รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย: วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตผลเกษตร

2. โครงการวิจัย: การลดความสูญเสียผลิตผลเกษตรจากแมลงศัตรู

กิจกรรม: การพัฒนาการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมแมลงศัตรูผลิตผลเกษตร

กิจกรรมย่อย: -

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การใช้เทคนิคเอนแคปซูเลชั่น (encapsulation) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูถั่วเขียว

ชื่อการทดลอง (ภาษอังกฤษ) : The encapsulation technique to increase the efficacy of essential oils to control mung bean beetle

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง:	นางสาวดวงสมร สุทธิสุทธิ์	กวป.
ผู้ร่วมงาน:	นางสาวรังสิมา เก่งการพานิช	กวป.
	นางสาววิมลวรรณ วัฒนวิจิตร	กวป.
	นางสาวศุภรา อัคคะสาระกุล	กวป.
	นางสาวจารุวรรณ์ รัตนสกุลธรรม	กวป.

5. บทคัดย่อ

ประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและน้ำมันหอมระเหยกานพลูโดยการใช้เทคนิคเอนแคปซูเลชั่นต่อการป้องกันกำจัดด้วงถั่วเขียว ได้ศึกษาที่ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวพืชไร่ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ระหว่างตุลาคม 2560 ถึงกันยายน 2563 โดยน้ำมันหอมระเหยข่าลิง น้ำมันหอมระเหยกานพลู เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ที่เก็บรักษาระยะเวลา 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 เดือน มาวิเคราะห์สารระเหยโดยเครื่อง GC-MS พบว่าน้ำมันหอมระเหยข่าลิงมีสารสำคัญหลัก คือ 1,8-cineole, β-sasquiphellant, azulene และ β-pinene โดยสารสำคัญที่พบขึ้นอยู่กับระยะเวลาการเก็บรักษาในแต่ละเดือน แต่สารสำคัญที่พบในเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงมีความคงที่ทุกระยะเวลาการเก็บรักษา คือ 4-allylphenyl acetate สำหรับน้ำมันหอมระเหยกานพลูและเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูพบ caryophyllene และ eugenol เป็นสารสำคัญตามลำดับ นอกจากนี้ ได้ทดสอบการเป็นสารสัมผัสของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิดที่ผ่านการทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้องและผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อตัวเต็มวัยด้วงถั่วเขียว จากการทดลองพบว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีประสิทธิภาพต่อการกำจัดตัวเต็มวัยด้วงถั่วเขียวมากกว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยทำแห้งโดยการผึ่งที่อุณหภูมิห้อง โดยที่ค่า LC_{50} ของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งโดยการผึ่งที่อุณหภูมิห้องและผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเท่ากับ >40 และ 11.63 กรัม/กิโลกรัม ขณะที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูมีค่า LC_{50} เท่ากับ 5.68 และ 1.45 กรัม/กิโลกรัม สำหรับการทดลองการเป็นสารรมของเอนแคปซูเลท

กรมวิชาการเกษตร

น้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ต่อระยะไข่ ระยะหนอนและ ระยะดักแด้ มีค่า LC_{50} เท่ากับ 5.09, 4.91 และ 5.57 กรัม/กิโลกรัม ขณะที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีค่า LC_{50} เท่ากับ 3.27, >40 และ >40 กรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ โดยที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสามารถลดจำนวนการวางไข่ ได้มากกว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิด มีประสิทธิภาพดีในการยังยั้งการเกิดของตัวเต็มวัยรุ่นลูกของด้วงถั่วเขียว

คำหลัก: ด้วงถั่วเขียว น้ำมันหอมระเหย ข่าลิง กานพลู เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหย

Abstract

Encapsulation technique of *Alpinia conchigera* oils and *Syzygium aromaticum* oil were investigated with *Callosobruchus maculatus* under laboratory at Postharvest Technology on Field Crops Research and Development Group, Postharvest and Processing Research and Development Division during October 2017 to September 2021. *Alpinia conchigera* oil, *S. aromaticum* oil, *A. conchigera* oil encapsulated with freeze-drying and *S. aromaticum* oil encapsulated with freeze-drying were stored for 0, 2, 4, 6, 8 10, and 12 months. The samples were taken and identified volatile compound by GC-MS. The results concluded that the main compositions of *A. conchigera* oil were 1 ,8-cineole, β-sasquiphellant, azulene and β-pinene which was variety in each months. The major component of *A. conchigera* oils encapsulated was 4-allylphenyl acetate in all samples. On the other hand, caryophyllene and eugenol were found as the main compounds of *S. aromaticum* oil and *S. aromaticum* oil encapsulated, respectively. Furthermore, the contact toxicity of 2 types of oils encapsulated with room-temperature drying and freeze-drying were evaluated with *C. maculatus* adults. The results found that the oils encapsulated with freeze-drying were more effective on *C. maculatus* adults than the oils encapsulated with room-temperature drying. The LC_{50} value of *A. conchigera* oils encapsulated with room-temperature drying and freeze-drying were >40 and 11.63 g/kg while 5.68 and 1.45 g/kg for *S. aromaticum* oil encapsulated. For the fumigation experiment, the LC_{50} values of egg, larva, and pupa of *C. maculatus* were 5.09, 4.91 and 5.57 g/kg, for *A. conchigera* oils encapsulated with freeze-drying and 3.27, >40 and >40 g/kg for *S. aromaticum* oil encapsulated with freeze-drying, respectively. *Alpinia conchigera* oil encapsulated was more decreased the number of laid egg of *C. maculatus* than *S. aromaticum* oil encapsulated. All oils encapsulated were against adult emergence of *C. maculatus* progeny.

กรมวิทยาศาสตร์

Keywords: *Callosobruchus maculatus*, essential oil, *Alpinia conchigera*, *Syzygium aromaticum,* oil encapsulated

6. คำนำ

ถั่วเขียว (Mungbean; *Vigna radiate* (L.) Wilczek) เป็นพืชล้มลุกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญในอาหารมังสวิรัติในเอเชียและแอฟริกา (Stanton et al., 1966) โดยเมล็ดถั่วเขียวมีการเปลี่ยนแปลงทั้งคุณภาพและปริมาณระหว่างการเก็บรักษาจากการเข้าทำลายของแมลงศัตรูผลิตผลเกษตร ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายในเมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาในเขตอบอุ่นประมาณ 5-10 % และ 20-30 % ในเขตร้อน (Nakakita, 1998) นอกจากนี้ Caswell (1981) กล่าวว่าถั่วเขียวที่เก็บเป็นเวลา 3 ถึง 4 เดือน มีความสูญเสียประมาณ 50% จากด้วงถั่วเขียว *Callosobruchus maculatus* (F.) และด้วงถั่วเหลือง *Callosobruchus chinensis* (L.) (Coleoptera: Bruchidae) ซึ่งแมลงทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นแมลงกลุ่มแรกที่ทำลายเมล็ดถั่วที่เก็บรักษาและพบแพร่กระจายทั่วไปได้ในประเทศไทย (พรทิพย์และคณะ, 2548) โดยในระยะหนอนสามารถสร้างความเสียหายให้กับเมล็ดถั่วเขียวมากที่สุด เนื่องจากระยะตัวเต็มวัยของแมลงทั้ง 2 ชนิดนี้ไม่กินอาหารจึงเป็นระยะการเจริญเติบโตที่ไม่ทำลายเมล็ดถั่วเขียว สำหรับการเก็บรักษาเมล็ดถั่วเขียวเพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูถั่วเขียวสามารถทำได้โดยหมั่นตรวจเมล็ดถั่วเขียวที่เก็บรักษาอย่างน้อยเดือนละครั้งว่ามีการเข้าทำลายของด้วงถั่วเขียวหรือไม่ รวมทั้งใช้ diatomaceous earth (DE) จำนวน 2 กรัม/ตารางเมตร โรยไปในถังไซโลก่อนการนำถั่วเขียวเข้าเก็บรักษา และไม่นำเอาถั่วเขียวที่เก็บรักษาระยะเวลานานมาเก็บรักษาร่วมกับถั่วเขียวที่เก็บรักษาใหม่ เพื่อป้องกันการเข้าทำลายเมล็ดถั่วเขียวใหม่ของด้วงถั่วเขียว สามารถนำเมล็ดถั่วเขียวมาเก็บที่อุณหภูมิ 10-20 องศาเซลเซียส ในถังไซโลหรือเก็บถั่วเขียวในกระสอบ 1ตัน ในพื้นที่ที่เย็น และเป็นพื้นที่ที่แสงแดดส่องไม่ถึง เพราะแมลงชนิดนี้มีวงจรชีวิตที่รวดเร็ว โดยระยะการเจริญเติบโตจากไข่ไประยะตัวเต็มวัยเพียง 3-4 อาทิตย์ เมื่ออุณหภูมิของเมล็ดถั่วเขียวอยู่ที่ 30-32 องศาเซลเซียส และถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส ด้วงถั่วเขียวจะหยุดการเจริญเติบโต นอกจากนี้ในประเทศออสเตรเลียมีการใช้สารรมฟอสฟีนในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูผลิตผลเกษตรในถั่วเขียว อัตราของสารรมฟอสฟีนที่แนะนำคือ 3 เม็ด (tablets) ต่อ 2 ลูกบาศก์เมตร ระยะเวลารม 10 วัน (Anonymous, 2020) แต่การใช้สารรมฟอสฟีนมีอันตรายต่อผู้ใช้หากปฏิบัติไม่ถูกต้อง แมลงเกิดความต้านทาน รวมทั้งสามารถกำจัดแมลงชนิดอื่นที่ไม่ใช่แมลงเป้าหมายได้และมีผลต่อสภาพแวดล้อมและสุขภาพของมนุษย์ (Champ and Dyte, 1976; Subramanyam and Hagstrum, 1995; White and Leesch, 1995) นอกจากวิธีการข้างต้นที่สามารถนำมาใช้ป้องกันกำจัดด้วงถั่วเขียวแล้ว ยังพบว่ามีการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยหลากหลายชนิดเพื่อป้องกันกำจัดด้วงถั่วเขียวเช่น น้ำมันหอมระเหยลูกจันทร์เทศ (*Myristica fragrans* Houtt.) น้ำมันหอมระเหยข่าลิง *(Alpinia conchigera* Griff.) (ดวงสมร และคณะ, 2558) น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส (*Eucalytus* spp.) น้ำมันหอมระเหยกานพลู (*Syzygium aromaticum* (L.) (Mahfuz and Khalequzzaman, 2007) และพบว่าน้ำมันหอมระเหยเหล่านี้มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดด้วงถั่วเขียว ดังนั้นการนำน้ำมันหอมระเหยจากพืชมาใช้ในการกำจัดด้วงถั่วเขียวจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการลดการใช้สารเคมี แต่การใช้น้ำมันหอมระเหยมาควบคุมด้วงถั่วเขียวและแมลงศัตรูผลิตผลเกษตรชนิดอื่นพบว่าประสิทธิภาพ

