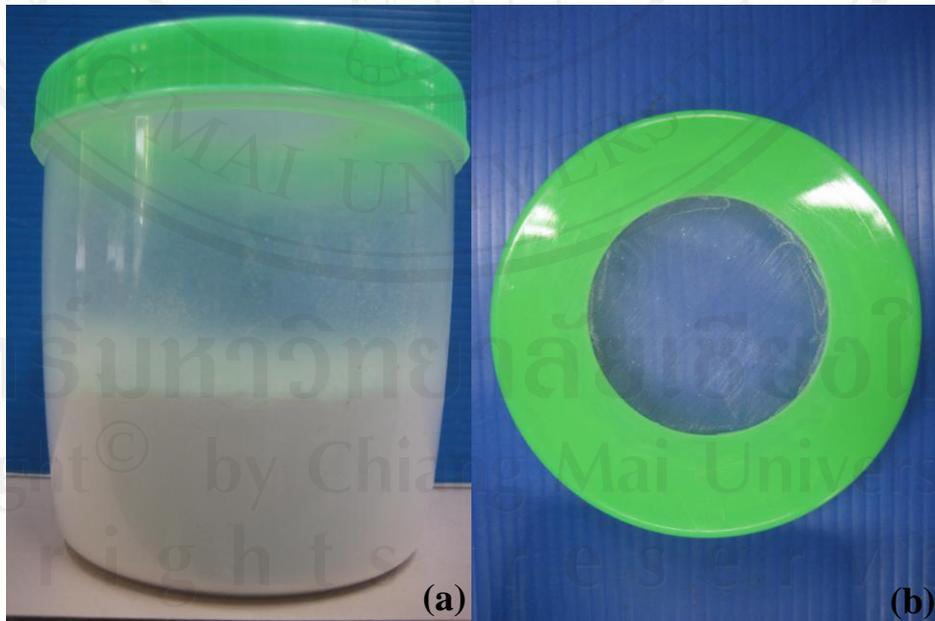


### บทที่ 3

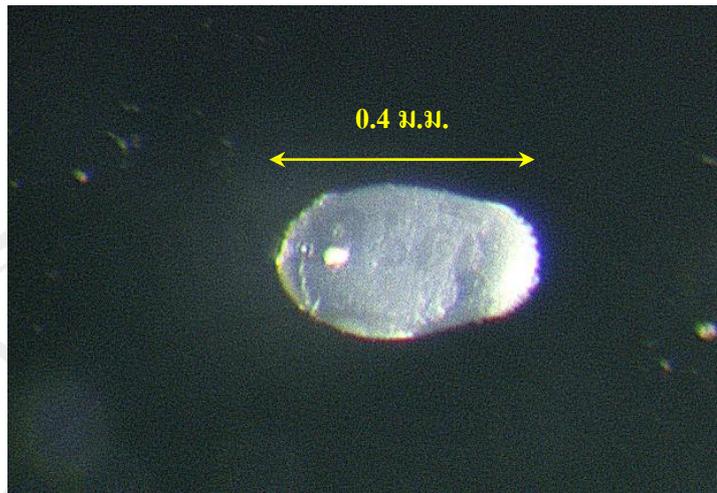
#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

##### การเลี้ยงมอดยาสูบเพิ่มปริมาณ

ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ ณ สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ นำมอดยาสูบที่เก็บตัวอย่างจากแหล่งเก็บรักษาใบยาสูบ ในจังหวัดเชียงใหม่ มาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณ โดยใช้แป้งสาลีที่ผ่านการแช่แข็งประมาณ 2-3 วัน แล้วพักไว้ 1 วัน เพื่อกำจัดแมลงอื่น ๆ ที่ติดมาก่อนนำไปเป็นอาหารเลี้ยงมอดยาสูบ ทำการเลี้ยงมอดยาสูบในกล่องพลาสติกทรงกลมขนาด 300 กรัม ฝาปิดตาข่าย (ผ้าใยสับปะรด) (ภาพ 3.1) ใส่มอดยาสูบระยะตัวเต็มวัยคละเพศประมาณ 100 ตัว ต่อแป้งสาลี 200 กรัม หลังจากนั้นนำไปร่อนเพื่อแยกมอดยาสูบระยะไข่และตัวเต็มวัยออกจากรันทุก ๆ 5 วัน ทำให้มอดยาสูบเจริญเติบโตมีอายุใกล้เคียงกัน โดยระยะไข่ (ภาพ 3.2) ที่อยู่ในแป้งสาลีจะพัฒนาเป็นระยะหนอน (ภาพ 3.3) ดักแด้ (ภาพ 3.4) และตัวเต็มวัย (ภาพ 3.5) เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป



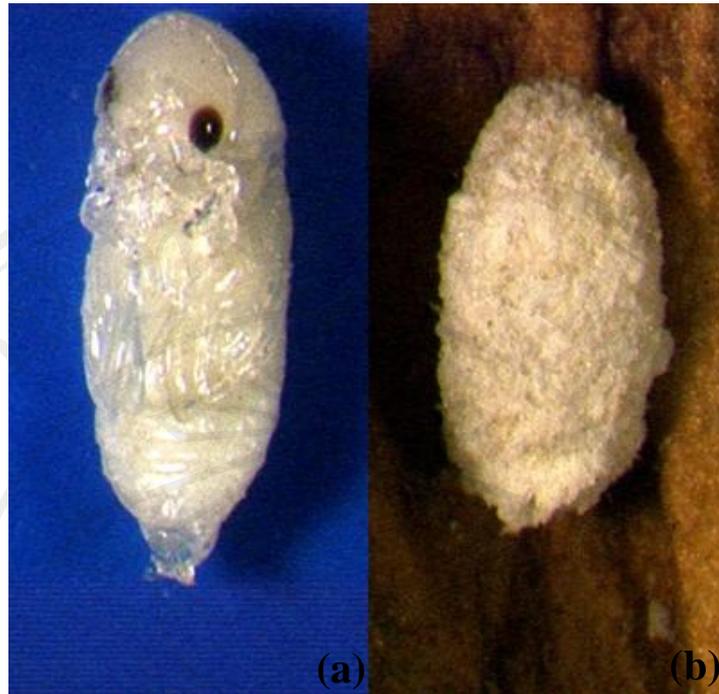
ภาพ 3.1 กล่องพลาสติกทรงกลมมีฝาปิดผ้าตาข่าย ขนาดบรรจุ 300 กรัม ที่บรรจุแป้งข้าวสาลี 100 กรัม เพื่อใช้เลี้ยงเพิ่มปริมาณมอดยาสูบ (a) ฝาปิดผ้าตาข่าย (b)



ภาพ 3.2 มอดยาสูบ *Lasioderma serricorne* (F.) ระยะไข่



ภาพ 3.3 รูปร่างลักษณะของมอดยาสูบระยะหนอนวัย 3



ภาพ 3.4 มอดยาสูบ ระยะดักแด้ (a) ระยะดักแด้ที่อยู่ในปลอกหุ้ม (b)



