



**การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุภาคโลหะที่มี Natural Schiff bases เป็นตัวรีดิวส์ ต้านเชื้อราก่อโรคพืชและเพลี้ย**  
**Biological evaluation of metallic particles with natural Schiff bases as reducing agents against fungi disease and meal bug**

**สมหมาย ปะติตั้งไข**  
**และคณะ**

**โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา  
มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์  
พ.ศ. 2556**



การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุภาคโลหะที่มี Natural Schiff bases เป็นตัวรีดิวส์ ต้านเชื้อราก่อโรคพืชและเพลี้ย

**Biological evaluation of metallic particles with natural Schiff bases as reducing agents against fungi disease and meal bug**

สมหมาย ปะติตังโฆ  
กิ่งแก้ว ปะติตังโฆ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา  
มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์  
พ.ศ. 2556

ชื่อโครงการวิจัย      การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุภาคโลหะที่มี **Natural Schiff bases** เป็นตัวรีดิวส์ ต้านเชื้อราก่อโรคพืชและเพลี้ย

ผู้วิจัย                    สมหมาย ปะติตังโข และกิงแก้ว ปะติตังโข

ปีที่ทำวิจัย                2556

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ มอร์โฟโลยีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารนาโนอินทรีย์และนาโนโลหะอินทรีย์โดยมีผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติเป็นตัวรีดิวส์ต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH และ FRAP การต้านเชื้อราโรคพืช (*A. niger*, *C. circinans* และ *S. sclerotiorum*) ต้านเพลี้ยแป้ง (*Pseudococcus* sp.) และเพลี้ยกระโดด (*Nilaparvata lugens* (Stal)) ผลการศึกษาพบว่า ผลผลิตร้อยละของสารตัวอย่างสังเคราะห์ได้มากกว่า 80 % และขนาดของอนุภาคนาโนอินทรีย์ L1 เป็น 86 nm และ L2 เป็น 112 nm ส่วนขนาดของอนุภาคนาโนโลหะอินทรีย์อยู่ระหว่าง 48-62 nm รูปร่างของอนุภาคมีทั้งกลุ่มที่เป็นรูปเข็มและทรงหกเหลี่ยม ผลการต้านอนุมูลอิสระเทคนิค DPPH พบว่า สารตัวอย่างทั้งหมดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่สารที่ต้านอนุมูลอิสระได้ดีด้วยค่า IC<sub>50</sub> ที่ต่ำคือ L1, C1 และ C3 สำหรับการต้านอนุมูลอิสระเทคนิค FRAP พบว่า สารที่รีดิวส์ Fe<sup>3+</sup> ไปเป็น Fe<sup>2+</sup> ได้ดีที่สุดคือ L2 รองลงมาคือ C2 และ C4 ส่วนการต้านเชื้อราโรคพืช พบว่า สารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด สามารถต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราโรคพืชแต่ละชนิดได้ โดยสารที่ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดีที่สุด คือ สาร C1 ส่วนการกำจัดเพลี้ยแป้ง พบว่า สารทั้งหมดกำจัดเพลี้ยแป้งได้ แต่สารตัวอย่าง L2 และ C1 สามารถกำจัดเพลี้ยแป้งได้ดีที่สุด โดยกำจัดได้ 100 % ในเวลาเพียง 15 นาที ที่ความเข้มข้น 0.010 โมลาร์ สำหรับการต้านเพลี้ยกระโดด พบว่า สารตัวอย่างทั้งหมดสามารถออกฤทธิ์ต้านเพลี้ยกระโดดได้ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น และสารตัวอย่าง L2 และ C1 สามารถกำจัดเพลี้ยกระโดดได้ดีที่สุด โดยกำจัดได้ 100 % ใช้เวลาเพียง 3 นาที ที่ความเข้มข้น 0.010 โมลาร์ ผลจากการวิจัยในครั้งนี้จึงมีประโยชน์ทั้งต่อกลุ่มเกษตรกรที่เผชิญกับปัญหาโรคและศัตรูของพืชเศรษฐกิจ นอกจากนี้ยังเป็นประโยชน์ต่อวงการเภสัชที่จะต้องนำสารเหล่านี้ไปทดสอบกับโรคที่เกิดกับมนุษย์อีกด้วย

คำสำคัญ : เชื้อราโรคพืช เพลี้ยแป้ง เพลี้ยกระโดด ชิฟฟ์เบส และฤทธิ์ทางชีวภาพ

**Title : Biological evaluation of metallic particles with natural Schiff bases as reducing agents against fungi disease and meal bug**

**Author: Sommai Patitungkho and Kingkaew Patitungkho**

**Academic Year: 2013**

## Abstract

This research deals with physicochemical characterization, morphological analysis, and biological investigation of organic nanoparticles and organometallic nanoparticles by using natural products as reducing agent against free radical toxicity (with DPPH and FRAP techniques), fungi of plant diseases (*A. niger*, *C. circinans* and *S. sclerotiorum*), *Pseudococcus* sp. and *Nilaparvata lugens* (Stal), respectively. The results have shown that nano-organic particles and nano-organometallic particles were produced more than 80 % with fine needle crystals and hexagonal structures. The particle size of the L1 is 86 nm, L2 is 112 nm and nano-organometallic size between 48-62 nm. For scavenging free radical activities revealed that all nanoparticles shown high potent antioxidant susceptibility which low  $IC_{50}$ , especially compounds exhibit highly potency effective are L1, C1 and C3, respectively. For FRAP technique, the such particles reduced  $Fe^{3+}$  to  $Fe^{2+}$  concentrated form like L2, C2 and C4. Our research group also has revealed that all of six compounds inhibit fungi of plant diseases with C1 show highest activities to fungi diseases responding to the influenced of nanoparticles.

On the other hand, such compounds have shown to kill *Pseudococcus* sp. 100 % within 15 minutes, 0.010 M, for L2 and C1 with the highest potency. All of them shown biological efficacy against *Nilaparvata lugens* (Stal) especially the sample L2 and C1 killed them with 100 %, 0.010 M, at 3 minutes. This research work promises it to useful for agricultural groups that facing plant disease and also for chemist to screen them as drug for human being.

Keyword : Fungi disease, *Pseudococcus* sp., *Nilaparvata lugens* (Stal), Schiff base,  
Biological activities

## กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยเรื่อง การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุภาคโลหะที่มี Natural Schiff bases เป็นตัวรีดิวส์ ต้านเชื้อราก่อโรคพืชและเพลี้ยแป้ง ครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณอย่างสูง

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ อาจารย์พิสมัย ประชานันท์ ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา ขอขอบคุณนางสาวสุรีพร ดัตถุยาวัตร ผู้ช่วยนักวิจัยที่ช่วยเหลือในการทดลอง และขอขอบคุณ บุคลากรของสถาบันวิจัยและพัฒนา ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกต่อกิจกรรมในการดำเนินงานการวิจัยจนสำเร็จลุล่วงอย่างดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมหมาย ปะติตังโฆ  
และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิ่งแก้ว ปะติตังโฆ

29 กรกฎาคม 2556

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่	
<b>1 บทนำ</b>	<b>1</b>
ความสำคัญและที่มาของการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
ผลที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>5</b>
บทนำ	5
ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ	5
ชิฟฟ์เบส (Schiff's base)	10
นาโนเทคโนโลยี	13
การสังเคราะห์อนุภาคนาโน	14
การสังเคราะห์และการใช้ประโยชน์จากอนุภาคนาโน	17
<b>3 สารเคมี อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง</b>	<b>20</b>
อุปกรณ์การทดลอง	20
สารเคมี	21
วิธีการทดลอง	22
<b>4 ผลการทดลอง</b>	<b>26</b>
บทนำ	26
ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์	26
ผลการศึกษขนาดอนุภาคและมอร์โฟโลยี	29

## สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH	31
ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP	34

	ผลการทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อราโรคพืช	38
	ผลการทดสอบความสามารถในการกำจัดเพลี้ยแป้ง	41
	ผลการทดสอบความสามารถในการกำจัดเพลี้ยกระโดด	43
<b>5</b>	<b>สรุป วิจัยการทดลองและข้อเสนอแนะ</b>	<b>48</b>
	บทนำ	48
	สรุปและวิจัยการทดลอง	48
	ข้อเสนอแนะ	49
	<b>บรรณานุกรม</b>	<b>51</b>
	<b>ประวัตินักวิจัย</b>	<b>55</b>

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 สมบัติทางกายภาพของสารที่สังเคราะห์ได้	27
4.2 ลักษณะ การละลายและการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง	28
4.3 ผลผลิตร้อยละ (% yield) และ Elemental analysis ของสารที่ได้จากการสังเคราะห์	29
4.4 ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารแต่ละชนิดด้วยเทคนิค DPPH	32
4.5 แสดงค่า IC <sub>50</sub> ของสารตัวอย่างในการต้านอนุมูลอิสระ	33
4.6 ค่ามาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP	35
4.7 ปริมาณของ Fe <sup>2+</sup> ที่ได้จากการรีดิวซ์ Fe <sup>3+</sup> โดยสารตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP	36
4.8 ความสามารถการต้านเชื้อราของสารตัวอย่าง	40
4.9 ความสามารถการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารตัวอย่าง	42
4.10 ความสามารถการกำจัดเพปไซด์ของสารตัวอย่าง	46



## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
4.1 ลักษณะมอร์โฟโลยีของสารตัวอย่าง	30
4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารตัวอย่างกับค่า Inhibitory Concentration 50% (IC <sub>50</sub> )	34
4.3 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี FRAP	35
4.4 ความสัมพันธ์ของปริมาณ Fe <sup>2+</sup> ที่ได้จากสารตัวอย่าง สำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค FRAP	38
4.5 การต้านเชื้อราก่อโรคพืชของสารตัวอย่าง L1, L2, C1, C2, C3 และ C4	39
4.6 การต้านเพื่อยับของสารตัวอย่างที่ได้จากการสังเคราะห์	41
4.7 เพื่อยับกระโดดและการทำลายนาข้าวของเพื่อยับกระโดด	44
4.8 ความสามารถการกำจัดเพื่อยับกระโดดของสารตัวอย่าง	45

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

ประเทศไทยมีอาชีพเกษตรกรรมเป็นอาชีพหลักของคนส่วนใหญ่ ซึ่งแต่ละจังหวัดมีการปลูกพืชหลากหลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด มันสำปะหลัง อ้อย ยางพารา พริก มะเขือ หอมแดง แดง ผักและผลไม้อื่นๆ เป็นต้น โดยเฉพาะหอมแดงมีการปลูกในหลายจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทั้งเป็นรายได้หลักและรายได้เสริมหลังการเก็บเกี่ยว ดังเช่นในเขตอำเภอเมืองจังหวัดบุรีรัมย์ มีการปลูกต้นหอมในหลายหมู่บ้าน ซึ่งแต่ละหมู่บ้านจะมีการรวมกลุ่มกัน เพื่อจัดจำหน่ายผลผลิตสู่ตลาด ต้นหอมซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจและ

สร้างรายได้หลักของคนแถบนี้ แต่การปลูกต้นหอมนั้นก็ยังมีประสบปัญหาต่างๆ มากมายที่สำคัญมากคือการเกิดโรคเนื่องจากเชื้อรา เช่น โรคราดำเกิดจากเชื้อรา *Aspergillus niger* Van Tiegh., โรคเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Botrytis allii*, *B. byssoidea*, *B. squamosa*, โรคแอนแทรคโนสและโรคสมัดจ์ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum circinans* หรือ *Colletotrichum gloeosporioides*, โรคใบจุดสีม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria porri* (Ell.) Cif., โรคหัวและรากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. หรือ *Sclerotium cepivorum* Berk., โรคราน้ำค้างที่เกิดจากเชื้อ

*Peronosporadestructor* (Berk) Casp., โรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Cercospora dudidae*, โรคปลายใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อ *Stemphylium borysum* เป็นต้น จนทำให้ต้นหอมที่ได้มีคุณภาพต่ำลงและส่งผลให้เกษตรกรต้องมีต้นทุนในการผลิตสูงขึ้นเพื่อที่จะคงระดับคุณภาพของผลผลิตทางการเกษตรให้อยู่ในเกณฑ์ที่ดี เกษตรกรก็จะใช้สารเคมีในการกำจัดโรคต่างๆ ที่เกิดขึ้นในพืชผัก รวมทั้งต้นหอมด้วย ซึ่งส่งผลเสียเนื่องจากการตกค้างของสารพิษในผลผลิตที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและเกษตรกรผู้ทำการเพาะปลูกเอง

อีกทั้งส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมด้วย สำหรับมันสำปะหลังก็มีการปลูกกันมากทุกจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่การปลูกก็ประสบปัญหาต่างๆ ทั้งราคาตกต่ำ และที่สำคัญไปกว่านั้นคือการระบาดของเพลี้ยแป้งอย่างหนักมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2551 จนถึงปัจจุบัน โดยเฉพาะจังหวัดนครราชสีมาระบาดรุนแรงหลายอำเภอ เช่น ครบุรี เสิงสางหนองบุญมาก สีคิ้วและด่านขุนทด (การระบาดของเพลี้ยแป้งปี 53. 2553 : 1-17) จังหวัดมหาสารคาม ลำสุด พบพื้นที่การระบาดแล้ว กว่า 30,000 ไร่ (โอภาษ บุญเส็ง. 2552 : 1-15) และจังหวัดบุรีรัมย์ระบาดหนักทั้งในเขตอำเภอเมือง และอำเภอรอบนอก เช่น ปะคำ ละหานทราย บ้านกรวด เป็นต้น (การระบาดของเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง. 2555 : 1) การกำจัดเพลี้ยแป้งโดยการไ้ดินแดนเบียนและใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช แต่พบว่า ยังไม่สามารถแก้ปัญหาดังกล่าวได้

นอกจากนี้ยังมีสถานะการแข่งขันในตลาดโลกที่สูงขึ้นโดยเฉพาะสินค้าเกษตรและอาหาร ซึ่งเป็นสินค้าหลักของประเทศไทย อีกทั้งปัจจุบันประเทศคู่ค้าที่สำคัญของไทยได้มีการกำหนดมาตรการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) ดังนั้น กระทรวงเกษตรและสหกรณ์จึงได้มีการส่งเสริมให้ทำการเกษตรให้ได้ผลผลิตที่ปลอดภัยจากสารพิษและทำการเกษตรอินทรีย์เพิ่มมากขึ้น โดยกำหนดการปฏิบัติทางการเกษตรตามระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสม (GAP; Good Agricultural Practice) ซึ่งมีวิธีการควบคุมศัตรูพืชแบบพึ่งพาสารเคมีให้น้อยที่สุด (จิระเดช แจ่มสว่าง.มป) ใช้วิธีการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพด้วยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ รวมทั้งสารสกัดจากธรรมชาติมาทดแทนสารเคมีให้มากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีใช้กันอยู่ในปัจจุบันเป็นสารพิษ ส่วนมากมีสมบัติในการทำลายล้างสิ่งมีชีวิตไม่ว่าจะเป็นพืช สัตว์และจุลินทรีย์แทบทุกชนิด ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชนั้นๆ แนวความคิดที่จะเลิกใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและเปลี่ยนมาใช้สารสกัดจากธรรมชาติที่ไม่ส่งผลเสียต่อมนุษย์ สัตว์ สิ่งแวดล้อม ตลอดจนเศรษฐกิจโดยรวมของประเทศเป็นสิ่งที่ทุกคนปรารถนา จากการศึกษาการสูญเสียของผลผลิตทางการเกษตรจากการทำลายของศัตรูพืชและวัชพืชเฉลี่ยของโลกพบว่าสูญเสียกว่า 40 % โดยเฉพาะ

สภาพภูมิอากาศร้อนชื้น เช่น ประเทศไทยที่สามารถปลูกพืชได้ตลอดทั้งปี ศัตรูพืชสามารถแพร่พันธุ์และระบาดได้ทั้งปีเช่นกัน จึงสร้างความเสียหายอย่างมาก ดังนั้นการควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี (Biocontrol) ซึ่งเป็นการลดปริมาณประชากรและลดกิจกรรมของเชื้อโรคพืชที่จะก่อให้เกิดโรคจนอยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับพืชโดยอาศัยสิ่งมีชีวิต (Organism) ทั้งนี้หมายรวมถึงพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (Antagonistic microorganism) ตลอดจนสารพันธุกรรมหรือผลิตภัณฑ์จากสารพันธุกรรม (Genes or gene products) ของสิ่งมีชีวิต (ยาฆ่า สู้วัฏถิ. ม.ป.ป.)

ปัจจุบันได้มีการค้นคว้าหาวิธีการควบคุมโรคพืชใหม่ๆ ทางชีวภาพเพื่อลดอันตรายจากการใช้สารเคมีทางการเกษตร โดยให้เกษตรกรหันมาใช้การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ซึ่งถือเป็นวิธีที่ยอมรับว่าใช้ได้ผลดี ได้มีการศึกษาถึงกลไกการควบคุมโรคและระบบการควบคุมโรคโดยวิธีต่างๆ โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (Antagonist) ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา เชื้อแบคทีเรียมักเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อโรคพืชโดยการแย่งอาหาร

การยับยั้ง ทำลายและการเป็นปรสิต นอกจากนี้ยังมีวิธีการอื่นอีก เช่น ให้เกษตรกรหันมาปลูกพืชแบบผสมผสาน แทนการปลูกพืชเชิงเดี่ยวก็ได้ผลดีในระดับหนึ่ง แต่โดยภาพรวมยังไม่เป็นที่น่าพอใจ ทั้งนี้เนื่องจาก GDP ที่ขยายตัวมาจากภาคนอกการเกษตร ส่วนภาคการเกษตร โดยเฉพาะพืชผลสดตัว 0.3 % ทั้งนี้ด้วยสาเหตุที่สำคัญคือภัยแล้งและโรคระบาด รัฐบาลจึงมีนโยบายเร่งด่วนที่จะเพิ่มขีดความสามารถให้ภาคอาหารและเกษตร เพื่อให้การผลิตได้ทั้งปริมาณและคุณภาพที่มีความปลอดภัย ซึ่งจะเห็นได้จากการที่กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ได้สั่งการให้ สวทช เร่งเพิ่มขีดความสามารถในการผลิตอาหารและเกษตร เพื่อรองรับความต้องการของชุมชนและเอกชน หวังสร้างมูลค่าสินค้าไทยแข่งขันกับต่างชาติ เนื่องจากอาหารและเกษตรเป็นหัวใจสำคัญของประเทศไทย จึงต้องการให้นำความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี นานาเทคโนโลยี ไบโอเทคโนโลยี มาช่วยแก้ปัญหาหรือสร้างมูลค่าให้สินค้าของประเทศไทยในการแข่งขันกับต่างชาติ หรือแม้แต่แก้ปัญหาเฉพาะหน้า เช่น ภัยแล้งที่เกิดจากโลกร้อน ฝนทิ้งช่วงที่สร้างความเดือดร้อนให้ภาคการเกษตร ปุ๋ยนาโนที่จะควบคุมการปลดปล่อยสารอาหารออกมาในเวลาที่ต้องการ โดยให้เน้นงานยุทธศาสตร์เรื่องความปลอดภัยของอาหารและกระบวนการผลิตที่จะส่งผลกระทบต่อธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม โดยมองว่าตลาดสินค้าที่เน้นเรื่องความปลอดภัยทั้งกับมนุษย์และสิ่งแวดล้อมมีแนวโน้มเติบโตได้ดีในอนาคต

นาโนเทคโนโลยี เป็นเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการจัดการ การสร้าง การสังเคราะห์วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องจักรหรือสิ่งต่างๆ ที่มีขนาดเล็กมากประมาณ 1 ถึง 100 นาโนเมตร ดังนั้นความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยีจึงสามารถนำมาใช้จัดเรียงอะตอมหรือโมเลกุลเข้าด้วยกันอย่างถูกต้องแม่นยำ ส่งผลให้โครงสร้างของวัสดุหรือสารต่างๆ มีสมบัติที่พิเศษขึ้นทั้งทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อผู้ใช้สอยและเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจได้ นาโนเทคโนโลยีเป็นเทคโนโลยีที่เป็นความหวังใหม่ของมวลมนุษยชาติ เพราะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมายและหลากหลายมากขึ้น การนำนาโนเทคโนโลยีไปใช้ประโยชน์เป็นการบูรณาการศาสตร์หลากหลายแขนงเข้าด้วยกัน เช่น อิเล็กทรอนิกส์ วัสดุศาสตร์ และเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งกำลังพัฒนาอยู่อย่างต่อเนื่องและนับวันจะเข้ามามีบทบาทในชีวิตประจำวันมากขึ้น

ไม่ว่าผลิตภัณฑ์ที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการขจัดโรคภัยไข้เจ็บ ผลิตภัณฑ์ในการชะลอความแก่ เครื่องสำอาง คอมพิวเตอร์ นาโนไบโอเซ็นเซอร์ เส้นใยนาโน อนุภาคนาโน นาโนเทคโนโลยีเกี่ยวกับพลังงาน นาโนเทคโนโลยีเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อม และนาโนเทคโนโลยีเกี่ยวกับการเกษตรและอาหาร เป็นต้น

จากเหตุผลและความจำเป็นดังกล่าวข้างต้นจึงมีความจำเป็นที่จะนำสารที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติมาผสมผสานกับองค์ความรู้ทางด้านนาโนศาสตร์และนาโนเทคโนโลยี โดยการนำผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คือ Natural aldehyde: Cinnamaldehyde และเอมีน (Amines) ได้แก่ Hydrazides มาคอนจูเกตซึ่งกันและกันจะได้ลิแกนด์ตัวใหม่ที่เรียกว่า Natural Schiff bases จากนั้นใช้ Schiff bases เหล่านี้เป็นตัวรีดิวซ์เกลือของโลหะเงิน (Ag) และทองแดง (Cu) ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ด้วยเครื่อง FTIR, UV-Vis spectrophotometer, X-ray diffraction ศึกษา

ทางมอร์โฟโลยี (Morphology) ด้วยเครื่อง AFM ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อราก่อโรคพืชและเพื่อยับยั้งของ  
มันสำปะหลัง เพื่อหาแนวทางในการประยุกต์ใช้

Nano natural organometallic Schiff bases ราก่อโรคพืชและเพื่อยับยั้งของมันสำปะหลัง

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อทดสอบการเพิ่มฤทธิ์ของสารสกัดจากธรรมชาติด้วยเทคนิคกึ่งสังเคราะห์ (Semi-synthesis) แล้ว  
ระเหยตัวทำละลาย (Solvent evaporation method) เพื่อให้ได้ตัวรีดิวส์ใหม่ที่เรียกว่า Natural Schiff bases และนำไป  
รีดิวส์เกลือของโลหะเงิน (Ag) และทองแดง (Cu)

1.2.2 เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (Physicochemical properties) และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ  
(Biological properties) ในการต้านเชื้อราก่อโรคพืชและเพื่อยับยั้งของมันสำปะหลัง ตลอดจนศึกษาความเป็นพิษต่อ  
เซลล์ปกติ (Vero cells) ของสารตัวอย่าง

1.2.3 เพื่อทราบแนวทางการควบคุมศัตรูพืชแบบใหม่ให้กับเกษตรกรที่ปลูกหอมแดง กระเทียมและมัน  
สำปะหลัง ตลอดจนพืชเศรษฐกิจอื่นๆ โดยอาศัยความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยี

## 1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 จะได้สารรีดิวส์ตัวใหม่อย่างน้อย 2 ตัวที่เป็นลิวอิสเบส (Lewis base หรือ Electron donor) เคลือบอยู่  
บนอนุภาคนาโนของเงิน และ ทองแดง ได้ Schiff base-metal-nanoparticles อีกประมาณ 2 ตัว

1.3.2 ทราบสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ ชนิด ขนาดและมอร์โฟโลยีของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในระดับ นาโน  
ของ Natural Schiff base-metal-nanoparticles ตลอดจนฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อราก่อโรคพืช และเพื่อยับยั้ง  
ของมันสำปะหลัง รวมทั้งความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ

1.3.3 ได้สารกำจัดศัตรูพืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ ที่ไม่เป็นพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมประมาณ 2 ตัว

1.3.4 ได้แนวทางการควบคุมศัตรูพืชแบบใหม่ โดยอาศัยความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยี

1.3.5 ได้แนวทางเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการผลิตพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ

1.3.6 ชุมชนได้รับและนำความรู้ด้านนาโนโอโรอินทรีย์ (nano natural organometallic control)

ไปใช้ในการควบคุมศัตรูพืช ปลอดภัยเคมีที่เป็นพิษต่อมนุษย์ และสิ่งแวดล้อม

1.3.7 ได้บทความวิจัยตีพิมพ์ในวารสารที่มี Impact factor 1 บทความ หรือจดสิทธิบัตร 1 เรื่อง

1.3.8 ผู้รับประโยชน์หรือผู้ที่จะนำผลการวิจัยไปใช้

1) กลุ่มเกษตรกรปลูกหอม กระเทียม จ.บุรีรัมย์ และกลุ่มเกษตรกรอื่นๆ ของประเทศที่  
ประสบปัญหา

2) ได้แนวทางในผลิตยาต้านเชื้อราก่อโรคของหอมแดง กระเทียมให้กับประเทศ

3) เกษตรกรที่ปลูกมันสำปะหลัง

4) กรมวิชาการเกษตร

5) มีนักวิจัยใหม่เพิ่มขึ้นจำนวน 1 ท่าน

6) เกิดความร่วมมือระหว่างหน่วยงานทางการศึกษาและหน่วยงานทางการศึกษากับชุมชน

7) เกษตรกรจะได้รับความรู้เกี่ยวกับนาโนเทคโนโลยี ซึ่งถือเป็นการพัฒนาคนแบบยั่งยืน

8) ได้แนวทางการผลิตในระดับอุตสาหกรรม

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 บทนำ

ในบทนี้คณะผู้วิจัยจะได้นำเสนอให้หัวข้อต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยครั้งนี้ ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สารชีวฟิเบส นาโนเทคโนโลยี การสังเคราะห์อนุภาคนาโน และการใช้ประโยชน์จากอนุภาคนาโน ตามลำดับ

#### 2.2 ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเป็นผลผลิตที่ได้จากแหล่งต่างๆ ในธรรมชาติ เช่น พืช จุลินทรีย์และสัตว์ ซึ่งอาจได้มาจากทุกส่วน (Entire organism) เช่น พืช สัตว์หรือจุลินทรีย์ หรือจากบางส่วนของพืช เช่น ใบ ดอกของพืช แยกจากอวัยวะบางส่วนของสัตว์ เช่น แอลคาลอยด์ คูมาริน (Coumatins) ฟาโวนอยด์ (Flavonoids) ลิกแนน (Lignans) สเตียรอยด์ (Steroids) เทอร์ปีนอยด์ (Terpenoids) ซึ่งแยกได้จากพืช จุลินทรีย์ และสัตว์ โดยทั่วไปแล้วคำว่าผลิตภัณฑ์ธรรมชาติคือเมทาโบไลต์ทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ซึ่งเป็นสารที่มีโมเลกุลเล็ก (Small molecules) มีมวลโมเลกุลน้อยกว่า 1500 amu ที่ผลิตโดยสิ่งมีชีวิต แต่ไม่ได้มีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตเท่านั้น ยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ได้อีกมาก

##### 2.2.1 ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ใช้เป็นยารักษาโรค (Natural products in medicine)

การใช้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากพืช เพื่อรักษาโรคนั้นมีมาตั้งแต่สมัยโบราณ และยังใช้อย่างกว้างขวางในปัจจุบัน สำหรับประวัติการใช้สารสกัดจากพืชมาเป็นยารักษาโรคนั้นต้องย้อนกลับไปยุค Sumarian และ Akkadian เมื่อประมาณ third millennium BC ฮิปโปเครติส (Hippocrates; 460-377 BC) ได้อธิบายถึงการนำผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ได้จากพืชและสัตว์ มาใช้เป็นยารักษาโรค โดยมีพืชประมาณ 400 สปีชีส์ที่นำมาใช้เป็นยา ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติทั้งที่ได้มาจากส่วนที่เคยใช้เป็นยาพื้นบ้าน (Ancient traditional medicine) เช่น สมุนไพรจีน อายุรเวศ (Ayurvedic) และยาของชาวอียิปต์ (Egyptian) ปัจจุบันยังมีการใช้อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะประเทศในโลกที่สาม ทั้งที่นำมาจากแร่ธาตุ (Minerals) จากสัตว์ (Animal substances) และจากพืช สอดคล้องกับรายงานขององค์การอนามัยโลก (World Health Organisation; WHO) ประชากรกว่า 3.5 ล้านคนในประเทศที่พัฒนาแล้วหันมาสนใจสุขภาพ โดยการนำพืชสมุนไพรมาเป็นยารักษาโรค ซึ่งในปัจจุบันประชากรประมาณ 88 % ของโลกที่นำสมุนไพรใช้รักษาโรคในขั้นต้น (Primary health care) เฉพาะประเทศจีนประเทศเดียวก็มีพืชกว่า 7,295 สปีชีส์ที่ถูกนำมาใช้เป็นยารักษาโรค

ธรรมชาติถือเป็นแหล่งของยารักษาโรคที่มีความสำคัญ ซึ่งเป็นที่ทราบและใช้กันมาเป็นพันปีแล้ว ยามาตรฐานที่ใช้กันอยู่ทุกวันนี้ก็ได้มาจากการปรับปรุงเปลี่ยนแปลง (Derived) มาจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เมื่อทศวรรษที่ผ่านมาได้มีการพัฒนายาและขายได้ดีที่สุดคือยาที่มาจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เช่น

ยาต้านมะเร็ง Vincristine ได้จาก *Vinca rosea* ยา Narcotic analgesic morphine มาจาก *Papaver somniferum* ยาต้านมาลาเรีย Artemisinin มาจาก *Artemisia annua* ยาต้านมะเร็ง Taxol® มาจาก *Taxus brevifolia* และยาปฏิชีวนะ Penicillins มาจาก *Penicillium* sp. เป็นต้น

นอกจากจะนำผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมาใช้ในการรักษาโรคของมนุษย์ดังกล่าวแล้ว ยังสามารถนำผลิตภัณฑ์ธรรมชาติไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ ตลอดจนใช้เป็นยารักษาโรคของสัตว์และโรคพืชได้อีกด้วย

## 2.2.2 การศึกษาด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

คณะผู้วิจัยนำเสนอการวิจัยที่สำคัญเกี่ยวกับสมุนไพรดังต่อไปนี้

Lopez *et al.* (Lopez, Lidia M. *et al.* 2002 : 237) ได้แสดงให้เห็นถึงสมบัติทางชีวภาพของ lipophilic O-naphthoquinone ซึ่งเป็น quinine ที่ได้จากผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติมีฤทธิ์เป็นยารักษาโรคต่างๆ เช่น antibacterial, antifungal, trypanocidal และ cytotoxic effects

โดยสมาชิกที่สำคัญของสารในกลุ่มนี้คือ  $\beta$ -lapachone (3,4-dihydro-2,2-dimethyl-2H-naphtho [1,2b] pyran-5,6-dione) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งหลายชนิดได้ดี เช่น Yoshida and walker sarcoma, epidermoid laryngeal carcinoma, melanoma, promyelocytic-leukemia, prostate, breast, ovary, colon, hepatoma และ lung cancer cells อีกด้วย

Azmi *et al.* (Azmi, A.S. *et al.* 2005 : 3131) ได้แสดงให้เห็นว่า resveratrol (3,4',5-trihydroxy stilbene) ซึ่งเป็นสารพวก polyphenol ที่ได้จากพืชต่างๆ เช่น ใบบ่มอน (mulberries) และ องุ่น (grapes) มีสมบัติทาง chemopreventive properties, anti-inflammatory, anti-platelet, anti-mutagenic effects และยังมีสมบัติเป็น agonist สำหรับ estrogen receptor นอกจากนี้ยังป้องกันโรคหัวใจ (cardiovascular protective properties) และป้องกันพืชไม่ให้เกิดโรคจากเชื้อรา ขัดขวาง DNA polymerase และ ribonucleotide reductase, ยับยั้ง LDL oxidationต่อต้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ระยะคือ tumor initiator, promotion และ progression ดังนั้น resveratrol สามารถชักนำให้เกิด apoptosis ในผู้ป่วยโรคมะเร็งได้ นักวิจัยกลุ่มเดียวกันนี้ยังได้ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารกลุ่ม polyphenol ที่ได้จากพืช เช่น flavonoids, tannins และ curcumins พบว่าสามารถชักนำให้เกิด oxidative DNA damage

แม้ว่าจะใช้เพียงลำพัง หรือในรูป metal compounds เช่น Cu(II) สมบัติหลายประการของสารเหล่านี้ เช่น เกาะกับ DNA และการทำลาย (degradation) คล้ายคลึงกับสารต้านมะเร็งอื่นๆ เช่น bleomycin, adriamycin และ 4'-(9-acridinylamino) methanesulphone-m-anisidine (mAMSA) โดย polyphenolic resveratrol สามารถทำให้สาย DNA แตกเมื่อมี Cu ไอออนอยู่ด้วย DiSilvestra *et al.* (DiSilvestra, R.A. *et al.* 2005 : 251) ศึกษาผลการต้านอนุมูลอิสระของ soy isoflavone อาจจะช่วยป้องกันการกลับซ้ำของมะเร็งเต้านมได้ แต่ isoflavone ที่ออกฤทธิ์คล้าย estrogen อาจจะช่วยเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม การออกฤทธิ์เช่นนี้ของ isoflavone เป็นผลมาจากเอนไซม์ 2 ชนิดที่มี copper อยู่คือ superoxide dismutase 1 (SOD 1; ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระจึงป้องกันโรคมะเร็งเต้านมได้) และ ceruloplasmin (เพิ่มการผลิต estrogen เมื่อมีมากจึงเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม) จาก

การศึกษาทางระบาดวิทยาของสตรีเอเชียถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดมะเร็งเต้านมและอาหารที่มีถั่ว พบว่าผู้หญิงเอเชียที่มี isoflavone จากบัสสาวะในปริมาณน้อยในสตรีที่เป็นมะเร็งเต้านม เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงว่าสตรีที่บริโภคถั่วปริมาณน้อยมีโอกาสเกิดโรคมะเร็ง

Al-Haiza *et al.* (Al-Haiza, M.A. *et al.* 2003 : 275) ใช้ coumarins เป็นกลุ่มของสารอินทรีย์ที่สำคัญในการใช้ประโยชน์ เช่น ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bactericides), ฆ่าเชื้อรา (fungicides), ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory), anticoagulant และ anticancer agents สมบัติทางเภสัชวิทยาเหล่านี้ทำให้นักวิจัยสนใจที่จะสังเคราะห์อนุพันธ์ใหม่ๆ ที่มีมากยิ่งขึ้นไปอีก โดยมีลักษณะที่แตกต่างกันที่วง heterocyclic ที่เชื่อมต่อกับ coumarin (coumarin moiety)

Kostova *et al.* (Kostova, Irena *et al.* 2005 : 542) ทำการสังเคราะห์สารประกอบของ Lanthanum (III) กับ bis-coumarins ศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ด้วยเทคนิค EA, IR, <sup>1</sup>H- และ <sup>13</sup>C-NMR และ mass-spectral data ตามลำดับ โดยสเปกตรัมของสารประกอบเหล่านี้เทียบกับลิแกนด์อิสระ พบว่า La(III) ทำปฏิกิริยากับลิแกนด์ที่ตำแหน่ง deprotonated hydroxyl ทั้ง 2 หมู่ สำหรับ cytotoxicity ใช้เทคนิค MTT assay กับ HL-60, BV-173 และ SKW-3 cell lines ผลที่ได้คาดว่าสารประกอบเหล่านี้เป็นตัวทำให้เกิดการตายของเซลล์ (trigger programmed cell death หรือ apoptosis)

Lewis *et al.* (Lewis, A. *et al.*, 2004, 4550) ได้ศึกษาอนุพันธ์ของคูมาริน (coumarin) dicumarol (3,3'-Methylene bis[4-hydroxycoumarin] เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก sweet clover (*Melilotus alba*) ใช้เป็นยา anticoagulant นอกจากนี้สารคูมาริน และอนุพันธ์ยังใช้เป็นยาต้านมะเร็ง โดยเฉพาะต้านการเจริญเติบโตของเซลล์ในระยะ malignant cell lines (*in vitro*) นอกจากนี้ยังได้ทดสอบทางคลินิก (clinical trials) พบว่า สามารถออกฤทธิ์ต้าน prostate cancer, malignant melanoma และ metastatic renal cell carcinoma ได้ด้วย จากผลการวิจัยข้างต้นจะเห็นว่าสมุนไพรมีประโยชน์มากมายต่อมวลมนุษยชาติ

Hsu, Fu-Lun, *et al.* (2007) ได้ทำการศึกษาผลของการใช้สาร Octyl gallate อย่างเดียว หรือใช้ร่วมกับ สาร Organic biocides เพื่อป้องกันเชื้อราที่ย่อยสลายเนื้อไม้ (Wood decay fungi) โดยใช้สารต้านเชื้อจากสารต้านอนุมูลอิสระ 3 ชนิด คือ Propyl gallate, octyl gallate และ Butylated hydroxytoluene (BHT) ต้านเชื้อรา ที่ทำให้เนื้อไม้ไม่สลายตัว ได้แก่ *Lenzites betulina*, *Trametes versicolor*, *Gloeophyllum trabeum* และ *Laetiporus sulphureus* พบว่ามีเพียง Octyl gallate ที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อราด้วยค่า IC<sub>50</sub> ที่ 0.47, 0.16, 0.24, และ 0.04 mM/L *L. betulina*, *T.versicolor*, *G. trabeum* และ *L.sulphureus* ตามลำดับ

สารสกัดจากไม้ต่างๆและมีสมบัติการต้านเชื้อรา ได้แก่ Cinnamaldehyde,  $\alpha$ -Cadinol, T-muurold, T-cadinol,  $\gamma$ -Cadinene, Cryptomeridiol, Tropolones, Pinosylvin, Oxyresveratrol, Dihydromorin, Gallic acid, Ferruginol และอื่นๆ การสลายตัวของ Lignocellulosic materials เนื่องจากการทำลายของเชื้อรานั้นเป็นสิ่งที่ซับซ้อน ทำให้ยังเข้าใจในเรื่องนี้ไม่ชัดเจน แต่ก็มีงานวิจัยที่เสนอไว้ว่า การสลายตัวของเนื้อไม้จากเชื้อรานั้นเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดทีฟที่เกี่ยวข้องกับโลหะ (Oxidative reactions involving metals) สารสกัดจากพืช สามารถนำมาใช้ในการป้องกันเชื้อราของเนื้อ

ไม้ด้วยกลไกที่สำคัญอย่างน้อย 3 กลไก คือ Fungicide action, Free radical scavenging lantioxidation และ Metal chelation โดยกลไก Antioxidants และ metal chelaters เป็นกลไกที่ได้รับความสนใจ เนื่องจากมีความใหม่ และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

จากการทดลองของ Schu Hz และ Nicholas (ที่อยู่คนละห้องปฏิบัติการ) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารประกอบที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีราคาไม่แพง คือ Butylated hydroxytoluene (BHT) หรือ Propyl gallate ร่วมกับ Organic biocides ต่างๆ ต่อเชื้อราที่สลายตัวของเนื้อไม้ พบว่า ออกฤทธิ์เพิ่มขึ้น (Enhanced effectiveness against decay caused by fungi) เมื่อเปรียบเทียบกับ Organic biocide อย่างเดียว โดยสารที่ออกฤทธิ์ดีที่สุดที่ใช้ทดสอบ คือ Propyl gallate นอกจากนี้ยังมีรายงานจากกลุ่มของ Mabicka, *et al.* (2005) ว่า สารที่ออกฤทธิ์เสริมกันอย่างน้อยมีนัยสำคัญ อาจจะเป็น Chelator EDTA และ 2-HPNO หรือ Antioxidant Irganox1076 และ 2-HPNO ส่วนกลุ่มของ Strippoli, *et al.* (2000) พบว่า เมื่อรวม Imidazole กับ Propyl gallate พบว่าออกฤทธิ์ได้ดีที่ค่า MIC (Minimum inhibitory concentration) อยู่ระหว่าง 10-150 เท่า ต่ำกว่าการใช้ Imidazde อย่างเดียว นั้นแสดงว่าการใช้ Antioxidant เพียงอย่างเดียวจะออกฤทธิ์ได้น้อยหรือไม่ปกป้องเนื้อไม้จากการทำลายของเชื้อรา ปัจจุบันได้มีการอนุญาตให้เติมสารต้านอนุมูลอิสระ Propyl gallate และ Octyl gallate ในอาหารและเครื่องสำอาง โดยทั่วไปแล้ว แบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive bacteria) และราที่มีความไวต่อสารพวกแกลเลต (Gallates) ดังนั้น Propyl gallate จึงออกฤทธิ์เสริม (Synergistic effect) ในเชื้อราสลายเนื้อไม้ (Wood decay fungi)

Tsair-Bor Yon and Chang, Shang-Tzen. (2008 : 232-236) ได้ศึกษาฤทธิ์เสริมกัน (Combined effects) โดยใช้ Cinnamaldehyde กับ Catechin, Quercetin และ Eugenol ออกฤทธิ์เสริมกันได้เป็นอย่างดี (Strongest synergy) ต้านเชื้อรา *Laetiporus sulphureus* ซึ่งการออกฤทธิ์เสริม (Synergism) จะเกี่ยวกับการรบกวนการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของเชื้อรา (Fungal cell wall synthesis) และการทำลายผนังเซลล์ (Cell wall destruction) ร่วมกับการกำจัดอนุมูลอิสระ (Radical scavenging effect) คือ สารที่มีสมบัติทั้งต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ทำลายเชื้อราจะเป็นสารที่หน้าสนใจกว่าสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพียงอย่างเดียว (Pure antioxidant) เพื่อใช้กับระบบ Fungicide/antioxidant ส่วน Cinnamaldehyde เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจาก Cinnamon ที่สกัดได้ได้จากส่วนของยาง หรือ ใบของต้น Cinnamon ในจีนัส Cinnamomum ซึ่งเป็นสารที่ได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อราหลายชนิด โดยเฉพาะเชื้อราที่ทำให้เกิดการสลายตัวของเนื้อไม้ จึงเป็นสารที่มีศักยภาพและยังเป็นสารป้องกันเนื้อไม้ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สำหรับสารต้านอนุมูลอิสระอื่นมีงานวิจัยว่าสามารถต้านเชื้อราบางชนิด (Some antifungal activities) คือ Catechin และ Quercetin นอกจากนี้ยังพบว่า Eugenol มีฤทธิ์กำจัดเชื้อราเป็นเลิศ (Excellent fungicide) ในการต้าน เชื้อราสลายเนื้อไม้ และ Catechin มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า Cinnamaldehyde, Quercetine และ Eugenol Cinnamaldehyde และ Eugenol ออกฤทธิ์ต้านเชื้อราได้อย่างดีทั้งต่อ *L. betulina* และ



*L. sulphureus* ที่ค่า antifungal index 100% ขณะที่ Catechin และ Quercetin ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราทั้งสองชนิดนี้ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

Catechin และ Quercetin ออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Candida albicans* นอกจากนี้ยังพบว่า Catechin และ Quercetin เมื่อใช้ตามลำพังจะไม่มีฤทธิ์ต้าน Wood decay fungi และยังพบว่า ฤทธิ์การต้านเชื้อรากับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่มีความสัมพันธ์กัน นั่นแสดงว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่ได้ช่วยให้ฤทธิ์การต้านเชื้อราเพิ่มขึ้น แต่ Cinnamaldehyde ขัดขวางการสังเคราะห์ผนังเซลล์ ส่วนการต้านเชื้อราของ Eugenol และ Thymol จะเกี่ยวข้องกับการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของทั้งเซลล์เมมเบรนและผนังเซลล์ของยีสต์ สำหรับ Cinnamaldehyde และ Eugenol จะขัดขวางการเจริญเติบโตของยีสต์โดยการขัดขวางการสังเคราะห์ผนังเซลล์ (Cell wall synthesis) หรือทำให้โครงสร้างของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไป (Altering the cell wall structure) ส่งผลให้ผิวของผนังเซลล์เปลี่ยนไปและยอมให้เกิดการซึมผ่านของอนุภาคอื่นๆ (Foreign particles) ผ่านเข้าไปในเซลล์ของยีสต์ได้มากขึ้นทำให้ยีสต์ตาย

สำหรับกลไกการต้านเชื้อราของ Cinnamaldehyde และ Eugenol เกิดขึ้นด้วยวิธีเดียวกันกับกรณีที่เกิดกับยีสต์ ส่งผลให้ผนังเซลล์ของเชื้อราและเซลล์เมมเบรน ถูกรบกวน โดยการออกฤทธิ์เสริมกัน โดย Eugenol ทำให้พื้นผิวและโครงสร้างของผนังเซลล์ของเชื้อราเปลี่ยนแปลง ส่วน Cinnamaldehyde ทำหน้าที่เป็น Potentiator โดยการลดการสังเคราะห์ผนังเซลล์และทำให้ Cytoplasm ของเชื้อราแตกได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้ Eugenol ยังอาจสามารถเร่งให้เกิดการตายเร็วขึ้นโดยเร่งให้เชื้อราผลิตอนุมูลอิสระและลดการนำสารอาหารไปใช้เพื่อ

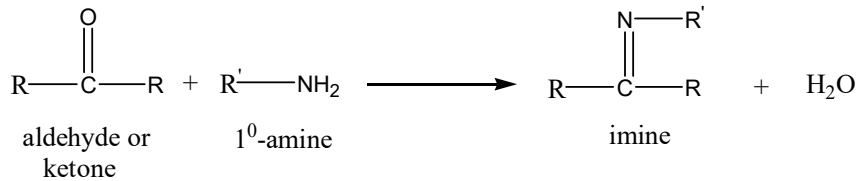
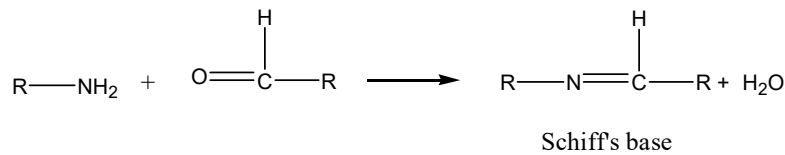
การซ่อมแซมผนังเซลล์ ส่งผลให้การออกฤทธิ์เสริมกันมีมากขึ้น

Wang, Sheng-Yang, Chen, Pin-Fun and Chang, Shang-Tzen (2005 : 813-818) *Cinnamomum osmoploem* Kaneh เป็นไม้เนื้อแข็งชนิดหนึ่งในประเทศไต้หวัน ซึ่งมีสมบัติต้านเชื้อราของน้ำมันหอมระเหย (Leaf essential oils) และองค์ประกอบที่สำคัญอื่นๆ จาก *C. osmophloeum* โดย Cinnamaldehyde ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของ *C. osmophloeum* เป็นน้ำมันหอมระเหยจากใบ มีสมบัติต้านเชื้อราได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารที่เป็นองค์ประกอบอื่นๆ โดยต้านเชื้อรา *C. versitolor* และ *L. suiphureus* ได้ 100% ส่วนค่า MIC ของ Cinnamaldehyde ต้านเชื้อ *C. versitolor* และ *L. suiphureus* เป็น 50 และ 75 ppm ตามลำดับ สารสกัดจากพืช เช่น ใบ เป็นสารกำจัดแมลงที่ไม่มีความเป็นพิษต่อคน และสิ่งแวดล้อม และสลายตัวได้ง่าย (Being easily biodegradable)

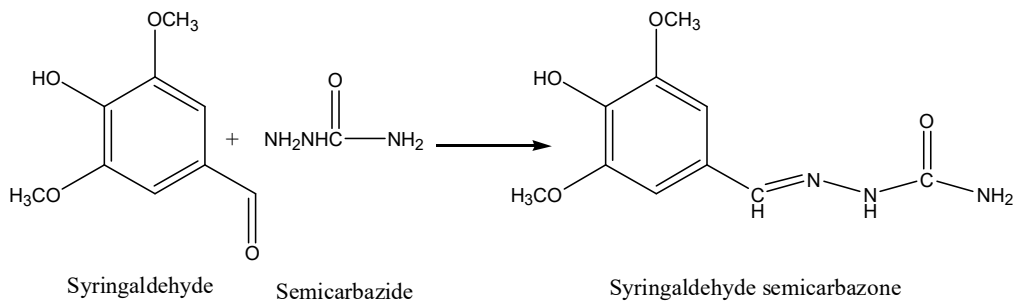
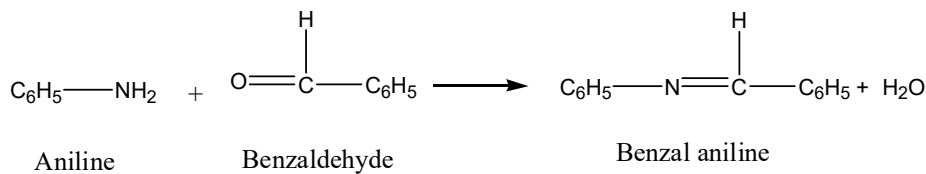
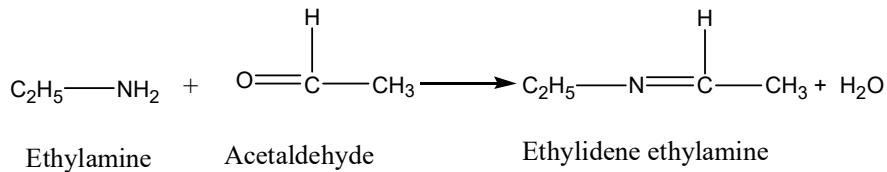
จากที่กล่าวมาจะเห็นว่า ทั้งอนุภาคนาโนและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติต่างมีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้ คณะผู้วิจัยจึงต้องการที่จะนำสารที่เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมาเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยอาศัยปฏิกิริยา กึ่งสังเคราะห์ (Semi-synthesis) จากนั้นนำสารที่ได้ไปรีดิวซ์ไอออนของโลหะเพื่อให้ได้อนุภาคนาโน แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อราก่อโรคพืชและเพื่อยืนยันต่อไป

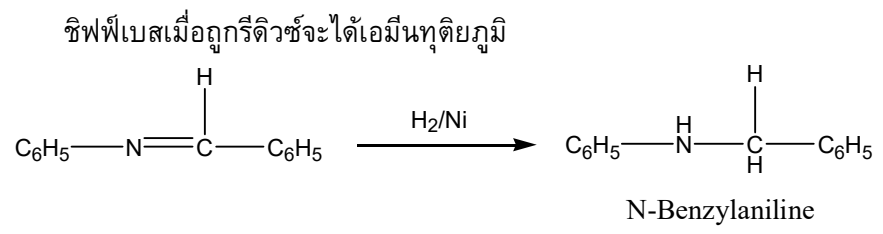
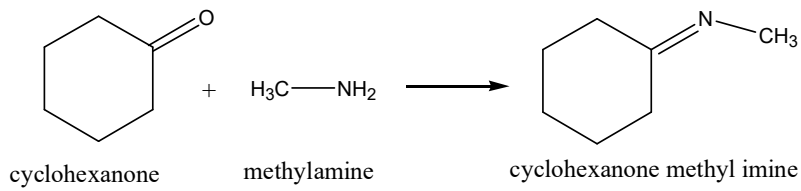
### 2.3 ชิฟฟ์เบส (Schiff's base)

ทั้งแอลิฟาติกและแอโรมาติกแอลดีไฮด์หรือคีโตนสามารถทำปฏิกิริยากับเอมีนปฐมภูมิในสภาวะที่มีกรดอยู่เพียงเล็กน้อยเกิดผลผลิตเป็นเอโซมีไธน์ (Azomethine) หรืออิมีน (Imine) หรือเรียกว่าชิฟฟ์เบส Schiff's base ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดจากอะตอมไนโตรเจนของเอมีนไปแทนที่อะตอมออกซิเจนในแอลดีไฮด์หรือคีโตน (สมหมาย ปะติตังโช, 2554, 386-389 และ 461-462)



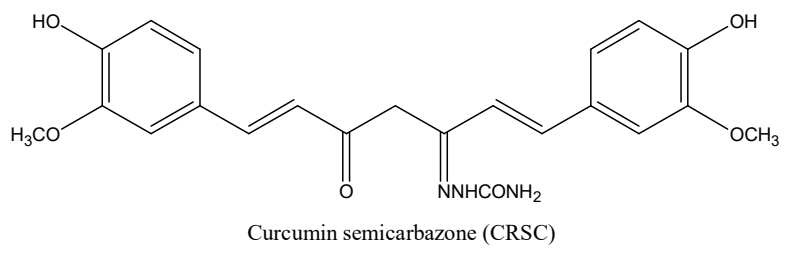
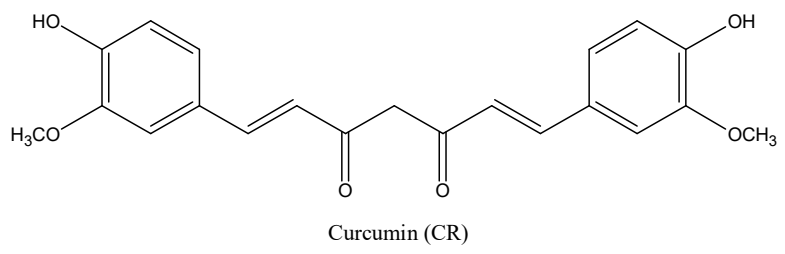
เช่น



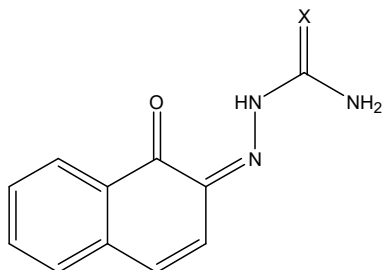


สารในกลุ่มซึฟเบสเป็นกลุ่มย่อยของ Lewis bases ที่เมื่อเข้าทำปฏิกิริยาจะเป็นตัวรีดิวซ์ (Reducing agent) ที่ดี

สำหรับประโยชน์ของสารในกลุ่มซึฟเบสมีมากมายทั้งการประยุกต์ใช้ในทางเคมีเกษตร เคมีวิเคราะห์ และนาโนเทคโนโลยี เป็นสารรีดิวซ์และนำมาใช้เป็นยา ตัวอย่างของงานวิจัย เช่น Sabari Dutta et al. (2005) ได้นำสารซึฟเบส Curcumin semicarbazone มาศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและต้านเนื้องอก พบว่า CRSC ต้านอนุมูลอิสระและต้านเซลล์มะเร็งเต้านม (Estrogen dependent breast cancer cell line ; MCF-7) ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงกว่า CR

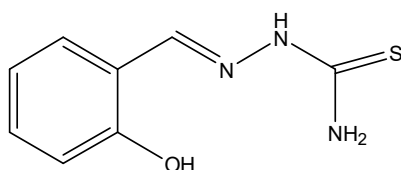


Zahra Afrasiabi et al. (2005) ได้สังเคราะห์สารเชิงซ้อนนิกเกิลด้วยลิแกนด์หรือซัพไฟเบส Naphthaquinone thiosemicarbazone, Naphthaquinone semicarbazone และทดสอบฤทธิ์ในการต้าน MCF-7 human breast cancer cells พบว่า สาร Naphthaquinone semicarbazone nickel complex มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งชนิดนี้ได้ดีกว่า Naphthaquinone thiosemicarbazone nickel complex



โครงสร้างทั่วไปของลิแกนด์

R.K. Mahajan et al. (2003) ได้ใช้ Neutral salicylaldehyde thiosemicarbazone เป็น ionophore ของ Sensor เพื่อตรวจหาไอออนของปรอท ( $Hg^{2+}$ ) พบว่า อิเล็กโทรดมีการตอบสนองที่ดีโดยให้ค่า  $\log[Hg^{2+}]$  เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นระหว่าง  $1.778 \times 10^{-6}$  ถึง  $1.0 \times 10^{-1}$  M เมื่อเทียบกับ EMF



Salicylaldehyde thiosemicarbazone

## 2.4 นาโนเทคโนโลยี

ปัจจุบันความเจริญทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเกิดขึ้นอย่างไม่หยุดยั้ง การสื่อสารข้ามโลกอยู่เพียงแค่ปลายนิ้วการขนส่งสินค้าจำนวนมหาศาลข้ามทวีปเป็นเรื่องที่ดำเนินการเป็นกิจวัตร การส่งคนขึ้นไปสำรวจบนดวงจันทร์กลับเป็นเรื่องล้ำสมัย และโครงการสร้างอาณานิคมในอวกาศกำลังเริ่มเกิดขึ้นแทน องค์ความรู้ในสาขาวิทยาศาสตร์ ทางด้านเคมี และฟิสิกส์ ได้หลั่งไหลเข้ามาอย่างไม่ขาดสาย และก่อให้เกิดเทคโนโลยีใหม่ๆ ขึ้นจากทฤษฎีทางด้านควอนตัม และเปลี่ยนมุมมองเดิมๆ ที่เรามีต่อแสง สสาร และอนุภาค อย่างสิ้นเชิง

(ศิริศักดิ์ เทพาคำ. 2551 : 4) การตระหนักและให้ความสำคัญถึงคุณภาพชีวิตเป็นสิ่งสำคัญที่สุดของมนุษยชาติ จะเห็นได้จากเครื่องอำนวยความสะดวกและผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่มีอยู่รอบตัวเรามากมาย คอมพิวเตอร์เพื่อช่วยในการประมวลผลจากข้อมูลที่มีจำนวนมหาศาล โทรศัพท์มือถือเพื่อส่งสัญญาณเสียง ตัวอักษรและภาพ เครื่องฟอกอากาศที่เคลือบอนุภาคเงินขนาดนาโนเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ สารประทินผิวที่ทำให้ผิวขาวและลบริ้วรอยได้ดีขึ้น การพัฒนาวัสดุพอลิเมอร์ขั้นสูงเพื่อใช้ผลิตชิ้นงานต่างๆ แทนโลหะ เป็นต้น แต่สิ่งเหล่านี้บางอย่างยังไม่ตรงกับความต้องการหรือก่อให้เกิดมลพิษจากกระบวนการผลิต ดังนั้น เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว นักวิทยาศาสตร์จึงได้พยายามเสาะแสวงหาทางเลือกต่างๆ และนาโนเทคโนโลยีนับเป็นทางเลือกหนึ่งที่ได้รับการยอมรับในหลายๆ ประเทศเราสามารถนำนาโนเทคโนโลยีไปประยุกต์ใช้ในการเพิ่มความสามารถในการแข่งขันของอุตสาหกรรมที่มีอยู่เดิม และสร้างอุตสาหกรรมสาขาใหม่ สร้างสินค้าตัวใหม่ ที่มีสมบัติเชิงนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพชีวิตของประชาชน ไม่ว่าจะเป็นด้านสุขภาพ ความเป็นอยู่ สิ่งแวดล้อม พลังงาน ตลอดจนการจัดการกับข้อมูลดิจิทัล การโทรคมนาคม และความมั่นคงปลอดภัยของประเทศต่างๆ ทั่วโลกได้ขนานนามนาโนเทคโนโลยีว่าเป็น “คลื่นลูกใหม่ของเทคโนโลยีแห่งการผลิตที่จะปฏิวัติอุตสาหกรรมในคริสต์ศตวรรษที่ 21” (วิวัฒน์ ตันทะพานิชกุล. 2550 : 22)

#### 2.4.1 คำจำกัดความของนาโนเทคโนโลยี

นาโนเทคโนโลยีเกี่ยวข้องกับโครงสร้างที่หลากหลายของสสารที่มีมิติในสัดส่วนหนึ่งในพันล้านส่วน โดยใช้หน่วยความยาวเป็นเมตร คำว่า นาโน (Nano) มีรากศัพท์มาจากภาษากรีก ซึ่งหมายถึง แคระหรือเล็ก หรือ หมายถึง หนึ่งส่วนพันล้านส่วน ( $\frac{1}{1,000,000,000}$  หรือ  $1 \times 10^{-9}$ ) โดยมีสัญลักษณ์เป็น nm ดังนั้น 1 นาโนเมตร (nm) จะเท่ากับหนึ่งส่วนพันล้านเมตร

นาโนเทคโนโลยี (Nanotechnology) หมายถึงศาสตร์ที่เกี่ยวกับโครงสร้างของสสารในมิติที่มีขนาดเป็นหนึ่งส่วนพันล้านเมตร โดยมีสเกลอยู่ในช่วงประมาณ 1-100 นาโนเมตร สสารที่อยู่ในช่วงนี้จะมีคุณสมบัติแตกต่างจากคุณสมบัติขนาดใหญ่ที่เคยศึกษาอยู่แต่เดิม ดังนั้นนาโนเทคโนโลยีจึงเป็นการศึกษาสสารขนาดเล็กในระดับอะตอมและโมเลกุล

#### 2.4.2 องค์ประกอบของนาโนเทคโนโลยี

นาโนเทคโนโลยีเป็นเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการจัดการการสร้างการสังเคราะห์วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องจักรหรือสิ่งต่างๆ ที่มีขนาดเล็กระหว่าง 1-100 nm นาโนเทคโนโลยีสามารถนำมาใช้จัดเรียงอะตอมหรือโมเลกุลเข้าด้วยกันอย่างถูกต้องแม่นยำ ส่งผลให้โครงสร้างของวัสดุหรือสารต่างๆ มีสมบัติพิเศษทั้งทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ จึงมีประโยชน์และเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจได้ ดังนั้นจึงสามารถแบ่งองค์ประกอบของนาโนเทคโนโลยีได้ดังนี้

- 1) ขนาดเล็กในระดับ 1 - 100 นาโนเมตร
- 2) มีหน้าที่ใหม่ๆ เกิดขึ้นหรือมีสมบัติที่พิเศษขึ้น
- 3) ถูกต้อง แม่นยำ และควบคุมได้

คือสิ่งที่จะเรียกได้ว่าเป็นนาโนเทคโนโลยีจะต้องมีคุณสมบัติครบทั้ง 3 ประการ คือ

ขนาดจะต้องอยู่ในช่วง 1 - 100 นาโนเมตร มีหน้าที่ใหม่ๆ เกิดขึ้นหรือมีสมบัติพิเศษที่แตกต่าง ไปจากเดิม เนื่องจากวัสดุที่มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรจะมีสมบัติต่างๆ เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เช่น สมบัติทางแม่เหล็ก สมบัติทางไฟฟ้า สมบัติทางกายภาพ สมบัติทางแสงและสมบัติทางเคมี ดังตัวอย่างของทองคำ เมื่อมีขนาดในระดับนาโนจะมีสีแดง มีความว่องไวต่อปฏิกิริยาเคมีหรือเงินเมื่อมีขนาดในระดับนาโนจะมีสีเหลือง สีม่วง สีเทา มีสมบัติทางชีวภาพ เช่น ด้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดได้

## 2.5 การสังเคราะห์อนุภาคนาโน

อนุภาคนาโนสามารถเกิดได้สองรูปแบบใหญ่ ๆ คือ

ก. การสร้างวัสดุจากหยาบไปละเอียด (Top-down approach) เป็นการสร้างวัสดุโดยใช้การตัดเฉือน หรือการทำเทคนิคใดๆ กับวัสดุขนาดใหญ่ ให้มีขนาดเล็กลงตามต้องการ เช่น การใช้นาโนลิโธกราฟี (Nanolithographic techniques) ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะนำไปใช้กับการสร้างชิ้นส่วนทางอิเล็กทรอนิกส์

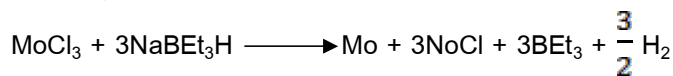
ข. การสร้างวัสดุจากละเอียดไปหยาบ (Bottom-up approach) เป็นการสร้างวัสดุจากอนุภาคขนาดเล็ก เช่น จากหลายๆ อะตอม หรือ หลายๆ โมเลกุล มารวมกันเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่ บางครั้งเรียกเทคโนโลยีแบบนี้ว่า นาโนเทคโนโลยีเชิงโมเลกุล (Molecular nanotechnology) เช่น การรวมตัวโดยตัวเอง (Self-assembly) เป็นการรวมตัวของสารด้วย พันธะเคมีของวัสดุที่มีโครงสร้างระดับนาโนจนเกิดเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่ เช่นการรวมตัวของสารคอลลอยด์ เป็นต้น (ศรัณญา พรหมโคตร.

2551 : 3)

จากวิธีการสังเคราะห์ข้างต้นสามารถแบ่งย่อยวิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนอย่างจำเพาะลงไปได้อีกดังต่อไปนี้

### 2.5.1 วิธีทางเคมี (Chemical methods)

วิธีการสังเคราะห์ส่วนใหญ่ได้จากวิธีทางเคมีแทบทั้งสิ้นโดยมีวิธีที่หลากหลายในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะโดยส่วนใหญ่จะใช้ตัวรีดิวซ์ (Reducing agent) ในการทำวัสดุนาโน เช่น  $\text{NaBEt}_3\text{H}$  และ  $\text{NaBH}_4$  โดย Et คืออนุมูลเอทิล (Ethyl radical,  $\text{C}_2\text{H}_5$ ) ตัวอย่างเช่น วัสดุนาโนของโมลิบดีนัม (Mo) จะถูกรีดิวซ์ในสารละลายโทลูอีน (Toluene) ด้วย  $\text{NaBEt}_3\text{H}$  ที่อุณหภูมิห้อง ทำให้ได้ผลผลิตของอนุภาคนาโนโมลิบดีนัมที่มีขนาด 1-5 นาโนเมตร สมการการเกิดปฏิกิริยาเคมีเป็นได้ดังนี้



วัสดุนาโนอลูมิเนียมจะทำได้จากการแตกตัวของ  $\text{Me}_2\text{EtNAIH}_3$  ในโทลูอีนและทำให้สารละลายนี้ร้อนที่  $105^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อเติม Titanium isopropoxide ลงในสารละลาย ไททาเนียมจะทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา การเลือกตัวเร่งปฏิกิริยาจะเป็นตัวกำหนดขนาดของอนุภาคนาโน เช่น วัสดุนาโนขนาด 80 นาโนเมตร จะเกิดจากไทเทเนียม และสารลดแรงตึงผิว เช่น กรดโอเลอิก (Oleic acid) ที่เติมลงไปในการละลายจะช่วยเคลือบอนุภาคนาโนเหล่านี้ไม่ให้เกิดการรวมกลุ่มกัน (Aggregation)

### 2.5.2 การแตกตัวด้วยความร้อน (Thermolysis)

อนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นโดยการแตกตัวของของแข็งที่อุณหภูมิสูงโดยมีแคโทดไอออนของโลหะและแอนไอออนโมเลกุลหรือสารประกอบอินทรีย์โลหะ กระบวนการนี้เรียกว่าการแตกตัวด้วยความร้อน (Thermolysis) ตัวอย่างเช่น สารลิเทียมถูกสร้างมาจากการแตกตัวของ

ลิเทียมเอไซด์ (Lithium azide,  $\text{LiN}_3$ ) โดยสารตัวอย่างจะอยู่ในท่อควอตซ์ที่มีช่องเปิดถ่ายเทและให้ความร้อนจนถึง  $400^\circ\text{C}$  ที่อุณหภูมิ  $370^\circ\text{C}$  ลิเทียมเอไซด์จะแตกตัวแล้วให้แก๊สไนโตรเจน

จะสังเกตเห็นได้จากความดันที่เพิ่มขึ้นบนอุปกรณ์ตรวจวัดสุญญากาศ อีกไม่กี่นาทีต่อมาความดันจะลดลงไปที่ค่าเริ่มต้น ซึ่งแสดงว่าแก๊สไนโตรเจนได้ถูกกำจัดออกไปแล้ว คงเหลือไว้แต่

อะตอมลิเทียมเกาะตัวกันเป็นโลหะคอลลอยด์ขนาดเล็ก วัตถุที่มีขนาดเล็กกว่า  $5 \mu\text{m}$  จะใช้วิธีนี้

ปัจจุบันสามารถตรวจวัดอนุภาคนาโนได้โดยวิธีเรโซแนนซ์พาราแมกเนติกอิเล็กตรอน (Electron paramagnetic resonance, EPR) โดยตรวจอิเล็กตรอนที่นำไฟฟ้าของวัตถุที่เป็นโลหะวิธี EPR จะวัดพลังงานที่ดูดกลืนเมื่อมีรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ตัวอย่างเช่น คลื่นไมโครเวฟ

จะเหนี่ยวนำการเปลี่ยนแปลงระหว่างสถานะสปินที่เกิดการแบ่งโดยสนามแม่เหล็ก DC โดยทั่วไปแล้วคลื่นไมโครเวฟมีความสามารถในการทะลุทะลวงพื้นผิวโลหะได้น้อย จึงเป็นการยากที่

จะสังเกต EPR ของอิเล็กตรอนที่นำไฟฟ้า

อย่างไรก็ตามการสะสมตัวของวัตถุนาโนจะพบมากบนพื้นผิว และมีขนาดที่วัดได้จากความลึกที่เกิดการทะลุทะลวง ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้ในการตรวจวัดอิเล็กตรอนการนำไฟฟ้า (Conducting electron) ด้วย EPR สัญญาณที่ได้จาก EPR จะค่อนข้างสมมาตร แต่ในกรณีของอิเล็กตรอนการนำไฟฟ้าจะมีผลการผ่อนคลาย (Relaxation effect) เข้ามาด้วยจึงทำให้ได้สัญญาณที่ไม่สมมาตร ซึ่งการไม่สมมาตรนี้จะสัมพันธ์กับมิติของวัตถุที่มีขนาดเล็ก

ความไม่สมมาตรจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ

### 2.5.3 วิธีเลเซอร์แบบกระแทก (Pulsed laser methods)

แสงเลเซอร์แบบกระแทกได้นำมาใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนของเงิน สารละลายเงินในเตารีดและตัวรีดิวซ์จะไหลผ่านอุปกรณ์ที่ใช้ผสมสาร (Blender-like device) ที่บริเวณนี้เกิดสารที่เป็นของแข็ง (Solid disk) ที่หมุนอยู่ สารละลายนี้จะถูกยิงด้วยแสงเลเซอร์แบบกระทบเป็นจังหวะทำให้เกิดจุดร้อนขึ้นบนผิวของสาร (Rotating disk substrate)

เงินในเตารีดและตัวรีดิวซ์จะทำปฏิกิริยาที่จุดร้อน (Hot spot) ทำให้เกิดอนุภาคเงินขนาดเล็กแล้วถูกเหวี่ยงให้แยกออกจากสารละลายด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ขนาดอนุภาคที่ได้จะขึ้นอยู่กับพลังงานของแสงเลเซอร์ที่ยิงและอัตราเร็วการหมุนของสาร วิธีนี้เหมาะกับอัตราเร็วในการผลิตประมาณ 2-3 กรัมต่อนาที

### 2.5.4 วิธีการตกสะสมตัวของเฟสแบบไอ

การตกสะสมตัวของเฟสแบบไอ (Vapor phase deposition) สามารถที่จะใช้ในการทำแผ่นฟิล์มบางแบบชั้นที่มีชั้นอัดตัวแน่น หรือท่อนาโน เส้นใยนาโนหรืออนุภาคที่มีขนาดนาโน โดยทั่วไปแล้วเทคนิคนี้สามารถจำแนกได้อย่างกว้างๆ ได้ 2 แบบ คือการตกเคลือบด้วยไอ

ทางกายภาพ (Physical vapor deposition, PVD) และการตกเคลือบด้วยไอทางเคมี (Chemical vapor deposition, CVD)

PVD เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของวัตถุที่เป็นของแข็งเปลี่ยนสถานะเป็นแก๊สโดยกระบวนการทางฟิสิกส์ วัตถุนี้เมื่อเย็นตัวลงจะตกสะสมตัวอีกครั้งหนึ่งบนซับสเตรด (Substrate) ซึ่งบางครั้งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงใหม่ของตัววัตถุนั้น เช่น เกิดปฏิกิริยากับแก๊ส ตัวอย่างของกระบวนการแบบ PVD ครอบคลุมถึงการกลายเป็นไอด้วยความร้อน (Thermal evaporation) เช่น ลำอิเล็กตรอนที่ทำให้ร้อนหรือการสังเคราะห์โดยใช้ไฟเผาให้ร้อน การระเหยโดยแสงเลเซอร์ (Laser ablation) หรือการตกสะสมตัวแบบเลเซอร์กระทบ (Pulsed laser ablation)

โดยการกระแทกจะเกิดขึ้นในช่วงสั้นระดับนาโนวินาทีจากเลเซอร์ซึ่งมีเป้าหมายตรงไปยังพื้นผิวของวัตถุ การกัดกร่อนโดยการเกิดประกายไฟ (Spark erosion) และการพ่นออก ซึ่งเป็นการเคลื่อนที่ของวัตถุเป้าหมายโดยการระดมยิงด้วยอะตอมหรือไอออน

การตกเคลือบด้วยไอทางเคมี (CVD) เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาหรือการแตกสลายด้วยความร้อนของแก๊สที่มีอุณหภูมิเพิ่มขึ้น (โดยทั่วไปใช้อุณหภูมิ 500-1,000 °C) และมีการตกสะสมตัวบนซับสเตรด ตัวอย่างแบบง่ายก็คือ การแยกสลายด้วยความร้อนของละอองลอย (Aerosol) โดยจะเกี่ยวข้องกับเกลือของโลหะในน้ำซึ่งจะทำให้เกิดการพ่นเป็นไอหมอกขนาดเล็ก เมื่อแห้งตัวลงจะผ่านไปสู่อุณหภูมิที่ร้อน การแยกสลายด้วยความร้อนนี้จะเปลี่ยนเกลือของโลหะไปเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายเมื่อวัสดุผสมกันในสารละลายของผสมมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวที่ระดับอะตอม

การสลายตัวด้วยความร้อนจะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำและได้อนุภาคที่มีขนาด 5-500 นาโนเมตร กระบวนการ CVD โดยทั่วไปแล้วจะใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่แน่นอน เมื่อตัวเร่งปฏิกิริยามีการกระจายตัวขนาดนาโนจะทำให้เกิดผลต่อแผ่นแบบ (Template) ตัวอย่างเช่น การผลิตท่อนาโนคาร์บอนจะใช้การแตกตัวของ Ethane ด้วยไฮโดเจน ตัวเร่งปฏิกิริยาที่อยู่บนแผ่นแบบ ได้แก่ เหล็ก โคบอล หรือนิกเกิล ขนาดและการกระจายตัวของตัวเร่งปฏิกิริยาอาจกำหนดได้โดยเส้นผ่านศูนย์กลางภายในของท่อนาโน (ศรัญญา พรหมโคตร. 2551 : 138-143)

## 2.6 การสังเคราะห์และการใช้ประโยชน์จากอนุภาคนาโน

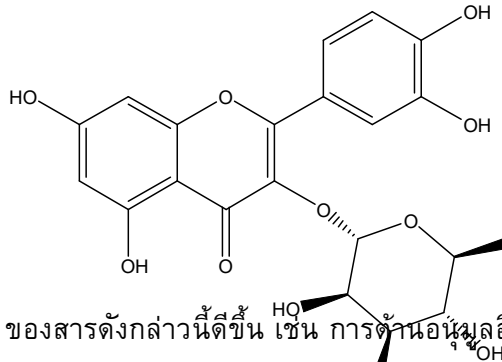
จะให้รายละเอียดโดยยกตัวอย่างงานวิจัยที่สำคัญดังต่อไปนี้

Leonard *et al.* (Leonard *et al.* 2011 : 391-396) ได้สังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนด้วยตัวรีดิวซ์จากสารสกัดของโสมเกาหลี่ (Ginseng) เทียบกับ  $\text{NaBH}_4$  พบว่าอนุภาคทองคำนาโนที่ได้มีขนาดแตกต่างกัน โดยถ้าใช้ตัวรีดิวซ์ที่แรง เช่น  $\text{NaBH}_4$  จะได้อนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าการใช้สาร Ginseng นอกจากนี้ยังพบว่าอนุภาคทองคำที่ได้จากการรีดิวซ์ด้วย Ginseng มีความเสถียรสูง ค่า Plasmon resonance band ยังปรากฏที่ 535 nm และไม่ตกตะกอน



Mu *et al.* (Mu, Bin *et al.*, 2011 : 385-390) ได้สังเคราะห์ polyelectrolyte multilayer microcapsules ระหว่างไคโตซานกับออกซิดีส โซเดียมแอลกิเนต (OSA) พบว่าแคปซูลที่ได้มีความเสถียรที่ pH ต่ำ แต่เมื่อ pH สูง โครงสร้างนี้ก็จะถูกทำลายไป

Kumari *et al.* (Kumari, Avnesh *et al.*, 2011 : 224-232) ได้ศึกษาสมบัติของ เคอร์ซีทรีน (Quercitrin) ซึ่งเป็นสารที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ โดยการบรรจุลงในแคปซูลระดับนาโน (nanoencapsulation)



ผลพบว่า สมบัติต่างๆ ของสารดังกล่าวนี้ดีขึ้น เช่น การต้านอนุมูลอิสระ ความสามารถในการละลาย (Solubility) การซึมผ่าน (Permeability) และความเสถียร (Stability)

Das, Manash R. *et al.* (2011 : 16-22) ได้สังเคราะห์เงินนาโนในสารละลายที่มีแผ่นแกรฟีนออกไซด์ และศึกษาการต้านแบคทีเรีย ผลพบว่า ขนาดและรูปร่างของอนุภาคเงินนาโนขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลาย  $AgNO_3$  ส่วนการต้านแบคทีเรีย พบว่าอนุภาคเงินนาโนต้านแบคทีเรีย *E.coli* และ *P. aeruginosa* ทั้งในอาหาร Broth และ Agar plate สำหรับกลไกการออกฤทธิ์ของอนุภาคเงินนาโน คือเข้าขัดขวางการทำงานของ DNA (DNA loses its replication activity) นอกจากนี้อนุภาคเงินนาโนยังเข้ารบกวนการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจ (Respiratory enzymes) โดยเข้าไปสร้างพันธะกับหมู่ไทออล (Thiol group) (Rai, M. *et al.* 2009 : 76-83) ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Reactive oxygen species, ROS) โดยอนุภาคของเงินจะเข้าไปรบกวนทั้ง Cell wall, Cell membrane และเอนไซม์ดังกล่าว จึงส่งผลให้เซลล์ตายไปในที่สุด

Jo, Young-Ki (2009) ได้ศึกษาการออกฤทธิ์ของ เงินไอออน (Silver ions) และอนุภาคนาโนเงิน (Nanoparticles) ต่อเชื้อราโรคพืช (Phytopathogenic fungi) 2 ชนิดคือ *Bipolaris sorokiniana* และ *Magnaporthe grisea* พบว่า ทั้งเงินไอออนและเงินนาโนสามารถต้านการเกิดโคโลนีของเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดี

He, Lili, *et al.* (2011) ได้แสดงให้เห็นว่า ZnO nanoparticles ที่มีขนาดอนุภาค  $70 \pm 15$  nm สามารถต้านเชื้อราที่เกิดกับผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยว 2 ชนิด คือ *Botrytis cinerea* และ *Penicillium expansum* ได้ดี และนอกจากนี้ยังพบว่า ZnO nanoparticles มีสมบัติในการออกฤทธิ์เป็นแบบ Concentration dependence (คือความเข้มข้นเพิ่มขึ้นฤทธิ์การต้านเชื้อราเพิ่มขึ้น) อีกด้วย โดยกลไก

การออกฤทธิ์ของ ZnO คือสามารถช่วยให้เกิดการสร้างสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) ที่บริเวณผิวหน้าของ ZnO ที่ได้รับแสง จะเกิด Electron hole pairs ( $e^- - h^+$ ) แล้วรูนี้ก็จะปลดปล่อยน้ำออกมา จากนั้นโมเลกุลของน้ำจะแตกตัวเป็น  $OH^-$  และ  $H^+$  แล้วเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนไอออนต่อไปได้  $H_2O_2$  จากนั้น  $H_2O_2$  นี้จะเข้าสู่ Cell membrane และทำให้เชื้อราตายในที่สุด

จากข้อมูลข้างต้นนี้จะเห็นว่าผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติมีฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างกว้างขวาง ทั้งการต้านมะเร็ง ต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อราที่ก่อโรคในมนุษย์ สัตว์ และพืชเศรษฐกิจ นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติทั้งหลายยังสามารถนำมาเป็นตัววัดของโลหะต่างๆ เช่น เงิน และทองคำ เป็นต้น และนักวิจัยยังได้นำอนุภาคนาโนเหล่านี้ไปศึกษาสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ จากผลงานวิจัยดังกล่าว จึงทำให้ทีมงานต้องการที่จะนำสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติ ได้แก่ Cinnamaldehyde มาเพิ่มฤทธิ์ โดยเทคนิค Double pharmacophore

ในสภาวะที่ไม่รุนแรง (mild condition) จะได้สารใหม่ Natural Schiff bases แล้วนำไปรีดิวส์เกลือของโลหะ Ag และ Cu เกิดเป็นอนุภาคนาโนในระดับนาโนเมตร ทดสอบสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (Physicochemical properties) และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (Biological activities) ในการต้านเชื้อราก่อโรคพืช โดยเฉพาะเชื้อรา *B. Squamosa* ที่ระบาดอย่างหนักในหลายจังหวัดของภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างอยู่ขณะนี้และเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลังซึ่งกำลังระบาดหนักอยู่ในหลายจังหวัด เช่น นครราชสีมา บุรีรัมย์และมหาสารคาม เป็นต้น ผลที่ได้โครงการวิจัยนี้จะแก้ปัญหาให้เกษตรกรได้เป็นอย่างดี

## บทที่ 3

### อุปกรณ์ สารเคมีและวิธีการทดลอง

#### 3.1 อุปกรณ์การทดลอง

##### 3.1.1 อุปกรณ์

- 1) Rotary evaporator, Buchi Rotovapor R-124
- 2) UV spectrophotometer, Pharmacia Biotech
- 3) Autoclave. Hirayama, Scientific promotion Co.,LTD.
- 4) Lamina air flow, Jafelab
- 5) Hot air oven. Memmert, Scientific promotion Co., LTD.
- 6) Biological Incubator, Hotpack, Philadelphia, USA.
- 7) Boekel Scientific Dricycler, Philadelphia, USA.
- 8) UV lamp, Gamag, Switzerland.
- 9) Hotplate & stirrer, Jenway Ltd., Essex, United Kingdom.
- 10) Volumetric Flask, Herka intercolor, Germany.
- 11) Beaker ขนาด 50, 100, 250, 500 และ 1000 mL, Pyrex, Germany.
- 12) Pipetman, Gilson Medical Electronics, France.
- 13) Spectronic 20 genesis, Spectronic Instruments, USA.
- 14) Crest Ultrasonic Cleaner, ETL Testing Laboratories Inc., NJ. USA.
- 15) Microscope, Nikon, Japan.
- 16) Test tube screw cap, Pyrex, Germany.
- 17) Plate for bacterium growth, Pyrex, Germany.
- 18) Graduated Cylinder, Pyrex, Germany.
- 19) Micro Test Tubes with caps, Pyrex, Germany.
- 20) Microhaematocrit tubes, Herlev, Denmark.
- 21) Magnet Retriever, PTFE Labware.
- 22) Erlenmeyer flask 2000 and 3000 ml, Pyrex, Germany.

### 3.2 สารเคมี

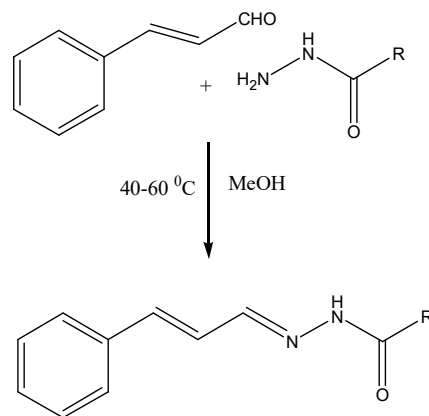
- 1) Brain heart infusion gar, Himedia Laboratories, India.
- 2) Potato dextrose agar, Himedia Laboratories, India.
- 3) Plate count agar, Himedia Laboratories, India.
- 4) Nutrient Agar, Himedia Laboratories, India.
- 5) Soil Extract Agar, Himedia Laboratories, India.
- 6) Agar powder, Himedia Laboratories, India.
- 7) Ammonium sulphate, iron (II) sulfate-6-hydrate, Merck, Germany.
- 8) L-Asparagine anhydrous, AR grade, Fluka Biochemica, Switzerland.
- 9) Magnesium sulfate heptahydrate, Fluka Biochemica, Switzerland.
- 10) Potassium dihydrogen phosphate, Fluka Chemica, Switzerland.
- 11) Potassium iodide, Ajax Chemicals, Australia.
- 12) Sucrose, Merck, Germany.
- 13) N-(1-naphthyl)-ethylenediamine, Serva Fein Bio Chemica GmbH and Co.KG, Germany.
- 14) Sodium hydroxide, Ajax Chemicals, Australia.
- 15) N,N-Dimethylformamide, Ajax Finechem, New Zealand.
- 16) Methanol, BDH Laboratory Supplies Pools, England.
- 17) Dimethyl sulphoxide, Sigma-Aldrich Laborchemikakien GmbH, Germany.
- 18) Potassium chloride, Ajax Finechem, New Zealand.
- 19) 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, Fluka Chemica, Switzerland.
- 20) Silica gel for TLC (Al plate), Merck, Germany.
- 21) Silica gel for column, Merck, Germany.
- 22) Ferrous chloride tetrahydrate, Fluka, Germany.
- 23) Ferric chloride anhydrous, Fluka Chemica, Germany.
- 24) สารละลายไอโอดีน
- 25) Ethyl alcohol, Carlo Erba, France.
- 26) Sulfuric acid, Mallinckrodt, USA.
- 27) Hydrochloric acid, Carlo Erba, USA.
- 28) Di-sodium hydrogenphosphate dihydrate, Fluka Garantie, Switzerland.
- 29) Citric acid, Ajax Chemicals, Australia.

- 30) Acetic acid, Carlo Erba, USA.
- 31) 1,10-Phenanthroline, Merck, Germany.
- 32) น้ำกลั่น
- 33) Cinnamaldehyde , Sigma Chemical Co., USA.
- 34) Citronellal, Sigma Chemical Co., USA.
- 35) Silver nitrate, Sigma Chemical Co., USA.
- 36) Copper (II) chloride dihydrate, Sigma Chemical Co., USA.
- 37) Isoniazid, Sigma Chemical Co., USA.
- 38) Thiosemicarbazide, Sigma Chemical Co., USA.
- 39) Semicarbazide, Sigma Chemical Co., USA.

### 3.3 วิธีการทดลอง

#### 3.3.1 การสังเคราะห์ลิแกนด์

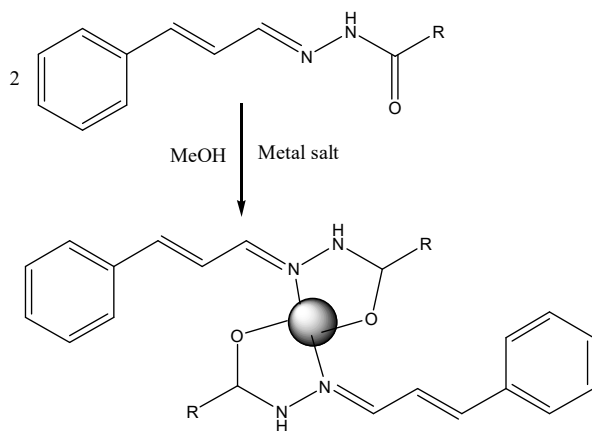
นำสารสกัดสมุนไพร Cinnamaldehyde และ Hydrazides มาควบแน่นระหว่างกัน (Condensation reaction) จะได้อนุพันธ์ของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติตัวใหม่ที่เรียกว่า Natural Schiff bases (หรือ Lewis bases)



แผนภาพทั่วไปสำหรับการสังเคราะห์ Novel natural Schiff bases

#### 3.3.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโน

นำสาร Natural Schiff bases ทั้งหมดในขั้นที่ 2 ไปรีดิวส์ (Reduce) เกลือของโลหะ 2 ชนิด คือ เกลือของโลหะเงิน (Ag) และทองแดง (Cu) ซึ่งจะได้อนุภาคนาโนที่แบ่งตามตัวรีดิวส์ได้อย่างน้อย 3 ชนิด ดังแผนภาพข้างล่าง



แผนภาพทั่วไปของการสังเคราะห์อนุภาคนาโน

### 3.3.3 การศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์

นำสารที่สังเคราะห์ได้ทั้งหมดมาศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ (Physicochemical properties) โดยใช้เทคนิคที่สำคัญต่างๆ ดังต่อไปนี้

#### IR spectroscopy

Infrared spectra วัดด้วยเทคนิคโพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr) ด้วยเครื่อง Perkin Elmer infrared spectrophotometer ที่ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

#### การศึกษาธาตุที่เป็นองค์ประกอบของสารที่สังเคราะห์ได้ (Compositional studies)

วิเคราะห์หาธาตุ Carbon, Hydrogen และ Nitrogen ในลิแกนด์ และสารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง CHNS Analyser (Perkin Elmer PE2400 Series II)

ที่ Scientific and Technological Research Equipment Center จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ

#### วัดสมบัติการนำไฟฟ้า (Conductivity measurement)

เตรียมสารละลายที่ต้องการวัดค่าการนำไฟฟ้าที่ความเข้มข้น 0.001 M ใน dimethyl sulfoxide (DMSO) ด้วยเครื่อง Microprocessor Conductivity Meter LF 3000 WTW, Germany ที่ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

### 3.3.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

#### 1) การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อรา

การเตรียมอาหารเพื่อทำการทดสอบความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยใช้อาหารสำเร็จรูป Potato dextrose agar สามารถเตรียมได้โดยการชั่งอาหารสำเร็จรูป 26 g ละลายในน้ำกลั่น 500 mL แล้วนำไปต้มจนอาหารละลายหมด จากนั้นเทอาหารลงในขวดรูปชมพู่แล้วทำ

การฆ่าเชื้อโดยใช้เครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121° C เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำ หามาเทใส่จานเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (ต้องทำในเครื่อง Lamina air flow เพื่อป้องกันการปนเปื้อนเชื้อที่อยู่ในอากาศ)

## 2) การเตรียมสารตัวอย่างเพื่อนำไปทดสอบความสามารถต้าน

### การเจริญเติบโตของเชื้อรา

ในการทดสอบความสามารถต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยนำสารตัวอย่างแต่ละชนิดมาเตรียมเป็นความเข้มข้น 100, 80, 60, 40 และ 20 ppm โดยชั่งสารตัวอย่างมา 0.0050 g ปรับปริมาตรด้วย DMSO (Dimethyl sulfoxide) 50 mL

ปิเปตสารตัวอย่างลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ที่ความเข้มข้นดังต่อไปนี้

ความเข้มข้น 20 ppm ปิเปต 2 mL ปรับปริมาตรเป็น 10 mL

ความเข้มข้น 40 ppm ปิเปต 4 mL ปรับปริมาตรเป็น 10 mL

ความเข้มข้น 60 ppm ปิเปต 6 mL ปรับปริมาตรเป็น 10 mL

ความเข้มข้น 80 ppm ปิเปต 8 mL ปรับปริมาตรเป็น 10 mL

นำ paper disc วางบนแผ่นกระดาษที่เหลื่อมแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ แล้วใช้ ไมโครปิเปต ปิเปตสารตัวอย่าง 20 µl ลงบน paper disc ในแต่ละความเข้มข้น แล้วนำ paper disc เก็บไว้ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวางบนเชื้อที่เตรียมไว้ข้างต้นตามความเข้มข้นที่กำหนดไว้ในข้างต้น

นำเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

วัด Clear Zone และบันทึกผล

## 3) การต้านเพรียแบ็ง

นำสารตัวอย่างมาเตรียมความเข้มข้นต่างๆ เช่น 100, 80, 60, 40 และ 20 ppm ตามลำดับ แล้วนำไปพ่นใส่เพรียที่เก็บไว้ในกล่อง ซึ่งป้องกันการแพร่กระจายของเพรียไปยังท้องถิ่นอื่นๆ

### 3.3.5 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ

ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Vero cells) โดยเติม Vero cells  $45 \mu\text{l}$  ( $3.3 \times 10^4$  cells/ml) ลงในแต่ละหลุมของ 384-well plates ที่มีสารตัวอย่างอยู่  $5 \mu\text{l}$  เจือจางด้วย DMSO 0.5 % แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C มี CO<sub>2</sub> 5 % เป็นเวลา 4 วันแล้ววัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ (excitation ที่ 485 nm และ emission ที่ 535 nm) สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับค่าการตอบสนองของเซลล์เพื่อหา IC<sub>50</sub>

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 4.1 บทนำ

ใน

บทนี้คณะผู้วิจัยได้เก็บรวบรวมข้อมูลที่สำคัญในด้านต่างๆ จากการทดลองดังนี้

1. ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์
2. ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH
3. ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP
4. ผลการทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อราโรคพืช
5. ผลการทดสอบความสามารถในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย
6. ผลการทดสอบความสามารถในการฆ่าเชื้อไวรัส

#### 4.2 ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์

สมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ที่สำคัญของสารประกอบทั้งที่เป็นลิแกนด์ Cinnamaldehyde-Sal, Cinnamaldehyde-INH ได้แก่ สาร L1 และ L2 และสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างลิแกนด์เหล่านี้เมื่อนำไปคอนจูเกตกับ Cu และ Ag จะได้สารใหม่เกิดขึ้นซึ่งได้แก่ สาร C1, C2, C3 และ C4 สารประกอบที่สังเคราะห์ได้จะมีสี สุตระโมเลกุล จุดหลอมเหลว เปอร์เซ็นต์ของธาตุองค์ประกอบ และผลผลิตร้อยละที่แตกต่างกันไป ดังรายละเอียดในตารางที่ 4.1, 4.2 และ 4.3 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 สมบัติทางกายภาพของสารที่สังเคราะห์ได้



ชื่อสามัญ	รหัส	สูตรโมเลกุล	จุดหลอมเหลว (°C)	สีของสารตัวอย่าง
1. Cin-Sal	L1	$C_{16}H_{16}N_2O_3$	190.8	สีเหลือง
2. Cin-INH	L2	$C_{15}H_{15}N_3O_2$	200.4	สีเหลืองแกรมส้ม
3. Cin-Sal-Ag	C1	$[C_{16}H_{16}N_2O_3AgNO_3 (H_2O)]$	195.4	สีเทา
4. Cin-Sal-Cu	C2	$[C_{16}H_{16}N_2O_3CuCl_2 (H_2O)]$	210.2	สีเหลืองแกรมเขียว
5. Cin-INH-Ag	C3	$[C_{15}H_{15}N_3O_2AgNO_3 (H_2O)]$	232.8	สีเหลืองแกรมเขียว
6. Cin-INH-Cu	C4	$[C_{15}H_{15}N_3O_2CuCl_2 (H_2O)]$	255.1	สีเหลือง

จากตารางที่ 4.1 พบว่า สามารถสังเคราะห์สารที่เป็นลิแกนด์ได้ทั้งหมด 2 ตัว โดยนำสาร Cinnamaldehyde ซึ่งเป็นสารกลุ่มแอลดีไฮด์ มาควบแน่นกับหมู่เอมีน คือ Salicylic hydrazide และ Isoniazid ได้สารที่เป็นนาโนอินทรีย์หรือลิแกนด์ 2 ชนิด ซึ่งกำหนดให้เป็น L1 และ L2 โดยสาร L1 มีจุดหลอมเหลวที่ 190.8 °C มีสีเหลือง ส่วนสาร L2 มีจุดหลอมเหลว 200.4 °C มีสีเหลืองแกรมส้ม จากนั้นนำสารที่เป็นนาโนอินทรีย์หรือลิแกนด์ทั้ง 2 ชนิดนี้ไปคอนจูเกตกับเกลือของโลหะซิลเวอร์ในเตรดและคอปเปอร์คลอไรด์ ได้สารที่เป็นนาโนโลหะอินทรีย์ 4 ชนิด ซึ่งกำหนดรหัสอย่างง่ายเป็นสาร C1, C2, C3 และ C4 เมื่อสาร L1 คอนจูเกตกับซิลเวอร์ในเตรดได้เป็นสารนาโนโลหะอินทรีย์ C1 มีจุดหลอมเหลว 195.4 °C สีของสารเป็นสีเทา แต่เมื่อสาร L1 คอนจูเกตกับคอปเปอร์คลอไรด์ จะได้สารนาโนโลหะอินทรีย์ C2 มีจุดหลอมเหลว 210.2 °C สารมีสีเหลืองแกรมเขียว ส่วนสาร L2 คอนจูเกตกับซิลเวอร์ในเตรดได้เป็นสารนาโนโลหะอินทรีย์ คือ สาร C3 มีจุดหลอมเหลว 232.8 °C สารมีสีเหลืองแกรมเขียวและเมื่อสาร L2 คอนจูเกตกับ คอปเปอร์คลอไรด์ได้เป็นสารนาโนโลหะอินทรีย์ คือ สาร C4 มีจุดหลอมเหลว 255.1 °C สารมีสีเหลือง ดังนั้นสารทั้ง 6 ชนิด จะมี จุดหลอมเหลวและสีของสารที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.2 ลักษณะ การละลายและการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

สาร	การละลาย (อุณหภูมิห้อง)	$\lambda_{max}$
-----	-------------------------	-----------------

ตัวอย่าง	สถานะ	DMSO	DMF	Methanol	Ethanol	H <sub>2</sub> O	(nm)
L1	ผลึก	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	353
L2	ผลึก	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	368
C1	ของแข็ง	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	353
C2	ผลึก	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	413
C3	ผลึก	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	349
C4	ของแข็ง	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	384

จากตารางที่ 4.2 พบว่า สาร L1, L2, C2 และ C3 มีลักษณะเป็นผลึก สำหรับสาร C1 และ C4 มีลักษณะเป็นของแข็ง (Amorphous solid powder) และสมบัติการละลายในตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วที่แตกต่างกัน คือ DMSO, DMF, Methanol, Ethanol และ H<sub>2</sub>O พบว่า สารทั้ง 6 ชนิด สามารถละลายได้ในตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด สำหรับค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุด ( $\lambda_{max}$ ) ของสารแต่ละชนิด พบว่า สาร L1 มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ 353 nm สาร L2 มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ 368 nm สาร C1 มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ 353 nm สาร C2 มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ 413 nm สาร C3 มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ 349 nm สาร C4 มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ 384 nm จะเห็นว่าสารตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้มีสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์เฉพาะตัวและแตกต่างกัน

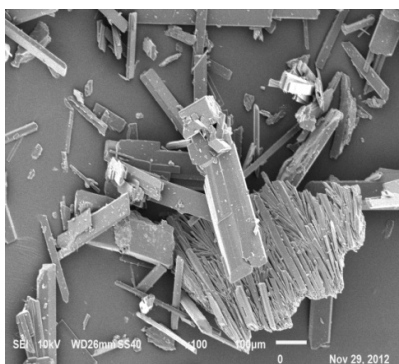
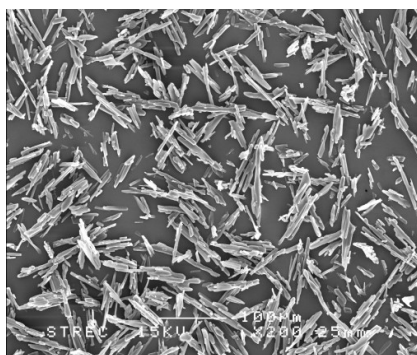
ตารางที่ 4.3 ผลผลิตร้อยละ (% yield) และ Elemental analysis ของสารที่ได้จากการสังเคราะห์

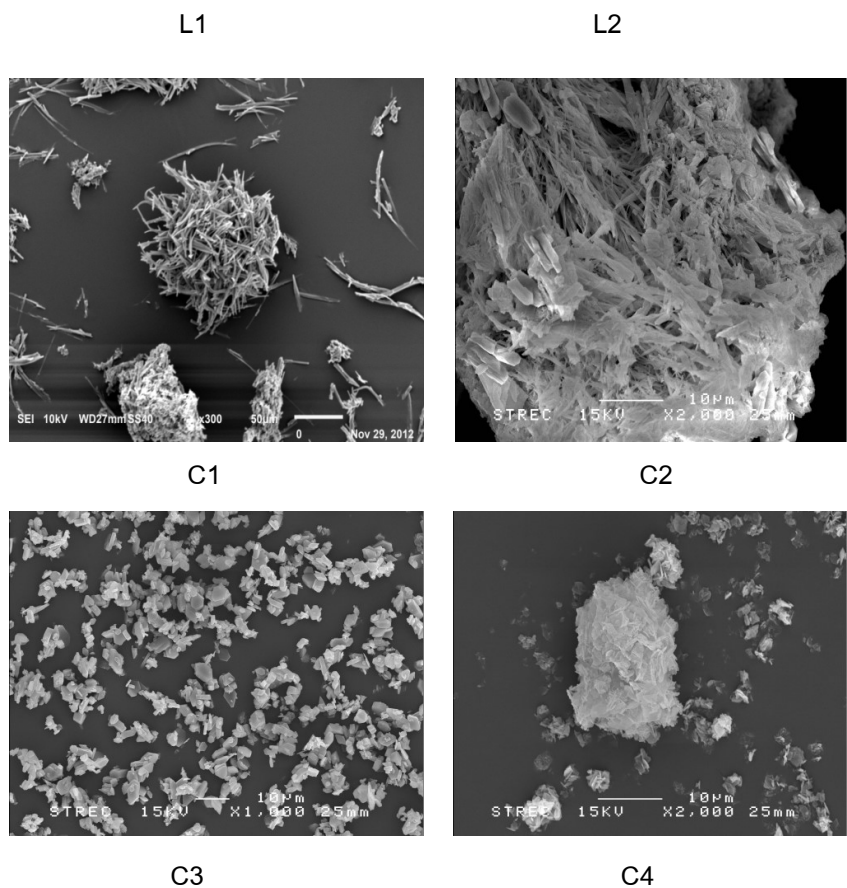
รหัสตัวอย่าง ง่าย	ผลผลิตร้อยละ	% C		% H		% N	
		Cal.	Found	Cal.	Found	Cal.	Found
L1	93.72	72.60	72.63	5.63	5.48	9.86	10.63
L2	90.85	66.91	67.02	5.57	5.45	15.61	15.56
C1	80.28	42.30	42.45	3.52	3.23	6.17	6.21
C2	87.42	32.24	32.83	3.52	3.22	3.16	3.36
C3	84.60	43.01	43.51	2.41	2.45	9.57	13.36
C4	82.14	45.95	46.19	3.41	2.83	9.56	10.49

จากตารางที่ 4.3 พบว่า สารตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้แต่ละชนิดมีค่าผลผลิตร้อยละ มากกว่า 80 % ขึ้นไป โดยสารที่มีผลผลิตร้อยละ 90 % ขึ้นไปมี 2 ชนิด คือ สาร L1 และ L2 ส่วนสารที่มีผลผลิตร้อยละ 80 % ขึ้นไปมี 4 ชนิด คือ สาร C1, C2, C3 และ C4 ซึ่งค่าของผลผลิตร้อยละที่แตกต่างกันนั้นอาจขึ้นอยู่กับวิธีการสังเคราะห์ ขั้นตอนการละลายตัวทำละลายของสารที่สังเคราะห์ได้ การตรวจสอบคุณสมบัติของปฏิกิริยา ตลอดจนความระมัดระวังในการเก็บสารตัวอย่าง จึงทำให้ค่าของผลผลิตร้อยละที่ได้แตกต่างกันและสารแต่ละชนิดมี มวลโมเลกุล เปอร์เซ็นต์ธาตุองค์ประกอบ (% C, % H, และ % N) แตกต่างกันทั้งขึ้นอยู่กับมวลโมเลกุลของสารใหม่ที่สังเคราะห์ได้

#### 4.3 ผลการศึกษาขนาดอนุภาคและมอร์โฟโลยี

เมื่อนำสารที่ได้ไปวัดขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง Laser Scattering Size Distribution Analyzer พบว่า L1 มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 86 nm, L2 มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 112 nm, C1 มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 48 nm, C2 มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 60 nm, C3 มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 61 nm และ C4 มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 62 nm และภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning electron microscope, SEM รุ่น JSM 6400) เป็นดังนี้





ภาพที่ 4.1 ลักษณะมอร์โฟโลยีของสารตัวอย่าง

โดยสารตัวอย่าง L1 และ C1 มีรูปร่างผลึกแบบเข็มขนาดเล็ก (Fine needles), L2 มีรูปร่างผลึกแบบเข็ม สำหรับ C2 มีรูปร่างผลึกแบบเข็มคล้ายเส้นไหม (Silky needles) ส่วน C3 และ C4 มีรูปร่างผลึกแบบหกเหลี่ยม (Hexagonal crystals)

**4.4 ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH** ผล การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง โดยวิธี DPPH แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ การจับกับอนุมูลอิสระ (% Scavenging effect) ซึ่งเป็นผลจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายของ อนุมูลอิสระมาตรฐาน (DPPH) กับสารตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{max}$  520

nm ซึ่งเป็นค่าความยาวคลื่น (Wave length) ที่สารละลาย DPPH สามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุด ดังนั้นค่าการดูดกลืนแสงของสาร DPPH เปลี่ยนแปลงไป แสดงว่าสารตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้มีสมบัติเป็นแอนติออกซิแดนต์ โดยการเข้าทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH ทำให้ DPPH free radical ได้รับความเสียหายจากค่าการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{max}$  520 nm จะลดลงแล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไป จะทำให้ทราบค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารแต่ละชนิดด้วยเทคนิค DPPH

ชนิด	ความ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว		Radical
------	------	----------------------------	--	---------

ของสาร	เข้มข้น (ppm)	คลื่นที่ 520 nm			$\bar{x} \pm SD$	Scavenging activity (%)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
L1	20	1.704	1.721	1.689	1.705±0.016	1.917
	40	1.682	1.700	1.727	1.703±0.023	2.013
	60	1.706	1.667	1.687	1.687±0.020	2.953
	80	1.687	1.697	1.659	1.681±0.020	3.279
	100	1.660	1.665	1.685	1.670±0.013	3.912
L2	20	1.313	1.294	1.299	1.302±0.010	25.086
	40	1.331	1.269	1.289	1.296±0.032	25.412
	60	1.274	1.259	1.234	1.256±0.020	27.752
	80	1.228	1.261	1.246	1.245±0.017	28.365
	100	1.214	1.190	1.204	1.203±0.012	30.801
C1	20	1.242	1.175	1.160	1.192±0.044	31.396
	40	1.178	1.186	1.189	1.184±0.006	31.856
	60	1.154	1.176	1.177	1.169±0.013	32.738
	80	1.155	1.183	1.160	1.166±0.015	32.911
	100	1.164	1.159	1.157	1.160±0.004	33.256
C2	20	1.460	1.462	1.463	1.462±0.002	15.899
	40	1.446	1.467	1.459	1.457±0.011	16.148
	60	1.450	1.452	1.455	1.452±0.003	16.436
	80	1.456	1.436	1.446	1.446±0.010	16.800
	100	1.439	1.430	1.436	1.435±0.005	17.433
C3	20	1.199	1.197	1.197	1.198±0.001	24.911
	40	1.175	1.199	1.199	1.191±0.014	25.329
	60	1.196	1.195	1.170	1.187±0.015	25.579
	80	1.120	1.129	1.129	1.126±0.005	29.404
	100	1.176	0.122	1.182	0.827±0.610	48.171

ตารางที่ 4.4 ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารแต่ละชนิดด้วยเทคนิค

DPPH (ต่อ)

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 520 nm	Radical Scavenging
------------	-------------------	---	--------------------

		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	$\bar{x} \pm SD$	activity (%)
C4	20	1.178	1.165	1.158	1.167±0.010	26.833
	40	1.128	1.127	1.112	1.122±0.009	29.634
	60	1.103	1.080	1.100	1.094±0.013	31.389
	80	1.073	1.101	1.100	1.091±0.016	31.577
	100	1.013	1.099	1.098	1.070±0.049	32.915

ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้ทั้ง 6 ชนิดสามารถแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ตั้งแต่ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ppm ตามลำดับสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ในเปอร์เซ็นต์ที่สูงและเมื่อความเข้มข้นของสารตัวอย่างเพิ่มขึ้นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มมากขึ้น โดยสาร L1 จะออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในช่วง 1.670±0.013 ถึง 1.705±0.016 สาร L2 จะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในช่วง 1.203±0.012 ถึง 1.302±0.010 สาร C1 จะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในช่วง 1.160±0.004 ถึง 1.192±0.044 สาร C2 จะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในช่วง 1.435±0.005 ถึง 1.462±0.002

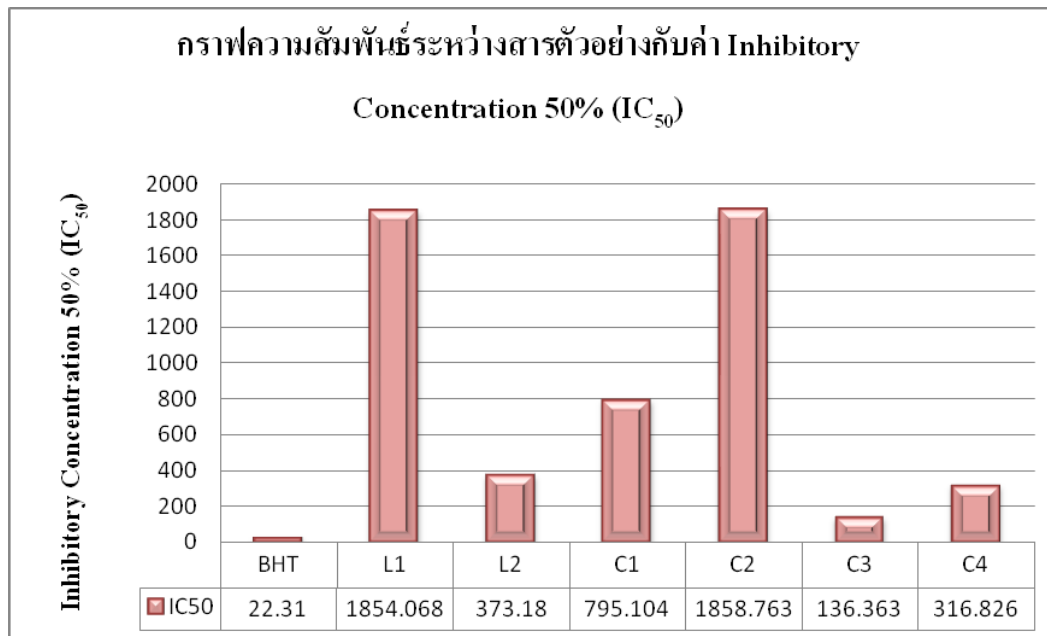
สาร C3 จะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในช่วง 0.827±0.610 ถึง 1.198±0.001 สาร C4 จะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในช่วง 1.070±0.049 ถึง 1.167±0.010 แสดงว่า สารตัวอย่างออกฤทธิ์ในลักษณะที่เรียกว่า Concentration dependence เมื่อนำค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมาสร้างกราฟเปรียบเทียบกับความเข้มข้นจะได้กราฟเป็นเส้นตรง

ตารางที่ 4.5 แสดงค่า IC<sub>50</sub> ของสารตัวอย่างในการต้านอนุมูลอิสระ

สารตัวอย่าง	IC <sub>50</sub> (Inhibitory Concentration 50%)
L1	1,854.068
L2	373.180
C1	795.104
C2	1,858.763
C3	136.363
C4	316.826
BHT	22.310

จากตารางที่ 4.5 พบว่า เมื่อนำค่า % Radical scavenging มาสร้างเป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % Radical scavenging กับความเข้มข้น เพื่อหา Inhibitory concentration 50% (IC<sub>50</sub>) ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง 50% ในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สาร C3 มีค่า Inhibitory concentration 50% (IC<sub>50</sub>) น้อยที่สุดแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีเมื่อเทียบกับสาร Butylated hydroxytoluene (BHT) ซึ่ง

เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน ลองลงมาคือ สาร C4, L2, C1, L1 และ C2 ตามลำดับ เพื่อให้เห็นภาพชัดเจนคณะผู้วิจัยจึงได้นำค่า Inhibitory Concentration 50% (IC<sub>50</sub>) มาสร้างกราฟเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานดังภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารตัวอย่างกับค่า Inhibitory Concentration 50% (IC<sub>50</sub>)

#### 4.5 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

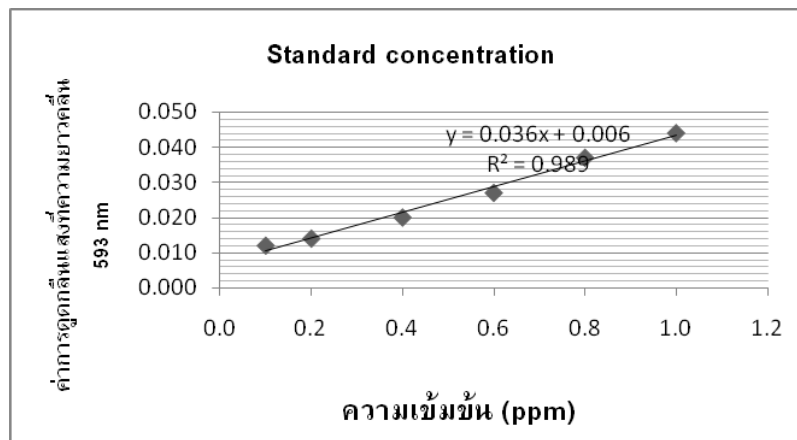
การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP เป็นวิธีวัดประสิทธิภาพของสารตัวอย่างในการต้านอนุมูลอิสระจากการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ Ferric ion (Fe<sup>3+</sup>) ให้เป็น Ferrous ion (Fe<sup>2+</sup>) โดยสารตั้งต้นของปฏิกิริยานี้รวมเรียกว่า FRAP reagents ทำปฏิกิริยาเกิดเป็นสารเชิงซ้อนกับ FeCl<sub>3</sub> ได้เป็น Fe<sup>3+</sup> เมื่อสารเชิงซ้อนนี้ถูกรีดิวซ์ด้วยสารต้านอนุมูลอิสระจะได้สารประกอบเชิงซ้อน Fe<sup>2+</sup> เกิดขึ้นซึ่งวัดการเปลี่ยนแปลงได้ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm เมื่อนำสารละลายมาตรฐาน Iron (II) sulphate เตรียมเป็นความเข้มข้นต่าง ๆ เช่น 100, 80, 60 40 และ 20 (ppm) ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm จะได้ค่าการดูดกลืนแสง ดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ค่ามาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี FRAP

Standard concentration (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm
------------------------------	--



0.0	0.000
0.1	0.012
0.2	0.014
0.4	0.020
0.6	0.027
0.8	0.037
1.0	0.044



ภาพที่ 4.3 กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี FRAP

ตารางที่ 4.7 ปริมาณของ  $Fe^{2+}$  ที่ได้จากการรีดิวซ์  $Fe^{3+}$  โดยสารตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm			$\bar{x} \pm SD$	ปริมาณของ $Fe^{2+}$ (ppm)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
L1	100	0.192	0.195	0.243	$0.210 \pm 0.029$	5.567
	80	0.170	0.165	0.149	$0.161 \pm 0.011$	4.224
	60	0.129	0.122	0.115	$0.122 \pm 0.007$	3.156
	40	0.102	0.101	0.094	$0.099 \pm 0.004$	2.526

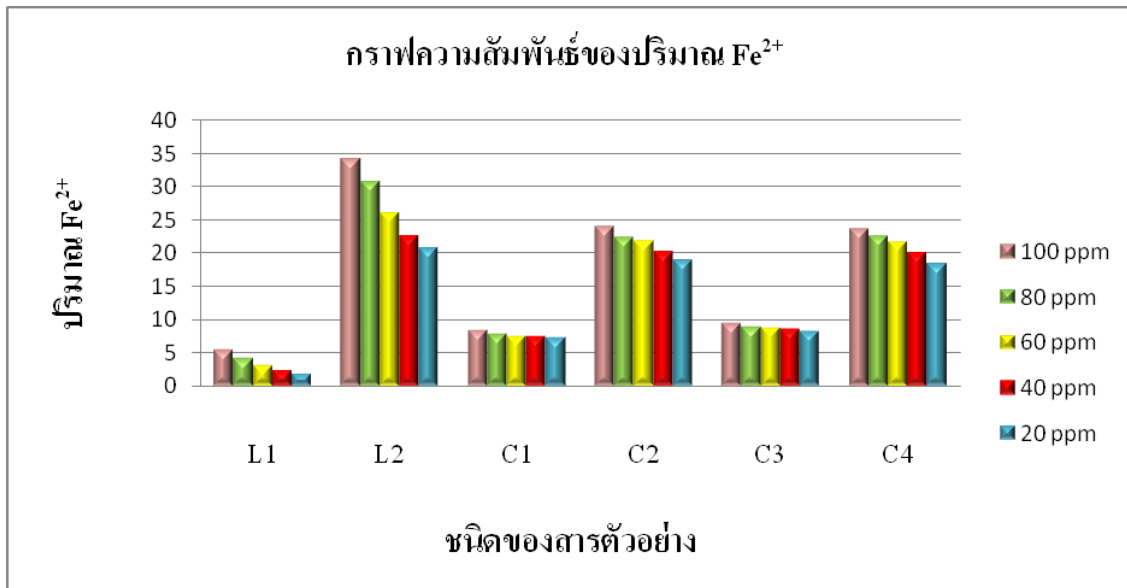
	20	0.075	0.085	0.068	0.076±0.009	1.895
L2	100	1.261	1.203	1.294	1.253±0.046	34.142
	80	1.125	1.127	1.145	1.132±0.011	30.827
	60	0.833	1.004	1.035	0.957±0.109	26.032
	40	0.763	0.867	0.862	0.831±0.059	22.580
	20	0.816	0.742	0.746	0.768±0.042	20.854
C1	100	0.319	0.305	0.330	0.318±0.013	8.526
	80	0.295	0.293	0.290	0.293±0.003	7.841
	60	0.288	0.287	0.289	0.288±0.001	7.604
	40	0.283	0.284	0.283	0.283±0.001	7.567
	20	0.280	0.262	0.276	0.273±0.009	7.293
C2	100	0.883	0.887	0.874	0.881±0.005	23.950
	80	0.837	0.820	0.820	0.825±0.008	22.416
	60	0.814	0.810	0.790	0.804±0.010	21.841
	40	0.745	0.726	0.760	0.743±0.013	20.169
	20	0.701	0.697	0.691	0.696±0.004	18.882
C3	100	0.354	0.351	0.366	0.357±0.008	9.542
	80	0.335	0.332	0.333	0.333±0.002	8.936
	60	0.328	0.329	0.325	0.327±0.002	8.772
	40	0.322	0.325	0.322	0.323±0.002	8.635
	20	0.316	0.314	0.303	0.311±0.007	8.334

ตารางที่ 4.7 ปริมาณของ Fe<sup>2+</sup> ที่ได้จากการรีดิวซ์ Fe<sup>3+</sup> โดยสารตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP (ต่อ)

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm			$\bar{x} \pm SD$	ปริมาณของ Fe <sup>2+</sup> (ppm)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
C4	100	0.868	0.845	0.892	0.868±0.024	23.594
	80	0.833	0.824	0.839	0.832±0.008	22.608
	60	0.797	0.790	0.797	0.795±0.004	21.594

	40	0.744	0.724	0.742	0.737±0.011	20.005
	20	0.681	0.678	0.677	0.679±0.002	18.416

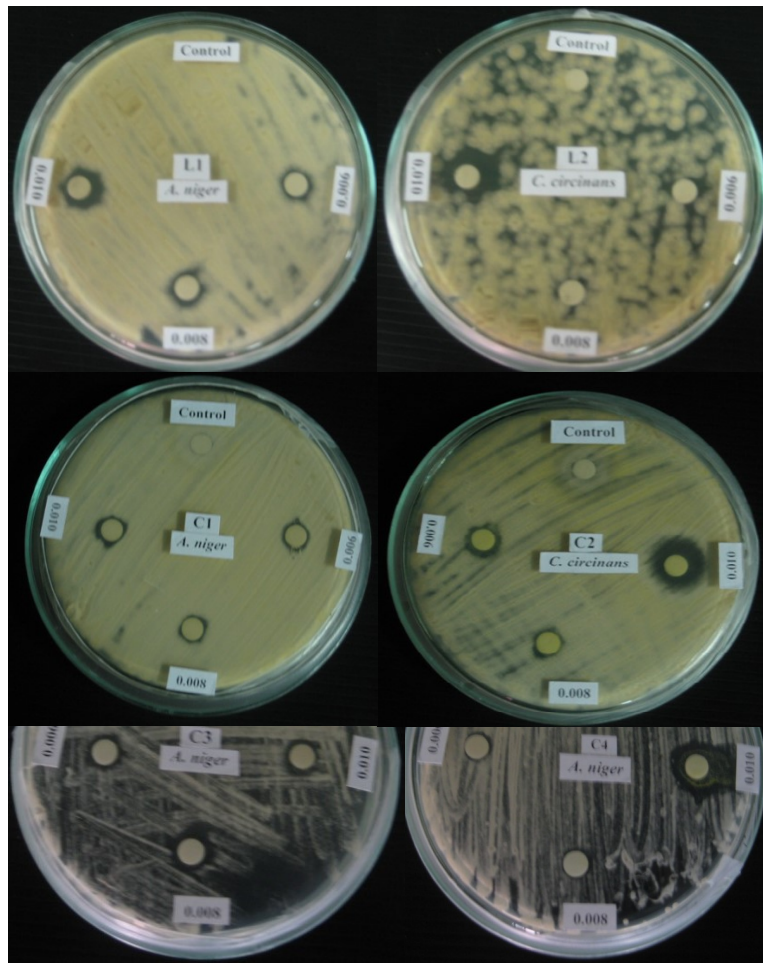
จากตารางที่ 4.7 พบว่า เมื่อนำสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด มาวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP โดยเตรียมสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้นเป็น 100, 80, 60, 40 และ 20 ppm ตามลำดับ พบว่า สารแต่ละชนิดจะมีค่าเฉลี่ยของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ แปรตามความเข้มข้น (Concentration dependence) โดยเมื่อความเข้มข้นมากขึ้นสารตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น และจากตารางยังพบอีกว่า ค่าความเข้มข้นของ  $Fe^{2+}$  ที่ได้จากการรีดิวซ์  $Fe^{3+}$  ของสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน จะเห็นได้ชัดเจนว่า สารตัวอย่างที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP ได้ดีที่สุด คือ สาร L2 แสดงว่ามีความสามารถในการรีดิวซ์  $Fe^{3+}$  ไปเป็น  $Fe^{2+}$  ได้มากกว่าสารชนิดอื่นๆ รองลงมา คือสาร C2, C4, C3, C1 และ L1 ตามลำดับ เพื่อให้เห็นภาพของความสัมพันธ์ที่ชัดเจนของสารตัวอย่างในการรีดิวซ์  $Fe^{3+}$  ไปเป็น  $Fe^{2+}$  คณะผู้วิจัยจึงแสดงความสัมพันธ์ให้เห็นในรูปของกราฟดังภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 ความสัมพันธ์ของปริมาณ  $Fe^{2+}$  ที่ได้จากสารตัวอย่าง สำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค FRAP

#### 4.6 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อราโรคพืช

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อราโรคพืชของสารตัวอย่าง ทำได้โดยการนำสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด มาเตรียมความเข้มข้นเป็น 0.010, 0.008 และ 0.006 Molar ทดสอบการต้านเชื้อราโดยเทคนิค Agar disc diffusion method และใช้เชื้อราโรคพืชจำนวน 3 ชนิด คือ เชื้อรา *A. niger*, *C. circinans* และ *S. sclerotiorum* เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงวัด Clear zone ได้ผลดังภาพที่ 4.5 และตารางที่ 4.8



**ภาพที่ 4.5** การต้านเชื้อราก่อโรคพืชของสารตัวอย่าง L1, L2, C1, C2, C3 และ C4

จากภาพที่ 4.5 พบว่า เมื่อนำสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด มาทดสอบการต้านเชื้อราเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงจะสังเกตเห็นว่าสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด สามารถต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคพืชแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน โดยจะสังเกตลักษณะและวัดขนาดของวง Clear zone ของเชื้อรา สารที่ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดีที่สุด คือ สาร C1 ซึ่งสามารถต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ทั้ง 3 ความเข้มข้นเมื่อวัดขนาดวง Clear zone จะมีขนาดใหญ่กว่าสารตัวอย่างชนิดอื่น

**ตารางที่ 4.8** ความสามารถการต้านเชื้อราของสารตัวอย่าง

สาร ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (Molar)	Clear zone (mm)		
		<i>A. niger</i>	<i>C.circinans</i>	<i>S. sclerotiorum</i>
L1	control	-	-	-
	0.006	12	7	13
	0.008	13	8	14
	0.010	16	8	15
L2	control	-	-	-
	0.006	10	7	8
	0.008	11	8	13
	0.010	17	10	15
C1	control	-	-	-
	0.006	8	13	10
	0.008	9	22	11
	0.010	10	24	17

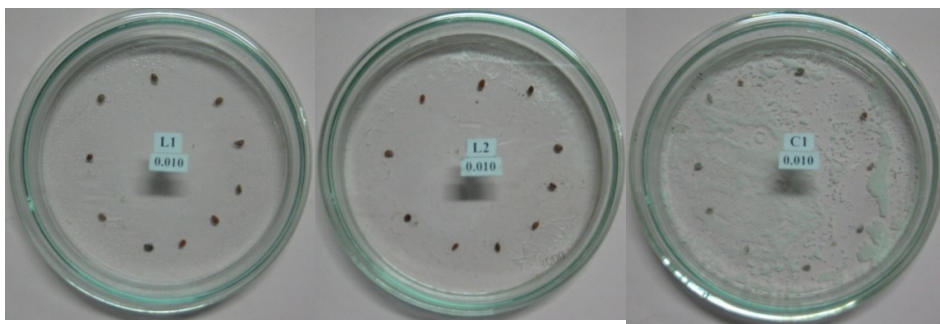
C2	control	-	-	-
	0.006	8	11	8
	0.008	10	10	9
	0.010	12	16	12
C3	control	-	-	-
	0.006	9	8	7
	0.008	10	12	10
	0.010	12	12	11
C4	control	-	-	-
	0.006	8	7	8
	0.008	8	8	8
	0.010	18	9	10

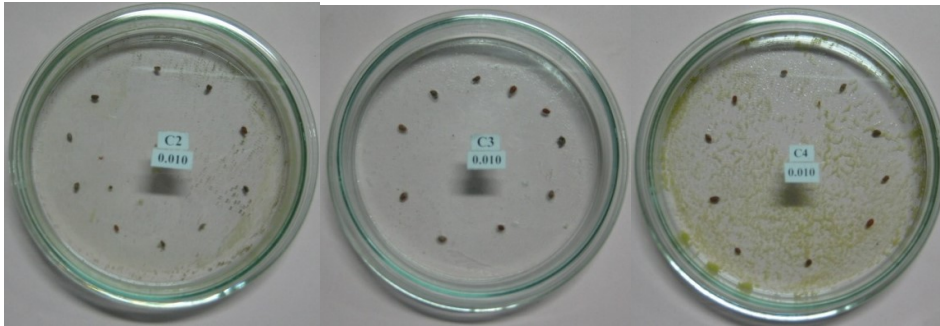
จากตารางที่ 4.8 แสดงความสามารถการต้านเชื้อราโรคของสารตัวอย่าง พบว่า เมื่อนำสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด มาเตรียมเป็นความเข้มข้นต่างๆ เช่น 0.010, 0.008 และ 0.006 ตามลำดับแล้วนำมาทดสอบการต้านเชื้อรา 3 ชนิด เมื่อเวลาผ่านไป 18 ชั่วโมงสารตัวอย่างจะเริ่มต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ตั้งแต่ความเข้มข้นที่ต่ำ และเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง

จะมองเห็นวง Clear Zone ได้อย่างชัดเจน และสารที่เป็นสารนาโนโลหะอินทรีย์ที่สามารถต้านเชื้อรา *C. circinans* และ *S. sclerotiorum* ได้ดีคือสาร C1 และสารที่สามารถต้านการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. niger* ได้ดีที่สุดคือสาร C3 ซึ่งปรากฏดังภาพที่ 4.6

#### 4.7 ผลการทดสอบความสามารถในการกำจัดเพลี้ยแป้ง

การทดสอบความสามารถในการกำจัดเพลี้ยแป้งของสารตัวอย่าง โดยนำสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด คือ สาร L1, L2, C1, C2, C3 และ C4 มาทำการทดสอบฤทธิ์การกำจัดเพลี้ยแป้ง โดยการเตรียมสารตัวอย่างแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้นดังนี้คือ 0.010, 0.008 และ 0.006 Molar ตามลำดับ โดยใช้เมทานอลเป็น Negative control แล้วนำสารที่เตรียมไว้ไปฉีดพ่นลงใน Plate ที่มีเพลี้ยแป้ง สังเกตและบันทึกผล จับเวลาตั้งแต่เริ่มฉีดสารตัวอย่างลงบนตัวเพลี้ยแป้งจน เพลี้ยแป้งตาย ปรากฏผลการทดลองดังตารางที่ 4.9





**ภาพที่ 4.6** การต้านเพ็ลลีสแบ็งของสารตัวอย่างที่ได้จากการสังเคราะห์

จากภาพที่ 4.6 แสดงการกำจัดเพ็ลลีสแบ็งของสารตัวอย่างจะพบว่าเมื่อนำเพ็ลลีสแบ็งใส่ลงใน Plate ทั้งหมด 18 Plate ซึ่งแต่ละ Plate มีจำนวนเพ็ลลีสแบ็งเพลดละ 10 ตัว แล้วนำสารตัวอย่างแต่ละชนิดแต่ละความเข้มข้นฉีดพ่นลงใน Plate ที่มีเพ็ลลีสแบ็งอยู่เมื่อเวลาผ่านไป พบว่า แบ็งที่เคลือบตัวเพ็ลลีสแบ็งจะเริ่มหลุดออกแล้วสารตัวอย่างจะเริ่มซึมเข้าไปในตัวของเพ็ลลีสแบ็งอย่างช้าๆ จากนั้นเพ็ลลีสแบ็งจะหดตัวเข้าแล้วจะเริ่มตายลงในเวลาต่อมา

**ตารางที่ 4.9** ความสามารถการต้านเพ็ลลีสแบ็งของสารตัวอย่าง

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้น (Molar)	ระยะเวลาในการกำจัดเพ็ลลีสแบ็ง (นาทีก)					
		5	10	15	20	25	30
L1	Control	-	-	-	-	-	-
	0.010			++	+++		
	0.008				+	+++	
	0.006					+	++
L2	Control	-	-	-	-	-	-
	0.010	+	++	+++			
	0.008		+	++	+++		
	0.006			+	++	+++	
C1	Control	-	-	-	-	-	-
	0.010	+	++	+++			
	0.008		+	+++			
	0.006				+	+++	
C2	Control	-	-	-	-	-	-

	0.010		+	++	+++		
	0.008			+	+	+++	
	0.006			+	+	++	+++
C3	Control	-	-	-	-	-	-
	0.010			++	+++		
	0.008			+	+	++	+++
	0.006					+	++
C4	Control	-	-	-	-	-	-
	0.010			++	+++		
	0.008				++	+++	
	0.006					+	+++

หมายเหตุ: + คือระยะเวลาที่ใช้ในการกำจัดเพ็ลลีย์แบ็ง

++ คือระยะเวลาที่กำจัดเพ็ลลีย์แบ็ง 50 % และ +++ คือระยะเวลาที่กำจัดเพ็ลลีย์แบ็ง 100 %

จากตารางที่ 4.9 แสดงความสามารถการกำจัดเพ็ลลีย์แบ็งของสารตัวอย่างเมื่อพิจารณาการกำจัดเพ็ลลีย์แบ็งของสารทั้ง 6 ชนิด คือ สาร L1, L2, C1, C2, C3, และ C4 พบว่า สารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด สามารถกำจัดเพ็ลลีย์แบ็งได้ทั้งหมดในเวลา 30 นาทีเมื่อพิจารณาความเข้มข้นกับระยะเวลาในการกำจัดเพ็ลลีย์แบ็ง พบว่า สารที่มีความเข้มข้นมากจะใช้เวลาในการกำจัดเพ็ลลีย์แบ็งน้อย และสารที่มีความเข้มข้นน้อยจะทำให้ใช้เวลาในการกำจัดเพ็ลลีย์แบ็งมากขึ้นตามลำดับและสารแต่ละชนิด จะกำจัดเพ็ลลีย์แบ็งได้ในเวลาที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดเพ็ลลีย์แบ็ง จะพบว่า สารตัวอย่าง L2 และ C1 สามารถกำจัดเพ็ลลีย์แบ็งได้ดีที่สุดซึ่งสังเกตจากระยะเวลาในการกำจัดเพ็ลลีย์แบ็งเมื่อเทียบกับสารตัวอย่างแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นเท่ากันซึ่งสาร L2 และ C1 สามารถกำจัดเพ็ลลีย์แบ็งได้ 100 % โดยใช้เวลาเพียง 15 นาที ที่ความเข้มข้น 0.010 Molar สำหรับภาพการต้านเพ็ลลีย์แบ็งของสารแต่ละชนิดแสดงดังภาพที่ 4.6

#### 4.8 ผลการทดสอบความสามารถในการกำจัดเพ็ลลีย์กระโดด

การทดสอบความสามารถการกำจัดเพ็ลลีย์กระโดดของสารตัวอย่าง นำสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด คือ สาร L1, L2, C1, C2, C3, และ C4 โดยการเตรียมสารตัวอย่างแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้นดังนี้คือ 0.010 0.008 และ 0.006 Molar ตามลำดับ ใช้เมทานอลเป็น Negative control แล้วนำสารที่เตรียมไว้ไปฉีดพ่นลงในหลอดทดลองที่มีตัวเพ็ลลีย์กระโดดอยู่ สังเกตและบันทึกผล จับเวลาตั้งแต่เริ่มฉีดสารตัวอย่าง ลงบนตัวเพ็ลลีย์แบ็งจนเพ็ลลีย์แบ็งตาย ปรากฏผลการทดลอง ดังตารางที่ 4.10 และภาพที่ 4.7

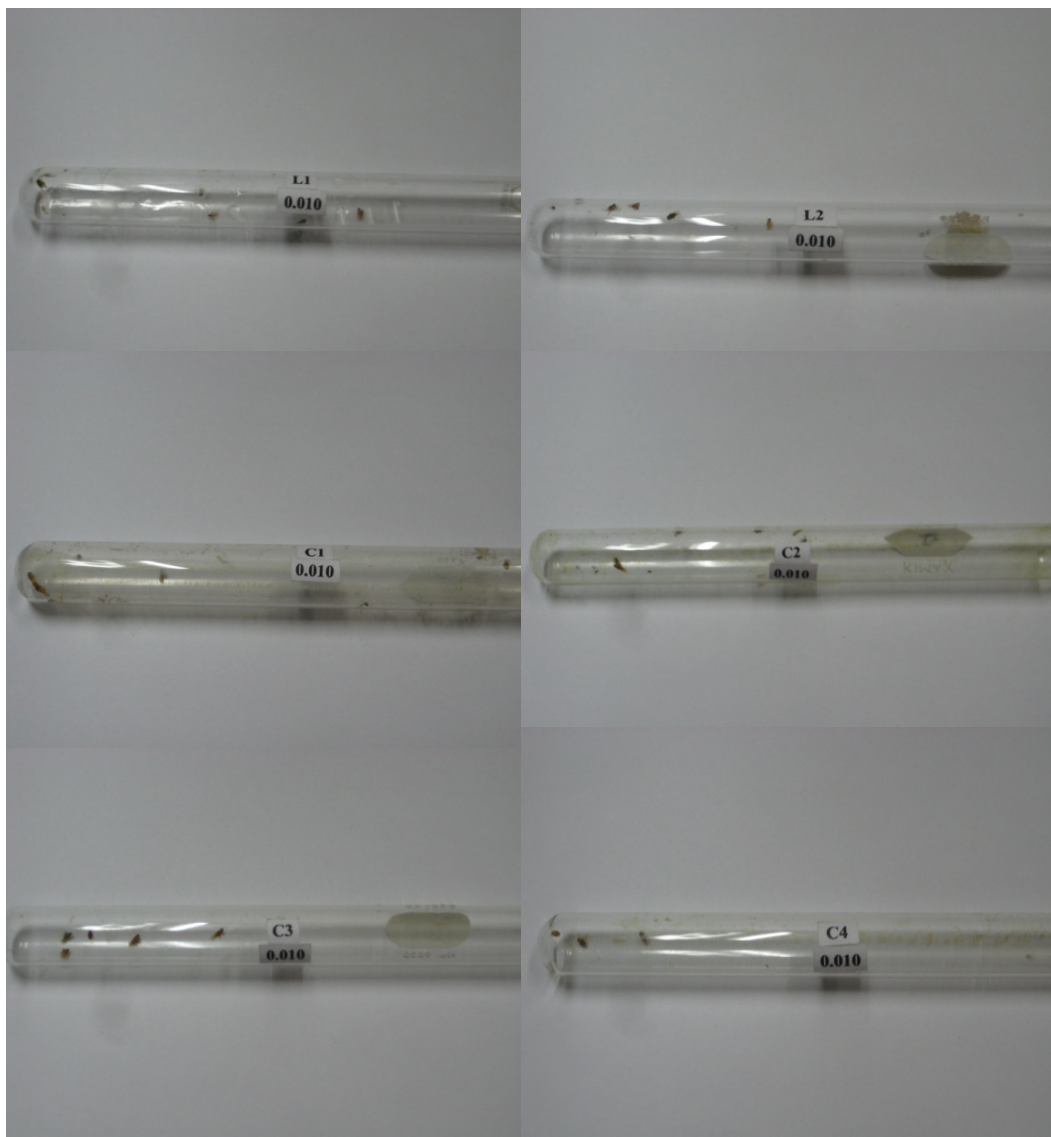




ภาพที่ 4.7 เพลี้ยกระโดดและการทำลายนาข้าวของเพลี้ยกระโดด

จากภาพที่ 4.7 แสดงลักษณะการทำลายต้นข้าวและนาข้าวของเพลี้ยกระโดด ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยทำลายข้าวโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากท่อน้ำท่ออาหารบริเวณโคนต้นข้าวในระยะแรกจะทำให้ต้นข้าวมีอาการใบเหลืองแห้งลักษณะคล้ายถูกน้ำร้อนลวกและแห้งตายส่งผลกระทบต่อเกษตรกรผู้ปลูกข้าว

ในหลายอำเภอของจังหวัดบุรีรัมย์ จากปัญหาดังกล่าวคณะผู้วิจัยจึงได้หาแนวทางในการแก้ปัญหาโดย  
ได้นำสารตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้ทั้ง 6 ชนิดมาทดสอบ  
การกำจัดเพลี้ยกระโดดซึ่งผลการทดลองปรากฏดังตารางที่ 4.10



**ภาพที่ 4.8** ความสามารถการกำจัดเพ็ลี่ยกระโดดของสารตัวอย่าง

จากภาพที่ 4.8 แสดงการต้านเพ็ลี่ยกระโดดของสารตัวอย่าง พบว่า เมื่อจับเพ็ลี่ยกระโดดใส่ในหลอดทดลองทั้งหมดจำนวน 18 หลอด ซึ่งแต่ละหลอดจะมีจำนวนเพ็ลี่ยกระโดด 5 ตัว แล้วนำสารตัวอย่างแต่ละชนิดที่เตรียมไว้ความเข้มข้นต่างๆ ฉีดพ่นลงในหลอดทดลองที่มีเพ็ลี่ยกระโดดอยู่เมื่อระยะเวลาผ่านไป สังเกตได้ว่า สารตัวอย่างจะเริ่มซึมเข้าสู่ตัวของเพ็ลี่ยกระโดดและจะทำให้เพ็ลี่ยกระโดดหยุดการเคลื่อนไหวและเพ็ลี่ยกระโดดจะเริ่มตายลงในเวลาต่อมา

**ตารางที่ 4.10** ความสามารถการกำจัดเพ็ลี่ยกระโดดของสารตัวอย่าง

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้น (Molar)	ระยะเวลาในการกำจัดเพ็ลี่ยกระโดด (นาที)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
L1	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.006		+			++	+++				
	0.008		+		++	+++					
	0.010	+	++		+++						
L2	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.006		+		++	+++					
	0.008	+		++	+++						
	0.010	+	++	+++							
C1	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.006		+		++	+++					
	0.008		+	++	+++						
	0.010	+	++	+++							
C2	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.006			+		++	+++				
	0.008			+	++	+++					
	0.010		+	++	+++						
C3	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.006			+	++		+++				
	0.008		+		++	+++					
	0.010	+		++	+++						

C4	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.006				+	++			+++		
	0.008			+		++		+++			
	0.010			+	++		+++				

หมายเหตุ : + คือระยะเวลาที่ใช้ในการกำจัดเพ็ลี่ยกระโดด

++ คือระยะเวลาที่กำจัดเพ็ลี่ยกระโดด 50 % และ +++ คือระยะเวลาที่กำจัดเพ็ลี่ยกระโดด 100 %

จากตารางที่ 4.10 แสดงความสามารถการกำจัดเพ็ลี่ยกระโดดของสารตัวอย่าง เมื่อพิจารณาการกำจัดเพ็ลี่ยกระโดดของสารทั้ง 6 ชนิด คือ สาร L1, L2, C1, C2, C3, และ C4 พบว่า สารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด สามารถกำจัดเพ็ลี่ยกระโดดได้ทั้งหมดในเวลา 10 นาที เมื่อพิจารณาความเข้มข้นกับระยะเวลาในการกำจัดเพ็ลี่ยกระโดด พบว่า สารแต่ละชนิดเมื่อมีความเข้มข้นมากจะใช้เวลาในการกำจัดเพ็ลี่ยกระโดดน้อยและสารที่มีความเข้มข้นน้อยจะทำให้ใช้เวลาในการกำจัดเพ็ลี่ยกระโดดมากขึ้น (Concentration dependence) และสารแต่ละชนิดจะกำจัดเพ็ลี่ยกระโดดได้ในเวลาที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาโดยการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดเพ็ลี่ยกระโดด พบว่า สารตัวอย่าง L2 และ C1 สามารถกำจัดเพ็ลี่ยกระโดดได้ดีที่สุดสังเกตจากระยะเวลาที่ใช้ในการกำจัดเพ็ลี่ยกระโดด เมื่อเทียบกับสารตัวอย่างชนิดอื่นๆ ที่ความเข้มข้นเท่ากัน สาร L2 และ C1 สามารถกำจัดเพ็ลี่ยกระโดดได้ 100 % โดยใช้เวลาเพียง 3 นาที ที่ความเข้มข้น 0.010 Molar

สรุป ในบทนี้คณะผู้วิจัยได้รายงานถึงผลการสังเคราะห์สารตัวอย่าง ผลการศึกษาสมบัติทางเคมี ฟิสิกส์ ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP ผลการทดสอบความสามารถในการต้าน เชื้อราก่อโรคพืช ผลการทดสอบความสามารถในการต้านเพ็ลี่ยแป้ง ผลการทดสอบความสามารถในการต้านเพ็ลี่ยกระโดดซึ่งสามารถสรุปได้ดังบทที่ 5

## บทที่ 5

### สรุป วิจารณ์ผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 บทนำ

ในบทนี้คณะผู้วิจัยได้สรุปประเด็นต่างๆ ที่ได้จากการทำวิจัย ดังนี้คือ การสังเคราะห์ ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ มอร์โฟโลยี สมบัติทางชีวภาพของอนุพันธ์ผลิตภัณฑ์ (Natural product derivative) ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH และ FRAP assay การต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราโรคพืช (*A. niger*, *C. circinans* และ *S. sclerotiorum*) การต้านการเจริญเติบโตของเพลี้ยแป้ง และเพลี้ยกระโดด ทั้งในห้องปฏิบัติการ ในแปลงทดลอง รวมทั้งการถ่ายทอดเทคโนโลยีและนวัตกรรมนี้สู่ชุมชน

#### 5.2 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลที่ได้จากการสังเคราะห์ทั้งลิแกนด์ (สารนาโนอินทรีย์) และสารประกอบเชิงซ้อนหรือสารนาโนโลหะอินทรีย์ พบว่า ได้ผลผลิตร้อยละที่สูงและอนุภาคที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะเป็นคริสตัล มีรูปร่างและมอร์โฟโลยีที่แตกต่างกัน บางชนิดมีลักษณะเป็นรูปเข็มขนาดเล็ก (L1 และ C1) บางชนิดมีลักษณะเป็นรูปเข็ม (L2) บางชนิดมีรูปร่างแบบเข็มคล้ายเส้นไหม (C2) และบางชนิดมีรูปร่างผลึกแบบหกเหลี่ยม (C3 และ C4) โดยสามารถเรียงลำดับขนาดอนุเฉลี่ยจากเหล็กที่สุดไปหาใหญ่ดังนี้ C2, C3, C4, L1, C1, และ L2 ซึ่งมีค่าอยู่ตั้งแต่ 60, 61, 61, 86, 248 และ 712 nm ตามลำดับ มีจุดหลอมเหลวอยู่ระหว่าง 190.8 ถึง 255.1 °C ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ( $\lambda_{max}$ ) อยู่ระหว่าง 349-413 nm ซึ่งแตกต่างจากค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของอนุมูลอิสระมาตรฐาน DPPH ( $\lambda_{max}$  520 nm) สารตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้ในงานวิจัยนี้จึงสามารถทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH method ได้

เทคนิค DPPH method แสดงให้เห็นว่า อนุภาค C3 มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุดรองลงมาได้แก่ L2 หรือสามารถสรุปได้ว่า อนุภาคนาโนโลหะอินทรีย์มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระเทคนิคนี้สูงกว่าลิแกนด์ ส่วนผลการต้านอนุมูลอิสระเทคนิค FRAP method พบว่า อนุภาค L2 มีประสิทธิภาพในการรีดิวซ์  $Fe^{3+}$  ไปเป็น  $Fe^{2+}$  ได้สูงสุด รองลงมาคือ C2 และ C4 ซึ่งผลการทดสอบฤทธิ์ของสารที่สังเคราะห์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH และ เทคนิค FRAP ที่มีความสัมพันธ์กันน้อย ทั้งนี้เป็นเพราะว่า สารที่มีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กได้ดีอาจจะแสดงสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนไม่ดี (โอบา วัชรคุปต์. 2549) นอกจากนี้ ยังขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายและขนาดของโมเลกุลของสารที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ (มณฑนา ภาณุมาภรณ์. 2552) ดังนั้น

การที่ลิแกนด์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีเพราะมีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีและโมเลกุลไม่เกะกะ (Steric effect) จึงเกิดปฏิกิริยารีดักชันได้ดี

แต่มีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กได้น้อยในเทคนิค FRAP

ผลการต้านเชื้อราก่อโรคพืช (*A. niger*, *C. circinans* และ *S. sclerotiorum*) พบว่า สารตัวอย่างทั้งที่อยู่ในรูปนาโนอินทรีย์และนาโนโลหะอินทรีย์สามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อราก่อโรคพืชทั้งสามชนิดได้ดี แต่สารที่ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดีที่สุด คือ สาร C1 ซึ่งเป็นอนุภาคเงินนาโนที่มีตัวรีดิวซ์เป็น Cinnamaldehyde salicylic hydrazone ligand นั่นคืออนุภาคเงินนาโนต้านเชื้อราก่อโรคพืช *A. niger*, *C. circinans* และ *S. sclerotiorum* ได้ดีกว่าอนุภาคนาโนทองแดง

ผลการต้านเพลี้ยแป้ง พบว่า สารตัวอย่างทั้งหมดสามารถออกฤทธิ์ต้านเพลี้ยแป้งได้ทันทีที่อนุภาคตกถึงตัวเพลี้ยแป้ง โดยแป้งที่อยู่ตามตัวเพลี้ยแป้งจะหลุดออก เพลี้ยแป้งหุดตัวและตายทันที นอกจากนี้ยังพบว่า สารทุกชนิดที่ได้จากงานวิจัยนี้ออกฤทธิ์ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (Dose dependence หรือ Concentration dependence) และสารตัวอย่างที่ออกฤทธิ์ในกำจัดเพลี้ยแป้งได้ดีที่สุด คือ L2 และ C1 ซึ่งสารดังกล่าวนี้ยังสามารถกำจัดเพลี้ยแป้งได้ 100 % โดยใช้เวลาเพียง 15 นาที ที่ความเข้มข้น 0.010 Molar เท่านั้น

ผลการต้านเพลี้ยกระโดด พบว่า สารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด สามารถกำจัดเพลี้ยกระโดดได้ทั้งหมดในเวลา 10 นาที และสารเหล่านี้ยังออกฤทธิ์แบบ Concentration dependence เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดเพลี้ยกระโดด พบว่า สารตัวอย่าง L2 (Cin-INH) และ C1 (Cin-Sal-Ag) สามารถกำจัดเพลี้ยกระโดดได้ดีที่สุด ซึ่งสังเกตจากระยะเวลาที่ใช้ในการกำจัดเพลี้ยกระโดด เมื่อเทียบกับสารตัวอย่างชนิดอื่นๆ ที่ความเข้มข้นเท่ากัน และสาร L2 และ C1 ยังสามารถกำจัดเพลี้ยกระโดดได้ 100 % โดยใช้เวลาเพียง 3 นาที ที่ความเข้มข้น 0.010 Molar

ผลที่ได้จากการวิจัยได้ถ่ายทอดให้กับกลุ่มเกษตรกรที่ปลูกพืชเศรษฐกิจ เช่น หอมแดง มันสำปะหลังและข้าวของจังหวัดบุรีรัมย์ เพื่อลดการใช้ยากำจัดศัตรูพืชที่มีพิษรุนแรงและตกค้างในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลานาน

### 5.3 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการนำองค์ความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยีมาใช้ในการเกษตร ซึ่งถือเป็นการวิจัยที่แปลกใหม่ของประเทศไทย หลักการ ทฤษฎีรวมทั้งผลที่ได้จากการวิจัยยังสามารถถูกถ่ายทอดให้กับเกษตรกร จึงถือเป็นการวางรากฐาน ให้ความรู้และในขณะเดียวกันยังเป็นการสร้างความตระหนักให้กับเกษตรกรได้รับประโยชน์ รู้ทันเทคโนโลยีใหม่ และป้องกันการถูกหลอกจากพ่อค้าคนกลางบางกลุ่มได้อีกด้วย สิ่งสำคัญและจำเป็นที่จะต้องดำเนินการต่อไปอีก มีดังนี้

#### 5.3.1 ควรวิจัยผลิตภัณฑ์ในกลุ่มนี้กับการรักษาโรคพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นๆ อีก เช่น

โรคแคงเกอร์ของพืชตระกูลส้มและมะนาวที่ระบาดหนักอยู่ทั่วทุกภาคในขณะนี้ รวมทั้งโรคที่เกิดกับมะเขือ ค่ะน้ำ ถั่วและพริกชนิดต่างๆ

5.3.2 วิจัยเพื่อต่อยอดให้ได้ผลิตภัณฑ์และบรรจุภัณฑ์ที่สะดวกต่อการใช้ประโยชน์

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม



การระบาดของเพลี้ยแป้งปี 53. (2553). ค้นเมื่อ 3 เมษายน 2555 ค้นจาก

[http://www.tapiocathai.org/pdf/MealyBug/5\\_bug.pdf](http://www.tapiocathai.org/pdf/MealyBug/5_bug.pdf)

การระบาดของเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง. (2555 : 1) ค้นเมื่อ 5 เมษายน 2555 ค้นจาก

<http://www.moac.go.th>

จิระเดช แจ่มสว่าง. ค้นเมื่อ 15 มกราคม 2555 ค้นจาก

<http://www.thaigreenagro.com/Article.aspx?id=1768&keyword=hydroponic> 2009.

ณัฐพันธุ์ ศุกกา และ วราภรณ์ ธีรสิริ. (2549). นาโนเทคโนโลยี. กรุงเทพฯ : ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ.

เนืองพนิช สินชัยศรี และสาทร สิริสิงห์. (2548). ข้อเท็จจริง การใช้สารเคมี กับ การพัฒนาเกษตร ไทย. กรุงเทพฯ : มุลินธิมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เยาวพา สุวัตติ. (2009). ค้นจาก <http://www.gpo.or.th/rdi/html/microbe.html>

ปิยนุช ทองผาสุก. (2550). ผลของรังสีแกมมาต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชัน. ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีนิวเคลียร์ครั้งที่ 10 : 16-17 สิงหาคม 2550. กรุงเทพฯ : ศูนย์วิทยาศาสตร์.

พรณี เต็นรุ่งเรือง. (2550). “ฤทธิ์การการต้านอนุมูลอิสระของเปลือกถั่ววงศ์อบเชย”.

ในรายงานผลงานวิจัย ประจำปี 2550. กรุงเทพฯ : สำนักงานวิจัยการจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2547). การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพโร. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศรัณญา พรหมโคตร. (2551). นาโนเทคโนโลยีขั้นต้น (เล่มที่ 1)= **Introduction to Nanotechnology**. ขอนแก่น : ภาควิชาเทคโนโลยีธรณี คณะเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ศิริศักดิ์ เทพาคำ. (2551 : 4). “นิยามและความสำคัญของนาโนเทคโนโลยี.” ใน

นาโนเทคโนโลยี : งานวิจัยนาโนเทคโนโลยีของประเทศไทย. หน้า 4. ปทุมธานี : ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.

ศิระศักดิ์ เทพาคำ. (ม.ป.ป.). เอกสารประกอบการเรียนรู้หลักสูตรนาโน

เทคโนโลยีชีวภาพ. ปทุมธานี : ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.

โอภา วัชรคุปต์. (2549). สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพฯ : พีเอสพรีนท์.

โอภาษ บุญเส็ง. (2552). เพลี้ยแป้ง...มหันตภัยต่อมันสำปะหลัง. ค้นเมื่อ 3 เม.ย. 2555

ค้นจาก [www. http://www.thaitapiocastarch.org/article20\\_th.asp](http://www.thaitapiocastarch.org/article20_th.asp)

- Afrasiabi, Zahra, Sinn, Ekk, Lin, Weissheng, Ma, Yinfa, Campana, Charles, and Padhye, Subhash, (2005). Nickel (II) complexes of naphthaquinone thiosemicarbazone and semicarbazone: Synthesis, structure, spectroscopy, and biological activity, **Journal of Inorganic Biochemistry**, 99, 1526-1531.
- Al-Haiza, M.A., Mostafa, M.S., and El-Kady, M.Y. (2003). Synthesis and biological evaluation of some new coumarin derivatives, **Molecules**, 8, 275-286.
- Azmi, Asfar Sohail, Bhat, Showket Hussain and Hadi, S.M., (2005). Resveratrol-Cu(II) induced DNA breakage in human peripheral lymphocytes : Implications for anticancer properties, **FEBS Letters**, 579, 3131-3135.
- Das, Manash R., et al. (2011). "Synthesis of silver nanoparticles in an aqueous suspension of graphene oxide sheets and its antimicrobial activity." **Colloids and Surfaces B : Biointerfaces**. 83 : 16-22.
- Dutta, Sabari, Padhye, Subhash, Priyadarsini, K. Indira, and Newton, Chris. (2005). Antioxidant and antiproliferative activity of curcumin semicarbazone. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 15, 2738-2744.
- He, Lili, Liu, Yang, Mustapha, Azlin, and Lin, Mengshi. (2011). "Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*." **Microbiological Research**. 166 : 207-215.
- Hsu, Fu-Lan, Chang, Hui-Ting, and Chang, Shang-Tzen. (2007). Evaluation of antifungal properties of octyl gallate and its synergy with cinnamaldehyde. **Bioresource Technology**. 98, 734-738.
- Jo, Young-Ki, Kim, Byung H., and Jung, Geunhwa. (2009). Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi. **Plant Diseases**. 93, 1037-1043.
- Kostova, Irena, *et al.* (2005). Cytotoxic activity of new lanthanum (III) complexes of bis-coumarins. **EJ Med Chem**. 40 : 542-551.
- Kumari, Avnesh, *et al.* (2011). Nanoencapsulation and characterization of Albizia chinensis isolated antioxidant quercitrin on PLA nanoparticles. **Colloids and Surfaces B : Biointerfaces**. 82 : 224-232.
- Lee, Juneyoung, et al. (2012). "The Silver Nanoparticle (Nano-Ag): a New Model for Antifungal Agents," คำนึงเมื่อ 1 เมษายน 2012 จาก [www.Google.com](http://www.Google.com)
- Leonard, Kwati, et al. (2011). In situ green synthesis of biocompatible ginseng capped gold nanoparticles with remarkable stability. **Colloids and Surfaces B :**

**Biointerfaces.** 82 : 391-396.

Lopez, Lidia M., *et al.*, (2002). Effect of the lipophilic *o*-naphthoquinone CG 10-248 on rat liver mitochondria structure and function. **Biocell.** 26(2): 237-245.

Lewis, Anne., *et al.* (2004). Treatment of pancreatic cancer cells with dicumarol induces cytotoxicity and oxidative stress. **Clinical Cancer Research.** 10 : 4550-4558.

Mahajan, R.K., Kaur Inderpreet, and Lobana, T.S. (2003). A mercury (II) ion-selective electrode based on neutral salicylaldehyde thiosemicarbazone. **Talanta.** 59 : 101-105.

Smid, Eddy J., *et al.* (1995). Secondary plant metabolites as control agents of postharvest *Penicillium* rot on tulip bulbs, **Postharvest Biological and Technology.** 6 : 303-312.

Tsair – Bor Yon and Chang, Shang. (2008). “Synergistic effects of cinnamaldehyde in combination with eugenol against wood decay fungi,” **Bioresource Technology.** 99 : 232-236.

Wang, Sheng-Yang, Chen, Pin-Fun and Chang, Shang-Tzen. (2005). “Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi,” **Bioresource Technology.** 96 : 813-818.