อายุการเก็บรักษาและผลต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack)

Shelf Life and Effects of Thiam (*Azadirachta excelsa* Jack) Seed Oil Against Larva of *Aedes aegypti* Linnaeus

สุฮัยญา แวยูโซะ

Suhaiya Waeyusoh

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชากีฏวิทยา
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of
Master of Science in Entomology
Prince of Songkla University
2557

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ อายุการเก็บรักษาและผลต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน(*Aedes aegypti* Linnaeus) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack)

ผู้เขียน นางสาวสุฮัยญา แวยูโซะ

สาขาวิชา กีฏวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.อรัญ งามผ่องใส)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.จิราพร เพชรรัตน์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อรัญ งามผ่องใส)

…….....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

.....กรรมการ

(นายวิรัช วงศ์หิรัญรัชต์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชากีฏวิทยา

…….

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้เป็นผลมาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และขอขอบคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านไว้ ณ ที่นี้

ลงชื่อ…….

(รองศาสตราจารย์ ดร.อรัญ งามผ่องใส)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ…….

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ลงชื่อ…….

(นางสาวสุฮัยญา แวยูโซะ)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ……..……..……

(นางสาวสุฮัยญา แวยูโซะ)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ อายุการเก็บรักษาและผลต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack)

ผู้เขียน นางสาวสุฮัยญา แวยูโซะ

สาขาวิชา กีฏวิทยา

ปีการศึกษา 2556

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินอายุการเก็บรักษาและผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่มีต่อสมบัติทางกายภาพ ปริมาณสารอะซาดิแรคตินและการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านด้วยน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย แบบกลั่นลำดับส่วน และแบบสำเร็จรูป (น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ยผสมสารอีมัลซิฟายเออร์ Tween® + Span®) ประเมินอายุการเก็บรักษาด้วยวิธีสภาวะเร่ง โดยเก็บน้ำมันดังกล่าวที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 6 สัปดาห์ วิเคราะห์ปริมาณสารอะซาดิแรคตินที่เปลี่ยนแปลงในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ ดังกล่าว เพื่อคำนวณอายุเก็บรักษา (ระยะเวลาที่ใช้ในการลดปริมาณสารอะซาดิแรคตินร้อยละ 10 จากปริมาณเริ่มต้น) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการอาร์รีเนียส วัดค่ากรดไขมันและค่าเปอร์ออกไซด์ การเปลี่ยนแปลงสี และความเป็นพิษของน้ำมันดังกล่าวต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน พบว่าปริมาณเริ่มต้นของสารอะซาดิแรคตินในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย แบบกลั่นลำดับส่วน และแบบสำเร็จรูปเท่ากับ 213.6, 213.9 และ 228.7 มิลลิกรัมต่อลิตร และคำนวณอายุการเก็บรักษาได้เท่ากับ 29, 20 และ 8 วัน ตามลำดับ ปริมาณสารอะซาดิแรคตินลดลงเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ได้คำนวณอายุการเก็บรักษาโดยยึดความเข้มข้นที่ระดับ 2,000 ppm (ระดับที่สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ 100% ของน้ำมันแบบแช่ยุ่ยและแบบสำเร็จรูป) พบว่า เวลาในการเก็บรักษาที่ทำให้ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย แบบกลั่นลำดับส่วน และแบบสำเร็จรูปลดลงเหลือ 2,000 ppm มีค่าเท่ากับ 1,705, 1,168 และ 457 วัน ตามลำดับ เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เมื่อระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น สีของน้ำมันเข้มขึ้นรวมทั้งค่ากรดไขมันและค่าเปอร์ออกไซด์เพิ่มสูงขึ้น เมื่อเริ่มต้นการทดลองค่ากรดไขมันของน้ำมันที่ใช้ทดสอบทุกชนิดและทุกอุณหภูมิในการเก็บรักษาเท่ากับ 106.3 มิลลิกรัม เพิ่มสูงขึ้นเป็น 120.1 มิลลิกรัม เมื่อเก็บไว้นาน 6 สัปดาห์ ในทำนองเดียวกันค่าเปอร์ออกไซด์เพิ่มสูงขึ้นจาก 1.3 มิลลิกรัม เป็น 2.6-3.3 มิลลิกรัม ซึ่งตรงกันข้ามกับความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงลายบ้านที่มีค่าลดลงเมื่อเก็บรักษาน้ำมันไว้ที่

อุณหภูมิสูงขึ้นและระยะเวลานานขึ้น เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำที่ทดสอบด้วยน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บไว้เป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 45-70 องศาเซลเซียสอยู่ในช่วง 65-96% ขณะที่เก็บไว้ที่ 25 องศาเซลเซียสมีค่าดังกล่าวเท่ากับ 100% หลังจากทดสอบเป็นเวลา 120 ชั่วโมง เนื้อเยื่อระบบทางเดินอาหารและระบบทางเดินหายใจของลูกน้ำที่ตายจากการได้รับน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างถูกทำลายเสียหายรุนแรง มีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ยเป็นผลิตภัณฑ์ควบคุมยุงลายบ้าน

Thesis Title	Shelf Life and Effects of Thiam (*Azadirachta excelsa* Jack) Seed Oil Against Larva of *Aedes aegypti* Linnaeus
Author	Miss Suhaiya Waeyusoh
Major Program	Entomology
Academic Year	2013

Abstract

The objectives of this study were to evaluate the shelf life and effects of storage temperature of thiam (*Azadirachta excelsa* Jack) seed oils on their physical property, azadirachtin content and mortality of *Aedes aegypti* Linnaeus. Macerated oil, soxhlet-extracted oil and formulated oil (macerated oil mixed with emulsifiers, Tween®+Span®) were used for the experiments. Shelf life assessment was done according to accelerated conditions by storing these oils at 45, 55 and 70°C for 6 weeks. Changes in azadirachtin content during storage under those conditions were determined to evaluate the shelf life of thiam seed oils. The Arrhenius equation was performed to calculate the shelf life (storage time required for 10% reduction of the initial content of azadirachtin) of these oils stored at 25 ºC. Acid and peroxide values, color as well as toxicity to *Ae. aegypti* larvae of these oils were also determined. The results showed that the initial content of azadirachtin in the macerated oil, soxhlet-extracted oil and formulated oil were 213.6, 213.9 and 228.7 mg/L, respectively. Their shelf lives were calculated to be 29, 20 and 8 days, respectively. It decreased with a rise of temperature and storage time. Shelf life was additionally calculated based on 2,000 ppm of thiam seed oil (LC_{100} of the macerated oil and formulated oil against *Ae. aegypti*). Times required for remaining the concentration at 2,000 ppm of the macerated oil, soxhlet-extracted oil and formulated oil were calculated to be 1,705, 1,168 and 457 days, respectively for storage under 25 ºC.

Oil became darkened color as well as acid and peroxide values increased with increasing time and temperature of storage. The acid value of all tested oils increased from 106.3 mg at the beginning of study to be 120.1 mg after storage for 6 weeks under all temperature conditions. Peroxide values increased from 1.3 mg to be 2.6-3.3 mg. By contrast to oil toxicity, larval mortality decreased after treated with oils stored under high temperature and long storage of time.

Pecent larval mortality of thiam seed oils stored for 6 weeks at 45-70 ºC ranged from 65-96%, whereas that stored at 25 ºC was 100% after treatment for 120 hours. A severe damage of midgut and respiratory tracts of dead larvae treated with thiam seed oil was observed. It is possible to develop the macerated thiam seed oil as a product for controlling *Ae. aegypti* larva.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(7)
กิตติกรรมประกาศ	(8)
สารบัญ	(9)
รายการตาราง	(10)
รายการภาพ	(11)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
บทตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	22
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	23
3. ผล และวิจารณ์	39
4. สรุป	62
เอกสารอ้างอิง	64
ภาคผนวก	75
ประวัติผู้เขียน	93

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	น้ำมันจากพืชธรรมชาติที่ใช้ในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำยุงชนิดต่างๆ	14
2	น้ำหนักเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างหลังกะเทาะเปลือก	40
3	ปริมาณน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่สกัดได้จากเนื้อในเมล็ดโดยวิธีแช่ยุ่ย และวิธีกลั่นลำดับส่วน	41
4	สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส	47
5	อัตราการสลายตัวของสารอะซาดิแรคติน (k) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส	47
6	อายุการเก็บรักษาของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเมื่อสารอะซาดิแรคตินลดลงร้อยละ 10 ของปริมาณสารทั้งหมด	48
7	อายุการเก็บรักษาของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเมื่อกำหนดจุดหมดอายุที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ร้อยละ 100 ลดลงเหลือ 2,000 พีพีเอ็ม	49
8	ค่ากรดไขมันก่อนและหลังวันทดสอบอายุการเก็บรักษาน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่อุณหภูมิต่างๆ	51
9	ค่าเปอร์ออกไซด์ก่อนและหลังวันทดสอบอายุการเก็บรักษาน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่อุณหภูมิต่างๆ	52
10	ร้อยละการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านที่เวลา 120 ชั่วโมงของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแต่ละอุณหภูมิ	55
11	ข้อมูลการสร้างกราฟมาตรฐาน	77
12	จำนวนลูกน้ำยุงลายบ้านที่ตายเมื่อทดสอบด้วยน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บรักษาโดยสภาวะเร่งที่ระยะเวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง	77
13	จำนวนลูกน้ำยุงลายบ้านที่ตายเมื่อทดสอบด้วยน้ำมันชนิดต่างๆ	80
14	ค่าเปอร์ออกไซด์ที่สรรพสิทธิ์วิเคราะห์	85
15	ปริมาณอะซาดิแรคติน (มิลลิกรัมต่อลิตร) คงเหลือในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่ระยะเวลาการเก็บโดยสภาวะเร่ง	86

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ตัวเต็มวัยยุงลายบ้าน (ก) และ ยุงลายสวน (ข)	4
2	ความแตกต่างของหนวดยุงตัวเมีย (ก) และ ตัวผู้ (ข)	4
3	วงจรชีวิตของยุงลายบ้าน [*Aedes aegypti* Linnaeus]	6
4	แสดงลักษณะของลำต้น (ก) ผล (ข) ดอก (ค) และใบ (ง) ของต้นสะเดาช้าง	16
5	สูตรโครงสร้างอนุพันธ์ของสาร azadirachtin 7 ชนิด	17
6	สูตรโครงสร้างของสารอะซาดิแรคติน	18
7	วิธีการสกัดน้ำมันเมล็ดสะเดาแบบแช่ยุ่ย (maceration)	22
8	ไข่ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus)	25
9	การเพาะฟักไข่ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus)	25
10	อาหารสำเร็จรูปที่ใช้เลี้ยงลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus)	26
11	กรงเลี้ยงยุงขนาด 30 × 30 × 30 เซนติเมตร และ สำลีพันไม้ชุบน้ำหวาน	26
12	กระดาษที่มีไข่ยุงลายบ้านวางผึ่งลม	27
13	เมล็ดสะเดาช้างตากแห้ง (ก) และเนื้อในเมล็ดสะเดาปั่นหยาบ (ข)	29
14	เนื้อในเมล็ดสะเดาช้างแช่ในนอร์มอลเฮกเซน	30
15	เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator)	30
16	น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย	31
17	น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป	31
18	เครื่องสกัดสารแบบกลั่นลำดับส่วน (soxhlet)	32
19	น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบกลั่นลำดับส่วน	32
20	ชุดเครื่องวิเคราะห์และแยกสารของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)	33
21	ลักษณะน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย (ก) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบกลั่นลำดับส่วน (ข)	41

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
22	การเปลี่ยนแปลงปริมาณอะซาดิแรคตินในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างทั้ง 3 แบบ ที่อุณหภูมิต่างๆ (ก) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย (ข) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง แบบกลั่นลำดับส่วน (ค) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (◆) 55 องศาเซลเซียส (■) และ 70 องศาเซลเซียส (▲)	44
23	ปฏิกิริยาอันดับ 1 ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย (ก) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง แบบกลั่นลำดับส่วน (ข) และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป (ค) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (◆) 55 องศาเซลเซียส (■) และ 70 องศาเซลเซียส (▲)	46
24	น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (ก) 55 องศาเซลเซียส (ข) และ 45 องศาเซลเซียส (ค)	50
25	ผลของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย (ก) แบบกลั่นลำดับส่วน (ข) แบบสำเร็จรูป (ค) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ต่อการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน	53
26	ผลของน้ำมันแต่ละชนิดและแบคทีเรียต่อการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง	56
27	ภาพตัดตามยาวทางเดินอาหารส่วนกลาง (midgut) ของลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ที่ไม่ได้สัมผัสน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง แสดงโครงสร้างที่เป็น ไขมัน (adipose fabric) กล้ามเนื้อ (muscle) เซลล์ผนังลำไส้ (epithelial cells) และ ช่องทาง ทางเดินอาหาร (alimentary canal) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40X	59
28	ภาพตัดตามยาวทางเดินอาหารส่วนกลาง (midgut) ของลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ที่ได้รับน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง แสดงโครงสร้างที่เป็นไขมัน (adipose fabric) กล้ามเนื้อ (muscle) และเซลล์ผนังลำไส้ (epithelial cells) ถูกทำลาย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40X	60

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
29	ภาพตัดตามยาวทางเดินอาหารส่วนกลาง (midgut) ของลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ที่ได้รับแบคทีเรีย (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) แสดงโครงสร้างเป็นไขมัน (adipose fabric) กล้ามเนื้อ (muscle) และเซลล์ผนังลำไส้ (epithelial cells) ถูกทำลาย ส่วนช่องทางเดินอาหาร (alimentary canal) แคบลงมาก และมีเซลล์ผนังลำไส้หลุดมาในช่องทางเดินอาหารเต็มทุกพื้นที่ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**	61
30	แมสสเปกตรัมของสารอะซาดิแรคตินมาตรฐาน เป็นของแข็ง สีขาวทึบ มีสูตรโมเลกุล $C_{35}H_{44}0_{16}$ และมวลโมเลกุล 720.7 กรัมต่อโมล	84
31	กราฟสารละลายมาตรฐานของสารอะซาดิแรคติน	85
32	กราฟอาร์รีเนียสของสารอะซิดิแรคตินในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง แบบแช่ยุ่ย (ก) แบบกลั่นลำดับส่วน (ข) และแบบสำเร็จรูป (ค)	87
33	กราฟอาร์รีเนียสของอายุการเก็บน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย (ก) น้ำมันกลั่นลำดับส่วน (ข) และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป (ค)	88
34	ภาพตัดตามยาวทางเดินอาหารส่วนกลางของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับน้ำมันปิโตรเลียม แสดงโครงสร้างที่เป็นไขมัน (adipose fabric) เซลล์ผนังลำไส้ (epithelial cells) และช่องทางเดินอาหาร (alimentary canal) ปกติ แต่มีขนาดใหญ่ขึ้น กล้ามเนื้อ (muscle) เกิดการผิดปกติ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**	89
35	ภาพตัดตามยาวทางเดินอาหารส่วนกลางของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับน้ำมันปาล์ม แสดงโครงสร้างที่เป็นไขมัน (adipose fabric) กล้ามเนื้อ (muscle) เซลล์ผนังลำไส้ (epithelial cells) และช่องทางเดินอาหาร (alimentary canal) ปกติ แต่ช่องทางเดินอาหารมีขนาดใหญ่ขึ้น ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**	90
36	ภาพตัดตามขวางท่อหายใจของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ไม่ได้รับน้ำมันใดๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**	91
37	ภาพตัดตามขวางท่อหายใจของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง แสดงโครงสร้างทุกส่วนถูกทำลาย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**	91

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
38	ภาพตัดตามขวางท่อหายใจของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับน้ำมันปิโตรเลียม แสดงโครงสร้างทุกส่วนถูกทำลาย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**	92
39	ภาพตัดตามขวางท่อหายใจของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับน้ำมันปาล์ม แสดงโครงสร้างทุกส่วนถูกทำลาย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**	92

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปัจจุบันประเทศไทยประสบปัญหาการระบาดของโรคไข้เลือดออก (dengue hemorrhagic fever) และโรคชิคุนกุนยา (chikungunya fever) ซึ่งมียุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) และยุงลายสวน (*Aedes albopictus*) เป็นแมลงพาหะที่นำเชื้อไวรัสเดงกี่ (dengue virus) และเชื้อไวรัสชิคุนกุนยา (chikungunya virus) มาแพร่สู่คนและสัตว์ (Paosriwong *et al*., 2000; WHO, 2014) แนวทางการป้องกันโรค คือ การกำจัดยุงลาย โดยการกำจัดลูกน้ำให้ผลในการควบคุมได้ดีกว่าการกำจัดตัวเต็มวัย เนื่องจากลูกน้ำยุงลายอาศัยอยู่ในน้ำนิ่งทำให้ควบคุมพื้นที่ในการกำจัดและทำลายได้ทั่วถึง วิธีที่เลือกใช้มากที่สุดคือการใช้สารทีมีฟอส (temephos) เป็นสารในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) มีชื่อการค้าคือ ทรายอะเบท® อะเบท® เคมฟลีต และแซนดาเบท® เกิดโทษน้อยต่อคนและสัตว์ (บุญล้วน พันธุมจินดา, 2524) แต่สารเคมีดังกล่าวประเทศไทยยังไม่สามารถผลิตเองได้ จำเป็นต้องนำเข้าจากต่างประเทศซึ่งคิดเป็นมูลค่าหลายล้านบาทต่อปี นอกจากการใช้สารเคมีแล้วยังมีวิธีอื่นที่สามารถช่วยลดแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลายได้คือ การปิดภาชนะเก็บน้ำ การคว่ำภาชนะ สิ่งของที่ไม่ใช้แล้ว ตลอดจนการใช้ชีวินทรีย์ในการควบคุม เช่น แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Mulla *et al.,* 1999) และปลาหางนกยูง เป็นต้น อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมียังเป็นวิธีที่นิยมมากกว่าวิธีอื่น เนื่องจากหาซื้อง่าย ราคาถูก และเห็นผลเร็ว ปัจจุบันพบว่าสารเคมีดังกล่าวก่อให้เกิดปัญหาตามมามากมาย เช่น การเกิดโรคเฉียบพลันและเรื้อรังต่างๆในมนุษย์ (พาลาภ สิงหเสนี, 2537) การตกค้างในสิ่งแวดล้อม (Chansang *et al.,* 1997) และมีรายงานว่ายุงสามารถสร้างความต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (Grisales *et al.,* 2013) ทั้งนี้เป็นการปรับตัวเพื่อความอยู่รอด ซึ่งจัดเป็นการคัดเลือกโดยธรรมชาติ (natural selection) ดังนั้นการวิจัยและพัฒนาสารจากธรรมชาติเพื่อนำมาใช้ทดแทนสารเคมีจึงเป็นสิ่งจำเป็น ทั้งนี้เพื่อความปลอดภัยของมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันมีรายงานการวิจัยหลายฉบับที่มีการนำสารสกัดที่ได้จากพืชธรรมชาติมาควบคุมลูกน้ำและดักแด้ยุงลาย ซึ่งหนึ่งในพืชที่น่าสนใจ คือ สะเดาช้าง (Thiam; *Azadirachta excelsa* Jack) เนื่องจากเป็นพืชที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการฆ่าแมลงและพบมากในภาคใต้ของประเทศไทย แต่พบว่ารายงานการศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสะเดาช้างในประเทศไทยมีจำนวนน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับสะเดาอินเดีย และสะเดาไทย จากการ

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง พบสารในกลุ่มลิโมนอยด์และสารอื่นๆ ซึ่งสารหลักที่พบ คือ สารอะซาดิแรคติน (azadirachtin) (สมเดช กนกเมธากุล และคณะ, 2552) มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโต การกิน การผสมพันธุ์ ตลอดจนการวางไข่ของแมลง เป็นต้น (Hoelmer *et al.,* 1990) และยังพบสารมาร์แรนกินในเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างอีกด้วย (อัญชลี สงวนพงษ์ และคณะ, 2543) ซึ่งออกฤทธิ์ต่อด้วงปีกแข็ง (Mexican bean beetle; *Epilachna varivesti* Mulsant) ได้มากกว่าสารอะซาดิแรคติน 2-3 เท่า (มานิตย์ นาคสุวรรณ, 2543) และจากการเปรียบเทียบการใช้น้ำมัน (oil) และสารสกัดหยาบ (crude extract) เนื้อในเมล็ดสะเดาช้างควบคุมยุงลายบ้าน พบว่าน้ำมันให้ผลดีกว่าสารสกัดหยาบ และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่สกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซน สามารถควบคุมยุงลายบ้านได้นาน 2 สัปดาห์ (อรัญ งามผ่องใส และคณะ, 2552) จากผลการทดลองดังกล่าวทำให้ผู้วิจัยสันนิษฐานว่ามีปัจจัยที่ส่งผลต่อการลดลงของสารอะซาดิแรคติน ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์หลักในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง ส่งผลให้ระยะเวลาในการออกฤทธิ์สั้นลง

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของสารอะซาดิแรคตินในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง เช่น ระยะเวลา อุณหภูมิ ปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้น การเสื่อมคุณภาพของน้ำมันเพื่อระบุอายุการเก็บรักษา อีกทั้งยังศึกษาผลต่อลูกน้ำยุงลายบ้านของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง

บทตรวจเอกสาร

1. ยุง (mosquitoes)

ยุงเป็นแมลงที่ก่อให้เกิดปัญหาทั้งทางตรงและทางอ้อม เป็นพาหะในการแพร่เชื้อโรคต่างๆ เช่น โรคมาลาเรีย โรคเท้าช้าง โรคไข้สมองอักเสบ โรคไข้เลือดออก ชิคุนกุนยา และโรคอื่นๆ อีกหลายโรค บางโรคเกิดขึ้นเฉพาะในต่างประเทศ เช่น โรคไข้เหลือง โรคไข้นอนหลับ เป็นต้น หรือบางโรคก็ไม่ได้เกิดขึ้นเฉพาะในมนุษย์แต่ยังพบการแพร่ระบาดในสัตว์อีกด้วย เช่น โรคมาลาเรียในนก เป็นต้น (จินดา อุทัยศิลป์, 2535) เนื่องจากยุงมีวงจรชีวิตสั้นและสามารถขยายพันธุ์ได้ง่าย ทำให้โรคที่เกิดโดยมียุงเป็นพาหะนั้นแพร่ระบาดค่อนข้างเร็ว ยุงที่พบในประเทศไทยมีประมาณ 400 กว่าชนิด ในจำนวนนี้มีเพียงไม่กี่ชนิดที่มีบทบาทเป็นตัวพาหะนำโรค เช่น ยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus* Say) เป็นพาหะนำโรคไข้สมองอักเสบอีกทั้งยังก่อความรำคาญจากการกัดของยุงตัวเมีย ยุงก้นปล่อง (*Anopheles* sp.) เป็นพาหะโรคมาลาเรีย ส่วนโรคที่พบมากที่สุดและยังไม่มีวัคซีนป้องกันคือ โรคไข้เลือดออก และโรคชิคุนกุนยา ซึ่งมียุงลาย (*Aedes* spp.) เป็นพาหะนำโรค (สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง, 2554)

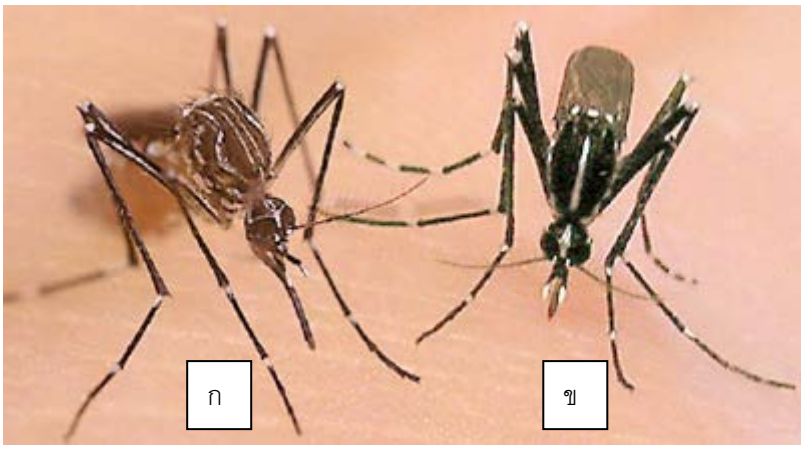
2. ยุงลาย (*Aedes* spp.)

ยุงลายที่เป็นพาหะโรคไข้เลือดออก คือ ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus) และยุงลายสวน (*Aedes albopictus* Skuse) โดยชนิดแรกเป็นพาหะหลักเนื่องจากแหล่งเพาะพันธุ์และแหล่งหากินใกล้กับที่พักอาศัยของมนุษย์ ส่วนชนิดหลังเป็นพาหะรองเนื่องจากแหล่งเพาะพันธุ์อยู่ตามธรรมชาติ (อุษาวดี ถาวระ, 2544)

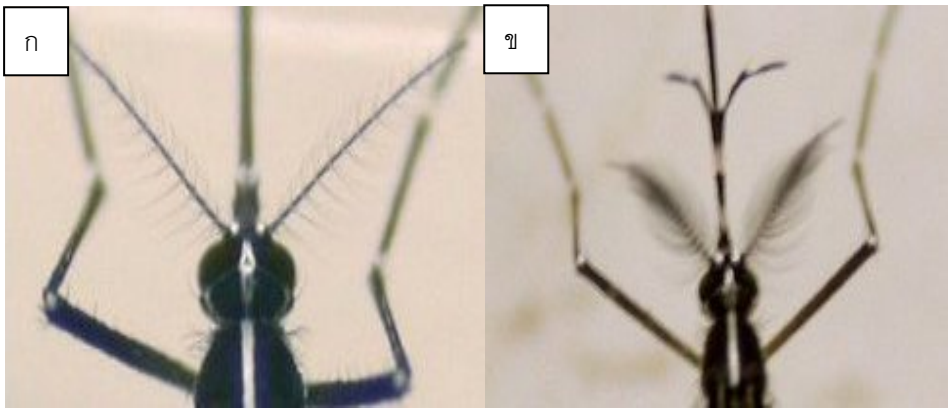
2.1 ลักษณะทั่วไป

ยุงลายมีระยะตัวเต็มวัย (adult) ขนาดเล็ก มีลำตัวแข็งเปราะ ลำตัวยาวประมาณ 3-6 มิลลิเมตร แบ่งเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนหัว (head) ส่วนอก (thorax) และส่วนท้อง (abdomen) ลำตัวมีเกล็ดสีดำสลับขาว ปีกตั้งอยู่บริเวณส่วนอกมีสีใส มีเกล็ดเล็กๆ บนเส้นปีก และมีอวัยวะที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการทรงตัว คือ ฮาลเทอเรส (halteres) 1 คู่ ใกล้กับฐานปีกทั้งสองข้าง ยุงบางชนิดมีเกล็ดตามส่วนหัว ลำตัว และอก ทำให้เกิดเป็นลวดลายแตกต่างกันซึ่งใช้แยกชนิดของยุง เช่น ความแตกต่างของยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) กับยุงลายสวน (*Aedes albopictus*) โดยยุงลายบ้านมีเกล็ดสีดำสลับขาวตามลำตัว หัว อก ท้อง และขา มีเกล็ดสีขาวเรียงตัวกันเห็นเป็นรูปเคียวบนสันหลังอก (scutum) ส่วนยุงลายสวนมีลักษณะคล้ายยุงลายบ้านต่างกันที่บนสันหลังอกมีเกล็ดสีขาวเป็นเส้นตรง (ภาพที่ 1) ส่วนเพศของยุงนั้นดูจากลักษณะหนวด (antenna) ยุงตัวเมียมีหนวดยาว ขนรอบหนวดแต่ละ

ปล้องสั้น เรียกว่า pilose antenna ส่วนยุงตัวผู้มีขนรอบหนวดยาวมองดูคล้ายๆ พู่ขนนก เรียกว่า plumose antenna (ภาพที่ 2) ยุงตัวผู้จะใช้ขนเหล่านี้รับคลื่นเสียงที่เกิดจากการขยับปีกบินของยุงตัวเมีย ทำให้ทราบตำแหน่งของยุงตัวเมีย ลักษณะปากของยุงตัวเมียเป็นแบบแทงดูด (piercing - sucking type) ประกอบด้วยอวัยวะที่คล้ายเข็มเรียกว่า proboscis อยู่ตรงปลายสุด ทำหน้าที่คล้ายฟันสำหรับตัดผิวหนัง และตรงกลางระหว่าง maxillae (2 ชิ้น) กับ mandible (2 ชิ้น) มี hypopharynx ซึ่งมีท่อน้ำลายและในน้ำลายมีสารป้องกันไม่ให้เลือดแข็งตัว โดยยุงจะปล่อยน้ำลายตอนที่กัดเหยื่อเพื่อให้สามารถดูดเลือดได้ง่ายและนานขึ้น (สุชาติ อุปถัมภ์ และคณะ, 2526)



ภาพที่ 1 ตัวเต็มวัยยุงลายบ้าน (ก) และยุงลายสวน (ข)
ที่มา: Lounibos และ O'Meara (2011)



ภาพที่ 2 ความแตกต่างของหนวดยุงตัวเมีย (ก) และตัวผู้ (ข)
ที่มา: จิรวัฒน์ โคตรสมบัติ (ม.ป.ป.)

