รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของหนอนตายหยากซิลเวอร์นาโนพาร์ติเคิลต้านเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลัง
Biological Activity of Stemona Tuberosa Lour' s Silver Nanoparticles against Cassava Mealy Bug

โดย

สมหมาย ปะติตังโข และคณะ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
พ.ศ. 2561
(ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์)

เลขที่สัญญา ๔/๒๕๖๑

รายงานการวิจัย
เรื่อง
การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของหนอนตายหยากซิลเวอร์นาโนพาร์ติเคิลต้านเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลัง

สมหมาย ปะติตังโข
กิ่งแก้ว ปะติตังโข
ครุปกรณ์ ละเอียดอ่อน

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
พ.ศ. 2561
(ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์)

หัวข้อวิจัย การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของหนอนตายหยากซิลเวอร์นาโนพาร์ติเคิลต้านเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลัง

ผู้ดำเนินการวิจัย สมหมาย ปะติตังโข กิ่งแก้ว ปะติตังโข และครุปกรณ์ ละเอียดอ่อน

หน่วยงาน คณะวิทยาศาสตร์ คณะมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

ปีวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2561

เลขที่สัญญา 4/2561

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติสารสกัดหนอนตายหยาก (*Stemona collinsae* Craibr.; Stemofoline) และเงินนาโนสตีโมโฟลินในการกำจัดเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลัง โดยการสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากด้วยตัวทำละลายเอทานอล แล้วทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคทางคอลัมน์โครมาโทกราฟี (column chromatography) จะได้สารบริสุทธิ์สตีโมโฟลิน (Stemofoline) ซึ่งจะทำหน่าที่เป็นลิแกนด์ (ligand) ไปรีดิวซ์ (reduce) ไอออนของเงิน (silver ion; Ag^{+}) จะได้อนุภาคของเงินนาโน (silver nanoparticles) จากนั้นนำทั้งลิแกนด์และอนุภาคของเงินนาโนไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (Biological activities) ในการต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งการต้านเพลี้ยแป้ง (*Pseudococcus* sp.) ในระดับห้องปฏิบัติการ และแปลงทดลองของเกษตรกร ผลการทดลองพบว่า สารสตีโมโฟลินและเงินนาโนสตีโมโฟลินต้านอนุมูลอิสระได้ดี นอกจากนี้ยังสามารถต้านเพลี้ยแป้งได้อีกด้วย โดยเฉพาะเงินนาโนสตีโมโฟลินออกฤทธิ์ต้านเพลี้ยแป้งได้ดีที่สูดทั้งแปรตามความเข้มข้น (dose dependent) และแปรตามเวลา (time dependent) อีกด้วย

คำสำคัญ : หนอนตายหยาก ซิลเวอร์นาโนพาร์ติเคิล เพลี้ยแป้ง มันสำปะหลัง

Research Title Biological Activity of Stemona Tuberosa Lour' s Silver Nanoparticles against Cassava Mealy Bug

Researcher Sommai Patitungkho, Kingkaew Patitungkho and, Kharupakon La-ead-on

Research Consultants 2561

Organization Faculty of Sciences, Faculty of Humanities and Social Sciences, Faculty of Education

Year 2018

ABSTRACT

The objectives of this study was examine the biological activity of natural extracts of Stemona collinsae Craibr and Silver Nanostemofoline in eliminating Cassava Pseudococcus by extracting Stemona collinsae Craibr herb with ethanol solvent extraction and purifying by using the column chromatography technique and the pure Stemofoline was obtained. It will work as ligand to reduce silver ion; Ag^{+} and then silver nanoparticles were obtained. After that ligand and silver nanoparticles were tested in terms of Biological activities in antioxidant activity as well as the biological activity that was against Pseudococcus in a lab and farmers' trail plots. The results of the experiment showed that Stemofoline and Silver Nanostemofoline worked well against antioxidant. Moreover, they could worked well against Pseudococcus as well, especially Silver Nanostemofoline had the biological activity against Pseudococcus the best according to its dose dependent and its time dependent as well.

Keywords : Stemona Collinsae Craibr, Silver Nanoparticles, Pseudococcus, Cassava

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยฉบับนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ซึ่งสนับสนุนและเอื้ออำนวยในการดำเนินการวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณผู้บริหารมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ที่ให้การสนับสนุนการทำวิจัย และขอบคุณผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา ตลอดจนบุคลากรของสถาบันวิจัยและพัฒนาที่ช่วยในการออกข้อมูลเข้าระบบ NRMS และแนะนำในเรื่องที่เกี่ยวข้องกับการทำรูปเล่มเอกสาร

ขอขอบคุณชาวไร่มันสำปะหลังบ้านลิ่มทอง ตำบลหนองโบสถ์ อำเภอนางรอง จังหวัดบุรีรัมย์ ที่ให้ความร่วมในเรื่องแปลงทดลอง และนำน้ำยาที่ผลิตได้จากห้องทดลองไปทดลองใช้กับมันสำปะหลังที่เป็นเพลี้ยแป้งและมีใบงิกงอ และขอขอบคุณผู้ใหญ่บ้านลิ่มทอง ตำบลหนองโบสถ์ อำเภอนางรอง จังหวัดบุรีรัมย์ ที่ให้ความร่วมมือในการเก็บข้อมูล เพื่อนำองค์ความรู้มาเขียนงานวิจัยจนสมบูรณ์ทุกประการ

คณะผู้วิจัย

30 มิถุนายน 2561

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... **ก**
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... **ข**
กิตติกรรมประกาศ ..... **ค**
สารบัญ ..... **ง**
สารบัญตาราง ..... **ฉ**
สารบัญภาพประกอบ ..... **ช**

บทที่

1 บทนำ **1**
หลักการและเหตุผล 1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3
แผนการวิจัย 4
ขอบเขตการวิจัย 4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 5
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง **7**
บทนำ 7
สมุนไพรหนอนตายหยาก 7
ประโยชน์ของหนอนตายหยาก 9
การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพร 9
การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร 10
การเลือกตัวทำละลายเพื่อการสกัด 12
วิธีสกัดสมุนไพร 12
ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ 13
งานวิจัยเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ 14
อนุภาคนาโน 15
เพลี้ยแป้ง 16
ลักษณะการระบาดและทำลายของเพลี้ยแป้ง 17
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 18
กรอบแนวคิดการวิจัย 25
3 สารเคมี อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง **26**
บทนำ 26
สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ 26
กระบวนการและขั้นตอนการสกัด 28

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

วิธีการสังเคราะห์อนุภาค 28
การศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ 29
หาขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง SEM 29
การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activities) ในการกำจัดเพลี้ยแป้ง (*Pseudococcus sp.*) 29
ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านอนุมูลอิสระ 30
4 ผลการทดลองและอภิปรายผล 33
บทนำ 33
ผลการเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก 33
ผลการสกัดสาระสำคัญสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก 34
ผลการนำสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากไปรีดิวส์เกลือของโลหะ 35
ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก 35
ผลการทดสอบความสามารถในการต้านเพลี้ยแป้งของสารสกัดสมุนไพรและสารสกัดสมุนไพรเงินนาโนในห้องปฏิบัติการ 36
ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านอนุมูลอิสระ 38
ผลการทดสอบความสามารถของอนุภาคนาโนที่ทออกฤทธิ์ต่อเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลังที่นำไปใช้ในแปลงทดลองของเกษตรกร 41
5 สรุป วิจารณ์ผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 43
สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย 43
ข้อเสนอแนะ 44
บรรณานุกรม 45
ภาคผนวก 49
ภาคผนวก ก ภาพกิจกรรม..... 50

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ชนิดของพืชในสกุล *Stemona* ที่พบในประเทศไทย 9
4.1 ปริมาณสารสกัดและลักษณะทางกายภาพของสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก 34
4.2 สมบัติการละลายในตัวทำละลายต่างๆ ของสารสกัดหัวหนอนตายหยาก 35
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเพลี้ยแป้ง 37
4.4 ผลการศึกษาความสามารถในการหาปริมาณฟีนอลรวมของสารสกัดหนอนตายหยาก .. 39
4.5 ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารแต่ละชนิดด้วยเทคนิค DPPH 40
4.6 ค่า IC_{50} ของสารตัวอย่างในการต้านอนุมูลอิสระ 41

สารบัญภาพประกอบ

ภาพที่ **หน้า**

3.1 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารจำพวกฟีนอล 30
4.1 ลักษณะทั่วไปของหนอนตายหยาก 33
4.2 ลักษณะของสารสกัดหนอนตายหยาก 34
4.3 โครงสร้างของ Stemofoline 35
4.4 ลักษณะการเกิดเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง 36
4.5 การออกฤทธิ์ต้านเพลี้ยแป้งของสาร Stemofoline ในจานทดลอง 36
4.6 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณของ Phenolic content 38

บทที่ 1
บทนำ

1.1 บทนำ

ในบทที่ 1 ผู้วิจัยได้นำเสนอหลักการและเหตุผลของการวิจัย วัตถุประสงค์ของการวิจัย แผนการวิจัย ขอบเขตของการวิจัย และประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ โดยมีรายละเอียดดังนี้

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 (http://www.nesdb.go.th) เนื่องจากส่วนของพืชเป็นสัดส่วนที่มีความสำคัญที่สุด จากสภาวะการแข่งขันในตลาดโลกที่สูงขึ้นโดยเฉพาะสินค้าเกษตรและอาหาร ซึ่งเป็นสินค้าหลักของประเทศไทย อีกทั้งปัจจุบันประเทศคู่ค้าที่สำคัญของไทยได้มีการกำหนดมาตรการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) ดังนั้น กระทรวงเกษตรและสหกรณ์จึงได้มีการส่งเสริมให้ทำการเกษตรให้ได้ผลิตผลที่ปลอดภัยจากสารพิษและทำเกษตรอินทรีย์เพิ่มมากขึ้น โดยกำหนดการปฏิบัติทางการเกษตรตามระบบเกษตรดีที่เหมาะสม (GAP; Good Agricultural Practice) ซึ่งมีวิธีการควบคุมศัตรูพืชแบบพึ่งพาสารเคมีให้น้อยที่สุด (จิระเดช แจ่มสว่าง. ม.ป.ป.) ใช้วิธีการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพด้วยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาทดแทนสารเคมีให้มากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นสารพิษส่วนมากมีสมบัติในการทำลายล้างสิ่งมีชีวิตไม่ว่าจะเป็นพืช สัตว์และจุลินทรีย์แทบทุกชนิด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชนั้นๆ แนวความคิดที่จะเลิกใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและเปลี่ยนมาใช้สารสกัดจากธรรมชาติที่ไม่ส่งผลเสียต่อมนุษย์ สัตว์ สิ่งแวดล้อม ตลอดจนเศรษฐกิจโดยรวมของประเทศเป็นสิ่งที่ทุกคนปรารถนา จากการศึกษาการสูญเสียของผลผลิตทางการเกษตรที่มีสาเหตุมาจากการทำลายของสัตรูพืชและวัชพืชเฉลี่ยของโลกพบว่า สูญเสียกว่า 40 % โดยเฉพาะสภาพภูมิอากาศร้อนชื้น เช่น ประเทศไทยที่สามารถปลูกพืชได้ตลอดทั้งปี ศัตรูพืชสามารถแพร่พันธุ์และระบาดได้ทั้งปีเช่นกัน จึงสร้างความเสียหายอย่างมาก ดังนั้นการควบคุมเชื้อโรคพืชโดย ชีววิธี (biocontrol) ซึ่งเป็นการลดปริมาณประชากรและลดกิจกรรมของเชื้อโรคพืชที่จะก่อให้เกิดโรคจนอยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับพืชโดยอาศัยสิ่งมีชีวิต (organism) ทั้งนี้หมายรวมถึงพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) ตลอดจนสารพันธุกรรมหรือผลิตผลจากสารพันธุกรรม (genes or gene จากผลิตภัณฑ์มวลรวม (GDP) ไตรมาสที่ 1/2553 ขยายตัว 12 % ซึ่งสูงสุดในรอบ 15 ปี โดยแยกเป็นส่วนของภาคเกษตร 0.2 % โดยสาขาประมงขยายตัว 2.5 % จากรายการกุ้งแช่แข็งส่งออกที่เพิ่มขึ้น ส่วนสาขาเกษตรกรรมลดลง 0.3 % เป็นการลดลงในผลผลิตพืชที่สำคัญคือ ข้าว อ้อยและมันสำปะหลัง (http://www.nesdb.go.th) เนื่องจากส่วนของพืชเป็นสัดส่วนที่มีความสำคัญที่สุด จากสภาวะการแข่งขันในตลาดโลกที่สูงขึ้นโดยเฉพาะสินค้าเกษตรและอาหาร ซึ่งเป็นสินค้าหลักของประเทศไทย อีกทั้งปัจจุบันประเทศคู่ค้าที่สำคัญของไทย

ได้มีการกำหนดมาตรการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) ดังนั้น กระทรวงเกษตรและสหกรณ์จึงได้มีการส่งเสริมให้ทำการเกษตรให้ได้ผลิตผลที่ปลอดภัยจากสารพิษและทำเกษตรอินทรีย์เพิ่มมากขึ้น โดยกำหนดการปฏิบัติทางการเกษตรตามระบบเกษตรดีที่เหมาะสม (GAP; Good Agricultural Practice) ซึ่งมีวิธีการควบคุมศัตรูพืชแบบพึ่งพาสารเคมีให้น้อยที่สุด (จิระเดช แจ่มสว่าง. ม.ป.ป.) ใช้วิธีการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพด้วยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาทดแทนสารเคมีให้มากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นสารพิษ ส่วนมากมีสมบัติในการทำลายล้างสิ่งมีชีวิตไม่ว่าจะเป็นพืช สัตว์และจุลินทรีย์แทบทุกชนิด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชนั้นๆ แนวความคิดที่จะเลิกใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและเปลี่ยนมาใช้สารสกัดจากธรรมชาติที่ไม่ส่งผลเสียต่อมนุษย์ สัตว์ สิ่งแวดล้อม ตลอดจนเศรษฐกิจโดยรวมของประเทศเป็นสิ่งที่ทุกคนปรารถนา จากการศึกษาการสูญเสียของผลผลิตทางการเกษตรที่มีสาเหตุมาจากการทำลายของสัตรูพืชและวัชพืชเฉลี่ยของโลกพบว่า สูญเสียกว่า 40 % โดยเฉพาะสภาพภูมิอากาศร้อนชื้น เช่น ประเทศไทยที่สามารถปลูกพืชได้ตลอดทั้งปี ศัตรูพืชสามารถแพร่พันธุ์และระบาดได้ทั้งปีเช่นกัน จึงสร้างความเสียหายอย่างมาก ดังนั้นการควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี (biocontrol) ซึ่งเป็นการลดปริมาณประชากรและลดกิจกรรมของเชื้อโรคพืชที่จะก่อให้เกิดโรคจนอยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับพืชโดยอาศัยสิ่งมีชีวิต (organism) ทั้งนี้หมายรวมถึงพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) ตลอดจนสารพันธุกรรมหรือผลิตผลจากสารพันธุกรรม (genes or gene products) ของสิ่งมีชีวิต แต่ยกเว้นผลจากการกระทำต่อเชื้อโรคโดยตรงจากมนุษย์ ในธรรมชาติมีสิ่งมีชีวิตหรือจุลินทรีย์หลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืชและแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกันไปในการเป็นปฏิปักษ์ (เยาวพา สุวัตถิ. ม.ป.ป.)

