



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

## ภาคผนวก ก

### อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีเตรียม

#### 1. Nutrient Agar(NA)

Beef extract	3.0 กรัม
Peptone	5.0 กรัม
วุ้น	15 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร
Ph 7.0	

เตรียมโดยละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้เท่ากับ 7.0 นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

#### 2. Yeast extract dextrose agar(YDC)

Yeast extract	10 กรัม
Dextrose (glucose)	20 กรัม
Calcium carbonate (CaCO <sub>3</sub> )	20 กรัม
วุ้น	15 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

เตรียมโดยละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

### 3. Endo Agar

Peptone	10 กรัม
Lactose	10 กรัม
Dipotassium hydrogen phosphate ( $K_2HPO_4$ )	3.5 กรัม
Anhydrous sodium sulfite ( $Na_2SO_3$ )	2.5 กรัม
Basic fushsin	0.4 กรัม
วุ้น	15 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

เตรียมโดยละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

#### การเตรียมสื่อวัฒนธรรมแบคทีเรียและขั้นตอนการย้อม

##### 1. Crystal violet

###### สารละลาย A

Crystal violet	2 กรัม
Ethanal 95 เปอร์เซ็นต์	20 มิลลิลิตร

###### สารละลาย B

Ammonium oxalate	0.8 กรัม
น้ำกลั่น	80 มิลลิลิตร

ผสมสารละลาย A กับ B ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงก่อนใช้

##### 2. Iodine

Iodine	1 กรัม
Potassium iodine	2 กรัม
น้ำกลั่น	300 มิลลิลิตร

บด Iodine และ Potassium iodine เติมน้ำทีละน้อยจน iodine ละลายหมดแล้วเก็บในขวดสีชา

### 3. Decolorize agent

ใช้ ethanal 95 เปอร์เซนต์ ผสมกับ acetone ในอัตราส่วน 3:1

### 4. Safranin O

Safranin O	0.025 กรัม
Ethanal 95 เปอร์เซนต์	10 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

### 5. ขั้นตอนการย้อมสีแกรมแบคทีเรีย

1. เตรียม สไลด์สำหรับการย้อม ถ้าเป็นเชื้อจากอาหารเหลวใช้ลูปตักเชื้อ 1-3 ลูปและลงบนสไลด์ smear ออกให้เป็นฟิล์มบางๆ ถ้าเป็นเชื้อจาก colony บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง ให้แต่น้ำลงบนสไลด์แล้วเขี่ยเชื้อมาผสมกับน้ำให้กระจายเข้ากันดี
2. ทิ้งไว้ในอากาศให้แห้ง
3. Fix slide ด้วยเปลวไฟโดยหงายด้านที่มีเชื้อขึ้น ผ่านด้านล่างของ slide ไปมาเหนือเปลวไฟ 2-3 ครั้ง (Heat fix) ซึ่งต้องระวังไม่ให้โคนความร้อนมากเกินไปเพราะจะทำให้แตกหรือเสียรูปร่างได้
4. หยดสารละลาย crystal violet จนท่วมสไลด์ ทิ้งไว้ 1 นาทีแล้วล้างออกด้วยน้ำ
5. หยดสารละลายไอโอดีน จนท่วมสไลด์ ทิ้งไว้ 1 นาทีแล้วล้างออก สารละลายไอโอดีนจะทำหน้าที่เป็น mordant ช่วยให้เซลล์แบคทีเรียติดสีย้อมได้ดีขึ้น
6. ล้างออกโดยค่อยๆ หยด Ethanal 95 เปอร์เซนต์ เอียงสไลด์ไปมาจนกระทั่งสีน้ำเงินเริ่มจางแล้วจึงรีบล้างออกด้วยน้ำ
7. หยด safranin O ให้ท่วมทิ้งไว้ 15-30 วินาทีแล้วล้างออกด้วยน้ำ ชับน้ำด้วยกระดาษหรือผ้า และทิ้งไว้ให้แห้ง
8. ตรวจสอบลักษณะของแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์หัว 100X