2.2 วงจรชีวิตยุงลาย (life cycle of *Aedes aegypti*)

วงจรชีวิตของยุงลายเป็นแบบสมบูรณ์ (complete metamorphosis) มีทั้งหมด 4 ระยะ โดยเริ่มจากระยะไข่ ระยะตัวอ่อน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย (ภาพที่ 3) ซึ่งใช้เวลาในการเจริญเติบโตประมาณ 9-14 วัน (กลุ่มกีฏวิทยาทางการแพทย์, ม.ป.ป.) ยุงตัวเมียชอบสถานที่มืดๆ ที่ร่ม น้ำมีสีคล้ำแต่ไม่เน่า วางไข่ข้างภาชนะด้านในเหนือน้ำประมาณ 1 เซนติเมตร ยุงตัวผู้มีชีวิตอยู่ได้ประมาณ 6-7 วัน (มนัสนันท์ ลิมปวิทยากุล, ม.ป.ป.) แต่ถ้าได้รับอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรท (น้ำหวาน) อย่างเพียงพอและมีความชื้นสูง ยุงตัวผู้จะมีชีวิตอยู่ได้นาน 30 วัน ส่วนยุงตัวเมียนั้นสามารถอยู่ได้นาน 104-115 วัน หากอยู่ในสภาวะที่มีอาหารอุดมสมบูรณ์ ความชื้นเหมาะสม เช่น ในฤดูร้อน เป็นต้น (สุชาติ อุปถัมภ์ และคณะ, 2526)

2.3 ระยะไข่ (egg stage)

ไข่เป็นใบเดี่ยว มีลักษณะยาวรีและมีขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร ช่วงวางไข่ใหม่ๆไข่มีสีขาว และค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีดำภายใน 2 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวอ่อนในไข่เจริญเติบโตได้เต็มที่ ต้องใช้เวลาประมาณ 2-3 วัน และอยู่ในพื้นที่ที่มีความชื้นสูง และอุณหภูมิประมาณ 28-30 องศาเซลเซียส เพราะตัวอ่อนภายในไข่เจริญเติบโตได้ดี และฟักเป็นลูกน้ำได้เมื่อมีน้ำท่วมไข่

2.4 ระยะลูกน้ำ (larva stage)

เมื่อมีน้ำท่วมไข่ ตัวอ่อนของลูกน้ำจะใช้หัวดันเปลือกไข่ออกมาภายในเวลา 30 นาที และจะใช้เวลาในการลอกคราบประมาณ 4 ครั้ง จึงกลายเป็นดักแด้ ระยะนี้เป็นระยะที่ต้องกินอาหารมาก ลูกน้ำไม่ชอบแสงและจะพยายามหลบหลีก ท่อหายใจทู่สั้น อวบ และจะโผล่เหนือผิวน้ำเพื่อรับออกซิเจนจากอากาศ ลูกน้ำใช้เวลาเจริญเติบโต 5-7 วัน

2.5 ดักแด้ (pupa stage)

ระยะนี้จะไม่กินอาหาร หายใจทางท่อหายใจ และภายในมีการเจริญเติบโต ใช้เวลาประมาณ 2-3 วัน ลอกคราบเป็นตัวเต็มวัย

2.6 ตัวเต็มวัย (adult stage)

ตัวเต็มวัยที่ลอกคราบออกมามีสีดำสลับขาว บนด้านหลังของอก (notum) มีทรงโค้งและตรงปล้องข้อต่อของขามีลายขาวตามขวาง ตัวเต็มวัยทั้ง 2 เพศกินน้ำหวานเพื่อสร้างพลังงาน ส่วนตัวเมียดูดกินเลือดด้วยเพื่อนำโปรตีนในเลือดไปสร้างไข่ ซึ่งใช้เวลาในการดูดเพียง 2-3 นาที (ฉวีวรรณ ฉิมวัย และสุมาลี ตั้งประดับกุล, 2541) ยุงตัวผู้และตัวเมียจะผสมพันธุ์หลังจากออกมาจากดักแด้ 2-3 วัน และออกหากินตอนกลางวันเป็นส่วนใหญ่ เมื่อดูดกินเลือดแล้ว ภายใน 2-3 วันจะ

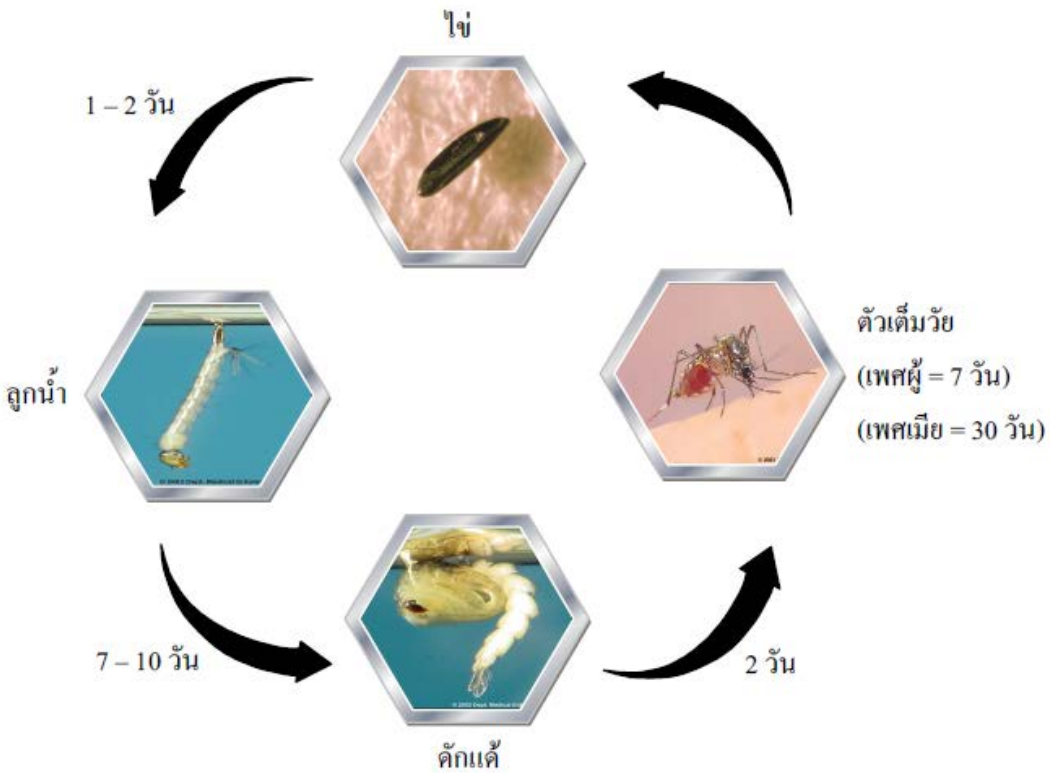
สร้างไข่และออกหาที่วางไข่ตามภาชนะที่มีน้ำขัง เช่น กะลา ซอกโพรงไม้ ตุ่มน้ำ จานรองขาตู้กับข้าว และแจกันดอกไม้ เป็นต้น

2.7 การผสมพันธุ์ของยุง

ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ผสมพันธุ์ได้ในทุกสถานที่แม้กระทั่งที่แคบๆ โดยยุงตัวผู้จะติดตามเสียงที่เกิดจากการบินของยุงตัวเมีย

2.8 ความสามารถในการบิน

ยุงลายบ้านบินได้ไกลประมาณ 100 หลาหรือไม่เกิน 1 กิโลเมตร จากแหล่งเพาะพันธุ์ ซึ่งจัดว่าเป็นยุงที่บินได้ไม่ไกลเมื่อเทียบกับยุงอื่นๆ (สุชาติ อุปถัมภ์ และคณะ, 2526) ส่งผลโดยตรงต่อพฤติกรรมการหาอาหารและพฤติกรรมการเพาะพันธุ์ของยุงลาย



ภาพที่ 3 วงจรชีวิตของยุงลายบ้าน [*Aedes aegypti* Linnaeus]

ที่มา: เอกราช แก้วนางโอ (2552)

2.9 ระบบรับสัญญาณเพื่อการล่าเหยื่อ

- ตัวรับสัญญาณเคมี (chemical sensors): ยุงมีเซลล์ประสาทรับรู้สิ่งที่ตัวให้อาศัยของยุง (host) ปล่อยออกมา เช่น ความชื้น ความร้อน กลิ่นตัว (เหงื่อ) โดยในกลิ่นตัวมีกรดแลคติกและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวกระตุ้นหรือดึงดูดยุงเพศเมีย ยุงลายบ้าน *Aedes aegypti* มีอวัยวะรับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อยู่บนปล้องที่ 4 ของรยางค์ปาก (maxillary palps) (Dister and Boeckh, 1997)

- ตัวรับสัญญาณภาพ (visual sensors): ตาของยุงเป็นแบบตาประกอบ (compound eyes) ไวต่อภาพเคลื่อนไหว และภาพที่มีพื้นหลังที่แตกต่างกัน ยุงจึงเห็นคนที่ใส่เสื้อผ้าชุดดำหรือโทนสีเข้มได้ง่ายกว่า และยุงสังเกตเห็นคนที่เคลื่อนไหวได้ง่ายกว่าคนที่อยู่นิ่ง

- ตัวรับสัญญาณความร้อน (heat sensors): ยุง สามารถรับรู้ระดับความร้อนรอบตัวได้ดี รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิรอบตัว เวลาที่ยุงเข้าใกล้สัตว์เลือดอุ่น เช่น สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และสัตว์ปีก ยุงจึงเข้าหาได้โดยง่าย

2.10 การออกหาอาหารของยุงลาย

ยุงลายจัดเป็นพวก anthrophilic เนื่องจากชอบเลือดคนมากกว่าเลือดสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่นๆ (มนัสนันท์ ลิมปวิทยากุล, ม.ป.ป.) และปัจจัยสำคัญที่ควบคุมการออกหากิน (mosquito activity) หรือแสดงพฤติกรรมต่างๆ ของยุงตัวเต็มวัยคือ จังหวะหรือระยะของรอบวันภายในตัวยุง (endogenous circadian rhythms) ทำหน้าที่คล้ายนาฬิกาทางสรีรวิทยาควบคุมการทำงานภายในร่างกายยุง และจะถูกกระตุ้นด้วยสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น การเปลี่ยนแปลงของแสงจากกลางวันเป็นกลางคืน เป็นต้น ช่วงเวลาที่ยุงตัวเมียออกหากินเลือดในอัตราสูงสุด (high peak) คือ เวลา 9.00 - 14.00 น. ถ้าหากมีอาหารก็จะกัดกินทันที ส่วนยุงตัวผู้ก็จะบินจับกลุ่ม (swarming) เพื่อรอผสมพันธุ์ (สุชาติ อุปถัมภ์ และคณะ, 2526)

2.11 การย่อยอาหารของยุง

ในต่อมน้ำลายของยุงลายบ้านไม่พบเอนไซม์ใดๆ แต่พบในทางเดินอาหารส่วนต้น (foregut) และทางเดินอาหารส่วนกลาง (midgut) อาหารพวกคาร์โบไฮเดรตจะถูกย่อยในทางเดินอาหารส่วนต้น ส่วนอาหารพวกโปรตีนถูกย่อยในทางเดินอาหารส่วนกลาง
(สุชาติ อุปถัมภ์ และคณะ, 2526)

3. การควบคุมและกำจัดยุงลาย

วิธีการควบคุมยุงและกำจัดยุงสามารถทำได้หลากหลายวิธี เช่น การจัดการสิ่งแวดล้อมไม่ให้เอื้อต่อการเจริญเติบโตของยุงลาย การควบคุมและกำจัดยุงโดยวิธีกล การใช้ชีววิธีควบคุม การใช้สารเคมี และการใช้สารสกัดจากพืชที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

3.1 การจัดการสิ่งแวดล้อม (environment control)

จัดที่อยู่อาศัยและอาณาบริเวณไม่ให้เป็นที่วางไข่และฟักตัวของลูกน้ำ โดยคว่ำภาชนะที่ไม่ใช้งาน หมั่นขัดล้างเปลี่ยนถ่ายภาชนะ หรือปรับสภาพน้ำด้วยการเติมเกลือ หรือ ทรายอะเบท เป็นต้น (สีวิกา แสงธาราทิพย์, ม.ป.ป.ก.)

3.2 การควบคุมเชิงกล (mechanical control)

การใช้มือตี การบุมุ้งลวดตามช่องต่างๆ ภายในบ้าน เช่น หน้าต่าง และช่องลม หรือการใช้ไม้ตียุงไฟฟ้า เป็นต้น

3.3 การควบคุมโดยใช้ชีววิธี (biological control)

คือการนำสิ่งมีชีวิตที่มีอยู่ในธรรมชาติ เช่น ตัวห้ำ ตัวเบียน เป็นต้น มาควบคุมแมลงศัตรู (ในที่นี่คือลูกน้ำยุงลาย) จิตเกษม หลำสะอาด (2548) รายงานว่า ระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของแมลงในกลุ่มมวน (Order Hemiptera) ระยะตัวอ่อนในกลุ่มแมลงปอ (Order Odonata) และตัวเต็มวัยในกลุ่มด้วง (Order Coleoptera) เป็นแมลงตัวห้ำของลูกน้ำยุงลาย และพบว่าตัวห้ำเหล่านี้สามารถกินลูกน้ำยุงได้ทุกชนิด (อนุวัฒน์ จันทรสุวรรณ, 2544) นอกจากนี้ยังรายงานว่ามีสิ่งมีชีวิตอีกหลายชนิดที่สามารถกินและกำจัดลูกน้ำยุงลายได้ เช่น ลูกน้ำยุงยักษ์ (*Toxorhynchites* spp.) สามารถกินลูกน้ำยุงลายระยะที่ 1 ได้ 940 ตัวต่อวัน ระยะที่ 2 ได้ 315 ตัวต่อวัน ระยะที่ 3 ได้ 60 ตัวต่อวัน และกินลูกน้ำระยะที่ 4 ได้ 20 ตัวต่อวัน ปลากินลูกน้ำ (larvivorous fish) เช่น ปลาหางนกยูง (*Poecilia* spp.) ปลาสอด (*Gambusia* spp.) ปลากัด (*Betta splendens*) ปลาหัวตะกั่ว (*Aplocheilus panchax*) และปลาตะเพียน (*Barbonymus gonionotus*) เป็นต้น (นิตินุช สุดหนองบัว, 2553) มีการทดลองนำไส้เดือนฝอย (mermithid nematodes) กำจัดลูกน้ำยุงลายบ้าน โดยไส้เดือนฝอยเข้าไปในช่องลำตัวลูกน้ำยุงลายแล้วปล่อยแบคทีเรียที่อยู่ในตัวไส้เดือนฝอย ทำให้แมลงเกิดภาวะเลือดเป็นพิษ (septicemia) และตายในที่สุด (ดวงจันทร์ เกรียงสุวรรณ, 2538) ปัจจุบันมีการนำแบคทีเรีย *Xenorhabdus nematophilus* ที่มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis) กับไส้เดือนฝอยมากำจัดลูกน้ำยุงลายบ้าน และพบว่าแบคทีเรียดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการทำลายระบบทางเดินอาหารของลูกน้ำ (เมธาวี เมธวลี, 2555)

ส่วนแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายเนื้อเยื่อทางเดินอาหารของลูกน้ำยุงลาย เมื่อลูกน้ำกินแบคทีเรียดังกล่าวที่มีผลึกโปรตีนและสปอร์เข้าไป สภาวะด่างในกระเพาะอาหารจะกระตุ้นผลึกโปรตีน และเอนไซม์ในกระเพาะอาหารจะย่อยผลึกโปรตีนที่ถูกกระตุ้นให้เป็นผลึกโปรตีนพิษ ทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร หรือเซลล์รอบท่ออาหารถูกทำลาย ทำให้ลูกน้ำเป็นอัมพาตภายใน 1-2 ชั่วโมง และตายภายใน 24 ชั่วโมง (Lerdthusnee *et al.,* 1996)

3.4 การใช้สารเคมี (chemical control)

การใช้สารเคมีในการควบคุมนั้นเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เนื่องจากราคาถูก และเห็นผลเร็ว ในอดีตมีการใช้สารดีดีทีในการควบคุมตัวเต็มวัยยุงก้นปล่อง (*Anopheles* spp.) ต่อมาพัฒนาเป็นสารเคมีที่มีฤทธิ์ตกค้างน้อย เช่น สารเคมีในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ตัวอย่างเช่น ทรายอะเบท (สารทีมีฟอส) กำจัดลูกน้ำ เนื่องจากคนส่วนใหญ่ในประเทศไทยนิยมเก็บน้ำสะอาดตามภาชนะต่างๆ เช่น โอ่งน้ำ ถังซีเมนต์ เป็นต้น และจากการสำรวจของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข (2544) พบว่าร้อยละ 89 ของภาชนะที่ใช้เก็บน้ำ มีลูกน้ำยุงลาย และการใส่ทรายอะเบท ลงในภาชนะที่มีน้ำเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถควบคุมยุงลายได้นาน 3 เดือนต่อการใส่ 1 ครั้ง ปลอดภัยต่อการใช้ดื่มกินและซักล้าง และยังสามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายได้เกือบร้อยละ 100 ของจำนวนลูกน้ำทั้งหมด ทรายอะเบท หรือ Abate (OMS-768) มีสูตรโครงสร้างเป็น 0,0,0,0’–tetramethyl, 0,0’-thiodi-p-phenylene, phosphorothioate ผลิตโดยบริษัท American Cyanamid ใช้ในรูปเม็ดทราย ความเข้มข้นที่ใช้ 1 พีพีเอ็ม ซึ่งการใส่ทรายอะเบทจะต้องใส่ตามขนาดภาชนะที่ใส่น้ำ ซึ่งแบ่งได้ 4 ขนาด คือ

1. ขนาดน้อยกว่า 100 ลิตร ใช้สาร 10 กรัม
2. ขนาด 100-150 ลิตร ใช้สาร 15 กรัม
3. ขนาด 150-200 ลิตร ใช้สาร 20 กรัม
4. ขนาดมากกว่า 200 ลิตร ใช้สาร 25 กรัม

ส่วนที่รองขาตู้ ใช้ทรายอะเบทเพียง 0.4 กรัม (บุญล้วน พันธุมจินดา, 2524) หรือถ้าต้องการลดความชุกชุมตัวเต็มวัยของยุงลายในชุมชน อาจจะใช้วิธีการพ่นสารเคมี ซึ่งในประเทศไทยมี 2 วิธี คือ

1. การพ่นแบบหมอกควัน (fogging hot thermal) : เป็นเครื่องพ่นที่ใช้ความร้อน โดยใช้สารฆ่าแมลงแบบเจือจาง ซึ่งจะมีทั้งแบบติดตั้งบนรถยนต์และแบบหิ้วสะพายไหล่

2. การพ่นละอองฝอยละเอียด (ULV cold fogger): เป็นเครื่องพ่นที่ใช้พลังงานกล แรงเหวี่ยง โดยใช้สารเคมีปริมาณน้อยแต่มีความเข้มข้นสูง ทำให้มีฤทธิ์ตกค้างในสิ่งแวดล้อมหลายวัน แต่การใช้สารเคมีดังกล่าวมีรายงานพบการต้านทานของลูกน้ำยุงลายทั้งในและต่างประเทศ (สำนัก

โรคติดต่อนำโดยแมลง, 2553) จากรายงานของวาสนา สอนเพ็ง และคณะ (2553) พบว่าผลการศึกษาค่าระดับความต้านทานของยุงลายใน 8 จังหวัดภาคอีสานของประเทศไทย เปรียบเทียบกับสายพันธุ์มาตรฐาน แสดงให้เห็นว่ายุงลายต้านทานต่อสารเคลต้ามิทริน และเพอร์มิทรินในระดับสูง โดยมีค่าระดับความต้านทานมากกว่า 10 เท่า ส่วนสารมาลาไธออน และเฟนิโตรไธออน ยุงลายจากทุกพื้นที่มีค่าระดับความต้านทานในระดับต่ำถึงปานกลาง และเมื่อนำยุงลายมาตรวจสอบทางชีวเคมี พบว่ายุงลายทุกสายพันธุ์มีระดับเอนไซม์โมโนออกซิจีเนสเอสเทอเรสเพิ่มขึ้น ส่วนระดับเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานสเฟอเรสเพิ่มขึ้น 7 สายพันธุ์ จึงมีแนวโน้มว่าทั้งเอนไซม์โมโนออกซิจีเนสเอสเทอเรส และกลูตาไธโอนเอสทรานเฟอเรส มีส่วนเกี่ยวข้องกับการสร้างความต้านทานของยุงลายต่อสารเคมีในกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์ ซึ่งใช้ควบคุมยุงลายระยะตัวเต็มวัย ดังนั้นหากมีการใช้สารเคมีดังกล่าวควบคุมยุงลายติดต่อกันเป็นเวลานาน สามารถชักนำให้ยุงลายสร้างความต้านทาน ซึ่งเป็นปัญหาต่อการควบคุมยุงลายในอนาคตได้ นอกจากนี้วาสนา สอนเพ็ง และคณะ (2550) พบการต้านทานของลูกน้ำยุงลายต่อสารทีมีฟอส โดยทำการเตรียมสารละลายทีมีฟอสที่ระดับความเข้มข้น 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ทดสอบตามวิธีการที่เป็นมาตรฐานขององค์การอนามัยโลกกับลูกน้ำยุงลายที่เก็บจากเขตเทศบาลเมือง 7 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างเดือนเมษายนถึงเดือนมิถุนายน 2549 ผลการศึกษาพบว่า ลูกน้ำยุงลายสายพันธุ์อุบลราชธานี ศรีสะเกษ ยโสธร อำนาจเจริญ และกาฬสินธุ์ มีความไวต่อสารเคมีในระดับสูง เมื่อนำลูกน้ำยุงลายระยะที่ 4 ทั้ง 7 สายพันธุ์ ทดสอบกับสารละลายทีมีฟอสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเพื่อศึกษาค่า LC_{50} และ LC_{95} พบว่าลูกน้ำยุงลายสายพันธุ์มุกดาหารมีค่า LC_{50} และ LC_{95} สูงที่สุดคือ 0.01154 และ 0.0296 มิลลิกรัมต่อลิตร และในต่างประเทศ มีรายงานการต้านทานของยุงลายต่อสารเทมีฟอสในเมืองกูกูตา ประเทศโคลัมเบีย (Grisales *et al*, 2013) และในประเทศบราซิลอีกด้วย (Strode *et al.,* 2012)

3.5 การใช้สารสกัดจากพืชควบคุมลูกน้ำ ดักแด้ หรือสารขับไล่ตัวเต็มวัยยุงลายบ้าน

การควบคุมและกำจัดยุงลายซึ่งเป็นพาหะนำโรคโดยใช้สารเคมีสังเคราะห์มีประสิทธิภาพดีในระยะเวลาสั้น แต่ในขณะเดียวกันก็ส่งผลกระทบระยะยาวต่อการต้านทานต่อสารเคมี รวมถึงปัญหามลพิษเนื่องมาจากการตกค้างของสารเคมีในสิ่งแวดล้อม การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรกำจัดยุงพาหะเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยลดบทบาทของการใช้สารเคมีสังเคราะห์ลง และเป็นการเพิ่มทางเลือกใหม่ในการควบคุมยุงพาหะ สารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายได้นั้นมีหลายชนิด เช่น จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากรากหางไหลแห้งต่ออัตราการตายของลูกน้ำ (คละสายพันธุ์) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 5, 10, 15, 20 และ 25 กรัมต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 5 กรัมต่อลิตร สามารถกำจัดลูกน้ำได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม และที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยพบอัตราการตายของลูกน้ำยุงมากที่สุด

ระหว่างนาทีที่ 150-210 ความเข้มข้นของสารสกัดที่กำจัดลูกน้ำยุงจำนวน 50% ในเวลา 360 นาที คือ 5.6 กรัมต่อลิตร (สมบูรณ์ แสงมณีเดช และคณะ, 2547)

การทดสอบประสิทธิภาพการฆ่าลูกน้ำยุงลาย และยุงรำคาญ จากสมุนไพร 9 ชนิด คือ เมล็ดน้อยหน่า ใบน้อยหน่า (แห้ง) ฝักยี่โถ เมล็ดเทียนหยด เหง้าว่านน้ำ เมล็ดสลอด หัวบอระเพ็ดพุงช้าง ผลมะคำดีควาย และรากหนอนตายหยาก ด้วยวิธีการสกัดแบบหมักในน้ำกลั่นและหมักในเอทานอลร้อยละ 70 ที่อุณหภูมิห้อง นาน 72 ชั่วโมง วิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารสกัดที่ฆ่าแมลงตายที่ระดับร้อยละ 50 (LC_{50}) ที่ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าที่ ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง สารสกัดเมล็ดน้อยหน่า ในเอทานอลร้อยละ 70 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน และยุงรำคาญ โดยค่า LC_{50} มีค่าเท่ากับ 34.56 และ 4.96 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ช่วงเวลาทดสอบ 48 ชั่วโมง สารสกัดเมล็ดน้อยหน่าในเอทานอล ร้อยละ 70 มีประสิทธิภาพฆ่าลูกน้ำยุงลายและยุงรำคาญดีที่สุดเช่นกัน ค่า LC_{50} เท่ากับ 16.61 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (เพ็ญนภา ชมะวิต และคณะ, 2549)

สุวรรณี พรหมศิริ (2546) รายงานว่าจากการศึกษาวิธีการคัดเลือกสมุนไพรเพื่อเป็นสารฆ่าลูกน้ำและศึกษาผลกระทบต่อวงจรชีวิต รูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาและตำแหน่งที่ทำให้ยุงลายบ้านตาย พบว่า ดอกสารภี (*Mamea siamensis* Kost) ผักชีลาว (*Anethum graveolens* L.) และ เมล็ดทุเรียนเทศ (*Annona muricata* L.) มีคุณสมบัติสูงในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านในระยะที่ 3 และ 4 ได้ร้อยละ 50 ของจำนวนลูกน้ำทั้งหมด ภายใน 48 ชั่วโมง และมีการศึกษาต่อเนื่อง คือ นำลูกน้ำยุงลายบ้านที่รอดชีวิต และตายในระยะตัวโม่ง พบว่าสารสกัดทั้งสามชนิดทำให้ลูกน้ำใช้เวลาในการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยนานกว่าชุดควบคุม เมื่อตรวจดูลูกน้ำด้วยกล้องสเตอริโอ พบว่าบริเวณส่วนหางของลูกน้ำยุงลายบ้านถูกทำลายมากที่สุด นอกจากนี้ยังมีพืชที่สามารถนำมาใช้ไล่ยุงได้หลายชนิด เช่น มะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) ไพลเหลือง (*Zongiber cassumunar*) สะระแหน่ (*Mentha arversis*) กระเทียม (*Allium sativum*) กะเพรา (*Ocimum sanatum*) ตะไคร้หอม (*Cymbopogon nardus*) ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus citriodara*) (นิรนาม, ม.ป.ป.ก.) และพบว่า น้ำมันหอมระเหยแมงลัก และตะไคร้หอม ป้องกันยุงลายบ้านได้ดีที่สุด (สมเกียรติ บุญญะบัญชา และคณะ, 2540)

3.6 สารออกฤทธิ์ควบคุมแมลงที่สำคัญที่พบในพืช

อุษาวดี ถาวระ และคณะ (2546) รายงานว่า ปัจจุบันพบพืชมากกว่า 2,000 ชนิดทั่วโลกที่มีสารออกฤทธิ์ควบคุมแมลงในรูปแบบต่างๆ เช่น ไล่แมลง (repellents) ดึงดูดแมลง (attractants) ฆ่าตัวเต็มวัย (adulticides) ฆ่าตัวอ่อน (larvicides) ป้องกันการวางไข่ (antioviposition) ยับยั้งการเจริญเติบโต (growth inhibition) เป็นต้น สารออกฤทธิ์ดังกล่าวได้จากพืชที่สำคัญได้แก่

3.6.1. อะซาดิแรคติน (azadirachtin) เป็นสารกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoid) พบในสะเดาอินเดีย สะเดาไทย และสะเดาช้าง มีฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อนแมลง ยับยั้งการกิน ยับยั้งการเจริญเติบโต ยับยั้งการวางไข่ เป็นต้น (Schmutterer, 1938)

3.6.2. นิโคติน (nicotine) เป็นสารกลุ่มแอลคาลอยด์ (alkaloid) พบในใบยาสูบ ออกฤทธิ์ฆ่าแมลงทั้งแบบสัมผัสตาย (contact poison) และแบบกินตาย (stomach poison) ควรระมัดระวังในการใช้เนื่องจากระคายเคืองผิวหนัง (Singh *et al.,* 2002)

3.6.3. โรติโนน (rotenone) เป็นสารกลุ่มแอลคาลอยด์ (alkaloid) ที่พบในพืชหลายชนิด เช่น หางไหลแดง หนอนตายอยาก ออกฤทธิ์ฆ่าแมลงทั้งแบบสัมผัสตายและแบบกินตาย สลายตัวได้ง่ายเมื่อโดนแสงแดด ข้อควรระวังเมื่อใช้สารนี้คือไม่ให้ปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำ เนื่องจากมีพิษสูงต่อปลา (Ansari *et al.,* 2000)

3.6.4. ปิปเปอรีน (piperine) เป็นสารกลุ่มแอลคาลอยด์ (alkaloid) พบในพริกไทย สามารถออกฤทธิ์ฆ่าแมลง และไล่แมลง (Ansari *et al.,* 1999)

3.6.5. ไพรีทรินส์ (pyrethrins) พบในดอกไพรีทรัม ปัจจุบันใช้สารไพรีทรินส์ผสมในผลิตภัณฑ์ฆ่าแมลงแบบกระป๋องอัดแรงดัน ออกฤทธิ์ฆ่าแมลงได้รวดเร็ว มีพิษต่อสัตว์เลือดอุ่นต่ำ (Skinner and Johnson, 1980)

3.6.6. ซาโปนิน (saponins) พบในพืชหลายชนิด เช่น ปอกระเจา สลอด และขมิ้นชัน ออกฤทธิ์ฆ่าแมลงและไล่แมลง (Kim *et al.,* 2005)

3.6.7. ไซยาโนเจนิกกลัยโคไซด์ (cyanogenic glycosides) พบในพืชหลายชนิด เช่น มันสำปะหลัง ชมพูพวง ผกากรอง และผักเสี้ยน เป็นต้น ออกฤทธิ์ยับยั้งการกิน ยับยั้งการเจริญเติบโต (นิรนาม, ม.ป.ป.ก.)

3.6.8. แทนนิน (tannins) พบในว่านน้ำ และน้อยหน่า ออกฤทธิ์ฆ่าแมลงแบบสัมผัสตายและยับยั้งการกินอาหาร (นิรนาม, ม.ป.ป.ก.)

3.6.9. ยางขาว (latex) พบในมะละกอ ออกฤทธิ์ฆ่ายุงทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย

3.6.10. น้ำมันหอมระเหย (volatile oil) พบในพืชที่มีเหง้า ใบ หรือผลที่มีกลิ่นหอม เช่น ขมิ้นชัน ข่า ขิง ตะไคร้หอม ไพล พริกไทย แมงลัก และโหระพา (Choochote *et al.,* 2007) น้ำมันหอมระเหยของพืชแต่ละชนิดมีองค์ประกอบของสารเคมีหลายชนิดรวมกันอยู่ ซึ่งแต่ละชนิดจะออกฤทธิ์ควบคุมแมลงแตกต่างกันออกไป เช่น ฆ่าแมลง ดึงดูดแมลง หรือไล่แมลง อย่างไรก็ตาม น้ำมันหอมระเหยมีข้อจำกัด คือ สามารถระเหยได้เร็วที่อุณหภูมิห้อง หรืออุณหภูมิที่สูงกว่า 30 องศาเซลเซียส จึงทำให้มีความคงตัวต่ำ (Gbolade *et al.,* 2000) นอกจากนี้น้ำมันที่ได้จากการสกัดจากพืช

สามารถควบคุมโดยวิธีทางกายภาพและกำจัดลูกน้ำยุงได้ดีเกือบร้อยละ 100 ของจำนวนลูกน้ำทั้งหมด (อภิวัฏ ธวัชสิน และคณะ, 2540)

3.7 การใช้น้ำมันที่ได้จากพืชธรรมชาติควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้าน

มีรายงานการใช้น้ำมันที่สกัดจากพืช ซึ่งองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นไขมันโอเลอิก (oleic acid) สามารถสลายตัวได้ในธรรมชาติ ข้อดีอีกประการคือ ยุงไม่สามารถสร้างความต้านทานได้ การศึกษาของ Silva และคณะ (2003) พบว่าน้ำมันที่ได้จากต้น *Copaifera reticulate* สามารถฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ โดยใช้น้ำมันดังกล่าวละลายในตัวทำละลาย dimethylsulfoxide (DMSO) ในอัตรา 0.4 มิลลิลิตร ต่อ น้ำมัน 24.6 มิลลิลิตร สามารถออกฤทธิ์ได้ภายในเวลา 48 ชั่วโมง และ Tawatsin และคณะ (2001a, 2001b) ศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมลูกน้ำยุงของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.) พบว่าสามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน ยุงก้นปล่อง (*Anopheles maculipennis*) และยุงรำคาญได้ และยังส่งผลต่อการลดการวางไข่ ฟักไข่ ได้ร้อยละ 100 ของจำนวนไข่ทั้งหมด และมีค่า LC_{50} ต่อลูกน้ำระยะ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 0.4, 0.9, 39.0 และ 80.0 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ยุวดี ช้างแก้ว (2547) ทดสอบผลของน้ำมันชนิดต่างๆ ต่อลูกน้ำยุงรำคาญระยะที่ 4 พบว่าที่เวลา 48 ชั่วโมง น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างและน้ำมันก๊าดสามารถฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญได้ร้อยละ 100 และ 90 ตามลำดับ Tripathi และคณะ (2004) สกัดน้ำมันจากต้นสะระแหน่ (*Mentha spicata* L. var. *viridis)* พบว่าสามารถฆ่าลูกน้ำยุงก้นปล่องได้ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 61.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในลูกน้ำระยะที่ 4 และ Albuquerque และคณะ (2004) สกัดน้ำมันจากรากสาบเสือ (*Eupatorium betonicaeforme* (D.C.) Baker) สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ นอกจากนี้ยังมีพืชชนิดต่างๆ ที่สามารถฆ่าลูกน้ำยุงชนิดต่างๆได้ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 น้ำมันจากพืชธรรมชาติที่ใช้ในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำยุงชนิดต่างๆ

ชนิดของพืช	ส่วนของพืชที่ใช้	ชนิดของยุงที่ศึกษา	เอกสารอ้างอิง
Tagetes minuta	ทุกส่วนของพืช	*Ae. aegypti*	Perich และคณะ (1994)
Ocimum sanctum	ใบ	*Ae. spp.*	ปิยมาศ ศิลปคง (2545)
			ชนานันท์ แพงไทย และ
			จักฤษณ์ มหัจฉริยวงศ์
Nicotiana tabacum Linn.	ใบ	*Ae. aegypti*	(2550)
Mammea siamensis Kost.	ดอก	*Ae. aegypti*	สุวรรณี (2546)
Anethum graveolens Linn.	ใบ	*Ae. aegypti*	สุวรรณี (2546)
Annona muricata Linn.	เมล็ด	*Ae. aegypti*	สุวรรณี (2546)
Solanum nigrum Linn.	ใบ	*Ae. aegypti*	Singh และคณะ (2002)
		An. culicifacies	

ที่มา: ดัดแปลงจาก เอกราช แก้วนางโอ (2552)

4. สะเดา

เป็นไม้โตเร็ว เจริญได้ดีในแถบร้อน ทนอากาศแห้งแล้งได้ดี สามารถขึ้นได้ในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ แต่ เจริญเติบโตเร็วในสภาพดินที่ไม่ชื้นแฉะ การขยายพันธุ์ใช้วิธีเพาะเมล็ด ขวัญชัย สมบัติศิริ (2540ก) รายงานว่า สะเดาที่พบในประเทศไทยมี 3 ชนิด ได้แก่

4.1 สะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica*) มีชื่อสามัญว่า Neem หรือ Quinine พื้นที่ที่มีการปลูกมากคือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

4.2 สะเดาไทย (*Azadirachta indica* var. *siamensis*) มีชื่อสามัญว่า Siamese Neem Tree มีจำนวนมากที่สุดในประเทศไทย สามารถพบได้ทั่วไปตามหมู่บ้านต่างๆ และตามเส้นทางคมนาคม

4.3 สะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa*) มีชื่อสามัญว่า ต้นเทียม พบเฉพาะภาคใต้เท่านั้น ตั้งแต่จังหวัดชุมพรลงไป

5. สะเดาช้าง

ชื่อวิทยาศาสตร์ ***Azadirachta excelsa***

วงศ์ Meliaceae

ชื่ออื่น ต้นเทียม

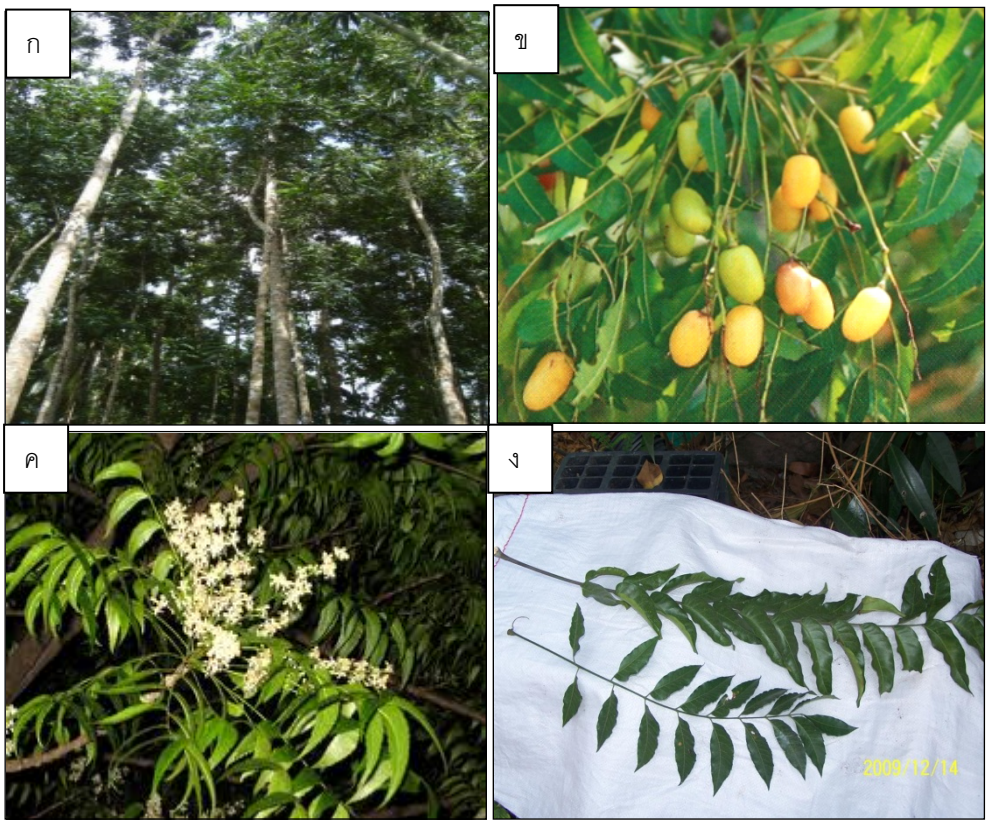
สะเดาช้างเป็นไม้โตเร็ว ขึ้นปะปนกับไม้ชนิดต่างๆ จัดเป็นไม้ยืนต้น ไม่ผลัดใบขนาดใหญ่ในธรรมชาติที่พบเห็นสูงถึง 40 เมตร ลำต้นตรง เปลือกเรียบเมื่ออายุน้อย เมื่ออายุมากขึ้นเปลือกจะแตกล่อนเป็นแผ่น เนื้อไม้มีเสี้ยนตรงสีน้ำตาลแดง ลำต้นอ่อนเปลือกเรียบสีน้ำตาลแดงเมื่อต้นอายุมากขึ้นเปลือกเปลี่ยนเป็นสีเทาเมื่ออยู่ในร่ม แต่จะเป็นสีน้ำตาลเมื่ออยู่กลางแจ้ง เรือนยอดเป็นพุ่มค่อนข้างโปร่ง มีกิ่งก้านน้อยทยอยผลัดใบเรื่อยๆ (ภาพที่ 4)

ใบ : เป็นรูปช่อแบบขนนก ก้านใบยาว 20-60 เซนติเมตร ขึ้นรวมเป็นกระจุกที่ปลายกิ่ง ใบหนาเกลี้ยงและมีสีเขียวเป็นมัน รสขม (ภาพที่ 4)

ดอก : สะเดาช้างจะออกดอกเมื่ออายุ 5 ปีขึ้นไป หลังจากผลัดใบแล้วจะเริ่มออกดอกประมาณเดือนมีนาคม ออกดอกเป็นช่อตามง่ามใบ มีขนาดเล็ก สีขาวอมเขียวอ่อน มีกลิ่นหอม ก้านดอกยาว กลีบดอกมี 5 กลีบ ก้านชูเกสรตัวผู้เชื่อมกันเป็นรูปท่อมีอับเรณูติดอยู่ข้างๆ จำนวน 10 อัน รังไข่มี 3 ห้อง แต่ละห้องมีไข่อ่อนจำนวน 2 อัน เกสรตัวเมียจำนวน 1 อัน ก้านชูเกสรตัวเมียมีสีเขียวอ่อนตรงส่วนปลายเป็นแฉกทู่ 3 แฉก (ภาพที่ 4)

ผล : เมื่อออกดอกแล้วสะเดาช้างจะติดผลเองโดยธรรมชาติ ผลเป็นรูปไข่ เมื่อยังอ่อนมีสีเขียว เมื่อผลแก่สุกจะเป็นสีเหลืองรูปร่างกลมรี มีเปลือกหนา เนื้อภายในนุ่มรับประทานได้แต่มีกลิ่นแรง (ภาพที่ 4)

ทุกส่วนของต้นเทียมหรือสะเดาช้าง สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น เป็นยา เป็นอาหาร เป็นที่อยู่อาศัย เป็นส่วนประกอบของเครื่องสำอาง เป็นส่วนประกอบของอาหารสัตว์ และเป็นสารฆ่าแมลงได้อีกด้วย ส่วนของสะเดาช้างที่นำมาใช้ในการควบคุมกำจัดยุง หรือกำจัดแมลง คือ ส่วนของเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง เพราะพบปริมาณสารออกฤทธิ์มากที่สุด



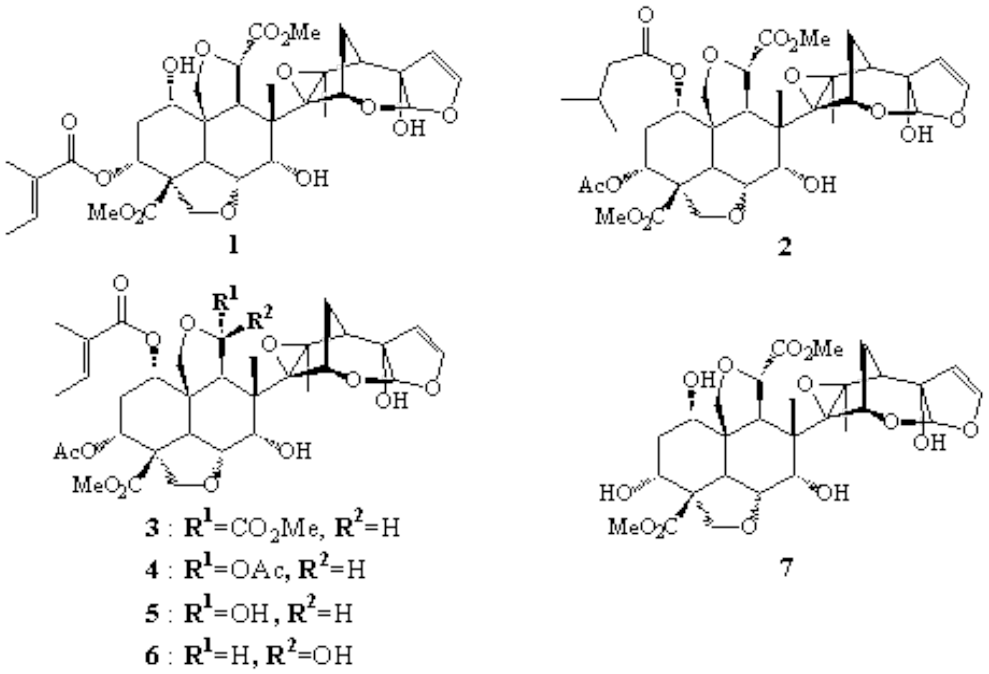
ภาพที่ 4 แสดงลักษณะของลำต้น (ก) ผล (ข) ดอก (ค) และใบ (ง) ของต้นสะเดาช้าง
ที่มา: นิรนาม (ม.ป.ป.ข.); นิรนาม (ม.ป.ป.ค.); นิรนาม (ม.ป.ป.ง.); นิรนาม (ม.ป.ป.จ.)

5.1 ปริมาณสารออกฤทธิ์ของเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง

มีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง โดยสมเดช กนกเมธากุล และคณะ (2552) พบสารในกลุ่มลิโมนอยด์ซึ่งเป็นอนุพันธุ์ของสาร azadirachtin 7 ชนิด ได้แก่ azadirachtin B (1) 1-isopentanoic acid-3-acetylazadirachtol (2) azadirachtin M (3) azadirachtin L (4) 11*a*-hydroxyazadirachtin H (5) 11*b*-hydroxyazadirachtin H (6) และ azadirachtol (7) (ภาพที่ 5) นอกจากนี้ยังพบฮอร์โมนพืช indole-3-acetic acid และองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ของเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง อาทิเช่น สารซาแลนนิน (salannin) นิมบิน (nimbin) นิมบิดิน (nimbidin) และนิมโบไลด์ (nimbolides) เป็นต้น (Dua *et al.,* 2009; Jadeja *et al.,* 2011) และขวัญชัย สมบัติศิริ และคณะ (2540ก) พบสาร 1-tigoyl-3-acetylazadirachtol เป็นสารหลัก ซึ่งมีโครงสร้างใกล้เคียงกับสาร azadirachtin โดยมีข้อแตกต่างที่คาร์บอนตำแหน่ง 11 คือสาร azadirachtin มีหมู่ไฮดรอกซิล (–OH group) มาเกาะ ส่วนสาร 1-tigoyl-3-acetylazadirachtol มีอะตอมของไฮโดรเจน (–H) มาเกาะ (มนัสวี พัฒนากุล, 2551)

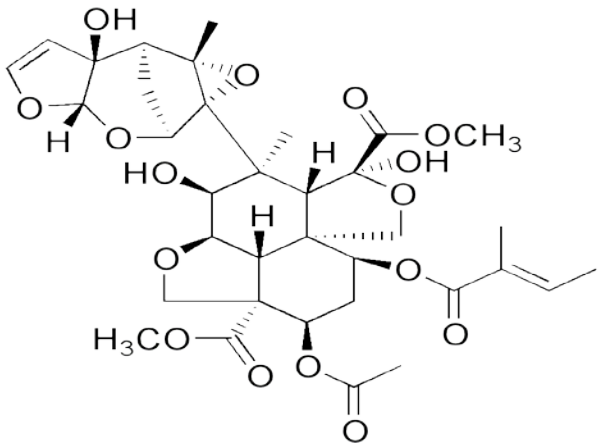
สารอะซาดิแรคติน (azadirachtin) ที่พบในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง

- Azadirachtin ($C_{35}H_{44}O_{16}$) (ภาพที่ 6)
- เป็นสารอินทรีย์กลุ่ม tetranortriterpenoids
- สกัดได้จากเมล็ดใน (kernel) สะเดา เท่านั้น
- สาร azadirachtin มีปริมาณสูงสุดเมื่อผลสะเดาสุกเต็มที่ (สีเหลือง)
- ชื่อทางการค้า คือ มาร์โกซาน แอคกริดายน์ สะเดา 111



ภาพที่ 5 สูตรโครงสร้างอนุพันธ์ของสาร azadirachtin 7 ชนิด

ที่มา: สมเดช กนกเมธากุล และคณะ (2552)



ภาพที่ 6 สูตรโครงสร้างของสารอะซาดิแรคติน

ที่มา: นิรนาม (ม.ป.ป.ฉ.)

5.2 กลไกการออกฤทธิ์ของสารอะซาดิแรคตินต่อแมลง

สารอะซาดิแรคติน มีกลไกการออกฤทธิ์หลายลักษณะต่อแมลง คือ ขัดขวางการลอกคราบ (growth regulator) ยับยั้งการกิน (antifeedant) ป้องกันการวางไข่ (antioviposition) ไล่ (repellent) และยับยั้งการสร้างไคติน (chitin synthesis inhibitor) (ชัยพัฒน์ จิระธรรมจารี, 2539 อ้างโดย เอกราช แก้วนางโอ, 2552) และเมื่อแบ่งเป็นตำแหน่งการออกฤทธิ์ สามารถแบ่งได้เป็น 2 ทาง หลักๆ คือ

1. ยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลงซึ่งเป็นผลทางสรีรวิทยา (physiological pest control agent; PPCA) คือ สารอะซาดิแรคตินมีสูตรโครงสร้างทางเคมีและมีกลไกการทำงานคล้ายกับ molting hormone (ecdysone)

2. ยับยั้งการกินและวางไข่ซึ่งเป็นผลทางพฤติกรรม (behavioural pest control agent; BPCA) คือ แมลงหยุดกินอาหาร และลดการขยายพันธุ์

เมื่อนำสารสกัดจากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างไปทดสอบกับยุงลายทั้งทางตรงและทางอ้อม พบว่าสามารถอออกฤทธิ์ต่อทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยได้ 5 ลักษณะ คือ

1. ฤทธิ์ในการเป็นสารไล่ ใช้ไล่เฉพาะยุงตัวเต็มวัย และสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้างจะมีฤทธิ์เป็นสารไล่เมื่อใช้วิธีรมน้ำมัน หรือ ให้อยู่ในรูปควัน ซึ่งในการใช้งานจริงอาจต้องรมสารบ่อยจึงจะเห็นผล

2. ลดความสามารถในการวางและฟักไข่ ใช้วิธีหยดน้ำมันที่ได้จากการสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างลงในแหล่งน้ำที่ยุงวางไข่ กลิ่นของน้ำมันทำให้ยุงตัวเมียวางไข่น้อยลง หรืออาจวางไข่ในปริมาณเท่าเดิมแต่จำนวนไข่ที่ฟักออกมาลดลง

3. ทำลายระบบทางเดินอาหาร ใช้วิธีหยดน้ำมันลงไปในแหล่งน้ำที่มีลูกน้ำอาศัยอยู่ โดยสารสำคัญในน้ำมันจะซึมผ่านผิวหนังและผ่านการกินของลูกน้ำทำให้ระบบทางเดินอาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติ ส่งผลให้ลูกน้ำตายในที่สุด

4. ผลต่อระบบหายใจ ใช้วิธีหยดน้ำมันลงในแหล่งน้ำที่มีลูกน้ำอาศัยอยู่ โดยน้ำมันที่เคลือบบริเวณผิวน้ำ ซึ่งเป็นบริเวณที่ลูกน้ำและดักแด้แทงท่อหายใจขึ้นมาเพื่อรับออกซิเจนเหนือผิวน้ำ ทำให้น้ำมันอุดตันท่อทางเดินหายใจ ส่งผลให้ลูกน้ำและดักแด้ตายในที่สุด

5. ยับยั้งการลอกคราบ น้ำมันที่หยดลงไปในแหล่งน้ำ นอกจากส่งผลต่อการวางไข่ ฟักไข่ ทำลายระบบทางเดินอาหาร และระบบหายใจแล้ว สารสำคัญในน้ำมันยังสามารถยับยั้งการลอกคราบของลูกน้ำ และดักแด้ได้อีกด้วย (เอกราช แก้วนางโอ, 2552)

5.3 การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง

ผลิตภัณฑ์จากสะเดาที่วางขายทั้งในและต่างประเทศนั้น ส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสะเดาไทยและสะเดาอินเดีย มีทั้งในรูปของสารสกัดสะเดาชนิดน้ำ น้ำมัน ชนิดผง และกากสะเดาซึ่งการนำไปใช้ประโยชน์นั้นมีหลากหลาย อาทิเช่น เป็นส่วนประกอบของปุ๋ย เป็นส่วนประกอบของอาหารสัตว์ หรือในประเทศอินเดียนิยมเอาน้ำมันเมล็ดสะเดาไปทำสบู่ และที่สำคัญคือสามารถใช้ในการป้องกันโรคพืชที่มีสาเหตุมาจากเชื้อราและไวรัส สำคัญที่สุดคือการนำมาใช้เป็นสารป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช มีแมลงหลายชนิดที่อ่อนแอต่อสารสกัดสะเดา เช่น หนอนผีเสื้อ ด้วงปีกแข็ง เพลี้ยอ่อน เห็บ เหา หมัด เป็นต้น

Mulla และคณะ (1999) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์จากสะเดาอินเดีย 2 แบบ คือแบบผงเปียกน้ำ (Azad ® WP 10) และแบบน้ำมันเข้มข้น (Azad ® EC 4.5) ต่อการลดการวางไข่ของยุงรำคาญ *Cx. tarsalis* Coquillet และ *Cx. quinquefasciatus* Say พบว่าผลิตภัณฑ์แบบผงเปียกน้ำ สามารถลดการวางไข่ของยุงรำคาญทั้ง 2 ชนิด โดยใช้ความเข้มข้นต่ำสุด 5 และ 10 พีพีเอ็ม ตามลำดับ และผลิตภัณฑ์แบบน้ำมันเข้มข้น สามารถลดการวางไข่ของยุงรำคาญ *Cx. tarsalis* ได้เพียงชนิดเดียว

Hati และคณะ (1995) ศึกษาผลของน้ำมันเมล็ดสะเดาอินเดียต่อการไล่ยุงลาย *Ae. aegypti* โดยนำน้ำมันเมล็ดสะเดาอินเดียที่มีความเข้มข้น 1.5 และ 2 มิลลิลิตร มาทาแขนแล้วยื่นไปในกรงที่มียุงลาย 50 ตัว พบว่าจำนวนยุงลายมาเกาะที่มือ เท่ากับร้อยละ 0-4 และ ร้อยละ 0-2 ตามลำดับ

ขวัญชัย สมบัติศิริ และคณะ (2531) ทดสอบสารสกัดจากสะเดาไทยที่ความเข้มข้นร้อยละ 3.3 พบว่าสามารถป้องกันกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้าย โดยให้ผลไม่แตกต่างกับการใช้สาร cyhalothrin และรายงานจากพรชัย อานันท์นิตย์ และขวัญชัย สมบัติศิริ (2535) รายงานว่าสารสกัดสะเดาที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 สามารถฆ่าหนอนชอนใบส้มได้เป็นอย่างดี

Attri และ Prasad (1980) พบว่าน้ำมันสะเดาอินเดียที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.005 สามารถฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. fatigan* (วัย 1) ได้ร้อยละ 100 ของจำนวนลูกน้ำทั้งหมด และพบว่ายุงรำคาญมีความไว (susceptibility) ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของสารสกัดเมล็ดสะเดาอินเดียมากกว่ายุงลาย

ส่วนผลิตภัณฑ์จากสะเดาช้างยังไม่มีขาย แต่มีอยู่ในรูปของงานวิจัยที่กำลังพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์ ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่นำไปใช้ประโยชน์ในการเป็นสารป้องกันและกำจัดแมลงนั้นมาจากเนื้อในของเมล็ดสะเดาช้าง เพราะมีปริมาณสารอะซาดิแรคตินมากที่สุด ซึ่งเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างสามารถนำมาทำผลิตภัณฑ์ได้ 3 รูปแบบ คือ

1. สารสกัดเมล็ดสะเดา: สามารถสกัดได้โดยใช้น้ำหรือแอลกอฮอล์ ซึ่งสารสกัดที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์จะเข้มข้นกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำ และสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำจะต้องใช้ทันที ไม่สามารถเก็บไว้ได้นาน ส่วนสารสกัดที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์เก็บได้นาน 1-2 ปี (ชาญณรงค์ ทวีสาร, 2555)

2. กากเมล็ดสะเดา: เป็นกากที่เหลือจากการสกัดน้ำมันและสารสกัดหยาบ สามารถนำไปเป็นส่วนประกอบของอาหารสัตว์ได้หลายชนิด เช่น วัว สุกร เป็นต้น

3. น้ำมันเมล็ดสะเดา: เป็นน้ำมันที่ได้จากการอัด หีบ หรือใช้สารเคมีสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดา เช่น เฮกเซน เบนซิน เป็นต้น

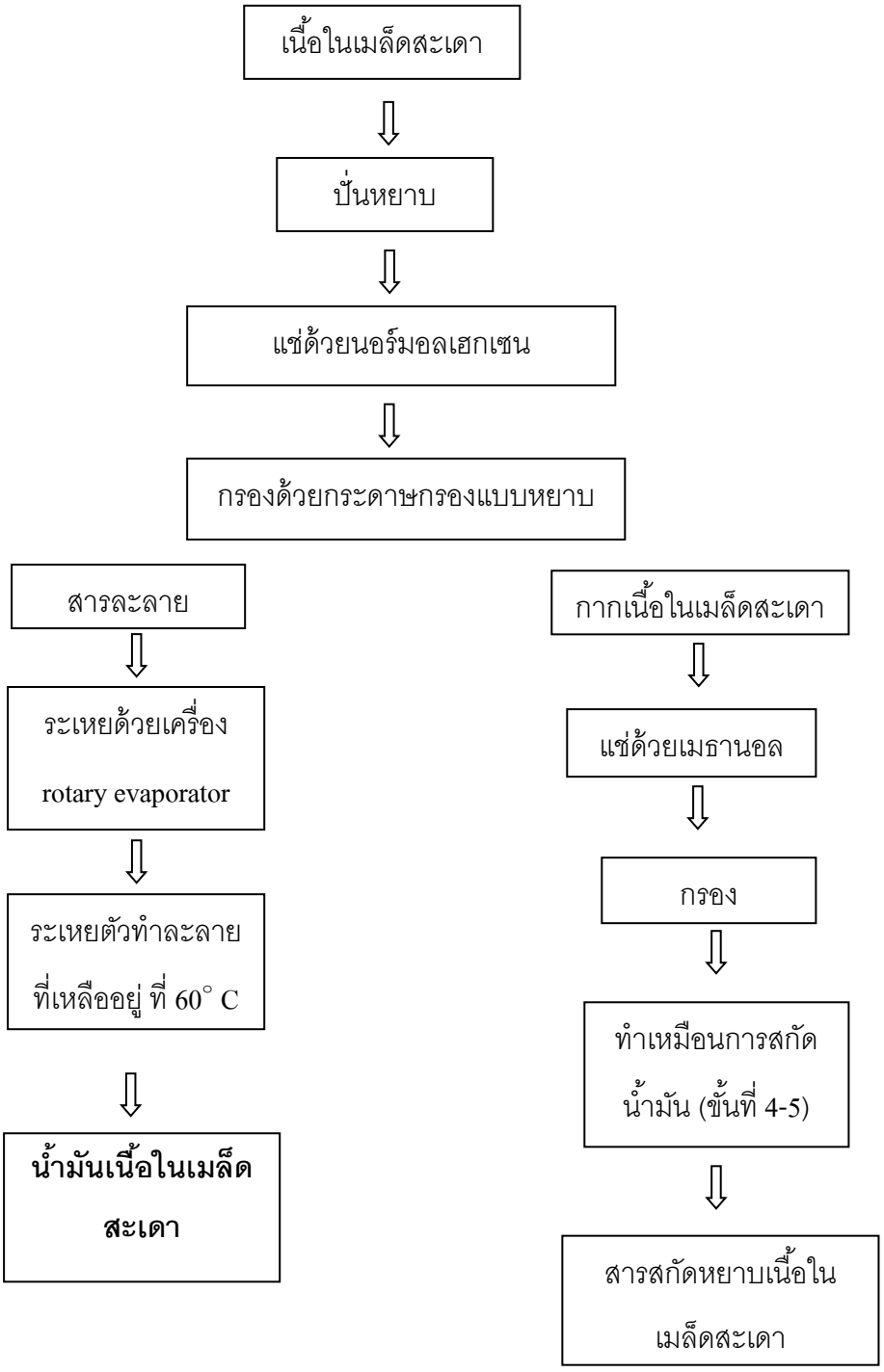
พัชรินทร์ เจียรบุตร (2550) ทำการทดสอบผลของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างต่อการไล่ การดูดเลือด การวางไข่ และการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยของยุงลายบ้าน พบว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างมีผลต่อการไล่ การวางไข่ และการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย แต่ไม่มีผลต่อพฤติกรรมการดูดเลือดของยุงลายบ้าน โดยความเข้มข้นที่ได้ผลดีที่สุด คือ 5,000 พีพีเอ็ม และ จุฑาทิพย์ เพ็ชรสมบูรณ์ (2550) ทดสอบผลของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้างและน้ำมันหอมระเหยต่อการไล่ยุงรำคาญ โดยนำน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างผสมกับน้ำมันหอมระเหยในอัตราส่วน 1 : 1 เปรียบเทียบกับกับสารสกัดหยาบและน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเดี่ยวๆ และน้ำเปล่า พบว่า น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่ผสมกับน้ำมันหอมระเหยสามารถไล่ยุงรำคาญได้ดีและยังมีกลิ่นหอมด้วย ต่อมา มนัสวี พัฒนกุล (2551) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้างในการป้องกันการดูดเลือดของยุงลาย โดยทดสอบด้วยการใช้น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างทาผิว ใช้เครื่องไล่ยุงไฟฟ้าโดยให้สารอยู่ในรูปแมทฟอยด์ และใช้ยาจุดกันยุง พบว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสามารถป้องกันการดูดเลือดของยุงได้ดีกว่าสารสกัดหยาบ และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างร้อยละ 25 ทำให้ยุงลายบ้านตกสู่พื้นได้ ร้อยละ 18.75 ของจำนวนยุงลายบ้านทั้งหมด และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง สารสกัดหยาบ น้ำมันตะไคร้หอม ในรูปยาจุดกันยุง ไม่สามารถทำให้ยุงลายบ้านตกสู่พื้นได้ และ เอกราช แก้วนางโอ (2552) ได้ทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างเพื่อควบคุมยุงลายบ้าน โดยทำการการทดสอบความเป็นพิษในการฆ่า

ลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านของสารแบบดั้งเดิม (น้ำมันและสารสกัดหยาบเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง) ผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบแบบของเหลวพร้อมใช้งาน แบบเม็ดกลมชนิดจมน้ำ และแบบเม็ดกลมชนิดลอยน้ำ พบว่า สารแบบดั้งเดิมและผลิตภัณฑ์ของเหลวพร้อมใช้งานให้ผลในการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านได้ดี การศึกษาวิจัยผลิตภัณฑ์จากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างยังต้องทราบข้อมูลอีกหลายด้าน หนึ่งในนั้นคือการศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างให้เก็บไว้ได้นาน

6. ปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์น้ำมันเมล็ดสะเดา

รติยา คูเขตพิทักษ์วงศ์ และคณะ (2546) ศึกษาการเก็บเมล็ดสะเดาไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 20-35 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50-60 เป็นเวลา 1-4 เดือน พบว่าปริมาณสารอะซาดิแรคตินลดลง นอกจากนี้ การเก็บเมล็ดสะเดาในที่ที่โดนแสงทำให้สูญเสียสารอะซาดิแรคตินมากขึ้น มีการรวบรวมรายงานเกี่ยวกับสะเดาว่าปริมาณสารอะซาดิแรคตินที่มีอยู่ในเมล็ดสะเดาขึ้นอยู่กับชนิดของสะเดา แหล่งปลูก และการเก็บรักษาเมล็ดสะเดา (นพมาศ สรรพคุณ, 2535)

ส่วนใหญ่ในประเทศไทยพบการสกัดน้ำมันเมล็ดสะเดาแบบขั้นตอนเดียว (single step) คือ เริ่มจากการบีบอัดน้ำมันออกจากเนื้อในเมล็ดสะเดาก่อน แล้วแช่แอลกอฮอล์เพื่อดึงสารสกัดออกมา ซึ่งการสกัดแบบนี้จะให้น้ำมันและสารสกัดหยาบในปริมาณที่น้อย แต่ในต่างประเทศจะใช้วิธีแช่ยุ่ย (maceration) คือการนำเนื้อในเมล็ดสะเดาไปแช่ในตัวทำละลายไม่มีขั้ว (nonpolar solvents) เพื่อดึงน้ำมันออกมาก่อน แล้วนำกากไปแช่ในตัวทำละลายมีขั้ว (polar solvents) เพื่อสกัดสารสกัดหยาบออกมา (อัญชลี สงวนพงษ์, 2539) ดังภาพที่ 7 นอกจากนี้การใช้อุณหภูมิที่ไม่ร้อนมากในการระเหยตัวทำละลายยังสามารถช่วยลดการสลายตัวของสารสำคัญในน้ำมันเมล็ดสะเดา คือ สารอะซาดิแรคติน (Ermel *et al.,* 1987) ปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อการสลายตัวของสารออกฤทธิ์ในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง ได้แก่ ปฏิกิริยาระหว่างสาร กระบวนการผลิต ภาชนะที่บรรจุ แสง ความชื้น และอุณหภูมิ เป็นต้น (นัยนา สันติยานนท์, 2551)



ภาพที่ 7 วิธีการสกัดน้ำมันเมล็ดสะเดาแบบแช่ยุ่ย (maceration)

วัตถุประสงค์ในการวิจัย

1. เพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างในสภาวะเร่ง
2. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อสมบัติทางกายภาพ (สี) ปริมาณกรดไขมัน ค่าเปอร์ออกไซด์ และการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง
3. เพื่อศึกษาผลต่อลูกน้ำยุงลายบ้านของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ประเมินอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างได้ เพื่อพัฒนาวิธีการเก็บรักษาน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างให้ใช้งานได้นานสูงสุด
2. ทราบผลที่แท้จริงของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน
3. เป็นข้อมูลในการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างให้มีประสิทธิภาพในเชิงพาณิชย์ต่อไป

ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาอายุการเก็บรักษาของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างภายใต้สภาวะเร่ง โดยนำน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่ได้จากการสกัดแบบแช่ยุ่ย การกลั่นลำดับส่วน และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป ไปวิเคราะห์หาสารอะซาดิแรคตินด้วยวิธี HPLC ในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หลังจากนั้นนำน้ำมันที่เก็บภายใต้อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส ไปทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน และศึกษาผลต่อลูกน้ำยุงลายบ้านด้วยการนำน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างต่างๆ มาทดสอบผลการตายของลูกน้ำ เปรียบเทียบกับน้ำมันอื่นๆ เช่น น้ำมันปิโตรเลียม น้ำมันปาล์ม ในห้องปฏิบัติการของภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ แล้วนำลูกน้ำที่ตายศึกษาทางเนื้อเยื่อ (histological study) เพื่อดูความเสียหายที่เกิดขึ้นกับลูกน้ำยุงลาย

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

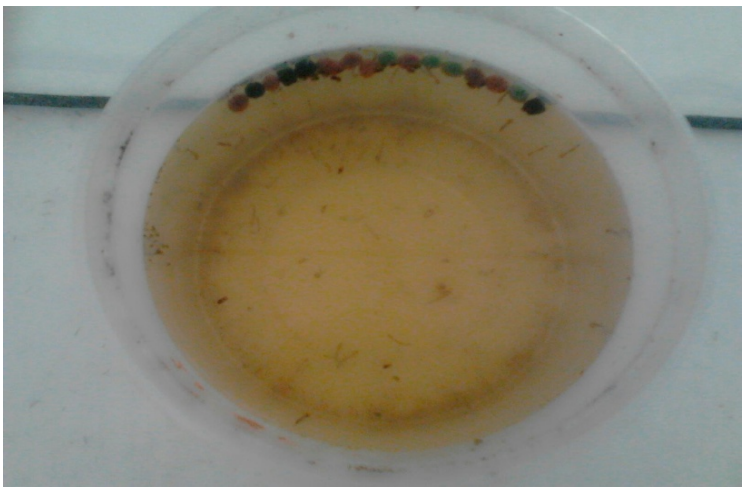
1. การเลี้ยงยุงลายในห้องปฏิบัติการ

วิธีการเลี้ยง

1. นำไข่ยุงลายบ้านที่ได้รับความอนุเคราะห์จากสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 12 สงขลา (ภาพที่ 8) มาเพาะฟัก โดยนำมาใส่ในถาดขนาด กว้าง 23 ยาว 30-33 สูง 5-8 เซนติเมตร ที่มีน้ำประปาที่ระเหยสารคลอรีนออกแล้วปริมาณครึ่งหนึ่งของถาด ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน ไข่จะฟักออกมาเป็นลูกน้ำภายในเวลา 30 นาที เขย่ากระดาษก่อนนำกระดาษออก (ภาพที่ 9)
2. ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปใช้สำหรับเลี้ยงสุกรตรา SPM 3-4 เม็ดสำหรับเลี้ยงลูกน้ำ 500-1,000 ตัว และเปลี่ยนน้ำในถาดทุก 2 วัน จนลูกน้ำเป็นดักแด้ (ภาพที่ 10)
3. ดูดดักแด้ใส่ถ้วย แล้ววางในกรงเลี้ยงยุงขนาด 30 × 30 × 30 เซนติเมตร (ภาพที่ 11)
4. เมื่อดักแด้ออกมาเป็นตัวเต็มวัย (ใช้เวลา 2-3 วัน) นำสำลีพันกับไม้ ยาว 8-10 เซนติเมตร ชุบน้ำหวานวางในขวดปากกว้าง (ขวดซุปไก่) ไปวางในกรง เพื่อเป็นอาหารของยุงตัวเต็มวัย และเปลี่ยนน้ำหวานทุกๆ 2 วัน (ภาพที่ 11)
5. เมื่อยุงตัวเต็มวัยอายุได้ 7 วัน ยุงจะเริ่มผสมพันธุ์ ปล่อยให้ผสมพันธุ์กันเป็นเวลา 2 วันแล้วให้อดน้ำหวาน 1 วัน จากนั้นจึงให้เลือดเพื่อเป็นอาหารสำหรับยุงตัวเต็มวัยเพศเมีย เพื่อนำโปรตีนที่อยู่ในเลือดไปสร้างไข่
6. นำกระดาษสีส้มอิฐมาบุภายในถ้วยเพื่อให้ยุงมาวางไข่ แล้วใส่น้ำครึ่งหนึ่งของถ้วย นำถ้วยดังกล่าวไปวางไว้ในกรงเพื่อให้ยุงมาวางไข่ ปล่อยทิ้งไว้ 2 วัน จึงนำถ้วยออกมา
7. นำกระดาษที่ยุงลายบ้านวางไข่แล้วมาผึ่งให้แห้ง (ภาพที่ 12) บันทึก วัน เดือน ปี ที่เก็บไข่ไว้บนกระดาษ นำมารวบรวมไว้ในกล่องที่แห้งสนิท

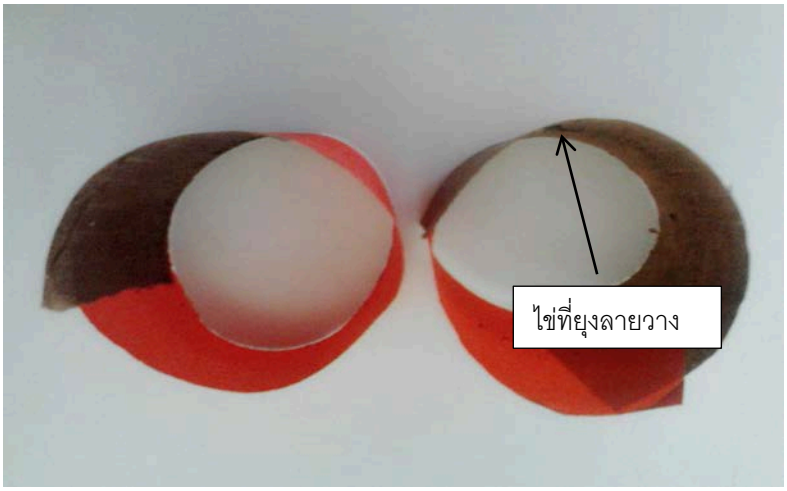
ภาพที่ 8 ไข่ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus)

ภาพที่ 9 การเพาะฟักไข่ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus)



ภาพที่ 10 อาหารสำเร็จรูปที่ใช้เลี้ยงลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus)

ภาพที่ 11 กรงเลี้ยงยุงขนาด 30 × 30 × 30 เซนติเมตร และ สำลีพันไม้ชุบน้ำหวาน



ภาพที่ 12 กระดาษที่มีไข่ยุงลายบ้านวางผึ่งลม

2. การเตรียมน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง

สารเคมี

นอร์มอลเฮกเซน เป็นเกรดทางการค้า (commercial grade) ต้องกลั่นให้บริสุทธิ์ก่อนนำมาใช้ทดลอง

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง
   นำเมล็ดไปตากแดด ตั้งแต่เวลา 08.0 –15.00 น. เป็นเวลา 5 วัน เพื่อลดความชื้นก่อนกะเทาะเปลือกออก หลังจากนั้นนำเนื้อในเมล็ดสะเดาไปชั่งน้ำหนักก่อนนำไปปั่นหยาบและชั่งน้ำหนักอีกครั้งหลังจากปั่นหยาบแล้ว (ภาพที่ 13)
2. การสกัดน้ำมันจากเมล็ดสะเดาช้างโดยวิธีแช่ยุ่ย
   นำเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างที่ปั่นหยาบแล้วใส่ในขวดแก้วขนาด 20 ลิตร เติมนอร์มอลเฮกเซน (normal hexane) ลงไปจนท่วมตัวอย่าง ปิดปากขวดด้วยจุกยางที่หุ้มกระดาษตะกั่ว ทิ้งไว้ 7 วัน จากนั้นเทสารละลายออก (ภาพที่ 14) นำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) (ภาพที่ 15) หลังจากนั้นนำไประเหยอีกครั้งในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ทำซ้ำแบบนี้ 7 ครั้ง ได้น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (ภาพที่ 16)

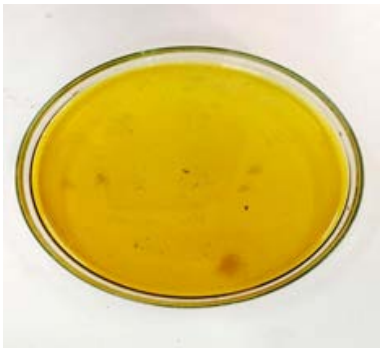
3. การทำน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป
   นำน้ำมันที่ได้จาก ข้อ 2 มาผสมกับสารอิมัลซิฟายเออร์ (Tween®และ Span®) ในสัดส่วนร้อยละ 90 : 8.4 : 1.6 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จะได้น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป (ภาพที่ 17) (เอกราช แก้วนางโอ, 2552)
4. การสกัดน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างโดยวิธีกลั่นลำดับส่วน
   นำเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างที่ปั่นหยาบแล้วไปสกัดในตัวทำละลายนอร์มอลเฮกเซน โดยวิธีกลั่นลำดับส่วน (soxhlet) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 18) นำสารละลายไปกรองด้วยกระดาษกรองแบบหยาบ และนำไประเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน นำสารที่ได้ใส่ในจานเล็ก ก่อนนำไประเหยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในอ่างควบคุมอุณหภูมิอีกครั้งเพื่อแยกตัวทำละลายที่อาจหลงเหลืออยู่ออกให้หมด ได้น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (ภาพที่ 19)

ภาพที่ 13 เมล็ดสะเดาช้างตากแห้ง (ก) และเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างปั่นหยาบ (ข)

ภาพที่ 14 เนื้อในเมล็ดสะเดาช้างแช่ในนอร์มอลเฮกเซน

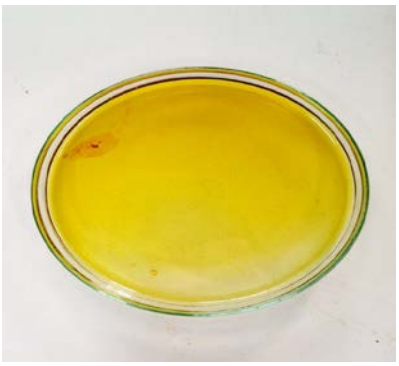
ภาพที่ 15 เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator)

ภาพที่ 16 น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย



ภาพที่ 17 น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป

ภาพที่ 18 เครื่องสกัดสารแบบกลั่นลำดับส่วน (soxhlet)



ภาพที่ 19 น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบกลั่นลำดับส่วน

3. การศึกษาอายุการเก็บรักษาของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างโดยสภาวะเร่ง

การวิเคราะห์นี้ดัดแปลงจากวิธีของ Yakkundi และคณะ (1995), รติยา คูเขตพิทักษ์วงศ์ และคณะ (2546), Jadeja และคณะ (2011), วริษฎา ศิลาอ่อน และคณะ (2551) และจิรดา สิงขรรัตน์ และนุชนาฏ เสือเล็ก (2556)

เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์

ชุดเครื่องวิเคราะห์และแยกสารของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ประกอบด้วย เครื่อง HPLC (Perkin Elmer, model 1022) ต่อกับปั๊ม (Perkin Elmer, series 200 LC pump) (ภาพที่ 20)

ภาพที่ 20 ชุดเครื่องวิเคราะห์และแยกสารของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

วิธีการทดลอง

1. นำน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบต่างๆ คือ น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบกลั่นลำดับส่วน และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป บรรจุในขวดแก้วเล็ก (vial) ขนาด 2 มิลลิลิตร ตัวอย่างละ18 ขวด รวมตัวอย่างน้ำมันทั้งหมด 54 ขวด ทดสอบอายุการเก็บรักษา โดยเก็บรักษาน้ำมันที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์ แล้วสุ่มตัวอย่างน้ำมันที่เวลาต่างๆ จำนวนตัวอย่างละ 3 ขวด มาทดสอบ ดังนี้

- การทดสอบทางเคมี : นำน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิที่กำหนด ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารอะซาดิแรคตินที่เวลา 0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42 วัน โดยวิธี HPLC

2. หาสภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ HPLC ได้ดังนี้

   - Column: C_{18} (4.6 mm × 150 mm, Symmetry ^{TM} 5 µm, Thermo scientific)
   - เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase; โดยใช้ methanol : water) 70 : 30
   - อัตราการไหล (flow rate) 0.3 มิลลิลิตรต่อนาที
   - ตัวรับรังสียูวี (UV detector) ที่ความยาวคลื่น 227 นาโนเมตร
   - injection volume 100 ไมโครลิตร

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานอะซาดิแรคติน (CHEM SERVICE, Inc.PO BOX 599, WEST CHESTER) ซึ่งเป็นของแข็ง มีสีขาวทึบ จุดหลอมเหลว 155-158 องศาเซลเซียส มวลโมเลกุลเท่ากับ 720.7 และสูตรโครงสร้างเป็น $C_{35}H_{44}O_{16}$ ทำเป็น azadirachtin stock โดยชั่งสารมาตรฐานอะซาดิแรคติน 1,000 ไมโครกรัม ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายด้วยไดเมทธิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide) 1,000 ไมโครลิตร เป็นความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดูดสารมาในปริมาตร 100, 200, 300 และ 400 ไมโครลิตร เติมเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ให้ครบ 1,000 ไมโครลิตร ได้ความเข้มข้นที่ 100, 200, 300 และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เพื่อใช้สร้างกราฟมาตรฐาน

4. สร้างกราฟมาตรฐานโดยพลอตระหว่างความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ของสารละลายมาตรฐานอะซาดิแรคติน (แกน X) และ peak area (แกน Y) สร้างสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (ดังสมการที่ 1)

$$\mathbf{y = ax+b} \qquad (1)$$

   เมื่อ x = ความเข้มข้นของสารอะซาดิแรคตินในสารละลายตัวอย่าง (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

   y = peak area ของสารละลายตัวอย่าง

   a = slope ของเส้นกราฟสารละลายมาตรฐาน และ

   b = y-intercept ของเส้นกราฟสารละลายมาตรฐาน

5. เตรียมตัวอย่างเพื่อคำนวณหาสารอะซาดิแรคติน โดยสุ่มตัวอย่างน้ำมันมาตัวอย่างละ 3 ขวด ปิเปตในปริมาตร 50 ไมโครลิตร ละลายด้วยไดเมทธิลซัลฟอกไซด์ 950 ไมโครลิตร เป็นความเข้มข้น 50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร และดูดสารจากตัวอย่างข้างต้น 50 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วย mobile phase ให้ครบ 1,000 ไมโครลิตร เป็นความเข้มข้น 2.5

ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร แล้วกรองผ่านตัวกรองไซรินจ์ (syringe filter) วิเคราะห์หาปริมาณสารอะซาดิแรคติน ด้วยวิธี HPLC ตามสภาวะข้างต้น คำนวณหาปริมาณสารอะซาดิแรคตินโดยคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาพที่ 32, ภาคผนวก ข) และเทียบปริมาณสารอะซาดิแรคตินเป็นร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร

การประเมินอายุการเก็บรักษาโดยใช้เกณฑ์การลดลงของสารสำคัญในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง

นำค่าอะซาดิแรคตินที่ได้มาทำนายอายุการเก็บรักษาของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างโดยคำนวณจากปฏิกิริยาจลนพลศาสตร์ (kinetic reaction) ร่วมกับการใช้สมการของอาร์รีเนียส (arrhenius equation) ที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียสและทำนายอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) (รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต, 2548)

การประเมินอายุการเก็บรักษาโดยใช้เกณฑ์การออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactivity) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง

นำค่าความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน โดยคำนวณจากปฏิกิริยาจลนพลศาสตร์ (kinetic reaction) ร่วมกับการใช้สมการของอาร์รีเนียส (arrhenius equation) ที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียสและทำนายอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส)

4. ศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อสมบัติทางกายภาพ (สี) ปริมาณกรดไขมัน (acid value) ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value) และการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa*)

4.1 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ

สังเกตการเปลี่ยนสีของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส

4.2 การวิเคราะห์หาค่ากรดไขมันก่อนและหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ

วิธีการทดลอง

1. ชั่งน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย 2 กรัม ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายเอธิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ให้เป็นกลางโดยการเติมฟีนอฟทาลีน 5 หยด และปรับให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มอล (วิธีวิเคราะห์ที่ 1, ภาคผนวก ก) หยดด่างทีละหยด พร้อมทั้งเขย่า จนได้สารละลายแอลกอฮอล์เป็นสีชมพูอ่อนถาวร
3. เติมเอธิลแอลกอฮอล์ที่เป็นกลาง 50 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง เขย่าอย่างแรงให้ตัวอย่างละลายในแอลกอฮอล์
4. หยดสารละลายฟีนอฟทาลีนประมาณ 5 หยด
5. ไตเตรทกับสารละลายตัวอย่างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล ขณะไตเตรทต้องเขย่า จนกระทั่งได้สารละลายสีชมพูคงที่อยู่ประมาณ 1 นาที
6. คำนวณค่ากรดจากสูตร

$$\text{ค่ากรด} = \frac{\text{ปริมาตรด่างที่ใช้ (มล.)} \times \text{ความเข้มข้นด่าง (มล.)} \times 56.1 \text{ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

4.3 การวิเคราะห์หาค่าเปอร์ออกไซด์ก่อนและหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ

วิธีการทดลอง

1. ชั่งน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย 2 กรัม ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายแอซิติก-คลอโรฟอร์ม (อัตราส่วน 3 : 2 โดยปริมาตร) 25 มิลลิลิตร เขย่าให้ตัวอย่างละลาย
3. เตรียมสารละลายอิ่มตัวโพแทสเซียมไอโอไดด์ ปริมาณมากเกินพอในน้ำกลั่นต้มใหม่ แล้วเก็บในที่มืด ทดสอบก่อนใช้โดยนำมา 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายแอซิติก-คลอโรฟอร์ม ปริมาณ 25-30 มิลลิลิตร แล้วหยดน้ำแป้งลงไป 3 หยด ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินให้ทิ้งแล้วเตรียมใหม่
4. เติมสารละลายอิ่มตัวโพแทสเซียมไอโอไดด์ 1 มิลลิลิตร ปิดจุกพร้อมเขย่านาน 1 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ในที่มืด
5. เติมน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร
6. ไตเตรทหาปริมาณไอโอดีนที่ถูกปล่อยออกมาด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเข้มข้น 0.01 นอร์มอล เขย่าอย่างแรงจนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน เติมน้ำแป้งเข้มข้นร้อยละ 1 (วิธีวิเคราะห์ที่ 2, ภาคผนวก ก) 0.5 มิลลิลิตร
7. ไตเตรทต่อไปจนสีน้ำเงินหมดไป
8. เตรียมและไตเตรทแบลงก์เช่นเดียวกับตัวอย่าง (วิธีวิเคราะห์ที่ 3, ภาคผนวก ก)
9. คำนวณค่าเพอร์ออกไซด์จากสูตร

$$\text{ค่าเพอร์ออกไซด์} = \frac{(a-b) \times N \times 1000}{W}$$

เมื่อ a = ปริมาตร (มล.) ของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง
b = ปริมาตร (มล.) ของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรทแบลงก์
N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต (นอร์มอล)
W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

4.4 ทดสอบผลของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa*) ที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิต่างๆ ต่อการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*)

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) แบบ factorial (3×3) ทรีทเมนต์ประกอบด้วย น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบกลั่นลำดับส่วน และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป ที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม คือ น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างทั้ง 3 เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ แต่ละทรีทเมนท์ ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

วิธีการทดลอง

นำถ้วยพลาสติกใส่น้ำ 200 มิลลิลิตร และลูกน้ำยุงลายวัย 3 จำนวน 20 ตัว มาทดสอบผลของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 25 (กลุ่มควบคุม), 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส ต่อการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน โดยใช้ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายได้ร้อยละ 100 ของจำนวนลูกน้ำทั้งหมด คือ 2,000 พีพีเอ็ม (อรัญ งามผ่องใส และคณะ, 2552) บันทึกผลการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน ที่เวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง

การบันทึกผลและวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำผลการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านมาคำนวณและเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การตาย วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์โดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

5. การศึกษาผลต่อระบบหายใจและระบบทางเดินอาหารลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa*)

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทรีทเมนต์ประกอบด้วยน้ำมันชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำมันปาล์ม น้ำมันปิโตรเลียมที่ใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชทางการเกษตร (SK 99®) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป เปรียบเทียบกับแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*) และชุดควบคุม (น้ำประปาที่ระเหยคลอรีนออกแล้ว) แต่ละทรีทเมนต์ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

วิธีการทดลอง

นำหลอดทดลองขนาดกลาง 16×150 มิลลิเมตร และใส่ลูกน้ำยุงวัยที่ 3 จำนวน 5 ตัว แล้วหยดน้ำมันต่างๆ คือ น้ำมันปาล์ม น้ำมันปิโตรเลียมที่ใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชทางการเกษตร (SK 99®) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป ลงบนผิวน้ำให้เกิดเป็นแผ่นฟิล์มของน้ำมันเคลือบผิวน้ำภายในหลอดทดลองเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่ละทรีทเมนต์ทำการทดลอง 5 ชุด คือ ทิ้งน้ำมันต่างๆไว้เป็นเวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง ตามลำดับ แล้วตรวจนับจำนวนลูกน้ำที่ตายในแต่ละชั่วโมง ส่วน *Bti* ใส่ในหลอดทดลองที่มีลูกน้ำ (ให้ลูกน้ำกิน) เพื่อเปรียบเทียบระดับความเสียหายเนื้อเยื่อของลำไส้ส่วนกลาง

การบันทึกผลและวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำจำนวนลูกน้ำที่ตายมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์โดยวิธี DMRT และนำลูกน้ำที่ตายมาศึกษาทางเนื้อเยื่อ (histological study) เพื่อดูความเสียหายระบบทางเดินอาหารและระบบหายใจของยุงลายบ้าน

บทที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเลี้ยงยุงลายในห้องปฏิบัติการ

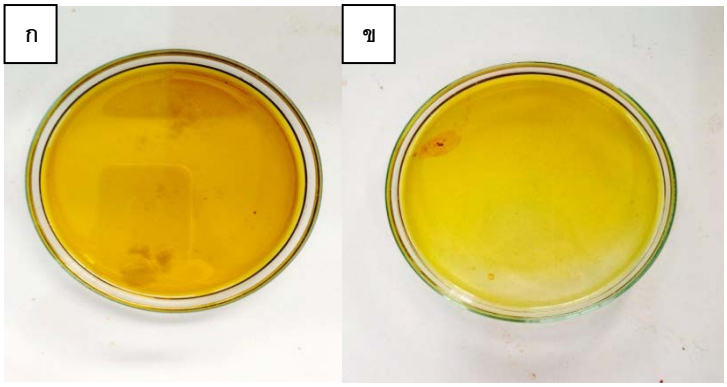
จากการทดลองเพาะพันธุ์ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus) สายพันธุ์สงขลา รุ่น F1 พบว่ายุงลายบ้านใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากระยะไข่ถึงระยะตัวเต็มวัย ประมาณ 10 วัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ ฉวีวรรณ ฉิมวัย และสุมาลี ตั้งประดับกุล (2541) และเอกราช แก้วนางโอ (2552) ที่ใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงยุงลายบ้านจากระยะไข่เป็นตัวเต็มวัย 12 และ 14 วัน ตามลำดับ

2. การเตรียมน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง

จากการนำเมล็ดสะเดาช้างจำนวน 80 กิโลกรัม มากะเทาะเปลือกออก พบว่าได้เนื้อในเมล็ดสะเดาช้างเท่ากับ 27 กิโลกรัม ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 34 ของน้ำหนักเมล็ดสะเดาช้างทั้งหมด (ตารางที่ 2) จากนั้นเปรียบเทียบการสกัดน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างทั้ง 2 แบบคือ การสกัดแบบแช่ยุ่ย และการสกัดแบบลำดับส่วน โดยใช้เนื้อในเมล็ดที่ผ่านการปั่นหยาบ พบว่าวิธีการสกัดแบบแช่ยุ่ยได้ผลผลิตน้ำมันคิดเป็นร้อยละ 35 ของน้ำหนักเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างทั้งหมด มีสีเหลืองปนน้ำตาล และมีกลิ่นฉุน (ภาพที่ 21ก) ซึ่งปริมาณที่ได้ไม่ใกล้เคียงกับการศึกษาของสนั่น ศุภธีรสกุล และคณะ (2543) ที่สกัดน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างได้ร้อยละ 43.15 ของน้ำหนักเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างทั้งหมด และการศึกษาของสุนทร พิพิธแสงจันทร์ (2548) ที่สกัดน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างได้ร้อยละ 41.40 ของน้ำหนักเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างทั้งหมด นอกจากนี้ยังใกล้เคียงกับการศึกษาของวิภาวดี ชำนาญ (2548) ที่สกัดน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างได้ร้อยละ 40.9 ของน้ำหนักเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างทั้งหมด ขณะที่การศึกษาของอรัญ งามผ่องใส และคณะ (2552) ได้น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างจากวิธีดังกล่าวเป็นร้อยละ 53.4 ของน้ำหนักเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างทั้งหมด

ตารางที่ 2 น้ำหนักเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างหลังกะเทาะเปลือก

กระบวนการ	น้ำหนัก (กิโลกรัม)		น้ำหนัก (ร้อยละ)	
	ก่อนกะเทาะ	หลังกะเทาะ	ก่อนปั่นหยาบ	หลังปั่นหยาบ
เมล็ดสะเดา	80	27	100	33.75



ภาพที่ 21 ลักษณะน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย (ก) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบกลั่นลำดับส่วน (ข)

ส่วนวิธีการสกัดแบบที่ 2 คือ การสกัดแบบลำดับส่วนได้ผลผลิตน้ำมันร้อยละ 31 ของน้ำหนักเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างทั้งหมด (ตารางที่ 3) โดยน้ำมันที่ได้มีสีเหลืองปนน้ำตาล แต่มีลักษณะใสกว่าน้ำมันที่ได้จากการแช่ยุ่ย มีกลิ่นฉุนเช่นเดียวกับน้ำมันที่สกัดแบบแช่ยุ่ย (ภาพที่ 21ข) อย่างไรก็ตามปริมาณน้ำมันที่สกัดจากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการที่นอกเหนือจากวิธีสกัด ได้แก่ อายุของผลสะเดา ซึ่งจะมีประสิทธิภาพมากที่สุดเมื่อผลสุกเต็มที่ และระยะเวลาการเก็บ ซึ่งไม่ควรเกิน 4 เดือน (รติยา คูเขตพิทักษ์วงศ์, 2546) เป็นต้น

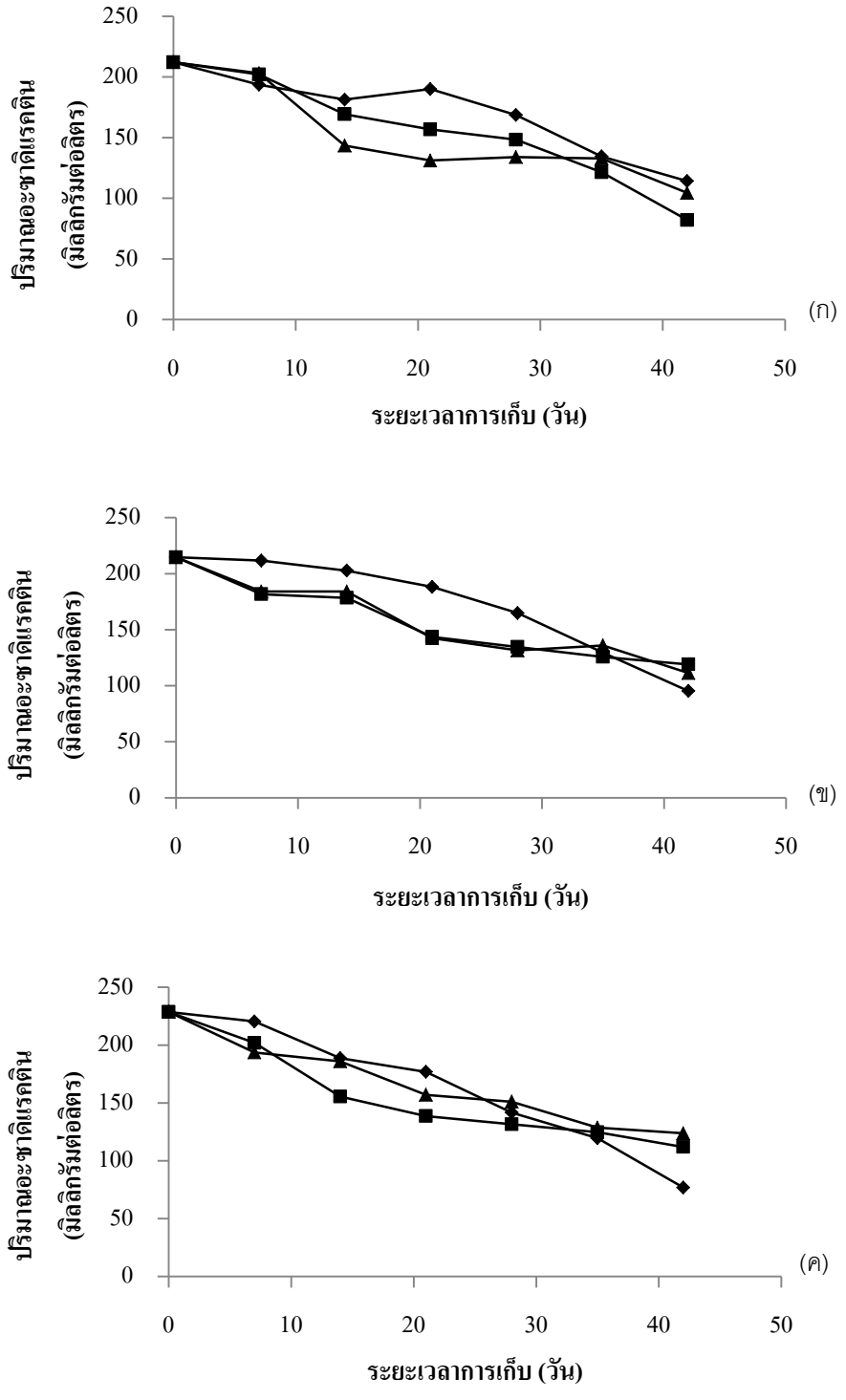
ตารางที่ 3 ปริมาณน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่สกัดได้จากเนื้อในเมล็ดโดยวิธีแช่ยุ่ยและวิธีกลั่นลำดับส่วน

วิธีการสกัด	ตัวทำละลาย	น้ำหนักเมล็ดสะเดาช้าง (กิโลกรัม)	ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้	
			น้ำหนัก (กรัมต่อกิโลกรัม)	น้ำหนัก (ร้อยละ)
แช่ยุ่ย	นอร์มอลเฮกเซน	13.5	349	35
กลั่นลำดับส่วน	นอร์มอลเฮกเซน	13.5	330	31

3. การศึกษาอายุการเก็บรักษาของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างโดยสภาวะเร่ง

เมื่อนำน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างทั้งหมดที่ผ่านการเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิต่างๆ ไปวิเคราะห์ปริมาณสารอะซาดิแรคตินด้วยวิธี HPLC พบว่าการเพิ่มระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษา ทำให้ปริมาณสารอะซาดิแรคตินในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างทั้ง 3 แบบ มีแนวโน้มลดลง (ภาพที่ 22) โดยปริมาณสารอะซาดิแรคตินเริ่มต้นในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย แบบกลั่นลำดับส่วน และแบบสำเร็จรูป เท่ากับ 213.6, 213.9 และ 228.67 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ วันสุดท้ายของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ยมีปริมาณสารอะซาดิแรคตินอยู่ในช่วง 82.1 - 114.2 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบกลั่นลำดับส่วนอยู่ในช่วง 95.3 - 119.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปอยู่ในช่วง 76.8 - 123.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นจากผลการทดลองข้างต้นพบว่าปริมาณสารอะซาดิแรคตินของน้ำมันทั้ง 3 แบบ ลดลงเป็นครึ่งหนึ่งของปริมาณเริ่มต้น โดยอุณหภูมิสูงจะเร่งการสลายตัวของอะซาดิแรคตินได้มากกว่าอุณหภูมิต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของงามผ่อง คงคาทิพย์ และขวัญชัย สมบัติศิริ (2539) ที่พบว่าการเก็บน้ำมันเมล็ดสะเดาไทยในตู้เย็นจะมีการสลายตัวของสารออกฤทธิ์ช้ากว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้อง 2 เท่า เนื่องจากสารอะซาดิแรคตินนั้นเป็นสารที่ไม่เสถียร มีจุดเดือดต่ำ อีกทั้ง Ermel และคณะ (1987) รายงานว่าสารอะซาดิแรคตินเป็นสารที่สลายตัวได้ง่ายในธรรมชาติ โดยเฉพาะเมื่ออุณหภูมิมากกว่า 60 องศาเซลเซียส และขวัญชัย สมบัติศิริ และคณะ (2540ข) ศึกษาหาปริมาณสารอะซาดิแรคตินในสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาไทยที่ใช้เครื่องสกัดแบบใช้และไม่ใช้ความร้อน พบว่า ความร้อนส่งผลให้ปริมาณสารอะซาดิแรคตินในสารสกัดหยาบลดลง นอกจากนี้ อัญชลี สงวนพงษ์ (2541) ศึกษาผลของการใช้อุณหภูมิระดับต่างๆ ในการอบเมล็ดสะเดาอินเดียต่อปริมาณสารออกฤทธิ์อะซาดิแรคติน พบว่าเมื่ออุณหภูมิในการอบแห้งเมล็ดสะเดาสูงขึ้น ปริมาณสารอะซาดิแรคตินในเมล็ดลดลง และพบว่าถ้าความชื้นในเมล็ดสะเดาสูง จะถูกเชื้อราเข้าทำลายเป็นสาเหตุให้ปริมาณสารอะซาดิแรคตินสลายตัวได้ง่าย จากการศึกษาในครั้งนี้ปัจจัยที่ส่งผลต่อการลดลงของปริมาณสารอะซาดิแรคติน ได้แก่ อุณหภูมิต่างๆ เช่น อุณหภูมิในการทำให้เมล็ดแห้ง อุณหภูมิจากขั้นตอนการสกัดน้ำมัน อุณหภูมิการเก็บรักษา นอกจากนี้ปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้น เช่น ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส และปฏิกิริยาออกซิเดชัน อาจเป็นสาเหตุการเสื่อมสลายของสารอะซาดิแรคติน พีเอชของตัวทำละลาย (นอร์มอลเฮกเซน) นั้นเป็นกลาง ซึ่งสารอะซาดิแรคตินสามารถคงตัวได้ในสภาพที่เป็นกรดประมาณ 5.0 - 6.5 และ ถ้าพีเอชน้อยหรือมากกว่า 5.0 - 6.5 สามารถเร่งการสลายตัวของสารอะซาดิแรคตินได้ แต่การทำสารสกัดอะซาดิแรคตินในรูปน้ำมันจะช่วยชะลอการสลายตัวของสารอะซาดิแรคตินได้ (งามผ่อง คงคาทิพย์ และขวัญชัย สมบัติศิริ, 2539) และวิธีการสกัดที่ต่างกันคือการสกัดแบบแช่ยุ่ย และ แบบกลั่นลำดับส่วน ไม่ได้ทำให้ปริมาณสาร

อะซาดิแรคตินในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแตกต่างกัน ส่วนการเติมสารอิมัลซิฟายเออร์ในน้ำมันนั้นช่วยให้สารอะซาดิแรคตินคงตัวในสภาวะปกติ แต่ไม่มีผลต่อการลดลงของสารอะซาดิแรคตินที่เก็บรักษาในสภาวะเร่ง เนื่องจากค่าที่ได้ไม่แตกต่างกับน้ำมันที่ไม่ใส่อิมัลซิฟายเออร์



ภาพที่ 22 การเปลี่ยนแปลงปริมาณอะซาดิแรคตินในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างทั้ง 3 แบบ ที่อุณหภูมิต่างๆ (ก) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย (ข) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบกลั่นลำดับส่วน (ค) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (◆) 55 องศาเซลเซียส (■) และ70 องศาเซลเซียส (▲)

หลังจากนั้นนำปริมาณสารอะซาดิแรคตินที่ลดลงไปหาค่าลอการิทึม แล้วนำข้อมูลมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าลอการิทึมของสารอะซาดิแรคตินกับระยะเวลาการเก็บ (วัน) เพื่อหาอันดับของปฏิกิริยา พบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารอะซาดิแรคตินเป็นปฏิกิริยาอันดับ 1 (ภาพที่ 23) เพราะมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) และ อัตราการสูญเสียสารอะซาดิแรคติน (k) สูงสุด ดังแสดงในตารางที่ 4 และ 5 และมีสมการอันดับปฏิกิริยาดังนี้

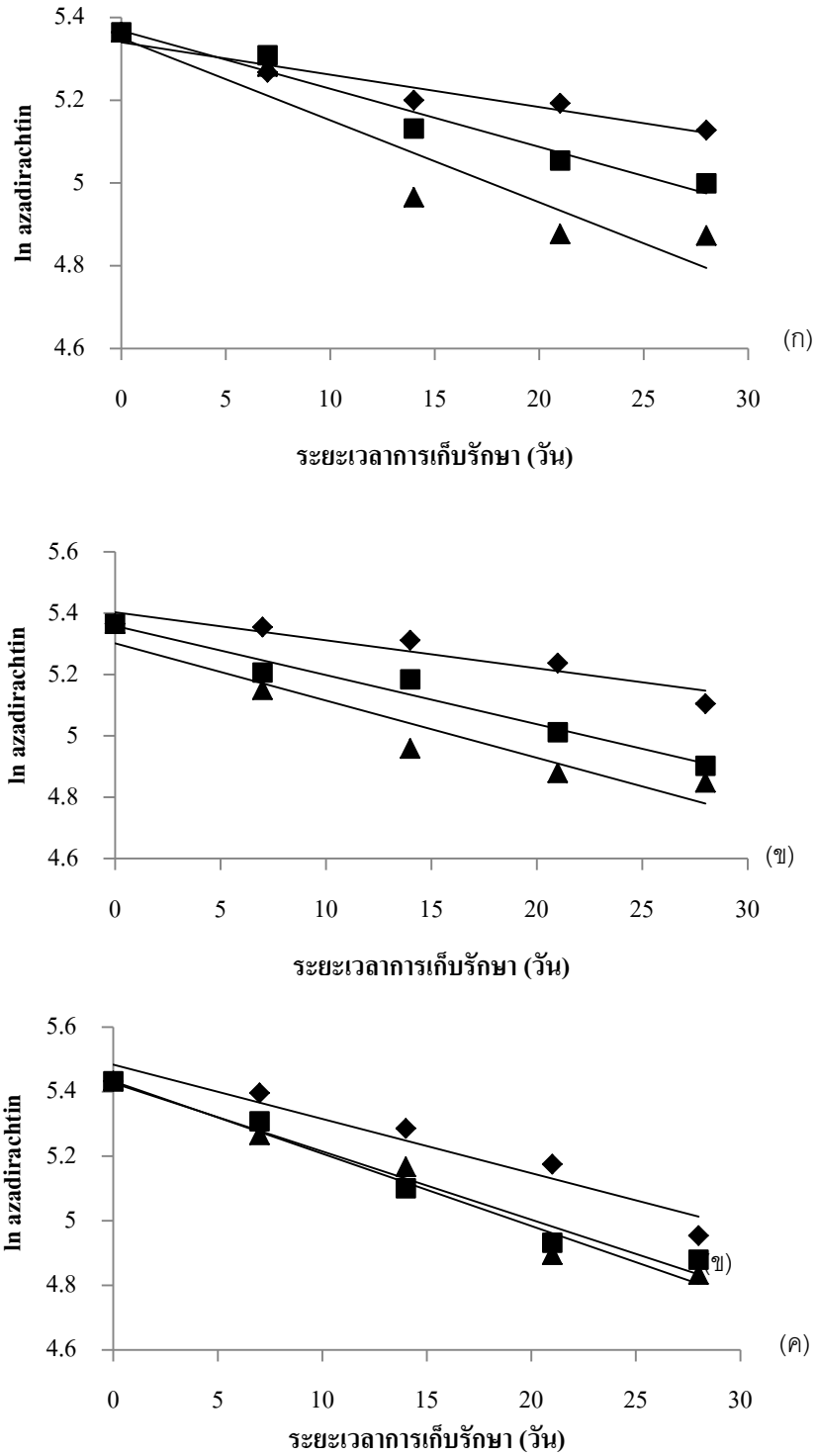
$$\ln C = \ln C_0 - kt \qquad (2)$$

เมื่อ C = ค่าอะซาดิแรคตินที่เกิดขึ้น

C_0 = ค่าอะซาดิแรคตินที่จุดเริ่มต้น

k = อัตราปฏิกิริยา (reaction rate constant)

และจากตารางที่ 5 พบว่าเมื่ออุณหภูมิการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น อัตราการสลายตัวของสารอะซาดิแรคติน (k) มีค่าเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 23 ปฏิกิริยาอันดับ 1 ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย (ก) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบกลั่นลำดับส่วน (ข) และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป (ค) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (◆) 55 องศาเซลเซียส (■) และ 70 องศาเซลเซียส (▲)

ตารางที่ 4 สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส

	สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)		
ตัวอย่างน้ำมัน	45 องศาเซลเซียส	55 องศาเซลเซียส	70 องศาเซลเซียส
แช่ยุ่ย	0.9325	0.9598	0.8814
กลั่นลำดับส่วน	0.8814	0.9669	0.9099
สำเร็จรูป	0.9299	0.9719	0.9695

ตารางที่ 5 อัตราการสลายตัวของสารอะซาดิแรคติน (k) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส

	อัตราการสลายตัวของสารอะซาดิแรคติน (k) (1/วัน)		
ตัวอย่างน้ำมัน	45 องศาเซลเซียส	55 องศาเซลเซียส	70 องศาเซลเซียส
แช่ยุ่ย	0.0078	0.0141	0.0198
กลั่นลำดับส่วน	0.0091	0.0160	0.0187
สำเร็จรูป	0.0168	0.0212	0.0224

นำค่า k จากตารางที่ 5 มาแทนในสมการ (3) เพื่อคำนวณหาอายุการเก็บรักษาของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส ดังแสดงในตารางที่ 6

$$t_{10\%} = 0.105/ k \qquad (3)$$

เมื่อ $t_{10\%}$ หมายถึง อายุการเก็บของน้ำมันแต่ละอุณหภูมิเมื่อสารสำคัญลดลงร้อยละ 10 ของปริมาณสารทั้งหมด

k หมายถึง อัตราปฏิกิริยาของแต่ละอุณหภูมิ

จากนั้นนำค่าลอการิทึมของอัตราการสูญเสียสารอะซาดิแรคติน (ln k) ไปสร้างกราฟอาร์รีเนียสกับส่วนกลับของอุณหภูมิสัมบูรณ์ (1/T) มีหน่วยเป็นองศาเคลวิน ได้สมการดังนี้

$$\ln k = (-E_A / RT) + \ln K_0 \qquad (4)$$

ใช้สมการดังกล่าวคำนวณอายุการเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิห้องโดยประมาณ พบว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่ได้จากการแช่ยุ่ย น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างจากการกลั่นลำดับส่วน และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป มีอายุการเก็บรักษา 29, 20 และ 8 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 อายุการเก็บรักษาของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเมื่อสารอะซาดิแรคตินลดลงร้อยละ 10 ของปริมาณสารทั้งหมด

ตัวอย่างน้ำมัน	อายุการเก็บรักษา (วัน)			
	25 องศาเซลเซียส	45 องศาเซลเซียส	55 องศาเซลเซียส	70 องศาเซลเซียส
แช่ยุ่ย	29	14	8	5
กลั่นลำดับส่วน	20	12	7	6
สำเร็จรูป	8	6	5	4

เมื่อใช้ความเข้มข้นต่ำสุด (ความเข้มข้น 2,000 พีพีเอ็ม) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่สามารถออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ร้อยละ 100 ของจำนวนลูกน้ำทั้งหมด มากำหนดจุดหมดอายุการเก็บรักษา โดยนำความเข้มข้นของน้ำมันไปแทนค่าในสมการที่ (2) จะได้อายุการเก็บรักษาดังตารางที่ 7 จากนั้นนำอายุการเก็บไปหาค่าลอการิทึม แล้วนำข้อมูลมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าลอการิทึมของอายุการเก็บ ($\ln \Theta s$) กับส่วนกลับของอุณหภูมิสัมบูรณ์ (องศาเคลวิน) เพื่อทำนายอายุการเก็บของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ได้สมการดังนี้

$$\ln \Theta s = k\,(1/T) + \ln \Theta s_0 \qquad (5)$$

เมื่อ Θs = อายุการเก็บ (วัน)

Θs_0 = อายุการเก็บเริ่มต้น (วัน)

การใช้ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ในการประเมินอายุการเก็บนั้น พบว่าอายุการเก็บของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่ได้จากการแช่ยุ่ย น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างจากการกลั่นลำดับส่วน และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป มีอายุการเก็บรักษา 1,705, 1,168 และ 457 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 7) ซึ่งพบว่าใกล้เคียงกับการศึกษาของงามผ่อง คงคาทิพย์ และขวัญชัย สมบัติศิริ (2539) รายงานว่าน้ำมันสะเดาไทยที่เก็บในตู้เย็นสามารถใช้งานได้เป็นระยะเวลา 3 ปี ซึ่งการใช้วิธีนี้ในการทำนายอายุการเก็บน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง บอกถึงระยะเวลาในการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างยาวนานถึง 5 ปี เมื่อเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิห้อง โดยน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่สกัดด้วยวิธีแช่ยุ่ย มีระยะเวลาในการออกฤทธิ์นานที่สุด อันเนื่องจากวิธีนี้สัมผัสความร้อนน้อยกว่าวิธีอื่น ทำให้อัตราการลดลงของสารออกฤทธิ์น้อย เมื่อสารออกฤทธิ์มีมาก ระยะเวลาในการออกฤทธิ์เพิ่มขึ้น ส่วนน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่ผสมอิมัลซิฟายเออร์ มีอายุการเก็บน้อย เนื่องจากตัวอิมัลซิฟายเออร์ที่เติมลงไป ไม่ทนทานที่อุณหภูมิสูง (สุวิมล อริยะประกาย และคณะ, 2554)

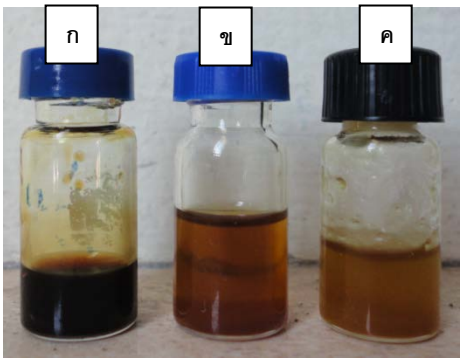
ตารางที่ 7 อายุการเก็บรักษาของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเมื่อกำหนดจุดหมดอายุที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ร้อยละ 100 ลดลงเหลือ 2,000 พีพีเอ็ม

ตัวอย่างน้ำมัน	อายุการเก็บรักษา (วัน)			
	25 องศาเซลเซียส	45 องศาเซลเซียส	55 องศาเซลเซียส	70 องศาเซลเซียส
แช่ยุ่ย	1,705	797	441	314
กลั่นลำดับส่วน	1,168	682	388	332
สำเร็จรูป	457	370	293	277

4. ผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อสมบัติทางกายภาพ ปริมาณกรดไขมัน (acid value) ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value) และการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa*)

4.1 การเปลี่ยนทางกายภาพ (สี) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง

จากการทดสอบอายุการเก็บรักษาของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างทั้ง 3 แบบ ได้แก่ น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบกลั่นลำดับส่วน และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป โดยเก็บรักษาในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษา ทำให้น้ำมันทั้ง 3 เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ คือ สีของน้ำมันเข้มขึ้น โดยน้ำมันที่เก็บที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีสีเข้มที่สุด ส่วนน้ำมันที่เก็บที่อุณหภูมิ 55 และ 45 องศาเซลเซียส สีเข้มรองลงมาตามลำดับ (ภาพที่ 24) เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันส่งผลให้น้ำมันเกิดการเปลี่ยนแปลงของสี โดยกลไกของปฏิกิริยาออกซิเดชัน คือ อุณหภูมิสูงจะไปกระตุ้นให้คาร์บอนตำแหน่งพันธะคู่ของน้ำมันสูญเสียไฮโดรเจนอะตอมซึ่งทำให้เกิดไฮโดรคาร์บอนที่เป็นอนุมูลอิสระ หลังจากนั้นออกซิเจนจะเข้าไปจับกับอนุมูลอิสระที่ตำแหน่งพันธะคู่ ซึ่งปฏิกิริยานี้เกิดขึ้นต่อเนื่อง ส่งผลให้เกิดอนุมูลอิสระจำนวนมาก หลังจากนั้นอนุมูลอิสระเกิดการรวมตัวกันทำให้เกิดสารใหม่ (secondary product) เป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนสีของน้ำมัน (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงษ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, ม.ป.ป.) ดังนั้น อุณหภูมิและเวลาในการเก็บรักษาที่มากขึ้นจะเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากกว่าอุณหภูมิต่ำ และเมื่อปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นมาก อนุมูลอิสระมีมากขึ้น ส่งผลให้น้ำมันมีสีเข้มมากขึ้น (ชาตรี เอี้ยพิณ และภาราได แจ่มจำรูญ, 2550)



ภาพที่ 24 น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (ก) 55 องศาเซลเซียส (ข) และ 45 องศาเซลเซียส (ค)

4.2 การวิเคราะห์หาค่ากรดไขมันก่อนและหลังเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ

จากการวิเคราะห์หาค่ากรดไขมันของน้ำมันที่สกัดจากเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย พบว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างมีค่ากรดไขมันเริ่มต้นเท่ากับ 106.3 มิลลิกรัม และหลังจากเก็บรักษาในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าน้ำมันที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิดังกล่าวมีค่ากรดไขมันเพิ่มขึ้นเป็น 120.1 มิลลิกรัม (ตารางที่ 8) ซึ่งใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ของอรัญ งามผ่องใส และคณะ (2552) ซึ่งรายงานว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างมีค่ากรดไขมันเท่ากับ 151 มิลลิกรัมจากน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างจำนวน 5 กรัม ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของกรดไขมันของน้ำมันเกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ของไขมันหรือน้ำมัน คือการที่น้ำทำลายพันธะเอสเทอร์ของไตรกลีเซอไรด์ ให้เป็นกรดไขมันอิสระ และกลีเซอรอล (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548) จากการทดลองข้างต้นพบว่าหลังจากเก็บรักษาน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ค่ากรดไขมันคงที่ ซึ่งอาจมีผลเนื่องมาจากน้ำในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างมีเพียงเล็กน้อยหรือการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ นั้นทำให้น้ำเกิดการระเหยออกจากน้ำมัน โดยอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นเป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (กีรตินาฏ พูลเกสร และคณะ, 2553)

ตารางที่ 8 ค่ากรดไขมันก่อนและหลังวันทดสอบอายุการเก็บรักษาน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิการเก็บรักษา (องศาเซลเซียส)	ค่ากรดไขมัน (มิลลิกรัม) ก่อนการทดสอบ	ค่ากรดไขมัน (มิลลิกรัม) หลังการทดสอบ
45	106.3	120.1
55	106.3	120.1
70	106.3	120.1

4.3 การวิเคราะห์หาค่าเปอร์ออกไซด์ก่อนและหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ

จากการวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย พบว่ามีการเปลี่ยนแปลง โดยค่าเปอร์ออกไซด์เริ่มต้นเท่ากับ 1.3 มิลลิกรัมสมมูล และหลังจากเก็บรักษาในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าค่าเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้นเป็น 2.6, 3.0 และ 3.25 มิลลิกรัมสมมูล ตามลำดับ (ตารางที่ 9) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ สรรพสิทธิ์ กล่อมเกล้า (2550) ซึ่งพบว่าค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันอยู่ในช่วง 0-12 มิลลิกรัมสมมูล เมื่อใช้น้ำมัน 2 กรัมในการวิเคราะห์ ทั้งนี้ค่าเปอร์ออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นเกิดจากปฏิกิริยา

ออกซิเดชันของออกซิเจนกับน้ำมันที่ตำแหน่งพันธะคู่ และค่าเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะกระตุ้นกรดไขมันที่เหลือให้เกิดปฏิกิริยาต่อไป (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

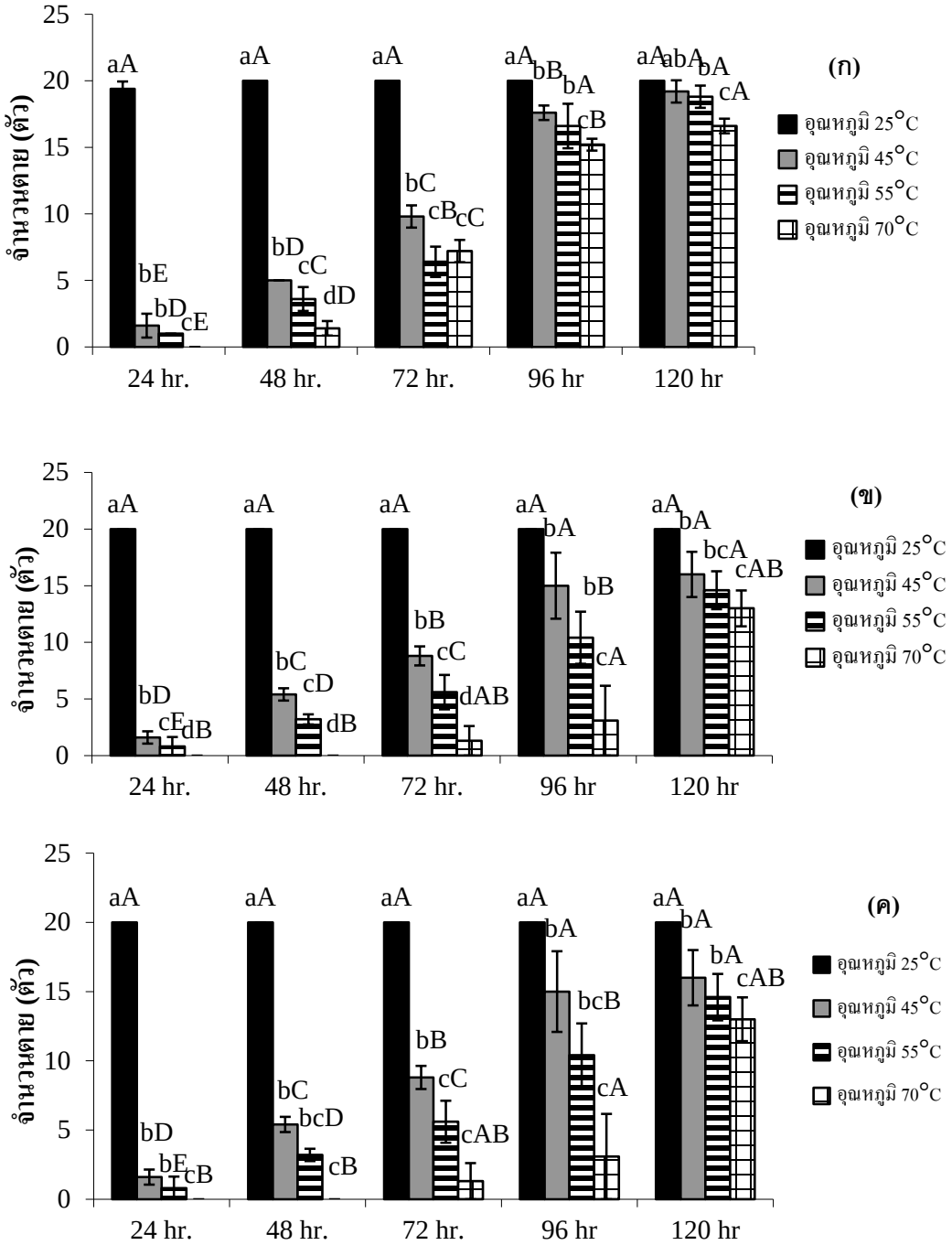
ตารางที่ 9 ค่าเปอร์ออกไซด์ก่อนและหลังวันทดสอบอายุการเก็บรักษาน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิการเก็บรักษา (องศาเซลเซียส)	ค่าเปอร์ออกไซด์ (มิลลิกรัมสมมูล)
ก่อนการทดสอบ	1.3
45	2.6
55	3.0
70	3.3

เมื่อเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าเปอร์ออกไซด์เพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิสูงเป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เพิ่มสูงขึ้น (กีรตินาฏ พูลเกสร และคณะ, 2553) การเพิ่มขึ้นของค่ากรดไขมัน และค่าเปอร์ออกไซด์ เป็นตัวบ่งบอกว่าเกิดการเสื่อมคุณภาพของน้ำมัน ซึ่งปัจจัยสำคัญในการเร่งความเสื่อมของน้ำมัน คือ อุณหภูมิในการเก็บรักษาและปัจจัยอื่นๆ ได้แก่ ระยะเวลาในการเก็บ ภาชนะที่ใส่น้ำมัน เป็นต้น

4.4 ผลของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack) ที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิต่างๆ ต่อการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus)

จากการทดสอบผลต่อการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน (สังเกตเมื่อลูกน้ำไม่ขยับตัว และจมสู่ก้นภาชนะ) ของน้ำมันทั้ง 3 แบบ ได้แก่ น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบกลั่นลำดับส่วน และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำมัน 2,000 พีพีเอ็ม เปรียบเทียบกับน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิห้อง (กลุ่มควบคุม) พบว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิห้อง (กลุ่มควบคุม) สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ทั้งหมดภายในเวลา 48, 72 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ (ภาพที่ 25) ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของอรัญ งามผ่องใส และคณะ (2552) ที่ใช้น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง 2,000 พีพีเอ็ม ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ทั้งหมดภายในเวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 25 ผลของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย (ก) แบบกลั่นลำดับส่วน (ข) แบบสำเร็จรูป (ค) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ต่อการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน

หมายเหตุ: ABC เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ ($P<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง ในแต่ละทรีทเมนต์

abc เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ ($P<0.05$) ระหว่างทรีทเมนต์

(ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากผลการทดลอง 5 ซ้ำ)

จากผลการทดลองข้างต้นพบว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปสามารถฆ่าลูกน้ำได้เร็วที่สุด เนื่องมาจากพบปริมาณสารอะซาดิแรคตินคงเหลือสูงสุดในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิห้อง (ภาพที่ 22) อีกทั้งสารอิมัลซิฟายเออร์ (Tween® และ Span®) ที่ถูกเติมลงไปช่วยให้น้ำมันกระจายตัวได้ดีในน้ำและทำให้น้ำมันมีความคงตัว ส่งผลให้สารอะซาดิแรคตินมีความคงตัว สอดคล้องกับการศึกษาของภัทรวรรณ หมกทอง และคณะ (2553) กล่าวว่าอิมัลชัน (Tween®และ Span®) ที่ผสมกับน้ำมันกานพลู ทำให้อนุภาคของน้ำมันไม่เปลี่ยนแปลงตามอายุการเก็บ และยังมีประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียได้ดีกว่า เนื่องจากโครงสร้างของอิมัลชันเกิดการเรียงตัวรอบอนุภาคของน้ำมัน ทำให้เกิดความเสถียร นอกจากนี้ผลการทดลองยังสอดคล้องกับการศึกษาของรมย์นลิน เขียนจูม และคณะ (2556) กล่าวว่าน้ำมันสะเดาไทยที่ผสมกับสารอิมัลซิฟายเออร์และบีดส์ สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ทั้งหมดที่เวลา 48 และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ และเนื่องจากลูกน้ำยุงลายบ้านได้รับสารออกฤทธิ์ในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างหลายทาง เช่น สารซึมเข้าทางผิวหนังของลูกน้ำยุงลายบ้าน นอกจากนี้อาจเข้าทางอวัยวะช่วยหายใจด้านท้ายลำตัว (posterior spiracle) หรือลูกน้ำอาจกลืนกินน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างจนเป็นสาเหตุให้ทางเดินอาหารของลูกน้ำถูกทำลาย และอีกสาเหตุการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน อาจเกิดจากการที่ลูกน้ำไม่สามารถแทงท่อหายใจ (siphon) ผ่านฟิล์มน้ำมันเหนือผิวน้ำได้ (อรัญ งามผ่องใส และคณะ, 2552)

ขณะที่น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้มากที่สุดเวลา 120 ชั่วโมง (5 วัน) โดยน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านเท่ากับร้อยละ 96, 94 และ 83 ของจำนวนลูกน้ำทั้งหมด ตามลำดับ น้ำมันแบบกลั่นลำดับส่วนเท่ากับร้อยละ 85, 83 และ 55 ของจำนวนลูกน้ำทั้งหมด ตามลำดับ และน้ำมันสำเร็จรูปเท่ากับร้อยละ 80, 73 และ 65 ของจำนวนลูกน้ำทั้งหมด ตามลำดับ (ตารางที่ 10) จากผลการทดลองข้างต้น พบว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ยสามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้สูงสุด ซึ่งผลการทดลองที่ได้แตกต่างกับผลการทดลองของน้ำมันที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิห้อง ทั้งนี้เนื่องจากสารอิมัลซิฟายเออร์ที่เติมลงไปไม่สามารถทนอุณหภูมิสูงได้ จึงส่งผลต่อการสลายตัวของสารอะซาดิแรคติน สอดคล้องกับการศึกษาของสุวิมล อริยะประกาย และคณะ (2554) กล่าวไว้ว่าส่วนหัวของโมเลกุลทวิน 60 ไม่สามารถทนความร้อนได้ ทำให้ส่วนหัวของทวิน 60 แปรสภาพและไม่มีประสิทธิภาพ จากภาพที่ 25 พบว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น จำนวนลูกน้ำที่ตายเพิ่มมากขึ้นด้วย สอดคล้องกับการศึกษาของรมย์นลิน เขียนจูม และคณะ (2556) เอกราช แก้วนางโอ (2552) และมานิตย์ นาคสุวรรณ (2543) กล่าวว่าเมื่อเพิ่มเวลา เป็นการเพิ่มโอกาสในการสัมผัสสารของลูกน้ำยุงลายบ้าน และน้ำมันที่เคลือบเหนือผิวน้ำเป็นระยะเวลานาน จะขัดขวางการหายใจของลูกน้ำยุงลายบ้านเพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้ามพบว่าเมื่ออุณหภูมิการเก็บรักษาของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง

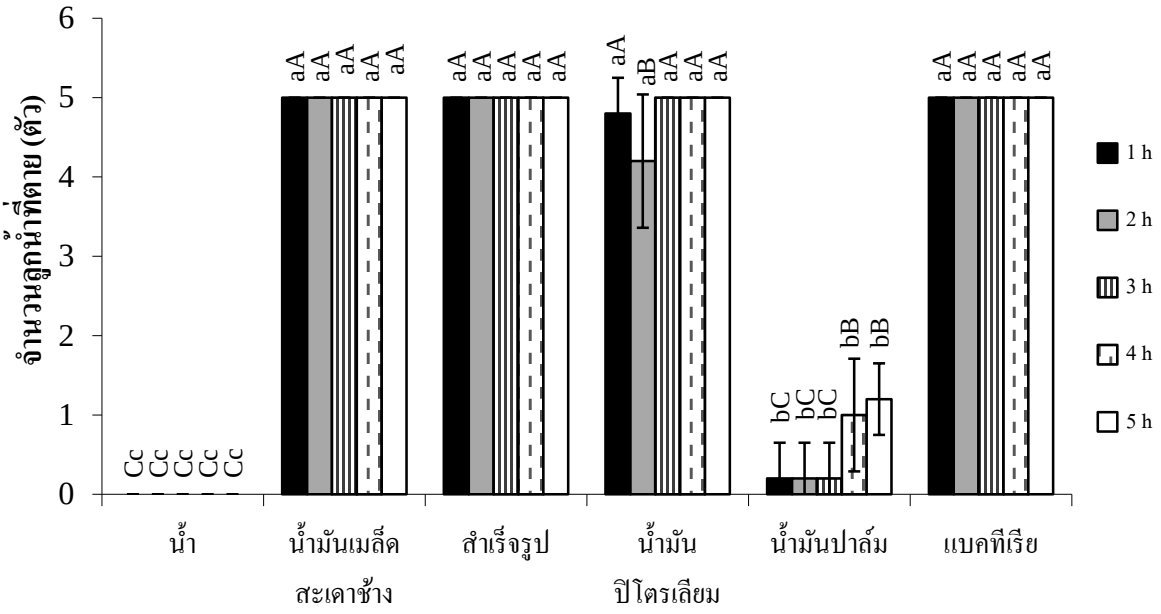
สูงขึ้น ผลการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านน้อยลง สอดคล้องกับการลดลงของปริมาณสารอะซาดิแรคตินในการทดลองที่ 3 เนื่องจากอุณหภูมิสูงสามารถเร่งการสลายตัวของสารอะซาดิแรคตินได้มากกว่าอุณหภูมิต่ำ และพบว่าแม้มีสารอะซาดิแรคตินเพียงเล็กน้อย น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสามารถออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ สอดคล้องกับการศึกษาของอัญชลี สงวนพงษ์ (2537) พบว่าการใช้น้ำมันสะเดาช้างเพียงร้อยละ 0.01 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก สามารถทำให้ไรแดงตาย และการศึกษาของ Chin (1985) ใช้นำมันสะเดาอินเดียในการควบคุมไรไม้ผล พบว่าน้ำมันสะเดาอินเดียความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก มีประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดไรแดง นอกจากนี้มีการศึกษาของขวัญชัย สมบัติศิริ และคณะ (2540ข) พบว่าปริมาณสารอะซาดิแรคตินในน้ำมันเมล็ดสะเดาไทยร้อยละ 0.3 และ 0.27 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ไม่มีความแตกต่างในการฆ่าเพลี้ยอ่อนฝ้าย งามผ่อง คงคาทิพย์ และขวัญชัย สมบัติศิริ (2539) รายงานว่าปริมาณสารอะซาดิแรคตินเพียงเล็กน้อยสามารถฆ่าหนอนเจาะสมอฝ้ายได้ แต่แตกต่างจากการศึกษาของรติยา คูเขตพิทักษ์วงศ์ และคณะ (2546) พบว่าปริมาณสารอะซาดิแรคตินในเมล็ดสะเดาไม่สัมพันธ์กับประสิทธิภาพต่อหนอนใยผัก ทั้งนี้สันนิษฐานว่านอกจากสารอะซาดิแรคตินแล้วอาจมีสารอื่นที่มีผลต่อหนอนใยผักด้วย และจากการศึกษาดังกล่าวยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Cohen และคณะ (1996) ที่พบว่าสารนิมโบไลด์ (nimbolide) เป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในบรรดาสารลิโมนอยด์ (limonoids) 6 ชนิด โดยใช้ความเข้มข้นเพียง 6 มิลลิโมลาร์ ในการยับยั้งเซลล์จำนวนร้อยละ 50 ในขณะที่สารอะซาดิแรคติน ต้องใช้ความเข้มข้นถึง 200 มิลลิโมลาร์ จึงจะมีผลต่อเซลล์ของแมลง

ตารางที่ 10 ร้อยละการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านที่เวลา 120 ชั่วโมง ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแต่ละอุณหภูมิ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ร้อยละการตายของลูกน้ำในน้ำมัน		
	แบบแช่ยุ่ย	แบบกลั่นลำดับส่วน	สำเร็จรูป
25	100	100	100
45	96	85	80
55	94	83	73
70	83	55	65

5. ผลต่อระบบหายใจและระบบทางเดินอาหารลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa*)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันต่างๆ เปรียบเทียบกับแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis israelensis* และชุดควบคุม (น้ำเปล่า) ต่อการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน (สังเกตเมื่อลูกน้ำไม่ขยับตัว และจมสู่ก้นภาชนะ) พบว่า น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป และแบคทีเรีย ทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านตายทั้งหมดอย่างรวดเร็ว ภายในเวลา 1 ชั่วโมง รองลงมาเป็นน้ำมันปิโตรเลียม พบลูกน้ำตายหมดภายในเวลา 3 ชั่วโมง และน้ำมันปาล์ม พบจำนวนลูกน้ำที่ตายน้อยมากภายใน 5 ชั่วโมงแรกของการทดลอง แต่พบว่าเมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบลูกน้ำตายเกือบหมด และในชุดควบคุมไม่พบการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 26 ผลของน้ำมันแต่ละชนิดและแบคทีเรียต่อการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง

หมายเหตุ: ABC เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ (P<0.005) ระหว่างชุดการทดลองในแต่ละทรีทเมนต์
abc เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ (P<0.005)ระหว่างทรีทเมนต์
(ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากผลการทดลอง 5 ซ้ำ)

เนื่องจากน้ำมันกับน้ำเข้ากันไม่ได้ เพราะน้ำมันมีความหนาแน่นต่ำกว่าน้ำ ทำให้น้ำมันเบาและลอยอยู่เหนือผิวน้ำ (กีรณา เหลืองหิรัญ และวารี พิมเพชร, 2547) ส่งผลให้ลูกน้ำยุงลายบ้านไม่

สามารถแทงท่อหายใจขึ้นมารับออกซิเจนเหนือน้ำได้ ขณะเดียวกันเมื่อลูกน้ำยุงลายบ้านพยายามแทงท่อหายใจขึ้นมาผ่านน้ำมันเพื่อเปิดรับออกซิเจน น้ำมันที่ผิวน้ำติดท่อหายใจ ส่งผลให้ท่อหายใจอุดตัน ไม่สามารถรับออกซิเจนได้ เป็นสาเหตุการตายของลูกน้ำ สอดคล้องกับการศึกษาของ อภิวัฏ ธวัชสิน และคณะ (2540) กล่าวว่าน้ำมันซึ่งสกัดมาจากพืชมีลักษณะเหลว สีเหลืองอำพัน ไม่ละลายน้ำ สามารถฆ่าลูกน้ำและดักแด้ได้ ด้วยกลไกของน้ำมันลดแรงตึงผิว (oil surfactant) ที่ทำให้ท่อหายใจของลูกน้ำ (siphon) และท่อหายใจของดักแด้ (trumpet) เสียคุณสมบัติในการป้องกันน้ำ คือ จากสภาพไม่ชอบน้ำ (hydrophobia) กลายเป็นสภาพชอบน้ำ (hydrophilia) และส่งผลต่อตัวโม่งมากกว่าลูกน้ำ เนื่องจากตัวโม่งจำเป็นต้องหายใจผ่านทาง trumpet ทางเดียวเท่านั้น (Kettle, 1984 และสุชาติ อุปถัมภ์, 2526)

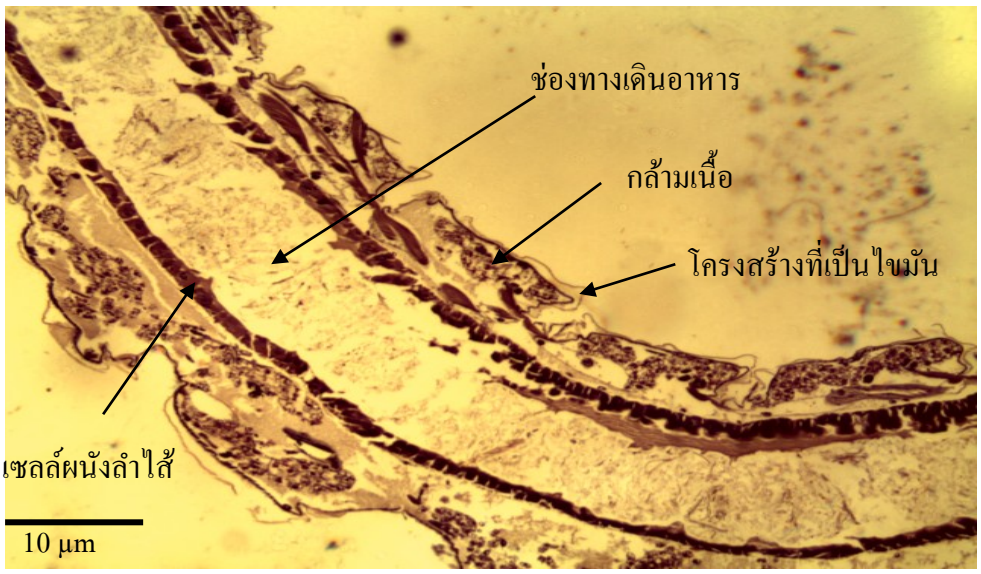
น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง สามารถฆ่าลูกน้ำได้ทั้งหมดภายใน 1 ชั่วโมง เพราะส่งผลต่อทั้งระบบหายใจและระบบทางเดินอาหารอันเนื่องมาจากการแทงท่อหายใจและการกินน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างของลูกน้ำยุงลายบ้าน เพราะเมื่อนำลูกน้ำที่ตายมาศึกษาเนื้อเยื่อบริเวณทางเดินอาหารและทางเดินหายใจ พบว่าทางเดินอาหารของลูกน้ำที่กลืนกินน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างผิดปกติเมื่อเปรียบเทียบกับทางเดินอาหารของกลุ่มควบคุม (น้ำ) (ภาพที่ 27) คือช่องทางเดินอาหารแคบลง และพบโครงสร้างที่เป็นไขมัน (adipose tissue) กล้ามเนื้อ และเซลล์ของผนังทางเดินอาหารส่วนกลาง (epithelial cells) ถูกทำลาย ส่วนในบางสไลด์พบเซลล์ของผนังทางเดินอาหารบวมและหลุดไปในช่องตรงกลางทางเดินอาหารส่วนกลาง (alimentary canal) ซึ่งการทำลายแตกต่างกับเนื้อเยื่อของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* จากภาพที่ 29 พบว่าลำไส้แคบลงมาก เซลล์ผนังทางเดินอาหารถูกทำลายอย่างรุนแรง และหลุดมาเต็มช่องทางเดินอาหาร เนื่องจากทางเดินอาหารส่วนกลางของลูกน้ำยุงลายบ้านมีฤทธิ์เป็นด่าง สามารถย่อยผลึกโปรตีนของแบคทีเรียให้ปล่อยสารพิษออกมา และยังมีเอนไซม์เฉพาะที่ทำปฏิกิริยากับสปอร์ของแบคทีเรีย ส่งผลให้เกิดแผลที่ผนังทางเดินอาหาร จนทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านเป็นอัมพาตและตายในที่สุด (สุวิมล อริยะประกาย และคณะ, 2554) และยังสามารถซึมเข้าไปเพิ่มจำนวนในระบบเลือด ทำให้เลือดเป็นพิษ (เลาจนา เชาวนาดิศัย, 2544) สอดคล้องกับการศึกษาของเอกราช แก้วนางโอ (2552) ที่พบว่าลูกน้ำที่สัมผัสกับน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างมีลำไส้แคบลง การจัดเรียงตัวของเซลล์ผนังลำไส้เริ่มไม่เป็นระเบียบ เนื่องจากมีเซลล์บางเซลล์เปลี่ยนรูปทรงจากแท่งเป็นลูกบาศก์ และแตกออกจากกันในที่สุด เป็นสาเหตุให้ส่วนของไซโตพลาสมิกหลุดเข้ามาในช่องทางเดินอาหาร และ Raymond และคณะ (2007) กล่าวว่าสารอะซาดิแรคตินในเมล็ดสะเดาอินเดียเข้าไปรบกวนการไหลของของเหลวภายในช่องทางเดินอาหารหลังจากที่เซลล์ผนังทางเดินอาหารแตก จนเป็นสาเหตุให้ลูกน้ำตาย นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Koua และคณะ (1998) พบว่าสารสกัดจากพืช

(*Persea americana*) ทำให้ระบบทางเดินอาหารส่วนกลางยุงก้นปล่องเสียหาย คือ เซลล์ผนังลำไส้ขยายตัวและแตก ส่วนเนื้อเยื่อบริเวณท่อหายใจของลูกน้ำที่สัมผัสน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 36, ภาคผนวก ข) โดยโครงสร้างของเนื้อเยื่อทั้งภายในและภายนอกจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 37, ภาคผนวก ข)

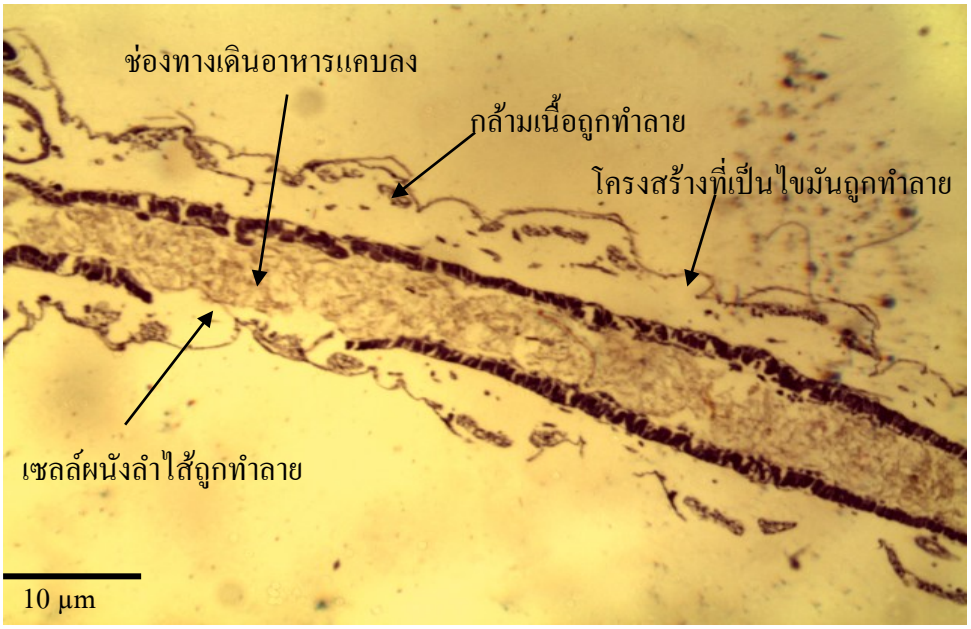
ส่วนน้ำมันปิโตรเลียม (SK 99®) ออกฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำช้ากว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างและแบคทีเรีย เนื่องจากโดยปกติกลไกการฆ่าแมลงของน้ำมันปิโตรเลียม คือ เคลือบผิวหนังแมลงเพื่อยับยั้งการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจน (รุจ มรกต, 2542) แต่ในการทดลองนี้ใส่น้ำมันปิโตรเลียมลงไปในน้ำ ทำให้มีชั้นน้ำมันเคลือบผิวน้ำ ส่งผลยับยั้งระบบหายใจของลูกน้ำทั้งทางตรงและทางอ้อม สอดคล้องกับการศึกษาของ McEwen และ Stephenson (1979) ที่รายงานว่า น้ำมันปิโตรเลียมสามารถควบคุมไร เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย โดยไปยับยั้งการแลกเปลี่ยนก๊าซของแมลง นอกจากนี้ยังสามารถฆ่าไข่ของแมลงได้อีกด้วย ในประเทศจีนมีการใช้น้ำมันปิโตรเลียมควบคุมหนอนชอนใบส้มอย่างกว้างขวาง (Rae *et al*., 1996) เนื่องจากปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม ส่วนในประเทศไทย รุจ มรกต (2541) รายงานว่าน้ำมันปิโตรเลียมสามารถควบคุมศัตรูพืชได้มากกว่า 20 ชนิด ในไม้ผล ส้ม ผัก ฝ้าย และไม้ดอกไม้ประดับ นอกจากนี้อรัญ งามผ่องใส (2553) พบว่าการใช้น้ำมันปิโตรเลียมฉีดพ่นบนผลพริกหยวก สามารถลดการวางไข่ของแมลงวันผลไม้ (*B. papayae*) ในแปลงทดลองได้ดี เมื่อนำลูกน้ำที่ตายมาศึกษาเนื้อเยื่อบริเวณทางเดินอาหารและทางเดินหายใจ พบว่าโครงสร้างทางเดินอาหารปกติ แต่ช่องลำตัวมีการขยายขนาด (ภาพที่ 34, ภาคผนวก ข) และเนื้อเยื่อทางเดินหายใจถูกทำลายเช่นเดียวกับลูกน้ำที่สัมผัสน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง

ส่วนน้ำมันปาล์มเคลือบเป็นฟิล์มที่เหนือผิวน้ำเท่านั้น ไม่มีสารออกฤทธิ์ใดๆ ทำให้ระยะเวลาที่ลูกน้ำยุงลายบ้านตายนั้นยาวนานกว่าน้ำมันอื่นๆ เนื่องจากลูกน้ำมีอวัยวะช่วยหายใจด้านท้ายลำตัว ทำให้สามารถนำออกซิเจนในน้ำมาใช้ได้ในระหว่างที่ไม่สามารถแทงท่อหายใจขึ้นมาเหนือผิวน้ำ สอดคล้องกับการศึกษาของอภิวัฏ ธวัชสิน และคณะ (2540) ที่พบอัตราการตายของลูกน้ำและตัวโม่งที่ใส่น้ำมันสกัดจากพืชที่เวลา 48 ชั่วโมง ส่วนเนื้อเยื่อท่อหายใจที่ได้รับน้ำมันปาล์ม พบว่าเสียหายเช่นเดียวกับน้ำมันอื่นๆ (ภาพที่ 39, ภาคผนวก ข)

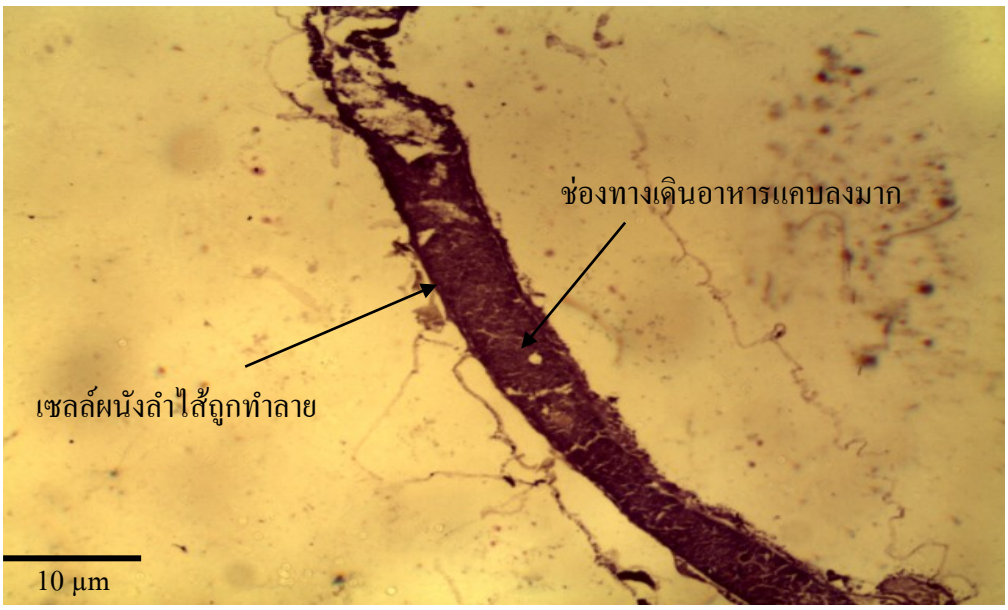
ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างส่งผลต่อระบบหายใจและระบบทางเดินอาหารของลูกน้ำยุงลายบ้าน โดยส่วนที่เป็นน้ำมันเคลือบเป็นฟิล์มเหนือผิวน้ำ ทำให้ท่อหายใจของลูกน้ำเกิดการอุดตัน และสารอะซาดิแรคตินในน้ำมันที่ซึมเข้าทางผิวหนังไปรบกวนการไหลของของเหลวภายในร่างกายของลูกน้ำ ส่วนสารอะซาดิแรคตินในน้ำมันที่ลูกน้ำกลืนกินไปทำลายเซลล์ผนังลำไส้ และเซลล์อื่นๆในช่องทางเดินอาหาร



ภาพที่ 27 ภาพตัดตามยาวทางเดินอาหารส่วนกลาง (midgut) ของลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ที่ไม่ได้สัมผัสน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง แสดงโครงสร้างที่เป็นไขมัน (adipose fabric) กล้ามเนื้อ (muscle) เซลล์ผนังลำไส้ (epithelial cells) และช่องทางเดินอาหาร (alimentary canal) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**



ภาพที่ 28 ภาพตัดตามยาวทางเดินอาหารส่วนกลาง (midgut) ของลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ที่ได้รับน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง แสดงโครงสร้างที่เป็นไขมัน (adipose fabric) กล้ามเนื้อ (muscle) และเซลล์ผนังลำไส้ (epithelial cells) ถูกทำลาย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**



ภาพที่ 29 ภาพตัดตามยาวทางเดินอาหารส่วนกลาง (midgut) ของลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ที่ได้รับแบคทีเรีย (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) แสดงโครงสร้างเป็นไขมัน (adipose fabric) กล้ามเนื้อ (muscle) และเซลล์ผนังลำไส้ (epithelial cells) ถูกทำลาย ส่วนช่องทางเดินอาหาร (alimentary canal) แคบลงมาก และมีเซลล์ผนังลำไส้หลุดมาในช่องทางเดินอาหารเต็มทุกพื้นที่ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**

บทที่ 4

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาอายุการเก็บรักษาและผลต่อลูกน้ำยุงลายบ้านของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง โดยเริ่มจากขั้นตอนการสกัดน้ำมัน พบว่าวิธีการสกัดน้ำมันแบบแช่ยุ่ยได้ปริมาณน้ำมันมากกว่าวิธีการสกัดน้ำมันแบบกลั่นลำดับส่วน คือ วิธีสกัดแบบแช่ยุ่ยได้ร้อยละ 35 ของน้ำหนักเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง และวิธีสกัดแบบลำดับส่วนได้ร้อยละ 31 ของน้ำหนักเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง หลังจากนั้นนำน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย แบบกลั่นลำดับส่วน และแบบสำเร็จรูป ไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเวลาและอุณหภูมิเพิ่มขึ้น ปริมาณสารอะซาดิแรคตินในน้ำมันทั้ง 3 แบบ มีแนวโน้มลดลง ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารอะซาดิแรคตินในน้ำมันทุก 7 วัน เป็นเวลาทั้งหมด 42 วัน หลังจากสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสารอะซาดิแรคตินกับระยะเวลา (วัน) พบว่าการลดลงของปริมาณอะซาดิแรคตินเป็นปฏิกิริยาอันดับ 1 จากกราฟอาร์รีเนียสของสารอะซาดิแรคติน ทำนายอายุการเก็บรักษาของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย แบบกลั่นลำดับส่วน และแบบสำเร็จรูป มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เท่ากับ 29, 20 และ 8 วัน ตามลำดับ และเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน ทำนายอายุการเก็บรักษาจากสมการอาร์รีเนียส ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างทั้ง 3 แบบ เท่ากับ 1,705, 1,168 และ 457 วัน ตามลำดับ และเมื่อนำน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่ผ่านการเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิดังกล่าว มาทดสอบความเสื่อม และการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน พบว่าเมื่อเวลาและอุณหภูมิเพิ่มขึ้น สีของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเข้มขึ้น โดยน้ำมันที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีสีเข้มที่สุด ส่วนปริมาณกรดไขมัน และค่าเปอร์ออกไซด์ เพิ่มขึ้นเช่นกัน เนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส และปฏิกิริยาออกซิเดชัน ส่วนผลต่อการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านเปรียบเทียบกับน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิห้อง พบว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างทั้ง 3 แบบ ที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิห้อง (กลุ่มควบคุม) สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ทั้งหมด ที่เวลา 48, 72 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนน้ำมันที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้มากที่สุดที่เวลา 120 ชั่วโมง และจากผลการศึกษาผลของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน เปรียบเทียบกับน้ำมันปาล์ม และน้ำมันปิโตรเลียม พบว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างออกฤทธิ์ได้เร็วที่สุด เนื่องจากน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเข้าทำลายทั้งระบบทางเดินอาหารและระบบหายใจของลูกน้ำยุงลายบ้าน

ข้อเสนอแนะ

1. เพื่อให้ได้ค่าอายุการเก็บที่แม่นยำควรทำการศึกษาอายุการเก็บที่สภาวะปกติ เพื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาอายุการเก็บที่สภาวะเร่ง
2. ในการศึกษาผลของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิต่างๆต่อการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน ควรทำการศึกษาเปรียบเทียบกลับกลุ่มควบคุมที่เป็นน้ำเพียงอย่างเดียว เพื่อดูระยะเวลาในการเจริญเติบโต และเพื่อพิสูจน์ว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของลูกน้ำได้ หรือ สามารถชะลอการเจริญเติบโตของลูกน้ำได้

เอกสารอ้างอิง

กีรณา เหลืองหิรัญ และวารี พิมเพชร . 2547. ทดลองวิทยาศาสตร์ได้ไม่ยาก สนุกกับเคมี. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพ: นานมีบุ๊คส์พับลิเคชั่นส์.

กลุ่มกีฏวิทยาทางการแพทย์. ม.ป.ป. วงจรชีวิตยุง.[ออนไลน์] จาก: http://www.cpms.co.th/site/ik_05.htm. (21ธันวาคม 2553).

กีรตินาฏ พูลเกษร, อนุวัตร แจ้งชัด และกมลวรรณ แจ้งชัด. 2553. การประเมินอายุการเก็บรักษาของสารป้องกันการเกาะติดโดยใช้วิธีเร่งสภาวะ. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 48 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร 3 - 5 กุมภาพันธ์ 2553. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ขวัญชัย สมบัติศิริ, กฤษกนธ์ เต็มบุญเกียรติ์, อัญชลี วัฒนาโสภณ, ดำรง เวชกิจ และพิสุทธิ์ เอกอำนวย. 2531. ความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดจากสะเดาในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชบางชนิดที่มีความ สำคัญทางเศรษฐกิจ. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 26 สาขาพืช 3-5 กุมภาพันธ์ 2553. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ขวัญชัย สมบัติศิริ, จิตราภรณ์ เจียมไชยศรี และงามผ่อง คงคาทิพย์. 2534. การสกัดและทดสอบสารออกฤทธิ์ฆ่าแมลงจากเมล็ดสะเดาไทย. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 29 สาขาสิ่งแวดล้อม วิทยาศาสตร์ อุตสาหกรรมเกษตร คหกรรมศาสตร์ วิศวกรรมศาสตร์ เศรษฐศาสตร์ สังคมศาสตร์ มนุษยศาสตร์ ศึกษาศาสตร์ 4-7 กุมภาพันธ์ 2553. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2540ก. หลักการและวิธีการใช้เมล็ดสะเดาป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช. เอกสารเผย แพร่ทางวิชาการ ฉบับที่ 1 โครงการเกษตรกู้ชาติ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ขวัญชัย สมบัติศิริ, กมล โรจน์ประสิทธิพร และวิธิตา เลิศมงคล. 2540ข. ผลของเครื่องสกัดสะเดาที่ใช้และไม่ใช้ความร้อนต่อการได้สารอะซาดิแรคติน และการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อน (*Aphis gossypii*). รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 26 สาขาพืช 3-5 กุมภาพันธ์ 2553. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

งามผ่อง คงคาทิพย์ และขวัญชัย สมบัติศิริ. 2539. ปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของอะซาดิแรคตินในสารสกัดเมล็ดสะเดาไทย. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 34 สาขาวิทยาศาสตร์, วิศวกรรมศาสตร์, อุตสาหกรรมเกษตร, คหกรรมศาสตร์, การจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม, ศึกษาศาสตร์, สังคมศาสตร์, เศรษฐศาสตร์และบริหารธุรกิจ 30 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2539. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จิตเกษม หลำสะอาด. 2548. การศึกษาแนวทางการควบคุมลูกน้ำโดยชีววิธีในจังหวัดสุราษฎร์ธานี. พิมพ์ครั้งที่ 1. สุราษฎร์ธานี: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี.

จินดา อุทัยศิลป์. 2535. การป้องกันกำจัดยุง. วารสารกสิกร 42: 427-433.

จิรดา สิงขรรัตน์ และนุชนาฏ เสือเล็ก. 2556. การวิเคราะห์ปริมาณของแคทเทชินในน้ำมันเมล็ดชาจากต้นคาเมลเลียโอเลเฟราเอเบล. วารสารวิชาการเทคโนโลยีอุตสาหกรรม 9: 59-67.

จิรวัฒน์ โคตรสมบัติ. ม.ป.ป. ปัญหายุงลายในชุมชน. [ออนไลน์] จาก: https://sites.google.com/site/liyunglay/home/bth-thi-2/wngcr-chiwit-khxng-yung. (3 กุมภาพันธ์ 2554).

จุฑาทิพย์ เพ็ชรสมบูรณ์. 2550. ผลของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้างต่อการไล่ การดูดเลือด และการวางไข่ของยุงรำคาญ. ปัญหาพิเศษ สาขากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ฉวีวรรณ ฉิมวัย และสุมาลี ตั้งประดับกุล. 2541. การเก็บและการเพาะเลี้ยงลูกน้ำยุงลาย *Aedes aegypti* สำหรับงานวิจัย. วารสารวิทยาศาสตร์ 52: 236-239.

ชนานันท์ แพงไทย และจักฤษณ์ มหัจฉริยวงศ์. 2550. การคัดเลือกและผลิตสารจากพืชในการควบคุมลูกน้ำยุงลาย. รายงานการประชุมวิชาการด้านพลังงานและสิ่งแวดล้อม ครั้งที่ 1 31 สิงหาคม 2550. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ชาญณรงค์ ทวีสาร. 2555. สารสกัดจากเมล็ดสะเดาปราบเพลี้ยร้าย. [ออนไลน์] จาก: http://www.rakbankerd.com/agriculture/print.php?id=3498&s=tblplant. (30 เมษายน 2556).

ชาตรี เอี้ยพิณ และภาราได แจ่มจำรูญ. 2550. ผลของอุณหภูมิและเวลาต่อสมบัติการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของหัวหอมใหญ่อบแห้ง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 38: 139-142.

ดวงจันทร์ เกรียงสุวรรณ. 2538. ไส้เดือนฝอย. บทความวิทยุรายการสาระน่ารู้ทางการเกษตร ประจำวันที่ 20 กุมภาพันธ์ 2538. [ออนไลน์] จาก: http://natres.psu.ac.th/radio/radio_article/radio37-38/37-380019.htm . (6 พฤษภาคม 2556).

นิตินุช สุดหนองบัว. 2553. ปลากินยุง. [ออนไลน์] จาก: http://www.sahavicha.com/?name=knowledge&file=readknowledge&id=2591. (17 มีนาคม 2554).

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2548. วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

นพมาศ สรรพคุณ. 2535. ยาฆ่าแมลงจากสะเดา. จุลสารข้อมูลสมุนไพร 9: 12-19.

นัยนา สันติยานนท์. 2551. ความคงตัวของเภสัชภัณฑ์และการเก็บรักษา. วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ 1: 180-187.

นิรนาม. ม.ป.ป.ก. พืชสมุนไพร. [ออนไลน์] จาก: http://www.baanjomyut.com/library_2/extension-3/medicinal_plants/02.html. (24 ธันวาคม 2553).

นิรนาม. ม.ป.ป.ข. สะเดาช้าง. [ออนไลน์] จาก: http://www.bansuanporpeang.com/node/815. (13 มีนาคม 2555).

นิรนาม. ม.ป.ป.ค. รู้จักสะเดา. [ออนไลน์] จาก: http://www.wasantproducts.com/web/?q=node/2. (13 มีนาคม 2555).

นิรนาม. ม.ป.ป.ง. ประโยชน์ของสะเดาช้าง. [ออนไลน์] จาก: http://www.thaikasetsart.com. (15 มีนาคม 2555).

นิรนาม. ม.ป.ป.จ. ใบสะเดาช้าง. [ออนไลน์] จาก: http://www.rakbankerd.com/agriculture/wb/show.php?Category=agriculture&No=15918. (15 มีนาคม 2555).

นิรนาม. ม.ป.ป.ฉ. สูตรโครงสร้างอะซาดิแรคติน. [ออนไลน์] จาก: http://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B8%AD%E0%B8%B2%E0%B8%8B%E0%B8%B2%E0%B8%94%E0%B8%B4%E0%B9%80%E0%B8%A3%E0%B8%8B%E0%B8%95%E0%B8%B4%E0%B8%99. (15 มีนาคม 2555).

บุญล้วน พันธุมจินดา. 2524. อะเบททรายปราบยุง. หมอชาวบ้าน 3: 29-31.

ปิยมาศ ศิลปะคง. 2545. การศึกษาฤทธิ์ฆ่าแมลงของมหาหิงค์ต่อยุงลาย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ปิยกร บุญยัง. 2550. การเตรียมสไลด์เนื้อเยื่อ. ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์. สงขลา.

พรชัย อานันท์นิตย์ และขวัญชัย สมบัติศิริ. 2535. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาที่มีต่อหนอนชอนใบส้ม. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 30 สาขาพืช 29 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2535. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พัชรินทร์ เจียรบุตร. 2550. ผลของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างต่อการไล่ การดูดเลือด การวางไข่ และการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยของยุงลายบ้าน *Aedes aegypti* Linnaeus. ปัญหาพิเศษ สาขากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พาลาภ สิงหเสนี. 2537. พิษของยาฆ่าแมลงต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงษ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. Lipid oxidation. [ออนไลน์] จาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/395/lipid-oxidation. (13 ธันวาคม 2556).

เพ็ญนภา ชมะวิต, ชำนาญ อภิวัฒนศร, นฤมล โกมลมิศร์, ยุวดี ตรงต่อกิจ, ขวัญชนก ชูจิตต์, พรพรรณ นฤภัย และสาวิตรี บุตรี. 2549. ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรที่มีต่อลูกน้ำยุงลายและยุงรำคาญ. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 44 สาขาพืช 30 มกราคม - 3 กุมภาพันธ์ 2549. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภัทรวรรณ หมกทอง, พาสวดี ประทีปะเสน, สุเมธ ตันตระเธียร และสุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์. 2553. ผลของตัวอิมัลชันต่อความเสถียรและประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียของอิมัลชันน้ำมันกานพลูในน้ำ. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 48 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร 3 - 5 กุมภาพันธ์ 2553. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มนัสนันท์ ลิมปวิทยากุล. ม.ป.ป. กีฏวิทยายุงลาย. [ออนไลน์] จาก: http://pher.dpc7.net/node/44. (13 มีนาคม 2555).

มนัสวี พัฒนากุล. 2551. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้างในการป้องกันการดูดเลือดของยุงลาย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

มานิตย์ นาคสุวรรณ. 2543. ประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาและน้ำมันสะเดาต่อยุงลาย. วารสารกีฏวิทยาและสัตววิทยา 22: 138-150.

เมธาวี เมธวลี. 2555. ผลของแบคทีเรีย *Xenorhabdus nematophilus* ที่มีต่อลูกน้ำยุงลาย *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera : Culicidae). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ยุวดี ช้างแก้ว. 2547. ประสิทธิภาพของน้ำมันชนิดต่างๆ ในการกำจัดลูกน้ำและตัวโม่งของยุงรำคาญ. ปัญหาพิเศษ ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

รติยา คูเขตพิทักษ์วงศ์, สังวาล สมบูรณ์, สุภาณี พิมพ์สมาน และวัชรี คุณกิตติ. 2546. การเปรียบเทียบปริมาณสาร azadirachtin และฤทธิ์การยับยั้งการกินของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาสามชนิดต่อหนอนใยผัก. วารสารวิจัยมหาวิยาลัยขอนแก่น 8: 11-17.

รมย์นลิน เขียนจูม, วงเดือน ปั๊นดี, สุภาวดี บุญชื่น, สุเทพ ศิลปานันทกุล และขวัญชัย สมบัติศิริ. 2556. ประสิทธิภาพและความคงทนของน้ำมันสะเดาไทยต่อการตายของลูกน้ำยุงลาย

บ้าน. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 30 สาขาพืช 29 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2553. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2548. การประเมินอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์อาหารในสภาวะเร่ง. กรุงเทพฯ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รุจ มรกต. 2542. น้ำมันปิโตรเลียมกำจัดศัตรูพืช. วารสารเคหการเกษตร 23: 182-189.

เลาจนา เชาวนาดิศัย. 2544. จุลินทรีย์กำจัดลูกน้ำยุงลาย : แบคทีเรีย. [ออนไลน์] จาก: http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_1_001c.asp?info_id=592.

วริษฎา ศิลาอ่อน, ศิริมา สังคพัฒน์, จิรณา อนันต์สุชาติกุล และวรรณพร วัฒนวงษ์. 2551. การศึกษาความคงตัวทางกายภาพและเคมีของยาน้ำเชื่อมมอร์ฟีนซัลเฟต. วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 4: 134-139.

วาสนา สอนเพ็ง, มนัสนันท์ ลิมปวิทยากุล และปารณีย์ เคนกุล. 2550. การศึกษาความต้านทานต่อสารเคมีทีมีฟอสของลูกน้ำยุงลาย. วาสารสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 7 จังหวัดอุบลราชธานี 5: 13-19.

วาสนา สอนเพ็ง, สุภาณี พิมพ์สมาน และสมศักดิ์ อรรฆศิลป์. 2553. ความต้านทานของยุงลาย (*Aedes aegypti* Linnaeus) ต่อสารฆ่าแมลงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. วารสารวิชาการสาธารณสุข 19: 182-189.

วิภาวดี ชำนาญ. 2548. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้างเพื่อไล่ยุงรำคาญ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข. 2544. ชีววิทยา นิเวศวิทยา และการควบคุมยุงในประเทศไทย. กระทรวงสาธารณสุข. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: บริษัทหนังสือดีวัน จำกัด.

สนั่น ศุภธีรสกุล, สุปรียา ยืนยงสวัสดิ์, ปาริชาต ปาลินทร และทิวา บุตรผา. 2543. การศึกษาฤทธิ์ของพืชบางชนิดในท้องถิ่นภาคใต้ประเทศไทยต่อการตายของหนอนใยผัก. วารสารสงขลานครินทร์ 22: 447-455.

สมเกียรติ บุญญะบัญชา, เอื้อมเดือน ศรีสุระพัตร และกสิน ศุภปฐม. 2540. การทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันยุงลายด้วยน้ำมันหอมระเหย 6 ชนิด โดยใช้เครื่องทดสอบสารป้องกันยุงที่ประดิษฐ์ขึ้น. วารสารกรมวิทยาศาสตร์ 39: 61-66.

สมเดช กนกเมธากุล ขวัญใจ กนกเมธากุล และถิรดา ประจวบสุข. 2552. องค์ประกอบทางเคมีจากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง. [ออนไลน์] จาก: http://www.scisoc.or.th/stt/28/web/content/C_03/C23.htm. (21 สิงหาคม 2553).

สมบูรณ์ แสงมณีเดช, ขวัญเกศ กนิษฐานนท์, ตรองรัก บุญเติม, ทศพล จุฬาลักษณานุกูล, ทินกร แสงงาม, ทิพย์วรรณ สอนง่ายดี และธนิดา วังคำ. 2547. การใช้สารสกัดจากรากหางไหลแห้งในการควบคุมลูกน้ำยุง. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น 1: 10-15.

สรรพสิทธิ์ กล่อมเกล้า. 2550. คู่มือปฏิบัติการความปลอดภัยอาหาร 2. เอกสารประกอบการเรียน คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ.

สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง. 2553. เครื่องพ่นสารเคมีกำจัดแมลง. [ออนไลน์] จาก: http://www.thaivbd.org/content.php?id=35. (17 พฤษภาคม 2553).

สีวิกา แสงธาราทิพย์. ม.ป.ป.ก. การควบคุมยุงลาย. สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง. [ออนไลน์] จาก: http://dhf.ddc.moph.go.th/Old/preventdengue.htm. (21 ธันวาคม 2553).

สุชาติ อุปถัมภ์, สมศักดิ์ พันธุวัฒนา, วนิดา นาควัชระ, เนาวรัตน์ ศุขพันธุ์, ปัทมาภรณ์ กิตยารักษ์ และชูศักดิ์ ประสิทธิสุข. 2526. กีฏวิทยาทางการแพทย์ (Medical Entomology). กองมาลาเรีย กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข.

สุนทร พิพิธแสงจันทร์, สนั่น ศุภธีรสกุล และสุจิรัตน์ ศรีตังนันท์. 2548. การขับไล่และยับยั้งการวางไข่ในแมลงวันแตง (*Bactocera cucurbitae* Coq., Diptera : Tephritidae) ของน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง. วารสารสงขลานครินทร์ 28: 121-135.

สุวรรณี พรหมศิริ. 2546. การคัดเลือกสมุนไพรเพื่อเป็นยาฆ่าลูกน้ำและศึกษาผลกระทบต่อวงจรชีวิต รูปร่าง ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และตำแหน่งที่ทำให้ยุงลายตาย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหิดล. นครปฐม.

สุวิมล อริยะประกาย, ธนโชติ ลิมปโชติ และพาสวดี ประทีปปะเสน. 2554. ผลของกระบวนการเกี่ยวเนื่องกับความร้อนต่อสมบัติอิมัลชั่นน้ำกะทิที่ใช้ซูโครสเอสเตอร์เป็นอิมัลซิไฟเออร์เปรียบเทียบกับทวิน. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 49 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร 1 - 4 กุมภาพันธ์ 2554. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อนุวัฒน์ จันทรสุวรรณ. 2544. ประสิทธิภาพของแมลงตัวห้ำในแหล่งเพาะพันธุ์ยุงพาหะนำไข้มาลาเรีย. วารสารกีฏและสัตววิทยา 23: 199-200.

อภิวัฏ ธวัชสิน, อุษาวดี ถาวระ และประคอง พันธ์อุไร. 2540. การกำจัดลูกน้ำและตัวโม่งของยุงพาหะโดยใช้น้ำมันลดแรงตึงผิว (Oil Surfactant). วารสารกระทรวงสาธารณสุข 16: 75-82.

อรัญ งามผ่องใส สนั่น ศุภธีรสกุล และธีระพล ศรีชนะ. 2552. การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเพื่อควบคุมยุงลายบ้าน. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. คณะทรัพยากรธรรมชาติและคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ สงขลา.

อรัญ งามผ่องใส. 2553. การใช้น้ำมันปิโตรเลียม น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack) และเหยื่อล่อโปรตีนควบคุมแมลงวันผลไม้ (*Bactrocera papayae* Drew & Hancock) (Diptera:Tephritidae). รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา.

อัญชลี สงวนพงษ์. 2537. น้ำมันสะเดาช้าง/อินเดีย: ศักยภาพในการป้องกันและกำจัดไรแดงสองจุดในระยะตัวเต็มวัย. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 32 สาขาพืช. 3 - 5 กุมภาพันธ์ 2537. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อัญชลี สงวนพงษ์. 2539. การผลิตสารสะเดาเพื่อการค้า (ตอน 2). วารสารกีฏและสัตววิทยา 4: 254-256.

อัญชลี สงวนพงษ์. 2541. การเปลี่ยนแปลงปริมาณอะซาดิแรคตินในเมล็ดสะเดาจากการใช้อุณหภูมิอบแห้งระดับต่างๆ. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 36 สาขาพืช. 3 - 5 กุมภาพันธ์ 2541. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อัญชลี สงวนพงษ์, งามผ่อง คงคาทิพย์ และขวัญชัย สมบัติศิริ. 2543. การเพิ่มประสิทธิภาพน้ำมันสะเดาอัดเม็ดในการออกฤทธิ์ป้องกันและกำจัดด้วงงวงข้าวสาร. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

อุษาวดี ถาวระ, อภิวัฏ ธวัชสิน, ฤทัยรัตน์ ศรีธมรัตน์, ปณวรรณ ปุโรทกานนท์. 2546. สมุนไพรป้องกันกำจัดแมลงทางการแพทย์. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข. กระทรวงสาธารณสุข.

อุษาวดี ถาวระ. 2544. ยุงพาหะ (Mosquito Vecotrs). ใน: ชีววิทยาและการควบคุมแมลงที่เป็นปัญหาสาธารณสุข. กรุงเทพฯ: บริษัท ดีไซร์ จำกัด.

เอกราช แก้วนางโอ. 2552. การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excels* Jack.) เพื่อควบคุมยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Albuquerque, M.R.J.R., Silveira, E.R., Uchao, D.E.de A., Lemos, T.L.G., Souza, E.B., Santiago, G.M.P. and Pessoa, O.D.L. 2004. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils from *Eupatorium betonicaeforme* (D.C.) Baker (Asteraceae). Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 708-711.

Ansari, M.A., Vasudevan, P., Tandon, M. and Razdan, R.K. 1999. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha* piperita) oil. Bioresource Technology 71: 267-271.

Ansari, M.A., Razdan, R.K., Tandon, M. and Vasudevan, P. 2000. Larvicidal and repellent actions of *Dalbergia sisoo* Roxb. (F. Leguminosae) oil against mosquitoes. Bioresource Technology 73: 207-211.

Attri, B.S. and Prasad, E. 1980. Neem oil extractive – An effective mosquito larvicide. Canada Journal of Entomology 43: 371-374.

Batra, C.P., Mittal, P.K., Adak, T. and Sharma, V.P. 1998. Efficacy of neem-water emulsion against mosquito immatures. Indian Journal of Malariology 35: 15-21.

Chansang, C., Thavara, U., Chansang, U., Tawatsin, A., Paosriwong, S. and Phan-Urai, P. 1997. Surveys of *Aedes* density by random sampling methods for Dengue Haemorrhagic Fever surveillance. Health Science Journal 6: 82-90.

Chin, S.F. 1985. Recent research finding on Meliaceae and other promising botanical insecticides in China. Journal of Plant Disease and Protection 92: 310-319.

Choochote, W., Chaitong, U., Kamsuk, K., Jitpakdi, A., Tippawanggkosol, P., Tuetun, B., Champakaew D. and Pitasawat, B. 2007.Repellent activity of select essential oils against *Aedes aegypti*. Fitoterapia 78: 359-364.

Cohen, E., Quistad, G.B. and Casida, J.E. 1996. Cytotoxicity of nimbolide, epoxyazadiradione and other limonoids from neem insecticide. Life Sciences 58: 1075-1081.

Dister, P.G. and Boeckh, J. 1997. Central projections of the maxillary and antennal nerves in the mosquito *Aedes aegypti* . The Journal of Experimental Biology 200: 1873-1879.

Dua, V.K., Pandey, A.C., Raghavendra, K., Gupta, A., Sharma, T. and Dash, A.P. 2009. Larvicidal activity of neem oil (*Azadirachta indica*) formulation against mosquitoes. Malaria Journal 8: 124-129.

El Hag, E.A., Abd-El Rahman, El-Nadi, H. and Zaitoon, A.A. 2001. Effect of methanolic extracts of neem seeds on egg hatchability and larval development of *Culex pipiens* mosquitoes. Indian Veterinary Journal 78: 199-201.

Ermel, K., E. Pahlich and Schmutterer, H. 1987. Azadirachtin content of neem kernels from different geographical locations, and its dependence on temperature, relative humidity and lights. In H. Schmutterer and K.R.S.Ascher (Ed.). Proc. 3rd Int.

Gbolade, A.A., Oyedele, A.O., Sosan, M.B., Adewayin, F.B. and Soyela, O.L. 2000. Mosquito repellent activities of essential oils from two Nigerian *Ocimum species*. Journal Tropical Plants 1: 146-148.

Grisales, N., Poupardin, R., Gomez, S., Fonseca-Gonzalez, I., Ranson, H. and Lenhart, A. 2013. Temephos resistance in *Aedes aegypti* in Colombia compromises dengue vector control. [online]. Available from: http://www.plosntds.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pntd.0002438#pntd-0002438-g002. (December 17, 2010).

Hati, A.K., Bhowmik, K., Banerjee, A., Mukherjee, H., Poddar, G., Basu, D. and Dhara, K.P. 1995. Repellent action of neem (*Azadirachta indica*) seed oil against *Aedes aegypti* mosquitoes. Indian Journal of Dermatology 40: 155-158.

Hoelmer, K.A., Osborne, L.S. and Yokomu, R.K. 1990. Effect of neem extracts on benefitcial insects in greenhouse culture. Proc. USDA. Neem workshop on neem's potential in pest management programme: 100-105.

Jadeja, G.C., Maeshwari, R.C. and Naik, S.N. 2011. Extraction of natural insecticide azadirachtin from neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed kernels using pressurized hot solvent. Journal of Superfluids 56: 253-258.

Kettle, D.S. 1984. Medical and Veterinary Entomology. Croom Helm Ltd., Kent.

Kim, J.K., Kang, C.S., Lee, J.K., Kim, Y.R., Han, H.Y. and Yun, H.K. 2005. Evaluation of repellenlency effect of two natural aroma mosquito repellent compound, citronella and citronellal. Entomological Research 35: 117-120.

Koua, H.K., Han, S.H. and Almeida, M.A. 1998. Histopathology of *Anopheles gambiae* subjected to the larvicidal activity of the aqueous extract of *Persea americana* Miller. Bulletin of Society Pathology Exotic 3: 252-256.

Lerdthusnee, K., Ngam-suk, W., Phan-Urai, P. and Charoenviriyaphap, T. 1996. Development of Bti-formulated products and efficacy tests against *Aedes aegypti* populations. Biopesticides: Toxicity, Safety, Development and Proper Use Proceedings of the First International Symposium on Biopesticides. Naresuan University Phitsanulok, Thailand.

Lounibos, L.P. and O'Meara, G. 2011. Invasion biology of *Aedes albopictus*. [online]. Available from: http://fmel.ifas.ufl.edu/research/exotic.shtml. (November 17, 2010).

McEwen, F.L. and Stephenson, G.R. 1979. The Use and Significance of Pesticides in the Environment. New York –Chichester-Brisbane-Toronto.

Mulla, M.S., Su, T., Thavara, U., Tawatsin A., Ngamsuk, W. and Pan-Urai P. 1999. Efficacy of new formulations of the microbial larvicide *Bacillus sphaericus* against polluted water mosquitoes in Thailand. Journal of Vector Ecology 24: 99-110.

Paosriwong, S., Thavara, U., Chansang, C. and Chompoosri, J. 2000. Infection rate of dengue virus in natural mosquitoes. Ministry of Public Health Journal 19: 127-135.

Perich, M.J., Wells, C., Bertsch, W. and Tredway, K.E. 1994. Toxicity of Extracts from *Three Tagetes* Against Adults and Larvae of Yellowfever Mosquito and *Anopheles stephensi*. Journal of Medical Entomology 31: 833-837.

Rae, D.J., Watson, D.M., Liang, W.G., Tan, B.L., Li, M., Huang, M.D., Ding, Y., Xiong, J.J., Du, D.P. Tang, J. and Beattie, G.A.C. 1996. Comparision of petroleum spray oils, abamectin, cartap and methomyl for control of citrus leaf miner (Lepidoptera: Gracillariidae) in southern China. Journal of Economic Entomology 89: 493-500.

Raymond, D. N., Faye, O., Ndiaye, A. and Afoutou, J.M. 2007. Toxic effects of neem products (*Azadiracta indica* A. Juss) on *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 larvae. African Journal of Biotechnology 6: 2846-2854.

Schmutterer, H. 1938. Potential of azadirachtin containing pesticides for integrated pest control in development and industrial countries. Journal of Insect Physiology 34: 713-719.

Silva, I.G., Zanon, W.O.M. and Silva, H.H. 2003. Larvicidal activity of *Copaifera reticulate* Ducke oil-resin against *Culex quiquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). Neotropical Entomology 32: 729-732.

Singh, S.P., Raghavendra, K., Singh, R.K. and Subbarao, S.K. 2002. Studies on larvicidal properties of leaf extract of *Solanum nigrum* Lin. (Family: Solanaceae). Current Science 81: 99-102.

Skinner, W.A. and Johnson, H.L. 1980. The design of insect repellents. Drug Design Journal 10: 277-305.

Strode, C., de Melo-Santod, M., Magalhaes, T., Araojo, A. and Ayres, C. 2012. Expression profile of genes during resistance reversal in a temephos selected strain of the dengue vector, *Aedes aegypti*. [online]. Available from: http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0039439. (December 17, 2010).

Tawatsin, A., S. D. Wrattten, R. R. Scott, U. Thavara, and Techadamrongsin, Y. 2001a. Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. Journal of Vector Ecology 26: 76-82.

Tawatsin, A., Thavara, U., Techadamrongsin, Y., Chompoosri, J. and Kong- ngamsuk, W. 2001b. Ovipositional deterrence, larvicidal and repellent effects of Turmeric (*Curcuma longa* Linn.) and Galangal Minor (*Alpinia officinarum* Hance) against four mosquito vectors. In: the 3rd International Congress of Vector Ecology, Barcelona, Spain. 17-21 September.

Tripathi, A.K., Prajapati, V., Ahmad, A., Aggarwal, K.K. and Kanuja, S.P.S. 2004. Piperitenone oxide as toxic, repellent and reproduction retardant toward malarial vector *Anopheles stephensi*. Journal of Medical Entomology 41: 691-698.

Yakkundi, S.R., Thejavathi, R. and Ravindranath, B. 1995. Variation of azadirachtin content during growth and storage of neem (*Azadirachta indica*) seeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry 43: 2517-2519.

WHO. 2014. Chikungunya. Fact sheet N°327. World Health Organization Media Centre. [online] Available from: http://www.who.int/mediacentre/factsheets32/en/. (May 1, 2014).

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์

1. วิธีหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

วิธีการทดลอง

นำโพแทสเซียมแอซิดพาทาเลทใส่กระจกนาฬิกาไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 1-2 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักให้ได้ 0.8 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากคาร์บอเนต 25 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 3 ขวด แล้วไตเตรทกับสารละลายด่างข้างต้น โดยมีฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ เก็บสารละลายด่างในขวดพลาสติก

2. การเตรียมน้ำแป้ง

วิธีการทดลอง

เตรียมโดยละลายแป้ง 1 กรัมในน้ำเล็กน้อย แล้วเติมน้ำที่ต้มเดือดจนครบ 100 มิลลิลิตร ต้มต่อไปจนเดือด

3. วิธีเตรียมแบลงก์ในการวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง

วิธีการทดลอง

เตรียมสารละลายแอซิติก-คลอโรฟอร์ม 25 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายอิ่มตัวโพแทสเซียมไอโอไดด์ 1 มิลลิลิตร ปิดจุกพร้อมเขย่านาน 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ในที่มืด หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร และเขย่าให้เข้ากัน

4. การเตรียมเฟสเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์ HPLC

วิธีการทดลอง

กรองเมธานอล และน้ำ ด้วยแผ่นกรองเมมเบรน (membrane filter) ขนาดรูกรอง 0.45 ไมโครเมตร เพื่อให้แน่ใจว่าสารละลายปราศจากอนุภาคของแข็ง แล้วเอาแก๊สออก (degassed) นาน 15 นาที นำมาผสมในอัตราส่วน 70 ต่อ 30

5. การเตรียมข้อมูลสร้างกราฟมาตรฐาน

ตารางที่ 11 ข้อมูลการสร้างกราฟมาตรฐาน

ลำดับ	ความเข้มข้น azadirachtin standard (ug/ml)	การวิเคราะห์ปริมาณอะซาดิแรคตินด้วยเทคนิค HPLC (peak area)			ค่าเฉลี่ย
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
1	100	73925527	72507701	82797516	76410248
2	200	101903230	111367942	96909254	103393475
3	300	125470295	129239411		127354853
4	400	150715224	152540728	133328093	145528015

6. การเตรียมข้อมูลในการคำนวณผลของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บรักษาโดยสภาวะเร่งต่อการตายของลูกน้ำ

ตารางที่ 12 จำนวนลูกน้ำยุงลายบ้านที่ตายเมื่อทดสอบด้วยน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่เก็บรักษาโดยสภาวะเร่งที่ระยะเวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง

น้ำมัน	อุณหภูมิการเก็บรักษา (°C)	ซ้ำ	จำนวนลูกน้ำที่ตาย (ตัว) ที่เวลาต่างๆ (ชั่วโมง)				
			24	48	72	96	120
แบบแช่ยุ่ย	25	1	19	20	20	20	20
		2	20	20	20	20	20
		3	19	20	20	20	20
		4	20	20	20	20	20
		5	19	20	20	20	20
	45	1	2	5	11	17	18
		2	3	5	10	18	19
		3	1	5	10	18	20
		4	1	5	9	17	19
		5	1	5	9	18	20

ตารางที่ 12 (ต่อ)

น้ำมัน	อุณหภูมิการเก็บรักษา (°C)	ซ้ำ	จำนวนลูกน้ำที่ตาย (ตัว) ที่เวลาต่างๆ (ชั่วโมง)				
			24	48	72	96	120
	55	1	1	3	5	15	18
		2	1	4	6	15	19
		3	1	5	6	17	18
		4	1	3	7	17	19
		5	1	3	8	19	20
	70	1	0	1	6	15	17
		2	0	2	7	15	17
		3	0	1	8	15	17
		4	0	2	7	16	16
		5	0	1	8	15	16
แบบกลั่นลำดับส่วน	25	1	20	20	20	20	20
		2	18	20	20	20	20
		3	19	19	20	20	20
		4	18	19	20	20	20
		5	18	19	20	20	20
	45	1	1	3	8	15	16
		2	0	4	9	14	17
		3	0	3	9	15	17
		4	1	3	8	14	18
		5	1	4	10	16	17
	55	1	1	2	3	10	15
		2	0	3	4	15	17
		3	0	2	5	15	17
		4	1	2	4	15	17
		5	1	3	5	15	17

ตารางที่ 12 (ต่อ)

น้ำมัน	อุณหภูมิการเก็บรักษา (°C)	ซ้ำ	จำนวนลูกน้ำที่ตาย (ตัว) ที่เวลาต่างๆ (ชั่วโมง)				
			24	48	72	96	120
	70	1	0	1	4	5	10
		2	0	4	5	8	10
		3	0	2	6	9	10
		4	0	3	5	10	10
		5	0	1	4	11	15
แบบผสม	25	1	20	20	20	20	20
		2	20	20	20	20	20
		3	20	20	20	20	20
		4	20	20	20	20	20
		5	20	20	20	20	20
	45	1	1	6	8	10	13
		2	1	5	9	15	15
		3	2	6	10	17	17
		4	2	5	9	16	17
		5	2	5	8	17	18
	55	1	1	3	6	10	15
		2	2	3	4	9	13
		3	0	3	7	11	13
		4	0	3	4	8	17
		5	1	4	7	14	15
	70	1	0	2	7	8	11
		2	0	2	7	8	14
		3	0	2	5	11	13
		4	0	2	6	15	15
		5	0	2	4	13	12

7. การเตรียมข้อมูลในการคำนวณผลของน้ำมันชนิดต่างๆ ต่อการตายของลูกน้ำ

ตารางที่ 13 จำนวนลูกน้ำยุงลายบ้านที่ตายเมื่อทดสอบด้วยน้ำมันชนิดต่างๆ

ทรีทเมนต์	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	จำนวนลูกน้ำที่ตาย (ตัว)				
		1	2	3	4	5
น้ำ (ควบคุม)	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0
น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง	1	5	5	5	5	5
	2	5	5	5	5	5
	3	5	5	5	5	5
	4	5	5	5	5	5
	5	5	5	5	5	5
น้ำมันสำเร็จรูป	1	5	5	5	5	5
	2	5	5	5	5	5
	3	5	5	5	5	5
	4	5	5	5	5	5
	5	5	5	5	5	5
น้ำมันปิโตรเลียม	1	5	4	5	5	5
	2	5	4	3	4	5
	3	5	5	5	5	5
	4	5	5	5	5	5
	5	5	5	5	5	5
น้ำมันปาล์ม	1	1	0	0	0	0
	2	1	0	0	0	0
	3	1	0	0	0	0
	4	2	0	1	1	1
	5	2	1	1	1	1

ตารางที่ 13 (ต่อ)

ทรีทเมนต์	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	จำนวนลูกน้ำที่ตาย (ตัว)				
		1	2	3	4	5
แบคทีเรีย	1	5	5	5	5	5
	2	5	5	5	5	5
	3	5	5	5	5	5
	4	5	5	5	5	5
	5	5	5	5	5	5

หมายเหตุ R= จำนวนซ้ำ

8. วิธีการเตรียมสไลด์เนื้อเยื่อยุงลายบ้าน (ปิยกร บุญยัง, 2550)

วิธีการทดลอง

1. การดองตัวอย่าง (fixation) ดองตัวอย่างลูกน้ำที่จะนำไปทำสไลด์ด้วยฟอร์มาลีน ร้อยละ 10 เพื่อรักษาเนื้อเยื่อให้อยู่ในสภาพเดิมและถาวร
2. การเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อ (tissue processing) ประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

   -การเอาน้ำออก (dehydration) ใช้เอธิลแอลกอฮอล์เข้าไปแทนที่น้ำในเซลล์เนื้อเยื่อของลูกน้ำยุงลายบ้าน

   - การทำให้ใส (clearing) ทำเนื้อเยื่อให้ใสด้วยไซลีน เนื่องจากไซลีนสามารถเข้าไปแทนที่เอธิลแอลกอฮอล์ในเซลล์เนื้อเยื่อได้ดี

   - การฝังตัวอย่างลูกน้ำลงบล็อก (embedding and blocking) ทำการฝังตัวอย่างลูกน้ำลงพาราพลาส เพื่อเสริมให้เนื้อเยื่อมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น
3. การตัดให้บางด้วยเครื่องไมโครโตม (sectioning by microtome) เตรียมหน้าบล็อกตัวอย่างให้พร้อม แล้วนำมาตัดให้บางประมาณ 5-7 ไมโครเมตร ด้วยเครื่องไมโครโตม
4. การย้อมสี (staining) ใช้สีฮีมาโตไซลิน (hematocylin) และอิโอซิน (eosin) ในการย้อมสไลด์ เมื่อได้สไลด์นำไปส่องใต้กล้องเพื่อเปรียบเทียบความเสียหายระบบทางเดินอาหารของลูกน้ำยุงลายบ้าน

ภาคผนวก ข

ผลการทดลอง

1. การคำนวณค่ากรดไขมันของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างก่อนการทดสอบอายุการเก็บรักษา

คำนวณจากสูตร

$$\text{ค่ากรด} = \frac{\text{ปริมาตรด่างที่ใช้ (มล.)} \times \text{ความเข้มข้นด่าง (มล.)} \times 56.1 \text{ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

$$\frac{37.9 \times 0.1 \times 56.1}{2} = 106.3 \text{ มิลลิกรัม}$$

ได้ค่ากรดของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเท่ากับ **106.3** มิลลิกรัม

2. การคำนวณค่ากรดไขมันของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างหลังทดสอบอายุการเก็บรักษา

คำนวณจากสูตร

$$\text{ค่ากรด} = \frac{\text{ปริมาตรด่างที่ใช้ (มล.)} \times \text{ความเข้มข้นด่าง (มล.)} \times 56.1 \text{ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

ค่ากรดของน้ำมัน ที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 70 องศาเซลเซียส $= \frac{42.8 \times 0.1 \times 56.1}{2}$

$= 120.054$

ได้ค่ากรดไขมันของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเท่ากับ **120.054** มิลลิกรัม เท่ากันทุกอุณหภูมิ

3. การคำนวณค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างก่อนการทดสอบอายุการเก็บรักษา

คำนวณจากสูตร

$$\text{ค่าเพอร์ออกไซด์} = \frac{(a-b) \times N \times 1000}{W}$$

เมื่อ a = ปริมาตร (มล.) ของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

b = ปริมาตร (มล.) ของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรทแบลงก์

N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต (นอร์มอล)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

$$\text{ค่าเพอร์ออกไซด์} = \frac{(0.86-0.6) \times 0.01 \times 1000}{2}$$

$= 1.3$ มิลลิกรัม

ได้ค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเท่ากับ 1.3 มิลลิกรัม

4. การคำนวณค่าเพอร์ออกไซด์ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างหลังทดสอบอายุการเก็บรักษา

คำนวณจากสูตร

$$\text{ค่าเพอร์ออกไซด์ของน้ำมันที่อุณหภูมิ 45} = \frac{(1.12-0.6) \times 0.01 \times 1000}{2}$$

$$= 2.6$$

$$\text{ค่าเพอร์ออกไซด์ของน้ำมันที่อุณหภูมิ 55} = \frac{(1.20-0.6) \times 0.01 \times 1000}{2}$$

$$= 3$$

$$\text{ค่าเพอร์ออกไซด์ของน้ำมันที่อุณหภูมิ 70} = \frac{(1.25-0.6) \times 0.01 \times 1000}{2}$$

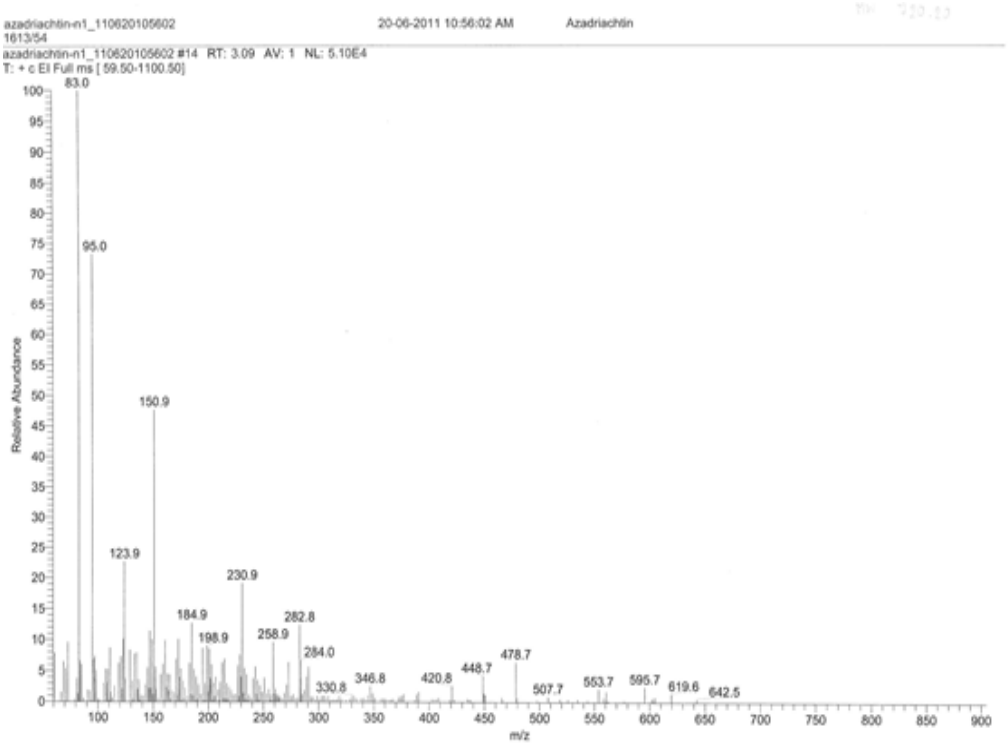
$$= 3.2$$

5. ค่าเปอร์ออกไซด์ที่สรรพสิทธิ์ (2550) ได้วิเคราะห์ไว้

ตารางที่ 14 ค่าเปอร์ออกไซด์ที่สรรพสิทธิ์วิเคราะห์

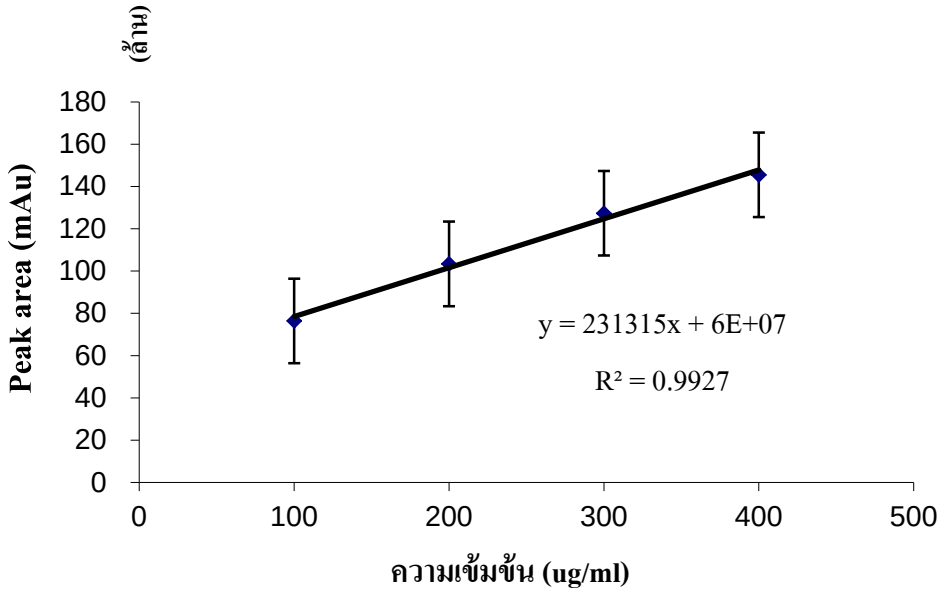
ค่าเพอร์ออกไซด์ที่คาดคะเนไว้ (มิลลิกรัมสมมูล)	น้ำหนักตัวอย่างที่ต้องการชั่ง (กรัม)
0-12	0.2-2.0
12-20	2.0-1.2
20-30	1.2-0.8
30-50	0.8-0.5
50-90	0.5-0.3

6. องค์ประกอบของอะซาดิแรคตินที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Mass Spectrometer



ภาพที่ 30 แมสสเปกตรัมของสารอะซาดิแรคตินมาตรฐาน เป็นของแข็ง สีขาวทึบ มีสูตรโมเลกุล $C_{35}H_{44}0_{16}$ และมวลโมเลกุล 720.7 กรัมต่อโมล

7. กราฟมาตรฐานของสารอะซาดิแรคติน



ภาพที่ 31 กราฟสารละลายมาตรฐานของสารอะซาดิแรคติน

8. ปริมาณอะซาดิแรคตินคงเหลือ (mg/L) ที่ระยะเวลาต่างๆ

ตารางที่ 15 ปริมาณอะซาดิแรคติน (มิลลิกรัมต่อลิตร) คงเหลือในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาโดยสภาวะเร่ง

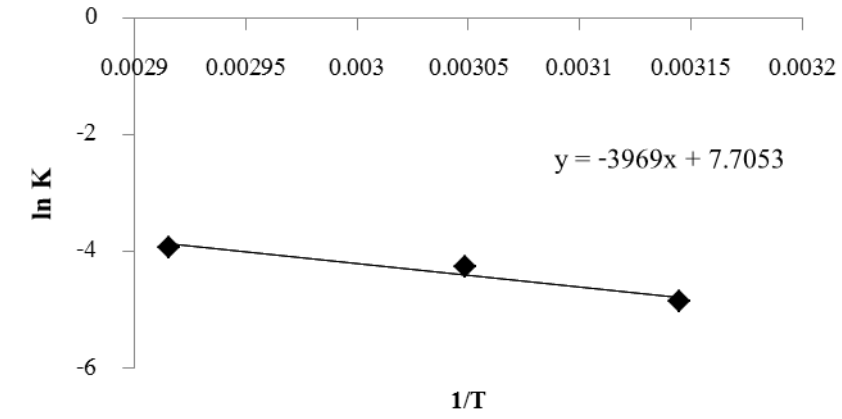
ทรีทเมนต์	ปริมาณอะซาดิแรคติน (mg/L) ที่ระยะเวลา (วัน)				
	0	7	14	21	28
Macer.45°C	213.6	193.9	181.3	180	168.7
Macer.55°C	213.6	202.1	169.3	156.7	148.3
Macer.70°C	213.6	196.7	143.4	131.2	130.7
Soxhlet45°C	213.9	211.6	202.7	188.2	164.8
Soxhlet55°C	213.9	182.4	178.4	150.2	134.6
Soxhlet70°C	213.9	172.5	142.4	131.5	127.5
Mix45°C	228.6	220.4	197.5	176.8	141.7
Mix55°C	228.6	201.9	164.1	138.6	131.5
Mix70°C	228.6	193.6	175.3	133.5	125.6

หมายเหตุ:macer คือ น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย

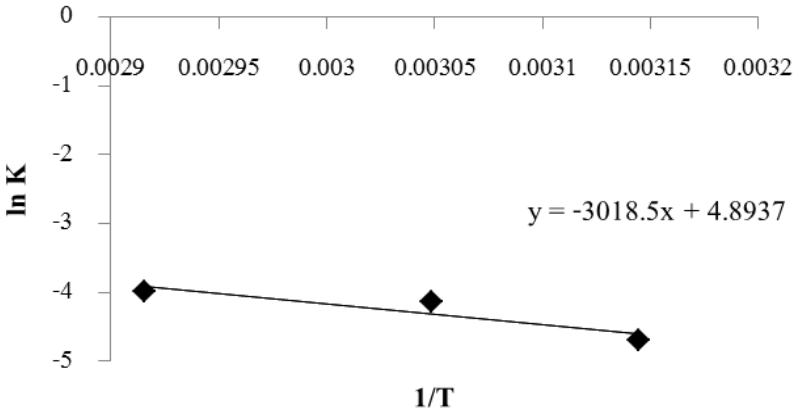
soxhlet คือ น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบกลั่นลำดับส่วน

mix คือ น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป

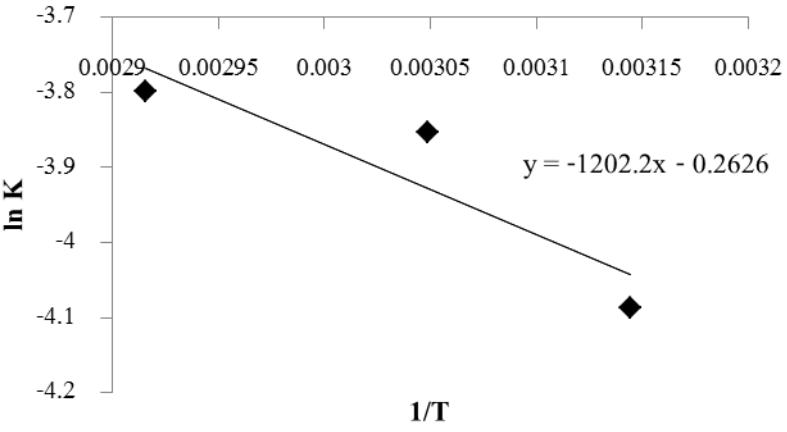
9. กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสูญเสียอะซาดิแรคตินกับส่วนกลับอุณหภูมิสัมบูรณ์ (องศาเคลวิน)



(ก)



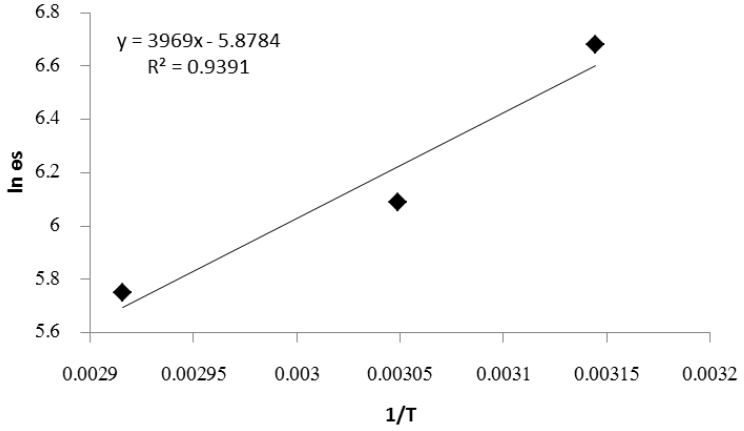
(ข)



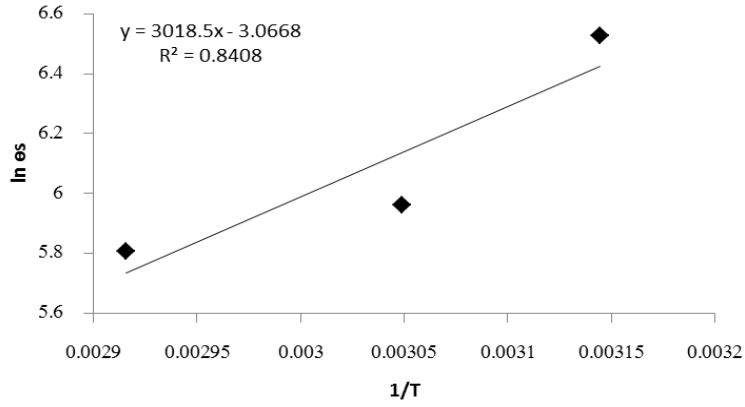
(ค)

ภาพที่ 32 กราฟอาร์รีเนียสของสารอะซิดิแรคตินในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย (ก) แบบกลั่นลำดับส่วน (ข) และ แบบสำเร็จรูป (ค)

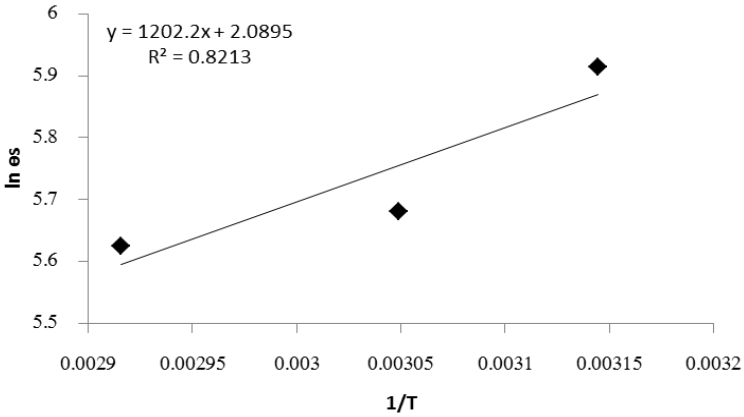
10. กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอายุการเก็บกับส่วนกลับอุณหภูมิสัมบูรณ์ (องศาเคลวิน)



(ก)



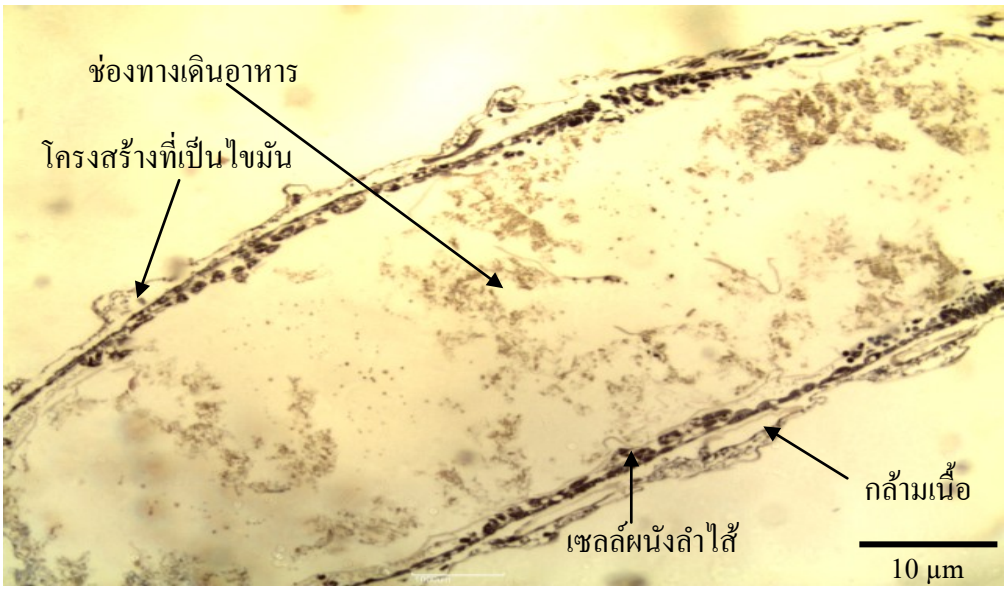
(ข)



(ค)

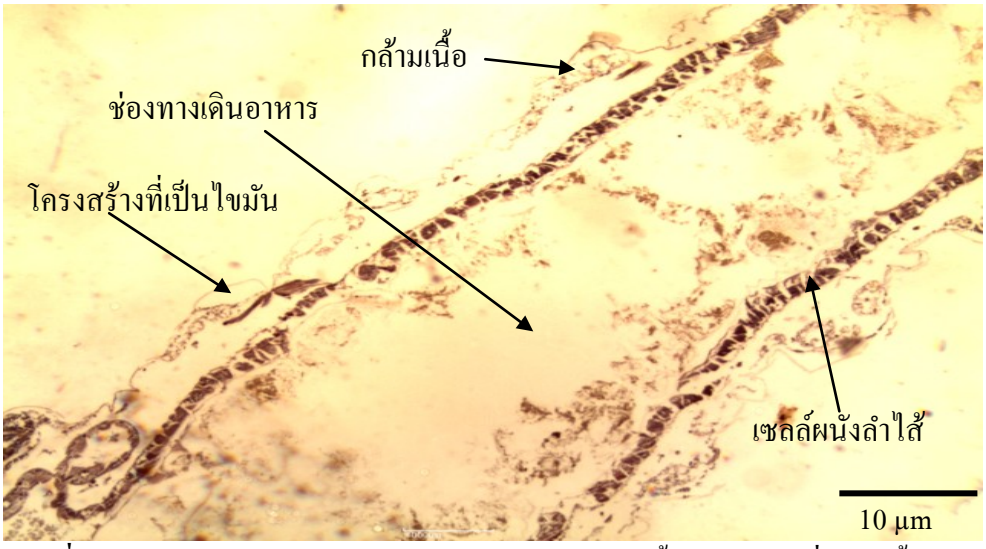
ภาพที่ 33 กราฟอาร์รีเนียสของอายุการเก็บน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างแบบแช่ยุ่ย (ก) น้ำมันกลั่นลำดับส่วน (ข) และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป (ค)

11. ทางเดินอาหารของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับน้ำมันปิโตรเลียม



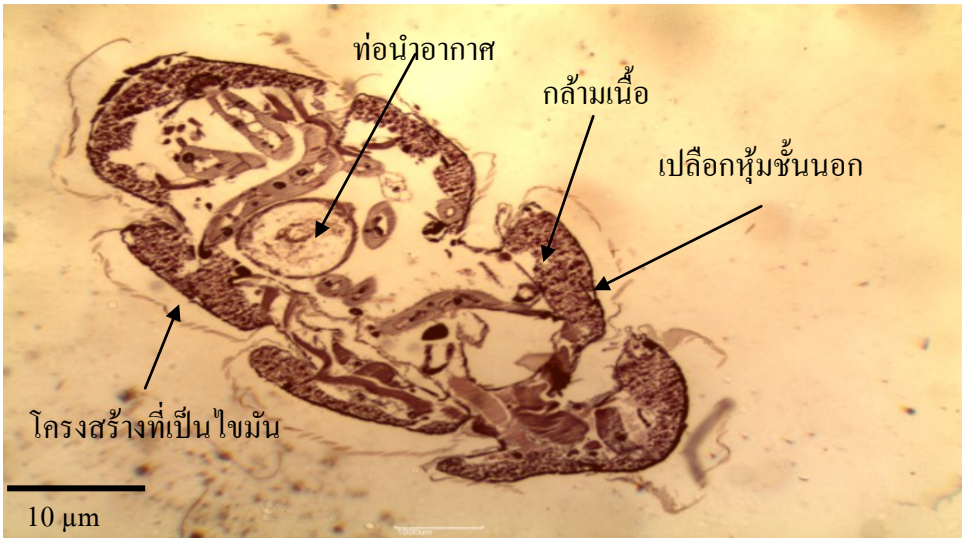
ภาพที่ 34 ภาพตัดตามยาวทางเดินอาหารส่วนกลางของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับน้ำมันปิโตรเลียม แสดงโครงสร้างที่เป็นไขมัน (adipose fabric) เซลล์ผนังลำไส้ (epithelial cells) และช่องทางเดินอาหาร (alimentary canal) ปกติ แต่มีขนาดใหญ่ขึ้น กล้ามเนื้อ (muscle) เกิดการผิดปกติ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**

12. ทางเดินอาหารของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับน้ำมันปาล์ม

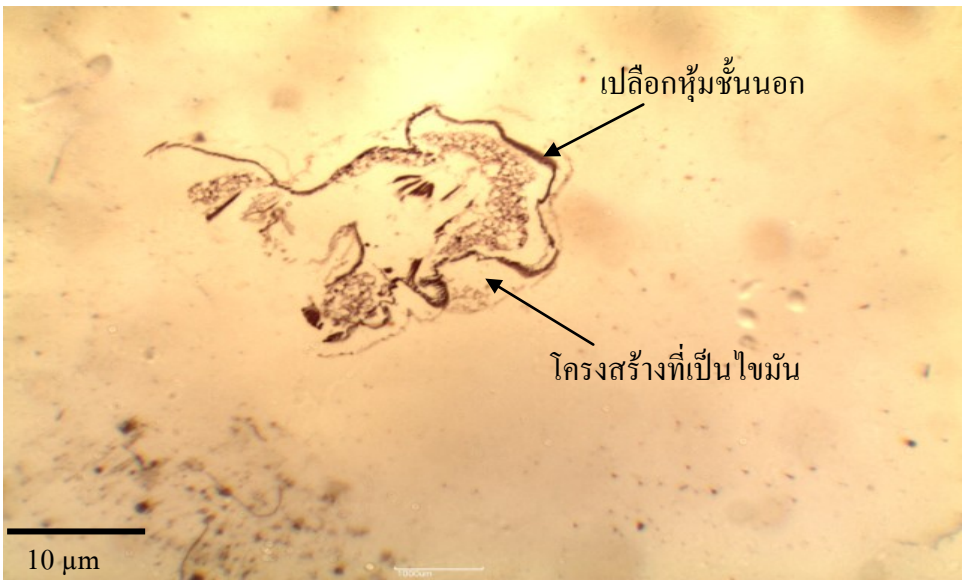


ภาพที่ 35 ภาพตัดตามยาวทางเดินอาหารส่วนกลางของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับน้ำมันปาล์ม แสดงโครงสร้างที่เป็นไขมัน (adipose fabric) กล้ามเนื้อ (muscle) เซลล์ผนังลำไส้ (epithelial cells) และช่องทางเดินอาหาร (alimentary canal) ปกติ แต่ช่องทางเดินอาหารมีขนาดใหญ่ขึ้น ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**

13. ท่อหายใจของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับน้ำมันต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (น้ำกลั่น)



ภาพที่ 36 ภาพตัดตามขวางท่อหายใจของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ไม่ได้รับน้ำมันใดๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**



ภาพที่ 37 ภาพตัดตามขวางท่อหายใจของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง แสดงโครงสร้างทุกส่วนถูกทำลาย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**

ภาพที่ 38 ภาพตัดตามขวางท่อหายใจของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับน้ำมันปิโตรเลียม แสดงโครงสร้างทุกส่วนถูกทำลาย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**

ภาพที่ 39 ภาพตัดตามขวางท่อหายใจของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับน้ำมันปาล์ม แสดงโครงสร้างทุกส่วนถูกทำลาย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40**X**