ภาพ 3.5 มอดยาสูบระยะตัวเต็มวัย

### การเตรียมใบยาสูบแห้งเบอร์เลย์

ใบยาสูบแห้งที่ใช้ในการทดลองนี้ เป็นใบยาสูบเบอร์เลย์อัดก้อน (ยาเค็ก) จากสำนักงานยาสูบเชียงใหม่ (ภาพ 3.6) มีการคัดเกรดแล้วว่าเป็นใบยาสูบที่มีคุณภาพตามมาตรฐานโรงงานยาสูบ ความชื้น 10-12 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในหมู่ B คือ ใบยาที่ขึ้นอยู่กลางลำต้นหรือสูงกว่านั้น ใบยาสูบของหมู่นี้จะมีลักษณะใบแหลม ใบมักพับหรือจีบย่น เนื้อหนากว่าใบยาหมู่อื่น ๆ และมีตำหนิอันเกิดจากการกระทบกระเทือนกับดินเล็กน้อยหรือไม่มีเลย ซึ่งจัดอยู่ในชั้นมาตรฐาน B2F เป็นใบยาชั้นดีมาก สีส้ม สุก โครงสร้างแน่น เนื้อหนา มีน้ำมันมาก สีเข้ม ความกว้างปกติ ยาวเกิน 16 นิ้ว ความสม่ำเสมอร้อยละ 85 ตำหนิที่ยอมให้ร้อยละ 10 มีปริมาณนิโคตินสูง 2.5-4.0 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งน้อยมาก 0-4 เปอร์เซ็นต์ (กองมาตรฐานใบยา โรงงานยาสูบ กระทรวงการคลัง, 2543) จากนั้นนำยาเค็กที่ได้มาตัดให้มีขนาด 15x15x7 เซนติเมตร (ภาพ 3.7) ไปแช่แข็งประมาณ 2-3 วัน เพื่อกำจัดแมลงอื่น ๆ ที่ติดมาด้วย แล้วพักไว้ 1 วัน ให้อุณหภูมิของยาเค็กเท่ากับอุณหภูมิห้อง ทำการเจาะรูก่อนยาเค็กทั้ง 4 ด้าน ใส่มอดยาสูบในแต่ละระยะการเจริญเติบโตด้านละ 10 ตัว จากนั้นนำไปบรรจุลงในถุง laminate ขนาด 9x14 นิ้ว ปิดผนึกปากถุงด้วยเครื่องปิดผนึกถุงพลาสติก (heat sealer) ก่อนนำไปทำการทดลอง 2 วัน (ภาพ 3.8)



ภาพ 3.6 ใบยาสูบเบอร์เลย์อัดก้อน (ยาเค็ก)



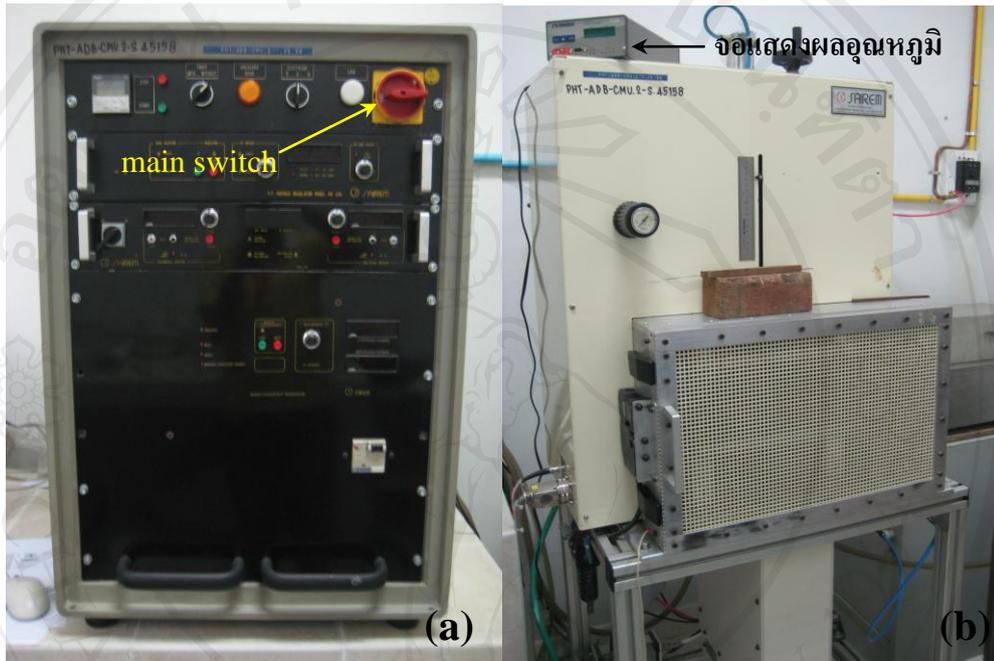
ภาพ 3.7 ใบยาสูบเบอร์เลย์อัดก้อนที่ตัดให้มีขนาด 15x15x7 เซนติเมตร