## ภาคผนวก ข

### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยโปรแกรม Statistic 8.0 ด้วยการวิเคราะห์แบบ Completely Randomized Design

1. เปรอ์เซ็นต์ความสูญเสียของผักกาดวางตั้งอินทรีย์ในการทดสอบหาวิธีการปฏิบัติที่เหมาะสม โดยวิธีการล้างผลผลิตด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด (electrolyzed oxidizing water; EO) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน

Statistix 8.0 21/3/2014, 0:02:49

#### Completely Randomized AOV for Loss

Source	DF	SS	MS	F	P
Treat	6	45.1716	7.52861	14.3	0.0000
Error	14	7.3549	0.52535		
Total	20	52.5265			

Grand Mean 3.4743 CV 20.86

	Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances	11.8	6	0.0657
Cochran's Q	0.7354		
Largest Var / Smallest Var	47.502		

Component of variance for between groups 2.33442  
Effective cell size 3.0

Treat	Mean
1	2.3200
2	5.4900
3	3.2067
4	1.5400
5	2.0533
6	4.9467
7	4.7633

Observations per Mean 3  
Standard Error of a Mean 0.4185  
Std Error (Diff of 2 Means) 0.5918

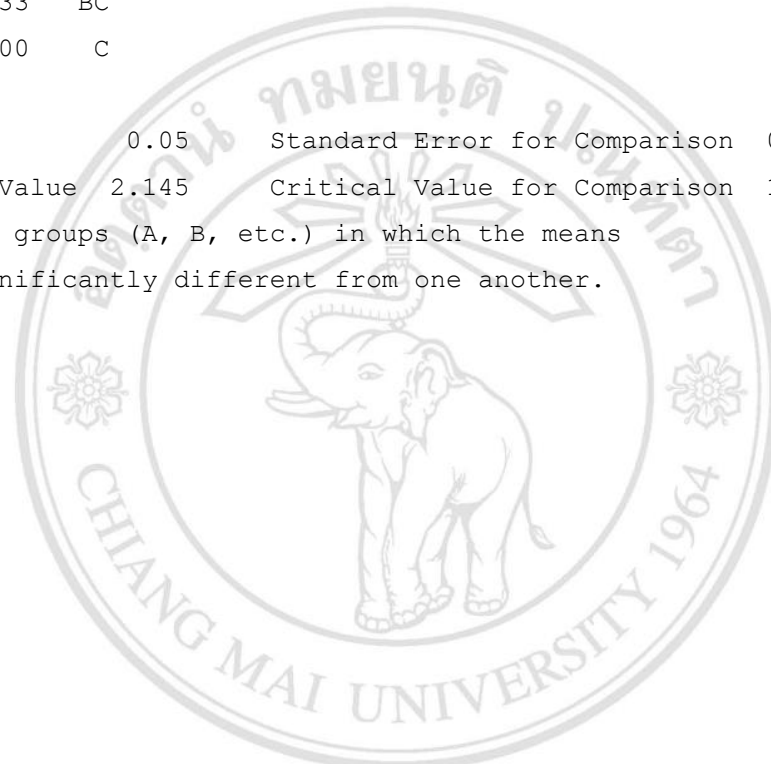
### LSD All-Pairwise Comparisons Test of Loss by Treat

Treat	Mean	Homogeneous Groups
2	5.4900	A
6	4.9467	A
7	4.7633	A
3	3.2067	B
1	2.3200	BC
5	2.0533	BC
4	1.5400	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.5918

Critical T Value 2.145 Critical Value for Comparison 1.2693

There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

2. เปรี่เซ้นต์ความสูญเสียของฝักกาดวางตั้งอินทรีย์ในการทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมหลังการเก็บเกี่ยวของฝักอินทรีย์ โดยวิธีการแช่ผลิตผลด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด (electrolyzed oxidizing water; EO) ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน

Statistix 8.0

21/3/2014, 0:42:02

**Completely Randomized AOV for Loss**

Source	DF	SS	MS	F	P	
Treat	7	696.34	99.4778	4.47	0.0015	
Error	32	712.61	22.2691			
Total	39	1408.96				
Grand Mean	14.622	CV	32.27			
				Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances				16.7	7	0.0193
Cochran's Q			0.3412			
Largest Var / Smallest Var			77.417			
Component of variance for between groups				15.4417		
Effective cell size					5.0	

**Treat Mean**

1	13.046
2	24.682
3	12.282
4	12.762
5	12.724
6	14.144
7	16.908
8	10.428

Observations per Mean	5
Standard Error of a Mean	2.1104
Std Error (Diff of 2 Means)	2.9846

### LSD All-Pairwise Comparisons Test of Loss by Treat

Treat	Mean	Homogeneous Groups
2	24.682	A
7	16.908	B
6	14.144	BC
1	13.046	BC
4	12.762	BC
5	12.724	BC
3	12.282	BC
8	10.428	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 2.9846

Critical T Value 2.037 Critical Value for Comparison 6.0794

There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved



3. เปรียบเทียบความสูญเสียของผักกาดหวานอินทรีย์ในการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด (electrolyzed oxidizing water; EO) ในการยับยั้งการเกิดโรคน้ำหลังการเก็บเกี่ยวของผักอินทรีย์ โดยวิธีการแช่โคนและรอยตัดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน

Statistix 8.0

21/3/2014, 1:24:35

**Completely Randomized AOV for Loss**

Source	DF	SS	MS	F	P	
Treat	7	76.860	10.9799	1.81	0.1323	
Error	24	145.869	6.0779			
Total	31	222.729				
Grand Mean	8.9472	CV 27.55				
				Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances				5.70	7	0.5752
Cochran's Q			0.2739			
Largest Var / Smallest Var			11.586			
Component of variance for between groups					1.22551	
Effective cell size						4.0

**Treat Mean**

1	10.215
2	8.862
3	9.395
4	9.877
5	9.745
6	5.018
7	9.615
8	8.850

Observations per Mean	4
Standard Error of a Mean	1.2327
Std Error (Diff of 2 Means)	1.7433

### LSD All-Pairwise Comparisons Test of Loss by Treat

Treat	Mean	Homogeneous Groups
1	10.215	A
4	9.8775	A
5	9.7450	A
7	9.6150	A
3	9.3950	A
2	8.8625	A
8	8.8500	A
6	5.0175	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 1.7433

Critical T Value 2.064 Critical Value for Comparison 3.5979

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

4. เปรียบเทียบความสูญเสียของผักกาดหวานอินทรีย์ในการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด (electrolyzed oxidizing water; EO) ในการยับยั้งการเกิดโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของผักอินทรีย์ โดยวิธีการแช่ โคนและรอยตัดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

Statistix 8.0

21/3/2014, 1:45:53

**Completely Randomized AOV for Loss**

Source	DF	SS	MS	F	P	
Treat	7	27.303	3.90039	1.15	0.3667	
Error	24	81.404	3.39183			
Total	31	108.707				
Grand Mean	6.0725	CV	30.33			
				Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances				4.61	7	0.7078
Cochran's Q			0.2163			
Largest Var / Smallest Var			12.558			
Component of variance for between groups					0.12714	
Effective cell size						4.0

**Treat Mean**

1	5.1325
2	4.9950
3	6.7725
4	4.8250
5	7.2625
6	6.0325
7	7.1775
8	6.3825

Observations per Mean	4
Standard Error of a Mean	0.9208
Std Error (Diff of 2 Means)	1.3023

