ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สัตววิทยา)

ปริญญา

สัตววิทยา | สัตววิทยา

สาขา | **ภาควิชา**

เรื่อง ผลของสารสกัดจากพืชต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูทาไทโอน -เอส-ทรานเฟอเรสต่อไข่หอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata* Lamarck)

Effect of Plant Extracts on Esterase and Glutathione-S-Transferase Activity in Egg of Golden Apple Snails (*Pomacea canaliculata* Lamarck)

นามผู้วิจัย นางสาวเมษสุวัลย์ พงษ์ประมูล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ .....

(รองศาสตราจารย์สุรพล วิเศษสรรค์, Ph.D.)

กรรมการ .....

(รองศาสตราจารย์มณจันทร์ เมฆธน, Ph.D.)

กรรมการ .....

(อาจารย์มัณฑนา มิลน์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(รองศาสตราจารย์สมภพ นวีภาพ, M.S.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของสารสกัดจากพืชต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสต่อไข่หอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata* Lamarck)

Effect of Plant Extracts on Esterase and Glutathione-S-Transferase Activity in Egg of Golden Apple Snails (*Pomacea canaliculata* Lamarck)

โดย

นางสาวเมษสุวัลย์ พงษ์ประมูล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สัตววิทยา)
พ.ศ. 2552

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เมษสุวัลย์ พงษ์ประมูล 2552: ผลของสารสกัดจากพืชต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสต่อไข่หอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata* Lamarck) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สัตววิทยา) สาขาสัตววิทยา ภาควิชาสัตววิทยา ประธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์สุรพล วิเศษสรรค์, Ph.D. 127 หน้า

การศึกษาผลของสารสกัดจากพืชต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสต่อไข่หอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata* Lamarck) จากการใช้สารสกัดจากกลอย (*Dioscorea hispida* Dennst.) กากเมล็ดชา (*Camellia sinensis* (L)) และมะคำดีควาย (*Sapindus emarginatus* Vahl.) โดยวิธีซอกล์เลทและเอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลายก่อนนำสารสกัดมาทดสอบในไข่หอยอายุ 1 3 5 และ 7 วัน ด้วยวิธีจุ่มสารสกัดเป็นเวลา 5 10 15 20 และ 25 นาที โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial Experimental in CRD 24 หน่วยการทดลองทำ 3 ซ้ำพบว่าสารสกัดจากกลอยมีผลต่อระดับเอนไซม์เอสเทอเรสในไข่หอยอายุ 1 วัน ความเข้มข้น 0.6 - 1.5 %w/v ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสลดลง 1.5 – 3.0 เท่า ส่วนไข่อายุ 3 - 7 วัน ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสและระดับเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ในขณะที่สารสกัดจากกากเมล็ดชาทำให้ไข่หอยอายุ 1 3 5 และ 7 วันความเข้มข้น 1.7 - 2.0 %w/v ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสลดลงประมาณ 1.2-2.7 เท่า ส่วนระดับเอนไซม์กลูทาไทโอน- เอส- ทรานเฟอเรสของทุกอายุไข่ไม่แตกต่างที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และสารสกัดจากมะคำดีควายมีผลต่อระดับเอนไซม์เอสเทอเรสในไข่หอยอายุไข่อายุ 1 3 และ 5 วันไม่แตกต่างที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ไข่หอยอายุ 7 วันความเข้มข้น 1.5-2.0 %w/v ระดับเอนไซม์เอสเทอเรสลดลง 1.5-2.9 เท่า ส่วนระดับเอนไซม์กลูทาไทโอน- เอส- ทรานเฟอเรสของไข่อายุ 1 - 5 วันไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 0.05 ส่วนไข่อายุ 7 วัน ทุกความเข้มข้นระดับเอนไซม์กลูทาไทโอน- เอส- ทรานเฟอเรสเพิ่ม 3-4 เท่า นอกจากนี้ยังพบความเป็นพิษของสารสกัดจากกลอย กากชา และมะคำดีควายในผึ้งชันโรง (*Trigona* sp)และปลานิลมีค่าแตกต่างกันดังนี้ สารสกัดจากกลอยต่อผึ้งชันโรงที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงให้ ค่า LC_{50} เท่ากับ 1.54 และ 0.93 %w/v ตามลำดับ สารสกัดจากกากชา ที่ 24 และ 48 ชั่วโมงให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 7.82 และ 3.14 %w/v ตามลำดับ สารสกัดจากมะคำดีควายเวลา 24 และ 48 ชั่วโมงค่า LC_{50} เท่ากับ 3.77 และ 2.44 %w/v ตามลำดับ ความเป็นพิษของสารสกัดจากกลอย กากชา และมะคำดีควายในปลานิล *(Oreochromis nilotica)* มีค่าแตกต่างกันดังนี้ สารสกัดจากกลอยที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงให้ ค่า LC_{50} เท่ากับ 0.017 และ 0.014 %w/v ตามลำดับ สารสกัดจากกากเมล็ดชาที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงให้ ค่า LC_{50} เท่ากับ 0.00069 และ 0.00062 %w/v ตามลำดับ สารสกัดจากมะคำดีควายที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงให้ ค่า LC_{50} เท่ากับ 0.0028 และ 0.0026 ตามลำดับ

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Massuwan Pongpramoon 2009: Effect of Plant Extracts on Esterase and Glutathione -S-Transferase Activity in Egg of Golden Apple Snails (*Pomacea canaliculata* Lamarck). Master of Science (Zoology), Major Field: Zoology, Department of Zoology. Thesis Advisor: Associate Professor Suraphon Visetson, Ph.D. 127 pages.

This research deals with the effects of plant extracts, yam plant (*Dioscorea hispida* Dennst.), tea seed cake (*Camellia sinensis* (L)) and soapnut (*Sapindus emarginatus* Vahl.) on esterase and glutathione-S-transferases in various ages of the golden apple snail (*Pomacea canaliculata* Lamarck) eggs. The Soxhlet's extraction method using 95% ethanol as solvent was performed. The various egg ages, 1,3,5 and 7 days old were individually dipped into the various concentrated crude extracts for 5 ,10 ,15, 20 and 25 minutes and the evaluation of invitro enzyme study was done after exposure. The factorial experimental in CRD with 3 replicates was done following DMRT for their means different at P = 0.05. The 1 day old eggs exhibited 1.5-3.0 fold inhibited in esterase against 0.6-1.5 % w/v yam plant extracts. On the other hand, the 3- 7 day old eggs showed no significant difference of both esterase and gluthatione-S-transferases activity. The tea seed cake at extracts 1.7-2.0 %w/v indicated 1.2-2.7 fold inhibited esterase but there was no significant difference in gluthathione-S-transferase activity at P=0.05 against 1, 3, 5 and 7 day old eggs. In addition, the soapnut extracts, the 1-5 day old eggs showed no significant difference in esterase activity. However, the 7 days old eggs showed 1.5-2.9 fold reduced esterase activity against 1.5-2.0 % w/v soapnut extracts. Unfortunately, soapnut extracts indicated no significant difference in glutathione-S-transferase activity in all ages except in 7 days old eggs which is showed 3-4 fold elevation of this enzyme system. Finally, all extracts showed difference toxicity in terms of LC_{50} againsts adult stingless bees (*Trigona* sp) and fish. The yam plant extracts indicated LC_{50} of 1.54 and 0.93 %w/v at 24 and 48 hours after exposure, respectively while the tea seed cake extracts exhibited LC_{50} of 7.82 and 3.14 %w/v at 24 and 48 hours after exposure, respectively and soapnut showed LC_{50} of 3.77 and 2.44 %w/v at 24 and 48 hours after exposure, respectively. In addition, all extracts showed difference toxicity in terms of LC_{50} againsts fish. The yam plant extracts indicated LC_{50} of 0.017 and 0.014 %w/v at 24 and 48 hours after exposure, respectively while the tea seed cake extracts exhibited LC_{50} of 0.00069 and 0.00062 %w/v at 24 and 48 hours after exposure, respectively and soapnut showed LC_{50} of 0.0028 and 0.0026 %w/v at 24 and 48 hours after exposure, respectively.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สุรพล วิเศษสรรค์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนผลงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนให้คำปรึกษาและแนะนำตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.มณจันทร์ เมฆธน ดร.มัณฑนา มิลน์ กรรมการที่ปรึกษา อาจารย์ฉลองชัย คุ้มภัย ที่กรุณาให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ เจ้าหน้าที่ของภาควิชาสัตววิทยาที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำ ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกท่านของภาควิชาสัตววิทยาและสาขาวิชาชีววิทยาโรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ที่คอยเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณป้า คุณยาย และน้องสาวที่คอยให้ความช่วยเหลือเป็นกำลังใจและคอยสนับสนุนในการดำเนินการวิจัยวิทยานิพนธ์นี้มาโดยตลอดจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เมษสุวัลย์ พงษ์ประมูล

กันยายน 2552

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(8)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	36
อุปกรณ์	36
วิธีการ	39
ผลและวิจารณ์	60
ผล	60
วิจารณ์	100
สรุปผลและข้อเสนอแนะ	106
สรุป	106
ข้อเสนอแนะ	107
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	108
ภาคผนวก	114
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	127

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นต่างกันในเวลา 5 10 15 20 และ 25 นาที	62
2	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกากชาที่ความเข้มข้นต่างกันในเวลา 5 10 15 20 และ 25 นาที	64
3	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นต่างกันในเวลา 5 10 15 20 และ 25 นาที	66
4	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์เอสเทอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน	68
5	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์เอสเทอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกากชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน	71
6	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์เอสเทอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน	74
7	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน	77
8	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกากชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน	80

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
9	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็น เวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน	83
10	อัตราการตายของผึ้งชันโรงเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำหลังได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	85
11	อัตราการตายของผึ้งชันโรงเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังได้รับสารสกัดจากกากชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	87
12	อัตราการตายของผึ้งชันโรงเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	89
13	อัตราการตายของผึ้งชันโรงที่ 50 เปอร์เซ็นต์ และสมการถดถอย จากการใช้สารสกัดจากกลอย กากชา และมะคำดีควายในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	92
14	อัตราการตายของปลานิลเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	93
15	อัตราการตายของปลานิลเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังได้รับสารสกัดจากกากชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	95
16	อัตราการตายของปลานิลเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	97

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

17 อัตราการตายของปลานิลที่ 50 เปอร์เซ็นต์ และสมการถดถอย จากการใช้สารสกัดจากกลอย กากชา และมะคำดีควายในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง 100

ตารางผนวกที่

1 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับโปรตีนของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน 119

2 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับโปรตีนของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกากชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน 112

3 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับโปรตีนของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน 125

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงลักษณะภายนอกของหอยเชอรี่เพศผู้และเพศเมีย	5
2	แสดงวงจรชีวิตของหอยเชอรี่	10
3	แสดงลักษณะของหัวกลอย (*Dioscorea hispida* Dennst.)	16
4	แสดงโครงสร้างของสาร Dioscorin	17
5	ลักษณะของผลมะคำดีควาย	19
6	แสดงโครงสร้างของสาร saponin	20
7	ลักษณะของกากชา *Camellia sinensis* (L).	21
8	แสดงโครงสร้างของสาร saponin	22
9	แสดงตัวอย่างของปฏิกิริยา	24
10	สรุปขั้นตอนของสารแปลกปลอมชนิดต่าง ๆ ในกระบวนการระยะที่ 1 และระยะที่ 2	28
11	ลักษณะผึ้งชันโรง	32
12	ลักษณะปลานิล	35
13	ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างไข่หอยเชอรี่สำหรับการทดสอบ	41
14	ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดจากหัวกลอย	42
15	ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดจากหัวกลอย	43
16	ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดจากกากชา	44
17	ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดจากกากชา	45
18	ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดจากผลมะคำดีควาย	46
19	ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดจากผลมะคำดีควาย	47
20	ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างไข่หอยเชอรี่และการเตรียมสถานที่สำหรับการวางไข่เพื่อทดสอบ	52
21	แสดงผึ้งชันโรงขณะทดลอง	58
22	กราฟแสดงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน	69

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
23	แสดงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกากชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน	72
24	แสดงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน	75
25	กราฟแสดงระดับเอนไซม์เอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส- ทรานเฟอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน	78
26	แสดงระดับเอนไซม์เอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกากชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน	81
27	แสดงระดับเอนไซม์เอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน	84
28	กราฟแสดงอัตราการตายของผึ้งชันโรง หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	86
29	กราฟแสดงอัตราการตายของผึ้งชันโรง หลังจากได้รับสารสกัดจากกากชาเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	88
30	กราฟแสดงอัตราการตายของผึ้งชันโรง หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควาย เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	90
31	กราฟแสดงอัตราการตายของปลานิล หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	94
32	กราฟแสดงอัตราการตายของปลานิล หลังจากได้รับสารสกัดจากกากชาเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	96

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
33	กราฟแสดงอัตราการตายของปลานิล หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	98
ภาพผนวกที่		
1	กราฟแสดงระดับโปรตีนของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน	120
2	กราฟแสดงระดับโปรตีนของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดกากเมล็ดชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน	123
3	กราฟแสดงระดับโปรตีนของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน	126

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CRD	=	Complete Randomized Design
DCNB	=	Dichloronitrobenzene
EDTA	=	Ethylene diamine tetra acetic acid
GST	=	Glutathione-s-transferase
M	=	Molar
Mg	=	milligram
ML	=	milliliter
n mole	=	Nano mole
PNPA	=	Paranitrophenyl acetate
PVPP	=	Polyvinyl poly pyrrolidone

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของสารสกัดจากพืชต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์เอสเทอเรส และกลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสต่อไข่หอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata* Lamarck)

Effect of Plant Extracts on Esterase and Glutathione-S-Transferase Activity in Egg of Golden Apple Snails (*Pomacea canaliculata* Lamarck)

คำนำ

อดีตจนถึงปัจจุบันหอยเชอรี่ (Golden apple snail) เป็นที่รู้จักของกลุ่มประเทศที่ประกอบอาชีพเกษตรกรรมเป็นอย่างดี โดยเฉพาะประเทศที่อยู่ในภูมิภาคที่เป็นเขตร้อนชื้น เช่นประเทศไทย กลุ่มเกษตรกรไทยยังคงประสบปัญหากับศัตรูข้าวเพิ่มขึ้นในช่วงการทำนาหว่านบริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำหรือพื้นที่น้ำท่วม สาเหตุเนื่องมาจากการระบาดของหอยเชอรี่ (golden apple snail) ที่สามารถแพร่พันธุ์ได้ในเวลาอันรวดเร็ว และปริมาณมาก เนื่องจากหอยเชอรี่วางไข่ในแต่ละครั้งประมาณ 200-3000 ฟองต่อหนึ่งกลุ่มไข่ สามารถวางไข่ได้ตลอดปีโดยเฉพาะช่วงเดือนที่ร้อนและฝนตกชุก การระบาดของหอยเชอรี่ทำความเสียหายให้กับชาวนาไทยทั่วทุกภาค ซึ่งเป็นเหตุจูงใจให้ชาวนาไทยมาใช้สารเคมีในการกำจัดหอยมากขึ้น โดยสารเคมีดังกล่าวจะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม สิ่งมีชีวิตในพื้นที่นาข้าว เช่น กุ้ง ปู ปลา และสิ่งมีชีวิตที่ทำหน้าที่เป็นผู้ย่อยสลายซากอินทรีย์ต่าง ๆ ส่งผลต่อห่วงโซ่อาหารของสิ่งมีชีวิต

ดังนั้นจึงเป็นเหตุผลให้เกษตกรไทยพยายามหาวิธีการต่าง ๆ ที่จะลดประชากรหอยเชอรี่ โดยใช้วิธีการป้องกัน และการกำจัดหอยเชอรี่ ซึ่งวิธีที่เกษตรกรไทยส่วนใหญ่ปฏิบัติกันมาโดยตลอด ได้แก่ วิธีกล เช่น การเก็บตัว และไข่หอยเพื่อทำลาย การดักหรือกันน้ำเข้านา วิธีชีววิธี เป็นการกำจัดหอยเชอรี่โดยการใช้ศัตรูทางธรรมชาติ ได้แก่ นกปากห่าง นกกระปูด เป็ด วิธีใช้สารพิษจากธรรมชาติ สารพิษที่ใช้ในการกำจัดหอยเชอรี่ ได้แก่ สารสกัดจากสะเดา สารสกัดจากสาบเสือ วิธีเขตกรรม วิธีการเขตกรรมนี้มักจะใช้ร่วมกับวิธีอื่น ๆ เช่น วิธีกลหรือการใช้สารพิษจากธรรมชาติ วิธีใช้สารเคมี สารเคมีที่นิยมใช้ ได้แก่ เอนโดซัลแฟน (Endosalfan) นิโคลซาไมด์ (Niclosamide) เมทัลดีไฮด์ (Metaldehyde) และ คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper Sulphate) โดยการบีบ ทุบ ทำลาย การนำมาใช้ประโยชน์ เช่น การทำปุ๋ยหมัก (ชมพูนุชและคณะ, 2538)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผู้วิจัยจึงเล็งเห็นความสำคัญของการกำจัดหอยเชอรี่โดยวิธีการใช้สารสกัดจากธรรมชาติกำจัดหอยเชอรี่ในระยะที่เป็นไข่หอยเพื่อลดประชากรของหอยตั้งแต่ระยะเริ่มต้น และศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์เอสเทอเรส และกลูตาไทโอน เอส ทรานสเฟอเรสซึ่งมีผลต่อการผสมพันธุ์และการพัฒนาของรังไข่และมีผลต่อการเจริญของไข่หอยเชอรี่ ในการวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดจากพืช เช่น หัวกลอย (*Dioscorea hispida* Dennst.) กากเมล็ดชา (*Camellia sinensis* (L)) และผลมะคำดีควาย (*Sapindus emarginatus* Vahl.) เพื่อดูระดับความเป็นพิษที่มีต่อการฟักของไข่หอยเชอรี่และศึกษาการเปลี่ยนแปลงเอนไซม์ทำลายพิษ เช่น เอสเทอเรส และ กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส หลังจากการทดลอง เพื่อนำข้อมูลนี้ไปใช้ในการพัฒนาการผลิตสารสกัดจากพืชดังกล่าวในการกำจัดไข่หอยชนิดนี้ต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่ที่ 50 % ของสารสกัดหัวกลอย กากเมล็ดชา และผลมะคำดีควาย

2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์อายุของไข่หอยต่อประสิทธิภาพของสารสกัดจากหัวกลอย (*Dioscorea hispida* Dennst.) กากเมล็ดชา (*Camellia sinensis* (L.)) และผลมะคำดีควาย (*Sapindus emarginatus* Vahl.) ที่มีต่อการไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่

3. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของไข่หอยเชอรี่ หลังจากได้รับสารจากหัวกลอย (*Dioscorea hispida* Dennst.) กากเมล็ดชา (*Camellia sinensis* (L.)) และผลมะคำดีควาย (*Sapindus emarginatus* Vahl.) เพื่อดูระดับความเป็นพิษที่มีต่อการฟักของไข่หอยเชอรี่

4. ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด ต่อสัตว์ที่ไม่ใช่เป้าหมาย คือ ชันโรง (*Trigona* sp) และปลานิล (*Oreochromis niloticus*) จากการใช้สารสกัดจากกลอย (*Dioscorea hispida* Dennst.) กากชา (*Camellia sinensis* (L.)) และผลมะคำดีควาย (*Sapindus emarginatus* Vahl.)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

หอยเชอรี่

1. ประวัติ และการแพร่กระจาย

หอยเชอรี่เป็นหอยน้ำจืดชนิดหอยฝาเดียว ที่มีถิ่นกำเนิดเดิมในทวีปอเมริกาใต้พบได้ในแหล่งเกษตรกรรมของประเทศในแถบเอเชีย และอเมริกาใต้ มีรายงานพบในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศไทย ฟิลิปินส์ เวียดนาม อินโดนีเซีย มาเลเซีย จีน ลาว พบในเขตเอเชียตะวันออก เช่น ประเทศญี่ปุ่น ไต้หวัน เกาหลีใต้ พบในแถบอเมริกา เช่น ฮาวาย รีพับบลิค โดมินิกานา อาร์เจนตินา โคลัมเบีย ฟลอริด้า ถูกนำมาจากประเทศในทวีปอเมริกาใต้ (บราซิล และอาร์เจนตินา) โดยผ่านทางประเทศไต้หวันในปีพุทธศักราช 2524 ถูกนำเข้ามาในประเทศไทยในปีพุทธศักราช 2525 – 2526 เป็นการนำเข้ามาจากประเทศญี่ปุ่น และไต้หวัน เพื่อเลี้ยงประดับในตู้ปลา และเลี้ยงส่งขายไปยังประเทศญี่ปุ่นซึ่งชาวญี่ปุ่นนำมาเป็นอาหาร เนื่องจากเนื้อหอยเชอรี่มีคุณค่าทางอาหารสูงสำหรับมนุษย์และสัตว์เลี้ยง จึงเป็นที่สนใจของภาครัฐและเอกชนที่ต้องการนำเข้ามาเลี้ยงและขยายพันธุ์ต่อไป แต่ได้รับความนิยมในการบริโภคน้อย ส่งผลให้ไม่มีตลาดรับซื้อหอยเชอรี่ ประกอบกับหอยเชอรี่มีการเจริญเติบโตขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้กระจายลงสู่แหล่งน้ำ เข้าสู่แหล่งเกษตรกรรมของเกษตรกร จึงกลายเป็นศัตรูข้าวที่สำคัญมาก มีรายงานการระบาดของหอยเชอรี่เป็นครั้งแรกในปีพุทธศักราช 2529 มีรายงานความเสียหายที่เกิดจากหอยเชอรี่ในท้องที่ 43 จังหวัด แต่ปัจจุบันคาดว่าหอยเชอรี่จะแพร่กระจายไปมากกว่า 65 จังหวัด (ชมพูนุช, 2540) ส่งผลให้ตั้งแต่นั้นมา นาข้าวแหล่งอื่นๆก็ถูกหอยทำความเสียหายเพิ่มมากขึ้นจนกลายเป็นเรื่องสำคัญระดับชาติ ดังนั้นจึงควรหาวิธีป้องกัน ควบคุม กำจัดหอยเชอรี่รวมทั้งไข่ของหอยเชอรี่กันอย่างจริงจัง

หอยเชอรี่ มีชื่อสามัญว่า Golden Apple Snail มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pomacea canaliculata* Lamarck สามารถแบ่งตามหลักอนุกรมวิธานได้ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Phylum : Mollusca

Class : Gastropoda

Subclass : Prosobranchia

Order : Mesogastropoda

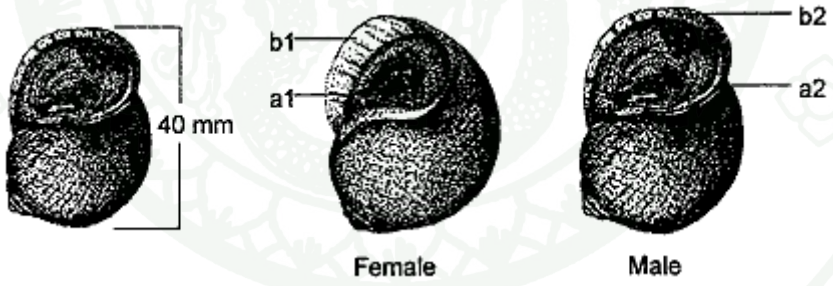
Supperfamily : Viviparoidea

Family : Ampullaridae

Genus : *Pomacea*

Species : *P. canaliculata*

ในประเทศไทยมีหอยเชอรี่ที่ระบาดในนาข้าว หลายชนิด เช่น *Pomacea canaliculata* Lamarck *Pomace insularus* และ *Pomacea* sp (วัชราภรณ์, 2545 อ้างถึง Keawjam and Upatham, 1990) หอยเพศเมียจะมีฝาปิดที่เว้าเข้า (a1) ส่วนหอยเพศผู้จะมีฝาปิดที่นูนออกเล็กน้อย (a2) เปลือกหอยตัวเมียที่โตเต็มวัยแล้วจะโค้งเข้าด้านใน (b1) ในเพศผู้จะโค้งออก (b2) ตามการศึกษาของเดลา ครูอาร์ซี โจชิ และ เอ อาร์ มาร์ติน



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะภายนอกของหอยเชอรี่เพศผู้และเพศเมีย

ที่มา: Philippine Rice Research Institute (2001)

2. การแพร่ระบาดของหอยเชอรี่

หอยเชอรี่เริ่มแพร่ระบาดเมื่อปี พ.ศ. 2527 ทำให้เกิดความเสียหายทั้งต่อระบบเศรษฐกิจและระบบนิเวศทางน้ำตามธรรมชาติ หอยเชอรี่ได้ถูกนำเข้ามาในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2525 เพื่อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เป็นสัตว์เลี้ยงในตู้เลี้ยงปลา และสัตว์เศรษฐกิจที่ใช้เป็นอาหารของมนุษย์ หอยเชอรี่มีความสามารถในการขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณหอยในพื้นที่การเกษตรของเกษตรกรไทยเป็นจำนวนมาก เกษตรกรและผู้เลี้ยงหอยได้ทิ้งหอยบางส่วนลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ส่งผลให้ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2531 ได้เริ่มมีรายงานการระบาดเกิดขึ้นเป็นครั้งแรกในนาข้าวที่อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ ทำให้นาข้าวเสียหายมาก และตั้งแต่นั้นมาได้มีการรายงานการระบาดของหอยเชอรี่ทั่วประเทศ ปัจจุบันได้มีการระบาดของหอยเชอรี่อยู่ทุกจังหวัดทั่วประเทศ โดยการระบาดของหอยเชอรี่ มีสาเหตุ 2 ประการ

1. การระบาดจากการนำพาของมนุษย์ ส่งผลให้ระบาดอย่างรวดเร็ว และมีทิศทางไม่แน่นอน ไม่สามารถคาดการณ์ได้

2. การระบาดจากน้ำท่วมทำให้หอยเชอรี่มีการระบาดไปสู่แหล่งอื่น ๆ ได้อย่างรวดเร็ว ตามสถานการณ์น้ำท่วมและการระบาดจะมีทิศทางที่แน่นอนสามารถคาดการณ์ได้

คาดการณ์ว่ามีการหลุดรอดของหอยเชอรี่ลงสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติในปี พ.ศ. 2527 แต่ความเสียหายเริ่มมีรายงานเมื่อปี พ.ศ. 2531 ดังนั้นในระยะเวลา 4 ปีหอยเชอรี่ได้ขยายขนาดของประชากรจำนวนมาก ก่อให้เกิดความเสียหายต่อพืชเศรษฐกิจของประเทศไทยมาก นับได้ว่าหอยเชอรี่ประสบความสำเร็จในการดำรงชีวิตอยู่ในระบบนิเวศของประเทศไทยเป็นอย่างยิ่ง ซึ่งในปัจจุบันทุกจังหวัดตามแหล่งน้ำทางธรรมชาติ และที่มนุษย์สร้างขึ้นได้มีการระบาดของหอยเชอรี่อยู่ทั่วไป เช่น ในนาข้าว คูน้ำ ลำคลอง แม่น้ำ ร่องน้ำในสวนผลไม้ ในไร่พืชพันธุ์ ล้วนมีหอยเชอรี่อาศัยอยู่ทั้งสิ้นการระบาดของหอยเชอรี่ไม่ได้เกิดขึ้นเฉพาะในประเทศไทยเท่านั้น ทุกประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ได้มีการระบาดอย่างกว้างขวาง ซึ่งได้สร้างความเสียหายต่อพืชเศรษฐกิจในประเทศนั้น ๆ อย่างมาก เช่น ประเทศลาว เขมร มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย ในประเทศแถบเอชียอื่น ๆ เช่น ญี่ปุ่น ไต้หวัน

3. ความเสียหายจากการระบาดของหอยเชอรี่

การระบาดของหอยเชอรี่จะก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมากมายต่อระบบเศรษฐกิจทางการเกษตร ระบบนิเวศทางน้ำ เป็นความเสียหายที่เกิดขึ้นกับมนุษย์โดยตรง ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม สรุปความเสียหายได้ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. หอยเชอรี่ สามารถกินพืชน้ำได้เกือบทุกชนิด พืชหลายชนิดเป็นพืชเศรษฐกิจที่เกษตรกรปลูก เช่น ข้าว บัว กระจับ ผักกะเฉด ซึ่งหอยเชอรี่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อกล้าข้าวในนาที่พึ่งเพาะปลูก โดยเฉพาะนาหว่านในพื้นที่ลุ่มน้ำ

2. หอยเชอรี่เป็นพาหะของโรคพยาธิ

3. จากการใช้สารเคมีกำจัดหอยเชอรี่ของเกษตรกรทำให้เกิดความเสียหายของระบบนิเวศอื่น ๆ เช่น เอนโดซัลเฟน (Endosulfan) ซึ่งเป็นยาฆ่าแมลง แต่เกษตรกรใช้สำหรับการกำจัดหอยเชอรี่ ทำให้สัตว์น้ำที่อยู่ในนาข้าวตายหมด

4. ความต้องการใช้สารเคมีในการกำจัดหอยเชอรี่ของเกษตรกรมีมากขึ้น

5. ผลจากการสูญเสียสัตว์น้ำในนาข้าวทำให้เกษตกรสูญเสียสัตว์น้ำสำหรับการบริโภค

6. สารเคมีที่ใช้ในนาข้าวมีโอกาสไหลลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ เป็นการเพิ่มสารพิษในระบบนิเวศทางน้ำซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำมากและอาจส่งผลกระทบถึงมนุษย์ผู้บริโภคสัตว์น้ำ

รายงานวิจัยศึกษาหอยเชอรี่ที่อยู่ในนาข้าวในเขตเอเชียศึกษาถึงผลกระทบทั้งในปัจจุบันและอนาคต พบว่าประชากรของหอยเชอรี่ที่อยู่ในนาข้าวส่งผลกระทบทั้งทางด้านเศรษฐกิจ และสิ่งแวดล้อม ทำให้ชาวนาต้องใช้สารเคมีมากขึ้นในการควบคุมประชากรหอยซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อสุขภาพของผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม (Halwart, 1994)

4. **ลักษณะเปลือก**

หอยเชอรี่จัดอยู่ในกลุ่มหอยฝาเดียวในวงศ์ Ampullaridae ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกับหอยโข่ง ดังนั้นลักษณะส่วนใหญ่จะคล้ายกับหอยโข่งแต่จะแตกต่างกันที่ความหนาของเปลือก ลักษณะการหมุนของเปลือกที่เป็นแบบวนขวา โดยในหอยเชอรี่บางชนิดมีลักษณะของเปลือกวนซ้าย (Cazzanga and Estebenet, 1990)

หอยเชอรี่มีเปลือกขนาดใหญ่ เป็นรูปไข่ มีแผ่นเท้าติดอยู่บนส่วนหัวไปทางด้านหลัง โอเพอร์คิวลัมจะติดอยู่ด้านบนและด้านท้ายของแผ่นเท้าโอเปอร์คิวลัมเป็นแบบไคติเนียสสามารถปิดปากเปลือกได้สนิท หนา แข็ง (สุชาติ และคณะ, 2538) หอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata* Lamarck) มีลักษณะเปลือกคล้ายกับ *Pomacea insularus* โดยมีเปลือกเป็นรูปวงกลม โดยที่หอย 2 ชนิดนี้มี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความแตกต่างกันที่ขนาด รูปแบบของแถบสีเปลือก สีเปลือก สีกล้ามเนื้อเท้า ถุงเก็บน้ำอสุจิเพศผู้ โดย *P. insularus* มีถุงเก็บน้ำอสุจิเพศผู้ขนาดเล็กกว่า *P. canaliculata* Lamarck

5. ลักษณะทั่วไป

5.1 การสืบพันธุ์และการเจริญเติบโต

หอยเชอรี่มีเพศแยกระหว่างเพศผู้ และเพศเมีย สังเกตได้จากความนูนมากน้อยของแผ่นโอเปอคิวลัม ถ้าหากนูนมากเป็นเพศผู้ มีส่วนของช่องแมนเทิลด้านขวาเห็นส่วนเพนิสชีท ยื่นออกมา มีการศึกษาพบว่าหอยเพศผู้สามารถเปลี่ยนแปลงเป็นหอยเพศเมียได้ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นช่วงหอยจำศีลซึ่งถูกกระตุ้นด้วยสภาพแวดล้อม (Keawjam and Upathum, 1990) การศึกษาอาหารที่เพิ่มจำนวนและขนาดของกลุ่มไข่ในสภาพห้องทดลองจากอาหาร 11 ชนิดพบว่าแหนเป็ด (duckweed) เป็นอาหารที่ดีที่สุดที่เพิ่มจำนวนขนาดของกลุ่มไข่และเพิ่มอัตราการฟักของไข่ การศึกษาอุณหภูมิของน้ำที่เปลี่ยนแปลงส่งผลต่อจำนวน ขนาดของกลุ่มไข่ และอัตราส่วนของเพศ ระยะของไข่ยาวนานที่สุดในเดือนที่มีอุณหภูมิต่ำในเดือนธันวาคม - กุมภาพันธ์และระยะของไข่สั้นที่สุดในเดือนที่มีอุณหภูมิอบอุ่นของเดือนเมษายน-พฤษภาคม หอยที่มีอายุมากขึ้นส่งผลต่อจำนวน ขนาดของกลุ่มไข่แต่ไม่ส่งผลต่อการฟักตัวของไข่ (Lacanilao, 1990)

