



การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารนาโนอินทรีย์
นาโนโลหะอินทรีย์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา

**Biological investigation of nano-organic and nano-organometallic
agents against *Pseudococcus* sp. and *Nilaparvata lugens* (Stal)**

สมหมาย ปะติตั้งไข

คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

กรกฎาคม 2556



การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารนาโนอินทรีย์
นาโนโลหะอินทรีย์ต้านเพลี้ยแป้งและเพลี้ยกระโดด

**Biological investigation of nano-organic and nano-organometallic
agents against *Pseudococcus* sp. and *Nilaparvata lugens* (Stal)**

โดย

สมหมาย ปะติตั้งโช

คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

ได้รับทุนอุดหนุนจากโครงการวิจัยและนวัตกรรมเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนฐานราก

เครือข่ายอุดมศึกษาภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง

กรกฎาคม 2556

ชื่อโครงการวิจัย	การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารนาโนอินทรีย์ นาโนโลหะอินทรีย์ต้านเพ็ช้อย่างและเพ็ช้อย่างกระโดด
ผู้วิจัย	สมหมาย ปะติตั้งโช
ปีที่ทำวิจัย	2556

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการเพิ่มฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติโดยวิธีกึ่งสังเคราะห์ทดสอบสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารนาโนอินทรีย์และนาโนโลหะอินทรีย์โดยมีผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติเป็นตัวรีดิวซ์ต้านเพ็ช้อย่างและเพ็ช้อย่างกระโดด ผลการศึกษาพบว่า อนุภาคนาโนอินทรีย์มีรูปร่างเป็นทรงกลม ส่วนอนุภาคนาโนโลหะอินทรีย์มีรูปร่างแบบแท่งและอนุภาคทั้ง 6 ชนิดสามารถออกฤทธิ์ต้านเพ็ช้อย่าง (*Nilaparvata lugens* (Stal)) ได้ภายใน 30 นาที โดยสารตัวอย่าง C4 ออกฤทธิ์กำจัดได้ 100 % ที่ความเข้มข้นเพียง 0.10 M ในเวลา 10 นาที สารตัวอย่างทั้งหมดยังสามารถออกฤทธิ์ต้านเพ็ช้อย่างกระโดด (*Pseudococcus* sp.) ได้ภายใน 10 นาที โดยสาร C4 ออกฤทธิ์ต้านเพ็ช้อย่างกระโดด 100 % ในเวลาเพียง 2 นาที นอกจากนี้คณะผู้วิจัยยังได้นำสารตัวอย่างไปทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อราโรคพืช (*A. niger*, *C. circinans* และ *S. sclerotiorum*) และต้านอนุมูลอิสระ ผลพบว่า สาร C2 และ C4 มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อราโรคพืชได้ดี ทั้งนี้เนื่องจากอิทธิพลของทั้งอนุภาคนาโนโลหะและไอออนลบและยังพบว่า สารซีพีเบส (L1, L2) มีฤทธิ์ต้านเชื้อราได้น้อยกว่าอนุภาคนาโนโลหะอินทรีย์ (C1, C2, C3 และ C4) ส่วนการต้านอนุมูลอิสระเทคนิค DPPH พบว่า สารตัวอย่างทั้งหมดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่สารที่ต้านอนุมูลอิสระได้ดีด้วยค่า IC_{50} ที่ต่ำคือ L1, C1 และ C3 สำหรับการต้านอนุมูลอิสระเทคนิค FRAP พบว่า สารที่รีดิวซ์ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} ได้ดีที่สุดคือ L2 รองลงมาคือ C4 ผลจากการวิจัยในครั้งนี้จึงมีประโยชน์ทั้งต่อกลุ่มเกษตรกรที่เผชิญกับปัญหาโรคและศัตรูของพืชเศรษฐกิจและยังเป็นประโยชน์ต่อวงการเภสัชที่จะต้องนำสารเหล่านี้ไปทดสอบกับโรคที่เกิดกับมนุษย์อีกด้วย

Title : **Biological Test of Nano-organic and Nano-organometallic Substances against *Pseudococcus* sp. and *Nilaparvata lugens* (Stal)**

Author: **Somma Patitungkho**

Academic Year: **2013**

Abstract

The purposes of this research were to increase the biological effect of natural products by utilizing a semi-synthesis method and to test the physicochemical and biological properties of nano-organic and nano-organometallic substances by using natural products as reducing agents against *Pseudococcus* sp. and *Nilaparvata lugens* (Stal). The results revealed that nano-organic particles are in a round shape while nano-organometallic particles in a bar shape. All six particles could be used against *Nilaparvata lugens* (Stal) within thirty minutes by which sample C4 with the concentration 0.10 M could completely kill the diseases, 100 %, within ten minutes. The sample substances could also eliminate *Pseudococcus* sp. within ten minutes by which C4 sample could kill the diseases within two minutes. Moreover, the research team tried out the activation of these substances against the fungi of plant diseases (*A. niger*, *C. circinans* and *S. sclerotiorum*) and anti-free radical toxicity in nature. The results were found that C2 and C4 substances influenced by nano-organometallic particles and negative irons had the desirable biological effect against the plant diseases. However, Schiff base (L1, L2) had less effect against the plant fungi than nano-organometallic particles (C1, C2, C3 and C4). Regarding anti-free radical technique called DPPH, it showed that all sample substances went against anti-free radical while the substances against the radical with the low level of IC_{50} were L1, C1 and C3. Regarding anti-free radical technique called FRAP, it revealed that the best reduced substances changing from Fe^{3+} to Fe^{2+} were L2 and C4. It was concluded that the research results were useful not only for the agriculturalists who are facing problems of industrial plants diseases but also for the chemists who are going to try out these substances with human beings.

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิจัยเรื่องการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารนาโนอินทรีย์ นาโนโลหะอินทรีย์
ต้านเชื้อแบง์และเชื้อโอดดได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเครือข่ายอุดมศึกษา
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.ประสพ สืบคำ
ประธานเครือข่ายอุดมศึกษาภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างอย่างสูง

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร และขอขอบคุณ
รศ.โกวิท เชื่อมกลาง อธิการบดีมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ผศ.สมเกียรติ กัลยพฤษ์
รองอธิการบดี ฝ่ายวิจัยและประกันคุณภาพการศึกษา อาจารย์พิสมัย ประธานันท์ ผู้อำนวยการ
สถาบันวิจัยและพัฒนา ที่ช่วยเหลือและให้คำแนะนำด้วยดีตลอดมา ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัย
นางสาวสุรีพร ตัดถุยาวัตร ที่ช่วยเหลือและร่วมมือกับนักวิจัยในขั้นตอนต่างๆ ทั้งการสังเคราะห์
ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพและร่วมจัดเวทีถ่ายทอดสู่ชุมชนจนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จ ลุล่วงอย่างดี

สมหมาย ปะติตั้งไข

ผู้วิจัย

4 กรกฎาคม 2556

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่	
1 บทนำ	1
บทนำ	1
หลักการและเหตุผล	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
กรอบแนวคิดหรือทฤษฎีของการวิจัย	3
ขอบเขตของการวิจัย	5
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
บทนำ	6
นาโนเทคโนโลยี	6
การสังเคราะห์อนุภาคนาโน	8
การสังเคราะห์อนุภาคนาโนบางชนิดและการทดสอบฤทธิ์	
ทางชีวภาพ	11
เครื่องมือวัดทางนาโนเทคโนโลยี	14
นาโนเทคโนโลยีชีวภาพ	16
การประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีชีวภาพในอุตสาหกรรม	17
การพัฒนานาโนเทคโนโลยีชีวภาพ	17
วัตุนาโนชีวภาพ	18
อนุมูลอิสระ	19
สารต้านอนุมูลอิสระ	19
วิธีศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ	20

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	เพลี้ยแป้ง (Mealybug)	25
	เพลี้ยกระโดด	28
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	30
3	สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ	36
	สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ	36
	วิธีการทดลอง	38
	การศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารตัวอย่าง (Physicochemical properties)	38
	การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง SEM	38
	การทดสอบฤทธิ์การต้านเพลี้ยแป้งและเพลี้ยกระโดด	39
	การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อราก่อโรคพืช	39
	การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง	39
	ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Vero cells)	41
	การถ่ายทอดผลการทดลองสู่ชุมชน	42
4	ผลการทดลองและอภิปรายผล	43
	บทนำ	43
	สมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารที่ได้จากการสังเคราะห์	43
	ผลการศึกษาอนุภาคและมอร์โฟโลยี	46
	ผลการทดสอบความสามารถในการฆ่าเพลี้ยแป้งของสารตัวอย่าง	48
	ผลการทดสอบความสามารถในการฆ่าเพลี้ยกระโดดของ สารตัวอย่าง	51
	ผลการทดสอบความสามารถการต้านเชื้อรา	54
	ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH	57
	ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP	60
	ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ	64
	การถ่ายทอดผลการทดลองสู่ชุมชน	69

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
5	สรุป วิจารณ์ และข้อเสนอแนะ	73
	บทนำ	73
	สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	73
	ข้อเสนอแนะ	74
	บรรณานุกรม	75
	ประวัตินักวิจัย	78

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	แสดงการเจือจางสารละลายในการทำกราฟมาตรฐาน	41
4.1	สมบัติทางกายภาพของสารที่สังเคราะห์ได้	43
4.2	ลักษณะการละลายและการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง	44
4.3	มวลโมเลกุล และ Elemental analysis ของสารที่ได้จากการสังเคราะห์	45
4.4	ความสามารถการต้านเพอซีปิ้งของสารตัวอย่าง	50
4.5	ความสามารถการฆ่าเพอซีปิ้งกระโดดของสารตัวอย่าง	53
4.6	ความสามารถการต้านเชื้อราของสารตัวอย่าง	56
4.7	ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารแต่ละชนิดด้วยเทคนิค DPPH	58
4.8	ค่า IC ₅₀ ของสารตัวอย่างในการต้านอนุมูลอิสระ	59
4.9	ค่ามาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP	61
4.10	ปริมาณของ Fe ²⁺ ที่ได้จากการรีดิวซ์ Fe ³⁺ โดยสารตัวอย่างในการวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP	62
4.11	สารตัวอย่าง NTN-Sal	65
4.12	สารตัวอย่าง NTN-INH	66
4.13	สารตัวอย่าง NTN-Sal-Ag	67
4.14	สารตัวอย่าง NTN-INH-Ag	68

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	เครื่อง AFM (Atomic force microscope)	15
2.2	หลักการทำงานของเครื่อง AFM	15
2.3	6-Hydroxy- 2,5,7,8 - tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox)	22
2.4	รูปร่างเพ็ลลี่ยแบ่งเพศเมียตัวเต็มวัยที่ระบาศในมนสำปะหลัง	26
2.5	การระบาศของเพ็ลลี่ยแบ่งจากพื้นที่หนึ่งไปยังพื้นที่อื่น	27
2.6	การทำลายของเพ็ลลี่ยแบ่งด้วยการดูดน้ำเลี้ยงโดยใช้ส่วนของปากที่เป็นท่อยาวดูดกินน้ำเลี้ยง	28
2.7	รูปร่างลักษณะของเพ็ลลี่ยกระโดด	29
4.1	ผลการถ่ายภาพอนุภาคด้วย SEM	47
4.2	การดำนเพ็ลลี่ยแบ่งของสารตัวอย่างที่ได้จากการสังเคราะห์	49
4.3	ลักษณะการทำลายต้นข้าวและนาข้าวของเพ็ลลี่ยกระโดด	51
4.4	ความสามารถการฆ่าเพ็ลลี่ยกระโดดของสารตัวอย่าง	52
4.5	การดำนเชื้อราของสารตัวอย่าง	55
4.6	กราฟเปรียบเทียบระหว่างค่า IC ₅₀ ของสารตัวอย่าง	59
4.7	กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการดำนอนุมูล อิสระโดยวิธี FRAP	61
4.8	กราฟความสัมพันธ์ของปริมาณ Fe ²⁺ สำหรับการวิเคราะห์ ความสามารถในการดำนอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP	64
4.9	การถ่ายทอดผลการวิจัย ณ บ้านหนองซอแซ ตำบลหนองกะทิง อำเภอลำปลายมาศ จังหวัดบุรีรัมย์	69
4.10	การถ่ายทอดผลการวิจัย ณ บ้านคลองหลวงพัฒนา ตำบลโคกมะม่วง อำเภอปะคำ จังหวัดบุรีรัมย์	71

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำ

ในบทที่ 1 นี้ผู้วิจัยได้นำเสนอความเป็นมาของการทำวิจัย วัตถุประสงค์ของการวิจัย คำถามของการวิจัย สมมติฐานของการวิจัยและกรอบแนวคิดในการวิจัย ขอบเขตของการวิจัย การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่จะใช้ในการวิจัย ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.2 หลักการและเหตุผล

จากผลิตภัณฑ์มวลรวม (GDP) ไตรมาสที่ 1/2553 ขยายตัว 12 % ซึ่งสูงสุดในรอบ 15 ปี โดยแยกเป็นส่วนของภาคเกษตร 0.2 % โดยสาขาประมงขยายตัว 2.5 % จากรายการกุ้งแช่แข็งส่งออกที่เพิ่มขึ้น ส่วนสาขาเกษตรกรรมลดลง 0.3 % เป็นการลดลงในผลผลิตพืชที่สำคัญคือ ข้าว อ้อยและมันสำปะหลัง เนื่องจากส่วนของพืชเป็นสัดส่วนที่มีความสำคัญที่สุด จากสภาวะการแข่งขันในตลาดโลกที่สูงขึ้นโดยเฉพาะสินค้าเกษตรและอาหาร ซึ่งเป็นสินค้าหลักของประเทศ ไทย อีกทั้งปัจจุบันประเทศคู่ค้าที่สำคัญของไทยได้มีการกำหนดมาตรการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) ดังนั้น กระทรวงเกษตรและสหกรณ์จึงได้มีการส่งเสริมให้ทำการเกษตรให้ได้ผลผลิตที่ปลอดภัยจากสารพิษและทำเกษตรอินทรีย์เพิ่มมากขึ้น โดยกำหนดการปฏิบัติทางการเกษตรตามระบบเกษตรดีที่เหมาะสม (GAP; Good Agricultural Practice) ซึ่งมีวิธีการควบคุมศัตรูพืชแบบพึ่งพาสารเคมีให้น้อยที่สุด (จิระเดช แจ่มสว่าง. 2550 : ไม่มีเลขหน้า) ใช้วิธีการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพด้วยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาทดแทนสารเคมีให้มากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นสารพิษ ส่วนมากมีสมบัติในการทำลายสิ่งมีชีวิตไม่ว่าจะเป็นพืช สัตว์และจุลินทรีย์แทบทุกชนิด ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชนั้น ๆ แนวความคิดที่จะเลิกใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและเปลี่ยนมาใช้สารสกัดจากธรรมชาติที่ไม่ส่งผลเสียต่อมนุษย์ สัตว์ สิ่งแวดล้อม ตลอดจนเศรษฐกิจโดยรวมของประเทศเป็นสิ่งที่ทุกคนปรารถนา จากการศึกษาการสูญเสียของผลผลิตทางการเกษตรจากการทำลายของศัตรูพืช และวัชพืชเฉลี่ยของโลกพบว่าสูญเสียกว่า 40 % โดยเฉพาะสภาพภูมิอากาศร้อนชื้น เช่น ประเทศไทยที่สามารถปลูกพืชได้ตลอดทั้งปี ศัตรูพืชสามารถแพร่พันธุ์และระบาดได้ทั้งปีเช่นกัน จึงสร้างความเสียหายอย่างมาก ดังนั้นการควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี (Biocontrol) ซึ่งเป็นการลดปริมาณประชากรและลดกิจกรรมของเชื้อโรคพืชที่จะก่อให้เกิดโรคจนอยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับพืชโดยอาศัยสิ่งมีชีวิต (Organism) ทั้งนี้หมายรวมถึงพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (Antagonistic microorganism) ตลอดจนสารพันธุกรรมหรือผลผลิตจาก

สารพันธุกรรม (Genes or gene products) ของสิ่งมีชีวิต แต่ยกเว้นผลจากการกระทำต่อเชื้อโรคโดยตรงจากมนุษย์ ในธรรมชาติมีสิ่งมีชีวิตหรือจุลินทรีย์หลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืชและแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกันไปในการเป็นปฏิปักษ์ (เยาวยา สุวัตติ. ม.ป.ป : ไม่มีเลขหน้า) ปัจจุบันได้มีการค้นคว้าหาวิธีการควบคุมโรคพืชใหม่ๆ ทางชีวภาพเพื่อลดอันตรายจากการใช้สารเคมีทางการเกษตร โดยให้เกษตรกรหันมาใช้การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ซึ่งถือเป็นวิธีที่ยอมรับว่าใช้ได้ผลดี ได้มีการศึกษาถึงกลไกการควบคุมโรคและระบบการควบคุมโรคโดยวิธีต่างๆ โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (Antagonist) ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา เชื้อแบคทีเรียมักเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อโรคพืชโดยการแย่งแย่งอาหาร การยับยั้ง ทำลายและการเป็นปรสิต นอกจากนี้ยังมีวิธีการอื่นอีก เช่น ให้เกษตรกรหันมาปลูกพืชแบบผสมผสาน แทนการปลูกพืชเชิงเดี่ยวก็ได้ผลดีในระดับหนึ่ง แต่โดยภาพรวมยังไม่เป็นที่น่าพอใจ ทั้งนี้เนื่องจาก GDP ที่ขยายตัวมาจากภาคนอกการเกษตร ส่วนภาคการเกษตร โดยเฉพาะพืชผลสดตัว 0.3 % โดยผลผลิตจากมันสำปะหลัง อ้อย ข้าว และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลดลงดั่งกล่าวแล้ว ทั้งนี้ด้วยสาเหตุที่สำคัญคือภัยแล้งและโรคระบาด รัฐบาลจึงมีนโยบายเร่งด่วนที่จะเพิ่มขีดความสามารถให้ภาคอาหารและเกษตร เพื่อให้การผลิตได้ทั้งปริมาณและคุณภาพที่มีความปลอดภัย ซึ่งจะเห็นได้จากการที่รัฐมนตรีว่าการกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ได้สั่งการให้ สวทช. เร่งเพิ่มขีดความสามารถให้อาหารและเกษตร เพื่อรองรับความต้องการของชุมชนและเอกชน หวังสร้างมูลค่าสินค้าไทยแข่งขันกับต่างชาติ เนื่องจากอาหารและเกษตรเป็นหัวใจสำคัญของประเทศไทย จึงต้องการให้นำความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี นานาเทคโนโลยี ไบโอเทคโนโลยี มาช่วยแก้ปัญหาหรือสร้างมูลค่าให้สินค้าของประเทศไทยในการแข่งขันกับต่างชาติ หรือแม้แต่แก้ปัญหาเฉพาะหน้า เช่น ภัยแล้งที่เกิดจากโลกร้อน ฝนทิ้งช่วงที่สร้างความเดือดร้อนให้ภาคการเกษตร ปุ๋ยนาโนที่จะควบคุมการปลดปล่อยสารอาหารออกมาในเวลาที่เหมาะสม โดยให้เน้นงานยุทธศาสตร์เรื่องความปลอดภัยของอาหารและกระบวนการผลิตที่จะส่งผลกระทบต่อธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม โดยมองว่าตลาดสินค้าที่เน้นเรื่องความปลอดภัยทั้งกับมนุษย์และสิ่งแวดล้อมมีแนวโน้มเติบโตได้ดีในอนาคต (วท.รुकเพิ่มมูลค่าภาคอาหาร-เกษตร. 2553)

นาโนเทคโนโลยี เป็นเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการจัดการการสร้างการสังเคราะห์วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องจักรหรือสิ่งต่างๆ ที่มีขนาดเล็กมากประมาณ 1 ถึง 100 นาโนเมตร ดังนั้นความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยีจึงสามารถนำมาใช้จัดเรียงอะตอมหรือโมเลกุลเข้าด้วยกันอย่างถูกต้องแม่นยำ ส่งผลให้โครงสร้างของวัสดุหรือสารต่างๆ มีสมบัติที่พิเศษขึ้นทั้งทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อผู้ใช้สอยและเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจได้นานาเทคโนโลยีเป็นเทคโนโลยีที่เป็นความหวังใหม่ของมวลมนุษยชาติ เพราะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

อย่างมากมายและหลากหลายมากขึ้น การนำนาโนเทคโนโลยีไปใช้ประโยชน์เป็นการบูรณาการศาสตร์หลากหลายแขนงเข้าด้วยกัน เช่น อิเล็กทรอนิกส์ วัสดุศาสตร์ และเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งกำลังพัฒนาอย่างต่อเนื่องและนับวันจะเข้ามามีบทบาทในชีวิตประจำวันมากขึ้น

ไม่ว่าผลิตภัณฑ์ที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการจัดโรคภัยไข้เจ็บ ผลิตภัณฑ์ในการชะลอความแก่ เครื่องสำอาง คอมพิวเตอร์ นาโนไบโอเซ็นเซอร์ เส้นใยนาโน อนุภาคนาโน นาโนเทคโนโลยีเกี่ยวกับพลังงาน นาโนเทคโนโลยีเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อม และนาโนเทคโนโลยีที่เกี่ยวกับการเกษตร และอาหาร เป็นต้น

จากเหตุผลและความจำเป็นดังกล่าวข้างต้นทำให้คณะผู้วิจัยสนใจที่จะนำสารที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติมาผสมผสานกับองค์ความรู้ทางด้านนาโนวิทยาศาสตร์และนาโนเทคโนโลยี เพื่อนำมาใช้ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดของข้าว ซึ่งข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่นำรายได้เข้าสู่ประเทศเป็นอันดับต้นๆ ของพืชเศรษฐกิจทั้งหลาย ดังนั้นการแก้ปัญหาศัตรูข้าวจึงมีความจำเป็นเร่งด่วน

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.3.1 เพื่อนำสารสกัดจากธรรมชาติมาทำการเพิ่มฤทธิ์ด้วยเทคนิคกึ่งสังเคราะห์ (Semi-synthesis) และควบคุมขนาดของอนุภาคให้อยู่ในระดับนาโนเมตร

1.3.2 เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (Physico-chemical properties) บางประการ และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Biological properties) ของสารนาโนอินทรีย์และนาโนโลหะอินทรีย์ ในการต้านเพลี้ยแป้งและเพลี้ยกระโดด

1.3.3 เพื่อทราบแนวทางการควบคุมศัตรูพืชแบบใหม่ โดยอาศัยความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยี

1.4 กรอบแนวคิดหรือทฤษฎีของการวิจัย

1.4.1 นำสารสกัดสมุนไพรกลุ่ม ไดคีโตน มาควบแน่นกับ เอมีนปฐมภูมิ คือ Salicylic hydrazide และ Isoniazid จะได้อนุพันธ์ของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ตัวใหม่ของนาโนอินทรีย์ หรือ นาโนไฮดราโซน