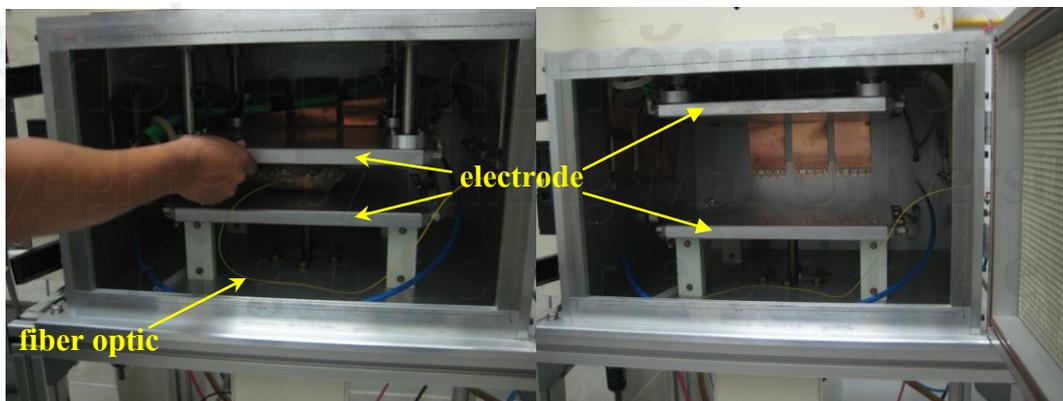
ภาพ 3.8 ใบยาสูบเบอร์เลย์อัดก้อนที่บรรจุในถุง Laminate พร้อมกับมอดยาสูบแต่ละระยะการเจริญเติบโต

### เครื่องกำเนิดคลื่นความถี่วิทยุ

เครื่องกำเนิดคลื่นความถี่วิทยุ (ภาพ 3.9, 3.10) สร้างและปรับปรุงโดย Institute of Agriculture Engineering, University of Göttingen, Germany ที่ความถี่ของคลื่นวิทยุ 27.12 MHz เป็นอัตราคลื่นความถี่ที่ใช้กับผลิตผลในโรงเก็บ (ณัฐศักดิ์, 2543)



ภาพ 3.9 เครื่องกำเนิดคลื่นความถี่วิทยุ สร้างและปรับปรุงโดย Institute of Agriculture Engineering, University of Göttingen, Germany ที่ความถี่ของคลื่นวิทยุ 27.12 MHz (a) Radio Frequency Generator และ (b) Radio Frequency Applicator



ภาพ 3.10 ตำแหน่งการวางใยแสงและมอดยาสอบในระหว่างได้รับคลื่นความถี่วิทยุ

การควบคุมเครื่องในการให้คลื่นความถี่วิทยุต่อไบบาสูบแห้งที่บรรจุมอดยาสูบ

1. เปิดวาล์วน้ำหล่อเย็น เครื่อง RF Generator
2. เปิดวาล์วแรงดันลม
3. เปิดระบบน้ำร้อนตั้งอุณหภูมิ และระบบหมุนเวียนน้ำร้อน รอจนกระทั่งอุณหภูมิคงที่
4. เปิดสวิตช์ลมเพื่อเลื่อนแผ่น electrode ประกอบตัวอย่างจนสนิท ปิดฝาเครื่อง RF Applicator
5. เปิดเครื่องวัดอุณหภูมิ
6. เปิดสวิตช์หลัก main switch บนเครื่อง RF Generator
7. ตั้งระดับพลังงาน เปอร์เซนต์ RF power บนเครื่อง RF Generator
8. บรรจุตัวอย่างที่มีไบบาสูบและมอดยาสูบ ในเครื่อง
9. เตรียมสาย fiber optic ให้อยู่ภายในตัวอย่างเพื่อวัดอุณหภูมิ
10. เมื่อนำตัวอย่างเข้าเครื่อง RF Applicator แล้วเลื่อนแผ่น electrode ประกอบตัวอย่างจนสนิท ปิดฝาเครื่อง
11. กดปุ่ม on ที่เครื่อง RF Generator
12. เมื่อครบระยะเวลาในการให้ RF กดปุ่ม off เพื่อหยุดการให้พลังงาน
13. ยกแผ่น electrode โดยปิดสวิตช์ลม ปิดฝาเครื่อง RF Applicator นำตัวอย่างออกมา
14. บันทึกอุณหภูมิสุดท้ายเมื่อครบกำหนดของระยะเวลาในการให้คลื่นความถี่วิทยุ

#### วิธีการทดลอง

**การทดลองที่ 1** ทหาระยะการเจริญเติบโตของมอดยาสูบที่มีความทนทานมากที่สุดเมื่อได้ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ

1.1 นำมอดยาสูบระยะไข่ซึ่งมีอายุประมาณ 2-4 วัน จำนวน 40 ตัว ไล่ลงในไบบาสูบเบอร์เลย์อัดก้อนโดยเจาะรูยาสูบอัดก้อนด้วยไม้ไผ่เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 มิลลิเมตร เจาะลึก 7 เซนติเมตร และนำไข่ของมอดยาสูบจำนวน 10 ฟอง ไล่ในรูก้อนยาทั้ง 4 ด้าน ๆ ละ 10 ฟอง นำไปผ่านคลื่นความถี่วิทยุ 27.12 MHz (Radio frequency Generator, Sairem, France) ที่ระดับพลังงาน 420 วัตต์ เป็นเวลา 60 วินาที เปรียบเทียบกับชุดที่ไม่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ (ชุดควบคุม) ในแต่ละกรรมวิธีทำการทดลอง 4 ซ้ำ นำไบบาสูบเบอร์เลย์อัดก้อนและไข่แมลงที่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบนับจำนวนหนอนที่พบหลังจากผ่านคลื่นความถี่วิทยุ จำนวนจำนวนไข่แมลงที่ตาย และหาเปอร์เซ็นต์การตายเปรียบเทียบกับชุดควบคุม นำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของมอดยาสูบด้วยวิธี Least Significant

Difference, LSD ในการศึกษาใช้คลื่นความถี่วิทยุกับ มอดยาสูบระยะหนอน ระยะคักแต่้ และตัวเต็มวัยจะทำในทำนองเดียวกันโดยเลือกใช้ มอดยาสูบที่มีอายุ 20 และ 30 วัน หลังจากวางไข่ และคัดเลือกตัวเต็มวัยที่มีอายุไม่เกิน 2 สัปดาห์ มาใช้ในการทดลอง

1.2 นำมอดยาสูบระยะไข่ซึ่งมีอายุประมาณ 2-4 วัน จำนวน 40 ตัว ใส่เข้าไปในตู้อบความร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วินาที เปรียบเทียบกับชุดที่ไม่นำไปใส่ในตู้อบความร้อน (ชุดควบคุม) ในแต่ละกรรมวิธีทำการทดลอง 4 ซ้ำ นำแมลงที่ใส่เข้าไปในตู้อบความร้อนเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบจำนวนหนอนที่พบหลังจากใส่ในตู้อบความร้อน คำนวณจำนวนไข่แมลงที่ตาย และหาเปอร์เซ็นต์การตายเปรียบเทียบกับชุดควบคุม นำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของมอดยาสูบด้วยวิธี Least Significant Difference, LSD ในการศึกษานี้ได้นำมอดยาสูบระยะหนอน ระยะคักแต่้ และตัวเต็มวัยจะทำในทำนองเดียวกันโดยเลือกใช้ มอดยาสูบที่มีอายุ 20 และ 30 วัน หลังจากวางไข่ และคัดเลือกตัวเต็มวัยที่มีอายุไม่เกิน 2 สัปดาห์ มาใช้ในการทดลอง

การทดลองทั้ง 2 กรรมวิธีนี้สามารถนำมาเปรียบเทียบผลของความร้อนที่มีผลต่อความทนทานของมอดยาสูบในแต่ละระยะได้ ซึ่งจะเปรียบเทียบระหว่างการใช้ตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วินาที กับคลื่นความถี่วิทยุ 27.12 MHz (Radio frequency Generator, Sairem, France) ที่ระดับพลังงาน 420 วัตต์ เป็นเวลา 60 วินาที