กรมวิชาการเกษตร

ไม่เท่ากับการใช้สารเคมี เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยมีระยะเวลาการออกฤทธิ์สั้น และมีการสลายตัวที่รวดเร็วเมื่อนำมาใช้งาน (War et al., 2017)

เทคนิคเอนแคปซูเลชั่น (encapsulation technique) เป็นเทคนิคที่ใช้ในกระบวนการผลิตอาหารและยา โดยที่เป็นกระบวนการที่สารหรือส่วนผสมของสารถูกเคลือบด้วยสารชนิดอื่นเพื่อป้องกันการสลายตัวของสารจากปัจจัยภายนอกต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น แสง และออกซิเจน โดยสารที่นิยมนำมาผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชั่นส่วนมากแล้วจะเป็นสารที่มีราคาแพง เช่น วิตามิน เอมไซม์ แร่ธาตุ และน้ำมันหอมระเหย โดยน้ำมันหอมระเหยที่ผ่านกระบวนการเอนแคปซูเลชั่น จะสามารถป้องกันไม่ให้น้ำมันหอมระเหยเกิดการสลายตัว ควบคุมการปลดปล่อยสารระเหยในน้ำมันหอมระเหย และสามารถเปลี่ยนรูปของน้ำมันหอมระเหยจากของเหลวเป็นของแข็ง ทำให้ใช้งานได้สะดวก จากคุณสมบัติดังกล่าวทำให้เพิ่มประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยได้ ซึ่งกระบวนการผลิตเอนแคปซูเลชั่นสามารถแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ 1. กระบวนการทางกายภาพ เช่น การอบแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) การทำเม็ดแบบการสั่นสะเทือน (vibration nozzle) และ สเปร์ชิลลิงและคลูลิง (spray chilling and cooling) 2. การใช้กระบวนการทางเคมี เช่นวิธี โคอาเซอร์เวชั่น (coacervation) โค-คริสทะไลเซชั่น (co-crystallization) โมเลคูล่า อินคูลชั่น (molecular inclusion) ไลโปโซม เอนเท็บเม้น (liposome entrapment) และ อินเตอร์ฟาเชี่ยว พอลิเมอร์ริเซชั่น (interfacial polymerization) (ณฐิฒา, 2561) โดยวิธีที่เหมาะสมในกระบวนการเอนแคปซูเลชั่นที่จะสามารถรักษาคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยให้มีประสิทธิภาพคือ วิธีโคอาเซอร์เวชั่น อีมัลซิฟีเคชั่น (emulsification) และ การอบแห้งแบบพ่นฝอย (Maes et al., 2019: Moretti et al., 2002)

Passino et al. (2004) ได้ศึกษาน้ำมันหอมระเหยโรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis*) และ น้ำมันหอมระเหยไทม์ (*Thymus vulgaris*) ที่นำมาทำเป็น microencapsulate และนำมาผสมกับอาหารเทียม พบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนผีเสื้อ *Plodia interpunctella* นอกจากนี้ Negahban et al. (2012) ได้ทำการศึกษาน้ำมันหอมระเหยของ *Artemisia sieberi* กับ น้ำมันหอมระเหยของ *Artemisia sieberi* ที่ได้ผ่านการทำ nano-encapsulation โดยได้ทดสอบกับตัวเต็มวัยของมอดแป้งด้วยวิธีการทดสอบการเป็นสารรม พบว่าน้ำมันหอมระเหยของ *Artemisia sieberi* มีค่า LC_{50} เท่ากับ 15.68 ppm ขณะที่น้ำมันหอมระเหยของ *Artemisia sieberi* ที่ได้ผ่านการทำ nano-encapsulation มีค่า LC_{50} เท่ากับ 11.24 ppm และเมื่อพิจารณาถึงช่วงเวลาครึ่งชีวิต (LT_{50}) ของน้ำมันหอมระเหย *Artemisia sieberi* ที่ได้ผ่านการทำ nano-encapsulation พบว่ามีค่าช่วงเวลาครึ่งชีวิต LT_{50} เท่ากับ 28.73 วัน ซึ่งนานกว่า น้ำมันหอมระเหย *Artemisia sieberi* ที่มีค่า LT_{50} เท่ากับ 4.27 วัน ดังนั้นการนำเอาเทคนิคเอนแคปซูเลชั่นมาใช้กับน้ำมันหอมระเหยจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยชนิดนั้นๆได้ จึงได้ศึกษาการเอนแคปซูเลชั่นน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและน้ำมันหอมระเหยกานพลูเพื่อใช้ป้องกันกำจัดด้วงถั่วเขียว

กรมวิชาการเกษตร

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. เมล็ดถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2
2. น้ำมันหอมระเหยข่าลิง และน้ำมันหอมระเหยกานพลู
3. เครื่องสกัดน้ำมันหอมระเหย Clevenger-type apparatus
4. เครื่องหั่นซอยผัก-ผลไม้ ยี่ห้อ Wasino
5. น้ำบริสุทธิ์ (Reverse Osmosis; RO)
6. เครื่องห่อหุ้มสารตัวอย่าง Encapsulator ยี่ห้อ Buchi รุ่น B 950 pro
7. เครื่องปั่น Ultra Turrax homogenizer ยี่ห้อ Ika รุ่น T25 digital
8. ตู้แช่แข็งอุณหภูมิต่ำ (Ultra low temperature freezer) ยี่ห้อ new brunswick science รุ่น C340-86
9. เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) ยี่ห้อ Christ รุ่น Delta 2-24 LSC
10. เครื่อง GC-MS ยี่ห้อ PerkinElmer GC รุ่น Clarus 680 และ MS รุ่น Clarus SQ8T
11. สารเคมี เช่น แอลจิเนต (alginate) แคลเซียมคลอไรด์ (calcium Chloride) และกลีเซอรอล (glycerol)
12. อุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องแก้ว กระดาษกรอง ฯลฯ

- วิธีการ

7.1 การเลี้ยงขยายพันธุ์แมลงศัตรูถั่วเขียวและการสกัดน้ำมันหอมระเหย

นำเมล็ดถั่วเขียวแช่ในตู้แช่เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 2-4 อาทิตย์ เมื่อต้องการใช้เมล็ดถั่วเขียวนำเมล็ดถั่วเขียวมาแช่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำเมล็ดถั่วเขียวมาผึ่งที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้ความเย็นลดลงและนำมาใช้เลี้ยงด้วงถั่วเขียวต่อไป เพื่อเตรียมเลี้ยงด้วงถั่วเขียวในแต่ละระยะการเจริญเติบโตดังนี้

ระยะไข่: ปล่อยตัวเต็มวัยด้วงถั่วเขียว อายุ 0-3 วัน จำนวน 20 คู่ ในขวดที่บรรจุเมล็ดถั่วเขียว 100 กรัม ปิดฝาขวดด้วยกระดาษซับ ทิ้งไว้ 1 วัน คัดตัวเต็มวัยออก เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องอีก 1 วัน จะได้ระยะไข่ที่มีอายุ 2 วัน สำหรับการทดลอง

ระยะหนอน: ทำเช่นเดียวกับระยะไข่ ก่อนการทดลอง 12 วัน

ระยะดักแด้: ทำเช่นเดียวกับระยะไข่ ก่อนการทดลอง 18 วัน

ระยะตัวเต็มวัย: ทดสอบตัวเต็มวัยด้วงถั่วเขียวอายุ 0-3 วัน

สำหรับการสกัดน้ำมันหอมระเหยข่าลิงเริ่มจากเก็บเหง้าข่าลิงจาก อ. ท่าศาลา จ. นครศรีธรรมราช และนำเหง้าข่าลิงมาล้างให้สะอาดและใช้เครื่องหั่นซอยผัก-ผลไม้ หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ หลังจากนั้นนำเหง้าข่าลิงที่หั่นแล้วจำนวน 6 กิโลกรัม เติมน้ำบริสุทธิ์ จำนวน 4 ลิตร ใส่ลงในเครื่องสกัดน้ำมันหอมระเหย Clevenger-type apparatus สกัดน้ำมันหอมระเหยเป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติม anhydrous sodium sulphate ลงในน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ได้เพื่อดึงน้ำออกจากน้ำมันหอมระเหย และนำน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่สกัดได้เก็บในตู้เย็น

