การสกัด และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสมุนไพร หนอนตายหยากต้านโรคแคงเกอร์

Extraction and Biological Evaluation of *Stemona collinsae* Craibr against *Xanthomonas campestris* pv. Citri (Hasse) Dye

สมหมาย ปะติตังโข

กิ่งแก้ว ปะติตังโข

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

สิงหาคม 2557

“งานวิจัยยังไม่สมบูรณ์ โปรดอย่านำไปใช้อ้างอิง”

การสกัด และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสมุนไพร หนอนตายหยากต้านโรคแคงเกอร์

Extraction and Biological Evaluation of *Stemona collinsae* Craibr against *Xanthomonas campestris* pv. Citri (Hasse) Dye

โดย

สมหมาย ปะติตังโข

คณะวิทยาศาสตร์

กิ่งแก้ว ปะติตังโข

คณะมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

สิงหาคม 2557

บทคัดย่อ

สมุนไพรหนอนตายหยาก (*Stemona collinsae* Craibr) พบทั่วทุกภาคของประเทศไทย มีประสิทธิภาพทางยาตามภูมิปัญญาท้องถิ่นมากมาย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะนำสมุนไพรหนอนตายอยากมาสกัดสารออกฤทธิ์ต้านโรคแคงเกอร์ (Canker) ของมะนาวให้กับชุมชน โดยเปรียบเทียบฤทธิ์กับสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตและน้ำหมักชีวภาพสูตรผสม *B. cereus* ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน (Crude dichloromethane) มีปริมาณฟีนอลรวม (Polyphenolic content) สูงสุด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเอทานอล (Crude ethanol) ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. Citri (Hasse) Dye สาเหตุของโรคแคงเกอร์ที่ความเข้มข้นระหว่าง 6,000, 8,000 และ 10,000 ppm ตามลำดับ พบว่า สารสกัดหยาบเอทานอลสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้ดีที่สุด ด้วยค่าเฉลี่ยของเคลียร์โซน (Clear zone) 11.00 mm และออกฤทธิ์ได้ดีกว่าสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulphate) และน้ำหมักชีวภาพสูตรผสม *B. cereus* ส่วนผลการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH พบว่า สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด ที่ IC_{50} เท่ากับ 46.622 รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเฮกเซน (Crude hexane) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 49.089 นอกจากนี้ยังได้นำสารสกัดหยาบเอทานอลไปทดสอบฤทธิ์การต้านศัตรูพืชอื่นๆ พบว่า สามารถออกฤทธิ์ต้านเพลี้ยแป้งสีเขียว (Madeira mealybug) ได้ภายใน 2 วัน ต้านเพลี้ยแป้งสีชมพู (Pink mealybug) ในเวลา 3 วัน ต้านไรแดงได้ภายใน 9 วัน และสารสกัดหยาบเอทานอลยังสามารถกำจัดปลวกได้อีกด้วย

Abstract

. The herb so called *Stemona collinsae* Craibr is found throughout all regions of Thailand. This kind of herb possesses medical efficiency preserved with villagers' local wisdom. The purpose of this research is to extract bioactive compounds against *Xanthomonas campestris* pv. Citri (Hasse) Dye of lime for communities and to compare its effects with copper sulfate and EM mixed formulation *B. cereus*. The results revealed that crude dichloromethane contains a maximum of polyphenolic content and is followed by crude ethanol. Having tested antimicrobial activity of bacteria, the main cause of *Xanthomonas campestris* pv. Citri (Hasse) Dye at the concentration between 6,000, 8,000 and 10,000 ppm, it showed that crude ethanol can resist this bacteria the best with an average clear zone 11.00 mm and its effect is better than copper sulfate and EM mixed formulation *B. cereus*. Having employed the DPPH antioxidant technique, it was found that crude extract dichloromethane possesses the efficiency against DPPH the best at IC_{50} 46.622 and is followed by crude hexane with IC_{50} 49.089. Moreover, the crude

ethanol was utilized to test its effect against other pests and it was found that it can be used to resist mealybugs within two days, blue mealybugs within three days and red riders within nine days. It is also used to resist to get rid of termites.

คำสำคัญ (Keywords): การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (Biological evaluation) ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Natural products) การสกัด (Extraction) และแบคทีเรียก่อโรคแคงเกอร์ของมะนาว (*Xanthomonas campestris* pv. Citri (Hasse) Dye)

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิจัยเรื่องการสกัด และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสมุนไพรหนอนตายหยากต้านโรคแคงเกอร์ ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเครือข่ายอุดมศึกษาภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.วิชัย บุญแสง ผู้อำนวยการสำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยแห่งชาติที่สนับสนุนทุนในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ รศ.มาลิณี จุโฑปะมา อธิการบดีมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ รศ.สมมาตร ผลเกิด รองอธิการบดี ฝ่ายวิจัยและบริการวิชาการ อาจารย์พิสมัย ประชานันท์ ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา ที่ช่วยประสานงานและอำนวยความสะดวกในการเบิกจ่ายทุนการวิจัย ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัย นางสาวสุรีพร ดัดถุยาวัตร ที่ช่วยเหลือและร่วมมือกับนักวิจัยในขั้นตอนต่างๆ ทั้งการสังเคราะห์ ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพจนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จ

สมหมาย ปะติตังโข
ผู้วิจัย
25 สิงหาคม 2557

สารบัญ

หน้า

บทที่

๑ บทนำ ๑

หลักการและเหตุผล ๑

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย ๒

๒ เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ๔

นาโนเทคโนโลยี ๔

การสังเคราะห์อนุภาคนาโน ๖

บทที่ ๓ สารเคมี อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง ๒๘

สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ ๒๘

วิธีการสังเคราะห์ ๓๐

การศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารตัวอย่าง (Physicochemical properties) .. ๓๐

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ๓๑

บรรณานุกรม ๓๔

บทที่ 1
บทนำ

1.1 บทนำ

ในบทที่ 1 ผู้วิจัยได้นำเสนอหลักการและเหตุผลของการวิจัย วัตถุประสงค์ของการวิจัย กรอบแนวคิดของการวิจัย ขอบเขตของการวิจัย และประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.2 หลักการและเหตุผล

ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติได้แก่ สิ่งที่ได้จากพืช สัตว์ จุลินทรีย์ และแร่ธาตุ ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์เป็นยารักษาโรครวมถึงเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ผลิตภัณฑ์บำรุงสุขภาพ ตลอดจนเครื่องสำอาง สารต้านแบคทีเรีย ราและอื่นๆ ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติส่วนใหญ่ได้จากพืช ส่วนผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ได้จากสัตว์ จุลินทรีย์ และแร่ธาตุ ก็มีไม่น้อย ปัจจุบันการใช้ผลิตภัณฑ์ยา เสริมอาหาร และใช้เพื่อวัตถุประสงค์ทางการเกษตรของผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติหรือสมุนไพรได้รับความนิยมเป็นอย่างสูง เนื่องจากสามารถก่อให้เกิดผลดีต่อร่างกายในด้านต่างๆ ไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ทุกวันนี้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติได้รับความนิยมอย่างมากเพราะผู้บริโภคมีความเชื่อมั่นว่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่ไม่ใช่สารสังเคราะห์ขึ้นในห้องปฏิบัติการทั่วไป จึงน่าจะมีความปลอดภัยสูงกว่า ทั้งนี้มีสมุนไพรจำนวนมากที่นำมาใช้ทั้งที่อยู่ในรูปของสารสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์แล้ว นอกจากนั้นยังมีการเตรียมตำรับสมุนไพรในรูปแบบหรือลักษณะต่างๆ เพื่อความสะดวกต่อการนำไปประยุกต์ใช้ เช่น ครีม แคปซูล เจลและเม็ด เป็นต้น ตลอดจนยังมีการวิจัยสมุนไพรหลายชนิดในเชิงวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับการออกฤทธิ์ในการรักษา และนำมาใช้รักษาโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพเช่นเดียวกับยาแผนปัจจุบัน โดยฤทธิ์ส่วนใหญ่ที่มีการนำมาใช้ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง แก้เบาหวาน ชะลอความแก่ชรา สารต้านแบคทีเรีย รา และสารไล่แมลงศัตรูพืช เช่น ผลิตภัณฑ์ Taxol และสารสกัดจากสาหร่ายทะเลเพื่อใช้ต้านมะเร็งและผลิตภัณฑ์สมุนไพรหลายชนิดใช้เป็นยาบำรุงกำลัง เสริมสร้างความแข็งแกร่งทำให้ร่างกายกระปรี้กระเปร่า ตลอดจนเสริมสมรรถภาพทางเพศ ที่ใช้รับประทาน ได้แก่ กวาวเครือ แปะก๊วย ลูกยอ และอื่นๆ ผลิตภัณฑ์ที่ใช้เป็นเครื่องสำอางทาผิวหนัง ได้แก่ พลูและขมิ้นชัน นอกจากนี้ยังมีสมุนไพรที่ใช้ไล่หรือกำจัดแมลงศัตรูพืช เช่น ดาวเรือง ขมิ้นชัน กระเทียม เป็นต้น โดยสมุนไพรที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นสมุนไพรที่มีการใช้กันมาอย่างต่อเนื่องเป็นเวลายาวนานชั่วลูกชั่วหลานหลายช่วงอายุคน ดังที่ปรากฏในตำรายาพื้นบ้าน รวมทั้งเป็นสมุนไพรที่มีการรายงานในบทความวิจัยต่างๆ ขณะนี้ยิ่งมีการศึกษาวิจัย เพื่อพัฒนาและค้นหาผลิตภัณฑ์ที่สำคัญจากสมุนไพรเพิ่มมากขึ้น เพื่อนำมาใช้รักษาโรคต่างๆ ให้กับทั้งกับ

มนุษย์ สัตว์และพืชเศรษฐกิจ เพื่อลดการนำเข้ายาหรือสารเคมีจากต่างประเทศที่มีราคาแพง ตกค้างในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลานาน เป็นอันตรายทั้งต่อผู้ผลิต ผู้บริโภค สัตว์และพืชเศรษฐกิจ ตลอดจนยังให้ผลในการรักษาที่ยังไม่เป็นที่น่าพอใจ เพราะเกิดการดื้อต่อยา (Multidrug-Resistant; MDR) ในเวลาต่อมาอีกด้วย

ในแต่ละปีประเทศไทยส่งออกพืชผักไปยังสหภาพยุโรปหรืออียูในปริมาณมาก แต่ตั้นปี 2554 พืชผักไทย 5 กลุ่ม 16 ชนิด คือ กลุ่มที่ 1) กลุ่มพืช Ocimum spp. (กะเพรา โหระพา แมงลัก ยี่หร่า) 2) กลุ่มพืช Capsicum (พริกหยวก พริกซีฟ้า พริกขี้หนู) 3) กลุ่มพืช Solannum melongena (มะเขือเปราะ มะเขือยาว มะเขือม่วง มะเขือเหลือง มะเขือขาว มะเขือขื่น) 4) กลุ่มพืช Mormordica charantia (มะระจีน มะระขี้นก) และ 5) กลุ่มพืช Eryngium foetidum (ผักชีฝรั่ง) อียูตรวจพบสารเคมีตกค้าง จุลินทรีย์ และศัตรูพืช และยังแจ้งว่าตลอดเวลาที่ผ่านมาได้ตรวจพบศัตรูพืชในพืชผักของไทยที่ส่งออกไปอียูเฉลี่ยประมาณ 50-60 ครั้งต่อปี นอกจากนี้การปลูกพืชอื่นๆ ก็ยังมีปัญหาทั้งเรื่องราคาไม่เป็นธรรมและประสบปัญหาภัยแล้งหรือน้ำท่วม ตลอดจนโรคหรือแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆ เช่น ข้าวเกิดปัญหาเพลี้ยกระโดด มันสำปะหลังถูกทำลายจากเพลี้ยแป้ง ยางพาราเกิดการระบาดของเชื้อราหลายชนิดตั้งแต่ขั้นตอนการปลูกจนถึงการผลิตเป็นยางแผ่น เป็นต้น

มะนาวเป็นพืชผักสวนครัวที่อยู่คู่คนไทยมานานจนแทบขาดไม่ได้ทุกครัวเรือน ดังนั้นมะนาวจึงจัดเป็นหนึ่งพืชเศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทย มะนาวเป็นพืชตระกูล Rutaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Citrus aurantifolia Swingle มะนาวมีบทบาทต่อชีวิตประจำวันของมนุษย์มาช้านานแล้ว และนับวันจะทวีความสำคัญยิ่งขึ้นเรื่อยๆ เพราะว่าคนไทยเรานิยมใช้มะนาวสำหรับปรุงอาหารเป็นประจำ ส่วนชาวต่างชาตินอกจากจะใช้ปรุงอาหารแล้วยังใช้คั่นน้ำเป็นเครื่องดื่มซึ่งเป็นที่นิยมกันมาก (เพื่อนเกษตร.com. 2555) การบริโภคมะนาวยังทำให้ได้รับสารต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันมะเร็ง เบาหวาน ชลอความแก่และป้องกันโรคอื่นๆ นอกจากนี้ในทางอุตสาหกรรมยังใช้สารสกัดน้ำมันจากผิวมะนาวเพื่อทำเครื่องสำอางและผสมยารักษาโรคบางชนิด ปัจจุบันนี้มะนาวสามารถปลูกได้ทุกภาคทั่วประเทศทำรายได้ให้กับเกษตรกรไม่น้อย แต่การปลูกมะนาวก็กำลังประสบปัญหาการระบาดของเชื้อแบคทีเรีย (Xanthomonas campestris pv. Citri (Hasse) Dye) ทำให้เกิดโรคแคงเกอร์ ส่งผลให้พื้นที่ปลูกมะนาวที่เคยมีเป็นแสนๆ ไร่ ลดลงปีละกว่าสองพันไร่ (รายการเกษตรทำเงิน. 2555) อย่างไรก็ตามประเทศของเรายังมีข้อได้เปรียบด้านความอุดมสมบูรณ์ของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ และความหลากหลายทางชีวภาพซึ่งเป็นที่ประจักษ์อยู่แล้ว ดังนั้นคณะผู้วิจัยต้องการที่จะหาวิธีการแก้ปัญหาโรคแคงเกอร์มะนาว รวมทั้งพืชตระกูลส้มอื่นๆ โดยการนำสมุนไพรที่มีมากในท้องถิ่น มาทำการสกัดเพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Biological activities) และการค้นหาสารต้นแบบ (lead compound) จากสมุนไพรหนอนตายอยาก (Stemona collinsae Craibr) เพื่อนำไปใช้ในแก้ปัญหาให้กับกลุ่มเกษตรกรที่ปลูก

มะนาวและพืชตระกูลส้มที่ระบาดอย่างรุนแรงอยู่ในขณะนี้ รวมทั้งศึกษาหาแนวทางการผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.3.1 เพื่อให้ได้สารสกัดจากสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านโรคแคงเกอร์ของมะนาวให้กับชุมชน

1.3.2 เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดกับสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตและน้ำหมักชีวภาพผสม B. cereus

1.4 แผนการวิจัย

1.4.1 ประชุมหาแนวทางการแก้ปัญหาโรคแคงเกอร์มะนาวร่วมกับชุมชน

1.4.2 ดำเนินการเก็บหัวของพืชสมุนไพรหนอนตายหยากให้ถูกต้องตามหลักวิชาการแล้วนำมาดำเนินการสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ เช่น Hexane, dichloromethane,Ethyl acetate, methanol และ Ethanol เป็นต้น

1.4.3 ศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของสารที่สกัดได้ เช่น การละลายในตัวทำละลายต่างๆ สีของสารสกัด ลักษณะของผงหรือผลึก

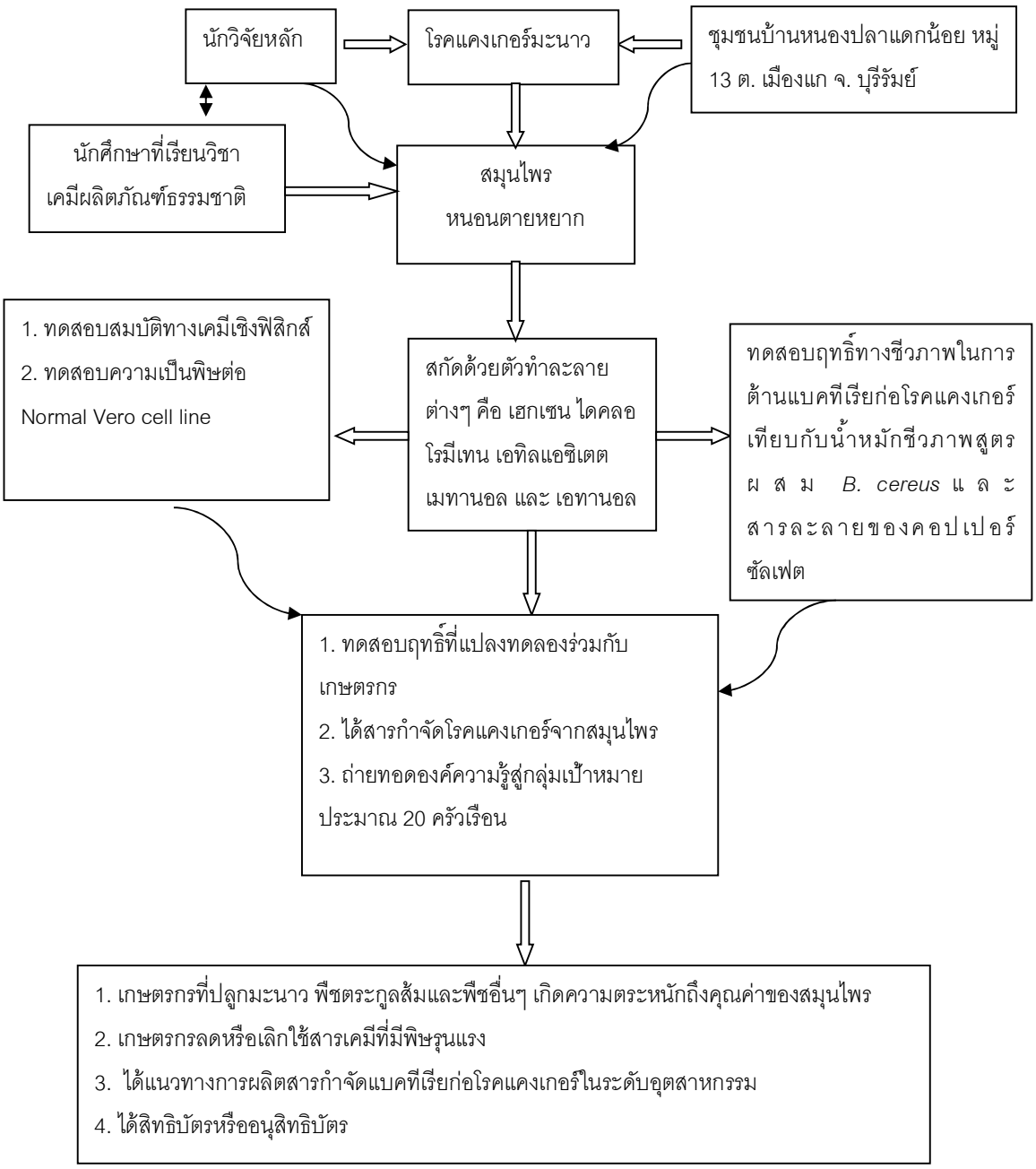
1.4.4 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบที่ได้จากตัวทำละลายตามข้อที่ 1.4.2 พร้อมทั้งศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพกับสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตและน้ำหมักชีวภาพสูตรผสม B. cereus