**การทดลองที่ 2** หาระยะเวลาที่สามารถกำจัดมอดยาสูบระยะที่ทนทานมากที่สุดได้อย่างสมบูรณ์เมื่อผ่านคลื่นความถี่วิทยุ

นำมอดยาสูบระยะที่ทนทานต่อคลื่นความถี่วิทยุมากที่สุด (ซึ่งได้ผลจากการทดลองที่ 1) มาบรรจุในถุง laminate พร้อมกับไบยาเบอร์เลย์อัดก้อน โดยใส่มอดยาสูบ ในยาสูบอัดก้อนที่เจาะรูทั้ง 4 ด้าน ๆ ละ 10 ตัว ทำเช่นเดียวกันกับการทดลองที่ 1 จากนั้น นำมาผ่านคลื่นความถี่วิทยุ 27.12 MHz ที่ระดับพลังงาน 420 วัตต์ เวลา 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 วินาที วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) แต่ละกรรมวิธีทำการทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 40 ตัว โดยมีชุดควบคุม คือ ไม่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ นำไบยาเบอร์เลย์อัดก้อนและมอดยาสูบระยะตัวเต็มวัยที่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุในระยะเวลาต่าง ๆ มาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3-5 วัน ตรวจสอบจำนวนแมลงที่รอด และหักลบจะได้จำนวนแมลงที่ตายจากการผ่านคลื่นความถี่วิทยุ นำแมลงที่เหลือรอดจากการผ่านคลื่นย้ายลงสู่แป้งสาลีซึ่งใช้เป็นอาหารของมอดยาสูบและตรวจสอบจำนวนแมลงรุ่นลูกที่พบหลังการปล่อยแมลง 4 สัปดาห์ นำเปอร์เซ็นต์การตายของแมลง และจำนวนแมลงรุ่นลูก ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของมอดยาสูบแต่ละระยะเวลา ด้วยวิธี Least Significant Difference, LSD

### วิธีวัดอัตราการตายของมอดยาสูบในการทดลองที่ 1 และ 2

นำมอดยาสูบในทุกๆระยะการเจริญเติบโตที่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุมาแยกใส่กระป๋องพลาสติกที่มีฝาปิดตายแล้วนำมาไว้ในอุณหภูมิห้อง โดยระยะไข่ตั้งทิ้งไว้ 4 สัปดาห์ ระยะหนอน 2 สัปดาห์ ระยะดักแด้ 1 สัปดาห์ และระยะตัวเต็มวัย 3-5 วัน ตามลำดับ หลังจากนั้นทำการตรวจนับจำนวนแมลงระยะตัวเต็มวัยที่รอดตาย จำนวนแมลงที่ตายได้จากการหักลบด้วยจำนวนแมลงที่นำมาทดลองก่อนผ่านคลื่นความถี่วิทยุ (40 ตัว) คำนวณเปอร์เซ็นต์การตายจากชุดที่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ นำมาคำนวณปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง (corrected mortality) ด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925)

$$\text{Corrected mortality} = \frac{\% \text{ tested mortality} - \% \text{ control mortality}}{100 - \% \text{ control mortality}} \times 100$$

### การวัดคุณภาพใบยาสูบทางกายภาพ และทางเคมีบางประการ

นำใบยาสูบเบอร์เลย์อัดก้อนที่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุในการทดลองที่ 2 ที่ให้ผลในการกำจัดมอดยาสูบได้ดีที่สุดมาโดยนำยาอัดก้อนมากระจาย คลุกให้เข้ากันจากนั้นสุ่มตัวอย่าง ๆ ละ 100 กรัม ในแต่ละกรรมวิธี นำไปตรวจสอบคุณภาพที่เปลี่ยนไป โดยคุณภาพของใบยาสูบสามารถประเมินผลได้ดังนี้

1. การตรวจคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ความชื้นในใบยาแห้งเบอร์เลย์ โดยทำการอบด้วยความร้อน (hot air – oven method) และการตรวจสอบสี โดยใช้เครื่องวัดสี Chroma Meter CR-400 ค่าที่ได้จากเครื่องมือเป็นค่า L\*, a\*, b\*
2. การตรวจคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณนิโคติน และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่ง วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Segmented Flow Automate Analyzer โดยส่งผลไปวิเคราะห์ที่กองดินและปุ๋ย สถานีทดลองยาสูบแม่โจ้ อ.สันทราย จ. เชียงใหม่ สังกัดโรงงานยาสูบ กระทรวงการคลัง

