

บทที่ 3
ผลการทดลอง

1). ลักษณะทางกายภาพ และร้อยละของผลผลิตของสารสกัดใบข้าพหลู และสารสกัดดีปลี

สารสกัดใบข้าพหลูและดีปลีที่ได้มีลักษณะขุ่นเหนียว สีเขียวเข้มอมน้ำตาล และแดงเข้มตามลำดับ (รูปที่ 3-1) ร้อยละของผลผลิตของสารสกัดใบข้าพหลู และดีปลีที่ได้ เทียบกับน้ำหนักพืชแห้งเท่ากับ 11.35 และ 10 ตามลำดับ (ตารางที่ 3-1)



รูปที่ 3-1 ลักษณะสารสกัดใบข้าพหลู (ซ้าย) และดีปลี (ขวา)

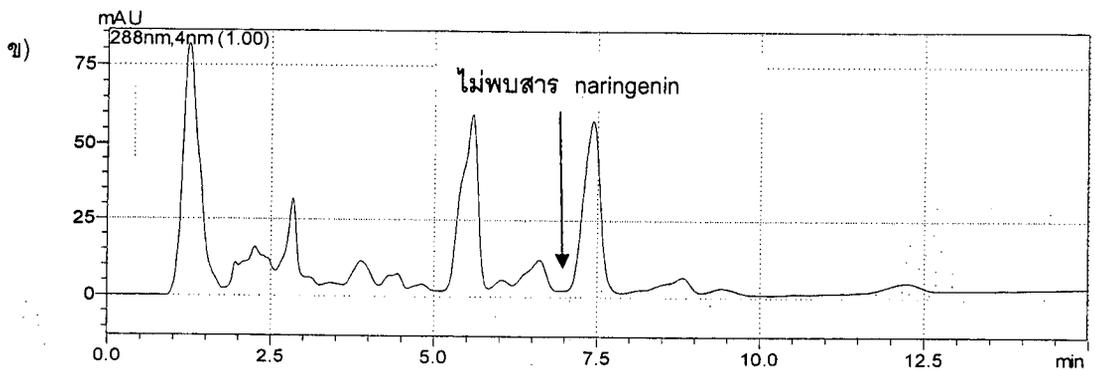
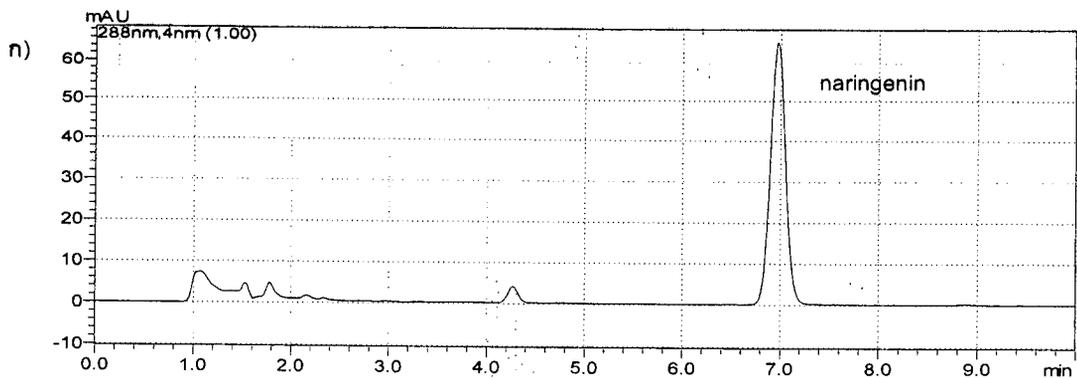
ตารางที่ 3-1 ร้อยละของผลผลิต (% yield) ของสารสกัดใบข้าพหลู และสารสกัดดีปลี

สารสกัด	น้ำหนักพืชแห้ง(kg)	น้ำหนักสารสกัด(kg)	ร้อยละของผลผลิต
สารสกัดใบข้าพหลู	4.8	0.545	11.35
สารสกัดดีปลี	20.0	1.998	10.00

2). การควบคุมคุณภาพสารสกัดใบชาพลูและตีปลิโดยวิธีการโครมาโทกราฟฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง

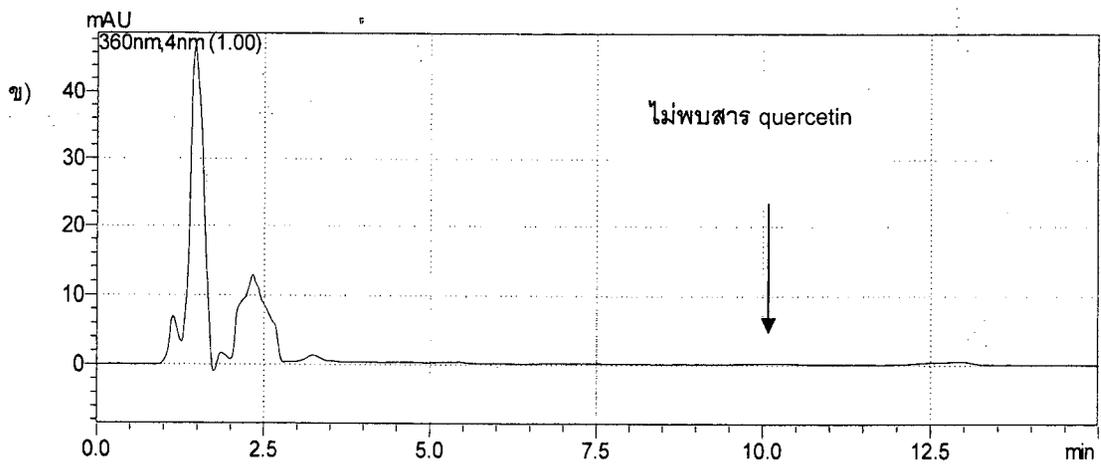
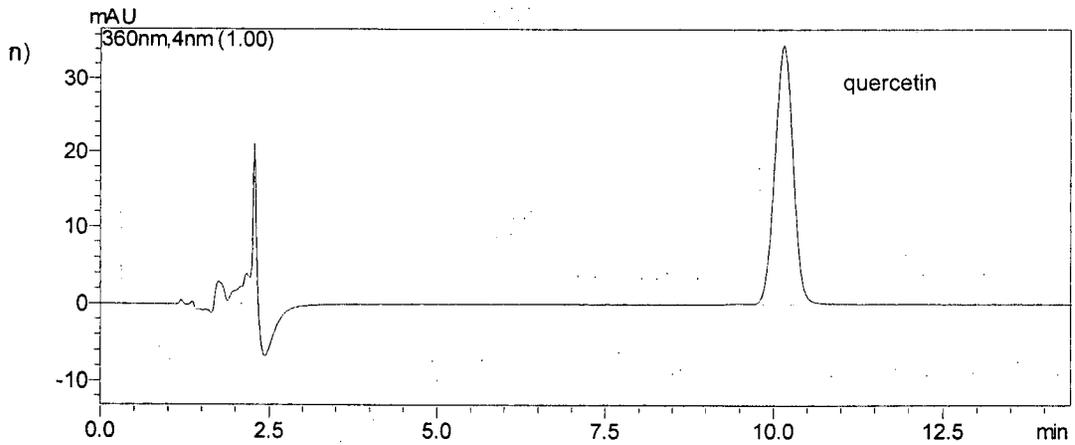
2.1) สารสกัดใบชาพลู

naringenin เป็นสาร polyphenol กลุ่ม flavonoids ตัวหนึ่งที่พบได้ในชาพลู ผู้วิจัยจึงใช้ naringenin เป็นตัวแทนของสารเคมี (Chemical marker) ที่มีในสารสกัดใบชาพลู เพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพชาพลู โดยใช้ HPLC จากผลการวิเคราะห์ naringenin ปรากฏว่าพบ naringenin ที่ retention time ประมาณ 7 นาที ดังตัวอย่างในรูปภาพที่ 3-2.ก) แต่ไม่พบสาร naringenin สารสกัดใบชาพลู ที่ retention time ดังกล่าว ดังตัวอย่างในรูปภาพที่ 3-2 ข)



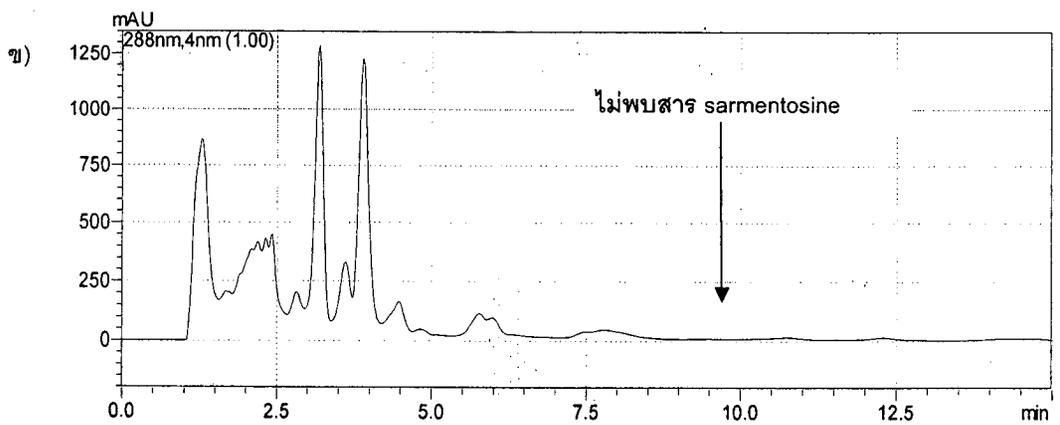
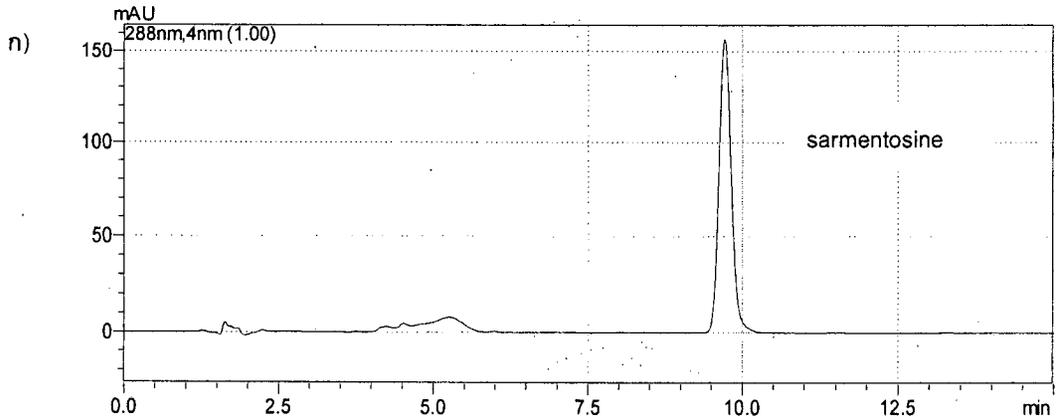
รูปที่ 3-2 ก) HPLC chromatogram ของสาร naringenin เข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ ข) สารสกัดใบชาพลูเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากนั้นผู้วิจัยจึงใช้สาร flavonoid ตัวอื่น คือ quercetin โดยพบสาร quercetin ที่ retention time ประมาณ 10 นาที ดังตัวอย่างในรูปภาพที่ 3-3 ก) แต่ในสารสกัดใบชาพลูไม่พบสาร quercetin ตรง retention time ดังกล่าว ดังตัวอย่างในรูปภาพที่ 3-3 ข)



