

ฤทธิ์การกำจัดลูกน้ำยุงและการไล่ยุงของสารสกัดหยาบและ
น้ำมันหอมระเหยจากใบเสี้ยว ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง
Larvicidal and Repellent Activities of Crude Extracts and Essential Oils
from *Eupatorium odorata* Against *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* and
Anopheles dirus B

ศรีสุดา หานภักคภูมิ^{*1} ภาณุกิจ กันหาจันทร์² พายุ ภักดีนวน² สุชาดา โทพล¹ สุขุมารณ์ กระจ่างสังข์³ จักรวาล ชมภูศรี²
และอภิวัฏ ธวัชสิน²

Srisuda Hanphakphoom^{*1}, Phanukit Kunhachan², Payu Bhakdeenuan², Suchada
Thophon¹, Sukhumaporn Krajangsang³, Jakkrawarn Chompoonsri² & Apiwat Tawatsin²

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

²สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

³คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

¹Faculty of Science and Technology, Suan Dusit University

²National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health

³Faculty of Science, Srinakharinwirot University

บทคัดย่อ

สาบเสี้ยวเป็นวัชพืชที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจวิธีการสกัดและประยุกต์ใช้สำหรับฆ่าลูกน้ำยุง (ลูกน้ำยุงระยะที่ 3 ถึงระยะที่ 4) และไล่ยุงลายบ้าน *Aedes aegypti*, ยุงรำคาญ *Culex quinquefasciatus* และยุงก้นปล่อง *Anopheles dirus* B โดยนำส่วนใบ ลำต้น และรากสาบเสี้ยวมาสกัดด้วยน้ำ เอทานอล และเมทานอลเป็นตัวทำละลาย ผลการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตของสารสกัดหยาบจากใบด้วยเมทานอลเท่ากับ 29.19 ± 2.71 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าตัวทำละลายอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยิ่งไปกว่านั้นผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยจากใบ (0.25 ± 0.015 เปอร์เซ็นต์) ให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยสูงกว่าลำต้นและรากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารสกัดหยาบจากรากด้วยเอทานอลแสดงฤทธิ์ปานกลางในการฆ่าลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. dirus* B และ ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ในขณะที่สารสกัดหยาบจากใบด้วยเมทานอลพบ Tannins และ Saponins ในปริมาณมากซึ่งแสดงฤทธิ์ปานกลางในการไล่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* น้ำมันหอมระเหยจากใบแสดงฤทธิ์ปานกลางในการฆ่าลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. dirus* B อย่างไรก็ตามเวลาในการป้องกันยุงกัดของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากใบที่ความเข้มข้น 0.60 mg/cm^2 ของพื้นที่เท่ากับ 107.67 ± 3.72 , 95.00 ± 3.28 และ 83.04 ± 3.16 นาทีต่อยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ยุงก้นปล่อง *An. dirus* B และยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ตามลำดับ องค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากใบ คือ Caryophyllene Oxide *t*-muurolol และ Humulene Epoxide จึงเหมาะสมในการนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ไล่ยุงธรรมชาติได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: สาบเสี้ยว, ฤทธิ์กำจัดลูกน้ำยุง, ฤทธิ์ไล่ยุง, สารสกัดหยาบ, น้ำมันหอมระเหย

* Corresponding Author

e-mail: srisuda_han@hotmail.com

**ขอขอบคุณ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขที่สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือ ขอขอบคุณงานสนับสนุน
ก็วิทยาศาสตร์ ฝ่ายพิพิธภัณฑ์แมลงและอนุกรมวิธานและสนับสนุนงานวิจัยที่สนับสนุนยุงสำหรับงานวิจัย และขอขอบคุณเงินทุนจากโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและ
พัฒนามหาวิทยาลัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาประจำปี 2558 และขอขอบคุณสำนักหอพรรณไม้ สำนักวิจัยกรมอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืชสำหรับการ
การระบุชนิดพันธุ์พืช

Abstract

Saabssea (*Eupatorium odorata*) is a weed that has many biological activities. Therefore, this research was interested in the extraction method and its application for larvicidal (3rd and 4th instar larvae) and repellent activities against *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles dirus* B. The leaf, stem and root parts of *E. odorata* were extracted by using water, ethanol and methanol as solvents. The results showed the yield of crude extract from leaf by methanol was 29.19 ± 2.71 %, which was significantly higher than other solvents. Moreover, the yield of essential oil extracted from leaf (0.25 ± 0.015 %) was significantly higher than from the stem and root. The crude extract from the ethanol root extract exhibited moderate larvicidal activity against *Anopheles dirus* B and *Cx. quinquefasciatus*. While, the crude extract from leaf by methanol found high tannins and saponins which demonstrated moderate repellent activity against *Cx. quinquefasciatus*. The essential oil extracted from leaf showed moderate larvicidal activity against *Anopheles dirus* B. However, the protection times of essential oil extracted from leaf at the concentration of 0.60 mg/cm² of skin was 107.67 ± 3.72 , 95.00 ± 3.28 and 83.0 ± 3.16 min against *Cx. quinquefasciatus*, *An. dirus* B and *Ae. aegypti*, respectively. The main components of essential oil extracted from leaf was caryophyllene oxide, *t*-muurolol and humulene epoxide; these components are suitable for development of the natural repellent product.

Keywords: *Eupatorium odorata*, Larvicidal Activity, Repellent Activity, Crude Extract, Essential Oil

บทนำ

ยุงเป็นปัญหาสำคัญอย่างหนึ่งทางด้านสาธารณสุขของประเทศไทยโดยเฉพาะโรคที่มียุงลายเป็นพาหะ ได้แก่ ไข้เลือดออกสายพันธุ์ใหม่ที่มีความรุนแรงมากขึ้นและโรคชิคุนกุนยา จากรายงานสถานการณ์เฝ้าระวังทางระบาดวิทยาของ Bureau of Epidemiology, Department of Disease Control Ministry of Public Health (2016) พบโรคไข้เลือดออกมีแนวโน้มสูงขึ้น ประเทศไทยมีผู้ป่วยจากไข้เลือดออกจำนวน 129,040 คน และมีผู้เสียชีวิต 125 คน ในปี 2558 คาดการณ์ว่าจะมีผู้ป่วยเพิ่มขึ้นตลอดปี 2559 ประมาณ 166,000 คน โดยพบผู้ป่วยสูงสุดในช่วงฤดูฝน (เดือนมิถุนายน - สิงหาคม) ปัจจุบันยังไม่มียาหรือวัคซีนใดที่ใช้รักษาทั้งโรคไข้เลือดออกและโรคชิคุนกุนยาได้โดยตรง การป้องกันโรคไข้เลือดออก ใช้สมองอักเสบ ไข้ซัง และไข้มาลาเรีย ยังคงให้ความสำคัญกับการควบคุมยุงพาหะนำโรคเป็นมาตรการหลัก (WHO, 2012) สารเคมีที่นิยมนำมาใช้ในการฆ่าลูกน้ำยุง ได้แก่ กลุ่มออร์แกโนฟอสเฟต (Organophosphates) ตัวอย่างเช่น Temphos (Abate®) Malathion และ Fenthion เป็นต้น ผลิตภัณฑ์ป้องกันแมลงและไล่ยุงในท้องตลาดจะมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญคือ N, N-diethyl-m-toluamide (DEET) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพสูงออกฤทธิ์กว้างในการไล่ยุง นิยมใช้อย่างกว้างขวางในผลิตภัณฑ์กันยุงที่วางขายในท้องตลาด แต่มีข้อเสียคือ มีกลิ่นค่อนข้างฉุน และอาจเกิดอาการแพ้สารและมีความเป็นพิษต่อผู้บริโภค นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดความเสียหายแก่วัสดุผ้าสังเคราะห์ พลาสติก และยางได้ (Sharma, 2001; Qui et al., 1998) และสารออกฤทธิ์ IR3535 (Ethyl Butylacetylaminopropionate) เป็นสารที่ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อตาและผิว (WHO, 2006) ทั้ง DEET และ IR3535 เป็นสารเคมีที่ไม่มีความปลอดภัยสำหรับเด็กทำให้เกิดอาการผิดปกติทางสมอง (Encephalopathy) (Abdel-Rahman et al., 2001) ดังนั้นเพื่อเป็นการลดผลกระทบที่เกิดขึ้น การนำสารธรรมชาติจากพืชสมุนไพรมาใช้จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้เพื่อทดแทนการใช้สารเคมี เนื่องจากสารจากพืชสมุนไพรมีความเป็นพิษต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยงต่ำ (Murugan et al., 2007)

สารสกัดหยาบจากพืชมีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงและไล่ยุงโดยใช้ตัวทำละลายในการสกัดแตกต่างกัน เช่น ตัวทำละลายเมทานอลที่ใช้สกัดสารสกัดหยาบจากขึ้นฉ่าย (*Apium graveolens*) จากประเทศไทยมีฤทธิ์ดีในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* (Choochote et al., 2004) ใช้สกัดสารสกัดหยาบจากใบบัวหลวง (*Nelumbo nucifer*) มีฤทธิ์ดีในการฆ่าลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. stephensi* และยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* การใช้สกัดสารสกัดหยาบจากต้นลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus*) มีฤทธิ์ดีในการฆ่าลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. stephensi* และยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* (Kamaraj et al., 2011) ตัวทำละลายเอทานอลที่ใช้สกัดสารสกัดหยาบจากใบต้นลำโพงขาว (*Datura stramonium*) จากประเทศอินเดียที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ไม่มีฤทธิ์ในการไล่ยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* มีฤทธิ์ปานกลางในการไล่ยุงก้นปล่อง *An. Dirus* และมีฤทธิ์ดีในการไล่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* (Swathi et al., 2012) และตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (Ethyl Acetate) ที่ใช้สกัดสารสกัดหยาบจากเมล็ดพริกไทยมีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. stephensi* และยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* (Kamaraj et al., 2011)

น้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิดมีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงและไล่ยุงได้ ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis*) มีฤทธิ์ดีในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* และยุงลายสวน *Ae. albopictus* (Cheng et al., 2009) น้ำมันหอมระเหยจากกานพลู (*Syzygium aromaticum*) และตะไคร้ (*Cymbopogon citratus*) จากประเทศไทยที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์มีฤทธิ์ดีในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* (Phasomkusolsil & Soonwera, 2013) ในประเทศไทยได้นำน้ำมันหอมระเหยพืชตระกูลส้ม 8 ชนิดมาทดสอบฤทธิ์ไล่ยุง พบว่า มีฤทธิ์ปานกลางถึงไม่มีฤทธิ์ในการป้องกันการกัดของยุงลายบ้าน *Ae. Aegypti* และยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* (Soonwera, 2015) และน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส 2 สายพันธุ์ คือ *E. tereticornis* และ *E. deglupta* จากประเทศอินเดียไม่มีฤทธิ์ป้องกันการกัดของยุงรำคาญ *Cx. Quinquefasciatus* (Pujiarti & Fentiyanti, 2017)

สาบเสือ หรือ หญ้าสาบเสือ (Bitter Bush หรือ Siam Weed) มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Eupatorium odoratum* L. จัดอยู่ในวงศ์ Compositae เดิมมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Rob วงศ์ Asteraceae และสมุนไพรสาบเสือนี้อีกชื่อหนึ่งคือทองถิ่นอื่นๆอีกหลายชื่อ ดังนั้นสาบเสือจึงเป็นพืชพบได้ทั่วไปในประเทศไทยและเป็นวัชพืชที่ขึ้นง่าย มีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค (Naidoo et al., 2011; Sukanya et al., 2011; Yahya et al., 2014) ฤทธิ์ยับยั้งยีสต์ *Candida albicans* (Stanley et al., 2014) ฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (Pisutthanan et al., 2005) ฤทธิ์ต้านโปรโตซัว (Vital & Rivera, 2009) ฤทธิ์ต้านไวรัส HIV (Pisutthanan et al., 2005) ฤทธิ์ในการควบคุมโรคพืช (Sukanya et al., 2009) ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง (Prabhu et al., 2011) ฤทธิ์ป้องกันตับจากสารพิษ (Alisi et al., 2011) เป็นต้น เมื่อไม่กี่ปีที่ผ่านมาพืชสาบเสือและพืชวงศ์เดียวกับสาบเสือคือสาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) ได้ถูกนำมาศึกษาประสิทธิภาพของพืชในการป้องกันแมลงและแมลงศัตรูพืชโดยศึกษาทั้งสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหย ในประเทศอินเดีย Sukhthanker et al. (2014) ได้ศึกษาสารสกัดหยาบด้วยเมทานอลจากใบสาบเสือในการฆ่าลูกน้ำยุงพบว่ามีประสิทธิภาพที่ดีในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* แต่ไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. stephensi* ต่อมา Rajmohan & Logankumar (2015) ได้นำสารสกัดหยาบด้วยอะซิโตนจากใบสาบเสือ *E. odorata* มาศึกษาประสิทธิภาพในการฆ่าไข่ยุง ลูกน้ำยุง และตัวเต็มวัยยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ภายใต้การทดสอบในห้องปฏิบัติการ พบว่าสามารถฆ่าลูกน้ำยุงระยะที่ 4 ได้ดี รองลงมาคือ ไข่ยุง ลูกน้ำยุงระยะที่ 1 และตัวเต็มวัย นอกจากนี้ Reagan et al. (2015) ศึกษาสารสกัดหยาบด้วยเมทานอล เอทิลอะซิเตทและเฮกเซนจากสาบเสือในการฆ่าไข่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* พบว่ามีประสิทธิภาพน้อยในการฆ่าไข่ยุง ในประเทศจีน Liu & Liu (2014) ได้ศึกษาน้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือดินไม่มีรากจากสาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) ในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. albopictus* พบว่าน้ำมันหอมระเหยสามารถฆ่าลูกน้ำยุงได้ดีและพบสารออกฤทธิ์ในน้ำมันหอมระเหยคือ Precocene I และ Precocene II นอกจากนี้ Udebuani et al.

(2015) ศึกษาสารออกฤทธิ์ในสาบเสือ คือ Saponin และ Tannin ในการฆ่าด้งแมลงสาบ (*Periplaneta americana*)

จากรายงานวิจัยของสาบเสือที่ผ่านมาชี้ให้เห็นว่าสารสกัดหยาบสาบเสือที่สกัดด้วยน้ำ เมทานอลและเอทานอลเหมาะสมในการฆ่าลูกน้ำยุงและไล่ยุงได้ดี รวมทั้งรายงานวิจัยอื่นพบว่าส่วนใหญ่น้ำมันหอมระเหยจากใบของสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงและไล่ยุง นอกจากนี้จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าพืชสาบเสือจากแหล่งต่างก็มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงต่างกันและส่วนของใบและรากมีองค์ประกอบของสารที่พบในสารสกัดหยาบ สำหรับฤทธิ์น้ำมันหอมระเหยสาบเสือในการฆ่าลูกน้ำยุงและไล่ยุงยังไม่มีรายงาน สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีรายงานการศึกษาพืชสาบเสือในการฆ่าลูกน้ำยุงและป้องกันการกัดของยุง แต่จากข้อมูลภูมิปัญญาท้องถิ่นของประเทศไทยพบว่าสาบเสือเป็นหนึ่งในพืชหลายชนิดที่ชาวบ้านนำมาใช้ป้องกันแมลงและปราบศัตรูพืช (Soonwera, 1994) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีแนวความคิดที่จะใช้สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ เอทานอล และเมทานอล และสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบ ลำต้น และรากสาบเสือ เพื่อทดสอบฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำและไล่ยุง 3 ชนิด คือ ยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ที่พบในประเทศไทย รวมทั้งศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยสาบเสือ ทั้งนี้เพื่อเป็นการส่งเสริมการใช้สมุนไพรในท้องถิ่นที่มีอยู่จำนวนมากและอีกทั้งยังเป็นการนำพืชพื้นบ้านมาใช้ให้เกิดประโยชน์และพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อลดต้นทุนการนำเข้าสารเคมีสังเคราะห์ที่เป็นผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมและเกิดการต้านทานสารเคมี

วัตถุประสงค์การวิจัย

ศึกษาฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำและไล่ยุงลาย ยุงรำคาญและยุงก้นปล่องและพฤษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยสาบเสือ

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างสาบเสือ

ตัวอย่างต้นสาบเสือได้จากบริเวณป่าสวนยาง ต.นาวัง อ.เมือง จ.อำนาจเจริญ ลักษณะตัวอย่างที่เก็บเป็นต้นสาบเสือที่เจริญเติบโตมากที่สุดมีความสูงมากกว่า 100 เซนติเมตร โดยนำตัวอย่างสาบเสือไปตรวจสอบชนิดของพันธุ์พืชเปรียบเทียบกับตัวอย่างของสำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืชว่าตรงกับสาบเสือหมายเลข BKF No.154702 (SN 163789) จากนั้นทำการแยกออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ใบ ต้น และราก นำมาล้างให้สะอาดนำมาผึ่งลมเป็นเวลา 1-2 วัน ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 1- 5 เซนติเมตร และอบในตู้อบ (Memmert, Germany) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน นำส่วนใบสาบเสือที่อบแล้วไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ ส่วนของลำต้นและรากจะนำไปบดด้วยเครื่องบด Wiley Mill (Model 4 3375E15, Thomas scientific, U.S.A.) เก็บตัวอย่างใบสาบเสือที่ผ่านการอบและบดแล้วในถุงซิปล็อคให้เพียงพอต่อการสกัดสารสกัดหยาบต่อไป

2. การสกัดสารจากสาบเสือด้วยการหมัก

ใช้ผงบดละเอียดต้นสาบเสือ จากส่วนลำต้น ใบ และรากมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ น้ำ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และเมทานอลในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรเป็นเวลา 3 วัน เพื่อให้สารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของพืชถูกชะออกมากับตัวทำละลาย กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อแยกกากออกและเก็บส่วนของสารละลายที่ผ่านกระดาษกรอง นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary Evaporator (Model R-210, BÜCHI, U.S.A.) ทำการสกัดตัวอย่างละ 3 ชั่วโมง นำสารสกัดหยาบทั้งหมดไปทำให้แห้งด้วย Freezer Dryer (CoolSafe DK-3450, Denmark) จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างที่ผ่านการระเหยแห้งไปชั่งน้ำหนัก แล้วนำไปคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิต เก็บในขวดสีชาที่สะอาดและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ศึกษาต่อไป

3. การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากสบู่ (ดัดแปลงจาก Félicien et al., 2012)

นำแต่ละส่วนสบู่ที่ผึ่งลมและแห้งให้เป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 1 เซนติเมตร ปริมาณ 200 กรัม เติมน้ำ 500 มิลลิลิตร ทำการกลั่นโดยต้มกับน้ำ เมื่อน้ำและน้ำมันหอมระเหยระเหยขึ้นไปถึง Condenser จะกลั่นตัว แล้วจึงนำของเหลวที่ได้ไปแยกน้ำมันหอมระเหยจากชั้นน้ำ เครื่องมือที่ใช้คือ Cleveaneaur's Apparatus นาน 10 ชั่วโมง ทำการดึงน้ำส่วนเกินออกจากรังน้ำมันหอมระเหยด้วย Na_2SO_4 จากนั้นเก็บในขวดสีชาที่ 10 องศาเซลเซียสเพื่อนำไปใช้ศึกษาต่อไป

4. การตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบ

นำสารสกัดหยาบทั้งหมด 9 ตัวอย่าง จากสารสกัดหยาบด้วยน้ำ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และเมทานอลจากใบ ต้น และรากสบู่ มาตรฐานขององค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นตามวิธีของ Harborne (1973) จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ Alkaloids Saponins Tannins และ Flavonoids

4.1 Alkaloids

เตรียมสารสกัดหยาบสบู่แต่ละชนิดปริมาณ 0.2 กรัม ละลายในกรด H_2SO_4 เข้มข้น 2N ปริมาตร 15 มิลลิลิตร นำไปอุ่นนาน 2-3 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 rpm นาน 10 นาที นำสารละลายที่ได้มา 1 มิลลิลิตร เพื่อทดสอบ Alkaloids โดยการหยดน้ำยาทดสอบ Mayer's Reagent จำนวน 2 หยด สังเกตตะกอนสีเหลืองที่เกิดขึ้น ถ้ามีตะกอนสีเหลืองเกิดขึ้นแสดงมี Alkaloids ในสารสกัดหยาบสบู่

4.2 Saponins

เตรียมสารสกัดหยาบสบู่แต่ละชนิดปริมาณ 0.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2-3 มิลลิลิตร ทำการเขย่าแรงๆ สังเกตฟองที่เกิดขึ้นนาน 30 นาที ถ้ามีฟองเกิดขึ้นแสดงมี Saponins ในสารสกัดหยาบสบู่