5.2 อวัยวะสืบพันธุ์

ลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศผู้ประกอบด้วย เทสทิส ท่อฉีดน้ำเชื้อ ถุงเก็บน้ำเชื้อ ต่อมลูกหมาก เพนิสและเพนิสชีท โดยเพนิสจะมีลักษณะเป็นท่อยืดออกได้เพื่อสอด ส่งอสุจิเข้าผสมกับไข่ก่อนมีการสร้างเปลือก ส่วนอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยเพศเมียประกอบด้วย รังไข่ ท่อนำไข่ โดยท่อนำไข่ประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก คือ ส่วนต้นเป็นส่วนที่มีกำเนิดจากรังไข่โดยตรงส่วนกลางมาจากไตและส่วนปลายมีกำเนิดมาจากแมนเทิลหรือท่อนำไข่แพลเลียล (pallial oviduct) โดยส่วนนี้มีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่พิเศษ ได้แก่ ต่อมแอลบิวมิน (albumin gland) ต่อมสร้างสารวุ้น (jelly gland) สำหรับหอยเชอรี่จะมีต่อมสร้างเปลือกในหอยเพศเมีย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5.3 พฤติกรรมการผสมพันธุ์

เพศผู้เริ่มเข้าหาหอยเพศเมียทางด้านหลังค่อย ๆ คืบคลานขึ้นบนเปลือกเพศเมียจากนั้นเคลื่อนที่มาด้านหน้าเปลือกเพศเมียแล้วสอดใส่เพนิสในรูเปิดอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย ระยะเวลาที่ใช้ในการผสมพันธุ์มีหลายชั่วโมง หลังจากนั้นหอยแยกออกจากกันและดำเนินชีวิตปกติ หอยเพศเมียสามารถเก็บอสุจิให้อยู่ในสภาพปกติได้ระยะยาวนานเป็นเดือนซึ่งเก็บอสุจิไว้ส่วนของเจนิทอลแทรค (genital tract)

5.4 การวางไข่และไข่

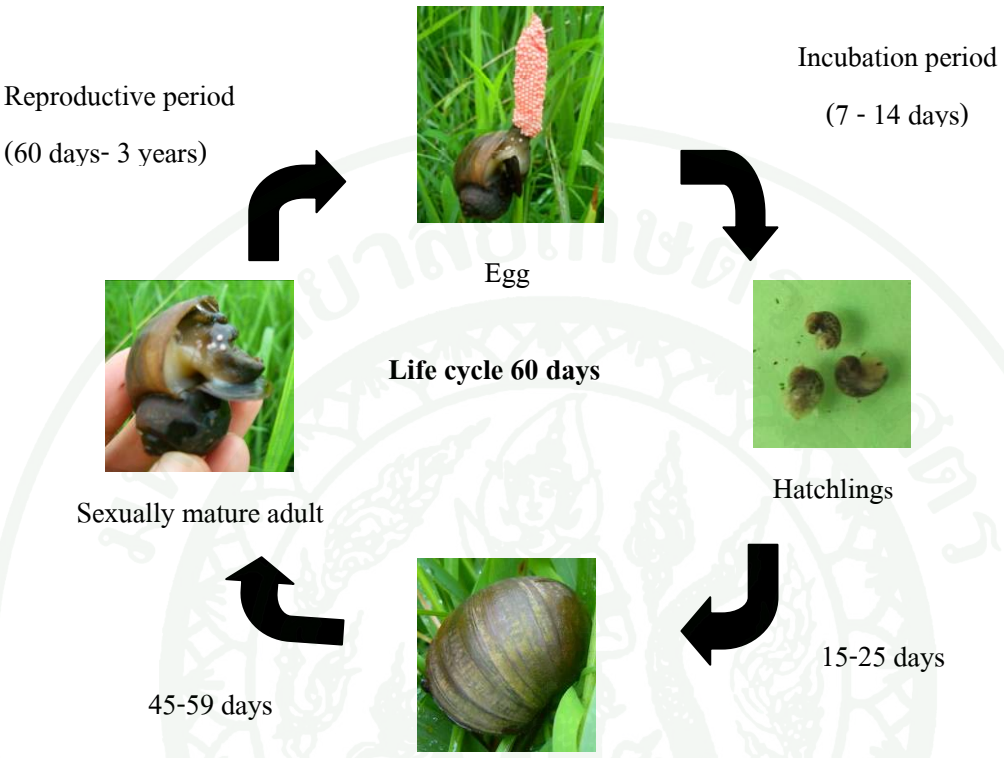
หลังจากหอยผสมพันธุ์กัน 1-2 วัน หอยเพศเมียจะวางไข่โดยไข่ที่ถูกผสมจะเคลื่อนที่ผ่านต่อมสร้างเปลือกไข่เพื่อสร้างแคปซูลหรือเปลือกหุ้มไข่ก่อนออกภายนอกทางรูเปิดของระบบสืบพันธุ์เพศเมียที่อยู่ด้านหน้าตัวหอยโดยหอยเชอรี่เพศเมียจะวางไข่ตอนกลางคืนและตอนเช้า โดยขึ้นไปวางไข่พื้นที่แห้งเหนือน้ำ เช่น ตามต้นพืช กิ่งไม้ ระดับการวางไข่จะสูงจากพื้นน้ำประมาณ 5-20 เซนติเมตรจากระดับผิวน้ำ หอยเพศเมียใช้เวลาในการออกไข่ 1-6 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับขนาดของกลุ่มไข่โดยไข่จะเคลื่อนที่ออกมาทีละฟองบนกล้ามเนื้อเท้าซึ่งจะดันส่งไข่ให้ขึ้นไปซ้อนกันเป็นชั้น ๆ ไข่ที่ออกมาใหม่จะอ่อนนิ่ม มีเมือกติด กลุ่มไข่แต่ละกลุ่มมีจำนวนไข่ประมาณ 50-1000 ฟอง ขึ้นอยู่กับขนาดของแม่หอยแต่ละฟองจะมีขนาดเล็ก 4-5 มิลลิเมตร (Keawjam and Upathum, 1990) การศึกษาชีววิทยาของหอยเชอรี่และให้ความสำคัญกับการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมใน Sabah ประเทศมาเลเซียพบว่าหอยเชอรี่สร้างขนาดของกลุ่มไข่ไม่แน่นอนอยู่ในช่วง 92-592 ฟองต่อกลุ่มไข่ ไข่มีอัตราการฟักอยู่ในช่วง 87-100 เปอร์เซนต์ (ค่าเฉลี่ย 95.8 เปอร์เซนต์) โดยทั่วไปขนาดตัวของเพศเมียใหญ่กว่าเพศผู้ อัตราส่วนระหว่างเพศผู้ต่อเพศเมียอยู่ที่ 1 ต่อ 5 ดินที่มีถ่านหินจะลดการสร้างไข่อย่างมีนัยสำคัญและขนาดของกลุ่มไข่ที่จมตัวในน้ำมากกว่า 1 สัปดาห์จะลดการฟักได้อย่างมีนัยสำคัญ (Susin, 2004)

5.5 การเจริญเติบโตของหอยเชอรี่

หลังจากที่หอยเพศเมียวางไข่แล้วต่อมากลุ่มไข่หอยจะแห้งและแข็งขึ้น ไข่มีสีซีดจางลงเป็นสีขาวภายใน 7-14 วัน เปลือกไข่จะแตกออกและร่วงลงสู่น้ำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5.6 วงชีวิตของหอยเชอรี่



ภาพที่ 2 แสดงวงจรชีวิตของหอยเชอรี่

5.7 ไข่และการวางไข่

หอยวางไข่เวลากลางคืนและตอนเช้า ตามต้นพืช ใบไม้ และวัสดุต่าง ๆ (เช่น กิ่งไม้ ไม้หลัก ก้อนหิน) ที่อยู่เหนือผิวน้ำ กลุ่มไข่หอยที่พึ่งออกมาใหม่ ๆ มีสีชมพูสด และจะซีดจางลงเป็นสีชมพูอ่อนเมื่อใกล้ฟักเป็นตัว ช่วงฟักเป็นตัวฟองไข่มีสีขาว ไข่ฟักเป็นตัวภายใน 7 – 14 วัน

5.8 การเจริญเติบโตของหอย

ลูกหอยเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยได้อย่างรวดเร็วและกินอาหารได้ทุกชนิด ตัวโตเต็มวัยจะจับคู่ผสมพันธุ์นานครั้งละ 3 – 4 ชั่วโมง ในเวลาใดก็ได้ ท่ามกลางพืชน้ำต่าง ๆ ตามแหล่งน้ำที่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มีน้ำตลอดปี หอยเชอรี่ขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว วางไข่ได้ 1,000 – 1,200 ฟองในเวลา 1 เดือน ดังนั้นการเก็บทำลายไข่หอยจึงเป็นวิธีการป้องกันกำจัดที่ให้ผลดี

5.9 ที่อยู่อาศัย

บ่อน้ำ บึง นาข้าว เขตชลประทาน คลองและบริเวณที่ลุ่มน้ำขัง หอยจะฝังตัวในดินชื้น ระหว่างฤดูแล้งมันสามารถพักตัวหรือจำศีลได้นาน 6 เดือน เมื่อดินถูกน้ำท่วมหอยจะกลับสู่สภาวะปกติเช่นเดิม หอยสามารถรอดชีวิตได้แม้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น น้ำเน่าหรือมีออกซิเจนต่ำ

5.10 การกินอาหารและพืชอาศัย

หอยเชอรี่กินพืชได้หลายชนิด เช่น สาหร่าย แหนแดง แหน ผักตบชวา ต้นกล้าข้าว และพืชน้ำที่มีใบอวบน้ำอื่น ๆ มักกินส่วนของลำต้นพืชที่มีความอ่อนนุ่ม โดยใช้อวัยวะที่คล้ายลิ้นขรุขระขูดไปมาบนผิวพืช หอยชอบกินซากพืชสัตว์ที่เน่าเปื่อยเป็นอาหาร

5.11 ศัตรูธรรมชาติและการควบคุมโดยชีววิธี

หอยเชอรี่เป็นหอยทากน้ำที่ขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว ทนทานต่อสภาวะแวดล้อม สภาวะอากาศที่หนาวเย็นและแห้งแล้งได้แต่หอยเชอรี่ก็มีศัตรูธรรมชาติหลายชนิด เช่น นกปากห่าง นกกระปูด เป็ด หนู แมลงชนิดต่าง ๆ เช่น มด ตั๊กแตน แมลง แมลงเหนี่ยง แมลงดานา

ศัตรูธรรมชาติที่สามารถลดปริมาณหอยเชอรี่ได้มากที่สุด คือ นกปากห่าง จะสังเกตได้จากบริเวณที่มีนกปากห่างอยู่ปริมาณของหอยเชอรี่ลดจำนวนลงอย่างมากและส่งผลให้เกษตรกรใช้สารเคมีในการกำจัดหอยน้อยลงและได้นำวิธีการอื่นมาใช้ เช่น เป็ดไร่ทุ่ง ลักษณะให้เป็ดลงในนาข้าวและกินหอยเชอรี่ในนาข้าว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. การป้องกันและการกำจัดหอยเชอรี่

การป้องกันและการกำจัดหอยเชอรี่มีหลายวิธี และนำวิธีการต่าง ๆ มาใช้ร่วมกันเพื่อป้องกันและกำจัดหอยเชอรี่ สามารถจำแนกได้ 2 ลักษณะ

6.1 การป้องกันและกำจัดหอยเชอรี่โดยไม่ใช้สารเคมี มีหลายวิธี ดังนี้

6.1.1 การป้องกันและกำจัดหอยเชอรี่ด้วยวิธีกล เป็นวิธีที่ประหยัดที่สุด ไม่มีผลต่อสิ่งแวดล้อม ระบบนิเวศของน้ำ ปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์น้ำอื่น ๆ เป็นวิธีที่ใช้แรงมาก ให้ผลการดำเนินการช้า เช่น การเก็บตัวและไข่หอยเชอรี่เพื่อทำลาย ศึกษาการจัดการหอยเชอรี่ในนาข้าวโดยใช้วิธีการเพาะปลูกและวิธีกลในการฆ่าหอย พบว่าการปลูกพืชในประเทศฟิลิปปินส์นั้นพืชที่มีอายุน้อยกว่า 30 วัน มักถูกทำลายมากกว่าพืชที่มีอายุมากกว่า 30 วัน ใช้ประกอบกับการระบายน้ำออกจากนาข้าวซึ่งใช้เป็นวิธีป้องกันจากการทำลายจากหอยเชอรี่ (Litsinger and Estano, 1993) การศึกษาวิธีการจับหอยเชอรี่แบบใหม่โดยใช้ใบกล้วย เผือก pawpaws และกระดาษหนังสือพิมพ์ใช้เป็นตัวจับ การทดสอบการจับด้วยวัสดุต่าง ๆ มีความสามารถในการจับแตกต่างกันจาก พบว่าใบของเผือกและมะละกอสามารถดึงดูดหอยเชอรี่ได้มากที่สุด (Joshi and Cruz, 2001) พบว่าการศึกษาลักษณะทางชีววิทยาของหอยเชอรี่ ใน Jiaobai ประเทศจีน และมาตรการการจัดการหอย พบว่ามาตรการการจัดการหอยมีหลายวิธี เช่น การเก็บ การใช้เป็ดไล่ทุ่ง การใช้พืชเป็นตัวจับ การใช้เครื่องมือจับ การทำลายกลุ่มไข่หอย การใส่ปุ๋ย การระบายน้ำ และการใช้ยาฆ่าแมลง (Jianming *et.al*., 2003)

6.1.2 การป้องกันและกำจัดหอยเชอรี่ด้วยชีววิธี กำจัดหอยเชอรี่โดยการใช้ศัตรูตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นวิธีการที่ปลอดภัย ประหยัด และไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ศัตรูธรรมชาติของหอยเชอรี่ ได้แก่ นกปากห่าง นกกระปูด เป็ด หนู และแมลงบางชนิด เช่น มด แมลงดานา

6.1.3 การป้องกันและกำจัดหอยเชอรี่ด้วยสารพิษจากธรรมชาติ เช่น สารสกัดจากสะเดา สาบเสือ หญ้าแห้วหมู กากชา และหางไหล

ปัจจุบันได้มีการศึกษาและสืบค้นวิธีการป้องกันและกำจัดหอยเชอรี่ด้วยสารพิษจากธรรมชาติกันอย่างแพร่หลาย เช่น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองต่อหอยเชอรี่โดยทดลองความเป็นพิษสารสกัดพืชด้วยน้ำ และเอธานอลแล้วนำมาทดสอบกับหอยขนาด 3-5 และ20-30 มิลลิเมตร และวิเคราะห์จำนวนการตายด้วยค่า LC_{50} ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ผลการทดลองพบว่าในหอยขนาดเล็กสารสกัดน้ำของเฟื่องฟ้า รัก สลอดและสารสกัดเอธานอลของส้มป่อย บานบุรี ข่า เฟื่องฟ้า รัก ดาวกระจาย ผกากรอง แก้ว แค มีความเป็นพิษสูง เมื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษของสารสกัดจากน้ำ และสารสกัดจากเอธานอลพบว่าสารสกัดเอธานอลของข่า รัก และแค มีความเป็นพิษแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมากกว่าสารสกัดเอธานอลเมื่อเปรียบเทียบความป็นพิษของพืชชนิดต่าง ๆ (สมฤดี, 2545)

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาที่มีผลต่อหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata* Lamarck) โดยในห้องทดลองใช้สารสกัด 4 ระดับ คือ 0 (กลุ่มควบคุม) 1 2 และ 3 ppm ตรวจนับจำนวนหอยตายหลังได้รับสารนาน 24 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดสะเดาเข้มข้น 3 ppm มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการกำจัดหอยเชอรี่โดยทำให้หอยขนาดเล็กตาย 100 เปอร์เซ็นต์ หลังได้รับสารนาน 72 ชั่วโมง ส่วนการศึกษาในแปลงทดลองใช้สารสกัดสะเดา 4 ระดับคือ 0 (กลุ่มควบคุม) 3 6 และ 9 ppm ตรวจนับจำนวนหอยตายภายหลังได้รับสารสกัดนาน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดสะเดาที่ความระดับความเข้มข้น 6 ppm ที่ทดสอบในแปลงธรรมชาติเป็นระดับความเข้มข้นที่ใช้กำจัดหอยเชอรี่ได้ดีที่สุดมีค่าประสิทธิภาพเฉลี่ย 79.33 เปอร์เซ็นต์ (อัญชลีกร, 2542)

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากกากชา และโล่ติ๊นในการกำจัดหอยเชอรี่ โดยทำการทดลองกับหอยเชอรี่ 3 ขนาดคือ ขนาด 0.5-2.0, 2.1-3.5 และ 3.6-5.0 เซนติเมตร ศึกษาผลของสารสกัดที่มีต่อการฟักเป็นตัวของไข่หอยเชอรี่ ศึกษาพิษเฉียบพลันและพิษตกค้างของสารสกัดที่มีต่อลูกปลานิล โดยเตรียมสารสกัดด้วยวิธีการหมักในห้องปฏิบัติการ โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ใช้ช่วงเวลาการหมักนาน 12 ชั่วโมง การวิเคราะห์ข้อมูลความเป็นพิษโดยใช้ค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าค่า LC_{50} ของสารสกัดจากกากชาต่อหอยเชอรี่ขนาด 0.5-2.0, 2.1-3.5 และ 3.6-5.0 เซนติเมตร มีค่าเท่ากับ 21.49, 42.10 และ 48.79 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับค่า LC_{50} ของสารสกัดจากโล่ติ๋นต่อหอยเชอรี่ขนาด 0.5-2.0, 2.1-3.5 และ 3.6-5.0 เซนติเมตร มีค่าเท่ากับ 25.20, 45.26 และ 77.00 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการศึกษาผลของสารสกัดจากกากชาและโล่ติ๊นที่มีต่อการฟักเป็นตัวของไข่หอยเชอรี่ พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักเป็นตัวของไข่หอยเชอรี่ ไม่แตกต่างกันไปตามระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาและโล่ติ๊น และจากการศึกษาความเป็นพิษ เฉียบพลัน และพิษที่ตกค้างในน้ำของสารสกัดจากกากชาและโล่ติ๊น พบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ว่าพิษเฉียบพลันของสารสกัดจากกากชา และโล่ติ๊นมีผลทำให้ลูกปลานิลขนาดความยาวจากหัวถึงปลายหาง 3.0-4.0 เซนติเมตร ตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 1 ชั่วโมง และเมื่อปล่อยให้สารสกัดจากกากชาออกฤทธิ์ไปเป็น 21 วัน และสารสกัดจากโล่ติ๊นออกฤทธิ์ไปเป็น 28 วัน พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของลูกปลานิล หลังสัมผัสสารไปเป็นเวลา 96 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 98.33 และ 91.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากกากชา และโล่ติ๊น มีประสิทธิภาพในการกำจัดหอยเชอรี่ทั้ง 3 ขนาด โดยประสิทธิภาพของสารสกัดจากกากชาและโล่ติ๊นแปรผกผันกับขนาดของหอยเชอรี่ แต่สารสกัดจากกากชา โล่ติ๊นไม่มีผลต่อการฟักเป็น ตัวของไข่หอยเชอรี่ (นันทิยา, 2543)

การศึกษา leaf power ของ Peltophorum pterocarpum ที่ต่อต้านหอยเชอรี่ในนาข้าว จากการศึกษาพบว่า dry leaf powder ของ yellow flame powder ปริมาณ 0 30 60 120 180 กรัมต่อ 4 ตารางเมตรใส่ใน พื้นที่ที่ทราบจำนวนหอย ที่ปริมาณ 30 กรัมต่อ 4 ตารางเมตร(75 กิโลกรัมต่อเฮกเตอร์) สามารถฆ่าหอยได้มากกว่า 50 เปอร์เซนต์ภายใน 24 ชั่วโมง ปริมาณ 60 กรัมต่อ 4 ตารางเมตร (150 กิโลกรัมต่อเฮกเตอร์) สามารถฆ่าหอยได้ 100 เปอร์เซนต์ภายใน 48 ชั่วโมง yellow flame powder ถูกย่อยสลายหลังจากใช้ไป 3 วัน ไม่มีผลกระทบต่อปลา และสัตว์น้ำอื่น ๆ เป็นพืชที่มีศักยภาพในการฆ่าหอยเชอรี่ (Suryanto *et.al.*, 1999)

6.1.4 การป้องกันและกำจัดหอยเชอรี่ด้วยวิธีเขตกรรม เป็นวิธีการกำจัดหอยที่ประหยัด ปลอดภัยและไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม วิธีเขตกรรมนี้มักใช้ร่วมกับวิธีการอื่น ๆ เช่น วิธีกล หรือ การใช้สารพิษจากธรรมชาติ มีงานวิจัยศึกษาการจัดการหอยเชอรี่โดยการระบายน้ำออกจากนาข้าวและการใช้เมทัลดีไฮด์หว่านในสภาวะฝนตก พบว่า การระบายน้ำออกทันทีภายใน 10 วันหลังจากการหว่านข้าวทำให้ระดับน้ำลดส่งผลให้หอยถูกทำลายและได้รับบาดเจ็บเมื่อใช้ เมทัลดีไฮด์ อัตราส่วน 10 % ต่อเอเคอร์ (Suzuki *et.al*., 2000)

6.1 การป้องกันและกำจัดหอยเชอรี่ด้วยการใช้สารเคมี เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมจากเกษตรกรผู้ปลูกข้าวเป็นอย่างมากเพราะกำจัดหอยเชอรี่เห็นผลได้รวดเร็ว ไม่เปลืองแรงงาน สารเคมีที่ได้รับความนิยมในการกำจัดหอยเป็นสารเคมีที่ใช้ป้องกันและกำจัดหอยในระยะที่เป็นไข่หอยและตัวหอย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รายงานวิจัยการกำจัดไข่หอยเชอรี่ ศึกษาการยับยั้งการฟักของไข่หอยเชอรี่โดยการใช้วิธี apple wax solvent พบว่าการใช้สารที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 60 เปอร์เซนต์ขึ้นไปจะสามารถลดการฟักของไข่ได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งส่งผลให้ตัวอ่อนที่อยู่ในไข่หอยหายใจไม่ออกและตายภายในไข่ (Derchung *et.al*, 2005) การวิจัยผลกระทบของยาฆ่าหอยเชอรี่ที่มีต่อไข่หอยในประเทศฟิลิปปินส์ ผลของนิโคซาไมด์ที่มีต่อการฆ่าหอยซึ่งผสมระหว่างเมทัลดีไฮด์ 250 EC และ เมทัลดีไฮด์ 300FL ในหอยเชอรี่ที่รบกวนนาข้าวในประเทศฟิลิปปินส์ พบว่าอัตราส่วนของนิโคซาไมด์ต่อน้ำ (100 ต่อ 16 ลิตร) ต่ออายุของไข่หอย 1-2 วัน ทำให้ยาฆ่าหอยชนิดนี้ลดจำนวนการฟักของไข่ และเพิ่มจำนวนการไม่ฟักของไข่เมื่อเทียบกับตัวควบคุม พบว่าอัตราการตายสูงสุด อยู่ที่ 68.1 เปอร์เซนต์ในการใช้นิโคซาไมด์ การทดลองกับไข่อายุ 1 และ 2 วันผลของนิโคลซาไมด์ทำให้ไข่ตาย 75-100 เปอร์เซ็นต์ (Joshi *et.al*., 2002)

รายงานวิจัยการกำจัดหอยเชอรี่โดยการใช้ Sodium dodecylsulfate (SDS)ในการควบคุมหอยเชอรี่ในนาข้าว จากการศึกษาพบว่าการใช้ SDS ปริมาณ 100 ppm ในนาข้าวสามารถฆ่าหอยภายใน 24 ชั่วโมงได้ โดยไม่ได้ตรวจสอบผลกระทบที่เกิดขึ้นกับต้นข้าว โดย SDS สามารถใช้ร่วมกับปุ๋ยหรือปูนขาวได้ ผลของ SDS ที่ใช้ในการควบคุมประชากรหอยเปรียบเทียบกับการใช้ triphenyltin acetate ซึ่งเป็นยาฆ่าหอยที่ใช้ในไต้หวันและถ้าเพิ่มความเข้มข้นของ SDS ตั้งแต่ 5000 ppm ขึ้นไปจะสามารถยับยั้งการฟักของไข่หอยเชอรี่ได้และถ้าเพิ่มความเข้มข้นของ SDS เป็น 10,000 ppm จะสามารถยับยั้งการฟักของไข่หอยมากกว่า 99 เปอร์เซนต์และ SDS จะส่งผลกระทบต่อผิวสัมผัสของหอยมากกว่าจากการกินเข้าไป (Tzeng *et.al*. 1994)

งานวิจัยศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันที่มีต่อหอยเชอรี่และประเมินความเป็นพิษที่สะสมในสิ่งมีชีวิตของสาร triphenylphosphine oxide และสารที่เป็นองค์ประกอบ พบว่า triphenylphosphine oxide เกิดการสะสมในสิ่งมีชีวิต triphenylphosphine oxide ส่งผลกระทบต่อยาฆ่าหอยน้อยกว่า triphenyltin acetate โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 12.2 และ 4.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Lo and Hsieh, 2000)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พืชที่ใช้ศึกษา

กลอย

1. การจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dioscorea hispida* Dennst.
ชื่อวงศ์ : Dioscoreaceae
ชื่อสามัญ : Yam plant
ชื่อท้องถิ่น : มันกลอย กลอยข้าวเหนียว กลอยหัวเหนียว กลอยนก กอย(ภาคเหนือ) กลอยก๋อยนก
ส่วนที่ใช้ : ราก

ภาพที่ 3 แสดงลักษณะของหัวกลอย (*Dioscorea hispida* Dennst.)

ที่มา: กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2548)

2. ลักษณะทางพฤษศาสตร์

ลำต้น เป็นเถาไม้เลื้อยพันต้นไม้อื่น ไม่มีมือเกาะ ลำต้นมีหนามเล็ก ๆ กระจายทั่วไป และมีขนนุ่ม ๆ สีขาวปกคลุม มีหัวอยู่ใต้ดินลักษณะทรงกลมรี มีรากเล็ก ๆ กระจายทั่วทั้งหัวมี 3-5 หัวต่อต้น เปลือกหัวบางสีน้ำตาลออกเหลือง เนื้อในหัวมี 2 ชนิด คือ สีขาว (กลอยหัวเหนียว) สีครีม (กลอยไข่, กลอยเหลือง) ใบ เป็นใบประกอบก้านใบยาว 10 – 15 เซนติเมตร มีใบย่อย 3 ใบ รูปรี

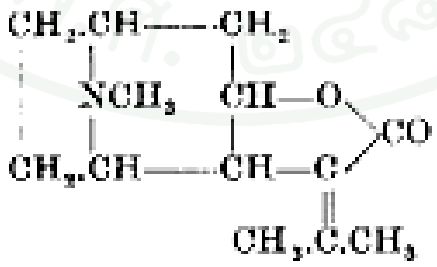
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปลายใบแหลมขอบใบเรียบเส้นใบนูน ผิวใบสากมือ มีขนนุ่มปกคลุม ความกว้างของใบ 3-5 เซนติเมตร ยาว 8-10 เซนติเมตร ดอกเป็นดอกช่อ ออกตามซอกใบ ก้านดอกเดี่ยวยาวห้อยย้อยลงมา มีดอกเล็ก ๆ ติดบนก้านดอกจำนวน 30-50 ดอกผล คล้ายผลมะเฟืองมี 3 พู แต่ละพูมี 1 เม็ด เมื่อแก่แตกได้เอง เมล็ด ลักษณะกลมแบน มีปีกบางใสรอบเมล็ดช่วยในการปลิวตามลม การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต ที่ดอนระบายน้ำดี และร่มรำไร

การศึกษาพืชหัวสกุล *Dioscorea* ในเขตป่าดิบแล้งบริเวณริมฝั่งโขง จังหวัดอุบลราชธานี อำนาจเจริญ และมุกดาหาร และบริเวณภาคเหนือตอนล่าง ซึ่งมีพืชหัวขึ้นชุกชุม ได้แก่ จังหวัดพิษณุโลก เพชรบูรณ์ อุตรดิตถ์ นครสวรรค์ ใช้วิธีการจำแนกโดยอาศัยหลักพฤกษศาสตร์ ได้แก่ รูปร่างใบ ลำต้น รูปร่างหัวและนำหัวพืชหัวสกุล *Dioscorea* มาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบด้านเคมีในห้องปฏิบัติการ ผลการศึกษาพบว่าทั้ง 2 เขต รวมกันแล้วมีพืชหัวสกุล *Dioscorea* อยู่ 8 ชนิด 22 พันธุ์ ในจำนวนนี้ชนิด *Dioscorea alata* และ *Dioscorea pirlfolia* พบมากที่สุด และพบว่ามีจำนวน 6 ชนิด 9 พันธุ์ ที่ขึ้นได้ดีในป่าดงดิบแล้งริมฝั่งโขง แต่ไม่พบในภาคเหนือตอนล่าง ผลการศึกษาทำให้ทราบว่า พืชหัวสกุล *Dioscorea* ชอบดินร่วนปนทราย การระบายน้ำดี มีอินทรีย์วัตถุต่ำปานกลาง ชอบภูมิอากาศแบบสะวันนา มีปริมาณน้ำฝนน้อย (Sroipetkasame and Intanon, 2002)

3. สารที่พบในหัวกลอย

เมื่อสกัดจากส่วนหัวใต้ดินจะได้สารที่มีกลิ่นทำให้มึนเล็กน้อย ภายในหัวกลอยมีสารสำคัญเช่น ซาโปจินิน (Sapoginin) ไดออสคอรีน (Dioscorin) ทาทาคอริน (Tatacorin) (กรมวิชาการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2548)



ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างของสาร Dioscorin

ที่มา: A. R. PINDER (1951)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. สรรพคุณและการนำไปใช้ประโยชน์

ทางการเกษตรสารภายในหัวกลอยมีมีประสิทธภาพสูงในการฆ่าแมลง ใช้น้ำหมักกลอยฉีดพ่นฆ่าแมลง เช่น เพลี้ยอ่อน แมลงสิง และแมลงทั่วไป เหาและใช้เบื่อปลา โดยโขลกหัวกลอย 1 กิโลกรัมหมักในน้ำ 20 ลิตร (1-2 คืน) ใช้น้ำหมักฉีดพ่นฆ่าแมลง ในการฆ่าแมลง เกษตรกรมักใช้น้ำหมักกลอย ฉีดพ่นฆ่าแมลง เช่น เพลี้ยอ่อน แมลงสิง

มะคำดีควาย

1. การจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Sapindus emarginatus* Vahl.
ชื่อวงศ์ : Sapindaceae
ชื่อสามัญ : Soap nut
ชื่อท้องถิ่น : มะคำดีควาย ประคำดีควาย ส้มป่อยเทศ (ภาคเหนือ) มะซักก ชะแซ ชะเหล่เด่ (กะเหรี่ยง - แม่ฮ่องสอน)
ส่วนที่ใช้ : เนื้อผล

ภาพที่ 5 ลักษณะของผลมะคำดีควาย

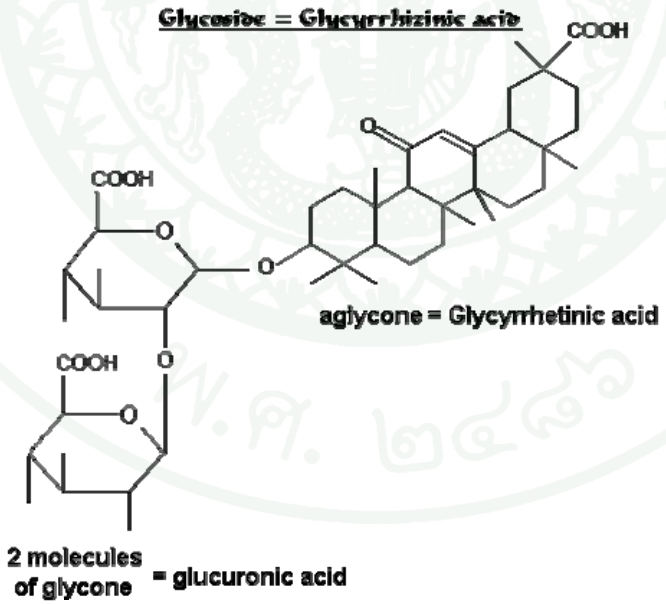
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มะคำดีควายเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางสูง 5-10 เมตร แผ่กิ่งก้านและแตกใบส่วนบนของลำต้น ใบเป็นใบประกอบที่มีใบย่อยออกตรงข้ามกันหรือทะแยงกันเล็กน้อย ประมาณ 5-12 คู่ ใบย่อยรูปร่างเรียวยาว ขอบใบค่อนข้างขนานโคนใบ และปลายใบแหลม ดอกสีขาวหรือสีเหลืองอ่อนๆ ออกเป็นช่อตามปลายกิ่ง กลีบดอกมี 5 กลีบ โคนกลีบติดกันเล็กน้อย และมีกลีบรอง 4 กลีบ ด้านนอกของกลีบรองมีขนสั้นๆ สีน้ำตาลแดง ผลกลมเป็นพวง เมื่อสุกกลายเป็นสีดำ ภายในมีเมล็ดขนาดใหญ่1เมล็ดส่วนที่ใช้เป็นยา

3. สารที่พบในมะคำดีควาย

เมื่อสกัดจากส่วนหัวใต้ดินจะได้สารที่มีกลิ่นเหมือนพุทธากวน ภายในเนื้อผลมะคำดีควายมีสารสำคัญ เช่น ซาโปนิน (Saponin) ในปริมาณสูง (กรมวิชาการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2548) saponin emerginatonede , O-methyl-saponin



ภาพที่ 6 แสดงโครงสร้างของสาร saponin

ที่มา: Pompei (1980)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. สรรพคุณ และการนำไปใช้ประโยชน์

ด้านการเกษตร ใช้ฆ่าแมลงและเบื่อปลา นำผลมะคำดีควายประมาณ 1 กิโลกรัม ทุบผลให้เนื้อผลแตกแล้วนำไปหมักในน้ำ 20 ลิตร 1 คืน นำน้ำหมักที่กรองแล้วมาฉีดพ่นฆ่าแมลงได้หลายชนิด ด้านการแพทย์มะคำดีควายเป็นสารที่ให้รสขม แก้กาฬภายใน แก้พิษไข้ ดับพิษร้อน ลูกต้มแล้วเกิดฟอง สุมหัวเด็กแก้หวัด แก้รังแค ใช้ซักผ้า หรือสระผม ใช้ผลที่มีรสขม แก้ชันตุ แก้รังแค ตำรายาไทยใช้ผลทุบให้แตก แช่น้ำล้างหน้า รักษาผิว มีรายงานว่าเนื้อผลมีสารซาโปนินที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกลากได้ดี ทาง

กากชา

1. การจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Camellia sinensis* (L).
ชื่อวงศ์ : Papilionaceae
ชื่อสามัญ : Tea seed cake
ชื่อท้องถิ่น : กากชา
ส่วนที่ใช้ : กากเมล็ดชา

ภาพที่ 7 ลักษณะของกากชา *Camellia sinensis* (L).