1.4.5 ดำเนินการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ เพิ่มเติม เช่น การต้านอนุมูลอิสระ, anti-bacterial activities ตลอดจน cytotoxicity ต่อ Normal Vero cell line

1.4.6 เก็บรวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ และเขียนรายงานเพื่อนำเสนอและเผยแพร่ต่อไป

1.4.7 เขียนบทความ ตรวจสอบความถูกต้องด้านเนื้อหา และภาษาที่ใช้จากผู้เชี่ยวชาญ

1.5 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย:



1.6 ขอบเขต /แผนงานวิจัย

1.6.1 ลงพื้นที่ประชุมหาแนวทางแก้ปัญหาโรคแคงเกอร์มะนาวร่วมกับชุมชน

1.6.2 เก็บสมุนไพรหนอนตายหยากร่วมกับชุมชน บ้านหนองปลาแดกน้อย หมู่ 13 ต. เมืองแก จ. บุรีรัมย์

1.6.3 สำรวจเอกสาร เครื่องมือ สั่งซื้อสารเคมี

1.6.4 นำหัวสมุนไพรหนอนตายหยาก (Stemona collinsae Craibr) มาทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย เริ่มจากตัวทำละลายไม่มีขั้ว (Non-polar) ไปถึงมีขั้วมาก ได้แก่ เฮกเซน ไคคลอโรมีเทน เอทิลแอซิเตต เมทานอล และเอทานอล ตามลำดับ

1.6.5 เตรียมน้ำหมักสมุนไพรชีวภาพจากต้นกล้วยอ่อนสูตรผสม แบคทีเรีย B. *cereus*

1.6.6 เตรียมสารละลายของคอปเปอร์ซัลเฟต โดยใช้สารละลายในข้อ 1.5.5 และ 1.6.6 ใช้เป็น Positive control

1.6.7 ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (Physicochemical properties) เช่น การละลาย UV-Vis spectroscopy, Melting point เป็นต้น ของสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายแต่ละชนิดในข้อ 1.6.4

1.6.8 รายงานความก้าวหน้า

1.6.9 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านแบคทีเรียก่อโรคแคงเกอร์ด้วยเทคนิค Agar disc diffusion method (Sharma, Sreela and Ramasare, 2007, Sommai Patitungkho, 2010) รวมทั้งผลที่มีต่อเซลล์ปกติ (Normal Vero cell line) เพื่อให้ทราบถึงระดับของปริมาณที่ใช้แล้วไม่เป็นพิษต่อมนุษย์ โดยมีนักวิจัยจากชุมชนเข้าร่วมทดสอบด้วย

1.6.10 ทดสอบฤทธิ์ของน้ำหมักชีวภาพสูตรผสม B. *cereus* และสารละลายของคอปเปอร์ซัลเฟตต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคแคงเกอร์ในห้องทดลองร่วมกับชุมชนบ้านหนองปลาแดกน้อย หมู่ 13 ตำบลเมืองแก จังหวัดบุรีรัมย์

1.6.11 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ของสารสกัดในข้อ 1.6.9 และ positive control ในข้อ 1.6.10

1.6.12 ทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียก่อโรคแคงเกอร์ที่แปลงทดลอง ร่วมกับเกษตรกร

1.6.13 ถ่ายทอดเทคนิคการใช้สารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากต้านแบคทีเรียก่อโรคแคงเกอร์ของมะนาวและพืชตระกูลส้มสู่เกษตรกรกลุ่มเป้าหมายชุมชนบ้านหนองปลาแดกน้อย หมู่ 13 ตำบลเมืองแก จังหวัดบุรีรัมย์

1.6.14 เตรียมต้นฉบับ (Manuscript preparation) เพื่อตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติ หรือเตรียมจดสิทธิบัตรหรืออนุสิทธิบัตร

1.6.15 ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.7.1 ได้เทคนิคการสกัด และการทำให้สารที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์

1.7.2 ได้สารสกัดจากสมุนไพรหนอนตายหยาก

1.7.3 ได้ทราบสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของสารที่สกัดได้จากพืชสมุนไพร

1.7.4 ทราบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดและได้สารต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคแคงเกอร์

1.7.5 ได้แนวทางการพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ เพื่อนำไปใช้ในการป้องกันและรักษาโรคของพืชเศรษฐกิจต่อไป

1.7.6 เกษตรกรกลุ่มปลูกมะนาว ชุมชนบ้านหนองปลาแดกน้อย หมู่ 13 ตำบลเมืองแก จังหวัดบุรีรัมย์ อย่างน้อย 20 ครัวเรือน และเกษตรกรที่ปลูกมะนาว รวมทั้งพืชตระกูลส้มอื่นๆ ทั่วประเทศได้รับประโยชน์

1.7.7 วารสารที่จะตีพิมพ์: Bioorganic Medicinal Chemistry (BMC) หรือ Bioorganic Medicinal Chemistry Letters (BMC Letters) หรือวารสารอื่นๆ ที่มีค่า Impact factor สูง

1.7.8 นักศึกษาที่เรียนวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติได้มีส่วนร่วมและเห็นคุณค่าของวิชา

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 บทนำ

ในบทที่ 2 ขอเสนอทฤษฎี เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

1) การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพร (Preparation of Raw materials)

2) การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร

3) น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย

4) การเลือกน้ำยาสกัด

5) วิธีการสกัด

6) สมุนไพรหนอนตายหยาก

7) โรคแคงเกอร์ในมะนาว

8) งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.2 การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพร (Preparation of Raw materials)

ปริมาณสารสำคัญในสมุนไพรขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ เช่น ฤดูกาลเก็บเกี่ยว ระยะเวลาที่เก็บพืช สภาพดิน สภาพอากาศ ปริมาณน้ำ ชนิดและปริมาณสัดส่วนของปุ๋ยและอาหารเสริม เป็นต้น ฤดูกาลที่เก็บพืชสมุนไพรมีความสำคัญต่อปริมาณและชนิดขององค์ประกอบสำคัญในพืช สมุนไพรควรเก็บในฤดูกาลและระยะเวลา (อายุ) ที่มีปริมาณองค์ประกอบสำคัญสูงสุดในส่วนของพืชที่ต้องการอายุของพืชเป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดปริมาณและชนิดขององค์ประกอบสำคัญที่ผลิตขึ้น โดยทั่วไปหลักการเก็บส่วนต่าง ๆ ของพืชสมุนไพรมีดังนี้

1) รากและเหง้า เก็บหลังจากที่พืชเจริญเติบโตเต็มที่แล้วและหยุดการเจริญเติบโตหากเป็นพืชล้มลุกควรเก็บเมื่อต้นตาย

2) เปลือกต้น เก็บในระยะเวลาที่เหมาะสม เช่น เปลือกต้นชงโค (Cinchona) เก็บเมื่อต้นมีอายุ 3-9 ปี

3) ใบและยอด เก็บก่อนที่พืชจะออกดอกหรือก่อนที่ดอกจะบาน

4) ดอก เก็บขณะที่ดอกกำลังจะบานหรือก่อนถึงเวลาผสมเกสร

5) ผล เก็บเมื่อผลเจริญเติบโตเต็มที่ แต่ยังไม่สุกหรือเมื่อสุกเต็มที่ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชสมุนไพร

6) เมล็ด เก็บเมื่อแก่เต็มที่แล้ว แต่ควรเก็บก่อนที่ผลจะแตกออก

ตัวอย่างที่แสดงให้เห็นความสำคัญของระยะเวลาการเก็บเกี่ยวต่อคุณภาพของสมุนไพร เช่น การเก็บเกี่ยวฝักมะขามแขก ควรเก็บฝักอ่อน ซึ่งเป็นระยะที่มีเมล็ดใส ๆ อายุราว 21-23 วัน

หากเมล็ดเจริญเต็มที่จนแก่ น้ำหนักของเมล็ดจะเพิ่มขึ้นและมีปริมาณสารสำคัญเซนโนไซด์ (Sennoside) ลดลงหรือดอกไพรีทรัม (Pyrethrum) ถ้าเก็บเมื่อดอกยังตูม จะให้องค์ประกอบที่มีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุด หากเก็บเมื่อดอกเริ่มบานหรือบานเต็มที่ องค์ประกอบดังกล่าวลดลงเกือบเท่าตัว เป็นต้นพืชสมุนไพรที่เก็บเกี่ยวได้ต้องทำการตรวจสอบว่าไม่มีพืชอื่นหรือสารอื่นปะปน เนื่องจากอาจรบกวน (Interfere) การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญในขั้นตอนต่อไป นอกจากนี้ควรสะอาด ปราศจากสิ่งปนปลอม ไม่มีเชื้อราหรือโรคพืชติดมา เนื่องจากจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคพืชอาจให้สารที่ถูกสกัดออกมาพร้อมกับสารที่ต้องการหรือจุลินทรีย์เหล่านี้อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการชีวสังเคราะห์ (Biosynthesis) ในพืชได้สารที่แตกต่างออกไปจากธรรมชาติ

โดยทั่วไปแล้วการสกัดจะได้ผลดีเมื่อสามารถสกัดสารจากพืชสด โดยนำเอาพืชสดมาต้มกับแอลกอฮอล์เพื่อฆ่าเอนไซม์ (Enzyme) ก่อน ป้องกันไม่ให้สารเคมีในพืชเกิดการเปลี่ยนแปลงแล้วจึงนำไปสกัดหรืออาจนำพืชสดแช่ในแอลกอฮอล์ระหว่างที่ยังไม่ได้สกัด แต่วิธีการดังกล่าวไม่สะดวก จึงจำเป็นต้องนำเอาตัวอย่างพืชสดมาทำให้แห้งก่อน เพื่อรักษาคุณภาพของสมุนไพรให้ดีที่สุดก่อนทำการสกัด และเพื่อป้องกันการบูดเสียเนื่องจากจากเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้การทำให้แห้งยังช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่อยู่ในพืชสด จึงควรทำให้แห้งด้วยวิธีที่เร็วและใช้อุณหภูมิต่ำเพราะอุณหภูมิที่สูงจะทำให้สารสำคัญสลายหรือเปลี่ยนแปลงได้ การทำให้แห้งอาจใช้แสงแดดหรือความร้อนจากเครื่องมือช่วย วิธีหลังมีข้อดีกว่าเนื่องจากมีการควบคุมอุณหภูมิและความร้อนสม่ำเสมอของการหมุนเวียนของอากาศได้ ควรทำให้พืชสมุนไพรแห้งเร็วที่สุดหลังจากเก็บเกี่ยวมาแล้ว พืชที่มีน้ำมันหอมระเหยจะสูญเสียองค์ประกอบไปถ้าไม่กลั่นทันที แต่มีบางกรณีสามารถใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ในพืชได้ เช่น ฝักวานิลลา (Vanilla pod) จะต้องทำให้แห้งอย่างช้าๆ ที่อุณหภูมิปานกลางเพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ไปเป็นวานิลลิน (Vanillin)

2.3 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปการสกัดเบื้องต้นไม่ว่าจะสกัดด้วยวิธีการใดหรือใช้ตัวทำละลายใด ก็จะได้องค์ประกอบเป็นของผสมหรือสารสกัดหยาบ (Crude extract) ซึ่งเป็นสิ่งที่สกัดออกมาจากสมุนไพรโดยใช้น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย (Solvent) สารสกัดหยาบนี้เป็นของผสมขององค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรซึ่งจะมีทั้งองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (Pharmacologically active constituents) ซึ่งมักเรียกว่าสารสำคัญ (Active constituents) และองค์ประกอบที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (Pharmacologically inactive constituents) ซึ่งเรียกว่าสารเฉื่อย (Inert substances) ชนิดและสัดส่วนขององค์ประกอบในสารสกัดจะแปรเปลี่ยนไปตามสภาพของสมุนไพรที่ใช้และสภาวะที่ใช้ในการสกัด วัตถุประสงค์การสกัดพืชสมุนไพร คือ

1. เพื่อสกัดแยกเอาสารสำคัญออกจากพืชสมุนไพร
2. เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นของสารสำคัญสูง
3. เพื่อลดขนาด (Dose) ของการใช้สมุนไพรลงให้อยู่ในปริมาณที่เหมาะสม

2.4 น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย

ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการเตรียมสารสกัด ได้แก่ น้ำ (Water) แอลกอฮอล์ (Alcohol) หรือสารละลายผสมของสารละลายทั้ง 2 ชนิดนี้ นอกจากนี้อาจใช้กรด ด่าง เติมลงในน้ำยาสกัดเพื่อปรับความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาสกัดให้เหมาะสมยิ่งขึ้น ส่วนสารละลายชนิดอื่นๆ เช่น อีเทอร์ (Ether) คลอโรฟอร์ม (Chloroform) มีใช้บ้างเฉพาะกรณีน้ำ จัดเป็นตัวทำละลายที่ดี หาง่ายและราคาถูก แต่การใช้น้ำอย่างเดียวเป็นตัวทำละลายในการสกัดพืชสมุนไพรมีข้อเสียหลายประการ คือ สามารถละลายองค์ประกอบที่ไม่ต้องการออกมาได้มากเช่นเดียวกับสารสำคัญที่ต้องการ สารเฉื่อยที่ออกมาจากน้ำ เช่น น้ำตาล แป้ง ล้วนเป็นอาหารที่ดีของเชื้อจุลินทรีย์ จึงทำให้เกิดการบูดเสียของสารสกัดเนื่องจากจุลินทรีย์ได้ ถ้าไม่ใส่สารกันบูด (Preservative) นอกจากนี้น้ำระเหยได้ที่อุณหภูมิสูง ถ้าต้องการให้สารสกัดในน้ำเข้มข้นจะต้องใช้อุณหภูมิสูงในการระเหยไล่น้ำออกไป ซึ่งอาจจะเกิดความเสียหายกับสารสำคัญได้ ดังนั้นจึงไม่ค่อยนิยมใช้น้ำเดี่ยวๆ เป็นน้ำยาสกัด แต่ใช้ร่วมกับตัวทำละลายอื่นๆ เช่น แอลกอฮอล์หรือกรด หากเติมกรดเล็กน้อยลงในน้ำ (Acidified water) ใช้สกัดองค์ประกอบสำคัญในพืชสมุนไพรที่มีองค์ประกอบสำคัญเป็นสารประกอบแอลคาลอยด์ ส่วนน้ำที่เติมด่างลงไปเล็กน้อย (Alkanised water) จะใช้สกัดพืชสมุนไพรบางชนิด เช่น เปลือกคาสคารา (Cascara bark) เป็นต้น แอลกอฮอล์จัดเป็นตัวทำละลายที่ดีมากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำ เพราะแอลกอฮอล์มีข้อดีกว่าดังนี้ 1) มีความจำเพาะ (Selectivity) ในการละลายมากกว่าน้ำ 2) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ 3) หากต้องการทำให้สารสกัดเข้มข้นจะระเหยได้ง่าย

น้ำยาผสมแอลกอฮอล์ (Hydro alcoholic mixture) เป็นน้ำยาสกัดที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากสามารถละลายสารสำคัญในพืชสมุนไพรได้ใกล้เคียงกับแอลกอฮอล์ แต่ราคาถูกกว่า และยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียอีกด้วย นอกจากนี้การใช้น้ำยาผสมแอลกอฮอล์ ยังช่วยป้องกันการแตกตัวของสารต่างๆ ในสารสกัดเมื่อตั้งทิ้งไว้ ซึ่งมักเกิดขึ้นในกรณีที่ใช้น้ำอย่างเดียวในการสกัด

นอกจากน้ำยาสกัดที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ตัวทำละลายอินทรีย์ก็อาจใช้ในการสกัดพืชสมุนไพรได้ เช่น เฮกเซน (Hexane) และปิโตเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether) ใช้สกัดพืชสมุนไพรในขั้นต้นเพื่อขจัดสารพวกไขมันออกไปก่อนที่จะทำการสกัดสารสำคัญ แต่ต้องระเหยเอาน้ำยาสกัดเหล่านี้ออกไปจนหมดก่อนการสกัดขั้นตอนต่อไป ตัวทำละลายเหล่านี้นิยมใช้สกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้ว (Non polar component) เช่น ไขมัน (Lipids) สเตียรอยด์ (Steroids) เทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) คลอโรฟอร์ม (Chloroform) และอีเทอร์ (Ether) จัดเป็นตัวทำ

ละลายที่มีขั้ว (Polarity) ปานกลาง ใช้สกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้ว (Non-polar component) ไปจนถึงสารที่มีขั้วปานกลาง เมทานอล (Methanol) เป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญที่มีขั้ว (Polar active constituent) เช่นเดียวกับแอลกอฮอล์ แต่นิยมใช้แอลกอฮอล์มากกว่า เพราะราคาถูกกว่าและมีความเป็นพิษน้อยกว่า

2.5 การเลือกน้ำยาสกัด

หลังจากการเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพรสำหรับการสกัดแล้วควรเลือกน้ำยาสกัดให้เหมาะสมกับชนิดของสารที่ต้องการสกัด โดยน้ำยาสกัดดังกล่าวมีสมบัติดังนี้

1) มีความสามารถในการละลายสารสำคัญมากที่สุดและไม่ละลายหรือละลายองค์ประกอบอื่นๆ ได้น้อย (Selectivity) เนื่องจากสารสำคัญมากที่สุดและไม่ละลายหรือละลายองค์ประกอบอินทรีย์ ซึ่งอาจมีโครงสร้างสลับซับซ้อนมากน้อยต่างกันและมีอยู่ในพืชทั้งสภาพอิสระและรวมตัวกับสารอื่นๆ ในสภาพเกลือหรือสารเชิงซ้อน ดังนั้นควรพิจารณาถึงสภาพหรือรูปแบบของสารสำคัญที่ต้องการสกัด นอกเหนือจากความมีขั้วของสารสำคัญดังกล่าว ในการเลือกน้ำยาสกัดมีกฎทั่วไปว่า สิ่งที่เหมือนกันย่อมละลายซึ่งกันและกัน (Like dissolve like) เช่น สมบัติสารสำคัญมีขั้วก็ควรเลือกตัวทำละลายหรือน้ำยาสกัดที่มีขั้วเช่นเดียวกันในการสกัด มีความคงตัวและหาง่าย ราคาถูก ไม่เป็นพิษต่อร่างกายไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป

2) สภาพของพืชสมุนไพรที่ทำการสกัด เช่น เมล็ด เป็นส่วนที่มีไขมันอยู่มาก ควรขจัดไขมันพวกนี้ออกก่อนโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ประเภทไม่มีขั้ว เช่น ปิโตเลียมอีเทอร์ เป็นต้น แล้วจึงนำกากต้นพืชที่เหลือไปสกัดต่อด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม

2.6 วิธีการสกัด

มาเซอเรชัน (Maceration) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยวิธีการหมักสมุนไพรกับน้ำยาสกัดจนกระทั่งเนื้อเยื่อของสมุนไพรอ่อนนุ่นและน้ำยาสกัดสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในผงสมุนไพรออกมาได้

การหมักสมุนไพรควรทำในภาชนะที่มีฝาปิดสนิทในน้ำยาสกัดที่เหมาะสม จะทำเป็นเวลา 7 วัน หรือตามกำหนดในเภสัชตำรับหรือจนกระทั่งองค์ประกอบที่ต้องการละลายออกมาหมด ในระหว่างที่หมักผงสมุนไพรอยู่นั้นควรเขย่าหรือคนเป็นครั้งคราวเพื่อเพิ่มอัตราเร็วของการสกัด เมื่อครบกำหนดเวลาจึงกรอง แยกกาก (Marc) ออกจากน้ำยาสกัด วิธีการสกัดนี้เหมาะสมกับพืชสมุนไพรที่มีโครงสร้างหรือเนื้อเยื้อที่ไม่แข็งแรงนัก เช่น ใบ ดอก ซึ่งทำให้อ่อนนุ่นได้ง่าย จัดเป็นวิธีที่ใช้สารสกัดน้อย จึงประหยัด และเนื่องจากเป็นวิธีการที่ไม่ใช้ความร้อนจึ่งเหมาะสมกับการสกัดสารที่ไม่ทนต่อความร้อน แต่วิธีการสกัดนี้มักจะไม่สมบูรณ์เนื่องจากไม่ค่อยมีการเคลื่อนที่ของน้ำยาสกัด เมื่อสารในสมุนไพรละลายออกมาถึงระดับหนึ่งจะเกิดความสมบูรณ์ขององค์ประกอบภายในของสมุนไพรของน้ำยาสกัด เมื่อสารในสมุนไพรละลายออกมาถึงระดับ

หนึ่งจะเกิดความสมดุลขององค์ประกอบภายในสมุนไพรและน้ำยาสกัดที่ใช้ ทำให้อัตราเร็วของการสกัดช้าลง จึงไม่เหมาะที่จะใช้สกัดในกรณีที่ต้องการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรจนสมบูรณ์

เนื่องจากวิธีการสกัดแบบมาเซอเรชันช้า ใช้เวลานาน จึงมีผู้ดัดแปลงใช้มิกเซอร์ (Mixer) หรือโฮโมจีไนเซอร์ (Homogenizer) มาช่วยทำให้เซลล์พืชแตกออกก่อนทำการสกัด เพื่อย่นระยะเวลาการสกัด ต่อมาพัฒนาการใช้เสียงที่มีความถี่สูงเกิน 20,000 เฮิรตซ์ ร่วมในการสกัด เรียกวิธีนี้ว่า การสกัดอัลตราซาวน์ (ultrasound extraction) แต่วิธีหลังนี้อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำไปเป็นเพอร์ออกไซด์ (Peroxide) ซึ่งอาจมีผลต่อการสกัด นอกจากนี้อาจเกิดผลต่อปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (Oxidation) ต่อสารโดยตรง เพราะขณะที่ใช้สารสกัดอัลตราซาวน์ทำให้เกิดช่องว่างและมีอากาศแทรกเข้าไปในตัวทำละลาย

เพอร์โคเลชัน (Percolation) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรโดยการปล่อยให้น้ำยาสกัดไหลผ่านผงสมุนไพรอย่างช้าๆ พร้อมกับละลายเอาองค์ประกอบจากผงสมุนไพรออกมา โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า เพอร์โคเลเตอร์ (Percolator)

วิธีการทำเพอร์โคเลชั่น คือ นำผงสมุนไพรมาหมักกับตัวทำละลายก่อน 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่แล้วๆ บรรจุผงยาทีละชั้นลงในเพอร์โคเลเตอร์ ซึ่งมีลักษณะเป็นคอลัมน์ (Colomn) ปลายเปิดทั้ง 2 ด้าน โดยด้านบนจะกว้างกว่าด้านล่าง เพื่อความสะดวกในการบรรจุผงสมุนไพร ส่วนปลายด้านล่างปิดเปิดได้ เพื่อให้สามารถควบคุมอัตราการไหลของสารสกัดหรือเพอร์โคเลตจาก เพอร์โคเลเตอร์ได้ เติมตัวทำสารละลายหรือน้ำยาสกัดลงไปให้ระดับน้ำยาสกัดสูงเหนือสมุนไพร (Solvent head) ประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงปล่อยให้น้ำยาสกัดไหลผ่านผงสมุนไพรในอัตราเร็วที่พอเหมาะ พร้อมกับเติมน้ำยาสกัดใหม่ลงไปเรื่อยๆ อย่าให้แห้งกับเพอร์โคเลตจนการสกัดสมบูรณ์โดยการตรวจสอบจากเพอร์โคเลตส่วนสุดท้าย นำเพอร์โคเลตที่เก็บได้ทั้งหมดรวมกันนำไปกรอง

วิธีเพอร์โคเลชันจัดเป็นวิธีการสกัดที่ดีสำหรับการสกัดสารจากสมุนไพรแบบสมบูรณ์และไม่ต้องใช้ความร้อน แต่วิธีนี้มีข้อเสีย คือ เปลืองน้ำยาสกัดและใช้เวลาในการสกัดนาน ดังนั้นจึงมีการดัดแปลงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารจะใช้เพอร์โคเลเตอร์ต่อกันหลายตัว และให้มีการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายเข้าหากัน

การสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous extraction) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรทำนองเดียวกับเพอร์โคเลชัน แต่ต้องใช้ความร้อนเข้าช่วยและใช้ซอกซ์เลตเอกซ์แทรกเตอร์ (Soxhlet extractor) ซึ่งเป็นระบบปิด โดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำ เมื่อได้รับความร้อนจาก ฮีทติงแมลเทิล (Heating mantle) น้ำยาสกัดในภาชนะระเหยขึ้นไปแล้วกลั่นตัวลงมาในทิมเบิล (Thimble) ซึ่งบรรจุสมุนไพรไว้ น้ำยาสกัดจะผ่านสมุนไพรซ้ำแล้วซ้ำอีกไปเรื่อยๆ จนกระทั่งองค์ประกอบในสมุนไพรถูกสกัดออกมา เมื่อน้ำยาสกัดในเอกซ์แทรกติงแซมเบอร์ (Extracting chamber) สูงถึงระดับจะเกิดการลักน้ำ สารสกัดจะไหลกลับลงไปในภาชนะวนเวียนอย่างนี้จนสารสกัดสมบูรณ์ วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องนี้เหมาะสำหรับการสกัดองค์ประกอบที่ทน

ต่อความร้อนและใช้น้ำยาสกัดน้อย ไม่สิ้นเปลือง แต่ไม่เหมาะที่จะใช้กับองประกอบที่ไม่ทนต่อความร้อนและน้ำยาที่ใช้ไม่ควรเป็นของผสม เพราะจะเกิดการแยกตัวของสารละลายแต่ละชนิดเนื่องจากมีจุดเดือดต่างกัน จะมีผลให้สัดส่วนของน้ำยาสกัดแตกต่างไปจากเดิมและผลการสกัดไม่ดีเท่าที่ควร

2.7 สมุนไพรหนอนตายหยาก

จากบทสัมภาษณ์นักวิชาการเกษตร (สัมภาษณ์ ศรีสมัย. ม.ป.ป. 1-3) สามารถนำเสนอความรู้เกี่ยวกับสมุนไพรหนอนตายหยากได้ดังนี้

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของหนอนตายหยาก

หนอนตายหยากแบ่งได้ 2 ชนิด คือ 1) หนอนตายหยากเล็ก 2) หนอนตายหยากใหญ่

ชื่อสามัญ : หนอนตายหยากเล็ก กะเพียดหนู โป่งมดง่าม สลอดเชียงคำ (อีสานโบราณ)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : Stemona tuberose Lour.

วงศ์ : Stemmonaceae

ลักษณะ

1) เป็นไม้เถา เถากลมเล็กเรียวสีเขียว พาดพันต้นไม้อื่น

2) ในรูปหัวใจ เส้นใบวิ่งตามยาวราว 10 เส้น ผิวและขอบเรียบ สีเขียวเข้ม

3) มีหัวเป็นแท่งกลมยาว ขนาดนิ้วมือเป็นกระจุก

4) ดอกตูมเป็นรูปเหมือนเงินราง สีเขียวอมเหลือง บานออกเป็นสีแดงเข้ม หรือขาว

5) ฝักขนาดหัวแม่มือ คล้ายลูกรักบี้ ยาว 3-4 ซม. กว้าง 1.5-2 ซม. ฝักอ่อนสีเขียว ฝักแก่สีน้ำตาลเข้ม จะแตกเมื่อแห้ง แต่ละฝักมี 20-30 เมล็ด ที่ขั้วเมล็ดมีขนปุยอ่อนพยุงเมล็ดให้ลอยตามลม

ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ คือ ราก (หัว) รสเมาเบื่อ

1) ใช้ปรุงยารับประทาน

2) แก้โรคผิวหนัง น้ำเหลืองเสีย ผื่นคันตามร่างกาย

3) ฆ่าเชื้อโรคพยาธิภายใน

4) ตำผสมน้ำเอาน้ำพอกทาฆ่าหิด เหา แมลง หนอนศัตรูพืช

5) ต้มกับยาฉุน รมหัวริดสีดวงให้ฝ่อแห้งไป

หนอนตายหยากใหญ่

ชื่อสามัญ : หนอนตายหยากใหญ่ ปงช้าง กะเพียดช้าง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : Stemona collinsae Craibr.

วงศ์ : Stemmonaceae

ลักษณะ

1) เป็นไม้เถา ขณะต้นเล็กจะตั้งตรง เมื่อสูงขึ้นมากๆ จะพาดพันต้นไม้อื่น

2) ใบรูปหัวใจ ปลายเรียวกว่าหนอนตายหยากเล็ก ใบโตและยาวกว่า

3) เส้นใบวิ่งตามยาว ประมาณ 15 เส้น สีเขียวอ่อนกว่าเล็กน้อย

4) รากเป็นหัวเก็บอาหารกลมยาวเป็นพวง ดอกและผลเหมือนหนอนตายหยาก-เล็ก เกิดตามป่าดงดิบเขา ป่าเบญจพรรณทั่วไป

5) ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ คือ ราก (หัว) รสเมาเบื่อ

1) ใช้ปรุงยารับประทาน

2) แก้โรคผิวหนัง ผื่นคัน น้ำเหลืองเสีย

3) รมหัวริดสีดวง

4) ฆ่าหิด เหา

5) ตำผสมน้ำฆ่าแมลงศัตรูพืช

การขยายพันธุ์

1) โดยการเพาะเมล็ดและใช้เหง้าปักชำ

การเพาะเมล็ด

1) ในสภาพธรรมชาติเป็นไปได้ช้า เนื่องจากจำนวนฝักและเมล็ดมีน้อย และหนูชอบกิน

2) ความงอกของเมล็ดไม่ดี การเจริญเติบโตจากเมล็ดเป็นไปได้ช้า ต้องใช้เวลาประมาณ 2 ปี จึงจะเริ่มให้หัวและนำมาใช้ประโยชน์ได้

การใช้เหง้าปักชำ

1) ใช้เหง้าที่อายุเกิน 2 ปี เลือกให้มีหัวติดเหง้าด้วย 2-3 หัว หลังปลูกได้ 1 ปี จะได้หัวเพิ่ม 4-6 หัว/หลุม

การดูแลรักษา

1) ปรับปรุงดินโดยการใช้ปุ๋ยอินทรีย์

การเก็บเกี่ยว

1) เก็บหัวโดยวิธีขุดแยก เก็บหัวออกจากเหง้า ทิ้งเหง้าให้ออกหน่อเจริญเติบโตในปีต่อไป

การเก็บรักษาหัว

1) หัวที่ขุดมาควรจะนำมาใช้ประโยชน์ทันที ไม่ควรเก็บไว้นาน เพราะหัวจะเริ่มคายน้ำเรื่อยๆ ประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ลดลง

การใช้ประโยชน์

ในประเทศจีน

1) ใช้รากหนอนตายหยากแช่เหล้านำเอาสารละลายที่ได้ใช้เป็นยาแก้ไอ
2) ใช้เป็นยาขับให้ผายลม (Carrminnative)
3) ยาขับพยาธิ (Anthelmintic)

ในอินโดจีน

1) มีผู้ใช้รากรักษาโรคไอวัณโรค (Phthisis) โรคเจ็บหน้าอก
2) มีผู้ใช้รับประทานเป็นยาฆ่าพยาธิในท้อง (Parasite)
3) ทำให้ยุงที่มากัดตายได้
4) ใช้รากหนอนตายหยากฆ่าหนอนบริเวณแผลของสัตว์ เช่น วัว ควาย
5) ฆ่าแมลง เหา ตัวเลือด หมัด
6) ชาวไร่ในจังหวัดจันทบุรี ใช้เป็นยาฆ่าแมลงที่รบกวนต้นพริกไทย
7) กองเภสัชกรรมได้ใช้รากสดๆ ของหนอนตายหยากทดลองกับตัวไรลูกน้ำ ทำให้เกิดอ่อนเปลี้ยและตายได้
8) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ทดลองยืนยันว่า รากหนอนตายหยากมีสรรพคุณทางยา ใช้เป็นสารกำจัดแมลงอย่างได้ผล
9) สามารถผลิตในเชิงอุตสาหกรรม ทดแทนสารเคมีฆ่าแมลงได้

ในประเทศไทย

1) มีผู้ใช้รับประทานเป็นยาฆ่าพยาธิในท้อง (Parasite)
2) ทำให้ยุงที่มากัดตายได้
3) ใช้รากหนอนตายหยากฆ่าหนอนบริเวณแผลของสัตว์ เช่น วัว ควาย
4) ฆ่าแมลง เหา ตัวเลือด หมัด
5) ชาวไร่ในจังหวัดจันทบุรี ใช้เป็นยาฆ่าแมลงที่รบกวนต้นพริกไทย
6) กองเภสัชกรรมได้ใช้รากสดๆ ของหนอนตายหยากทดลองกับตัวไรลูกน้ำ ทำให้เกิดอ่อนเปลี้ยและตายได้
7) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ทดลองยืนยันว่า รากหนอนตายหยากมีสรรพคุณทางยา ใช้เป็นสารกำจัดแมลงอย่างได้ผล

8) สามารถผลิตในเชิงอุตสาหกรรม ทดแทนสารเคมีฆ่าแมลงได้

วิธีใช้ประโยชน์ทางการเกษตร

1) ใช้เหง้าหนอนตายหยาก 10 กิโลกรัม กากน้ำตาล 10 กิโลกรัม ตะไคร้ทั้งต้น 5 กิโลกรัม ใบหูเสือ ใบสาบเสือ โดยนำส่วนผสมทั้งหมดมาบดให้ละเอียดโดยไม่ต้องใส่น้ำ หมักไว้ในภาชนะ เวลาใช้ให้ผสมกับน้ำ ฉีดพ่นในสวนส้ม ประมาณ 3 ครั้ง โดยกะอัตราส่วนผสมเอาเอง เวลาที่ใช้ยาหรือเวลาที่ให้น้ำห่างกันประมาณ 7 วัน เป็นอย่างน้อย แล้วจึงฉีดพ่นผสมกับน้ำ สังเกตดูว่าใบและแมลงนี้เคยเป็นโรคได้ลดลง และฉีดครั้งที่ 3 เมื่อฉีดครั้งที่ 3 แล้ว การใช้ยาจากสารเคมีจึงค่อยๆลดลง

2) นอกจากนี้ยังมีอัตราส่วนผสมอื่นๆ เช่น รากหนอนตายหยาก 15 กิโลกรัม กากน้ำตาลเกรดเอ 15 กิโลกรัม น้ำ 20 กิโลกรัม ตะไคร้หอม เปลือกมังคุด และเปลือกเงาะ ประมาณ 5 กิโลกรัม โดยนำส่วนผสมทั้งหมดมาผสมหมักในภาชนะทิ้งไว้ 15 – 20 วันก็นำมาใช้ได้

3) เกษตรกรบางรายใช้ผสมกับสารอินทรีย์ต่างๆ ที่หมักขึ้นมาใช้เอง เช่น น้ำหมักหอยเชอรี่ โดยการใช้น้ำหอยเชอรี่ 100 กิโลกรัม บดให้ละเอียดหรือทุบพอแหลก กากน้ำตาลเกรดเอ 80 กิโลกรัม หมักในภาชนะมีฝาปิดมิดชิดทิ้งไว้ ประมาณ 15 วัน นำมากรองเอาแต่น้ำ เวลาใช้ให้ผสมกับหนอนตายหยาก 1 ส่วนต่อน้ำหนอนตายหยาก 20 ส่วน เมื่อใช้ในสวนส้มปรากฏว่าไม่พบหนอนชอนใบ แคงเกอร์ อีกทั้งยังทำให้ใบเขียวดอกดก ดินร่วนซุย

2.8 โรคแคงเกอร์ในมะนาว

โรคแคงเกอร์ (มนตรี บุญจรัส. 2557 : 1) นับว่าเป็นโรคที่อันตรายร้ายแรงอย่างยิ่งแก่พืชตระกูลส้มเพราะโรคนี้ค่อนข้างที่จะเข้าทำลายพืชตระกูลนี้ได้อย่างง่ายดาย ถ้าสภาพของต้นอ่อนแอ โรคนี้สาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่มีชื่อรา XanthomonascampestrispvcitriHasse ซึ่งจัดเป็นโรคที่มักจะคอยสร้างปัญหาให้แก่เกษตรกรชาวสวนมะนาวและผู้ที่ปลูกพืชตระกูลส้มทั้งหลายกันเป็นจำนวนมากเพราะจะนำมาซึ่งความเสียหายในหลาย ๆ ด้าน ไม่ว่าจะเป็นต้น กิ่ง ก้าน ใบและผลอีกด้วย คือ สรุปง่ายๆ ว่าลองได้โรคนี้เข้ามาละก็ เตรียมตัวเจ๊งกันได้เลย โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกมือใหม่ที่ยังไม่มีประสบการณ์ทั้งหลายเพราะโรคนี้จะทำให้ผลผลิตตกต่ำและอาจจะต้องเสียเงินเสียทองซื้อต้นพันธุ์ใหม่มาปลูกใหม่วิธีการจัดการดูแลและรักษานั้นก็ใช่ว่าจะง่ายยิ่งถ้าเป็นสารเคมีด้วยแล้วก็ค่อนข้างที่จะอันตรายและมักจะไม่ค่อยได้ผลในระยะยาว ในกลุ่มผู้ที่นำสารเคมีเช่น คอปเปอร์เข้ามาใช้ก็อาจจะได้ผลในระยะแรกแต่ใช้ไปนานเข้าๆ ก็จะทำให้ต้นมีปัญหาได้และเชื้อโรคแคงเกอร์ก็ยังคงอยู่เช่นเดิมใช่ว่าจะหมดไปโดยสิ้นเชิงและยังเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดสารพิษตกค้างและสะสมในดินเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ สารพิษที่ตกค้างเหล่านี้อาจจะยังไม่ออกฤทธิ์ออกเดชทันทีในช่วงที่ดินและสภาพภูมิอากาศมีความชื้นอยู่เพียงพอเพราะความชื้นจากน้ำและสภาพภูมิอากาศจะเป็นตัวช่วยในการบรรเทาและเจือจางสารเคมีเหล่านั้นให้

