

การพัฒนาไฮโดรเจลอัลจินต-พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ผสมนาโนซิงค์ออกไซด์
เพื่อควบคุมโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium deliense* และปลดปล่อยไนโตรเจน
ในการปลูกมะเขือเทศสีดา

**Development of an Alginate–PVA Hydrogel Containing Zinc Oxide Nanoparticles
for the Control of *Pythium deliense*–Induced Damping-Off and Nitrogen Release
in Seeda Tomato (*Solanum lycopersicum* ‘Seeda’) Cultivation**

ณัฐพงศ์ สกุนทิกโกคานนท์,^{1*} จิราณวัฒน์ ตั้งธนาไพบูลย์¹ และอัญชิสา ยอมิน¹
Natthapong Sakunkitphokhanon,^{1} Jiranuvat Tangtanapaiboon¹ and Anchisa Yomin¹*

Received 9 January 2026, Revised 1 April 2026, Accepted 10 April 2026

ABSTRACT

This study aimed to develop and evaluate alginate–polyvinyl alcohol (PVA) hydrogels incorporating zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) and urea as multifunctional materials for controlling *Pythium deliense*, the causal agent of damping-off disease in Seeda tomato, while simultaneously improving nitrogen release efficiency in soil. The developed hydrogels exhibited concentration-dependent antifungal activity against *P. deliense*. Complete inhibition of fungal growth was achieved at a ZnO-NP concentration of 1.00% (w/v). Among the tested formulations, the A2.5P20 hydrogel demonstrated the highest antifungal efficacy (90.15%), which was significantly greater than that of the commercial fungicide Captan. The nitrogen release behavior of the A2.5P20 hydrogel was well-fitted to the Higuchi and Korsmeyer–Peppas models, indicating a hybrid diffusion- and swelling-controlled release mechanism governed by the polymer matrix. In contrast, the A2.5P40 formulation exhibited a high swelling ratio of 292% by the fifth cycle and underwent complete biodegradation within 54 days. In planta bioassays further confirmed that A2.5P20 significantly promoted the growth of Seeda tomato seedlings compared to the control and ZnO-NPs-free hydrogel treatments. Overall, the developed hydrogel shows considerable potential as a functional agricultural material for integrated disease management, reducing nitrogen loss, and improving nutrient use efficiency in sustainable agricultural systems.

Keywords: Hydrogel, Zinc oxide nanoparticles, *Pythium deliense*, Damping-off disease, Controlled-release fertilizer

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและประเมินประสิทธิภาพของไฮโดรเจลจากอัลจินต-พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่เสริมด้วยซิงค์ออกไซด์อนุภาคนาโน (ZnO-NPs) และยูเรีย เพื่อประยุกต์ใช้เป็นวัสดุเชิงหน้าที่สำหรับการควบคุมเชื้อรา *Pythium deliense* สาเหตุของโรคเน่าคอดินในมะเขือเทศสีดา ควบคู่กับการเพิ่มประสิทธิภาพการปลดปล่อยไนโตรเจนใน

^{1*} สาขาวิชาชีววิทยา โครงการห้องเรียนพิเศษวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ โรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาน้อมเกล้า เขตสะพานสูง กรุงเทพฯ 10240
Department of Biology, Gifted Program (GP), Triam Udom Suksa Nomklao School, Saphan Sung District, Bangkok 10240, Thailand.

* Corresponding author: E-mail address: natthapong.sak@tun.ac.th

ดิน ผลการศึกษาพบว่าไฮโดรเจลที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราและขึ้นกับความเข้มข้นของ ZnO-NPs โดยพบว่า ZnO-NPs ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.00% (w/v) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 100% และไฮโดรเจลสูตร A2.5P20 ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราสูงสุดเท่ากับ 90.15% และมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารควบคุมเชิงพาณิชย์ (สาร Captan) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยจากการวิเคราะห์พฤติกรรมการณ์การปลดปล่อยไนโตรเจนของไฮโดรเจลสูตร A2.5P20 สอดคล้องกับแบบจำลอง Higuchi และ Korsmeyer–Peppas สะท้อนถึงกลไกการปลดปล่อยแบบผสมที่ควบคุม โดยการแพร่และการบวมของโครงข่ายพอลิเมอร์ ขณะที่ไฮโดรเจลสูตร A2.5P40 แสดงอัตราการบวมสูงถึง 292% ในรอบที่ 5 และสามารถย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ภายใน 54 วัน การทดสอบทางชีวภาพยืนยันว่าไฮโดรเจลสูตร A2.5P20 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศได้ดีอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และไฮโดรเจลที่ไม่ผสม ZnO-NPs ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ไฮโดรเจลที่พัฒนาขึ้นมีศักยภาพในการประยุกต์ใช้เป็นวัสดุการเกษตรเชิงหน้าที่สำหรับการจัดการโรคพืช การลดการสูญเสียไนโตรเจน และการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ธาตุอาหารในระบบเกษตรกรรมอย่างยั่งยืน

คำสำคัญ: ไฮโดรเจล ชิงค์ออกไซด์อนุภาคนาโน *Pythium deliense* โรคเน่าคอดิน ปุ๋ยปลดปล่อยช้า

บทนำ

มะเขือเทศสีดา (*Solanum lycopersicum*) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เนื่องจากสามารถนำไปใช้ประกอบอาหารได้หลากหลายและมีความต้องการของตลาดสูงอย่างกว้างขวาง มะเขือเทศสีดาเป็นพืชที่มีความอ่อนไหวต่อโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะ “โรคเน่าคอดิน” ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Pythium deliense* (กรมวิชาการเกษตร, 2563) เชื้อราชนิดนี้สามารถทำลายพืชตั้งแต่วัยเป็นเมล็ดหรือต้นกล้า ทำให้ต้นกล้าตายเป็นจำนวนมาก เป็นอุปสรรคสำคัญต่อการเพาะปลูก เพื่อลดความเสียหายจึงทำให้เกษตรกรส่วนใหญ่เลือกใช้สารเคมีป้องกันเชื้อรา เช่น สารควบคุมเชิงพาณิชย์ (สาร Captan) เป็นจำนวนมาก แต่ผลของการใช้สารเคมีต่อเนื่องไม่เพียงแต่เพิ่มต้นทุนการผลิต ยังก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตที่เป็นประโยชน์ในธรรมชาติ เช่น จุลินทรีย์ดีในดิน หรือแมลงผสมเกสร (นิละมัย และคณะ, 2564) นอกจากนี้ การปลูกมะเขือเทศมีความจำเป็นต้องใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในปริมาณมากเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต แต่การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนมักจะทำให้สูญเสียได้ง่ายจากดินผ่านกระบวนการระเหย ชะล้าง หรือการตรึงโดยจุลินทรีย์ ส่งผลให้เกษตรกรต้องใส่ปุ๋ยบ่อยครั้ง ทำให้ต้นทุนสูงขึ้นและส่งผลเสียต่อคุณภาพของดินและแหล่ง

น้ำในระยะยาว จากการศึกษาพบว่า ชิงค์ออกไซด์อนุภาคนาโน (ZnO-NPs) มีคุณสมบัติเด่นด้านการต้านจุลชีพและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมถึงเชื้อในสกุล *Pythium spp.* ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคเน่าคอดิน และโรครากเน่าในพืชหลายชนิด (Sirelkhatim *et al.*, 2015; Zabrieski *et al.*, 2015; Subba *et al.*, 2024) กลไกการออกฤทธิ์ของ ZnO-NPs มีความเกี่ยวข้องกับการสร้างอนุมูลอิสระจากออกซิเจน (reactive oxygen species; ROS) ที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ โปรตีน และสารพันธุกรรมของเชื้อรา โดยรบกวนความสมบูรณ์ของผนังเซลล์และเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้เกิดการรั่วไหลของสารภายในเซลล์และยับยั้งการแบ่งตัวของเส้นใยราได้อย่างมีนัยสำคัญ และยังจัดเป็นสารที่มีความเสถียรทางเคมี มีต้นทุนการผลิตไม่สูง และได้รับการยอมรับว่ามีความเป็นพิษต่ำเมื่อใช้อย่างเหมาะสมเมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราสังเคราะห์บางชนิด จึงได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางในการประยุกต์ใช้ด้านการควบคุมโรคพืชอย่างยั่งยืน โดยเฉพาะในระบบเกษตรที่มุ่งลดการใช้สารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อม และไฮโดรเจลเป็นวัสดุที่สามารถดูดซับน้ำและค่อย ๆ ปล่อยน้ำออก ช่วยควบคุมการปล่อยสารออกฤทธิ์ต่าง ๆ ได้

อย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลให้สารออกฤทธิ์ทำงานได้ยาวนานและมีประสิทธิภาพสูงขึ้น โดยไฮโดรเจลทำหน้าที่เป็นโครงข่ายรองรับที่ช่วยควบคุมการปลดปล่อยอนุภาค ZnO-NPs อย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้เพิ่มประสิทธิภาพและระยะเวลาการออกฤทธิ์ในการควบคุมเชื้อรา ทำให้การใช้วัสดุไฮโดรเจลร่วมกับซิงค์ออกไซด์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราหลายชนิด โดยพบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อรา เช่น *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Aspergillus niger* และ *Botrytis cinerea* ทั้งระดับการทดสอบในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) และการทดสอบกับพืชภายใต้สภาพเรือนทดลอง (*in vivo*) (Liu *et al.*, 2017; Erazo *et al.*, 2019)

อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่บูรณาการการใช้วัสดุนาโนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราและการควบคุมการปลดปล่อยไนโตรเจนไว้ภายในระบบไฮโดรเจลที่ย่อยสลายได้เพียงระบบเดียวสำหรับการปลูกมะเขือเทศนั้นยังมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการพัฒนาไฮโดรเจลผสมนาโนซิงค์ออกไซด์ เพื่อยับยั้งเชื้อรา *P. deliense* สาเหตุโรคเน่าคอดิน พร้อมเพิ่มปริมาณไนโตรเจนในดินสำหรับการปลูกมะเขือเทศสด โดยออกแบบและสังเคราะห์ไฮโดรเจลจากพอลิเมอร์ ได้แก่ อัลจิเนต (Alginate) และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Polyvinyl alcohol: PVA) เสริมด้วยซิงค์ออกไซด์อนุภาคนาโนที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราและเพิ่มปุ๋ยยูเรียซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนหลักให้แก่พืช โดยอัลจิเนตสามารถสร้างเจลที่คงรูปได้เมื่อเกิดปฏิกิริยากับแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) ส่วน PVA ช่วยเพิ่มความแข็งแรงและความยืดหยุ่นของโครงสร้างเจล ZnO-NPs มีพื้นที่ผิวสูง สามารถสร้างอนุโมลอิสระจากออกซิเจน เช่น OH และ H_2O_2 ที่ทำลายผนังเซลล์ของเชื้อราได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Sirelkhatim *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2022) ขณะเดียวกันยูเรียสามารถปลดปล่อยไนโตรเจนให้พืชใช้ประโยชน์ แต่จำเป็นต้องควบคุมการปลดปล่อยเพื่อป้องกันการสูญเสีย เมื่อนำสารทั้ง 4 ชนิดมาผสมกันในสัดส่วนที่เหมาะสม จะได้เป็นเม็ดไฮโดรเจล

ที่มีคุณสมบัติ “สองกลไก” คือ ป้องกันโรคเน่าคอดินสาเหตุจากเชื้อรา *P. deliense* และควบคุมการปลดปล่อยไนโตรเจนในดินไปพร้อมกัน โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ทั้งยังช่วยลดต้นทุน ลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์ ส่งเสริมการเกษตรที่มีความยั่งยืน และเพิ่มคุณภาพของผลผลิตมะเขือเทศสดได้ในระยะยาวอย่างมีประสิทธิภาพ

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาและพัฒนาไฮโดรเจลจากอัลจิเนตและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่ผสมซิงค์ออกไซด์อนุภาคนาโนและยูเรียเพื่อใช้เป็นวัสดุทางเลือกในการควบคุมโรคพืชและเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ธาตุอาหารของพืชในระบบเกษตรแบบยั่งยืน โดยศึกษาประสิทธิภาพของไฮโดรเจลในการยับยั้งเชื้อรา *P. deliense* สาเหตุของโรคเน่าคอดินในมะเขือเทศสด และเปรียบเทียบกับแคปแทนซึ่งเป็นสารกำจัดศัตรูพืชทั่วไป (GUP) ที่อยู่ในประเภทกำจัดเชื้อราในกลุ่มฟทาไลไมด์ (Phthalimide) รวมถึงประเมินผลกระทบต่อการงอกของเมล็ด พฤติกรรมการบวมตัว การสลายตัว และการปลดปล่อยไนโตรเจนในดิน ขั้นตอนการดำเนินการวิจัยมีดังต่อไปนี้

1. การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. deliense*

แยกเชื้อรา *P. deliense* จากดิน โดยบ่มเมล็ดมะเขือเทศสดบนดินที่มีเชื้อรา *P. deliense* นาน 24-48 ชม. แล้วตรวจเส้นใยด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด 2 ตา รุ่น AS326 Halogen (American Scientific, ประเทศจีน) เพื่อยืนยันลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราด้วยการเปรียบเทียบลักษณะสำคัญ เช่น เส้นใยแบบไม่มีผนังกัน (coenocytic hyphae) รูปแบบของ sporangium, oogonium และ antheridium กับคำอธิบายของเชื้อในสกุล *Pythium* จากเอกสารอ้างอิงที่เกี่ยวข้อง (van der Plaats-Niterink, 1981; Uzuhashi *et al.*, 2010; Robideau *et al.*, 2011) ก่อนแยกเชื้อด้วยวิธี hyphal tip isolation บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จนได้เชื้อราบริสุทธิ์ จากนั้นวางเมล็ดมะเขือเทศสดลงในดิน 2 ชุดการทดลอง โดย

นำฟัทมอสหนัก 100 กรัม ผสมน้ำกลั่นจำนวน 2 ลิตร และเชื้อรา *P. deliense* จำนวน 2 จานเพาะเชื้อ เป็น (1) ชุดที่มีการใส่เชื้อรา และที่ไม่ผสมเชื้อรา *P. deliense* เป็น (2) ชุดที่ไม่ใส่เชื้อรา (ชุดควบคุม) ใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) แต่ละชุดการทดลองประกอบด้วย การทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (replicates) หลังจากวางเมล็ดตั้งแต่วันที่ 1-11 ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิห้อง วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างวันหลังการทดลองกับดัชนีก่อโรค (Disease Index; DI) และร้อยละการงอก (นิลมะย์ และคณะ, 2564) โดยการวิเคราะห์ความรุนแรงตามเกณฑ์การให้คะแนนความรุนแรงของโรค (disease severity scale) ระดับ 0–5 ซึ่งประยุกต์จากวิธีการของ Campbell and Madden (1990) และปรับให้เหมาะสมกับลักษณะอาการของโรคเน่าคอดินในมะเขือเทศ แล้ววิเคราะห์ด้วย One-way ANOVA และ Polynomial regression เพื่ออธิบายแนวโน้มข้อมูลตามเวลา

2. การหาความเข้มข้นของนาโนซิงค์ออกไซด์ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *P. deliense* ด้วยวิธี Poisoned food method

เตรียม PDA 39 กรัม ละลายน้ำ 1,000 มล. ละลายให้ความร้อน แล้วนำ PDA 100 มล. ผสม ZnO-NPs ในปริมาณ 0.05, 0.1, 0.5, 1 และ 1.5 กรัม ซึ่งเทียบเท่ากับความเข้มข้น 500, 1,000, 5,000, 10,000 และ 15,000 ppm ตามลำดับ หนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมกับ ZnO-NPs ลงในจานเพาะเชื้อแต่ละความเข้มข้น ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ปล่อยให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง แล้วใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ซม. เจาะขอบโคโลนี (colony) ของเชื้อรา *P. deliense* นำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมกับ ZnO-NPs และวางบนชุดควบคุมคือ น้ำกลั่น (ดัดแปลงจาก Ahmed *et al.*, 2022) วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา (ซม.) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม และคำนวณร้อยละการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยใช้สมการ

$$\text{ร้อยละการยับยั้ง} = \frac{A - B}{A} \times 100 \text{ โดยที่}$$

A = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราชุดควบคุม

B = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราชุดทดสอบ

3. การเตรียมสารละลายไฮโดรเจลเพื่อขึ้นรูปเม็ด และทดสอบประสิทธิภาพของไฮโดรเจลในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *P. deliense* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

เตรียมสารละลาย PVA ที่ความเข้มข้น 10% w/v ผสมกับอัลจิเนต จำนวน 12 รูปแบบ (Table 1) ใส่ NaHCO₃ 1 กรัม (ตรีสวัสดิ์, 2022) และ ZnO-NPs ตามความเข้มข้นที่น้อยที่สุดในการยับยั้งเชื้อราได้ 100% ที่ได้จากวิธีการในข้อที่ 2 (1.00% (w/v)) แล้วใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ซม. เจาะเชื้อรา *P. deliense* แล้วย้ายขึ้นวันเชื้อราสาเหตุมวงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บริเวณกึ่งกลาง รอจนกระทั่งเส้นใยของเชื้อราเจริญมีขนาด เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีประมาณ 1 ซม. แล้ววางเม็ดไฮโดรเจล 3 จุด ห่างจากโคโลนีของเชื้อรา 1 ซม. จากนั้นวางกระดาษกรองที่ชุบด้วยสาร Captan 1.0% (w/v) อีก 1 จุด (Figure 1) ใช้แผนการทดลองแบบ CRD แต่ละชุดการทดลองประกอบด้วย การทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (clear zone) ทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 3 วัน แล้วคำนวณร้อยละการยับยั้ง เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราระหว่างแต่ละชุดทดลอง (Baptista *et al.*, 2022) แล้ววิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองของไฮโดรเจลแต่ละสูตรด้วย One-way ANOVA และ Post-Hoc Tukey's HSD