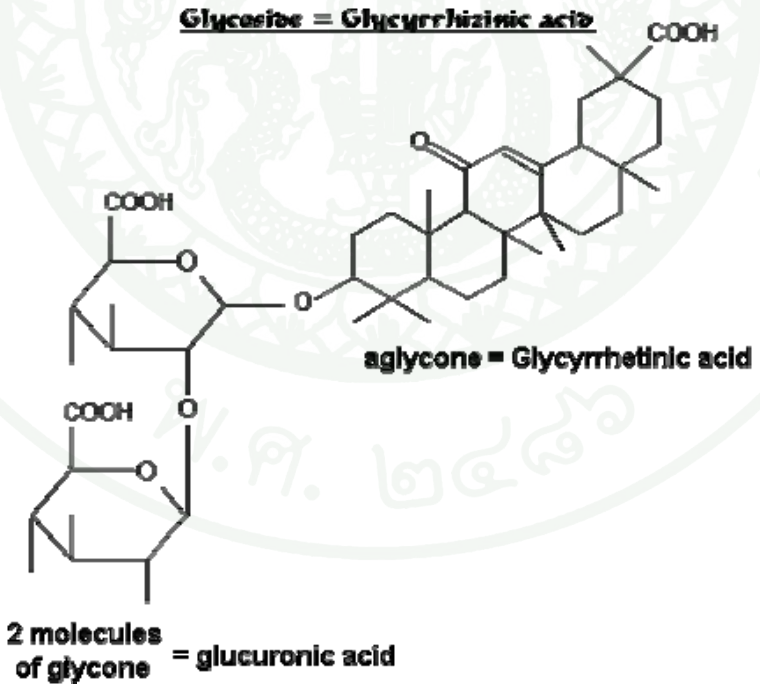
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ประวัติ และการแพร่กระจาย

ต้นชา เป็นพืชที่นิยมปลูกกันมาเป็นเวลานานเป็นพืชที่นิยมปลูกกันมากในเขตตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน เฉลี่ยเป็นระยะเวลาประมาณ 2,000 – 3,000 ปีและพบว่าไม่มีประเทศใดที่ปลูกชามากกว่าประเทศจีน แต่ปัจจุบันการปลูกชาได้แพร่กระจายไปในประเทศต่าง ๆ เช่น แถบเขตตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศอินเดีย เนปาล ศรีลังกา ประเทศแถบแอฟริกา เช่น เคนยา แทนซาเนีย อูกานดา หรือประเทศแถบยุโรป เช่น รัสเซีย จอเจีย และขยายไปประเทศแถบเอเชีย เช่น ญี่ปุ่น อินโด-ไชน่า ไต้หวัน ไทย เวียดนาม เป็นต้น (Eden, 1976)

3. สารที่พบในกากชา

เมื่อสกัดจากส่วนเปลือกหุ้มเมล็ดของกากชาได้ผลึกน้ำตาลแดง กากชามีสารสำคัญ คือ saponin



ภาพที่ 8 แสดงโครงสร้างของสาร saponin

ที่มา: Pompei (1980)

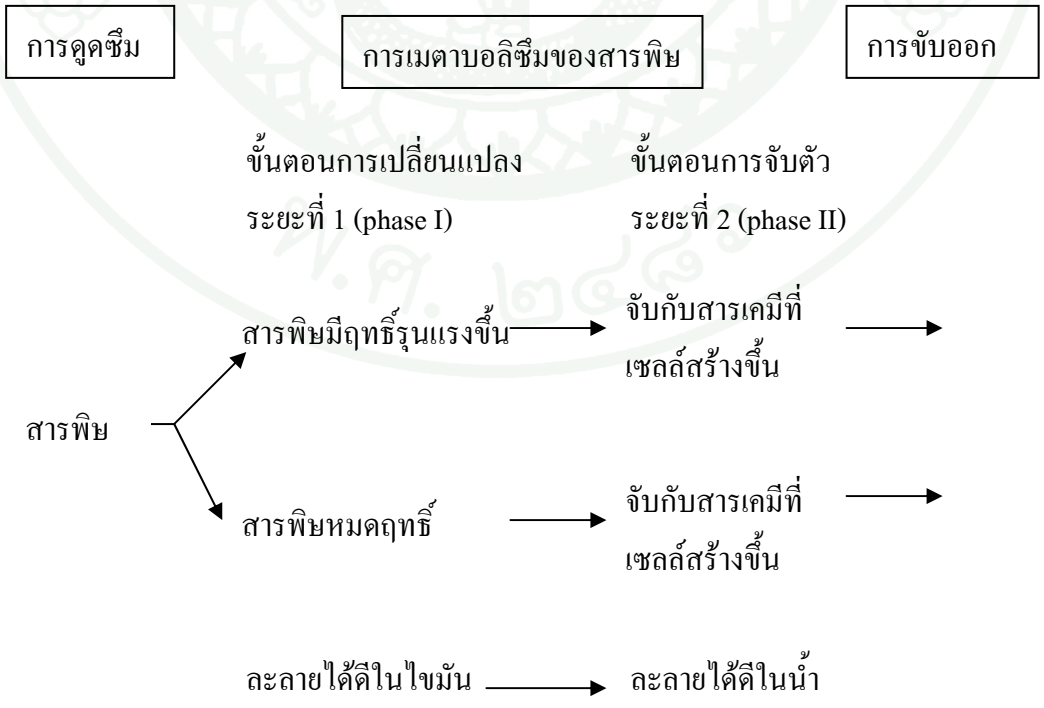
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กลไกการป้องกันและการทำลายพิษ

สิ่งมีชีวิตเมื่อได้รับสารพิษเข้าสู่ร่างกาย ไม่ว่าจะเข้าทางผิวหนัง การกินหรือทางการหายใจ สิ่งมีชีวิตย่อมจะมีกลไกในการตอบสนองต่อสารพิษเหล่านั้นโดยมีกระบวนการป้องกันหรือทำลายสารพิษ สารแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย (detoxification) โดยวิธีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษทางชีววิทยา (biotransformation) โดยมีเอนไซม์ทำลายพิษ (detoxification enzymes) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา สามารถกำจัดออกนอกร่างกายต่อไปได้

1. การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษ

สารพิษส่วนใหญ่ที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายจะอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวเป็นไอออน สามารถละลายได้ดีในไขมัน ทำให้สารพิษถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ง่ายและเร็วหลังถูกดูดซึมเข้ากระแสโลหิตแล้วจะเข้าไปในเซลล์ตับ ไต ปอดและเยื่อบุผิวทางเดินอาหารซึ่งอวัยวะดังกล่าวจะมีความสำคัญอย่างยิ่งในกระบวนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษและขับถ่ายสารพิษออกนอกร่างกาย (วราภรณ์, 2545 อ้างโดย ชัยวัฒน์ และคณะ, 2539) โดยมีขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษ 2 ขั้นตอนดังต่อไปนี้



ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

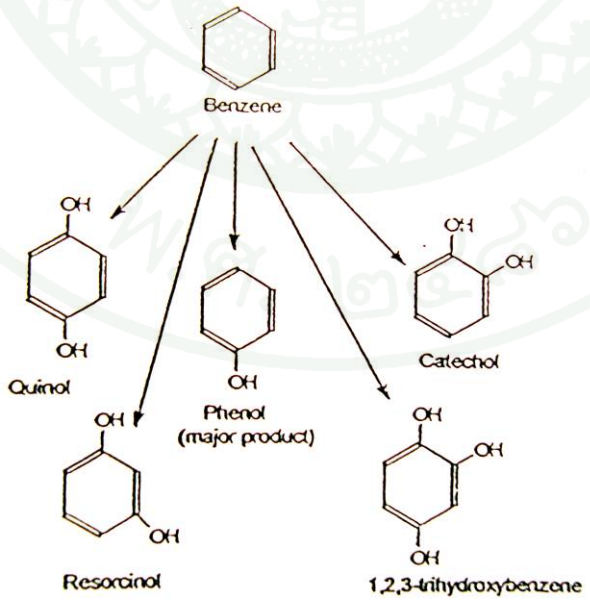
ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษภายในเซลล์ (ชัยวัฒน์และคณะ, 2539)

ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงระยะที่ 1 เมื่อสารเข้าสู่เซลล์จะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างด้วยกลไกสำคัญ 2 กลไก คือ

1. กลไกการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่ใช้เอนไซม์โดยตรงซึ่งเอนไซม์เหล่านี้จะทำให้สารพิษมีโครงสร้างใหม่ได้

2. กลไกการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่ใช้เอนไซม์ในไมโครโซม ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีองค์ประกอบพิเศษที่มี cytochrome P450 ร่วมในการทำงานด้วย

ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงในระยะที่ 1 จะทำให้สารพิษที่เข้ามามีฤทธิ์รุนแรงขึ้นหรือทำให้สารพิษหมดฤทธิ์ได้ ระยะนี้จะเกี่ยวข้องกับการเติมกลุ่มฟังก์ชันให้กับองค์ประกอบของสารพิษที่มีส่วนของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนทั้งที่เป็นสายโซ่และวงแหวนทำให้โครงสร้างของสารที่มีอยู่แล้วเปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นการที่สารมีองค์ประกอบฟังก์ชันที่มีขั้วและไวกับการทำปฏิกิริยาสามารถละลายน้ำได้ดีสะดวกต่อการกำจัดออกนอกร่างกาย ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้แก่ ออกซิเดชัน (oxidation) ไฮดรอกซิเลชัน (hydroxylation) เมแทบอลิกรีดักชัน การกำจัดกลุ่มของฮาโลเจนและการเกิดเมแทบอลิกไฮโดรไลซิส ตัวอย่างปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นดังต่อไปนี้



ภาพที่ 9 แสดงตัวอย่างของปฏิกิริยา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ขั้นตอนการจับตัวระยะที่ 2 สารพิษยังคงไม่เปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือในกรณีที่เปลี่ยนแปลงโครงสร้างแล้วจะจับตัว เรียกว่า คอนจูเกชัน (conjugation) กับสารที่มีอยู่ภายในเซลล์จนได้เป็นสารที่มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีขึ้นเพื่อง่ายต่อการขับออกนอกร่างกาย

โดยขั้นตอนต่าง ๆ เริ่มเมื่อสารประกอบผ่านระยะที่ 1 จะไปจับกับซับสเตรท ภายในอวัยวะต่าง ๆ (endogenous substrate) ที่เป็นองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรต โปรตีน กรดอะมิโน หรือกลุ่มของธาตุกำมะถันและองค์ประกอบของฟอตเฟตต่าง ๆ จากการมีขั้วในปฏิกิริยาแรก อาจทำให้เกิดปฏิกิริยาที่เรียกว่า คอนจูเกชัน ผลผลิตของปฏิกิริยาส่วนใหญ่จะเป็นคอนจูเกชันโปรดัก มีองค์ประกอบที่มีคุณสมบัติในการละลายในไขมันได้น้อยลงแต่จะละลายน้ำได้สูง มีพิษน้อยลง สามารถขับออกนอกร่างกายได้ดียิ่งขึ้น เหตุการณ์สำคัญที่เกิดขึ้นในระยะที่ 2 คือ การคอนจูเกชันโดยสารกลูคิวโรไนด์ (conjugation by glucuronides) การคอนจูเกตโดยกลูทาไทโอน (conjugation by glutathione) และการคอนจูเกชันโดยซัลเฟต (conjugate by sulflate) เป็นต้น

การคอนจูเกตโดยกลูทาไทโอนขั้นตอนนี้จะมีกลุ่มของสารภายในที่เรียกว่า กลุ่มของกลูตาไทโอนมีความสำคัญในการคอนจูเกชันของสารแปลกปลอมต่าง ๆ ที่เข้าสู่ระยะที่ 2 ซึ่งสารกลูตาไทโอนเป็นกลุ่มที่เป็นพวกไตรเปปไทด์โดยมีกลุ่มของกรดอะมิโนยึดเหนี่ยวกันถึง 3 ชุด คือ กลูตามีน ซีสตีอีนและไกลซีนจากโครงสร้างของกลูทาไทโอนจะพบว่าสารประกอบซัลไฮดริล (SH) มีบทบาทสำคัญในการคอนจูเกชันโดยยึดเหนี่ยวแบบโคเวเลนต์กับสารประกอบอื่นๆ ที่ร่างกายได้รับเข้าไป ผลของการคอนจูเกตอาจจะมีการกำจัดออกนอกร่างกายต่อไปหรือมีการจัดรูปใหม่เป็นกลุ่มของกรดเมอแคพทูริค (mercapturic acid) มีกลุ่มของเอนอะเซทติลซิสทีอีน (N-acetylcystein) ซึ่งสามารถละลายน้ำได้ดีมากและถูกขับออกนอกร่างกายอย่างรวดเร็ว (Visetson and Naknatti, 1996) สำหรับขั้นตอนดังกล่าว มีกลไกการเกิดปฏิกิริยาได้ 3 แบบ (สุรพล, 2542) ดังนี้

แบบที่ 1 Xenobiotic + activated conjugating agent	conjugated product
แบบที่ 2 Activated xenobiotic + amino acid	conjugated product
แบบที่ 3 Reactive xenobiotic + conjugating agent	conjugated product

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สำหรับปฏิกิริยาในระยะที่ 2 ปฏิกิริยาส่วนใหญ่จะให้ผลผลิตเป็นคอนจูเกชันโปรดักซึ่งตัวอย่างปฏิกิริยาการคอนจูเกชัน (Abou-Donia, 1995) ได้แก่

Reaction	**Transferase**	**Functional group**
Glucuronidation	UDP-Glucuronyltransferase	-OH -COOH $-NH_2$ -SH
Glycosidation	UDP-Glycosyltransferase	-OH -COOH -SH
Sulfation	Sulfotransferase	-OH $-NH_2$ $-SO_2NH_2$
Methylation	Methyltransferase	-OH $-NH_2$
Acetylation	Acetyltransferase	-OH $-NH_2$ $-SO_2NH_2$
Amino acid conjugation		-COOH
Glutathione conjugation	Glutathione-S-transferase	Epoxide Organic halide
Fatty acid conjugation		-OH

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษ นอกจากจะทำให้สารพิษดังกล่าวมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีขึ้นยังทำให้สารพิษมีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์เปลี่ยนแปลงไปอีกด้วย การเปลี่ยนแปลงการออกฤทธิ์มีดังนี้

1. การเปลี่ยนแปลงจากสารพิษที่ไม่สามารถออกฤทธิ์การเกิดพิษให้เป็นออกฤทธิ์ได้
2. การเปลี่ยนแปลงจากสารพิษที่สามารถออกฤทธิ์ได้ให้เป็นสารพิษที่ออกฤทธิ์ไม่ได้

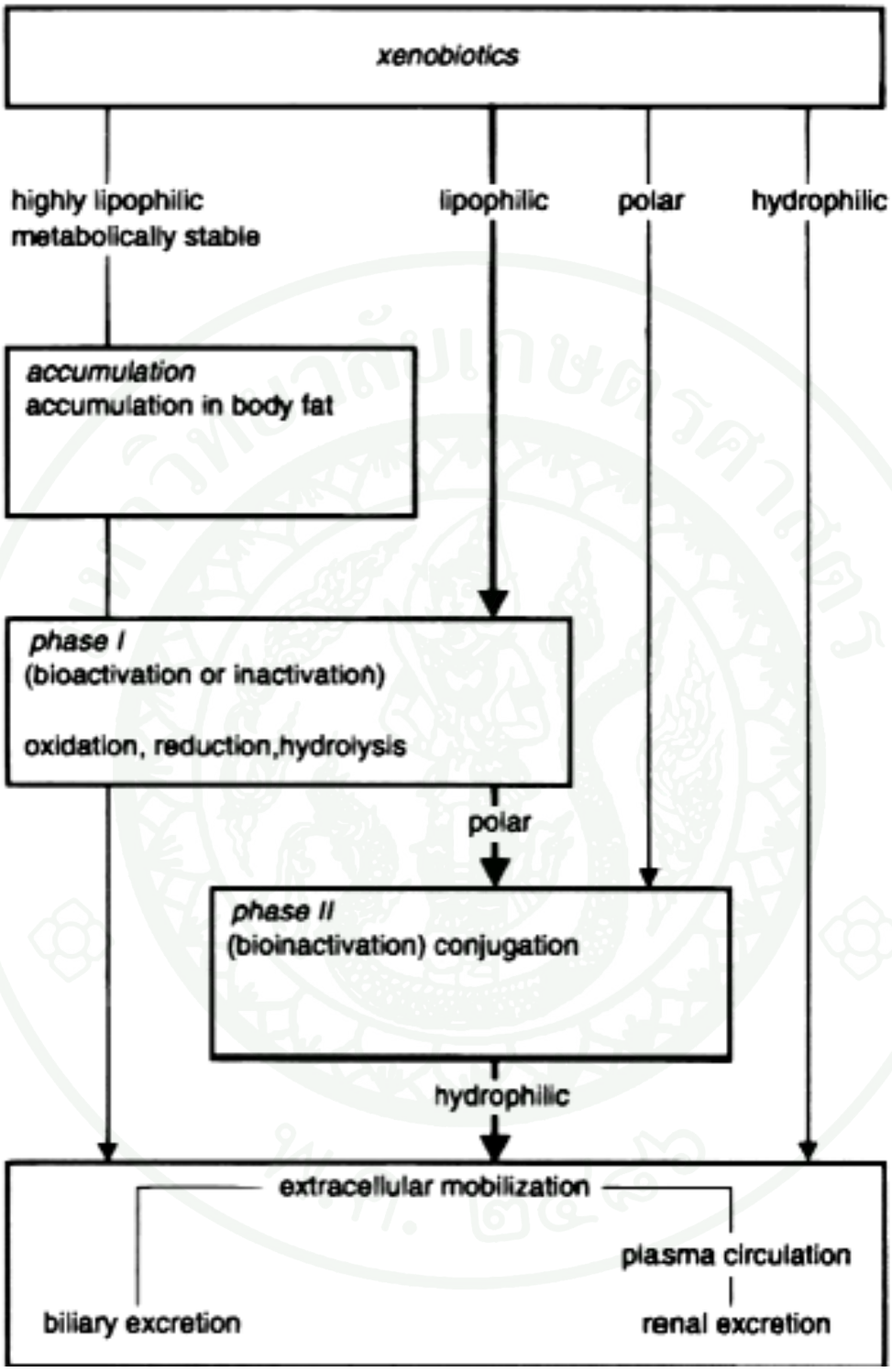
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การเปลี่ยนแปลงจากสารพิษที่สามารถออกฤทธิ์ได้ทำให้ออกฤทธิ์มากขึ้น

2. ระบบเอนไซม์ทำลายพิษ

ระบบเอนไซม์ทำลายพิษ เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาให้กับสารตั้งต้นหรือซับสเตรตเปลี่ยนแปลงรูปไปอาจทำให้ผลของความเป็นพิษลดน้อยลงหรือเพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะต้องขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น อุณหภูมิ pH และชนิดของสิ่งมีชีวิต เป็นต้น สารพิษหรือสารแปลกปลอมจะสามารถเข้าสู่ร่างกายของสิ่งมีชีวิตได้หลายทาง เช่น ทางปาก ผิวหนังและการหายใจ เมื่อสารต่าง ๆ เหล่านี้เข้าสู่ร่างกายแล้วถูกดูดซึมกระจายไปตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย แต่ร่างกายสามารถขับถ่ายและมีเมแทบอลิซึมในการเปลี่ยนแปลงสภาพของสาร คือ การทำให้สารใหม่มีพิษมากกว่าเดิม ทำให้สารแปลกปลอมมีโครงสร้างที่ผิดไปจากสารเดิม หรือที่เรียกว่า biotransformation ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารแปลกปลอมที่เป็นผลมาจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในร่างกายของสิ่งมีชีวิต (สุรพล, 2542) ตัวอย่างเอนไซม์ทำลายพิษที่สำคัญได้แก่ เอสเทอเรสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 10 สรุปขั้นตอนของสารแปลกปลอมชนิดต่าง ๆ ในกระบวนการระยะที่ 1 และระยะที่ 2

ที่มา: Niesink *et.al.(*1996)

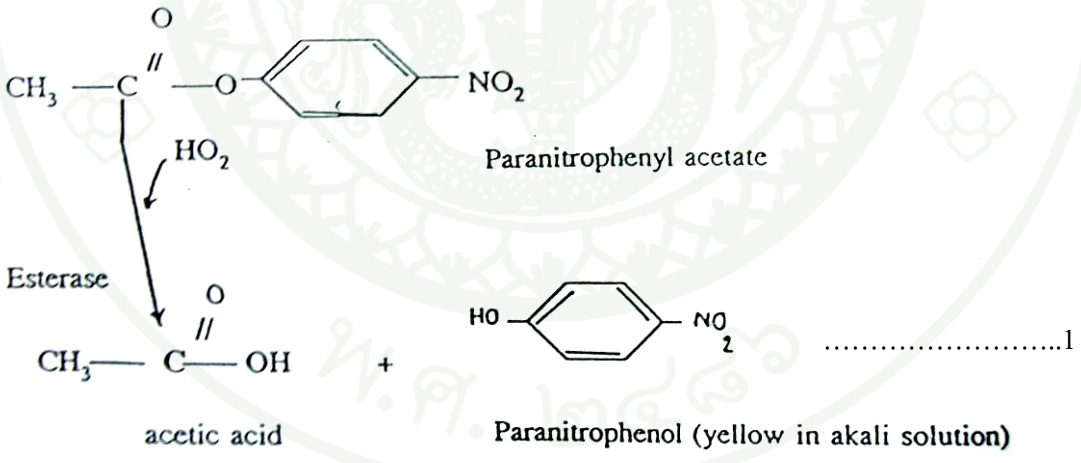
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การตรวจวัดระดับเอนไซม์

3.1 การตรวจวัดระดับเอนไซม์เอสเทอเรส

เอนไซม์เอสเทอเรสเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระยะที่ 1 ในปฏิกิริยาการเกิดไฮโดรไลซิส (hydrolysis) โดยเอสเทอเรสจะเป็นเอนไซม์ไฮโดรเลสที่ไปแยกกลุ่มของเอสเทอร์ส่วนผลของการเกิดไฮโดรไลซิสผลผลิตที่ได้อาจจะมีพิษมากกว่าหรือน้อยกว่าสารตั้งต้นและถูกกำจัดออกนอกร่างกายต่อไป (Visetson, 1991)

การตรวจวัดระดับเอนไซม์เอสเทอเรสใช้วิธี PNPA assays อาศัยหลักการคือเอนไซม์เอสเทอเรสเร่งการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของสารตั้งต้นคือ พาราไนโตรฟีนิลอะซิเตส (PNPA) ไปเป็นพาราไนโตรฟีนอล (paranitrophenol) ซึ่งเกิดเป็นสารละลายสีเหลือง ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของพาราไนโตรฟีนอลที่เกิดขึ้นด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร ดังสมการที่ 1



.....1

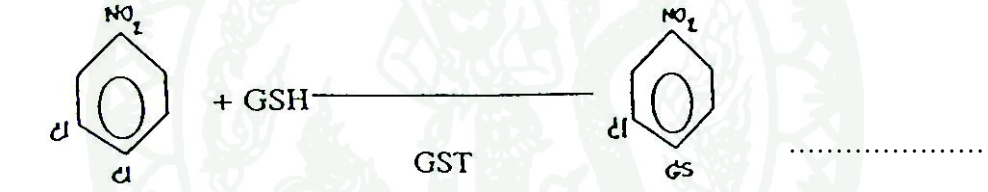
3.2 การตรวจวัดระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส

กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระยะที่ 2 ในการเร่งปฏิกิริยาคอนจูเกชันซึ่งมีการเกิดกรดเมอร์แคพทูริก ที่เกิดจากการใช้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารต่าง ๆ เช่น การใช้สารปฏิชีวนะ สารฆ่าแมลง สารกำจัดวัชพืชและสารก่อมะเร็งต่าง ๆ ก็เป็นผลมาจากการช่วยเหลือของเอนไซม์ในการขับสารพิษที่ใช้เป็นสารตั้งต้น (Hansson *et.al.*, 1999) สารกลูตาไทโอนภายในเซลล์เข้าทำปฏิกิริยากับสารพิษโดยอาศัยเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสแล้วได้สารจำพวกกรดเมอร์แคพทูริกออกมาบางทีเรียกกระบวนการนี้ว่า การสร้างกรดเมอร์แคพทูริก (mercapturic acid synthesis) (ชัยวัฒน์ และคณะ, 2539)

การตรวจวัดระดับเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสใช้วิธี DCNB หรือ CDNB assay โดยทั้งสองวิธีใช้หลักการเดียวกัน แต่ใช้ซับสเตรตต่างกันคือ เปลี่ยนจาก DCNB เป็น CDNB โดยหลักการคือ DCNB + glutathione มีเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสเป็นตัวเร่ง ทำการวัดผลิตภัณฑ์โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 344 นาโนเมตร (DCNB assay) และ340 นาโนเมตร (CDNB assay) ดังสมการที่ 2



.....2

Dichloronitrobenzene (DCNB) Monochloronitrobenzene-glutathion

4. กลไกเอนไซม์ทำลายพิษในสัตว์

4.1 เอสเทอเรส พบในเนื้อเยื่อทางเดินอาหาร ไซโทพลาซึมของพืชและสัตว์ เอนไซม์ทำหน้าที่แยกเอสเทอออกจากสารแปลกปลอม (xenobiotic) โดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Mackness *et al*., 1983)

4.2 กลูทาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสพบในเนื้อเยื่อไขมันของพืชและสัตว์ หน้าที่ทำให้เกิดกระบวนการรวมกันของสารแปลกปลอม (Reidy *et al.*, 1990)

5. การเปลี่ยนแปลงที่สำคัญในกิจกรรมของเอนไซม์ทำลายพิษ

5.1 การเปลี่ยนแปลงความสามารถของการทำลายพิษของสารที่ผลิตจากพืชและสารแปลกปลอม เพิ่มอัตราการขับถ่ายของเสียที่เกิดจากเมแทบอลิซึม เพิ่มระบบภูมิคุ้มกันและเหนี่ยวนำให้เกิดพฤติกรรมทางเพศ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5.2 กลูทาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส เพิ่มกิจกรรมทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระบบภูมิคุ้มกันในแมลงบางชนิด (Matsumura, 1991) เพิ่มความต้านทานต่อสาร Polychlorinated Biphenyls (PCBs) ในหนอนใยผัก (*Plutella* sp.) (Visetson, 2005) และปลวกแอฟริกัน (Kulpiyawatana, 2001)

5.3 เอสเทอเรสเหนี่ยวนำให้เพิ่มการผสมพันธุ์ การวางไข่ และเพิ่มความต้านทานต่อ ester polycyclic ในปลวก *Tribolium* sp (Reidy *et al*. 1991)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สัตว์ที่ไม่ใช่เป้าหมายของการทดลอง

ผึ้งชันโรง

1. การจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Trigona apicalis* Smith.
ชื่อสามัญ : stingless bee
ชื่อท้องถิ่น : ชันโรงตัวเล็กเรียกขี้ตังนีหรือขี้ตึง (ภาคเหนือ) แมลงอุง (ภาคใต้) ขี้สูด (ภาคอีสาน) ชำมะโรง อีโลม (ภาคตะวันออก) ตัวตุ้งติ้ง (ภาคตะวันตก)

ภาพที่ 11 แสดงผึ้งชันโรงที่ใช้ในการทดลอง

ชันโรงเป็นชื่อสามัญที่ใช้เรียกผึ้งที่ไม่มีเหล็กไน อยู่ในอันดับ Hymenoptera ชันโรงเป็นผึ้งที่มีวิวัฒนาการทางสังคมชนิดหนึ่งของแมลง ซึ่งมีการแพร่กระจายอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศไทย

2. ลักษณะทั่วไป

ชันโรงดำรงชีวิตโดยแบ่งเป็นวรรณะต่าง ๆ ดังนี้ วรรณะนางพญา (queen) วรรณะเพศผู้ (males) และวรรณะผึ้งงาน (workers) แต่ละวรรณะมีหน้าที่ต่าง ๆ ดังนี้

ชันโรงวรรณะนางพญา (queen)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นางพญามีหน้าที่วางไข่และควบคุมการทำงานของสมาชิกภายในรัง โดยเฉพาะชันโรงวรรณะผึ้งงาน เช่น การสร้างหลอดรังตัวหนอน การเตรียมอาหารสำหรับสมาชิกทุกวรรณะภายในรัง การป้องกันรัง การออกหาอาหาร การหาวัสดุสร้างและซ่อมแซมรัง ถ้าภายในรังขาดชันโรงวรรณะนางพญาการทำงานจะไม่มีระบบชันโรงวรรณะผึ้งงานจะค่อย ๆ ตายจนหมดรัง (วันทนา, 2546) ชันโรงนางพญาจะเป็นเพศเมียที่สมบูรณ์ ส่วนท้องมีขนาดอ้วนและกว้างกว่าส่วนอกและหัว ขาค่อนข้างเล็กขาหลังเรียวเล็กไม่แผ่แบนเหมือนชันโรงวรรณะผึ้งงานและชันโรงวรรณะเพศผู้

ชันโรงวรรณะผึ้งงาน เป็นเพศเมียที่เป็นหมัน ไม่เคยผสมพันธุ์ มีระบบสืบพันธุ์ไม่เจริญมีอวัยวะที่เจริญสอดคล้องกับการทำงาน เช่น การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของขาส่วนหน้า Tibia ขาหลังขยายกว้างไว้ใช้เก็บละอองเรณู

ชันโรงวรรณะเพศผู้ ตารวมจะเจริญพัฒนาได้ดี ส่วนของกราม (mandible) เล็กไม่เหมาะสมกับการใช้งาน ส่วนปลายท้องปล้องสุดท้ายเป็นอวัยวะสำหรับการผสมพันธุ์ 1 คู่ชัดเจน ขามีขนปกคลุมใกล้เคียงกับชันโรงวรรณะผึ้งงาน (วันทนา, 2546)

3. บทบาทและความสำคัญของชันโรง

พฤติกรรมการหาอาหารของชันโรงในแง่การช่วยผสมเกสรพืช คือ เก็บอาหารแล้วก่อให้เกิดประโยชน์แก่พืชในแง่ของการผสมเกสร (positive visits) แบ่งพฤติกรรมการหาอาหารได้ 3 แบบ คือ

1. หากินเฉพาะน้ำหวาน (nectar foragers) ผึ้งกลุ่มนี้โดยมากจะเข้าลงตอมดอกไม้ด้านหน้าดอก ใช้ปากก้มดูดน้ำหวานอย่างเดียว ไม่เก็บละอองเรณูไปด้วย โอกาศผสมเกสรจะเกิดขึ้นได้เพราะลำตัวสัมผัสกับละอองเรณูซึ่งติดตามตัวแล้วเข้าไปติดดอกอื่น

2. หากินเฉพาะละอองเรณู (pollen foragers) ผึ้งกลุ่มนี้ลงตอมดอกไม้เก็บเฉพาะละอองเรณูไว้ใน pollen baskets

3. ดูดกินน้ำหวานพร้อมเก็บละอองเรณูด้วยพร้อมกัน nectar-pollen foragers เป็นชนิดที่ช่วยผสมเกสรได้ดี

ชันโรงมีพฤติกรรมคล้ายผึ้งรวง คือ ลงตอมดอกไม้แล้วมีการลงตอมซ้ำอีก จัดเป็นแมลง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผสมเกสรประจำถิ่น คือ หากินหรือตอมดอกไม้ในระยะที่ไม่ไกลจากรังที่มันอยู่มากนัก (วันทนา, 2546) ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรในการควบคุมชันโรงให้ลงตอมดอกของพืชเป้าหมาย ชันโรงมีนิสัยไม่เลือกพืชอาหารที่ลงตอม จึงลงตอมพืชได้มากชนิด เป็นแมลงที่ชอบเก็บละอองเรณู มีพฤติกรรมตอมดอกที่ละเอียด นุ่มนวล ไม่ทำให้ดอกช้ำและสามารถตอมดอกไม้ทุกดอกและมีอายุยืนยาวกว่าผึ้งรวง จึงทำให้ชันโรงเป็นแมลงที่ผสมเกสรที่มีประโยชน์อย่างยิ่งในการเกษตรและช่วยให้เกิดความหลากหลายทางชีวภาพ (ศูนย์อนุรักษ์และขยายพันธุ์ผึ้งที่ 4 จันทบุรี, 2540)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปลานิล

1. การจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Oreochromis nilotica*
ชื่อวงศ์ : Cichlidae
ชื่อสามัญ : ปลานิล

ก. ข.

