

ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.) และผิวมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) ต่อ
ลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linn.) และการทำงานของ
ของเอนไซม์เอสเทอเรสในลูกน้ำยุงลายบ้าน
หลังจากได้รับสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิด

ลภัสรดา โงนมะณี

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
สิงหาคม 2559



ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม (*Cymbopogon*
winterianus Jowitt.) และผิวมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) ต่อ
ลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linn.) และการทำงานของ
ของเอนไซม์เอสเทอเรสในลูกน้ำยุงลายบ้าน
หลังจากได้รับสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิด

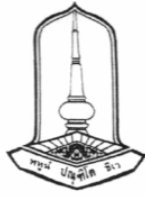
ลภัสรดา โงนมะณี

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา



สิงหาคม 2559
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม





คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนางสาวลภัสรดา โจนะเมณี
แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(อาจารย์ ดร.อนุวัฒน์ วันทอง)

ประธานกรรมการ

(กรรมการบัณฑิตศึกษาประจำคณะ)

(ผศ.ดร.อาจันต์ ไพรรณ)

กรรมการ

(อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก)

(อาจารย์ ดร.ธีรพร กิตติศาสตร์)

กรรมการ

(อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม)

(อาจารย์ ดร.สุริยา มณีฉาย)

กรรมการ

(อาจารย์บัณฑิตศึกษาประจำคณะ)

(ดร.สุตนันท์ ชูสาย)

กรรมการ

(ผู้ทรงคุณวุฒิ)

มหาวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

(ผศ.ดร.วิเชียร มากตัน)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศ.ดร.ประติษฐ์ เทอดทูล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 14 เดือน ส.ค. พ.ศ. 2559



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างสูงยิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อาจันต์ ไพรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และ อาจารย์ ดร.ธีรพร กิตติศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ จนเสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.อนุวัฒน์ วันทอง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร.สุธิรา มณีฉาย และ ดร.ชุตินันท์ ชูสาย กรรมการคุมสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา และช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ อาจารย์ทุกท่าน ที่ประสาทวิชา ความรู้ แนะนำ สั่งสอน เป็นอย่างดี ตลอดจนเจ้าหน้าที่ ที่คอยสนับสนุนด้านอุปกรณ์ เครื่องมือ ในการ ทำวิจัย ตลอดระยะเวลาที่ศึกษาในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ กรมควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลง กระทรวงสาธารณสุข ที่ให้ความ อนุเคราะห์ไข่มดน้ำยุงลายบ้าน ในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ครอบครัว บิดา มารดา ที่อบรมสั่งสอนเป็นอย่างดี และคอยสนับสนุน ด้านการศึกษาไม่เคยขาดตกบกพร่องรวมทั้งเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

ขอขอบคุณ เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา ที่คอยช่วยเหลือ อยู่เคียง ข้าง และให้กำลังใจที่ดีเสมอมา

ลภัสรดา โงนมะณี



ชื่อเรื่อง	ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม (<i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt.) และผิวมะกรูด (<i>Citrus hystrix</i> DC.) ต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน (<i>Aedes aegypti</i> Linn.) และการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสในลูกน้ำยุงลายบ้าน หลังจากได้รับสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิด		
ผู้วิจัย	นางสาวลภัสสรดา โงนมะณี		
ปริญญา	วิทยาศาตรมหาบัณฑิต	สาขาวิชา	ชีววิทยา
กรรมการควบคุม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อาจันต์ ไพรรณ อาจารย์ ดร.ธีรพร กทิสาสตร์		
มหาวิทยาลัย	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	ปีที่พิมพ์	2559

บทคัดย่อ

จากการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมที่ความเข้มข้น 0, 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 ppm และผิวมะกรูดที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10 ppm ต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 พบว่า สารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิดมีผลทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 ตายได้ โดยเมื่อลูกน้ำยุงได้รับสารสกัดจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูดที่ความเข้มข้น 4,000 และ 10 ppm เป็นความเข้มข้นสูงสุดที่ทำให้ลูกน้ำยุงตายมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นอื่นๆ และที่ความเข้มข้น 500 ppm และ 2.5 ppm เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้ลูกน้ำยุงตายน้อยสุด ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากพืชทั้ง 2 ชนิด ต่อลูกน้ำยุงก็จะเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับระยะเวลาที่ลูกน้ำยุงได้รับสาร โดยเมื่อลูกน้ำยุงวัย 1 ถึงวัย 4 ได้รับสารเป็นเวลานาน 30, 36, 60 และ 60 ชั่วโมง ตามลำดับ ทำให้ลูกน้ำยุงแต่ละวัยมีอัตราการตายสูงที่สุด และพบว่าลูกน้ำวัย 1 และวัย 2 มีอัตราการตายต่ำสุดเมื่อได้รับสารในระยะเวลาสั้นๆ เพียง 6 ชั่วโมง ส่วนลูกน้ำวัย 3 และวัย 4 มีอัตราการตายต่ำสุดเมื่อได้รับสารเพียง 18 ชั่วโมง

ระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยลูกน้ำยุงวัย 4 มีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสเพิ่มขึ้นสูงที่สุด คิดเป็น 0.94-0.98 และ 0.90-0.94 เท่าของกลุ่มควบคุมตามลำดับ การที่เอนไซม์เอสเทอเรสมีการทำงานเพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากสารสกัดหยาบทั้ง 2 ชนิด ไปเหนี่ยวนำให้เอนไซม์เอสเทอเรสมีการทำงานได้ดีขึ้น ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเอนไซม์เอสเทอเรสเป็นเอนไซม์ที่จำเพาะต่อการอยู่รอด และลูกน้ำยุงลายบ้านก็ถือเป็นแมลงที่มีการปรับตัวต่อการอยู่รอดได้ดี

คำสำคัญ : ลูกน้ำยุงลายบ้าน; ใบตะไคร้หอม; ผิวมะกรูด; เอนไซม์เอสเทอเรส



TITLE Toxicity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt. and *Citrus hystrix* DC. extracts to *Aedes aegypti* Linn. and their effect on esterase enzyme activity

AUTHOR Miss Laphasrada Ngonmanee

DEGREE Master of Science **MAJOR** Biology

ADVISORS Asst. Prof. Ajin Phairiron, Ph.D.
Teeraporn Katisart, Ph.D.

UNIVERSITY Mahasarakham University **YEAR** 2559

ABSTRACT

The study on the toxicities of crude extracts from citronella grass leaves and kaffir lime peels on the 1st to 4th instar larvae of *Aedes aegypti* Linn. Revealed that the extracts from both plants caused the mortality in the 1st to 4th instar larvae of *Ae. aegypti*. The larvae treated with citronella grass and kaffir lime extracts at the concentration of 4,000 and 10 ppm, respectively had the highest mortality rate. However, both extracts at the concentration of 500 and 2.5 ppm provided the lowest mortality rate of larvae. These findings suggest that the higher concentration of the extracts increases the toxicities on the larvae. The similar finding were found in the study on the effect of exposure time. The exposure of the extracts to the larvae for 30, 36, 60 and 60 hours, respectively caused the highest mortality in all instar larvae. In additions, the 1st and 2nd instar larvae had the lowest mortality when exposure to the extracts for 6 hours. However, the 3rd and 4th instar larvae had the lowest mortality when exposure to the extracts for 18 hours.

The esterase activities of the 1st to 4th instar larvae after exposure to the extracts revealed tend to be increased. The 4th instar larvae had the highest esterase activity (0.94-0.98 and 0.90-0.94 fold compared to the controls, respectively). These suggest that both plant extracts may induce the increase of esterase activity. It is possible that esterase is specific enzyme to survival and *Ae. aegypti*. Larvae have high capacity for adaptation for survival.



Key Words : *Aedes aegypti* Linn.; citronella grass leaves extract; kaffir lime peels extract; esterase enzyme



สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพประกอบ	ณ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ภูมิหลัง	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
1.3 สมมุติฐานของการวิจัย	3
1.4 ขอบเขตการวิจัย	3
1.5 ตัวแปรที่ศึกษา	3
1.6 สถานที่ทำการวิจัย	3
1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
บทที่ 2 ปฏิทัศน์เอกสารข้อมูล	
2.1 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับยุงลายบ้าน	6
2.1.1 รูปร่างลักษณะทั่วไปของยุงลายบ้าน	6
2.1.2 อุปนิสัยของยุงลายบ้าน	11
2.1.3 ความสำคัญทางการแพทย์ของยุงลายบ้าน	12
2.1.4 การควบคุมยุงพาหะนำโรค	13
2.2 สมุนไพรที่ใช้เป็นสารฆ่าแมลง	14
2.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของพืชสมุนไพร	14
2.2.2 พืชที่นำมาศึกษา	16
2.2.3 การสกัดสารสำคัญจากพืช	20
2.3 วิธีทางที่แมลงได้รับสาร	23
2.4 ความเป็นพิษและค่าความเป็นพิษ	24
2.4.1 ความเป็นพิษ (toxicity)	24
2.4.2 ค่าความเป็นพิษ (lethal toxicity)	24
2.4.3 วิธีการทดสอบความเป็นพิษต่อแมลงและสัตว์ทดลองอื่นๆ	26
2.4.4 กระบวนการกำจัดสารพิษ	28



2.4.5 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสารพิษ	30
2.4.6 ปัจจัยที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการเกิดพิษ	32
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	37

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	
3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี	42
3.1.1 วัสดุอุปกรณ์	42
3.1.2 สารเคมี	42
3.2 วิธีการทดลอง	42
3.2.1 สัตว์ทดลอง	42
3.2.2 พืชที่ใช้ในการทดลอง	42
3.2.3 ขั้นตอนดำเนินการทดลอง	42
3.2.4 การเตรียมสารสกัดจากพืช	44
3.2.5 วิเคราะห์ปริมาณสารซิโทรเนลลา (citronella)	45
3.2.6 วิธีการทดสอบความเป็นพิษ	45
3.2.7 การวิเคราะห์ผล	46
3.2.8 การตรวจวัดการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสหลังได้รับสารสกัดจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด	47
3.2.9 ตรวจสอบปริมาณโปรตีน	49
บทที่ 4 ผลการวิจัย	
4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสาร citronella ในตะไคร้หอมและผิวมะกรูด	51
4.2 ผลของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูดต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4	52
4.2.1 ผลของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4	52
4.2.2 ผลของสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4	68
4.3 การหาค่า pH ที่เหมาะสมของบัฟเฟอร์โพแทสเซียมฟอสเฟส	85
4.4 การทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด	86



4.4.1 การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม	86
4.4.2 การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด	89
บทที่ 5 อภิปราย สรุปผล และข้อเสนอแนะ	
5.1 การวิเคราะห์สารซิโทรเนลลา (citronella)	94
5.2 ผลของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด ต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4	94
สารบัญ (ต่อ)	
	หน้า
5.2.1 ผลของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมต่อ ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4	94
5.2.2 ผลของสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4	95
5.3 การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด	97
5.3.1 การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม	97
5.3.2 การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด	98
5.4 สรุปผลการทดลอง	100
5.5 ข้อเสนอแนะ	100
เอกสารอ้างอิง	101
ภาคผนวก	108
ประวัติย่อผู้วิจัย	115



สารบัญตาราง

	หน้า	
ตาราง 1.1	ระยะเวลาดำเนินงานวิจัย	4
ตาราง 4.1	อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม	53
ตาราง 4.2	สมการถดถอย (regression) และ LC ₅₀ ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม	55
ตาราง 4.3	อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม	56
ตาราง 4.4	สมการถดถอย (regression) และ LC ₅₀ ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม	58
ตาราง 4.5	อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม	60
ตาราง 4.6	สมการถดถอย (regression) และ LC ₅₀ ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม	62
ตาราง 4.7	อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม	64
ตาราง 4.8	สมการถดถอย (regression) และ LC ₅₀ ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 หลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม	66
ตาราง 4.9	อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด	69
ตาราง 4.10	สมการถดถอย (regression) และ LC ₅₀ ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด	71
ตาราง 4.11	อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด	73
ตาราง 4.12	สมการถดถอย (regression) และ LC ₅₀ ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด	75
ตาราง 4.13	อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด	77
ตาราง 4.14	สมการถดถอย (regression) และ LC ₅₀ ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด	79



ตาราง 4.15	อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด	81
ตาราง 4.16	สมการถดถอย (regression) และ LC ₅₀ ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด	83

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตาราง 4.17	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์เอสเทอเรส ในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม	87
ตาราง 4.18	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของโปรตีนในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม	88
ตาราง 4.19	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์เอสเทอเรส ในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด	91
ตาราง 4.20	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของโปรตีนในลูกน้ำยุงลายบ้าน วัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นต่างกัน	92



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ภูมิหลัง

ปัจจุบันประเทศไทยยังคงเผชิญกับสถานการณ์ของโรคติดเชื้อ โดยมีแมลงเป็นพาหะนำโรคแมลงที่ก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญชนิดหนึ่งคือยุง ซึ่งนำโรคร้ายแรงหลายชนิดมาสู่คนและสัตว์ เช่น โรคมาลาเลีย โรคเท้าช้าง โรคไข้เลือดออก โรคไข้สมองอักเสบ โรคชิคุนกุนยา ฯลฯ (สำนักโรคติดต่อฯ โดยแมลง กรมควบคุมโรค, 2555) โดยเฉพาะไข้เลือดออกที่มียุงลายเป็นพาหะสำคัญในการแพร่กระจายเชื้อไวรัสไข้เลือดออกหรือไวรัสเดงกี ซึ่งยุงลายที่เป็นพาหะนำโรคไข้เลือดออกที่สำคัญมี 2 ชนิด คือยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linn.) และยุงลายสวน (*Aedes albopictus* Skuse) โดยยุงลายบ้านถือเป็นยุงชนิดที่มีความสำคัญทางด้านระบาดวิทยาของโรคไข้เลือดออกมากที่สุด มีการแพร่เชื้อโดยยุงลายเพศเมียกัดกินเลือดจากผู้ป่วยที่มีเชื้อไวรัสเดงกีอยู่ในกระแสเลือดซึ่งเป็นผู้ป่วยที่มีไข้สูง เชื้อไวรัสเดงกีจะเพิ่มจำนวนและฝังตัวอยู่บริเวณผนังกระเพาะอาหารของยุง ใช้เวลาประมาณ 8-10 วัน หลังจากนั้นจึงจะเข้าสู่ต่อมน้ำลายและเตรียมพร้อมที่จะปล่อยเชื้อไวรัสให้กับคนที่ถูกกัดครั้งต่อไป (กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข, 2550)

โรคไข้เลือดออกสามารถพบได้ทั้งในประเทศเขตร้อน และกึ่งเขตร้อน ซึ่งเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขในหลายประเทศทั่วโลก มีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวาง และมีจำนวนผู้ป่วยเพิ่มมากขึ้น (อารีรัตน์ ศรีจักรวาลวงศ์ และคณะ, 2536) ประเทศไทยเริ่มพบโรคไข้เลือดออกระบาดใหญ่ครั้งแรกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2501 ในช่วง 50 ปีที่ผ่านมามีการระบาดเพิ่มมากขึ้น ทั้งจำนวนผู้ป่วยและพื้นที่ ที่มีการระบาดอย่างกว้างขวาง และแพร่กระจายไปทั่วประเทศ โดยในช่วง 20 ปีแรก มีระบาดปีเว้นปี ต่อมา 20 ปีหลัง มีรูปแบบการกระจายแบบระบาดสูง 2 ปี แล้วลดต่ำลง หรือลดต่ำลง 2 ปี แล้วเพิ่มสูงขึ้น การเจ็บป่วยด้วยโรคไข้เลือดออก ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจและสังคมมากมาย เช่น เป็นภาระของครอบครัว มีผลต่อการเรียน ต่อการทำงานและค่าใช้จ่ายในการรับบริการ การรักษาพยาบาล และค่าใช้จ่ายอื่นๆ ของครอบครัวผู้ป่วย ตลอดจนอาจมีผลทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตก่อนวัยอันควร (สำนักโรคติดต่อฯ, 2553) จากรายงานโรคไข้เลือดออกในช่วงปี พ.ศ. 2552-2557 พบจำนวนผู้ป่วยสูงถึง 518,434 ราย เสียชีวิต 523 ราย โดยพบจำนวนผู้ป่วยสูงในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงกันยายน (สำนักโรคติดต่อฯ, 2558)

การป้องกันและควบคุมโรคที่ดีที่สุด คือการกำจัดยุงพาหะและควบคุมลูกน้ำยุงให้ลดความหนาแน่นลง โดยแนวทางหนึ่งที่จะช่วยลดปัญหาดังกล่าว คือการใช้สารเคมีจากธรรมชาติในการป้องกันกำจัดยุง เช่น การใช้สมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการฆ่ายุง ซึ่งมีความปลอดภัยมากกว่าสารเคมีสังเคราะห์ อีกทั้ง



ยังมีข้อดีหลายประการ เช่น ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้ใช้ และผู้บริโภค สลายตัวง่าย ไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม สามารถทำตัวเอง สะดวก ลดค่าใช้จ่าย การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรจึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำมาทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ อีกทั้งยังเป็นการนำพืชที่มีอยู่ในท้องถิ่นมาใช้ให้เกิดประโยชน์ (อุษาวดี ถาวร และคณะ, 2546) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ประเทศไทย ซึ่งมีพืชสมุนไพรหลายชนิดที่สามารถนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดยุงได้ เช่น ตะไคร้หอม มะกรูด เปลือก และผิวส้มเขียวหวาน ไพล ว่าน ขิง ยูคาลิปตัส เหง้ากระเทียม กานพลู เปราะหอม ฯลฯ (ณฐยา สัทธานนท์, 2553) โดยพบว่า ตะไคร้หอมและผิวมะกรูด เป็นพืชที่พบได้ทั่วไปในประเทศไทยนั้น มีฤทธิ์ในการป้องกันกำจัดยุง เช่น ในปี 2553 ชื่นจิต โขงแก้ว และคณะ ทำการศึกษาประสิทธิภาพของตะไคร้หอมในการป้องกันกำจัดและขับไล่ยุงชนิดต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ยุงลาย ยุงก้นปล่อง และยุงรำคาญ พบว่าสารสกัดจากตะไคร้หอมมีประสิทธิภาพในการป้องกันการกัดและขับไล่ยุงได้ ต่อมา มัสรินทร์ วิวัฒน์ และคณะ (2555) ยังพบว่า น้ำมันตะไคร้หอมมีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงลาย วัย 3 และวัย 4 ตอนต้นได้ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 61.87 มิลลิกรัมต่อลิตร และรายงานการวิจัยของ คุณ เครือวรรณ (2532) พบว่าพืช 5 ชนิด คือ พริกไทย ส้มเขียวหวาน มะกรูด หนอนตายหยาก และกระเทียม มีพิษต่อลูกน้ำยุงลาย โดยสารสกัดจากเมล็ดพริกไทยมีผลต่อลูกน้ำยุงลายดีที่สุด มีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.0627, 0.0577, และ 0.0542 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ภายในระยะเวลาที่กำหนด รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน สารสกัดจากเปลือกมะกรูด สารสกัดหนอนตายหยาก และสารสกัดจากกระเทียม ซึ่งพบว่าสารสกัดจากเปลือกมะกรูดไม่มีค่าความแตกต่างกันในทางสถิติ เมื่อเทียบกับสารสกัดจากเมล็ดพริกไทยต่อการตายของลูกน้ำยุงลายวัย 4 ตอนต้น จากนั้น ไพรัช น้อยแสง และคณะ (2547) พบว่าสารสกัดจากผิวมะกรูด มีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงลายวัย 1, 2, 3 และ 4 ได้เทียบเท่ากับทรายอะเบท คือ อัตราส่วน 0.2 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร สามารถกำจัดลูกน้ำยุงลายวัยที่ 1 ได้ ที่ระยะเวลา 144 ชั่วโมง และอัตราส่วน 0.8 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร สามารถกำจัดลูกน้ำยุงลายวัยที่ 4 ได้ที่ระยะเวลา 168 ชั่วโมง

โดยปกติสิ่งมีชีวิตมีกระบวนการป้องกันและกำจัดพิษออกจากร่างกาย เมื่อได้รับสารพิษหรือสารแปลกปลอมเข้าไปจะมีกลไกในการตอบสนองต่อพิษ และมีกระบวนการทำลายสารพิษหรือสารแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย ซึ่งเป็นวิธีทางชีวเคมีในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษโดยมีเอนไซม์ทำลายพิษ (detoxification enzyme) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำให้โครงสร้างของสารพิษเปลี่ยนแปลงไปจนอาจได้สารซึ่งเป็นสารที่มีพิษหรือสามารถละลายน้ำได้ดี ทำให้ง่ายต่อการกำจัดออกจากร่างกาย (Visetson and Milne, 2001) การทำลายสารพิษในสัตว์มีเอนไซม์ที่สำคัญอย่างน้อย 3 กลุ่ม คือ ไซโทโครม พี 450 โมโนออกซิจีเนส กลูตาไทโอนเอสทรานเฟอเรส และเอสเทอเรส ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึม เพื่อทำลายพิษของสารแปลกปลอมที่เข้ามาสู่ร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์เอสเทอเรส เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทในการควบคุมปริมาณของสารพิษที่ผลิตขึ้นภายในร่างกายให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมไม่มากเกินไป และเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการกำจัดพิษระยะที่ 1 (phase I



reaction) โดยเอนไซม์จะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของสารพิษ โดยจะไปทำปฏิกิริยากับกลุ่มที่มีซัลฟ์ และไปจับกับโมเลกุลของสารพิษ ทำให้สารพิษแตกตัวเป็นสารที่มีซัลฟ์และเปลี่ยนรูปไปเป็นกลุ่มที่ละลายน้ำได้ดีขึ้น ทำให้สามารถกำจัดออกนอกร่างกายง่ายขึ้น

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช 2 ชนิด คือใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด ในการควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) และศึกษาการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์เอสในลูกน้ำยุงลายบ้าน เพื่อวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดพิษของลูกน้ำยุงลายบ้านหลังจากได้รับสารสกัดดังกล่าว

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูดต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*)

1.2.2 เพื่อศึกษาการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์เอสในลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) หลังจากได้รับสารสกัดใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

สารสกัดจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูดจะมีผลทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) ตายและไปมีผลการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์เอสในลูกน้ำยุงลายบ้าน

1.4 ขอบเขตการวิจัย

1.4.1 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูดที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

1.4.2 ศึกษาการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์เอสในลูกน้ำยุงลายบ้านหลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด

1.5 ตัวแปรที่ศึกษา



1.5.1 ตัวแปรต้น คือ สารสกัดจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด

1.5.2 ตัวแปรตาม คือ

1.5.2.1 การตายของลูกน้ำยุงลายบ้านหลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด

1.5.2.2 การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สในลูกน้ำยุงลายบ้านหลังได้รับสารสกัดจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด

1.6 สถานที่ทำการวิจัย

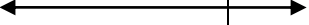
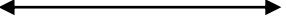
1.6.1 ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ อาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ SC2-402/5

1.6.2 ห้องปฏิบัติการเครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

1.6.3 ห้องปฏิบัติการเครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม



ตาราง 1.1 ระยะเวลาดำเนินงานวิจัย มีนาคม 2555 – เมษายน 2559

ขั้นตอนการดำเนินงาน	2555						2558				2559			
	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.
1. ศึกษาค้นคว้าเอกสาร														
2. ขอรับลูกน้ำยุงลายบ้านจากกรมควบคุมโรคติดต่อกระทรวงสาธารณสุขและเพาะเลี้ยงให้ได้จำนวนที่ต้องการ														
3. ทดสอบค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูดต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน ในรูปของค่า LC ₅₀														
4. ศึกษาการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสในลูกน้ำยุงลายบ้านหลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด														
5. วิเคราะห์ผลการทดลอง														
6. สรุปผลและอภิปรายผลการทดลอง														
7. รายงานผล														



1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

17.1 ทราบค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูดต่อลูกน้ำยุงลายบ้านในรูปของค่า LC_{50}

17.2 ทราบระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสในลูกน้ำยุงลายบ้านหลังได้รับสารสกัดจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด

17.3 เป็นข้อมูลพื้นฐานในการเผยแพร่แก่ชุมชนและผู้สนใจทั่วไปเกี่ยวกับพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้าน



บทที่ 2

ปริทัศน์เอกสารข้อมูล

2.1 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับยุงลายบ้าน

ยุงเป็นแมลงขนาดเล็กที่จัดอยู่ในอันดับดิฟเทอร่า (Diptera) ซึ่งลักษณะสำคัญของแมลงในอันดับดิฟเทอร่า คือ ระยะเวลาตัวเต็มวัยมีปีกคู่หน้าเห็นเด่นชัดเพียงคู่เดียวใช้สำหรับบิน ส่วนปีกคู่ที่สองจะลดขนาดลงจนเห็นเป็นตุ่มเล็กๆ เรียกว่า halteres ทำหน้าที่ในการทรงตัวขณะบิน (Rozendaal, 1997) ยุงลายบ้านมีชื่อสามัญว่า day biting mosquito, yellow fever mosquito และ domestic mosquito สามารถเรียงลำดับอนุกรมวิธาน ได้ดังนี้ (Rozendaal, 1997)

Kingdom Animalia

Phylum Arthropoda

Sub Phylum Mandibulata

Class Insecta

Order Diptera

Suborder Nematocera

Family Culicidae

Subfamily Culicinae

Genus Aedes

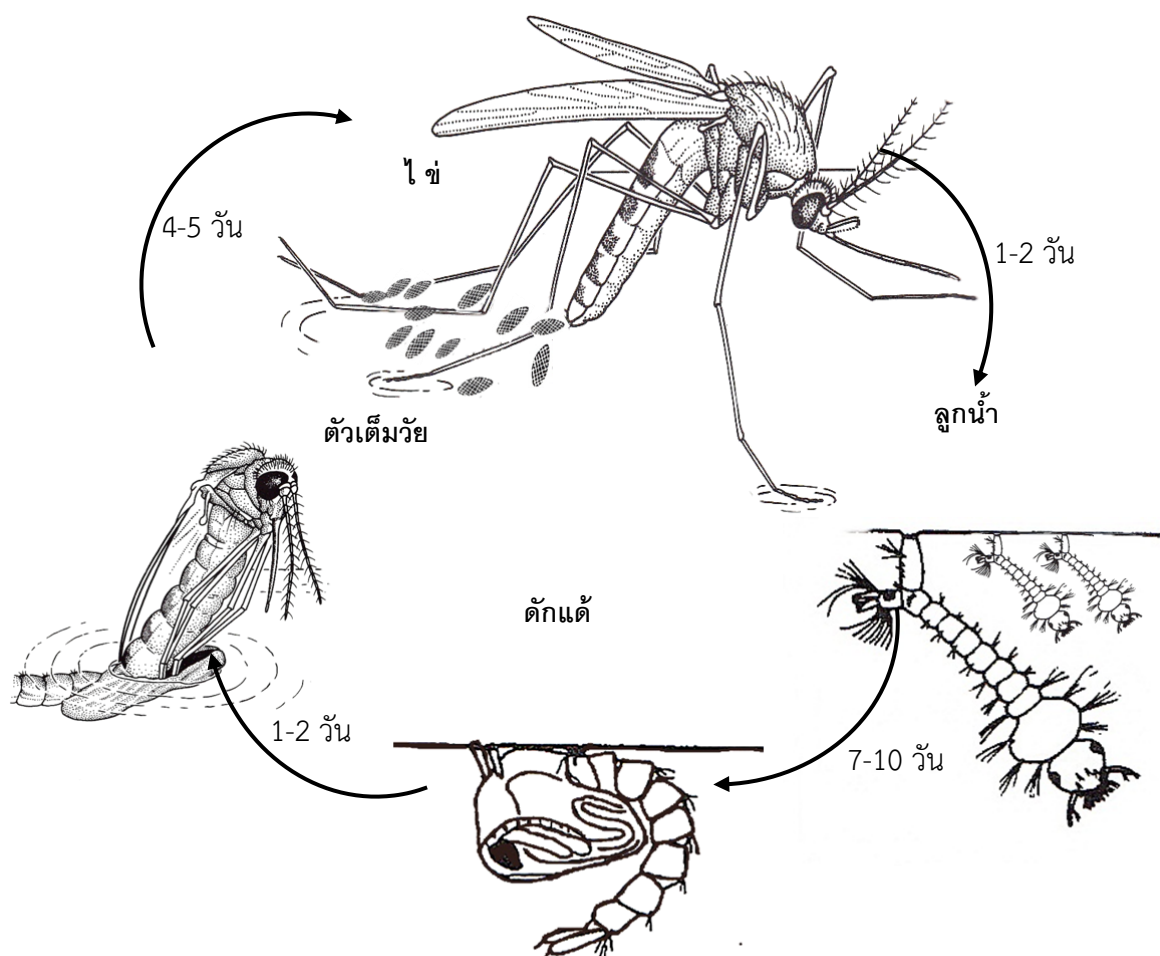
Subgenus Stegomyia

Species Aedes aegypti

2.1.1 รูปร่างลักษณะทั่วไปของยุงลายบ้าน

อุษาวดี ถาวร (2553) ได้อธิบายถึงลักษณะของยุงลายบ้านไว้ว่า ยุงลายบ้านมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ์ (complete metamorphosis) ซึ่งการเจริญเติบโตของยุงลายแบ่งเป็น 4 ระยะ ได้แก่ ไข่ (egg) ลูกน้ำ (larva) ดักแด้ (pupa) และตัวเต็มวัย (adult) (ภาพประกอบ 2.1) โดยระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโต แตกต่างกันตามสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ อาหาร ความหนาแน่น ฯลฯ สำหรับในภูมิภาคอากาศประเทศไทย ยุงลายใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากไข่จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยประมาณ 9-14 วัน อุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส ยุงลายบ้านใช้เวลาในการเจริญเติบโตเพียง 5-7 วัน ดังนั้นจึงขยายพันธุ์ได้เร็วมาก การเจริญเติบโตของยุงลายแต่ละระยะเป็นดังนี้





ภาพประกอบ 2.1 วงจรชีวิตยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linn.)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Mike Service (2008); Gullan, P.J. and Cranston, P.S. (1994)

2.1.1.1 ระยะไข่ (egg)

เป็นฟองเดี่ยว มีลักษณะยาวรี ขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร หลังจากฟักใหม่ๆ มีสีขาว ส่วนใหญ่ติดอยู่กับวัสดุเหนือระดับน้ำเล็กน้อย (ภาพประกอบ 2.2) มีส่วนน้อยประมาณร้อยละ 10-20 ที่ลอยอยู่บนผิวน้ำ โดยไข่จะเปลี่ยนเป็นสีดำภายในเวลา 12 ถึง 24 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับสภาพอากาศ เมื่อออกมาใหม่ๆ จะยังไม่เจริญเต็มที่ จะใช้เวลาประมาณ 1 ถึง 2 วัน จึงพร้อมที่จะฟักออกเป็นลูกน้ำยุง โดยไข่ของยุงลายสามารถมีชีวิตอยู่ในสภาพแห้งแล้งได้เป็นอย่างดี แต่อัตราการฟักของไข่จะลดลงตามระยะเวลาที่นานขึ้น ซึ่งยุงลาย 1 ตัวสามารถวางไข่ได้ประมาณ 50-150 ฟองต่อครั้ง ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของแม่พันธุ์และปริมาณเลือดที่ได้รับ ยุงลายเพศเมียจะไม่วางไข่พร้อมกันทั้งหมด แต่จะวางไข่



ครั้งละ 10-100 ฟอง โดยตลอดชีวิตสามารถวางไข่ได้สูงสุด 7 ครั้ง แต่ส่วนใหญ่จะวางไข่เพียง 2-4 ครั้ง เท่านั้น (อุษาวดี ถาวรระ, 2553)



ภาพประกอบ 2.2 ลักษณะไข่ของยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linn.)

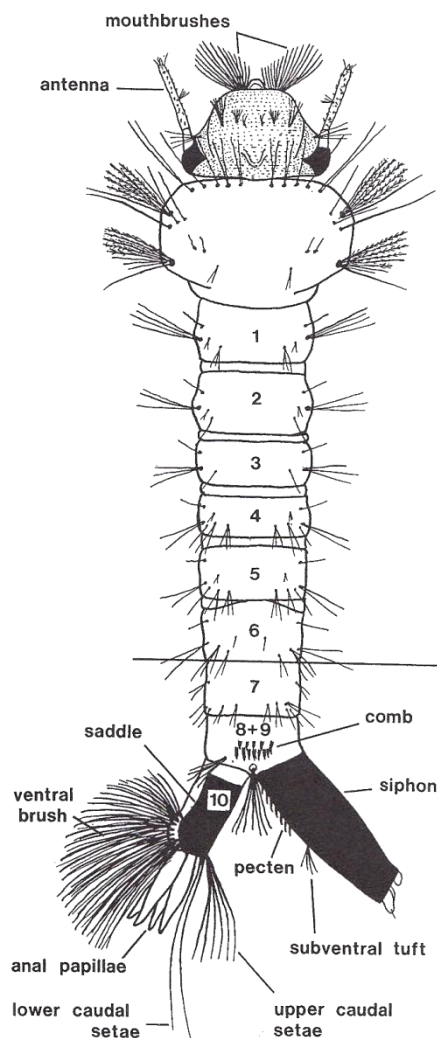
ที่มา : สำนักโรคติดต่ออันตราย โดยแมลง กรมควบคุมโรค (2550)

2.1.1.2 ระยะลูกน้ำ (larvae)

ลูกน้ำมีการเจริญเติบโต 4 วัย โดยลูกน้ำวัย 1 มีขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร เมื่อเติบโตเต็มที่จะกลายเป็น วัย 4 มีขนาด 6-7 มิลลิเมตร (ภาพประกอบ 2.3) ใช้เวลาในการเจริญเติบโตประมาณ 5-7 วัน ที่อุณหภูมิ 28-35 องศาเซลเซียส ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและอาหาร โดยส่วนใหญ่อาหารของลูกน้ำ ได้แก่ ตะไคร่น้ำ อินทรีย์สารต่างๆ และจุลินทรีย์เล็กๆ ในแหล่งน้ำ ลูกน้ำจะกินอาหารที่บริเวณด้านข้าง และด้านล่างตามแหล่งน้ำที่อาศัย โดยใช้ขนบริเวณปากพัดโบกจุลินทรีย์ในน้ำเข้าไป หรือใช้ปากแตะเล็มเศษอินทรีย์สาร ในภาวะที่มีอาหารสมบูรณ์จะโตเร็วจึงใช้เวลาช่วงนี้สั้น ในขณะที่เป็นลูกน้ำจะหายใจผ่านทางรูหายใจด้านข้างลำตัว (spiracle) และยังมีท่อหายใจสีเข้มอยู่ที่ส่วนปลายของท้อง (siphon) บริเวณท่อหายใจมีลิ้นเปิดปิดได้ และมีระบบป้องกันน้ำผ่านเข้าสู่ทางเดินหายใจ โดยปกติลูกน้ำจะลอยตัวทำมุม 90 องศา กับผิวน้ำ แต่เมื่อมีแสง และเงา หรือถูกรบกวนจะหลบลงสู่ด้านล่างผิวน้ำ สำหรับการเปลี่ยนแปลงระยะการเจริญเติบโตของลูกน้ำต้องมีการลอกคราบทุกครั้ง



หลังจากลอกคราบครั้งสุดท้ายจะกลายเป็นตัวโม่ง ซึ่งยังคงอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำขัง และง่ายต่อการกำจัด ซึ่งการจำแนกชนิดยุง อาจใช้สัณฐานวิทยาของลูกน้ำยุงในวัย 3 ตอนปลาย หรือวัย 4 ตอนต้น จะดีที่สุด เพราะเส้นขนต่างๆ เจริญเต็มที่ (อุษาวดี ถาวรละ, 2553)



ภาพประกอบ 2.3 ส่วนประกอบของลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linn.)

ที่มา : Service (2008)

2.1.1.3 ระยะดักแด้ (pupa)

ลูกน้ำเมื่อมีการเจริญเติบโตเต็มที่ที่จะมีการลอกคราบและเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นดักแด้ หรือตัวโม่ง ไม่มีขา รูปร่างคล้ายเครื่องหมายจุลภาค (ภาพประกอบ 2.4) เมื่อดักแด้ หรือตัวโม่งลอกคราบออกมาใหม่ๆ จะมีสีน้ำตาล ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีดำ โดยมีท่อหายใจ 1 คู่ รูปร่างคล้ายแตร (trumpets) มีนิสสัยชอบลอยนิ่งอยู่บนผิวน้ำ เมื่อถูกรบกวนจะเคลื่อนที่เร็วมาก ซึ่งดักแด้จะไม่กินอาหาร



จึงไม่สามารถกำจัดได้ด้วยผลิตภัณฑ์ประเภทกินเข้าไปแล้วตาย เช่น จุลินทรีย์ อาจกำจัดโดยใช้ตัวทำหรือน้ำมันลดแรงตึงผิว (oil surfactant) แทน เมื่อตัดแต่งเจริญเติบโตเต็มที่จนลอกคราบเป็นยุงตัวเต็มวัย โดยใช้เวลาในการเจริญเติบโต 1-2 วัน ที่อุณหภูมิ 28-35 องศาเซลเซียส



ภาพประกอบ 2.4 ลักษณะระยะดักแด้ของยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linn.)

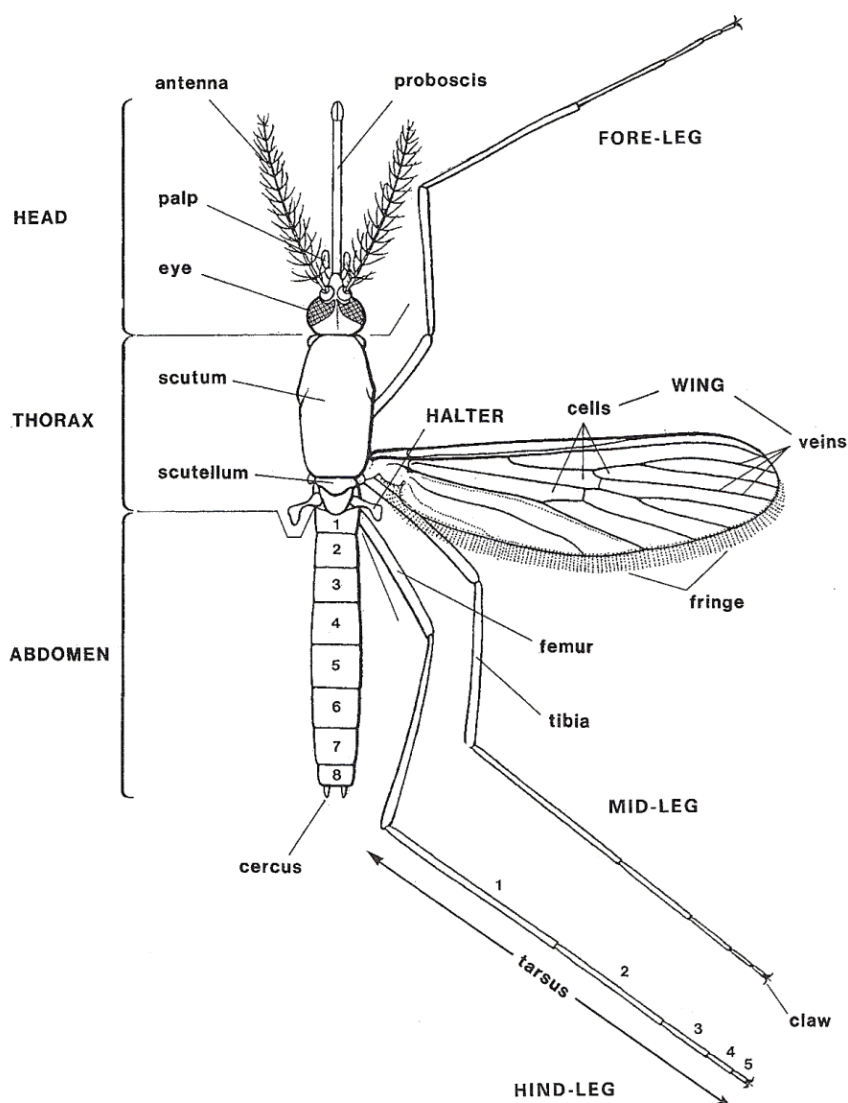
ที่มา : ดัดแปลงจาก Mike Service (2008)

2.1.1.4 ระยะตัวเต็มวัย (adult)

ลักษณะที่เห็นได้ชัด คือ ลำตัวและขา มีจุดลายดำสลับขาว ขนาด 4-5 มิลลิเมตร (ภาพประกอบ 2.5) มีลักษณะ 3 แบบ ได้แก่ type form สามารถพบได้ทั่วไป queenslandensis เป็นลักษณะของยุงลายบ้าน ซึ่งความเข้มสีของลำตัวยังไม่เด่นชัด และ formosus เป็นลักษณะของยุงลายป่า ลำตัวจะมีสีเข้มชัดเจน สำหรับการลอกคราบเป็นยุงตัวเต็มวัย ยุงเพศผู้จะลอกคราบออกมาก่อนยุงเพศเมีย และมีขนาดเล็กกว่า สามารถแยกเพศของยุงได้โดยการใช้หนวด โดยยุงเพศผู้มีหนวดแบบ plumose จะกินน้ำหวานจากเกสรดอกไม้ และอาหารของมนุษย์เพื่อไปสร้างพลังงาน ส่วนยุงเพศเมียมีหนวดแบบ pilose กินเลือดเป็นอาหารสำหรับนำไปใช้ในการเจริญของ โดยยุงลายมักใช้ความพยายามหาเหยื่อที่ชอบ อย่างอดทน จนกระทั่งได้กินเลือดอิ่ม แต่หากถูกรบกวนขณะกินเลือด จะกลับมาหาเหยื่อรายเดิมหรือรายใหม่อีกครั้ง โดยทั่วไปยุงเพศผู้มีอายุประมาณ 1 สัปดาห์ ขณะที่ยุงเพศเมียอายุ 1-3



เดือน แต่ในภาวะที่มีอาหารอุดมสมบูรณ์ และอุณหภูมิเหมาะสม ประมาณ 28 องศาเซลเซียส เช่น ห้องปฏิบัติการ อาจจะมีชีวิตอยู่ได้ 3-6 เดือน



ภาพประกอบ 2.5 องค์ประกอบระยะตัวเต็มวัยของยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linn.)
ที่มา : Mike Service (2008)

2.1.2 อุปนิสัยของยุงลายบ้าน

บุญล้วน พันธุ์จินดา (2515) ได้อธิบายเกี่ยวกับอุปนิสัยของยุงลายบ้านไว้ดังนี้

2.1.2.1 การออกหากินตามธรรมชาติ ยุงลายไม่ชอบแสงและลมแรง ดังนั้นการหากินจึงไม่ไกลจากแหล่งกำเนิด บินได้ไกลประมาณ 100 หลา จากการสำรวจ พบว่ายุงลายบ้านชอบอยู่



ใกล้ชิดคนมีนิสัยกัดคนในบ้าน (endophagic) เนื่องจาก ยุงอาจชอบกลิ่นของคาร์บอนไดออกไซด์ และ แลคติกแอซิดที่ระเหยจากผิวหนัง นอกจากนี้จะพบว่ายุงลายบ้านชุกชุมมากในฤดูฝน เพราะมีอุณหภูมิ และความชื้นเหมาะกับการแพร่พันธุ์ ส่วนในฤดูอื่นจะพบว่าความชุกชุมของยุงลายลดลงเล็กน้อย

2.1.2.2 อาหารของยุงลายบ้าน อาหารใช้สร้างพลังงานของยุงทั้ง 2 เพศ ได้จากน้ำหวานของเกสรดอกไม้ และน้ำผึ้ง น้ำตาลจะถูกย่อยใน diverticulum สำหรับอาหารยุงในห้องทดลอง ใช้น้ำตาลเข้มข้น 5-10% ยุงเพศเมียหลังลอกคราบจะกินเลือดใน 24 ชั่วโมง ก่อนการวางไข่ เนื่องจาก โปรตีนในเลือดมีความสำคัญในการสร้างไข่ โดยกระตุ้น oocytes ในรังไข่ เพื่อสร้าง yolk เพศเมียจะ ออกหากินเวลากลางวัน 2 ระยะเวลาคือ 09.00-11.00 นาฬิกา และ 13.00-15.00 นาฬิกา ถ้ากลางคืนแสงสว่างพอก็กินเลือดด้วย ชอบกัดแขน กัดขา มากกว่าใบหน้า ชอบกินเลือดคนมากกว่าเลือดสัตว์ จัดเป็นพวกanthropophilic

2.1.2.3 ความสามารถในการบินและแหล่งเกาะพัก ยุงลายบ้านบินได้ไม่เกิน 1 กิโลเมตร โดยทั่วไปประมาณ 100 หลาจากแหล่งเพาะพันธุ์ และบินในอัตราเร็ว 0.5-1 เมตรต่อวินาที

2.1.2.4 การผสมพันธุ์ จะผสมพันธุ์กันได้ในที่แคบๆ เรียก stenogamy เพศผู้จะบินไปหา เพศเมียตามเสียงการบิน

2.1.2.5 การวางไข่ ระยะเวลาสำหรับการเจริญของรังไข่และพร้อมที่จะวางไข่แตกต่างกันไปตามอุณหภูมิ คือ ที่อุณหภูมิ 29-30 องศาเซลเซียส จะวางไข่ภายใน 3-4 วัน ที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส จะวางไข่ภายใน 4-5 วัน ที่อุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส จะวางไข่ภายใน 4 วันขึ้นไปและที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส จะวางไข่ภายใน 26-27 วัน ยุงลายบ้านจะวางไข่ที่ละฟองแล้วเดินเป็นจังหวะสม่ำเสมอ (Gillett, 1972) ซึ่งจำนวนไข่ขึ้นกับปริมาณเลือดที่กิน โดยระยะเวลาในการวางไข่แต่ละครั้งขึ้นกับอุณหภูมิ โดยที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสใช้เวลาประมาณ 6 ชั่วโมง ถ้าอุณหภูมิต่ำลงจะใช้เวลาวางไข่นานขึ้น

2.1.2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการวางไข่ ปัจจัยหลักที่มีผลคือแหล่งเพาะพันธุ์ โดยยุงลายบ้าน ชอบวางไข่ในผิวภาชนะที่ดูดซึมน้ำได้ดี ขรุขระ และชอบน้ำที่มีสารเคมีหรืออินทรีย์วัตถุปนอยู่ เช่น ฟอสเฟตคาร์บอนเนต และคลอไรด์ไอออน ชอบน้ำใส สะอาด และอยู่ภายในอาคารบ้านเรือน รวมทั้งชอบสีน้ำที่สะท้อนภาชนะเป็นสีเข้ม

2.1.2.7 แหล่งเพาะพันธุ์ ยุงลายจะวางไข่ตามภาชนะที่มีน้ำขัง เป็นน้ำนิ่ง ใสสะอาด โดยเฉพาะน้ำฝนเป็นน้ำที่ยุงลายชอบวางไข่มากที่สุด ดังนั้น แหล่งเพาะพันธุ์ยุงลายจึงมักอยู่ตามโอ่งน้ำ ต้ม น้ำใช้ และภาชนะอื่นๆ นอกจากนี้ยุงลายยังสามารถวางไข่ได้ตามกาบใบของพืชพวกมะพร้าว กล้วย พลับพลึง ฯลฯ แหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลายบ้านส่วนใหญ่พบอยู่ในบ้านมากกว่านอกบ้าน

2.1.3 ความสำคัญทางการแพทย์ของยุงลายบ้าน

ในประเทศไทย ยุงลายมีแหล่งเพาะพันธุ์อยู่บริเวณบ้านแทบทุกครัวเรือน อีกทั้งยังเป็นพาหะของเชื้อไวรัสเดงกี 4 สายพันธุ์ และไวรัสชิคุนกุนยา โดยมียุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linn.)



เป็นพาหะหลัก และมียุงลายสวน (*Aedes albopictus* Skuse.) เป็นพาหะรอง ในปัจจุบันพบว่ายุงลายสามารถถ่ายทอดเชื้อไวรัสเดงกี จากแม่ไปสู่ลูกได้ (Transovarian transmission) จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ไข้เลือดออกยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขในอันดับต้นๆ ของประเทศ (อุษาวดี ถาวร, 2553)

การติดต่อของโรคไข้เลือดออก ในเขตร้อนชื้นจะเกิดจากยุงลายบ้านซึ่งจะระบาดในเขตเมือง ส่วนในเขตอบอุ่นและเขตหนาว เกิดจากยุงลายสวนจะระบาดในเขตชนบท สาเหตุของโรคไข้เลือดออก เริ่มจากยุงลาย 1 คู่ ผสมพันธุ์ วางไข่ จากนั้นฟักเป็นลูกน้ำ และลอกคราบเป็นยุงตัวเต็มวัย ซึ่งภายในเวลาประมาณ 100 วัน จะได้ยุงเป็นหมื่นๆตัว เมื่อยุงเหล่านี้ ได้รับเชื้อไวรัสเดงกีจากผู้ป่วยภายในเวลา 8-10 วัน เชื้อจะเพิ่มปริมาณในตัวยุงออกไปสู่ตอมน้ำลาย เมื่อกัดคนจะสามารถถ่ายทอดเชื้อไปสู่คนปกติ ระยะฟักตัวของเชื้อไวรัสเดงกีในคนประมาณ 5-8 วัน ผู้ป่วยจะเริ่มมีอาการ โดยเริ่มจากมีไข้กะทันหัน ตัวร้อนจัด หน้าแดง ตาแดง พร้อมกับปวดศีรษะ ส่วนมากไม่มีอาการไอ ไม่มีน้ำมูก แต่มีไข้สูงติดต่อกันเป็นระยะเวลา 2-7 วัน อาจมองเห็นเลือดออกเล็กๆ สีแดงใต้ผิวหนัง ซึ่งเป็นที่มาของชื่อไข้เลือดออก ผู้ป่วยบางรายมีเลือดกำเดาไหล เลือดออกตามไรฟันหรือมีตับโต ทำให้ผู้ป่วยเจ็บบริเวณชายโครงขวาซึ่งเป็นตำแหน่งของตับ ประมาณ 1 ใน 3 ของผู้ป่วยจะมีอาการรุนแรงมาก จนกระทั่งช็อกสำหรับโรคไข้ซิกนุกุนยา จะมีการคล้ายไข้เดงกี แต่มักจะมีการปวดข้ออย่างรุนแรงร่วมด้วย ระยะฟักตัวของเชื้อจนกระทั่งแสดงอาการประมาณ 3-12 วัน (อุษาวดี ถาวร, 2553)

2.1.4 การควบคุมยุงพาหะนำโรค

ลูกน้ำยุงชอบอาศัยอยู่ในภาชนะกักขังน้ำสะอาด และในน้ำซึ่งมีอินทรีย์วัตถุเจือปน โดยแหล่งเพาะพันธุ์ดังกล่าวมีทั้งในธรรมชาติและที่มนุษย์สร้างขึ้น ดังนั้นการบริหารจัดการภาชนะเพื่อลดแหล่งเพาะพันธุ์จึงเป็นวิธีที่ดีที่สุดวิธีหนึ่งในการควบคุมยุง ซึ่งอุษาวดี ถาวร (2553) ได้อธิบายวิธีการควบคุมยุงพาหะนำโรค ดังนี้

2.1.4.1 ใช้สารเคมีควบคุมลูกน้ำพาหะ โดยการใช้สารเคมีกำจัดลูกน้ำยุง ได้แก่ เทมีพอสจิวโนลฮอร์โมนสังเคราะห์ สารลดแรงตึงผิว และสารสกัดจากสมุนไพร

2.1.4.2 การจัดการด้านสภาพแวดล้อม โดยสามารถทำได้หลายวิธีดังนี้

1) การทำสภาพแวดล้อมให้ไม่เหมาะสม เป็นการควบคุมระยะสั้น ได้แก่ การจัดการเปลี่ยนแปลงระดับและความเร็วของกระแสน้ำ การถากถางวัชพืชต่างๆ ริมลำธาร การใช้ผงซักฟอก ปูนแดง นํายาฆ่าเชื้อ น้ำส้มสายชูใส่จานรองตู้

2) การลดการสัมผัสระหว่างคน ยุงพาหะ และเชื้อโรค ได้แก่ การป้องกันตัวเองจากยุงพาหะกัด โดยทาสารป้องกันยุง การสร้างเครื่องป้องกันยุงเข้าไปกัด เช่น มุ้ง และการจัดสุขาภิบาลที่เหมาะสม สามารถลดอัตราการสัมผัสระหว่างคน ยุง และเชื้อโรคได้

2.1.4.3 การควบคุมยุงพาหะโดยวิธีทางชีววิทยา การควบคุมโดยใช้วิธีทางชีววิทยา เช่น การใช้ศัตรูของยุงตามธรรมชาติมาควบคุมยุง หรือใช้สารพิษของสิ่งที่มีชีวิต เช่น แบคทีเรีย สิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติที่นำมาใช้ได้ เช่น ลูกน้ำยุงยักษ์ (oxorhynchites) หนอนพยาธิ (nematode) แบคทีเรีย



(bacteria) เชื้อรา (fungi) ปลากินลูกน้ำ (arvivorous fish) จิ้งจก ตุ๊กแก ซึ่งการนำสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติมาควบคุมยุงพาหะให้ได้ผลนั้นต้องมีปริมาณมากพอที่ควบคุมประชากรของยุงพาหะได้สามารถหาได้ในท้องถิ่น และทำลายเฉพาะยุงพาหะ โดยไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตอื่น

2.1.4.4 การควบคุมโดยวิธีทางพันธุกรรม การควบคุมโดยวิธีทางพันธุกรรม เช่น การทำให้โครโมโซมของยุงพาหะเปลี่ยนแปลงไป โดยไม่สามารถนำเชื้อได้ หรือทำให้ยุงไม่สามารถสืบพันธุ์หรือเพิ่มปริมาณได้ วิธีการนี้ไม่ทำให้ยุงตาย แต่ยุงจะถูกควบคุม เช่น ยุงเพศผู้ถูกทำให้เป็นหมัน โดยการผ่านกัมมันตรังสี หรือโดยใช้สารเคมี ซึ่งจะให้น้ำเชื้อในยุงเพศผู้กลายพันธุ์ ซึ่งการใช้สารเคมีทำให้ยุงเป็นหมันมีความยุ่งยากน้อยกว่าการใช้กัมมันตภาพรังสี แต่สารเคมีมักมีพิษต่อสัตว์เลื้อยคลาน ทำให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม และธรรมชาติเสียสมดุล

2.2 สมุนไพรที่ใช้เป็นสารฆ่าแมลง

พจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถาน พ.ศ.2525 ได้ให้ความหมายของคำว่าสมุนไพรไว้ว่า สมุนไพร หมายถึง ผลผลิตธรรมชาติ พืช สัตว์ และแร่ธาตุ ที่ใช้เป็นยา หรือผสมกับสารอื่นตามตำรับยาเพื่อบำบัดโรค บำรุงร่างกาย หรือใช้เป็นยาพิษ เช่น กำมะถัน กระเทียม น้ำผึ้ง ยางน่อง โล่ดิน จากความหมายนี้พืชสมุนไพรไม่ใช่แค่เป็นยารักษาโรคเพียงอย่างเดียว แต่ความหมายรวมถึงสารที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต แต่ในที่นี้จะกล่าวถึง พืชสมุนไพรที่ใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชซึ่งมีความหมายไว้ดังนี้ พืชที่มีสารสำคัญซึ่งมีคุณสมบัติพิเศษเป็นสารออกฤทธิ์ต่อแมลงศัตรูพืชทั้งทางตรงและทางอ้อม ทางตรง คือ เมื่อแมลงได้รับสารพิษแล้วตายทันที โดยสารออกฤทธิ์จะไปทำลายระบบต่างๆ เช่น ระบบประสาท ระบบทางเดินอาหาร ระบบหายใจของแมลง ส่วนทางอ้อม คือ แมลงจะไม่ตายทันทีเมื่อได้รับสารพิษ แต่จะมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ของแมลง ทำให้แมลงมีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ เช่น ยับยั้งการกินอาหาร ทำให้แมลงไม่เจริญเติบโต ยับยั้งการวางไข่ และการลอกคราบของตัวหนอน เป็นต้น (รัตน อินทรานุกรณ์, 2547)

2.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของพืชสมุนไพร

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2542) อธิบายว่า พืชสมุนไพรแต่ละชนิดจะมีส่วนประกอบทางเคมีหลายชนิด แต่ส่วนของพืชสมุนไพรที่มีสารประกอบที่แตกต่างกันออกไป สารเหล่านี้เป็นตัวกำหนดสรรพคุณของพืชสมุนไพร ชนิดและปริมาณของสารจะแปร



ตามชนิดของพันธุ์สมุนไพร สภาพแวดล้อมที่ปลูกพืช และช่วงเวลาที่เก็บพืชสมุนไพร โดยสารประกอบทางเคมีในพืชสมุนไพร จำแนกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

2.2.1.1 สารปฐมภูมิ (primary metabolite) เป็นสารประกอบที่มีลักษณะค่อนข้างพิเศษ พบในพืชทุกชนิดเป็นผลิตภัณฑ์ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน เม็ดสี (pigment) เป็นต้น

2.2.1.2 สารทุติยภูมิ (secondary metabolite) เป็นสารประกอบที่มีลักษณะค่อนข้างพิเศษ พบต่างกันในแต่ละชนิด ซึ่งอาจเกิดจากขบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) ที่มีเอนไซม์ (enzyme) เข้าร่วม สารประกอบประเภทประเภทนี้มี แอลคาลอยด์ (alkaloid) แอนทราควิโนน (anthraquinone) น้ำมันหอมระเหย (essential oil) เป็นต้น โดยส่วนใหญ่สารกลุ่มทุติยภูมิ จะมีสรรพคุณทางยา แต่ไม่แน่นอนตายตัว ซึ่งจากการวิจัยที่ผ่านมาพบว่า สารกลุ่มทุติยภูมิ จะมีสรรพคุณทางยา บางชนิดก็ออกฤทธิ์ในการรักษาโรคได้เช่นกัน และยังมีข้อสังเกตอีกว่าสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางยาในพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งอาจไม่ได้มีเพียงตัวเดียว อาจจะมีหลายตัวก็ได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีความเข้าใจที่ถ่องแท้จึงจะสามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางยามาใช้ได้ โดยสารประกอบในพืชสมุนไพรมีมากมายหลายชนิด ในที่นี้จะกล่าวถึงบางชนิดที่สำคัญ โดยแบ่งเป็นกลุ่ม 8 กลุ่ม ดังนี้

1) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) เป็นสารอินทรีย์ ที่ประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน คาร์โบไฮเดรตเป็นกลุ่มสารที่พบมากทั้งพืชและสัตว์ สารที่เป็นสาร คาร์โบไฮเดรต เช่น แป้ง น้ำตาล กัม น้ำผึ้ง วน และเพคติน เป็นต้น

2) ไลปิด (lipid) เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) แบ่งออกได้ หลายชนิด เช่น น้ำมัน ไขมัน และขี้ผึ้ง เมื่อทำปฏิกิริยากับด่างจะกลายเป็นสบู่ ส่วนน้ำมันพืชของหลายชนิดเป็นยาสมุนไพร เช่น น้ำมันมะพร้าว น้ำมันมะพร้าว เป็นต้น

3) น้ำมันหอมระเหย (volatile oil หรือ essential oil) เป็นสารที่พบมากในพืชเขตร้อน มีลักษณะเป็นน้ำมัน มีกลิ่นและรสเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิธรรมดา เบากว่าน้ำ หรือน้ำหนักกว่าน้ำก็ได้ สามารถสกัดออกมาจากส่วนของพืชได้ โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) หรือการบีบ (expression) หรือใช้ตัวทำละลายสกัดออกมา ประโยชน์คือเป็นตัวแต่งกลิ่นในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และสมุนไพรมีประโยชน์ด้านขับลม แก้ท้องอืด พืชสมุนไพรที่มีน้ำมันหอมระเหย จะมีส่วนผสมของสารอินทรีย์หลายชนิด เช่น แอลกอฮอล์ คีโตน เป็นต้น อนุพันธ์ของสารเหล่านี้ อาจเป็น เอสเทอร์ หรือ แอลกอฮอล์ ชนิดต่างๆ และสารประกอบ sulfur ทำให้สารนี้มีคุณสมบัติไล่และฆ่าแมลงได้

4) เรซินและบาลซัม (resins and balsams) เป็นสารอินทรีย์ หรือสารผสมประเภทโพลิเมอร์ มีรูปร่างไม่แน่นอน ส่วนใหญ่จะเปราะ แตกง่าย บางชนิดจะนิ่มไม่ละลายน้ำ ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เมื่อเผาไฟจะหลอมเหลวได้สารที่ใสข้น และเหนียว เช่น ชันสน เป็นต้น



5) แอลคาลอยด์ (alkaloids) เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ (organic nitrogenous compound) มักพบในพืชชั้นสูง มีสูตรโครงสร้างซับซ้อนและแตกต่างกันมากมาย ปัจจุบันพบแอลคาลอยด์มากกว่า 5,000 ชนิด ซึ่งคุณสมบัติของแอลคาลอยด์ ส่วนใหญ่มีรสขม ไม่ละลายน้ำ ละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ (organic solvent) มีฤทธิ์เป็นด่าง แอลคาลอยด์มีประโยชน์ในการรักษาโรคอย่างกว้างขวาง เช่น ใช้เป็นยาระงับปวด ยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ไอ ยาแก้หอบหืด ยารักษาแผลในกระเพาะและลำไส้ ยาลดความดัน ยาควบคุมการเต้นของหัวใจ เป็นต้น พืชสมุนไพรที่มีแอลคาลอยด์เป็นส่วนมาก ได้แก่ หมากรูด ลำโพง ชงโคนา ดอกตัง ระย่อม ยาสูบ กลอย ผื่น แสลงใจ เป็นต้น

6) ไกลโคไซด์ (glycosides) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่เกิดจากอะไกลโคน (aglycone) หรือ จินิน (genin) จับกับส่วนที่เป็นน้ำตาล (glycone part) ละลายน้ำได้ดี โครงสร้างของอะไกลโคนมีความแตกต่างกันหลายแบบ ทำให้ประเภทและสรรพคุณทางเภสัชวิทยาของไกลโคไซด์มีหลายชนิด ใช้เป็นยาที่มีประโยชน์ และสารพิษที่มีโทษต่อร่างกาย ไกลโคไซด์จำแนกตามสูตรโครงสร้างของอะไกลโคนได้หลายประเภท คือ

6.1) คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (cardiac glycosides) มีฤทธิ์ต่อระบบกล้ามเนื้อหัวใจ และระบบการไหลเวียนของโลหิต เช่น oleandrin ที่ได้จาก ใบบัวบก เป็นต้น

6.2) แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ (anthraquinone glycosides) มีฤทธิ์เป็นยาระบาย ยาฆ่าเชื้อ และสีย้อม พบได้ในใบมะขามแขก ใบขี้เหล็ก ใบชุมเห็ดเทศ ใบว่านหางจระเข้

6.3) ซาโปนินไกลโคไซด์ (saponin glycosides) เป็นกลุ่มสารที่มีคุณสมบัติเกิดฟองเมื่อเขย่ากับน้ำ พบได้ในลูกปะคำตีควาย เป็นต้น

6.4) ไฮยาโนเจนติกไกลโคไซด์ (cyanogenetic glycosides) มีส่วนของ aglycone สารเป็นสารจำพวก isothiocyanate

6.5) แอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นสารสีที่พบในหลายส่วนของพืชส่วนใหญ่สีออกสีแดง เหลือง ม่วง น้ำเงิน เช่น ดอกอัญชัน เป็นต้น

6.6) แอลกอฮอล์ไกลโคไซด์ (alcohol glycosides) มีอะไกลโคนเป็นแอลกอฮอล์ ยังมีไกลโคไซด์อีกหลายชนิด เช่น ฟีนอลิกไกลโคไซด์ (phenolic glycosides) แอลดีไฮด์ไกลโคไซด์ (aldehyde glycosides) แลคโตนไกลโคไซด์ (lactone glycosides) เป็นต้น

6.7) แทนนิน (tannins) เป็นสารที่พบได้ในพืชหลายชนิด มีโมเลกุลใหญ่ และโครงสร้างที่ซับซ้อน มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน รสฝาด แทนนินใช้เป็นยาฝาดสมาน ยาแก้ท้องเสีย ช่วยรักษาแผลไฟไหม้ และยังใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง แต่หากรับประทานแทนนินเป็นประจำอาจทำให้เกิดมะเร็งได้ สมุนไพรที่มีสารแทนนิน ได้แก่ เปลือกทับทิม เปลือกอบเชย ใบฝรั่ง เปลือกสีเสียด ใบชา เป็นต้น



6.8) เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) เป็นสารที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยที่เรียกว่า หน่วยไอโซพรีน (isoprene units) ซึ่งเป็นโซ่แบบแขนง (branched chain) ของคาร์บอน 5 ตัว มี พันธะประเภทไม่อิ่มตัว (unsaturated bonds) 2 พันธะ ดังนั้นในบางครั้งอาจเรียกไอโซพรีนอยด์ (isoprenoids) โดยชื่อของสารประกอบประเภทเทอร์พีนอยด์มักลงท้ายด้วย -oid เช่นเดียวกับสาร ประเภทแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ และสารประกอบอื่นๆ ส่วน -ene จะใช้ลงท้ายกับพวก ไฮโดรคาร์บอนประเภทไม่อิ่มตัว (unsaturated hydrocarbon) หรือเทอร์พีน (terpene) สำหรับเทอร์พีนอยด์ และเทอร์พีนจะใช้ต่างกัน โดยเทอร์พีนอยด์จะใช้กับทุกสารประกอบที่สร้างหรือประกอบด้วย หน่วยไอโซพรีนโดยไม่คำนึงถึงหมู่ฟังก์ชัน (functional group) แต่เทอร์พีนจะใช้กับสารประกอบกลุ่ม ไฮโดรคาร์บอน ซึ่งโครงสร้างของสารประกอบกลุ่มเทอร์พีนอยด์สร้างขึ้นมาจากหน่วยไอโซพรีนที่เชื่อม เข้าด้วยกันแบบหัวไปหาง (head tail) ทำให้มีรูปแบบของวงแหวนต่างๆ กัน

สารประกอบประเภทเทอร์พีนอยด์พบกระจายอยู่ทั่วไปในสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะในพืชชั้นสูง นอกจากนี้ยังพบในเชื้อรา แมลง จุลินทรีย์ (microorganisms) และสิ่งมีชีวิตในทะเล (marine organisms) โดยเป็นกลุ่มสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย ปัจจุบันจึงได้รับความสนใจเป็น อย่างมาก นอกจากนี้ยังพบองค์ประกอบในสารประกอบที่เกิดจากภาวะเครียด (stress compounds) หรือสารที่ถูกสร้างขึ้นเป็นพิษเมื่อพืชได้รับอันตราย (defense agents) เช่น ไฟโตอเล็กซิน (phytoalexins) ซึ่งในปัจจุบันสารพวกนี้มีความสำคัญเนื่องจากมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา น้ำมันหอมระเหย จัดเป็นสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ที่มีองค์ประกอบเป็นสารประเภทโมโนเทอร์พีนอยด์ และเซสควิเทอร์พีน เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังพบสารประกอบไตรเทอร์พีนอยด์ในกลุ่มแอลคาลอยด์ สเตียรอยด์ คาร์ดิแอก โกลโคไซด์ ซาโปนิน เรซินและอื่นๆ นอกจากสารดังกล่าวแล้วในพืชสมุนไพรยังมีสารประกอบหลายชนิด เช่น สเตียรอยด์ (steroid) เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้บางชนิดก็มีสรรพคุณทางยาได้เช่นเดียวกัน

2.2.2 พืชที่นำมาศึกษา

2.2.2.1 ตะไคร้หอม

ตะไคร้หอมมี ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cymbopogon winterianus* Jowitt. มีชื่อสามัญว่า citronella grass จัดอยู่ในวงศ์ Gramineae ซึ่งตะไคร้หอม เป็นพืชตระกูลหญ้า จัดเป็นพืชที่ เจริญเติบโตง่าย ลักษณะเป็นทรงพุ่ม สูงประมาณ 4-7 เซนติเมตร ในส่วนของลำต้นจะถูกห่อหุ้มไปด้วย กาบใบ ลักษณะใบยาวแคบ เส้นใบขนาดเท่ากับก้านใบ ส่วนใบของตะไคร้หอมอุดมไปด้วยน้ำมันหอมระเหย (ภาพประกอบ 2.6) โดยชนิดพันธุ์ส่วนมากที่นำมาปลูกจะเป็นพันธุ์พื้นเมือง สามารถปลูกได้โดยการปักชำต้นเหง้า โดยตัดใบออกให้เหลือตอนโคนประมาณหนึ่งคืบ นำมาปักชำไว้สักหนึ่งสัปดาห์ก็จะมีรากงอก ออกมา จากนั้นนำไปปลงแปลงดินที่เตรียมไว้ สำหรับปลูก หรืออาจใช้วิธีเอาโคนปักลงไปที่ดินซึ่งเตรียมไว้ เลยให้ระยะห่างประมาณหนึ่งศอก และถ้าปลูกในกระถางใช้วิธีปักโคนลงในกระถางๆละ 2-3 ต้น หมั่นรดน้ำให้ชุ่มเข้าเย็น ตั้งไว้ให้โดนแดดตลอดวันจะทำให้โตเร็ว (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย, 2552) ซึ่งตะไคร้หอมมีประสิทธิภาพและการออกฤทธิ์ที่สำคัญดังนี้



1) องค์ประกอบทางเคมี ใบและกาบ เมื่อนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยการต้มกลั่น (hydrodistillation) ได้น้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.05 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2552) ใบและลำต้นประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย สารสำคัญคือ citral (65-85 เปอร์เซ็นต์), myrecene, geranilo, menthol, citxoellol, eugenol, linnalool เป็นต้น (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2547)

2) ความเป็นพิษ น้ำมันตะไคร้ที่ได้จากส่วนใบมีสาร citral และ myrcene เป็นส่วนประกอบหลักสามารถต้านเชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton. Rubrum*, *Epidermophyton floccosum* และ *Microsporum gypseum* ที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนัง เช่น กลาก เกลื้อน ได้ด้วยวิธี Agar dilution และ พบว่าน้ำมันตะไคร้หอมที่มีสาร citral และ myrcene เป็นส่วนประกอบหลักมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราดังกล่าวโดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) เท่ากับ 122.5, 135, 115, และ 235 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และ ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันตะไคร้หอมที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อราดังกล่าว (MLC) มีค่าเท่ากับ 135, 147.5, 125 และ 310 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำน้ำมันตะไคร้หอมไปพัฒนาเป็นครีมต้านเชื้อรา พบว่าที่ความเข้มข้น 2.5 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลในการต้านเชื้อราดังกล่าวได้ดีที่สุดและเหมาะที่จะพัฒนาเป็นยาต่อไป (สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2548)

3) การทดลองทางคลินิกใช้ในการไถ่ถอน มีการศึกษาผลของครีมที่มีส่วนผสมน้ำมันหอมระเหย 14 เปอร์เซ็นต์ ในการทาป้องกันยุงรำคาญกับอาสาสมัคร 40 คน เปรียบเทียบกับครีมที่ไม่มีตัวยา พบว่า สามารถป้องกันยุงได้ 13 คน ในอาสาสมัครที่ทาครีม 20 คน ขณะที่อาสาสมัครที่ทาครีมที่ไม่มีตัวยา จะไม่สามารถป้องกันยุงได้ จากนั้น สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ได้ทดลองประสิทธิภาพป้องกันยุงกัดของครีมตะไคร้หอม 14 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีผลป้องกันยุงกัดได้นาน 2 ชั่วโมง ซึ่งใกล้เคียงกับครีมจากสารสังเคราะห์ (dimethyl phthate 20% + diethyl toluamide 5 เปอร์เซ็นต์)





ภาพประกอบ 2.6 ลักษณะใบตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus* Jowitt)

2.2.2.2 มะกรูด

มะกรูดมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus hystrix* DC. ชื่อสามัญ porcupine orange, kaffir lime, leech lime, mauritius papeda จัดอยู่ในวงศ์ Rutaceae ซึ่งมะกรูดจัดเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก แตกกิ่งก้าน ลักษณะของลำต้น และกิ่งมีหนามแหลมแข็ง ส่วนใบเป็นใบประกอบที่มีใบย่อย ใบเดี่ยว มีสีเขียวหนา มีลักษณะคอดกึ่งที่กลางใบเป็นตอนๆ มีก้านแผ่ออกใหญ่เท่ากับแผ่นใบ ทำให้เห็นใบเป็น 2 ตอน ลักษณะใบมีสีเขียวแก่ค่อนข้างหนา มีกลิ่นหอมมากเพราะมีต่อมน้ำมัน ส่วนดอกจะเป็นกระจุก 3-5 ดอก กลีบดอกมีสีขาว ร่วงง่าย ผลมีหลายแบบแล้วแต่ชนิดพันธุ์ (ภาพประกอบ 2.7) โดยมีผลเล็กเท่ามะนาว มีลักษณะผิวขรุขระน้อย และไม่มีจุดที่หัว (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข, 2546) ซึ่งมะกรูดสามารถปลูกได้โดยการเพาะเมล็ด การตอนกิ่งหรือทาบกิ่ง มะกรูดชอบดินร่วนปนทรายที่มีการระบายน้ำดี ชอบแดดจัดจนถึงแดดปานกลาง ระยะห่างในการปลูกประมาณ 5x5 เมตร โดนชุดหลุมปลูกขนาด 50x50x50 เซนติเมตร รองก้นหลุมด้วยปุ๋ยคอกหรือปุ๋ยหมัก จากนั้นนำต้นกล้าที่ต้องการปลูกลงในหลุมที่เตรียมไว้ หลังจากนั้นกดดินให้แน่นพอสมควร แล้วรดน้ำให้ชุ่ม และควรพรางแสงให้ต้นกล้าใน

ระยะแรก ส่วนมากมะกรูดจะนิยมปลูกในช่วงฤดูฝน และควรหมั่นตัดแต่งกิ่ง เพื่อที่จะได้กิ่งที่แตกออกมาใหม่ ซึ่งในมะกรูดมีประสิทธิภาพและการออกฤทธิ์ที่สำคัญ ดังนี้

1) องค์ประกอบทางเคมี ใบสดเมื่อนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยการต้ม กลั่น (hydro distillation) ได้น้ำมันหอมระเหย 1.0 เปอร์เซ็นต์ องค์ประกอบทางเคมีประกอบด้วย linalool, citronellal, citronellol, linalyl acetate, copaene, β -caryophyllene, humulene, *cis*-nerolidol และ *trans*-nerolidol

2) ความเป็นพิษ มีรายงานทางการแพทย์ว่าผู้ป่วยที่มีอาการแพ้ ผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำมันมะกรูดเป็นส่วนผสม ซึ่งในน้ำมันผิวมะกรูดมีสาร oxypedamin มีผลทำให้เกิดอาการแพ้เมื่อโดนแสงแดด (photo toxicity) สาร d-limonene และเมื่อถูกอากาศเป็นเวลานาน ก่อให้เกิดอาการแพ้ได้ (สถาบันวิจัยสมุนไพร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข, 2548) อีกทั้งมะกรูดยังมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงได้ โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข (2546) ได้กล่าวไว้ว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดหรือสารสกัดจากผล เมื่อนำมาเตรียมเป็นสารทาป้องกันยุงพบว่ามีประสิทธิภาพในการป้องกันการกัดของยุงชนิดต่างๆ ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่ใช้และตำรับที่เตรียม โดยมีความสามารถในการป้องกันการกัดของยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) ได้ในช่วงเวลา 0.5-3.5 ชั่วโมง ยุงก้นปล่อง (*Anopheles dirus*) ในช่วงเวลา 0.5-1.51 ชั่วโมง ยุงก้นปล่อง (*Anopheles balabacensis*) และ (*Anopheles minimus*) ในช่วงเวลา 0.5-1 ชั่วโมง และป้องกันการกัดของยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus*) ได้ในช่วงเวลา 0.5-2.5 ชั่วโมง



ภาพประกอบ 2.7 ลักษณะผลมะกรูด (*Citrus hystrix* DC)

2.2.3 การสกัดสารสำคัญจากพืช

การสกัดสารสำคัญจากพืชอาจทำได้หลายวิธีขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น ชนิดของสารที่สกัด คุณสมบัติของสารในการทนต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ ฯลฯ แต่ละวิธีก็มีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกันไป วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชที่สำคัญแบ่งออกเป็น 5 วิธี ได้แก่ การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) การสกัดด้วยเครื่องมือ (mechanical extraction) การสกัดด้วยการกลั่น (distillation) การสกัดด้วยการดูดซับ (resorption) การสกัดด้วยการบีบ (expression) ซึ่งวิธีที่นิยมนำมาใช้ในการสกัดเพื่อการศึกษาวิจัยพืชสมุนไพรคือการสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) และการสกัดด้วยการกลั่น (distillation) ดังนี้ (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

2.2.3.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

เป็นการสกัดสารสำคัญจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ความสามารถในการสกัดกับอัตราการซึมผ่าน (rate of diffusion) ของส่วนที่ละลายได้ผ่านชั้นสัมผัสของ ของเหลวที่ทำหน้าที่เป็นตัวสกัด (solvent) กับสารตั้งต้นที่นำมาสกัด โดยขั้นตอนในการสกัดอาจผ่านกระบวนการต่างๆ ดังนี้

1) การหมัก (marceration) เป็นการหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปชมพู่ โถแก้ว และถังพลาสติก ฯลฯ ภายในระยะเวลาที่กำหนด โดยในระหว่างการหมักต้องหมั่นเขย่าหรือคนบ่อยๆ เพื่อให้ตัวอย่างพืชได้สัมผัสกับตัวทำละลายมากที่สุด เมื่อครบกำหนดเวลาจึงค่อยๆ รินสารสกัดออกและพยายามบีบเอาสารละลายออกจากกาก (marc) ให้มากที่สุด ทำซ้ำหลายๆ ครั้ง จนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์ จากนั้นรวมสารสกัดที่เก็บได้ทั้งหมดนำไปกรอง (filtration) เพื่อแยกเอากากสมุนไพรออกไป การสกัดด้วยวิธีนี้มีข้อดีที่สารไม่ถูกความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก

2) การทำสารสกัดให้เข้มข้น (concentrated extraction) หลังจากสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้มักเจือจางและมีปริมาณมาก การแยกส่วนหรือการศึกษาต่อไปทำได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพจึงจำเป็นต้องแยกตัวทำละลายออกไปเพื่อให้ได้สารสกัดที่เข้มข้น (concentrated extract) และปราศจากตัวทำละลาย โดยการระเหยด้วยการกลั่นในสุญญากาศ (distillation in vacuo) ซึ่งเป็นวิธีการระเหยแห้งโดยกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำและลดความดันลงจนเกือบเป็นสุญญากาศ การกลั่นโดยวิธีนี้ต้องอาศัยการทำงานของเครื่องมือหลัก 3 ชนิด ได้แก่ เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) เครื่องทำน้ำหล่อเย็น (cool ace)



และ เครื่องดูดอากาศเพื่อทำสุญญากาศ (vacuum pump, aspirator) ในส่วนของเครื่อง rotary evaporator ประกอบด้วย 3 ส่วนสำคัญคือ ขวดกลั่น (distillation flask) เป็นภาชนะที่บรรจุสารสกัดที่ต้องการทำให้เข้มข้น หลอดควบแน่น (condenser) เป็นแหล่งทำความเย็นเพื่อให้ไอระเหยของตัวทำละลายกลั่นตัวเป็นของเหลวและขวดรับตัวทำละลาย (receiving flask) ในการทำงานขวดกลั่นที่บรรจุสารสกัดจะแช่อยู่ในหม้ออ่างไอน้ำและหมุนอยู่ตลอดเวลาเพื่อให้ความร้อนกระจายไปได้อย่างทั่วถึงและสม่ำเสมอ เมื่อสารละลายในขวดกลั่นเดือด จะระเหยเป็นไอผ่านไปยังหลอดควบแน่นแล้วกลั่นตัวเป็นของเหลวลงสู่ขวดรับตัวทำละลายทำการกลั่นไปเรื่อยๆ จนกระทั่งสารสกัดเกือบแห้ง เทใส่ในขวดสีชานำไปประเหยตัวทำละลายที่อาจตกค้างออกให้หมดบนเครื่องทำความร้อน (hot plate) โดยใช้ระดับความร้อนต่ำจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เครื่องมือที่ใช้ในการทำสารสกัดให้เข้มข้นที่ดีต้องมีระบบการทำสุญญากาศที่ดี ระยะระหว่างขวดกลั่น และหลอดควบแน่นสั้น และมีระบบทำความเย็นของหลอดควบแน่นที่ดี

3) การแช่แข็ง (freezing) การแช่แข็งทำให้สารสกัดกลายเป็นของแข็ง หากเป็นสารที่สกัดด้วยน้ำหรือมีน้ำปนมาด้วยหลังจากแช่แข็งแล้วจะนำไปกำจัดน้ำออกด้วยเครื่อง lyophilizer แต่หากเป็นตัวทำละลายอื่นเฉพาะตัวทำละลายเท่านั้นที่เป็นของแข็งที่สามารถแยกออกจากสารสกัดโดยการปั่นเหวี่ยง (centrifugation)

2.2.3.2 การสกัดด้วยการกลั่น (distillation)

เป็นวิธีดั้งเดิมที่ได้รับการถ่ายทอดมาจากอารยธรรมอียิปต์โบราณเมโสโปเตเมียและอินเดียโบราณ การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชสามารถทำได้หลายวิธี ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์การใช้งาน ลักษณะและคุณภาพของพืช และคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยที่ต้องการ เช่น ปริมาณและชนิดของสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยวิธีการสกัดที่แตกต่างกันทำให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีองค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพแตกต่างกันด้วย เนื่องจากการสกัดแต่ละวิธีมีประสิทธิภาพในการแยกสารองค์ประกอบแต่ละชนิดออกจากเซลล์พืชไม่เท่ากัน ทั้งยังมีผลให้น้ำมันหอมระเหยชนิดเดียวกันมี olfactive properties แตกต่างกันได้ ซึ่งวิธีที่นิยมใช้ คือการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation dry steam distillation) เครื่องมือสำหรับการกลั่นโดยวิธีนี้ ประกอบด้วย 6 ส่วนสำคัญได้แก่ เครื่องทำความร้อน (electromantle) ขวดกลั่นรูปชมพู่ (erlenmeyer distillation flask) เป็นภาชนะสำหรับบรรจุน้ำ หลอดสกัดสาร (extraction column) เป็นภาชนะสำหรับบรรจุสมุนไพรที่ต้องการสกัด หลอดควบแน่น (condenser) เครื่องทำน้ำหล่อเย็น (cool ace) และขวดรับน้ำมันหอมระเหย (receiving flask) ในการกลั่นด้วยไอน้ำให้บรรจุสมุนไพรและน้ำแยกภาชนะกัน โดยต้มน้ำในขวดกลั่นรูปชมพู่ให้เดือดเพื่อให้ไอระเหยเป็นไอผ่านไปยังสมุนไพรที่บรรจุอยู่ในหลอดสกัดสาร ไอน้ำจะพาไอน้ำมันหอมระเหยออกมาผ่านหลอดควบแน่นแล้วกลั่นตัวเป็นของเหลวไหลลงสู่ขวดรับน้ำมันหอมระเหย เมื่อทิ้งไว้ให้น้ำมันหอมระเหยจะแยกตัวออกจากน้ำ วิธีนี้มีข้อดี คือ เหมาะสำหรับพืชเกือบทุกชนิด โดยเฉพาะพืชที่สร้างน้ำมันหอมระเหยใน hair gland แต่ควรหลีกเลี่ยงพืชที่ใช้ดอกชนิด delicate



flower ซึ่งวิธีนี้มีข้อควรระวังคือต้องควบคุมอุณหภูมิและปริมาณของไอน้ำให้เหมาะสมตลอดการทำงาน เพราะหากอุณหภูมิสูงเกินไปในระหว่างการกลั่นอาจมีผลทำให้องค์ประกอบบางชนิดในน้ำมันหอมระเหยถูกย่อย (hydrolyses) ทำให้เกิดการสลายตัวได้ นอกจากนี้ไม่ควรแตกย่อยพืชให้เป็นชิ้นเล็กเกินไปหรือบดจนแน่นเกินไป จะทำให้ไอน้ำผ่านได้ไม่สม่ำเสมอและได้ผลผลิตต่ำ การกลั่นที่ดีควรทำให้ไอน้ำกระจายตัวแทรกเข้าไปในเซลล์พืชมากที่สุด แต่ทำให้เกิดการสลายตัวของสารต่างๆ น้อยที่สุด

2.2.3.3 การเลือกตัวทำละลายในการสกัด

รัตน อินทรานุปกรณ์ (2547) ได้อธิบายถึงตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการเตรียมสารสกัดว่า มี 2 ชนิด ได้แก่ น้ำ (water) และแอลกอฮอล์ (alcohol) หรือสารละลายผสมของสารละลายทั้ง 2 ชนิดนี้ นอกจากนี้อาจใช้ กรด ต่าง เติมลงในตัวทำละลายที่ใช้สกัด เพื่อปรับความเป็น กรด ต่าง ของ น้ำยาสกัดให้เหมาะสม ส่วนสารละลายชนิดอื่นๆ เช่น อีเทอร์ (ether) คลอโรฟอร์ม (chloroform) ซึ่งตัวทำละลายจัดเป็นองค์ประกอบหนึ่งที่ทำให้การสกัดได้ผลดี ดังนั้นจึงควรเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสม โดยทั่วไปตัวทำละลายที่มีขั้วจะเหมาะกับสารที่มีขั้ว และตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเหมาะกับสารที่ไม่มีขั้ว การผสมระหว่างตัวทำละลายที่มีขั้วกับไม่มีขั้วอาจทำให้คุณสมบัติการละลายดีขึ้นได้ ซึ่งตัวทำละลายที่ดีควรมีคุณสมบัติในการละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี โดยอาศัยหลักเกณฑ์ที่ว่า สารละลายและตัวทำละลายมีคุณสมบัติความมีขั้วคล้ายคลึงกัน (like dissolve like) และสามารถละลายสารที่ต้องการออกมามากที่สุด ในขณะที่ละลายสารที่ไม่ต้องการออกมาน้อยที่สุด (selectivity) รวมทั้งไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด ไม่เป็นพิษ และมีราคาไม่แพง

2.2.3.4 การเลือกวิธีการสกัด

การสกัดสารสำคัญในพืชสมุนไพรมีหลายวิธี โดยทั่วไปวิธีการสกัดที่เหมาะสมขึ้นกับปัจจัยหลายๆ อย่าง เช่น

1) ธรรมชาติของพืชสมุนไพร โดยพิจารณาจากองค์ประกอบต่อไปนี้

1.1) ลักษณะและโครงสร้างของเนื้อเยื่อ สมุนไพรที่มีลักษณะอ่อนนุ่ม เช่น เปลือกดอก ใบ อาจสกัดด้วยวิธีมาร์เชอเรนซ์ หากเป็นสมุนไพรที่มีเนื้อเยื่อที่แข็งแรงและเหนียว เช่น เปลือก ราก เนื้อไม้ ควรใช้วิธีเพอร์โคเลชันหรือการสกัดแบบต่อเนื่อง

1.2) ความสามารถในการละลายของสารสำคัญในน้ำยาสกัด ถ้าละลายได้ง่าย นิยมใช้วิธีมาร์เชอเรนซ์ แต่ถ้าละลายได้น้อยก็จำเป็นต้องใช้วิธีเพอร์โคเลชันหรือการสกัดแบบต่อเนื่อง

1.3) ความคงตัวของสารสำคัญในสมุนไพรต่อความร้อน ถ้าเป็นสารที่ไม่ทนต่อความร้อนควรใช้วิธีมาร์เชอเรนซ์หรือเพอร์โคเลชัน

2) คุณค่าของสารสกัดและค่าใช้จ่ายในการสกัด หากต้องการสารสกัดที่ไม่ใช่สารสำคัญ เช่น สารที่ใช้แต่งสี กลิ่น รส ของยาเตรียมต่างๆ ก็อาจใช้วิธีง่ายๆ ที่ไม่ยุ่งยาก นอกจากนี้ควรคำนึงถึงค่าใช้จ่ายทั้งหมดเปรียบเทียบกับราคาของสารสกัดที่เตรียมได้ว่าคุ้มค่ากับการลงทุนหรือไม่



3) ความต้องการที่จะให้ได้การสกัดที่สมบูรณ์ (exhausted extraction) หรือเกือบสมบูรณ์ หากต้องการสารสกัดเจือจาง การใช้วิธีมาร์เชอร์ชั่นก็เพียงพอแล้ว แต่ถ้าต้องการสารสกัดเข้มข้นก็ควรใช้วิธีเพอร์โคเลชันหรือการสกัดแบบต่อเนื่อง

2.2.3.5 การทำสารให้เข้มข้น

สารสกัดอย่างหยาบที่ได้จะมีปริมาณมากและเจือจาง ทำให้ไปแยกองค์ประกอบได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้ (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

1) การระเหย เป็นการนำตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัด โดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (water bath) หรือแผ่นความร้อน (hot plate) วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้เนื่องจากอุณหภูมิสูงเกินไป และหากใช้สารละลายอินทรีย์ (organic solvent) ในการสกัด การระเหยโดยให้ความร้อนโดยตรง (direct heat) บนแผ่นความร้อน อาจเกิดอันตรายได้ง่าย นอกจากนี้ควรคำนึงถึงอุณหภูมิที่จะทำให้เกิดการสลายตัวของสารสำคัญเมื่อใช้ความร้อน

2) การกลั่นในสภาวะสุญญากาศ เป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดโดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศ โดยใช้ปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) เครื่องมือนี้เรียกว่า โรตารีอีวาโพเรเตอร์ (rotary evaporater) ซึ่งประกอบไปด้วยส่วนต่างๆ 3 ส่วน คือ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบที่จะกลั่น (distillation flask) ส่วนคอนเดนเซอร์หรือส่วนควบแน่นไอสารละลาย (condenser) และภาชนะจะแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้และจะหมุน (rotary) ตลอดเวลาทำงาน เพื่อให้มีการกระจายความร้อนอย่างทั่วถึงและสม่ำเสมอ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบนี้จะต่อเข้ากับส่วนควบแน่น ซึ่งมีระบบทำความเย็นหล่ออยู่ตลอดเวลา ปลายของส่วนควบแน่นจะมีภาชนะรองรับ โดยทั้งระบบจะต่อเข้ากับระบบสุญญากาศ สารละลายที่ระเหยออกจากภาชนะบรรจุจะควบแน่นที่บริเวณคอนเดนเซอร์และหยดลงมาในภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่นซึ่งสารละลายดังกล่าวสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์และนำกลับมาใช้ใหม่ได้

3) การทำให้แห้ง เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดจนแห้ง ได้สารสกัดมาในสภาพของแข็งหรือกึ่งของแข็ง มีหลายวิธีเช่น การใช้ความเย็น (lyophilizer หรือ freeze dryer) หรือการใช้ความร้อน (spray dryer) ฯลฯ

4) อัลตราฟิลเทรชัน (ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (membrane) ใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) สูงกว่า 5,000 กรัม

2.3 วิธีทางที่แมลงได้รับสาร



ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว และคณะ (2539) ได้กล่าวว่า สารฆ่าแมลงจะก่อให้เกิดผลเสียหรือออกฤทธิ์เป็นพิษต่อแมลงได้ เมื่อสารฆ่าแมลงหรือเมแทบอลิซึม (metabolism) ซึ่งเป็นอนุพันธ์จากการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ (biotransformation) สามารถกระจายเข้าสู่หรือจับตัวกับตัวรับ (receptor) ที่มีอยู่ในระบบชีวภาพได้ตัวรับอาจเป็นโมเลกุลจำเพาะ หรืออาจเป็นเพียงส่วนหนึ่งของโมเลกุล โดยจะต้องมีปริมาณหรือความเข้มข้นสูงพอ และในเวลานานพออีกด้วย ซึ่งสารฆ่าแมลงสามารถผ่านเข้าภายในลำตัวแมลงได้ 3 วิธีทาง ได้แก่

2.3.1 การแทรกซึมผ่านชั้นคิวติเคิล (cuticle) ที่ผนังลำตัวของแมลง อัตราการแพร่ผ่านชั้นคิวติเคิลขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น สภาพมีขั้ว (polarity) ของสารฆ่าแมลงและคุณสมบัติของชั้นคิวติเคิลในการเป็นตัวกีดขวางการผ่านเข้า ซึ่งมีองค์ประกอบของคิวติเคิลเป็นปัจจัยสำคัญ โครงสร้างคิวติเคิลประกอบด้วย 2 ชั้นหลัก ได้แก่ ชั้นในเรียกโปรคิวติเคิล (procuticle) ประกอบด้วยไกลโคโปรตีน (glycoprotein) และไคติน (chitin) เป็นองค์ประกอบหลัก ชั้นนอกเรียกอีพิกิวติเคิล (epicuticle) ซึ่งมีลิพิดและลิโฟโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก อีพิกิวติเคิลเป็นส่วนนอกสุดของคิวติเคิลเปรียบเสมือนเปลือกหุ้มลำตัว ซึ่งแม้จะมีความหนาเพียงไม่กี่ไมครอนแต่ก็มีความสำคัญมาก เนื่องจากองค์ประกอบส่วนใหญ่มีคุณสมบัติชอบน้ำมัน (lipophilic) อีพิกิวติเคิล (epicuticle) มีชั้นไขมัน (adipose tissue) ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันในหมู่แมลง และเป็นสาเหตุสำคัญอย่างหนึ่งในการอธิบายความแตกต่างในการสร้างความต้านทานของแมลงต่อสารฆ่าแมลง

2.3.2 การผ่านเข้าทางช่องหายใจ (spiracle) เข้าสู่ระบบท่อหายใจ (tracheal system) สารฆ่าแมลงที่แทรกซึมผ่านคิวติเคิล หรือผ่านทางช่องหายใจเข้าไปในตัวแมลงแล้ว จะเข้าสู่ฮีโมลิมพ์ (haemolymph) ซึ่งจะเป็นตัวพาไปยังอวัยวะหรือตำแหน่งเป้าหมายในการออกฤทธิ์ หรือไปสะสมในอวัยวะหรือเนื้อเยื่อต่างๆ และอาจมีเมแทบอลิซึมหรือการขับถ่ายออกจากร่างกาย

2.3.3 การผ่านทางปากเข้าสู่ทางเดินอาหาร สารฆ่าแมลงมักถูกกลืนปนกับอาหาร จากนั้นจึงแพร่ผ่านทางเดินอาหารเข้าสู่ฮีโมลิมพ์ ซึ่งจะเป็นตัวพาแพร่กระจายต่อไปเช่นเดียวกัน

2.4 ความเป็นพิษและค่าความเป็นพิษ

2.4.1 ความเป็นพิษ (toxicity)

ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว และคณะ (2539) ได้กล่าวไว้ว่า ความเป็นพิษ (toxicity) หมายถึงความสามารถของสารที่ทำให้เกิดการบาดเจ็บ เมื่อสารกระทบต่อเซลล์หรือตำแหน่งในร่างกายหรือบนร่างกาย ส่วนคำว่าอันตราย (hazard) หมายถึงอันตรายที่เกิดจากการใช้สารดังกล่าว การได้รับสารพิษอาจแบ่งออกได้ ดังนี้



2.4.1.1 การได้รับสารพิษอย่างเฉียบพลัน (acute exposure) หมายถึง การได้รับสารพิษครั้งเดียวในช่วงระยะเวลาสั้นๆ ซึ่งใช้กับสารที่เข้าสู่ร่างกายโดยการหายใจ สูดดม หรือดูดซึมผ่านผิวหนัง โดยอาจได้รับเป็นเวลานานที่ นาทิ หรือ ชั่วโมง แล้วส่งผลกระทบต่อร่างกาย

2.4.1.2 การได้รับสารพิษแบบกึ่งเฉียบพลัน (subacute exposure) หมายถึง การได้รับสารพิษในช่วงระยะเวลาปานกลาง คือ อยู่ระหว่างเฉียบพลันและเรื้อรังโดยทั่วไประยะเวลาที่ให้ไว้ไม่เกิน 90 วัน

2.4.1.3 การได้รับพิษแบบเรื้อรัง (chronic exposure) หมายถึง การได้รับสารพิษในช่วงเวลาค่อนข้างยาวนาน ได้รับพิษโดยการสูดดม หรือดูดซึมผ่านผิวหนังที่ซ้ำๆ กันเป็นระยะเวลาหลายวัน เป็นเดือน เป็นปี คำว่าเรื้อรังแสดงว่าไม่รุนแรง แต่หมายถึงอาจไม่มีอันตรายหรือมีอันตรายน้อยเมื่อได้รับหลายๆ ครั้งเป็นเวลานาน และสะสมอยู่ในร่างกายจนมีปริมาณสารมากเกินไปจึงแสดงอาการพิษเกิดขึ้น สารพิษเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะเกิดกระบวนการ toxicodynamic โดยสารพิษจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ตำแหน่ง ความเข้มข้น ลักษณะทางเคมี อาจถูกขยับยั้งได้อย่างอิสระในระบบหมุนเวียนเลือด ถูกดูดซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อต่างๆ เก็บสะสม ออกฤทธิ์ ถูกกำจัดทิ้ง หรือถูกกระตุ้นให้มีพิษมากขึ้น

2.4.2 ค่าความเป็นพิษ (toxicity values)

ค่าความเป็นพิษ คือ ปริมาณความเข้มข้นของสารพิษต่อน้ำหนักตัวที่สัตว์ทดลองได้รับแล้วทำให้สัตว์ทดลองตายเป็นครึ่งหนึ่งของสัตว์ทดลองทั้งหมดภายในระยะเวลาที่กำหนด ซึ่งเป็นค่าที่ได้จากการคำนวณทางสถิติ โดยอาศัยผลจากการทดสอบ ผลที่ได้ต้องนำมาแสดงให้เห็นในลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative indices) และในรูปที่เข้าใจง่าย ซึ่ง สุรพล วิเศษสรรค์ (2546) ได้อธิบายถึงความหมายของค่าความเป็นพิษในรูปแบบที่แตกต่างกันไว้ดังนี้

2.4.2.1 ค่า I_{50} (inhibition lethal concentration) เป็นค่าที่แสดงการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ส่วนมากจะใช้แสดงความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และคาร์บาเมต โดย I มาจากคำว่า inhibition ซึ่งเกิดจากอัตราการยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ชนิดโคลีนเอสเทอเรส ที่จุดไซแนป (synapse) ของระบบประสาท โดยเมื่อค่า I_{50} สูง สารชนิดนั้นจะเป็นสารที่มีความเป็นพิษสูงกว่าสารที่ให้ค่า I ต่ำ ปกติค่า I จะมีค่าตั้งแต่ 1-9

2.4.2.2 ค่า LC_{50} (median lethal concentration) เป็นปริมาณของสารพิษต่อน้ำหนักตัวสัตว์ทดลองที่ได้รับเข้าไป ทำให้สัตว์ทดลองตายเป็นจำนวนครึ่งหนึ่งของสัตว์ทดลองทั้งหมด ส่วนมากใช้ทดสอบกับสัตว์น้ำ ซึ่งในการทดลองกับสัตว์ทดลองจะให้สารที่มีความเข้มข้น 3-5 ความเข้มข้น จากนั้นวัดอัตราความเป็นพิษของสาร โดยหาความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองตายอยู่ระหว่าง 10-90 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำผลการทดลองมาทำเป็นกราฟ โดยให้แกนนอนเป็นค่า log อัตราความเข้มข้น และแกนตั้งเป็นค่าเปอร์เซ็นต์การตาย แล้วหาค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ ว่าตรงกับความเข้มข้นที่เท่าไร นำมาหาค่า แอนติลอก (antilog) หาปริมาณของสารที่ทำให้ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ได้ แต่



การหาจากกราฟมักทำให้ได้ค่าที่มีความแปรปรวนสูง ดังนั้นจึงมีการนำค่ามาหาในรูปแบบของสมการถดถอยอย่างง่าย (simple linear regression)

2.4.2.3 ค่า LD_{50} (median lethal dose) เป็นปริมาณของสารพิษต่อน้ำหนักตัวสัตว์ทดลองที่ได้รับเข้าไป ทำให้สัตว์ทดลองตายเป็นจำนวนครึ่งหนึ่งของสัตว์ที่ทำการทดลองทั้งหมด ค่านี้มีความหมายคล้ายกับ LC_{50} เพียงแต่เป็นการทดลองกับสัตว์ทดลองที่มักใช้การทดลองในสารกำจัดศัตรูพืชที่เป็นสารละลาย หรือเป็นของแข็งและเป็นสัตว์ที่ไม่ได้อาศัยอยู่ในน้ำ เช่น หนู และกระต่าย เป็นต้น

2.4.2.4 ค่า TI (therapeutic index) เป็นค่าดัชนีของการให้ผลในทางการรักษา ความเป็นพิษจากการได้รับสารพิษ ซึ่งเป็นอัตราส่วนของค่า LD_{50}/ED_{50} โดยค่านี้จะสามารถบอกความปลอดภัยของสารกำจัดศัตรูพืชก่อนนำมาใช้ (ถ้าค่า LD_{50} สูงจะมีค่าความเป็นพิษน้อย) โดยถ้าค่า TI สูง สารกำจัดศัตรูพืชชนิดนั้นจะปลอดภัยกว่าสารกำจัดศัตรูพืชที่ให้ค่าดัชนีที่ต่ำกว่า และค่าที่ใช้อยู่เสมอๆ คือค่าขอบเขตของความปลอดภัย (margin of safety) ซึ่งเป็นอัตราส่วนระหว่าง LD_1/ED_{99} ค่านี้ยังมีค่าสูงมากเท่าไร สารกำจัดศัตรูพืชชนิดนั้นยิ่งมีความปลอดภัยมากเท่านั้น โดยปกติค่า LD_1 และ LD_{99} ของสัตว์ทดลองจะเป็นสายพันธุ์อ่อนแอ (susceptible) ซึ่งจะมีค่าใกล้เคียงกันมาก ถ้าพันธุ์อ่อนแอทั้งสองนี้แตกต่างกันมากก็อาจจะมีการปะปนของยีนอื่นของสัตว์ทดลองประเภทเดียวกันได้

2.4.2.5 ค่า TD_{50} (median toxic doses) เป็นค่าสังเกตความเป็นพิษของสารกำจัดศัตรูพืช

2.4.2.6 ค่า ED_{50} (median effective doses) เป็นค่าสังเกตความเป็นพิษของสารกำจัดศัตรูพืชโดยเป็นปริมาณของสารพิษต่อน้ำหนักตัวที่สามารถทำให้สัตว์ทดลองแสดงอาการเป็นพิษไม่ถึงตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด

2.4.2.7 ค่า KD_{50} (median knockdown dose) เป็นค่าที่แสดงปริมาณของสารฆ่าแมลงต่อน้ำหนักตัวที่ทำให้แมลงตายครึ่งหนึ่งของแมลงที่นำมาทดลองทั้งหมด ซึ่งในบางครั้งเมื่อทำการทดลองกับแมลง จะพบสารฆ่าแมลงบางชนิดมีผลต่อระบบประสาทส่วนกลางในแมลง ทำให้แมลงแสดงอาการผิดปกติทางการเดิน การทรงตัว และทำให้แมลงตายในเวลาต่อมาได้ หน่วยที่ใช้ในการหาปริมาณของเนื้อสารพิษ 1 มิลลิกรัม ในตัวทำลาย 1,000 กรัม พีพีบี หมายถึง ปริมาณเนื้อสาร 1 มิลลิกรัม ในตัวทำลายพันล้านกรัม และพีพีที หมายถึง ปริมาณของเนื้อสารพิษ 1 ส่วนในตัวทำลายหนึ่งพันส่วน

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าค่าต่างๆ ที่ใช้ในการทดลองกับสัตว์ทดลอง จะดูจากอาการที่เกิดพิษกับสัตว์ทดลองร่วมด้วย ซึ่งผลของความเป็นพิษต่างๆ จะแสดงค่าความเป็นพิษที่ใช้ในการประเมินค่าความปลอดภัยจากสารพิษในมนุษย์และสิ่งแวดล้อมเช่นกัน



2.4.3 วิธีการทดสอบความเป็นพิษต่อแมลงและสัตว์ทดลองอื่นๆ

สุรพล วิเศษสรรค์ (2546) ได้แบ่งวิธีการทดสอบความเป็นพิษต่อแมลงและสัตว์ทดลองอื่นๆ เป็น 2 วิธี คือการทดสอบธรรมดา (conventional testing methods) และการทดสอบเฉพาะกรณี (specialized testing methods) ดังนี้

2.4.3.1 การทดสอบวิธีธรรมดา (conventional testing methods)

1) วิธีการหยดทางด้านบน (topical application) ทดสอบโดยการหยดสารที่ทราบปริมาณในการทดสอบลงบนตัวสัตว์ทดลองเพื่อให้สารซึมผ่านชั้นผิวหนัง และแพร่เข้าสู่เส้นโลหิตฝอยไปยังส่วนต่างๆ วิธีการนี้จะเป็นการตรวจสอบในบริเวณที่ต้องการได้ ตัวอย่าง เช่น การตรวจสอบในแมลง มักใช้เครื่องมือในการหยดสารกำจัดศัตรูพืช เรียกว่า ไมโครแอพริเคเตอร์ (microapplicator) เครื่องมือนี้สามารถปรับปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชได้ในปริมาณน้อยๆ มักใช้ทดสอบกับแมลงโดยละลายสารฆ่าแมลงในตัวทำละลายที่เหมาะสม และระเหยได้เร็ว แต่อาจทำให้เกิดการแปรปรวนของผลเนื่องจากไม่รู้ปริมาณที่แน่นอนของสารฆ่าแมลงที่เข้าสู่แมลงได้

2) วิธีการฉีดเข้าลำตัว (injection method) เป็นการให้สารพิษโดยใช้เข็มฉีดยา ทำให้สารกระจายไปตามเส้นเลือดและเนื้อเยื่อต่างๆ โดยแสดงความผิดปกติ เมื่อเนื้อเยื่อไม่สามารถทนรับสารพิษต่อไปได้ ทำให้ทราบปริมาณที่เข้าสู่สัตว์ทดลองได้แน่นอน วิธีการนี้อาจนำสารพิษผสมกับสารตัวนำ

3) วิธีการจุ่มสัตว์ทดลอง (dipping method) เป็นการจุ่มสิ่งทดลองลงในส่วนผสมของสารพิษที่ทราบความเข้มข้นเพื่อทดสอบหาความเป็นพิษของสารพิษ การทดสอบโดยวิธีการนี้มักใช้กับการทดสอบในตัวอ่อนแมลงใน อันดับ Lepidoptera และ Diptera เพื่อหาสารที่เหมาะสมในการกำจัดแมลงที่ต้องการควบคุมปริมาณกลไกของความเป็นพิษ จะต้องเกิดจากการที่สัตว์ทดลองได้รับสารพิษเข้าไปทางปาก ผิวหนัง และระบบการหายใจ แล้วซึมผ่านเข้าสู่อวัยวะที่แสดงการเกิดพิษต่อไป

4) วิธีการสัมผัส (contact method) เป็นวิธีทำให้แมลงสัมผัสกับสารฆ่าแมลงที่ตกค้าง (residue exposure method) เป็นวิธีการที่ต้องทำให้สารพิษเกาะติดกับตัวของสิ่งทดลอง โดยต้องการหาความเป็นพิษจากการสัมผัส วิธีนี้จะใช้สารพิษผสมกับตัวทำละลายที่ระเหยง่าย แล้วทำการฉีดพ่นลงบนภาชนะทดสอบอาจเป็นขวดแก้ว หรือวัสดุที่ไม่มีการดูดซับ จากนั้นปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยแห้งที่อุณหภูมิห้องแล้วนำแมลงหรือสัตว์ทดลองปล่อยลงเดิน สารฆ่าแมลงจะซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อผิวของสัตว์ทดลอง และแสดงอาการเกิดพิษต่อมา ซึ่งวิธีการนี้จะให้ค่าการตายที่สูงกว่าวิธีการหยดสาร



กำจัดศัตรูพืชทางด้านบนถึง 20 เท่า เนื่องจากสารฆ่าแมลงบางชนิดมีค่าการระเหยค่อนข้างสูง ดังนั้นการปล่อยไว้ให้แห้งอาจมีผลต่อปริมาณที่ตกค้างได้

5) การจุ่มใบพืช (leaf dipping method) ส่วนใหญ่ใช้กับการทดสอบความเป็นพิษของสารกำจัดศัตรูพืชกับแมลงโดยวิธีการนี้สามารถใช้เทียบเคียงได้กับพฤติกรรมของแมลง โดยตัดใบพืชที่เป็นอาหารของแมลงที่ต้องการทดสอบให้ได้พื้นที่ที่ต้องการ จากนั้นจุ่มใบพืชลงในส่วนผสมของสารละลายของสารกำจัดศัตรูพืช ซึ่งส่วนใหญ่จะใช้ตัวทำละลายที่เป็นแอลกอฮอล์

6) วิธีการรมเมล็ดธัญพืช (grains fumigation method) มักใช้กับการทดสอบการป้องกันการเข้าทำลายของแมลงในผลิตผลทางการเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเมล็ดธัญพืชที่มีการส่งออก วิธีการนี้จะใช้สารที่มีการระเหยได้ดี เช่น สารเมธิลโบรไมด์ (methyl bromide) สารคลอโรปีคริน (chloropicrin) เป็นต้น

7) วิธีทำให้สารกำจัดศัตรูพืชติดแห้งกับภาชนะทดสอบ (dry film method) เป็นวิธีการทดสอบความเป็นพิษที่ใกล้เคียงกับวิธีการสัมผัส แต่วิธีการนี้จะนำสารพิษผสมกับตัวทำละลายและตัวพาที่เหมาะสม จากนั้นฉีดพ่นหรือทาลงบนแผ่นกระดาษ หรือใบพืชอาหารของแมลง ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงปล่อยให้แมลงที่เป็นตัวอ่อน หรือตัวเต็มวัยลงไปทิ้งไว้ประมาณ 15-30 นาที สารพิษจะเกาะติดกับไคตินของแมลง หรือติดกับบุหยาใจของแมลง จากนั้นจะซึมผ่านเข้าระบบไหลเวียนโลหิตก่อนเข้าสู่อวัยวะเป้าหมายของการเกิดพิษต่อไป

8) วิธีการพ่นฝอยหมอกทางด้านบน (topical mists method) เป็นวิธีการที่ทดสอบความเป็นพิษโดยมีการพ่นสารกำจัดศัตรูพืชที่รู้ปริมาณโดยใช้แรงดันอากาศผ่านท่อด้านบน แรงดันของอากาศจะทำให้เกิดสุญญากาศ และพาสารละลายที่มีสารพิษเป็นองค์ประกอบออกมาเป็นฝอยหมอกตกลงบนภาชนะที่มีแมลงทดลองอยู่ สารกำจัดศัตรูพืชที่เกาะที่ไคตินจะซึมเข้าทางด้านบน และบางส่วนของด้านท้องจากการสัมผัสกับพื้นผิวที่แมลงเดิน จากนั้นสารกำจัดศัตรูพืชจะซึมผ่านระบบไหลเวียนโลหิตสู่อวัยวะเป้าหมาย และแสดงอาการเกิดพิษต่อไป

9) วิธีคลุกเมล็ดธัญพืชด้วยสารกำจัดศัตรูพืช (grain treated method) เป็นวิธีการที่เหมาะสมในการทำการทดสอบความเป็นพิษของสารกำจัดศัตรูพืชที่มีลักษณะเป็นผง (dust) หรือผงแป้ง (powder) ทำการคลุกสารโดยใช้เครื่องมือหรือโดยการกวน แล้วใส่แมลงหรือศัตรูพืชที่ต้องการทดสอบลงไป วิธีการนี้ต้องการทดสอบความเป็นพิษจากการกิน และทางการสัมผัสของแมลงศัตรูพืชในโรงเก็บ ในการทดสอบอาจจะใช้เวลามากกว่า 1 เดือน ในการประเมินค่าความเป็นพิษของสารกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อแมลง เช่นการทดสอบความเป็นพิษกับมอดแป้ง (*Tribolium castaneum*)

2.4.3.2 การทดสอบพิเศษ (specialized testing methods)

1) วิธีการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันทางผิวหนัง (acute dermal method) เป็นการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันที่ผิวหนังของสัตว์ทดลอง ส่วนมากต้องการดูความเป็นพิษเฉพาะที่ ถ้าทำการทดลองกับสัตว์ที่มีขนปกคลุมจะต้องโกนขนของสัตว์ออกเสียก่อน ส่วนมากถ้าเป็นหนู



ทดลองจะโกนขนออกเป็นเนื้อที่ 4 ตารางเซนติเมตร แล้วทาสารที่ต้องการทดสอบโดยการผสมสารกำจัดศัตรูพืชที่ต้องการทดสอบให้อยู่ในรูปของครีมลงบนผิวที่โกนขนออกแล้ว จากนั้นทำการตรวจวัดความเป็นพิษในบริเวณที่ทาสารกำจัดศัตรูพืช โดยดูการระคายเคืองจากอาการที่แสดงออก เช่น คันของผิว และสังเกตการอักเสบ หรือดูการอักเสบ และการติดเชื้อที่ผิวหนังหลังจากการให้สารไปแล้วไม่เกินหนึ่งอาทิตย์ ซึ่งการอักเสบและการติดเชื้อเป็นอาการที่บอกได้ว่าเกิดความเป็นพิษจากสารกำจัดศัตรูพืช โดยทำให้เกิดภูมิคุ้มกันภายใต้ผิวหนังหมดไป หรือไปทำลายเซลล์ผิวโดยตรง

2) วิธีการทดสอบความเป็นพิษโดยการสูดดม (inhalation method) เป็นวิธีการให้สารกำจัดศัตรูพืชผ่านเข้าสู่อากาศ แล้วผ่านเข้าสู่บริเวณที่กักสัตว์ทดลอง จากนั้นทำการวัดความเป็นพิษที่เกิดกับสัตว์ทดลอง โดยสัตว์ทดลองจะหายใจเอาสารกำจัดศัตรูพืชเข้าไปโดยตรง ผ่านทางระบบการหายใจ วิธีการนี้ต้องใช้เครื่องมือที่เป็นโถแก้วและต่อท่อให้สารเข้าและออกในเวลาเดียวกัน นอกจากนี้จะต้องมีเครื่องอัดอากาศปั๊มสารกำจัดศัตรูพืชที่เป็นไอ โดยสามารถทราบปริมาณที่เข้าสู่บริเวณที่สัตว์ทดลองอยู่ด้วย สังเกตอาการของพิษที่เกิดขึ้นต่อไป

3) วิธีการทดสอบทางชีวเคมี (biochemical method) เป็นวิธีการที่ใช้ในการทดสอบ เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงระบบเอนไซม์ของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะเอนไซม์ทำลายพิษ (detoxification enzymes) เนื่องจากน้ำย่อยถือเป็นกลไกทำลายพิษของสิ่งมีชีวิต และเป็นด่านที่สำคัญในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง หรือเข้าจับเกาะในลักษณะการยับยั้งแบบไม่มีการแข่งขันกับเอนไซม์ ทำให้เกิดพิษในเวลาต่อมาเนื่องจากเอนไซม์หยุดการทำงาน ในการศึกษาทางชีวเคมีนั้นมักมีการระบุวิธีการศึกษาออกเป็น วิธีการศึกษาแบบ *in vitro*, *in vivo* หรือ *in situ* เป็นต้น

2.4.4 กระบวนการกำจัดสารพิษ

สุรพล วิเศษสรรค์ (2546) กล่าวว่าสิ่งมีชีวิตเมื่อได้รับสารพิษเข้าไปจะมีกลไกในการตอบสนองต่อพิษและมีกระบวนการทำลายสารพิษหรือสารแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย (detoxification) ซึ่งเป็นวิธทางชีวเคมีในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษโดยมีเอนไซม์ทำลายพิษ (detoxification enzyme) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้โครงสร้างของสารพิษเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารที่มีขั้วหรือสามารถละลายน้ำได้ดีทำให้ง่ายต่อการกำจัดออกจากร่างกาย

สำหรับแมลง เมื่อได้รับสารเคมี จะเกิดพฤติกรรมหลีกเลี่ยงสารเคมีที่ก่อเกิดพิษกับแมลงโดยเรียกพฤติกรรมนี้ว่า พฤติกรรมหลีกเลี่ยง (behaviora voidance) เพื่อไม่ให้ร่างกายสัมผัสกับสารนั้นๆ ถ้าแมลงรับสารในปริมาณที่ไม่มากพอที่จะทำให้เสียชีวิต ก็จะมีการสะสมสารนั้นไว้ในชั้นไขมัน และเนื้อเยื่อต่างๆ นอกจากนี้แมลงมีกลไกการหลีกเลี่ยง หรือทำลายพิษหลายแบบ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการดำรงชีวิต เช่นในปัจจุบันที่แมลงมีการสร้างความต้านทานต่อสารปราบศัตรูพืชเพิ่มมากขึ้น โดยพบว่าแมลงมีกลไกการใช้เอนไซม์ช่วยในการกำจัดสารพิษ เพื่อให้สารพิษถูกกำจัดโดยเร็วที่สุด

2.4.4.1 ระบบเอนไซม์ทำลายพิษ (detoxification enzyme)



Visetson (2004) ได้อธิบายถึงระบบเอนไซม์ทำลายพิษว่า เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาให้กับสารตั้งต้น หรือซับสเตรทที่เปลี่ยนรูปไปอาจทำให้สารพิษนั้นลดลงหรือเพิ่มขึ้น โดยเกี่ยวข้องกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิ pH และชนิดของสิ่งมีชีวิต เป็นต้น ทั้งนี้สารแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกายได้หลายทาง เช่น ทางปาก ทางผิวหนังและทางระบบหายใจ โดยจะดูดซึมแพร่เข้าทั่วร่างกาย ซึ่งร่างกายจะมีการขับถ่าย และเกิดเมแทบอลิซึม ในการเปลี่ยนสภาพสารให้ผิดไปจากเดิม หรือเกิด biotransformation โดยการเปลี่ยนนี้ เป็นผลมาจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในร่างกายของสิ่งมีชีวิต ซึ่งเอนไซม์ทำลายพิษเป็นกลไกทางชีวเคมี โดยที่สิ่งมีชีวิตจะมีกระบวนการทางชีวเคมีที่พัฒนาขึ้นเพื่อทำลายสารพิษ รวมทั้งสารฆ่าแมลงหลากหลายชนิด โดยเปลี่ยนคุณสมบัติของสารที่ละลายได้ดีในไขมันให้เป็นสารที่ละลายได้ดีในน้ำมากขึ้น เพื่อที่จะขับออกนอกร่างกาย ซึ่งกลไกทางชีวเคมีจะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุล ในการเปลี่ยนแปลงพิษในแมลงมีเอนไซม์อย่างน้อย 3 กลุ่มที่เกี่ยวข้องกับขบวนการเมแทบอลิซึม เพื่อทำลายพิษของสารที่แปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย การเปลี่ยนแปลงด้านปริมาณหรือคุณภาพของเอนไซม์เหล่านี้เป็นกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงได้ เอนไซม์ที่สำคัญดังนี้

1) ไซโทโครม พี 450 โมโนออกซิจีเนส (cytochrome P450 monooxygenase) เป็นระบบเอนไซม์ที่มีความสำคัญในวิธีการเปลี่ยนรูปของสารแปลกปลอมในสิ่งมีชีวิต ในกลุ่มแมลงเอนไซม์ชนิดนี้นอกจากจะมีบทบาทในการเมแทบอลิซึมของสารฆ่าแมลงแล้ว ยังมีส่วนในการสังเคราะห์ และเมแทบอลิซึมของสารประกอบในกระบวนการทางสรีรวิทยาอื่นๆ ระบบเอนไซม์ชนิดนี้จะพบปริมาณสูงในทางเดินอาหารส่วนกลาง ท่อขับถ่ายของเสียและเนื้อเยื่อไขมัน

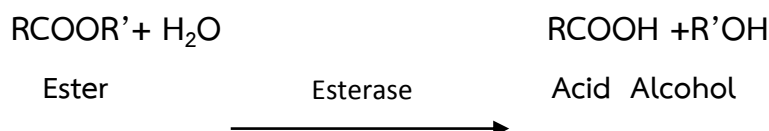
2) กลูตาไทโอนเอสทรานเฟอเรส (glutathione -S- transferases) เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการสร้างความต้านทานสารฆ่าแมลง ต่อสารฆ่าแมลงในกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส เอนไซม์ชนิดนี้ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยารวมตัวของกลูตาไทโอนกับสารฆ่าแมลง ผลจากปฏิกิริยาดังกล่าวจะได้สารที่ไม่มีพิษและมีสมบัติละลายน้ำเพิ่มขึ้น

3) เอสเทอเรส (esterase) เป็นเอนไซม์กลุ่มที่มีส่วนสำคัญในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เอนไซม์กลุ่มนี้ใช้ออกซิเจน และไฮโดรเจน จากโมเลกุลน้ำทำปฏิกิริยาเคมีกับซับสเตรท โดยมีเอนไซม์เอสเทอเรสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาผลผลิตที่ได้คือกรด และแอลกอฮอล์เรียกปฏิกิริยานี้ว่าไฮโดรไลซิส

เอนไซม์เอสเทอเรส เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาระยะที่ 1 โดยเกิด hydrolysis ซึ่งเอสเทอเรสเป็นเอนไซม์ hydrolase ที่ไปแยกกลุ่มของเอสเทอร์ โดยเอนไซม์กลุ่มนี้มีความสามารถในการสลาย metabolized สารฆ่าแมลงที่เป็นเอสเทอร์ เช่น สารในกลุ่มไพรีทรอยด์รวมทั้งสารในกลุ่มฟอสเฟต และคาร์บาเมตเอสเทอร์ ดังนั้น เอนไซม์ชนิดนี้จึงมีส่วนทำให้เกิดการต้านทานต่อสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และ คาร์บาเมต ผลที่ได้อาจมีพิษน้อยลงหรือเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับสารตั้งต้น แล้วจึงถูกกำจัดออกนอกร่างกาย (Visetson, 1991) ในแมลงจะมีระดับเอนไซม์เอสเทอเรสต่ำกว่าสัตว์เลี้ยง



ลูกด้วยนม หน้าท้องของเอนไซม์นี้ทั่วไปคือ ควบคุมปริมาณของสารที่ผลิตขึ้นในร่างกายให้อยู่ในระดับเหมาะสมและหน้าที่สำคัญในการทำลายพิษของสารแปลกปลอมที่เป็นสารเอสเทอร์หรือสารที่ยึดกันด้วย anhydride bone การเกิดปฏิกิริยาจากการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ส แสดงดังแผนภาพด้านล่าง (Hodgson and Levi, 1994)



เอนไซม์เอสเทอร์ส สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ A, B และ C โดย เอนไซม์ทั้ง 3 กลุ่มนี้มีความจำเพาะเจาะจงต่อสับสเตรต และหน้าที่ที่แท้จริงแตกต่างกัน เช่น

เอ เอสเทอร์ส (A-esterase) เป็นกลุ่มของเอนไซม์เอสเทอร์สที่ไฮโดรไลซ์สารอินทรีย์ฟอสฟอรัสให้เป็นสารที่ไม่มีพิษ โดยกลุ่มที่มีความเป็นกรด (acidic group) ของสารประกอบอินทรีย์ฟอสฟอรัสจะถูกไฮโดรไลซิส ความสามารถต่างๆ ในการยึดเหนี่ยวกับฟอสฟอรัสของเอนไซม์ (phosphorylate enzyme) จะหายไปทันทีที่สายข้าง (side chain) ถูกไฮโดรไลซ์ แล้วปล่อยให้ OH เกาะอยู่ที่อะตอมของฟอสฟอรัส ในคนจะพบเป็นรูปแบบเอ (A-type) นี้ที่เซลล์ตับ สำหรับเอนไซม์ในกลุ่มของ B-type ได้แก่ เอไลเอสเทอร์ส (aliesterase) คาร์บอกซิลเอสเทอร์ส (caboxysterase) และโคลีนเอสเทอร์ส (cholinesterase) ซึ่งสามารถยับยั้งสารฆ่าแมลงกลุ่มออกาโนฟอสเฟส โดยจะยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาฟอสโฟริเลชันที่ตำแหน่งเซอริน ซึ่งจากรายงานที่มีการศึกษา พบว่าเอนไซม์เอสเทอร์สเป็นตัวสำคัญในการเกิดเมแทบอลิซึมของสารฆ่าแมลง ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการสร้างความต้านทานของแมลงจากกระบวนการสลายสารพิษในแมลง เอนไซม์เอสเทอร์สมีซับสเตรตหลายชนิด เช่น paranitrophenyl acetate (pNRB), phenul acetate (BNA) และmethyl thiobutylate เป็นต้น โดยเอนไซม์เอสเทอร์สที่สำคัญ ได้แก่ คาร์บอกซิลเอสเทอร์ส (caboxysterase) และอะซิติลโคลีนเอสเทอร์ส (acetylcholinesterase) ดังนี้

เอนไซม์คาร์บอกซิลเอสเทอร์ส (carboxyl esterase) การทำงานของเอนไซม์คาร์บอกซิลเอสเทอร์ส จะเกี่ยวข้องกับการเกิดเมแทบอลิซึมของสารพิษ (xenobiotics) กล่าวคือเอนไซม์คาร์บอกซิลเอสเทอร์ส เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เพื่อให้โมเลกุลน้ำทำปฏิกิริยาเคมีกับซับสเตรตหรือสารแปลกปลอม ได้ผลผลิตเป็นกรดและแอลกอฮอล์ ส่งผลให้แมลงสามารถขับสารพิษออกจากร่างกายและสามารถสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงที่ได้รับ

เอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอร์ส (acetylcholinesterase, AChE) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการสลายอะซิติลโคลีนเพื่อให้เยื่อหลังซินแนปส์กลับเข้าสู่สภาวะปกติ กลไกการทำลายอะซิติลโคลีนเกิด



โดยปฏิกิริยาการแยกสลายด้วยน้ำ (hydrolysis) โดยมีเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ผลจากปฏิกิริยาจะได้โคลีนและกรดอะซิติก (acetic acid) ซึ่งบางส่วนของโคลีนจะกลับคืนไปที่เยื่อซิแนปส์ เมื่อเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส ถูกยับยั้งจากสารฆ่าแมลงทำให้โมเลกุลของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส ไม่สามารถกลับคืนสู่สภาวะเดิมได้ จึงไม่สามารถทำหน้าที่ทำลายอะซิติลโคลีนได้ตามปกติ หรือที่เรียกว่าสารฆ่าแมลงยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส เมื่อมีอะซิติลโคลีนสะสมมากๆ จะเกิดการขัดขวางดีโพลาริเซชันหรืออาจมีผลต่อความไวของตัวรับอะซิติลโคลีน ทำให้การตอบสนองต่ออะซิติลโคลีนลดลง แสดงอาการไวผิดปกติ (hyperactivity) สั่นหรือชัก เป็นอัมพาตและตายในที่สุด ซึ่งการตรวจวัดระดับการทำงานของ เอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส จะเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) ความเป็นพิษจากสารกำจัดแมลงกลุ่มต่างๆ คือออร์กาโนคลอรีน (organochlorine) คาร์บาเมต (carbamate) และ ไพรีทรอย (pyrethroid) เป็นต้น โดยสามารถตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์นี้ได้ในขณะที่สัตว์ยังไม่แสดงอาการทางคลินิก ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประโยชน์ในการตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้ เพื่อประเมินความปลอดภัยจากการใช้สารกำจัดแมลงกลุ่มต่างๆ ได้

2.4.5 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสารพิษ

ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว และคณะ (2539) และ Visetson (2004) ได้อธิบายไว้ว่าหลักการทั่วไปในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษนั้น นอกจากจะทำให้มีคุณสมบัติทั่วไปในการละลายน้ำได้ดีขึ้นแล้ว ยังมีผลต่อการออกฤทธิ์ของสารนั้นด้วย คือเมื่อถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างแล้วจะมีฤทธิ์น้อยลงหรือไม่มีฤทธิ์เลย (detoxification) แต่สารพิษบางชนิดต้องมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างก่อน จึงจะสามารถออกฤทธิ์ได้ (toxification) โดยเรียกกระบวนการทั้งสองแบบนี้ว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษ ซึ่งใช้วิธีการทางชีววิทยา (biotransformation) หรือกระบวนการเมแทบอลิซึมของสารพิษ (metabolism of toxic compound) สำหรับอวัยวะที่สำคัญในกระบวนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษ และขับถ่ายสารพิษออกนอกร่างกาย ได้แก่ ตับ ปอด และทางเดินอาหาร เป็นต้น

กลไกการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ทำลายพิษนั้นเกิดขึ้น 2 ระยะ (phase) ในระยะที่ 1 (phase I reaction) จะไปจับกับสับสเตรทภายในอวัยวะต่างๆ ทำให้เกิดควมมีขั้วที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากควมมีขั้วที่ได้ในระยะที่ 1 ดังนั้นอาจเกิดปฏิกิริยาในระยะที่ 2 (phase II reaction) ซึ่งเรียกว่าปฏิกิริยา conjugation ทำให้เกิดการละลายน้ำอย่างดี และสามารถขับออกนอกร่างกายได้ดียิ่งขึ้นอีกด้วย แต่สารประกอบบางชนิดอาจเข้ามาโดยไม่จำเป็นต้องผ่านระยะที่ 1 ก่อน แต่จะตรงเข้าไประยะที่ 2 เลย แล้วถูกกำจัดออกนอกร่างกาย แต่สารประกอบบางชนิดอาจผ่าน ระยะที่ 1 หรือไม่ผ่านทั้งสองระยะ แล้วสามารถขับออกนอกร่างกายได้เลย ดังนี้ (ภาพประกอบ 2.8)

2.4.5.1 ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาระยะที่ 1 (phase I)



เอนไซม์จะทำปฏิกิริยากับกับโมเลกุลของสารพิษ โดยจะยื่น active site ที่เป็น polar group ออกไปจับกับโมเลกุลของสารพิษ ทำให้สารพิษมีการแตกตัวเป็นสารที่มีขั้ว และเปลี่ยนรูปไปเป็นกลุ่มที่ละลายน้ำได้ดีขึ้น ซึ่งสามารถกำจัดออกนอกร่างกายง่ายขึ้น และนอกจากนั้นเอนไซม์ยังทำให้สารพิษต่างๆ เหมาะที่จะเป็นสาร ตั้งต้นของปฏิกิริยาใน phase II ต่อไป ปฏิกิริยาสำคัญที่เกิดขึ้นในระยนี้ ได้แก่ oxidation, reduction และ hydrolysis โดยเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยาระยะที่ 1

1) oxidation เป็นปฏิกิริยาที่ทำให้มีการนำออกซิเจนเข้าไปในโครงสร้างของสารพิษ ทำให้เกิดสารพิษที่มีจำนวนออกซิเจนเพิ่มขึ้น

2) reduction เป็นปฏิกิริยาที่จะทำให้มีการนำไฮโดรเจนเข้าไปในโมเลกุลของสารพิษ จนทำให้สารพิษมีจำนวนอะตอมของไฮโดรเจนในโมเลกุลเพิ่มขึ้น 1 อะตอม

3) hydrolysis เป็นปฏิกิริยาที่ทำให้สารพิษในกลุ่มเอสเทอร์ และกลุ่มเอไมด์จะถูกสลายตัวออกโดยทำปฏิกิริยากับน้ำ

อย่างไรก็ตามปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นปฏิกิริยาที่สำคัญที่สุดในระยะที่ 1 ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาในการเร่งของเอนไซม์ไมโครโซมัลมิกซ์ฟังก์ชันออกซิเดส (microsomal mixfunction oxidase) หรือ FMO หรือ MFO ซึ่งเกี่ยวข้องกับการออกซิเดชันสารพิษเข้าสู่ร่างกาย และเอนไซม์ที่สำคัญในการกำจัดสารพิษของปฏิกิริยาที่ 1 ก็คือ esterase และ mono oxygenase ซึ่งพบมากใน cytochrome P-450 ในตัวของแมลง อวัยวะที่มี cytochrome ชนิดนี้มากก็คือลำไส้ส่วนกลาง fatbody ท่อมัลพิเจียล (malpighial tube) แต่ละแหล่งที่พบจะมีลักษณะการทำงานไม่เหมือนกัน แต่มีจุดมุ่งหมายเดียวกัน คือกำจัดความเป็นพิษออกนอกร่างกาย

2.4.5.2 ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาระยะที่ 2 (phase II)

สุรพล วิเศษสรรค์ (2546) กล่าวว่า การเมแทบอลิซึมในปฏิกิริยาที่ 2 นี้ จะเป็นปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ทางชีววิทยา (biosynthetic union) หรือการประกบ (coupling) ของสารแปลกปลอมที่มาจากปฏิกิริยาระยะแรกของการเมแทบอลิซึมกับสารคอนจูเกต (conjugating agents) ซึ่งเป็นสารที่อยู่ภายในร่างกาย (endogenous substrate) ซึ่งเป็นสารพวกคาร์โบไฮเดรต โปรตีนหรือกรดอะมิโน หรือกลุ่มของธาตุกำมะถันและองค์ประกอบฟอสเฟตต่างๆ ปฏิกิริยาส่วนใหญ่จะได้ผลผลิตเป็น คอนจูเกชันโปรดัก (conjugation product) ซึ่งลักษณะการรวมตัวกันของสารเหล่านี้ อาจจะเป็นการเพิ่มความเป็นพิษ (intoxication) หรืออาจจะลดความเป็นพิษของสารพิษลง (detoxification) สำหรับเอนไซม์ในปฏิกิริยาที่ 2 พบว่า เอนไซม์ในกลุ่มนี้ประกอบด้วยเอนไซม์ที่สำคัญ 2 ชนิด คือ กลูตาไธโอนเอสทรานเฟอเรส (glutathione-s -transferase) และกลูตาไธโอนเอสอะริลทรานเฟอเรส (glutathione-s-aryltransferase) ซึ่งเอนไซม์ทั้งสองจะเข้าทำปฏิกิริยากับอินทรีย์ฟอสเฟต โดยกระบวนการคอนจูเกชันและผลสุดท้ายจะได้กรดเมอร์แคปทริก (mercapturic acid) และจะถูกกำจัดออกนอกร่างกาย



ตัวใดตัวหนึ่งจะต้องคำนึงถึงความไม่บริสุทธิ์ของสารพิษดังกล่าวด้วย นอกจากความไม่บริสุทธิ์ของสารพิษแล้ว ยังมีปัจจัยอื่นที่สามารถทำให้ความเป็นพิษของสารพิษแปรเปลี่ยนไปได้ คือ ความไม่คงตัวของสารพิษ สภาพความเป็นกรด เป็นด่างที่สารพิษละลายอยู่และสารที่ใช้จับสารพิษเพื่อความสะดวกตัวเป็นต้น ซึ่งในการเตรียมสารพิษนั้นบางครั้งต้องใช้สารบางชนิดเข้าไปจับกับสารพิษเพื่อความสะดวกตัว ดังนั้นสารเหล่านี้บางครั้งสามารถไปทำให้เกิดพิษของสารพิษต่อคนและสัตว์เพิ่มขึ้น หรือลดลง โดยอาจจะทำให้คุณสมบัติทางเคมีของสารพิษเปลี่ยนแปลงไป หรือไปทำให้ความสามารถในการละลายของสารพิษแปรเปลี่ยนไปได้ ซึ่งมีผลต่อการดูดซึมของสารพิษเข้าสู่ร่างกายหรือไปมีผลทางอ้อมต่อการเกิดพิษของสารพิษได้ โดยไปทำให้ร่างกายของคนและสัตว์นั้นมีความทนทานต่อสารพิษนั้นแปรเปลี่ยนไปสารต่างๆ ที่ใช้จับกับสารพิษต่างๆ ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปร่างต่างๆ เช่น

1) ตัวทำละลาย (vehicle) คือ สารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการละลายสารพิษ โดยปกติแล้วตัวทำละลายจะต้องไม่มีอันตรายหรือมีอันตรายน้อยมากต่อคนและสัตว์ ซึ่งได้แก่ น้ำ น้ำเกลือ โปลีเอทิลีนกลัยคอล น้ำมันพืช ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ และตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ เป็นต้น

2) ตัวเสริม (adjuvants) คือ สารเคมีที่ใช้จับกับสารพิษแล้วจะไปเสริมฤทธิ์ การเป็นพิษของสารพิษเพิ่มมากขึ้น เช่น การใช้สารไปเปอโรนิลบิวทอกไซด์ (piperonyl butoxide) ไปเสริมฤทธิ์ยากำจัดศัตรูพืชจำพวกไพรีทริน (pyrethrins) หรือการใช้สารเมอแคปโทเบนโซไทอาโซล (mercaptobenzothiazole) ไปเสริมฤทธิ์ยาฆ่าเชื้อราจำพวกไดไธโอคาร์บาเมต (dithiocarbamate) เป็นต้น

3) ตัวจับ (binding agents) คือ สารเคมีที่ใช้จับกับสารพิษเพื่อให้่ายต่อการเตรียมสารพิษ โดยปกติตัวจับส่วนใหญ่จะทำให้มีการดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ช้าลง ดังนั้น จะช่วยลดการเกิดเป็นพิษจากสารพิษได้ เช่น ปีโตรลาทัม (petrolatum) และเกาลิน (kaolin) เป็นต้น

4) ตัวเคลือบ (coating) คือ สารเคมีที่ใช้เพื่อทำให้มีการดูดซึมเข้าสู่ร่างกายทางลำไส้ได้ช้าลงเพื่อลดการเกิดเป็นพิษของสารพิษนั้น

2.4.6.2 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมสารพิษเข้าสู่ร่างกาย

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมสารพิษเข้าสู่ร่างกาย คือ ปริมาตรและความเข้มข้นของสารพิษที่ให้แก่แต่ละครั้ง ในการทดสอบความเป็นพิษของสารพิษนั้น จำเป็นที่จะต้องใช้เวลาและความเข้มข้นของสารพิษหลายความเข้มข้น ดังนั้น ปริมาตรของสารพิษในสารละลายที่จะให้จะต้องเท่ากัน ถึงแม้ว่าความเข้มข้นจะต่างกัน ปริมาตรของสารพิษในสารละลายที่จะให้จะต้องน้อยและสัมพันธ์กับขนาดของสัตว์ทดลอง เช่น การให้สารละลายของสารพิษไม่ควรเกิน 0.5 มิลลิลิตรในสัตว์แทะ (rodents) หรือไม่ควรเกิน 2 มิลลิลิตรในสัตว์ทดลองขนาดใหญ่ ในกรณีที่ให้ยาทางหลอดเลือด เป็นต้น นอกจากนี้ความสามารถในการละลายของสารพิษในสารละลายก็เกี่ยวข้องกับการเกิดเป็นพิษเพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ ซึ่งจะต้องระวังในกรณีนี้ เนื่องจากพบว่า การเกิดพิษมีแนวโน้มจะเพิ่มขึ้นในกรณีสารพิษที่ทำให้เจ็บจางมากๆ เมื่อให้เข้าไปทางปาก ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากตัวทำละลาย (vehicle) ทำให้เกิดเป็นพิษได้ หรือ



อาจมีผลมาจากมีการปรับเปลี่ยนปริมาณของน้ำในร่างกายมากเกินไป ผลที่ตามมาทำให้การขับออกของสารพิษทางไตเสียไปก็ได้ ดังนั้น ในกรณีที่มีการให้สารพิษที่เจือจางมากก็ควรจะหลีกเลี่ยงการให้ทางปาก ควรจะให้ทางผิวหนังหรือฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ซึ่งตำแหน่งที่ให้สารพิษกับอัตราการดูดซึม การเกิดเป็นพิษในคนและสัตว์นั้นจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับตำแหน่งของสารพิษที่เข้าสู่ร่างกาย เนื่องจากแต่ละตำแหน่งที่ให้จะมีอัตราการดูดซึมของสารพิษเข้าสู่ร่างกายแตกต่างกันไป เช่น การเกิดเป็นพิษของแอมโมเนียมคลอไรด์จะแตกต่างกันเมื่อให้สารนี้ในปริมาณเท่ากันใต้ผิวหนังที่บริเวณทางด้านหลัง (dorsal) และด้านท้อง (ventral) ของสัตว์ทดลอง เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่า การให้สารพิษเข้าทางหลอดเลือดดำในตำแหน่งต่างๆ ของร่างกาย มีผลต่อการเกิดพิษของร่างกายคนและสัตว์แตกต่างกันด้วย สารพิษหลายชนิดเมื่อให้เข้าทางหลอดเลือดดำ โดยการฉีดเข้าไปช้าๆ จะทำให้เกิดเป็นพิษน้อยกว่าการฉีดเข้าไปพร้อมกันทีเดียว เนื่องจากสารพิษที่เข้าไปทีละน้อยๆ จะถูกเปลี่ยนแปลงเป็นสารไม่มีพิษและถูกขับออกก่อนที่จะทำให้เกิดเป็นพิษขึ้น โดยเวลาที่ได้รับสารพิษและฤดูกาล การเกิดเป็นพิษในคนและสัตว์นั้น จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับเวลาที่ได้รับสารพิษในแต่ละวัน และยิ่งขึ้นอยู่กับฤดูกาลที่ได้รับสารพิษด้วย

การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของร่างกาย ในแต่ละวันนั้นขึ้นอยู่กับเวลาที่กินอาหารและระยะเวลาการนอนหลับของสัตว์ทดลอง เช่น ในหนูเพศชายจะกินอาหารในช่วงกลางคืน ดังนั้น จะมีอาหารในกระเพาะอาหารในตอนเช้ามามากกว่าในตอนบ่าย การทดสอบความเป็นพิษของสารพิษในหนูที่อดอาหารจะทำให้เกิดการเป็นพิษมากกว่าในหนูที่ไม่ได้ออดอาหาร ถ้าให้สารพิษในตอนเช้า หรือการเกิดเป็นพิษของสารพิษจะแตกต่างกันไปถ้าให้สารพิษในตอนกลางวันเนื่องจากจะเป็นช่วงที่หนูนอนหลับ เมื่อเทียบกับการให้สารพิษในตอนกลางคืน ซึ่งเป็นช่วงที่หนูตื่นและมีการทำงานของอวัยวะต่างๆ ในร่างกายมากกว่าในตอนกลางวัน เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงระดับของฮอร์โมนต่างๆ ใน 24 ชั่วโมงนั้น จะทำให้สัตว์ทดลองที่ได้รับสารพิษในเวลาต่างๆ ของแต่ละวัน มีการตอบสนองต่อการเกิดเป็นพิษแปรเปลี่ยนไปได้ เนื่องจากฮอร์โมนสามารถทำให้การทำงานของเอนไซม์บางชนิดภายในอวัยวะต่างๆ แปรเปลี่ยนไป นอกจากนี้ ฤดูกาลต่างๆ ก็ไปมีผลต่อระดับฮอร์โมนต่างๆ ในร่างกายแปรเปลี่ยนไปได้ ซึ่ง มีผลต่อการตอบสนองของร่างกายต่อสารพิษแปรเปลี่ยนไปได้เช่นกัน

2.4.6.3 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพิษในคนและสัตว์

การเกิดเป็นพิษในคนและสัตว์จากสารพิษนั้นจะมากหรือน้อยยังขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับคนและสัตว์ ซึ่งได้แก่

1) ชนิดและพันธุ์ของสัตว์ทดลอง สัตว์ทดลองต่างชนิดกันหรือชนิดเดียวกันแต่ต่างพันธุ์กันจะมีการตอบสนองที่แตกต่างกันออกไป ดังนั้น ในการทดสอบด้านพิษวิทยาของสารพิษหรือยาที่จะนำมาใช้ในมนุษย์นั้น จะต้องใช้สัตว์ทดลองที่มีการตอบสนองต่อสารพิษหรือยานั้นใกล้เคียงกัน เพื่อที่จะได้นำมากำหนดค่าความปลอดภัยที่จะนำมาใช้ในมนุษย์ได้ ซึ่งสัตว์ทดลองนั้นควรจะอยู่ในสัตว์จำพวกเลี้ยงลูกด้วยนม เช่น ลิง สุนัข หรือ หนูทดลอง เป็นต้น สำหรับการตอบสนองต่อสารพิษในสัตว์ทดลองชนิดต่างๆ แตกต่างกันไปนั้น ขึ้นอยู่กับความแตกต่างในรูปแบบและอัตราของการเม



แทบอลิซึมของสารพิษ ความแตกต่างกันในการขับสารพิษออกจากร่างกายทั้งทางไตและทางตับ ความแตกต่างกันของการกระจายตัวของสารพิษในเนื้อเยื่อและความแตกต่างกันของตัวที่จับกับสารพิษของเนื้อเยื่อ (receptor site) เป็นต้น

2) สถานภาพทางพันธุกรรมการตอบสนองต่อการเกิดพิษจากสารพิษในสัตว์ชนิดเดียวกันแต่ต่างพันธุ์กันแตกต่างกันออกไป อาจจะอธิบายได้ด้วยสถานภาพทางพันธุกรรมหรือสัตว์ชนิดและพันธุ์เดียวกัน มีการตอบสนองต่อการเกิดพิษจากสารพิษแตกต่างกันออกไปก็สามารถจะอธิบายได้ด้วยสถานภาพทางพันธุกรรม เช่น มีการพบว่ามีการตอบสนองต่อการเกิดพิษจากอะโทรปีน (atropine) ในกระต่ายแตกต่างกันออกไป เนื่องจากกระต่ายบางตัวนั้น พบว่ามีเอนไซม์ atropine esterase ซึ่งสามารถที่จะทำลายอะโทรปีนได้ในกระแสโลหิต ทำให้มีความต้านทานต่อการเกิดเป็นพิษจากอะโทรปีนได้ ซึ่งจะสามารถอธิบายได้ด้วยสถานภาพทางพันธุกรรมหรือการตอบสนองต่อยา succinylcholine ในคนพบว่าคนบางคน เมื่อได้รับยานี้เข้าไปจะทำให้มีการหายใจเข้าค้าง (apnea) เป็นเวลานานแล้วถึงมีการหายใจออกมา เนื่องจากคนเหล่านี้มีปริมาณของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (cholinesterase) น้อยหรือมีลักษณะผิดปกติไป (pseudocholin esterase) ในกระแสโลหิต โดยพบว่า คนเหล่านี้มียีนที่แสดงออกมาของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสผิดปกติไป เป็นต้น นอกจากนี้การเกิดเป็นพิษในสัตว์ชนิดเดียวกันแตกต่างกันออกไปยังขึ้นอยู่กับลักษณะของยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนที่เป็นตัวจับกับสารพิษที่ผนังเซลล์ของอวัยวะจำเพาะต่อการเกิดพิษของสารพิษนั้น ถ้ามีการผิดปกติไปจะทำให้สารพิษไม่สามารถจับกับอวัยวะนั้นได้ หรือจับได้น้อยลงทำให้การเกิดพิษลดลงหรือไม่เกิดเลย เป็นต้น

3) สถานภาพทางภาวะโภชนาการ อาหารที่คนหรือสัตว์กินเข้าไปสามารถไปทำให้คนหรือสัตว์ที่ได้รับสารพิษเข้าไปเกิดการเป็นพิษเพิ่มขึ้น โดยไปจับกับสารพิษทำให้สารพิษนั้นมีความเป็นพิษมากขึ้น หรือไปทำให้เกิดการเป็นพิษลดลงโดยไปจับกับสารพิษนั้นแล้ว ทำให้มีการดูดซึมลดลงหรือไปทำให้มีการแตกตัวของสารพิษได้ นอกจากนี้ ส่วนประกอบของอาหารที่กินเข้าไปแตกต่างกันทำให้มีลักษณะหน้าที่การทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์แตกต่างกันไป หรือไปทำให้คนหรือสัตว์นั้นมีสถานภาพทางภาวะโภชนาการแตกต่างกันไป ซึ่งล้วนแล้วแต่ทำให้การตอบสนองต่อสารพิษแตกต่างกันไปได้ เช่น อาหารที่มีปริมาณโปรตีนต่ำอาจไปทำให้สัตว์ทดลองเกิดการเป็นพิษเพิ่มมากขึ้นจากยากำจัดศัตรูพืชและสารพิษหลายชนิดได้ ในทางตรงกันข้ามอาหารที่มีโปรตีนต่ำสามารถไปลดการเกิดพิษจากการทำลายเซลล์ตับของคาร์บอนเตตระคลอไรด์และไดเมทิลไนโตรซามีนได้ ซึ่งสามารถอธิบายได้โดยอาหารที่มีโปรตีนต่ำ ทำให้มีปริมาณเอนไซม์ในไมโครโซมลดลง ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนสารพิษที่เข้าไปให้มีฤทธิ์เพิ่มขึ้นได้ เป็นต้น

4) เพศและระดับฮอร์โมนเพศในร่างกายในสัตว์ทดลองชนิดและพันธุ์เดียวกันนั้น โดยปกติแล้วจะมีการตอบสนองต่อการเกิดเป็นพิษจากสารพิษ ทั้งเพศผู้และเพศเมียแตกต่างกันน้อยมาก แต่ในบางครั้งการตอบสนองของทั้งสองเพศจากสารพิษแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความแตกต่างกันของฮอร์โมนในร่างกายนั่นเอง เช่น การเกิดพิษที่ไตเนื่องจากคลอโรฟอร์มที่สามารถทำ



ให้หนูเพศผู้ตายได้ ซึ่งพบว่าฮอร์โมนเพศผู้มีส่วนต่อการตอบสนองต่อการเกิดเป็นพิษของคลอโรฟอร์ม สารพิษเข้าไปในร่างกายขณะที่อยู่ในสภาวะร่างกายไม่แข็งแรงหรืออยู่ในสภาวะเป็นโรค ซึ่งถ้าร่างกายอยู่ในสภาวะเป็นโรคอาจมีผลต่อการเพิ่มการเกิดพิษจากสารพิษได้ ดังนั้น นักพิษวิทยาจึงจำเป็นที่จะต้องทำการทดลองการเกิดเป็นพิษจากสารพิษในขณะที่ร่างกายของสัตว์ทดลองอยู่ในสภาวะเป็นโรค เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลการทดลองในขณะที่สัตว์อยู่ในสภาวะปกติ เช่น การทดสอบยาขับปัสสาวะ ที่สังเคราะห์ขึ้นมาใหม่ก็ควรทำการทดสอบการเป็นพิษของยาดังกล่าว ในสัตว์ทดลองที่อยู่ในสภาวะปกติ และสัตว์ทดลองที่อยู่ในสภาวะของการเป็นโรคไตชนิดต่างๆ หรือในสัตว์ทดลองที่เป็นโรคความดันโลหิตสูง เป็นต้น ก่อนที่จะนำมาใช้ในคนเพื่อจะดูว่าสารเคมีที่สังเคราะห์ สามารถนำมาใช้กับคนหรือสัตว์ที่มีสภาวะการเป็นโรคต่างๆ ได้หรือไม่แล้วนำไปใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ของการใช้ยาดังกล่าว

นอกจากนี้ แล้วยังพบอีกว่าแบคทีเรียในทางเดินอาหารในคนและสัตว์แตกต่างกันออกไปอาจไปมีผลต่อการเกิดเป็นพิษแตกต่างกันออกไปได้ ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้ในทางเดินอาหารสามารถทำการย่อยสารพิษที่คนหรือสัตว์กินเข้าไปทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษ หรือสามารถไปรบกวนอัตราการดูดซึมสารพิษหรือรบกวนอัตราการขับออกของสารพิษได้ เป็นต้น

2.4.6.4 ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเกิดพิษ

ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอกสามารถที่จะทำให้การตอบสนองต่อการเกิดเป็นพิษจากสารพิษในคนและสัตว์แปรเปลี่ยนไปได้ ปัจจัยเหล่านี้ ได้แก่

1) ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมทางกายภาพ สิ่งแวดล้อมทางกายภาพที่มีผลต่อการเกิดเป็นพิษในคนและสัตว์นั้น ได้แก่ อุณหภูมิ ภาวะความดันของอากาศและการแผ่ของรังสี เป็นต้น นอกจากนี้ ยังพบอีกว่า ทิศทางของแม่เหล็กไฟฟ้า ความเร่ง การสั่นสะเทือน และแรงดึงดูดของโลกสามารถที่จะทำให้การตอบสนองต่อการเกิดเป็นพิษจากสารพิษเปลี่ยนแปลงไปได้

1.1) อุณหภูมิ ความเข้มข้นของสารพิษหรือเมตาบอไลต์ของสารพิษภายในร่างกายหรือที่อวัยวะจำเพาะที่จะเกิดการเกิดเป็นพิษขึ้นอยู่กับอัตราการดูดซึม การสะสม การเมแทบอลิซึม และการขับออกจากร่างกาย ซึ่งปัจจัยดังกล่าวเหล่านี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิภายนอกสามารถที่จะทำให้คนหรือสัตว์มีการตอบสนองต่อการเกิดเป็นพิษจากสารพิษแปรเปลี่ยนไปได้ จากการทดลองการเกิดเป็นพิษจากสารพิษในสัตว์ทดลอง พบว่า โดยทั่วไปแล้วการเกิดเป็นพิษจากสารพิษจะลดลงถ้าอุณหภูมิภายนอกเย็นและระยะเวลาของการแสดงอาการออกมาหลังจากได้รับสารพิษก็ช้ากว่าในกรณีที่อุณหภูมิภายนอกร้อน แต่ก็มีสารพิษอีกหลายชนิดเช่น นิโคติน อะโทรปีน และมาลาไรออน พบว่า การเกิดเป็นพิษจะเพิ่มมากขึ้นในภาวะที่อุณหภูมิภายนอกเย็น ซึ่งจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาถึงภาวะของอุณหภูมิภายนอกต่อการเกิดเป็นพิษจากสารพิษ จากการทดลองสารพิษที่ใช้กำจัดศัตรูพืช ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส นั้น พบว่า พาราไรออนจะทำให้มีฤทธิ์ในการกำจัดศัตรูพืชเพิ่มมากขึ้น ถ้าอุณหภูมิภายนอกร้อน ในทางตรงข้ามซาริน (sarin) ซึ่งมีฤทธิ์



ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสเช่นเดียวกันจะทำให้มีฤทธิ์ในการกำจัดแมลงเพิ่มมากขึ้น ถ้าอุณหภูมิภายนอกเย็น เป็นต้น

1.2) ความดันอากาศ ความดันอากาศภายนอกร่างกายสามารถมีผลต่อการเกิดเป็นพิษจากยาหรือสารพิษที่คนหรือสัตว์กินเข้าไป การทดลองถึงการเปลี่ยนแปลงความดันอากาศต่อการเกิดเป็นพิษของยานั้น มีประโยชน์ในทางคลินิกในกรณีที่มีการให้ยาควบคุมไปกับการให้ออกซิเจน การเปลี่ยนแปลงความดันอากาศมีผลต่อปริมาณของออกซิเจนในอากาศ แล้วมีผลต่อการตอบสนองต่อการเกิดพิษของยาหรือสารพิษที่ได้รับเข้าไปมากกว่า ที่จะเกิดจากความดันของอากาศโดยตรง นอกจากนี้ การเปลี่ยนแปลงความดันอากาศยังไปมีผลทำให้คนหรือสัตว์เกิดสภาวะเครียดขึ้น ซึ่งมีผลต่อการตอบสนองต่อสารพิษได้ จากการทดลองพบว่าในภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนสูงมีผลทำให้ระยะเวลาสลายของยาสลายพวกบาร์บิทูเรตสั้นลง ซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของยาสลายแต่อย่างไร ในทางคลินิกส่วนใหญ่จะให้ปริมาณออกซิเจนในอากาศสูงเพื่อนำมารักษาผู้ป่วยในกรณีที่เกิดการเป็นพิษจากก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ ไฮยาไนต์ และยาสลายพวกบาร์บิทูเรต

1.3) รังสี การทดลองส่วนใหญ่จะศึกษาถึงผลของรังสีต่อการเกิดเป็นพิษจากสารพิษ โดยพบว่า รังสีที่คนหรือสัตว์ได้รับนั้น จะไปมีผลต่อเยื่อชั้นระหว่างเลือดกับเนื้อเยื่อ การทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์ และมีผลต่ออัตราการขับออกของสารพิษของร่างกาย จากการทดลอง พบว่า สัตว์ทดลองที่ได้รับรังสีจะมีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในไมโครโซมของตับมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับปริมาณรังสีที่ได้รับ

2) ปัจจัยทางเคมีจากสิ่งแวดล้อม สารเคมีชนิดต่างๆ ที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมมีผลต่อการตอบสนองต่อการเกิดเป็นพิษจากสารพิษได้ โดยพบว่า สารเคมีจากสิ่งแวดล้อมสามารถที่จะเข้าสู่ร่างกายได้โดยการหายใจ หรือโดยการกินเข้าไปแล้วไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ในไมโครโซมของตับหรือไปมีผลต่อการดูดซึมการกระจายตัวและการขับออกของสารพิษจากร่างกายได้

3) ปัจจัยทางสังคม สภาวะแวดล้อมทางสังคมสามารถมีผลต่อการตอบสนองต่อการเกิดเป็นพิษจากสารพิษในคนและสัตว์ เช่น สภาวะความเป็นอยู่ จำนวนสัตว์ทดลองต่อกรง วัสดุที่ทำกรง วัสดุที่ใช้ในการรองรับสิ่งปฏิกูล และภาวะเสียงดัง เป็นต้น ล้วนแล้วแต่มีผลต่อการทำให้สัตว์ทดลองอยู่ในสภาวะเครียดแล้วไปมีผลต่อการตอบสนองต่อการเป็นพิษจากสารพิษได้

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง



กิตติพันธ์ ตันตระกูลโรจน์ และวรรณ สุวรรณเกิด (2542) ศึกษาฤทธิ์ป้องกันยุงของผลิตภัณฑ์ป้องกันยุงของผลิตภัณฑ์ที่ใช้น้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด และผิวเปลือกของผลมะกรูดมาผสมทำเป็นครีมป้องกันยุงกัด พบว่าเมื่อใช้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10, 5, 2.5 และ 1.25 v/v สามารถป้องกันยุงกัดได้นาน 4, 3, 5, 2.5 และ 1 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยให้ผลที่คล้ายกันทั้งการทดลองที่ทำในคนและหนูตะเภา และเมื่อนำไปทดสอบในภาคสนามโดยทาครีมที่ผิวหนังของอาสาสมัคร พบว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 v/v สามารถป้องกันยุงกัดได้ดี

พุทธิพร สายสงเคราะห์ (2549) ศึกษาปฏิกิริยาเอนไซม์เอสเทอร์เอส และกลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรสในหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* L.) หลังสัมผัสสารสกัดจากพืชบางชนิด ผลการศึกษาสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าและเมล็ดมันแกว ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนกระทู้ผัก โดยพบว่าระดับเอนไซม์เอสเทอร์เอส และกลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรสลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าและเมล็ดมันแกวเพิ่มขึ้น โดยในสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าพบว่าระดับเอนไซม์เอสเทอร์เอสลดลงร้อยละ 50.92 และระดับเอนไซม์กลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรสลดลงร้อยละ 14.81 ส่วนสกัดจากเมล็ดมันแกวพบว่าระดับเอนไซม์เอสเทอร์เอสลดลงร้อยละ 48.23 และระดับเอนไซม์กลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรสลดลงร้อยละ 19.04 และเมื่อศึกษาสารสกัดจากพริกขี้หนู พบว่าระดับเอนไซม์เอสเทอร์เอส และกลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรสเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกขี้หนูเพิ่มขึ้น โดยระดับเอนไซม์เอสเทอร์เอสเพิ่มขึ้นร้อยละ 25.33 และระดับเอนไซม์กลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรสเพิ่มขึ้นร้อยละ 6.66

โรสนานี แวมามะ (2549) ทำการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากสมุนไพรรอบบางชนิดต่อผีเสื้อข้าวสาร (*Corcyra cephalonica* Stainton) และผลที่มีต่อเอนไซม์เอสเทอร์เอส และกลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรส โดยศึกษาสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า หัวแห้วหมู และเมล็ดมันแกวต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนผีเสื้อข้าวสาร ในการทดสอบสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าและเมล็ดมันแกว พบว่าระดับเอนไซม์เอสเทอร์เอส ลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มสูงขึ้น ส่วนในสารสกัดจากหัวแห้วหมู ระดับเอนไซม์เอสเทอร์เอสในหนอนผีเสื้อข้าวสารเพิ่มขึ้นในความเข้มข้นร้อยละ 5 และ 10 และลดลงในความเข้มข้นร้อยละ 15, 20 และ 25 แต่ในทุกกลุ่มความเข้มข้นพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการศึกษาระดับเอนไซม์กลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรสในหนอนผีเสื้อข้าวสาร พบว่าเมื่อทดสอบด้วยสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรสเพิ่มขึ้น ในกลุ่มความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0 และ 1.5 และลดต่ำลงที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 และ 2.5 แต่ในทุกกลุ่มความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในสารสกัดหัวแห้วหมู พบว่าระดับเอนไซม์กลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรส มีค่าเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 และ 10 และลดต่ำลงที่ความเข้มข้นร้อยละ 15, 20 และ 25 แต่ในทุกกลุ่มความเข้มข้นพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ทิพนาด อันตรเสน (2550) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชบางชนิดต่อเปอร์เซ็นต์การตาย ระดับเอนไซม์เอสเทอเรส และกลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรส ในแมลงวันผลไม้ (*Bactrocera dorsalis* Hendel) พบว่าผลจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ทำลายพืช 2 ชนิด คือ เอสเทอเรส และกลูตาไทโอนทรานสเฟอเรส ในแมลงวันผลไม้ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงเอนไซม์ที่แตกต่างกัน ส่วนการทดสอบสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดนี้ในระยะตัวเต็มวัย ผลของการเปลี่ยนแปลงเอนไซม์ทำลายพืช มีดังนี้ เมื่อได้รับสารสกัดจากหางไหล และเมล็ดน้อยหน่าระดับเอนไซม์เอสเทอเรสมีค่าลดลง แต่ระดับกลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรส มีระดับสูงขึ้น ส่วนการได้รับสารสกัดจากประคำดีควายพบว่า ตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้มีระดับเอนไซม์เอสเทอเรส และกลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรสเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารสกัดจากประคำดีควายไปเหนี่ยวนำให้มีการสร้างเอนไซม์ทั้งสองชนิดขึ้นในตัวเต็มวัย

พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์ (2550) ศึกษาการพัฒนาเจลไถ่ยุงที่มีส่วนผสมของน้ำหอมระเหยจากสมุนไพร โดยมีวัตถุประสงค์พัฒนาตำรับเจลไถ่ยุงซึ่งอาจก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังของผู้ใช้ สูตรตำรับเจลไถ่ยุง ประกอบด้วย N,N-diethyl-3-methylbenzamide (DEET) และน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรบางชนิด ได้แก่ ตะไคร้หอม สะระแหน่ กะเพรา โหระพาและมะกรูด และใช้คาร์ราจีแนนซึ่งเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติเพื่อเป็นสารก่อเจลโดยทดสอบ และควบคุมคุณภาพของเจลที่ได้โดยการประเมินคุณสมบัติ ความแรงของกลิ่น การวัดความแข็ง และความเป็นต่างของเจล รวมทั้งศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ และควบคุมคุณภาพที่ได้โดยการสังเกตลักษณะภายนอกคุณภาพจากการวิเคราะห์สารสำคัญและการทดสอบประสิทธิภาพในการไถ่ยุง พบว่า สูตรตำรับที่ใช้สารอิมัลชันในสัดส่วนต่างกัันมีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพของเจลที่เตรียมได้ผลการศึกษาความคงตัวของเจลพื้น และเจลไถ่ยุงที่เตรียมได้ที่สภาวะเร่ง (อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75) ในสภาวะปกติ ที่เวลา 2 เดือน/หรือ 4 เดือน พบว่าเก็บไว้นานขึ้นเจลที่เก็บได้มีความแข็งแรงลดลง ในบางส่วนมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และการศึกษาปริมาณการปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยเจลไถ่ยุง พบว่า เจลไถ่ยุงที่ศึกษาความคงตัวในสภาวะปกติที่เวลา 4 เดือน มีอัตราการปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหยได้มากกว่าเจลไถ่ยุงที่เตรียมเสร็จใหม่ ซึ่งอาจมาจากน้ำมันหอมระเหยเกิดการอิมัลชันตัวเจลพื้นหรือเจลที่มีคุณสมบัติเปลี่ยนแปลงไป โดยมีอัตราการปลดปล่อยของน้ำมันหอมระเหยลดลงเมื่อทำการทดสอบต่อเนื่องเป็นเวลา 7 วัน วัดผลการทดสอบประสิทธิภาพการไถ่ยุง พบว่า เจลไถ่ยุงที่มีส่วนผสมของ DEET และน้ำมันหอมระเหยที่มีส่วนใหญ่มิร้อยละของการไถ่ยุงสูง โดยสามารถไถ่ยุงได้ลดลงในช่วงวันที่สามและเพิ่มขึ้นในวันที่ 7 ซึ่งน่าจะเกิดจากผลเด่นของน้ำมันหอมระเหย เนื่องจาก DEET สามารถไถ่ยุงได้ลดลงเมื่อเปิดทิ้งไว้หลายวัน โดยเจลไถ่ยุงประกอบด้วยน้ำมันตะไคร้หอม น้ำมันสะระแหน่ และน้ำมันมะกรูดสามารถไถ่ยุงได้ดี แม้จะเปิดทิ้งไว้ให้ระเหยนานถึง 7 วัน

อัญญา ประศาสน์วิทย์ (2551) ศึกษาสมุนไพรพื้นบ้านที่มีฤทธิ์เฉพาะเจาะจงในการควบคุมพาหะนำโรคติดต่อระหว่างประเทศในหลอดทดลอง วัตถุประสงค์คือเพื่อทราบชนิดความเข้มข้น



สรรพคุณและส่วนที่ออกฤทธิ์ของพืชสมุนไพรพื้นบ้านของไทยที่สามารถนำมาใช้กำจัดหรือป้องกันแมลง โดยสมุนไพรที่เป็นน้ำมันหอมระเหยได้แก่ กะเพรา เจอราเนียม ไพล กานพลู กายาน ขมิ้น ตะไคร้หอม กล้วยาแฟ น้ำมันส้ม กระชาย แมลงที่ใช้ทดสอบได้แก่ ยุงลายบ้านตัวเต็มวัย (*Ae. aegypti*) และไรอ่อน ชนิด *Leptotrombidium imphalum* การทดสอบจะดำเนินการในหลอดทดลองโดยมีการตรวจสอบประสิทธิภาพของสมุนไพรทุก 5 นาที ผลปรากฏว่าสมุนไพรที่ใช้ในการไล่ยุงได้ดีที่สุด (ไม่ใส่หนูในกรงทดลอง) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 ได้แก่ กานพลู เจอราเนียม กะเพรา กายาน ตะไคร้หอม ไพล ขมิ้น กล้วยาแฟ ตามลำดับ หากใส่หนูรวมกับสมุนไพรพบว่าให้ผลดีทุกตัว โดยที่ตัวที่ให้ผลดีที่สุดคือ ไพล รองลงมาคือ กะเพรา กล้วยาแฟ กายาน ขมิ้น ตะไคร้หอม เจอราเนียม การพลู ตามลำดับ สำหรับการทดสอบกับไรอ่อน พบว่าสมุนไพรที่ใช้ได้ผลดีมีเพียงสองตัวคือ ไพลและกานพลู นอกนั้นได้ผลการไล่เพียงร้อยละ 20-50 เท่านั้น

ปาริชาติ อุทุม (2552) ได้ศึกษาอิทธิพลของสารซาโปนินจากกากเมล็ดชาต่อความเป็นพิษ และ เอนไซม์เอสเทอร์เลส กลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรสต่อสัตว์ และศัตรูพืชบางชนิด พบว่าสารสกัดจากกากเมล็ดชาในหนูขาวเล็ก จะทำให้เปอร์เซ็นต์การตายของหนูขาวเล็กเพศผู้สูงกว่าเพศเมียประมาณ 3-5 เท่า โดยความเป็นพิษจากการกินในหนูเพศผู้ มีค่าเท่ากับ 6.8 กรัมต่อกิโลกรัม และเพศเมียมีค่าเท่ากับ 20.1 กรัมต่อกิโลกรัม หรือระดับความเป็นพิษจากการกินอยู่ระหว่าง 6,000 ถึง 20,000 ppm โดยไม่พบการอักเสบที่ผิวหนัง (Contact poison) และตา (Eye irritation test) ทุกความเข้มข้นของสารสกัด และพบว่าระดับเอนไซม์เอสเทอร์เลส และกลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรส เพิ่มขึ้นขึ้นถึง 2.5 เท่า และทุกการทดลองไม่พบว่าการเปลี่ยนแปลงระดับโปรตีนในเนื้อเยื่อที่ทำการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

อรณพ จงเจริญ (2552) ศึกษาการเปรียบเทียบความเป็นพิษที่มีต่อลูกน้ำยุงลายบ้านของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่สกัดด้วยตัวทำละลายและการกลั่นด้วยไอน้ำ เพื่อใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรในกลุ่มที่มีน้ำมันหอมระเหย ประกอบด้วย ตะไคร้หอม กะเพรา โหระพา สะระแหน่ มะกรูด และแมงลัก ในการกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้านระยะที่ 3 ตอนปลาย เปรียบเทียบระหว่างการสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95% น้ำกลั่น และการกลั่นด้วยไอน้ำ โดยวิเคราะห์ในรูปมัธยฐานของระดับความเข้มข้น (LC_{50}) ในเวลา 72 ชั่วโมง ด้วยโปรแกรม probit analysis สารสกัดจากพืชสมุนไพรที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ที่มีความเป็นพิษสูง คือ โหระพา โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 14.45, 21.24, 27.06, 30.45 และ 33.79 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่สกัดด้วยน้ำกลั่น ที่มีความเป็นพิษสูงสุดคือมะกรูด โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 551.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ แมงลัก โหระพา สะระแหน่ กะเพรา และตะไคร้หอม โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 589.49, 639.52, 643.70, 706.80 และ 761.34 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่สกัดด้วยการกลั่นไอน้ำ ที่มีความเป็นพิษสูงสุด คือ โหระพา โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.058 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ



กะเพรา สะระแหน่ มะกรูด ตะไคร้ และแมงลัก โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.064, 0.074, 0.087, 0.100 และ 0.106 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ณัฐยา สัทธานนท์ (2553) ได้นำน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร 5 ชนิด คือ ผิวมะกรูด (*Citrus hystrix*) ผิวส้มจีน (*Citrus reticulata*) เหง้ากระเทียม (*Zingiber zerumbet*) ดอกตูมของกานพลู (*Eugenia caryophyllata*) และเหง้าเปราะหอม (*Kaempferia galanga*) มาสกัดน้ำมันหอมระเหย โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation) เพื่อทดสอบฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลาย *Ae. aegypti* สายพันธุ์ที่ดื้อและสายพันธุ์ที่ไวต่อสารกลุ่มไพรีทรอยด์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยทั้งหมดมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงทั้งสองสายพันธุ์ได้ โดยน้ำมันหอมระเหยจากผิวส้มจีนมีฤทธิ์สูงสุด รองลงมาคือ ผิวมะกรูด เหง้ากระเทียม เหง้าเปราะหอม และดอกตูมของกานพลู ตามลำดับ โดยพบว่าค่า LC_{50} ในการทดสอบกับลูกน้ำยุงลาย สายพันธุ์ที่ดื้อต่อสารเคมีกลุ่มไพรีทรอยด์จะสูงกว่าในยุงลายสายพันธุ์ที่ไวเล็กน้อย

รัตน ทวีเดช (2554) ศึกษาประสิทธิภาพของเจลไต้ยุงที่มีสารออกฤทธิ์ที่ได้จากน้ำมันหอมระเหย ของมะกรูด สะระแหน่ กานพลู ใพล และกระชาย พบว่า เจลไต้ยุงขนาด 2.5 กรัม ที่เตรียมเสร็จแล้วเก็บไว้ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิทและทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 2 เดือน แล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการไล่ยุงลายบ้านนั้น เจลไต้ยุงที่มีสารออกฤทธิ์จากน้ำมันหอมระเหยกานพลู มีประสิทธิภาพสูงสุดในการไล่ยุงลายบ้าน โดยมีจำนวนยุงที่บินหนี เท่ากับ 93 ตัว เมื่อเปิดใช้เจลในวันที่ 7 และ จำนวนยุงที่บินหนี จะลดลงมาเท่ากับ 85, 83 และ 65 ตัว ตามลำดับ เมื่อเปิดใช้เจลในวันที่ 10 วันที่ 18 และ วันที่ 26 ตามลำดับ ส่วนของเจลไต้ยุงที่มีสารออกฤทธิ์จากน้ำมันหอมระเหยใพล มีประสิทธิภาพสูงสุดในระดับสูงในการไล่ยุงลายบ้าน โดยมี จำนวนยุงที่บินหนี เท่ากับ 83 ตัว เมื่อเปิดใช้เจลในวันที่ 10 และ Reduction จำนวนยุงที่บินหนี จะลดลงมาเท่ากับ 79 ตัว และ 73 ตัว เมื่อเปิดใช้เจลในวันที่ 18 และวันที่ 26 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าเจลไต้ยุงขนาด 10 กรัม ที่เตรียมเสร็จแล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการไล่ยุงลายบ้านนั้น เจลไต้ยุงที่มีสารออกฤทธิ์จากน้ำมันหอมระเหยมะกรูด มีประสิทธิภาพสูงสุดในการไล่ยุงลายบ้าน โดยมี จำนวนยุงที่บินหนี เท่ากับ 96 ตัว เมื่อใช้เจลในวันที่ 1 และ จำนวนยุงที่บินหนี จะลดลงมาเท่ากับ 79 ตัว และ 60 ตัว เมื่อใช้เจลในวันที่ 7 และ วันที่ 15 ตามลำดับ ผลการวิจัยสรุปได้ว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลู ใพล และมะกรูด มีประสิทธิภาพในการไล่ยุงลายบ้านอยู่ในระดับสูงเมื่อนำมาพัฒนาตำรับเป็นเจลไต้ยุงและมีศักยภาพสูงในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ไล่ยุงต่อไป

เรวดี ชูช่วย (2541) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus* Jewitti) และ สะเดา (*Azadirachta indica* var. *siamensis* Valetton) กับ การเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษในเห็บสุนัข (*Rhipicephalus sanguineus* Latreille) พบว่าสารสกัดจากใบตะไคร้หอม ที่ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมที่จะทำให้เห็บหนีได้ดี และจากการวิเคราะห์ปฏิกิริยาเอนไซม์ทำลายพิษ พบว่าเอนไซม์ esterase, cholinesterase ลดลง 30 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ เอนไซม์ GSH ไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



วรสิทธิ์ ไหลหลั่ง และวาสนา สอนเพ็ญ (2550) ได้ศึกษาความต้านทานของยุงลายต่อสารเคมีที่ใช้ในการควบคุมโรคไข้เลือดออกจังหวัดมุกดาหาร 7 อำเภอ ได้แก่ เมือง นิคมคำสร้อย คำชะอี ดอนตาล หนองสูง ดงหลวง และห้วยน้ำใหญ่ พบว่า ยุงลายในทุกพื้นที่มีความไวต่อกระดาษชุบสารเคมีเดลต้ามีทรีน 0.05% มาลาไอออน 5% และเพนิโตรไอออน 1% ในระดับปานกลางถึงสูง แต่มีความไวต่อกระดาษชุบสารเคมีเพอร์มีทรีน 0.75% ในระดับต่ำ และเมื่อนำยุงมาทำการตรวจสอบปริมาณเอนไซม์ 3 ชนิด พบว่าปริมาณเอนไซม์ esterase และ glutathione-S-transferase มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยที่ปริมาณเอนไซม์ทั้งสองแสดงความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์มาตรฐานกับสายพันธุ์ที่ทำการศึกษาคัดเจนที่สุด ดังนั้นจึงมีแนวโน้มว่าเอนไซม์ทั้งสองชนิดมีความสำคัญในการสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงของยุงลาย

วรสรรค์ ธรรมสร้างกูร (2543) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus* Jewitti) ต่อเปอร์เซ็นต์การตายและระดับเอนไซม์ทำลายพิษบางชนิด ในลูกน้ำยุงรำคาญ (*Culex pipien quinquefasciatus*) พบว่า สารสกัดจากตะไคร้หอมสามารถฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญได้ดีโดยมีค่า LC_{50} เป็น 7.88 และ 4.31 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 24 และ 30 ชั่วโมง ตามลำดับ และ ผลจากการศึกษาเอนไซม์ พบว่า สารสกัดจากตะไคร้หอมมีผลทำให้ระดับของ esterase และ glutathione-S-transferase ในลูกน้ำยุงรำคาญเพิ่มขึ้น 1.3-2.0 เท่าจากลูกน้ำปกติในเวลา 24 ชั่วโมง

Mendonca et al. (2005) ได้ศึกษาผลของสารสกัด และน้ำมันของพืชที่มีความสำคัญทางด้านการแพทย์ของ Brazil ซึ่งได้มีการนำมาทดสอบกับลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti* L.) และน้ำมันจากมะม่วงหิมพานต์ (*Anacardium occidentale*) พืชที่อยู่ในแถบตะวันออกเฉียงใต้ของ Brazil (*Copaifera langsdorffii*) ตะบูน (*Carapa guianensis*) ตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus*) และสาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides*) โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 14.5, 41, 57, 98 และ 148 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ



บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัสดุอุปกรณ์

กรงเลี้ยงยุง กรงเลี้ยงหนู ภาชนะพลาสติก ภาชนะอลูมิเนียม กล่องพลาสติก ถ้วยพลาสติก ปีกเกอร์ขนาด 2000, 500, 250 และ 100 มิลลิลิตร แท่งแก้ว กระบอกตวงขนาด 500 มิลลิลิตร ไมโครปิเปต หลอดหยด เครื่องชั่งละเอียด โกร่งบด กล้องโพร้ม ขวดแก้วใส่สารเคมี สำลี ผ้าขาวบาง ขวดรูปชมพู่ขนาด 100 และ 500 มิลลิลิตร หลอดทดลอง ตะแกรงใส่หลอดทดลอง ปากคืบ มีด เขียง ถังมือยาง กระชอน กระจกทึบ ขลุ่ยพลาสติก พาราฟิล์ม กระจกอลูมิเนียมฟอยด์ คิวเวต เครื่อง Centifuge เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer), microtube, Hot air oven, rotary vacuum evaporator, volumetric flask

3.1.2 สารเคมี

น้ำกลั่น, Hexane, Ethyl alcohol, Ethanol, Potassium Phosphate buffer, EDTA, GSH, Polyvinyl pyrrolidone (PVP), Paranitrophenyl acetate (pNPA), Potassium Phosphate buffer, bovine serum albumin, Coomassie Brilliant blue R

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 สัตว์ทดลอง

ลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linn). วัย 1 ถึงวัย 4

ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 อายุ 30 ชั่วโมง

ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 อายุ 36 ชั่วโมง

ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 อายุ 60 ชั่วโมง

ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 อายุ 72 ชั่วโมง

3.2.2 พืชที่ใช้ในการทดลอง

3.2.2.1 ตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.) เลือกใช้ส่วนที่เป็นใบ

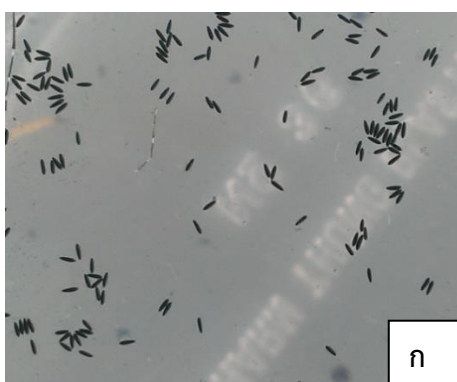
3.2.2.2 มะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) เลือกใช้ส่วนผิว

3.2.3 ขั้นตอนดำเนินการทดลอง



3.2.3.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง ขอความอนุเคราะห์ไข่ยุงลาย จากกรมควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลง กระทรวงสาธารณสุข นำไปเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อให้มีจำนวนเพียงพอต่อการทดลอง โดยมีขั้นตอนการเพาะเลี้ยงดังนี้ (ภาพประกอบ 3.1)

- 1) นำไข่ยุงลาย แคลงในถาดพลาสติก ที่ใส่น้ำครึ่งถาด ใช้เวลาประมาณ 30 นาที ไข่จะเริ่มฟักเป็นตัว เรียกว่าลูกน้ำยุงลายวัยที่ 1
- 2) นำลูกน้ำยุงลายวัยที่ 1 ที่ฟักออกมาในปริมาณมากพอเปลี่ยนลงในถาดพลาสติกที่มีน้ำประมาณ 1 ส่วน 4 ของถาด
- 3) เริ่มให้อาหารแก่ลูกน้ำยุงลายโดยใช้อาหารปลาบดละเอียด วันละ 2 ครั้ง คือช่วงเช้าและช่วงเย็น
- 4) เลี้ยงลูกน้ำยุงลายครบ 3 วัน จะทำการเปลี่ยนน้ำใหม่เพื่อไม่ให้ น้ำสกปรก โดยใช้ น้ำประปาตั้งทิ้งไว้ไม่น้อยกว่า 7 วัน และใช้หลอดดูด (dropper) ดูดลูกน้ำยุงลายแยกออกใส่ถาดเพื่อไม่ให้หนาแน่นจนเกินไป
- 5) เลี้ยงลูกน้ำยุงลายประมาณ 4-5 วัน จะเริ่มลอกคราบเป็นตัวโม่งใช้หลอดดูด ดูดใส่ในถ้วยพลาสติก นำไปวางในกรงเลี้ยงยุงประมาณ 2-3 วัน จะเริ่มลอกคราบเป็นตัวเต็มวัย
- 6) เริ่มให้อาหารโดยใช้น้ำหวาน 10 เปอร์เซ็นต์ และเปลี่ยนสำลีสูดน้ำหวาน 2 วันต่อครั้ง
- 7) เมื่อยุงลายตัวเต็มวัยมีอายุ 3 วัน เริ่มให้เลือดของหนูแฮมสเตอร์เป็นอาหาร โดยนำหนูแฮมสเตอร์ ใส่ในกรงขนาดพอดีตัว จากนั้นนำกรงหนูแฮมสเตอร์ใส่ในกรงเลี้ยงยุง
- 8) เมื่อให้เลือดยุงลาย ครบระยะเวลา 2-3 วัน เตรียมที่ให้ยุงลายวางไข่ในถาดพลาสติก แล้วนำไปวางไว้ในกรงเลี้ยงยุง ยุงจะเริ่มวางไข่บนผิวน้ำ





ภาพประกอบ 3.1 สภาพการเพาะเลี้ยงลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linn.)

- ก. ระยะไข่ ข. ภาชนะสำหรับเลี้ยงลูกน้ำยุงลาย
ค. ดักแด้หรือตัวโม่ง ง. ตัวเต็มวัย

3.2.4 การเตรียมสารสกัดจากพืช

3.2.4.1 พืชที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ใบตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) และผิวมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) โดยตะไคร้หอมใช้เฉพาะส่วนใบ และนำมาตัดเป็นท่อนยาวประมาณ 3 นิ้ว สำหรับมะกรูดหั่นเฉพาะบริเวณส่วนผิวให้เป็นชิ้นบางๆ (ภาพประกอบ 3.2) อบที่ความร้อน 40-60 องศาเซลเซียสด้วยเครื่องอบลมร้อน (hot air oven) จนแห้งสนิท นำเก็บในถุงพลาสติก และมัดปากถุงให้สนิท

3.2.4.2 การสกัดโดยวิธีหมักด้วยเฮกเซน (hexane) นำใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด มาชั่งอย่างละ 500 กรัม ใส่ลงในภาชนะโหลแก้วจากนั้นเทตัวทำละลายเฮกเซนลงไปจนท่วม (1:2) ปิดปากภาชนะด้วยอลูมิเนียมฟอยด์ และตามด้วยแผ่นพาราฟิล์มเป็นลำดับสุดท้าย แช่ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ในระหว่างทำการหมักควรมีการเขย่าหรือทำการพลิกสมุนไพร เพื่อให้สมุนไพรสัมผัสตัวทำละลายได้ทั่วถึง จากนั้นนำมารองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกกากและสารละลายออกจากกัน จะได้สารสกัดในรูปของสารสกัดหยาบ นำไปตั้งเฮกเซน ออกจากสารสกัดโดยกลั่นด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารสูญญากาศแบบหมุน (rotary vacuum evaporator) จะได้เฉพาะสารสกัดในรูปของสารสกัดหยาบ (ภาพประกอบ 3.3) นำไปเก็บไว้ในตู้เย็นภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทดสอบลูกน้ำยุงต่อไป

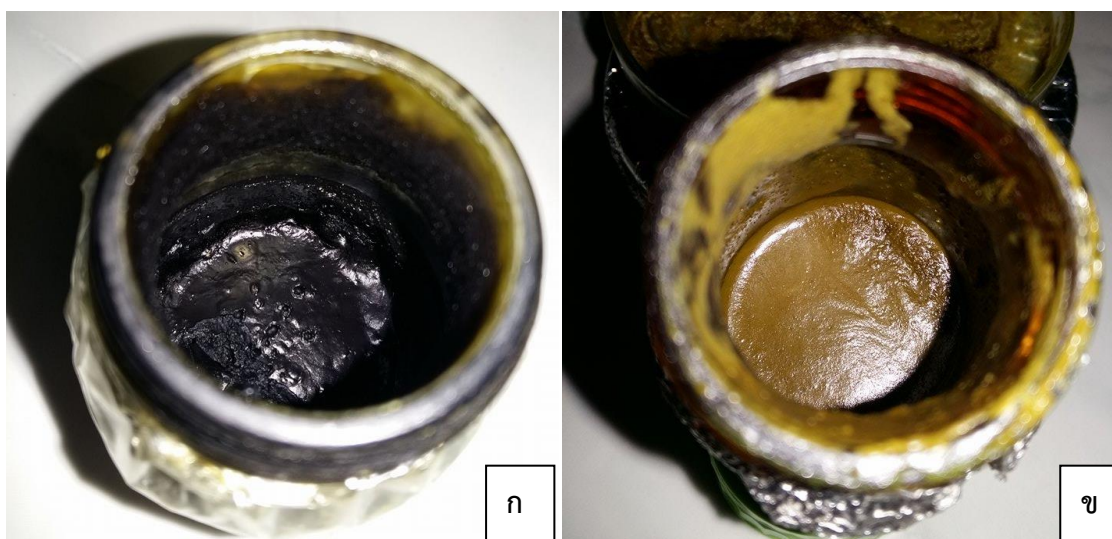
3.2.4.3 เตรียมความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม และผิวมะกรูด 5 ระดับความเข้มข้น เพื่อใช้ในการทดสอบความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงลาย โดยการเตรียมสารละลายตั้งต้น (stock solution) จากนั้นนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ตามความเข้มข้นที่ต้องการ





ภาพประกอบ 3.2 ลักษณะส่วนของพืชที่นำมาใช้ในการสกัดสาร

ก. ใบตะไคร้หอม ข. ผิวมะกรูด



ภาพประกอบ 3.3 ลักษณะสารสกัดหยาบที่นำมาใช้ในการทดลอง

ก. สารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม ข. สารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด

3.2.5 วิเคราะห์ปริมาณสารซิโทรเนลลา (citronella)

3.2.5.1 เตรียมสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด

3.2.5.2 วิเคราะห์หาปริมาณสารซิโทรเนลลา (citronella) ของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด ด้วยวิธี แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS)) โดยใช้เครื่องตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector (FID) คอลัมน์ Rtx-1MS แบบ capillary ชนิด non-polar ขนาด 30 เมตร × 0.32 มิลลิเมตร ฟิมล์เคลือบหนา 0.25 ไมโครเมตร ใช้แก๊สฮีเลียม (Helium) เป็น carrier gas ด้วยอัตราเร็ว 1 มิลลิลิตรต่อนาที

ปริมาณตัวอย่างที่ฉีด 1 ไมโครลิตร และใช้โปรแกรม ควบคุมอุณหภูมิ ดังนี้ ตั้งอุณหภูมิของคอลัมน์เป็น 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที โปรแกรมเครื่องเป็น 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที โดยเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตราเร็ว 3 องศาเซลเซียสต่อนาที จากนั้นเพิ่มเป็น 270 ด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 16 นาที และใช้ Software MSD Chem Station ในการควบคุมการทำงานและประเมินผล นำผลที่ได้เปรียบเทียบกับ mass spectra index ของ Wiley 7n.l MS Search และคำนวณปริมาณสารจากพื้นที่ใต้กราฟ

3.2.6 วิธีการทดสอบความเป็นพิษ

3.2.6.1 วางแผนการทดลองแบบ (completely randomized design, CRD) ทำการทดลอง 5 กรรมวิธีๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 60 ตัว

3.2.6.2 เลือกลูกน้ำยุงลายวัย 1 ถึงวัย 4 ตอนต้นที่แข็งแรงเตรียมไว้เพื่อใช้ในการทดสอบ (ภาพประกอบ 3.4)

3.2.6.3 ทดสอบพิษของสารสกัดจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูดต่อลูกน้ำยุงลายวัย 1 ถึงวัย 4 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้

สารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม ใช้ 5 ระดับความเข้มข้น คือ

กลุ่มที่ 1 ความเข้มข้น 0 ppm (กลุ่มควบคุม)

กลุ่มที่ 2 ความเข้มข้น 500 ppm

กลุ่มที่ 3 ความเข้มข้น 1,000 ppm

กลุ่มที่ 4 ความเข้มข้น 2,000 ppm

กลุ่มที่ 5 ความเข้มข้น 4,000 ppm

สารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด ใช้ 5 ระดับความเข้มข้น คือ

กลุ่มที่ 1 ความเข้มข้น 0 ppm (กลุ่มควบคุม)

กลุ่มที่ 2 ความเข้มข้น 2.5 ppm

กลุ่มที่ 3 ความเข้มข้น 5 ppm

กลุ่มที่ 4 ความเข้มข้น 7.5 ppm

กลุ่มที่ 5 ความเข้มข้น 10 ppm

3.2.6.4 บันทึกการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึง วัย 4 ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

3.2.7 การวิเคราะห์ผล



3.2.7.1 วิเคราะห์อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัด
 หยาดจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด ด้วยสถิติ One-Way ANOVA โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี
 Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

3.2.7.2 วิเคราะห์ความเป็นพิษของสารสกัดจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด แสดงค่าใน
 รูป LC_{50} ด้วยวิธี probit analysis และ regression analysis ด้วยโปรแกรม Sigma Plot



ภาพประกอบ 3.4 ลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linn.) วัย 1 ถึงวัย 4

ก. ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ข. ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2

ค. ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 ง. ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4

3.2.8 การตรวจวัดการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์เลสหลังได้รับสารสกัดจากใบตะไคร้หอม และผิวมะกรูด

3.2.8.1 การเตรียมตัวอย่าง

1) ให้สารสกัดจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ แก่ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

2) เลือกเอาลูกน้ำยุงลายที่รอดตายมาสกัดเอนไซม์เอสเทอร์เลส

3.2.8.2 การสกัดเอนไซม์เอสเทอร์เลส

1) นำลูกน้ำยุงลายที่รอดตายแต่ละวัย ไปบดในโกร่งที่แช่ในน้ำแข็ง โดยเติมสาร 0.1 M potassium phosphate buffer + ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) [ผสม 0.1 M potassium phosphate buffer ปริมาตร 1 ลิตร และ 1 mM GSH ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร และเติม polyvinyl pyrrolidone (PVPP) ปริมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ w/w บดให้ละเอียด

2) กรองสารสกัดที่ได้ใส่หลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร

3) นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ด้วยแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง 10,000 g เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4) ดูดเอนไซม์ (supernatant) ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร นำมาตรวจวัดการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์เลส

3.2.8.3 วิธีการวัดระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์เลส โดยใช้วิธี pNPA assay ของ Visetson et al. (2003) วัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) และตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์เลสด้วยโปรแกรม Kinlab ดังนี้ (ภาพประกอบ 3.5)

1) หาค่า potassium phosphate buffer ที่เหมาะสม

1.1) เตรียม blank โดยเติมสารละลาย 0.1 M potassium phosphate buffer ที่ pH 2 -14 ตามลำดับ ปริมาตร 2,900 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย 0.1 M potassium phosphate buffer + EDTA ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และเติมซับสเตรสเตรท paranitrophenyl acetate (pNPA) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในควีเวต ผกด้วยพาราฟิมล์เขย่าอย่างเบามือและรวดเร็ว แล้วนำไปวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร เป็นเวลา 3 นาที

1.2) ดูดเอนไซม์ที่เตรียมไว้ตัวอย่างละ 50 ไมโครลิตร เติมสารเติมสารละลาย 0.1 M Potassium phosphate buffer ที่ pH 2 -14 ตามลำดับ ปริมาตร 2,900 ไมโครลิตร และเติมซับสเตร



รท paranitrophenyl acetate (pNPA) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงไปในคิวเว็ต ผนึกด้วยพาราฟิล์ม เขย่าอย่างเบามือและรวดเร็วแล้วนำไปวัดระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตรเป็นเวลา 3 นาที

3.2.8.4 วิธีตรวจการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์

1) เตรียม blank โดยเติมสารละลาย 0.1 M potassium phosphate buffer pH 8 ปริมาตร 2,900 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย 0.1 M Potassium Phosphate buffer + EDTA ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และเติมซับสเตรสทรท paranitrophenyl acetate (pNPA) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงไปในคิวเว็ต ผนึกด้วยพาราฟิล์ม เขย่าอย่างเบามือและรวดเร็วแล้วนำไปวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร เป็นเวลา 3 นาที

2) ดูดเอนไซม์ที่เตรียมไว้ตัวอย่างละ 50 ไมโครลิตร เติมสารเติมสารละลาย 0.1 M potassium phosphate buffer pH 8 ปริมาตร 2,900 ไมโครลิตร และเติมซับสเตรสทรท paranitrophenyl acetate (pNPA) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงไปในคิวเว็ต ผนึกด้วยพาราฟิล์ม เขย่าอย่างเบามือและรวดเร็วแล้วนำไปวัดระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตรเป็นเวลา 3 นาที

3) วิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด โดยประเมินค่าด้วยโปรแกรม SPSS

3.2.9 ตรวจสอบปริมาณโปรตีน โดยใช้วิธี Bradford ตามวิธีการของ

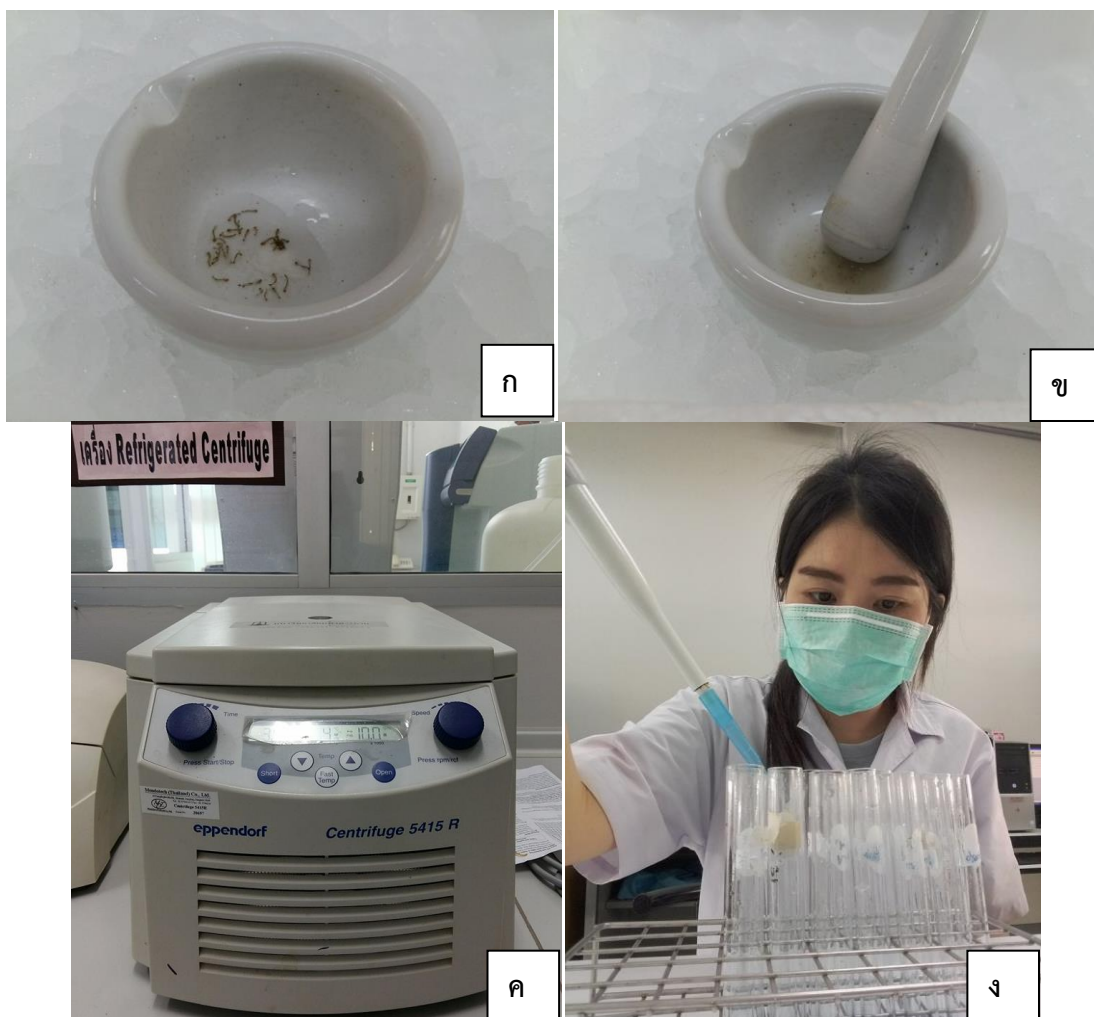
Marion M. Bradford (1976)

3.2.9.1 เตรียม blank เติมสารละลาย Bradford solution 1,000 μ l ใส่ลงไปในคิวเว็ต ผนึกด้วยพาราฟิล์ม เขย่าอย่างเบามือและรวดเร็ว แล้วนำไปวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร เป็นเวลา 3 นาที

3.2.9.2 เติมสารละลาย Bradford solution ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร และดูดเอนไซม์ที่เตรียมไว้ตัวอย่างละ 100 ไมโครลิตร ใส่ลงไปในคิวเว็ต ผนึกด้วยพาราฟิล์ม เขย่าอย่างเบามือและ



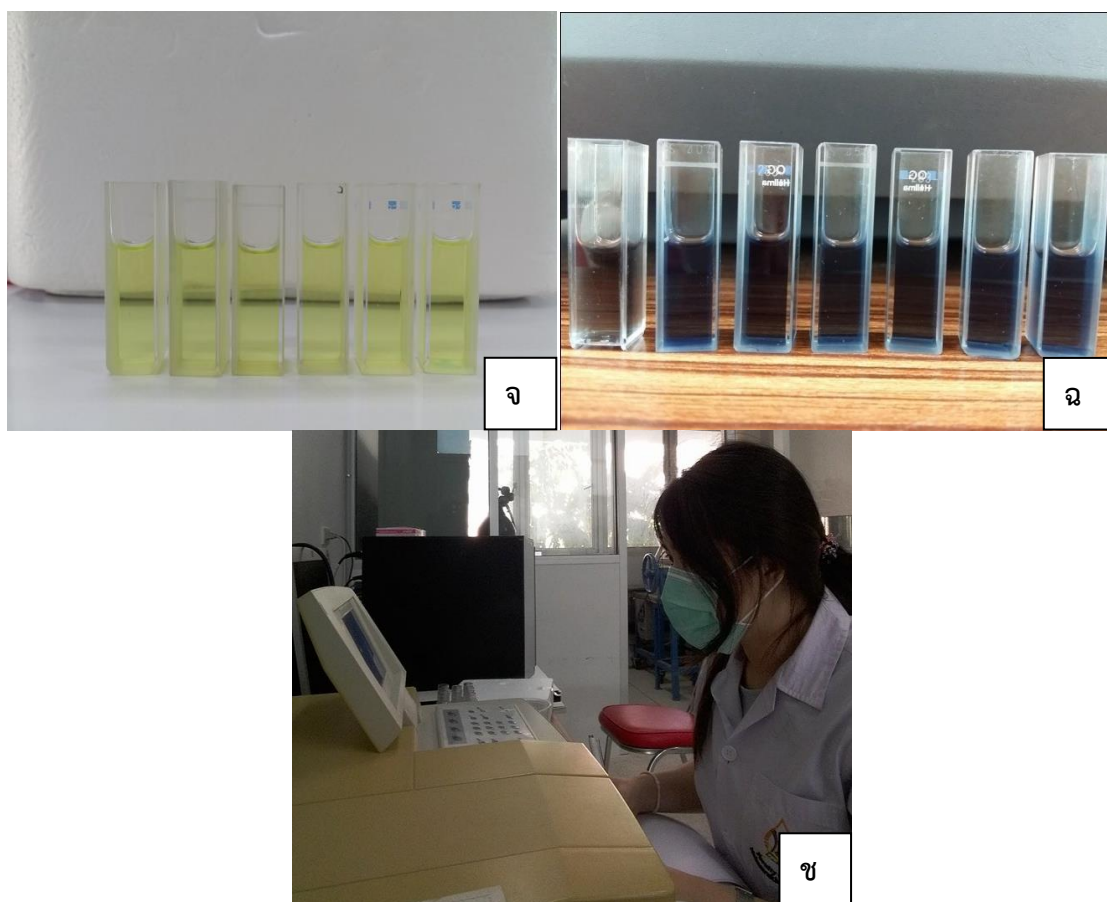
รวดเร็ว แล้วนำไปวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร เป็นเวลา 3 นาที



ภาพประกอบ 3.5 ขั้นตอนการตรวจวัดการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรส

- ก. ลูกล้างลายบ้านที่รอดตาย ข. สกัดเอนไซม์เอสเทอเรส
- ค. นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
- ง. ดูดเอนไซม์ (Supernatant) ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร





ภาพประกอบ 3.5 ขั้นตอนการตรวจวัดการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ส (ต่อ)

- จ. ลักษณะของสารละลายเพื่อศึกษาการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ส
- ฉ. ลักษณะของสารละลายเพื่อศึกษาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford
- ช. ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer)

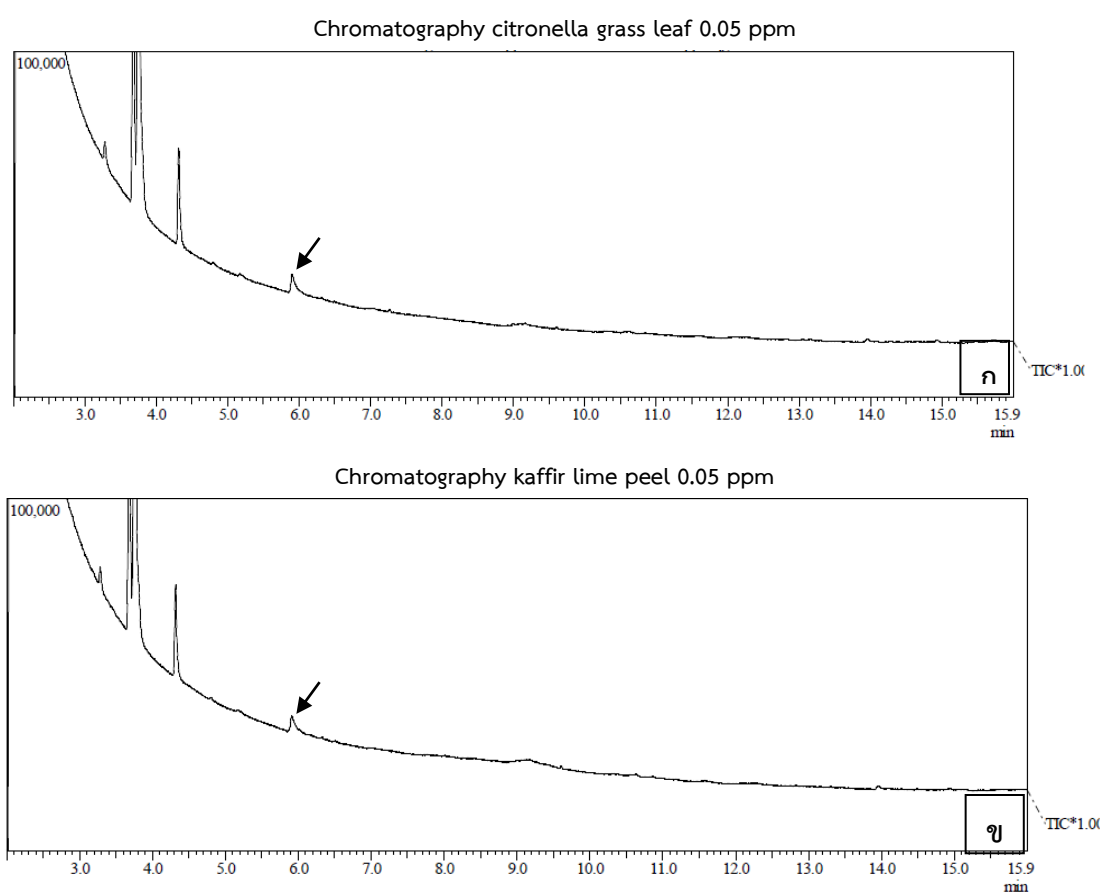


บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารซิโทรเนลลา (citronella) ในใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารซิโทรเนลลา (citronella) ในสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม และผิวมะกรูด ด้วยวิธี แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS)) โดยใช้เครื่องตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector (FID) คอลัมน์ Rtx-1MS แบบ capillary ชนิด non-polar ขนาด 30 เมตร × 0.32 มิลลิเมตร ฟิมล์เคลือบหนา 0.25 ไมโครเมตร ความเร็วของแก๊สฮีเลียม 30 เซนติเมตรต่อวินาที อุณหภูมิเครื่องตรวจวัด 290 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ Injector port 280 องศาเซลเซียส พบว่า ในสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม และผิวมะกรูด ที่ความเข้มข้น 0.05 ppm มีปริมาณสารซิโทรเนลลา เท่ากับ 13.45 และ 8.07 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาพประกอบ 4.1)

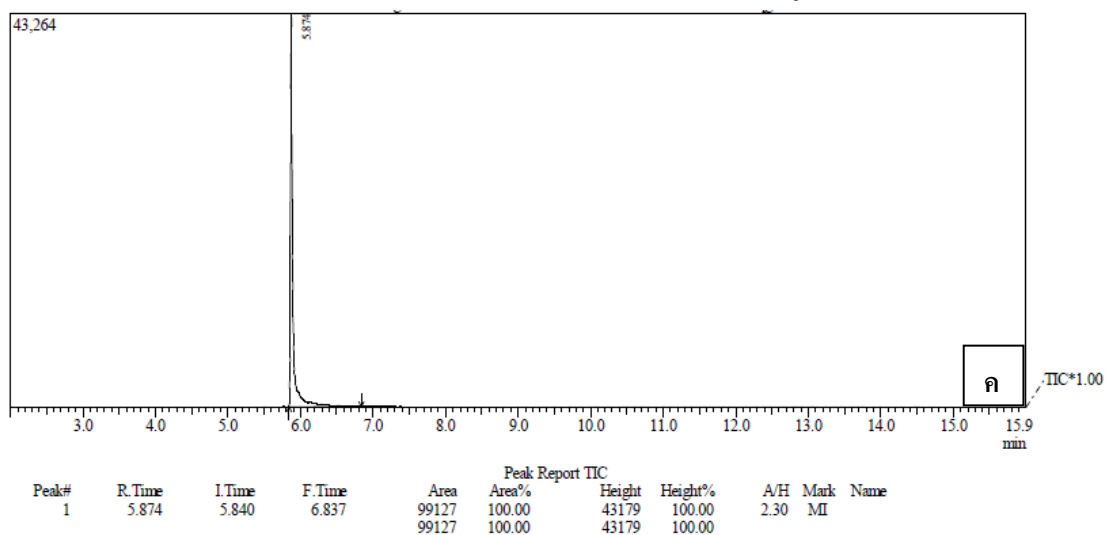


ภาพประกอบ 4.1 ปริมาณสารซิโทรเนลลา วิเคราะห์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์



ก. ปริมาณสารซีโทรเนลลา ของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.)

ข. ปริมาณสารซีโทรเนลลา ของสารสกัดหยาบผิวมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.)



ภาพประกอบ 4.2 สารมาตรฐานซีโทรเนลลา วิเคราะห์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์

4.2. ผลของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูดต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4

4.2.1 ผลของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมที่ใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายในการสกัด ไปทดสอบความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 ppm ในช่วงเวลาต่างกัน พบว่า

ลูกน้ำวัย 1 มีอัตราการตายต่ำสุด เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมความเข้มข้น 500 ppm ที่เวลา 6 ชั่วโมง คิดเป็น 1.11 ± 0.58 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} เท่ากับ 1,587.80 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.96 (ตาราง 4.2 และภาพประกอบ 4.5) ซึ่งอัตราการตายเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อลูกน้ำได้รับสารที่ความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลาการได้รับสารนานขึ้น แต่พบว่า ที่ความเข้มข้น 2,000 และ 4,000 ppm ที่เวลา 12 ถึง 30 ชั่วโมง ลูกน้ำยุงวัย 1 มีอัตราการตายไม่แตกต่างกันในทางสถิติ โดยลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 มีอัตราการตายสูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม ความเข้มข้น 2,000 ppm ที่เวลา 24 และ 30 ชั่วโมง และความเข้มข้น 4,000 ppm ที่เวลา 12 ถึง 30 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งมีอัตราการตายสูงกว่าความเข้มข้น 500 ppm คิดเป็น 90.09 เท่า (ตาราง 4.1 และ



ภาพประกอบ 4.3 และ 4.4) โดยมีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} เท่ากับ 1,691.55 ppm และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.78 (ตารางที่ 4.2 และ ภาพประกอบ 4.5)

ตาราง 4.1 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นต่างกัน ในเวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม (ppm)				
	ต่ออัตราการตายในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ⁽²⁾ (%)				
	0 ⁽¹⁾	500	1,000	2,000	4,000
6	0.00±0.00 ^{Aa}	1.11±0.58 ^{Aa}	3.88±0.58 ^{Aa}	38.88±6.66 ^{Ba}	95.00±3.00 ^{Ca}
12	0.00±0.00 ^{Aa}	1.11±0.58 ^{Aa}	7.77±1.16 ^{Bb}	93.88±4.67 ^{Cb}	100±0.00 ^{Cb}
18	0.00±0.00 ^{Aa}	1.11±0.58 ^{Aa}	13.33±1.73 ^{Bb}	97.77±0.58 ^{Cb}	100±0.00 ^{Cb}
24	0.00±0.00 ^{Aa}	1.11±0.58 ^{Aa}	13.33±1.73 ^{Bb}	100±0.00 ^{Cb}	100±0.00 ^{Cb}
30	0.00±0.00 ^{Aa}	1.66±0.00 ^{Aa}	13.88±2.31 ^{Bb}	100±0.00 ^{Cb}	100±0.00 ^{Cb}

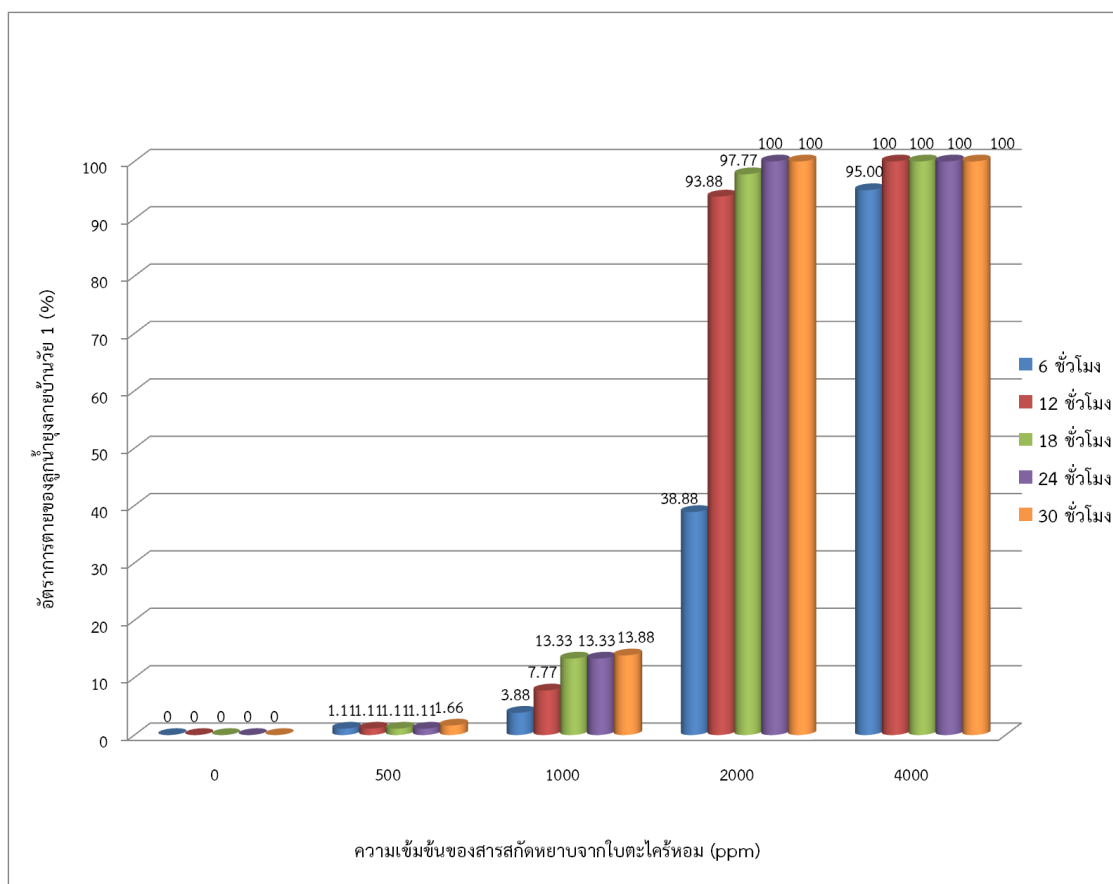
⁽¹⁾ กลุ่มควบคุม

⁽²⁾ ค่าเฉลี่ย ± SE, อัตราการตายที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 60 ตัว ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแถวเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P > 0.05$)

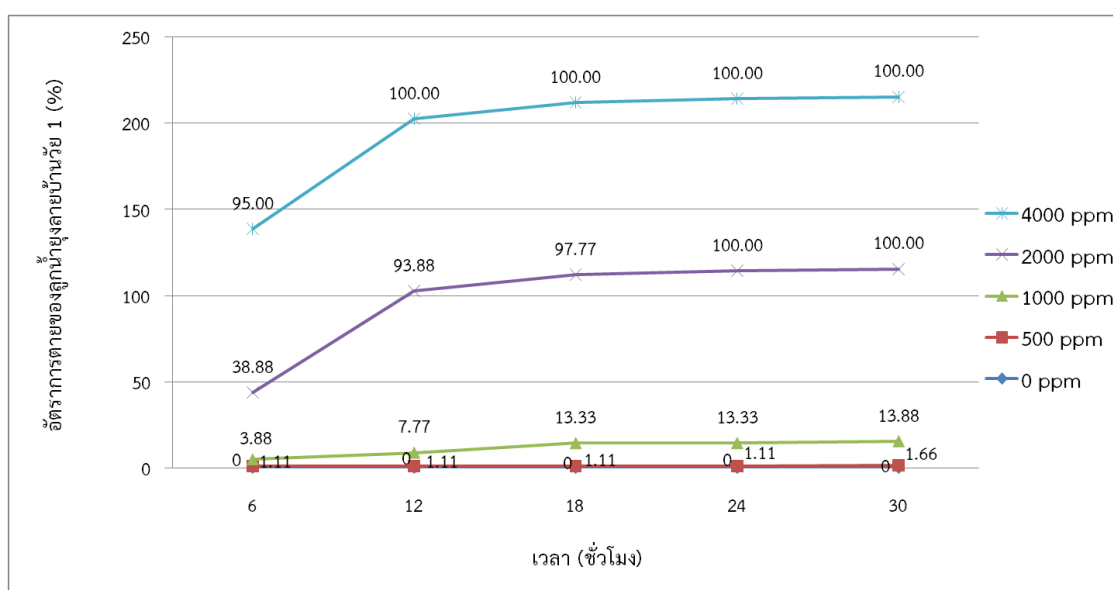
^{A-C} แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายที่ช่วงเวลาเปรียบเทียบกับความเข้มข้น ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวนอน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P > 0.05$)

^{a-b} แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายแต่ละความเข้มข้นเปรียบเทียบกับเวลา ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P > 0.05$)





ภาพประกอบ 4.3 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 หลังได้รับสารสกัดหยาบจาก ไบโตะไคร้หอมที่ความเข้มข้น 0, 500, 1,000, 2,000, และ 4,000 ppm



ภาพประกอบ 4.4 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	Regression equation ⁽¹⁾	LC ₅₀ (ppm) ⁽²⁾	R ²⁽³⁾
6	$Y = -10.305 + 0.025X$	1,587.80	0.96
12	$Y = -3.235 + 0.0290X$	1,612.58	0.80
18	$Y = -1.223 + 0.0290X$	1,681.96	0.79
24	$Y = -0.946 + 0.0290X$	1,691.55	0.78
30	$Y = -0.596 + 0.0029X$	1,703.58	0.78

ตาราง 4.2 สมการถดถอย (Regression) และ LC₅₀ ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

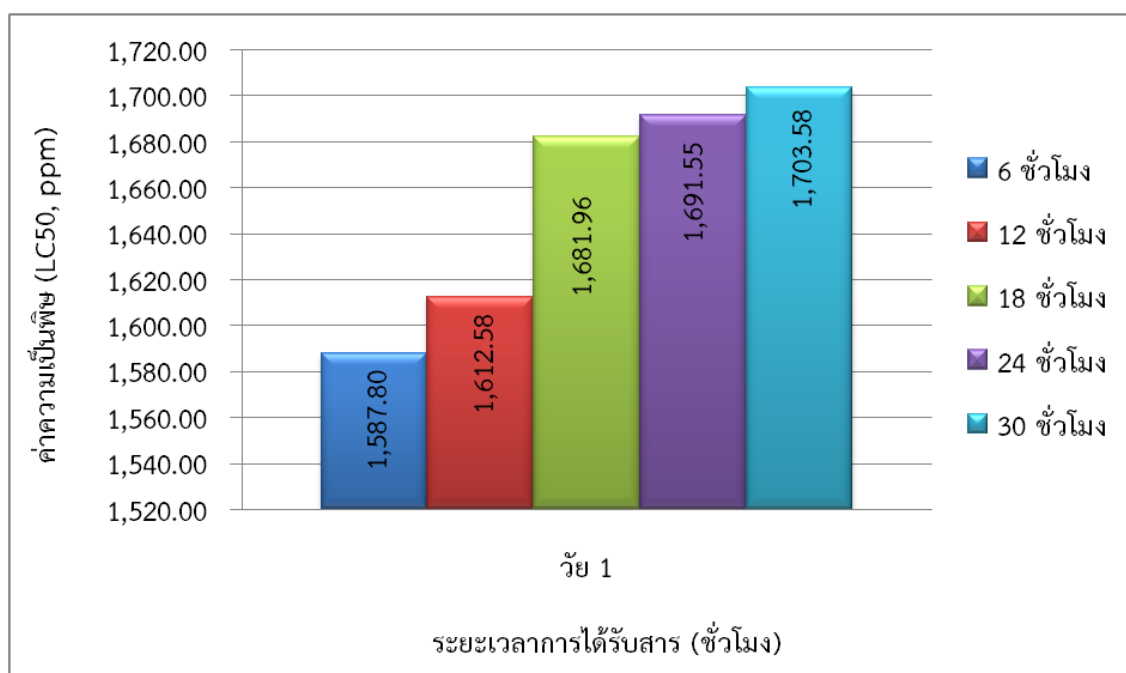
X = ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม

Y = อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1

(1) Regression equation = การตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ต่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด (ppm) ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

(2) LC₅₀ = ระดับความเข้มข้นที่สามารถทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ตาย 50% ในเวลาที่กำหนด

(3) R² = coefficient determination ของการเปลี่ยนแปลงการตายต่อระดับความเข้มข้นที่เวลา 6, 12, 18, 24, และ 30 ชั่วโมง



ภาพประกอบ 4.5 ค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาดจากใบตะไคร้หอม (ppm) ต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 หลังได้รับสารที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

ลูกน้ำยุงวัย 2 พบว่ามีอัตราการตายต่ำสุด เมื่อได้รับสารสกัดหยาดจากใบตะไคร้หอมความเข้มข้น 500 ppm ที่เวลา 6 ชั่วโมง คิดเป็น 0.33 ± 0.58 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} เท่ากับ 4,546.00 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.97 (ตาราง 4.4 และ ภาพประกอบ 4.8) ซึ่งมีอัตราการตายเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อลูกน้ำได้รับสารที่ความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลาการได้รับสารนานขึ้น ยกเว้นที่ความเข้มข้น 500 ppm ที่เวลา 6 และ 12 ชั่วโมง และ ความเข้มข้น 1,000 ppm ที่เวลา 6 ถึง 18 ชั่วโมง ที่พบว่าลูกน้ำยุงวัย 2 มีอัตราการตายไม่แตกต่างกันในทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และพบว่าลูกน้ำมีอัตราการตายสูงสุดเมื่อได้รับสารที่ความเข้มข้น 4,000 ppm ที่เวลา 36 ชั่วโมง คิดเป็น 86.66 ± 2.65 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการตายสูงกว่าความเข้มข้น 500 ppm คิดเป็น 157.56 เท่า โดยอัตราการตายของลูกน้ำยุงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 500 ppm 1,000 และ 2,000 ppm และกลุ่มควบคุม (ตาราง 4.3 และ ภาพประกอบ 4.6 และ 4.7) โดยมีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} เท่ากับ 2,257.54 ppm และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.98 (ตารางที่ 4.4 และ ภาพประกอบ 4.8)

ตาราง 4.3 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย $2 \pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับสารสกัดหยาดจากใบตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นต่างกัน ในเวลา 6, 12, 18, 24, 30 และ 36 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาดจากใบตะไคร้หอม (ppm)				
	ต่ออัตราการตายในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย $2^{(2)}$ (%)				
	0 ⁽¹⁾	500	1,000	2,000	4,000
6	0.00 ± 0.00^{Aa}	0.55 ± 0.58^{Aa}	3.33 ± 1.73^{Aa}	17.77 ± 1.53^{Ba}	45.00 ± 4.00^{Ca}
12	0.00 ± 0.00^{Aa}	0.55 ± 0.58^{Aa}	6.11 ± 1.53^{Aa}	21.66 ± 1.73^{Ba}	57.77 ± 3.22^{Cb}
18	0.00 ± 0.00^{Aa}	3.33 ± 1.00^{Ab}	8.88 ± 2.89^{Aa}	25.55 ± 2.08^{Ba}	65.00 ± 2.64^{Cbc}
24	0.00 ± 0.00^{Aa}	3.88 ± 0.58^{Ab}	13.88 ± 4.73^{Aabc}	30.00 ± 3.61^{Bb}	73.88 ± 3.22^{Ccd}
30	0.00 ± 0.00^{Aa}	3.88 ± 0.58^{Ab}	17.77 ± 5.13^{Bbc}	39.44 ± 3.22^{Cb}	82.77 ± 2.31^{Dde}



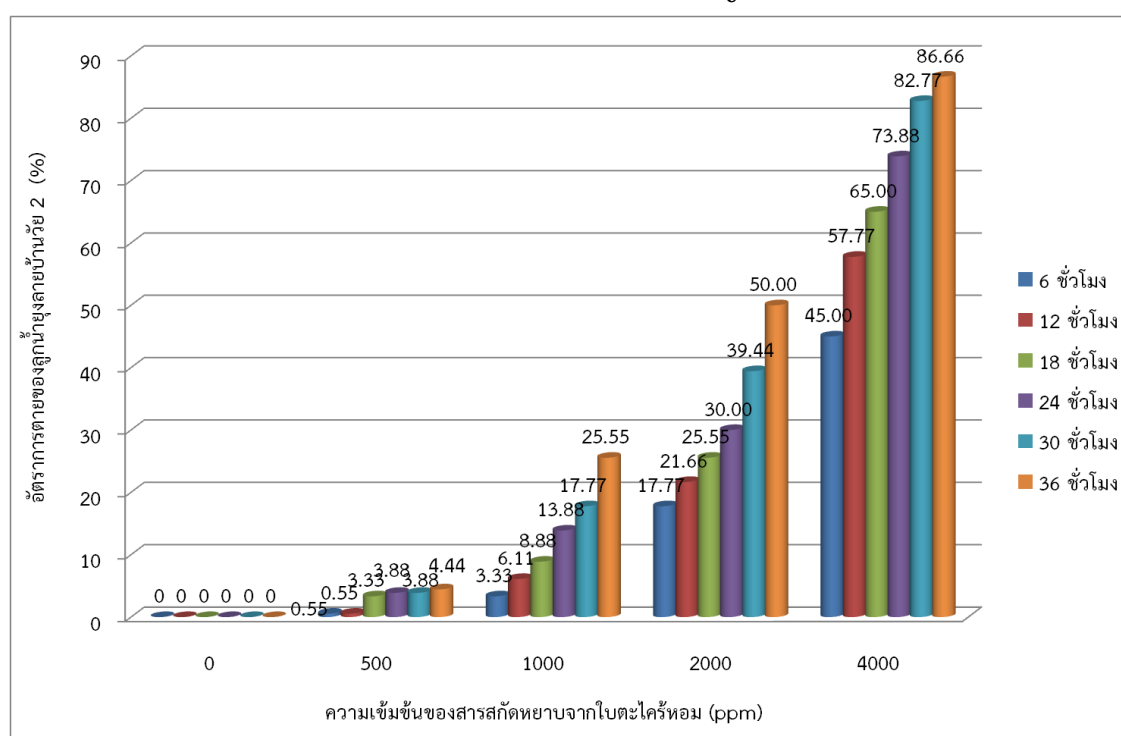
36	0.00±0.00 ^{Aa}	4.44±1.16 ^{Ab}	25.55±6.66 ^{Bc}	50.00±4.00 ^{Cc}	86.66±2.65 ^{De}
----	-------------------------	-------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------

(1) กลุ่มควบคุม

(2) ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE, อัตราการตายที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 60 ตัว ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแถวเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P>0.05$)

A-D แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายที่ช่วงเวลาเปรียบเทียบกับความเข้มข้น ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวนอน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P > 0.05$)

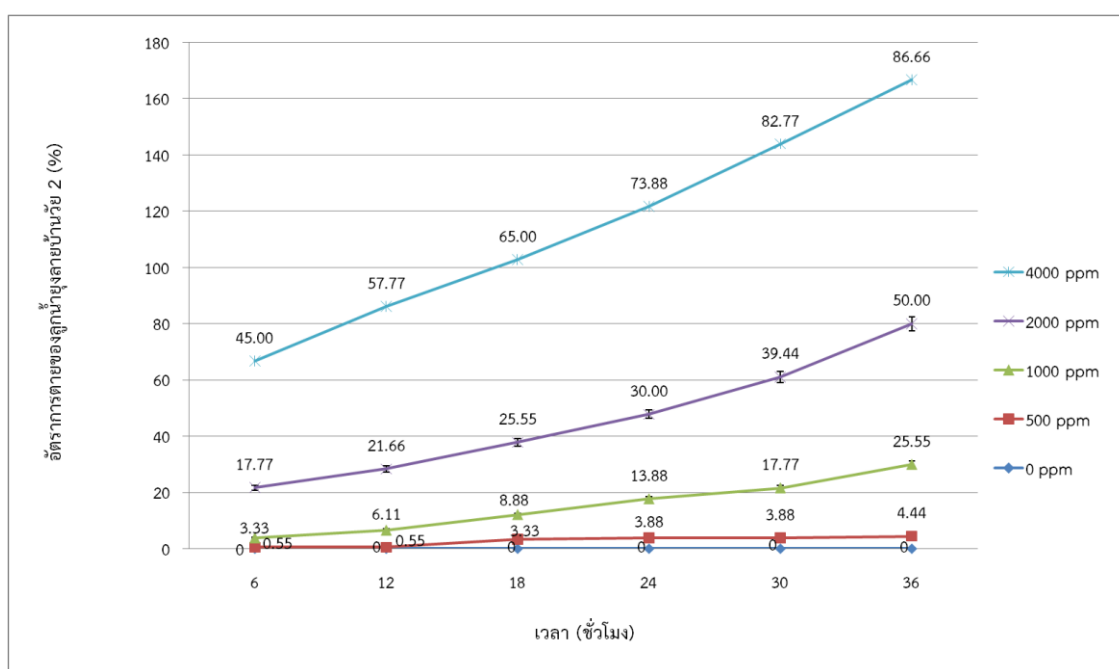
a-e แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายแต่ละความเข้มข้นเปรียบเทียบกับเวลา ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวดิ่ง จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P>0.05$)



ภาพประกอบ 4.6 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากโบทะไคร์หอม ที่ความเข้มข้น 0, 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 ppm



เวลา (ชั่วโมง)	Regression	LC ₅₀ (ppm) ⁽²⁾	R ²⁽³⁾
----------------	------------	---------------------------------------	-------------------



ภาพประกอบ 4.7 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 หลังได้รับสารสกัดหยาบจาก
ใบตะไคร้หอม ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30 และ 36 ชั่วโมง

ตาราง 4.4 สมการถดถอย (Regression) และ LC₅₀ ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 หลังได้รับสารสกัด
หยาบจากใบตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30
และ 36 ชั่วโมง



equation ⁽¹⁾			
6	$Y = -4.540 + 0.0100X$	4,546.00	0.97
12	$Y = -5.526 + 0.0150X$	2,964.53	0.97
18	$Y = -4.569 + 0.1600X$	2,839.37	0.98
24	$Y = -3.999 + 0.0180X$	2,555.61	0.99
30	$Y = -3.305 + 0.0210X$	2,223.57	0.99
36	$Y = -0.334 + 0.0220X$	2,257.54	0.98

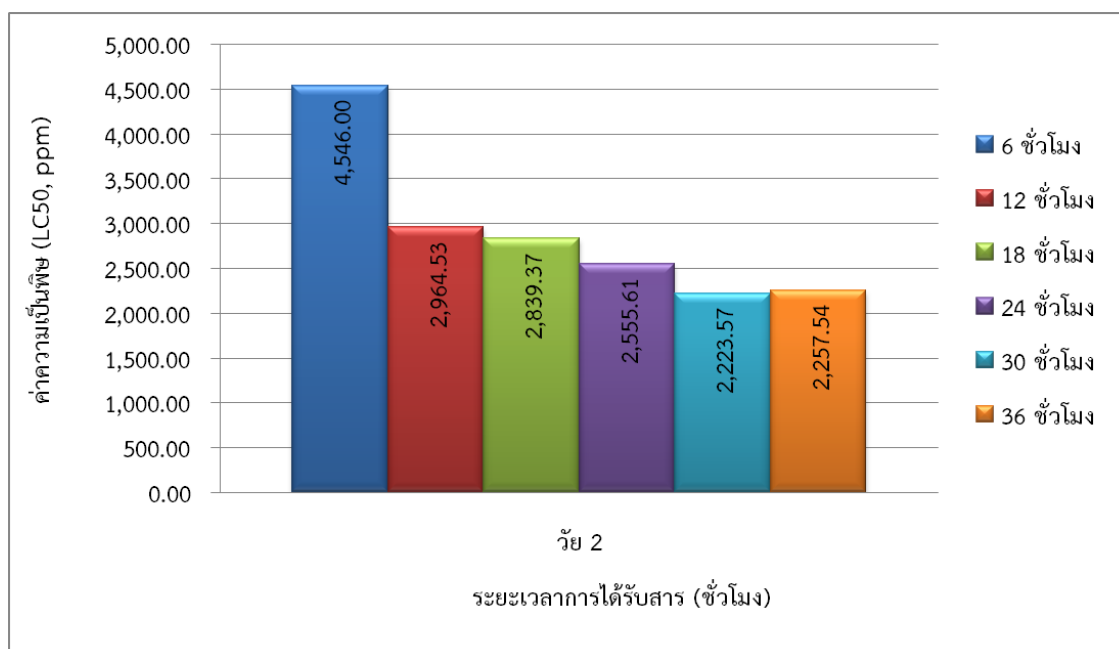
X = ความเข้มข้นของสารสกัดหยาดจากใบตะไคร้หอม

Y = อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2

(1) Regression equation = การตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 ต่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูด (ppm) ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

(2) LC_{50} = ระดับความเข้มข้นที่สามารถทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 ตาย 50% ในเวลาที่กำหนด

(3) R^2 = coefficient determination ของการเปลี่ยนแปลงการตายต่อระดับความเข้มข้นที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30 และ 36 ชั่วโมง



ภาพประกอบ 4.8 ค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาดจากใบตะไคร้หอม (ppm) ต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 หลังได้รับสารที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30 และ 36 ชั่วโมง

ลูกน้ำยุงวัย 3 พบว่า เมื่อได้รับสารสกัดหยาดจากใบตะไคร้หอมความเข้มข้น 500 ppm ที่เวลา 12 ชั่วโมง ไม่สามารถทำให้ลูกน้ำยุงตายได้ โดยลูกน้ำยุงวัย 3 มีอัตราการตายต่ำสุดเมื่อได้รับสาร



สกัดหยาบจากผิวมะกรูด ความเข้มข้น 500 ppm ที่เวลา 18 ชั่วโมง คิดเป็น 0.55 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} เท่ากับ 4,994.70 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.96 (ตาราง 4.6 และภาพประกอบ 4.11) ซึ่งอัตราการตายของลูกน้ำยังเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ยกเว้นความเข้มข้น 2,000 และ 4,000 ppm ที่ลูกน้ำมีอัตราการตายเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm และกลุ่มควบคุม และพบว่าเมื่ออัตราการตายสูงสุดเมื่อลูกน้ำยังได้รับสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 4,000 ppm ที่เวลา 60 ชั่วโมง คิดเป็น 90.55 ± 4.93 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการตายสูงกว่าความเข้มข้น 500 ppm คิดเป็น 164.64 เท่า โดยอัตราการตายของลูกน้ำยังแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm และกลุ่มควบคุม แต่ไม่แตกต่างในทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 2,000 ppm ที่เวลา 30 ถึง 60 ชั่วโมง (ตาราง 4.5 และภาพประกอบ 4.9 และ 4.10) โดยมีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} เท่ากับ 1,764.00 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.78 (ตาราง 4.6 และภาพประกอบ 4.11)



ตาราง 4.5 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับสารสกัดหยาดใบตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นต่างกัน ในเวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาดใบตะไคร้หอม (ppm) ต่ออัตราการตายในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 ⁽²⁾ (%)				
	0 ⁽¹⁾	500	1,000	2,000	4,000
6	0.00±0.00 ^{Aa}	0.00±0.00 ^{Aa}	0.55±0.57 ^{Aa}	3.88±2.08 ^{Aa}	12.77±2.52 ^{Ba}
12	0.00±0.00 ^{Aa}	0.00±0.00 ^{Aa}	1.66±1.73 ^{Aa}	5.55±1.53 ^{Aa}	31.11±5.13 ^{Bb}
18	0.00±0.00 ^{Aa}	0.55±0.00 ^{Aa}	13.88±9.29 ^{ABab}	25.00±7.21 ^{BCb}	41.11±4.04 ^{Cbc}
24	0.00±0.00 ^{Aa}	0.55±0.58 ^{Aa}	23.88±10.06 ^{ABbc}	49.44±12.58 ^{BCc}	52.77±6.81 ^{Ccd}
30	0.00±0.00 ^{Aa}	0.55±0.58 ^{Ab}	33.88±8.02 ^{Bbc}	63.88±6.51 ^{Ccd}	65.55±4.73 ^{Cde}
36	0.00±0.00 ^{Aa}	1.11±0.58 ^{Ab}	38.33±9.16 ^{Bc}	76.66±4.58 ^{Cde}	80.55±7.02 ^{Cef}
42	0.00±0.00 ^{Aa}	1.11±0.58 ^{Ab}	42.22±6.03 ^{Bc}	82.22±4.51 ^{Ce}	87.77±5.69 ^{Cf}
48	0.00±0.00 ^{Aa}	1.11±0.58 ^{Ab}	42.22±6.03 ^{Bc}	82.22±4.51 ^{Ce}	88.33±6.25 ^{Cf}
54	0.00±0.00 ^{Aa}	1.11±0.58 ^{Ab}	42.77±6.11 ^{Bc}	82.77±4.04 ^{Ce}	89.44±5.69 ^{Cf}
60	0.00±0.00 ^{Aa}	1.11±0.58 ^{Ab}	44.44±4.51 ^{Bc}	87.22±2.52 ^{Ce}	90.55±4.93 ^{Cf}

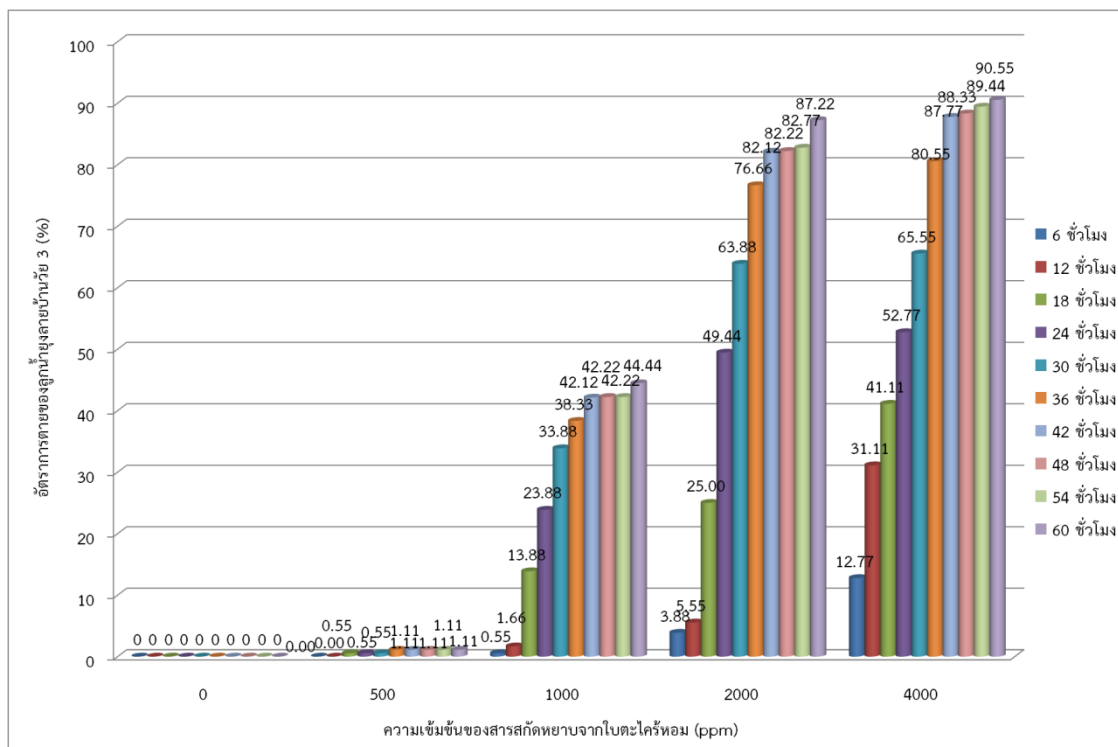
(1) กลุ่มควบคุม

(2) ค่าเฉลี่ย ± SE, อัตราการตายที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 60 ตัว ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแถวเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P>0.05$)

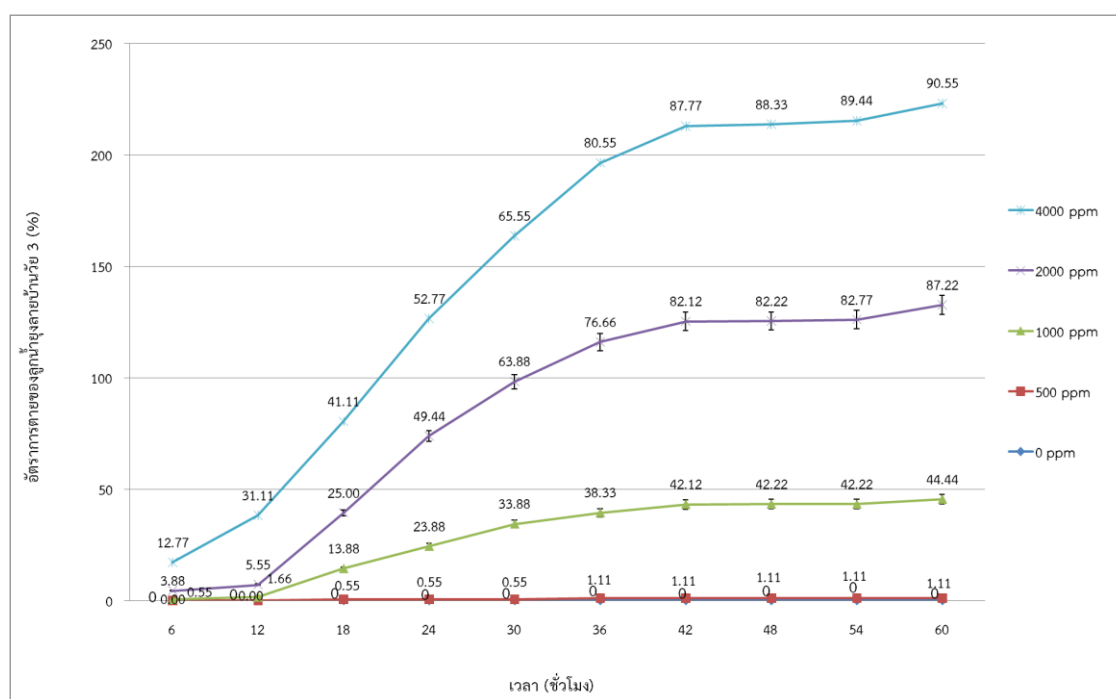
^{A-C} แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายที่ช่วงเวลาเปรียบเทียบกับความเข้มข้น ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวนอน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P > 0.05$)

^{a-f} แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายแต่ละความเข้มข้นเปรียบเทียบกับเวลา ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P>0.05$)





ภาพประกอบ 4.9 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม ที่ความเข้มข้น 0, 500, 1,000, 2,000, และ 4,000 ppm



ภาพประกอบ 4.10 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 หลังได้รับสารสกัดหยาดจาก

ใบตะไคร้หอม ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

ตาราง 4.6 สมการถดถอย (Regression) และ LC_{50} ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 หลังได้รับสารสกัด

เวลา (ชั่วโมง)	Regression equation ⁽¹⁾	LC_{50} (ppm) ⁽²⁾	R^2 ⁽³⁾
6	$Y = -1.592 + 0.0030X$	16,136.00	0.95
12	$Y = -4.290 + 0.0080X$	5,713.75	0.90
18	$Y = -0.053 + 0.0100X$	4,994.70	0.96
24	$Y = 1.862 + 0.0110X$	4,376.18	0.87
30	$Y = 6.029 + 0.0170X$	2,586.52	0.77
36	$Y = 6.425 + 0.0210X$	2,075.47	0.79
42	$Y = 6.915 + 0.0230X$	1,873.26	0.79
48	$Y = 6.8187 + 0.024x$	1,799.25	0.80
54	$Y = 6.848 + 0.0240X$	1,798.00	0.80
60	$Y = 7.664 + 0.0240X$	1,764.00	0.78

หยาดจากใบตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

X = ความเข้มข้นของสารสกัดหยาดจากใบตะไคร้หอม

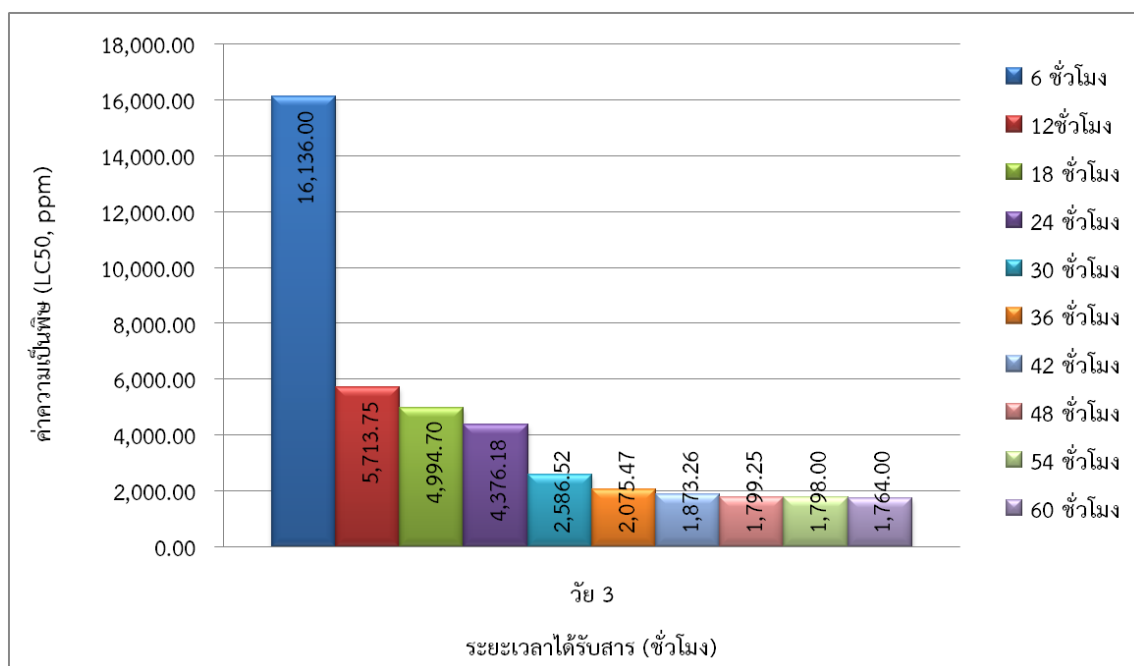
Y = อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3

⁽¹⁾ Regression equation = การตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 ต่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูด (ppm) ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

⁽²⁾ LC_{50} = ระดับความเข้มข้นที่สามารถทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 ตาย 50% ในเวลาที่กำหนด

⁽³⁾ R^2 = coefficient determination ของการเปลี่ยนแปลงการตายต่อระดับความเข้มข้นที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง





ภาพประกอบ 4.11 ค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาดจากใบตะไคร้หอม (ppm) ต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 หลังได้รับสาร ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

ลูกน้ำยุงวัย 4 พบว่า เมื่อได้รับสารสกัดหยาดจากใบตะไคร้หอม ความเข้มข้น 500 ppm ที่เวลา 12 ชั่วโมง ไม่สามารถทำให้ลูกน้ำยุงตายได้ โดยลูกน้ำยุงวัย 4 มีอัตราการตายต่ำสุดเมื่อได้รับสารสกัดหยาดจากใบตะไคร้หอมความเข้มข้น 500 ppm ที่เวลา 18 ชั่วโมง คิดเป็น 0.56 ± 0.57 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} เท่ากับ 5,338.22 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.95 (ตาราง 4.8 และภาพประกอบ 4.14) ซึ่งอัตราการตายของลูกน้ำยุงเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ยกเว้นความเข้มข้น 2,000 และ 4,000 ppm ที่ลูกน้ำมีอัตราการตายเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm และกลุ่มควบคุม และพบว่าลูกน้ำยุงมีอัตราการตายสูงสุดเมื่อได้รับสารสกัดหยาดที่ความเข้มข้น 4,000 ppm ที่เวลา 60 ชั่วโมง คิดเป็น 86.11 ± 5.13 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการตายสูงกว่าความเข้มข้น 500 ppm คิดเป็น 153.77 เท่า โดยอัตราการตายของลูกน้ำยุงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 500 1,000 และ 2,000 ppm และกลุ่มควบคุม (ตาราง 4.7 และภาพประกอบ 4.12 และ 4.13) โดยมีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} เท่ากับ 2,038.42 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.91 (ตาราง 4.8 และภาพประกอบ 4.14)



ตาราง 4.7 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นต่างกัน ในเวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม (ppm) ต่ออัตราการตายในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 ⁽²⁾ (%)				
	0 ⁽¹⁾	500	1,000	2,000	4,000
6	0.00±0.00 ^{Aa}	0.00±0.00 ^{Aa}	1.67±0.00 ^{Aa}	10.56±5.51 ^{Ba}	1.11±1.16 ^{Aa}
12	0.00±0.00 ^{Aa}	0.00±0.00 ^{Aa}	1.67±0.00 ^{Aa}	14.44±3.79 ^{Bab}	10.56±3.06 ^{Ba}
18	0.00±0.00 ^{Aa}	0.56±0.57 ^{Aa}	3.89±1.15 ^{Ab}	21.67±4.00 ^{Bbc}	33.80±5.51 ^{Cb}
24	0.00±0.00 ^{Aa}	1.11±0.57 ^{Aa}	6.11±1.15 ^{Ab}	26.67±3.00 ^{Bc}	45.00±6.25 ^{Cbc}
30	0.00±0.00 ^{Aa}	1.67±1.00 ^{Aa}	8.89±2.52 ^{Abc}	29.44±1.53 ^{Bc}	57.22±8.15 ^{Ccd}
36	0.00±0.00 ^{Aa}	1.67±1.00 ^{Aa}	12.78±2.52 ^{Ac}	40.00±2.00 ^{Bd}	59.44±8.51 ^{Ccd}
42	0.00±0.00 ^{Aa}	1.67±1.00 ^{Aa}	13.89±2.09 ^{Ac}	44.44±2.52 ^{Bde}	73.33±7.81 ^{Cde}
48	0.00±0.00 ^{Aa}	1.67±1.00 ^{Aa}	15.56±1.53 ^{Bd}	50.00±1.73 ^{Ce}	77.78±6.69 ^{Ce}
54	0.00±0.00 ^{Aa}	1.67±1.00 ^{Aa}	16.11±2.09 ^{Bd}	59.44±2.89 ^{Cf}	82.78±4.93 ^{Ce}
60	0.00±0.00 ^{Aa}	1.67±1.00 ^{Aa}	17.22±2.31 ^{Bd}	66.11±2.08 ^{Cf}	86.11±5.13 ^{Ce}

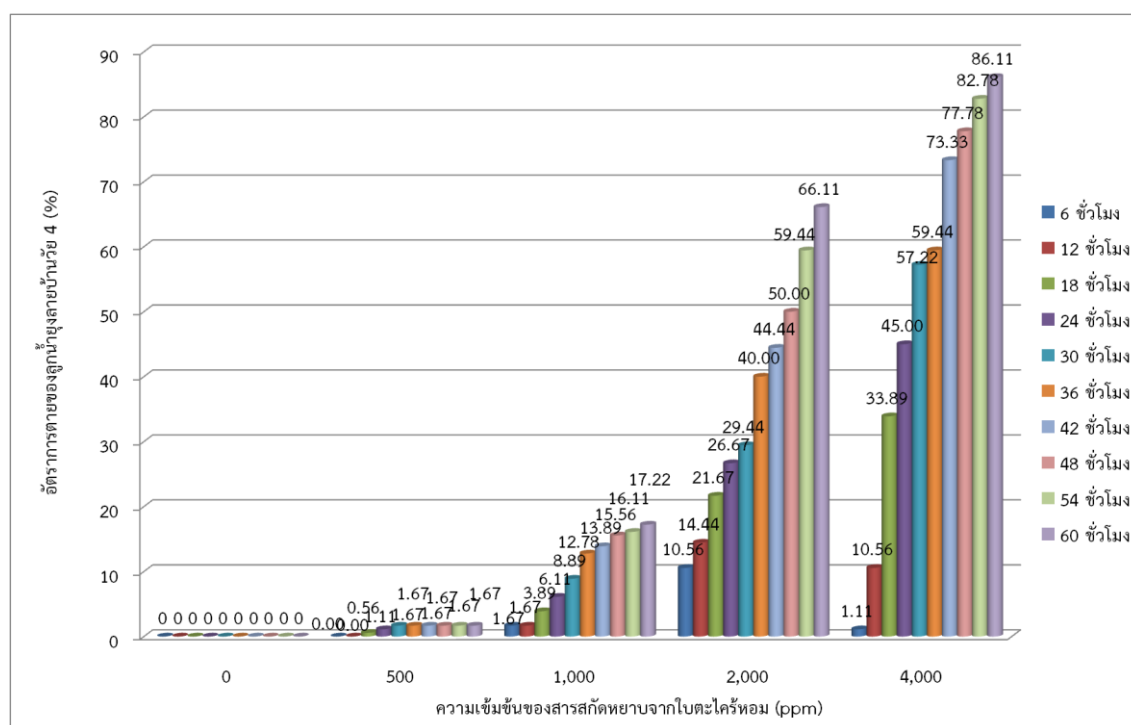
⁽¹⁾ กลุ่มควบคุม

⁽²⁾ ค่าเฉลี่ย ± SE, อัตราการตายที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 60 ตัว ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแถวเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P > 0.05$)

^{A-C} แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายที่ช่วงเวลาเปรียบเทียบกับความเข้มข้น ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวนอน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P > 0.05$)

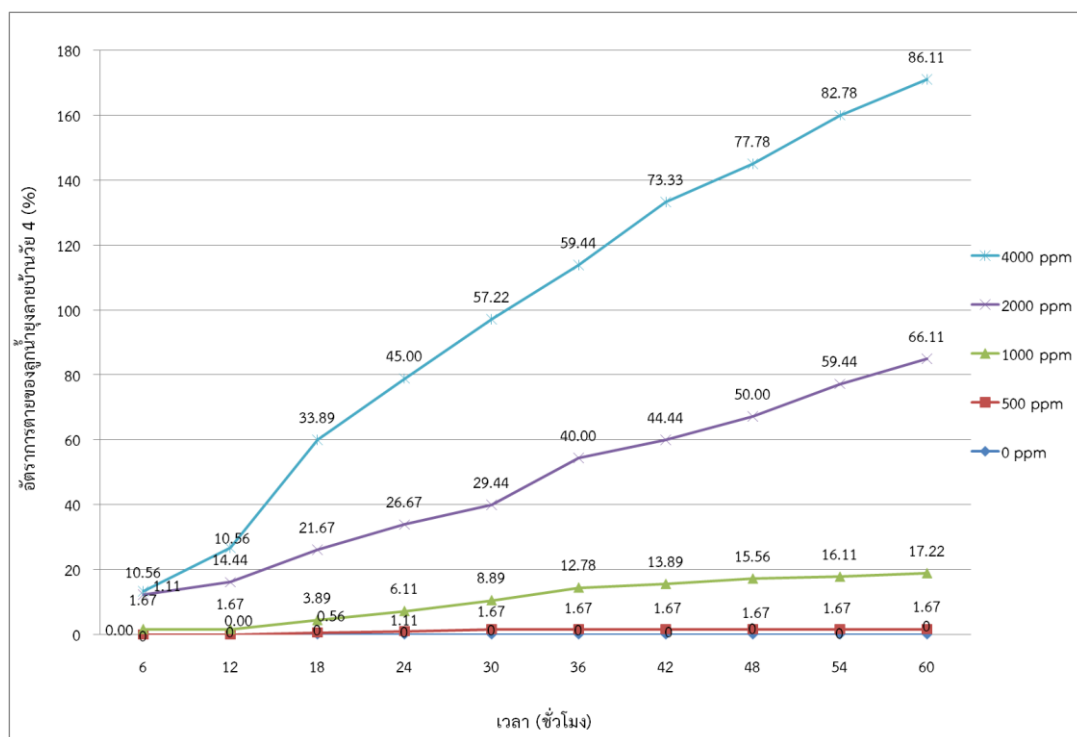


a-e แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายแต่ละความเข้มข้นเปรียบเทียบกับเวลา ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P>0.05$)



ภาพประกอบ 4.12 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาดจากใบตะไคร้หอมที่ความเข้มข้น 0, 500, 1,000, 2,000, และ 4,000 ppm





ภาพประกอบ 4.13 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจาก
ใบตะไคร้หอม ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

ตาราง 4.8 สมการถดถอย (Regression) และ LC_{50} ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 หลังได้รับสารสกัด
หยาบ จากใบตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42,
48, 54 และ 60 ชั่วโมง



X = ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม

Y = อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4

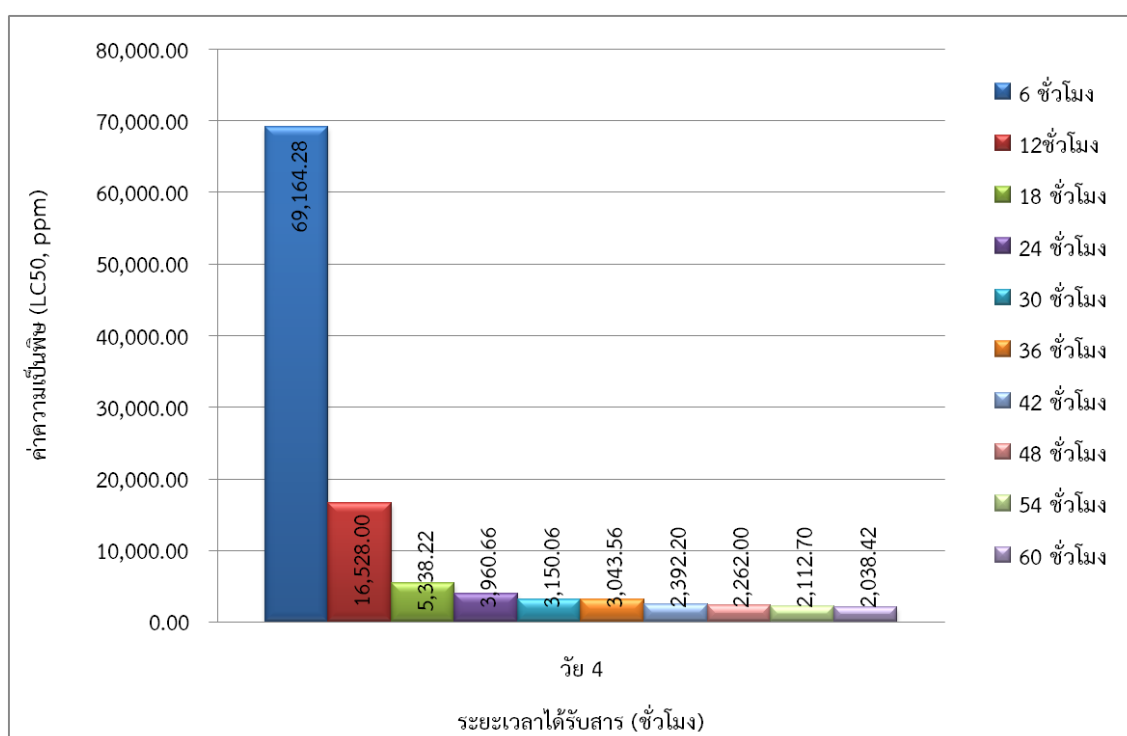
เวลา (ชั่วโมง)	Regression equation ⁽¹⁾	LC ₅₀ (ppm) ⁽²⁾	R ² ⁽³⁾
6	Y=1.585+0.0007X	69,164.28	0.07
12	Y=0.416+0.0030X	16,528.00	0.60
18	Y=-1.956+0.0930X	5,338.22	0.95
24	Y=-2.472+0.0120X	3,960.66	0.97
30	Y=-2.749+0.0150X	3,150.06	0.98
36	Y=-1.303+0.0160X	3,043.56	0.95
42	Y=-2.873+0.0190X	2,392.20	0.97
48	Y=-2.498+0.0210X	2,262.00	0.96
54	Y=-2.041+0.0220X	2,112.70	0.93
60	Y=-1.485+0.0230X	2,038.42	0.91

⁽¹⁾ Regression equation = การตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 ต่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด (ppm) ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

⁽²⁾ LC₅₀ = ระดับความเข้มข้นที่สามารถทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 ตาย 50% ในเวลาที่กำหนด

⁽³⁾ R² = coefficient determination ของการเปลี่ยนแปลงการตายต่อระดับความเข้มข้นที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง





ภาพประกอบ 4.14 ค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม (ppm) ต่อกุ้งน้ำยุงลายบ้าน วัย 4 หลังได้รับสาร ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

จะเห็นได้ว่า ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 มีอัตราการตายโดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 4,000 ppm เป็นความเข้มข้นสูงสุดที่มีอัตราการตายของลูกน้ำยุงมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นอื่นๆ และที่ความเข้มข้น 500 ppm เป็นความเข้มข้นต่ำสุด ที่มีอัตราการตายของลูกน้ำยุงน้อยที่สุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านทุกวัยจะแปรผันตามระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม กล่าวคือ ยิ่งสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมมีความเข้มข้นมากขึ้นเท่าไรอัตราการตายของลูกน้ำยุงก็จะเพิ่มสูงขึ้นมากเท่านั้น เช่นเดียวกับระยะเวลาที่ลูกน้ำยุงได้รับสาร จะเห็นว่าอัตราการตายของลูกน้ำยุงก็มีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสารที่เวลานานขึ้น โดยเมื่อลูกน้ำยุงวัย 1 ถึงวัย 4 ได้รับสารเป็นเวลานาน 30, 36, 60 และ 60 ชั่วโมง ตามลำดับ ทำให้ลูกน้ำยุงแต่ละวัยมีอัตราการตายสูงที่สุดและพบว่าลูกน้ำวัย 1 และวัย 2 มีอัตราการตายต่ำสุดเมื่อได้รับสารในระยะเวลาสั้นๆ เพียง 6 ชั่วโมง ส่วนลูกน้ำวัย 3 และวัย 4 มีอัตราการตายต่ำสุดเมื่อได้รับสารเพียง 18 ชั่วโมง



4.2.2 ผลของสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดที่ใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายในการสกัด ไปทดสอบความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10 ppm ในช่วงเวลาต่างกัน พบว่า

ลูกน้ำวัย 1 มีอัตราการตายต่ำสุด เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดความเข้มข้น 2.5 ppm ที่เวลา 6 ชั่วโมง คิดเป็น 12.22 ± 3.79 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} เท่ากับ 11.60 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.93 (ตาราง 4.10 และภาพประกอบ 4.17) ซึ่งอัตราการตายเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อได้รับสารที่ความเข้มข้นสูงขึ้น และระยะเวลาการได้รับสารนานขึ้น และพบว่าลูกน้ำมีอัตราการตายสูงสุดเมื่อได้รับสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 10 ppm ที่เวลา 30 ชั่วโมง คิดเป็น 99.44 ± 0.58 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการตายสูงกว่าความเข้มข้น 2.5 ppm คิดเป็น 8.14 เท่า โดยอัตราการตายของลูกน้ำแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 2.5, 5 และ 7.5 ppm และกลุ่มควบคุม (ตาราง 4.9 และภาพประกอบ 4.15 และ 4.16) และมีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} เท่ากับ 3.95 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.92 (ตาราง 4.10 และภาพประกอบ 4.17)



ตาราง 4.9 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับสารสกัด
หยาบจากผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นต่างกัน ในเวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด (ppm) ต่ออัตราการตายในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ⁽²⁾ (%)				
	0 ⁽¹⁾	2.5	5	7.5	10
6	0.00±0.00 ^{Aa}	12.22±3.79 ^{Aa}	22.77±4.73 ^{Ba}	40.00±2.65 ^{Ba}	56.11±4.16 ^{Ca}
12	0.00±0.00 ^{Aa}	12.77±3.22 ^{Aa}	42.22±2.08 ^{Cb}	66.11±4.04 ^{Cb}	82.22±5.03 ^{Db}
18	0.00±0.00 ^{Aa}	22.77±3.22 ^{Ab}	59.44±2.89 ^{Cbc}	77.77±4.51 ^{Cbc}	90.55±4.04 ^{Dbc}
24	0.00±0.00 ^{Aa}	30.55±2.52 ^{Ab}	67.22±5.03 ^{Cc}	83.88±4.04 ^{Cc}	94.44±3.06 ^{Cc}
30	0.00±0.00 ^{Aa}	37.22±1.53 ^{Ab}	77.22±4.62 ^{Cc}	88.33±5.00 ^{Cc}	99.44±0.58 ^{Dc}

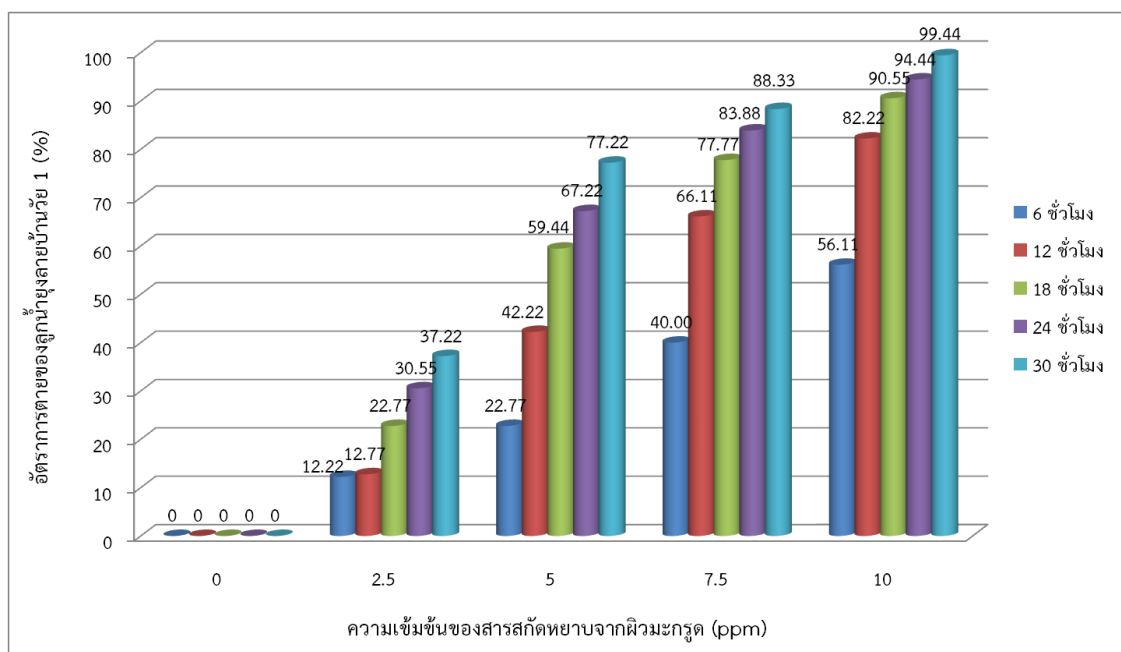
⁽¹⁾ กลุ่มควบคุม

⁽²⁾ ค่าเฉลี่ย ± SE, อัตราการตายที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 60 ตัว ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษร
เหมือนกัน ในแถวเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P > 0.05$)

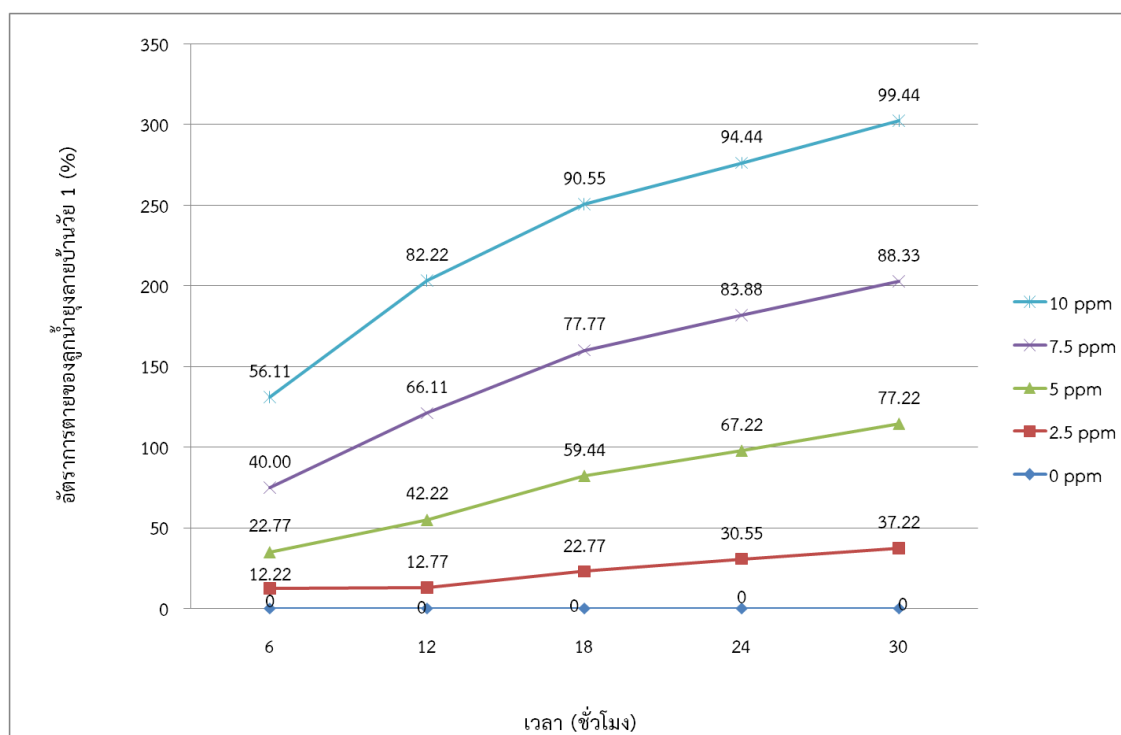
^{A-D} แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายที่ช่วงเวลาเปรียบเทียบกับความเข้มข้น ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตาม
ด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวนอน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P > 0.05$)



a-c แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายแต่ละความเข้มข้นเปรียบเทียบกับเวลา ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P>0.05$)



ภาพประกอบ 4.15 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวนะครูด ที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5, และ 10 ppm



ภาพประกอบ 4.16 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	Regression equation ⁽¹⁾	LC ₅₀ (ppm) ⁽²⁾	R ²⁽³⁾
6	$Y = -1.840 + 4.150x$	11.60	0.93
12	$Y = -2.890 + 8.710x$	5.41	0.99
18	$Y = 1.110 + 9.440x$	5.17	0.99
24	$Y = 6.770 + 9.680x$	4.46	0.95
30	$Y = 10.440 + 9.990x$	3.95	0.92

ตาราง 4.10 สมการถดถอย (Regression) และ LC₅₀ ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

X = ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด

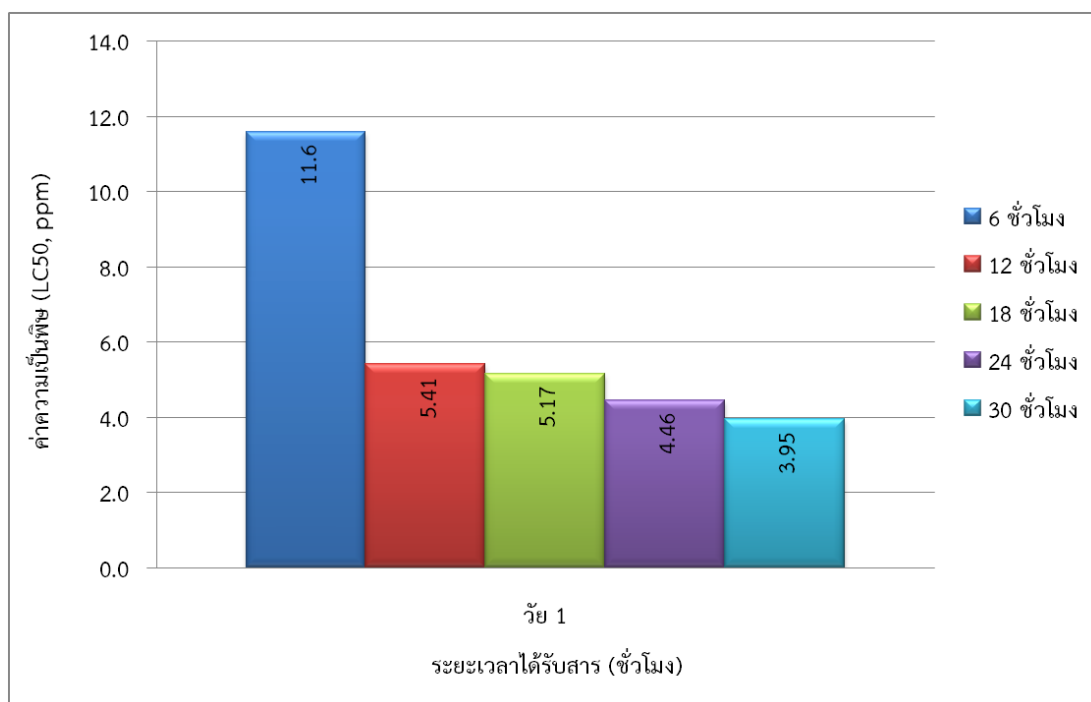
Y = อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1

⁽¹⁾ Regression equation = การตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ต่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด (ppm) ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

⁽²⁾ LC₅₀ = ระดับความเข้มข้นที่สามารถทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ตาย 50% ในเวลาที่กำหนด

⁽³⁾ R² = coefficient determination ของการเปลี่ยนแปลงการตายต่อระดับความเข้มข้นที่เวลา 6, 12, 18, 24, และ 30 ชั่วโมง





ภาพประกอบ 4.17 ค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูด (ppm) ต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 หลังได้รับสาร ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

ลูกน้ำวัย 2 พบว่ามีอัตราการตายต่ำสุด เมื่อได้รับสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูดความเข้มข้น 2.5 ppm ที่เวลา 6 ชั่วโมง คิดเป็น 7.22 ± 3.06 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} เท่ากับ 8.20 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.99 (ตาราง 4.12 และ ภาพประกอบ 4.20) ซึ่งอัตราการตายเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อลูกน้ำได้รับสารที่ความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลาการได้รับสารนานขึ้น และพบว่าลูกน้ำมีอัตราการตายสูงสุดเมื่อได้รับสารที่ความเข้มข้น 10 ppm ที่เวลา 36 ชั่วโมง คิดเป็น 97.77 ± 0.58 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการตายสูงกว่าความเข้มข้น 2.5 ppm คิดเป็น 13.54 เท่า โดยอัตราการตายของลูกน้ำเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 2.5, 5 และ 7.5 ppm และกลุ่มควบคุม (ตาราง 4.11 และ ภาพประกอบ 4.18 และ 4.19) และมีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} เท่ากับ 4.46 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.98 (ตาราง 4.12 และภาพประกอบ 4.20)



ตาราง 4.11 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นต่างกัน ในเวลา 6, 12, 18, 24, 30 และ 36 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด (ppm)				
	ต่ออัตราการตายในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 ⁽²⁾ (%)				
	0 ⁽¹⁾	2.5	5	7.5	10
6	0.00±0.00 ^{Aa}	7.22±3.06 ^{Aa}	26.11±5.69 ^{Ba}	39.44±7.51 ^{Ba}	55.55±6.69 ^{Ca}



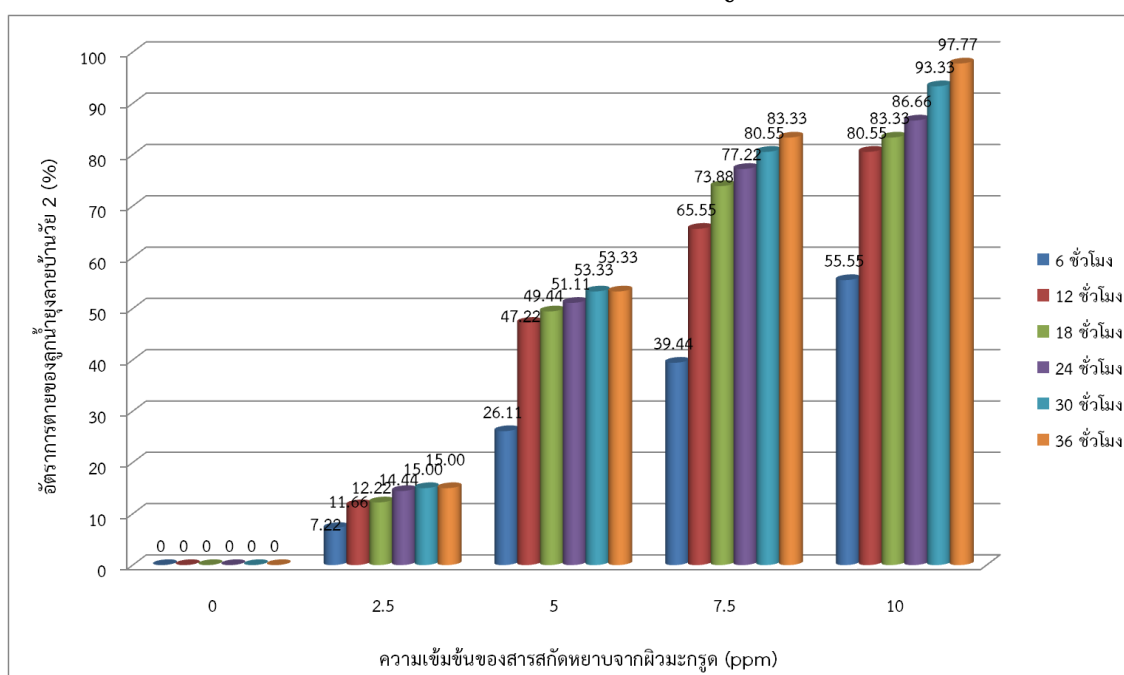
12	0.00±0.00 ^{Aa}	11.66±2.00 ^{Aa}	47.22±5.86 ^{Bb}	65.55±4.04 ^{Cb}	80.55±1.16 ^{Db}
18	0.00±0.00 ^{Aa}	12.22±2.08 ^{Aa}	49.44±5.69 ^{Bb}	73.88±4.62 ^{Cb}	83.33±2.00 ^{Db}
24	0.00±0.00 ^{Aa}	14.44±2.52 ^{Aa}	51.11±4.62 ^{Bb}	77.22±3.06 ^{Cb}	86.66±1.73 ^{Cbc}
30	0.00±0.00 ^{Aa}	15.00±3.00 ^{Aa}	53.33±4.36 ^{Bb}	80.55±2.08 ^{Cb}	93.33±1.00 ^{Dcd}
36	0.00±0.00 ^{Aa}	15.00±3.00 ^{Aa}	53.33±4.36 ^{Bb}	83.33±1.00 ^{Cb}	97.77±0.58 ^{Dd}

(1) กลุ่มควบคุม

(2) ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE, อัตราการตายที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 60 ตัว ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแถวเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P>0.05$)

A-D แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายที่ช่วงเวลาเปรียบเทียบกับความเข้มข้น ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวนอน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P > 0.05$)

a-d แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายแต่ละความเข้มข้นเปรียบเทียบกับเวลา ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวดิ่ง จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P>0.05$)

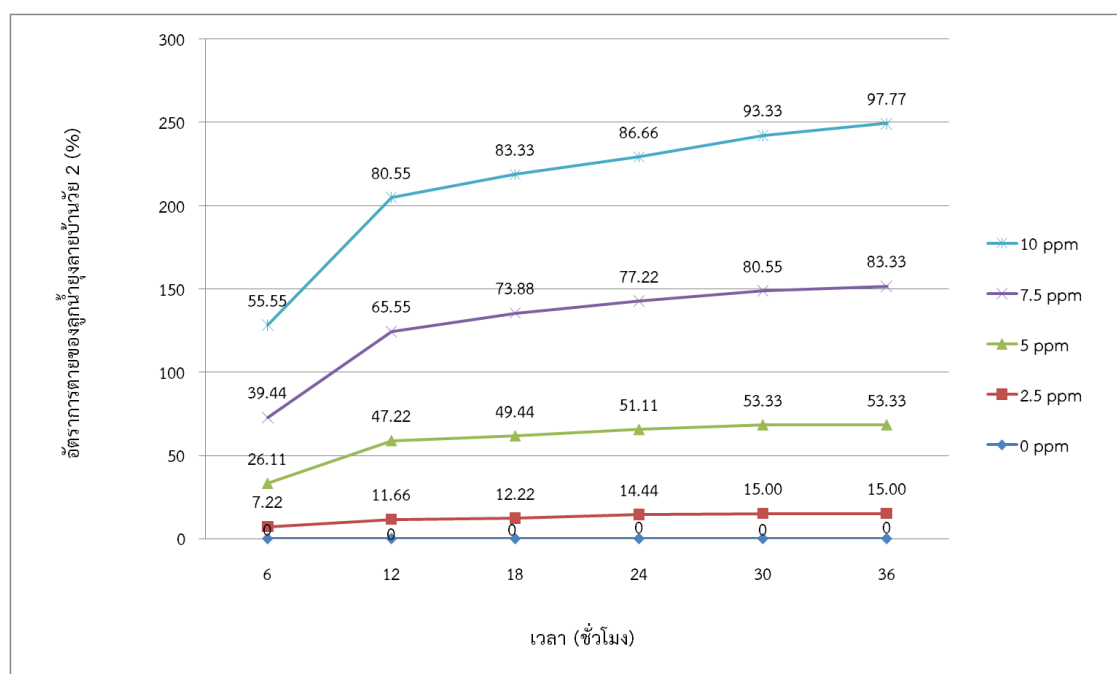


ภาพประกอบ 4.18 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด



ที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5, และ 10 ppm

เวลา (ชั่วโมง)	Regression equation ⁽¹⁾	LC ₅₀ (ppm) ⁽²⁾	R ² ⁽³⁾
6	$Y = -3.000 + 5.370x$	8.20	0.99



ภาพประกอบ 4.19 อัตรการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 หลังได้รับสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูด ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30 และ 36 ชั่วโมง

ตาราง 4.12 สมการถดถอย (Regression) และ LC₅₀ ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 หลังได้รับสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30 และ 36 ชั่วโมง



12	$Y = -2.000 + 8.600x$	5.58	0.97
18	$Y = -1.890 + 9.130x$	5.27	0.96
24	$Y = -1.330 + 9.440x$	5.16	0.97
30	$Y = -2.000 + 10.080x$	4.75	0.97
36	$Y = -2.880 + 10.550x$	4.46	0.98

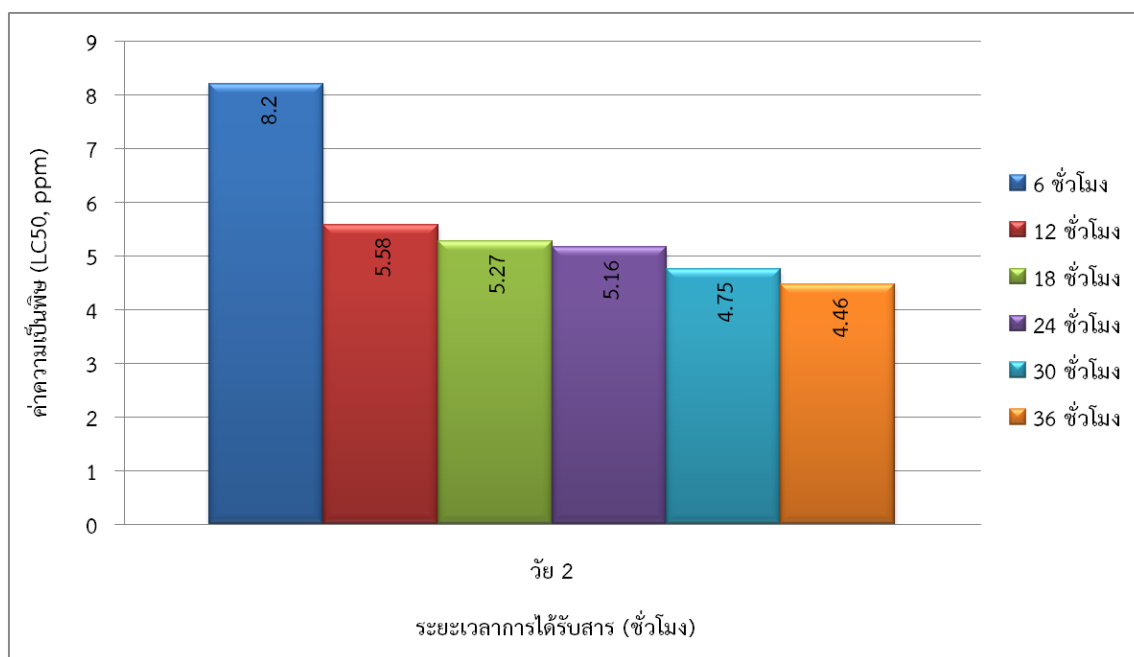
X = ความเข้มข้นของสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูด

Y = อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2

(1) Regression equation = การตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 ต่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูด (ppm) ที่เวลา 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

(2) LC_{50} = ระดับความเข้มข้นที่สามารถทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 ตาย 50% ในเวลาที่กำหนด

(3) R^2 = coefficient determination ของการเปลี่ยนแปลงการตายต่อระดับความเข้มข้นที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30 และ 36 ชั่วโมง



ภาพประกอบ 4.20 ค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูด (ppm) ต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 หลังได้รับสาร ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30 และ 36 ชั่วโมง

ลูกน้ำยุงวัย 3 พบว่ามีอัตราการตายต่ำสุด เมื่อได้รับสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูดความเข้มข้น 2.5 ppm ที่เวลา 6 ชั่วโมง คิดเป็น 3.33 ± 2.00 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50}



เท่ากับ 49.83 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.92 (ตาราง 4.14 และภาพประกอบ 4.23) โดยมีอัตราการตายเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อลูกน้ำได้รับสารที่ความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลาการได้รับสารนานขึ้น และพบว่าลูกน้ำมีอัตราการตายสูงสุดเมื่อได้รับสารที่ความเข้มข้น 10 ppm ที่เวลา 60 ชั่วโมง คิดเป็น 83.33 ± 2.65 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการตายสูงกว่าความเข้มข้น 2.5 ppm คิดเป็น 25.02 เท่า ซึ่งอัตราการตายของลูกน้ำเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 2.5 และ 5 ppm และ 7.5 ppm และกลุ่มควบคุม (ตาราง 4.13 และภาพประกอบ 4.21 และ 4.22) โดยมีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} เท่ากับ 5.09 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.96 (ตาราง 4.14 และภาพประกอบ 4.23)



ตาราง 4.13 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับ สารสกัดหยาบจากฝัวมะกรูดที่ความเข้มข้นต่างกัน ในเวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝัวมะกรูด (ppm) ต่ออัตราการตายในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 ⁽²⁾ (%)				
	0 ⁽¹⁾	2.5	5	7.5	10
6	0.00±0.00 ^{Aa}	3.33±2.00 ^{Aa}	2.77±0.58 ^{Aa}	7.22±1.16 ^{Ba}	10.55±0.58 ^{Ba}
12	0.00±0.00 ^{Aa}	6.11±4.73 ^{Aa}	5.55±1.16 ^{Aab}	21.66±7.00 ^{Bab}	28.88±2.52 ^{Bb}
18	0.00±0.00 ^{Aa}	8.33±4.58 ^{Aa}	13.88±3.22 ^{Ab}	43.33±3.46 ^{Bbc}	63.88±2.08 ^{Cc}
24	0.00±0.00 ^{Aa}	10.55±3.51 ^{Aa}	23.33±4.36 ^{Ac}	56.66±8.00 ^{Bcd}	73.33±3.67 ^{Cd}
30	0.00±0.00 ^{Aa}	11.11±3.06 ^{Aa}	27.22±4.16 ^{Bcd}	58.88±8.08 ^{Ccd}	76.11±2.52 ^{Dde}
36	0.00±0.00 ^{Aa}	11.66±3.61 ^{Aa}	31.11±3.79 ^{Ac}	70.00±11.36 ^{Bcd}	78.88±1.16 ^{Bde}
42	0.00±0.00 ^{Aa}	13.33±5.29 ^{Aa}	33.33±2.65 ^{Bd}	72.22±10.69 ^{Cd}	82.22±2.52 ^{Ce}
48	0.00±0.00 ^{Aa}	13.88±4.93 ^{Aa}	35.55±2.52 ^{Bd}	74.44±11.93 ^{Cd}	82.22±4.04 ^{Ce}
54	0.00±0.00 ^{Aa}	14.44±4.73 ^{Aa}	36.11±2.52 ^{Bd}	75.00±11.36 ^{Cd}	83.33±2.65 ^{Ce}
60	0.00±0.00 ^{Aa}	14.44±4.73 ^{Aa}	36.11±2.52 ^{Bd}	75.00±11.36 ^b	83.33±2.65 ^{Ce}

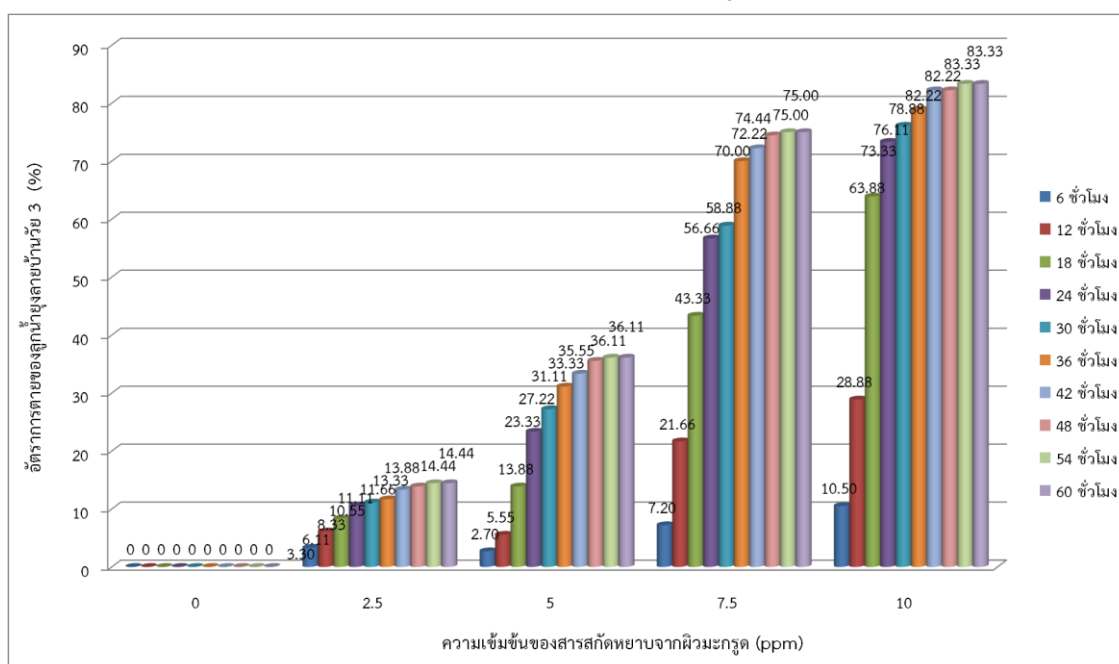


(1) กลุ่มควบคุม

(2) ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE, อัตราการตายที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 60 ตัว ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแถวเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P>0.05$)

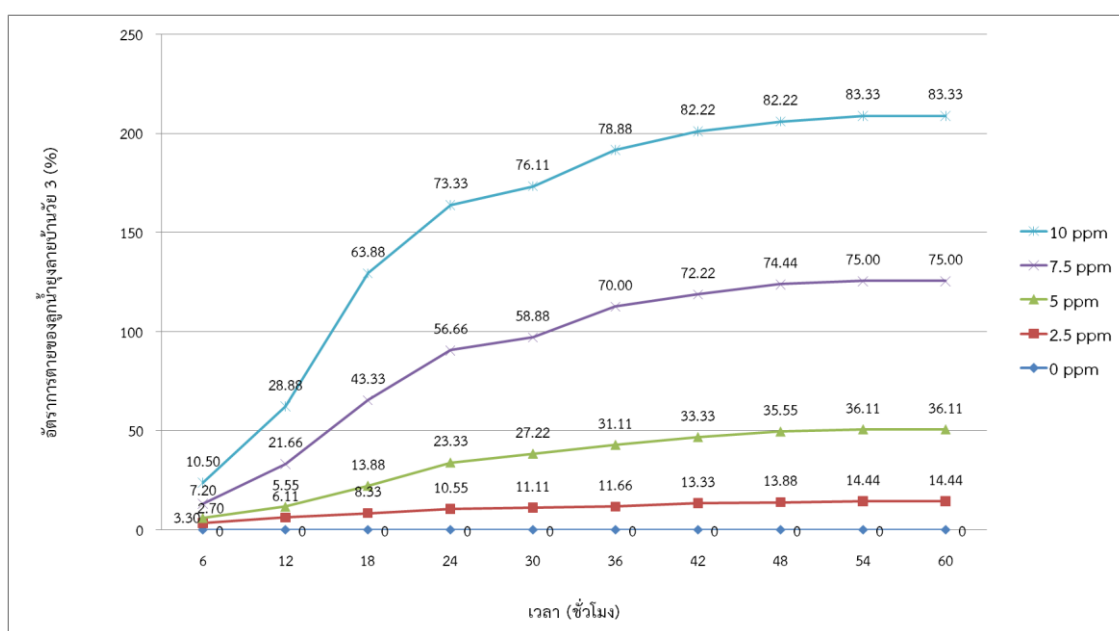
A-C แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายที่ช่วงเวลาเปรียบเทียบกับความเข้มข้น ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวนอน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P > 0.05$)

a-e แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายแต่ละความเข้มข้นเปรียบเทียบกับเวลา ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P>0.05$)



ภาพประกอบ 4.21 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากฝัวมะกรูด ที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5, และ 10 ppm





ภาพประกอบ 4.22 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 หลังได้รับสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูด ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

ตาราง 4.14 สมการถดถอย (Regression) และ LC_{50} ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 หลังได้รับสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง



X = ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด

เวลา (ชั่วโมง)	Regression equation ⁽¹⁾	LC ₅₀ (ppm) ⁽²⁾	R ²⁽³⁾
6	$Y = -0.224 + 0.990x$	49.83	0.92
12	$Y = -2.222 + 2.932x$	16.30	0.90
18	$Y = -6.668 + 6.512x$	6.65	0.92
24	$Y = -5.776 + 7.718x$	5.72	0.96
30	$Y = -5.334 + 8.000x$	5.58	0.97
36	$Y = -4.888 + 8.644x$	5.29	0.96
42	$Y = -4.446 + 8.933x$	5.10	0.96
48	$Y = -3.776 + 8.999x$	5.14	0.96
54	$Y = -3.688 + 9.088x$	5.09	0.96
60	$Y = -3.668 + 9.088x$	5.09	0.96

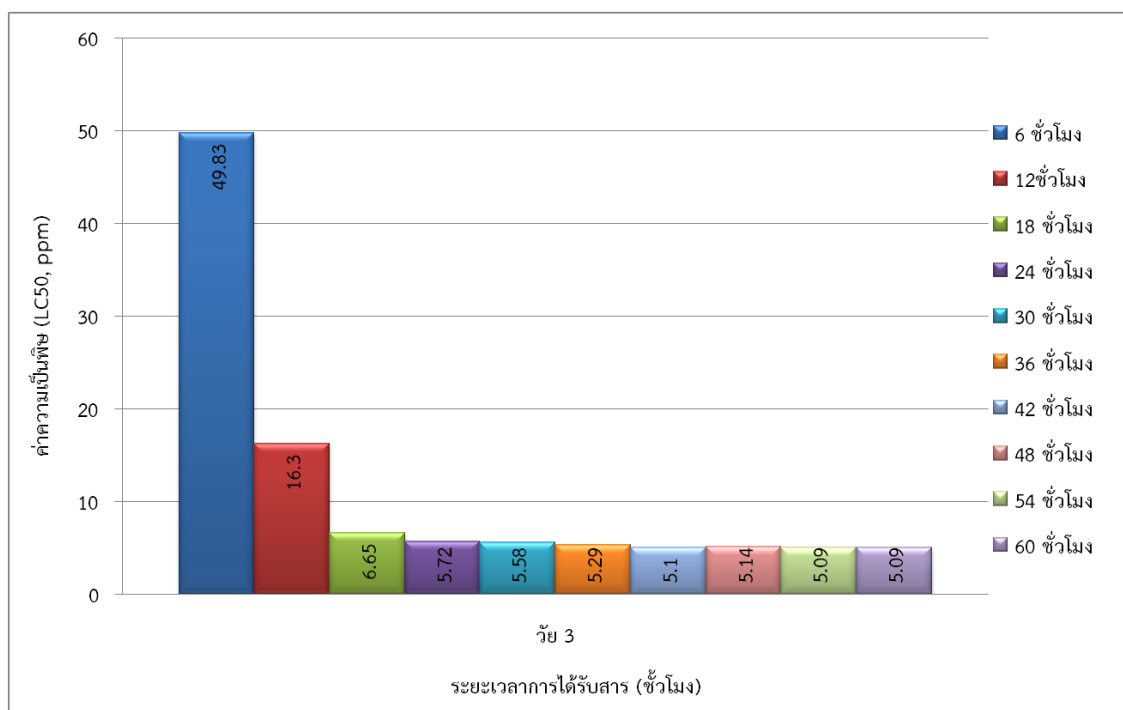
Y = อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3

⁽¹⁾ Regression equation = การตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 ต่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด (ppm) ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

⁽²⁾ LC₅₀ = ระดับความเข้มข้นที่สามารถทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 ตาย 50% ในเวลาที่กำหนด

⁽³⁾ R² = coefficient determination ของการเปลี่ยนแปลงการตายต่อระดับความเข้มข้นที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง





ภาพประกอบ 4.23 ค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูด (ppm) ต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 หลังได้รับสาร ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

ลูกน้ำยุงวัย 4 พบว่ามีอัตราการตายต่ำสุด เมื่อได้รับสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูดความเข้มข้น 2.5 ppm ที่เวลา 6 ชั่วโมง คิดเป็น 3.33 ± 1.00 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} เท่ากับ 131.10 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.48 (ตาราง 4.16 และภาพประกอบ 4.26) โดยมีอัตราการตายเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อลูกน้ำได้รับสารที่ความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลาการได้รับสารนานขึ้น และพบว่าลูกน้ำมีอัตราการตายสูงสุดเมื่อได้รับสารที่ความเข้มข้น 10 ppm ที่เวลา 60 ชั่วโมง คิดเป็น 85.00 ± 2.65 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการตายสูงกว่าความเข้มข้น 2.5 ppm คิดเป็น 25.52 เท่า โดยมีอัตราการตายเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 2.5, 5 และ 7.5 ppm และกลุ่มควบคุม (ตาราง 4.15 และภาพประกอบ 4.24 และ 4.25) ซึ่งมีค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} เท่ากับ 5.10 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.95 (ตาราง 4.16 และภาพประกอบ 4.26)



ตาราง 4.15 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากฝัวมะกรูดที่ความเข้มข้นต่างกัน ในเวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝัวมะกรูด (ppm) ต่ออัตราการตายในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 ⁽²⁾ (%)				
	0 ⁽¹⁾	2.5	5	7.5	10
6	0.00±0.00 ^{Aa}	3.33±1.00 ^{Aa}	1.11±0.58 ^{Aa}	1.66±1.73 ^{Aa}	5.55±3.06 ^{Aa}
12	0.00±0.00 ^{Aa}	3.88±1.53 ^{Aab}	1.66±1.00 ^{Aa}	4.44±3.06 ^{Aa}	25.00±9.85 ^{Bb}
18	0.00±0.00 ^{Aa}	4.44±2.08 ^{Aabc}	7.22±0.58 ^{Aab}	22.22±3.22 ^{Bb}	52.77±9.29 ^{Cc}
24	0.00±0.00 ^{Aa}	5.55±3.22 ^{Aabc}	12.22±0.58 ^{Abc}	37.77±2.08 ^{Bc}	68.88±9.07 ^{Ccd}
30	0.00±0.00 ^{Aa}	7.22±3.22 ^{Aabc}	14.44±0.58 ^{Ac}	42.77±2.08 ^{Bcd}	73.88±6.43 ^{Cd}
36	0.00±0.00 ^{Aa}	7.22±3.22 ^{Aabc}	17.22±2.52 ^{Acde}	43.88±3.22 ^{Bcde}	76.11±5.13 ^{Cd}
42	0.00±0.00 ^{Aa}	9.44±3.06 ^{Aabc}	18.33±2.65 ^{Acde}	47.22±2.89 ^{Bde}	80.00±3.00 ^{Cd}
48	0.00±0.00 ^{Aa}	11.11±3.06 ^{Aabc}	18.33±2.65 ^{Acde}	48.88±3.79 ^{Bde}	82.77±2.52 ^{Cd}
54	0.00±0.00 ^{Aa}	12.22±3.06 ^{Abc}	21.11±2.89 ^{Ade}	51.11±4.04 ^{Bde}	83.88±2.08 ^{Cd}
60	0.00±0.00 ^{Aa}	12.77±2.52 ^{Ac}	23.88±4.16 ^{Be}	52.77±2.31 ^{Ce}	85.00±2.65 ^{Dd}

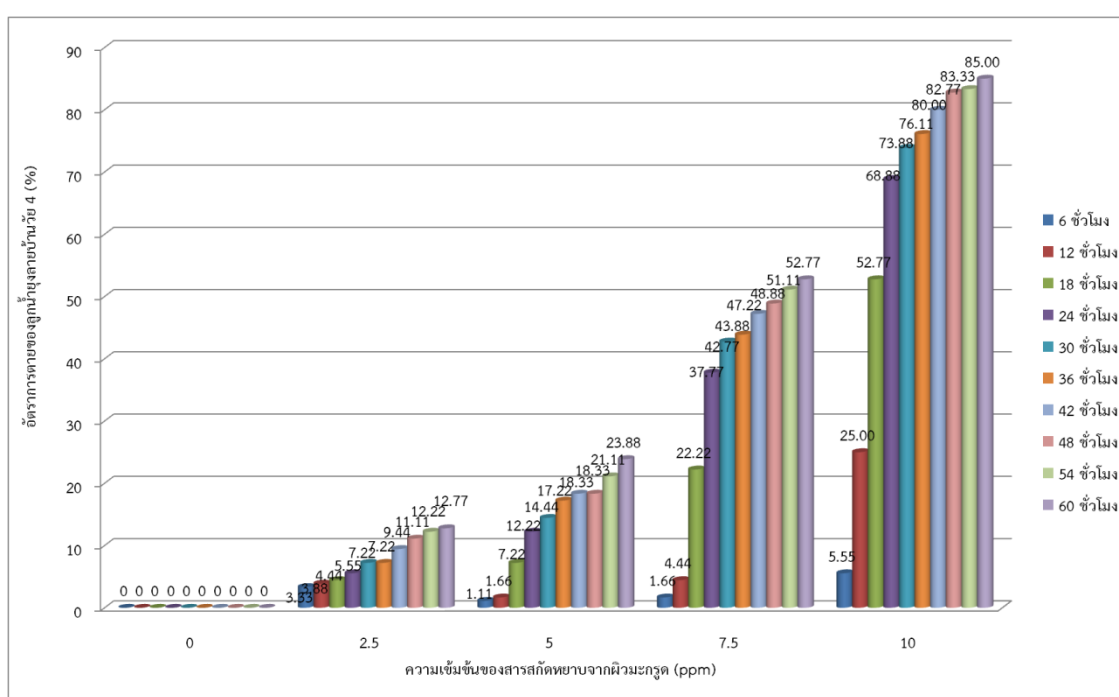


(1) กลุ่มควบคุม

(2) ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE, อัตราการตายที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 60 ตัว ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแถวเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P>0.05$)

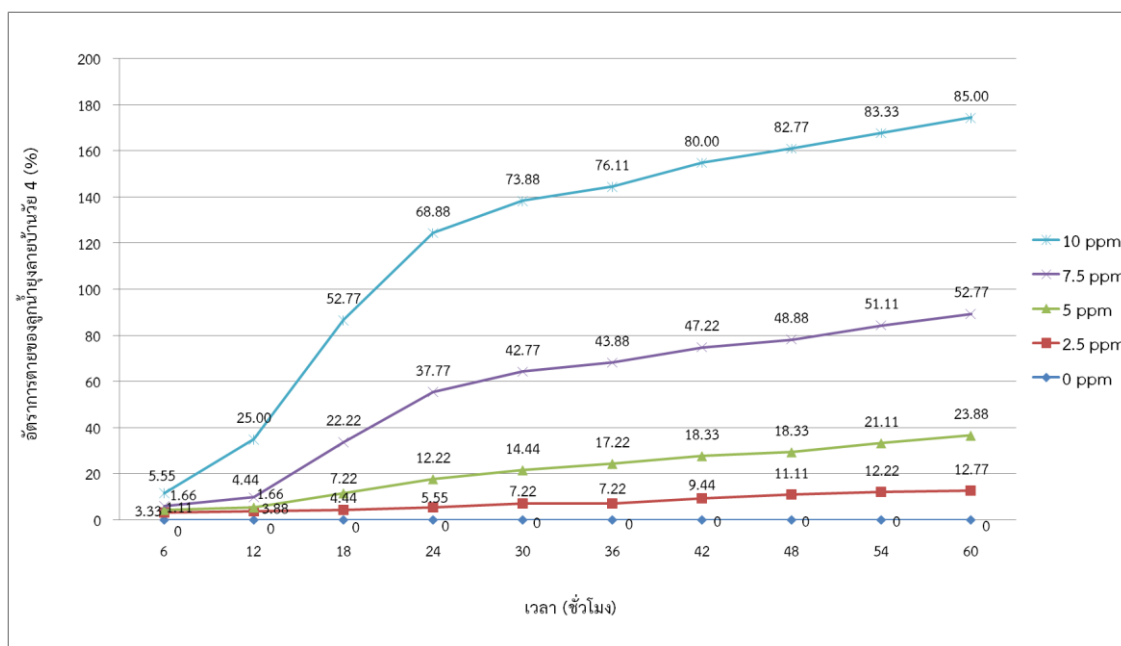
A-D แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายที่ช่วงเวลาเปรียบเทียบกับความเข้มข้น ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวนอน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P > 0.05$)

a-d แทนความแตกต่างระหว่างอัตราการตายแต่ละความเข้มข้นเปรียบเทียบกับเวลา ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($P>0.05$)



ภาพประกอบ 4.24 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากฝีมะกระดูก ที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5, และ 10 ppm





ภาพประกอบ 4.25 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

ตาราง 4.16 สมการถดถอย (Regression) และ LC_{50} ของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง



X = ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝัวมะกรูด

Y = อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4

⁽¹⁾ Regression equation = การตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 ต่อระดับความเข้มข้นของสารสกัด

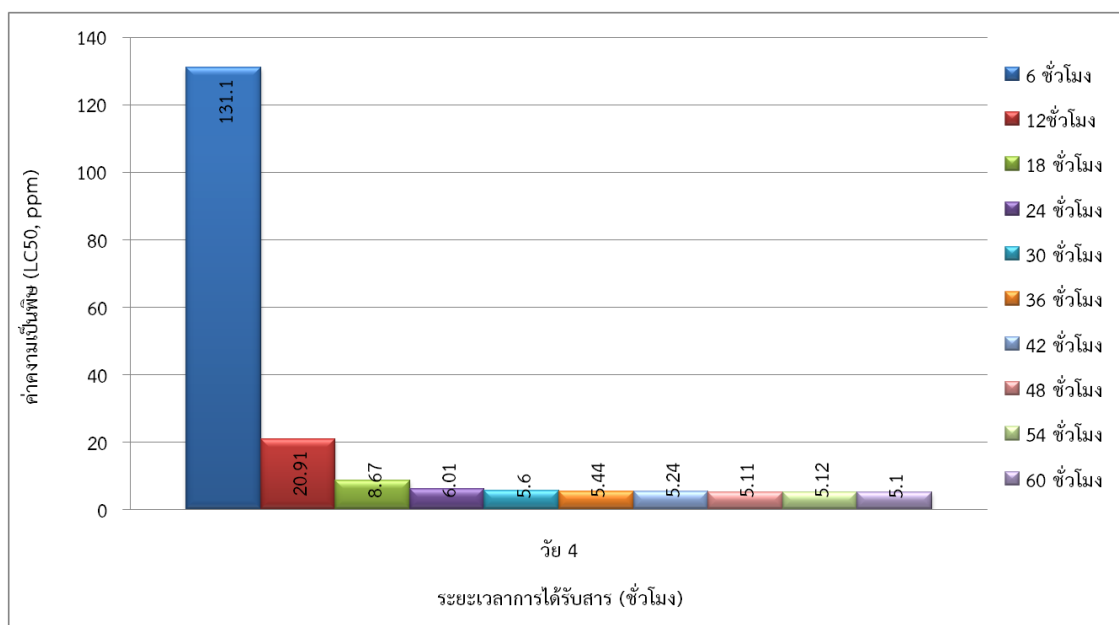
เวลา (ชั่วโมง)	Regression equation ⁽¹⁾	LC ₅₀ (ppm) ⁽²⁾	R ² ⁽³⁾
6	Y=-0.442+0.378x	131.10	0.48
12	Y=-2.558+2.268x	20.91	0.81
18	Y=-7.226+4.933x	8.67	0.83
24	Y=-9.110+6.800x	6.01	0.89
30	Y=-9.000+7.330x	5.60	0.90
36	Y=-8.900+7.550x	5.44	0.92
42	Y=-8.558+7.912x	5.24	0.92
48	Y=-8.446+8.133x	5.11	0.92
54	Y=-7.668+8.268x	5.12	0.93
60	Y=-7.110+8.400x	5.10	0.95

หยาบจากฝัวมะกรูด (ppm) ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

⁽²⁾ LC₅₀ = ระดับความเข้มข้นที่สามารถทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 ตาย 50% ในเวลาที่กำหนด

⁽³⁾ R² = coefficient determination ของการเปลี่ยนแปลงการตายต่อระดับความเข้มข้นที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง





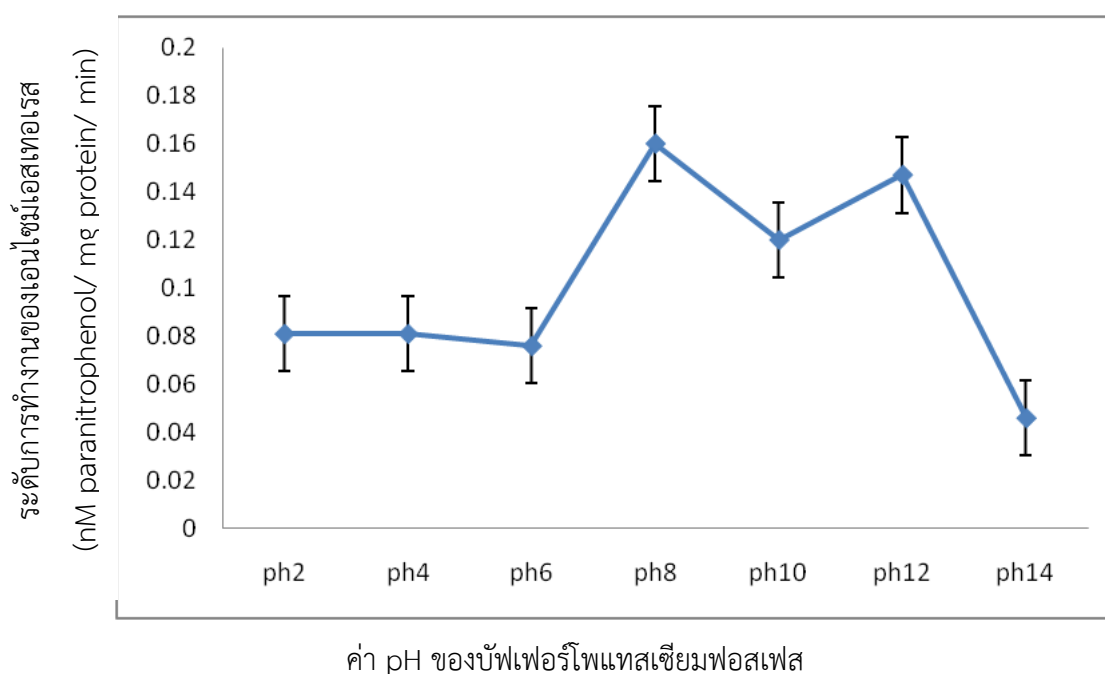
ภาพประกอบ 4.26 ค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูด (ppm) ต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 หลังได้รับสาร ที่เวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 และ 60 ชั่วโมง

จะเห็นได้ว่า ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 มีอัตราการตายโดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูดที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 10 ppm เป็นความเข้มข้นสูงสุดที่มีอัตราการตายของลูกน้ำยุงมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นอื่นๆ และที่ความเข้มข้น 2.5 ppm เป็นความเข้มข้นต่ำสุด ที่มีอัตราการตายของลูกน้ำยุงน้อยสุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านทุกวัยจะแปรผันตามระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูด กล่าวคือ ยิ่งสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูดมีความเข้มข้นมากขึ้นเท่าไรอัตราการตายของลูกน้ำยุงก็จะเพิ่มสูงขึ้นมากเท่านั้น เช่นเดียวกับระยะเวลาที่ลูกน้ำยุงได้รับสาร จะเห็นว่าอัตราการตายของลูกน้ำยุงก็มีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสารที่เวลานานขึ้น โดยเมื่อลูกน้ำยุงวัย 1 ถึงวัย 4 ได้รับสารเป็นเวลานาน 30, 36, 60 และ 60 ชั่วโมง ตามลำดับ ทำให้ลูกน้ำยุงแต่ละวัยมีอัตราการตายสูงที่สุด และพบว่าลูกน้ำวัย 1 และวัย 2 มีอัตราการตายต่ำสุดเมื่อได้รับสารในระยะเวลาดังกล่าว เพียง 6 ชั่วโมง ส่วนลูกน้ำวัย 3 และวัย 4 มีอัตราการตายต่ำสุดเมื่อได้รับสารเพียง 18 ชั่วโมง



4.3 การหาค่า pH ที่เหมาะสมของบัฟเฟอร์โพแทสเซียมฟอสเฟส (Potassium Phosphate buffer) ต่อการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลายบ้าน

วิเคราะห์หาระดับ pH ของบัฟเฟอร์โพแทสเซียมฟอสเฟส (Potassium Phosphate buffer) ที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลายบ้าน โดยใช้วิธี pNPA ซึ่งมี paranitrophenyl acetate เป็นซับสเตรต ตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Visetson, *et al.* (2003) ในที่นี้เลือกใช้ลูกน้ำยุงลายวัย 3 น้ำหนัก 0.040 กรัม โดยตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสซิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 400 nm พบว่าค่า pH ของโพแทสเซียมฟอสเฟสบัฟเฟอร์ ที่ 8 เป็นช่วงค่า pH ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลายบ้าน (ภาพประกอบ 4.27)



ภาพประกอบ 4.27 การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linn.) ที่ช่วง pH ต่างๆ ของบัฟเฟอร์โพแทสเซียมฟอสเฟส



4.4 การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด

4.4.1 การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม

การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม ที่ระดับความเข้มข้น 0, 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 ppm ที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยคัดเลือกลูกน้ำที่รอดตายในแต่ละความเข้มข้น นำมาศึกษาการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ แล้วนำไปตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ โดยวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 nm ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ ด้วยโปรแกรม SPSS version 11 พบว่าหลังจากลูกน้ำยุงลายบ้านแต่ละวัยได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง มีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์เพิ่มขึ้น (ตาราง 4.17 และภาพประกอบ 4.28) ดังนี้

ลูกน้ำยุงวัย 1 มีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์เพิ่มขึ้น 0.68 - 0.84 เท่าของกลุ่มควบคุม หลังจากได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และพบว่าเมื่อลูกน้ำยุงลายบ้านได้รับสารที่ความเข้มข้น 500 ppm ระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 1,000, 2,000 และ 4,000 ppm และกลุ่มควบคุม

ลูกน้ำยุงวัย 2 พบว่า หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมทุกระดับความเข้มข้น การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์เพิ่มขึ้น 0.78 - 0.91 เท่าของกลุ่มควบคุม และพบว่า ที่ความเข้มข้น 4,000 ppm ระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 500, 1,000 และ 2,000 ppm และกลุ่มควบคุม

ลูกน้ำยุงวัย 3 และวัย 4 พบว่า หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมทุกระดับความเข้มข้น การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์เพิ่มขึ้น 0.91-0.98 และ 0.94-0.98 เท่าของกลุ่มควบคุม ตามลำดับ และพบว่าระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ของลูกน้ำทั้ง 2 วัย ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



จะเห็นว่าลูกน้ำวัย 1 และวัย 2 นั้นมีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสต่ำกว่าวัย 3 และวัย 4 ที่พบว่ามีความสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณโปรตีนที่พบว่าลูกน้ำวัย 3 และวัย 4 มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าลูกน้ำวัย 1 และวัย 2 โดยลูกน้ำวัย 3 และวัย 4 มีปริมาณโปรตีนเฉลี่ย 0.55 และ 0.57 mg protein/min ตามลำดับ ส่วนลูกน้ำวัย 1 และวัย 2 มีปริมาณโปรตีนเฉลี่ย 0.36 และ 0.49 mg protein/min ตามลำดับ ซึ่งพบว่าลูกน้ำวัย 4 มีปริมาณโปรตีนเฉลี่ยสูงกว่าลูกน้ำวัย 1 คิดเป็น 1.56 เท่า ทำให้ระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสสูงกว่าลูกน้ำวัย 1 คิดเป็น 1.20 เท่า (ตาราง 4.18 และภาพประกอบ 4.29)

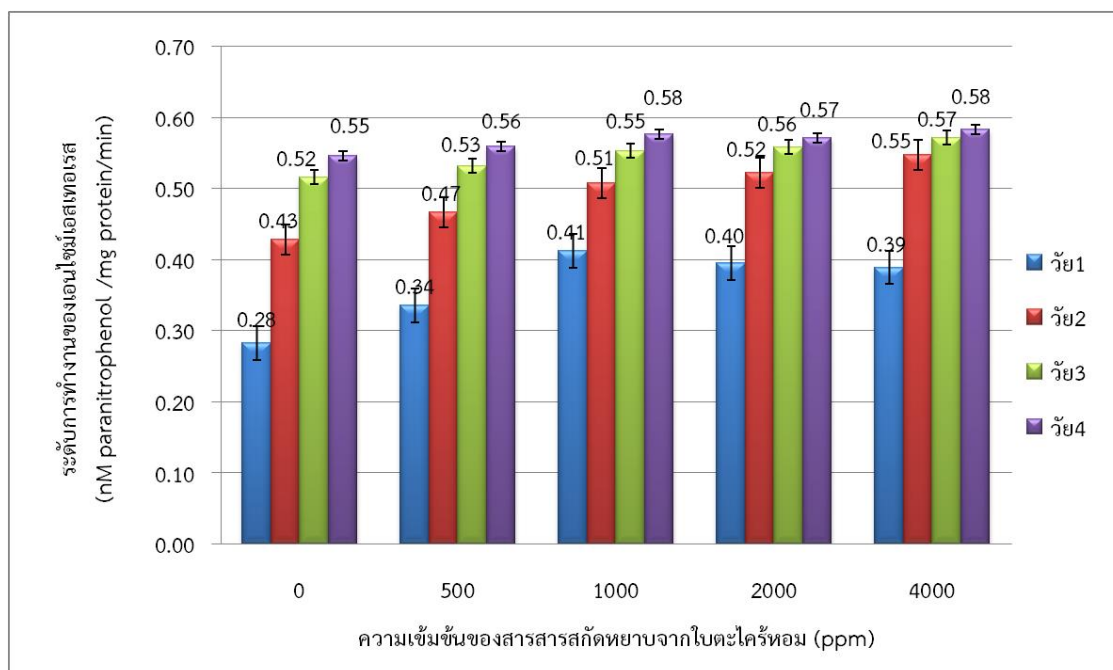
ตาราง 4.17 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรส ในลูกน้ำ ยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นต่างกัน

ความเข้มข้น ของสารสกัด หยาบจากใบ ตะไคร้หอม (ppm)	จำนวน ซ้ำ	ระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรส (nM paranitrophenol/mg protein/min)			
		[CF] ⁽¹⁾			
		วัย1	วัย2	วัย3	วัย4
0	3	0.28 $\pm$ 0.02 ^a	0.43 $\pm$ 0.10 ^a	0.52 $\pm$ 0.02 ^a	0.55 $\pm$ 0.02 ^a
500	3	0.34 $\pm$ 0.02 ^b	0.47 $\pm$ 0.05 ^a	0.53 $\pm$ 0.03 ^a	0.56 $\pm$ 0.02 ^a
		[0.84]	[0.91]	[0.98]	[0.98]
1,000	3	0.41 $\pm$ 0.02 ^c	0.51 $\pm$ 0.01 ^a	0.55 $\pm$ 0.02 ^a	0.58 $\pm$ 0.02 ^a
		[0.68]	[0.84]	[0.94]	[0.95]
2,000	3	0.40 $\pm$ 0.01 ^c	0.52 $\pm$ 0.10 ^a	0.56 $\pm$ 0.05 ^a	0.57 $\pm$ 0.06 ^a
		[0.72]	[0.82]	[0.92]	[0.96]
4,000	3	0.39 $\pm$ 0.02 ^c	0.55 $\pm$ 0.05 ^b	0.57 $\pm$ 0.05 ^a	0.58 $\pm$ 0.05 ^a
		[0.72]	[0.78]	[0.91]	[0.94]



(1) [CF] = Correction factor (ค่าระดับการทำงานเฉลี่ยของกลุ่มควบคุม / ค่าระดับการทำงานเฉลี่ยของชุดทดลอง)

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE, ค่าเฉลี่ยของระดับการทำงานเอนไซม์เอสเทอเรสที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวดิ่ง จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)



ภาพประกอบ 4.28 ระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาดจากใบตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นต่างกัน

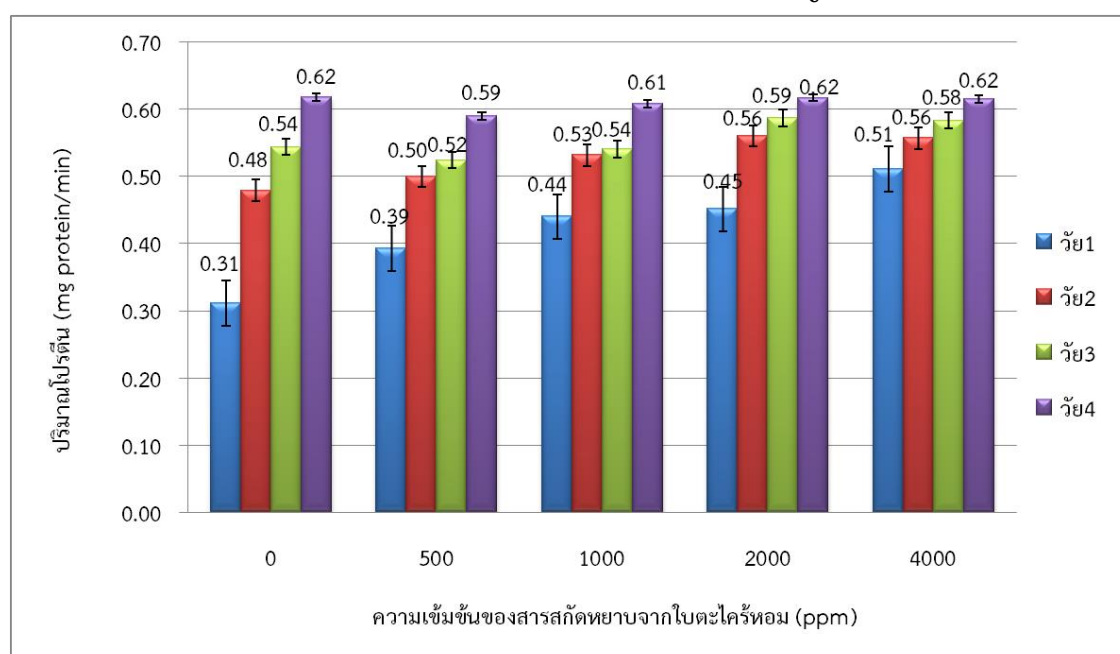
ตาราง 4.18 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณโปรตีนในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 ในชุดทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาดจากใบตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นต่างกัน

ความเข้มข้น ของสารสกัด หยาดจากใบ ตะไคร้หอม (ppm)	จำนวน ซ้ำ	ปริมาณโปรตีน (mg protein/min)			
		วัย 1	วัย 2	วัย 3	วัย 4
0	3	0.31 ± 0.01^a	0.48 ± 0.06^a	0.54 ± 0.02^a	0.62 ± 0.04^a



500	3	0.39 ± 0.01^b	0.50 ± 0.02^a	0.52 ± 0.04^a	0.59 ± 0.00^a
1,000	3	0.44 ± 0.01^c	0.53 ± 0.01^b	0.54 ± 0.02^a	0.61 ± 0.02^a
2,000	3	0.45 ± 0.04^c	0.56 ± 0.06^b	0.59 ± 0.05^a	0.62 ± 0.00^a
4,000	3	0.51 ± 0.02^d	0.56 ± 0.05^b	0.58 ± 0.04^a	0.62 ± 0.03^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE, ค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวดิ่ง จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)



ภาพประกอบ 4.29 ปริมาณโปรตีนของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 ในชุดทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมความเข้มข้นต่างกัน

4.4.2 การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากฝัวมะกรูด

การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากฝัวมะกรูด ที่ระดับความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10 ppm ที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยคัดเลือกลูกน้ำที่รอดตายในแต่ละความเข้มข้น นำมาศึกษาการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ แล้วนำไปตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ โดยวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 nm ด้วยเครื่องยูวี-



วิสสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ส ด้วยโปรแกรม SPSS version 11 พบว่าหลังจากลูกน้ำยุงลายบ้านแต่ละวัยได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง มีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สเพิ่มขึ้น (ตาราง 4.19 และภาพประกอบ 4.30) ดังนี้

ลูกน้ำยุงวัย 1 มีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สเพิ่มขึ้น 0.90 – 1.08 เท่าของกลุ่มควบคุม หลังจากได้รับสารแต่ละความเข้มข้น และพบว่าทุกระดับความเข้มข้นระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ลูกน้ำยุงวัย 2 พบว่าหลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดทุกระดับความเข้มข้น มีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สเพิ่มขึ้น 0.82 – 1.06 เท่าของกลุ่มควบคุม โดยระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ยกเว้นที่ความเข้มข้น 10 ppm ที่พบว่าระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับความเข้มข้น 5 ppm และกลุ่มควบคุม

ลูกน้ำยุงวัย 3 พบว่าหลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดทุกระดับความเข้มข้น มีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สเพิ่มขึ้น 0.81-1.02 เท่าของกลุ่มควบคุม โดยระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ยกเว้นที่ความเข้มข้น 7.5 และ 10 ppm ที่ระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 2.5 และ 5 ppm และกลุ่มควบคุม

ลูกน้ำยุงวัย 4 พบว่า หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดทุกระดับความเข้มข้น การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สเพิ่มขึ้น 0.90-0.94 เท่าของกลุ่มควบคุม และพบว่า ระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ หลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

จะเห็นได้ว่าลูกน้ำวัย 1 และวัย 2 นั้นมีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สต่ำกว่าวัย 3 และวัย 4 ที่พบว่ามีความสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณโปรตีนที่พบว่าลูกน้ำยุงวัย 3 และวัย 4 มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าลูกน้ำวัย 1 และวัย 2 โดยลูกน้ำวัย 3 และวัย 4 มีปริมาณโปรตีนเฉลี่ย 0.56 และ 0.63 mg protein/min ตามลำดับ ส่วนลูกน้ำยุงวัย 1 และวัย 2 มีปริมาณโปรตีนเฉลี่ย 0.42 และ 0.45 mg protein/min ตามลำดับ ซึ่งพบว่าลูกน้ำวัย 4 มีปริมาณโปรตีนเฉลี่ยสูงกว่าลูกน้ำวัย 1 คิดเป็น 1.33 เท่า ทำให้ระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สสูงกว่าลูกน้ำวัย 1 คิดเป็น 1.00 เท่า (ตาราง 4.20 และภาพประกอบ 4.31)



ตาราง 4.19 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ส
ในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด
ที่ความเข้มข้นต่างกัน

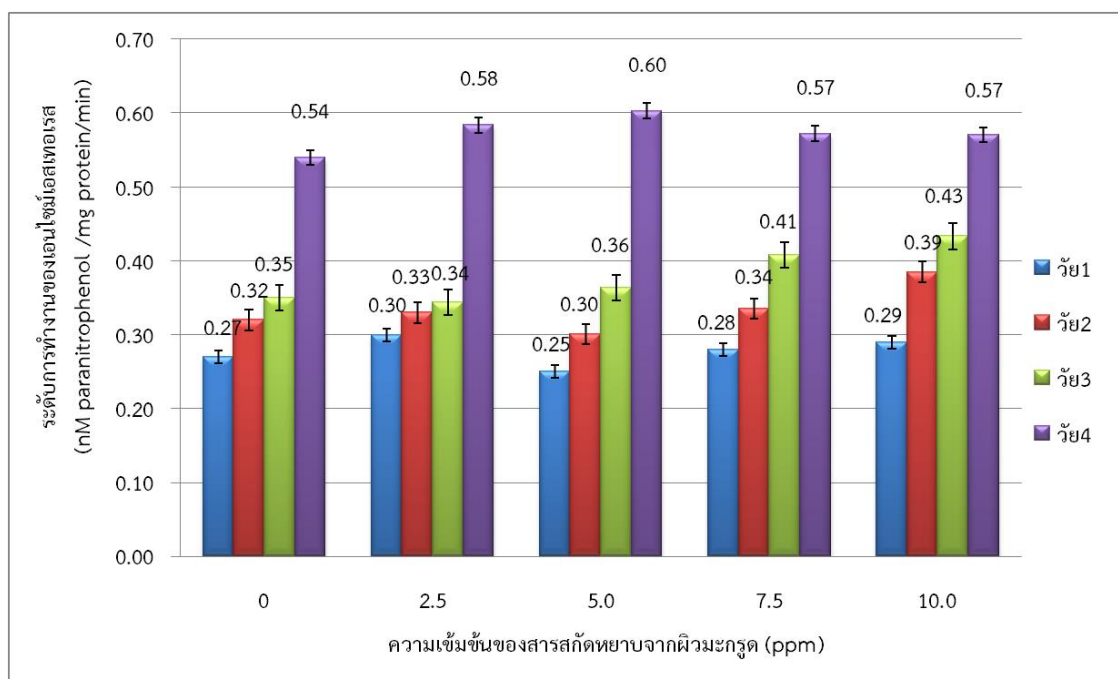
ความเข้มข้น ของสารสกัด หยาบจาก ผิวมะกรูด (ppm)	จำนวน ซ้ำ	ระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ส (nM paranitrophenol/mg protein/min)			
		[CF] ⁽¹⁾			
		วัย1	วัย2	วัย3	วัย4
0	3	0.27 $\pm$ 0.02 ^a	0.32 $\pm$ 0.01 ^a	0.35 $\pm$ 0.01 ^a	0.54 $\pm$ 0.02 ^a
2.5	3	0.30 $\pm$ 0.03 ^a [0.90]	0.33 $\pm$ 0.05 ^{ab} [0.96]	0.34 $\pm$ 0.04 ^a [1.02]	0.58 $\pm$ 0.07 ^a [0.93]
5	3	0.25 $\pm$ 0.02 ^a [1.08]	0.30 $\pm$ 0.06 ^a [1.06]	0.36 $\pm$ 0.03 ^{ab} [0.97]	0.60 $\pm$ 0.08 ^a [0.90]



7.5	3	0.28 ± 0.02^a [0.96]	0.34 ± 0.02^{ab} [0.94]	0.41 ± 0.01^{bc} [0.85]	0.57 ± 0.04^a [0.94]
10	3	0.29 ± 0.03^a [0.93]	0.39 ± 0.03^b [0.82]	0.43 ± 0.04^c [0.81]	0.57 ± 0.05^a [0.94]

(1) [CF] = Correction factor (ค่าระดับการทำงานเฉลี่ยของกลุ่มควบคุม / ค่าระดับทำงานเฉลี่ยของกลุ่มทดลอง)

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE, ค่าเฉลี่ยของระดับการทำงานเอนไซม์เอสเทอร์ส ที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)



ภาพประกอบ 4.30 ระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นต่างกัน

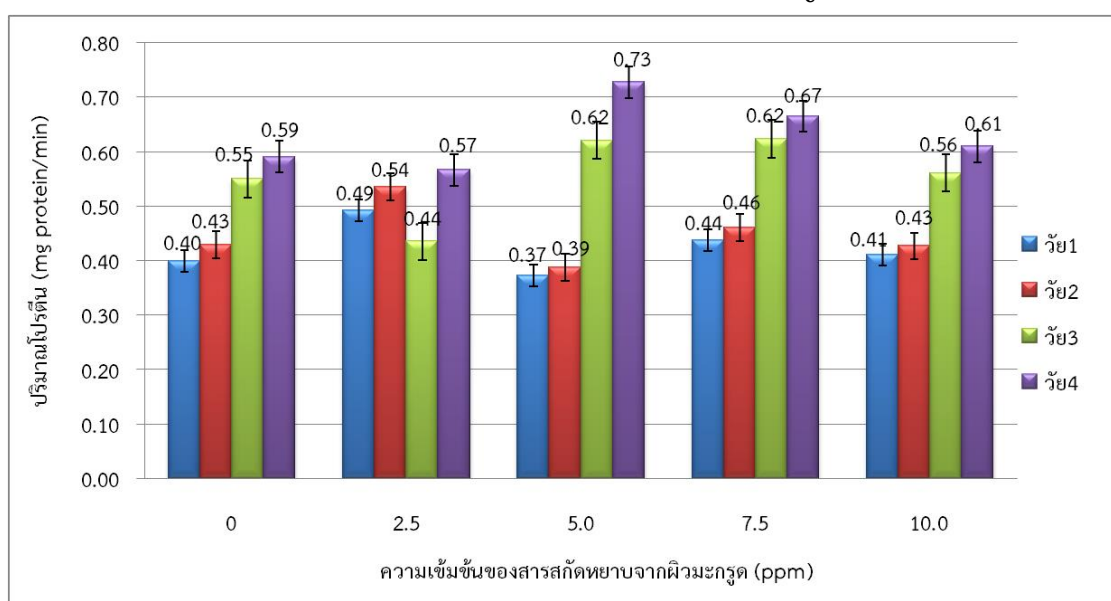
ตาราง 4.20 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณโปรตีนในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 ในชุดทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นต่างกัน

ความเข้มข้น ของสารสกัด	จำนวน ซ้ำ	ปริมาณโปรตีน (mg protein/min)
---------------------------	--------------	----------------------------------



หยาดจากผิว มะกรูด (ppm)		วัย1	วัย2	วัย3	วัย4
0	3	0.40 ± 0.00 ^a	0.43 ± 0.01 ^a	0.55 ± 0.01 ^a	0.59 ± 0.02 ^a
2.5	3	0.49 ± 0.00 ^c	0.54 ± 0.01 ^c	0.44 ± 0.01 ^b	0.57 ± 0.01 ^a
5	3	0.37 ± 0.01 ^a	0.39 ± 0.02 ^a	0.62 ± 0.09 ^a	0.73 ± 0.03 ^d
7.5	3	0.44 ± 0.04 ^b	0.46 ± 0.04 ^b	0.62 ± 0.02 ^a	0.67 ± 0.01 ^c
10	3	0.41 ± 0.02 ^{ab}	0.43 ± 0.03 ^a	0.56 ± 0.05 ^a	0.61 ± 0.02 ^b

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE, ค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)



ภาพประกอบ 4.31 ปริมาณโปรตีนของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 ในชุดทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาดจากผิวมะกรูด



บทที่ 5

อภิปราย สรุปผล และข้อเสนอแนะ

5.1 การวิเคราะห์สารซิโทรเนลลา (citronella) ของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและ ผิวมะกรูด

จากการนำสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารซิโทรเนลลา (citronella) ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ พบว่า ในสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด ที่ความเข้มข้น 0.05 ppm มีปริมาณสารซิโทรเนลลา เท่ากับ 13.45 และ 8.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 ได้เป็นอย่างดี ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Mamadou *et al.* (2014) ได้ศึกษาความเป็นพิษของตะไคร้หอมต่อแมลงศัตรูพืชในอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำมันหอมระเหยของตะไคร้หอมมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืชได้ดีที่สุด โดยเมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสาร พบว่า มีปริมาณสารซิโทรเนลลา 29.2% อีกทั้งมีรายงานการวิจัยของ Fan Siee Loh *et al.* (2011) ที่ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดต่อหนอนกระทู้ผัก พบว่ามีปริมาณของสารซิโทรเนลลา 1.76 % และมีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนกระทู้ผักได้ ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง โดยมีค่า LD₅₀ เท่ากับ 29.25 และ 26.75 µL/g ตามลำดับ

5.2 ผลของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูดต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4

5.2.1 ผลของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4

จากการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมต่ออัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 จะเห็นว่าหลังจากลูกน้ำยุงแต่ละวัยได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมในปริมาณเพิ่มขึ้นและระยะเวลาเพิ่มขึ้นนั้น จะส่งผลทำให้ลูกน้ำยุงมีอัตราการตายเพิ่มมากขึ้นด้วย โดยลูกน้ำยุงวัย 1 ถึงวัย 4 มีอัตราการตายสูงสุดเมื่อได้รับสารที่ความเข้มข้น 4,000 ppm ที่เวลา 30, 36, 60 และ 60 ชั่วโมง คิดเป็น 1.66±0.00, 86.66±2.65, 90.55±4.93 และ 86.11±5.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีอัตราการตายต่ำสุดเมื่อได้รับสารที่ความเข้มข้น 500 ppm โดยลูกน้ำยุงวัย 1 และวัย 2 มีอัตราการตายต่ำสุดที่เวลา 6 ชั่วโมง คิดเป็น 1.11±0.58 และ 0.55±0.58 และลูกน้ำยุงวัย 3 และวัย 4 พบว่า เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมความเข้มข้น 500 ppm ที่เวลา 12 ชั่วโมง ไม่สามารถทำให้ลูกน้ำยุงตายได้ โดยลูกน้ำยุงวัย 3 และวัย 4 มีอัตราการตายต่ำสุดเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดความเข้มข้น 500 ppm ที่เวลา 18 ชั่วโมง คิดเป็น 0.55±0.00 และ 0.56±0.57 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียง



กับรายงานการวิจัยของ วาสนา สมณัส และคณะ (2554) ที่ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสมุนไพรเพื่อลดปริมาณลูกน้ำยุงลายในแหล่งน้ำขัง พบว่า ที่เวลา 3 ชั่วโมง สารสกัดจากตะไคร้หอม มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณลูกน้ำยุงลายได้ 56.6 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งมีรายงานการวิจัยของ เด่น ดนัย ทองอ้วน และอรรถพล ภูมินาค (2546) ที่ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยและสารกำจัดศัตรูพืชประเภทดูดซึม ที่มีผลต่อแมลงหวี่ขาวในแปลงปลูกพริก ด้วยวิธีการล้นด้วยไอน้ำจากพืชสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ ตะไคร้หอม ตะไคร้แกง พืช ข่า และ เปลือกมะกรูด โดยฉีดพ่นที่ระดับความเข้มข้น 1.0, 0.5 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลจากการทดลอง พบว่า ตะไคร้หอม มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงหวี่ขาวได้ดีที่สุด รองลงมาคือ มะกรูด ตะไคร้แกง ข่า และ พืช ตามลำดับ

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 โดยแสดงค่าในรูป LC_{50} พบว่า เมื่อลูกน้ำยุงลายบ้านได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมที่ความเข้มข้นสูงขึ้นการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านก็จะสูงขึ้นตามปริมาณสารที่ได้รับ โดยพบว่าค่าความเป็นพิษสูงสุดที่ทำให้ลูกน้ำยุงแต่ละวัยตายไป 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) หลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากตะไคร้หอม ที่เวลา 30, 36, 60 และ 60 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 1,691.55, 2,257.54, 1,764 และ 2,038.42 ppm ตามลำดับ และค่าความเป็นพิษน้อยสุดที่ทำให้ลูกน้ำยุงแต่ละวัยตายไป 50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากได้รับสารที่เวลา 6 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 1,587.80, 4,546.00, 16,136 และ 69,164.28 ppm ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ กาญจนา สานุกุล และคณะ (2553) ได้ศึกษาการควบคุมลูกน้ำยุงลายโดยใช้สมุนไพรทั้งหมด 16 ชนิด ซึ่งมีตะไคร้หอมเป็นสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ และพบว่า ตะไคร้หอมมีประสิทธิภาพในการควบคุมลูกน้ำยุงลายได้ โดยมีค่า LC_{50} ต่ำกว่า 50 mg/L และรายงานวิจัยของ Tennyson *et al.* (2013) ที่พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอม สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 ได้ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 1,374.05 ppm เมื่อให้ลูกน้ำยุงลายได้รับน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 125, 250, 500 และ 1,000 ppm นาน 24 ชั่วโมง และสอดคล้องกับผลการศึกษาของ อรรถพล จงเจริญ (2552) ที่พบว่า สารสกัดจากตะไคร้หอมที่สกัดด้วยน้ำกลั่น ความเข้มข้น 600, 700, 800, 900 และ 1,000 mg/ml และที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95 % ความเข้มข้น 24, 28, 32, 36 และ 40 mg/ml สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 3 ตอนต้นได้ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 761.34 และ 30.45 mg/ml ตามลำดับ หลังได้รับสารที่เวลา 72 ชั่วโมง รวมทั้งงานวิจัยของ วรสรรค์ ธรรมสร้างกูร (2543) พบว่าสารสกัดจากตะไคร้หอม มีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญวัย 3 ได้ดี โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 7.88 และ 4.31 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 และ 30 ชั่วโมง ตามลำดับ อีกทั้งรายงานของ Sritabutra *et al.* (2011) ที่พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดมาจากตะไคร้หอม มีฤทธิ์ในการป้องกันการกัดของยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) และยุงก้นปล่อง (*An. dirus*) ได้ดี โดยสามารถป้องกันยุงทั้ง 2 ชนิดนี้ได้อย่างน้อย 60-98 นาที และ 48-210 นาที ตามลำดับ

5.2.2 ผลของสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4



จากการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดต่ออัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 จะเห็นว่าหลังจากลูกน้ำยุงแต่ละวัยได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดในปริมาณเพิ่มขึ้นและระยะเวลาได้รับสารเพิ่มขึ้นนั้น จะส่งผลทำให้ลูกน้ำยุงมีอัตราการตายเพิ่มมากขึ้นด้วย โดยลูกน้ำยุงวัย 1 มีอัตราการตายสูงสุดเมื่อได้รับสารที่ความเข้มข้น 10 ppm ที่เวลา 30 ชั่วโมง คิดเป็นอัตราการตายที่สูงกว่าการตายของลูกน้ำวัย 1 เมื่อได้รับสารที่ความเข้มข้น 2.5 ppm ในเวลา 6 ชั่วโมง ประมาณ 8.14 เท่า เช่นเดียวกับอัตราการตายของลูกน้ำยุงวัย 2, 3 และ 4 ที่พบว่าลูกน้ำยุงแต่ละวัยมีอัตราการตายสูงที่สุดเมื่อได้รับสารที่ความเข้มข้นมากที่สุด คือ 10 ppm ที่เวลา 36, 60 และ 60 ชั่วโมง และมีอัตราการตายต่ำสุดเมื่อได้รับสารที่ความเข้มข้นน้อยที่สุดของชุดการทดลองคือความเข้มข้น 2.5 ppm ที่เวลา 6 ชั่วโมง พบว่าลูกน้ำยุงมีอัตราการตายสูงกว่า ประมาณ 13.54, 25.02 และ 25.52 เท่า ตามลำดับ ดังเช่นรายงานการวิจัยของ พาทีนธิดา ธนามี และสมาน แก้วไวยุทธ (2556) ที่พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด ที่ความเข้มข้น 20, 30, 50 และ 70 ppm ที่เวลา 24 ชั่วโมง มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) ได้ โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การตาย เท่ากับ 0.086, 0.141, 0.048 และ 0.029 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และรายงานวิจัยของ Mya *et al.* (2015) ที่พบว่าสารสกัดจากใบมะกรูดที่สกัดด้วยเอทานอล มีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน ที่เวลา 24 ชั่วโมง ได้ดี โดยที่ความเข้มข้น 1.2, 1.5, 1.8, 2.1 และ 2.4 % มีเปอร์เซ็นต์การตาย เท่ากับ 2, 26.5, 62.5, 85.5 และ 99.5 % ตามลำดับ

นอกจากนี้รายงานการวิจัยของ ไพรัช น้อยแสง และคณะ (2547) รายงานไว้ว่า สามารถใช้สารสกัดจากผิวเปลือกของผลมะกรูดควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 ได้ โดยพบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสม และระดับความเป็นพิษของสารสกัดจากผิวเปลือกของผลมะกรูด ในอัตราส่วนของความเข้มข้นที่น้อยที่สุด คือ 0.2, 0.2, 0.4 และ 0.8 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร มีประสิทธิภาพเท่ากับทรายอะเบทในการกำจัดลูกน้ำยุงลายวัย 1 ถึงวัย 4 ที่เวลา 36, 48, 36 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ และสอดคล้องกับรายงานของ พาทีนธิดา ธนามี และ สมาน แก้วไวยุทธ (2556) ที่พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 24.42 ppm เมื่อให้ลูกน้ำยุงลายได้รับน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 20, 30, 50 และ 70 ppm ที่เวลา 24 ชั่วโมง ตลอดจนรายงานของ ณฐยา สัทธานนท์ (2553) ที่พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูด มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านสายพันธุ์ที่ต้านทานและไม่ต้านทานต่อสารไพรีทรอยด์ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 34.48 และ 30.07 ppm เมื่อให้ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 ได้รับน้ำมันหอมระเหย จากผิวมะกรูดที่ความเข้มข้น 23.3, 79.9, 32.6, 37.2, 41.9 และ 18.6, 23.3, 27.9, 32.6, 37.2, 41.9 ppm ตามลำดับ ที่เวลา 24 ชั่วโมง อีกทั้งรายงานของ อรรณพ จงเจริญ (2552) ที่พบว่า สารสกัดจากผิวมะกรูดสามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน วัย 3 ตอนต้นได้ โดยพบว่า สารสกัดจากผิวมะกรูดที่สกัดด้วยน้ำกลั่นความเข้มข้น 400, 500, 600, 700 และ 800 mg/ml และสารสกัดที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 12, 16, 20, 24 และ 28 mg/ml มีค่า LC_{50} เท่ากับ 551.02 และ 19.03 mg/ml ตามลำดับ



จากการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูดต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 ที่ใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายในการสกัด พบว่า เฮกเซนเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสม และมีประสิทธิภาพทำให้ได้สารสกัดหยาบจากพืชทั้ง 2 ชนิด มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงลายได้เป็นอย่างดี ซึ่งจากรายงานวิจัยของ Kumar *et al.* (2012) ที่พบว่าสารสกัดจากผิวส้มที่สกัดด้วยเฮกเซนสามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านและยุงก้นปล่องได้ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 96.5 และ 132.45 ppm และมีค่า LC_{90} เท่ากับ 163.27 และ 503.05 ppm ตามลำดับ ที่เวลา 24 ชั่วโมง และสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Warikoo *et al.* (2012) ที่พบว่าสารสกัดจากใบส้มที่สกัดด้วยเฮกเซน สามารถป้องกันกำจัดยุงลายบ้านได้ โดยเมื่อลูกน้ำวัย 4 ตอนต้น ได้รับสารสกัดความเข้มข้น 200 กรัม ต่อ 1 ลิตร พบว่ามีค่า LC_{50} และ LC_{90} เท่ากับ 446.84 และ 1,370.96 ppm ตามลำดับ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ผลจากการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม และผิวมะกรูดต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 พบว่าสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดสามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม โดยเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลายบ้านก็จะสูงขึ้น เช่น สารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด ความเข้มข้น 2.5, 5, 7.5 และ 10 ppm มีประสิทธิภาพทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 2 ตายสูงสุด คิดเป็น 12.22, 49.44, 73.88 และ 83.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังได้รับสารที่เวลา 18 ชั่วโมง โดยมีค่าความเป็นพิษ (LC_{50}) ต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 เท่ากับ 3.95, 4.46, 5.09 และ 5.10 ppm ที่เวลา 30, 36, 54 และ 60 ชั่วโมง ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิด มีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงลายได้ดี ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาต่อยอดในรูปแบบผลิตภัณฑ์ป้องกัน และกำจัดลูกน้ำยุงลาย หรือแม้แต่กระทั่งตัวเต็มวัยต่อไปได้ในอนาคต

5.3 การทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด

5.3.1 การทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม

จากการศึกษาการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่าระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 ซึ่งเป็นวัยที่มีการเจริญเติบโตสมบูรณ์เต็มที่ จะมีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสโดยรวมสูงกว่าลูกน้ำยุงวัย 1 ถึงวัย 3 ที่การเจริญเติบโตยังไม่สมบูรณ์เต็มที่ โดยพบว่าลูกน้ำวัย 4 มีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสสูงที่สุดหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม นั้น จะมีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสสูงกว่าลูกน้ำยุงวัย 1 คิดเป็น 1.60 เท่า โดยเมื่อลูกน้ำยุงที่มีชีวิตรอดหลังได้รับสารสกัด จะถูกเหนี่ยวนำให้การทำงานของเอนไซม์เอส



เทอเรสเพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม ไปเพิ่มระดับการทำงานของเอนไซม์ เอนไซม์เทอเรสที่จำเป็นต่อการอยู่รอด ซึ่งลูกน้ำยุงถือเป็นแมลงที่มีความสามารถในการปรับตัวให้อยู่รอดได้ดี จึงสามารถปรับตัวให้มีการเพิ่มระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสได้ ส่วนลูกน้ำยุงที่ตายไปอาจเป็นกลุ่มที่ไม่สามารถเหี่ยวน้ำเอนไซม์เอสเทอเรสให้เพิ่มขึ้นได้ทัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ พุทธิพร สายสงเคราะห์ (2549) ที่พบว่าหนอนกระทู้ผักมีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสเพิ่มขึ้น 2.45 เท่า เมื่อได้รับสารสกัดจากพริกขี้หนู แต่อย่างไรก็ตามพบว่า การตอบสนองของสิ่งมีชีวิตต่อสารสกัดจะไม่ขึ้นอยู่กับการสำคัญเพียงชนิดเดียว ซึ่งจะมีปัจจัยอื่นเข้ามาเกี่ยวข้องกับการทำงานร่วมกันของสารประกอบในสารสกัดอยู่หลายชนิดด้วยกัน เช่นการศึกษาของ Singh *et al.* (1989) พบว่าสารสกัดจากตะไคร้หอมประกอบด้วยสารซึ่งมีฤทธิ์ในการชลอการสืบพันธุ์ และยับยั้งการวางไข่และการกินอาหารของตั๊กแตนผีเสื้อเมีย (Sharaby, 1988) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าปริมาณของสารซิโทเนลลานั้นไม่ได้เป็นตัวบ่งชี้ความเป็นพิษจากสารสกัดเพียงอย่างเดียว แต่การแสดงความพิษของสิ่งมีชีวิตนั้นอาจเกิดจากมีสารชนิดอื่นมาออกฤทธิ์ร่วมด้วย

และยังพบว่าลูกน้ำยุงแต่ละวัยมีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อลูกน้ำยุงได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม โดยลูกน้ำยุงวัย 1 มีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ยกเว้นที่ความเข้มข้น 1,000 ถึง 4,000 ppm ที่พบว่าระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันในทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม สำหรับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสในลูกน้ำยุงวัย 2 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบ พบว่ามีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ยกเว้นลูกน้ำยุงวัย 2 ที่พบว่าการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม หลังได้รับสารความเข้มข้น 4,000 ppm โดยสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมที่เข้าสู่ร่างกายลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 แล้วนั้นจะเปลี่ยนเป็นสารตั้งต้นของเอนไซม์ต่างๆ บางชนิดอาจมีคุณสมบัติในการเหี่ยวน้ำทำให้เกิดการสังเคราะห์เอนไซม์ขึ้นภายในร่างกาย (Ernest, 1994; Visetson, 1991) ทั้งนี้ต้องขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ที่เข้ามาควบคุม เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง และลักษณะอื่นๆ ในสภาวะที่เฉพาะต่อการทำงานของเอนไซม์ (ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว และคณะ, 2539) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วรสรรค์ ธรรมสร้างกูร (2543) ที่ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus* Jewitti) ต่อเปอร์เซ็นต์การตาย และระดับเอนไซม์ทำลายพิษบางชนิดในลูกน้ำยุงรำคาญ และพบว่า มีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุมและแปรผันตามค่าความเป็นพิษ ซึ่งมีค่าสูงขึ้นเฉลี่ยประมาณ 2 เท่าจากระยะเวลา 24 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบตะไคร้หอมสามารถเหี่ยวน้ำให้เกิดการสร้างเอสเทอเรสขึ้น เพราะสารสกัดจากใบตะไคร้หอมมีสารซิโทเนลลเป็นส่วนประกอบสำคัญ ซึ่งสารสำคัญดังกล่าวมีโครงสร้างเป็นกลุ่มเอสเทอร์ ที่สามารถถูกขบวนการไฮโดรไลซิสโดยเอนไซม์เอสเทอเรสของลูกน้ำยุงได้



จากการศึกษาปริมาณโปรตีนในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 ในชุดทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม พบว่าปริมาณโปรตีนในลูกน้ำยุงทุกวัยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับผลการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ส ที่พบว่าเมื่อลูกน้ำยุงทุกวัยได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม มีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม สอดคล้องกับงานวิจัยของ เรวดี ชูช่วย (2541) ที่ศึกษาการหาโปรตีนรวมในเห็บสุนัขหลังให้สารสกัดจากตะไคร้หอม เพื่อดูค่าปริมาณโปรตีนที่เปลี่ยนแปลงไป พบว่า ปริมาณโปรตีนไม่เปลี่ยนแปลงในทุกความเข้มข้นของสารสกัดตะไคร้หอม

5.3.2 การทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด

จากการศึกษาการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูดที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ในเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอม อาจเพราะสารสกัดหยาบจากพืช ทั้ง 2 ชนิด มีสารซิทรินেলাเป็นส่วนประกอบสำคัญ ซึ่งสารซิทรินেলাมีโครงสร้างสารเป็นกลุ่มเอสเทอร์ ที่สามารถถูกขบวนการไฮโดรไลซิสโดยเอนไซม์เอสเทอร์ส ของลูกน้ำยุงได้ ซึ่งในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 เป็นวัยที่มีการเจริญเติบโตสมบูรณ์เต็มที่ จะมีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สโดยรวมสูงกว่าลูกน้ำยุงวัย 1 ถึงวัย 3 ที่การเจริญเติบโตยังไม่สมบูรณ์เต็มที่ โดยพบว่าลูกน้ำวัย 4 ที่มีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สสูงที่สุดหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากตะไคร้หอม นั้น จะมีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สสูงกว่าลูกน้ำยุงวัย 1 คิดเป็น 2.10 เท่า ทั้งนี้ Clark and Dauterman (1982) ได้รายงานไว้ว่า สัตว์แต่ละชนิดจะมีการตอบสนองต่อสารสกัดจากพืชไม่เหมือนกันขึ้นอยู่กับโครงสร้างที่แตกต่างกันของสารประกอบในสารสกัดจากพืช และสายพันธุ์ของสัตว์ ซึ่งแมลงบางชนิดสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงได้ เนื่องจากมีความว่องไวในการทำลายซับซ้อนสูง กว่าสายพันธุ์อื่นๆ ขึ้นอยู่กับระดับเอนไซม์ทำลายพิษในร่างกายของสิ่งมีชีวิตเหล่านั้น

และยังพบว่าลูกน้ำยุงแต่ละวัยมีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากผิวมะกรูด โดยในลูกน้ำยุงวัย 1 และวัย 4 มีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ส่วนลูกน้ำวัย 2 และวัย 3 พบว่ามีระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่ความเข้มข้น 7.5 และ 10 ppm เมื่อเทียบกับ ความเข้มข้น 2.5 และ 5 ppm และเทียบกับกลุ่มควบคุม ใกล้เคียงกับรายงานการวิจัยของ วรสิทธิ์ ไหลหลั่ง และวาสนา สอนเพ็ง (2550) ที่ศึกษาความต้านทานของยุงลายต่อสารเคมีที่ใช้ในการควบคุมโรคไข้เลือดออกจังหวัดมุกดาหาร ใน 7 อำเภอ พบว่าปริมาณเอนไซม์เอสเทอร์สมีความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์มาตรฐานกับสายพันธุ์ที่ทำการศึกษาในทุกพื้นที่ อยู่ในระดับสูง และมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และรายงานการวิจัยของ โรสมานี แวมานะ (2549) ที่พบว่า ระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์สเพิ่มขึ้น หลังจากหนอนผีเสื้อข้าวสารได้รับสาร



สกัดจากหัวเห็ดเหมาที่เวลา 24 ชั่วโมง แต่ระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสที่เพิ่มขึ้นนั้น ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และแตกต่างจากรายงานการวิจัยของ Bullangpoti (2004) ที่พบว่าระดับเอนไซม์เอสเทอเรสของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลดลงเมื่อใช้สารสกัดจาก เปลือกมังคุด เมล็ดเงาะ และ ใบมะกรูด

ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว และคณะ (2539) และสุรพล วิเศษสรรค์ (2546) ได้กล่าวไว้ว่าปริมาณของสารพิษ ระยะเวลาการได้รับพิษ และโครงสร้างของสารพิษมีผลต่อการทำงานของระบบเอนไซม์ทำลายพิษ รวมทั้งเอนไซม์เอสเทอเรส เนื่องจากเอนไซม์เอสเทอเรสมีหน้าที่สำคัญในการกำจัดพิษออกนอกร่างกายผ่านระบบขับถ่าย เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษและการทำลายพิษระยะที่ 1 (phase I reaction) เช่น ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส โดยใช้ออกซิเจนและไฮโดรเจนจากโมเลกุลของน้ำเข้าร่วมในปฏิกิริยา ผลที่ได้อาจทำให้สารพิษมีความเป็นพิษมากหรือน้อยกว่าสารตั้งต้นก็ได้ ถ้าหากมีความเป็นพิษต่ำกว่าสารตั้งต้นก็จะถูกกำจัดออกนอกร่างกายได้ง่าย แต่ถ้าหากมีความเป็นพิษสูงกว่าสารตั้งต้น สารเหล่านั้นก็จะเข้าสู่กระบวนการทำลายพิษระยะที่ 2 (phase II reaction) เกิดการ conjugated เพื่อให้ได้สารที่มีสมบัติในการละลายน้ำได้ดีและถูกกำจัดออกนอกร่างกายต่อไป ซึ่งจะเห็นได้ว่าเอนไซม์เอสเทอเรส เป็นระบบเอนไซม์ที่สำคัญระบบหนึ่งในระบบเอนไซม์ทำลายพิษ ที่ทำให้ปฏิกิริยาสลายพิษโดยกระบวนการทางเคมีต่างๆ เช่น hydrolysis, oxidation และ Reduction ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในกระบวนการทำลายพิษระยะที่ 1 (phase I reaction) ของกระบวนการทำลายพิษ เอนไซม์เอสเทอเรสจะเป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาเคมีต่างๆ โดยทำลายพันธะของกลุ่มสาร ether, amide หรือ phosphate แล้วทำให้สารตั้งต้นหรือสารพิษเปลี่ยนเป็นสารที่มี functional group เปลี่ยนแปลงไป (Dauterman and Hodgson, 1978)

และจากการศึกษาปริมาณโปรตีนในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 ในชุดทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเหมาจากผิวมะกรูด พบว่าปริมาณโปรตีนในลูกน้ำยุงทุกวัยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุมเช่นเดียวกับลูกน้ำยุงที่ได้สารสกัดเหมาจากใบตะไคร้หอม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Yu (1984) พบว่าสารสกัดจากพืชหลายชนิดไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสโดยไปจับกับตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยาในลักษณะของการยับยั้งแบบแข่งขัน (non-specific inhibition) ซึ่งจะทำให้เอนไซม์เหล่านั้นสูญเสียคุณสมบัติไปจากเดิม และเซลล์ภายในตัวอ่อนลูกน้ำยุงลายบ้านก็จะทำหน้าที่สังเคราะห์เอนไซม์ดังกล่าวเพิ่มมากขึ้น จึงทำให้ปริมาณโปรตีนมีค่าเฉลี่ยสูงขึ้นจากปกติ



5.4 สรุปผลการทดลอง

5.4.1 สารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูดมีผลทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 ตายได้ และพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดทั้ง 2 ชนิด เพิ่มขึ้นอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านทั้ง 4 วัย ก็จะสูงขึ้น

5.4.2 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด ต่อลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 พบว่าเมื่อลูกน้ำยุงได้รับสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิด ที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น ความเป็นพิษของลูกน้ำยุงก็จะเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับระยะเวลาที่ลูกน้ำยุงได้รับสารจากพืชทั้ง 2 ชนิด

5.4.3 ระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสในลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 1 ถึงวัย 4 หลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากสารสกัดหยาบทั้ง 2 ชนิด ไปเหนี่ยวนำให้เอนไซม์เอสเทอเรสมีระดับการทำงานเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเอนไซม์เอสเทอเรสเป็นเอนไซม์ที่จำเพาะต่อการย่อย และลูกน้ำยุงลายบ้านก็ถือเป็นแมลงที่มีการปรับตัวต่อการอยู่รอดได้ดี

5.5 ข้อเสนอแนะ

5.5.1 ในการทำวิจัยครั้งนี้ใช้สารสกัดหยาบ (crude extracts) เพื่อหาประสิทธิภาพโดยรวมของสารสกัดจากพืช โดยทั่วไปพืชแต่ละชนิดมีสารออกฤทธิ์หลายชนิด ดังนั้นในอนาคตจึงควรนำสารสกัดหยาบจากพืชไปแยกเพื่อศึกษาว่ามีสารชนิดใดอีกบ้างที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเอนไซม์ทำลายพิษของแมลง

5.5.2 ควรนำสารสกัดจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูด ไปลองทดสอบกับสภาพแวดล้อมจริง เพื่อจะได้ทราบถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิด ในการกำจัดลูกน้ำยุง เนื่องจากปัจจัยของสภาพแวดล้อม และปัจจัยการทดสอบในห้องปฏิบัติการแตกต่างกันกับสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติ



เอกสารอ้างอิง



เอกสารอ้างอิง

- กาญจนา สานุกุล ธนิศร์ ปทุมานนท์ และยลฤดี ตันพลสิทธิ์ (2553) *การควบคุมลูกน้ำยุงลายโดยใช้สมุนไพร Mosquito Larvicidal Activity of Thai Medicinal Plants*. รายงานการศึกษา วิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดขอนแก่น, ขอนแก่น.
- กิตติพันธ์ ตันตระกูลโรจน์ และวรรณ สุวรรณเกิด (2542) การศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด และผิวเปลือกผลมะกรูดในการป้องกันยุงกัด. *ข่าวสารสวนสมุนไพร*, 23 (3), 9-102.
- กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข (2550) *การประเมินผลโครงการประชาร่วมใจป้องกัน และควบคุมโรคไข้เลือดออก*. พิมพ์ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์การรับส่งสินค้าและพัสดุภัณฑ์, กรุงเทพฯ.
- กลุ่มพัฒนาวิชาการ (2554) *เอกสารวิชาการการเตรียมความพร้อมรับมือ โรคไข้เลือดออก ก่อนฤดูการระบาด*. สำนักป้องกันควบคุมโรคที่ 5, นครราชสีมา.
- คณะทำงานข่าวกรอง พยากรณ์โรคและภัยสุขภาพ (2555) *รายงานการพยากรณ์โรคไข้เลือดออกพื้นที่ สาธารณสุขเขต 4 และเขต 5*. สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 4, ราชบุรี.
- คุณ เครือวรรณ (2532) *พืชของพืชบางชนิดต่อลูกน้ำยุงลาย*. วิทยานิพนธ์ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
- ชนานันท์ แพงไทย (2551) *การประยุกต์ใช้สารสกัดจากพืชชนิดน้ำแลชนิดผงในการควบคุม ลูกน้ำยุงลาย (Aedes aegypti Linn.)*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว, อธิยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และปัญญา เต็มเจริญ (2539) *หลักการทางพิษวิทยา*. พิมพ์ครั้งที่ 3. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.
- ณฐยา สัทธานนท์ (2553) *ฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยในการฆ่าลูกน้ำของยุงลาย Aedes aegypti สายพันธุ์ที่ดื้อและไวต่อสารฆ่าแมลงในกลุ่มไพรีทรอยด์*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- เด่นดนัย ทองอ้วน และอรรถพล ภูมินาค (2546) *ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย และสารกำจัดศัตรูพืชประเภทดูดซึมจากตะไคร้หอม ตะไคร้แกง ไพล ข่า และเปลือกมะกรูดที่มี ผลต่อแมลงหวี่ขาวในแปลงปลูกพริก*. รายงานโครงการวิจัย. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏมหาสารคาม, มหาสารคาม.



- ทิพนาด อันตรเสน (2550) ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชบางชนิดต่ออัตราการตาย ระดับเอนไซม์ เอสเทอเรส และกลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรสในแมลงวันผลไม้ (*Bactrocera dorsalis* Hendel). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- บุญล้วน พันธุ์จินดา (2515) ยุ่งลาย. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 14 (1), 47-54.
- ปาริชาติ อุปทุม (2552) อิทธิพลของสารซาโปนินจากกากเมล็ดชาต่อความเป็นพิษ และเอนไซม์ เอสเทอเรส กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสต่อสัตว์และศัตรูพืชบางชนิด. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พาทีนธิดา ธนามี และสมาน แก้วไวยุทธ (2556) ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร ในการยับยั้งลูกน้ำยุ่งลาย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พุทธิพร สายสงเคราะห์ (2549) ปฏิกริยาเอนไซม์เอสเทอเรส และกลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรสใน หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* L.) หลังสัมผัสสารสกัดจากพืชบางชนิด. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์ (2550) การพัฒนาเจลไต้ยุงที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร. การวิจัยพัฒนา. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร, กรุงเทพฯ.
- ไพรัช น้อยแสง, มาโนช ดีพิجارณ์, และอนุกุล ชังชั่ว (2547) การจัดการ ควบคุมลูกน้ำยุ่งลาย โดยใช้ สารสกัดจากผิวเปลือกของผลมะกรูดกรณีศึกษา : อำเภอเมืองนครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์. การศึกษาค้นคว้าด้วยตนเอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- มัสรินทร์ วิวัฒน์, อรัญ งามผ่องใส, สนั่น ศุภธีรสกุล, และธีระพล ศรีชนะ (2555) ผลของเมล็ดสะเดา ข้างและน้ำมันหอมระเหยบางชนิดต่อการตายและการพัฒนาของลูกน้ำยุ่งลายบ้าน. วารสาร วิทยาศาสตร์เกษตร, 43 (2 พิเศษ), 53-56, พฤษภาคม-สิงหาคม.
- รัตนา ทวีเดช (2554) ประสิทธิภาพของเจลไต้ยุงที่มีสารออกฤทธิ์ที่ได้รับจากน้ำมันหอมระเหยของ มะกรูด สะระแหน่ กานพลู ไพล และกระชาย. วิทยานิพนธ์ปริญญาสาธาณสุขมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.
- รัตนา อินทรานุปรณ์ (2547) การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. สำนักพิมพ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- เรวดี ชูช่วย (2541) ประสิทธิภาพของสารสกัดจากตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus* Jewitti) และสะเดา (*Azadirachta indica* var *siamensis* Valetton) กับการเปลี่ยนแปลงระดับ เอนไซม์ ทำลายพิษในเห็บสุนัข (*Rhipicephalus sanguineus* Latreille). วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.



- โรสมานี แวมานะ (2549) *ความเป็นพิษของสารสกัดหยาดจากสมุนไพรบางชนิดต่อผีเสื้อข้าวสาร (Corcyra cephalonica Stainton) และผลที่มีต่อเอนไซม์เอสเทอเรส และกลูตาไทโอน เอส-ทรานเฟอเรส*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วาสนา สมณัส สุพรรณษา กุลสารี และ ประรณนา สัตย์เชื้อ (2554) *เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรกับการลดปริมาณลูกน้ำยุงลาย*. [ออนไลน์]. ได้จาก : http://www.itrmu.net/web/06rs1/index.php?dl=UHVjvamVjdDYucGRm&doc_c_id=4 [สืบค้นเมื่อ 20 สิงหาคม 2558]
- วรสิทธิ์ ไหลหลั่ง และวาสนา สอนเพ็ง (2550) *การศึกษาความต้านทานของลูกน้ำยุงลายต่อสารเคมีที่ใช้ในการควบคุมโรคไข้เลือดออกจังหวัดมุกดาหาร*. รายงานวิจัย. สำนักงานป้องกันควบคุมโรค จังหวัดอุบลราชธานี กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข, อุบลราชธานี.
- วรสรรค์ ธรรมสร้างกูร (2543) *ประสิทธิภาพของสารสกัดจากตะไคร้หอมต่ออัตราการตาย และระดับเอนไซม์ทำลายพิษบางชนิดในลูกน้ำยุงรำคาญ*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สถาบันการแพทย์แผนไทย (2547) *สมุนไพรตะไคร้หอม*. [ออนไลน์]. <http://www.dtam.moph.go.th/index.php> [สืบค้นเมื่อ 9 มกราคม 2557]
- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข (2546) *สมุนไพรป้องกันกำจัดแมลงทางการแพทย์*. พิมพ์ครั้งที่ 2. นนทบุรี, ฝ่ายชีววิทยา และนิเวศวิทยา กลุ่มกีฏวิทยาทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.
- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (2552) *ตะไคร้หอม*. [ออนไลน์]. <http://www.kasetporpeang.com/forums/index.php?topic=11860.0;wap2> [สืบค้นเมื่อ 15 มีนาคม 2557]
- สถาบันวิจัยสมุนไพร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข (2548) *มะกรูด*. [ออนไลน์]. http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_herbal/search_list.php [สืบค้นเมื่อ 12 ธันวาคม 2558]
- สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล (2548). *สมุนไพรไทย*. [ออนไลน์]. <http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/syzygium.html> [สืบค้นเมื่อ 30 กรกฎาคม 2556]
- สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน กระทรวงสาธารณสุข (2542) *เคมีของพืชสมุนไพร*. [ออนไลน์]. <http://www.pharmacy.su.ac.th/pg/link/link1%20detail.htm> [สืบค้นเมื่อ 11 สิงหาคม 2556]
- สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข (2553). *Annual epidemiological surveillance report*. องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึกในพระบรมราชูปถัมภ์, นนทบุรี.



สำนักโรคติดต่อวิทยา กระทรวงสาธารณสุข (2558) *สรุปสถานการณ์ไข้เลือดออกประจำปี*. [ออนไลน์].

<http://www.boe.moph.go.th/boedb/surdata/disease.php?dcontent=old&ds=26>
[สืบค้นเมื่อ 28 มิถุนายน 2558].

สำนักโรคติดต่อวิทยา โดยแมลง กรมควบคุมโรค (2550) *วงจรชีวิตยุงลาย*. [ออนไลน์].

<http://www.thaivbd.org/n/contents/view/324396> [สืบค้นเมื่อ 16 กันยายน 2556]

สำนักโรคติดต่อวิทยา โดยแมลง กรมควบคุมโรค (2555) *คู่มือแนวทางการดำเนินงานและการ
ประเมินผลการป้องกันและควบคุมโรคติดต่อโดยแมลง ระดับอำเภอ*. กรมควบคุมโรค,
นนทบุรี.

สัมฤทธิ์ สิงห์อาสา (2533) *กัญญาวิทยาอะคาโรวินวิทยา การแพทย์และสัตวแพทย์*. หน่วยปริสติวิทยา
ภาควิชาชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

สุรพล วิเศษสรรค์ (2544) *กลไกของสารพิษในสัตว์*. ภาควิชาสัตววิทยาคณะวิทยาศาสตร์.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____ (2546) *กลไกของสารพิษในสัตว์*. ภาควิชาสัตววิทยาคณะวิทยาศาสตร์.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____ (2547) *เอกสารประกอบการสอนกลไกของสารพิษในสัตว์*. ภาควิชาสัตววิทยาคณะ
วิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุระ รักความซื่อ (2546) *ผลของสารสกัดแมงลักคา (Hyptis suaveolens Linn.Poit.) ต่อลูกน้ำยุงลาย
(Aedes aegypti L.)*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

อนุลักษณ์ จันทร์คำ (2555) *การประยุกต์ใช้สมุนไพรไทยในการควบคุมยุงพาหะนำโรค*. *วารสารเทคนิค
การแพทย์เชียงใหม่*, 45 (1), 9-22.

อารีย์รัตน์ ศรีจักรวาลวงษ์, สำลี โพธิปัญญา, สุนทรี โรจน์สุพจน์, ไพโรจน์ วราชิต (2536). การตรวจยีน
ยับยั้งการติดเชื้อในผู้ป่วยโรคไข้เลือดออก พ.ศ. 2529-2532. *วารสาร
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*, 35 (1), 13-24.

อัญญา ประศาสน์วิทย์ (2551) *การศึกษาสมุนไพรพื้นบ้านที่มีฤทธิ์เฉพาะเจาะจงในการทดลอง
ควบคุมพาหะนำโรคติดต่อระหว่างประเทศ ในหลอดทดลอง*. กรมควบคุมโรคติดต่อ, นนทบุรี.

อุษาวดี ถาวรระ, อภิวัฏ ธวัชสิน, ฤทัยรัตน์ ศรีธมรัตน์, ปณวรรณ บุโรทกานนท์ (2546) *สมุนไพรป้องกัน
กำจัดแมลงทางการแพทย์*. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข, นนทบุรี.

อุษาวดี ถาวรระ, อภิวัฏ ธวัชสิน, ฤทัยรัตน์ ศรีธมรัตน์, ปณวรรณ บุโรทกานนท์ (2548) *สมุนไพรป้องกัน
กำจัดแมลงทางการแพทย์*. พิมพ์ครั้งที่ 2. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, นนทบุรี.



- อุษาวดี ถาวร (2553) ชีววิทยา นิเวศวิทยา และการควบคุมยุงในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 4.
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กระทรวงสาธารณสุข,
นนทบุรี.
- อรรณพ จงเจริญ, (2552), การเปรียบเทียบความเป็นพิษที่มีต่อลูกน้ำยุงลายบ้านของสารสกัดจากพืช
สมุนไพรที่สกัดด้วยตัวทำละลายและการกลั่นด้วยไอน้ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร
มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.
- Chohen, E (1971) Expression of esterase during ontogenesis of the flour beetle *Triblium
castaneum* (Coeloptera). *Journal Biochemical Genetics*, 15, 254-264.
- Clark, A.G. and Dauterman, W.C. (1982) The characterization by affinity chromatography
of glutathione-S-transferase from different strains of house fly. *Journal Pesticide
Biochemistry and Physiology*, 17, 307-314
- Dauterman, W.C. and Hodgson, E. (1978) Biochemistry of insect, In : M. Rocktion, eds.
Detoxification mechanism in insect. Academic Press, New York. pp.541-577
- Ernest, H. and Patricia, E.L. (1994). Metabolism; Phase I Reactions. In : H. Ernest and E.L.
Patricia (eds.) *Introduction to Biochemical Toxicology*. 2nd. ed. Appleton &
Lange Norwalk, Connecticut. pp.- 111.
- Fan Siew Loh, Rita Muhamad Awang, Dzolkhifli Omar and Mawardi Rahmani (2011)
Insecticidal properties of Citrus hystrix DC. Leaves essential oil against
Spodotera litura fabricius. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (16), 3739-
3744.
- Gillett, J. D. (1972) *Common African mosquitoes and their medical importance*. William
Heinemann Medical Books Limited, London, United Kingdom.
- Rozendaal Jan A. (1997), *Vecer control : Methods for use by individuals and
communities*. First Print. Typeset in Hong kong. Printed in England.
- Kumar S, Warikoo R, Mishra M, Seth A, Wahab N (2012) Larvicidal efficacy of the Citrus
limetta peel extracts against Indian strains of *Anopheles stephensi* Liston and
Aedes aegypti L. *Journal of Parasitology Research*, 111, 173-178.
- Marion M. braford (1976) Arapid and sensitive method for the quantitation of
microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.
Journal Analytical biochemistry, 72, 248-254.
- Mamadou D, Kouassi Y, Lucien K, Kanka C, Dagobert K, Koffi K, Bleu D. and Mamadou D.
(2014) Toxicity of *Cymbopogon nardus* (Glumales : Poacea) against four stored



- food products insect pests. *Internationnal Journal of Farming and Allied Sciences*, 3(8), 903-909.
- Mendonca, F.A.C., K.F.S. Silva, K.K. Santos, K.A.L. Ribeiro Junior and A.E.G. Ana (2005) Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. *Fitoterapia*, 76(7-8), 629-36.
- Mike Service (2008) *Emeritus Professor of Medical Entomology*. 4 Thed. Published Printed in the United Kingdom at the University Press, Cambridge.
- M. M. Mya, Y. Y. Aye, A. W. Oo and R.K. Saxena (2015) Effect of Citrus hystrix DC Leaves Ethanol Extract on Larvae of *Aedes aegypti*. *Journal of Biological Engineering Research and Review*, 2(2), 01-06.
- Gullan, P.J. and Cranston, P.S. (1994) *The insects : an outline of entomology*. First edition. Printed in Great Britain by Alden Press, Osney Mead, Oxford.
- Phiareron A, (2011) Expression of esterase Enzyme Activity on Nang Noi Silkworm Larvae, *Bombyx mori* L. Against Carbosulfan Int. *Journal wild Silkmoth & sikk*, 16, 55-66.
- Radhika W, Ankita R, Jasdeep S, Roopa S, Naim W. and Sarita K, (2012) Larvicidal and irritant activities of hexane leaf extracts of *Citrus sinensis* against dengue vector *Aedes aegypti* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. Biomed.* 2(2),152-155.
- Rattanapan A, (2009) effects of rotenone from derris crude extract on esterase enzyme mechanism in the beet armyworm, *spodoptera exiqua* (HUBNER). *Journal of Applied Biological Sciences*, 74(2),437-444.
- Sharaby A, (1988) Anti-insectproperties of the essentian oil of lemon grass, *Combopogon citrtus* against the lesser cotton leafworm *Spodoptera exigua* (Hbn). *Insect. Journal of Applied Science*, (9)1, 77-80.
- Sritabutra D, Soonwera M, waltanachanobon S, Pounjai S, (2011) Evaluation of herbal essential oil as repellents against *Aedes aegypti* (L.) and *Anopheles dirus* Peyton & Harrion. *Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine*, 1(1), 124– 128.
- Singh, D., Siddiqui, M.D. and Sharma, S (1998) Reproduction retardant and fumigant properties in essential oil against rice weevil (Coleoptera : Curculionidae) in stored wheat. *Journal of Economics*, 82(3), 727-733.



- Supattra Suwanmanee, Urai Chaisri and Natthanej Luplertlop (2008) Peritrophic Membrane Formation in Adult *Aedes aegypti* after Blood Feeding. *Journal of Tropical Medicine and Parasitology*, 31(2), 57-62.
- Tennyson S, Arul Samraj D, Jeyasundar D, Chalieu K (2013) Larvicidal Efficacy of Plant Oils Against the Dengue Vector *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). Middle-East. *Journal of Scientific Research*, 13(1), 64-68.
- Vasakorn Bullangpoti (2004) *Effects of Some Plant Extracts on Toxicity and Activities of Esterase and Glutathione-S-Transferase in Rice Weevils (Sitophilus oryzae L.)* thesis Master of Science. Kasetsart University.
- Visetson S (1991) *Insecticide resistance mechanisms in the red rust flour beetle (Tribolium castaneum Herbst)*. PhD Thesis. The University of Sydney.
- Visetson S, and M. Milne (2001) *Effects of root extract from (Dreiss elliptica Benth) on mortality and detoxification enzyme levels in the diamondback moth larvae (Plutella xylostella Linn.)*. Kasetsart J. (Nat.Sci.), 35, 157 – 163.
- _____ (2003) *Introduction to Biotoxicology*. Department of Zoology. Faculty of Science. Kasetsart University. Bangkok Thailand.
- _____ (2004) *Toxicant Mechanisms in Animal*. Department of biology, Faculty of Science. Kasetsart University. Bangkok Thailand.
- Warikoo R, Ray A, Kaur Sandhu J, Samal R, Wahab N, and Kumar S, (2012) Larvicidal and irritant activities of hexane leaf extracts of *Citrus sinensis* against dengue vector *Aedes aegypti* L. *Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine*, 2(2),152–155.
- WHO (1992) World Health Organization. *Rotenone Health and Safety Guide* No. 73.
- Yu, S. J. (1983) Induction of detoxifying enzymes by allelochemicals and host plant in the fall armyworm. *Journal of Pesticide Biochemistry and Physiology*, 19(3), 330-336



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก

วิเคราะห์ระดับการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรส (esterase)



การหาเปอร์เซ็นต์การตายจริง โดยวิธี Abbott's formula ของ Matsumura (1975)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การตายจริง} = [(X - Y) \times 100] / (100 - Y)$$

เมื่อ X คือ เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในกลุ่มควบคุม

Y คือ เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในกลุ่มทดลอง

โดยเปอร์เซ็นต์การตายในกลุ่มควบคุมต้องน้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์

การวิเคราะห์ Esterase

$$\text{Paranitrophenol produced} = \text{OD/min} \times 58.8235 \times \text{total volume of assay (ml)}$$

แทนค่า OD/min ที่วัดได้จากเครื่อง spectrophotometer ด้วย A และปริมาตรรวมที่ใช้

วิเคราะห์เอนไซม์ใน 1 cuvette = 3.0 ml

ฉะนั้น ปริมาณเอนไซม์ที่วัดได้ = $A \times 58.8235 \times 3$ n mole

วิธีวิเคราะห์ปฏิกิริยาของเอนไซม์

1. การเตรียมสารเคมี

1.1 Phosphate Buffer



เตรียม 0.1 M KH_2PO_4 (Phosphate buffer : M.W = 136.09) เตรียมโดยใช้ Phosphate buffer จำนวน 13.509 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่า pH เท่ากับ 7.5

1.2 Phosphate buffer with EDTA

เตรียม 1 mM EDTA (Ethyline Dibromide TriAcetic acid : M.W = 452.24) เตรียมโดยใช้ EDTA จำนวน 0.45224 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่า pH เท่ากับ 7.5 หลังจากนั้นนำ 1 mM EDTA ปริมาตร 1 มิลลิลิตรมาเติมลงใน 0.1 M KH_2PO_4 ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน

1.3 Phosphate buffer with GSH reduced form

เตรียมโดยใช้ GSH reduced form ปริมาณ 0.15 กรัม เติมลงใน Phosphate buffer pH 7.5 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร คนให้สารละลายจนหมด

1.4 PVPP (PolyVinylPoryPyrolidone) จากการทดลองจะใช้สารนี้ในปริมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณสารประกอบที่ใช้

1.5 0.12 M pNPA (Paranitrophenyl acetate)

เตรียมโดยใช้ pNPA ปริมาณ 0.1 กรัมเติมลงในเอทิลแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร คนให้สารละลายจนหมด

1.6 สารละลาย Bradford (ใช้ในการหาค่าโปรตีน)

เตรียมโดยชั่ง Coomassie Brilliant blue R250 100 มิลลิกรัม แล้วเติมในเอทานอล 95% จำนวน 50 มิลลิลิตร แล้วเติม 85% H_3PO_4 จำนวน 100 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

หมายเหตุ

การเตรียมสารละลายในข้อ 1.5 จะต้องเตรียมในช่วงเวลาที่ใช้ทดลอง ไม่ควรเตรียมทิ้งไว้หลายวันเพราะอาจทำให้สารละลายไม่มีประสิทธิภาพในการทำงาน

2. ขั้นตอนการวิเคราะห์สาร

2.1 วิเคราะห์สาร pNPA



การศึกษาปฏิกิริยาของเอนไซม์เอสเทอร์ส จากการวิเคราะห์สารละลาย PNPA โดยเติมสารละลายดังตาราง วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ในค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 นาโนเมตร แล้วอ่านค่า OD/min ที่ได้แล้วนำมาคำนวณตามสูตรต่อไปนี้

สารละลาย Blank Sample

$$\text{Paranitrophenol product} = \text{OD/min} \times 58.8235 \times \text{total volume of assay (ml)}$$

2.2 ตรวจวัดระดับเอนไซม์เอสเทอร์ส

โดยใช้วิธี pNPA assay ของ Mackness และคณะ (1983) โดยดัดแปลงวิธีการของ Visetson et al. (2004) ใช้เครื่อง Spectrophotometer ตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงของสาร pananitrophenol ที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร ซึ่ง paranitriphenol เป็นสารละลายสีเหลืองที่ได้จากเอนไซม์เอสเทอร์สเร่งปฏิกิริยา hydrolysis ของสาร paranitriphenol actata (pNPA) ที่ใช้เป็นสารตั้งต้น โดยมรขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนการศึกษาระดับเอนไซม์เอสเทอร์ส

สารละลาย	Blank	Sample
0.1 M Phosphate buffer (pH 7.5)	2900µl	2900µl
Substrate (0.12 M PNPA)	50µl	50µl



Phosphate buffer (pH 7.5) + EDTA	50μl	-
Supernatant (Enzyme)	-	50μl



ภาคผนวก ข
การตรวจสอบปริมาณโปรตีน



การตรวจสอบปริมาณโปรตีน

ทำการตรวจสอบปริมาณโปรตีนรวมของลูกน้ำยุงลายบ้านหลังได้รับสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้หอมและผิวมะกรูดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธีการของ Bradford วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer เพื่อนำโปรตีนรวมมาเปรียบเทียบกับระดับเอนไซม์ทำลายพิษ โดยมีขั้นตอนดังนี้

สารละลาย	ปริมาณสารละลายที่ใช้ในแต่ละหลอด (μl)	
	Blank / Reference	Sample
Bradford solution	1,000	1,000
Supernatant (enzyme) ที่สกัดได้	-	100



ประวัติย่อผู้วิจัย



ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ - นามสกุล	นางสาวลภัสสรดา โงนมะณี
วัน เดือน ปีเกิด	วันที่ 10 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2531
จังหวัด และประเทศที่เกิด	จังหวัดมุกดาหาร ประเทศไทย
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2546 มัธยมศึกษาต้น โรงเรียนห้วยน้ำใหญ่วิทยา จังหวัดมุกดาหาร พ.ศ. 2549 มัธยมศึกษาปลาย โรงเรียนมุกดาหาร จังหวัดมุกดาหาร พ.ศ. 2553 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ. 2559 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้	บ้านเลขที่ 51 หมู่ 9 ตำบลห้วยน้ำใหญ่ อำเภอห้วยน้ำใหญ่ จังหวัดมุกดาหาร 49150
ทุนวิจัย	ทุนอุดหนุนการวิจัยสำหรับนิสิตระดับบัณฑิตศึกษา ประจำปีงบประมาณ 2557