เป็นอันตรายน้อยลงแต่ถ้าเข้าสู่ฤดูแล้งต้นฤดูหนาวความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศมีน้อยทำให้น้ำในดินระเหยออกไปในปริมาณมากทำให้สารพิษเหล่านี้มีความเข้มข้นมากขึ้นจนเป็นพิษต่อมะนาว ทำให้ต้นมะนาวทั้งหลายอ่อนแอลงและเชื้อโรคฉวยโอกาสรวมทั้งโรคแคงเกอร์ก็เข้ามารบกวนและจู่โจมมะนาวของเราได้ในทันที โรคแคงเกอร์สามารถที่จะเข้าทำลายมะนาวได้เกือบทุกส่วนของต้นไม่ว่าจะเป็น กิ่ง ก้าน ใบ ลำต้นรวมทั้งผล ถ้าเป็นที่ใบอ่อนจะสังเกตเห็นได้ว่าเป็นจุดกลม ๆ ฉ่ำน้ำ ออกสีเหลืองซีดๆ หรือเขียวอ่อน เมื่อขนาดของวงขยายใหญ่ขึ้นจะมีลักษณะฟูคล้ายๆ ฟองน้ำซึ่งในเวลาต่อมาจะกลายเป็นสีน้ำตาลเข้ม แตกสะเก็ด ขรุขระเป็นปุ่มนูนและแข็ง แต่ตรงกลางจะเป็นรอยบุ๋มยุบลงไป และมีวงสีเหลืองล้อมรอบแผลสามารถที่จะมองเห็นได้ทั้งสองด้านของใบ ถ้าปล่อยให้เป็นมากๆใบจะร่วงหล่น โรคแคงเกอร์เข้าทำลาย กิ่ง และก้านในระยะเริ่มแรกจะเกิดจุดสีเหลืองนูน ฟูอยู่บนเปลือกของกิ่งและก้านมะนาวต่อมาแผลนั้นจะค่อยๆ แตกและแห้งเป็นสะเก็ดสีน้ำตาล แล้วลุกลามขยายออกไปตามความยาวหรือรอบกิ่งจนกลายเป็นปุ่มหรือ ปมขนาดใหญ่ รูปร่างไม่แน่นอนและไม่มีวงแหวนสีเหลืองล้อมรอบแผลถ้าเป็นโรครุนแรงหรือลุกลามขยายออกไปมากเข้าก็จะทำให้ต้นแคระแกร็น กิ่งก้านแห้งตายและทรุดโทรมอาจถึงตายได้ต่อมาลักษณะอาการของโรคแคงเกอร์เข้าทำลายที่ผลจะเกิดจุดแผลฝังลึกลงไปในผิวของผลอ่อน ลักษณะของแผลจะนูนคล้ายฟองน้ำ มีสีเหลืองเข้มต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและแตกสะเก็ดมีวงแหวนสีเหลืองล้อมรอบแผลทำให้เกิดการปริแตกตามรอยแผลของโรคแคงเกอร์

ในปัจจุบัน เราสามารถที่จะทำการรักษาโรคแคงเกอร์นี้ได้แล้วโดยที่ไม่ต้องไปใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายทั้งหลายรวมทั้งสารเคมีที่ชาวบ้านเรียกกันว่าสารเขียวหรือสารประกอบทองแดงก็ไม่จำเป็นต้องใช้เพราะยิ่งใช้นานเข้าก็จะยิ่งเป็นการซ้ำเติมความเลวร้ายให้แก่ต้นเพิ่มขึ้นเพราะต้นเขาจะยิ่งอ่อนแอหรือตาย แต่โรคนั้นก็ยังคงอยู่ ไม่หายไปไหนควรเปลี่ยนมาใช้จุลินทรีย์ปราบโรค แคงเกอร์ที่ชื่อว่า บีเอส พลายแก้ว ในปริมาณ 5 กรัม หมักกับน้ำมะพร้าวอ่อน 1 ผลโดยทำการเฉาะผลมะพร้าวอ่อนทำเป็นฝาแง้มเปิดหยอดเชื้อลงไปแล้วหมักทิ้งไว้ให้ได้ 24 ชั่วโมงและไม่เกิน 48 ชั่วโมง แล้วนำมาผสมกับน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นทุก ๆ 7 วันในช่วงระยะเวลาแดดอ่อน หรือจะใช้ นมยูเฮชที รสหวาน 1 กล่อง หรือ นมถั่วเหลือง (แลคตาซอย, ไวตามิ้ลท์) 1 กล่อง นำมาเทใส่ถุงน้ำแข็งใสนำหนังยางมาผูกทำเป็นหูไว้ข้างหนึ่ง หยอดเชื้อลงไป 5 กรัมแล้วนำไปแขวนไว้ในที่ร่มทิ้งไว้โดยใช้ระยะเวลาเท่ากันกับวิธีหมักกับวิธีที่ใช้ผลของมะพร้าวอ่อนหลังจากหมักได้ที่แล้วก็นำมาผสมกับ น้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นได้เหมือนกัน

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อัลไฮซา และคนอื่นๆ (Al-Haiza, M.A. *et al*. 2003 : 275) ใช้ coumarins เป็นกลุ่มของสารอินทรีย์ที่สำคัญในการใช้ประโยชน์ เช่น ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bactericides), ฆ่าเชื้อรา (fungicides), ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory), anticoagulant และ anticancer agents สมบัติทางเภสัชวิทยาเหล่านี้ทำให้นักวิจัยสนใจที่จะสังเคราะห์อนุพันธ์ใหม่ๆ ให้มีมากยิ่งขึ้นไป

อีก โดยมีลักษณะที่แตกต่างกันที่วง heterocyclic ที่เชื่อมต่ออยู่กับ coumarin (coumarin moiety)

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

ลีโอ นาร์ด และคนอื่นๆ (Leonard *et al*. 2011 : 391-396) ได้สังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนด้วยตัวรีดิวส์จากสารสกัดของ โสมเกาหลี (Ginseng) เทียบกับ $NaBH_4$ พบว่า อนุภาคทองคำนาโนที่ได้มีขนาดแตกต่างกัน โดยถ้าใช้ตัวรีดิวส์ที่แรง เช่น $NaBH_4$ จะได้อนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าการใช้สาร Ginseng นอกจากนี้ยังพบว่า อนุภาคทองคำที่ได้จากการรีดิวส์ด้วย Ginseng มีความเสถียรสูง ค่า Plasmon resonance band ยังปรากฏที่ 535 nm และไม่ตกตะกอน

ดาส และคนอื่นๆ (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

ฮี (He, Lili *et al*. 2011) ได้แสดงให้เห็นว่า ZnO nanoparticles ที่มีขนาดอนุภาค 70 $\pm$ 15 nm สามารถต้านเชื้อราที่เกิดกับผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยว 2 ชนิด คือ *Botrytis cinerea*และ *Penicilliumexpasum*ได้ดี และนอกจากนี้ยังพบว่า ZnO nanoparticles มีสมบัติในการออกฤทธิ์เป็นแบบ concentration dependence (คือความเข้มข้นเพิ่มขึ้นฤทธิ์การต้านเชื้อราเพิ่มขึ้น) อีกด้วย โดยกลไกการออกฤทธิ์ของ ZnO คือสามารถช่วยให้เกิดการสร้างสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่บริเวณผิวหน้าของ ZnO ที่ได้รับแสง จะเกิด electron hole pairs (e^- - h^+) แล้วรูนี้ก็จะปลอดปล่อยน้ำออกมา จากนั้นโมเลกุลของน้ำจะแตกตัวเป็น OH^- และ H^+ แล้วเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนไอออนต่อไปได้ H_2O_2 จากนั้น H_2O_2 นี้จะเข้าสู่ cell membrane และทำให้เชื้อราตายในที่สุด

สมิด และคนอื่นๆ (Smid, Eddy J., *et al*. 1995) ได้นำสารสกัดจากสมุนไพรชนิดต่างๆ รวม 15 ชนิด มาทดสอบการต้านเชื้อรา *Penicilliumhirsutum* ของดอกทิวลิป(Tulip) พบว่า เมื่อจุ่มดอกทิวลิปลงไปในสารละลายของซินนามาลดีไฮด์ เข้มข้น 3.9 mM สามารถลดเชื้อราลงได้ 40 เท่า นอกจากนั้นสารละลายดังกล่าวยังรักษาคุณภาพของดอกไม้ได้ดีอีกด้วย นอกจากนั้นยังพบว่า กลไกการออกฤทธิ์ โดยสมุนไพรเข้าไปรบกวนกระบวนการสังเคราะห์ cell wall และทำลาย cell wall ด้วยการทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Interference of fungal cell wall and cell wall destruction plus radical scavenging effect)

สมเดช กนกเมธากุล และคณะ ทำการแยกองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนสกัดหยาบ (*Bauhinia penicilliloba* Pierre ex Gagnep.) โดยใช้วิธีทางโครมาโทกราฟีสามารถแยกองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนสกัดหยาบ พบสารในกลุ่มสเตอร์รอยด์ 3 สาร คือ stigmasterol, β-sitosterol และ β-sitosterol D-glucoside สารกลุ่มไตรเทอร์ปีน 4 สาร คือ lupenone, lupeol, betulin และ betulinic acid caffeate และสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์กลัยโคไซด์ 3 สาร คือ kaempfein, quercitrin และ myricitrin การพิสูจน์โครงสร้างของสารอาศัยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี และจากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า สาร betulin มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรค และสาร betulinic acid caffeate มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย เชื้อวัณโรค และมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง KB และ BC

สถาบันการแพทย์แผนไทย ได้ชี้ให้เห็นถึงประโยชน์ของพืชสมุนไพรในการออกฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ เช่น พลูคาว ทองพันชั่ง สาร บีทรูท ใบเตย เห็ดหลินจือ ยี่โถ ฟ้าทะลายโจร และผักเป็ดน้ำ เป็นต้น นอกจากนี้ยังถือได้ว่าไทยประสบความสำเร็จในการวิจัย แมงลักคาวัชพืชที่ขึ้นทั่วไป นำมาสกัดสารสำคัญเรียกว่า สมุนไพรไฟโต-1 มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อไข้หวัดใหญ่ในหลอดทดลอง 93% ทดลองพิษระยะแรกพบว่า ปลอดภัยทั้งในสัตว์และในคน เตรียมทดลองในคนจำนวนมาก เพื่อทดสอบประสิทธิภาพ คาดว่า 1-2 ปีนี้จะจำหน่ายได้ในรูปแคปซูล ลดการนำเข้ายาแผนปัจจุบันรักษาไข้หวัดใหญ่ในคนได้

ณัฐกานต์ ธิคำ (2551) ได้ศึกษาการแยกสารสกัดบางส่วนจากหนอนตายหยากและผลของสารสกัดต่อหนอนกระทู้หอมโดยมุ่งเน้นเพื่อหาสารออกฤทธิ์จากหนอนตายหยากสายพันธุ์ Stemonaburkillii ในการควบคุมหนอนกระทู้หอม ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนมีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมหนอนวัย 2 โดยวิธี leaf dipping method ค่า LC_{50} ที่ 24 ชั่วโมง ของสารสกัดไดคลอโรมีเทน เมทานอล และเฮกเซน เท่ากับ 7,897.50 พีพีเอ็ม 12,958.00 15,913.15 ตามลำดับ การแยกส่วนของสารสกัดไดคลอโรมีเทนด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี ได้ส่วนสารสกัดจำนวน 8 Fraction โดย F8 ให้ปริมาณสารสกัดสูงสุด 21.88 %w/w และให้เปอร์เซ็นต์ การตายสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงนำสาร Fraction ดังกล่าวไปหาความบริสุทธิ์เพื่อระบุสารออกฤทธิ์ต่อไป

อโนทัย วิงสระน้อย (2549) ได้ศึกษาการควบคุมแมลงวันด้วยสารสกัดจากหนอนตายหยาก (Stemona sp.) พบว่า สารสกัดหนอนตายหยากทุกความเข้มข้นมีผลทำให้ทุกระยะการเจริญเติบโตของแมลงวันบ้านตายแตกต่างกัน โดยความเข้มข้นที่มีผลทำให้การตายของระยะไข่ ตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย สูงสุดคือ 0.5 10 10 และ 0.5 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดจะมีผลทำให้ไข่ตายหลังการทดสอบเป็นเวลา 1 วัน ตัวหนอนมีการตายสูงหลังทดสอบ 3 วัน ส่วนดักแด้ และตัวเต็มวัยจะตายหลังได้รับสาร 2 วันขึ้นไป

ธวัชชัย ศุภดิษฐ์ และ พนมกร ขุนอ่อน (2551) ได้ศึกษาการใช้น้ำสกัดชีวภาพจากสมุนไพรหนอนตายหยากและสับปะรดควบคุมหนอนแมลงวันบ้าน จัดรูปการทดลองแบบ 2x4

Factorial Arrangement+Control Group ในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) จำนวน 3 ซ้ำ ปัจจัยที่ 1 ได้แก่ ชนิดของน้ำสกัดชีวภาพ 2 ชนิด คือ น้ำสกัดชีวภาพจากสมุนไพรหนอนตายหยากและสับปะรด ปัจจัยที่ 2 ได้แก่ อัตราส่วนของน้ำสกัดชีวภาพ 4 ระดับในอาหารไก่เปียก คือที่ร้อยละ 5, 10, 15 และ 20 ทำการวัดจำนวน ขนาด และน้ำหนักของหนอน ดักแด่ และแมลงวันตัวเต็มวัยที่ระยะ 8, 16 และ 24 วัน ผลการทดลอง พบว่าไม่พบการเกิดของหนอน ดักแด้ และแมลงวันตัวเต็มวัยที่ระยะ 8 วัน แต่ที่ระยะ 16 และ 24 วัน พบการเกิดของหนอน ดักแดและแมลงวันตัวเต็มวัย แต่มีจำนวน ขนาด และน้ำหนักลดลงตามอัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นของน้ำสกัดชีวภาพ โดยน้ำสกัดชีวภาพจากสมุนไพรหนอนตายหยากมีผลต่อการลดจำนวน ขนาดและน้ำหนักของหนอน ดักแด่ และแมลงวันตัวเต็มวัยได้ดีกว่าน้ำสกัดชีวภาพจากสับปะรดเมื่อเปรียบเทียบที่อัตราส่วนเดียวกัน

จากข้อมูลข้างต้น สรุปได้ว่า พืชสมุนไพรมีประโยชน์และถือเป็นมรดกอันล้ำค่าที่คนไทยต้องตระหนักนำมาศึกษาและพัฒนาใช้อย่างจริงจัง เพื่อความอยู่ดีกินดี และพึ่งตนเองได้ ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงมุ่งศึกษาสมุนไพรที่น่าสนใจคือ หนอนตายอยาก เพื่อทราบสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านแบคทีเรียสาเหตุของโรคแคงเกอร์ของมะนาว

บทที่ 3

สารเคมี อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 บทนำ

ในบทที่ 3 คณะผู้วิจัยได้รวบรวมรายละเอียดด้านสารเคมี อุปกรณ์ เครื่องมือ และวิธีดำเนินการทดลอง ดังต่อไปนี้

1) สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ

2) การศึกษาบริบทชุมชนพื้นที่การปลูกมะนาว

3) การเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก

4) การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก

5) การสกัดสารสำคัญสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก

6) ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารสกัดหนอนตายหยาก

7) ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากต่อโรคแคงเกอร์ในห้องปฏิบัติการ

8) ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากต่อโรคแคงเกอร์ในแปลงทดลอง

9) ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านเพลี้ยแป้งสีเขียว

10) ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านเพลี้ยแป้งสีชมพู

11) ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านไรแดง

12) ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านปลวก

13) ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านอนุมูลอิสระ

14) การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ

15) การแยกองค์ประกอบสารสกัดให้บริสุทธิ์

3.2 สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.2.1 สารเคมี

3.2.1.1 Hexane,Chemikit,Bangkok.

3.2.1.2 Dichloromethane,Chemikit, Bangkok.

3.2.1.3 Ethyl acetate,Chemikit, Bangkok.

3.2.1.4 Methanol, Chemikit, Bangkok.

3.2.1.5. Ethanol, BDH Laboratory Supplies Pools, England

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

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

. 3.2.1.8 N,N-Dimethylform amide, Ajax Finechem, New Zealand.

3.2.1.9 Ferrous chloride tetrahydrate, Fluka, Germany.

3.2.1.10 Ferric chloride anhydrous, FlukaChemica, Germany.

3.2.1.11 24,6-Tri (2-pyridyl)-s-triazine, Sigma-Aldrich,Switzerland.

3.2.1.12 Acetic acid, giacial, J.T. Baker.USA.

3.2.1.13 Plate count agar, Himedia. India.

3.2.1.14 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, Flukachemie. Germany.

3.2.1.15 น้ำกลั่น

3.2.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.2.2.1 เครื่องหาจุดหลอมเหลวของสารตัวอย่าง

3.2.2.2 เครื่อง UV-Visible spectrophotometer เพื่อวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

3.2.2.3 กล้อง microscope เพื่อรวบรวม single crystal

3.2.2.4 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

3.2.2.5 Micropipette ขนาด 200 ไมโครลิตร

3.2.2.6. Autoclave

3.2.2.7 Rotary evaporator, Model Buchi

3.3 การศึกษาบริบทชุมชนพื้นที่การปลูกมะนาว

คณะผู้วิจัยร่วมกับตัวแทนชาวบ้านออกพื้นที่ศึกษาบริบทของชุมชนชาวบ้านหนองปลาแดกหมู่ที่ 13 ด้านข้อมูลทั่วไปของชุมชน การดำรงชีวิตของชาวบ้าน การประกอบอาชีพ และสำรวจพื้นที่การปลูกมะนาวของชาวบ้านหนองปลาแดก ตำบลเมืองแก อำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์

3.4 การสำรวจโรคที่เกิดกับแปลงทดลองปลูกมะนาว

ทำการสำรวจโรคต่างๆที่เกิดในแปลงทดลองการปลูกมะนาว ณ บ้านเลขที่ 109 หมู่ 12 ตำบลอิสาณ อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ 31000 ซึ่งมีการปลูกมะนาวทั้งหมด 70 วงบ่อ มีมะนาวอยู่ทั้งหมด 3 ชนิด คือ มะนาวแป้นพิจิตร มะนาวแป้นรำไพ และมะนาวไข่ และบันทึกข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับการเกิดโรคในแปลงปลูกมะนาว

3.5 การเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก

สมุนไพรหนอนตายหยากที่ใช้ในการศึกษาเก็บมาจากพื้นที่ป่าชุมชนบ้านโคกไม้แดง ตำบลบ้านสิงห์ อำเภอนางรอง ป่าหนองชุ่มนก ตำบลเมืองแฝก อำเภอลำปลายมาศ และป่าชุมชนปะคำ ตำบลปะคำ อำเภอปะคำ จังหวัดบุรีรัมย์ เก็บพืชสมุนไพรหนอนตายหยากในช่วงเดือนมกราคม-มีนาคม 2557 โดยเก็บส่วนหัวที่อยู่ใต้ดินที่ไม่แก่หรืออ่อนจนเกินไป

3.6 การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก

3.6.1 นำสมุนไพรหัวหนอนตายหยากที่ผ่านการคัดเลือกล้างด้วยน้ำสะอาดจำนวน 3 ครั้ง ให้สะอาด

3.6.2 นำสมุนไพรหัวหนอนตายหยากที่ล้างสะอาดแล้วมาหั่นบางๆ แล้วนำไปตากลมให้แห้งระวังไม่ให้หัวหนอนตายหยากเกิดเชื้อรา

3.6.3 นำสมุนไพรหัวหนอนตายหยากที่แห้งแล้วและปราศจากเชื้อรามาบทให้ละเอียดเก็บในโถแก้วเพื่อป้องกันความชื้น

3.7 การสกัดสารสำคัญสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก

3.7.1 ชั่งสมุนไพรหัวหนอนตายหยากจำนวน 500 กรัม ใสลงในถุงผ้าแล้วมัดปากถุงให้แน่น

3.7.2 นำถุงผ้าที่มีสมุนไพรหัวหนอนตายหยากใส่ลงในโถแก้ว

3.7.3 สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วต่างกัน ปริมาตร 3,000 mL ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอสทิลแอซิเตด เมทานอล และเอทานอล ตามลำดับ