4.3 Tannins

เตรียมสารสกัดหยาบสบู่แต่ละชนิดปริมาณ 0.2 กรัม ละลายในเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทำการทดสอบสาร Tannins โดยหยดสารละลาย Ferrous Chloride เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 5 หยด สังเกตสีของสารละลายที่เกิดขึ้นจะมีสีเขียวดำ หรือ น้ำเงินดำแสดงว่ามี Tannins ในสารสกัดหยาบสบู่

4.4 Flavonoids

เตรียมสารสกัดหยาบสบู่แต่ละชนิดปริมาณ 0.2 กรัม ละลายในเอทานอล 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร จากนั้นเติมผงแมกนีเซียม 0.1 มิลลิกรัม และนำไปต้มให้ละลาย ทำการทดสอบสาร Flavonoids โดยหยดกรด HCl เข้มข้น จำนวน 5 หยด สังเกตสีของสารละลายที่เกิดขึ้นจะมีสีเหลืองถึงสีแดง ถ้ามีสีเหลืองถึงสีแดงแสดงว่ามี Flavonoids ในสารสกัดหยาบสบู่

5. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยสบู่ต่อการฆ่าลูกน้ำยุง

5.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

ชนิดของลูกน้ำยุงซึ่งเป็นลูกน้ำยุงในระยะ 3 ถึง 4 ที่ใช้ในการวิจัย ได้แก่ ยุงลายบ้าน *Ae. Aegypti* ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงก้นปล่อง *An. dirus* B โดยได้รับการสนับสนุนจากงานสนับสนุนกีฏวิทยา ฝ่ายพิพิธภัณฑสถานและอนุกรมวิธานและสนับสนุนงานกีฏวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข นำไข่ยุงแต่ละชนิดติดบนกระดาษกรองลงฟักในภาดพลาสติก ใช้ระยะเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นไข่จะเริ่มฟักเป็นลูกน้ำยุงระยะที่ 1 เริ่มให้อาหารหนูปดละเอียด และเลี้ยงลูกน้ำยุงลายต่อที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลาประมาณ 4-5 วัน ยุงรำคาญเลี้ยงนาน 6-10 วัน และยุงก้นปล่องเลี้ยงนาน 8-10 วัน จะได้ลูกน้ำยุงระยะที่ 3 ถึงระยะที่ 4 สามารถนำไปใช้ทดลองได้ โดยแบ่งเป็นกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองกลุ่มละ 20 ตัว ในแต่ละระดับความเข้มข้นของการทดสอบ

5.2 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดลูกน้ำยุง (Larvicidal Activity)

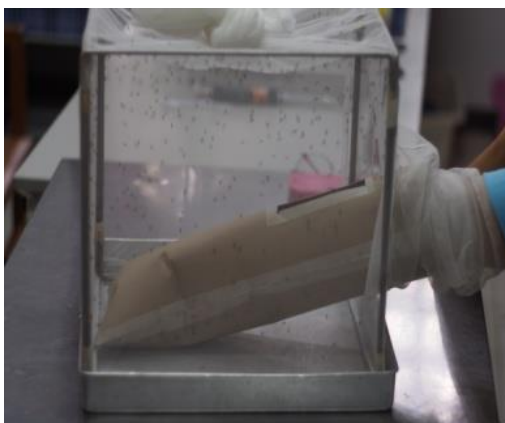
ดัดแปลงตามวิธีทดสอบของ WHO (2005) และ Rahuman et al., 2000 เตรียมสารทดสอบจาก สารสกัดหยาบสาบเสือโดยละลายใน Dimethyl Sulfoxide (DMSO) ให้ได้ความเข้มข้น 250 500 1,000 และ 1,500 ppm จากนั้นนำสารละลายสาบเสือแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 100 มิลลิลิตรและเติมน้ำกลั่นอีก 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในแก้วพลาสติกขนาดความจุ 450 มิลลิลิตร คนสารละลายให้เข้ากัน ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ควบคุมสภาวะแวดล้อมของการทดลองที่อุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75-85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเติมน้ำยุงระยะ 3 หรือ 4 จำนวน 20 ตัว บันทึกผลจำนวนการตายของลูกน้ำยุงหลังจาก 24 48 72 และ 96 ชั่วโมงของการทดสอบ รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุง วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การตาย (Percentage Mortality)} = \frac{\text{จำนวนลูกน้ำยุงที่ตาย} \times 100}{\text{จำนวนลูกน้ำยุงทั้งหมด}}$$

ในการทดลองนี้มีกลุ่มควบคุมเชิงลบคือ สารละลาย DMSO 20 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มควบคุมเชิงบวกคือ ทรายอะเบท (Abate®, Government Pharmaceutical Organization, GPO) ในแต่ละกลุ่มการทดสอบจะแบ่งออกเป็น 4 ชุด เพื่อให้ลูกน้ำยุงที่ต้องการทดสอบเท่ากับ 100 ตัวต่อกลุ่ม นำผลจำนวนการตายของลูกน้ำยุงไปประเมินฤทธิ์ของสารสกัดหยาบโดยหาค่า 50 (Lethal Concentration, LC_{50}) คำนวณหาปริมาณสารทดสอบที่ทำให้ลูกน้ำยุงตายลดลงครึ่งหนึ่ง (50 เปอร์เซ็นต์) โดยใช้ Probit Analysis

6. การทดสอบประสิทธิภาพการไล่ยุงของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยสาบเสือ

ใช้วิธีทดสอบตามมาตรฐานการทดสอบการไล่ยุงในห้องปฏิบัติการของฝ่ายชีววิทยาและนิเวศวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข โดยใช้เทคนิคการใช้คนเป็นเหยื่อล่อให้ยุงกัด (Human-Bait Technique) ซึ่งขั้นตอนการปฏิบัติเกี่ยวกับความเสี่ยง/อันตรายที่เกิดจากการทดสอบให้เป็นไปตามมาตรฐาน SOP 13-02-423 สำหรับยุงกลางคืน และ SOP 13-02-336 สำหรับยุงกลางวัน ภายใต้มาตรฐานห้องปฏิบัติการ ISO 17025:2005 ที่ใช้สำหรับการวิจัยหรือการขอขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์กับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา โดยใช้อาสาสมัครจำนวน 6 คนที่มีอายุในช่วง 25-60 ซึ่งเป็นอาสาสมัครภายใต้การทดสอบของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ใช้ห้องทดสอบขนาด 6X6X3 เมตร อุณหภูมิ 24-28 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-80 เปอร์เซ็นต์ ให้แสงสว่างในการทดสอบประสิทธิภาพของสารทดสอบในการไล่ยุงในห้องปฏิบัติการจะแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของยุงโดยยุงกัดกลางวัน ได้แก่ ยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ให้แสงสว่าง 200-300 Lux และยุงกลางคืน ได้แก่ ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ให้แสงสว่าง 5-10 Lux ก่อนการทดสอบอาสาสมัครทุกคนต้องล้างมือและแขนให้สะอาดด้วยน้ำประปาและผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดแล้วเช็ดให้แห้งสนิท กำหนดให้แขนข้างหนึ่งเป็นแขนควบคุมที่ไม่ทาสารทดสอบและแขนอีกข้างเป็นแขนทดสอบ ทำการเจาะถุงมือผ้าให้มีพื้นที่ 3 X 10 ตารางเซนติเมตร อาสาสมัครสวมถุงมือที่มีช่องเปิด นำสารทดสอบแต่ละชนิดปริมาตร 100 μ l ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ทาสารทดสอบบนผิวหนังที่หน้าแขนของอาสาสมัครให้ทั่วพื้นที่ที่เจาะช่องไว้ (ความเข้มข้นของสาร คือ 0.60 mg/cm²) จากนั้นยื่นแขนเข้าไปในกรงที่มียุงตัวเต็มวัยเพศเมียยังไม่กินเลือดจำนวน 250 ตัวต่อกรง แต่ละข้างให้ยุงกัดจนครบ 2 ตัว และเอาแขนออก ยื่นแขนควบคุมจะยื่นเข้าไปในกรงทดสอบนานครั้งละ 1 นาที ถ้าไม่มียุงกัดให้เอาออก ระยะเวลาในการป้องกันยุงกัด (Protection Time) ของสารทดสอบคือ ระยะเวลาตั้งแต่ที่เริ่มยื่นแขนเข้าไปในกรงจนถึงที่มียุงบินมากัดตัวที่ 2 ในบริเวณที่ทาสารทดสอบ การที่ยุงตัวที่ 2 บินมากัดได้แสดงว่าสารทดสอบมีประสิทธิภาพในการป้องกันยุง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ กลุ่มควบคุมเชิงลบ คือ สารละลายแอลกอฮอล์ 20 เปอร์เซ็นต์ และเป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก คือ IR3535 สารป้องกันยุงที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานป้องกันการกัดของยุงลายบ้านได้ไม่น้อยกว่า 2 ชั่วโมง (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารต่อการปล่อย

7. การตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยสาบเสือ

วิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยใบสาบเสือโดยใช้เครื่อง GC-MS (Agilent Technology Model 6890 N, Quadrupole Mass Selective Detector Model 5973 Inert) แยกด้วยคอลัมน์ HP-5MS (30 X 0.25 มิลลิเมตร, Film Thickness 0.25 μm) อุณหภูมิของคอลัมน์ที่ใช้ คือ 50 ถึง 230 องศาเซลเซียส และ 4 องศาเซลเซียสต่อนาที Detector ที่ใช้คือ Model 5973 Inert ใช้แก๊ส Helium เป็นตัวพาที่ความดัน 11.01 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ไหล 1.2 มิลลิเมตรต่อนาที และความหนืด 40 เซนติเมตรต่อวินาที อุณหภูมิในการฉีด 230 องศาเซลเซียส ปริมาตรที่ใช้ในการฉีดเท่ากับ 0.1 มิลลิเมตร โดยเตรียมสารละลายตัวอย่าง 1 เปอร์เซ็นต์ ใน n-Hexane ตั้งค่า Split Ratio ที่อัตราส่วน 20:1

8. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย วิธี LDS Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัย

1. การสกัดสารสกัดหยาบสาบเสือ

จากผลการสกัดสารโดยวิธีการหมักจากส่วนของพืช 3 ส่วน คือ ใบ ต้น และราก ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ น้ำ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และ เมทานอล พบว่า สารสกัดหยาบจากใบมีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตมากกว่า ส่วนลำต้นและรากจากการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลพบว่าสารสกัดหยาบจากใบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสารสกัดเท่ากับ 29.19 ± 2.71 มากกว่าตัวทำละลายน้ำและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารสกัดหยาบจากลำต้นและรากที่สกัดด้วยน้ำจะให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตมากกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์และเมทานอลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลผลิตจากการสกัดสารสกัดหยาบจากใบ ลำต้น และรากสาบเสือด้วยการหมักจากตัวทำละลาย 3 ชนิด