4. การเตรียมเม็ดไฮโดรเจลผสมปุ๋ยยูเรียและวิเคราะห์การปลดปล่อยไนโตรเจนในดิน

นำไฮโดรเจลอัตราส่วนที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อรา *P. deliense* ผสมปุ๋ยยูเรียหนัก 20 กรัม ZnO-NPs 1 กรัม และ NaHCO₃ 1 กรัม แล้วคนให้เข้ากันด้วย

Magnetic Stirrer ที่ 140 rpm (ตรีสวัสดิ์, 2022) จากนั้น ผังเม็ดปุ๋ยไฮโดรเจลเล็ก 7 ซม. เก็บตัวอย่างดินวันที่ 3, 6, 9, 16, 23 และ 37 ใช้แผนการทดลองแบบ CRD แต่ละช่วงเวลาทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้ววิเคราะห์ไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียม และอินทรีย์ด้วยวิธี Total Kjeldahl Nitrogen (TKN) โดยชั่งตัวอย่างดิน และดินเปล่า 0.5 กรัม ใส่ในขวด Kjeldahl เติม catalyst ใช้อัตราส่วน $K_2SO_4 : CuSO_4 \cdot 5H_2O : Se$ เป็น 100:10:1 ลงไป 7 กรัม แล้วเติม H_2SO_4 20 มล. นำไปย่อยจนกว่าสารละลายที่ได้จะใส เป็นเวลา 2 ชม. จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 1 ชม. (เปิด scrubber) เตรียมสารละลายกรดบอริกไว้สำหรับตัวอย่างดินทุกตัวอย่าง จากนั้นนำมากลั่น แล้วไทเทรต (titrate) โดยใช้สารละลาย H_2SO_4

(อริยกานนท์, 2551) คำนวณปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยใช้สมการ

$$TKN = \frac{(S-B) \times \text{Normality ของ } H_2SO_4 \times 1.4}{\text{น้ำหนักตัวอย่างดิน (กรัม)}}$$

โดยที่ S = ปริมาตรกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง

B = ปริมาตรกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไทเทรต blank

จากนั้นนำข้อมูล TKN จากการทดลองวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างการทดลองด้วย One-way ANOVA แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของการปลดปล่อยไนโตรเจน (First-order release model และ Higuchi model) และ Linear regressio

Table 1 The ratios of alginate to PVA in hydrogel formulations

Formulation	alginate (g)	PVA (cm ³)	Formulation	alginate (g)	PVA (cm ³)
1	1.5	10	7	2.0	30
2	1.5	20	8	2.0	40
3	1.5	30	9	2.5	10
4	1.5	40	10	2.5	20
5	2.0	10	11	2.5	30
6	2.0	20	12	2.5	40

Note: Ratios are expressed as %w/v. Formulation codes indicate alginate (A) and PVA (P) contents; for example, A2.5P20 corresponds to 2.5 g alginate and 20 cm³ PVA

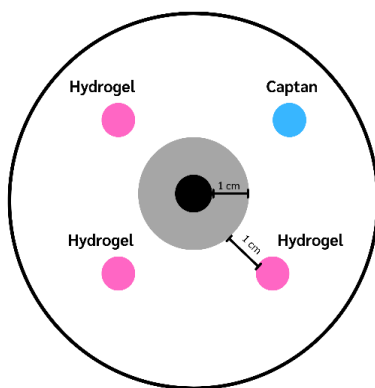


Figure 1 Evaluation of the antifungal activity of hydrogels against *P. deliense*

5. การวิเคราะห์ปริมาณไนเตรต

วิเคราะห์ด้วยวิธี colorimetric โดยชั่งตัวอย่างดินวันที่ 3, 6, 9, 23, 37 และดินเปล่า 5 กรัม ละลายในน้ำ 25 มล. เขย่าในเครื่องเขย่า 180 rpm นาน 1 ชม. แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง What man เบอร์ 93 สร้างกราฟมาตรฐาน ใช้สารละลายมาตรฐาน KNO_3 โดยชั่ง KNO_3 0.0326 กรัม ละลายในน้ำ 200 มล. เป็น stock solution 100 ppm ปิเปตต์ stock solution 15, 12.5, 10, 7.5, 5 และ 2.5 มล. ละลายในน้ำ 25 มล. เป็นความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 ppm ตามลำดับ สร้างกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์ไนเตรต ดูดตัวอย่างสารละลาย 0.5 มล. ผสมกับ Salicylic acid 5 % ใน H_2SO_4 เข้มข้น 1 มล. ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 20 นาที เติมน้ำ NaOH ความเข้มข้น 2 N ลงไป 20 มล. ทิ้งไว้ให้เย็นตัวลง แล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มล. ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 413 nm ด้วย spectrophotometer (อริยกานนท์, 2551) แล้วนำข้อมูลปริมาณไนเตรตของแต่ละช่วงเวลาวิเคราะห์ความแตกต่างด้วย One-way ANOVA และประเมินความสม่ำเสมอของข้อมูลด้วยค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)

6. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไฮโดรเจล

ชั่งน้ำหนักเม็ดปุ๋ยไฮโดรเจล (hydrogel fertilizer) 1 เม็ด และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เม็ด แล้วคำนวณปริมาตรของไฮโดรเจลจากสมการ

$$\text{ปริมาตรของไฮโดรเจล} = \frac{4}{3} \pi r^3$$

$$\text{โดยที่ } \pi = \text{ค่าคงที่ } \left(\frac{22}{7}\right)$$

$$r = \text{รัศมีไฮโดรเจล (ซม.)}$$

และความหนาแน่นของไฮโดรเจลจากสมการ

$$\text{ความหนาแน่นของไฮโดรเจล} = \frac{\text{มวล}}{\text{ปริมาตร}}$$

$$\text{โดยที่ มวล} = \text{น้ำหนักเม็ดไฮโดรเจล 1 เม็ด (กรัม)}$$

$$\text{ปริมาตร} = \text{ปริมาตรของไฮโดรเจล 1 เม็ด (ลบ.ซม.)}$$

แล้วนำค่าความหนาแน่นของเม็ดไฮโดรเจลแต่ละสูตรมาวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย One-way ANOVA และ Post-Hoc Tukey's HSD

7. การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีด้วยสเปกตรัม FTIR-ATR ของปุ๋ยไฮโดรเจล

นำตัวอย่างไฮโดรเจลทำให้แห้งด้วยกระบวนการฟรีซไดร (freeze-drying) เพื่อกำจัดความชื้น จากนั้นนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy ร่วมกับอุปกรณ์ Attenuated Total Reflectance (FTIR-ATR) โดยบันทึกสเปกตรัมในช่วงคลื่น $4,000-400 \text{ cm}^{-1}$ ที่ความละเอียด 4 cm^{-1} และสแกน 32 ครั้งต่อการวัดวิเคราะห์การดูดกลืนของหมู่ฟังก์ชันหลัก ได้แก่ O-H (ประมาณ 3427 cm^{-1}), C-H (ประมาณ 2925 cm^{-1}), C=O (ประมาณ 1714 cm^{-1}), C-O-O (ประมาณ 1592 cm^{-1}), Zn-O (ประมาณ $710-533 \text{ cm}^{-1}$) และ C-O-C (ประมาณ $1148-1039 \text{ cm}^{-1}$) เพื่อตรวจสอบโครงสร้างโมเลกุลและการเกิดพันธะภายในไฮโดรเจล โดยเปรียบเทียบกับสเปกตรัมกับงานวิจัยของ Sirelkhatim *et al.* (2015)

8. การศึกษาการบวมน้ำและคายน้ำของเม็ดไฮโดรเจล

นำเม็ดไฮโดรเจลแห้งหนัก 10 กรัม อบที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชม. แล้วชั่งน้ำหนัก จากนั้นแช่ในน้ำ 25 มล. นาน 24 ชม. ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จำนวน 5 รอบ เพื่อชั่งน้ำหนักเม็ดไฮโดรเจลที่บวมน้ำและวัดปริมาตรน้ำที่เหลือ ทำซ้ำจนเม็ดไฮโดรเจลไม่สามารถดูดน้ำเพิ่ม (Shivakumara & Demappa, 2019) คำนวณร้อยละการบวมตัวจากสมการ

$$\text{ร้อยละการบวมตัว} = \frac{(W_2 - W_1)}{W_1} \times 100$$

$$\text{โดยที่ } W_1 = \text{น้ำหนักแห้งหลังอบ}$$

$$W_2 = \text{น้ำหนักเปียกหลังแช่น้ำครบ 24 ชม.}$$

แล้ววิเคราะห์ด้วยสมการเอกซ์โพเนนเชียล (exponential equation analysis)

9. การศึกษาการสลายตัวของเม็ดปุ๋ยไฮโดรเจล

ชั่งพีทมอสหนัก 110 กรัม ใส่ลงในกระถางขนาดเล็ก แล้วชั่งเม็ดปุ๋ยไฮโดรเจลหนัก 10 กรัม ใส่ในถุงตาข่ายก่อนฝังลงในดินที่มีความลึก 7 ซม. รดน้ำทุกวัน วันละ 100 มล. ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และชั่งน้ำหนักเม็ดปุ๋ยไฮโดรเจลหลังฝังดินในแต่ละสัปดาห์ (Hussain *et al.*, 2023) เพื่อคำนวณร้อยละการสลายตัวจากสมการ

$$\text{ร้อยละการสลายตัว} = \frac{(W_2 - W_1)}{W_1} \times 100$$

โดยที่ W_1 = น้ำหนักเม็ดปุ๋ยไฮโดรเจลก่อนฝังดิน

W_2 = น้ำหนักเม็ดปุ๋ยไฮโดรเจลหลังฝังดิน

ให้นำข้อมูลการสลายตัวของเม็ดไฮโดรเจลในช่วงเวลาต่าง ๆ วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย One-way ANOVA, Linear regression และ %RSD

10. การทดสอบประสิทธิภาพของไฮโดรเจลในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *P. deliense* ในต้นกล้ามะเขือเทศสีดา

เตรียมพีทมอส 100 กรัม ผสมเชื้อรา *P. deliense* สาเหตุโรคเน่าคอดิน จากจานเพาะเชื้อ 2 จาน เติมน้ำกลั่นรวม 2 ลิตร แล้วนำต้นกล้ามะเขือเทศอายุ 10 วันย้ายปลูกในพีทมอส 10 กรัมต่อ 1 ต้น จากนั้นแบ่งชุดการทดสอบออกเป็น 4 ชุด คือ (1) ชุดที่ใส่ไฮโดรเจล

ผสม ZnO-NPs (2) ชุดที่ใส่ไฮโดรเจลไม่ผสม ZnO (3) ชุดที่ไม่ใส่ไฮโดรเจล และ (4) ชุดที่ใช้สาร Captan 1.0% (w/v) แล้ววัดความยาวรากและความยาวลำต้นของมะเขือเทศสีดาหลังจากปลูกตั้งแต่วันที่ 1-12 ใช้แผนการทดลองแบบ CRD แต่ละชุดการทดลองประกอบด้วย การทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้ววิเคราะห์ด้วย kruskal-Wallis และ Post hoc test (Dunn's test)

ผล

1. การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *P. deliense*

จากการศึกษาพบว่า เชื้อรา *P. deliense* มีโครงสร้าง oogonium และ antheridium อยู่ใกล้กัน มี oospore กลม และ sporangium แบบเส้นใยพองออก โดยเชื้อราแสดงความสามารถในการลดร้อยละการออกของเมล็ดมะเขือเทศสีดาอย่างมีนัยสำคัญ ภายใน 11 วัน ขณะที่ดัชนีก่อโรค (DI) เพิ่มขึ้นชัดเจน มีความสัมพันธ์เชิงลบสูง ($r = -0.87$ ถึง -0.95 , $p < 0.005$) และแบบจำลอง Polynomial Regression ($R^2 = 0.987$) ชี้ว่า DI เพิ่มขึ้นแบบ S-curve สะท้อนว่า เชื้อราส่งผลโดยตรงต่อการทำลายเนื้อเยื่อเมล็ดช่วงต้นของการงอก โดยเชื้อราจะสร้าง zoospore เข้าทำลายพืชผ่านทางราก ด้วยการเจาะผนังเซลล์และลูกกลามเข้าสู่เนื้อเยื่อ ส่งผลให้เกิดอาการเน่าเฉพาะจุดและกระจายอย่างรวดเร็ว (Figure 2 and Figure 3)

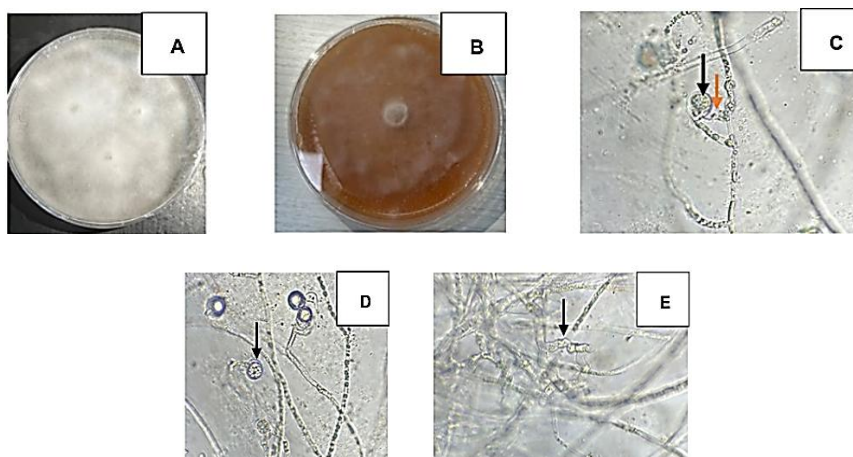


Figure 2 Morphological characteristics of *P. deliense* on PDA (A) and V8 agar (B); oogonium (black arrow) with antheridium (red arrow) (C); oospore (D); and sporangium (E) (100X)

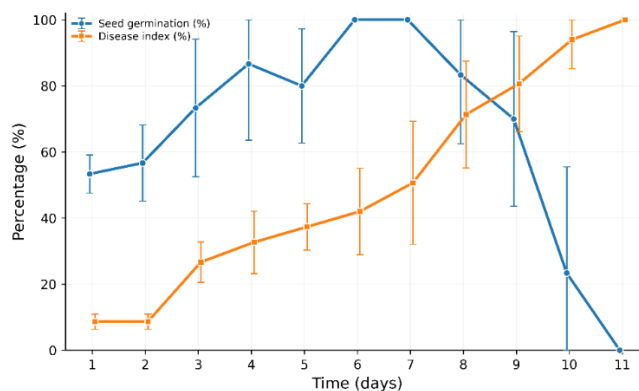


Figure 3 The mean percentage of seed germination and disease index caused by *P. deliense* Over an 11-day period

2. การหาความเข้มข้นของนาโนซิงค์ออกไซด์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. deliense* ด้วยวิธี Poisoned food method

จากการศึกษาพบว่า ZnO-NPs สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. deliense* ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F(4,10) = 102.78, p = 4.44 \times 10^{-8}$) โดยที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.00% w/v สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (0.00 cm) แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (น้ำกลั่น) และกลุ่มที่มีความเข้มข้นต่ำกว่าอย่างชัดเจน จากแนวโน้มของข้อมูลพบว่า ZnO-NPs ที่ความเข้มข้น 1.0% w/v ให้ผลยับยั้งการเจริญของ

เชื้อได้ดีที่สุด โดยให้ค่าการเจริญของเชื้อต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มทดลองอื่น จึงพิจารณาได้ว่าเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการยับยั้งเชื้อภายใต้สภาวะที่ศึกษา และจากการวิเคราะห์ ANOVA และ Tukey's HSD พบว่า ZnO-NPs ที่ระดับ 0.05–0.10% แม้จะลดการเจริญของเชื้อราได้บางส่วน แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยกลไกการยับยั้งดังกล่าวเกิดจาก ZnO-NPs ถูกกระตุ้นให้ผลิต reactive oxygen species (ROS) ซึ่งมีความสามารถในการทำลายโครงสร้างพื้นฐานของเซลล์ เช่น เยื่อหุ้มเซลล์ โปรตีน และสารพันธุกรรม (Table 2)

Table 2 Effects of different concentrations of ZnO-NPs on the mycelial growth of *P. deliense*

ZnO-NP concentration (%w/v)	Mycelial growth of <i>P. deliense</i> (colony diameter)
0.00 (control)	3.75 cm $\pm$ 0.00 ^a cm
0.05	2.27 $\pm$ 0.25 ^a cm
0.10	2.33 $\pm$ 0.35 ^a cm
0.50	0.80 $\pm$ 0.10 ^b cm
1.00	0.00 $\pm$ 0.00 ^c cm
1.50	0.00 $\pm$ 0.00 ^c cm

Note: Values are presented as mean $\pm$ standard deviation (SD), n = 3 independent replicates per treatment. Antifungal activity was evaluated using the poisoned food method. Statistical comparisons were performed using one-way ANOVA followed by Tukey's honestly significant difference (HSD) post hoc test ($p < 0.05$). Different superscript letters within the same column indicate significant differences among treatments. One-way ANOVA: $F(4,10) = 102.78, p = 4.44 \times 10^{-8}$.

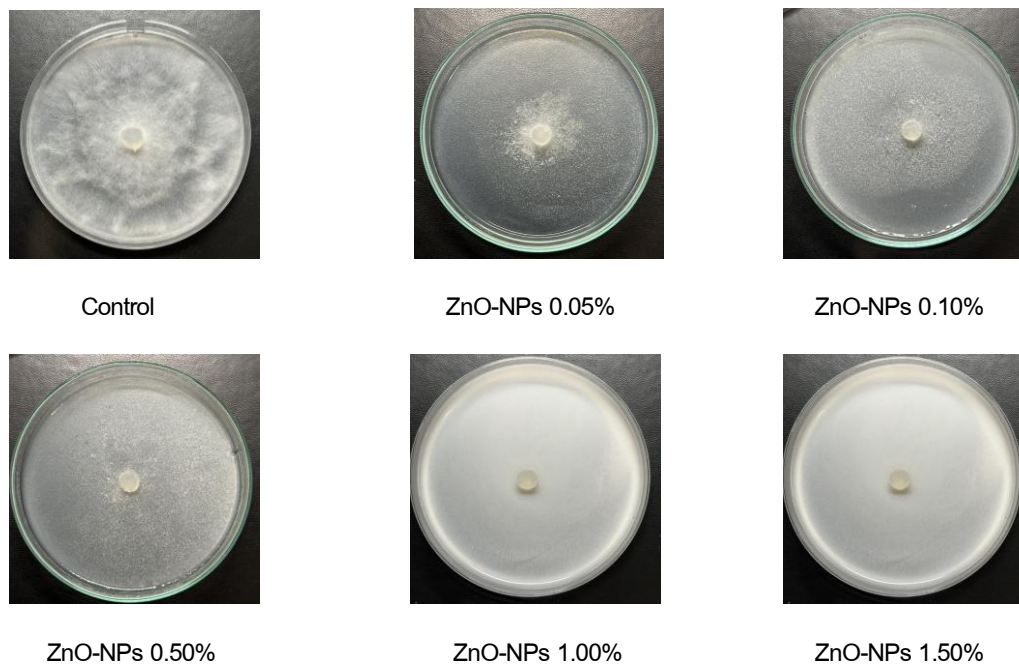


Figure 4 Inhibitory effects of ZnO-NPs at control and various concentrations on the mycelial growth of *P. deliense*

3. การทดสอบประสิทธิภาพของไฮโดรเจลในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. deliense* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการศึกษาพบว่า ไฮโดรเจลสูตร A2.5P20 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. deliense* สูงสุดเท่ากับ 90.15% ในวันที่ 3 รองลงมาคือ A2.5P30 (70.77%) และ A1.5P20 (60.00%) ตามลำดับ

ขณะที่สารควบคุมเชิงพาณิชย์ (สาร Captan) ยับยั้งได้เพียง 27.69% แสดงถึงศักยภาพของไฮโดรเจลที่สูงกว่าสารเคมีเชิงพาณิชย์ในช่วง 3 วันแรก การวิเคราะห์ด้วย Tukey's HSD พบว่า A2.5P20 แตกต่างจากสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และให้ผลชัดเจนที่สุด ส่วน A2.5P30 และ A1.5P20 ให้ผลใกล้เคียงกัน ขณะที่สูตร A1.5P40 และ A2.5P10 มีประสิทธิภาพต่ำกว่า 40% และไม่แตกต่างจากสูตรควบคุม (Figure 5)

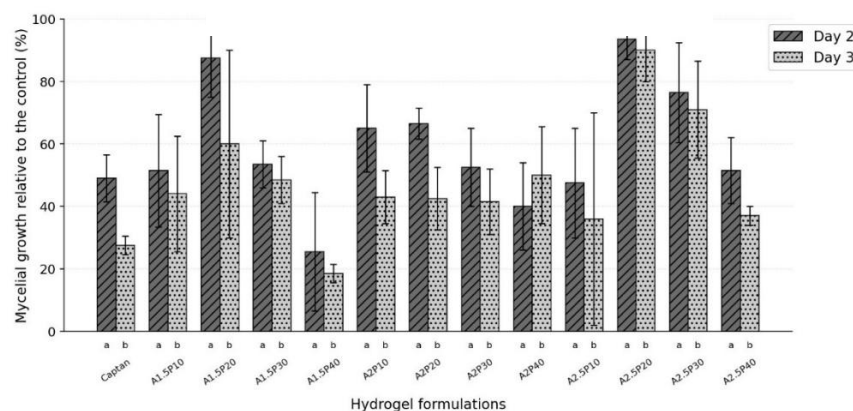


Figure 5 The percentage inhibition of *P. deliense* mycelial growth by different hydrogel formulations on days 2 and 3 under laboratory conditions. The formulation A2.5P20 showed the highest antifungal activity, reaching 90.15% inhibition on day 3, followed by A2.5P30 (70.77%) and A1.5P20 (60.00%).

4. การวิเคราะห์การปลดปล่อยไนโตรเจนในดิน

จากการเปรียบเทียบแบบจำลองจลนพลศาสตร์ 4 รูปแบบ พบว่าแบบจำลอง Higuchi ให้ความสอดคล้องกับข้อมูลการปลดปล่อยไนโตรเจนจากไฮโดรเจลอัลจินต-พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ดีที่สุด ($R^2 = 0.959$) แสดงว่าการปลดปล่อยถูกควบคุมหลักโดยการแพร่ผ่านเมทริกซ์พอลิเมอร์ ขณะที่แบบจำลอง Korsmeyer-Peppas ($R^2 = 0.935$, $n = 0.742$) บ่งชี้ถึงกลไกการปลดปล่อยแบบผสมที่สัมพันธ์กับการแพร่ของสารและการบวมตัวของโครงข่ายพอลิเมอร์ ส่วนแบบจำลอง First-order ในรูป Q_t ให้ความสอดคล้องต่ำ ($R^2 = 0.298$) จึงไม่เหมาะสมในการอธิบายระบบนี้ แม้ว่าแบบจำลอง First-

order ในรูป $\ln C_t = \ln C_0 - k_t$ จะยังให้ความสอดคล้องในระดับค่อนข้างดี ($R^2 = 0.890$; $k = 0.0145 \text{ day}^{-1}$) สำหรับการอธิบายแนวโน้มการลดลงของไนโตรเจนในระบบ เมื่อพิจารณาข้อมูลไนโตรเจนในพีทมอสแยกตามชนิดที่วิเคราะห์ พบว่า total N มีค่าสูงสุดในช่วงต้นของการทดลองก่อนเข้าสู่ระยะคงที่ ขณะที่ไนเตรตเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดในระยะแรกของการทดลอง ก่อนลดลงเล็กน้อยและยังคงตรวจพบต่อเนื่องจนสิ้นสุดระยะเวลาศึกษา นอกจากนี้ ค่า %RSD ของไนเตรตที่อยู่ในระดับต่ำในหลายช่วงเวลาผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าระบบไฮโดรเจลสามารถคงการปลดปล่อยไนโตรเจนในสภาพแวดล้อมเพาะปลูกได้อย่างต่อเนื่องตลอดช่วงเวลาที่ศึกษา (Figure 6)

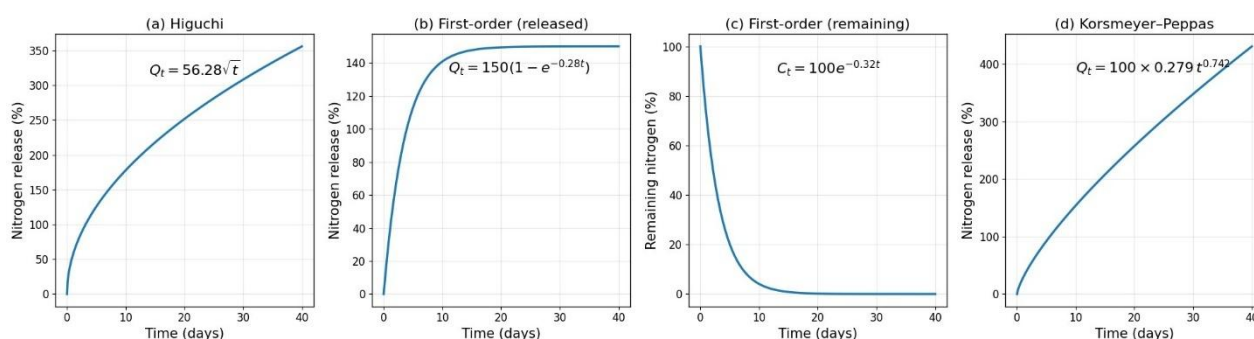


Figure 6 Kinetic model fitting of nitrogen release from hydrogel fertilizer beads. (a) Higuchi model, (b) First-order kinetics (released amount), (c) First-order kinetics (remaining amount), and (d) Korsmeyer-Peppas model. The fitted equations for each model are shown in the corresponding panels

5. การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของไฮโดรเจล

จากการศึกษาพบว่า ขนาดเม็ดไฮโดรเจลเพิ่มขึ้นตามสัดส่วน PVA โดยสูตร PVA 40% มีขนาดเฉลี่ยใหญ่สุด 0.316 ± 0.043 ซม. ขณะที่ PVA 10–20% ให้ขนาดคงที่และแปรปรวนน้อย การวิเคราะห์ Post-hoc ชี้ว่าสูตร PVA 30–40% แตกต่างจากสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ด้านความหนาแน่นพบว่าสูตร A2.5P20 ซึ่งยับยั้งเชื้อราเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 91.83% มีความหนาแน่น $44.0 \pm 5.9 \text{ mg/cm}^3$ และสูตร A2.5P30 ยับยั้งเท่ากับ 73.64% มีความหนาแน่นใกล้เคียง

$41.7 \pm 7.9 \text{ mg/cm}^3$ แสดงว่า ความหนาแน่นระดับปานกลางช่วยกระจาย ZnO-NPs และปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ได้มีประสิทธิภาพ ในทางกลับกัน สูตร A1.5P40 มีความหนาแน่นต่ำสุดเท่ากับ $26.8 \pm 6.5 \text{ mg/cm}^3$ และยับยั้งต่ำสุดเท่ากับ 21.98% การวิเคราะห์สถิติพบความสัมพันธ์เชิงบวกระดับปานกลางระหว่างความหนาแน่นกับการยับยั้ง ($r \approx 0.52$) และสูตรที่มีความหนาแน่นสม่ำเสมอ เช่น A1.5P20 และ A2P20 มีแนวโน้มปลดปล่อย ZnO-NPs ได้ต่อเนื่องและมีประสิทธิภาพ

6. การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีด้วยสเปกตรัม FTIR-ATR ของไฮโดรเจล

จากผลการวิเคราะห์สเปกตรัม FTIR ของ Hydrogel Fertilizer แสดงพีคที่ 3427 และ 2925 cm^{-1} ซึ่งสอดคล้องกับการสั่นของหมู่ O-H, N-H และ C-H จาก

PVA และยูเรีย พีคที่ 1714 และ 1592 cm^{-1} บ่งชี้การมีอยู่ของหมู่ C=O และ COO⁻ จากอัลจิเนตและยูเรีย ขณะที่พีคในช่วง 1148–1039 cm^{-1} เป็นการสั่นของพันธะ C–O–C และ C–O ส่วนพีคที่ 710 และ 553 cm^{-1} ยืนยันการมีอยู่ของพันธะ Zn–O จากอนุภาค ZnO-NPs (Patra *et al.*, 2012; Sirelkhatim *et al.*, 2015) (Figure 7)

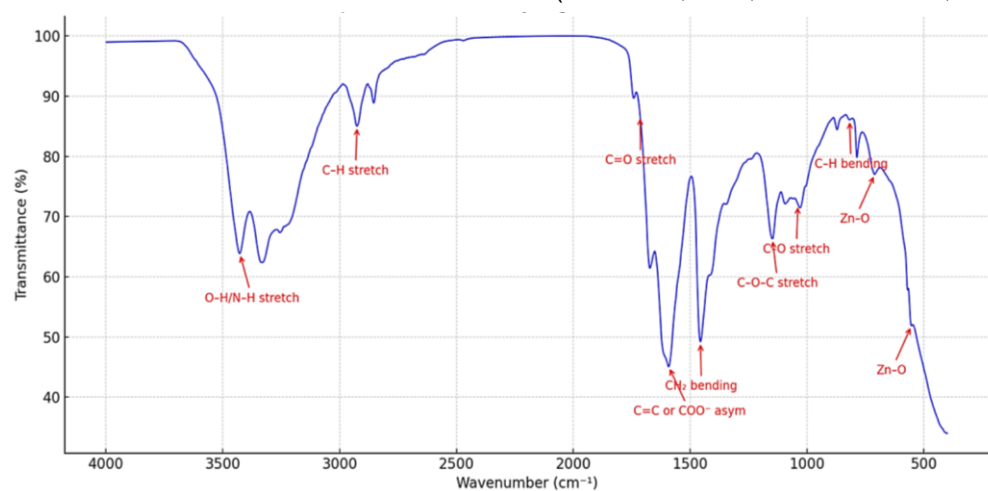


Figure 7 FTIR spectrum of fertilizer hydrogel with annotated peaks

7. การศึกษาการบวมหน้าและคายน้ำของไฮโดรเจล

จากการศึกษาการบวมตัวของไฮโดรเจลที่สังเคราะห์จากอัลจิเนต-พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นต่างกัน พบว่าสูตรไฮโดรเจลที่มีสัดส่วน Alginate

2.5% และ PVA 4.0% (สูตร A2.5P40) มีร้อยละการบวมตัวเฉลี่ยสูงที่สุด (Mean = 258-292%) และยังคงความสามารถในการดูดซับน้ำได้ดีตลอดรอบการทดลอง โดยพฤติกรรมของการบวมตัวในไฮโดรเจลทุกสูตรแสดงลักษณะการลดลงตามจำนวนครั้งที่ทดลอง (Figure 8)

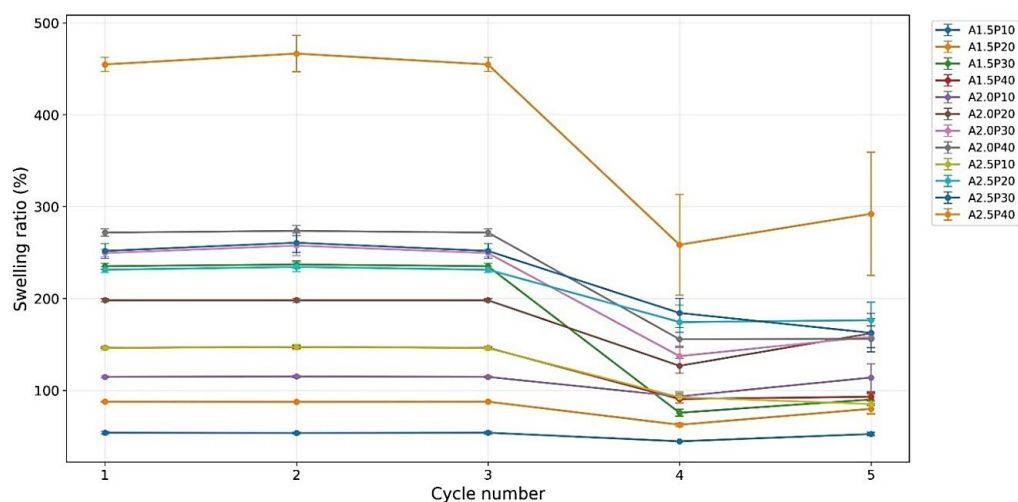


Figure 8 Swelling behavior of different hydrogel formulations expressed as percentage swelling over time

8. การศึกษาการสลายตัวของไฮโดรเจล

จากการศึกษาพบว่า ไฮโดรเจลสูตรอัลจินเต-พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ เช่น A2.5P40 และ A2.0P30 มีพฤติกรรมการเสื่อมของการบวมที่สม่ำเสมอและสามารถฟิตกับสมการ Exponential Decay ได้ดี โดยพารามิเตอร์ในสมการสามารถทำนายแนวโน้มการเสื่อมของโครงสร้างเจลได้แม่นยำ ขณะที่สูตรที่มีความแปรปรวนสูงไม่สอดคล้องกับโมเดลดังกล่าว ผลการสลายตัวของไฮโดรเจลยังแสดงให้เห็นว่าน้ำหนักของเจลลดลงต่อเนื่องตามเวลา โดยผล ANOVA แสดงว่าระยะเวลามีผลอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.0001$; $n=3$) และสมการถดถอยเชิงเส้น ($(g) = -0.1837 \times \text{day} + 9.987$, $R^2 = 0.943$) โดยมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับระยะเวลา ($R^2 = 0.943$) และคาดว่าเจลจะสลายหมดภายใน 54 วัน แนวโน้มการเพิ่มขึ้นของ %RSD บ่งชี้ถึงความไม่สม่ำเสมอในการสลายตัว ซึ่งต้องพิจารณาในการพัฒนาสูตรเพื่อการควบคุมการปลดปล่อยสารที่เสถียวยิ่งขึ้น

9. การทดสอบประสิทธิภาพของไฮโดรเจลในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. deliense* ในสภาพโรงเรือนปลูกมะเขือเทศ

จากการศึกษาประสิทธิภาพของไฮโดรเจลจากอัลจินเต-พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ภายใต้สภาวะเรือนปลูกพบว่า สูตรไฮโดรเจลที่แตกต่างกันส่งผลต่อการ

เจริญของต้นกล้ามะเขือเทศแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ด้วย Kruskal-Wallis test พบความแตกต่างทั้งในความยาวราก ($H = 9.49$, $df = 3$, $p = 0.0235$) และความยาวลำต้น ($H = 9.02$, $df = 3$, $p = 0.0289$) เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยพบว่าสูตร A2.5P20 ให้ความยาวรากและความยาวลำต้นสูงสุด เท่ากับ 3.45 และ 2.33 ซม. ตามลำดับ รองลงมาคือ กลุ่มสาร Captan ขณะที่กลุ่มควบคุมและสูตร A2.5P20 ที่ไม่ใส่ ZnO-NPs ให้ค่าต่ำกว่าอย่างชัดเจน

ในเชิงการเปรียบเทียบ สูตร A2.5P20 ให้ความยาวรากสูงกว่ากลุ่มควบคุมร้อยละ 241.25 และสูงกว่าสูตรที่ไม่ใส่ ZnO-NPs ร้อยละ 262.81 ขณะที่ความยาวลำต้นสูงกว่ากลุ่มควบคุมร้อยละ 226.17 และสูงกว่าสูตรที่ไม่ใส่ ZnO-NPs ร้อยละ 353.25 ผลการเปรียบเทียบรายคู่ด้วย Dunn's test ยังแสดงให้เห็นว่า A2.5P20 ให้ค่าความยาวลำต้นแตกต่างจากกลุ่มควบคุมและสูตรที่ไม่ใส่ ZnO-NPs อย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ความยาวรากแม้มีค่าเฉลี่ยสูงกว่า แต่ยังไม่ปรากฏความแตกต่างรายคู่ชัดเจนหลังการปรับค่า p สำหรับการเปรียบเทียบหลายคู่ ผลดังกล่าวบ่งชี้ว่า การใส่ ZnO-NPs ลงในเมทริกซ์ไฮโดรเจลมีส่วนสัมพันธ์กับการคงสภาพการเจริญของต้นกล้าได้ดีกว่าสูตรที่ไม่ใส่ ZnO-NPs ภายใต้สภาวะที่มีเชื้อรา *P. deliense* (Figure 9)

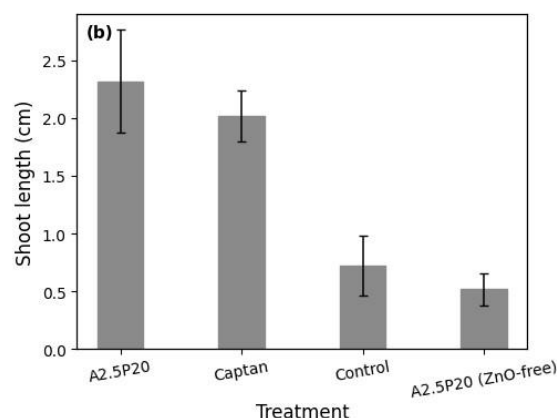
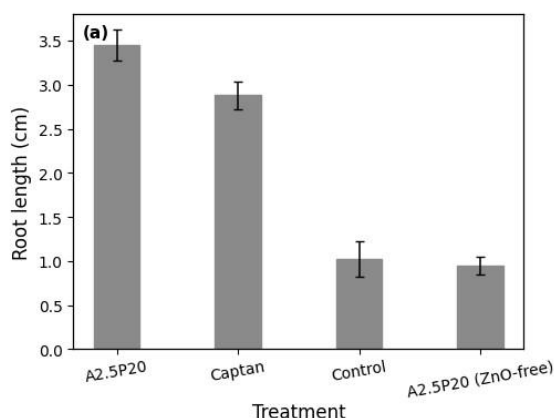


Figure 9 Mean (SD) root length (a) and shoot length (b) of Seeda tomato seedlings under different treatments, including A2.5P20 hydrogel, chemical fungicide (Captan), control, and ZnO-NPs-free hydrogel

วิจารณ์

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ไฮโดรเจลสูตร A2.5P20 ซึ่งประกอบด้วยโซเดียมอัลจินเต-พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ผสมซิงค์ออกไซด์อนุภาคนาโนและ ยูเรีย มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. deliense* สาเหตุของโรคเน่าคอดินในต้นกล้ามะเขือเทศสีดำ โดยมีร้อยละการยับยั้งสูงถึง 90.15 สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ใช้สารควบคุมเชิง พาณิซย์ (สาร Captan) อย่างมีนัยสำคัญ ผลดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่รายงานว่า ซิงค์ออกไซด์อนุภาคนาโน (ZnO-NPs) มีฤทธิ์ต้านเชื้อราอย่างมีประสิทธิภาพ โดยกลไกสำคัญเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการเกิดอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species; ROS) ซึ่งก่อให้เกิดภาวะที่มีอนุมูลอิสระสะสมจนส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ โปรตีน และสารพันธุกรรมของเชื้อรา (Sirelkhatim *et al.*, 2015; Zabrieski *et al.*, 2015; Subba *et al.*, 2024) กลไกดังกล่าวมีผลอย่างเด่นชัดต่อเชื้อในกลุ่ม *Pythium* spp. ซึ่งเป็นโอโอไมซีตในดินที่มีโครงสร้างเส้นใยและเยื่อหุ้มเซลล์ไวต่อการถูกทำลายจาก ROS และ ZnO-NPs สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราในกลุ่ม *Pythium* spp. ได้ในช่วงประมาณร้อยละ 60–100 ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของอนุภาคนาโนและสภาวะการทดลอง โดยที่ความเข้มข้นสูงสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ (Liu *et al.*, 2017; Zabrieski *et al.*, 2015) ทั้งนี้ กลไกการออกฤทธิ์ไม่ได้จำกัดเพียงการเกิด ROS เท่านั้น แต่ยังรวมถึงการเกิด lipid peroxidation ที่เยื่อหุ้มเซลล์ การเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ การรบกวนการทำงานของไมโทคอนเดรีย ตลอดจนการปลดปล่อยไอออน Zn^{2+} ซึ่งสามารถยับยั้งระบบเอนไซม์และกระบวนการเมแทบอลิซึมที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อรา ส่งผลให้เส้นใยเชื้อราเกิดการเสียหายและยุบตัวในที่สุด ผลการทดลองในงานวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานดังกล่าว โดยพบว่า ZnO-NPs ที่ความเข้มข้น 1.00%

(w/v) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. deliense* ได้อย่างสมบูรณ์ และไฮโดรเจลสูตร A2.5P20 ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งสูงถึงร้อยละ 90.15 ซึ่งอยู่ในช่วงค่าสูงของงานวิจัยก่อนหน้านี้ สะท้อนให้เห็นถึงศักยภาพของ ZnO-NPs ที่เสริมในโครงข่ายไฮโดรเจลในการเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราได้อย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากนี้ ไฮโดรเจลสูตร A2.5P20 ยังแสดงศักยภาพในการควบคุมการปลดปล่อยไนโตรเจนในดินอย่างมีประสิทธิภาพ โดยพฤติกรรมการปลดปล่อยสอดคล้องกับแบบจำลอง Higuchi ($R^2 = 0.96$) บ่งชี้กลไกการปลดปล่อยที่ควบคุมด้วยการแพร่และแบบจำลอง Korsmeyer–Peppas ($R^2 = 0.94$, $n = 0.742$) แสดงถึงการปลดปล่อยแบบผสมระหว่างการแพร่และการบวมของพอลิเมอร์ (anomalous transport) กลไกดังกล่าวเป็นลักษณะเด่นของไฮโดรเจลพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีโครงสร้างร่างแหสามมิติที่สามารถกักเก็บและปลดปล่อยธาตุอาหารได้อย่างต่อเนื่องและสอดคล้องกับความต้องการของพืช (Bhatt *et al.*, 2021)

ในด้านความคงตัวของวัสดุ พบว่าพฤติกรรมการย่อยสลายของไฮโดรเจลเป็นไปในลักษณะเชิงเส้น ($R^2 = 0.943$) และสามารถย่อยสลายได้สมบูรณ์ภายใน 54 วัน สอดคล้องกับคุณสมบัติของอัลจินเตและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่สามารถย่อยสลายได้ในสิ่งแวดล้อม (Lee & Mooney, 2012; Peppas *et al.*, 2000) และไม่ก่อให้เกิดการตกค้างในระบบดิน เมื่อประสิทธิภาพของไฮโดรเจลในสภาพโรงเรือนโดยพิจารณาผลการทดลองในระดับต้นกล้า ไฮโดรเจลสูตร A2.5P20 ยังสามารถส่งเสริมการเจริญของพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยให้ค่าความยาวรากและลำต้นเฉลี่ยสูงที่สุด และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มที่ใช้สารควบคุมเชิงพาณิซย์ (สาร Captan) สะท้อนถึงศักยภาพของไฮโดรเจลในการทำหน้าที่เป็นวัสดุเชิงหน้าที่แบบสองบทบาท (dual-

function material) ทั้งในการควบคุมโรคพืชและเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ธาตุอาหาร

ผลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานที่ระบุว่าระบบไฮโดรเจลที่บรรจุธาตุอาหารสามารถปรับปรุงประสิทธิภาพการให้ปุ๋ยและส่งเสริมการเจริญของพืชได้อย่างมีนัยสำคัญ (Bhatt *et al.*, 2021; Shaviv, 2001) ทั้งนี้ กลไกดังกล่าวอาจเกิดจากการเสริมฤทธิ์ระหว่างการยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อรา *P.delienae* ด้วย ZnO-NPs ซึ่งช่วยลดความเสียหายของระบบราก และการควบคุมการปลดปล่อยไนโตรเจนจากยูเรียในอัตราที่เหมาะสมกับความต้องการของพืช ส่งผลให้พืชสามารถดูดซึมน้ำและธาตุอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ในช่วงเริ่มต้นการเจริญเติบโต ซึ่งให้เห็นว่า ไฮโดรเจลพอลิเมอร์ชีวภาพที่ผสมซิงค์ออกไซด์อนุภาคนาโนและยูเรียมีศักยภาพสูงในการประยุกต์ใช้เป็นวัสดุทางเลือกสำหรับการจัดการโรคพืชและการให้ปุ๋ยแบบปลดปล่อยช้า สามารถช่วยลดการใช้สารเคมีและต้นทุนการผลิต และเพิ่มความยั่งยืนให้กับระบบเกษตรกรรมทั้งในระดับเกษตรกรรายย่อยและการพัฒนาเชิงพาณิชย์ อีกทั้งยังมีคุณูปการเชิงวิชาการในการบูรณาการองค์ความรู้ด้านพอลิเมอร์ชีวภาพ เทคโนโลยีนาโน และโรคพืชวิทยาภายใต้กรอบกลไกเชิงวิทยาศาสตร์และการวิเคราะห์ทางสถิติที่ชัดเจนและเป็นระบบ

อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้ยังมีข้อจำกัดบางประการ เนื่องจากการทดลองดำเนินการในระดับห้องปฏิบัติการและโรงเรือน อาจยังไม่สามารถสะท้อนผลกระทบจากสภาพแวดล้อมจริงในแปลงเกษตรได้อย่างครบถ้วน โดยเฉพาะความผันแปรของอุณหภูมิ ความชื้น สมบัติของดิน และกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดิน ซึ่งล้วนเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของวัสดุและการตอบสนองของพืช นอกจากนี้ แม้จะมีการเปรียบเทียบแบบจำลองทางคณิตศาสตร์หลายรูปแบบเพื่ออธิบายพฤติกรรมของการปลดปล่อยไนโตรเจนของไฮโดรเจล แต่กลไกดังกล่าวยังคงเป็นการอธิบายภายใต้สภาวะควบคุม และยังไม่ครอบคลุมการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในระบบดินจริง

เพื่อเพิ่มศักยภาพในการประยุกต์ใช้งานและความน่าเชื่อถือของผลการศึกษาระดับภาคปฏิบัติ งานวิจัยในอนาคตควรพิจารณาดำเนินการดังนี้

1. การศึกษาประสิทธิภาพของไฮโดรเจลภายใต้สภาพแปลงปลูก เพื่อประเมินผลกระทบต่อการเพิ่มผลผลิต ความต้านทานต่อโรคพืช และอายุการใช้งานของวัสดุภายใต้สภาพแวดล้อมจริง

2. การศึกษาพฤติกรรมของการปลดปล่อยธาตุอาหารโดยพิจารณาปัจจัยแวดล้อมเพิ่มเติม เช่น ความชื้น pH อุณหภูมิ และกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดิน เพื่อทำความเข้าใจกลไกการปลดปล่อยในระบบที่ซับซ้อนมากขึ้น

3. การพัฒนาไฮโดรเจลในรูปแบบที่สามารถตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นจากสิ่งแวดล้อม (stimuli-responsive hydrogels) เช่น ไฮโดรเจลที่ไวต่อ pH หรือความชื้นในดิน เพื่อเพิ่มความแม่นยำในการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์

4. การเสริมคุณสมบัติของวัสดุโดยการผสมผสานสารชีวภัณฑ์หรือจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ร่วมกับไฮโดรเจล เพื่อพัฒนาระบบควบคุมเชื้อแบบชีวภาพร่วม (bio-synergistic system) ซึ่งอาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ ความปลอดภัย และความยั่งยืนของระบบการจัดการโรคพืชในระยะยาวได้

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับงบประมาณสนับสนุนและเอื้อเฟื้อต่อสถานที่ในการทำวิจัยจากโครงการห้องเรียนพิเศษวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ โรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาน้อมเกล้า และอาจารย์ ดร.ดนัย แซ่ตัน อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยภายนอก ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ ประสานงาน และให้คำปรึกษาจนประสบผลสำเร็จ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิภาวี ลีสุทธิพรชัย อาจารย์ประจำภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรพจน์ กนกกันทพงษ์ อาจารย์ประจำภาควิชา

วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำในการศึกษาตลอดจนเอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์สำหรับการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. (2563). เทคโนโลยีการผลิตมะเขือเทศแบบผสมผสาน. สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3.

ตรีสวัสดิ์ คุณาณัต. (2022). การเตรียมเม็ดไฮโดรเจลสำหรับบรรจุน้ำมันเมล็ดชา. [วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย]. Chulalongkorn University Theses and Dissertations (Chula ETD). <https://digital.car.chula.ac.th/chulaetd/6509>

นิละมัย แสนสุภา, จักรพงษ์ ทางโสภา, ประนอม ยิ่งคำมัน และฉัตรสุตา เผือกใจแก้ว. (2564). ผลของการเคลือบเมล็ดร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 ต่อคุณภาพ และการควบคุมโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มจร., 7(1), 57–65.

อริยกานนท์ นัยนันท์. (2551). เอกสารประกอบการสอนวิชา 2308453 ปฏิบัติการปฐพีวิทยา ศาสตร์สิ่งแวดล้อม. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Ahmed, J., Ali, M., Sheikh, H. M., Al-Kattan, M. O., Farhana, Haroon, U., Safaeishakib, M., Akbar, M., Kamal, A., Zubair, M. S., & Munis, M. F. H. (2022). Biocontrol of fruit rot of *Litchi chinensis* using zinc oxide nanoparticles synthesized in *Azadirachta indica*. *Micromachines*, 13(9), 1461. <https://doi.org/10.3390/mi13091461>

Baptista, J. P., Teixeira, G. M., Jesus, M. L. A., Berté, R., Higashi, A., Mosela, M., Silva, D. V., Oliveira, J. P., Sanches, D. S., Brancher, J. D., Balbi-Peña, M. I., Pereira, U. P., & Oliveira, A. G. (2022). Antifungal activity and genomic characterization of the biocontrol agent *Bacillus velezensis* CMRP 4489. *Scientific Reports*, 12(1), 17401. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-22380-0>

Bhatt, R., Kaur, R., & Sharma, S. (2021). 3-Dimensional cross-linked hydrophilic polymeric network “hydrogels”: an agriculture boom. *Agricultural Water Management*, 253, 106939. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.106939>

Campbell, C.L. & Madden, L.V. (1990). *Introduction to plant disease epidemiology*. John Wiley & Sons.

Erazo, A., Mosquera, S. A., & Rodríguez-Paéz, J. E. (2019). Synthesis of ZnO nanoparticles with different morphology: Study of their antifungal effect on strains of *Aspergillus niger* and *Botrytis cinerea*. *Materials Chemistry and Physics*, 234, 172–184. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.05.075>

Hussain R., Batool SA., Aizaz A., Abbas M., & Ur Rehman MA. (2023). Biodegradable packaging based on poly(vinyl alcohol) and carboxymethyl cellulose films incorporated with ascorbic acid for food packaging applications. *ACS Omega*, 8(45), 42301–42310. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c04397>

- Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 37(1), 106–126. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003>
- Liu, M., Liang, R., Zhan, F., Liu, Z., & Niu, A. (2017). Preparation of superabsorbent slow-release nitrogen fertilizer by inverse suspension polymerization. *Polymer International*, 56(6), 729-737. <https://doi.org/10.1002/pi.2196>
- Patra, P., Mitra, S., Debnath, N., & Goswami, A. (2012). Biochemical-, biophysical-, and microarray-based antifungal evaluation of the buffer-mediated synthesized nano zinc oxide: An in vivo and in vitro toxicity study. *Langmuir*, 28(49), 16966–16978. <https://doi.org/10.1021/la304120k>
- Peppas, N. A., Bures, P., Leobandung, W., & Ichikawa, H. (2000). Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50(1), 27–46. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(00\)00090-4](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(00)00090-4)
- Robideau, G. P., de Cock, A. W. A. M., Coffey, M. D., Voglmayr, H., Brouwer, H., Bala, K., Chitty, D. W., Désaulniers, N., Eggertson, Q. A., Gachon, C. M. M., Hu, C.-H., Küpper, F. C., Rintoul, T. L., Sarhan, E., Verstappen, E. C. P., Zhang, Y., Bonants, P. J. M., Ristaino, J. B., & Lévesque, C. A. (2011). DNA barcoding of oomycetes with cytochrome c oxidase subunit I and internal transcribed spacer. *Molecular Ecology Resources*, 11(6), 1002–1011. <https://doi.org/10.1111/j.17550998.2011.03041.x>
- Shaviv, A. (2001). Advances in controlled-release fertilizers. *Advances in Agronomy*, 71, 1–49. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(01\)71011-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(01)71011-5)
- Shivakumara, L. R., & Demappa T. (2019). Synthesis and swelling behavior of sodium alginate/poly(vinyl alcohol) hydrogels. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(3), 252–260. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2018.92408>
- Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., Hasan, H., & Mohamad, D. (2015). Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters*, 7(3), 219–242. <https://doi.org/10.1007/s40820015-0040-x>
- Subba, B., Rai, GB., Bhandary, R., Parajuli, P., Thapa, N., Kandel, DR., Mulmi, S., Shrestha, S., & Malla, S. (2024) Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) on *Fusarium equiseti* phytopathogen isolated from tomato plant in Nepal. *Heliyon*, 10(22) , <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e40198>
- Uzuhashi, S., Tojo, M., & Kakishima, M. (2010). Phylogeny of the genus *Pythium* and description of new genera. *Mycoscience*, 51(5), 337–365. <https://doi.org/10.1007/S10267-010-0046-7>
- van der Plaats-Niterink, A. J. (1981, 22 December). *Monograph of the genus Pythium* (Studies in Mycology, No. 21). <https://www.studiesinmycology.org/index.php/volume/studies-in-mycology-no-21>

- Zabrieski, Z., Morrell, E., Hortin, J., Dimkpa, C., McLean, J., Britt, D., & Anderson, A. (2015). Pesticidal activity of metal oxide nanoparticles on plant pathogenic isolates of *Pythium*. *Ecotoxicology*, 24, 1305–1314. <https://doi.org/10.1007/s10646-015-1505-x>
- Zhang, Y., Chen, L., & Zhao, J. (2022). A high strength, low friction, and biocompatible hydrogel from PVA, chitosan and sodium alginate for articular cartilage. *Carbohydrate Polymers*, 286, 119268. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119268>