3.7.4 ปิดฝาให้สนิทแล้วปิดทับด้วยกระดาษกาวเพื่อไม่ให้ตัวทำละลายละเหยออกได้

3.7.5 สกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากระยะเวลา 3, 2, 2 วัน ตามลำดับ

3.7.6 นำสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5

3.7.7 นำสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากที่กรองได้ทำการระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator)

3.7.8 นำสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากที่ได้ไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

3.7.9 ได้สารสกัดหยาบ 5 ชนิด

3.8 ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก

นำสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (Physicochemical properties) โดยใช้เทคนิคดังต่อไปนี้

3.8.1 การวัดสมบัติการละลายในตัวทำละลายต่างๆ เช่น คลอโรฟรอม เมทานอล เอทานอล ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ และไดเมทิลฟอร์มาไมด์

1) ชั่งสารสกัดหัวหนอนตายหยากมา 0.0001 g ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 mL

2) ตวงตัวทำละลายต่างๆ เช่น คลอโรฟรอม เมทานอล เอทานอล ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ และไดเมทิลฟอร์มาไมด์ มาอย่างละ 3 mL ลงในบีกเกอร์ที่เตรียมไว้ดังข้อที่ 1

3) ใช้แท่งแก้วคนสารจนสารละลายหมด

4) สังเกตและบันทึกผล

3.8.2 วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectroscopy

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

3.8.4 การสังเกตลักษณะผลึก สี และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของผลผลิต (% yield)

3.9 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากต่อโรคแคงเกอร์ในห้องปฏิบัติการ

3.9.1 วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

3.9.1.1 ชั่งPlate count agar

3.9.1.2 ละลายและทำให้สุกด้วยความร้อนบน Hot plate ซึ่งใช้ความร้อนระดับ 2

3.9.1.3 ปรับค่า pH ของอาหารให้เหมาะสมกับเชื้อแบคทีเรีย

3.9.1.4 นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C เป็นเวลา 15 นาที

3.9.1.5 นำอาหารที่เขปฆ่าเชื้อแล้วเทลง Plate (จานเลี้ยงเชื้อ) ในเครื่อง Laminar flow

3.9.2 ขั้นตอนการเขี่ยเชื้อ

3.9.2.1 เผา loop จนร้อนแดงรอให้ loop เย็นจากนั้นใช้ loop เขี่ยเชื้อมาเตะที่ผิววุ้น ลาก loop เบาๆ โดยใช้ด้านแบนของปลาย loop แตะเบาๆ บนผิววุ้นไปมา 4-5 ครั้ง ระวังอย่าให้ loop ฝังลงในวุ้น ปิดฝาจานเพาะเชื้อ

3.9.2.2 ขีดเชื้อแบบ Streak plate ทำการขีดครั้งที่ 2 โดยใช้ loop เขี่ยเชื้อผ่านเชื้อที่แตะไว้ครั้งแรก ลากไปมา 5-6 ครั้ง ขีดครั้งที่ 3 โดยการหมุนจานเล็กน้อยให้เหมาะและการขีดครั้งที่ 4 ให้ลาก loop ไปมา 2-3 ครั้ง

3.9.3 วิธีการศึกษาการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

3.9.3.1 นำเชื้อแบคทีเรียเกลี่ยบน plate ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ loop เขี่ยเชื้อจากสต๊อกมาเกลี่ยลงบน plate แล้วใช้ Cotton bud ที่ฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave นาน 15 นาที เกลี่ยเชื้อแบคทีเรียให้ทั่ว plate

3.9.3.2 เตรียมสารสกัดตัวอย่างเป็นความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 6,000, 8,000 และ 10,000 ppm ปรับปริมาตรด้วย DMSO (Dimethyl sulfoxide)

3.9.3.3 ปิเปตสารตัวอย่างจากความเข้มข้น 10,000 ppm ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ที่ความเข้มข้นดังต่อไปนี้

ความเข้มข้น 6,000 ppm ปิเปต 6.00 mL ปรับปริมาตรเป็น 10 mL

ความเข้มข้น 8,000 ppm ปิเปต 8.00 mL ปรับปริมาตรเป็น 10 mL

3.9.3.4 นำ Paper disk วางบนแผ่นกระจกสี่เหลี่ยมแต่ละความเข้มข้น แล้วปิเปตสารสกัดตัวอย่าง 20 µl ลงบน Paper disk ในแต่ละความเข้มข้น แล้วนำ Paper disk เก็บไว้ในที่มีแสงสว่าง เป็นเวลา 1 ชั่วโมงจากนั้นนำมาวางบนเชื้อที่เตรียมไว้ข้างต้นตามความเข้มข้นที่กำหนดไว้ในข้อที่ 3.9.3.3

3.9.3.5 นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 ^{O}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.9.3.6 วัด Clear zone และบันทึกผล

3.10 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากต่อโรคแคงเกอร์ในแปลงทดลอง

จากผลการทดลองตามหัวข้อที่ 3.9.3 คัดเลือก fraction ของสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากแต่ละชนิดที่ออกฤทธิ์อย่างจำเพาะต่อเชื้อโรคที่ดีที่สุดในแต่ละชนิดมาทำการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคแคงเกอร์ในแปลงทดลองดังต่อไปนี้

3.10.1 เตรียมสารสกัดหยาบที่คัดเลือกแล้วจากการทดลองตามหัวข้อที่ 3.9.3 ให้มีความเข้มข้น 10,000 ppm

3.10.2 นำสารที่เตรียมไว้ความเข้มข้น 10,000 ppm ไปฉีดพ่นในแปลงทดลองที่ปลูกมะนาวทุกๆ 3 วันเป็นเวลา 4 สัปดาห์

3.10.3 แยกฉีดสารสกัดลงในแต่ละวงบ่อ ในวงบ่อควบคุมให้ใช้การฉีดด้วยน้ำกลั่นแทน

3.11 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านเพลี้ยแป้งสีเขียว

จากผลการทดลองตามหัวข้อที่ 3.10 คัดเลือก fraction ของสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากที่ออกฤทธิ์อย่างจำเพาะต่อเชื้อโรคที่ดีที่สุดมาทำการทดสอบฤทธิ์การต้านเพลี้ยแป้งสีเขียวในแปลงทดลองดังต่อไปนี้

3.11.1 เตรียมสารสกัดหยาบที่คัดเลือกแล้วจากการทดลองตามหัวข้อที่ 3.10 ให้มีความเข้มข้น 10,000 ppm

3.11.2 นำสารที่เตรียมไว้ความเข้มข้น 10,000 ppm ไปฉีดพ่นในแปลงทดลองที่ปลูกมะนาวทุกๆ 1 วัน เป็นเวลา 3 วัน

3.11.3 แยกฉีดสารสกัดลงในแต่ละวงบ่อ ในวงบ่อควบคุมให้ใช้การฉีดด้วยน้ำกลั่นแทน

3.12 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านเพลี้ยแป้งสีชมพู

จากผลการทดลองตามหัวข้อที่ 3.10 คัดเลือก fraction ของสารสกัดสมุนไพรที่ออกฤทธิ์อย่างจำเพาะต่อเชื้อโรคที่ดีที่สุดมาทำการทดสอบฤทธิ์การต้านเพลี้ยแป้งสีชมพูในแปลงทดลองดังต่อไปนี้

3.12.1 เตรียมสารสกัดหยาบที่คัดเลือกแล้วจากการทดลองตามหัวข้อที่ 3.10 ให้มีความเข้มข้น 10,000 ppm

3.12.2 นำสารที่เตรียมไว้ความเข้มข้น 10,000 ไปฉีดพ่นในแปลงทดลองที่ปลูกมะนาวทุกๆ 3 วัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์

3.12.3 แยกฉีดสารสกัดแต่ละชนิดลงในแต่ละวงบ่อ ในวงบ่อควบคุมให้ใช้การฉีดด้วยน้ำกลั่น

3.13 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านไรแดง

จากผลการทดลองตามหัวข้อที่ 3.10 คัดเลือก fraction ของสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากที่ออกฤทธิ์อย่างจำเพาะต่อเชื้อโรคที่ดีที่สุด มาทำการทดสอบฤทธิ์การต้านไรแดงในแปลงทดลองดังต่อไปนี้

3.13.1 เตรียมสารสกัดหยาบที่คัดเลือกแล้วจากการทดลองตามหัวข้อที่ 3.10 ให้มีความเข้มข้น 10,000 ppm

3.13.2 นำสารที่เตรียมไว้ความเข้มข้น 10,000 ppm ไปฉีดพ่นในแปลงทดลองที่ปลูกมะนาวทุกๆ 3 วัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์

3.13.3 แยกฉีดสารสกัดลงในแต่ละวงบ่อ ในวงบ่อควบคุมให้ใช้การฉีดด้วยน้ำกลั่น

3.14 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านปลวก

จากผลการทดลองตามหัวข้อที่ 3.10 คัดเลือก fraction ของสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากที่ออกฤทธิ์อย่างจำเพาะต่อเชื้อโรคที่ดีที่สุดมาทำการทดสอบฤทธิ์การต้านปลวกดังต่อไปนี้

3.14.1 เตรียมสารสกัดหยาบที่คัดเลือกแล้วจากการทดลองตามหัวข้อที่ 3.10 ให้มีความเข้มข้น 10,000 ppm

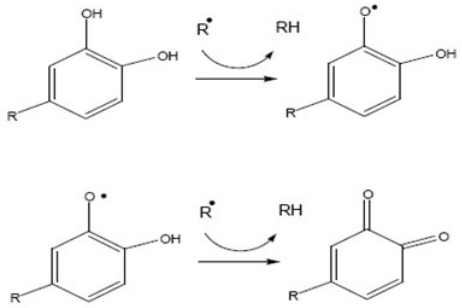
3.14.2 นำสารที่เตรียมไว้ความเข้มข้น 10,000 ppm ไปฉีดพ่นปลวกทุกๆ 3 วัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์

3.14.3 สังเกตและบันทึกผลการทดลอง

3.15 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านอนุมูลอิสระ

3.15.1 การหาปริมาณฟีนอลรวม (Folin's method)

สารจำพวกฟีนอล (phenolic compounds) เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่พบมากในพืช ตัวอย่างของสารกลุ่มนี้ได้แก่ สารจำพวก flavonoids ที่มี catechol เป็นองค์ประกอบ stilbenes, tannins ซึ่งโครงสร้างหลักประกอบด้วย aromatic ring แทนที่ด้วย hydroxy group โดยมากเป็นสารที่มีขั้วละลายในตัวทำละลายจำพวก alcohol ได้ดี กลไกของสารจำพวกฟีนอลที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังแสดงในรูปที่ 1 คือเมื่อมีอนุมูลอิสระมาดึงอิเล็กตรอนไปแต่ในโครงสร้างมีอิเล็กตรอนหนาแน่นจึงสามารถเกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปทั่วโครงสร้าง (delocalization) ทำให้โครงสร้างเสถียรไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระต่อไป (Pietta. 2000) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้



ภาพที่ 3.1 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารจำพวกฟีนอล

3.15.1.1 เตรียมสารละลาย Folinciocaltue reagent เข้มข้น 0.2 M โดยปิเปต Folinciocaltue reagent เข้มข้น 2 M 10 mL ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 100 mL

3.15.1.2 เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 75 g/L โดยชั่ง โซเดียมคาร์บอเนต 7.5 g ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ครบ 100 mL

3.15.1.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น100 μg/ mLโดยชั่ง 0.0100 g ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 100 mL นำมาเจือจางให้มีความเข้มข้นในช่วง 10 -100 μg/mL

3.15.1.4 เตรียมสารสกัดหัวหนอนตายหยากเข้มข้น 50 μg/mL โดยชั่งสารสกัดหัวหนอนตายหยาก 0.0025 g ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ครบ 25 mL

3.15.1.5 ปิเปตสารละลายมาตรฐานหรือสารสกัด 0.5 mL เติม Folin reagent 2.5 mL เขย่าให้เข้ากัน เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 2.0 mL เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm

3.15.2 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay

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

3.15.2.1 การเตรียมสารละลายเพื่อทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay

1) เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 μg/mL ในสารละลายเมทานอล

2) เตรียมสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 ตามลำดับ

โดยความเข้มข้น 6.25 ppm ปิเปตสารมา 0.625 mL ปรับปริมาตรให้ครบ10 mL

ความเข้มข้น 12.5 ppm ปิเปตสารมา 1.25 mL ปรับปริมาตรให้ครบ 10 mL

ความเข้มข้น 25 ppm ปิเปตสารมา 2.5 mL ปรับปริมาตรให้ครบ 10 mL

3) เตรียมขวดสีชา 45 ขวด เพราะในแต่ละความเข้มข้นจะต้องใช้ขวดสีชาจำนวน 3 ขวด และอีก 1 ขวด เป็นขวด control รวมเป็น 46 ขวด

4) นำขวดสีชา ทั้ง 46 ขวด ไปอบไว้ที่อุณหภูมิ 100^{O} C รอให้ขวดเย็นจึงนำมาใช้ได้

3.16.2.2 วิธีการวิเคราะห์ความสามารถการต้านอนุมูลอิสระโดย วิธี DPPH assay

1) ปิเปต 1 mLของสารละลายตัวอย่างและสารมาตรฐาน ในแต่ละความเข้มข้น ใส่ในขวดสีชา 3 ใบเพื่อทำการทดสอบสารตัวอย่างละ 3 ครั้ง (triplicate)

2) ปิเปต Methanolic DPPH radical 2 mL ใส่ขวดสีชาในแต่ละความเข้มข้น

3) เขย่าให้สารเข้ากัน นำขวดทั้ง 46 ใบ เก็บไว้ในที่มืดอุณหภูมิ 37^{O}C เป็นเวลา 30 นาที

4) วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายด้วยเครื่อง SPECTRONIC 20 GENESYS ที่ความยาวคลื่น 517 nm โดยวัดจากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูง

5) คำนวณหาค่า % inhibition ดังสมการ

$$\% \ inhibition = \frac{OD\ control - ODsample}{OD\ control} x\ 100$$

OD control คือ ค่า absorbance ของ control (มีเฉพาะ DPPH)

OD sampleคือ ค่า absorbance ของ สารละลายตัวอย่าง หรือสารละลายมาตรฐาน

3.16 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ

ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Vero cells)โดยเติม Vero cells 45 µl (3.3 x 10^4 cells/mL) ลงในแต่ละหลุมของ384-well plates ที่มีสารตัวอย่างอยู่ 5 µl เจือจางด้วย DMSO0.5 % แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37^{o}Cมี CO_2 5% เป็นเวลา 4 วันแล้ววัดค่าฟลูออเรสเซนต์ (excitation ที่ 485 nm และ emission ที่ 535 nm)สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับค่าการตอบสนองของเซลล์เพื่อหา IC_{50}

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 บทนำ

ในบทนี้คณะผู้วิจัยได้เก็บรวบรวมข้อมูลที่สำคัญในด้านต่าง ๆ จากการทดลองดังนี้

1) ผลการศึกษาบริบทชุมชนพื้นที่การปลูกมะนาว

2) ผลการสำรวจโรคที่เกิดกับแปลงทดลองปลูกมะนาว

3) ผลการเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรหนอนตายหยาก

4) ผลการเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพรหนอนตายหยาก

5) ผลการสกัดสารสำคัญสมุนไพรหนอนตายหยาก

6) ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารสกัดหนอนตายหยาก

7) ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหนอนตายหยากต่อโรคแคงเกอร์ในห้องปฏิบัติการ

8) ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหนอนตายหยากต่อโรคแคงเกอร์ในแปลงทดลอง

9) ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านเพลี้ยแป้ง

10) ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านเพลี้ยแป้งสีชมพู

11) ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านไรแดง

12) ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านปลวก

13) ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านอนุมูลอิสระ

4.2 ผลการศึกษาบริบทชุมชนพื้นที่การปลูกมะนาว

คณะผู้วิจัยได้ศึกษาบริบทชุมชนพื้นที่การปลูกมะนาว ซึ่งได้เลือกพื้นที่บ้านหนองปลาแดก หมู่ที่ 13 เป็นพื้นที่ที่ใช้ในการวิจัย ซึ่งมีข้อมูลทั่วไปของบ้านหนองปลาแดก ดังต่อไปนี้

ข้อมูลทั่วไป

1. ประวัติหมู่บ้าน

ประวัติศาสตร์ความเป็นมาบ้านหนองปลาแดกเดิมนั้น เมื่อปี พ.ศ. 2460 นายบุญ คันทับไทย และผู้คนอพยพมาจากต่างถิ่น ส่วนมากมาจากจังหวัดร้อยเอ็ดมาตั้งถิ่นฐานหาทำเลอยู่ใกล้แหล่งน้ำ ต่อมาก็มีชาวบ้านค่อยทยอยกันตั้งบ้านเรือนอยู่เรื่อย ๆ จนเป็นหมู่บ้าน 1 หมู่บ้าน เรื่องชื่อของหมู่บ้านนั้น ชื่อบ้านหนองปลาแดกนั้นก็ได้มีผู้เล่าขานต่อกันมาว่าเมื่อสมัยก่อนในหนองน้ำนั้นมีปลามากมายพอน้ำแห้งขอดมีปลาตายเป็นจำนวนมากส่งกลิ่นเหม็นชาวบ้านเลย

เรียกหนองปลาแดก บางตำนานว่าเดิมนั้นมีต้นไม้ในหนองน้ำนั้นมากมายหนึ่งในนั้นภาษาอีสานเรียกว่า ต้นบาก ภาษาเขมรเรียกว่าปะแดก ต่อมาคนพูดภาษาลาวเพี้ยนจากปะแดกเป็นปลาแดก ก็เลยเรียกหนองน้ำนั้นว่า “หนองปลาแดก” และได้ชื่อนั้นมาจนถึงปัจจุบัน มีผู้ดำรงตำแหน่งกำนันตำบลเมืองแกและผู้ใหญ่บ้านหมู่ที่ 13 จากอดีตจนถึงปัจจุบัน ดังนี้

1. นายปฐม ผาเจริญ	เป็นกำนันร่วม (เดิมเป็นตำบลหนองใหญ่)
2. นายประพันธ์ ศรีบุปผา	เป็นกำนันคนที่ 1 (ของตำบลเมืองแก)
3. นายทองศูนย์ จ่าภา	เป็นกำนันคนที่ 2
4. นายอำนาจ แสนเมืองชิน	เป็นกำนันคนที่ 3
5. นายสวัสดิ์ กุลชลิต	เป็นกำนันคนที่ 4
6. นายเที่ยง นันเสนา	เป็นกำนันคนที่ 5

มีผู้นำดำรงตำแหน่งผู้ใหญ่บ้านจากอดีตจนถึงปัจจุบันบ้านหนองปลาแดก หมู่ที่ 13 (เดิมเป็นหมู่ 9) มีดังนี้

1. นายอ่อนจันทร์ คันทับไทย	เป็นผู้ช่วยผู้ใหญ่ (ของกำนันปฐมบ้านหนองใหญ่)
2. นายเลิน จันทโคตร	เป็นผู้ช่วยผู้ใหญ่ (ของกำนันปฐมบ้านหนองใหญ่)
3. นายวาน สุขประเสริฐ	เป็นผู้ช่วยผู้ใหญ่ (ของกำนันปฐมบ้านหนองใหญ่)
4. นายเปลี่ยน นนตะพันธ์	เป็นผู้ช่วยผู้ใหญ่ (ของกำนันปฐมบ้านหนองใหญ่)
5. นายคูณ หลงสมบัติ	ผู้ใหญ่บ้าน
6. นายบุตดี ชีดหนองสรวง	ผู้ใหญ่บ้านคนที่ 1 ของบ้านหนอง-ปลาแดกน้อย
7. นายอ่อนจันทร์ ศรีวงษ์	ผู้ใหญ่บ้านคนที่ 2
8. นายแหล่ ศาลางาม	ผู้ใหญ่บ้านคนที่ 3