1.4.2 นำสารนาโนอินทรีย์ไปคอนจูเกตกับโลหะจะได้สารใหม่ต่อไปคือนาโนโลหะอินทรีย์

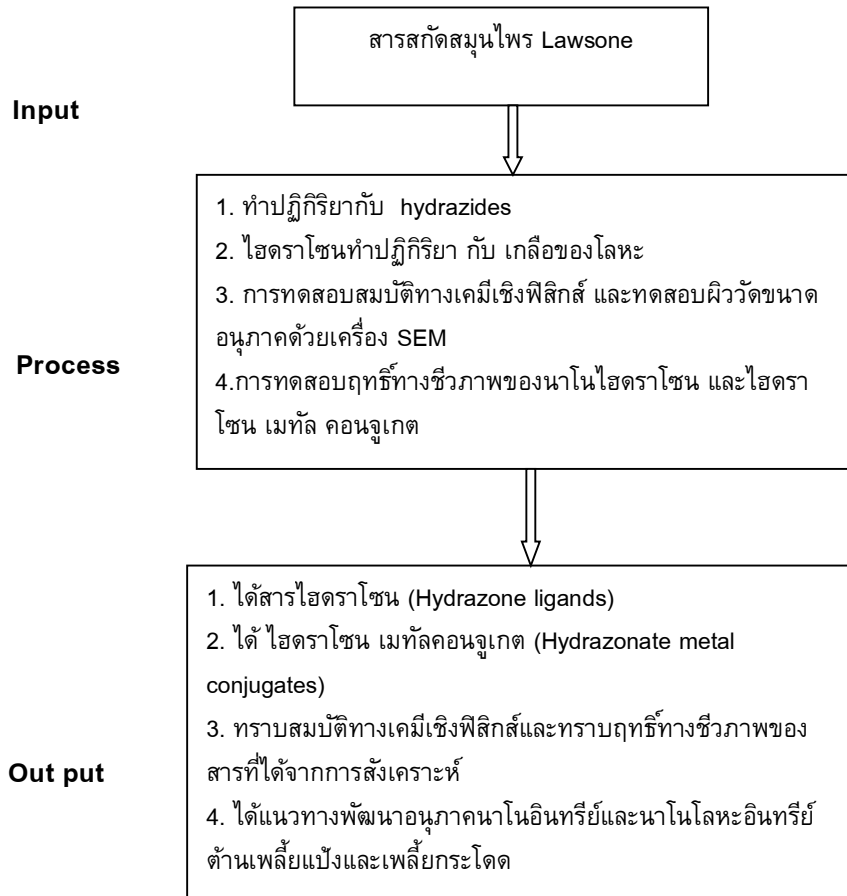
1.4.3 นำสารใหม่ในข้อ 1.4.1 และ 1.4.2 ไปศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (Physicochemical properties)

1.4.4 นำสารในข้อ 1.4.1 และ 1.4.2 ไปศึกษาทางด้านลักษณะและขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง TEM และหรือ SEM

1.4.5 ทดสอบความสามารถในการกำจัดเพลี้ยแป้งและเพลี้ยกระโดดของศัตรูพืชเศรษฐกิจ ในห้องปฏิบัติการ

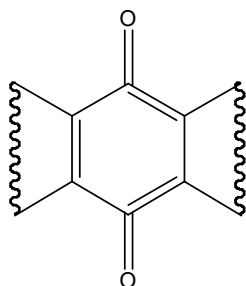
1.4.6 เพิ่มปริมาณของอนุภาคนาโนที่ออกฤทธิ์ต่อเพ็ลลีย์แบ็งและเพ็ลลีย์กระโดด เพื่อนำไปใช้ในแปลงทดลอง

1.4.7 ถ่ายทอดเทคโนโลยีการกำจัดเพ็ลลีย์แบ็งและเพ็ลลีย์กระโดดให้กับกลุ่มเกษตรกร เป้าหมาย



1.5 ขอบเขตของการวิจัย

1.5.1 Natural lawsone ซึ่งเป็นสารสกัดจากธรรมชาติ มาทำปฏิกิริยาการควบแน่นกับ Hydrazides ที่มี Functional group เป็น $-NH_2$ ในสภาวะที่เหมาะสมได้ Novel hybrid hydrazones หรือสารนาโนอินทรีย์ตัวใหม่ 2 ตัว



Natural diketone

1.5.2 นำไฮดราโซนตัวใหม่ ในข้อ 1.5.1 มาทำปฏิกิริยากับเกลือของโลหะ เช่น Copper (II) chloride dehydrate และ Silver nitrate จะได้ Nano-organometallic agents อีก 4 ตัว

1.5.3 นำสารที่ได้ในข้อ 1.5.1 และ 1.5.2 ไฮดราโซน 2 ตัว และ Organometallic agents 4 ตัว และสารเริ่มต้นมาทดสอบสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (Physico-chemical properties) อาทิเช่น ความสามารถในการละลายในตัวทำละลายต่างๆ (Solubility), การดูดกลืนแสง การนำไฟฟ้า (Conductivity), จุดหลอมเหลว (Melting point), และการตกผลึก (Crystallization) เป็นต้น

1.5.4 นำสารที่ได้ในข้อ 1.5.1 และ 1.5.2 มาศึกษาพื้นผิวและหาขนาดของอนุภาคด้วย เครื่อง AFM

1.5.5 นำสารที่ได้ในข้อ 1.5.1 และ 1.5.2 และสารเริ่มต้น มาทดสอบสมบัติฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activities) ในการกำจัดเพ็ลลีย์แบ็ง (*Pseudococcus* sp.) และเพ็ลลีย์กระโดด (*Nilaparvata lugens* (Stal)) และการเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (normal cell lines)

1.5.6 นำสารที่ออกฤทธิ์ในห้องปฏิบัติการต่อเพ็ลลีย์แบ็งและเพ็ลลีย์กระโดด ไปทดสอบในแปลงมันสำปะหลังและนาข้าวของเกษตรกรกลุ่มเป้าหมาย

1.5.7 ถ่ายทอดความรู้ทางนาโนเทคโนโลยีที่มีประโยชน์ต่อกลุ่มเกษตรกรเป้าหมาย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 บทนำ

ในบทนี้ได้ให้รายละเอียดในสิ่งต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

- 2.1.1 นาโนเทคโนโลยี
- 2.1.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโน
- 2.1.3 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนบางชนิดและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ
- 2.1.4 เครื่องมือวัดทางนาโนเทคโนโลยี
- 2.1.5 นาโนเทคโนโลยีชีวภาพ
- 2.1.6 การประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีชีวภาพในอุตสาหกรรม
- 2.1.7 การพัฒนานาโนเทคโนโลยีชีวภาพ
- 2.1.8 วัตุนาโนชีวภาพ
- 2.1.9 อนุมูลอิสระ
- 2.1.10 สารต้านอนุมูลอิสระ
- 2.1.11 วิธีศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ
- 2.1.12 เปลี้ยแบ่ง
- 2.1.13 เปลี้ยกระโดด
- 2.1.14 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.2 นาโนเทคโนโลยี

ปัจจุบันความเจริญทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเกิดขึ้นอย่างไม่หยุดยั้ง การสื่อสารข้ามโลกอยู่เพียงแค่นิ้วการชนส่งสินค้าจำนวนมหาศาลข้ามทวีปเป็นเรื่องที่ดำเนินการเป็นกิจวัตร การส่งคนขึ้นไปสำรวจบนดวงจันทร์กลับเป็นเรื่องล้ำสมัย และโครงการสร้างอาณานิคมในอวกาศกำลังเริ่มเกิดขึ้นแทน องค์ความรู้ในสาขาวิทยาศาสตร์ ทางด้านเคมี และฟิสิกส์ ได้หลังไหลเข้ามาอย่างไม่ขาดสาย และก่อให้เกิดเทคโนโลยีใหม่ๆ ขึ้นจากทฤษฎีทางด้านควอนตัม และเปลี่ยนมุมมองเดิมๆ ที่เรามีต่อแสง สสาร และอนุภาค อย่างสิ้นเชิง (ศิริศักดิ์ เทพาคำ. 2551 : 4) การตระหนักและให้ความสำคัญถึงคุณภาพชีวิตเป็นสิ่งสำคัญที่สุดของมนุษยชาติ จะเห็นได้จากเครื่องอำนวยความสะดวกและผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่มีอยู่รอบตัวเรามากมาย คอมพิวเตอร์เพื่อช่วยในการประมวลผลจากข้อมูลที่มีจำนวนมหาศาล โทรศัพท์มือถือเพื่อส่งสัญญาณเสียง ตัวอักษรและภาพ เครื่องฟอกอากาศที่เคลือบอนุภาคเงินขนาดนาโน

เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ สารปรอทอินทรีย์ที่ทำให้ผิวขาวและลบริ้วรอยได้ดีขึ้น การพัฒนาวัสดุพอลิเมอร์ขั้นสูงเพื่อใช้ผลิตชิ้นงานต่างๆ แทนโลหะ เป็นต้น แต่สิ่งเหล่านี้บางอย่างยังไม่ตรงกับความต้องการหรือก่อให้เกิดมลพิษจากกระบวนการผลิต ดังนั้น เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว นักวิทยาศาสตร์จึงได้พยายามแสวงหาทางเลือกต่างๆ และนาโนเทคโนโลยีนับเป็นทางเลือกหนึ่งที่ได้รับการยอมรับในหลายๆ ประเทศเราสามารถนำนาโนเทคโนโลยีไปประยุกต์ใช้ในการเพิ่มความสามารถในการแข่งขันของอุตสาหกรรมที่มีอยู่เดิม และสร้างอุตสาหกรรมสาขาใหม่ สร้างสินค้าตัวใหม่ ที่มีสมบัติเชิงนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพชีวิตของประชาชน ไม่ว่าจะเป็นด้านสุขภาพ ความเป็นอยู่ สิ่งแวดล้อม พลังงาน ตลอดจนการจัดการกับข้อมูลดิจิทัล การโทรคมนาคม และความมั่นคงปลอดภัยของประเทศต่างๆ ทั่วโลกได้ขนานนามนาโนเทคโนโลยีว่าเป็น “คลื่นลูกใหม่ของเทคโนโลยีแห่งการผลิตที่จะปฏิวัติอุตสาหกรรมในคริสต์ศตวรรษที่ 21” (วิวัฒน์ ตันตะพานิชกุล. 2550 : 22)

2.2.1 คำจำกัดความของนาโนเทคโนโลยี

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

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

2.2.2 องค์ประกอบของนาโนเทคโนโลยี

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

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

คือสิ่งที่จะเรียกได้ว่าเป็นนาโนเทคโนโลยีจะต้องมีคุณสมบัติครบทั้ง 3 ประการ คือ

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

2.3 การสังเคราะห์อนุภาคนาโน

อนุภาคนาโนสามารถเกิดได้สองรูปแบบใหญ่ ๆ คือ

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

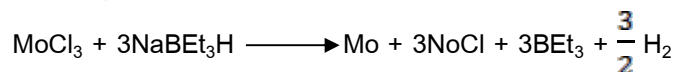
ข. การสร้างวัตถุจากละเอียดไปหยาบ (Bottom-up approach) เป็นการสร้างวัตถุจากอนุภาคนาโนขนาดเล็ก เช่น จากหลายๆ อะตอม หรือ หลายๆ โมเลกุล มารวมกันเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่ บางครั้งเรียกเทคโนโลยีแบบนี้ว่า นาโนเทคโนโลยีเชิงโมเลกุล (Molecular nanotechnology) เช่น การรวมตัวโดยตัวเอง (Self-assembly) เป็นการรวมตัวของสารด้วยพันธะเคมีของวัตถุที่มีโครงสร้างระดับนาโนจนเกิดเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่ เช่นการรวมตัวของสารคอลลอยด์ เป็นต้น (ศรัญญา พรหมโคตร. 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 วัตถุนาโนของโมลิบดีนัม (Mo) จะถูกรีดิวซ์ในสารละลายโทลูอีน (Toluene) ด้วย NaBEt_3H ที่อุณหภูมิห้อง ทำให้ได้ผลผลิตของอนุภาคนาโนโมลิบดีนัมที่มีขนาด 1-5 นาโนเมตร

สมการการเกิดปฏิกิริยาเคมีเป็นได้ดังนี้



วัตถุนาโนลูมิเนียมจะทำให้เกิดการแตกตัวของ $\text{Me}_2\text{EtNAIH}_3$ ในโทลูอีนและทำให้สารละลายนี้ร้อนที่ $105\text{ }^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อเติม Titanium isopropoxide ลงในสารละลายไททาเนียมจะทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา การเลือกตัวเร่งปฏิกิริยาจะเป็นตัวกำหนดขนาดของอนุภาคนาโน เช่น วัตถุนาโนขนาด 80 นาโนเมตร จะเกิดจากไททาเนียม และสารลดแรงตึงผิว เช่น กรดโอเลอิก (Oleic acid) ที่เติมลงไปในการละลายจะช่วยเคลือบอนุภาคนาโนเหล่านี้ไม่ให้เกิดการรวมกลุ่มกัน (Aggregation)

2.3.2 การแตกตัวด้วยความร้อน (Thermolysis)

อนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นโดยการแตกตัวของของแข็งที่อุณหภูมิสูงโดยมีแคโทดไอออนของโลหะและแอนไอออนโมเลกุลหรือสารประกอบอินทรีย์โลหะ กระบวนการนี้เรียกว่า

การแตกตัวด้วยความร้อน (Thermolysis) ตัวอย่างเช่น สารลิเทียมถูกสร้างมาจากการแตกตัวของลิเทียมเอไซด์ (Lithium azide, LiN_3) โดยสารตัวอย่างจะอยู่ในท่อควอตซ์ที่มีช่องเปิดถ่ายเทและให้ความร้อนจนถึง $400\text{ }^\circ\text{C}$ ที่อุณหภูมิ $370\text{ }^\circ\text{C}$ ลิเทียมเอไซด์จะแตกตัวแล้วให้แก๊สไนโตรเจน จะสังเกตเห็นได้จากความดันที่เพิ่มขึ้นบนอุปกรณ์ตรวจวัดสุญญากาศ อีกไม่กี่นาทีต่อมาความดันจะลดลงไปที่ค่าเริ่มต้น ซึ่งแสดงว่าแก๊สไนโตรเจนได้ถูกกำจัดออกไปแล้ว คงเหลือไว้แต่อะตอมลิเทียมเกาะตัวกันเป็นโลหะคอลลอยด์ขนาดเล็ก วัตถุที่มีขนาดเล็กกว่า 5 จะใช้วิธีนี้

ปัจจุบันสามารถตรวจวัดอนุภาคนาโนได้โดยวิธีเรโซแนนซ์พาราแมกเนติกอิเล็กตรอน (Electron paramagnetic resonance, EPR) โดยตรวจอิเล็กตรอนที่นำไฟฟ้าของวัตถุที่เป็นโลหะ วิธี EPR จะวัดพลังงานที่ดูดกลืนเมื่อมีรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ตัวอย่างเช่น คลื่นไมโครเวฟ จะเหนี่ยวนำการเปลี่ยนเฟสระหว่างสถานะสปินที่เกิดการแบ่งโดยสนามแม่เหล็ก DC โดยทั่วไปแล้วคลื่นไมโครเวฟมีความสามารถในการทะลุทะลวงพื้นผิวโลหะได้น้อย จึงเป็นการยากที่จะสังเกต EPR ของอิเล็กตรอนที่นำไฟฟ้า

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

2.3.3 วิธีเลเซอร์แบบกระแทก (Pulsed laser methods)

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

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

2.3.4 วิธีการตกสะสมตัวของเฟสแบบไอ

การตกสะสมตัวของเฟสแบบไอ (Vapor phase deposition) สามารถที่จะใช้ในการทำแผ่นฟิล์มบางแบบชั้นที่มีชั้นอัดตัวแน่น หรือท่อนาโน เส้นใยนาโนหรืออนุภาคที่มีขนาดนาโน โดยทั่วไปแล้วเทคนิคนี้สามารถจำแนกได้อย่างกว้างๆ ได้ 2 แบบ คือการตกเคลือบด้วยไอทางกายภาพ (Physical vapor deposition, PVD) และการตกเคลือบด้วยไอทางเคมี (Chemical vapor deposition, CVD)

PVD เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของวัตถุที่เป็นของแข็งเปลี่ยนสถานะเป็นแก๊สโดยกระบวนการทางฟิสิกส์ วัตถุนี้เมื่อเย็นตัวลงจะตกสะสมตัวอีกครั้งหนึ่งบนซับสเตรต (Substrate) ซึ่งบางครั้งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงใหม่ของตัววัตถุนั้น เช่น เกิดปฏิกิริยากับแก๊ส ตัวอย่างของกระบวนการแบบ PVD ครอบคลุมถึงการกลายเป็นไอโดยความร้อน (Thermal evaporation) เช่น ลำอิเล็กตรอนที่ทำให้ร้อนหรือการสังเคราะห์โดยใช้ไฟเผาให้ร้อน การระเหยโดยแสงเลเซอร์ (Laser ablation) หรือการตกสะสมตัวแบบเลเซอร์กระแทก (Pulsed laser ablation) โดยการกระแทกจะเกิดขึ้นในช่วงสั้นระดับนาโนวินาทีจากเลเซอร์ซึ่งมีเป้าหมายตรงไปยังพื้นผิวของวัตถุการกัดกร่อนโดยการเกิดประกายไฟ (Spark erosion) และการพ่นออก ซึ่งเป็น การเคลื่อนที่ของวัตถุเป้าหมายโดยการระดมยิงด้วยอะตอมหรือไอออน

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

การสลายตัวด้วยความร้อนจะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำและได้อนุภาคที่มีขนาด 5-500 นาโนเมตร กระบวนการ CVD โดยทั่วไปแล้วจะใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่แน่นอน เมื่อตัวเร่งปฏิกิริยามีการกระจายตัวขนาดนาโนจะทำให้เกิดผลต่อแผ่นแบบ (Template) ตัวอย่างเช่น การผลิตท่อนาโนคาร์บอนจะใช้การแตกตัวของ Ethane ด้วยไฮโดรเจน ตัวเร่งปฏิกิริยาที่อยู่บนแผ่นแบบ ได้แก่ เหล็ก โคบอล หรือนิกเกิล ขนาดและการกระจายตัวของตัวเร่งปฏิกิริยาอาจกำหนดได้โดยเส้นผ่านศูนย์กลางภายในของท่อนาโน (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) ถือว่ามีประสิทธิภาพมากที่สุดเนื่องจากมีศักยภาพสูงในการยับยั้งแบคทีเรีย ไวรัส และสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ (Eucaryotic micro-organisms) นอกจากนี้ Nano-Ag ยังใช้เป็นสารทำความสะอาด (Disinfectant drug) แต่ถ้าสัมผัสกับเงินมากๆ ก็อาจเป็นอันตรายเนื่องจากเงินเป็นสาเหตุของ Argyrosis หรือ Argyria ทำให้เป็นพิษต่อ Mammalian cells

ปัจจุบันมีการศึกษาเพื่อยืนยันทฤษฎีที่ว่า การใช้เงินไอออนหรือโลหะเงินและอนุภาคเงินนาโน สามารถใช้เป็นยาสำหรับการรักษาอาการที่เกิดจากการไหม้ (Burn treatment) วัสดุทางทันตกรรม (Dental materials), เคลือบสแตนเลส (Coating stainless steel materials) สิ่งทอ (Textile fabrics) บำบัดน้ำเสีย (Water treatment) โลชั่นกันแดด (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 ขนาดและมอโฟโลยีของ 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 เติมน้ำปราศจากไอออน (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) กรองอนุภาคล้างและทำให้แห้งก่อนพิสูจน์เอกลักษณ์ต่อไป

2.4.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุภาคนาโนในการต้านเชื้อรา

Jo, Young- Ki, Kim, Byung H., and Jung, Geunhwa (2009) ได้ศึกษาเงินที่อยู่ในรูปไอออนหรืออนุภาคนาโนที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้สูง และนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางเพื่อให้วัตถุปลอดเชื้อ 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 หลังจากการเติมเชื้อจากผลการทดลองทั้ง In vitro และ In planta assay ทั้งเงินไอออน และเงินนาโนสามารถป้องกันการเกิดโคโลนีของสปอร์ และการเจริญเติบโตของเชื้อราโรคพืช (Plant-pathogenic fungi) สำหรับ In planta นั้นยังพบว่า ทั้งเงินไอออนและเงินนาโนจะมีประสิทธิภาพอย่างยิ่ง เครื่องใช้ป้องกันโรค (Preventative application) ซึ่งอาจจะทำให้เกิด การสัมผัสกันโดยตรงระหว่าง เงินกับสปอร์ และ Germ tube รวมทั้งการป้องกันการมีชีวิตอยู่ของเชื้อรา

อนุภาคของเงินนาโนที่มีขนาดระหว่าง 20-25 nm จะต้านเชื้อราได้ดีด้วยค่า MIC เฉลี่ยระหว่าง 3-25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ และยังพบว่า เมื่อใช้ TiO_2 ร่วมกับ Ag-NPs จะออกฤทธิ์ได้ดีกับเชื้อราที่ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 3-25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Martinez-Gutierrez, Fidel, et al. 2010)

นอกจากนี้ Ag-NPs สามารถต้านเชื้อราก่อโรค *Candida albicans* ด้วยค่า MIC 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ซึ่งมีฤทธิ์ดีกว่า Fluconazole (64 $\mu\text{g}/\text{mL}$) และมีฤทธิ์พ่วง กับ Amphotericin B

(0.25 $\mu\text{g/mL}$) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค *M. smegmatis* ด้วยค่า MIC 0.46 $\mu\text{g/mL}$ ซึ่งมีฤทธิ์ที่ดีกว่า Rifampicin (0.85 $\mu\text{g/mL}$)

MIC ของ Ag-NPs บางกรณีมีค่าที่ดีกว่า MIC ของยาสังเคราะห์ต้านเชื้อรา (Conventional antifungal agents) และ Ag-NPs ยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อ Human fibroblast (30 mg/L) ส่วนเงินไอออนยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ ที่ 1 mg/L ซึ่งเป็นระดับที่เป็นพิษต่อ Human fibroblast

สำหรับผลการต้านเชื้อราของ Ag-NPs ฟังจะได้รับความสนใจ 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 $\mu\text{g/mL}$

Ag-NPs ต้านแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบรวมทั้งสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา (Multiresistant strains) นอกจากนี้ยังสามารถต้านเชื้อราได้ด้วย ผลการต้านแบคทีเรียของ Ag-NPs, Silver nanocomposite หรือวัสดุที่มีอนุภาคเงิน นาโนเป็นองค์ประกอบ (Silver nanoparticles-base materials) ได้มีการศึกษากันมาก เนื่องจากแบคทีเรียที่ต้านทานต่อยาปฏิชีวนะที่เพิ่มขึ้น (Growing bacterial resistance) การต้านแบคทีเรีย ของวัสดุที่มีเงินนาโนเป็นองค์ประกอบจะลดโคโลนี (Bacterial colonization) ของ *Prostheses* และ *Catheters* ซึ่งมีการวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า 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 แม้ในสมัยบาบิโลนและกรีกโรมัน การใช้เงินในทางการแพทย์และการต้านเชื้อแบคทีเรียเฉพาะที่นั้นยังไม่เป็นที่เข้าใจจนถึงศตวรรษที่ 19 สมบัติในการต้านแบคทีเรียของเงินได้รับการศึกษา และนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางกว่าสารอนินทรีย์อื่นๆ โดยเงินเข้าไปรวมกับส่วนต่างๆ ของกระบวนการทางชีวภาพ (Biological processes) ในจุลินทรีย์ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและหน้าที่ของเซลล์เมมเบรน นอกจากนี้เงินยังยับยั้งการสร้างโปรตีนที่มีความสัมพันธ์กับการผลิต ATP แต่กลไกอย่างจำเพาะในการต้านแบคทีเรียยังไม่เป็นที่เข้าใจชัดเจน

