ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

ปริญญา

ชีววิทยา	สัตววิทยา
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง ปฏิกิริยาเอนไซม์เอสเทอเรส และกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสในหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* L.) หลังสัมผัสสารสกัดจากพืชบางชนิด

Esterase and Glutathione-s-transferase Activities in *Spodoptera litura* L. After Exposure to Some Plants Extracts

นามผู้วิจัย นางสาวพุทธิพร สายสงเคราะห์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ .....
(รองศาสตราจารย์สุรพล วิเศษสรรค์, Ph.D.)

กรรมการ .....
(รองศาสตราจารย์มณจันทร์ เมฆธน, Ph.D.)

กรรมการ .....
(อาจารย์มัณฑนา มิลน์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์พิณทิพย์ กรรณสูตร, M.S.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....
(รองศาสตราจารย์วินัย อาจคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 22 **เดือน** มีนาคม **พ.ศ.** 2549

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ปฏิกิริยาเอนไซม์เอสเทอเรส และกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสในหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* L.) หลังสัมผัสสารสกัดจากพืชบางชนิด

Esterase and Glutathione-s-transferase Activities in *Spodoptera litura* L. After Exposure to Some Plants Extracts

โดย

นางสาวพุทธิพร สายสงเคราะห์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)
พ.ศ. 2549

ISBN 974-16-1320-2

พุทธิพร สายสงเคราะห์ 2549: ปฏิกิริยาเอนไซม์เอสเทอเรส และกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ในหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* L.) หลังสัมผัสสารสกัดจากพืชบางชนิด ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา) สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาสัตววิทยา ประธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์สุรพล วิเศษสรรค์, Ph.D.
111 หน้า
ISBN 974-16-1320-2

การศึกษาผลของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนูที่มีต่อการตายและปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษในหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* Linn.) วัย 2-3 โดยสกัดด้วยวิธีซอกห์เลต ใช้แอลกอฮอล์ 95% เป็นตัวทำละลาย นำสารสกัดที่ได้มาทดสอบกับหนอนโดยวิธีจุ่มตัว พบว่าค่า LC_{50} ของเมล็ดน้อยหน่าเท่ากับ 1.642% w/v ของเมล็ดมันแกวเท่ากับ 2.203% w/v ของพริกขี้หนูเท่ากับ 4.880% w/v ที่เวลา 24 ชั่วโมง

จากผลการศึกษาของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนกระทู้ผัก พบว่าระดับเอนไซม์ esterase และglutathione-s-transferase ลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า และเมล็ดมันแกวที่เพิ่มขึ้น โดยที่เมล็ดน้อยหน่าทำให้ระดับ esterase และglutathione-s-transferase ลดลงประมาณ 3.08 และ 0.15 เท่าตามลำดับ เมล็ดมันแกว ระดับ esterase และglutathione-s-transferase ลดลงประมาณ 2.28 และ 0.13 เท่าตามลำดับ แสดงว่าสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า และเมล็ดมันแกวมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษสองชนิดนี้ ส่วนสารสกัดจากพริกขี้หนู พบว่ามีผลไปเหนี่ยวนำระดับเอนไซม์ esterase และglutathione-s-transferase ให้เพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกขี้หนูที่เพิ่มขึ้นประมาณ 2.45 และ 0.15 เท่าตามลำดับ จากการทดสอบความเป็นพิษกับสัตว์ที่ไม่ใช่เป้าหมาย พบว่าปลาสอด (*Poecilia latipinna*) อายุ 45 วัน เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว พริกขี้หนู ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 0.344%, 0.047%, 3.00% w/v ตามลำดับ ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera* Linn.) อายุ 60 วัน ที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนูโดยวิธีพ่นสารในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 1.202%, 2.964% และ 6.605% w/v ตามลำดับ

พุทธิพร สายสงเคราะห์ — 16 / 3 / 49

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ

Bhudhiporn Saisongkhroh 2006: Esterase and Glutathione-s-tranferase Activities in *Spodoptera litura* L. After Exposure to Some Plants Extracts. Master of Science (Biology), Major Field: Biology, Department of Zoology. Thesis Advisor: Associate Professor Suraphon Visetson, Ph.D. 111 pages.
ISBN 974-16-1320-2

This research aim to evaluate the effects in terms of detoxification enzyme of some plant extracts against cotton worm (*spodoptera litura* Linn.). The seed of sugar apple (*Annona squamosa* Linn.), The seed of yam bean (*Pachyrrhizus erosus* Urban) and the Chilli (*Capsicum frutescens* Linn.), extracted by soxhlet's extraction with 95% ethanol as solvent. Various concentrations of the extracts were trailed with 2-3 instar larvae using a dipping method. LC_{50} values for seed of sugar apple, seed of yam bean and chilli were determinated to be 1.642% w/v, 2.203% w/v and 4.880% w/v respectively.

The detoxification enzymes namely esterase and glutathione-s-transferase were in vitro assays against lived *Spodoptera litura* survived from treatments. Esterase and Glutathione-s-transferase activities decreased by 3 & 0.15 fold in sugar apple extract and decreased by 2.28 & 0.13 fold in yam bean extract. This is the indication of inhibited esterase and glutathione-s-transferase are responsible for the *Spodoptera litura* mortality. But at the same time, esterase and glutathione-s-transferase activities were increased by 2.45 & 0.15 fold respectively in the chilli. The toxicity tests to non target animals had been trailed with the 45 days old fish (*Poecilia latipinna*) and 60 days old bee (*Apis mellifera* Linn.). After 24 hrs. of the exposure, sugar apple extract, yan bean extract and chilli extracts the fish show LC_{50} = 0.344% w/v, 0.047% w/v and 3.00% w/v respectively. The bee show LC_{50} = 1.202% w/v, 2.964% w/v and 6.605% w/v respectively.

Bhudhiporn Saisongkhroh — 16 / 3 / 06

Student's signature — Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สุรพล วิเศษสรรค์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.มณจันทร์ เมฆธน กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก ดร.มัณฑนา มิลน์ กรรมการที่ปรึกษาวิชารอง และรองศาสตราจารย์ ดร.พรรณนภา ศักดิ์สูง อาจารย์ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สาวิตรี มาลัยพันธุ์ อาจารย์ประจำภาควิชากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่เอื้อเฟื้อผึ้งพันธุ์ในการทดลอง เจ้าหน้าที่กรมวิชาการเกษตรที่ให้รายละเอียดเกี่ยวกับหนอนกระทู้ผัก คุณวสกร บัลลังก์โพธิ์ และคุณประภาพร ศรีคง ที่คอยให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำในทุกด้าน ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆทุกท่านของภาควิชาสัตววิทยา ที่ได้ช่วยเหลือเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จได้

ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณย่า และน้องชายที่คอยให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจตลอดจนชี้แนะและสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงได้

พุทธิพร สายสงเคราะห์

กุมภาพันธ์ 2549

สารบัญ

หน้า

สารบัญ……(1)
สารบัญตาราง……..……(2)
สารบัญภาพ……..(4)
คำนำ……1
วัตถุประสงค์……3
การตรวจเอกสาร……...4
สมุนไพรที่นำมาศึกษา…… 4
หนอนกระทู้ผัก……20
กระบวนการป้องกันและทำลายสารพิษในแมลงทั่วไป……...27
อุปกรณ์และวิธีการ……34
อุปกรณ์……34
วิธีการ……..36
ผลการทดลอง……47
วิจารณ์ผลการทดลอง……89
สรุปผลการทดลอง……97
ข้อเสนอแนะ……..98
เอกสารและสิ่งอ้างอิง……..……99
ภาคผนวก…… 110

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของหนอนกระทู้ผัก หลังจากได้รับสารสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24ชั่วโมง…….48

2 เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของหนอนกระทู้ผัก หลังจากได้รับสารสารสกัดจากเมล็ดมันแกว ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง……51

3 เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของหนอนกระทู้ผัก หลังจากได้รับสารสารสกัดจากพริกขี้หนู ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24ชั่วโมง……..54

4 สมการถดถอย (regression) และค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว พริกขี้หนู และการตายของหนอนกระทู้ผักหลังจากได้รับสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆที่เวลา 24ชั่วโมง…….....56

5 ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของหนอนกระทู้ผักเมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง……58

6 ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24ชั่วโมง……...…….60

7 ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของหนอนกระทู้ผักเมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง……...63

8 ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง……...65

9 ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของหนอนกระทู้ผักเมื่อได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนูที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง……68

10 ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนูที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง……...…70

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

11 การเปรียบเทียบค่า correlation coefficient (r) และ correlation determination (r^2) ของเอสเทอเรสกับกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสในสารสกัดทั้ง 3 ชนิด……72

12 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปลาสอดเมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง…….73

13 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปลาสอดเมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกว ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง…….75

14 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปลาสอดเมื่อได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนู ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง……..77

15 สมการถดถอย (regression) และค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว พริกขี้หนู และการตายของปลาสอด หลังจากได้รับสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆที่เวลา 24 ชั่วโมง……...79

16 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของผึ้งพันธุ์ เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง……..80

17 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของผึ้งพันธุ์ เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกว ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง……..82

18 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของผึ้งพันธุ์ เมื่อได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนู ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง……..84

19 สมการถดถอย (regression) และค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว พริกขี้หนู และการตายของผึ้งพันธุ์ หลังจากได้รับสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆที่เวลา 24 ชั่วโมง……...86

20 เปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนูที่สามารถทำให้หนอนกระทู้ผัก ปลาสอด และผึ้งพันธุ์ตายเป็นจำนวน 50 % (LC_{50})……...87

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะผลน้อยหน่า…….....	6
2	สูตรโครงสร้างของ isoquinolone alkaloid……..	8
3	แสดงลักษณะผลและลำต้นของมันแกว……	10
4	สารออกฤทธิ์ในเมล็ดมันแกว……	12
5	ลักษณะผลพริกขี้หนู……..	15
6	โครงสร้างของ 8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide……..	18
7	สูตรโครงสร้างของรงควัตถุที่สำคัญในพริก……..	19
8	การแพร่กระจายของหนอนกระทู้ผักทั่วโลก.....	21
9	แสดงลักษณะไข่ของหนอนกระทู้ผักเมื่อถ่ายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	23
10	แสดงลักษณะไข่ที่ปกคลุมด้วยขนสีฟางข้าวของหนอนกระทู้ผัก.....	23
11	หนอนกระทู้ผักในระยะที่ 1……...	24
12	การแยกเลี้ยงหนอนกระทู้ผักในระยะที่ 4- 5……..	25
13	แสดงลักษณะดักแด้ของหนอนกระทู้ผัก.....	26
14	แสดงลักษณะผีเสื้อตัวเต็มวัย……..……..	26
15	ลักษณะอาหารเทียม.....	36
16	แสดงเครื่องสกัด soxhlet……...	38
17	ระเหยตัวทำละลายด้วย rotary evaporator…….	38
18	เครื่องระเหย freeze dry…….	39
19	เมล็ดน้อยหน่าที่ปั่นละเอียด และ crude extract ของเมล็ดน้อยหน่.....	39
20	เมล็ดมันแกวปั่นละเอียด และ crude extract ของเมล็ดมันแกว.....	39
21	พริกขี้หนูที่ปั่นละเอียด และcrude extract ของพริกขี้หนู.....	40
22	วิธีการบดหนอนในโกร่ง.....	42
23	วิธีการตรวจผลเอนไซม์.....	43
24	การเลี้ยงปลาสอดในตู้กระจก.....	43

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่		หน้า
25	แสดงการทดสอบสารสกัดจากพริกขี้หนูต่อการตายของปลาสอด	44
26	บริเวณสถานที่ที่เลี้ยงผึ้งพันธุ์ และการถ่ายผึ้งจากสวิงลงถุงผ้า	44
27	แยกผึ้งพันธุ์ลงในกล่องที่เตรียมไว้	45
28	ผึ้งที่กำลังฟื้นจากการสลบ	45
29	ขณะทำการฉีดพ่นสารสกัดลงบนตัวผึ้งพันธุ์	45
30	การตายของหนอนกระทู้ผักที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า มีค่าสมการ regression คือ $Y = 11.992 + 23.184 x$ และ $LC_{50} = 1.642$ %	49
31	การตายของหนอนกระทู้ผักที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกว มีค่าสมการ regression คือ $Y = 2.568 + 21.524 x$ และ $LC_{50} = 2.203$ %	52
32	การตายของหนอนกระทู้ผักที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนู มีค่าสมการ regression คือ $Y = 1.996 + 9.8385 x$ และ $LC_{50} = 4.880$ %	55
33	ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเฉลี่ย ของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง	59
34	ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสเฉลี่ยของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง	61
35	ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเฉลี่ย ของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง	64
36	ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสเฉลี่ยของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกว ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง	66
37	ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเฉลี่ย ของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนูที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง	69
38	ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสเฉลี่ยของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนู ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง	71
39	การตายของปลาสอดที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า มีค่าสมการ regression คือ $Y = 1.471 + 141.07 x$ และ $LC_{50} = 0.344$ %	74

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

40 การตายของปลาสอดที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า มีค่าสมการ regression คือ Y = - 4.50 + 1465.18 x และ LC_{50} = 0.047 %.....76

41 การตายของปลาสอดที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนู มีค่าสมการ regression คือ Y = - 11.334 + 21.333 x และ LC_{50} = 3.00 %.....78

42 การตายของผึ้งพันธุ์ที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า มีค่าสมการ regression คือ Y = 2.682 + 39.358 x และ LC_{50} = 1.202 %.....81

43 การตายของผึ้งพันธุ์ที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกว มีค่าสมการ regression คือ Y = 12.336 + 12.783 x และ LC_{50} = 2.946 %.....83

44 การตายของผึ้งพันธุ์ที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนู มีค่าสมการ regression คือ Y = 2.666 + 7.166 x และ LC_{50} = 6.605 %.....85

45 เปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนูที่สามารถทำให้หนอนกระทู้ผัก ปลาสอด และผึ้งพันธุ์ตายเป็นจำนวน 50 % (LC_{50})……..…88

ปฏิกิริยาเอนไซม์เอสเทอเรส และกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ในหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* L.) หลังสัมผัส สารสกัดจากพืชบางชนิด

Esterase and Glutathione-s-tranferase Activities in *Spodoptera litura* L. After Exposure to Some Plants Extracts

คำนำ

ปัจจุบัน ประชาชนตระหนักถึงอันตรายจากสารเคมี ที่นำมาใช้ในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืช ซึ่งก่อเกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม และเกิดผลเสียต่อสุขอนามัย เกิดพิษตกค้าง และหากใช้ติดต่อกัน แมลงจะเกิดความต้านทานต่อสารเคมีชนิดนั้น นอกจากนี้ ยังมีค่าใช้จ่ายที่สูง เนื่องจากจำเป็นต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศ

ประเทศไทยตั้งอยู่ในพื้นที่มีความหลากของพืชสมุนไพรมากที่สุดของโลกแห่งหนึ่ง สารจากธรรมชาติจากพืชสมุนไพรหลายชนิดที่พบในประเทศไทยมีผลต่อการยับยั้งระบบภูมิคุ้มกันในกลุ่มของ detoxification enzymes เช่น Mixed function oxidase, Esterase และ Glutathione S-transferase ในแมลงหลายชนิดเช่นหนอนใยผัก หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน ด้วงงวงข้าว สารธรรมชาติเหล่านั้นเป็นกลุ่มของสาร Allelochemicals เช่น citronellal จากตระไคร้หอม (เรวดี และสุรพล, 2542) สาร eupathal จากสาบเสือ (จริยา และคณะ, 2542) สาร rotenone จากรากหางไหล (Visetson and Milne, 2001) สาร curcumin จากข่า (สุรพล และคณะ, 2544) สาร capsaisin จากพริกขี้หนู (วสกร และคณะ, 2545) สาร azadirachtin จากเมล็ดสะเดา (Visetson, 2001) สาร selinnadiene จากแห้วหมู (Visetson *et. al*. 2001; 2002) สาร sitosterol จากพญายอ (กิติมา, 2545) สาร sesamoline จากเมล็ดงา (Visetson *et. al.* 2003) ผลจากการระงับการทำงานของระบบเอนไซม์เหล่านี้มีผลต่อการความเป็นพิษ การพัฒนาการและอัตราการตายในแมลงบางชนิด ปัจจุบันมีเอกชนหลายรายทำสารสกัดเหล่านี้ออกขายเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชเป็นการค้าอย่างแพร่หลายทดแทนการใช้สารเคมี

สารสกัดจากพืชหลายชนิดมีข้อดีหลายประการ เช่น สลายตัวง่าย จึงไม่ก่อผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมและไม่ก่อเกิดอันตรายด้านสุขภาพของผู้ใช้และผู้บริโภค สามารถทำได้เอง และสะดวก จึงลดค่าใช้จ่ายรวมทั้งทำให้แมลงเกิดการต้านทานต่อสารช้ากว่าการใช้สารเคมี อย่างไรก็ดี สารจากพืชมีข้อเสียบางประการ คือ ไม่มีฤทธิ์เฉียบพลัน ไม่สามารถออกฤทธิ์ในแมลงทุกชนิด ทั้งนี้แตกต่างกันตามแต่ละชนิดพันธุ์ ส่วนที่นำมาใช้ รวมทั้งยังมีข้อจำกัดเกี่ยวกับอายุการเก็บรักษาอีกด้วย แต่อย่างไรก็ตามด้วยเหตุผลทางความปลอดภัย และนโยบายการป้องกันสิ่งแวดล้อม และการกีดกันทางการค้าระหว่างประเทศ การใช้สารสกัดจากพืชบางชนิดจึงยังเป็นที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในระดับธุรกิจมากมายโดยเฉพาะผลผลิตส่งออกทางการเกษตร และใช้อย่างแพร่หลายในกลุ่มของเกษตรอินทรีย์ซึ่งถือว่าขบวนการผลิตเต็มไปด้วยความปลอดภัยจากสารเคมีสังเคราะห์ (สุรพล, 2545) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าแมลงหลายชนิดเช่นหนอนกระทู้ผักซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญมากชนิดหนึ่ง ที่แพร่ระบาดทำความเสียหายอย่างกว้างขวาง ทำลายพืชหลายชนิด (Polyphagous insects) ทั้งพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ และพืชเศรษฐกิจอีกมาก ยังมีการระบาดอยู่ทั้งในแหล่งที่มีการใช้สารสังเคราะห์และสารจากพืช

หนอนกระทู้ผักเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ เนื่องจากเป็นหนอนที่สามารถเพิ่มจำนวนประชากรได้รวดเร็ว สามารถกัดกินผักให้เสียหาย ผลผลิตลด ราคาตกต่ำ นับเป็นแมลงศัตรูพืชทางเศรษฐกิจที่สำคัญในประเทศไทย เกษตรกรต้องใช้สารเคมีหลายชนิดมาใช้ในการป้องกันกำจัด ในการศึกษาครั้งนี้ วิจัยความเป็นพิษของสารสกัดจากพืช 3 ชนิดในการควบคุมและกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ คือ สารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า (*Annona squamosa* Linn.) เมล็ดมันแกว (*Pachyrhizus erosus* Urb.) และพริกขี้หนู (*Capsicum frutescens* Linn.) ซึ่งหาได้ง่ายในท้องถิ่นและยังไม่มีงานวิจัยใดที่ใช้สารเหล่านี้ป้องกันกำจัดแมลงชนิดนี้มาก่อน การวิจัยนี้จะทำการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดดังกล่าวในหนอนวัยที่ 2-3 และศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับของเอนไซม์ทำลายพิษเช่น Esterase และ Glutathione – S – transferase เพื่อดูกลไกการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ทั้งสอง ผลจากการศึกษาสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการทำรูปแบบที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงของสูตรสารสกัดจากพืชที่กล่าวมาแล้วข้างต้น นอกจากนี้ยังศึกษาหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดที่มีต่อปลาและผึ้งเพื่อความปลอดภัยต่อสิ่งที่มีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมาย

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาประสิทธิภาพความเป็นพิษของสารสกัดจากพืช 3 ชนิด คือ เมล็ดน้อยหน่า เมล็ดแกว และ พริกขี้หนู ที่มีผลต่อหนอนกระทู้ผัก

2. ศึกษาเปรียบเทียบกลไก โดยวัดปฏิกิริยาของเอนไซม์ Esterase และ Glutathione – S – tranferase ของหนอนกระทู้ผักหลังรับสารสกัดจากพืชทั้งสาม

3. หาสหสัมพันธ์ระหว่างปฏิกิริยาของเอนไซม์ทำลายพิษ และอัตราการตาย เพื่อวิเคราะห์สูตรที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผักต่อไป

4. หาค่าความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดที่มีต่อปลา และผึ้ง เพื่อประโยชน์ในการผลิตสารที่ไม่มีผลต่อสิ่งที่มีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมาย

การตรวจเอกสาร

สมุนไพรที่นำมาศึกษา

1. น้อยหน่า

1.1 การจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Annona squamosa* Linneaus.

ชื่อวงศ์ Annonaceae

ชื่อสามัญ Sugar apple, Custard apple, Sweet sop

ชื่อท้องถิ่น เตียม น้อยแน่ มะลอแน่ มะออจ้า ลาหนัง บักเขียบ

ถิ่นกำเนิด อเมริกา และเขตร้อนของเอเชีย

1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

1.2.1 ต้น น้อยหน่าจัดเป็นไม้ผลประเภทไม้ยืนต้นผลัดใบ มีขนาดของทรงพุ่มเล็ก ส่วนของลำต้นแท้สูงประมาณ 1 ฟุต จะแตกกิ่งก้านสาขาเป็นกิ่งหลัก กิ่งรอง กิ่งแขนง และกิ่งย่อย การแตกกิ่งจะแตกอยู่ในระดับต่ำ ไม่เป็นระเบียบ

1.2.2 ใบ ลักษณะของใบน้อยหน่าจัดเป็นแบบใบเดี่ยว คือ การออกของใบจะเรียงสลับกันบนกิ่ง สีของใบเมื่อยังอ่อนอยู่จะเป็นสีขาวปนเขียว เมื่อใบแก่จะมีสีเขียวเข้มปนน้ำตาล มีลักษณะเป็นรูปหอก ที่บริเวณปลายใบ แหลมหรือค่อนข้างเรียวแหลม ที่โคนใบก็มีลักษณะแหลมหรือเป็นรูปลิ่ม เมื่อนำใบมาขยี้ ดมดูจะมีกลิ่นเฉพาะตัว

1.2.3 ดอก ตาดอกของน้อยหน่ามักจะเกิดตามกิ่งที่แตกออกมาใหม่ในฤดูใบไม้ผลิ คือหลังจากที่ได้ผลัดใบไปแล้ว หรือจะเป็นต้นฤดูฝน ดอกอาจจะเกิดจากส่วนของกิ่งแก่หรือส่วนของลำต้น แต่ก็เป็นส่วนน้อย หลังจากที่ได้รับความชื้นหรือน้ำแล้ว ดอกของน้อยหน่าจะเกิดเป็นกลุ่ม ๆ ละ 2-5 ดอกที่จุดเดียวกัน ต้นน้อยหน่าขนาดกลางจะมีดอก 1,000-1,500 ดอก ลักษณะทั่วไปของดอกเป็นแบบดอกสมบูรณ์เพศ คือมีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียในดอกเดียวกัน มีสีน้ำตาลปนขาว เกสรตัวผู้ประกอบด้วยก้านช่อและกระเปาะละอองเกสร รวมกันเป็นกลุ่มอยู่รอบเกสรตัวเมีย ซึ่งมีรังไข่อยู่ 1 อัน การผสมเกสรของน้อยหน่าโดยทั่วไปจะผสมแบบผสมข้าม เนื่องจากเกสรตัวผู้และตัวเมียมีความพร้อมในการผสมไม่พร้อมกัน การผสมเกสรจะทำได้ดีในช่วง 9.00-12.00 น.

และ 14.30-17.30 น. ส่วนระยะเวลาผลิดอกถึงดอกบานจะใช้เวลา 31-45 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของดิน การเอาใจในการบำรุงรักษา และปริมาณความชื้น ต้นน้อยหน่าที่ได้รับความชื้นดี ดอกจะเจริญเติบโตเร็วและบานได้ไว

สำหรับลักษณะการบานของดอกน้อยหน่าระยะตั้งแต่ดอกตูมเต็มที่แล้วบาน จะสามารถอยู่ได้ 3-4 วัน ซึ่งดอกจะแย้มจากปลายกลีบดอกสู่ส่วนโคนของดอก เมื่อดอกบานเต็มที่แล้ว จะเห็นส่วนยอดเกสรตัวเมียและเกสรตัวผู้อย่างชัดเจน และดอกของน้อยหน่านี้จะบานทั้งกลางวันและกลางคืน การบานของดอกจะบานมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความชื้น ถ้าความชื้นสูงดอกก็จะบานมาก ถ้าความชื้นน้อยดอกก็จะบานน้อย และอุณหภูมิต่ำ ดอกจะบานมาก ถ้าอุณหภูมิสูง ดอกก็จะบานน้อย ซึ่งทั้งความชื้นและอุณหภูมินี้มีความสำคัญยิ่งต่อการบานของดอกน้อยหน่า สำหรับระยะเวลาตั้งแต่ดอกบานจนถึงเก็บผลได้ จะใช้เวลาประมาณ 120-125 วัน

ในการแตกของอับละอองเกสรตัวผู้นั้น ถ้าสังเกตจะเห็นได้ว่า อับเกสรจะแตกออกตามความยาว โดยเริ่มแตกตรงโคนหรือตรงกลางไปหาปลายอับเกสร ซึ่งจะใช้เวลาแตกประมาณ 3 นาที ระยะเวลาที่อับเกสรตัวผู้แตกมากที่สุดจะอยู่ระหว่าง 11.30-14.30 น. โดยวันที่มีอากาศชื้นมาก อับเกสรตัวผู้จะแตกมาก ส่วนเกสรตัวเมียก็พร้อมที่จะรับการผสม 1-2 วันก่อนที่ดอกจะบาน ซึ่งจะเห็นเป็นน้ำเยิ้ม มีลักษณะเหนียว ๆ เคลือบอยู่ เพื่อช่วยในการจับละอองเกสรตัวผู้ได้ดีขึ้น ความพร้อมในการรับละอองเกสรจะหมดไปหลังจากที่อับเกสรตัวผู้แตกได้ 1 ชั่วโมง เมื่ออับเกสรตัวผู้แตกแล้ว ตัวเมียก็เกือบจะหมดสภาพในการรับการผสม ด้วยเหตุนี้ การผสมข้ามดอกของดอกน้อยหน่าจึงมีมาก เพราะการแตกของเกสรไม่พร้อมกัน สำหรับการผสมข้ามดอกโดยอาศัยแมลงต่าง อาทิ ด้วงปีกแข็ง ผึ้ง แตน นั้น ปัจจุบันมีน้อยลงจากสภาพทางนิเวศที่เปลี่ยนไป จึงต้องใช้คนช่วยทำแทน ซึ่งทำให้เปอร์เซ็นต์การติดผลของน้อยหน่าดีขึ้น

1.2.4 ผล ลักษณะเป็นแบบผลรวม เกิดจากดอกเพียงดอกเดียว แต่มีรังไข่หลายอันอยู่บนฐานรองดอกอันเดียวกัน เวลาแก่ รังไข่จะแยกกันในแต่ละรังไข่ ซึ่งจะมีไข่อยู่เพียง 1 ใบเท่านั้น หลังจากที่ได้ผสมเสร็จแล้ว จึงเห็นมีเมล็ดอยู่ในรังไข่ 1 เมล็ด ส่วนของรังไข่ในแต่ละรังก็จะเจริญไปเป็นผลย่อย เนื้อของน้อยหน่าที่ใช้ประทานเป็นส่วนที่เจริญเข้ามาข้างในของรังไข่ ผนังของรังไข่จะเจริญไปเป็นเปลือก ไข่ที่ผสมแล้วจะเจริญกลายเป็นเมล็ดน้อยหน่า ซึ่งจะมีรูปร่างและขนาดของผลแตกต่างกันไปตามพันธุ์และการดูแลรักษา ส่วนมากแล้วจะมีลักษณะกลมรี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์และการดูแลรักษา

ที่ผิวของผลน้อยหน่าจะมีลักษณะเป็นตานูน (ภาพที่ 1) มีสีเขียวแกมเหลือง เนื้อมีลักษณะนุ่ม ชุ่มน้ำ มีรสชาติหวาน หอม ชวนรับประทาน

ภาพที่ 1 ลักษณะผลน้อยหน่า

1.3 ประโยชน์ใช้สอย

1.3.1 การใช้ประโยชน์ทั่วไปจากน้อยหน่า น้อยหน่านอกจากจะใช้รับประทานเป็นอาหารว่างแล้ว ยังสามารถใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคได้อีกด้วย ในส่วนของการเป็นอาหารน้อยหน่าเป็นไม้ผลที่มีราคาไม่แพง มีรสหอมหวานชวนรับประทาน จึงเป็นที่นิยมรับประทานกันในหมู่ประชาชนทั่ว ๆ ไป อีกทั้งยังมีประโยชน์แก่ร่างกายและมีคุณค่าทางโภชนาการสูงอีกด้วย กล่าวคือ ในน้อยหน่า 1 ผล จะมีส่วนประกอบเป็น น้ำ(73.5%) คาร์โบไฮเดรท(23.9%) โปรตีน (1.6%) ไขมัน(0.3%) แคลเซียม(0.02%) ฟอสฟอรัส(0.04%) ธาตุเหล็กและวิตามินซี อีกเล็กน้อย ซึ่งสามารถให้พลังงานถึง105 แคลอรี โดยมีธาตุอาหารที่ร่างกายต้องการคือ

คุณค่าทางโภชนาการโดยเฉลี่ยของน้อยหน่า (ต่อส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม)

ส่วนประกอบ	ปริมาณ	หน่วย
โปรตีน	1.4	กรัม
ไขมัน	0.2	กรัม
คาร์โบไฮเดรท	21.4	กรัม
ไฟเบอร์	1.2	กรัม
แคลเซียม	7.0	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	27.0	มิลลิกรัม
เหล็ก	0.4	มิลลิกรัม
วิตามิน เอ	21	ไอ. ยู
วิตามิน บี 1	0.09	มิลลิกรัม
วิตามิน บี 2	0.09	มิลลิกรัม
ไนอาซีน	1.0	มิลลิกรัม
วิตามิน ซี	107.0	มิลลิกรัม

ที่มา : วิมล วิเศษสุทธิ์ (2542)