2. สภาพทั่วไป

บ้านหนองปลาแดกน้อยหมู่ที่ 13 ตำบลเมืองแก อำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ มีเนื้อที่ประมาณ 1,863 ไร่ แบ่งออกเป็น

- พื้นที่เพื่อที่อยู่อาศัย	80 ไร่
- พื้นที่ทำการเกษตร (ทำนา ทำสวน ทำไร่)	1,657 ไร่
- พื้นที่สาธารณะ	126 ไร่

3. ที่ตั้ง

อยู่ห่างจากอำเภอสตึกระยะทาง 11 กิโลเมตร และห่างจากจังหวัดบุรีรัมย์ 51 กิโลเมตร มีอาณาเขตติดต่อ ดังนี้

ทิศตะวันออกติดต่อกับเขตบ้านยางโดน หมู่ที่ 16 ตำบลเมืองแก อำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์

ทิศตะวันตกติดต่อกับเขตบ้านนกเกรียน หมู่ที่ 4 ตำบลเมืองแก อำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์

ทิศเหนือติดต่อกับเขตบ้านหนองเชือก หมู่ที่ 5 ตำบลเมืองแก อำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์

ทิศตะวันออกติดต่อกับเขตบ้านหนองปลาแดกใหญ่หมู่ที่ 6 ตำบลเมืองแกอำเภอสตึกจังหวัดบุรีรัมย

4. การเมืองการปกครอง

4.1 บ้านหนองปลาแดกน้อย หมู่ที่ 13 อยู่ในเขตพื้นที่การพัฒนาขององค์การบริหารส่วนตำบลเมืองแก โดยมีนายสกล โยยรัมย์

มีรองนายกองค์การบริหารส่วนตำบล 2 คน คือ

1.นายพรศักดิ์ หมื่นเจริญ

2. นายครอง ทะลายรัมย์

เลขานุการ นายสุพรม แงวกุดเรือง

สมาชิกองค์การบริหารส่วนตำบลหมู่ที่ 6 คือ

1. นายบุญส่ง หาญสำโรง

2. นายสมชาย มีภัคดี

ผู้ใหญ่บ้านคือ นายแหล่ ศาลางาม

ผู้ช่วยผู้ใหญ่บ้าน คือ

1. นายเฉลิมชัย ค้นทับไทย และ 2. นายสมชาย มีภัคดี

4.2 แบ่งการปกครองเป็นคุ้มบ้านทั้งหมด 2 คุ้ม ดังนี้

คุ้มที่	ชื่อคุ้ม	จำนวนครัวเรือน	ชือหัวหน้าคุ้ม
1	คุ้มตะวันออก	36	นายนิยม ขีดหนองสรวง
2	คุ้มตะวันตก	42	นายน้อย ศรีวงษ์
	รวม	78	ครัวเรือน

5. ภูมิประเทศ/ภูมิอากาศ

5.1 ลักษณะภูมิประเทศ ลักษณะพื้นที่บ้านหนองปลาแดกเป็นพื้นที่ราบค่อนข้างต่ำพื้นที่ทำการเกษตรเป็นพื้นที่ลุ่มและที่ราบบางส่วน

5.2 ลักษณะภูมิอากาศ ลักษณะภูมิอากาศอยู่ในเขตอากาศร้อนชื้น สลับแห้ง และมีอุณหภูมิระหว่างฤดูร้อนฤดูหนาวที่ต่างกันมากฤดูหนาวอุณหภูมิต่ำเนื่องจากได้รับอิทธิพลของลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ ฤดูฝนจะสั้น ฤดูแล้งยาวนาน สามารถจำแนกภูมิอากาศได้ 3 ฤดู

- ฤดูร้อน เริ่มตั้งแต่ เดือน กุมภาพันธ์ - มิถุนายน
- ฤดูฝน เริ่มตั้งแต่ เดือน กรกฎาคม - ตุลาคม
- ฤดูฝน เริ่มตั้งแต่ เดือน พฤศจิกายน - มกราคม

6. การคมนาคม

การคมนาคม ระยะเวลาในการเดินทางจากอำเภอสตึกไปหมู่บ้านหนองปลาแดกประมาณ 15-20 นาที ระยะทาง 11 กิโลเมตร มีรถโดยสารประจำทางผ่าน หรือจ้างเหมารถจักรยานยนต์ เส้นทางระหว่างหมู่บ้านเป็นเส้นทางลาดยางและคอนกรีตเสริมเหล็ก

1. จำนวนครัวเรือน

จำนวนครัวเรือนมีทั้งหมด 78 ครัวเรือน

2. จำนวนประชากรทั้งหมด 360 คน

จำนวนประชากรแยกเพศดังนี้ ชาย 178 คน หญิง 202 คน

วิสัยทัศหมู่บ้าน

หมู่บ้านสะอาด ปราศจากสิ่งเสพติด ดำเนินชีวิตตามแนวคิดเศษฐกิจพอเพียง

คำนำ

การจัดทำแผนหมู่บ้านหรือแผนแม่บทหมู่บ้านเป็นกระบวนการเรียนรู้และการมีส่วนร่วมของประชาชนให้มีจิตเป็นสาธารณะและร่วมคิด ร่วมกันจัดหา ร่วมกันเรียนรู้/วิเคราะห์เพื่อให้มีความรู้และเข้าใจถึงความต้องการของหมู่บ้าน โดยใช้กระบวนการของชุมชนคือการสำรวจข้อมูลปัญหาและศักยภาพของชุมชน การวิเคราะห์สาเหตุ แนวทางแก้ไขแล้วกำหนดอนาคตและทิศทางการพัฒนาตนเองและหมู่บ้านในลักษณะจากชุมชนและเพื่อชุมชนซึ่งเป็นการเสริมสร้างความเข้มแข็ง และพึงพาตนเองอย่างยั่งยืนของชุมชน

1. ภาษา

ประชากรส่วนใหญ่พูดภาษาลาว (อิสาน)

2. ศาสนา

ประชากรนับถือศาสนา พุทธ

3. ข้อมูลทางด้านเศรษฐกิจ/ อาชีพ

ประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกร (ทำนา) รองลงมาคือการเลี้ยงสัตว์และรับจ้างทั่วไป

3.1 อาชีพทำการเกษตร จำนวน 52 ครัวเรือน

3.2 ทำสวน/ทำไร่ จำนวน 4 ครัวเรือน

3.3 อาชีพเลี้ยงสัตว์ จำนวน 3 ครัวเรือน

3.4 อาชีพรับจ้าง จำนวน 10 ครัวเรือน

3.5 อาชีพรับราชการ จำนวน 9 ครัวเรือน

3.6 อาชีพอื่น ๆ จำนวน – ครัวเรือน

4. รายได้ของประชากร

4.1 ครัวเรือนที่มีรายได้สูงกว่า 23,000 บาท/ คน/ปี จำนวน 78 ครัวเรือน

4.2 ครัวเรือนที่มีรายได้น้อยกว่า 23,000 บาท/ คน/ปี จำนวน - ครัวเรือน

4.3 รายได้เฉลี่ยของประชากรของหมู่บ้าน จำนวน 44,490 บาท/ คน/ปี

5. ข้อมูลกลุ่มเศรษฐกิจชุมชน

5.1 กลุ่มกรองทุนหมู่บ้านสมาชิก 95 คน ก่อตั้งปี พ.ศ. 2544

5.2 กลุ่มเกษตรทฤษฎีใหม่ สมาชิก 20 ครอบครัว ก่อตั้งปี พ.ศ. 2542

5.3 กลุ่มร้านค้าชุมชน สมาชิก 60 คน ตั้งปี พ.ศ.2544

5.4 กลุ่มธนาคารข้าว สมาชิก 35 คน ตั้งปี พ.ศ.2535

6. ข้อมูลสภาพทางสังคมวัฒนธรรม ประเพณี และบริการขั้นพื้นฐานของชุมชน

6.1 โรงเรียน 1 แห่ง (ซึ่งใช้เรียนร่วมกันกับ บ้านหนองปลาแดก หมู่ที่ 6)

6.2 มีวัด 1 แห่ง (ใช้ประกอบ สาสนพิธีร่วมกัน บ้านหนองปลาแดก หมู่ที่ 6)

6.3 ศูนย์พัฒนาเด็กเล็ก 1 แห่ง ตั้งอยู่ที่วัดวังมัจฉา (เดิมวัดใหม่ศรีบุญเรือง) ร่วมกันหมู่ที่ 6 และหมู่ที่ 12

6.4 ประเพณีที่สำคัญของชุมชนได้แก่ วันต้อนรับปีใหม่ บุญข้าวจี่ เลี้ยงปู่ตา เวียนเทียน วันมาฆบูชาบุญมหาชาติ รดน้ำ ขอพรผู้สูงอายุ สงกรานต์ บุญเบิกบ้านเดือนหก เวียนเทียนวันวิสาขบูชา บุญเข้าพรรษา บุญข้าวประดับดิน บุญข้าวสาก บุญออกพรรษา บุญตักบาตรเทโว บุญกฐิน งานลอยกระทง

7. ข้อมูลด้านโครงสร้างพื้นฐาน สิ่งแวดล้อมและทรัพยากรธรรมชาติของชุมชน

7.1 การมีไฟฟ้าใช้ของครัวเรือน

มีไฟฟ้าใช้ จำนวน 78 ครัวเรือน

ไม่มีไฟฟ้าใช้ จำนวน – ครัวเรือน

7.2 โทรศัพท์สาธารณะ จำนวน 2 แห่ง

7.3 แหล่งน้ำสาธารณะ จำนวน 2 แห่ง

7.4 แหล่งน้ำตามธรรมชาติจำนวน 2 แห่ง

7.5 แหล่งน้ำที่สร้างขึ้น จำนวน 17 แห่ง ประกอบด้วย

บ่อบาดาล จำนวน – แห่ง

บ่อน้ำดิน จำนวน – แห่ง

ถังเก็บน้ำฝนถังพลาสติกจำนวน 3 ถัง

7.6 หอกระจายข่าว จำนวน 1 แห่ง

7.7 ศูนย์สาธิตการตลาด (ร้านชุมชน) จำนวน 1 แห่ง

8. ข้อมูลด้านการปกครอง กลุ่มและองค์กรในชุมชน

8.1 รายชื่อคณะกรรมการหมู่บ้าน (กม.) ประกอบด้วย

1. นายแหล่ ศาลางาม ตำแหน่ง ประธานกรรมการ
2. นายเฉลิมชัย คันทับไทย ตำแหน่ง รองประธานกรรมการ
3. นางบัวผัน กองแก้ว ตำแหน่ง กรรมการ
4. นายน้อย ศรีวงษ์ ตำแหน่ง กรรมการ
5. นายบัว ทองทับไทย ตำแหน่ง กรรมการ
6. นายอุทัย ศรีหาบุญทอง ตำแหน่ง กรรมการ
7. นายเสาร์ เภาโพนงาม ตำแหน่ง กรรมการ
8. นายอ่อนจันทร์ ศรีวงษ์ ตำแหน่ง กรรมการ
9. นายวิไล ยอดน้ำคำ ตำแหน่ง กรรมการ
10. นายชีพชัย ชินเกตุ ตำแหน่ง กรรมการ
11. นายสมชาย มีภักดี ตำแหน่ง กรรมการ
12. นายสมพงษ์ แตะอินรัมย์ ตำแหน่ง กรรมการ
13. นายบุญส่ง หาญสำโรง ตำแหน่ง กรรมการ
14. นางกชกร ชื่นศรี ตำแหน่ง กรรมการ
15. นางสำลี ศรีวงษ์ ตำแหน่ง กรรมการ

9. ผู้มีความรู้/ภูมิปัญญาท้องถิ่น/ปราชญ์ชาวบ้าน ได้แก่

1. นายอุทัย ศรีหาบุญทอง ด้านเกษตรอินทรีย์
2. นายเสาร์ เภาโพนงาม ด้าน การจักสาน
3. นางสุข บัวคำ ด้านทอผ้าไหม มัดหมี่
4. นางบุญเรือง ศรีหาบุญทอง ด้าน ตัดเย็บเสื้อผ้า
5. นายหรี ดีมาก ด้าน การจักสาน

10. กลุ่ม องค์กรในชุมชน (กทบ. กขคจ. กลุ่มอาชีพ กลุ่มออทรัพย์เพื่อการผลิต ฯลฯ)

1. กองทุนหมู่บ้าน ประธาน นายบัว ทองทับไทย สมาชิก 95 คน เงินกองทุน 1,300,000 บาท

2. กลุ่ม กขคจ. ประธาน นายแหล่ ศาลางาม สมาชิก48 คน เงินกองทุน 260,000 บาท

3. กลุ่มร้านค้าชุมชนประธาน นายเสาร์ เภาโพนงาม สมาชิก 60 คน เงินกองทุน 60,000 บาท

4. กลุ่มธนาคารข้าว ประธาน นายเสาร์ เภาโพนงาม สมาชิก 35 คน เงินกองทุน 113,000 บาท

ส่วนที่ 2ศักยภาพของหมู่บ้านและทิศทางการพัฒนาหมู่บ้าน

การวิเคราะห์ศักยภาพชุมชน

จากการประชุมคณะกรรมการเพื่อจัดทำแผนชุมชน ได้วิเคราะห์ศักยภาพชุมชน โดยการค้นหาจุดแข็ง จุดอ่อน ปัญหาและอุปสรรคของหมู่บ้าน ได้ดังนี้

ปัจจัยภายในชุมชนที่เป็น“จุดแข็ง”

- ชุมชนมีส่วนร่วมในการช่วยเหลือซึ่งกันและกัน มีความสามัคคี และเสียสละ
- มีกองทุน/สถาบันเงินทุนในหมู่บ้าน
- มีภูมิปัญญาชาวบ้าน/ปราชญ์ชาวบ้าน มีความสามารถด้านก่อสร้างจำนวนมาก
- ประชาชนให้การยอมรับเคารพซึ่งกันและกันในการตัดสินใจ “ของผู้นำ”
- มีน้ำประปาใช้และการบริหารจัดการที่ดี
- การคมนาคมที่สะดวก
- มีกองทุนหมู่บ้านและธนาคารข้าวเพื่อช่วยเหลือคนยากจนในชุมชน

ปัจจัยภายในชุมชนที่เป็น “จุดอ่อน”

- ขาดแหล่งน้ำเพื่อใช้ในการเกษตร ในช่วงฝนทิ้งช่วง
- มีปัญหาดินเสื่อมโทรม
- ขาดตลาดรองรับผลผลิตและราคาผลผลิตตกต่ำแต่ต้นทุนการผลิตสูง
- รายได้ไม่เพียงพอต่อรายจ่ายจึงก่อให้เกิดหนี้สินตามมา
- ขาดศูนย์การเรียนรู้ชุมชน

ปัจจัยภายในชุมชนที่เป็น “โอกาส”

- มีงบประมาณจากองค์การบริหารส่วนตำบล
- นโยบายรัฐบาลที่ช่วยสนับสนุนงบประมาณให้แต่ละชุมชนช่วยกันบริหารจัดการเอง
- มีเจ้าหน้าที่ภาครัฐจากหน่วยงานคอยสนับสนุนการดำเนินงานภาคประชาชน

ปัจจัยภายในชุมชนทีเป็น “อุปสรรค”

- องค์การบริหารส่วนตำบลมีงบประมาณน้อย
- ภัยธรรมชาติ เช่น ภัยแล้ง
- การดำเนินงานทางการเมืองในการเลือกตั้งก่อให้เกิดความขัดแย้ง แบ่งแยก
- ขาดงบประมาณที่จะทำโครงการขนาดใหญ่ทำให้การพัฒนาล่าช้า
- งบประมาณจากรัฐบาลล่าช้า และไม่ตรงกับความต้องการของชุมชน

เป้าหมายการพัฒนาหมู่บ้าน

1. สร้างสังคมแห่งการเรียนรู้และเป็นศูนย์กลางของวัฒนธรรม
2. เน้นสร้างการพัฒนาคนให้มีคุณภาพและคุณธรรม
3. สร้างชุมชนให้เข้มแข็งและความอยู่ดีกินดีตามแนวทางปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียง
4. สร้างสาธารณูปโภคพื้นฐานให้ครอบคลุมทั้งหมู่บ้าน
5. สร้างสุขภาพให้แข็งแรงด้วยการออกกำลังกายร่วมกันทั้งชุมชน
6. สร้างให้มีศูนย์เรียนรู้ข่าวสารทันสมัยต่อเหตุการณ์
7. มุ่งส่งเสริมให้กลุ่มอาชีพเพิ่มมากขึ้น คือ กลุ่มประดิษฐ์ตุ๊กตาจากผักตบชวา
8. ปรับภูมิทัศน์ให้สวยงามน่าอยู่และมีเครื่องออกกำลังกาย
9. มุ่งเน้นให้เกิดความสามัคคีเพื่อให้เกิดพลังอันเข้มแข็งในชุมชนต่อไป

ข้อมูลที่ใช้วิเคราะห์ในการจัดทำแผน

1. กลุ่มของชุมชน ทุนของชุมชน
2. ภูมิปัญญาชาวบ้าน ปราชญ์ชาวบ้าน
3. สถาบันเงินทุนของหมู่บ้าน

จากการศึกษาบริบทชุมชนสรุปได้ดังนี้ คือบ้านหนองปลาแดกน้อย หมู่ 13 ตำบล เมืองแก อำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ โดยการสอบถามข้อมูลจากตัวแทนชาวบ้าน พบว่าชาวบ้านหนองปลาแดกน้อยมี 78 ครัวเรือนมีจำนวนประชากรทั้งหมด 380 คน แบ่งเป็นประชากรชาย 178 คน ประชากรหญิง 202 คน มีพื้นที่ทำการเกษตร 1,657 ไร่ ในแต่ละครัวเรือนจะมีการปลูกมะนาวไว้ประกอบอาหารเกือบทุกครัวเรือน และส่วนใหญ่พบปัญหาของโรคแคงเกอร์ในมะนาวและปัญหามะนาวไม่ออกผล

ภาพที่ 4.1 การศึกษาบริบทชุมชนบ้านหนองปลาแดกน้อย

4.3 ผลการสำรวจโรคที่เกิดกับแปลงทดลองปลูกมะนาว

จากการสำรวจแปลงทดลองการปลูกมะนาว ณ. บ้านเลขที่ 109 หมู่ 12 ตำบลอิสาณ อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ 31000 มีการปลูกมะนาวทั้งหมด 70 วงบ่อ ซึ่งมีมะนาวอยู่ทั้งหมด 3 ชนิด คือ มะนาวแป้นพิจิตร 1 มะนาวแป้นรำไพ และมะนาวไข่ จากการสำรวจ พบว่ามีโรคที่เกิดกับมะนาวจำนวนมากคือ โรคแคงเกอร์ซึ่งเกิดกับมะนาวแป้นพิจิตร 1 และมะนาวแป้นรำไพ โรคไรแดงเกิดกับมะนาวแป้นรำไพ โรคเพลี้ยแป้งสีชมพูเกิดกับมะนาวแป้นรำไพ โรคเพลี้ยแป้งเกิดกับมะนาวไข่ โรคใบหงิกเกิดกับมะนาวแป้นพิจิตร 1 และเกิดหนอนกับมะนาวแป้นพิจิตร 1 แสดงดังภาพที่ 4.2-4.7