ปัจจุบันได้มีการค้นคว้าหาวิธีการควบคุมโรคพืชใหม่ๆ ทางชีวภาพเพื่อลดอันตรายจากการใช้สารเคมีทางการเกษตร โดยให้เกษตรกรหันมาใช้การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ซึ่งถือเป็นวิธีที่ยอมรับว่าใช้ได้ผลดี ได้มีการศึกษาถึงกลไกการควบคุมโรคและระบบการควบคุมโรคโดยวิธีต่างๆ โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist) ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา เชื้อแบคทีเรียมักเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อโรคพืชโดยการแก่งแย่งอาหาร การยับยั้ง ทำลายและการเป็นปรสิตนอกจากนี้ยังมีวิธีการอื่นอีก เช่น ให้เกษตรกรหันมาปลูกพืชแบบผสมผสาน แทนการปลูกพืชเชิงเดี่ยวก็ได้ผลดีในระดับหนึ่ง แต่โดยภาพรวมยังไม่เป็นที่น่าพอใจ ทั้งนี้เนื่องจาก GDP ที่ขยายตัวมาจากภาคนอกการเกษตร ส่วนภาคการเกษตร โดยเฉพาะพืชผลหดตัว 0.3 % โดยผลผลิตจากมันสำปะหลัง อ้อย ข้าวและข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลดลงดังกล่าวแล้ว ทั้งนี้ด้วยสาเหตุที่สำคัญคือภัยแล้งและโรคระบาด รัฐบาลจึงมีนโยบายเร่งด่วนที่จะเพิ่มขีดความสามารถให้ภาคอาหารและเกษตร เพื่อให้การผลิตได้ทั้งปริมาณและคุณภาพที่มีความปลอดภัย ซึ่งจะเห็นได้จากการที่รัฐมนตรีว่าการกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีได้สั่งการให้ สวทช. เร่งเพิ่มขีดความสามารถให้อาหารและเกษตร เพื่อรองรับความต้องการของชุมชนและเอกชน หวังสร้างมูลค่าสินค้าไทยแข่งขันกับต่างชาติ เนื่องจากอาหารและเกษตรเป็นหัวใจสำคัญของประเทศไทย จึงต้องการให้นำความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี นาโนเทคโนโลยี ไบโอเทคโนโลยี มาช่วยแก้ปัญหาหรือสร้างมูลค่าให้สินค้าของประเทศไทยในการแข่งขันกับต่างชาติ หรือแม้แต่แก้ปัญหาเฉพาะหน้า เช่น ภัยแล้งที่เกิดจากโลกร้อน ฝนทิ้งช่วงที่สร้างความเดือดร้อนให้ภาคการเกษตร ปุ๋ยนาโนที่จะควบคุมการปลดปล่อยสารอาหารออกมาในเวลาที่พืชต้องการ โดยให้เน้นงานยุทธศาสตร์เรื่อง

ความปลอดภัยของอาหารและกระบวนการผลิตที่จะส่งผลกระทบต่อธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม โดยมองว่าตลาดสินค้าที่เน้นเรื่องความปลอดภัยทั้งกับมนุษย์และสิ่งแวดล้อมมีแนวโน้มเติบโตได้ดีในอนาคต (http://www.thairath.co.th)

นาโนเทคโนโลยีเป็นเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการจัดการ การสร้าง การสังเคราะห์วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องจักรหรือสิ่งต่างๆ ที่มีขนาดเล็กมากประมาณ 1 ถึง 100 นาโนเมตร ดังนั้นความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยีจึงสามารถนำมาใช้จัดเรียงอะตอมหรือโมเลกุลเข้าด้วยกันอย่างถูกต้องแม่นยำ ส่งผลให้โครงสร้างของวัสดุหรือสสารต่างๆ มีสมบัติที่พิเศษขึ้นทั้งทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อผู้ใช้สอยและเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจได้ นาโนเทคโนโลยีเป็นเทคโนโลยีที่เป็นความหวังใหม่ของมวลมนุษยชาติ เพราะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมายและหลากหลายมากขึ้น การนำ นาโนเทคโนโลยีไปใช้ประโยชน์เป็นการบูรณาการศาสตร์หลากหลายแขนงเข้าด้วยกัน เช่น อิเล็กทรอนิกส์ วัสดุศาสตร์ และเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งกำลังพัฒนาอยู่อย่างต่อเนื่องและนับวันจะเข้ามามีบทบาทในชีวิตประจำวันมากขึ้น ไม่ว่าผลิตภัณฑ์ที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการขจัดโรคภัยไข้เจ็บ ผลิตภัณฑ์ในการชะลอความแก่ เครื่องสำอาง คอมพิวเตอร์ นาโนไบโอเซ็นเซอร์ เส้นใยนาโน อนุภาค นาโน นาโนเทคโนโลยีเกี่ยวกับพลังงาน นาโนเทคโนโลยีเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อม และนาโนเทคโนโลยีที่เกี่ยวกับการเกษตรและอาหาร เป็นต้น

จากเหตุผลและความจำเป็นดังกล่าวข้างต้นทำให้คณะผู้วิจัยสนใจที่จะนำสารที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติในที่นี้คือสมุนไพรหนอนตายหยากมาผสมผสานกับองค์ความรู้ทางด้านนาโนวิทยาศาสตร์และนาโนเทคโนโลยีเพื่อผลิตอนุภาคในระดับนาโนแล้วนำไปใช้ในการควบคุมเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่นำรายได้เข้าสู่ประเทศเป็นอันดับต้นๆ ของพืชเศรษฐกิจทั้งหลาย ดังนั้นการแก้ปัญหาดังกล่าวจึงมีความจำเป็นเร่งด่วน

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เป้าหมายหลัก:

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติสารสกัดหนอนตายหยากและหนอนตายหยากเงินนาโนในการกำจัดเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลัง โดยอาศัยองค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์และนาโนเทคโนโลยีแบบมีส่วนร่วมของชุมชน
2. เพื่อหาสารกำจัดเพลี้ยแป้งที่มาจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ
3. ได้แนวทางการพัฒนาอนุภาคเงินนาโนจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในท้องถิ่น
4. ถ่ายทอดความรู้ด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและนาโนเทคโนโลยีสู่ชุมชน

เป้าหมายรวม:

1. ได้สารกำจัดเพลี้ยแป้งที่ทำลายมันสำปะหลังซึ่งกำลังระบาดหนักอยู่ในจังหวัดบุรีรัมย์และจังหวัดอื่นๆ อยู่ในขณะนี้
2. เกษตรกรเกิดความตระหนักในพิษภัยจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มีพิษรุนแรงเป็นอันตรายต่อมนุษย์ สัตว์และสิ่งแวดล้อม โดยหันมาใช้สมุนไพรเป็นหลัก
3. จังหวัดบุรีรัมย์เป็นแหล่งผลิตมันสำปะหลังที่มีประสิทธิภาพสูง

1.4 แผนการวิจัย

1.4.1 เก็บและสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากที่ร่วมกันเก็บกับเกษตรกรในจังหวัดบุรีรัมย์

1.4.2 นำสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากไปรีดิวส์เกลือของโลหะ (Ag) จะได้สารใหม่ต่อไป คือนาโนโลหะอินทรีย์อย่างน้อย 2 ชนิด ที่มีสมบัติการออกฤทธิ์เสริมกันหรือเป็นกัลยาณมิตร (synergistic effect)

1.4.3 ทดสอบความสามารถในการต้านเพลี้ยแป้งของสารสกัดสมุนไพรและสารสกัดสมุนไพรเงินนาโนในห้องปฏิบัติการ

1.4.4 เตรียมสารสกัดสมุนไพรและเพิ่มปริมาณของอนุภาคนาโนที่ออกฤทธิ์ต่อเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลังเพื่อนำไปใช้ในแปลงทดลอง

1.4.5 ถ่ายทอดเทคโนโลยีการกำจัดเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลังให้เกษตรกรที่ปลูกมันสำปะหลัง

1.5 ขอบเขตการวิจัย

1.5.1 ขอบเขตด้านเนื้อหา

1.5.1.1 เก็บและสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากที่ร่วมกันเก็บกับเกษตรกรในจังหวัดบุรีรัมย์

1.5.1.2 นำสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากไปรีดิวส์เกลือของโลหะ (Ag) จะได้สารใหม่คือนาโนโลหะอินทรีย์อย่างน้อย 2 ชนิด ที่มีสมบัติการออกฤทธิ์เสริมกันหรือเป็นกัลยาณมิตร (synergistic effect)

1.5.1.3 ทดสอบความสามารถในการต้านเพลี้ยแป้งของสารสกัดสมุนไพรและสารสกัดสมุนไพรเงินนาโนในห้องปฏิบัติการ

1.5.1.4 เตรียมสารสกัดสมุนไพรและเพิ่มปริมาณของอนุภาคนาโนที่ออกฤทธิ์ต่อเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลังเพื่อนำไปใช้ในแปลงทดลองของเกษตรกร

1.5.1.5 ถ่ายทอดเทคโนโลยีการกำจัดเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลังให้เกษตรกรที่ปลูกมันสำปะหลัง

1.5.2 ขอบเขตด้านสถานที่

1.5.2.1 ห้องปฏิบัติการของศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

1.5.2.2 ห้องปฏิบัติการของศูนย์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.5.2.3 กลุ่มเกษตรกรปลูกมันสำปะหลังทั้ง 5 อำเภอ คือ คือ อำเภอเมืองบุรีรัมย์ อำเภอปะคำ อำเภอโนนสุวรรณ อำเภอนางรอง และ อำเภอหนองกี่

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เมื่องานวิจัยสำเร็จแล้วจะเกิดผลดีและมีประโยชน์ในด้านต่างๆ ดังต่อไปนี้

1.6.1 ด้านวิชาการ

1.6.1.1 จะได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากสมุนไพรหนอนตายหยากในการต้านเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลัง

1.6.1.2 จะได้สารรีดิวส์ที่มาจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติตัวใหม่ที่เป็นลิวอิสเบส (Lewis base หรือ Electrondonor) อย่างน้อย 2 ชนิด นำไปเคลือบอยู่บนอนุภาคนาโนของเงิน

1.6.1.3 ทราบสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ ชนิด ขนาดและมอร์โฟโลกี ของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในระดับนาโน ตลอดจนฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านต้านเพลี้ยแป้ง (*Pseudococcus* sp.) ของมันสำปะหลัง รวมถึงระดับความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ

1.6.1.4 ได้สารกำจัดศัตรูมันสำปะหลังชนิดใหม่ที่ไม่เป็นพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

1.6.1.5 ได้แนวทางการควบคุมสัตรูพืชแบบใหม่ โดยอาศัยความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยี

1.6.1.6 ได้พัฒนานักวิจัยใหม่ของมหาวิทยาลัยราชภัฏอย่างน้อย 1 คน

1.6.1.7 ได้บทความวิจัยตีพิมพ์ในวารสารที่มี Impact factor หรือจดสิทธิบัตร

1.6.1.8 ได้องค์ความรู้ใหม่ที่จะนำไปใช้ประกอบการเรียนการสอนวิชาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและวิชานาโนเทคโนโลยีของนักศึกษาสาขาเคมี สาขาเกษตรศาสตร์และวิทยาศาสตร์ทั่วไป

1.6.2 ด้านนโยบาย

1.6.2.1 ผู้นำชุมชนจะได้นำความรู้ที่ได้จากการวิจัยไปกำหนดเป็นนโยบายในการกำจัดเพลี้ยแป้งของเกษตรกรในพื้นที่ที่ตัวเองรับผิดชอบ

1.6.2.2 หน่วยงานทางการเกษตร เช่น เกษตรจังหวัดและเกษตรอำเภอ รวมทั้งหมอดินจะได้นำความรู้ไปถ่ายทอดและกำหนดเป็นแนวทางในการแก้ปัญหาด้านศัตรูพืช โดยเฉพาะการกำจัดเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลังให้กับชุมชน

1.6.3 ด้านเศรษฐกิจ/พาณิชย์ อุตสาหกรรม

1.6.3.1 ได้แนวทางการผลิตสารออกฤทธิ์จากธรรมชาติในระดับอุตสาหกรรมโดยอาศัยความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยี

1.6.4 ด้านสังคมและชุมชน

1.6.4.1 ชุมชนได้รับและนำความรู้ด้านนาโนโลหะอินทรีย์ (nano natural organometallic control) ไปใช้ในการควบคุมศัตรูพืช

1.6.4.2 ได้แนวทางเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการผลิตพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ เช่นมันสำปะหลัง

1.6.4.3 ได้แนวทางการนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้ไปใช้ในการรักษาโรคพืชหรือสัตว์เศรษฐกิจอื่นๆ

1.6.4.4 เกิดความร่วมมือระหว่างหน่วยงานทางการศึกษาและระหว่างหน่วยงานทางการศึกษากับชุมชน

1.6.4.5 เกษตรกรจะได้รับความรู้เกี่ยวกับนาโนเทคโนโลยี ได้แนวคิดและหลักการในการกำจัดศัตรูพืชโดยอาศัยองค์ความรู้ทางด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชิและนาโนเทคโนโลยี ซึ่งถือเป็นการพัฒนาคนแบบยั่งยืน

1.6.4.6 ชุมชนจะมีภูมิคุ้มกันไม่หลงเชื่อคำกล่าวอ้างเกี่ยวกับสินค้าที่ว่าเป็นผลผลิตทางด้าน นาโนเทคโนโลยี

1.6.5 ด้านสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

1.6.5.1 ได้สารกำจัดเพลี้ยแป้งที่ไม่เป็นพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 บทนำ

ในบทนี้ได้ให้รายละเอียดในสิ่งต่างๆ ดังต่อไปนี้

2.1.1 สมุนไพรหนอนตายหยาก

2.1.2 การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพร (Preparation of Raw materials)

2.1.3 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร

2.1.4 การเลือกตัวทำละลายเพื่อการสกัด

2.1.5 การเลือกน้ำยาสกัด

2.1.6 วิธีการสกัดสมุนไพร

2.1.7 ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

2.1.8 อนุภาคเงินนาโน

2.1.9 เพลี้ยแป้ง

2.1.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.2 สมุนไพรหนอนตายหยาก

สมุนไพรไทยเป็นทรัพยากรที่มีค่ายิ่งอย่างหนึ่งของประเทศ วิธีการเลือกใช้สมุนไพรในการรักษาโรคของบรรพบุรุษไทยนั้น ถือได้ว่าเป็นศาสตร์ที่ล้ำลึก และเป็นมรดกทางวัฒนธรรมที่ทรงคุณค่ายิ่ง แต่การเผยแพร่หลักการแพทย์แผนปัจจุบันจากประเทศในซีกโลกตะวันตก ซึ่งเริ่มเข้ามาในประเทศไทยในช่วงปลายสมัยรัชกาลที่ 5 นั้น มีผลให้การแพทย์แผนไทย และการแพทย์พื้นบ้านเสื่อมความนิยมลง และทำให้ความรู้ที่ได้สืบทอดมาแต่สมัยดึกดำบรรพ์นั้นขาดช่วงลงอย่างหน้าเสียดายแต่อย่างไรก็ตามประชาชนจำนวนไม่น้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่อยู่ในชนบทห่างไกล ซึ่งอิทธิพลทางการแพทย์แผนตะวันตกก้าวเข้าไปไม่ถึง ยังคงเลื่อมใสการแพทย์พื้นบ้านและใช้สมุนไพรไทยรักษาโรคในยามเจ็บปวดเสมอ อย่างไรก็ดีสำหรับประเทศไทยเริ่มหันมาสนใจสมุนไพรและการแพทย์แผนไทย เมื่อประมาณหนึ่งทศวรรษที่ผ่านมา โดยได้รับอิทธิพลจากการตื่นตัวของประเทศตะวันตก และองค์การอนามัยโลก ซึ่งเน้นบทบาทของหมอพื้นบ้าน และหมอแผนโบราณ รวมทั้งการนำสมุนไพรมาใช้ในการสาธารณสุขมูลฐาน รัฐบาลจึงได้กำหนดแผนการวิจัยสมุนไพรไว้ในแผนพัฒนาการเศรษฐกิจแห่งชาติฉบับที่ 6 รวมทั้งการสนับสนุนการใช้สมุนไพรไว้ในแผนพัฒนาการสาธารณสุของประเทศด้วย (ชมรมสมุนไพรไทย, 2543)หนอนตายหยาก จัดเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่ง ซึ่งนอกจากจะมีสรรพคุณทางยารักษาโรคแล้วยังมีคุณสมบัติในการกำจัดแมลงศัตรูพืชด้วย การจะนำต้นหนอนตายหยากมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดควรมีการศึกษาถึงความหลากหลายทางชนิดพันธ์ของหนอนตายหยาก ตลอดจนศึกษาการขยายพันธ์หนอนตายหยาก ทั้งนี้เป็นแนวทางในการอนุรักษ์ และพัฒนาแหล่งสมุนไพรในประเทศ และส่งเสริมการใช้สมุนไพรอย่างยั่งยืน

พฤกษศาสตร์ของต้นหนอนตายหยาก

นักพฤกษศาสตร์ด้านอนุกรมวิธาน ได้จำแนกกลุ่มและเรียงลำดับไว้ดังนี้

Division Embryophyta
Subdivision Angiospermae
Clss Monocotyledoneae
Order Liliales
Family Stemonaceae
Genus Stemona

(มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2528)

หนอนตายหยากเป็นพืชในสกุล*Stemona* วงศ์ Stemonaceae เป็นไม้ล้มลุกประเภทไม้เลื้อย ใบเดี่ยวรูปหัวใจปลายแหลม หรือรูปใบคล้ายใบพลู แต่ใบแหลมยาวขึ้นไป เส้นใบตามยาวมีหลายเส้น เห็นชัดเจนในแนวขนานกับขอบใบ ระหว่างเส้นใบดังกล่าวมีเส้นใบออกตามขวางของใบมาประสานกับเส้นใบเหล่านี้ ทำให้เป็นตาสี่เหลี่ยม มีกลีบดอกสีขาวข้างในสีม่วงแดง ฝักเล็กปลายแหลมสีน้ำตาล ในช่วงฤดูแล้งลำต้นบนดินจะโทรม พอเริ่มฤดูฝนจึงจะงอกออกมาใหม่พร้อมทั้งออกดอกดอกขนาดเล็ก สีขาวหรือสีม่วงแล้วแต่พันธ์ ลำต้นใต้ดินจะมีรากเป็นแบบทูเบอร์ (Tuber) อยู่รวมกันเป็นกระจุกคล้ายกระชาย มีจำนวน 50 - 80ราก แต่ละรากยาว 12 – 20 ซม. พบแพร่หลายอยู่ตามประเทศต่างๆ ในแถบเอเชีย เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และออสเตรเลีย ส่วนมากจะพบได้ทุกฤดูกาล และสามารพบได้ในที่ที่ค่อนข้างแห้งแล้ง บ่อยครั้งมักพบขึ้นอยู่ตามหินและในป่า โดยทั่วไปแล้วจะพบไม่ไกลจากฝั่งทะเลที่ระดับความสูงต่ำกว่า 500 เมตร

หนอนตายหยากเป็นพืชที่ขยายพันธ์ง่าย โดยใช้เมล็ดหรือแทงหน่อใหม่ขึ้นจากกอต้นเดิม แล้วขยายออกไปเรื่อยๆขึ้นได้ในดินทุกชนิด ทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี พบทั้งในที่ชื้นและที่แห้งแล้ง เป็นพืชที่เจริญในฤดูฝน ออกดอกและติดผลในฤดูฝน เมื่อถึงฤดูแล้งต้นจะโทรมลง ครั้นถึงฤดูฝนต่อไปก็จะเจริญแทงหน่อขึ้นมาใหม่

