เลขที่สัญญา 07/2557

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุภาคนาโนที่มีอนุพันธ์ไซโทรเนลลัล เป็นตัวรีดิวซ์ต้านเชื้อราก่อโรคของพริก แบบมีส่วนร่วมของชุมชน

Biological evaluation of nanoparticles with citronellal derivatives as reducing agents against fungal disease of Capsicum by participation

โดย
สมหมาย ปะติตังโข
กิ่งแก้ว ปะติตังโข

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
พ.ศ. 2557
(ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์)

เลขที่สัญญา 07/2557

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุภาคนาโนที่มีอนุพันธ์ไซโทรเนลลัล เป็นตัวรีดิวซ์ต้านเชื้อราก่อโรคของพริก แบบมีส่วนร่วมของชุมชน

Biological evaluation of nanoparticles with citronellal derivatives as reducing agents against fungal disease of Capsicum by participation

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมหมาย ปะติตังโข

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิ่งแก้ว ปะติตังโข

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
พ.ศ. 2557
(ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์)

ชื่อโครงการวิจัย **การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุภาคนาโนที่มีอนุพันธ์ไซโทรเนลลัลเป็นตัวรีดิวซ์ต้านเชื้อราก่อโรคของพริกแบบมีส่วนร่วมของชุมชน**

ผู้วิจัย **สมหมาย ปะติตังโข**
กิ่งแก้ว ปะติตังโข

ปีที่ทำวิจัย **2557**

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการสังเคราะห์ (Synthesis) ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (Physicochemical characterization) และฤทธิ์ทางชีวภาพ (Biological activities) ของอนุภาคนาโนที่มีอนุพันธุ์ของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Natural product derivatives) เป็นตัวรีดิวซ์ (Reducing agent) ต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) ของพริก และต้านอนุมูลอิสระ (Anti-oxidant) ผลการศึกษาพบว่า อนุภาคที่สังเคราะห์ได้เป็นอนุภาคที่มีขั้ว (Polar particles) มีสี ละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว (Polar solvents) เมื่อทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อราด้วยเทคนิค Paper disc diffusion method พบว่า ทุกสารสามารถต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสได้ โดยเริ่มต้านที่ความเข้มข้น 600 ppm และสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราได้ดีที่สุด คือ Cit–sal-Cu ด้วยค่าเคลียร์โซนเฉลี่ยเท่ากับ 9±0.577 ที่ 1,000 ppm สำหรับการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH พบว่า สารทุกตัวที่สังเคราะห์ได้ในครั้งนี้ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\cdot}$ ได้แตกต่างกัน แต่ทุกสารออกฤทธิ์แปรตามความเข้มข้น (Concentration dependence) โดยสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด คือสาร Cit-sal-Ag รองลงมา คือ สาร Cit-sal ส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay พบว่า สารที่ออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด คือ Cit-sal-Ag รองลงมาคือ Cit-D-Glu-Ag ผลที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้จึงมีประโยชน์มากต่อกลุ่มเกษตรกรที่ประสบปัญหาโรคแอนแทรคโนสของพริก

คำสำคัญ: ไซโทรเนลลัล โรคแอนแทรคโนส ต้านอนุมูลอิสระ ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ อนุภาคนาโน

Title : **Biological evaluation of nanoparticles with citronellal derivatives as reducing agents against fungal disease of Capsicum by participation**

Author: **Sommai Patitungkho**
Kingkaew Patitungkho

Academic Year: **2014**

Abstract

The purpose of this research was to synthesize physicochemical characterization and biological activities of nanoparticles with natural product derivatives as reducing agents to resist fungi called *Colletotrichum gloeosporioides* that are the main causes of pepper anthracnose and anti-oxidant. The research results revealed that the synthesized particles are polar particles having colors and good solubility in polar solvents. Having tested the substance resisting fungi via paper disc diffusion method, it was found that every substance can be used to resist fungi that are the main causes of anthracnose at the concentration of substance with 600 ppm. Moreover, Cit–sal-Cu is the most efficient substance used to resist fungi with the clear zone of an average 9±0.577 at 1,000 ppm. For anti-oxidant using DPPH technique, it was found that the all synthesized substance can be used as $DPPH^{\cdot}$ anti-oxidant and the concentration dependence also affect the substance differently. Moreover, Cit-sal-Ag is found the best anti-oxidant substance and followed by Cit-sal. For anti-oxidant substance using FRAP assay, it showed that the substance that has the best effect is Cit-sal-Ag and followed by Cit-D-Glu-Ag. The research results are very useful for farmers experiencing pepper anthracnose.

Keywords: Citronellal, Anthracnose, Anti-oxidant, Natural product, **Nanoparticles**

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิจัยเรื่องการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุภาคนาโนที่มีอนุพันธุ์ไซโทรเนลลัสเป็นตัวรีดิวซ์ต้านเชื้อราก่อโรคของพริก แบบมีส่วนร่วมของชุมชนได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ.มาลิณี จุโฑปะมา อธิการบดีมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ รศ.สมมาตร ผลเกิด รองอธิการบดี ฝ่ายวิจัยและบริการวิชาการ อาจารย์พิสมัย ประชานันท์ ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา ที่ช่วยประสานงานและอำนวยความสะดวกในเรื่องของทุนและการเบิกจ่ายทุนการวิจัย ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัย นางสาวสุรีพร ดัดถุยาวัตร ที่ช่วยเหลือและร่วมมือกับนักวิจัยในขั้นตอนต่างๆ ทั้งการสังเคราะห์ ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพจนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จสมบรูณ์

สมหมาย ปะติตังโข
กิ่งแก้ว ปะติตังโข
ผู้วิจัย
30 กันยายน 2557

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		**ก**
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		**ข**
กิตติกรรมประกาศ		**ค**
สารบัญ		**ง**
สารบัญตาราง		**ฉ**
สารบัญภาพประกอบ		**ช**
บทที่		
1	**บทนำ**	**1**
	หลักการและเหตุผล	1
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2	**เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	**4**
	บทนำ	4
	นาโนเทคโนโลยี	4
	การสังเคราะห์อนุภาคนาโน	6
	การสังเคราะห์อนุภาคนาโนบางชนิดและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	8
	เครื่องมือวัดทางนาโนเทคโนโลยี	11
	นาโนเทคโนโลยีทางชีวภาพ	13
	การประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีชีวภาพในอุตสาหกรรม	13
	การพัฒนานาโนเทคโนโลยีชีวภาพ	15
	วัตถุนาโนชีวภาพ	16
	อนุมูลอิสระ	16
	สารต้านอนุมูลอิสระ	17
	วิธีศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ	18
	การปลูกและโรคของพริก	22
	การป้องกันกำจัดศัตรูพริก	24
	โรคที่เกิดจากเชื้อรา	25
	โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย	27
	การแก้ปัญหาพริก	27

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 28
3 สารเคมี อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง 35
สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ 35
วิธีการสังเคราะห์ 37
การศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารตัวอย่าง (Physicochemical properties) 37
การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ 38
4 ผลการทดลองและอภิปรายผล 41
บทนำ 41
ผลการสังเคราะห์สารตัวอย่าง 41
ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ 42
ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ 43
5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 53
บทนำ 53
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 53
ข้อเสนอแนะ 54

บรรณานุกรม 55

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 สมบัติทางกายภาพของสารตัวอย่าง..... 42
4.2 Elemental analysis 42
4.3 แสดงผลการศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารตัวอย่าง 43
4.4 แสดงความสามารถการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของสารตัวอย่าง 45
4.5 ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารแต่ละชนิดด้วยเทคนิค DPPH 46
4.6 แสดงค่า IC_{50} ของสารตัวอย่างในการต้านอนุมูลอิสระ 48
4.7 ค่ามาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP 50
4.8 ปริมาณของ Fe^{2+} ที่ได้จากการรีดิวซ์ Fe^{3+} โดยสารตัวอย่างในการวิเคราะห์หา
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP..... 51

สารบัญภาพประกอบ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 เครื่อง AFM (Atomic force microscope) 12
2.2 หลักการทำงานของเครื่อง AFM 12
2.3 6-Hydroxy- 2,5,7,8 - tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) 19
4.1 โครงสร้างของ Citronellal metal nanoparticles 41
4.2 การต้านเชื้อราของสารตัวอย่าง..... 44
4.3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสารตัวอย่างกับค่า Inhibitory Concentration 50% (IC_{50}) 49

บทที่ 1
บทนำ

1.1 หลักการและเหตุผล

ในแต่ละปีประเทศไทยส่งออกพืชผักไปยังสหภาพยุโรปหรืออียู (EU) ในปริมาณมาก ตั้งแต่ต้นปี 2554 พืชผักไทย 5 กลุ่ม 16 ชนิด คือ กลุ่มที่ 1. กลุ่มพืช *Ocimum* spp. (กะเพรา โหระพา แมงลัก ยี่หร่า) 2. กลุ่มพืช Capsicum (พริกหยวก พริกชี้ฟ้า พริกขี้หนู) 3. กลุ่มพืช *Solannum melongena* (มะเขือเปราะ มะเขือยาว มะเขือม่วง มะเขือเหลือง มะเขือขาว มะเขือขื่น) 4. กลุ่มพืช *Mormordica charantia* (มะระจีน มะระขี้นก) และ 5. กลุ่มพืช *Eryngium foetidum* (ผักชีฝรั่ง) อียู (EU) ตรวจพบสารเคมีตกค้าง จุลินทรีย์ และศัตรูพืช และยังแจ้งว่าตลอดเวลาที่ผ่านมาได้ตรวจพบศัตรูพืชในพืชผักของไทยที่ส่งออกไปอียู (EU) เฉลี่ยประมาณ 50-60 ครั้งต่อปี แต่ข้อกำหนดใหม่นี้ตรวจพบเพียง 5 ครั้งต่อปีก็จะถูกระงับการส่งออกทันที ทำให้ไทยต้องทำหนังสือถึงอียู (EU) ว่าจะดำเนินการตรวจสอบสินค้าก่อนการส่งออก 100 % ประกาศระงับใบรับรองสุขอนามัยพืชดังกล่าว และกำหนดมาตรการป้องกันไม่ให้เกิดปัญหาที่ไทยจะต้องถูกระงับการส่องออกพืชผัก โดยเร่งควบคุมการผลิตสินค้าส่งออกให้เป็นไปตามมาตรฐานอียู (EU) ไม่ให้มีแมลงศัตรูพืชติดไปกับสินค้า และต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชแนบไปกับสินค้าทุกครั้ง นอกจากนี้ไทยยังจะต้องตื่นตัวกับปัญหาสารเคมีในพืชผักที่บริโภคภายในประเทศด้วย ซึ่งเครือข่ายวิชาการเตือนภัยสารเคมีเกษตรประเทศไทย (คสท.) ได้เตือนถึงความเชื่อมโยงของการเป็นมะเร็งของคนไทยถึงปีละ 50,000 คน กับการบริโภคผักที่ปนเปื้อนสารเคมี สอดคล้องกับข้อมูลของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่า ผักสดที่ประกาศว่าปลอดสารเคมีและผักสดธรรมดามีสารเคมีตกค้างด้วยกันทั้งสิ้น และจากผลการวิจัยของมูลนิธีชีววิถี พบว่า คนไทยประสบปัญหาสุขภาพจากสารกำจัดศัตรูพืชเป็นจำนวนมาก และจากการประเมินของสถาบันวิจัยระบบสาธารณสุขพบจำนวนผู้ป่วยจากสารเคมีสูงถึงปีละสองแสนถึงสี่แสนคน กระทรวงสาธารณสุขยืนยันว่า เกษตรกรที่เสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ไม่ปลอดภัยมากกว่า 6 ล้านคน จากข้อมูลเฉพาะปี 2552 ประเทศไทยมีการสั่งนำเข้าสารเคมีเพื่อทำเป็นยาป้องกันและกำจัดศัตรูพืชถึงปีละ 137,739 ตัน คิดเป็นมูลค่า 16,837 ล้านบาท ถือเป็นผู้นำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชรายใหญ่เป็นอันดับที่ 5 ของโลก แต่ในขณะเดียวกันเราประกาศตัวเองว่าจะเป็นครัวของโลก จึงเป็นเหตุผลที่ขัดแย้งกัน เมื่อพิจารณาผลิตภัณฑ์มวลรวม (GDP) ไตรมาสที่ 2/2555 ขยายตัว 1.3 % โดยแยกเป็นส่วนของภาคเกษตร 0.2 % โดยสาขาประมงขยายตัว 2.5 % ส่วนสาขาเกษตรกรรมลดลง 0.3 % เนื่องจากส่วนของพืชเป็นสัดส่วนที่มีความสำคัญที่สุด จากสภาวะการแข่งขันในตลาดโลกที่สูงขึ้นโดยเฉพาะสินค้าเกษตรและอาหาร ซึ่งเป็นสินค้าหลักของประเทศไทย อีกทั้งปัจจุบันประเทศคู่ค้าที่สำคัญของไทยได้มีการกำหนดมาตรการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) ดังนั้น กระทรวงเกษตรและสหกรณ์จึงได้มีการส่งเสริมให้ทำการเกษตรที่ปลอดภัยจากสารพิษและทำการเกษตรอินทรีย์เพิ่มมากขึ้น โดยกำหนดการปฏิบัติทางการเกษตรตามระบบเกษตรดีที่เหมาะสม (GAP) ซึ่งมีวิธีการควบคุมศัตรูพืชแบบพึ่งพาสารเคมีให้น้อยที่สุด แนวความคิดที่จะเลิกใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและเปลี่ยนมาใช้สารสกัดจากธรรมชาติที่ไม่ส่งผล

เสียต่อมนุษย์ สัตว์ สิ่งแวดล้อม ตลอดจนเศรษฐกิจโดยรวมของประเทศเป็นสิ่งที่ทุกคนปรารถนา และสภาพภูมิอากาศร้อนชื้น เช่น ประเทศไทยที่สามารถปลูกพืชได้ตลอดทั้งปี ศัตรูพืชสามารถแพร่พันธุ์และระบาดได้ทั้งปีเช่นกัน จึงสร้างความเสียหายอย่างมาก ถึงแม้ว่าในปัจจุบันจะได้มีการค้นคว้าหาวิธีการควบคุมโรคพืชใหม่ๆ โดยให้เกษตรกรหันมาใช้การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี หรือปลูกพืชแบบผสมผสาน แทนการปลูกพืชเชิงเดี่ยวก็ได้ผลดีในระดับหนึ่ง แต่โดยภาพรวมยังไม่เป็นที่น่าพอใจ ทั้งนี้เนื่องจาก GDP ในส่วนภาคการเกษตร โดยเฉพาะพืชผลหดตัว 0.3 % ดังกล่าวแล้ว ทั้งนี้ด้วยสาเหตุที่สำคัญคือภัยแล้งและโรคระบาด รัฐบาลจึงมีนโยบายเร่งด่วนที่จะเพิ่มขีดความสามารถให้ภาคอาหารและเกษตร เพื่อให้การผลิตได้ทั้งปริมาณและคุณภาพที่มีความปลอดภัย กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ได้สั่งการให้ สวทช. เร่งเพิ่มขีดความสามารถในการผลิตอาหารและเกษตร เพื่อรองรับความต้องการของชุมชนและเอกชน เนื่องจากอาหารและเกษตรเป็นหัวใจสำคัญของประเทศไทย จึงต้องการให้นำความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี นาโนเทคโนโลยี ไบโอเทคโนโลยี มาช่วยแก้ปัญหาหรือสร้างมูลค่าให้สินค้าของไทยในการแข่งขันกับต่างชาติ โดยให้เน้นงานยุทธศาสตร์เรื่องความปลอดภัยของอาหารและกระบวนการผลิตที่จะไม่ส่งเสียต่อธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

จากเหตุผลดังกล่าวทำให้คณะผู้วิจัยสนใจที่จะนำสารที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติมาผสมผสานกับองค์ความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยี โดยการนำผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คือ Citronellal ที่สกัดจากตระไคร้มาคอนจูเกตกับ amines แล้วนำไปรีดิวส์เกลือของโลหะเงิน (Ag) และทองแดง (Cu) ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ สมบัติทางมอร์โฟโลกี (Morphology) และฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อราก่อโรคพริก (*Colletotrichum gloeosporioides*) แบบมีส่วนร่วมของชุมชน ซึ่งเป็นการสนับสนุนภารกิจเร่งด่วนของรัฐบาล เพื่อสนับสนุนครัวโลก ตลาดสีเขียว การส่งเสริมสุขอนามัยพืช และเพื่อชีวิตที่เป็นสุข ยืนยาวของผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 วัตถุประสงค์หลัก

1.2.1.1 เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติไซโทรเนลลัลเมทัลนาโนพาร์ทิเคิลในการต้านเชื้อราก่อโรคของพริก โดยอาศัยองค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์ และนาโนเทคโนโลยีแบบมีส่วนร่วมของชุมชน

1.2.1.2 ได้แนวทางการพัฒนาสารต้านเชื้อราก่อโรคพืชเศรษฐกิจ

1.2.1.3 ถ่ายทอดความรู้ด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและนาโนเทคโนโลยีสู่ชุมชน

1.2.2 วัตถุประสงค์รวม

1.2.2.1 เกษตรกรเกิดความตระหนักในพิษภัยจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มีพิษรุนแรงเป็นอันตรายต่อมนุษย์ สัตว์และสิ่งแวดล้อม โดยหันมาใช้สมุนไพรเป็นหลักในการดำรงชีวิต

1.2.2.2 เป็นแหล่งผลิตพืชผักเศรษฐกิจที่ปลอดสารพิษในระดับชุมชน จังหวัดและประเทศต่อไป

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ได้สารต้านเชื้อราก่อโรคของพืชกลุ่มพริกที่มาจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

1.3.2 กลุ่มเกษตรกรเกิดความตระหนักในเรื่องของพิษภัยที่เกิดจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชอย่างยั่งยืน

1.3.3 ชุมชนได้ทราบถึงประโยชน์ของสมุนไพรใกล้ตัว และมีความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยี

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 บทนำ

จากการศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ผู้วิจัยขอนำเสนอทฤษฎี ความรู้ และแนวคิดที่เกี่ยวข้องดังนี้

1. นาโนเทคโนโลยี
2. การสังเคราะห์อนุภาคนาโน
3. การสังเคราะห์อนุภาคนาโนบางชนิดและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ
4. เครื่องมือวัดทางนาโนเทคโนโลยี
5. นาโนเทคโนโลยีชีวภาพ
6. การประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีชีวภาพในอุตสาหกรรม
7. การพัฒนานาโนเทคโนโลยีชีวภาพ
8. วัตถุนาโนชีวภาพ
9. อนุมูลอิสระ
10. สารต้านอนุมูลอิสระ
11. วิธีศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ
12. การปลูกและโรคของพริก
13. การป้องกันกำจัดศัตรูพริก
14. โรคที่เกิดจากเชื้อรา
15. โรคเหี่ยวของพริกจากเชื้อราหรือโรคหัวโกร๋น
16. โรคโคนเน่าหรือต้นเน่า
17. โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย
18. การแก้ปัญหาพริก
19. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.2 นาโนเทคโนโลยี

ปัจจุบันความเจริญทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเกิดขึ้นอย่างไม่หยุดยั้ง การสื่อสารข้ามโลกอยู่เพียงแค่ปลายนิ้วการขนส่งสินค้าจำนวนมหาศาลข้ามทวีปเป็นเรื่องที่ดำเนินการเป็นกิจวัตร การส่งคนขึ้นไปสำรวจบนดวงจันทร์กลับเป็นเรื่องล้าสมัย และโครงการสร้างอาณานิคมในอวกาศกำลังเริ่มเกิดขึ้นแทน องค์ความรู้ในสาขาวิทยาศาสตร์ ทางด้านเคมี และฟิสิกส์ ได้หลั่งไหลเข้ามาอย่างไม่ขาดสาย และก่อให้เกิดเทคโนโลยีใหม่ๆ ขึ้นจากทฤษฎีทางด้านควอนตัม และเปลี่ยนมุมมองเดิมๆ ที่เรามีต่อแสง สสาร และอนุภาค อย่างสิ้นเชิง (ศิรศักดิ์ เทพาคำ. 2551 : 4) การตระหนักและให้ความสำคัญถึงคุณภาพชีวิตเป็นสิ่งสำคัญที่สุดของมนุษยชาติ จะเห็นได้จากเครื่องอำนวยความสะดวกและผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่มีอยู่รอบตัวเรามากมาย คอมพิวเตอร์เพื่อช่วยในการประมวลผลจากข้อมูลที่มี

จำนวนมหาศาล 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 ตัณฑะพานิชกุล. 2550 : 22)

2.2.1 คำจำกัดความของนาโนเทคโนโลยี

นาโนเทคโนโลยีเกี่ยวข้องกับโครงสร้างที่หลากหลายของสสารที่มีมิติในสัดส่วนหนึ่งในพันล้านส่วน โดยใช้หน่วยความยาวเป็นเมตร คำว่า นาโน (Nano) มีรากศัพท์มาจากภาษากรีก ซึ่งหมายถึง แคระหรือเล็ก หรือ หมายถึง หนึ่งส่วนพันล้านส่วน ($\frac{1}{1,000,000,000}$ หรือ $1x10^{-9}$) โดยมีสัญลักษณ์เป็น nm ดังนั้น 1 นาโนเมตร (nm) จะเท่ากับหนึ่งส่วนพันล้านเมตร

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

2.2.2 องค์ประกอบของนาโนเทคโนโลยี

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

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

คือ สิ่งที่จะเรียกได้ว่าเป็นนาโนเทคโนโลยีจะต้องมีคุณสมบัติครบทั้ง 3 ประการ คือ ขนาดจะต้องอยู่ในช่วง 1 - 100 นาโนเมตร มีหน้าที่ใหม่ๆ เกิดขึ้นหรือมีสมบัติพิเศษที่แตกต่าง ไปจากเดิม เนื่องจากวัสดุที่มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรจะมีสมบัติต่างๆ เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เช่น สมบัติทางแม่เหล็ก สมบัติทางไฟฟ้า สมบัติทางกายภาพ สมบัติทางแสงและสมบัติทางเคมี ดังตัวอย่างของทองคำ เมื่อมีขนาดในระดับนาโนจะมีสีแดง มีความว่องไวต่อปฏิกิริยาเคมีหรือเงินเมื่อมีขนาดในระดับนาโนจะมีสีเหลือง สีม่วง สีเทา มีสมบัติทางชีวภาพ เช่น ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดได้

2.3 การสังเคราะห์อนุภาคนาโน

อนุภาคนาโนสามารถเกิดได้สองรูปแบบใหญ่ ๆ คือ

ก. การสร้างวัตถุจากหยาบไปละเอียด (Top-down approach) เป็นการสร้างวัตถุโดยใช้การตัดเฉือน หรือการทำเทคนิคใดๆ กับวัตถุขนาดใหญ่ ให้มีขนาดเล็กลงตามต้องการ เช่น การใช้นาโนลีโธกราฟฟี (Nanolithographic techniques) ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะนำไปใช้กับการสร้างชิ้นส่วนทางอิเล็กทรอนิกส์

ข. การสร้างวัตถุจากละเอียดไปหยาบ (Bottom-up approach) เป็นการสร้างวัตถุจากอนุภาคขนาดเล็ก เช่น จากหลายๆ อะตอม หรือ หลายๆ โมเลกุล มารวมกันเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่ บางครั้งเรียกเทคโนโลยีแบบนี้ว่า นาโนเทคโนโลยีเชิงโมเลกุล (Molecular nanotechnology) เช่น การรวมตัวโดยตัวเอง (Self-assembly) เป็นการรวมตัวของสสารด้วยพันธะเคมีของวัตถุที่มีโครงสร้างระดับนาโนจนเกิดเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่ เช่นการรวมตัวของสารคอลลอยด์ เป็นต้น (ศรัญญา พรหมโคตร์. 2551 : 3)

จากวิธีการสังเคราะห์ข้างต้นสามารถแบ่งย่อยวิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนอย่างจำเพาะลงไปได้อีกดังต่อไปนี้

2.3.1 วิธีทางเคมี (Chemical methods)

วิธีการสังเคราะห์ส่วนใหญ่ได้จากวิธีทางเคมีแทบทั้งสิ้นโดยมีวิธีที่หลากหลายในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะโดยส่วนใหญ่จะใช้ตัวรีดิวซ์ (Reducing agent) ในการทำวัตถุนาโน เช่น $NaBEt_3H$ และ $NaBH_4$ โดย Et คืออนุมูลเอทิล (Ethyl radical, C_2H_5) ตัวอย่างเช่น วัตถุนาโนของโมลิบดินัม (Mo) จะถูกรีดิวซ์ในสารละลายโทลูอีน (Toluene) ด้วย $NaBEt_3H$ ที่อุณหภูมิห้อง ทำให้ได้ผลผลิตของอนุภาคนาโนโมลิบดินัมที่มีขนาด 1-5 นาโนเมตร

