

การศึกษาประสิทธิภาพของของเหลวสารในการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืชประเภทแมลงวันผลไม้ ซึ่งเป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ขั้นตอน คือขั้นตอนการกลั่นและแยกของเหลวสาร ขั้นตอนที่สองเป็นการศึกษาประสิทธิภาพของของเหลวสารในการป้องกันและกำจัดแมลงวันผลไม้ และศึกษากลุ่มสารที่มีผลต่อแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีวงโคจรเลขคี่บางร่วมกับสารฉีดพ่นที่ใช้ในการตรวจหาสารกลุ่มต่างๆ โดยเปรียบเทียบกับสารที่ใช้ล่อแมลงวันผลไม้ คือ ยูจีนอล

ผลจากการกลั่นแยกของเหลวสารโดยวิธีการกลั่นลำดับส่วน โดยกลั่นเก็บ 3 ช่วงอุณหภูมิ คือ $75-80^{\circ}\text{C}$, $81-85^{\circ}\text{C}$ และ $86-90^{\circ}\text{C}$ ทั้งนี้ได้ของเหลวสีเหลืองใสทั้ง 3 ช่วงอุณหภูมิและมีค่า pH เท่ากับ 2.67, 2.74 และ 2.88 ตามลำดับ ส่วนที่เหลือจากการกลั่นนำมาทำการแยกสารโดยวิธีคอลัมน์แบบเร็ว โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน และเมทานอล เป็นตัวชะตามลำดับ เมื่อทำการจัดรวมสารโดยอาศัยวิธีวงโคจรเลขคี่บาง สามารถรวมสารได้ 8 กลุ่มสารคือ MDi I, MDi II, MDi III, MAc I, MAc II, MAc III, MAc IV และ MMe I เมื่อนำทั้ง 8 กลุ่มสารทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันแมลงวันผลไม้พบว่าชุดการทดลองการระเหยเป็นไอในสัดส่วนสารผสมกับ น้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 เมื่อแมลงวันผลไม้ไม่มีอาหารแต่ถูกรบกวนโดยสาร MDi III เปอร์เซ็นต์การตายสูงถึง 86 เปอร์เซ็นต์ภายใน 24 ชั่วโมงซึ่งมากกว่าสารกลุ่มอื่น นอกจากนี้เมื่อทดสอบถึงการที่แหล่งอาหารมีสารรบกวน พบว่ากลุ่มสาร MMe I จะทำให้แมลงวันผลไม้มีเปอร์เซ็นต์การตายเป็น 76 เปอร์เซ็นต์ภายใน 24 ชั่วโมง สาร MAc IV มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงถึง 93 เปอร์เซ็นต์(ไม่เกิน 48 ชั่วโมง) และตาย 57 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีแหล่งอาหารสมบูรณ์ ทว่าเมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของสารต่อน้ำเป็น 1 ต่อ 3 พบว่า สารที่ออกฤทธิ์ต่อแมลงวันผลไม้ได้ดีกลับเป็นกลุ่มสาร MAc II, MAc III และ MMe I ในการตายที่มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามการปนเปื้อนอาหารด้วยกลุ่มสารทั้ง 8 พบว่าสาร MAc IV ก่อให้เกิดการตายของแมลงวันผลไม้มากกว่าสารกลุ่มอื่นๆ โดยมีการตายเป็น 40 เปอร์เซ็นต์

ส่วนสกัดของของเหลวสาร เฉพาะส่วนที่มีผลต่อแมลงวันผลไม้ 8 ส่วน คือ MDi I, MDi II, MDi III, MAc I, MAc II, MAc III, MAc IV และ MMe I ด้วยเทคนิค TLC และ HPLC โดยใช้สารมาตรฐาน Eugenol เป็นตัวเทียบเคียง การศึกษาด้วยเทคนิค TLC นี้ใช้ระบบตัวทำละลายเคลื่อนที่เป็นอะซิโตนต่อ เมทานอลในอัตราส่วน 4 : 1 และตรวจสอบกลุ่มสารด้วยการฉีดพ่นรีเอเจนต์ 5 รีเอเจนต์ ได้แก่ Antimony Trichloride, Ferric chloride, Ferric chloride-potassium ferricyanide, Orcinol Ferric Chloride และ Phosphormolybdic acid พบว่า Eugenol เกิดการเปลี่ยนแปลงหลังจากการฉีดพ่นด้วย Phosphormolybdic acid เท่านั้นที่ค่า $R_f = 0.85$ ส่วนสารสกัดที่เกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อฉีดพ่นด้วย Phosphormolybdic acid และมีค่า R_f ใกล้เคียงกับสาร Eugenol มี 4 ส่วนสกัด ได้แก่ MDi II, MDi III, MAc I และ MAc II ส่วนเทคนิค HPLC ทำการวิเคราะห์โดยใช้สาร Eugenol เป็นสารมาตรฐานเทียบเคียง

โดยใช้คอลัมน์ C_{18} ในระบบตัวทำละลายเคลื่อนที่เป็นเมทานอลและน้ำปราศจากไอออน ในอัตราส่วน 4: 1 อัตราการไหล = 1 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดด้วย Photodiode Array Detector ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร พบว่าส่วนสกัดทั้ง 8 ส่วนมีค่ารีเทนชันไทม์ใกล้เคียงกับสารEugenol ที่ 1.117 ± 0.001 นาที เมื่อพิจารณาส่วนสกัดที่มีค่ารีเทนชันไทม์สอดคล้องกับค่า R_f รวมทั้งผลการจุดพ่นด้วยรีเอเจนต์ที่เทียบเคียงกับสารEugenol พบว่าสาร MDi II, MDi III, MAc I และ MAc II ให้ผลสอดคล้องแสดงถึงการมีสาร Eugenol เป็นส่วนประกอบในส่วนสกัดที่มีผลต่อแมลงวันผลไม้ นอกจากนี้เมื่อส่งตรวจฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลินเอสเตอเรสพบว่าส่วนสกัดทั้ง 8 ส่วนสกัดมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลินเอสเตอเรสในระดับไม่ปลอดภัย

This research is concerned with the effect of Tar liquid for the protection of fruit insect, oriental fruit fly, in the laboratory scale. This work was divided into three steps. First, Tar liquid was distilled and isolated. The second step was related with the effect of Tar liquid on oriental fruit fly, and the last, the active fractions were classification compound groups using thin layer chromatography combine with spray reagents. Fractional distillation technique was used to isolate Tar liquid. The distilled samples were collected at three ranges of temperature; 75-80°C, 81-85 °C and 86-90°C, resulting in yellow liquids with the pH of 2.67, 2.74 and 2.88, respectively. Quick column chromatography was continued to separate the Tar residue sample with organic solvents, dichloromethane, acetone and methanol, as an eluent, respectively. From thin layer chromatographic data, the fractionates were pooled into eight groups: MDi I, MDi II, MDi III, MAc I, MAc II, MAc III, MAc IV, and MMe I. All these eight groups of samples were introduced to test the effect on oriental fruit fly.

It was found that the concentrated isolated samples after diluted with water in the ratio of 1:1 exhibited strong activity on oriental fruit fly. When the oriental fruit fly was disturbed only with MDi III and without food, the fly died up to 86 percent within 24 hours, which was higher than other isolated samples. Furthermore, the active isolated samples combined with fly's food were also investigated. It was found that when fly's food and MMe I sample were introduced, the oriental fruit fly died up to 76 percent within 24 hours. MAc IV caused the fly death up to 93 percent within 48 hours and death up to 57 percent when the fly had enough food. When the concentration of isolated samples was diluted with water in the ratio of 1:3, the MAc II, MAc III and MMe I had a good activity on oriental fruit fly. These groups caused the fly death over 50 percent. However, when fly's food was contaminated with eight groups of isolated samples, the MAc IV caused the oriental fruit fly death higher than other isolated samples with the percentage of 40.

The eight active fractions on oriental fruit fly: MDi I, MDi II, MDi III, MAc I, MAc II, MAc III, MAcIV, and MMe I, using Thin Layer Chromatography (TLC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with Eugenol as a standard. Mobile phase of TLC technique was a mixture of acetone and methanol in the ratio of 4 : 1. Five TLC reagents (Antimony Trichloride, Ferric chloride, Ferric chloride-potassium ferricyanide, Orcinol Ferric Chloride and

Phosphormolybdic acid) were applied. Eugenol shown blue component, $R_f = 0.85$, after spraying with the Phosphormolybdic acid. From TLC data, MDi II, MDi III, MAc I and MAc II exhibited the R_f value closed to Eugenol. In addition HPLC technique the apparatus was used with column C_{18} . Mobile phase was a mixture of methanol and deionized water in the ratio of 4 : 1. The flow rate of mobile was 1 ml/min. Photodiode Array detector was used at the wavelength of 254 nm. From the retention time data, the retention time of Eugenol, which was used as standard reference was 1.117 ± 0.001 min. From TLC data and HPLC data, MDi II, MDi III, MAc I and MAc II consist of Eugenol. All the eight fractions can inhibitor of Cholinesterase enzyme.