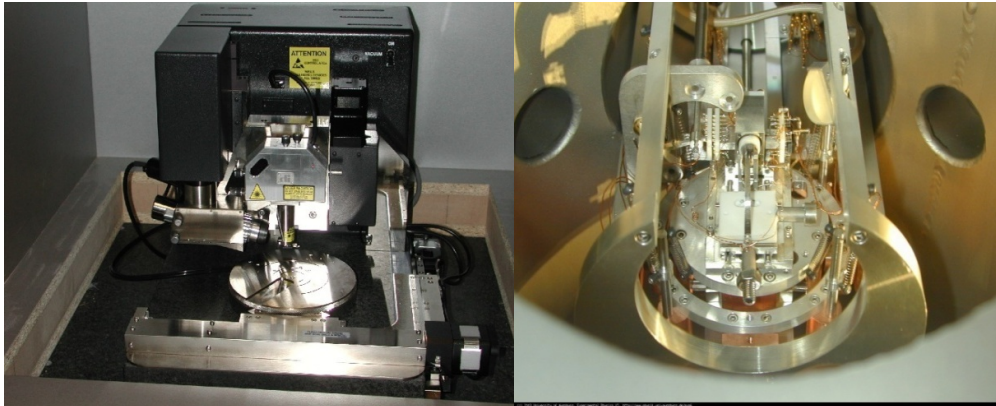
ความเข้มข้นในระดับไมโครโมลาร์ (1-10 μM) มีประสิทธิภาพพอที่จะกำจัดแบคทีเรีย (Kill bacteria) ในน้ำ ในขณะที่เงินมีพิษที่ความเข้มข้นสูงๆ ต่อ Mammals และตามแหล่งน้ำรวมทั้งสิ่งมีชีวิตในท้องทะเล นอกจากนี้ยังอาจทำให้การเจริญเติบโตและรูปร่างของเซลล์สัตว์เปลี่ยนโดยเงินเข้าไปขัดขวางหน้าที่ต่างๆ ทางชีวภาพ (Disrupting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

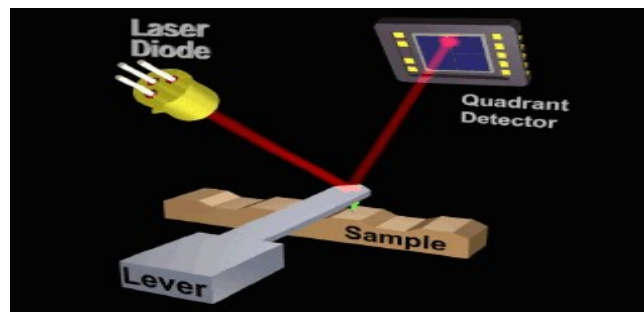
Atomic force microscope (AFM) เป็นเครื่องมือที่ใช้งานทางด้านวิทยาศาสตร์ระดับนาโนโดยเฉพาะ เช่นเดียวกับ STM แต่เครื่อง AFM ได้รับการพัฒนาขึ้นมาหลังจากเครื่อง STM และสร้างขึ้นมาด้วยหลักการพื้นฐานเดียวกับเครื่อง STM โดยเครื่อง AFM จะสามารถทำงานได้โดยการใช้อุปกรณ์ตรวจหรือโพรบ (Probe) ที่มีปลายแหลมเล็ก (เหมือนกันกับเครื่อง STM) ซึ่งติดอยู่กับคานยื่น (Cantilever) ที่สามารถโก่งงอตัวได้เคลื่อนที่สัมผัสไปบนพื้นผิวของวัตถุ (ซึ่งสามารถที่จะวัดแรงกระทำที่ปลายแหลมของโพรบได้แม้ว่าจะมีขนาดน้อยมากในระดับนาโน ก็ตาม) และประโยชน์ของเครื่อง AFM มีมากกว่าเครื่อง STM คือสามารถที่จะตรวจวัดพื้นผิวที่เป็นฉนวนไฟฟ้าได้ เช่น พื้นผิวพอลิเมอร์ เซรามิก คอมโพสิต กระจกหรือแก้ว หรือแม้แต่โมเลกุลทางชีวภาพต่างๆ ก็สามารถที่จะวัดได้



ภาพที่ 2.1 เครื่อง AFM (Atomic force microscope)

ที่มา : สถาบันนวัตกรรมและพัฒนาระบบการเรียนรู้อ มหาวิทยาลัยมหิดล (2555 : 3)

หลักการทำงานของเครื่อง AFM คือ การผ่านแสงเลเซอร์ไปที่กับส่วนปลายแหลม (Tip) ของคานยื่นที่มีขนาดระดับอะตอมในระยะใกล้ ซึ่งส่วนปลายแหลมของคานนั้นจะไปสัมผัสแบบกระตุนในทิศทางขึ้นและลงกับพื้นผิวของวัตถุ และเมื่อเครื่อง AFM ลากส่วนปลายแหลมผ่านโครงสร้างระดับนาโน แรงปฏิกิริยาที่กระทำในแนวตั้งฉากที่เกิดขึ้นระหว่างอะตอมของพื้นผิวกับปลายแหลมจะดึงคาน ทำให้คานโก่งงอตัว ทำให้สามารถตรวจวัดขนาดของแรงเชิงปฏิสัมพันธ์ระหว่างความสัมพันธ์เชิงตำแหน่งของส่วนปลายแหลมและพื้นผิวของวัตถุ (ทำให้สามารถทราบถึงระดับพลังงานที่เกิดขึ้นได้) ซึ่งจะถูกนำมาแปรสัญญาณรวมกันเพื่อนำมาสร้างเป็นภาพพื้นผิวที่เป็นลักษณะเชิงโครงสร้างระดับอะตอม ที่มีกำลังการขยายสูงไปแสดงบนจอภาพที่เป็นมอเนเตอร์เช่นเดียวกับเครื่อง STM (และโดยหลักการเดียวกันนี้ก็สามารถที่ใส่ปลายแหลมของคานนี้ในการสร้างแรงผลึก เพื่อเคลื่อนย้ายอะตอมแต่ละตัวของโครงสร้างวัสดุได้เช่นเดียวกัน)



ภาพที่ 2.2 หลักการทำงานของเครื่อง AFM

ที่มา : สถาบันนวัตกรรมและพัฒนาระบบการเรียนรู้อ มหาวิทยาลัยมหิดล (2555 : 3)

วิธีการทำงานของเครื่อง AFM ที่นำมาใช้งานทางด้านวิทยาศาสตร์ระดับนาโน สามารถแบ่งเป็น 2 วิธี ได้แก่

1. การสัมผัสแบบต่อเนื่อง เป็นการสัมผัสพื้นผิวพร้อมกับการลากปลายแหลมไปบนพื้นผิวนั้นๆ ตลอดเวลา ข้อเสียของวิธีนี้คือ จะทำให้เกิดแรงต้านในแนวของการเคลื่อนที่ซึ่งขนานกับพื้นผิวขึ้น อาจทำให้คานของโพรบที่ใช้วัดเกิดการโก่งงอตัวหรือเกิดบิดเบี้ยวไป โดยที่มิได้เกิดจากแรงดึงดูดที่ปลายเนื่องจากแรงในแนวตั้งฉากเพียงอย่างเดียว จึงทำให้ข้อมูลความสูงของพื้นผิวที่วัดได้นั้นอาจผิดไปจากความสูงที่แท้จริง

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 หรือสังเคราะห์ชีวโมเลกุลขั้นใหม่ เพื่อให้เกิดเป็นโครงสร้างโมเลกุลที่ต้องการ ประโยชน์ที่ได้จากนาโนเทคโนโลยีชีวภาพที่เห็นได้ชัดเจนและคาดว่าจะมีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์เป็นอย่างมาก ได้แก่ เทคโนโลยีทางการแพทย์ และเภสัช เช่น การทำวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue engineering) เพื่อสร้างอวัยวะ (เนื้อเยื่อหรือกระดูก) ขึ้นมาทดแทนอวัยวะส่วนที่เสื่อมสภาพไป การผลิตยาที่สามารถทำการรักษาเฉพาะจุด (Drug target) เพื่อลดปัญหาการ ติดยาและผลข้างเคียงของยา การผลิต Biosensor ที่สามารถวัดปริมาณสารต่างๆ ในเลือดในปัสสาวะ หรือในสภาพแวดล้อมได้อย่างฉับไว หรือการผลิต DNA ship ซึ่งจะใช้ร่วมกับข้อมูลชีวสารสนเทศ (Bioinformatics) เพื่อตรวจหายีนที่ผิดปกติซึ่งอาจก่อให้เกิดโรคในอนาคต หรือเพื่อใช้เป็นข้อมูลพันธุกรรมพื้นฐานส่วนบุคคลในการรักษาพยาบาลยามเจ็บป่วย ซึ่งแพทย์จะสามารถสั่งยาที่ตอบสนองต่อร่างกายของผู้ป่วยได้อย่างถูกต้อง และมีประสิทธิภาพ เป็นต้น (ศิริศักดิ์ เทพาคำ. ม.ป.ป. : 1)

2.7 การประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีชีวภาพในอุตสาหกรรม

เนื่องจากนาโนเทคโนโลยี เป็นเทคโนโลยีที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวาง โดยสามารถเข้าไปเพิ่มประสิทธิภาพและคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้เกือบทุกอุตสาหกรรม มีการคาดการณ์ว่า ในปี ค.ศ. 2015 ผลิตภัณฑ์นาโนเทคโนโลยีทั่วโลกจะมีมูลค่าสูงถึง 1 ล้านล้านเหรียญสหรัฐ หรือ 40 ล้านล้านบาท โดยมีผลิตภัณฑ์นาโนเทคโนโลยีชีวภาพประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นมูลค่ากว่า 1.8 แสนล้านเหรียญสหรัฐ โดยผลิตภัณฑ์ของเทคโนโลยีชีวภาพส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ ส่วนที่เหลือเป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร อุตสาหกรรมอาหารและอื่นๆ (ศิริศักดิ์ เทพาคำ. ม.ป.ป. : 8)

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 และใช้ส่งตรวจน้อยลง (เป็นร้อยถึงหมื่นพันเท่าของปัจจุบัน) เพื่อใช้ในการวินิจฉัยโรค และเป็นเครื่องมือวิจัยพื้นฐานสำหรับการหายาใหม่ๆ

2.8.1.3 เครื่องมือตรวจวัดนาโนเซนเซอร์และเครื่องมือแพทย์ขนาดจิ๋ว (Nanosensors and medical devices) เป็นการพัฒนาเซนเซอร์และเครื่องมือแพทย์ขนาดจิ๋วที่สามารถฝังหรือติดไว้ที่ส่วนใดส่วนหนึ่งของร่างกายแล้วสามารถตรวจวัดสารเคมี ชีวโมเลกุล หรือแม้แต่เชื้อโรค รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงอื่นๆ (เช่น ความดัน ความร้อน ความเป็นกรดต่าง) ของอวัยวะ เนื้อเยื่อ หรือเซลล์ เพื่อตรวจจับความผิดปกติของร่างกายได้ตั้งแต่ระยะเริ่มต้น โดยที่นาโนเซนเซอร์ จะประกอบด้วยโครงสร้างสองส่วนที่สำคัญ ตัวรับสัญญาณ (Receptor) และตัวแปลงสัญญาณ (Transducer) สัญญาณที่นาโนเซนเซอร์ตรวจวัดคือ ผลผลิตของยาที่เกิดขึ้นในเซลล์ เช่น กลูโคสออกซิเดส เป็นต้น นาโนเซนเซอร์อาจแบ่งได้เป็นหลายชนิด ได้แก่

นาโนเซนเซอร์เชิงแสง (Optical nanosensor) และนาโนเซนเซอร์เชิงไฟฟ้าเคมี (Electrochemical nanosensor)

2.8.1.4 วิศวกรรมเนื้อเยื่อและชีววัสดุ (Tissue engineering and biomaterials) เป็นการพัฒนาเซลล์เนื้อเยื่อ หรืออวัยวะทั้งจากธรรมชาติและวัสดุสังเคราะห์เพื่อใช้ทดแทนเซลล์เนื้อเยื่อ อวัยวะที่สูญเสียหรือสึกหลอไป

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

2.8.2 นาโนเทคโนโลยีชีวภาพกับการเกษตร อุตสาหกรรมอาหาร และสิ่งแวดล้อม

นาโนเทคโนโลยีชีวภาพทางการแพทย์ที่ประยุกต์ใช้กับมนุษย์ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้กับสัตว์และพืช เพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร เช่น ไบโอสเซนเซอร์ สำหรับตรวจจับเชื้อโรค และวินิจฉัยโรคในสัตว์และพืช รวมทั้งระบบนำส่งยาเฉพาะที่

ในอุตสาหกรรมอาหารผลิตภัณฑ์ประเภทไบโอสเซนเซอร์สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาเชื้อและสารพิษปนเปื้อนในอาหาร ส่วนระบบนำส่งยา สามารถประยุกต์ใช้เป็นระบบนำส่งสารอาหารที่สามารถควบคุมให้ปล่อยสารอาหารในบริเวณ เวลา และจำนวนที่ต้องการ

ในด้านสิ่งแวดล้อม มีการวิจัยเพื่อใช้ไบโอสเซนเซอร์ในการตรวจจับและทำลายพิษของเชื้อโรค (รวมทั้งชีวอาวุธ) และสารพิษที่ปนเปื้อนในน้ำ และสิ่งแวดล้อมอื่นๆ (ศิริศักดิ์ เทพาคำ. ม.ป.ป. : 8-11)

2.9 วัตุนาโนชีวภาพ

ความสัมพันธ์ระหว่างนาโนเทคโนโลยีและชีววิทยาทางเซลล์มีความสำคัญมากต่อการพัฒนาการทางวิทยาศาสตร์ ซึ่งลักษณะงานที่เกี่ยวข้องจะมีอยู่สองแบบใหญ่ ๆ คือ การสร้างอุปกรณ์โดยใช้นาโนเทคโนโลยีและการนำอุปกรณ์เหล่านี้ไปใช้กับสิ่งมีชีวิต นาโนเทคโนโลยีมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงทางเทคโนโลยี และสามารถสร้างเครื่องมือแบบใหม่ให้เหมาะสมกับงานทางชีววิทยาได้ ซึ่งช่วยให้นักวิทยาศาสตร์ทราบทิศทางการที่เกี่ยวข้องกับองค์ประกอบสเกลระดับนาโนของระบบสิ่งมีชีวิตร่วมกับการสร้างวัตถุทางชีวภาพแบบใหม่ ในทางตรงกันข้าม การศึกษากลไกวิทยาศาสตร์ทางเซลล์จะทำให้เกิดแนวทางที่สำคัญต่อการจำลองเครื่องมือในระดับนาโนที่สร้างขึ้นสำหรับสิ่งมีชีวิต กระบวนการของการวิวัฒนาการทำให้ทราบถึงธรรมชาติเพื่อหาคำตอบที่เหมาะสมต่อการแก้ปัญหาทางวิศวกรรมศาสตร์ในระดับสเกลนาโน และ

นักนาโนเทคโนโลยีควรที่จะเห็นประโยชน์ของการแก้ปัญหาเหล่านี้ ทั้งที่เป็นปัญหาโดยตรงที่สอดคล้องกับระบบทางชีวภาพที่มีต่อวัตถุนาโน หรือสอดคล้องกับระบบที่สร้างขึ้นเลียนแบบ เพื่อควบคุมระบบทางชีวภาพที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน (ศรัญญา พรหมโคตร์. 2551 : 119)

2.10 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free radicals) หมายถึง อะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่อิเล็กตรอนในวงรอบนอกสุดขาดคู่ไป (Unpaired electron) จึงทำให้อะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบเหล่านั้นอยู่ในสภาวะที่ไม่เสถียร โดยอิเล็กตรอนที่ขาดคู่เหล่านั้น 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} (Alkoxy radical) เป็นต้น (อรัญญา จุติวิบูลสุข. 2552 : 52) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก (โอภา วัชรคุปต์. 2550 : 1) การเกิดอนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิตนั้นเป็นผลสืบเนื่องมาจากการเผาผลาญเซลล์ของสิ่งมีชีวิตโดยมีการใช้ออกซิเจนในกระบวนการเผาผลาญซึ่งโดยทั่วไปธรรมชาติของร่างกายจะมีกลไกในการควบคุมไม่ให้มีปริมาณอนุมูลอิสระสูงจนก่อให้เกิดอันตรายต่อเซลล์ได้ในสภาวะปกติกลไกเหล่านี้จะทำหน้าที่ลดผลกระทบที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ได้อย่างเพียงพอ โดยการรักษาปริมาณของอนุมูลอิสระในร่างกายให้อยู่ในระดับที่สมดุล (มณฑนา ภาณุมาภรณ์. 2552 : 52)

2.11 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ มาจากคำว่า Antiradical ต่อมาถูกเปลี่ยนเป็น Radical scavenger ซึ่งแปลว่า สารขจัดหรือกำจัดอนุมูล หรือ สารแอนติออกซิแดนท์ (Antioxidant) กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระมีหลายกลไก ได้แก่ ป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ เข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง จับกับโลหะหนัก ป้องกันการเริ่มต้นปฏิกิริยาลูกโซ่ของไลปิดเปอร์ออกซิเดชันและหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อไป ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระในอุดมคติ ควรมีคุณสมบัติดังนี้ คือ มีความเฉพาะเจาะจงสูงในการเข้าจับกับอนุมูลอิสระเพื่อกำจัดให้หมดไป สามารถจับกับโลหะหนักได้ เป็นสารต้านออกซิเดชัน และมีผลต่อการแสดงออกของยีนส์ นอกจากนี้ ความสามารถในการดูดซึมหรือส่งผ่านสารต้านอนุมูลอิสระเข้าสู่เซลล์และเนื้อเยื่อมี

ความสำคัญเช่นกัน ซึ่งเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติการชอบน้ำ (Hydrophilicity) หรือความชอบไขมัน (Lipophilicity) ของสาร เนื่องจากความเข้มข้นของสารมีความสำคัญต่อการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

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

2.12 วิธีศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระหรือแอนติออกซิแดนท์ (Antioxidant) คือ สารที่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระหมดฤทธิ์ไป สารต้านอนุมูลอิสระมีมากมายหลายกลุ่ม มีคุณสมบัติทั้งทางเคมีและกายภาพแตกต่างกันไปแต่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้เหมือนกัน คือ สามารถจับกับอนุมูลอิสระได้ ซึ่งสารอนุมูลอิสระที่มีในร่างกาย มีหลายประเภท เช่น ฤทธิ์การยับยั้งสารอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในอาหารและพืชสมุนไพรได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางและยืนยันได้ว่า สามารถ ลดอุบัติการณ์การเกิดโรคแห่งความเสื่อมต่างๆ ได้อย่างมาก

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

ก. ปฏิกริยาที่มีการถ่ายโอนไฮโดรเจนอะตอม หรือ Hydrogen atom transfer based method เรียกว่า HAT เช่น β -Carotene bleaching method

ข. ปฏิกริยาที่มีการถ่ายโอนอิเล็กตรอน หรือ Electron transfer based method เรียกว่า ET

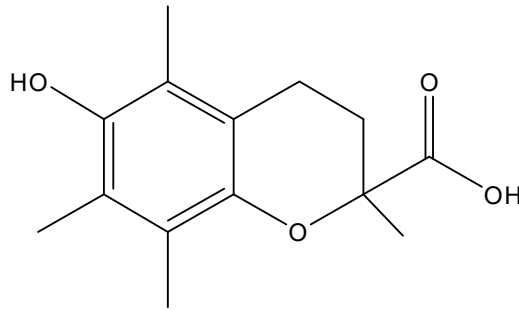
2.12.1 วิธี HAT จะเป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการทำลายฤทธิ์ของอนุมูลอิสระ โดยการให้ไฮโดรเจนแก่ออนุมูลอิสระสำหรับวิธี ET จะเป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการโอนถ่ายอิเล็กตรอนเพื่อทำการรีดิวซ์สารอนุมูลอิสระ รวมทั้งไอออนของโลหะหนักและหมู่ฟังก์ชันที่ต้องการอิเล็กตรอน ปฏิกริยาทั้งสองนี้อาจเกิดขึ้นพร้อมๆ กันได้ ถ้าแบบใดเกิดขึ้นมากกว่า จะถือเป็นตัวแทนของปฏิกริยานั้นอย่างใดก็ตาม ปริมาณของสารผลผลิตของแต่ละปฏิกริยาที่เกิดขึ้น สามารถทำการวิเคราะห์ได้ด้วยวิธีที่เหมาะสม ดังนั้นก่อนจะสรุปลงไปว่าสารต้านอนุมูลอิสระมีความสามารถมากน้อยเพียงใดจะต้องใช้หลายๆ วิธีร่วมกัน เพื่อจะได้อธิบายปฏิกริยาที่เกิดขึ้นเมื่อรับประทานหรือทาสารออกฤทธิ์เหล่านี้ทางผิวหนัง ในความเป็นจริงอาจจะมีกลไกอื่นที่ต่างจากในหลอดทดลองก็ได้ วิธีการศึกษาฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมในการทำวิจัยในปัจจุบัน มีตัวอย่างดังนี้

- 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)

เป็นวิธีวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างที่ต้องการศึกษา โดยในปฏิกริยาประกอบด้วยอนุมูลอิสระสังเคราะห์ สารเรืองแสง ซึ่งสารอนุมูลอิสระจะเข้าทำปฏิกริยากับสารเรืองแสงได้เป็นสารที่ไม่เรืองแสงขึ้น วัดผลจากค่าความเข้มของแสงจางลง ดังนั้นเมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระเข้าไปในปฏิกริยา สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้าทำปฏิกริยากับสารอนุมูลอิสระ ทำให้สารเรืองแสงจางหายไป จึงวัดค่าความเข้มแสงของสารเรืองแสงได้มากขึ้นตามความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระ วิธีนี้ จึงเป็นการศึกษาฤทธิ์แบบทางอ้อม จากการติดตามความเข้มข้นของสารเรืองแสง จากนั้น เปรียบเทียบฤทธิ์ของสารตัวอย่างกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน สารมาตรฐานที่นิยมใช้ได้แก่ 6-Hydroxy-2,5,7,8- tetramethylchroman-2-carboxylic acid (HTCC; Trolox) มีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 2.3 หรืออาจใช้สารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ เช่น Butylated hydroxytoluene (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 $\mu\text{M Trolox equivalent ต่อลิตรหรือต่อกรัม}$ ($\mu\text{M TE/L}; \mu\text{M TE/g}$) ของสารตัวอย่าง