สมการการเกิดปฏิกิริยาเคมีเป็นได้ดังนี้

$$MoCl_3 + 3NaBEt_3H \longrightarrow Mo + 3NoCl + 3BEt_3 + \frac{3}{2} H_2$$

วัตถุนาโนอลูมิเนียมจะทำได้จากการแตกตัวของ $Me_2EtNAlH_3$ ในโทลูอีนและทำให้สารละลายนี้ร้อนที่ 105 ^{o}C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อเติม Titanium isopropoxide ลงในสารละลายไททาเนียมจะทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา การเลือกตัวเร่งปฏิกิริยาจะเป็นตัวกำหนดขนาดของอนุภาคนาโน เช่น วัตถุนาโนขนาด 80 นาโนเมตร จะเกิดจากไททาเนียม และสารลดแรงตรึงผิว เช่น

กรดโอเลอิค (Oleic acid) ที่เติมลงไปในสารละลายจะช่วยเคลือบอนุภาคนาโนเหล่านี้ไม่ให้เกิดการรวมกลุ่มกัน (Aggregation)

2.3.2 การแตกตัวด้วยความร้อน (Thermolysis)

อนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นโดยการแตกตัวของของแข็งที่อุณหภูมิสูงโดยมีแคทไอออนของโลหะและแอนไอออนโมเลกุลหรือสารประกอบอินทรีย์โลหะ กระบวนการนี้เรียกว่า

การแตกตัวด้วยความร้อน (Thermolysis) ตัวอย่างเช่น สารลิเทียมถูกสร้างมาจากการแตกตัวของลิเทียมเอซายต์ (Lithium azide, LiN_3) โดยสารตัวอย่างจะอยู่ในท่อควอตซ์ที่มีช่องเปิดถ่ายเทและให้ความร้อนจนถึง 400 °C ที่อุณหภูมิ 370 °C ลิเทียมเอซายต์จะแตกตัวแล้วให้แก๊สไนโตรเจน

จะสังเกตเห็นได้จากความดันที่เพิ่มขึ้นบนอุปกรณ์ตรวจวัดสุญญากาศ อีกไม่กี่นาทีต่อมาความดันจะลดลงไปที่ค่าเริ่มต้น ซึ่งแสดงว่าแก๊สไนโตรเจนได้ถูกกำจัดออกไปแล้ว คงเหลือไว้แต่อะตอมลิเทียมเกาะตัวกันเป็นโลหะคอลลอยด์ขนาดเล็ก วัตถุที่มีขนาดเล็กกว่า 5 จะใช้วิธีนี้

ปัจจุบันสามารถตรวจวัดอนุภาคนาโนได้โดยวิธีเรโซแนนซ์พาราแมกเนติกอิเล็กตรอน (Electron paramagnetic resonance, EPR) โดยตรวจอิเล็กตรอนที่นำไฟฟ้าของวัตถุที่เป็นโลหะ

วิธี EPR จะวัดพลังงานที่ดูดกลืนเมื่อมีรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ตัวอย่างเช่น คลื่นไมโครเวฟจะเหนี่ยวนำการเปลี่ยนเฟตระหว่างสถานะสปินที่เกิดการแบ่งโดยสนามแม่เหล็ก DC โดยทั่วไปแล้วคลื่นไมโครเวฟมีความสามารถในการทะลุทะลวงพื้นผิวโลหะได้น้อย จึงเป็นการยากที่จะสังเกต EPR ของอิเล็กตรอนที่นำไฟฟ้า

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

2.3.3 วิธีเลเซอร์แบบกระแทก (Pulsed laser methods)

แสงเลเซอร์แบบกระแทกได้นำมาใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนของเงิน สารละลายเงินไนเตรดและตัวรีดิวซ์จะไหลผ่านอุปกรณ์ที่ใช้ผสมสาร (Blender-like device) ที่บริเวณนี้จะเกิดสารที่เป็นของแข็ง (Solid disk) ที่หมุนอยู่ สารละลายนี้จะถูกยิงด้วยแสงเลเซอร์แบบกระทบเป็นจังหวะทำให้เกิดจุดร้อนขึ้นบนผิวของสาร (Rotating disk substrate)

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

2.3.4 วิธีการตกสะสมตัวของเฟสแบบไอ

การตกสะสมตัวของเฟตแบบไอ (Vapor phase deposition) สามารถที่จะใช้ในการทำแผ่นฟิล์มบางแบบชั้นที่มีชั้นอัดตัวแน่น หรือท่อนาโน เส้นใยนาโนหรืออนุภาคที่มีขนาดนาโน โดยทั่วไปแล้วเทคนิคนี้สามารถจำแนกได้อย่างกว้างๆ ได้ 2 แบบ คือ การตกเคลือบด้วยไอทางกายภาพ (Physical vapor deposition, PVD) และการตกเคลือบด้วยไอทางเคมี (Chemical vapor deposition, CVD)

PVD เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของวัตถุที่เป็นของแข็งเปลี่ยนสถานะเป็นแก๊สโดยกระบวนการทางฟิสิกส์ วัตถุนี้เมื่อเย็นตัวลงจะตกสะสมตัวอีกครั้งหนึ่งบนซับสเตรด (Substrate) ซึ่งบางครั้งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงใหม่ของตัววัตถุนั้น เช่น เกิดปฏิกิริยากับแก๊ส ตัวอย่างของกระบวนการแบบ PVD ครอบคลุมถึงการกลายเป็นไอโดยความร้อน (Thermal evaporation) เช่น ลำอิเล็กตรอนที่ทำให้ร้อนหรือการสังเคราะห์โดยใช้ไฟเผาให้ร้อน การละเหยโดยแสงเลเซอร์ (Laser

ablation) หรือการตกสะสมตัวแบบเลเซอร์กระทบ (Pulsed laser ablation) โดยการกระแทกจะเกิดขึ้นในช่วงสั้นระดับนาโนวินาทีจากเลเซอร์ซึ่งมีเป้าหมายตรงไปยังพื้นผิวของวัตถุการกัดกร่อนโดยการเกิดประกายไฟ (Spark erosion) และการพ่นออก ซึ่งเป็นการเคลื่อนที่ของวัตถุเป้าหมายโดยการระดมยิงด้วยอะตอมหรือไอออน

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

การสลายตัวด้วยความร้อนจะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำและได้อนุภาคที่มีขนาด 5-500 นาโนเมตร กระบวนการ CVD โดยทั่วไปแล้วจะใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่แน่นอน เมื่อตัวเร่งปฏิกิริยามีการกระจายตัวขนาดนาโนจะทำให้เกิดผลต่อแผ่นแบบ (Template) ตัวอย่างเช่น การผลิตท่อนาโนคาร์บอนจะใช้การแตกตัวของ Ethane ด้วยไฮโดเจนตัวเร่งปฏิกิริยาที่อยู่บนแผ่นแบบ ได้แก่ เหล็ก โคบอล หรือนิเกิล ขนาดและการกระจายตัวขนาดของตัวเร่งปฏิกิริยาอาจกำหนดได้โดยเส้นผ่านศูนย์กลางภายในของท่อนาโน (ศรัญญา พรหมโคตร์. 2551 : 138-143)

2.4 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนบางชนิดและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

อนุภาคนาโนมีการนำมาใช้ประโยชน์หลากหลาย เนื่องจากการมีสมบัติต่างๆ เช่น สมบัติทางเคมี สมบัติทางแสง และสมบัติเชิงกลต่างๆ โดยเฉพาะอนุภาคนาโนโลหะ (Metallic nanoparticles) มีสมบัติต้านแบคทีเรีย (Antibacterial properties) เนื่องจากมีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรมากจึงเป็นที่สนใจของกลุ่มนักวิจัย เพราะการต้านทานของแบคทีเรียต่อไอออนของโลหะต่อยาปฏิชีวนะ และเกิดการพัฒนาสายพันธุ์ต่างๆ ที่ดื้อต่อยาเพิ่มขึ้นอีกด้วย (Lee, Juneyoung, et al. 2012 : 296-308)

วัสดุนาโนต่างๆ เช่น ทองแดง สังกะสี ไททาเนียม แมงกานีส ทองคำ แอลจีเนต (Alginate) และเงินได้มีการศึกษาอย่างกว้างขวาง แต่อนุภาคของเงินนาโน (Nano-Ag) ถือว่า มีประสิทธิภาพมากที่สุดเนื่องจากมีศักยภาพสูงในการยับยั้งแบคทีเรีย ไวรัส และสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ (Eucaryotic micro-organisms) นอกจากนี้ Nano-Ag ยังใช้เป็นสารทำความสะอาด (Disinfectant drug) แต่ถ้าสัมผัสกับเงินมากๆ ก็อาจเป็นอันตรายเนื่องจากเงินเป็นสาเหตุของ Argyrosis หรือ Argyria ทำให้เป็นพิษต่อ Mammalian cells

ปัจจุบันมีการศึกษาเพื่อยืนยันทฤษฎีที่ว่า การใช้เงินไอออนหรือโลหะเงินและอนุภาคเงินนาโนสามารถใช้เป็นยาสำหรับการรักษาอาการที่เกิดจากการไหม้ (Burn treatment) วัสดุทางทันตกรรม (Dental materials), เคลือบสแตนเลส (Coating stainless steel materials) สิ่งทอ (Textile fabrics) บำบัดน้ำเสีย (Water treatment) โลชันกันแดด (Sunscreen lotions) และอื่นๆ และมีพิษต่อเซลล์ของมนุษย์น้อยมาก (Low toxicity to human cells) เสถียรต่อความร้อน (High thermal

stability) และระเหยกลายเป็นไอได้น้อย (Low volatility) มีการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของเงินนาโนอยู่มาก แต่ฤทธิ์การต้านเชื้อราก่อโรคในมนุษย์ยังมีงานวิจัยในเรื่องนี้ไม่มากนัก

การสังเคราะห์เงินนาโนมีหลายวิธี ในที่นี้จะยกตัวอย่างเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยในครั้งนี้

2.4.1 การสังเคราะห์เงินนาโน (Ag-NPs) : โดยการละลายโลหะเงิน 100 g ใน 100% กรดไนตริก 100 ml ที่ 90° C จากนั้นเติมน้ำกลั่น 1 ลิตร และเติม NaCl ลงในสารละลายของเงิน จากนั้น Ag^+ ตกตะกอนรวมกันเป็นกลุ่มของอนุภาคนาโน ขนาดและมอโฟโลกีของ Nano-Ag ศึกษาจากการใช้ TEM พบว่า อนุภาคมีลักษณะเป็นทรงกลม (Spherical form) มีขนาดเฉลี่ย 3 nm ความเข้มข้นของ Colloidal silver เป็น 60,000 ppm

2.4.2 การสังเคราะห์ Ag-NPs ขนาด 20-25 nm

ทำได้โดยการเติม 100 ml ของ 0.001 M $AgNO_3$ ลงในหลอดทดลองขนาด 250 mL เติม 10 mL ของน้ำปราศจากไอออน (DI) ที่มีกรดแกลลิก (Gallic acid) 0.01 g อยู่ด้วย จากนั้นคนสารผสมอย่างต่อเนื่อง ปรับ pH ของสารละลายให้ได้ 11 ทันทีด้วย 1 M, NaOH

2.4.3 การสังเคราะห์ Ag-NPs ขนาด 80-90 nm

นำอนุภาค TiO_2 มากรองทำให้แห้งจะได้ขนาดอนุภาค 2 ขนาด คือ Ti^1 และ Ti^2 เพื่อใช้เป็นหน่วยพื้นฐานในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนที่มีขนาดแตกต่างกัน 3 ขนาดของ TiO_2/Ag ที่มีอัตราส่วนโดยโมลเป็น 10:1, 25:1 และ 50:1 ตามลำดับ

การสังเคราะห์ทำได้โดยเติม 0.2 g (2.5 mmol) ของ Ti^1 หรือ Ti^2 ที่มีน้ำ DI 100 mL

ทำให้กระจายตัวด้วย Ultrasound เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม 0.0425 g (0.25 mmol), 0.0169 g (0.1 mmol) หรือ 0.00845 g (0.05 mmol) เพื่อให้อัตราส่วนโดยโมลเป็น 10:1, 25:1 และ 50:1 ตามต้องการ กวนสารผสมอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 30 นาที ที่ pH 7 จากนั้นเติมตัวรีดิวส์ (Reducing agent) จะได้สารละลายสีน้ำตาล (Brownish dispersion) กรองอนุภาค ล้างและทำให้แห้งก่อนพิสูจน์เอกลักษณ์ต่อไป

2.4.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุภาคนาโนในการต้านเชื้อรา

Jo, Young- Ki, Kim, Byung H., and Jung, Geunhwa (2009) ได้ศึกษาเงินที่อยู่ในรูปไอออนหรืออนุภาคนาโนที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้สูง และนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง เพื่อให้วัตถุปลอดเชื้อ เช่น เครื่องมือแพทย์ และทำให้น้ำสะอาด (Water sanitizative) แต่มีผลวิจัยน้อยมากที่นำเงินมาควบคุมโรคพืช (Control plant diseases) งานวิจัยนี้ได้นำรูปแบบต่างๆ ของเงินไอออนและอนุภาคเงินนาโนมาทดสอบการต้านเชื้อรา ที่ทำให้เกิดโรคพืช (plant-pathogenic fungi) 2 ชนิด คือ *Bipolaris sorokiniana* และ *Magnaporthe grisea* จาก In vitro petri dish assays พบว่า เงินไอออนและเงินนาโนมีผลต่อการสร้างโคโลนีของเชื้อราทั้งสองชนิด โดย EC_{50} ที่ยับยั้ง *B. sorokiniana* สูงกว่า *M. grisea*

ผลการยับยั้งจะลดลงเมื่อไอออนบวกของเงินถูกทำให้เป็นกลางด้วยคลอไรด์ไอออนทั้งเงินไอออนและเงินนาโนสามารถลดเชื้อราก่อโรคลงได้เพื่อใช้เติมลงไปก่อนการเติมเชื้อรา 3 ชั่วโมง แต่ประสิทธิภาพจะลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเติมยาในเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการเติมเชื้อ จากผลการทดลองทั้ง In vitro และ In planta assay ทั้งเงินไอออน และเงินนาโนสามารถป้องกันการเกิดโคโลนีของสปอร์ และ การเจริญเติบโตของเชื้อราโรคพืช (Plant-pathogenic fungi) สำหรับ In planta นั้น

ยังพบว่า ทั้งเงินไอออนและเงินนาโนจะมีประสิทธิภาพอย่างยิ่ง เครื่องใช้ป้องกันโรค (Preventative application) ซึ่งอาจจะทำให้เกิด การสัมผัสกันโดยตรงระหว่าง เงินกับสปอร์ และ Germ tube รวมทั้งการป้องกันการมีชีวิตอยู่ของเชื้อรา

อนุภาคของเงินนาโนที่มีขนาดระหว่าง 20-25 nm จะต้านเชื้อราได้ดีด้วยค่า MIC เฉลี่ยระหว่าง 3-25 μg/mL และยังพบว่า เมื่อใช้ TiO_2 รวมกับ Ag-NPs จะออกฤทธิ์ได้ดีกับเชื้อราที่ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 3-25 μg/mL (Martinez-Gutierrez, Fidel, et al. 2010)

นอกจากนี้ Ag-NPs สามารถต้านเชื้อราก่อโรค *Candida albicans* ด้วยค่า MIC 6 μg/mL ซึ่งมีฤทธิ์ดีกว่า Fluconazone (64 μg/mL) และมีฤทธิ์พอๆ กับ Amphothericin B (0.25 μg/mL) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค *M. smegmatis* ด้วยค่า MIC (Minimum inhibitory concentration) 0.46 μg/mL ซึ่งมีฤทธิ์ที่ดีกว่า Rifampicin (0.85 μg/mL) โดยค่า MIC ของ Ag-NPs บางกรณีมีค่าที่ดีกว่า MIC ของยาสังเคราะห์ต้านเชื้อรา (Conventional antifungal agents) และ Ag-NPs ยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อ Human fibroblast (30 mg/L) ส่วนเงินไอออนยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ที่ 1 mg/L ซึ่งเป็นระดับที่เป็นพิษต่อ Human fibroblast

สำหรับผลการต้านเชื้อราของ Ag-NPs พึ่งจะได้รับความสนใจ มีรายงานการวิจัยน้อยมากและมีการทดสอบฤทธิ์กับ *Trichophyton mentagrophytes* และ *Candida* spp. เท่านั้น

2.4.5 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุภาคนาโนในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

จากการวิจัยพบว่า อนุภาคนาโนออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเงินนาโนที่มีขนาดระหว่าง 20-25 nm จะออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด (Highest activity) ด้วยค่า MIC เฉลี่ยระหว่าง 0.4-1.7 μg/mL

Ag-NPs ต้านแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบรวมทั้งสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา (Multiresistant strains) นอกจากนี้ยังสามารถต้านเชื้อราได้ด้วย ผลการต้านแบคทีเรียของ Ag-NPs, Silver nanocomposite หรือวัสดุที่มีอนุภาคเงิน นาโนเป็นองค์ประกอบ (Silver nanoparticlesl-base materials) ได้มีการศึกษากันมาก เนื่องจากแบคทีเรียที่ต้านทานต่อยาปฏิชีวนะที่เพิ่มขึ้น (Growing bacterial resistance) การต้านแบคทีเรีย ของวัสดุที่มีเงินนาโนเป็นองค์ประกอบจะลดโคโลนี (Bacterial colonization) ของ *Prostheses* และ *Catheters* ซึ่งมีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า Ag-NPs สามารถฆ่าแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 1 mg/L ที่สำคัญคือ Ag-NPs ไม่ทำให้เกิดการดื้อยาของแบคทีเรีย แต่กลับช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะในการรักษาการติดเชื้อจากแบคทีเรีย (Complication antibiotic therapy of bacterial infections) และ Ag-NPs มีความแตกต่างจากยาปฏิชีวนะที่สามารถออกฤทธิ์ได้หลายตำแหน่ง (Several levels) เช่น Bacterial wall, Photosynthesis และ DNA

เงินเป็นธาตุก่อนประวัติศาสตร์ แม้ในสมัยบาบิโรนและกรีกโรมัน การใช้เงินในทางการแพทย์และการต้านเชื้อแบคทีเรียเฉพาะที่นั้นยังไม่เป็นที่เข้าใจจนถึงศตวรรษที่ 19 สมบัติในการต้านแบคทีเรียของเงินได้รับการศึกษา และนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางกว่าสารอนินทรีย์อื่นๆ โดยเงินเข้าไปรวมกับส่วนต่างๆ ของกระบวนการทางชีวภาพ (Biological processes) ในจุลินทรีย์ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและหน้าที่ของเซลล์เมมเบรน นอกจากนั้นเงินยังยับยั้งการสร้างโปรตีนที่มีความสัมพันธ์กับการผลิต ATP แต่กลไกอย่างจำเพาะในการต้านแบคทีเรียยังไม่เป็นที่เข้าใจชัดเจน

ความเข้มข้นในระดับไมโครโมลาร์ (1-10 μM) มีประสิทธิภาพพอที่จะกำจัดแบคทีเรีย (Kill bacteria) ในน้ำ ในขณะที่เงินมีพิษที่ความเข้มข้นสูงๆ ต่อ Mammals และตามแหล่งน้ำ รวมทั้งสิ่งมีชีวิตในท้องทะเล นอกจากนี้ยังอาจทำให้การเจริญเติบโตและรูปร่างของเซลล์สัตว์เปลี่ยนโดยเงินเข้าไปขัดขวางหน้าที่ต่างๆ ทางชีวภาพ (Disrupting a variety of biological functions) แต่เมื่อใช้ในระดับไมโครโมลาร์เงินจะไม่เป็นพิษต่อมนุษย์ ดังนั้นเงินจึงถูกใช้อย่างกว้างขวางทั้งด้านชีวภาพ กระบวนการทางเภสัช (Pharmaceutical processes) ผลิตภัณฑ์ ต่างๆ (Products) การประยุกต์เป็นสารเคลือบสำหรับเครื่องมือแพทย์ (Medical devices), Orthopedic หรือ Dental graft materials รักษาแผล (Topical aids for wound repair) ทำความสะอาดแหล่งน้ำ (Water sanitization) สิ่งทอ (Textile products) และเป็นส่วนผสมของนำยาล้างเครื่องมือ (Washing machines)

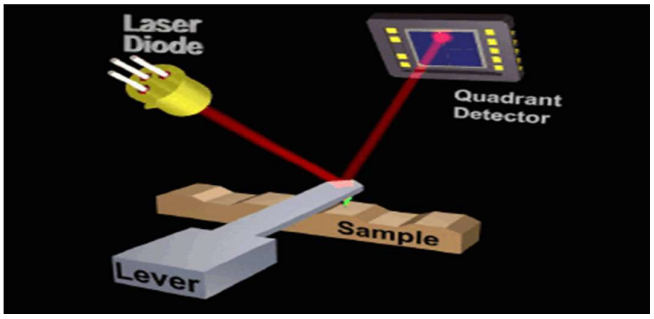
2.5 เครื่องมือวัดทางนาโนเทคโนโลยี

แนวทางหลักของการสังเคราะห์โครงสร้างนาโน คือ การสังเคราะห์โครงสร้างเพื่อให้ได้โครงสร้างที่มีเกรนหรืออนุภาคที่มีขนาดอยู่ในช่วงระหว่าง 1 – 100 นาโนเมตร จึงจะนับได้ว่าเป็นโครงสร้างระดับนาโน โดยในปัจจุบันมีการใช้เทคโนโลยีที่มีอยู่อย่างหลากหลายวิธีการ หลากหลายเครื่องมือและอุปกรณ์ที่นำมาใช้ ซึ่งเครื่องมือหรือวิธีการที่ถูกนำมาใช้งานสำหรับการสร้างโครงสร้างระดับนาโนนั้น สามารถพิจารณาแบ่งเป็นกลุ่มตามแนวทางการการผลิตโครงสร้างนาโนได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ กลุ่มวิธีการที่เรียกว่า นาโนลิโทกราฟี (nanolithography) ซึ่งเป็นกลุ่มวิธีการสร้างโครงสร้างนาโนในรูปแบบการผลิตจากใหญ่ไปเล็ก (top-down) และกลุ่มวิธีการที่เรียกว่า Scanning probe microscopy (SPM) การใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron microscopy) และการใช้ความสามารถในการประกอบตัวเองได้ (Self-assembly) ซึ่งเป็นวิธีการสร้างโครงสร้างนาโนในรูปแบบการผลิตจากเล็กไปใหญ่ (Bottom-up) โดยมีรายละเอียดดังนี้

เครื่อง Atomic force microscope (AFM) Atomic force microscope (AFM) เป็นเครื่องมือที่ใช้งานทางด้านวิทยาศาสตร์ระดับ นาโนโดยเฉพาะ เช่นเดียวกันกับ STM แต่เครื่อง AFM ได้รับการพัฒนาขึ้นมาหลังจากเครื่อง STM และสร้างขึ้นมาด้วยหลักการพื้นฐานเดียวกันกับเครื่อง STM โดยเครื่อง AFM จะสามารถทำงานได้โดยการใช้อุปกรณ์ตรวจหรือโพรบ (Probe) ที่มีปลายแหลมเล็ก (เหมือนกันกับเครื่อง STM) ซึ่งติดอยู่กับคานยื่น (Cantilever) ที่สามารถโก่งงอตัวได้เคลื่อนที่สัมผัสไปบนพื้นผิวของวัตถุ (ซึ่งสามารถที่จะวัดแรงกระทำที่ปลายแหลมของโพรบได้แม้ว่าจะมีขนาดน้อยมากในระดับนาโน ก็ตาม) และประโยชน์ของเครื่อง AFM มีมากกว่าเครื่อง STM คือสามารถที่จะตรวจวัดพื้นผิวที่เป็นฉนวนไฟฟ้าได้ เช่น พื้นผิวพอลิเมอร์ เซรามิค คอมโพสิท กระจกหรือแก้ว หรือแม้แต่โมเลกุลทางชีวภาพต่างๆ ก็สามารถที่จะวัดได้

ภาพที่ 2.1 เครื่อง AFM (Atomic force microscope)
ที่มา : สถาบันนวัตกรรมและพัฒนากระบวนการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล (2555 : 3)

หลักการทำงานของเครื่อง AFM คือ การผ่านแสงเลเซอร์ไปให้กับส่วนปลายแหลม (Tip) ของคานยื่นที่มีขนาดระดับอะตอมในระยะใกล้ ซึ่งส่วนปลายแหลมของคานนั้นจะไปสัมผัสแบบกระดกในทิศทางขึ้นและลงกับพื้นผิวของวัตถุ และเมื่อเครื่อง AFM ลากส่วนปลายแหลมผ่านโครงสร้างระดับนาโน แรงปฏิกิริยาที่กระทำในแนวตั้งฉากที่เกิดขึ้นระหว่างอะตอมของพื้นผิวกับปลายแหลมจะดึงคาน ทำให้คานโก่งงอตัว ทำให้สามารถตรวจวัดขนาดของแรงเชิงปฏิสัมพันธ์ ระหว่างความสัมพันธ์เชิงตำแหน่งของส่วนปลายแหลมและพื้นผิวของวัตถุ (ทำให้สามารถทราบถึงระดับพลังงานที่เกิดขึ้นได้) ซึ่งจะถูกนำมาแปรสัญญาณร่วมกันเพื่อนำมาสร้างเป็นภาพพื้นผิวที่เป็นลักษณะเชิงโครงสร้างระดับอะตอม ที่มีกำลังการขยายสูงไปแสดงบนจอภาพที่เป็นมอนิเตอร์เช่นเดียวกันกับเครื่อง STM (และโดยหลักการเดียวกันนี้ก็สามารถที่ใช้ปลายแหลมของคานนี้ในการสร้างแรงผลัก เพื่อเคลื่อนย้ายอะตอมแต่ละตัวของโครงสร้างวัสดุได้เช่นเดียวกัน)



ภาพที่ 2.2 หลักการทำงานของเครื่อง AFM
ที่มา : สถาบันนวัตกรรมและพัฒนากระบวนการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล (2555 : 3)

วิธีการทำงานของเครื่อง AFM ที่นำมาใช้งานทางด้านวิทยาศาสตร์ระดับนาโน สามารถแบ่งเป็น 2 วิธี ได้แก่

2.5.1 การสัมผัสแบบต่อเนื่อง เป็นการสัมผัสพื้นผิวพร้อมกับการลากปลายแหลมไปบนพื้นผิวนั้นๆ ตลอดเวลา ข้อเสียของวิธีนี้คือ จะทำให้เกิดแรงต้านในแนวของการเคลื่อนที่ซึ่งขนานกับพื้นผิวขึ้น อาจทำให้คานของโพรบที่ใช้วัดเกิดการโก่งงอตัวหรือเกิดบิดเบี้ยวไป โดยที่มิได้เกิดจากแรงดึงดูดที่ปลายเนื่องจากแรงในแนวตั้งฉากเพียงอย่างเดียว จึงทำให้ข้อมูลความสูงของพื้นผิวที่วัดได้นั้นอาจผิดไปจากความสูงที่แท้จริง

2.5.2 การสัมผัสแบบไม่ต่อเนื่อง เป็นการสัมผัสพื้นผิวโดยให้ปลายแหลมสัมผัสกับพื้นผิวเป็นระยะเวลาสั้นๆ ในแนวตั้งฉากกับพื้นผิว (คล้ายกับการใช้ปลายนิ้วเคาะโต๊ะเป็นจังหวะๆ) ด้วยลักษณะการสัมผัสแบบนี้แรงต้านในแนวตั้งฉากจะไม่เกิดขึ้น แต่เนื่องจากปลายแหลมสัมผัสพื้นผิวเป็นระยะสั้นๆ จึงทำให้เกิดการสั่นของคาน ซึ่งจะส่งผลให้ค่าสัญญาณที่ตรวจวัดได้นั้นไม่คงที่หรือไม่แม่นยำได้ (สถาบันนวัตกรรมและพัฒนากระบวนการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2555 : 3)

2.6 นาโนเทคโนโลยีชีวภาพ

สิ่งมีชีวิตในธรรมชาติมีวิวัฒนาการมาหลายร้อยล้านปี โดยอาศัยการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมเพื่อการอยู่รอด มีระบบการทำงานของชีวโมเลกุลที่ซับซ้อน โดยไม่ต้องอาศัยสารตัวนำ หรือสารกึ่งตัวนำ เช่น ซิลิคอนแต่อย่างใด อีกทั้งเซลล์ยังสามารถซ่อมแซมตัวเองได้เมื่อเกิดการสึกหลอและสามารถประกอบขึ้นมาใหม่ได้เมื่อเซลล์เก่าถูกทำลายลง

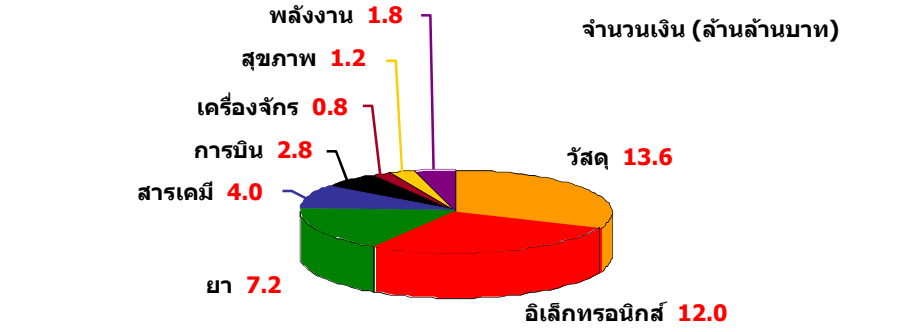
นาโนเทคโนโลยีชีวภาพ เป็นสหวิทยาการขั้นสูงของวิทยาศาสตร์ชีวภาพ เคมี และวิศวกรรมศาสตร์ เข้าด้วยกันเพื่อใช้ในการตรวจสอบ ควบคุม ดัดแปลง หรือสังเคราะห์ชีวโมเลกุลขึ้นใหม่ เพื่อให้เกิดเป็นโครงสร้างโมเลกุลที่ต้องการ ประโยชน์ที่ได้จากนาโนเทคโนโลยีชีวภาพที่เห็นได้ชัดเจนและคาดว่าจะมีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์เป็นอย่างมาก ได้แก่ เทคโนโลยีทางการแพทย์ และเภสัช เช่น การทำวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue engineering) เพื่อสร้างอวัยวะ (เนื้อเยื่อหรือกระดูก) ขึ้นมาทดแทนอวัยวะส่วนที่เสื่อมสภาพไป การผลิตยาที่สามารถทำการรักษาเฉพาะจุด (Drug target) เพื่อลดปัญหาการ ดื้อยาและผลข้างเคียงของยา การผลิต Biosensor ที่สามารถวัดปริมาณสารต่างๆ ในเลือดในปัสสาวะ หรือในสภาพแวดล้อมได้อย่างฉับไว หรือการผลิต DNA ship ซึ่งจะใช้ร่วมกับข้อมูลชีวสารสนเทศ (Bioinformatics) เพื่อตรวจหายีนที่ผิดปกติซึ่งอาจก่อให้เกิดโรคในอนาคต หรือเพื่อใช้เป็นข้อมูลพันธุกรรมพื้นฐานส่วนบุคคลในการรักษาพยาบาลยามเจ็บป่วย ซึ่งแพทย์จะสามารถสั่งยาที่ตอบสนองต่อร่างกายของผู้ป่วยได้อย่างถูกต้อง และมีประสิทธิภาพ เป็นต้น (ศิระศักดิ์ เทพาคำ. ม.ป.ป. : 1)

2.7 การประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีชีวภาพในอุตสาหกรรม

เนื่องจากนาโนเทคโนโลยีเป็นเทคโนโลยีที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวาง โดยสามารถเข้าไปเพิ่มประสิทธิภาพและคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้เกือบทุกอุตสาหกรรมมีการคาดการณ์ว่า ในปี ค.ศ. 2015 ผลิตภัณฑ์นาโนเทคโนโลยีทั่วโลกจะมีมูลค่าสูงถึง 1 ล้านล้านเหรียญสหรัฐ หรือ 40 ล้านล้านบาท โดยมีผลิตภัณฑ์นาโนเทคโนโลยีชีวภาพประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็น

มูลค่ากว่า 1.8 แสนล้านเหรียญสหรัฐ โดยผลิตภัณฑ์ของเทคโนโลยีชีวภาพส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ ส่วนที่เหลือเป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร อุตสาหกรรมอาหารและอื่นๆ (ศิระศักดิ์ เทพาคำ. ม.ป.ป. : 8)

มูลค่าผลิตภัณฑ์นาโนเทคโนโลยีทั่วโลกใน พ.ศ. 2558



บริษัทที่ผลิตสินค้าที่มีอนุภาคนาโนเป็นองค์ประกอบ

2.8 การพัฒนานาโนเทคโนโลยีชีวภาพ

การพัฒนานาโนเทคโนโลยีชีวภาพอาจแบ่งออกได้ตามการประยุกต์ใช้ เช่น

2.8.1 การพัฒนานาโนเทคโนโลยีชีวภาพทางการแพทย์

การพัฒนานาโนเทคโนโลยีชีวภาพทางการแพทย์สามารถแบ่งได้เป็น 4 สาขาหลัก ตามการประยุกต์ใช้ ดังนี้

2.8.1.1 การนำส่งยา (Drug delivery) เป็นการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเพื่อพัฒนาเครื่องมือหรือระบบขนส่งยาที่สามารถผ่านอวัยวะและเนื้อเยื่อต่างๆ ในร่างกาย ตรงไปยังอวัยวะ เนื้อเยื่อ หรือเซลล์เป้าหมาย เช่น สมอง หรือเซลล์มะเร็ง เพื่อปลดปล่อยยาเฉพาะที่ตำแหน่งดังกล่าวได้เป็นเวลานาน (Sustained release)

2.8.1.2 การวิเคราะห์ชีวสาร (Bio-analysis) เป็นการพัฒนาเครื่องมือหรือวิธีวิเคราะห์ ชีวสาร หรือชีวโมเลกุล เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน และอื่นๆ ให้มีความไวสูงขึ้น และใช้สิ่งส่งตรวจน้อยลง (เป็นร้อยถึงหมื่นพันเท่าของปัจจุบัน) เพื่อใช้ในการวินิจฉัยโรค และเป็นเครื่องมือวิจัยพื้นฐานสำหรับการหายาใหม่ๆ

2.8.1.3 เครื่องมือตรวจวัดนาโนเซนเซอร์และเครื่องมือแพทย์ขนาดจิ๋ว (Nanosensors and medical devices) เป็นการพัฒนาเซนเซอร์และเครื่องมือแพทย์ขนาดจิ๋วที่สามารถฝังหรือติดไว้ที่ส่วนใดส่วนหนึ่งของร่างกายแล้วสามารถตรวจวัดสารเคมี ชีวโมเลกุล หรือแม้แต่เชื้อโรค รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงอื่นๆ (เช่น ความดัน ความร้อน ความเป็นกรดด่าง) ของอวัยวะ เนื้อเยื่อ หรือเซลล์ เพื่อตรวจจับความผิดปกติของร่างกายได้ตั้งแต่ระยะเริ่มต้น โดยที่นาโนเซนเซอร์ จะประกอบด้วยโครงสร้างสองส่วนที่สำคัญ ตัวรับสัญญาณ (Receptor) และตัวแปรงสัญญาณ (Transducer) สัญญาณที่นาโนเซนเซอร์ตรวจวัดคือ ผลผลิตของยาที่เกิดขึ้นในเซลล์ เช่น กลูโคลออกซิเดส เป็นต้น นาโนเซนเซอร์อาจแบ่งได้เป็นหลายชนิด ได้แก่ นาโนเซนเซอร์เชิงแสง (Optical nanosensor) และนาโนเซนเซอร์เชิงไฟฟ้าเคมี (Electrochemical nanosensor)

2.8.1.4 วิศวกรรมเนื้อเยื่อและชีววัสดุ (Tissue engineering and biomaterials) เป็นการพัฒนาเซลล์เนื้อเยื่อ หรืออวัยวะทั้งจากธรรมชาติและวัสดุสังเคราะห์เพื่อใช้ทดแทนเซลล์เนื้อเยื่อ อวัยวะที่สูญเสียหรือสึกหลอไป

อย่างไรก็ตามในปัจจุบัน เทคโนโลยีทั้งสี่สาขายังอยู่ในระยะเริ่มต้น คือเป็นการศึกษาระบบและสังเคราะห์นาโนโมเลกุลพื้นฐาน รวมทั้ง ศึกษาการประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการเป็นส่วนใหญ่ แต่เริ่มมีผลิตภัณฑ์ที่ออกสู่ตลาดบ้าง โดยเฉพาะนาโนที่เป็นโมเลกุลที่ใช้ในการขนส่งยา และใช้ในการวิเคราะห์ชีวสาร รวมทั้งเนื้อเยื่อเทียมบางชนิด ในระยะสิบถึงสิบห้าปีข้างหน้า ทิศทางการพัฒนาการสังเคราะห์นาโนโมเลกุลที่ซับซ้อนขึ้น และทำงานตามวัตถุประสงค์ได้ดีขึ้น พัฒนาและประสานชิ้นส่วนขนาดจิ๋วต่างๆ เช่น ชีวจักรกล (Biological motor) ประตูกลขนาดจิ๋ว (Molecular gate keeper) แบตเตอร์รี่ขนาดจิ๋ว และอื่นๆ

2.8.2 นาโนเทคโนโลยีชีวภาพกับการเกษตร อุตสาหกรรมอาหาร และสิ่งแวดล้อม

นาโนเทคโนโลยีชีวภาพทางการแพทย์ที่ประยุกต์ใช้กับมนุษย์ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้กับสัตว์และพืช เพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร เช่น ไบโอเซนเซอร์ สำหรับดักจับเชื้อโรค และวินิจฉัยโรคในสัตว์และพืช รวมทั้งระบบนำส่งยาเฉพาะที่

ในอุตสาหกรรมอาหารผลิตภัณฑ์ประเภทไบโอเซนเซอร์สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาเชื้อและสารพิษปนเปื้อนในอาหาร ส่วนระบบนำส่งยา สามารถประยุกต์ใช้เป็นระบบนำส่งสารอาหารที่สามารถควบคุมให้ปล่อยสารอาหารในบริเวณ เวลา และจำนวนที่ต้องการ

ในด้านสิ่งแวดล้อม มีการวิจัยเพื่อใช้ไบโอเซนเซอร์ในการตักจับและทำลายพิษของเชื้อโรค (รวมทั้งชีวอาวุธ) และสารพิษที่ปนเปื้อนในน้ำ และสิ่งแวดล้อมอื่นๆ (ศิรศักดิ์ เทพาคำ. ม.ป.ป. : 8-11)

2.9 วัตถุนาโนชีวภาพ

ความสัมพันธ์ระหว่างนาโนเทคโนโลยีและชีววิทยาทางเซลล์มีความสำคัญมากต่อการพัฒนาการทางวิทยาศาสตร์ ซึ่งลักษณะงานที่เกี่ยวข้องจะมีอยู่สองแบบใหญ่ ๆ คือ การสร้างอุปกรณ์โดยใช้นาโนเทคโนโลยีและการนำอุปกรณ์เหล่านี้ไปใช้กับสิ่งมีชีวิต นาโนเทคโนโลยีมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงทางเทคโนโลยี และสามารถสร้างเครื่องมือแบบใหม่ให้เหมาะสมกับงานทางชีววิทยาได้ ซึ่งช่วยให้นักวิทยาศาสตร์ทราบทิศทางที่เกี่ยวข้องกับองค์ประกอบสเกลระดับนาโนของระบบสิ่งมีชีวิตร่วมกับการสร้างวัตถุทางชีวภาพแบบใหม่ ในทางตรงกันข้าม การศึกษากลไกลวิทยาศาสตร์ทางเซลล์จะทำให้เกิดแนวทางที่สำคัญต่อการจำลองเครื่องมือในระดับนาโนที่สร้างขึ้นสำหรับสิ่งมีชีวิต กระบวนการของการวิวัฒนาการทำให้ทราบถึงธรรมชาติเพื่อหาคำตอบที่เหมาะสมต่อการแก้ปัญหาทางวิศวกรรมศาสตร์ในระดับสเกลนาโน และนักนาโนเทคโนโลยีควรที่จะเห็นประโยชน์ของการแก้ปัญหาเหล่านี้ ทั้งที่เป็นปัญหาโดยตรงที่สอดคล้องกับระบบทางชีวภาพที่มีต่อวัตถุนาโนหรือสอดคล้องกับระบบที่สร้างขึ้นเลียนแบบเพื่อควบคุมระบบทางชีวภาพที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน (ศรัญญา พรหมโคตร์. 2551 : 119)

2.10 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free radicals) หมายถึง อะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่อิเล็กตรอนในวงรอบนอกสุดขาดคู่ไป (Unpaired electron) จึงทำให้อะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบเหล่านั้นอยู่ในสภาวะที่ไม่เสถียร โดยอิเล็กตรอนที่ขาดคู่นั้น จะพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวของสารอื่น ส่งผลให้อนุมูลอิสระมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีกับโมเลกุลอื่น โดยเฉพาะอนุมูลอิสระที่มีน้ำหนักในโมเลกุลต่ำ จะมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีได้มากกว่าอนุมูลอิสระที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง อนุมูลอิสระอาจจะอยู่ในสภาวะที่เป็นกลางทางไฟฟ้าหรืออยู่ในสภาวะที่มีประจุ ซึ่งมี 2 ชนิด คือ ชนิดที่มีประจุบวกและชนิดที่มีประจุลบในการเขียนสัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูลอิสระสามารถเขียนได้โดยใช้เครื่องหมาย “จุด” แทนอิเล็กตรอนเดี่ยวกำกับไว้ทางด้านบนของสัญลักษณ์ทางเคมี ตัวอย่างเช่น $O_2^{\bullet-}$ (Superoxide anion radical), $OH^{\bullet}$ (Hydroxyl radical), $HO_2^{\bullet}$ (Perhydroxyl radical), และ $RO^{\bullet}$ (Alkoxyl radical) เป็นต้น (อรัญญา จุติวิบูรสุข. 2552 : 52) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวใน

การเกิดปฏิกิริยาสูงมาก (โอภา วัชระคุปต์. 2550 : 1) การเกิดอนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิตนั้นเป็นผลสืบเนื่องมาจากการเผาผลาญเซลล์ของสิ่งมีชีวิตโดยมีการใช้ออกซิเจนในกระบวนการเผาผลาญซึ่งโดยทั่วไปธรรมชาติของร่างกายจะมีกลไกลในการควบคุมไม่ให้มีปริมาณอนุมูลอิสระสูงจนก่อให้เกิดอันตรายต่อเซลล์ได้ในสภาวะปกติกลไกเหล่านี้ จะทำหน้าที่ลดผลกระทบที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ได้อย่างเพียงพอ โดยการรักษาปริมาณของอนุมูลอิสระในร่างกายให้อยู่ในระดับที่สมดุล (มัณฑนา ภาณุมาภรณ์. 2552 : 52)

2.11 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ มาจากคำว่า Antiradical ต่อมาถูกเปลี่ยนเป็น Radical scavenger ซึ่งแปลว่า สารขจัดหรือกำจัดอนุมูล หรือ สารแอนติออกซิแดนท์ (Antioxidant) กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระมีหลายกลไกล ได้แก่ ป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ เข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง จับกับโลหะหนัก ป้องกันการเริ่มต้นปฏิกิริยาลูกโซ่ของไลปิดเปอร์ออกซิเดชันและหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อไป ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระในอุดมคติ ควรมีคุณสมบัติดังนี้ คือ มีความเฉพาะเจาะจงสูงในการเข้าจับกับอนุมูลอิสระเพื่อกำจัดให้หมดไป สามารถจับกับโลหะหนักได้ เป็นสารต้านออกซิเดชัน และมีผลต่อการแสดงออกของยีน นอกจากนี้ ความสามารถในการดูดซึมหรือส่งผ่านสารต้านอนุมูลอิสระเข้าสู่เซลล์และเนื้อเยื่อมีความสำคัญเช่นกัน ซึ่งเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติการชอบน้ำ (Hydrophilicity) หรือความชอบไขมัน (Lipophilicity) ของสาร เนื่องจากความเข้มข้นของสารมีความสำคัญต่อการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากบทบาทสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ จึงได้มีการคิดค้นและพัฒนาเพื่อสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระออกมาใช้กันอย่างแพร่หลาย เช่น BHT (Butylated hodroxytoluene), BHA (Butylated hodroxyaisol), TBHQ (Tertiary butylhydroquinone) และ PG (Propyl gallate) ซึ่งสารสังเคราะห์เหล่านี้ แม้ว่าจะเป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงในการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่ยังคงมีปัญหาเรื่องความปลอดภัยเมื่อมีการใช้เป็นระยะเวลานานอย่างต่อเนื่อง ปัจจุบันสารเหล่านี้ส่วนใหญ่ถูกนำมาใช้เติมลงในผลิตภัณฑ์อาหาร ยา และเครื่องสำอาง เพื่อป้องกันการเสื่อมคุณภาพก่อนวันสิ้นอายุของผลิตภัณฑ์ สำหรับสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาตินั้น ยังคงเป็นที่ยอมรับทั้งในเรื่องของประสิทธิภาพและความปลอดภัยมากกว่าสารสังเคราะห์ ตัวอย่างเช่น วิตามินอี ซึ่งเป็นสารที่มีโครงสร้างทางเคมีหลายไอโซเมอร์ แต่พบว่า ไอโซเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ คือ 2R, 4R, 8R-α-Tocopherol เป็นไอโซเมอร์ที่มีการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด และดีกว่าวิตามินอีที่ได้จากการสังเคราะห์ซึ่งเป็นสารไอโซเมอร์ผสมของ α-Tocopherol เป็นต้น แหล่งที่สำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ (Natural antioxidants) ได้แก่ ผัก ผลไม้และสมุนไพร ดังนั้น การรับประทานอาหารที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระจึงเป็นยุทธวิธีที่ดีในการช่วยลดหรือกำจัดอนุมูลอิสระที่มากเกินสมดุลออกไปจากร่างกาย แต่สารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายได้รับจากการรับประทาน จะถูกส่งผ่านไปยังผิวหนังได้เพียงร้อยละ 2-3 ของปริมาณที่รับประทานเข้าไปเท่านั้น (มัณฑนา ภาณุมาภรณ์. 2552 : 55-56)

2.12 วิธีศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระหรือแอนติออกซิแดนท์ (Antioxidant) คือ สารที่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระหมดฤทธิ์ไป สารต้านอนุมูลอิสระมีมากมายหลายกลุ่มมีสมบัติทั้งทางเคมีและกายภาพแตกต่างกันไปแต่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้เหมือนกัน คือ สามารถจับกับอนุมูลอิสระได้ ซึ่งสารอนุมูลอิสระที่มีในร่างกาย มีหลายประเภท เช่น ฤทธิ์การยับยั้งสารอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในอาหารและพืชสมุนไพรได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางและยืนยันได้ว่าสามารถ ลดอุบัติการณ์การเกิดโรคแห่งความเสื่อมต่างๆ ได้อย่างมาก

สารต้านอนุมูลอิสระ แบ่งออกเป็นหลายกลุ่มตามกลไกลการออกฤทธิ์ เช่น การเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ การทำให้เปอร์ออกไซด์ (Peroxide) หมดฤทธิ์ และการเข้าจับกับโลหะหนัก ดังนั้น ก่อนจะสรุปว่าสารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดมีฤทธิ์เพียงใด ควรทำการวิเคราะห์หลายๆ วิธีก่อน ซึ่งการวิเคราะห์ที่นิยม คือ การทำปฏิกิริยาทางเคมี ซึ่งมีวิธีใหญ่ๆ อยู่ 2 วิธี คือ

ก. ปฏิกิริยาที่มีการถ่ายโอนไฮโดรเจนอะตอม หรือ Hydrogen atom transfer based method เรียกย่อว่า HAT เช่น β-Carotene bleaching method

ข. ปฏิกิริยาที่มีการถ่ายโอนอิเล็กตรอน หรือ Electron transfer based method เรียกย่อว่า ET

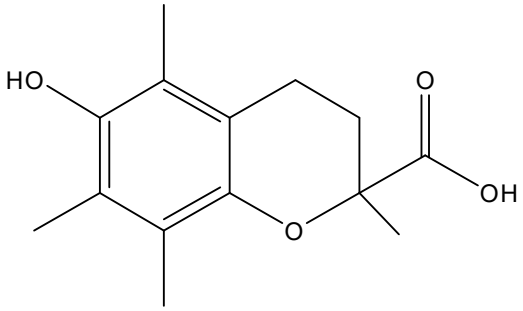
2.12.1 วิธี HAT จะเป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการทำลายฤทธิ์ของอนุมูลอิสระ โดยการให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระสำหรับวิธี ET จะเป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการโอนถ่ายอิเล็กตรอนเพื่อทำการรีดิวซ์สารอนุมูลอิสระ รวมทั้งไอออนของโลหะหนักและหมู่ฟังก์ชันที่ต้องการอิเล็กตรอน ปฏิกิริยาทั้งสองนี้ อาจเกิดขึ้นพร้อมๆกันได้ ถ้าแบบใดเกิดขึ้นมากกว่า จะถือเป็นตัวแทนของปฏิกิริยานั้นอย่างไรก็ตาม ปริมาณของสารผลผลิตของแต่ละปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น สามารถทำการวิเคราะห์ได้ด้วยวิธีที่เหมาะสม ดังนั้น ก่อนจะสรุปลงไปว่าสารต้านอนุมูลอิสระมีความสามารถมากน้อยเพียงใดจะต้องใช้หลายๆ วิธีร่วมกัน เพื่อจะได้อธิบายปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเมื่อรับประทานหรือทาสารออกฤทธิ์เหล่านี้ทางผิวหนัง ในความเป็นจริงอาจจะมีกลไกอื่นที่ต่างจากในหลอดทดลองก็ได้ วิธีการศึกษาฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมในการทำวิจัยในปัจจุบันมีตัวอย่างดังนี้

1) Oxygen radical absorbance capacity (ORAC)
2) Total antioxidant scavenging capacity (TOSC)
3) Tolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)
4) ABTS assay
5) Ferric reducing antioxidant power (FRAP)
6) DPPH assay เป็นต้น

2.12.2 Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)

ORAC เป็นวิธีวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างที่ต้องการศึกษา โดยในปฏิกิริยาประกอบด้วยอนุมูลอิสระสังเคราะห์ สารเรืองแสง ซึ่งสารอนุมูลอิสระจะเข้าทำปฏิกิริยากับสารเรืองแสงได้เป็นสารที่ไม่เรืองแสงขึ้น วัดผลจากค่าความเข้มของแสงจางลง ดังนั้น เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระเข้าไปในปฏิกิริยา สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้าทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระ ทำให้สาร

เรืองแสงจางหายไป จึงวัดค่าความเข้มแสงของสารเรืองแสงได้มากขึ้น ตามความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระ วิธีนี้ จึงเป็นการศึกษาฤทธิ์แบบทางอ้อม จากการติดตามความเข้มข้นของสารเรืองแสง จากนั้น เปรียบเทียบฤทธิ์ของสารตัวอย่างกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน สารมาตรฐานที่นิยมใช้ได้แก่ 6-Hydroxy-2,5,7,8- tetramethylchroman-2-carboxylic acid (HTCC;Trolox) มีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 2.3 หรืออาจใช้สารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ เช่น Butylated hydroxtoluene (BHT) หรือ α-Tocopherol ซึ่งละลายน้ำได้น้อย งานวิจัยส่วนใหญ่จึงนิยมใช้ Trolox ซึ่งละลายน้ำดีกว่าแทน ทำโดยเตรียมสารละลาย Trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วทำการทดลองในลักษณะเดียวกันกับสารตัวอย่าง จากนั้นนำค่าความเข้มของสารเรืองแสงที่วัดได้ไปพล็อตกับความเข้มข้นของ Trolox เพื่อใช้เป็น Calibration curve ดังนั้น ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้ จะเป็นค่า Trolox equivalent หรือ TE มีหน่วยเป็น μM Trolox equivalent ต่อลิตร หรือต่อกรัม (μM TE/L;μM TE/g) ของสารตัวอย่าง



ภาพที่ 2.3 6-Hydroxy- 2,5,7,8 - tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox)

ในการศึกษานี้สารเรืองแสงที่ใช้ คือ Fluorescein ซึ่งสารเหล่านี้ได้จะถูกกระตุ้นได้ดีด้วยแสงในช่วงคลื่นหนึ่ง จากนั้นจะเปล่งแสงออกมาในอีกช่วงคลื่นหนึ่ง ตัวอย่างเช่น สาร Fluorescein ดูดกลืนหรือถูก Excitation ที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร และเปล่งแสง (Emission) ให้ลำแสงที่มีความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร ปกติสารละลาย Fluorescein จะมีสีเขียวอมเหลือง ถ้าถูกออกซิไดซ์ด้วยอนุมูลอิสระ จะกลายเป็นสารที่ไม่มีสี ซึ่งในปฏิกิริยานี้ สารอนุมูลอิสระที่ใช้ได้แก่ อนุมูลอิสระ Peroxyl ซึ่งได้จากปฏิกิริยาการให้ความร้อนแก่สารตั้งต้น Azo-initiator compound เช่น สาร 2-Azo-bis (2-amidinopropane) dihydrochloride (ABAP) ในปฏิกิริยา ORAC เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระเข้าไป สารต้านอนุมูลอิสระจะไปจับกับอนุมูลอิสระ Peroxyl ทำให้สารเรืองแสงคงทนไม่ถูกออกซิไดซ์ต่อไป จึงวัดค่าความเข้มแสงได้มากขึ้น ขณะที่ปฏิกิริยาที่ไม่มีสารต้านอนุมูลอิสระ สารเรืองแสงจะมีความเข้มแสงจางลงตามเวลาและปริมาณของอนุมูลอิสระ Peroxyl จึงสามารถบอกประสิทธิภาพของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่ศึกษาได้โดยการเปรียบเทียบค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการพล็อตความเข้มแสงกับเวลา กับค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการทำปฏิกิริยาด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานที่รู้ความเข้มข้นแน่นอน (เตรียมเพื่อสร้าง Calibration curve)

2.12.3 Total antioxidant scavenging capacity (TOSC)

วิธี TOSC เป็นปฏิกิริยาที่ดูผลการยับยั้งอนุมูลอิสระเปอร์ออกซิล คล้ายกับวิธี ORAC กล่าวคือ ให้สารต้านอนุมูลอิสระเข้าแย่งจับกับอนุมูลอิสระทำให้ผลผลิตทางปฏิกิริยาออกซิเดชันมีปริมาณลดลง โดยในปฏิกิริยานี้ประกอบไปด้วยสารตั้งต้น 2 ชนิด คือ α-Keto-γ-methiolbutyric acid (KMBA) และ อนุมูลอิสระเปอร์ออกซิล ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากันจะได้ก๊าซเอทิลีน (Ethylene) ออกมา เมื่อมีการเติมตัวอย่างที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะเข้าแย่งกับอนุมูลอิสระ ผลคือ ไปยับยั้งการผลิตก๊าซเอทิลีน หรือทำให้ผลิตได้น้อยลงตามปริมาณของอนุมูลอิสระที่เหลืออยู่ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณของก๊าซเอทิลีนของปฏิกิริยาตัวอย่างที่ศึกษาจะทราบค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ วิธีนี้จะใช้ Gas chromatography เป็นเครื่องมือในการวิเคราะห์ปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้น

ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างบอกเป็นค่า TOSE value คำนวณโดยการเทียบกับปฏิกิริยาควบคุม (Control) ที่ไม่มีสารต้านอนุมูลอิสระ คำนวณดังสูตร

$$\text{TOSE value} = 100-(AUC_{sample}/AUC_{control} \times 100)$$

AUC_{sample} = พื้นที่ใต้กราฟของสารตัวอย่าง

$AUC_{control}$ = พื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐาน

วิธี TOSC เป็นวิธีที่เหมาะในการศึกษา Total oxyradical scavenging capacity ของตัวอย่างจากสิ่งมีชีวิต เช่น เซลล์หรือตัวอย่างเลือดโดยเป็นค่าวิเคราะห์ปริมาณที่น่าเชื่อถือ เพราะสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ ROS ชนิด ต่างๆ ได้ เช่น อนุมูลอิสระ Peroxyl, อนุมูลอิสระ Hydroxyl และสารที่เกิดจากการเสื่อมสลายของ Peroxynitrate เป็นต้น

ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษาโดยวิธี TOSC อาจคำนวณเป็นค่า TE โดยการเทียบกับ Calibration curve ของ Trolox

2.12.4 Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)

TEAC เป็นการวัดสีของอนุมูลอิสระที่หายไปจากการเข้าทำปฏิกิริยาโดยตรงกับสารต้านอนุมูลอิสระ วัดการหายไปของสีอนุมูลอิสระโดยใช้ Diode-array spectrophotometer สารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้คือ Action radical ABTS ($ABTS^{\bullet+}$) ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระที่คงตัว สารละลายมีสีเขียวแกรมน้ำเงิน ดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เมื่อนำมาใช้เป็นตัวแทนของอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาจะถูกสารต้านอนุมูลอิสระรีดิวซ์ใหเป็น ABTS (2,2-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6 sulfonic acid) ที่ไม่มีสีเกิดขึ้นแทน

TEAC method เป็นการวัดฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระโดยอาศัยกลไกการรีดิวซ์สารอนุมูลอิสระโดยตรง ประสิทธิภาพหรือฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระคิดเทียบกับค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน Trolox การวิเคราะห์ผลการทดลองทำโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุมูลอิสระ ($ATBS^{\bullet+}$) ที่หายไปหลังจากปล่อยให้ทำปฏิกิริยาตามกำหนดคือ 6 นาที จากนั้นเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ได้กับ Calibration curve ซึ่งได้จากการพล็อตค่าการดูดกลืนแสงที่ทำปฏิกิริยาของสารมาตรฐานที่เตรียมที่ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นคำนวณฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระเป็นค่า TE ต่อกรัมของตัวอย่าง วิธีนี้เป็นวิธีที่ทำได้ง่ายอ่านผลได้รวดเร็วแต่อาจเกิดข้อด้อยที่เวลา 6 นาทีตามที่ผู้คิดค้นแนะนำอาจจะไม่เพียงพอกับปฏิกิริยาบางปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นอย่างช้าๆ ซึ่งทำให้อ่านผลได้ต่ำกว่าประสิทธิภาพที่แท้จริงได้

2.12.5 ABTS assay

วิธี ABTS เป็นวิธีที่พัฒนาจากวิธี TEAC assay เป็นการศึกษาค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ที่ได้จากการเตรียมขึ้นใหม่ๆ (Freshly prepared) จากนั้นให้ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระนาน 6 นาที (หรือนานกว่านั้นถ้าต้องการติดตามดูผลของปฏิกิริยาที่เวลาต่างๆ) จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร คำนวณหาค่า % Inhibition จากสูตร

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{[(A_{734} \text{ of control} - A_{734} \text{ of extract})] \times 100}{(A_{734} \text{ of control})}$$

Control คือ ปฏิกิริยาที่ไม่เติมสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งการทดลองนี้จะเหมือนกับวิธี TEAC assay ซึ่งเพียงแต่ใช้ Trolox มาเป็นสารมาตรฐานจะเทียบเคียงได้ค่า TE ออกมา การศึกษาโดยวิธีนี้จึงรายงานผลเป็น % Inhibition ไว้เปรียบเทียบกันเองระหว่างตัวอย่างที่ต่างชนิดกัน หรืออาจใช้สารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ ที่มีกลไกการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบเดียวกันเช่นวิตามินซี (Ascorbic acid) หรือ α-Tocopherol เป็นตัวเปรียบเทียบก็ได้

อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ เตรียมจากปฏิกิริยา ABTS กับ Potassium persulfate ซึ่งมี Absorption spectrum โดยละลายสาร ABTS ในน้ำให้มีความเข้มข้น 7 มิลลิโมล/ลิตร และให้ทำปฏิกิริยากับ Potassium persulfate 2.45 มิลลิโมล/ลิตร ตั้งของผสมไว้ในที่มืด นาน 12-16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง สารนี้จะคงตัวอยู่ได้นาน 2 วัน เวลาใช้จะต้องเจือจางอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ให้มีค่าการดูดกลืนอยู่ช่วง 0.7± 0.02 ที่ 734 นาโนเมตร ซึ่งสามารถเจือจางด้วยเอทธานอลสำหรับสารที่ไม่ละลายน้ำ หรือเจือจางด้วย Phosphate buffer saline pH 7.4 สำหรับสารที่ละลายน้ำได้ดี อัตราส่วนของ Extract : ABTS reagent ใช้ประมาณ 10 : 1000 ไมโครลิตร ถ้าตัวอย่างเข้มข้นมากเกินไปต้องเจือจางให้มีค่าที่ เหมาะสมกับค่าการดูดกลืนแสง หรือให้มี % Inhibition อยู่ระหว่าง 20-80 % เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาวัดได้ตั้งแต่ 1 นาที ถึง 6 นาที สารมาตรฐานที่ใช้อาจจะใช้ Trolox หรือสารอื่นก็ได้

2.12.6 Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

FRAP เป็นวิธีที่วัดฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระจากการวัดประสิทธิภาพการรีดิวซ์สาร Ferric ion ให้เป็นสาร Ferrous โดยตรง โดยสารตั้งต้นของปฏิกิริยานี้รวมเรียกว่า FRAP reagents ประกอบด้วย 2,3,5-Triphenyl-1,3,4-triaza-2-azoniacyclopenta-1,4-diene chloride (TPTZ) ทำปฏิกิริยาเกิดเป็นสารเชิงซ้อนกับ $FeCl_3$ ไดเป็น Fe^{3+}-TPTZ (เป็นสารที่ไม่มีสี) เมื่อสารเชิงซ้อนนี้ถูกรีดิวซ์ด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ จะได้สารประกอบเชิงซ้อน Fe^{2+}-TPTZ (สีน้ำเงิน) เกิดขึ้นซึ่งวัดการเปลี่ยนแปลงนี้ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร การรายงานผลจะบอกเป็นค่า FRAP vale มีหน่วยเป็นมิลลิโมล/ลิตรของ $FeSO_4.7H_2O$ ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่เตรียมเป็น Calibration curve เพื่อเทียบปริมาณของ Fe^{2+}-TPTZ ที่เกิดขึ้น มีหน่วยเป็น มิลลิโมล/ลิตรต่อหน่วยของตัวอย่าง

2.12.7 DPPH assay

DPPH เป็นวิธีการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ง่าย นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการทดสอบฤทธิ์ของอาหารและสมุนไพร สารที่ใช้คือ อนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ หรือ อนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็นสารที่อยู่ในรูปของอนุมูลอิสระที่มีความคงตัว ดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร มีสีม่วงอมน้ำเงินเมื่อถูกรีดิวซ์โดยสารต้านอนุมูลอิสระ จะเปลี่ยนจากสีม่วงอมน้ำเงินเป็นสีเหลือง (DPPH$^{\bullet}$ เปลี่ยนเป็น DPPH-H) ซึ่งการเปลี่ยนสีจะสัมพันธ์โดยตรงกับจำนวนของอิเล็คตรอนที่ก่อพันธะกับไฮโดรเจนที่ได้จากสารต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาโดยวิธีนี้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ สามารถคำนวณได้หลายแบบแล้วแต่ผู้ทดลองจะกำหนด ตัวอย่างเช่น การเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน โดยวัดที่ระยะเวลาที่ทำปฏิกิริยาเท่ากัน การรายงานผลจะเป็น % Antioxidant activity (% AA) คำนวณได้ดังสมการ

$$\% \text{ AA} = \frac{[1-(\text{A517 of sample})]}{(\text{A517 of standard})} \text{x } 100$$

นอกจากนี้ ยังสามารถรายงานผลในรูปของ Effective concentration (EC_{50}) เป็นค่าความเข้มข้นหรือปริมาณของสารที่ลดความเข้มข้นของ DPPH$^{\bullet}$ ได้ 50 % ของความเข้มข้นเริ่มต้น ซึ่งวิธีนี้จะต้องเตรียมสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้นหลาย ๆ ค่า และวัดที่เวลาต่างๆ แล้วพล็อตกราฟระหว่าง % DPPH remaining (ปริมาณ DPPH$^{\bullet}$ ที่ เหลืออยู่ที่เวลาต่างๆ) กับเวลา เพื่อการติดตามปฏิกิริยา จากนั้น หาความเข้มข้นที่สามารถลดค่าการดูดกลืนแสงลงได้ 50 % ของสารเริ่มต้น บันทึกผลออกมาเป็นค่า EC_{50} (มัณฑนา ภาณุมาภรณ์. 2552 : 64-79)

2.13 การปลูกและโรคของพริก

พริกเป็นพืชผักที่มีความสำคัญในการประกอบอาหารประจำวันสำหรับคนไทยเป็นอย่างมาก เนื่องจากคนไทยนิยมรับประทานอาหารที่มีรสชาติเผ็ดเป็นส่วนใหญ่ จึงนิยมปลูกพริกไว้บริโภคในครัวเรือนและมีการปลูกเพื่อการค้า ตลอดจนแปรรูปผลิตภัณฑ์ปรุงแต่งรส เช่น พริกป่น น้ำพริกเผา น้ำพริกแกง ซอสพริก เป็นต้น พริกที่ปลูกกันมากในปัจจุบันมี 2 ชนิด คือ

2.13.1 พริกใหญ่ ได้แก่ พริกชี้ฟ้า พริกมัน พริกเหลือง พริกหยวก พริกยักษ์ บางซอ แม่ปิง 80 ภูพิงค์

2.13.2 พริกเล็กหรือพริกขี้หนู ได้แก่ พริกจินดา พริกหัวเรือ พริกห้วยสีทน พริกจินดายอดสน พริกจินดาลาดหญ้า พริกขี้หนูสวน พริกเดือยไก่ พริกปากปวน พริกลูกผสมซุปเปอร์ฮ็อต เพชรดำ

พริกเป็นพืชในเขตร้อนหรือกึ่งร้อนที่ทนความแห้งแล้งได้ดีพอสมควร และสามารถปลูกได้ในดินแทบทุกชนิด แต่ดินที่เหมาะสมที่สุดคือ ดินร่วนปนทราย มีการระบายน้ำดี ไม่มีน้ำท่วมขังหรือชื้นแฉะ เพราะจะทำให้รากเน่าและตายได้

อายุการปลูก ตั้งแต่ย้ายกล้าจนถึงเก็บเกี่ยว

- พริกชี้ฟ้า พริกมัน พริกเหลือง อายุประมาณ 70-90 วัน
- พริกเล็กหรือพริกขี้หนู อายุประมาณ 60-90 วัน
- พริกยักษ์ อายุประมาณ 60-80 วัน

ฤดูปลูก : ปลูกได้ตลอดปี แต่ปลูกได้ผลดีที่สุดระหว่างเดือน ตุลาคม-กุมภาพันธ์ เป็นช่วงที่เก็บเกี่ยวผลผลิตในฤดูแล้งทำให้สะดวกในการตากแห้ง และช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของพริกชี้ฟ้า พริกขี้หนู 24-29 ^{0}C สำหรับการปลูกให้ได้ราคาสูงจะต้องปลูกในระหว่างเดือนเมษายน-พฤษภาคม และสิงหาคม-กันยายนเพราะเป็นช่วงที่ปลูกพริกยากที่สุด

การเตรียมเมล็ดพันธุ์

ควรเลือกใช้พันธุ์ที่ตลาดมีความต้องการ มีความเหมาะสมกับสภาพแวดล้อม ปัจจุบันนิยมใช้พันธุ์ลูกผสมซุปเปอร์ฮ็อต ก่อนนำเมล็ดพันธุ์ไปเพาะจะต้องคัดเมล็ดพันธุ์ที่ไม่สมบูรณ์ออกโดยนำเมล็ดพันธุ์แช่น้ำสะอาด เมล็ดพันธุ์ที่เสียจะลอยน้ำแล้วคัดออก นำไปแช่น้ำอุ่นอุณหภูมิประมาณ 50 ^{0}C นานประมาณ 30 นาที ก่อนนำไปเพาะ

การเพาะเมล็ดพันธุ์ในแปลง

นำเมล็ดพันธุ์ไปหว่านให้ทั่วทั้งแปลงเพาะหรือโรยเมล็ดเป็นแถวไปในร่องลึก 0.6-1 cm ห่างกันแถวละประมาณ 10 cm กลบด้วยปุ๋ยหมักที่สลายตัวดีหรือดินผสมละเอียดรดน้ำให้ชุ่มเสมอ คลุมด้วยฟางแห้งหรือหญ้าแห้งบางๆ เมื่อกล้าเริ่มงอกมีใบจริงอายุประมาณ 12-15 วัน ถอนแยกต้นที่เป็นโรคไม่สมบูรณ์หรือต้นที่ขึ้นเบียดกันแน่นเกินไป ให้มีระยะห่างกันพอสมควรและควรให้ปุ๋ยเสริมทางใบเพื่อให้ต้นกล้าเจริญเติบโตและแข็งแรง เมื่ออายุ 30-40 วัน จึงย้ายลงปลูกในแปลงใหญ่ได้

การเพาะเมล็ดในกะบะเพาะ

การเพาะในถาดหลุมมีวัสดุเพาะเมล็ดเป็นส่วนผสมสำเร็จรูปที่อุ้มน้ำได้พอเหมาะ แต่ละถาดมี 104 หลุม วัสดุเพาะ (Media) 1 ถุงใส่ถาดเพาะได้ 14-16 ถาด เทคนิคการเพาะที่ทำให้ต้นกล้าแข็งแรงสมบูรณ์ก่อนย้ายปลูกจะต้องเพาะเมล็ดให้งอกก่อนในวัสดุเพาะ เช่น ทรายผสมแกลบดำและขุยมะพร้าว เมล็ดจะงอกใช้เวลาประมาณ 10-12 วัน หลังจากนั้นจึงย้ายไปปลูกในวัสดุเพาะสำเร็จรูปที่อยู่ในถาดเพาะใช้เวลาอีก 14-18 วัน จึงย้ายต้นกล้าไปปลูกได้

การเตรียมดินปลูก

การเตรียมดินปลูกพริก ควรพิจารณาความแตกต่างตามสภาพของดินและระดับน้ำดังนี้คือ

1. การเตรียมดิน ควรขุดหรือไถดินให้ลึกประมาณ 15 cm ตากดิน 5-7 วัน ใส่ปุ๋ยหมักหรือปุ๋ยคอกที่สลายตัวแล้วประมาณ 20 kg ต่อเนื้อที่ 5 m^2 พรวนย่อยหน้าดินให้ละเอียด

2. การเตรียมดินปลูกในเขตอาศัยน้ำฝน ต้องพิจารณาที่ซึ่งระบายน้ำได้ดี การกำหนดแถวปลูก ให้กำหนดแถวคู่ห่างกัน 1.20 m และให้ระยะระหว่างแถวห่างกัน 0.5 m ระยะระหว่างต้น 0.50x0.50 m เมื่อเตรียมแปลงปลูกแล้วให้ใส่ปุ๋ยคอกในอัตราไร่ละ 1,200-3,000 kg ทำการคุกปุ๋ยให้เข้ากับดินแล้วใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ในอัตรา 50 kg/ไร่ และในสภาพดินเป็นกรดควรใช้ปูนขาวในอัตรา 200-400 kg/ไร่

การดูแลรักษา

1. การให้น้ำ พริกเป็นพืชที่ต้องการน้ำอย่างเพียงพอ และสม่ำเสมอในช่วงแรกของการเจริญเติบโต ดินควรมีความชุ่มชื้นพอดีอย่าให้เปียกแฉะเกินไปจะทำให้ต้นพริกเหี่ยวตายได้ ในช่วงเก็บผลผลิตควรลดการให้น้ำ เพื่อจะให้ได้ผลผลิตดีมีสีสวย

2. การกำจัดวัชพืช ในระยะที่ต้นพริกยังเล็กควรมีการกำจัดวัชพืชให้บ่อยครั้ง หากวัชพืชคลุมต้นพริกช่วงระยะการเจริญเติบโตจะทำให้แคระแกร็นคุณภาพผลผลิตไม่ดี การกำจัดวัชพืชอาจใช้สารเคมีเท่าที่จำเป็น

3. การใส่ปุ๋ย พริกเป็นพืชที่มีอายุการเก็บเกี่ยวค่อนข้างยาวนาน ปุ๋ยที่ใช้ควรเป็นปุ๋ยที่มีธาตุอาหารครบ เช่น ปุ๋ยสูตร 15-15-15 หรือ 13-13-21 ในอัตรา 25-50 kg/ไร่ ขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของดิน เพื่อเป็นการช่วยเสริมการเจริญเติบโตนอกจากนี้ควรใส่ปุ๋ยน้ำทางใบบ้างโดยการฉีดพ่นทุกครั้งหลังการเก็บเกี่ยว การใช้ปุ๋ยเคมีจะให้ผลต่อพืชสูงสุดขึ้นอยู่กับสภาพและสมบัติขิงดินโดยเฉพาะค่า pH ความชื้น และระยะการเจริญเติบโตของพืช อีกทั้งปริมาณอินทรียวัตถุที่อยู่ในดินซึ่งจะต้องมีอย่างเหมาะสม เช่น ถ้าดินเป็นกรดต้องใช้ปูนขาวช่วยปรับสภาพดินมีค่า pH ค่อนข้างเป็นกลาง การใส่ปียเคมีลงในดินจะต้องมีความชื้นอย่างเพียงพอ ถ้าไม่เช่นนั้นปุ๋ยเคมีจะไม่ละลาย จังไม่เป็นประโยชน์ต่อพืช บางครั้งอาจละลายปุ๋ยในน้ำก่อนประมาณ 100 g/ น้ำ 20 L แล้วนำไปรดจะเป็นการประหยัดปุ๋ยอย่างมาก

การใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 ใส่ครั้งแรกปริมาณครึ่งหนึ่งก่อนปลูกเป็นปุ๋ยรองพื้น พรวนกลบลงในดิน โรยปุ๋ยไนโตรเจนใส่ข้างต้นพริกห่างจากโคนพริกประมาณ 2 นิ้ว เมื่ออายุ 10-14 วัน หลังจากย้ายต้นกล้า ใส่ครั้งที่ 2 ปริมาณอีกครึ่งหนึ่งที่เหลือใส่โรยข้างแล้วแต่งหน้าด้วยปุ๋ยไนโตรเจนพรวนกลบลงในดิน

2.14 การป้องกันกำจัดศัตรูพริก

นอกจากการให้น้ำ การให้ปุ๋ย หรือการกำจัดวัชพืชแล้ว ยังมีศัตรูพริกต่างๆ ที่มีอิทธิพลต่อต่อผลผลิตพริกเป็นอย่างมาก คือศัตรูพริก โดยศัตรูพริกที่พบได้โดยทั่วไป มีดังนี้

1) เพลี้ยไฟ ชื่อวิทยาศาสตร์ *Scirtothrips dosalis* Hood เป็นแมลงขนาดเล็ก ลำตัวแคบยาว มีความยาวประมาณ 1-2 mm ตัวเต็มวัยมีสีน้ำตาลปนเหลือง ขอบปีกมีขนเป็นแผง เพลี้ยไฟมักพบอยู่บนใบและยอดอ่อนอีกทั้งพบที่บริเวณฐานดอก และขั้วผลอ่อน ขณะที่หากินไม่ชอบเคลื่อนย้ายตัว และเมื่อมีการกระทบกระเทือนจะเคลื่อนไหวรวดเร็ว มีการขยายพันธุ์ทั้งแบบผสมพันธุ์และไม่ผสมพันธุ์ ตัวเมียมีอายุประมาณ 15 วัน และได้รับการผสมจะออกไข่ประมาณ 40 ฟอง ตัวเมียที่ไม่ผสมพันธุ์ออกไข่ได้ประมาณ 30 ฟอง วงจรชีวิตจากไข่ถึงตัวเต็มวัยประมาณ 15 วัน ระยะไข่ 4-7 วัน ตัวอ่อนวัยที่ 1-2 วัน วัยที่ 2-4 วัน วัยที่ 3 ฟักตัว 3 วัน จึงเป็นตัวเต็มวัยสมบูรณ์

การทำลาย เพลี้ยไฟจะระบาดมากในฤดูแล้ง หรือเมื่อมีฝนทิ้งช่วงเป็นระยะเวลานาน โดยจะทำลายใบอ่อนและตาดอก ลักษณะการทำลายจะห่อปิด ขอบใบม้วนขึ้นข้างบน ลำต้นแคระแกร็น ไม่เจริญเติบโตและจะทำลายผลพริกให้หงิกงอไม่ได้คุณภาพ

รูปร่างลักษณะ เพลี้ยไฟเป็นแมลงขนาดเล็ก สีน้ำตาลอ่อน ลำตัวผอมยาว มีขนาด 1.0 มิลลิเมตร หากดูด้วยตาเปล่าจะต้องพยายามอย่างมากเพราะมองเห็นได้ยาก ตัวแก่มีปีก 2 คู่เรียวยาวประกอบด้วยขนเส้นเล็ก ตัวอ่อนจะยังไม่มีปีกและมีขนาดเล็กกว่าตัวแก่ ตัวแก่เคลื่อนไหวได้เร็ว

การป้องกันและกำจัด เพลี้ยไฟชอบหลบอยู่ตามใต้ใบ ตามซอกยอดอ่อน ในดอก ใช้เครื่องพ่นที่สามารถพ่นได้อย่างทั่วถึง เลือกยาที่เหมาะสม คือ ถ้าปลูกพริกในแหล่งที่มีการระบาดหนัก ควรเลือกใช้ยาที่ทำลายเฉพาะ เช่น อิมิดาคลอพิด แลนเนท หรือใช้ระบบให้น้ำแบบสปิงเกอร์

2) แมลงวันพริก (*Dacus latifon*) เป็นแมลงศัตรูพริกที่มีความสำคัญมาก ถ้ามีการระบาดสามารถทำลายผลผลิตให้เกิดความเสียหายได้มากถึง 60-100 % เพศเมียวางไข่ที่ผลพริกเมื่อไข่ฟักออกมาจะทำให้ผลพริกเน่าเสียหายและร่วงหล่น การป้องกันทำได้โดยกำจัดผลพริกที่ร่วงหล่นนำมาแช่น้ำไว้ 1 คืนแล้วนำไปทำปุ๋ยหมัก ใช้เชื้อราเมทาไรเซียมพ่นเป็นประจำ ถ้าจำเป็นจึงใช้สารเคมี เช่น อิมิดาโคพิดผสมน้ำพ่นในแปลงพริกช่วงพริกติดผล

3) เพลี้ยอ่อนพริก เป็นแมลงปากดูดชนิดหนึ่งที่ขยายพันธุ์ได้รวดเร็วป้องกันและกำจัดได้ด้วยปิโตรเลียมออย หรือสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าที่ทุบแตกแล้ว 40 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร (หรือเมล็ดน้อยหน่า 1 กำมือ) สารสกัดจากต้นยาสูบ หางไหล

4) แมลงหวี่ขาวพริก เป็นแมลงปากแทงดูด เป็นพาหะนำโรคไวรัสมาสู่ต้นพืช ควรรีบป้องกันกำจัดเช่นเดียวกับเพลี้ยอ่อน พ่นด้วยปิโตรเลียมออย หรือสารสกัดจากต้นยาสูบ หางไหล

5) ไรขาว

การทำลาย ไรขาวจะพบมีการระบาดในช่วงฤดูการปลูกพริก โดยไรขาวจะเข้าทำลายที่ยอดก่อน เมื่อเป็นหลายๆ ยอดจะดูเป็นพุ่ม ใบพริกจะหงิกงอ ใบอ่อนหยาบย่นหรือเป็นคลื่น ขอบใบม้วนลงทางด้านล่าง ใบจะค่อยๆ ร่วง และยอดจะตายในที่สุด

รูปร่างลักษณะ ไรขาวเป็นสัตว์จำพวกเดียวกับแมงมุม มี 8 ขา ตัวกลม มีสีขาว ลำตัวใสขนาดเล็ก สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า แต่ถ้าต้องการดูให้ชัดเจนต้องใช้แว่นขยาย ชอบอาศัยอยู่ตามใบอ่อนหรือตาดอก

การป้องกันกำจัด หมั่นตรวจดูแปลงพริกเสมอๆ เมื่อพบไรขาวในปริมาณมากให้รีบกำจัดด้วยสารเคมีเคลเทนหรือไดโฟคอลและเลบโตฟอส หรือฟอสเวล เป็นต้น แต่ถ้าตรวจพบว่ามีการระบาดของเพลี้ยไฟและไรขาวพร้อมกัน ควรใช้สารเคมีกำจัดทั้งสองชนิดฉีดพ่นพร้อมกันเลยจะได้ผลสมบูรณ์ขึ้นหรือใช้กำมะถันผงผสมน้ำพ่น 2-3 ครั้งห่างกัน 7 วัน เมื่อยอดอ่อนดูเป็นปกติให้หยุดพ่น

2.15 โรคที่เกิดจากเชื้อรา

2.15.1 โรคกุ้งแห้งหรือแอนแทคโนส มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Collectotrichum* sp. พบว่าระบาดอย่างรุนแรงในระยะที่พริกกำลังเจริญเติบโต

การทำลายโรคกุ้งแห้งจะเห็นได้ชัดเจนบนผลพริกที่แก่จัดหรือสุก อาการเริ่มแรกจะเห็นเป็นจุดสีน้ำตาลช้ำ เนื้อเยื่อบุ๋มไปจากเดิมและจุดสีน้ำตาลจะค่อยๆ ขยายกว้างออกเป็นแผลวงกลมโดยมีขนาดแผลไม่จำกัด จะทำให้ผลพริกเน่า และจะระบาดติดต่อกันอย่างรวดเร็ว

การป้องกันกำจัด

1. ก่อนปลูกนำเมล็ดพันธุ์มาล้างน้ำให้สะอาด แล้วแช่น้ำอุ่นประมาณ 30 นาที

2. ใช้สารเคมีคลุกเมล็ดพันธุ์เพื่อทำลายโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

3. ฉีดพ่นสารเคมี เช่น ไซแนบ มาเนบ หรือเบนโนมิล แมนโคเซบ เพื่อป้องกันกำจัดเชื้อราทุกชนิดทุกๆ 7-15 วันต่อครั้ง

2.15.2 โรคเหี่ยวของพริกจากเชื้อราหรือโรคหัวโกร๋น

การทำลาย โรคนี้จะแตกต่างจากอาการเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย โดยอาการเหี่ยวจากเชื้อราจะเริ่มจากใบล่างก่อน แล้วจึงค่อยแสดงอาการที่ใบบน ต่อมาใบที่เหลือจะเหี่ยวลู่ลงดินและร่วง ต้นพริกจะแสดงอาการในระยะผลิตดอกออกผล ฉะนั้นอาจทำความเสียหายต่อดอกและลูกอ่อนด้วย เมื่อตัดดูลำต้นจะพบว่า เนื้อเยื่อลำเลียงอาหารเป็นสีน้ำตาล หรือน้ำตาลไหม้ แสดงว่าต้นจะเหี่ยวตายในที่สุด

การป้องกันกำจัด

1. เมื่อปรับดินปลูกแล้วควรโรยด้วยปูนขาว จะเป็นการป้องกันไม่ให้เกิดเชื้อรา

2. ถอนหรือขุดต้นที่เป็นโรคเผาทิ้ง แล้วใช้สารเคมีเทอราคลอผสมน้ำตามอัตราส่วนคำแนะนำในฉลากเทราดหลุมที่เป็นโรค

3. ควรปลูกพืชหมุนเวียนสลับกับพริก ไม่ควรปลูกพริกซ้ำที่บ่อยๆ

4. ควรใช้ปุ๋ยอินทรีย์ให้มากกว่าปุ๋ยวิทยาศาสตร์ เพื่อป้องกันดินเป็นกรดและเป็นการปรับปรุงบำรุงดิน

5. ปรับปรุงดินให้ร่วนซุย มีการระบายน้ำดี

2.15.3 โรคโคนเน่าหรือต้นเน่า

การทำลาย ใบจะเหลืองและร่วง โคนต้นและรากจะเน่าเปื่อยเป็นสีน้ำตาล ต้นพริกจะเหี่ยวตาย แต่จะระบาดมากในระหว่างที่มีการผลิตดอกออกผล อาการของโรคเน่าหรือต้นเน่าจะแตกต่างจากโรคพริกหัวโกร๋น คือ ยอดจะไหม้หลุดร่วงไป

การป้องกันกำจัด

1. หมั่นตรวจต้นพริกว่าเป็นโรคหรือไม่

2. ขุดหรือถอนต้นพริกที่เป็นโรคเผาทิ้ง แล้วใช้สารเคมีเทอราคลอผสมกับน้ำอัตราส่วนตามคำแนะนำในฉลาก เทราดลงในหลุมที่เป็นโรคหรือใช้ฟอร์มาลีนผสมน้ำอัตราส่วน 1:50 ราดลงบริเวณต้นที่เป็นโรคและระวังอย่าให้ไหลไปสู่ต้นอื่นเพราะจะเป็นการแพร่เชื้อโรค

3. การเตรียมดินปลูกควรเพิ่มปูนขาวเพื่อให้ดินเป็นด่าง เพราะดินเป็นกรดจะเกิดโรคนี้ได้ง่าย

4. ควรปลูกพืชหมุนเวียนสลับกับการปลูกพริก

5. ใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ร่วม

2.16 โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

การทำลาย ต้นพริกที่เป็นโรคนี้จะแสดงอาการเหี่ยวทั่วต้นในวันที่มีอากาศร้อนจัด และอาจจะฟื้นคืนดีใหม่ในเวลากลางคืน ต้นพริกจะมีอาการเช่นนี้ 2-3 วัน ก็จะเหี่ยวตายโดยไม่ฟื้นขึ้นอีก การเหี่ยวของต้นพริกที่เป็นโรคนี้จะแสดงอาการใบเหลืองของใบที่อยู่ตอนล่างๆ ก่อน เมื่อถอนต้นมาดูจะเห็นว่ารากเน่าและเมื่อเฉือนผิวของลำต้นใกล้ระดับคอดินจะพบว่าเนื้อเยื่อที่เป็นท่อลำเลียงอาหารช้ำ และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน ซึ่งแตกต่างจากสีของเนื้อเยื่อที่ดีของพริก

การป้องกันกำจัด

1. เมื่อพบต้นพริกที่แสดงอาการเหี่ยวให้ถอนหรือขุดแล้วนำไปเผา
2. ควรป้องกันไม่ให้ต้นพริกมีบาดแผลบริเวณโคนต้นและราก และถ้าหากพบควรฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดหนอนเจาะรากและโคนต้น
3. ใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ร่วม
4. ควรปลูกพืชหมุนเวียนสลับกับการปลูกพริก

2.17 การแก้ปัญหาพริก

มีวิธีการหลากหลายจากทั้งกรมวิชาการเกษตร เกษตรกร ตลอดจนนักวิจัย ดังนี้ การพัฒนาการผลิตพริกแบบผสมผสานเพื่อให้มีคุณภาพสูงขึ้น มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค เริ่มจากการนำเมล็ดพริกมาแช่ในน้ำอุ่น 50-55 ^{0}C นาน 20 นาที ใส่ปูนขาวรองพื้นอัตรา 50-100 กิโลกรัมต่อไร่ เก็บพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนสออกนอกแปลงและเผาทิ้ง พ่นแคลเซียมไนเตรตอัตรา 60-80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นสารแมนโคเซบสลับกับโปรคลออัตราส่วน 30-40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบว่า พริกยังปรากฏโรคแอนแทรคโนส แต่น้อยกว่า 20 % ในทุกพื้นที่ที่ทำการศึกษาและมีสารพิษตกค้าง แต่ระดับเข้มข้นไม่เกินค่า MRL (พรทิพย์ แพงจันทร์ และคณะ)

เกษตรกรปลูกพริกขี้หนูอำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราชประสบปัญหาโรคแอนแทรคโนส นักวิชาการเกษตรแนะนำให้ใช้หัวเชื้อไตรโคเดอร์มา 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 200 ลิตรฉีดพ่น แต่หากระบาดรุนแรง ได้แนะนำให้ใช้หัวเชื้อไตรโคเดอร์มา 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 100 ลิตรฉีดพ่น (http://พริก.blogspot.com/2013/02/blog-post_1821.html, 2557)

โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) อาการจะเกิดได้ทั้งบริเวณผล ขั้วผล ใบ ก้านใบ โดยจะเป็นแผลสีน้ำตาล ที่แผลบนผลพริก แผลจะลึกลงไปในผิวพืชและมีผงสีดำติดอยู่ สีดำที่เห็นเป็นซีตี้ (Setae) ที่มีลักษณะคล้ายขนสีน้ำตาลเข้ม อยู่ในโครงสร้างรูปจาน (Acervulus) ที่บรรจุสปอร์ของเชื้อรา คอเลทโททริคั่ม นั่นเอง โรคนี้ถ้าเป็นกับพริกชี้ฟ้าจะทำให้เกิดแผลจนรอบผลพริก ทำให้สีของพริกเปลี่ยนจาก สีแดงเป็นสีปูนแห้ง และผลพริกจะแห้งงอ เรียกลักษณะอาการเช่นนี้ว่าพริกกุ้งแห้ง ถ้าเกิดกับก้านใบและก้านผลก็จะทำให้ใบร่วงผลร่วง การควบคุมโรคนี้ทำได้โดยใช้สารเคมีควบคุม สารเคมีที่ใช้ได้ผลเป็นสารประเภทโปรปิเนบ (propineb) ซิเนบ (zineb) แมนโคเซ็บ (mancozeb) อย่างใดอย่างหนึ่งฉีดพ่นเพื่อป้องกัน ถ้ามีการระบาดหนักให้ใช้สารประเภท บีโนมิล (benomyl) และ คาร์เบนดาซิม (carbendazim) ฉีดพ่นสับกับสารที่กล่าวมาแล้ว (http://www.farmkaset.org/contents/default.aspx?content=1762, 2557)

2.18 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กัลทิมา พิชัย (2555) การศึกษาการใช้สารสกัดพืชสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในพื้นที่สะลวง อ.แม่ริม จ. เชียงใหม่ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ท้องถิ่น การศึกษาในครั้งนี้เพื่อใช้สารสสกัดจากพืชในพื้นที่สะลวง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ ควบคุมการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ที่ก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนสในพริกทำการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืช 12 ชนิด พบว่า สารสกัดจากข่า ให้ผลในการยับยั้งดีที่สุดทังที่สกัดด้วยเอทานอลที่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 99.39, 96.08 และ 95.13 ตามลำดับ และนำกลั่นที่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 61.02, 62.73 และ 63.09 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างกันที่ค่าความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ปวีณา อุตะมะติง (2554) ประสิทธิภาพการใช้เชื้อรา *Trichoderma virens* และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกชี้ฟ้า พบว่า เชื้อรา *T. virens* และแบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสไดอย่างมีประสิทธิภาพ เชื้อรา *T. virens* แสดงลักษณะการเป็นปรสิตโดยพันรัดและแทงเข้าไปในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* นั้นสร้างสารปฏิชีวนะที่ยับยังการเจริญของเชื้อราสาเหตุแอนแทรคโนส การป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสโดยพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก่อนการพ่นเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสมีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคได้ดีกว่าการพ่นภายหลัง เชื้อรา *T. virens* สามารถลดการเกิดโรคไดดีเทียบเท่ากับการใช้สารเคมี เมื่อนำไปใช้ในสภาพแปลงเกษตรกร

ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล (2555) การควบคุมโรครากเน่าของพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Sclerotium rolfsii* ด้วยเชื้อแอคติโนมัยสีท *Streptomyces hygroscopicus* PACCH 24 ที่สร้างเอนไซม์ไดติเนส พบว่า การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทสามารถคัดแยกเชื้อได้จำนวน 283 ไอโซเลต นำเชื้อที่คัดแยกได้มาทดสอบความสามารถในการสรางเอนไซม์ไคติเนส สามารถคัดเลือกเชื้อที่สร้างเอนไซม์ไคติเนสได้ดี จำนวน 68 ไอโซเลต นำเชื้อที่คัดแยกได้มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเน่าโคนเน่า *Sclerotium rolfsii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ commeal agar (CMA agar) พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคไดดีมีจำนวน 13 ไอโซเลต เชื้อแอคติโนมัยสีท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้มากที่สุด คือ หาอันดับแรก คือ PACCH277, PACCH129, PACCH225, PACCH24 และ PACCH246 ตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคในต้นพริก พบว่า เชื้อแอนติโนมัยสีท ที่สามารถลดการเกิดโรคได้ 90 เปอร์เซ็นต์ คือ PACCH24 และ PACCH246 ตามลำดับ

พรทิพย์ แพงจันทร์ และคณะ (2552) การพัฒนาเทคโนโลยีการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนส (โรคกุ้งแห้ง) โดยใช้แนวทางการผลิตพริกแบบผสมผสาน ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน เพื่อศึกษากรรมวิธีผสมผสานเปรียบเทียบกับวิธีเดิมของเกษตรกร จากผลการวิจัย เมื่อดูจากรายได้ ต้นทุน และผลตอบแทน ในพื้นทั่งหวัดสกลนคร ชัยภูมิ และขอนแก่น พบว่า กรรมวิธีผสมผสานในพื้นที่จังหวัดสกลนคร ให้ผลตอบแทนเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 50,954 บาทต่อไร่ รองลงมาคือพื้นที่ขอนแก่นละชัยภูมิได้ผลตอบแทนเฉลี่ย 43,350 บาทต่อไร่ และ 8,709 บาทต่อไร่ ตามลำดับ ส่วนวิธีเกษตรกรให้ผลตอบแทนเฉลี่ย 28,200 บาทต่อไร่ 8,651 บาทต่อไร่ และ 16,425 บาทต่อไร่ ในพื้นที่จังหวัดสกลนคร ชัยภูมิ และขอนแก่น ตามลำดับ

พิภพ ลำยอง (2543) การควบคุมโรคกุ้งแห้งของพริก (*Colletotrichum* spp.) โดยใช้ endophytic microorganism ที่แยกได้จากพืชสมุนไพรไทย จากงานวิจัยพบว่า เชื้อ endophytic fungi ที่แยกได้จากสมุนไพรโดย 13 ชนิด คือ ดีปลี จักค่าง มะกรูด พญายอ ทองพันชั่ง มะแคว้งขม ผักปั่ง ชาสตูล คาวตอง ศิวนินลินงูเห่า เสลดพังพอน และผักแปบ มีจำนวนทั้งสิ้น 1206 ไอโซเลต และเมื่อนำเชื้อเหล่านี้มาทดสอบความสามารถในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Colletotrichum capsici* พบว่าเชื้อ endophytic fungi Mycelia sterilia 9 ที่แยกได้จากมะกรูดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุด คือ 57 %

รัติยา พงศ์พิสุทธา (2553) ความผันแปรทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก เชื้อรา *Colletotrichum* เก็บรวบรวมจากแปลงพริกใน 15 จังหวัด มีความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาในแต่ละสปีชีส์พบว่า *C. gloeosporioides* แบ่งเป็น 9 กลุ่ม ขณะที่ *C. capsici* และ *C. acutatum* แบ่งเป็น 6 และ 5 กลุ่ม ตามลำดับ กลุ่มสปอร์ของ *C. gloeosporioides* สี pale, peach, salmon, salmon orange, orange และ bright orange รูปร่างทรงกระบอกตรง ปลายมน อาจพบบ้างที่ปลายด้านหนึ่งเรียว ส่วน *C. capsici* พบการสร้างกลุ่มสปอร์สี buff, peach, pale peach, salmon, pale salmon และ salmon orange สปอร์มีรูปร่างเสี้ยววงพระจันทร์ จนถึงรูปร่างรีตรง ปลายแหลม สำหรับสปอร์ของ *C. acutatum* นั้นสร้างกลุ่มสปอร์สี orange และ bright orange มีรูปร่างรี หรือปลายเรียวด้านใดด้านหนึ่ง อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องศึกษาความแตกต่างโดยอาศัยเทคนิคทางด้านอณูชีวโมเลกุลร่วมกัน

วรานันท์ วิญญรัตน์ (2554) การจำแนกชนิดและศึกษาความรุนแรงของเชื้อรา *Colletotrichum* สารเหตโรคแอนแทรกโนสพริก การทดสอบการปลูกเชื้อบนผลพริกพันธุ์จินดาและบางช้าง โดยการใช้ MD และการใช้ SD พบว่าการปลูกเชื้อ *C. acutatum* และ *C. gloeosporioides* ด้วย DM กับพริกพันธุ์บางช้าง พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การปลูกเชื้อรา *C. capsici* จะพบการเกิดโรค 96.67 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการปลูกด้วย CS กับพริกพันธุ์จินดาพบว่า เชื้อราทั้ง 3 สปีชีส์ ทำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จากการประเมินความรุนแรงของเชื้อในการทำให้เกิดโรค พบว่าผลจากการปลูกเชื้อบนผลพริกพันธุ์จินดามีขนาดใหญ่กว่าบนผลพริกพันธุ์บางช้าง

วิไลลักษณ์ บุญหลาย (2557) วิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัดพืชวงศ์ขิง (*Zingiberaceae*) เพื่อควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*(Penz) Sacc. ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเหง้าของกระทือ กระชายดำ ขิง ไพร และเปราะป่า ซึ่งสกัดด้วยวิธีสกัดเย็นและสกัดร้อนด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล 95 % พบว่า วิธีสกัดร้อนให้เปอร์เซนต์ผลได้ของสารสกัดหยาบสูงกว่าวิธีสกัดเย็น และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพต่อการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่าสารสกัดจากไพรที่ได้จากการสกัดร้อนดวยเอทานอล 95 % สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีที่สุดที่ 85.56±1.49 % ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm

สิริวรรณ สมิทธิอาภรณ์ (2553) ผลของสารสกัดมะรุมและฟ้าทะลายโจรต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรกโนสพริก การทดสอบสารสกัดด้วยเอทานอลจากพืช 2 ชนิด คือ มะรุม (ใบ) และฟ้าทะลายโจร (ลำต้นเหนือดิน) ทั้งในสภาพสด และแห้ง ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสในพริก จำนวน 4 ไอโซเลท โดยใช้วิธี glass slide พบว่าสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรทั้งสดและแห้งที่ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm

แสดงผลการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราทุกไอโซเลท ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมจากการทดลองและไม่พบการยับยังการงอกของเชื้อราจากการใช้สารสกัดจากมะรุมแต่มีผลทำให้เส้นใยที่งอกมีความผิดปกติ

โสภณ บุญลือ อำนาจ สุวรรณฤทธิ์ และ พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์ (2557) พริก (*Capsicum frutescens L.*) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ในการปลูกพริกมีการใช้ปุ๋ยเคมีและยาฆ่าแมลงในปริมาณสูง ด้วยเหตุนี้การผลิตพริกด้วยการจัดการแบบเกษตรอินทรีย์ จึงเป็นวิธีการที่ช่วยรักษาสภาพแวดล้อมและผลิตผลิตผลที่ปราศจากการปนเปื้อนของสารพิษได้ งานวิจัยชิ้นนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้ออาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา และเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดินปลูกพริกในแปลงเกษตรอินทรีย์ และแปลงเกษตรแบบดั้งเดิม และคัดเลือกเชื้อราไมคอร์ไรซาและแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่มีประสิทธิภาพต่อการส่งเสริมการเจริญของพริก และควบคุมโรครากปมจากไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* จากการศึกษาเชื้ออาร์บัสคูลาร์ ไมคอไรซาในดินบริเวณแปลงปลูกพริกอินทรีย์แหล่งต่างๆพบปริมาณสปอร์ 2-8 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม และมีการเข้าอาศัยในรากของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา 46-60 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มปริมาณสปอร์ในกระถางได้ทั้งสิ้น 41 ไอโซเลต นำมาจัดจำแนกชนิดพบว่าคือ เชื้อ *Acaulospora appendicula, Acaulospora denticulate, Acaulospora foveata, Acaulospora scrobiculata, Glomus globiforum, Glomus etunicatum, Glomus dimorphicum, Glomus leptothicum, Glomus clarum, Glomus* sp.1*, Glomus* sp.2*, Scutellospora pellucid, Entrophospora infrequens และ Gigaspora* sp. นำเชื้ออาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา มาทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริกในดินอินทรีย์ โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCBD) พบว่า เชื้อ *Gl. Clarum* RA0305 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการเพิ่มการเจริญเติบโตของพริก ได้แก่ ความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักสดและแห้งของทั้งลำต้นและราก การสร้างดอกและผลพริก รวมถึงการดูดซับฟอสฟอรัส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าความเป็นไปได้ของการนำเชื้อรานี้ไปใช้เป็นกล้าเชื้อสำหรับการผลิตพริกอินทรีย์

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดินบริเวณแปลงปลูกพริกในแหล่งต่างๆพบว่าสามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากพื้นที่ปลูกพริกอินทรีย์ได้มากกว่าพื้นที่อื่น คิดเป็นร้อยละ 68 ของจำนวนเชื้อทั้งหมดที่คัดแยกได้ นำมาวัดประสิทธิภาพในการทำละลายฟอสเฟตพบว่าเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลตมีความสามารถในการละลายฟอสเฟตแตกต่างกันคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตได้มากที่สุด 10 ไอโซเลตมา จัดจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และชีวเคมี พบว่าเป็นเชื้อในสกุล *Burkholderia* นอกจากนี้การเพิ่มขยายยีนบริเวณ 16S rRNA และวิเคราะห์สายวงศ์วานวิวัฒนาการพบว่า เชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่คัดแยกได้ มีความใกล้เคียงมากที่สุดกับเชื้อ *Burkholderia ambifaria* และ *B. tropica* นำเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตทั้ง 10 ไอโซเลตมาศึกษาคุณสมบัติในการทำละลายฟอสเฟตพบว่า เชื้อแบคทีเรียสามารถละลายฟอสเฟตได้ 126.33-488 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์กรดอินทรีย์ที่ผลิตขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อจากเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ ด้วยวิธี HPLC พบกรดอินทรีย์ทั้งสิ้น 8 ชนิด acetic, citric, gluconic, lactic, succinic, propionic และกรดอินทรีย์ที่ไม่ทราบชื่อ 2 ชนิด โดยเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

จำนวน 8 ไอโซเลตสามารถผลิตกรดอินทรีย์ได้มากกว่า 1 ชนิด และมีเพียง 2 ไอโซเลต ที่ผลิตกรดอินทรีย์ได้เพียงชนิดเดียวทั้งนี้ไม่พบว่าความสัมพันธ์ของความหลากหลายของชนิดของกรดอินทรีย์ที่เชื้อแบคทีเรียผลิตต่อความสามารถในการทำละลายฟอสเฟต เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียมาทดสอบประสิทธิภาพในการเพิ่มการเจริญเติบโตของพริก พบว่าเชื้อ KS04 ที่คัดแยกจากดินในแปลงเกษตรอินทรีย์มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการเจริญเติบโตของพริก ได้แก่ ความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น น้ำหนักสดและแห้งของทั้งรากและลำต้น และการสร้างดอก รวมถึงการดูดซับฟอสฟอรัส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ต่อมา นำเชื้ออาร์บัสคูลาร์ไมคอไรซาที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มการเจริญของพริก 3 ชนิด คือ *A. appendicula* HR0201, *A. denticulate* RA2106 และ *Gl. Clarum* RA0305 มาปลูกร่วมกับเชื้อ *B. tropica* KS04 เพื่อทดสอบประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของพริก และการยับยั้งเชื้อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meliodogyne incognita*) ในพริก พบว่า การปลูกเชื้อ *Gl.clarum* RA0305 ร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย *B. tropica* KS04 นอกจากจะเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นพริกด้านต่างๆ เช่น ความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักสดและแห้งของทั้งลำต้นและรากและการสร้างดอก และยังเพิ่มการดูดซับธาตุฟอสฟอรัส และโปแตสเซียมของพริกให้สูงขึ้นแล้ว นอกจากนี้ยังสามารถลดจำนวนไข่ไส้เดือนฝอย ระดับการเกิดปมราก และดัชนีการเกิดโรครากปมจากไส้เดือนฝอยให้ลดลงได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การทดลองแสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *Gl. Clarum* RA0305 และ *B. tropica* KS04 เป็นเชื้อที่มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริก และยังสามารถช่วยควบคุมโรครากปมไส้เดือนฝอยของพริกได้ด้วย ซึ่งควรที่จะมีการพัฒนาเพื่อผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพต่อไป

มาลี ตั้งระเบียบ และคณะ (2550) วิจัยเรื่อง การประเมินความสามารถของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง (entomopathogenic fungi) ในการควบคุมแมลงศัตรูสำคัญของพริก เป็นการศึกษาศักยภาพของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 5 สกุล 8 ชนิด 46 ไอโซเลท ได้แก่ *Ascesersonia samoensis, Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae, Metarhizium flavoviride, Paecilomyces farinosus, Paecilomyces fumosoroseus, Paecilomyces tenuipes* และ *Verticilium lacanaii* ที่เก็บรวบรวมและคัดแยกเชื้อจากสิ่งอาศัย (host) ต่างๆในประเทศไทยนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยไฟ *Scirtothrips dorsalis* Hood ไรขาว *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) และแมลงวันพริก *Bactocera latifrons* Hendel ได้ทำการทดสอบใน 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกคือการทดสอบความสามารถของเชื้อราในการทำให้แมลงศัตรูพริกเกิดโรคที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อรา 10^8 โคนิเดีย/มล. ด้วยการหาเปอร์เซ็นต์การตายพบว่าเชื้อราทุกไอโซเลทมีความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับเพลี้ยไฟ และเมลงวันพริก โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไฟอยู่ ระหว่าง 7.41 – 94.20 % แมลงวันพริก อยู่ระหว่าง 13.33 – 96.67% ในขณะที่ พบเพียง เชื้อรา 4 สกุล 6 ชนิด 31 ไอโซเลท เท่านั้นที่มีความสามารถในการทำให้ไรขาวเกิดโรคตายเปอร์เซ็นต์การตายอยู่ระหว่าง 14.44 – 91.11 % สำหรับการทดสอบขั้นตอนที่ 2 เป็นการนำเชื้อราที่มีความสามารถในการทำให้แมลงศัตรูพริกเกิดโรคสูงสุดมาหาระดับความรุนแรงของเชื้อรา ที่ 5 ระดับความเข้มข้น โดยการคำนวณหาค่า LC_{50} พบว่า เชื้อราที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคสูงนั้น มีความรุนแรงของเชื้อราต่างกัน เชื้อราที่ทดสอบกับเพลี้ยไฟและมีความรุนแรงสู.ได้แก่เชื้อ *M. anisopliae* และ *B. bassiana* ในขณะที่เชื้อรา *M. flavoviride* มีความรุนแรงสูงสุดเมื่อทดสอบกับ

ไรขาว ส่วนแมลงวันพริก เชื้อรา *B. bassiana* มีความรุนแรงสูงที่สุด การศึกษาผลต่อการวางไข่และการเจริญเติบโตในรุ่นลูก พบว่า เชื้อรามีผลในการลดการวางไข่ของแมลงวันพริก ได้ถึง 65 % และพบมีระยะหนอนของแมลงวันพริกตายได้ 80.03 % เมื่อตัวเต็มวัยได้รับเชื้อรา ส่วนการศึกษาขบวนการเข้าทำลายของเชื้อราต่อแมลงศัตรูพริกนั้นพบว่า โคนิเดียจะงอกบนผนังลำตัวใช้เวลา 12 – 24 ชั่วโมง และ 24 – 48 ชั่วโมง ในการแทงทะลุผ่านผนังลำตัว 48 – 60 ชั่วโมงในการเจริญเติบโตภายในตัวแมลง โดยใช้เวลาตั้งแต่เมื่อโคนิเดียติดที่ผนังลำตัวถึงเชื้อราเจริญเติบโตออกมาภายนอกลำตัว 72 ชั่วโมง

กัญชลี เจติยานนท์ และคณะ (2550) วิจัยเรื่องการใช้ไรโซแบคทีเรียเพื่อสร้างภูมิคุ้มกันโรคกุ้งแห้งโรคเหี่ยวเขียวและโรครากและโคนเน่า มีวัตถุประสงค์เพื่อ (1) คัดเลือก Plant Growth-Promotioning Rhizobacteria (PGPR = พีจีพีอาร์) สายพันธุ์ไทยที่มีศักยภาพในการกระตุ้นพืชต้านทานโรคที่สำคัญของพริกในสภาพเรือนทดลอง และ (2) พัฒนาและทดสอบผลิตภัณฑ์พีจีพีอาร์ที่มีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกันโรคพริกในสภาพแปลงปลูก

เชื้อพีจีอาร์จำนวน 28 สายพันธุ์ที่แยกได้จากบริเวณดินรอบรากพืชหลายชนิดในจังหวัดพิษณุโลกซึ่งมีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริกได้ถูกนำมาทดสอบเพื่อคัดเลือกศักยภาพของสายพันธุ์ที่สามารถกระตุ้นพริกต้านทานโรคแอนแทรกโนส (โรคกุ้งแห้ง) ที่เกิดจากเชื้อรา *colletotrichum gloeosporioides* โรคเหี่ยวเขียวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacerum* และโรครากและโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพเรือนทดลอง จากผลการทดลองพบว่าเชื้อพีจีอาร์จำนวน 11 สายพันธุ์ คือ RS1 RS6 RS8 RS15 RS21 RS36 RS71 RS91 RS100 *และ* RS106 สามารถกระตุ้นพริกต้านทานโรคทั้งสามชนิดได้อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบพริกในกรรมวิธีควบคุม และจากการทดสอบ *in vitro antibiosis* ระหว่างเชื้อพีจีอาร์กับเชื้อสาเหตุโรคทั้ง 3 ชนิด พบว่ามีเชื้อพีจีพีอาร์เพียง 3 สายพันธุ์ คือ RS36 RS44 *และ* RS71 สร้างสารที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *S. rolfsii* อย่างไรก็ตามไม่พบเชื้อพีจีพีอาร์สายพันธุ์ใดสร้างสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum*

คณะผู้วิจัยได้พัฒนาผลิตภัณฑ์พีจีพีอาร์ชนิดอิมัลชันเข้มข้นเพื่อนำไปใช้ได้จริงในสภาพแปลงปลูก พบว่าผลิตภัณฑ์อิมัลชันเข้มข้นนี้รักษาสภาพเซลล์มีชีวิตของเชื้อพีจีพีอาร์ได้นานอย่างน้อย 3 เดือน ในสภาพอุณหภูมิห้อง จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อพีจีพีอาร์ทั้ง 11 สายพันธุ์ในสภาพแปลงปลูกพบว่า พริกที่กระตุ้นด้วยเชื้อพีจีพีอาร์ทั้ง 11 สายพันธุ์ให้ผลการต้านทานโรคแอนแทรคโนสและโรครากและโคนเน่าได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสายพันธุ์พีจีพีอาร์ อย่างไรก็ตามมีเชื้อพีจีพีอาร์ 7 สายพันธุ์คือ RS1 RS8 RS21 RS36 RS83 RS91 *และ* RS100 ที่ให้ผลยับยั้งโรคทั้งสองชนิดได้อย่างน้อย 50% นอกจากนี้ยังพบอีกว่ากรรมวิธีที่กระตุ้นด้วยเชื้อพีจีพีอาร์ส่วนใหญ่มีผลผลิตรวมเฉลี่ยมากกว่ากรรมวิธีควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษากลไกที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริกโดยที่เชื้อพีจีพีอาร์บางสายพันธุ์สร้างสาร siderophore และเชื้อพีจีพีอาร์ทั้ง 11 สายพันธุ์สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้

ดังนั้นจากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าเชื้อพีจีพีอาร์บางสายพันธุ์นอกจากส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริกแล้วยังสามารถกระตุ้นพริกต้านทานต่อโรคที่สำคัญทางเศรษฐกิจได้ วิธีการนี้สามารถใช้

ร่วมกับการควบคุมโรคด้วยวิธีการอื่นๆ อีกทั้งผลิตภัณฑ์พีจีพีอาร์ชนิดอิมัลชันเข้มข้นที่พัฒนาได้จากโครงการวิจัยนี้เกษตรกรสามารถนำไปปฏิบัติใช้ได้ง่ายในชีวิตประจำวัน

ทัศนา พิทักษ์สุธีพงศ์ และคณะ (2549) ทำวิจัยการเตรียมไมโครอิมัลชันของสารสกัดพริกไทยดำและพริก สำหรับการป้องกันและการกำจัดศัตรูพืช มีจุดประสงค์ที่จะพัฒนาตำรับไมโครอิมัลชันของสารสกัดพริกไทยดำ และพริก สำหรับการป้องกันและกำจัดศัตรูพืช และทดสอบความคงตัวของสูตรตำรับที่เตรียมขึ้น การเตรียมไมโครอิมัลชันของสารสกัดพริกไทยดำ และพริกนี้ได้เลือกใช้ทวีน 80 และสแปน 80 เป็นสารลดแรงตึงผิว และสารลดแรงตึงผิวร่วมเนื่องจากสารนี้สามารถทำหน้าที่เป็นสารจับใบพืชได้ วิธีการเตรียมไมโครอิมัลชัน ทำโดยสร้างเฟสไดอะแกรมซึ่งได้แบ่งเป็น 2 วิธี วิธีแรก ทำโดยใช้แล็กซอล จีที 865 (แคปปรีลิค/แคปลิก ไตรกลีเซอไรด์) เป็นวัฏภาคน้ำมันและปรับเปลี่ยนอัตราส่วนของสารลดแรงตึงผิว และสารลดแรงตึงผิวร่วม ให้มีค่าเอช แอล บี ต่างๆกัน จากบริเวณที่เกิดเป็นไมโครอิมัลชันบนเฟสไดอะแกรมที่สร้างขึ้น ทำการเลือกส่วนประกอบและอัตราส่วนของสารที่เหมาะสมที่เตรียมเป็นไมโครอิมัลชันได้จำนวน 3 ตัวอย่าง มาผสมสารสกัดพริกไทยดำ และสารสกัดพริกในปริมาณต่างๆ คัดเลือกสูตรตำรับที่ดีโดยพิจารณาจากความสามารถในการละลายสารสกัดได้ปริมาณสูงสุด ความหนืดเหมาะสม จุดขุ่นอยู่ในช่วงกว้าง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เช่น การแยกชั้น และการตกตะกอนหลังผ่านการทดสอบในสภาวะอุณหภูมิสลับ และมีความคงตัวทางเคมีหลังการทดสอบที่อุณหภูมิ 45 ± 2^0 ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 เป็นเวลา 6 เดือน เปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิห้อง วิธีที่สองทำโดยสร้างเฟสไดอะแกรมซึ่งใช้สารสกัดพริกไทยดำหรือสารสกัดพริกเป็นวัฏภาคน้ำมัน และใช้อัตราส่วนของสารลดแรงตึงผิว และสารลดแรงตึงผิวร่วมที่มีค่าเอช แอล บี ตามผลการศึกษาที่ได้จากวิธีที่ 1 จากนั้นทำการศึกษาเหมือนกับไมโครอิมัลชันที่เตรียมโดยวิธี 1 ผลการศึกษาพบว่า การเพิ่มค่าเอช แอล บี สูงขึ้น พื้นที่ในการเกิดไมโครอิมัลชันจะกว้างขึ้น แต่ขณะเดียวกันการเกิดตำรับรูปแบบอื่น กล่าวคือ อิมัลชั่น-เจล และ ไมโครอิมัลเจล ก็จะกว้างขึ้นเช่นกัน พื้นที่ในการเกิดไมโครอิมัลชันของระบบที่มีค่า เอช แอล บี 11 และ 12 มีความแตกต่างกันเล็กน้อย แต่ระบบที่มีค่า เอช แอล บี 12 จะมีตำรับรูปแบบอื่น เช่น อิมัลชั่น-เจล และไมโครอิมัลเจล กว้างมากกว่าและค่อนข้างใกล้กับบริเวณทีเกิดไมโครอิมัลชัน ดังนั้นในที่นี้จึงเลือกระบบที่มีค่า เอช แอล บี 11 ไปทำการสร้างเฟสไดอะแกรมโดยละเอียด จากนั้นสุ่มเลือกตัวอย่างไมโครอิมัลชัน 3 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่าง เอ บี และ ซี ไปผมกับสารสกัด พบว่าความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดที่สามารถละลายได้และมีความคงตัวดีในไมโครอิมัลชันคือที่คงามเข้มข้นร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก ผลการวัดความหนืดของไมโครอิมัลชันทั้งที่ไม่ผสมหรือผสมสารสกัดพริกไทยดำ หรือสารสกัดพริก พบว่า ความหนืดเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสารลดแรงตึงผิวในตำรับเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าความหนืดของไมโครอิมัลชันลดลง เมื่อผสมสารสกัดพริกไทยดำ ขณะที่เมื่อผสมสารสกัดพริก ความหนืดของไมโครอิมัลชันเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับไมโครอิมัลชันที่ไม่ผสมสารสกัด จุดขุ่น ของไมโครอิมัลชันที่เตรียมได้ทั้ง ตัวอย่าง เอ บี และ ซี ที่ไม่ผสมและที่ผสมสารสกัดพริกไทยดำ หรือสารสกัดพริก ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของไมโครอิมัลชันจากใสเป็นขุ่นในช่วงอุณหภูมิ 5 – 90 องศาเซลเซียส ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของตำรับหลังทดสอบที่สภาวะอุณหภูมิสลับ และเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 ± 5 เป็นเวลานาน 6 เดือน พบว่าความหนืดไม่แตกต่างกับตำรับที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องในระยะเวลาเดียวกัน จัดขุ่นของไมโครอิมัลชันทั้งที่ผสมสารสกัดพริกไทยดำหรือสารสกัดพริก ไม่มีการ

เปลี่ยนแปลง ลักษณะทางกายภาพของไมโครอิมัลชัน ตัวอย่าง เอ บี และ ซี ที่ผสมสารสกัดพริกไทยดำไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดพริกพบการตกตะกอนของสารสกัดที่ก้นขวด แต่เมื่อเขย่าจะกลับผสมเข้ากันได้ ความคงตัวทางเคมีของสารสกัดพริกไทยดำ และพริกในไมโครอิมัลชันเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 ± 5 เป็นเวลา 6 เดือนอยู่ในเกณฑ์ดี และไม่แตกต่างกับปริมาณสารในตำรับที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง สำหรับระบบที่ใช้สารสกัดเป็นวัฏภาคน้ำมัน พบว่าสารสกัดพริกค่อนข้างข้นหนืด จึงไม่สามารถใช้เป็นวัฏภาคน้ำมันได้ ส่วนระบบที่ใช้สารสกัดพริกไทยดำเป็นวัฏภาคน้ำมัน ได้เลือกใช้อัตราส่วนของสารลดแรงตึงผิว และสารลดแรงตึงผิวร่วมที่มีค่า เอช แอล บี 11 ตามผลการศึกษาของวิธีที่ 1 และตัวอย่าง ดี อี และเอฟ ได้ถูกคัดเลือกเพื่อทำการศึกษา และพบว่าความหนืดของไมโครอิมัลชันที่ใช้สารสกัดพริกไทยดำเป็นวัฏภาคน้ำมันมีความหนืดมากกว่าที่ใช้ เล็กซอล จีที 865 และในทำนองเดียวกันกับการศึกษาข้างต้น ความหนืดลดลงเมื่อปริมาณสารลดลงแรงตึงผิวในตำรับลดลง ค่าจุดขุ่นของไมโครอิมัลชันที่ใช้สารสกัดพริกไทยดำเป็นวัฏภาคน้ำมันที่เตรียมได้ทั้งตัวอย่าง ดี อี และเอฟ ไม่ตรวจพบในช่วงอุณหภูมิที่ทดสอบ (5 – 90 องศาเซลเซียส) ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของตำรับหลังทดสอบที่สภาวะอุณหภูมิสลับ ความคงตัวของไมโครอิมัลชันที่ใช้สารสกัดพริกไทยดำเป็นวัฏภาคน้ำมัน ตัวอย่าง ดี อี และเอฟ พบว่า เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 ± *2* องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 ± *5* เป็นเวลานาน 6 เดือน ความหนืดจะลดลงเมื่อทเยบกับความหนืดของตำรับเมื่อเตรียมเสร็จใหม่ๆ การเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องในระยะเวลาเดียวกันให้ผลเช่นเดียวกับการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 ± *2* องศาเซลเซียส จุดขุ่น และลักษณะทางกายภาพไม่เปลี่ยนแปลง ปริมาณสาระสำคัญในตำรับลดลงจากที่เวลาเริ่มต้น แต่ไม่เกินร้อยละ 10 และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ *3, 4* และ 6 เดือน และไม่แตกต่างกับปริมาณสารในตำรับที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง

อรรัตน์ มงคลพร (2552) ศึกษายีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคแอนแทรกโนสที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum acutatum* ที่แสดงออกในผลพริกระยะผลเขียวและผลแดงในพริก *Capsicum baccatum* ‘PBC80’ มีวัตถุประสงค์เพื่อ จำแนกยีนและศึกษาคุณสมบัติของยีนที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคแอนแทรกโนสในผลเขียวและผลสุกของพริก และ ศึกษาลักษณะการแสดงออกของยีนที่จำแนกได้ โดยสร้าง subtracted cDNA libraries จากผลเขียวและผลสุกของพริก *Capsicum baccatum* PBC80 ด้วยวิธี suppression subtractive hybridization (SSH*)* ได้จำนวนโคลนทั้งสิ้น 412 โคลน (library ผลเขียว 239 และ ผลสุก 173 โคลน) วิเคราะห์ลำดับเบสของโคลนที่ได้และเปรียบเทียบกับลำดับเบสของยีนในฐานข้อมูล NCBI ด้วย BLAST analysis พบว่าประมาณ 70-73% ของโคลนมีลำดับเบสสอดคล้องกับยีนที่ทราบหน้าที่แล้ว 28 และ 30 กลุ่มยีน ในผลเขียวและสุก ตามลำดับ ซึ่งในกลุ่มดังกล่าวเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันของพืช 14 และ 16 ยีน ในผลเขียวและสุก ตามลำดับ ยีนส่วนใหญ่ในผลเขียวและผลสุก แตกต่างกัน มีเพียง 4 ยีน ได้แก่ MADS-box protein, protein kinase, PR protein และ PR10 ที่พบในผลพริก ทั้งสองอายุได้ศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันตัวเองของพืช โดยเลือกมา 40 ยีน โดยใช้เทคนิค quantitative real time PCR (qRT-PCR) พบการแสดงออกของยีนมีแบบ up regulate, down regulate และคงที่ ซึ่งยีนที่น่าสนใจมีการแสดงออกแบบ up regulate ได้แก่ PR10, PRCc, NDK ซึ่งเป็นยีนพบในผลเขียว Cys และ PR1 ซึ่งเป็นยีนพบในผลสุก

บทที่ 3

สารเคมี อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.1 สารเคมี

3.1.1.1 (S) - (-) - Citronellal, Sigma-Aldrich, Japan.

3.1.1.2 Salicylic hydrazide, Aldrich, Germany

3.1.1.3. D – (+) – Glucosamine hydrochloride, Sigma-Aldrich, China

3.1.1.4 Silver nitrate

3.1.1.5 Methanol, BDH Laboratory Supplies Pools, England.

3.1.1.6 Ethanol, BDH Laboratory Supplies Pools, England.

3.1.1.7 N, N-Dimethylformamide, Ajax Finechem, New Zealand.

3.1.1.8 Dimethyl sulphoxide, Sigma-Aldrich Laborchemikakien GmbH, Germany.

. 3.1.1.9 Thisosemicarbazide

3.1.1.10 Semicarbazide hydrochloride,

3.1.1.11 Copper (II) chloride dehydrate, Ajax chemicals, Australia.

3.1.1.12 Ferrous chloride tetrahydrate, Fluka, Germany.

3.1.1.13 Ferric chloride anhydrous, Fluka Chemical, Germany.

3.1.1.14 Hydrochloric acid, Carlo Erba, USA. Switzerland.

3.1.1.15 Acetic acid, Carlo Erba, USA.

3.1.1.16 Potato dextrose agar, Himedia Laboratories, India.

3.1.1.17 2,4,6-Tri (2-pyridyl)-s-triazine, Sigma-Aldrich,Switzerland.

3.1.1.18 Benzene,

3.1.1.19 Ethyl acetate,

3.1.1.20 น้ำกลั่น

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.2.1 UV spectrophotometer, Parmacia Biotech

3.1.2.2 Autoclave. Hirayama, Scientific promotion Co.,LTD.

3.1.2.3 Lamina air flow, Jafelab

3.1.2.4 Hot air oven. Memmert,Scientific promotion Co., LTD.

3.1.2.5 Biological Incubator, Hotpack, Philadelphia, USA.

3.1.2.6 Boekel Scientific Dricycler, Philadelphia, USA.

3.1.2.7 UV lamp, Gamag, Switzerland.

3.1.2.8 Hotplate & stirrer, Jenway Ltd., Essex, United Kingdom.

3.1.2.9 Volumetric Flask, Herka intercolor, Germany.

3.1.2.10 Beaker ขนาด 50, 100, 250, 500 และ 1000 mL, Pyrex, Germany.

3.1.2.11 Pipetman, Gilson Medical Electronics, France.

3.1.2.12 Spectronic 20 genesis, Spectronic Instruments, USA.

3.1.2.13 Crest Ultrasonic Cleaner, ETLTesting Laboratories Inc., NJ. USA.

3.1.2.14 Microscope, Nikon, Japan.

3.1.2.15 Test tube screw cap, Pyrex, Germany.

3.1.2.16 Plate for bacterium growth, Pyrex, Germany.

3.1.2.17 Graduated Cylinder, Pyrex, Germany.

3.1.2.18 Antibiotic assay discs 6 mm

3.1.2.19 Condenser.

3.1.2.20 Micro Test Tubes with caps, Pyrex, Germany.

3.1.2.21 Microhaematocrit tubes, Herlev, Denmark.

3.1.2.22 Magnet Retriever, PTFE Labware.

3.1.2.23 Erlenmeyer flask 2000 and 3000 ml, Pyrex, Germany.

3.1.2.24 Melting point B-545.

3.1.2.25 Capillary tube

3.1.2.26 pH paper 0-14

3.1.2.27 Centrifuge tube 1.5 ml with transparent cap

3.1.2.28 TLC Silica gel 60 F_{254} 25 Aluminium sheets 20x20 cm

3.1.2.29 หลอด UV ขนาด 20 วัตต์

3.1.2.30 ขวดสีชา

3.1.2.31 ช้อนตักสาร

3.1.2.32 ขวดก้นกลม

3.1.2.33 กระดาษอลูมิเนียมฟรอย

3.1.2.34 กระดาษชั่งสาร

3.1.2.35 เครื่องชั่งชนิด 4 ตำแหน่ง (Analytical balance)

3.2 วิธีการสังเคราะห์

การสังเคราะห์สารมีวิธีการดังนี้ คือ

3.2.1 การสังเคราะห์ลิแกนด์

3.2.1.1 การสังเคราะห์สาร Citronellal - Salicylic hydrazide

1) ชั่งสาร Salicylic hydrazide (0.1972 g) ละลายในขวดก้นกลมด้วย Methanol (10 mL) กวนสารโดยปรับการหมุนไปที่ระดับ 6 พร้อมให้ความร้อน ณ อุณหภูมิ 40 - 60 °C สารจะมีสีขาวขุ่นเล็กน้อยเมื่อเติมตัวทำละลายจะละลาย Methanol เพิ่ม 5 mL สารจึงละลายหมดในนาทีที่ 3 เป็นเวลา 20 นาที สารละลายจะใสไม่มีสี

2) เติมสารที่เข้าทำปฏิกิริยา คือ Citronellal (0.2000 g) สารยังคงใสไม่มีสีเช่นเดิม

3) ทดสอบความสมบูรณ์ของการเกิดปฏิกิริยาด้วยแผ่น TLC โดยดีเวลลอป (develop) ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม แล้วนำไปสังเกตผลภายใต้แสง UV

4) ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ภายใน 3 วัน

5) เก็บสารที่เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ลงในบีกเกอร์แล้วปล่อยไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องใช้เวลา 4 วัน

3.2.2.2 การสังเคราะห์สาร Citronellal - D-Glucosamine

1) ชั่งสาร D-Glucosamine (0.0698 g) ละลายในขวดก้นกลมด้วย Methanol (10 mL) กวนสารโดยปรับระดับการหมุนที่ระดับ 6 พร้อมให้ความร้อน ณ อุณหภูมิ 40-60 °C เป็นเวลา 35 นาที สารจะละลายหมดสีของสารจะใสไม่มีสี

2) เติมสารที่เข้าทำปฏิกิริยา คือ Citronellal (0.0500 g) สารละลายยังคงใสไม่มีสีเช่นเดิม

3) ทดสอบความสมบูรณ์ของการเกิดปฏิกิริยาด้วยแผ่น TLC โดยดีเวลลอป (develop) ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม แล้วนำไปสังเกตผลภายใต้แสง UV

4) ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ภายใน 4 วัน

5) เก็บสารที่เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ลงในบีกเกอร์แล้วปล่อยไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องใช้เวลา 3 วัน

3.3 การศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารตัวอย่าง (Physicochemical properties)

นำสารที่สังเคราะห์ได้มาศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (Physicochemical properties) โดยใช้เทคนิคดังต่อไปนี้

3.3.1 การวัดสมบัติการละลายในตัวทำละลายต่างๆ เช่น คลอโรฟอร์ม เมทานอล เอทานอล ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ และไดเมทิลฟอร์มาไมด์

3.3.1.1 ชั่งสารตัวอย่างมา 0.0005 g จำนวน 5 ครั้ง นำสารใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 mL

3.3.1.2 ตวงตัวทำละลายต่างๆ คือ คลอโรฟอร์ม เมทานอล เอทานอล ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ และไดเมทิลฟอร์มาไมด์ มาอย่างละ 3 mL ลงในบีกเกอร์ที่เตรียมไว้ดังข้อที่ 1

3.3.1.3 ใช้แท่งแก้วคนสารจนสารละลายหมด

3.3.1.4 สังเกตและบันทึกผล

3.3.2 วิเคราะห์ธาตุองค์ประกอบ (Elemental analysis) วิเคราะห์หาธาตุ Carbon, Hydrogen, Nitrogen และ Oxygen ในสารตัวอย่างด้วยเครื่อง CHNS Analyser (Perkin Elmer PE2400 Series ll) ที่ Scientific and Technological Research Equipment Center จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ

3.3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectroscopy

3.3.5 วิเคราะห์หาจุดหลอมเหลว (Melting point) นำสารที่สังเคราะห์ได้มาหาจุดหลอมเหลวด้วยเครื่อง Melting point B-545 ที่ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

3.3.6 การสังเกตลักษณะผลึก สี และคำนวณหาผลผลิตร้อยละ (% yield)

3.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.4.1 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay

การทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay หรือ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl เป็นสารอนุมูลอิสระ (free radical) สามารถรับ electron หรือ hydrogen radical ได้ ซึ่งเมื่อ DPPH อยู่ในรูปสารละลายใน absolute methanol จะมีสีม่วง และเมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ antioxidant จะทำให้มีสีจางลง โดยใช้ BHT (Butylated hydroxytoluene) เป็นสารมาตรฐานที่ให้ผลบวกในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้ ค่าที่ได้จากการทดสอบจะแสดงเป็นค่า IC_{50} โดยต้องมีค่าต่ำกว่า 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จึงจะถือว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.4.1.1 การเตรียมสารละลายเพื่อทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay

1) เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 µg/mL ในสารละลาย absolute methanol

2) เตรียมสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 12.5,25,50 และ 100 ตามลำดับ

โดยความเข้มข้น 12.5 ppm ปิเปตสารมา 1.25 mL ปรับปริมาตรให้ครบ 10 mL

ความเข้มข้น 25 ppm ปิเปตสารมา 2.5 mL ปรับปริมาตรให้ครบ 10 mL

ความเข้มข้น 50 ppm ปิเปตสารมา 5 mL ปรับปริมาตรให้ครบ 10 mL

3) เตรียมขวดสีชา 24 ขวด เพราะในแต่ละความเข้มข้นจะต้องใช้ขวดสีชาจำนวน 3 ขวด และอีก 1 ขวด เป็นขวด control รวมเป็น 25 ขวด

4) นำขวดสีชา ทั้ง 25 ขวด ไปอบไว้ที่อุณหภูมิ 100 ^{0}C รอให้ขวดเย็นจึงนำมาใช้ได้

3.4.1.2 วิธีการวิเคราะห์ความสามารถการต้านอนุมูลอิสระโดย วิธี DPPH assay

1) ปิเปต 1 mL ของสารละลายตัวอย่างและสารมาตรฐาน ในแต่ละความเข้มข้น ใส่ในขวดสีชา 3 ใบ เพื่อทำการทดสอบสารตัวอย่างละ 3 ครั้ง (triplicate)

2) ปิเปต Methanolic DPPH radical 2 ml ใส่ขวดสีชาในแต่ละความเข้มข้น

3) เขย่าให้สารเข้ากัน นำขวดทั้ง 25 ใบ เก็บไว้ในที่มืดอุณหภูมิ 37 ^{0}C เป็นเวลา 30 นาที

4) วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายด้วยเครื่อง SPECTRONIC 20 GENESYS ที่ความยาวคลื่น 517 nm โดยวัดจากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูง

5) คำนวณหาค่า % inhibition ดังสมการ

$$\% \text{ inhibition} = \frac{OD_{control} - OD_{sample}}{OD_{control}} \times 100$$

$OD_{control}$ คือ ค่า absorbance ของ control (มีเฉพาะ DPPH)

OD_{sample} คือ ค่า absorbance ของ สารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน

3.4.2 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP)

การทดสอบด้วยวิธี FRAP assay (Ferric reducing antioxidant power) assay เป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนอิสระ (reducing agent) โดยอาศัยคุณสมบัติในการเป็นตัวรีดิวซ์ในปฏิกิริยา redox-linked colorimetricmethod โดยที่ ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) complex จะถูกรีดิวซ์ด้วยสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้ ทำให้เกิด Fe^{2+}-TPTZ complex ดังนั้นวิธีนี้ สามารถใช้วัด total reducing power ของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการถ่ายทอดอิเล็กตรอนให้ Fe^{3+} เปลี่ยนเป็น Fe^{2+} ได้ เทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานคือ $FeSO_4$ สร้างกราฟมาตรฐานในการหาปริมาณ Fe^{2+} ที่เกิดจากปฏิกิริยาของสารตัวอย่าง แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นค่า FRAP value (Fe(II)/g)

3.4.2.1 การเตรียมสารละลายเพื่อทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP) ทำได้ดังนี้

1) Acetate buffer (300 mL, pH 3.6) โดยชั่ง 3.1 g ของ Sodium acetate, glacial acetate acid 16 mL ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 L ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 ^{0}C

2) Dilute HCl เป็น 40 mM โดยปิเปต 1.46 mL ของน้ำกลั่นผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

3) Ferric chloride มา 0.051 g ละลายโดยน้ำกลั่น 10 mL

4) TPTZ (2, 4, 6 - tri [2- pyridyl] - s - triazin) 10 mL, 0.031 g ละลายใน HCl 40 mM จากนั้นละลายใน water bath ที่อุณหภูมิ 50 ^{0}C (เตรียมใหม่ทุกครั้งเวลาใช้)

5) การเตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยการนำสารละลาย acetate buffer, Ferric chloride และ TPTZ ในปริมาตร 100, 10, 10 mL ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C

3.4.2.2 วิธีการวิเคราะห์ความสามารถการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP)

1) ปิเปตสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 100 ppm ตามลำดับ โดยปิเปต 150 µL ของสารละลายตัวอย่าง แล้วปิเปต 3 mL ของสารละลาย FRAP ลงขวดเดิมที่มีสารละลายตัวอย่างอยู่ เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37°C

2) วัดค่าการดูดกลืนแสงในนาทีที่ 6 ที่ความยาวคลื่น 593 nm

3) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Ferrous sulfate คำนวณหาปริมาณ Relative antioxidant activity (FRAP value) จากกราฟมาตรฐานของ $FeSO_4$ ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $FeSO_4$ กับค่า absorbance โดยต้องเจือจางสารตัวอย่างให้อยู่ในช่วงกราฟมาตรฐาน

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

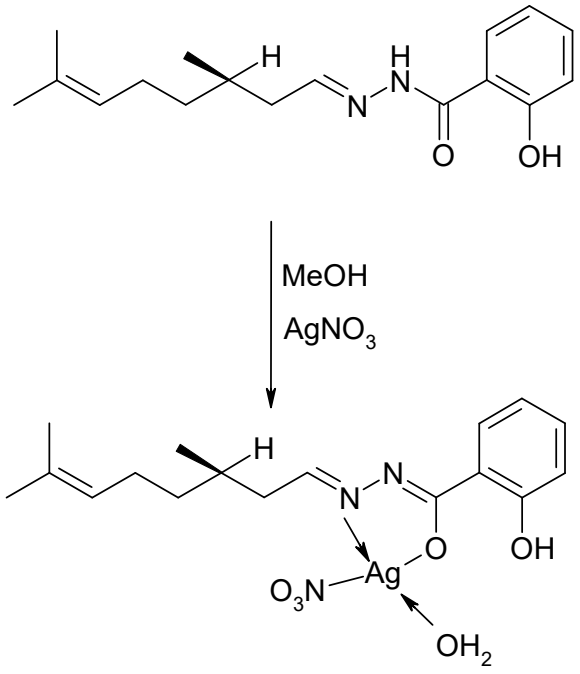
4.1 บทนำ

ในบทนี้คณะผู้วิจัยได้เก็บรวบรวมข้อมูลที่สำคัญในด้านต่างๆ จากการทดลองดังนี้

1) ผลการสังเคราะห์สาร
2) ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสาร
3) ผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง SEM
4) ผลการวิเคราะห์ particle size
5) ผลการทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อรา
6) ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH
7) ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

4.2 ผลการสังเคราะห์สารตัวอย่าง

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนโดยเทคนิคทางเคมีโดยมีลิแกนด์หลักเป็น Citronellal ใน Alcoholic medium ที่อุณหภูมิ 40 ^{O}C ด้วยวิธีกวนสารอย่างต่อเนื่อง แสดงดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 โครงสร้างของ Citronellal metal nanoparticles

4.3 ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์

นำสารที่สังเคราะห์ได้ทั้งหมดมาศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ (Physicochemical properties) โดยได้ผลดังต่อไปนี้

ตารางที่ 4.1 สมบัติทางกายภาพของสารตัวอย่าง

Trivial name	สูตรโมเลกุล	MW	สีของสาร
Cit-D-Glu	$C_{16}H_{29}NO_5$	252	สีน้ำตาลแดง
Cit-Sal	$C_{17}H_{24}N_2O_2$	288	สีขาว
Cit-D-Glu-Ag	$C_{16}H_{29}NO_5Ag$	359.86	สีดำ
Cit-D-Glu- Cu	$C_{16}H_{29}NO_5Cu$	315.54	สีเขียวแก่
Cit-sal-Ag	$C_{17}H_{24}N_2O_2Ag$	395.86	สีเทา
Cit-sal- Cu	$C_{17}H_{24}N_2O_2Cu$	351.54	สีเขียวขี้ม้า

จากตารางที่ 4.1 พบว่าสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด มีสมบัติทางกายภาพของที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของสาร

ตารางที่ 4.2 Elemental analysis

Trivial name	Elemental analysis							
	% C		% H		% N		% O	
	Cal.	Found	Cal.	Found	Cal.	Found	Cal.	Found
Cit-D-Glu	76.19	76.23	11.50	11.50	5.55	5.45	31.74	31.70
Cit-Sal	70.83	70.75	8.33	8.35	9.72	9.70	11.11	11.10
Cit-D-Glu-Ag	53.35	53.35	8.05	8.10	3.89	3.85	22.23	22.20
Cit-D-Glu- Cu	60.84	60.80	9.19	9.20	4.43	4.42	25.35	25.35
Cit-sal-Ag	51.53	51.45	6.06	6.02	7.07	7.11	8.08	8.03
Cit-sal- Cu	58.03	58.08	6.82	8.80	7.96	7.95	9.10	9.10

จากตารางที่ 4.2 พบว่า ผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่องสอดคล้องกับค่าที่ได้จากการคำนวณ แสดงว่า สารที่ได้จากการสังเคราะห์มีโมเลกุลเป็นไปตามที่เสนอไว้

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารตัวอย่าง

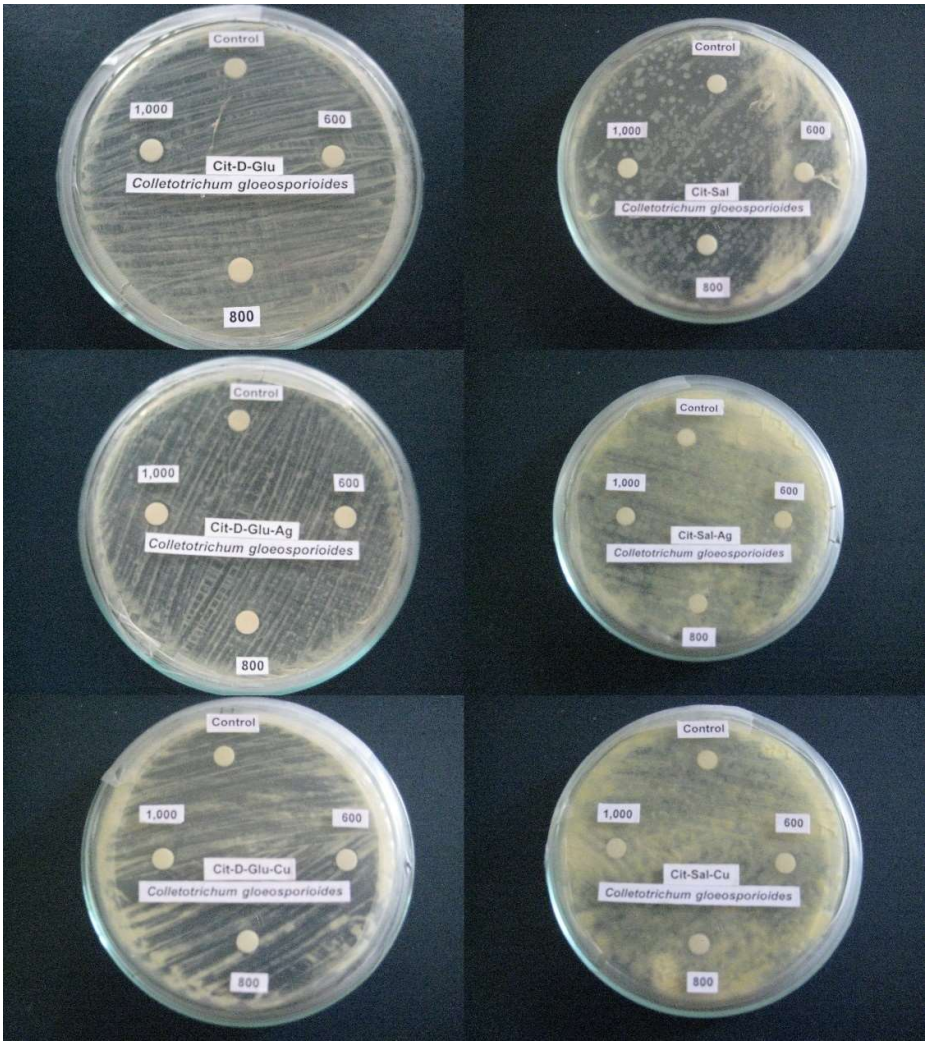
สารตัวอย่าง	สถานะของสาร	การละลายของสาร			
		DMSO	DMF	Methanol	Ethanol
Cit-D-Glu	ของแข็ง	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย
Cit-Sal	ของแข็ง	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย
Cit-D-Glu-Ag	ของแข็ง	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย
Cit-D-Glu- Cu	ของแข็ง	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย
Cit-Sal-Ag	ของแข็ง	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย
Cit-Sal-Cu	ของแข็ง	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย

จากตารางที่ 4.3 สารตัวอย่างทุกตัวมีสถานะเป็นของแข็ง มีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายที่มีขั้วได้ดี แสดงว่า สารที่ได้จากการสังเคราะห์ทุกตัวเป็นสารมีขั้ว

4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

4.6.1 ผลการทดสอบความสามารถการต้านเชื้อราโรคพริก *Colletotrichum gloeosporioides*

การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อรา โดยเตรียมสารตัวอย่าง ทั้ง 6 ชนิดเป็นความเข้มข้นที่ 600, 800 และ 1,000 ppm เป็นต้น แล้วนำสารไปทดสอบฤทธิ์กับเชื้อราโดยเทคนิค Paper disc diffusion ในห้องปฏิบัติการ สังเกตและบันทึกผล ซึ่งผลการทดลองได้ผลดังภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 การต้านเชื้อราของสารตัวอย่าง

ตารางที่ 4.4 แสดงความสามารถการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของสารตัวอย่าง

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้น (ppm)	Clear zone (mm)			
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	$\overline{x}$ ± SD
Cit-D-Glu	control	0	0	0	0
	600	7	7	7	7±0.000
	800	7	8	8	8±0.577
	1000	8	8	9	8±0.577
Cit-sal	control	0	0	0	0
	600	0	0	0	0±0.000
	800	8	8	8	8±0.000
	1000	9	8	9	9±0.577
Cit-D-Glu-Ag	control	0	0	0	0
	600	7	7	6	7±0.577
	800	8	8	7	8±0.577
	1000	8	8	8	8±0.000
Cit-D-Glu-Cu	control	0	0	0	0
	600	7	8	7	7±0.577
	800	8	8	8	8±0.000
	1000	8	9	9	9±0.577
Cit-sal-Ag	control	0	0	0	0
	600	7	7	8	7±0.577
	800	8	8	8	8±0.000
	1000	8	8	9	8±0.577
Cit-sal-Cu	control	0	0	0	0
	600	7	8	8	8±0.577
	800	9	9	9	9±0.000
	1000	10	9	10	9±0.577

จากภาพที่ 4.2 และตารางที่ 4.4 สารที่ได้จากการสังเคราะห์มีความสามารถต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เป็นสาเหตุของโรคกุ้งแห้งหรือโรคแอนแทรคโนสของพริกที่ความเข้มข้นต่างกัน เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง โดยสังเกตได้จากเคลียร์โซน สารเริ่มต้านที่ความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ 600 ppm และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นฤทธิ์ในการต้านเชื้อราจะเพิ่มขึ้น (Concentration dependence หรือ Dose dependence in nature) สารตัวอย่างที่มีความสามารถในการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ดีที่สุด คือ Cit–sal-Cu มีค่า

เคลียร์โซนเฉลี่ยเท่ากับ 9±0.577 ที่ 1,000 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่แนะนำให้เกษตรกรใช้ในแปลงปลูกพริก

4.6.2 ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างโดยวิธี DPPH radical scavenging assay หรือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็นสารอนุมูลอิสระ (free radical) สามารถรับ electron หรือ hydrogen radical ได้ ซึ่งเมื่อ DPPH อยู่ในรูปสารละลายใน absolute methanol จะมีสีม่วง และเมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ antioxidant จะทำให้มีสีจางลง โดยใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐานที่ให้ผลบวกในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้ ค่าที่ได้จากการทดสอบจะแสดงเป็นค่า IC_{50} ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารแต่ละชนิดด้วยเทคนิค DPPH

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 520 nm			$\bar{x}\pm$SD	Radical Scavenging activity (%)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
Cit-D-Glu	20	0.695	0.692	0.692	0.693±0.002	4.282
	40	0.683	0.687	0.677	0.682±0.005	5.755
	60	0.667	0.666	0.657	0.663±0.006	8.379
	80	0.653	0.660	0.655	0.656±0.004	9.392
	100	0.642	0.657	0.640	0.646±0.009	10.727
Cit-Sal	20	0.679	0.644	0.683	0.668±0.021	15.911
	40	0.647	0.641	0.631	0.640±0.008	19.437
	60	0.606	0.594	0.600	0.600±0.006	24.433
	80	0.587	0.577	0.597	0.587±0.010	26.071
	100	0.569	0.567	0.574	0.570±0.004	28.212
Cit-D-Glu-Ag	20	0.656	0.659	0.661	0.659±0.003	7.750
	40	0.647	0.649	0.650	0.649±0.002	9.150
	60	0.641	0.639	0.640	0.640±0.001	10.364
	80	0.637	0.635	0.632	0.635±0.003	11.111
	100	0.620	0.612	0.615	0.616±0.004	13.772

ตารางที่ 4.5 ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารแต่ละชนิดด้วยเทคนิค DPPH (ต่อ)

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 520 nm			$\bar{x}$±SD	Radical Scavenging activity (%)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
Cit-D-Glu-Cu	20	0.863	0.906	0.888	0.886±0.022	7.839
	40	0.882	0.880	0.875	0.879±0.004	8.533
	60	0.864	0.867	0.863	0.865±0.002	10.024
	80	0.846	0.840	0.834	0.840±0.006	12.591
	100	0.811	0.839	0.836	0.829±0.015	13.770
Cit-Sal-Ag	20	0.982	0.970	0.987	0.980±0.009	3.766
	40	0.928	0.944	0.920	0.931±0.012	8.579
	60	0.879	0.867	0.884	0.877±0.009	13.883
	80	0.872	0.840	0.852	0.855±0.016	16.045
	100	0.812	0.780	0.782	0.791±0.018	22.266
Cit-Sal-Cu	20	0.880	0.911	0.905	0.899±0.016	6.486
	40	0.839	0.874	0.864	0.859±0.018	10.614
	60	0.829	0.830	0.807	0.822±0.013	14.464
	80	0.793	0.787	0.778	0.786±0.008	18.210
	100	0.767	0.759	0.773	0.766±0.007	20.257
Trolox	20	1.197	1.193	1.266	1.219±0.041	10.194
	40	1.226	1.162	1.148	1.179±0.042	13.142
	60	1.078	1.119	1.084	1.094±0.022	19.406
	80	1.007	0.979	0.996	0.994±0.014	26.750
	100	0.994	0.915	0.945	0.945±0.043	30.337

จากตารางที่ 4.5 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง โดยอนุมูลอิสระมาตรฐานที่ใช้ คือ 2-2-diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็นสารที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่มีความคงตัว เมื่อถูกรีดิวซ์โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนสีจากสีม่วงเป็นสีเหลือง การศึกษาโดยวิธีนี้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสามารถคำนวณได้โดยการวัดระยะเวลาที่ทำปฏิกิริยาเท่ากัน แล้วรายงานเป็น % Radical Scavenging คำนวณตามสมการดังนี้

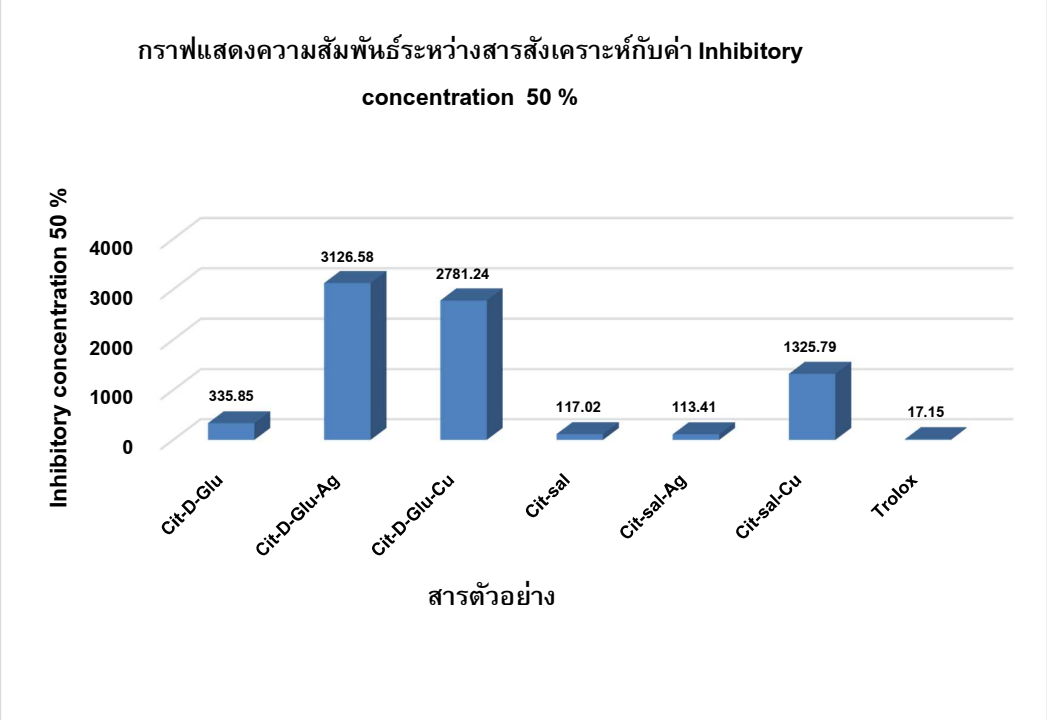
$$\% \text{ Radical scavenging} = \frac{(A_{517\ control} - A_{517 sample})}{A_{517 control}} \times 100$$

จะพบว่า สารที่ได้จากการสังเคราะห์มีความสารารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีมากน้อยแตกต่างกันไป และยังพบว่าสารทุกตัวที่สังเคราะห์ได้ในครั้งนี้ออกฤทธิ์แปรตามความเข้มข้น (Concentration dependence)

ตารางที่ 4.6 แสดงค่า IC_{50} ของสารตัวอย่างในการต้านอนุมูลอิสระ

สารตัวอย่าง	**IC_{50} (Inhibitory Concentration 50%)**
Cit-D-Glu	335.85
Cit-Sal	117.02
Cit-D-Glu-Ag	3,126.58
Cit-D-Glu-Cu	2,781.42
Cit-Sal-Ag	113.41
Cit-Sal-Cu	1,325.79
Trolox	17.15

จากตารางที่ 4.6 พบว่า สารตัวอย่างมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด คือสาร Cit-sal-Ag รองลงมา คือ สาร Cit-sal, Cit-D-Glu, Cit-sal-Cu, Cit-D-Glu-Cu, Cit-D-Glu-Ag ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน Trolox



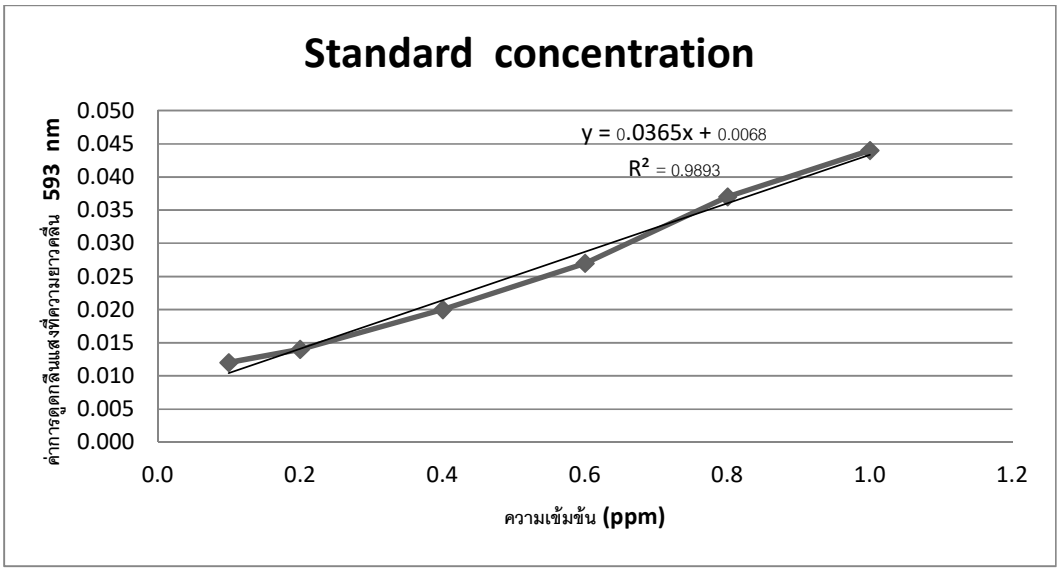
ภาพที่ 4.3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสารตัวอย่างกับค่า Inhibitory Concentration 50% (IC_{50})

4.6.3 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

การทดสอบการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay (Ferric reducing antioxidant power) assay ซึ่งเป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนอิสระ (Reducing agent) โดยอาศัยคุณสมบัติในการเป็นตัวรีดิวซ์ในปฏิกิริยา Redox-linked colorimetric method โดยที่ Ferric tripyridyl triazine (Fe^{3+}-TPTZ) complex จะถูกรีดิวซ์ด้วยสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้ ทำให้เกิด Fe^{2+}-TPTZ complex ดังนั้นวิธีนี้ สามารถใช้วัด Total reducing power ของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการถ่ายทอดอิเล็กตรอนให้ Fe^{3+} เพื่อเปลี่ยนเป็น Fe^{2+} ได้ เทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน $FeSO_4$ สร้างกราฟมาตรฐานในการหาปริมาณ Fe^{2+} ที่เกิดจากปฏิกิริยาของสารตัวอย่าง แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นค่า FRAP value (Fe(II)/g) จะได้ค่าการดูดกลืนแสงดังตางรางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ค่ามาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 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 4.4 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

ตารางที่ 4.8 ปริมาณของ Fe^{2+} ที่ได้จากการรีดิวซ์ Fe^{3+} โดยสารตัวอย่างในการวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm			$\bar{x}\pm$SD	ปริมาณของ Fe^{2+}
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
Cit-D-Glu	20	0.310	0.311	0.315	0.312±0.003	8.362
	40	0.321	0.323	0.329	0.324±0.004	8.690
	60	0.329	0.333	0.337	0.333±0.004	8.937
	80	0.340	0.344	0.339	0.341±0.003	9.156
	100	0.357	0.360	0.351	0.356±0.005	9.567
Cit-sal	20	0.439	0.441	0.448	0.443±0.005	11.951
	40	0.459	0.455	0.458	0.457±0.002	12.334
	60	0.478	0.464	0.466	0.469±0.008	12.663
	80	0.472	0.482	0.479	0.478±0.005	12.910
	100	0.488	0.489	0.490	0.498±0.001	13.457
Cit-D-Glu-Ag	20	0.476	0.478	0.478	0.477±0.001	12.882
	40	0.486	0.492	0.488	0.489±0.003	13.211
	60	0.496	0.499	0.500	0.498±0.002	13.458
	80	0.519	0.521	0.522	0.521±0.002	14.088
	100	0.530	0.533	0.529	0.531±0.002	14.362

ตารางที่ 4.8 ปริมาณของ Fe^{2+} ที่ได้จากการรีดิวซ์ Fe^{3+} โดยสารตัวอย่างในการวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP (ต่อ)

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm			$\bar{x}\pm$SD	ปริมาณของ Fe^{2+}
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
Cit-D-Glu-Cu	20	0.415	0.412	0.418	0.415±0.003	11.184
	40	0.430	0.427	0.432	0.430±0.003	11.595
	60	0.458	0.453	0.451	0.454±0.004	12.252
	80	0.467	0.465	0.472	0.468±0.004	12.636
	100	0.470	0.477	0.473	0.473±0.004	12.773
Cit-sal-Ag	100	0.473	0.467	0.469	0.470±0.003	12.690
	200	0.639	0.642	0.628	0.636±0.007	17.238
	300	0.664	0.645	0.645	0.651±0.011	17.650
	400	0.789	0.807	0.789	0.795±0.010	21.594
	500	0.960	0.958	0.978	0.965±0.011	26.252
Cit-sal-Cu	20	0.227	0.233	0.231	0.230±0.003	6.115
	40	0.242	0.240	0.239	0.240±0.002	6.389
	60	0.255	0.258	0.249	0.254±0.005	6.773
	80	0.259	0.260	0.264	0.261±0.003	6.964
	100	0.272	0.278	0.279	0.276±0.004	7.375

จากตารางที่ 4.8 พบว่า เมื่อนำสารตัวอย่างทั้งหมดมาศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP สารตัวอย่างทั้งหมดออกฤทธิ์โดยแปรตรงตามความเข้มข้น (Concentration dependence) เมื่อความเข้มข้นมากขึ้นสารตัวอย่างจะออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 บทนำ

ในบทนี้คณะผู้วิจัยได้สรุปประเด็นต่างๆ ที่ได้จากการทำวิจัย ดังนี้คือ การสังเคราะห์สารตัวอย่าง การศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ การทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เป็นสาเหตุของโรคกุ้งแห้งหรือโรคแอนแทรคโนสของพริก การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

5.2 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การวิจัยนี้เป็นการผลิตลิแกนด์จากสารไซโทรเนลลัล (Citronellal) และน้ำตาลแอมิโน (α-D-glucosamine) โดยเทคนิคกึ่งสังเคราะห์ (Semi-synthetic condensation) จะได้ลิแกนด์ที่เป็นอนุพันธ์ชนิดใหม่ (Novel natural derivatives) ที่จัดอยู่ในกลุ่มไฮดราโซน (Hydrazones) หรือชิฟฟ์เบส (Schiff base) ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มขึ้นและยังทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ที่จะใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนและทองแดงนาโน โดยลิแกนด์ใหม่ที่ได้มีจำนวน 2 ชนิด คือ
สาร Cit-Sal และสาร Cit-D-Glu เมื่อนำลิแกนด์ไปรีดิวซ์เกลือของโลหะ Cu และ Ag จะได้อนุภาคชนิดใหม่เพิ่มขึ้นอีก 4 ชนิด คือ สาร Cit-Sal-Cu, Cit-Sal-Ag, Cit-D-Glu-Cu และ
Cit-D-Glu-Ag

เมื่อนำสารที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เป็นสาเหตุของโรคกุ้งแห้งหรือโรคแอนแทรคโนสของพริก พบว่า ทั้งลิแกนด์ใหม่และอนุภาคเงิน นาโนและทองแดงนาโนออกฤทธิ์ต้านเชื้อราชนิดนี้ได้ดี โดยเฉพาะสาร Cit–sal-Cu ซึ่งเป็นอนุภาคทองแดงที่เกิดจากตัวรีดิวซ์ไซโทเนลลัล ซาลิไซลิกไฮดราโซน สำหรับกลไกการออกฤทธิ์อาจเนื่องจากสารนี้เข้าไปขัดขวาง DNA polymerase และ ribonucleotide reductase สามารถทำให้สาย DNA แตกเมื่อมี Cu ไอออนอยู่ด้วย (Azmi, A.S. *et al.* 2005 : 3131) สารที่ได้จากการสังเคราะห์มีความสารารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีมากน้อยแตกต่างกันไป และยังพบว่าสารทุกตัวที่สังเคราะห์ได้ในครั้งนี้ออกฤทธิ์แปรตามความเข้มข้น (Concentration dependence) โดยสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด คือ สาร Cit-sal-Ag รองลงมา คือ สาร Cit-sal ส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay พบว่า สารที่ออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด คือ Cit-sal-Ag รองลงมาคือ Cit-D-Glu-Ag ซึ่งผลการทดสอบฤทธิ์ของสารที่สังเคราะห์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH และ เทคนิค FRAP ที่มีความสัมพันธ์กันน้อย ทั้งนี้เป็นเพราะว่า สารที่มีความสามารถใน การรีดิวซ์เหล็กได้ดีอาจจะแสดงสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนไม่ดี (โอภา วัชระคุปต์. 2549) นอกจากนี้ ยังขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายและขนาดของโมเลกุลของสารที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ (มัณฑนา ภาณุมาภรณ์. 2552) ดังนั้น การที่อนุภาคชนิดหนึ่งมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\cdot}$ ได้ดีทั้งนี้เพราะมีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีและ

โมเลกุลไม่เกะกะ (Steric effect) จึงเกิดปฏิกิริยารีดักชันได้ดี แต่ในขณะเดียวกันกลับมีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กได้น้อยในเทคนิค FRAP

5.3 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการนำองค์ความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยีมาใช้ในด้านการเกษตร ซึ่งถือเป็นการวิจัยที่แปลกใหม่ของประเทศไทย หลักการ ทฤษฎีรวมทั้งผลที่ได้จากการวิจัยยังสามารถถูกถ่ายทอดให้กับเกษตรกร จึงถือเป็นการวางรากฐาน ให้ความรู้และในขณะเดียวกันยังเป็นการสร้างความตระหนักให้กับเกษตรกรได้รับประโยชน์ รู้ทันเทคโนโลยีใหม่ และป้องกันการถูกหลอกจากพ่อค้าบางกลุ่มได้อีกด้วย สิ่งสำคัญและจำเป็นที่จะต้องดำเนินการต่อไปอีก

5.3.1 ข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยครั้งต่อไป

5.3.1.1 จะต้องวิจัยเพื่อวิเคราะห์กลไกที่แท้จริงเกี่ยวกับ Mode of action ของผลิตภัณฑ์ในกลุ่มนี้กับการออกฤทธิ์ต่อราก่อโรคกุ้งแห้ง

5.3.1.2 ศึกษาต้นทุนในการผลิตสารตัวอย่าง

5.3.1.3 ต้องทดสอบสารตัวอย่างในหลายพื้นที่และหลายช่วงเวลา เพื่อให้เกิดความมั่นใจว่าสามารถใช้ได้ในสภาพย่างไรบ้าง ตลอดจนศึกษากับโรคพืชชนิดอื่นๆ

5.3.2 ข้อเสนอแนะเพื่อการนำไปใช้

สารนาโนอินทรีย์และนาโนโลหะอินทรีย์ที่สังเคราะห์ได้สามารถนำไปใช้ฉีดพ่นในแปลงปลูกพริก เพื่อป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อราได้ สารเหล่านี้ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กัลทิมา พิชัย. (2555). **การศึกษาการใช้สารสกัดพืชสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในพื้นที่สะลวง อ.แม่ริม จ. เชียงใหม่ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ท้องถิ่น.** เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

กัญชลี เจติยานนท์ และคณะ. (2550). **การใช้ไรโซแบคทีเรียเพื่อสร้างภูมิคุ้มกันโรคกุ้งแห้ง โรคเหี่ยวเขียวและโรครากและโคนเน่า**. กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว).

ทัศนา พิทักษ์สุธีพงศ์ และคณะ. (2549). **การเตรียมไมโครอิมัลชันของสารสกัดพริกไทยดำและพริกสำหรับการป้องกันและการกำจัดศัตรูพืช**. กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว).

ณัฐพันธุ์ ศุภกา และ วราภรณ์ ถิรสิริ. (2549). **นาโนเทคโนโลยี**. กรุงเทพฯ : สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.

ณัฐวุฒิ สุทธิพงษ์ และวรากร ศรีสุระพล. (2010) ค้นจาก http://www.ie.eng.chula.ac.th/academics/course/2104328/assignments/01industries

เนื่องพณิช สินชัยศรี และสาทร สิริสิงห์. (2548). **ข้อเท็จจริง การใช้สารเคมีกับการพัฒนาเกษตร ไทย**. กรุงเทพฯ : มูลนิธิมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล. (2555, มกราคม – มีนาคม.). **“การควบคุมโรครากเน่าของพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Sclerotium rolfsiifh* ด้วยเชื้อแอคติโนมัยสีท *Streptomyces hygroscopicus*PACCH 24 ที่สร้างเอนไซม์ไดติเนส,” วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.** 14(1) : 10-22.

ปวีณา อุตะมะติง. (2554). **ประสิทธิภาพการใช้เชื้อรา *Trichodermavirens* และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกชี้ฟ้า.** วิทยานิพนธ์ วท.ม. (เทคโนโลยีการเกษตร). เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา.

ปิยนุช ทองผาสุก. (2550). **ผลของรังสีแกรมมาต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชัน**. กรุงเทพฯ : ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทศโนโลยีนิวเคลียร์ครั้งที่ 10 : 16-17 สิงหาคม 2550.

พรทิพย์ แพงจันทร์ และคณะ. (2552). **การพัฒนาเทคโนโลยีการป้องกันทำจัดโรคแอนแทรคโนส (โรคกุ้งแห้ง) โดยใช้แนวทางการผลิตพริกแบบผสมผสานในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน.** อุบลราชธานี : การประชุมวิชาการระบบเกษตรแห่งชาติครั้งที่ 5 พลังงานทดแทนและความมั่นคงทางอาหารเพื่อมนุษย์ชาติ วันที่ 2-4 กรกฎาคม ณ โรงแรมอุบลอินเตอร์เนชั่นแนล. หน้า 439-445.

พรรณี เด่นรุ่งเรื่อง. (2550). “ฤทธิ์การการต้านอนุมูลอิสระของเปลือกต้นวงศ์อบเชย,” ใน **รายงานผลงานวิจัย ประจำปี 255**0. กรุงเทพฯ : สำนักงานวิจัยการจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้.

พิภพ ลำยอง และสายสมร ลำยอง. (2543). **การควบคุมโรคกุ้งแห้งของพริก (*Colletotrichum*spp.) โดยใช้ endophytic microorganism ที่แยกได้จากพืชสมุนไพรไทย.** เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มาลี ตั้งระเบียบ และคณะ. (2550). **การประเมินความสามารถของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง (entomopathogenic fungi) ในการควบคุมแมลงศัตรูสำคัญของพริก**. กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว).

เยาวพา สุวัตถิ. ค้นจาก http://www.gpo.or.th/rdi/html/microbe.html 2009.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2547). **การตรวดสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร**. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

รัติยา พงศ์พิสุทธา. (2553, มกราคม-เมษายน). “ความผันแปรทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum*spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก,” **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**. 41(1 พิเศษ) : 318-321.

วรานันท์วิญญูรัตน์. (2554). **การจำแนกชนิดและศึกษาความรุนแรงของเชื้อรา *Colletotrichum* สารเหตโรคแอนแทรกโนสพริก.** วิทยานิพนธ์ วท.ม. (โรคพืช). กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิไลลักษณ์ บุญหลาย. (2557). “วิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัดพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) เพื่อควบคุมเชื้อรา *olletotrichumgloeosporioides* (Penz) Sacc,” **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม**. 9 : 19-27.

สิริวรรณ สมิทธิอาภรณ์. (2553, กันยายน-ธันวาคม). “ผลของสารสกัดมะรุมและฟ้าทะลายโจรต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletotrichum*spp. สาเหตุโรคแอนแทรกโนสพริก,” **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร.** 41 (3/1(พิเศษ)) : 305-308.

โสภณ บุญลือ อำนาจ สุวรรณฤทธิ์ และพูนพิไล สุวรรณฤทธิ์. (2550). **การกระตุ้นการเจริญของพริกอินทรีย์และการลดความเป็นโรคทางรากของพริกด้วย**เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา = Growth Promotion for Organic chili and Reducing of Chili Root Pathogens by Arbuscular Mycorrhizal Fungi. กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว).

อรรัตน์ มงคลพร. (2552). **การศึกษายีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อ *colletotrichum acutatum* ที่แสดงออกในผลพริกระยะผลเขียวและผลแดงในพริก *Capsicum baccatum* ‘PBC80’**. กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว).

โอภา วัชระคุปต์. (2549). **สารต้านอนุมูลอิสระ**. กรุงเทพฯ : พีเอสพริ้นท์.

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," **FEBSLetters**. 579 : 3131-3135.

Das, Manash R., et al. (2011). "Synthesis of silver nanoparticles in an aqueous Suspension of grapheme oxide sheets and its antimicrobial activity," **Colloids and Surfaces B : Biointerfaces**. 83 : 16-22.

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," ค้นเมื่อ 1 เมษายน 2012 จาก www.Google.com

Leonard, Kwati, et al. (2011). "Insitu 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.

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.