

รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด

1. **ชุดโครงการวิจัย :** ชุดโครงการวิจัยและพัฒนาพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ
2. **โครงการวิจัย :** โครงการวิจัยและพัฒนาการใช้พืชพืชสมุนไพรเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืช
กิจกรรมที่ 1 : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการใช้และการผลิตสารสกัดจากพืชสมุนไพรเพื่อป้องกันกำจัด ศัตรูพืช
กิจกรรมย่อย : -
3. **ชื่อการทดลอง :** วิจัยสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดจากว่านน้ำ
ชื่อการทดลอง : Research on Botanical Pesticide Formulations from Sweet flag (*Acorus calamus* L.)
4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง :	รัตนาภรณ์ พรหมศรีธา	กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร	สพฉ.
ผู้ร่วมงาน :	อิสริยะ สืบพันธุ์ดี	กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร	สพฉ.
	ธิตยาภรณ์ ประยูรมหิศร	กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร	สพฉ.
	ปิยวดี พิศาลรัตน์คุณ	กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร	สพฉ.

5. บทคัดย่อ

ว่านน้ำ (*Acorus calamus* L.) เป็นพืชที่มีศักยภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช น้ำมันหอมระเหยในเหง้าว่านน้ำประกอบด้วยสารเบต้า-อาซาโรน (beta-Asarone) เป็นสารประกอบหลัก สารประกอบอื่นๆ ได้แก่ อัลฟา-อาซาโรน (alpha-Asrone), เมทิลไอโซยูจีนอล (methyl isoeugenol) และ ฟาร์เนซีน (farnesene) เป็นต้นสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี hydrodistillation จากเหง้าว่านน้ำ สด อายุ 6, 9 และ 12 เดือน พบว่ามีปริมาณน้ำมันหอมระเหย เฉลี่ย 0.35, 0.35 และ 0.61 % เหง้าว่านน้ำอบแห้งให้น้ำมัน 1.59, 1.65 และ 1.92 % ใบว่านน้ำสดมีปริมาณน้ำมันหอมระเหย 0.04, 0.04 และ 0.06 % ตามลำดับ เหง้าแห้งสกัดด้วยเมทานอลและเอทานอลได้สารสกัดหยาบ 21.15 % และ 12.62 % (12 เดือน) 17.18 และ 7.05 % (9 เดือน) 18.33 และ 7.88 % (6 เดือน) น้ำมันว่านน้ำ มีสารสำคัญ เบต้า-อาซาโรน 74.30 % อัลฟา-อาซาโรน 14.75 % สารสกัดหยาบเมทานอลและเอทานอลจากเหง้าว่านน้ำ มี เบต้า-อาซาโรน 8.43 % และ 22.86 % ในใบมี เบต้า-อาซาโรน 1.52 % และ 4.68 % ตามลำดับ น้ำมันว่านน้ำ 1.0 % และสารสกัดหยาบจากเอทานอล 2.5 % ทำให้หนอนใยผักวัยสองตาย 100 % ใน 48 ชั่วโมง เตรียมผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันว่านน้ำและสารสกัดหยาบ ได้แก่ น้ำมันว่านน้ำใน

mineral oil และเอทานอล , น้ำมันวานน้ำผสมสารสกัดหยาบ และสารสกัดหยาบผสมเอทานอลและโพรโพลีนกลัยคอล (propylene glycol) ทดสอบความคงสภาพผลิตภัณฑ์ที่ $54 \pm 2^{\circ}\text{C}$ และนำผลิตภัณฑ์ไปทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนใยผักวัยสอง พบว่าผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำมันวานน้ำเป็นส่วนประกอบมีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักวัยสองสูงกว่าสูตรที่มี propylene glycol เป็นส่วนประกอบ

6. คำนำ

ศัตรูพืชเป็นปัญหาสำคัญในการทำเกษตรกรรม การจัดการศัตรูพืชของเกษตรกรส่วนใหญ่มักใช้สารเคมี อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีสังเคราะห์เพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างไม่ถูกต้องก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม เช่น การปนเปื้อนสารเคมีในแหล่งน้ำ สารพิษตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อมเป็นอันตรายต่อผู้ใช้ ผู้บริโภค และสัตว์เลี้ยงทั่วไป รวมทั้งสัตว์ที่เป็นอาหารของมนุษย์ การลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยการใช้สารสกัดจากพืชเป็นทางเลือกหนึ่งของการใช้ปัจจัยการผลิตที่ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ซึ่งทำให้ผลผลิตทางการเกษตรมีคุณภาพปลอดภัยต่อการบริโภคและสนับสนุนให้เกษตรกรใช้เป็นทางเลือกที่ดีและปลอดภัย ลดค่าใช้จ่ายในการนำเข้าสารเคมีสังเคราะห์จากต่างประเทศและเป็นการใช้ทรัพยากรที่มีอยู่ในประเทศให้เกิดประโยชน์ปัจจุบันได้มีการนำสารสกัดจากพืช (botanical pesticides) มาใช้ป้องกันและกำจัดศัตรูพืช ทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ (Jacobson, 1989) เพิ่มขึ้น น้ำมันหอมระเหยจากพืชนอกจากใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องหอมและอาหารแล้ว ยังมีการใช้เป็นสารไล่แมลง สารกำจัดแมลง และสารป้องกันกำจัดโรคพืช ตลอดจนมีการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชชนิดที่มีน้ำมันเป็นพื้น (essential oil-based pesticides) (Isman, 2000) ซึ่งว่านน้ำเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีน้ำมันหอมระเหยที่มีศักยภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ว่านน้ำเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Araceae มีถิ่นกำเนิดเดิมอยู่ในเขตอบอุ่นของทวีปเอเชีย เป็นพืชที่ขึ้นอยู่กับโคลน เลน หรือริมบ่อ หนอง บึง ว่านน้ำเป็นไม้ล้มลุกเนื้ออ่อน มีเหง้าอยู่ใต้ดิน มีการนำว่านน้ำมาใช้เป็นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตั้งแต่ต้น ค.ศ. 1600 ในประเทศแถบทวีปยุโรป นำมาใช้เป็นสารไล่แมลง ซึ่งมีการใช้มาก่อนที่จะใช้ทางไหล (Thacker, 2009) มงคล แก้วเทพ (2547) ได้รายงานวิจัยที่ระบุถึงฤทธิ์ในการกำจัดแมลงของว่านน้ำว่ามีผลต่อระบบสืบพันธุ์ การวางไข่และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของแมลง สารสกัดเมทานอลของว่านน้ำทำให้ด้วงข้าว *Sitophilus oryzae* (L.) และด้วงถั่วเหลือง *Callosobruchus chinensis* ที่โตเต็มวัยตายมากกว่า 90% หลังจากการสัมผัสสารสกัดโดยตรง 3 – 4 วัน น้ำมันหอมระเหยจากเหง้าว่านน้ำพบสาร β -asarone (2,4,5-trimethoxypropenylbenzenes), acorangermacrone และ asarylaldehyde ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ที่มีผลต่อแมลงวันผลไม้ 3 ชนิด คือ *Ceratitidis capitata*, *Dacus cucurbita* และ *D. dorsalis* เมื่อนำว่านน้ำ สะเดา และโล่ตี่นมาผสมในอัตราส่วน 1:1:1 พบว่ามีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการกินอาหารของตัวอ่อนผีเสื้อกลางคืน *Earias vittella* (Fab) นอกจากนี้ว่านน้ำยังสามารถใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูในโรงเก็บได้ (Kim et al., 2003) เมื่อนำข้าวสาาลีไปคลุกกับน้ำมันว่านน้ำที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 ppm สามารถป้องกันมอดแป้ง *Tribolium castaneum* ได้ และเมื่อมอดแป้งถูกสารสกัดที่มีความเข้มข้น 200 ppm พบว่าทำให้การเจริญเติบโตของตัวอ่อนและตัวโตเต็มวัยลดลง และสาร asarones ซึ่งสกัดแยกมาจากน้ำมันหอมระเหยจากรากว่านน้ำมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการกินอาหารของผีเสื้อกลางคืนชนิด *Peridramasauicia*

Nawamaki and Kuroyanagi (1996) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากว่านน้ำในการยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดหอม ประเทศอินเดียมีการนำว่านน้ำมาใช้เป็นยารักษาโรคในปลาที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย (*Aeromonas hydrophila*) (Bhuvanewari and Balasundaram, 2009.) ประเทศจีนมีการนำว่านน้ำมาใช้ป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยและแมลง โดยพบว่าในว่านน้ำมีสาร Phenylpropanoids α และ β -asarone เป็นสารออกฤทธิ์ (Perrett and Whitfield, 2006) ในประเทศไทยใช้ว่านน้ำในการป้องกันกำจัดลูกน้ำยุงก้นปล่อง (*Aedes aegypti*) มีค่า LC₅₀ 16.0-48.2 mg/l น้ำมันจากว่านน้ำ (Calamus oils) ทำให้ผิวหนัง และตาเกิดการระคายเคืองเมื่อสัมผัสโดยตรง เมื่อหายใจเข้าไปเกิดระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจ สามารถตกค้างอยู่ในผิวหนังและผิวน้ำในระบบนิเวศหลังการใช้ ควรหลีกเลี่ยงการบรรจุในภาชนะที่มีสารที่เป็นกรด ต่าง หรือ oxidizing agents Calamus oils มีค่า LD₅₀ (oral, rat) 777 mg/kg ค่า LD₅₀ (dermal, rabbit) >5,000 mg/kg มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ (aquatic organisms) มีความเป็นพิษถ้ากลืนกินเข้าไป (Lluch, 2009)

ดังนั้นจึงทำการวิจัยการสกัด แยกและหาปริมาณสารออกฤทธิ์เบต้า-อาซาโรนในเหง้าว่านน้ำ เพื่อนำมาเป็นตัวชี้วัด (marker) คุณภาพของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป รวมทั้งศึกษากระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากเหง้าว่านน้ำ เพื่อใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืช

7. วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

- อุปกรณ์**
1. ถังสแตนเลสขนาด 20 ลิตรสำหรับแช่/หมักเหง้าว่านน้ำ
 2. เครื่องชั่งหยาบ (2 ตำแหน่ง) และละเอียด (4 ตำแหน่ง)
 3. เครื่องบดตัวอย่าง ตู้อบตัวอย่าง เครื่องกวนตัวอย่าง
 4. เครื่องระเหยสารแบบลดความดัน (Rotary evaporator)
 5. ขวดกั้นกลมขนาดต่างๆ กรวยกรอง กรวยแยก ปีกเกอร์
 6. เอทานอล 95 % และ absolute, เมทานอล, mineral oil, propylene glycol
 7. เครื่องแก้วและสารเคมีอื่นๆที่ใช้ในการทดลอง
 8. เครื่อง Gas chromatography-Mass spectrometer (GC-MS)
 9. ชุดกลั่นน้ำมันหอมระเหย
 10. กล่องพลาสติกและอุปกรณ์สำหรับเลี้ยงหนอนใยผัก, หนอนใยผัก
 11. ว่านน้ำจากจังหวัดราชบุรี

วิธีการ เตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างว่านน้ำจากจังหวัดราชบุรีมาล้างด้วยน้ำจนสะอาด แยกเหง้าและใบ เป็นตัวอย่างทดสอบสดและแห้ง ส่วนที่ทดสอบแบบใช้ตัวอย่างแห้ง ให้นำเหง้าว่านน้ำมาสับเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปอบในตู้อบที่ 50 °C จนแห้ง บดด้วยเครื่องบด เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติก ปิดไม่ให้อากาศเข้า

กลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี hydrodistillation ด้วยชุดกลั่นน้ำมันหอมระเหย โดยใช้เหง้า/ใบสด 500 กรัม เหง้า/ใบ อบแห้ง 100 กรัม ต่อน้ำ 350 ml กลั่นเป็นเวลา 5 ชั่วโมง เก็บน้ำมันที่ได้

สกัดตัวอย่างอบแห้งด้วยเอทานอลและเมทานอล โดยใช้เหง้าว่านน้ำบดที่เตรียมไว้ 10 กรัมต่อตัวทำละลาย 300 ml แช่ค้างคืน แล้วนำมากรองด้วยเครื่องกรอง 1 ชั่วโมง กรอง นำ filtrate ที่ได้ไประเหยด้วยเครื่อง rotary evaporator จนแห้ง จดน้ำหนักที่ได้

เตรียมสารสกัดหยาบเพื่อใช้เตรียมผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป

สกัดเหง้าว่านน้ำบดแห้งด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:3 โดยแช่สารสกัดในถังหมัก 20 ลิตรเป็นเวลา 7 วัน แล้วนำมากรองด้วยเครื่องกรองเป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรอง เก็บ filtrate นำกากหลังกรองมาสกัดซ้ำด้วยเอทานอล โดยกรอง 4 ชั่วโมง กรอง เก็บ filtrate ที่ได้รวมกับครั้งแรก แล้วนำไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบลดความดัน จะได้สารสกัดหยาบของเหง้าว่านน้ำ

ตรวจหาปริมาณเบต้าอะซาโรนโดย GC-MS

ดูน้ำมันว่านน้ำมา 2 ul ละลายใน abs. ethanol 10 ml กรองผ่าน filter Nylon 66 ใส่ขวดฉีดตัวอย่างสำหรับฉีดเข้าเครื่อง GC-MS สารสกัดหยาบจากเมทานอลและเอทานอล ทำเช่นเดียวกันโดยใช้สารสกัด 50 mg ละลายใน abs. ethanol 25 ml กรองผ่าน filter Nylon 66 ฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง GC-MS เพื่อแยกและวัดปริมาณสารเบต้า-อะซาโรนโดยใช้ operating condition ดังนี้

Column: RTx-5 W/Integra-Guard capillary column (Restek) 30 m x 0.25 mm, film thickness 0.25 um

Temperature: Injector 200°C Mass transfer line 280°C

Column oven: Initial 50°C initial time 1 min rate 5°C/min final temp 230 °C final time 10 min

Solvent delay 4 min

Energy ion source 70eV, EI mode

Mass range 40-500 amu

Injection volume 1 ul

Carrier gas Helium 1 ml/min

การทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันและสารสกัดหยาบจากเหง้าว่านน้ำกับหนอนไผ่ฝัก (*Plutella xylostella*) วัยสองในระดับห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Leaf Disc Feeding Test โดยแต่ละ treatment มี 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้หนอน 10 ตัว ตรวจสอบการตายของหนอนไผ่ฝักภายใน 72 ชั่วโมง

เตรียมน้ำมันหอมระเหยว่านน้ำที่ความเข้มข้น 0.25, 0.5, 1, 2.5 % ใน ethanol และ สารสกัดหยาบ ที่ความเข้มข้นเดียวกันใน ethanol เพื่อทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้น

การผสมปรุงแต่งเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป

เตรียมผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันหอมระเหยว่านน้ำ สารสกัดหยาบและน้ำมันว่านน้ำผสมสารสกัดหยาบ จำนวน 5 สูตร ดังนี้

ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปสูตรที่ 1 ความเข้มข้น 70% ของน้ำมันว่านน้ำใน mineral oil โดยใช้น้ำมันจากเหง้าว่านน้ำที่กลั่นโดยวิธี hydrodistillation 70 ml ผสม mineral oil 30 ml

ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปสูตรที่ 2 ความเข้มข้น 70% ของน้ำมันว่านน้ำใน abs. ethanol โดยใช้น้ำมันจากเหง้าว่านน้ำ 70 ml ผสม abs. ethanol 30 ml

ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปสูตรที่ 3 ประกอบด้วยสารสกัดหยาบว่านน้ำ 120 กรัม abs. ethanol 480 ml และ propylene glycol 20 ml

ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปสูตรที่ 4 ประกอบด้วยสารสกัดหยาบว่านน้ำ 120 กรัม น้ำมันว่านน้ำ 25 ml propylene glycol 25 ml และ abs. ethanol 150 ml

ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปสูตรที่ 5 ประกอบด้วยสารสกัดหยาบ 125 กรัม น้ำมันว่านน้ำ 50 ml abs. ethanol 100 ml

นำแต่ละผลิตภัณฑ์ไปหาปริมาณอาซาโรน ด้วยวิธี GC-MS ทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนใยผักกวยสองใน ระดับห้องปฏิบัติการและทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 54 ± 2 °C เป็นเวลา 14 วัน

การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์

นำผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปมา 25 ml ใส่ในขวดแก้วสีชาขนาด 50 ml ปิดฝา นำไปใส่ตู้อบควบคุมอุณหภูมิที่ 54 ± 2 °C เป็นเวลา 14 วัน แต่ละสูตรทำ 5 ซ้ำ เมื่อครบกำหนดนำตัวอย่างออกจากตู้อบ ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบสภาพทางกายภาพทั่วไปของแต่ละสูตรผลิตภัณฑ์ และนำไปตรวจหาปริมาณอาซาโรน ด้วย GC-MS

ระยะเวลาเวลา

ตุลาคม 2553 – กันยายน 2555

สถานที่ดำเนินการ

กลุ่มงานวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตรจากสารธรรมชาติ กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

น้ำมันหอมระเหยจากเหง้าว่านน้ำที่สกัดด้วยวิธี hydrodistillation ที่อายุ 6, 9 และ 12 เดือนพบว่าเหง้าสดมีน้ำมันหอมระเหย 0.35, 0.35 และ 0.61 % เหง้าอบแห้ง 1.59, 1.65 และ 1.92 % ตามลำดับ ใบสดมีน้ำมันหอมระเหย 0.04, 0.04 และ 0.06 % ตามลำดับ (ตารางที่ 1) เมื่อสกัดเหง้าอบแห้งด้วยเมทานอลได้สารสกัดหยาบ 18.33, 17.18 และ 21.15 % ตามลำดับ สกัดด้วยเอทานอล ได้สารสกัดหยาบ 7.88, 7.05 และ 12.62 % ตามลำดับ ใบ (12เดือน) อบแห้งสกัดด้วยเมทานอลและ เอทานอลพบว่าได้สารสกัดหยาบ 16.75 และ 6.03 % (ตารางที่ 2) จะเห็นว่าการสกัดด้วยเมทานอลให้ปริมาณสารสกัดหยาบสูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอลเนื่องจากเมทานอลมีความเป็นขั้ว (polarity) สูงกว่าเอทานอลจึงสามารถสกัดเอาสารที่มีความเป็นขั้วออกมาได้ดีกว่า เหง้าว่านน้ำที่มีอายุ 12 เดือนให้ปริมาณน้ำมันและสารสกัดหยาบสูงกว่าเหง้าอายุ 9 และ 6 เดือน น้ำมันจากเหง้าว่านน้ำมี

ปริมาณเบต้า-อะซาลอนเฉลี่ย 74.30 % และ เอลฟา-อะซาลอน 14.75 % สารสกัดหยาบจากเหง้าว่านน้ำสกัดด้วยเมทานอลและเอทานอลมีปริมาณเบต้า-อะซาลอน 8.43 % และ 22.86 % สารสกัดหยาบจากใบมี 1.52 และ 4.68 % ไม่พบเอลฟา-อะซาลอนในสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอล แม้ว่าปริมาณสารสกัดหยาบเหง้าว่านน้ำสกัดด้วยเมทานอลสูงกว่า แต่ปริมาณสารสำคัญเบต้า-อะซาลอนน้อยกว่าในสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอล

ตารางที่ 1 ปริมาณน้ำมันจากเหง้าและใบว่านน้ำ อายุ 6, 9 และ 12 เดือน

ส่วนของพืช	ปริมาณน้ำมัน (% V/W)		
	6 เดือน	9 เดือน	12 เดือน
เหง้า สด	0.35	0.35	0.61
เหง้า อบแห้ง	1.59	1.65	1.92
ใบ สด	0.04	0.04	0.06

ตารางที่ 2 ปริมาณสารสกัดหยาบจากเหง้าและใบว่านน้ำอายุ 6, 9 และ 12 เดือนสกัดด้วยเอทานอลและเมทานอล

ส่วนของพืช/ตัวทำละลาย	ปริมาณสารสกัดหยาบ (% W/W)		
	6 เดือน	9 เดือน	12 เดือน
เหง้า / เมทานอล	18.33	17.18	21.15
เหง้า/ เอทานอล	7.88	7.05	12.62
ใบ/ เมทานอล	*	11.33	16.75
ใบ/ เอทานอล	2.38	9.59	6.03

*ไม่ได้ทำการทดสอบ

การทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเบื้องต้นของน้ำมันว่านน้ำและสารสกัดหยาบจากเอทานอลที่มีต่อหนอนใยผักวัยสองภายใน 72 ชั่วโมง พบว่า น้ำมันว่านน้ำ 1.0 % และสารสกัดหยาบจากเอทานอล 2.5 % มีประสิทธิภาพทำให้หนอนใยผักวัยสองตาย 100 % ใน 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 3 เปรอ์เซ็นต์เบต้า-อะซาลอนและการตายของหนอนใยผักวัยสอง ของน้ำมันและสารสกัดหยาบเหง้าว่านน้ำ

ความเข้มข้น (%)	%การตายของหนอนใยผัก		% เบต้า-อะซาลอน	
	น้ำมันว่านน้ำ	สารสกัดหยาบ	น้ำมันว่านน้ำ	สารสกัดหยาบ

0.25	63.3	30	0.205	0.050
0.50	86.7	60	0.411	0.101
1.0	100*	86.7	0.821	0.201
2.5	100*	100*	2.054	0.504

*ที่ 48 ชั่วโมง

การเตรียมผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปพบว่า ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปสูตรที่ 1 ผสมแล้วมีสีขาวขุ่น เมื่อตั้งทิ้งไว้จะแยกเป็น สองชั้น เมื่อจะใช้ต้องเขย่าให้เข้ากันก่อน จากการทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิ 54±2 °C เป็นเวลา 14 วันไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพได้แกสีและลักษณะที่ปรากฏยกเว้นสูตรผลิตภัณฑ์ที่ 5 มีลักษณะขุ่นเหนียวมีตะกอน การทดสอบประสิทธิภาพของสูตรผลิตภัณฑ์พบว่าสูตรผลิตภัณฑ์สูตรที่ 3 และ 4 ที่มี propylene glycol เป็นส่วนประกอบทำให้หนอนใยผักวัยสองตาย 0 และ 45 % ใน 72 ชั่วโมง หลังจากอบที่อุณหภูมิ 54±2 °C พบว่าทุกผลิตภัณฑ์มีประสิทธิภาพลดลงยกเว้นผลิตภัณฑ์สูตรที่ 5 (ตารางที่ 3) สูตรที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบทำให้เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนสูงและยังคงมีประสิทธิภาพหลังจากอบที่ 54±2 °C เป็นเวลา 14 วัน สูตรที่มี propylene glycol เป็นส่วนประกอบลดหรือไม่ทำให้หนอนตายถึงแม้ว่าในผลิตภัณฑ์ยังคงมีปริมาณเบต้า-อะซาริโนอยู่ (ตารางที่ 4) การตรวจสอบสารสำคัญในสูตรผลิตภัณฑ์ที่ 0 วัน และ หลังจากเก็บไว้ 14 วัน ที่ 54±2 °C ตรวจสอบพบเบต้า-อะซาริโนในทุกสูตรลดลง ไม่พบเอพออะซาริโนในสูตรที่ 3

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักวัยสอง (*Plutella xylostella*) ของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปว่านน้ำ

สูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป	% การตายของหนอนใยผักวัยสอง	
	ก่อนการทดสอบความคงตัว	หลังการทดสอบความคงตัว
สูตรที่ 1 (F1)	95	90
สูตรที่ 2 (F2)	72.5	52.5
สูตรที่ 3 (F3)	0	0
สูตรที่ 4 (F4)	45	22.5
สูตรที่ 5 (F5)	95	95

F1 = 70 % น้ำมันว่านน้ำใน mineral oil

F2 = 70 % น้ำมันว่านน้ำใน ethanol

F3 = crude extract + ethanol + propylene glycol

F4 = crude extract + oil + propylene glycol

F5 = crude extract + oil + ethanol

ตารางที่ 5 ปริมาณอะซาริโนในสูตรผลิตภัณฑ์ที่ 0 วันและหลังจากเก็บไว้ 14 วัน ที่ 54±2 °C

	ปริมาณอะซาริโน ที่ 0 วัน(%)	ปริมาณอะซาริโน ที่ 14วัน
--	-----------------------------	--------------------------

สูตรผลิตภัณฑ์	เบต้า-อะซาโรน	เอลฟา-อะซาโรน	เบต้า-อะซาโรน	เอลฟา-อะซาโรน
F1	46.18	7.75	36.86	5.50
F2	44.39	8.73	33.24	7.16
F3	4.55	-	3.10	-
F4	19.64	2.34	9.89	1.62
F5	35.42	9.30	33.78	8.22

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

เหง้าว่านน้ำมีสารสำคัญคือ เบต้า-อะซาโรน เหง้าว่านน้ำอายุ 12 เดือนให้ปริมาณน้ำมันและสารสกัดหยาบมากกว่าเหง้าอายุ 9 และ 6 เดือน ปริมาณอะซาโรนในน้ำมันจากเหง้าว่านน้ำมีสูงกว่าในสารสกัดหยาบน้ำมันว่านน้ำมีประสิทธิภาพในการทำให้หนอนใยฝักวัยสองตายดีกว่าสารสกัดหยาบ ผลิตภัณฑ์สารสกัดจากว่านน้ำสำเร็จรูปที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบมีประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนใยฝักในระดับห้องปฏิบัติการและมีความคงสภาพที่อุณหภูมิ 54 ± 2 °C เป็นเวลา 14 วัน ดีกว่าสูตรที่มีเฉพาะสารสกัดหยาบเป็นส่วนประกอบ เนื่องจากไม่มีการทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิห้องเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 1 ปีเพราะเวลาการทดลองจำกัด ดังนั้นจึงควรทำการทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิห้องของผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบและนำไปทดสอบประสิทธิภาพในไร่มาก่อนที่จะมีการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์และวิธีการใช้ให้แก่เกษตรกร

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- นำไปใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชโดยเฉพาะในการปลูกพืชอินทรีย์ เป็นการลดการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ลดต้นทุนการผลิต เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม
- ถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์และวิธีการใช้อย่างมีประสิทธิภาพให้กับเกษตรกรและผู้ประกอบการผลิตสารธรรมชาติจากพืชเพื่อผลิตในระดับอุตสาหกรรม

เอกสารอ้างอิง

- มงคล แก้วเทพ. 2547.ว่านน้ำสมุนไพรฆ่าแมลง จุลสารข้อมูลสมุนไพร ปีที่ 21 ฉบับที่ 4 หน้า 8-11
- Bhuvanewari, R.and Balasundaram, C.; 2009. “Anti-bacterial activity of *Acorus calamus* and some of its derivatives against fish pathogen (*Aeromonas hydrophila*)” *J. of Medicinal Plants Research*, v.3 (7), p.538-547.
- Isman, M. B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management *Crop Protection* 19: 603-608.
- Jacobson, M. 1989. Botanical Pesticides: Past, Present, and Future *In* Insecticides of Plant Origin. ACS Symposium Series 387, American Chemical Society, Washington D. C., 1989: pp. 1-10.
- Kim, S.; Park, C. and Ohh, M. 2003a. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasiderma serricornis* *Journal of Stored Products Research* 39:11-19.
- Kim, S.; Roh, J.; Kim, D. Lee, H. and Ahn, Y. 2003b. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Stiophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis* *Journal of Stored Products Research* 39:293-303.
- Lluce, 2009. “Calamus Oils” Material Safety Data Sheet, available on <http://www.Lluce.com/eng/pdf/00408QQQL IN.pdf>. (2009).
- Nawamaki, K. and Kuroyanagi, M. 1996. Sesquiterpenoids from *Acorus calamus* as Germination Inhibitors *Phytochemistry* 43(6) :1175-1182.
- Perrett, S.; Whitfield, P.J.; 2006. “Anthelmintic and Pesticidal activity of *Acorus gramineus* (Araceae) is associated with Phenylpropanoids Asarone” *Phytotherapy Research*, v.9 (6), p. 405-409.
- Thacker, J.R.M., 2009. “An Introduction to Arthropod Pest Control” Dept. of Biological Science, University of Paisley, UK, available on <http://assets.cambridge.org/97805215/61068/sample /978052156068>