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

ในการศึกษานี้สารเรืองแสงที่ใช้ คือ Fluorescein ซึ่งสารเหล่านี้ได้จะถูกกระตุ้นได้ดีด้วยแสงในช่วงคลื่นหนึ่ง จากนั้นจะเปล่งแสงออกมาในอีกช่วงคลื่นหนึ่ง ตัวอย่างเช่น สาร Fluorescein ถูกคลื่นหรือถูก Excitation ที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร และเปล่งแสง (Emission) ให้ลำแสงที่มีความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร ปกติสารละลาย Fluorescein จะมีสีเขียวอมเหลือง ถ้าถูกออกซิไดซ์ด้วยอนุมูลอิสระ จะกลายเป็นสารที่ไม่มีสี ซึ่งในปฏิริยานี้ สารอนุมูลอิสระที่ได้แก่ อนุมูลอิสระ Peroxyl ซึ่งได้จากปฏิริยาการให้ความร้อนแก่สารตั้งต้น Azo-initiator compound เช่น สาร 2-Azo-bis (2-amidinopropane) dihydrochloride (ABAP) ในปฏิริยา ORAC เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระเข้าไป สารต้านอนุมูลอิสระจะไปจับกับอนุมูลอิสระ Peroxyl ทำให้สารเรืองแสงคงทนไม่ถูกออกซิไดซ์ต่อไป จึงวัดค่าความเข้มแสงได้มากขึ้น ขณะที่ปฏิริยาที่ไม่มีสารต้านอนุมูลอิสระ สารเรืองแสงจะมีความเข้มแสงจางลงตามเวลาและปริมาณของอนุมูลอิสระ Peroxyl จึงสามารถบอกระสิทธิภาพของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่ศึกษาได้โดยการเปรียบเทียบค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการพล็อตความเข้มแสงกับเวลากับค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการทำปฏิริยาด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานที่รู้ความเข้มข้นแน่นอน (เตรียมเป็น Calibration curve)

2.12.3 Total antioxidant scavenging capacity (TOSC)

วิธี TOSC เป็นปฏิริยาที่ดูผลการยับยั้งอนุมูลอิสระเปอร์ออกซิล คล้ายกับวิธี ORAC กล่าวคือ ให้สารต้านอนุมูลอิสระเข้าแย่งจับกับอนุมูลอิสระทำให้ผลผลิตทางปฏิริยาออกซิเดชันมีปริมาณลดลงโดยในปฏิริยานี้ประกอบไปด้วยสารตั้งต้น 2 ชนิด คือ α -Keto- γ -methiolbutyric acid (KMBA) และ อนุมูลอิสระเปอร์ออกซิล ซึ่งเมื่อทำปฏิริยากันจะได้ก๊าซเอทิลีน (Ethylene)

ออกมา เมื่อมีการเติมตัวอย่างที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะเข้าแข่งกับอนุมูลอิสระ ผลคือ ไปยับยั้งการผลิตก๊าซเอทิลีน หรือทำให้ผลิตได้น้อยลงตามปริมาณของอนุมูลอิสระที่เหลืออยู่ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณของก๊าซเอทิลีน ของปฏิกิริยาตัวอย่างที่ศึกษาจะทราบค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ วิธีนี้จะใช้ Gas chromatography เป็นเครื่องมือในการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้น

ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างบอกเป็นค่า TOSE value คำนวณโดยการเทียบกับปฏิกิริยาควบคุม (Control) ที่ไม่มีสารต้านอนุมูลอิสระ คำนวณดังสูตร

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

$\text{AUC}_{\text{sample}}$ = พื้นที่ใต้กราฟของสารตัวอย่าง

$\text{AUC}_{\text{control}}$ = พื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐาน

วิธี TOSC เป็นวิธีที่เหมาะสมในการศึกษา Total oxyradical scavenging capacity ของตัวอย่างจากสิ่งมีชีวิต เช่น เซลล์หรือตัวอย่างเลือดโดยเป็นค่าวิเคราะห์ปริมาณที่นาเชื่อถือ เพราะสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ ROS ชนิด ต่าง ๆ 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)

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

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

2.12.5 ABTS assay

เป็นวิธีที่พัฒนาจากวิธี TEAC assay เป็นการศึกษาค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ที่ได้จากการเตรียมขึ้นใหม่ (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 การศึกษาโดยวิธีนี้ จึงรายงานผลเป็น % Inhibition ไว้เปรียบเทียบกันเองระหว่างตัวอย่างที่ต่างชนิดกัน หรืออาจใช้สารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ ที่มีกลไกการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบเดียวกันเช่น วิตามินซี (Ascorbic acid) หรือ α -Tocopherol เป็นตัวเปรียบเทียบก็ได้

อนุมูลอิสระ ABTS^{•+} 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^{•+} ให้มีค่าการดูดกลืนอยู่ช่วง 0.7 ± 0.02 ที่ 734 นาโนเมตร ซึ่งสามารถเจือจางด้วยเอทานอลสำหรับสารที่ไม่ละลายน้ำ 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 สารมาตรฐานที่ใช้ อาจจะใช้ Trolox หรือสารอื่นก็ได้

2.12.6 Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

เป็นวิธีที่วัดฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระจากการวัดประสิทธิภาพการรีดิวซ์สาร Ferric ion ให้เป็นสาร Ferrous โดยตรง โดยสารตั้งต้นของปฏิกิริยานี้รวมเรียกว่า FRAP reagents ประกอบด้วย 2,3,5-Triphenyl-1,3,4-triazol-2-azoniacyclopenta-1,4-diene chloride (TPTZ) ทำปฏิกิริยาเกิดเป็นสารเชิงซ้อนกับ FeCl₃ ได้เป็น Fe³⁺-TPTZ (เป็นสารที่ไม่มีสี) เมื่อสารเชิงซ้อนนี้ถูกรีดิวซ์ด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ จะได้สารประกอบเชิงซ้อน Fe²⁺-TPTZ (สีน้ำเงิน) เกิดขึ้นซึ่งวัดการเปลี่ยนแปลงนี้ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร การรายงานผลจะบอกเป็นค่า FRAP vale มีหน่วยเป็นมิลลิโมล/ลิตร

ของ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่เตรียมเป็น Calibration curve เพื่อเทียบปริมาณของ Fe^{2+} -TPTZ ที่เกิดขึ้น มีหน่วยเป็น มิลลิโมล/ลิตรต่อหน่วยของตัวอย่าง

2.12.7 DPPH assay

เป็นวิธีการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ง่าย นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการทดสอบฤทธิ์ของอาหารและสมุนไพร สารที่ใช้คือ อนุมูลอิสระ DPPH[•] หรือ อนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็นสารที่อยู่ในรูปของอนุมูลอิสระที่มีความคงตัว ดูดกลืนแสงได้ดีที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร มีสีม่วงอมน้ำเงินเมื่อถูกรีดิวซ์โดยสารต้านอนุมูลอิสระ จะเปลี่ยนจากสีม่วงอมน้ำเงินเป็นสีเหลือง (DPPH[•] เปลี่ยนเป็น DPPH-H) ซึ่งการเปลี่ยนสีจะสัมพันธ์โดยตรงกับจำนวนของอิเล็กตรอนที่ก่อกวนระกักับไฮโดรเจนที่ได้จากสารต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาโดยวิธีนี้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ สามารถคำนวณได้หลายแบบแล้วแต่ผู้ทดลองจะกำหนด ตัวอย่างเช่น การเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน โดยวัดที่ระยะเวลาที่ทำปฏิกิริยาเท่ากัน การรายงานผลจะเป็น % Antioxidant activity (% AA) คำนวณได้ดังสมการ

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

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

2.13 เพลี้ยแป้ง (Mealybug)

2.13.1 ลักษณะทั่วไปของเพลี้ยแป้ง

เพลี้ยแป้ง ชื่อวิทยาศาสตร์ *Pseudococcus* sp. อยู่ในวงศ์ *Pseudococcidae* อันดับ *Homoptera* เป็นแมลงชนิดปากดูด (Piercing-sucking type) เพลี้ยแป้งชนิดที่สำคัญที่พบระบาดทั่วไปในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังของประเทศไทย มี 4 ชนิด ดังนี้คือ

2.13.1.1 เพลี้ยแป้งตัวลาย (Striped mealybug) เพลี้ยแป้งชนิดนี้พบระบาดทั่วไปในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังที่ผ่านมามีระดับความรุนแรงไม่ถึงขั้นเสียหายทางเศรษฐกิจ เนื่องจากมีการควบคุมโดยศัตรูตามธรรมชาติอย่างสมดุลจากตัวห้ำและตัวเบียน ลักษณะเด่นของ

เพลี้ยแป้งชนิดนี้ก็คือ ลำตัวคล้ายลิ้ม ผ่นังลำตัวสีเทาเข้ม มีไขแป้งปกคลุมลำตัว เส้นขนขึ้นหนาแน่น โดยขณะที่ ปกคลุมลำตัวยาวและเป็นเงาลายใยแก้ว มีแถบดำบนลำตัว 2 แถบชัดเจนที่ปลายท้องมีหาง คล้ายเส้นแป้ง 2 เส้นยาวครึ่งหนึ่งของความยาวลำตัว

2.13.1.2 เพลี้ยแป้งสีเขี้ยว (Madeira mealybug) เพลี้ยแป้งชนิดนี้พบวาระบาดเฉพาะบางท้องที่ในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง ลักษณะเด่นของเพลี้ยแป้งชนิดนี้ก็คือ ลำตัวรูปไข่ ผ่นังลำตัวสีเขี้ยวอมเหลือง มีไขแป้ง สีขาวปกคลุมลำตัว ด้านข้างลำตัวมีเส้นแป้งสั้น เส้นแป้งที่ปลายส่วนท้องยาวกว่าเส้นแป้งด้านข้างลำตัว

2.13.1.3 เพลี้ยแป้งสีชมพู (Pink mealybug) เพลี้ยแป้งชนิดนี้พบวาระบาดโดยทั่วไปในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง ในปี พ.ศ. 2551 มีการระบาดของเพลี้ยแป้งชนิดนี้อย่างรุนแรง มีผลเสียหายทางเศรษฐกิจในทุกภาคของพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง ลักษณะเด่นของเพลี้ยแป้งชนิดนี้ก็คือ ลำตัวรูปไข่ ผ่นังลำตัวสีชมพู มีไขแป้งสีขาวปกคลุมลำตัว ด้านข้างลำตัวมีเส้นแป้งสั้นหรืออาจไม่ปรากฏให้เห็น เส้นแป้งที่ปลายส่วนท้องค่อนข้างสั้น

2.13.1.4 เพลี้ยแป้งแจ๊คเบียดเลย์ (Jack-Beardsley mealybug) เพลี้ยแป้งชนิดนี้พบวาระบาดโดยทั่วไปในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง ลักษณะเด่นของเพลี้ยแป้งชนิดนี้ก็คือ ลำตัวรูปไข่ค่อนข้างแบน ผ่นังลำตัวสีเทาอมชมพู มีไขแป้งสีขาวปกคลุมลำตัว ด้านข้างลำตัวมีเส้นแป้งเรียงกันจำนวนมากเส้นแป้งที่ปลายส่วนท้องยาวกว่าเส้นแป้งด้านข้างลำตัว



(ก) เพลี้ยแป้งตัวลาย



(ข) เพลี้ยแป้งสีเขี้ยว



(ค) เพลี้ยแป้งสีชมพู



(ง) เพลี้ยแป้งแจ๊คเบียดเลย์

ภาพที่ 2.4 รูปร่างเพลี้ยแป้งเพศเมียตัวเต็มวัยที่ระบาดในมันสำปะหลัง

(ก) เพลี้ยแป้งตัวลาย (ข) เพลี้ยแป้งสีเขี้ยว (ค) เพลี้ยแป้งสีชมพูและ

(ง) เพลี้ยแป้งแจ๊คเบียดเลย์

ที่มา : โอบาษ บุญเส็ง (2555)

2.13.2 ลักษณะการระบาดและทำลายของเพลี้ยแป้ง

ปริมาณการระบาดของเพลี้ยแป้งจะพบมากในช่วงฤดูแล้งหรือฝนทิ้งเป็นเวลานาน เมื่อพืชฟื้นตัวในช่วงฤดูฝนปริมาณการระบาดของเพลี้ยแป้งก็จะลดลง จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า การระบาดของเพลี้ยแป้งจะพบปริมาณมากในช่วงฤดูแล้ง เนื่องจากเมื่อความต้องการน้ำของพืชถูกจำกัดลง ใบที่สร้างขึ้นในช่วงแล้งพบว่า เป็นใบมีกระบวนการเมตาโบลิซึมสูง ทำให้ใบมีคุณค่าทางอาหารสูงด้วยเหมาะต่อสภาวะการเจริญเติบโตของเพลี้ยแป้ง หรืออาจกล่าวได้ว่าเพลี้ยแป้งชอบดูดน้ำเลี้ยงของใบที่สร้างในช่วงแล้งมากกว่าในช่วงฝนนอกจากนี้แมลงที่เป็นตัวห้ำและตัวเบียนมีปริมาณลดลงในช่วงนี้ด้วย เพลี้ยแป้งสามารถระบาดจากพื้นที่หนึ่งไป ยังพื้นที่อื่นได้โดยการติดไปกับคน ท่อนพันธุ์ กระจาแลม และมดเป็นพาหนะนำตัวเพลี้ย แป้งไปเลี้ยงเพื่อรอดูดกินมูลหวาน ความเสียหายจากการทำลายของเพลี้ยแป้งต่อผลผลิตขึ้นอยู่กับระยะเวลาการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง โดย การระบาดของเพลี้ยแป้งในช่วงระยะแรกของการเจริญเติบโต (1-4 เดือน) จะส่งผลกระทบต่อผลผลิตมากกว่าระยะกลาง (4-8 เดือน) และปลายของการเจริญเติบโต (8-12 เดือน) จากรายงานที่ผ่านมา พบว่า ในประเทศโคลอมเบียผลผลิตลดลง 68-88 เปอร์เซ็นต์ ส่วนประเทศในแอฟริกาผลผลิตลดลงมากถึง 80 เปอร์เซ็นต์



(ก) การติดไปกับท่อนพันธุ์ (ข) กระจาแลม (ค) มดเป็นพาหนะนำตัวเพลี้ยอ่อน

ภาพที่ 2.5 การระบาดของเพลี้ยแป้งจากพื้นที่หนึ่งไปยังพื้นที่อื่นโดย (ก) การติดไปกับท่อนพันธุ์ (ข) กระจาแลมและ (ค) มดเป็นพาหนะนำตัวเพลี้ยอ่อนไปเลี้ยงเพื่อรอดูดกินมูลหวาน
ที่มา : โอภาส บุญเสียง (2555)

ลักษณะการทำลายของเพลี้ยแป้ง คือ การดูดน้ำเลี้ยง โดยใช้ส่วนของปากที่เป็นท่อยาวดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนยอด ใบ ตา และลำต้น บางครั้งอาจพบการดูดน้ำเลี้ยงในส่วนของรากมันสำปะหลัง เพลี้ยแป้งสามารถระบาดและทำลายมันสำปะหลังในทุกระยะการเจริญเติบโต โดยเพลี้ยแป้งจะขับถ่ายมูลที่มีลักษณะของเหลวข้นเหนียวมีรสหวาน ทำให้เกิดราดำปกคลุมปิดบังบางส่วนของใบพืช มีผลทำให้การสังเคราะห์แสงของพืชลดลง ส่วนในปากที่เป็นท่อยาวของเพลี้ยแป้งที่กำลังดูดน้ำเลี้ยง อาจมีฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโตถูกขับออกมาด้วย ทำให้ส่วนลำต้นที่ถูกทำลายด้วยเพลี้ยแป้ง มีข้อถี่มาก มีการแตกใบเป็นพุ่มหนาเป็นกระจุก โดยส่วนของยอด ใบ และลำต้นอาจแห้งตายไปในที่สุดหลังจากถูกเพลี้ยแป้งดูดน้ำเลี้ยง ส่วนของลำต้นที่ถูกเพลี้ยแป้งดูดน้ำเลี้ยง มีผลทำให้ท่อนพันธุ์แห้งเร็ว อายุการเก็บรักษาสั้น โดยให้ ความมอกต่ำและงอกช้ากว่าปกติมาก เพลี้ยแป้งบางชนิดอาจเป็นพาหะของเชื้อไวรัสเข้าสู่พืชก็ได้



(ก) ลำต้น

(ข) ใบ

(ค) ยอด

ภาพที่ 2.6 การทำลายของเพลี้ยแป้งด้วยการดูดน้ำเลี้ยงโดยใช้ส่วนของปากที่เป็นท่อยาวดูดกินน้ำเลี้ยงจาก (ก) ลำต้น (ข) ใบ และ (ค) ยอดของมันสำปะหลัง

ที่มา: โอภาษ บุญเส็ง (2555)

2.14 เพลี้ยกระโดด

2.14.1 ลักษณะทั่วไปของเพลี้ยกระโดด

เพลี้ยกระโดด ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Nilaparvata lugens* (Stal) เป็นแมลงจำพวกปากดูดอยู่ในอันดับ Homoptera วงศ์ Delphacidae ตัวเต็มวัยมีลำตัวสีน้ำตาลถึงสีน้ำตาลปนดำ มีรูปร่าง 2 ลักษณะ คือ ชนิดปีกยาว (Macropterous form) และชนิดปีกสั้น (Brachypterous form) ชนิดมีปีกยาวสามารถเคลื่อนย้ายและอพยพไปในระยะทางไกลและไกล โดยอาศัยกระแสลมช่วย

ตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่เป็นกลุ่ม ส่วนใหญ่วางไข่ที่กาบใบข้าว หรือเส้นกลางใบ โดยวางไข่เป็นกลุ่มเรียงแถวตามแนวตั้งฉากกับกาบใบข้าว บริเวณที่วางไข่จะมีรอยชำเป็นสีน้ำตาล ไข่มีลักษณะรูปกระสวยโค้งคล้ายกล้วยหอม มีสีขาวขุ่น ตัวอ่อนมี 5 ระยะ ระยะตัวอ่อน 16-17 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียชนิดปีกยาวมีขนาด 4-4.5 มิลลิเมตร วางไข่ประมาณ 100 ฟอง เพศผู้มีขนาด 3.5-4 มิลลิเมตร เพศเมียชนิดปีกสั้นวางไข่ประมาณ 300 ฟอง ตัวเต็มวัยมีชีวิตประมาณ 2 สัปดาห์ ในหนึ่งฤดูปลูกข้าวเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถเพิ่มปริมาณได้ 2-3 อายุขัย (Generation)



ตัวเต็มวัยชนิดปีกสั้นและปีกยาว

ตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ภาพที่ 2.7 รูปร่างลักษณะของเพลี้ยกระโดด

ที่มา: สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2555)

2.14.2 ลักษณะการทำลาย

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยทำลายข้าวโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์ท่อน้ำท่ออาหารบริเวณโคนต้นข้าวระดับเหนือผิวน้ำ ทำให้ต้นข้าวมีอาการใบเหลืองแห้ง ลักษณะคล้ายถูกน้ำร้อนลวก แห้งตายเป็นหย่อมๆ เรียก “อาการไหม้ (Hopperburn)” โดยทั่วไปพบอาการไหม้ในระยะข้าวแตกกอถึงระยะออกรวง ซึ่งตรงกับช่วงอายุขัยที่ 2-3 (Generation) ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว นาข้าวที่ขาดน้ำตัวอ่อนจะลงมาอยู่ที่บริเวณโคนกอข้าวหรือบนพื้นดินที่แฉะมีความชื้น นอกจากนี้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ยังเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสโรคใบหงิก (Rice ragged stunt) มาสู่ต้นข้าวทำให้ต้นข้าวมีอาการแคระแกร็น ต้นเตี้ย ใบสีเขียว แคบและสั้น ใบแก่ช้ากว่าปกติ ปลายใบบิด เป็นเกลียว และ ขอบใบแหงน

2.15 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มนุษย์ทุกคนที่อาศัยอยู่ในโลกใบนี้ต้องก้มหน้าก้มตายอมรับสภาพความเป็นจริงที่เป็นอยู่ในขณะนี้ก็คือ เกิดภาวะโลกร้อนจากน้ำมือของมนุษย์ด้วยกันเอง โดยช่วยกันสร้างกิจกรรมที่ปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ มีเทน ไนตรัสออกไซด์ และสารซีเอฟซี ขึ้นสู่ชั้นบรรยากาศ ทำให้เกิดปรากฏการณ์เรือนกระจก เป็นภาวะที่ชั้นบรรยากาศของโลกกระทำตัวเสมือนกระจก ที่ยอมให้รังสีคลื่นสั้นผ่านลงมายังผิวโลกได้แต่จะดูดกลืนรังสีคลื่นยาวช่วงอินฟราเรดที่แผ่ออกจากผิวโลกเอาไว้ จากนั้นจึงคายพลังงานความร้อนให้กระจายอยู่ในชั้นบรรยากาศและพื้นผิวโลก จึงเปรียบเสมือนกระจกที่ปกคลุมผิวโลกให้มีภาวะสมดุลทางอุณหภูมิต่ำและเหมาะสมต่อสิ่งมีชีวิตบนผิวโลก แต่ในปัจจุบันมีก๊าซบางชนิดสะสมอยู่ในชั้นบรรยากาศมากเกินไปจนเกินสมดุล ซึ่งส่วนมากเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ มีคุณสมบัติดูดกลืนรังสีคลื่นยาวช่วงอินฟราเรดและคายพลังงานความร้อนได้ดี พื้นผิวโลกและชั้นบรรยากาศจึงมีอุณหภูมิสูงขึ้น เกิดภาวะโลกร้อนส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศของโลกและสิ่งมีชีวิตพื้นผิวโลกอย่างมากมาย การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่สูงขึ้นหรือลดลง มีผลต่อการอยู่รอดและสภาวะการเจริญพันธุ์ของแมลงศัตรูพืช โดยอุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลทำให้วัชพืชของแมลงลดลง ปัจจัยที่ส่งเสริมให้แมลงศัตรูพืชระบาดได้ตลอดปีก็คือสภาพภูมิอากาศที่ร้อนและชื้นดังจะเห็นได้จาก

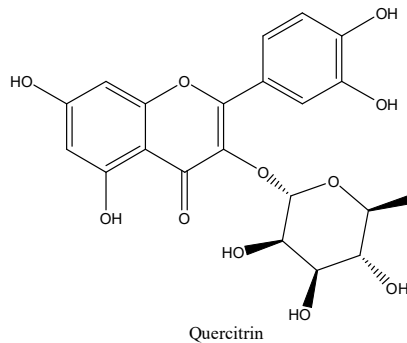
การระบาดของเพลี้ยแป้งสร้างความเสียหายรุนแรงต่อการผลิตมันสำปะหลังของประเทศอย่างที่ไม่เคยปรากฏมาก่อนในอดีต