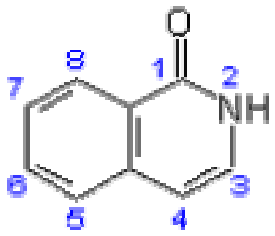
สำหรับการใช้น้อยหน่าเป็นยาสมุนไพรรักษาโรค พบว่ามีการนำส่วนต่าง ๆ ของน้อยหน่ามาใช้ เช่น ราก สามารถนำมาต้มดื่มเป็นยาระบาย, เปลือกนำมาฝนกับหินใช้เป็นยาสมานแผล, ใบ ใช้เป็นยาฆ่าเชื้อโรค ขับพยาธิลำไส้ หรือเอามาโขลกใช้พอกแก้ฟกช้ำ รักษาโรคกลาก เกลื้อนได้, เมล็ดกับใบ ใช้เป็นยาฆ่าเหา (โดยนำเมล็ด 10 เมล็ด และใบสด 1 กำมือ มาตำให้ละเอียดผสมน้ำมันมะพร้าว 1-2 ช้อนโต๊ะ เอามาชโลมให้ทั่วศีรษะ แล้วใช้ผ้าคลุมโพกไว้ประมาณครึ่งชั่วโมง แล้วจึงล้างออก), เมล็ด สามารถนำมากลั่นเอาน้ำมันทำสบู่ กากที่เหลือจากการกลั่นสามารถทำเป็นปุ๋ยได้ (อรนุช, 2538)

1.3.2 สรรพคุณทางยา ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์รายงานว่าใบและเมล็ดน้อยหน่ามีสารชื่อว่าAnonaine อยู่ด้วย ในเมล็ดน้อยหน่ามีน้ำมันอยู่ประมาณ 45 % ประกอบด้วย organic acid, resin, steroida, alkaloid จากการศึกษาวิจัย น้อยหน่ามีสรรพคุณในการฆ่าแมลงโดยเฉพาะเหา โดย

เด็ดใบมาตำให้แหลก คลุกกับน้ำมันพืชใช้พอกหัวฆ่าเหาได้ดี แต่ต้องระวังไม่ให้เข้าตาจะเกิดอาการอักเสบ ฤทธิ์ฆ่าเหาเกิดจากสาร Anonaine ในใบและเมล็ด

แอลคาลอยด์มีประโยชน์ในการรักษาโรคอย่างกว้างขวาง เช่นใช้เป็นยา ระงับปวด ยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ไอ ยาแก้หอบหืด ยารักษาแผลในกระเพาะและลำไส้ ยาลดความดัน ยาควบคุมการเต้นของหัวใจ เป็นต้น

Anonaine จัดเป็นพวก Isoquinolone alkaloid (ภาพที่ 2) ซึ่งจัดเป็น Alkaloid ชนิดหนึ่ง เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ (Organic Nitrigen Compound) มักพบในพืชชั้นสูง มีสูตรโครงสร้างซับซ้อน และแตกต่างกันมากมาย เป็นพิษทางสัมผัสและทางกระเพาะอาหารใช้ฆ่าแมลง และกำจัดแมลง อีกทั้งยังขัดขวางการกินอาหารของแมลงได้หลายชนิด ปัจจุบันพบแอลคาลอยด์มากกว่า 5,000 ชนิด คุณสมบัติของแอลคาลอยด์ คือ ส่วนใหญ่มีรสขม ไม่ละลายน้ำ ละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ (Organic Solvent) มีฤทธิ์ เป็นด่าง (นิตยสารใกล้หมอ, 2544)



ภาพที่ 2 สูตรโครงสร้างของ isoquinolone alkaloid
ที่มา : IUPAC (2002)

1.3.3 ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ใช้ส่วนที่เป็นเมล็ดประมาณ 1 กิโลกรัม มาบดให้ละเอียด แล้วผสมกับน้ำประมาณ 20 ลิตร จากนั้นแช่ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง แล้วกรองเอาน้ำไปฉีดพ่นในแปลงเกษตร น้ำที่ได้นี้จะสามารถกำจัดเพลี้ยอ่อน ที่มักจะระบาดในแปลงถั่วหรือแปลงผักทั่วไปได้ (ณรงค์, 2544)

จากรายงานการศึกษาโครงการสำรวจวิทยาการทดแทนสารเคมี (2531) พบว่า เมื่อนำเมล็ดน้อยหน่าบดละเอียดครึ่งกิโลกรัม ผสมน้ำแล้วนำไปต้มสามารถฆ่าแมลงวันทองตายได้ 50 % ขณะที่น้ำจากเปลือกสดทำให้แมลงวันทองตาย 73 % ภายใน 24 ชั่วโมง

จากการศึกษาของแสงแข น้าวานิช (2542) พบว่าผลของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าที่ความเข้มข้น 5 และ 10 %(w/v) สามารถควบคุมด้วงงวงข้าวโพด และยังมีประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดในลูกรุ่น F1 ของด้วงงวงข้าวโพดได้ด้วย

จากการศึกษาของณรงค์ จึงสมานญาติ (2539) พบว่า บดเมล็ดน้อยหน่าให้เป็นผงแล้วแช่เมล็ดน้อยหน่าด้วยน้ำผสมแอลกอฮอล์ 10% (แอลกอฮอล์ 95% 1 ขวด ผสมน้ำ 9 ขวด) ในปริมาณที่พอท่วมผงเมล็ดน้อยหน่า (หรือใช้แอลกอฮอล์ 10% ปริมาตร 2 เท่าของน้ำหนักผงเมล็ดน้อยหน่า) แช่ทิ้งค้างคืนไว้หนึ่งคืน วันรุ่งขึ้นจึงกรองคั้นเก็บส่วนน้ำไว้ เป็นหัวเชื้อ เวลาจะใช้ให้นำน้ำหัวเชื้อ ผสมน้ำหรือแอลกอฮอล์ 10 % อีก 6 เท่าให้เจือจางใช้ฆ่าเห็บ โดยฉีดพ่นให้ถูกตัวเห็บ จะฆ่าได้ทั้งเห็บตัวอ่อน เห็บตัววัยรุ่นและเห็บตัวแก่ สารออกฤทธิ์ฆ่าเห็บในเมล็ดน้อยหน่าคือ ซควอโมซิน (Squamocin; $C_{37}H_{66}O_7$)

2. <u>เมล็ดมันแกว</u>

2.1 การจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน

ชื่อวิทยาศาสตร์	:	*Pachyrrhizus erosus Urban*
ชื่อวงศ์	:	Leguminosae
ชื่อสามัญ	:	Yam bean, Jicama
ชื่อท้องถิ่น	:	เครือเขาขน มันแกวลาว ถั่วบ้ง ถั่วกินหัว ละแวก มันละแวก

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ มันแกวเป็นไม้เถา เลื้อยพัน ไม่ชอบอากาศชื้นแฉะ จึงเจริญเติบโตได้ดีในบริเวณที่มีอากาศแห้งแล้ง

2.2.1 ลำต้น เป็นไม้เลื้อย ยาวประมาณ 18 ฟุต (ภาพที่ 3)

2.2.2 หัวหรือราก ค่อนข้างใหญ่ ลักษณะหัวเรียบหรือเป็นพู ทำหน้าที่เป็นรากสะสม อาหารไปในตัว

2.2.3 ใบ มีลักษณะเป็นใบประกอบแบบขนนก ยาว 1-6 นิ้ว มีใบย่อย 3 ใบเรียงสลับ ปลายใบเป็น rhomboidal หรือ ovate-reinform ใบด้านข้าง 2 ใบ เป็น ovatte หรือ rhomboidal ใบทั้งสามมีลักษณะเป็น dentate หรือ palmitately lobe ปลายใบไม่เรียบ

2.2.4 ดอก กลีบดอกใหญ่ มีสีม่วงแกมน้ำเงินหรือสีขาว ยาว 5/8 – 7/8 นิ้ว ช่อดอกจะออกเดี่ยว ๆ ที่ซอกใบมีขนสีน้ำตาล

2.2.5 ผล เป็นฝัก รูปขอบขนาน แบน มีขนเล็กน้อย ยาว 3 – 5.5 นิ้ว กว้าง 1/2 - 5/8 นิ้ว ฝักหนึ่ง ๆ มีเมล็ด 4 – 9 เมล็ด (ภาพที่ 3)

2.2.6 เมล็ด ลักษณะเป็นรูปสี่เหลี่ยม กว้าง – ยาวประมาณ 1/4 - 3/8 นิ้วเมล็ดแก่มีพิษ (นันทวัน, 2542)

ภาพที่ 3 แสดงลักษณะผลและลำต้นของมันแกว

2.2 ประโยชน์ใช้สอย

2.2.1 การใช้ประโยชน์ทั่วไปของหัวมันแกว หัวมันแกวใช้เป็นอาหารบริโภคได้ ฝักอ่อนก็สามารถนำมาใช้ประกอบเป็นอาหารรับประทานแทน French bean ซึ่งพบว่ามีปริมาณแคลเซียม และเหล็กอยู่ค่อนข้างมาก (สุรัติ วิบูลย์เจริญ , 2519) เพราะในหัวมันแกวสดมีส่วนประกอบเป็นน้ำ 86 % คาร์โบไฮเดรต 10.7 % ในหัวมันแกวอายุ 4.5 เดือน จะมีปริมาณสารอาหาร (เมื่อคิดจากน้ำหนักหัวที่แห้ง) ดังนี้

Carbohydrate	78.5 %
Fat	7.3 %
Albuminoid	3.7 %

2.2.2 สรรพคุณทางยา มีผู้นำเมล็ดมันแกวไปใช้เป็นยาภายนอก เช่น ในประเทศอินโดนีเซียใช้ผงจากเมล็ดมันแกว ทาผิวหนัง เพื่อลดอาการระคายเคือง และรักษาอาการพุพองที่บริเวณผิวหนังได้ นอกจากนี้ในรายงานของ Martinoz กล่าวว่า น้ำมันจากเมล็ดมันแกวเป็นยาถ่าย (Purgative) โดยนำเมล็ดมารับประทานเพียงครึ่งเมล็ดเท่านั้น จะออกฤทธิ์เป็นยาระบายอย่างอ่อน (laxative) นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Balansa ว่า ชาวตังเกี๋ยที่อยู่ทางเหนือของเวียดนาม ใช้เมล็ดมันแกวเป็นยาถ่ายพยาธิ (vermifuges)

2.2.3 ความเป็นพิษของมันแกว แม้ว่ามันแกวจะมีประโยชน์ใช้สอยในเชิงเป็นอาหาร และมีสรรพคุณทางยา แต่บางส่วนของมันแกวก็มีความเป็นพิษได้เช่นกัน คือส่วนของฝักและเมล็ดโดยมีรายงานตัวอย่างผู้ป่วยจากโรงพยาบาลชุมชนเชียงแสน จังหวัดเชียงราย พบว่า ผู้ป่วยชายรายหนึ่งได้นำฝักมันแกวมาต้มรับประทานจำนวน 4 ฝัก ญาติได้นำส่งโรงพยาบาล ซึ่งขณะนั้นผู้ป่วยมีอาการช็อค หมดสติ หยุดหายใจ แพทย์ได้ให้ความช่วยเหลือ รักษาอาการ โดยให้น้ำเกลือและปั๊มหัวใจ ผู้ป่วยมีอาการดีขึ้นแต่ว่าคนไข้ยังคงมีอาการทางสมองอันเป็นผลเนื่องมาจากการหยุดหายใจ จากอาการดังกล่าวข้างต้นชี้ให้เห็นว่าเมล็ดมันแกวมีความเป็นพิษ

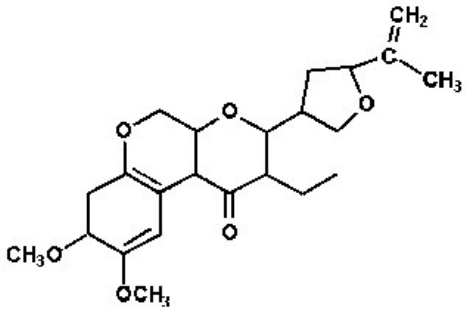
อีกกรณีหนึ่งพบว่าผู้ป่วยชายไทย อายุ 28 ปี รับประทานเมล็ดมันแกวเข้าไป 200 กรัม ด้วยความเข้าใจผิดคิดว่า เป็นเมล็ดถั่วที่รับประทานได้ หลังรับประทานไปได้ 2 ชั่วโมง ก็เกิดอาการเวียนศีรษะ หน้ามืด ตาลาย (dizzy) อ่อนเพลีย และไม่สามารถก้าวเดินได้ จากนั้นไม่รู้สึกตัว หน้าซีด เริ่มมีอาการชัก กระตุกที่มือและเท้า ไม่สามารถควบคุมระบบทางเดินปัสสาวะได้ ท้องเสีย และได้เสียชีวิตหลังจากที่รับประทานเมล็ดมันแกวไปได้ 11 ชั่วโมง (Zhang YG, 1988)

มีรายงานการศึกษาวิจัยของ น.พ. บริบูรณ์ พรพิบูลย์ (2502) ว่าสารสกัดเมล็ดด้วยน้ำทำให้หนูตะเภาตาย โดยไปกดระบบการหายใจ ทำให้การหายใจล้มเหลวและตายในที่สุด และเป็นพิษต่อปลาทำให้ปลาตาย (สุรัติ วิบูลย์เจริญ , 2519) นอกจากนี้ยังใช้เป็นยาฆ่าแมลงซึ่งเป็นพิษทางสัมผัสและทางกระเพาะอาหาร มีประสิทธิภาพในการฆ่าแมลง และออกฤทธิ์ต่อต้านการดูดกินอาหารของแมลงศัตรูพืช

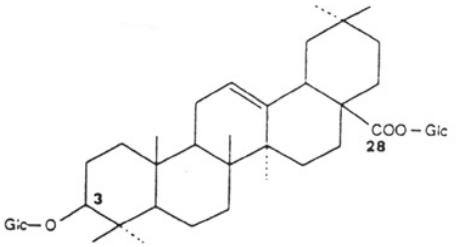
สารที่ทำให้เกิดพิษ ฝักอ่อนของมันแกวสามารถรับประทานได้ แต่เมื่อแก่จะเป็นพิษ โดยเฉพาะที่เมล็ดของมันแกวมีสารที่มีฤทธิ์เป็นยาฆ่าแมลงหลายชนิดได้แก่ pachyrrhizin, pachyrrhizone, 12-(A)-hydroxypachyrrhizone, dehydropachyrrhizone, dolineone, erosenone, erosin, erosone, neodehydrorautenone, 12 -(A)-hydroxy lineonone, 12-(A)-hydroxymundu-

serone , rotenone (ภาพที่ 4) นอกจากนี้ยังมีสารsaponin ได้แก่ pachysaponins A และ B ซึ่งละลายน้ำได้ และเป็นพิษต่อปลาทำให้ปลาตาย ส่วนใบของมันแกวนั้นมีสารพิษคือ pachyrrhizid ซึ่งมีพิษต่อโคและกระบือมากกว่าม้า เมื่อศึกษาพิษของ rotenone พบว่า ถ้ารับประทาน rotenone เข้าไป จะทำให้เกิดอาการระคายเคืองในระบบทางเดินอาหาร คลื่นไส้ อาเจียน แต่ถ้าหายใจเอา rotenone เข้าไป พิษจะรุนแรงกว่า เพราะไปกระตุ้นระบบการหายใจ ตามด้วยการกดการหายใจ ชัก และอาจถึงชีวิตได้ (Gilman., et.al. 1980)

มีรายงานว่าถ้ารับประทานเมล็ดมันแกวเพียงครึ่งเมล็ดจะเป็นยาระบาย และบางแห่งใช้เป็นยาขับพยาธิ นอกจากนี้การรับประทานเมล็ดมันแกวอาจเกิดอาการพิษเรื้อรัง โดยทำให้ไขมันในตับและไตเปลี่ยนแปลง จึงควรใช้ด้วยความระมัดระวัง ส่วนพิษของสาร saponin (ภาพที่ 4) จะมีผลต่อระบบทางเดินอาหารเช่นกัน คือมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ลำไส้อักเสบ ในรายที่เป็นรุนแรงอาจมีปัญหาในระบบกล้ามเนื้อ ทำให้กล้ามเนื้ออ่อนแรง ไม่สามารถทรงตัวได้ ระบบไหลเวียนโลหิตผิดปกติและทำให้ชักได้



สูตรโครงสร้าง rotenone



สูตรโครงสร้าง saponin

<u>ภาพที่ 4</u> สารออกฤทธิ์บางชนิดในเมล็ดมันแกว
ที่มา : IUPAC (1993)

2) อาการเมื่อได้รับพิษ เมื่อได้รับสารพิษจากเมล็ดมันแกวเข้าไป จะทำให้เกิดอาการระคายเคืองในระบบทางเดินอาหาร ทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง ถ้าได้รับสารพิษมาก อาการจะรุนแรงขึ้น โดยจะมีผลต่อ ระบบ การหายใจ คือหยุดหายใจ ชักและถึงแก่ชีวิตได้ (Lampe KF, 1968)

3) การรักษา รักษาตามอาการต่างๆ เช่น ถ้าผู้ป่วยหยุดหายใจ ช็อค ต้องรีบช่วยให้ผู้ป่วยหายใจได้ด้วยตัวเอง หรือใส่เครื่องช่วยหายใจ ให้น้ำเกลือเพื่อรักษาความสมดุลย์ของน้ำและเกลือแร่ในร่างกาย ให้ยาตามความเหมาะสมตามการวินิจฉัยของแพทย์ที่ทำการรักษา(Lampe KF, 1968)

2.2.3 ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (2542) พบว่า สารสกัดจากเมล็ดมันแกว ซึ่งมีสาร rotenone และ saponins ที่มีสารออกฤทธิ์เป็นยาฆ่าแมลง ได้ส่งผลต่ออัตราการตายของหนอนกระทู้ผักสูงที่สุด โดยวิธีการสกัดแบบลำดับส่วนด้วยตัวทำละลายแตกต่างกัน 3 ชนิด คือ เฮกเซน เมทานอล และน้ำ กำจัดแมลงวัน นำเมล็ดมันแกวมาบดให้ละเอียด 0.5 กก. ละลายในน้ำ 1 ปี๊บ แช่ทิ้งไว้ 2 วัน จากนั้นกรองเอาสารละลายไปฉีดพ่นพืชผัก กำจัดเพลี้ยและหนอน ใช้เมล็ดมันแกว 0.5 กก. บดให้ละเอียด ละลายกับน้ำ 5 ปี๊บ แช่ทิ้งไว้ 1 วัน จากนั้นกรองเอาแต่น้ำ ไปฉีดพ่นพืชผัก (คลีนิกเทคโนโลยี, 2546)

3. <u>พริกขี้หนู</u>

3.1 การจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Capsicum frutescens* Linn.
ชื่อวงศ์ : Solanaceae
ชื่อสามัญ : Hot chilli
ชื่อท้องถิ่น : พริกขี้หนู พริกแด้ พริกนก ดีปลี หมักเพ็ด
ถิ่นกำเนิด : อเมริกากลาง และอเมริกาใต้

3.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

3.2.1 ลำต้น พริกเป็นพืชที่มีการเจริญของกิ่งเป็นแบบ Dichotomous คือกิ่งจะเจริญจากลำต้นเพียงหนึ่งกิ่ง แล้วแตกเป็น 2 กิ่ง และเพิ่มเป็น 4 เป็น 8 ไปเรื่อยๆ จึงมักพบว่าต้นพริกที่สมบูรณ์จะมีกิ่งแตกขึ้นมา จากต้นที่ระดับดินหลายกิ่ง จนดูคล้ายกับว่ามีหลายต้นอยู่รวมที่เดียวกัน

3.2.2 ใบ เป็นแบบใบเดี่ยว ใบแบนเรียบ มีขนบ้างเล็กน้อย ใบมีรูปร่างตั้งแต่รูปไข่ไปจนกระทั่งเรียวยาว ขนาดใบมีต่างๆกัน ใบพริกขี้หนูโดยทั่วไปมีขนาดเล็ก แต่ในระยะเป็นต้นกล้า และส่วนใบล่างๆของต้นโตเต็มวัย มีขนาดใบค่อนข้างใหญ่

3.2.3 ราก พริกเป็นพืชที่มีรากหาอาหารได้ลึกมาก ต้นพริกที่โตเต็มที่ รากฝอยจะแผ่ออกไปหากินด้านข้างในรัศมีเกินกว่า 1 เมตร และหยั่งลึกลงไปในดินเกินกว่า 1.20 เมตร ตรงบริเวณตรงรอบๆต้น จะพบว่ามีรากฝอยสานกันอยู่อย่างหนาแน่น

3.2.3 ดอก โดยทั่วไปมักพบเป็นว่าดอกเดี่ยวที่ข้อตรงมุมที่เกิดใบ หรือกิ่ง แต่ก็พบว่ามีหลายดอกที่เกิดขึ้นตรงจุดเดียวกัน ดอกประกอบด้วยกลีบรอง มีลักษณะเป็น 5 พู มีกลีบดอกสีขาวอยู่ 5 กลีบ โดยปกติจะมีเกสรตัวผู้ 5 อัน แตกออกมาจากโคนของกลีบดอก อับเกสรตัวผู้มักมีสีน้ำเงิน เป็นกระเปราะเล็กๆ ยาวๆ เกสรตัวเมียจะชูขึ้นไปเหนือเกสรตัวผู้ ส่วนของยอดเกสรตัวเมียมีรูปร่างเหมือนกระบองหัวมนๆ รังไข่มี 3 พู - 4 พูก็ได้ พริกมักจะออกดอก และติดผลในสภาพที่มีช่วงวันสั้น

3.2.4 ผล ผลพริกเป็นประเภท Berry ที่มีลักษณะเป็นกระเปาะ มีฐานชั้นผลสั้นและหนา โดยทั่วไปผลอ่อนมักชี้ขึ้น เมื่อผลแก่จะให้ผลที่ห้อยลง ผลมีลักษณะตั้งแต่แบนๆ กลมยาว (ภาพที่ 5) จนถึงพอง อ้วน สั้น ขนาดผลมีทั้งขนาดเล็ก และขนาดใหญ่ ผนังผล (Pericarp) มีทั้งบางและหนา และมีความเผ็ดแตกต่างกันขึ้นกับเมล็ดพันธุ์ เมื่อผลแก่ (สุก) อาจเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นแดงหรือเหลืองพร้อมๆกับการแก่ของเมล็ดในผลควบคู่กันไป เมล็ดจะเกิดเกาะรวมกันอยู่ที่รก (Placenta) ซึ่งมีตั้งแต่โคนจนถึงปลายผล ในระหว่างการเจริญเติบโตของผล หากอุณหภูมิในเวลากลางวันสูง และความชื้นในบรรยากาศต่ำ จะทำให้ผลพริกรูปร่างบิดเบี้ยว และมีขนาดเล็ก รวมทั้งการติดเมล็ดก็ต่ำกว่าปกติด้วย

ภาพที่ 5 ลักษณะผลพริกขี้หนู

3.2.5 เมล็ด เมล็ดพริกมีรูปร่างคล้ายเมล็ดมะเขือเทศ คือ มีลักษณะรูปกลม แบน มีสีเหลืองไปจนถึงสีน้ำตาล และผิวเมล็ดพริกไม่ค่อยมีขนเหมือนอย่างในมะเขือเทศ และมีขนาดใหญ่กว่า (เฉลิมเกียรติ, 2540)

3.2.6 การผสมเกสร พริกเป็นพืชที่จัดอยู่ในกลุ่มพืชที่ผสมตัวเอง (Self pollination) แต่ก็มีการผสมข้าม (Cross pollination) โดยอาศัยธรรมชาติ คือ กระแสลม และแมลง ซึ่งคิดเป็นประมาณ 9 –32 % ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์ (จันทรา, 2545) นอกเหนือจากการอาศัยแมลงช่วยให้เกิดการผสมข้ามแล้ว ในส่วนของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียก็มีส่วนอยู่มาก เพราะเกสรตัวผู้มักพร้อมที่จะผสมได้หลังจากดอกบานแล้ว 2-3วัน แต่เกสรตัวเมียพร้อมที่จะผสมได้ทันทีที่ดอกบาน ดังนั้นจึงเปิดโอกาสให้เกสรตัวผู้จากดอกอื่นเข้าผสมได้ก่อน การที่พริกสามารถผสมข้ามตามธรรมชาติบ้าง และสามารถผสมตัวเองเป็นหลัก จึงทำให้เกิดพันธุ์ใหม่ๆมากมายหลายลักษณะแตกต่างกันออกไป ความแปรปรวนของลักษณะต่างๆ ของพริกที่ปลูกกันตามธรรมชาติ จึงเป็นลักษณะเฉพาะตัวของพืชชนิดนี้

3.3 ประโยชน์ใช้สอย

3.3.1. การใช้ประโยชน์ทั่วไปของพริก

1) ยอดอ่อน ของพริกใช้เป็นผักลวกจิ้ม แกล้มกับน้ำพริกและใช้เป็นเครื่องปรุงรสหรือนำไปปรุงอาหารประเภทแกงจืด แกงเลียง ทำให้รสชาติอร่อย

2) ผล ใช้เป็นผักและเครื่องปรุงรสสำหรับอาหารไทยหลายชนิดรวมทั้งใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องแกง พริกจึงเป็นอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เพราะ พริก ให้ทั้งพลังงาน และแร่ธาตุ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เหล็ก แคลเซียม วิตามินเอ วิตามินซี และวิตามินอี โดยเฉพาะวิตามินซีพบว่ามีมากกว่าพืชผักชนิดอื่นๆ

คุณค่าทางโภชนาการโดยเฉลี่ยของพริกขี้หนู (ต่อส่วนที่บริโภคได้ 100 g)

ส่วนประกอบ	ปริมาณ	หน่วย
พลังงาน	68.0	กิโลแคลอรี
คาร์โบไฮเดรต	8.4	กรัม
โปรตีน	4.1	กรัม
เส้นใย	7.5	กรัม
แคลเซียม	76.0	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	82.0	มิลลิกรัม
เหล็ก	1.6	มิลลิกรัม
แคโรทีน	6.6	มิลลิกรัม
วิตามินเอ	8776	ไอยู
วิตามินบี1	0.28	มิลลิกรัม
วิตามินบี2	0.15	มิลลิกรัม
วิตามินซี	32.0	มิลลิกรัม

ที่มา : Purseglove (1981)

3.3.2 สรรพคุณทางยา พริกถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของยาบางชนิด เช่น ยาธาตุ ยาขับลม ยาแก้ปวดท้อง ยาแก้ปวดฟัน และยารักษาโรคไขข้อ นอกจากนี้ยังมีการนำพริกมาสกัดเอาสารให้สีมาใช้ประโยชน์ โดยนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของเครื่องยาต่างๆ ทั้งยาที่ใช้รับประทาน และยาทาถูภายนอก ส่วนต่างๆของพริกมีสรรพคุณทางยาดังนี้

1) ผล รสเผ็ดร้อนของพริก ช่วยกระตุ้นการไหลเวียนของโลหิต ช่วยในการเจริญอาหาร ช่วยย่อย ขับลม ขับเสมหะ (Mucokinetic) ขับเหงื่อ แก้ปวดท้อง อาเจียน บิด ท้องเสีย แผลเกิดจากถูกความเย็นจัด กลากและหิด

2) ใบ รสเย็นและกลิ่นฉุนของใบพริก ใช้แก้หวัด เลือดกำเดา และอาการปวดศีรษะ (ใช้ใบสดตำผสมกับดินสอพองปิดขมับแก้ปวดศีรษะ)

3) ราก แก้อาการแขนขาอ่อนเปลี้ย ไม่มีกำลัง รักษาอาการไตและอัณฑะบวม เลือดออกในมดลูก ใช้ฝนกับน้ำมะนาว และเกลือใช้กวาดคอ แก้ไอ แก้เสมหะ และโรคซางในเด็ก

4) ทั้งต้น แก้อาการเหน็บชาเกิดจากอากาศเย็นจัด เลือดคั่ง ปวดข้อ และรักษาแผลที่เกิดจากความเย็น (โครงการศึกษาวิจัยสมุนไพร , 2524)

3.4 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของพริก

สารประกอบสำคัญของพริกมี 2 กลุ่ม คือกลุ่ม สารที่ทำให้เกิดกลิ่นและรสเผ็ดร้อน (capsaicinoids) กลุ่มสารให้สี

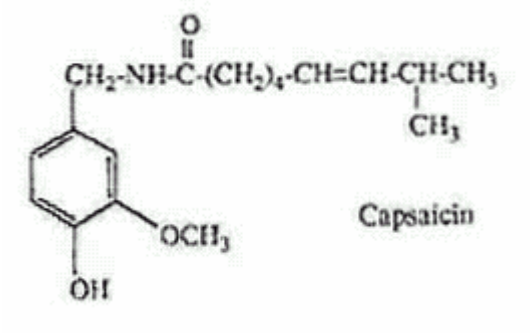
สารที่ทำให้เกิดกลิ่นและรสเผ็ดร้อน คือแคปไซซินอยด์ (capsaicinoids) ซึ่งประกอบด้วยสารต่างๆ คือ แคปไซซิน (capsaicin) ไดไฮโดรแคปไซซิน (dihydrocapsaicin) นอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน (nordihydrocapsaicin)โฮโมแคปไซซิน(homocapsaicin)โฮโมไดไฮโดรแคปไซซิน (homodihydro-capsaicin) ในผลพริกมีปริมาณสารให้ความเผ็ดแตกต่างกันไป ดังแสดงในตารางข้างล่างนี้

สาร	**เปอร์เซ็น (%)**
capsaicin	46 – 47
dihydrocapsaicin	21 – 40
nordihydrocapsaicin	2 – 11
homocapsaicin	0.6 – 2
homodihydrocapsaicin	1 – 2

ที่มา : (บัญญัติ, 2527)

แคปไซซิน (Capsaicin) แคปไซซินมีสูตรโมเลกุล $C_{18}H_{27}NO_3$ มีชื่อทางการค้าว่า 8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide (ภาพที่ 6) สารนี้พบมากที่ผนังชั้นใน (inner wall) ของผลไส้ ผนังกั้นระหว่างเซลล์ และรกของพริก แคปไซซินที่พบในรกจะมีปริมาณร้อยละ 4.72 - 32 ต่อหน่วยน้ำหนักของรก ในพริกแห้งที่จำหน่ายในท้องตลาดจะมีแคปไซซินตั้งแต่ 0-360 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และถ้าพริกแห้งใดมีแคปไซซินสูงกว่า 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมจะมีรสเผ็ดร้อนมาก สารนี้มีคุณสมบัติทนทานต่อการปรุง หรือการแปรรูปอาหารได้ดี เมื่อละลายแคป

ไซซินในน้ำแม้ 1 ส่วนใน 11 ล้านส่วน จะยังคงความเผ็ดอยู่ รสเผ็ดนี้ไม่ถูกทำลายด้วยด่าง แต่ถูกทำลายโดย Oxidising agent เช่น Potassium dichromate หรือ Potassium permanganate (โครงการหนูรักผักสีเขียว, 2541)



ภาพที่ 6 โครงสร้างของ 8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide

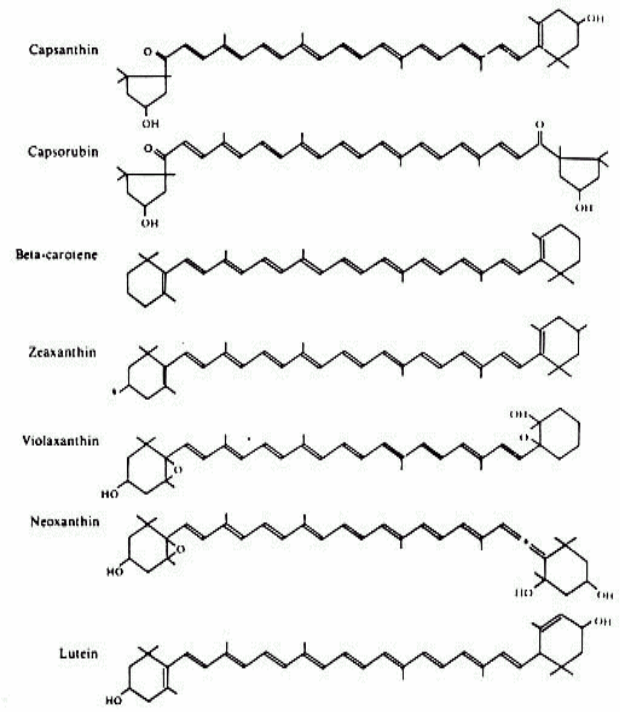
ที่มา : นิจศิริ เรืองรังสี (2542)

การวัดความเผ็ดของพริกมาตรฐาน ทำโดยใช้ผงพริกแห้ง 1 กรัม แช่ในแอลกอฮอล์ 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองชั้นแอลกอฮอล์มา 0.1 มิลลิลิตร ทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่มี sucrose อยู่ 10 % จำนวน 140 มิลลิลิตร ให้อาสาสมัครทดลองดื่มในปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อคน พบว่า 2 ใน 3 ของอาสาสมัครจะมีความรู้สึกเผ็ด สารละลายที่ทำได้นี้จะเทียบได้กับพริก 1 ส่วนใน 70,000 ส่วนของน้ำหวาน (sucrose) และพบว่าพริกจากญี่ปุ่นจะเผ็ดใน 1:50,000 ส่วน พริกจากอินเดียจะเผ็ด 1:40,000 ส่วน

สารแคปไซซินบริสุทธิ์จะมีลักษณะเป็นผงผลึกไม่มีสี น้ำหนักโมเลกุล 305.4 g mol-1 จุดเดือด 210 - 220 องศาเซลเซียส ไม่ละลายในน้ำเย็น แต่ละลายได้ดีในเอทานอล อีเทอร์ และอะซีโตน สารให้ความเผ็ดในพริกจะกระจายตัวในส่วนต่างๆของพริกในปริมาณที่ต่างกัน โดยจะพบมากในส่วนของเนื้อเยื่อชั้นในที่ติดกับไส้ (disseppiment) มีปริมาณแคปไซซินสูงถึงร้อยละ 89 ของปริมาณทั้งหมดในผลพริก แต่ในเมล็ดพบเพียงร้อยละ 10.8 เท่านั้น ปริมาณแคปไซซินจะแตกต่างกันไปตามชนิดของพันธุ์พริก ความแก่อ่อน สถานที่ และฤดูกาลเพาะปลูก

ส่วนสารให้สีในพริก จัดอยู่ในกลุ่มรงควัตถุพวกแคโรทีนอยด์ (carotenoid) ผลพริกจะมีสารให้สีที่สำคัญคือ แคปแซนทิน (capxanthin) ซึ่งเป็นสารคีโตแคโรทีนอยด์ (ketocarotenoid,

$C_{40}H_{58}NO_3$) และยังพบสารอื่นที่มีสูตรใกล้เคียงกันได้แก่ แคปโซรูบิน (capsorubin) เซียแซนทิน (zeazanthin) ลูเทอิน (lutein) นีโอแซนทิน (neoxanthin) ไวโอลาแซนทิน (violaxanthin) และบีตาแคโรทีน (B-carotene) (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 สูตรโครงสร้างของรงควัตถุที่สำคัญในพริก
ที่มา : Purseglove (1981)

สารประกอบแคปแซนทินบริสุทธิ์จะเป็นผลึกรูปเข็มสีแดงเข้ม ละลายได้ในแอลกอฮอล์ มีจุดหลอมเหลวที่ 175 - 176 องศาเซลเซียส สารละลายแคปแซนทินในปิโตรเลียมอีเทอร์ ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 - 500 nm ในพริกที่ยังไม่สุกจะไม่พบรงควัตถุพวกคีโตแคโรทีนอยด์ แต่จะพบรงควัตถุที่ให้สีเขียวและเหลืองส้ม ได้แก่ ลูเทอีน บีตาแคโรทีน ไวโอลาแซนทิน แคปโซรูบิน และคริปโตแซนทิน

การกระจายตัวของรงควัตถุในผลพริกจะแตกต่างกันไปตามส่วนต่างๆ โดยพบในส่วนเนื้อสูงกว่าเมล็ด เช่น ในส่วนเนื้อของพริก *Capsicum annuum* var. *acuminatum* มีบีตาแคโรทีนอยู่ร้อยละ 94.6 ของปริมาณทั้งหมดในพริก ขณะที่ในเมล็ดมีอยู่เพียงร้อยละ 4.9

3.5 ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช สารแคบไซซินจากพริกขี้หนูสามารถใช้เป็นสารฆ่าแมลง และสารไล่สัตว์ (เสริมศิริ, 2535)และสารสกัดจากพริกขี้หนูมีความเป็นพิษและมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรส และกลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสในด้วงงวงข้าวโพด (จันทรา, 2545)

ผลสุกของพริกมีคุณสมบัติในการฆ่าแมลง ส่วนเมล็ดมีสารฆ่าเชื้อรา ใบและดอกมีสารยับยั้งการขยายตัวของไวรัส พริกจึงใช้เป็นสารฆ่าแมลง ขับไล่แมลง และขัดขวางการดูดกินของศัตรูพืชหลายชนิด (คลีนิกเทคโนโลยี, 2546)

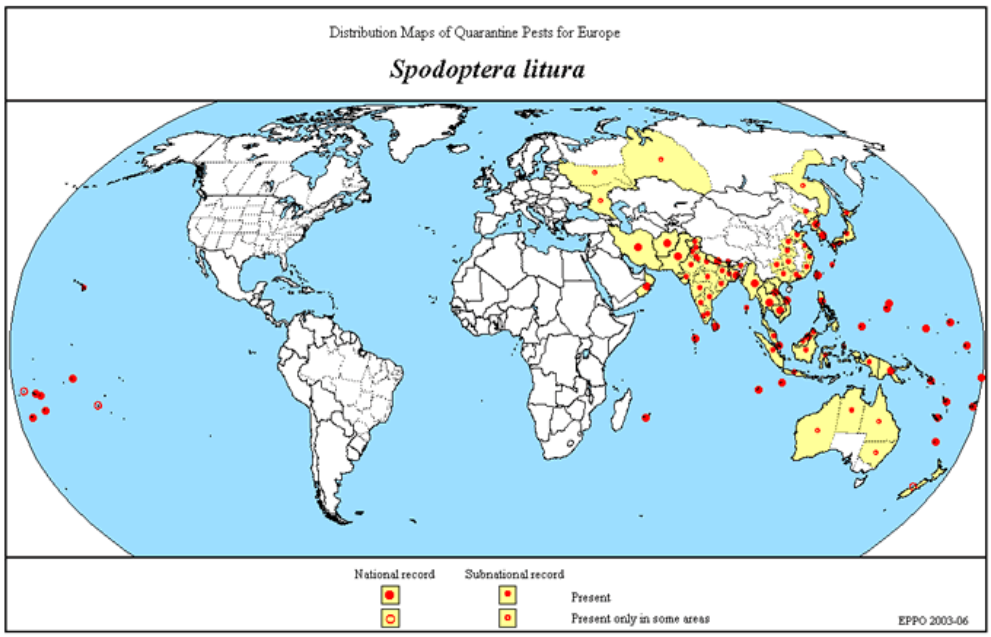
หนอนกระทู้ผัก

1. การจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Spodoptera litura* (Fabricius)
ชื่อสามัญ : Cotton worm, Tobacco cutworm, Fall armyworm
ชื่อวงศ์ : Noctuidae
ชื่ออันดับ : Lepidoptera

2. การแพร่กระจายของหนอนกระทู้ผัก

เป็นแมลงที่มีการระบาด แพร่กระจายไปทั่วโลก (ภาพที่ 8) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศแถบเอเชีย และหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก สำหรับในประเทศไทยพบระบาดทั่วทุกภาค ระบาดตลอดปี และไม่จำกัดฤดูกาลปลูก



ภาพที่ 8 การแพร่กระจายของหนอนกระทู้ผักทั่วโลก

ที่มา : EPPO/CABI (1997)

3. พืชอาหาร

หนอนกระทู้ผัก กินพืชผักเป็นอาหารได้หลายชนิด (Polyphagous insects) จากการสำรวจและการนำพืชชนิดต่าง ๆ มาเลี้ยงหนอนกระทู้ผัก พบว่าแมลงชนิดนี้กินพืชอาหารได้มากกว่า 30 ชนิด ได้แก่ กระหล่ำดาว (*Brassica oleracea L. var. gemmifera* DC.) กระหล่ำดอก(*Brassica oleracea L. var. botrytis* Mill.) กระหล่ำปม (*Brassica oleracea L. var. caulorapa* Pasq.) กระหล่ำปลี (*Brassica oleracea L. var. capitata* Hort.) ข้าว (*Cryzae sativa* L.) ข้าวโพด (*Zea mays* L.) คะน้า (*Brassica oleracea L. var. alboglabra* Ball.) ตำลึง (*Coccinia indica Wight*) ถั่วฝักยาว (*Vigna sesquipedalis Fruwirth*) ถั่วพู (*Psophocarpus tetragonclobus* (L.) DC.) ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr.) บร๊อคโคลี่ (*Brassica oleracea L. var. italica* DC.) บัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Geartn.) บอน (*Colocasia anticorum* Schott) เบญจมาศ (*Chnysanthemum merifolium*) ผักกาดกวางตุ้ง (*Brassica chinensis var. parachinensis* L.) ผักกาดขาว (*Brassica chinensis* L.) ผักบุ้ง (*Ipomoea reptans* Poir) เผือก (*Colocasia esculenta* Schott) ฝ้าย (*Gossypium hirsutum* L.) แพงพวยน้ำ (*Jussiaea repens* L.) เฟิร์น (*Adiantum* sp.) มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculenium* Mill.) มะระ (*Momordica charantia* L.) มันเทศ (*Ipomoc batatas Lamk.*) มันสำปะหลัง (*Manihot*

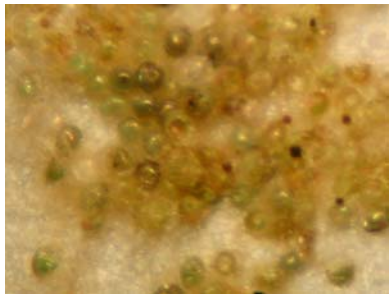
ultilissima Pohl.) เยอร์บีรา (*Gerbera jamesonii* Hook.) ละหุ่ง (*Ricinus communis* L.) ว่านมหากาฬ (*Gynura pseudochina* DC.) หญ้าขน (*Brachiaria mutica* (Forsk) Stapf.) หม่อน (*Morus alba* L.) หอมแดง (*Allium ascalonicum* L.) หอมหัวใหญ่ (*Allium cepa* L.) และแอสเตอร์ (*Callistephus chinensis* L.)

4. <u>ชีวประวัติและอุปนิสัยของหนอนกระทู้ผัก *(Spodoptera litura* Linn.)</u>

4.1 ลักษณะและอุปนิสัยโดยทั่วไปของตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยของหนอนกระทู้ผัก(S. litura, Noctuidae, Lepidoptera) เป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็ก มีปากแบบ Siphoning type หนวดแบบ Filiform ในเวลากลางวันชอบเกาะตัวนิ่งอยู่ในที่มืดหรือใต้ใบของพืช โดยหุบปีกเป็นรูปหลังคา และจะเริ่มออกบินเมื่อพระอาทิตย์ตก ความยาวระหว่างปลายปีกคู่หน้า 38- 40 มิลลิเมตรในเพศเมีย และ 32-35 มิลลิเมตรในเพศผู้ ส่วนความยาวจากศีรษะถึงปลายหางจะใกล้เคียงกันทั้ง 2 เพศ คือ 18-20 มิลลิเมตร ปีกคู่หน้ามีลวดลาย สีน้ำตาลอ่อน เทา ดำ และขาวสลับกัน ปีกคู่หลังเป็นแผ่นบาง สีขาวนวล ที่ขอบปีกโดยรอบ เป็นขนสีน้ำตาลอ่อนและมีขนาดเล็กกว่าปีกคู่หน้า การแยกเพศของผีเสื้อหนอนกระทู้ผักทำได้หลายวิธี เช่น ปีกคู่หน้าของเพศผู้จะมีสีเข้มและลวดลายสีขาวเด่นชัดกว่าของเพศเมีย ส่วนท้องของเพศผู้ที่ปล้อง 7, 8, 9 และ 10 จะคอดเล็กลง และปลายปล้องที่ 10 เป็นพู่หางยาว ส่วนในเพศเมียจะพบว่าปล้องท้องใหญ่และมีขนาดเท่ากันทุกปล้อง ไม่มีพู่หางหรือถ้ามี ก็เล็กกว่าของเพศผู้

4.2 พฤติกรรมการผสมพันธุ์และวางไข่ ตัวเต็มวัยที่มีอายุ 1 วัน จะออกบินและผสมพันธุ์ในเวลากลางคืน หลังจากผสมพันธุ์ ตัวเมียจะวางไข่ในเวลากลางคืนของวันรุ่งขึ้น โดยวางไข่เป็นกลุ่ม ๆ ใต้ใบพืช (ภาพที่ 9) กลุ่มไข่มีขนสีน้ำตาลอ่อนคลุมบาง ๆ (ภาพที่ 10) ไข่ในแต่ละกลุ่มถูกวางเรียงกันอย่างมีระเบียบเป็นชั้น ๆ ลักษณะไข่เป็นรูปครึ่งวงกลมแบบฝาชีคว่ำ มีลายเส้นบางใสเป็นรัศมีโดยรอบ เส้นผ่าศูนย์กลางของไข่แต่ละฟองประมาณ 0.5 มิลลิเมตร ตัวเมียตัวหนึ่งๆ ๆ จะวางไข่ได้ 4-6 กลุ่ม โดยวางในวันแรก 2-3 กลุ่ม และในวันต่อ ๆ มาอีก 3 วัน วันละ 1-2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีไข่ประมาณ 400 - 900 ฟอง ตัวเมียหนึ่ง ๆ จะวางไข่ได้ 2,000-4,000 ฟอง ไข่ที่เริ่มวางใหม่ ๆ มีสีเหลืองอ่อน วันถัดมาไข่จะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมเหลือง และในวันที่ 3 ซึ่ง

เป็นวันที่ไข่จะฟักออกเป็นตัวหนอน ไข่จะมีสีดำจาง ๆ สีดำที่เกิดขึ้นนี้เป็นสีของกระโหลกศีรษะและขนของตัวอ่อนที่อยู่ในไข่ เมื่อครบกำหนด ตัวอ่อนจะกัดเปลือกไข่เป็นวงเกือบรอบเปลือก แล้วใช้ศีรษะมุดออกมาก่อน ไข่ส่วนใหญ่จะฟักในเวลากลางวัน



ภาพที่ 9 แสดงลักษณะไข่ของหนอนกระทู้ผักเมื่อถ่ายใต้กล้องจุลทรรศน์

ภาพที่ 10 แสดงลักษณะไข่ที่ปกคลุมด้วยขนสีฟางข้าวของหนอนกระทู้ผัก

4.3 ระยะตัวอ่อน ตัวอ่อนของหนอนกระทู้ผักเป็นแบบ Eruciform ศีรษะจัดเป็น Hypognathous types มีขาจริง 3 คู่ ขาเทียม 5 คู่ ที่ส่วนท้อง ปล้องที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 Crochet เป็นแบบ Uniordinal มีรูหายใจ 10 คู่ ที่ส่วนอก ปล้องที่ 1 (prothorax) และปล้องท้องทุกปล้อง (ยกเว้นปล้องสุดท้าย) ตัวอ่อนลอกคราบ 5 ครั้ง ได้ตัวอ่อนเป็น 6 ระยะ (instar) แต่ละระยะมีลักษณะและอุปนิสัยดังนี้

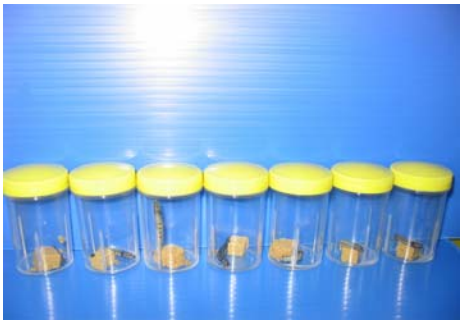
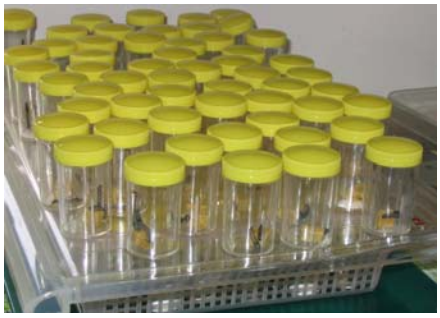
4.3.1 ระยะที่ 1 ตัวอ่อนในระยะนี้มีอายุ 3 วัน ตัวอ่อนที่เพิ่มฟักใหม่ ๆ แม้จะมีขนาดเล็กมาก แต่ยังสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ลำตัวรูปทรงกระบอก มีสีเขียวอมเหลือง ศีรษะดำสนิท มีขนาดเท่าส่วนอก บนส่วนอก (ภาพที่ 11) ปล้องแรกมีแผ่นแข็ง (Sclerite) สีน้ำตาลเข้ม ขนสีน้ำตาลอ่อนกระจายอยู่ข้างลำตัว ฐานของเส้นขนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ทั้งขาจริงและขาเทียมมองเห็นเด่นชัด รูหายใจยังมองไม่เห็น ตัวอ่อนวัยนี้จะอยู่รวมกลุ่ม กัดกินผิวใบพืชบริเวณรอบ ๆ กลุ่มไข่ เมื่อตัวหนอนได้รับการกระทบกระเทือน จะทิ้งตัวลงสู่ที่ต่ำ โดยปล่อยเส้นใยออกมาจาก

ปากเพื่อพยุงตัวให้แขวนอยู่ในอากาศ แล้วค่อย ๆ ทิ้งตัวลงสู่พื้นดินและเดินมุ่งหน้าเข้าหาแสงสว่าง เมื่อโตขึ้น ตัวหนอนจะมีสีเขียวขึ้นมากกว่าเดิม ลำตัวเป็นมันวาว ส่วนของศีรษะเล็กกว่าส่วนอกปล้องแรก ที่ส่วนท้องปล้องที่ 1 มีแถบสีดำจาง ๆ พาดขวางลำตัวเห็นได้ชัด ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัวของตัวอ่อนหนอนกระทู้ผัก รูหายใจจะเห็นได้ชัดในวันสุดท้ายของตัวอ่อนระยะที่ 1 ซึ่งจะพบว่ามีลวดลายสีเทาอ่อน-แก่ เป็นเส้นตามยาวและตามขวางของลำตัว ด้านหลังของส่วนอกปล้องที่ 1 และ 2 มีสีดำเกิดขึ้นปล้องละ 2 จุด รวมเป็น 4 จุด ซึ่งเรียงกันเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส แถบสีดำที่คาดขวางลำตัวมีสีเข้มและเด่นชัดขึ้น เมื่อตัวหนอนได้รับการกระทบกระเทือนจะพ่นน้ำสีเขียวออกมาจากปากในขณะที่สะบัดหัวซ้ายขวา

ภาพที่ 11 หนอนกระทู้ผักในระยะที่ 1

4.3.2 ระยะที่ 2-4 ตัวอ่อนเริ่มแยกย้ายกันออกหากิน ถ้าเลี้ยงบนต้นพืชในธรรมชาติ ก็จะพบว่า ตัวหนอนกระจายกันออกทำลายพืชผักให้เสียหายทั่วทั้งแปลง และมักจะหลบซ่อนตัวอยู่ใต้ใบหรือเงามืด ส่วนที่กว้างที่สุดของลำตัวอยู่ที่ส่วนอกปล้องที่ 1 ซึ่งเป็นบริเวณที่มีแถบสีดำคาดขวางลำตัว

4.3.3 ระยะที่ 5 ตัวอ่อนวัยนี้จะโตเร็วมาก หนอนจะกัดกินกันเอง ทำให้ต้องแยกเลี้ยงกล่องละตัว(ภาพที่ 12) สีเขียวของตัวหนอนเริ่มซีดลง เกิดสีเทาขึ้นเป็นพื้นของลำตัว และมีแถบสีดำจาง ๆ พาดตามยาวตลอดลำตัวทั้งซ้ายและขวาด้านละ 2 แถบ ทั้ง 4 แถบนี้มีอาณาเขตรวมไปถึงแนวของรูหายใจทั้ง 2 ข้างของลำตัว ระหว่างแถบสีดำดังกล่าว จะเป็นแนวสีขาวเส้นเล็ก ๆ คั่นไว้ ซึ่งในที่สุดแนวเส้นสีขาวนี้จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทอง ด้านท้องเป็นสีเทาอ่อน ตัวอ่อนชอบซ่อนตัวในเวลากลางวันและออกหากินในเวลากลางคืน

ภาพที่ 12 การแยกเลี้ยงหนอนกระทู้ผักในระยะที่ 4-5

4.3.4 ระยะที่ 6 เป็นตัวอ่อนระยะสุดท้าย ลำตัวอ้วนกลมสม่ำเสมอ กินจุ ขับถ่ายมาก สีของลำตัวจะเข้มขึ้นจนดำสนิท ลวดลายต่าง ๆ บนลำตัวจะค่อย ๆ ลบหายไป ก่อนเข้าดักแด้ตัวหนอนจะหยุดกินอาหาร ลำตัวจะมีสีดำเป็นมัน แบน และหดสั้นลง กัดใบพืชอาหารเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำมาสร้างรัง (Cocoon) เพื่อหุ้มดักแด้ ความสกปรกจะเกิดขึ้นในระยะนี้ ทำให้มีการตายเกิดขึ้นมาก เมื่อจับตัวอ่อนปล่อยลงดินในกล่อง มันจะมุดลงดิน เพื่อใช้ดินสร้างเป็นโพรงและหดตัวสั้นลงอีก จนลำตัวเป็นรูปกระสวย เดินไม่ได้ แต่จะใช้การพลิกตัวไปมาเพื่อเคลื่อนที่ ลำตัวมีสีเทาดำด้านท้องมีสีขาวอมเหลือง และจะเข้าดักแด้ในวันถัดมา

4.3.5 ระยะดักแด้ ดักแด้ของหนอนกระทู้ผักเป็นแบบ Obtected pupa (ภาพที่ 13) เมื่อเข้าดักแด้ใหม่ ๆ จะมีสีเขียวอมเหลือง แล้วเป็นสีน้ำตาลแดงในที่สุด ส่วนศีรษะจะมีสีเข้มกว่า ดักแด้เพศเมียจะมีขนาดใหญ่และมีความยาวมากกว่าเพศผู้ เมื่อใกล้จะเป็นตัวเต็มวัย ดักแด้จะหดตัวลงเล็กน้อย การแยกเพศดักแด้ ทำได้โดยการสังเกตที่อวัยวะเพศภายใต้กล้องจุลทัศน์ เพศผู้จะมีอวัยวะเพศเป็นแถบนูนเล็ก ๆ สีเข้ม 2 แถบประกบกันอยู่ที่ปล้องท้องปล้องที่ 8 ส่วนในเพศเมียอวัยวะจะแบนเรียบมีเพียงจุดสีดำเล็ก ๆ ให้สังเกต ที่ปล้องสุดท้ายของดักแด้ทั้ง 2 เพศ มีรยางค์แหลมเล็ก 2 อัน (Cremasters) ระยะดักแด้ประมาณ 7-8 วัน แล้วจึงฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย ดักแด้ตัวเมียจะออกก่อนตัวผู้ประมาณ 2-3 วัน

ภาพที่ 13 แสดงลักษณะดักแด้ของหนอนกระทู้ผัก

4.3.6 ระยะตัวเต็มวัย หลังจากฟักออกจากดักแด้จะเป็นผีเสื้อกลางคืน (ภาพที่ 14) ตัวเมียส่วนท้องจะอ้วนป้อม ลำตัวมีขนปกคลุมเล็กน้อย ปีกคู่หน้ามีสีน้ำตาล มีลวดลายสีขาวทั่วปีก ปีกคู่หลังสีเทาบาง ผีเสื้อตัวผู้ท้องเรียวยาว ปลายท้องมีขนเป็นกระจุก ลำตัวมีขนปกคลุมเล็กน้อย ปีกคู่หน้าสีน้ำตาล มีลวดลายต่างจากตัวเมียที่ปลายปีก ปีกคู่หลังมีลักษณะบางใสสีเทาขาว ตัวผู้และตัวเมียเริ่มผสมพันธุ์เมื่ออายุได้ 3-5 วัน หลังออกจากดักแด้ ตัวเมียจะวางไข่เป็นเวลา 5-7 วัน ตัวเต็มวัยมีอายุประมาณ 7-10 วัน

ภาพที่ 14 แสดงลักษณะผีเสื้อตัวเต็มวัย

กระบวนการป้องกันและทำลายสารพิษในแมลงทั่วไป

สิ่งมีชีวิตเมื่อได้รับสารแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย ย่อมมีกลไกการตอบสนองต่อสารเหล่านั้น โดยมีกระบวนการป้องกัน ทำหน้าที่ทำลายสารพิษหรือสารแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย (เกิดการ Detoxification) ทั้งนี้ จะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางชีววิทยา (Biotransformation) โดยมีเอนไซม์ทำลายพิษ (Detoxification enzymes) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แล้วจึงถูกกำจัดออกนอกร่างกาย

สิ่งที่มีชีวิตทุกชนิดเมื่อได้รับสารแปลกปลอมเข้าไปไม่ว่าจะทางการกิน การดม หรือการสัมผัสทางผิวหนัง สารแปลกปลอมจะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารแปลกปลอม (Biotransformation) ซึ่งเป็นผลมาจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในสิ่งมีชีวิต อย่างไรก็ตาม พบว่าปฏิกิริยาหลายชนิดไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์เลย เช่น สารแปลกปลอมอาจเกาะกับสารที่ร่างกายสร้างขึ้น (Endogenous) ผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิส โดยไม่มีเอนไซม์เร่งปฏิกิริยา (ไมตรี, 2540)

ถ้าสารที่มีการเปลี่ยนแปลงแล้วผลผลิตที่ได้มีพิษน้อยลง เราเรียกว่า กระบวนการทำลายสารพิษ (Detoxification) จากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี ไม่ว่าสารพิษนั้น จะเป็นสารอินทรีย์ หรืออนินทรีย์ก็ตาม โดยจะถูกเปลี่ยนแปลงให้มีพิษน้อยลง หรือไม่มีพิษ (ไมตรี, 2540) Detoxification Enzyme system มีลักษณะการทำงานเหมือนเอนไซม์ทั่วๆไป กล่าวคือเมื่อมีสารแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย เอนไซม์นี้จะเป็นตัวเร่งให้สารเหล่านั้นมีความสามารถในการละลายน้ำเพิ่มมากขึ้นหรือทำให้เป็นสารที่มีขั้ว (Electrophilic) เพื่อที่จะได้ถูกกำจัดออกนอกร่างกายได้ดีขึ้น มีคุณสมบัติของเอนไซม์เหล่านี้มี ดังนี้ (Schoknechy และ Otto, 1989)

1. อยู่ภายในอวัยวะที่มักต้องสัมผัสกับสารแปลกปลอมอยู่เสมอ เช่น ตับ ปอด ลำไส้ ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง และเซลล์ไขมันหรือลำไส้ของแมลง

2. สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารแปลกปลอมที่มีโครงสร้างหลากหลาย โดยทำให้มีความเป็นพิษน้อยลง หรือหมดความเป็นพิษ สามารถขับออกจากร่างกายโดยง่าย

3. สามารถควบคุมระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ในแต่ละระยะของวงจรชีวิตได้ และถูกชักนำให้เกิดได้รวดเร็วในกรณีที่ร่างกายได้รับสารแปลกปลอม

สำหรับแมลง เมื่อได้รับสารเคมี จะเกิดพฤติกรรมหลีกเลี่ยงสารเคมีที่ก่อเกิดพิษกับแมลง โดยเรียกพฤติกรรมนี้ว่า พฤติกรรมหลีกเลี่ยง (Behavior avoidance) เพื่อไม่ให้ร่างกายสัมผัสกับสารนั้นๆ ถ้าแมลงรับสารในปริมาณที่ไม่มากพอที่จะทำให้เสียชีวิต ก็จะเกิดการสะสมสารนั้นไว้ในชั้นไขมัน และเนื้อเยื่อต่างๆ นอกจากนี้แมลงมีกลไกการหลีกเลี่ยง หรือทำลายพิษหลายๆแบบ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการดำรงชีวิต เช่นในปัจจุบันที่แมลงมีการสร้างความต้านทานต่อสารปราบศัตรูพืชเพิ่มมากขึ้น โดยพบว่าแมลงมีกลไกการใช้เอนไซม์ช่วยในการกำจัดสารพิษ เพื่อให้สารพิษถูกกำจัดโดยเร็วที่สุด

1. <u>การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษ</u> (Biotransformation of Xenobiotics)

สารพิษที่ถูกดูดซึมสู่ร่างกายส่วนใหญ่มักอยู่ในรูปไม่แตกตัวเป็นไอออน สามารถละลายได้ดีในไขมัน จึงถูกดูดซึมง่าย หลังจากเข้าสู่กระแสเลือด จะผ่านเข้าเซลล์ตับ ไต ปอด และเยื่อบุทางเดินอาหาร ซึ่งล้วนแล้วแต่เป็นอวัยวะที่สัมพันธ์กับการป้องกัน การทำลายสารพิษ และขับถ่ายออกนอกร่างกาย (ชัยวัฒน์ และคณะ, 2539)

กลไกการทำลายสารพิษโดยใช้เอนไซม์นี้ จะถูกกระตุ้นได้ทั้งจากสารเคมีสังเคราะห์ และสารพิษจากธรรมชาติซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารพิษที่ได้รับจากพืช เช่น alkaloids, terpene และ methylenedioxyphenyl compound ขั้นตอนในการทำลายพิษ หรือสารแปลกปลอมเหล่านี้ให้หมดความเป็นพิษ หรือมีพิษน้อยลง จะมีกลไกการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เกิดขึ้น 2 ระยะ (Derelanko and Hollinger, 1995) และ (Neisink et.al, 1996) ดังนี้

1.1 ปฏิกิริยาระยะที่ 1 (phase 1) เอนไซม์จะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของสารพิษ โดยจะยื่น active site ที่เป็น polar group ออกไปจับกับโมเลกุลของสารพิษ ทำให้สารพิษนั้นมีการแตกตัวเป็นสารที่มีขั้ว และเปลี่ยนรูปไปเป็นกลุ่มที่ละลายน้ำได้ดีขึ้น ซึ่งจะสามารถทำให้กำจัดออกนอกร่างกายได้ง่ายขึ้น และนอกจากนั้นเอนไซม์ยังทำให้สารพิษต่างๆเหมาะสมที่จะเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาใน phase 2 ต่อไป ปฏิกิริยาสำคัญที่เกิดขึ้นในระยะนี้ ได้แก่ oxidation, reduction และ hydrolysis โดยเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยาระยะที่ 1 นี้คือ esterase (สุรพล, 2542)

Oxidation เป็นปฏิกิริยาที่ทำให้มีการนำเอาออกซิเจนเข้าไปในโครงสร้างของสารพิษ ทำให้เกิดสารพิษตัวที่มีจำนวนออกซิเจนเพิ่มมากขึ้น

Reduction เป็นปฏิกิริยาที่จะทำให้มีการนำเอาไฮโดรเจนเข้าไปในโมเลกุลของสารพิษ จนทำให้สารพิษมีจำนวนอะตอมของไฮโดรเจนในโมเลกุลเพิ่มมากขึ้น 1 อะตอม

Hydrolysis เป็นปฏิกิริยาการเติมน้ำเข้าไปในโมลเลกุลของสารพิษ จากนั้นจะเกิดการแยกตัวของโมเลกุลเป็นกลุ่มของเอสเทอร์สองกลุ่ม หรือกลุ่มของเอมีดสองกลุ่ม

1.2 ปฏิกิริยาในระยะที่ 2 (phase II)ในขั้นนี้เป็นปฏิกิริยาที่เรียกว่า ปฏิกิริยาการรวมตัว (Conjugation reaction) โดยสารประกอบต่างๆที่เกิดการเปลี่ยนแปลงใน phase I reaction จะเข้าไปรวมตัวกับสารละลายที่มีความสามารถละลายน้ำได้ดี ซึ่งเป็นพวก Endogenous substrate ต่างๆและสารที่มีโมเลกุลเล็ก เช่น glucose, glutathione และ amino acid เพื่อให้ได้ผลผลิตสุดท้าย ที่สามารถขับออกนอกร่างกายได้ง่ายขึ้น ซึ่งเป็นคุณลักษณะของ Detoxification mechanism (แต่บางครั้งก็ยังพบว่าสารพิษต่างๆ เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้ว สารพิษเหล่านั้นจะมีความเป็นพิษสูงขึ้น เนื่องจากเข้าทำปฏิกิริยากับ Nonspecific enzyme บางชนิด หรือเป็น Substrate ให้กับเอนไซม์บางชนิด เพื่อให้เกิดความเป็นพิษสูงขึ้น เรียกว่า Activation หรือ Intoxification mechanism)โดยเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยา ระยะที่ 2 นี้คือ glutathione-s-transferase

ขั้นตอนการจับตัวในระยะที่ 2 สารพิษจะยังคงไม่ถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง หรือที่ถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างแล้วจะจับตัวกับสารที่อยู่ภายในเซลล์ เรียกว่า คอนจูเกชั่น (Conjugation) จนได้เป็นสารที่มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีขึ้น เพื่อง่ายต่อการขับถ่ายออกนอกร่างกาย

โดยขั้นตอนต่างๆนี้จะเริ่มเมื่อสารประกอบผ่านระยะที่ 1 จะไปจับเกาะกับซับเสตรท (Substrate) ภายในอวัยวะต่างๆ (Endogenous substrate) ที่เป็นองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรต โปรตีน กรดอะมิโน หรือกลุ่มของธาตุกำมะถัน และองค์ประกอบของฟอสเฟตต่างๆ จากการมีขั้วในปฏิกิริยาแรก อาจทำให้เกิดปฏิกิริยาที่เรียกว่าคอนจูเกชัน ผลผลิตของปฏิกิริยาส่วนใหญ่จะเป็นคอนจูเกต โปรดักส์ (Conjugation product)

มีองค์ประกอบที่มีคุณสมบัติในการละลายในไขมันได้น้อยลง แต่ละลายน้ำได้สูงขึ้น มีพิษน้อยลง สามารถขับออกนอกร่างกายได้ดีขึ้น

กระบวนการจับตัว คอนจูเกชันนี้ สารพิษที่มีกลุ่มแสดงคุณสมบัติทางเคมี (Functional group) จะสามารถจับตัวกับสารที่เซลล์ตับ หรือเซลล์อื่นๆ สร้างขึ้น ทำให้ได้สารประกอบของสารใหม่ เรียกว่า Hydrophillic conjugation product ที่มีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดีขึ้น เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการกำจัดออกนอกร่างกาย (Dauterman, 1994)

2. <u>ระบบเอนไซม์ทำลายพิษ</u>

เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาให้กับสารตั้งต้นหรือซับสเตรทที่เปลี่ยนรูปไป อาจทำให้พิษของสารนั้นลดลงหรือเพิ่มขึ้น โดยเกี่ยวข้องกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิ, pH และชนิดของสิ่งมีชีวิต เป็นต้น ทั้งนี้ สารแปลกปลอมสามารถเข้าสู่ร่างกายได้หลายทาง เช่น ทางปาก ทางผิวหนัง ทางการหายใจ โดยจะถูกดูดซึมและแพร่กระจายไปทั่วร่างกาย ซึ่งร่างกายจะมีการขับถ่าย และเกิดเมแทบอลิซึม (Metabolism) ในการเปลี่ยนสภาพสารให้ผิดไปจากเดิม หรือเกิด Biotransformation โดยการเปลี่ยนนี้ เป็นผลมาจากการเร่งของเอนไซม์ในร่างกายของสิ่งมีชีวิต (Visetson, 2004) ตัวอย่างเช่น

2.1 เอสเทอเรส (Esterase) จัดเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในระยะที่ 1 โดยการเกิด Hydrolysis ซึ่งEsterase เป็นเอนไซม์ Hydrolase ที่ไปแยกกลุ่มของเอสเทอร์ เอนไซม์กลุ่มนี้มีความสามารถในการ metabolized สารฆ่าแมลง Carboxyl ester เช่น สารในกลุ่มไพรีทรอยด์ รวมทั้งสารในกลุ่มฟอสเฟต และคาร์บาเมต เอสเทอร์ ด้วย ดังนั้น เอนไซม์ชนิดนี้จึงมีส่วนทำให้เกิดการต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในกลุ่ม Organophosphate และ Carbamate ด้วย ผลผลิต อาจมีพิษน้อยลงหรือ เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับสารตั้งต้น แล้วจึงถูกกำจัดออกนอกร่างกายต่อไป (Visetson, 1991) ในแมลงนั้นจะมีเอนไซม์เอสเทอเรส อยู่ในระดับต่ำกว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทั้งหลาย บทบาทของเอนไซม์ชนิดนี้ในร่างกายทั่วไป คือ การควบคุมปริมาณของสารที่ผลิตขึ้นในร่างกาย (Endogenous substrate) ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม ไม่มากเกินไป และยังมีหน้าที่สำคัญในการทำลายพิษของสารแปลกปลอม (Xenobiotics) ที่เป็นสาร ester หรือสารที่ยึดกันด้วย Anhydrid bond

ทั้งนี้ ในแมลงนั้น เอนไซม์นี้ พบมากใน Cytosol, Microsomes, Mitochondria และ Nucleus ของเซลล์ลำไส้ และกล้ามเนื้อส่วนหลัง (Thoracic muscle) (Zhu and Brindley, 1990) ซึ่งมีปริมาณขึ้นกับ อายุ ชนิด และสายพันธุ์ของแมลง ทั้งนี้ Chohen et al.(1977) พบว่า การทำงานของเอนไซม์ชนิดเดียวกัน แต่ระยะต่างกัน จะมีการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้แตกต่างกันด้วย และยังพบว่า Esterase ถูกควบคุมโดยสารธรรมชาติ เช่น Juvenile Hormone

2.1.1 วิธีการตรวจวัดเอสเทอเรส

หลอด reference ประกอบด้วย

- 0.1 M phosphate buffer pH 7.5 = 2900 μl
- phosphate buffer (pH 7.5) + EDTA = 50 μl
- PNPA (substrate) = 50 μl

หลอด sample ประกอบด้วย

- 0.1 M phosphate buffer pH 7.5 = 2900 μl
- PNPA (substrate) = 50 μl
- enzyme (supernatant) = 50 μl

2.2 <u>กลูตาไทโอน เอส-ทรานสเฟอเรส</u> (Glutathione – S – transferase) เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในระยะที่ 2 ในการเร่งปฏิกิริยาคอนจูเกชัน ซึ่งมีการเกิดกรดเมอร์แคปทูริก glutathione conjugation เป็นการรวมตัวกันของ Xenobiotic products จาก phase I reaction รวมทั้งสารอันตรายมีขั้วกับ conjugation agent ที่สำคัญมากในร่างกาย คือ glutathione (GSH) โดยที่สารประกอบ GSH นี้ประกอบด้วย amino groups เกาะกัน 3 ชุด คือ glutamic , glycine และ cysteine รวมทั้งมีพันธะ Covalent ของ SH ร่วมเกาะอยู่ด้วยที่ตำแหน่งของ cysteine ซึ่งกลุ่มของ SH มีบทบาทสำคัญในการคอนจูเกชันกับสารประกอบอื่นๆ ที่ร่างกายได้รับเข้าไป และมีเอนไซม์ช่วยเริ่มปฏิกิริยา คือ glutathione-s-transferase จนได้เป็นผลผลิต (Products) ที่มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีมาก และสามารถถูกขับออกจากร่างกายได้ดี เอนไซม์ชนิดนี้มักพบที่ Microsome และ Cytosol (ชัยวัฒน์และคณะ, 2539)

2.2.1 วิธีการตรวจวัดกลูตาไทโอน เอส-ทรานสเฟอเรส

หลอด reference ประกอบด้วย

- 0.1 M phosphate buffer pH 7.5 = 1150 μl
- phosphate buffer (pH 7.5) + GSH reduced form = 20 μl
- DCNB (substrate) = 10 μl

หลอด sample ประกอบด้วย

- 0.1 M phosphate buffer pH 7.5 = 1150 μl
- DCNB (substrate) = 10 μl
- enzyme (supernatant) = 20 μl

การใช้สารสกัดจากพืช จะทำให้แมลงมีการสร้าง Detoxification enzymes ขึ้นได้ เนื่องจากสารสกัดจากพืชเป็นสาร Allelochemicals ที่มีผลต่อการปรับตัวของแมลง เมื่อแมลงได้รับสารสกัดจากพืชเข้าไปในปริมาณที่เหมาะสม แมลงจะมีการเปลี่ยนแปลง Detoxification enzymes เช่น esterase , monoxygenase และ glutathione-s-transferase เพื่อต่อต้าน หรือทำลายสารแปลกปลอมดังกล่าว เพื่อการอยู่รอด (Yu, 1984) แมลงที่กินพืชหลายชนิด (Polyphagous) จะมีประสิทธิภาพของระดับเอนไซม์ทั้งสามสูงกว่าแมลงที่กินพืชไม่กี่ชนิด (Oligophagous) หรือพวกที่กินพืชเพียงชนิดเดียว (Monophagous) การเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ในแมลงต่างชนิดกันที่กระทำต่อสาร Allelochemicals ก็ย่อมจะมีในระดับที่แตกต่างกันด้วย (Rose, 1985) คุณลักษณะในการเปลี่ยนแปลงนี้มีแนวโน้มที่จะถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกต่อไป ซึ่งจะเป็นผลทำให้แมลงสร้างความต้านทานในที่สุด (Visetson, 1991)

สุรพล (2536) ได้ทำการวิจัยเรื่อง ผลของสารสกัดสะเดาต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ของแมลง โดยทำการทดลองเพื่อหาการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ทำลายสารพิษ 3 ชนิด คือ esterase , glutathione-s-transferase และ monoxygenase ก่อนและหลังการให้สารสกัดสะเดา หรือสารฆ่าแมลงสังเคราะห์ในแมลงศัตรูพืช 4 ชนิด คือ หนอนใยผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย อเมริกัน ด้วงงวงข้าว และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าในหนอนใยผักมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยของ esterase และ glutathione-s-transferase ใน 5 ช่วงอายุหลังการใช้สารสกัดจากสะเดาเมื่อเทียบกับการใช้สาร Malathion และ Cyfluthrin

ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์นี้สูงขึ้นถึง 50-100 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Monooxygenase จะลดลงประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ หลังการใช้สารสกัดสะเดา และ Malathion ส่วน Cyfluthrin จะทำให้เอนไซม์ชนิดนี้เพิ่มขึ้นประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดลองดังกล่าวทำให้ทราบว่า การใช้สารสกัดจากสะเดา จะมีฤทธิ์ไปลดการทำงานของ Monooxygenase ซึ่งคล้ายๆกับผลของสารฆ่าแมลงกลุ่ม Organophosphate และสารกลุ่ม Pyretroids ส่วนเอนไซม์ esterase และ glutathione-s-transferase จะมีส่วนช่วยให้แมลงสร้างความต้านทานขึ้น ในหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน เอนไซม์ทำลายสารพิษทั้งสามมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย หลังจากมีการใช้สารสกัดจากสะเดาในชั่วอายุที่ 5 ส่วน Cyfluthrin และ malathion จะทำให้ esterase และ glutathione-s-transferase มีการเพิ่มสูงขึ้นระหว่าง 1.1 - 4.0 เท่า แต่ Monooxygenase มีการตอบสนองแปรปรวน จากการเพิ่มขึ้นอย่างมากของระดับ esterase ของแมลงชุดนี้ ทำให้แมลงมีโอกาสสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงสูงมากในอนาคต แต่การใช้สารสกัดจากสะเดาจะไม่ทำให้แมลงสร้างความต้านทานแต่อย่างใด

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการจากกรมวิชาการเกษตร
2. อาหารเทียม
3. ใบคะน้า
4. ปลาสอด *(Poecilia latipinna)*
5. ผึ้งพันธุ์ *(Apis mellifera* L.)
6. สารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า
7. สารสกัดจากเมล็ดมันแกว
8. สารสกัดจากพริกขี้หนู
9. กล่องพลาสติกใสสำหรับเลี้ยงตัวอ่อน ขนาด 17×25×9 ซม.
10. กรงมุ้งลวดรูปสี่เหลี่ยมสำหรับเลี้ยงตัวเต็มวัย ขนาด 30×30×30 ซม.
11. กระบอกฉีดน้ำ
12. คีมคีบ forceps
13. เยื่อกระดาษ (tissue)
14. น้ำผึ้ง
15. พู่กัน
16. เครื่องชั่งละเอียด
17. เครื่อง spectrophotometer ของ Hitachi รุ่น U 2000
18. เครื่องปั่นหมุนเหวี่ยง centrifuge ของ Kubota
19. Measuring pitette ขนาด 0.5 และ 1.0 ml.
20. Microtube ขนาด 1.5 Ml.
21. Thimble
22. Beaker
23. Cuvette
24. Quatze cuvette
25. โกร่งบด

26. Cylinder
27. กล่องโฟมรักษาความเย็น
28. กรวยกรองขนาดเล็ก
29. ผ้าขาวบาง
30. ตู้เย็นปรับอุณหภูมิ
31. เครื่อง freeze dry
32. pH meter
33. กระดาษกรอง เบอร์ 2 ขนาด ∅ 11 ซม. (filter paper)
34. petridish plate
35. ethanol 95 %
36. Distilled water
37. glutathione reduced form
38. Paranitrophenyl acetate (PNPA)
39. Polyvinyl poly pyrrolidone(PVPP)
40. Potassium phosphate buffer
41. Ethylsene diamine tetra acetic acid (EDTA)
42. Dichloronitrobenzone (DCNB)

วิธีการ

1. การเลี้ยงเพื่อขยายพันธุ์แมลง

สูตรการเตรียมอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนกระทู้ผัก

ส่วนประกอบ	ปริมาณ	หน่วย
Mungbean	130.0	กรัม
Dried baker's yeast	10.0	กรัม
Methyl Parabenzoate	2.5	กรัม
Casein	3.0	กรัม
Sorbic acid	1.5	กรัม
Ascorbic acid	3.0	กรัม
Agar	13.0	กรัม
Chorine chloride	0.5	กรัม
Vitamin stock	10.0	มิลลิลิตร
Formalin 40 %	2.0	มิลลิลิตร
Distilled water	750.0	มิลลิลิตร

ภาพที่ 15 ลักษณะอาหารเทียม

2. <u>การเตรียมแมลงสำหรับการทดลอง</u>

นำไข่ของหนอนกระทู้ผักประมาณ 1,000 ฟอง ใส่ลงในถ้วยที่มีอาหารเทียม (ภาพที่ 15) วางรองอยู่ที่ก้นถ้วย (อาหารเทียมมีลักษณะเป็นเจลติดอยู่ที่ก้นถ้วยเมื่อแข็งตัว) แล้วคว่ำถ้วยลง เนื่องจากหนอนที่ฟักออกมาใหม่มักจะมีพฤติกรรมเข้าหาแสงจึงต้องคว่ำถ้วยอาหารเทียมเพื่อหนอนจะได้ไปกินอาหารเทียมในที่ที่มีแสง ไข่หนอนจะฟักภายในห้องควบคุมที่อุณหภูมิประมาณ 25-27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50 % ภายในเวลา 2-3 วัน ไข่จะฟักออกมาจนหมด พอย่างเข้าสู่วัย 1-2 ให้แยกตัวหนอนออก เพื่อเปลี่ยนอาหารเทียมชุดใหม่ให้ โดยแยกหนอนใส่กล่อง ๆ ละประมาณ 100 ตัว ใส่

อาหารเทียมที่ตัดเป็นก้อนสี่เหลี่ยมลูกเต๋า ซึ่งในวัย 1-2 นี้ จะเปลี่ยนอาหารให้ทุก 2 วัน และเมื่อหนอนเจริญเข้าสู่วัย 3-4 จะเริ่มกินอาหารมากขึ้น จึงต้องเปลี่ยนให้อาหารเทียมใหม่ทุก ๆ วัน จนกระทั่งเข้าสู่วัย 5-6 หนอนจะกินอาหารเร็วและขับถ่ายมากขึ้นตามลำดับ การให้อาหารจึงต้องเพิ่มเป็นวันละ 2 ครั้ง และต้องเปลี่ยนกล่องเลี้ยงทุกวันด้วย เพื่อรักษาความสะอาดและป้องกันการติดเชื้อจากมูลของหนอนเอง ซึ่งในวัย 5-6 นี้ จะต้องระมัดระวังในเรื่องอาหารมากเป็นพิเศษ เพราะถ้าอาหารไม่เพียงพอ หนอนจะกัดกินกันเอง ทำให้บางตัวตายหรืออ่อนแอลง เมื่อหนอนเข้าสู่วัยที่ 6 จะเริ่มหยุดกินอาหารเพื่อเตรียมเข้าดักแด้ จึงต้องแยกหนอนออกเป็นกล่อง ๆ ละ 1 ตัว ในช่วงนี้ หนอนจะหดตัวสั้นลงและขุดอาหารเทียมจนเป็นโพรงเพื่อทำเป็นรัง (cocoon) และเข้าดักแด้ ความสกปรกจะเกิดขึ้นง่ายในระยะนี้ ทำให้เกิดการตายมากขึ้น เมื่อหนอนเข้าดักแด้แล้ว(ใช้เวลาประมาณ 7-10 วัน) ให้นำดักแด้มาเลี้ยงไว้ในกรงเพื่อรอให้เป็นตัวเต็มวัย ซึ่งตัวเต็มวัยนี้จะให้อาหารเป็นน้ำผึ้ง 5% แล้วนำตัวเต็มวัยมาผสมพันธุ์กันเพื่อให้วางไข่ในรุ่นต่อไป จากนั้นคอยเก็บไข่ออกจากกรงทุกวันเพื่อนำมาทำการฟักเพื่อเลี้ยงเพิ่มปริมาณต่อไป

3. <u>การสกัดสารจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนู</u>

นำพืชทั้ง 3 ชนิด คือ เมล็ดน้อยหน่า (*Annona Squamosa* Linn.) เมล็ดมันแกว (*Pachyrrhizus erosus* Urban) และพริกขี้หนู (*Capsicum frutescens* Linn.) มาผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เมื่อแห้งสนิทดีแล้ว จึงนำไปปั่นให้ละเอียด ให้ได้ปริมาณ 70 กรัม ต่อ 1 Timble แล้วนำไปสกัดด้วยวิธีการสกัดซอกท์เลต (Soxhlet extraction) ด้วยเครื่องซอกท์เลต (ภาพที่ 16) โดยใช้

เอธานอล (Ethanol) 350 กรัม เป็นตัวทำละลาย สกัดนาน 8 ชั่วโมง จากนั้นก็นำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Rotary evaporator) (ภาพที่ 17) เก็บส่วนที่ได้จากการระเหย ซึ่งมีลักษณะเหนียวข้นไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำไปทำแห้งด้วยเครื่อง Freeze dry (ภาพที่ 18)ซึ่งสารสกัดที่ได้จะเป็น Crude extract นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารที่ระดับความเข้มข้นต่างๆไปทำการทดสอบประสิทธิภาพและศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ทำลายพิษ เอสเทอเรส และกลูทาไทโอน-เอส- ทรานสเฟอเรส รวมถึงการศึกษาความเป็นพิษต่อสัตว์ที่ไม่ใช่เป้าหมาย ปลาและผึ้งต่อไป

ภาพที่ 16 แสดงเครื่องสกัด Soxhlet

ภาพที่ 17 ระเหยตัวทำละลายด้วย Rotary evaporator

ภาพที่ 18 เครื่องทำแห้งโดยใช้ความเย็น Freeze dry

ภาพที่ 19 เมล็ดน้อยหน่าที่ปั่นละเอียด และ Crude extract ของเมล็ดน้อยหน่า

ภาพที่ 20 เมล็ดมันแกวปั่นละเอียด และ Crude extract ของเมล็ดมันแกว

ภาพที่ 21 พริกขี้หนูที่ปั่นละเอียด และCrude extract ของพริกขี้หนู

4. การทดสอบเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนูต่ออัตราการตายของหนอนกระทู้ผัก

ทำการเปรียบเทียบทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนู ที่สกัดด้วยวิธีการแบบซอกท์เลต ซึ่งมีเอธานอลเป็นตัวทำละลาย โดยทำการสุ่มทดสอบหาความเป็นพิษเบื้องต้น (Preliminary test) ทดสอบหาความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดในช่วงความเข้มข้นต่ำสุด และสูงสุดที่มีผลต่ออัตราการตายของหนอนกระทู้ผัก จากนั้นจึงทำการทดสอบอัตราการตาย (Toxicity test) จากการทดสอบหาความเป็นพิษเบื้องต้นที่สุ่มไว้นำมาทดสอบหาความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้หนอนตาย 50 % (LC_{50}) และเลือกช่วงของความเข้มข้นของสารสกัดที่เหมาะสม และวางแผนการทดลองแบบสุ่ม (Complete Randomized Design : CRD) จำนวน 3 ซ้ำแล้วใช้การตรวจสอบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT ที่ Probability ที่ 95% โดยดัดแปลงการทดลองของจันทรา เป็นสุข (2545) จากนั้นดำเนินการต่อตามวิธีการดังนี้

5. การทดสอบกับสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าและเมล็ดมันแกว

1. นำกล่องที่แห้งและสะอาดมาเตรียมไว้พร้อมทั้งรองก้นกล่องด้วยกระดาษกรองสาร
2. นำหนอนกระทู้ผักวัย 2-3 ที่เตรียมไว้ ใส่ลงในแต่ละกล่อง โดยใส่กล่องละ 10 ตัว
3. นำสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า (ภาพที่ 19) และสารสกัดจากเมล็ดมันแกว (ภาพที่ 20) ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, และ 4 % ตามลำดับ เทลง plate แยกเป็นแต่ละความเข้มข้น และนำหนอน 10 ตัวต่อหนึ่งความเข้มข้น ใส่ตะแกรงลวด แล้วนำหนอนทั้ง 10 ตัวจุ่มลง (Dipping method)ไปยัง

สารสกัดที่เตรียมไว้เป็นเวลา 5 วินาที แล้วนำหนอนขึ้นมาใส่ในกล่องที่รองด้วยกระดาษกรองสารที่เตรียมไว้ โดยแต่ละกลุ่มความเข้มข้นจะใช้ 3 กล่อง รวม 30 ตัวต่อ 1 ความเข้มข้นต่อ 1 ชนิดของสารสกัด ปิดด้วยฝาที่เจาะรูไว้ด้านบน

4. สังเกตพฤติกรรมและอัตราการตายของหนอนกระทู้ผัก พร้อมทั้งตรวจนับจำนวนการตายของตัวหนอนที่เวลา 24 ชั่วโมง

5. นำผลข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ

6. <u>การทดสอบกับสารสกัดพริกขี้หนู</u>

1. นำกล่องที่แห้งและสะอาดมาเตรียมไว้พร้อมทั้งรองก้นกล่องด้วยกระดาษกรองสาร

2. นำหนอนกระทู้ผักวัย 2-3 ที่เตรียมไว้ ใส่ลงในแต่ละกล่อง โดยใส่กล่องละ 10 ตัว

3. นำสารสกัดจากพริกขี้หนู (ภาพที่ 21) ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, และ 8 % ตามลำดับ เทลง plate แยกเป็นแต่ละความเข้มข้น และนำหนอน 10 ตัวต่อหนึ่งความเข้มข้น ใส่ตะแกรงลวด แล้วนำหนอนทั้ง 10 ตัวจุ่มลง (Dipping method)ไปยังสารสกัดที่เตรียมไว้เป็นเวลา 5 วินาที แล้วนำหนอนขึ้นมาใส่ในกล่องที่รองด้วยกระดาษกรองสารที่เตรียมไว้ โดยแต่ละกลุ่มความเข้มข้นจะใช้ 3 กล่อง รวม 30 ตัวต่อ 1 ความเข้มข้นต่อ 1 ชนิดของสารสกัด ปิดด้วยฝาที่เจาะรูไว้ด้านบน

4. สังเกตพฤติกรรมและอัตราการตายของหนอนกระทู้ผัก พร้อมทั้งตรวจนับจำนวนการตายของตัวหนอนที่เวลา 24 ชั่วโมง

5. นำผลข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ

7. <u>การศึกษาระดับเอนไซม์ เอสเทอเรส (esterase) และกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione-s-transferase) ในหนอนกระทู้ผัก หลังได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมัน แกว และพริกขี้หนู</u>

ทำการทดลองเพิ่มอีกหนึ่งชุด เพื่อศึกษาระดับเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส โดยจัดกลุ่มการทดลองเหมือนการทดสอบอัตราการตาย โดยนำหนอนกระทู้ผักที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนูในแต่ละความเข้มข้น แล้วนำหนอนที่รอดชีวิตในแต่ละความเข้มข้นของแต่ละสารสกัด มาศึกษาระดับของเอนไซม์ทำลายสารพิษทั้ง 2

ชนิด คือ เอสเทอเรส และ กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส โดยนำหนอนที่รอดชีวิตมาบดในโกร่งที่แช่เย็น (ภาพที่ 22) ขณะบดผสม Polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) 0.002 กรัม แล้วค่อย ๆ เติม 0.1 M potassium phosphate buffer pH 7.5 ขณะที่บดด้วย เมื่อบดละเอียดแล้ว ให้กรองด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนของเหลวที่กรองได้ไปปั่นด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ 18,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นดูดส่วนใสข้างบน (Supernatant) ใส่ในหลอดไมโครทิว ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวัด esterase โดยใช้วิธี PNPA assay ของ Mackness และคณะ (1983) โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงของ Paranitrophenol ที่มีความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร โดยใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา hydrolysis ของสารตั้งต้น คือ Paranitrophenyl acetate (PNPA) ไปเป็นสาร

Paranitrophenol ซึ่งเป็นสารละลายสีเหลือง และตรวจวัด gluthathione–s–transferase โดยวิธี DCNB assay ของ Booth และคณะ (1961) โดยใช้เครื่อง Spectgrophotometer (ภาพที่ 23) ตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 340 นาโนเมตร ซึ่ง Dichloronitrobenzene เกิดปฏิกิริยารวมตัวกับ glutathione โดยมี glutathione-s-transferase เป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยา

ภาพที่ 22 วิธีการบดหนอนในโกร่ง

ภาพที่ 23 วิธีการตรวจผลเอนไซม์โดยเครื่อง spectrophotometer

8. การทดสอบผลของสารสกัดต่อปลาสอดวัยเจริญพันธุ์

การทดสอบผลของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่มีต่อปลาสอด ทำการทดลองดังนี้

1. ทำการทดสอบกับปลาสอด (*Poecilia latipinna)* วัยเจริญเติบโต อายุ 30 – 60 วัน (ภาพที่ 24)

2. นำปลาสอดมาทดสอบกับสารสกัดทั้งสามชนิด (ภาพที่ 25)โดยใช้ความเข้มข้นแตกต่างกัน ละลายลงในน้ำในแต่ละสารสกัด ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงธรรมชาติและให้อาหารเม็ดแก่ปลา

3.ตรวจสอบการตายและหาค่าความเป็นพิษที่เวลา 24 ชั่วโมง

ภาพที่ 24 การเลี้ยงปลาสอดในตู้กระจก

ภาพที่ 25 แสดงการทดสอบสารสกัดจากพริกขี้หนูต่อการตายของปลาสอด

9. การทดสอบผลของสารสกัดต่อผึ้งพันธุ์ *(Apis mellifera* L.*)*

การทดสอบผลของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่มีต่อผึ้งพันธุ์ ทำการทดลองดังนี้

1. ทำการทดสอบกับผึ้งพันธุ์ *(Apis mellifera* L.*)* วัยเจริญเติบโตอายุ 30 – 60 วัน
2. นำผึ้งงานของผึ้งพันธุ์มาทดสอบโดยวิธีการฉีดพ่น (Spray) (ภาพที่ 27 และ 29) และใช้ความเข้มข้นแตกต่างกันในแต่ละสารสกัด ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงธรรมชาติ
3. ตรวจสอบการตายที่เวลา 24 ชั่วโมง

ภาพที่ 26 บริเวณสถานที่ที่เลี้ยงผึ้งพันธุ์ และการถ่ายผึ้งจากสวิงลงถุงผ้า

ภาพที่ 27 แยกผึ้งพันธุ์ลงในกล่องที่เตรียมไว้

ภาพที่ 28 ผึ้งที่กำลังฟื้นจากการสลบ

ภาพที่ 29 ขณะทำการฉีดพ่นสารสกัดลงบนตัวผึ้งพันธุ์

10.<u>การหาค่าสหสัมพันธ์ ระหว่างค่าความเป็นพิษของทั้งสามสารสกัดกับการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษ และอัตราการเกิดพิษในหนอนกระทู้ผัก และทำการผสมสูตรสารสกัดที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดแมลงชนิดนี้ต่อไป</u>

นำข้อมูลเกี่ยวกับความเป็นพิษและระดับเอนไซม์ทำลายพิษมาหาค่าสหสัมพันธุ์ และนำสูตรที่ให้ค่าสหสัมพันธ์มากกว่า 95% มาใช้เป็นแนวทางในการทำสูตรสารสกัด โดยดัดแปลงวิธีการของ Visetson, *et al*. 2003.

11. <u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

1. สถิติพรรณา เช่น การคำนวนค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
2. สถิติวิเคราะห์
   - คำนวนหาค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง โดยใช้วิธี Abbott' s formular เพื่อนำค่ามา plot graph ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละชนิดต่อเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผัก หลังจากได้รับสารสกัด แล้วหาค่า LC_{50} ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตายหลังจากได้รับสารสกัด 50%
   - สถิติวิเคราะห์ความแปรปรวน (Covarience) ทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยตรวจสอบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT (Duncan's New Multiple Range Test) ที่ ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SPSS

12. <u>สถานที่ทำการทดลอง</u>

ห้องเลี้ยงแมลงและห้องปฏิบัติการรวมภาควิชาวิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

13. <u>ระยะเวลาในการทดลอง</u>

เริ่มการทดลองตั้งแต่เดือน กันยายน 2547 ถึงเดือน สิงหาคม 2548 รวมระยะเวลาทำการทดลอง 12 เดือน

ผลการทดลอง

1. ผลการทดลองของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าต่อเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผัก

สารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าที่สกัดด้วยวิธีซอกท์เลต (Soxhlet extraction) โดยมีเอทานอลเป็นตัวทำละลาย แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง Rotary evaporator จะได้สารสกัดมีลักษณะข้น สีเหลืองอ่อน เมื่อนำสารสกัดไปทดสอบประสิทธิภาพต่ออัตราการตายของหนอนกระทู้ผัก วัย 3 ซึ่งมีขนาดลำตัวกว้างประมาณ 5 มม. และยาวประมาณ 3 ซม. โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 5 ระดับ ได้แก่ กลุ่มควบคุม (กลุ่มทดลองที่ผสมเอทานอลกับน้ำ) 1, 2, 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีผลต่อเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผักที่เวลา 24 ชม. เท่ากับ 10 $\pm$ 0.00, 33.33 $\pm$ 11.11, 62.95 $\pm$ 6.41, 85.17 $\pm$ 6.41, 100.00 $\pm$ 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 1 ภาพที่ 30) มีค่า LC_{50} เท่ากับ 1.642 % w/v จากสมการถดถอย (regression equation) Y = 11.992 + 23.184 x มีค่า correlation coefficient (r) = 0.994 และมีค่า coefficient determination (r^2) = 0.988 (ตารางที่ 4) และเมื่อวิเคราะห์หาค่าความแตกต่างค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การตาย โดยใช้วิธี Duncan ' s New Multiple Range Test พบว่า เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผักที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เพิ่มขึ้นในทุกกลุ่มการทดลอง และที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างจากความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ และความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 เปอร์เซ็นต์ ก็แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน

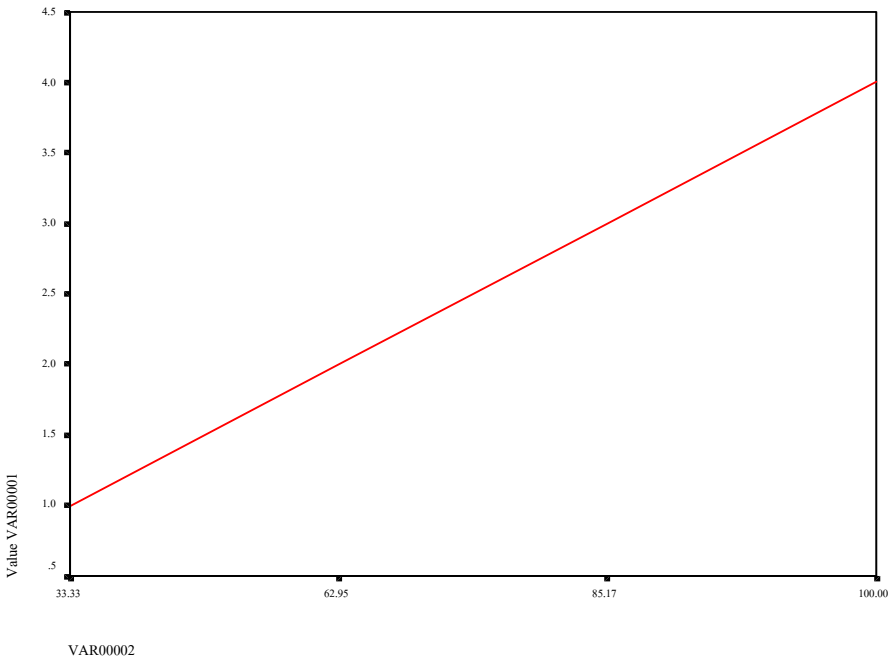
ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน[1] ของหนอนกระทู้ผัก หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า (%)	การตายเฉลี่ยของหนอนกระทู้ผัก (%) [2][3]
0.0	10.00 ± 0.00^{a}
1.0	33.33 ± 11.11^{b}
2.0	62.95 ± 6.41^{c}
3.0	85.17 ± 6.41^{d}
4.0	100.00 ± 0.00^{e}

[1] การตายเฉลี่ยได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 ตัว

[2] ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ภายในแนวตั้งเดียวกันจะไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P > 0.05$)

[3] หาค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง โดยใช้วิธี Abbott' s formular



ภาพที่ 30 การตายของหนอนกระทู้ผักที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า มีค่าสมการ regression คือ Y = 11.992 + 23.184 x และ LC_{50} = 1.642 %

หมายเหตุ แกน X คือ เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผัก (%)
แกน Y คือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า (%)

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม
Treatment 2 = 1 % ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า
Treatment 3 = 2 % ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า
Treatment 4 = 3 % ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า
Treatment 5 = 4 % ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

2. <u>ผลการทดลองของสารสกัดจากเมล็ดมันแกวต่อเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผัก</u>

สารสกัดจากเมล็ดมันแกวที่สกัดด้วยวิธีซอกท์เลต (Soxhlet extraction) โดยมีเอทานอลเป็นตัวทำละลาย แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง Rotary evaporator จะได้สารสกัดมีลักษณะข้น สีเหลืองเข้ม เมื่อนำสารสกัดไปทดสอบประสิทธิภาพต่ออัตราการตายของหนอนกระทู้ผัก ในวัย 2 – 3 มีขนาดลำตัวกว้างประมาณ 3 มม. และยาวประมาณ 2 ซม. โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 5 ระดับ ได้แก่ กลุ่มควบคุม (กลุ่มทดลองที่ผสมเอทานอลกับน้ำ) 1, 2, 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีผลต่อเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผักที่เวลา 24 ชม. เท่ากับ 6.66 $\pm$ 0.57, 21.43 $\pm$ 6.18, 42.85 $\pm$ 6.18, 64.29 $\pm$ 12.37, 92.85 $\pm$ 6.18 ตามลำดับ (ตารางที่ 2 ภาพที่ 31) มีค่า LC_{50} เท่ากับ 2.203 % w/v จากสมการถดถอย (regression equation) Y = 2.568 + 21.524 x มีค่า correlation coefficient (r) = 0.993 และมีค่า coefficient determination (r^2) = 0.987 (ตารางที่ 4) และเมื่อวิเคราะห์หาค่าความแตกต่างค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การตาย โดยใช้วิธี Duncan ' s New Multiple Range Test พบว่า เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผักที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกว เพิ่มขึ้นในทุกกลุ่มการทดลอง และที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างจากความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ และความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 เปอร์เซ็นต์ ก็แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน [1] ของหนอนกระทู้ผัก หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว (%)	การตายเฉลี่ยของหนอนกระทู้ผัก (%) [2][3]
0.0	6.66 ± 0.57^{a}
1.0	21.43 ± 6.18^{b}
2.0	42.85 ± 6.18^{c}
3.0	64.29 ± 12.37^{d}
4.0	92.85 ± 6.18^{e}

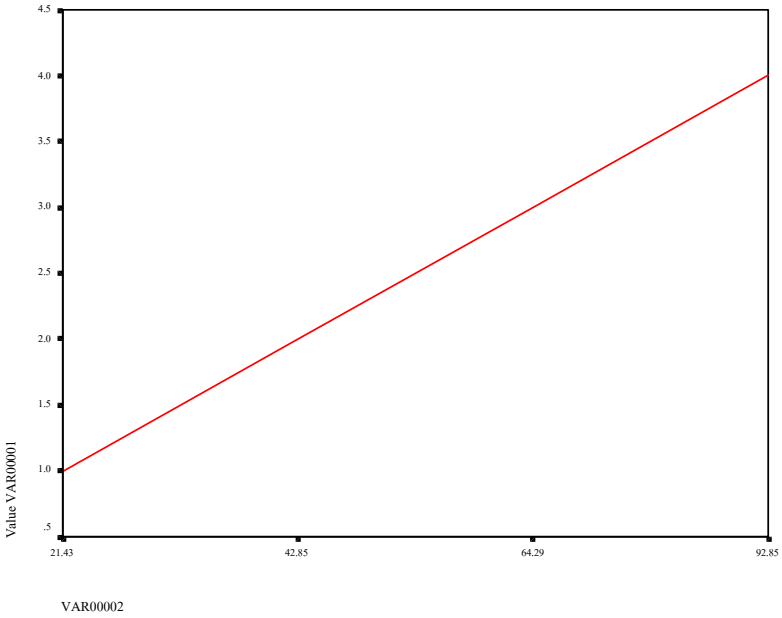
[1] การตายเฉลี่ยได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 ตัว

[2] ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ภายในแนวตั้งเดียวกันจะไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P > 0.05$)

[3] หาค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง โดยใช้วิธี Abbott' s formular

หมายเหตุ แกน X คือ เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผัก (%)
แกน Y คือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว (%)

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม
Treatment 2 = 1 % ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว
Treatment 3 = 2 % ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว
Treatment 4 = 3 % ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว
Treatment 5 = 4 % ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว



ภาพที่ 31 การตายของหนอนกระทู้ผักที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกว มีค่าสมการ regression คือ Y = 2.568 + 21.524 x และ LC_{50} = 2.203 %

หมายเหตุ แกน X คือ เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผัก (%)

แกน Y คือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว (%)

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม

Treatment 2 = 1% ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 3 = 2 % ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 4 = 3 % ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 5 = 4 % ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

3. <u>ผลการทดลองของสารสกัดจากพริกขี้หนูต่อเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผัก</u>

สารสกัดจากพริกขี้หนูที่สกัดด้วยวิธีซอกท์เลต (Soxhlet extraction) โดยมีเอทานอลเป็นตัวทำละลาย แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง Rotary evaporator จะได้สารสกัดมีลักษณะข้น สีแดงเข้ม เมื่อนำสารสกัดไปทดสอบประสิทธิภาพต่ออัตราการตายของหนอนกระทู้ผัก ในวัย 2 – 3 มีขนาดลำตัวกว้างประมาณ 3 มม. และยาวประมาณ 2 ซม. โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 5 ระดับ ได้แก่ กลุ่มควบคุม (กลุ่มทดลองที่ผสมเอทานอลกับน้ำ) 2, 4, 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีผลต่อเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผักที่เวลา 24 ชม. เท่ากับ 3.33 $\pm$ 0.57, 24.13 $\pm$ 11.94, 34.48 $\pm$ 15.80, 62.06 $\pm$ 26.03, 82.75 $\pm$ 21.53 ตามลำดับ(ตารางที่ 3 ภาพที่ 32) มีค่า LC_{50} เท่ากับ 4.880 % w/v จากสมการถดถอย (regression equation) $Y = 1.996 + 9.8385 x$ มีค่า correlation coefficient (r) = 0.992 และมีค่า coefficient determination (r^2) = 0.984 (ตารางที่ 4) และเมื่อวิเคราะห์หาค่าความแตกต่างค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การตาย โดยใช้วิธี Duncan ’ s New Multiple Range Test พบว่า เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผักที่ได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนูเพิ่มขึ้นในทุกกลุ่มการทดลอง โดยที่ระดับความเข้มข้น 0, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

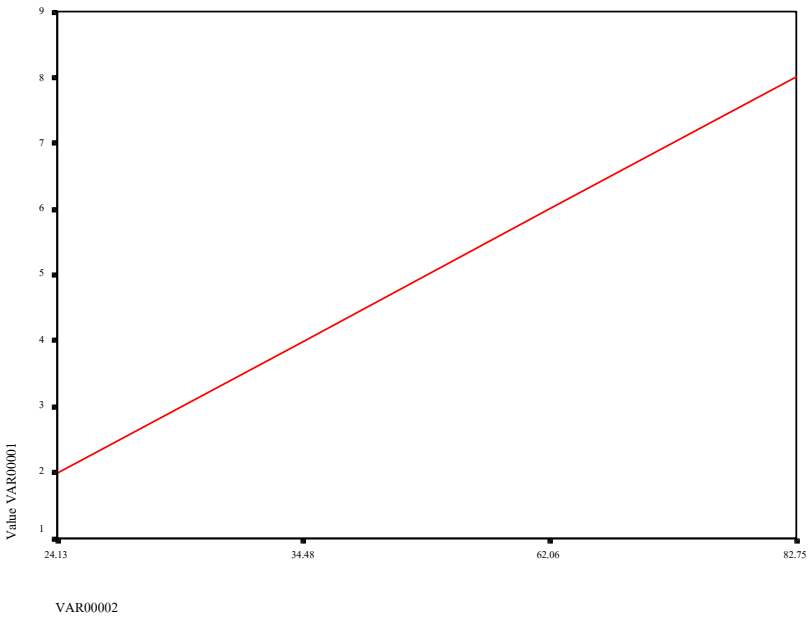
ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน [1] ของหนอนกระทู้ผัก หลังจากได้รับสารสารสกัดจากพริกขี้หนูที่ระดับความเข้มข้นต่างๆที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกขี้หนู (%)	การตายเฉลี่ยของหนอนกระทู้ผัก (%) [2][3]
0.0	3.33 ± 0.57^{a}
2.0	24.13 ± 11.94^{a}
4.0	42.85 ± 15.80^{ab}
6.0	62.06 ± 26.03^{bc}
8.0	82.75 ± 21.53^{c}

[1] การตายเฉลี่ยได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 ตัว

[2] ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ภายในแนวตั้งเดียวกันจะไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P > 0.05$)

[3] หาค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง โดยใช้วิธี Abbott' s formular



ภาพที่ 32 การตายของหนอนกระทู้ผักที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนู มีค่าสมการ regression คือ $Y = 1.996 + 9.8385\ x$ และ $LC_{50} = 4.880$ %

หมายเหตุ แกน X คือ เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผัก (%)

แกน Y คือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกขี้หนู (%)

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม

Treatment 2 = 2 % ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

Treatment 3 = 4 % ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

Treatment 4 = 6 % ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

Treatment 5 = 8 % ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

ตารางที่ 4 สมการถดถอย (regression) และค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว พริกขี้หนู และการตายของหนอนกระทู้ผักหลังจากได้รับสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆที่เวลา 24 ชั่วโมง

สารสกัดจากพืช	สมการ regression[1]	LC_{50}[2]	r[3]	r^2[4]
เมล็ดน้อยหน่า	Y = 11.992 + 23.184 x	1.642 %	0.994	0.988
เมล็ดมันแกว	Y = 2.568 + 21.524 x	2.203 %	0.993	0.987
พริกขี้หนู	Y = 1.996 + 9.8385 x	4.880 %	0.992	0.984

[1] สมการ regression การตายของหนอนกระทู้ผักต่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยค่า X คือ ความเข้มข้นสารสกัดทั้ง 3 ชนิด (%) และค่า Y คือ การตายของหนอนกระทู้ผัก (%)

[2] LC_{50} คือ ระดับความเข้มข้นที่สามารถทำให้หนอนกระทู้ผักตายเป็นจำนวน 50 %

[3] r คือ correlation coefficient ของการเปลี่ยนแปลงการตายต่อระดับความเข้มข้นที่เวลา 24 ชั่วโมง

[4] r^2 คือ coefficient determination ของการเปลี่ยนแปลงการตายต่อระดับความเข้มข้นที่เวลา 24 ชั่วโมง

2. <u>ระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนกระทู้ผัก หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าที่เวลา 24 ชั่วโมง</u>

ระดับเอนไซม์ esterase product ของหนอนกระทู้ผักที่ได้จากการคำนวนโดยวิธี PNPA assay ของ Mackness และคณะ (1983) หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า ซึ่งประกอบด้วย กลุ่มควบคุม (กลุ่มทดลองที่ผสมเอทานอลกับน้ำ) 1, 2, 3, และ 4 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 24.25 $\pm$ 5.11, 15.06 $\pm$ 0.35, 14.89 $\pm$ 0.58, 14.18 $\pm$ 0.51, 11.90 $\pm$ 2.01 n mol product / min / mg protein ตามลำดับ (ตารางที่ 5 ภาพที่ 33) และเมื่อทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณเอนไซม์ esterase product ของหนอนกระทู้ผัก ในแต่ละความเข้มข้นด้วยสถิติวิเคราะห์ Duncan ' s New Multiple Range Test พบว่าปริมาณ esterase product มีแนวโน้มลดลงในทุกกลุ่มทดลอง โดยที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม และเมื่อทดสอบทางสถิติวิเคราะห์ โดยใช้ Linear regression พบว่าปริมาณเอนไซม์ esterase product ในแต่ละระดับความเข้มข้นมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกัน โดยให้ค่าสมการ regression Y = 21.172 - 2.558 x ค่า correlation coefficient (r) = - 0.850 และมีค่า coefficient determination (r^2) = 0.7225

ระดับเอนไซม์ glutathione-s-transferase product ของหนอนกระทู้ผัก ที่ได้จากการคำนวนโดยวิธี DCNB assay ของ Booth และคณะ (1961) หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า ซึ่งประกอบด้วย กลุ่มควบคุม (กลุ่มทดลองที่ผสมเอทานอลกับน้ำ) 1, 2, 3, และ 4 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 2.10 $\pm$ 0.32, 2.70 $\pm$ 1.53, 2.60 $\pm$ 2.60, 2.40 $\pm$ 0.26, 2.30 $\pm$ 2.86 n mol / product / min / mg protein (ตารางที่ 6 ภาพที่ 34) ตามลำดับ และเมื่อทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณเอนไซม์ glutathione-s-transferase product ของหนอนกระทู้ผัก ในแต่ละความเข้มข้นด้วยสถิติวิเคราะห์ Duncan ' s New Multiple Range Test แล้วพบว่าปริมาณ glutathione-s-transferase product มีแนวโน้มลดลงในทุกกลุ่มทดลอง โดยที่ทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และเมื่อทดสอบด้วยสถิติวิเคราะห์ Linear regression พบว่าปริมาณเอนไซม์ glutathione-s-transferase product กับแต่ละระดับความเข้มข้นมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกัน โดยให้ค่าสมการ regression Y = 0.10 + 24.0 x ค่า correlation coefficient (r) = -0.066 และมีค่า coefficient determination (r^2) = 0.0043 ตามลำดับ

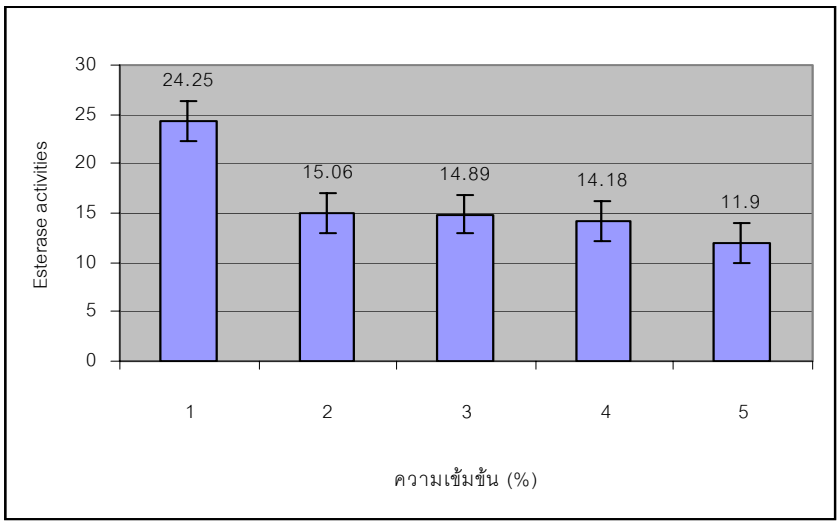
ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยของระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของหนอนกระทู้ผักเมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า(%)	ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเฉลี่ย(nM paranitrophenol / mg protein / ml) [1, 2, 3]
0.0	24.25 ± 5.11[a]
1.0	15.06 ± 0.35[a]
2.0	14.89 ± 0.58[a]
3.0	14.18 ± 0.51[a]
4.0	11.90 ± 2.01[b]

[1] ปริมาณเอนไซม์เฉลี่ยวัดจากหนอนกระทู้ผักที่ได้รับการทดสอบ 5 ระดับความเข้มข้น ๆ ละ 3 ซ้ำ ในหนอนที่ยังมีชีวิต

[2] ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ภายในแนวตั้งเดียวกันจะไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P > 0.05$)

[3] ใช้ phosphate buffer pH 7.5 (ประกอบด้วย KH_2PO_4, 1mM EDTA และ 10 mM GSH reduce form) และใช้ PNPA เป็น substrate วัด esterase ที่ช่วงแสง 400 nm



ภาพที่ 33 ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเฉลี่ย ของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

หมายเหตุ

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม

Treatment 2 = 1 % ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

Treatment 3 = 2 % ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

Treatment 4 = 3 % ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

Treatment 5 = 4 % ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

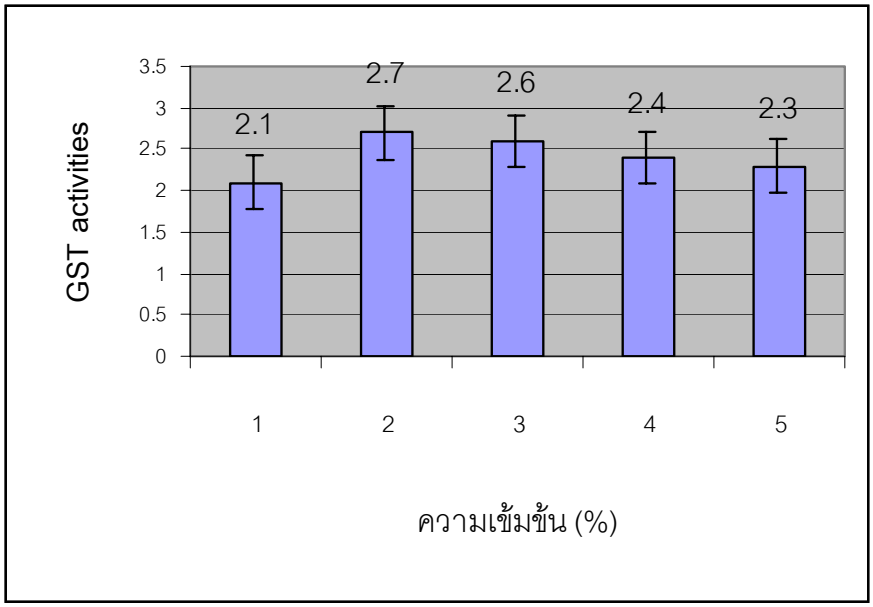
ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยของระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า (%)	ระดับเอนไซม์ GST เฉลี่ย (n mol conjugated product / mg protein / ml) [1, 2, 3]
0.0	2.10 ± 0.32^{a}
1.0	2.70 ± 1.53^{a}
2.0	2.60 ± 2.60^{a}
3.0	2.40 ± 0.26^{a}
4.0	2.30 ± 2.86^{a}

[1] ปริมาณเอนไซม์เฉลี่ยวัดจากหนอนกระทู้ผักที่ได้รับการทดสอบ 5 ระดับความเข้มข้น ๆ ละ 3 ซ้ำ ในหนอนที่ยังมีชีวิต

[2] ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ภายในแนวตั้งเดียวกันจะไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P > 0.05$)

[3] ใช้ phosphate buffer pH 7.5 (ประกอบด้วย KH_2PO_4, 1mM EDTA และ 10 mM GSH reduce form) และใช้ DCNB เป็น substrate วัด glutathione-s-transferase ที่ช่วงแสง 340 nm



ภาพที่ 34 ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสเฉลี่ยของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

หมายเหตุ

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม

Treatment 2 = 1 % ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

Treatment 3 = 2 % ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

Treatment 4 = 3 % ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

Treatment 5 = 4 % ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

3.<u>ระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนกระทู้ผัก หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกวที่เวลา 24 ชั่วโมง</u>

ระดับเอนไซม์ esterase product ของหนอนกระทู้ผักที่ได้จากการคำนวนโดยวิธี PNPA assay ของ Mackness และคณะ (1983) หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกว ซึ่งประกอบด้วย กลุ่มควบคุม (กลุ่มทดลองที่ผสมเอทานอลกับน้ำ) 1, 2, 3, และ 4 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 18.95 $\pm$ 2.04, 15.99 $\pm$ 0.68, 11.74 $\pm$ 0.38, 10.32 $\pm$ 0.26, 9.81 $\pm$ 0.55 n mol product / min / mg protein ตามลำดับ (ตารางที่ 7 ภาพที่ 35) และเมื่อทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณเอนไซม์ esterase product ของหนอนกระทู้ผัก ในแต่ละความเข้มข้นด้วยสถิติวิเคราะห์ Duncan ' s New Multiple Range Test พบว่าปริมาณ esterase product มีแนวโน้มลดลงในทุกกลุ่มทดลอง โดยที่ระดับความเข้มข้น 0, 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม และเมื่อทดสอบทางสถิติวิเคราะห์โดยใช้ Linear regression พบว่าปริมาณเอนไซม์ esterase product ในแต่ละระดับความเข้มข้นมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกัน โดยให้ค่าสมการ regression Y = 18.152 - 2.395 x ค่า correlation coefficient (r) = - 0.957 และมีค่า coefficient determination (r^2) = 0.9158

ระดับเอนไซม์ glutathione-s-transferase product ของหนอนกระทู้ผัก ที่ได้จากการคำนวนโดยวิธี DCNB assay ของ Booth และคณะ (1961) หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกว ซึ่งประกอบด้วย กลุ่มควบคุม (กลุ่มทดลองที่ผสมเอทานอลกับน้ำ) 1, 2, 3, และ 4 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 1.80 $\pm$ 0.15, 2.10 $\pm$ 0.40, 2.00 $\pm$ 0.51, 1.90 $\pm$ 0.17, 1.70 $\pm$ 0.20 n mol / product / min / mg protein (ตารางที่ 8 ภาพที่ 36) ตามลำดับ และเมื่อทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณเอนไซม์ glutathione-s-transferase product ของหนอนกระทู้ผัก ในแต่ละความเข้มข้นด้วยสถิติวิเคราะห์ Duncan ' s New Multiple Range Test แล้วพบว่าปริมาณ glutathione-s-transferase product มีแนวโน้มลดลงในทุกกลุ่มทดลอง โดยที่ทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และเมื่อทดสอบด้วยสถิติวิเคราะห์ Linear regression พบว่าปริมาณเอนไซม์ glutathione-s-transferase product กับแต่ละระดับความเข้มข้นมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกัน โดยให้ค่าสมการ regression Y = -0.40 + 19.80 x ค่า correlation coefficient (r) = -0.40 และมีค่า coefficient determination (r^2) = 0.16 ตามลำดับ

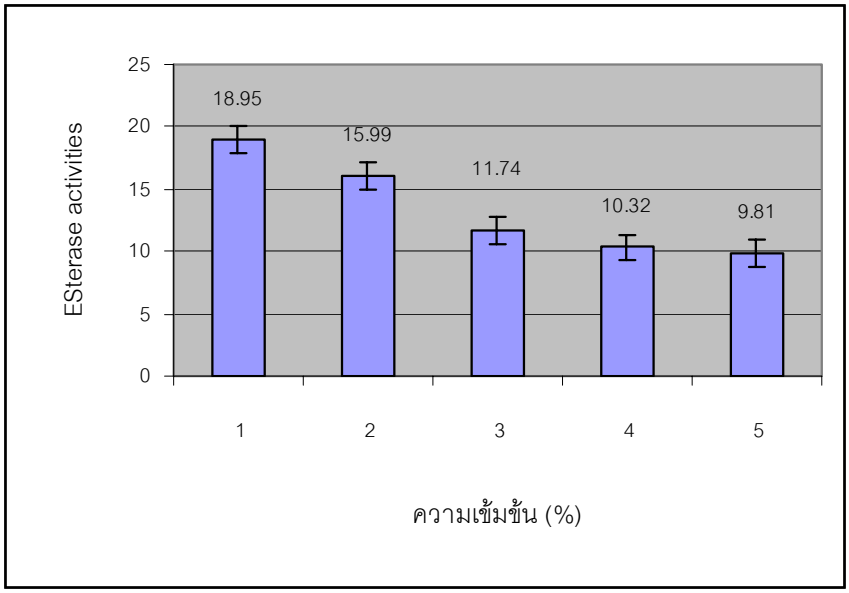
ตารางที่ 7 ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว(%)	ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเฉลี่ย (nM paranitrophenol / mg protein / ml) [1, 2, 3]
0.0	18.95 ± 2.04^{a}
1.0	15.99 ± 0.68^{a}
2.0	11.74 ± 0.38^{a}
3.0	10.32 ± 0.26^{b}
4.0	9.81 ± 0.55^{c}

[1] ปริมาณเอนไซม์เฉลี่ยวัดจากหนอนกระทู้ผักที่ได้รับการทดสอบ 5 ระดับความเข้มข้น ๆ ละ 3 ซ้ำ ในหนอนที่ยังมีชีวิต

[2] ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ภายในแนวตั้งเดียวกันจะไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P > 0.05$)

[3] ใช้ phosphate buffer pH 7.5 (ประกอบด้วย KH_2PO_4, 1mM EDTA และ 10 mM GSH reduce form) และใช้ PNPA เป็น substrate วัด esterase ที่ช่วงแสง 400 nm



ภาพที่ 35 ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเฉลี่ยของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกว ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

หมายเหตุ

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม

Treatment 2 = 1 % ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 3 = 2 % ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 4 = 3 % ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 5 = 4 % ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

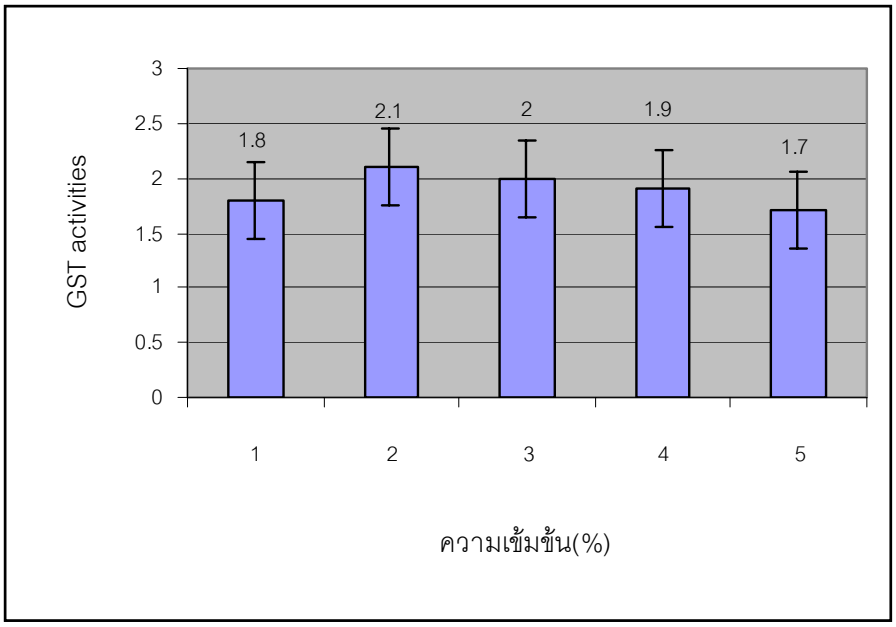
ตารางที่ 8 ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว (%)	ระดับเอนไซม์ GST เฉลี่ย (n mol conjugated product / mg protein / ml) [1, 2, 3]
0.0	1.80 ± 0.15 [a]
1.0	2.10 ± 0.40 [a]
2.0	2.00 ± 0.51 [a]
3.0	1.90 ± 0.17 [a]
4.0	1.70 ± 0.20 [a]

[1] ปริมาณเอนไซม์เฉลี่ยวัดจากหนอนกระทู้ผักที่ได้รับการทดสอบ 5 ระดับความเข้มข้น ๆ ละ 3 ซ้ำ ในหนอนที่ยังมีชีวิต

[2] ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ภายในแนวตั้งเดียวกันจะไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P > 0.05$)

[3] ใช้ phosphate buffer pH 7.5 (ประกอบด้วย KH_2PO_4, 1mM EDTA และ 10 mM GSH reduce form) และใช้ DCNB เป็น substrate วัด glutathione-s-transferase ที่ช่วงแสง 340 nm



ภาพที่ 36 ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสเฉลี่ยของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

หมายเหตุ

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม

Treatment 2 = 1 % ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 3 = 2 % ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 4 = 3 % ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 5 = 4 % ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

4.<u>ระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนกระทู้ผัก หลังจากได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนูที่เวลา 24 ชั่วโมง</u>

ระดับเอนไซม์ esterase product ของหนอนกระทู้ผักที่ได้จากการคำนวนโดยวิธี PNPA assay ของ Mackness และคณะ (1983) หลังจากได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนู ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มควบคุม (กลุ่มทดลองที่ผสมน้ำ) 2, 4, 6, และ 8 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 22.99 $\pm$ 2.39, 21.48 $\pm$ 2.94, 25.44 $\pm$ 0.57, 26.34 $\pm$ 2.43, 28.77 $\pm$ 1.89 n mol product / min / mg protein ตามลำดับ (ตารางที่ 9 ภาพที่ 37) และเมื่อทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณเอนไซม์ esterase product ของหนอนกระทู้ผัก ในแต่ละความเข้มข้นด้วยสถิติวิเคราะห์ Duncan ' s New Multiple Range Test แล้วพบว่าปริมาณ esterase product มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกกลุ่มทดลอง โดยที่ระดับความเข้มข้น 0, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม และเมื่อทดสอบทางสถิติวิเคราะห์โดยใช้ Linear regression พบว่าปริมาณเอนไซม์ esterase product ในแต่ละระดับความเข้มข้นมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกัน โดยให้ค่าสมการ regression Y = 0.821 + 21.72 x ค่า correlation coefficient (r) = 0.909 และมีค่า coefficient determination (r^2) = 0.8262

ระดับเอนไซม์ glutathione-s-transferase product ของหนอนกระทู้ผัก ที่ได้จากการคำนวนโดยวิธี DCNB assay ของ Booth และคณะ (1961) หลังจากได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนู ซึ่งประกอบด้วย กลุ่มควบคุม (กลุ่มทดลองที่ผสมน้ำ) 2, 4, 6, และ 8 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 1.70 $\pm$ 0.57, 1.40 $\pm$ 0.23, 1.20 $\pm$ 0.70, 1.40 $\pm$ 0.55, 1.50 $\pm$ 0.30 n mol / product / min / mg protein (ตารางที่ 10 ภาพที่ 38) ตามลำดับ และเมื่อทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณเอนไซม์ glutathione-s-transferase product ของหนอนกระทู้ผัก ในแต่ละความเข้มข้นด้วยสถิติวิเคราะห์ Duncan ' s New Multiple Range Test แล้วพบว่าปริมาณ glutathione-s-transferase product มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกกลุ่มการทดลอง โดยที่ทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และเมื่อทดสอบด้วยสถิติวิเคราะห์ Linear regression พบว่าปริมาณเอนไซม์ glutathione-s-transferase product กับแต่ละระดับความเข้มข้นมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกัน โดยให้ค่าสมการ regression Y = 0.45 + 13.60 x ค่า correlation coefficient (r) = 0.443 และมีค่า coefficient determination (r2) = 0.196 ตามลำดับ

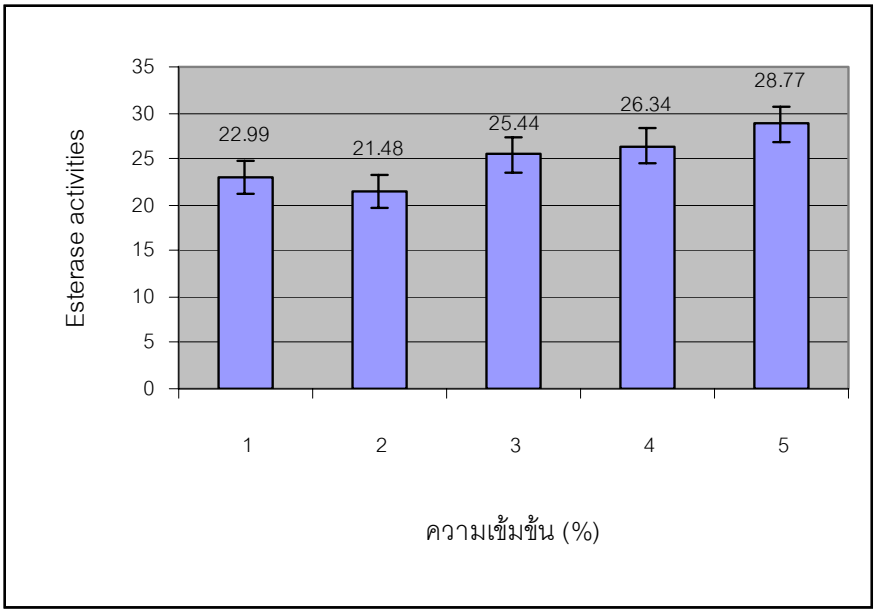
ตารางที่ 9 ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนูที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกขี้หนู (%)	ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเฉลี่ย (nM paranitrophenol / mg protein / ml) [1, 2, 3]
0.0	22.99 ± 2.39 [a]
2.0	21.48 ± 2.94 [ab]
4.0	25.44 ± 0.57 [abc]
6.0	26.34 ± 2.43 [bc]
8.0	28.77 ± 1.89 [c]

[1] ปริมาณเอนไซม์เฉลี่ยวัดจากหนอนกระทู้ผักที่ได้รับการทดสอบ 5 ระดับความเข้มข้น ๆ ละ 3 ซ้ำ ในหนอนที่ยังมีชีวิต

[2] ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ภายในแนวตั้งเดียวกันจะไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P > 0.05$)

[3] ใช้ phosphate buffer pH 7.5 (ประกอบด้วย KH_2PO_4, 1mM EDTA และ 10 mM GSH reduce form) และใช้ PNPA เป็น substrate วัด esterase ที่ช่วงแสง 400 nm



ภาพที่ 37 ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเฉลี่ย ของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนู ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

หมายเหตุ

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม

Treatment 2 = 2 % ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

Treatment 3 = 4 % ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

Treatment 4 = 6 % ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

Treatment 5 = 8 % ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

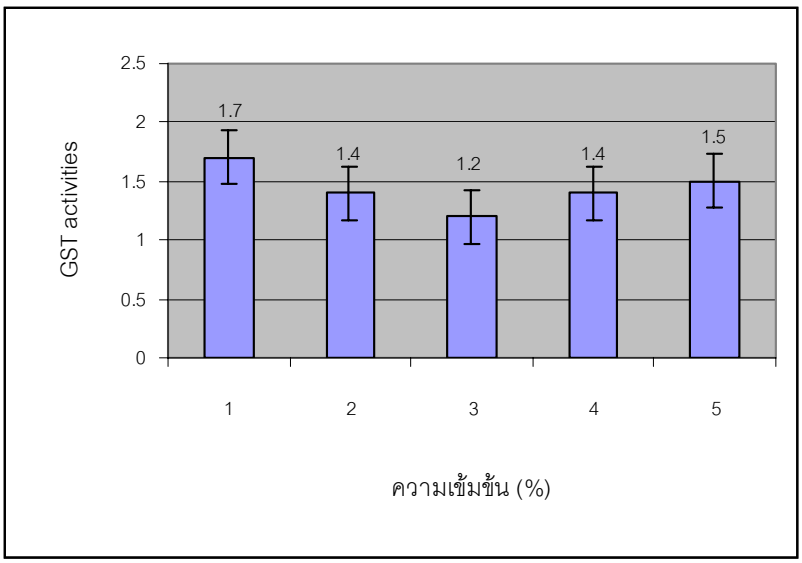
ตารางที่ 10 ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนูที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกขี้หนู (%)	ระดับเอนไซม์ GST เฉลี่ย (n mol conjugated product / mg protein / ml) [1, 2, 3]
0.0	1.70 ± 0.40 [a]
2.0	1.40 ± 0.17 [a]
4.0	1.20 ± 0.05 [a]
6.0	1.40 ± 0.42 [a]
8.0	1.50 ± 0.23 [a]

[1] ปริมาณเอนไซม์เฉลี่ยวัดจากหนอนกระทู้ผักที่ได้รับการทดสอบ 5 ระดับความเข้มข้น ๆ ละ 3 ซ้ำ ในหนอนที่ยังมีชีวิต

[2] ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ภายในแนวตั้งเดียวกันจะไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P > 0.05$)

[3] ใช้ phosphate buffer pH 7.5 (ประกอบด้วย KH_2PO_4, 1mM EDTA และ 10 mM GSH reduce form) และใช้ DCNB เป็น substrate วัด glutathione-s-transferase ที่ช่วงแสง 340 nm



ภาพที่ 38 ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสเฉลี่ยของหนอนกระทู้ผัก เมื่อได้รับสารสกัด จากพริกขี้หนูที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

หมายเหตุ

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม

Treatment 2 = 1 % ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

Treatment 3 = 2 % ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

Treatment 4 = 3 % ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

Treatment 5 = 4 % ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

ตารางที่ 11 การเปรียบเทียบค่า correlation coefficient (r) และ correlation determination (r^2) ของเอสเทอเรสกับกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสในสารสกัดทั้ง 3 ชนิด

	Correlation coefficient (r)		Coefficient determination (r^2)	
ประเภทสารสกัด	Esterase	GST	Esterase	GST
เมล็ดน้อยหน่า	- 0.850	- 0.066	0.7225	0.0043
เมล็ดมันแกว	- 0.957	-0.400	0.9158	0.1600
พริกขี้หนู	0.909	0.443	0.8262	0.1962

5. <u>การทดสอบสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าต่อการตายของปลาสอด</u>

สารสกัดจากเม็ดน้อยหน่าที่มีแอลกฮอลล์ 95 % เป็นตัวทำละลาย เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพที่มีต่อปลาสอดพบว่า ในแต่ละระดับความเข้มข้นคือ กลุ่มควบคุม, 0.1, 0.2, 0.4, 0.5% w/v ตามลำดับ ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การตายของปลาสอดเท่ากับ 0 $\pm$ 0.00, 20 $\pm$ 10.00, 26.66 $\pm$ 11.54, 56.66 $\pm$ 11.54, 73.33 $\pm$ 11.54 % ตามลำดับ มีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.344 % w/v จากสมการ Y = 1.471 + 141.07 X (ตารางที่ 12 ภาพที่ 39) พฤติกรรมการตายของปลาสอดในช่วงแรกที่ได้รับสารสกัดปลาสอดจะว่ายน้ำเร็วขึ้นมีอาการกระวน กระวายและเริ่มลดความเร็วจนนิ่งและพยายามว่ายขึ้นสู่ผิวน้ำเพื่อหายใจเมื่อเวลาผ่านไปปลาจะเริ่มจมสู่ก้นอ่าง ไม่ตอบโต้เมื่อถูกกระตุ้น และตายในที่สุด

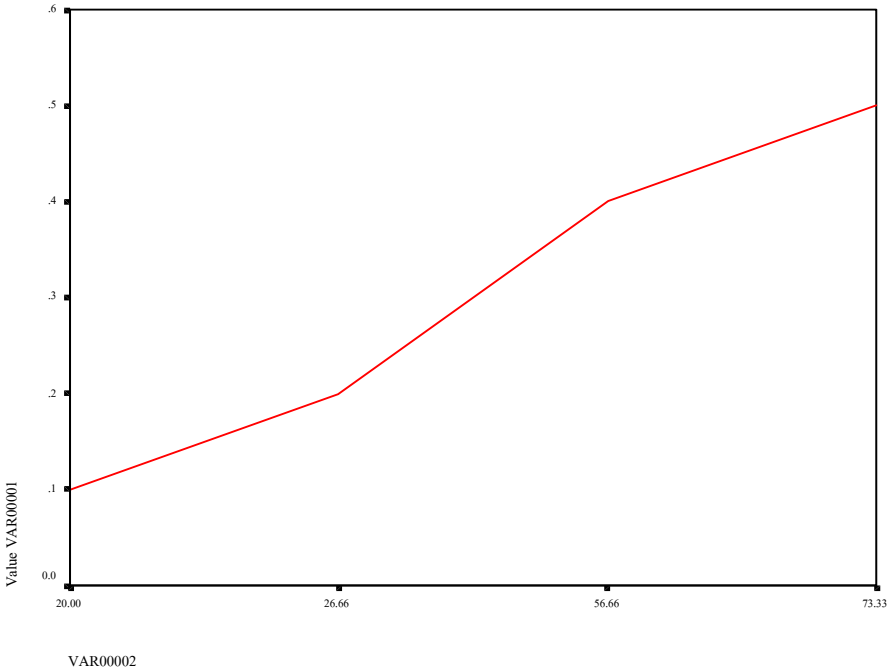
ตารางที่ 12 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน [1] ของปลาสอดเมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า (%) (w / v)	เปอร์เซ็นต์การตายของปลาสอดในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง[2][3]
0.0	0.00 ± 0.00^{a}
0.1	20.00 ± 10.00^{b}
0.2	26.66 ± 11.54^{b}
0.4	56.66 ± 11.54^{c}
0.5	73.33 ± 11.54^{c}

[1] เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆละ 10 ตัว

[2] ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ภายในแนวตั้งเดียวกันจะไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, P > 0.05)

[3] หาค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง โดยใช้วิธี Abbott' s formular



<u>ภาพที่ 39</u> การตายของปลาสอดที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า มีค่าสมการ regression คือ Y = 1.471 + 141.07 X และ LC_{50} = 0.344 % w/v

<u>หมายเหตุ</u> แกน X คือ เปอร์เซ็นต์การตายของปลาสอด (%)
แกน Y คือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า (%)

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม

Treatment 2 = 0.10 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

Treatment 3 = 0.20 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

Treatment 4 = 0.40 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

Treatment 5 = 0.50 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

6. <u>การทดสอบสารสกัดจากเมล็ดมันแกวต่อการตายของปลาสอด</u>

สารสกัดจากเมล็ดมันแกวที่มีแอลกอฮอลล์ 95 % เป็นตัวทำละลาย เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพที่มีต่อปลาสอดพบว่า ในแต่ละระดับความเข้มข้นคือ กลุ่มควบคุม, 0.01, 0.02, 0.04, 0.05% w/v ตามลำดับ ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การตายของปลาสอดเท่ากับ 0 $\pm$ 0.00, 6.66 $\pm$ 11.54, 26.66 $\pm$ 23.09, 40.00 $\pm$ 20.00, 80.00 $\pm$ 0.00 % ตามลำดับ มีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.047 % จากสมการ regression Y = - 4.50 + 1465.18 X (ตารางที่ 13 ภาพที่ 40) พฤติกรรมการตายของปลาสอด ปลามีอาการกระวนกระวาย ผุดหายใจเหนือน้ำบ่อยๆ หลังกระตุก หางงอ การทรงตัวเริ่มเสีย เคลื่อนไหวช้าลง หยุดนิ่ง ทิ้งตัวลงก้นอ่าง บางตัวกระตุกหลังมากจะว่ายพุ่งชนภาชนะ หงายท้องว่ายน้ำ ต่อมาจะลอยตัว และตายในที่สุด

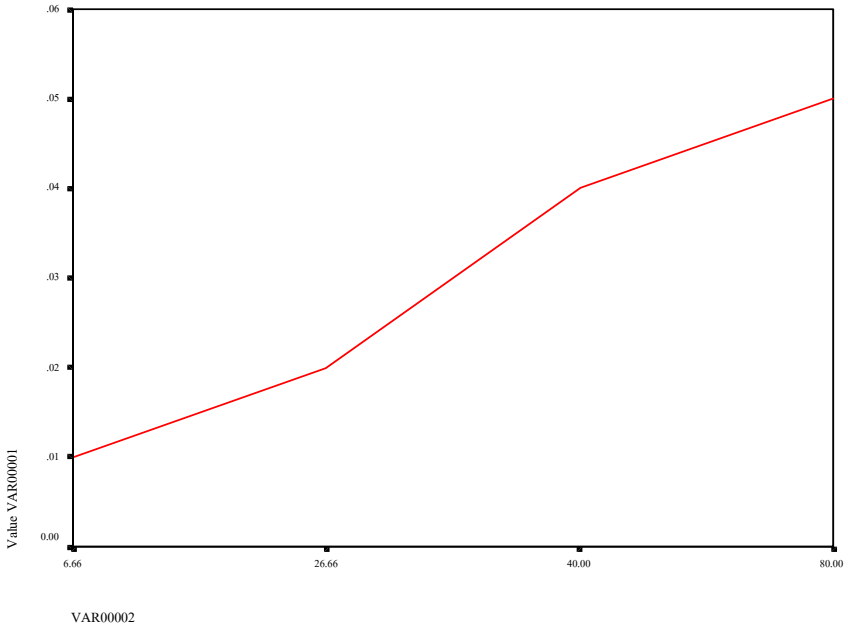
<u>ตารางที่ 13</u> ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน [1] ของปลาสอดเมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว(%) (w / v)	เปอร์เซ็นต์การตายของปลาสอดในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง [2][3]
0.00	0.00 ± 0.00^{a}
0.01	6.66 ± 11.54^{a}
0.02	26.66 ± 23.09^{ab}
0.04	40.00 ± 20.00^{b}
0.05	80.00 ± 0.00^{c}

[1] เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆละ 10 ตัว

[2] ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ภายในแนวตั้งเดียวกันจะไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, P > 0.05)

[3] หาค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง โดยใช้วิธี Abbott' s formula



<u>ภาพที่ 40</u> การตายของปลาสอดที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกว มีค่าสมการ regression คือ Y = - 4.50 + 1465.18 X และ LC_{50} = 0.047 % w/v

<u>หมายเหตุ</u> แกน X คือ เปอร์เซ็นต์การตายของปลาสอด (%)

แกน Y คือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว (%)

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม

Treatment 2 = 0.10 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 3 = 0.20 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 4 = 0.40 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 5 = 0.50 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

7. <u>การทดสอบสารสกัดจากพริกขี้หนูต่อการตายของปลาสอด</u>

สารสกัดจากพริกขี้หนูที่มีแอลกอฮอลล์ 95 % เป็นตัวทำละลาย เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพที่มีต่อปลาสอดพบว่า ในแต่ละระดับความเข้มข้นคือ กลุ่มควบคุม, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 % w/v ตามลำดับ ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การตายของปลาสอดเท่ากับ 0 $\pm$ 0.00, 3.33 $\pm$ 5.77, 20.00 $\pm$ 17.32, 50.00 $\pm$ 26.45, 83.33 $\pm$ 20.81 % ตามลำดับ มีค่า LC_{50} เท่ากับ 3.00 % จากสมการ regression Y = - 11.334 + 21.333 X (ตารางที่ 14 ภาพที่ 41) พฤติกรรมการตายของปลาสอด ปลามีอาการกระวนกระวาย ว่ายน้ำเร็วขึ้น หมุนตัวเป็นวงกลม และลดความเร็วจนหยุดนิ่ง ไม่ตอบโต้เมื่อถูกกระตุ้น ลอยขึ้นเหนือผิวน้ำ และตายในที่สุด

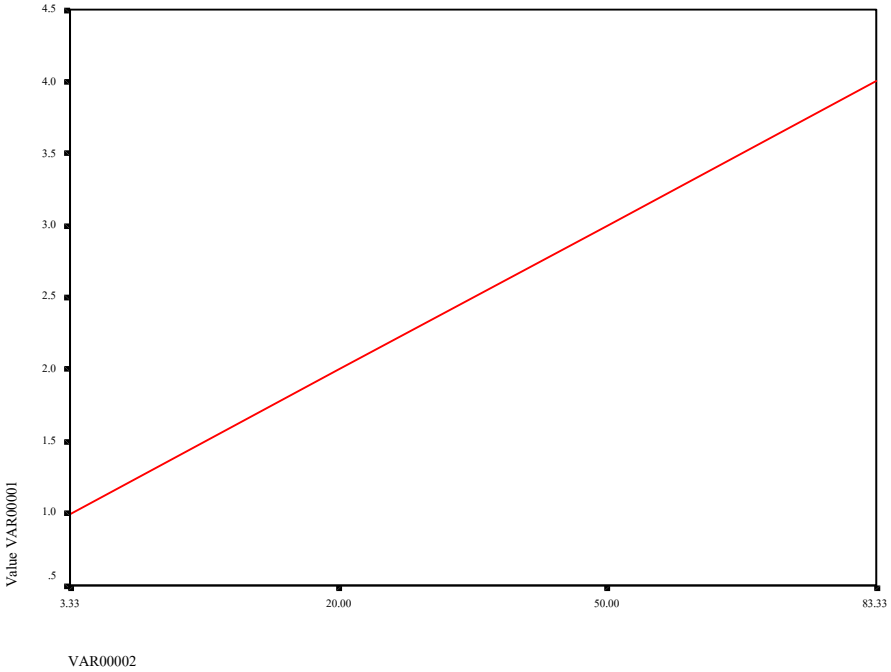
<u>ตารางที่ 14</u> ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน [1] ของปลาสอด เมื่อได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนูที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกขี้หนู (%) (w / v)	เปอร์เซ็นต์การตายของปลาสอดในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง [2][3]
0.00	0.00 ± 0.00^{a}
1.00	3.33 ± 5.77^{a}
2.00	20.00 ± 17.32^{ab}
3.00	50.00 ± 26.45^{b}
4.00	83.33 ± 20.81^{c}

[1] เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆละ 10 ตัว

[2] ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ภายในแนวตั้งเดียวกันจะไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, P > 0.05)

[3] หาค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง โดยใช้วิธี Abbott' s formula



ภาพที่ 41 การตายของปลาสอดที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนู มีค่าสมการ regression คือ Y = - 11.334 + 21.333 X และ LC_{50} = 3.00 % w/v

หมายเหตุ แกน X คือ เปอร์เซ็นต์การตายของปลาสอด (%)

แกน Y คือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกขี้หนู (%)

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม

Treatment 2 = 1.00 % w/v ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

Treatment 3 = 2.00 % w/v ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

Treatment 4 = 3.00 % w/v ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

Treatment 5 = 4.00 % w/v ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

ตารางที่ 15 สมการถดถอย (regression) และค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว พริกขี้หนู และการตายของปลาสอดหลังจากได้รับสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆที่เวลา 24 ชั่วโมง

สารสกัดจากพืช	สมการ regression[1]	LC_{50}[2]	r[3]	r^2[4]
เมล็ดน้อยหน่า	Y = 1.471 + 141.07 X	0.344 %	0.995	0.990
เมล็ดมันแกว	Y = - 4.50 + 1465.18 X	0.047 %	0.954	0.910
พริกขี้หนู	Y = - 11.334 + 21.333 X	3.000 %	0.950	0.902

[1] สมการ regression การตายของปลาสอดต่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยค่า X คือ ความเข้มข้นสารสกัดทั้ง 3 ชนิด (%) และค่า Y คือ การตายของปลาสอด(%)

[2] LC_{50} คือ ระดับความเข้มข้นที่สามารถทำให้ปลาสอดตายเป็นจำนวน 50 (%)

[3] r คือ correlation coefficient ของการเปลี่ยนแปลงการตายต่อระดับความเข้มข้นที่เวลา 24 ชั่วโมง

[4] r^2 คือ coefficient determination ของการเปลี่ยนแปลงการตายต่อระดับความเข้มข้นที่เวลา 24 ชั่วโมง

8. การทดสอบสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าต่อการตายของผึ้งพันธุ์

สารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าที่มีแอลกฮอลล์ 95 % เป็นตัวทำละลาย เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพที่มีต่อผึ้งพันธุ์พบว่า ในแต่ละระดับความเข้มข้นคือ กลุ่มควบคุม, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 % w/v ตามลำดับ ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การตายของผึ้งพันธุ์เท่ากับ 3.33 $\pm$ 0.57, 20.68 $\pm$ 15.80, 41.37 $\pm$ 11.94, 65.51 $\pm$ 15.80, 79.31 $\pm$ 17.91 % ตามลำดับ มีค่า LC_{50} เท่ากับ 1.202 % จากสมการ Y = 2.682 + 39.358 X (ตารางที่ 16 ภาพที่ 42)

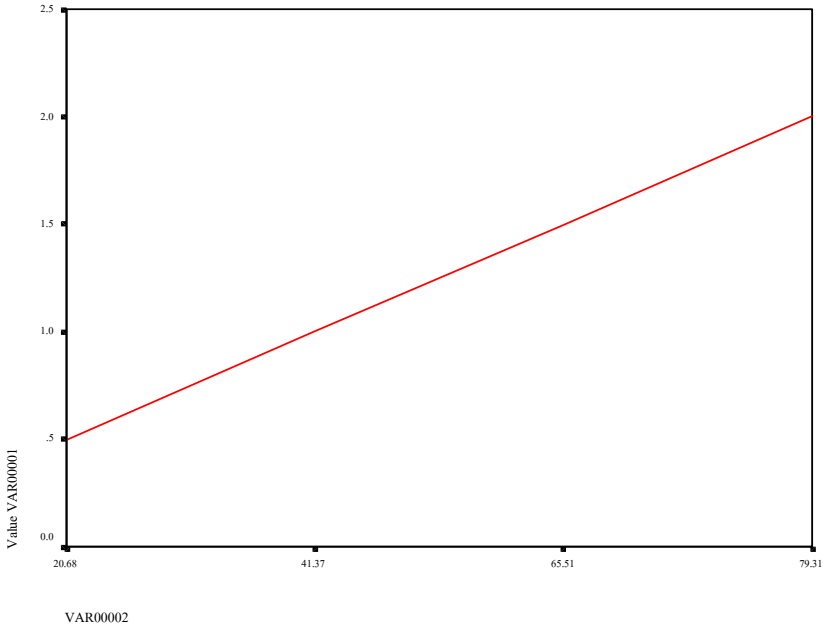
ตารางที่ 16 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน [1] ของผึ้งพันธุ์ เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า (%) (w / v)	เปอร์เซ็นต์การตายของผึ้งพันธุ์ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง[2][3]
0.0	3.33 ± 0.57^{a}
0.5	20.68 ± 15.80^{ab}
1.0	41.37 ± 11.94^{bc}
1.5	65.51 ± 15.80^{cd}
2.0	79.31 ± 17.91^{d}

[1] เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆละ 10 ตัว

[2] ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ภายในแนวตั้งเดียวกันจะไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, P > 0.05)

[3] หาค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง โดยใช้วิธี Abbott' s formula



ภาพที่ 42 การตายของผึ้งพันธุ์ที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า มีค่าสมการ regression คือ Y = 2.682 + 39.358 X และ LC_{50} = 1.202 % w/v

หมายเหตุ แกน X คือ เปอร์เซ็นต์การตายของผึ้งพันธุ์ (%)
แกน Y คือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า (%)

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม

Treatment 2 = 0.5 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

Treatment 3 = 1.0 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

Treatment 4 = 1.5 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

Treatment 5 = 2.0 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

9. <u>การทดสอบสารสกัดจากเมล็ดมันแกวต่อการตายของผึ้งพันธุ์</u>

สารสกัดจากเมล็ดมันแกวที่มีแอลกฮอลล์ 95 % เป็นตัวทำละลาย เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพที่มีต่อผึ้งพันธุ์พบว่า ในแต่ละระดับความเข้มข้นคือ กลุ่มควบคุม, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 % w/v ตามลำดับ ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การตายของผึ้งพันธุ์เท่ากับ 3.33 $\pm$ 0.57, 34.47 $\pm$ 5.97, 41.37 $\pm$ 21.53, 51.72 $\pm$ 5.91, 58.62 $\pm$ 17.91 % ตามลำดับ มีค่า LC_{50} เท่ากับ 2.946 % จากสมการ Y = 12.336 + 12.783 X (ตารางที่ 17 ภาพที่ 43)

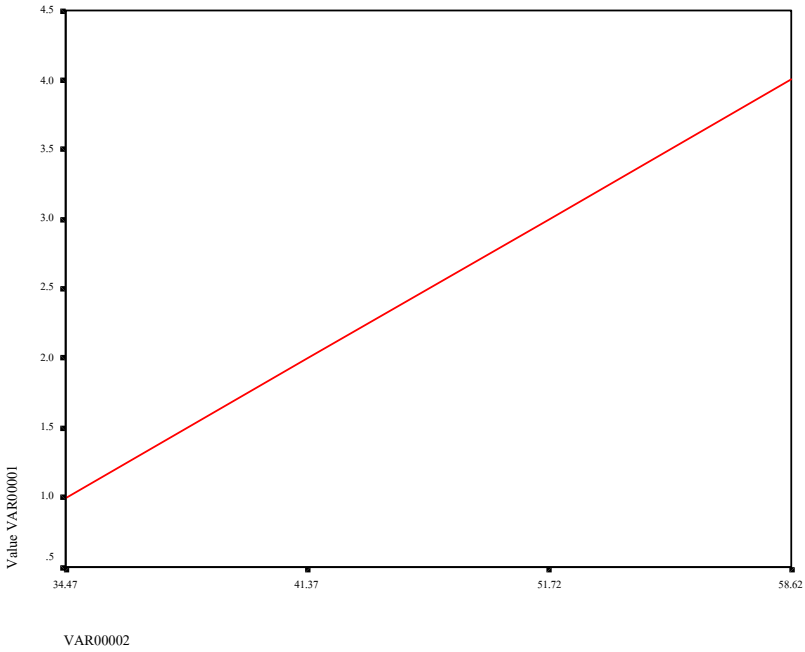
<u>ตารางที่ 17</u> ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (1) ของผึ้งพันธุ์ เมื่อได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว (%) (w / v)	เปอร์เซ็นต์การตายของผึ้งพันธุ์ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง (2)(3)
0.0	3.33 ± 0.57^{a}
1.0	34.47 ± 5.97^{b}
2.0	41.37 ± 21.53^{b}
3.0	51.72 ± 5.97^{b}
4.0	58.62 ± 17.91^{b}

(1) เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆละ 10 ตัว

(2) ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ภายในแนวตั้งเดียวกันจะไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, P > 0.05)

(3) หาค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง โดยใช้วิธี Abbott' s formula



ภาพที่ 43 การตายของผึ้งพันธุ์ที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกว มีค่าสมการ regression คือ Y = 12.336 + 12.783 X และ LC_{50} = 2.946 % w/v

หมายเหตุ แกน X คือ เปอร์เซ็นต์การตายของผึ้งพันธุ์ (%)

แกน Y คือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว (%)

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม

Treatment 2 = 1.0 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 3 = 2.0 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 4 = 3.0 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 5 = 4.0 % w/v ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว

10. <u>การทดสอบสารสกัดจากพริกขี้หนูต่อการตายของผึ้งพันธุ์</u>

สารสกัดจากพริกขี้หนูที่มีแอลกฮอลล์ 95 % เป็นตัวทำละลาย เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพที่มีต่อผึ้งพันธุ์พบว่า ในแต่ละระดับความเข้มข้นคือ กลุ่มควบคุม, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 % w/v ตามลำดับ ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การตายของผึ้งพันธุ์เท่ากับ 0.00 ± 0.00, 20.00 ± 17.32, 33.33 ± 15.27, 43.33 ± 15.27, 60.00 ± 20.00 % ตามลำดับ มีค่า LC_{50} เท่ากับ 6.605 % จากสมการ $Y = 2.666 + 7.166 X$ (ตารางที่ 18 ภาพที่ 44)

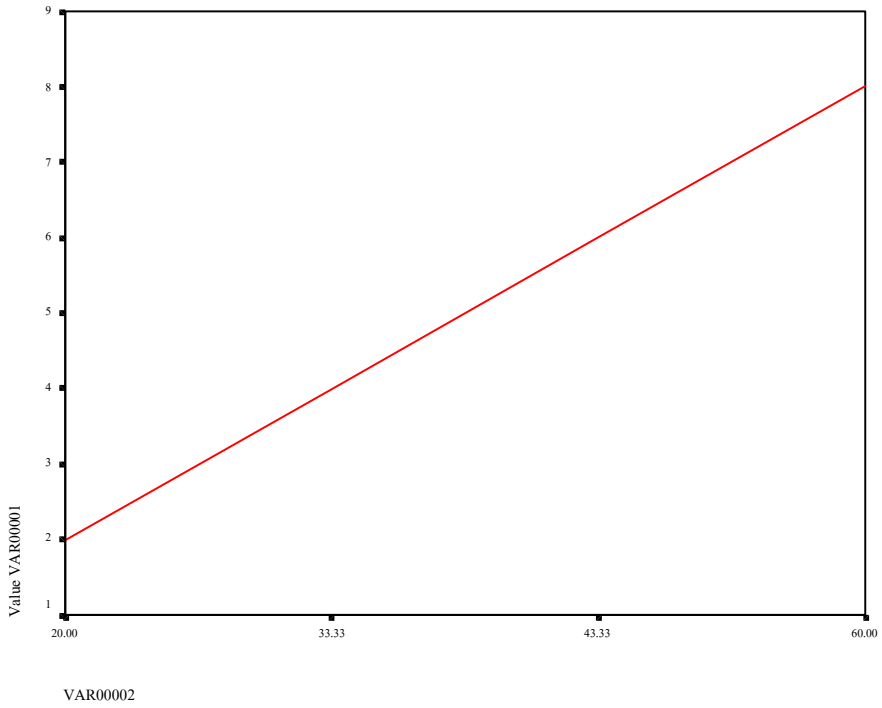
<u>ตารางที่ 18</u> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน [1] ของผึ้งพันธุ์ เมื่อได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนูที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกขี้หนู (%) (w / v)	เปอร์เซ็นต์การตายของผึ้งพันธุ์ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง [2][3]
0.0	0.00 ± 0.00^{a}
2.0	20.00 ± 17.32^{ab}
4.0	33.33 ± 15.27^{bc}
6.0	43.33 ± 15.27^{bc}
8.0	60.00 ± 20.00^{d}

[1] เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆละ 10 ตัว

[2] ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ภายในแนวตั้งเดียวกันจะไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P > 0.05$)

[3] หาค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง โดยใช้วิธี Abbott' s formula



ภาพที่ 44 การตายของผึ้งพันธุ์ที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนู มีค่าสมการ regression คือ Y = 2.666 + 7.166 X และ LC_{50} = 6.605 % w/v

หมายเหตุ แกน X คือ เปอร์เซ็นต์การตายของผึ้งพันธุ์ (%)
แกน Y คือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกขี้หนู (%)

Treatment 1 = กลุ่มควบคุม
Treatment 2 = 2.0 % w/v ของสารสกัดจากพริกขี้หนู
Treatment 3 = 4.0 % w/v ของสารสกัดจากพริกขี้หนู
Treatment 4 = 6.0 % w/v ของสารสกัดจากพริกขี้หนู
Treatment 5 = 8.0 % w/v ของสารสกัดจากพริกขี้หนู

ตารางที่ 19 สมการถดถอย (regression) และค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว พริกขี้หนู และการตายของผึ้งพันธุ์หลังจากได้รับสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆที่เวลา 24 ชั่วโมง

สารสกัดจากพืช	สมการ regression[1]	LC_{50}[2]	r[3]	r^2[4]
เมล็ดน้อยหน่า	Y = 2.682 + 39.358 X	1.202 %	0.997	0.994
เมล็ดมันแกว	Y = 12.336 + 12.783 X	2.946 %	0.943	0.888
พริกขี้หนู	Y = 2.666 + 7.166 X	6.605 %	0.994	0.988

[1] สมการ regression การตายของผึ้งพันธุ์ต่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยค่า X คือ ความเข้มข้นสารสกัดทั้ง 3 ชนิด (%)
และค่า Y คือ การตายของผึ้งพันธุ์ (%)

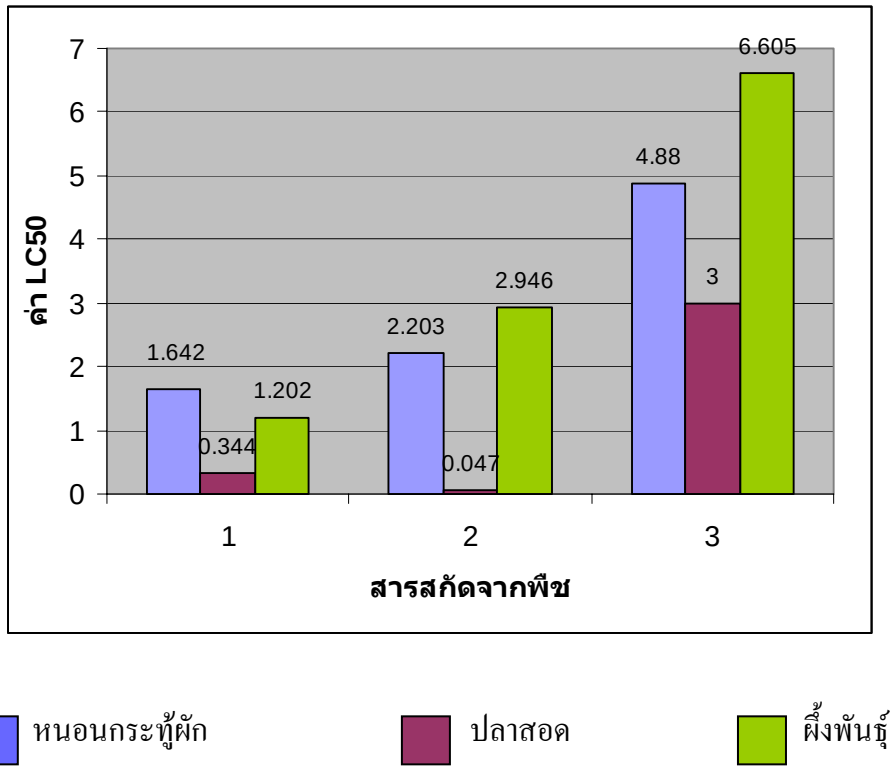
[2] LC_{50} คือ ระดับความเข้มข้นที่สามารถทำให้ผึ้งพันธุ์ตายเป็นจำนวน 50 (%)

[3] r คือ correlation coefficient ของการเปลี่ยนแปลงการตายต่อระดับความเข้มข้นที่เวลา 24 ชั่วโมง

[4] r^2 คือ coefficient determination ของการเปลี่ยนแปลงการตายต่อระดับความเข้มข้นที่เวลา 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 20 เปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนูที่สามารถทำให้หนอนกระทู้ผัก ปลาสอด และผึ้งพันธุ์ตายเป็นจำนวน 50 % (LC_{50})

สารสกัดจากพืช	ค่า LC_{50} ของหนอนกระทู้ผัก	ค่า LC_{50} ของปลาสอด	ค่า LC_{50} ของผึ้งพันธุ์
เมล็ดน้อยหน่า	1.642 %	0.344 %	1.202 %
เมล็ดมันแกว	2.203 %	0.047 %	2.946 %
พริกขี้หนู	4.880 %	3.000 %	6.605 %



ภาพที่ 45 เปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนูที่สามารถทำให้หนอนกระทู้ผัก ปลาสอด และผึ้งพันธุ์ตายเป็นจำนวน 50 % (LC_{50})

หมายเหตุ

Treatment 1 = สารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า

Treatment 2 = สารสกัดจากเมล็ดมันแกว

Treatment 3 = สารสกัดจากพริกขี้หนู

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนู ด้วยวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) โดยมีเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีต่อการตายของหนอนกระทู้ผัก และการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษ 2 ชนิด คือ เอสเทอเรส และ กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส โดยวิธีการจุ่มตัวหนอน (Dipping method) ในเบื้องต้น ได้ศึกษาผลของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดต่อการตาย โดยทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เพื่อทราบระดับความเข้มข้นที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตายได้ 50 เปอร์เซ็นต์ แล้วจึงตรวจวัดปริมาณเอนไซม์ทั้ง เอสเทอเรส และ กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส

ผลการทดลองพบว่าหนอนกระทู้ผักมีเปอร์เซ็นต์การตายสูงขึ้น ตามลำดับความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งใช้ทดสอบที่ระดับ 0, 1, 2, 3 และ 4 % โดยเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผัก และระดับความเข้มข้นของสารที่ใช้มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันในเชิงบวก และได้ค่าสมการถดถอยแบบเส้นตรง (Linear regression) ของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าเป็น $Y = 11.922 + 23.184 X$ และสารสกัดจากเมล็ดมันแกวเป็น $Y = 2.568 + 21.5244 X$ (ตารางที่ 4) ซึ่งความเข้มข้น ณ ระดับ 4 % นี้ทำให้หนอนกระทู้ผักตายอย่างรวดเร็วถึง 100 % สำหรับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า และ 92.85 % สำหรับสารสกัดจากเมล็ดมันแกว เนื่องจากสารสกัดทั้ง 2 ชนิดนี้ มีคุณสมบัติทางเคมี และกายภาพที่เป็นน้ำมัน ซึ่งมีผลไปอุดตันรูหายใจของหนอนกระทู้ผัก จากการสังเกตุพฤติกรรมพบว่าในสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า หนอนจะดิ้นทุรนทุราย พลิกตัวซ้ายขวา แล้วหยุดนิ่ง กล้ามเนื้อกระตุกเป็นครั้งคราว ตัวตายมีลักษณะเป็นจ้ำๆ บริเวณท้อง บางตัวลำตัวงอหงิก เป็นสีดำเหมือนไหม้ ถ่ายเป็นของเหลวสีเหลืองข้น ส่วนที่รอดชีวิต เนื่องจากมีการลอกคราบ และหลังจากลอกคราบหนอนจะมีสีขาวตลอดทั้งตัว ในสารสกัดจากเมล็ดมันแกว หนอนจะเคลื่อนไหวเร็วกว่าปกติ จากนั้นจะช้าลงเรื่อยๆ ตอบสนองต่อสิ่งเร้าน้อยลง จนกระทั่งนิ่ง และตายในที่สุด แสดงว่าสารสกัดทั้ง 2 ชนิด มีผลต่อระบบประสาทของแมลง โดยเฉพาะที่ระบบประสาทส่วนกลาง และจุดกำเนิดของเส้นประสาท ที่อยู่เหนือประสาทส่วนกลางขึ้นไป ส่งผลต่อการขยับตัว และทำลายระบบประสาทของแมลง (Leahey, 1985) ซึ่งสารสกัดจากเมล็ดมันแกวที่นำมาทำการทดลองนั้น มีสารสำคัญ คือ Pachyrrhizin ซึ่งจัดเป็นเป็นสารจำพวก Furanocoumarin ซึ่งมีพิษมากต่อระบบศูนย์ประสาทในสัตว์เลือดอุ่น โดยเฉพาะต่อระบบหายใจ (respiratory system) และเมื่อ

ได้รับในขนาดสูง จะมีผลต่อกล้ามเนื้อหัวใจโดยตรงทำให้ชีพจรช้าลง (สุรัติ, 2519) ซึ่งกลไกอย่างเดียวกันนี้อาจจะพบในสัตว์เลือดเย็นเช่นแมลงได้ (Visetson *et.al.* 2004) จากการทดลองสารสกัดของเมล็ดมันแกวและสาบเสือในหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) ก็พบว่าแมลงจะแสดงอาการออกมาคล้ายคลึงกับหนูทดลองเช่นกัน (Visetson *et al.* 2005)

สำหรับสารสกัดจากพริกขี้หนูต่อหนอนกระทู้ผัก ทำให้หนอนกระทู้ผักมีอัตราการตายสูงขึ้นตามระดับความเข้มข้นคล้ายกับสารสกัด 2 ชนิดแรกที่กล่าวมาแล้ว แต่ละระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกขี้หนู ที่ใช้ทดสอบ คือ 0, 2, 4, 6, 8 % ตามลำดับ โดยที่เปอร์เซ็นต์การตาย และระดับความเข้มข้นมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันในเชิงบวก และได้ค่าสมการถดถอยแบบเส้นตรง (Linear regression) เป็น Y = 1.996 + 9.8385 X (ตารางที่ 4) พบว่าความเข้มข้นที่ 8 % ทำให้หนอนกระทู้ผักตายสูงสุด 82.85 % หนอนที่ได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนู เมื่อแรกจะนิ่งไม่เคลื่อนไหวเหมือนตาย เมื่อผ่านไปประมาณ 30 นาที หนอนเริ่มเคลื่อนไหวเป็นปกติ จากนั้นจะเคลื่อนไหวช้าลง พลิกตัวไปมาคล้ายไม่มีแรง และตายในลักษณะลำตัวหดสั้นแล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลไหม้ ซึ่งสารสกัดจากพริกขี้หนูมีสารสำคัญ คือ Capsaicin ซึ่งมีฤทธิ์ทำให้เกิดการระคายเคือง พบว่า Capsaicin 30 % ในน้ำมัน เมื่อใช้ทาผิวหนังคน ทำให้ผิวหนังไหม้หลังการทา 5 นาที ตามด้วยเลือดคั่ง อุณหภูมิเพิ่มขึ้น 2.1 องศาเซลเซียส ระยะเวลาที่อุณหภูมิเปลี่ยนแปลงนาน 12 ชั่วโมง (เสริมศิริ , 2536)

อย่างไรก็ตามพบว่าการตอบสนองของสิ่งมีชีวิต ต่อสารสกัดทั้ง 3 ชนิด จะไม่ขึ้นอยู่กับสารสำคัญเพียงชนิดเดียว แต่ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานร่วมกันในสารประกอบของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ซึ่งการทดลองนี้มีประโยชน์ในด้านการรักษาสภาพของระบบนิเวศ และสิ่งแวดล้อม เพราะเป็นการลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์ เนื่องจากแมลงที่ได้รับสารสังเคราะห์อาจมีการสร้างความต้านทาน โดยการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษที่สิ่งมีชีวิตเหล่านั้นสร้างขึ้น (สุรพล, 2536) จึงทำให้ต้องใช้สารสังเคราะห์เพิ่มมากขึ้น แต่จำนวนของแมลงเหล่านั้นกลับเพิ่มขึ้นตามด้วยเช่นกัน เนื่องจากแมลงมีกระบวนการในการทำลายพิษ (Detoxification) โดยวิธีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของยีนบนโครโมโซมในร่างกาย ซึ่งมีเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการขจัดสารพิษให้ออกจากร่างกาย (Dauterman and Hodgson, 1978) ดังนั้นการศึกษาสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษในหนอนกระทู้ผักจึงมีประโยชน์ในแง่การควบคุมกำจัดแมลงศัตรูผลผลิตทางการเกษตร โดยชีววิธีอีกทางหนึ่ง

การศึกษาระดับเอนไซม์ทำลายพิษ 2 ชนิด คือ เอสเทอเรส และ กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ในหนอนกระทู้ผัก หลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนู ที่เวลา 24 ชั่วโมง พร้อมทั้งชุดควบคุม โดยนำหนอนกระทู้ผักที่รอดชีวิตจากการศึกษามาทำการทดลองวัดระดับเอนไซม์

จากการศึกษาระดับเอนไซม์เอสเทอเรส ซึ่งเป็นเอนไซม์ทำลายพิษชนิดหนึ่งที่อยู่ในขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระยะที่ 1 (phase I) ซึ่งเป็นกลไกการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสารพิษ ให้มีฤทธิ์รุนแรงขึ้น หรือทำให้สารพิษหมดฤทธิ์ โดยเอสเทอเรสจะทำหน้าที่ Hydrolyzed สารในกลุ่ม Ester ให้กลายเป็นสารพิษตัวใหม่ที่เป็นกรด และเป็นแอลกฮอลล์ (ชัยวัฒน์ , 2539) จากผลการทดลองพบว่าเมื่อหนอนกระทู้ผักได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า และเมล็ดมันแกว นาน 24 ชั่วโมง ปริมาณของเอสเทอเรสจะลดลงโดยเฉลี่ย 3.08 และ 2.28 เท่า ตามลำดับ เมื่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดทั้ง 2 ชนิดสูงขึ้น (ตารางที่ 5 และ 7) เมื่อคำนวนค่า correlation coefficient (r) และค่า coefficient determination (r^2) ของเมล็ดน้อยหน่ามีค่าเท่ากับ – 0.850 และ 0.7225 ตามลำดับ (ตารางที่ 11) ส่วนค่า correlation coefficient (r) และค่า coefficient determination (r^2) ของเมล็ดมันแกวมีค่าเท่ากับ – 0.957 และ 0.9158 ตามลำดับ (ตารางที่ 11) ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ในแนวเส้นตรงเดียวกัน แต่มีการตอบสนองที่แปรผกผันต่อกัน กล่าวคือ ถ้าระดับความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้น จะทำให้ระดับเอนไซม์มีปริมาณลดลงทั้ง 2 สาร ซึ่งคล้ายคลึงกับการทดลองของสุรพล และเรวดี (2542) ที่พบว่าสารสกัดตะไคร้หอมความเข้มข้น 0.1 % ทำให้เอนไซม์ cholinesterase และ esterase มีปฏิกิริยาลดลงจากชุดควบคุม และสอดคล้องกับการทดลองของ Yu (1984) พบว่าสารสกัดจากพืชหลายชนิดจะมีผลไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษ ทำให้สิ่งมีชีวิตแสดงค่าของปฏิกิริยาเอนไซม์ทำลายพิษที่ต่ำกว่าปกติ

สำหรับสารสกัดจากพริกขี้หนูพบว่าหนอนกระทู้ผักจะมีปริมาณของเอสเทอเรสเพิ่มขึ้น โดยเฉลี่ย 2.45 เท่า เมื่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกขี้หนูเพิ่มสูงขึ้น เมื่อคำนวนค่า correlation coefficient (r) และค่า coefficient determination (r^2) ของพริกขี้หนูมีค่าเท่ากับ 0.909 และ 0.8262 ตามลำดับ (ตารางที่ 11) แสดงว่ามีความสัมพันธ์ในแนวเส้นตรงเดียวกัน และมีการตอบสนองไปในทิศทางเดียวกัน คือ ถ้าระดับความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้น จะทำให้ระดับเอนไซม์มีปริมาณเพิ่มขึ้น

การที่ระดับ esterase product เพิ่มสูงขึ้นตามระดับความเข้มข้น แสดงว่าร่างกายเกิดกลไกเหนี่ยวนำให้สร้างเอนไซม์เอสเทอเรสออกมา เพื่อเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสารพิษให้มีพิษน้อยลง เมื่อได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนูที่ปริมาณสูงขึ้น ซึ่งจากการทดลองของ (มนัญญา, 2539) พบว่า ระดับเอสเทอเรสของหนอนใยผักมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มสูงขึ้น ตามความเข้มข้นของสารสกัดจากใบสาบเสือที่ใช้ทดสอบ สอดคล้องกับรายงานการศึกษาว่า หนอนใยผักมีการสร้างเอนไซม์เอสเทอเรสเพิ่มขึ้น เมื่อได้รับสารเคมีในกลุ่ม Pyrethroid และ Organophosphate (Yu และ Nguyen, 1992)

เมื่อศึกษาการทำงานของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาในระยะที่ 2 (phase II) ที่เป็นระยะที่เกี่ยวกับการ Coupling หรือจับกับสารที่เป็น Metabolize ของ phase I ทำให้สารพิษเกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบภายในโมเลกุล และมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้มากขึ้น ซึ่งปฏิกิริยาในระยะที่ 2 นี้ มีเอนไซม์ และปฏิกิริยาต่างๆหลายชนิด จากผลการทดลองพบว่า หลังจากที่หนอนกระทู้ผักได้รับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า และเมล็ดมันแกวนาน 24 ชั่วโมง ปริมาณของ DCNB conjugated product มีการเปลี่ยนแปลงลดลงเล็กน้อย เมื่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดทั้ง 2 ชนิดเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 6 และ 8) แสดงว่าปริมาณเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสที่เร่งปฏิกิริยาลดลงเช่นกัน เมื่อหาค่า correlation coefficient (r) และค่า coefficient determination (r^2) ของเมล็ดน้อยหน่ามีค่าเท่ากับ – 0.066 และ 0.0043 ตามลำดับ (ตารางที่) และคำนวนค่า correlation coefficient (r) และค่า coefficient determination (r^2) ของเมล็ดมันแกวมีค่าเท่ากับ – 0.400และ 0.160 ตามลำดับ (ตารางที่ 11) แสดงว่าการตอบสนองระหว่างระดับความเข้มข้นของสารสกัดทั้ง 2 ชนิด กับปริมาณเอนไซม์มีความสัมพันธ์ในแนวเส้นตรงเดียวกัน แต่มีการตอบสนองที่แปรผกผันกัน แสดงว่าเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ถูกยับยั้งจากการทำงานจากสารสกัดทั้ง 2 ชนิด ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Yu (1984) ที่พบว่าสารสกัดจากพืชหลายชนิดไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในลักษณะของ Non specific noncompettitive inhibition ซึ่งจะทำให้เอนไซม์เสียคุณสมบัติไปจากเดิม ซึ่งคุณสมบัติของเอนไซม์ใน phase นี้ มักจะทำงานควบคู่กับ phase I ในบางกรณี ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ในกลุ่มนี้ ไม่ว่าจะเพิ่มขึ้นหรือลดลง ย่อมเป็นตัวชี้วัดที่ดีว่า สารสกัดทั้งสอง จะถูก Conjugation ในปริมาณที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับว่าจะมี Derivatives หลงเหลือจาก phase I ในปริมาณมากหรือน้อย และเอนไซม์ในกลุ่มนี้สามารถถูกเหนี่ยวนำได้อย่างรวดเร็วอีกด้วย (Visetson and Milne, 2001)

ส่วนผลการทดลองในสารสกัดจากพริกขี้หนู พบว่าปริมาณของ DCNB conjugated product ในหนอนมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น เมื่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกขี้หนูเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 10) แสดงว่าปริมาณเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสที่เร่งปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น เมื่อหาค่า correlation coefficient (r) และค่า coefficient determination (r^2) ของพริกขี้หนู มีค่าเท่ากับ 0.443 และ 0.196 ตามลำดับ (ตารางที่ 11) แสดงว่าการตอบสนองระหว่างระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกขี้หนูกับปริมาณเอนไซม์มีความสัมพันธ์ในแนวเส้นตรงเดียวกัน และมีการตอบสนองที่แปรตามกันในทิศทางบวก แสดงว่าสารสกัดจากพริกขี้หนูกระตุ้นให้ร่างกายของหนอนกระทู้ผัก เหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยาทำลายสารแปลกปลอม โดยสร้างเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสออกมาเพื่อเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสารพิษให้มีพิษน้อยลง

เมื่อเปรียบเทียบค่าสหสัมพันธ์ correlation coefficient (r) ของเอสเทอเรส และ กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสในสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่ามีค่าเท่ากับ – 0.850, - 0.066 สารสกัดจากเมล็ดมันแกวมีค่าเท่ากับ – 0.957, - 0.400 และสารสกัดจากพริกขี้หนูมีค่าเท่ากับ 0.909, 0.443 ตามลำดับ (ตารางที่ 11) เมื่อเปรียบเทียบค่า coefficient determination (r^2) ของเอสเทอเรส และกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสในสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าเท่ากับ 0.7225, 0.0043 สารสกัดจากเมล็ดมันแกวเท่ากับ 0.9158, 0.160 และสารสกัดจากพริกขี้หนูเท่ากับ 0.8262, 0.196 ตามลำดับ (ตารางที่ 11) แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์เอสเทอเรสมีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด และเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผักมากกว่าเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ซึ่งแมลงแต่ละชนิดจะมีการตอบสนองต่อสารสกัดจากพืชไม่เหมือนกัน ขึ้นอยู่กับโครงสร้างที่แตกต่างกันของสารประกอบในสารสกัดจากพืช และสายพันธุ์ของแมลงด้วย จึงมีผลทำให้การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ทำลายพิษแตกต่างกัน

เมื่อคิดค่าต้นทุนของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด พบว่าเมล็ดน้อยหน่ามีความคุ้มทุนมากที่สุด เนื่องจากเมล็ดน้อยหน่า 1 กิโลกรัม ราคาประมาณ 150 บาท ได้ Crude extract ประมาณ 18.24 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดมันแกว 1 กิโลกรัม ราคาประมาณ 300 บาท ได้ Crude extract ประมาณ 21.72 เปอร์เซ็นต์ พริกขี้หนู 1 กิโลกรัม ราคาประมาณ 60 บาท ได้ Crude extract ประมาณ 8.47 เปอร์เซ็นต์

ผลของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนูต่อสัตว์ที่ไม่ใช่เป้าหมาย (non target species) ซึ่งปลาจัดเป็นดัชนีทางชีวภาพที่สำคัญในการบ่งชี้คุณภาพน้ำ ซึ่งจะได้รับผลกระทบโดยตรง หรือโดยอ้อม เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงปัจจัยทางกายภาพและเคมีในสภาพแวดล้อม (นันทนา, 2539) จากการทดสอบสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าต่อการตายของปลาสอดที่ระดับความเข้มข้นดังนี้ กลุ่มควบคุม, 0.1, 0.2, 0.4, 0.5 % w/v มีค่า LC_{50} จากสมการ regression เท่ากับ 0.344 % (ตารางที่ 15) สารสกัดจากเมล็ดมันแกวต่อการตายของปลาสอดที่ระดับความเข้มข้นดังนี้ กลุ่มควบคุม, 0.01, 0.02, 0.04, 0.05 % w/v มีค่า LC_{50} จากสมการ regression เท่ากับ 0.047 % (ตารางที่ 15) ซึ่งการตายของปลาสอดวัดจากไม่เคลื่อนไหว เมื่อถูกกระตุ้นหลายๆครั้งสาร สกัดจากพริกขี้หนูต่อการตายของปลาสอดที่ระดับความเข้มข้นดังนี้ กลุ่มควบคุม, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 % w/v มีค่า LC_{50} จากสมการ regression เท่ากับ 3.00 % (ตารางที่ 15) เมื่อเปรียบเทียบค่า LC_{50} ระหว่างหนอนกระทู้ผัก และปลาสอด(ตารางที่ 20 ภาพที่ 45) พบว่าสารสกัดทั้ง 3 ชนิดมีผลต่อปลาสอดมากกว่าหนอนกระทู้ผัก อาจเนื่องมาจากปลาต้องว่ายอยู่ในน้ำ และหายใจได้รับสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่ละลายปนอยู่ในน้ำตลอดเวลา ส่วนหนอนได้รับสารสกัดภายในเวลา 5 วินาที อย่างไรก็ตามในทางการเกษตร ความเข้มข้นของสารที่ลงสู่แหล่งน้ำจะเจือจางมาก และสารที่ฉีดพ่นลงในแปลงผักก็มักจะตกค้างอยู่ที่ผิวดินก่อนจะลงสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติ ซึ่งการที่สารสกัดตกค้างบนผิวดิน ความร้อนและสภาพภูมิอากาศก็จะทำลายความเป็นพิษของสาร เนื่องจากสารสกัดทั้ง 3 ชนิดเป็นสารสกัดจากธรรมชาติที่มีอัตราการสลายตัวเร็ว และไม่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม ทำให้ความเข้มข้นของสารที่ลงสู่แหล่งน้ำเจือจางลงมาก จนไม่อาจยืนยันผลของสารสกัดที่เกิดต่อปลา เพราะในแหล่งน้ำยังมีปัจจัยภายนอกอื่นๆที่มีผลต่อการอยู่รอด และการเจริญเติบโตของปลาอยู่หลายปัจจัย เช่น อาหาร ความหนาแน่นของปลา พันธุ์ปลา สภาพภูมิอากาศ และคุณภาพน้ำ เป็นต้น นอกจากนี้ Visetson *et al.* (2005) ยังได้พบว่า น้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อกระบวนการ hydrolysis ของสารสกัดจากพืชหลายชนิดเช่น สาร rotenone จากสารสกัดจากหางไหล สาร salinnadiene จากสารสกัดหัวแห้วหมู และสาร pinine จากสารสกัด ใบสาบเสือ จะถูกกระบวนการ hydrolysis เข้าทำลายไปมากกว่า 80% หลังจากลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติในระยะเวลา 12 ชั่วโมงแรก ดังนั้นสารสกัดจากพริก เมล็ดมันแกว ซึ่งมีสารออกฤทธิ์ capsaisin และ pacchyrhizin อาจมี fragments ของสารที่ปกติพบว่ามี carbohydrate และ amine ที่สามารถถูกทำลายโดยปฏิกิริยา hydrolysis ได้อย่างรวดเร็ว เป็นผลทำให้ปลาสอดรอดพ้นจากการได้รับความเป็นพิษก็เป็นไปได้

ผึ้งเป็นแมลงที่มีประโยชน์อย่างมากมาย โดยที่มนุษย์ได้นำน้ำผึ้งมาเป็นแหล่งให้ความหวานในอาหาร และใช้ไขผึ้งมาทำเป็นเทียนให้แสงสว่าง นอกจากนี้ผึ้งยังเป็นแมลงที่มีคุณค่าต่อมวลมนุษย์และความสมดุลย์ของสภาพแวดล้อมในทางธรรมชาติ คือช่วยเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร เพราะผึ้งเป็นแมลงที่สำคัญซึ่งให้การ ผสมเกสรของพืชเศรษฐกิจมากมายหลายชนิด เช่น ลำไย ลิ้นจี่ ส้ม มะพร้าว มะม่วง กาแฟ ท้อ สตรอเบอรี่ มะม่วงหิมพานต์ ทานตะวัน พืชตระกูลแตง พืชผักที่ต้องการผลิตเมล็ดพันธุ์ ข้าวโพด ฝ้าย ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ฯลฯ ผึ้งจึงเป็นแมลงที่ช่วยผสมเกสรและเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรที่ดีที่สุด นอกจากนี้ยังช่วยให้มีการใช้ยาเคมีกำจัดศัตรูพืชด้วยความระมัดระวังมากขึ้น ทั้งนี้ เพราะว่าผู้ปลูกพืชและผู้เลี้ยงผึ้งมักมีประโยชน์ร่วมกัน โดยผู้ปลูกพืชได้ประโยชน์จากผึ้งในการช่วยผสมเกสรเพื่อเพิ่มผลผลิต ส่วนผู้เลี้ยงผึ้งได้ประโยชน์จากผลิตภัณฑ์จากผึ้ง และต้องใช้สารเคมีด้วยความระมัดระวัง ไม่เช่นนั้นจะส่งผลกระทบไปยังผึ้งซึ่งเป็นแมลงที่มีประโยชน์ทางการเกษตร ในการทดลองครั้งนี้จึงใช้ผึ้งเป็นดัชนีทางชีวภาพซึ่งจะได้รับผลกระทบโดยตรงหรือโดยอ้อมเนื่องจากกาเปลี่ยนแปลงปัจจัยทางกายภาพและเคมีในสภาพแวดล้อม

จากการทดสอบสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าต่อการตายของผึ้งพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้นดังนี้ กลุ่มควบคุม, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 % w/v มีค่า LC_{50} จากสมการ regression เท่ากับ 1.202 % (ตารางที่ 19) และการตายของผึ้งพันธุ์วัดได้จากการไม่ตอบสนองเคลื่อนไหวเมื่อถูกกระตุ้นหลายๆ ครั้งซึ่งเมื่อเปรียบเทียบค่า LC_{50} ที่ทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก และผึ้งพันธุ์ (ตารางที่ 20) พบว่า ค่า LC_{50} ของเมล็ดน้อยหน่ามีผลต่อผึ้งพันธุ์มากกว่าหนอนกระทู้ผัก แต่เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ ทำการฉีดพ่นสารสกัดลงบนตัวผึ้งโดยตรง จึงอาจทำให้ผึ้งมีเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่าในธรรมชาติ ที่เกษตรกรมักฉีดพ่นสารกำจัดศัตรูพืชในบริเวณกว้างขวางดังนั้นโอกาสที่ผึ้งพันธุ์จะได้รับสารกำจัดศัตรูพืชจึงมีลดลงถึงประมาณ 100 เท่า (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2542) อีกทั้งควรทำการฉีดพ่นสารสกัดในเวลาเย็น เนื่องจากผึ้งมักจะออกหาอาหารในเวลาเช้าตรู่จนถึงตอนสายๆ เพื่อลดผลกระทบที่จะเกิดกับผึ้งได้อีกทางหนึ่ง

จากการทดสอบสารสกัดจากเมล็ดมันแกวต่อการตายของผึ้งพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้นดังนี้ กลุ่มควบคุม, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 % w/v มีค่า LC_{50} จากสมการ regression เท่ากับ 2.946 % และสารสกัดจากพริกขี้หนูต่อการตายของผึ้งพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้นดังนี้ กลุ่มควบคุม, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 % w/v มีค่า LC_{50} จากสมการ regression เท่ากับ 6.605 % (ตารางที่ 19) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบค่า LC_{50}

ที่ทดสอบกับหนอนกระทู้ผักและผึ้งพันธุ์ พบว่าค่า LC_{50} ของเมล็ดมันแกว และพริกขี้หนูมีผลต่อหนอนกระทู้ผักมากกว่าผึ้งพันธุ์ (ตารางที่ 20 ภาพที่ 45) ดังนั้นจึงไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์ที่ไม่ใช่เป้าหมาย โดยปกติแล้วบรรดาสารสกัดจากพืชที่มีผลในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช มักมีกลิ่นเฉพาะตัว เช่นสารสกัดจากสะเดา มีกลิ่นคล้ายกระเทียม สารสกัดจากมันแกวมีกลิ่นคล้ายกระดูกเผา สารสกัดจากพริกขี้หนูมีกลิ่นฉุน ซึ่งกลิ่นเหล่านี้จะเป็นตัวไล่แมลงที่บินอยู่ให้หนีออกจากบริเวณที่มีกลิ่นได้อย่างดี ดังนั้นผึ้งซึ่งมีประสาททางการดมกลิ่น (Olfractory nervous systems) ที่ดี จึงมักมีการบินหลบหนีไปได้รวดเร็วกว่าหนอนที่เป็นตัวอ่อนของผีเสื้อที่ต้องใช้ความพยายามหนีที่มากกว่าหรือไม่ก็หยุดการกินไปในทันที ซึ่งกลไกนี้เองที่ทำให้ระดับความเป็นพิษของสารสกัดต่อผึ้งพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองต่ำหรือสูงกว่าในหนอนที่ทำการทดลอง (สุรพล, 2545)

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนูต่อการตาย การเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์กำจัดพิษ 2 ชนิด คือเอสเทอเรส และกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส โดยวิธีการจุ่มตัว (body dipping method) สรุปได้ว่า

สารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนูที่สกัดโดยใช้วิธีซอกท์เลต มีแอลกฮอล์ 95 % เป็นตัวทำละลาย พบว่าเมื่อใช้สารสกัดทั้ง 3 ชนิดเพิ่มขึ้น จะทำให้เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผักเพิ่มขึ้นเช่นกัน และเมล็ดน้อยหน่าให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 1.642 % w/v จากสมการ regression Y = 11.922 + 23.184 x, r = 0.994, r^2 = 0.988 เมล็ดมันแกวให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 2.203 % w/v จากสมการ regression Y = 2.568 + 21.524 x, r = 0.993, r^2 = 0.987 และพริกขี้หนูให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 4.880 % w/v จากสมการ regression Y = 1.996 + 9.8385 x, r = 0.992, r^2 = 0.984. ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง

ผลการศึกษาสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าและเมล็ดมันแกวต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนกระทู้ผักพบว่าระดับเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าและเมล็ดมันแกวเพิ่มขึ้น โดยในสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าพบว่าระดับเอนไซม์เอสเทอเรสลดลง 50.92 % และระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสลดลง 14.81 % ส่วนสกัดจากเมล็ดมันแกวพบว่าระดับเอนไซม์เอสเทอเรสลดลง 48.23 % และระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสลดลง 19.04 % และเมื่อศึกษาสารสกัดจากพริกขี้หนู พบว่าระดับเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกขี้หนูเพิ่มขึ้น โดยระดับเอนไซม์เอสเทอเรสเพิ่มขึ้น 25.33 % และระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสเพิ่มขึ้น 6.66 %

ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดกับสัตว์ที่ไม่ใช่เป้าหมาย คือ ปลาสอด และผึ้งพันธุ์ พบว่าสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เมล็ดมันแกว และพริกขี้หนู ส่งผลต่อการตายของปลาสอดโดยให้ค่า LC50 เท่ากับ 0.344 % w/v, 0.047 % w/v และ 3.00 % w/v ตามลำดับ และสารสกัดทั้ง 3 ชนิด มีผลต่อต่อการตายของผึ้งพันธุ์โดยให้ค่า LC50 เท่ากับ 1.202 % w/v, 2.964 % w/v และ 6.605 % w/v ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากการวิจัยครั้งนี้เป็นการทดลองโดยใช้สารสกัดที่เป็นสารสกัดหยาบ (crude extracts) เพื่อหาประสิทธิภาพรวมของสารสกัด โดยไม่เฉพาะเจาะจง ว่าสารใดเป็นสารออกฤทธิ์ ผู้ที่สนใจจะศึกษาน่าจะนำสารสกัดไปแยกเพื่อศึกษาว่ามีสารใดที่เป็นตัวออกฤทธิ์ที่มีผลทำให้หนอนกระทู้ผักตาย

2. ควรมีการศึกษาระดับเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสในหนอนกระทู้ผักรุ่นต่อๆไปเพื่อศึกษาดูระดับเอนไซม์ว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างไร

3. ควรมีการนำผลการทดลองไปขยายผลในพื้นที่ภายใต้สภาพแวดล้อมตามธรรมชาติ เนื่องจากมีปัจจัยของสภาพแวดล้อมที่จะส่งผลทำให้การทดสอบในห้องปฏิบัติการแตกต่างจากพื้นที่จริงได้ และควรคำนึงถึงการลงทุนและผลที่จะได้รับเพื่อดูความคุ้มทุนในการนำมาใช้จริง

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กิติมา ชลสิทธิ์. 2545. **ความสามารถของสารสกัดพญายอ *(clinacanthus nutans)* ในการยับยั้งการติดเชื้อ NEWCASTLE DISEASE VIRUS (NDV) ในเซลล์เพาะเลี้ยง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 89 น.

คลีนิกเทคโนโลยี . 2546. **เคล็ดลับภูมิปัญญาไทย ชุด สมุนไพรเพื่อการเกษตร ป้องกันและกำจัดศัตรูพืช.** เคพีเอ็ม มีเดียสยาม, นนทบุรี.

โครงการศึกษาวิจัยสมุนไพร. 2524. **สมุนไพร**: อันดับที่ 02. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. น. 103-108.

โครงการหนูรักผักสีเขียวและมูลนิธิโตโยต้าแห่งประเทศไทย. 2541. **มหัศจรรย์ผัก 108**. มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพ 201 น.

ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว, ธีรยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และ ปัญญา เต็มเจริญ. 2539. **หลักการทางพิษวิทยา**. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพ. 228 น.

จันทรา เป็นสุข. 2545. **ผลของการใช้สารสกัดจากพริกขี้หนูต่อความเป็นพิษ และการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสในด้วงงวงข้าวโพด** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ. 103 น.

จริยา เล็กประยูร สุรพล วิเศษสรรค์ และมนัญญา เพียรเจริญ. 2542. ผลของสารสกัดจากสาบเสือ (*Chromolaena odorata* L.) ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ขจัดพิษของหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.). **รายงานผลการวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย การประชุมวิชาการประจำปีโครงการ BRT ครั้งที่ 3. 11-14 ตุลาคม 2542. หาดใหญ่ สงขลา** น.870-873.

เฉลิมเกียรติ โภคาวัฒนา. 2540. **พริก**. เกษตรก้าวหน้า 12.: 15-16

นันทวัน บุณยะประภัศร. 2542. **สมุนไพรพื้นบ้านเล่ม 3**. บริษัทประชาชน จำกัด กรุงเทพฯ. 823 น.

นิพนธ์ ไชยมงคล และราณี วิทโยภาส. 2536. **การผลิตเมล็ดพันธ์พริก การผลิตเมล็ดพันธุ์ผัก**. กองขยายพันธุ์พืช กรมส่งเสริมการเกษตร, กรุงเทพฯ. น. 214-235.

นิจศิริ เรืองรังสี. 2542. **เครื่องเทศ** จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพ น. 103-107

ณรงค์ จึงสมานญาติ. 2539.**การผลิตสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าที่มีฤทธิ์ฆ่าเห็บโค** น.1-18 การอบรมวิชาการสรีรวิทยาพยาธิสรีรวิทยา ครั้งที่ 19, 18-20 เมษายน 2539 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศษสตร์ กรุงเทพฯ.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527. **เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร เล่ม 1**. อมรการพิมพ์, กรุงเทพฯ. น.47-56.

ปัทมา แซ่กิม. 2543. **ผลของสารสกัดจากสาบเสือต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษในหอยเชอรี่**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ. 120 น.

ปิยรัตน์ เธียนมีสุข. **แมลงศัตรูผัก**. เอกสารวิชาการ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 2542. น.32

พิทยา สรวมศิริ. 2529. **พืชเครื่องเทศ.** ภาควิชาพืชสวน, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 242 น.

มนัญญา เพียรเจริญ. 2539. **ผลของสารสกัดจากใบสาบเสือต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ขจัดพิษของหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.).** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพ. 130 น.

ไมตรี สุทธิจิตต์. 2540. **สารพิษรอบตัวเรา.** พิมพ์ครั้งที่ 2. เชียงใหม่. คณะแพทย์ศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เรวดี ชูช่วย. 2541. **ประสิทธิภาพของสารสกัดจากตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus***

Jewitti) และสะเดา *(Azadirachta indica* var. *siamensis* Valeton) กับการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษในเห็บสุนัข (*Rhipcephalus sanguineus* Latreille). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 124 หน้า

วัชราภรณ์ รวมธรรม. 2545. **ผลของสารสกัดจากหัวแห้วหมูต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์เอสเทอเรส และกลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรสในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอรี่** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

วิมล วิเศษสุทธุ์. 2542. **น้อยหน่า** โครงการหนังสือเกษตรชุมชน นาคาอินเตอร์มีเดียร์กรุงเทพฯ.29 น.

สุรัติ วิบูลเจริญ. 2519. **การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและพิษวิทยาของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ. 26 น.

สุธีรา ศรีวิสาร. 2545. **ผลของสารไซเปอร์มิทรินต่อระดับเอสเทอเรสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสและพิษตกค้างในหนอนใยผัก**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ.75 น.

สุรพล วิเศษสรรค์. 2536. **ผลการใช้สารสกัดสะเดาต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ของแมลง**. เอกสารสัมนาเชิงปฏิบัติการการใช้สารสกัดจากพืชทดแทนการใช้สารเคมีภัณฑ์ทาง การเกษตร.

สุรพล วิเศษสรรค์. 2542. **เอกสารประกอบการสอนวิชาพิษวิทยาเบื้องต้น.** ภาควิชาสัตววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 312 น.

สุรพล วิเศษสรรค์. 2544. เอกสาร**ประกอบการสอนวิชากลไกสารพิษในสัตว์.** ภาควิชาสัตววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 718 น.

สุรพล วิเศษสรรค์. 2545. ผลการวิจัยการอบรมการใช้สารธรรมชาติเพื่อทดแทนสารเคมีทางการเกษตร เพื่อลดความเสี่ยงต่อความเป็นพิษของสารเคมีสังเคราะห์ในสังคมเกษตรกรรม **เอกสารวิชาการโครงการพัฒนาวิชาการ** ภาควิชาสัตววิทยา คณะ

วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาศาสตร์เกษตรศาสตร์. 100 น.

สุรพล วิเศษสรรค์. 2545. ผลการวิจัยการประเมินการลดการใช้สารพิษการเกษตร ในประเทศไทย **เอกสารวิชาการ โครงการพัฒนาวิชาการ** ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาศาสตร์เกษตรศาสตร์. 30 น.

สรจักร ศิริบริรักษ์. 2539. **เภสัชโภชนา.** โรงพิมพ์กรุงเทพ, กรุงเทพฯ. น. 79-87.

เสริมศิริ วินิจฉัยกุล. 2534. Capsaicin. **จุลสารข้อมูลสมุนไพร.** มหาวิทยาลัยมหิดล. 9(1) 1-11.

ศุภวรรณ ถาวรชินสมบัติ. 2538. **ประสิทธิภาพการเป็นสารกันหืนของโอลีโอเรซินจากพริก** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

A.G. Gilman, L.S. Goodman, A. Gilman, et.al. **The Pharmacological basis of therapeutic**, 6th ed., Macmillan Publising co. Inc., New York, 1980 p.162.

Bullangpoti, V., S. Visetson, J. Milne and S. Pormbanlualap. 2004. Effects of mangostin from mangosteen peel on toxicity, esterase and glutathione –S- transferase in rice weevils (*Sitophilus oryzae* L.). **The 2nd Asian International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety (SECOTOX 2004).** Organized by Postgraduate Education and Research Program in Chemistry, Prince of Songkla University, September, 26-29, 2004. BP Samila Beach Hotel, Songkla, Thailand.

Bullangpoti, V., S. Visetson, J. Milne and S. Pornbanlualap. 2004. **Effects of Mangosteen's Peels and Rambutan's Seeds on Toxicity, Esterase and Glutathione-S-transferase in Rice Weevil (*Sitophilus oryzae* L.)** Kasetsart J. (Nat. Sci.). 38:84-89.

Bullangpoti, V., J. Penssok. And Visetson.2002. Chilli Extracts (*capsaicum frutescens* L.) For control of corn weevil (*Sitophilus zaemai* Motschulsky) **Agricultural Sci. J**. 33:6

Booth, J., E. Boyland, and P. Sims. 1961. An enzyme from rat liver catalysing Conjugations with glutathione**. Biochem. J**. 79 : 516-524.

Chohen, E. et al. 1977. **Expression of esterase during ontogenesis of the flour beetle *Tribolium castaneum*. (Coeloptera)** . Biochem. Genet.15: 254-264.

Dauterman, W.C. 1994. **Metabolism of toxicants : phase II reaction**, p 113-132. In E.Hodgson and P.E. levi (eds). Introduction to biochemical toxicology Appleton.

Dorelanko, M.K. and M.A. Hollinger. 1995. **CRC Handbook of Toxicology**. CRC Press, Inc. New york, 984 p.

EPPO/CABI (1997) **Quarantine Pests for Europe**. 2nd edition. Edited by Smith IM, McNamara DG, Scott PR, Holderness M. CABI International, Wallingford, UK, 1425 p

Hansson,O.L. et al. 1999. An approach to optimizing the active site in a glutathione transferase by evolution in vitro.**Biochem.J**.344:93-100.

IBPGR Secretariat. 1983. **Genetic Resources of Capsicum International Board for Plant Resources**. AGPG/IBPGR/82/12, Rome. p. 49

IUPAC, **Commission on Nomenclature of Organic Chemistry**. 1993, Blackwell scientific publication, copyright.

Kawinharn Palaharn. **Effects of some plant extracts on the beet army worm, *Spodoptera exigua (* Hubner *)*** Thesis Master of science (Agriculture)Department of Entomologt 1996. Kasertsart, University.

Lampe KF, Fagerstram R. Plant toxicity and dermatitis : **A Manual for Phisician**. Baltimore

: Williams Company 1968 : 22-3.

Laukom, N., Chankaewmance, B. and S. Visetson. 2004. "ECO2FUM" an insecticide alternative againsts some stored product pests in Thailand. **The 2nd Asian International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety (SECOTOX 2004).** Organized by Postgraduate Education and Research Program in Chemistry, Prince of Songkla. University, September, 26-29, 2004. BP Samila Beach Hotel, Songkla, Thailand.

Mackness, M. I., C. H. Walker, D. G. Rowlands, and N. R. Price. 1983. **Esterase activity In homogenates of three strains of the rust red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst)**. Comp. Biochem. Physiol. 74 (1) : 65-68.

Masada, Y., K. Hashimoto, T. Incue and M. Suzuchi. 1971. Analysis of Pungent Principles of Capsicum Annuum by Combine Gas Chromatography and Mass Spectrometry. **J. Food Sci**. 36 : 858 - 860.

Natesan, R.and M.Balasubramauian.1981. **Efficacy of diflubenzuron in the control of tobacco caterpillar *Spodoptera litura* on ground nut.Rev.Appl.Entomol**.Ser. A.69(2) : 106

Neisink, R.J., J.Vries and M.A. Hollinger. 1996. **Toxicology principle and application** CRC Press, Inc. 1284 p.

Patharakorn, T., S. Vajrodava, S. Visetson, and S. Patharakorn. 2004. Study of plant extracts for the control of the golden apple snails (*Pomacea canaliculata* L.). **The 2nd Asian International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety (SECOTOX 2004)**. Organized by Postgraduate Education and Research Program in Chemistry, Prince of Songkla University, September, 26-29, 2004. BP Samila Beach Hotel, Songkla, Thailand.

Published with permission of the **IUPAC by Advanced Chemistry Development**, Inc. www.acdlabs.com.

Purseglove, J.W., E.G. Brown, C.L. Green and S.R.J. Robbin. 1981. **Spices**. Longman Inc., New york. 439 p.

Ramzan, M.and Darshan Singh.1982. **Chemical control of the tobacco caterpillar, *Spodoptera litura* (F.) on cauliflower**. Rev.Appl.Entomol.Ser.A.70 (4) : 264

Rose, H.A. 1985. **The relationship between feeding specialization and host to aldrin Epoxidase activities of midgut homogenates in larval Lepidoptera**. Ecol. Ent. 10 : 45 – 467

Saisongkhroh, B. and S. Visetson. 2004. Toxicity and detoxification enzyme activity of Spodoptera exique L. against anonine from seeds of sweet apple (*Annona squamosa* L.). **The 2nd Asian International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety (SECOTOX 2004).** Organized by Postgraduate Education and Research Program in Chemistry, Prince of Songkla University, September, 26-29, 2004. BP Samila Beach Hotel, Songkla, Thailand.

Schoknechy U. and Otto D.1989. **Enzyme involved in the Metabolism of OrganoPhosphorus, Carbamate and Pyretroid Insecticide**. Chemistry of plant protection 2,Spinder-Verlag Heidelberg.pp.118-42.

Srikhong, P. and S. Visetson. 2004. Effects of selinadiene from nutgrass (*Cyperus rotundus* L.) extracts on toxicity and activity of esterase and glutathione-S-transferase in *Aedes aegypti* L. **The 2nd Asian International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety (SECOTOX 2004).** Organized by Postgraduate Education and

Research Program in Chemistry, Prince of Songkla University, September, 26-29, 2004. BP Samila Beach Hotel, Songkla, Thailand.

Stine, K.E. and T.M. Brown.1996. **Principle of toxicology**. Lewis Publishers. CRC Press Inc, Florida. 272 p.

Vamama, R. and S. Visetson. 2004. Toxicity and egg laying rate of rice moth (*Corcya cephalonica* Stainton) after exposure of selinnadiene from nutgrass (*Cyperus rotundus* L.) and chlorpyrifos. **The 2nd Asian International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety (SECOTOX 2004).** Organized by Postgraduate Education and Research Program in Chemistry, Prince of Songkla University, September, 26-29, 2004. BP Samila Beach Hotel, Songkla, Thailand.

Visetson, S. 2004. **Toxicant Mechanisms in Animal**. Department of biology, Faculty of Science, Kasertsart University. Bangkok.

Visetson. 2001. Effect of Azadirachtin from various Thai neem extracts on some Detoxification Enzyme Activity in Callosobruchus *maculates* F., **20th ASEAN/2nd APRC Seminar on Postharvest Technology**, September 11-14. 2001. Lotus Hotel Pang Suan Kaew, Chang mai Thailand.

Visetson, M. Milne and J. Milne. 2001. **Toxicity 4, 11- Selinnadien – 3 – one from Nut sedge (Cyperus rotundus L.) Tuber extracts to Diamond black moth larvae (Plutella Xylostella L.), Detoxification Mechanism and Toxicity to Non Target Species**. Kasertsart J. Nat. Sci. 35 : 284-292.

Visetson, S. 1991. **Insecticide Resistance Mechanism in the rust red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst).** Ph.d.Thesis. The University of Sydney, Australia. 256 p.

Visetson, S and S. Naknatti. 1996. An Improved Neem extraction method on farms

in Thailand. **International Neem Conference***, Feb. 4-9, 1996*. The University of Queensland, Gatton College, Australia.

Visetson, S., and M. Milne. 2001. **Effects of root extract from derris *(Derris elliptica* Benth) on mortality and detoxification enzyme levels in the diamondback moth larvae (*Plutella xylostella* Linn.)**. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 35: 157-163.

Visetson, S., M. Piansiri, and T. Watanasombat. 2001. The effects of the Siam weed (*Chromolaena odorata*) extracts and the alpinia (*Alpinia galanga* Stuntz) extracts on some detoxification enzymes of the diamondback moths (*Plutella xylostella* L.) **The 5th National Plant Protection Conference: FOOD PRODUCTS FOR THE WORLD.** Thai association, Chemical Businessmen, Plant Protection Association and Association of Entomology and Zoology of Thailand. 21-23 November 2001. Falix River Kew, Kanjanaburi; pp. 55-61.

Visetson, S.,S Naknatti, W. Ruamthum, and J. Milne. 2002 a. Detoxification mechanisms of the golden apple snail (*Pomacea canaliculata* L.) against nut grass (*Cyperus rotundus* L.) extracts containing 4,11-selinnadien-3-one and extract toxicity to some nontarget species. **The 3rd International Conference on Biopesticides (ICOB) " Positioning Biopesticides in Pest Management Systems"** 22-26 April 2002, Renaissance Kuala Lumpur Hotel, Kuala Lumpur, Malaysia.

Visetson, S., W. Purivirojkul, P. Kannasutra, and H. Rose. 2002 b. *In vivo*-insecticide resistance mechanisms in various strains of the rust-red flour beetle (*Tribolium castaneum* Herbst)**1st National Technical Seminar on Postharvest/ Production Technology**, 22-23 August 2002. The Imperial Mae Ping Hotel, Chiangmai. Thailand.

Visetson, S., Milne, J. Milne, M., and Kanasutar, P. 2003. Synergistic effects of sesame oil with cypermethrin on the survival and detoxification enzyme activity of *Plutella xylostella* L. Larvae. **The 6rd International Conference on Plant Protection in the**

Tropics. "Globalization and Plant Protection in Developing Economics" 11-14 August 2003, Pan Pacific Hotel, Kuala Lumpur, Malaysia.

Visetson, S. Khanananukulchai and J. Milne. 2004. Detoxification mechanisms of larvae of diamonback moth (*Plutella xylostella* L.) against various plant allelochemicals in Thailand. **The 2nd Asian International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety (SECOTOX 2004).** Organized by Postgraduate Education and Research Program in Chemistry, Prince of Songkla University, September, 26-29, 2004. BP Samila Beach Hotel, Songkla, Thailand.

Vos, D. J. G. and H. van Loveren. 1996. **Immunotoxicology: examples of immunotoxic substances**, pp. 870-889. *In* R. J. M. Niesink, J. de Vries and M. A. Hollinger (eds.). Toxicology Principles and Applications. CRC Press, Florida.

Vries, J. De. 1996. **Toxicokinetics; Quantitative aspects**. Toxicology, Principles and Applications. CRC press. London and Tokyo. 450 p.

Worayos, Y. 1986. **Collection of Capsicum Germplasm in Thailand**. IBPGR Newsletter10 (3) IBPGR/SEAP Regional Coordinator, FAO Regional Office for Asia and Pacific, Bangkok Thailand.

Yang R. S. H. and M. E. Andersen. 1994. **Pharmacokinetics**, p. 49-74. *In* E. Hodgson and P. E. Levi. **Introduction to Biochemcal Toxicology**. Appleton & Lange, London.

Yang, X., D. C. Margolies, K. Y. Zhu, and L. L. Buschman. 2001. Host plant-induced changes in detoxification enzymes and susceptibility to pesticides in the twospotted spider mite (Acari : Tetranychidae). **J. of Econ. Entomol**. 94 (2) : 381-387.

Yu, S.J. 1984. **Interaction of allelochemical with detoxification enzymes pf insecticides in susceptible and resistance fall armyworm**. Pestic. Biochem. Physiol. 14:275-281.

Zhang YG, Huang GZ. Poisoning by toxic plants in China report of 19 autopsy cases. **Amer J**. Forensic Med Pathol 1988:9(4):313-9.

Zhu,K.Y. and W.A. Brindley.1990.**Acetylcholinesterase and reduced sensitivity to inhibition by paraoxon in organophosphate resistance *Lygus Hesperus* Knught. (Hemiptera:miridae)Pestic.Biochem**.Physiol.36:22-98.

ภาคผนวก

1. <u>การหาเปอร์เซ็นต์การตายจริง</u> โดยวิธี Abbott' s formula

$$\text{เปอร์เซ็นต์การตายจริง} = \frac{(X - Y) \times 100}{(100 - Y)}$$

เมื่อ X คือเปอร์เซ็นต์การตายในกลุ่มทดลอง
และ Y คือเปอร์เซ็นต์การตายในกลุ่มควบคุม

โดยเปอร์เซ็นต์การตายในกลุ่มควบคุมต้องน้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์

2. <u>การวิเคราะห์ esterase</u> โดยวิธี PNPA assay ของ Mackness และคณะ(1983)

Paranitrophenol product = OD/min × 58.8235 × total volume assay (ml)

แทนค่า OD/min ที่วัดได้จากเครื่อง spectrophotometer ด้วย A และปริมาณรวมที่ใช้วิเคราะห์ใน 1 cuvette = 3.0 ml

ดังนั้น ปริมาณเอนไซม์ที่วัดได้ = A × 58.8235 × 3.0 n mole

3. <u>การวิเคราะห์ glutathione-s-transferase</u> โดยวิธี DCNB assay ของ Booth และคณะ (1961)

DCNB conjugated product = (OD/min × 1.316) / 10 × 1000

แทนค่า OD/min ที่วัดได้จากเครื่อง spectrophotometer ด้วย B

ดังนั้น ปริมาณเอนไซม์ที่วัดได้ = (B × 1.316) / 10 × 1000 n mole

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ นางสาวพุทธิพร สายสงเคราะห์

เกิดวันที่ 14 เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2523

สถานที่เกิด เขตบางรัก จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ประวัติการศึกษา กศ. บ. (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยบูรพา (พ.ศ. 2542)

ประสบการณ์การทำงาน - ผู้ช่วยสอน คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาสัตววิทยา ม.เกษตรศาสตร์ ภาคเรียนที่ 1/2547

- อาจารย์พิเศษ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ม.ธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ภาคการศึกษา 1/2548

ผลงานทางวิชาการ : Poster presentation. 2004. Toxicity of anonaine to *Spodoptera exigua*. The 2nd Asian International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety, September 26-29, 2004, BP Samila Beach Hotel, Songkla Thailand.

: นำเสนอผลงานวิจัย เรื่องความเป็นพิษของสารสกัดจากพริกต่อเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสในหนอนกระทู้ผัก การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7 ระหว่างวันที่ 2-4 พฤศจิกายน 2548 ณ โรงแรมโลตัสปางสวนแก้ว เชียงใหม่.