ภาพที่ 12 แสดงลักษณะปลานิลขนาด 4 เซนติเมตร

2. ลักษณะทั่วไปของปลานิล

ปลานิลมีรูปร่างคล้ายปลาหมอเทศ ลำตัวสั้น แบนข้างแต่ลักษณะพิเศษของปลานิลคือ ริมฝีปากบนและล่างเสมอกัน ซึ่งปลาชนิดอื่น ๆ มักมีริมริมฝีปากบนสั้นกว่าริมฝีปากล่าง บริเวณแก้มมีเกล็ด 4 แถว สีของลำตัวจะเปลี่ยนไปตามสภาพแวดล้อมของแหล่งที่อยู่อาศัยคือตั้งแต่สีดำอ่อนจนถึงสีเขียวดำ ท้องสีขาว ที่ลำตัวมีลายพาดขวางประมาณ 9-10 แถบตั้งแต่หัวจรดโคนหาง เพศผู้และเพศเมียมีลายพาดขวาง 7 แถบแต่เพศเมียสีจางกว่าเพศผู้มาก ครีบหลัง ครีบก้น

ปลานิลอาศัยอยู่รวมกันเป็นฝูงตามแม่น้ำ ลำคลอง บึง ทะเลสาบ ที่เป็นแหล่งน้ำจืด แต่สามารถนำไปเลี้ยงในบริเวณที่เป็นน้ำกล่อยได้เนื่องจากทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดี สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในช่วงการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิกว้างมาก คือ 11-40

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส พบว่าปลานิลปรับตัวและเจริญเติบโตได้ไม่ดีนัก เพราะถิ่นกำเนิดเดิมอยู่ในเขตร้อน (อุดม, 2549)

3. บทบาทและความสำคัญของปลานิล

ปลานิลเป็นปลาที่มีความอดทน สามารถปรับตัวให้เข้าสภาพแวดล้อมได้ดี จึงเลี้ยงได้ทั้งในน้ำจืดและน้ำกร่อย การกินอาหารสามารถกินได้ทั้งพืช สัตว์ แพลงค์ตอนสัตว์ รวมทั้งซากพืชที่เน่าเปื่อย ตะไคร่น้ำ สาหร่ายชนิดต่าง ๆ มูลสัตว์ สัตว์หน้าดินบางชนิด เหมาะที่เกษตรกรจะนำมาเลี้ยงในบ่อคอนกรีต บ่อดิน และทุ่งนา เป็นปลาที่สามารถขยายพันธุ์ได้เอง ให้ลูกดก เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็วเนื้อมีรสชาติดี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บ วางไข่หอยเชอรี่และวัดไข่หอยเชอรี่

1.1 ไข่หอยเชอรี่ (*Pomacea canaculiculata* Lamarck) การเก็บตัวอย่างจากนาข้าวที่อำเภอทรงาม จังหวัดกำแพงเพชร

1.2 กรรไกร

1.3 ตระกร้าใส่ไข่หอย

1.4 ตะกร้าวางไข่หอย

1.5 ตาข่ายพลาสติกร้อยด้วยลวดเล็กสำหรับวางไข่หอย

1.6 เทอร์โมมิเตอร์

1.7 เวอร์เนียคาลิปเปอร์

2. อุปกรณ์สำหรับสกัดสารจากพืช

2.1 หัวกลอย (*Dioscorea hispida* Dennst.) จากอำเภอไทรงาม จังหวัดกำแพงเพชร

2.2 ผลประคำดีควาย (*Sapindus emarginatus* Vahl) จังหวัดสุพรรณบุรี

2.3 กากชา *Camellia sinensis* (L).

2.4 เครื่องปั่นละเอียด

2.5 Soxhlet extractor

2.6 เครื่องหล่อเย็น

2.7 บีกเกอร์ขนาด 100 250 1000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2.8 แอลกอฮอล์ 95 %

2.9 เครื่องระเหยสาร

2.10 เตาอบ

2.11 มีด

2.12 ขวดรูปชมพู่

2.13 ตาไฟฟ้า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. อุปกรณ์สำหรับทดสอบการฟักของไข่หอยเชอรี่และทดสอบการตายของสัตว์ทดลอง

3.1 ไข่หอยเชอรี่

3.2 สารสกัดจากกลอย เมล็ดกากชาและมะคำดีควาย

3.3 แท่งแก้วคนสาร

3.4 ตาข่ายพลาสติกร้อยด้วยลวดเล็กสำหรับวางไข่หอย

3.5 บีกเกอร์ขนาด 100 mL

3.6 เครื่องนับจำนวนหอย

4. อุปกรณ์ที่ใช้ทดสอบวัดเอนไซม์

4.1 ตู้เย็นปรับอุณหภูมิ

4.2 Potassium phosphate buffer

4.3 Polyvinylpolypyrrolidone (PVPP)

4.4 Ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA)

4.5 Glutathione reduced from

4.6 Paranotrophenyl acetate (PNPA)

4.7 Dichlorodinitrobenzene (DCNB)

4.8 Sodium hydroxide

4.9 Sodium carbonate

4.10 Potassiumtatrate

4.11 Copper sulfate

4.12 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่งยี่ห้อ Sartorius รุ่น AC 2115

4.13 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

4.14 เครื่อง Spectophotometer

4.15 Pasture pipette

4.16 Micropipet pipette tip

4.17 กระบอกตวงขนาด 10 100 1000 มิลลิลิตร

4.18 ขวดรูปชมพู่

4.19 Microtube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

4.20 โกร่งบด

4.21 แท่งแก้วคนสาร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.22 กรวยกรองขนาดเล็ก

4.23 Quatze cuvett

4.24 กล่องโฟม

4.25 ผ้าปิดจมูก

4.26 ถุงมือยาง

5. อุปกรณ์สำหรับทดสอบสัตว์ที่ไม่ใช่เป้าหมาย

5.1 ลูกปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linn.)

5.2 กล่องพลาสติกสำหรับทดสอบสาร

5.3 Multiparameter Hana

5.4 สารสกัดจากกลอย กากชา และมะคำดีควาย

5.5 ชันโรง (*Trigona apicalis* Smith.)

5.6 แก้วพลาสติกใส

5.7 ผ้าขาวบาง

5.8 หนังยาง

5.9 ขวดสเปย์สาร

5.10 ปิเปต

5.11 จุกยาง

5.12 แท่งแก้วคนสาร

5.13 บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร

5.14 กระบอกตวงขนาด 10 100 1000 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีการ

1. การเก็บไข่หอยเชอรี่สำหรับใช้ในการทดลอง

1.1 วิธีเก็บไข่หอยเชอรี่

การเก็บไข่หอยเป็นแบบสุ่มเก็บในนาข้าวโดยเก็บไข่หอยที่มีอายุ 1 วัน เริ่มเก็บไข่หอยตอนเช้าเวลา 06.00 – 11.00 น.การเก็บจะเก็บไข่หอยที่เพิ่งไข่ใหม่ ๆ โดยสังเกตจากไข่หอยใหม่ ๆ จะมีสีชมพูสด มีเมือกปกคลุมไข่และเมือกที่ปกคลุมกลุ่มไข่จะยังไม่แห้ง การเก็บโดยใช้กรรไกรตัดต้นพืชที่กลุ่มไข่หอยเกาะอยู่และวางไว้ในตะกร้า

1.2 การเตรียมไข่หอยเชอรี่

คัดเลือกไข่หอยที่ใช้ในการทดสอบกับสารสกัดหัวกลอย ผลมะคำดีควาย และกากชา โดย คัดเลือกกลุ่มไข่หอยที่สมบูรณ์ และมีขนาดใกล้เคียงกันไว้เป็นกลุ่ม ๆ สำหรับทดลอง

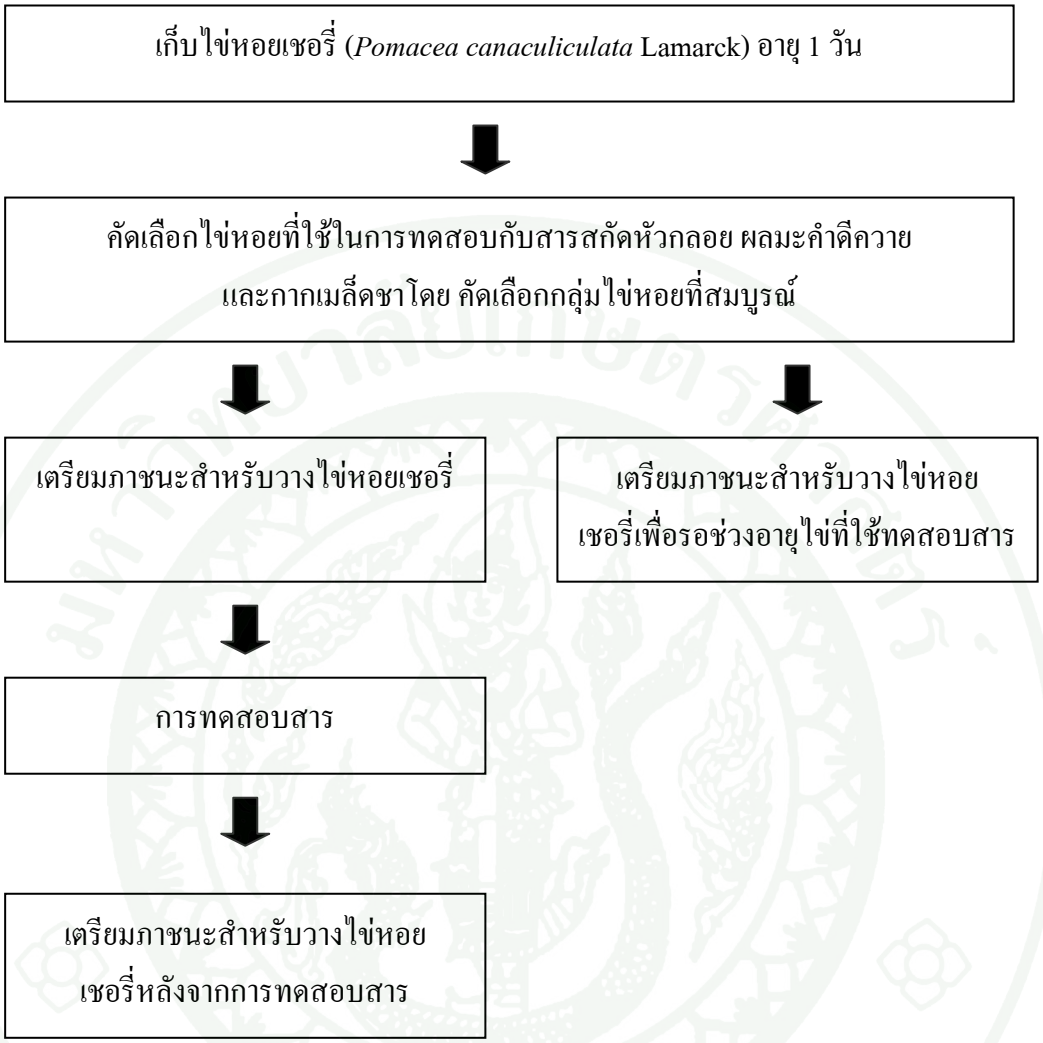
1.3 การเตรียมภาชนะสำหรับวางไข่หอยเชอรี่ช่วงรอการทดสอบสาร

ใช้กะละมังใบใหญ่ ใส่น้ำประปาและใช้ตาข่ายพลาสติกวางบนปากกะละมังสำหรับเป็นที่วางไข่หอย

1.4 การเตรียมภาชนะสำหรับวางไข่หอยเชอรี่หลังจากการทดสอบสาร

ใช้ตาข่ายพลาสติกร้อยด้วยลวดและนำตาข่ายวางบนแก้วที่บรรจุน้ำโดยใช้ลวดยึดนำไข่ที่ผ่านการทดสอบสารวางบนตาข่ายพลาสติกที่เตรียมไว้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



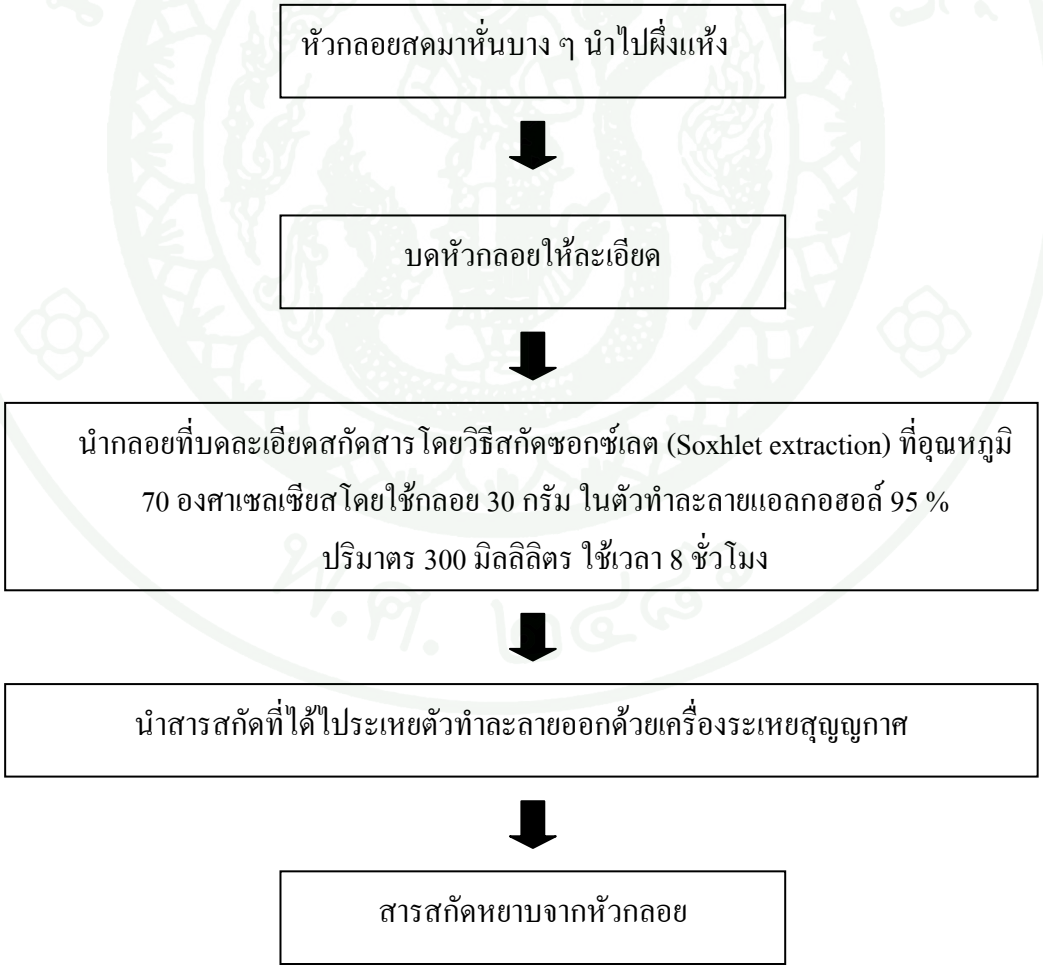
ภาพที่ 13 แสดงขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างไข่หอยเชอรี่สำหรับการทดสอบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การสกัดสารจากพืช

2.1 การสกัดหัวกลอย

นำหัวกลอยสดมาหั่นบาง ๆ นำไปตากแห้ง แล้วบดให้ละเอียด นำไปสกัดสารโดยวิธีของ Dadang และคณะ (1996) และดัดแปลงวิธีการของ Visetson *et al.* (2005) สกัดสารด้วยวิธีการสกัดซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสโดยใช้หัวกลอยที่บดละเอียด 30 กรัม แอลกอฮอล์ 95 % ปริมาตร 300 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลาย ใช้เวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เก็บส่วนที่ได้จากการระเหยที่มีลักษณะข้นไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพสารต่อไป



ภาพที่ 14 แสดงขั้นตอนการเตรียมสารสกัดจากหัวกลอย

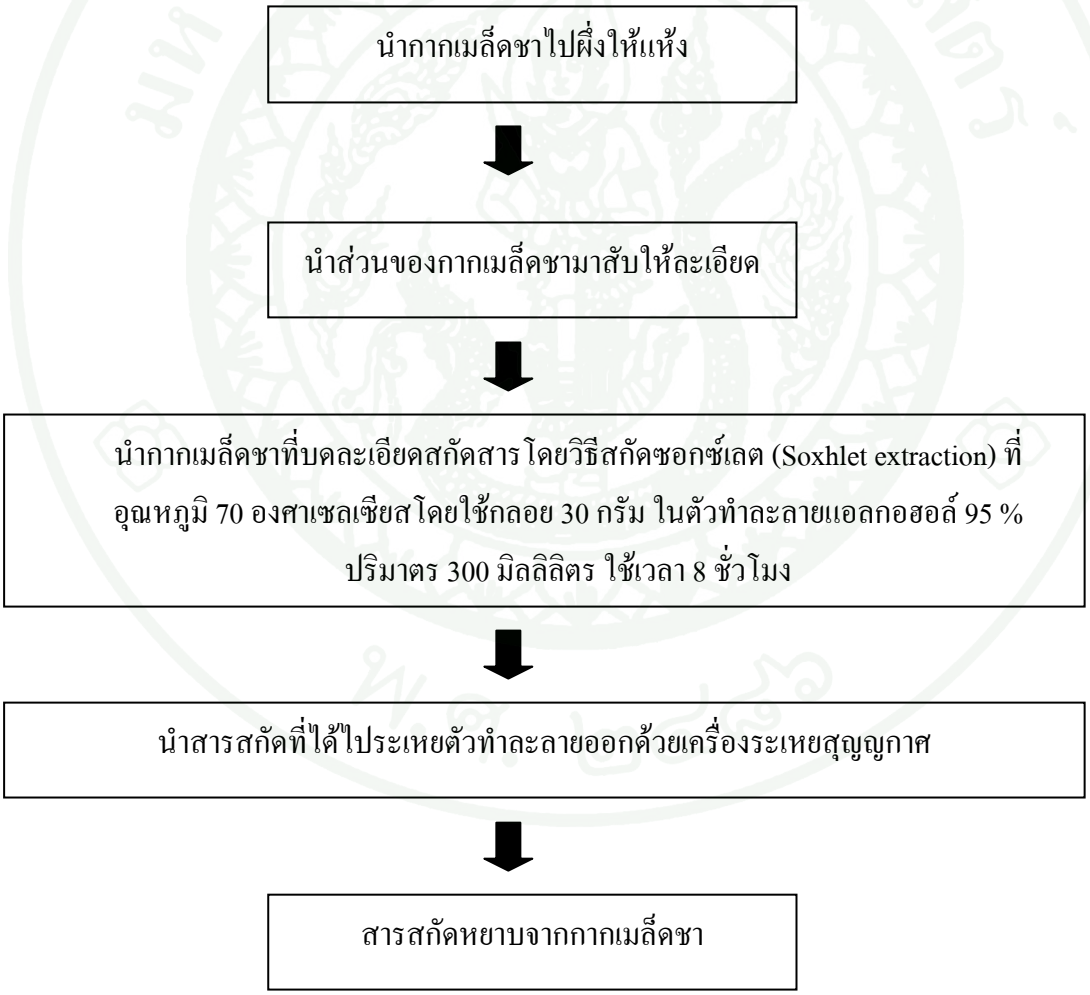
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 15 ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดจากหัวกลอย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

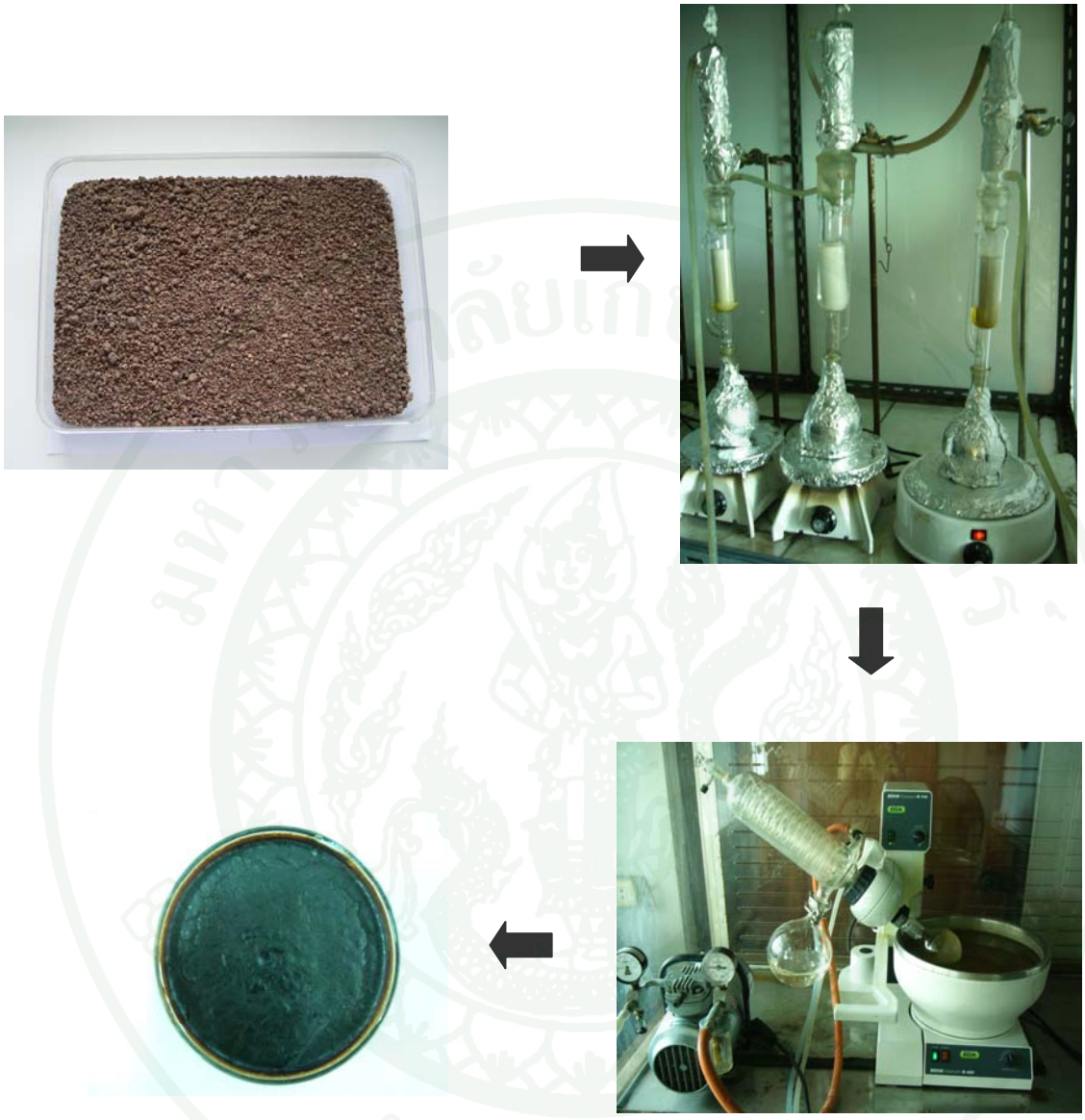
2.2 การสกัดกากเมล็ดชา

นำกากเมล็ดชาไปตากแห้ง แล้วบดให้ละเอียด สกัดสารด้วยวิธีการสกัดของ Dadang และคณะ (1996) และดัดแปลงวิธีการของ Visetson *et al.* (2006) ซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสโดยใช้กากเมล็ดชาบด 30 กรัม มีแอลกอฮอล์ 95 % ปริมาตร 300 มิลลิลิตรเป็นตัวทำละลาย ใช้เวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เก็บส่วนที่ได้จากการระเหยที่มีลักษณะข้นไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพสารต่อไป



ภาพที่ 16 แสดงขั้นตอนการเตรียมสารสกัดจากกากเมล็ดชา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

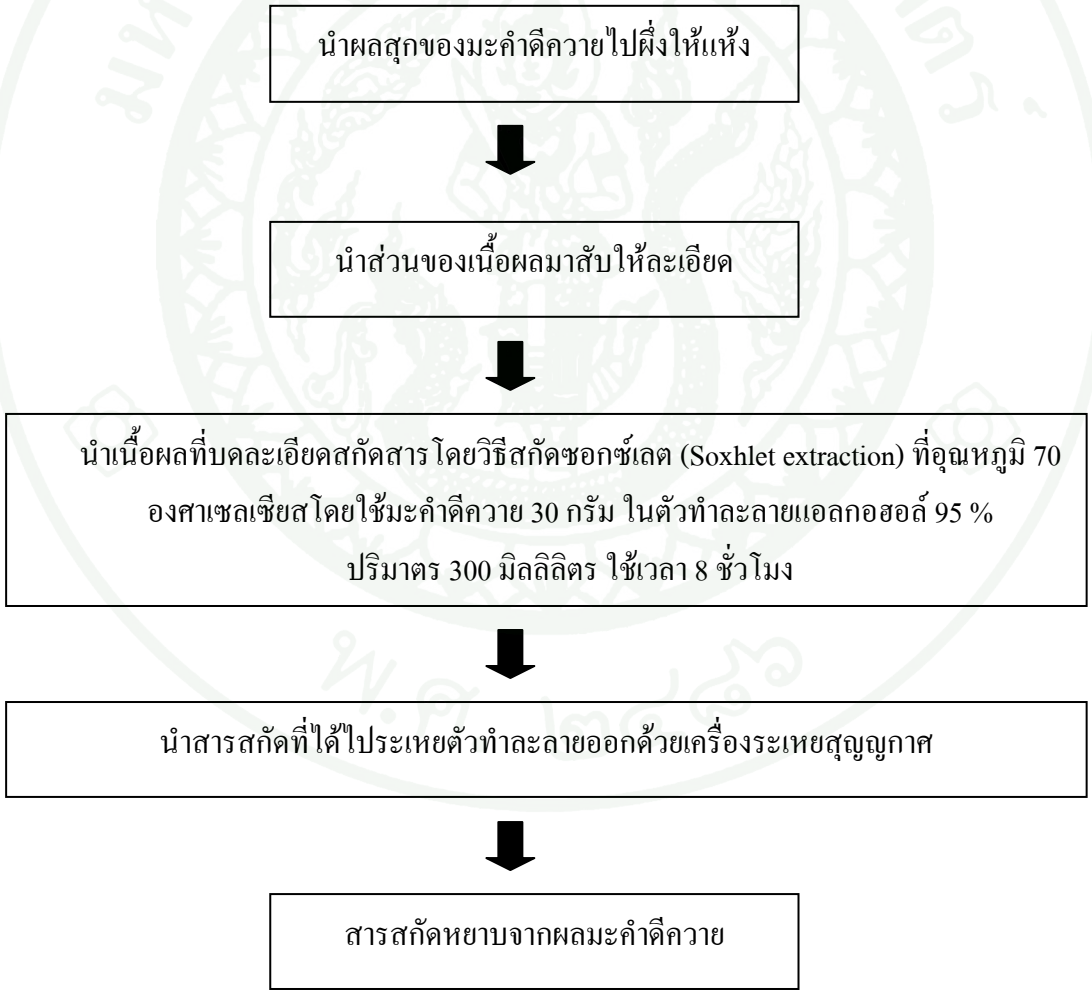


ภาพที่ 17 แสดงขั้นตอนการเตรียมสารสกัดจากกากเมล็ดชา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

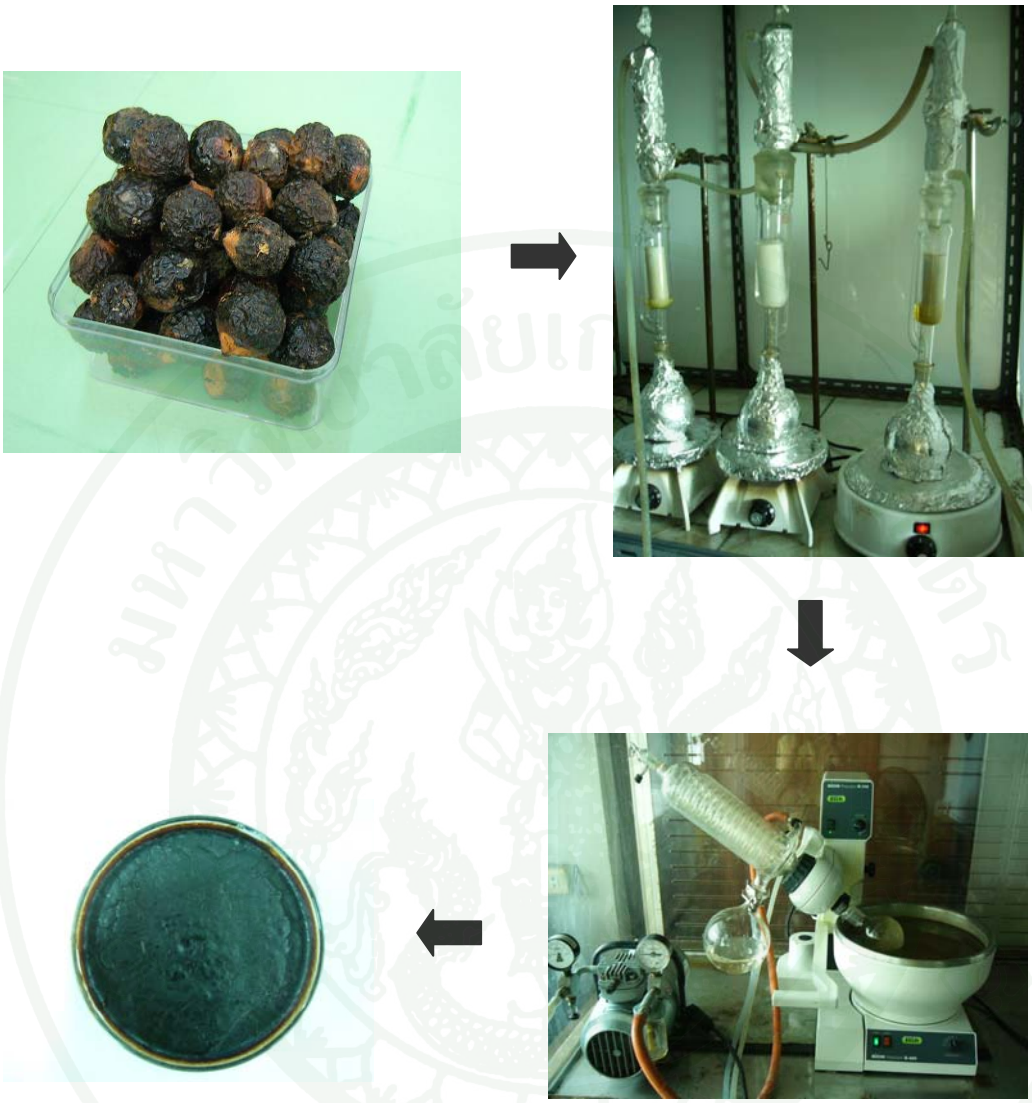
2.3 การสกัดผลมะคำดีควาย

นำผลมะคำดีควายมาแกะส่วนเนื้อผลแล้วสับให้ละเอียด นำไปสกัดสาร โดยวิธีของ Dadang และคณะ (1996)และดัดแปลงวิธีการของ Visetson *et al.* (2005) สกัดสารด้วยวิธีการสกัดซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสโดยใช้เนื้อผลมะคำดีควายที่สับละเอียด 30 กรัม มีแอลกอฮอล์ 95 % 300 มิลลิลิตรเป็นตัวทำละลายใช้เวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เก็บส่วนที่ได้จากการระเหยที่มีลักษณะข้นไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพสารต่อไป



ภาพที่ 18 แสดงขั้นตอนการเตรียมสารสกัดจากผลมะคำดีควาย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 19 แสดงขั้นตอนการเตรียมสารสกัดจากผลมะคำดีควาย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การทดสอบสารสกัดหัวกลอย กากเมล็ดชาและมะคำดีควายกับไข่หอยเชอรี่

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากหัวกลอย กากเมล็ดชา และมะคำดีควาย และโดยวิธีซอกซ์เลตมีแอลกอฮอล์ 95 % เป็นตัวทำละลายและหาค่าเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่ของสารสกัดจากหัวกลอย กากเมล็ดชาและมะคำดีควายที่เหมาะสมเพื่อนำไปศึกษาระดับเอนไซม์ทำลายพิษต่อไป วางแผนการทดลอง โดยใช้ (axb Factorial Experiments in CRD) CRD (Completely Randomized Design) การทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ศึกษา 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของสารสกัด 6 ระดับและเวลาจุ่มสารสกัด ที่ระยะเวลาแตกต่างกัน 5 ช่วงเวลา กระทำ 3 ซ้ำแสดงผลจาก 30 กรรมวิธี(treatment combination) หน่วย: %

3.1 เตรียมสารสกัด

3.1.1 เตรียมสารสกัดหัวกลอย

เตรียมสารสกัดหัวกลอยที่มีแอลกอฮอล์ 95 % เป็นตัวทำละลายทำการทดลองโดยแบ่งออกเป็นกลุ่ม ๆ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ไม่ใส่สารสกัด (น้ำกลั่น)
กลุ่มที่ 2 ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวกลอย 0.3 %
กลุ่มที่ 3 ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวกลอย 0.6 %
กลุ่มที่ 4 ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวกลอย 0.9 %
กลุ่มที่ 5 ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวกลอย 1.2 %
กลุ่มที่ 6 ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวกลอย 1.5 %

ศึกษาเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่ การวางแผนการทดลองแบบ 6X5 factorial in CRD มี 30 กรรมวิธี 3 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 ระยะเวลาในการจุ่มสาร 5 ช่วงเวลา คือ 5 10 15 20 และ 25 นาที ปัจจัยที่ 2 มีความเข้มข้นของสารสกัด 6 ระดับ คือสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้น 0 0.3 0.6 0.9 1.2 และ 1.5 % w/v

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ศึกษาแอคติวิตีของเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส การวางแผนการทดลองแบบ 6X4 factorial in CRD มี 24 กรรมวิธี 3 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 อายุไข่หอยที่จุ่มสารสกัดมี 4 ระดับอายุคือ 1 3 5 7 วัน ปัจจัยที่ 2 มี 6 ระดับความเข้มข้นของสารสกัดคือสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้น 0 0.3 0.6 0.9 1.2 และ 1.5 % w/v

3.1.2 เตรียมสารสกัดกากเมล็ดชา

เตรียมสารสกัดกากเมล็ดชาที่มีแอลกอฮอล์ 95 % เป็นตัวทำละลาย ทำการทดลองโดยแบ่งออกเป็นกลุ่ม ๆ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ไม่ใส่สารสกัด (น้ำกลั่น)
กลุ่มที่ 2 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 0.5 %
กลุ่มที่ 3 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 1.0 %
กลุ่มที่ 4 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 1.5 %
กลุ่มที่ 5 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 1.7 %
กลุ่มที่ 6 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 2.0 %

ศึกษาเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่การวางแผนการทดลองแบบ 6X5 factorial in CRD มี 30 กรรมวิธี 3 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 ระยะเวลาในการจุ่มสาร 5 ช่วงเวลา คือ 5 10 15 20 และ 25 นาที ปัจจัยที่ 2 มี 6 กรรมวิธี คือสกัดจากกากเมล็ดชาที่ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 1.5 1.7 และ 2.0 % w/v

ศึกษาแอคติวิตีของเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส การวางแผนการทดลองแบบ 6X4 factorial in CRD มี 24 กรรมวิธี 15 ซ้ำ มี 2 ปัจจัยคือปัจจัยที่ 1 อายุไข่หอยที่จุ่มสารสกัดมี 4 ระดับอายุ ปัจจัยที่ 2 มี 6 ระดับความเข้มข้นของสารสกัดคือสารสกัดจากกากเมล็ดชาที่ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 1.5 1.7 และ 2.0 % w/v

3.1.3 เตรียมสารสกัดมะคำดีควาย

เตรียมสารสกัดผลมะคำดีควายที่มีแอลกอฮอล์ 95 % เป็นตัวทำละลาย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ทำการทดลองโดยแบ่งออกเป็นกลุ่ม ๆ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ไม่ใส่สารสกัด (น้ำกลั่น)
กลุ่มที่ 2 ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะคำดีควาย 0.5 %
กลุ่มที่ 3 ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะคำดีควาย 1.0 %
กลุ่มที่ 4 ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะคำดีควาย 1.5 %
กลุ่มที่ 5 ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะคำดีควาย 1.7 %
กลุ่มที่ 6 ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะคำดีควาย 2.0 %

ศึกษาเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่การวางแผนการทดลองแบบ 6X5 factorial in CRD มี 30 กรรมวิธี 3 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 ระยะเวลาในการจุ่มสาร 5 ช่วงเวลา คือ 5 10 15 20 และ 25 นาที ปัจจัยที่ 2 มีความเข้มข้นของสารสกัด 6 ระดับ คือ 0 0.5 1.0 1.5 1.7 และ 2.0 % w/v

ศึกษาแอคติวิตีของเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส การวางแผนการทดลองแบบ 6X4 factorial in CRD มี 24 กรรมวิธี 15 ซ้ำ มี 2 ปัจจัยคือปัจจัยที่ 1 อายุไข่หอยที่จุ่มสารสกัดมี 4 ระดับอายุ ปัจจัยที่ 2 มี 6 ระดับความเข้มข้นของสารสกัดคือสารสกัดจากกากเมล็ดชาที่ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 1.5 1.7 และ 2.0 % w/v

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2 การเตรียมตัวอย่างไข่หอยเชอรี่สำหรับทดลอง

3.2.1 เตรียมที่วางไข่หอย (แก้วใสที่ใส่น้ำและมีตาข่ายพลาสติกวางพลาดบนปากแก้วสำหรับวางไข่หอยเชอรี่เพื่อให้สภาพใกล้เคียงกับสภาพธรรมชาติที่ไข่หอยอยู่บนต้นพืช)

3.2.2 คัดเลือกไข่หอยที่มีอายุเท่ากัน พร้อมทั้งวัดขนาดของไข่หอยเพื่อให้ได้ไข่หอยขนาดใกล้เคียงกัน (การวัดขนาดของไข่หอยโดยวัดที่ความกว้าง ความยาว และความสูงโดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์ (หน่วยเป็นมิลลิเมตร) เพื่อคำนวนหาจำนวนของไข่หอยในหนึ่งกลุ่มไข่)

3.3 การทดสอบสารสกัดกับไข่หอยเชอรี่

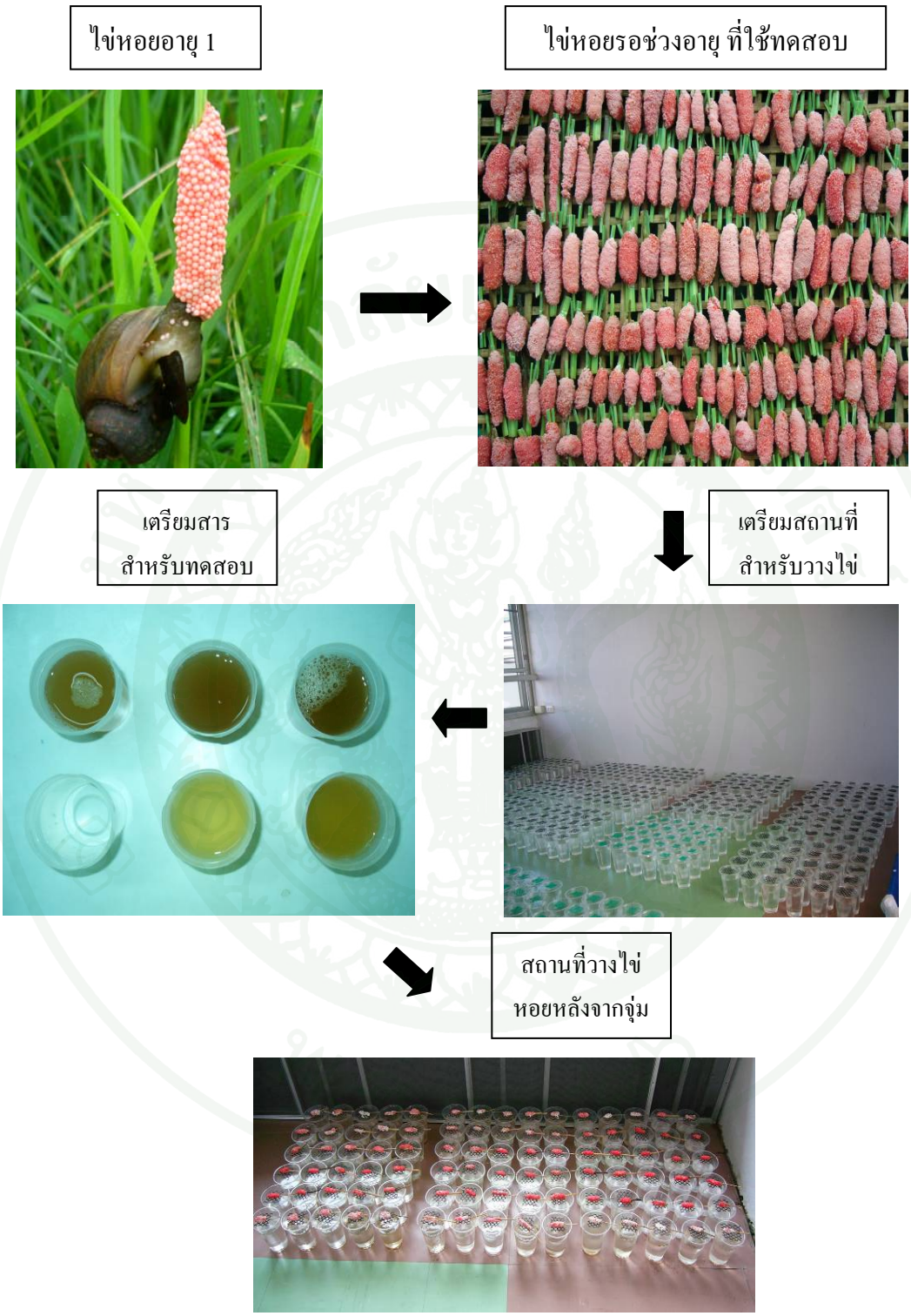
3.3.1 นำไข่หอยเชอรี่จุ่ม (dipping) สารสกัดจากหัวกลอยที่เตรียมไว้ในแต่ละความเข้มข้นทำ 3 ซ้ำ โดยการจุ่มในระยะเวลาที่แตกต่างกัน คือ 5 10 15 20 และ 25 นาที

3.3.2 นำไข่หอยเชอรี่ที่ผ่านการจุ่มสารสกัดแล้วไปวางในภาชนะที่เตรียมสำหรับการวางไข่หอย

3.3.3 ไข่หอยจะฟักเป็นตัวอ่อนเมื่ออายุไข่ครบ 10 วันและนับจำนวนไข่หอยที่ฟักและรอดชีวิต บันทึกผลการทดลองเพื่อหาเปอร์เซนต์การไม่ฟัก และนำลูกหอยที่รอดชีวิตอายุ 1 วันไปสกัดเอนไซม์เพื่อวัดค่าเอนไซม์เอสเทอเรส เอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสและวัดค่าโปรตีน

3.3.4 ทำขั้นตอนเหมือนกับข้อ 3.3.1 -3.3.3 โดยทดสอบกับสารสกัดจากกากเมล็ดชาและมะคำดีควาย ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 20 แสดงขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างไข่หอยเชอรี่และการเตรียมสถานที่สำหรับการวางไข่เพื่อทดสอบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.3 การบันทึกและวิเคราะห์ผลการทดลอง

สังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงสีของไข่หอยเมื่อเวลาผ่านไป เปอร์เซนต์การฟักของไข่หอยเมื่อครบกำหนดการฟักใน 10 วันนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ ตามวิธีการของ Zar (1999) และVisetson *et al.* (2006) หาเปอร์เซนต์การตายโดยวิธีของ Abott's formula ของ Matsumura (1976)

4. การตรวจวัดปริมาณโปรตีนในไข่หอยเชอรี่

4.1 ตรวจสอบปริมาณโปรตีนที่มีในไข่หอยเชอรี่โดยวิธีการ Bradford assay ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดหัวกลอย คือ กลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัด กลุ่มที่ใส่สารสกัด 0.3 0.6 0.9 1.2 และ 1.5 %

4.2 ตรวจสอบปริมาณโปรตีนที่มีในไข่หอยเชอรี่โดยวิธีการ Bradford assay ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดกากชา คือ กลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัด กลุ่มที่ใส่สารสกัด 0.5 1.0 1.5 1.7 และ 2.0 %

4.3 ตรวจสอบปริมาณโปรตีนที่มีในไข่หอยเชอรี่โดยวิธีการ Bradford assay ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดผลประคำดีควาย คือ กลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัด กลุ่มที่ใส่สารสกัด 0.5 1.0 1.5 1.7 และ 2.0 %

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. การสกัดเอนไซม์จากไข่หอยเชอรี่

หลังจากทำการทดสอบสารสกัดทั้ง 3 ชนิด คือ สารสกัดจากหัวกลอย กากเมล็ดชา และมะคำดีควายในเวลา 10 วันหลังจากรอให้ไข่หอยฟัก จากนั้นนำตัวหอยเชอรี่ที่ฟักลงน้ำและรอดชีวิตในแต่ละความเข้มข้นของแต่ละสารสกัดมาศึกษาระดับเอนไซม์ทำลายพิษ 2 ชนิด โดยดัดแปลงวิธีการของ Visetson *et.al.* (2004) โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. นำลูกหอยที่รอดชีวิตในแต่ละชุดการทดลองมาชั่งน้ำหนักให้เท่ากันทุกความเข้มข้น คือ น้ำหนัก 0.3 กรัม มาสกัดเอนไซม์ นำตัวหอยใส่โกร่งที่แช่เย็นแล้วเติม (potassium phosphate buffer + KH_2PO_4 + 1mM EDTA) ที่ pH 7.5 ปริมาตร 2000 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย phosphate buffer + GSH (KH_2PO_4) และ 10 mM GSH reduce form ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร และใส่ polyvinyl poly pyrrolidone (PVPP) จำนวน 0.002 กรัม

2. เมื่อบดละเอียดนำมากรองด้วยผ้าขาวบาง ใส่ในหลอด microtube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำส่วนของเหลวที่กรองได้ไปเซนติฟิวซ์ปั่นด้วยความเร็ว 18,000 รอบ/นาที (10,000 กรัม) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที

3. ใช้หลอดหยดดูดส่วนใสด้านบน (supernatant) ใส่หลอด microtube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เพื่อวัดเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูตาไทโอน เอส ทรานสเฟอเรสโดยใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) โดยดัดแปลงวิธีการของ Mackness และคณะ, 1983 ; Visetson, 1991

6. การตรวจวัดระดับเอนไซม์ทำลายพิษ

ในการศึกษานี้จะตรวจวัดระดับเอนไซม์ทำลายพิษ 2 ชนิด คือ เอสเทอเรส (esterase) และกลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส (glutathione -s-transferase)

1. การตรวจวัดระดับเอนไซม์เอสเทอเรส (esterase)โดยการตรวจวัดระดับเอนไซม์เอสเทอเรสใช้วิธี PNPA assay ของ Mackness และคณะ (1983) โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นแสง 400 นาโนเมตร ตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงของ paranitrophenol โดยเอนไซม์เอสเทอเรส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสของสารตั้งต้น คือ paranitrophenol acetate (PNPA) ไปเป็น paranitrophenol เป็นสารละลายสีเหลือง ส่วนการตรวจวัดระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ใช้วิธี DCNB assay ดัดแปลงวิธีการจาก Visetson (1991) โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นแสง 344 นาโนเมตร ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของ monochloro-nitrobenzene glutathione ซึ่ง dichloronitrobenzene (DCNB) จะเกิดปฏิกิริยารวมตัวกับกลูตาไทโอน โดยมี กลูตาไทโอน เอส-ทรานเฟอเรส เป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยา ทำการวัดผลิตภัณฑ์โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 344 นาโนเมตร (DCNB assay)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. การทดสอบสารสกัดหัวกลอย กากเมล็ดชาและผลมะคำดีควายต่อผึ้งชันโรง

7.1 การเตรียมผึ้งชันโรง

นำผึ้งชันโรงจากรังมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกเป็นเวลา 3 วันก่อนทำการทดลอง

7.2 การเตรียมผึ้งชันโรงในการทดลอง

ย้ายผึ้งชันโรงมาเลี้ยงในสภาพที่เหมือนการทดลองก่อนทำการทดลอง 1 วันเพื่อให้ผึ้งชันโรงปรับสภาพ จากนั้นนำสารสกัดที่เตรียมไว้ในแต่ละความเข้มข้นใส่ในขวดสเปรย์ของแต่ความเข้มข้นโดยแต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำผึ้งชันโรงใส่ลงในแก้วแก้วละ 20 ตัว

7.3 การเตรียมสารสกัด

7.3.1 สารสกัดจากหัวกลอย

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากหัวกลอย โดยวิธีการซอกซ์เลต มีแอลกอฮอล์ 95% เป็นตัวทำละลายและหาค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มหรือCRD ทำการทดลองแบ่งออกเป็นกลุ่ม ๆ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ไม่ใส่สารสกัด (น้ำกลั่น)
กลุ่มที่ 2 ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวกลอย 0.4 %
กลุ่มที่ 3 ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวกลอย 0.8 %
กลุ่มที่ 4 ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวกลอย 1.2 %
กลุ่มที่ 5 ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวกลอย 1.6 %
กลุ่มที่ 6 ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวกลอย 2.0 %

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7.3.2 สารสกัดจากกากเมล็ดชา

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากกากเมล็ดชา โดยวิธีการซอกซ์เลต มีแอลกอฮอล์ 95% เป็นตัวทำละลายและหาค่า LC_{50} โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มหรือ CRD ทำการทดลองแบ่งออกเป็นกลุ่ม ๆ ดังนี้

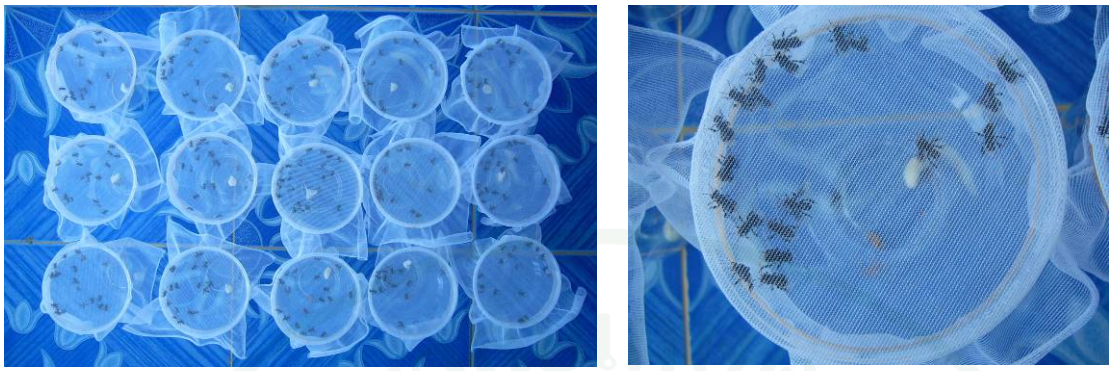
กลุ่มที่ 1 ไม่ใส่สารสกัด (น้ำกลั่น)
กลุ่มที่ 2 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 0.8 %
กลุ่มที่ 3 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 1.6 %
กลุ่มที่ 4 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 2.4 %
กลุ่มที่ 5 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 3.2 %
กลุ่มที่ 6 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 4.0 %

7.3.3 สารสกัดจากมะคำดีควาย

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะคำดีควาย โดยวิธีการซอกซ์เลต มีแอลกอฮอล์ 95% เป็นตัวทำละลายและหาค่า LC_{50} โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มหรือ CRD ทำการทดลองแบ่งออกเป็นกลุ่ม ๆ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ไม่ใส่สารสกัด (น้ำกลั่น)
กลุ่มที่ 2 ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะคำดีควาย 0.8 %
กลุ่มที่ 3 ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะคำดีควาย 1.6 %
กลุ่มที่ 4 ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะคำดีควาย 2.4 %
กลุ่มที่ 5 ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะคำดีควาย 3.2 %
กลุ่มที่ 6 ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะคำดีควาย 4.0 %

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ก ข

ภาพที่ 21 แสดงผึ้งชันโรงขณะทดลอง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. การทดสอบสารสกัดหัวกลอย กากเมล็ดชา และผลมะคำดีควายต่อลูกปลานิล

7.1 การเตรียมลูกปลานิล

นำลูกปลานิลจากแหล่งจำหน่ายปลามาเลี้ยงในตู้ปลา เป็นเวลา 3 วันก่อนทำการทดลอง

7.2 การเตรียมลูกปลานิลในการทดลอง

ย้ายลูกปลานิลจากอ่างเลี้ยงปลามาเลี้ยงในสภาพที่เหมือนการทดลองก่อนทำการทดลอง 1 วันเพื่อให้ลูกปลาปรับสภาพ นำน้ำประปาที่ปราศจากคลอรีนใส่ในถังเลี้ยงถังละ 3 ลิตร จากนั้นนำสารสกัดที่เตรียมไว้ในแต่ละความเข้มข้นละลายลงในน้ำของแต่ถัง โดยแต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำลูกปลานิลที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ใส่ลงในถัง ถังละ 20 ตัว

7.3 การเตรียมสารสกัด

7.3.1 สารสกัดจากหัวกลอย

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากหัวกลอย โดยวิธีการซอกซ์เลต มีแอลกอฮอล์ 95% เป็นตัวทำละลาย และหาค่า LC_{50} โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มหรือ CRD ทำการทดลองแบ่งออกเป็นกลุ่ม ๆ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ไม่ใส่สารสกัด (น้ำกลั่น)
กลุ่มที่ 2 ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวกลอย 0.005 %
กลุ่มที่ 3 ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวกลอย 0.010 %
กลุ่มที่ 4 ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวกลอย 0.015 %
กลุ่มที่ 5 ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวกลอย 0.020 %
กลุ่มที่ 6 ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวกลอย 0.025 %

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7.3.2 สารสกัดจากกากเมล็ดชา

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากกากเมล็ดชา โดยวิธีการซอกซ์เลต มีแอลกอฮอล์ 95% เป็นตัวทำละลาย และหาค่า LC_{50} โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่ม หรือ CRD ทำการทดลองแบ่งออกเป็นกลุ่ม ๆ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ไม่ใส่สารสกัด (น้ำกลั่น)
กลุ่มที่ 2 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 0.0006 %
กลุ่มที่ 3 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 0.0007 %
กลุ่มที่ 4 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 0.0008 %
กลุ่มที่ 5 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 0.0009 %
กลุ่มที่ 6 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 0.0010 %

7.3.3 สารสกัดจากมะคำดีควาย

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะคำดีควาย โดยวิธีการซอกซ์เลต มีแอลกอฮอล์ 95% เป็นตัวทำละลาย และหาค่า LC_{50} โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่ม หรือ CRD ทำการทดลองแบ่งออกเป็นกลุ่ม ๆ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ไม่ใส่สารสกัด (น้ำกลั่น)
กลุ่มที่ 2 ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะคำดีควาย 0.0005 %
กลุ่มที่ 3 ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะคำดีควาย 0.0010 %
กลุ่มที่ 4 ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะคำดีควาย 0.0015 %
กลุ่มที่ 5 ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะคำดีควาย 0.0020 %
กลุ่มที่ 6 ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะคำดีควาย 0.0025 %

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

ผล

ผลของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดต่อเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่

1. ผลของสารสกัดจากกลอยต่อเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่

เมื่อนำสารสกัดจากกลอยที่สกัดด้วยวิธี Soxhlet solution โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย วางแผนการทดลองแบบ 5x6 factorial experiment in CRD มี 30 กรรมวิธี 3 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย คือ ระยะเวลาในการจุ่มสารสกัด 5 ระยะเวลา คือ 5 10 15 20 และ 25 นาที ความเข้มข้นของสารสกัดกลอย 6 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 และ 1.5 % w/v แล้วนับเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่

จากผลการทดลองการทดสอบระยะเวลาจุ่มสารสกัด พบว่า P-valuve = $P(F_{(4, 330)}) > 5.585 = 0.00$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ดังนั้นปฏิเสธ H_0คือระยะเวลาจุ่มสารสกัดอย่างน้อย 2 ระยะเวลาให้ค่าเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย พบว่า P-valuve = $P(F_{(5, 330)}) > 284.41 = 0.00$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ดังนั้น ปฏิเสธ H_0 คือ ความเข้มข้นของสารสกัดอย่างน้อย 2 ระดับให้ค่าเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างระยะเวลาการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย พบว่า P-valuve = $P(F_{(20, 330)}) > 1.123 = 0.323$ ซึ่งมากกว่า 0.05 ยอมรับ H_0 คือ ไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอยที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังตารางที่ 1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นต่างกันในเวลา 5 10 15 20 และ 25 นาที

ความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย (% w/v)	การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่ (%)[2]				
	ระยะเวลาจุ่มสาร (นาที)				
	5^{A}	10^{A}	15^{A}	20^{A}	25^{B}
0.0[1]	38.08±14.04^{a}	31.94±22.88^{a}	37.82±16.08^{a}	43.83±17.13^{a}	48.30±11.57^{a}
0.3	61.67±12.01^{b}	60.45±14.94^{b}	63.23±15.0^{b}	64.53±10.15^{b}	70.65±7.42^{b}
0.6	71.81±10.37^{c}	81.05±6.02^{c}	83.63±4.59^{c}	75.32±10.10^{c}	80.93±15.49^{c}
0.9	87.26±5.97^{d}	90.77±4.45^{d}	87.71±6.91^{d}	89.92±4.84^{d}	94.40±3.75^{d}
1.2	90.02±4.52^{d}	91.75±4.17^{d}	92.47±5.89^{d}	92.44±4.03^{d}	95.93±3.67^{d}
1.5	95.5±3.33^{e}	97.07±2.66^{e}	96.72±5.35^{e}	96.69±3.26^{e}	98.47±1.44^{e}

[1] ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

[2] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, 5X6 factorial experiment in CRD with 3 replicates, อักษรพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05 , Duncan's Multiple Range Test, อักษรพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05 , Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ผลของสารสกัดจากกากเมล็ดชาต่อเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่

เมื่อนำสารสกัดจากกากเมล็ดชาที่สกัดด้วยวิธี Soxhlet solution โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายวางแผนการทดลองแบบ 5x6 factorial experiment in CRD มี 30 กรรมวิธี 3 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย คือ ระยะเวลาในการจุ่มสารสกัด 5 ระยะเวลา คือ 5 10 15 20 และ 25 นาที ความเข้มข้นของสารสกัดกากเมล็ดชา 6 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 1.7 และ 2.0 % w/v แล้วนับเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่

จากผลการทดลองทดสอบระยะเวลาจุ่มสารสกัดพบว่า P -valuve = $P(F_{(4, 330)}) > 6.069 = 0.00$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ดังนั้นปฏิเสธ H_0 คือระยะเวลาจุ่มสารสกัดอย่างน้อย 2 เวลาให้ค่าเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชา พบว่า P -valuve = $P(F_{(5, 330)}) > 156.486 = 0.00$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ดังนั้นปฏิเสธ H_0 คือ ความเข้มข้นของสารสกัดอย่างน้อย 2 ระดับให้ค่าเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างระยะเวลาการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชา พบว่า P -valuve = $P(F_{(20, 330)}) > 1.362 = 0.139$ ซึ่งมากกว่า 0.05 ยอมรับ H_0 คือ ไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังตารางที่ 2

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกากเมล็ดชาที่ความเข้มข้นต่างกันในเวลา 5 10 15 20 และ 25 นาที

ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชา (% w/v)	การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่ (%)[2]				
	ระยะเวลาจุ่มสาร (นาที)				
	5^{A}	10^{AB}	15^{C}	20^{BC}	25^{AB}
0.0[1]	45.27±20.17[a]	51.97±14.49[a]	53.60±10.75[a]	48.13±15.77[a]	43.48±15.42[a]
0.5	66.59±11.92[b]	70.12±11.88[b]	81.29±6.85[b]	66.76±10.62[b]	71.79±7.89[b]
1.0	72.92±12.95[c]	80.83±9.07[c]	84.85±8.92[c]	83.81±15.19[c]	80.89±7.25[c]
1.5	81.53±8.22[d]	85.42±6.93[d]	89.99±9.56[d]	91.93±8.56[d]	85.12±6.71[d]
1.7	92.99±7.68[e]	83.72±9.51[e]	93.05±6.5[e]	94.83±8.95[e]	92.66±5.02[e]
2.0	90.51±9.49[e]	92.97±9.74[e]	95.71±3.04[e]	94.56±6.62[e]	94.17±8.47[e]

[1] ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

[2] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, 5X6 factorial experiment in CRD with 3 replicates, อักษรพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test, อักษรพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ผลของสารสกัดจากมะคำดีควายต่อเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่

เมื่อนำสารสกัดจากมะคำดีควายที่สกัดด้วยวิธี Soxhlet solution โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายวางแผนการทดลองแบบ 5x6 factorial experiment in CRD มี 30 กรรมวิธี 3 ซ้ำ มี 2 ปัจจัยคือ คือ ระยะเวลาในการจุ่มสารสกัด 5 ระยะเวลา คือ 5 10 15 20 และ 25 นาที ความเข้มข้นของสารสกัดมะคำดีควาย 6 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 และ 1.5 % w/v แล้วนับเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่

จากผลการทดลองการทดสอบระยะเวลาจุ่มสารสกัด พบว่า P -valuve = P ($F_{(4, 330)}$) > 5.549 = 0.00 ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ดังนั้นปฏิเสธ H_0 คือระยะเวลาจุ่มสารสกัดอย่างน้อย 2 เวลาให้ค่าเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย พบว่า P -valuve = P($F_{(5, 330)}$) > 168.327 = 0.00 ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ดังนั้นปฏิเสธ H_0 คือ ความเข้มข้นของสารสกัดอย่างน้อย 2 ระดับให้ค่าเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างระยะเวลาการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย พบว่า P -valuve = P($F_{(20, 330)}$) > 2.187 = 0.00 ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ปฏิเสธ H_0 คือ มีอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควายที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังตารางที่ 3

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นต่างกันในเวลา 5 10 15 20 และ 25 นาที

ความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย (% w/v)	การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่ (%)[2]				
	ระยะเวลาจุ่มสาร (นาที)				
	5^{A}	10^{B}	15^{B}	20^{B}	25^{B}
0.0[1]	41.08 ± 13.61^{a}	57.00 ± 6.17^{a}	56.00 ± 12.15^{a}	52.30 ± 12.06^{a}	57.43 ± 11.00^{a}
0.5	67.99 ± 12.63^{b}	76.22 ± 6.50^{b}	75.79 ± 11.06^{b}	76.48 ± 7.72^{b}	78.49 ± 7.48^{b}
1.0	79.98 ± 10.59^{c}	82.05 ± 8.45^{c}	81.49 ± 7.88^{c}	86.18 ± 8.66^{c}	78.86 ± 7.64^{c}
1.5	89.59 ± 3.94^{d}	81.88 ± 11.64^{d}	87.48 ± 7.41^{d}	92.65 ± 4.54^{d}	84.91 ± 6.98^{d}
1.7	88.66 ± 9.76^{d}	86.72 ± 10.41^{d}	92.24 ± 6.80^{d}	93.65 ± 6.83^{d}	86.82 ± 7.85^{d}
2.0	88.07 ± 8.92^{e}	94.41 ± 5.81^{e}	94.35 ± 5.39^{e}	92.64 ± 6.17^{e}	94.25 ± 5.89^{e}

[1] ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

[2] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, 5X6 factorial experiment in CRD with 3 replicates, อักษรพิมพ์เล็กเหมือนกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05 , Duncan's Multiple Range Test, อักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05 , Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของสารสกัดจากพืชที่มีต่อระดับเอนไซม์เอสเทอเรส (esterase) ในไข่หอยเชอรี่

จากการตรวจวัดเอนไซม์เอสเทอเรสของหอยเชอรี่ที่ฟักโดยใช้เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (spectophotometer) ที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร โดยใช้ วิธี PNPA assay (Mackness and *et.al* ,1983) เป็นซับสเตรต ทำให้เกิดสารละลายสีเหลืองซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา ไฮโดไลซิส (hydrolysis) ของสาร paranitrophenyl citrate (PNPA) ไปเป็น paranitrophenol ทดสอบทำการวัดเอนไซม์เอสเทอเรสโดยวิธีดังกล่าวได้ผลดังนี้

1. ผลของสารสกัดจากกลอยที่มีต่อระดับเอนไซม์เอสเทอเรสในไข่หอยเชอรี่

วางแผนการทดลองแบบ 4x6 factorial experiment in CRD มี 24 กรรมวิธี 3 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย คือ อายุของไข่หอยเชอรี่ 4 ระดับอายุคือ 1 3 5 และ 7 วัน ความเข้มข้นของสารสกัดกลอย 6 ระดับ ความเข้มข้น คือ 0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 และ 1.5 % w/v แล้วตรวจวัดค่าระดับเอนไซม์เอสเทอเรส (esterase product) หน่วย (n mole product/mg protein/ml)

จากผลการทดลองการทดสอบอายุของไข่หอยเชอรี่ พบว่า P -valuve = $P(F_{(3, 48)}) > 16.354 = 0.00$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ดังนั้นปฏิเสธ H_0 คือ อายุของไข่หอยเชอรี่อย่างน้อย 2 อายุให้ค่าระดับแอคติวิติเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย พบว่า P-valuve = $P(F_{(5, 48)}) > 1.483 = 0.211$ ซึ่งมากกว่า 0.05 ดังนั้นยอมรับ H_0 คือ ความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอยไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ต่อระดับแอคติวิติเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่ ทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย พบว่า P -valuve = $P(F_{(15, 48)}) > 2.829 = 0.003$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ปฏิเสธ H_0 คือ มีอิทธิพลร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอยที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ที่มีผลต่อระดับแอคติวิติเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่ ดังตารางที่ 4 ภาพที่ 22

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

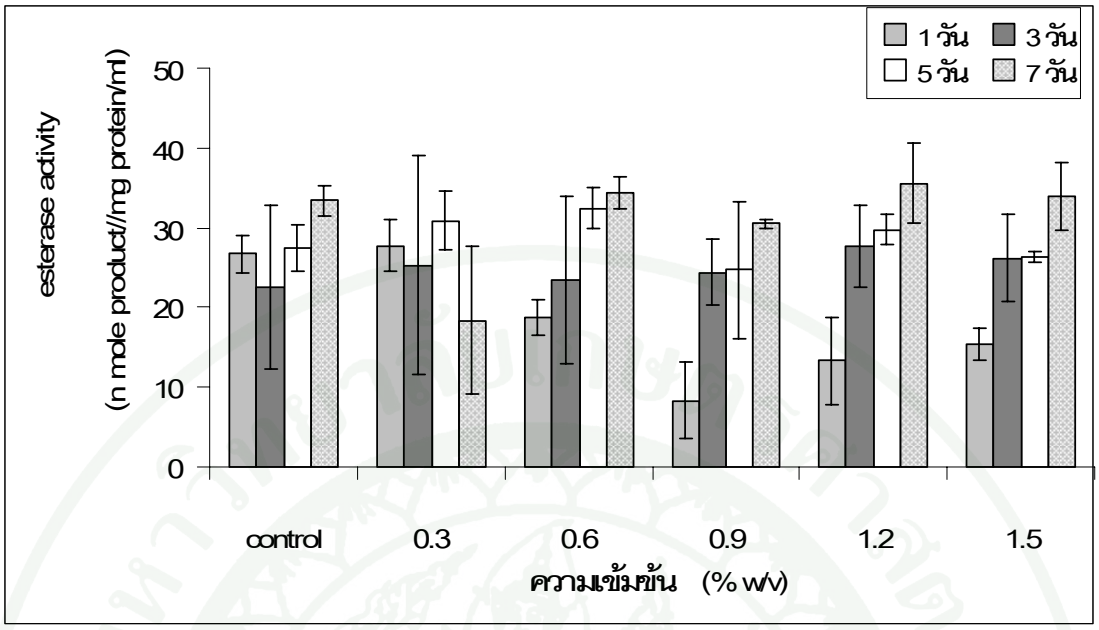
ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์เอสเทอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย (%w/v)	ระดับเอนไซม์เอสเทอเรส [2] (n mol product/mg protein/ml) อายุของไข่หอยเชอรี่ (วัน)			
	1[A]	3[B]	5[B]	7[C]
0.0 [1]	26.71±2.30[c]	22.53±10.25[a]	27.49±2.91[a]	33.43±1.85[b]
0.3	27.79±3.16[c]	25.27±13.76[a]	30.86±3.66[a]	18.39±9.18[a]
0.6	18.79±2.28[b]	23.51±10.55[a]	32.41±2.58[a]	34.36±1.98[b]
0.9	8.27±4.79[a]	24.44±4.08[a]	24.68±8.62[a]	30.47±0.46[b]
1.2	13.33±5.42[ab]	27.67±5.16[a]	29.78±1.82[a]	35.55±4.97[b]
1.5	15.45±2.07[b]	26.17±5.50[a]	26.32±0.62[a]	33.93±4.35[b]