สงวนวิชาการเกษตร

อุณหภูมิ 8-10 °C สำหรับน้ำมันหอมระเหยกานพลู (clove bud oil) นำมาจากบริษัท botanicessence เพื่อใช้ในงานทดลองต่อไป

7.2 การเอนแคปซูเลชั่นน้ำมันหอมระเหยในรูปแบบเม็ดบีดด้วยเครื่องห่อหุ้มตัวอย่าง (encapsulator)

7.2.1 เตรียมส่วนผสม 1 ส่วนด้วย แอลจิเนต จำนวน 4 กรัมผสมน้ำ 200 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำน้ำมันหอมระเหยและกลีเซอรอล จำนวนอย่างละ 10 มิลลิลิตรผสมสารละลายแอลจิเนตที่เตรียมไว้ และนำส่วนผสมทั้งหมดปั่นให้เข้ากันโดยใช้เครื่องปั่น Ultar Turrax ที่ความเร็วรอบ 10.0 rpm เป็นเวลา 30 นาที

7.2.2 นำส่วนผสมดังกล่าวมาทำเม็ดบีดโดยใช้เครื่องห่อหุ้มตัวอย่าง โดยให้ส่วนผสมที่เตรียมไว้หยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (แคลเซียมคลอไรด์ 20 กรัม ผสมน้ำ 500 มิลลิลิตร) โดยกำหนดค่าของเครื่องห่อหุ้มตัวอย่าง ดังนี้ ค่า frequency เท่ากับ 300 Hz ค่าความเร็วของ stirrer เท่ากับ 20 % ค่า pump เท่ากับ 18 ml/min ค่า electrode เท่ากับ 700 V และใช้หัวฉีดขนาด 450 µm จะทำให้ได้เม็ดบีดที่มีขนาดเท่าๆกัน

7.2.3 นำเม็ดบีดที่ได้มาทำแห้ง 2 วิธีดังนี้

7.2.3.1 การทำให้แห้งโดยผึ่งที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 28$\pm$2 องศาเซลเซียส และ ความชื้นสัมพัทธ์ 65$\pm$5 เปอร์เซ็นต์) โดยนำเม็ดบีดมาผึ่งบนกระดาษกรองและวางไว้ที่ห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

7.2.3.2 การทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยนำเม็ดบีดใส่ตู้แช่แข็งอุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาใส่เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

7.2.4 นำเม็ดบีดที่ได้จากการทำแห้งทั้ง 2 วิธี มาบรรจุในขวดสีชา และเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

7.3 การศึกษาสารระเหย (volatile compound) ของน้ำมันหอมระเหยและเอนแคปซูลเลทน้ำมันหอมระเหยระหว่างการเก็บรักษา 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 เดือน โดยเครื่อง GC-MS

นำน้ำมันหอมระเหยข่าลิง และน้ำมันหอมระเหยกานพลู จำนวน 500 ไมโครลิตร และเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งในรูปแบบเม็ดบีด จำนวน 0.5 กรัม บรรจุใส่ขวดสีชาขนาด 27 มิลลิลิตร พร้อมปิดฝาและพันพาราฟิลม์ให้สนิท จำนวนอย่างละ 12 ขวด หลังจากนั้นนำไปเก็บในตู้เย็นและสุ่มตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์สารระเหยตามระยะเวลาที่กำหนด

วิเคราะห์สารสำคัญที่ระเหยออกมาจากน้ำมันหอมระเหยและเอนแคปซูลเลทน้ำมันหอมระเหยโดยใช้ SPME-fiber (100 µm, polydimethylsiloxane: PDMS) โดยดัดแปลงมาจากกรรมวิธีของ Yang et al. (2009) ดังนี้

1. เจือจางน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและน้ำมันหอมระเหยกานพลูด้วยเมทานอลให้มีความเข้มข้น 0.1 และ 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร หลังจากนั้นปิเปตใส่ในขวดแก้ว (Vial; PerkinElmer) ขนาด 22 มิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ส่วนเอนแคปซูลเลทน้ำมันหอมระเหยรูปแบบเม็ดบีด นำมาชั่งใส่ขวดแก้วจำนวน 0.1 กรัม พร้อมกับใส่ mangnitic bar ปิดฝาขวดให้สนิท กวนตลอดเวลาด้วย magnetic stirrer ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

กรมวิชาการเกษตร

2. นำไฟเบอร์ SPME ชนิด PDMS ใส่ในขวดแก้ว เป็นเวลา 30 นาที เพื่อสกัดสารระเหย

3. วิเคราะห์สารสำคัญในสารระเหยของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิดด้วยเครื่อง GC-MS โดยใช้คอลัมน์เคปิลลารี (column capillary) ชนิด elite-5MS เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 เมตร ยาว 30 เมตร และความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร อุณหภูมิในการฉีด 250 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที โดยปรับอุณหภูมิคอลัมน์ดังนี้ อุณหภูมิเริ่มต้นตั้งไว้ที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 60 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียส/นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 230 องศาสเซลเซียส ด้วยอัตรา 10 องศาเซลเซียส/นาที และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 8 นาที และใช้ก๊าซฮีเลียมเป็นตัวพา (carrier gas) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตร/นาที ในระบบ split less MS สแกนช่วง M/z 35-500 Da ที่ 70 eV ionization ที่ 230 องศาเซลเซียสชนิดของสารระเหยจะถูกเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล Nisit library 2015

7.4 วิธีทดสอบประสิทธิภาพของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกับด้วงถั่วเขียว

7.4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการสัมผัสโดยการคลุกเมล็ด (contact toxicity)

นำเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกายพลูที่อยู่ในรูปเม็ดบีดและทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้องและทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงวางแผนแบบ CRD มี 5 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่คลุกเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง

กรรมวิธีที่ 2 คลุกเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง จำนวน 0.5 กรัม

กรรมวิธีที่ 3 คลุกเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง จำนวน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 4 คลุกเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง จำนวน 2 กรัม

กรรมวิธีที่ 5 คลุกเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง จำนวน 4 กรัม

สำหรับเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูมีการวางแผนแบบ CRD มี 5 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่คลุกเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู

กรรมวิธีที่ 2 คลุกเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู จำนวน 0.1 กรัม

กรรมวิธีที่ 3 คลุกเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู จำนวน 0.2 กรัม

กรรมวิธีที่ 4 คลุกเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู จำนวน 0.4 กรัม

กรรมวิธีที่ 5 คลุกเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู จำนวน 0.8 กรัม

คลุกเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดให้ทั่วเมล็ดถั่วเขียว จำนวน 100 กรัม หลังจากนั้นปล่อยตัวเต็มวัย จำนวน 10 คู่ (ตัวผู้ 10 ตัวและ ตัวเต็มวัย 10 ตัว) เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำด้วงถั่วเขียวออกทั้งหมด พร้อมทั้งทำการเช็คอัตราการตายของแมลงดังกล่าว หลังจากนำตัวเต็มวัยออกไปแล้ว 3 วัน นับจำนวนไข่ของด้วงถั่วเขียวที่พบบนเมล็ดถั่วเขียว และเก็บเมล็ดถั่วเขียวดังกล่าวที่ห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 1 เดือน เพื่อเช็คจำนวนตัวเต็มวัยรุ่นลูกที่เกิดขึ้นใหม่

ศูนย์วิทยทรัพยากร

7.4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการรม (fumigation)

ปล่อยตัวเต็มวัย จำนวน 20 คู่ (ตัวผู้ 20 ตัวและ ตัวเมีย 20 ตัว) ลงในขวดแก้วที่บรรจุเมล็ดถั่วเขียว จำนวน 100 กรัม ปิดฝาขวดแก้วด้วยกระดาษซับ เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำตัวเต็มวัยออกทั้งหมด และเก็บเมล็ดถั่วเขียวดังกล่าวในระยะเวลาที่แตกต่างกันเพื่อให้ได้ด้วงถั่วเขียวในระยะต่างๆคือ ระยะไข่ (อายุ 2 วัน) ระยะหนอน (อายุ 12 วัน) ระยะดักแด้ (อายุ 18 วัน) และระยะตัวเต็มวัย (อายุ 0-3 วัน)

นำเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง และเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู ในรูปเม็ดบีดที่ทำแห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มาบรรจุในถุงกระดาษสาจำนวนที่แตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธี หลังจากนั้นนำมาวางในขวดแก้วที่บรรจุเมล็ดถั่วเขียวที่มีด้วงถั่วเขียวในระยะการเจริญเติบโตต่างๆ ปิดฝาขวดด้วยฝาพลาสติกและพันด้วยพาราฟิมล์ให้สนิท โดยการทดลองของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูทำแห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง วางแผนแบบ CRD มี 5 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง

กรรมวิธีที่ 2 ใส่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง หรือเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู จำนวน 0.5 กรัม

กรรมวิธีที่ 3 ใส่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง หรือเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู จำนวน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 4 ใส่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง หรือเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู จำนวน 2 กรัม

กรรมวิธีที่ 5 ใส่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง หรือเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู จำนวน 4 กรัม

เมื่อครบระยะเวลาการรม 7 วัน เปิดฝาขวดและถุงกระดาษที่บรรจุเม็ดบีทในแต่ละกรรมวิธี ออกจากขวดแก้ว และปิดฝาขวดแก้วด้วยกระดาษซับ และเก็บเมล็ดถั่วเขียวดังกล่าวที่ห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 1 เดือน เพื่อเช็คจำนวนตัวเต็มวัยรุ่นลูกที่เกิดใหม่

ข้อมูลทั้งหมดถูกวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี Analysis of varincec และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีโดยวิธี DMRT

- เวลาและ สถานที่ : ตุลาคม 2560 - กันยายน 2563
  กลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวพืชไร่
  กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
  กลุ่มวิจัยและพัฒนาการแปรรูปผลิตผลเกษตร
  กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

8.1 ลักษณะของเม็ดบีดของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและกานพลู

การเตรียมเม็ดบีดด้วยเครื่องห่อหุ้มตัวอย่างและทำแห้งโดยการผึ่งในห้องอุณภูมิห้อง และทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่า การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งทำให้ได้เม็ดบีดมีน้ำหนักน้อยกว่าการทำแห้งโดยการผึ่งที่อุณหภูมิห้อง โดยลักษณะของเม็ดบีดที่ได้จากการทำแห้งจะต่างกันโดยเม็ดบีดที่ทำแห้งโดยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ลักษณะเม็ดบีดจะมีลักษณะผิวไม่เรียบมีรอยหยัก แต่เม็ดบีดที่ทำแห้งโดยการผึ่งที่อุณหภูมิห้องมีลักษณะผิวเรียบ (Figure 1) โดยก่อนทำให้เม็ดบีดแห้งจะได้เม็ดบีดที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร การทำแห้งทั้ง 2 วิธี จะได้เม็ดบีดที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร

สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยก่อนทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้อง และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่าน้ำหนักเม็ดบีทของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงเท่ากับ 197.20 และ 152.27 กรัม โดยมีน้ำหนักของเม็ดบีทหลังทำแห้งเฉลี่ย เท่ากับ 25.00 และ 17.24 กรัม ตามลำดับขณะที่น้ำหนักของเม็ดบีทของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูเฉลี่ย เท่ากับ 171.90 และ 186.15 กรัม และหลังทำแห้งด้วยวิธีทั้ง 2 แบบ คือ 37.05 และ 19.79 กรัม ตามลำดับ จากข้อมูลจะเห็นได้ว่าน้ำหนักของเม็ดบีทที่ผ่านการทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้องมีน้ำหนักของเม็ดบีทมากกว่าการทำแห้งด้วยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

8.2 การศึกษาสารระเหย (volatile compound) ของน้ำมันหอมระเหยและเอนแคปซูลเลทน้ำมันหอมระเหยระหว่างการเก็บรักษา 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 เดือน โดยเครื่อง GC-MS

การวิเคราะห์ชนิดสารสำคัญที่ระเหยในน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่เก็บรักษาไว้ 0-12 เดือน ด้วยเครื่อง GC-MS พบว่าสารสำคัญที่ระเหยในน้ำมันหอมระเหยข่าลิงแต่ละเดือนมีความผันแปรเนื่องจากสารสำคัญของน้ำมันหอมระเหยข่าลิงมีการระเหยมากน้อยแตกต่างกันแต่ละเดือนทำให้สารสำคัญที่เหลือบนไฟเบอร์ SPME ที่สามารถดักจับได้มีความแตกต่างกันโดยเดือนที่ 0 น้ำมันหอมระเหยข่าลิงพบสารสำคัญทั้งหมด 18 ชนิด โดยมี 1,8-cineole (38.41%) β-pinene (29.59%) และ α-pinene (9.07%) เป็นสารสำคัญที่พบมากเป็น 3 อันดับแรก เดือนที่ 2 น้ำมันหอมระเหยข่าลิงพบสารสำคัญทั้งหมด 18 ชนิด และสารสำคัญที่พบมาก คือ β-sesquiphellant (29.42%) β-pinene (26.68%) และ α-pinene (9.90%) เดือนที่ 4 น้ำมันหอมระเหยข่าลิงพบสารสำคัญทั้งหมด 21 ชนิดโดยมี azulene (34.28%) 1,8-cineole (24.83%) β-pinene (9.68%) เป็นสารสำคัญ เดือนที่ 6 น้ำมันหอมระเหยข่าลิงพบสารสำคัญทั้งหมด 18 ชนิดโดยมี β-pinene (42.33%) α-pinene (13.73%) และ β-sesquiphellant (13.54%) เป็นสารสำคัญ 3 อันดับแรก เดือนที่ 8 น้ำมันหอมระเหยข่าลิงพบสารสำคัญทั้งหมด 19 ชนิดโดยมี β-pinene (41.03%) β-sesquiphellant (12.38%) และ α-pinene (10.87%) เป็นสารสำคัญ เดือนที่ 10 น้ำมันหอมระเหยข่าลิงพบสารสำคัญทั้งหมด 18 ชนิดโดยมี β-pinene (31.87%) azulene (12.38%) และ α-pinene (10.24%) เป็นสารสำคัญ และเดือนที่ 12 พบว่าน้ำมันหอมระเหยข่าลิงมีสารสำคัญทั้งหมดเพียง 14 ชนิด โดยมี β-pinene (49.93%) α-pinene (18.92%) และ1,8-cineole (12.43%) เป็นสารสำคัญ 3 อันดับแรก (Table 1)

กรมวิชาการเกษตร

สำหรับเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงในเดือนที่ 0-12 พบว่า ในเดือนที่ 0 พบสารสำคัญทั้งหมด 22 ชนิด แต่ในเดือนที่ 2, 4, 6, 8 และ 10 พบสารสำคัญทั้งหมด 21 ชนิด โดยสารสำคัญที่ไม่พบคือ ocimeme ในขณะที่เดือนที่ 12 พบสารสำคัญทั้งหมด 20 ชนิด และไม่พบ ocimeme และ α-terpineol ในเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและพบว่าสารสำคัญที่พบในแต่ละเดือน 3 อันดับแรก ในเดือนที่ 0 คือ 4-allylphenyl acetate (23.22%) β-sesquiphellant (21.46%) และ β-pinene (12.84%) ในเดือนที่ 2 พบ 4-allylphenyl acetate (44.35%) β-sesquiphellant (13.27%) และ 1,8-cineole (10.94%) เดือนที่ 4 พบ 4-allylphenyl acetate (36.60%) β-sesquiphellant (17.06%) และ 1,8-cineole (12.58%) เดือนที่ 6 พบ 4-allylphenyl acetate (41.61%) 1,8-cineole (15.20%) และ β-sesquiphellant (11.24%) เดือนที่ 8 พบ 4-allylphenyl acetate (52.21%) β-sesquiphellant (11.21%) และ 1,8-cineole (9.82%) เดือน 10 พบ 4-allylphenyl acetate (49.09%) β-sesquiphellant (14.67%) และ 1,8-cineole (10.24%) เดือนที่ 12 พบ 4-allylphenyl acetate (43.45%) 1,8-cineole (19.32%) และ terpinen-4-ol (9.84%) (Table 2) จากข้อมูลที่ได้พบว่าสารสำคัญที่ชื่อว่า 4-allylphenyl acetate เป็นสารสำคัญที่พบในปริมาณมากเป็นอันดับ 1 ในทุกๆ เดือน แต่สารสำคัญชนิดนี้ไม่พบในน้ำมันหอมระเหยข่าลิงในทุกเดือนที่ทำการทดสอบ โดยเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงสามารถกักเก็บ 4-allylphenyl acetate, β-sesquiphellant และ 1,8-cineole ได้เป็นอย่างดีในแต่ละเดือน และเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงสามารถพบจำนวนสารสำคัญและมีความคงที่ในการปลดปล่อยสารสำคัญมากกว่าสารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยข่าลิง โดยสารสำคัญที่พบในเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง พบว่า มีประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดแมลง เช่น Alighiri et al. (2018) ได้ทดสอบการเป็นสารไล่ของน้ำมันหอมระเหยจากใบพลู (*Piper betle* L.) พบ 4-allylphenyl acetate เป็นสารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากใบพลูและมีคุณสมบัติในการเป็นสารไล่ยุง (*Aedes aegypti*) สำหรับสาร 1,8-cineole พบว่าสารสำคัญชนิดนี้สามารถพบได้ในพืชหลายชนิดและเป็นสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูผลิตผลเกษตร เช่น น้ำมันหอมระเหยจากใบหลิวดอก *Callistemon citrinus* (Curtis) พบ 1,8-cineole และ α-pinene เป็นสารสำคัญ โดยน้ำมันหอมระเหยจากใบหลิวดอกสามารถกำจัดด้วงถั่วเขียวเพศผู้ (LC_{50} เท่ากับ 12.88 ไมโครลิตร/ลิตร) ได้ดีกว่าเพศเมีย (LC_{50} เท่ากับ 84.4 ไมโครลิตร/ลิตร) เมื่อทดสอบการเป็นสารรมและน้ำมันหอมระเหยจากใบหลิวดอกสามารถใช้เป็นสารไล่ในด้วงถั่วเขียวได้ด้วยเช่นกัน (Zandi-Sohani et al., 2013) นอกจากนี้ Ajayi et al., (2014) ได้ทดสอบสารสำคัญ 8 ชนิดกับด้วงถั่วเขียวในการเป็นสารรม พบว่าสาร 1,8-cineole และ carvacrol มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการเป็นสารรม และสามารถยับยั้งการวางไข่ได้เป็นอย่างดี ดังนั้นการใช้เทคนิคเอนแคปซูเลชั่นจึงเป็นเทคนิคที่ช่วยกักเก็บสารระเหยในน้ำมันหอมระเหยและช่วยในการปลดปล่อยสารระเหยในช่วงระยะเวลาต่างๆทำให้สารสำคัญดังกล่าวสามารถออกฤทธิ์ในการป้องกันกำจัดแมลงให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น

สำหรับสารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยกานพลูพบว่ามี 8 ชนิด โดยในเดือนที่ 0, 2, 4 และ 6 ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกันคือพบ caryophllene (91.89, 93.51, 93.94 และ 89.17%), humulene (5.27, 4.56, 3.91 และ 5.13%), α-cubebene (1.88, 1.27, 1.52 และ 5.03%) และ cadina-1-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

(10),4-diene (0.41, 0.35, 0.36, 0.38%) เป็นสารสำคัญ 4 อันดับแรก และพบ eugenol (0.04, 0.02, 0.06 และ 0.06%) เป็นสารสำคัญที่มีปริมาณน้อยที่สุด ขณะที่ในเดือนที่ 8 และ10 พบ cayophllene (37.62 และ 64.94%) มากที่สุดเหมือนในเดือนก่อนๆ แต่สารสำคัญที่พบเป็นอันดับ 2 คือ eugenol (32.52 และ 31.14 %) ขณะที่เดือนที่ 12 พบสารสำคัญที่มีปริมาณมากเป็นอันดับ 1 แตกต่างจากเดือนอื่นๆ คือพบ humulene (50.10%) และพบ cayophllene (49.37%) เป็นสารสำคัญอันดับ 2 และพบ **α**-cubebene (0.38%) เป็นสารสำคัญอันดับ 3 (Table 3)

ขณะที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูพบว่ามีจำนวนสารสำคัญเท่ากับน้ำมันหอมระเหยกานพลู คือ พบ สารสำคัญ 8 ชนิด แต่สารสำคัญที่พบมีปริมาณแตกต่างจากน้ำมันหอมระเหยกานพลู โดยในเดือนที่ 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 พบสารสำคัญที่มีปริมาณมากอันดับ 1 คือ eugenol มีปริมาณสารสำคัญเท่ากับ 65.65, 72.19, 67.37, 88.39, 86.94, 83.03 และ 77.21%) อันดับที่ 2 พบ caryophyllene มีปริมาณสารสำคัญเท่ากับ 29.49, 25.19, 29.76, 9.23, 8.62, 13.74 และ 19.37% และ ในดือนที่ 0 2 4 6 และ 8 พบ aceteugenol มีปริมาณมากเป็นอันดับ 3 โดยมีปริมาณสารสำคัญเท่ากับ 2.53, 1.84, 1.63, 1.83, และ3.91 % ตามลำดับ แต่ในเดือนที่ 10 และ 12 พบ cadina-1-(10),4-diene เป็นสารสำคัญที่พบเป็นอันดับ 3 โดยมีปริมาณสารสำคัญเท่ากับ 1.76 และ 2.36% (Table 4)

จากข้อมูลของน้ำมันหอมระเหยกานพลูและเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูพบว่าสารสำคัญที่พบมีปริมาณแตกต่างกันอย่างมากโดยเฉพาะปริมาณของ eugenol ที่พบในน้ำมันหอมระเหยกานพลูมีปริมาณน้อยกว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหนกานพลู โดยสารสำคัญ eugenol เป็นสารสำคัญที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูผลิตผลเกษตรหลากหลายชนิด เช่น ด้วงงวงข้าวโพด (Regnault-Roger et al. 2012) ด้วงงวงข้าว (Ileke et al., 2014) มอดแป้ง (Liska et al., 2010; Liska, 2011) ดังนั้นการเอนแคปซูเลชั่นเพื่อรักษาสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต่อแมลงทำให้เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูมีประสิทธิภาพมากกว่าน้ำมันหอมระเหยกานพลู

8.3 วิธีทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยเอนแคปซูเลทกับด้วงถั่วเขียว

8.3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการสัมผัสโดยการคลุกเมล็ด (contact toxicity)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้องพบว่ากรรมวิธีที่ใช้เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ 0, 0.5, 1, 2, และ 4 กรัม/เมล็ดถั่วเขียว 100 กรัม มีเปอร์เซ็นต์การตายตั้งแต่ 0, 0, 2.7, 4.8 และ 7.1 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 0, 28.2, 36.5, 75.3 และ 81.2 เปอร์เซ็นต์ (Table 5) โดยเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้อง มีค่า LC_{50} และ LC_{99} เท่ากับ >40 กรัม แสดงให้เห็นว่าจำนวนของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ทดสอบมีปริมาณไม่เพียงพอที่จะทำให้ด้วงถั่วเขียวตาย 50 และ 99 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีค่า LC_{50} และ LC_{99} เท่ากับ 11.6 และ 214.3 กรัม/กิโลกรัม เห็นได้ว่า เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีประสิทธิภาพในการกำจัดตัวเต็มวัยด้วงถั่วเขียวมากกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยเอนแคปซูเลทที่ผ่านการทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิ (Table 7)

กรมวิชาการเกษตร

สำหรับประสิทธิภาพของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงต่อการวางไข่ของตัวเต็มวัยด้วงถั่วเขียว พบว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 2 วิธี มีประสิทธิภาพในการป้องกันการวางไข่ของด้วงถั่วเขียวในทุกกรรมวิธีที่คลุกด้วยเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม แต่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีค่าเฉลี่ยของจำนวนไข่ที่พบน้อยกว่าการทดลองที่ใช้เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้อง และเมื่อเก็บเมล็ดถั่วเขียวที่มีไข่ดังกล่าวไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือนพบว่าไม่มีตัวเต็มวัยรุ่นลูกเกิดขึ้นในกรรมวิธีที่คลุกด้วยเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงผ่านการทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้องที่ 2 และ 4 กรัม ขณะที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ไม่พบตัวเต็มวัยรุ่นลูกในกรรมวิธีที่คลุกเมล็ดถั่วเขียวด้วยเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง จำนวน 1, 2 และ 4 กรัม (Table 5)

การทดสอบประสิทธิภาพของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้องพบว่า กรรมวิธีที่ใช้เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ 0, 0.1, 0.2, 0.4, และ 0.8 กรัม มีเปอร์เซ็นต์การตายตั้งแต่ 0, 7.3, 22.4, 40.4 และ 65.7 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 0, 23.2, 78.9, 88.4 และ 96.8 เปอร์เซ็นต์ (Table 6) เมื่อนำเปอร์เซ็นต์การตายมาหาค่า LC_{50} และ LC_{99} พบว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้อง มีค่า LC_{50} และ LC_{99} เท่ากับ 5.68 และ 174.22 กรัม/กิโลกรัม ในขณะที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีค่า LC_{50} และ LC_{99} เท่ากับ 1.45 และ 8.90 กรัม/กิโลกรัม (Table 7) จากค่าที่ได้แสดงให้เห็นว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีประสิทธิภาพในการกำจัดด้วงถั่วเขียวได้ดีว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งมีความสอดคล้องกับเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีประสิทธิภาพดีกว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้อง

สำหรับจำนวนไข่ที่พบบนเมล็ดถั่วเขียวที่คลุกด้วยเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้องพบว่า กรรมวิธีที่คลุกด้วยเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้อง จำนวน 0.8 กรัม/ถั่วเขียว 100 กรัม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการวางไข่ได้ดีที่สุด คือมีจำนวนไข่ที่พบ 62.6 ฟอง ขณะที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งพบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการวางไข่ตั้งแต่กรรมวิธีที่ใช้เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง จำนวน 0.4 กรัม/ถั่วเขียว 100 กรัม โดยพบค่าเฉลี่ยของจำนวนไข่เพียง 0.6 ฟองโดยจำนวนไข่ที่พบมีจำนวนที่น้อยกว่าน้ำมันกานพลูเอนแคปซูเลทที่ผ่านการทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้อง และเมื่อดูจำนวนตัวเต็มวัยรุ่นลูกพบว่าสอดคล้องกันโดยสามารถป้องกันการเกิดตัวเต็มวัยรุ่นลูกได้ดีตั้งแต่กรรมวิธีที่คลุกด้วยเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้อง ที่ 0.1 กรัม/ถั่วเขียว 100 กรัม เป็นต้นไป ที่มีค่าเฉลี่ยของจำนวนตัวเต็มวัยรุ่นลูกแตกต่างจากกรรมวิธีควบคุม (Table 6)

Ileke et al. (2014) ได้ศึกษาพบว่าน้ำมันหอมระเหยกานพลูมีผลต่อการสืบพันธุ์และมีผลต่อเปลือกไข่ของแมลงทำให้ตัวอ่อนที่อยู่ภายในไม่สามารถหายใจได้และทำให้ตัวอ่อนของแมลงตายในที่สุด การลดลงของ

กรมวิทยาศาสตร์

จำนวนของรุ่นลูกอาจเกิดจากการเสียชีวิตของรุ่นพ่อแม่ตั้งแต่เริ่มต้นรวมทั้งการยับยั้งการพัฒนาตัวอ่อน (Dike and Mbah, 1992) นอกจากนี้ Jankowska et al. (2017) พบว่าน้ำมันหอมระเหยกานพลูมีฤทธิ์ต่อระบบประสาทของแมลง โดยไปยับยั้งเอมไซส์ acetylcholinesterase ขัดขวางฟังก์ชั่นของ GABAergic และระบบ aminergic

8.3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการรม (Fumigation)

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยเอนแคปซูเลททั้ง 2 ชนิดในการเป็นสารสัมผัส พบว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและน้ำมันกานพลูเอนแคปซูเลทที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีประสิทธิภาพมากกว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งด้วยการผึ่งที่อุณหภูมิห้อง จึงนำเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มาทดสอบประสิทธิภาพเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิดในการเป็นสารรม โดยทดสอบด้วงถั่วเขียวในระยะ ไข่ ระยะหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงมีประสิทธิภาพในการกำจัดด้วงถั่วเขียวใน ระยะไข่ ระยะหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย มากกว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู ที่ไม่สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของด้วงถั่วเขียวในแต่ละระยะได้ โดยเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงจำนวน 1, 2 และ 4 กรัมต่อถั่วเขียว 100 กรัม พบจำนวนตัวเต็มวัยที่เกิดน้อยและมีความแตกต่างจากกรรมวิธีควบคุม และกรรมวิธีที่ใช้เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง 0.5 กรัมต่อถั่วเขียว 100 กรัม (Table 8) ขณะที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ 4 กรัม มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการกำจัด ระยะไข่ ระยะหนอน โดยที่ระยะดักแด้ พบว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู ตั้งแต่ 1, 2 และ 4 กรัม สามารถลดจำนวนตัวเต็มวัยที่เกิดขึ้นได้แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุม และการใช้เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู จำนวน 0.5 กรัม จากข้อมูลที่ได้พบว่าจำนวนตัวเต็มวัยที่เกิดในระยะ ไข่ ระยะหนอน และ ระยะดักแด้ มีจำนวนมากกว่าการทดลองของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง เมื่อพิจารณาถึงค่า LC_{50} ของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ต่อระยะไข่ ระยะหนอนและ ระยะดักแด้ มีค่า LC_{50} เท่ากับ 5.09, 4.91, และ 5.57 กรัม/กิโลกรัม ขณะที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีค่า LC_{50} เท่ากับ 3.27, >40, และ >40กรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ (Table 11)

สำหรับผลการทดลองของระยะตัวเต็มวัยพบว่าตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวมีเปอร์เซ็นต์การตายในกรรมวิธีควบคุมในเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง และเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู เท่ากับ 96.9 และ 91 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเกิดจากช่วงอายุของตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวที่มีอายุประมาณ 3-12 วัน (รังสิมา และคณะ, 2561) ดังนั้นการตายที่เกิดขึ้นถือได้ว่าเป็นการตายจากธรรมชาติ จากข้อมูลความสามารถในการวางไข่ของตัวเต็มวัยด้วงถั่วเขียวพบว่าจำนวนไข่ที่พบบนเมล็ดถั่วเขียวในกรรมวิธีควบคุมของการทดลองเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและ เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่มีจำนวนไข่เท่ากับ 593.3 และ 532.6 ฟอง และจำนวนที่พบมีความแตกต่างจากกรรมวิธีที่ใช้เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิด และจากการทดลองไม่พบจำนวนของตัวเต็มวัยรุ่นลูกในกรรมวิธีที่ทดสอบกับเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิด (Table 9 และ Table 10) จึงสรุปได้ว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีประสิทธิภาพในการกำจัดด้วงถั่ว

เขียวระยะไข่มากกว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงถั่วเขียว ระยะหนอน และระยะดักแด้ ได้ดีกว่าการใช้เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู และในระยะตัวเต็มวัยเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงสามารถยั้บยั้งการวางไข่ของด้วงถั่วเขียวได้ดีกว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู แต่น้ำมันหอมระเหยเอนแคปซูเลททั้ง 2 ชนิดสามารถยับยั้งการเกิดตัวเต็มวัยรุ่นลูกได้อย่างดี

จากผลการทดลองการเป็นสารรมของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิด พบว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงมีประสิทธิภาพในการกำจัดด้วงถั่วเขียวระยะไข่ ระยะหนอน และระยะดักแด้ มากกว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลู โดยน้ำมันหอมระเหยเอนแคปซูเลทข่าลิงและเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูมีสารสำคัญ คือ 1,8-cineole และ eugenol ตามลำดับ ซึ่งการทดลองครั้งนี้มีความสอดคล้องกับ Liska (2011) ที่ได้ศึกษาประสิทธิภาพของ 1,8-cineole, camphor และ eugenol ต่อการกำจัดระยะหนอน ระยะดักแด้ ระยะตัวเต็มวัย ของมอดแป้ง *Tribolium castaneum* (Herbst) ในการเป็นสารรม พบว่า 1,8-cineole มีประสิทธิภาพมากที่สุด ในการกำจัดมอดแป้ง ตามด้วย camphor และ eugenol โดย eugenol ไม่สามารถกำจัดตัวเต็มวัยมอดแป้งด้วยวิธีการเป็นสารรม (Liska et al., 2010) และ 1,8-cineole และ eugenol มีผลต่อการลดจำนวนการเกิดตัวเต็มวัยรุ่นลูกของมอดแป้ง

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

9.1 สารสำคัญของน้ำมันหอมระเหยข่าลิงมีจำนวน 18-22 ชนิด โดยพบ 1,8-cineole, β-sasquiphellant, azulene และ β-pinene เป็นสารสำคัญ ขณะที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิง พบสารสำคัญ 20-22 ชนิด โดยมี 4-allylphenyl acetate เป็นสารสำคัญ

9.2 สารสำคัญของน้ำมันหอมระเหยกานพลูและเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูพบ 8 ชนิด และมีสารสำคัญคือ caryophyllene และ eugenol ตามลำดับ

9.3 การทดสอบการเป็นสารสัมผัสของเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิด พบว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยที่ผ่านการทำแห้งโดยการผึ่งที่อุณหภูมิห้องมีประสิทธิภาพในการกำจัดด้วงถั่วเขียวน้อยกว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

9.4 เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (LC_{50} เท่ากับ 1.45 กรัม/กิโลกรัม) มีประสิทธิภาพในการกำจัดตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวมากกว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (LC_{50} เท่ากับ 11.63 กรัม/กิโลกรัม) ในการทดสอบการสารสัมผัส

9.5 การทดสอบในการเป็นสารรมต่อการกำจัดด้วงถั่วเขียวระยะไข่ ระยะหนอน และระยะดักแด้ พบว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีค่า LC_{50} เท่ากับ 5.09, 4.91 และ 5.57 กรัม/กิโลกรัม ขณะที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีค่า LC_{50} เท่ากับ 3.27, >40 และ >40 กรัม/กิโลกรัม ดังนั้นเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีประสิทธิภาพในการกำจัดด้วงถั่วเขียวระยะไข่มากกว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ขณะที่เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีประสิทธิภาพในการ

กรมวิชาการเกษตร

กำจัดด้วงถั่วเขียวระยะหนอน และระยะดักแด้ มากกว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

9.6 สำหรับระยะตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวที่ทดสอบกับเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งทั้ง 2 ชนิด พบว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสามารถยับยั้งการวางไข่ของตัวเต็มวัยได้ดีกว่าเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

9.7 เอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสามารถยังยั้งการเกิดของตัวเต็มวัยรุ่นลูกได้ทุกกรรมวิธี

10. การนำผลงานไปใช้ประโยชน์

10.1 สามารถนำเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและเอนแคปซูเลทน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมาประยุกต์ใช้กับแมลงศัตรูผลิตผลเกษตรชนิดอื่นๆ

10.2 นักวิชาการและผู้ที่สนใจสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้เพื่อกำจัดด้วงถั่วเขียวและเป็นข้อมูลในการดำเนินงานวิจัยขั้นต่อไป

11. คำขอบคุณ

-

12. เอกสารอ้างอิง

ณฐิฒา รอดขวัญ. 2561. เอนแคปซูเลชั่นสารให้กลิ่นรส. อาหาร. 48(3). หน้า 39-44.

ดวงสมร สุทธิสุทธิ์ รังสิมา เก่งการพานิช ภาวินี หนูชนะภัย พณัญญา พบสุข และปิยรัตน์ รุจิณรงค์. 2558 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยลูกจันทร์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิงในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูถั่วเขียว. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2558. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร. หน้า 428.443.

พรทิพย์ วิสารทานนท์ พรรณเพ็ญ ชโยภาส ใจทิพย์ อุไรชื่น รังสิมา เก่งการพานิช กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม จิราภรณ์ ทองพันธ์ ดวงสมร สุทธิสุทธิ์ ลักขณา ร่มเย็นภาวิณี หนูชนะภัย และ อัจฉรา เพชรโชติ. 2548. แมลงที่พบในผลิตผลเกษตรและการป้องกันกำจัด. สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 180 หน้า.

รังสิมา เก่งการพานิช กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม ใจทิพย์ อุไรชื่น ดวงสมร สุทธิสุทธิ์ ภาวิณี หนูชนะภัย ศรุตา สิทธิไชยากุล พณัญญา พบสุข และรัตนาพร พงษ์มี. 2561. แมลงที่พบในผลิตผลเกษตรและการป้องกันกำจัด. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 216 หน้า.

Ajayi, O.E.; A.G. Appel and H.Y. Fadamiro. 2014. Fumigation toxicity of essential oil

กรมวิชาการเกษตร

monoterpenes to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *J. Insects*. 2014: 1-8.

Alighiri, D.; E. Cahyono; W.T. Eden; E. Kusuma and K.I. Supardi. 2018 Study on the improvement of essential oil quality and its repellent activity of betel leaves oil (*Piper betle* L.) from Indonesia. *Orient. J. Chem*. 34; 2913-2926

Anonymous. 2020. Storing mungbean planting seed Retrieved November 3, 2020 from http://www.mungbean.org.au/mung-storage.html.

Caswell, G.H. 1981. Damage to stored cowpea in the northern part of Nigeria. *Samaru. J. Agr. Res*. 1: 11–19.

Champ, B.R. and C.E. Dyte. 1976. FAO global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests. *FAO Plant Protect. Bull*. 25: 49–67.

Dike, M.C. and O.I. Mbah. 1992. Evaluation of the lemon grass products in the control of *Callosobruchus maculatus* on stored cowpea. *Nigerian J. Crop Prot*. 14: 88-91.

Ileke, K.D.; O.C. Ogungibite and J.O. Olayinka-Olugunju. 2014. Powders and extracts of *Syzygium aromaticum* and *Anacardium occidentale* as entomocides against the infestation of *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: curculionidae) on stored sorghum grains. *Afr. Crop Sci.* 22(4): 267-273.

Jankowska, M.; J. Rogalska; J. Wyszkowska and M. Stankiewicz. 2017. Molecular targets for components of essential oils in the insect nervous system. a review. *Molecules*. 23(1): 34.

Liska, A. 2011. Insecticidal toxicity of 1,8-cineole, camphor and eugenol on *Tribolium castaneum* (Herbst). *Poljoprivreda*. 17(1): 80-81

Liska, A.; V.Rozman; I. Kalinovic; M. Ivecic and R. Balicevic. 2010. Contact and fumigant activity of 1,8-cineole, eugenol and camphor against *Tribolium castaneum* (Herbst). 10th International Working Conference on Stored Product Protection. 425: 716-720.

Maes, C.; S., Bouquillon and M.L. Fauconnier. 2019. Encapsulation of essential oils for development of biosourced pesticides with controlled release: a review. *Molecules*. 25, 2539: 1-15.

Mahfuz, I. and M. Khalequzzaman. 2007. Contact and fumigation toxicity of essential oils against *Callosobruchus maculatus*. *Univ. j. zool. Rajshahi Univ*. 26: 63-66.

Moretti, M.L.; G., Sanna-Passino; S. Demontis and E. Bazzoni. 2002. Essential oil formulations useful as a new tool for insect pest control. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 3: 64-74.

Nakakita, H. 1998. Stored rice and stored product insects. In: Rice Inspection Technology

กรมวิทยาศาสตร์

Manual. A.C.E. Corporation, Tokyo, Japan, pp. 49–65.

Negahban, M.; S. Moharramipour; M. Zandi and S.A. Hashemi. 2012. Fumigant properties of nano-encapsulated essential oil from *Artemisia sieberi* on *Tribolium castaneum*. In: Navarro S., Banks H.J., Jayas D.S., Bell C.H, Noyes R.T., Ferizli A.G., Emekci M., Isikber A.A., Alagusundaram K., [Eds.] Proc 9th. Int. Conf. on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, Antalya, Turkey. 15 – 19 October 2012, ARBER Professional Congress Services, Turkey pp: 101-105

Passino, G.S.; E. Bazooni and M.D.L. Moretti. 2004. Microencapsulated essential oils active against indian meal moth. *Bol. San. Veg. Plagas*. 30: 125-132.

Regnault-Roger, C.; C. Vincent and J.T. Arnason. 2012. Essential oils in insect control: Low-risk products in a high-stakes world. *Annu. Rev. of Entomol.* 57(1): 405–24.

Stanton, W.R.D.; R. Orraca-Tetteh and W. Steele. 1966. Voandzeia subterranea Thouars. In: Grain legumes in Africa. Food and Agriculture Organisation, Rome, pp. 128–133.

Subramanyam, B. and D.W. Hagstrum. 1995. Resistance measurement and management. In: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (Eds.), Integrated Management of Insects in Stored Products. Marcel Dekker, New York, pp. 331–397.

War, A.R.; S. Murugesan; N.V. Boddepalli; R. Srinivasan and M.N. Ramakrishnan. 2017. Mechanism of Resistance in Mungbean [*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek var. radiata] to bruchids, *Callosobruchus* spp. (Coleoptera: Bruchidae). *Front. Plant Sci.* vol 8.

White, N.D.G. and J.G. Leesch, 1995. Chemical control. In: Subramanyam,B., Hagstrum, D.W. (Eds.), Integrated Management of Insects in Stored Products. Marcel Dekker, New York, pp. 287–330

Yang, Z.; W. Yang; Q. Peng; Q. He; Y. Feng; S. Luo and Z. Yu. 2009. Volatile phytochemical composition of rhizome of ginger after extraction by headspace solid-phase microextraction, petroleum ether extraction and steam distillation extraction. *Bangladesh J. of Pharmacol*. 4: 136-143.

Zandi-Sohani, N.; Hojjati, M. and Á. Carbonell-Barrachina. 2013. Insecticidal and repellent activities of the essential oil of *Callistemon citrinus* (Myrtaceae) against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Neotrop. Entomol*. 42: 89-94.

Table 1 The chemical compounds of *Alpinia conchigera* oil at 0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 month by using GC-MS

Compound	Retention time (min)	Composition (%)						
		0M	2M	4M	6M	8M	10M	12M
α-thyene	9.02	0.83	0.76	0.25	1.14	0.31	0.79	1.10
α-pinene	9.21	9.07	9.90	3.36	13.73	10.87	10.24	18.92
Bicycle (3.1.0) hexane, 4methylene-1-(1-methylethyl)	10.12	1.19	1.18	0.42	1.43	1.24	1.08	1.41
β-pinene	10.26	29.59	26.68	9.68	42.33	41.03	31.87	49.93
β-mycene	10.47	1.66	2.17	0.70	2.56	6.25	1.84	1.93
terpinolene	11.05	1.63	0.11	0.55	0.20	0.17	0.00	1.46
ρ-cymene	11.20	2.73	1.74	0.90	1.99	2.05	1.33	2.07
limonene	11.32	5.75	3.07	1.88	3.33	3.82	2.81	5.85
1,8-cineole	11.39	38.41	6.24	24.83	6.97	8.28	5.75	12.43
ocimeme	11.61	0.17	0.00	0.01	0.23	0.22	0.15	0.00
γ-terpinene	11.86	4.22	4.94	1.50	5.36	5.72	4.02	3.13
terpininolene	12.35	0.63	0.71	0.24	0.74	0.78	0.60	0.49
terpinen-4-ol	14.00	0.18	0.00	1.70	0.20	0.20	0.55	0.00

กรมวิทยาศาสตร

α-terpineol	14.23	0.00	0.41	1.18	0.00	0.00	0.21	0.00
chavicol	15.03	0.00	0.00	6.49	0.00	0.00	0.00	0.00
chavicol acetate	16.37	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
methy eugenol	17.06	0.11	0.57	0.42	0.00	0.19	0.23	0.00
β-caryophyllen	17.49	1.56	4.46	3.04	2.59	3.03	3.66	0.32
β-famasene	17.74	0.12	0.42	0.66	0.16	0.12	0.33	0.00
β-bisabolene	18.50	2.01	6.85	6.35	3.39	3.07	5.96	0.12
β-sasquiphellant	18.74	0.14	29.42	1.55	13.54	12.38	0.00	0.00
azulene	19.97	0.00	0.37	34.28	0.11	0.27	28.58	0.84

Table 2 The chemical compounds of *Alpinia conchigera* oil encapsulated with freeze-drying at 0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 month by using GC-MS

Compound	Retention time (min)	Composition (%)						
		0M	2M	4M	6M	8M	10M	12M
α-thyene	9.02	0.16	0.05	0.12	0.09	0.08	0.07	0.11
α-pinene	9.21	2.87	1.05	1.57	1.43	0.83	0.99	1.03
Bicycle(3.1.0) hexane, 4 methylene-1-(1-methylethyl)	10.12	0.20	0.11	0.18	0.16	0.09	0.10	0.10
β-pinene	10.26	12.84	6.29	7.52	7.72	4.82	5.53	6.07
β-mycene	10.47	1.02	0.30	0.44	0.38	0.25	0.28	0.32
terpinolene	11.05	0.39	0.27	0.34	0.31	0.20	0.21	0.18
ρ-cymene	11.20	0.90	0.69	0.82	0.94	0.72	0.80	0.79
limonene	11.32	2.12	1.05	1.53	1.39	0.61	0.43	0.37
1,8-cineole	11.39	10.06	10.94	12.58	15.20	9.82	10.24	19.32
ocimeme	11.61	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

ศรีนครินทรวิโรฒ

γ-terpinene	11.86	1.76	0.84	1.04	0.92	0.58	0.59	0.56
terpininolene	12.35	0.41	0.20	0.29	0.25	0.17	0.17	0.15
terpinen-4-ol	14.00	4.64	5.41	5.13	5.26	5.06	5.81	9.84
α-terpineol	14.23	7.85	9.58	7.93	7.70	8.25	7.30	0.00
chavicol	15.03	1.01	0.71	0.80	0.67	0.80	0.94	1.58
chavicol acetate	16.37	23.22	44.35	36.60	41.61	52.51	49.09	43.45
methy eugenol	17.06	0.81	0.93	0.09	0.47	1.06	0.37	4.97
β-caryophyllen	17.49	2.77	1.36	2.14	1.48	1.17	1.76	1.18
β-famasene	17.74	0.39	0.17	0.28	0.15	0.14	0.19	0.12
β-bisabolene	18.50	4.10	1.83	2.89	1.92	1.38	0.24	0.74
β-sasquiphellant	18.74	21.46	13.27	17.06	11.24	11.21	14.67	8.75
azulene	19.97	0.91	0.60	0.65	0.71	0.25	0.22	0.39

Table 3 The chemical compounds of *Syzygium aromaticum* oil at 0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 month by using GC-MS

Compound	Retention time (min)	Composition (%)						
		0M	2M	4M	6M	8M	10M	12M
Eugenol	16.67	0.04	0.02	0.06	0.06	32.52	31.14	0.02
α-Cubebene	16.89	1.88	1.27	1.52	5.03	0.25	0.17	0.38
Caryophyllene	17.53	91.89	93.51	93.94	89.17	37.65	64.94	49.37
10,10-Dimethyl-2,6-dimethylenebicyclo (7.20) undecane	17.60	0.23	0.05	0.10	0.15	0.35	0.09	0.05
Humulene	17.94	5.27	4.56	3.91	5.13	0.54	3.23	50.10
Aceteugnol	18.54	0.28	0.24	0.11	0.08	26.66	0.22	0.09
Cadina-1-(10),4-diene	18.67	0.41	0.35	0.36	0.38	2.03	0.21	0.21

กรมวิชาการเกษตร

Table 4 The chemical compounds of *Syzygium aromaticum* oil encapsulated with freeze-drying at 0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 month by using GC-MS

Compound	Retention time (min)	Composition (%)						
		0M	2M	4M	6M	8M	10M	12M
Eugenol	16.67	65.65	72.19	67.37	88.39	86.94	83.03	77.21
α-Cubebene	16.89	0.39	0.01	0.0005	0.09	0.09	0.12	0.21
Caryophyllene	17.53	29.49	25.19	29.76	9.23	8.62	13.74	19.37
10,10-Dimethyl-2,6-dimethylenebicyclo (7.20) undecane	17.60	0.15	0.01	0.01	0.0004	0.0003	0.01	0.01
Humulene	17.94	1.65	0.76	1.16	0.41	0.39	0.59	0.83
Aceteugnol	18.54	2.53	1.84	1.63	1.83	3.91	0.75	0.01
Cadina-1-(10),4-diene	18.67	0.14	0.01	0.07	0.05	0.05	1.76	2.36

กรมวิชาการเกษตร

Table 5 Percentage of mortality of adults, the number of eggs laid and adult progeny production (F_1) of *Callosobruchus maculatus* treated with *Alpinia conchigera* oil encapsulated with room-temperature drying and freeze-drying

Application rate (g)	*Alpinia conchigera* oil encapsulated					
	Room-temperature drying			Freeze-drying		
	Mortality of adult (%)	Eggs laid	Adult (F_1) progeny production	Mortality of adult (%)	Eggs laid	Adult (F_1) progeny production
0	0 b	160.8 b	50.5 c	0 c	138.4 c	83.8 b
0.5	0 b	106.6 a	0.8 b	28.2 b	81.6 b	3.8 a
1	2.7 ab	90 a	0.9 b	36.5 b	73.0 b	0 a
2	4.8 ab	107.2 a	0 a	75.3 a	28 a	0 a
4	7.1 a	110.8 a	0 a	81.2 a	31 a	0 a
CV (%)	140.5	27.7	33.7	31.1	20.8	56.1

* Mean in same column followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$)

Table 6 Percentage of mortality of adults, the number of eggs laid and adult progeny

	Syzygium aromaticum oil encapsulated

production (F_1) of *Callosobruchus maculatus* treated with oil *Syzygium aromaticum* encapsulated with room-temperature drying and freeze-drying

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัย

	Room-temperature drying			Freeze-drying		
	Mortality of adult (%)	Eggs laid	Adult (F_1) progeny production	Mortality of adult (%)	Eggs laid	Adult (F_1) progeny production
Control	0 d	218.8 c	139.0 b	0 d	83.2 c	74.8 b
0.1	7.3 cd	137.8 b	0.1 a	23.2 c	15.7 b	0 a
0.2	22.4 c	124.6 b	0 a	78.9 b	9.5 b	0 a
0.4	40.4 b	112.0 b	0 a	88.4 ab	0.6 a	0 a
0.8	65.7 a	62.6 a	0 a	96.8 a	0.5 a	0 a
CV (%)	42.3	21.4	14.8	13.8	29.4	64.5

* Mean in same column followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$)

กรมวิชาการเกษตร

Table 7 LC_{50} and LC_{99} values of *Alpinia conchigera* oil encapsulated and *Syzygium aromaticum* oil encapsulated with room-temperature drying and freeze-drying on *Callosobruchus maculatus* adults by contact toxicity

Plant species	Drying methods	LC_{50} (g/kg)	95% confidence interval	LC_{99} (g/kg)	95% confidence interval
A. conchigera	Room-temperature drying	>40	-	-	-
	Freeze-drying	11.63	5.28-18.37	214.3	80.89-5215.68
S. aromaticum	Room-temperature drying	5.68	3.80-12.61	174.22	43.16-3637.13
	Freeze-drying	1.45	0.93-11.92	8.90	5.41-27.94

Table 8 Fumigation toxicity of *Alpinia conchigera* oil encapsulated and *Syzygium aromaticum* oil encapsulated with freeze-drying against *Callosobruchus maculatus* (egg, larva and pupa stages)

Application rate (g)	Mean number of adult emerged					
	Alpinia conchigera oil encapsulated			*Syzygium aromaticum* oil encapsulated		
	egg	larva	pupa	egg	larva	pupa
Control	103.5 b	105.3 c	185.3 d	166.2 c	124 b	181.4 b
0.5	54.5 b	59 b	111.5 c	74.2 b	121 b	180.4 b
1	0.5 a	6 a	3.8 b	69.8 b	112.4 ab	126.4 a
2	0 a	10 a	0 a	50.8 ab	106.8 ab	123.2 a
4	0 a	0.3 a	0 a	18.4 a	82 a	115.5 a
C.V.(%)	30.7	29.3	10.6	35.9	20.4	15.4

* Mean in same column followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$)

กรมวิชาการเกษตร

Table 9 Fumigation toxicity of *Alpinia conchigera* oil encapsulated with freeze-drying against *Callosobruchus maculatus* adults

Application rate (g)	*Alpinia conchigera* oil encapsulated		
	Mortality of adult (%)	Eggs laid	Adult (F_1) progeny production
Control	96.9 b	529.3 d	342.8 b
0.5 g	100 a	39.5 c	0 a
1 g	100 a	9.5 b	0 a
2 g	100 a	0 a	0 a
4 g	100 a	0 a	0 a
CV (%)	1.4	11.6	47.3

* Mean in same column followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$)

Table 10 Fumigation toxicity of *Syzygium aromaticum* oil encapsulated with freeze-drying against *Callosobruchus maculatus* adults

Application rate (g)	*Syzygium aromaticum* oil encapsulated		
	Mortality of adult (%)	Eggs laid	Adult (F_1) progeny production
Control	91 b	532.6 c	358 b
0.5 g	100 a	149.4 a	0 a
1 g	100 a	138.6 a	0 a
2 g	100 a	140.4 a	0 a
4 g	100 a	152.8 b	0 a
CV (%)	1.3	8.9	44.2

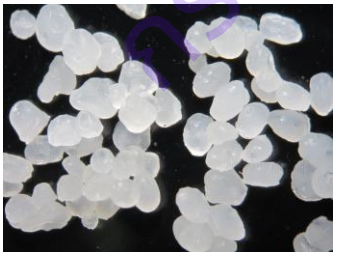
* Mean in same column followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$)

กรมวิทยาศาสตร์

Table 11 LC_{50} and LC_{99} values of *Alpinia conchigera* oil encapsulated and *Syzygium aromaticum* oil encapsulated with freeze-drying on *Callosobruchus maculatus* adults by fumigation

Plant species	stage	LC_{50} (g/kg)	95% confidence interval	LC_{99} (g/kg)	95% confidence interval
A. conchigera	Egg	5.09	4.54-5.61	9.37	7.56-18.30
	larva	4.91	1.96-7.01	31.90	18.16-22.45
	pupa	5.57	5.01-6.12	12.11	10.20-17.08
S. aromaticum	Egg	3.27	0.34-6.15	581.19	128.10-2923.0
	larva	>40	-	-	-
	pupa	>40	-	-	-

Oil encapsulated without drying



Oil encapsulated with room temperature drying

Oil encapsulated with freeze drying

Figure 1 Beads characteristics

กรมวิชาการเกษตร