ภาพที่ 4.2 ลักษณะของโรคแคงเกอร์ในต้นมะนาวแป้นพิตร

ภาพที่ 4.3 ลักษณะการเกิดไรแดงในต้นมะนาวแป้นรำไพ

ภาพที่ 4.4 ลักษณะการเกิดเพลี้ยแป้งสีชมพูในต้นมะนาวแป้นรำไพ

ภาพที่ 4.5 ลักษณะการเกิดเพลี้ยแป้งในต้นมะนาวไข่

ภาพที่ 4.6 ลักษณะการเกิดโรคใบหงิกของต้นมะนาวแป้นพิจิตร 1

ภาพที่ 4.7 การเกิดหนอนในต้นมะนาวแป้นพิจิตร1

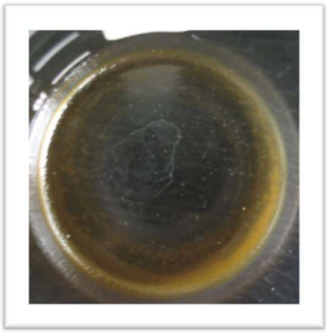
4.4 ผลการเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรหนอนตายหยาก

จากการพิจารณาลักษณะของหนอนตายหยากทางพฤกษศาสตร์ ลักษณะลำต้น ลักษณะดอก การเรียงตัวของใบ ลักษณะหัว รวมทั้งพื้นที่ที่พบ ระบุได้ว่าเป็นสายพันธุ์ *Stemona collinsae* Craibr. เนื่องจากเกิดตามป่าดงดิบ เขา มีลักษณะลำต้นเป็นเถา ใบรูปหัวใจปลายเรียวใบโตและยาว เส้นใบวิ่งตามยาว ประมาณ 15 เส้น มีสีเขียวอ่อน รากเป็นหัวเก็บอาหารมีลักษณะกลมยาวเป็นพวง ดอกมีเฉพาะกลีบดอกสีเขียวอ่อนมีเกสรสีชมพู ขนาดของดอกใหญ่และใหญ่กว่าหนอนตายหยากขนาดเล็ก แสดงดังภาพที่ 4.8

ภาพที่ 4.8 ลักษณะทั่วไปของหนอนตายหยาก

4.5 ผลการสกัดสารสำคัญสมุนไพรหนอนตายหยาก

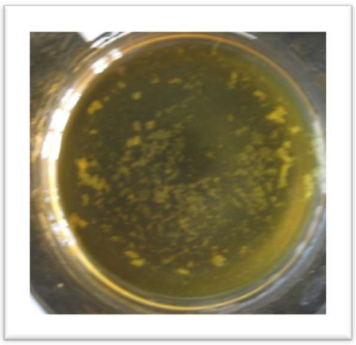
การสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีลำดับขั้วต่างกันจากตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วไปหาตัวทำละลายที่มีขั้วสูงได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลแอซิเตรต เมทานอล และเอทานอล ตามลำดับ ให้ปริมาณสารสกัดหยาบและลักษณะทางกายภาพแสดงดังภาพที่ 4.9 และตารางที่ 4.1 โดยสารสกัดจากเฮกเซนให้ปริมาณสารสกัดหยาบน้อยที่สุด และสารสกัดจากเมทานอล ให้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด แสดงให้เห็นว่าสารที่มีในหนอนตายหยากส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มสารที่มีขั้ว ลักษณะทางกายภาพ แสดงดังภาพที่ 4.9



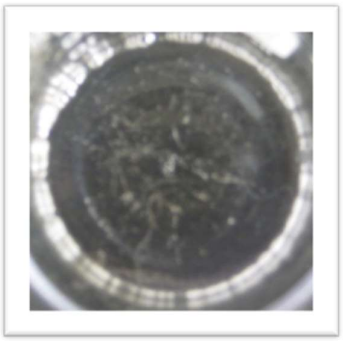
สารสกัดหยาบเฮกเซน

สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน

สารสกัดหยาบเอทิลแอซิเตรต



สารสกัดหยาบเมทานอล



สารสกัดหยาบเอทานอล

ภาพที่ 4.9 ลักษณะของสารสกัดหนอนตายหยาก

ตารางที่ 4.1 ปริมาณและลักษณะทางกายภาพของสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยาก

ชนิดของสารตัวอย่าง	ผลผลิตร้อยละ	ลักษณะทางกายภาพของสารสกัด
Crude hexane	0.0201	มีสีเหลืองอ่อน และมีลักษณะเป็นน้ำมัน
Crude dichloromethane	0.2570	มีสีเหลืองส้มลักษณะเป็นผง
Crude ethyl acetate	0.0834	มีสีส้มแกมเหลืองลักษณะเป็นผง
Crude methanol	16.3792	มีสีส้ม
Crude ethanol	0.4466	มีสีเหลือง

4.6 ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยาก

ตารางที่ 4.2 สมบัติการละลายในตัวทำละลายต่างๆ ของสารสกัดหัวหนอนตายหยาก

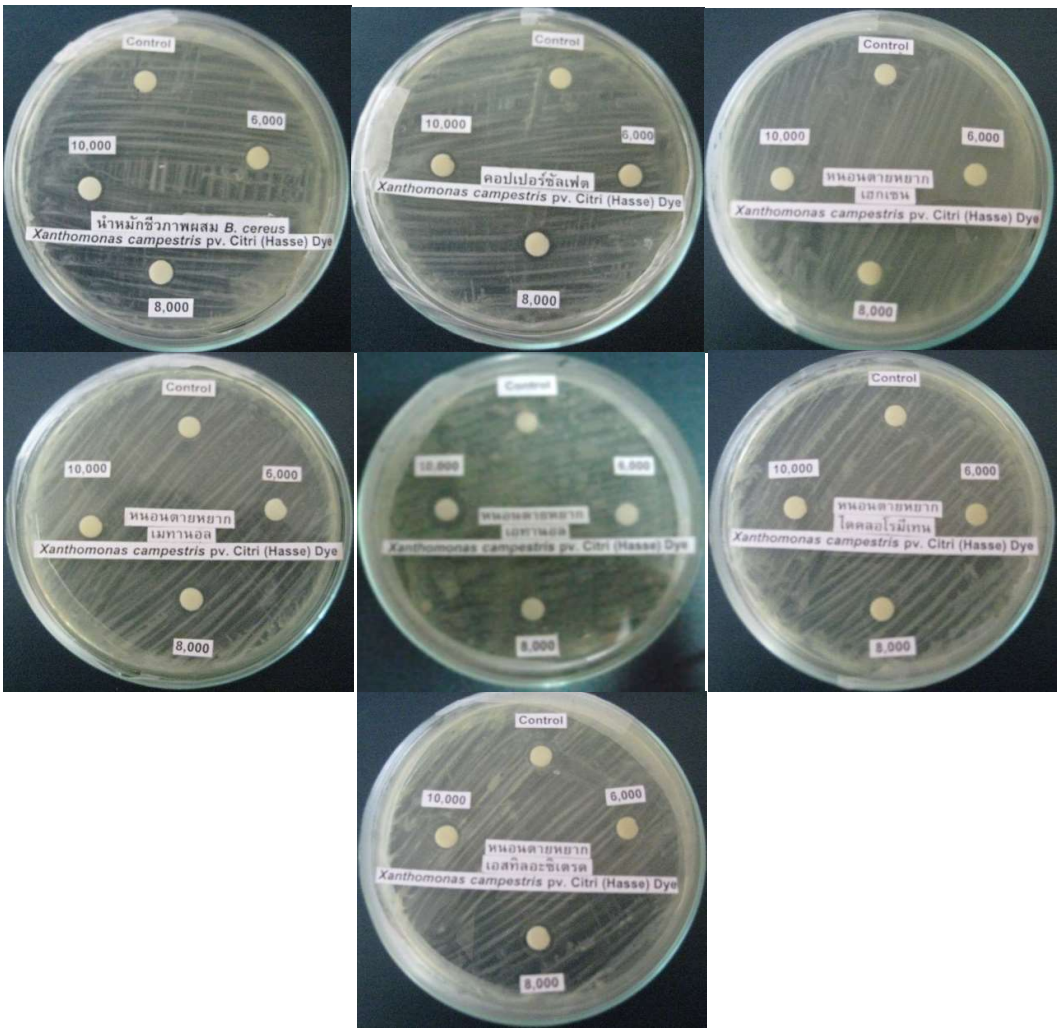
ชนิดของสารตัวอย่าง	ตัวทำละลาย					λ_{max}
	DMF	DMSO	MeOH	EtOH	Chloroform	
Crude hexane	+++	++	+++	+++	+++	192.110
Crude dichloromethane	+++	+++	+++	++	+++	303.000
Crude ethyl acetate	+++	+++	++	++	+++	203.000
Crude methanol	+++	+++	+++	+++	++	193.000
Crude ethanol	+++	+++	+++	+++	+++	193.486

หมายเหตุ : ++ หมายถึง สารสามารถละลายในตัวทำละลายได้ตั้งแต่ 50 - 70 %

+++ หมายถึง สารสามารถละลายในตัวทำละลายได้ตั้งแต่ 80 - 100 %

4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากต่อโรคแคงเกอร์ในห้องปฏิบัติการ

ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสารเหตุของโรคแคงเกอร์ในมะนาวโดยนำสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลแอซิเตรต เมทานอล และเอทานอล โดยนำสารสกัดเตรียมความเข้มข้นที่ 6,000 8,000 และ 10,000 ppm ตามลำดับ ซึ่งแสดงผลดังภาพที่ 4.10



ภาพที่ 4.10 การต้านเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. Citri (Hasse) Dye

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคแคงเกอร์

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	Clear zone (mm)			$\bar{x}$±SD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
น้ำหมักชีวภาพสูตรผสม *B. cereus*	8,000	7	9	9	8.333±1.155
	10,000	10	9	10	9.667±0.577
สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต	6,000	7	8	8	7.667±0.557
	8,000	7	9	8	8.000±1,000
	10,000	7	13	9	9.667±3.055
Crude hexane	10,000	7	9	9	8.333±1.155
Crude dichloromethane	10,000	7	10	9	8.667±1.528
Crude ethyl acetate	10,000	9	9	10	9.333±0.577
Crude methanol	8,000	7	9	9	8.333±1.155
	10,000	10	9	10	9.667±0.577
Crude ethanol	6,000	7	9	8	8.000±1.000
	8,000	7	9	9	8.333±1.155
	10,000	13	10	10	11.000±1.732

จากภาพที่ 10 และตารางที่ 3 พบว่า ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคแคงเกอร์ในมะนาว โดยนำสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด

ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอสทิลแอซิเตรต เมทานอล และเอทานอล เตรียมความเข้มข้นระหว่าง 6,000 8,000 และ 10,000 ppm ตามลำดับ เปรียบเทียบกับสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตและน้ำหมักชีวภาพสูตรผสม *B. cereus* พบว่า สารสกัดหยาบเอทานอลสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุดมีค่าเฉลี่ยของวงโซนใสที่ 11.00 mm ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของวงโซนใสมากกว่าสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตและน้ำหมักชีวภาพสูตรผสม *B. cereus*

4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากต่อโรคแคงเกอร์ในแปลงทดลอง

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากต่อโรคแคงเกอร์เปรียบเทียบสารละลายคอบเปอร์ซัลเฟตและน้ำหมักชีวภาพสูตรผสม *B. cereus* โดยเตรียมความเข้มข้นเป็น 10,000 ppm แล้วนำไปฉีดพ่นต้นมะนาวที่เกิดโรคแคงเกอร์ทุกๆ 1 วัน แสดงผลดังภาพที่ 4.11 และตารางที่ 4.4

ภาพที่ 4.11 ผลการการฉีดพ่นสารสกัดหนอนตายหยาก

ภาพที่ 4.12 ผลทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต

ภาพที่ 4.13 ผลการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพสูตรผสม *B. cereus*

ตารางที่ 4.4 ผลการต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคแคงเกอร์มะนาวในแปลงทดลอง เมื่อฉีดพ่นทุก 1 วัน จนครบ 2 สัปดาห์

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	จำนวนวันที่ฉีดพ่นสาร													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
หนอนตายหยาก-เอทานอล	10,000	_	_	_	_	+	+	+	+	+	+	++	++	++	++
สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต	10,000	_	_	+	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#
น้ำหมักชีวภาพสูตรผสม B. *cereus*	10,000	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_

หมายเหตุ - หมายถึง สารยังไม่ต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคแคงเกอร์
+ หมายถึง สารเริ่มต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคแคงเกอร์
++ หมายถึง สารต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคแคงเกอร์ได้ 50 %
+++ หมายถึง สารต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคแคงเกอร์ได้ 100 %
# หมายถึง ใบและกิ่งแห้งตาย

4.9 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านเพลี้ยแป้ง

ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากต่อเพลี้ยแป้งสีเขียวโดยเตรียมความเข้มข้นเป็น 10,000 ppm แล้วนำไปฉีดพ่นต้นมะนาวที่เกิดโรคเพลี้ยแป้งสีเขียว โดยทำการทดสอบฤทธิ์ 3 ซ้ำ พบว่า เมื่อฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 1 เวลาผ่านไป 1 วัน สังเกตผลการทดลอง พบว่า ยังมีเพลี้ยแป้งติดอยู่ตามกิ่งของต้นมะนาว แต่เมื่อฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 2 พบว่า แป้งที่ติดอยู่กับเพี้ยแป้งหลุดออก ลักษณะของเพลี้ยแป้งเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีเขียว และตายไปในที่สุด

ภาพที่ 4.14 ลักษณะการเกิดเพลี้ยแป้งบนต้นมะนาว

ภาพที่ 4.15 การฉีดพ่นสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยาก

ภาพที่ 4.16 ผลการฉีดพ่นสารสกัดต่อต้นมะนาวไข่

4.10 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านเพลี้ยแป้งสีชมพู

ผลจากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากต่อเพลี้ยแป้งสีชมพู โดยเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 10,000 ppm แล้วนำไปฉีดพ่นเพลี้ยแป้งสีชมพูที่เกิดกับต้นมะนาวจำนาน 3 ซ้ำ จากการทดลอง พบว่า เมื่อฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 1 สังเกตผลเมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน ปริมาณของเพลี้ยลดลง 60 เปอร์เซ็นต์ ตัวเพลี้ยจะฝ่อตายและหลุดจากต้นมะนาว เมื่อฉีดพันสารสกัดครั้งที่ 2 เมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน ปริมาณของเพลี้ยลดลง 80 เปอร์เซ็นต์ พบเพลี้ยที่ติดตามกิ่งมะนาวน้อยมาก และเมื่อฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 3 สังเกตผลเมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน พบว่า ไม่มีเพลี้ยเหลืออยู่

ภาพที่ 4.17 ลักษณะของการเกิดเพลี้ยแป้งสีชมพูในมะนาว

ภาพที่ 4.18 การฉีดพ่นสารสกัดต่อต้นมะนาว

ภาพที่ 4.19 ผลการฉีดพ่นสารสกัดต่อต้นมะนาวแป้นรำไพ

4.11 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านไรแดง

ผลจากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากต่อไรแดง โดยเตรียมความเข้มข้นเป็น 10,000 ppm แล้วนำไปฉีดพ่นไรแดงที่เจริญเติบโตบนต้นมะนาวจำนาน 3 ซ้ำ พบว่า เมื่อฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 1 สังเกตผลเมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน ปริมาณของไรแดงลดลง 40 เปอร์เซ็นต์ เมื่อฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 2 ปริมาณของไรแดงลดลง 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 3 ไม่มีไรแดงเหลืออยู่ แสดงว่า สารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากมีฤทธิ์ในการกำจัดไรแดงได้

ภาพที่ 4.20 ลักษณะของการเกิดไรแดงในมะนาว

ภาพที่ 4.21 การฉีดพ่นสารสกัดต่อต้นมะนาว

ภาพที่ 4.22 ผลการฉีดพ่นสารสกัด

ผลการฉีดพ่นสารสกัดสมุนไพรหนอนตายอยาก เมื่อเวลาผ่านไป 9 วัน บนต้นมะนาวจะไม่มีไรแดงเหลืออยู่

4.12 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอลในการกำจัดปลวก

ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากต่อปลวก โดยเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดที่ 10,000 ppm แล้วนำไปฉีดพ่นปลวก (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) พบว่า การฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 1 เมื่อเวลาผ่านไป 1 วัน ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่เมื่อฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 2 พบว่า เหลือปลวกเพียง 10 เปอร์เซนต์

ก่อนฉีดสารสกัด

หลังฉีดสารสกัด

ภาพที่ 4.23 ลักษณะการทำลายและการกำจัดปลวกของสารสกัดหยาบเอทานอล

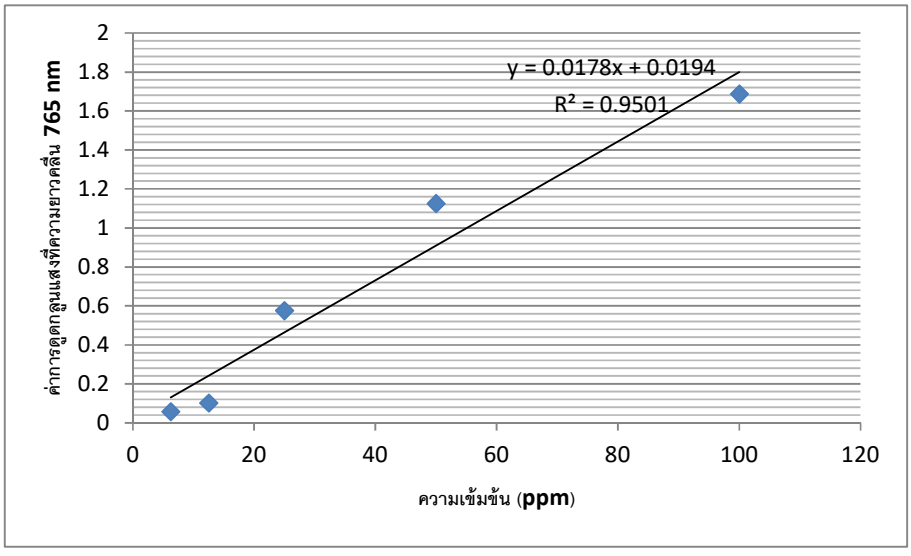
4.13 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านอนุมูลอิสระ

4.13.1 การหาปริมาณฟีนอลรวม

สารละลายมาตรฐาน Gallic acid และปริมาณฟีนอลรวมเป็นดังตารางที่ 4.5, 4.6 และภาพที่ 4.24 ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 4.5 ผลการศึกษาสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ในการหาปริมาณฟีนอลรวม

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm
Gallic acid	6.25	0.057
	12.50	0.102
	25.00	0.576
	50.00	1.125
	100.00	1.686



ภาพที่ 4.24 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณของ Phenolic content

เมื่อนำค่าการดูดกลืนของสารตัวอย่างไปเทียบกับกราฟมาตรฐานจะทำให้ทราบปริมาณฟีนอลรวมดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ผลการศึกษาความสามารถในการหาปริมาณฟีนอลรวมของสารสกัดหนอนตายหยาก

