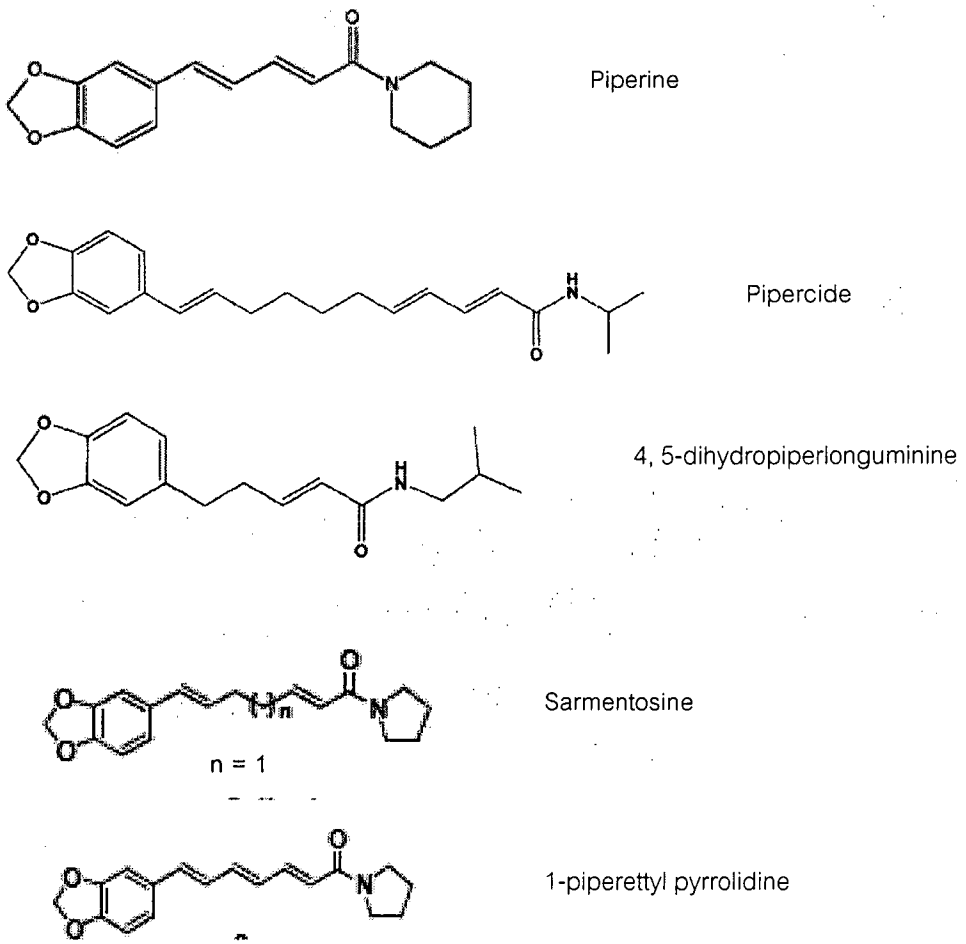
บทที่ 1

1. ความเป็นมาและความสำคัญของเรื่อง

ในปัจจุบันกรมวิชาการเกษตรได้พยายามส่งเสริมให้เกษตรกรลด ละ เลิกการใช้สารเคมีในการผลิตพืชเศรษฐกิจ และสนับสนุนให้ใช้สารธรรมชาติจากพืช (Botanical insecticides) ที่มีศักยภาพในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืช ทั้งนี้เนื่องจากสารธรรมชาติจากพืชมีความปลอดภัย ไม่เป็นพิษต่อคน และสัตว์เลี้ยง ไม่ก่อให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้าง เนื่องจากสลายตัวได้ง่าย โอกาสที่แมลงสร้างความต้านทานน้อยกว่าสารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้น ออกฤทธิ์กับแมลงในหลายด้าน เป็นพิษน้อยต่อศัตรูธรรมชาติ ประหยัด ราคาถูก เนื่องจากสมุนไพรเหล่านี้หาได้ง่าย และสามารถเตรียมได้เอง ช่วยลดเงินตราต่างประเทศ ในการนำเข้าสารเคมีสังเคราะห์จากต่างประเทศ ทำให้ช่วยลดดุลการค้าที่เสียเปรียบต่างประเทศ สร้างงานใหม่ให้เกิดขึ้นอันเนื่องจากอุตสาหกรรมด้านการผลิตสารธรรมชาตินี้ และหากสามารถส่งเสริมให้มีการส่งออกในรูปของสารสกัดได้ จะเป็นการเพิ่มรายได้ให้กับประเทศ ผลิตภัณฑ์ป้องกันและกำจัดศัตรูพืชที่ได้จากสารธรรมชาติที่พบในปัจจุบันเป็นผลิตภัณฑ์ของต่างประเทศ ตัวอย่างเช่น Ozoneem Trishul, Hot pepper wax™, McCormick™, Garlic Barrier™ และ Align™ แต่ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเป็นผลิตภัณฑ์ของต่างประเทศ และผลิตภัณฑ์บางชนิดมีลักษณะเป็นผง เช่น McCormick™ (พริกแดงป่น) ซึ่งยากต่อการใช้ หรือมีน้ำเป็นส่วนประกอบหลัก เช่น Garlic Barrier™ (1% garlic, 1% fish oil, 98% water) ซึ่งยากต่อการละลายสารที่ไม่ละลายน้ำ หรือสารสกัดที่มีลักษณะเป็นยางไม้ (oleoresin) ผลิตภัณฑ์ที่มีชื่อการค้าว่า Hot pepper wax™ ได้ใช้ food grade paraffin wax และ mineral oil มาใช้ในการช่วยละลาย capsaicin ที่สกัดได้จากพริกขี้หนู โดยนำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมาเจือจางกับน้ำก่อนฉีดพ่น แต่ปัญหาคือเมื่อน้ำระเหยจะเกิดคราบของแว็กซ์เคลือบอยู่ที่พืช ผัก และผลไม้ ต้องใช้น้ำอุ่นในการกำจัดออก จากการศึกษาในโครงการวิจัยที่ผ่านมาเรื่องการเตรียมไมโครอิมัลชันของสารสกัดพริกไทยดำ และพริกสำหรับการป้องกันและกำจัดศัตรูพืช (Preparation of microemulsions of black pepper and capsicum extract for plant pest control) ได้ตำรับไมโครอิมัลชันที่สามารถผสมเข้ากันกับสารสกัดได้ โดยที่สารสกัดยังมีความคงตัว และเมื่อนำมาเจือจางด้วยน้ำ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จะได้ของเหลวที่มีลักษณะคล้ายอิมัลชันจนถึงสารละลายใส ซึ่งไม่ทำให้เกิดคราบเคลือบอยู่ที่พืช ผัก และผลไม้ นอกจากนี้ส่วนประกอบของไมโครอิมัลชันที่เตรียมขึ้นยังได้เลือกใช้ Tween 80 และ Span 80 เป็นสารลดแรงตึงผิว และสารลดแรงตึงผิวร่วมซึ่งสามารถทำหน้าที่ช่วยให้สารติดบนใบพืช (sticker) ได้ ดังนั้นระบบไมโครอิมัลชันดังกล่าวจึงน่าที่จะใช้เตรียมผลิตภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชที่ผสมสารสกัดจากพืชได้ดี

Scott *et al.* (2003) ได้รายงานว่าสารสำคัญที่พบในพืชวงศ์ Piperaceae สกุล *Piper* ประมาณ 1,000 สปีชีส์ คือ สารประเภทเอไมด์ ซึ่งโครงสร้างของสารกลุ่ม Piperamides นี้จะประกอบด้วยโครงสร้าง (functional group) ที่เป็น isobutyl amide และ methylene dioxyphenyl (MDP) (รูปที่ 1)