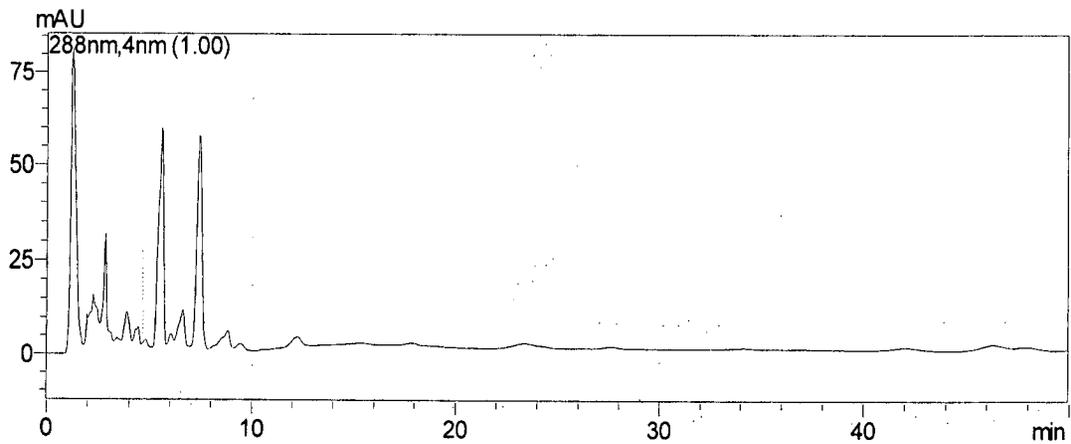
รูปที่ 3-3 ก) HPLC chromatogram ของสาร quercetin เข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ ข) สารสกัดใบชาพลูเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หลังจากที่ไม่พบสาร flavonoid ในชาพลูผู้วิจัยจึงเปลี่ยนไปหาสารสำคัญในกลุ่ม alkaloid โดยใช้ sarmentosine เป็นตัวแทนของสารเคมี โดยพบ sarmentosine ที่ retention time ประมาณ 9.7 นาที ดังตัวอย่างในรูปภาพที่ 3-4 ก) แต่ในสารสกัดใบชาพลูไม่พบ sarmentosine ที่ retention time ดังกล่าว ดังตัวอย่างในรูปภาพที่ 3-4 ข)



รูปที่ 3-4 ก) HPLC chromatogram ของสาร sarmentosine เข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ
ข) สารสกัดใบข้าพลูเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

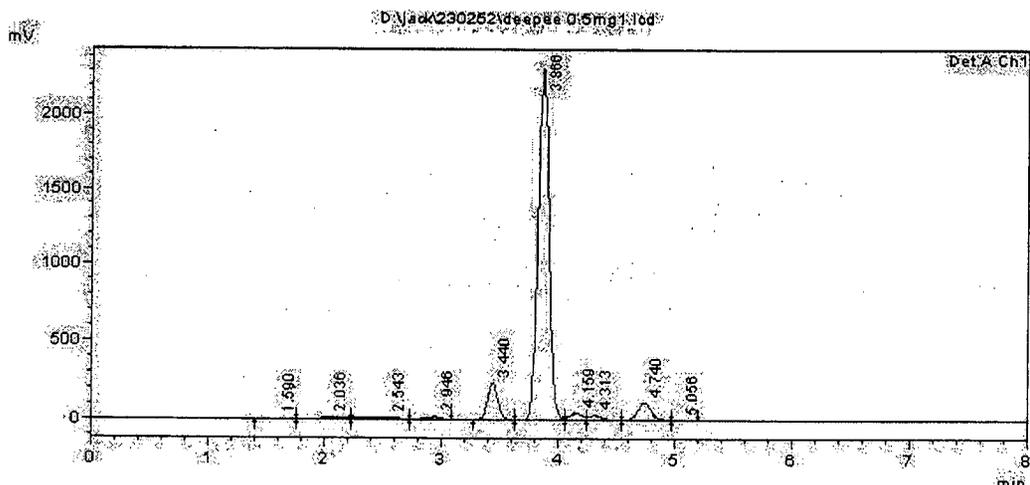
แม้การศึกษาครั้งนี้จะไม่สามารถหาตัวแทนของสารเคมีที่อยู่ในข้าพลูได้ แต่ HPLC chromatogram ที่ได้ ยังมีประโยชน์ในการใช้เป็น fingerprint ของข้าพลู และยังสามารถควบคุมคุณภาพของสารสกัดใบข้าพลูได้อีกวิธีหนึ่งด้วย ดังตัวอย่างในรูปที่ 3-5



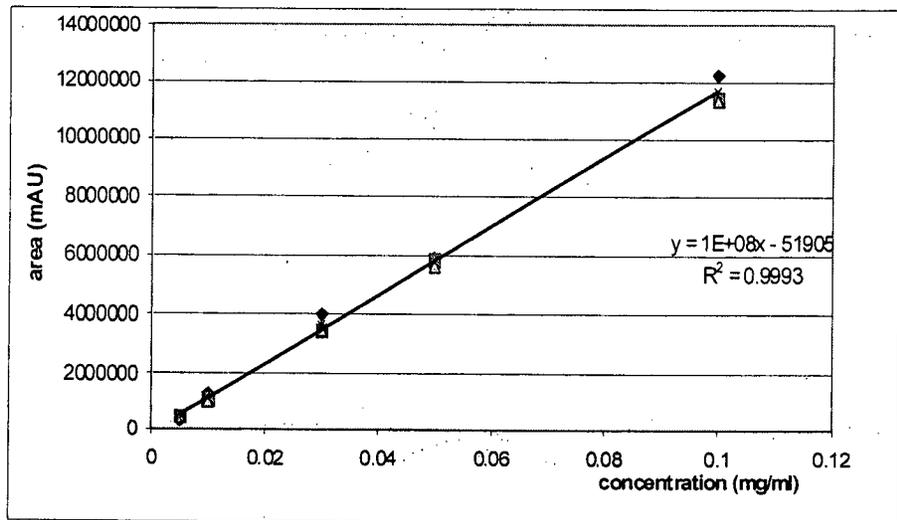
รูปที่ 3-5 HPLC fingerprint ของสารสกัดใบชาพลูเข้มชั้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2) สารสกัดดีป्ली

การควบคุมคุณภาพดีป्ली ทำโดยใช้การวิเคราะห์ piperine โดย HPLC พบพีคของ piperine ที่ 3.8 นาที (รูปที่ 3-6) Calibration curve ในรูปที่ 3-7 ได้เส้นตรงในช่วง 0.005 - 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ($r^2 = 0.9993$) สมการเส้นตรงคือ $y = 1E+08x - 51905$ ได้ปริมาณ piperine ในสารสกัดดีป्ली เท่ากับร้อยละ 19.68 โดยน้ำหนัก



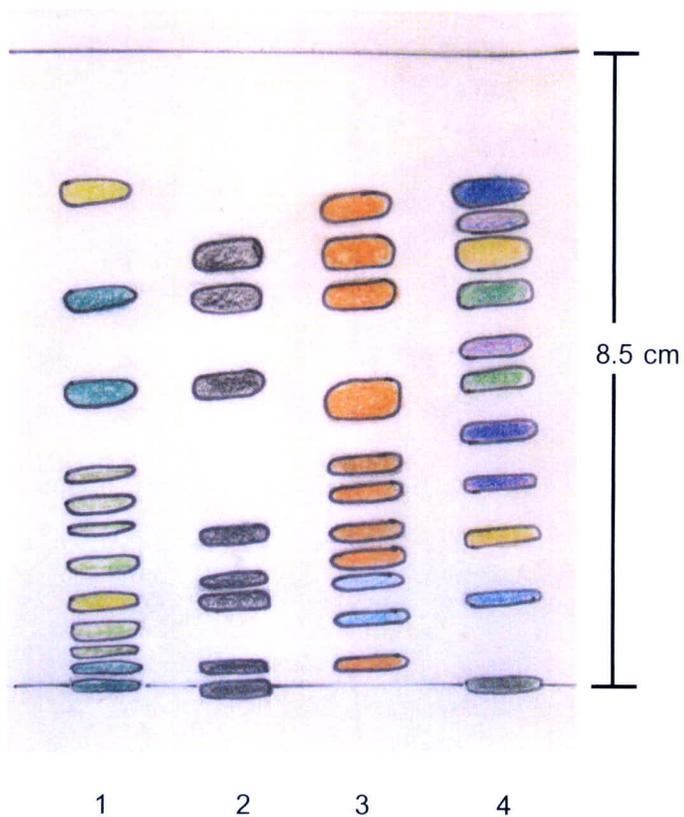
รูปที่ 3-6 โครมาโทแกรมของสารสกัดดีป्लीพบพีคของไพเพอรินเกิดขึ้นที่ 3.8 นาที



รูปที่ 3-7 กราฟความเข้มข้นมาตรฐาน (Calibration curve) ของไพเพอริน

3). การควบคุมคุณภาพสารสกัดใบชาพลูโดยวิธีการรงค์เลขฉิวบาง (Thin-layer chromatography)

จากการศึกษา โดยวิธีการรงค์เลขฉิวบาง (Thin-layer chromatography) คณะผู้วิจัยได้พัฒนาวิธีการแยกสารต่างๆได้ 2 ระบบ คือระบบที่ใช้คลอโรฟอร์ม โดย TLC fingerprint ของสารสกัดใบชาพลู แสดงในรูปที่ 3-8 องค์ประกอบและวิธีการตรวจวัด แสดงตัวอย่างตารางที่ 3-2 ส่วนระบบที่ 2 ได้ใช้ Hexane และ ethylacetate สัดส่วน 80 ต่อ 20 เป็นตัวนำพาสาร โดย TLC fingerprint ของสารสกัดใบชาพลูแสดงในรูปที่ 3-9 องค์ประกอบและวิธีการตรวจวัด แสดงตัวอย่างตารางที่ 3-3



1 = การตรวจวัดด้วยตาเปล่า

3 = การตรวจวัดด้วย UV 366 nm

2 = การตรวจวัดด้วย UV 254 nm

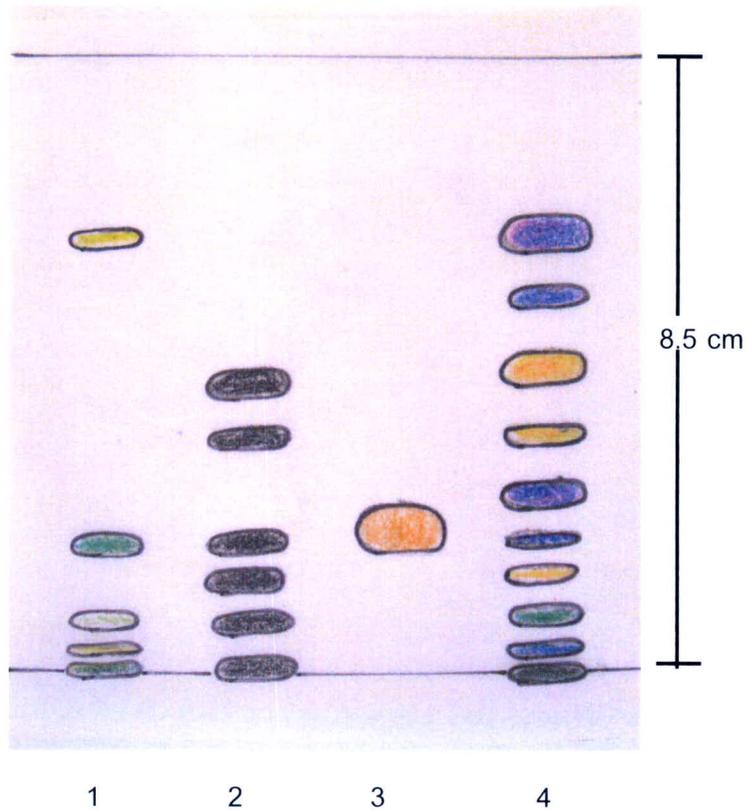
4 = การตรวจวัดด้วยการพ่น anisaldehyde TS

ส่วนการพ่นด้วย Dragendorff TS ไม่พบจุดสีส้มบนแผ่น TLC หมายถึงไม่พบสาร alkaloid ในสารสกัดใบข้าพญู

รูปที่ 3-8 Thin-layer chromatography ของสารสกัดใบข้าพญู เมื่อใช้ระบบสารละลายเป็นคลอโรฟอร์ม

ตารางที่ 3-2 แสดงองค์ประกอบต่างๆที่พบในใบชาพลูเมื่อใช้ระบบสารละลายเป็นคลอโรฟอร์ม

Spot	R _f value	มองด้วยตา เปล่า	UV 254 nm	UV 366nm	Anisaldehyde TS	Dragendorff TS
1	0.02	เขียวเข้ม	quenching	ฟ้า	-	-
2	0.06	เขียวอ่อน	-	-	-	-
3	0.09	เขียวอ่อน	-	-	-	-
4	0.11	-	-	ฟ้า	-	-
5	0.14	เหลืองอ่อน	quenching	-	ม่วง-น้ำเงิน	-
6	0.18	-	quenching	-	-	-
7	0.19	เขียวอ่อน	-	ส้ม	-	-
8	0.24	-	quenching	ส้ม	เหลืองเข้ม	-
9	0.25	เขียวอ่อน	-	-	-	-
10	0.29	เขียวอ่อน	-	ส้ม	ม่วง-ชมพู	-
11	0.34	เขียวอ่อน	-	ส้ม	-	-
12	0.40	-	-	-	ม่วง-ชมพู	-
13	0.45	-	-	ส้ม	-	-
14	0.47	เขียวเข้ม	quenching	-	เขียวเข้ม	-
15	0.53	-	-	-	ม่วง-ชมพู	-
16	0.62	เขียวเข้ม	quenching	ส้ม	เขียวเข้ม	-
17	0.68	-	quenching	ส้ม	เหลืองเข้ม	-
18	0.74	-	-	-	ม่วง-ชมพู	-
19	0.79	เขียวเข้ม	-	ส้ม	ม่วง-ชมพู	-



- | | |
|------------------------------|--|
| 1 = การตรวจวัดด้วยตาเปล่า | 3 = การตรวจวัดด้วย UV 366 nm |
| 2 = การตรวจวัดด้วย UV 254 nm | 4 = การตรวจวัดด้วยการพ่น anisaldehyde TS |

ส่วนการพ่นด้วย Dragendorff TS ไม่พบจุดสีส้มบนแผ่น TLC หมายถึงไม่พบสาร alkaloid ในสารสกัดใบข้าพญู

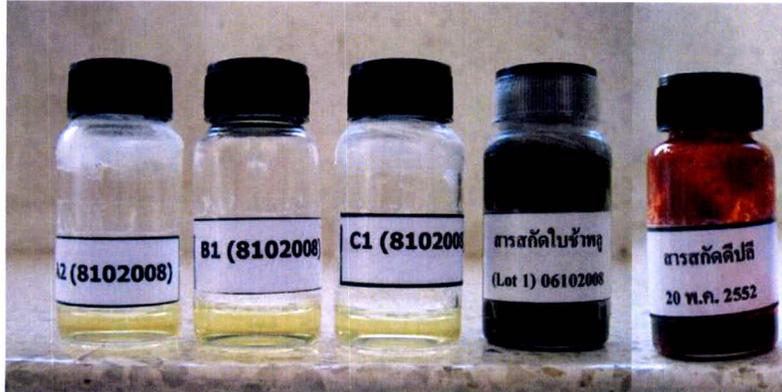
รูปที่ 3-9 Thin-layer chromatography ของสารสกัดใบข้าพญู เมื่อใช้ระบบสารละลาย
เฮกเซน : เอทิลอะซีเตต 80:20

ตารางที่ 3-3 แสดงองค์ประกอบต่างๆที่พบในใบชาพุด เมื่อใช้ระบบสารละลายเฮกเซน : เอทิลอะซีเตต 80:20

spot	R _f value	มองด้วย ตาเปล่า	UV 254 nm	UV 366nm	Anisaldehyde TS	Dragendorff TS
1	0.04	เหลือง	-	-	ม่วง-น้ำเงิน	-
2	0.08	เขียวอ่อน	quenching	-	เขียวเข้ม	-
3	0.15	-	quenching	-	เหลืองเข้ม	-
4	0.20	เขียวอ่อน	quenching	-	ม่วง-ชมพู	-
5	0.21	-	-	ส้ม	-	-
6	0.27	-	-	-	ม่วง-ชมพู	-
7	0.36	-	quenching	-	เหลืองเข้ม	-
8	0.48	-	quenching	-	เหลืองเข้ม	-
9	0.60	-	-	-	ม่วง-ชมพู	-
10	0.72	เหลือง	-	-	ม่วง-ชมพู	-

4). ประสิทธิภาพของสารสกัดใบชาพลู สารสกัดดีป्ली และไมโครอิมัลชันเปล่าต่อหนอนใยผัก และหนอนกระทู้ผัก

สารสกัดใบชาพลู สารสกัดดีป्ली และไมโครอิมัลชันเปล่า A, B, C (รูปที่ 3-10) เตรียมจาก ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ จังหวัดพิษณุโลก



รูปที่ 3-10 ไมโครอิมัลชันเปล่า A, B, C (3 ขวด ซ้าย) สารสกัดใบชาพลู และสารสกัดดีป्ली

4.1). ประสิทธิภาพของสารสกัดใบชาพลูต่อหนอนใยผัก

4.1.1). ทดสอบพิษทางการกิน (Oral Toxicity Test)

ในการทดสอบเบื้องต้น ได้แบ่งระดับความเข้มข้นของสารสกัดใบชาพลูออกเป็น 2 ระดับ คือร้อยละ 3 และ 5 โดยที่ระดับร้อยละ 5 ถือเป็นความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดจากพืชที่แนะนำให้ใช้ทดสอบกับแมลง จากนั้นนำใบค่น้ำไปจุ่มในสารสกัดใบชาพลูแต่ละความเข้มข้น และชูดควบคุม (check) ที่ใช้น้ำกลั่น ปล่อยให้สารแห้งแล้วจึงนำมาให้หนอนใยผักวัยที่ 3 กิน เป็นอาหาร พบว่า สารสกัดใบชาพลูทุกความเข้มข้นที่ใช้ ไม่มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนใย ผักเลย มีเพียงสารสกัดใบชาพลูร้อยละ 5 ที่เวลา 72 ชั่วโมง ที่มีการตายร้อยละ 3.33 (ตารางที่ 3-4)

ตารางที่ 3-4 ร้อยละของหนอนใยผักที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดใบชาพลู โดยวิธีจุ่มใบพืช

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนที่ตาย ภายได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)			
	12	24	48	72
สารสกัดใบชาพลูผสมน้ำที่ความเข้มข้น 3%	0.0	0.0	0.0	0.0 ^a
สารสกัดใบชาพลูผสมน้ำที่ความเข้มข้น 5%	0.0	0.0	0.0	3.33 ^a
ชุดควบคุม (Check)	0.0	0.0	0.0	0.0 ^a

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

4.1.2). ทดสอบพิษทางผิวหนัง (Dermal Toxicity Test)

เมื่อทดสอบสารสกัดใบชาพลูกับหนอนใยผักโดยการพ่นสารไปที่ตัวหนอนโดยตรง แล้วนำหนอนมาเลี้ยงด้วยใบคะน้าที่ไม่ได้จุ่มสาร พบว่า ให้ผลการทดสอบไม่ต่างไปจากการจุ่มใบคะน้าในสารแล้วให้หนอนกิน โดยมีการตายของหนอนเกิดขึ้นเล็กน้อยเท่านั้น (ตารางที่3-5) และร้อยละการตายของหนอนที่เกิดขึ้นอันเนื่องมาจากสารสกัดใบชาพลูที่ความเข้มข้นในน้ำร้อยละ 3 และ 5 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และไม่แตกต่างจากชุดควบคุมหรือกรรมวิธีเปรียบเทียบกับ

ตารางที่ 3-5 ร้อยละของหนอนใยผักที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดใบชาพลู โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนที่ตาย ภายได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)			
	12	24	48	72
สารสกัดใบชาพลูผสมน้ำที่ความเข้มข้น 3%	0.0	0.0	0.0 ^a	3.33 ^a
สารสกัดใบชาพลูผสมน้ำที่ความเข้มข้น 5%	0.0	0.0	3.33 ^a	6.67 ^a
ชุดควบคุม (Check)	0.0	0.0	0.0 ^a	0.0 ^a

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

4.2). ประสิทธิภาพของสารสกัดดีป्लीที่มีต่อหนอนไผ่

4.2.1). ทดสอบพิษทางการกิน (Oral Toxicity Test)

ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดดีป्ली ได้แบ่งระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากดีป्लीออกเป็น 2 ระดับ คือร้อยละ 3 และ 5 โดยที่ระดับร้อยละ 5 ถือเป็นความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดจากพืชที่แนะนำให้ใช้ทดสอบกับแมลง จากนั้นนำไปค่น้ำไปจุ่มในสารสกัดดีป्लीแต่ละความเข้มข้นและชุดควบคุม (check) ที่ใช้น้ำกลั่น ปล่อยให้สารสกัดแห้งแล้วจึงนำมาให้หนอนไผ่วัยที่ 3 กินเป็นอาหาร พบว่า สารสกัดจากดีป्लीที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 และ 5 มีประสิทธิภาพสูงในการฆ่าหนอนไผ่ โดยทำให้หนอนไผ่ตายร้อยละ 93.33 และ 100 ตามลำดับ ที่เวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 3 และ 5 มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนไผ่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 3-6)

ตารางที่ 3-6 ร้อยละของหนอนไผ่ที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากดีป्ली โดยวิธีจุ่มใบพืช

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)		
	24	48	72
สารสกัดดีป्लीผสมน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 3	93.33 ^a	93.33 ^a	93.33 ^a
สารสกัดดีป्लीผสมน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 5	100.00 ^a	100.00 ^a	100.00 ^a
ชุดควบคุม (Check)	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

4.2.2). ทดสอบพิษทางผิวหนัง (Dermal Toxicity Test)

เมื่อทดสอบสารสกัดจากดีป्लीกับหนอนไผ่โดยการพ่นสารสกัดไปที่ตัวหนอนโดยตรง แล้วนำหนอนดังกล่าวมาเลี้ยงด้วยใบค่น้ำที่ไม่ได้จุ่มสาร พบว่า สารสกัดจากดีป्लीที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 และ 5 มีผลทำให้หนอนไผ่ตายสูงถึงร้อยละ 100 ที่เวลา 24 ชั่วโมง แต่ในกรรมวิธีควบคุมพบร้อยละการตายของหนอนไผ่เล็กน้อย เพียงร้อยละ 3.33 (ตารางที่ 3-7) จากข้อมูลนี้ แสดงว่าสารสกัดดีป्लीมีประสิทธิภาพดีในการฆ่าหนอนไผ่

ตารางที่ 3-7 ร้อยละของหนอนใยฝักที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากดีปรี โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนใยที่ตาย ภายหลังจากได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)		
	24	48	72
สารสกัดดีปรีผสมน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 3	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a
สารสกัดดีปรีผสมน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 5	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a
ชุดควบคุม (Check)	3.33 ^b	3.33 ^b	3.33 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

4.3). ผลของไมโครอิมัลชันเปล่าต่อหนอนใยฝัก

4.3.1). ทดสอบพิษทางการกิน (Oral Toxicity Test)

เมื่อนำไมโครอิมัลชันเปล่าตัวอย่าง A, B และ C (ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ) ทดสอบกับหนอนใยฝัก โดยการจุ่มใบพืชในน้ำซึ่งมีไมโครอิมัลชันผสมอยู่ในความเข้มข้นร้อยละ 3 และ 5 แล้วนำไปให้หนอนกิน พบว่า ไมโครอิมัลชันที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 3 ทำให้หนอนใยฝักตายน้อยมาก มีการตายสูงสุดร้อยละ 6.67 ภายหลังจากได้รับสาร 72 ชั่วโมง (ตารางที่ 3-8) ขณะที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 มีการตายเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยมีการตายสูงสุดเพียงร้อยละ 10 (ตารางที่ 3-9) เมื่อเปรียบเทียบร้อยละการตายของหนอนที่ได้รับไมโครอิมัลชันดังกล่าว ความเข้มข้นร้อยละ 3 ที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมงภายหลังจากได้รับสาร พบว่า ร้อยละการตายของหนอนที่เกิดขึ้นในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 3-8) ส่วนไมโครอิมัลชันเปล่าที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 ไม่ทำให้การตายของหนอนในทุกกรรมวิธีที่เวลา 48 ชั่วโมง แตกต่างกัน แต่ที่ 72 ชั่วโมง มีร้อยละการตายของหนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยทั่วไป ไมโครอิมัลชันตัวอย่าง A และ B ให้ร้อยละการตายของหนอนสูงไม่แตกต่างกันมากนัก ขณะที่ไมโครอิมัลชันตัวอย่าง C มีร้อยละการตายของหนอนค่อนข้างต่ำ (ตารางที่ 3-9)

ตารางที่ 3-8 ร้อยละของหนอนใยผักที่ตายหลังจากได้รับไมโครอิมัลชันเปลาในน้ำที่ความเข้มข้น ร้อยละ 3 โดยวิธีจุ่มใบพืช

ตัวอย่าง ไมโครอิมัลชัน	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนใยที่ตาย ภายได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)			
	12	24	48	72
A (lot 1)	0.0	0.0	3.33 ^a	6.67 ^a
A (lot 2)	0.0	0.0	0.0 ^a	6.67 ^a
A (lot 3)	0.0	0.0	0.0 ^a	3.33 ^a
B (lot 1)	0.0	0.0	0.0 ^a	0.0 ^a
B (lot 2)	0.0	0.0	3.33 ^a	6.67 ^a
B (lot 3)	0.0	0.0	3.33 ^a	3.33 ^a
C (lot 1)	0.0	0.0	3.33 ^a	3.33 ^a
C (lot 2)	0.0	0.0	0.0 ^a	0.0 ^a
C (lot 3)	0.0	0.0	3.3 ^a	3.33 ^a
ชุดควบคุม (Check)	0.0	0.0	0.0 ^a	0.0 ^a

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

ตารางที่ 3-9 ร้อยละของหนอนใยผักที่ตายหลังจากได้รับไมโครอิมัลชันเปล่าในน้ำที่ความเข้มข้น ร้อยละ 5 โดยวิธีจุ่มใบพืช

ตัวอย่าง ไมโครอิมัลชัน	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนที่ตาย ภายได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)			
	12	24	48	72
A (lot 1)	0.0	0.0	3.33 ^a	6.67 ^{ab}
A (lot 2)	0.0	0.0	3.33 ^a	6.67 ^{ab}
A (lot 3)	0.0	0.0	0.0 ^a	3.33 ^{ab}
B (lot 1)	0.0	0.0	0.0 ^a	0.0 ^b
B (lot 2)	0.0	0.0	6.67 ^a	10.00 ^a
B (lot 3)	0.0	0.0	6.67 ^a	6.67 ^{ab}
C (lot 1)	0.0	0.0	3.33 ^a	3.33 ^{ab}
C (lot 2)	0.0	0.0	0.0 ^a	0.0 ^b
C (lot 3)	0.0	0.0	0.0 ^a	0.0 ^b
ชุดควบคุม (Check)	0.0	0.0	0.0 ^a	0.0 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

4.3.2). ทดสอบพิษทางผิวหนัง (Dermal Toxicity Test)

การทดสอบพิษทางผิวหนังของไมโครอิมัลชันเปล่าตัวอย่าง A, B และ C ที่ระดับความเข้มข้นในน้ำร้อยละ 3 และ 5 กับหนอนใยผักโดยการพ่นไปที่ตัวหนอน พบว่า ไมโครอิมัลชันทั้ง 3 ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพให้ร้อยละการตายของหนอนใยผักสูงกว่าเมื่อทดสอบด้วยวิธีการจุ่มใบพืช ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไมโครอิมัลชันที่พ่นไปที่ตัวหนอน ไปเคลือบหรืออุดรูหายใจ (spiracles) ของหนอนใยผัก ทำให้หนอนค่อย ๆ ตายลงอย่างช้า ๆ โดยที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 3 ไมโครอิมัลชัน ตัวอย่าง A3 และ B2 ให้ร้อยละการตายสูงสุดคือร้อยละ 20 ที่เวลา 72 ชั่วโมง โดยร้อยละการตายดังกล่าวไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับร้อยละการตายที่ได้รับจากไมโครอิมัลชันตัวอย่างอื่น ๆ (A1, A2, B1, B3, C1, C2 และ C3) (ตารางที่ 3-10)

ตารางที่ 3-10 ร้อยละของหนอนใยผักที่ตายหลังจากได้รับไมโครอิมัลชันเปล่าในน้ำที่ความเข้มข้น ร้อยละ 3 โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

ตัวอย่าง ไมโครอิมัลชัน	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนใยที่ตาย ภายได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)			
	12	24	48	72
A (lot 1)	0.0	0.0 ^a	10.00 ^a	16.67 ^a
A (lot 2)	0.0	0.0 ^a	6.67 ^a	13.33 ^{ab}
A (lot 3)	0.0	3.33 ^a	10.00 ^a	20.00 ^a
B (lot 1)	0.0	3.33 ^a	6.67 ^a	10.00 ^{ab}
B (lot 2)	0.0	0.0 ^a	6.67 ^a	20.00 ^a
B (lot 3)	0.0	3.33 ^a	10.00 ^a	16.67 ^a
C (lot 1)	0.0	0.0 ^a	3.33 ^a	6.67 ^{ab}
C (lot 2)	0.0	0.0 ^a	6.67 ^a	6.67 ^{ab}
C (lot 3)	0.0	0.0 ^a	0.0 ^a	6.67 ^{ab}
ชุดควบคุม (Check)	0.0	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสัปดาห์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

ตารางที่ 3-11 ร้อยละของหนอนใยผักที่ตายหลังจากได้รับไมโครอิมัลชันเปล่าในน้ำที่ความเข้มข้น ร้อยละ 5 โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

ไมโครอิมัลชัน	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนใยที่ตาย ภายได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)			
	12	24	48	72
A (lot 1)	0.0	0.0 ^b	13.33 ^{bc}	33.33 ^a
A (lot 2)	0.0	0.0 ^b	13.33 ^{bc}	30.00 ^a
A (lot 3)	0.0	0.0 ^b	16.67 ^{ab}	30.00 ^a
B (lot 1)	0.0	6.67 ^a	16.67 ^{ab}	23.33 ^{ab}
B (lot 2)	0.0	3.33 ^{ab}	16.67 ^{ab}	33.33 ^a
B (lot 3)	0.0	6.67 ^a	23.33 ^a	33.33 ^a
C (lot 1)	0.0	0.0 ^b	0.0 ^d	6.67 ^c
C (lot 2)	0.0	0.0 ^b	3.33 ^d	10.00 ^{bc}
C (lot 3)	0.0	0.0 ^b	6.67 ^{cd}	13.33 ^{bc}
ชุดควบคุม (Check)	0.0	0.0 ^b	3.33 ^d	3.33 ^c

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

สำหรับไมโครอิมัลชันเปล่าที่ระดับความเข้มข้นในน้ำร้อยละ 5 ให้ผลการตายของหนอนใยผักเพิ่มมากขึ้น โดยมีการตายเกิดขึ้นสูงสุดร้อยละ 33.33 ที่เวลา 72 ชั่วโมงภายหลังจากได้รับสาร โดยที่ไมโครอิมัลชันเปล่าตัวอย่าง A และ B มีร้อยละการตายสูงสุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนไมโครอิมัลชันเปล่าตัวอย่าง C ให้ร้อยละการตายต่ำสุดและไม่ต่างไปจากชุดควบคุม (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 3-11)

4.4). ประสิทธิภาพของสารสกัดใบชาพลูต่อหนอนกระทู้ผัก

สารสกัดใบชาพลูเมื่อทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนกระทู้ผักโดยวิธีทดสอบพิษทางการกิน (oral toxicity test) ด้วยการจุ่มใบค่น้ำในสารสกัดแล้วนำมาให้หนอนกิน และทดสอบพิษทางผิวหนัง (dermal toxicity test) ด้วยการพ่นสารไปที่ตัวหนอน พบว่า สารสกัดใบชาพลูในทุกระดับความเข้มข้นที่ใช้คือร้อยละ 3 และ 5 ทั้งสองวิธีการที่ใช้ทดสอบ ไม่สามารถทำให้หนอนกระทู้ผักตายได้เลย

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดใบชาพลูกับหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก พบว่า สารสกัดใบชาพลูไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนทั้งสองชนิดแต่อย่างใด แม้ว่าจะมีรายงานว่า สารสกัดเอทานอลจากชาพลูทั้งต้นมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุง (*Aedes aegypti*) ได้ เช่นเดียวกับพืชสกุล *Piper* อื่น ๆ (Morais *et al.*, 2007; Chaitong *et al.*, 2006) รวมถึงน้ำมันระเหยง่ายจากชาพลูมีฤทธิ์ฆ่าด้วงถั่วเขียว (*Callisobrochus maculatus*) ได้ ในลักษณะสัมผัสตายโดยวิธี residual film technique (นที และสุภาณี, 2546)

4.5). ประสิทธิภาพของสารสกัดดีปลีต่อหนอนกระทู้ผัก

4.5.1). ทดสอบพิษทางการกิน (Oral Toxicity Test)

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดดีปลีกับหนอนกระทู้ผักโดยวิธีทดสอบพิษทางการกิน (oral toxicity test) ด้วยการจุ่มใบค่น้ำในสารสกัดที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 และ 5 แล้วนำมาให้หนอนกิน พบว่า สารสกัดดีปลีทั้งสองความเข้มข้นไม่มีผลทำให้หนอนกระทู้ผักตายแต่อย่างใด หนอนกระทู้ผักที่ไม่ตายก็ยังคงกินใบค่น้ำที่เคลือบด้วยสารสกัดดีปลีไปตามปกติ

4.5.2). ทดสอบพิษทางผิวหนัง (Dermal toxicity test)

สำหรับการทดสอบพิษทางผิวหนัง ด้วยการพ่นสารสกัดไปที่ตัวหนอนกระทู้ผัก พบว่า สารสกัดจากดีปลีที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 ทำให้หนอนกระทู้ผักตายได้เพียงเล็กน้อย โดยมีการตายเกิดขึ้นเพียงร้อยละ 3.33 (ตารางที่ 3-12)

ตารางที่ 3-12 ร้อยละของหนอนกระทู้ผักที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดดีปรี โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนที่ตาย ภายหลังจากได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)		
	24	48	72
สารสกัดดีปรีผสมน้ำที่ ความเข้มข้นร้อยละ 3	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a
สารสกัดดีปรีผสมน้ำที่ ความเข้มข้นร้อยละ 5	3.33 ^a	3.33 ^a	3.33 ^a
ชุดควบคุม (Check)	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

4.6). ผลของไมโครอิมัลชันเปล่าต่อหนอนกระทู้ผัก

เมื่อนำไมโครอิมัลชันเปล่าทั้ง 3 ตัวอย่าง คือ A, B และ C มาทดสอบกับหนอนกระทู้ผักโดยวิธีการจุ่มใบพืชและพ่นไปที่ตัวหนอนโดยตรง ไมโครอิมัลชันทั้ง 3 ชุดไม่มีผลทำให้หนอนกระทู้ผักตายเลย ซึ่งแตกต่างจากการทดสอบกับหนอนใยผักที่ให้ผลการตายเกิดขึ้นในช่วงร้อยละ 3.33 - 33.33 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากหนอนกระทู้ผักมีขนาดใหญ่กว่าหนอนใยผักมาก สามารถทนทานต่อไมโครอิมัลชันเปล่าดังกล่าวได้ และจากผลการทดสอบแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า ไมโครอิมัลชันเปล่าตัวอย่าง C มีพิษต่อหนอนใยผักน้อยกว่าไมโครอิมัลชันเปล่าตัวอย่าง A และ B จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ผสมกับสารสกัดจากพืชเพื่อพัฒนาเป็นสารสกัดตำรับไมโครอิมัลชันต่อไป

5). การเตรียมตำรับ

สารสกัดใบชาพลู และสารสกัดดีป्लीที่ได้จากการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ เมื่อนำไปผสมน้ำจะไม่สามารถละลายได้ในน้ำ โดยเฉพาะสารสกัดดีป्लीผสมน้ำจะพบว่าสารยางเหนียวติดรอบๆภาชนะ (รูปที่ 3-11) ดังนั้นการนำสารสกัดไปใช้โดยการผสมน้ำแล้วพ่นจึงไม่สามารถทำได้ การศึกษานี้จึงนำสารสกัดมาเตรียมในรูปแบบไมโครอิมัลชัน



รูปที่ 3-11 สารสกัดดีป्लीเมื่อนำไปละลายในน้ำ

จากการศึกษาก่อนหน้านี้ พบว่า ไมโครอิมัลชันเปล่าตัวอย่าง C มีพิษต่อหนอนน้อยกว่าไมโครอิมัลชันเปล่าตัวอย่าง A และ B ดังนั้นในการศึกษาต่อจากนี้จึงเลือกเฉพาะไมโครอิมัลชันเปล่าตัวอย่าง C มาผสมกับสารสกัดจากพืช

ตำรับไมโครอิมัลชัน ตัวอย่าง C

Caprylic/capric triglyceride	32.5	g
Tween 80 + Span 80; สัดส่วน 62.6+37.4	60.0	g
Distilled water	7.5	g

5.1) หาความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดที่สามารถละลายได้และมีความคงตัวในไมโครอิมัลชัน

จากการศึกษาพบว่าตัวอย่างไมโครอิมัลชันเปล่าตัวอย่าง C สามารถละลายสารสกัดใบข้าพญูได้สูงถึงร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก และสามารถละลายสารสกัดดีปาลีได้ความเข้มข้นสูงสุดที่ร้อยละ 10 ของตำรับ เมื่อผสมสารสกัดดีปาลีในไมโครอิมัลชัน เพิ่มขึ้นถึงความเข้มข้นที่ร้อยละ 15 ของตำรับ พบว่าสารสกัดไม่สามารถละลายได้หมด (รูปที่ 3-12) แต่ในการศึกษานี้ได้เลือกตัวอย่างไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดดีปาลีที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 ไปทำการศึกษาต่อไป เนื่องจากการละลายสามารถทำได้ง่ายกว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 10



รูปที่ 3-12 ภาพแสดงตำรับไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดดีปาลีที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 5, 10 และ 15 ของตำรับ

5.2) การประเมินไมโครอิมัลชัน

5.2.1). ขนาดอนุภาคของวัตภาคภายในของไมโครอิมัลชัน

เนื่องจากไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดใบชาพลู และสารสกัดดีปัสลี มีสีเขียวอมน้ำตาล และสีแดงเข้มตามลำดับ ซึ่งรบกวนการกระเจิงแสง จึงไม่สามารถวัดขนาดวัตภาคภายในของไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดใบชาพลู และสารสกัดดีปัสลีได้ จึงทำการวัดขนาดวัตภาคภายในของไมโครอิมัลชันเปล่า (ที่ไม่ได้ผสมสารสกัด) เท่านั้น ผลการศึกษาพบว่าขนาดวัตภาคภายในของไมโครอิมัลชันของไมโครอิมัลชัน C อยู่ในช่วงไม่เกิน 10 นาโนเมตร (ตารางที่ 3-13)

ตารางที่ 3-13 ขนาดอนุภาคและการกระจายขนาดของไมโครอิมัลชันเปล่าตัวอย่าง C

ตัวอย่างไมโครอิมัลชัน	ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร)	การกระจายขนาดอนุภาค (PI)
ตัวอย่าง C	3.07 ± 0.51	0.38 ± 0.03

5.2.2). ความหนืดโดยเครื่องวัดความหนืด Brookfield รุ่น DV-III, spindles CP40

ผลการศึกษาพบว่าความหนืดของไมโครอิมัลชันเพิ่มขึ้นเมื่อผสมสารสกัดใบชาพลู (ตาราง 3-14) ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดใบชาพลูมีลักษณะเป็นเพสต์ที่เหนียวข้น ส่วนไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดดีปัสลีเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย เนื่องจากสารสกัดที่ผสมในตำรับมีปริมาณน้อยกว่าของสารสกัดใบชาพลู

ตารางที่ 3-14 ความหนืดของไมโครอิมัลชันเปล่า ไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดใบชาพลูที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก และไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดดีปัสลีที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก

ตัวอย่าง	ความหนืด (เซ็นติพอยต์)	
	ไมโครอิมัลชันเปล่า	ไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัด
ไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดใบชาพลูร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก	$332.07 + 10.54^*$	422.8 ± 15.49
ไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดดีปัสลีร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก	$315.79 \pm 5.20^*$	317.71 ± 5.88

หมายเหตุ * ความหนืดมีความแตกต่างเพราะเตรียมจากสารคนละรุ่นการผลิต

5.2.3). จุดขุ่น (Cloud point)

ค่า Cloud point สามารถใช้บอกถึงความคงสภาพของไมโครอิมัลชันในช่วงอุณหภูมิที่ศึกษาได้ หากไมโครอิมัลชันที่เตรียมขึ้นไม่คงตัว จะสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงจากใสเป็นขุ่น ผลการศึกษาพบว่าไมโครอิมัลชันเปล่า ไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดใบชาพลู และไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดดีป्ली ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในช่วงอุณหภูมิที่ทดสอบ (5-90 องศาเซลเซียส) (ตาราง 3-15)

ตารางที่ 3-15 จุดขุ่นของไมโครอิมัลชันเปล่า ไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดใบชาพลูที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก และไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดดีป्लीที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก

ตัวอย่าง	จุดขุ่น (องศาเซลเซียส)	
	ไมโครอิมัลชันเปล่า	ไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัด
ไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดใบชาพลูร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก	> 90 °C	> 90 °C
ไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดดีป्लीร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก	> 90 °C	> 90 °C

6). การศึกษาความคงตัวทางกายภาพของตำรับโดยสภาวะอุณหภูมิสลับ (Freeze-thaw test)

การทดสอบความคงตัวทางกายภาพเบื้องต้นโดยสภาวะอุณหภูมิสลับ (Freeze-thaw test) ของไมโครอิมัลชัน ตัวอย่าง A, B และ C ที่ผสมสารสกัดใบชาพลูที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก เปรียบเทียบกับอุณหภูมิห้อง ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 3-16

ตารางที่ 3-16 ความคงตัวของกายภาพของไมโครอิมัลชันเปล้า ไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดใบชาพลู ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก และไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดตีป्लीที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิห้องเปรียบเทียบกับที่ผ่านการทดสอบโดยสภาวะอุณหภูมิสลับ

ตัวอย่าง	ลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างหลังการเก็บที่	
	อุณหภูมิห้อง	สภาวะอุณหภูมิสลับ
ไมโครอิมัลชันผสมสารสกัด ใบชาพลูร้อยละ 15 โดย น้ำหนัก	สารมีลักษณะสีเขียวเข้ม ไม่ แยกชั้น ไม่ตกตะกอน	สารมีลักษณะสีเขียวเข้ม ไม่ แยกชั้น ไม่ตกตะกอน
ไมโครอิมัลชันผสมสารสกัด ตีป्लीร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก	สารมีลักษณะสีแดงเข้ม ไม่ แยกชั้น ไม่ตกตะกอน	สารมีลักษณะสีแดงเข้ม ไม่ แยกชั้น ไม่ตกตะกอน

7). ประสิทธิภาพของตำรับไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดต่อหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก (Efficacy of microemulsions containing plant extract on Diamondback Moth and Common Cutworm)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดใบชาพลูกับหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก พบว่า สารสกัดใบชาพลูไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนทั้งสองชนิดแต่อย่างใด ดังนั้นในขั้นการทดสอบ ประสิทธิภาพของตำรับไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดนี้ จึงทดสอบกับตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัด ตีป्लीเท่านั้น

ดังที่กล่าวแล้วในวิธีการทดลอง การศึกษาครั้งนี้ได้นำตำรับไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดตีป्ली ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (รูปที่ 3-13) ซึ่งเตรียมจากภาควิชาเทคโนโลยีเกษตรกรรม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ จังหวัดพิษณุโลก มาผสมน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0 และ 2.0 หรือ เทียบเป็นปริมาณสารสกัดตีป्लीในน้ำ เท่ากับ ร้อยละ 0.025, 0.05 และ 0.1 ตามลำดับ และจากการ วิเคราะห์หาปริมาณไพเพอรินในสารสกัด (จากข้อ 2.2) พบว่ามีปริมาณร้อยละ 19.68 โดยน้ำหนัก ดังนั้น เทียบเป็นปริมาณไพเพอรินในน้ำ เท่ากับ 0.005, 0.01 และ 0.02 ตามลำดับ



รูปที่ 3-13 ไมโครอิมัลชันซึ่งผสมสารสกัดดีปรีปริมาณร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก

7.1). ประสิทธิภาพของตำรับไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดดีปรีต่อหนอนใยผัก

7.1.1). ทดสอบพิษทางการกิน (Oral Toxicity Test)

นำไมโครอิมัลชันซึ่งผสมสารสกัดดีปรีปริมาณร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก จำนวน 2 ชุด คือ n1 และ n2 มาผสมน้ำที่ระดับความเข้มข้นของไมโครอิมัลชันในน้ำร้อยละ 0.5, 1.0, และ 2.0 (เทียบเป็นปริมาณสารสกัดดีปรีในน้ำ เท่ากับ ร้อยละ 0.025, 0.05 และ 0.1 ตามลำดับ) ก่อนนำมาทดสอบกับหนอนใยผัก โดยการจุ่มในพืชในน้ำที่ละลายไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปรีแล้วนำไปให้หนอนกิน พบว่า ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปรีทั้ง 3 ชุด (n1, n2 และ n3) ที่ผสมน้ำทุกระดับความเข้มข้น มีการตายของหนอนใยผักสูงมากถึงร้อยละ 100 ที่เวลา 24 ชั่วโมง และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 3-17 ถึง 3-19) จากการสังเกตพบว่า ไบโคะน้ำที่ผ่านการจุ่มสารละลายของสารทดสอบแล้วผึ้งให้แห้งมีลักษณะเป็นมันวาวเหนียว ทำให้หนอนใยผักวัยที่ 3 ที่เขี่ยลงบนไบโคะน้ำไม่สามารถเคลื่อนที่ได้อย่างสะดวก และหนอนใยผักไม่กินไบโคะน้ำเป็นอาหารเลย ซึ่งการตายของหนอนที่เกิดขึ้นทั้งหมดนั้นอาจเนื่องมาจากหนอนไม่กินอาหารและอดอาหารตายในที่สุด ซึ่งพบร่องรอยการกัดกินไบโคะน้ำน้อยมาก และในบางกรรมวิธีไม่พบร่องรอยการกัดกินของหนอนใยผักเลย

ตารางที่ 3-17 ร้อยละของหนอนโยนผักที่ตายหลังจากได้รับไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดี n1 โดยวิธีจุ่มใบพืช

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนที่ตาย ภายหลังจากได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)		
	24	48	72
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a
ชุดควบคุม (Check)	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

ตารางที่ 3-18 ร้อยละของหนอนโยนผักที่ตายหลังจากได้รับไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดี n2 โดยวิธีจุ่มใบพืช

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนที่ตาย ภายหลังจากได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)		
	24	48	72
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a
ชุดควบคุม (Check)	0.00 ^b	3.33 ^b	6.67 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

ตารางที่ 3-19 ร้อยละของหนอนใยฝักที่ตายหลังจากได้รับไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्ली n3 โดยวิธีจุ่มใบพืช

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนใยฝักที่ตาย ภายหลังจากได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)		
	24	48	72
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्लीผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्लीผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्लीผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0	100.0 ^a	100.0 ^a	100.0 ^a
ชุดควบคุม (Check)	6.67 ^b	10.00 ^b	10.00 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

7.1.2) ทดสอบพิษทางผิวหนัง (Dermal Toxicity Test)

การทดสอบพิษทางผิวหนังของตำรับไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्ली n1, n2 และ n3 เมื่อผสมน้ำที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0 และ 2.0 กับหนอนใยฝักโดยการพ่นไปที่ตัวหนอนพบว่า ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्लीทั้ง 3 ชุด ที่ผสมน้ำทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นให้ร้อยละการตายของหนอนใยฝักไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्ली n1 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 มีการตายสูงสุดถึงร้อยละ 100 ที่เวลา 72 ชั่วโมง (ตารางที่ 3-20) และไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्ली n2 ที่ผสมน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 2.0 มีการตายสูงสุดถึงร้อยละ 93.33 ที่เวลา 24 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ (ตารางที่ 3-21) ส่วนไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्ली n3 มีการตายอยู่ในช่วงร้อยละ 86.67-93.33 ที่เวลา 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 3-22) การพ่นไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्लीทั้ง n1, n2 และ n3 กับหนอนใยฝัก พบการตายของหนอนสูงมากเมื่อตรวจผลครั้งที่ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นบางกรรมวิธีไม่มีการตายของหนอนเพิ่มขึ้นอีกเลย บางกรรมวิธีมีการตายเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น แสดงให้เห็นว่า ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्लीมีศักยภาพในการฆ่าหนอนได้ แต่การตายของหนอนที่เกิดขึ้นอาจเนื่องมาจากคุณสมบัติของสารสกัดดีป्लीที่มีอยู่ในรูปของไมโครอิมัลชัน โดยการตายของหนอนอาจเกิดจากอิมัลชันที่มีลักษณะเป็นน้ำมัน ซึ่งอาจจะไปเคลือบตามลำตัวหนอนและอุดรูหายใจที่อยู่ด้านข้างลำตัว ทำให้หนอนตายในที่สุด

ตารางที่ 3-20 ร้อยละของหนอนใยฝักที่ตาย หลังจากได้รับตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดดีปดี n1 โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนที่ตาย ภายหลังจากได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)		
	24	48	72
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5	86.67 ^a	86.67 ^a	86.67 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0	96.67 ^a	96.67 ^a	100.00 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0	93.33 ^a	96.67 ^a	96.67 ^a
ชุดควบคุม (Check)	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

ตารางที่ 3-21 ร้อยละของหนอนใยฝักที่ตาย หลังจากได้รับตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดดีปดี n2 โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนที่ตาย ภายหลังจากได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)		
	24	48	72
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5	80.00 ^a	80.00 ^a	80.00 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0	90.00 ^a	93.33 ^a	93.33 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0	90.00 ^a	90.00 ^a	93.33 ^a
ชุดควบคุม (Check)	3.33 ^b	6.67 ^b	6.67 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

ตารางที่ 3-22 ร้อยละของหนอนใยฝักที่ตาย หลังจากได้รับตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดดีป्ली n3 โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนใยที่ตาย ภายหลังจากได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)		
	24	48	72
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्लीผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5	86.67 ^a	93.33 ^a	96.67 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्लीผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0	93.33 ^a	93.33 ^a	96.67 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्लीผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0	90.00 ^a	90.00 ^a	96.67 ^a
ชุดควบคุม (Check)	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

7.2). ประสิทธิภาพของตำรับไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดดีป्लीที่มีต่อหนอนกระทุ้งฝัก

7.2.1). ทดสอบพิษทางการกิน (Oral Toxicity Test)

เมื่อนำไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्लीทั้ง 2 ชุดคือ n1 และ n2 ซึ่งผสมน้ำที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0 และ 2.0 มาทดสอบกับหนอนกระทุ้งฝักโดยวิธีการจุ่มใบพืชในสารละลายสารทดสอบแล้วนำไปให้หนอนกิน พบว่าผลการทดสอบเป็นเช่นเดียวกับการทดสอบในหนอนใยฝัก (ตารางที่ 3-23 และ 3-24) สำหรับไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्ली n3 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0 และ 2.0 มาทดสอบกับหนอนกระทุ้งฝักโดยวิธีการจุ่มใบพืชในไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्लीแล้วนำไปให้หนอนกิน ผลการทดสอบ พบว่า ที่ 24 ชั่วโมง มีการตายของหนอนเกิดขึ้น (ร้อยละ 26.67) ที่ความเข้มข้นสูงสุดเท่านั้น ภายหลังจากหนอนได้รับไมโครอิมัลชันสารสกัดดีป्ली n3 ไปแล้ว 48 ชั่วโมง มีการตายของหนอนเกิดขึ้นทุกความเข้มข้นของสารที่ใช้ และที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 มีการตายของหนอนสูงสุดคือร้อยละ 80.00 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับร้อยละการตายของหนอนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 และเมื่อตรวจผลที่ 72 ชั่วโมง ร้อยละการตายของหนอนเพิ่มสูงขึ้นในทุกความเข้มข้น โดยร้อยละการตายของหนอนที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 2.0 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่จะแตกต่างจากร้อยละการตายของหนอนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 (ตารางที่ 3-25)

เช่นเดียวกับการทดสอบกับหนอนใยผัก สาเหตุการตายของหนอนกระทู้ผักน่าจะมีสาเหตุมาจากการอดอาหารตาย เนื่องจากใบคะน้ามักมีลักษณะเป็นมันวาวเนื่องจากการเคลือบด้วยสารอิมัลชันที่มีลักษณะคล้ายน้ำมัน และเมื่อเวลาผ่านไปใบคะน้าแสดงอาการเหี่ยว ทำให้หนอนกระทู้ผักไม่กินใบคะน้าและอดอาหารตายในที่สุด โดยที่สารละลายของไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปาลี n1 และ n2 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 มีผลให้หนอนกระทู้ผักตายสูงสุดถึงร้อยละ 100 และสารละลายของไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปาลี n3 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 มีผลให้หนอนกระทู้ผักตายสูงสุดที่ 72 ชั่วโมง เท่ากับร้อยละ 86.67 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกรรมวิธีอื่น ๆ และกรรมวิธีควบคุม

ตารางที่ 3-23 ร้อยละของหนอนกระทู้ผักที่ตายหลังจากได้รับไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปาลี n1 โดยวิธีจุ่มใบพืช

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนที่ตาย ภายหลังจากได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)		
	24	48	72
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปาลีผสมน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5	10.00 ^c	16.67 ^c	16.67 ^c
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปาลีผสมน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0	30.00 ^b	60.00 ^b	63.33 ^b
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปาลีผสมน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0	100.00 ^a	100.00 ^a	100.00 ^a
ชุดควบคุม (Check)	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

ตารางที่ 3-24 ร้อยละของหนอนกระดูกที่ตายหลังจากได้รับไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปรีลี n2 โดยวิธีจุ่มใบพืช

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)		
	24	48	72
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปรีลีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5	20.00 ^c	23.33 ^c	23.33 ^c
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปรีลีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0	73.33 ^b	86.67 ^b	86.67 ^b
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปรีลีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0	100.00 ^a	100.00 ^a	100.00 ^a
ชุดควบคุม (Check)	0.00 ^c	0.00 ^d	0.00 ^d

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสัปดาห์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

ตารางที่ 3-25 ร้อยละของหนอนกระดูกที่ตายหลังจากได้รับไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปรีลี n3 โดยวิธีจุ่มใบพืช

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)		
	24	48	72
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปรีลีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5	0.00 ^b	26.67 ^b	30.00 ^b
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปรีลีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0	0.00 ^b	33.33 ^b	70.00 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปรีลีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0	26.67 ^a	80.00 ^a	86.67 ^a
ชุดควบคุม (Check)	0.00 ^b	0.00 ^b	6.67 ^c

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสัปดาห์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

7.2.2). ทดสอบพิษทางผิวหนัง (dermal toxicity test)

สำหรับการทดสอบโดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน พบว่า ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปตี n1 ผสมน้ำ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 มีการตายของหนอนกระทู้ผักที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับร้อยละ 66.67, 70.00 และ 70.00 ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับการตายที่เกิดขึ้นเมื่อได้รับไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปตี n1 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 (ตารางที่ 3-26) สำหรับไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปตี n2 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 มีการตายของ หนอนกระทู้ผักสูงสุดเท่ากับร้อยละ 63.33 ที่เวลา 48 ชั่วโมง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับการวิธีอื่น ๆ (ตารางที่ 3-27) สำหรับการทดสอบโดยวิธีพ่นที่ตัวหนอนของไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปตี n3 ที่ทุกระดับความเข้มข้น มีการตายของหนอนกระทู้ผักที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยที่ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปตีผสมน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ให้ร้อยละการตายของหนอนไม่แตกต่างทางสถิติกับการตายของหนอนในชุดควบคุม (ตารางที่ 3-28) และการตายของหนอน ในการทดสอบพิษทางผิวหนังครั้งนี้ สูงไม่ถึงร้อยละ 50

ตารางที่ 3-26 ร้อยละของหนอนกระทู้ผักที่ตายหลังจากได้รับไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปตี n1 โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนที่ตาย ภายหลังจากได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)		
	24	48	72
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปตีผสมน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5	10.00 ^b	10.00 ^b	10.00 ^b
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปตีผสมน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0	63.33 ^a	63.33 ^a	63.33 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปตีผสมน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0	66.67 ^a	70.00 ^a	70.00 ^a
ชุดควบคุม (Check)	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

ตารางที่ 3-27 ร้อยละของหนอนกระทุ้งที่ตายหลังจากได้รับไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดี n2 โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนที่ตาย ภายหลังจากได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)		
	24	48	72
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5	0.00 ^c	23.33 ^b	23.33 ^b
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0	26.67 ^b	40.00 ^b	40.00 ^b
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0	60.00 ^a	63.33 ^a	63.33 ^a
ชุดควบคุม (Check)	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

ตารางที่ 3-28 ร้อยละของหนอนกระทุ้งที่ตายหลังจากได้รับไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดี n3 โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

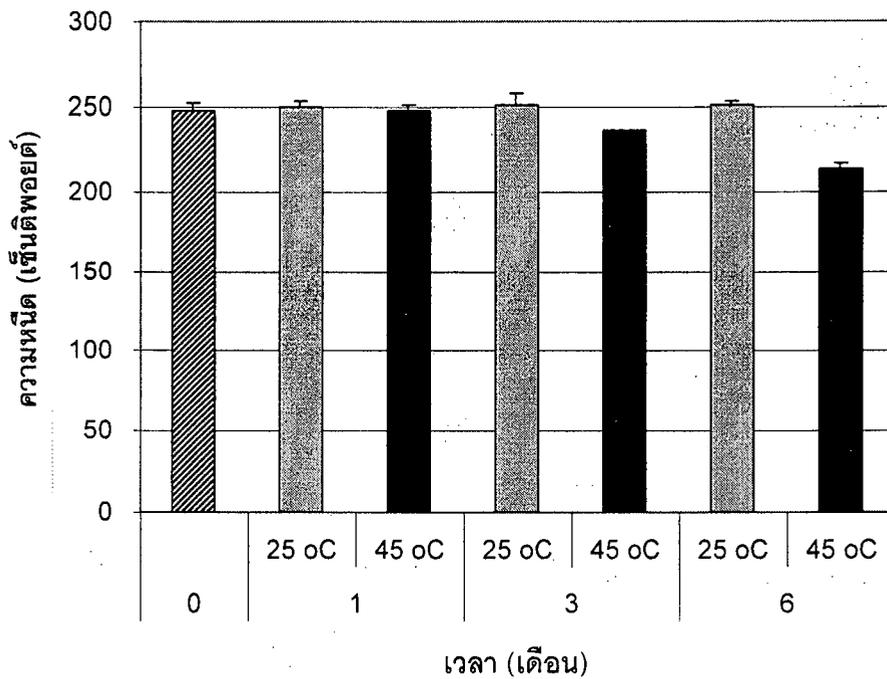
กรรมวิธี/ความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนที่ตาย ภายหลังจากได้รับสารเป็นเวลา ^{1/} (ชั่วโมง)		
	24	48	72
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5	13.33 ^{ab}	13.33 ^{ab}	33.33 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0	16.67 ^a	26.67 ^a	46.67 ^a
ไมโครอิมัลชันสารสกัดดีปดีผสม น้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0	16.67 ^a	26.67 ^a	36.67 ^a
ชุดควบคุม (Check)	3.33 ^b	3.33 ^b	16.67 ^a

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี LSD

8). การศึกษาความคงตัวของกายภาพและเคมีของตำรับโดยภาวะเร่ง

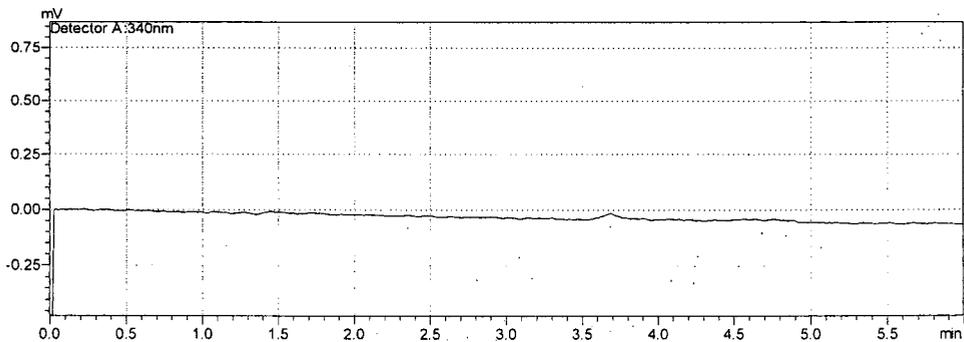
ผลการวัดความหนืดของไมโครอิมัลชันของสารสกัดดีป्ली พบว่า เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 25 °C) ความขึ้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 ± 5 เป็นเวลานาน 6 เดือน ความหนืดคงที่ไม่เปลี่ยนแปลง (รูปที่ 3-14) แต่เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 ± 2 องศาเซลเซียส ความขึ้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 ± 5 พบว่า ที่ 3 และ 6 เดือน ความหนืดลดลงเล็กน้อย

ส่วนจุดขุ่นของไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดดีป्ली เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 ± 2 องศาเซลเซียส หรือที่อุณหภูมิห้อง ความขึ้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 ± 5 เป็นเวลานาน 6 เดือน พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของไมโครอิมัลชันจากใสเป็นขุ่นในช่วงอุณหภูมิ 5-90 องศาเซลเซียส

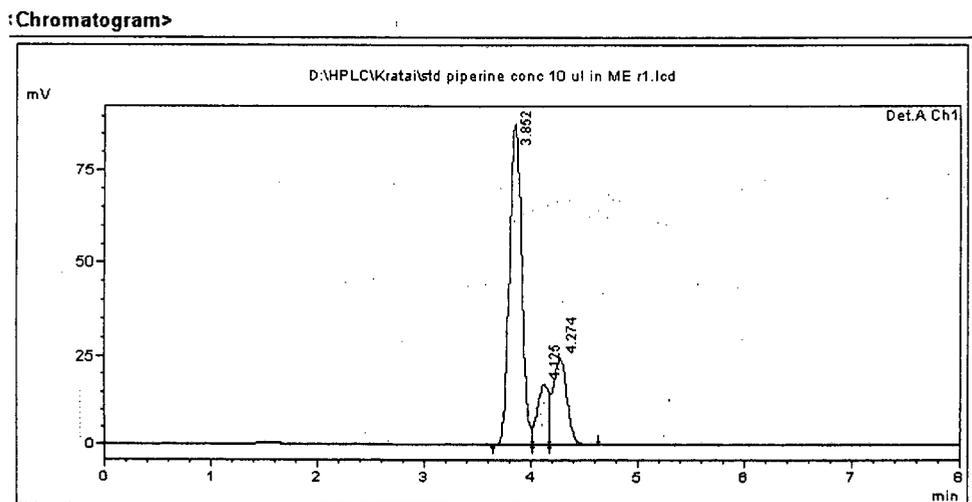


รูปที่ 3-14 ความหนืดของไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดดีป्लीที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง และในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 45 ± 2 องศาเซลเซียส ความขึ้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 เป็นเวลา 6 เดือนเทียบกับก่อนการทดสอบความคงตัว

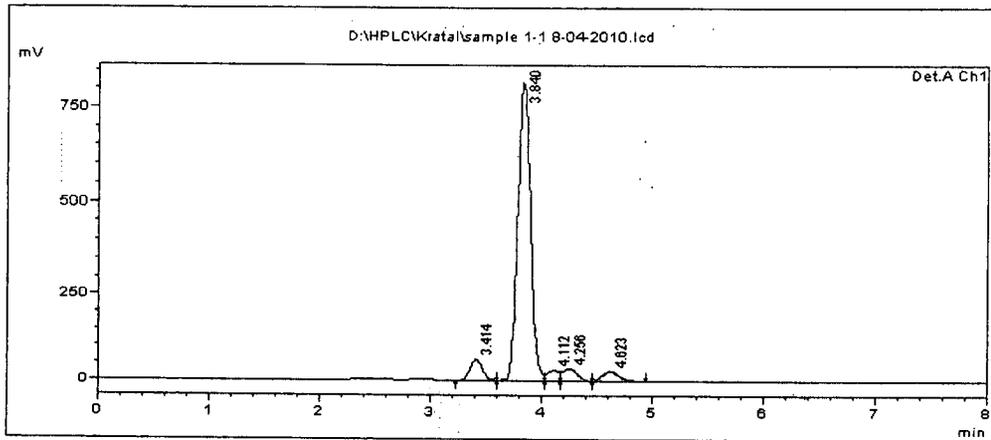
จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่า เมื่อวิเคราะห์ไมโครอิมัลชันเปล่า (blank microemulsion) ไม่พบพีคใดๆ บน HPLC chromatogram (รูปที่ 3-15) และเมื่อวิเคราะห์ไมโครอิมัลชันซึ่งมีสารมาตรฐาน piperine ละลายอยู่ พบ พีคของ piperine ปรากฏที่เวลาประมาณ 3.8 นาที (รูปที่ 3-16) เมื่อตรวจสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธีการวิเคราะห์ด้วยการเพิ่มความเข้มข้นของ piperine เป็นสองเท่า พบว่าพื้นที่ใต้กราฟของพีค piperine เพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนเดียวกันกับความเข้มข้นของ piperine ที่เพิ่มขึ้น ส่วนการวิเคราะห์ด้วยไมโครอิมัลชันซึ่งผสมสารสกัดปัสลี้จะพบพีคของ piperine ที่เวลาเดียวกันกับสารมาตรฐาน piperine (รูปที่ 3-17)



รูปที่ 3-15 แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างไมโครอิมัลชันเปล่า (Blank microemulsions) ซึ่งไม่พบพีคใดๆ

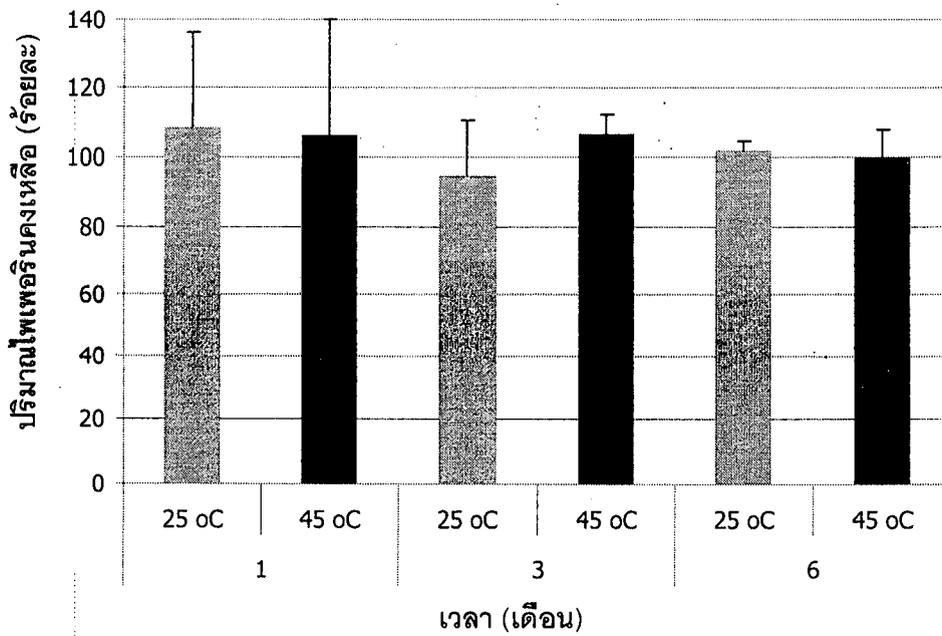


รูปที่ 3-16 แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างไมโครอิมัลชันผสมสารมาตรฐานไพเพอริน โดยพีคของไพเพอริน ปรากฏ ณ เวลาประมาณ 3.8 นาที



รูปที่ 3-17 แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดดีป्ली

การทดสอบความคงตัวของตัวอย่างไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดดีป्लीที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ภายใต้อุณหภูมิ 45 ± 2 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 ± 5 เป็นเวลานาน 6 เดือน และสุ่มเก็บตัวอย่างที่ 0, 1, 3 และ 6 เดือน มาสังเกตลักษณะทางกายภาพ และวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในตำรับ ด้วย HPLC และใช้ piperine เป็น marker พบว่า ลักษณะทางกายภาพไม่เปลี่ยนแปลง ปริมาณสารสำคัญในตำรับลดลงจากที่เวลาเริ่มต้น แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ 1, 3 และ 6 เดือน และไม่แตกต่างกับปริมาณสารสำคัญในตำรับที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง (รูปที่ 3-18) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดดีป्लीที่อยู่ในตำรับไมโครอิมัลชัน ไม่มีการเสื่อมสลาย



รูปที่ 3-18 ร้อยละของปริมาณไฟฟอสเฟตที่ปล่อยอยู่ในตำรับไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดบีลี เมื่อเก็บภายใต้อุณหภูมิ 45 ± 2 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 ± 5 เป็นเวลานานาน 1, 3 และ 6 เดือน