[1] คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด

[2] คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรพิมพ์เล็กที่เหมือนกันภายในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test, ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันภายในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 22 กราฟแสดงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ผลของสารสกัดจากกากชาที่มีต่อระดับเอนไซม์เอสเทอเรสในไข่หอยเชอรี่

วางแผนการทดลองแบบ 4x6 factorial experiment in CRD มี 24 กรรมวิธี 3 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย คือ อายุของไข่หอยเชอรี่ 4 ระดับอายุคือ 1 3 5 และ 7 วัน ความเข้มข้นของสารสกัดกากชา 6 ระดับ ความเข้มข้น คือ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 1.7 และ 2.0 % w/v แล้วตรวจวัดค่าระดับเอนไซม์เอสเทอเรส (esterase product) หน่วย (n mole product/mg protein/ml)

จากผลการทดลองการทดสอบอายุของไข่หอยเชอรี่ พบว่า P-valuve = $P(F_{(3, 48)}) > 35.014 = 0.00$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ดังนั้นปฏิเสธ H_0 คือ อายุของไข่หอยเชอรี่อย่างน้อย 2 อายุให้ค่าระดับแอคติวิติเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาพบว่า P-valuve = $P(F_{(5, 48)}) > 24.992 = 0.00$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ดังนั้นปฏิเสธ H_0 คือ ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มข้นให้ค่าระดับแอคติวิติเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชา พบว่า P-valuve = $P(F_{(15, 48)}) > 4.762 = 0.00$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ปฏิเสธ H_0 คือ มีอิทธิพลร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ต่อระดับแอคติวิติเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่ ดังตารางที่ 5 ภาพที่ 23

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

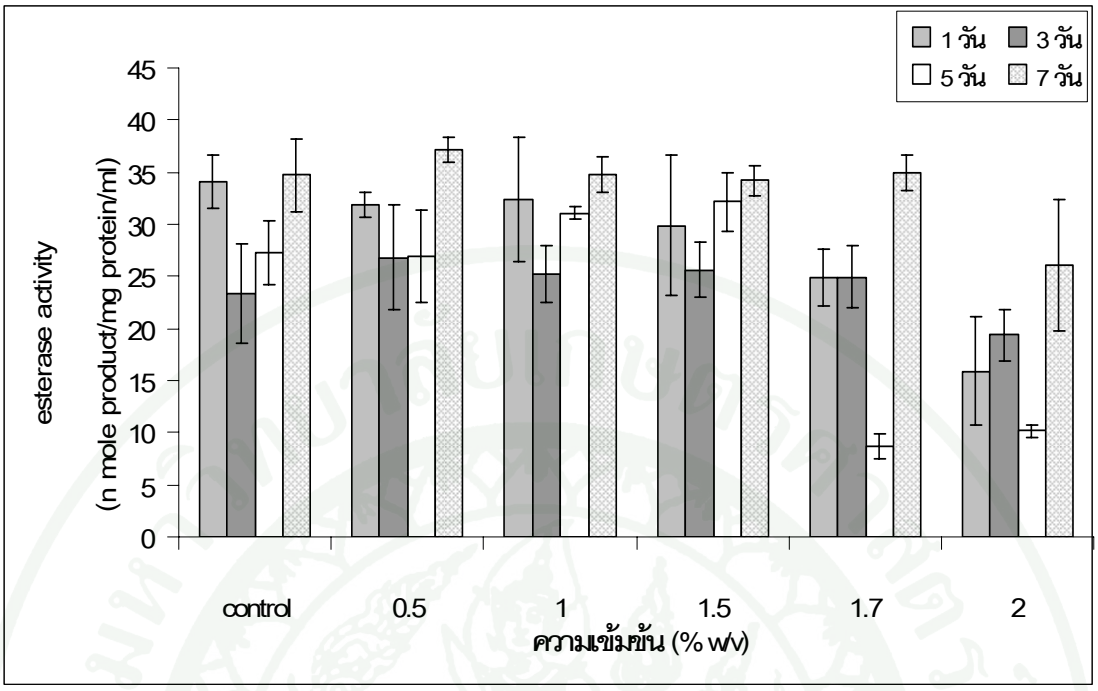
ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์เอสเทอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกากเมล็ดชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชา (%w/v)	ระดับเอนไซม์เอสเทอเรส [2] (n mol product/mg protein/ml) อายุของไข่หอยเชอรี่ (วัน)			
	1^{B}	3^{A}	5^{A}	7^{C}
0.0 [1]	34.16 ± 2.55^{c}	23.36 ± 4.82^{ab}	27.24 ± 3.11^{b}	34.72 ± 3.47^{b}
0.5	31.89 ± 1.26^{bc}	26.84 ± 4.98^{b}	26.94 ± 4.37^{b}	37.19 ± 1.23^{b}
1.0	32.41 ± 5.92^{bc}	25.24 ± 2.77^{ab}	31.09 ± 0.59^{bc}	34.81 ± 1.70^{b}
1.5	29.88 ± 6.70^{bc}	25.64 ± 2.71^{ab}	32.15 ± 2.81^{c}	34.22 ± 1.46^{b}
1.7	24.90 ± 2.67^{ab}	24.97 ± 2.94^{ab}	8.72 ± 1.25^{a}	34.90 ± 1.70^{b}
2.0	19.33 ± 5.20^{a}	19.35 ± 2.45^{a}	10.16 ± 0.66^{a}	26.08 ± 6.28^{a}

[1] คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด

[2] คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันภายในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test, ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันภายในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 23 แสดงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกากเมล็ดชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ผลของสารสกัดจากมะคำดีควายที่มีต่อระดับเอนไซม์เอสเทอเรสในไข่หอยเชอรี่

วางแผนการทดลองแบบ 4x6 factorial experiment in CRD มี 24 กรรมวิธี 3 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย คือ อายุของไข่หอยเชอรี่ 4 ระดับอายุคือ 1 3 5 และ 7 วัน ความเข้มข้นของสารสกัดมะคำดีควาย 6 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 1.7 และ 2.0 % w/v แล้วตรวจวัดค่าระดับเอนไซม์เอสเทอเรส (esterase product) หน่วย (n mole product/mg protein/ml)

จากผลการทดลองทดสอบอายุของไข่หอยเชอรี่ พบว่า P-valuve = $P(F_{(3, 48)}) > 9.080 = 0.00$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ดังนั้นปฏิเสธ H_0 คือ อายุของไข่หอยเชอรี่อย่างน้อย 2 อายุให้ค่าระดับแอคติวิติของเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย พบว่า P-valuve = $P(F_{(5, 48)}) > 2.722 = 0.030$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ดังนั้นปฏิเสธ H_0 คือ ความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควายอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มข้นให้ค่าระดับแอคติวิติของเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย พบว่า P-valuve = $P(F_{(15, 48)}) > 6.134 = 0.00$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ปฏิเสธ H_0 คือ มีอิทธิพลร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควายที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ต่อแอคติวิติของเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่ดังตารางที่ 6 ภาพที่ 24

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

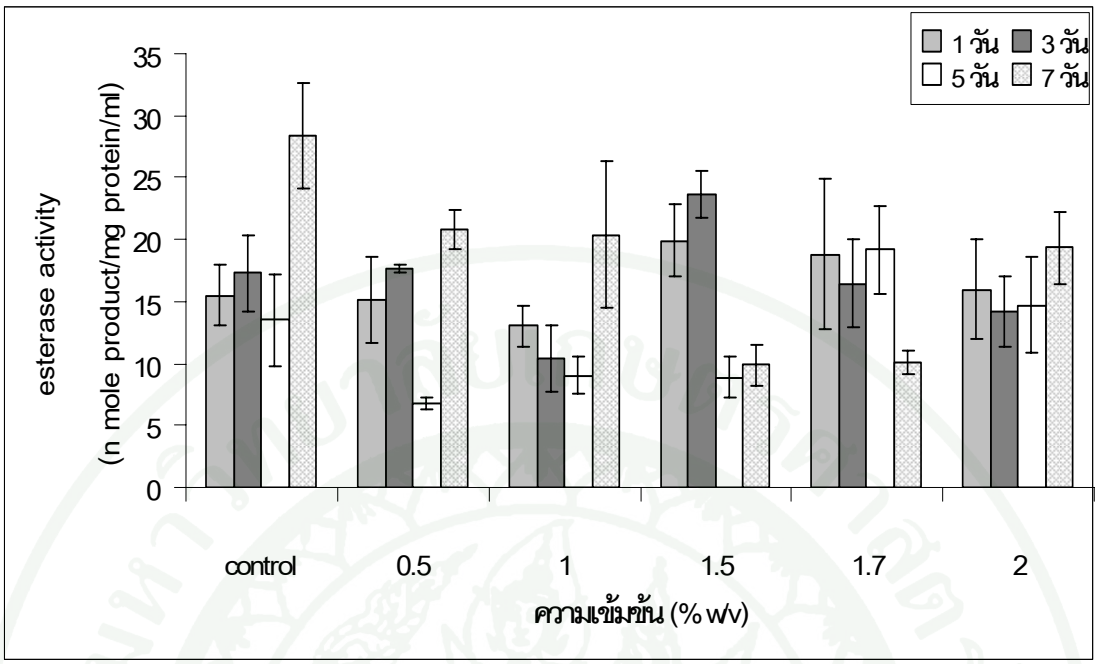
ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์เอสเทอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย (%w/v)	ระดับเอนไซม์เอสเทอเรส [2] (n mol product/mg protein/ml) อายุของไข่หอยเชอรี่ (วัน)			
	1^{B}	3^{B}	5^{A}	7^{B}
0.0 [1]	15.52±2.40^{a}	17.32±3.06^{b}	13.51±9.74^{ab}	28.38±4.33^{c}
0.5	15.15±3.52^{a}	17.60±0.30^{b}	6.75±0.49^{a}	20.81±1.54^{b}
1.0	13.08±1.66^{a}	10.39±2.67^{a}	9.05±1.53^{a}	20.40±6.94^{b}
1.5	19.90±2.92^{a}	23.65±1.84^{c}	8.89±1.60^{a}	9.91±1.64^{a}
1.7	18.82±6.07^{a}	16.45±3.51^{b}	19.16±3.62^{b}	10.04±0.92^{a}
2.0	15.99±4.01^{a}	14.19±2.85^{ab}	14.70±3.79^{ab}	19.32±2.87^{b}

[1] คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด

[2] คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันภายในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test, ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันภายในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 24 แสดงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควาย ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของสารสกัดจากพืชที่มีต่อระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส (Glutathione -S-Transferase) ในไข่หอยเชอรี่

จากการตรวจวัดเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสใช้วิธี DCNB assay ดัดแปลงวิธีการจาก Visetson (1991) โดยใช้สเปคโตโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 344 นาโนเมตร ตรวจค่าของ conjugated product ที่เป็นกลุ่มของ mercapturic acid ซึ่งผลจากการให้สารสกัดทั้ง 3 ชนิด เป็นดังต่อไปนี้

1. ผลของสารสกัดจากกลอยที่มีต่อระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสในไข่หอยเชอรี่ อายุ 1 3 5 และ 7 วัน

วางแผนการทดลองแบบ 4x6 factorial experiment in CRD มี 24 กรรมวิธี 3 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย คือ อายุของไข่หอยเชอรี่ 4 ระดับอายุคือ 1 3 5 และ 7 วัน ความเข้มข้นของสารสกัดกลอย 6 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 และ 1.5 % w/v แล้วตรวจวัดค่าระดับ conjugated product ที่เป็นกลุ่มของ mercapturic acid หน่วย (n mole product/mg protein/ml)

จากผลการทดลองทดสอบอายุของไข่หอยเชอรี่ พบว่า P-valuve = $P(F_{(3, 48)}) > 4.703 = 0.006$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ดังนั้นปฏิเสธ H_0 คือ อายุของไข่หอยเชอรี่อย่างน้อย 2 อายุให้ค่าแอคติวิตีเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย พบว่า P-valuve = $P(F_{(5, 48)}) > 0.643= 0.668$ ซึ่งมากกว่า 0.05 ดังนั้นยอมรับ H_0คือ ความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอยให้ค่าแอคติวิตีเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของไข่หอยเชอรี่ไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แล้วทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย พบว่า P-valuve = $P(F_{(15, 48)}) > 3.777 = 0.000$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ปฏิเสธ H_0 คือ มีอิทธิพลร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอยต่อแอคติวิตีเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของไข่หอยเชอรี่ที่ระดับนัยสำคัญ 0. 05 ดังตารางที่ 7 ภาพที่ 25

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

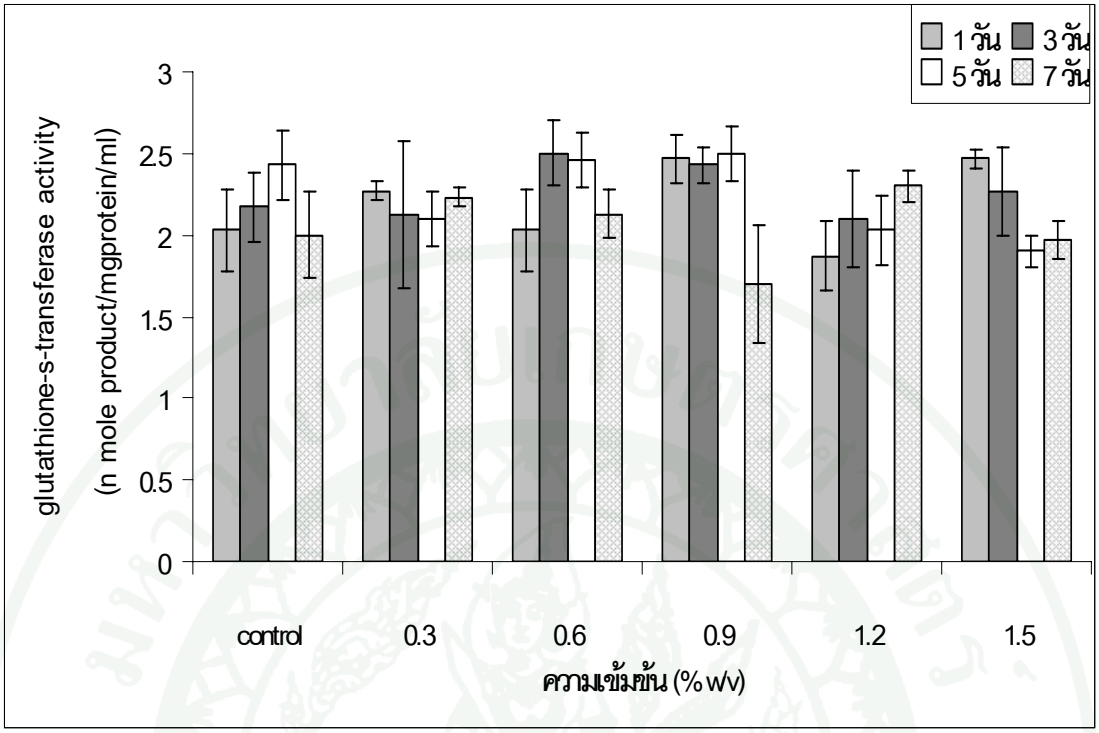
ความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย (%w/v)	ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส[2] [3] (n mol product/mg protein/ml)			
	อายุของไข่หอยเชอรี่ (วัน)			
	1^{B}	3^{B}	5^{AB}	7^{A}
0.0 [1]	2.0 ± 0.25^{a}	2.2 ± 0.21^{a}	2.4 ± 0.21^{a}	2.0 ± 0.26^{a}
0.3	2.3 ± 0.06^{a}	2.1 ± 0.45^{a}	2.1 ± 0.17^{a}	2.2 ± 0.06^{a}
0.6	2.0 ± 0.25^{a}	2.5 ± 0.20^{a}	2.2 ± 0.17^{a}	2.1 ± 0.15^{a}
0.9	2.5 ± 0.15^{a}	2.4 ± 0.11^{a}	2.5 ± 0.17^{a}	1.7 ± 0.36^{a}
1.2	2.5 ± 0.21^{a}	2.1 ± 0.30^{a}	2.0 ± 0.21^{a}	2.3 ± 0.10^{a}
1.5	2.5 ± 0.06^{a}	2.3 ± 0.27^{a}	1.9 ± 0.10^{a}	2.0 ± 0.12^{a}

[1] คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด

[2] คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรพิมพ์เล็กที่เหมือนกันภายในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test, ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันภายในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

[3] $1x10^{-6}$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 25 กราฟแสดงระดับเอนไซม์เอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ผลของสารสกัดจากกากชาที่มีต่อระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสในไข่หอยเชอรี่ อายุ 1 3 5 และ 7 วัน

วางแผนการทดลองแบบ 4x6 factorial experiment in CRD มี 24 กรรมวิธี 3 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย คือ อายุของไข่หอยเชอรี่ 4 ระดับอายุ คือ 1 3 5 และ 7 วัน ความเข้มข้นของสารสกัดกากชา 6 ระดับ ความเข้มข้น คือ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 1.7 และ 2.0 % w/v แล้วตรวจวัดค่าระดับ conjugated product ที่เป็นกลุ่มของ mercapturic acid หน่วย (n mole product/mg protein/ml)

จากผลการทดลองการทดสอบอายุของไข่หอยเชอรี่ พบว่า P-valuve = $P(F_{(3, 48)}) > 14.775 = 0.00$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ดังนั้นปฏิเสธ H_0 คือ อายุของไข่หอยเชอรี่อย่างน้อย 2 อายุให้ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชา พบว่า P-valuve = $P(F_{(5, 48)}) > 2.345 = 0.055$ ซึ่งมากกว่า 0.05 ดังนั้นยอมรับ H_0คือ ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ต่อแอคติวิตีของเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของไข่หอยเชอรี่ ทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชา พบว่า P-valuve = $P(F_{(15, 48)}) > 2.148 = 0.023$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ปฏิเสธ H_0 คือ มีอิทธิพลร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังตารางที่ 8 ภาพที่ 26

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกากเมล็ดชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

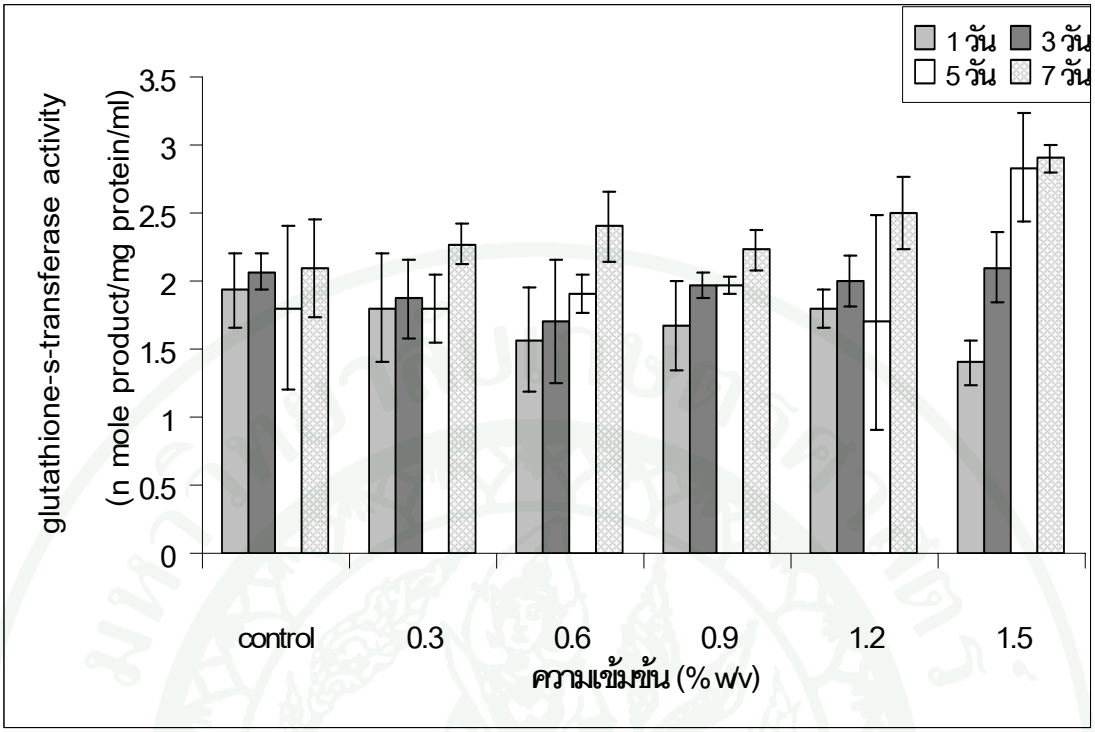
ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชา (%w/v)	ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส[2] [3] (n mol product/mg protein/ml) อายุของไข่หอยเชอรี่ (วัน)			
	1[A]	3[B]	5[B]	7[C]
0.0 [1]	1.9±0.27[a]	2.1±0.14[a]	1.8±0.60[a]	2.1±0.36[a]
0.5	1.8±0.40[a]	1.9±0.29[a]	1.8±0.25[a]	2.3±0.15[a]
1.0	1.6±0.38[a]	1.7±0.45[a]	1.9±0.14[a]	2.4±0.26[a]
1.5	1.7±0.33[a]	2.0±0.09[a]	2.0±0.06[a]	2.2±0.15[a]
1.7	1.8±0.14[a]	2.0±0.18[a]	1.7±0.79[a]	2.5±0.26[a]
2.0	1.4±0.17[a]	2.1±0.26[a]	2.8±0.40[b]	2.9±0.10[b]

[1] คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด

[2] คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันภายในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test, ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันภายในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

[3] $1x10^{-6}$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 26 แสดงระดับเอนไซม์เอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกากชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ผลของสารสกัดจากมะคำดีควายที่มีต่อระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสในไข่หอยเชอรี่ อายุ 1 3 5 และ 7 วัน

วางแผนการทดลองแบบ 4x6 factorial experiment in CRD มี 24 กรรมวิธี 3 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย คือ อายุของไข่หอยเชอรี่ 4 ระดับอายุคือ 1 3 5 และ 7 วัน ความเข้มข้นของสารสกัดมะคำดีควาย 6 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 1.7 และ 2.0 % w/v แล้วตรวจวัดค่าระดับ conjugated product ที่เป็นกลุ่มของ mercapturic acid หน่วย (n mole product/mg protein/ml)

จากผลการทดลองทดสอบอายุของไข่หอยเชอรี่ พบว่า P-valuve = $P(F_{(3, 46)}) > 130.683 = 0.00$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ดังนั้นปฏิเสธ H_0 คือ อายุของไข่หอยเชอรี่อย่างน้อย 2 อายุให้ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย พบว่า P-valuve = $P(F_{(5, 46)}) > 21.448 = 0.00$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ดังนั้นปฏิเสธ H_0 คือ ความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควายอย่างน้อย 2 ระดับความเข้มข้นให้แอคติวิตีของเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แล้วทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย พบว่า P-valuve = $P(F_{(15, 46)}) > 8.361 = 0.000$ ซึ่งน้อยกว่า 0.05 ปฏิเสธ H_0 คือ มีอิทธิพลร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควายที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ต่อแอคติวิตีของเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของไข่หอยเชอรี่ ดังตารางที่ 9 ภาพที่ 27

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

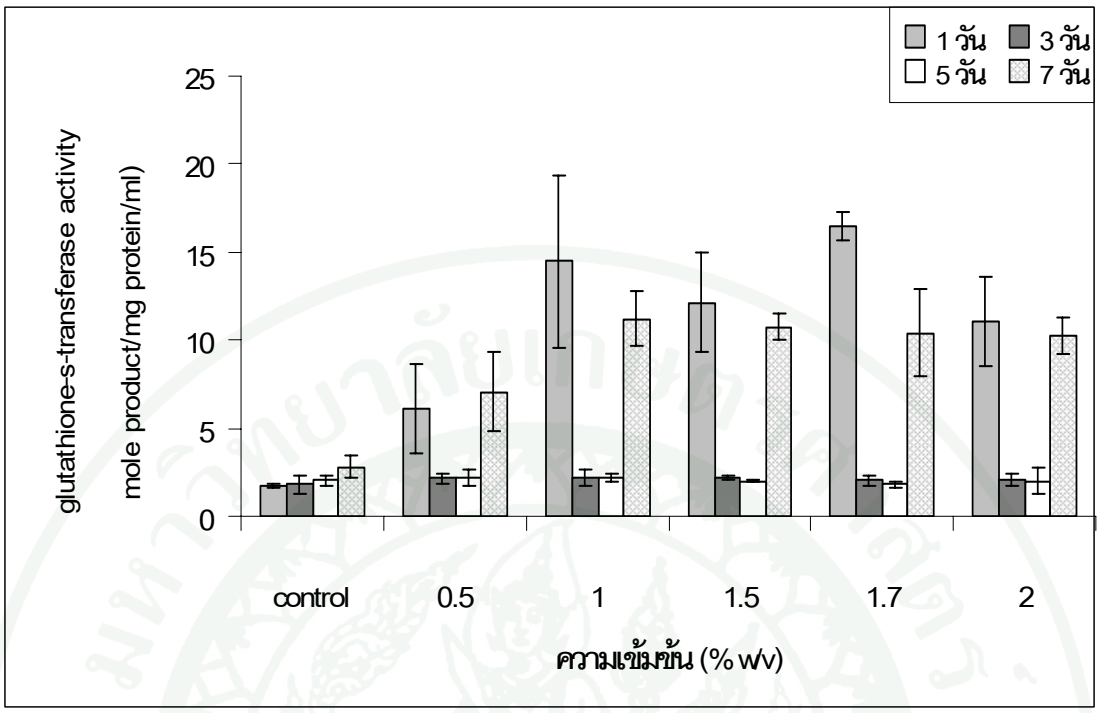
ความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย (%w/v)	ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-เอส ทรานเฟอเรส[2] [3] (n mol product/mg protein/ml) อายุของไข่หอยเชอรี่ (วัน)			
	1[B]	3[A]	5[A]	7[C]
0.0 [1]	1.7±0.15[a]	1.8±0.53[a]	2.0±0.31[a]	2.8±0.61[a]
0.5	6.1±2.57[b]	2.2±0.30[a]	2.2±0.45[a]	7.1±2.25[b]
1.0	14.5±4.90[c]	2.2±0.46[a]	2.2±0.26[a]	11.2±1.60[c]
1.5	12.1±2.8[c]	2.2±0.10[a]	2.0±0.06[a]	10.7±0.74[c]
1.7	16.4±0.8[c]	2.0±0.31[a]	1.8±0.17[a]	10.4±2.5[c]
2.0	11.1±2.54[c]	2.1±0.32[a]	2.0±0.75[a]	10.3±1.0[c]

[1] คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด

[2] คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันภายในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test, ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันภายในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

[3] $1x10^{-6}$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 27 แสดงระดับเอนไซม์เอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของสารสกัดจากพืชที่มีต่อผึ้งชันโรง

1. ผลของสารสกัดจากกลอยต่ออัตราการตายของผึ้งชันโรง

จากการที่นำสารสกัดจากกลอยมาทดสอบกับชันโรงโดยการหาอัตราการตายของผึ้งชันโรงที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซึ่งทำการทดลอง 6 ชุดใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 % w/v พบว่าอัตราการตายของผึ้งชันโรงเวลา 24 ชั่วโมง อัตราการตายมีค่าเท่ากับ 1.13±1.96, 15.25±7.77, 32.20±7.77, 44.07±5.08, 54.24±5.08 และ 57.63±7.77 % ตามลำดับ เมื่อใช้เวลา 48 ชั่วโมงอัตราการตายมีค่าเท่ากับ 1.13±1.96, 33.90±5.08 , 49.15±8.81, 66.10±5.87, 69.49±5.08 และ 98.31±2.94 % ตามลำดับ (ตารางที่ 10 ภาพที่ 28)

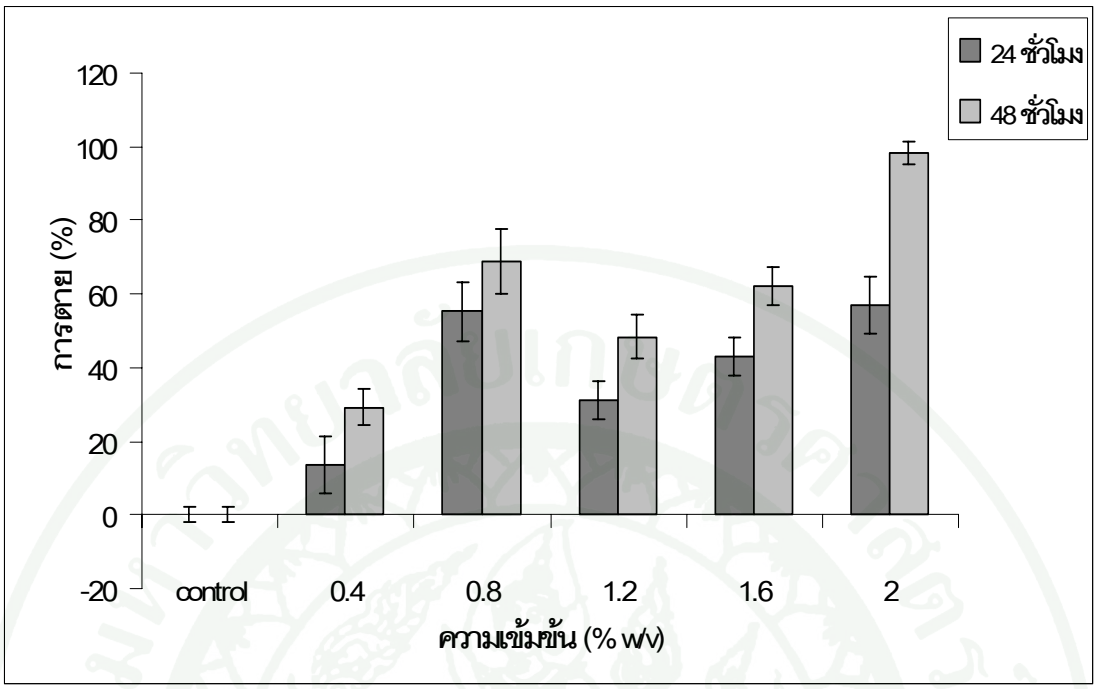
ตารางที่ 10 อัตราการตายของผึ้งชันโรงเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย (%w/v)	อัตราการตายของผึ้งชันโรง [(2)] (%) ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
0.0 [(1)]	1.13±1.96 [a]	1.13±1.96 [a]
0.4	15.25±7.77 [b]	33.90±5.08 [b]
0.8	32.20±7.77 [c]	49.15±8.81 [c]
1.2	44.07±5.08 [d]	66.10±5.87 [d]
1.6	54.24±5.08 [de]	69.49±5.08 [d]
2.0	57.63±7.77 [e]	98.31±2.94 [e]

[(1)] คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด

[(2)] คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 28 กราฟแสดงอัตราการตายของผึ้งชันโรงหลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ผลของสารสกัดจากกากเมล็ดชาต่ออัตราการตายของผึ้งชันโรง

จากการที่นำสารสกัดจากกากเมล็ดชามาทดสอบกับชันโรงโดยการหาอัตราการตายของผึ้งชันโรงที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซึ่งทำการทดลอง 6 ชุด ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดกากชา 0, 0.8, 1.6, 2.4, 3.2, 4.0 % w/v พบว่าอัตราการตายของผึ้งชันโรงเวลา 24 ชั่วโมง อัตราการตายมีค่าเท่ากับ 1.13±1.96, 1.69±2.64, 3.38±0.00, 10.17±2.94, 22.03±7.77 และ 25.42±5.87 % ตามลำดับ เมื่อใช้เวลา 48 ชั่วโมงอัตราการตายมีค่าเท่ากับ 1.13±1.96, 1.69±2.64, 5.08±2.94, 33.90±5.84, 42.37±7.77 และ 81.36±7.77 % ตามลำดับ (ตารางที่ 11 ภาพที่ 29)

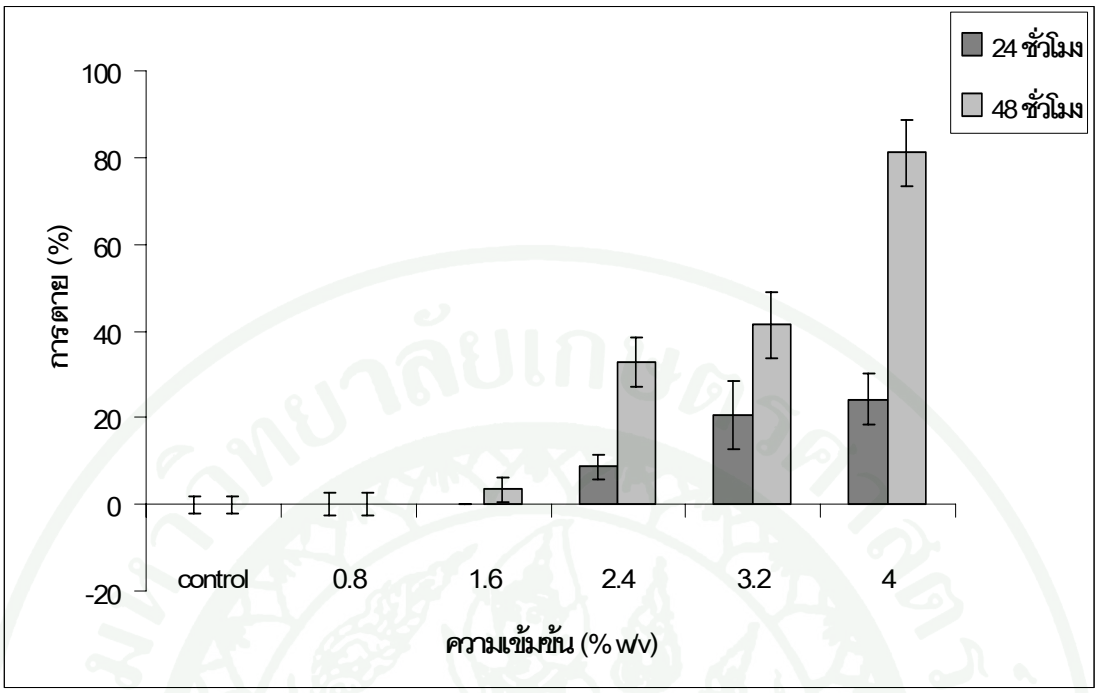
ตารางที่ 11 อัตราการตายของผึ้งชันโรงเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังได้รับสารสกัดจากกากเมล็ดชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดกากชา (%w/v)	อัตราการตายของผึ้งชันโรง [(2)] (%) ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
0.0 [(1)]	1.13±1.96 [a]	1.13±1.96 [a]
0.8	1.69±2.64 [a]	1.69±2.64 [a]
1.6	3.38±0.00 [ab]	5.08±2.94 [a]
2.4	10.17±2.94 [b]	33.90±5.84 [b]
3.2	22.03±7.77 [c]	42.37±7.77 [b]
4.0	25.42±5.87 [c]	81.36±7.77 [c]

[(1)] คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด

[(2)] คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 29 กราฟแสดงอัตราการตายของผึ้งชันโรง หลังจากได้รับสารสกัดจากกากเมล็ดชาเวลา 24 และ48 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ผลของสารสกัดจากมะคำดีควายต่ออัตราการตายของผึ้งชันโรง

จากการที่นำสารสกัดจากมะคำดีควายมาทดสอบกับชันโรงโดยการหาอัตราการตายของผึ้งชันโรงที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซึ่งทำการทดลอง 6 ชุด ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย 0, 0.8, 1.6, 2.4, 3.2, 4.0 % w/v พบว่าอัตราการตายของผึ้งชันโรงเวลา 24 ชั่วโมง อัตราการตายมีค่าเท่ากับ 0.00±0.00, 0.00±0.00, 25.00±8.66, 40.00±10.00, 41.67±7.64 และ 48.33±2.89 % ตามลำดับ เมื่อใช้เวลา 48 ชั่วโมงอัตราการตายมีค่าเท่ากับ 0.00±0.00 , 18.33±10.41, 46.67±10.41, 51.67±7.64, 58.33±7.64 และ 76.67±5.77 % ตามลำดับ (ตารางที่ 12 ภาพที่ 30)

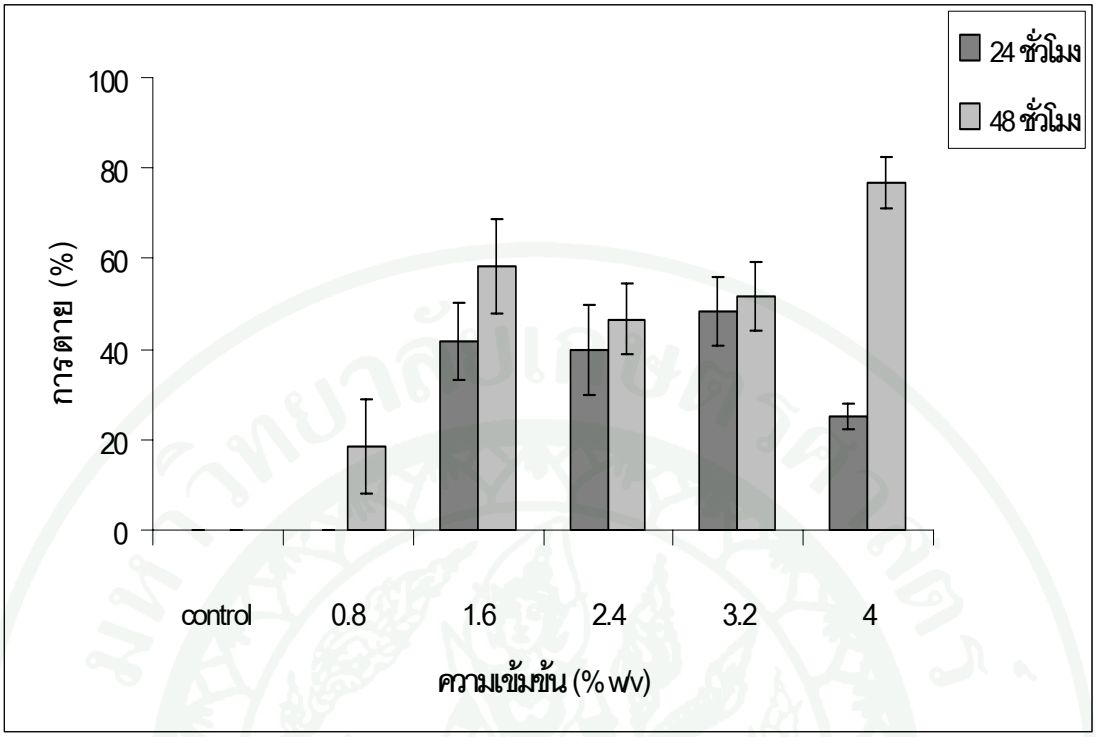
ตารางที่ 12 อัตราการตายของผึ้งชันโรงเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย (%w/v)	อัตราการตายของผึ้งชันโรง [(2)] (%) ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
0.0 [(1)]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]
0.8	0.00±0.00 [a]	18.33±10.41 [b]
1.6	25.00±8.66 [b]	46.67±10.41 [c]
2.4	40.00±10.00 [c]	51.67±7.64 [c]
3.2	41.67±7.64 [c]	58.33±7.64 [c]
4.0	48.33±2.89 [c]	76.67±5.77 [d]

[(1)] คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด

[(2)] คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 30 กราฟแสดงอัตราการตายของผึ้งชันโรง หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของความเป็นพิษของสารสกัดจากกลอยต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ของผึ้งชันโรง จากการให้สารสกัดจากกลอยที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง สมการถดถอยได้เท่ากับ y = 4.706 + 29.379x แทนค่า y เป็นการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์จะได้ค่า x ที่เป็น LC_{50} เท่ากับ 1.54 % w/v และที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง สมการถดถอยได้เท่ากับ y = 9.468 + 43.544x แทนค่า y เป็นการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์จะได้ค่า x ที่เป็น LC_{50} เท่ากับ 0.93 % w/v

ความเป็นพิษของสารสกัดจากกากชาต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ของผึ้งชันโรง จากการให้สารสกัดจากกากชาที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง สมการถดถอยได้เท่ากับ y = -2.881 + 6.759x แทนค่า y เป็นการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์จะได้ค่า x ที่เป็น LC_{50} เท่ากับ 7.82 % w/v และที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง สมการถดถอยได้เท่ากับ y = - 11.84 + 19.714x แทนค่า y เป็นการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์จะได้ค่า x ที่เป็น LC_{50} เท่ากับ 3.14 % w/v

ความเป็นพิษของสารสกัดจากมะคำดีควายต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ของผึ้งชันโรง จากการให้สารสกัดจากมะคำดีควายที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง สมการถดถอยได้เท่ากับ y = -1.429 + 13.631x แทนค่า y เป็นการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์จะได้ค่า x ที่เป็น LC_{50} เท่ากับ 3.77 % w/v และที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง สมการถดถอยได้เท่ากับ y = 5.635 + 18.155x แทนค่า y เป็นการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์จะได้ค่า x ที่เป็น LC_{50} เท่ากับ 2.44 % w/v (ตารางที่ 13)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 13 อัตราการตายของผึ้งชันโรงที่ 50 เปอร์เซ็นต์ และสมการถดถอย จากการใช้สารสกัดจากกลอย กากชา และมะคำดีควายในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ชนิดของสารสกัด	อัตราการตายของผึ้งชันโรง [(2)] (%)	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
กลอย	$y = 4.706 + 29.379x$	$y = 9.468 + 43.544x$
	$LC_{50} = 1.54$	$LC_{50} = 0.93$
กากชา	$y = -2.881 + 6.759x$	$y = -11.84 + 19.714x$
	$LC_{50} = 7.82$	$LC_{50} = 3.14$
มะคำดีควาย	$y = y = -1.429 + 13.631x$	$y = 5.635 + 18.155x$
	$LC_{50} = 3.77$	$LC_{50} = 2.44$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของสารสกัดจากพืชที่มีต่อปลานิล

1. ผลของสารสกัดจากกลอยที่มีต่อปลานิล

จากการนำสารสกัดจากกลอยมาทดสอบกับปลานิลโดยการหาอัตราการตายของปลานิลที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซึ่งทำการทดลอง 6 ชุดใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย 0, 0.005, 0.01, 0.015, 0.02,0.025 % w/v พบว่าอัตราการตายของปลานิลเวลา 24 ชั่วโมง อัตราการตายมีค่าเท่ากับ 2.30±3.98, 0.0034±5.97, 15.52±2.99, 29.31±19.58, 77.59±13.02 และ 77.59±13.02 % ตามลำดับ เมื่อใช้เวลา 48 ชั่วโมงอัตราการตายมีค่าเท่ากับ 0.0036±11.35, 1.82±5.45, 40.00±18.89, 43.64±15.75, 85.46±8.33 และ 92.73±8.33 % ตามลำดับ (ตารางที่ 14 ภาพที่ 31)

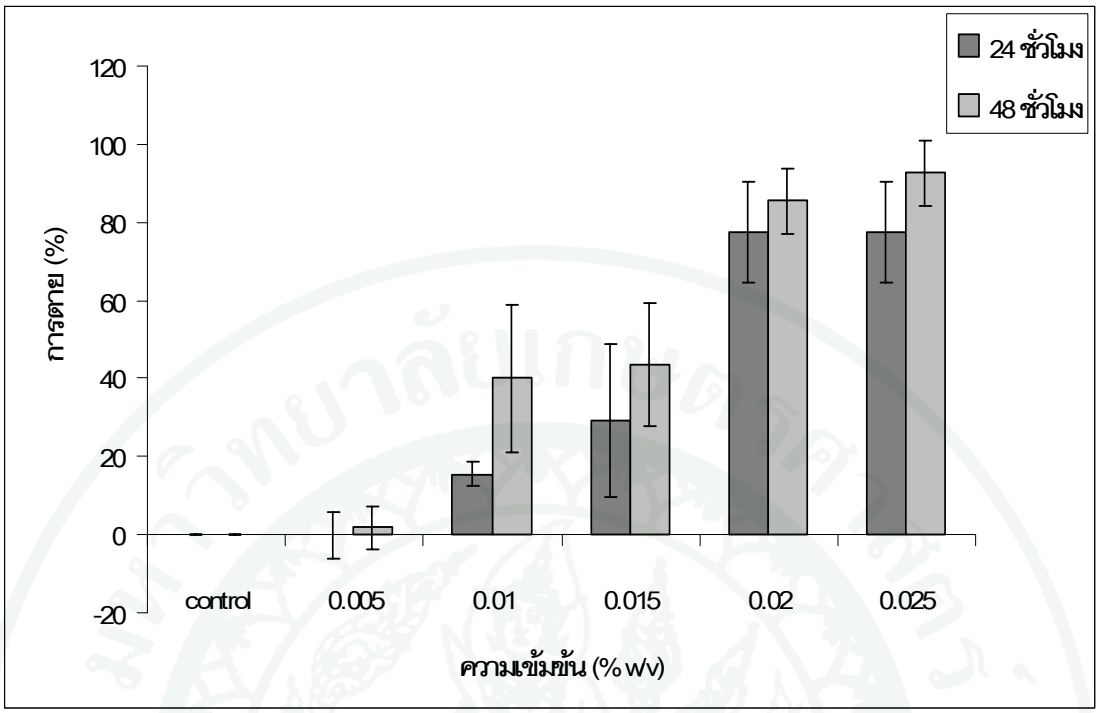
ตารางที่ 14 อัตราการตายของปลานิลเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย (%w/v)	อัตราการตายของปลานิล [(2)] (%) ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
0.0 [(1)]	2.30±3.98 [a]	0.00±11.35 [a]
0.005	0.00±5.97 [a]	1.82±5.45 [a]
0.010	15.52±2.99 [ab]	40.00±18.89 [b]
0.015	29.31±19.58 [b]	43.64±15.75 [b]
0.020	77.59±13.02 [c]	85.46±8.33 [c]
0.025	77.59±13.02 [c]	92.73±8.33 [c]

[(1)] คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด

[(2)] คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 31 กราฟแสดงอัตราการตายของปลานิล หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ผลของสารสกัดจากกากเมล็ดชาที่มีต่อปลานิล

จากการที่นำสารสกัดจากกากชามาทดสอบกับปลานิลโดยการหาอัตราการตายของปลานิลที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซึ่งทำการทดลอง 6 ชุดใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา 0, 0.0006, 0. 0007, 0. 0008, 0. 0009, 0.0010 % w/v พบว่าอัตราการตายของปลานิลเวลา 24 ชั่วโมง อัตราการตายมีค่าเท่ากับ 2.30±3.98, 12.07±5.17, 29.31±2.99, 58.62±5.17, 91.38±2.99 และ 96.55±2.99 % ตามลำดับ เมื่อใช้เวลา 48 ชั่วโมงอัตราการตายมีค่าเท่ากับ 0.0036±8.18, 12.50±13.48, 39.28±11.15, 85.71±6.19, 92.86±6.19 และ 98.21±3.09 % ตามลำดับ (ตารางที่ 15 ภาพที่ 32)

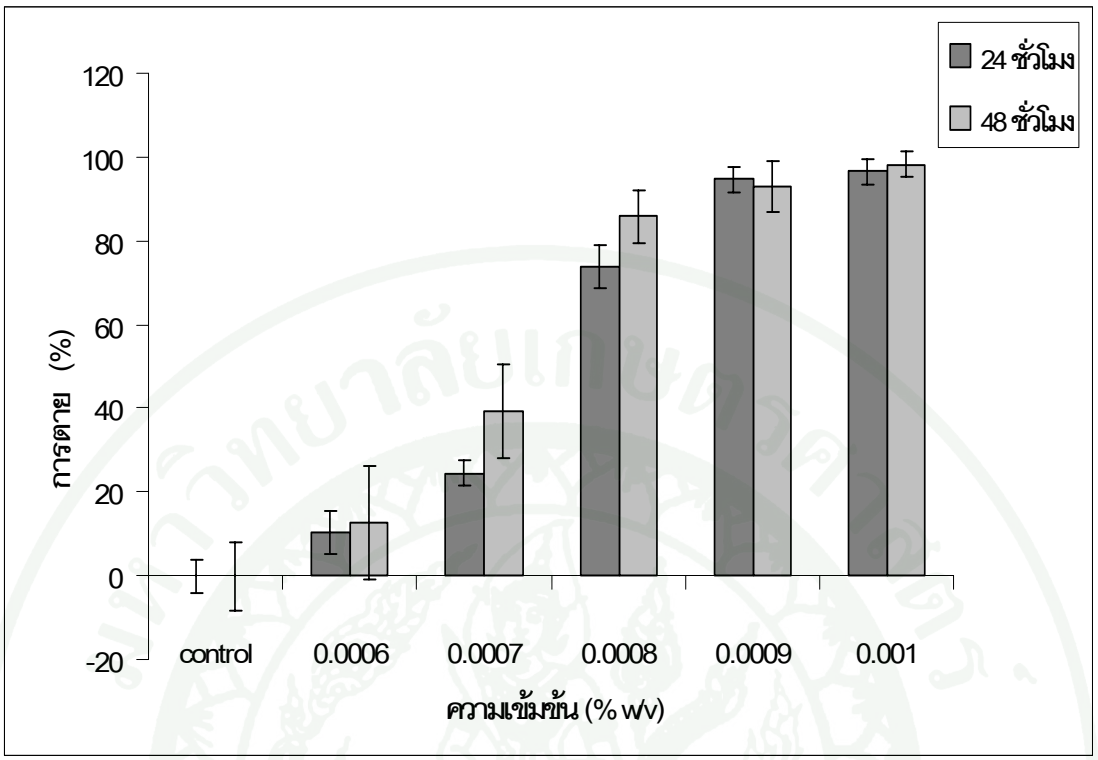
ตารางที่ 15 อัตราการตายของปลานิลเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังได้รับสารสกัดจากกากเมล็ดชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากเมล็ดชา (%w/v)	อัตราการตายของปลานิล [(2)] (%) ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
0.000 [(1)]	2.30±3.98 [a]	2.30±8.18 [a]
0.0006	12.07±5.17 [b]	12.50±13.48 [a]
0.0007	29.31±2.99 [c]	39.28±11.15 [b]
0.0008	58.62±5.17 [d]	85.71±6.19 [c]
0.0009	91.38±2.99 [e]	92.86±6.19 [c]
0.0010	96.55±2.99 [e]	98.21±3.09 [c]

[(1)] คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด

[(2)] คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 32 กราฟแสดงอัตราการตายของปลานิล หลังจากได้รับสารสกัดจากกากเมล็ดชาเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ผลของสารสกัดจากมะคำดีควายที่มีต่อปลานิล

จากการที่นำสารสกัดจากมะคำดีควายมาทดสอบกับปลานิลโดยการหาอัตราการตายของปลานิลที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซึ่งทำการทดลอง 6 ชุดใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย 0, 0.0005, 0. 0010, 0. 0015, 0. 0020, 0.0025 % w/v พบว่าอัตราการตายของปลานิลเวลา 24 ชั่วโมง อัตราการตายมีค่าเท่ากับ 0.00±2.99, 5.18±2.99, 13.80±2.99, 22.42±5.17, 32.76±5.17 และ 48.28±5.17 % ตามลำดับ เมื่อใช้เวลา 48 ชั่วโมงอัตราการตาย มีค่าเท่ากับ 0.00±6.19, 3.57±5.36, 12.50±3.09, 21.43±6.19, 33.93±11.15 และ 53.57±8.18 % ตามลำดับ (ตารางที่ 16 ภาพที่ 33)

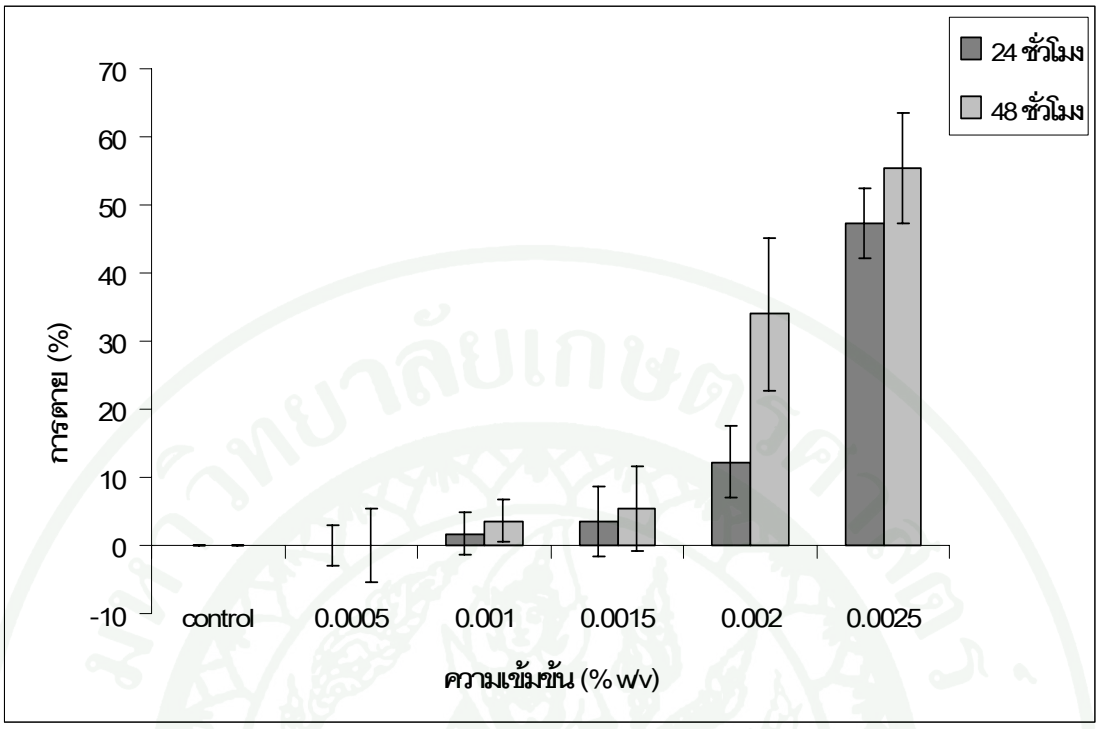
ตารางที่ 16 อัตราการตายของปลานิลเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย (%w/v)	อัตราการตายของปลานิล [(2)] (%) ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
0.000 [(1)]	0.00±2.99 [a]	0.00±6.19 [a]
0.0005	5.18±2.99 [a]	3.57±5.36 [a]
0.0010	13.80±2.99 [b]	12.50±3.09 [ab]
0.0015	22.42±5.17 [c]	21.43±6.19 [bc]
0.0020	32.76±5.17 [d]	33.93±11.15 [c]
0.0025	48.28±5.17 [e]	53.57±8.18 [d]

[(1)] คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด

[(2)] คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 33 กราฟแสดงอัตราการตายของปลานิล หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของความเป็นพิษของสารสกัดจากกลอยต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ของปลานิล จากการให้สารสกัดจากกลอยที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง สมการถดถอยได้เท่ากับ y = - 10.780 + 3559.877x แทนค่า y เป็นการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์จะได้ค่า x ที่เป็น LC_{50} เท่ากับ 0.017 % w/v และที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง สมการถดถอยได้เท่ากับ y = - 7.355 + 4103.747x แทนค่า y เป็นการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์จะได้ค่า x ที่เป็น LC_{50} เท่ากับ 0.014 % w/v

ความเป็นพิษของสารสกัดจากกากชาต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ของปลานิล จากการให้สารสกัดจากกากชาที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง สมการถดถอยได้เท่ากับ y = -16.738 + 97092.841x แทนค่า y เป็นการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์จะได้ค่า x ที่เป็น LC_{50} เท่ากับ 0.00069 % w/v และที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง สมการถดถอยได้เท่ากับ y = -15.042 + 104703x แทนค่า y เป็นการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์จะได้ค่า x ที่เป็น LC_{50} เท่ากับ 0.00062 % w/v

ความเป็นพิษของสารสกัดจากมะคำดีควายต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ของปลานิล จากการให้สารสกัดจากมะคำดีควายที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง สมการถดถอยได้เท่ากับ y = -3.363 + 19014.123x แทนค่า y เป็นการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์จะได้ค่า x ที่เป็น LC_{50} เท่ากับ 0.0028 % w/v และที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง สมการถดถอยได้เท่ากับ y = -5.446 + 21021.159x แทนค่า y เป็นการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์จะได้ค่า x ที่เป็น LC_{50} เท่ากับ 0.0026 % w/v (ตารางที่ 17)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 17 อัตราการตายของปลานิลที่ 50 เปอร์เซ็นต์ และสมการถดถอย จากการใช้สารสกัดจากกลอย กากชา และมะคำดีควายในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ชนิดของสารสกัด	อัตราการตายของปลานิล [(2)] (%)	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
กลอย	y = - 10.780 + 3559.877x	y = - 7.355 + 4103.747x
	LC_{50} = 0.017	LC_{50} = 0.014
กากชา	y = -16.738 + 97092.841x	y = -15.042 + 104703x
	LC_{50} = 0.00069	LC_{50} = 0.00062
มะคำดีควาย	y = -3.363 + 19014.123x	y = -5.446 + 21021.159x
	LC_{50} = 0.0028	LC_{50} = 0.0026

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิจารณ์

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดพบว่าระยะเวลาในการจุ่มสารสกัด และความเข้มข้นของสารสกัดมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาในการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัด พบว่าสารสกัดจากกลอยและกากเมล็ดชาไม่มีอิทธิพลร่วมกันระหว่างระยะเวลาในการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ส่วนสารสกัดจากมะคำดีควายมีอิทธิพลร่วมกันระหว่างระยะเวลาในการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ผลของสารสกัดนี้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส โดยเอสเทอเรสเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในระยะที่ 1 (Phase I)และกลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในระยะที่ 2 (Phase II)

จากการทดลองนี้มีความหลากหลายของผลการทดลองที่เกี่ยวข้องกับความเป็นพิษต่อไข่หอยเชอรี่ โดยวิจารณ์เป็นข้อ ๆ ดังนี้

ผลของสารสกัดจากกลอยที่มีต่อไข่หอยเชอรี่

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่โดยศึกษาปัจจัยร่วมระหว่างระยะเวลาในการจุ่มสารสกัด 5 ระดับเวลา คือ 5 10 15 20 และ 25 นาทีและปัจจัยความเข้มข้นของสารสกัดกลอยคือ 0 0.3 0.6 0.9 1.2 และ 1.5 %w/v ตรวจนับเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่ภายหลังจากนำไข่หอยจุ่มสารสกัดจากกลอยที่ระยะเวลาต่าง ๆ พบว่าเวลาในการจุ่มสารสกัด 5 10 15 20 นาที เปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่ไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แต่เวลาการจุ่มสารสกัด 25 นาทีมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่แตกต่างที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เนื่องจากการจุ่มสารสกัดระยะเวลา 25 นาทีส่งผลให้เกิดการแพร่ผ่านของสารเข้าสู่รูพรุนของเปลือกไข่หอยได้มากจึงทำให้เปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเพิ่มขึ้น การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดพบว่าความเข้มข้นของสาร 0 0.3 0.6 0.9 1.2 และ 1.5 %w/v มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ตารางที่ 1)

จากการศึกษาระดับแอคติวิตีของเอนไซม์เอสเทอเรสในไข่หอยอายุ 1 3 5 และ 7 วัน โดยศึกษาปัจจัยร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่ 4 ระดับอายุ คือ 1 3 5 และ 7 วัน และความเข้มข้นของ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารสกัดจากกลอย 0 0.3 0.6 0.9 1.2 และ 1.5 %w/v การทดสอบอายุพบว่าไข่หอยเชอรี่อายุ 1 3 5 และ 7 วัน ให้ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์เอสเทอเรสแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยเฉพาะไข่อายุ 1 วัน ความเข้มข้นสาร 0.6-1.5 % w/v ทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์เอสเทอเรสลดลง 1.42-3.2 เท่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งอาจเป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษในร่างกายสัตว์เปลี่ยนแปลงตามอายุของสัตว์ เช่นช่วงวัยอ่อนจะมีความอ่อนแอต่อสารจากพืชทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์เอสเทอเรสลดลง และจากไข่หอยเชอรี่ที่อายุน้อยอาจมีการสร้างโปรตีนยังไม่สมบูรณ์ส่งผลให้เอนไซม์เอสเทอเรสทำงานได้น้อยลง (สุรพล, 2546) การทดสอบความเข้มข้นพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอยให้ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์เอสเทอเรสไม่ความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอยที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ที่มีผลต่อระดับแอคติวิติเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่ ดังตารางที่ 4 ภาพที่ 22

จากการศึกษาระดับแอคติวิตีของเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ในอายุไข่ 1 3 5 และ 7 วันโดยศึกษาปัจจัยร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่ 4 ระดับอายุ คือ 1 3 5 และ 7 วันและความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย 0 0.3 0.6 0.9 1.2 และ 1.5 %w/v ไข่หอยอายุ 1-7 วันการทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอยพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอยให้ค่าแอคติวิตีเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของไข่หอยเชอรี่ไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แล้วทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอยพบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอยต่อแอคติวิตีเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของไข่หอยเชอรี่ที่ระดับนัยสำคัญ 0. 05 ดังตารางที่ 7 ภาพที่ 25

ศึกษาปริมาณโปรตีนในไขหอยเชอรี่อายุ 1 3 5 และ 7 วันพบว่าปริมาณโปรตีนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ 0.05 ดังตารางผนวกที่ 1 ภาพผนวกที่ 1

ผลของสารสกัดจากกากชาต่อไข่หอยเชอรี่

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่โดยศึกษาปัจจัยร่วมระหว่างระยะเวลาในการจุ่มสารสกัด 5 ระดับเวลาคือ 5 10 15 20 และ 25 นาทีและปัจจัยความเข้มข้นของ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารสกัดกากเมล็ดชา คือ 0 0.5 1.0 1.5 1.7 และ 2 % w/v ตรวจนับเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่ภายหลังจากนำไข่หอยจุ่มสารสกัดจากกากชาที่ระยะเวลาต่าง ๆ พบว่าระยะเวลาในการจุ่มสารสกัด 5 10 15 20 และ 25 นาที เปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่ไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดพบว่าทุกความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชามีผลต่อเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ตารางที่ 2) ซึ่งให้ผลแตกต่างกับผลของนันทิยา (2543) ได้ศึกษาผลของสารสกัดจากกากชาและโล่ติ้นที่มีผลต่อการฟักเป็นตัวของไข่หอยเชอรี่ พบว่าค่าเฉลี่ยการไม่ฟักเป็นตัวของไข่หอยเชอรี่ไม่แตกต่างกันไปตามระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาและโล่ติ้น การทดสอบอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาในการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดพบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมกันระหว่างระยะเวลาในการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

จากการศึกษาระดับแอคติวิตีของเอนไซม์เอสเทอเรสในไข่หอยอายุ 1 3 5 และ 7 วัน โดยศึกษาปัจจัยร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่ 4 ระดับอายุ คือ 1 3 5 และ 7 วันและความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาคือ 0 0.5 1.0 1.5 1.7 และ 2 % w/v พบว่าไข่หอยเชอรี่อายุ 1 และ 7 วันให้ค่าระดับแอคติวิติเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาที่ระดับความเข้มข้น 1.7-2 % w/v ให้ค่าแอคติวิติเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่ลดลง 1.8-3.1 เท่าแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้นไปมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในระยะที่ 1 (phase I) ทำให้แอคติวิติเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่ลดลง (สุรพล, 2546) ทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาพบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาต่อระดับแอคติวิติเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังตารางที่ 5 ภาพที่ 23

จากการศึกษาระดับแอคติวิตีของเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส โดยศึกษาปัจจัยร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่ 4 ระดับอายุ คือ 1 3 5 และ 7 วันและความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชา คือ 0 0.5 1.0 1.5 1.7 และ 2 % w/v การทดสอบอายุพบว่าไข่หอยเชอรี่อายุ 1 วันและ 7 วันให้ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ต่อแอคติวิตีของเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของไข่หอยเชอ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รี่ ทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาพบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชาที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังตารางที่ 8 ภาพที่ 26

ศึกษาปริมาณโปรตีนในไขหอยเชอรี่อายุ 1, 3, 5 และ 7 วัน พบว่าปริมาณโปรตีนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ 0.05 ดังตารางผนวกที่ 2 ภาพผนวกที่ 2

ผลของสารสกัดจากมะคำดีควายต่อไข่หอยเชอรี่

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่โดยศึกษาปัจจัยร่วมระหว่างระยะเวลาในการจุ่มสารสกัด 5 ระดับเวลา คือ 5 10 15 20 และ 25 นาที และปัจจัยความเข้มข้นของสารสกัดมะคำดีควาย คือ 0 0.5 1.0 1.5 1.7 และ 2 % w/v ตรวจนับเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่ที่มีอายุไข่ 1 3 5 และ 7 วัน ในระยะเวลาที่จุ่มสารแตกต่างกันคือ 5 10 15 20 และ 25 นาทีหลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายพบว่าเวลาจุ่มสารสกัดที่ 5 นาทีให้ค่าเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่น้อยกว่าซึ่งแตกต่างจากจุ่มสารสกัดที่เวลา 10 15 20 และ 25 นาทีที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยจุ่มที่เวลา 5 นาทีให้ค่าเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่น้อยกว่าอาจเนื่องมาจากสารเกิดการแพร่ของสารผ่านเยื่อหุ้มไข่หอยเชอรี่ได้ปริมาณน้อยกว่า การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย คือ 0 0.5 1.0 1.5 1.7 และ 2 % w/v พบว่าทุกความเข้มข้นให้ค่าเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างระยะเวลาการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควายพบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควายที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังตารางที่ 3

จากการศึกษาระดับแอคติวิตีของเอนไซม์เอสเทอเรส ในไข่หอยเชอรี่อายุ 1 3 5 และ 7 วัน โดยศึกษาปัจจัยร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่ 4 ระดับอายุ คือ 1 3 5 และ 7 วัน และความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย 6 ระดับความเข้มข้น คือ 0 0.5 1.0 1.5 1.7 และ 2 % w/v พบว่าไข่หอยเชอรี่อายุ 1 3 7 วันไม่มีความแตกต่างกันของค่าแอคติวิตีของเอนไซม์เอสเทอเรสระดับนัยสำคัญ 0.05 แต่ไข่หอยอายุ 5 วันมีค่าแอคติวิตีของเอนไซม์เอสเทอเรสลดลงแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควายพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดให้ค่าระดับแอคติวิตีเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่ไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และมีแนวโน้มทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์เอสเทอเรสลดลงอาจเนื่องมาจากการทำงานของเอนไซม์ในระยะที่ 1 (phase I) ถูกยับยั้งทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควายที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ต่อระดับแอคติวิตีเอนไซม์เอสเทอเรสของไข่หอยเชอรี่ ดังตารางที่ 5 ภาพที่ 23