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่า Absorbance (765 nm)			Phenolic content (ppm)			$\bar{x}$±SD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
Crude hexane	6.25	0.021	0.023	0.022	0.089	0.185	0.146	0.140±0.048
	12.50	0.021	0.023	0.025	0.089	0.183	0.314	0.195±0.113
	25.00	0.023	0.025	0.024	0.183	0.314	0.258	0.252±0.066
	50.00	0.024	0.024	0.031	0.258	0.258	0.651	0.389±0.222
	100.00	0.034	0.029	0.034	0.820	0.539	0.820	0.726±0.162
Crude dichloromethane	6.25	0.046	0.041	0.040	1.494	1.213	1.157	1.288±0.181
	12.50	0.041	0.049	0.043	1.213	1.662	1.325	1.400±0.234
	25.00	0.053	0.063	0.053	1.887	2.449	1.887	2.074±0.324
	50.00	0.079	0.079	0.077	3.348	3.348	3.235	3.100±0.065
	100.00	0.139	0.138	0.113	6.719	6.662	5.258	6.213±0.828
Crude ethyl acetate	6.25	0.020	0.020	0.020	0.033	0.033	0.033	0.033±0.000
	12.50	0.022	0.023	0.022	0.146	0.202	0.246	0.198±0.050
	25.00	0.026	0.023	0.021	0.370	0.202	0.089	0.220±0.141
	50.00	0.028	0.028	0.020	0.483	0.483	0.033	0.333±0.260
	100.00	0.027	0.033	0.028	0.426	0.764	0.483	0.558±0.181
Crude methanol	6.25	0.020	0.021	0.021	0.033	0.089	0.089	0.070±0.032
	12.50	0.020	0.022	0.021	0.033	0.089	0.089	0.070±0.032
	25.00	0.021	0.022	0.021	0.089	0.146	0.089	0.108±0.033
	50.00	0.021	0.022	0.022	0.089	0.146	0.146	0.127±0.033
	100.00	0.022	0.023	0.022	0.146	0.202	0.202	0.183±0.032
Crude ethanol	6.25	0.052	0.049	0.042	1.831	1.662	1.269	1.587±0.288
	12.50	0.060	0.061	0.060	2.280	2.337	2.280	2.299±0.033
	25.00	0.062	0.061	0.063	2.393	2.337	2.449	2.393±0.056
	50.00	0.078	0.070	0.069	3.292	2.842	2.786	2.973±0.277
	100.00	0.073	0.076	0.073	3.011	3.179	3.011	3.067±0.097

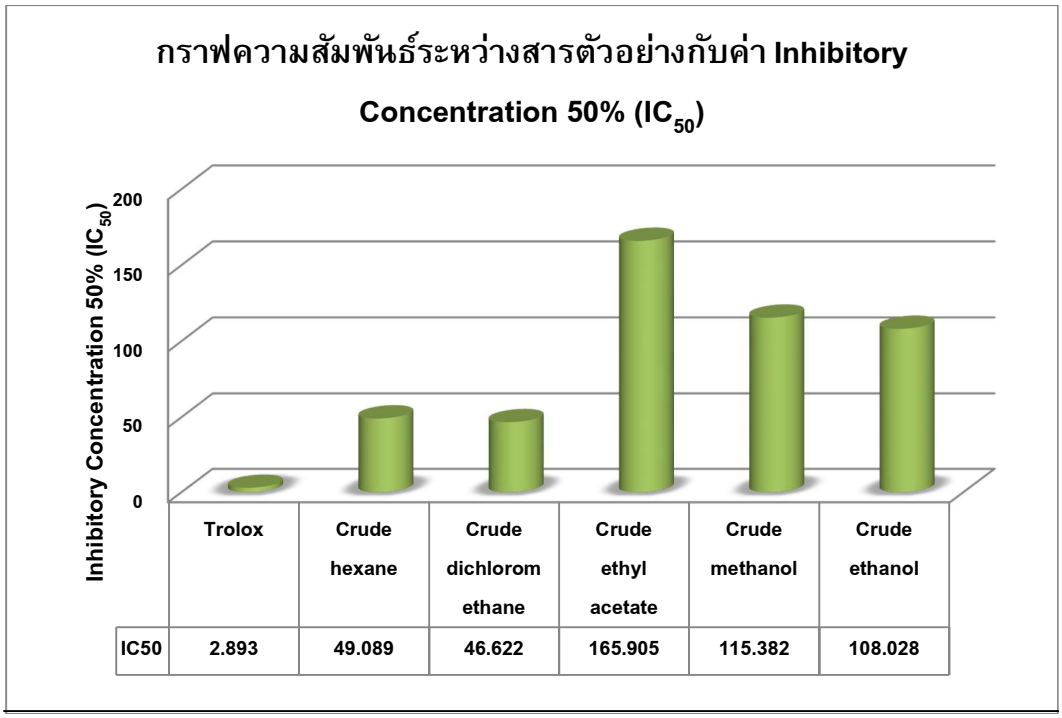
4.13.2 ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

ตารางที่ 4.9 ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารแต่ละชนิดด้วยเทคนิค DPPH

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 520 nm			$\bar{x}$ ±SD	Radical Scavenging activity (%)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
Trolox	6.25	0.478	0.475	0.290	0.414±0.108	14.746
	12.50	0.306	0.476	0.277	0.353±0.108	27.366
	25.00	0.043	0.044	0.040	0.042±0.002	91.286
	50.00	0.038	0.039	0.039	0.039±0.001	92.044
	100.00	0.033	0.029	0.030	0.031±0.002	93.690
Crude hexane	6.25	0.382	0.389	0.414	0.395±0.017	32.709
	12.50	0.370	0.404	0.393	0.389.±0.017	33.731
	25.00	0.345	0.373	0.355	0.358±0.014	39.069
	50.00	0.328	0.338	0.396	0.354±0.037	39.693
	100.00	0.300	0.307	0.334	0.314±0.018	46.564
Crude dichloromethane	6.25	0.472	0.397	0.475	0.448±0..044	7.819
	12.50	0.416	0.451	0.472	0.446±0.028	8.162
	25.00	0.394	0.387	0.423	0.401±0.019	17.421
	50.00	0.297	0.340	0.335	0.324±0.024	33.333
	100.00	0.183	0.168	0.165	0.172±0.010	64.609
Crude ethyl acetate	6.25	0.608	0.619	0.631	0.619±0.012	8.922
	12.50	0.580	0.618	0.611	0.603±0.020	11.324
	25.00	0.585	0.594	0.589	0.589±0.005	13.333
	50.00	0.494	0.456	0.421	0.457±0.037	32.794
	100.00	0.041	0.051	0.054	0.049±0.007	92.843
Crude methanol	6.25	0.393	0.410	0.458	0.420±0.034	13.512
	12.50	0.357	0.362	0.371	0.363±0.007	25.240
	25.00	0.350	0.328	0.370	0.349±0.021	28.121
	50.00	0.257	0.251	0.255	0.254±0.003	47.668
	100.00	0.144	0.143	0.131	0.139±0.007	71.331
Crude ethanol	6.25	0.591	0.553	0.590	0.578±0.022	1.533
	12.50	0.541	0.548	0.585	0.558±0.024	4.942
	25.00	0.525	0.570	0.523	0.539±0.027	8.120
	50.00	0.473	0.506	0.503	0.494±0.018	15.843
	100.00	0.511	0.502	0.400	0.471±0.062	19.761

ตารางที่ 4.10 แสดงค่า IC_{50} ของสารตัวอย่างในการต้านอนุมูลอิสระ

สารตัวอย่าง	IC_{50} (Inhibitory Concentration 50%)
Trolox	2.893
Crude hexane	49.089
Crude dichloromethane	46.622
Crude ethyl acetate	165.905
Crude methanol	115.382
Crude ethanol	108.028



ภาพที่ 4.25 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสารตัวอย่างกับค่า Inhibitory concentration 50% (IC_{50})

บทที่ 5
สรุปผลการทอดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 บทนำ

ในบทนี้คณะผู้วิจัยได้สรุปประเด็นต่างๆ ที่ได้จากการทำวิจัย ได้แก่ การสกัดสารสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก สมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ การทดสอบฤทธิ์การต้านโรคแคงเกอร์ในมะนาวเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดกับสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตและน้ำหมักชีวภาพผสม *B. cereus* ฤทธิ์การต้านเพลี้ยชนิดต่างๆ ในมะนาว ฤทธิ์การต้านไรแดงในมะนาว ฤทธิ์การต้านปลวก การหาปริมาณฟีนอลรวมที่มีในสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลแอซิเตดเมทานอล และเอทานอล สมบัติทางชีวภาพ (Biological activities) ในการต้านอนุมูลอิสระเทคนิค DPPH และถ่ายทอดความรู้สู่ชุมชนจากสมุนไพรที่มีฤทธ์ต้านโรคแคงเกอร์ของมะนาวให้กับชุมชน

5.2 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการพิจารณาลักษณะของหนอนตายหยากทางพฤกษศาสตร์ ลักษณะลำต้น ลักษณะดอก การเรียงตัวของใบ ลักษณะหัว รวมทั้งพื้นที่ที่พบ ระบุได้ว่าเป็นสายพันธุ์ *Stemona collinsae* Craibr. เนื่องจากเกิดตามป่าดงดิบ เขา มีลักษณะลำต้นเป็นเถา ใบรูปหัวใจปลายเรียวใบโตและยาว เส้นใบวิ่งตามยาว ประมาณ 15 เส้น มีสีเขียวอ่อน รากเป็นหัวเก็บอาหารมีลักษณะกลมยาวเป็นพวง ดอกมีเฉพาะกลีบดอกสีเขียวอ่อนมีเกสรสีชมพู ขนาดของดอกใหญ่กว่าหนอนตายหยากขนาดเล็ก

การสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีลำดับขั้วต่างกันจากตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วไปหาตัวทำละลายที่มีขั้วสูงได้แก่ เฮกเซนไดคลอโรมีเทน เอทิลแอซิเตดเมทานอล และ เอทานอล ให้ปริมาณสารสกัดหยาบที่ 0.0201 0.2570 0.0834 16.3792 และ 0.4466 ตามลำดับ โดยสารสกัดจากเฮกเซนให้ปริมาณสารสกัดหยาบน้อยที่สุด และสารสกัดจากเมทานอล ให้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด แสดงให้เห็นว่าสารที่มีในหนอนตายหยากส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มสารที่มีขั้ว (ณัฐกานต์ ธิคำ) ซึ่งลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากเฮกเซนจะมีสีเหลืองอ่อน มีลักษณะเป็นน้ำมัน สารสกัดจากไดคลอโรมีเทนมีสีเหลืองส้ม ลักษณะเป็นผง สารสกัดจากเอทิลแอซิเตดมีสีส้มแกมเหลืองลักษณะเป็นผง สารสกัดจากเมทานอลมีลักษณะเหนียวหนืด และสารสกัดจากเอทานอลมีสีเหลืองลักษณะเหนียวหนืด เมื่อนำสารสกัดหยาบทั้ง 5 ชนิด มาทดสอบการละลายในตัวทำละลายต่าง ๆ คือ Dimethyl formamide, Dimethyl sulfoxide, Methanol, Ethanol และ Chloroform พบว่า สารสกัดหยาบทั้ง 5 ชนิด

สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด และเมื่อนำสารสกัดหยาบทั้ง 5 ชนิดมาวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) พบว่า สารสกัดหยาบจาก ไดคลอโรมีเทน มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงที่สุดที่ 303.0 รองลงมา คือ สารสกัดจากเอทิลแอซิเตด มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 203.0

ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคแคงเกอร์ในมะนาวโดยนำสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอสทิลแอซิเตด เมทานอล และเอทานอล นำสารสกัดหยาบเตรียมความเข้มข้นที่ 6,000 8,000 และ 10.00 ppm ตามลำดับเปรียบเทียบกับคอปเปอร์ซัลเฟตน้ำหมักชีวภาพสูตรผสม *B. cereus* พบว่าสารสกัดหยาบจากเอทานอลสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุดมีค่าเฉลี่ยของวงโซนใสที่ 11.00 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยมากกว่าคอปเปอร์ซัลเฟตและน้ำหมักชีวภาพสูตรผสม *B. cereus*

ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากเอทานอลต่อโรคแคงเกอร์ในมะนาว โดยใช้สารคอบเปอร์ซัลเฟตและน้ำหมักชีวภาพสูตรผสม *B. cereus* เตรียมความเข้มข้นเป็น 10,000 ppm แล้วนำไปฉีดพ่นต้นมะนาวที่เกิดโรคแคงเกอร์ทุกๆ 1 วัน พบว่าเมื่อนำสารสกัดหยาบเอทานอลฉีดพ่นต้นมะนาวที่เกิดโรคแคงเกอร์เชื้อจะเริ่มลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน เมื่อครบ 14 วัน เชื้อลดลงสังเกตจากบริเวณที่เกิดเชื้อสีจะจางลงและมองเห็นเชื้อได้ไม่ชัดเจน และเมื่อเปรียบเทียบกับคอปเปอร์ซัลเฟตและน้ำหมักชีวภาพสูตรผสม *B. cereus* ซึ่งคอปเปอร์ซัลเฟตจะเริ่มต้านเชื้อแบคทีเรียเมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน แต่พบว่าบริเวณที่เกิดเชื้อเริ่มเหี่ยวในวันที่ 4 และตายลงเมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน และน้ำหมักชีวภาพสูตรผสม *B. cereus* ไม่สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้เมื่อใช้เวลาเพียง 14 วัน สรุปได้ว่าสารสกัดจากหนอนตายหยากมีฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ได้ดีกว่าคอปเปอร์ซัลเฟตและน้ำหมักชีวภาพผสม *B. cereus*

ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอลต่อเพลี้ยแป้งสีเขียวโดยเตรียมความเข้มข้นเป็น 10,000 ppm พบว่าเมื่อฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 1 เวลาผ่านไป 1 วัน พบว่ายังคงมีเพลี้ยแป้งติดตามกิ่งของต้นมะนาวอยู่เช่นเดิมแต่เมื่อสังเกตลักษณะของตัวเพลี้ยแป้งไม่พบตัวเพลี้ยแป้งมีเพียงแป้งที่ติดอยู่กับกิ่งมะนาว เมื่อฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 2 พบว่า แป้งที่ติดอยู่กับกิ่งของมะนาวเริ่มหลุดออกลักษณะของแป้งเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีเขียว ไม่พบตัวเพลี้ยแป้งหลงเหลืออยู่เลยสรุปได้ว่าสารสกัดหยาบเอทานอลสามารถฆ่าเพลี้ยแป้งได้ภายใน 2 วัน

ผลจากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากเอทานอลต่อเพลี้ยแป้งสีชมพูโดยเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 10,000 ppm แล้วนำไปฉีดพ่นเพลี้ยแป้งสีชมพูที่เกิดกับต้นมะนาวจำนาน 3 ซ้ำ พบว่า เมื่อฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 1 เวลาผ่านไป 3 วัน พบว่าปริมาณของเพลี้ยลดลง 60 เปอร์เซ็นต์โดยตัวเพลี้ยจะฝ่อตายและหลุดจากต้นมะนาว เมื่อฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 2 เมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน พบว่าปริมาณของเพลี้ยลดลง 80 เปอร์เซ็นต์ พบเพลี้ย

ที่ติดตามกิ่งมะนาวน้อยมาก และเมื่อฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 3 สังเกตผลเมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน พบว่า ไม่มีเพลี้ยหลงเหลืออยู่ สรุปได้ว่าสารสกัดหยาบเอทานอลมีฤทธิ์ฆ่าเพลี้ยแป้งในเวลา 3 วัน

ผลจากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอลต่อไรแดง พบว่า เมื่อฉีดพ่นสารสกัดต่อไรแดงจำนวน 3 ครั้ง ซึ่งครั้งที่ 1 เมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน พบว่า ปริมาณของไรแดงลดลง 40 เปอร์เซ็นต์ ครั้งที่ 2 พบปริมาณของไรแดงลดลง 70 เปอร์เซ็นต์เมื่อฉีดพ่นสารสกัดครั้งที่ 3 พบว่า ไม่มีไรแดงหลงเหลืออยู่เลย แต่เมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน พบว่าไรแดงจะเปลี่ยนที่อยู่จากต้นที่ฉีดพ่นสารสกัดไปยังต้นที่อยู่ใกล้เคียงโดยมีมดเป็นตัวนำพา สรุปได้ว่าสารสกัดหยาบเอทานอลมีฤทธิ์ในการต้านไรแดงได้

ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากต่อปลวก โดยเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดที่ 10,000 ppm ฉีดพ่นปลวก 3 ซ้ำ พบว่า ครั้งที่ 1 เวลาผ่านไป 1 วัน ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลง ครั้งที่ 2 พบปลวกเพียง 10 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นแสดงให้เห็นว่าสาสกัดหยาบเอทานอลสามารถต้านปลวกได้

ผลการศึกษาความสามารถในการหาปริมาณฟีนอลรวมที่มีในสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลแอซิเตด เมทานอล และเอทานอล พบว่า ปริมาณฟีนอลรวมในสารสกัดแต่ละชนิดจะแปรผันตามความเข้มข้นของสาร โดยเมื่อสารมีความเข้มข้นมากขึ้นปริมาณฟีนอลรวมจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วยซึ่งในสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน จะมีปริมาณฟีนอลรวมสูงที่สุดมีค่า 1.288, 1.400, 2.074, 3.100 และ 6.213 รองลงมาคือ เอทานอล เฮกเซนเอทิลแอซิเตด และเมทานอล ตามลำดับ

ผลการต้านอนุมูลอิสระเทคนิค DPPH method พบว่า สารสกัดหยาบจากไดคลอโรมีเทน มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 46.622รองลงมา คือ สารสกัดหยาบจากเฮกเซน ค่า IC_{50} เท่ากับ 49.089

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ควรมีการนำสารสกัดหยาบหนอนตายหยากทดลองใช้กับพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นๆ

5.3.2 ควรมีการพัฒนาสารสกัดหยาบเอทานอลให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นที่รู้จักและผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

ณัฐกานต์ ธิคำและคณะ. (2551). **การแยกสารสกัดบางส่วนจากหนอนตายหยากและผลของสารสกัดต่อหนอนกระทู้หอม.** กรุงเทพฯ : การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 : 253-261

ธวัชชัย ศุภดิษฐ์ และ พนมกร ขุนอ่อน. (2551). **การใช้น้ำสกัดชีวภาพจากหนอนตายหยากและสับปะรดควบคุมหนอนแมลงวันบ้าน.** กรุงเทพฯ : การประชุมสัมมนาวิชาการระบบเกษตรแห่งชาติ ครั้งที่ 4 **:** 247-252.

เพื่อนเกษตร. (2555). **ปลูกมะนาวนอกฤดูเพื่อรายได้ให้เกษตรกร**. กรุงเทพฯ : รายการโทรทัศน์ก้าวไกลกับกรมวิชาการเกษตร อ.ส.ม.ท.

มนตรี บุญจรัส. (2557). **โรคแคงเกอร์**. ค้นเมื่อ 2 สิงหาคม 2557 ค้นจาก ชมรมเกษตรปลอดสารพิษ www.thaigreenagro.com

รายการเกษตรทำเงิน. (2555). **มะนาวในบ่อซีเมนต์.** กรุงเทพฯ : สถานีโทรทัศน์ผ่านดาวเทียม K-Station : 7 กันยายน 2555.

สัมภาษณ์ ศรีสมัย. (ม.ป.ป.). **เรื่องน่ารู้หนอนตายหยาก.** กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร.

อโนทัย วิงสระน้อย. (2549). **การควบคุมแมลงวันด้วยสารสกัดจากหนอนตายหยาก (*Stemona*sp.).** สกลนคร : สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรสกลนคร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน จังหวัดสกลนคร