เสงี่ยม พงษ์บุญรอด (2508) ได้รวบรวมพืชสกุล *Stemona* ที่มีในประเทศไทยและรายงานว่าพบประมาณ 10 ชนิด มีชื่อเรียกแตกต่างกันตามท้องถิ่นต่างๆ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ชนิดของพืชในสกุล *Stemona* ที่พบในประเทศไทย

ชนิด	ชื่อท้องถิ่น	จังหวัดที่พบ
*Stemonaaphylla*Craib.	เครื่องปุง	แพร่, ลำปาง
*Stemona asperula*J.J.Sm.	ไม่มีรายงานชื่อไทย	ไม่ระบุจังหวัด
*Stemona burkillii*Prain.	ปงมดง่าม โป่งมดง่าม	ดอยสุเทพ เยงใหม่
*Stemona collinsae*Craib.	ปงช้าง หนอนตายหยาก	ภาคเหนือและภาคกลาง (ไม่ระบุจังหวัด) อ.ศรีราชา ชลบุรี
*Stemona curtisii*Hk. f.	รากลิง หนอนตายหยาก	พัทลุง, จันทบุรี
*Stemona griffithiana*Kurz.	ไม่มีรายงานชื่อไทย	แพร่
*Stemona hutanguriana*W.sp.nov.	ไม่มีรายงานชื่อไทย	อ.เมือง อุบลราชธานี
*Stemona kerrii*Craib.	ไม่มีรายงานชื่อไทย	ดอยสุเทพ เชียงใหม่
*Stemona phyllantha*Gagnep.	ไม่มีรายงานชื่อไทย	เพชรบุรี, ภูเก็ต
Stemona tuberose Lour.	กะเพียด หนอนตายหยาก	ประจวบคีรีขันธ์, ชลบุรี, เพชรบุรี, นครสวรรค์, แม่ฮ่องสอน

2.3 ประโยชน์ของหนอนตายหยาก

ต้นหนอนตายหยากเป็นพืชสมุนไพรไทยชนิดหนึ่งที่เป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายในประเทศต่างๆ ตังแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยนำรากมาใช้เป็นยาทางด้านการแพทย์แผนโบราณ และทางการเกษตรกรรม

2.4 การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพร (Preparation of Raw materials)

ปริมาณสารสำคัญในสมุนไพรขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ เช่น ฤดูกาลเก็บเกี่ยว ระยะเวลาที่เก็บพืช สภาพดิน สภาพอากาศ ปริมาณน้ำ ชนิดและปริมาณสัดส่วนของปุ๋ยและอาหารเสริม เป็นต้น ฤดูกาลที่เก็บพืชสมุนไพรมีความสำคัญต่อปริมาณและชนิดขององค์ประกอบสำคัญในพืชสมุนไพรควรเก็บในฤดูกาลและระยะเวลา (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) ลดลง หรือดอกไพรีทรัม (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)

2.5 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปการสกัดเบื้องต้นไม่ว่าจะสกัดด้วยวิธีการใดหรือใช้ตัวทำละลายใด ก็จะได้องค์ประกอบเป็นของผสมหรือสารสกัดหยาบ (Crude extract) ซึ่งเป็นสิ่งที่สกัดออกมาจากสมุนไพรโดยใช้น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย (Solvent) สารสกัดหยาบนี้เป็นของผสมขององค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรซึ่งจะมีทั้งองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (Pharmacologically active constituents) ซึ่งมักเรียกว่า สารสำคัญ (Active constituents) และองค์ประกอบที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (Pharmacologically inactive constituents) ซึ่งเรียกว่า สารเฉื่อย (Inert substances) ชนิดและสัดส่วนขององค์ประกอบในสารสกัดจะแปรเปลี่ยนไปตามสภาพของสมุนไพรที่ใช้และสภาวะที่ใช้ในการสกัด วัตถุประสงค์การสกัดพืชสมุนไพร คือ

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

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 ซึ่งมักเกิดขึ้นในกรณีที่ใช้น้ำอย่างเดียวในการสกัดนอกจากน้ำยาสกัดที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ตัวทำละลายอินทรีย์ก็อาจใช้ในการสกัดพืชสมุนไพรได้ เช่น เฮกเซน (Hexane) และปิโตเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether) ใช้สกัดพืชสมุนไพรในขั้นต้นเพื่อขจัดสารพวกไขมันออกไปก่อนที่จะทำการสกัดสารสำคัญ แต่ต้องระเหยเอาน้ำยาสกัดเหล่านี้ออกไปจนหมดก่อนการสกัดขั้นตอนต่อไป ตัวทำละลายเหล่านี้นิยมใช้สกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้ว (Non polar component) เช่น ไขมัน (Lipids) สเตียรอยด์ (Steroids) เทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) คลอโรฟอร์ม (Chloroform) และอีเทอร์ (Ether) จัดเป็นตัวทำละลายที่มีขั้ว (Polarity) ปานกลาง ใช้สกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้ว (Non-polar component) ไปจนถึงสารที่มีขั้วปานกลาง เมทานอล (Methanol) เป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญที่มีขั้ว (Polar active constituent) เช่นเดียวกับแอลกอฮอล์ แต่นิยมใช้แอลกอฮอล์มากกว่า เพราะราคาถูกกว่าและมีความเป็นพิษน้อยกว่า

2.6 การเลือกตัวทำละลายเพื่อการสกัด

หลังจากการเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพรสำหรับการสกัดแล้วควรเลือกตัวทำละลายที่จะใช้ในการสกัดให้เหมาะสมกับชนิดของสารที่ต้องการสกัด โดยตัวทำละลายที่จะใช้ในการสกัดควรมีสมบัติดังนี้

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

2. สภาพของพืชสมุนไพรที่ทำการสกัด เช่น เมล็ด เป็นส่วนที่มีไขมันอยู่มาก ควรขจัดไขมันออกก่อนโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ประเภทไม่มีขั้ว เช่น ปิโตเลียมอีเทอร์ เป็นต้น แล้วจึงนำกากต้นพืชที่เหลือไปสกัดต่อด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม

2.7 วิธีสกัดสมุนไพร

2.7.1 มาเซอเรชัน (Maceration) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยวิธีการหมักสมุนไพรกับน้ำยาสกัดจนกระทั่งเนื้อเยื่อของสมุนไพรอ่อนนุ่นและน้ำยาสกัดสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในผงสมุนไพรออกมาได้

การหมักสมุนไพรควรทำในภาชนะที่มีฝาปิดสนิทในน้ำยาสกัดที่เหมาะสม จะทำเป็นเวลา 7 วัน หรือตามกำหนดในเภสัชตำรับหรือจนกระทั่งองค์ประกอบที่ต้องการละลายออกมาหมด ในระหว่างที่หมักผงสมุนไพรอยู่นั้นควรเขย่าหรือคนเป็นครั้งคราวเพื่อเพิ่มอัตราเร็วของการสกัด เมื่อครบกำหนดเวลาจึงกรอง แยกกาก (Marc) ออกจากน้ำยาสกัด วิธีการสกัดนี้เหมาะสมกับพืชสมุนไพรที่มีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อที่ไม่แข็งแรงนัก เช่น ใบ ดอก ซึ่งทำให้อ่อนนุ่นได้ง่าย จัดเป็นวิธีที่ใช้สารสกัดน้อยจึงประหยัด และเนื่องจากเป็นวิธีการที่ไม่ใช้ความร้อนจึ่งเหมาะสมกับการสกัดสารที่ไม่ทนต่อความร้อน แต่วิธีการสกัดนี้มักจะไม่สมบูรณ์เนื่องจากไม่ค่อยมีการเคลื่อนที่ของน้ำยาสกัด เมื่อสารในสมุนไพรละลายออกมาถึงระดับหนึ่งจะเกิดความสมบูรณ์ขององค์ประกอบภายในของสมุนไพรของน้ำยาสกัด เมื่อสารในสมุนไพรละลายออกมาถึงระดับหนึ่งจะเกิดความสมดุลขององค์ประกอบภายในสมุนไพรและน้ำยาสกัดที่ใช้ ทำให้อัตราเร็วของการสกัดช้าลง จึงไม่เหมาะที่จะใช้สกัดในกรณีที่ต้องการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรจนสมบูรณ์ เนื่องจากวิธีการสกัดแบบมาเซอเรชันช้า ใช้เวลานาน จึงมีผู้ดัดแปลงใช้มิกเซอร์ (Mixer) หรือโฮโมจีไนเซอร์ (Homogenizer) มาช่วยทำให้เซลล์พืชแตกออกก่อนทำการสกัด เพื่อย่นระยะเวลาการสกัด ต่อมาพัฒนาการใช้เสียงที่มีความถี่สูงเกิน 20,000 เฮิรตซ์ ร่วมในการสกัดเรียกวิธีนี้ว่า การสกัดอัลตราซาวน์ (ultrasound extraction) แต่วิธีหลังนี้อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำไปเป็นเพอร์ออกไซค์ (Peroxide) ซึ่งอาจมีผลต่อการสกัด นอกจากนี้อาจ

เกิดผลต่อปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (Oxidation) ต่อสารโดยตรง เพราะขณะที่ใช้สารสกัดอัลตราซาว์ทำให้เกิดช่องว่างและมีอากาศแทรกเข้าไปในตัวทำละลาย

2.7.2 เพอร์โคเลชัน (Percolation) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรโดยการปล่อยให้น้ำยาสกัดไหลผ่านผงสมุนไพรอย่างช้าๆ พร้อมกับละลายเอาองค์ประกอบจากผงสมุนไพรออกมา โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า เพอร์โคเลเตอร์ (Percolator)

วิธีการทำเพอร์โคเลชั่น คือ นำผงสมุนไพรมาหมักกับตัวทำละลายก่อน 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่แล้วๆ บรรจุผงยาทีละชั้นลงในเพอร์โคเลเตอร์ ซึ่งมีลักษณะเป็นคอลัมน์ (Column) 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

2.7.3 การสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous extraction) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรทำนองเดียวกับเพอร์โคเลชัน แต่ต้องใช้ความร้อนเข้าช่วยและใช้ซอกซ์เลตเอกซ์แทรกเตอร์ (Soxhlet extractor) ซึ่งเป็นระบบปิด โดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำ เมื่อได้รับความร้อนจากฮีทติงแมลเทิล (Heating mantle) น้ำยาสกัดในภาชนะระเหยขึ้นไปแล้วกลั่นตัวลงมาในทิมเบิล (Thimble) ซึ่งบรรจุสมุนไพรไว้ น้ำยาสกัดจะผ่านสมุนไพรซ้ำแล้วซ้ำอีกไปเรื่อยๆ จนกระทั่งองค์ประกอบในสมุนไพรถูกสกัดออกมา เมื่อน้ำยาสกัดในเอกซ์แทรกติงแซมเบอร์ (Extracting chamber) สูงถึงระดับจะเกิดการลักน้ำ สารสกัดจะไหลกลับลงไปในภาชนะวนเวียนอย่างนี้จนสารสกัดสมบูรณ์ วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องนี้เหมาะสำหรับการสกัดองค์ประกอบที่ทนต่อความร้อนและใช้น้ำยาสกัดน้อย ไม่สิ้นเปลือง แต่ไม่เหมาะที่จะใช้กับองประกอบที่ไม่ทนต่อความร้อนและน้ำยาที่ใช้ไม่ควรเป็นของผสม เพราะจะเกิดการแยกตัวของสารละลายแต่ละชนิดเนื่องจากมีจุดเดือดต่างกัน จะมีผลให้สัดส่วนของน้ำยาสกัดแตกต่างไปจากเดิมและผลการสกัดไม่ดีเท่าที่ควร

2.8 ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

การศึกษาวิจัยทางด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีนักวิทยาศาสตร์มากมายหลายกลุ่มได้ดำเนินการอยู่ในห้องปฏิบัติการต่างๆ ทั่วทุกมุมโลก เพื่อเป้าหมายเดียวกันคือ การพัฒนา เพิ่มฤทธิ์ให้เป็นยารักษาโรคมนุษย์ สัตว์และพืช รวมทั้งใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ ในที่นี้จะให้รายละเอียดเกี่ยวกับการศึกษาของกลุ่มที่สอดคล้องกับงานวิจัย ดังนี้

2.9 งานวิจัยเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

จากการศึกษางานวิจัยเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สำคัญมีดังต่อไปนี้

Lopez *et al*. (Lopez, Lidia M. *et al.*, 2002, 237-245) ได้แสดงให้เห็นถึงสมบัติทางชีวภาพของ lipophilic *O*-napthoquinoneซึ่งเป็นควินินที่ได้จากผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติมีฤทธิ์เป็นยารักษาโรคต่างๆ เช่น antibacterial, antifungal, trypanocidal และ cytotoxic effects โดยสมาชิกที่สำคัญของสารในกลุ่มนี้คือ β-lapachone (3,4-dihydro-2,2-dimethyl-2H-naphtho [1,2b] pyran-5,6-dione) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งหลายชนิดได้ดี เช่น Yoshida and walker sarcoma, epidermoid laryngeal carcinoma, melanoma, promyelocytic-leukemia, prostate, breast, ovary, colon, hepatomaและ lung cancer cells อีกด้วย

Azmi*et al.* (Azmi, A.S. *et al.,* 2005, 3131-3135) ได้แสดงให้เห็นว่า resveratrol (3,4',5-trihydroxy stilbene) ซึ่งเป็นสารพวก polyphenol ที่ได้จากพืชต่างๆ เช่น ใบหม่อน (mulberries) และองุ่น (grapes) มีสมบัติทาง chemopreventive properties, anti-inflammatory, anti-platelet, anti-mutagenic effects และยังมีสมบัติเป็น agonist สำหรับ estrogen receptor นอกจากนี้ยังป้องกันโรคหัวใจ (cardiovascular protective properties) และป้องกันพืชไม่ให้เกิดโรคจากเชื้อรา ขัดขวาง DNA polymerase และ ribonucleotidereductase, ยับยั้ง LDL oxidation ต่อต้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ระยะคือ tumor initiator, promotion และ progression ดังนั้น resveratrol สามารถชักนำให้เกิด apoptosis ในผู้ป่วยโรคมะเร็งได้ นักวิจัยกลุ่มเดียวกันนี้ยังได้ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารกลุ่ม polyphenol ที่ได้จากพืช เช่น flavonoids, tannins และ curcuminsพบว่าสามารถชักนำให้เกิด oxidative DNA damage แม้ว่าจะใช้เพียงลำพัง หรือในรูป metal compounds เช่น Cu(II) สมบัติหลายประการของสารเหล่านี้ เช่น เกาะกับ DNA และการทำลาย (degradation) คล้ายคลึงกับสารต้านมะเร็งอื่นๆ เช่น bleomycin, adriamycinและ 4'-(9-acridinylamino) methanesulphone-m-anisidine (mAMSA) โดย polyphenolic resveratrol สามารถทำให้สาย DNA แตกเมื่อมี Cu ไอออนอยู่ด้วย

DiSilvestra*et al*. (DiSilvestra, R.A. *et al*., 2005, 251-255) ศึกษาผลการต้านอนุมูลอิสระของ soy isoflavone อาจจะช่วยป้องกันการกลับซ้ำของมะเร็งเต้านมได้ แต่ isoflavone ที่ออกฤทธิ์คล้าย estrogen อาจจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม การออกฤทธิ์เช่นนี้ของ isoflavone เป็นผลมาจากเอนไซม์ 2 ชนิดที่มี copper อยู่คือ superoxide dismutase 1 (SOD 1; ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระจึงป้องกันโรคมะเร็งเต้านมได้) และ ceruloplasmin (เพิ่มการผลิต estrogen เมื่อมีมากจึงเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม) จากการศึกษาทางระบาดวิทยาของสตรีเอเชียถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดมะเร็งเต้านมและอาหารที่มีถั่ว พบว่าผู้หญิงเซี่ยงไฮ้ที่มี isoflavone จากปัสสาวะในปริมาณน้อยในสตรีที่เป็นมะเร็งเต้านม เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงว่าสตรีที่บริโภคถั่วปริมาณน้อยมีโอกาสเกิดโรคมะเร็ง

Al-Haiza*et al*. (Al-Haiza, M.A. *et al*., 2003, 275-286) ใช้คูมารินซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น เป็นสารกำจัดเชื้อแบคทีเรีย (bactericides), ฆ่าเชื้อรา (fungicides), ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory), anticoagulant และยารักษาโรคมะเร็ง (anticancer agents) สมบัติทางเภสัชวิทยาเหล่านี้ทำให้นักวิจัยสนใจที่จะสังเคราะห์อนุพันธ์ใหม่ๆ ที่มี

มากยิ่งขึ้นไปอีก โดยมีลักษณะที่แตกต่างกันที่วง heterocyclic ที่เชื่อมต่ออยู่กับคูมาริน Lewis *et al.* (Lewis, A. *et al.,* 2004, 4550-4558) ได้ศึกษาอนุพันธ์ของคูมาริน (coumarin), dicumarol (3,3'-Methylene bis[4-hydroxycoumarin] เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก sweet clover (*Melilotus alba*) ใช้เป็นยา anticoagulant นอกจากนี้สารคูมาริน และอนุพันธ์ยังใช้เป็นยาต้านมะเร็ง โดยเฉพาะต้านการเจริญเติบโตของเซลล์ในระยะ malignant cell lines (*in vitro)* นอกจากนี้ยังได้ทดสอบทางคลินิก (clinical trials) พบว่า สามารถออกฤทธิ์ต้านมะเร็งชนิดต่างๆ เช่น prostate cancer, malignant melanoma และ metastatic renal cell carcinoma ได้ด้วย

2.10 อนุภาคนาโน

การเตรียมอนุภาคนาโนและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่สำคัญมีดังนี้ :

Kostova*et al.* (Kostova, Irena *et al*., 2005, 542-551) ร่วมกันทำการสังเคราะห์สารประกอบของ Lanthanum (III) กับ bis-coumarins ศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ด้วยเทคนิค EA, FTIR, ^{1}H-และ ^{13}C-NMR และ Mass-spectral data ตามลำดับ โดยสเปกตรัมของสารประกอบเหล่านี้เทียบกับลิแกนด์อิสระ พบว่า La(III) ทำปฏิกิริยากับลิแกนด์ที่ตำแหน่ง deprotonated hydroxyl ทั้ง 2 หมู่ สำหรับ cytotoxicity ใช้เทคนิค MTT assay กับเซลล์ต่างๆ ได้แก่ HL-60, BV-173 และ SKW-3 cell lines ผลที่ได้คาดว่าสารประกอบเหล่านี้เป็นตัวทำให้เกิดการตายของเซลล์ (trigger programmed cell death หรือ apoptosis)

Leonard *et al*. (Leonard *et al*. 2011, 391-396) ได้สังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนด้วยตัวรีดิวส์จากสารสกัดของโสมเกาหลี (Ginseng) เทียบกับ $NaBH_4$ พบว่าอนุภาคทองคำนาโนที่ได้มีขนาดแตกต่างกัน โดยถ้าใช้ตัวรีดิวส์ที่แรง เช่น $NaBH_4$ จะได้อนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าการใช้สารโสมเกาหลี นอกจากนี้ยังพบว่าอนุภาคทองคำที่ได้จากการรีดิวส์ด้วยโสมเกาหลีมีความเสถียรสูง ค่า Plasmon resonance band ยังปรากฏที่ 535 nm และไม่ตกตะกอน

Das *et al*. (Das, Manash R. *et al*., 2011, 16-22) ได้สังเคราะห์เงินนาโนในสารละลายที่มีแผ่นแกรฟีนออกไซด์ และศึกษาการต้านแบคทีเรีย ผลพบว่า ขนาดและรูปร่างของอนุภาคเงินนาโนขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลาย $AgNO_3$ ส่วนการต้านแบคทีเรีย พบว่า อนุภาคเงินนาโนต้านแบคทีเรีย *E.coli* และ *P. aeruginosa* ทั้งในอาหาร Broth และ Agar plate สถาบันการแพทย์แผนไทย ได้ชี้ให้เห็นถึงประโยชน์ของพืชสมุนไพรในการออกฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ เช่น พลูคาว ทองพันชั่ง สาร บีทรูท ใบเตย เห็ดหลินจือ ยี่โถ ฟ้าทะลายโจร และผักเป็ดน้ำ เป็นต้น นอกจากนี้ยังถือได้ว่าไทยประสบความสำเร็จในการวิจัย แมงลักคาวัชพืชที่ขึ้นทั่วไป นำมาสกัดสารสำคัญเรียกว่าสมุนไพรไฟโต-1 มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อไข้หวัดใหญ่ในหลอดทดลอง 93 % ทดลองพิษระยะแรกพบว่า ปลอดภัยทั้งในสัตว์และในคน เตรียมทดลองในคนจำนวนมาก เพื่อทดสอบประสิทธิภาพ คาดว่า 1-2 ปีนี้จะจำหน่ายได้ในรูปแคปซูล ลดการนำเข้ายาแผนปัจจุบันรักษาไข้หวัดใหญ่ในคนได้

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นว่าสมุนไพรมีประโยชน์และถือเป็นมรดกอันล้ำค่าที่คนไทยต้องตระหนักนำมาศึกษาและพัฒนาใช้อย่างจริงจัง เพื่อความอยู่ดีกินดี และพึ่งตนเองได้ เพราะสมุนไพรหรือผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างกว้างขวาง สมุนไพรยังมีฤทธิ์ทางยาในการใช้รักษาหรือการต้านโรคมะเร็ง ต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อราที่ก่อโรคในมนุษย์ สัตว์ และพืช นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ทาง

ธรรมชาติทั้งหลายยังสามารถนำมาเป็นตัวรีดิวส์ของโลหะต่างๆ เช่น เงินและทองคำ เป็นต้น เพื่อเตรียมอนุภาคในระดับนาโนเมตรและอนุภาคนาโนเหล่านั้นยังมีสมบัติทางกายภาพ สมบัติทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์และแตกต่างกันไป อนุภาคระดับนาโนส่งผลให้อัตราการดูดซึมสู่เป้าหมาย (drug target) มีประสิทธิภาพสูง ลดปริมาณของยาลง (reducing multiple dosing) มีครึ่งชีวิตที่ยาวขึ้น (Long half-life) และลดผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ (Side effect หรือ adverse effect) จึงไม่เป็นพิษต่อมนุษย์ สัตว์และสิ่งแวดล้อมจากผลงานวิจัยดังกล่าวทำให้ทีมวิจัยมีความตระหนักและสนใจที่จะนำสารสกัดผลิตภัณฑ์ธรรมชาติหนอนตายหยากซึ่งเป็นสมุนไพรที่ขึ้นได้ในเขตอีสานใต้และมีการนำมาใช้ประโยชน์ในทางยา สมุนไพรชนิดนี้จึงได้รับสมญานามว่า ยา 108 เช่น ชุมชนในเขตจังหวัดอุบลราชธานีนำมาใช้เป็นยารักษาโรคของผู้หญิง ชาวจังหวัดนครราชสีมานำมาทาเป็นยาแก้คันและบำรุงผิว เป็นต้น สำหรับงานวิจัยนี้จะนำสมุนไพรจะนำสมุนไพรหนอนตายหยากมาสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ นำไปเป็นสารกำจัดเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลังทั้งในรูปสารสกัดหยาบและนำไปรีดิวซ์สารละลายของเงิน เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปของเงินนาโนหนอนตายหยากแล้วนำไปกำจัดเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลัง ตลอดจนศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (Physicochemical properties) มอร์โฟโลกี (Morphology) และฤทธิ์ทางชีวภาพ (Biological activities) อื่นๆ เช่น การต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นงานวิจัยนี้ถือเป็นนวัตกรรมใหม่ด้านนาโนเทคโนโลยีที่นำมาใช้กับเพลี้ยแป้งซึ่งเป็นศัตรูของมันสำปะหลังที่ระบาดหนักอยู่ในหลายพื้นที่ขณะนี้ดังนั้นผลที่ได้จากโครงการวิจัยนี้จะแก้ปัญหาให้เกษตรกรที่ประสบปัญหาเพลี้ยแป้งระบาดได้เป็นอย่างดี

2.11 เพลี้ยแป้ง (Mealybug)

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

2.11.1 เพลี้ยแป้งตัวลาย (Striped mealybug) เพลี้ยแป้งชนิดนี้พบว่าระบาดทั่วไปในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังที่ผ่านมามีระดับความรุนแรงไม่ถึงขั้นเสียหายทางเศรษฐกิจ เนื่องจากมีการควบคุมโดยศัตรูตามธรรมชาติอย่างสมดุลจากตัวห้ำและตัวเบียน ลักษณะเด่นของเพลี้ยแป้งชนิดนี้ก็คือ ลำตัวคล้ายลิ่ม ผนังลำตัวสีเทาเข็ม มีไขแป้งปกคลุมลำตัว เส้นขนขึ้นหนาแน่น โดย ขนที่ปกคลุมลำตัวยาวและเป็นเงาคล้ายใยแก้ว มีแถบดำบนลำตัว 2 แถบชัดเจน ที่ปลายท้องมีหาง คล้ายเส้นแป้ง 2 เส้น ยาวครึ่งหนึ่งของความยาวลำตัว

2.11.2 เพลี้ยแป้งสีเขียว (Madeira mealybug) เพลี้ยแป้งชนิดนี้พบว่าระบาดเฉพาะบางท้องที่ในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง ลักษณะเด่นของเพลี้ยแป้งชนิดนี้ก็คือ ลำตัวรูปไข่ ผนังลำตัวสีเขียวอมเหลือง มีไขแป้ง สีขาวปกคลุมลำตัว ด้านข้างลำตัวมีเส้นแป้งสั้น เส้นแป้งที่ปลายส่วนท้องยาวกว่าเส้นแป้งด้านข้างลำตัว

2.11.3 เพลี้ยแป้งสีชมพู (Pink mealybug) เพลี้ยแป้งชนิดนี้พบว่าระบาดโดยทั่วไปในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง ในปี พ.ศ. 2551 มีการระบาดของเพลี้ยแป้งชนิดนี้อย่างรุนแรง มีผลเสียหายทางเศรษฐกิจในทุกภาคของพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง ลักษณะเด่นของเพลี้ยแป้งชนิดนี้ก็คือ ลำตัวรูปไข่ ผนัง

ลำตัวสีชมพู มีไขแป้งสีขาวปกคลุมลำตัว ด้านข้างลำตัวมีเส้นแป้งสั้นหรืออาจไม่ปรากฏให้เห็น เส้นแป้งที่ปลายส่วนท้องค่อนข้างสั้น

2.11.4 เพลี้ยแป้งแจ๊คเบียดเลย์ (Jack-Beardsley mealybug) เพลี้ยแป้งชนิดนี้พบว่าระบาดโดยทั่วไปในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง ลักษณะเด่นของเพลี้ยแป้งชนิดนี้ก็คือ ลำตัวรูปไข่ค่อนข้างแบน ผนังลำตัวสีเทาอมชมพู มีไขแป้งสีขาวปกคลุมลำตัว ด้านข้างลำตัวมีเส้นแป้งเรียงกันจำนวนมาก เส้นแป้งที่ปลายส่วนท้องยาวกว่าเส้นแป้งด้านข้างลำตัว

2.12 ลักษณะการระบาดและทำลายของเพลี้ยแป้ง

ปริมาณการระบาดของเพลี้ยแป้งจะพบมากในช่วงฤดูแล้งหรือฝนทิ้งเป็นเวลานาน เมื่อพืชฟื้นตัวในช่วงฤดูฝนปริมาณการระบาดของเพลี้ยแป้งก็จะลดลง จากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า การระบาดของเพลี้ยแป้งจะพบปริมาณมากในช่วงฤดูแล้ง เนื่องจากเมื่อความต้องการน้ำของพืช ถูกจำกัดลง ใบที่สร้างขึ้นในช่วงแล้งพบว่า เป็นใบมีกระบวนการเมตาโบลิซึมสูง ทำให้ใบมีคุณค่าทางอาหารสูงด้วย เหมาะต่อสภาวะการเจริญเติบโตของเพลี้ยแป้ง หรืออาจกล่าวได้ว่าเพลี้ยแป้งชอบดูดน้ำเลี้ยงของใบที่สร้างในช่วงแล้งมากกว่าในช่วงฝนนอกจากนี้แมลงที่เป็นตัวห้ำและตัวเบียนมีปริมาณลดลงในช่วงนี้ด้วย เพลี้ยแป้งสามารถระบาดจากพื้นที่หนึ่งไปยังพื้นที่อื่นได้โดยการติดไปกับคน ท่อนพันธุ์ กระแสลม และมดเป็นพาหนะนำตัวเพลี้ย แป้งไปเลี้ยงเพื่อรอดูดกินมูลหวาน ความเสียหายจากการทำลายของเพลี้ยแป้งต่อผลผลิตขึ้นอยู่กับระยะการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง โดย การระบาดของเพลี้ยแป้งในช่วงระยะแรกของการเจริญเติบโต (1-4 เดือน) จะส่งผลกระทบต่อผลผลิตมากกว่าระยะกลาง (4-8 เดือน) และปลายของการเจริญเติบโต (8-12 เดือน) จากรายงานที่ผ่านมา พบว่า ในประเทศโคลอมเบียผลผลิตลดลง 68-88 เปอร์เซ็นต์ ส่วนประเทศในอัฟริกาผลผลิตลดลงมากถึง 80 เปอร์เซ็นต์

ลักษณะการทำลายของเพลี้ยแป้ง คือ การดูดน้ำเลี้ยง โดยใช้ส่วนของปากที่เป็นท่อยาวดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนยอดใบตา และลำต้น บางครั้งอาจพบการดูดน้ำเลี้ยงในส่วนของรากมันสำปะหลัง เพลี้ยแป้งสามารถระบาดและทำลายมันสำปะหลังในทุกระยะการเจริญเติบโต โดยเพลี้ยแป้งจะขับถ่ายมูลที่มีลักษณะของเหลวข้นเหนียวมีรสหวานทำให้เกิดราดำปกคลุมปิดบังบางส่วนของใบพืช มีผลทำให้การสังเคราะห์แสงของพืชลดลง ส่วนในปากที่เป็นท่อยาวของเพลี้ยแป้งที่กำลังดูดน้ำเลี้ยง อาจมีฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโตถูกขับออกมาด้วยทำให้ส่วนลำต้นที่ถูกทำลายด้วยเพลี้ยแป้งมีข้อถี่มาก มีการแตกใบเป็นพุ่มหนาเป็นกระจุก โดยส่วนของยอด ใบ และลำต้นอาจแห้งตายไปในที่สุดหลังจากถูกเพลี้ยแป้งดูดน้ำเลี้ยง ส่วนของลำต้นที่ถูกเพลี้ยแป้งดูดน้ำเลี้ยง มีผลทำให้ท่อนพันธุ์แห้งเร็ว อายุการเก็บรักษาสั้น โดย ให้ ความงอกต่ำและงอกช้ากว่าปกติมาก เพลี้ยแป้งบางชนิดอาจเป็นพาหนะของเชื้อไวรัสเข้าสู่พืชก็ได้

2.13 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชลัยกร วิมลรัตน์ (2554) ศึกษาปัจจัยพื้นฐานส่วนบุคคลปัจจัยทางสังคมปัจจัยทางเศรษฐกิจและปัจจัยทางแรงจูงใจของเกษตรกรการยองรับเทคโนโลยีการแช่พันธุ์มันสำปะหลังด้วยสารเคมีเพื่อการป้องกันและกำจัดเพลี้ยแป้งของเกษตรกร ผลการวิจัยพบว่า เกษตรกรมีอายุเฉลี่ย 51.70 ปี จบประถมศึกษา ส่วนใหญ่ไม่มีตำแหน่งทางสังคมเป็นสมาชิกกลุ่มเกษตรกร ประสบการณ์การปลูกมันสำปะหลังเฉลี่ย 16.57 ปี ได้รับความรู้เรื่องการแช่ท่อนมันสำปะหลังด้วยสารเคมีเพื่อปองกันและกำจัดเพลี้ยแป้งจากเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตร มีพื้นที่ทำการเกษตรเฉลี่ย 76.73 ไร่ พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังเฉลี่ย 52.17 ไร่ เกษตรกรมีปัญหาเกี่ยวกับการแช่ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังด้วยสารเคมีเพื่อป้องกันและกำจัดเพลี้ยแป้งในภาพรวมอยู่ในระดับปานกลาง

แพรวพรรณ สร้อยสุวรรณ (2556) ศึกษาประสิทธิภาพของแตนเบียน *Anagyruslopezi* ต่อเพลี้ยแป้งสีชมพู *Phenacoccusmanihoti* ในมันสำปะหลังสี่สายพันธุ์ การศึกษาตารางชีวิตของเพลี้ยแป้งสีชมพูพบว่าวัยที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การตายมากที่สุดและเมื่อเปรียบเทียบมันสำปะหลังจาก 4 สายพันธุ์ พบว่าเพลี้ยแป้งวัย 1 มีเปอร์เซ็นต์การตายในมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มากที่สุด คือ 59% รองลงมา คือ ห้วยบง 60 ระยอง 9 และ ระยอง 72 50%, 45% และ 39% ตามลำดับ

ภัทรภา พิมพ์พันธ์ (2556) ทำการคัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยแป้งสีชมพู (*Phenacoccusmanihoti*) ในมันสำปะหลัง เพื่อคัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยแป้งสีชมพูในมันสำปะหลัง พบว่า เชื้อราจำนวน 17 ไอโซเลท มีความสามารถในการก่อตัวโรคกับเพลี้ยแป้งสีชมพูซึ่งมีการตายเฉลี่ยตั้งแต่ร้อยละ 5.00±4.30 – 51.67±4.30 ทั้งนี้เชื้อราที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการก่อโรคกับเพลี้ยแป้งสีชมพูมีจำนวน 4 ไอโซเลท คือ เชื้อรา L.21A, KK.3A, B.*bassiana* LARTC2 และ Buverin ซึ่งมีการตายเฉลี่ย 51.67±4.30% 50.00±2.27% 40.83±3.19% ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการก่อโรคกับเพลี้ยแป้งสีชมพูในแต่ละวัย คือ วัย 1 วัย 2 วัย 3 และตัวเต็มวัย โดยตรวจนับการตายหลังจากการฉีดพ่นเชื้อราไปแล้ว 7 วัน พบว่าเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลทมีความสามารถในการก่อโรคกับเพลี้ยแป้งสีชมพูทุกวัย แต่เพลี้ยแป้งสีชมพูวัยแรกๆ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงกว่าเพลี้ยแป้งวัยหลังๆ

ลิ้นจี่ เพ็ชรนิล (2555) ศึกษาสภาพทางสังคมและเศรษฐกิจความรู้เกี่ยวกับการผลิตและการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสภาพการผลิตมันสำปะหลัง วิธีป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง ผลการวิจัยพบว่า เกษตรกรกว่าครึ่งเป็นชายมีอายุเฉลี่ย 47.65 ปี พื้นที่การเกษตรเฉลี่ย 34.98 ไร่ มีแรงงานเฉลี่ย 2.59 คน รายได้เฉลี่ย 242,142.27 บาทต่อปี เกษตรกรมีความรู้เกี่ยวกับมีนสำปะหลังในระดับปานกลาง เกษตรกรมีประสบการณ์ในการปลูกมันสำปะหลังเฉลี่ย 19.61 ปี พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังเฉลี่ย 31.45 ไร

วิลาวัณย์ สุขกลาง (2554 : 82-85) เพื่อศึกษาสภาพพื้นฐานทางสังคมและเศรษฐกิจของเกษตรกร ความรู้ความเข้าใจในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลังของเกษตรกร ปัจจัยที่เกี่ยวของกับการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลังของเกษตรกรและปัญหาและข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลังของเกษตรกร ผลการวิจัยพบว่า กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นเพศชายมีอายุเฉลี่ย 45.19 ปี ประสบการณ์ในการปลูกมันสำปะหลังเฉลี่ย 20.12 ปี มีจำนวนพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังเฉลี่ย 27.28 ไร่รายได้เฉลี่ย 7,654.60 บาท/ไร่ เกษตรกรส่วนใหญ่มีความรู้ความเข้าใจ

เกี่ยวกับการแช่ท่อนพันธุ์ก่อนปลูก รองลงมา คือการเลือกใช้ท่อนพันธุ์ที่มีความแข็งแรงปราศจากโรคและแมลง ปัจจัยที่เกี่ยวของกับการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง พบว่า การป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง ประสบการณ์ในการปลูกมันสำปะหลัง และระดับการศึกษามีความสัมพันธ์กับการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลังของเกษตรกร ปัญหาในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งของเกษตรกร พบว่า มีปัญหาด้านการได้รับสารเคมีไม่เพียงพอ ต้องใช้เวลามากในการปฏิบัติและการประชาสัมพันธ์ไม่ถึงเกษตรกรโดยตรง

สุภาณี พิมพ์สมาน และคณะ (ม.ป.ป.) จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหนอนตายหยาก ตัวอย่างจากอำเภอด่านขุนทดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ กับหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก ด้วยวิธี leaf-dip feeding ผลการศึกษาที่เวลา 48 ชั่วโมง พบว่า สารสกัด methanol มีพิษต่อหนอนใยผักสูงกว่าสารสกัดdichloromethane และ hexane โดยมีระดับความเข้มข้นที่ทำให้แมลงตาย 50% (LC_{50}) เท่ากับ 555, 928, 4,468 ppm ตามลำดับ นอกจากนั้นพบว่า สารสกัดด้วยน้ำก็พบว่ามีประสิทธิภาพค่อนข้างสูง ค่า LC_{50} เท่ากับ 876 ppm ในกรณีหนอนกระทู้ผัก พบว่า สารสกัดด้วย methanol มีประสิทธิภาพสูงเช่นกัน ค่า LC_{50} ของสารสกัดด้วย methanol,dichloromethane,hexane และน้ำ เท่ากับ 2,313, 3,444, 4,926 และ 2,704 ตามลำดับ นอกจากนี้ประสิทธิภาพสารสกัดด้วยmethanol จากรากหนอนตายหยากยังสูงกว่าสารสกัดสะเดาที่สกัดและทดสอบกับหนอนกระทู้ผักด้วยวิธีการเดียวกัน (ค่า LC_{50}เท่ากับ 2,866 ppm) จากการประเมินผลการยับยั้งการกินอาหาร พบว่า สารสกัดทุกนิด มีผลทำให้หนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักกินอาหารลดลงเมื่อเทียบกับ control โดยมีค่าระดับความเข้มข้นที่มีผลทำให้การกินอาหารลดลง 50% (EC_{50}) ของสารสกัดด้วย methanol, dichloromethane, hexane และน้ำ ต่อหนอนใยฝัก เท่ากับ 129.22, 170.80,160.33, และ 136.31 ppm ตามลำดับ ส่วนหนอนกระทู้ผักมีค่า EC_{50} เท่ากับ 707.11, 924.73, 900.56, และ 880.39 ppm ตามลำดับจากการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดด้วย methanol ของตัวอย่างหนอนตายหยากจากอำเภอด่านขุนทด อำเภอภูเวียงและอำเภอเมืองขอนแก่น ต่อหนอนใยผัก มีค่า LC_{50} ที่เวลา 48 ชั่วโมง เท่ากับ 1,289, 1,014 และ 1,093 ppm ตามลำดับ และผลยับยั้งการกินอาหาร มีค่า EC_{50} เท่ากับ 2,414, 1,432 และ 2,118 ppm จากการประเมินประสิทธิภาพองสารสกัดด้วย methanol ที่สกัดจากตัวอย่างหนอนตายหยาก ซึ่งเก็บจากพื้นที่แตกต่างกัน ทดสอบกับด้วงถั่วเขียวด้วยวิธี residual film หลังจากที่แมลงสัมผัสสารสกัดที่เคลือบอยู่ภายในหลอดทดลองนาน 48 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดจากทุกพื้นที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดด้วงถั่วเขียวใกล้เคียงกัน โดยมีค่า LC_{50} ของสารสกัดหนอนตายหยากจากอำเภอด่านขุนทด อำเภอภูเวียง และอำเภอเมืองขอนแก่น เท่ากับ 2,108, 1,963 และ 2,066 ppm ตามลำดับจากผลการศึกษาดังกล่าวมาแล้วข้างต้น เห็นได้ว่า สารสกัดจากรากหนอนตายหยากทุกพื้นที่ซึ่งสกัดด้วย methanol มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงแมลงทั้ง 3 ชนิด ที่ใช้ทดสอบได้ในระดับใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามมีแนวโน้มว่าตัวอย่างหนอนตายหยากจากอำเภอภูเวียงและอำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น มีประสิทธิภาพสูงกว่าตัวอย่างจาก อำเภอด่านขุนทด จังหวัดนครราชสีมาเล็กน้อย นอกจากนี้สารสกัดหนอนตายหยากมีผลทั้งในลักษณะกินตาย (stomach poison) และสัมผัสตาย (contact poison) ต่อหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผัก มีผลสัมผัสตายต่อด้วงถั่วเขียวและมีผลในการยับยั้งการกินอาหารต่อหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก

การส่งเสริมหรือแนะนำให้เกษตรกรใช้หนอนตายหยากในการควบคุมศัตรูพืชนั้น วิธีการสกัดแบบง่ายๆ ที่สะดวกและประหยัด ก็คือการใช้น้ำสกัดเพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตเนื่องจาก methanol มีราคาแพงและมีอันตรายซึ่งสารสกัดด้วยน้ำก็มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากสารสกัดด้วย methanol มากนักจากผลการศึกษาดังกล่าว แสดงให้เห็นชัดเจนว่าในรากหนอนตายหยากมีสาร ซึ่งมีคุณสมบัติที่จะนำมาใช้ในการปองกันกำจัดแมลงได้ กรายงานการศึกษาทางเคมีระบุว่า รากหนอนตายหยาก ชนิด *S. collinsae* มีสาร rotenoids และ alkaloids แต่การศึกษาโดย วาสนา (2545) ไม่พบ rotenoids ในสารสกัดหนอนตายหยากที่ตรวจสอบด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC) นอกจากนี้ได้ส่งตัวอย่างดังกล่าวไปวิเคราะห์ด้วยHigh Performance Liquid Chromatography (HPLC) ที่กลุ่มวัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ สำนักวัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ก็ไม่พบสาร rotenoids เช่นกัน หนอนตายหยากเป็นชื่อพื้นบ้านที่ใช้เรียกพืชอีกหลายชนิดซึ่งไม่ใช่วงศ์ Stemonaceae จึงทำให้เกิดความสับสนในการรายงาน จากรายงานระยะหลังสรุปได้ว่าสารออกฤทธิ์ในรากหนอนตายหยากเป็นสารกลุ่ม alkaloids (Ye *et al.,* 1994) Jiwajinda*et al.,* (2001) ได้รายงานผลการศึกษาสารสกัดหนอนตายหยากชนิด *S. collinsae* ว่าพบ สาร alkaloids 2 ชนิด คือ 16, 17–didehydro–16(*E*)-*stemofoline* และ 16, 17–didehydro–4-(*E*)-16(*E*)–*stemofoline* ปัจจุบันได้มีความพยายามสังเคราะห์อนุพันธ์ (derivatives) สาร stemofoline เพื่อใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลง

ชุรีพร วณิชกุลชัยพร และคณะ (2551 : 107-121) การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้น้ำสกัดชีวภาพหนอนตายหยากควบคุมลูกน้ำยุงลาย ในการทดลองครั้งนี้ พบว่า น้ำสกัดชีวภาพของหนอนตายหยากมีความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงลายในทุกระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิลิตร โดยมีอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายร้อยละ 100 ในทุกหน่วยการทดลอง ส่วนในน้ำสกัดชีวภาพสับปะรดมีความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงลายที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 20, 30, 40 และ 50 มิลลิลิตร ซึ่งอาจเป็นเพราะในน้ำสกัดชีวภาพหนอนตายหยากประกอบด้วยสาระสำคัญ คือ สารประกอบกลุ่มอัลคาลอยด์ และสารประกอบกลุ่มโรทีนอยด์ ซึ่งเป็นสารกลุ่มที่มีสิทธิ์ในการฆ่าแมลง โดยเฉพาะโรทีโนน เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าแมลงมากที่สุด และยังมีพิษต่อลูกน้ำยุงลาย (รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา. 2543 : 38) จากรายงานของ วิชิต พิพิธกุล และสุชาติ ปริยานนท์ (2526 : 90) กล่าวว่า ในรากหนอนตายหยากมีสารสตีโมโนน (stemonone) ซึ่งมีคุณสมบัติในการฆ่าแมลง โดยมีผลต่อระบบประสาทและระบบหายใจของแมลงเมื่อลูกน้ำยุงลายได้รับสารนี้อาจเกิดภาวะขาดออกซิเจนและลำตัวเป็นอัมพาตได้ และ กฤษณา ภูตคาม (2520 : 28-34) รายงานว่า ในสารสกัดจากรากหนอนตายหยาก ชนิด *Stemonulcurtisii* มีความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงลายสูง รวมทั้งสอดคล้องกับรายงานของ ประคอง พันธ์อุไร (2520 : 145-154) ที่กล่าวว่าสารสตีโมโนนเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงลาย โดยไปทำให้เกิดความผิดปกติของการหายใจโดยเฉพาะบริเวณท่ออากาศ (Siphon) จะบวมโตและปิดเปิดไม่ถูกจังหวะทำให้ลูกน้ำยุงลายหายไม่ได้ และตายในที่สุด นอกจากกลุ่มของโรตินอยด์ที่มีฤทธิ์ในการฆ่าแมลงแล้ว ในหนอนตายหยากยังพบสารออกฤทธิ์กลุ่มอัลคาลอยด์หลายชนิดที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าแมลง เช่น สตีโมนีน (Stemonine) สตีนีน (Stenin) และสตีโมสไปโรนิน (Stemospironin) ด้วย

คณิต ขอพลอยกลาง และคณะ (2557 : 39-47) การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดา (*Azadirachta*sp.) เมล็ดนอยหน่า (*Annona*sp.) รากหนอนตายหยาก (*Stemona*sp.) ในสภาพแห้งในอัตราการตายของหนอนแมลงวัน แมลงวัน ลูกน้ำยุง ยุง และเห็บโค ทุกการทดลองใช้ความเข้มข้นเท่ากัน คือ 50 กรัม/น้ำ 1 ลิตร ทำการสกัดสารโดยการอบวัตถุดิบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วบดให้เป็นผง นำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 95% 1 ใน 10 ส่วน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมากรองเอาแต่น้ำ พ่นลงแมลงที่ทดลองทุกการทดลองยกเว้นลูกน้ำใช้วิธีแช่ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดสามารถฆ่าแมลงได้แตกต่างกัน ซึ่งสารสกัดรากหนอนตายหยากสามารถฆ่ายุงได้ดีที่สุด ทำให้ยุงตายร้อยละ 100 ภายใน 4 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าแมลงที่อยู่ในระยะตัวเต็มวัย (Adult stage) เมื่อถูกสารสกัดจะตายเร็วกว่าแมลงที่อยู่ในระยะตัวอ่อน (Larva stage) เช่น การทำให้ลูกน้ำยุงตายร้อยละ 100 ใช้เวลาถึง 12 ชั่วโมง แต่ยุงตัวเต็มวัยตายครบร้อยละ 100 ใช้เวลาเพียง 4 ชั่วโมง การที่แมลงระยะตัวเต็มวัยตายเร็วกว่าระยะตัวอ่อนอาจเป็นเพราะว่าระบบหายใจของแมลงระยะตัวเต็มวัยและระยะตัวอ่อนมีความแตกต่างกันซึ่ง มหาวิทยาลัยขอนแก่น (2554) รายงานว่า ระบบหายใจของแมลงส่วนใหญ่ประกอบด้วยรูหายใจ (Spiracle) จำนวน 10 คู่ อยู่ด้านข้างของลำตัว รูหายใจจะมีท่ออากาศส่งไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ และลูกน้ำยุงมีรูหายใจที่อกปล้องสุดท้ายเท่านั้นที่ทำงาน ดังนั้นเมื่อพ่นสารสกัดใส่แมลงระยะตัวเต็มวัยสารสกัดจึงเข้าสู่ลำตัวแมลงได้มากทางหายใจและการซึมผ่านผนังลำตัว ส่วนแมลงระยะตัวอ่อนสารสกัดเข้าสู่ลำตัวได้โดยการซึมผ่านผนังลำตัว และเข้าทางรูหายใจได้น้อย เนื่องจากมีรูหายใจจำนวนน้อย

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

นาตยา มนตรี และคณะ (2558) ศึกษาผลของสารสกัดหยาบากหนอนตายหยาก (*Stemonacurtisii*Hook. f.) ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรคพืช 3 ชนิด คือ *pythiumdeliense, phytophthoraparasitica* และ *Fusariumoxysporum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 100, 200, 400 และ 800 มก./ล. พบว่าอาหารที่ผสมสารสกัดจากหนอนตายหยากทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้ง 3 ชนิด โดยที่ระดับความเข้มข้น 400 มก./ล. ขึ้นไปสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Phy.Parasitica* ได้ 100% ที่ระยะเวลา 4 วัน ระดับความเข้มข้น 800มก./ล. สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย *P. deliense* และ *F.oxysporum* ได้ 100% ที่ระยะเวลา 1 และ 5 วันตามลำดับ

นิตยา ขันธบุตร และคณะ (2554) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบทองพันชั่งและรากหนอนตายหยากที่มีฤทธิ์กำจัดเห็บสุนัข โดยทดลองสกัดสารด้วยวิธีการหมักด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ นำมาทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการกำจัดเห็บสุนัขโดยใช้อัตราส่วนความเข้มข้น

สารสกัดพืช แต่ละชนิด เท่ากับ 15, 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ และ หาอัตราการตายของเห็บสุนัขที่เวลา 3 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดจากรากหนอนตายหยากมีประสิทธิภาพในการกำจัดเห็บสุนัข เท่ากับ 26.7, 33.3, 76.8 และ 83.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารสกัดจากใบทองพันชั่ง จึงเลือกสารสกัดจากรากหนอนตายที่มีประสิทธิภาพการกำจัดเห็บสุนัขได้มากที่สุด มาแยกกลุ่มสารด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีและทดสอบด้วยปฏิกิริยาเคมี พบว่าเป็นสารแอลคาลอยด์และนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดเห็บสุนัขพบว่าสารกลุ่มที่ 6 ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกำจัดเห็บสุนัขได้ 81.5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำไปทดลองหาค่า LC_{50} ภายในเวลา 3 ชั่วโมง ได้ค่าเท่ากับ 37.78 มิลลิกรัมต่อลิตร ทดลองนำสารแอลคาลอยด์กลุ่มที่ 6 มาทำเป็นสารละลายที่ความเข้มข้น 80.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ฉีดพ่นเห็บสุนัขพบว่าเห็บสุนัขมีอัตราการตายสูงถึง 96.7 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 3 ชั่วโมง

อรุณ โสตถิกุลและคณะ (2552) ได้พัฒนาสารสกัดจากรากพืชเพื่อควบคุมหนอนกระทู้ในแปลงผักกาดขาวปลี จากการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชชนิดต่างๆ พบว่า สารสกัดจากรากหนอนตายหยากมีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ศัตรูผักกาดขาวปลี ทั้งที่มีการสกัดด้วยน้ำอัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และเอทานอล ซึ่งใช้รากแห้งบด 200 กรัมต่อเอทานอล 95% จำนวน 1 ลิตร แช่ 5 วัน จากนั้นกรองนำสารสกัดที่ได้ผสมน้ำ 20-25% จึงนำไปใช้ได้แต่ยังคงใช้ความเข้มข้นสูงมากทำให้ต้องใช้รากเป็นจำนวนมาก ในทางปฏิบัติควรที่จะมีการศึกษาเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ โดยใช้ความเข้มข้นที่น้อยลงและอยู่ในรูปเป็นผลิตภัณฑ์พร้อมใช้

จาณียา ขันชะลี และคณะ (2554) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 4 ชนิด คือ ยาสูบ หางไหล หนอนตายหยาก และสะเดา ในการออกฤทธิ์กำจัดหนอนแมลงวันของสารสกัดจากสมุนไพร ความเป็นพิษที่มีผลต่อการตายของหนอนแมลงวันคอกสัตว์พบว่า สารสกัดหยาบของพืชทั้ง 4 ชนิด สามารถทำให้หนอนแมลงวันคอกสัตว์ตายภายในเวลา 21 และ22 ชั่วโมง

ฐิติพรรณ ฉิมสุข และคณะ (2556 : บทคัดย่อ) ได้ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์โรทีนอยด์ ซึ่งสารประกอบ 6-ดีออกซีไคลโทไรอะซิทอล (1) เป็นสารประกอบโรทีนอยด์ที่สกัดจากรากแห้งของ *Stemonacollinsae*Craib. สารประกอบ 6-ดีออกซีไคลโทไรอะซิทอล ถูกเปลี่ยนเป็นสารอนุพันธ์อิพอกไซด์โดยการทำปฏิกิริยากับอีพิคลอโรไฮดริน และถูกเปิดวงด้วยสารประกอบเฮทเทอโรไซคลิกที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบนำอนุพันธ์ทุกชนิดทดสอบการออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็ง ผลการทดสอบพบว่า สารอนุพันธ์อิพอกไซด์ (2) ให้การออกฤทธิ์ที่ดีต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และมะเร็งปอด (NCI-H187) โดยมีค่า IC_{50} 7.33 และ 3.21 µg/mL ตามลำดับ สารอนุพันธ์ไพเพอริดีนและไพเพอราซีน (B และ C) ไม่ให้การออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเรงทังสองชนิด

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 ให้มีมากยิ่งขึ้นไปอีก 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 พบว่า อนุภาคเงินนาโนต้านแบคทีเรีย *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 (คือ ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นฤทธิ์การต้านเชื้อราเพิ่มขึ้น) อีกด้วย โดยกลไกการออกฤทธิ์ของ ZnO คือ สามารถช่วยให้เกิดการสร้างสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (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 และ ทำลาย 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-sitosterolและ β-sitosterol D-glucoside สารกลุ่มไตรเทอร์ปีน 4 สาร คือ lupenone, lupeol, betulin และ betulinic acid caffeate และสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์กลัยโคไซด์ 3 สาร คือ kaempfein, quercitrin และ myricitrin การพิสูจน์โครงสร้างของสารอาศัยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี และจากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าสาร betulin มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรค และสาร betulinic acid caffeate มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย เชื้อวัณโรค และมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง KB และ BC

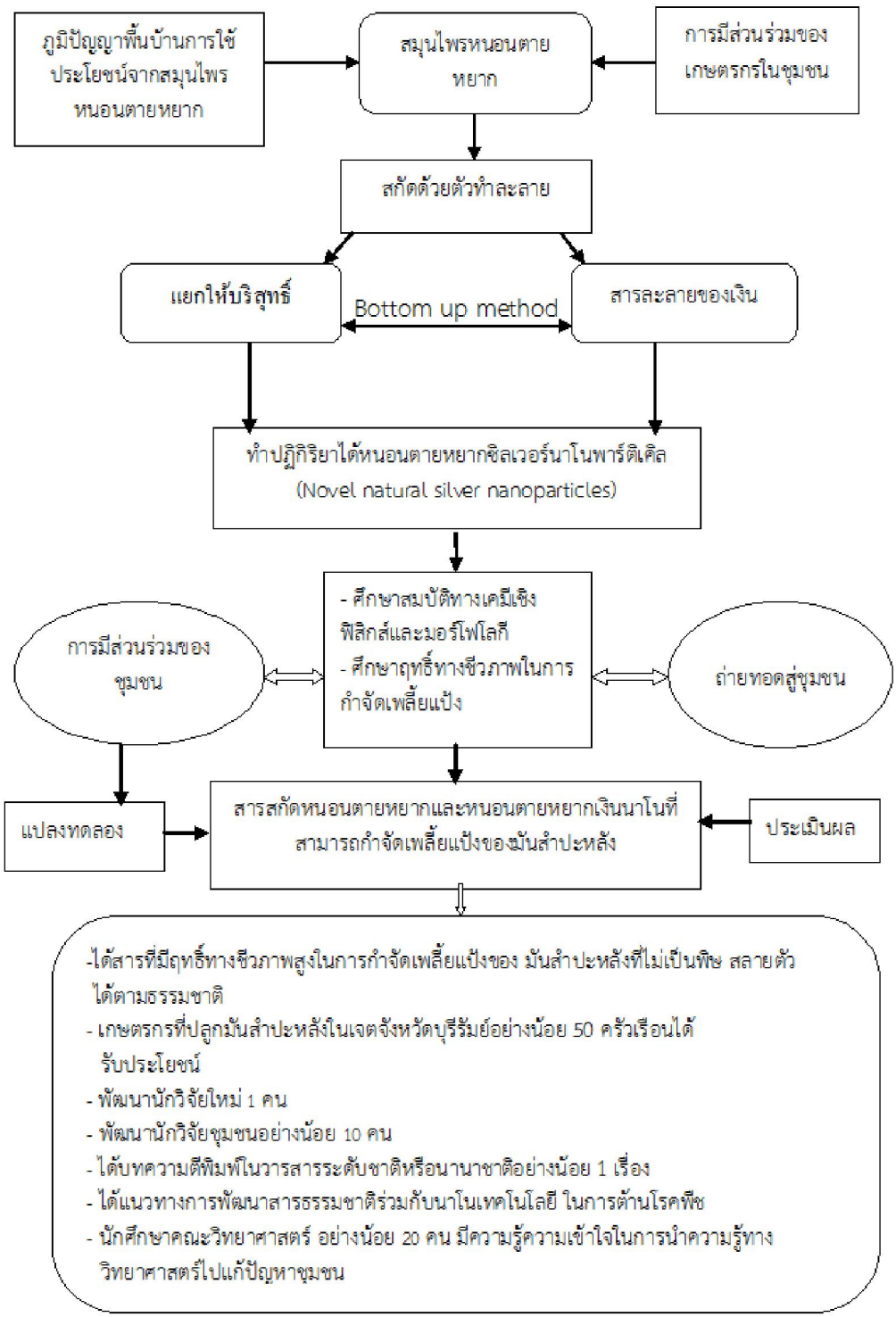
สถาบันการแพทย์แผนไทย ได้ชี้ให้เห็นถึงประโยชน์ของพืชสมุนไพรในการออกฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ เช่น พลูคาว ทองพันชั่ง สาร บีทรูท ใบเตย เห็ดหลินจือ ยี่โถ ฟ้าทะลายโจร และผักเป็ดน้ำ เป็นต้น นอกจากนี้ยังถือได้ว่าไทยประสบความสำเร็จในการวิจัย แมงลักคา วัชพืชที่ขึ้นทั่วไป นำมาสกัดสารสำคัญเรียกว่า สมุนไพรไฟโต-1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

อโนทัย วิงสระน้อย (2549) ได้ศึกษาการควบคุมแมลงวันด้วยสารสกัดจากหนอนตายหยาก (Stemona sp.) พบว่า สารสกัดหนอนตายหยากทุกความเข้มข้นมีผลทำให้ทุกระยะการเจริญเติบโตของแมลงวันบ้านตายแตกต่างกันโดยความเข้มข้นที่มีผลทำให้การตายของระยะไข่ 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) ได้ศึกษาการใช้น้ำสกัดชีวภาพจากสมุนไพรหนอนตายหยากและสับปะรดควบคุมหนอนแมลงวันบ้านจัดรูปการทดลองแบบ 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 คือ ที่ร้อยละ 5, 10, 15 และ 20 ทำการวัดจำนวน ขนาด และน้ำหนักของหนอนดักแด่ และแมลงวันตัวเต็มวัยที่ระยะ 8, 16 และ 24 วัน ผลการทดลอง พบว่า ไม่พบการเกิดของหนอน ดักแด้ และแมลงวันตัวเต็มวัยที่ระยะ 8 วัน แต่ที่ระยะ 16 และ 24 วัน พบการเกิดของหนอนดักแดและแมลงวันตัวเต็มวัย แต่มีจำนวน ขนาด และน้ำหนักลดลงตามอัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นของน้ำสกัดชีวภาพ โดยน้ำสกัดชีวภาพจากสมุนไพรหนอนตายหยากมีผลต่อการลดจำนวนขนาดและน้ำหนักของหนอน ดักแด่ และแมลงวันตัวเต็มวัยได้ดีกว่าน้ำสกัดชีวภาพจากสับปะรดเมื่อเปรียบเทียบที่อัตราส่วนเดียวกัน

จากข้อมูลข้างต้น สรุปได้ว่า พืชสมุนไพรมีประโยชน์และถือเป็นมรดกอันล้ำค่าที่คนไทยต้องตระหนักนำมาศึกษาและพัฒนาใช้อย่างจริงจัง เพื่อความอยู่ดีกินดี และพึ่งตนเองได้ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมุ่งศึกษาสมุนไพรที่น่าสนใจคือ หนอนตายอยาก เพื่อทราบสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเพลียแป้งในมันสำปะหลัง

2.14 กรอบแนวคิดการวิจัย



บทที่ 3
สารเคมี อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 บทนำ

ในบทที่ 3 คณะผู้วิจัยได้รวบรวมรายละเอียดด้านสารเคมี อุปกรณ์ เครื่องมือ และวิธีดำเนินการทดลอง ดังต่อไปนี้

1) สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ

2) การเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรหนอนตายหยาก

3) การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพรหนอนตายหยาก

4) การสกัดสารสำคัญสมุนไพรหนอนตายหยาก

5) การนำสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากไปรีดิวส์เกลือของโลหะ

6) การศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (physicochemical properties)

7) การศึกษาทางด้านลักษณะและขนาดของอนุภาคหรือสมบัติทางมอร์โฟโลกี (Morphology) ด้วยเครื่อง SEM

8) ทดสอบความสามารถในการต้านเพลี้ยแป้งของสารสกัดสมุนไพรและสารสกัดสมุนไพรเงินนาโนในห้องปฏิบัติการ

9) ทดสอบความสามารถของอนุภาคนาโนที่ออกฤทธิ์ต่อเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลังเพื่อนำไปใช้ในแปลงทดลองของเกษตรกร

10) ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านอนุมูลอิสระ

3.2 สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.2.1 สารเคมี

3.2.1.1 Ethanol, BDH Laboratory Supplies Pools, England

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

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

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

3.2.1.5 น้ำกลั่น

3.2.1.6 Silver nitrate

. 3.2.1.7 Benzene

3.2.1.8 Ethyl acetate

3.2.1.9 Thiosemicarbazide, Fluka, Germany.

3.2.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.2.2.1 เครื่อง UV-Visible spectrophotometer เพื่อวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสาร

3.2.2.2 กล้อง microscope เพื่อรวบรวม single crystal

3.2.2.3 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

3.2.2.4 Micropipette ขนาด 200 ไมโครลิตร

3.2.2.5 Rotary evaporator, Model Buchi

3.2.2.6 UV spectrophotometer, Parmacia Biotech

3.2.2.7 UV lamp, Gamag, Switzerland.

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

3.2.2.9 Volumetric Flask, Herkaintercolor, Germany.

3.2.2.10 Beaker ขนาด 50, 100, 250, 500 และ 1000 mL, Pyrex, German

3.2.2.11 Pipetman, Gilson Medical Electronics, France.

3.2.2.12 Microscope, Nikon, Japan.

3.2.2.13 Test tube screw cap, Pyrex, Germany.

3.2.2.14 Graduated Cylinder, Pyrex, Germany

3.2.2.15 Condenser.

3.2.2.16 Magnet Retriever, PTFE Labware.

3.2.2.17 Erlenmeyer flask , Pyrex, Germany.

3.2.2.18 Melting point B-545.

3.2.2.19 Capillary tube.

3.2.2.20 pH paper 0-14.

3.2.2.21 Centrifuge tube 1.5 ml with transparent cap.

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

3.2.2.23 Soxhlet extraction,

3.2.2.24 Super flow fume cupboard,major.

3.2.2.25 ขวดก้นกลม

3.2.2.26 กระดาษอลูมิเนียมฟอยด์

3.2.2.27 ขวดสีชา

3.2.2.28 ช้อนตักสาร

3.3 กระบวนการและขั้นตอนการสกัด

3.3.1 การเก็บตัวอย่างพืชหนอนตายหยาก

ตัวอย่างหนอนตายหยากที่ใช้ในการสกัดเป็นหนอนตายหยากเล็ก เก็บมาจากพื้นที่ป่าชุมชน อำเภอโนนสุวรรณ จังหวัดบุรีรัมย์ ช่วงเดือน ตุลาคม – พฤศจิกายน 2560

3.3.2 การเตรียมตัวอย่างหนอนตายหยาก

การเตรียมตัวอย่างหนอนตายหยาก ได้ดัดแปลงมาจากวิธีของ คณิต ขอพลอยกลาง (2557 : 39-47) มีขั้นตอนดังนี้

3.3.1 คัดเลือกหนอนตายหยากส่วนหัวที่มีความสมบูรณ์ไม่มีเชื้อรา

3.3.2 นำหัวของหนอนตายหยากที่คัดเลือกได้ล้างด้วยน้ำสะอาดอย่างน้อย 3 ครั้ง จนหัวหนอนตายหยากสะอาด

3.3.3 นำหัวหนอนตายหยากมาหั่นเป็นชิ้นให้มีขนาดประมาณ 0.5 เซนติเมตร

3.3.4 นำหัวหนอนตายหยากไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บดให้เป็นผงละเอียด

3.3.3 การสกัดสารสำคัญสมุนไพรหนอนตายหยาก

3.3.3.1 การสกัดหนอนตายหยากโดยใช้วิธีการสกัดร้อนด้วยเครื่องสกัดแบบซอกเลต (Soxhletextarction) ดัดแปลงจากวิธีการของ (Xinrong, *et al.,* 2014) โดยมีวิธีการดังนี้

3.3.3.2 ชั่งน้ำหนักหนอนตายหยาก 20 กรัม ใส่ในหลอดทิมเบิลแล้วเติมตัวทำละลาย 95% เอทานอล 200 มิลิลิตร

3.3.3.3 สกัดด้วยเครื่องสกัดแบบซอกเลท ใช้อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส สกัดเป็นเวลา 4 ชั่วโมง

3.3.3.4 นำสารละลายที่สกัดได้มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) ทำการระเหยจนกระทั่ง 95 % เอทานอล ออกหมด

3.3.3.5 ได้สารสกัดหยาบ (Crude extract) แช่เก็บไว้ในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส

3.4 วิธีการสังเคราะห์อนุภาค

การสังเคราะห์สารมีวิธีการดังนี้ การสังเคราะห์อนุภาคนาโนโดยนำสาร Schiff base ligands มารีดิวซ์ Ag^{+} ด้วยอัตราส่วนโดยโมล 1:1 ในเมทานอล 10 mL ปรับ pH ~ 6
ปั่นกวนสารอย่างต่อเนื่อง ใช้อุณหภูมิที่ 60° C แล้วทดสอบความสมบูรณ์ของปฏิกิริยาด้วยแผ่น TLC ดีเวลลอป (develop) ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม สังเกตผลภายใต้แสง UV

3.5 การศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (Physicochemical properties)

นำสารที่สังเคราะห์ได้มาศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (Physico-chemical properties) โดยใช้เทคนิคดังต่อไปนี้

3.5.1 การวัดความสามารถในการละลายในตัวทำละลายต่างๆ (solubility) เช่น เมทานอลเอทานอลไดเมทิลซัลฟอกไซด์ไดเมทิลฟอร์มาไมด์ และน้ำ

3.5.2 การดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max})

3.5.3 การนำไฟฟ้า (conductivity)

3.5.4 วิเคราะห์หาจุดหลอมเหลว (Melting point) นำสารที่สังเคราะห์ได้มาหาจุดหลอมเหลวด้วยเครื่อง Melting point

3.5.5 การตกผลึก (Crystallization)

3.6 หาขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง SEM

3.6.1 ติดตัวอย่างบนแท่นวางตัวอย่าง (stub) ด้วยเทปกาวสองหน้า

3.6.2 นำตัวอย่างไปฉาบทองด้วยเครื่อง Ion sputter (ยี่ห้อ Balzers, model SCD 040

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

3.7 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activities) ในการกำจัดเพลี้ยแป้ง (*Pseudococcus* sp.)

3.7.1 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activities) การกำจัดเพลี้ยแป้ง (*Pseudococcus* sp.) ในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการกำจัดเพลี้ยแป้งดัดแปลงมาจากวิธีการของ ณัฐกานต์ ธิคำและคณะ (2551) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ใช้เพลี้ยแป้งจำนวน 5 ตัว ต่อซ้ำ ทดสอบโดยเตรียมสารตัวอย่างให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ คือ 6,000, 8,000 และ 10,000 ppm โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายและเป็นตัวควบคุมร่วมกับสาร Tween-20 1% v/v จากนั้นใช้ Micropipette ดูดสารตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร หยดสารตัวอย่างลงบน Plate dish แล้วนำเพลี้ยแป้งวางลงบน Plate dish จำนวน 5 ตัวต่อ 1 Plate สังเกตและบันทึกจำนวนตัวตาย ที่ 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง โดยเปรียบเทียบกับสารควบคุมซึ่งใช้วิธีการเดียวกัน

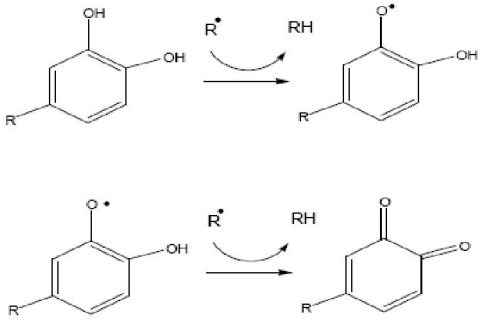
3.7.2 การทดสอบสมบัติฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activities) การกำจัดเพลี้ยแป้ง (*Pseudococcus* sp.) ในแปลงทดลอง

การทดสอบสมบัติฤทธิ์ทางชีวภาพการกำจัดเพลี้ยแป้งในแปลงทดลองใช้วิธีการเดียวกับสมหมายปะติตังโข และคณะ (2554) ซึ่งการทดสอบฤทธิ์การต้านเพลี้ยแป้ง จะเลือกความเข้มข้นของสารแต่ละชนิดที่ต้านเพลี้ยแป้งได้ดีที่สุดในห้องปฏิบัติการ แล้วนำไปใช้ทดสอบฤทธิ์ในแปลงทดลอง โดยจะนำสารที่เตรียมได้ใส่ในถังฉีดนำไปฉีดพ่นในแปลงทดลอง สังเกตพฤติกรรมหลังจากฉีดพ่นสารของเพลี้ยแป้งบันทึกผลการทดลอง

3.8 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านอนุมูลอิสระ

3.8.1 การวัดปริมาณฟีนอลรวม

การวัดปริมาณฟีนอลรวมใช้วิธีการเดียวกับ สมหมายปะติตังโข และคณะ (2556) ซึ่งสารจำพวกฟีนอล (Phenolic compounds) เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่พบมากในพืช ตัวอย่างของสารกลุ่มนี้ได้แก่สารจำพวก Flavonoids ที่มี Catechol เป็นองค์ประกอบ Stilbenes, Tannins ซึ่งโครงสร้างหลักประกอบด้วย Aromatic ring แทนที่ด้วย hydroxy group โดยมากเป็นสารที่มีขั้วละลายในตัวทำละลายจำพวก alcohol ได้ดีกลไกของสารจำพวกฟีนอลที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังแสดงในภาพที่ 2 คือเมื่อมีอนุมูลอิสระมาดึงอิเล็กตรอนไปแต่ในโครงสร้างมีอิเล็กตรอนหนาแน่นจึงสามารถเกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปทั่วโครงสร้าง (Delocalization) ทำให้โครงสร้างเสถียรไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระต่อไปซึ่งมีขั้นตอนดังนี้



ภาพที่ 3.1 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารจำพวกฟีนอล

1. เตรียมสารละลาย Folinciocaltue reagent เข้มข้น 0.2M โดยปิเปต Folinciocaltue reagent เข้มข้น 2M10mL ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 100mL

2. เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 75g/L โดยชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 7.5g ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ครบ 100mL

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 100μg/ mLโดยชั่ง 0.0100g ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 100mL นำมาเจือจางให้มีความเข้มข้นในช่วง 10-100μg/mL

4. เตรียมสารตัวอย่าง เข้มข้น 50μg/mLโดยชั่งสารตัวอย่าง 0.0050g ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ครบ 100ml

5. ปิเปตสารละลายมาตรฐานหรือสารตัวอย่าง 0.5mL เติม Folin reagent 2.5mL เขย่าให้เข้ากัน เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 2.0mL เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765nm

3.8.2 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay

การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีDPPH radical scavenging assay หรือ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl โดยใช้วิธีการเดียวกับ สมหมายปะติตังโข และคณะ (2557) ซึ่งมีวิธีการดังต่อไปนี้

3.8.2.1 การเตรียมสารละลายเพื่อทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay

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

2) เตรียมสารตัวอย่างและสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นเท่ากับ 2,4,6,8 และ 10 ตามลำดับ ดังนี้

ความเข้มข้น 2 ppm ปิเปตสารมา 0.2 mL ปรับปริมาตรให้ครบ 10 mL
ความเข้มข้น 4 ppm ปิเปตสารมา 0.4 mL ปรับปริมาตรให้ครบ 10 mL
ความเข้มข้น 6 ppm ปิเปตสารมา 0.6 mL ปรับปริมาตรให้ครบ 10 mL
ความเข้มข้น 8 ppm ปิเปตสารมา 0.8 mL ปรับปริมาตรให้ครบ 10 mL
ความเข้มข้น 10 ppm ปิเปตสารมา 1 mL ปรับปริมาตรให้ครบ 10 mL

3) เตรียมขวดสีชา 16 ใบ เพราะในแต่ละความเข้มข้นจะต้องใช้ขวดสีชาจำนวน 3 ใบ และอีก 1 ใบ เป็นขวด control รวมเป็น 16 ใบ

4) นำขวดสีชา ทั้ง 16 ใบ ไปอบไว้ที่อุณหภูมิ 100^0C รอให้ขวดเย็นจึงนำมาใช้ได้

3.8.2.2 วิธีการวิเคราะห์ความสามารถการต้านอนุมูลอิสระโดย วิธี DPPH assay

1) ปิเปต1 mL ของสารละลายตัวอย่างและสารมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้น ใส่ในขวดสีชา 3 ใบเพื่อทำการทดสอบสารตัวอย่างละ 3 ครั้ง (triplicate)

2) ปิเปตMethanol DPPH radical 2 mL ใส่ขวดสีชาในแต่ละความเข้มข้น

3) เขย่าให้สารเข้ากัน นำขวดทั้ง 16 ใบ เก็บไว้ในที่มืดอุณหภูมิ 37 ^{0}C เป็นเวลา 30 นาที

4) วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายด้วยเครื่อง SPECTRONIC 20 GENESYS ที่ความยาวคลื่น 517 nm โดยวัดจากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูง

5) คำนวณหาค่า % inhibition ดังสมการ

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

$OD_{control}$ คือ ค่าabsorbanceของcontrol (มีเฉพาะ DPPH)

OD_{sample} คือ ค่า absorbance ของ สารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน

3.8.3 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP)

การทดสอบด้วยวิธี FRAP assay (Ferric reducing antioxidant power) assay เป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนอิสระ (reducing agent) โดยอาศัยคุณสมบัติในการเป็นตัวรีดิวส์ของปฏิกิริยา redox-linked colorimetricmethod โดยที่ ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) complex จะถูกรีดิวส์ด้วยสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สามารถให้

อิเล็กตรอนได้ทำให้เกิด Fe^{2+}-TPTZ complex ดังนั้นวิธีนี้สามารถใช้วัด total reducing power ของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการถ่ายทอดอิเล็กตรอนให้ Fe^{3+}เปลี่ยนเป็น Fe^{2+} ได้เทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานคือ $FeSO_4$ สร้างกราฟมาตรฐานในการหาปริมาณ Fe^{2+} ที่เกิดจากปฏิกิริยาของสารตัวอย่างแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นค่า FRAP value (Fe(II)/g)โดยใช้วิธีการเดียวกับ สมหมาย และคณะ (2557) ซึ่งมีวิธีดังนี้

3.8.3.1 การเตรียมสารละลายเพื่อทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP) ทำได้ดังนี้

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

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

3) นำ Ferric chloride มา 0.051 g ละลายโดยน้ำกลั่น 10 mL

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

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

3.8.3.2 วิธีการวิเคราะห์ความสามารถการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP)

1) ปิเปตสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นเท่ากับ 2, 4, 6, 8และ 10 ตามลำดับ โดยปิเปต 150 µL ของสารละลายตัวอย่าง แล้วปิเปต 3mL ของสารละลาย FRAP ลงขวดเดิมที่มีสารละลายตัวอย่างอยู่ เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37°C

2) วัดค่าการดูดกลืนแสงในนาทีที่ 6 ที่ความยาวคลื่น 593 nm

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

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 บทนำ

ในบทนี้คณะผู้วิจัยได้เก็บรวบรวมข้อมูลที่สำคัญในด้านต่างๆ จากการทดลองดังนี้

1) การเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรหนอนตายหยาก

2) ผลการสกัดสารสำคัญสมุนไพรหนอนตายหยาก

3) ผลการนำสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากไปรีดิวส์เกลือของโลหะ

4) ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (physicochemical properties)

5) ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านอนุมูลอิสระ

6) ผลการทดสอบความสามารถในการต้านเพลี้ยแป้งของสารสกัดสมุนไพรและสารสกัดสมุนไพรเงินนาโนในห้องปฏิบัติการ

7) ผลการทดสอบความสามารถของอนุภาคนาโนที่ออกฤทธิ์ต่อเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลังที่นำไปใช้ในแปลงทดลองของเกษตรกร

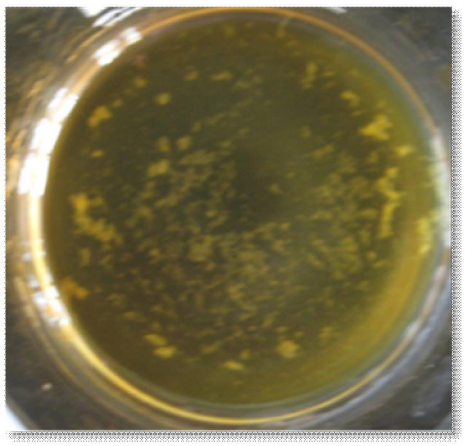
4.2 ผลการเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก

จากการพิจารณาลักษณะของหนอนตายหยากทางพฤกษศาสตร์ ลักษณะลำต้น ลักษณะดอก การเรียงตัวของใบ ลักษณะหัว รวมทั้งพื้นที่ที่พบ ระบุได้ว่าเป็นสายพันธุ์ *Stemonacollinsae*Craibr. เนื่องจากเกิดตามป่า เขา มีลักษณะลำต้นเป็นเถา ใบรูปหัวใจปลายเรียว ใบโตและยาว เส้นใบวิ่งตามยาว ประมาณ 15 เส้น มีสีเขียวอ่อน รากเป็นหัวเก็บอาหารมีลักษณะกลมยาวเป็นพวง ดอกมีเฉพาะกลีบดอกสีเขียวอ่อนมีเกสรสีชมพู แสดงดังภาพที่ 4.1

ภาพที่ 4.1 ลักษณะทั่วไปของหนอนตายหยาก

4.3 ผลการสกัดสารสำคัญสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก

การสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากโดยการสกัดด้วยตัวทำละลาย เอทานอลให้ปริมาณสารสกัดหยาบและลักษณะทางกายภาพแสดงดังภาพที่ 4.2 และตารางที่ 4.1 โดยงานวิจัยของสมหมาย (2557) ได้ทำการสกัดสารสำคัญสมุนไพรหนอนตายหยากด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกัน พบว่าสารที่มีในหนอนตายหยากส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มสารที่มีขั้วเพราะฉะนั้นในงานวิจัยนี้ จึงได้เลือกใช้ตัวทำละลายเอทานอลในการสกัดซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ไม่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต



ภาพที่ 4.2 ลักษณะของสารสกัดหนอนตายหยาก

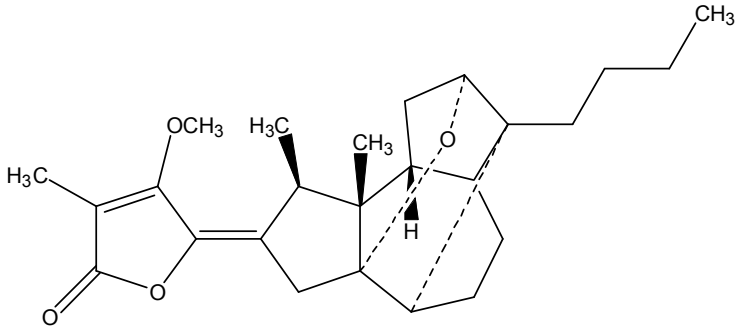
ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารสกัดและลักษณะทางกายภาพของสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก

ชนิดของสารตัวอย่าง	ผลผลิตร้อยละ	ลักษณะทางกายภาพของสารสกัด
Crude hexane	10	ผงสีขาวขุ่น
Crude dichloromethane	13	ผงสีขาว
Crude methanol	40	ผงสีเหลืองอ่อน
Crude ethanol	55	มีสีเหลืองลักษณะเหนียวหนืด

จากตารางจะเห็นว่าสารสกัดหนอนตายหยากส่วนมากเป็นสารที่มีขั้ว เพราะสามารถสกัดออกมาได้มากด้วยตัวทำละลายมีขั้ว

4.4 ผลการนำสารสกัดสมุนไพรหนอนตายหยากไปรีดิวส์เกลือของโลหะ

ทำการสกัดหนอนตายหยากด้วยเอทานอลต่อน้ำ 1: 1 (v/v) ให้ได้ปริมาณที่เพียงพอต่อการทดสอบฤทธิ์ทั้งในห้องปฏิบัติการและแปลงทดลองของเกษตรกร



Stemofoline, $C_{23}H_{31}O_5N$

ภาพที่ 4.3 โครงสร้างของ Stemofoline

Stemofoline เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สกัดได้จากหนอนตายหยากพันธุ์ใหญ่ถือเป็น Natural lewis base ที่มีศักยภาพในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อโรค และแมลงศัตรูพืช

4.5 ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก

ผลการทดสอบการละลายของสารสกัดหยาบเอทานอล

ตารางที่ 4.2 สมบัติการละลายในตัวทำละลายต่างๆของสารสกัดหัวหนอนตายหยาก

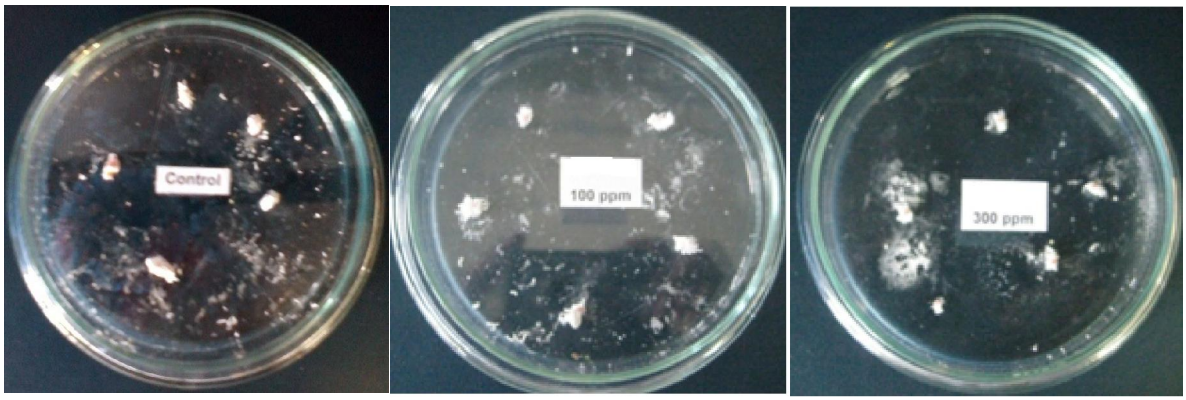
ชนิดของสารตัวอย่าง	ตัวทำละลาย				
	DMF	DMSO	MeOH	EtOH	Chloroform
Crude hexane	ละลาย	ละลาย	ละลายได้น้อย	ละลายได้น้อย	ละลายได้บ้าง
Crude dichloromethane	ละลาย	ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย
Crude methanol	ละลาย	ละลาย	ละลายได้ดี	ละลาย	ละลายได้บ้าง
Crude ethanol	ละลายได้ดี	ละลายได้ดี	ละลายได้ดี	ละลายได้ดี	ละลายได้

สารที่สกัดได้ส่วนมากจะเป็นสารที่มีขั้ว เพราะสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว (like dissolve like)

4.6 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านเพลี้ยแป้งของสารสกัดสมุนไพรและสารสกัดสมุนไพรเงินนาโนในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบความสามารถการด้านเพลี้ยแป้ง โดยนำสารตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด คือ สารสกัดหนอนตายหยากและสารสกัดสมุนไพรเงินนาโนมาเตรียมความเข้มข้นที่ 100, 300 และ 500 ppm ตามลำดับ โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย แล้วนำสารที่เตรียมได้ไปฉีดพ่นลงบนเพลตที่มีเพลี้ยแป้งอยู่ จับเวลาตั้งแต่เริ่มฉีดพ่นสารลงในเพลต สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกผล ปรากฏผลดังภาพที่ 4.4 และตารางที่ 4.3

ภาพที่ 4.4 ลักษณะการเกิดเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง



ภาพที่ 4.5 การออกฤทธิ์ต้านเพลี้ยแป้งของสาร Stemofoline ในจานทดลอง

จากภาพที่ 4.5 พบว่าสารตัวอย่าง สามารถออกฤทธิ์กำจัดเพลี้ยแป้งได้ทุกความเข้มข้น เมื่อฉีดพ่นสารลงในเพลี้ยแป้ง จะพบว่า แป้งที่เกาะอยู่บนตัวเพลี้ยแป้งจะหลุดออกทันทีและสารจะเริ่มซึมเข้าสู่ตัวเพลี้ยแป้ง ตัวเพลี้ยแป้งจะเริ่มมีสีเข้มข้น เมื่อเวลาผ่านไป 1 นาที เพลี้ยแป้งจะเริ่มตายลง และเมื่อ

เปรียบเทียบฤทธิ์การฆ่าเพลี้ยแป้งกับสาร Control พบว่าสารตัวอย่างมีความสามารถกำจัดเพลี้ยแป้งได้ดีกว่าสาร Control

ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเพลี้ยแป้ง

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้น (ppm)	จำนวนเพลี้ยแป้งที่ตายที่เวลา (นาที)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
control	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
สารสกัดหนอนตายหยาก	100	-	-	10 %	15 %	-	-	-	-	-	-
	300	-	-	10 %	20 %	-	-	-	-	-	-
	500	-	10 %	15 %	30 %	-	-	-	-	-	-
สารสกัดสมุนไพรเงินนาโน	100	60 %	80 %	100 %	-	-	-	-	-	-	-
	300	80 %	100 %		-	-	-	-	-	-	-
	500	100 %	-	-	-	-	-	-	-	-	-
สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต	100	-	-	-	ตายทั้งเพลี้ยแป้ง และใบมัน						
	300	-	-	ตายทั้งเพลี้ยแป้ง และใบมัน							
	500	ตายทั้งเพลี้ยแป้ง และใบมัน									

จากตารางที่ 4.3 แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการกำจัดเพลี้ยแป้งของสารตัวอย่าง ซึ่งเตรียมความเข้มข้นของสารตัวอย่างมากมายหลายความเข้มข้น แต่ช่วงความเข้มข้นที่ 100, 300 และ 500 ppm เป็นช่วงที่เหมาะสม เมื่อนำไปฉีดพ่นลงบนเพลี้ยแป้ง พบว่า สารตัวอย่างมีความสามารถออกฤทธิ์กำจัดเพลี้ยแป้งได้ทุกความเข้มข้น ซึ่งสารที่มีความสามารถกำจัดเพลี้ยแป้งได้ดีที่สุด คือ 500 ppm

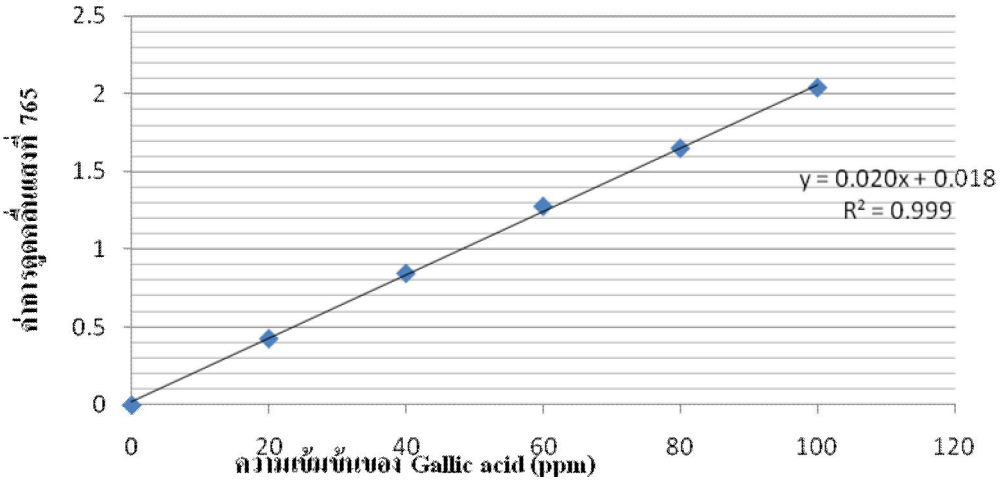
นอกจากนี้ยังพบว่า สารตัวอย่างออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อเพลี้ยแป้งที่ขึ้นอยู่กับทั้งความเข้มข้น (Concentration dependent) และขึ้นอยู่กับเวลา (Time dependent) อีกด้วย โดยสารตัวอย่างออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทและตายในที่สุด (ณุฉัตรา, 2528)

ดังนั้นที่วิจัยจึงผลิตสารตัวอย่างต่อไปในปริมาณที่มากขึ้นเพื่อนำไปใช้ทดลองในระดับแปลงต่อไป

4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านอนุมูลอิสระ

4.7.1 การหาปริมาณฟีนอลรวม (Folinciocaltevsphenol reagent)

สารละลายมาตรฐาน Gallic acid และปริมาณฟีนอลรวมเป็นดังภาพที่ 4.6 ดังต่อไปนี้



ภาพที่ 4.6 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณของ Phenolic content

เมื่อนำค่าการดูดกลืนของสารตัวอย่างไปเทียบกับกราฟมาตรฐานจะทำให้ทราบปริมาณฟีนอลรวมดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ผลการศึกษาความสามารถในการหาปริมาณฟีนอลรวมของสารสกัดหนอนตายหยาก

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่า Absorbance (765 nm)			Phenolic content (ppm)			$\bar{x}\pm$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

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเป็นดังนี้

ตารางที่ 4.5 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 4.6 ค่า IC_{50} ของสารตัวอย่างในการต้านอนุมูลอิสระ

สารตัวอย่าง	IC_{50} (Inhibitory Concentration 50%)
Trolox	2.89
Crude hexane	313.20
Crude dichloromethane	315.45
Crude methanol	124.34
Crude ethanol	108.02

สารสกัดหนอนตายหยากสามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ และส่วนสกัดที่ออกฤทธิ์ได้ดีคือสารสกัดหยาบเอทานอล

4.8 ผลการทดสอบความสามารถของอนุภาคนาโนที่ออกฤทธิ์ต่อเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลังที่นำไปใช้ในแปลงทดลองของเกษตรกร

ทีมวิจัยได้ออกพื้นที่ทั้ง 4 อำเภอ เพื่อประชุมวางแผน ร่วมกับเกษตรกรเพื่อหาทางแก้ปัญหาการระบาดของเพลี้ยแป้งในแปลงของเกษตรกร

ภาพที่ 4.7 ผลการนำสารตัวอย่างไปฉีดในแปลงทดลองของเกษตรกร

ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งโดยการฉีดอนุภาคของเงินนาโนที่มีสารสกัดหนอนตายหยากเป็นตัวรีดิวส์ โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD 4 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ด้วยการฉีดพ่น ได้ผลดังนี้

กรรมวิธี	จำนวนเพลี้ยแป้งก่อนพ่นสาร	จำนวนเพลี้ยแป้ง (ตัว)		
		7 วัน	14 วัน	21 วัน
สูตร 1	> 100 ตัว	157.50 ± 6.45[a]	252.50 ± 6.45[a]	273.75 ± 7.08[a]
สูตร 2	> 100 ตัว	125.00 ± 10.80[b]	81.25 ± 20.96[b]	45.00±12.24[b]
สูตร 3	> 100 ตัว	128.75±4.78[b]	71.25±13.76[b]	50.00±7.07[b]
สูตร 4	> 100 ตัว	120.00±7.07[b]	37.50±6.45[c]	22.50±2.88[c]

CV %

จะเห็นว่า อนุภาคของเงินนาโนที่มีรีดิวซ์เป็นสารสกัดจากหนอนตายหยากสามารถกำจัดเพลี้ยแป้งได้ และสารออกฤทธิ์ทางกายภาพทั้งแบบ dose dependent และ time dependent จึงถือเป็นนวัตกรรมด้านการกำจัดแมลงสัตรูพืชที่สำคัญต่อวงการเกษตรกรรมไทย

บทที่ 5
สรุป วิจารณ์ผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 บทนำ

ในบทนี้คณะผู้วิจัยได้สรุปประเด็นต่างๆ ที่ได้จากการทำวิจัย ได้แก่ การสกัดสารสมุนไพรหัวหนอนตายหยาก สมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ การทดสอบฤทธิ์การต้านเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลัง เปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดกับสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตและน้ำหมักชีวภาพผสม *B. cereus* การหาปริมาณฟีนอลรวมที่มีในสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลแอซิเตดเมทานอล และเอทานอล สมบัติทางชีวภาพ (Biological activities) ในการต้านอนุมูลอิสระเทคนิค DPPH และการทดสอบฤทธิ์การต้านเพลี้ยแป้งในแปลงของเกษตรกร

5.2 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการพิจารณาลักษณะของหนอนตายหยากทางพฤกษศาสตร์ ลักษณะลำต้น ลักษณะดอก การเรียงตัวของใบ ลักษณะหัว รวมทั้งพื้นที่ที่พบ ระบุได้ว่าเป็นสายพันธุ์ *Stemona collinsae* Craibr. เนื่องจากเกิดตามป่า ตามเขา มีลักษณะลำต้นเป็นเถา ใบรูปหัวใจปลายเรียว ใบโตและยาว เส้นใบวิ่งตามยาว ประมาณ 15 เส้น มีสีเขียวอ่อน รากเป็นหัวเก็บอาหารมีลักษณะกลมยาวเป็นพวง ดอกมีเฉพาะกลีบดอกสีเขียวอ่อนมีเกสรสีชมพู ขนาดของดอกใหญ่กว่าหนอนตายหยากขนาดเล็ก

การสกัดสมุนไพรหัวหนอนตายหยากโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีลำดับขั้วต่างกันจากตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วไปหาตัวทำละลายที่มีขั้วสูงได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลแอซิเตด เมทานอล และเอทานอล ให้ปริมาณสารสกัดหยาบที่ 0.0201, 0.2570, 0.0834, 16.3792 และ 0.4466 กรัม ตามลำดับ โดยสารสกัดจากเฮกเซนให้ปริมาณสารสกัดหยาบน้อยที่สุด และสารสกัดจากเมทานอล ให้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด แสดงให้เห็นว่าสารที่มีในหนอนตายหยากส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มสารที่มีขั้ว (ณัฐกานต์ ธิคำ) ซึ่งลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากเฮกเซนจะมีสีเหลืองอ่อน มีลักษณะเป็นน้ำมัน สารสกัดจากไดคลอโรมีเทนมีสีเหลืองส้มลักษณะเป็นผง สารสกัดจากเอทิลแอซิเตดมีสีส้มแกมเหลืองลักษณะเป็นผง สารสกัดจากเมทานอลมีลักษณะเหนียวหนืด และสารสกัดจากเอทานอลมีสีเหลืองลักษณะเหนียวหนืด เมื่อนำสารสกัดหยาบทั้ง 5 ชนิด มาทดสอบการละลายในตัวทำละลายต่าง ๆ คือ Dimethyl formamide, Dimethyl sulfoxide, Methanol, Ethanol และ Chloroform พบว่า สารสกัดหยาบทั้ง 5 ชนิดสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด และเมื่อนำสารสกัดหยาบทั้ง 5 ชนิดมาวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) พบว่า สารสกัดหยาบจาก ไดคลอโรมีเทน มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงที่สุดที่ 303.0 รองลงมา คือ สารสกัดจากเอทิลแอซิเตด มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 203.0

ผลการศึกษาความสามารถในการหาปริมาณฟีนอลรวมที่มีในสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลแอซิเตด เมทานอล และเอทานอล พบว่าปริมาณฟีนอลรวมในสารสกัดแต่ละชนิดจะแปรผันตามความเข้มข้นของสาร โดยเมื่อสารมีความเข้มข้นมากขึ้นปริมาณฟีนอลรวมจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วยซึ่งในสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน จะมีปริมาณฟีนอลรวมสูง

ที่สุดมีค่า 1.288, 1.400, 2.074, 3.100 และ 6.213 ppm รองลงมาคือ เอทานอล เฮกเซน เอทิลแอซิเตด และเมทานอล ตามลำดับ

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

ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบต่อเพลี้ยแป้งของมันสำปะหลัง โดยใช้สารคอปเปอร์ซัลเฟตและน้ำหมักชีวภาพสูตรผสม *B. cereus* เตรียมความเข้มข้นเป็น 100, 300, 500 ppm แล้วนำไปฉีดพ่นใส่เพลี้ยแป้ง พบว่าเมื่อนำสารละลายของสตีโมโฟลินและสารละลายของเงินนาโนสตีโมโฟลินฉีดพ่นเพลี้ยแป้งจะเริ่มตายลงเมื่อเวลาผ่านไป 1 และ 3 นาที ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับคอปเปอร์ซัลเฟต ซึ่งคอปเปอร์ซัลเฟตจะเริ่มต้านเพลี้ยแป้งเมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน แต่พบว่า บริเวณที่เกิดมีเพลี้ยแป้งเริ่มเหี่ยวในวันที่ 4 และตายลงเมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน และน้ำหมักชีวภาพสูตรผสม *B. cereus* ไม่สามารถต้านเพลี้ยแป้งได้เมื่อใช้เวลาเพียง 14 วัน สรุปได้ว่าสารสกัดจากหนอนตายหยากมีฤทธิ์ต้านเพลี้ยแป้งได้ดีกว่าคอปเปอร์ซัลเฟตและน้ำหมักชีวภาพผสม *B. cereus* แต่เมื่อพิจาณาอนุภาคนาโนที่มีสารสกัดเป็นตัวรีดิวซ์ พบว่า สารตัวอย่างออกฤทธิ์ได้ดีภายในเวลา 1 นาทีที่เริ่มฉีดพ่นลงไป จึงนำอนุภาคเงินนาโนที่รีดิวซ์ด้วยสารสกัดหนอนตายหยากไปฉีดพ่นในแปลงมันสำปะหลังของเกษตรกร พบว่า อนุภาคของเงินนาโนที่มีรีดิวซ์เป็นสารสกัดจากหนอนตายหยากสามารถกำจัดเพลี้ยแป้งได้ และแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งแบบ dose dependent และ time dependent

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ควรมีการนำสารสกัดหยาบหนอนตายหยากและอนุภาคเงินนาโนที่มีหนอนตาย หยากเป็นตัวรีดิวซ์ไปทดลองใช้กับพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นๆ

5.3.2 ควรมีการพัฒนาอนุภาคเงินนาโนที่มีหนอนตายหยากเป็นตัวรีดิวซ์ให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นที่รู้จักและผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
ภาพกิจกรรม

ภาพที่ 1 แปลงมันสำปะหลังที่เพลี้ยแป้งลง

ภาพที่ 2 มันสำปะหลังมีใบงิกงอ

ภาพที่ 3 แปลงทดลองมันสำปะหลัง

ภาพที่ 4 การนำน้ำยาจากทดลองไปฉีดในแปลงทดลอง

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กฤษณธร สินตะละ วิวัฒน์ ศรีวิชา และขนิษฐา ทุมา. (2552). **แนวทางการใช้ว่านหนอนตายหยากกำจัดหนอนแมลงวันในฟาร์มโคนม**. สกลนคร : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน.

ชุลีพร วณิชกุลชัยพร และคณะ. (2551, เมษายน). “การใช้น้ำสกัดชีวภาพหนอนตายหยากควบคุมลูกน้ำยุงลาย,” **วารสารสิ่งแวดล้อม**. 4(1) : 107-121.

ณัฐกานต์ ธิคำ และคณะ. (2551). “การแยกสารสกัดบางส่วนจากหนอนตายหยากและผลของสารสกัดต่อหนอนกระทู้หอม,” ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46. หน้า 253-261. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ณัฐวดี สมบัติเทพสุทธิ์. (2551). **ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยาก (*Stemona curtisii* Hook.) โล่ติ๊น (Derris elliptica Benth) และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachat excels* (Jack) Jacobs) เพื่อควบคุมผีเสื้อหนอนใยผักในการปลูกผักกวางตุ้งแบบไฮโดรโพนิกส์**. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (กีฏวิทยา). สงขลา : มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นาตยา มาตรี ชนนิกานต์ ขวัญช่วย และพรประพา คงตระกูล. (2557). **“ผลการสกัดหยาบจากหนอนตายหยากต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชบางชนิด,”** แก่นเกษตร. 42(ฉบับพิเศษ 3) : 649-653.

จตุรงค์ เหลาแหลม และคณะ. (2552). “**กิจกรรมต้านจุลินทร์ของหนอนตายหยากบางชนิด**,” ใน **การประชุมวิชาการเรื่อง สภาวะโลกร้อน: ความหลากหลายทางชีวภาพและการใช้ประโยชน์อย่างยั้งยืน**. ชลบุรี : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางแสน.

ธวัชชัย ศุภดิษฐ์ และ พนมกร ขุนอ่อน. (2551). “การใช้น้ำสกัดชีวภาพจากหนอนตายหยากและสับปะรดควบคุมหนอนแมลงวันบ้านม,” ใน การประชุมสัมมนาวิชาการระบบเกษตรแห่งชาติ ครั้งที่ 4. หน้า 247-252. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นงค์นภา เกลี้ยงเกลา. (2551). **การใช้น้ำสกัดชีวภาพหนอนตายหยากเป็นปุ๋ยสำหรับการผลิตถั่วเหลือง**. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (การจัดการสิ่งแวดล้อม). กรุงเทพฯ : สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์.

พนมกร ขุนอ่อน (2550 : 114-115). **การใช้น้ำสกัดชีวภาพสมุนไพรหนอนตายหยากควบคุมหนอนแมลงวันบ้าน**. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (การจัดการสิ่งแวดล้อม). กรุงเทพฯ : สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์.

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

ไพบูลย์ ปะเนเส. (2550). **จุลกายภาคของเหงือกและไตปลานิล (Oreochromis niloticus L.) ที่ได้รับสารกำจัดแมลงชีวภาพจากหนอนตายหยาก (Stemona curtisii Hook.F.) และ สารภี (Mammea siamensis Miq. T.) เปรียบเทียบกับแลนเนท**. การค้นคว้าแบบอิสระ วท.ม. (ชีววิทยา). เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

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

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

วาสนา ไชยคำ. (2545). **ฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดจากหนอนตายหยาก (*Stemona spp.)* และเถาวัลย์เปรียง (*Derrisscandens* Benth)**. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (เกษตรศาสตร์). ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

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

สุภาณี พิมพ์สนาม รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา และวังวาล สมบูรณ์. (2546). **สารสกัดจากหนอนตายหยาก (*Stemona spp.)* เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช**. [บบออนไลน์] สืบค้นเมื่อ 20สิงหาคม 2557 ทีมา http://plantpro.doae.go.th./insectpest-research /A-14.pdf.

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

อรภัทร ภูรีเสถียร. (2550). **การสกัดและพัฒนาสูตรตำรับหนอนตายหยากเพื่อควบคุมศัตรูพืช**. วิทยานิพนธ์ ภ.ม. (เภสัชศาสตร์). สงขลา : มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อาทิตย์ บัวระภา. (2545). **ความเป็นพิษของสารสกัดรากหนอนตายหยากและ *Bacillus thuringiensis*** var. israelensis ต่อหนอนแมลงวันบ้าน. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (สาธารณสุข). ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Al-Haiza, Mostafa, M.A. and El-kady, M.Y. (2003). “Synthesis and Biological Evaluation of Some New Coumarin Derivatives.” **Molecules**. 8 : 275-286.

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

He, Lili, et al. (2011). “Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*,” **Microbiological Research**. 166 : 207-215.

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.

Lewis, Anne. *et al.* (2004). "Treatment of Pancreatic Cancer Cells with Dicumarol Induces Cytotoxivity and Oxidative Stress." **Clinical Cancer Research**. 10(1) : 4550-4558.

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