิมัลชันที่ได้จากการแปรผันชนิดของอิเล็กโตรไลต์และแปรผันสารลดแรงตึงผิวผสมจะทำการคัดเลือกสูตรของแต่ละส่วนผสมที่ดีที่สุดมาทำการผสมร่วมกับสารอัลลีโลพาธีที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งวัชพืชโดยใช้อิมัลชันในการห่อหุ้มเพื่อให้สารออกฤทธิ์มีประสิทธิภาพในการซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อใบพืชและสามารถแพร่กระจายและสามารถยับยั้งวัชพืชได้ดีมากยิ่งขึ้นโดยจะนำไปทดสอบกับวัชพืชชนิดใบกว้างคือ ต้นตึกแก และวัชพืชใบแคบคือหญ้าปากควาย ที่มีอายุหลังเจริญเติบโตจากเมล็ดวัชพืชแล้วที่ระยะใบ 10 ใบจริง จะนำมาพ่นด้วยสูตรที่เหมาะสม คือ สูตรที่เหมาะสมโดยมีการแปรผันชนิดของอิเล็กโตรไลต์จำนวน 2 สูตร และสูตรที่แปรผันชนิดของสารลดแรงตึงผิวผสมจำนวน 2 สูตร โดยการฉีดพ่นจะฉีดพ่นจำนวนสองครั้งคือ ในวันที่ 1 และวันที่ 7 โดยปริมาตรในการฉีดพ่นต่อครั้งคือ 10 มิลลิลิตรต่อ 1 ต้น ในระหว่างการฉีดพ่นจะมีการรดน้ำกระถางปลูกอยู่เสมอโดยจะไม่ให้น้ำสัมผัสกับใบพืชหรือต้นพืชในระหว่างการทดสอบการฉีดพ่น การทดสอบการหลังการฉีดพ่นในทุกวันจะดูความเป็นพิษต่อพืชด้วยสายตาและเปรียบเทียบกับตารางความเป็นพิษต่อวัชพืชจนครบ 14 วัน และในวันที่ 14 จะตัดลำต้นของวัชพืชเหนือดินไปซึ่งน้ำหนักเปียก และนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมงและคำนวณน้ำหนักแห้งของลำต้นวัชพืชเหนือดิน และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่อพืชเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่พ่นด้วยน้ำ

3.4.2 การทดสอบผลของแต่ละส่วนผสมในการกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันต่อการยับยั้งต้นตึกแกและหญ้าปากควาย

จากสูตรที่เหมาะสมคัดเลือกในข้อ 3.4.1 จะนำแต่ละส่วนผสมมาทำการทดสอบเพื่อศึกษาความเป็นพิษแต่ละส่วนผสมต่อบทบาทในการยับยั้งวัชพืชทั้งชนิดใบแคบคือ หญ้าปากควายและ ชนิดใบกว้างคือต้นตึกแก โดยชุดควบคุมที่เป็นส่วนของแต่ละส่วนผสมนั้นจะทำการทดสอบเพื่อศึกษาความเป็นพิษต่อวัชพืชของแต่ละส่วนผสมหลักจากสูตรที่เหมาะสมและแต่ละส่วนผสมหลักร่วมกัน เพื่อเปรียบเทียบ

ผลการทดสอบกับชุดการทดลองที่เหมาะสมจากสูตรที่ถูกคัดเลือกมาจำนวน 4 สูตร โดยการฉีดยาจะฉีดพ่นตามรายละเอียดดังข้อ 3.4.1

### 3.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์

#### 3.5.1 การศึกษาการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย

การนับจำนวนแบคทีเรียในอาหารที่ผสมร่วมกับเปลือกทุเรียนด้วยวิธีการ Drop plate จากกระบวนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ จะทำการนับเชื้อที่วันแรกและวันสุดท้ายของระยะเวลาการผลิต ทั้ง 4 วัน โดยวิธีการ Drop plate โดยทำการเก็บตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตร ด้วยไมโครปิเปต และจากนั้นนำมาเจือจางที่ระดับ  $10^{-1}$  ถึง  $10^{-7}$  ด้วยน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.85 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรโซเดียมคลอไรด์ นำอาหารที่มีการเจือจางในแต่ละระดับ หยดลงบนอาหารแข็ง Horikoshi จำนวน 3 หยดของแต่ละระดับที่เจือจาง และเมื่อมีการเจริญเติบโตของโคโลนีจนมองเห็นโคโลนีของแบคทีเรียชอบต่าง นับจำนวนโคโลนีจำนวนตั้งแต่ 3 ถึง 30 โคโลนี จากนั้นวิเคราะห์เป็นค่า (Colony forming unit : CFU) ต่อมิลลิลิตร

#### 3.5.2 การคำนวณหาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกลิน

การวิเคราะห์ปริมาณลิกลินจะใช้วิธีการตกตะกอนด้วยกรด (Acid precipitation) (Wang และ Chen, 2013) ส่วนการวิเคราะห์สารสกัดหยาบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (Solvent extraction) โดยทั้ง 2 กระบวนการวิเคราะห์จะทำต่อเนื่องกัน หลังจากที่ทำกรหนึ่งฆ่าเชื้อและปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเซลล์แบคทีเรียของน้ำชะเปลือกทุเรียนแล้ว จะนำมาปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 4 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 6 โมลาร์ แล้วจึงปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 รอบ ระยะเวลา 15 นาที เพื่อตกตะกอนลิกลินออกจากน้ำชะเปลือกทุเรียนปลอดเชื้อ นำไปอบแห้งที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักเพื่อนำไปคำนวณผลผลิตลิกลินเทียบกับปริมาตรของตัวอย่างดังสมการ 4 จากนั้นนำน้ำชะเปลือกทุเรียนที่ไม่มีลิกลินไปผสมกับตัวทำละลายอินทรีย์ (คลอโรฟอร์ม กับ เมทานอล อัตราส่วน 2 : 1) ในอัตราส่วน 1 : 1 นำไปเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 30 นาที โดยจะทำซ้ำทั้งหมด 2 รอบ นำสารผสมไปแยกชั้นใสในกรวยแยกสาร (Separating funnel) เพื่อแยกเอาส่วนใสชั้นล่างของตัวทำละลายอินทรีย์ออก หลังจากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายอินทรีย์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และทำการชะด้วยเมทานอลและอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักและคำนวณปริมาณ

สารสกัดหยาบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากน้ำหนักรสที่สกัดได้เทียบกับปริมาตรของตัวอย่างตั้ง  
สมการ 3 คำนวณความผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

$$\text{ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (g/gds)} = \left( \frac{\text{น้ำหนักรวมของสารสกัดหยาบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักรวมของสารตั้งต้น (กรัม)}} \right) \dots\dots\dots(3)$$

$$\text{ผลผลิตลิกลิน (g/gds)} = \left( \frac{\text{น้ำหนักรวมของลิกลิน (กรัม)}}{\text{น้ำหนักรวมของสารตั้งต้น (กรัม)}} \right) \dots\dots\dots(4)$$

### 3.5.3 การศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารตั้งต้นโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่อง กราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

ในงานวิจัยนี้จะทดสอบการใช้เปลือกทุเรียนสำหรับผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อเป็น  
การลดต้นทุนการผลิตจากการลดระยะเวลาในการเตรียมหัวเชื้อ โดยนำเปลือกทุเรียนที่แยกออกด้วย  
การกรองของผ้าขาวบางหลังจากการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ  
60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตสารลดแรงตึงผิว  
ชีวภาพจาก *Brevibacterium casei* NK8 ภายใต้สภาวะอาหารแข็ง ในแต่ละรอบการใช้ซ้ำจะวิเคราะห์  
การเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวเปลือกทุเรียนและการเกาะติดของแบคทีเรียด้วยวิธี จุลทรรศน์อิเล็กตรอน  
แบบสแกนนิ่ง หรือ (Scanning Electron Microscopy, SEM)

### 3.5.4 การวัดขนาดของอิมัลชันโดยใช้ (Zetasizer Nano-ZS)

การวัดขนาดของอิมัลชันโดยใช้ เครื่องวัดขนาดของอนุภาค ความต่างศักย์บนพื้นผิวอนุภาค  
และน้ำหนักโมเลกุล รุ่น Zetasizer Nano ZS ยี่ห้อรุ่น Malvern โดยจะเตรียมตัวอย่างอิมัลชันที่จะ  
ทำการวัดขนาดของอิมัลชันสำหรับวัดขนาดประมาณ 5 มิลลิตร สำหรับกล้องตัวอย่างและสำหรับ  
วิเคราะห์ตัวอย่าง เมื่อทำการวัดเสร็จจะได้ค่าขนาดของอิมัลชันและนำไปวิเคราะห์ผ่านโปรแกรมทาง  
สถิติ DOE-RSM ชนิด Box-Behnken

### 3.5.5 การวัดมุมสัมผัส (Contact angle)

นำอิมัลชันในแต่ละการทดลองที่ต้องการทดสอบค่ามุมสัมผัส เพื่อการประเมินประสิทธิภาพ  
ของอิมัลชันที่เกี่ยวข้องกับการแผ่บนใบพืช โดยใช้เครื่อง Contact angle ยี่ห้อ Dataphysics รุ่น

OCA20 โดยทำการทดสอบ 5 ซ้ำ โดยหยดอิมัลชัน 5 ไมโครลิตร ลงบนใบวักซีซ 2 ชนิด 1) วักซีซใบแคบ คือ หล้าปากควาย และ 2) วักซีซใบกว้าง คือ ตีนตุ๊กแก โดยคัดเลือกวักซีซที่เจริญเติบโตแล้วมีใบจำนวน 3 ใบ (เพื่อให้ขนาดของใบเหมาะสมต่อการวัดค่ามัมส์) วิเคราะห์ค่ามัมส์ทุก 20 วินาที เป็นเวลา 2 นาที

### 3.5.6 การคำนวณน้ำหนักแห้งของวักซีซหลังฉีดพ่นต่อการเทียบกับชุดควบคุม

เมื่อได้สูตรที่เหมาะสมและชุดควบคุมของแต่ละส่วนผสมในสูตรที่เหมาะสมนำไปฉีดพ่นกับวักซีซใบแคบและใบกว้าง คือ หล้าปากควายและตีนตุ๊กแก ที่ปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อต้น จำนวน 2 ครั้ง คือวันที่ 1 และวันที่ 7 และสังเกตอาการด้วยสายตาและเปรียบเทียบกับตารางความเป็นพิษต่อวักซีซจนครบ 14 วัน (Toderò et al., 2018) จากตัดลำต้นเหนือดิน ชั่งน้ำหนักเปียก และนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน และชั่งน้ำหนักแห้งเพื่อหาน้ำหนักสุทธิของวักซีซหลังฉีดพ่นและนำไปคำนวณตามสูตรเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (Inhibition, %) (5)

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[ \frac{(C-T)}{C} \right] \times 100 \quad (5)$$

โดยที่ C แทน น้ำหนักแห้งของชุดควบคุมที่เป็นน้ำ

T แทน น้ำหนักแห้งของชุดทดลอง ของชุดการทดลอง (E) หรือชุดควบคุม (C)

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 4.1 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนินจากการหมักเปลือกทุเรียนร่วมกับ *Brevibacterium casei* NK8 ภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง

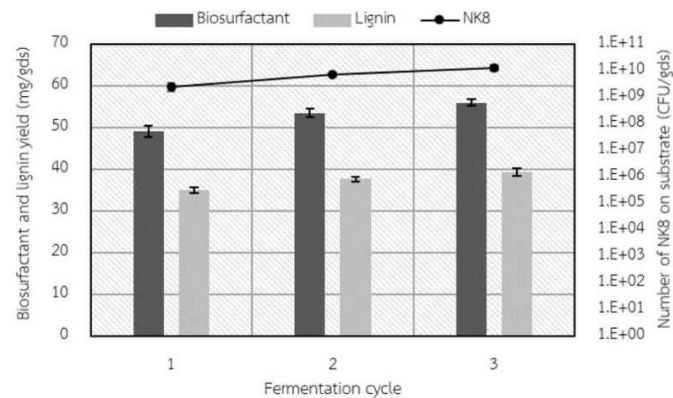
##### 4.1.1 การใช้ซ้ำของสารตั้งต้นในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนินจาก *Brevibacterium casei* NK8

จากการศึกษาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยใช้เปลือกทุเรียนเป็นสารตั้งต้นร่วมกับ *Brevibacterium casei* NK8 โดยเมื่อผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในรอบแรก จะนำส่วนของเปลือกทุเรียนหลังการชะสารลดแรงตึงผิวชีวภาพออก และจะนำมาใช้ซ้ำสำหรับเป็นวัสดุตั้งต้นในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพร่วมกับ *Brevibacterium casei* NK8 อีกจำนวน 2 ครั้ง โดยพบว่า เมื่อมีการใช้ซ้ำหลายรอบมากขึ้นจะพบว่าผลผลิตของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ลิกนิน และจำนวนเชื้อของแบคทีเรียเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน โดยความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการผลิตรอบที่ 1, 2 และ 3 มีผลผลิตที่เพิ่มมากขึ้นคือ 49 mg/gds, 53 mg/gds, และ 55 mg/gds และสอดคล้องกับการวิเคราะห์นับจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นในแต่ละรอบ คือ 1.E+9 CFU/gds, 1.E+10 CFU/gds, และ 1.E+11 CFU/gds และรวมไปถึงผลผลิตของลิกนินก็มีอัตราที่สูงขึ้น คือ 35 mg/gds, 38 mg/gds, และ 39 mg/gds ตามลำดับดังแสดงในภาพ 14-15 โดยพบว่ามีผลสอดคล้องกับการใช้ซ้ำหลายรอบจึงทำให้วัสดุถูกปรับสภาพเมื่อปรับสภาพด้วยต่างร่วมกับไฮโดรเทอร์มอลก่อนนำไปใช้ต่อและทำให้วัสดุมีความพองตัวมีความขรุขระ เสียว และมีความลึกลึกของวัสดุที่เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ดังที่ได้กล่าวใน (Khondee et al., 2022) ทำให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถเข้าไปใช้สารตั้งต้น (Carbon source) ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ง่ายมากยิ่งขึ้น

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาลักษณะทางกายภาพของเปลือกทุเรียนโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) ดังแสดงในภาพ 16 โดยก่อนการปรับสภาพมีลักษณะที่พื้นผิวของวัสดุที่เรียบ และเมื่อปรับสภาพด้วยต่างร่วมกับไฮโดรเทอร์มอลพบว่ามีลักษณะทางกายภาพที่พองตัวและมีพื้นผิวที่ขรุขระและมีลักษณะเป็นเม็ดกลมๆเกิดขึ้นซึ่งอาจจะเป็นก้อนไขมันหรือ Soluble sugar ดังที่พบได้เช่นเดียวกับใน (Khondee et al., 2022) นอกจากนี้ได้มีการศึกษาลักษณะทางกายภาพของเปลือกทุเรียนหลังการผลิตที่นำไป Autoclave เพื่อใช้ซ้ำดังแสดงในภาพ 17 โดยพบว่าวัสดุมีความเปื่อยยุ่ย ความขรุขระ และมีรอยย่นที่ดูมีความลึกลึกมากขึ้น ส่งผลให้



เชื้อจุลินทรีย์เข้าไปเกาะ และสามารถย่อยสลายได้ดีมากยิ่งขึ้น และยังมีการศึกษาลักษณะทางกายภาพของเปลือกทุเรียนหลังการผลิตแต่ละรอบเพื่อดูการเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวของเปลือกทุเรียนพบว่าจุลินทรีย์มีการเกาะของเชื้อตามพื้นผิวและส่วนของพื้นผิวที่ขรุขระและส่วนของรูพรุนของเปลือกทุเรียนได้



ภาพ 16 ผลผลิตของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, ผลผลิตของลิกนิน และการวิเคราะห์นับจำนวน *Brevibacterium casei* NK8 จากการใช้วัสดุผลิตซ้ำภายใต้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง

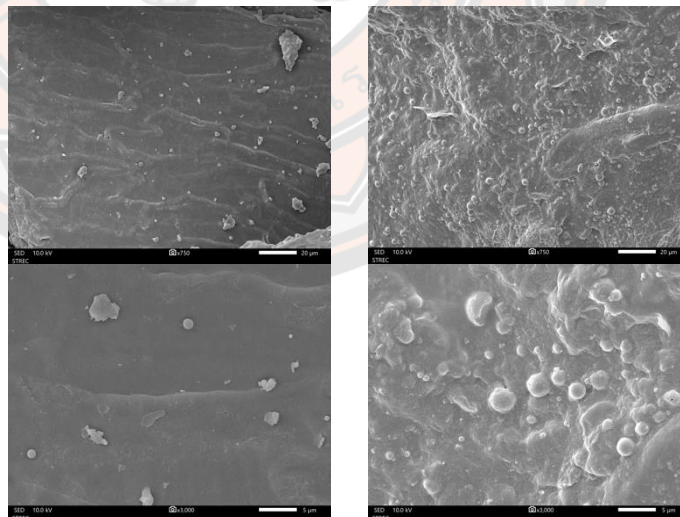
ขนาดการขยาย

ก่อนปรับสภาพ

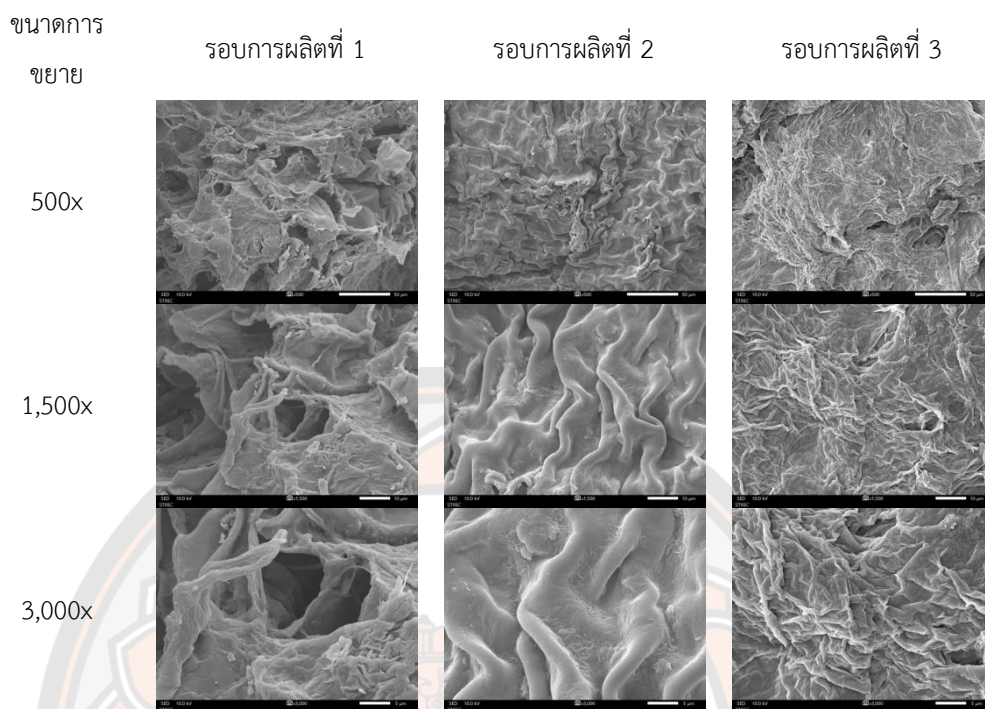
หลังปรับสภาพ

750x

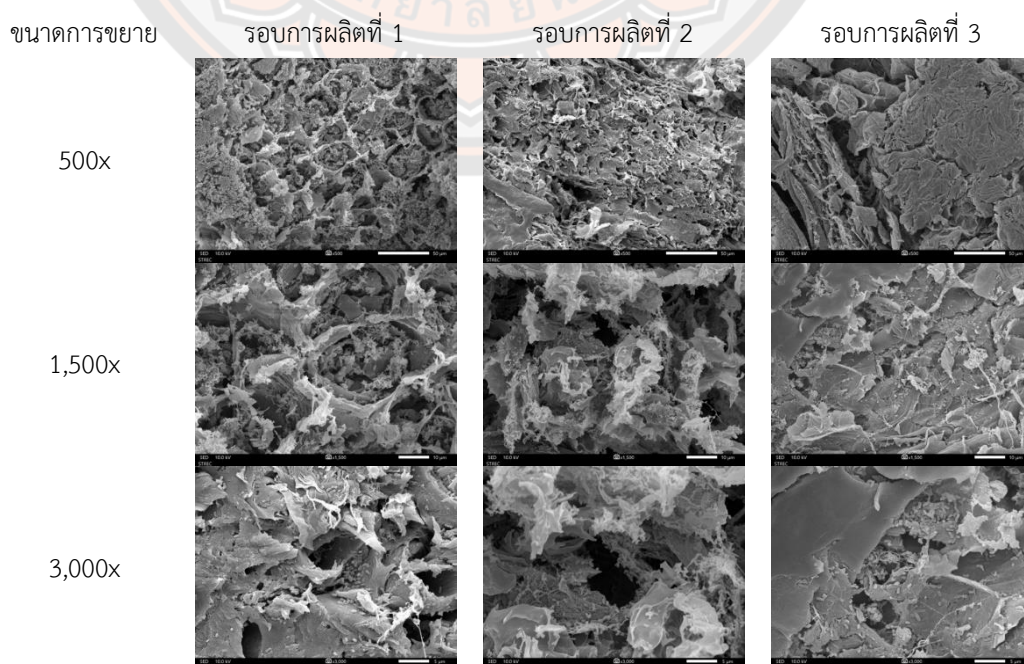
3,000x



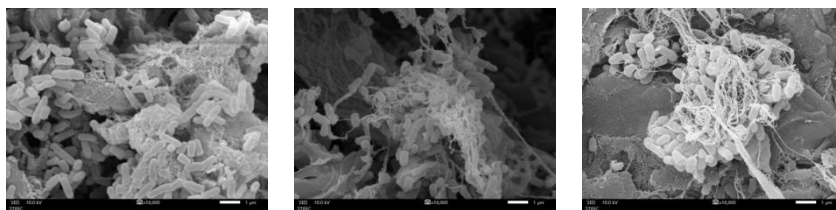
ภาพ 17 เปลือกทุเรียนที่นำมาใช้เป็นสารตั้งต้นก่อนการปรับสภาพ และภายหลังการปรับสภาพที่นำมาศึกษาลักษณะทางกายภาพโดย SEM ที่กำลังขยาย 750x และ 3,000x



ภาพ 18 ลักษณะทางกายภาพของสารตั้งต้นในการผลิตภายหลังจากการนำมาใช้ซ้ำโดยมีในสถานะที่ผ่านการใช้ซ้ำในแต่ละรอบโดยมี รอบการผลิตที่ 1, รอบการผลิตที่ 2 และรอบการผลิตที่ 3 ที่กำลังขยาย 500x, 1,500x, และ 3,000x



10,000x

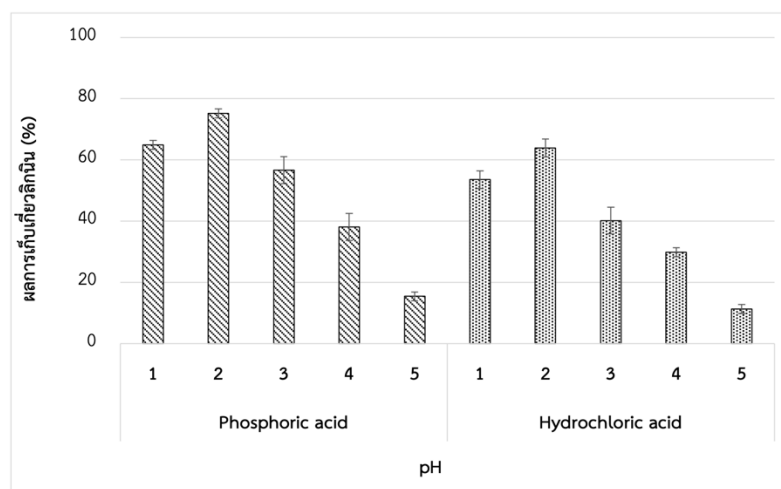


**ภาพ 19** ลักษณะทางกายภาพของสารตั้งต้นในการผลิตภายหลังจากการนำมาใช้ซ้ำในขณะที่ยังคงที่เรียกว่า เกาะติดอยู่กับสารตั้งต้นในระหว่างการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนินโดยมี รอบการผลิตที่ 1, รอบการผลิตที่ 2 และรอบการผลิตที่ 3 ที่กำลังขยาย 500x, 1,500x, 3,000x, และ 10,000x

จากการทดลองทั้งหมดพบว่าสามารถนำเปลือกทุเรียนเป็นสารตั้งต้นร่วมกับ *Brevibacterium casei* NK8 โดยใช้ซ้ำในการผลิตได้หลายครั้ง และพบว่าเมื่อมีการใช้ซ้ำหลายครั้ง เชื้อจุลินทรีย์สามารถเข้าไปย่อยสลายวัสดุและใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ดีมากยิ่งขึ้นในแต่ละรอบการผลิต

#### 4.1.2 การตกตะกอนแยกลิกนินออกจากน้ำชะเปลือกทุเรียนโดยการแปรผันชนิดของกรด และค่าพีเอช

การตกตะกอนแยกลิกนินออกจากน้ำชะเปลือกทุเรียนโดยการแปรผันกรด 2 ชนิดคือ กรดฟอสฟอริก ( $H_3PO_4$ ) และ กรดไฮโดรคลอริก (HCl) โดยกรดฟอสฟอริกมีคุณสมบัติเป็นกรดอ่อนกว่า กรดไฮโดรคลอริกที่มีคุณสมบัติเป็นกรดแก่ (Abdollahi et al., 2014) และมีการแปรผันค่าพีเอช จากการทดลองในภาพ 19 พบว่า ที่การปรับสภาพค่าพีเอชเท่ากับ 2 สามารถตกตะกอนลิกนินและสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ดีที่สุด จึงสอดคล้องกับผลการดำเนินงานวิจัยของ Sun et al. (1999) ที่พบว่าจากการแปรผันค่าพีเอชและพบว่าที่ค่าพีเอช 2 สามารถตกตะกอนลิกนินได้ดีที่สุด และจากการทดลองนี้ผลของชนิดกรดมีผลเช่นเดียวกันพบว่า กรดฟอสฟอริกมีประสิทธิภาพและแนวโน้มที่ดีกว่า กรดไฮโดรคลอริกในการตกตะกอนลิกนินเพื่อเก็บเกี่ยวผลผลิต



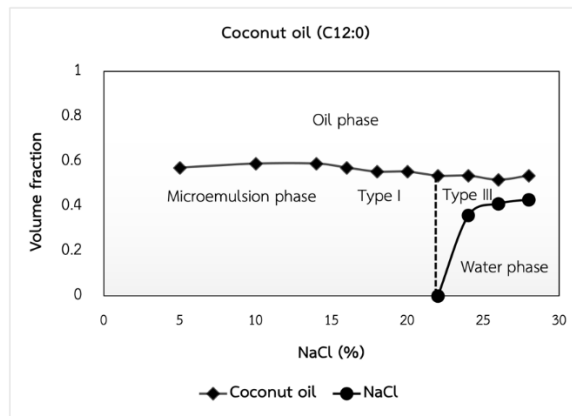
ภาพ 20 กราฟแสดงการแปรผันชนิดของกรด และแปรผันค่าพีเอชที่ส่งผลต่อการตกตะกอนของลิกนิน

ดังนั้นกรดที่เหมาะสมในการนำมาใช้ตกตะกอนน้ำชะเปลือกทุเรียนปลอดเชื้อคือ กรดฟอสฟอริก และต้องปรับค่าพีเอชในน้ำชะเปลือกทุเรียนปลอดเชื้อให้มีค่าเท่ากับ 2 จึงจะสามารถตกตะกอนลิกนินและเก็บเกี่ยวลิกนินได้ดีมากที่สุด

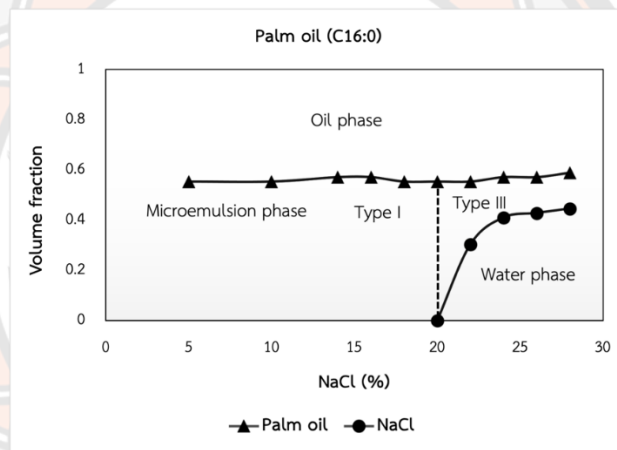
#### 4.2 การพัฒนาอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ

4.2.1 การศึกษาหาส่วนผสมหลักของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพในรูปแบบอิมัลชัน โดยศึกษาการเปลี่ยนวัฏภาค (Phase behavior study)

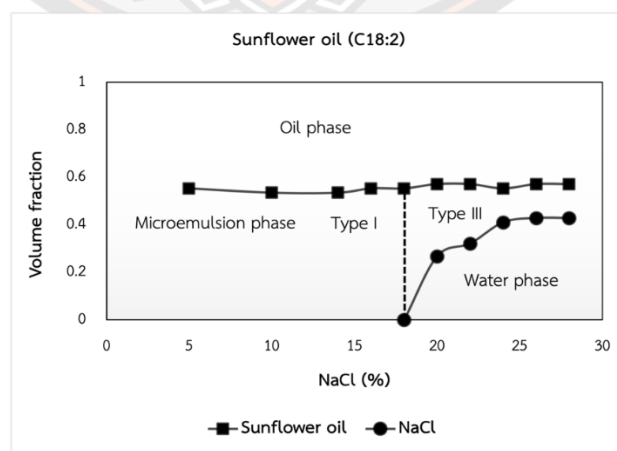
การใช้การเปลี่ยนวัฏภาคเพื่อแปรผันส่วนผสมที่สามารถเกิดไมโครอิมัลชันชนิด Winsor Type I เพื่อหาส่วนผสมหลักของไมโครอิมัลชัน เนื่องจากโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพค่อนข้างมีความซับซ้อนจึงต้องใช้ศึกษาการเปลี่ยนวัฏภาค (Phase behavior study) ไมโครอิมัลชันมีคุณสมบัติที่อยู่ในระดับนาโน มีความเสถียรทางเทอร์โมไดนามิกส์ (Thermodynamically stable) จึงสามารถคงสภาพอยู่ได้นาน (Gupta et al., 2016) ในการศึกษาการเปลี่ยนวัฏภาคโดยจะใช้วิธีการเพิ่มความไม่ชอบน้ำของระบบ Hydrophobic ด้วยวิธีการเพิ่มอิเล็กโตรไลต์ ในส่วนผสมจะมีสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ลิกนิน โซเดียมคลอไรด์ และน้ำมันพืช ทำการผสมโดยการเขย่ากลับไปมา และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 สัปดาห์เพื่อดูการเกิดไมโครอิมัลชัน โดยในชั้นที่เกิดอิมัลชันจะมีลักษณะน้ำมันละลายเข้าไปและค่อนข้างมีความใส สามารถส่องเลเซอร์และเห็นด้วยสายตาลักษณะเป็นเส้นตรง



ภาพ 21 การเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ลิกนิน โซเดียมคลอไรด์ และน้ำมันมะพร้าว

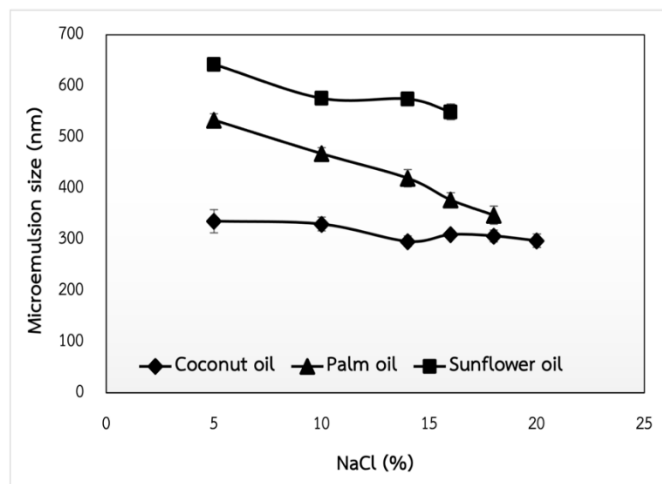


ภาพ 22 การเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ลิกนิน โซเดียมคลอไรด์ และน้ำมันปาล์ม



ภาพ 23 การเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ลิกนิน โซเดียมคลอไรด์ และน้ำมันดอกทานตะวัน

จากผลการทดลองพบว่าไมโครอิมัลชันที่ใช้น้ำมันดอกทานตะวันจะใช้โซเดียมคลอไรด์น้อยที่สุด ลำดับถัดมาจะเป็นน้ำมันปาล์มและน้ำมันมะพร้าว สาเหตุเกิดขึ้นจากความยาวของสายคาร์บอนของ fatty acid profile ในแต่ละน้ำมันมีความแตกต่างกัน โดยน้ำมันดอกทานตะวันประกอบด้วย linolenic เป็นหลักจะมีจำนวนคาร์บอนเท่ากับ (18:2) (Akkaya, 2018) ซึ่งมีความยาวของจำนวนคาร์บอนมากที่สุด ถัดมาคือน้ำมันปาล์มประกอบด้วย palmitic acid เป็นหลักมีจำนวนคาร์บอนเท่ากับ (16:0) (Mancini et al., 2015) และน้ำมันมะพร้าวประกอบด้วย Lauric เป็นหลักมีจำนวนคาร์บอนเท่ากับ (12:0) (Boateng et al., 2016) ซึ่งมีจำนวนคาร์บอนน้อยที่สุดและสอดคล้องกับต้องการโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสมในการเกิดอิมัลชัน รองลงมาจะเป็นน้ำมันปาล์ม และท้ายสุดจะเป็นน้ำมันดอกทานตะวันดังแสดงในภาพ 21-23 โดยช่วงความเข้มข้นต่างๆที่สามารถทำให้เกิด Winsor Type I จะนำช่วงส่วนนี้ไปทำการใช้วิธีการทางสถิติที่เหมาะสม ประกอบด้วย สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ลิกนิน โซเดียมคลอไรด์ และน้ำมันพืช โดยมีหลายงานวิจัยที่ได้ลองนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมาพัฒนาเป็นอิมัลชันพบว่าจากงานวิจัยของ Nguyen et al. (2009) ได้มีการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิด Rhamnolipids ร่วมกับสารลดแรงตึงผิวเคมีคือ sodium bis(2-ethyl) dihexyl sulfosuccinate และสารลดแรงตึงผิวร่วมที่เป็นแอลกอฮอล์คือ oleyl alcohol ที่ยังมีการใช้ส่วนผสมทางเคมีที่อาจจะเป็นอันตรายหรือตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้ และในงานวิจัยของ Corcoran et al. (2021) ได้มีการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิด lecitin ร่วมกับสารลดแรงตึงผิวทางเคมีคือ Tween 80 มีการใช้การศึกษาการเปลี่ยนวัฏภาคในการผสมสูตรเช่นเดียวกับในงานวิจัยนี้แต่ยังพบว่ายังมีการใช้สารเคมีในส่วนผสมจึงยังมีความอันตรายอยู่เช่นเดียวกันกับงานวิจัยก่อนหน้า แต่ในงานวิจัยนี้ได้มีการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เป็นลิโปเปปไทด์และพอสโพลีพิดผสมกันร่วมกับส่วนผสมอื่นที่มีความปลอดภัยทางชีวภาพทั้งหมดจึงจะไม่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม



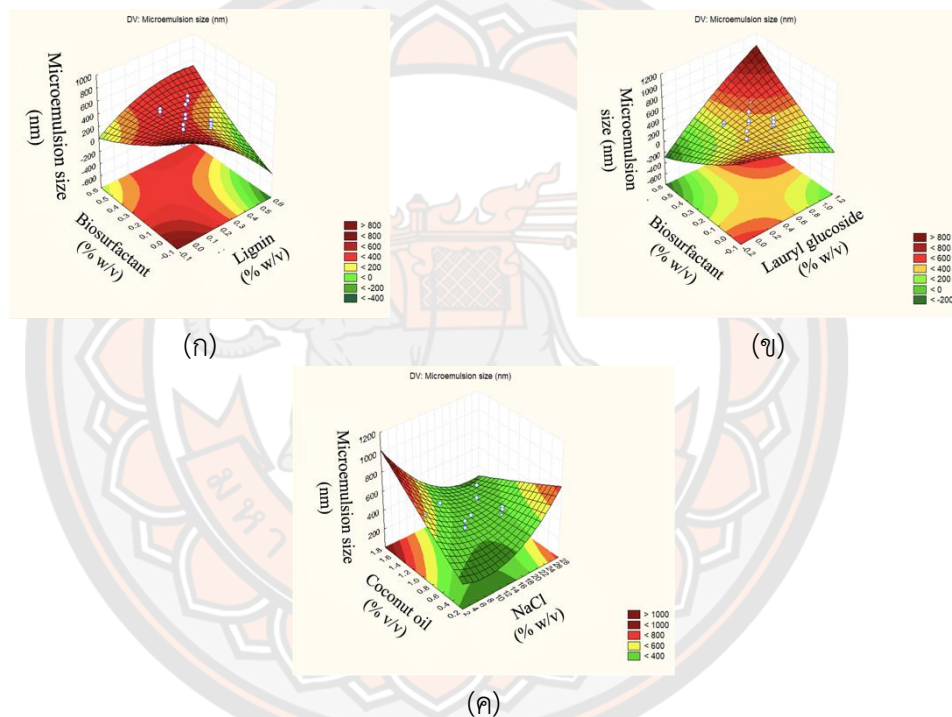
ภาพ 24 ขนาดของอิมัลชันที่มีการแปรผันชนิดของน้ำมันในส่วนผสม

เนื่องจากน้ำมันมะพร้าวมีความยาวของสายคาร์บอนน้อยที่สุดดังนั้นเวลาเกิดอิมัลชันจึงทำให้ขนาดของไมเซลล์มีขนาดเล็กที่สุด และเมื่อสายคาร์บอนยังมีจำนวนที่ยาวขึ้นจึงส่งผลให้ขนาดของไมเซลล์มีขนาดที่ใหญ่ขึ้นตามลำดับคือ น้ำมันปาล์มและน้ำมันดอกทานตะวันดังแสดงในภาพ 22-23 พบว่าน้ำมันปาล์มส่งผลต่อขนาดของอิมัลชันที่มีขนาดเล็กได้ใกล้เคียงกับน้ำมันมะพร้าว อีกทั้งยังมีต้นทุนที่ต่ำกว่า โดยในการทดลองต่อไปจะมีการนำ DOE-RSM ชนิด Box-Behnken มาใช้ในการหาส่วนผสมที่เหมาะสมให้มีประสิทธิภาพสูงสุด

หลังจากได้ช่วงความเข้มข้นจากการศึกษาการเปลี่ยนวัฏภาคเป็นข้อมูลในโปรแกรมทางสถิติ DOE-RSM ชนิด Box-Behnken เพื่อออกแบบการทดลองในแต่ละชนิดของน้ำมัน และใช้ RSM สร้างสมการทำนายและทำนายกราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นผิวเพื่อให้ไขมันละลายเข้าสู่ไมเซลล์ได้ดียิ่งขึ้นและมีขนาดของไมโครอิมัลชัน ที่มีขนาดเล็กลงจึงมีการเติมสารลดแรงตึงผิวผสม คือ ลอริลกลูโคไซด์ (Lauryl glucoside) ในส่วนผสม

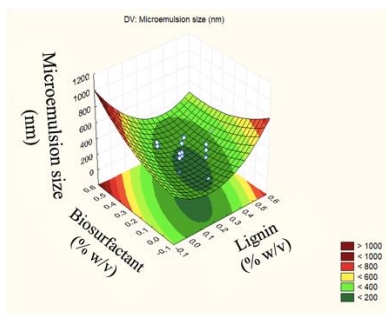
จากการทำ DOE-RSM ชนิด Box-Behnken ดังแสดงในภาพ 25, 26, และ 27 จะพบว่าส่วนผสมที่เหมาะสมสำหรับการเกิดไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะพร้าวคือ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.3 %, ลิกนิน 0.4 %, Lauryl glucoside 1 %, โซเดียมคลอไรด์ 5 %, และน้ำมันมะพร้าว 0.3% และจะได้ไมโครอิมัลชันที่มีขนาด 79.934 นาโนเมตร สำหรับน้ำมันปาล์มจะประกอบไปด้วย สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.1 %, ลิกนิน 0.3 %, ลอริลกลูโคไซด์ 0.3 %, โซเดียมคลอไรด์ 5 %, และน้ำมันปาล์ม 0.6 % และจะได้ไมโครอิมัลชันที่มีขนาด 69.407 นาโนเมตรสำหรับน้ำมันดอกทานตะวัน จะประกอบไปด้วย สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.4 %, ลิกนิน 0.4 %, ลอริลกลูโคไซด์ 0.5, โซเดียมคลอไรด์ 5 %

และน้ำมันดอกทานตะวัน 0.4 % และจะได้ไมโครอิมัลชันที่มีขนาด 66.197 นาโนเมตร ส่วนผสมแต่ละส่วนผสมจะมีปัจจัยความเข้มข้นที่ไม่เหมือนกันแต่ละส่วนผสม สามารถเกิดขึ้นจากปัจจัยหลายอย่างเช่น ความยาวของคาร์บอน ความยาวของ fatty acid และความหนืดของน้ำมัน ที่จะส่งผลต่อการเกิดไมโครอิมัลชันได้อย่างไรก็ตามพบว่าน้ำมันมะพร้าวมีสายคาร์บอนสั้นที่สุดจะเห็นว่าจะมีขนาดของไมโครอิมัลชันที่ค่อนข้างมีขนาดใหญ่เนื่องจากจะมีการไปจับตัวของประจุส่วนที่ไม่ชอบน้ำของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้น้อยกว่าน้ำมันปาล์มและน้ำมันดอกทานตะวันที่มีขนาดของไมโครอิมัลชันที่มีขนาดเล็กกว่า

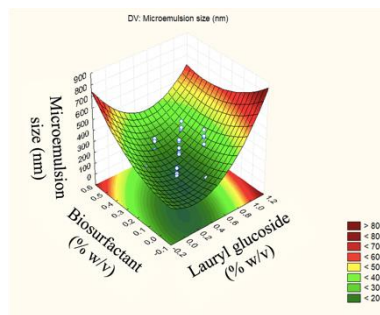


ภาพ 25 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันมะพร้าวและโซเดียมคลอไรด์ ต่อค่าขนาดของไมโครอิมัลชัน

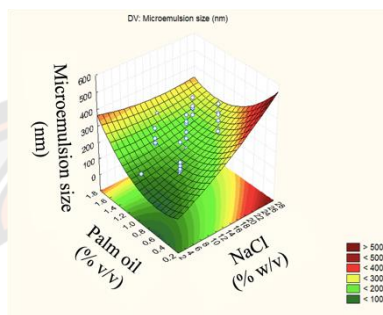




(ก)

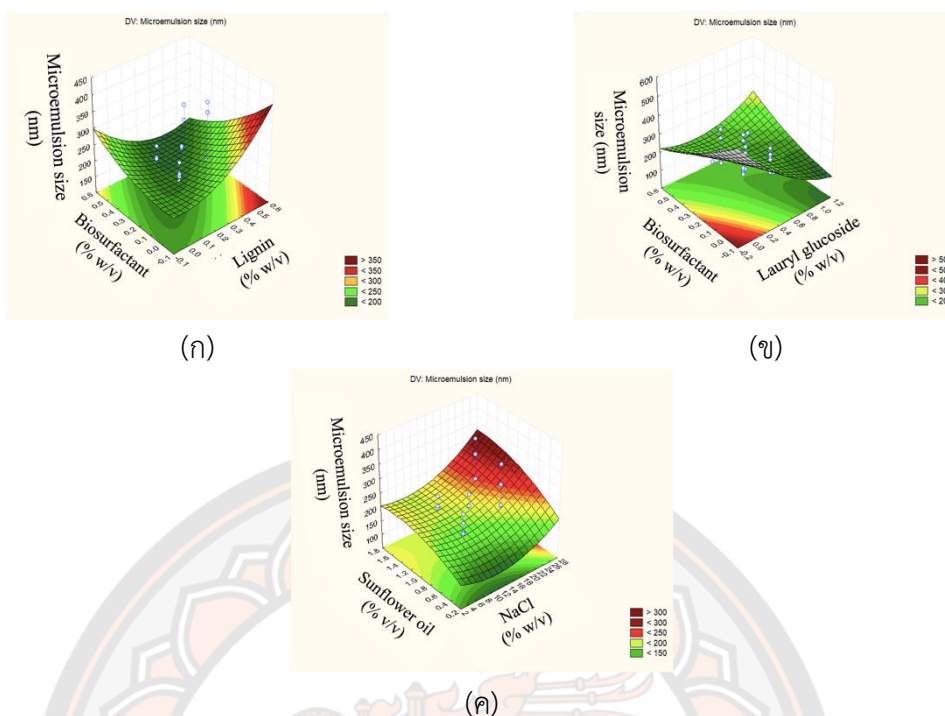


(ข)



(ค)

ภาพ 26 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันปาล์มและโซเดียมคลอไรด์ ต่อค่าขนาดของไมโครอิมัลชัน



ภาพ 27 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันดอกทานตะวันและโซเดียมคลอไรด์ ต่อค่าขนาดของไมโครอิมัลชัน

#### 4.2.2 การศึกษาหาส่วนผสมของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพในรูปแบบอิมัลชันโดยใช้ DOE ชนิด Box-Behnken

##### 4.2.2.1 การศึกษาผลของชนิดอิเล็กโทรไลต์ต่อการเกิดไมโครอิมัลชันที่เหมาะสมสำหรับเป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ

การศึกษานี้ต้องการทราบผลของชนิดอิเล็กโทรไลต์ต่อการเกิดไมโครอิมัลชันดังแสดงในตารางที่ 9 และ 10 เนื่องจากต้องการลดปริมาณความเข้มข้นของชนิดของอิเล็กโทรไลต์เพื่อที่จะลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้มากที่สุด โดยแอมโมเนียมซัลเฟตสามารถแตกตัวออกเป็น 2 ประจุ จึงมีแนวโน้มที่จะมีการใช้ความเข้มข้นที่น้อยลงได้ในส่วนผสมต่อการเกิดไมโครอิมัลชัน โดยจากผลกราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นผิวเมื่อนำมาทำนายผลพบว่าสูตรที่สามารถเกิดไมโครอิมัลชันกับน้ำมันปาล์มโดยเปลี่ยนจาก โซเดียมคลอไรด์เป็นแอมโมเนียมซัลเฟต ประกอบไปด้วย สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ลิกนิน แอมโมเนียมซัลเฟต ลอริลกลูโคไซด์ และน้ำมันปาล์ม ซึ่งจะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์น้อยกว่าในกรณีที่ใช้โซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นในการใช้ 5 % จึงมีความ

สอดคล้องว่าเมื่อใช้อิเล็กโตรไลต์ที่มีการแตกตัวของประจุที่มากขึ้นจะสามารถช่วยลดความเข้มข้นของอิเล็กโตรไลต์ในอิมัลชันได้

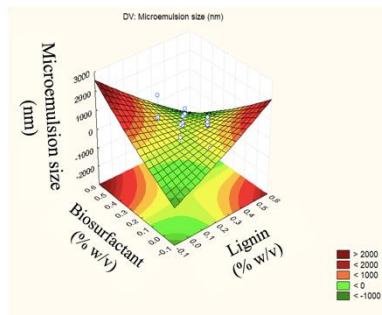
การเกิดมูมส์ระหว่าง โซเดียมคลอไรด์ และแอมโมเนียมซัลเฟต พบว่าในกรณีของแอมโมเนียมซัลเฟตขนาดของอิมัลชันจะอยู่ที่ 64.565 นาโนเมตร (ภาพ 28) และมีมูมส์ต่อพื้นผิววักซ์พีนตึ๊กแกอยู่ที่ 33.2420 องศา (ภาพ 30) มูมส์ต่อพื้นผิววักซ์พีนตึ๊กแกอยู่ที่ 60.0040 องศา (ภาพ 3) และในกรณีที่มีการใช้ส่วนของโซเดียมคลอไรด์ขนาดของอิมัลชันจะอยู่ที่ 69.407 นาโนเมตร และมีมูมส์ต่อพื้นผิววักซ์พีนตึ๊กแกอยู่ที่ 16.545 องศา (ภาพ 29) มูมส์ต่อพื้นผิววักซ์พีนตึ๊กแกอยู่ที่ 72.0974 องศา (ภาพ 31) 003 ทั้งนี้อาจจะเป็นสาเหตุมาจากลักษณะของพื้นผิวกลุ่มไบแคบและไบคว้าง wax ที่บริเวณไบพีช หรือส่วนที่ไม่ชอบน้ำที่ต่างกันจึงส่งผลโดยตรงต่ออิเล็กโตรไลต์ต่อการเกิดไมโครอิมัลชันต่อวักซ์พีนตึ๊กแกจึงไม่เหมือนกัน

**ตาราง 9 การออกแบบการทดลอง CCD โดยมีตัวแปรต้น 5 ตัวแปร ที่ระดับการแปรผัน 3 ระดับ สำหรับสูตรที่มีการแปรผันโซเดียมคลอไรด์ในการเกิดอิมัลชันเพื่อใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ**

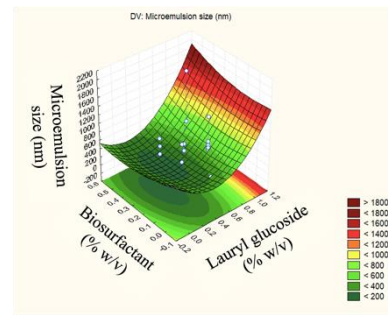
ตัวแปรต้น	หน่วย	ระดับ			ตัวแปรตาม
		-1	0	+1	
สารลดแรงตึงผิว	ร้อยละ	0.15	0.25	0.35	
ชีวภาพ % (w/v)	ร้อยละ	0.15	0.25	0.35	
ลิกนิน % (w/v)	ร้อยละ	0.15	0.25	0.35	
โซเดียมคลอไรด์ % (w/v)	ร้อยละ	7	12	17	- ขนาดของไมโครอิมัลชัน
น้ำมันพาล์ม % (v/v)	ร้อยละ	0.75	1	1.25	- มูมส์ต่อพื้นผิวไบพีช
Lauryl glucoside % (v/v)	ร้อยละ	0.3	0.5	0.7	

ตาราง 10 การออกแบบการทดลอง CCD โดยมีตัวแปรต้น 5 ตัวแปร ที่ระดับการแปรผัน 3 ระดับ สำหรับสูตรที่มีการแปรผันแอมโมเนียมซัลเฟตในการเกิดอิมัลชันเพื่อใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ

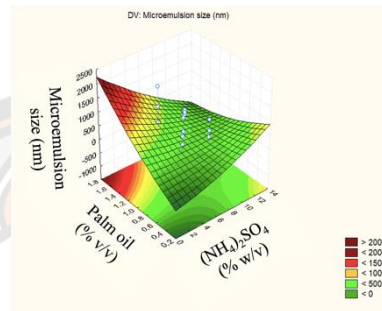
ตัวแปรต้น	หน่วย	ระดับ			ตัวแปรตาม
		-1	0	+1	
สารลดแรงตึงผิว	ร้อยละ	0.15	0.25	0.35	
ชีวภาพ % (w/v)	ร้อยละ	0.15	0.25	0.35	
ลิกนิน % (w/v)	ร้อยละ	0.15	0.25	0.35	
แอมโมเนียมซัลเฟต % (w/v)	ร้อยละ	5	7	9	- ขนาดของไมโครอิมัลชัน - มุมสัมผัสบนพื้นผิวใบพืช
น้ำมันปาล์ม % (v/v)	ร้อยละ	0.75	1	1.25	
แซนแทนกัม % (v/v)	ร้อยละ	0.1	0.15	0.2	



(ก)

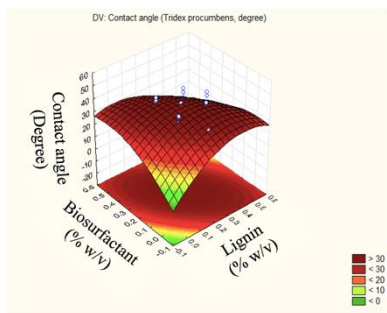


(ข)

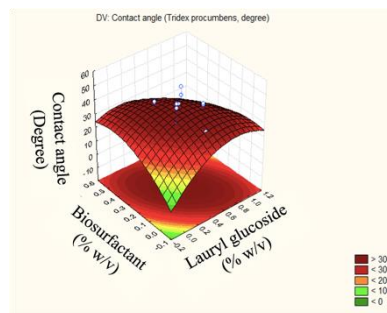


(ค)

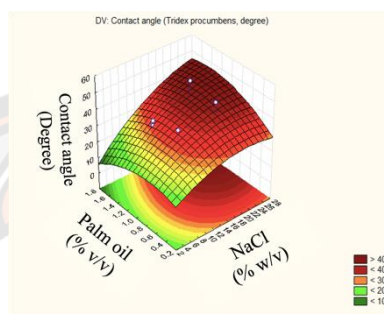
ภาพ 28 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันปาล์มและแอมโมเนียมซัลเฟต ต่อค่าขนาดของไมโครอิมัลชัน



(ก)

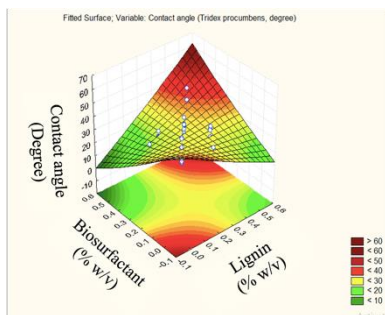


(ข)

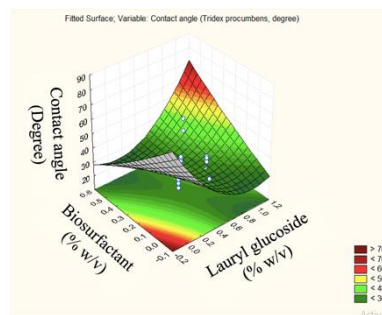


(ค)

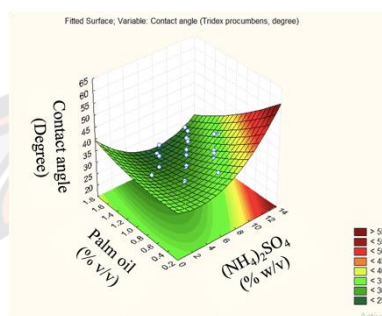
ภาพ 29 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันปาล์มและโซเดียมคลอไรด์ ต่อค่ามุมสัมผัสบนใบตื้นตุ๊กแก



(ก)

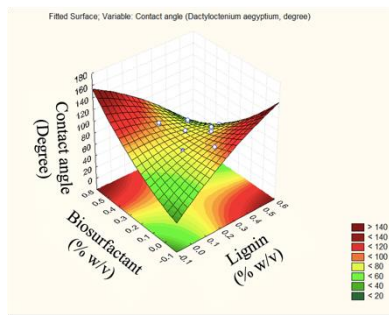


(ข)

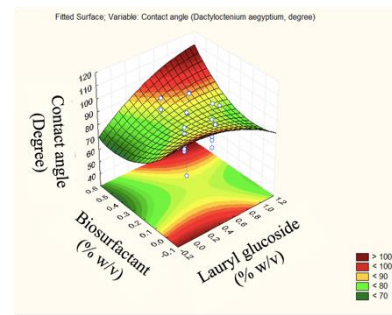


(ค)

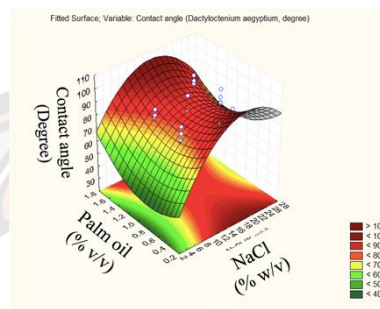
ภาพ 30 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันปาล์มและแอมโมเนียมซัลเฟต ต่อค่ามุมสัมผัสบนใบดินตูกแก



(ก)



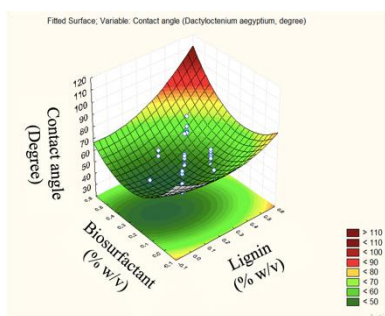
(ข)



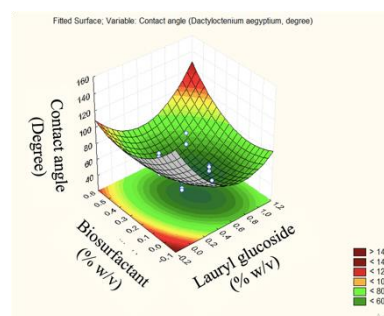
(ค)

ภาพ 31 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันปาล์มและโซเดียมคลอไรด์ ต่อค่ามุมสัมผัสบนใบหญ้าปากควาย

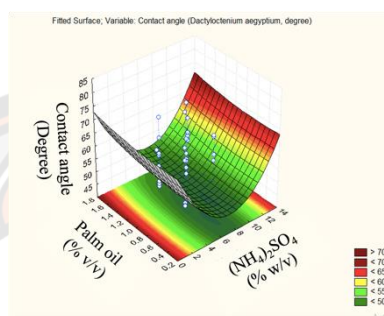




(ก)



(ข)



(ค)

ภาพ 32 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลอริลกลูโคไซด์ (ค) น้ำมันปาล์มและแอมโมเนียมซัลเฟต ต่อค่ามุมสัมผัสบนใบหญ้าปากคต 4.2.2.2 แปรผันสารลดแรงตึงผิวผสมต่อการเกิดไมโครอิมัลชันที่เหมาะสม

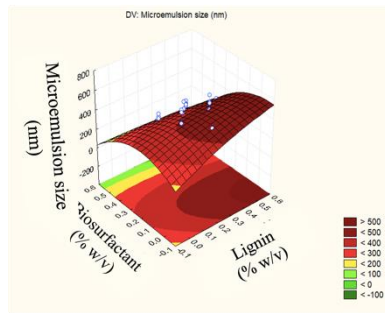
เนื่องจากแซนแทนกัมมี molecular weight ที่ค่อนข้างใหญ่ ทำให้ขนาดของไมโครอิมัลชันและค่าวิเคราะห์มุมสัมผัสกับวัชพืช ทั้ง 2 ชนิดคือใบกว้างและใบแคบมีค่าที่สูงมากกว่ากรณีที่ใช้ลอริลกลูโคไซด์ และมีความหนืดกว่า อย่างไรก็ตามซึ่งอาจจะช่วยเพิ่มการเกาะติดที่ใบวัชพืชได้ดีมากยิ่งขึ้น และจะเห็นได้ว่าจากสูตรที่สามารถเกิดอิมัลชันที่เหมาะสมที่มีสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.4 % ลิกนิน 0 % แซนแทนกัม 0.2 % แอมโมเนียมซัลเฟต 3 % และน้ำมันปาล์ม 1.2 % จะได้ขนาดของอิมัลชัน 151.489 นาโนเมตร มุมสัมผัสต่อตีนตุ๊กแก 83.6191 องศา และมุมสัมผัสต่อหญ้าปากควาย 145.324 องศา ดังแสดงในภาพ 30, 31 และ 32

ตาราง 11 การออกแบบการทดลอง CCD โดยมีตัวแปรต้น 5 ตัวแปร ที่ระดับการแปรผัน 3 ระดับ สำหรับสูตรที่มีการแปรผันลอริทึมโคไซด์ในการเกิดอิมัลชันเพื่อใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ

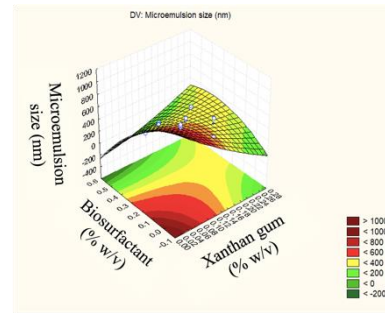
ตัวแปรต้น	หน่วย	ระดับ			ตัวแปรตาม
		-1	0	+1	
สารลดแรงตึงผิว ชีวภาพ	ร้อยละ	0.3	0.4	0.5	
ลิกนิน	ร้อยละ	1	1.5	2	- ขนาดของไมโครอิมัลชัน
โซเดียมคลอไรด์	ร้อยละ	4	6	8	- มุมสัมผัสบนพื้นผิวใบ
น้ำมันปาล์ม	ร้อยละ	2	3	4	พืช
Lauryl glucoside	ร้อยละ	0.3	0.5	0.7	

ตาราง 12 การออกแบบการทดลอง CCD โดยมีตัวแปรต้น 5 ตัวแปร ที่ระดับการแปรผัน 3 ระดับ สำหรับสูตรที่มีการแปรผันแซนแทนกัมในการเกิดอิมัลชันเพื่อใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ

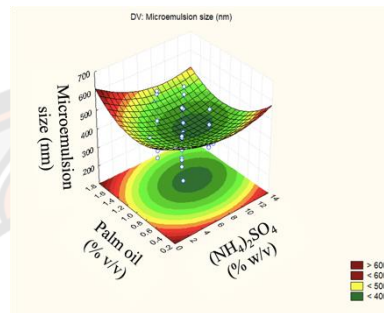
ตัวแปรต้น	หน่วย	ระดับ			ตัวแปรตาม
		-1	0	+1	
สารลดแรงตึงผิว ชีวภาพ	ร้อยละ	1.5	2.5	3.5	
ลิกนิน	ร้อยละ	1.5	2.5	3.5	- ขนาดของไมโครอิมัลชัน
โซเดียมคลอไรด์	ร้อยละ	7	12	17	- มุมสัมผัสบนพื้นผิวใบ
น้ำมันปาล์ม	ร้อยละ	0.75	1	1.25	พืช
แซนแทนกัม	ร้อยละ	0.1	0.3	0.5	



(ก)

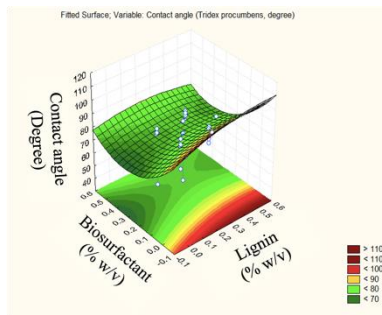


(ข)

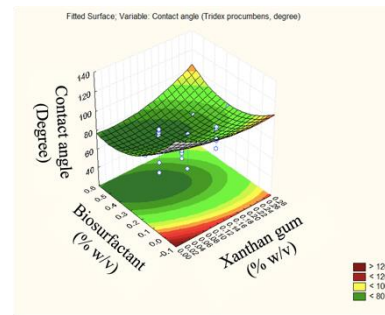


(ค)

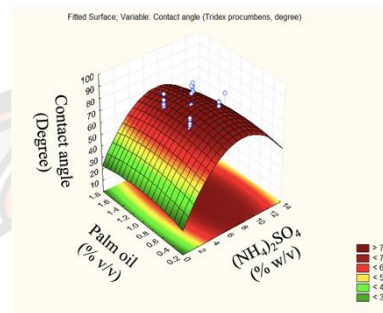
ภาพ 33 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและแซนแทนกัม (ค) น้ำมันปาล์มและแอมโมเนียมซัลเฟต ต่อค่าขนาดของไมโครอิมัลชัน



(ก)

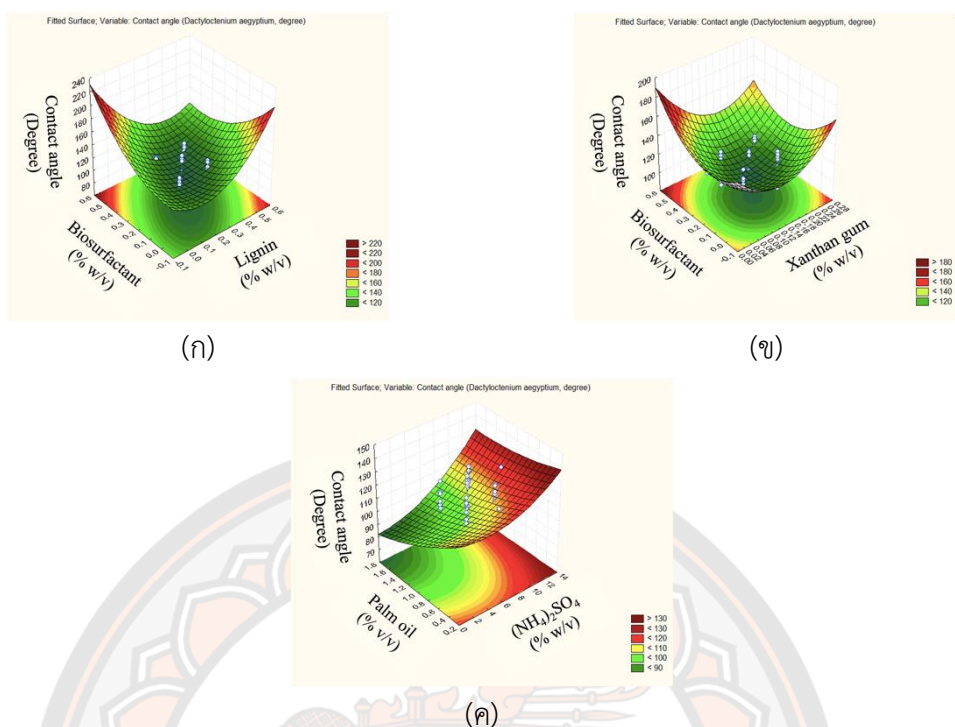


(ข)



(ค)

ภาพ 34 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและแซนแทนกัม (ค) น้ำมันปาล์มและแอมโมเนียมซัลเฟต ต่อค่ามุมสัมผัสบนใบหญ้าตีนตุ๊กแก



ภาพ 35 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงพื้นผิว 5 ปัจจัย (ก) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและลิกนิน (ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและแซนแทนกัม (ค) น้ำมันปาล์มและแอมโมเนียมซัลเฟต ต่อค่ามุมสัมผัสบนใบหญ้าปากควาย

#### 4.3 การศึกษาการทดสอบประสิทธิภาพของอิมัลชันจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากสูตรที่เหมาะสมที่นำมาใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ

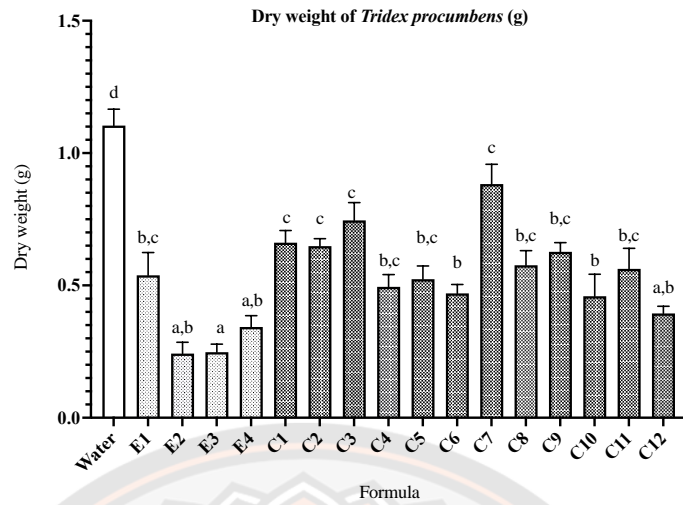
##### 4.3.1 ประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกได้ต่อการยับยั้งหญ้าตีนตุ๊กแกและหญ้าปากควาย

จากผลการทดสอบการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกได้จากตาราง 13 และแต่ละส่วนผสมของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ (ตาราง 14) กับตีนตุ๊กแกและหญ้าปากควายพบว่า เมื่อสังเกตด้วยสายตาเป็นเวลาจนครบ 14 วัน ชุดการทดลอง E2, E3, และ E4 สามารถเห็นถึงการถูกทำลายที่ใบของตีนตุ๊กแกอย่างชัดเจนโดยชุดการทดลอง E2 จะเห็นอาการใบเป็นจุดไหม้สีน้ำตาล ถูกทำลายที่ 3 วันหลังฉีดพ่น และถูกทำลายมากยิ่งขึ้นหลังจากฉีดพ่นครั้งที่ 2 เมื่อครบ 14 วันหลังการฉีดพ่นจากการสังเกตด้วยสายตาพบว่าไม่สามารถกลับมาเจริญเติบโตได้อีก ส่วนชุดการทดลอง E3 จะเริ่มเห็นการถูกทำลายที่ชัดเจนได้หลังจากการฉีดพ่นครั้งที่ 2 และเมื่อครบ 14 วันหลัง

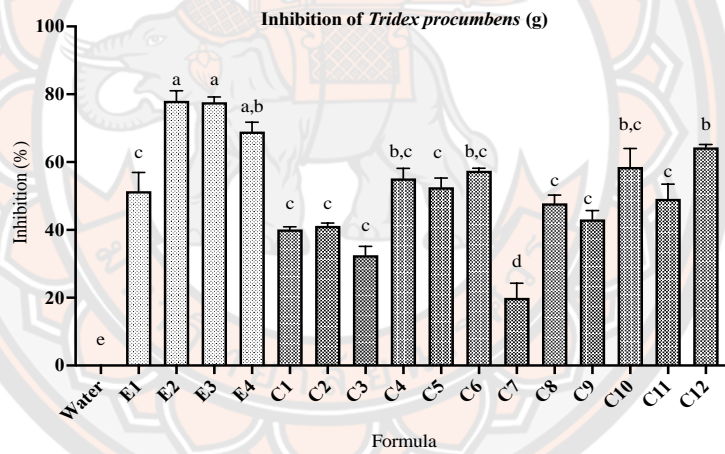
การฉีดพ่นพบว่าไม่สามารถกลับมาเจริญเติบโตได้ และชุดการทดลอง E4 พบว่ามีการถูกทำลายของเนื้อเยื่อบริเวณใบที่ 3 วันหลังฉีดพ่น และเมื่อฉีดพ่นครั้งที่ 2 และทิ้งไว้จนครบ 14 วันพบว่าไม่สามารถกลับมาเจริญเติบโตได้เช่นเดียวกัน (ภาพ 40) จึงพบว่าชุดการทดลอง E2 และ E4 มีแนวโน้มที่จะมีประสิทธิภาพดีกว่าชุดการทดลอง E1 และ E3 ซึ่งเนื่องมาจากการใช้อิเล็กทรอนิกส์ที่เป็นแอมโมเนียมซัลเฟตในส่วนผสม ในขณะที่ชุดการทดลอง E2 ที่ทำการทดสอบการฉีดพ่นกับหญ้าปากควาย (ภาพ 41) มีขนาดต้นที่ค่อนข้างใหญ่จึงอาจจะยังไม่เห็นผลเท่าที่ควรแต่ยังสามารถลดค่าน้ำหนักแห้งได้ต่ำกว่าชุดทดลองที่เป็นน้ำ (ภาพ 38) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดสอบกับดินตึกแกยยังไม่สามารถเห็นผลในการยับยั้งได้มีประสิทธิภาพเทียบเท่า โดยชุดการทดลอง E2, E3, และ E4 พบลักษณะการแห้งของต้น และตายอย่างสมบูรณ์ไม่สามารถกลับมาเจริญเติบโตได้

ตาราง 13 สารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกได้ในการยับยั้งวัชพืช

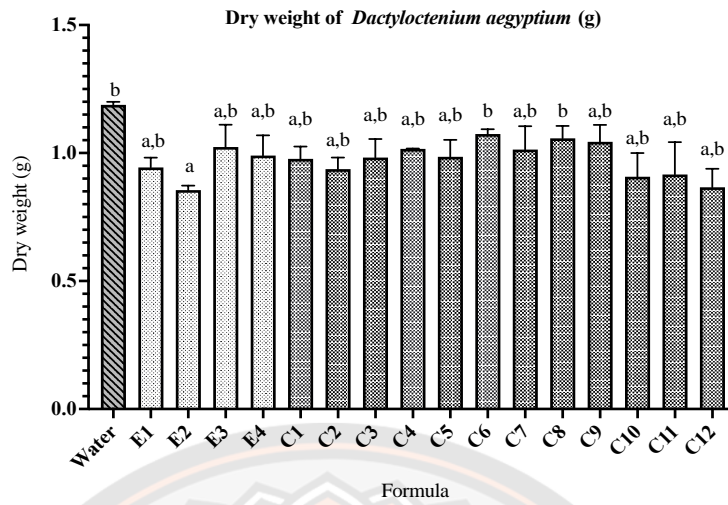
ชุดการทดลอง	
E1	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.1 % + ลิกนิน 0.2 % + โซเดียมคลอไรด์ 3 % + ลอริลกลูโคไซด์ 0.3 % + น้ำมันปาล์ม 0.6 % + สารสกัดจากใบมะม่วง 50 %
E2	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.3 % + ลิกนิน 0.2 % + แอมโมเนียมซัลเฟต 3 % + ลอริลกลูโคไซด์ 0.4 % + น้ำมันปาล์ม 0.3 % + สารสกัดจากใบมะม่วง 50 %
E3	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.4 % + แอมโมเนียมซัลเฟต 3 % + แชนแทนกัม 0.2 % + น้ำมันปาล์ม 1.2 % + สารสกัดจากใบมะม่วง 50 %
E4	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.3 % + ลิกนิน 0.3 % + โซเดียมคลอไรด์ 5 % + แชนแทนกัม 0.1 % + น้ำมันปาล์ม 1.2 % + สารสกัดจากใบมะม่วง 50 %



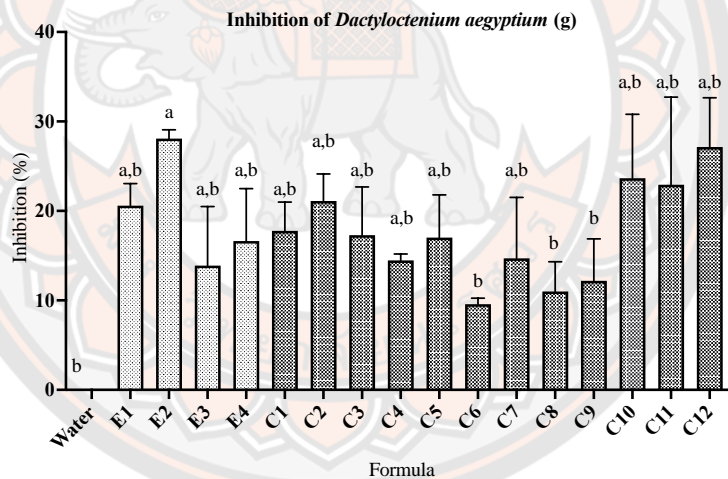
ภาพ 36 กราฟแสดงน้ำหนักแห้งของต้นตึกแกหลังจากฉีดพ่นด้วยสูตรของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกเป็นระยะเวลา 14 วัน







ภาพ 37 กราฟแสดงผลการยับยั้งแต่ละสูตรของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกได้ต่อการยับยั้งต้นตึกแกที่ระยะหลังการฉีดพ่นครบ 14 วัน



ภาพ 38 กราฟแสดงน้ำหนักแห้งของหญ้าปากควายหลังจากฉีดพ่นด้วยสูตรของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกเป็นระยะเวลา 14 วัน



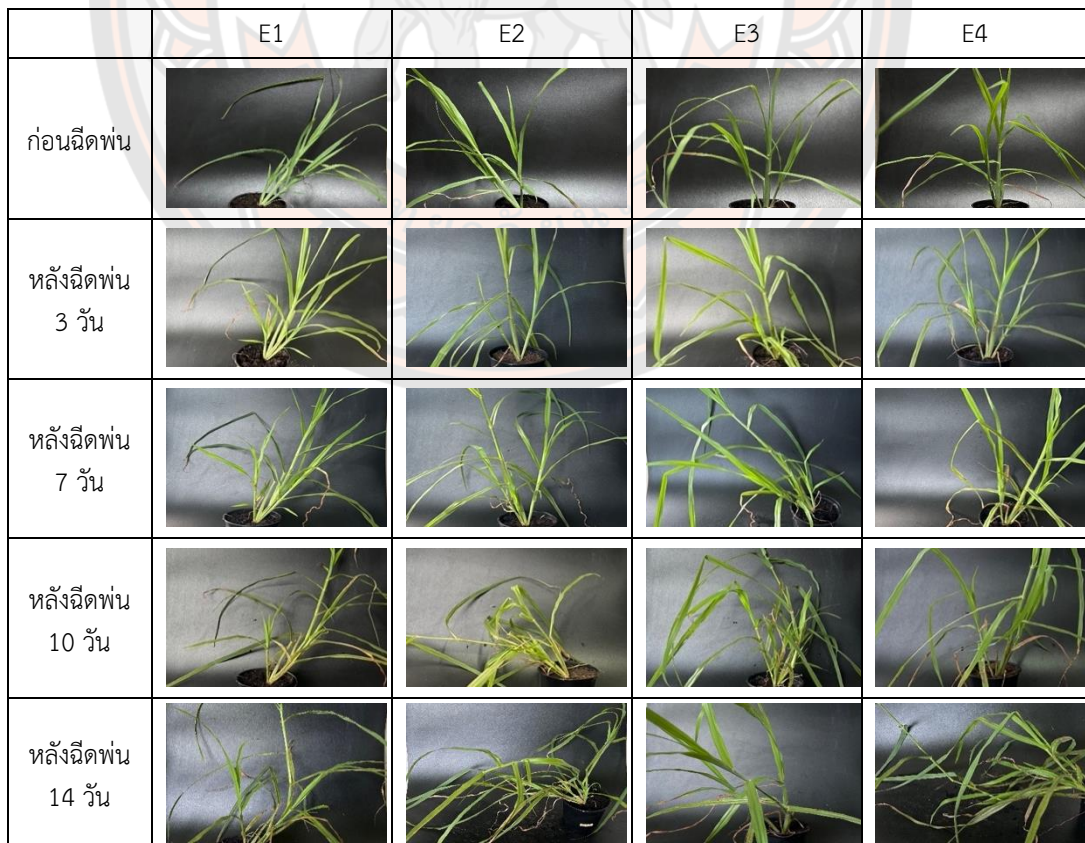
ภาพ 39 กราฟแสดงผลการยับยั้งแต่ละสูตรของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกได้ต่อการยับยั้งหญ้าปากควายที่ระยะหลังการฉีดพ่นครบ 14 วัน

	E1	E2	E3	E4
ก่อนฉีดพ่น				





ภาพ 40 ความเป็นพิษต่อพืชของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกได้ต่อการยับยั้งหญ้าตีนตุ๊กแก ที่ระยะก่อนการฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นครบ 14 วัน