จากการศึกษาระดับแอคติวิตีของเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ในอายุไข่ 1 3 5 และ 7 โดยศึกษาปัจจัยร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่ 4 ระดับอายุ คือ 1 3 5 และ 7 วันและความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย 0 0.5 1.0 1.5 1.7 และ 2 % w/v การทดสอบอายุพบว่าไข่หอยเชอรี่อายุ 1 และ 7 วัน ให้ค่าแอคติวิตีเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสเพิ่มขึ้นแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แสดงว่าสารจากพืชมีผลต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์ในระยะที่ 2 (phase II) เพิ่มขึ้นเพื่อลดความเป็นพิษของสารจากพืชดังกล่าวส่วนไข่หอยอายุ 3 และ 5 วัน ค่าแอคติวิตีเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควายให้ค่าแอคติวิตีเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของไข่หอยเชอรี่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แล้วทดสอบอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างอายุของไข่หอยเชอรี่และความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอยต่อแอคติวิตีเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของไข่หอยเชอรี่ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังตารางที่ 7 ภาพที่ 25

ศึกษาปริมาณโปรตีนในไข่หอยเชอรี่อายุ 1 3 5 และ 7 วัน พบว่าปริมาณโปรตีนอายุไข่ 3 5 และ 7 วัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต

ผลของสารสกัดพืชทั้ง 3 ชนิดที่มีต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมาย

ในการทดสอบความเป็นพิษของสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมายได้ทดสอบกับปลาและผึ้งชันโรง ซึ่งปลาเป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพที่สำคัญในการบ่งบอกคุณภาพน้ำและสิ่งแวดล้อมซึ่งได้รับผลกระทบโดยตรงหรือทางอ้อมเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงปัจจัยทางกายภาพและเคมี

ชันโรงถือเป็นสัตว์กลุ่มแมลงที่มีความสำคัญในทางธรรมชาติเป็นแมลงที่ก่อประโยชน์ในการช่วยผสมพันธ์พันธุ์พืชเพราะสามารถลงตอมพันธุ์พืชได้หลากชนิดมักอาศัยอยู่บริเวณพื้นที่ทำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เกษตรกรรรมและจากการศึกษาด้านความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดพบว่าค่าความเป็นพิษของสารที่ใช้กับไข่หอยเชอรี่น้อยกว่า ดังนั้นไม่เกิดผลกระทบต่อแมลงที่เป็นประโยชน์ต่อระบบนิเวศวิทยาของสิ่งมีชีวิต

จากการศึกษาพืชทั้ง 3 ชนิดต่อปลาพบว่าสารจากพืชทั้ง 3 ชนิดส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในแหล่งน้ำแต่สารทั้ง 3 ชนิด เป็นสารสกัดจากพืชองค์ประกอบเป็นสารอินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายได้ง่ายในสิ่งแวดล้อม ไม่เกิดการตกค้างและไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากกลอย กากเมล็ดชา และมะคำดีควายมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การไม่ฟักของไข่หอยเชอรี่ และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ 2 ชนิด คือเอนไซม์เอสเทอเรสและเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสในไข่หอยเชอรี่ โดยใช้วิธีซอกล์เลต เอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลายโดยพืชแต่ละชนิดมีองค์ประกอบแตกต่างกัน กลอยมีสารสำคัญคือสาร dioscorin กากเมล็ดชาและมะคำดีควายมีสารสำคัญคือ saponin ซึ่งสารทั้งสามชนิดเป็นพืชที่มีโครงสร้างของสารสำคัญภายในที่เป็นสารประกอบเอสเทอร์ซึ่งสามารถตรวจวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ได้ การศึกษาปัจจัยร่วมระหว่างระยะเวลาการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด พบว่าทั้งปัจจัยของระยะเวลาในการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดมีผลต่อการลดเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่หอยเชอรี่ เมื่อศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาในการจุ่มและความเข้มข้นของสารสกัด พบว่าสารสกัดจากกลอยและกากเมล็ดชาไม่มีอิทธิพลร่วมกันระหว่างระยะเวลาในการจุ่มสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ส่วนสารสกัดจากมะคำดีควายมีอิทธิพลร่วมกันระหว่างระยะเวลาในการจุ่มสารและความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ในการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ 2 ชนิด สารสกัดจากกากเมล็ดชาและมะคำดีควายมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 ส่วนสารสกัดจากกลอยไม่มีผลต่อระดับเอนไซม์เอสเทอเรสแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอยและกากเมล็ดชาต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 ส่วนสารสกัดจากมะคำดีควายมีผลต่อระดับเอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

การศึกษาความเป็นพิษต่อสัตว์ที่ไม่ใช่เป้าหมายคือชันโรงและปลานิลพบว่า ค่าความเป็นพิษของกลอยต่อชันโรงที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง คือ 1.54 และ 0.93 % w/v กากเมล็ดชาต่อชันโรงที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง คือ 7.82 และ 3.14 % w/v มะคำดีควายต่อชันโรงที่เวลา 24 และ 48

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชั่วโมง คือ 3.77 และ 2.44 % w/v ค่าความเป็นพิษของกลอยต่อปลานิล ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง คือ 0.017 และ 0.014 % w/v ความเป็นพิษของกากเมล็ดชาต่อปลานิล คือ 0.00069 และ 0.00062 % w/v ความเป็นพิษของมะคำดีควายต่อปลานิล คือ 0.0028 และ 0.0026 % w/v ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการขยายผลให้มีการใช้ในพื้นที่หรือสภาพแวดล้อมจริง เพราะผลจากห้องปฏิบัติการอาจแตกต่างจากการใช้งานในพื้นที่จริง

2. ควรประยุกต์รูปแบบของสารในรูปของสารละลายเข้มข้นและผสมน้ำสำหรับการใช้งานได้ง่ายขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2548. **พืชฆ่าแมลงและพืชมีพิษบางชนิดในประเทศไทย**. กรมวิชาการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ชัชวาลย์ เรืองประพันธ์. 2544. **การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS for windows**. พิมพ์ครั้งที่ 1 ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

ชมพูนุช จรรยาเพศ, ทักษิณ อาชวาคม, กรแก้ว เสือสะอาด, ธีรเดชเจริญรักษ์ และปิยาณี หนูกาฬ. 2538. **ประสิทธิภาพเหยื่อพิษสำเร็จรูปเมทัลดีไฮด์ในการกำจัดหอยเชอรี่**. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏวิทยาและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

ชมพูนุช จรรยาเพศ. 2540. **การป้องกันและกำจัดหอยเชอรี่โดยวิธีผสมผสาน**. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว, ธีรยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และปัญญา เต็มเจริญ. 2539. **หลักการทางพิษวิทยา**. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพ ฯ.

นันทิยา โพธิ์สวัสดิ์. 2543. **การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากกากชาและโล่ติ๊นในการกำจัดหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*)** . วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยมหิดล.

วัชราภรณ์ รวมธรรม. 2545. **ผลของสารสกัดหัวแห้วหมูต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูตาไทโอน เอส-ทรานเฟอเรสในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอรี่.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วันทนา ทวีผล. 2546. การศึกษาชีววิทยาของชันโรง (*Trigona* (Lepidotrigona) *terminate* Smith) และประสิทธิภาพการช่วยผสมเกสรทุเรียนพันธุ์ชะนี (*Duro zibethinus* L.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สมฤดี ม่วงน้อย. 2545. **ความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองต่อหอยเชอรี่**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยมหิดล.

สุชาติ อุปถัมภ์, มาลียา เครือตาชู, เยาวลักษณ์ จิตรามวงค์ และศิริวรรณ จันทเตมีย์. 2538. **สังขวิทยา**. ศักดิ์โสภาการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

สุรพล วิเศษสรรค์. 2542. **เอกสารประกอบการสอนวิชาพิษวิทยาชีวภาพเบื้องต้น**. ภาควิชาสัตววิทยาคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุรพล. 2544 ก. **กลไกของสารพิษในสัตว์โดยเอนไซม์ทำลายพิษ**. ในการพัฒนาสมุนไพรเพื่อสรีรวิทยาการผลิตสัตว์และสุขภาพมวลมนุษย์ การอบรมวิชาการสรีรวิทยาพยาธิสรีรวิทยา ครั้งที่ 19, 18 – 20 เมษายน 2544. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อัญชลีกร โสมเกษตริน. 2542. **ประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาที่มีต่อหอยเชอรี่**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุดม เรืองนพคุณ. 2549. การเพาะพันธุ์และการเลี้ยงปลานิล. พิมพ์ครั้งที่ 3. เกษตรสยามบุ๊คส์, กรุงเทพฯ.

Abou-Donia, B. M. 1995. **Metabolism and toxicokinetics of xenobiotics**,. In M. J. Derelanku and M. A. Hollinger (eds.). CRC Hand Book of Toxicology. CEC Press, Inc., Florida. 539-588.

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

Cazzaniga, J. N. and A. L. Estebenet. 1990. A sinistral *Pomacea canaliculata* (Gastropodae): Ampullariidae). **Malacol. Rev.** 23: 99-102.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Dadang, K., S. K. Ohsawa, and I. Yamamoto. 1996. Insecticidal compound in tuber of *Cyperus rotundus* L. against the diamondback moth larvae. **J. Pesticide Sci**. 2: 444-446.

Derchung, W., C. K. BingHuei, W. H. Y. JinZu and L. ChienYih. 2005. Inhibition of egg hatching with apple wax solvent as a novel method for controlling golden apple snail *(Pomacea canaliculata)*. **Crop peotection**. 24 (5): 483-486.

Dauterman, W. C. 1994. **Metabolism of toxicants: Phase II reaction. In *E. coli* Hodgson and P. E. levis (eds.).** Introduction to Biochemical Toxicology. Appleton & Lang. Norwell, Connecticut.

Eden, T. 1976. **Tropical Agriculture series Tea**. 3rd. Tea Research Institute of East Africa. 1- 5.

Halwart, M. 1994. The golden apple snail *Pomacea canaliculata* in Asian rice farming systems: present impact and future threat. **Internation journal of Pest Manager**. 40 (2): 199-206.

Hansson, O. L., M. Widersten and B. Mannervik. 1999. An approach to optimizing the activesite in a glutathione transferase by evolution *in vitro*. **Biochem. J.** 344: 93-100.

Huichi, H., L. SinChung, C. FangRong, K. Yaohaur and W. YangChang. 2003. **Molluscicidal saponins from *Sapindus mukorossi*, inhibitory agents of golden apple snails, *Pomacea canaliculata***. Graduate Institute of Natural Products, Kaohsiung Medical University, 100, Shi - Chuan first Rd., Kaohsiung, Taiwan. 51 (17): 4916 - 4919.

Jianming, C., Z. Xusang, Y. Xiaoping, X. Hongxing and Z. Juefeng. 2003. **Biological characteristics of golden apple snail, *Pomacea canaliculata* (Lamarck) in Jiaobai field and its integrated managements strategies**. Acta Agriculture Zhejiangensis. 15 (3): 154 – 160.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Joshi, R.C., A. R. Martin, E. C. Martin, M. S. Cruz, and A.V. Duca. 2001. **Laboratory of Insect Pest Control, Kyushu-Okinawa National Agricultural Research Center (KONARC), Nishigoshi, Kumamoto 861-1192, Japan**. International Rice Research Note **.** 27 (1): 37-38.

Joshi, R. C., A.V. Duca and M. S. Cruz. 2002. Ovicidal effect of a molluscicide on golden apple snail in the Philippines. **Crop Protection Division**. 27 (2): 26-28.

Keawjam, S. R. and E. S. Upatham. 1990. Shell morphology, reproductive anatomy and genetic patterns of three species of apple snails of the genus *Pomacea* in Thailand. **J. Med. & Appl. Malacol**. 2 45-57.

Lacanilao, F. 1990. Reproduction of the golden apple snail (Ampullaridae): egg mass, hatching, and incubation. **Philippine Journal of Science**. 119 (2): 95-105.

Litsinger and Estano. 1993. Management of the golden apple snail *(Pomacea canaliculata* Lamarck) in rice. **Crop peotection**. 12 (5): 363-370.

Lo, C. C. and T.T. Hsieh. 2000. **Acute toxicity to the golden apple snail and estimated bioconcentration potential of triphenylphosphine oxide and series of related compounds**. Bulletin of Environmental contamination and Toxicology. Taichung Hsien, Taiwan. 65 (1): 104-111.

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

Maines, M. D., L. G. Costa, D. J. Reed, S. Sassa and I. G. Sipes. 1999. **Overview of glutathione function and metabolism**. 1-18 Current Protocolism Toxicology Volume 1.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Matsumura, F. 1976. **Toxicology of Insecticide**. 2nd ed., Plenum Pree, New York. 503 p.

Dyson Perrins . 1951. **An Alkaloid of *Dioscorea hispida* Dennst** . Nature 168, 1090 (22 December 1951) Available Source: http://www.nature com/nature /journal/v168/ n4286/abs /1681090a0.html, September 25, 2009

Philippine Rice Research Institute. 2001. **Management guide**. Available Source: //www.applesnail.net/pestalert/hosttrial/login. htm, June 4, 2005.

Pompei, R. 1980. **Antiviral Activity of Glycyrrhizic Acid**. Experientia 36. 304-305.

Sroipetkasame P. and P. Intanon. 2002. Studies on Tuber Crops *Dioscorea* for Herbs and Industry: Classification of Variety and its Chemical Components.(2): 23.

Suryanto, E., S. S. Ahmad, J. H. Ali and F.H. Ahmad. 1999. **Field trial of leaf powder of *Peltophorum pterocarpum* against golden apple snail in rice. Biological control in the tropics: towards efficient biodiversity and bioresource management for effective biological control**. Proceedings of the Symposium on Biological Control in the Tropics held at MARDI Training Centre, Serdang, Malaysia from 18-19 March. 96-97.

Susin, T. 2004. **Biology of the golden apple snail, *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822), with emphasis on responses to certain environmental conditions in Sabah, Malaysia**. Agriculture Research Centre, PO Box 3, 89207 Tuaran. 24 (3): 139-148.

Suzuki, Y., K. Arimura, T. Wada, K. Ichnese, M. Matsumura, S. Uranu and Y. Yusa. 2000. **Management of the golden apple snail, *Pomacea canaliculata* (Lamarck), by drainage and methaldehyde application in direct-sown rice under heavy rainfall conditions**. Japan. Proceeding of the Association for Plant protection of Kyushu. 94-97.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Timbrell, J. 2000. **Principles of Biochemical Toxicology**. 3rd ed. T. J. International Ltd, Padstow, UK. 394.

Tzeng, D. D. S., H.C. Tzeng, M. H. Lee and Y. Yeh. 1994. **Sodium dodecyl sulfate as an alternative agent for the control of golden apple snail *Pomacea canaliculata* (Lamarck) in rice fields**. Proceedings of the National science Council, Republic of China. 18 (3): 138-145.

Visetson, S. 1991. **Insecticide resistance mechanisms in the red rust flour beetle (*Tribolium castaneum* Herbst) PhD**. Thesis. The university of Sydney. Australia. 256.

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, Gotton College, Australia.

Visetson, S., J. Milne, M. Milne, V Bullangpoti and A. Rattanapan. 2005. **Similarities and Differences in Toxicity and Characteristic of Monooxygease Activity in the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* Linn. Larvae, Subteranean Termites (*Coptotermes* spp.) and Mouse against Some Allelochemicals and Conventional Pesticides**. The 7rd National Plant Protection Conference. 2-4 November 2005, Thailand.

Visetson, S., V. Bullangpoti, T. Kunjerm, M. Milne, J. Milne and P. Kannasutra. 2006. **Thai Herbs for Agricultural Pest Control and Household Pest Control**. Research Way Fair, Jakapanpensiri building Kasetsart University, 27 January – 4 February 2006.

Zar, H.J. 1999. **Biostatistical Analysis**. 4th ed. Prentice Hall International, Inc. USA. 663.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. การหาเปอร์เซ็นต์การตายจริง

การหาเปอร์เซ็นต์การตายจริงโดยวิธี Abbott's formular

การหาเปอร์เซ็นต์การตายจริง = (x-y)x100/100-y

เมื่อ x คือ เปอร์เซ็นต์การตายในกลุ่มทดลอง

เมื่อ y คือ เปอร์เซ็นต์การตายในกลุ่มควบคุม

โดยเปอร์เซ็นต์การตายในกลุ่มควบคุมต้องน้อยกว่า 20 %

2. การวิเคราะห์เอนไซม์เอสเทอเรส (Esterase) โดยวิธี PNPA assay ของ Mackness และคณะ(1983)

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

แทนค่า OD/min ที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ด้วย A และปริมาณที่ใช้วิเคราะห์ใน 1 cuvette = 3 มิลลิลิตร

ดังนั้นปริมาณเอนไซม์ที่วัดได้ = A x 58.8235 x 3

3. การวิเคราะห์เอนไซม์กลูทาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส (Glutathione –S- Transferase) โดยวิธี DCNB assay (ดัดแปลงโดยวิธีของ Visetson, 1991)

DCNB product = OD/min x 1.316 / 10 x 1000 n mole

แทนค่า OD/min ที่วัดได้จากเครื่องสเปคโตโฟโตมิเตอร์ด้วย B

ดังนั้นปริมาณเอนไซม์ที่วัดได้ = B x 1.316 / 10 x 1000 n mole

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. การเตรียมสารเคมี

4.1 Phosphate buffer

0.1 M KH_2PO_4 (Potassium dihydrothiophosphate : M.W. = 136.09) เตรียมโดยการชั่ง KH_2PO_4 13.609 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

4.2 Stock EDTA (1mM EDTA)

1mM EDTA (Ethyline Dibromide Triacetic acid : M.W. = 452.24) เตรียมโดยการชั่ง EDTA จำนวน 0.45224 กรัม เติมน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

4.3 Phosphate buffer with EDTA

นำ stock EDTA ที่เตรียมจากข้อ 4.2 จำนวน 1 มิลลิกรัม เติมลงใน 0.1 M Phosphate buffer ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร คนให้สารละลายเข้ากัน

4.4 Phosphate buffer with GSH reduced form

เตรียมโดยการชั่ง GSH reduced form ปริมาณ 0.15 กรัม เติมลงใน phosphate buffer ปริมาตร 50 มิลลิลิตร คนให้สารละลายเข้ากัน

4.5 0.12 M PNPA (Paranitrophenyl acetate)

เตรียมโดยการชั่ง PNPA ปริมาณ 0.1 กรัม แล้วเติมลงในแอลกอฮอล์ 100 % ปริมาตร 5 มิลลิลิตร คนให้สารละลายเข้ากัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.6 150 mM DCNB (Dichloronitrobenzene)

เตรียมโดยการชั่ง DCNB ปริมาณ 0.152 กรัม แล้วเติมลงใน แอลกอฮอล์ 100 % ปริมาตร 5 มิลลิลิตร คนให้สารละลายเข้ากัน

4.7 Bradford solution (ใช้หาค่าโปรตีน)

เตรียมโดยการชั่ง Coomassie Brilliant Blue 250 ปริมาณ 100 กรัม แล้วเติม แอลกอฮอล์ 95 % ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วเติม 85 % H_3PO_4 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารสกัดจากพืชต่อระดับโปรตีนในหอยเชอรี่

1. ผลของสารสกัดจากพืชต่อระดับโปรตีนในหอยเชอรี่ที่ได้รับสารช่วงอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

1.1 ผลของสารสกัดจากกลอยต่อระดับโปรตีนในหอยเชอรี่ที่ได้รับสารช่วงอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ระดับโปรตีนของหอยเชอรี่ที่ฟักออกจากไข่หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน ตามลำดับ จากการทดลอง 6 ชุด คือ ชุดควบคุม (น้ำกลั่น), 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 และ 1.5 % w/v ตามลำดับ ไข่อายุ 1 วัน พบว่ามีค่าของโปรตีนที่วัดโดยวิธี Bradford assay 16.34±0.17, 16.75±0.86, 17.49±0.35, 16.51±0.39, 16.60±1.14, 16.09±0.26 mg/ml ตามลำดับ ไข่อายุ 3 วัน มีค่าของโปรตีนเท่ากับ 16.41±0.25, 18.10±0.81, 15.88±0.15, 17.24±0.02, 17.36±0.36, 16.86±0.58 mg/ml ตามลำดับ ไข่อายุ 5 วัน มีค่าของโปรตีนเท่ากับ 15.61±0.51, 16.51±1.31, 15.04±0.44, 14.86±0.60, 15.47±2.45, 14.74±0.44 mg/ml ตามลำดับ ไข่อายุ 7 วัน มีค่าของโปรตีนเท่ากับ 17.15±0.67, 20.79±3.66, 19.00±1.97, 18.11±0.78, 17.62±0.67, 18.23±2.40 mg/ml ตามลำดับ (ตารางผนวกที่ 1 ภาพผนวกที่ 1) ไข่อายุ 1 วันทุกชุดความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 95 % เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ไข่อายุ 3 วันชุดความเข้มข้น0.3, 0.9, 1.2 % w/v มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 95 % เมื่อเทียบกับชุดควบคุมไข่อายุ 5 และ 7 วันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 95 % เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

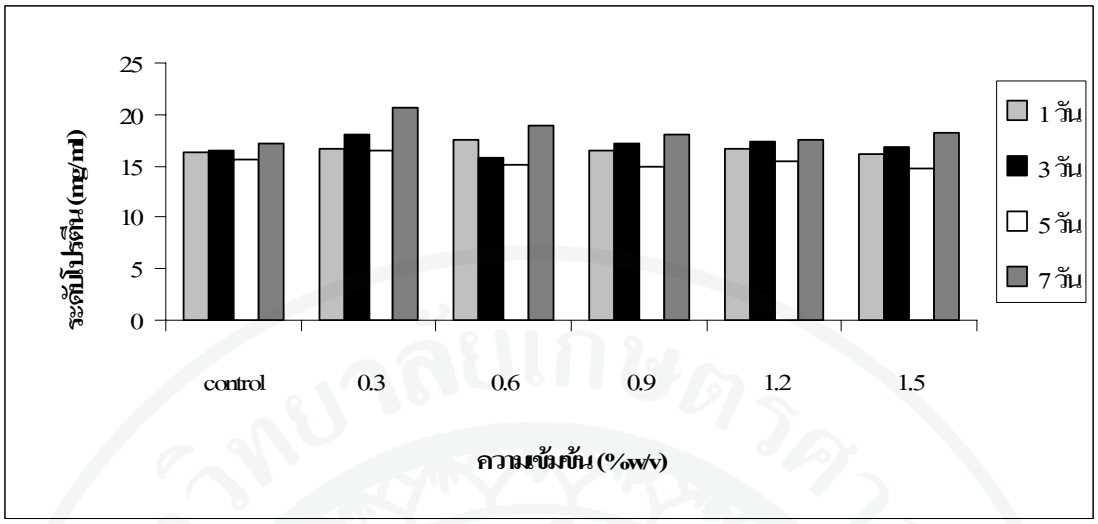
ตารางผนวกที่ 1 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับโปรตีนของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัดจากกลอย (%w/v)	ระดับโปรตีน [2] (mg/ml) อายุของไข่หอยเชอรี่ (วัน)			
	1	3	5	7
0.0 [1]	16.34±0.17^{ab}	16.41±0.25^{ab}	15.61±0.51^{a}	17.15±0.67^{a}
0.3	16.75±0.86^{a}	18.10±0.81^{d}	16.51±1.31^{a}	20.79±3.66^{a}
0.6	17.49±0.35^{b}	15.88±0.15^{a}	15.04±0.44^{a}	19.00±1.97^{a}
0.9	16.51±0.39^{ab}	17.24±0.02^{c}	14.86±0.60^{a}	18.11±0.78^{a}
1.2	16.60±1.14^{ab}	17.36±0.36^{cd}	15.47±2.45^{a}	17.62±0.67^{a}
1.5	16.09±0.26^{a}	16.86±0.58^{bc}	14.74±0.44^{a}	18.23±2.40^{a}

[1] คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด

[2] คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 1 กราฟแสดงระดับโปรตีนของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกลอยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.2 ผลของสารสกัดจากกากชาต่อระดับโปรตีนในหอยเชอรี่ที่ได้รับสารช่วงอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ระดับโปรตีนของหอยเชอรี่ที่ฟักออกจากไข่หลังจากได้รับสารสกัดจากกากชาเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน ตามลำดับ จากการทดลอง 6 ชุด คือ ชุดควบคุม (น้ำกลั่น), 0.5, 1.0, 1.5, 1.7 และ 2.0 % w/v ตามลำดับ ไข่อายุ 1 วันพบว่ามีค่าของโปรตีนที่วัดโดยวิธี Bradford assay เท่ากับ 17.74±0.96, 17.33±0.57, 16.82±0.63, 16.91±0.12, 14.07±1.34, 15.66±1.13 mg/ml ตามลำดับ ไข่อายุ 3 วันมีค่าของโปรตีน เท่ากับ 17.22±0.94, 17.44±0.79, 18.35±0.87, 21.52±4.91, 18.18±0.79, 18.28±1.85 mg/ml ตามลำดับ ไข่มีอายุ 5 วันมีค่าของโปรตีน เท่ากับ 18.14±0.48, 18.22±0.76, 17.78±0.80, 18.57±0.50, 17.90±0.77, 16.84±0.71 mg/ml ตามลำดับ ไข่มีอายุ 7 วันมีค่าของโปรตีน เท่ากับ 20.20±5.01, 18.60±0.45, 19.63±4.51, 18.75±0.83, 18.25±0.85, 20.81±3.29 mg/ml ตามลำดับ (ตารางผนวกที่ 2 ภาพผนวกที่ 2)ไข่อายุ 1 วันในชุดความเข้มข้น1.7 และ 2.0 % w/v มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 95 % เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ไข่อายุ 3, 5 และ 7 วันทุกชุดความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 95 % เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

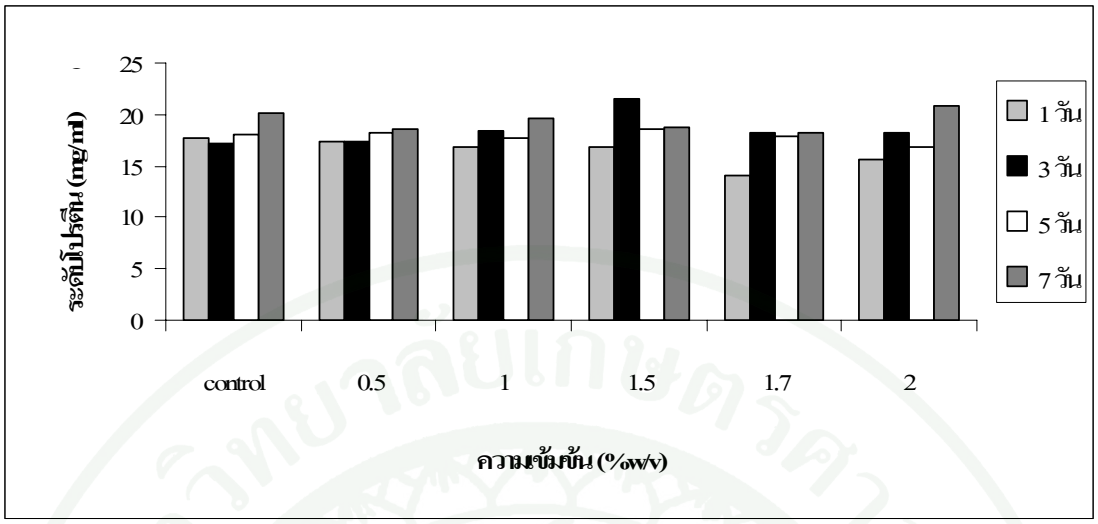
ตารางผนวกที่ 2 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับโปรตีนของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกากชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากชา (%w/v)	ระดับโปรตีน [2] (mg/ml) อายุของไข่หอยเชอรี่ (วัน)			
	1	3	5	7
0.0 [1]	17.74±0.96^{c}	17.22±0.94^{a}	18.14±0.48^{ab}	20.20±5.01^{a}
0.5	17.33±0.57^{bc}	17.44±0.79^{a}	18.22±0.76^{b}	18.60±0.45^{a}
1.0	16.82±0.63^{bc}	18.35±0.87^{a}	17.78±0.80^{ab}	19.63±4.51^{a}
1.5	16.91±0.12^{bc}	21.52±4.91^{a}	18.57±0.50^{b}	18.75±0.83^{a}
1.7	14.07±1.34^{a}	18.18±0.79^{a}	17.90±0.77^{ab}	18.25±0.85^{a}
2.0	15.66±1.13^{b}	18.28±1.85^{a}	16.84±0.71^{a}	20.81±3.29^{a}

[1] คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด

[2] คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 2 กราฟแสดงระดับโปรตีนของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากกากชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.3 ผลของสารสกัดจากมะคำดีควายต่อระดับโปรตีนในหอยเชอรี่ที่ได้รับสารช่วงอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ระดับโปรตีนของหอยเชอรี่ที่ฟักออกจากไข่หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน ตามลำดับ จากการทดลอง 6 ชุด คือ ชุดควบคุม (น้ำกลั่น), 0.5, 1.0, 1.5, 1.7 และ 2.0 % w/v ตามลำดับ ไข่มีอายุ 1 วัน พบว่ามีค่าของโปรตีนที่วัดโดยวิธี Bradford assay เท่ากับ 7.67±2.30, 7.02±1.37, 7.42±1.40, 6.98±1.48, 6.70±0.43, 6.45±0.46 mg/ml ตามลำดับไข่มีอายุ 3 วัน มีค่าของโปรตีน เท่ากับ 16.86±1.25, 16.94±0.47, 17.69±0.98, 16.99±0.87, 17.00±0.66, 18.20±0.55 mg/ml ตามลำดับไข่มีอายุ 5 วัน มีค่าของโปรตีน เท่ากับ 17.74±0.42, 17.95±1.88, 18.89±0.55, 19.00±0.63, 19.05±0.47, 17.72±0.32 mg/ml ตามลำดับไข่มีอายุ 7 วัน มีค่าของโปรตีน เท่ากับ 17.14±1.39, 18.04±1.22, 17.03±0.24, 16.51±1.34, 17.86±0.61และ 17.05±0.78 mg/ml ตามลำดับ (ตารางผนวกที่ 3 ภาพผนวกที่ 3) ไข่อายุ 1, 3, 5 และ 7 วันทุกชุดความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 95 % เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

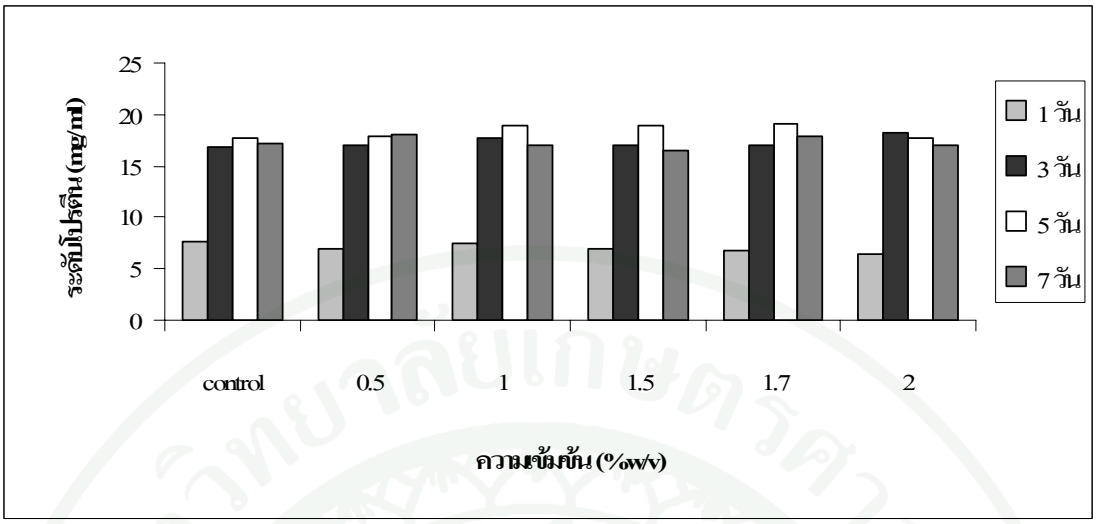
ตารางผนวกที่ 3 ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับโปรตีนของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดจากมะคำดีควายที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ความเข้มข้นของสารสกัดจากมะคำดีควาย (%w/v)	ระดับโปรตีน [2] (mg/ml) อายุของไข่หอยเชอรี่ (วัน)			
	1	3	5	7
0.0 [1]	7.67±2.30[a]	16.86±1.25[a]	17.74±0.42[a]	17.14±1.39[a]
0.5	7.02±1.37[a]	16.94±0.47[a]	17.95±1.88[a]	18.04±1.22[a]
1.0	7.42±1.40[a]	17.69±0.98[a]	18.89±0.55[a]	17.03±0.24[a]
1.5	6.98±1.48[a]	16.99±0.87[a]	19.00±0.63[a]	16.51±1.34[a]
1.7	6.70±0.43[a]	17.00±0.66[a]	19.05±0.47[a]	17.86±0.61[a]
2.0	6.45±0.46[a]	18.20±0.55[a]	17.72±0.32[a]	17.05±0.78[a]

[1] คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด

[2] คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05, Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 3 กราฟแสดงระดับโปรตีนของหอยเชอรี่หลังจากได้รับสารสกัดมะคำดีควายที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 5 นาที ขณะไข่มีอายุ 1 3 5 และ 7 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวเมษสุวัลย์ พงษ์ประมูล
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 11 พฤษภาคม พ.ศ. 2520
สถานที่เกิด	จังหวัดกำแพงเพชร
ประวัติการศึกษา	วท.บ. ชีววิทยา มหาวิทยาลัยนเรศวร (2539)
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	ครูวิชาการ สาขาวิชาชีววิทยา
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	โรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์