### การตรวจวัดคุณภาพใบยาสูบ

การวัดคุณภาพของใบยาสูบที่ได้รับคลื่นความถี่วิทยุ 27.12 MHz ระดับพลังงาน 420 วัตต์ ในระยะเวลา 180 วินาที ซึ่งสามารถกำจัดมอดยาสูบได้สมบูรณ์ที่สุด โดยเปรียบเทียบกับใบยาสูบชนิดเดียวกันจากกลุ่มเดียวกันที่ไม่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ โดยการสุ่มตัวอย่างใบยาสูบ ตัวอย่างละ 100 กรัม ในทุกกรรมวิธีทำ 3 ซ้ำ โดยวัดคุณสมบัติของใบยาสูบ ดังต่อไปนี้

## 1. การวัดคุณสมบัติทางกายภาพของใบยาสูบ

### 1.1 การวิเคราะห์ความชื้น (ASAE, 1998)

ในการวิเคราะห์ความชื้นของใบยาสูบ โดยนำตัวอย่างมาคให้เป็นผงละเอียดแล้วนำไปชั่ง จากนั้นเอาตัวอย่างยาสูบไปอบพร้อมกล่องอลูมิเนียม (can) ด้วยความร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง กำหนดหาความชื้นจากสูตร

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{(B - C)}{(B - A)} \times 100$$

เมื่อ A = น้ำหนักกล่องอลูมิเนียมพร้อมฝา

B = น้ำหนักกล่องอลูมิเนียมพร้อมฝาและยาสูบก่อนอบ

C = น้ำหนักกล่องอลูมิเนียมพร้อมฝาและยาสูบหลังอบ

### 1.2 การวัดสีของใบยาสูบ

ทำการวัดสีของใบยาสูบโดยใช้เครื่องมือวัดสี Chroma Meter CR-400 โดยใช้ใบยาสูบเบอร์เลย์อัดก้อนขนาด 15x15x7 เซนติเมตร มาสุ่มวัด 3 จุด ค่าที่แสดงผลออกมาเป็นค่า L\*, a\*, b\*

ค่า L\* เป็นค่าที่แสดงถึงความสว่าง (lightness) ที่มีค่าเท่ากับ 0 แสดงถึง วัตถุเข้าใกล้สีดำ หรือมืดที่สุด หาก L\* มีค่าเท่ากับ 100 แสดงถึง วัตถุมีสีขาวหรือสว่างที่สุด

ค่า a\* เป็นค่าที่แสดงความเป็นสีแดงหรือความเป็นสีเขียว ถ้าค่า a\* เป็นบวก แสดงถึง วัตถุมีสีแดง หากมีค่าเป็นลบ แสดงถึง วัตถุมีสีเขียว

ค่า b\* เป็นค่าที่แสดงความเป็นสีเหลืองหรือสีน้ำเงิน ถ้าค่า b\* เป็นบวก แสดงถึง วัตถุมีสีเหลือง หากมีค่าเป็นลบ หมายถึง วัตถุมีสีน้ำเงิน