**ภาพ 41** ความเป็นพิษต่อพืชของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกได้ต่อการยับยั้งหญ้าปากควาย ที่ระยะก่อนการฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นครบ 14 วัน

4.3.2 ผลของแต่ละส่วนผสมในสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันต่อการยับยั้งดินตึกและหญ้าปากควาย

ในแต่ละส่วนผสมของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพที่นำมาทดสอบการฉีดพ่นพบว่าใน ชุดควบคุม อื่นๆของแต่ละส่วนผสมนั้นไม่มีความเป็นพิษต่อพืชเกิดขึ้นเมื่อสังเกตด้วยสายตา มีเพียงชุดควบคุม C5, C6, C10 และ C12 คือ โซเดียมคลอไรด์ 5 %, แอมโมเนียมซัลเฟต 3 %, สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.4 %, ลอริลกลูโคไซด์ 0.4 %, แอมโมเนียมซัลเฟต 3 %, และ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.4 %, แซนแทนกัม 0.2 %, แอมโมเนียมซัลเฟต 3 % ตามลำดับโดยชุดควบคุม C5 พบว่าสามารถยับยั้งดินตึกแก่ได้ดีและไม่สามารถกลับมาเจริญเติบโตได้เมื่อทิ้งไว้จนครบ 14 วัน แต่ในชุดควบคุม C6, C10 และ C12 พอมีอาการในช่วงหลังฉีดพ่นช่วงแรก และเมื่อฉีดพ่นรอบที่สองพบว่าเมื่อทิ้งไว้จนครบ 14 วันยังสามารถเจริญเติบโตได้อย่างปกติ โดยจากชุดควบคุม C5 พบว่าเป็นการใช้ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่สูง แต่เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในความเข้มข้นที่เท่ากัน แต่ผสมร่วมกับส่วนผสมอื่นจากในแต่ละส่วนผสม ดังเช่นชุดควบคุม C9 และ C11 ที่ประกอบไปด้วย สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.4 %, ลอริลกลูโคไซด์ 0.4 %, โซเดียมคลอไรด์ 5 % และ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.4 %, แซนแทนกัม 0.2 %, โซเดียมคลอไรด์ 5 % ตามลำดับ จึงพบว่าในความเข้มข้นที่เท่ากับของโซเดียมคลอไรด์ชุดควบคุม C9 นั้นมีเพียงแค่อาการยอดของต้นดินตึกแก่ถูกทำลายเมื่อครบ 14 วันหลังฉีดพ่นแต่พบว่าบริเวณถัดลงมาไม่มีอาการและสามารถเจริญเติบโตและแตกยอดใหม่ได้อย่างปกติ ส่วนชุดควบคุม C11 พบว่ามีอาการแค่หลังฉีดพ่นครั้งที่ 2 แต่เมื่อทิ้งไว้จนครบ 14 วัน พบว่าสามารถเจริญเติบโตได้ดีตามปกติและไม่มีอาการเพิ่มเติม จึงพบว่าในอัตราความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เท่ากันแต่ไม่สามารถยับยั้งดินตึกแก่ได้เทียบเท่าเหมือนกัน (ภาพ 43) เมื่อทำการเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งหลังการฉีดพ่นเป็นเวลา 14 วัน และการทำลายวัชพืช ระหว่างส่วนผสมที่เป็นไมโครอิมัลชันชุดการทดลอง E1, E2, E3, และ E4 ตามลำดับ (ภาพ 36) และของแต่ละส่วนผสมแยกกันตั้งแต่ชุดควบคุม C1 จนถึงถึง C12 (ตาราง 14) สำหรับดินตึกแก่ในส่วนของไมโครอิมัลชันสามารถยับยั้งดินตึกแก่ได้ดีกว่าชุดควบคุม ส่วนของหญ้าปากควาย ชุดการทดลอง E2 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่ดีกว่าชุดควบคุมที่เป็นน้ำเปล่าแต่ยังไม่สามารถยับยั้งได้เมื่อเทียบกับดินตึกแก่





































จากการศึกษาการทดสอบฉีดพ่นกับวัชพืชจึงพบว่า ในส่วนสูตรผสมที่มีส่วนผสมของ แอมโมเนียมซัลเฟต จะทำให้อิมัลชันมีขนาดเล็กสามารถซึมลงเนื้อเยื่อบริเวณใบพืชได้ดี และแซนแทนกัมก็มีบทบาทสำคัญที่ทำให้สารกำจัดวัชพืชได้ดีด้านการเกาะติดที่ใบวัชพืช และทำลายเนื้อเยื่อวัชพืช ตลอดจนถึงการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช (ภาพ 40, 41)

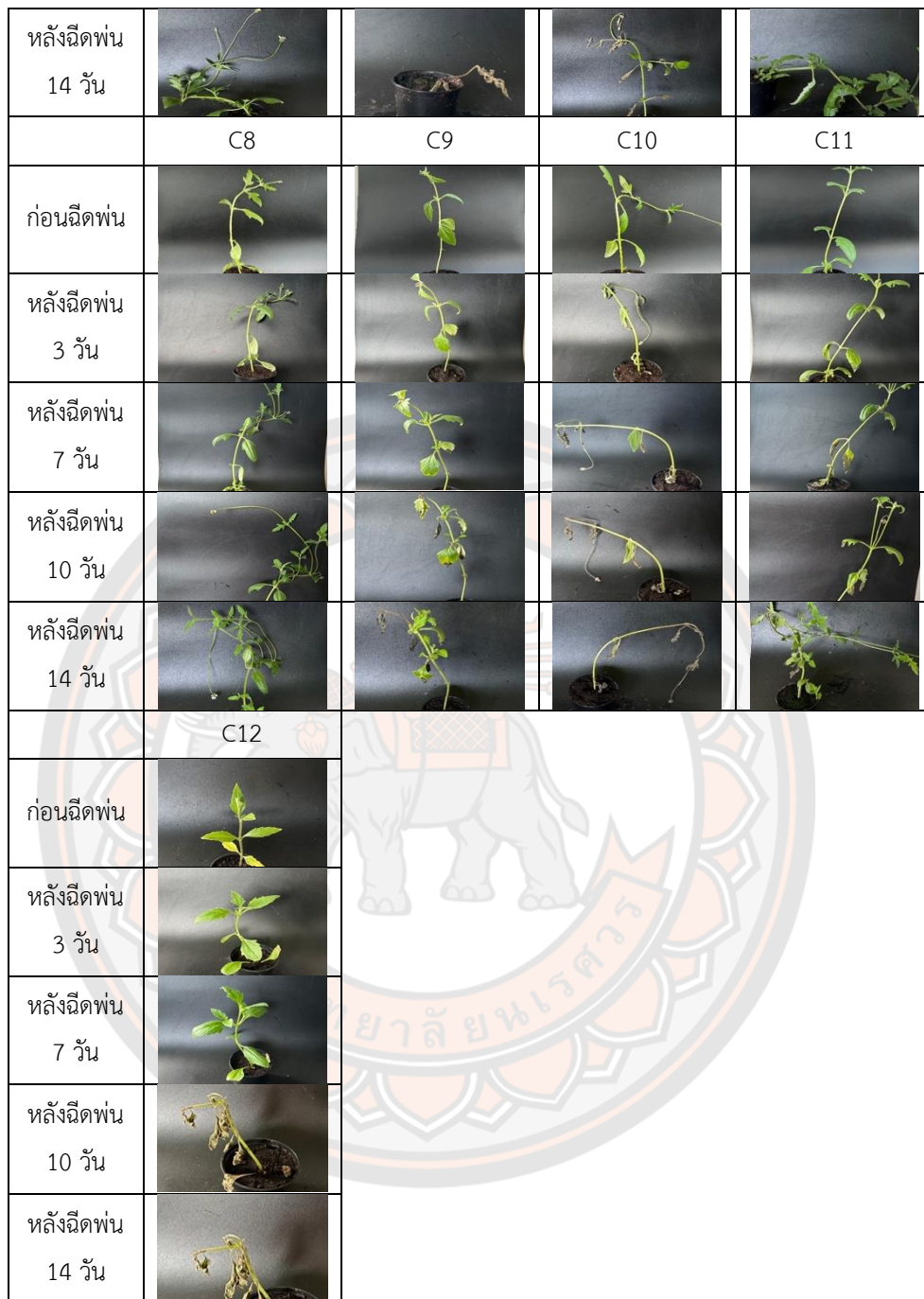
#### ตาราง 14 การจำแนกแต่ละส่วนผสมในการกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันต่อการยับยั้งวัชพืช

ชุดควบคุม	
น้ำ	น้ำ
C1	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.4 %
C2	ลิกนิน 0.2 %
C3	ลอริลกลูโคไซด์ 0.4 %
C4	แซนแทนกัม 0.2 %
C5	โซเดียมคลอไรด์ 5 %
C6	แอมโมเนียมซัลเฟต 3 %
C7	น้ำมันปาล์ม 1.2 %
C8	สารสกัดจากใบมะม่วง 50 %
C9	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.4 % + ลอริลกลูโคไซด์ 0.4 % + โซเดียมคลอไรด์ 5 %
C10	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.4 % + ลอริลกลูโคไซด์ 0.4 % + แอมโมเนียมซัลเฟต 3 %
C11	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.4 % + แซนแทนกัม 0.2 % + โซเดียมคลอไรด์ 5 %
C12	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.4 % + แซนแทนกัม 0.2 % + แอมโมเนียมซัลเฟต 3 %





















































Block 1			Block 2			Block 3		
C1/1	C4/1	E1/1	C7/2	C8/2	E1/2	C10/3	C3/3	C11/3
C9/1	E2/1	C5/1	C12/2	C6/2	C9/2	Water/3	E2/3	C12/3
C3/1	C2/1	C12/1	C2/2	C1/2	C11/2	C2/3	E4/3	C7/3
E4/1	C10/1	C11/1	E4/2	C5/2	C10/2	C1/3	C8/3	E1/3
C6/1	C7/1	E3/1	E2/2	Water/2	C3/2	C5/3	C9/3	C4/3
Water/1	C8/1			E3/2	C4/2	E3/3	C6/3	

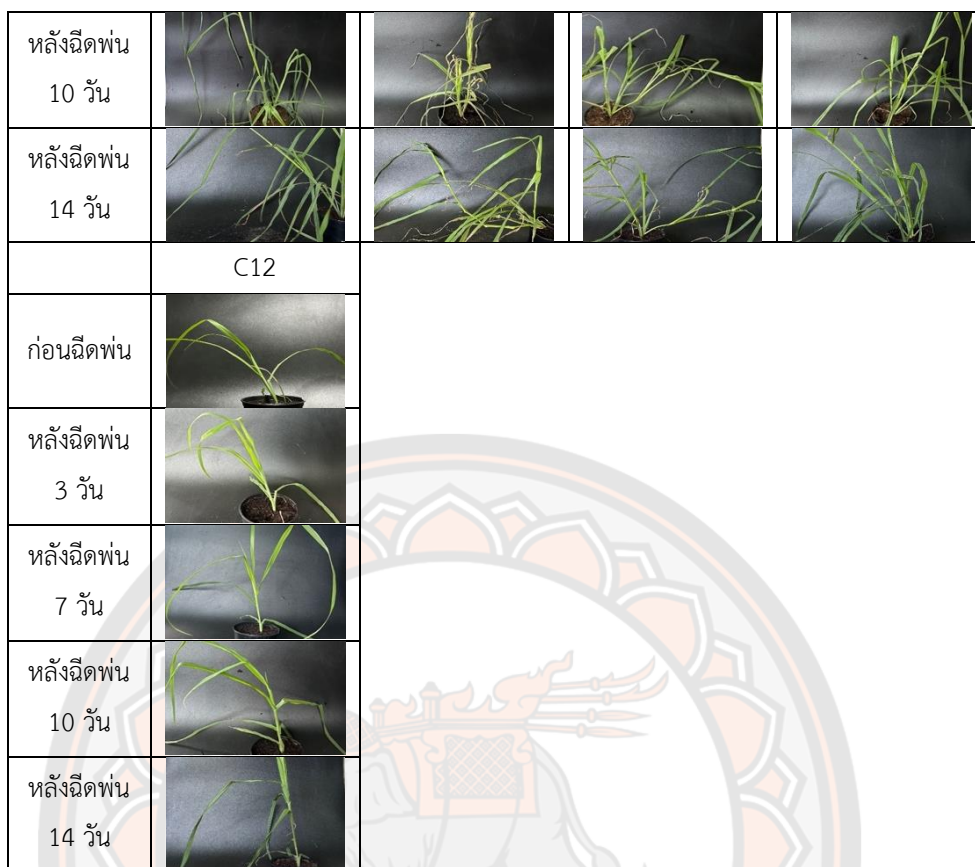
ภาพ 42 ผังแสดงตำแหน่งของการทดลองที่มี 17 ทรีตเมนต์มีซ้ำเท่ากับ 3 ซ้ำที่ออกแบบการทดลองแบบบล็อกสุ่ม (Randomized Completely Block Design, RCBD)

	Water	C1	C2	C3
ก่อนฉีดพ่น				
หลังฉีดพ่น 3 วัน				
หลังฉีดพ่น 7 วัน				
หลังฉีดพ่น 10 วัน				
หลังฉีดพ่น 14 วัน				
	C4	C5	C6	C7
ก่อนฉีดพ่น				
หลังฉีดพ่น 3 วัน				
หลังฉีดพ่น 7 วัน				
หลังฉีดพ่น 10 วัน				



ภาพ 43 ความเป็นพิษต่อพืชของแต่ละส่วนผสมในสารวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือก  
ได้ต่อการยับยั้งต้นตุงแก ในก่อนการฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นครบ 14 วัน

	Water	C1	C2	C3
ก่อนฉีดพ่น				
หลังฉีดพ่น 3 วัน				
หลังฉีดพ่น 7 วัน				
หลังฉีดพ่น 10 วัน				
หลังฉีดพ่น 14 วัน				
	C4	C5	C6	C7
ก่อนฉีดพ่น				
หลังฉีดพ่น 3 วัน				
หลังฉีดพ่น 7 วัน				
หลังฉีดพ่น 10 วัน				
หลังฉีดพ่น 14 วัน				
	C8	C9	C10	C11
ก่อนฉีดพ่น				
หลังฉีดพ่น 3 วัน				
หลังฉีดพ่น 7 วัน				



ภาพ 44 ความเป็นพิษต่อพืชของแต่ละส่วนผสมในสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกได้ต่อการยับยั้งหญ้าปากควาย ในก่อนการฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นครบ 14 วัน

ค่าการยับยั้งดินตึกแถมเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เป็นน้ำพบว่า สูตรที่เหมาะสมคือ ชุดการทดลอง E1, E2, E3, และ E4 ให้ค่าการยับยั้งที่สูงคือ 51.426 %, 78.069 %, 77.605 %, และ 68.939 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมของแต่ละส่วนผสมแล้วนั้นพบว่า จากการสังเกตด้วยสายตาของชุดควบคุม C5, C6, C10, และ C12 ที่พบว่ามีความเป็นพิษต่อพืชให้ค่าการยับยั้งดินตึกแถมเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เป็นน้ำเท่ากับ 52.586 %, 57.441 %, 58.562 %, และ 64.306 % ตามลำดับ จึงแสดงให้เห็นได้ว่าในแต่ละส่วนผสมนั้นยังมีค่ายับยั้งดินตึกแถมไม่ต่ำเท่ากับสูตรที่เหมาะสมที่คัดเลือกมาคือ ชุดการทดลอง E1, E2, E3, และ E4 และที่ให้ค่าการยับยั้งที่สูงที่สุดคือ E2 รองลงมาคือชุดการทดลอง E3, E4, และ E1 ตามลำดับดังแสดงในภาพ 37 จึงสอดคล้องกับการสังเกตด้วยสายตาลังการฉีดพ่นเป็นเวลา 14 วัน (ภาพ 43)

ค่าการยับยั้งหญ้าปากควายเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เป็นน้ำพบว่า สูตรที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดีที่สุด คือ ชุดการทดลอง E2 ให้การยับยั้งที่ 28.076 % (ภาพ 39) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เป็นน้ำแต่พบว่าหลังการฉีดพ่นสองครั้งและทิ้งไว้จนครบ 14 วันยังสามารถกลับมาเจริญเติบโตได้อย่างปกติ (ภาพ 41) และจากภาพ 43 ผลของแต่ละส่วนผสมนั้นพบว่า ยังไม่พบการถูกทำลายหลังการฉีดพ่นอย่างชัดเจนจึงส่งผลให้ค่าการยับยั้งยังไม่มีประสิทธิภาพได้ดีเทียบเท่าชุดการทดลอง E2 จึงคาดว่าเนื่องจากในงานวิจัยนี้มีการฉีดพ่นกับหญ้าปากควายที่มีจำนวนใบและการเจริญเติบโตที่มากจนเกินไปต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต จึงยังไม่สามารถยับยั้งได้ดีเท่าที่ควรเมื่อเทียบกับดินตึกแก่ที่ยังสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์แม้จะมีจำนวนใบและการเจริญเติบโตที่มากจึงคาดว่าต้องปรับการเกาะติดบริเวณใบหญ้าปากควายให้เพิ่มมากยิ่งขึ้นเพื่อให้สามารถซึมลงเนื้อเยื่อใบพืชได้ดีและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่เพิ่มมากยิ่งขึ้น





## บทที่ 5

### บทสรุป

#### 5.1 สรุปการวิจัยและอภิปรายผล

- (1) เปลือกทุเรียนที่ใช้เป็นสารตั้งต้นสามารถนำมาใช้ซ้ำได้อย่างน้อย 3 รอบ โดยประสิทธิภาพในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะมีการเพิ่มขึ้นในทุกรอบ เนื่องจากเปลือกทุเรียนถูกย่อยสลายซ้ำหลายครั้ง รอบซีซีเพื่อส พิแตสเซียมส่งผลให้แบคทีเรียสามารถเข้าไปอาศัยหรือเกาะติดในบริเวณพื้นผิวของวัสดุที่มีรูพรุนที่ลึกมากขึ้น และมีสารตั้งต้นคือ น้ำตาล โปรตีน และไขมัน ที่ถูกปลดปล่อยออกมาอย่างง่ายมากขึ้นในแต่ละรอบ จึงมีจำนวน *Brevibacterium casei* NK8 เพิ่มขึ้นในแต่ละรอบการผลิตอย่างสอดคล้องกัน รวมทั้งลักษณะที่เป็นผลผลิตพลอยได้ก็มีอัตราผลผลิตที่เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน
- (2) การตกตะกอนเพื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตของลิกนินด้วยกรดฟอสฟอริกซึ่งเป็นกรดอ่อน ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 2 สามารถตกตะกอนแยกลิกนินออกจากน้ำชะเปลือกทุเรียนปลอดเชื้อได้ปริมาณมากที่สุด
- (3) การผสมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ลิกนิน โซเดียมคลอไรด์ และน้ำมันพืช สามารถเกิดไมโครอิมัลชันได้ โดยน้ำมันมะพร้าวที่มี carbon chain length ของ fatty acid น้อย จะโดยตรงส่งผลต่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ต้องการมากขึ้น โดยจะเพิ่มค่าความไม่ชอบน้ำให้เพิ่มมากขึ้น ถัดมาคือน้ำมันปาล์ม และน้ำมันมะพร้าวจะมีจำนวนความยาวของ fatty acid เพิ่มมากขึ้น จึงมีความต้องการโซเดียมคลอไรด์น้อยลงต่อการเกิดไมโครอิมัลชันตามลำดับ
- (4) การศึกษาหาส่วนผสมของสารกำจัดวัชพืชชีวภาพในรูปแบบอิมัลชันโดยใช้ DOE ชนิด Box-Behnken เพื่อส่งเสริมความสามารถต่อการละลายน้ำมันเข้าไปในไมเซลล์ จึงมีการเติมสารลดแรงตึงผิวผสมเพิ่มเติมในส่วนผสมหลักจากการศึกษาการเปลี่ยนวัฏภาค เพื่อให้มีขนาดของไมโครอิมัลชันที่เสถียร และเหมาะสมต่อการลดแรงตึงผิว บนพื้นผิวใบวัชพืช และส่งผลต่อแพร่กระจายได้ดี เพื่อใช้ไมโครอิมัลชันจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ
- (5) สารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันที่คัดเลือกได้ พบว่าชุดการทดลอง E2 มีแนวโน้มในการยับยั้งวัชพืชทั้งชนิดใบแคบและใบกว้างได้ แต่ยังไม่สามารถยับยั้งหญ้าปากควายได้ดีเท่าต้นตึกแกล เนื่องจากหญ้าปากควายมีขนาดของต้นที่อาจจะค่อนข้างใหญ่เกินไปอาจจะยากต่อการยับยั้ง
- (6) ผลของแต่ละส่วนผสมในสารกำจัดวัชพืชชีวภาพรูปแบบไมโครอิมัลชันต่อการยับยั้งหญ้าต้นตึกแกลและหญ้าปากควาย พบว่าในแต่ละส่วนผสมไม่มีความเป็นพิษต่อพืช แต่มีชุดควบคุมที่มีการผสมกัน

ระหว่างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพร่วมกับ แซนแทนกัม และแอมโมเนียมซัลเฟต สามารถยับยั้งวัชพืช ดินตึกแก็แต่ไม่สามารถยับยั้งได้ดีกว่าชุดการทดลอง E2 ทั้งการทดลองกับดินตึกแก็และหญ้าปากควาย

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

- (1) การทดลองฉีดพ่นกับวัชพืชหญ้าปากควายที่มีอายุการเจริญเติบโตที่หลากหลาย เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้ง
- (2) เพิ่มประสิทธิภาพของสูตร โดยการปรับแยกสูตรระหว่างวัชพืชกลุ่มใบแคบและกลุ่มใบกว้าง โดยสูตรใบกว้างจะใช้สารลดแรงตึงผิวผสม คือ ลอริลกลูโคไซด์ เพื่อให้มีขนาดของอิมัลชันที่เล็กและง่ายต่อการแพร่กระจายและซึมลงบริเวณเนื้อเยื่อพืช และ สูตรใบแคบจะใช้แซนแทนกัม เพื่อเพิ่มอัตราการยึดเกาะต่อบริเวณพื้นผิวของใบที่ตีมากขึ้นลดการไหลออกจากใบวัชพืชหลังการฉีดพ่น
- (3) ศึกษาปริมาณในการฉีดพ่นต่อขนาดของต้นที่เหมาะสมต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช



# บรรณานุกรม



### บรรณานุกรม

- จันทรา ทองคำเภา. 2562. สารลดแรงตึงผิวและการประยุกต์ใช้ด้านเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพฯ.
- ณัตติยา จันทวงษา. (2010). การศึกษาการปรับสภาพเปลือกทุเรียน.
- ศิริพร ช้างสนธิพร, มัตติกา ทองรส, ธัญชนก จงรักไทย. 2021. Collection of Some Medicinal Herb and Aquatic Plant. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร
- ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสารและของเสียอันตราย. (17 กรกฎาคม 2547). ฐานความรู้เรื่อง ความปลอดภัยสารเคมี . <http://www.chemtrack.org/chem-detail.asp?ID=00371&CAS=&Name=>
- สุภัตราชา กงจักร. 2564. วัชพืชและการป้องกันกำจัด. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรภาคอีสาน สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 ขอนแก่น กรมวิชาการเกษตร. สุรินทร์ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4
- Abdollahi, M., & Nikfar, S. (2014). Hydrochloric acid.
- Abribat, B., Anderson, T., & Oester, D. (2007). Alkoxylated polyglycosides, next generation glyphosate potentiators. In **Proceedings of the 8th international symposium on adjuvants for agrochemicals**, ISAA, Christchurch.
- Ahmad Malik, M., & Khan, A. U. H. (2012). Weed diversity in wheat fields of Upper Indus Plains in Punjab, Pakistan. **Pakistan Journal of Weed Science Research**, 18(3).
- Ahmed, H. A., El-Darier, S. M., & El-Dien, M. H. Z. (2014). ROLE OF SOIL MOISTURE IN ALLELOPATHIC ACTIVITY OF MEDICAGO SATIVA L. RESIDUES IN ZEA MAYS L. FIELDS. **Journal of Global Biosciences**, 3(5), 835-847.
- Ahn, C., Morya, V. K., & Kim, E. K. (2016). Tuning surface-active properties of bio-surfactant sophorolipids by varying fatty-acid chain lengths. **Korean Journal of Chemical Engineering**, 33, 2127-2133.

- Ahn, J. K., & Chung, I. M. (2000). Allelopathic potential of rice hulls on germination and seedling growth of barnyardgrass. **Agronomy Journal**, 92(6), 1162-1167.
- Akkaya, M. R. (2018). Fatty acid compositions of sunflowers (*Helianthus annuus* L.) grown in east Mediterranean region. **Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse**, 95(4), 239-247.
- Alsohim, A. S., Taylor, T. B., Barrett, G. A., Gallie, J., Zhang, X. X., Altamirano-Junqueira, A. E., ... & Jackson, R. W. (2014). The biosurfactant viscosin produced by *Pseudomonas fluorescens* SBW 25 aids spreading motility and plant growth promotion. **Environmental microbiology**, 16(7), 2267-2281.
- Amri, I., Hanana, M., Jamoussi, B., & Hamrouni, L. (2017). Essential oils of *Pinus nigra* JF Arnold subsp. laricio Maire: Chemical composition and study of their herbicidal potential. **Arabian Journal of Chemistry**, 10, S3877-S3882.
- Arab, F., & Mulligan, C. N. (2014). 'BIOSURFACTANTS research trends and applications. Rhamnolipids characteristics, **production, applications, and analysis**, 49.
- Arima, K., Kakinuma, A., & Tamura, G. (1968). Surfactin, a crystalline peptidelipid surfactant produced by *Bacillus subtilis*: Isolation, characterization and its inhibition of fibrin clot formation. **Biochemical and biophysical research communications**, 31(3), 488-494.
- Aswathy, U. S., Sukumaran, R. K., Devi, G. L., Rajasree, K. P., Singhanian, R. R., & Pandey, A. (2010). Bio-ethanol from water hyacinth biomass: an evaluation of enzymatic saccharification strategy. **Bioresource technology**, 101(3), 925-930.
- Badmus, A., & Afolayan, A. (2012). Allelopathic potential of *Arctotis arctotoides* (Lf) O. Hoffm aqueous extracts on the germination and seedling growth of some vegetables. **African Journal of Biotechnology**, 11(47), 10711-10716.
- Bages-Estopa, S., White, D. A., Winterburn, J. B., Webb, C., & Martin, P. J. (2018). Production and separation of a trehalolipid biosurfactant. **Biochemical Engineering Journal**, 139, 85-94.

- Bai, G., Brusseau, M. L., & Miller, R. M. (1997). Biosurfactant-enhanced removal of residual hydrocarbon from soil. **Journal of Contaminant Hydrology**, 25(1-2), 157-170.
- Bai, L., Huan, S., Li, Z., & McClements, D. J. (2017). Comparison of emulsifying properties of food-grade polysaccharides in oil-in-water emulsions: Gum arabic, beet pectin, and corn fiber gum. **Food Hydrocolloids**, 66, 144-153.
- Banat, I. M., Carboue, Q., Saucedo-Castaneda, G., & de Jesus Cazares-Marinero, J. (2021). Biosurfactants: The green generation of speciality chemicals and potential production using Solid-State fermentation (SSF) technology. **Bioresource Technology**, 320, 124222.
- Barreto, J. C., Trevisan, M. T., Hull, W. E., Erben, G., De Brito, E. S., Pfundstein, B., Wurtele, G., Spiegellhalder, B., & Owen, R. W. (2008). Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.). **Journal of agricultural and food chemistry**, 56(14), 5599-5610.
- Batish, D. R., Setia, N., Singh, H. P., & Kohli, R. K. (2004). Phytotoxicity of lemon-scented eucalypt oil and its potential use as a bioherbicide. **Crop Protection**, 23(12), 1209-1214.
- Becker, F., Stehlik, T., Linne, U., Bölker, M., Freitag, J., & Sandrock, B. (2021). Engineering *Ustilago maydis* for production of tailor-made mannosylerythritol lipids. **Metabolic Engineering Communications**, 12, e00165.
- Ben Kaab, S., Lins, L., Hanafi, M., Bettaieb Rebey, I., Deleu, M., Fauconnier, M. L., Ksouri, R., Jijkli, M. H. & De Clerck, C. (2020). *Cynara cardunculus* crude extract as a powerful natural herbicide and insight into the mode of action of its bioactive molecules. **Biomolecules**, 10(2), 209.
- Boateng, L., Ansong, R., Owusu, W., & Steiner-Asiedu, M. (2016). Coconut oil and palm oil's role in nutrition, health and national development: A review. **Ghana medical journal**, 50(3), 189-196.

- Burgos-Díaz, C., Pons, R., Espuny, M. J., Aranda, F. J., Teruel, J. A., Manresa, A., Ortiz, A. & Marqués, A. M. (2011). Isolation and partial characterization of a biosurfactant mixture produced by *Sphingobacterium* sp. isolated from soil. **Journal of Colloid and Interface Science**, 361(1), 195-204.
- Castro, G. R., Panilaitis, B., & Kaplan, D. L. (2008). Emulsan, a tailorable biopolymer for controlled release. **Bioresource technology**, 99(11), 4566-4571.
- Ceresa, C., Fracchia, L., Williams, M., Banat, I. M., & De Rienzo, M. D. (2020). The effect of sophorolipids against microbial biofilms on medical-grade silicone. **Journal of biotechnology**, 309, 34-43.
- Cirigliano, M. C., & Carman, G. M. (1985). Purification and characterization of liposan, a bioemulsifier from *Candida lipolytica*. **Applied and environmental microbiology**, 50(4), 846-850.
- Cooper, D. G., Zajic, J. E., & Gerson, D. F. (1979). Production of surface-active lipids by *Corynebacterium lepus*. **Applied and environmental microbiology**, 37(1), 4-10.
- Cooper, D. G., Zajic, J. E., & Gracey, D. E. (1979). Analysis of corynomycolic acids and other fatty acids produced by *Corynebacterium lepus* grown on kerosene. **Journal of Bacteriology**, 137(2), 795-801.
- Corcoran, L. G., Saldana Almaraz, B. A., Amen, K. Y., Bothun, G. D., Raghavan, S. R., John, V. T., McCormick, A. V. & Penn, R. L. (2021). Using Microemulsion Phase Behavior as a Predictive Model for Lecithin–Tween 80 Marine Oil Dispersant Effectiveness. **Langmuir**, 37(27), 8115-8128.
- Cordeau, S., Triolet, M., Wayman, S., Steinberg, C., & Guillemin, J. P. (2016). Bioherbicides: Dead in the water? A review of the existing products for integrated weed management. **Crop protection**, 87, 44-49.
- Dayan, F. E., Cantrell, C. L., & Duke, S. O. (2009). Natural products in crop protection. **Bioorganic & medicinal chemistry**, 17(12), 4022-4034.

- Dayan, F. E., Howell, J. L., Marais, J. P., Ferreira, D., & Koivunen, M. (2011). Manuka oil, a natural herbicide with preemergence activity. **Weed science**, 59(4), 464-469.
- Dayan, F. E., Owens, D. K., & Duke, S. O. (2012). Rationale for a natural products approach to herbicide discovery. **Pest management science**, 68(4), 519-528.
- de Albuquerque, M. B., dos Santos, R. C., Lima, L. M., Melo Filho, P. D. A., Nogueira, R. J. M. C., Da Câmara, C. A. G., & de Rezende Ramos, A. (2011). Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, 31, 379-395.
- De Andrade, C. J., De Andrade, L. M., Rocco, S. A., Sforça, M. L., Pastore, G. M., & Jauregi, P. (2017). A novel approach for the production and purification of mannosylerythritol lipids (MEL) by *Pseudozyma tsukubaensis* using cassava wastewater as substrate. **Separation and Purification Technology**, 180, 157-167.
- Delgado, N., Ysambertt, F., Chávez, G., Bravo, B., García, D. E., & Santos, J. (2019). Valorization of kraft lignin of different molecular weights as surfactant agent for the oil industry. **Waste and Biomass Valorization**, 10, 3383-3395.
- Deng, Y., Lu, Z., Bi, H., Lu, F., Zhang, C., & Bie, X. (2011). Isolation and characterization of peptide antibiotics LI-F04 and polymyxin B6 produced by *Paenibacillus polymyxa* strain JSa-9. **Peptides**, 32(9), 1917-1923.
- Dos Santos, A. S., Pereira Jr, N., & Freire, D. M. (2016). Strategies for improved rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* PA1. **PeerJ**, 4, e2078.
- Drakontis, C. E., & Amin, S. (2020). Biosurfactants: Formulations, properties, and applications. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, 48, 77-90.
- Dudai, N., Poljakoff-Mayber, A., Mayer, A. M., Putievsky, E., & Lerner, H. R. (1999). Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. **Journal of Chemical Ecology**, 25, 1079-1089.



- Einhellig, F. A., Galindo, J. C. G., Molinillo, J. M. G., & Cutler, H. G. (2004). Mode of allelochemical action of phenolic compounds. **Allelopathy: Chemistry and mode of action of allelochemicals**, 217-238.
- El-Darier SM, Abdelaziz HA, ZeinEL-Dien MH (2014) **Effect of soil type on the allelotoxic activity of *Medicago sativa* L. residues in *Vicia faba* L. agroecosystems.** **J Taibah Univ Sci** 8:84–89. <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2014.01.001>
- Elshikh, M., Moya-Ramírez, I., Moens, H., Roelants, S. L. K. W., Soetaert, W., Marchant, R., & Banat, I. M. (2017). Rhamnolipids and lactonic sophorolipids: natural antimicrobial surfactants for oral hygiene. **Journal of applied microbiology**, 123(5), 1111-1123.
- Flamini, G. (2012). Natural herbicides as a safer and more environmentally friendly approach to weed control: a review of the literature since 2000. **Studies in natural products chemistry**, 38, 353-396.
- Flamini, R. (2003). Mass spectrometry in grape and wine chemistry. Part I: Polyphenols. **Mass spectrometry reviews**, 22(4), 218-250.
- Fotokian, M. H., Ramezani, S., Saharkhiz, M. J., & Ramezani, F. (2009). Use of essential oils as bioherbicides. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, (11).
- Gaur, V. K., Tripathi, V., Gupta, P., Dhiman, N., Regar, R. K., Gautam, K., Srivastava, J. K., Patnaik, S., Petal, D. K. & Manickam, N. (2020). Rhamnolipids from *Planococcus* spp. and their mechanism of action against pathogenic bacteria. **Bioresource technology**, 307, 123206.
- Ge DanDan, G. D., Zhang Yi, Z. Y., Liu ErWei, L. E., Wang Tao, W. T., & Hu LiMin, H. L. (2011). Chemical constituents of *Mangifera indica* leaves (I).
- Gupta, A., Eral, H. B., Hatton, T. A., & Doyle, P. S. (2016). Nanoemulsions: formation, properties and applications. **Soft matter**, 12(11), 2826-2841.

- Hausmann, R., & Syldatk, C. (2014). Types and classification of microbial surfactants. **Biosurfactants: production and utilization—processes, technologies, and economics**, 159, 1.
- He, Q., Peng, H., Sheng, M., Hu, S., Qiu, J., & Gu, J. (2019). Humidity control strategies for solid-state fermentation: Capillary water supply by water-retention materials and negative-pressure auto-controlled irrigation. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, 7, 263.
- Herbicide Resistance Action Committee (HRAC). 2020. **Global HRAC MOA Classification Working Group Report**, 2020; [accessed 2020 July 20]. <https://hracglobal.com/tools/hrac-mode-of-action-classification-2020-map>.
- Hess, F. D. (1999). Surfactants and additives. In **Proceedings of the California Weed Science Society** (Vol. 51, pp. 156-172).
- Hodge, S., Merfield, C. N., Bluon, A., Berry, N. A., & O'Connell, D. M. (2019). The potential of culinary vegetable oils as herbicides in organic farming: the effect of oil type and repeated applications on plant growth. **Organic Agriculture**, 9(1), 41-51.
- Hoffmann, M., Mück, D., Grossmann, L., Greiner, L., Klausmann, P., Henkel, M., Lilge, L., Weiss, J., & Hausmann, R. (2021). Surfactin from *Bacillus subtilis* displays promising characteristics as O/W-emulsifier for food formulations. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 203, 111749.
- Hosni, K., Hassen, I., Sebei, H., & Casabianca, H. (2013). Secondary metabolites from *Chrysanthemum coronarium* (Garland) flowerheads: Chemical composition and biological activities. **Industrial Crops and Products**, 44, 263-271.
- Howard, R. L., Abotsi, E. L. J. R., Van Rensburg, E. J., & Howard, S. (2003). Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. **African Journal of biotechnology**, 2(12), 602-619.

- Hu, X., Wang, K., Yu, M., He, P., Qiao, H., Zhang, H., & Wang, Z. (2019). Characterization and antioxidant activity of a low-molecular-weight xanthan gum. **Biomolecules**, 9(11), 730.
- IAS – International Allelopathy Society. 1996. **Constitution and Bylaw of IAS**. Cádiz-Spain, IAS Newsletter.
- Ibrahim Khan, K. S., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian journal of chemistry**, 12(7), 908-931.
- Kaab, S. B., Rebey, I. B., Hanafi, M., Hammi, K. M., Smaoui, A., Fauconnier, M. L., Clerck, C. De., Jijakli, M. H. & Ksouri, R. (2020). Screening of Tunisian plant extracts for herbicidal activity and formulation of a bioherbicide based on *Cynara cardunculus*. **South African Journal of Botany**, 128, 67-76.
- Käppeli, O., & Finnerty, W. R. (1979). Partition of alkane by an extracellular vesicle derived from hexadecane-grown *Acinetobacter*. **Journal of bacteriology**, 140(2), 707-712.
- Kashif, A., Rehman, R., Fuwad, A., Shahid, M. K., Dayarathne, H. N. P., Jamal, A., Aftab, M. N., Mainali, B., & Choi, Y. (2022). Current advances in the classification, production, properties and applications of microbial biosurfactants–A critical review. **Advances in Colloid and Interface Science**, 306, 102718.
- Kato-Noguchi, H., Kimura, F., Ohno, O., & Suenaga, K. (2017). Involvement of allelopathy in inhibition of understory growth in red pine forests. **Journal of plant physiology**, 218, 66-73.
- Kato-Noguchi, H., Suzuki, M., Noguchi, K., Ohno, O., Suenaga, K., & Laosinwattana, C. (2016). A Potent Phytotoxic Substance in *Aglaia odorata* Lour. **Chemistry & Biodiversity**, 13(5), 549-554.
- Kaur, G., Wang, H., To, M. H., Roelants, S. L., Soetaert, W., & Lin, C. S. K. (2019). Efficient sophorolipids production using food waste. **Journal of Cleaner Production**, 232, 1-11.

- Khondee, N., Ruamyat, N., Luepromchai, E., Sikhao, K., & Hawangchu, Y. (2022). Bioconversion of lignocellulosic wastes to zwitterionic biosurfactants by an alkaliphilic bacterium: Process development and product characterization. **Biomass and Bioenergy**, 165, 106568.
- Knowles, A. (2008). Recent developments of safer formulations of agrochemicals. **The Environmentalist**, 28, 35-44.
- Koodkaew, I., Senaphan, C., Sengseang, N., & Suwanwong, S. (2018). Characterization of phytochemical profile and phytotoxic activity of *Mimosa pigra* L. **Agriculture and Natural Resources**, 52(2), 162-168.
- Kruidhof, H. M., Bastiaans, L., & Kropff, M. J. (2009). Cover crop residue management for optimizing weed control. **Plant and soil**, 318, 169-184.
- Li, Z. H., Wang, Q., Ruan, X., Pan, C. D., & Jiang, D. A. (2010). Phenolics and plant allelopathy. **Molecules**, 15(12), 8933-8952.
- Liang, H., Huang, Q., Zou, L., Wei, P., Lu, J., & Zhang, Y. (2023). Methyl gallate: Review of pharmacological activity. **Pharmacological Research**, 106849.
- Lin, W., Liu, S., Tong, L., Zhang, Y., Yang, J., Liu, W., Guo, C., Xie, Y., Lu, G., & Dang, Z. (2017). Effects of rhamnolipids on the cell surface characteristics of *Sphingomonas* sp. GY2B and the biodegradation of phenanthrene. **RSC advances**, 7(39), 24321-24330.
- Liu, G., Zhong, H., Yang, X., Liu, Y., Shao, B., & Liu, Z. (2018). Advances in applications of rhamnolipids biosurfactant in environmental remediation: A review. **Biotechnology and bioengineering**, 115(4), 796-814.
- Lopes, B. D. M., Lessa, V. L., Silva, B. M., & La Cerda, L. G. (2015). Xanthan gum: properties, production conditions, quality and economic perspective. **J. Food Nutr. Res**, 54(3), 185-194.
- Lovett, J., & Ryuntyu, M. (1992). Allelopathy: broadening the context. In **Allelopathy: basic and applied aspects** (pp. 11-19). Dordrecht: Springer Netherlands.

- M'barek, K., Zribi, I., Ullah, M. J., & Haouala, R. (2019). The mode of action of allelochemicals aqueous leaf extracts of some Cupressaceae species on lettuce. **Scientia Horticulturae**, 252, 29-37.
- Mancini, A., Imperlini, E., Nigro, E., Montagnese, C., Daniele, A., Orrù, S., & Buono, P. (2015). Biological and nutritional properties of palm oil and palmitic acid: effects on health. **Molecules**, 20(9), 17339-17361.
- Massinon, M., De Cock, N., Forster, W. A., Nairn, J. J., McCue, S. W., Zabkiewicz, J. A., & Lebeau, F. (2017). Spray droplet impaction outcomes for different plant species and spray formulations. **Crop protection**, 99, 65-75.
- McCalla, T. M. (1971). Studies on phytotoxic substances from soil microorganisms and crop residues at Lincoln, Nebraska. In **Biochemical interactions among plants** (pp. 39-43). Washington, DC: National Academy of Sciences.
- Morita, T., Fukuoka, T., Imura, T., & Kitamoto, D. (2013). Accumulation of cellobiose lipids under nitrogen-limiting conditions by two ustilaginomycetous yeasts, *Pseudozyma aphidis* and *Pseudozyma hubeiensis*. **FEMS Yeast Research**, 13(1), 44-49.
- Morra, M. J., Popova, I. E., & Boydston, R. A. (2018). Bioherbicidal activity of *Sinapis alba* seed meal extracts. **Industrial crops and products**, 115, 174-181.
- Motmainna, M., Juraimi, A. S., Uddin, M. K., Asib, N. B., Islam, A. M., & Hasan, M. (2021). Bioherbicidal properties of *Parthenium hysterophorus*, *Cleome rutidosperma* and *Borreria alata* extracts on selected crop and weed species. **Agronomy**, 11(4), 643.
- Muthusamy, K., Gopalakrishnan, S., Ravi, T. K., & Sivachidambaram, P. (2008). Biosurfactants: properties, commercial production and application. **Current science**, 736-747.
- Nelissen, H., Gonzalez, N., & Inze, D. (2016). Leaf growth in dicots and monocots: so different yet so alike. **Current opinion in plant biology**, 33, 72-76.

- Nguyen, T. T., & Sabatini, D. A. (2009). Formulating alcohol-free microemulsions using rhamnolipid biosurfactant and rhamnolipid mixtures. **Journal of surfactants and detergents**, 12, 109-115.
- Omar, S. H. (2018). Biophenols: Impacts and prospects in anti-Alzheimer drug discovery. In **Discovery and development of neuroprotective agents from natural products** (pp. 103-148). Elsevier.
- Onen, H., Ozer, Z., & Telci, I. (2002). Bioherbicidal effects of some plant essential oils on different weed species. **ZEITSCHRIFT FUR PFLANZENKRANKHEITEN UND PFLANZENSCHUTZ-SONDERHEFT**, 18, 597-606.
- Ootani, M. A., dos Reis, M. R., Cangussu, A. S. R., Capone, A., Fidelis, R. R., Oliveira, W., Barros, H. B., F. Portella A. G., Souza Aguiar, R. D., & dos Santos, W. F. (2017). Phytotoxic effects of essential oils in controlling weed species *Digitaria horizontalis* and *Cenchrus echinatus*. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, 12, 59-65.
- P. K., Duhan, S., & Duhan, J. S. (2018). Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. **Bioresources and Bioprocessing**, 5(1), 1-15.
- Pandey, A. (2003). Solid-state fermentation. **Biochemical engineering journal**, 13(2-3), 81-84.
- Perfumo, A., Banat, I. M., Canganella, F., & Marchant, R. (2006). Rhamnolipid production by a novel thermophilic hydrocarbon-degrading *Pseudomonas aeruginosa* AP02-1. **Applied microbiology and biotechnology**, 72, 132-138.
- Phulpoto, I. A., Wang, Y., Qazi, M. A., Hu, B., Ndayisenga, F., & Yu, Z. (2021). Bioprospecting of rhamnolipids production and optimization by an oil-degrading *Pseudomonas* sp. S2WE isolated from freshwater lake. **Bioresource Technology**, 323, 124601.
- Phulpoto, I. A., Yu, Z., Li, J., Ndayisenga, F., Hu, B., Qazi, M. A., & Yang, X. (2022). Evaluation of di-rhamnolipid biosurfactants production by a novel

- Pseudomonas* sp. S1WB: Optimization, characterization and effect on petroleum-hydrocarbon degradation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 242, 113892.
- Pugazhendhi, A., Prabhu, R., Muruganantham, K., Shanmuganathan, R., & Natarajan, S. (2019). Anticancer, antimicrobial and photocatalytic activities of green synthesized magnesium oxide nanoparticles (MgONPs) using aqueous extract of *Sargassum wightii*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 190, 86-97.
- Putnam, A . R . **In The Science of Allelopathy**, Putnam, A . R.; Tang, C. S., Eds.; John Wiley and Sons: New York, NY, 1986; pp. 1-19.
- Radhakrishnan, R., Alqarawi, A. A., & Abd\_Allah, E. F. (2018). Bioherbicides: Current knowledge on weed control mechanism. **Ecotoxicology and environmental safety**, 158, 131-138.
- Ramezani, S., Saharkhiz, M. J., Ramezani, F., & Fotokian, M. H. (2008). Use of essential oils as bioherbicides. **Journal of Essential oil bearing Plants**, 11(3), 319-327.
- Raveau, R., Fontaine, J., & Lounès-Hadj Sahraoui, A. (2020). Essential oils as potential alternative biocontrol products against plant pathogens and weeds: A review. **Foods**, 9(3), 365.
- Raveau, R., Fontaine, J., & Lounès-Hadj Sahraoui, A. (2020). Essential oils as potential alternative biocontrol products against plant pathogens and weeds: A review. **Foods**, 9(3), 365.
- Rawat, G., Dhasmana, A., & Kumar, V. (2020). Biosurfactants: the next generation biomolecules for diverse applications. **Environmental Sustainability**, 3, 353-369.
- Rial, C., Novaes, P., Varela, R. M., G. Molinillo, J. M., & Macias, F. A. (2014). Phytotoxicity of cardoon (*Cynara cardunculus*) allelochemicals on standard target species and weeds. **Journal of Agricultural and food chemistry**, 62(28), 6699-6706.

- Ribeiro, B. G., Guerra, J. M., & Sarubbo, L. A. (2020). Biosurfactants: Production and application prospects in the food industry. **Biotechnology progress**, 36(5), e3030.
- Rice EL (1984) Allelopathy, 2nd edn. Academic Press, New York.
- Ríos, J. L. (2016). Essential oils: What they are and how the terms are used and defined. In **Essential oils in food preservation, flavor and safety** (pp. 3-10). Academic Press.
- Rizvi, S. J. H., & Rizvi, V. (1992). Exploitation of allelochemicals in improving crop productivity. In **Allelopathy: basic and applied aspects** (pp. 443-472). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Roberto, I. C., Mancilha, I. M., De Souza, C. A., Felipe, M. G. A., Sato, S., & De Castro, H. F. (1994). Evaluation of rice straw hemicellulose hydrolysate in the production of xylitol by *Candida guilliermondii*. **Biotechnology letters**, 16, 1211-1216.
- Rongsayamanont, W., Soonglerdsongpha, S., Khondee, N., Pinyakong, O., Tongcumpou, C., Sabatini, D.A. and Luepromchai, E. (2017). Formulation of crude oil spill dispersants based on the HLD concept and using a lipopeptide biosurfactant. **Journal of Hazardous Materials**, 334, 168-177.
- Rosado, M. J., Bausch, F., Rencoret, J., Marques, G., Gutiérrez, A., Rosenau, T., Potthast, A., & del Río, J. C. (2021). Differences in the content, composition and structure of the lignins from rind and pith of papyrus (*Cyperus papyrus* L.) culms. **Industrial Crops and Products**, 174, 114226.
- Salama, M., Abdelaziz, H. A., & El-Dien, M. H. Z. (2014). Effect of soil type on the allelotoxic activity of *Medicago sativa* L. residues in *Vicia faba* L. **agroecosystems. Journal of Taibah University for Science**, 8(2), 84-89.
- Santos, D. K. F., Rufino, R. D., Luna, J. M., Santos, V. A., & Sarubbo, L. A. (2016). Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. **International journal of molecular sciences**, 17(3), 401.



- Sapkota, A. (2023). Anatomy and Primary Structure of a Dicot Leaf-sunflower Leaf. (2023). Retrieved from <https://www.brainkart.com>
- Sapkota, A. (2023). Anatomy and Primary Structure of a Monocot Leaf - Grass Leaf. (2023). Retrieved from <https://www.brainkart.com>
- Scavo, A., Abbate, C., & Mauromicale, G. (2019). Plant allelochemicals: Agronomic, nutritional and ecological relevance in the soil system. **Plant and Soil**, 442, 23-48.
- Scavo, A., Rial, C., Molinillo, J. M., Varela, R. M., Mauromicale, G., & Macias, F. A. (2019). The extraction procedure improves the allelopathic activity of cardoon (*Cynara cardunculus* var. *altilis*) leaf allelochemicals. **Industrial Crops and Products**, 128, 479-487.
- Seghal Kiran, G., Thajuddin, N., Hema, T. A., Idhayadhulla, A., Surendar Kumar, R., & Selvin, J. (2010). Optimization and characterization of rhamnolipid biosurfactant from sponge associated marine fungi *Aspergillus* sp. MSF1. **Desalination and Water Treatment**, 24(1-3), 257-265.
- Shah, M. F. M., Redzuan, F. R., Efendi, A. D., & Wee, S. C. (2022). Phase Behavior Studies of Alpha Olefin Sulfonate (AOS), Lauryl Glucoside, and Decane In Creating Winsor Type-III Microemulsion. **Platform: A Journal of Engineering**, 6(2), 36-45.
- Shakeri, F., Babavalian, H., Amoozegar, M. A., Ahmadzadeh, Z., Zuhuriyanizadi, S., & Afsharian, M. P. (2020). Production and application of biosurfactants in biotechnology. **Biointerface Res. Appl. Chem**, 11(3), 10446-10460.
- Shen, J., Zhao, C., Liu, Y., Zhang, R., Liu, G., & Chen, C. (2019). Biogas production from anaerobic co-digestion of durian shell with chicken, dairy, and pig manures. **Energy Conversion and Management**, 198, 110535.
- Shrestha, A. (2009). Potential of a black walnut (*Juglans nigra*) extract product (NatureCur®) as a pre-and post-emergence bioherbicide. **Journal of Sustainable Agriculture**, 33(8), 810-822.

- Singh, H. P., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2003). Allelopathic interactions and allelochemicals: new possibilities for sustainable weed management. **Critical reviews in plant sciences**, 22(3-4), 239-311.
- Singh, H. P., Batish, D. R., Setia, N., & Kohli, R. K. (2005). Herbicidal activity of volatile oils from *Eucalyptus citriodora* against *Parthenium hysterophorus*. **Annals of applied biology**, 146(1), 89-94.
- Sirotkin, A. V., & Kolesarova, A. (2022). **Environmental contaminants and medicinal plants action on female reproduction**. Academic Press.
- Siwina, S., & Leesing, R. (2021). Bioconversion of durian (*Durio zibethinus* Murr.) peel hydrolysate into biodiesel by newly isolated oleaginous yeast *Rhodotorula mucilaginosa* KKUSY14. **Renewable Energy**, 163, 237-245.
- Soltys, D., Krasuska, U., Bogatek, R., & Gniazdowska, A. (2013). Allelochemicals as bioherbicides—Present and perspectives. In **Herbicides-Current research and case studies in use**. IntechOpen.
- Somerville, A., Betts, G., Gordon, B., Green, V., Burgis, M., & Henderson, R. (2012). Adjuvants background. **Adjuvants – Oils, surfactants and other additives for farm chemicals – revised 2012 edition**. (pp 1-31). ©2012 Grains Research & Development Corporation.
- Sun, R., Tomkinson, J., & Bolton, J. (1999). Effects of precipitation pH on the physico-chemical properties of the lignins isolated from the black liquor of oil palm empty fruit bunch fibre pulping. **Polymer degradation and stability**, 63(2), 195-200.
- Sun, X., & Bandara, N. (2019). Applications of reverse micelles technique in food science: A comprehensive review. **Trends in Food Science & Technology**, 91, 106-115.
- Sunaga, S., Li, H., Sato, Y., Nakagawa, Y., & Matsuyama, T. (2004). Identification and characterization of the pswP gene required for the parallel production of

- prodigiosin and serrawettin W1 in *Serratia marcescens*. **Microbiology and immunology**, 48(10), 723-728.
- Synowiec, A., Możdżeń, K., Krajewska, A., Landi, M., & Araniti, F. (2019). *Carum carvi* L. essential oil: A promising candidate for botanical herbicide against *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. in maize cultivation. **Industrial Crops and Products**, 140, 111652.
- Tadros, T. F. (1995). Surfactants in agrochemicals, **surfactant science series** Vol. 54. New York: Marcel Dekker.
- Todero, I., Confortin, T. C., Luft, L., Brun, T., Ugalde, G. A., de Almeida, T. C., Arneman, J. A., Zabot, G. L., & Mazutti, M. A. (2018). Formulation of a bioherbicide with metabolites from *Phoma* sp. **Scientia Horticulturae**, 241, 285-292.
- Travaini, M. L., Sosa, G. M., Ceccarelli, E. A., Walter, H., Cantrell, C. L., Carrillo, N. J., Dayan, F. E., Meepagala, K. M. & Duke, S. O. (2016). Khellin and visnagin, furanochromones from *Ammi visnaga* (L.) Lam., as potential bioherbicides. **Journal of agricultural and food chemistry**, 64(50), 9475-9487.
- Tsao, R., Romanchuk, F. E., Peterson, C. J., & Coats, J. R. (2002). Plant growth regulatory effect and insecticidal activity of the extracts of the tree of heaven (*Ailanthus altissima* L.). **BMC ecology**, 2, 1-6.
- Tsiamis, K., Gervasini, E., d'Amico, F., & Backeljau, T. (2016). The EASIN Editorial Board: quality assurance, exchange and sharing of alien species information in Europe. **Management of Biological Invasions.-Place of publication unknown**, 7(4), 321-328.
- Tsiamis, K., Gervasini, E., d'Amico, F., & Backeljau, T. (2016). The EASIN Editorial Board: quality assurance, exchange and sharing of alien species information in Europe. **Management of Biological Invasions.-Place of publication unknown**, 7(4), 321-328.
- Tu, M., & Randall, J. M. (2003). Adjuvants. TU, M. et al. **Weed control methods handbook the nature conservancy**. Davis: TNC, 1-24.

- Vaughn, S. F., Behle, R. W., Skory, C. D., Kurtzman, C. P., & Price, N. P. J. (2014). Utilization of sophorolipids as biosurfactants for postemergence herbicides. **Crop Protection**, 59, 29-34.
- Velmurugan, R., & Incharoensakdi, A. (2018). Nanoparticles and organic matter: process and impact. In **Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms** (pp. 407-428). Academic Press.
- Verdeguer, M., Blázquez, M. A., & Boira, H. (2012). Chemical composition and herbicidal activity of the essential oil from a *Cistus ladanifer* L. population from Spain. **Natural Product Research**, 26(17), 1602-1609.
- Verdeguer, M., Sánchez-Moreiras, A. M., & Araniti, F. (2020). Phytotoxic effects and mechanism of action of essential oils and terpenoids. **Plants**, 9(11), 1571.
- Vieira, I. M. M., Santos, B. L. P., Ruzene, D. S., & Silva, D. P. (2021). An overview of current research and developments in biosurfactants. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 100, 1-18.
- Wang, G., & Chen, H. (2013). Fractionation of alkali-extracted lignin from steam-exploded stalk by gradient acid precipitation. **Separation and Purification Technology**, 105, 98-105.
- Wang, L., Wei, B., Cai, F., Chen, C., & Liu, G. (2022). Recycling durian shell and jackfruit peel via anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, 343, 126032.
- Wang, S., He, X., Song, J., Wang, S., Jia, X., & Ling, Y. (2018). Effects of xanthan gum on atomization and deposition characteristics in water and Silwet 408 aqueous solution. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, 11(3), 29-34.
- Weston, L. A., Alsaadawi, I. S., & Baerson, S. R. (2013). Sorghum allelopathy—from ecosystem to molecule. **Journal of chemical ecology**, 39, 142-153.
- Xing, Yan, HongCui Ma, YaoTing Fan, HongWei Hou, and JingRun Chen. "Cellulose-hydrogen production from corn stalk biomass by anaerobic fermentation." **Chinese science bulletin**54, no. 8 (2009): 1434-1441.

- Yakimov, M. M., Golyshin, P. N., Lang, S., Moore, E. R., Abraham, W. R., Lünsdorf, H., & Timmis, K. N. (1998). *Alcanivorax borkumensis* gen. nov., sp. nov., a new, hydrocarbon-degrading and surfactant-producing marine bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 48(2), 339-348.
- Yalaoui-Guellal, D., Fella-Temzi, S., Djafri-Dib, S., Sahu, S. K., Irorere, V. U., Banat, I. M., & Madani, K. (2021). The petroleum-degrading bacteria *Alcaligenes aquatilis* strain YGD 2906 as a potential source of lipopeptide biosurfactant. **Fuel**, 285, 119112
- Zhao, C., Cui, X., Liu, Y., Zhang, R., He, Y., Wang, W., Chen, C., & Liu, G. (2017). Maximization of the methane production from durian shell during anaerobic digestion. **Bioresource technology**, 238, 433-438.
- Zhu, F., Cao, C., Cao, L., Li, F., Du, F., & Huang, Q. (2019). Wetting behavior and maximum retention of aqueous surfactant solutions on tea leaves. **Molecules**, 24(11), 2094.
- Zosim, Z., Gutnick, D., & Rosenberg, E. (1982). Properties of hydrocarbon-in-water emulsions stabilized by *Acinetobacter* RAG-1 emulsan. **Biotechnology and bioengineering**, 24(2), 281-292.



ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยนครพนม

ภาคผนวก ก

การเปรียบเทียบค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จาก DOE-RSM ชนิด Box-Behnken

ตาราง ก 1 ชุดการทดลองแบบ CCD ที่มีปัจจัย 5 ปัจจัย โดยใช้วิธีแยกส่วนการเกิดไมโครอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เหมาะสมและตัวแปรตามที่ได้จากการทดลอง

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น			ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		คืนตุ๊กแก		หญ้าปากคาวาย			
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	โซเดียมคลอไรด์	ลอร์ลิดูโคไซด์	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย		
1	0.15	0.15	10	0.3	0.75	152.8	129.88	24.5	25.57	76.45	76.30
2	0.15	0.15	10	0.3	1.25	179.7	142.69	19.68	19.38	74.00	76.35
3	0.15	0.15	10	0.7	0.75	200.7	239.38	28.58	29.45	66.05	65.60

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากควาย		
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	โซเดียมคลอไรด์	ลอร์ลิกลูโคไซด์	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	
												ค่าจริง	ค่าทำนาย
4	0.15	0.15	10	0.7	1.25	151.8	220.11	35.95	29.61	79.50	74.53		
5	0.15	0.15	20	0.3	0.75	185.9	248.53	34.1	37.85	83.70	86.61		
6	0.15	0.15	20	0.3	1.25	188.8	240.37	35.72	35.75	83.05	83.36		
7	0.15	0.15	20	0.7	0.75	458.66	412.76	40.52	38.13	72.40	75.98		
8	0.15	0.15	20	0.7	1.25	396.05	372.52	40.8	42.39	81.20	81.59		
9	0.15	0.35	10	0.3	0.75	145	141.26	32.37	29.47	78.15	81.41		
10	0.15	0.35	10	0.3	1.25	165.3	199.30	20.97	24.63	87.85	80.79		
11	0.15	0.35	10	0.7	0.75	161.1	173.99	22	24.85	88.45	82.19		



ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากคควาย		
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	โซเดียมคลอไรด์	ลอร์ลิกลูโคไซด์	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	
												ค่าจริง	ค่าทำนาย
12	0.15	0.35	10	0.7	1.25	223.3	199.95	23.88	26.37	74.90	90.44		
13	0.15	0.35	20	0.3	0.75	237.5	252.14	46.92	44.31	92.70	85.79		
14	0.15	0.35	20	0.3	1.25	234.4	289.20	49.78	43.56	75.70	81.85		
15	0.15	0.35	20	0.7	0.75	404	339.59	40.8	36.09	74.95	86.63		
16	0.15	0.35	20	0.7	1.25	329.9	344.58	41.48	41.70	100.65	91.57		
17	0.35	0.15	10	0.3	0.75	180.4	261.04	40.8	33.36	83.20	79.61		
18	0.35	0.15	10	0.3	1.25	255	253.35	23.5	28.57	83.60	77.69		
19	0.35	0.15	10	0.7	0.75	341.9	333.94	26.7	33.41	71.10	74.21		

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากควาย		
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	โซเดียมคลอไรด์	ลอร์ลิกลูโคไซด์	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	
												ค่าจริง	ค่าทำนาย
20	0.35	0.15	10	0.7	1.25	315.9	294.18	32.77	34.98	79.30	81.17		
21	0.35	0.15	20	0.3	0.75	358.6	293.40	35.57	35.66	102.90	98.69		
22	0.35	0.15	20	0.3	1.25	332.2	264.73	38.3	34.97	94.30	93.46		
23	0.35	0.15	20	0.7	0.75	396.05	421.02	37.03	32.12	96.90	93.35		
24	0.35	0.15	20	0.7	1.25	342.7	360.29	43.15	37.78	96.55	96.99		
25	0.35	0.35	10	0.3	0.75	220.19	217.28	28.58	32.55	58.55	63.95		
26	0.35	0.35	10	0.3	1.25	229.7	254.81	33.25	29.12	66.50	61.35		
27	0.35	0.35	10	0.7	0.75	150.5	213.40	24.4	24.10	75.40	70.02		

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากควาย		
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	โซเดียมคลอไรด์	ลอร์ลิกูโคไซด์	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	
												ค่าจริง	ค่าทำนาย
28	0.35	0.35	10	0.7	1.25	255.8	218.86	32.99	27.02	81.05	76.30	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	ค่าทำนาย
29	0.35	0.35	20	0.3	0.75	243.2	241.86	37.58	37.40	79.25	77.09		
30	0.35	0.35	20	0.3	1.25	223.9	258.42	41.08	38.07	70.50	71.18		
31	0.35	0.35	20	0.7	0.75	295.31	292.71	26.43	25.36	81.85	83.23		
32	0.35	0.35	20	0.7	1.25	289.7	277.19	29.97	32.38	85.55	86.19		
33	0.01	0.25	15	0.5	1	188.7	202.86	33.7	32.90	98.30	92.30		
34	0.49	0.25	15	0.5	1	291.5	279.40	27.8	31.06	81.95	89.82		
35	0.25	0.01	15	0.5	1	344.3	393.86	31.4	30.75	79.50	81.82		

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากควาย		
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	โซเดียมคลอไรด์	ลอร์ลิกลูโคไซด์	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	
												ค่าจริง	ค่าทำนาย
36	0.25	0.49	15	0.5	1	355.3	307.81	26.05	28.94	75.45	74.99		
37	0.25	0.25	3.1	0.5	1	173.6	102.74	21.05	20.37	42.30	46.10		
38	0.25	0.25	26.9	0.5	1	240.4	313.36	40.1	41.36	72.05	70.15		
39	0.25	0.25	15	0.02	1	255	241.52	29.95	32.65	72.90	77.82		
40	0.25	0.25	15	0.98	1	396.05	395.45	28.03	25.57	86.05	83.00		
41	0.25	0.25	15	0.5	0.41	224.9	255.66	31.2	19.38	92.60	91.86		
42	0.25	0.25	15	0.5	1.59	281.1	252.47	33.37	29.45	92.75	95.42		
43	0.25	0.25	15	0.5	1	166.1	180.18	36.57	29.61	83.85	84.01		

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากคาวาย	
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	โซเดียมคลอไรด์	ลอร์ลิกูโคไซด์	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าเฉลี่ยสัมพัทธ์ (องศา, degree)
44	0.25	0.25	15	0.5	1	192.8	180.18	37	37.85	82.85	84.01	

ตาราง ก 2 ชุดการทดลองแบบ CCD ที่มีปัจจัย 5 ปัจจัย โดยใช้เอมโมเนียมซัลเฟตในส่วนผสมต่อการเกิดไมโครอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เหมาะสมและตัวแปรตามที่ได้จากการทดลอง

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)		หญ้าปากคาวาย ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	แอมโมเนียมซัลเฟต	ลอรีลกลูโคไซด์	น้ำจืด	น้ำจืด	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย
1	0.15	0.15	5.00	0.30	0.75	0.75	50.784	-90.76	29.25	30.86	48.9	54.48
2	0.15	0.15	5.00	0.30	1.25	1.25	133	130.23	38.55	37.81	57.45	63.87
3	0.15	0.15	5.00	0.70	0.75	0.75	190.137	282.08	19.10	23.13	45.1	41.04
4	0.15	0.15	5.00	0.70	1.25	1.25	1281.34	1234.71	19.70	23.15	45.35	41.69
5	0.15	0.15	9.00	0.30	0.75	0.75	43.821	44.63	31.55	38.05	57.95	54.88
6	0.15	0.15	9.00	0.30	1.25	1.25	0.4	-8.00	37.05	42.25	53.85	65.05

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากควาย		
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	แอมโมเนียมซัลเฟต	ลิวรีลิกูโลไซด์	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	
												ค่าจริง	ค่าทำนาย
7	0.15	0.15	9.00	0.70	0.75	7.531	-29.13	38.35	31.85	45.45	48.18	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	ค่ามุมสัมผัส
8	0.15	0.15	9.00	0.70	1.25	615.139	649.89	17.90	29.13	41.6	49.61		
9	0.15	0.35	5.00	0.30	0.75	121.2	80.01	28.95	27.52	46.3	56.31		
10	0.15	0.35	5.00	0.30	1.25	48.821	-121.07	25.85	29.51	66.8	62.87		
11	0.15	0.35	5.00	0.70	0.75	43.821	56.65	23.25	30.29	44.5	53.00		
12	0.15	0.35	5.00	0.70	1.25	513.172	587.22	29.20	25.35	53.3	50.81		
13	0.15	0.35	9.00	0.30	0.75	955.406	987.17	34.95	34.79	69.05	57.14		
14	0.15	0.35	9.00	0.30	1.25	531.172	512.47	33.15	34.04	61.05	64.48		

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากควาย		
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	แอมโมเนียมซัลเฟต	ลอรีลกลูโคไซด์	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	
												ค่ามุมสัมผัส	ค่าทำนาย
15	0.15	0.35	9.00	0.70	0.75	560.8	517.22	37.15	39.09	59	60.55		
16	0.15	0.35	9.00	0.70	1.25	712.379	774.17	35.25	31.41	58.35	59.15		
17	0.35	0.15	5.00	0.30	0.75	531.172	511.75	31.10	31.34	62.65	59.54		
18	0.35	0.15	5.00	0.30	1.25	712.379	798.67	26.50	31.66	56.1	62.31		
19	0.35	0.15	5.00	0.70	0.75	824.992	885.04	25.20	30.18	45.1	52.57		
20	0.35	0.15	5.00	0.70	1.25	1990.11 9	1903.61	23.45	23.57	46.3	46.59		
21	0.35	0.15	9.00	0.30	0.75	7.351	7.85	25.65	29.49	49.2	49.33		
22	0.35	0.15	9.00	0.30	1.25	21.037	21.16	28.25	27.06	59.75	52.88		



ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น					ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากควาย	
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	แอมโมเนียมซัลเฟต	ลอร์ิกลูโคไซด์	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย
23	0.35	0.15	9.00	0.70	0.75	0.4	-65.45	26.45	29.86	46.65	49.08
24	0.35	0.15	9.00	0.70	1.25	615.139	679.50	22.65	20.50	46.95	43.89
25	0.35	0.35	5.00	0.30	0.75	58.771	55.33	37.30	36.10	67.35	64.10
26	0.35	0.35	5.00	0.30	1.25	0.463	-79.81	29.15	31.46	72.25	64.04
27	0.35	0.35	5.00	0.70	0.75	32.674	32.43	53.60	45.44	87.05	67.24
28	0.35	0.35	5.00	0.70	1.25	615.139	628.93	33.90	33.86	41.3	58.43
29	0.35	0.35	9.00	0.30	0.75	341.995	323.21	34.85	34.33	46	54.30
30	0.35	0.35	9.00	0.30	1.25	37.84	-85.56	30.40	26.94	50.15	55.02

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากควาย		
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	แอมโมเนียมซัลเฟต	ลอรีล สกลูโคไซด์	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	
												ค่าจริง	ค่าทำนาย
31	0.35	0.35	9.00	0.70	0.75	11.695	-146.29	45.10	45.19	66.65	64.18		
32	0.35	0.35	9.00	0.70	1.25	121.7	176.60	26.00	30.88	66.4	56.15		
33	0.01	0.25	7.00	0.50	1.00	295.312	299.00	36.65	29.09	64.6	54.77		
34	0.49	0.25	7.00	0.50	1.00	295.312	304.92	27.95	29.03	50.7	57.25		
35	0.25	0.01	7.00	0.50	1.00	458.666	497.20	35.20	23.41	53.5	44.70		
36	0.25	0.49	7.00	0.50	1.00	109.1	98.63	26.55	31.85	56.1	61.62		
37	0.25	0.25	2.24	0.50	1.00	458.666	492.59	33.90	31.23	62.5	59.30		
38	0.25	0.25	11.76	0.50	1.00	136.5	115.42	40.15	36.23	57.2	57.06		

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากควาย		
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	แอมโมเนียมซัลเฟต	ลิวรีลิกูโลไซด์	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	
												ค่าจริง	ค่าทำนาย
39	0.25	0.25	7.00	0.02	1.00	220.194	236.22	46.30	42.21	78.05	73.77		
40	0.25	0.25	7.00	0.98	1.00	955.406	998.20	40.05	37.66	58	59.00		
41	0.25	0.25	7.00	0.50	0.41	28.214	-2.52	37.70	35.59	46.9	49.62		
42	0.25	0.25	7.00	0.50	1.59	615.139	639.25	31.50	26.90	57.35	51.23		
43	0.25	0.25	7.00	0.50	1.00	220.194	240.27	30.75	27.75	52.95	48.01		
44	0.25	0.25	7.00	0.50	1.00	220.194	240.27	29.35	27.75	45.4	48.01		

ตาราง ก 3 ชุดการทดลองแบบ CCD ที่มีปัจจัย 5 ปัจจัย โดยใช้เซนแทนกัมในส่วนผสมต่อการเกิดโมโคริมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เหมาะสมและตัวแปรตามที่ได้จากการทดลอง

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากควาย	
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	แอมโมเนียมซัลเฟต	เซนแทนกัม	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)		
										ค่าจริง	ค่าทำนาย	
1	0.15	0.15	5.00	0.10	0.75	458.66	478.64	80	75.55	109.9	112.84	
2	0.15	0.15	5.00	0.10	1.25	597.4	546.34	75.05	78.33	107.05	106.47	
3	0.15	0.15	5.00	0.20	0.75	352.3	367.84	60.6	73.53	109.9	106.17	
4	0.15	0.15	5.00	0.20	1.25	351	362.03	86.15	85.70	116.9	105.16	
5	0.15	0.15	9.00	0.10	0.75	458.66	465.10	71.4	67.49	114.3	111.31	
6	0.15	0.15	9.00	0.10	1.25	572.5	554.79	77.7	70.05	108.35	105.05	

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากควาย		
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	แอมโมเนียมซัลเฟต	แซนแทนกัม	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	
												ค่าจริง	ค่าทำนาย
7	0.15	0.15	9.00	0.20	0.75	341.995	308.39	78.55	74.66	120.1	116.63		
8	0.15	0.15	9.00	0.20	1.25	325.3	324.56	81.75	86.61	109	115.73		
9	0.15	0.35	5.00	0.10	0.75	615.139	618.12	77.8	79.70	115.35	115.60		
10	0.15	0.35	5.00	0.10	1.25	615.139	632.07	80.3	74.29	124.95	107.66		
11	0.15	0.35	5.00	0.20	0.75	467	475.36	81	67.62	107.05	105.64		
12	0.15	0.35	5.00	0.20	1.25	458.66	415.79	75.5	71.60	104.65	103.07		
13	0.15	0.35	9.00	0.10	0.75	539.72	501.97	76.25	88.25	113.05	122.00		
14	0.15	0.35	9.00	0.10	1.25	531.172	537.90	77.6	82.63	115.3	114.18		

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากคาวาย	
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	แอมโมเนียมซัลเฟต	แซนแทนกัม	น้ำมันปาล์ม	ขนาดอิมัลชัน		ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)
						ค่าจริง	ค่าทำนาย					
15	0.15	0.35	9.00	0.20	0.75	336.2	313.29	83.2	85.36	125.7	124.04	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)
16	0.15	0.35	9.00	0.20	1.25	277.3	275.71	81.15	89.12	122.45	121.57	
17	0.35	0.15	5.00	0.10	0.75	304.9	280.21	74.8	72.96	126.25	126.24	
18	0.35	0.15	5.00	0.10	1.25	295.31	294.16	77.35	65.77	115.55	113.00	
19	0.35	0.15	5.00	0.20	0.75	341.99	335.45	76.15	72.58	121.45	117.38	
20	0.35	0.15	5.00	0.20	1.25	255.002	275.88	81.85	74.78	110.05	109.51	
21	0.35	0.15	9.00	0.10	0.75	366.3	364.71	63.9	65.08	125.75	126.89	
22	0.35	0.15	9.00	0.10	1.25	396.058	400.64	35.2	57.68	116	113.77	

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากควาย		
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	แอมโมเนียมซัลเฟต	แซนแทนกัม	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	
												ค่าจริง	ค่าทำนาย
23	0.35	0.15	9.00	0.20	0.75	396.058	374.03	69.65	73.89	124.9	130.02		
24	0.35	0.15	9.00	0.20	1.25	344	336.45	79.3	75.87	123.13	122.26		
25	0.35	0.35	5.00	0.10	0.75	341.995	370.94	80.85	75.15	122.15	115.78		
26	0.35	0.35	5.00	0.10	1.25	341.995	331.11	48.65	59.77	89.75	100.98		
27	0.35	0.35	5.00	0.20	0.75	396.058	394.21	60.7	64.70	97.9	103.64		
28	0.35	0.35	5.00	0.20	1.25	295.312	280.87	54.45	58.72	94.1	94.20		
29	0.35	0.35	9.00	0.10	0.75	369.7	352.82	82.9	83.88	118.4	124.37		
30	0.35	0.35	9.00	0.10	1.25	359.6	334.99	85.05	68.30	126.15	109.69		

ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากควาย		
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	แอมโมเนียมซัลเฟต	แซนแทนกัม	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	
												ค่าจริง	ค่าทำนาย
31	0.35	0.35	9.00	0.20	0.75	356.8	330.18	78.85	82.62	120.3	124.22		
32	0.35	0.35	9.00	0.20	1.25	239.8	238.83	72.65	76.42	114.65	114.89		
33	0.01	0.25	7.00	0.15	1.00	458.666	417.94	95.1	93.90	108	113.72		
34	0.49	0.25	7.00	0.15	1.00	141.772	135.57	76.5	75.55	125.15	121.77		
35	0.25	0.01	7.00	0.15	1.00	341.4	329.53	69.8	70.83	126.71	126.99		
36	0.25	0.49	7.00	0.15	1.00	407.4	379.77	79.65	76.47	122.9	121.46		
37	0.25	0.25	2.24	0.15	1.00	458.66	458.94	42.05	52.15	90.5	95.18		
38	0.25	0.25	11.76	0.15	1.00	396.058	392.80	75.9	63.62	125.4	117.99		



ชุดการทดลอง	ตัวแปรต้น						ขนาดอิมัลชัน (นาโนเมตร, nm)		ตีนตุ๊กแก		หญ้าปากคควาย		
	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ลิกนิน	แอมโมเนียมซัลเฟต	แซนแทนกัม	น้ำมันปาล์ม	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ค่าทำนาย	ค่ามุมสัมผัส (องศา, degree)	
												ค่าจริง	ค่าทำนาย
39	0.25	0.25	7.00	0.03	1.00	531.172	555.83	76.9	78.36	125.15	129.25		
40	0.25	0.25	7.00	0.27	1.00	341.955	307.48	89.3	85.69	130.5	127.50		
41	0.25	0.25	7.00	0.15	0.41	458.666	467.33	76	74.79	122.05	108.19		
42	0.25	0.25	7.00	0.15	1.59	458.666	439.43	71.75	70.74	87.95	89.66		
43	0.25	0.25	7.00	0.15	1.00	396.058	395.25	76.6	75.66	100.65	104.61		
44	0.25	0.25	7.00	0.15	1.00	396.058	395.25	76.25	75.66	105.5	104.61		

ตาราง ก 4 การใช้ CCD-RSM ในการแปรผันหาชนิดของน้ำมันที่เหมาะสมต่อการเกิดอิมัลชัน

รายการ	แปรผันชนิดน้ำมัน		
	น้ำมันมะพร้าว	น้ำมันปาล์ม	น้ำมันดอกทานตะวัน
สมการจาก Box- Behnken RSM	$Y = -718.27A + 60.36A^2 + 1183.01B - 1152.32B^2 + 9.06C + 1.45C^2 + 1804.69D - 142.68D^2 + 1495.62E + 40.48 + 3050.31E^2$	$Y = 167.792A - 115.052A^2 + 122.228B - 152.118B^2 + 3.081C - 0.055C^2 + 48.553D - 30.586D^2 - 13.197E - 10.526E^2$	$Y = 169.73A + 261.56A^2 - 457.39B + 311.04B^2 - 11.24C + 0.40C^2 + 312.55D + 150.46D^2 + 120.97E - 42.40E^2$
R <sup>2</sup>	0.98723	0.82644	0.95977
Lack of fit (P value)	-	0.299287	0.465693
สารลดแรงตึงผิว ซีวภาพ %	0.3	0.1	0.4
ลิกนิน %	0.4	0.3	0.4
โซเดียมคลอไรด์ %	5	5	4
ลอริลกลูโคไซด์ %	1	0.3	0.5
ขนาดของไมโคร อิมัลชัน (nm)	79.934	69.407	66.197