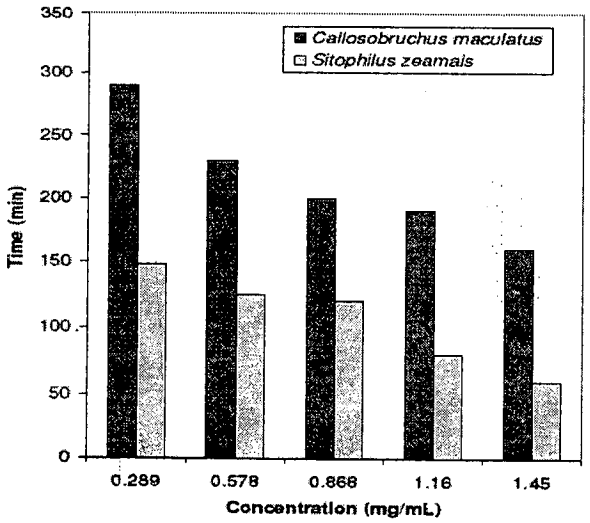
ซึ่งเป็นพิษต่อระบบประสาท (neurotoxic) และ มีผลยับยั้งเอ็นไซม์ cytochrome P450 ตามลำดับ ตัวอย่างสาร Piperamides ที่พบในพริกไทยดำ (*Piper nigrum*) เช่น piperine, pipercide, 4, 5-dihydropiperlonguminine (Scott *et al.*, 2003) และที่พบในช้าพลู (*Piper sarmentosum*) เช่น sarmentosine, 1-piperettyl pyrrolidine (Rukachaisirikul *et al.*, 2004)



รูปที่ 1-1 โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม piperamides ที่พบในพืชสกุล *Piper*

จากการทบทวนวรรณกรรมถึงการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดพริกไทยดำต่อศัตรูพืช พบว่า สารสกัดพริกไทยดำที่ความเข้มข้นต่ำกว่าร้อยละ 0.1 สามารถฆ่าตัวหนอนของด้วงมันฝรั่งโคโลราโด (*Leptinotarsa decemlineata* Say) ได้ร้อยละ 70 - 80 (Scott *et al.*, 2003) และยังสามารถฆ่าตัวหนอนของด้วงมันฝรั่งโคโลราโดสายพันธุ์ที่ดื้อต่อสารฆ่าแมลงสังเคราะห์กลุ่ม carbamates, organophosphates, organochlorines และ pyrethoids นอกจากนี้ Awoyinka *et al.* (2006) ยังพบว่า

สารสกัดไดคลอโรมีเทนของพริกไทยดำที่ความเข้มข้น 0.289 – 1.450 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ฆ่าด้วงถั่วเขียว (*Callosobruchus macalatus*) และด้วงงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais*) ได้ โดยระยะเวลาที่ใช้ในการฆ่าด้วงถั่วเขียว และด้วงงวงข้าวโพด สั้นลงเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น (รูปที่ 2)



รูปที่ 1-2 กราฟแสดงการเปรียบเทียบอัตราการตายของด้วงถั่วเขียว (*Callosobruchus macalatus*) และด้วงงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais*) เมื่อสัมผัสสารสกัดพริกไทยดำที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ไมโครอิมัลชันเป็นตำรับที่ประกอบด้วย น้ำ น้ำมัน สารลดแรงตึงผิว (surfactant) และสารลดแรงตึงผิวร่วม (co-surfactant) เป็นระบบที่เกิดได้เองเมื่อผสมน้ำมัน สารลดแรงตึงผิว สารลดแรงตึงผิวร่วม และน้ำในอัตราส่วนพอเหมาะ มีลักษณะโปร่งใส (transparent) เป็นเนื้อเดียวกัน และมีความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกซ์ ข้อดีของไมโครอิมัลชัน คือ ส่วนประกอบในสูตรตำรับมีทั้งที่เป็นสารที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และไม่ชอบน้ำ (lipophilic) จึงสามารถผสมได้ทั้งสารที่ชอบและไม่ชอบน้ำ มีความสามารถในการละลายตัวยาได้สูง จึงสามารถเตรียมสารสกัดสมุนไพรในรูปแบบเข้มข้น (concentrate) และผสมน้ำก่อนใช้ได้ นอกจากนี้การเตรียมทำได้ง่ายเพียงคนผสมเบาๆ ไม่ต้องใช้เครื่องปั่นผสมความเร็วสูง (high speed homogenizer) หรือความร้อน ทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำ และสามารถผสมสารธรรมชาติใดๆที่ไม่ทนความร้อนได้ เป็นสูตรตำรับที่มีความคงตัวสูง ไม่เกิดการแยกชั้นเมื่อตั้งทิ้งไว้ หรือเมื่ออยู่ในที่ที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ จากการศึกษาในโครงการวิจัยที่ผ่านมาเรื่องการเตรียมไมโครอิมัลชันของสารสกัดพริกไทยดำ และพริกสำหรับการป้องกันและกำจัดศัตรูพืช ได้มีการทดสอบนำร่อง (preliminary test) ถึงประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไมโครอิมัลชันของสารสกัดพริกไทยดำที่เตรียมขึ้น (ความเข้มข้น 15% w/w) ต่อหนอนใยผัก (diamondback moth, *Plutella xylostella*) ซึ่งเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญที่สุดของพืชผักตระกูลกะหล่ำ โดยนำผลิตภัณฑ์ไมโครอิมัลชันของสารสกัดพริกไทยดำ