โดยค่า a\* และ b\* มีค่าอยู่ระหว่าง -60 ถึง +60

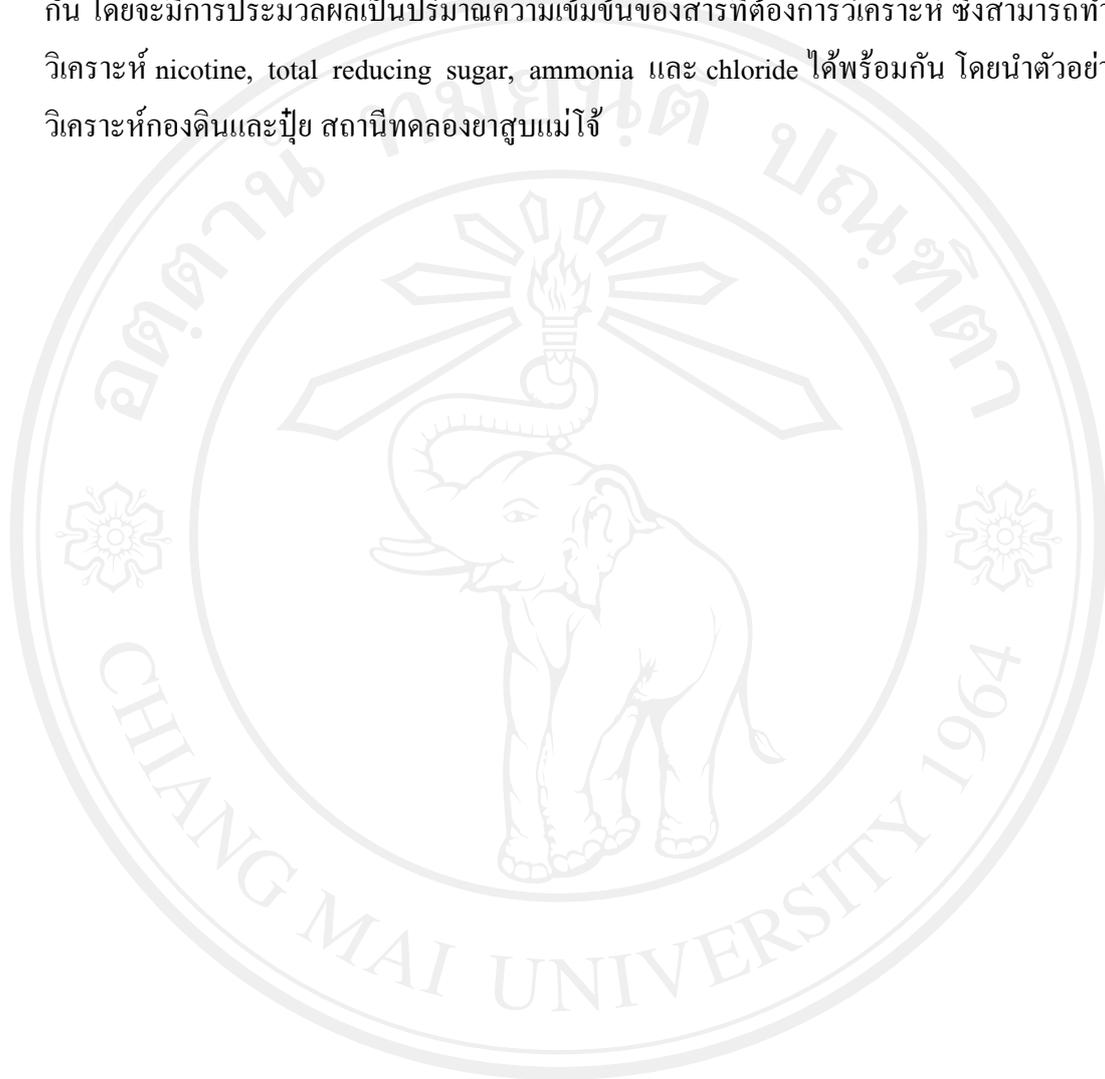
$$\text{ค่าดัชนีความขาว (Whiteness Index)} = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

## 2. การวัดคุณสมบัติทางเคมี

### 2.1 ปริมาณนิโคติน (nicotine) และ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซิง (reducing sugar)

การวิเคราะห์นิโคตินและน้ำตาลรีดิวซ์ซิง ในใบยาสูบพันธุ์เบอร์เลย์ ที่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ เทียบกับใบยาสูบที่ไม่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ ด้วยเครื่อง Segmented Flow Automate Analyzer ซึ่งเป็นเครื่องสำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในใบยา โดยระบบอัตโนมัติแบบ continuous flow analyzer จำนวน 4 ช่องทาง โดยมีขั้นตอนการทำงาน คือ การใช้ระบบฉีดสารละลายมาตรฐาน เปรียบเทียบกับตัวอย่างเข้ากับการผสมในสารเคมีของหน่วยในการทำปฏิกิริยาเคมี โดยที่สารจะมีการไหลเพื่อเข้าทำปฏิกิริยากันอย่างต่อเนื่อง ปฏิกิริยาดังกล่าวจะถูกแบ่งออกเป็นส่วน ๆ ด้วย

ฟองอากาศ (SFA, Segmented Flow Analysis) เพื่อทำให้เกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์และถูกต้องยิ่งขึ้น จนเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ไหลผ่านไปยังเครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ กัน โดยจะมีการประมวลผลเป็นปริมาณความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ ซึ่งสามารถทำการวิเคราะห์ nicotine, total reducing sugar, ammonia และ chloride ได้พร้อมกัน โดยนำตัวอย่างส่งวิเคราะห์ทองคินและปุย สถานีทดลองยาสูบแม่โจ้



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved