รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเพื่อควบคุมยุงลายบ้าน

Research and Development of Oil and Crude Extracts from Thiam

(*Azadirachta excelsa* Jack.) Seed to Control Mosquito (*Aedes aegypti* Linnaeus)

คณะผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. อรัญ งามผ่องใส[1/]

รองศาสตราจารย์ ดร. สนั่น ศุภธีรสกุล[2/]

รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ[2/]

[1/]คณะทรัพยากรธรรมชาติ [2/]คณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

พ.ศ. 2552

ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก งบประมาณแผ่นดิน

ประจำปี 2550-2551

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเพื่อควบคุมยุงลายบ้าน

Research and Development of Oil and Crude Extracts from Thiam

(*Azadirachta excelsa* Jack.) Seed to Control Mosquito (*Aedes aegypti* Linnaeus)

คณะผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. อรัญ งามผ่องใส[1/]

รองศาสตราจารย์ ดร. สนั่น ศุภธีรสกุล[2/]

รองศาสตราจารย์ ดร.ธีรพล ศรีชนะ[2/]

[1/]คณะทรัพยากรธรรมชาติ [2/]คณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

พ.ศ. 2552

ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก งบประมาณแผ่นดิน

ประจำปี 2550-2551

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2550-2551 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สัญญาเลขที่ NAT 501099000255 ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่อำนวยความสะดวกในการสกัดน้ำมันและสารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาช้างและทำรูปผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ ที่อำนวยความสะดวกห้องปฏิบัติการทางกีฏวิทยาในการทำการวิจัย คุณเอกราช แก้วนางโอ ผู้ช่วยวิจัยที่ช่วยดำเนินการวิจัย เก็บข้อมูล และวิเคราะห์ผล คุณวิรัช วงศ์หิรัญรัชต์ กลุ่มงานนำโรคโดยแมลง สำนักงานป้องกันโรคติดต่อโดยแมลงที่ 12 จังหวัดสงขลา เจ้าหน้าที่เทศบาลนครสงขลา และผู้นำชุมชนเก้าเส้ง และชุมชนบ่อนวัว ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการทำการวิจัยในชุมชน ของจังหวัดสงขลา ที่อนุญาตให้ใช้สถานที่ในการทดลองในครั้งนี้

สารบัญ

กิตติกรรมประกาศ I
บทคัดย่อ VI
Abstract VII
ความสำคัญและที่มาของการวิจัย 1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3
ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
สถานการณ์การระบาดของไข้เลือดออก 3
ยุงพาหะและแนวทางการควบคุม 4
การใช้น้ำมันและสารสกัดจากพืชควบคุมลูกน้ำและดักแด้ยุง 7
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย 11
ผลการทดลองและวิจารณ์ 24
สรุป 51
เอกสารอ้างอิง 52
ภาคผนวก 60

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 ชนิดของพืชต่างๆ ที่มีการศึกษาการออกฤทธิ์ในการควบคุมลูกน้ำยุง.....8
ตารางที่ 2 การออกฤทธิ์แบบต่างๆ ของสารสะเดาอินเดียต่อยุงชนิดต่างๆ.....9
ตารางที่ 3 สารทดสอบและความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองในสภาพธรรมชาติ.....22
ตารางที่ 4 น้ำหนักเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างหลังกะเทาะเปลือกและปั่นหยาบ.....24
ตารางที่ 5 ปริมาณน้ำมันและสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง.....25
ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำหลังจากได้รับน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....29
ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การตายของดักแด้หลังจากได้รับน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....30
ตารางที่ 8 ค่า LC_{50} ของน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างและผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ ต่อลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านที่เวลา 24 ชั่วโมง.....31
ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์ลูกน้ำที่เปลี่ยนเป็นดักแด้หลังจากได้รับน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ เป็นเวลา 120 ชั่วโมง.....34
ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์ลูกน้ำที่เปลี่ยนเป็นตัวเต็มวัยหลังจากได้รับน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ เป็นเวลา 120 ชั่วโมง.....35
ตารางที่ 11 เปอร์เซ็นต์ดักแด้ที่เปลี่ยนเป็นตัวเต็มวัยหลังจากได้รับน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ เป็นเวลา 120 ชั่วโมง.....35
ตารางที่ 12 ระยะเวลาออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และสารอะเบท® หลังจากทดสอบ 30 วัน.....41
ตารางที่ 13 จำนวนไข่เฉลี่ยของยุงลายบ้านที่วางในผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และสารอะเบท® หลังจากทดสอบ 30 วัน.....45
ตารางที่ 14 จำนวนลูกน้ำที่ฟักจากไข่ของยุงลายบ้านที่วางในผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และสารอะเบท® หลังจากทดสอบ 30 วัน.....46
ตารางที่ 15 จำนวนไข่ยุงลายบ้านที่วางในสารทดสอบชนิดต่างๆ หลังทดสอบสารเป็นเวลา 1 วัน 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์ ของชุมชนเก้าเส้ง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา.....48
ตารางที่ 16 จำนวนลูกน้ำยุงลายบ้านที่ฟักในสารทดสอบชนิดต่างๆ หลังทดสอบสารเป็นเวลา 1 วัน 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์ ของชุมชนเก้าเส้ง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา.....49
ตารางที่ 17 จำนวนไข่ของยุงลายบ้านที่วางในสารทดสอบชนิดต่างๆ หลังทดสอบสารเป็นเวลา 1 วัน 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์ ของชุมชนบ่อนวัว อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา.....49
ตารางที่ 18 จำนวนลูกน้ำยุงลายบ้านที่ฟักในสารทดสอบชนิดต่างๆ หลังทดสอบสารเป็นเวลา 1 วัน 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์ ของชุมชนบ่อนวัว อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา.....50

สารบัญภาพ

ภาพที่ 1 การนำเมล็ดสะเดาช้างไปตากแดด (ก) และลักษณะเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง (ข) 11
ภาพที่ 2 ขั้นตอนการสกัดน้ำมันและสารสกัดหยาบจากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง.....12
ภาพที่ 3 การแช่เนื้อในเมล็ดสะเดาช้างในขวดแก้วขนาด 20 ลิตร (ก) และเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (ข) 13
ภาพที่ 4 เครื่อง Extruder (ก) และเครื่อง Spheronizer (ข).....16
ภาพที่ 5 ถาดฟักลูกน้ำยุง (ก) กรงเลี้ยงยุง (ข) สำลีชุบน้ำหวานใช้เป็นอาหารยุง (ค) และไข่ของยุง (ศรชี้) ที่วางบนกระดาษในถ้วย (ง).....17
ภาพที่ 6 การทดสอบระยะเวลาการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างแบบต่างๆ 20
ภาพที่ 7 การวางชุดทดสอบแบบสุ่มในกรงทดสอบ (ก) และการเตรียมถ้วยทดสอบยับยั้งการวางไข่ในวันแรกของการทดสอบ (ข) 21
ภาพที่ 8 การวางภาชนะทดสอบการวางไข่ของยุงลายบ้านในชุมชนเก้าเส้งและชุมชนบ่อนวัว อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา.....23
ภาพที่ 9 ลักษณะของน้ำมัน (ก) และสารสกัดหยาบ (ข) เมล็ดสะเดาช้าง 25
ภาพที่ 10 ลักษณะของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป (ก) และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป (ข).....26
ภาพที่ 11 ลักษณะของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมจมน้ำ (ก) สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง เม็ดกลมจมน้ำ (ข) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมลอยน้ำ (ค) และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง เม็ดกลมลอยน้ำ (ง) 28
ภาพที่ 12 ภาพตัดตามยาวแสดงให้เห็นถึงส่วนที่เป็นไขมัน (adipose fabric) กล้ามเนื้อ (muscle) เซลล์ผนังลำไส้ (epithelial cells of the gut) นิวเคลียส (nucleus) และช่องทางเดินอาหาร (alimentary canal) ของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ไม่ได้สัมผัสสารซึ่งอยู่ในสภาพปกติ.....38
ภาพที่ 13 ภาพตัดตามยาวแสดงให้เห็นถึงลักษณะโครงสร้างและสรีรวิทยาภายในของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเข้าสู่ร่างกาย โดยมีขนาดของลำไส้ที่แคบลง เซลล์ผนังลำไส้บางเซลล์เกิดการขยายตัวผิดปกติจนแตกออกจากกัน ทำให้มีส่วนของไซโตพลาสมิค (cytoplasmic) หลุดเข้ามาในช่องทางเดินอาหารเล็กน้อย.....39
ภาพที่ 14 ภาพตัดตามยาวแสดงให้เห็นถึงลักษณะโครงสร้างและสรีรวิทยาภายในของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเข้าสู่ร่างกาย โดยมีขนาดของลำไส้ที่แคบลงมาก เซลล์ผนังลำไส้ทุกเซลล์เกิดการขยายตัวผิดปกติจนแตกออกจากกัน ทำให้มีส่วนของไซโตพลาสมิคหลุดเข้ามาในช่องทางเดินอาหารจำนวนมาก 39

ภาพที่ 15 ระยะเวลาออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และสารอะเบท® หลังจากทดสอบ 30 วัน 42
ภาพที่ 16 สัดส่วนของเปอร์เซ็นต์การวางไข่ในผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง สารอะเบท® และควบคุม กับจำนวนไข่ที่วางทั้งหมดหลังจากทดสอบ 30 วัน.....44

บทคัดย่อ

เนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack.) ถูกสกัดด้วยวิธีการแช่ยุ่ยเป็นเวลา 7 วัน ในตัวทำละลายนอร์มอล เฮกเซน หลังจากระเหยตัวทำละลาย ได้น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างคิดเป็น 53.4 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง กากที่เหลือนำไปสกัดในตัวทำละลายเมทานอล ได้สารสกัดหยาบเป็นของเหลวหนืด 19.3 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำสารสกัดมาศึกษากลไกการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus) พบว่า น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างมีผลต่อเนื้อเยื่อทางเดินอาหารของลูกน้ำยุงลายบ้านทำให้ผนังลำไส้แตก มีไซโตพลาสมิคหลุดเข้ามาในช่องทางเดินอาหาร เมื่อนำน้ำมันและสารสกัดหยาบเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปทั้งแบบของเหลว แบบเม็ดกลมจมน้ำ และแบบเม็ดกลมลอยน้ำ และนำไปทดสอบความเป็นพิษต่อลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านในห้องปฏิบัติการ พบว่า มีเพียงผลิตภัณฑ์แบบของเหลวเท่านั้นที่มีพิษต่อลูกน้ำและดักแด้ ค่าความเป็นพิษ (LC_{50}) ต่อลูกน้ำที่เวลา 24 ชั่วโมง ของน้ำมัน น้ำมันสำเร็จรูป สารสกัดหยาบ และสารสกัดหยาบสำเร็จรูปมีค่าเท่ากับ 403.6, 245.7, 518.7 และ 283.5 ppm และต่อดักแด้เท่ากับ 2691.4, 143.8, 760.4 และ 3,814.2 ppm ตามลำดับ และความเข้มข้นที่ทำให้ลูกน้ำตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง ของสารดังกล่าวเท่ากับ 2,000, 800, 4,000 และ 2,000 ppm ตามลำดับ เมื่อนำสารทั้ง 4 แบบ ที่ความเข้มข้นดังกล่าวไปศึกษาระยะเวลาออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำ ผลต่อการวางไข่และการฟักออกจากไข่เปรียบเทียบกับสารฆ่าลูกน้ำอะเบท® และชุดควบคุมเป็นระยะเวลา 30 วันในห้องปฏิบัติการพบว่า สารอะเบท® ฆ่าลูกน้ำได้นานที่สุด โดยที่เวลา 30 วันหลังทดสอบสาร มีจำนวนลูกน้ำตาย 95 เปอร์เซ็นต์ (n=100) ส่วนน้ำมัน น้ำมันสำเร็จรูป สารสกัดหยาบ และสารสกัดหยาบสำเร็จรูปของเมล็ดสะเดาช้าง มีระยะเวลาออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำได้นาน 5, 6, 4 และ 4 วัน ซึ่งทำให้ลูกน้ำตาย 85, 86, 95 และ 79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนผลต่อการวางไข่พบว่า น้ำมันและน้ำมันสำเร็จรูป สามารถยับยั้งการวางไข่ได้ดีที่สุดเป็นเวลานาน 30 วัน ส่วนสารสกัดหยาบและสารสกัดหยาบสำเร็จรูปสามารถยับยั้งการวางไข่ได้ไม่เกิน 10 วัน เป็นที่น่าสังเกตว่าสารอะเบท® สามารถดึงดูดการวางไข่ของยุงลาย โดยมีจำนวนไข่เฉลี่ยตลอดการทดลองเท่ากับ 83.9 ฟอง/ถ้วย สูงกว่าชุดควบคุม 54.4 ฟอง/ถ้วย แต่อย่างไรก็ตาม ลูกน้ำที่ฟักออกจากไข่ในสารอะเบท® เฉลี่ยต่ำสุดเท่ากับ 0.2 ตัว/ถ้วย แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับลูกน้ำในน้ำมันและน้ำมันสำเร็จรูปที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.8 และ 3.6 ตัว/ถ้วย ตามลำดับ สรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์น้ำมันจากเมล็ดสะเดาช้างให้ผลควบคุมยุงลายบ้านในห้องปฏิบัติการได้ดีกว่าสารสกัดหยาบ ดังนั้นจึงนำผลิตภัณฑ์น้ำมันโดยใช้ความเข้มข้นเดิมและเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2 เท่าไปทดลองใน 2 ชุมชนของจังหวัดสงขลาที่มีปริมาณยุงลายบ้านชุกชุม เปรียบเทียบกับสารอะเบท® และชุดควบคุม ผลการทดลองพบว่า นอกจากสารอะเบท® แล้ว น้ำมันสำเร็จรูปที่ความเข้มข้น 800 ppm สามารถควบคุมยุงลายบ้านได้ดีเป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ดังนั้นน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการควบคุมยุงลายบ้าน

Abstract

Seed kernels of thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) were extracted with *n*-hexane after maceration for 7 days. After solvent evaporation, thiam seed oil was obtained about 53.4% of dry weight. Thiam cakes from first extract were further extracted with methanol giving 19.3% crude extracts as viscous liquid. When *Aedes aegypti* larvae were exposed to oil and crude extracts, epithelial cells of the gut in the dead larva was found to be broken resulting in a discharge of cytoplasmics into the alimentary canal. Oil and crude extracts were formulated as liquid formulations and two pellet formulations (sinking and floating). A toxicity study of these formulations was tested against larvae and pupae of *Ae. aegypti*. The results reveal that only liquid formulations were toxic to larvae and pupae. LC_{50} values for the larvae at 24 hours were 403.6, 245.7, 518.7 and 283.5 ppm of oil, formulated oil, crude extracts and formulated crude extracts, respectively; and for the pupae were 2691.4, 143.8, 760.4 and 3814.2 ppm, respectively. The 100% lethal concentrations for the larvae at 24 hours of these products were 2,000, 800, 4,000 and 2,000 ppm, respectively. The larval mortality, oviposition and egg hatching were investigated at lethal concentrations as compared to Abate® and control for 30 days in laboratory. Abate® provided the longest residual activity, attained 95% (n=100) mortality at 30 days after application. The residual activities for the oil, the formulated oil, the crude extracts and the formulated crude extracts were 5, 6, 4 and 4 days; producing 85%, 86%, 95% and 79% larval mortality, respectively. The residual activities of antioviposition of the oil and the formulated oil were 30 days, while those of the crude extracts and the formulated crude extracts were not exceeding 10 days. It is important to note that Abate® was an oviposition attractant. The mean number of eggs throughout the study in Abate® was 83.9 eggs/cup, larger than 54.4 eggs/cup in the control. However, the average lowest larva was 0.2 larvae/cup found in the Abate®, but not significantly different from 2.8 and 3.6 larvae/cup found in the oil and the formulated oil, respectively. The oil products were more effective than the crude extract products to control *Ae. aegypti* in laboratory. Therefore, the oil products were tested under field conditions in two locations of Songkhla province which were more abundant of *Ae. aegypti*. A double concentration of oil products was used for field trials. The results showed that besides Abate®, the formulated oil at 800 ppm can effectively control this mosquito for 2 weeks and is an alternative method for controlling this mosquito.

ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

ไข้เลือดออกมีการระบาดในประเทศทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และแถบแปซิฟิกตะวันตก พบการระบาดครั้งแรกในประเทศฟิลิปปินส์เมื่อปี พ.ศ. 2496 มีชื่อเรียกว่า Philippines hemorrhagic fever ส่วนในประเทศไทยพบการระบาดครั้งแรกที่กรุงเทพมหานครเมื่อปี พ.ศ. 2501 และมีชื่อเรียกว่า Thai hemorrhagic fever (วัลลภ, 2548) โดยสาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี่ (dengue virus) จึงมีชื่อเรียกทางสากลว่า Dengue hemorrhagic fever (DHF) (กรมควบคุมโรค, 2548)

เนื่องจากในอดีตไข้เลือดออกยังไม่มีวัคซีนป้องกัน จึงส่งผลให้จำนวนผู้ป่วยในประเทศไทยเพิ่มสูงขึ้นเป็นลำดับ เริ่มจากช่วงปี พ.ศ. 2506-2507 มีจำนวนผู้ป่วย 2,706 ราย ตาย 296 ราย คิดเป็นอัตราการป่วยตายร้อยละ 10.94 ในช่วงปี พ.ศ. 2508-2510 โรคได้กระจายสู่จังหวัดที่มีการคมนาคมขนส่งสะดวกจากกรุงเทพมหานคร และในปี พ.ศ. 2515 ซึ่งเป็นปีแรกที่โรคเกิดการระบาดขึ้น มีจำนวนผู้ป่วย 23,782 ราย ตาย 685 ราย คิดเป็นอัตราการป่วยตายร้อยละ 2.88 ต่อมาในปี พ.ศ. 2522 มีจำนวนผู้ป่วยสูงถึง 43,382 ราย ตาย 403 ราย คิดเป็นอัตราการป่วยตายร้อยละ 0.93 หลังจากนั้นแนวโน้มการระบาดของไข้เลือดออกได้ลดลง จนถึงปี พ.ศ. 2530 ได้มีการระบาดเกิดขึ้นอีกครั้ง และเป็นปีที่มีจำนวนผู้ป่วยสูงสุดคือ 174,285 ราย ตาย 1,007 ราย คิดเป็นอัตราการป่วยตายร้อยละ 0.58 (วนัสรา, 2544) แม้ว่าในระยะหลังจำนวนผู้ป่วยไข้เลือดออกได้ขึ้นๆ ลงๆ สลับกันไปในแต่ละปี เช่น ในปี พ.ศ. 2542, 2543 และ 2544 ซึ่งพบผู้ป่วยไข้เลือดออกจำนวน 24,826, 18,617 และ 140,756 ราย ตามลำดับ จนกระทั่งถึงปี พ.ศ. 2550 พบผู้ป่วยไข้เลือดออกจำนวน 25,361 ราย (กรมควบคุมโรค, มมป) แต่ก็ถือได้ว่าตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบันไข้เลือดออกได้กลายเป็นปัญหาที่สำคัญทางสาธารณสุขของประเทศไทย ดังจะเห็นได้จากมีจำนวนผู้ป่วยถึงหลักหมื่นในทุกๆ ปี จึงเป็นสาเหตุให้กรมควบคุมโรคติดต่อต้องใช้งบประมาณในการควบคุมโรคปีละมากกว่า 100 ล้านบาท และหากนับรวมกับงบประมาณขององค์การบริหารส่วนตำบลในแต่ละพื้นที่ทั้งประเทศแล้ว ต้องใช้งบประมาณในการควบคุมโรคทั้งหมดไม่ต่ำกว่า 1,000 ล้านบาท ในขณะที่ปัจจุบันยังไม่สามารถป้องกันไข้เลือดออกด้วยการฉีดวัคซีนได้ ดังนั้นการควบคุมพาหะนำโรคจึงเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดในการควบคุมการระบาดของไข้เลือดออก (กระทรวงสาธารณสุข, 2549)

ยุงพาหะนำโรคไข้เลือดออกคือยุงลายซึ่งในประเทศไทยพบยุงลายที่สำคัญ 2 ชนิด คือ ยุงลายบ้าน (*Aedes agypti*) ซึ่งเป็นพาหะหลักและยุงลายสวน (*Ae. albopictus*) ซึ่งเป็นพาหะรองและมีความสำคัญน้อยกว่าชนิดแรก มาตรการในการควบคุมการระบาดไข้เลือดออกในปัจจุบันเน้นการควบคุมยุงพาหะนำโรค โดยมีหลายมาตรการได้แก่ การกำจัดหรือลดแหล่งเพาะพันธุ์ เช่น การปิดภาชนะเก็บน้ำ การคว่ำภาชนะที่ไม่ใช้ประโยชน์แล้ว การทำลายเศษวัสดุที่อาจเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ การทำลายลูกน้ำยุงลาย เช่น การใช้วิธีคว่ำ เผา และทำลายภาชนะต่างๆ การใช้สารเคมี เช่น ทรายอะเบท น้ำส้มสายชู ผงซักฟอก การควบคุมโดยชีวภาพ เช่น การใช้ปลากินลูกน้ำยุง

ใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ การทำลายยุงตัวเต็มวัยโดยฉีดพ่นสารเคมี โดยการพ่นหมอก หรือการพ่นแบบละอองฝอย และ การป้องกันยุงกัด เช่น นอนในมุ้ง และใช้ยาทากันยุง (กรมควบคุมโรคติดต่อ, 2536 อ้างโดย วราภรณ์ เหล่าเจริญสุข, 2545) ในการทำลายลูกน้ำยุงเป็นการป้องกันที่ให้ประสิทธิผลดีกว่าการทำลายตัวเต็มวัย เนื่องจากหากสามารถลดปริมาณของตัวลูกน้ำยุงได้เป็นการลดปริมาณตัวเต็มวัยโดยอัตโนมัติ อีกทั้งการกำจัดตัวเต็มวัยทำได้ยากกว่าและเป็นการแก้ปัญหาที่ปลายเหตุ ดังนั้นการทำลายลูกน้ำยุงจึงเป็นปัจจัยสำคัญในการลดการระบาดของไข้เลือดออกได้

นอกจากจะกำจัดแหล่งเพาะพันธุ์ของลูกน้ำยุงลายดังกล่าวข้างต้นแล้ว การควบคุมโดยใช้สารเคมีสังเคราะห์ที่นิยมใช้กำจัดลูกน้ำยุงลายในปัจจุบันคือ ทรายอะเบทซึ่งเป็นสารฆ่าแมลงเทมีฟอส (temephos) กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ถึงแม้ว่าการใช้สารเคมีดังกล่าวสามารถควบคุมลูกน้ำยุงลายได้นาน 3 เดือน และเป็นอันตรายน้อยต่อคนและสัตว์เลี้ยงหากใช้ตามอัตราที่แนะนำ (บุญล้วน, 2524) โดยกระทรวงสาธารณสุขแนะนำให้ใช้ในอัตราส่วนทรายอะเบท 1 กรัม/น้ำ 1 ลิตร สามารถใส่ได้ทั้งในน้ำดื่มและน้ำใช้ แต่อย่างไรก็ตาม สารเคมีดังกล่าวต้องนำเข้าจากต่างประเทศ และมีข้อจำกัดในการใช้ เช่น มีกลิ่นเหม็น ถึงแม้ว่ากลิ่นดังกล่าวจะหายไปหากเปิดฝาภาชนะทิ้งไว้ 2-3 วัน จะออกฤทธิ์ได้ดีในแหล่งน้ำที่ค่อนข้างสะอาด มีอินทรีย์วัตถุตกค้างหรือปนเปื้อนอยู่น้อย (บุญล้วน, 2524) นอกจากนี้ยังพบการสร้างความต้านทานของลูกน้ำยุงต่อสารเคมีดังกล่าวทั้งในและต่างประเทศ (Saelim *et al.*, 2005; Wirth and Georghiou, 1999; Braga *et al.*, 2004)

จากรายงานการศึกษาพบว่าสารสกัดจากสะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica*) สามารถฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus*) ยุงลายบ้าน และยุงรำคาญ (*Culex* spp.) (มานิต, 2543; Ansari *et al.,* 2000; Rao *et al.,* 1992) ควบคุมการเจริญเติบโตยุงก้นปล่อง (*Anopheles stephensi* และ *Anopheles* spp.) (Batra *et al.,* 1998; Rao *et al.,* 1992) ยับยั้งการวางไข่ยุงก้นปล่อง (*An. culicifacies* และ *An. stephensi*) (Dhar *et al.,* 1996) ยับยั้งการเข้าดักแด้ยุงลายบ้าน (Nagpal *et al.,* 1995) แต่พบรายงานการศึกษาสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้างในการควบคุมลูกน้ำยุงน้อยมาก ซึ่งสะเดาช้างเป็นพืชท้องถิ่นทางภาคใต้ พบได้ในธรรมชาติตั้งแต่จังหวัดชุมพรลงมาจนถึงประเทศมาเลเซีย จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดสะเดาช้างพบว่า นอกจากจะมีสาร azadirachtins แล้วยังพบสาร marrangin ซึ่งมีกลไกการออกฤทธิ์คล้ายกับสาร azadirachtins A และ B และจากการทดสอบความเป็นพิษต่อด้วงปีกแข็ง Mexican bean beetle (*Epilachna varivesti*) พบว่า สาร marrangin มีพิษสูงกว่าสาร azadirachtins A และ B 2-3 เท่า (Teik, 2000) และจากการรายงานของ Kraus และคณะ (1997) พบว่าในเมล็ดสะเดาช้างมีสาร 1-Tigloyl-3-acetylazadirachtol ซึ่งเป็นสาร limonoids ชนิดใหม่ นอกจากนี้ ทิวา (2543) และ ปาริชาติ (2543) พบว่า สารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้างที่สกัดด้วยเมทานอล สามารถฆ่าหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) และหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) ได้ดีกว่าสะเดาไทยโดยใช้วิธีการสกัดแบบเดียวกัน และจากการศึกษา

เบื้องต้นในการฆ่าลูกน้ำและดักแด้ยุงรำคาญของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่สกัดจากนอร์มอล เฮกเซน โดยหยดน้ำมันสะเดาช้าง 89 ไมโครลิตรลงบนผิวน้ำปริมาตร 200 มิลลิลิตรที่อยู่ในบิกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตรพบว่า สามารถฆ่าลูกน้ำและดักแด้ยุงรำคาญได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 48 ชั่วโมง (ยุวดี, 2547) อย่างไรก็ตาม รูปแบบของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างดังกล่าวไม่สะดวกในการนำไปใช้ เนื่องจากอยู่ในรูปที่มีความเข้มข้นสูงและการแพร่กระจายบนผิวน้ำยังไม่ดีเท่าที่ควร

ดังนั้นการวิจัยเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปที่สามารถนำไปใช้ได้ง่ายและสะดวกเพื่อกำจัดลูกน้ำยุงลายจึงเป็นสิ่งที่น่าศึกษาเพราะนอกจากจะสามารถนำสารสกัดจากพืชที่มีอยู่ในท้องถิ่นมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในการควบคุมลูกน้ำยุงลายแล้ว ยังมีความเป็นไปได้ที่จะสามารถพัฒนาในเชิงการค้าในอนาคตเพื่อลดการนำเข้าสารฆ่าแมลงเทมีฟอสและสารเคมีสังเคราะห์ชนิดอื่นๆ นอกจากจะช่วยลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมอันเนื่องมาจากการใช้สารเคมีสังเคราะห์แล้ว ยังช่วยลดการสูญเสียเงินตราให้ต่างประเทศจากการนำเข้าสารเคมีสังเคราะห์อีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. พัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างกำจัดลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้าน
2. หาค่าความเป็นพิษ (LC_{50}) และผลต่อการตายของลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง
3. ศึกษาผลของน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างต่อเนื้อเยื่อระบบทางเดินอาหารของลูกน้ำยุงลายบ้าน
4. ศึกษาระยะเวลาและผลการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างรูปแบบต่างๆ
5. ศึกษาผลต่อการวางไข่และฟักออกจากไข่ของยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างรูปแบบต่างๆ
6. นำผลิตภัณฑ์ที่ให้ผลดีในการควบคุมลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านไปทดสอบในสภาพธรรมชาติ

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สถานการณ์การระบาดของไข้เลือดออก

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2543) รายงานว่าไข้เลือดออกเป็นปัญหาของประเทศเขตร้อนเกือบทั่วโลก ทั้งในทวีปแอฟริกา เอเชีย อเมริกากลาง หมู่เกาะแคริบเบียน หมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิกตอนใต้ และตอนเหนือของทวีปออสเตรเลีย ส่วนในประเทศไทย ซึ่งปัจจุบันประสบปัญหาค่อนข้างมากกว่าประเทศอื่น ๆ เริ่มระบาดครั้งแรกในปี พ.ศ. 2501 ที่กรุงเทพฯ แล้วแพร่กระจายไปตามเมืองใหญ่ ๆ จนถึงปัจจุบันได้ระบาดไปทั่วประเทศ ไข้เลือดออกที่พบระบาดอยู่อาจมีชื่อเรียกว่าไข้เลือดออกเดงกี่ เนื่องจากเกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี่ ซึ่งมีทั้งหมด 4 type คือ type ที่ 1 2 3 และ 4 โดยมียุงลายเป็นพาหะนำโรค ทำให้ติดต่อถึงกันได้ โดยยุงจะดูดเลือดที่มีเชื้อไวรัสจากผู้ป่วย เชื้อจะฟักตัว

ในยุง ประมาณ 8-10 วัน และคงอยู่ในตัวยุงได้นานตลอด 1-2 เดือน เมื่อยุงนั้นไปกัดเด็กปกติก็จะถ่ายทอดเชื้อ โดยคนปกติเมื่อได้รับเชื้อ แล้วประมาณ 5-8 วัน ก็จะแสดงอาการป่วยเป็นไข้เลือดออก ส่วนมากเป็นกับเด็กอายุต่ำกว่า 14 ปี ที่พบได้บ่อย คือเด็กอายุระหว่าง 2-8 ปี โดยหลังจากที่เด็กถูกยุงที่มีเชื้อไวรัสเดงกี่กัด เชื้อจะฟักตัวในร่างกายประมาณ 5-8 วัน หลังจากนั้นผู้ป่วยจะเริ่มมีอาการโดยมีไข้กระทันหัน ตัวร้อนจัด หน้าตาแดง ปวดศีรษะ ปวดกระบอกตา ซึม เบื่ออาหาร อาเจียน และปวดท้อง อาการไข้สูงจะเป็นติดต่อกัน โดยไข้ไม่ลด 4-5 วัน บางรายอาจมีไข้เพียง 2-3 วัน แต่ส่วนใหญ่แล้วจะไม่เกิน 7 วัน ส่วนอาการเลือดออกซึ่งเป็นที่มาของชื่อไข้เลือดออกคือ การมีจุดเลือดออกใต้ผิวหนัง จะเห็นเป็นจุดกลมเล็ก ๆ สีแดงคล้ายตุ่มยุงกัดแต่เล็กและอยู่ลึกกว่า โดยพบอยู่ตามแขน ขา รักแร้ ใบหน้า บางรายอาจมีเลือดกำเดาออก โดยอาการเหล่านี้จะเกิดขึ้นหลังจากมีไข้ 1-2 วัน หรือเกิดขึ้นเมื่อไข้ลดลงแล้ว ในรายที่อาการไม่รุนแรง หลังจากมีไข้ 3-4 วัน ไข้จะเริ่มลดลง อาการต่าง ๆ จะดีขึ้น และจุดเลือดออกจะจางหายภายในเวลา 2-3 วัน ส่วนในผู้ที่มีอาการรุนแรง หลังจากมีไข้สูงติดต่อกัน 3-4 วัน อาการต่าง ๆ จะเลวลง เด็กจะซึมมากขึ้น มือเท้าเย็น เหงื่อออก กระสับกระส่าย ชีพจรเบาและเร็ว เป็นอาการเริ่มแรกของอาการช็อค ซึ่งจะเกิดพร้อมกับที่ไข้จะลดลงอย่างรวดเร็ว บางรายจะมีเลือดออกในทางเดินอาหาร อาเจียนเป็นเลือดหรือถ่ายอุจจาระเป็นเลือด อาการเหล่านี้จะเกิดอย่างรวดเร็ว ถ้าไม่ได้รับการรักษาทันท่วงทีจะทำให้ตายได้ภายใน 24-48 ชั่วโมง หลังจากเริ่มมีอาการช็อค

ยุงพาหะและแนวทางการควบคุม

ยุงลายที่เป็นพาหะหลักของไข้เลือดออกในประเทศไทยคือ ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linneaus) สันนิษฐานว่า มีกำเนิดในทวีปแอฟริกาแล้วแพร่กระจายไปยังทวีปต่าง ๆ โดยมีรายงานการพบยุงลายชนิดนี้ ครั้งแรกในปี พ.ศ. 2450 ส่วนในประเทศไทยยังไม่มีรายงานว่าเข้ามาตั้งแต่เมื่อใด คาดว่าอาจเข้ามาโดยเป็นไข่ติดมากับภาชนะดินเผาจากประเทศจีน หรืออาหรับในหลายศตวรรษก่อน ในอดีตจะพบยุงลายชนิดนี้เฉพาะในเขตเมืองใหญ่ ๆ แต่ปัจจุบันพบทั้งในเขตเมืองและเขตชนบท ยุงลายบ้านเป็นยุงที่มีขนาดเล็กสีดำ มีลายขาวเห็นได้ชัดที่ขา ท้อง และลำตัว โดยเฉพาะบนสันหลังอก จะมีเกล็ดสีขาวเป็นรูปเคียว 1 คู่

ยุงลายสวน (*Ae. albopictus*) เป็นอีกชนิดหนึ่งที่สามารถนำโรคไข้เลือดออกได้เช่นกัน มีกำเนิดในทวีปเอเชีย โดยพบได้ทั่วไปตั้งแต่ประเทศอินเดีย พม่า ไทย มาเลเซีย จนถึง ญี่ปุ่น ปัจจุบันได้มีการแพร่ระบาดไปยังสหรัฐอเมริกา สันนิษฐานว่าติดไปกับยางรถยนต์เก่า ที่นำเข้าจากทวีปเอเชีย ยุงลายสวนเป็นยุงที่มีขนาดเล็กเท่า ๆ กับยุงลายบ้าน มีสีดำ มีลายขาวที่ขา ท้อง และลำตัว และมีลักษณะที่สำคัญคือ มีเกล็ดสีขาวเป็นขีดยาวอยู่กลางสันหลังอก

วงจรชีวิตของยุงลายเป็นแบบสมบูรณ์ (complete metamorphosis) โดยแบ่งเป็น 4 ระยะ คือ ระยะไข่ ลูกน้ำ ดักแด้หรือตัวโม่ง และตัวเต็มวัย ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโต แตกต่างตาม

สภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ อาหาร ความหนาแน่น ในภูมิอากาศประเทศไทยที่อุณหภูมิประมาณ 28-35 องศาเซลเซียส ยุงลายใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากไข่จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย ประมาณ 9-14 วัน

ไข่ยุงลายบ้านมีลักษณะยาวรี ขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร ลักษณะเป็นฟองเดี่ยว ๆ หลังจากวางไข่ใหม่ ๆ มีสีขาวแล้วเปลี่ยนเป็นสีดำในเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง ยุงลายชอบวางไข่บนพื้นผิวที่เปียกด้านในของภาชนะขังน้ำเหนือระดับน้ำเล็กน้อย ไข่ที่วางใหม่ ๆ ตัวอ่อนภายในยังไม่เจริญเต็มที่ ต้องอาศัยความชื้นสูงใกล้ๆ ระดับน้ำ เพื่อให้ตัวอ่อนเจริญเติบโตจนครบระยะที่จะฟักออกมาเป็นลูกน้ำ ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 1-2 วัน ที่อุณหภูมิประมาณ 28-35 องศาเซลเซียส ถ้าไข่แห้งในขณะที่ตัวอ่อนกำลังเจริญเติบโต ตัวอ่อนจะตายได้ แต่ถ้าตัวอ่อนเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว ไข่จะสามารถอยู่ในสภาพแห้งได้เป็นเวลาหลายเดือน และจะสามารถฟักออกมาเป็นตัวลูกน้ำได้อีกเมื่อมีน้ำท่วมไข่

ลูกน้ำยุงลายมี 4 ระยะ ซึ่งใช้เวลาในการเจริญเติบโตประมาณ 7-10 วัน อาหารของลูกน้ำได้แก่ ตะไคร่น้ำ อินทรีย์สารต่าง ๆ และจุลินทรีย์ในภาชนะขังน้ำ ลูกน้ำจะโผล่ขึ้นมาหายใจโดยใช้ท่อหายใจที่ผิวน้ำ ลักษณะสำคัญของลูกน้ำยุงลายบ้านคือ เมื่อนำมาดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะเห็นหนามแหลมบริเวณอกด้านข้างๆ ละ 2 อันได้ชัดเจน และมีลักษณะการว่ายน้ำเป็นรูปเลข 8 หรือรูปตัว S ระยะลูกน้ำเป็นระยะที่ง่ายต่อการกำจัด เนื่องจากอาศัยอยู่ในภาชนะขังน้ำ ไม่สามารถหนีได้เหมือนตัวเต็มวัย

หลังจากลอกคราบลูกน้ำก็จะเป็นตัวโม่ง ซึ่งมีสีน้ำตาลดำ ระยะตัวโม่งจะไม่กินอาหาร การเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากระยะตัวโม่งเพื่อเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยใช้เวลาประมาณ 1-2 วัน และมักพบตัวโม่งลอยอยู่บนผิวน้ำเพื่อขึ้นมาหายใจ ยุงลายตัวเต็มวัยทั้ง 2 เพศ จะมีลักษณะแตกต่างกันที่หนวด โดยหนวดยุงตัวผู้จะมีลักษณะเป็นพู่ขน เฉพาะยุงลายเพศเมียเท่านั้นที่ต้องดูดกินเลือด เพื่อนำโปรตีนจากเลือดไปสร้างไข่นอกเหนือจากน้ำหวานที่ยุงลาย ทั้ง 2 เพศต้องการเพื่อนำไปสร้างพลังงาน ดังนั้นยุงลายเพศเมียจึงเป็นตัวการสำคัญในการถ่ายทอดเชื้อขณะดูดกินเลือด ทำให้เกิดการระบาดของไข้เลือดออก โดยหลังจากออกจากตัวโม่งแล้วระยะหนึ่ง ยุงลายจะเริ่มผสมพันธุ์ หลังจากนั้นยุงลายเพศเมียจะเริ่มออกกินเลือดเพื่อสร้างไข่ต่อไป