ดังกล่าวมาเจือจางในน้ำจนได้ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1 และ 0.5 จากนั้นจุ่มใบคะน้าในสารละลายดังกล่าว ทิ้งไว้ให้สารสกัดแห้ง แล้วนำไปใส่ไว้ใน petridish จากนั้นเขี่ยหนอนวัย 3 จำนวน 10 ตัวลงไป พร้อมปิดฝา ทำการทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ตรวจนับการตายของหนอนที่เวลา 3, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังจากปล่อยหนอน พบว่า ทุกความเข้มข้นสามารถทำให้หนอนตายอยู่ในช่วงร้อยละ 63.33-80.00 ที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังปล่อยหนอน และเมื่อผ่านไป 48 ชั่วโมง ทุกความเข้มข้นทำให้หนอนตายร้อยละ 100 ยกเว้นความเข้มข้นร้อยละ 0.50 และ 2 มีการตายร้อยละ 96.67 อีกทั้งเมื่อทำการทดสอบโดยนำสารสะลายที่ความเข้มข้นคือร้อยละ 4, 3, 2, 1, และ 0.5 พ่นใส่ตัวหนอนให้เปียกชุ่ม จากนั้นเขี่ยหนอนเหล่านั้นลงบนใบคะน้าปลอดสารที่วางอยู่ใน petridish จำนวน 10 ตัวต่อ petridish พร้อมปิดฝา ทำการทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ตรวจนับการตายของหนอนที่เวลา 3, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังจากปล่อยหนอน พบว่าอัตราการตายของหนอนเพิ่มสูงขึ้นตามลำดับความเข้มข้น (dose-response relationship) และระยะเวลาที่สัมผัส โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1, 2, 3 และ 4 ทำให้หนอนตายที่เวลา 3 ชั่วโมง เท่ากับร้อยละ 6.67, 13.33, 26.67, 40.00 และ 46.67 ตามลำดับ และตายเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ จนกระทั่งที่เวลา 72 ชั่วโมง มีการตายของหนอนเกิดขึ้นร้อยละ 30.00, 33.33, 63.33, 73.33 และ 70.00 ตามลำดับ จากผลการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดพริกไทยดำสามารถนำไปใช้ในการควบคุมหรือกำจัดศัตรูพืชได้ แต่อย่างไรก็ตามพริกไทยดำมีราคาค่อนข้างสูง ดังนั้นพืชทดแทนที่อยู่ในสกุล *Piper* เช่นเดียวกับพริกไทยดำ จึงเป็นที่สนใจในการศึกษานี้