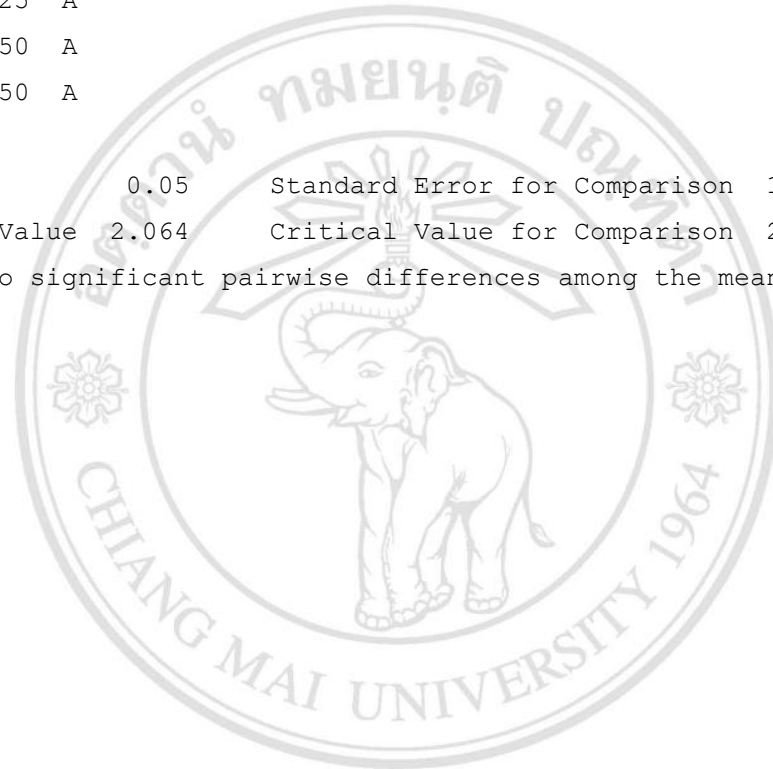
**LSD All-Pairwise Comparisons Test of Loss by Treat**

<b>Treat</b>	<b>Mean</b>	<b>Homogeneous Groups</b>
5	7.2625	A
7	7.1775	A
3	6.7725	A
8	6.3825	A
6	6.0325	A
1	5.1325	A
2	4.9950	A
4	4.8250	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 1.3023

Critical T Value 2.064 Critical Value for Comparison 2.6878

There are no significant pairwise differences among the means.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

5. เปรอ์เซ็นต์ความสูญเสียของผักกาดฮ่องเต้อินทรีย์ในการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด (electrolyzed oxidizing water; EO) ในการยับยั้งการเกิดโรคน้ำหลังการเก็บเกี่ยวของผักอินทรีย์ โดยวิธีการแช่โคนและรอยตัดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน

Statistix 8.0

19/5/2014, 22:17:15

**Completely Randomized AOV for Loss**

Source	DF	SS	MS	F	P	
Treat	7	429.61	61.3725	1.81	0.1313	
Error	24	813.16	33.8818			
Total	31	1242.77				
Grand Mean	9.7569	CV	59.66			
				Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances				22.5	7	0.0021
Cochran's Q			0.4444			
Largest Var / Smallest Var			51.859			
Component of variance for between groups				6.87266		
Effective cell size					4.0	

**Treat Mean**

1	12.375
2	14.945
3	6.503
4	6.760
5	15.135
6	5.800
7	9.857
8	6.680

Observations per Mean	4
Standard Error of a Mean	2.9104
Std Error (Diff of 2 Means)	4.1159

### LSD All-Pairwise Comparisons Test of Loss by Treat

Treat	Mean	Homogeneous Groups
5	15.135	A
2	14.945	AB
1	12.375	ABC
7	9.8575	ABC
4	6.7600	ABC
8	6.6800	ABC
3	6.5025	BC
6	5.8000	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 4.1159

Critical T Value 2.064 Critical Value for Comparison 8.4949

There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

6. เปรอ์เซ็นต์ความสูญเสียของผักกาดฮ่องเต้อินทรีย์ในการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด (electrolyzed oxidizing water; EO) ในการยับยั้งการเกิดโรคน้ำหลังการเก็บเกี่ยวของผักอินทรีย์ โดยวิธีการแช่ โคนและรอยตัดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

Statistix 8.0

19/5/2014, 22:21:21

**Completely Randomized AOV for Loss**

Source	DF	SS	MS	F	P	
Treat	7	43.074	6.1534	0.58	0.7635	
Error	24	253.651	10.5688			
Total	31	296.725				
Grand Mean	6.6594	CV	48.82			
				Chi-Sq	DF	P
Bartlett's Test of Equal Variances				8.61	7	0.2820
Cochran's Q			0.3284			
Largest Var / Smallest Var			24.056			
Component of variance for between groups				-1.10383		
Effective cell size					4.0	

**Treat Mean**

1	6.2825
2	8.2125
3	7.2250
4	7.2600
5	7.6100
6	4.5850
7	6.9400
8	5.1600

Observations per Mean	4
Standard Error of a Mean	1.6255
Std Error (Diff of 2 Means)	2.2988

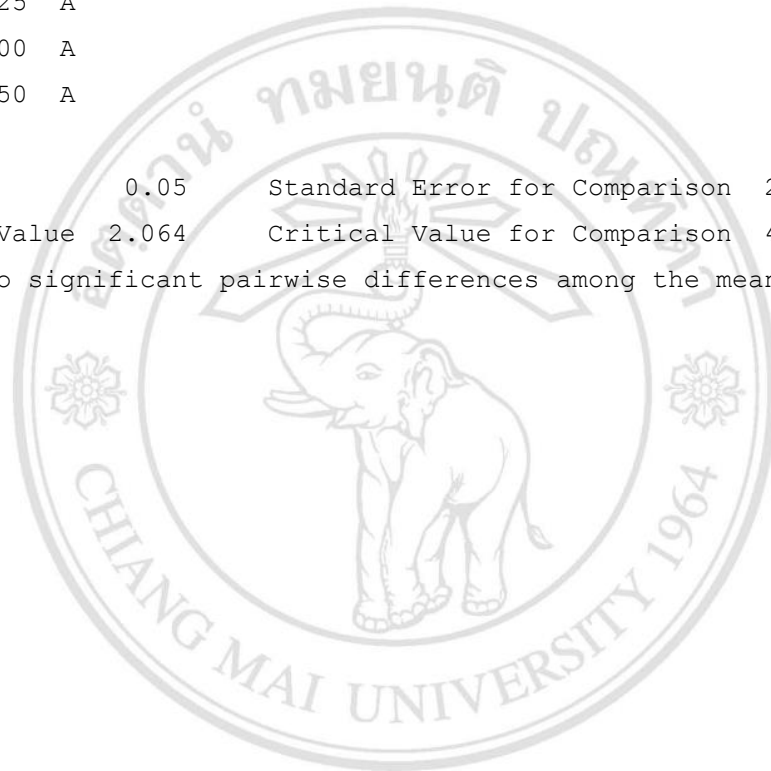
**LSD All-Pairwise Comparisons Test of Loss by Treat**

<b>Treat</b>	<b>Mean</b>	<b>Homogeneous Groups</b>
2	8.2125	A
5	7.6100	A
4	7.2600	A
3	7.2250	A
7	6.9400	A
1	6.2825	A
8	5.1600	A
6	4.5850	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 2.2988

Critical T Value 2.064 Critical Value for Comparison 4.7444

There are no significant pairwise differences among the means.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved



## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาววันวิสา เตชะวงศ์
วัน เดือน ปี เกิด	11 พฤษภาคม 2530
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2547 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมปลายจากโรงเรียนรังษีวิทยา จังหวัดเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2551 วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ทุนการศึกษา	ปีการศึกษา 2553 ได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ระดับปริญญาโท



มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
rights reserved