เหยื่อที่ยุงลายชอบกัดได้แก่คน ยุงลายสามารถกัดดูดเลือดได้หลายครั้ง และเมื่อไปกัดคนที่มีเชื้อไวรัสเดงกี่ เชื้อจะคงอยู่ตลอดชั่วอายุของยุงนั้น ทำให้ยุงลายเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสได้เป็นอย่างดี ยุงลายบ้านออกหากินภายในบ้านตั้งแต่เช้าจนถึงพลบค่ำ โดยเฉพาะในช่วงเวลา 8.00-17.00 น. นอกจากคนแล้ว ยุงลายยังสามารถกินเลือดสัตว์ได้ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสัตว์เลี้ยงภายในบ้าน เช่น สุนัข แมว แต่จะเป็นส่วนน้อย ยุงลายบ้านซึ่งเป็นพาหะหลักนำโรคไข้เลือดออก มีอุปนิสัยอาศัยอยู่ในบ้านเรือน โดยมีแหล่งเพาะพันธุ์เป็นภาชนะขังน้ำบริเวณบ้านพักอาศัย เช่น ตุ่มน้ำ บ่อซีเมนต์ กักน้ำ จานรองขาตู้กันมด เป็นภาชนะขังน้ำชนิดหนึ่งที่พบได้ทั่วไปในบ้านเรือนและเป็นแหล่ง

เพาะพันธุ์ที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ยุงลายชอบมาวางไข่ หรือแม้แต่แจกันที่คนนิยมปลูกต้นไม้ในบ้านเรือน เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลายแหล่งหนึ่งที่ประชาชนมักคาดไม่ถึง ส่วนภาชนะขังน้ำที่อยู่นอกบ้าน ในบริเวณรอบ ๆ บ้านทั้งที่เป็นภาชนะเก็บกักน้ำไว้ใช้ หรือภาชนะเก่าที่ทิ้งไว้แล้วมีน้ำขัง เช่น ยางรถยนต์ กระป๋อง ไห กะลามะพร้าว เหล่านี้ล้วนแล้วแต่เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลายได้ทั้งสิ้น

ส่วนยุงลายสวนซึ่งเป็นพาหะนำโรคไข้เลือดออกได้เช่นกัน เป็นยุงที่พบอยู่ตามป่าและในเขตที่มีการปลูกต้นไม้ยืนต้น เช่น สวนยาง สวนมะพร้าว สวนผลไม้ และตามเขตชนบท โดยมีแหล่งเพาะพันธุ์อยู่ตามโพรงต้นไม้ กระบอกไม้ไผ่ เศษใบไม้ที่หล่นตามพื้น รวมทั้งภาชนะที่มนุษย์สร้างขึ้น แต่พบอยู่นอกบ้าน เช่น ยางรถยนต์ กระป๋องน้ำ ดังนั้นยุงลายชนิดนี้จึงเป็นพาหะที่มีบทบาทสำคัญในเขตชนบท

วิธีการควบคุมไข้เลือดออกให้ได้ผลดีคือ การควบคุมยุงพาหะนำโรค ซึ่งทำได้ทั้งการกำจัดตัวอ่อนและตัวเต็มวัย การควบคุมทำได้หลายวิธี ผู้ดำเนินการควรเลือกใช้วิธีที่เหมาะสม โดยรัฐและประชาชนควรร่วมมือกันอย่างจริงจังและต่อเนื่อง เริ่มแรกประชาชนควรดำเนินการป้องกันตนเองและบุตรหลาน ไม่ให้ป่วยเป็นไข้เลือดออก โดยหลีกเลี่ยงไม่ให้ถูกยุงกัด โดยเฉพาะเด็กที่ต้องนอนตอนกลางวัน ซึ่งเป็นช่วงเวลาออกหากินของยุงลายเพศเมีย จึงสามารถป้องกันการถูกยุงกัดได้โดยให้เด็กนอนบริเวณที่มีลมถ่ายเทสะดวกหรือนอนกางมุ้ง การกำจัดลูกน้ำยุงลาย ประชาชนสามารถดำเนินการได้เองอย่างง่าย ๆ เช่น ใช้ฝาปิดภาชนะขังน้ำ เพื่อป้องกันการวางไข่ของยุงลาย หมั่นขัดล้างเปลี่ยนถ่ายน้ำในภาชนะต่าง ๆ เพื่อกำจัดไข่และลูกน้ำ ใส่เกลือหรือน้ำส้มสายชูในจานรองขาตู้ หมั่นเปลี่ยนน้ำและตรวจดูลูกน้ำในแจกันที่ปลูกต้นไม้ภายในบ้าน เก็บ คว่ำ หรือทำลายภาชนะขังน้ำที่ไม่ได้ใช้ เพื่อไม่ให้เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลาย ซึ่งวิธีการเหล่านี้ควรทำเป็นประจำอย่างสม่ำเสมอ จะทำให้สามารถลดจำนวนประชากรของยุงลายไปได้มาก

ส่วนการกำจัดยุงลายตัวเต็มวัย สามารถดำเนินการได้หลายวิธีทั้งโดยวิธีกล เช่น การใช้มือตีหรือการใช้อุปกรณ์ไฟฟ้า เช่น อุปกรณ์ตียุงไฟฟ้า การใช้สวิงโฉบ ใช้ผลิตภัณฑ์เคมีกระป๋องฉีดพ่น นอกจากผลิตภัณฑ์เคมีแล้ว อาจใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีอยู่ประจำในบ้าน คือ น้ำยาล้างจาน ฉีดพ่นยุงลายตัวเต็มวัย โดยผสมน้ำยาล้างจาน 1 ส่วนต่อน้ำ 4 ส่วน ฉีดพ่นฆ่ายุงให้ห่างจากตัวยุงประมาณ 30-50 เซนติเมตร โดยอาจจะฉีดพ่นไปที่บริเวณแหล่งเกาะพักของยุงลาย เช่น บริเวณเสื้อผ้าที่ใช้แล้ว ห้องน้ำ บริเวณมุมห้องหรือที่อับแสงของบ้าน ซึ่งจะทำให้ยุงตายเนื่องจากเปียกน้ำและบินไม่ได้ และหลังจากใช้แล้วควรเช็ดถูพื้นที่เปียกเพื่อป้องกันการลื่น

การใช้ตัวห้ำต่าง ๆ กินลูกน้ำยุงลาย เช่น การใช้ปลาหางนกยูงใส่ลงในตุ่มน้ำใช้ ส่วนภาครัฐสามารถดำเนินการสนับสนุนการควบคุมยุงลายโดยการให้สุขศึกษาและความรู้กับประชาชนเกี่ยวกับยุงลายและไข้เลือดออก ให้การสนับสนุน วัสดุ อุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับการควบคุมยุงลาย โฆษณาประชาสัมพันธ์ผ่านทางสื่อต่าง ๆ เช่น โปสเตอร์ แผ่นพับ ใบปลิว วีดีโอ วิทยุกระจายเสียง

ให้การสนับสนุนสารกำจัดลูกน้ำตามความเหมาะสม เช่น ทรายอะเบท® โดยใส่ในอัตราส่วน 20 กรัม/น้ำ 200 ลิตร สามารถควบคุมลูกน้ำยุงลายได้นานประมาณ 3 เดือน หรือใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* subsp *israelensis* อัตราส่วน 1 เม็ด (1 กรัม) ความแรง 500 ITU/mg /น้ำ 200 ลิตร สามารถควบคุมลูกน้ำได้นาน 2 อาทิตย์ ถึง 1 เดือน โดยขึ้นอยู่กับสภาพการใช้น้ำ เพื่อเป็นการป้องกันหรือยับยั้งการระบาดของไข้เลือดออก หรือเมื่อต้องการลดปริมาณความชุกชุมของยุงลายโดยฉับพลัน ภาครัฐสามารถสนับสนุนการพ่นสารเคมีกำจัดยุงลายในชุมชน ซึ่งโดยทั่วไปการพ่นสารเคมีจะมีการใช้งานอยู่ 2 แบบ แบบแรกคือ การพ่นหมอกควัน เป็นการพ่นฆ่ายุงโดยใช้สารฆ่าแมลงเจือจาง เช่น สาร malathion 5 เปอร์เซนต์, fenitrothion 2 เปอร์เซนต์ ซึ่งจะมีทั้งแบบติดตั้งบนรถยนต์และชนิดมือหิ้ว ส่วนแบบที่สองคือ การพ่นละอองฝอยละเอียด เป็นการพ่นโดยใช้สารเคมีที่มีความเข้มข้นสูง การพ่นแบบนี้มีข้อดีกว่าการพ่นแบบหมอกควันหลายประการคือ ใช้สารเคมีน้อยเนื่องจากความเข้มข้นสูง เวลาพ่นไม่มีหมอกควันเป็นการลดมลพิษทางอากาศ และการใช้สารเคมีความเข้มข้นสูง ทำให้มีฤทธิ์ตกค้างในการฆ่ายุงหลังการพ่นอีกหลายวัน เมื่อประชาชนได้ตระหนักถึงอันตรายของไข้เลือดออกที่จะเกิดขึ้นกับบุตรหลาน โดยคอยหมั่นตรวจตรากำจัดลูกน้ำในบ้านอย่างต่อเนื่อง ให้ความร่วมมือกับรัฐ ใช้วิธีควบคุมดังที่กล่าวมาแล้วตามความเหมาะสมก็จะสามารถลดจำนวนผู้ป่วยด้วยไข้เลือดออกลงได้ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2543)

การใช้น้ำมันและสารสกัดจากพืชควบคุมลูกน้ำและดักแด้ยุง

มีรายงานการใช้น้ำมันในธรรมชาติเป็นสารเคมีฆ่าลูกน้ำยุงเก่าแก่ที่สุด สามารถฆ่าลูกน้ำยุงได้หลายชนิด โดยทำให้ลูกน้ำยุงไม่สามารถหายใจได้เนื่องจากไม่สามารถแทงทะลุผ่านฟิมล์น้ำมันที่เคลือบอยู่บนผิวน้ำได้ (สุชาติ และคณะ, 2526) สามารถฆ่าลูกน้ำยุงได้ทุกระยะ รวมทั้งดักแด้ และตัวเต็มวัยที่เพิ่งออกจากดักแด้ นอกจากนี้ยังสามารถป้องกันการวางไข่ของยุงได้อีกด้วย อภิวัฏ และคณะ (2540) ได้อธิบายถึงผลของน้ำมันที่เคลือบผิวน้ำมีผลต่อการตายของดักแด้มากกว่าลูกน้ำ เนื่องจากดักแด้จำเป็นต้องรับออกซิเจนจากอากาศเหนือผิวน้ำโดยผ่านท่อหายใจที่เรียกว่า trumpet เพียงทางเดียวเท่านั้น จึงมีโอกาสสัมผัสกับน้ำมันซึ่งเคลือบอยู่บริเวณผิวน้ำได้มาก ในขณะที่ลูกน้ำนอกจากจะหายใจรับออกซิเจนจากอากาศผ่านทางท่อหายใจที่เรียกว่า siphon แล้วยังสามารถหายใจเอาออกซิเจนที่มีอยู่ในน้ำ (dissolved oxygen) ผ่านทางอวัยวะหายใจข้างลำตัว (posterior spiracle) ได้อีกด้วย Awad and Shimaila (2003) รายงานว่า สารเคมีที่มีผลการฆ่าลูกน้ำยุงก้นปล่องคือ น้ำมันเชื้อเพลิงและน้ำมันก๊าด ในทำนองเดียวกัน ยุวดี (2547) ได้ทดสอบผลของน้ำมันชนิดต่างๆ ต่อลูกน้ำยุงรำคาญระยะที่ 4 พบว่าที่เวลา 48 ชั่วโมง น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างและน้ำมันก๊าดสามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายได้ 100 และ 90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนน้ำมันเครื่องใหม่และน้ำมันเครื่องเก่าฆ่า

ลูกน้ำยุงรำคาญได้ 78 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่น้ำมันพืชฆ่าลูกน้ำยุงได้ต่ำเพียง 18 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น

นอกจากนี้มีรายงานการศึกษาการใช้น้ำมันและสารสกัดหยาบจากพืชชนิดต่างๆ ในการควบคุมลูกน้ำยุง ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยลดการสร้างความต้านทานต่อสารเคมีสังเคราะห์ได้ Silva และคณะ (2003) ได้ศึกษาผลของน้ำมันจากต้นพืช *Copaifera reticulata* ต่อยุงรำคาญ *Culex quinquefasciatus* โดยใช้น้ำมันจากพืชดังกล่าวละลายในตัวทำละลาย dimethylsulfoxide (DMSO) อัตรา 0.4 มิลลิลิตร/น้ำ 24.6 มิลลิลิตรพบว่า สามารถออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงชนิดนี้ได้ ที่เวลา 48 ชั่วโมง ค่า LC_{50} ของน้ำมันดังกล่าวในลูกน้ำยุงระยะที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 0.4, 0.9, 39.0 และ 80.0 ppm. ตามลำดับ และค่า LC_{99} มีค่าเท่ากับ 15.0, 15.0, 50.0 และ 180.0 ppm ตามลำดับ นอกจากนี้ Tripathi และคณะ (2004) รายงานว่า สาร piperitenone oxide ที่สกัดได้จากน้ำมันพืช *Mentha spicata* L. variety *viridis* สามารถฆ่าลูกน้ำยุงก้นปล่อง *Anopheles stephensi* (Liston) ได้ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 61.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในลูกน้ำยุงระยะที่ 4 และสารดังกล่าวมีพิษฆ่าลูกน้ำยุงได้ดีกว่าน้ำมันสกัดหยาบ (crude oil) ซึ่งมีค่า LC_{50} เท่ากับ 82.9 ไมโครกรัม/มิลลิลตร และพบว่า ทั้งสาร piperitenone oxide และน้ำมันสกัดหยาบ มีผลยับยั้งการวางไข่ของยุงชนิดดังกล่าว โดยน้ำมันสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 60.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรทำให้ยุงตัวเมียวางไข่น้อยกว่าชุดควบคุม 42 เท่า ในขณะที่สาร piperitenone oxide สามารถยับยั้งการวางไข่ได้สมบูรณ์ นอกจากนี้ยังพบว่าสาร piperitenone oxide ที่ความเข้มข้น 75.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการฟักออกจากไข่ได้สมบูรณ์ Albuquerque และคณะ (2004) ได้ทดสอบน้ำมันที่สกัดจากรากของสาบเสือ (*Eupatorium betonicaeforme* (D.C.) Baker) พบว่า มีคุณสมบัติเป็นสารฆ่ายุงลายบ้านได้ พืชชนิดอื่นๆ ที่มีการศึกษาผลการออกฤทธิ์ในการควบคุมลูกน้ำแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดของพืชต่างๆ ที่มีการศึกษาการออกฤทธิ์ในการควบคุมลูกน้ำยุง

ชนิดของพืช	ส่วนของพืชที่ใช้	ชนิดของยุงที่ศึกษา	เอกสารอ้างอิง
Annona squamosa	ทุกส่วนของพืช	*An. stephensi*	Saxena *et al*. (1993)
Polyalthia longifolia	ใบ	*Cx. quinquefasciatus*	Murty *et al*. (1997)
Ageratum conyzoides	ทุกส่วนของพืช	*An. stephensi*	Saxena *et al.* (1992)
Tagetes minuta	ทุกส่วนของพืช	*Ae. aegypti*	Perich *et al.* (1994)
Mentha piperita	สารสกัดน้ำมัน	*Cx. quinquefasciatus*	Ansari *et al*. (1999)
Ocimum sanctum	สารสกัดน้ำมัน	*Cx. quinquefasciatus*	Pathak et al. (2000)
		Ae. aegypti	
		An. stephensi	
Dalbergia sisoo Roxb.	สารสกัดน้ำมัน	*Cx. quinquefasciatus*	Ansari *et al*.(2000)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดของพืช	ส่วนของพืชที่ใช้	ชนิดของยุงที่ศึกษา	เอกสารอ้างอิง
Citrus spp.	น้ำมันจากเปลือกผล	*Cx. quinquefasciatus*	Ezenou *et al*. (2001)
Solanum nigrum Linn.	สารสกัดหยาบจากใบ	*An. culicifacies*	Singh *et al.* (2002)
		Cx. quinquefasciatus	
		Ae. aegypti	

ส่วนการศึกษาสารสกัดจากสะเดาชนิดต่างๆ ในการควบคุมลูกน้ำยุงพบว่า มีผลในการควบคุมลูกน้ำยุงได้ Su and Mulla (1999) ได้ทดสอบสารอะซาดิแรคติน (azadirachtin) ที่สกัดได้จากสะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica* A. Juss) โดยใช้สารอะซาดิแรคติน 2 ผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกัน คือ แบบผงเปียกน้ำ Azad® WP10 (WP) และแบบน้ำมันเข้มข้น Azad® EC 4.5 (EC) ต่อการวางไข่ของยุงรำคาญ 2 ชนิด คือ *Culex tarsalis* Coquillett และ *Cx. quinquefasciatus* Say พบว่า สาร Azad® EC 4.5 (EC) ทำให้ยุง *Cx. tarsalis* วางไข่ลดลง ส่วนสาร Azad® WP10 (WP) ทำให้ยุงทั้ง 2 ชนิดดังกล่าววางไข่ลดลง โดยความเข้มข้นต่ำสุดของสารอะซาดิแรคตินที่ยับยั้งการวางไข่ของยุงรำคาญ *Cx. tarsalis* เท่ากับ 5.0 ppm ในขณะที่ค่าดังกล่าวเท่ากับ 10.0 ppm ในยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* โดยสามารถยับยั้งการวางไข่ได้นาน 1-4 วัน Awad and Shimaila (2003) รายงานว่า ลูกน้ำยุงหลายชนิดรวมทั้งยุงลาย (*Aedes* spp.) และยุงก้นปล่อง (*Anopheles* spp.) อ่อนแอต่อสารสกัดจากสะเดาและพบว่า น้ำมันสะเดาสามารถควบคุมลูกน้ำยุง *Anopheles* spp. ได้นาน 2 สัปดาห์ และในประเทศที่กำลังพัฒนาหลายประเทศใช้สารสกัดจากสะเดาใส่ในบ่อหรือสระน้ำ (Prakash and Rao, 1996)

นอกจากสารสกัดจากสะเดาอินเดียออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงแล้ว ยังออกฤทธิ์ในลักษณะอื่นทั้งในระยะลูกน้ำและตัวเต็มวัย เช่น ยับยั้งการเจริญเติบโต ขับไล่ และยับยั้งการวางไข่ เป็นต้น มีรายงานการศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากสะเดาที่มีต่อยุงชนิดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การออกฤทธิ์แบบต่างๆ ของสารสะเดาอินเดียต่อยุงชนิดต่างๆ

ผลิตภัณฑ์	ชนิดของยุงที่ศึกษา	ลักษณะการออกฤทธิ์	เอกสารอ้างอิง
Neem oil	*Cx. quinquefasciatus*	ฆ่าลูกน้ำ	Ansari *et al*. (2000)
Oil water emulsion	*An. stephensi*	ควบคุมการเจริญเติบโต	Batra *et al*. (1998)
On wood scrappings	*Ae. aegypti*	ยับยั้งการเข้าดักแด้	Nagpal *et al.* (1995)
Neem oil volatiles	*An. culicifacies*	ยับยั้งการวางไข่	Dhar *et al*. (1996)
	An. stephensi		
Deoiled neem cake	*Culex* spp.	ฆ่าลูกน้ำ	Rao *et al*. (1992)
powder	*Anopheles* spp.	ควบคุมการเจริญเติบโต	

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ผลิตภัณฑ์	ชนิดของยุงที่ศึกษา	ลักษณะการออกฤทธิ์	เอกสารอ้างอิง
2% neem oil mixed with coconut/mustard oil as topical application	*An. culicifacies* *An. fluviatilis* *An. annularis* *An. stephensi* *Ae. aegypti* *Cx. quinquefasciatus* *An. darlingi*	ขับไล่	Sharma *et al*. (1993a) Kant and Bhatt (1994) Mishra *et al*. (1995) Sharma *et al*. (1995) Sharma *et al*. (1996) Moore *et al.* (2002)
5% neem oil in a cream base-topical application	*Ae. aegypti* *Ae. albopictus* *Anopheles* spp. *Culex* spp.	ขับไล่	Dua *et al*. (1995) Singh *et al*. (1996) Nagpal *et al*. (2001)
5-10% neem oil-impregnated on mats (vapours)	*An. culicifacies* *An. annularis* *An. stephensi* *Culex* spp.	ขับไล่	Sharma *et al*. (1993b)
1% neem oil in kerosene (smoke)	*An. culicifacies* *An. annularis* *Culex* spp.	ขับไล่	Sharma and Ansari (1994) Ansari and Razdan (1996)

สำหรับในประเทศไทยมีรายงานการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาอินเดียที่สกัดจากเอทานอล มีปริมาณสารอะซาดิแรคติน 0.5 เปอร์เซ็นต์ และน้ำมันจากเมล็ดสะเดาอินเดียที่สกัดจากนอร์มอล เฮกเซน ต่อยุงลายบ้านและยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*) พบว่าทั้งสารสกัดและน้ำมันสะเดาอินเดียสามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายและยุงรำคาญได้ โดยสารสกัดสะเดาและน้ำมันสะเดาอินเดียที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.02 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทำให้ลูกน้ำยุงทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง และมีผลออกฤทธิ์ควบคุมในสภาพห้องปฏิบัติการได้นาน 6 วัน (มานิต, 2543)

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย

1. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ของน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ของน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ การเตรียมน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และการนำสารดังกล่าวมาทำผลิตภัณฑ์

1.1 การเตรียมน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง

ในการเตรียมน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างมีขั้นตอนสำคัญอยู่ 2 ขั้นตอน คือ การเตรียมเนื้อใน (seed kernel) เมล็ดสะเดาช้างเพื่อนำไปสกัดสาร และการสกัดน้ำมันและสารสกัดหยาบจากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง โดยมีวิธีการดังนี้

1.1.1 การเตรียมเมล็ดสะเดาช้างเพื่อนำไปสกัดสาร

นำผลสุกของสะเดาช้างมาแยกเอาเนื้อผลออกให้เหลือเฉพาะเมล็ด นำไปตากแดด 2-3 วัน (ภาพที่ 1ก) เพื่อลดความชื้นและทำให้เมล็ดแห้งก่อนการกะเทาะเปลือกออก หลังกะเทาะเปลือกออกแล้ว นำเนื้อในเมล็ด (ภาพที่ 1ข) ทั้งหมดไปชั่งน้ำหนักก่อนนำไปปั่นหยาบด้วยเครื่องปั่นอาหาร และชั่งน้ำหนักอีกครั้งหลังจากผ่านการปั่นหยาบเรียบร้อยแล้ว

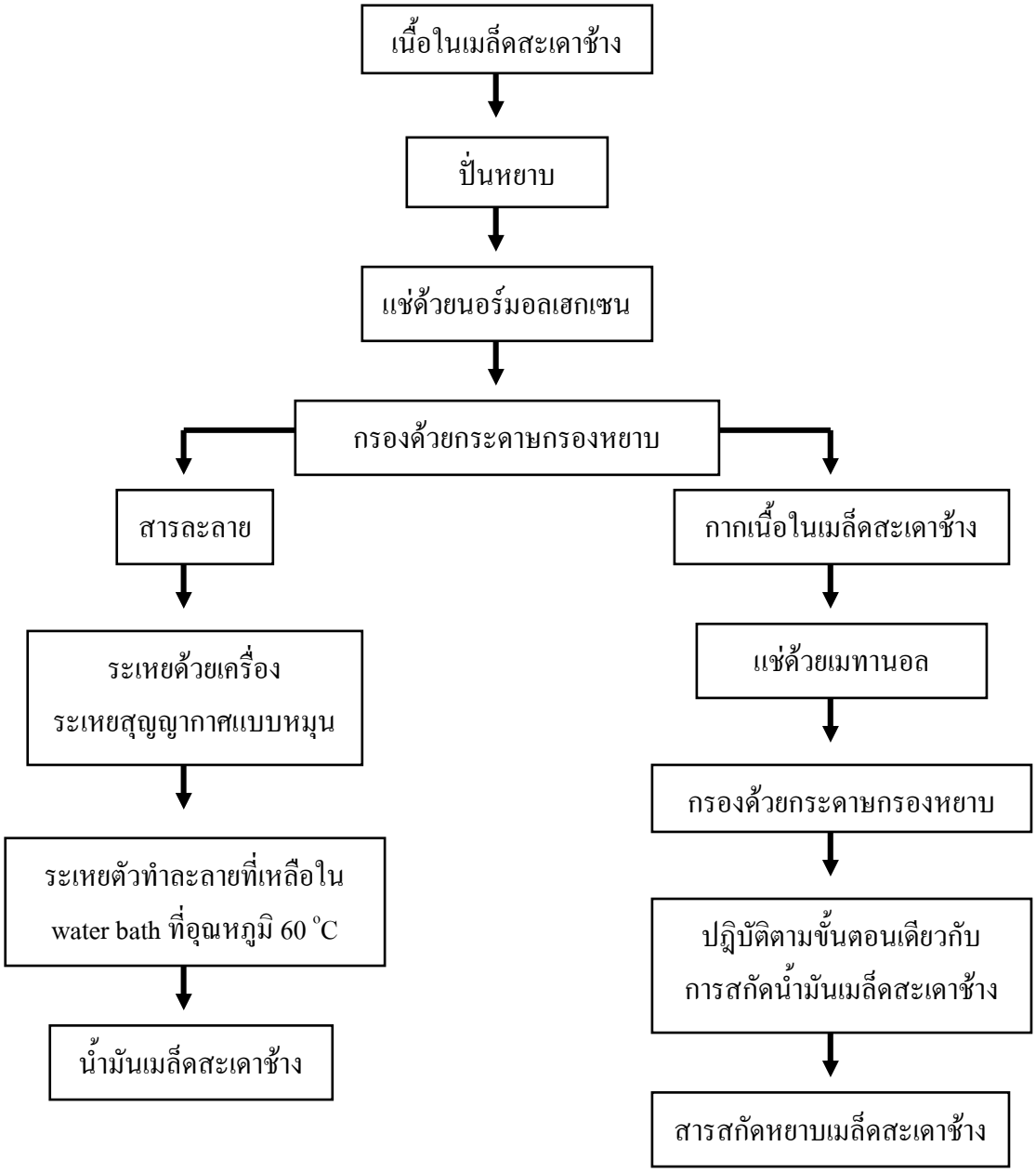
ภาพที่ 1 การนำเมล็ดสะเดาช้างไปตากแดด (ก) และลักษณะเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง (ข)

1.1.2 การสกัดน้ำมันและสารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาช้าง

ขั้นตอนการสกัดน้ำมันและสารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาช้างแสดงในภาพที่ 2 โดยนำเนื้อในเมล็ดที่ปั่นหยาบแล้วใส่ในขวดแก้วขนาด 20 ลิตร เติมตัวทำละลายนอร์มอลเฮกเซนลงไปจนท่วมตัวอย่าง ปิดปากขวดให้สนิทด้วยจุกยางที่หุ้มกระดาษตะกั่ว (foil) (ภาพที่ 3ก) ทิ้งไว้ 7 วัน จากนั้นนำสารละลายที่ได้กรองด้วยกระดาษกรองแบบหยาบ และระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) (ภาพที่ 3ข) นำสารที่ได้ไปใส่ในจานขนาดเล็ก (evaporator dish) ก่อนนำไประเหยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใน water bath อีกครั้งเพื่อแยก

ตัวทำละลายที่อาจหลงเหลืออยู่ออกให้หมด ส่วนตัวทำละลายที่แยกออกมาได้นำกลับไปแช่กากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างอีกครั้งเพื่อสกัดน้ำมันที่ยังเหลืออยู่ ทำซ้ำแบบนี้จนกว่าจะไม่สามารถสกัดน้ำมันออกมาได้อีก ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้สกัดทั้งหมด 7 ครั้ง นำสารทั้งหมดมารวมกัน สารที่สกัดได้เรียกว่า “น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง”

เมื่อสกัดน้ำมันออกหมดแล้ว นำกากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างที่เหลือมาแช่ด้วยเมทานอล โดยกระบวนการสกัดปฏิบัติตามขั้นตอนเดียวกันกับการสกัดน้ำมันทุกประการ แต่สารที่สกัดได้เรียกว่า “สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง”



ภาพที่ 2 ขั้นตอนการสกัดน้ำมันและสารสกัดหยาบจากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง

ภาพที่ 3 การแช่เนื้อในเมล็ดสะเดาช้างในขวดแก้วขนาด 20 ลิตร (ก) และเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (ข)

1.2 การทำผลิตภัณฑ์จากน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง

นำน้ำมันและสารสกัดหยาบมล็ดสะเดาช้างที่ได้จากข้อ 1.1 ไปทำผลิตภัณฑ์แบบของเหลวและแบบของแข็ง โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้ คือ

1.2.1 ผลิตภัณฑ์แบบของเหลว

ทั้งน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างมีการกระจายตัวในน้ำที่แตกต่างกัน โดยน้ำมันกระจายตัวในน้ำไม่ดี ในขณะที่สารสกัดหยาบกระจายตัวได้ดี ดังนั้นเพื่อให้น้ำมันกระจายตัวในน้ำได้ดีขึ้น จึงต้องผสมสารอีมัลซิฟายเออร์ลงไป สารอีมัลซิฟายเออร์ที่นำมาใช้ต้องมีค่าความสามารถในการละลายในน้ำและน้ำมัน (hydrophilic lipophilic balance ; HLB) ที่ใกล้เคียงกับน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง ซึ่งในขั้นตอนนี้ต้องนำน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างมาหาค่า HLB ก่อน หลังจากนั้นจึงพิจารณาเลือกใช้สารอีมัลซิฟายเออร์ที่มีค่า HLB เท่ากันหรือใกล้เคียงกับค่า HLB ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง วิธีการหาค่า HLB มีรายละเอียดในภาคผนวก ซึ่งค่า HLB ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่คำนวณได้เท่ากับ 13.31 และเมื่อพิจารณาค่า HLB สารอีมัลซิฟายเออร์ที่มีขายอยู่ตามท้องตลาด เช่น Tween® และ Span® พบว่า Tween® 80 (polysorbate 80) มีค่า HLB เท่ากับ 15 ซึ่งใกล้เคียงกับค่า HLB ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง ดังนั้นจึงเลือกใช้สารชนิดนี้เป็นอีมัลซิฟายเออร์

เนื่องจากการใช้สารอีมัลซิฟายเออร์ที่มีค่า HLB ต่ำและสูงร่วมกันจะทำให้ได้อีมัลชั่นที่คงตัวกว่าการใช้สารอีมัลซิฟายเออร์เพียงชนิดเดียว (Balsam and Sagarin, 1974) ดังนั้นจึงผสมสาร

Span® 80 (sorbitan monooleate) ซึ่งมีค่า HLB เท่ากับ 4.3 เข้าไปในสูตรผสมด้วย โดยความเข้มข้นที่ใช้คำนวณได้จากสูตรการหาค่า Required HLB (ค่า HLB ที่ต้องการ) ดังต่อไปนี้

Required HLB = [(% volume A) x (HLB A)] + [(% volume B) x (HLB B)]

โดยที่ Required HLB = ค่า HLB ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง

% volume A = ความเข้มข้นของ Tween® 80 (กำหนดให้เท่ากับ x)

HLB A = ค่า HLB ของ Tween® 80

% volume B = ความเข้มข้นของ Span® 80 (กำหนดให้เท่ากับ 1 –x)

HLB B = ค่า HLB ของ Span® 80

นำค่าดังกล่าวมาแทนในสูตรดังนี้

$13.31 = 15x + 4.3(1 - x)$

$9.01 = 10.7x$

$x = 0.84$ (คิดเป็น 84 เปอร์เซ็นต์)

$1 - x = 0.16$ (คิดเป็น 16 เปอร์เซ็นต์)

ดังนั้นความเข้มข้นของ Tween® 80 ที่ใช้ในสูตรผสมเท่ากับ 84 เปอร์เซ็นต์ และ Span® 80 เท่ากับ 16 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณสารอีมัลซิฟายเออร์ทั้งหมดที่ใช้ในสูตรผสม

นอกจากการใส่สารอีมัลซิฟายเออร์แล้ว ยังผสมสารต้านออกซิเดชั่น (antioxidant) เพิ่มเติม เพื่อช่วยให้สารออกฤทธิ์สามารถคงตัวอยู่ในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างได้นาน สารต้านออกซิเดชั่นที่นำมาใช้ได้แก่ butylated hydroxytoluene (BHT) เนื่องจากเป็นสารที่นิยมใช้และให้ผลในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (oxidation) ได้ดีกว่าสารชนิดอื่น (พิมพร, 2534) โดยใช้ในปริมาณความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณสูตรผสมทั้งหมด ดังนั้นสูตรผสมของผลิตภัณฑ์ “น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป” ประกอบด้วย

น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง	89.99 เปอร์เซ็นต์
สารอีมัลซิฟายเออร์	10.00 เปอร์เซ็นต์ (Tween® 80 = 8.4 เปอร์เซ็นต์ และ Span® 80 = 1.6 เปอร์เซ็นต์)
สาร BHT	0.01 เปอร์เซ็นต์

ส่วนการทำผลิตภัณฑ์จากสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างนั้น เตรียมได้จากนำสารสกัดหยาบที่ได้จากข้อ 1.1 ผสมกับสาร BHT เพียงชนิดเดียว เนื่องจากสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสามารถกระจายตัวในน้ำได้ดีอยู่แล้ว จึงไม่จำเป็นต้องผสมสารอีมัลซิฟายเออร์ลงไป ดังนั้นสูตรผสมของผลิตภัณฑ์ “สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป” ประกอบด้วย

สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง	99.99 เปอร์เซ็นต์
สาร BHT	0.01 เปอร์เซ็นต์

1.2.2 ผลิตภัณฑ์แบบของแข็ง

มีลักษณะเม็ดกลม (pellet) โดยทำเป็น 2 แบบ คือ ผลิตภัณฑ์แบบเม็ดกลมจมน้ำและเม็ดกลมลอยน้ำ ซึ่งมีรายละเอียดในการทำดังนี้

ผลิตภัณฑ์แบบเม็ดกลมจมน้ำ

ผสมน้ำมันหรือสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างกับเบนโทไนท์ (bentonite) เซลลูโลส (cellulose) และแลคโตส (lactose) โดยเบนโทไนท์ช่วยทำให้สารอัดกันแน่นและมีน้ำหนัก สามารถจมน้ำได้ ส่วนเซลลูโลสและแลคโตสช่วยรักษาความคงตัวของสาร จากนั้นเติมน้ำเข้าไปเพื่อช่วยให้ส่วนผสมทั้งหมดจับตัวกันแน่นมากขึ้น ผสมให้เข้ากัน แล้วนำเข้าเครื่อง extruder (ภาพที่ 4 ก) เพื่ออัดส่วนผสมทั้งหมดให้แน่นและรีดออกมาเป็นเส้น หลังจากนั้นจึงทำให้เป็นเม็ดกลมด้วยเครื่อง spheronizer (ภาพที่ 4 ข) แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จะได้ผลิตภัณฑ์แบบเม็ดกลมจมน้ำซึ่งแบ่งออกเป็น “น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมจมน้ำ” และ “สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมจมน้ำ” สูตรผสมประกอบด้วย

น้ำมันหรือสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง	3 เปอร์เซ็นต์
เบนโทไนท์	29 เปอร์เซ็นต์
เซลลูโลส	29 เปอร์เซ็นต์
แลคโตส	14 เปอร์เซ็นต์
น้ำ	25 เปอร์เซ็นต์

ผลิตภัณฑ์แบบเม็ดกลมลอยน้ำ

ผสมน้ำมันหรือสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างกับ hydrogenated vegetable oil (HVO) และกากมะพร้าวแห้งที่ได้กำจัดน้ำมันออกหมดแล้ว โดยที่ HVO มีคุณสมบัติทำให้สารอัดกันแน่นและมีน้ำหนักไม่มากจนเกินไป ส่วนกากมะพร้าวแห้งทำให้ผลิตภัณฑ์เบาสามารถลอยน้ำได้ นอกจากนี้ในกากมะพร้าวยังมีเซลลูโลสซึ่งมีคุณสมบัติในการรักษาความคงตัวของสารอยู่ด้วย จากนั้นผสมให้เข้ากัน แล้วนำเข้าเครื่อง extruder และเครื่อง spheronizer ตามลำดับ แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จะได้ผลิตภัณฑ์แบบเม็ดกลมลอยน้ำซึ่งแบ่งออกเป็น “น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมลอยน้ำ” และ “สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมลอยน้ำ” สูตรผสมประกอบด้วย

น้ำมันหรือสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง	4 เปอร์เซ็นต์
HVO	48 เปอร์เซ็นต์
กากมะพร้าวแห้ง	48 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 4 เครื่อง Extruder (ก) และเครื่อง Spheronizer (ข)

ดังนั้นผลิตภัณฑ์ทั้งหมดที่เตรียมได้สำหรับการทดสอบมี 8 แบบ ประกอบด้วย

1) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง
2) สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง
3) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป
4) สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป
5) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมจมน้ำ
6) สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมจมน้ำ
7) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมลอยน้ำ
8) สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมลอยน้ำ

2. การเลี้ยงยุงลายบ้านในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ทดสอบ

เลี้ยงเพิ่มปริมาณยุงลายบ้านในห้องปฏิบัติการทางกีฏวิทยา ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยเก็บลูกน้ำมาจากชุมชนบ่อนวัว อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา ซึ่งเป็นชุมชนที่มีจำนวนลูกน้ำยุงลายบ้านชุกชุม (สอบถามข้อมูลจากศูนย์ควบคุมโรคติดต่อนำโดยแมลงที่ 12 อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา) ซึ่งขั้นตอนการเลี้ยงเพิ่มจำนวนมีดังนี้

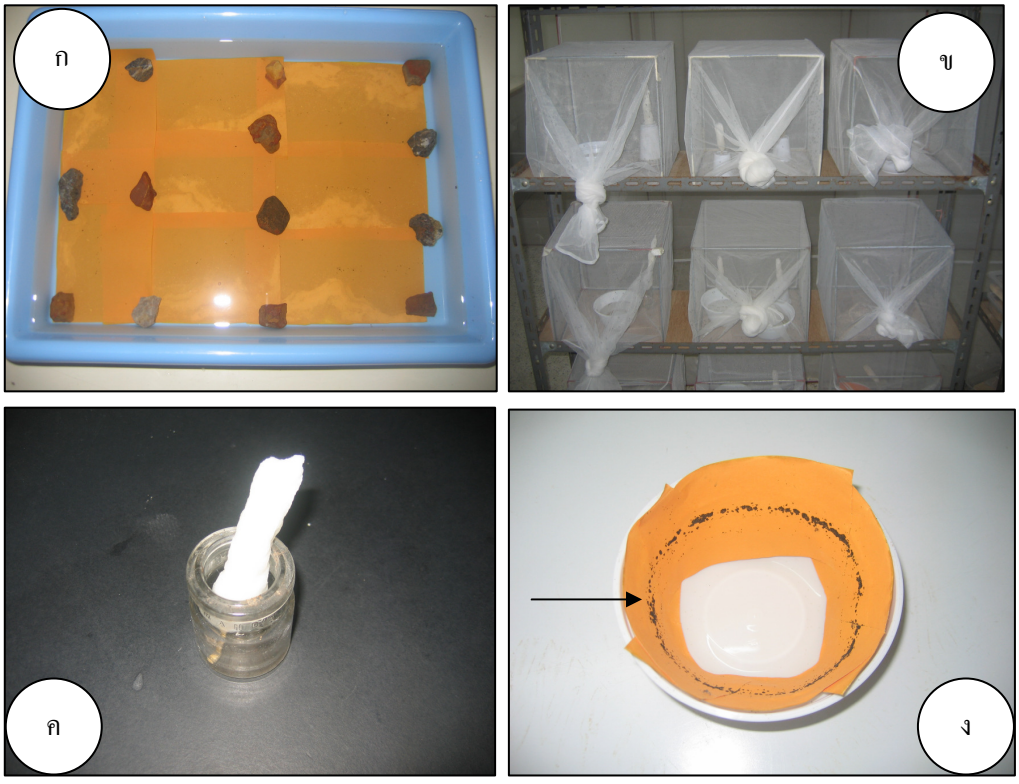
1. นำลูกน้ำยุงลายบ้านที่เก็บมาจากชุมชนดังกล่าวใส่กระบะและใส่น้ำไว้ปริมาณครึ่งหนึ่งของกระบะ (ภาพที่ 5 ก) ให้อาหารเลี้ยงไก่สำเร็จรูปสำหรับลูกน้ำ และเปลี่ยนน้ำในกระบะทุกๆ 2 วัน เพื่อทำให้ลูกน้ำโตเร็วขึ้น จนกระทั่งลูกน้ำกลายเป็นดักแด้ จึงดูดใส่ในกรงเลี้ยงยุงขนาด 30x30x30 เซนติเมตร (ภาพที่ 5 ข)

2. หลังจากดักแด้ออกมาเป็นตัวเต็มวัย นำสำลีซึ่งพันกับไม้ชุบน้ำหวานไปวางในกรงสำหรับเป็นอาหารของยุงตัวเต็มวัย (ภาพที่ 5 ค) และเปลี่ยนน้ำหวานทุกๆ 2 วัน หลังจากกลายเป็น

ยุงตัวเต็มวัยได้ 7 วัน ยุงจะเริ่มผสมพันธุ์ ดังนั้นจึงปล่อยให้ผสมพันธุ์กันเป็นเวลา 2 วัน จึงให้เลือดของหนูตะเภาเป็นอาหารสำหรับยุงตัวเต็มวัยเพศเมีย เพื่อนำโปรตีนที่อยู่ในเลือดไปสร้างไข่ต่อไป

3. นำถ้วยอาหารแบบพลาสติกมาใช้เป็นภาชนะสำหรับให้ยุงลายบ้านวางไข่ โดยนำกระดาษที่มีสีคล้ายภาชนะเครื่องปั้นดินเผามาชุบน้ำและพันรอบด้านในถ้วย ใส่น้ำให้อยู่ในระดับครึ่งหนึ่งของกระดาษ (ยุงลายบ้านมักวางไข่ในภาชนะดินเผาที่มีน้ำขัง) นำถ้วยดังกล่าวไปวางไว้ในกรงเพื่อให้ยุงมาวางไข่ ปล่อยทิ้งไว้ 2 วัน จึงนำถ้วยออกมา จะพบกลุ่มไข่ที่ยุงลายบ้านวางไว้เป็นวงกลมบริเวณขอบด้านบนของกระดาษเหนือระดับน้ำเล็กน้อย (ภาพที่ 5 ง)

4. นำกระดาษที่ยุงลายบ้านวางไข่แล้วมาผึ่งให้แห้ง ลงบันทึก วัน เดือน ปี ที่เก็บไข่ไว้บนกระดาษ นำมารวบรวมไว้ในกล่องที่แห้งสนิท ไม่มีความชื้น และปิดฝาอย่างมิดชิด ไข่ที่ได้เป็นไข่รุ่นที่ 1 ซึ่งจะนำไปใช้ในทุกการทดสอบ เนื่องจากลูกน้ำ ดักแด้ และตัวเต็มวัยที่ฟักออกมาจากไข่รุ่นที่ 1 มีสัญฐานวิทยา สรีรวิทยา และพฤติกรรมใกล้เคียงกับรุ่นพ่อและแม่ที่เก็บมาจากสภาพแวดล้อมจริงมากที่สุด เมื่อถึงเวลาทดสอบ นำไข่ไปฟักในกระบะเลี้ยงลูกน้ำ โดย 1 กระบะ จะฟักลูกน้ำประมาณ 200 ตัว เพื่อทำให้ลูกน้ำมีขนาดใหญ่และโตเร็วขึ้น



ภาพที่ 5 ถาดฟักลูกน้ำยุง (ก) กรงเลี้ยงยุง (ข) สำลีชุบน้ำหวานใช้เป็นอาหารยุง (ค) และไข่ของยุง (ศรชี้) ที่วางบนกระดาษในถ้วย (ง)

3. การศึกษาผลต่อการตายและค่าความเป็นพิษ (LC_{50}) และการอยู่รอดของลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง

3.1 ผลต่อการตายและการหาค่า LC_{50} ต่อลูกน้ำและดักแด้ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ทดสอบความเป็นพิษต่อลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านในห้องปฏิบัติการทางกีฏวิทยา ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ด้วยวิธี dip bioassay โดยแบ่งความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเป็น 7 ความเข้มข้น คือ 200, 400, 600, 800, 1,000, 2,000 และ 3,000 ppm ส่วนผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างแบ่งเป็น 9 ความเข้มข้น คือ 200, 400, 600, 800, 1,000, 2,000, 3,000, 4,000 และ 5,000 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) โดยการทดลองของน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างมีชุดควบคุมเพียง 1 ชุด คือ น้ำเปล่า ส่วนการทดลองของน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมจมน้ำ และน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมลอยน้ำ มีชุดควบคุม 2 ชุด คือ ชุดที่ 1 (C_1) น้ำเปล่าและชุดที่ 2 (C_2) น้ำเปล่า+สารไม่ออกฤทธิ์ (inert ingredient) ที่ผสมอยู่ในผลิตภัณฑ์นั้นๆ ทั้งนี้เพื่อทดสอบว่าส่วนของสารไม่ออกฤทธิ์ นั้นๆ มีผลต่อการตายของลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านหรือไม่ ใส่สารทดสอบให้ได้ตามความเข้มข้นต่างๆ ที่กำหนดดังกล่าวข้างต้นลงในถ้วยทดสอบที่มีน้ำปริมาตร 200 มิลลิลิตรและลูกน้ำระยะที่ 4 หรือดักแด้จำนวน 20 ตัว/ถ้วย ให้อาหารไก่สำเร็จรูปเป็นอาหารของลูกน้ำ ส่วนดักแด้ไม่ต้องให้อาหารเนื่องจากเป็นระยะที่ไม่กินอาหาร ในแต่ละความเข้มข้นของสารทดสอบทำซ้ำ 5 ถ้วย บันทึกจำนวนลูกน้ำและดักแด้ที่ตายหลังการทดสอบที่เวลา 24 ชั่วโมง นำผลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายในแต่ละความเข้มข้นเพื่อหาค่า LC_{50} ที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยวิธีโพรบิท (probit analysis) โดยมีเงื่อนไขว่า เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำและดักแด้ในชุดควบคุม (น้ำเปล่า) จะต้องน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ จึงจะใช้อัตราการตายจริงในการคำนวณค่า LC_{50} และถ้าเปอร์เซ็นต์การตายของชุดควบคุมอยู่ในช่วง 5-10 เปอร์เซ็นต์ จะปรับอัตราการตายด้วย Abbott's formula ก่อน แล้วจึงนำมาคำนวณค่า LC_{50} แต่ถ้าเปอร์เซ็นต์การตายของชุดควบคุมมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ จะยกเลิกผลการทดลองแล้วทำการทดสอบใหม่ (อุษาวดี และคณะ, 2546) โดยในการศึกษาครั้งนี้จะทดสอบกับลูกน้ำก่อน แล้วจึงนำผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าลูกน้ำได้ดีไปทดสอบกับดักแด้ เนื่องจากในสภาพแวดล้อมจริงจะเน้นการควบคุมระยะลูกน้ำเป็นหลักซึ่งพบมากกว่าดักแด้ สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากยุงลายบ้านใช้ชีวิตในระยะลูกน้ำประมาณ 7-10 วัน ซึ่งนานกว่าระยะดักแด้ที่มีช่วงอายุเพียง 1-2 วัน จึงทำให้ไม่ค่อยพบดักแด้ในสภาพแวดล้อมจริง หรือถ้าพบก็มีจำนวนน้อยมาก

3.2 ผลต่อการตายและการอยู่รอดของลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้าน

ทดสอบผลของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างแบบต่างๆ ต่อการตายและการอยู่รอดของลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้าน โดยบันทึกผลการตายและการอยู่รอดของลูกน้ำและดักแด้ที่ศึกษาในหัวข้อ 3.1 ที่เวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง คำนวณและเปรียบเทียบ

เปอร์เซ็นต์การตาย และการอยู่รอดของลูกน้ำที่เปลี่ยนเป็นดักแด้ และดักแด้ที่เปลี่ยนเป็นตัวเต็มวัย ของผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ

4. การศึกษาผลของน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างต่อเนื้อเยื่อระบบทางเดินอาหารของลูกน้ำยุงลายบ้าน

ศึกษาโดยนำลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 ที่เพิ่งตายในน้ำมัน (3 ชั่วโมงหลังได้รับสาร) และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง (5 ชั่วโมงหลังได้รับสาร) ไปเตรียมสไลด์เนื้อเยื่อด้วยวิธีทางไมโครเทคนิค (microtechnic) ตามวิธีการของปิยากร บุญยัง (2550) และนำสไลด์เนื้อเยื่อที่ได้ไปดูความแตกต่างในระดับเซลล์ เปรียบเทียบกับลูกน้ำที่ไม่ได้รับสารภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบคอมปาวด์ (compound microscope) โดยวิธีการเตรียมสไลด์เนื้อเยื่อมีรายละเอียดดังนี้

4.1 การดองตัวอย่าง (fixation) ดองตัวอย่างลูกน้ำที่จะนำไปทำสไลด์ด้วย 10 เปอร์เซ็นต์ ฟอร์มาลีน เพื่อรักษาเนื้อเยื่อให้อยู่ในสภาพเดิมและถาวร

4.2 การเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อ (tissue processing) เตรียมตัวอย่างลูกน้ำให้พร้อมสำหรับการนำไปตัดให้บาง โดยนำสารเคมีที่ช่วยเสริมความแข็งของเนื้อเยื่อเข้าไปแทนที่ของเหลวภายในเซลล์ ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

4.2.1 การเอาน้ำออก (dehydration) โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์เป็นสารเคมีที่เข้าไปแทนที่น้ำในเซลล์เนื้อเยื่อ เนื่องจากสามารถดูดน้ำออกจากเนื้อเยื่อได้ดีโดยไม่ทำให้ตัวอย่างลูกน้ำแข็งจนเปราะ

4.2.2 การทำให้ใส (clearing) ทำตัวอย่างลูกน้ำให้ใสด้วยไซลีน เพื่อทำให้ตัวอย่างพร้อมที่จะฝังลงบล็อก เนื่องจากไซลีนสามารถเข้าไปแทนที่เอทิลแอลกอฮอล์ในเซลล์เนื้อเยื่อได้ดี

4.2.3 การฝังตัวอย่างลูกน้ำลงบล็อก (embedding and blocking) เป็นขั้นตอนสุดท้ายในการเตรียมตัวอย่างลูกน้ำ โดยฝังตัวอย่างลูกน้ำลงในพาราพลาส (paraplast) เพื่อเสริมให้เนื้อเยื่อมีความแข็งมากขึ้น แต่เนื่องจากพาราพลาสมีสถานะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง จึงต้องเปลี่ยนสถานะให้เป็นของเหลวในตู้อบที่อุณหภูมิ 52-56 องศาเซลเซียสก่อน จึงจะสามารถแทรกผ่านเข้าไปในเซลล์เนื้อเยื่อได้ เมื่อฝังตัวอย่างลูกน้ำลงในพาราพลาสเหลวเรียบร้อยแล้วจึงทำให้พาราพลาสเย็นตัวลง เพื่อให้เกิดการแข็งตัวอีกครั้ง ซึ่งจะทำให้ตัวอย่างลูกน้ำแข็งตามไปด้วย โดยตัวอย่างที่เตรียมได้ในขั้นตอนนี้เรียกว่า พาราฟินบล็อก (paraffin block) หรือ บล็อกตัวอย่าง (specimen block) พร้อมที่จะนำมาตัดให้บางในขั้นตอนต่อไป

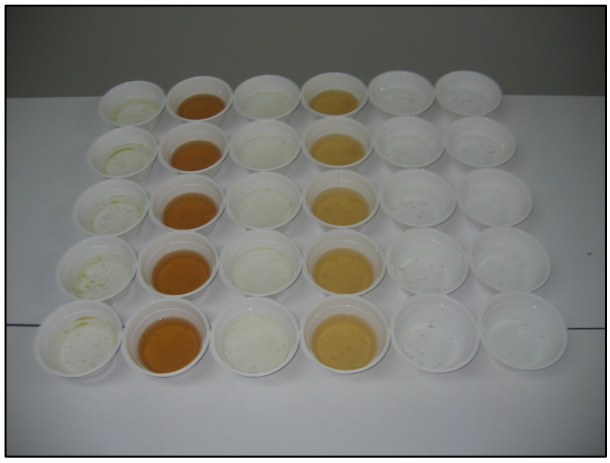
4.3 การตัดให้บางด้วยเครื่องไมโครโตม (sectioning by microtome) เตรียมหน้าบล็อกตัวอย่างลูกน้ำให้พร้อม โดยตัดเอาพาราฟินที่อยู่รอบๆ บล็อกออกให้หมด (trimming) หลังจากนั้นจึงนำมาตัดให้บางประมาณ 5-7 ไมโครเมตร ด้วยเครื่องไมโครโตม

4.4 การย้อมสี (staining) หลังจากตัดตัวอย่างลูกน้ำให้บางและวางบนสไลด์แล้วนำมาย้อมสีด้วย Hematoxylin & Eosin (H&E) ซึ่งเป็นวิธีการย้อมแบบธรรมดา (routine stain) ที่นิยมใช้กัน

มากในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาเซลล์เนื้อเยื่อในขั้นต้น หลังจากย้อมสีเรียบร้อยแล้ว จึงนำตัวอย่างสไลด์เนื้อเยื่อไปดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบคอมปาวด์ เพื่อสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงของเซลล์ของระบบทางเดินอาหารของลูกน้ำที่ได้รับน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเปรียบเทียบกับลูกน้ำที่ไม่ได้รับสาร

5. การทดสอบระยะเวลาการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างรูปแบบต่างๆ

คัดเลือกผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าลูกน้ำได้ดีจากการทดสอบในหัวข้อ 3.1 มาทดสอบหาระยะเวลาการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน เปรียบเทียบกับสารฆ่าลูกน้ำยุงอะเบท® ของบริษัท ที.เจ.ซี.เคมี จำกัด และชุดควบคุม (น้ำเปล่า) โดยใส่ผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างที่ระดับความเข้มข้นที่ทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง และสารอะเบท® ที่อัตราแนะนำ 1 กรัม/น้ำ 10 ลิตร (100 ppm) ลงไปในถ้วยทดสอบที่มีลูกน้ำยุงลายบ้านวัย 4 จำนวน 20 ตัว อยู่ในน้ำปริมาตร 200 มิลลิลิตร ทำการทดสอบซ้ำ 5 ถ้วย (ภาพที่ 6) โดยทุกๆ 24 ชั่วโมง จะบันทึกจำนวนลูกน้ำที่ตายในถ้วยทดสอบแต่ละใบและช้อนลูกน้ำชุดเก่าออกให้หมด แล้วใส่ลูกน้ำชุดใหม่จำนวนเท่าเดิมลงไป จนกระทั่งทรีตเมนต์ใดมีเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำน้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ จะหยุดบันทึกผลในทรีตเมนต์นั้นทันที และถือว่าทรีตเมนต์นั้นมีระยะเวลาการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านเท่ากับจำนวนวันที่ทดสอบตั้งแต่วันแรกจนถึงวันที่หยุดบันทึกผล (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2546) นำผลที่ได้ในทุกทรีตเมนต์มาเปรียบเทียบระยะเวลาการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน โดยมีเงื่อนไขเหมือนเดิมว่าหากชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำที่เวลา 48 ชั่วโมง มากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ จะยกเลิกผลและทำการทดสอบใหม่



ภาพที่ 6 การทดสอบระยะเวลาการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างแบบต่างๆ

6. การศึกษาระยะเวลาและผลต่อการวางไข่และฟักออกจากไข่ของยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างรูปแบบต่างๆ

นำผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าลูกน้ำได้ดีจากการทดสอบในหัวข้อ 3.1 มาทดสอบผลต่อการวางไข่ของยุงลายบ้านเปรียบเทียบกับสารฆ่าลูกน้ำยุงอะเบท® ของบริษัท ที.เจ.ซี.เคมี จำกัด และชุดควบคุม โดยวางแผนการทดสอบแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design ; CRD) ทำการทดสอบ 5 ซ้ำ โดยใส่ผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างที่ระดับความเข้มข้นที่ทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง (น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง 2,000 ppm; น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป 800 ppm; สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง 4,000 ppm และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป 2,000 ppm) ลงไปในถ้วยวางไข่ที่มีน้ำปริมาตร 200 มิลลิลิตร และพันกระดาษวางไข่รอบด้านในของถ้วย ส่วนสารอะเบท® ใส่ที่อัตราแนะนำ 1 กรัม/น้ำ 10 ลิตร หลังจากนั้นนำถ้วยวางไข่ไปวางสุ่มในกรงทดสอบขนาด 120x120x 60 เซนติเมตร ให้ระยะห่างระหว่างถ้วยวางไข่แต่ละใบเท่ากัน (ภาพที่ 7 ก) และใส่ยุงลายบ้านเพศเมียอายุ 5-7 วัน ที่ดูดเลือดเต็มที่แล้วจำนวน 30 ตัว เข้าไปในกรงทดสอบ เมื่อครบ 48 ชั่วโมง นำถ้วยวางไข่และยุงลายบ้านชุดเก่าออกจากกรงทดสอบ แล้วเปลี่ยนถ้วยวางไข่และยุงลายบ้านที่ดูดเลือดเต็มที่แล้วชุดใหม่เข้าไปแทน นำถ้วยวางไข่ที่เปลี่ยนออกมาไปนับจำนวนไข่ที่ติดอยู่บนกระดาษวางไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ยุงลายบ้านจะวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ หรือเป็นแพติดอยู่บนกระดาษวางไข่ดังภาพที่ 5 ง) ปฏิบัติเช่นนี้ทุกๆ 48 ชั่วโมง เป็นเวลา 30 วัน ดังนั้นในวันแรกของการทดสอบจึงต้องใส่สารทดสอบลงไปในถ้วยวางไข่พร้อมกันจำนวน 16 ชุด (ภาพที่ 7 ข) นำจำนวนไข่ที่นับได้ในแต่ละช่วงอายุของสารทดสอบไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีตเมนต์ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) เพื่อดูผลต่อการวางไข่ของยุงลายบ้านในแต่ละช่วงอายุของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง เปรียบเทียบกับสารฆ่าลูกน้ำยุงอะเบท® และชุดควบคุม

ภาพที่ 7 การวางชุดทดสอบแบบสุ่มในกรงทดสอบ (ก) และการเตรียมถ้วยทดสอบยับยั้งการวางไข่ในวันแรกของการทดสอบ (ข)

7. การทดสอบผลิตภัณฑ์น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง ในการควบคุมยุงลายบ้านในสภาพธรรมชาติ

นำน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างและน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปที่ความเข้มข้นในทรีทเมนต์ต่างๆ แสดงในตารางที่ 3 ไปทดสอบในชุมชนเก้าเส้ง และชุมชนบ่อนวัว อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา ระหว่างเดือนพฤษภาคม ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block, RCB)

ตารางที่ 3 สารทดสอบและความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองในสภาพธรรมชาติ

สารทดสอบ	ความเข้มข้นของสารทดสอบ (ppm)
น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง	2,000
น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง	4,000
น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป	800
น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป	1,600
สารอะเบท®	100
ควบคุม (น้ำเปล่า)	-

ทำการทดลอง 2 ชุดการทดลอง (2 ชุมชน) แต่ละชุมชนใช้บ้านจำนวน 10 หลัง (ซ้ำ) ในแต่ละหลังนำจอกยางขนาดกลาง (เส้นผ่านศูนย์กลางของปากถ้วย 11.5 เซนติเมตร) ผนังด้านในบุด้วยกระดาษสีส้ม (ภาพที่ 8) เพื่อใช้เป็นที่วางไข่ของยุงลายบ้าน จำนวน 6 ใบ ซึ่งมีน้ำประปาปริมาตร 250 มิลลิลิตร และใส่สารทดสอบที่ความเข้มข้นดังกล่าวแล้วสุ่มวางภาชนะเป็นวงกลม (ภาพที่ 8) ในบ้านบริเวณที่คาดว่ามีตัวเต็มวัยของยุงลายบ้านอาศัยอยู่ เช่น บริเวณใกล้ห้องน้ำ ในครัว ใต้ตู้กับข้าว เป็นต้น เพื่อให้ยุงมาวางไข่ในภาชนะทดลองดังกล่าว หลังจากการทดลอง 1 วัน นำกระดาษสีส้มที่มีไข่ติดอยู่ไปนับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ หลังจากนั้นจึงนำกระดาษไปจุ่มให้มิดในน้ำในภาชนะเดิมเพื่อดูการฟักออกจากไข่โดยนับจำนวนลูกน้ำ ทุก 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์ เปลี่ยนกระดาษสีส้มชุดใหม่ในภาชนะชุดเดิมให้ยุงวางไข่เป็นเวลา 1 วัน พร้อมทั้งเติมน้ำในถ้วยให้ได้ปริมาตรเท่าเดิมทุกครั้ง หลังจากนั้นจึงนับจำนวนไข่และนำกระดาษไปจุ่มน้ำเพื่อให้ไข่ฟักเช่นเดิมก่อนนับจำนวนลูกน้ำต่อไป

นำจำนวนไข่และจำนวนลูกน้ำที่นับได้ในแต่ละทรีทเมนต์ในช่วงเวลาต่างๆ หลังการทดลอง ไปวิเคราะห์ ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์โดยวิธี DMRT

ภาพที่ 8 การวางภาชนะทดสอบการวางไข่ของยุงลายบ้านในชุมชนเก้าเส้งและชุมชนบ่อนวัว อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเตรียมน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง

หลังจากนำเมล็ดสะเดาช้าง 60 กิโลกรัม มากระเทาะเปลือกออกปรากฏว่า ได้เนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง 15.1 กิโลกรัม คิดเป็น 25.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเมล็ดสะเดาช้างทั้งหมด และเมื่อนำไปปั่นหยาบด้วยเครื่องปั่นอาหาร มีการสูญเสียน้ำหนักระหว่างกระบวนการ 0.1 กิโลกรัม ทำให้น้ำหนักเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างลดลงเหลือ 15 กิโลกรัม คิดเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเมล็ดสะเดาช้างทั้งหมด (ตารางที่ 4) จากนั้นเมื่อนำเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างไปแช่ในตัวทำละลายนอร์มอล เฮกเซน และระเหยสารละลายที่ได้ด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศจนตัวทำละลายระเหยหมด ผลผลิตที่ได้เป็นน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง 8,010 กรัม คิดเป็น 53.4 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเนื้อในเมล็ดทั้งหมด น้ำมันที่ได้มีสีเหลืองปนน้ำตาล (ภาพที่ 9 ก) มีความหนืด เมื่อหยดลงในน้ำจะเห็นเป็นแผ่นฟิล์มกระจายเป็นจุดๆ อยู่บนผิวน้ำ มีกลิ่นรุนแรงกว่าสารสกัดหยาบ และเมื่อนำกากที่เหลือจากการแช่ด้วยนอร์มอล เฮกเซนไปแช่ในเมทานอลต่อ แล้วปฏิบัติตามขั้นตอนเดียวกันกับการแช่ในนอร์มอล เฮกเซนปรากฏว่า ได้ผลผลิตเป็นสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง 2,895 กรัม คิดเป็น 19.3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเนื้อในเมล็ดทั้งหมด (ตารางที่ 5) ลักษณะของสารสกัดหยาบมีสีน้ำตาลดำ (ภาพที่ 9 ข) มีความหนืดน้อยกว่าน้ำมัน เมื่อหยดลงในน้ำ สารสกัดหยาบจะกระจายในน้ำได้ดีจนทำให้สีของน้ำคล้ายกับสีของสารสกัด แต่มีกลิ่นน้อยกว่าน้ำมัน

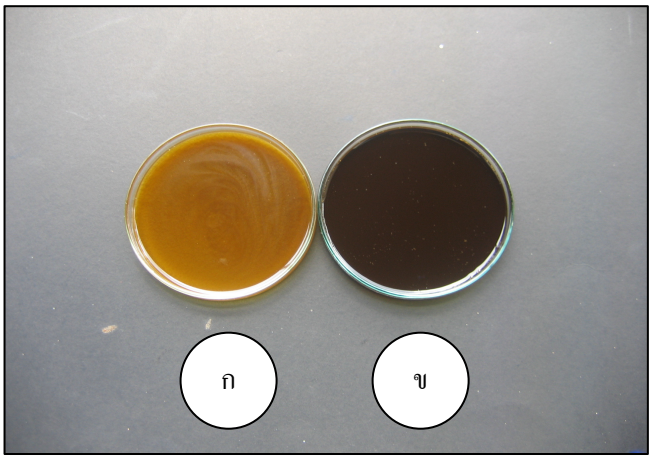
ปริมาณน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่สกัดได้ในการศึกษาครั้งนี้ใกล้เคียงกับการศึกษาของ วิภาวดี (2548) ที่สามารถสกัดน้ำมันจากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างได้ 40.9 เปอร์เซ็นต์ และได้สารสกัดหยาบเท่ากับ 15.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเนื้อในเมล็ดทั้งหมด หากเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันที่อยู่ในเมล็ดสะเดาช้างกับสะเดาไทยและสะเดาอินเดียพบว่า สะเดาช้างมีปริมาณน้ำมันมากกว่า และจากการรายงานของ Schmutterer and Ermel (n.d.) พบว่า น้ำมันที่สกัดได้จากเมล็ดสะเดาไทยและสะเดาอินเดียมีปริมาณ 34 และ 40.6 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเมล็ดทั้งหมด ตามลำดับ

ตารางที่ 4 น้ำหนักเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างหลังกะเทาะเปลือกและปั่นหยาบ

กระบวนการ	น้ำหนัก (กิโลกรัม)		น้ำหนัก (%)	
	ก่อน	หลัง	ก่อน	หลัง
กะเทาะเปลือก	60.0	15.1	100.0	25.5
ปั่นหยาบ	15.1	15.0	25.5	25.0

ตารางที่ 5 ปริมาณน้ำมันและสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง 15 กิโลกรัม

ส่วนที่สกัดได้	ตัวทำละลาย	ปริมาณที่สกัดได้	
		น้ำหนัก (กรัม)	น้ำหนัก (%)
น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง	*n*-hexane	8,010	53.4
สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง	methanol	2,895	19.3



ภาพที่ 9 ลักษณะของน้ำมัน (ก) และสารสกัดหยาบ (ข) เมล็ดสะเดาช้าง

ขั้นตอนการสกัดน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นการสกัดแบบขั้นตอนเดียว (single step) โดยการบีบอัดน้ำมันออกจากเนื้อในเมล็ดก่อนแล้วจึงแช่ด้วยแอลกอฮอล์เพื่อดึงสารสกัดออกมา ซึ่งการสกัดแบบนี้ทำให้ได้ปริมาณของน้ำมันและสารสกัดหยาบต่อน้ำหนักเมล็ดน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับเทคโนโลยีการสกัดในต่างประเทศที่ใช้วิธีการสกัดแบบแช่ยุ่ย (maceration) ซึ่งเป็นการสกัดโดยการนำเนื้อในเมล็ดไปแช่ในสารละลายอินทรีย์พวกไม่มีขั้ว (nonpolar solvent) เพื่อสกัดน้ำมันออกมาก่อน หลังจากนั้นจึงนำกากที่เหลือไปแช่ด้วยสารละลายอินทรีย์พวกมีขั้ว (polar solvent) เพื่อสกัดสารสกัดออกมา (อัญชลี, 2539) หลังจากนั้นจึงระเหยตัวทำละลายโดยใช้ความร้อนไม่สูงมากนัก ซึ่งสามารถป้องกันการสลายตัวของสารอะซาดิแรคตินได้ (Pitiyont *et al*., 1996) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ใช้วิธีการสกัดแบบแช่ยุ่ย

นอกจากปัญหาในกระบวนการสกัดแล้ว ความคงทนต่อสภาพแวดล้อมของน้ำมันและสารสกัดสะเดายังเป็นปัญหาที่สำคัญอีกอย่างหนึ่ง เนื่องจากสารอะซาดิแรคตินเป็นสารโมเลกุลใหญ่และไม่เสถียรในสภาพธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีความชื้นและอุณหภูมิสูง จึงเป็นข้อจำกัดในอุตสาหกรรมการผลิตสารสะเดาค่อนข้างมาก ดังนั้นจึงมีการใช้เทคโนโลยีปรุงแต่งสารเพื่อให้มีความคงทนต่อการใช้งานในสภาพธรรมชาติได้มากขึ้น โดยใส่สารเพิ่มฤทธิ์ (synergist) หรือสารป้องกันการเสื่อมฤทธิ์ (stabilizer) ลงไปในสารสะเดา (อัญชลี, 2538) ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้นำน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างมาทำผลิตภัณฑ์โดยผสมสารป้องกันการเสื่อมฤทธิ์ และสารอีมัลซิฟายเออร์เพื่อให้น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างกระจายตัวในน้ำได้ดีขึ้นในการควบคุมลูกน้ำยุงลาย

2. การทำผลิตภัณฑ์จากน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง

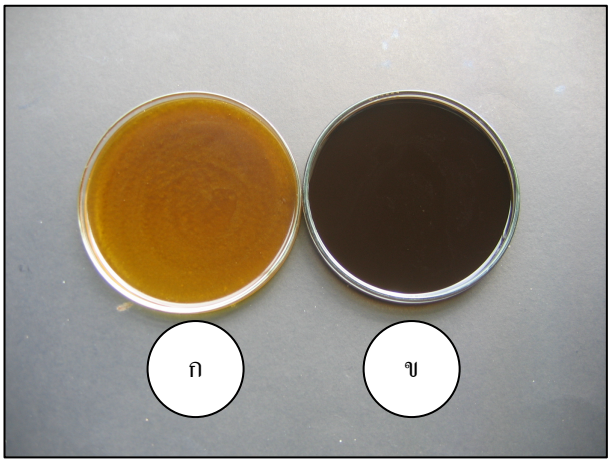
นำน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างมาทำผลิตภัณฑ์ทั้งแบบของเหลวและของแข็ง 6 แบบต่างๆ ดังนี้

1. น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป

ผลิตภัณฑ์แบบนี้เป็นน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่อยู่ในรูปของเหลวเข้มข้นซึ่งผสมสารอีมัลซิฟายเออร์ (Tween® 80 และ Span® 80) และสารต้านออกซิเดชั่น BHT ลงไป เพื่อช่วยให้น้ำมันกระจายตัวในน้ำได้ดีขึ้น และไม่ทำให้สารออกฤทธิ์ที่อยู่ในน้ำมันสลายตัวได้ง่าย ลักษณะของผลิตภัณฑ์เป็นของเหลวสีเหลืองปนน้ำตาลคล้ายน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (ภาพที่ 10 ก) แต่มีความหนืดน้อยกว่าและสามารถแพร่กระจายในน้ำได้ดีกว่า

2. สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป

ผลิตภัณฑ์แบบนี้เป็นสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างที่อยู่ในรูปของเหลวเข้มข้นซึ่งผสมสารสารต้านออกซิเดชั่น BHT เพียงชนิดเดียวลงไป เนื่องจากสารสกัดหยาบสามารถกระจายตัวได้ดีในน้ำอยู่แล้ว จึงไม่จำเป็นต้องผสมสารอีมัลซิฟายเออร์ลงไปอีก ลักษณะของผลิตภัณฑ์เป็นของเหลวสีน้ำตาลดำคล้ายสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง (ภาพที่ 10 ข) และสามารถแพร่กระจายในน้ำได้ดีใกล้เคียงกันอีกด้วย



ภาพที่ 10 ลักษณะของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป (ก) และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป (ข)

สารอีมัลซิฟายเออร์มีคุณสมบัติทำให้น้ำมันกระจายตัวได้ดีในน้ำ ไม่เกิดการแยกชั้นระหว่างน้ำมันกับน้ำ โดยมีหน้าที่เป็นตัวกลางเชื่อมระหว่างน้ำกับน้ำมัน ทำให้เกิดอีมัลชั่นน้ำมันในน้ำ (O/W emulsion) หรืออีมัลชั่นน้ำในน้ำมัน (W/O emulsion) (Idson, 1988) การที่จะทำให้น้ำมันกระจายตัวได้ดีในน้ำ นอกจากชนิดของสารอีมัลซิฟายเออร์ที่ใช้แล้ว ยังมีปัจจัยอื่นเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย เช่น ความเข้มข้นของสารอีมัลซิฟายเออร์ที่ใช้ อัตราส่วนระหว่างน้ำกับน้ำมัน และอุณหภูมิที่ใช้เตรียมผลิตภัณฑ์ เป็นต้น (Reiger, 1986) นอกจากนี้ ในกรณีที่ต้องการใช้สารอีมัลซิฟายเออร์

ที่มีค่า HLB ต่ำกว่าน้ำมันก็สามารถทำได้ แต่ต้องใช้สารอีมัลซิฟายเออร์ในความเข้มข้นที่สูง (Riegelman, 1962) ซึ่งจะเป็นการสิ้นเปลืองต้นทุนการผลิต

นอกจากประสิทธิภาพในการใช้แล้ว อีกปัจจัยหนึ่งที่ควรคำนึงถึง คือ อายุการใช้งานของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากทั้งน้ำมันและสารสกัดหยาบที่ได้จากพืชธรรมชาติเป็นสารที่ไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (oxidation) ซึ่งจะทำให้ถูกออกซิไดซ์ (oxidize) ด้วยออกซิเจนในอากาศหรือเอนไซม์บางชนิด เป็นสาเหตุให้ผลิตภัณฑ์มีคุณสมบัติเปลี่ยนไป (สุวิภา, 2548) ทางออกที่จะแก้ปัญหานี้ได้ คือ การใส่สารป้องกันการเสื่อมฤทธิ์ ซึ่งมีหน้าที่ต้านการออกซิเดชั่นเพิ่มเข้าไปในผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้สารต้านการออกซิเดชั่นอาจเป็นสารที่ละลายในน้ำหรือน้ำมันก็ได้ แล้วแต่จุดประสงค์ว่าจะใช้ป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารที่ละลายอยู่ในน้ำหรือน้ำมัน (Henry, 1990)

3. น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมจมน้ำ

มีลักษณะเป็นของแข็งเม็ดกลมสีเทา (ภาพที่ 11 ก) เมื่อโปรยลงในน้ำ ผลิตภัณฑ์จะจมอยู่ใต้ก้นภาชนะและค่อยๆ ปล่อยสารออกฤทธิ์ออกมาจากด้านล่างสู่ด้านบนของภาชนะ

4. สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมจมน้ำ

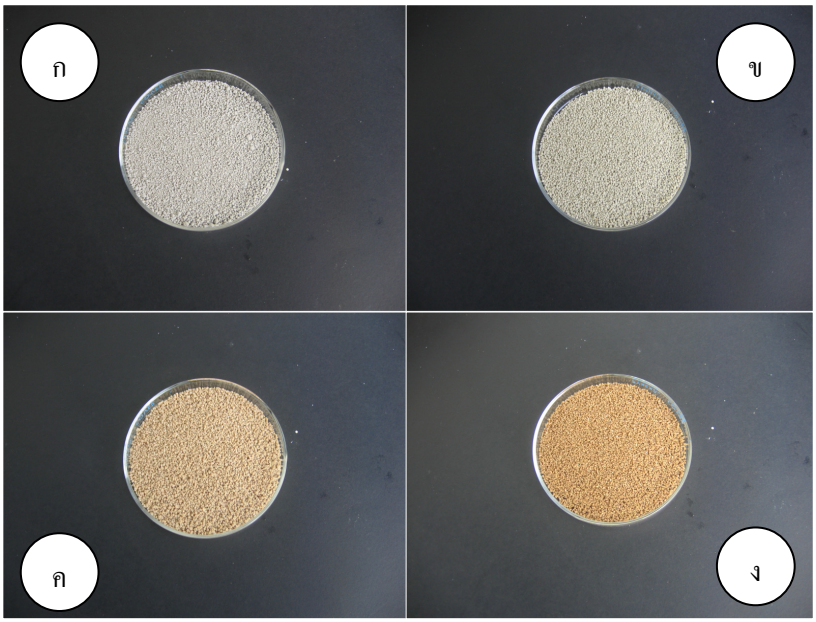
มีลักษณะเป็นของแข็งเม็ดกลมสีเทาเข้มกว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมจมน้ำเล็กน้อย (ภาพที่ 11 ข) แต่มีลักษณะการปล่อยสารออกฤทธิ์เหมือนกันเมื่อโปรยลงในน้ำ

5. น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมลอยน้ำ

มีลักษณะเป็นของแข็งเม็ดกลมสีน้ำตาลอ่อน (ภาพที่ 11 ค) เมื่อโปรยลงในน้ำ ผลิตภัณฑ์จะลอยอยู่บนผิวน้ำและค่อยๆ ปล่อยสารออกฤทธิ์ออกมาจากด้านบนสู่ด้านล่างของภาชนะ

6. สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมลอยน้ำ

มีลักษณะเป็นของแข็งเม็ดกลมสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 11 ง) เมื่อโปรยลงในน้ำ ผลิตภัณฑ์จะลอยอยู่บนผิวน้ำและค่อยๆ ปล่อยสารออกฤทธิ์ออกมาจากด้านบนสู่ด้านล่างของภาชนะทดสอบ



ภาพที่ 11 ลักษณะของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมจมน้ำ (ก) สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมจมน้ำ (ข) น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมลอยน้ำ (ค) และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมลอยน้ำ (ง)

ในการเตรียมผลิตภัณฑ์แบบเม็ดกลมจมน้ำ ส่วนผสมแต่ละชนิดที่ใส่ลงไปต่างมีหน้าที่แตกต่างกันตามคุณสมบัติ โดยเบนโทไนท์มีหน้าที่ดูดซับน้ำมันและสารสกัดให้อยู่ในรูปที่แห้งและทำให้เม็ดมีน้ำหนักสามารถจมน้ำได้ นอกจากนี้ยังช่วยเร่งการแตกตัวของสารออกฤทธิ์หลังจากโปรยผลิตภัณฑ์ลงในน้ำ โดยเบนโทไนท์จะดูดน้ำเข้าไปในผลิตภัณฑ์จนเม็ดเกิดการพองตัวและแตกกระจายตัวปล่อยสารออกฤทธิ์ออกมา

เซลลูโลสทำหน้าที่เป็นสารยึดเกาะส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันและมีส่วนช่วยในการปล่อยสารออกฤทธิ์ให้แตกตัวออกมา โดยปริมาณของเซลลูโลสที่ใช้ขึ้นอยู่กับลักษณะของเม็ดที่ต้องการ

แลคโตสเป็นส่วนผสมที่ใส่เข้าไปเพื่อทำให้ได้ขนาดเม็ดตามต้องการและช่วยเสริมการยึดเกาะของส่วนผสมทำให้ปั้นอัดได้ง่ายขึ้น

ส่วนสาเหตุที่ส่วนผสมของผลิตภัณฑ์แบบเม็ดกลมลอยน้ำแตกต่างจากแบบเม็ดกลมจมน้ำเนื่องจากทั้งเบนโทไนท์ เซลลูโลส และแลคโตส มีคุณสมบัติทำให้ผลิตภัณฑ์มีน้ำหนักมากจึงไม่เหมาะสมที่จะใช้เตรียมเป็นผลิตภัณฑ์แบบเม็ดกลมลอยน้ำ แต่เปลี่ยนมาใช้ hydrogenated vegetable oil (HVO) ซึ่งมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับสารทั้ง 3 ชนิดที่กล่าวมาข้างต้น แต่มีน้ำหนักเบากว่า นอกจากนี้ยังผสมกากมะพร้าวแห้ง เพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์สามารถลอยน้ำได้ เนื่องจากในกากมะพร้าวแห้งมีโปรตีนเพียง 1.2 เปอร์เซ็นต์ แต่มีเส้นใยอยู่ถึง 12 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักทั้งหมด (นิรนาม, มมป)

ในประเทศไทยได้มีการนำน้ำมันสะเดามาผสมกับสารอีมัลซิฟายเออร์และดินสอพอง แล้วนำไปอัดเม็ดบรรจุในถุงผ้าเพื่อควบคุมประชากรด้วงงวงข้าวโดย อัญชลี และคณะ (2543) ปรากฏว่า น้ำมันสะเดาอัดเม็ดที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป สามารถไล่ประชากร ลดการวางไข่ และลดการฟักออกจากไข่ของด้วงงวงข้าวได้

3. การหาค่าความเป็นพิษ (LC_{50}) ผลต่อการตายและการอยู่รอดของลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง

3.1 ผลต่อการตาย และค่าความเป็นพิษต่อลูกน้ำและดักแด้ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ผลต่อการตายของน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ ที่มีต่อลูกน้ำและดักแด้แสดงในตารางที่ 6 และ 7 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความเข้มข้นที่ทำให้ลูกน้ำและดักแด้ตาย 100 เปอร์เซ็นต์พบว่า มีเพียงลูกน้ำเท่านั้นที่น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสามารถฆ่าได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 ppm และ 4,000 ppm ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ในขณะที่ความเข้มข้นสูงสุด 5,000 ppm ของน้ำมันและสารสกัดหยาบไม่สามารถฆ่าดักแด้ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำหลังจากได้รับน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างและผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ผลิตภัณฑ์จากเมล็ดสะเดาช้าง	**เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำ (%)**										
	ชุดควบคุม		ความเข้มข้นของสารทดสอบ (ppm)								
	C_1[1/]	C_2[2/]	200	400	600	800	1,000	2,000	3,000	4,000	5,000
O[3/]	0	*	32	43	62	69	84	100	100	*	*
C	0	*	22	46	51	57	75	84	97	100	100
FO	0	0	38	76	96	100	100	100	100	*	*
FC	1	0	45	54	74	89	95	100	100	100	100
POS	0	0	0	0	0	2	1	0	2	*	*
PCS	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	1
POF	0	0	2	1	19	33	100	100	100	*	*
PCF	0	0	0	9	6	4	11	100	100	100	100

[1/]C_1 =น้ำเปล่า; [2/]C_2=น้ำเปล่า+สารไม่ออกฤทธิ์; [3/]O=น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง; C =สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง; FO=น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป; FC= สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป; POS=น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมจมน้ำ; PCS=สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมจมน้ำ; POF=น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมลอยน้ำ; PCF=สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมลอยน้ำ; *=ไม่ได้ทดสอบ

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การตายของดักแด้หลังจากได้รับน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างและผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ผลิตภัณฑ์จากเมล็ดสะเดาช้าง	**เปอร์เซ็นต์การตายของดักแด้ (ค่าเฉลี่ย)**										
	ชุดควบคุม		ความเข้มข้นของสารทดสอบ (ppm)								
	C_1 [1/]	C_2 [2/]	200	400	600	800	1,000	2,000	3,000	4,000	5,000
O [3/]	0	*	3	6	7	9	12	31	47	76	77
C	0	*	6	27	39	53	71	83	93	98	99
FO	1	10	66	91	95	99	100	100	100	100	100
FC	1	20	3	5	9	12	21	29	38	55	61
POS	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
PCS	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
POF	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
PCF	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

[1/] C_1 =น้ำเปล่า; [2/] C_2=น้ำเปล่า+สารไม่ออกฤทธิ์; [3/] O=น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง; C =สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง; FO=น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป; FC= สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป; POS=น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมจมน้ำ; PCS=สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมจมน้ำ; POF=น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมลอยน้ำ; PCF=สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเม็ดกลมลอยน้ำ; *=ไม่ได้ทดสอบ

เมื่อนำค่าเปอร์เซ็นต์การตายจากตารางที่ 6 และ 7 มาหาค่า LC_{50} ต่อลูกน้ำและดักแด้โดยวิธีโปรบิท ผลการคำนวณแสดงในตารางที่ 8 พบว่า ทั้งน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านได้ดี โดยน้ำมันเป็นพิษต่อลูกน้ำสูงกว่าสารสกัดหยาบ เนื่องจากมีค่าความเป็นพิษ (LC_{50}) ที่ 24 ชั่วโมงต่ำกว่าสารสกัดหยาบ (ตารางที่ 8) แต่เป็นพิษต่อดักแด้ต่ำกว่าสารสกัดหยาบ สาเหตุที่แท้จริงของความแตกต่างดังกล่าวควรทำการศึกษาต่อไป แต่ในเบื้องต้นสันนิษฐานว่า สารออกฤทธิ์ที่อยู่ในน้ำมันและสารสกัดหยาบมีความแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ และส่งผลต่อการฆ่าลูกน้ำและดักแด้แตกต่างกัน หากเปรียบเทียบระหว่างลูกน้ำและดักแด้พบว่า ลูกน้ำมีแนวโน้มอ่อนแอต่อน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างมากกว่าดักแด้ เนื่องจากมีแนวโน้มค่าความเป็นพิษต่ำกว่า (ตารางที่ 8) สาเหตุดังกล่าวเป็นไปได้ว่าการได้รับสารของลูกน้ำมีมากกว่าดักแด้ เนื่องจากลูกน้ำรับสารเข้าสู่ร่างกายทั้งโดยการกินและการซึมผ่านผนังลำตัว ในขณะที่ดักแด้รับสารเฉพาะการซึมผ่านผนังลำตัวเท่านั้นเพราะดักแด้ไม่กินอาหาร

ตารางที่ 8 ค่า LC_{50} ของน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างและผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ ต่อลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านที่เวลา 24 ชั่วโมง

ผลิตภัณฑ์จากเมล็ดสะเดาช้าง	ลูกน้ำ			ดักแด้		
	LC_{50} (mg/l)	Fiducial limit		LC_{50} (mg/l)	Fiducial limit	
		Lower	Upper		Lower	Upper
น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง	403.6	285.7	563.7	2,691.4	2,069.7	3,515.7
น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป	245.7	218.3	270.8	143.8	103.4	178.3
สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง	518.7	411.2	647.7	730.4	662.5	801.6
สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป	283.5	186.1	423.0	3,814.2	3,252.9	4,640.8

การนำน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างมาทำผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ ทั้งแบบของเหลวและแบบเม็ดพบว่า มีเพียงผลิตภัณฑ์แบบของเหลวเท่านั้นที่ทำให้ประสิทธิภาพการฆ่าลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านสูงขึ้น (ตารางที่ 6 และ 7) ยกเว้นสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างซึ่งหลังจากทำผลิตภัณฑ์แล้วมีประสิทธิภาพในการฆ่าดักแด้ต่ำลง (ตารางที่ 7)

หากพิจารณาค่าความเป็นพิษจากผลการทดลองครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า น้ำมันสะเดาช้างสำเร็จรูปมีพิษสูงสุดต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง ตามลำดับ (ตารางที่ 8) สารอีมัลซิฟายเออร์ที่ใส่ลงไปทำให้สารออกฤทธิ์กระจายตัวในน้ำได้ดีขึ้น ทำให้ลูกน้ำมีโอกาสสัมผัสสารได้มากขึ้น ส่วนผลิตภัณฑ์แบบเม็ดกลมจมน้ำและเม็ดกลมลอยน้ำมีพิษต่ำต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์แบบเม็ดกลมจมน้ำมีพิษต่อลูกน้ำต่ำมาก (ตารางที่ 6) สาเหตุสำคัญน่าจะเกิดจากการผสมเบนโทไนท์และน้ำเข้าไปในสูตรผสมมากเกินไป หลังจากผลิตภัณฑ์แห้งจึงแข็งตัวมาก และเมื่อนำไปใส่ลงในน้ำ ทำให้ไม่สามารถปล่อยสารออกฤทธิ์ออกมาได้มากเท่าที่ควร นอกจากนี้ยังมีสีและกลิ่นไม่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในสภาพแวดล้อมจริงอีกด้วย เนื่องจากเกิดการหมักและมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยวหลังจากทิ้งไว้ระยะหนึ่ง ดังนั้นในการทดสอบความเป็นพิษกับดักแด้จึงใช้เฉพาะผลิตภัณฑ์แบบของเหลวเท่านั้น คือ น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป

มีรายงานการใช้สารสะเดาควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้าน โดย World Health Organization (1981) รายงานว่า ผลิตภัณฑ์สารสะเดารูปแบบต่างๆ ได้แก่ Neemazal®, ANSKE®, AZT-VR-K-E® และ MTB® สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 8.4, 78.2, 18.1 และ 5.9 ppm ตามลำดับ ในทำนองเดียวกัน Naqvi และคณะ (1991) ได้ทดสอบผลของสารสกัดสะเดา (NFD) ต่อการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านปรากฏว่า สารสกัดดังกล่าวมีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.58 ppm หลังจากนั้น

Naqvi และคณะ (1994) ยังได้ศึกษาเรื่องนี้ต่ออย่างละเอียด โดยแยกสารประกอบที่อยู่ในสารสกัดสะเดาได้แก่ RBu-9, RB-b และ Margosan-O™ มาทดสอบความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงลายบ้านระยะที่ 4 พบว่า สารประกอบดังกล่าวมีค่า LC_{50} เท่ากับ 380.0, 490.0 และ 340.0 ppm ตามลำดับ ในขณะที่ Raymond และคณะ (2007) ได้นำสารสกัดสะเดาอินเดียรูปแบบดั้งเดิมมาพัฒนาผลิตภัณฑ์ 3 แบบ คือ 1% Suneem, 1% Formulated neem oil และ Neem powder แล้วนำไปทดสอบผลต่อการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านปรากฏว่า ส่วนผสมที่ใส่เข้าไปในผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 แบบสามารถเพิ่มประสิทธิภาพฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านของสารสกัดสะเดาอินเดียได้ โดยมีค่า LC_{50} ลดลงต่ำมาก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.0, 8.0 และ 3.0 ppm ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังได้มีการศึกษาโดย Wandscheer และคณะ (2004) ถึงผลของสารสกัดจากพืช *Melia azadarach* ซึ่งเป็นพืชวงศ์เดียวกับสะเดาต่อลูกน้ำยุงลายบ้านในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับสารสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียที่สกัดด้วยเอทานอลปรากฏว่า สารสกัดจากพืชดังกล่าวมีค่า LC_{50} ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.16 และ 0.15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ค่าดังกล่าวของสารสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียเท่ากับ 0.04 และ 0.06 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านดีกว่าสารสกัดจากพืช *M. azadarach* ที่อุณหภูมิทั้ง 2 ช่วง

สำหรับในประเทศไทย มานิตย์ (2543) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันและสารสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียต่อลูกน้ำยุงลายบ้านซึ่งพบว่า น้ำมันและสารสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียที่ความเข้มข้น 0.2 และ 0.02 เปอร์เซ็นต์ สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง ตามลำดับ และเมื่อความเข้มข้นของสารทดสอบยิ่งต่ำลง ระยะเวลาในการฆ่าลูกน้ำจะยิ่งนานขึ้น ซึ่งสังเกตได้จากผลของน้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียที่ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ สามารถฆ่าลูกน้ำได้เพียง 22 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง และเพิ่มเป็น 68 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 48 ชั่วโมง ในขณะที่สารสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียที่ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ สามารถฆ่าลูกน้ำได้ 44 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง และเพิ่มเป็น 83 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาครั้งนี้ ที่ความเข้มข้นต่ำสามารถฆ่าลูกน้ำได้สูงขึ้นเมื่อเวลานานขึ้น (ตารางที่ 6)

จากรายงานการศึกษาทั้งหมดที่กล่าวมาข้างต้นแสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากเมล็ดสะเดาสามารถใช้ควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้านได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่น้ำมันและสารสกัดหยาบเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างสามารถใช้ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ และเมื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบที่เหมาะสม ทำให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการฆ่าได้ดียิ่งขึ้น ทั้งนี้สาเหตุที่ในรายงานการศึกษาบางเรื่องมีค่าความเป็นพิษที่แตกต่างจากการศึกษาในครั้งนี้ เนื่องจากอาจมีความแตกต่างกันของปัจจัยที่กำหนดในการทดสอบ เช่น การวางแผนการทดลอง วิธีการทดสอบ สภาพแวดล้อม

ที่ใช้ทำการทดสอบ รูปแบบของสารสะเดาที่ใช้ทดสอบ โครงสร้างสรีรวิทยาของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ใช้ทดสอบ และชนิดของสะเดาที่ใช้ทดสอบ เป็นต้น

ส่วนความเป็นพิษต่อดักแด้นั้น น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปมีพิษสูงสุด และการเติมสารอีมัลซิฟายเออร์และสารป้องกันการเสื่อมฤทธิ์ลงไปในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง ช่วยเพิ่มความเป็นพิษต่อดักแด้อย่างเด่นชัด (ตารางที่ 7 และ 8) สารอีมัลซิฟายเออร์ที่ผสมลงไปในผลิตภัณฑ์มีผลทำให้น้ำมันกระจายตัวได้ดีทั้งในน้ำและบนผิวน้ำ เป็นสาเหตุให้ดักแด้ซึ่งอยู่ในถ้วยทดสอบถูกกลไกการออกฤทธิ์ 2 แบบ คือ นอกจากสารออกฤทธิ์ที่อยู่ในผลิตภัณฑ์จะซึมเข้าสู่ร่างกายแล้ว ฟิล์มน้ำมันที่เคลือบกระจายอยู่บนผิวน้ำ ยังทำให้ดักแด้ไม่สามารถแทงท่อหายใจขึ้นมารับออกซิเจนที่อยู่ข้างบนลงไปหายใจใต้น้ำได้ ทำให้ดักแด้ตายในที่สุด

การนำสารสะเดามาควบคุมดักแด้ของยุงมีงานวิจัยที่ยังไม่แพร่หลายมากนัก เนื่องจากการวิจัยส่วนใหญ่ได้เน้นไปที่การควบคุมระยะลูกน้ำมากกว่า อย่างไรก็ตาม มีรายงานการศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชมาใช้ควบคุมดักแด้ของยุง เช่น Al-Sharook และคณะ (1991) ได้นำสารสกัดจากพืช *Melia volkensii* ซึ่งเป็นพืชวงศ์เดียวกับสะเดา มาทดสอบความเป็นพิษต่อลูกน้ำและดักแด้ยุงรำคาญ *Cx. pipiens* พบว่า สารสกัดดังกล่าวมีความเป็นพิษต่อทั้งลูกน้ำและดักแด้ของยุงรำคาญเท่ากัน โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 30.0 ppm เท่ากัน ในขณะที่การศึกษาของ Vatandoost และ Vaziri (2004) ซึ่งได้ทดสอบฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์สารสะเดา (Neemarin®) ต่อยุงก้นปล่อง *An. stephensi* ทุกระยะพบว่า ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีผลต่อการตายของดักแด้มากกว่าระยะอื่นๆ โดยมีค่า LC_{50} และค่า LC_{90} ต่อดักแด้เท่ากับ 0.35 และ 1.81 ppm ตามลำดับ ในทำนองเดียวกัน Umar และคณะ (2006) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียแบบผงที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในการฆ่าดักแด้ยุงลายบ้านปรากฏว่า สารสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียแบบผงที่สกัดด้วยเอทิล อะซิเตต อะซิโตน เบนซิน นอร์มอล เฮกเซน และโพรพานอล มีค่า LC_{50} ต่อดักแด้ยุงลายบ้านที่เวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 600.0, 2,900.0, 8,200.0, 31,300.0 และ 76,300.0 ppm ตามลำดับ ซึ่งจากรายงานการศึกษาทั้งหมดที่กล่าวมาข้างต้นสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่ผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสามารถฆ่าดักแด้ยุงลายบ้านได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป ที่ฆ่าดักแด้ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียแบบผงที่สกัดได้จากตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในการศึกษาของ Umar และคณะ (2006) ซึ่งใช้วิธีการทดสอบแบบเดียวกันปรากฏว่า น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปในการศึกษาครั้งนี้มีผลต่อการตายของดักแด้ยุงลายบ้านมากกว่าสารสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียแบบผงที่สกัดได้จากตัวทำละลายทุกชนิด เนื่องจากมีค่า LC_{50} ที่เวลา 24 ชั่วโมงสูงกว่าค่า LC_{50} ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปที่เวลาเดียวกัน

3.2 ผลต่อการอยู่รอดของลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง

ต่อเนื่องจากการทดลองในหัวข้อ 3.1 ตรวจผลการอยู่รอดของลูกน้ำและดักแด้ที่ได้รับน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป โดยนับดักแด้และตัวเต็มวัยที่รอดชีวิตที่เวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง แล้วคำณวนเปอร์เซ็นต์เปลี่ยนเป็นดักแด้ และตัวเต็มวัยที่ 120 ชั่วโมงพบว่าที่ความเข้มข้นต่ำสุด 200 ppm ลูกน้ำที่ได้รับน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเปลี่ยนเป็นดักแด้น้อยที่สุด 2 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง 13 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป 36 เปอร์เซ็นต์ และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น 600 ppm ลูกน้ำเปลี่ยนเป็นดักแด้น้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมของทุกผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์ลูกน้ำที่เปลี่ยนเป็นดักแด้หลังจากได้รับน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ผลิตภัณฑ์จากเมล็ดสะเดาช้าง	เปอร์เซ็นต์ลูกน้ำที่เปลี่ยนเป็นดักแด้ (ค่าเฉลี่ย, %)										
	ชุดควบคุม		ความเข้มข้นของสารทดสอบ (ppm)								
	C_1[1/]	C_2[2/]	200	400	600	800	1,000	2,000	3,000	4,000	5,000
O[3/]	66	*	2	1	0	1	0	0	0	*	*
C	72	*	13	6	1	1	0	0	0	0	0
FO	82	87	50	12	0	0	0	0	0	*	*
FC	95	93	36	11	2	1	1	0	0	0	0

[1/]C_1 =น้ำเปล่า; [2/]C_2=น้ำเปล่า+สารไม่ออกฤทธิ์; [3/]O=น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง; C =สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง; FO=น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป; FC= สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป; *=ไม่ได้ทดสอบ

เมื่อตรวจผลการอยู่รอดจนกระทั่งกลายเป็นตัวเต็มวัยพบว่า ที่ความเข้มข้น 600 ppm ทุกผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบสามารถยับยั้งการกลายเป็นตัวเต็มวัยของลูกน้ำได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 10) แต่อย่างไรก็ตาม ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 200 ppm น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปสามารถยับยั้งการกลายเป็นตัวเต็มวัยได้ดีกว่าสารสกัดหยาบและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปอย่างเด่นชัด (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์ลูกน้ำที่เปลี่ยนเป็นตัวเต็มวัยหลังจากได้รับน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ผลิตภัณฑ์จากเมล็ดสะเดาช้าง	เปอร์เซ็นต์ลูกน้ำที่เปลี่ยนเป็นตัวเต็มวัย (ค่าเฉลี่ย, %)										
	ชุดควบคุม		ความเข้มข้นของสารทดสอบ (ppm)								
	C_1 [1/]	C_2 [2/]	200	400	600	800	1,000	2,000	3,000	4,000	5,000
O [3/]	51	*	2	1	0	0	0	0	0	*	*
C	52	*	3	1	0	0	0	0	0	0	0
FO	37	41	42	6	0	0	0	0	0	*	*
FC	47	39	22	4	0	0	0	0	0	0	0

[1/] C_1 =น้ำเปล่า; [2/] C_2=น้ำเปล่า+สารไม่ออกฤทธิ์; [3/] O=น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง; C =สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง; FO=น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป; FC= สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป; *=ไม่ได้ทดสอบ

ส่วนดักแด้ที่ได้รับสารทดสอบสามารถอยู่รอดและเปลี่ยนเป็นตัวเต็มวัยได้ค่อนข้างมากเมื่อเปรียบเทียบกับลูกน้ำ อย่างไรก็ตาม เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเป็นตัวเต็มวัยขึ้นอยู่กับผลิตภัณฑ์และความเข้มข้นของสารทดสอบ น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปให้ผลยับยั้งการเปลี่ยนเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้ยุงลายบ้านดีที่สุด โดยที่ความเข้มข้น 600 และ 800 ppm สามารถยับยั้งการกลายเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้ 99 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 เปอร์เซ็นต์ดักแด้ที่เปลี่ยนเป็นตัวเต็มวัยหลังจากได้รับน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ผลิตภัณฑ์จากเมล็ดสะเดาช้าง	เปอร์เซ็นต์ดักแด้ที่เปลี่ยนเป็นตัวเต็มวัย (ค่าเฉลี่ย, %)										
	ชุดควบคุม		ความเข้มข้นของสารทดสอบ (ppm)								
	C_1 [1/]	C_2 [2/]	200	400	600	800	1,000	2,000	3,000	4,000	5,000
O [3/]	100	*	93	89	89	82	78	53	33	7	3
C	97	*	89	70	54	39	23	16	3	1	1
FO	79	99	16	5	1	0	0	0	0	0	0
FC	72	98	68	57	50	43	36	27	25	22	13

[1/] C_1 =น้ำเปล่า; [2/] C_2=น้ำเปล่า+สารไม่ออกฤทธิ์; [3/] O=น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง; C =สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง; FO=น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป; FC= สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป; *=ไม่ได้ทดสอบ

นอกจากนี้ลูกน้ำที่รอดตายจากการได้รับสารที่ทดสอบในครั้งนี้มีการเจริญเติบโตเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ช้าลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากข้อมูลในตารางที่ 6 ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 200 ppm มีลูกน้ำตายน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของสารทดสอบทุกชนิด แต่ลูกน้ำพัฒนาเข้าสู่ระยะดักแด้ในปริมาณน้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่สามารถพัฒนาเข้าสู่ระยะดักแด้ได้เพียง 20 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น (ตารางที่ 9) ชี้ให้เห็นว่า สารดังกล่าวมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของลูกน้ำ สารอะซาดิแรคตินที่อยู่ในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างไปขัดขวางการทำงานของฮอร์โมน ecdysone ซึ่งใช้ในการลอกคราบของลูกน้ำ ทำให้การเจริญเติบโตล่าช้าและผิดปกติ (ชัยพัฒน์, 2539; Raymond *et al*., 2007) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สารสกัดจากสะเดามีผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของยุง โดย Naqvi และคณะ (1991) พบว่า สารสกัดสะเดา (NFD) มีผลทำให้การพัฒนารูปร่างของลูกน้ำยุงลายบ้านเข้าสู่ระยะดักแด้ช้าผิดปกติ หลังจากนั้น Naqvi และคณะ (1994) ได้ทดสอบผลของสารประกอบที่อยู่ในสารสกัดสะเดาคือ RBu-9, RB-b และ Margosan-O™ ต่อการพัฒนารูปร่างของลูกน้ำยุงลายบ้านระยะที่ 4 ปรากฏว่า ตัวเต็มวัยที่พัฒนามาจากลูกน้ำซึ่งรอดตายในสารประกอบดังกล่าว มีขาที่ยาวยับย่น พันกันผิดปกติ และยังมีลำตัวเล็กลงอย่างเด่นชัด เช่นเดียวกับการศึกษาของ Mitchell และคณะ (1996) ซึ่งได้ทดสอบผลของสารอะซาดิแรคติน ซาลานิน นิมบิน และ 6-desacetynimbin ที่สังเคราะห์ได้จากเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียต่อการพัฒนารูปร่างของยุงลายบ้านระยะที่ 3 พบว่า สารทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 20-1,000 ppm สามารถชะลอการลอกคราบของลูกน้ำระยะที่ 3 ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Nagpal และคณะ (2001) ได้ใช้สารสกัดจากเปลือกสะเดาอินเดียควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้านพบว่า สามารถชะลอการเข้าดักแด้ของลูกน้ำยุงลายบ้านได้

นอกจากยุงลายบ้านแล้ว สารสะเดายังสามารถชะลอการพัฒนารูปร่างของยุงชนิดอื่นได้อีก โดย Ping Jin และคณะ (1994) ได้ศึกษาผลของผลิตภัณฑ์สารสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดีย (AZAL-S®) ที่ความเข้มข้น 0.3 และ 0.5 ppm ต่อลูกน้ำยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*) ปรากฏว่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าวสามารถชะลอการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงรำคาญได้ทั้ง 2 ความเข้มข้น นอกจากนี้ Batra และคณะ (1998) ยังได้ทดสอบผลของน้ำมันสะเดาอินเดียในรูปอีมัลชั่นต่อการพัฒนารูปร่างของลูกน้ำยุงก้นปล่อง (*An. stephensi*) ปรากฏว่า สารดังกล่าวสามารถชะลอการพัฒนารูปร่างของยุงก้นปล่องได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Vatandoost และ Vaziri (2004) ที่กล่าวว่าการชะลอการออกเป็นตัวเต็มวัยเป็นกลไกการออกฤทธิ์หลักของผลิตภัณฑ์สารสะเดา Neemarin® ที่มีต่อลูกน้ำยุงก้นปล่อง (*An. stephensi*)

4. ผลของน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างต่อเนื้อเยื่อระบบทางเดินอาหารของลูกน้ำยุงลายบ้าน

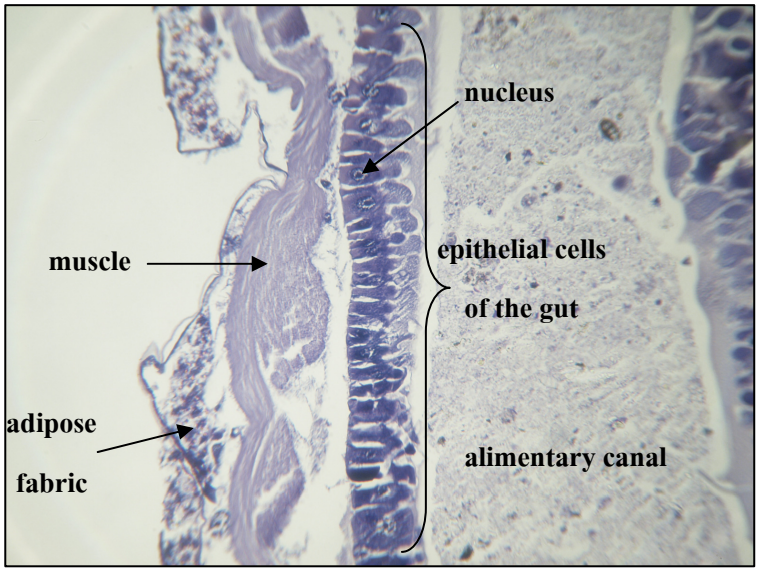
เมื่อนำลูกน้ำยุงลายบ้านที่สัมผัสน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างรวมถึงลูกน้ำที่ไม่ได้สัมผัสสาร มาทำสไลด์ด้วยวิธีทางไมโครเทคนิคและนำสไลด์ที่ได้ไปดูผลกระทบต่อโครงสร้างและสรีรวิทยาภายในภายใต้กล้องจุลทรรศน์ปรากฏว่า ลูกน้ำที่ไม่ได้สัมผัสสาร มีส่วนประกอบทางโครงสร้างและสรีรวิทยาภายในที่สมบูรณ์ โดยสังเกตเห็นส่วนที่เป็นไขมัน (adipose fabric) กล้ามเนื้อ (muscle) เซลล์ผนังลำไส้ (epithelial cells of the gut) นิวเคลียส (nucleus) และช่องทางเดินอาหาร (alimentary canal) อยู่ในสภาพปกติ โดยเซลล์ผนังลำไส้มีลักษณะเป็นรูปแท่ง (bar) และมีการเรียงตัวตามแนวนอนอย่างเป็นระเบียบ (ภาพที่ 12) ซึ่งแตกต่างจากลูกน้ำที่สัมผัสสารที่เกิดความเสียหายขึ้นบริเวณลำไส้อย่างชัดเจน

ลูกน้ำที่สัมผัสกับน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างมีลำไส้แคบลง การจัดเรียงตัวของเซลล์ผนังลำไส้เริ่มไม่เป็นระเบียบ เนื่องจากมีเซลล์บางเซลล์ขยายตัวผิดปกติจนทำให้รูปร่างเปลี่ยนจากรูปแท่งเป็นรูปลูกบาศก์ (cube) และแตกออกจากกันในที่สุด เป็นสาเหตุให้มีส่วนของไซโตพลาสมิค (cytoplasmic) หลุดเข้ามาในช่องทางเดินอาหารเล็กน้อย (ภาพที่ 13) อย่างไรก็ตามโครงสร้างและสรีรวิทยาภายในของลูกน้ำที่สัมผัสน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเกิดความเสียหายไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง เนื่องจากลูกน้ำอาจจะไม่ได้ตายด้วยผลกระทบของสารออกฤทธิ์ในน้ำมันเพียงอย่างเดียว แต่อาจจะตายด้วยสาเหตุจากการขาดอากาศหายใจ เนื่องจากไม่สามารถแทงท่อหายใจผ่านฟิล์มน้ำมันที่เคลือบอยู่บนผิวน้ำเพื่อไปรับออกซิเจนที่อยู่ด้านบนลงไปหายใจใต้น้ำควบคู่กันไปด้วย

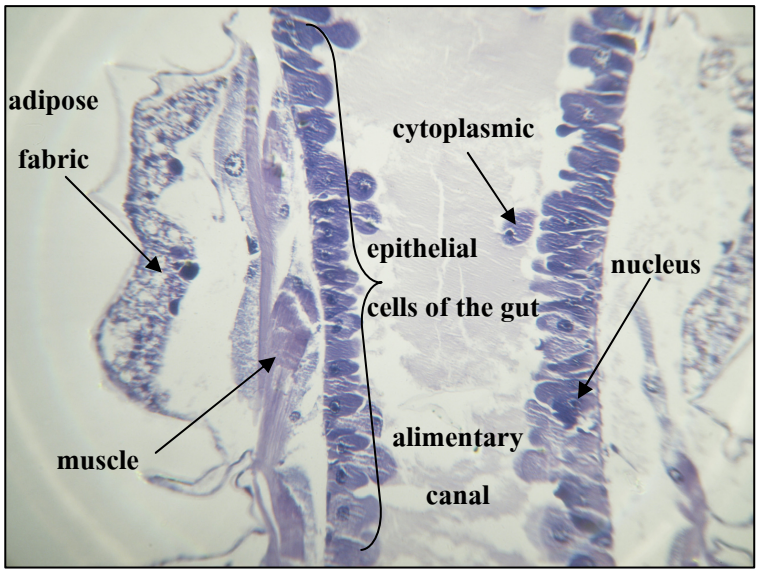
ส่วนลูกน้ำที่สัมผัสกับสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างมีลำไส้แคบลงเช่นกัน แต่การจัดเรียงตัวของเซลล์ผนังลำไส้ไม่เป็นระเบียบอย่างมาก เนื่องจากทุกเซลล์ของเซลล์ผนังลำไส้มีการขยายตัวผิดปกติจนแตกออกจากกันในที่สุด เป็นสาเหตุให้มีส่วนของไซโตพลาสมิคหลุดเข้ามาในช่องทางเดินอาหารจำนวนมาก (ภาพที่ 14) สาเหตุที่ทำให้โครงสร้างและสรีรวิทยาภายในของลูกน้ำที่สัมผัสสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเกิดความเสียหายมากกว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างนั้น เนื่องจากลูกน้ำที่ตายจากการได้รับสารสกัดหยาบใช้เวลานานประมาณ 5 ชั่วโมง ซึ่งนานกว่าลูกน้ำที่ตายจากการได้รับน้ำมันที่ใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมงเท่านั้น จึงมีระยะเวลารับสารเข้าสู่ร่างกายสั้นกว่า ทำให้ปริมาณสารเข้าสู่ร่างกายน้อยกว่า ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อผนังลำไส้น้อยกว่าสารสกัดหยาบ นอกจากนี้ สารสกัดหยาบสามารถกระจายตัวเข้าไปในน้ำได้ดีกว่าน้ำมัน ลูกน้ำที่อาศัยอยู่ในน้ำสามารถรับสารเข้าสู่ร่างกายโดยการกินมากกว่าน้ำมัน จึงทำความเสียหายต่อผนังลำไส้ได้มากกว่าน้ำมัน

ผลการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Koua และคณะ (1998) ที่พบว่าสารสกัดจากพืช (*Persea americana*) ทำให้ลำไส้ส่วนกลางของลูกน้ำยุงก้นปล่อง (*An. gambiae*)

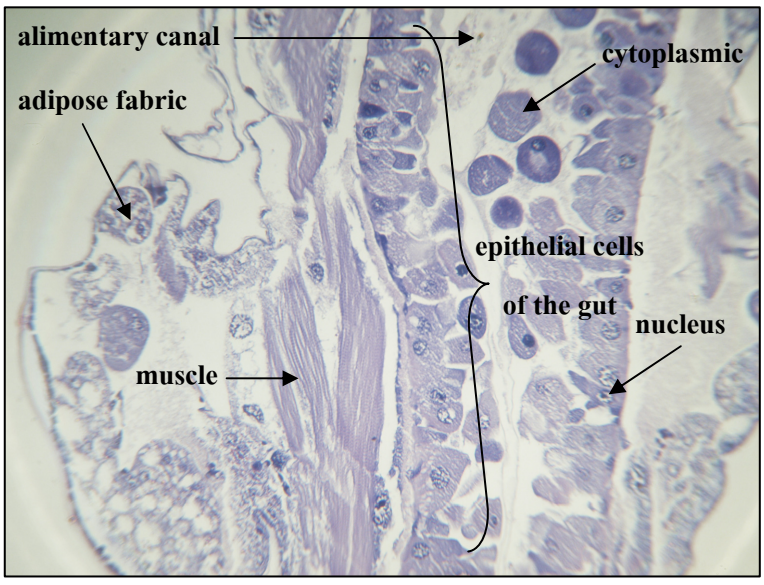
เกิดความเสียหาย โดยเซลล์ผนังลำไส้เกิดการขยายตัวผิดปกติจนแตกออกจากกัน เป็นสาเหตุให้มีส่วนของไซโตพลาสมิคหลุดเข้ามาในช่องทางเดินอาหาร นอกจากนี้ Raymond และคณะ (2007) พบว่า เมื่อสารสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียเข้าสู่ร่างกายของลูกน้ำยุงลายบ้าน จะทำให้เกิดความเสียหายต่อกระพุ้งลำไส้ (gastric caecum) เป็นลำดับแรก หลังจากนั้นสารออกฤทธิ์จะไปรบกวนการไหลของของเหลวภายในช่องทางเดินอาหารของลำไส้ส่วนกลาง และทำให้เซลล์ผนังลำไส้ขยายตัวผิดปกติจนแตกออกจากกัน



ภาพที่ 12 ภาพตัดตามยาวแสดงให้เห็นถึงส่วนที่เป็นไขมัน (adipose fabric) กล้ามเนื้อ (muscle) เซลล์ผนังลำไส้ (epithelial cells of the gut) นิวเคลียส (nucleus) และช่องทางเดินอาหาร (alimentary canal) ของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ไม่ได้สัมผัสสารซึ่งอยู่ในสภาพปกติ



ภาพที่ 13 ภาพตัดตามยาวแสดงให้เห็นถึงลักษณะโครงสร้างและสรีรวิทยาภายในของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเข้าสู่ร่างกาย โดยมีขนาดของลำไส้ที่แคบลง เซลล์ผนังลำไส้บางเซลล์เกิดการขยายตัวผิดปกติจนแตกออกจากกัน ทำให้มีส่วนของไซโตพลาสมิค (cytoplasmic) หลุดเข้ามาในช่องทางเดินอาหารเล็กน้อย



ภาพที่ 14 ภาพตัดตามยาวแสดงให้เห็นถึงลักษณะโครงสร้างและสรีรวิทยาภายในของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ได้รับสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างเข้าสู่ร่างกาย โดยมีขนาดของลำไส้ที่แคบลงมาก เซลล์ผนังลำไส้ทุกเซลล์เกิดการขยายตัวผิดปกติจนแตกออกจากกัน ทำให้มีส่วนของไซโตพลาสมิคหลุดเข้ามาในช่องทางเดินอาหารจำนวนมาก

5. การทดสอบระยะเวลาการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างรูปแบบต่างๆ

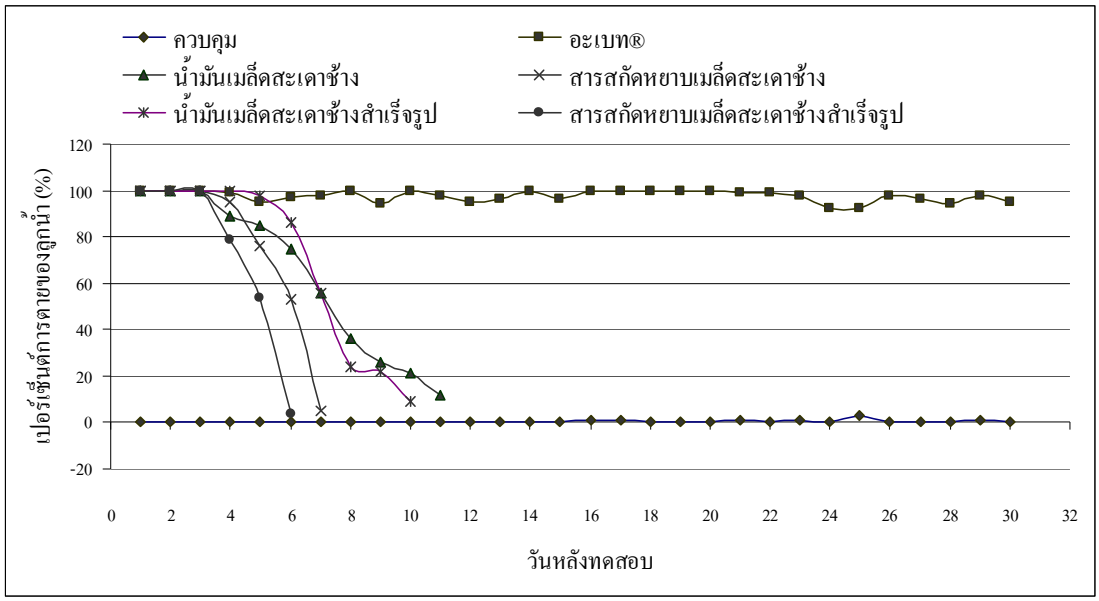
การนำผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างที่ฆ่าลูกน้ำได้ดีจากการทดสอบในหัวข้อ 4.1 มาทดสอบหาระยะเวลาการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงบ้านปรากฏว่า น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง น้ำมันเนื้อสะเดาช้างสำเร็จรูป สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปสามารถฆ่าลูกน้ำได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3, 4, 3 และ 3 วัน ตามลำดับ แต่เมื่อเวลานานขึ้น อัตราการตายของลูกน้ำจึงลดลง จนกระทั่งเหลือเพียงครึ่งหนึ่งเมื่อผลิตภัณฑ์มีอายุ 7, 7, 6 และ 5 วัน ตามลำดับ และลดลงต่ำกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีอายุ 11, 10, 7 และ 6 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 12) จากผลการทดลองในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสามารถออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำได้นานกว่าสารสกัดหยาบ แต่ทั้งนี้ระยะเวลาการออกฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์ทั้ง 4 แบบดังกล่าวยังน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ฆ่าลูกน้ำยุงอะเบท® ที่ถึงแม้ระยะเวลาผ่านไป 30 วัน แต่ประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยังใกล้เคียง 100 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 ระยะเวลาออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และสารอะเบท® หลังจากทดสอบ 30 วัน

วันหลังทดสอบ	เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำ (%)					
	ควบคุม	อะเบท®	น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง	สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง	น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป	สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป
1	0	100	100	100	100	100
2	0	100	100	100	100	100
3	0	100	100	100	100	100
4	0	99	89	95	100	79
5	0	95	85	76	98	54
6	0	97	75	53	86	4
7	0	98	56	5	56	*
8	0	100	36	*	24	*
9	0	94	26	*	22	*
10	0	100	21	*	9	*
11	0	98	12	*	*	*
12	0	95	*	*	*	*
13	0	96	*	*	*	*
14	0	100	*	*	*	*
15	0	96	*	*	*	*
16	1	100	*	*	*	*
17	1	100	*	*	*	*
18	0	100	*	*	*	*
19	0	100	*	*	*	*
20	0	100	*	*	*	*
21	1	99	*	*	*	*
22	0	99	*	*	*	*
23	1	98	*	*	*	*
24	0	92	*	*	*	*
25	3	92	*	*	*	*
26	0	98	*	*	*	*
27	0	96	*	*	*	*
28	0	94	*	*	*	*
29	1	98	*	*	*	*
30	0	95	*	*	*	*

* = หยุดบันทึกผลเมื่อพบการตายน้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดลองพบว่า สารป้องกันการเสื่อมฤทธิ์ที่ผสมลงไปในน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปนั้นไม่สามารถเพิ่มระยะเวลาการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ เนื่องจากมีระยะเวลาการออกฤทธิ์ที่ใกล้เคียงกับน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง (ภาพที่ 15) ดังนั้นในกรณีที่ต้องการให้ผลิตภัณฑ์มีระยะเวลาการออกฤทธิ์นานขึ้น อาจจะต้องเพิ่มความเข้มข้นของสารป้องกันการเสื่อมฤทธิ์หรือใส่สารผสมชนิดอื่นเพิ่มเติม



ภาพที่ 15 ระยะเวลาออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างและสารอะเบท® หลังจากทดสอบ 30 วัน

ระยะเวลาการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงของสารสะเดาที่ศึกษาอาจแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น วิธีการทดสอบ สภาพแวดล้อมที่ใช้ทดสอบ ชนิดของลูกน้ำที่ใช้ทดสอบ และชนิดของสะเดาที่นำมาใช้ โดย Monzon และคณะ (1994) รายงานว่า สารสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียสามารถออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำได้ดีที่เวลา 48 ชั่วโมงหลังการทดสอบ ซึ่งแตกต่างกับรายงานของ Scott และ Kaushik (2000) ที่กล่าวว่า เมื่อหยดสารสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียลงไปในแหล่งน้ำธรรมชาติ สามารถฆ่าลูกน้ำได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง แต่หลังจากนั้นอัตราการตายของลูกน้ำลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 36-48 ชั่วโมง ในทางตรงกันข้าม เมื่อดูจากรายงานของ Umar และคณะ (2006) กลับพบว่า สารสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงลายบ้านสูง และสามารถฆ่าลูกน้ำได้หลายวันโดยไม่มีผลกระทบต่อระบบนิเวศในแหล่งน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Jotwani และ Srivatara (1984) และ Singh (1984) ที่พบว่า สารสกัดใบสะเดาแห้งที่ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ สามารถฆ่าลูกน้ำยุงได้ดีเป็นเวลา 9 วัน และน้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียที่หยดลงในน้ำได้ 12 วัน ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ (*Culex* spp.) ได้ถึง 85 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Scott และ Kaushik (1998) ยังได้รายงานว่า น้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาอินเดียที่หยดลงในน้ำได้ 18 วัน ยังคงสามารถฆ่าลูกน้ำยุงวัยที่ 1 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งระยะเวลาการออกฤทธิ์ของ

สารสะเดาในรายงานการศึกษาทั้งหมดที่กล่าวมาข้างต้นค่อนข้างสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่า น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างทั้ง 4 แบบ สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ดีเป็นเวลา 5-10 วัน

ถึงแม้ว่าน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างทั้ง 4 แบบ จะไม่สามารถออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้นานเท่ากับสารเคมีเทมีฟอส แต่ในช่วงเวลาที่สารออกฤทธิ์ยังทำงานอยู่ ก็ให้ผลในการฆ่าลูกน้ำเป็นที่น่าพอใจ ดังนั้นการปรับวิธีใช้ให้เหมาะสมกับระยะเวลาการออกฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์แต่ละแบบจึงน่าจะส่งผลดีต่อการควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้านให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

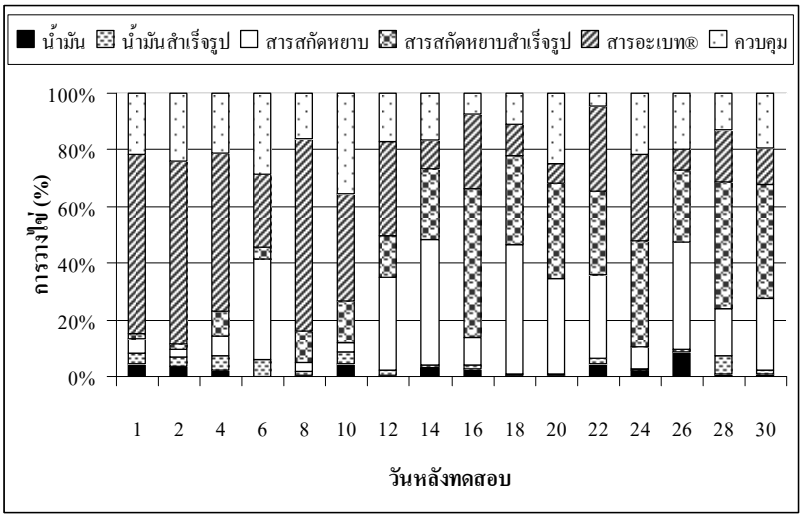
6. การศึกษาผลต่อการวางไข่ของยุงลายบ้านของผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างรูปแบบต่างๆ

การทดสอบผลิตภัณฑ์ทั้ง 4 แบบของน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างต่อการวางไข่ของยุงลายบ้านเป็นระยะเวลา 30 วันปรากฏว่า จำนวนไข่เฉลี่ยที่ยุงลายบ้านวางในผลิตภัณฑ์ทั้ง 4 แบบ คือ น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเฉพาะในช่วงแรกของการทดลอง จนกระทั่ง 6 วันเป็นต้นไป ผลิตภัณฑ์น้ำมันมีจำนวนไข่เฉลี่ยต่ำกว่าผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในเกือบทุกช่วงอายุของสารทดสอบ โดยน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างและน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปมีจำนวนไข่เฉลี่ยตลอดระยะเวลา 30 วัน ค่อนข้างคงที่ และให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างสาร 2 ชนิดดังกล่าว ส่วนสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป ที่มีจำนวนไข่เฉลี่ยสูงกว่าและไม่คงที่ตลอดระยะเวลา 30 วัน และให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างสาร 2 ชนิดดังกล่าวเช่นกัน (ตารางที่ 13 และ ภาพที่ 16) และเมื่อนำจำนวนไข่ที่ยุงลายบ้านวางในทุกช่วงอายุของสารตลอดระยะเวลา 30 วัน มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติพบว่า ค่าเฉลี่ยของจำนวนไข่ที่ยุงลายบ้านในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปมีค่าเท่ากับ 6.6±1.3 ใบ/ถ้วย และ 7.4±1.7 ใบ/ถ้วย ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสารสกัดหยาบและสารสกัดหยาบสำเร็จรูป สารอะเบท® และชุดควบคุม (น้ำเปล่า) ซึ่งมีค่าดังกล่าวเท่ากับ 65.9±13.3, 74.9±15.0, 83.9±14.0 และ 54.4±6.4 ใบ/ถ้วย ตามลำดับ (ตารางที่ 13)

จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างและน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป สามารถลดการวางไข่ของยุงลายบ้านได้ดีที่สุดตลอดระยะเวลา 30 วัน ส่วนสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูป สามารถลดการวางไข่ของยุงลายบ้านได้ดีเฉพาะช่วงแรกของการทดลองเท่านั้น แต่หลังจากนั้นจำนวนไข่เฉลี่ยเพิ่มสูงขึ้น (ภาพที่ 16) จนทำให้ค่าเฉลี่ยของจำนวนไข่ตลอดระยะเวลา 30 วันมากกว่าชุดควบคุม (ตารางที่ 13) สาเหตุที่เป็นเช่นนี้ อาจเนื่องมาจากสารสกัดหยาบสามารถป้องกันยุงลายบ้านไม่ให้เข้ามาวางไข่ได้เฉพาะทางกลิ่นอย่างเดียว และเมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้น กลิ่นของสารสกัดหยาบก็ยิ่งจางลงทำให้ยุงลายบ้าน

สามารถกลับมาวางไข่ในถ้วยทดสอบได้อีก ในขณะที่น้ำมันนอกจากจะมีกลิ่นที่สามารถป้องกันยุงลายบ้านไม่ให้เข้ามาวางไข่ได้แล้ว ลักษณะทางกายภาพของน้ำที่หยดน้ำมันลงไป อาจจะเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ยุงลายบ้านไม่เข้ามาวางไข่ เนื่องจากลักษณะของน้ำมันที่เคลือบอยู่บนผิวน้ำซึ่งมีลักษณะแตกต่างไปจากน้ำตามธรรมชาติที่ยุงลายชอบวางไข่ นอกจากนี้ผลการทดลองยังเป็นที่น่าสนใจที่พบว่า จำนวนไข่ของยุงลายในสารอะเบท® เฉลี่ยสูงสุดตลอดระยะเวลา 30 วัน (ตารางที่ 13 และภาพที่ 16) ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีที่นอกจากจะฆ่าลูกน้ำยุงได้ดีแล้ว ยังสามารถดึงดูดยุงเข้ามาวางไข่ได้ด้วย

เมื่อพิจารณาการฟักออกจากไข่ที่วางในสารทดสอบชนิดต่างๆ โดยนับจำนวนลูกน้ำตลอดระยะการทดลอง 30 วันพบว่า สารอะเบท® ฆ่าลูกน้ำได้ดีที่สุดโดยพบจำนวนลูกน้ำเฉลี่ยเท่ากับ 0.2±0.1 ตัว/ถ้วย แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำมันและน้ำมันสะเดาช้างสำเร็จรูป ซึ่งมีค่าดังกล่าวเท่ากับ 2.8±1.0 และ 3.6±1.3 ตัว/ถ้วย ตามลำดับ (ตารางที่ 14) ในขณะที่สารสกัดหยาบและสารสกัดหยาบสำเร็จรูป มีจำนวนลูกน้ำเฉลี่ยไม่แตกต่างจากชุดควบคุม อย่างไรก็ตาม สารทั้ง 2 ชนิดหลังพบจำนวนลูกน้ำเฉลี่ยต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จนกระทั่ง 10 วันหลังการทดสอบ (ตารางที่ 14) ชี้ให้เห็นว่า สาร 2 ชนิดดังกล่าวมีระยะเวลาในการควบคุมลูกน้ำได้ไม่เกิน 10 วัน ในขณะที่น้ำมันและน้ำมันสำเร็จรูป สามารถควบคุมลูกน้ำได้ค่อนข้างดีจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 30 วัน



ภาพที่ 16 สัดส่วนของเปอร์เซ็นต์การวางไข่ในผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง สารอะเบท® และควบคุม กับจำนวนไข่ที่วางทั้งหมดหลังจากทดสอบ 30 วัน

ตารางที่ 13 จำนวนไข่เฉลี่ยของยุงลายบ้านที่วางในผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และสารอะเบท® หลังจากทดสอบ 30 วัน

วันหลังทดสอบ	จำนวนไข่/ถ้วย (means± SEM)[1/]						F-test	C.V. (%)
	ควบคุม	อะเบท®	น้ำมัน	สารสกัดหยาบ	น้ำมันสำเร็จรูป	สารสกัดหยาบสำเร็จรูป		
1	56.2a[2/] ±18.6	163.8a ±52.8	11.6b ±5.4	12.8b ±8.6	9.8b ±4.2	4.6b ±2.7	**	47.3
2	61.4a ±20.2	167.2a ±59.3	9.2b ±5.0	7.6b ±6.8	8.4b ±3.7	4.0b ±3.2	**	51.2
4	93.4ab ±45.4	215.8a ±63.1	9.8c ±4.0	30.0bc ±17.7	23.6bc ±15.4	38.4 bc ±11.0	**	36.2
6	80.2a ±22.5	73.8ab ±42.6	0.4b ±0.4	100.6a ±61.9	16.2ab ±9.9	11.6ab ±7.8	*	82.5
8	22.0ab ±8.3	92.2a ±36.8	0.4c ±0.2	4.4c ±2.6	2.0c ±1.2	15.0bc ±10.2	**	58.3
10	46.6 ±21.2	49.2 ±36.6	5.8 ±4.4	4.4 ±3.9	5.4 ±4.2	19.2 ±12.9	ns	104.0
12	43.4ab ±26.6	84.6a ±37.1	0.8c ±0.8	84.0ab ±37.0	4.8bc ±3.1	37.0ab ±20.2	*	68.5
14	62.4a ±18.7	36.6abc ±14.5	11.6bc ±7.0	164.4a ±64.0	4.0c ±2.5	92.4ab ±36.0	*	56.2
16	25.6 ±13.4	94.2 ±59.6	8.8 ±5.3	33.6 ±16.3	5.2 ±3.3	188.2 ±95.8	ns	64.6
18	37.4ab ±21.4	35.6a ±13.1	1.6b ±0.8	152.0a ±87.8	1.0b ±0.6	104.8a ±47.9	**	63.9
20	103.4a ±55.0	28.0a ±19.3	1.4b ±0.9	139.0a ±89.2	2.6b ±1.6	140.6a ±119.8	**	55.4
22	10.8bc ±2.2	73.8a ±17.7	11.0c ±5.8	72.2ab ±29.9	4.8c ±1.3	72.6abc ±31.0	**	41.3
24	76.8a ±38.3	107.4a ±66.2	8.6b ±8.6	26.6ab ±11.0	1.6b ±0.9	132.8a ±99.1	*	74.0
26	43.4 ±31.6	16.0 ±14.0	18.8 ±10.4	82.6 ±58.6	2.8 ±1.4	55.0 ±31.0	ns	96.4
28	42.6ab ±22.3	60.2ab ±32.5	2.6b ±2.3	53.6a ±22.1	22.0ab ±16.3	146.8a ±51.4	*	62.0
30	65.4 ±31.4	43.2 ±18.1	2.8 ±1.8	86.6 ±38.3	4.8 ±2.3	135.2 ±62.3	ns	68.9
เฉลี่ยตลอดการทดลอง	54.4a ±6.4	83.9a ±14.0	6.6b ±1.3	65.9a ±13.3	7.4b ±1.7	74.9a ±15.0	**	85.1

[1/] เฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ; [2/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95% (P<0.05) โดยวิธี DMRT แปลงข้อมูลด้วยวิธี Logarithmatic of X+1; * แตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95%; ** แตกต่างทางสถิติที่ระดับ 99%; ns= not significant

ตารางที่ 14 จำนวนลูกน้ำที่ฟักจากไข่ของยุงลายบ้านที่วางในผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และสารอะเบท® หลังจากทดสอบ 30 วัน

วันหลังทดสอบ	จำนวนลูกน้ำ/ถ้วย (means± SEM)[1/]						F-test	C.V. (%)
	ควบคุม	อะเบท®	น้ำมัน	สารสกัดหยาบ	น้ำมันสำเร็จรูป	สารสกัดหยาบสำเร็จรูป		
1	48.2a[2/] ±18.0	0.0c ±0.0	2.0b ±1.0	0.0c ±0.0	2.0b ±1.1	0.0c ±0.0	**	68.2
2	56.8a ±20.0	0.0c ±0.0	2.4b ±1.1	0.0c ±0.0	1.2bc ±0.7	0.0c ±0.0	**	64.3
4	90.2a ±45.3	0.0c ±0.0	5.8bc ±3.1	0.0c ±0.0	18.2b ±15.4	7.4b ±3.7	**	83.2
6	75.2a ±20.9	0.0b ±0.0	0.0b ±0.0	5.8b ±4.8	4.2b ±3.9	0.4b ±0.4	**	93.2
8	21.0a ±8.0	0.0b ±0.0	0.2b ±0.2	0.0b ±0.0	0.0b ±0.0	2.0b ±2.0	**	100.1
10	39.6a ±18.5	0.0b ±0.0	2.0b ±2.0	0.0b ±0.0	3.4b ±3.4	1.4b ±0.8	*	174.8
12	37.4a ±23.5	0.6b ±0.4	0.0b ±0.0	0.6b ±0.2	0.0b ±0.0	19.6ab ±14.2	*	150.3
14	56.6a ±17.2	0.0c ±0.0	0.2c ±0.2	32.2ab ±19.1	0.8bc ±0.8	75.0a ±31.4	**	82.0
16	23.4ab ±13.0	0.0c ±0.0	1.2bc ±0.7	14.0bc ±9.5	0.2c ±0.2	123.8a ±61.8	**	110.8
18	33.2ab ±18.9	0.0c ±0.0	1.4bc ±0.8	84.6a ±48.1	0.4bc ±0.4	73.4a ±28.8	**	94.8
20	97.2a ±53.3	0.0b ±0.0	1.0b ±1.0	80.0a ±54.1	2.6b ±1.6	114.4a ±95.5	**	71.1
22	10.2abc ±2.5	1.2c ±0.5	9.0bc ±6.2	38.2a ±12.1	3.4c ±1.5	58.8ab ±25.0	**	58.7
24	66.4a ±34.4	0.0b ±0.0	0.0b ±0.0	0.0b ±0.0	0.0b ±0.0	85.2a ±75.5	**	136.6
26	32.2 ±24.2	0.0 ±0.0	16.2 ±8.9	43.6 ±31.0	1.0 ±0.7	34.8 ±22.0	ns	109.0
28	39.2ab ±21.7	0.0c ±0.0	1.8c ±1.5	38.6ab ±17.4	15.2bc ±13.2	94.4a ±35.6	**	70.9
30	59.4ab ±29.1	0.6c ±0.4	2.2c ±1.4	69.2ab ±35.7	4.6bc ±2.3	113.2a ±52.6	**	77.7
เฉลี่ยตลอดการทดลอง	49.2a ±6.1	0.2c ±0.1	2.8c ±1.0	25.4b ±7.6	3.6c ±1.3	50.2a ±11.7	**	115.0

[1/] เฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ; [2/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95% (P<0.05) โดยวิธี DMRT แปลงข้อมูลด้วยวิธี Logarithmatic of X+1; * แตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95%; ** แตกต่างทางสถิติที่ระดับ 99%; ns= not significant

มีหลายการศึกษาที่รายงานว่า สารสะเดานอกจากใช้ในการฆ่าลูกน้ำยุงแล้ว ในขณะเดียวกันยังสามารถลดการวางไข่ของตัวเต็มวัยได้ด้วย โดย Kaur และคณะ (n.d.) และ Sengottayan และคณะ (2006) พบว่า สารสกัดสะเดาที่ความเข้มข้น 0.016 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดจากพืช (*Melia azedarach*) สามารถลดการวางไข่ของยุงลายบ้านและยุงก้นปล่อง (*An. stephensi*)ได้ ตามลำดับ นอกจากนี้ Su และ Mulla (1999) พบว่า สารอะซาดิแรคตินรูปแบบดั้งเดิมที่ความเข้มข้น 5 ppm สามารถลดการวางไข่ของยุงรำคาญ (*Cx. tarsalis* และ *Cx. quinquefasciatus*) ได้ 1 และ 4 วัน ตามลำดับ ส่วนสารอะซาดิแรคตินในรูปแบบผงเปียกน้ำ Azad™ WP 10 (WP) และแบบของเหลว Azad™ EC 4.5 ก็สามารลดการวางไข่ของยุงทั้ง 2 ชนิดได้เช่นกัน

ดังนั้นน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างและน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปสามารถนำมาใช้ควบคุมการแพร่พันธุ์ของยุงลายบ้านทั้งในด้านการฆ่าลูกน้ำและดักแด้ควบคู่ไปกับการลดการวางไข่ของตัวเต็มวัยได้ ส่วนสารสกัดหยาบและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปเหมาะสำหรับใช้ควบคุมลูกน้ำและดักแด้อย่างเดียว เนื่องจากถึงแม้จะมีประสิทธิภาพในการลดการวางไข่ได้ดีในช่วงวันแรกๆ ก็ตาม แต่ในระยะยาวมีประสิทธิภาพลดลงอย่างเด่นชัด และดูเหมือนว่าจะดึงดูดการวางไข่อีกด้วยเพราะมีจำนวนไข่มากกว่าชุดควบคุม (ตารางที่ 13 และภาพที่ 16)

จากผลการทดลองในครั้งนี้สรุปได้ว่า ผลิตภัณฑ์จากน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างมีประสิทธิภาพในการควบคุมยุงลายบ้านได้ดีกว่าผลิตภัณฑ์จากสารสกัดหยาบ เนื่องจากใช้ความเข้มข้นต่ำกว่า โดยน้ำมันและน้ำมันสำเร็จรูปใช้ความเข้มข้นเพียง 2,000 ppm และ 800 ppm ในขณะที่สารสกัดหยาบและสารสกัดหยาบสำเร็จรูปใช้ความเข้มข้น 4,000 ppm และ 2,000 ppm ตามลำดับ ดังนั้นในการทดสอบผลการควบคุมยุงลายบ้านในสภาพธรรมชาติ จึงใช้เฉพาะผลิตภัณฑ์จากน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเท่านั้น โดยเพิ่มความเข้มข้นจากการทดลองในห้องปฏิบัติการ

7. การทดสอบผลิตภัณฑ์น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง ในการควบคุมยุงลายบ้านในสภาพธรรมชาติ

จำนวนไข่และลูกน้ำของยุงลายบ้านในภาชนะที่มีสารทดสอบชนิดต่างๆ หลังทดสอบสารเป็นเวลา 1 วัน 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์ ของชุมชนเก้าเส้ง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลาแสดงในตารางที่ 15 และ 16 ตามลำดับ พบว่า จำนวนไข่ที่วางส่วนใหญ่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05, 0.01$) ระหว่างสารที่ทดสอบ ยกเว้นที่ เวลา 3 สัปดาห์หลังทดสอบสาร ผลิตภัณฑ์น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างทั้งหมดที่ทดสอบ สามารถยับยั้งการวางไข่ได้ โดยมีจำนวนไข่ที่วางเฉลี่ยน้อยกว่าสารอะเบท® และชุดควบคุมตลอดระยะเวลาที่ทำการทดสอบ และมีจำนวนไข่น้อยกว่าสารอะเบท® และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) หลังทดสอบสาร 1 วัน 1 สัปดาห์ และ 2 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบจำนวนไข่ระหว่างผลิตภัณฑ์น้ำมันทั้งหมดพบว่า ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 15) ชี้ให้เห็นว่า การนำน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างมาทำเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมยุงลายได้ดีขึ้นเนื่องจากใช้ความเข้มข้นต่ำลง

ตารางที่ 15 จำนวนไข่ยุงลายบ้านที่วางในสารทดสอบชนิดต่างๆ หลังทดสอบสารเป็นเวลา 1 วัน 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์ ของชุมชนเก้าเส้ง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

สารทดสอบ	จำนวนไข่ของยุงลายบ้านที่วาง/ถ้วย (Means±SEM)[1/]					
	1 วัน	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	4 สัปดาห์	5 สัปดาห์
น้ำมัน 2,000 ppm	1.2b[2/]±0.6	7.3b±2.6	24.1b±8.8	10.9±4.4	20.2b±5.7	31.2c±4.6
น้ำมัน 4,000 ppm	2.6b±1.4	9.0b±2.4	15.5b±5.1	17.0±6.1	30.9ab±8.2	44.8bc±10.0
น้ำมันสำเร็จรูป 800 ppm	1.4b±0.7	14.7b±9.3	22.0b±7.8	12.0±4.8	24.9b±6.9	57.9abc±12.0
น้ำมันสำเร็จรูป 1,600 ppm	1.3b±0.9	9.7b±3.2	20.3b±5.9	7.1±2.3	16.3b±4.2	34.9bc±9.0
อะเบท®	36.8a±22.6	66.2a±15.2	103.5a±23.3	25.7±8.3	46.1a±8.8	59.7ab±8.6
ควบคุม	27.5ab±8.7	60.4a±15.4	86.1a±17.4	21.4±7.1	45.3a±8.1	70.0a±9.3
F-test	*	**	**	ns	**	*
C.V. (%)	78.3	36.2	26.3	52.1	27.7	16.9

[1/] เฉลี่ยจาก 10 ซ้ำ; [2/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95% ($P<0.05$) โดยวิธี DMRT แปลงข้อมูลด้วยวิธี Logarithmatic of X+1; * แตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95%; ** แตกต่างทางสถิติที่ระดับ 99%; ns= not significant

ถึงแม้ว่าจำนวนไข่ที่วางในผลิตภัณฑ์น้ำมันทั้งหมดที่ทดสอบน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเพียง 2 สัปดาห์ แต่หากพิจารณาลูกจำนวนลูกน้ำที่ฟักออกจากไข่พบว่า จำนวนลูกน้ำที่พบในผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างทั้งหมดต่ำกว่าในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตลอดระยะเวลา 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 16) ชี้ให้เห็นว่า ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวสามารถฆ่าลูกน้ำได้ และ/หรือ ยับยั้งการฟักออกจากไข่ได้ดี นอกจากนี้ยังพบว่า สารอะเบท® ดึงดูดยุงลายบ้านเข้ามาวางไข่เช่นเดียวกันกับการทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยจำนวนไข่ตลอดระยะเวลาทดลองไม่แตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม (ตารางที่ 15 และ 17) แต่สารชนิดนี้ยังสามารถฆ่าลูกน้ำได้ดีมาก เนื่องจากตรวจพบลูกน้ำน้อยมากหลังจากสิ้นสุดการทดลองที่ 5 สัปดาห์ (ตารางที่ 16 และ 18)

ตารางที่ 16 จำนวนลูกน้ำยุงลายบ้านที่ฟักในสารทดสอบชนิดต่างๆ หลังทดสอบสารเป็นเวลา 1 วัน 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์ ของชุมชนเก้าเส้ง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

	จำนวนลูกน้ำของยุงลายบ้านที่ฟัก/ถ้วย (Means±SEM)[1/]					
สารทดสอบ	1 วัน	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	4 สัปดาห์	5 สัปดาห์
น้ำมัน 2,000 ppm	0.5b[2/]±0.3	1.9b±0.7	2.8b±1.0	7.4ab±3.1	16.2b±4.8	18.6b±2.3
น้ำมัน 4,000 ppm	1.1b±0.6	2.2b±0.6	2.6b±0.5	9.4ab±3.7	24.5ab±6.5	32.3b±6.9
น้ำมันสำเร็จรูป 800 ppm	0.7b±0.5	7.6b±5.4	1.4b±0.4	7.7ab±2.8	19.8b±6.2	45.9ab±10.5
น้ำมันสำเร็จรูป 1,600 ppm	0.6b±0.6	4.4b±1.6	1.4b±0.5	5.1b±2.1	10.8b±3.5	24.7b±7.7
อะเบท®	0.0b±0	0.0c±0	0.0c±0.0	0.2c±0.2	0.5c±0.2	0.7c±0.3
ควบคุม	24.8a±7.9	52.6a±12.9	77.4a±15.8	18.7a±6.4	39.1a±7.9	57.7a±7.7
F-test	**	**	**	**	**	**
C.V. (%)	120.3	63.4	50.5	67.7	41.5	25.0

[1/] เฉลี่ยจาก 10 ซ้ำ; [2/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95% (P<0.05) โดยวิธี DMRTแปลงข้อมูลด้วยวิธี Logarithmatic of X+1; ** แตกต่างทางสถิติที่ระดับ 99%

ส่วนผลการทดลองของชุมชนบ่อนวัวคล้ายกับชุมชุนเก้าเส้ง โดยจำนวนไข่ที่วางในผลิตภัณฑ์น้ำมันต่ำกว่าสารอะเบท® และชุดควบคุมตลอดระยะเวลาทดลอง และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) จนกระทั่ง 2 สัปดาห์ หลังทดสอบสาร (ตารางที่ 17) ถึงแม้ว่าจำนวนลูกน้ำในบางผลิตภัณฑ์ไม่แตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม ตลอดระยะเวลาการทดลองก็ตาม (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 17 จำนวนไข่ของยุงลายบ้านที่วางในสารทดสอบชนิดต่างๆ หลังทดสอบสารเป็นเวลา 1 วัน 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์ ของชุมชนบ่อนวัว อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

	จำนวนไข่ของยุงลายบ้านที่วาง/ถ้วย (Means±SEM)[1/]					
สารทดสอบ	1 วัน	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	4 สัปดาห์	5 สัปดาห์
น้ำมัน 2,000 ppm	0.0c[2/]±0.0	6.2b±3.3	25.3b±8.6	16.1c±11.1	34.9±18.7	67.1±28.2
น้ำมัน 4,000 ppm	0.8bc±0.5	10.9b±9.2	11.4c±3.4	17.5bc±5.3	25.5±10.8	47.2±14.6
น้ำมันสำเร็จรูป 800 ppm	1.3b±0.5	14.8b±9.2	26.9bc±11.9	22.7bc±10.0	33.6±11.9	70.8±22.7
น้ำมันสำเร็จรูป 1,600 ppm	0.1bc±0.1	5.6b±2.2	12.0bc±3.9	18.0bc±6.2	36.6±10.1	83.9±20.2
อะเบท®	33.0a±6.6	43.2a±9.6	91.5a±19.4	50.6a±14.9	62.6±17.6	88.3±22.9
ควบคุม	38.6a±7.9	66.7a±6.2	70.1a±13.1	27.7ab±10.8	46.6±17.2	71.8±23.9
F-test	**	**	**	**	ns	ns
C.V. (%)	42.5	50.7	27.6	49.6	31.6	14.8

[1/] เฉลี่ยจาก 10 ซ้ำ; [2/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95% (P<0.05) โดยวิธี DMRT; แปลงข้อมูลด้วยวิธี Logarithmatic of X+1; ** แตกต่างทางสถิติที่ระดับ 99%; ns= not significant

ตารางที่ 18 จำนวนลูกน้ำยุงลายบ้านที่ฟักในสารทดสอบชนิดต่างๆ หลังทดสอบสารเป็นเวลา 1 วัน 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์ ของชุมชนบ่อนวัว อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

	จำนวนลูกน้ำของยุงลายบ้านที่ฟัก/ถ้วย (Means±SEM)[1/]					
สารทดสอบ	1 วัน	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	4 สัปดาห์	5 สัปดาห์
น้ำมัน 2,000 ppm	0.0c[2/]±0.0	1.1bc±0.5	4.6b±1.5	10.1b±7.4	26.6a±13.7	38.4b±16.8
น้ำมัน 4,000 ppm	0.1c±0.1	3.7bc±3.4	4.8b±1.6	8.8ab±2.3	17.8a±7.9	32.1ab±11.1
น้ำมันสำเร็จรูป 800 ppm	0.8b±0.3	2.7b±1.3	4.9b±2.8	15.2ab±6.4	25.7a±9.7	49.5ab±18.2
น้ำมันสำเร็จรูป 1,600 ppm	0.1c±0.1	1.8bc±0.8	3.4b±1.5	8.2ab±3.1	21.8a±6.3	50.2ab±10.3
อะเบท®	0.0c±0.0	0.0c±0.0	0.0c±0.0	0.2c±0.1	0.7b±0.3	1.2c±0.4
ควบคุม	35.6a±7.4	59.6a±6.7	58.1a±10.3	24.2a±9.3	39.7a±14.9	60.4a±21.2
F-test	**	**	**	**	**	**
C.V. (%)	57.0	68.0	51.4	71.0	47.8	21.6

[1/] เฉลี่ยจาก 10 ซ้ำ; [2/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95% (P<0.05) โดยวิธี DMRT; แปลงข้อมูลด้วยวิธี Logarithmatic of X+1; ** แตกต่างทางสถิติที่ระดับ 99%

จากผลการทดลองในครั้งนี้ซึ่งได้ทดสอบในชุมชนที่มีการระบาดของยุงลายบ้าน จะเห็นได้ว่าที่เวลา 2 สัปดาห์ มีจำนวนประชากรยุงลายบ้านสูงสุดทั้ง 2 ชุมชน เนื่องจากพบจำนวนไข่ในชุดควบคุมสูงสุดเฉลี่ย 86.1 และ 70.1 ฟอง/ถ้วย ที่ชุมชนเก้าเส้ง และชุมชนบ่อนวัว ตามลำดับ (ตารางที่ 15 และ 17) อย่างไรก็ตาม ในช่วงเวลาดังกล่าวผลิตภัณฑ์น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างทุกความเข้มข้นยังสามารถป้องกันการวางไข่ได้และฆ่าลูกน้ำได้ดีกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้ง 2 ชุมชน (ตารางที่ 15,16,17 และ 18) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า ในสภาพธรรมชาติของชุมชนที่มีการระบาดของยุงลายบ้าน ผลิตภัณฑ์น้ำมันจากเมล็ดสะเดาช้างทั้ง 2 แบบที่ทุกความเข้มข้นดังกล่าวสามารถป้องกันการวางไข่ของยุงลายบ้านได้ดีและออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำได้ดีเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ ดังนั้นจึงต้องใช้ผลิตภัณฑ์ที่ความเข้มข้นดังกล่าวทุกๆ 2 สัปดาห์ แต่หากพิจารณาความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบครั้งนี้พบว่า น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปที่ความเข้มข้นต่ำสุดเพียง 800 ppm สามารถควบคุมยุงลายบ้านได้ดี ดังนั้นจึงสามารถนำไปใช้ควบคุมยุงลายบ้านในแหล่งชุมชนที่มีการระบาดของยุงชนิดนี้ได้

ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ตรวจผลการอยู่รอดของลูกน้ำจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการดังแสดงในตารางที่ 9 พบว่า ลูกน้ำที่ได้รับน้ำมันสะเดาช้างสำเร็จรูปที่ความเข้มข้น 800 ppm ไม่สามารถเปลี่ยนไปเป็นตัวเต็มวัยได้ จากข้อมูลในตารางที่ 16 และ 18 ที่เวลา 2 สัปดาห์ ลูกน้ำที่รอดชีวิตจากสารดังกล่าวเฉลี่ย 1.4 ตัว/ถ้วย ในชุมชนเก้าเส้ง และเฉลี่ย 4.9 ตัว/ถ้วย ในชุมชนบ่อนวัว ตามลำดับ ดังนั้นจึงมีโอกาสรอดเป็นตัวเต็มวัยไม่เกิน 2 และ 5 ตัว ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมมีโอกาสรอดและกลายเป็นตัวเต็มวัยสูงถึง 75 ตัว ในชุมชนเก้าเส้ง และ 58 ตัว ในชุมชนบ่อนวัว ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพในการควบคุมยุงลายบ้านของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปที่ความเข้มข้น 800 ppm ถึงแม้ว่าไม่สามารถเปรียบเทียบได้กับสารอะเบท® ซึ่งเป็นสารเคมีสังเคราะห์ ที่ใช้ความเข้มข้นต่ำเพียง 100 ppm แต่สามารถควบคุมยุงลายบ้านได้ดีมาก แต่สารเคมีดังกล่าวต้องนำเข้าจากต่างประเทศ รวมทั้งหากมีการใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานอาจก่อให้เกิดการต้านทานต่อสารเคมีของแมลงได้ ดังนั้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเพื่อนำมาควบคุมยุงลายบ้านจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้ได้ อย่างไรก็ตามควรศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตเชิงพานิชย์ และความคุมค่าในเชิงเศรษฐกิจ

สรุป

สะเดาช้างซึ่งเป็นพืชท้องถิ่นทางภาคใต้ของประเทศไทยสามารถนำเมล็ดมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมยุงลายบ้านได้ดี จากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า การสกัดเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างโดยวิธีการแช่ยุ่ยด้วยนอร์มอล เฮกเซน สามารถสกัดน้ำมันออกมาซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นเมื่อสกัดด้วยเมทานอล ได้สารสกัดหยาบประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ โดยรวมแล้วได้สารทั้งหมดประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของเนื้อในเมล็ดทั้งหมด ซึ่งถือได้ว่ามีปริมาณค่อนข้างสูง เมื่อศึกษาผลต่อเนื้อเยื่อระบบทางเดินอาหารของลูกน้ำยุงลายบ้าน ผนังลำไส้ของลูกน้ำที่ตายจากการได้รับน้ำมันและสารสกัดหยาบถูกทำลายแตกออก มีไซโตพลาสมิคหลุดเข้ามาในช่องทางเดินอาหาร โดยสารสกัดหยาบสร้างความเสียหายรุนแรงกว่าน้ำมัน

เมื่อนำน้ำมันและสารสกัดหยาบมาทำเป็นผลิตภัณฑ์แบบของเหลวสำเร็จรูป แบบเม็ดกลมจมน้ำและเม็ดกลมลอยน้ำ เฉพาะผลิตภัณฑ์แบบของเหลวสำเร็จรูปเท่านั้นที่เพิ่มความเป็นพิษต่อลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านอย่างเด่นชัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเติมสารอีมัลซิฟายเออร์ลงไปในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างจะช่วยแพร่กระจายของน้ำมันในน้ำได้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยลดความเข้มข้นลงในขณะที่ยังคงประสิทธิภาพการควบคุมไว้คงเดิม เนื่องจากในผลการศึกษาต่อการตายการอยู่รอด การวางไข่ และการฟักออกจากไข่ของยุงลายบ้านของน้ำมัน น้ำมันสำเร็จรูป สารสกัดหยาบ และสารสกัดหยาบสำเร็จรูปในห้องปฏิบัติการสรุปได้ว่า น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปที่ความเข้มข้น 800 ppm ให้ประสิทธิภาพในการควบคุมยุงลายได้ดีที่สุด ยกเว้นสารอะเบท® ซึ่งเป็นสารเคมีสังเคราะห์ โดยที่น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปที่ความเข้มข้นดังกล่าวออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำได้นาน 6 วัน ป้องกันการวางไข่ได้นาน 30 วัน ในห้องปฏิบัติการ และเมื่อนำไปทดสอบในชุมชนที่มียุงลายบ้านชุกชุม สามารถควบคุมยุงลายได้นาน 2 สัปดาห์ ดังนั้นการใช้สารชนิดดังกล่าวทุก 2 สัปดาห์ เติมลงในน้ำที่เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ยุงลาย สามารถลดการระบาดของยุงลายบ้านได้ ซึ่งเป็นแนวทางเลือกหนึ่งที่จะลดการใช้สารอะเบท® ซึ่งเป็นสารเคมีสังเคราะห์ที่ต้องนำเข้าจากต่างประทศ

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมโรค. 2548. แหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลาย. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.thaivbd.org/cms/index.php?option=com_content&task=view&id=41&Itemid=42. (ค้นเมื่อ 4 ตุลาคม 2551).

กรมควบคุมโรค. มมป. ข้อมูลผู้ป่วยโรคไข้เลือดออก. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://dhf.ddc.moph.go.th. (ค้นเมื่อ 10 มีนาคม 2551).

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2543. ไข้เลือดออกและการควบคุมพาหะนำโรค. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.dmsc.moph.go.th/webroot/nih/web/health//20.html. (ค้นเมื่อ 15 เมษายน 2549).

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2546. การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์. ใน สมุนไพรป้องกันกำจัดแมลงทางการแพทย์. ฝ่ายชีววิทยาและนิเวศวิทยา กลุ่มกีฏวิทยาทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. หน้า 12-16.

กระทรวงสาธารณสุข. 2549. เตือนไข้เลือดออกระบาดหนัก. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.thairath.co.th/news.php?section=education&content=3770. (ค้นเมื่อ 17 ตุลาคม 2549).

ชัยพัฒน์ จิระธรรมจารี. 2539. ทำอย่างไรจึงจะใช้สารสกัดจากสะเดาให้ได้ผล. *ว. กีฏและสัตววิทยา*, 1: 55-60.

ทิวา บุตรผา. 2543. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack.) เพื่อควบคุมหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* Linnaeus). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขากีฏวิทยา คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 145 หน้า.

นิรนาม. 2548. นักวิจัยไทยเจ๋ง พัฒนาวัคซีนไข้เลือดออกสูตรค็อกเทล เข็มเดียวกันได้ 4 สายพันธุ์. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.trf.or.th/News/Content.asp?Art_ID=235. (ค้นเมื่อ 23 กันยายน 2548).

นิรนาม. มมป. กากมะพร้าว (Coconut meal). [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.dld.go.th/nutrition/exhibision/feed_stuff/coconut_meal.htm. (ค้นเมื่อ 5 ตุลาคม 2551).

บุญล้วน พันธุมจินดา. 2524. อะเบททรายปราบยุง. *ว. หมอชาวบ้าน*, 3:29.

ปาริชาติ ปาลินทร. 2543. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack.) เพื่อควบคุมหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* Fabricius).

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขากีฏวิทยา คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา. 135 หน้า.

ปิยากร บุญยัง. 2550. การเตรียมสไลด์เนื้อเยื่อ. ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 144 หน้า.

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. 2534. องค์ประกอบของอีมัลชั่นทางเครื่องสำอาง. ใน อีมัลชั่นทางเครื่องสำอาง. ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 80-122.

มานิตย์ นาคสุวรรณ. 2543. ประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาและน้ำมันสะเดาต่อลูกน้ำยุงลายและยุงรำคาญ. *ว. กีฏและสัตววิทยา*, 22: 138-150.

ยุวดี ช้างแก้ว. 2547. ประสิทธิภาพของน้ำมันชนิดต่างๆ ในการกำจัดลูกน้ำและดักแด้ของยุงรำคาญ. ปัญหาพิเศษ ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา. 19 หน้า.

วนัสรา เชาวน์นิยม. 2544. อสม. กับการป้องกันไข้เลือดออก. *ว. สาธารณสุขมูลฐาน ภาคกลาง*, 16: 4-8.

วราภรณ์ เหล่าเจริญสุข. 2545. การประดิษฐ์กับดักไข่และลูกน้ำยุงลายเพื่อควบคุมยุงพาหะนำโรคไข้เลือดออกในชุมชนจังหวัดสงขลา. วิทยานิพนธ์. สาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม. คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา. 76 หน้า.

วัลลภ แก้วเกษ. 2548. โรคไข้เลือดออก. *ว.ศูนย์บริการวิชาการ มหาวิทยาลัยขอนแก่น,* 13: 26-31.

วิภาวดี ชำนาญ. 2548. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack.) เพื่อไล่ยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus* Say.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขากีฏวิทยา คณะทรัพยากรธรรมชาติ หาวิทยาลัยสงขลา-นครินทร์. 79 หน้า.

สำนักโรคติดต่อโดยแมลง. 2548. จำนวนและอัตราผู้ป่วย ตาย ด้วยโรคไข้เลือดออก จำแนกตามรายเดือน ตามวันเริ่มป่วย รายจังหวัดในประเทศไทย. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://dhf.ddc.moph.go.th/. (ค้นเมื่อ 20 กันยายน 2548).

สุชาติ อุปถัมภ์ สมศักดิ์ พันธุวัฒนา วนิดา นาควัชระ เนาวรัตน์ ศุขพันธุ์ ปัทมาภรณ์ กิตยารักษ์ และชูศักดิ์ ประสิทธิสุข. 2526. กีฏวิทยาทางการแพทย์ (Medical Entomology). กองมาลาเรีย กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพฯ. 578 หน้า.

สุวิภา อึ้งไพบูลย์. 2548. ยาอีมัลชั่น. ใน ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับยาเตรียม. ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 109-121.

อภิวัฏ ธวัชสิน อุษาวดี ถาวระ และ ประคอง พันธ์อุไร. 2540. การกำจัดลูกน้ำและตัวโม่งของยุงพาหะโดยใช้น้ำมันลดแรงตึงผิว (Oil Surfactant). *ว. กระทรวงสาธารณสุข,* 16:75-8

อัญชลี สงวนพงษ์ งามผ่อง คงคาทิพย์ และขวัญชัย สมบัติศิริ. 2543. การเพิ่มประสิทธิภาพน้ำมันสะเดาอัดเม็ดในการออกฤทธิ์ป้องกันและกำจัดด้วงงวงข้าวสาร. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 56 หน้า.

อัญชลี สงวนพงษ์. 2538. ผลิตภัณฑ์จากสะเดา: เรายืนอยู่ตรงไหน? แล้วกำลังจะไปทางใด?. *ว. เกษตรก้าวหน้า*, 10: 17-29.

อัญชลี สงวนพงษ์. 2539. การผลิตสารสะเดาเพื่อการค้า (ตอน 2). *ว.กีฏและสัตววิทยา*, 4: 254-256.

Albuquerque, M. R. J. R., Silveira, E. R., Uchao, D. E. de A., Lemos, T. L. G., Souza, E. B., Santiago, G. M. P. and Pessoa, O. D. L. 2004. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils from *Eupatorium betonicaeforme* (D. C.) Baker (Asteraceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 6708-6711.

Al-Sharook, Z., Balan, K., Jian, Y. and Rembold, H. 1991. Insect growth-inhibitors from two tropical Meliaceae. *Journal Application Entomology*, 5: 425-430.

Ansari, M. A. and Razdan, R. K. 1996. Operational feasibility of malaria control by burning neem oil in kerosene lamp in Beel Akbarpur village, district Ghaziabad. *Indian Journal Malariology*, 33: 81-87.

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

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

Awad, O. M. and Shimaila, A. 2003. Operational use of neem oil as alternative anopheline larvicide. Part A: laboratory and field efficacy. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 9: 637-645.

Balsam, M.S. and Sagarin, E. 1974. Cosmetic, Science and Technology. Wiley-Interscience, 3:604-605.

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

Braga, I.A., Lima, J.B.P., Soares, S.S. and Valle, D. 2004. *Aedes aegyptei* resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. *Mem.Inst. Oswaldo Cruz,* Rio de Janeiro. 99: 199-203.

Dhar, R., Dawar, H., Garg, S. S., Basir, F. and Talwar, G. P. 1996. Effect of volatiles from neem and other natural products on gonotrophic cycle and oviposition of *Anopheles stephensi* and *An. culicifacies*. *Journal Medical Entomology*, 33: 257-263.

Dua, V. K., Nagpal, B. N. and Sharma, V. P. 1995. Repellent action of neem cream against mosquitoes. *Indian Journal Malariology*, 32: 47-53.

Ezeonu, F. C., Chidume, G. I. and Udedi, S. C. 2001. Insecticidal properties of volatile extracts of orange peels. *Bioresource Technology*, 76: 273-274.

Fox, C. 1974. Cosmetic emulsions. In Emulsion and emulsion technology, part II surfactant science series vol 6 (K. J. Lissant, ed.), Marcel Dekker, New York.

Henry, F. M. 1990. Amerchol Products for Cosmetics and Toiletries. (unpublished).

Idson, B. 1988. Formulation for treatment of aging skin problems. *Drug and Cosmetic Industry,* 142: 36-84.

Jotwani, M. G. and Srivastava, K. P. 1984. A review of neem research in India in relation to insects, Proc. 2nd International Neem Conference (Rauischholzhausen 1983). 43 p.

Kant, R. and Bhat, R. M. 1994. Field evaluation of mosquito repellent action of neem oil. *Indian Journal Malariology*, 31: 122-125.

Kaur, J. S., Lai, Y. L. and Giger, A. D. n.d. Learning and memory in the mosquito *Aedes aegypti* shown by conditioning against oviposition deterrence. [Online]. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=14651662&query_hl=1&itool=pubmed_docsum. (Accessed on 19 July 2008).

Koua, H. K., Han, S. H., and d' Almeida, M. A. 1998. Histopathology of *Anopheles gambiae* s.l. Giles, 1902 (Diptera:Culicidae) subjected to the larvicidal activity of the aqueous extract of *Persea americana* Miller, 1869 (Lauraceae). *Bulletin of Society Pathology Exotic*, 3: 252-256.

Kraus, W., Maile, R., Vogler, B. and Wundrak, B. 1997. 1-Tigloy-3-acetylazadirachtindirachtol, a new Limonoid from the Marrango Tree, *Azadirachta excelsa* Jack (Melaiceae). *Indian Journal of the Chemical Society*, 74: 813-817.

Mishra, A. K., Singh, N. and Sharma, V. P. 1995. Use of neem oil as a mosquito repellent in tribal villages of Mandla distt. of Madhya Pradesh. *Indian Journal Malariology*, 32: 99-103.

Mitchell, M. J., Smith, S. L., Johnson, S. and Morgan, E. D. 1996. Effects of the neem tree compounds azadirachtin, salannin, nimbin, and 6-desacetylnimbin on ecdysone 20-monooxygenase activity. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 35: 199-209.

Monzon, R. B., Alvior, J. P., Luczon, L. L., Morales, A. S. and Mutuc, F. E. 1994. Larvicidal potential of five Philippine plants against *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Southeast Asian Journal Tropical Medical Public Health*, 25: 755-759.

Moore, S. A., Lenglet, A. and Hill, N. 2002. Field evaluation of three plants based insect repellents against malaria vectors in VACA diE2 Province of the Bollivian Amazon. *Journal America Mosquito Control Association*, 18: 107-110.

Murty, U. S., Sriram, K. and Kaiser, J. 1997. Effect of leaf extract of *Polyalthia longifolia* (Family:Annonaceae) on mosquito larva and pupa of *Culex quinquefasciatus* (diptera:Culicidae) of different habitats. *International Pest Control*, 39: 52-57.

Nagpal, B. N., Srivastava, A. and Sharma, V. P. 1995. Control of mosquito breeding using wood scrapings treated with neem oil. *Indian Journal Malariology*, 32: 64-69.

Nagpal, B. N., Srivastava, A., Valecha, N. and Sharma, V. P. 2001. Repellent action of neem cream against *An. culicifacies* and *Cx. quinquefasciatus*. *Current Science*, 80: 1270-1271.

Naqvi, S. N. H., Ahmed, S. O. and Mohammad, F. A. 1991. Toxicity and IGR effect of two neem products against *Aedes aegypti* (PCSIR strain). *Pakistan Journal Pharmacy Science*, 1: 71-76.

Naqvi, S. N. H., Temuri, K. H., Nurulain, S. M., Tabassum, R. and Ahmad, I. 1994. Toxicity and IGR effect of Neem Fractions in *Aedes aegypti* (PCSIR Strain). *Pakistan Journal Entomology*, 2: 83-90.

Pathak, N., Mittal, P. K., Singh, O. P., Sagar, V. and Vasudevan, P. 2000. Larvicide action of essential oils from plants against the vector of mosquito *Anopheles stephensi* (Liston) *Culex quinquefasciatus* (Say) and *Aedes aegypti* (L.). *International Pest Control*, 42: 53-55.

Perich, M. J., Wells, C., Bertsch, W. and Tredway, K. E. 1994. Toxicity of extracts from three *Tagetes* species against adults and larvae of yellow fever mosquito and *Anophele stephensi* (Diptera:Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 31: 833-837.

Ping, J., Xiaojun, P. and Shanhuan, Z. 1994. Toxicity and growth-regulating activity of a neem seed kernel extract (AZAL-S) to the larvae of *Culex quinquefasciatus*. *Insect Science*, 2: 64-69.

Pitiyont, V., Chommeung, T., Pitiyont, B. and Seangwanich, A. 1996. Sadao taim (*Azadirachta excelsa* Jack.). In The abstract of The 2nd Int.Symp. on Toxicity, Safety and Proper Use of Biopesticides, Phisanulok, Thailand, 27-31 October 1996. 35 p.

Prakash, A. and Rao, J. 1996. Botanical pesticides. In Agriculture. New York : Lewis Publisher. 126-135.

Rao, D. R., Reuben, R., Venugopal, M. S., Nagasampgi, B. A. and Schmutterer, H. 1992. Evaluation of neem-*Azadirachta indica* with and without water management for the control of culicine mosquito larvae in rice field. *Medical and Veterinary Entomology*, 6: 318-323.

Raymond, D. N., Faye, O., Ndiaye, M., Dieye, A. and Afoutou, J. M. 2007. Toxic effects of neem products (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 larvae. *African Journal of Biotechnology*, 6: 2,846-2,854.

Reiger, M. M. 1986. Emulsion. In The Theory and Practice of Industrial Pharmacy 3rd. Lea and Febiger, Philadelphia. pp. 518–519.

Riegelman, S. 1962. American Perfume. Cosmetic 10: 59 p.

Saelim, V., Kankaew, P and Sithiprasasna, R. 2005. Temephos resistance by bottle and biochemical assays in *Aedes aegypti* in Thailand. Pattani Provincial Public Health Office. Muang District, Pattani, Thailand. [Online]. Available from: http://esa.confex.com/esa/2004/techprogram/paper_14849.html. (Accessed on 3 June 2006).

Saxena, R. C., Dixit, O. P. and Sukumaran, P. 1992. Laboratory assessment of indigenous plant extracts for anti-juvenile hormone activity in *Culex quinquefasciatus*. *Indian Journal Medical Resource*, 95: 204-206.

Saxena, R. C., Harshan, V., Saxena, A., Sukumaran, P., Sharma, M. C. and Lakshmana, K. M. 1993. Larvicidal and chemosterilant activity of *Annona squamosa* alkaloids against *Anopheles stephensi*. *Journal America Mosquito Control Association*, 9:84-87.

Schmutterer, H. and Ermel, K. n.d. The Sentang or Marrango Tree: *Azadirachta excelsa* Jack. (unpublished).

Scott, I. M. and Kaushik, N. K. 1998. The toxicity of margosan-O, a product of neem seeds, to selected target and nontarget aquatic inver-tebrates. *Archives of Environment Contamination and Toxicology,* 35: 426-431.

Scott, I. M. and Kaushik, N. K. 2000. The toxicity of a neem insecticide topopulations of culicidae and other aquatic invertebrates asassessed in situ microcosms. *Archives of Environment Contamination and Toxicology*, 39: 329-336.

Sengottayan, S. N., Savitha, G., Gorce, D. K., Narmadha, A., Suganya, L. and Chung, P. G. 2006. Efficacy of *Melia azedarach* L. extract on the malarial vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Biosource Technology*, 97: 1316-1323.

Sharma, S. K., Dua, V. K. and Shama, V. P. 1995. Field studies of the repellent action of neem oil. *Southeast Asian Journal Tropical Medical Public Health*, 26: 180-182.

Sharma, S. K., Thomas, T. G., Rahman, S. J. and Dutte, K. K. 1996. Laboratory and field evaluation of oil of neem plant, *Azadirachta indica* as a repellent against *Aedes aegypti* mosquito. *Journal Basic Application Biomedical*, 4: 35-39.

Sharma, V. P. and Ansari, M. A. 1994. Personal protection from mosquitoes (Diptera:Culicidae) by burning neem oil in kerosene. *Journal Medical Entomology*, 31: 505-507.

Sharma, V. P., Ansari, M. A. and Razdan, R. K. 1993a. Mosquito repellent action of neem (*Azadirachta indica*) oil. *Journal America Mosquito Control Association*, 9: 359-360.

Sharma, V. P., Nagpal, B. N. and Srivastava, A. 1993b. Effectiveness of neem oil mats in repelling mosquitoes. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 87: 626.

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

Singh, N. Mishra, A. K. and Saxena, A. 1996. Use of neem cream as a mosquito repellent in tribal area of central India. *Indian Journal Malariology*, 33: 99-102.

Singh, R. P. 1984. Effects of water extract of deoiled neem kernel on second instar larvae of *Culex fatigans* Wiedemann. *Neem Newsletter*, 1: 16-17.

Singh, S. P., Raghavendra, K., Singh, R. K. and Subbarao, S. K. 2002. Studies on larvicidal properties of leaf extract of *Solanum nigrum* Lin. (Family:Solanaceae). *Current Science*, 81:1529.

Su, T. and Mulla, M. S. 1999. Oviposition bioassay responses of *Culex tarsalis* and *Culex quinquefasciatus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 34: 76-81.

Teik, N.L. 2000. A potential new source of botanical insecticide. The Forest Research Institute of Malaysia (FRIM). [Onlne]. Available from: http://www.sibexlink.com.my/g15mag_science.html. (Accessed on 2 June 2006).

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

Umar, A., Kela, S. L., Ogidi, S. L. and Asadabe, J. 2006. Susceptibility of *Aedes aegypti* pupae to neem seed kernal extracts. *Animal Research International*, 1: 403-406.

Vatandoost, H. and Vaziri, V. M. 2004. Larvicidal activity of a neem tree extract (Neemarin) against mosquito larvae in the Islamic Republic of Iran. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 10: 573-581.

Wandscheer, C. B., Duque, J. E., Dasilva, M. A. N., Fukuyama, Y., Wohlke, J. L., Adelmann, J. and Fontana, J. D. 2004. Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarps of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* against the Dengue mosquito *Aedes aegypti*. *Toxicon,* 8: 829-835.

Wirth, M.C. and Georghiou, C.P. 1999. Selection and characterization of temephos resistance in a poppulation of *Aedes aegypti* from Tortola, British Virgin Islands. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 15: 15-20.

World Health Organization. 1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insect development inhibitors. Geneva. 812 p.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 การวิเคราะห์ probit ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างต่อลูกน้ำยุงลายบ้านที่เวลา 24 ชั่วโมง

N	Dose (mg./l.)	Mort. corr. (%)	Probit	Total treated	Killed	Killed expected	CH I2 contribution
1	200	32	4.5	100	32	23.6	3.9
2	400	43	4.8	100	43	49.6	1.8
3	600	62	5.3	100	62	65.8	0.6
4	800	69	5.5	100	69	75.8	2.5
5	1,000	84	6.0	100	84	82.3	0.2
6	2,000	100	-	100	100	94.9	5.3

Mortality in the control : 0%, Number of interations : 4, Prob. (CHI2 = 14.3 , df = 4) = 1

ตารางภาคผนวกที่ 2 ค่าความเป็นพิษของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างต่อลูกน้ำยุงลายบ้านที่เวลา 24 ชั่วโมง

LC	Level of Confidence	Range
2 = 54.2	0.95	16.5 < LC < 164.2
50 = 403.6	0.95	285.7 < LC < 563.7
90 = 1,412.7	0.95	847.7 < LC < 2,429.2
95 = 2,015.3	0.95	1,052.5 < LC < 4,029.9
98 = 3,005.6	0.95	1,329.2 < LC < 7,196.2

Regression line : Y = A + slope* (X - M)

A = 5.3 +/- 5.790E – 02 5.3 < A < 5.4

Slope = 2.4 +/- 0.4 2 < Slope < 2.8

M = 12.8 Heterogeneity = 3.6

ตารางภาคผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ probit ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปต่อลูกน้ำยุงลายบ้านที่เวลา 24 ชั่วโมง

N	Dose (mg./l.)	Mort. corr. (%)	Probit	Total treated	Killed	Killed expected	CH I2 contribution
1	200	38	4.7	100	38	35.1	0.4
2	400	76	5.7	100	76	81.8	2.2
3	600	96	6.8	100	96	95.2	0.2
4	800	100	-	100	100	98.6	1.4

Mortality in the control : 0%, Number of interations : 3, Prob. (CHI2 = 4.2 , df = 2) = 0.9

ตารางภาคผนวกที่ 4 ค่าความเป็นพิษของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปต่อลูกน้ำยุงลายบ้านที่เวลา 24 ชั่วโมง

LC	Level of Confidence	Range
2 = 81.4	0.95	58.1 < LC < 103.0
50 = 245.7	0.95	218.3 < LC < 270.8
90 = 489.6	0.95	440.9 < LC < 559.2
95 = 595.3	0.95	525.5 < LC < 703.6
98 = 741.7	0.95	637.2 < LC < 915.4

Regression line : Y = A + slope* (X - M); A = 5.6 +/- 8.497E – 02 5.5 < A < 5.6

Slope = 4.3 +/- 0.4 3.9 < Slope < 4.7; M = 12.5 Heterogeneity = 1

ตารางภาคผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ probit ของสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างต่อลูกน้ำยุงลายบ้านที่เวลา 24 ชั่วโมง

N	Dose (mg./l.)	Mort. corr. (%)	Probit	Total treated	Killed	Killed expected	CH I2 contribution
1	200	22	4.2	100	22	19.3	0.5
2	400	46	4.9	100	46	40.6	1.2
3	600	51	5.0	100	51	55.3	0.7
4	800	57	5.2	100	57	65.4	3.1
5	1,000	75	5.7	100	75	72.5	0.3
6	2,000	84	6.0	100	84	89.1	2.6
7	3,000	97	6.9	100	97	94.5	1.2
8	4,000	100	-	100	100	96.9	3.2

Mortality in the control : 0%, Number of interations : 2, Prob. (CHI2 = 12.9 , df = 6) = 1

ตารางภาคผนวกที่ 6 ค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างต่อลูกน้ำยุงลายบ้านที่เวลา 24 ชั่วโมง

LC	Level of Confidence	Range
2 = 54.5	0.95	26.1 < LC < 105.9
50 = 518.7	0.95	411.2 < LC < 647.7
90 = 2,116.2	0.95	1,532.5 < LC < 3,008.8
95 = 3,152.9	0.95	2,108.5 < LC < 4,908.8
98 = 4,937.9	0.95	2,997.6 < LC < 8,576.5

Regression line : Y = A + slope* (X - M), A = 5.3 +/- 5.228E – 02 5.3 < A < 5.4

Slope = 2.1 +/- 0.2, M = 12.9, Heterogeneity = 2.1

ตารางภาคผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ probit ของสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปต่อลูกน้ำยุงลายบ้านที่เวลา 24 ชั่วโมง

N	Dose (mg./l.)	Mort. corr. (%)	Probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	200	44	4.9	100	45	35.8	3.7
2	400	54	5.1	100	54	65.1	5.4
3	600	74	5.6	100	74	79.8	2
4	800	89	6.2	100	89	87.5	0.2
5	1,000	95	6.6	100	95	91.8	1.3
6	2,000	100	-	100	100	98.4	1.6

Mortality in the control : 1%, Number of interations : 3, Prob. (CHI2 = 14.3 , df = 4) = 1

ตารางภาคผนวกที่ 8 ค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างสำเร็จรูปต่อลูกน้ำยุงลายบ้านที่เวลา 24 ชั่วโมง

LC	Level of Confidence	Range
2 = 43.8	0.95	12.1 < LC < 144.5
50 = 283.5	0.95	186.1 < LC < 423.0
90 = 909.0	0.95	595.3 < LC < 1,420.8
95 = 1,264.9	0.95	733.2 < LC < 2,261.7
98 = 1,834.5	0.95	910.9 < LC < 3,883.8

Regression line : Y = A + slope * (X - M), A = 5.6 +/- 6.377E – 02 5.5 < A < 5.7

Slope = 2.5 +/- 0.4 2.1 < Slope < 3

M = 12.7 Heterogeneity = 3.6

วิธีการคำนวณค่า HLB

ค่า HLB ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสามารถหาได้โดยใช้สูตร

HLB = 20 [1-(S/A)] (Fox, 1974)

จากสูตร S เป็นค่า saponification value คือ ปริมาณของด่างที่ทำให้ตัวอย่าง (น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง) กลายเป็นสบู่ หรืออีกความหมายหนึ่งคือ ปริมาณของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (potassium hydroxide ; KOH) ที่ทำให้น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างกลายเป็นสบู่ มีขั้นตอนในการทดสอบหาค่า S โดยชั่งน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง 1.5 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ (flask) เติมตัวทำละลาย 0.5 N alcoholic potassium hydroxide 25.0 มิลลิลิตร ลงไป นำไปผ่านกระบวนการผันกลับของปฏิกิริยา

(reflux) เป็นเวลา 30 นาที ในขณะเดียวกันใส่ 0.5 N alcoholic potassium hydroxide ลงไปในขวดอีกใบหนึ่งเพื่อใช้เป็นชุดเปรียบเทียบ (blank) หลังจากนั้นนำทั้งชุดทดสอบและชุดเปรียบเทียบไปเติมฟีนอล์พทาลีน (phenolpthalein TS) 1 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นตัวชี้วัด (indicator) สำหรับการไตเตรท (titrate) จากนั้นไตเตรทชุดทดสอบและชุดเปรียบเทียบด้วย 0.5 N HCl จนกระทั่งถึงจุดยุติ จดบันทึกปริมาณของ 0.5 N HCl ที่ใช้ในการไตเตรทชุดทดสอบและชุดเปรียบเทียบ นำไปคำนวณหาค่า saponification value (S) จากสูตร

saponification value (S) = [(B-O) x N x 56.1] / W

โดยที่ B = ปริมาณของ 0.5 N HCl ที่ใช้ในการไตเตรทชุดเปรียบเทียบ (มิลลิลิตร)

O = ปริมาณของ 0.5 N HCl ที่ใช้ในการไตเตรทชุดทดสอบ (น้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง) (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักของน้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างที่ใช้ทดสอบ (กรัม)

N = ค่า normality ของ 0.5 N HCl (โมล/ลิตร)

และจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการได้ค่าต่างๆ ดังนี้

B = 25.22 มิลลิลิตร

O = 22.5096 มิลลิลิตร

W = 1.5093 กรัม

N = 0.5 โมล/ลิตร

นำค่าดังกล่าวมาแทนในสูตรดังนี้

$$\text{saponification value (S)} = \frac{[(25.22 - 22.5096)\ \text{ml} \times [0.5 \times (1{,}000\ \text{mg}/1{,}000\ \text{ml})] \times 56.1\ \text{g}]}{1.5093\ \text{g}}$$

= 50.3722 mg

ได้ค่า saponification value (S) ของน้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างเท่ากับ 50.3722 มิลลิกรัม

ส่วนค่า A เป็นค่า acid value คือ ปริมาณของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ทำให้กรดไขมันอิสระ (free fatty acid) มีฤทธิ์เป็นกลาง มีขั้นตอนในการทดสอบหาค่า A โดยชั่งน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง 10.0 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ เติม 50:50 (v/v) alcohol : ether เพื่อใช้เป็นตัวทำละลาย ในขณะเดียวกันใส่ 50:50 (v/v) alcohol : ether ลงไปในขวดอีกใบหนึ่งเพื่อใช้เป็นชุดเปรียบเทียบ เติมฟีนอล์พทาลีน 1 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นตัวชี้วัดสำหรับการไตเตรท หลังจากนั้นไตเตรทชุดทดสอบและชุดเปรียบเทียบด้วย 0.1 N KOH จนกระทั่งถึงจุดยุติ จดบันทึกปริมาณของ 0.1 N KOH ที่ใช้ในการไตเตรทชุดทดสอบและชุดเปรียบเทียบ นำไปคำนวณหาค่า acid value จากสูตร

acid value (A) = [(O-B) x N x 56.1] / W

โดยที่ O = ปริมาณของ 0.1 N KOH ที่ใช้ในการไตเตรทชุดทดสอบ (น้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง) (มิลลิลิตร)

B = ปริมาณของ 0.1 N KOH ที่ใช้ในการไตเตรทชุดเปรียบเทียบ (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักของน้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างที่ใช้ทดสอบ (กรัม)

N = ค่า normality ของ 0.1 N KOH (โมล/ลิตร)

และจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการได้ค่าต่างๆ ดังนี้

O = 134.83 มิลลิลิตร

B = 0.35 มิลลิลิตร

W = 5.0068 กรัม

N = 0.1 โมล/ลิตร

นำค่าดังกล่าวมาแทนในสูตรดังนี้

$$\text{acid value (A)} = \frac{[(134.83 - 0.35)\ \text{ml} \times [0.1 \times (1{,}000\ \text{mg}/1{,}000\ \text{ml})] \times 56.1\ \text{g}]}{5.0068\ \text{g}}$$

$$= 150.6816\ \text{mg}$$

ได้ค่า acid value (A) ของน้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างเท่ากับ 150.6816 มิลลิกรัม

นำทั้งค่า S และ A ที่ได้มาแทนในสูตรการหาค่า HLB ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง ได้ดังนี้

$$\text{HLB} = 20[1 - (50.3722\ \text{mg} / 150.6816\ \text{mg})]$$

$$= 13.31$$

ดังนั้นค่า HLB ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเท่ากับ 13.31

หลังจากนั้นจึงนำค่า HLB ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างมาเลือกใช้สารอีมัลซิฟายเออร์ที่มีค่า HLB เท่ากันหรือใกล้เคียงกัน

ผลงานที่ได้จากโครงการวิจัย

1. วิทยานิพนธ์จำนวน 1 เรื่อง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack.) เพื่อควบคุมยุงลายบ้าน (*Aedes aeg*ypti Linnaeus) [Product Development of Oil and Crude Extracts of Thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) Seed Kernel for Controlling Mosquito (*Aedes aegypti* Linnaeus)]

บทคัดย่อ

ทำการทดสอบความเป็นพิษในการฆ่าลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus) ของสารแบบดั้งเดิม (น้ำมันและสารสกัดหยาบเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง) ผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างแบบของเหลวพร้อมใช้งาน แบบเม็ดกลมชนิดจมน้ำ และแบบเม็ดกลมชนิดลอยน้ำ โดยการหาค่าความเป็นพิษต่อการตาย 50% (50% Lethal Concentration, LC_{50}) ที่เวลา 24 ชั่วโมง และผลต่อการอยู่รอดที่เวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมงโดยวิธีจุ่มในสารทดสอบในห้องปฏิบัติการ ผลการศึกษาพบว่า เฉพาะสารแบบดั้งเดิม และผลิตภัณฑ์แบบของเหลวพร้อมใช้งานเท่านั้น ที่ให้ผลในการฆ่าลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านได้ดี โดยผลิตภัณฑ์น้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างแบบของเหลวพร้อมใช้งานเป็นพิษต่อทั้งลูกน้ำและดักแด้มากที่สุด ซึ่งมีค่า LC_{50} ต่อลูกน้ำและดักแด้ที่เวลา 24 ชั่วโมงเท่ากับ 245.7 ppm และ 143.8 ppm ตามลำดับ ชี้ให้เห็นว่า การพัฒนาน้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างให้เป็นผลิตภัณฑ์แบบของเหลวพร้อมใช้งานสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำและดักแด้ยุงลายบ้านได้ นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารลดลงต้องใช้ระยะเวลานานขึ้นจึงทำให้ลูกน้ำตาย 100% เช่น ผลิตภัณฑ์น้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างแบบของเหลวพร้อมใช้งานที่ความเข้มข้น 800 ppm สามารถฆ่าลูกน้ำได้ 100% ที่เวลา 24 ชั่วโมง ในขณะที่ความเข้มข้น 600 ppm ต้องใช้เวลานาน 72 ชั่วโมง ส่วนลูกน้ำที่รอดตายในสารแบบดั้งเดิมและผลิตภัณฑ์แบบของเหลวพร้อมใช้งาน พัฒนาเป็นดักแด้และตัวเต็มวัยได้ช้ากว่าชุดควบคุม (น้ำเปล่า)

การนำน้ำมันและสารสกัดหยาบเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างที่ความเข้มข้น 2,000 และ 4,000 ppm ตามลำดับ และผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างแบบของเหลวพร้อมใช้งานที่ความเข้มข้น 800 และ 2,000 ppm ตามลำดับ มาทดสอบระยะเวลาการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำและผลต่อการวางไข่ของยุงลายบ้านเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ฆ่าลูกน้ำยุงอะเบท® และน้ำเปล่าเป็นเวลา 30 วัน ในห้องปฏิบัติการพบว่า น้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำได้นานที่สุดเป็นเวลา 10 วัน ในขณะที่ผลิตภัณฑ์น้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างแบบของเหลวพร้อมใช้งาน สารสกัดหยาบเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง และผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบแบบของเหลวพร้อมใช้งาน มีระยะเวลาการออกฤทธิ์เท่ากับ 9, 6 และ 5 วัน ตามลำดับ ส่วนผลต่อการวางไข่พบว่าน้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างและผลิตภัณฑ์น้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างแบบของเหลวพร้อมใช้งานสามารถลดการวางไข่ของยุงลายบ้านดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การวางไข่เฉลี่ยตลอดระยะเวลา 30 วัน เท่ากับ 2.5 ± 2.3% และ 2.6 ± 2.0% ตามลำดับ ในขณะที่ค่าดังกล่าวของสารสกัดหยาบเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างแบบดั้งเดิม ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างแบบของเหลวพร้อมใช้งานและผลิตภัณฑ์ฆ่าลูกน้ำยุงอะเบท® เท่ากับ 21.2 ± 15.9%, 23.5 ± 16.0% และ 31.3 ± 21.2% ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมที่มีค่าดังกล่าวเท่ากับ 18.9 ± 7.8% จากนั้นได้นำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวที่ความเข้มข้น 1 และ 2 เท่าของความเข้มข้นที่ทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านตาย 100% ไปทดสอบฤทธิ์ใน

การฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านในสภาพแวดล้อมจริงปรากฏว่า ผลิตภัณฑ์ทั้งหมดที่ทุกความเข้มข้นสามารถฆ่าลูกน้ำได้ 100% ที่เวลา 24 ชั่วโมง ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ฆ่าลูกน้ำยุงอะเบท® ต้องใช้เวลานาน 72 ชั่วโมง ส่วนในชุดควบคุมไม่พบการตายของลูกน้ำ

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงอายุเฉลี่ยของยุงลายบ้านระยะต่างๆ ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการและผลของน้ำมันและสารสกัดหยาบเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างที่มีต่อเซลล์เนื้อเยื่อทางเดินอาหารของลูกน้ำยุงลายบ้านซึ่งพบว่า ยุงลายบ้านไข่เฉลี่ยครั้งละ 70 ± 4.6 ฟอง/ตัว และเมื่อลูกน้ำฟักออกจากไข่ได้มีการเจริญเติบโตเป็น 4 วัย คือ วัยที่ 1, 2, 3 และ 4 ซึ่งมีอายุเฉลี่ย 2 ± 0.0, 1.04 ± 0.03, 1.02 ± 0.02 และ 2.7 ± 0.1 วัน ตามลำดับ หลังจากนั้นจึงเข้าสู่ระยะดักแด้ซึ่งมีอายุเฉลี่ย 2.2 ± 0.1 วัน ก่อนออกเป็นตัวเต็มวัยซึ่งเพศผู้มีอายุสั้นกว่าเพศเมีย โดยมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 15.1 ± 1.1 และ 18.3 ± 0.8 วัน ตามลำดับ ส่วนผลของน้ำมันและสารสกัดหยาบเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างที่มีต่อเซลล์เนื้อเยื่อทางเดินอาหารของลูกน้ำยุงลายบ้านพบว่า สารดังกล่าวทำให้เซลล์ผนังลำไส้เสียหายโดยการเปลี่ยนรูปร่างและแตกออกจากกันเป็นสาเหตุทำให้ลูกน้ำตาย

โดยสรุปมีความเป็นไปได้ที่จะนำน้ำมันเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ควบคุมยุงลายบ้าน เพราะนอกจากจะให้ผลในการฆ่าลูกน้ำได้ดีแล้วยังสามารถลดการวางไข่ได้เป็นเวลานานอีกด้วย

Abstract

A toxicity tests of original formulation (oil and crude extracts), formulated liquid products, sinking-pellet and floating-pellet products from seed kernel of thiam, *Azadirachta excelsa* Jack. was studied on larvae and pupae of *Aedes aegypti* Linnaeus. A 50% lethal concentration (LC_{50}) at 24 hrs. and survival of larvae and pupae at 24, 48, 72, 96 and 120 hrs. were assessed by a laboratory dip bioassay. The results revealed that the oil and crude extracts as well as the formulated liquid products gave high killing effect on larvae and pupae of *Ae. aegypti*. The formulated oil product was the most toxic to larvae and pupae. Its LC_{50} for larvae and pupae at 24 hrs. were 245.7 and 143.8 ppm, respectively. It suggests that toxicity of oil to larvae and pupae of *Ae. aegypti* could improve the through the formulation process. In addition, the lower concentration of test substance used the longner periods of 100% larval mortality obtained. For instance, 100% larval mortality of the formulated oil at 800 ppm required 24 hrs., whereas at 1,000 ppm required 72 hrs. Survived larvae exposed to oil, crude extracts and the formulated liquid products delayed the development of pupae and adults as compared with control (water).

A residual toxicity affecting laval mortality and oviposition of oil (2,000 ppm), crude extracts (4,000 ppm), the formulated oil (800 ppm) and the formulated crude extracts (2,000 ppm) were investigated for a peroid of 30 days as compared with Abate® and water (control) in

laboratory. The results reveal that the longest residual activity for 10 days was found in oil, while the residual activity of crude extracts, the formulated oil and the formulated crude extracts were 9, 6 and 5 days, respectively. In term of oviposition effect, oil and formulated oil markedly showed oviposition deterence, with average egg-laying percentages of 2.5 ± 2.3% and 2.6 ± 2.0%, respectively, throughout a peroid of 30 days. On the other hand, those of crude extracts and formulated crude extracts as well as the original crude extracts were 21.2 ± 15.9%, 23.5 ± 16.0% and 31.3 ± 21.2%, respectively, which were higher than control with 18.9 ± 7.8%. The efficacy of the original formulation and formulated products mentioned above for controlling larva was tested under a natural condition. The results showed that all concentrations of all products provided 100% larval mortality at 24 hrs. Abate® required for 72 hrs. to reach 100% larval mortality, whereas no mortality was found in control.

In addition, the study of average age period of *Ae. aegypti* stage in laboratory and a histological study on a digestive system of the *Ae. aegypti* larval exposed to oil and crude extracts was investigated. The results showed that the number of eggs were laid 70 ± 4.6 bubble/1 adult. Larval stage had 4 periods to be composed of 1st, 2nd, 3rd and 4th period which provided average age period 2 ± 0.0, 1.04 ± 0.03, 1.02 ± 0.02 and 2.7 ± 0.1 days, respectively, while pupal stage had 2.2 ± 0.1 days before hatching to adult stage which male and female had 15.1 ± 1.1 and 18.3 ± 0.8 days, respectively. In term of histological effect, epithelial cell of the gut was damaged by cell deformation and breakage.

In conclusion, because of its high larval toxicity and a long peroid deterent activity in oviposition, it is possible to develope the oil of thaim seed kernel as a product for controlling *Ae. aegypti*.

2. ปัญหาพิเศษจำนวน 6 เรื่อง

1. ผลของกับดักสีและสารเคมีบางชนิดต่อการวางไข่ของยุงลาย, *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae) [Effects of Colored Trap and Some Chemicals on Oviposition of Mosquito, *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae)]

บทคัดย่อ

ศึกษาผลต่อการวางไข่ของยุงลายบ้านของสีต่างๆ โดยใช้กระดาษสีแดง สีดำ สีส้ม สีน้ำเงิน และสีขาว (ชุดควบคุม) และผลของสารเคมีบางชนิดได้แก่ ผงซักฟอก น้ำส้มสายชู เกลือแกง ที่ความเข้มข้น 5,000 ppm เปรียบเทียบกับทรายอะเบทที่ความเข้มข้น 100 ppm และชุดควบคุม ในห้องปฏิบัติการ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยปล่อยยุงเพศเมียหลังจากดูดเลือดแล้ว ในกรงขนาด 50x50x50 เซนติเมตร จำนวน 30 ตัว/กรง ทรีทเมนต์ละ 4 กรง เปรียบเทียบจำนวนไข่ที่

วางในทรีทเมนต์ต่างๆ หลังจากให้ยุงวางไข่เป็นเวลา 6 วัน ผลการทดลองพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) ของจำนวนไข่ของยุงที่วางในกระดาษสีต่างๆ ยุงวางไข่บนกระดาษสีแดงมากที่สุดเฉลี่ย 297.0±30.6 ฟอง/ถ้วย และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับสีอื่นๆ ยกเว้นสีดำซึ่งยุงวางไข่เฉลี่ย 199±87.5 ฟอง/ถ้วย จำนวนไข่บนกระดาษสีน้ำเงินและสีส้ม เฉลี่ยเท่ากับ 76.8±38.8 และ 115.5±62.5 ฟอง/ถ้วย ตามลำดับ และไม่แตกต่างทางสถิติกับสีขาวซึ่งมีจำนวนไข่เฉลี่ยเท่ากับ 91.8±103.3 ฟอง/ถ้วย ส่วนผลของสารเคมีต่อการวางไข่ของยุงลายพบว่าผงซักฟอกป้องกันการวางไข่ได้สมบูรณ์โดยไม่พบไข่ของยุงลาย ส่วนเกลือแกง น้ำส้มสายชู และทรายอะเบท ไม่สามารถป้องกันการวางไข่ของยุงลายเนื่องจากพบจำนวนไข่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม

Abstract

Effect of different colored papers of red, black, orange and blue on oviposition of the mosquito (*Aedes aegypti* Linnaeus) was studied as compared with white paper (control). Oviposition effect of detergent, venica, sodium cloride at 5,000 ppm was also compared with Abate® and control in a laboratory. A completely randomized design (CRD) was used for the experiment. Thirty gravid females of *Ae. aegypti* were released into an insect cage, 50x50x50 cm. in size. Each treatment was replicated four times. Egg numbers were compared among treatments after releasing female at 6 days. The results showed that there was significantly different ($P<0.01$) in the egg number among treatments of various colored papers. The largest egg number was 297.0±30.6 eggs/cup found on the red paper, significantly greater than other colors, except the black color with the egg nummber averaging 199±87.5 eggs/cup. The everage numbers found on the blue and orange were 76.8±38.8 and 115.5±62.5 eggs/cup, not significantly different with white color of 91.8±103.3 eggs/cup. Detergent could completely inhibit oviposition, without any eggs found in this treatment. Sodium chloride, venica and Abate® did not inhibit egg laying due to no significant diffence in egg number with control.

2. ผลของคุณภาพน้ำต่อการวางไข่ของยุงลาย, *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae) [Effect of Water Quality on Oviposition of Mosquito, *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae)]

บทคัดย่อ

ศึกษาการวางไข่ของยุงลายในน้ำที่เจือปนด้วยเม็ดทรายขนาดต่างๆ ได้แก่ ทรายเม็ดละเอียด ทรายเม็ดขนาดกลาง และทรายหยาบ เปรียบเทียบกับทราย Abate® และชุดควบคุม และศึกษาผลของน้ำจากแหล่งต่างๆ ได้แก่น้ำประปา น้ำฝน น้ำกลั่น และน้ำจากแหล่งธรรมชาติ ต่อการวางไข่

ของยุงลายในห้องปฏิบัติการ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยปล่อยยุงเพศเมียหลังจากดูดเลือดแล้ว ในกรงขนาด 2 ลูกบาศก์ฟุต จำนวน 20 ตัว/กรง ทรีทเมนต์ละ 4 กรง เปรียบเทียบจำนวนไข่ที่วางในทรีทเมนต์ต่างๆ หลังจากให้ยุงวางไข่เป็นเวลา 7 วัน ผลการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติของจำนวนไข่ที่วางในน้ำที่เจือปนด้วยเม็ดทรายขนาดต่างๆ ทราย Abate® และชุดควบคุม อย่างไรก็ตาม ในชุดควบคุมซึ่งไม่มีเม็ดทรายเจือปนพบจำนวนไข่น้อยที่สุดเท่ากับ 41.75±35.48 ฟอง/ถ้วย ในขณะที่น้ำซึ่งเจือปนด้วยทรายเม็ดละเอียด ทรายเม็ดขนาดกลาง และทรายหยาบ พบจำนวนไข่เท่ากับ 44.25±45.99, 67.25±48.09 และ 67.25±50.27 ฟอง/ถ้วย ตามลำดับ ส่วนทราย Abate® พบจำนวนไข่สูงสุดเท่ากับ 68.00±36.51 ฟอง/ถ้วย ในทำนองเดียวกันจำนวนไข่ที่วางในน้ำจากแหล่งต่างๆ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่ยุงลายวางไข่ในน้ำกลั่นน้อยที่สุดเท่ากับ 36.50±39.89 ฟอง/ถ้วย ส่วนในน้ำฝน น้ำจากแหล่งธรรมชาติ และน้ำประปา พบจำนวนไข่เท่ากับ 51.50±40.89, 64.75±36.09 และ 72.50±57.86 ฟอง/ถ้วย ตามลำดับ ผลการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่าคุณภาพของน้ำมีผลต่อการวางไข่ของยุงลายโดยยุงลายไม่ชอบวางไข่ในน้ำที่สะอาดแต่ชอบวางไข่ในน้ำที่เจือปนด้วยสิ่งต่างๆ

Abstract

Oviposition of the mosquito (*Aedes aegypti* Linnaeus) in water containing different sizes of fine, medium and coarse sand was studied as compared with Abate® and control. Oviposition in various sources of water including tap water, rain water, distilled water and natural surface water was also compared in a laboratory. A completely randomized design (CRD) was used for the experiment. Twenty gravid females of *Ae. aegypti* were released into an insect cage, 2 feet^3 in size. Each treatment was replicated four times. Egg numbers were compared among treatments after releasing female at 7 days. The results showed no significant difference in the egg number among treatments of various sand sizes, Abate® and control. However, the smallest egg number was 41.75±35.48 eggs/cup found in the control without sand in water, whereas the egg numbers in the water containing fine, medium and coarse sand were 44.25±45.99, 67.25±48.09 and 67.25±50.27 eggs/cup, respectively. The largest egg number, 68.00±36.51 eggs/cup, was found in water containing Abate® . There was not significantly different in the egg number among different sources of water. The smallest number of 36.50±39.89 was laid in distilled water. The eggs laid in rain water, tap water and natural surface water were 51.50±40.89, 64.75±36.09 and 72.50±57.86 eggs/cup, respectively. In conclusion, the quality of water had affected the oviposition of mosquitoes. Females of*Ae. aegypti* did not prefer to lay eggs in the clean water, but they prefered to deposit their eggs in contaminated water.

3. ผลของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง *(Azadirachta excelsa* Jack.) ต่อการไล่ การดูดเลือด การวางไข่ และการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยของยุงลาย (*Aedes aegypti* L.) [Effects of Thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) Seed Oil on Repellency, Blood Feeding, Oviposition and Development to Adult of Mosquito (*Aedes aegypti* L.)

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง *(Azadirachta excelsa* Jack.) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 400 ppm, 800 ppm, 2,000 ppm และ 5,000 ppm ต่อการไล่ การดูดเลือด การวางไข่ และการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยของยุงลาย (*Aedes aegypti* L.) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมในห้องปฏิบัติการ โดยให้ยุงตัวเต็มวัยได้รับไอระเหยของสารดังกล่าวนาน 30 นาที หลังจากนั้นนับจำนวนยุงที่เกาะด้านบนของกรงเลี้ยงแมลงเพื่อเปรียบเทียบผลการไล่ นำยุงดังกล่าวไปทดสอบการดูดเลือดโดยยื่นแขนเข้าไปในกรงเลี้ยงยุงเป็นเวลา 30 นาที นับจำนวนยุงที่ดูดเลือด และนำกระดาษมาพันรอบถ้วยพลาสติกที่มีน้ำมาวางในกรงเพื่อให้ยุงวางไข่ แล้วนับจำนวนไข่และตัวเต็มวัยฟักออกมาจากไข่ ผลการทดลองพบว่า น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างมีผลต่อการไล่ การวางไข่ และการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยของยุงลาย แต่ไม่มีผลต่อพฤติกรรมการดูดเลือด โดยที่ความเข้มข้นสูงสุด 5,000 ppm ให้ผลดีที่สุด ที่ความเข้มข้นดังกล่าว จำนวนยุงตัวเต็มวัยที่เกาะด้านบนของกรง, จำนวนไข่ และจำนวนยุงที่พัฒนาเป็นตัวเต็มวัยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.7 ตัว, 235.5 ฟอง และ75 ตัวตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมมีค่าดังกล่าวเท่ากับ 11.5 ตัว, 1,226.5 ฟอง และ 513.5 ตัวตามลำดับ

Abstract

Effects of Thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) sedd oil at different concentrations of 400 ppm, 800 ppm, 2,000 ppm and 5,000 ppm on repellency, blood feeding oviposition and development to adult of mosquitoes (*Aedes aegypti* L.) were studied in a comparison with control in a laboratory. Adults of *A. aegypti* were exposed to volatile thiam seed oil for 30 minutes. Repellent action was compared by counting mosquitoes occurring on the topside of the insect cage. After an arm insertion into the insect cage for 30 minutes, blood feeding mosquitoes were counted. A plastic cup containing water was placed into the cage for oviposition of mosquitoes. The number of resultant mosquito adults was determined. The results showed that thiam seed oil was effective to repel adult, reduce egg-laying and reduce development to adult of *A.aegypti*, but not effective to feed blood on the arm. The most effectiveness was found at the highest concentration of 5,000 ppm. At this concentration, the average numbers of mosquitoes occurring on the topside of the cage, the number of eggs laid and the numbers of resultant adults were 1.7 mosquitoes, 235.5 eggs and 75 mosquitoes, respectively. In the control these were 11.5 mosquitoes, 1,226.5 eggs and 513.5 mosquitoes, respectively.

4. ผลของผลิตภัณฑ์จากพืชบางชนิดต่อการควบคุมยุงรำคาญ (*Culex quinquesasciatus* Say.)

[Effects of Some Plant Products on Mosquito (*Culex quinquesasciatus* Say.) Controlling]

บทคัดย่อ

ได้ศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์จากพืชบางชนิดในการควบคุมยุงรำคาญในห้องปฏิบัติการ โดยศึกษาการออกฤทธิ์ทำให้ยุงตกลงสู่พื้นของน้ำมันตะไคร้หอม 14% น้ำมันตะไคร้หอม 13.18%+น้ำมันยูคาลิปตัส 4.43% และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง 100% โดยให้ยุงสัมผัสกับไอระเหยของสารทดสอบดังกล่าวเป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำเปล่า) ผลการทดลองพบว่า น้ำมันตะไคร้หอม 13.18%+น้ำมันยูคาลิปตัส 4.43% ทำให้ยุงตกลงสู่พื้นเฉลี่ยมากที่สุด 84% ของจำนวนยุงทั้งหมดที่ใช้ทดสอบ (50 ตัว/กรง) น้ำมันตะไคร้หอม 14% ให้ผลรองลงมาทำให้ยุงตกลงสู่พื้นเฉลี่ย 74% ในขณะที่น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง 100% ส่งผลให้ยุงตกลงสู่พื้นน้อยมากเฉลี่ย 8.4% และไม่แตกต่างจากชุดควบคุมซึ่งมีค่าดังกล่าวเฉลี่ย 6.4% นอกจากนี้ได้ศึกษาผลของน้ำมันเมล้ดสะเดาช้าง 800 ppm และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง 2,000 ppm ต่อการวางไข่และการอยู่รอดของลูกน้ำยุงรำคาญเปรียบเทียบกับสารเทมีฟอส 100 ppm และชุดควบคุม โดยปล่อยยุงเพศเมียที่ดูดเลือดเต็มที่จำนวน 50 ตัว ในกรงขนาด 30x30x30 เซนติเมตร ให้วางไข่ในถ้วยที่มีสารทดสอบดังกล่าวเป็นเวลา 6 วัน นับจำนวนลูกน้ำทั้งหมดที่พบในสารทดสอบชนิดต่างๆ พบว่า สารเทมีฟอสสามารถฆ่าลูกน้ำได้ดีมากเนื่องจากไม่พบลูกน้ำ ในขณะที่น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างไม่สามารถควบคุมลูกน้ำยุงรำคาญได้ เนื่องจากพบจำนวนลูกน้ำไม่แตกต่างจากชุดควบคุม

Abstract

Effects of some botanical products for controlling mosquito, *Culex quinquesasciatus* Say., were studied in laboratory. A knockdown action was compared among 14% citronella oil, 13.18% citronella oil+4.43% eucalyptus oil, 100% thiam seed oil and water as control. Adults of *Cx. quinquesasciatus* were exposed to tested volatile oils for 1.5 hours. The results showed that the greatest knockdown mosquitoes were obtained from a mixture of 13.18% citronella oil+4.43% eucalyptus oil, averaging 84% of total tested mosquitoes (50 mosquitoes/cage). An average percentage of knockdown mosquitoes of 14% citronella oil was 74%. Thiam seed oil possessed rarely knocldown action against *Cx. quinquesasciatus.* The mean knockdown percentage of thiam seed oil was 8.4%, not significantly different from that of 6.4% in the control. In addition, the effects on oviposition and a survival of larvae were compared among thiam seed oil at 800 ppm, thiam seed crude extracts at 2,000 ppm, temephos and control. Fifty gravid female of *Cx. quinquesasciatus* were released in a cage (30x30x30 cm.), containing four cups of tested substances. They were kept in the cage for 6 days to lay the eggs on each cup. A total number of

survived larvae was counted in each treatment. It was found that temephos was the most effective to kill mosquito larvae because of the absence of the larvae. Thiam seed oil and thiam seed crude extracts were not effective to kill the *Cx. quinquesasciatus* due to no significant difference from the control.

5. ผลของสารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack.) ต่อการไล่ การดูดเลือด และการวางไข่ของยุงรำคาญ (*Culex quinquesasciatus* Say.) [Effects of Thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) Seed Extracts on Repellency, Blood Feeding and Oviposition of Mosquito (*Culex quinquesasciatus* Say.)

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack.) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 400 ppm, 800 ppm, 2,000 ppm และ 5,000 ppm ต่อการไล่ การดูดเลือด และการวางไข่ของยุงรำคาญ (*Culex quinquesasciatus* Say.) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ในห้องปฏิบัติการ โดยให้ยุงตัวเต็มวัยได้รับไอระเหยของสารดังกล่าวนาน 30 นาที หลังจากนั้นนับจำนวนยุงที่เกาะด้านบนของกรงเลี้ยงแมลงเพื่อเปรียบเทียบผลการไล่ นำยุงดังกล่าวไปทดสอบการดูดเลือด โดยยื่นแขนเข้าไปในกรงเลี้ยงยุงเป็นเวลา 30 นาที นับจำนวนยุงที่ดูดเลือด และนำถ้วยพลาสติกที่มีน้ำมาวางในกรงเพื่อให้ยุงวางไข่ แล้วนับจำนวนลูกน้ำที่ฟักออกมาจากไข่ ผลการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างมีผลต่อการไล่ การดูดเลือด และการวางไข่ของยุงรำคาญ โดยที่ความเข้มข้นสูงสุด 5,000 ppm ให้ผลดีที่สุด ซึ่งพบจำนวนยุงตัวเต็มวัยที่เกาะด้านบนของกรง จำนวนยุงที่ดูดเลือด และจำนวนลูกน้ำเฉลี่ยเท่ากับ 1.7, 1.5 และ 7.5 ตัว ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมมีค่าดังกล่าวเท่ากับ 9.0, 6.0 และ 70 ตัว ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างจึงควรพัฒนานำไปใช้ควบคุมยุงต่อไป

Abstract

Effects of thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) seed extracts at different concentrations of 400 ppm, 800 ppm, 2,000 ppm and 5,000 ppm on repellency, blood feeding and oviposition of mosquito (*Culex quinquesasciatus* Say.) were studied in a comparison with control in laboratory. Adults of *Cx. quinquesasciatus* were exposed to volatile thiam seed extracts for 30 minutes. A repellent action was compared by counting mosquitoes occurring on the topside of the insect cage. After insertion the arm into the insect cage for 30 minutes, blood feeding mosquitoes were counted. A plastic cup containing water was placed into the cage for egg laying of mosquitoes. The number of mosquito larvae was determined. The results showed that thiam seed extracts were effective to repel, to feed and to lay eggs of *Cx. quinquesasciatus*. The most effectiveness was

found at the highest concentration of 5,000 ppm, providing average number of 1.7 mosquitoes occurring on the topside of the cage, of 1.5 mosquitoes feeding the blood and of 7.5 larvae. In the control, these values were 9.0, 6.0 mosquitoes and 70.0 larvae, respectively. Therefore, thiam seed extracts should be further developed for mosquito control.

6. ผลของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack.) และน้ำมันหอมระเหยต่อการไล่ยุงรำคาญ (*Culex quinquesasciatus* Say.)

บทคัดย่อ

ศึกษาผลการไล่ยุงรำคาญ (*Culex quinquesasciatus* Say.) ของสารสกัดหยาบและน้ำมันจากเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack.) ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ผสมกับน้ำมันหอมระเหยจากส้ม พีช และบลูเบอรี่ ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ในอัตราส่วน 1:1 เปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบและน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเดี่ยวๆ และน้ำเปล่า (ชุดควบคุม) ในห้องปฏิบัติการ วางแผนการทดลองแบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จำนวน 4 ซ้ำ ให้ยุงตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมีย จำนวน 50 ตัว ซึ่งอยู่ในกรงได้รับไอระเหยของสารทดสอบจากด้านล่างของกรง เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง เปรียบเทียบผลการไล่โดยนับจำนวนยุงที่เกาะด้านบนกรงทันทีหลังจากสิ้นสุดการทดสอบ และนับอีกครั้งหลังจากนั้น 15 นาที ผลการทดลองพบว่า หลังจากยุงได้รับสารเป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง ไม่พบยุงมาเกาะด้านบนของกรงในทุกทรีทเมนต์ที่ใช้สารทดสอบ ในขณะที่น้ำเปล่าพบยุงมาเกาะด้านบนของกรงเฉลี่ย 14.25±2.22 ตัว/กรง หลังจากนั้น 15 นาที พบจำนวนยุงที่เกาะด้านบนของกรงเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.00±1.41-4.25±5.06 ตัว/กรง ในทรีทเมนต์ที่ใช้สารทดสอบ ในขณะที่ใช้น้ำเปล่าพบค่าดังกล่าวเฉลี่ย 14.25±2.22 ตัว/กรง โดยสรุปการนำน้ำมันหอมระเหยจากส้ม พีช และบลูเบอรี่ มาผสมกับสารสกัดหยาบและน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง สามารถไล่ยุงรำคาญได้ดี ในขณะเดียวกันยังมีกลิ่นหอมของส้ม พีช และบลูเบอรี่อีกด้วย

Abstract

A repellent activity on mosquito (*Culex quinquesasciatus* Say.) of a mixture among thiam seed crude extracts and oil at 1,000 ppm and volatile oil of citrus, peach and bluberry at 1,000 ppm in a ratio of 1:1 was investigated as compared to thiam seed extract and oil alone and water (control) in laboratory. A completely randomized design (CRD) was used the experiment. The experiment was replicated four times. Male and female adults of *Cx. quinquesasciatus* were exposed to the volatile tested substances for 2 hours. A repellent action was compared by counting mosquitoes occurring on the topside of the insect cage immediately and 15 minutes after testing termination. The results showed that after exposure to the substances for 2 hours, there was no mosquito found on the topside of the insect cage in all treatments, except for the control.

An average number of mosquitoes was 14.25±2.22 mosquitoes/cage in the control. After 15 mminutes of the experiment termination, the average number of the mosquitoes ranged from 1.00±1.41-4.25±5.06 mosquitoes/cage in all substance treatments. Thie value was 14.25±2.22 mosquitoes/cage found in water treatment. In conclusion, use of the volatile oil from citrus, peach and bluberry mixed with thiam seed crude extracts and oil could effectively repel mosquito *Cx. quinquesasciatus*, at the same time providing aroma from citrus, peach and bluberry.

3. นำเสนอในการประชุมทางวิชาการ 2 ครั้ง

1. เอกราช แก้วนางโอ **อรัญ งามผ่องใส** สุนทร พิพิธแสงจันทร์ สนั่น ศุภธีรสกุล และ ธีระพล ศรีชนะ. 2550. ประสิทธิภาพของน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างในการควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้าน. ในรายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8 20-22 พฤศจิกายน 2550 ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก.

Efficacy of Thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) Seed Oil and Seed Extract for Controlling Mosquito Larva (*Aedes aegypti* Linnaeus)

Ekkarat Kaewnang- O*, Aran Ngampongsai, Soontorn Pipithsangchan, Sanan Subhadhirasakul and Teerapol Srichana

Department of Pest Managemant, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkla Thailand.

Abstract: A preliminary study on efficacy of thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) seed oil and seed extract was tested against the 3rd-4th instar larva to measure a lethal concentration (LC_{50}) at 24 h and mortality at 24, 48, 72, 96 and 120 h. The results revealed that the seed oil was more effective to kill larvae than the seed extract. The LC_{50} of seed oil was 403.6 ppm which was lower than 504.4 ppm of the seed extract. The concentrations providing 100% mortality of larvae at 24 h were 2,000 ppm of the seed oil and 4,000 ppm of the seed extract. In addition, we found that 100% mortality of larvae was achieved at a lower concentration if a longer period of contact was used. The concentrations of the seed oil at 800 ppm and of the seed extract at 2,000 ppm resulted in 100% mortality of larvae at 72 and 96 h, respectively. Larvae which survived from the seed oil at 200 ppm and the seed extract at 400 ppm delayed their development to pupa and adult stages as compared with control (water). It indicates that seed oil and seed extract of thiam can inhibit molting process of mosquito larvae. Therefore, they can be developed as products for controlling larva of mosquito (*A. aegypti*).

Keyword: thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) seed, oil, extract, larvae and mosquito (*Aedes aegypti* L.)

ประสิทธิภาพของน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างในการควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้าน

เอกราช แก้วนางโอ[1/] อรัญ งามผ่องใส[1/] สุนทร พิพิธแสงจันทร์[1/] สนั่น ศุภธีรสกุล[2/] และ ธีระพล ศรีชนะ[3/]

บทคัดย่อ

การศึกษาเบื้องต้นถึงประสิทธิภาพในการควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* L.) ของน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้าง โดยทดสอบกับลูกน้ำวัยที่ 3-4 เพื่อหาค่าความเป็นพิษต่อการตาย 50 % (Lethal Concentration, LC_{50}) ที่เวลา 24 ชั่วโมง และการตายของลูกน้ำที่เวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำดีกว่าสารสกัดเมล็ดสะเดาช้าง ค่า LC_{50} ของน้ำมันเท่ากับ 403.6 ppm ต่ำกว่าสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างซึ่งมีค่าดังกล่าวเท่ากับ 504.4 ppm ความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างตั้งแต่ 2,000 ppm และสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างตั้งแต่ 4,000 ppm ขึ้นไป ทำให้ลูกน้ำตาย 100% ที่เวลา 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อความเข้มข้นลดลงต้องใช้ระยะเวลานานขึ้นจึงจะทำให้ลูกน้ำตาย 100% โดยความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่ระดับ 800 ppm ทำให้ลูกน้ำตาย 100% ที่เวลา 72 ชั่วโมง และของสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างที่ระดับ 2,000 ppm ทำให้ลูกน้ำตาย 100% ที่เวลา 96 ชั่วโมง ส่วนลูกน้ำที่รอดตายทั้งในน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างที่ความเข้มข้น 200 ppm และ 400 ppm มีการพัฒนาเป็นดักแด้และตัวเต็มวัยได้ช้าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำเปล่า) ชี้ให้เห็นว่าสารดังกล่าวมีฤทธิ์ยับยั้งการลอกคราบของลูกน้ำ ดังนั้นน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างสามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้านได้

คำหลัก: น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง สารสกัดเมล็ดสะเดาช้าง ยุงลายบ้าน ลูกน้ำ

[1/] **ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์**

[2/] **คณะแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์**

[3/] **ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์**

คำนำ

โรคไข้เลือดออกมีการระบาดในประเทศทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และแถบแปซิฟิกตะวันตก พบระบาดครั้งแรกในประเทศฟิลิปปินส์เมื่อปี พ.ศ. 2496 จึงเรียกว่า Philippines Hemorrhagic Fever และระบาดในประเทศไทยครั้งแรกที่กรุงเทพมหานครเมื่อปี พ.ศ. 2501 จึงเรียกว่า Thai Hemorrhagic Fever โดยสาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี่ (Dengue Virus) (วัลลภ, 2548)

เนื่องจากในอดีตไข้เลือดออกยังไม่มีวัคซีนป้องกัน ส่งผลให้จำนวนผู้ป่วยในประเทศไทยเพิ่มสูงขึ้นเป็นลำดับ โดยในปี พ.ศ. 2530 มีการระบาดของไข้เลือดออกสูงที่สุดนับตั้งแต่เคยมีการระบาดในประเทศไทย โดยมีจำนวนผู้ป่วยสูงถึง 174,285 ราย ตาย 1,007 ราย คิดเป็นอัตราป่วยตายร้อยละ 0.58 เช่นเดียวกับในปี พ.ศ. 2540 และ 2541 ที่มีการระบาดของไข้เลือดออกสูงเช่นกันคือ มีจำนวนผู้ป่วย 101,689 และ 129,954 ราย ตาย 253 และ 424 ราย คิดเป็นอัตราป่วยตายร้อยละ 0.25 และ 0.33 ตามลำดับ ส่วนในปี พ.ศ. 2542, 2543 และ 2544 พบผู้ป่วยไข้เลือดออกจำนวน 24,826, 18,617 และ 139,355 ราย ตาย 56, 32 และ 245 ราย คิดเป็นอัตราป่วยตายร้อยละ 0.23, 0.17 และ 0.18 ตามลำดับ และข้อมูลล่าสุดในปี พ.ศ. 2550 ตั้งแต่ต้นปีจนถึงเดือนมิถุนายน มีผู้ป่วยจากไข้เลือดออกจำนวน 21,251 ราย ตาย 17 ราย คิดเป็นอัตราป่วยตายร้อยละ 0.08 (สำนักควบคุมโรคติดต่อนำโดยแมลง, 2550) จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่า ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันไข้เลือดออกได้กลายเป็นปัญหาที่สำคัญทางสาธารณสุขของประเทศไทย และทางกรมควบคุมโรคติดต่อต้องใช้งบประมาณในการควบคุมโรคปีละมากกว่า 100 ล้านบาท หากรวมกับงบประมาณขององค์กรส่วนท้องถิ่นทั้งประเทศคาดว่าต้องใช้งบประมาณไม่ต่ำกว่า 1,000 ล้านบาท ในขณะที่ปัจจุบันยังไม่สามารถป้องกันไข้เลือดออกด้วยการฉีดวัคซีนได้ ดังนั้นการควบคุมพาหะนำโรคจึงเป็นการป้องกันการระบาดของไข้เลือดออกได้ดีที่สุด (นิรนาม, 2548)

พาหะนำโรคไข้เลือดออกคือ ยุงลาย ในประเทศไทยพบยุงลายที่เป็นพาหะนำโรคไข้เลือดออกที่สำคัญ 2 ชนิด คือ ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus) เป็นพาหะหลัก และยุงลายสวน (*Aedes albopictus* Skuse) เป็นพาหะรองซึ่งมีความสำคัญน้อยกว่าชนิดแรก (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2543) มาตรการควบคุมการระบาดของโรคไข้เลือดออกเน้นการควบคุมยุงลายพาหะนำโรคเป็นหลักในปัจจุบัน โดยส่วนใหญ่จะเน้นไปที่การควบคุมระยะลูกน้ำมากกว่าตัวเต็มวัย ทั้งนี้เนื่องจากการลดปริมาณลูกน้ำเป็นการลดปริมาณของตัวเต็มวัยโดยอัตโนมัติ อีกทั้งการควบคุมตัวเต็มวัยของยุงลายยังทำได้ยากกว่า (สุรเกียรติ, 2546)

การใช้วิธีการต่างๆ ในการกำจัดลูกน้ำยุงลายเพื่อเป็นการลดวงจรชีวิตของพาหะนำโรคไข้เลือดออก วิธีการที่นิยมใช้คือ การใช้สารเทมีฟอสซึ่งเป็นสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) ชื่อทางการค้าที่นิยมใช้กันคือ ทรายอะเบท® สาเหตุที่นิยมใช้สารชนิดนี้เนื่องจากสะดวก รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพสูง แต่หากใช้ติดต่อกันนานๆ ก่อให้เกิดปัญหาต่างๆ มากมาย ดังนั้นจึงมีการคิดค้นวิธีการกำจัดยุงลายด้วยวิธีการอื่นที่น่าจะได้ผลดี มีประสิทธิภาพ และปลอดภัย การใช้สารสกัดจากพืชซึ่งเป็นสารจากธรรมชาติเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ จากที่ได้มีการศึกษาพบว่า มีพืชประมาณ 2,000 ชนิด ที่มีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าแมลงได้ และสะเดาก็เป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติดังกล่าว (Jayaraj, 1993)

ในประเทศไทยมีการศึกษาการใช้น้ำมันและสารสกัดจากเมล็ดสะเดาอินเดียควบคุมลูกน้ำยุงลาย (มานิตย์, 2543) แต่สำหรับสะเดาช้างซึ่งเป็นพืชท้องถิ่นทางภาคใต้ที่พบได้ในธรรมชาติตั้งแต่

จังหวัดชุมพรลงมาจนถึงประเทศมาเลเซียยังไม่มีการศึกษาถึงประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงลายอย่างจริงจัง ซึ่งจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดสะเดาช้างพบว่า นอกจากจะมีสารอะซาดิแรคติน (azadirachtin) ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์หลักแล้ว ยังพบสารมาร์แรนกิน (marrangin) ซึ่งมีกลไกลการออกฤทธิ์คล้ายกับสารอะซาดิแรคติน A และ B จากการทดสอบความเป็นพิษต่อด้วงปีกแข็ง Mexican bean beetle (*Epilachna varivesti*) พบว่าสารมาร์แรนกินมีพิษสูงกว่าสารอะซาดิแรคติน A และ B 2-3 เท่า (Teik, 2000) และจากการรายงานของ Kraus และคณะ (1997) พบว่า ในเมล็ดสะเดาช้างมีสาร 1-tigloyl-3-acetylazadirachtol ซึ่งเป็นสารลิโมนอยด์ (limonoid) ชนิดใหม่อีกชนิดหนึ่ง นอกจากนี้ทิวา (2543) และปาริชาติ (2543) พบว่าสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างที่สกัดด้วยเมทานอล (methanol) สามารถฆ่าหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) และหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) ได้ดีกว่าสะเดาไทยซึ่งใช้วิธีการสกัดแบบเดียวกัน และจากการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำและดักแด้ยุงรำคาญของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่สกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซน (normal hexane) โดยหยดน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง 89 ไมโครลิตร ลงบนผิวของน้ำที่มีปริมาตร 200 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอยู่ในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร พบว่า สามารถฆ่าลูกน้ำและดักแด้ยุงรำคาญได้ 100% ที่เวลา 48 ชั่วโมง (ยุวดี, 2547)

ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างต่อการตายและการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus) ในห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นแนวทางในการนำน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างซึ่งเป็นพืชท้องถิ่นที่มีอยู่ทั่วบริเวณพื้นที่ภาคใต้มาใช้ควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้านแทนการใช้สารเคมีต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสกัดน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้าง

ใช้น้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างที่เตรียมได้จากห้องปฏิบัติการของภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดย

1.1 น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง ได้จากการนำเนื้อในเมล็ด (seed kernel) สะเดาช้างบดละเอียดสกัดด้วย normal-hexane โดยวิธีการแช่ยุ่ย (maceration) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นกรองสารละลายที่ได้นำไประเหยโดยใช้เครื่องกลั่นตัวทำละลาย (rotary evaporator) เพื่อแยกเอาตัวทำละลายออก สารที่ได้เป็นน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างมีสีเขียวอมเหลือง

1.2 สารสกัดเมล็ดสะเดาช้าง ได้จากการนำกากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างที่ผ่านการแช่ยุ่ยด้วย normal-hexane มาสกัดด้วย methanol โดยวิธีการแช่ยุ่ยเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นกรองสารละลายที่ได้นำไประเหยโดยใช้เครื่องกลั่นตัวทำละลาย สารที่ได้เป็นสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างมีสีเขียวเข้มอมเหลือง

2. ลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti* L.) ที่ใช้ทดสอบ

ลูกน้ำยุงลายบ้านที่ใช้ทดสอบเป็นลูกน้ำรุ่นที่ 1 ที่ได้จากการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยรุ่นพ่อและแม่ได้จากการเก็บมาจากแหล่งชุมชนแออัดในเขตอำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

3. การทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างในห้องปฏิบัติการ

3.1 การหาค่าความเป็นพิษต่อการตาย 50% (LC_{50}) ที่เวลา 24 ชั่วโมง และผลต่อการตายที่เวลาต่างๆ ของน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างที่มีต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน

ทดลองในห้องปฏิบัติการภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ด้วยวิธี dip bioassay ตามวิธีการทดสอบของฝ่ายชีววิทยาและนิเวศวิทยา กลุ่มกีฏวิทยาทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2546) โดยทดสอบฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่ความเข้มข้น 0, 200, 400, 600, 800, 1,000, 2,000 และ 3,000 ppm และสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างที่ความเข้มข้น 0, 200, 400, 800, 1,000, 2,000, 3,000, 4,000 และ 5,000 ppm ทำการทดลอง 5 ซ้ำ โดยเตรียมสารทดสอบที่ความเข้มข้นดังกล่าวในถ้วยทดสอบที่มีน้ำปริมาตร 200 มิลลิลิตร และมีลูกน้ำยุงลายบ้านซึ่งมีอายุอยู่ในช่วงปลายระยะที่ 3 ถึงช่วงต้นระยะที่ 4 จำนวน 20 ตัว อยู่ในถ้วยทดสอบอาหารเลี้ยงไก่เป็นอาหารสำหรับลูกน้ำยุงลายบ้าน บันทึกจำนวนลูกน้ำที่ตายหลังการทดสอบที่เวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง คำนวณเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลายบ้านในแต่ละความเข้มข้นของทั้งน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างและคำนวนค่า LC_{50} ที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยวิธี probit analysis นอกจากนี้ที่เวลา 48 ชั่วโมง คำนวณเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลายบ้านในชุดควบคุม ถ้าเปอร์เซ็นต์การตายในชุดควบคุมน้อยกว่า 5% จะใช้อัตราการตายจริงของชุดทดลองในการคำนวณค่า LC_{50} แต่ถ้าอัตราการตายของชุดควบคุมอยู่ในช่วง 5-10% จะปรับอัตราการตายของชุดทดลองด้วย Abbott's formula และในกรณีที่ชุดควบคุมมีอัตราการตายมากกว่า 10% จะยกเลิกการทดลองทันทีแล้วทำการทดลองใหม่ (อุษาวดี และคณะ, 2546)

3.2 การศึกษาผลของน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลายบ้าน

บันทึกผลการทดลองในหัวข้อ 3.1 โดยบันทึกจำนวนลูกน้ำยุงลายบ้านที่สามารถเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นดักแด้ได้ และดักแด้ที่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยหลังจากการใส่น้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างที่เวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง คำนวณเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตเป็นระยะดักแด้และตัวเต็มวัยของลูกน้ำยุงลายบ้านที่ทดสอบในน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ผลและวิจารณ์

1. ความเป็นพิษต่อการตาย 50% (LC_{50}) ที่เวลา 24 ชั่วโมง และผลต่อการตายที่เวลาต่างๆ ของน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน

จากผลการทดลองใน Table 1 พบว่าค่า LC_{50} ที่เวลา 24 ชั่วโมงของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างเท่ากับ 403.6 ppm ต่ำกว่าสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างซึ่งมีค่าดังกล่าวเท่ากับ 504.4 ppm ชี้ให้เห็นว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ดีกว่าสารสกัดเมล็ดสะเดาช้าง และความเข้มข้นที่ฆ่าลูกน้ำได้ 100% ที่เวลา 24 ชั่วโมงของน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างเท่ากับ 2,000 ppm และ 4,000 ppm ตามลำดับ (Table 2 และ 3) และเมื่อความเข้มข้นต่ำลงต้องใช้เวลานานขึ้นจึงทำให้ลูกน้ำตาย 100% จากข้อมูลใน Table 2 พบว่าน้ำมันสะเดาช้างที่ความเข้มข้น1,000 ppm ต้องใช้เวลานาน 72 ชั่วโมง จึงทำให้ลูกน้ำตาย 100% ในทำนองเดียวกันกับสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างจะต้องใช้ความเข้มข้น 2,000 ppm และ 3,000 ppm จึงทำให้ลูกน้ำตาย 100% ที่เวลา 96 ชั่วโมง (Table 3) ส่วนความเข้มข้นที่สูงสุดของน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างที่ไม่สามารถฆ่าลูกน้ำได้ 100% เท่ากับ 800 ppm และ 1,000 ppm ตามลำดับ (Table 2 และ 3)

จากผลการทดลองครั้งนี้พบว่าทั้งน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างสามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ ซึ่งระยะเวลาในการฆ่าขึ้นอยู่กับความเข้มข้น กล่าวคือ เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นระยะเวลาที่ใช้ฆ่าลูกน้ำสั้นลง มีรายงานการใช้น้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาอินเดียฆ่าลูกน้ำยุงได้ จากการศึกษาของมานิตย์ (2543) พบว่าสารสกัดเมล็ดสะเดาอินเดียที่สกัดด้วย ethanol มีปริมาณสาร azadirachtin 0.5% มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านและยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*) ได้ดีกว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาอินเดียซึ่งสกัดด้วย n-hexane ถึง 10 เท่า โดยสารสกัดเมล็ดสะเดาอินเดียที่ความเข้มข้น 0.02% (200 ppm) และน้ำมันเมล็ดสะเดาอินเดียที่ความเข้มข้น 0.2% (2,000 ppm) สามารถฆ่าลูกน้ำยุงทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวตาย 100% ที่เวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งให้ผลตรงกันข้ามกับการทดลองในครั้งนี้ที่น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างซึ่งสกัดด้วย n-hexane ให้ผลฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านดีกว่าสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างที่สกัดด้วย methanol อย่างไรก็ตามทั้ง 2 การทดลองให้ผลที่เหมือนกันคือ เมื่อใช้สารทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่ำลงจะต้องใช้ระยะเวลายาวนานขึ้นจึงจะทำให้ลูกน้ำตายมากขึ้น โดยการทดลองของมานิตย์ (2543) พบว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาอินเดียที่ความเข้มข้น 0.1% ทำให้ลูกน้ำยุงตาย 22% ที่เวลา 24 ชั่วโมงและตายเพิ่มขึ้นเป็น 68% ที่เวลา 48 ชั่วโมง ในทำนองคล้ายกันสารสกัดเมล็ดสะเดาอินเดียที่ความเข้มข้น 0.01% ทำให้ลูกน้ำยุงตาย 44% ที่เวลา 24 ชั่วโมงและตายเพิ่มขึ้นเป็น 83% ที่เวลา 48 ชั่วโมง นอกจากนี้ Awad and Shimaila (2003) รายงานว่าลูกน้ำยุงหลายชนิดรวมทั้งยุงลาย (*Aedes* spp.) และยุงก้นปล่อง (*Anopheles* spp.) อ่อนแอต่อสารสกัดจากเมล็ดสะเดาอินเดีย และพบว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาชนิดดังกล่าวสามารถควบคุมลูกน้ำยุง *Anopheles* spp. ได้นาน 2 สัปดาห์

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างให้ผลฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ดีกว่าสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างสันนิษฐานว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างนอกจากจะมีสารออกฤทธิ์ azadirachtin ที่จะส่งผลต่อการตายโดยตรงต่อลูกน้ำยุงแล้ว น้ำมันดังกล่าวสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการแลกเปลี่ยนก๊าซของลูกน้ำยุงได้อีกด้วย โดยน้ำมันที่เคลือบอยู่บนผิวน้ำทำให้ลูกน้ำไม่สามารถแทงท่อหายใจขึ้นมาเหนือผิวน้ำเพื่อรับออกซิเจนได้ (สุชาติ และคณะ 2526) ในขณะที่สารสกัดเมล็ดสะเดาช้างมีเพียงสารออกฤทธิ์ azadirachtin ที่จะส่งผลต่อการตายของลูกน้ำยุงโดยตรง โดยไม่มีผลยับยั้งกระบวนการหายใจดังกล่าว

นอกจากการใช้น้ำมันและสารสกัดจากเมล็ดสะเดาชนิดต่างๆ ในการควบคุมลูกน้ำยุงแล้ว ยังมีรายงานการศึกษาการใช้น้ำมันและสารสกัดจากพืชชนิดอื่นเพื่อควบคุมลุกน้ำยุง โดย Silva และคณะ (2003) ได้ศึกษาผลของน้ำมัน (oil-resin) จากต้นพืช *Copaifera reticulata* ต่อยุงรำคาญ *Culex quinquefasciatus* โดยใช้น้ำมันสกัดจากพืชดังกล่าวที่ละลายในตัวทำละลาย dimethylsulfoxide (DMSO) อัตรา 0.4 มิลลิลิตร/น้ำ 24.6 มิลลิลิตร พบว่าน้ำมันสกัดจากพืชดังกล่าวออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงชนิดนี้ได้ ที่เวลา 48 ชั่วโมง ค่า LC_{50} ของน้ำมันดังกล่าวในลูกน้ำยุงวัยที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 0.4, 0.9, 39 และ 80 ppm. ตามลำดับ และค่า LC_{99} มีค่าเท่ากับ 15, 15, 50 และ 180 ppm. ตามลำดับ สาร piperitenone oxide ที่สกัดได้จากน้ำมันในพืช *Mentha spicata* L. variety *viridis* สามารถฆ่าลูกน้ำยุงก้นปล่อง *Anopheles stephensi* (Liston) ได้โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 61.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในลูกน้ำยุงวัยที่ 4 และสารดังกล่าวมีพิษในการฆ่าลูกน้ำยุงได้ดีกว่าน้ำมันสกัดหยาบ (crude oil) ซึ่งมีค่า LC_{50} เท่ากับ 82.9 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Tripathi *et al.,* 2004) Albuquerque และคณะ (2004) ได้ทดสอบน้ำมันที่สกัดจากรากของสาบเสือ *Eupatorium betonicaeforme* (D.C.) Baker พบว่ามีคุณสมบัติเป็นสารฆ่ายุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ได้ ส่วนการศึกษาสารสกัดจากสะเดาหลายชนิดในการควบคุมลูกน้ำยุงพบว่าลูกน้ำยุงหลายชนิดรวมทั้งยุงลาย (*Aedes* spp.) และยุงก้นปล่อง (*Anopheles* spp.) อ่อนแอต่อสารสกัดจากสะเดาโดยน้ำมันสะเดาสามารถควบคุมลูกน้ำยุงก้นปล่องได้นาน 2 สัปดาห์ (Prakash and Rao, 1996) เช่นเดียวกับรายงานของ Ansari และคณะ (2000) ว่าน้ำมันสะเดาอินเดียในรูปผลิตภัณฑ์แบบของเหลวสามารถฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *C. quinquefasciatus* ได้ นอกจากนี้ Rao และคณะ (1992) ยังพบว่าน้ำมันสะเดาอินเดียในรูปเม็ดสามารถฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Culex* spp. ได้อีกด้วย

Table 1 Lethal concentration (LC_{50}) of seed oil and seed extract from thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) on mosquito (*Aedes aegypti* L.) larvae at 24 hours after application

Treatment	LC_{50} (ppm)	Fiducial limit	
		Lower	Upper
Seed oil (n-hexane)	403.6	285.7	563.7
Seed extract (methanol)	504.4	376.8	667.1

Table 2 Percent mortality of mosquito (*Aedes aegypti* L.) larvae at 24, 48, 72, 96 and 120 hours after dipping in various concentrations of thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) seed oil

Oil concentration	Larval mortality (%)				
(ppm)	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
200	32	42	51	63	72
400	43	60	74	79	83
600	62	82	86	89	91
800	69	97	99	99	99
1,000	84	97	100	100	100
2,000	100	100	100	100	100
3,000	100	100	100	100	100
Control	0	0	1	1	1

Table 3 Percent mortality of mosquito (*Aedes aegypti* L.) larvae at 24, 48, 72, 96 and 120 hours after dipping in various concentrations of thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) seed extract

Extract concentration	Larval mortality (%)				
(ppm)	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
200	22	32	62	83	86
400	46	67	86	93	94
800	57	78	84	93	96
1,000	75	83	94	98	99
2,000	84	92	95	100	100
3,000	97	98	99	100	100
4,000	100	100	100	100	100
5,000	100	100	100	100	100
Control	0	0	0	1	1

2. ผลของน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลายบ้าน

ลูกน้ำยุงลายบ้านที่รอดตายในน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่ความเข้มข้น 200, 400, 600, 800 และ 1,000 ppm สามารถเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นดักแด้ได้ 2%, 1%, 0%, 1% และ 0% ตามลำดับของจำนวนลูกน้ำที่ทดสอบทั้งหมด ซึ่งค่อนข้างต่ำมากเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำเปล่า) ที่มีการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นดักแด้ถึง 66% ของจำนวนลูกน้ำที่ทดสอบทั้งหมดภายในเวลา 120 ชั่วโมง (Table 4) ส่วนลูกน้ำที่รอดตายในสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างที่ความเข้มข้น 200, 400 และ 800 ppm สามารถพัฒนารูปร่างเป็นดักแด้ได้ 13%, 6% และ 1% ตามลำดับ ของจำนวนลูกน้ำที่ทดสอบทั้งหมด ซึ่งถือว่าค่อนข้างต่ำเช่นเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีการพัฒนารูปร่างเป็นดักแด้ถึง 72% ภายในเวลา 120 ชั่วโมง (Table 5)

จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ทั้งน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างสามารถยับยั้งการพัฒนารูปร่างเป็นดักแด้ของลูกน้ำยุงลายบ้านหรืออาจจะทำให้ระยะเวลาในการพัฒนารูปร่างเป็นดักแด้ช้าลง เนื่องจากทั้งน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างมีฤทธิ์ในการยับยั้งการลอกคราบของตัวอ่อนแมลงโดยไปขัดขวางการสร้างฮอร์โมนที่ใช้ในการลอกคราบ (ecdysone blocker) ทำให้ตัวอ่อนแมลงตายในที่สุด (ชัยพัฒน์, 2539) ในทำนองเดียวกัน Batra และคณะ (1998) ได้ทดสอบการใช้น้ำมันสะเดาอินเดียในรูป emulsion เพื่อควบคุมลูกน้ำยุงก้นปล่อง *Anopheles stephensi* ผลปรากฏว่าสามารถยับยั้งการพัฒนารูปร่างของยุงก้นปล่องได้ และยังพบว่าสารสะเดาอินเดียสามารถยับยั้งการพัฒนารูปร่างของยุงก้นปล่อง *Anopheles* spp.ได้อีกด้วย (Rao *et al*., 1992) นอกจากนี้ Nagpal และคณะ (2001) ใช้สารจากเปลือกสะเดาอินเดียควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้าน พบว่าสามารถยับยั้งการเข้าดักแด้ของลูกน้ำยุงลายบ้านได้

Table 4 Pupation percentage of mosquito (*Aedes aegypti* L.) larvae after dipping in different concentrations of thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) seed oil

	Pupation (%)				
Oil concentration (ppm)	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
200	0	1	2	2	2
400	1	1	1	1	1
600	0	0	0	0	0
800	1	1	1	1	1
1,000	0	0	0	0	0
2,000	0	0	0	0	0
3,000	0	0	0	0	0
control	16	26	39	56	66

Table 5 Pupation percentage of mosquito (*Aedes aegypti* L.) larvae after dipping in different concentrations of thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) seed extract

Extract concentration (ppm)	Pupation (%)				
	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
200	3	12	13	13	13
400	2	4	5	6	6
800	1	1	1	1	1
1,000	0	0	0	0	0
2,000	0	0	0	0	0
3,000	0	0	0	0	0
4,000	0	0	0	0	0
5,000	0	0	0	0	0
control	15	25	35	62	72

เมื่อพิจารณาลูกน้ำที่รอดตายที่เจริญเติบโตเป็นดักแด้และสามารถพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยต่อไปพบว่าทั้งน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างสามารถยับยั้งการเป็นตัวเต็มวัยของยุงลายบ้านได้ดีมาก โดยพบดักแด้ยุงพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยเพียง 1-2% และ 1-4% ของจำนวนลูกน้ำที่ทดสอบในน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้าง ตามลำดับ (Table 6 และ 7) และพบว่าที่ความเข้มข้นต่ำ 200 และ 400 ppm เท่านั้นที่ดักแด้สามารถพัฒนาไปเป็นยุงตัวเต็มวัยได้ (Table 6 และ 7) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมดักแด้สามารถพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัยได้ 51-52% (Table 6 และ 7)

จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ทั้งน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างสามารถยับยั้งการพัฒนารูปร่างเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้ยุงลายบ้านหรืออาจจะทำให้การพัฒนารูปร่างเป็นตัวเต็มวัยช้าลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Zebitz (1987) ว่าลูกน้ำยุงลายที่รอดตายในน้ำมันสะเดาและสารสกัดสะเดาความเข้มข้นต่ำสามารถพัฒนาเป็นดักแด้ได้แต่ไม่สามารถดันเปลือกออกเป็นยุงตัวเต็มวัยได้ เนื่องจากน้ำมันสะเดาและสารสกัดสะเดามีผลยับยั้งการเจริญเติบโตจากระยะดักแด้เป็นระยะตัวเต็มวัยของยุงได้

Table 6 Emergence of mosquito (*Aedes aegypti*) adults developed from larvae dipping in different concentration of thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) seed oil

	Adult emergence				
Concentration (ppm)	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
200	0	0	1	2	2
400	0	1	1	1	1
600	0	0	0	0	0
800	0	0	0	0	0
1,000	0	0	0	0	0
2,000	0	0	0	0	0
3,000	0	0	0	0	0
control	0	5	20	34	51

Table 7 Emergence of mosquito (*Aedes aegypti*) adults developed from larvae dipping in different concentration of thiam (*Azadirachta excelsa* Jack.) seed extract

	Metamorphosis after various hours of exposure (%)				
Concentration (ppm)	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
200	0	0	2	4	4
400	0	0	1	1	1
800	0	0	0	0	0
1,000	0	0	0	0	0
2,000	0	0	0	0	0
3,000	0	0	0	0	0
4,000	0	0	0	0	0
5,000	0	0	0	0	0
control	1	6	19	39	52

ผลการศึกษาครั้งนี้ถึงแม้ว่าน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างความเข้มข้นต่ำ 200 และ 400 ppm ไม่สามารถฆ่าลูกน้ำได้ 100% แต่ลูกน้ำที่รอดตายสามารถพัฒนารูปร่างเป็นตัวเต็มวัยได้น้อยมาก ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ใช้จำนวนลูกน้ำ 100 ตัว ในแต่ละความเข้มข้นและสามารถกลายเป็นตัวเต็มวัยได้สูงสุดเพียง 4% หรือ 4 ตัว ซึ่งถือได้ว่าให้ประสิทธิภาพที่ดีในการควบคุม ดังนั้นหากพิจารณาจากผลดังกล่าว ทั้งน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างน้ำมันสามารถนำไปพัฒนาใช้ควบคุมลูกน้ำได้ ทั้งนี้เพื่อเป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

สรุป

จากผลการทดสอบความเป็นพิษของน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างต่อลูกน้ำยุงลายบ้านโดยคำนวณค่า LC_{50} และเปอร์เซ็นต์การตาย 100% ที่เวลา 24 ชั่วโมง สรุปได้ว่า น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างมีพิษในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านมากกว่าสารสกัดเมล็ดสะเดาช้าง และเมื่อความเข้มข้นต่ำลงต้องใช้ระยะเวลานานขึ้นจึงจะฆ่าลูกน้ำได้ 100% นอกจากมีผลโดยตรงต่อการฆ่าลูกน้ำแล้วทั้งน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างยังมีผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของลูกน้ำยุงเข้าสู่ระยะดักแด้และตัวเต็มวัย โดยลูกน้ำยุงที่อยู่ในน้ำที่มีน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างนอกจากจะพัฒนาเป็นดักแด้และตัวเต็มวัยได้ช้าแล้วยังพัฒนาเป็นดักแด้และตัวเต็มวัยได้น้อยอีกด้วย ดังนั้นทั้งน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างสามารถนำมาศึกษาและพัฒนาประสิทธิภาพในการควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้านให้ดีขึ้นได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการพัฒนารูปผลิตภัณฑ์ รวมทั้งการนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมลูกน้ำในสภาพธรรมชาติ เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในการควบคุมยุงพาหะของไข้เลือดออก นอกจากจะลดผลกระทบที่อาจจะเกิดขึ้นจากการใช้สารเคมีแล้ว ยังลดการนำเข้าสารเคมีจากต่างประเทศได้อีกด้วย

คำขอบคุณ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สัญญาเลขที่ NAT 501099000255 และขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ หาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่อง rotary evaporator ในการสกัดน้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้าง

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมโรค. 2548 ก. แหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลาย.[ออนไลน์]. สืบค้นจาก:
http://www.thaivbd.org/cms/index.php?option=com_content&task=view&id=41&Itemid=42. (ค้นเมื่อ 4 ตุลาคม 2551).

กรมควบคุมโรค. มมป ข. ข้อมูลผู้ป่วยโรคไข้เลือดออก. (ออนไลด์). สืบค้นจาก:
http://dhf.ddc.moph.go.th. (ค้นเมื่อ 10 มีนาคม 2551).

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2543. ไข้เลือดออกและการควบคุมพาหะนำโรค. [ระบบออนไลน์] แหล่งข้อมูล: http://www.dmsc.moph.go.th/webroot/nih/web/health//20.html. ค้นเมื่อ 15/04/49.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2546. การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์. ใน สมุนไพรป้องกันกำจัดแมลงทางการแพทย์. ฝ่ายชีววิทยาและนิเวศวิทยา กลุ่มกีฏวิทยาทางการแพทย์

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. หน้า 12-16.

กระทรวงสาธารณสุข. 2549. เตือนไข้เลือดออกระบาดหนัก. (ออนไลด์). สืบค้นจาก: http://www.thairath.co.th/news.php?section=education&content=3770. (ค้นเมื่อ 17 ตุลาคม 2549).

ชัยพัฒน์ จิระธรรมจารี. 2539. ทำอย่างไรจึงจะใช้สารสกัดจากสะเดาให้ได้ผล. *วารสารกีฏและสัตววิทยา* 18(1): 55-60.

ทิวา บุตรผา. 2543. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack.) เพื่อควบคุมหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* Linnaeus). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขากีฏวิทยา คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา. 145 หน้า.

นิรนาม. 2548. นักวิจัยไทยเจ๋ง พัฒนาวัคซีนไข้เลือดออกสูตรค็อกเทล เข็มเดียวกันได้ 4 สายพันธุ์. [ระบบออนไลน์]. แหล่งข้อมูล: http://www.trf.or.th/News/Content.asp?Art_ID=235. ค้นเมื่อ 11/04/49.

ปาริชาติ ปาลินทร. 2543. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack.) เพื่อควบคุมหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* Fabricius). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขากีฏวิทยา คณะทรัพยากรธรรมชาติ หาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา. 135 หน้า.

มานิตย์ นาคสุวรรณ. 2543. ประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาและน้ำมันสะเดาต่อลูกน้ำยุงลายและยุงรำคาญ. *วารสารกีฏและสัตววิทยา* 22(2): 138-150.

ยุวดี ช้างแก้ว. 2547. ประสิทธิภาพของน้ำมันชนิดต่างๆ ในการกำจัดลูกน้ำและดักแด้ของยุงรำคาญ. ปัญหาพิเศษ ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ หาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา. 19 หน้า.

วนัสรา เชาวน์นิยม. 2544. อสม. กับการป้องกันไข้เลือดออก. วารสารสาธารณสุขมูลฐาน ภาคกลาง 16: 4-8.

วัลลภ แก้วเกษ. 2548. โรคไข้เลือดออก. *วารสารศูนย์บริการวิชาการ มหาวิทยาลัยขอนแก่น* 13(3): 26-31.

สำนักควบคุมโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2550. สถานการณ์โรคไข้เลือดออก. [ระบบออนไลน์]. แหล่งข้อมูล: http://dhf.ddc.moph.go.th/status.htm. ค้นเมื่อ 5/07/50.

สุชาติ อุปถัมภ์ สมศักดิ์ พันธุวัฒนา วนิดา นาควัชระ เนาวรัตน์ ศุขพันธุ์ ปัทมาภรณ์ กิตยารักษ์ และ ชูศักดิ์ ประสิทธิสุข. 2526. กีฏวิทยาทางการแพทย์ (Medical ntomology). สำนักพิมพ์กองมาลาเรีย กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพ ฯ. 578 หน้า.

สุรเกียรติ อาชานานุภาพ. 2546. ไข้เลือดออก. *วารสารหมอชาวบ้าน* 25(290): 25-28.

อุษาวดี ถาวระ, อภิวัฏ ธวัชสิน, ฤทัยรัตน์ ศรีธรมรัตน์ และปณวรรณ ปุโรทกานนท์. 2546. การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์. หน้า 10-18. ใน: สมุนไพรป้องกันกำจัดแมลงทางการแพทย์. ฝ่ายชีววิทยาและนิเวศวิทยา กลุ่มกีฏวิทยาทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพฯ

Albuquerque, M.R.J.R., Silveira, E.R., Uchao, D.E. de A., Lemos, T.L.G., Souza, E.B., Santiago, G.M.P. and Pessoa, O.D.L. 2004. Chemical Composition and Larvicidal Activity of The Essential Oils from Eupatorium Betonicaeforme (D.C.) Baker (Asteraceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(3): 6,708-6,711.

Ansari, M.A., Razdan, R.K., Tandon, M. and Vasudevan, P. 2000. Larvicidal and Repellent Actions of *Dalbergia sisoo* Roxb. (F. Leguminosae) Oil Against Mosquitoes. *Bioresource Technology* 73(10): 207.

Awad, O.M. and Shimaila, A. 2003. Operational Use of Neem Oil as Alternative Anopheline Larvicide. Part A: Laboratory and Field Efficacy. *Eastern Mediterranean Healt Journal* 9(8): 637-645.

Batra, C.P., Mintal, P.K., Adak, T. and Sharma, V.P. 1998. Efficacy of Neem-Water Emulsion Against Mosquito Immatures. *Indian Journal of Malariology* 35(14): 15.

Jayaraj, S. 1993. Neem in Pest Control, Progress and Perspectives. Pages 37-43. In: World Neem Conference. Bangalore, India.

Kraus, W., Maile, R., Vogler, B. and Wundrak, B. 1997. 1-Tigloy-3-Acetylazadirachtindirachtol, A New Limonoid from The Marrango Tree, *Azadirachta excelsa* Jack. (Melaiceae). *Indian Journal of The Chemical Society* 74(16): 813-817.

Nagpal, B.N., Srivastava, A. and Sharma, V.P. 2001. Control of Mosquito Breeding Using Wood Scrappings Treated with Neem Oil. *Indian Journal of Malariology* 32(15): 64.

Prakash, A. and Rao, J. 1996. Botanical Pesticides in Agriculture. Lewis Publisher, New York. 135 pp.

Rao, D.R., Reuben, R., Venugopal, M.S., Nagasampgi, B.A. and Schmutterer, H. 1992. Evaluation of Neem-*Azadirachta indica* with and without Water Management for The

Control of Culicine Mosquito Larvae in Rice Field. *Medical and Veterinary Entomology* 6(20): 318.

Silva, I.G. Zanon, V.O.M. and Silva, H.H.G. 2003. Larvicidal Activity of *Copaifera reticulata* Duck Oil-Resin Against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) *Neotropical Entomology* 32(16): 729-735.

Teik, N.L. 2000. A Potential New Source of Botanical Insecticide. The Forest Research Institute of Malaysia (FRIM). [Onlne]. Available from: http://www.sibexlink.com.my/g15mag_science.html. Accessed on 02/05/06.

Tripathi, A.K., Prajapati, V., Ahmad, A., Aggarwal, K.K., Khanuja, S.P.S. 2004. Piperitenone Oxide as Toxic, Repellente and Reproduction Retardant Toward Malarial Vector *Anopheles steph*ensi (Diptera: Anophelinae). *Journal Medical Entomology* 41(9): 691-698.

Zebitz, C.P.W. 1987. Potential of Neem Seed Kernel Extracts in Mosquito Control. Pages 555-573. In: Proceeding The Third International Neem Conference, Nairolbi, Kenya. 10-15 July, 1986.

2. Kaewnang-O, E., **Ngampongsai**, A., Subhadhirasakul, S. and Srichana, T. 2008. Oviposition deterrence of Thiam, *Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs, seed products on mosquito, *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae). Proceedings of the Sixth Regional IMT-GT Uninet Conference 2008, Penang, Malaysia,28-30 August 2008.

Oviposition deterrence of Thiam, *Azadirachta excelsa* Jack., seed products on mosquito, *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae)

Kaewnang-O[1], E., Ngampongsai, A., Subhadhirasakul, S. and Srichana, T.

Abstract

Oil and crude products of thiam, *Azadirachta excelsa* Jack., seed were evaluated with respect to their oviposition deterrence in a cage with thirty fertile female adults of the mosquito, *Aedes aegypti* Linnaeus under a laboratory condition, compared to a standard larvicide, temephos

1 **Corresponding author: Ekkarat Kaewnang-O, Department of Pest Managemant Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 9 0112 Thailand.**
Tel: 66841127569
E-mail: Pikky_078@yahoo.com

and to water as a control. The comparisons of the egg-laying percentage and egg hatchability percentage revealed that oil products (original oil, obtained from *n*-hexane extraction, and formulated oil, original oil+adjuvant+anti-oxidant) showed the best response of the oviposition deterrence. After 30 days of exposure, the average egg number found in the original oil and the formulated oil were 2.5% and 2.6%, respectively of total eggs laid in all treatments, whereas that found in the control was 18.9%. Interestingly, temephos and crude products (original crude, obtained from methanol extraction, and formulated crude, original crude+adjuvant+anti-oxidant) of thiam seed seemed to be oviposition attraction with the relatively high percentages of egg-laying of 31.3% and 21.2-23.5%, respectively. Egg hatchability by checking a survival of larvae showed that temephos was highly effective to kill mosquito larvae, whereas all thiam seed products were significantly more effective than the control ($P<0.01$). The average percentages of the survived larvae were 0.2%, 36.6-38.4% and 28.5-43.1% after 30 days of exposure to temephos, oil products and crude products of thiam seed, respectively. The survived larvae reached 86.6% in the control. In conclusion, oil products of thiam seed are highly responsible for the oviposition deterrence of the mosquito, *Ae. aegypti* at least 30 days after exposure.

Introduction

Insect–transmitted diseases remain a major source of illness and death worldwide. Mosquitoes alone transmit diseases to more than 700 million people annually (Taubes, 1997). Some 2,500 million people–two fifths of the world's population are now at risk from dengue. World Health Organization (WHO) currently estimates that there may be 50 million cases of dengue infection worldwide every year. Mosquito–borne diseases currently cause health problem in tropical and sub–tropical regions , predominantly in urban and semi–urban areas (Anonymous, 2008).

Control of such disease is becoming increasingly difficult because of increasing resistance of mosquitoes to pesticide (Ranson *et al*., 2001). An alternative approach for mosquito control is the use of natural products from plant origin. The botanical insecticides are generally pest specific, readily biodegradable and not toxic to higher animals (Bowers *et al*., 1995). Neem (*Azadirachta indica*) possesses substances with a wide range of activities against insects such as antifeedant, antioviposition, repellent and growth regulator (Schmutterer, 1995). Thiam, *Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs, grows naturally in southern Thailand, peninsular Malaysia, and Palawan Island of the Philippines, was recently introduced to several tropical countries, including Taiwan, Guetemala, and the State of Hawaii (Kijkar, 2003). It has been screened for

ovicidal and larvicidal activities against mosquitoes (Rajkumar and Jebanesan, 2004). In the present report, we describe oviposition deterrence activity of thiam, *A. excelsa* against the mosquito *Ae. aegypti*.

Materials and Methods

A completely randomized design (CRD) was used for the experiment. Four thiam seed products, including original oil (obtained from *n*-hexane extract) at 2,000 ppm, formulated oil (original oil, adjuvant and antioxidant) at 800 ppm, original crude from methanol extract at 2,000 ppm and formulated crude (original crude, adjuvant and antioxidant) at 4,000 ppm were tested with 30 gravid females of *Ae. aegypti* (10 days old and just blood feeding). The results of oviposition deterrence were compared with a standard larvicide, temephos at 100 ppm and water as a control. Each treatment was replicated five times. These experiments were carried out in a mosquito cage (120 x 120 x 60 cm.) covered with a net screen. Thirty plastic cups (200 ml) containing tested substances were randomly placed inside the cage. Glucose (6%) mixed with vitamin B solution was used as a food source for mosquitoes throughout 96 hours of study periods. The numbers of eggs in all treatments were determined. Egg hatchability was also evaluated by counting a larvae survival. An analysis of variance (ANOVA) of egg-laying and hatchability percentages was performed. Means among treatments were compared by using Duncan's multiple range test (DMRT). Activity of tested substances was evaluated after 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 and 30 days after exposure to tested substances.

Results and Discussion

Egg-laying percentages of *Ae. aegypti* after exposure to different tested substances at different periods are shown in Figure 1. Average percentages of egg-laying throughout this study are also illustrated in Table 1. Thiam seed oil products showed the best activity on oviposition deterrence. Mean percentages of egg-laying of the original and the formulated oils were significantly lower than other treatments (2.5% and 2.6%), ($P<0.01$) (Table 1). After 30 days of application, both oil products were likely effective to inhibit oviposition of *Ae. aegypti*. Eggs laid on water treated with oil products were less than 3% of total eggs laid on all treatments (Figure 1). It indicates that thiam seed oils possess oviposition deterrence against *Ae. aegypti* at least 30 days. Crude products of thiam seed were effective to deter oviposition of *Ae. aegypti* at the initial periods of study (4 days after exposure), thereafter they seemed to be an oviposition attractant

(Figure 1). Neem products have been reported to act as oviposition deterrence of mosquitoes in laboratory tests (Thianyun and Mulla, 1999; Schmuttere, 1995). Thianyun and Mulla (1999) revealed that the oviposition response of *Culex tarsalis* to Azad® EC 4.5 (EC), as well as that of *Cx. quinquefasciatus* to Azad® WP 10 (WP) and Azadirachta (AZ) formulation, was significantly lower than the control. Another study showed that egg laying treated with WP was significantly lower than the control (Thianyun and Mulla, 1999). The minimum effective concentrations for oviposition avoidance of AZ were 5 ppm for *Cx. tarsalis* and 10 ppm for *Cx. Quinquefasciatus* (Thianyun and Mulla, 1999). Schmutterer (1995) also found that extracts from the neem tree, *A. indica*, showed antifeedant, antioviposition, repellent and growth regulating activity. Interestingly, our results showed the oviposition attraction of the larvicide temephos to *Ae. aegypti*, particularly at the first few days (4 days) of the study (Figure 1). The average egg-laying percentage of temephos (31.3%) was significantly greater than that of the control (18.9%) ($p<0.01$) (Table 1).

Egg hatchability by checking a survival of mosquito larvae showed a very low survival of larvae in temephos treatment (Figure 2). Hatchability percentage of temephos was significantly lower than other treatments as shown in Table 1($P<0.01$). There was no significantly difference in egg hatchability among crude and oil products of thiam seed, however, these products could significantly reduce egg hatchability as compared with control (Table 1).

Conclusions

These findings of the present investigation revealed that the oil products of thiam, *A. excelsa*, possess oviposition deterrence against *Ae. aegypti*, while crude products seem to be oviposition attraction after 4 days of exposure. Temephos is likely to be attractive to egg laying of *Ae. aegypti*, but also it was highly effective to kill mosquito larvae. Activity on oviposition deterrence of the oil products should be further investigated over extended periods. The products should be developed as an antioviposition against *Ae. aegypti which possible* be an alternative for controlling this Aedes species.

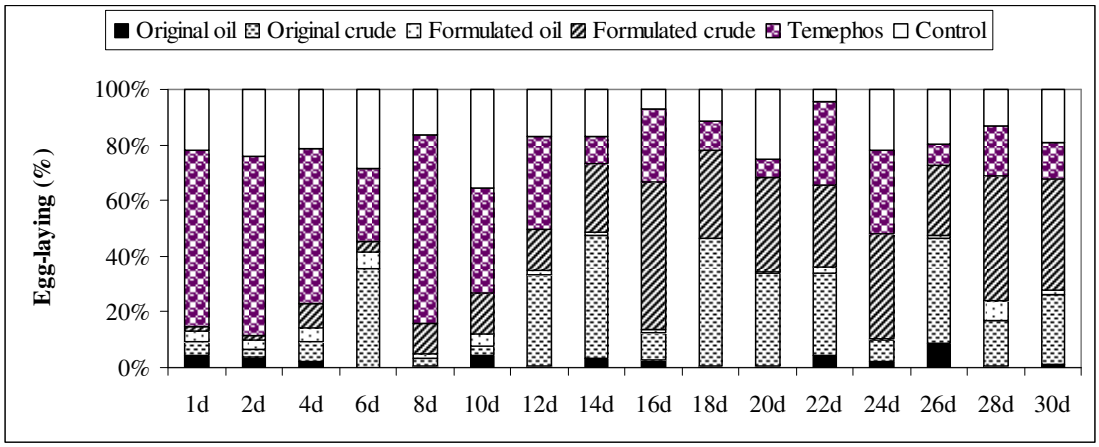


Figure 1 Egg-laying percentages of *Ae. aegypti* after exposure to different tested substances for one month.

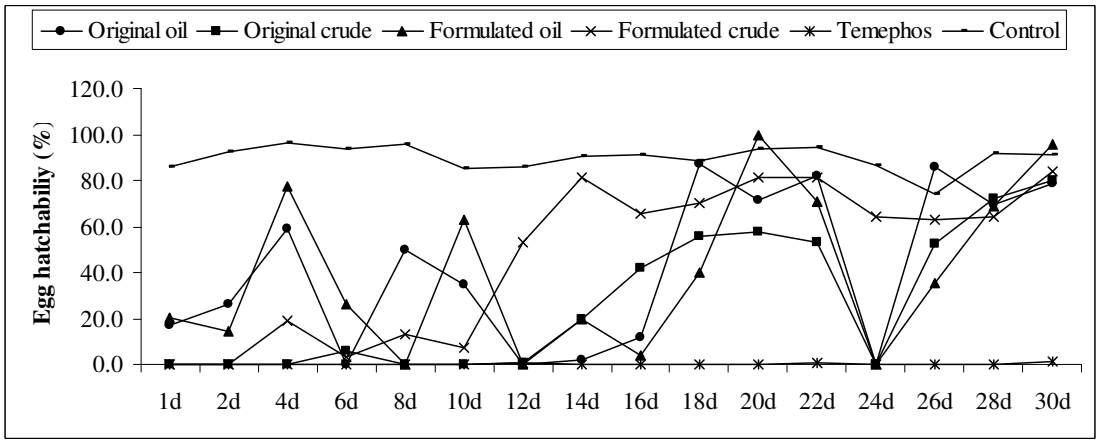


Figure 2 Egg hatchability percentages of *Ae. aegypti* after exposure to different tested substances for one month.

Table 1 Percentages of egg-laying and hatchability of *Ae. aegypti* of oil products, crude products, temephos and control (water) after 30 days of exposure.

Treatment	Concentration (ppm)	% egg-laying (means ± SD)[1/]	% egg hatchability (means +SD)[1/]
Original oil	2,000	2.5C[2/] ± 2.3	36.6B[2/] ± 33.0
Original crude	4,000	21.2 B ± 15.9	28.5 B ± 28.7
Formulated oil	800	2.6 C ± 2.0	38.4 B ± 29.6
Formulated crude	2,000	23.5 AB ± 16.0	43.1 B ± 31.6
Temephos	100	31.3 A ± 21.2	0.2 C ± 0.4
Control (water)		18.9 B ± 7.8	86.6 A ± 6.5
F - test		12.8**	19.7**
CV (%)		78.6	64.9

[1/] means from 16 separate replications, [2/] means with different letters in the same column are significantly different ($P<0.05$) by DMRT, ** significant at 99% level

Acknowledgements

The authors thank Prince of Songkla University for a financial support. Our thanks go to Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmaceutical Sciences , Department of Pest Management, Faculty of Natural Resources Prince of Songkla University for facilitating extraction and formulation of thiam seed products and mass rearing mosquitoes, respectively.

References

Anonymous. 2008. Dengue and dengue haemorrhagic fever. Media Center World Healt Organization. [online] http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/ [April 25, 2008].

Bowers, W.S., Sener, B., Evans, P.H., Bingol, F. and Erdogan, I. 1995. Activity of Turkish medicinal plants against mosquitoes *Aedes aegypti* and *Anopheles* gambiae. Insect Science and its Application. 16: 339 – 342.

Kijkar, S. 2003. *Azadirachta excelsa*. Meliaceae / Melioideae (Mahogany Family) *Melia excelsa, Azadirachta integrifolia*. Association of South-East Asian Nations (ASEAN) Forest Tree Seed Centre, Thailand.

Rajkumar, S. and Jebanesan, A. 2004. Ovicidal activity of *Solanum trilobatum* Linn (Solanaceae) leaf extract against *Culex quinquefasciatus* Say and *Culex tritaeniorhynchus* Gile (Diptera: Culicidae). International Journal of Tropical Insect Science. 24: 340 – 342.

Ranson, H., Rossiter, L., Ortelli, F., Jensen, B., Wang, X., Roth, C.W., Collins, F.H. and Hemingway, J. 2001. Identification of a novel class of insect glutathione S-transferases involved in resistance to DDT in the malaria vector *Anopheles* gambiae. Biochemical Journal. 359: 295 – 304.

Schmutterer, H. 1995. The neem tree Azadirachta indica and other meliaceous plants. VCH publishers. Weinneim Germany. 696.

Taubes, G. 1997. A mosquito bites back. New York Times Magazine. August, 24: 40 – 46.

Thianyun, S. and Mulla, M.S. 1999. Oviposition bioassay responses of *Culex tarsalis* and *Culex quinquefasciatus* to neem products containing azadirachtin Entomologia Experimentalis et Applicata. 91: 337 – 345.