นักวิจัยของมหาวิทยาลัยแห่งรัฐอิลลินอยส์ พบว่า ในสภาพที่คาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น มีผลทำให้พืชอ่อนแอและไม่สามารถต้านทานแมลงศัตรูพืชได้เหมือนเดิม เมื่อศึกษาการตอบสนองของแมลงศัตรูพืช พบว่า การปลูกพืชในสภาพที่มีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูง พืชจะสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างคาร์โบไฮเดรตได้มากขึ้น แล้วนำคาร์โบไฮเดรตไปสร้างกรดอะมิโนที่จำเป็นร่วมกับธาตุไนโตรเจนที่ได้จากดินมากขึ้นด้วย โดยแมลงศัตรูพืชระยะตัวอ่อนต้องการธาตุไนโตรเจนไปสร้างเนื้อเยื่อใหม่ในร่างกาย เป็นสาเหตุทำให้มีแมลงอพยพเข้ามากัดกินใบพืชมากขึ้น ส่วนแมลงตัวเต็มวัยอยู่รอดและสืบพันธุ์ได้ในสภาพที่มีแหล่งคาร์โบไฮเดรตมาก นอกจากนี้ เมื่อปลูกพืชในสภาพที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงพืชจะสูญเสียความสามารถในการสร้างฮอร์โมนจัสโมนิกแอซิด เนื่องจากฮอร์โมนนี้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสร้างสารป้องกันตัวเองของพืชเพื่อมิให้ถูกรบกวนจากแมลงศัตรูพืช โดยพืชจะสร้างสารที่มีฤทธิ์ไปยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอส เมื่อแมลงกัดกินพืชก็จะได้รับสารนี้เข้าไปจะมีผลไปยับยั้งกระบวนการย่อยใบพืชภายในกระเพาะของแมลง ทำให้แมลงศัตรูพืชกินอาหารได้น้อยลง ดังนั้นเมื่อพืชมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในใบสูง ทำให้พืชมีความสามารถในการสร้างฮอร์โมนจัสโมนิกแอซิดได้น้อยลง มีผลทำให้แมลงศัตรูพืชกินอาหารได้มากขึ้น เป็นสาเหตุให้แมลงศัตรูพืชขยายเผ่าพันธุ์ได้เร็วและดำรงชีวิตได้ดีในสภาพที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่าปกติ ในที่นี้จะได้กล่าวถึงงานวิจัยทางด้านนาโนเทคโนโลยีและ

การนำอนุภาคนาโนมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งด้านการควบคุมโรคพืช

Leonard, Kwati. *et al.* (2011 : 391-396) ได้สังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนด้วยตัวรีดิวส์จากสารสกัดของโสมเกาหลี (Ginseng) เทียบกับ NaBH_4 พบว่าอนุภาคทองคำนาโนที่ได้มีขนาดแตกต่างกัน โดยถ้าใช้ตัวรีดิวส์ที่แรง เช่น NaBH_4 จะได้อนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าการใช้สาร Ginseng นอกจากนี้ยังพบว่าอนุภาคทองคำที่ได้จากการรีดิวส์ด้วย Ginseng มีความเสถียรสูง ค่า Plasmon resonance band ยังปรากฏที่ 535 nm และไม่ตกตะกอน

Kumari, Avnesh. *et al.* (2011 : 224-232) ได้ศึกษาสมบัติของเคอร์ซีทรีน (Quercitrin) ซึ่งเป็นสารที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ โดยการบรรจุลงในแคปซูลระดับนาโน (Nanoencapsulation)



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

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

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

He, Lili. *et al.* (2011) ได้แสดงให้เห็นว่า ZnO nanoparticles ที่มีขนาดอนุภาค 70 ± 15 nm สามารถต้านเชื้อราที่เกิดกับผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยว 2 ชนิด คือ *Botrytis cinerea* และ *Penicillium expansum* ได้ดี และนอกจากนี้ยังพบว่า ZnO nanoparticles มีสมบัติในการออกฤทธิ์เป็นแบบ Concentration dependence (คือความเข้มข้นเพิ่มขึ้นฤทธิ์การต้านเชื้อราเพิ่มขึ้น) อีกด้วย โดยกลไกการออกฤทธิ์ของ ZnO คือสามารถช่วยให้เกิดการสร้างสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่บริเวณผิวหน้าของ ZnO ที่ได้รับแสง จะเกิด Electron hole pairs ($e^- - h^+$) แล้วรูนี้ก็พลอดปล่อยน้ำออกมา จากนั้นโมเลกุลของน้ำจะแตกตัวเป็น OH^- และ H^+ แล้วเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนไอออนต่อไปได้ H_2O_2 จากนั้น H_2O_2 นี้จะเข้าสู่ Cell membrane และทำให้เชื้อราตายในที่สุด

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

สารสกัดจากไม้ต่างๆและมีสมบัติการต้านเชื้อรา ได้แก่ Cinnamaldehyde, α -Cadinol, T-muurold, T-cadinol, γ -Cadinene, Cryptomeridiol, Tropolones, Pinosylvin, Oxyresveratrol, Dihydromorin, Gallic acid, Ferruginol และ อื่นๆ การสลายตัวของ Lignocellulosic materials เนื่องจากการทำลายของเชื้อรานั้นเป็นสิ่งที่ซับซ้อน ทำให้ยังเข้าใจในเรื่องนี้ไม่ชัดเจน แต่ก็มีงานวิจัยที่เสนอไว้ว่า การสลายตัวของเนื้อไม้จากเชื้อรานั้นเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกี่ยวข้องกับโลหะ (Oxidative reactions involving metals) สารสกัดจากพืช สามารถนำมาใช้ในการป้องกันเชื้อราของเนื้อไม้ด้วยกลไกที่สำคัญอย่างน้อย 3 กลไก คือ Fungicide action, Free radical scavenging lantioxidation และ Metal chelation โดยกลไก Antioxidants และ metal chelaters เป็นกลไกที่ได้รับความสนใจ เนื่องจากมีความใหม่ และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

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

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

Cinnamaldehyde และ Eugenol ออกฤทธิ์ต้านเชื้อราได้อย่างดีทั้งต่อ *L. betulina* และ *L. sulphureus* ที่ค่า antifungal index 100% ขณะที่ Catechin และ Quercetin ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราทั้งสองชนิดนี้ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

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

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

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

จากที่กล่าวมาจะเห็นว่า ทั้งอนุภาคนาโนและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติต่างมีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้ คณะผู้วิจัยจึงต้องการที่จะนำสารที่เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมาเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยอาศัยปฏิกิริยาครึ่งสังเคราะห์ (Semi-synthesis) จากนั้นนำ

สารที่ได้ปรีดิษฐ์ไอออนของโลหะเพื่อให้ได้อนุภาคในระดับนาโน แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเพื่อยแบ่งและเพื่อยกระโดดต่อไป

บทที่ 3

สารเคมี อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.1 สารเคมี

N-(1-naphthyl)-ethylenediamine, Serva Fein Bio Chemica GmbH and Co.KG, Germany.

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

Methanol, BDH Laboratory Supplies Pools, England.

Dimethyl sulphoxide, Sigma-Aldrich Laborchemikakien GmbH, Germany.

Potassium chloride, Ajax Finechem, New Zealand.

Chrom azurol S, Aldrich, Germany.

2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, Fluka Chemica, Switzerland.

Pyridine, Merck, Germany.

Silica gel for TLC (Al plate), Merck, Germany.

Silica gel for column, Merck, Germany.

Ferrous chloride tetrahydrate, Fluka, Germany.

Ferric chloride anhydrous, Fluka Chemica, Germany.

Crystal violet, QRëC, New Zealand.

Ethyl alcohol, Carlo Erba, France.

Hydrochloric acid, Carlo Erba, USA.

Citric acid, Ajax Chemicals, Australia.

Acetic acid, Carlo Erba, USA.

Amberlite XAD-4 resin, Sigma Chemical Co., USA.

1,10-Phenanthroline, Merck, Germany.

น้ำกลั่น

Silver nitrate,

Copper (II) chloride dihydrate,

Isoniazid,

Thiosemicarbazide,

Semicarbazide,

Salicylic hydrazide,
 2-Hydroxy-1,4-naphthoquinone,
trans-Cinnamaldehyde,

3.1.2 อุปกรณ์

UV spectrophotometer, Pharmacia Biotech
 Autoclave, Hirayama, Scientific promotion Co.,LTD.
 Lamina air flow, Jafelab
 Hot air oven, Memmert,Scientific promotion Co., LTD.
 Biological Incubator, Hotpack, Philadelphia, USA.
 Boekel Scientific Dricycler, Philadelphia, USA.
 UV lamp, Gamag, Switzerland.
 Hotplate & stirrer, Jenway Ltd., Essex, United Kingdom.
 Volumetric Flask, Herka intercolor, Germany.
 Beaker ขนาด 50, 100, 250, 500 และ 1000 mL, Pyrex, Germany.
 Pipetman, Gilson Medical Electronics, France.
 Spectronic 20 genesis, Spectronic Instruments, USA.
 Ultrasonic Cleaner, ETL Testing Laboratories Inc., NJ. USA.
 Microscope, Nikon, Japan.
 Test tube screw cap, Pyrex, Germany.
 Plate for bacterium growth, Pyrex, Germany.
 Graduated Cylinder, Pyrex, Germany.
 Micro Test Tubes with caps, Pyrex, Germany.
 Microhaematocrit tubes, Herlev, Denmark.
 Magnet Retriever, PTFE Labware.
 Erlenmeyer flask 2000 and 3000 ml, Pyrex, Germany.

3.2 วิธีการทดลอง

ในการทดลองครั้งนี้มีวิธีการทดลองดังนี้

3.2.1 วิธีการสังเคราะห์ตัวรีดิคซ์

3.2.1.1 ชั่ง Cinnamaldehyde และ 2-Hydroxy-1,4-naphthoquinone (1 mol) ใส่ลงในขวดก้นกลมละลายด้วย Methanolic solvent

3.2.1.2 เติมตัวเข้าทำปฏิกิริยา เช่น Salicylic hydrazide (1 mol) ลงในขวดก้นกลมที่มี นำไปสเตอร์พร้อมให้ความร้อน (40 °C) เพื่อให้สารทั้ง 2 ชนิดละลายเข้าทำปฏิกิริยากัน

3.2.1.3 ทดสอบความสมบูรณ์ของการเกิดปฏิกิริยาโดยแผ่น TLC โดยดีเวลลอป (develop) ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม สังเกตผลภายใต้แสง UV

3.2.1.4 ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ในเวลา 2 วัน

3.2.1.5 ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

3.2.2 วิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโน

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนด้วยวิธีที่คล้ายคลึงกันคือ

นำสาร Schiff base ligands มาทำปฏิกิริยากอนจูเกตชันกับ Ag^+ ในเมทานอล (Methanolic solvent) ด้วยอัตราส่วนโดยโมล 1:1 ปรับความเป็นกรด-เบสของสารละลายให้ได้ pH ~6 กวนสารละลายอย่างต่อเนื่อง ณ อุณหภูมิ 40-60 °C ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ในเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง

3.3 การศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารตัวอย่าง (Physicochemical properties)

3.3.1 การวัดสมบัติการละลายในตัวทำละลายต่างๆ เช่น เมทานอล เอทานอล ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ ไดเมทิลฟอร์มาไมด์

3.3.2 การสังเกตลักษณะผลึก สี และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของผลผลิต (% yield)

3.3.3 วิเคราะห์ธาตุองค์ประกอบ (Elemental analysis)

3.4 การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง SEM

3.4.1 ตัดตัวอย่างบนแท่นวางตัวอย่าง (stub) ด้วยเทปกาวสองหน้า

3.4.2 นำตัวอย่างไปฉาบทองด้วยเครื่อง Ion sputter (ยี่ห้อ Balzers, model SCD 040)

3.4.3 นำไปส่องดูด้วย SEM (ยี่ห้อ JEOL, model JSM-6400)

3.5 การทดสอบฤทธิ์การต้านเพ็ลีสแป็งและเพ็ลีสกระโดด

นำสารตัวอย่างมาเตรียมความเข้มข้นต่างๆ เช่น 100, 80, 60, 40 และ 20 ppm ตามลำดับ แล้วนำไปพ่นใส่เพ็ลีสที่เก็บไว้ในกล่อง ซึ่งป้องกันการแพร่กระจายของเพ็ลีสไปยังท้องถิ่นอื่นๆ

3.6 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อราก่อโรคพืช

การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อราของสารตัวอย่าง โดยนำสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด เตรียมความเข้มข้นระหว่าง 0.010, 0.008 และ 0.006 โมลาร์ เพื่อนำไปทดสอบการต้านเชื้อราโดยเทคนิค Paper disc diffusion method กับเชื้อรา 3 ชนิด คือ *A. niger*, *C. circinans* และ *S. sclerotiorum* เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง วัด Clear zone

3.7 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง

3.7.1 การเตรียมสารละลายเพื่อทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay

3.7.1.1 เตรียมสารละลายตัวอย่าง โดยการชั่งสาร 0.0050 g ใส่ขวดวัดปริมาตร 50 ml ละลายด้วย Methyl alcohol จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 50 ml

3.7.1.2 เตรียมขวดวัดปริมาตร 10 ml จำนวน 7 ขวด เตรียมเป็นความเข้มข้น 100 ppm, 80 ppm, 60 ppm, 40 ppm, 20 ppm, 10 ppm, 5 ppm ตามลำดับ และเตรียมขวดสีชา จำนวน 22 ใบ

- ขวดสีชา 21 ขวด จะมีสารที่ใช้ทำการศึกษา ส่วนอีก 1 ใบ เป็นขวด control ซึ่งจะมี methyl alcohol (MeOH) 1 ml และ DPPH 2 ml

- ในแต่ละความเข้มข้นจะต้องมีขวดสีชา 3 ใบ เช่น ถ้าความเข้มข้น 5 ml จะต้อง มีขวด 3 ขวด ยกเว้นขวด control มีเพียงขวดเดียว

3.7.1.3 นำขวดสีชา ทั้ง 22 ใบ ไปอบไว้ที่อุณหภูมิ 100 °C รอให้ขวดเย็น

3.7.1.4 บีบเปิดสารละลายตัวอย่างใส่ขวดวัดปริมาตร 10 ml ทั้งหมด 7 ขวด ความเข้มข้นตามลำดับ (ถ้าความเข้มข้น 80 ppm ให้บีบเปิด 8 ml แล้วเติม methyl alcohol (MeOH) อีก 2 ml เพื่อปรับปริมาตรเป็น 10 ml)

3.7.1.5 ชั่ง DPPH 0.0040 g ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร 50 ml ละลายด้วย methey alcohol จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 50 ml

3.7.2 วิธีการวิเคราะห์ความสามารถการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay

3.7.2.1 บีเปิด 1 ml ของสารละลายตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้น ใส่ในขวด 3 ใบ เพื่อทำการทดสอบ 3 ครั้ง

3.7.2.2 บีเปิด Methanolic DPPH radical 2 ml ใส่ขวดสีชาในแต่ละความเข้มข้น

3.7.2.3 เขย่าให้สารเข้าด้วยกัน นำขวดทั้ง 22 ใบ ไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 37 °C เวลา 30 นาที

3.7.2.4 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 517 nm ปรับค่าการดูดกลืนแสงเป็น 0.000 โดยวัดจากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูง

3.7.2.5 คำนวณหาค่า % radical scavenging

3.7.3 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP)

การเตรียมสารละลายเพื่อทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP) ทำได้ดังนี้

3.7.3.1 Acetate buffer (300 ml, pH 3.6) โดยชั่ง 3.1 g ของ Sodium acetate, Glacial acetate acid 16 ml ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตรเป็น 1 L ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

3.7.3.2 Dilute HCl เป็น 40 mM โดยบีเปิด 1.46 ml ของน้ำกลั่นผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

3.7.3.3 Ferric chloride มา 0.051 g ละลายโดยน้ำกลั่น 10 ml

3.7.3.4 TPTZ (2, 4, 6 – tri [2 – pyridyl] – s – triazine) 10 ml, 0.031 g ละลายใน HCl 40 mM จากนั้นละลายใน Water bath ที่อุณหภูมิ 50 °C (เตรียมใหม่ทุกครั้งเวลาใช้)

3.7.3.5 การเตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยการนำสารละลาย Acetate buffer, Ferric chloride และ TPTZ ในปริมาตร 100 ml, 10 ml , 10 ml ตามลำดับ ผสมให้เข้ากัน ใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C

3.7.4 วิธีการวิเคราะห์ความสามารถการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP)

3.7.4.1 บีเปิดสารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นต่างๆ และสารละลายมาตรฐาน ปริมาตร 150 μ l ใส่ในขวดสีชาที่เตรียมไว้ในแต่ละความเข้มข้น แล้วเตรียมสารละลาย FRAP ปริมาตร 3 ml เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เวลา 6 นาที

3.7.4.2 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm

3.7.4.3 นำค่าที่ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างจากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น Iron(II)sulfate solution กับค่าการดูดกลืนแสง

3.7.5 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลาย Ferrous sulfate

เตรียมสารละลาย Ferrous sulfate ที่ความเข้มข้น 1 mM โดยชั่ง $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0279 g ละลายด้วยน้ำกลั่น 10 ml จากนั้นทำการเจือจางสารละลาย (Dilution) เป็นความเข้มข้นต่างๆ ตามลำดับ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงการเจือจางสารละลายในการทำกราฟมาตรฐาน

Standard concentration (μM)	Ferrous sulphate (ml)	Distilled water (ml)
100	1	9
200	2	8
400	4	6
600	6	4
800	8	2
1000	10	0

นำสารละลาย Ferrous (II) sulphate ในแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานเทียบความเข้มข้น

3.8 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Vero cells)

ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Vero cells) โดยเติม Vero cells $45 \mu\text{l}$ (3.3×10^4 cells/ml) ลงในแต่ละหลุมของ 384-well plates ที่มีสารตัวอย่างอยู่ $5 \mu\text{l}$ เจือจางด้วย DMSO 0.5 % แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37°C มี CO_2 5 % เป็นเวลา 4 วันแล้ววัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ (excitation ที่ 485 nm และ emission ที่ 535 nm) สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับค่าการตอบสนองของเซลล์เพื่อหา IC_{50}

3.9 การถ่ายทอดผลการทดลองสู่ชุมชน

เมื่อทราบผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการแล้ว ทีมวิจัยได้คัดเลือกแบบเจาะจงเฉพาะอนุภาคที่มีประสิทธิภาพสูงไปทดสอบในแปลงร่วมกับเกษตรกร พร้อมกับดำเนินการถ่ายทอดให้กับเกษตรกรในจำนวนที่เพิ่มมากขึ้น โดยการบรรยายและสาธิตวิธีการเตรียมสารและใช้ประโยชน์สารตัวอย่างที่บ้านหนองซอแซ ตำบลหนองกะทิง อำเภอลำปลายมาศ จังหวัดบุรีรัมย์และบ้านคลองหลวงพัฒนา ตำบลโคกมะม่วง อำเภอปะคำ จังหวัดบุรีรัมย์

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 บทนำ

ในบทนี้คณะผู้วิจัยได้เก็บรวบรวมข้อมูลที่สำคัญในด้านต่างๆ จากการทดลองดังนี้

- 4.1.1 ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์
- 4.1.2 ผลการทดสอบความสามารถในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย
- 4.1.3 ผลการทดสอบความสามารถในการฆ่าเชื้อไวรัส
- 4.1.4 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อรา
- 4.1.5 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH
- 4.1.6 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

4.2 สมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารที่ได้จากการสังเคราะห์

สมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ที่สำคัญของสารประกอบ 2-Hydroxy-1,4-naphthoquinone -Sal (L1) และ 2-Hydroxy-1,4-naphthoquinone -INH (L2) เมื่อนำลิแกนด์เหล่านี้ไปคอนจูเกตกับเกลือของทองแดงและเงินจะได้สารใหม่เกิดขึ้นซึ่งได้แก่ สาร C1, C2, C3 และ C4 สารประกอบที่สังเคราะห์ได้จะมีสี สูตรโมเลกุล จุดหลอมเหลว เปอร์เซ็นต์ของธาตุองค์ประกอบ และเปอร์เซ็นต์ของผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกัน ซึ่งมีรายละเอียดดังในตารางที่ 4.1, 4.2 และ 4.3 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 สมบัติทางกายภาพของสารที่สังเคราะห์ได้

Trivial name	code	สูตรโมเลกุล	จุดหลอมเหลว (°C)	สีของสารตัวอย่าง
1. NTN-Sal	L1	$C_{17}H_{14}N_2O_5$	136	สีส้มแกรมน้ำตาล
2. NTN-INH	L2	$C_{16}H_{13}N_3O_4$	209	สีน้ำตาล
3. NTN-Sal-Ag	C1	$[C_{17}H_{14}N_2O_5AgNO_3(H_2O)]$	175	สีส้มแกรมน้ำตาล
4. NTN-Sal-Cu	C2	$[C_{17}H_{14}N_2O_5CuCl_2(H_2O)]$	195.4	สีดำ
5. NTN-INH-Ag	C3	$[C_{16}H_{13}N_3O_4AgNO_3(H_2O)]$	153.3	สีดำ
6. NTN-INH-Cu	C4	$[C_{16}H_{13}N_3O_4CuCl_2(H_2O)]$	155.9	สีดำ

จากตารางที่ 4.1 พบว่า สามารถสังเคราะห์สารที่เป็นลิแกนด์ทั้งหมดได้โดยนำ 2-Hydroxy-1,4-naphthoquinone (Lawsone) ซึ่งเป็นสารกลุ่มไดคีโตน มาควมแน่นกับเอมีน ได้แก่ Salicylic hydrazide และ Isoniazid (Isonicotinyl hydrazine, INH) ได้สารอินทรีย์หรือลิแกนด์ (Ligand; Schiff base) 2 ชนิด ซึ่งกำหนดให้เป็น L1 (NTN-Sal) และ L2 (NTN-INH) ซึ่งสาร L1 มีจุดหลอมเหลวที่ 136 °C เป็นผลึกสีส้มแกรมน้ำตาล สาร L2 มีจุดหลอมเหลวที่ 209 °C เป็นผลึกสีน้ำตาล จากนั้นได้นำสารที่เป็นนาโนอินทรีย์หรือลิแกนด์ทั้ง 2 ชนิด ไปคอนจูเกตกับเกลือของโลหะ คือ ซิลเวอร์ไนเตรต และคอปเปอร์คลอไรด์ ได้สารโลหะอินทรีย์ 4 ชนิด กำหนดเป็นรหัสอย่างง่าย ดังนี้ คือ สาร C1, C2, C3 และ C4 โดยสาร C1 เป็นผงสีส้มแกรมน้ำตาล จุดหลอมเหลวที่ 175 °C สาร C2 เป็นผงสีดำ มีจุดหลอมเหลวที่ 195.4 °C สาร C3 เป็นผงสีดำ มีจุดหลอมเหลวที่ 153.3 °C สาร C4 เป็นผงสีดำ มีจุดหลอมเหลวที่ 155.9 °C โดยสารทั้ง 6 ชนิด มีลักษณะ การละลายและค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ลักษณะการละลายและการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

สาร ตัวอย่าง	สถานะ	การละลาย					λ_{\max} (nm)
		DMSO	DMF	Methanol	Ethanol	H ₂ O	
L1	ของแข็ง	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	379
L2	ของแข็ง	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	480
C1	ของแข็ง	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	444
C2	ของแข็ง	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	444
C3	ของแข็ง	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	390
C4	ของแข็ง	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	ละลาย	418

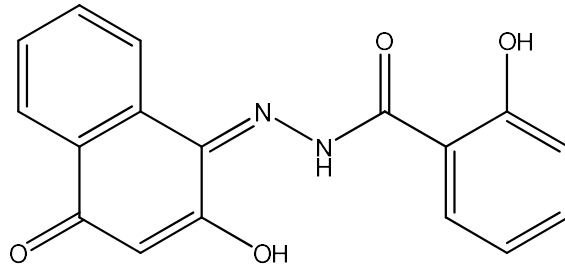
จากตารางที่ 4.2 พบว่า เมื่อนำสารไปทดสอบสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์หาสถานะของสาร พบว่า สาร L1, L2, C1, C2, C3 และ C4 มีลักษณะเป็นของแข็ง และสมบัติการละลายในตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วที่แตกต่างกัน คือ DMSO, DMF, Methanol, Ethanol และ H₂O พบว่า สารทั้ง 6 ชนิด สามารถละลายได้ในตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด สำหรับค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุด (λ_{\max}) ของสารแต่ละชนิด พบว่า สาร L1 มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ 379 nm สาร L2 มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ 480 nm สาร C1 มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ 444 nm สาร C2 มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ 444 nm สาร C3 มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ 390 nm สาร C4 มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ 418 nm เมื่อนำค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดของสารทั้ง 6 ชนิดมาเปรียบเทียบกันพบว่าสารที่มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดคือ สาร L2

มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ 480 nm โดยสารทั้งหมดมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดแตกต่างจากสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน DPPH (λ_{\max} 520 nm)

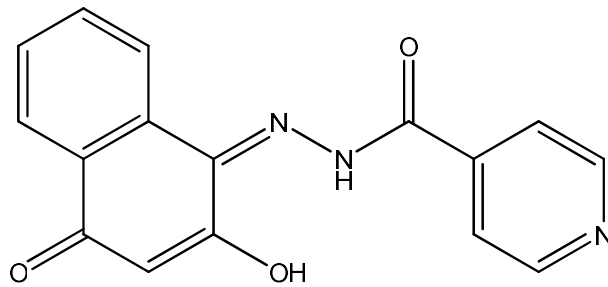
ตารางที่ 4.3 มวลโมเลกุล และ Elemental analysis ของสารที่ได้จากการสังเคราะห์

รหัส	% yield	Elemental analysis							
		C		H		N		O	
		Calc.	Found	Calc.	Found	Calc.	Found	Calc.	Found
L1	92.4	62.5	62.8	4.2	4.5	8.5	8.6	24.5	24.4
L2	75.7	61.7	60.9	4.1	4.2	13.5	13.7	20.5	20.2
C1	89.7	41.1	41.5	28.2	28.4	5.6	5.4	16.1	16.4
C2	76.9	41.0	41.3	2.8	2.7	5.6	5.7	16.1	16.5
C3	75.3	39.9	40.0	2.7	2.8	8.7	8.6	13.3	13.2
C4	69.4	39.8	39.7	2.7	2.6	8.7	8.8	13.2	13.4

จากตารางที่ 4.3 พบว่า สารตัวอย่างที่ได้จากการสังเคราะห์ทั้งหมดมีเปอร์เซ็นต์สูงกว่า 50 % ขึ้นไป โดยสารที่มีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูงกว่าสามอันดับแรกคือ สาร L1, C1 และ C2



Lawsone salicylic hydrazone (L1)

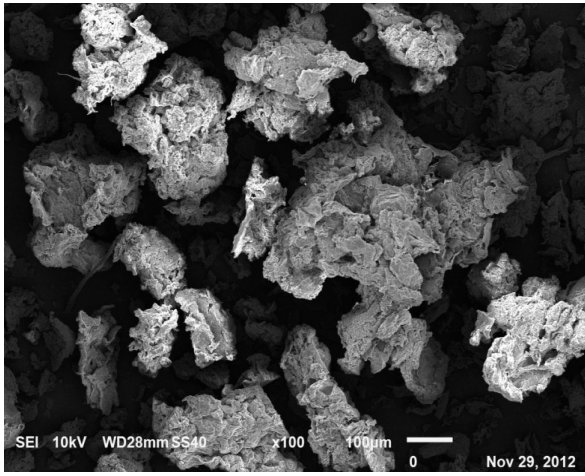


Lawsone isonicotinyl hydrazone (L2)

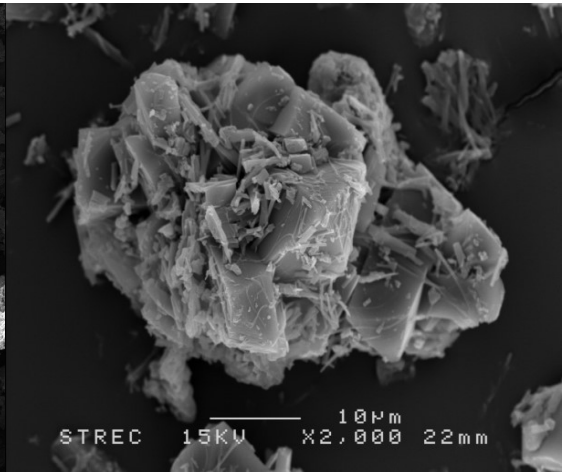
ลิแกนด์ที่ได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

4.3 ผลการศึกษาอนุภาคและมอร์โฟโลยี

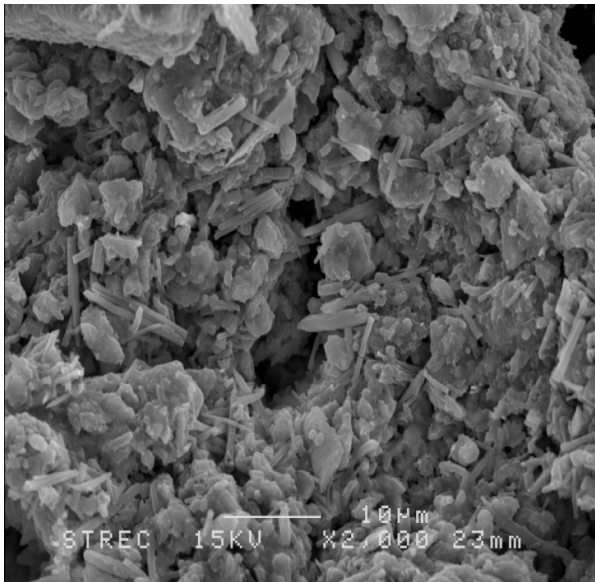
เมื่อนำสารที่ได้ไปวัดขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง Laser Scattering Size Distribution Analyzer พบว่า L1 (NTN-Sal) มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 158.94 nm และ C4 มีขนาด 226.79 nm และภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning electron microscope, SEM) เป็นดังนี้



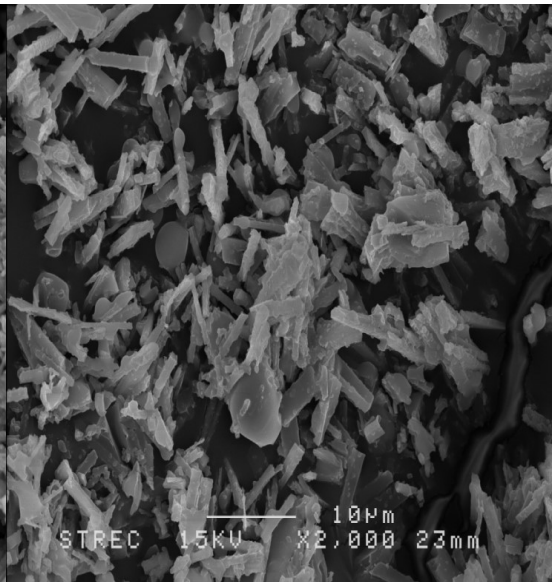
L1



L2

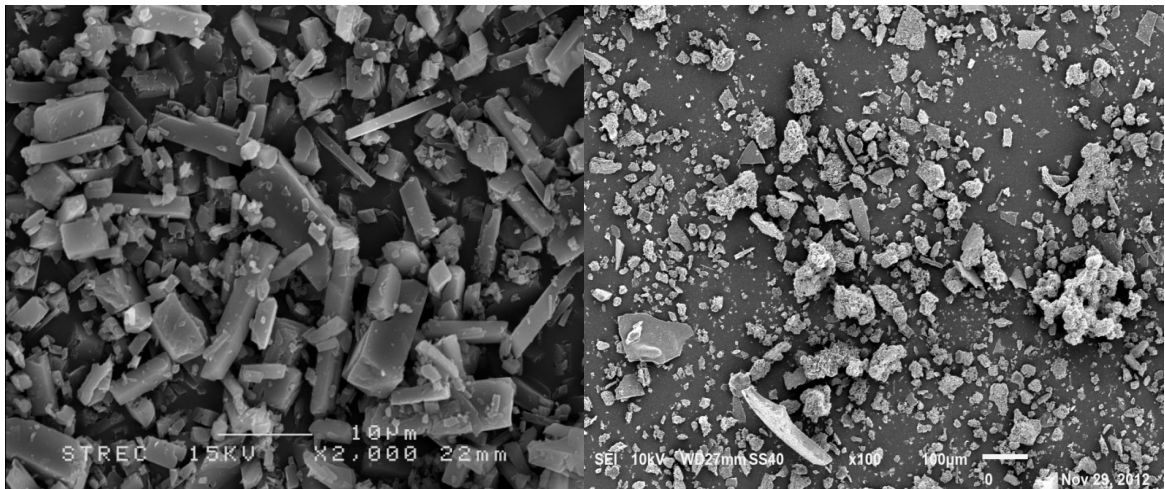


C1



C2

ภาพที่ 4.1 ผลการถ่ายภาพอนุภาคด้วย SEM



C3

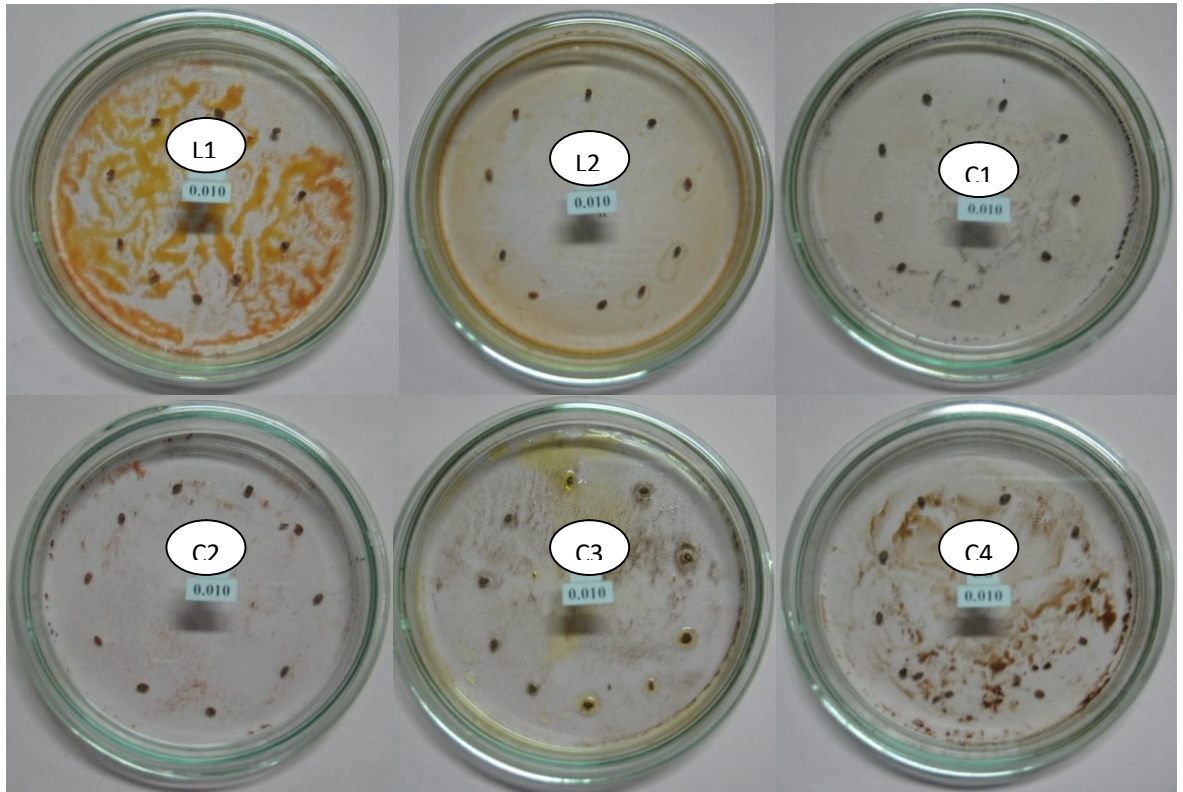
C4

ภาพที่ 4.1 ผลการถ่ายภาพอนุภาคด้วย SEM (ต่อ)

อนุภาคนาโนของสารที่สังเคราะห์ได้ทั้งหมดมีรูปร่างแบบแท่ง (rod-like structure) และมีลักษณะมอร์โฟโลยีที่แตกต่างกัน

4.4 ผลการทดสอบความสามารถในการฆ่าเชื้อแบงของสารตัวอย่าง

การทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อแบงของสารตัวอย่าง โดยนำสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด คือ สาร L1, L2, C1, C2, C3 และ C4 มาทำการทดสอบฤทธิ์การกำจัดเชื้อแบง โดยการเตรียมสารตัวอย่างแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้นระหว่าง 0.010, 0.008 และ 0.006 โมลาร์ ใช้เมทานอลเป็นตัวควบคุมเชิงลบ (Negative control) แล้วนำสารที่เตรียมไว้ไปฉีดพ่นลงในจานที่มีเชื้อแบงอยู่ สังเกตและบันทึกผล จับเวลาตั้งแต่เริ่มฉีดสารตัวอย่างลงบนเชื้อแบงจนเชื้อแบงตาย ปรากฏผลการทดลองดังตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 การต้านเพลิงแรงแงของสารตัวอย่างที่ได้จากการสังเคราะห์

จากภาพที่ 4.2 ฤทธิ์การต้านเพลิงแรงแงของสารตัวอย่าง พบว่า เมื่อนำเพลิงแรงแงใส่ลงใน Plate ทั้งหมด 18 Plate ซึ่งแต่ละ Plate มีจำนวนเพลิงแรงแงผลดละ 10 ตัว แล้วนำสารตัวอย่างแต่ละชนิด แต่ละความเข้มข้นฉีดพ่นลงใน Plate ที่มีเพลิงแรงแงอยู่ เมื่อเวลาผ่านไปจะพบว่า แปะงที่เคลือบตัวเพลิงแรงแงจะเริ่มหลุดออก แล้วสารตัวอย่างจะเริ่มซึมเข้าไปในตัวของเพลิงแรงแงอย่างช้าๆ จากนั้นเพลิงแรงแงจะหดตัวเข้าแล้วเริ่มตายลงในเวลาต่อมา

ตารางที่ 4.4 ความสามารถการต้านเพลิงไหม้ของสารตัวอย่าง

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้น (โมลาร์)	ระยะเวลาในการฆ่าเพลิงไหม้ (นาที)					
		5	10	15	20	25	30
L1	Control	-	-	-	-	-	-
	0.010		+	++	+++		
	0.008				+	++	+++
	0.006					+	++
L2	Control	-	-	-	-	-	-
	0.010			+	+++		
	0.008				+	++	+++
	0.006					+	++
C1	Control	-	-	-	-	-	-
	0.010			+	++	+++	
	0.008				+	++	+++
	0.006					+	++
C2	Control	-	-	-	-	-	-
	0.010	+	++	+++			
	0.008		++	+++			
	0.006			+	++	+++	
C3	Control	-	-	-	-	-	-
	0.010			+	++	+++	
	0.008					++	+++
	0.006					++	+++
C4	Control	-	-	-	-	-	-
	0.010	++	+++				
	0.008		++	+++			
	0.006			+	+++		

หมายเหตุ: + คือระยะเวลาที่ใช้ในการฆ่าเพลิงไหม้

++ คือระยะเวลาที่ฆ่าเพลิงไหม้ 50 %

+++ คือระยะเวลาที่ฆ่าเพลิงไหม้ 100 %

จากตารางที่ 4.4 แสดงความสามารถการฆ่าเพลี้ยแป้งของสารตัวอย่างเมื่อพิจารณาการฆ่าเพลี้ยแป้งของสารทั้ง 6 ชนิด คือ สาร L1, L2, C1, C2, C3 และ C4 พบว่า สารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด สามารถกำจัดเพลี้ยแป้งได้ทั้งหมดในเวลา 30 นาที เมื่อพิจารณาความเข้มข้นกับระยะเวลาในการออกฤทธิ์ต่อเพลี้ยแป้ง พบว่า สารที่มีความเข้มข้นมากจะใช้เวลาในการกำจัดเพลี้ยแป้งอย่างรวดเร็ว ส่วนสารที่มีความเข้มข้นน้อยจะทำให้ใช้เวลานานในการออกฤทธิ์ต่อเพลี้ยแป้ง และสารแต่ละชนิดจะออกฤทธิ์ต้านเพลี้ยแป้งได้ในเวลาที่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดเพลี้ยแป้ง พบว่า สารตัวอย่าง C4 สามารถต้านเพลี้ยแป้งได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 0.010 โมลาร์ สามารถกำจัดเพลี้ยแป้งได้ 100 % ในเวลา 10 นาที

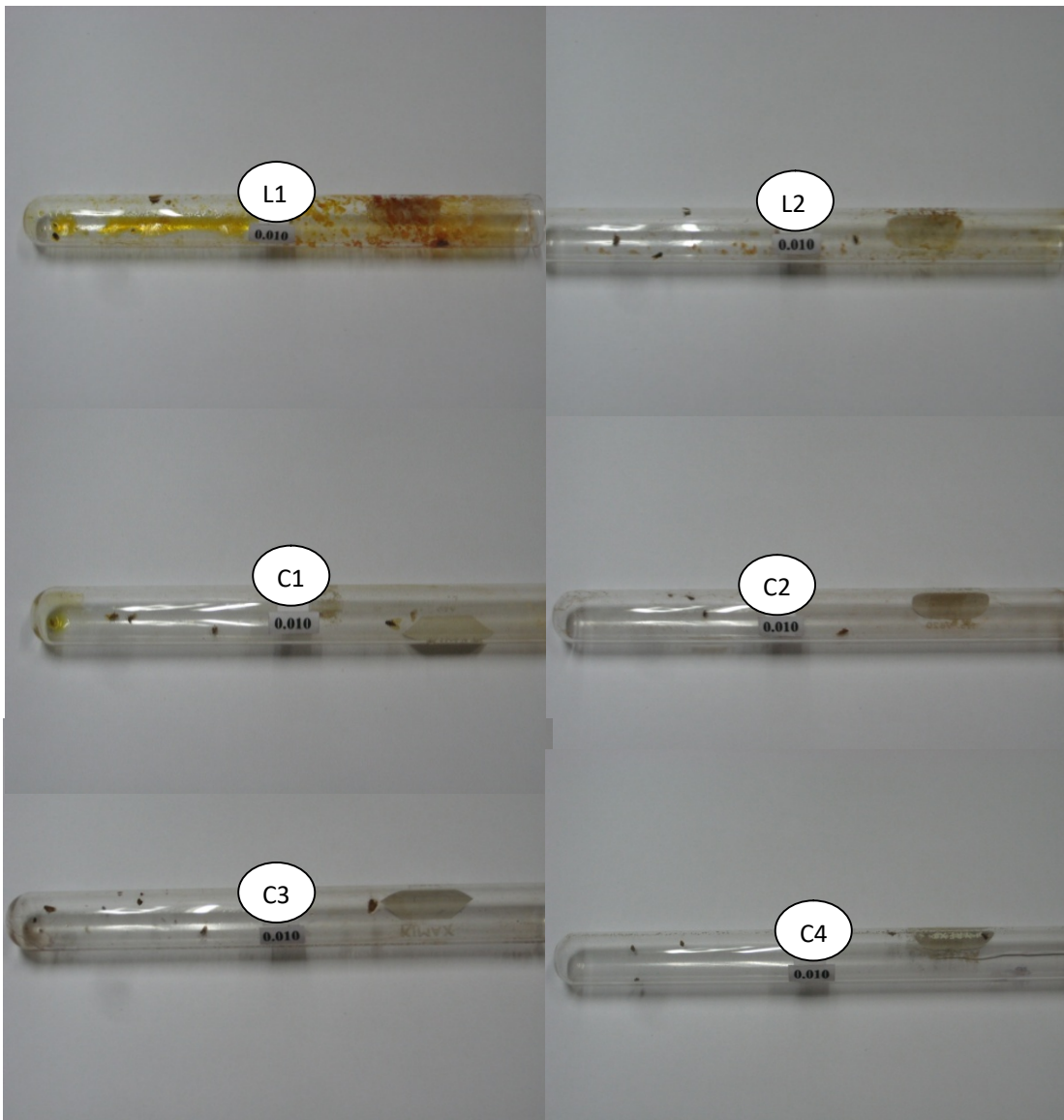
4.5 ผลการทดสอบความสามารถในการฆ่าเพลี้ยกระโดดของสารตัวอย่าง

การทดสอบความสามารถการฆ่าเพลี้ยกระโดดของสารตัวอย่าง โดยนำสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด คือ สาร L1, L2, C1, C2, C3 และ C4 มาทำการทดสอบฤทธิ์การฆ่าเพลี้ยกระโดด โดยการเตรียมสารตัวอย่างแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้นดังนี้คือ 0.010, 0.008 และ 0.006 โมลาร์ตามลำดับ โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย แล้วนำสารที่เตรียมไว้ไปฉีดพ่นลงใน หลอดทดลองที่มีตัวเพลี้ยกระโดดอยู่ สังเกตและบันทึกผล จับเวลาตั้งแต่เริ่มฉีดสารตัวอย่างลงบนตัวเพลี้ยแป้งจนเพลี้ยแป้งตาย ปรากฏผลการทดลองดังตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 ลักษณะการทำลายต้นข้าวและนาข้าวของเพลี้ยกระโดด

จากภาพที่ 4.3 แสดงลักษณะการทำลายต้นข้าวและนาข้าวของเพลี้ยกระโดด ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยทำลายข้าวโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากท่อน้ำท่ออาหารบริเวณโคนต้นข้าวในระยะแรกจะทำให้ต้นข้าวมีอาการใบเหลืองแห้งลักษณะคล้ายถูกน้ำร้อนลวกและแห้งตายส่งผลกระทบต่อเกษตรกรผู้ปลูกข้าวในหลายอำเภอของจังหวัดบุรีรัมย์ จากปัญหาดังกล่าวคณะผู้วิจัยจึงได้หาแนวทางในการแก้ปัญหาโดยได้นำสารตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้ทั้ง 6 ชนิดมาทดสอบการฆ่าเพลี้ยกระโดดซึ่งผลการทดลองปรากฏดังตารางที่ 4.5



ภาพที่ 4.4 ความสามารถการฆ่าเพลี้ยกระโดดของสารตัวอย่าง

จากภาพที่ 4.4 แสดงการต้านเพ็ลี่ยกระโดดของสารตัวอย่างจะพบว่าเมื่อจับเพ็ลี่ยกระโดดใส่ในหลอดทดลองทั้งหมดจำนวน 18 หลอด ซึ่งแต่ละอันจะมีจำนวนเพ็ลี่ยกระโดด 5 ตัว แล้วนำสารตัวอย่างแต่ละชนิดที่เตรียมไว้แต่ละความเข้มข้นฉีดพ่นลงในหลอดทดลองที่มีเพ็ลี่ยกระโดดอยู่เมื่อระยะเวลาผ่านไป พบว่า สารตัวอย่างจะเริ่มซึมเข้าสู่ตัวของเพ็ลี่ยกระโดดและจะทำให้เพ็ลี่ยกระโดดหยุดการเคลื่อนไหวและเพ็ลี่ยกระโดดจะเริ่มตายลงในเวลาต่อมา

ตารางที่ 4.5 ความสามารถการฆ่าเพ็ลี่ยกระโดดของสารตัวอย่าง

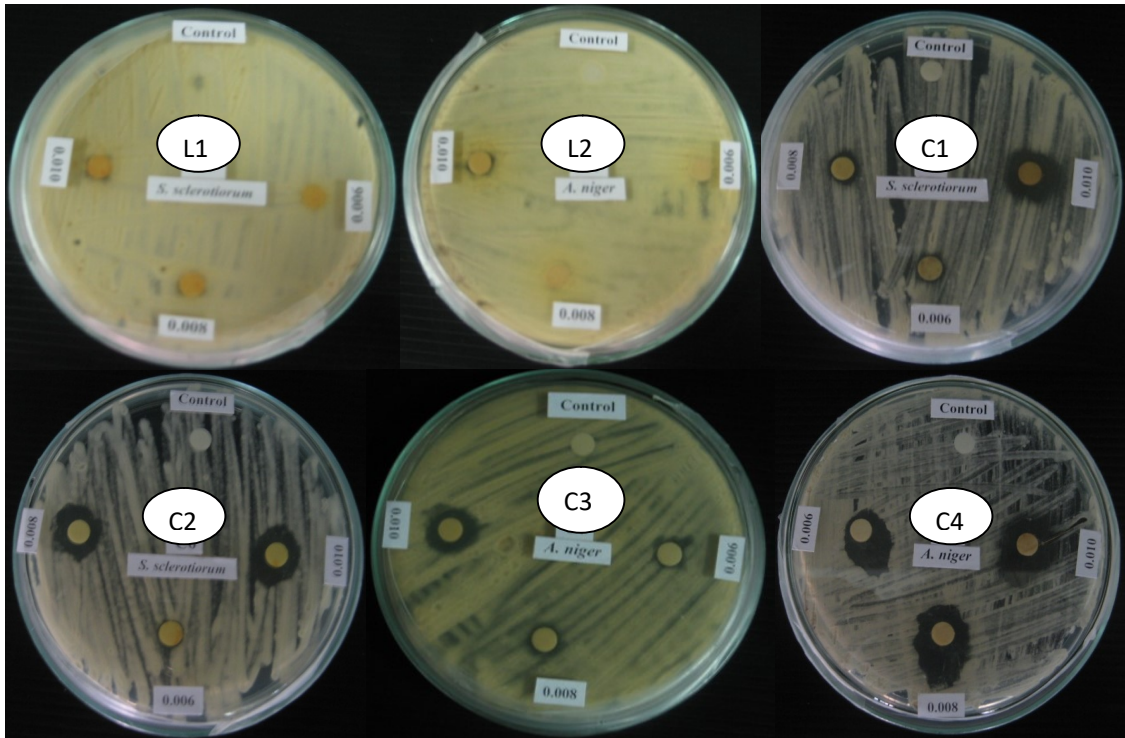
สารตัวอย่าง	ความเข้มข้น (Molar)	ระยะเวลาในการฆ่าเพ็ลี่ยกระโดด (นาที)										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
L1	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.006			+			++			+++		
	0.008			+		++			+++			
	0.010		+			++		+++				
L2	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0.006						+		++		+++	
	0.008					+		++		+++		
	0.010					+	++		+++			
C1	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0.006	+				++		+++				
	0.008	+			++		+++					
	0.010	+	++	+++								
C2	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0.006			+	++		+++					
	0.008			+		++	+++					
	0.010	+		++		+++						
C3	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0.006		+		++				+++			
	0.008	+		++			+++					
	0.010	+	++	+++								
C4	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0.006	+		++	+++							
	0.008	+	++	+++								
	0.010	++	+++									

หมายเหตุ : + คือระยะเวลาที่ใช้ในการฆ่ากระโดด ++ คือระยะเวลาที่ฆ่าเพ็ลี่ยกระโดด 50 %
+++ คือระยะเวลาที่ฆ่าเพ็ลี่ยกระโดด 100 %

จากตารางที่ 4.5 แสดงความสามารถการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารตัวอย่างเมื่อพิจารณาการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารทั้ง 6 ชนิด คือ สาร L1, L2, C1, C2, C3 และ C4 พบว่าสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมดในเวลา 10 นาทีเมื่อพิจารณาความเข้มข้นกับระยะเวลาในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย พบว่า สารแต่ละชนิดเมื่อมีความเข้มข้นมากจะใช้เวลาในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียน้อยและสารที่มีความเข้มข้นน้อยจะทำให้ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียมากขึ้นตามลำดับ และสารแต่ละชนิดจะฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ในเวลาที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาโดยการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย พบว่า สารตัวอย่าง C4 สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด สังเกตจากระยะเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เมื่อเทียบกับสารตัวอย่างชนิดอื่นๆ ที่ความเข้มข้นเท่ากัน สาร C4 สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ 100 % โดยใช้เวลาเพียง 2 นาที ที่ความเข้มข้น 0.010 โมลาร์ ภาพการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารแต่ละชนิดแสดงดังภาพที่ 4.4

4.6 ผลการทดสอบความสามารถการต้านเชื้อรา

การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อราของสารตัวอย่าง โดยนำสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด เติร์ยมความเข้มข้นระหว่าง 0.010, 0.008 และ 0.006 โมลาร์ เพื่อนำไปทดสอบการต้านเชื้อราโดยเทคนิค Paper disc diffusion method กับเชื้อรา 3 ชนิด คือ *A. niger*, *C. circinans* และ *S. sclerotiorum* เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง วัด Clear zone ผลดังภาพที่ 4.5 และตารางที่ 4.6



ภาพที่ 4.5 การต้านเชื้อราของสารตัวอย่าง

จากภาพที่ 4.5 แสดงการต้านเชื้อราของสารตัวอย่าง พบว่า เมื่อนำสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิดมาต้านเชื้อราเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงจะสังเกตเห็นว่าสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด สามารถต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราแต่ละชนิดได้และต้านได้แตกต่างกัน โดยสังเกตลักษณะและวัดขนาดของ Clear zone สารที่ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดีที่สุด คือ สาร C4 ส่วนสารละลายที่ปราศจากอนุภาคนาโนไม่ปรากฏ Clear zone นั่นคือไม่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

ตารางที่ 4.6 ความสามารถในการต้านเชื้อราของสารตัวอย่าง

สาร ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (Molar)	Clear zone (mm)		
		<i>A. niger</i>	<i>C. circinans</i>	<i>S. sclerotiorum</i>
L1	control	-	-	-
	0.006	8	-	7
	0.008	8	8	8
	0.010	11	10	10
L2	control	-	-	-
	0.006	8	-	7
	0.008	9	-	8
	0.010	11	-	9
C1	control	-	-	-
	0.006	10	7	8
	0.008	12	8	9
	0.010	14	13	14
C2	control	-	-	-
	0.006	-	7	8
	0.008	8	12	14
	0.010	15	20	17
C3	control	-	-	-
	0.006	8	8	7
	0.008	10	10	8
	0.010	14	12	9
C4	control	-	-	-
	0.006	17	15	11
	0.008	22	17	16
	0.010	23	18	17

จากตารางที่ 4.6 แสดงความสามารถการต้านเชื้อราโรคหอมของสารตัวอย่าง พบว่า เมื่อนำสารตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด มาเตรียมเป็นความเข้มข้น 0.010, 0.008 และ 0.006 โมลาร์ แล้วนำมาทดสอบการต้านเชื้อรา 3 ชนิด พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงสารตัวอย่างจะเริ่มต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ตั้งแต่ความเข้มข้นที่ต่ำ และเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมงจะมองเห็นวง Clear zone ได้ชัดเจน สารที่สามารถต้านเชื้อรา *S. sclerotiorum* ได้ดี คือ สาร C2 และ C4 และสารที่สามารถต้านการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. niger* ได้ดีที่สุดคือสาร C4

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างลิแกนด์อินทรีย์ พบว่า L1 จะมีประสิทธิภาพมากกว่า L2 สำหรับสารอินทรีย์ที่เกิดจากการรีดิวซ์ด้วยสารอินทรีย์ดังกล่าว พบว่า C2 และ C4 มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อราได้ดีกว่า C1 และ C3 ทั้งนี้เนื่องจากอิทธิพลของทั้งอนุภาคโลหะและไอออนลบ (Chohan, Zahid H., et al., 2002A) และที่สำคัญยังพบว่า ชิฟฟ์เบส (Schiff-base; L1 และ L2) มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่ำกว่าเมทัลคอมเพล็กซ์ (C1, C2, C3 และ C4) (Chohan, Zahid H., et al., 2002B) ทั้งนี้เนื่องจากระบวนการเกิดคีเลชัน (the process of chelation dominantly affects the biological behavior of the compounds)

4.7 ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง โดยวิธี DPPH แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การจับอนุมูลอิสระ (% Scavenging effect) ซึ่งเป็นผลมาจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย DPPH กับสารสังเคราะห์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ λ_{\max} 520 nm ซึ่งเป็นค่า Wavelength ที่สารละลาย DPPH สามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุด ดังนั้นค่าการดูดกลืนแสงของสาร DPPH เปลี่ยนไปแสดงว่า สารมีสมบัติเป็นแอนติออกซิแดนต์โดยการเข้าทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH โดย DPPH free radical ได้รับอิเล็กตรอนหรืออะตอมอิสระต่อไป สังเกตได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ λ_{\max} 520 nm ลดลง จากนั้นนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไป จะทำให้ทราบค่าเท่ากับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารแต่ละชนิดด้วย

เทคนิค DPPH

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 520 nm			$\bar{x} \pm SD$	Radical Scavenging activity (%)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
L1	20	0.214	0.209	0.212	0.211±0.003	46.414
	40	0.195	0.201	0.197	0.197±0.003	50.042
	60	0.169	0.171	0.175	0.171±0.003	56.540
	80	0.158	0.153	0.155	0.155±0.003	60.675
	100	0.129	0.133	0.132	0.131±0.002	66.751
L2	20	0.102	0.104	0.102	0.103±0.001	24.274
	40	0.107	0.108	0.103	0.106±0.003	32.650
	60	0.116	0.128	0.122	0.122±0.006	37.436
	80	0.134	0.125	0.135	0.131±0.006	45.641
	100	0.160	0.140	0.143	0.148±0.011	47.350
C1	20	0.308	0.297	0.302	0.302±0.006	49.188
	40	0.241	0.242	0.245	0.242±0.002	59.216
	60	0.202	0.213	0.198	0.204±0.008	65.658
	80	0.172	0.177	0.181	0.176±0.005	70.308
	100	0.152	0.158	0.158	0.156±0.003	73.782
C2	20	0.488	0.494	0.500	0.494±0.006	33.423
	40	0.453	0.475	0.478	0.469±0.014	36.837
	60	0.466	0.466	0.465	0.466±0.001	37.241
	80	0.456	0.463	0.470	0.463±0.007	37.601
	100	0.442	0.448	0.421	0.437±0.014	41.105
C3	20	0.900	0.885	0.891	0.892±0.008	44.075
	40	0.643	0.666	0.691	0.667±0.024	58.202
	60	0.595	0.552	0.579	0.575±0.022	63.928
	80	0.431	0.404	0.416	0.417±0.014	73.855
	100	0.153	0.167	0.144	0.155±0.012	90.303
C4	20	0.672	0.695	0.709	0.692±0.019	6.738
	40	0.695	0.674	0.691	0.687±0.011	7.457
	60	0.693	0.679	0.680	0.684±0.008	7.816
	80	0.656	0.655	0.649	0.653±0.004	11.949
	100	0.504	0.672	0.645	0.607±0.090	18.1941

จากตารางที่ 4.7 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เป็นวิธีการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการทดสอบฤทธิ์ของอาหารและสมุนไพร สารอนุมูลอิสระที่ใช้คือ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็นสารที่อยู่ในรูปของอนุมูลอิสระที่มีความคงตัว เมื่อถูกรีดิวซ์โดยสารต้านอนุมูลอิสระ จะเปลี่ยนจากสีม่วงอมน้ำเงินเป็นสีเหลือง (DPPH[•] เปลี่ยนเป็น DPPH-H) ซึ่งการเปลี่ยนสีจะสัมพันธ์โดยตรงกับจำนวนของอิเล็กตรอนที่เกิดพันธะกับไฮโดรเจนที่ได้จากสารต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาโดยวิธีนี้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ สามารถคำนวณได้โดยวัดระยะเวลาที่ทำปฏิกิริยาเท่ากัน การรายงานผลจะเป็น % Antioxidant activity (% AA) คำนวณได้ดังสมการ

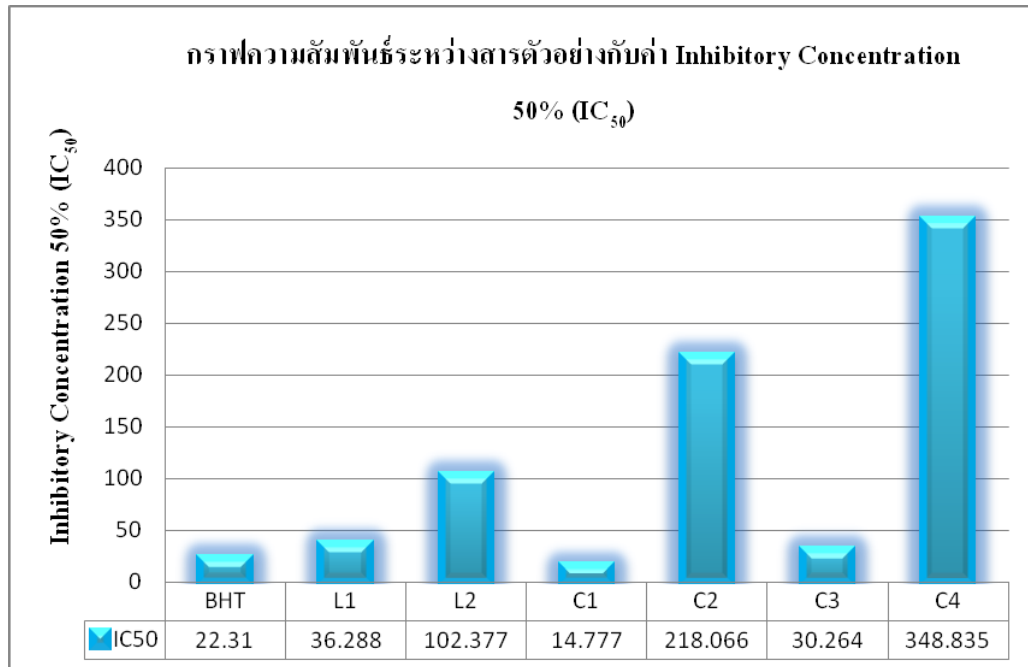
$$\% \text{ AA} = \frac{[1 - (\text{A517 of sample})]}{(\text{A517 of standard})} \times 100$$

พบว่า สารตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้จากการทดลองทั้ง 6 ชนิดสามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ตั้งแต่ความเข้มข้นระดับ 20, 40, 60, 80 และ 100 ppm ตามลำดับ และต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ในเปอร์เซ็นต์ที่สูง เมื่อความเข้มข้นของสารตัวอย่างเพิ่มขึ้นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มมากขึ้น สาร L1 ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในช่วง 0.131±0.002 ถึง 0.211±0.003 สาร L2 ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในช่วง 0.103±0.001 ถึง 0.148±0.011 สาร C1 ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในช่วง 0.156±0.003 ถึง 0.302±0.006 สาร C2 ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในช่วง 0.437±0.014 ถึง 0.494±0.006 สาร C3 ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในช่วง 0.155±0.012 ถึง 0.892±0.008 และสาร C4 จะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในช่วง 0.607±0.090 ถึง 0.692±0.019 แสดงว่าสารตัวอย่างออกฤทธิ์ในลักษณะที่เรียกว่า Concentration dependence

ตารางที่ 4.8 ค่า IC₅₀ ของสารตัวอย่างในการต้านอนุมูลอิสระ

สารตัวอย่าง	IC ₅₀ (Inhibitory Concentration 50%)
L1	36.28
L2	102.37
C1	14.77
C2	218.06
C3	30.26
C4	348.83
BHT	22.31

จากตารางที่ 4.8 พบว่า สารที่มีค่า IC_{50} ใกล้เคียงกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน คือ L1, C1 และ C3 โดยเฉพาะ C1 มีค่า IC_{50} ต่ำกว่าค่า IC_{50} ของสารมาตรฐาน แสดงว่าสาร C1 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารมาตรฐาน และเห็นภาพได้ชัดเจนจากกราฟข้างล่าง



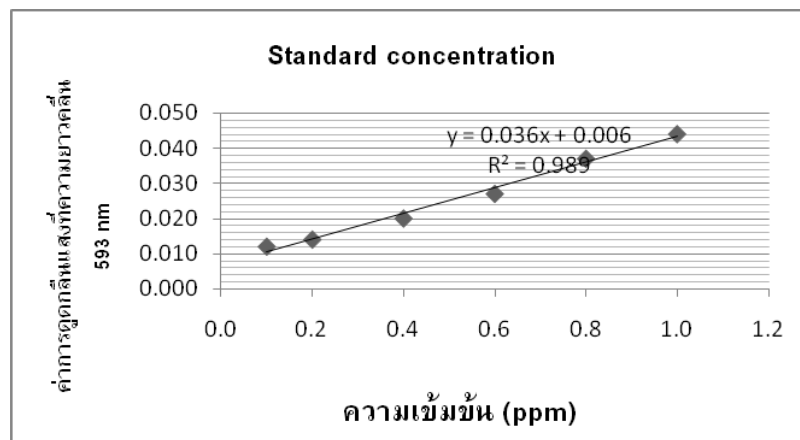
ภาพที่ 4.6 กราฟเปรียบเทียบระหว่างค่า IC_{50} ของสารตัวอย่าง

4.8 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP เป็นวิธีวัดสารต้านอนุมูลอิสระจากการวัดประสิทธิภาพในการรีดิวซ์สาร Ferric ion ให้เป็นสาร Ferrous โดยสารตั้งต้นของปฏิกิริยานี้รวมเรียกว่า FRAP reagents ทำปฏิกิริยาเกิดเป็นสารเชิงซ้อนกับ $FeCl_3$ ได้เป็น Fe^{3+} เมื่อสารเชิงซ้อนนี้ถูกรีดิวซ์ด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ จะได้สารประกอบเชิงซ้อน Fe^{2+} เกิดขึ้นซึ่งวัดการเปลี่ยนแปลงโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เมื่อนำสารละลายมาตรฐาน Iron (II) sulphate ที่ความเข้มข้นต่างๆ เช่น 100, 80, 60, 40 และ 20 ppm ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานจะได้ดังตารางที่ 4.9 และ ภาพที่ 4.7

ตารางที่ 4.9 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 4.7 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

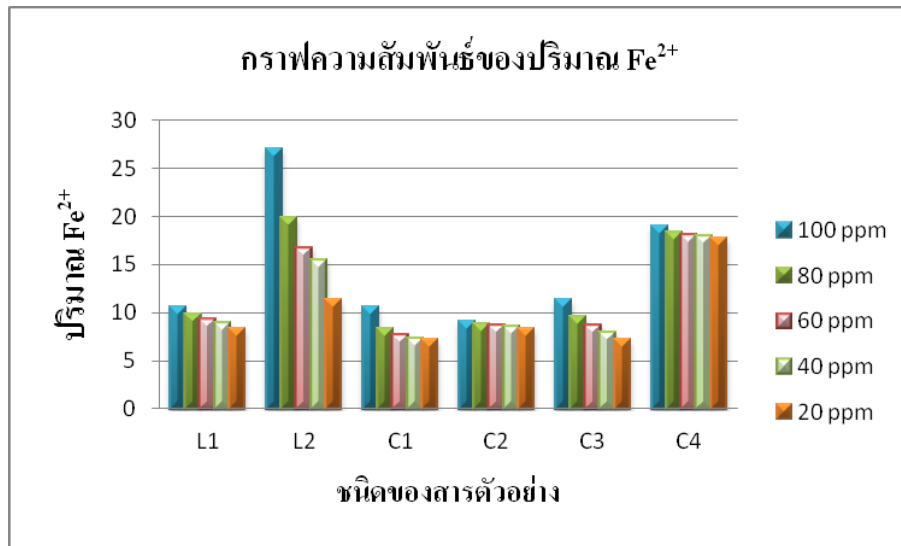
ตารางที่ 4.10 ปริมาณของ Fe^{2+} ที่ได้จากการรีดิวซ์ Fe^{3+} โดยสารตัวอย่างในการวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm			$\bar{x} \pm SD$	ปริมาณของ Fe^{2+}
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
L1	100	0.387	0.396	0.389	0.391 ± 0.005	10.526
	80	0.359	0.362	0.375	0.365 ± 0.009	9.813
	60	0.337	0.352	0.350	0.346 ± 0.008	9.293
	40	0.325	0.332	0.340	0.332 ± 0.008	8.909
	20	0.318	0.312	0.299	0.310 ± 0.010	8.306
L2	100	0.967	1.006	0.997	0.990 ± 0.020	26.936
	80	0.711	0.728	0.757	0.732 ± 0.023	19.868
	60	0.617	0.611	0.617	0.615 ± 0.003	16.663
	40	0.572	0.596	0.543	0.570 ± 0.027	15.430
	20	0.411	0.441	0.412	0.421 ± 0.017	11.320
C1	100	0.409	0.368	0.394	0.390 ± 0.021	10.498
	80	0.313	0.304	0.305	0.307 ± 0.005	8.232
	60	0.286	0.284	0.288	0.286 ± 0.002	7.649
	40	0.270	0.280	0.264	0.271 ± 0.008	7.238
	20	0.265	0.269	0.268	0.267 ± 0.002	7.128
C2	100	0.335	0.336	0.318	0.330 ± 0.010	9.041
	80	0.337	0.329	0.323	0.330 ± 0.007	8.717
	60	0.317	0.335	0.324	0.325 ± 0.009	8.690
	40	0.312	0.318	0.324	0.318 ± 0.007	8.526
	20	0.313	0.300	0.312	0.308 ± 0.007	8.252
C3	100	0.436	0.412	0.413	0.420 ± 0.014	11.320
	80	0.350	0.363	0.354	0.356 ± 0.007	9.567
	60	0.320	0.325	0.328	0.324 ± 0.004	8.690
	40	0.297	0.290	0.292	0.293 ± 0.004	7.841
	20	0.266	0.265	0.267	0.266 ± 0.001	7.101

ตารางที่ 4.10 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		
		C4	100	0.700		
	80	0.676	0.677	0.667	0.673 ± 0.006	18.252
	60	0.665	0.663	0.665	0.664 ± 0.001	18.005
	40	0.660	0.658	0.660	0.659 ± 0.0001	17.868
	20	0.650	0.653	0.651	0.651 ± 0.002	17.649

จากตารางที่ 4.10 พบว่า เมื่อนำสารตัวอย่างทั้งหมดมาศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP ที่เตรียมสารให้มีความเข้มข้นระหว่าง 100, 80, 60, 40 และ 20 ppm พบว่า สารแต่ละชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยออกฤทธิ์แปรตรงตามความเข้มข้น เมื่อความเข้มข้นมากขึ้นสารตัวอย่างก็จะมีค่าเฉลี่ยของ Fe^{2+} สูงขึ้น และจากตารางยังพบว่า เมื่อคำนวณหาค่าความเข้มข้นของ Fe^{2+} ที่เกิดจากการรีดิวซ์ Fe^{3+} ของสารตัวอย่างทั้งหมด โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานในภาพที่ 4.8 พบว่า สารตัวอย่างที่ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP คือสาร L2 ซึ่งสามารถรีดิวซ์ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} ได้มากกว่าสารชนิดอื่น ลองลงมาคือ C4, C3, L1, C1 และ C2 ตามลำดับ เพื่อให้เห็นความแตกต่างของสารในการรีดิวซ์ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} ได้ อย่างชัดเจนคณะผู้วิจัยจึงได้นำปริมาณของ Fe^{2+} ไปสร้างกราฟดังภาพที่ 4.8



ภาพที่ 4.8 กราฟความสัมพันธ์ของปริมาณ Fe^{2+} สำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

จากภาพที่ 4.8 พบว่า สารตัวอย่างทุกชนิดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์เป็นแบบ Concentration dependence แต่มีประสิทธิภาพแตกต่างกัน โดยสารที่มีประสิทธิภาพสูงสุดคือ ลิแกนด์ L2 (NTN-INH หรือ Lawsons-INH)

4.9 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ

คณะผู้วิจัยได้ทำการคัดเลือกสารที่ออกฤทธิ์ได้ดีที่สุดได้แก่ NTN-Sal, NTN-INH, NTN-Sal-Ag และ NTN-INH-Ag ไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Normal Vero cell line) ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 4.11 สารตัวอย่าง NTN-Sal

ครั้งที่	Concentration (ppm)	Mean % Survival	Mean SD	IC ₅₀ (ppm)
1	500.00	ND	ND	59.51
	250.00	13	1	
	125.00	41	1	
	62.50	46	2	
	31.25	65	1	
	15.62	77	3	
	7.81	100	1	
	3.91	103	2	
2	500.00	ND	ND	57.40
	250.00	7	2	
	125.00	46	1	
	62.50	49	1	
	31.25	56	4	
	15.62	73	6	
	7.81	94	1	
	3.91	102	1	
3	500.00	48	1	57.54
	250.00	51	1	
	125.00	62	2	
	62.50	93	1	
	31.25	102	3	
	15.62	101	1	
	7.81	103	1	
	3.91	103	2	
IC ₅₀ ±SD				58.15 ±0.96

ตารางที่ 4.12 สารตัวอย่าง NTN-INH

ครั้งที่	Concentration (ppm)	Mean % Survival	Mean SD	IC ₅₀ (ppm)
1	500.00	0	4	80.86
	250.00	1	1	
	125.00	19	7	
	62.50	71	1	
	31.25	82	2	
	15.62	98	3	
	7.81	103	2	
	3.91	104	1	
2	500.00	1	1	52.86
	250.00	1	1	
	125.00	10	2	
	62.50	46	1	
	31.25	67	3	
	15.62	84	2	
	7.81	82	1	
	3.91	98	2	
3	500.00	12	2	58.32
	250.00	63	3	
	125.00	72	3	
	62.50	89	3	
	31.25	100	1	
	15.62	100	5	
	7.81	100	1	
	3.91	98	3	
IC ₅₀ ±SD				64.01 ±12.12

ตารางที่ 4.13 สารตัวอย่าง NTN-Sal-Ag

ครั้งที่	Concentration (ppm)	Mean % Survival	Mean SD	IC ₅₀ (ppm)
1	500.00	ND	ND	17.80
	250.00	1	0.30	
	125.00	1	0.25	
	62.50	1	0.26	
	31.25	0	0.01	
	15.62	60	1	
	7.81	94	5	
	3.91	107	3	
2	500.00	ND	ND	8.81
	250.00	1	0.06	
	125.00	1	0.30	
	62.50	0	0.04	
	31.25	0	0.06	
	15.62	10	9	
	7.81	50	10	
	3.91	71	1	
3	500.00	1	0.06	4.65
	250.00	1	0.21	
	125.00	1	0.20	
	62.50	2	0.85	
	31.25	24	1	
	15.62	77	2	
	7.81	89	1	
	3.91	98	1	
IC ₅₀ ±SD				10.42 ±5.49

ตารางที่ 4.14 สารตัวอย่าง NTN-INH-Ag

ครั้งที่	Concentration (ppm)	Mean % Survival	Mean SD	IC ₅₀ (ppm)
1	500.00	ND	ND	8.48
	250.00	ND	ND	
	125.00	1	0.33	
	62.50	1	0.43	
	31.25	1	0.66	
	15.62	2	0.15	
	7.81	80	1	
	3.91	101	2	
2	500.00	ND	ND	7.71
	250.00	ND	ND	
	125.00	0	0.14	
	62.50	0	0.05	
	31.25	0	0.09	
	15.62	2	0.37	
	7.81	49	7	
	3.91	78	2	
3	500.00	1	0.06	7.75
	250.00	1	0.15	
	125.00	1	0.22	
	62.50	9	1	
	31.25	70	3	
	15.62	98	1	
	7.81	100	3	
	3.91	103	2	
IC ₅₀ ±SD				7.98 ±0.35

จากผลการทดลองพบว่า สารตัวอย่างที่นำไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติจะมีค่า % Survival มากกว่า 50 เช่น NTN-Sal และ NTN-INH และ 2) กลุ่มที่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติจะมีค่า % Survival น้อยกว่าหรือเท่ากับ 50 ได้แก่ NTN-Sal-Ag และ NTN-INH-Ag

4.10 การถ่ายทอดผลการทดลองสู่ชุมชน

เมื่อทราบผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการแล้ว ทีมวิจัยได้คัดเลือกแบบเจาะจงเฉพาะอนุภาคที่มีประสิทธิภาพสูงไปทดสอบในแปลงร่วมกับเกษตรกร พร้อมกับดำเนินการถ่ายทอดให้กับเกษตรกรในจำนวนที่เพิ่มมากขึ้น โดยการบรรยายและสาธิตวิธีการเตรียมสารและใช้ประโยชน์สารตัวอย่างดังกล่าว

4.9.1 การถ่ายทอดที่ บ้านหนองซอแซ ตำบลหนองกะทิง อำเภอลำปลายมาศ จังหวัดบุรีรัมย์



ภาพที่ 4.9 การถ่ายทอดผลการวิจัย ณ บ้านหนองซอแซ ตำบลหนองกะทิง อำเภอลำปลายมาศ จังหวัดบุรีรัมย์



ภาพที่ 4.9 การถ่ายทอดผลการวิจัย ณ บ้านหนองซอแซ ตำบลหนองกะทิง อำเภอลำปลายมาศ จังหวัดบุรีรัมย์ (ต่อ)

4.9.2 การถ่ายทอดที่ บ้านคลองหลวงพัฒนา ตำบลโคกมะม่วง อำเภอปะคำ
จังหวัดบุรีรัมย์



ภาพที่ 4.10 การถ่ายทอดผลการวิจัย ณ บ้านคลองหลวงพัฒนา ตำบลโคกมะม่วง
อำเภอปะคำ จังหวัดบุรีรัมย์

สรุป ในบทนี้คณะผู้วิจัยได้รายงานถึงผลการสังเคราะห์สารตัวอย่าง ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP ผลการทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อรา ผลการทดสอบความสามารถในการต้านเพร็ลีย์แบ็ง ผลการทดสอบความสามารถในการต้านเพร็ลีย์กระโดด ตลอดจนความเป็นพิษต่อเซลล์

บทที่ 5

สรุป วิจารณ์และข้อเสนอแนะ

5.1 บทนำ

ในบทนี้คณะผู้วิจัยได้สรุปประเด็นต่างๆ ที่ได้จากการทำวิจัย ดังนี้คือ การสังเคราะห์ ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ สมบัติทางชีวภาพของอนุพันธ์ Cinnamaldehyde hydrazone copper complexes และ hydrazone silver complexes ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH และ FRAP assay การต้านการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา และ เพลี้ยกระโดดคัสตอร์ขาว ทั้งในห้องปฏิบัติการ ในแปลงทดลอง รวมทั้งการถ่ายทอดเทคโนโลยีและ นวัตกรรมนี้สู่ชุมชน

5.2 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลที่ได้จากการสังเคราะห์ทั้งลิแกนด์และสารประกอบเชิงซ้อนหรือสารประกอบ นาโนโลหะอินทรีย์ พบว่า ได้ผลผลิตในเปอร์เซ็นต์สูงและอนุภาคที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะเป็น คริสตัล (Crystal) มีรูปร่างและมอร์โฟโลยีแตกต่างกัน บางชนิดมีลักษณะเป็นรูปเข็ม บางชนิด มีลักษณะทรงกลม ขนาดของอนุภาคอยู่ระหว่าง 150 ถึง 226 nm มีจุดหลอมเหลวอยู่ระหว่าง 136 ถึง 209 °C ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) อยู่ระหว่าง 379-480 nm ซึ่งแตกต่างจาก ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของอนุมูลอิสระมาตรฐาน DPPH (λ_{max} 520 nm) สารตัวอย่างที่ได้ จึงสามารถทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH method ได้

เทคนิค DPPH method แสดงให้เห็นว่า อนุภาค C3 มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุดรองลงมาได้แก่ C1 หรือสามารถสรุปได้ว่า อนุภาคของเงินนาโน มีประสิทธิภาพสูงกว่าลิแกนด์และสูงกว่าอนุภาคทองแดงนาโนตามลำดับ ส่วนผลการต้านอนุมูล เทคนิค FRAP method พบว่า อนุภาค L2 มีประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} ได้ สูงสุด รองลงมาคือ C4 ซึ่งผลการทดสอบฤทธิ์ของสารที่สังเคราะห์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วย เทคนิค DPPH และ เทคนิค FRAP ที่มีความสัมพันธ์กันน้อย ทั้งนี้เป็นเพราะว่า สารที่มีความสามารถใน การรีดิวซ์เหล็กได้ดีอาจจะแสดงสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยการให้อะตอม ไฮโดรเจนไม่ดี (โอภา วัชรคุปต์, 2549) นอกจากนี้ ยังขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายและ ขนาดของโมเลกุลของสารที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ (มณฑนา ภาณุมากรณ์, 2552) ดังนั้น การที่ลิแกนด์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีเพราะมีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีและโมเลกุลไม่เกาะก่ (Steric effect) จึงเกิดปฏิกิริยารีดักชันได้ดี แต่มีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กได้น้อยในเทคนิค FRAP

ผลการต้านเพ็ลี่ยแบ้ง พบว่า สารนาโนอินทรีรี่สามารถออกฤทธิ์ต้านเพ็ลี่ยแบ้งได้ทันทีที่อนุภาคตกถึงตัวเพ็ลี่ยแบ้ง โดยแบ้งที่อยู่ตามตัวเพ็ลี่ยแบ้งจะหลุดออก เพ็ลี่ยแบ้งหดตัวและตายทันที นอกจากนี้ยังพบว่า ทั้งสารนาโนทองแดงมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารนาโนเงิน และสารนาโนอินทรีรี่จะออกฤทธิ์ได้ดีกว่าสารนาโนอินทรีรี่ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

ผลการต้านเพ็ลี่ยกระโดด พบว่า อนุภาคของทองแดงนาโนที่มีตัวรีดิวิซ์เป็น Lawsone Isonicotinyl hydrazone (หรือสาร C4) มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการต้านเพ็ลี่ยแบ้งรองลงมาคืออนุภาคของทองแดงนาโนที่มีตัวรีดิวิซ์เป็น Lawsone salicylic hydrazone (หรือสาร C2) โดยอนุภาคทองแดงจะออกฤทธิ์ต่อเพ็ลี่ยแบ้งได้ดีกว่าอนุภาคของเงิน ผลที่ได้จากการวิจัยได้ถ่ายทอดให้กับกลุ่มเกษตรกรที่ปลูกมันสำปะหลังและปลูกข้าวของจังหวัดบุรีรัมย์ เพื่อลดการใช้ยากำจัดศัตรูพืชที่มีพิษรุนแรงและตกค้างในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลานาน

5.3 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการนำองค์ความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยีมาใช้ในการเกษตร ซึ่งถือเป็นการวิจัยที่แปลกใหม่ของประเทศไทย หลักการ ทฤษฎีรวมทั้งผลที่ได้จากการวิจัยยังสามารถถ่ายทอดให้กับเกษตรกร จึงถือเป็นการวางรากฐาน ให้ความรู้และในขณะเดียวกันยังเป็นการสร้างความตระหนักให้กับเกษตรกรได้รับประโยชน์ รู้ทันเทคโนโลยีใหม่ และป้องกันการถูกหลอกลวงจากพ่อค้าบางกลุ่มได้อีกด้วย สิ่งสำคัญและจำเป็นที่จะต้องดำเนินการต่อไปอีก

5.3.1 ข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยครั้งต่อไป

5.3.1.1 จะต้องวิจัยเพื่อวิเคราะห์กลไกที่แท้จริงเกี่ยวกับ Mode of action ของผลิตภัณฑ์ในกลุ่มนี้กับการออกฤทธิ์ต่อราและเพ็ลี่ยว่าเป็นอย่างไร

5.3.1.2 ศึกษาต้นทุนในการผลิตสารตัวอย่าง

5.3.1.3 ต้องทดสอบสารตัวอย่างในหลายพื้นที่และหลายช่วงเวลา เพื่อให้เกิดความมั่นใจว่าสามารถใช้ได้ในสภาพอย่างไรบ้าง

5.3.2 ข้อเสนอแนะเพื่อการนำไปใช้

5.3.2.1 สารนาโนอินทรีรี่และนาโนโลหะอินทรีรี่ที่สังเคราะห์ได้สามารถนำไปใช้ฉีดพ่นในแปลงผัก เช่น หอม กระเทียม เพื่อป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อราได้ สารเหล่านี้ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์

5.3.2.2 นอกจากนี้ยังสามารถใช้ต้านเพ็ลี่ยแบ้งในไร่มันสำปะหลังและเพ็ลี่ยกระโดดในนาข้าวได้เป็นอย่างดี

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- จิระเดช แจ่มสว่าง. (2550). การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี บนเส้นทางของการเกษตรยุคใหม่. สืบค้นเมื่อ 20 มกราคม 2554 จาก <http://www.thaigreenagro.com/Article>.
- มณฑนา ภาณุมากรณ์. (2552). เครื่องสำอางเพื่อความงามและสุขภาพ= **Cosmetics for Aesthetic and Health...** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.
- เยาวพา สุวดี. (ม.ป.ป.). สืบค้นเมื่อ 12 พฤศจิกายน 2553 จาก <http://www.thairath.co.th>
- วท.รुकเพิ่มมูลค่าภาคอาหาร-เกษตร. (2553). สืบค้นเมื่อ 21 มกราคม 2555 จาก <http://www.thairath.co.th>
- วิวัฒน์ ตันพะพานิชกุล. (2550). **นาโนเทคโนโลยีกับเทคโนโลยีอนุภาค : ใครยิ่งใหญ่กว่า.** กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศรัญญา พรหมโคตร. (2551). **นาโนเทคโนโลยีขั้นต้น (เล่มที่ 1)= Introduction to Nanotechnology.** ขอนแก่น : ภาควิชาเทคโนโลยีธรณี คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ศิริศักดิ์ เทพาคำ. (2551). “นิยามและความสำคัญของนาโนเทคโนโลยี.” ใน **นาโนเทคโนโลยี : งานวิจัยนาโนเทคโนโลยีของประเทศไทย.** หน้า 4. ปทุมธานี : ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.
- ศิริศักดิ์ เทพาคำ. (ม.ป.ป.). **เอกสารประกอบการเรียนรู้หลักสูตรนาโนเทคโนโลยีชีวภาพ.** ปทุมธานี : ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.
- สถาบันนวัตกรรมและพัฒนากระบวนการเรียนรู้มหาวิทยาลัยมหิดล. (2555 : 3). สืบค้นเมื่อ 27 เมษายน 2555 จาก <http://www.atom.rmutphysics.com/charud/scibook/nanotech/Page/Unit4-3.html>
- สำนักวิจัยและพัฒนาข้าวกรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2555). “การใช้สารเคมีฆ่าแมลงในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพื้นที่ระบาด เขตภาคเหนือตอนล่างและภาคกลาง ปี 2554,” สืบค้นเมื่อ 25 เมษายน 2555. ค้นจาก www.brrd.in.th
- โอภาส บุญสิง. (2555). “เปลี้ยแบ่ง... มหันตภัยต่อมันสำปะหลัง,” สืบค้นเมื่อ 25 เมษายน 2555. ค้นจาก www.tapiocathai.org
- โอภาส บุญสิง และคนอื่นๆ. (2550). **สารต้านอนุมูลอิสระ.** กรุงเทพฯ : นิวไทยมิตรการพิมพ์.

- Das, Manash R., et al. (2011). "Synthesis of silver nanoparticles in an aqueous suspension of graphene oxide sheets and its antimicrobial activity," **Colloids and Surfaces B : Biointerfaces**. 83 : 16-22.
- He, Lili, et al. (2011). "Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*," **Microbiological Research**. 166 : 207-215.
- Hsu, Fu-Lan, et al. (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.
- 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," สืบค้นเมื่อ 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.
- Tsair – Bor Yon and Chang, Shang-Tzenb. (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.

ประวัตินักวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมหมาย ปะติตั้งไข

ประวัตินักวิจัย

ดร.สมหมาย ปะติตั้งไข : หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ตำแหน่งปัจจุบัน: ผู้ช่วยศาสตราจารย์

2. สถานที่ทำงาน: ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏ
บุรีรัมย์ อ.เมือง จ.บุรีรัมย์ 31000 โทรศัพท์ : 044 611221 ต่อ 130 มือถือ 089 720 1597
โทรสาร 044 612 858 E-mail: psomma63@yahoo.com

3. ประวัติการศึกษา

Doctor of philosophy in Chemistry, Drug Design and Molecular
Medicine, University of Pune, India, 2006, **ICCR scholarship** (2006)

หัวข้อวิทยานิพนธ์ : Study of Biologically Active Metal Conjugates of
Quinolone and Retinoid Analogs

ปริญญาโท (วท.ม.) เคมีวิเคราะห์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2541 (1998)

หัวข้อวิทยานิพนธ์: Isolation Purification and Application of Siderophore for
Iron Determination

ปริญญาตรี (กศ.บ.) เคมี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม 2530
(1987)

Cert. in Writing Skills from Institute of Advanced Studied in English

Cert. in English Communication from Institute of Advanced Studied in
English

Cert. in English Language Intensive Course for International Students

Cert. in **Hypercourse on Bioinformatics** from Technology Management
Center, National Science and Technology Development Agency, NSTDA

Cert. in **Risks and Dangers of Chemical Products** from Technology
Management Center, National Science and Technology Development Agency, NSTDA

4. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

การออกแบบและสังเคราะห์ยา เครื่องสำอาง อาหาร นาโนเทคโนโลยี
เทคโนโลยีชีวภาพ สิ่งแวดล้อมและจุลินทรีย์

5. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

- 5.1 หัวหน้าโครงการวิจัย: Isolation Purification and Application of Some Compounds from Bacteria
- แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
งานวิจัยลุล่วง: 100 %
- 5.2 หัวหน้าโครงการ: การสกัด และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพร
- แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
งานวิจัยลุล่วง: 100 %
- 5.3 หัวหน้าโครงการ: Synthesis Physicochemical Characterization and Biological Evaluation of Levofloxacin Copper Complexation
- แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
งานวิจัยลุล่วง: 100 %
- 5.4 หัวหน้าโครงการ: Synthesis Physicochemical Characterization and Biological Evaluation of Levofloxacin Cobalt Complexation
- แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)
งานวิจัยลุล่วง: 100 %
- 5.5 ผู้ร่วมวิจัย: Information uses and information needs of Tourists in the Provinces in Lower Northeastern Region
- แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)
งานวิจัยลุล่วง: 100 %
- 5.6 หัวหน้าโครงการ: Biological Evaluation of Siderophore Against Fungi Disease in Onion Leaves
- แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)
งานวิจัยลุล่วง: 100 %
- 5.7 หัวหน้าโครงการ: Physicochemical Characterization and Biological Evaluation of Mixed ligand Metal Quinolone Complexes
- แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)
งานวิจัยลุล่วง: 100 %

5.8 หัวหน้าโครงการ: การศึกษาแบบบูรณาการเพื่อแก้ปัญหาความยากจนในชุมชนโดยใช้ทฤษฎีเศรษฐกิจพอเพียง: กรณีศึกษาร้านตราดตรวน หมู่ 4 ต.ชุมเห็ด อ.เมือง จ.บุรีรัมย์

แหล่งทุน: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช)

งานวิจัยลู่วง: 100 %

5.9 หัวหน้าโครงการ: การสกัด การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและการย้อมสีไหมของผักเม็ก

แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

งานวิจัยลู่วง: 100 %

5.10 หัวหน้าโครงการ: การศึกษารูปแบบที่เหมาะสมเพื่อการพัฒนานักวิจัยในคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

งานวิจัยลู่วง: 100 %

5.11 หัวหน้าโครงการ: สมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไฮดราโซน (Physico-chemical Properties and Biological Investigation of Hydrazones)

แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

งานวิจัยลู่วง: 100 %