การพัฒนาผลิตภัณฑ์สารกำจัดศัตรูพืชจากสารสกัดน้อยหน่า เพื่อการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในคะน้า

Development of formulated Product from seed extract of *Annona squamosa* for control *Plutella xylostella* L. in Chinese Kale

ธิติยาภรณ์ อุดมศิลป์[1] *ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล*[1] *สุทิศา เงินเรืองโรจน์*[1] *พจนีย์ หน่อฝั้น*[1]
สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง[2]

Thitiyaporn Udomsilp[1] *Laksamee Dechanulaknukul*[1] *Suthisa Ngoenrueangrot*[1]
Poachanee Norfun[1] *Suparada Sokhontapirom na patalung*[2]

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สารกำจัดศัตรูพืชจากสารสกัดน้อยหน่า เพื่อการป้องกันหนอนใยผักในคะน้า ศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการเตรียมผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย ชนิดของสารลดแรงตึงผิว ปริมาณตัวทำละลายและสารลดแรงตึงผิว และทดสอบความคงสภาพทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ ผลการศึกษาพบว่า เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 3 เดือน ไม่เกิดการแยกชั้น ไม่เกิดการตกตะกอน แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC มีความคงตัวดี และพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาและอุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลต่อการสลายตัวของสารสำคัญ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC ในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีผลทำให้หนอนใยผักตาย อยู่ระหว่าง 27.50-85.00 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบประสิทธิภาพต่อหนอนใยผักในแปลงคะน้าเกษตรกร ดำเนินการทดลองในแปลงทดสอบที่จังหวัดนครปฐมและแปลงทดสอบที่จังหวัดกาญจนบุรี พบว่าการพ่นสารผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักได้ดีไม่แตกต่างกันทางสถิติจากการพ่นสารทดลอง *Bacillus thuringiensis* และเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการกำจัดหนอนใยผัก พบว่าผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC ที่อัตรา 50 และ 70 ม.ล./น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพเฉลี่ยที่ 71.02-79.49 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการใช้สารทดลอง *Bacillus thuringiensis* ที่มีประสิทธิภาพเฉลี่ยที่ 70.56-79.30 เปอร์เซ็นต์ และได้ผลผลิตเทียบเท่ากับการพ่นสารทดลอง *Bacillus thuringiensis* เช่นเดียวกัน

คำสำคัญ : น้อยหน่า, หนอนใยผัก, สารสกัดน้อยหน่า, สูตรผลิตภัณฑ์, คะน้า

Abstract

The objective of this study was to develop the formulated product from seed extract of *Annona squamosa* to control *Plutella xylostella* L. The study of various parameters on the formation EC (emulsifiable concentrates) was investigated such as solvent type, surfactant type, the ratio of surfactant, physical stabilities, and properties. The result showed that without phase separation and flocculation when stored products at room temperature for 3 months. The formulation EC was studied to

1 กลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กองวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

control *Plutella xylostella* L. under laboratory conditions using a leaf dipping method. The efficiency of formulation EC was 27.50-85.00%. Then its control efficacy was determined on *Plutella xylostella* L. in Chinese kale at Nakhornpathom and Kanchanaburi province, the experimental design was a randomized complete design with 6 treatments and 4 replications. The treatments were formulation EC at the rate of 25, 35, 50, and 70 ml and *Bacillus thuringiensis* at the rate of 80 ml per 20 l of water and the untreated. The results showed that formulation EC at the rate of 50 and 70 ml per 20 liters of water was effective in the control of *Plutella xylostella* L. and had efficiency in controlling at 71.02-79.49%, not significantly different with *Bacillus thuringiensis* at the rate of 80 ml per 20 l of water. And all spraying methods, there is a greater yield than the untreated.

Key words :*Annona squamosa* L. extract, formulation, *Plutella xylostella* L., Chinese kale

คำนำ

น้อยหน่า หรือ custard apple จัดเป็นพืชในวงศ์ Annonaceae ปลูกทั่วไปในประเทศไทย เพื่อการรับประทานผล และยังใช้ประโยชน์เป็นยาสมุนไพรสำหรับรักษาโรคท้องเสีย โรคบิด โรคหิดและโรคท้องผูก (Jamkhande and Wattamwar, 2015) และมีรายงานวิจัยแล้วว่ามีฤทธิ์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ สารสกัดเมล็ดน้อยหน่าด้วยเอทานอลและเมทานอลมีฤทธิ์กำจัด ด้วง pulse (*Callosobruchus chinensis*) ได้ถึง 100% (Al-Lawati *et al*., 2002) และสามารถกำจัดด้วง khapra (*Trogoderma granarium*) ได้ (Rao, Sharma and Sharma, 2005) สารสกัดใบและเมล็ดน้อยหน่ายังสามารถควบคุมแมลงได้อีกหลายชนิด เช่น เพลี้ย หนอนฝ้าย ตั๊กแตน มด แมลงหวี่ จากรายงานสารเคมีในผลน้อยหน่าประกอบด้วย diterpenoid compound kaur-16-en-18-oic acid, α-pinene, sabinene และ limonene (Andrade *et al*., 2001)

จากการศึกษาของ Khalequzzaman และ Sultana (2006) ทดสอบสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าด้วยตัวทำละลายต่างๆกับตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของมอดแป้ง (Red flour beetle) 4 สายพันธุ์ คือ Raj, CR 1, FSS II และ CTC-12 พบว่าสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าด้วยเมทานอลมีความเป็นพิษต่อตัวอ่อนมอดแป้งสายพันธุ์ FSS II น้อยที่สุด และสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าด้วยปิโตรเลียมสปิริท มีความเป็นพิษต่อตัวอ่อนมอดแป้งสายพันธุ์ Raj สูงที่สุด สำหรับตัวเต็มวัยของมอดแป้ง สารสกัดเมล็ดน้อยหน่าด้วยปิโตรเลียมสปิริทมีความเป็นพิษกับสายพันธุ์ CTC-12 สูงที่สุด และสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าด้วยอะซิโตนมีความเป็นพิษกับสายพันธุ์ CR 1 น้อยที่สุด

สารสกัดหยาบของน้อยหน่าสามารถควบคุมตัวอ่อนผีเสื้อ (Leatemia and Isman, 2004a) ควบคุมแมลงวันผลไม้ ชนิด Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) ในระยะฟักไข่ รบกวนการวางไข่ และ ยืดเวลาพัฒนาการของตัวอ่อน (Epino and Chang, 1993) และควบคุมตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของด้วงแป้งสีแดง *Tribolium castaneum* Herbst ได้ (Khalequzzaman and Sultana, 2006)

ธิติยาภรณ์ และคณะ (2559) กลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กรมวิชาการเกษตร ได้วิจัยประสิทธิภาพของสารสกัดจากน้อยหน่าในการควบคุมหนอนใยผักในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ พบว่าสารสกัดหยาบเมล็ดน้อยหน่าให้ผลในการฆ่าหนอนใยผักได้ดีกว่าสารสกัด

หยาบจากใบน้อยหน่า และสารสกัดหยาบเมล็ดน้อยหน่าที่สกัดด้วยเมทานอล ให้ผลในการฆ่าหนอนใยผักดีที่สุด (88.54%) และสารสกัดหยาบเมล็ดน้อยหน่าที่ความเข้มข้น 5 10 15 20 และ 25% (น้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่า ทุกความเข้มข้นให้ผลในการฆ่าหนอนใยผักไม่แตกต่างกันทางสถิติ จากผลการทดสอบสารพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบเมล็ดน้อยหน่าด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบสารในกลุ่ม เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ เป็นองค์ประกอบ สารสกัดหยาบเมล็ดน้อยหน่าเป็นสารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชต่อไป

ภัควรินทร์และคณะ (2559) กลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กรมวิชาการเกษตร ทำการวิจัยสารสกัดน้อยหน่า เพื่อหากลุ่มสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการควบคุมหนอนใยผัก โดยทำการสกัดกลุ่มสารกึ่งบริสุทธิ์ จากใบและเมล็ดน้อยหน่า ด้วยตัวทำละลายต่างๆ ได้แก่ hexane, chloroform, methanol และน้ำ พบว่า สารออกฤทธิ์จากเมล็ดน้อยหน่า มีผลต่อการตายของหนอนใยผัก 92.30 และ 94.80% ตามลำดับ

งานวิจัยนี้จึงได้ทำการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่า จากผลิตภัณฑ์เดิม เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการออกฤทธิ์และทำให้สามารถเก็บรักษาสารสำคัญในระยะเวลาที่นานขึ้น และนำมาต่อยอดงานวิจัยในการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ต่อหนอนใยผักในระดับแปลงทดสอบ เพื่อเป็นแนวทางให้เกษตรกรสามารถใช้งานได้ในลักษณะเป็นสารทดแทน และสารใช้ร่วมกัน/ใช้สลับเพื่อลดปริมาณการใช้สารเคมีทางการเกษตรต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. หนอนใยผัก จากแปลงคะน้าของเกษตรกร 2 แหล่งปลูก เมล็ดน้อยหน่า
2. เครื่องแก้ว ได้แก่ volumetric flask, pipette, round bottom flask, cylinder เป็นต้น
3. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้า, vacuum pump, เครื่องบดตัวอย่าง, ตู้อบตัวอย่าง, เครื่องระเหยแบบลดความดัน (rotary evaporator) และ เครื่อง HPLC
4. สารมาตรฐาน และสารเคมีต่างๆ
5. บีกเกอร์ พู่กัน คีมคีบ กระดาษกรอง กล่องพลาสติก สำหรับเลี้ยงหนอน หลอด Centrifuge
6. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลังที่สามารถวัดความดันได้ ถังพลาสติก

วิธีการ

1. เตรียมสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า

เตรียมสารสกัดหยาบเมล็ดน้อยหน่า โดยนำผลน้อยหน่าสุก แกะเมล็ด ล้างทำความสะอาด นำเมล็ดน้อยหน่ามาอบแห้งและบดให้ละเอียด แล้วสกัดเมล็ดน้อยหน่าด้วย methanol ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสารสำคัญจากเมล็ดน้อยหน่า ระเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า

วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในกลุ่ม Acetogenins ในสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า ด้วยวิธี HPLC (High pressure liquid chromatography) โดยใช้ดีเทคเตอร์ ชนิด DAD ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร โดยการเตรียมสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสม วิเคราะห์และคำนวณหาปริมาณสารสำคัญเทียบกับกราฟมาตรฐาน

3. การพัฒนาผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่า ศึกษาการเตรียมผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่า ในรูปแบบอิมัลชัน โดยทดลองผสมตัวทำละลาย (Solvent) และสารลดแรงตึงผิว ผสมกันที่อัตราส่วนต่างๆ แล้วนำไปผสมกับสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า สังเกตการเปลี่ยนแปลง เช่น การแยกชั้น และการตกตะกอนเมื่อเตรียมเสร็จ และหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง เลือกอัตราส่วนของสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมที่เหมาะสมต่อการพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ เพื่อเตรียมผลิตภัณฑ์ให้ได้ลักษณะที่ดีและมีความคงตัว จนได้เป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่า สูตร EC (emulsifiable concentrates) 1 ผลิตภัณฑ์

จากนั้นศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี และความคงตัวของผลิตภัณฑ์โดยเก็บผลิตภัณฑ์ในภาชนะปิดสนิทเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน และอุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน แล้วนำมาตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ โดยสังเกตลักษณะอิมัลชัน การแยกชั้นการตกตะกอน และการเกิดฟอง ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่คงตัวคือไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสีความขุ่น ความใส ไม่เกิดการแยกชั้น และ/หรือไม่เกิดการตกตะกอนของสารสกัด และทดสอบความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ pH meter

4. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดน้อยหน่า ผลิตภัณฑ์น้อยหน่าสูตร EC ต่อหนอนใยผักในห้องปฏิบัติการ

4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดน้อยหน่าต่อหนอนใยผักวัย 2 โดยการทดสอบหาระดับความเข้มข้นของสารสกัดน้อยหน่า 5 ระดับความเข้มข้น คือ สารสกัดจากน้อยหน่าระดับความเข้มข้น 0.50, 1.00, 3.00, 5.00 และ 10.00 % w/v เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) วางแผนการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ (10 ตัว/ซ้ำ) 6 กรรมวิธี

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์น้อยหน่าสูตร EC ต่อหนอนใยผักวัย2 ที่ 5 ระดับความเข้มข้น คือ ผลิตภัณฑ์น้อยหน่าสูตร EC ที่ระดับความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.25, 0.35 และ 0.50 %w/v เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำ) วางแผนการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ (10 ตัว/ซ้ำ) 6 กรรมวิธี

หลังการทดสอบหาค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925) และหาค่า LC_{50} ด้วยวิธีการ Probit analysis (Finney, 1971)

5. ทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์น้อยหน่าสูตร EC ต่อหนอนใยผักในแปลงเกษตรกร

ดำเนินการในแปลงปลูกคะน้าของเกษตรกร แปลงที่ 1 ที่อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม และแปลงที่ 2 ที่อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่าง เดือนมีนาคม-เมษายน พ.ศ. 2564 วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี โดยนำอัตราความเข้มข้นมาทำการทดสอบ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นผลิตภัณฑ์น้อยหน่าสูตร EC อัตรา 25 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 พ่นผลิตภัณฑ์น้อยหน่าสูตร EC อัตรา 35 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 พ่นผลิตภัณฑ์น้อยหน่าสูตร EC อัตรา 50 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 พ่นผลิตภัณฑ์น้อยหน่าสูตร EC อัตรา 70 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 พ่น *Bacillus thuringiensis* อัตรา 80 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 แปลงควบคุม (พ่นด้วยน้ำเปล่า)

เตรียมแปลงทดลองคะน้าขนาดแปลงย่อย 2x5 เมตร จำนวน 24 แปลง ระยะระหว่างแปลงย่อย 1-2เมตร ระยะระหว่างกรรมวิธี 1-2 เมตร หว่านเมล็ดคะน้าให้กระจายสม่ำเสมอทั่วแปลง ต้นกล้าจะงอกภายใน 7 วัน ถอนต้นกล้าที่อ่อนแอหรือแน่นทิ้งไป ดูแลและป้องกันโรคแมลงที่เกิดขึ้น เริ่มพ่นสารทดลองกรรมวิธีต่างๆ เมื่อคะน้าอายุได้ 20 วันหรือพบการระบาดของหนอนใยผัก (0.30ตัว/ต้นคะน้า)

ด้วยเครื่องพ่นสารสูบโยกสะพายหลังแบบควบคุมความดันได้ พ่นสารทุก 5 วัน พ่นสารทดลองทั้งหมด 7 ครั้ง สุ่มตรวจนับจำนวนหนอนใยผักที่เข้าทำลายคะน้าก่อนพ่นสารครั้งแรก และหลังพ่นสารทุก 5 วัน โดยสุ่มตรวจนับจากต้นคะน้าจำนวน 10 ต้นต่อแปลงย่อย และสุ่มเก็บผลผลิตคะน้าหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย ชั่งผลผลิต และนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละกรรมวิธี โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

6. บันทึก รวบรวมข้อมูลและสรุปผลการทดลอง

เวลาและสถานที่ทดลอง ทำการทดลองในช่วงเดือนตุลาคม 2562 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2564 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และแปลงคะน้าของเกษตรกร ที่อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเตรียมสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า

จากการสกัดสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าด้วยตัวทำละลาย เมทานอล พบว่าสารสกัดเมล็ดน้อยหน่ามีสีน้ำตาลเข้ม และได้ปริมาณสารสกัด 214.03 กรัมต่อเมล็ดน้อยหน่า 1 กิโลกรัม

Figure 1 Process of custard apple seed extract

2. วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า

วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในกลุ่ม Acetogenins (SQ) ในสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าด้วยวิธี HPLC เทียบกับสารมาตรฐานพบว่า สารสกัดเมล็ดน้อยหน่าพบสารในกลุ่มนี้ตั้งแต่ 0.18-0.34 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร (% w/v) (Figure 2)

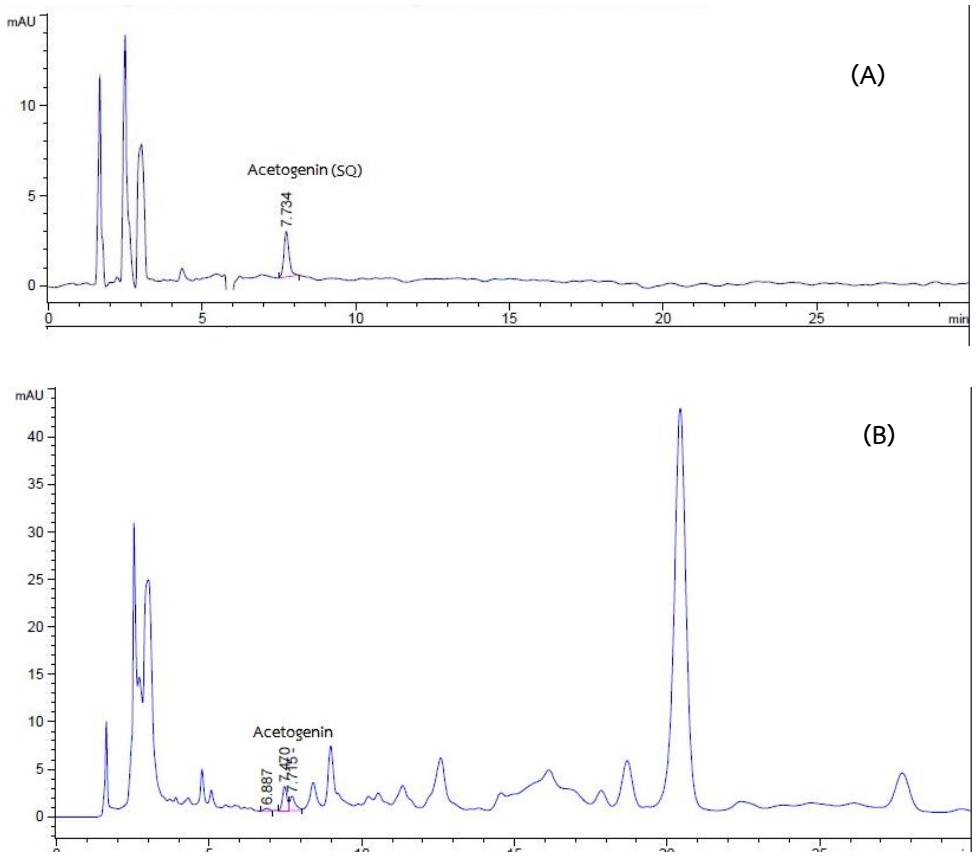

Figure 2 Chromatogram of standard acetogenins (SQ) (A) and custard apple seed extract (B) by HPLC

3. การพัฒนาผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่า

เนื่องจากสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าที่ได้เป็นของเหลวที่มีความมัน การเตรียมผลิตภัณฑ์ในรูปแบบอิมัลชัน จะทำให้สารสกัดที่ละลายได้ในน้ำมันกระจายตัวได้ในน้ำด้วยสารลดแรงตึงผิว เมื่อทดลองผสมตัวทำละลาย (Solvent) และสารลดแรงตึงผิวกับสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า พบว่าบางสูตรเป็นของเหลวขุ่น บางสูตรเป็นของเหลวใส และบางชนิดเกิดการแยกชั้น จากการศึกษาของ Gupta และคณะ (2017) พบว่าการใช้สารผสมอิมัลชัน ควรใช้สารลดแรงตึงผิวมากกว่า 1 ชนิด เพราะจะทำให้อิมัลชันมีความเสถียรภาพมากกว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวเพียงชนิดเดียว ดังนั้นจึงทดลองผสมตัวทำละลาย (Solvent) และสารลดแรงตึงผิวหลัก (S1) และสารลดแรงตึงผิวร่วม (S2) ผสมกันที่อัตราส่วนต่างๆ แล้วนำไปผสมกับสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า พบว่าสูตรผสมบางสูตรเป็นสีน้ำตาล ใส แต่บางสูตร เป็นสีน้ำตาลขุ่น และหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง พบว่าบางสูตรเกิดตะกอน บางสูตรไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่บางสูตรเกิดการแยกชั้น และเมื่อทดสอบการกระจายตัวในน้ำ พบว่าทุกสูตรมีการกระจายตัวในน้ำได้ดี จากตารางที่ 1 จะเห็นว่าสูตรผสมสูตรที่ 3 ให้สารที่มีความคงตัว และมีเสถียรภาพมากที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mitrivona Z. และคณะ (2018) ได้ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของระบบอิมัลชันเมื่อใช้สารลดแรงตึงผิวผสม พบว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวผสมทำให้ระบบอิมัลชันมีความเสถียรมากกว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวเพียงชนิดเดียว ดังนั้นจึงเลือกสูตรผสมที่ 3 มาใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จนได้สูตร EC ที่มีลักษณะที่ดีและมีความคงตัว 1 สูตร (Figure 3)

เมื่อทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ และความคงตัวของสารสำคัญ ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน และอุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่าลักษณะของผลิตภัณฑ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ไม่เกิดตะกอน และการแยกชั้น แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์สูตร EC ที่ได้มีความคงตัว และเมื่อทดสอบคุณภาพทางเคมีด้วยการตรวจสอบจากปริมาณของสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ที่เหลืออยู่ พบว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณของสารสำคัญกลุ่ม acetogenins เหลือมากที่สุด เมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่เก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียส และการอบที่ 54 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วัน ลดลงจากเริ่มต้นร้อยละ 6.67, 13.33 และ 20.00 ตามลำดับ (Table 2)

Table 1 Physical characteristics of emulsion system

emulsion system	Physical characteristics	
	Freshly	after 24 hrs.
1	Brown color, clear	Brown color, clear, flocculent
2	Brown color, clear	Brown color, clear, flocculent
3	Brown color, clear	Brown color, clear, no phase separation
4	Brown color, slightly turbidity	Brown color, slightly turbidity, no phase separation
5	Brown color, slightly turbidity	Brown color, slightly turbidity, no phase separation
6	Brown color, slightly turbidity	Brown color, slightly turbidity, no phase separation
7	Brown color, slightly turbidity	Brown color, slightly turbidity, no phase separation
8	Brown color, slightly turbidity	Brown color, slightly turbidity, no phase separation
9	Brown color, turbidity	Brown color, turbidity, no phase separation
10	Brown color, turbidity	Brown color, turbidity, phase separation
11	Brown color, turbidity	Brown color, turbidity, phase separation

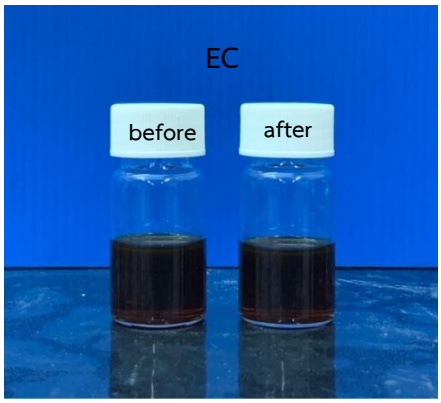

Figure 3 Physical characteristics of product (EC) before and after heating at 54 °C 14 days

Table 2 Percent remaining acetogenin (SQ) in the product at different temperatures and times

Time	Amount of active ingredient	
	% Acetogenins (%w/v)	% remain
0	0.15	100.00
at 4 ℃ 3 months	0.14	93.33
at 25 ℃ 3 months	0.13	86.67
Heating at 54 ℃ 14 days	0.12	80.00

4. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดน้อยหน่า ผลิตภัณฑ์น้อยหน่าสูตร EC ต่อหนอนใยผักในห้องปฏิบัติการ

4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดน้อยหน่าต่อหนอนใยผักวัย 2 ด้วยวิธี leaf dipping method วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี มีความเข้มข้นของสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า 5 ระดับ ดังนี้ 0.50, 1.00, 3.00, 5.00 และ 10.00 % w/v ตามลำดับ โดยมีน้ำเป็นกรรมวิธีควบคุม พบว่า สารสกัดเมล็ดน้อยหน่าทำให้หนอนใยผักตาย 37.50, 45.00, 77.50, 72.50 และ 100.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 3)

Table 3 Mortality of 2-instar larvae of *P. xylostella* after feeding on Chinese kale leaf treated with custard apple seed extract under laboratory conditions

Treatment	%Mortality of *P. xylostella*
1. custard apple seed extract 0.50%	37.50c
2. custard apple seed extract 1.00%	45.00c
3. custard apple seed extract 3.00%	77.50b
4. custard apple seed extract 5.00%	72.50b
5. custard apple seed extract 10.00%	100.00a
6. control	-
%CV	18.90

Remark: Means followed by the same letters within the column are not significantly different at 95% confidence limits based on DMRT analysis.

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์น้อยหน่าสูตร EC ต่อหนอนใยผักวัย 2 ด้วยวิธี leaf dipping method วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี มีความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์น้อยหน่าสูตร EC 5 ระดับ ดังนี้ 0.05, 0.10, 0.25, 0.35และ 0.50% w/v ตามลำดับ โดยมีน้ำเป็นกรรมวิธีควบคุม พบว่า ผลิตภัณฑ์น้อยหน่าสูตร EC ทำให้หนอนใยผักตาย 27.50, 50.00, 60.00, 77.50 และ 85.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 4)

Table 4 Mortality of 2-instar larvae of *P. xylostella* after feeding on Chinese kale leaf treated with Annona product (EC) under laboratory conditions

Treatment	% Mortality of 2-instar larvae of *P. xylostella*
1. Annona product (EC) 0.05%	27.50c
2. Annona product (EC) 0.10%	50.00ab
3. Annona product (EC) 0.25%	60.00ab
4. Annona product (EC) 0.35%	77.50b
5. Annona product (EC) 0.50%	85.00a
6. control	-
%CV	23.50

Remark: Means followed by the same letters within the column are not significantly different at 95% confidence limits based on DMRT analysis.

เมื่อนำผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า และผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC มาคำนวณค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมง ด้วยการวิเคราะห์โพรบิท พบว่าค่า LC_{50} ของสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า และผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC มีค่าเท่ากับ 1.70และ 0.06 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ

5. ทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์น้อยหน่าสูตร EC ต่อหนอนใยผักในแปลงเกษตรกร

นำผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปเมล็ดน้อยหน่าสูตร EC ทดสอบประสิทธิภาพที่แปลงเกษตรกร จังหวัดนครปฐม แปลงทดลองคะน้าขนาดแปลงย่อย 2x5 เมตร จำนวน 24แปลง พ่นสารทดลองตามกรรมวิธีต่างๆ ทุก 5 วัน จำนวน 4 ครั้ง ตรวจนับหนอนใยผักก่อนพ่นสารทุกครั้ง (Table 5) พบว่า ก่อนการพ่นสารทดลองพบหนอนใยผักเฉลี่ย 0.34-0.40 ตัว/ต้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 1, 2, 3 และ 4 กรรมวิธีที่มีการพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC พบหนอนใยผักอยู่ระหว่าง 0.08-0.10, 0.08-0.10, 0.04-0.06 และ 0.04-0.09 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่พบหนอนใยผัก 0.30, 0.26, 0.16 และ 0.19 ตัว/ต้น ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารเปรียบเทียบ *Bacillus thuringiensis* หลังการพ่นสารครั้งที่ 1, 2, 3 และ 4 พบหนอนใยผัก 0.09, 0.09, 0.05 และ 0.05 ตัว/ต้น ตามลำดับ

Table 5 Average number of larvae diamondback moth on cabbage before and after spraying with custard apple seed extract product (EC) at Nakhornpathom province.

Treatment	Rate of application (ml/20 L of water)	number of larvae DBM per plant					% efficacy
		Before spraying	After spraying (times)				
			1	2	3	4	
1. Annona product (EC)	25	0.40	0.10 a	0.10 a	0.06 a	0.09a	55.00
2. Annona product (EC)	35	0.36	0.10 a	0.10 a	0.06 a	0.08a	55.56
3. Annona product (EC)	50	0.39	0.08 a	0.08 a	0.05 a	0.04a	79.49
4. Annona product (EC)	70	0.36	0.09 a	0.09 a	0.04 a	0.04a	77.78
5. *Bacillus thuringiensis*	80	0.34	0.09 a	0.09 a	0.05 a	0.05a	70.59
6. control		0.38	0.30 b	0.26 b	0.16 b	0.19b	-
%CV			22.71	39.49	56.12	67.57	
%RE				73.60	58.20	65.80	

Remark: Means followed by the same letters within the column are not significantly different at 95% confidence limits based on DMRT analysis.

ผลผลิตคะน้า (Table 6) หลังการตัดแต่งให้อยู่ในสภาพพร้อมส่งตลาดและทำการคัดแยกผล การทดลองพบว่าการพ่นสารตามกรรมวิธีให้ผลผลิตอยู่ระหว่าง 1.08-1.45 กิโลกรัม/ตารางเมตร ซึ่งมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่ให้ผลผลิตอยู่ที่ 1.06 กิโลกรัม/ตารางเมตร ส่วนกรรมวิธีที่พ่นสารเปรียบเทียบ *Bacillus thuringiensis* ให้ผลผลิตอยู่ที่ 1.33 กก./ตารางเมตร

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC ในแปลงเกษตรกร จังหวัดกาญจนบุรีจากการพ่นสารทดลองด้วยกรรมวิธีต่างๆ ทุก 5วัน จำนวน 4 ครั้ง ตรวจนับหนอนใยผักก่อนพ่นสารทุกครั้ง (Table 5) พบว่าก่อนการพ่นสารทดลองพบหนอนใยผักเฉลี่ย 0.40-0.53 ตัว/ต้น

หลังการพ่นสารครั้งที่ 1, 2, 3 และ 4 กรรมวิธีที่มีการพ่นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC พบหนอนใยผักอยู่ระหว่าง 0.08-0.15, 0.13-0.28, 0.14-0.26 และ 0.14-0.38 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่พบหนอนใยผัก 0.36, 0.44, 0.51 และ 0.64 ตัว/ต้น ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารเปรียบเทียบ *Bacillus thuringiensis* หลังการพ่นสารครั้งที่ 1, 2, 3 และ 4 พบหนอนใยผัก 0.09, 0.11, 0.26 และ 0.11 ตัว/ต้น ตามลำดับ

Table 6 Average number of larvae diamondback moth on cabbage before and after spraying with custard apple seed extract product (EC) at Kanchanaburi province.

Treatment	Rate of application (ml/20 L of water)	number of larvae DBM per plant					% efficacy
		Before spraying	After spraying (times)				
			1	2	3	4	
1. Annona product (EC)	25	0.53	0.08 a	0.13 a	0.26 a	0.38 b	40.63
2. Annona product (EC)	35	0.49	0.15 a	0.13 a	0.19 a	0.21 a	64.51
3. Annona product (EC)	50	0.46	0.13 a	0.14 a	0.20 a	0.16 a	71.20
4. Annona product (EC)	70	0.40	0.15 a	0.28 b	0.14 a	0.14 a	71.02
5. *Bacillus thuringiensis*	80	0.44	0.09 a	0.11 a	0.25 a	0.10 a	79.30
6. control		0.53	0.36 b	0.44 c	0.51 b	0.64 c	-
%CV		17.00	63.80	36.90	36.90	25.10	
%RE				93.60	55.70	68.00	

Remark: Means followed by the same letters within the column are not significantly different at 95% confidence limits based on DMRT analysis.

ผลผลิตคะน้า (Table 7) หลังการตัดแต่งให้อยู่ในสภาพพร้อมส่งตลาดและทำการคัดแยก ผลการทดลองพบว่าการพ่นสารตามกรรมวิธีให้ผลผลิตอยู่ระหว่าง 1.25-1.75 กิโลกรัม/ตารางเมตรซึ่งมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่ให้ผลผลิตอยู่ที่ 0.48 กิโลกรัม/ตารางเมตร ส่วนกรรมวิธีที่พ่นสารเปรียบเทียบ *Bacillus thuringiensis* ให้ผลผลิตอยู่ที่ 1.35 กิโลกรัม/ตารางเมตร

Table 7 Yields of Chinese Kales after spraying with Annona product (EC) at Nakhornpathom and Kanchanaburi province.

Treatment	Rate of application (ml/20 L of water)	Yields at Nakhornpathom (kg/m^2)	Yields at Kanchanaburi (kg/m^2)
1. Annona product (EC)	25	1.08 b	1.65 a
2. Annona product (EC)	35	1.19 ab	1.75 a
3. Annona product (EC)	50	1.14 ab	1.70 a
4. Annona product (EC)	70	1.45 a	1.25 ab
5. *Bacillus thuringiensis*	80	1.33 ab	1.35 a
6. control		1.06 b	0.48 b
%CV		16.20	38.70

Remark: Means followed by the same letters within the column are not significantly different at 95% confidence limits based on DMRT analysis.

จากการพ่นสารผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC ของทั้ง 2 แปลงการทดลอง พบว่าผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Londershausen M.และคณะ (1991) ที่พบว่าสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า (*Annona*

squamosa) มีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าแมลง ซึ่งไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NADH-cytochrome c-reductase และ complex I ในกลไกการหายใจระดับเซลล์ในไมโตรคอนเดรียของแมลง โดยสังเกตระดับATP ในหนอนใยผัก ซึ่งแตกต่างจากยาฆ่าแมลงทางเคมีที่มีผลต่อระบบประสาทเป็นหลัก เช่น cyfluthrin หรือ parathion เป็นต้น Degli M. Esposti และ คณะ (1994) รายงานว่า สารสกัดด้วยเมทานอลจากเมล็ดน้อยหน่า มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NADH dehydrogenase (Complex I) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง ATP ในเซลล์สิ่งมีชีวิต มีผลทำให้ระบบการทำงานภายในเซลล์ผิดปกติ จนทำให้แมลงตายได้ในที่สุด และสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าด้วยเอทานอลความเข้มข้น 0.50 % w/v มีประสิทธิภาพต่อหนอนใยผัก ทำให้หนอนใยผักตายมากกว่าสารโรติโนนความเข้มข้น 1 % w/v ถึง 2.5 เท่า และยังมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับไพรีทรัม ซึ่งเป็นสารฆ่าแมลงที่ได้จากพืชที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย (Audrey J. Leatemia และ Murray B. Isman, 2004) และเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการกำจัดหนอนใยผัก พบว่าทั้ง 2 แปลงการทดลอง ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC ที่อัตรา 50-70 ม.ล./น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพเฉลี่ยที่ 71.02-79.49 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการใช้สารทดลอง *Bacillus thuringiensis* ที่มีประสิทธิภาพเฉลี่ยที่ 70.56-79.30 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเทียบผลผลิตของทั้ง 2 แปลงการทดลอง พบว่าการให้สารทดลองผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC ได้ผลผลิตใกล้เคียงกับสารทดลอง *Bacillus thuringiensis* ทั้งนี้ประสิทธิภาพการกำจัดหนอนใยผักและผลผลิตที่บันทึกได้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆอย่าง เช่น genetic heterogeneity ของสิ่งทดลองมีสูง ความแปรปรวนของสภาพอากาศ และความแตกต่างของระยะของหนอนใยผักในแต่ละการทดลองไม่เท่ากัน เป็นต้น

สรุปผลการทดลอง

การวิจัยพัฒนา ประสิทธิภาพ สารสกัดและสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่า เพื่อการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในครั้งนี้ ได้นำสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่ามาพัฒนาเป็นสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปได้ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC และจากผลการประเมินลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ พบว่ามีลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ดี เป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อนำไปกระจายตัวในน้ำ สามารถกระจายตัวในน้ำได้ดี และไม่แยกชั้น เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC พบว่ามีผลทำให้หนอนใยผักตาย อยู่ระหว่าง 27.50-85.00 เปอร์เซ็นต์ ทดสอบประสิทธิภาพต่อหนอนใยผักในแปลงคะน้าเกษตรกร โดยทำแปลงทดสอบ 2 แปลง 2 สถานที่ คือ แปลงทดสอบที่จังหวัดนครปฐม และแปลงทดสอบที่จังหวัดกาญจนบุรี พบว่าการพ่นสารผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักได้ดีไม่แตกต่างกันทางสถิติจากการพ่นสารทดลอง *Bacillus thuringiensis* และเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการกำจัดหนอนใยผัก พบว่าทั้ง 2 แปลงการทดลอง ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC ที่อัตรา 50 และ 70 ม.ล./น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพเฉลี่ยที่ 71.02-79.49 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการใช้สารทดลอง *Bacillus thuringiensis* ที่มีประสิทธิภาพเฉลี่ยที่ 70.56-79.30 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเทียบผลผลิตของทั้ง 2 แปลงการทดลอง พบว่าการให้สารทดลองผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC ได้ผลผลิตใกล้เคียงกับสารทดลอง *Bacillus thuringiensis* เช่นเดียวกัน ดังนั้นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน่าสูตร EC จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในแปลงคะน้า และสามารถใช้เป็นสารกำจัดศัตรูพืชทางเลือกเพื่อลดการใช้สารเคมีในแปลงเกษตรกรหรือการปลูกผักสวนครัวไว้รับประทานในครัวเรือน จากประสิทธิภาพของสารสำคัญที่ได้จากสารสกัดเมล็ดน้อยหน่านี้ สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดการทำผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น เช่น การทำผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีนาโนเทคโนโลยี

เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ เพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืช และเป็นการสนับสนุนการลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชตามนโยบายต่อไป

การนำไปใช้ประโยชน์

ผลการวิจัยนี้ สามารถพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์สารกำจัดศัตรูพืชจากน้อยหน่า ซึ่งสามารถใช้เป็นปัจจัยการผลิตที่ช่วยลดการใช้วัตถุมีพิษการเกษตรจากสารเคมี เพิ่มคุณภาพชีวิต ประหยัดค่าใช้จ่าย และเพิ่มมูลค่าให้เกิดประโยชน์สูงสุดจากเมล็ดที่เหลือจากการบริโภค โดยสามารถถ่ายทอดความรู้ไปยังนักวิจัย ภาครัฐ ภาคเอกชน เกษตรกรและผู้ที่สนใจต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ธิติยาภรณ์ อุดมศิลป์, พรรณีกา อัตตนนท์, ภัควรินทร์ ศานติธีรโรจน์ และเสาวภาคย์ สุขประเสริฐ. 2559. วิจัยประสิทธิภาพของสารสกัดจากน้อยหน่าในการควบคุมหนอนใยผัก. *รายงานโครงการวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติจากพืช.* กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 191 หน้า.

ภัควรินทร์ ศานติธีรโรจน์, พรรณีกา อัตตนนท์, และณัฐพร ฉันทศักดา. 2559. วิจัยหากลุ่มสารสำคัญในสารสกัดน้อยหน่าที่มีฤทธิ์ในการควบคุมหนอนใยผัก. *รายงานโครงการวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติจากพืช.* กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 191 หน้า.

Al-Lawati, H.T., K.M. Azam and M.L. Deadman. 2002. Insecticidal and repellent properties of subtropical plant extracts against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis*. *Agri Sci.* 7(1):37-45.

Andrade, E.H.A., G.B. Zoghbi, M. das, J.G.S. Maia, H. Fabricius and F. Marx. 2001. Chemical characterization of the fruit of *Annona squamosa* L. occurring in the Amazon**.** *J. Food Compos. Anal.* 14:227-232.

Audrey J. Leatemia and Murray B. Isman, 2004. Toxicity and antifeedant activity of crude seed extracts of *Annona squamosa* (Annonaceae) against lepidopteran pests and natural enemies. *International Journal of Tropical Insect Science.* 24(2):150-158.

Epino, P.B. and F. Chang. 1993. Insecticidal activity of *Annona squamosa* (L.) seed extracts against the mediterratnean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedenmann) (Diptera:Tephritidae). Philippine *Entomologist*, v. 9(2):228-238.

Gupta, A., A.Z. Md Badruddoza and P. S. Doyle. 2017, A General Route for Nanoemulsion Synthesis using Low Energy Methods at Constant Temperature*,* *Langmuir*, 33: 7118-7123.

Jamkhande, P.G. and A.S. Wattamwar. 2015. *Annona reticulata* Linn. (Bullock's heart): Plant profile, phytochemistry and pharmacological properties. *JTCM.* 5: 144-152.

Khalequzzaman, M and S. Sultana. 2006. Insecticidal activity of *Annona squamosa* L. seed extracts against the red flour beetle, *Tribolium castsnrum* (Herbst). *J Biol-Sci.,* 14:107-112.

Leatemia, J.A. and M.B. Isman. 2004a. Insecticidal activity of crude seed extracts of *Annona* spp., *Lansium domesticum* and *Sandoricum koetjape* against Lepidopteran Larvae. *Phytoparasitica* 32(1):30-37.

Leatemia JA, M.B. Isman. 2004b. Efficacy of crude seed extracts of *Annona squamosa* against diamondback moth, *Plutella xylostella* L. in the greenhouse. *Int J Pest Manag* 50:129–133.

Londershausen M., W. Leicht, F. Lieb, H. Moeschler and H. Weiss. 1991. Molecular mode of action of annonins. *Pestic. Sci.* 1991;33:427–438.

Mitrinova, Z., S. Tcholakova and N. Denkov. 2018. Control of surfactant solutions rheology using medium-chain cosurfactant. *J.Colsurfa***.** Vol.537:173-184.

Rao, N.S., K. Sharma and R.K. Sharma. 2005. Anti-feedant and growth inhibitory effects of seed extracts of custard apple, *Annona squamosa* against Khapra beetle, *Trogoderma granarium*. *J. Agri. Technol***.** 1(1):43-54.