Plant parts	Solvents	Yield (% w/w)
Leaf	Water	19.49±0.68 ^{Ab}
	Ethanol	19.64±1.08 ^{Ab}
	Methanol	29.19±2.71 ^{Aa}
Stem	Water	11.04±0.23 ^{Bc}
	Ethanol	6.25±0.15 ^{Be}
	Methanol	8.89±0.15 ^{Bd}
Root	Water	9.04±0.58 ^{Cd}
	Ethanol	4.43±0.30 ^{Cf}
	Methanol	6.70±0.30 ^{Ce}

หมายเหตุ: มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95เปอร์เซ็นต์ (Alpha = 0.05) โดยใช้สถิติ LSD โดยตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างส่วนของพืช; ตัวอักษรพิมพ์เล็กเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชนิดของตัวทำละลายโดยใช้สถิติ LSD

2. สารสกัดน้ำมันหอมระเหยสาบเสือ

จากการนำส่วนของสาบเสือ ได้แก่ ใบ ลำต้น และรากมากลั่นด้วย Water Distillation พบว่าการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือให้ผลผลิตสูงที่สุดเท่ากับ 0.25 ± 0.015 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ลำต้น และรากเท่ากับ 0.16 ± 0.017 และ 0.002 ± 0.001 เปอร์เซ็นต์ (v/w) ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ผลผลิตน้ำมันหอมระเหยจากใบ ลำต้น และ รากสาบเสือ

Plant parts	Yield (% v/w)
Leaf	0.25±0.015
Stem	0.16±0.017
Root	0.002±0.001

3. พฤษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบ

จากการตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบสาบเสือที่สกัดด้วยตัวทำละลาย น้ำ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และเมทานอล จากใบ ลำต้น และราก พบว่าสารที่พบในสาบเสือปริมาณมากคือ Tannins รองลงมาคือ Flavonoids และ Saponins ซึ่งสารสกัดหยาบที่พบสารทั้ง 3 ชนิด คือ สารสกัดหยาบด้วยน้ำจากรากสาบเสือ สารสกัดหยาบที่พบสารทั้ง Tannins และ Saponins คือ สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลและเมทานอลจากใบสาบเสือ แต่สาร Alkaloids จะพบปริมาณมากเมื่อสกัดด้วยเอทานอลจากใบสาบเสือเท่านั้น (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 พืชเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลาย น้ำ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และเมทานอลจาก ใบ ลำต้น และ รากสาบเสือ

Plant parts	Solvents	Alkaloids	Saponins	Tannins	Flavonoids
Leaf	Water	+	-	++	++
	Ethanol	++	++	++	+
	Methanol	+	++	++	+
Stem	Water	+	+	++	++
	Ethanol	+	+	+	+
	Methanol	+	-	+	-
Root	Water	+	++	++	++
	Ethanol	+	-	+	+
	Methanol	+	+	+	++

หมายเหตุ: + = มีปริมาณน้อย; ++ = มีปริมาณปานกลาง; +++ = มีปริมาณมาก

4.ฤทธิ์สารสกัดหยาบสาบเสือต่อการฆ่าลูกน้ำยุงและไลยุง

4.1 ฤทธิ์สารสกัดหยาบสาบเสือต่อการฆ่าลูกน้ำยุง

จากผลการศึกษาฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ภายใต้ห้องปฏิบัติการของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และเมทานอลจากใบ ลำต้น และรากของสาบเสือที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 500 และ 1000 ppm พบว่าสารสกัดหยาบความเข้มข้น 500 ppm ที่มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลานาน 24 ชั่วโมง โดยให้ค่า LC_{50} ของสารสกัดในการฆ่าลูกน้ำยุงมีฤทธิ์ปานกลางในการฆ่ายุงก้นปล่อง *An. dirus* B เนื่องจากให้ค่า LC_{50} เท่ากัน คือ 396.78 ppm เช่น สารสกัดหยาบด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ จากใบ ลำต้น และรากสาบเสือ และสารสกัดหยาบด้วยเมทานอลจากลำต้นสาบเสือ สำหรับฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* พบว่า สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากรากสาบเสือมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงได้ในระดับปานกลาง (397.09 ppm) (ตารางที่ 4 และ 5) จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารสกัดสาบเสือมีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงแต่ละชนิดได้แตกต่างกันขึ้นกับ ชนิดตัวทำละลายและส่วนของสาบเสือที่ใช้ในการสกัด สารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ฆ่ายุงได้บ้างคือ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอลในทั้ง 3 ส่วนของพืช

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. dirus* B จากการใช้สารสกัดหยาบสาบเสือเป็นเวลานาน 24 และ 48 ชั่วโมง

Plant parts	Extraction solvents	Concentrations (ppm)	<i>Ae. aegypti</i>		<i>Cx. quinquefasciatus</i>		<i>An. dirus</i> B	
			Mortality (%)		Mortality (%)		Mortality (%)	
			24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
Leaf	Water	500	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d
		1000	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d
	Ethanol	500	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^f	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a
		1000	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^f	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a
	Methanol	500	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^f	51.70±2.89 ^c	51.70±2.89 ^c
		1000	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^f	63.30±5.77 ^b	63.30±5.77 ^b
Stem	Water	500	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d
		1000	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d
	Ethanol	500	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	31.67±5.77 ^{e*}	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a
		1000	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	26.67±2.89 ^d	38.33±2.89 ^d	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a
	Methanol	500	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	51.66±2.89 ^{c*}	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a
		1000	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	51.66±2.89 ^{c*}	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a

Plant parts	Extraction solvents	Concentrations (ppm)	<i>Ae. aegypti</i>		<i>Cx. quinquefasciatus</i>		<i>An. dirus</i> B	
			Mortality (%)		Mortality (%)		Mortality (%)	
			24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
Root	Water	1000	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	63.33±5.77 ^c	63.30±5.77 ^b	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a
		500	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d
		1000	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d
	Ethanol	500	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	53.33±5.77 ^b	50.46±9.31 ^c	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a
		1000	0.00±0.00 ^a	56.67±5.77 ^{b*}	76.67±2.89 ^a	76.67±2.89 ^a	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a
	Methanol	500	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^f	51.70±0.96 ^c	51.70±0.96 ^c
		1000	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^f	65.00±2.89 ^b	65.00±2.89 ^b
	100µL DMSO		0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
	Abate®	20	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00

หมายเหตุ: มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (Alpha = 0.05) โดยใช้สถิติ LSD โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กเปรียบเทียบความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงระหว่างชนิดของสารสกัดหยาบทั้ง 9 ชนิดในแต่ละชนิดของยุง; *, เปรียบเทียบความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงระหว่างชั่วโมงที่ 24 และ 48 ในแต่ละชนิดสารสกัดหยาบและแต่ละชนิดของยุง โดยใช้สถิติ t-test

ตารางที่ 5 อัตราการตาย 50 เปอร์เซนต์ ของลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. dirus* B จากการใช้สารสกัดหยาบสาบเสือเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

Plant parts	Extraction solvents	LC ₅₀ (ppm)		
		<i>Ae. aegypti</i>	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	<i>An. dirus</i> B
Leaf	Water	IA	IA	IA
	Ethanol	IA	IA	396.78
	Methanol	IA	IA	654.54
Stem	Water	IA	IA	IA
	Ethanol	IA	IA	396.78
	Methanol	IA	491.16	396.78
Root	Water	IA	IA	IA
	Ethanol	IA	397.09	396.78
	Methanol	IA	IA	633.82
	100µL DMSO	IA	IA	IA
	100µL Abate®	< 20	< 20	< 20

หมายเหตุ: LC₅₀ (Lethal Concentration) of Mortality: Active (A) = LC₅₀ 1-200 ppm, Moderate (M) = LC₅₀ 201-400 ppm, Inactive (IA) = >400 ppm

4.2.ฤทธิ์สารสกัดหยาบสาบเสือในการไล่ยุง

จากผลการศึกษาฤทธิ์ในการป้องกันการกัดของยุงทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเมทานอลจากใบและต้นสาบเสือเข้มข้น 0.60 mg/cm² มีฤทธิ์ปานกลางในการป้องกันยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้นาน 50.57 ± 1.33 และ 52.63 ± 2.49 นาทีตามลำดับอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ สารสกัดหยาบสาบเสืออื่นสามารถป้องกันยุงกัดได้ในช่วง 4.18 ± 0.28 ถึง 47.03 ± 1.97 นาที ซึ่งต่ำกว่า 50 นาที จึงถือว่าไม่มีฤทธิ์ในการป้องกันยุงกัด (ตารางที่ 6) และสารสกัดหยาบสาบเสือไม่มีฤทธิ์ในการป้องกันยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* และยุงก้นปล่อง *An. dirus* B

5.ฤทธิ์น้ำมันหอมระเหยจากใบเสี้ยนต่อการฆ่าลูกน้ำยุงและไล่ยุง

5.1 ฤทธิ์น้ำมันหอมระเหยจากใบเสี้ยนต่อการฆ่าลูกน้ำยุง

จากการศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากใบเสี้ยนในการฆ่าลูกน้ำยุง พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบเสี้ยนมีฤทธิ์ปานกลางในการฆ่าลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. dirus* B (LC₅₀ เท่ากับ 365.28 ppm) และไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* (LC₅₀ เท่ากับ 519.53 ppm) และลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* (LC₅₀ เท่ากับ 1,015.25 ppm) โดยพบว่าไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงทั้ง 3 ชนิดน้อยกว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอม นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยจากลำต้นและรากใบเสี้ยนก็ไม่มีฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำยุงทั้ง 3 ชนิด (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 6 ฤทธิ์การไล่ยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และ ยุงก้นปล่อง *An. dirus* B จากสารสกัดหยาบจากใบเสี้ยนที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 0.60 mg/cm² ของพื้นที่

Plant parts	Extraction solvents	Protection time (min)		
		<i>Ae. aegypti</i>	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	<i>An. dirus</i> B
Leaf	Water	21.50 ± 1.03 ^{bb}	47.03 ± 1.97 ^{ba}	42.07 ± 5.49 ^{aa}
	Ethanol	4.18 ± 0.28 ^{ec}	27.27 ± 2.09 ^{cdB}	35.03 ± 3.28 ^{abA}
	Methanol	13.17 ± 1.96 ^{cdC}	50.57 ± 1.33 ^{abA}	30.16 ± 4.04 ^{bcB}
Stem	Water	14.97 ± 1.57 ^{cb}	26.76 ± 1.25 ^{cdA}	24.27 ± 3.08 ^{cdA}
	Ethanol	27.23 ± 3.83 ^{ab}	27.27 ± 3.82 ^{cdB}	36.49 ± 3.75 ^{abA}
	Methanol	19.73 ± 3.11 ^{bcB}	52.63 ± 2.49 ^{aa}	27.67 ± 5.95 ^{bcB}
Root	Water	10.73 ± 2.61 ^{dB}	29.57 ± 3.58 ^{ca}	17.27 ± 3.81 ^{dB}
	Ethanol	5.93 ± 1.04 ^{eb}	25.76 ± 2.49 ^{cdA}	27.63 ± 6.58 ^{bcA}
	Methanol	16.83 ± 1.31 ^{cb}	24.53 ± 2.87 ^{da}	11.6 ± 3.64 ^{dB}
	15 % IR3535 (0.45 mg/cm ²)	320 ± 70.36	255 ± 17.32	123.75 ± 4.79
	20 % Ethanol	0.14 ± 4.43	10.5 ± 1.54	4.1 ± 1.05

Repellent Activity: Active (A) = >100 min, Moderate (M) = 51-100 min, Inactive (IA) = 1-50 min

หมายเหตุ: มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (Alpha = 0.05) โดยใช้สถิติ LSD โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กเปรียบเทียบความแตกต่างของการไล่ยุงระหว่างชนิดของสารสกัดหยาบทั้ง 9 ชนิดในแต่ละชนิดของยุง; ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เปรียบเทียบความแตกต่างของการไล่ยุงระหว่างชนิดของยุงในแต่ละชนิดของสารสกัดหยาบทั้ง 9 ชนิดโดยใช้สถิติ LSD

ตารางที่ 7 ฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากใบเสี้ยนต่อการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. Aegypti* ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงก้นปล่อง *An. dirus* B

Essential Oil	LC ₅₀ (ppm)		
	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	<i>An. dirus</i> B
Leaf Oil	1,015.25	519.53	365.28
Stem Oil	0.00	0.00	0.00
Root Oil	0.00	0.00	0.00
20 % Citronella	188.17±7.19	73.15±3.90	25.14±1.56
20 % DMSO	0.00	0.00	0.00
Abate®	< 20	< 20	< 20

หมายเหตุ: LC₅₀ of mortality: Active (A) = LC₅₀ 1-200 ppm, Moderate (M) = LC₅₀ 201-400 ppm, Inactive (IA) = >400 ppm

5.2ฤทธิ์น้ำมันหอมระเหยสาบเสือในการไล่ยุง

จากการศึกษาฤทธิ์ไล่ยุงของน้ำมันหอมระเหยสาบเสือในการไล่ยุง พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือมีฤทธิ์ในด้านการป้องกันการกัดของยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ยุงก้นปล่อง *An. dirus* B และ ยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* เนื่องจากสามารถป้องกันการกัดของยุงได้นาน 107.67 ± 3.72 , 95.00 ± 3.28 และ 83.0 ± 9.85 นาทีที่ความเข้มข้น 0.60 mg/cm^2 อย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยสาบเสือจากส่วนลำต้นและรากไม่มีประสิทธิภาพในการป้องกันการกัดของยุงทั้ง 3 ชนิด (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยสาบเสือต่อการไล่ยุงลายบ้าน *Ae. Aegypti* ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และ ยุงก้นปล่อง *An. dirus* B

Essential oil	Protection time (min)		
	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	<i>An. dirus</i> B
20 % Leaf (0.60 mg/cm^2)	$82.04 \pm 3.16^{\text{aA}}$	$107.67 \pm 3.72^{\text{aA}}$	$95.00 \pm 3.28^{\text{aA}}$
20 % Stem (0.60 mg/cm^2)	$0.00 \pm 0.00^{\text{bB}}$	$0.00 \pm 0.00^{\text{bB}}$	$0.00 \pm 0.00^{\text{bB}}$
20 % Root (0.60 mg/cm^2)	$0.00 \pm 0.00^{\text{bB}}$	$0.00 \pm 0.00^{\text{bB}}$	$0.00 \pm 0.00^{\text{bB}}$
20 % Citronella	$60.5 \pm 4.88^{\text{cA}}$	$101.19 \pm 5.74^{\text{cA}}$	$78.14 \pm 1.43^{\text{cA}}$
20 % Ethanol (0.60 mg/cm^2)	0.14 ± 0.04	10.50 ± 1.51	4.03 ± 0.95
15 % IR3535	320.33 ± 3.05 (IR3535, 0.45 mg/cm^2)	255.02 ± 2.66 (IR3535, 0.45 mg/cm^2)	123.75 ± 3.59 (IR3535, 0.45 mg/cm^2)

Repellent Activity: Active (A) = >100 min, Moderate (M) = 51-100 min, Inactive (IA) = 1-50 min

หมายเหตุ: มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (Alpha = 0.05) โดยใช้สถิติ LDS โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กเปรียบเทียบความแตกต่างของการไล่ยุงระหว่างชนิดของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 9 ชนิดในแต่ละชนิดของยุง; ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เปรียบเทียบความแตกต่างของการไล่ยุงระหว่างชนิดของยุงในแต่ละชนิดของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 9 ชนิดโดยใช้สถิติ LDS

6. องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจะวิเคราะห์เฉพาะใบสาบเสือเนื่องจากเป็นส่วนของสาบเสือที่มีฤทธิ์ในการป้องกันยุงกัดในขณะที่ลำต้นและรากสาบเสือไม่มีฤทธิ์ในการป้องกันยุงกัด จากตารางที่ 9 พบว่า องค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่พบจากใบสาบเสือ คือ Caryophyllene Oxide (7.95 เปอร์เซ็นต์) *t*-muurolol (5.59 เปอร์เซ็นต์) Humulene Epoxide (3.92 เปอร์เซ็นต์) และ Caryophyllenol III (2.30 เปอร์เซ็นต์)

ตารางที่ 9 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนใบสาบเสือ

Chemical composition (%)	Content (%)	Identification method
Pregeijerene	0.63	GC, MS
α -copaene	1.53	GC, MS
β -elemene	1.27	GC, MS
α -amorphene	1.02	GC, MS
α -muurolene	0.70	GC, MS
Calamenene	1.43	GC, MS
Elemol	2.66	GC, MS
Caryophyllene oxide	7.95	GC, MS
Veridifloxol	1.52	GC, MS
Humulene epoxide	3.92	GC, MS
Cadina-1,4-diene	1.51	GC, MS
β -patchoulene	1.51	GC, MS
Caryophylla-4(12),8(13)-dine-5-,beta-ol	1.43	GC, MS
β -cadinol	1.89	GC, MS
β -eudesmol	1.56	GC, MS
t-muurolol	5.59	GC, MS
caryphyllenol III	2.30	GC, MS

วิจารณ์ผลการวิจัย

1. การสกัดสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยสาบเสือ

จากการนำสาบเสือทั้ง 3 ส่วน คือใบ ลำต้นและรากมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด พบว่าส่วนใบของสาบเสือให้ปริมาณสารสกัดมากกว่าส่วนอื่นของพืชในทั้ง 3 ชนิดของตัวทำละลายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยพบว่าตัวทำละลายเมทานอลสามารถสกัดสารได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยน้ำและเอทานอลอย่างมีนัยทางสถิติ เนื่องจากตัวทำละลายเมทานอลนั้นเป็นสารที่มีขั้วสามารถสกัดสารที่มีขั้วได้ดี (Tiwari et al., 2011) และสอดคล้องกับรายงานของ Mondal et al. (2012) พบว่าสารสกัดใบสาบเสือที่สกัดด้วยตัวทำละลายกลุ่มแอลกอฮอล์ เช่น เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และเมทานอลให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสารสกัดมากกว่าน้ำ นอกจากนี้จากผลการวิจัยพบว่าในส่วนของลำต้นและรากสาบเสือเมื่อทำการสกัดด้วยน้ำจะให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเนื่องจากน้ำละลายองค์ประกอบของสารโมเลกุลใหญ่ที่ละลายน้ำได้ออกมา เช่น น้ำตาลและแป้ง เป็นต้น (Tiwari et al., 2011)

2. พืชเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบ

จากการตรวจสอบพืชเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบสาบเสือ พบว่าสารที่พบในสาบเสือปริมาณมากคือ Tannins รองลงมาคือ Flavonoids และ Saponins สารทั้ง 4 ชนิดได้แก่ Saponins Tannins Alkaloids และ Flavonoids พบในส่วนใบมากกว่าส่วนลำต้นและราก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Agaba et al. (2015) ที่พบว่าปริมาณสาร ได้แก่ Saponins Tannins Alkaloids และ Flavonoids มากในส่วนใบมากกว่าส่วนรากสาบเสือ สารสกัดหยาบที่พบสารทั้ง Tannins และ Saponins คือสารสกัดหยาบด้วยเมทานอลจากใบสาบเสือเนื่องจากสาร Tannin และ Saponins ละลายในสารที่มีขั้วได้ดี ได้แก่ เอทานอลและเมทานอล เป็นต้น (Tiwari et al., 2011)

แต่สาร Alkaloids พบปริมาณมากเมื่อสกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลจากใบสาบเสือเท่านั้น ในส่วนรากสาบเสือที่สกัดด้วยน้ำพบบสาร 3 ชนิด คือ Tannins Flavonoids และ Saponins ในปริมาณมากซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Tiwari et al. (2011) ซึ่งพบว่าน้ำสามารถสกัดได้ทั้งสาร Saponins Tannins และ Flavonoids จากสาบเสือ

3.ฤทธิ์สารสกัดหยาบสาบเสือในการฆ่าลูกน้ำยุงและไล่ยุง

จากผลการศึกษาฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำยุงพบว่าสารสกัดหยาบสาบเสือมีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงได้แตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับตัวทำละลายแต่ละชนิดและแต่ละส่วนของสาบเสือที่ใช้ในการศึกษา กล่าวคือ สารสกัดหยาบความเข้มข้น 500 ppm ที่มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงกันปล่อย *An. dirus* B ได้ร้อยละ 100 เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ได้แก่ สารสกัดหยาบด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์จากใบ ต้น และรากสาบเสือรวมทั้งสารสกัดหยาบด้วยเมทานอลจากต้นสาบเสือซึ่งเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงจากสารสกัดหยาบสาบเสือเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานก่อนหน้านี้พบว่าสูงกว่าสารสกัดหยาบมะตูม (*Aegle marmelos*) สารสกัดหยาบมะขวิด (*Limonia acidissima*) และสารสกัดหยาบสาบเสือจากประเทศอินเดียที่ความเข้มข้น 500 ppm ให้เปอร์เซ็นต์ฆ่าไข่ยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* และยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (Reegan et al., 2015) อย่างไรก็ตามสารสกัดหยาบรากสาบเสือที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์พบว่ามียุทธูปานกลางในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงกันปล่อย *An. dirus* B ให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 397.09 และ 396.78 ppm ตามลำดับ แต่ส่วนรากสาบเสือที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ให้ค่า LC_{50} ในการฆ่าลูกน้ำยุงดีกว่าสารสกัดอื่นๆของสาบเสือ นอกจากนี้ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ยังสามารถสกัดสารจากใบและต้นสาบเสือที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงกันปล่อย *An. dirus* B ได้ปานกลางแต่ไม่มีผลในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ซึ่งจากผลงานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์จากใบสาบเสือนั้นพบสารออกฤทธิ์ คือ สาร Tannins และรองลงมาคือ สาร Saponins Flavonoids และ Alkaloids จากรายงานของ Neetu et al. (2011) พบว่าสาร Saponins มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และในรากสาบเสือมี Tannins Saponins และ Alkaloids เป็นสารที่มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงได้เนื่องจากสาร Tannins เป็นสาร polyphenols ที่เป็นพิษกับสัตว์ขนาดเล็ก (Fatoki & Fawole, 2000) สาร saponins เป็นสารทุติยภูมิในพืชมีผลทำให้เม็ดเลือดแตก แย่นยับยั้งการทำงานของ DNA RNA และโปรตีนในสัตว์ (Fatoki & Fawole, 2000; Ibrahim & Srouf, 2013) นอกจากนี้ยังทำให้เซลล์เมมเบรนเกิดความเสียหายโดยทำให้เมมเบรนเป็นรู (Armah et al., 1999) และมีผลต่อลูกน้ำยุงคือทำให้ชั้น Cuticle ที่อยู่ผิวนอกถูกทำลายทำให้ลูกน้ำยุงตายได้ (Ghayal et al., 2010) สำหรับสาร Alkaloids เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่พบในพืชมีความเป็นพิษต่อแมลง (Fatoki & Fawole, 2000) นอกจากนี้สาร Alkaloids ทำหน้าที่ในการยับยั้งเอนไซม์ Protease (Wen et al., 2013) ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารสกัดหยาบสาบเสือจะมีความไวในการฆ่าลูกน้ำยุงกันปล่อย *An. dirus* B > ลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* > ลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ผลการวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับรายงานของ Reegan et al. (2015) ที่พบว่าสารสกัดหยาบสาบเสือจากประเทศอินเดียที่สกัดด้วยเมทานอลมีประสิทธิภาพในการฆ่าไข่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้ง่ายกว่าลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* แต่อย่างไรก็ตามจากผลการวิจัยแตกต่างจากรายงานของ Sukhthankar et al. (2014) พบว่าสารสกัดหยาบจากใบสาบเสือที่สกัดด้วยเมทานอลจากประเทศอินเดียมีฤทธิ์ดีในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* แต่ไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงกันปล่อย *An. dirus* B ทั้งนี้อาจมีผลมาจากแหล่งที่ปลูกสาบเสือ ลักษณะภูมิประเทศ และอายุการเก็บเกี่ยวของพืชแตกต่างกัน

ประสิทธิภาพในการไล่ยุงของสารสกัดหยาบสาบเสือพบว่าสารสกัดสาบเสือมีฤทธิ์ในการไล่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ยุงกันปล่อย *An. dirus* B และมีผลน้อยที่สุดกับยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ซึ่งผลการทดลองนี้แสดงว่ายุงต่างชนิดกันมีความไว (Susceptible) หรือต้านทาน (Resistance) ต่อสารสกัดสมุนไพรชนิดเดียวกันได้ต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Swathi et al. (2012) พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอลจากใบต้นลำโพงขาว (*Datura stramonium*) จากประเทศอินเดียมีฤทธิ์ในการไล่ยุงรำคาญ

Cx. quinquefasciatus ได้นานที่สุด (117.7 นาที) รองลงมาคือยุงก้นปล่อง *An. stephensi* และยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* นอกจากนี้จากผลการวิจัยยังพบว่าสารสกัดหยาบด้วยเมทานอลจากใบ (ไล่ได้นาน 50.57 ± 1.33 นาที) และต้น (ไล่ได้นาน 52.63 ± 2.49 นาที) มีประสิทธิภาพในการป้องกันการกัดของยุงได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากส่วนอื่น ซึ่งสอดคล้องกับผลพหุคูณเคมีที่พบสารกลุ่มออกฤทธิ์ต่อยุงในสารสกัดหยาบด้วยเมทานอลจากใบสาบเสือในปริมาณมากได้แก่ Saponins และ Tannins อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพสารสกัดหยาบสาบเสือในการไล่ยุงยังน้อยกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมไทย (Thailand Industrial Standards Institutes, TIST) ที่กำหนดให้เวลาที่ใช้ในการป้องกันการกัดของยุงต้องนานมากกว่า 2 ชั่วโมง (Thailand Industrial Standards Institutes, 2010) ทั้งนี้เนื่องจากเป็นสารจากธรรมชาติซึ่งพบน้อยมากที่สารธรรมชาติจะไล่ยุงได้นานถึง 2 ชั่วโมง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาสูตรเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

4. ฤทธิ์น้ำมันหอมระเหยสาบเสือในการฆ่าลูกน้ำยุงและไล่ยุง

จากงานวิจัยนี้ พบว่า ใบสาบเสือมีฤทธิ์ปานกลางในการฆ่าลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. dirus* B เนื่องจากให้ค่า LC₅₀ อยู่ในช่วง 201-400 ppm และไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. Aegypti* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรบางชนิดไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* เช่น ตะไคร้หอม (*Cymbopogon nardus*) สมุนไพรบางชนิดมีฤทธิ์ปานกลางในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* เช่น กระเพรา (*Ocimum canum*) และสมุนไพรส่วนใหญ่มีฤทธิ์ดีในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. Aegypti* เช่น ยูคาลิปตัส (*E. globulus*) ตะไคร้ (*C. flexuosus*) เป็นต้น (Tennyson et al., 2013) นอกจากนี้ยังมีสมุนไพรหลายชนิดที่มีฤทธิ์ดีในการฆ่าลูกน้ำยุง เช่น ส่วนเหนือดินไม่มีส่วนรากของสาบแ้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) จากประเทศจีน (Liu & Liu, 2014) น้ำมันอบเชย (*Cinnamomum verum*) กานพลู (*Myrtus caryophyllus*) ยูคาลิปตัส (*E. globulus*) น้ำมันมะนาว (*Citrus limon*) และส้มเขียว (*Citrus sinensis*) (Manimaran et al., 2012) เป็นต้น ซึ่งพืชสมุนไพรต่างพื้นที่กันจะมีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงต่างกัน จากรายงานของ Cheng et al. (2009) พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม (*C. nardus*) จากประเทศไต้หวันไม่มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงในขณะที่จากรายงานของ Manimaran et al. (2012) พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม (*C. nardus*) จากประเทศอินเดียมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำดีถึงปานกลาง

ฤทธิ์ไล่ยุงของน้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือพบว่ามียูคาลิปตัสดีในการไล่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* สามารถไล่ยุงได้นาน 1.8 ชั่วโมง (107.67 ± 3.72 นาที) ซึ่งใกล้เคียงกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมไทยที่กำหนดให้เวลาที่ใช้ในการป้องกันการกัดของยุงจะต้องป้องกันได้นานมากกว่า 2 ชั่วโมงสำหรับน้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือมีฤทธิ์ปานกลางในการป้องกันการกัดของยุงก้นปล่อง *An. dirus* B (ไล่ยุงได้นาน 95.00 ± 3.28 นาที) และยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* (ไล่ยุงได้นาน 82.04 ± 3.16 นาที) ที่ความเข้มข้น 0.60 mg/cm^2 ของพื้นผิว แสดงว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือมีประสิทธิภาพในการไล่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* > ยุงก้นปล่อง *An. dirus* B > ยุงลายบ้าน *Ae. Aegypti* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Amer & Mehlhorn (2006) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืช 41 ชนิดสามารถป้องกันการกัดของยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้นานที่สุด รองลงมาคือป้องกันการกัดของยุงก้นปล่อง *An. stephensi* และป้องกันการกัดของยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ได้น้อยที่สุด นอกจากนี้ผลของน้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือจะมีฤทธิ์ในการไล่ยุงทั้ง 3 ชนิดดีกว่าน้ำมันหอมระเหยพืชตระกูลส้มทั้ง 8 ชนิดของประเทศไทย (Soonwera, 2015) และมีฤทธิ์ใกล้เคียงกับน้ำมันหอมระเหยผกากรอง (*Lantana camara* L.) จากประเทศอินเดีย พบว่าสามารถป้องกันการกัดของยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ได้นาน 80 นาทีต่อความเข้มข้น 0.5 mg/cm^2 ของพื้นที่ (Bhargava et al., 2013) และจากผลการทดลองยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากลำต้นและรากสาบเสือไม่มีฤทธิ์ในการไล่ยุงทั้ง 3 ชนิดทั้งนี้อาจเนื่องจากมีรายงานว่าไม่พบองค์ประกอบของสาร *t-muurolool* และ Humulene Epoxide ในน้ำมันหอมระเหยจากส่วนใบ ลำต้นและรากสาบเสือจากประเทศไนจีเรียและอินเดีย นอกจากนี้ในส่วนของน้ำมันหอมระเหยจากรากสาบเสือยังพบ Caryophyllene ในปริมาณน้อยมาก แม้ว่าจะพบ Caryophyllene ในน้ำมันหอมระเหยส่วนลำต้นสาบเสือก็ตาม

(Félicien et al., 2012; Wognin et al., 2015; Owolabi et al., 2010; Olusegun & Musa, 2014; Joshi, 2013) ดังนั้นสาบเสือเป็นวัชพืชสมุนไพรไม่มีค่าแต่สามารถนำมาใช้ในการไล่ยุงได้ดีกว่าพืชสมุนไพรหลายชนิดจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถนำไปต่อยอดทำผลิตภัณฑ์ได้ต่อไป

5. องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

จากผลงานวิจัยพบว่าองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยใบสาบเสือที่มีฤทธิ์ในการป้องกันยุงกัด คือ Caryophyllene Oxide *t*-muurolol Humulene Epoxide และ Caryphyllenol III องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยทั้ง Caryophyllene และ Pregeijerene ที่พบในใบสาบเสือจะเหมือนกับที่พบในน้ำมันหอมระเหยสาบเสือที่พบจากส่วนเหนือดินไม่รวมส่วนรากของประเทศไทย (Pisutthanan et al., 2006) จากส่วนใบสาบเสือของประเทศไอวอรี (Touré et al., 2014) และประเทศไนจีเรีย (Owolabi et al., 2010) แต่ *t*-Muurolol และ Humulene Epoxide ไม่พบในน้ำมันหอมระเหยจากใบ ลำต้นและรากสาบเสือของประเทศเบนิน ไนจีเรีย ไอวอรี และอินเดีย (Félicien et al., 2012; Wognin et al., 2015; Owolabi et al., 2010; Olusegun & Musa, 2014; Joshi, 2013) นอกจากนี้สารประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยใบสาบเสือ ได้แก่ Caryophyllene oxide, *t*-Muurolol และ Humulene Epoxide มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำได้ปานกลางและมีฤทธิ์ไล่ยุงได้ดีซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Magalhães et al. (2010) ที่รายงานว่าสาร Caryophyllene Epoxide (ร้อยละ 40.91) และ Humulene Epoxide II (ร้อยละ 14.43) ที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากกิ่งกระต่อน (*G. humaitensis*) มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ได้ร้อยละ 100 ภายใน 24 ชั่วโมงและให้ค่า LC₅₀ เท่ากับ 48.6 ppm และรายงานของ Suleiman et al. (2014) รายงานว่าสาร β -caryophyllene Oxide ที่พบในน้ำมันหอมระเหยกระดังงาจีน 2 สายพันธุ์ คือ *Artabotrys hexapetalus* และ *Artabotry rupestris* มีฤทธิ์ไล่ยุง *Anopheles gambia* นอกจากนี้จากรายงานของ Adjalian et al. (2015) พบว่า Caryophyllene จากน้ำมันหอมระเหยบอนไซพรมน้ำมีฤทธิ์ไล่แมลงผีเสื้อข้าวเปลือก (*Sitotroga cerealella*) ได้

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดหยาบสาบเสือที่สกัดด้วย น้ำ เอทานอล และเมทานอล จากใบ ต้น และรากสาบเสือ พบว่าสารสกัดหยาบสาบเสือที่มีฤทธิ์ปานกลางในการฆ่าลูกน้ำยุงกันปล่อง *An. dirus* B และ ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้คือสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากราก สารสกัดหยาบสาบเสือที่เหมาะสมในการไล่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และพบ Tannins Saponins และ Alkaloids ในปริมาณมากคือ สารสกัดหยาบด้วยเมทานอลจากใบสาบเสือ นอกจากนั้นยังพบว่าสารสกัดหยาบสาบเสือจะมีความไวในการฆ่าลูกน้ำยุงกันปล่อง *An. dirus* B ได้มากกว่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ตามลำดับ

น้ำมันหอมระเหยสาบเสือมีฤทธิ์ปานกลางในการฆ่าลูกน้ำยุงกันปล่อง *An. dirus* B แต่ไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงลายบ้าน *Ae. Aegypti* แต่น้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือมีฤทธิ์ดีในการป้องกันการกัดของยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และมีฤทธิ์ปานกลางในการป้องกันการกัดของยุงกันปล่อง *An. dirus* B และยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ยิ่งไปกว่านั้นสารที่พบในสาบเสือที่ออกฤทธิ์ในการป้องกันยุงกัด ได้แก่ Caryophyllene Oxide *t*-Muurolol Humulene Epoxide และ Caryphyllenol III เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยพบว่าน้ำมันหอมระเหยมีศักยภาพในการป้องกันยุงกัดได้ดีกว่าและยังดีกว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอมที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ป้องกันยุงกัด ดังนั้นจากการทดสอบฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงและการป้องกันการกัดของยุงจากสาบเสือทั้งสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือเท่านั้นที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์กำจัดลูกน้ำยุงและผลิตภัณฑ์ไล่ยุงต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1. สามารถนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ไล่ยุง ให้เป็นทางเลือกหนึ่งกับผู้บริโภคในการเลือกใช้ และสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการไล่ยุงด้วยการผสมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น อาจจะได้ผลิตภัณฑ์ป้องกันยุงที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันยุงได้นานขึ้น ทำให้สะดวกในการใช้ และยังมีผลข้างเคียงน้อย เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ไล่ยุงที่มีคุณภาพและเป็นที่พึงพอใจของผู้บริโภค
2. จากการศึกษาฤทธิ์กำจัดลูกน้ำยุงทั้ง 3 ชนิด ด้วยสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่างๆของสาบเสือ พบว่า สารสกัดสาบเสือจะส่งผลให้เกิดปัญหาในเรื่องของสี กลิ่น คราบฝ้าและยังส่งผลให้น้ำเน่าเสีย ทำให้อาจจะไม่เป็นที่พึงประสงค์ของผู้บริโภคได้ถ้ามีการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์กำจัดลูกน้ำยุงต่อไปในอนาคต ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่หาแนวทางและวิธีแก้ไขปัญหาดังนี้ เพื่อให้เป็นที่พึงพอใจของผู้บริโภค
3. เนื่องจากประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสาบเสือมีฤทธิ์ต่อการกำจัดไล่ยุงน้อยกว่ามาตรฐานอุตสาหกรรมไทย ดังนั้นอาจเลือกใช้วิธีอื่นในการสกัดสารสกัดหยาบเพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต่อการกำจัดไล่ยุง

References

- Abdel-Rahman, A., Shetty, A.K. & Abou-Donia, M.B. (2001). Subchronic dermal application of N, N-diethyl m-toluamide (DEET) and permethrin to adult rat, alone or in combination, causes diffuse neuronal cell death and cytoskeletal abnormalities in the cerebral cortex and hippocampus, and Purkinje neuron loss in the cerebellum. *Experimental Neurology*, 172, 153 -171.
- Adjalien, E., Sessou, P., Odjo, T., Figueredo, G., Kossou, D., Avlessi, F., Menut, C. & Sohounhloué, D. (2015). Chemical composition and insecticidal and repellent effect of essential oils of two *Premna* species against *Sitotroga cerealella*. *Journal of Insects*, 2015, 1-6.
- Agaba, T.A., Fawole, B. & Claudius-Cole, A.O. (2015). Screening of siam weed (*Chromolaena odorata*) and african custard apple (*Annona senegalensis*) for nematicidal activity. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 5(14), 50-56.
- Alisi, C.S., Onyeze, G.O.C., Ojiako, O.A. & Osuagwa, C.G. (2011). Evaluation of the protective potential of *Chromolaena odorata* Linn. extract on carbon tetrachloride-induced oxidative liver damage. *International Journal of Biochemistry Research and Review*, 1(3), 69-81.
- Armah, C.N., Mackie, A.R., Roy, C., Price, K., Osbourn, A.E., Bowyer, P. & Ladha, S. (1999). The membranepermeabilizing effect of avenacin A-1 involves the reorganisation of bilayer cholesterol. *Biophysiology Journal*, 76, 281-290.
- Amer, A. & Mehlhorn, H. (2006). Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. *Parasitology Research*, 99, 478-490.
- Bhargava, S., Agrawal, D.D. & Agrawal, O.P. (2013). Repellent activity of essential oil and leaf extract of *Lantana camara* L. in laboratory condition. *International Journal of Theoretical and Applied Science*, 5(1), 170-174.
- Bureau of Epidemiology, Department of Disease Control Ministry of Public Health. (2016). Prediction of disease and health hazard surveillance in Thailand, 2016. *Weekly Epidemiological Surveillance Report*, 47(1), 1-8.

- Cheng, S-S., Huang, C-G., Chen, Y-J., Yu, J-J., Chen, W-J., & Chang, S-T. (2009). Compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species. *Bioresource technology*, 100, 452-456.
- Choochote, W., Tuetun, B., Kanjanapothi, D., Rattanachanpichai, E., Chaithong, U., Chaiwong, P., Jitpakdi, A., Tippawangkosol, P., Riyong, D. & Pitasawat, B. (2004). Potential of crude seed extract of celery, *Apium graveolens* L., against the mosquito *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology*, 29(2), 340-346.
- Félicien, A., Alain, A.G., Sébastien, D.T., Fidele, T., Boniface, Y. & Chantal, M. (2012). Chemical composition and biological activities of the essential oil extracted from the fresh leaves of *Chromolaena odorata* (L. Robinson) growing in Benin. *ISCA Journal of Biological Sciences*, 1(3), 7-13.
- Fatoki, O. K. & Fawole, B. 2000. Identification of nematicidal ingredients from neem leaves, siam weed leaves and roots. *African Journal of Plant Protection*, 10, 33-38.
- Ghayal, N., Padhye, A. & Dhumal, K. (2010). Larvicidal activity of invasive weeds *Cassia uniflora* and *Synedrella nodiflora*. *International Journal of Pharma and BioSciences*, 1(3), 1-10.
- Harborne, J.B. (1973). *Phytochemical Methods*. London: Chapman and Hall.
- Ibrahim, M.A.R. & Srour, H.A.M. (2013). Saponins suppress nematode cholesterolbiosynthesis and inhibit root-knot nematode development in tomato seedlings. *Natural Products Chemistry and Research*, 2(1), 1-6.
- Joshi, R.K. (2013). Chemical composition of the essential oils of aerial parts and flowers of *Chromolaena odorata* (L.) R. M. King & H. Rob. from Western Ghats Region of North West Karnataka, India. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(1), 71-75.
- Kamaraj, C., Rahuman, A.A., Bagavan, A., Elango, G., Abdul, G., Zahir, A.A. & Santhoshkumar, T. (2011). Larvicidal and repellent activity of medicinal plant extracts from Eastern Ghats of South India against malaria and filariasis vectors. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(9), 698-705.
- Liu, X.C. & Liu, Z.L. (2014). Evaluation of larvicidal activity of the essential oil of *Ageratum conyzoides* L. aerial parts and its major constituents against *Aedes albopictus*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2(4), 345-350.
- Magalhães, L.A.M., Lima, M.P., Marques, M.O.M., Facanali, R. Pinto, A.C.S. & Tadei, W.P. (2010). Chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* larvae of essential oils from four *Guarea* species. *Molecules*, 15, 5734-5741.
- Manimaran, A., Cruz, M.M.J.J., Muthu, C., Vincent, S., & Ignacimuthu, S. (2012). Larvicidal and knockdown effects of some essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say, *Aedes aegypti* (L.) and *Anopheles stephensi* (Liston). *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 3, 855-862.
- Mondal, K.C., Bhargava, D., Shivapuri, J.N. & Kar, S. (2012). In vitro antigonorrhoeal activity and extraction of chemical constituents from the leaves of *Chromolaena odorata* (Lin.) Locally known as 'BANMARA'. *International Journal of Chemical and Analytical Science*, 3(7), 1487-1495.

- Murugan, K., Murugan, P. & Noortheen, A. (2007). Larvicidal and repellent potential of *Albizzia amara* Boivin and *Ocimum basilicum* Linn against dengue vector. *Aedes aegypti* (Insecta: Diptera: Culicidae). *Bioresource Technology*, 98, 198-201.
- Naidoo, K.K., Coopoosamy, R.M. & Naidoo, G. (2011). Screening of *Chromolaena odorata* L King and Robinson for antimicrobial and antifungal properties. *Journal of Medicinal Plants Research*, 519, 4839-4862.
- Neetu, A., Anita, S., Firdous, M., Sonali, N.S., Matadeen, B., Neera, S. & Saxena, R.C. (2011). Mosquito larvicidal activity of saponin isolated from *Euphorbia hirta* Linn of Euforbiaceae. *International Journal of Chemical Sciences*, 9(3), 1511-1517.
- Olusegun, O.S. & Musa, M. (2014). Composition of stem essential oil of *Chromolaena odorata* (L.) from Nigeria. *International Journal of Herbal Medicine*, 2(2), 65-67.
- Owolabi, M.S., Ogundajo, A., Yusuf, K.O., Lajide, L., Villanueva, H.E., Tuten, J.A., & Setzer, W.N. (2010). Chemical composition and bioactivity of the essential oil of *Chromolaena odorata* from Nigeria. *Records of Natural Products*, 4(1), 72-78.
- Phasomkusolsil, S. & Soonwera, M. (2013). Efficacy of Thai herbal essential oils against three immature stages of *Aedes aegypti* (Linn), *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Top Class Journal Herb Medical*, 2(2), 25-35.
- Pisutthanan, N., Liawruangrath, B. & Liawruangrath, S. (2005). Constituents of the essential oil from aerial parts of *Chromolaena odorata* from Thailand. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 20(2), 636-640.
- Prabhu, V., Sujina, I., Hemlal, H. & Ravi, S. 2011. Essential oil composition, antimicrobial, MRSA and *in-vitro* cytotoxic activity of fresh leaves of *Chromolaena odorata*. *Journal of Pharmacy Research*, 4(12), 4609-4611.
- Pujiarti, R. & Fentiyanti, P.K. (2017). Chemical compositions and repellent activity of *Eucalyptus tereticornis* and *Eucalyptus deglupta* essential oils against *Culex quinquefasciatus* mosquito. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41(1), 19-24.
- Qui, H., Jun, H.W. & Call, M.C. (1998). Pharmacokinetics, formulation and safety of insect repellent N, N diethyl-m-toulomide (DEET). *Journal of the American Mosquito control Association*, 9, 359-360.
- Rahuman, A.A., Gopalakrishnan, G., Ghouse, B.S., Arumugam, S. & Himalayan, B. (2000). Effect of *Feronia limonia* on mosquito larvae. *Fitoterapia*, 71, 553-555.
- Rajmohan, D. & Logankumar, K. (2015). Studies on the insecticidal properties of *Chromolaena odorata* (Asteraceae) against the life cycle of the mosquito, *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae). *Journal of Research in Biology*, 4, 253-257.
- Reegan, A.D., Gandhi, M.R., Paulraj, M.G. & Ignacimuthu, S. (2015). Larvicidal activity of medicinal plant extracts against *Culex quinquefasciatus* Say and *Aedes aegypti* L. mosquitoes (Diptera: Culicidae). *International Journal of Pure and Applied Zoology*, 2(2), 205 - 210.
- Sharma, V.P. (2001). Health hazards of mosquito repellents and safe alternatives. *Current Science*, 80, 341-343.
- Soonwera, M. (1994). *Insect repellent herbs*. *Mor Chao Ban Magazine*. Available from URL: <https://www.doctor.or.th/article/detail/3723>, 14 April 2017.

- Soonwera, M. (2015). Efficacy of essential oils from citrus plants against mosquito vectors *Aedes aegypti* (Linn.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Journal of Agricultural Technology*, 11(3), 669 - 681.
- Stanley, M.C., Ifeanyi, O.E., Nwakaego, C.C. & Esther, I.O. (2014). Antimicrobial effects of *Chromolaena odorata* on some human pathogens. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(3), 1006-1012.
- Sukanya, S.L., Sudisha, J., Hariprasad, P., Niranjana, S.R., Prakash, H.S. & Fathima, S.K. (2009). Antimicrobial activity of leaf extracts of Indian medicinal plants against clinical and phytopathogenic bacteria. *African Journal of Biotechnology*, 8(23), 6677-6682.
- Sukanya, S. L., Sudisha, J., Prakash, H. S. & Fathima, S. K. (2011). Isolation and characterization of antimicrobial compound from *Chromolaena odorata*. *Journal of Phytology*, 3(10), 26-32.
- Sukhthankar, J.H., Kumar, H., M.H.S. Godinho, M.H.S. & Kumar, A. (2014). Larvicidal activity of methanolic leaf extracts of plant, *Chromolaena odorata* L. (Asteraceae) against vector mosquitoes. *International Journal of Mosquito Research*, 1(3), 33-38.
- Suleiman, R.A., Mgani, Q.A., & Nyandoro, S.S. (2014). Chemical compositions and mosquito repellency of essential oils from *Artabotrys hexapetalus* and *Artabotrys rupestris*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(6), 2804-2812.
- Swathi, S., Murugananthan, G., Ghosh, S.K., & Pradeep, A.S. (2012). Larvicidal and repellent activities of ethanolic extract of *Datura stramonium* leaves against mosquitoes. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 4(1), 25-27.
- Tennyson, S., Samraj, D.A., Jeyasundar, D. & Chalieu, K. (2013). Larvicidal efficacy of plant oils against the dengue vector *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Middle-East Journal of Scientific Research*, 13(1), 64-68.
- Thailand Industrial Standards Institutes (TISI). (2010). *Mosquito repellents: Thai industrial standards*. Ministry of Industry, Bangkok, Thailand. pp.15.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur H. (2011). Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Science*, 1(1), 98-106.
- Touré, D., Kouamé, B.K.F.P., Bedi, G., Joseph, A., Guessennd, N., Oussou, R., Chalchat, J.C., Dosso, M. and Tonzibo, F. (2014). Effect of geographical location and antibacterial activities of essential oils from Ivoirian *Chromolaena odorata* (L.) R. M. King & Robinson (Asteraceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 6(6), 70-78.
- Udebuani, A.C., Abara, P.C., Obasi, K.O. & Okuh, S.U. (2015). Studies on the insecticidal properties of *Chromolaena odorata* (Asteraceae) against adult stage of *Periplaneta americana*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 3(1), 318-321.
- Vital, P.G. & Rivera, W.L. (2009). Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (L. f.) King and robinson and *Uncaria perrottetii* (A. Rich) Merr. extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(7), 511-518.
- Yahya, M.F.Z.R., Ibrahim, M.S.A., Zawawi, W.H.A.W.M. & Hamid, U.M.A. (2014). Biofilm killing effects of *Chromolaena odorata* extracts against *Pseudomonas aeruginosa*. *Research Journal of Phytochemistry*, 8(3), 64-73.

- Wen, Y., Meyer, S.L.F., Masler, E.P., Zhang, F., Liao, J., Wei, X. & Chitwood, D.J. (2013). Nematotoxicity of drupacine and a cephalotaxus alkaloid preparation against the plant parasitic nematodes, *Meloidogyne incognita* and *Bursaphelenchus xylophilus*. *Pest Management Science*, 69, 1026-1033.
- Wognin, E.L., Brou, A.F., Yapi, T.A., Touré, K.A., Félix, T. & tonzibo, Z.F. (201). Multifactorial discriminant analysis of leaf oil of *C. odorata* L.King and Robinson from Côte d'Ivoire. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 9(2), 18-26.
- World Health Organization. (2006). *Who specification and evaluations for public health pesticides*. Available from URL: http://www.who.int/whopes/quality/en/IR3535_eval_april_2006.pdf, 20 April 2016. p1-25.
- World Health Organization. (2005). *Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides*. Available from URL: WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13, 4 January 2016.p 41.
- World Health Organization. (2012). *Dengue and severe dengue*. Available from URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>, 4 January 2016.

คณะผู้เขียน

ดร.ศรีสุดา หาญภาคภูมิ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต 228-228/1-3 ถ.สีรินธร แขวงบางพลัด
เขตบางพลัด กรุงเทพฯ 10700
email: srisuda_han@hotmail.com

ดร.phanukit กัณหจันทร์

ฝ่ายชีววิทยาและนิเวศวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข 88/7 ถ.ติวานนท์ ต.ตลาดขวัญ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000
email: phanukit.k@dmasc.mail.go.th

นายพายุ ภัคดีนวน

ฝ่ายชีววิทยาและนิเวศวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข 88/7 ถ.ติวานนท์ ต.ตลาดขวัญ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000
email: payu.b@dmasc.mail.go.th

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชาติา โทผล

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต 228-228/1-3 ถ.สีรินธร แขวงบางพลัด
เขตบางพลัด กรุงเทพฯ 10700
email: suthophon@yahoo.com

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุขุมารณ์ กระจำงสังข์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 114 สุขุมวิท 23
เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110
email: sukhumaporn@gs.wu.ac.th

ดร.จักรวาล ขมพาศรี

ฝ่ายชีววิทยาและนิเวศวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข 88/7 ถ.ติวานนท์ ต.ตลาดขวัญ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000
email: jakkrawarn.c@dmasc.mail.go.th

ดร.อภิวัฒน์ ธีรวัฒน์

ฝ่ายชีววิทยาและนิเวศวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข 88/7 ถ.ติวานนท์ ต.ตลาดขวัญ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000
email: apiwat.t@dmsc.mail.go.th

ACCEPTED