ช้าพลูหรือชะพลู มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Piper sarmentosum* Roxb. อยู่ในวงศ์ Piperaceae มีลักษณะเป็นไม้ล้มลุก ใบเดี่ยวเรียงสลับ เป็นรูปหัวใจ ในประเทศไทย มีใช้ใบช้าพลูเป็นอาหาร ในทางยาใบช้าพลูมีสรรพคุณทำให้เสมหะงวดและแห้ง แก้ธาตุพิการ บำรุงธาตุ แก้ปัสสาวะรดที่นอน แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ จุกเสียด (นันทวัน และอรนุช, 2539) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสกัดเมทานอลของใบช้าพลูมีผลยับยั้งการทำงานของประสาทร่วมกล้ามเนื้อ (neuromascular blocking) (Ridtitid *et al.*, 1998) สารสกัดคลอโรฟอร์ม และเมทานอล มีฤทธิ์ต้านเชื้อมาเลเรียต่อ *Plasmodium falciparum* และ *Plasmodium berghei* (Najib Nik *et al.*, 1999) และสารสกัดเอทานอลจากช้าพลูทั้งต้นมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุง (*Aedes aegypti*) ได้ เช่นเดียวกับพืชสกุล *Piper* อื่น ๆ (Morais *et al.*, 2007; Chaitong *et al.*, 2006) นอกจากนี้ นที และสุภาณี (2546) ได้นำน้ำมันระเหยง่ายจากช้าพลูไปทดสอบกับด้วงถั่วเขียว *C. maculatus* ซึ่งเป็นแมลงศัตรูในโรงเก็บ เพื่อประเมินพิษในลักษณะสัมผัสตายโดยวิธี residual film technique พบว่า น้ำมันระเหยง่ายจากช้าพลูมีฤทธิ์ฆ่าด้วงถั่วเขียวได้ โดยมีค่า median lethal concentration (LC_{50}) ที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 8,864 ppm

ดีปลี หรือ long pepper มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Piper retrofractum* Vahl. อยู่ในวงศ์ Piperaceae เช่นเดียวกับช้าพลู มีลักษณะเป็นไม้เถา รากฝอยออกบริเวณข้อเพื่อใช้ยึดเกาะ ใบเดี่ยวรูปไข่ โคนมน ปลายแหลม กว้าง 3-5 ซม. ยาว 7-10 ซม. สีเขียวเข้มเป็นมัน ดอก ช่อ ออกที่ซอกใบ ดอกย่อยอัดกันแน่น แยกเพศ ผล เป็นผลสด มีสีเขียว เมื่อสุกจะเปลี่ยนเป็นสีแดง รสเผ็ดร้อน ผลดีปลี

ประกอบด้วยสาร methyl piperate, guineensine, pipercide, piperine (Banerji et al., 2002) Chansang และคณะ (2005) ได้พบว่าสารสกัดน้ำของผลดีปลีสุกสามารถฆ่าลูกน้ำยุง *Culex quinquefasciatus* Say และ *Aedes aegypt* (L.) แต่อย่างไรก็ตามฤทธิ์ดังกล่าวจะสูญเสียไปเมื่อนำสารสกัดดังกล่าวผสมน้ำในความเข้มข้นร้อยละ 1 และเก็บไว้นาน 6 วัน ที่อุณหภูมิ 4° C และสูญเสียมากขึ้นเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 25 °C นอกจากนี้ Dadang และคณะ (2009) ยังพบว่าการใช้สารสกัดเมทานอลของช่อดอกดีปลีที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 สามารถฆ่าหนอนผักกาด *Crocidolomia pavonana* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae) และหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) ได้ประสิทธิภาพดีมากกว่าสารสังเคราะห์ deltamethrin

จากที่กล่าวข้างต้นสารสกัดใบช้าพลู และสารสกัดดีปลีน่าจะมีประสิทธิภาพในการป้องกัน และควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีความประสงค์จะทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมศัตรูพืชของสารสกัดใบช้าพลู และสารสกัดดีปลี นอกจากนี้ผู้วิจัยยังมีความมุ่งหวังที่จะพัฒนาผลิตภัณฑ์ในการป้องกัน และกำจัดแมลงศัตรูพืชจากสารสกัดดังกล่าว เพื่อให้เป็นผลิตภัณฑ์พร้อมใช้ที่มีความคงตัวโดยมุ่งหวังว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จะทดแทนการใช้สารเคมีในการป้องกัน และกำจัดแมลงศัตรูพืชอันก่อให้เกิดปัญหาสารตกค้างในผลผลิตการเกษตร

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

2.1 เตรียมสารสกัดช้าพลู และดีปลี และพัฒนาวิธีการควบคุมคุณภาพสารสกัด

2.2 ทดสอบประสิทธิภาพของสารช้าพลู และดีปลีในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

2.3 พัฒนาผลิตภัณฑ์ไมโครอิมัลชันของสารสกัดช้าพลูและดีปลีที่มีความคงตัว และมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช