บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ยุงเป็นปัญหาสำคัญอย่างหนึ่งในด้านสาธารณสุขของประเทศไทยโดยเฉพาะโรคที่มียุงลายเป็นพาหะ คือ ไข้เลือดออกสายพันธุ์ใหม่ที่มีความรุนแรงมากขึ้นและโรคชิคุนกุนยา จากรายงานสถานการณ์เฝ้าระวังทางระบาดวิทยาของสำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข (2559) พบโรคไข้เลือดออกมีแนวโน้มสูงขึ้น ประเทศไทยมีผู้ป่วยจากไข้เลือดออกจำนวน 129,040 คน และมีผู้เสียชีวิต 125 คน ในปี 2558 คาดการณ์ว่าจะมีผู้ป่วยเพิ่มขึ้นตลอดปี 2559 ประมาณ 166,000 คน โดยพบผู้ป่วยสูงสุดในช่วงฤดูฝน (เดือนมิถุนายน - สิงหาคม) ปัจจุบันยังไม่มียาหรือวัคซีนใดที่ใช้รักษาทั้งโรคไข้เลือดออกและโรคชิคุนกุนยาได้โดยตรง ในปัจจุบันมาตรการหลักในการป้องกันโรคไข้เลือดออก ไข้สมองอักเสบ เท้าช้าง และไข้มาลาเรีย ยังคงให้ความสำคัญกับการควบคุมยุงพาหะนำโรคเป็นมาตรการหลัก (WHO, 2012) สารเคมีที่นิยมนำมาใช้ในการควบคุมยุงพาหะในปัจจุบัน ได้แก่ กลุ่มออร์แกโนฟอสเฟต คือ malathion และ fenitrothion กลุ่มออร์แกโนคลอรีน คือ DDT เป็นต้น และนิยมใช้สารเคมีจำพวก DEET ที่ส่งผลให้ยุงที่รอดชีวิตเกิดการต้านทานต่อสารเคมีสังเคราะห์และกำจัดได้ยากขึ้น ผู้ใช้สารอาจเกิดอาการแพ้ อาการทางสมอง ชัก และเสียชีวิตได้ (มนัสวี และคณะ, 2551) แต่การใช้สารเคมีนั้นทำให้เกิดการตกค้างและเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมและส่งผลต่อสุขภาพของมนุษย์ และยังทำให้ยุงเกิดการต้านทานต่อสารเคมี (ชนานันท์ และ จักรกฤษณ์, 2550) ดังนั้นเพื่อเป็นการลดผลกระทบที่เกิดขึ้นดังกล่าว สารสกัดจากพืชสมุนไพรจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการนำมาทดแทนการใช้สารเคมี เนื่องจากสารสกัดจากพืชสมุนไพรมีพิษต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยงต่ำ (Murugan *et al*., 2007)

สารสกัดธรรมชาติที่มีฤทธิ์ฆ่าทั้งลูกน้ำยุงลายบ้าน *Aedes aegypti* และ ยุงรำคาญ *Culex quinquefasciatus* ได้แก่ สารสกัดเมล็ดน้อยหน่า ใบน้อยหน่า(แห้ง) ฝักยี่โถ เมล็ดเทียนหยด เหง้าว่านน้ำ เมล็ดสลอด หัวบอระเพ็ดพุงช้าง ผลมะคำดีควาย และรากหนอนตายหยาก (เพ็ญนภา, 2549); สารสกัดที่มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti*, ยุงก้นปล่อง *An. mosquitoes* และยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้แก่ สารสกัดสะเดาอินเดีย (Rajan & Savarimuthu, 2012; Andreas *et al*., 2011; Marcello *et al*., 2010; Lata *et al*., 2009; Gunasekaran *et al*., 2009; Fredros *et al*., 2007; Preeti *et al*., 2006; Aliero, 2003) สำหรับสารสกัดที่มีฤทธิ์สิทธิภาพในการไล่ยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ได้แก่ สารสกัดผกากรอง *Lantana camara* L. (Bhargava et al., 2013); สารสกัดไล่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้แก่ สะเดาช้าง (วิภาวดี, 2548)

น้ำมันหอมระเหยจากพืชที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ได้แก่ น้ำมันเมล็ดขึ้นฉ่าย (Kumar *et al*., 2014), ตระไคร้หอม (citronella) *Cymbopogon nadus* (Tennyson *et al*., 2013), ตะไคร้ (lemon grass) *Cymbopogon flexuosus* (Tennyson et al., 2013), ส้ม (orange) *Citrus sinensis* (Tennyson et al., 2013), ยูคาลิปตัส (eucalyptus) *Eucalyptus globulus* (Tennyson *et al*., 2013), ผกากรอง *Lantana camara* L. (Bhargava *et al*., 2013), ยูคาลิปตัส *Eucalyptus camaldulensis* (Cheng *et al*., 2009); น้ำมันหอมระเหย

ที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้แก่ กานพลู *Syzygium aromaticum* และ ตะไคร้ *Cymbopogon citratus* (Phasomkusolsil & Soonwera, 2013) สำหรับน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพต่อการไล่ทั้งยุงบ้าน *Ae. aegypti* และ ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้แก่ น้ำมันส้ม *Citrus aurantifolia* (Soonwera, 2015); น้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพต่อการไล่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้แก่ เมล็ดสะเดาช้างเข้มข้น 10% (วิภาวดี, 2548)

สารธรรมชาติจากพืชที่มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ได้แก่ สาร flavonoids, terpenoids และ lactones (Kumar *et al*., 2014) สาร α-terpinene จากยูคาลิปตัส *Eucalyptus camaldulensis* ที่มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านทั้ง *Ae. aegypti* และ *Ae. albopictus* ได้ดีที่สุด (Cheng *et al*., 2009) สารที่มีฤทธิ์ต่อยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้แก่ สาร octacosane จากพืช *Moschosma polystachyum* (Rajkumar & Jebanesan, 2004) และ สาร saponins จากพืชน้ำนมราชสีห์ที่สกัดด้วยน้ำและเทานอล (Neetu *et al*., 2011) สารที่มีฤทธิ์ต่อทั้งลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ได้แก่ สาร germacrene D จากน้ำมันหอมระเหยของพืช *Chloroxylon swietenia* (Kiran & Devi, 2007), methyl-*p*-hydroxybenzoate จากต้นคนทิสอ *Vitex trifolia* (Kannathasan *et al*., 2011), β-sitosterol จากต้นครอบฟันสี *Abutilon indicum* (Rahuman *et al*., 2008), pipernonaline จากต้นดีปลี *Piper longum* (Lee, 2000) นอกจากนี้ยังมีสารที่มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงอื่นๆที่จะเป็นสารทุตยภูมิจากพืช ได้แก่ alkanes, alkenes, alkynes และสารกลุ่มอะโรมาติก, น้ำมันหอมระเหย และกรดไขมัน, γ-terpinene, α-phellandrene, limonene, *p*-cymene, terpinolene, alkaloids, steroids, isoflavonoids, pterocarpans และ lignans (Cheng *et al*., 2009; Ghosh *et al*., 2012) นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยจากใบและลำต้นหนอนเจาะสมอฝ้าย *(Helicoverpa armigera*) ที่ประกอบด้วย geijerene และ pregeijerene จะมีความเป็นพิษต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายมากกว่า germacrene-D และ limonene (Kiran, *et a*l., 2007)

สาบเสือ หรือ หญ้าสาบเสือ ภาษาอังกฤษ Bitter bush, Siam weed มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Eupatorium odoratum* L. จัดอยู่ในวงศ์ COMPOSITAE (แต่เดิมมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Rob วงศ์ ASTERACEAE สมุนไพรสาบเสือ มีชื่อท้องถิ่นอื่นๆ อีกหลายชื่อ ดังนั้นสาบเสือจึงเป็นวัชพืชพบได้ทั่วไปในประเทศไทยและเป็นวัชพืชที่ปลูกง่าย มีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย (Pisutthanan *et al*., 2005; Vital & Rivera, 2009; Naidoo *et al*., 2011; Sukanya *et al*., 2011) ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคท้องเสีย (diarrheal) (Anitndehou et al., 2013) ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค enteric และ โรค superficial (Kigigha *et al*., 2013) ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรครา *Candida albicans* (Stanley *et al*., 2014) ฤทธิ์ยับยั้งไบโอฟิล์มของ *Pseudomonase aeruginosa* ATCC 10145 (Yahya *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) ฤทธิ์การกำจัดศัตรูพืชไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* (Thoden *et al*., 2007) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ความเป็นพิษของสารสกัดสาบเสือ ฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* (Say) และยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* L. (Sukhthankar *et al*., 2014) ฤทธิ์ฆ่าไข่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* (Say) และ ยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* L. (Reegan *et al*., 2015) ฤทธิ์ต่อการฆ่าดักแด้แมลงสาบ *Periplaneta americana* (Udebuani *et al*., 2015) แต่การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการกำจัดลูกน้ำยุงยังมีการศึกษาน้อยและไม่มีการศึกษาฤทธิ์การไล่ยุง ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบสาบเสือ ได้แก่ saponins, tannins, alkaloids, flavonoids (aurone, chalcone, flavones และ flavonol) cyanogenic, glycosides, lactones (Tiwari *et al*., 2011; Ngozi *et al*., 2009) และในน้ำมันหอมระเหยสาบเสือ ได้แก่ α-pinene, pregeijerene, geijerene, β-pinene, และ germacrene-D (Félicien *et al*., 2012) โดยปกติคุณภาพของสารสกัดจะขึ้นกับส่วนของพืช ตัวทำละลาย วิธีการสกัดและอัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลาย เป็นต้น และประสิทธิภาพของสารสกัดจะมีความสัมพันธ์กับผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพโดยตรงแต่อาจจะไม่มีสัมพันธ์กับปัจจัยอื่นๆ เช่น สารประกอบต่างๆ (Kothari *et al*., 2012)

จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบมีสาร saponins, flavonoids และ lactone ที่มีรายงานว่ามีฤทธิ์ต่อการฆ่าลูกน้ำยุงลายได้และในน้ำมันหอมระเหยของสาบเสือมีสาร germacrene-D, pregeijerene และ geijerene ที่มีรายงานว่ามีฤทธิ์ในการไล่ยุงและแมลงศัตรูพืชได้ดี นอกจากนี้การใช้น้ำมันหอมระเหยจากสาบเสือในการไล่ยุงและสารสกัดส่วนลำต้นและรากสาบเสือนั้นยังไม่มีรายงาน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีแนวความคิดที่จะใช้สารสกัดจากวิธีสกัดที่แตกต่างกันและน้ำมันหอมระเหยจากสาบเสือจากส่วนใบ ลำต้น และรากสาบเสือ เพื่อทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำและไล่ยุงลาย ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่องที่พบในประเทศไทย ทั้งนี้เพื่อเป็นการส่งเสริมการใช้สมุนไพรในท้องถิ่นที่มีอยู่จำนวนมากและอีกทั้งยังเป็นการนำวัชพืชมาใช้ให้เกิดประโยชน์และพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบของโลชั่น ครีม และอาจจะพัฒนาในรูปแบบของไมโครอิมัลชันไล่ยุง ในอนาคตต่อไป เพื่อลดต้นทุนการนำเข้าสารเคมีสังเคราะห์ที่เป็นผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมและเกิดการต้านทานสารเคมี

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบสาบเสือต่อการกำจัดลูกน้ำยุงลาย ยุงรำคาญและยุงก้นปล่อง

1.2.2 ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสาบเสือต่อการไล่ยุงยุงลาย ยุงรำคาญและยุงก้นปล่อง

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1.3.1 ทำการเก็บตัวอย่างวัชพืชสาบเสือจากบริเวณป่าสวนยาง ต.นาวัง อ.เมือง จ. อำนาจเจริญ ในช่วงเดือน พฤศจิกายน–มิถุนายน ลักษณะตัวอย่างที่เก็บต้องเป็นต้นสาบเสือที่เจริญเติบโตมากที่สุด โดยสูงตั้งแต่ 100 เซนติเมตร

1.3.2 สกัดสารสกัดหยาบจากใบ ลำต้น และรากของสาบเสือ โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ น้ำ เอทานอล และ เมทานอล และสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบ ลำต้น และรากของสาบเสือ เพื่อนำ

สารสกัดหยาบสาบเสือมาทดสอบฤทธิ์การกำจัดลูกน้ำยุงลาย ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง และนำน้ำมันหอมระเหยมาทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสาบเสือต่อการไล่ยุงลาย ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง

1.4 คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

สาบเสือ (*Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson คือ เป็นวัชพืชที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในอเมริกากลาง มีเขตแพร่กระจายตั้งแต่ทางตอนใต้ของฟลอริดา จนถึงพื้นที่ตอนเหนือของอาร์เจนตินา ระบาดไปทั่วเขตร้อนของโลกทุกทวีป ทวีป ยกเว้นการระบาดเข้าไปในทวีปออสเตรเลีย

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 วิชาการ

- ได้สมุนไพรที่มีฤทธิ์ต่อการกำจัดลูกน้ำยุง และไล่ยุง
- ได้องค์ความรู้เพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ได้
- ได้ปริมาณสารที่มีฤทธิ์ต่อการกำจัดลูกน้ำยุง และไล่ยุง

1.5.2 ด้านนโยบาย

- เพื่อเพิ่มมูลค่าของวัชพืชไทย
- เพื่อเป็นการส่งเสริมการใช้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

1.5.3 ด้านเศรษฐกิจ/พาณิชย์

- ลดการนำเข้าวัตถุดิบพวกสารเคมีจากต่างประเทศและลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม

15.4 ด้านสังคมและชุมชน

- ช่วยส่งเสริมอาชีพการปลูกพืชสมุนไพรให้แก่เกษตรกรและเป็นการเพิ่มมูลค่าแก่วัชพืชไทยให้มีประสิทธิภาพในด้านการกำจัดลูกน้ำยุงและไล่ยุงกลางวันยุงกลางคืน

- เผยแพร่ผลการศึกษาผ่านสื่อหนังสือพิมพ์ วิทยุ โทรทัศน์ หรือ web site ที่เกี่ยวข้อง

1.5.5 การเผยแพร่ในวารสาร จดสิทธิบัตร

- เผยแพร่ผลงานโดยการตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการในประเทศหรือต่างประเทศ
- เผยแพร่ผลการวิจัยโดยการนำไปเสนอในการประชุมวิชาการหรือตีพิมพ์ในวารสาร

1.5.6 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

- ภาครัฐบาล เช่น หน่วยวิจัย และมหาวิทยาลัยต่างๆ และภาคเอกชนและกลุ่มเป้าหมายที่สนใจ เช่น SME

1.5.7 แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

- ประชาสัมพันธ์ผลงานสู่ภาคเอกชนและกลุ่มเป้าหมายที่สนใจ
- จัดอบรมถ่ายทอดผลการศึกษาสู่เอกชนและกลุ่มเป้าหมายที่สนใจเพื่อเป็นการต่อยอดผลงานวิจัยที่ได้สู่ภาคเอกชน ในเชิงพาณิชย์

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสาบเสือ

2.1.1 ชื่อสาบเสือ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson

ชื่อภาษาไทย: สาบเสือ

ชื่ออื่นๆ: ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ชื่ออื่นของสาบเสือ

จังหวัด	ชื่ออื่นของสาบเสือ
กาญจนบุรี	เสือหมอบ
ขอนแก่น	หญ้าเลาฮ้าง
ตราด	เบญจมาศ
ชลบุรี	หมาหลง (อำเภอศรีราชา)
เชียงใหม่	นองเส้งเปรง, เซโพกวย (กะเหรี่ยง)
เพชรบูรณ์	ฝรั่งรุกที่ฝรั่งเหาะ, มนทน
แม่ฮ่องสอน	ไช้ปู่กุย (กะเหรี่ยง)
สิงห์บุรี	สาบเสือ
สุโขทัย	หญ้าดอกขาว
สุพรรณบุรี	เสือหมอบ, ฝรั่งเหาะ, ฝรั่งรุกที่
สุราษฎร์ธานี	ชาผักครดา, ยี่สุ่นเถื่อน
สระบุรี	หญ้าดงรั้ง, หญ้าสิริไอสวรรค์
เลย	สะพัง
ระนอง	รำ, เคย, หญ้าเมืองวาย, หญ้าดอกขาว
ราชบุรี	เสือหมอบ, บ้านร้าง, ผักคราด
หนองคาย	หญ้าลืมเมือง
อุดรธานี	มุ้งกระต่าย
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	หญ้าเมืองฮ้าง, หญ้าเหม็น
อื่นๆ	หญ้าฝรั่งเศส หญ้าเครื่องบิน ปวยกีเช่า เฮียงเจกลั้ง

ที่มา: ธารธรรมแก้ว เชื้อเมือง, (2537); พิสุทธิพร ฉ่ำใจ, (2550)

2.1.2 การจัดลำดับอนุกรมวิธานของสาบเสือ (Chakraborty *et al.,* 2011; Suwaibah *et al*., 2012)

Kingdom	*Plantae* – Plants
Subkingdom	*Tracheobionta* - Vascular plants

Superdivision	*Spermatophyta* – Seed plants
Division	*Magnoliophyta* - Flowering plants
Class	*Magnoliopsida* - Dicotyledons
Subclass	*Asteridae*
Order	*Asterales*
Family	Asteraceae – Aster family
Genus	*Chromolaena* DC. (thoroughwort)
Species	*Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson
	- Jack in the bush

Synonyms: *Eupatorium affine* Hook & Arn.,
Eupatorium brachiatum Wikstrom,
Eupatorium clematitis DC.,
Eupatorium conyzoides M. Vahl,
Eupatorium divergens Less.,
Eupatorium floribundum Kunth,
Eupatorium graciliflorum DC.,
Eupatorium odoratum L.,
Eupatorium sabeanum Buckley,
Eupatorium stigmatosum Meyen & Walp.,
Osmia conyzoides (Vahl) Sch.-Bip.,
Osmia divergens (Less.) Schultz-Bip.,
Osmia floribunda (Kunth) Schultz-Bip.,
Osmia graciliflora (DC.)Sch. Bip.,
Osmia odorata (L.) Schultz-Bip.

2.1.3 ถิ่นกำเนิด

สาบเสือ (siam weed) เป็นวัชพืชที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในอเมริกากลาง มีเขตแพร่กระจายตั้งแต่ทางตอนใต้ของฟลอริดา จนถึงพื้นที่ตอนเหนือของอาร์เจนตินา ขึ้นทั่วไปเขตร้อนของโลกทุกทวีป ยกเว้น ในทวีปออสเตรเลีย ซึ่งเพิ่งจะพบเพียงเล็กน้อยในช่วงเวลาภายใน10ปีที่ผ่านมา ดังนั้นจึงเป็นวัชพืชที่ขึ้นโดยทั่วไป ที่เรียกสาบเสือเนื่องจากก้านและใบเมื่อขยี้จะมีกลิ่นแรงคล้ายสาบเสือ (ธารธรรม แก้ว เชื้อแก้ว, 2537; สุรศักดิ์ ราตรี, 2554)

2.1.4 ลักษณะทางพฤกศาสตร์

สาบเสือ จัดเป็นไม้ล้มลุก เป็นไม้พ่มเพราะมีการแตกกิ่งก้านสาขามากมายจนดูเป็นทรงพุ่ม ลำต้นและกิ่งก้านปกคลุมด้วยขนอ่อนนุ่ม ก้านและใบเมื่อขยี้จะมีกลิ่นแรงคล้ายสาบเสือ(ธารธรรม

แก้ว เชื้อเมือง, 2537; สุรศักดิ์ ราตรี, 2554; Qeensland government, 2011; Land protection, 2006)

ใบ (leaves) ใบเดี่ยวออกจากลำต้น ที่ข้อ แบบตรงกันข้าม รูปรีค่อนข้างเป็นสามเหลี่ยมขอบใบหยักเป็นซี่ฟันหยาบๆ ปลายใบแหลม ฐานใบกว้าง เรียวสอบเข้าหากัน ขนาด 6.1-8.8 X 10.1-13.4 เซนติเมตร ใบนุ่ม สีเขียวอ่อน เส้นใบเห็นชัดเจน 3 เส้น มีขนปกคลุมทั้งสองด้านของผิวใบ ยอดอ่อนจะมีสีม่วง ผิวใบทั้งสองด้าน ก้านใบ 1.4-2.3 (ภาพที่ 2.1)

ภาพที่ 2.1 ลักษณะของใบต้นสาบเสือ
ที่มา: Qeensland government (2011)

ดอก (flower) เป็นช่อเป็นกระจุกคล้ายร่ม สีขาวหรือฟ้าอมม่วงออกที่ปลายกิ่ง ลักษณะเป็นก้อนขนาด 4-8 เซนติเมตร มีดอกย่อยจำนวน 10-35 ดอก มีเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน เซนติเมตร รอบนอกเป็นดอกเพศเมีย มีก้นชูเกสรยาว ด้านในเป็นดอกสมบูรณ์เพศ กลีบดอกเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 5 แฉก เกสรเพศผู้สั้น 5 อัน อยู่ภายในหลอดดอก ดอกวงนอกบานก่อน กลีบดอก หลอมรวมกันเป็นหลอด ผลขนาดเล็ก รูปร่างเป็น ห้าเหลี่ยม สีน้ำตาลหรือดำ มีหนามแข็งบนเส้นของผล ส่วนปลายผลมีขนสีขาว ช่วยพยุงให้ผลและเมล็ดปลิวตามลมได้ไกลๆ จึงแพร่พันธุ์อย่างรวดเร็ว ออกดอกในเดือนกรกฎาคม และออกดอกอีกครั้งเดือนกันยายนถึงตุลาคม (ภาพที่ 2.2)

ภาพที่ 2.2 ลักษณะของดอกต้นสาบเสือ
ที่มา: Qeensland government, (2011)

ผล แห้งแตก รูปร่างเป็น 5 เหลี่ยม สีน้ำตาล มีหนามแข็งบนเส้นของผล

เมล็ด (seeds) มีขนาดเล็กรูปกระสวย แบน ส่วนปลายมีขนยาวสีขาว เมล็ดของต้นสาบเสือจะถูกสร้างขึ้นภายใน 8-10 สัปดาห์หลังจากออกดอกแล้ว เมล็ดจะมีทั้งหมดประมาณ 80,000 เมล็ดต่อต้นต่อฤดูกาล แต่ละเมล็ดจะมีขนสีขาวติดอยู่ทำให้ถูกกระจายไปยังแหล่งอื่นได้ง่ายโดยลมและน้ำ เมล็ดจะงอกหลังจากฝนตกและเมล็ดสามารถอยู่รอดได้หลายปี (ภาพที่ 2.3)

ภาพที่ 2.3 ลักษณะของดอกสาบเสือที่แก่แล้ว
ที่มา: Land protection (2006)

ลำต้น (stem) ลำต้น สูง 1-2 เมตร เรียบไม่ขรุขระ มีสีเขียว ปกคลุมด้วยขนอ่อนนุ่ม เมื่อแก่จะออกสีน้ำตาล (ภาพที่ 2.4)

ภาพที่ 2.4 ลักษณะของลำต้นสาบเสือที่แก่แล้ว
ที่มา: Land protection (2006)

ราก (root) ระบบรากจะมีทั้งรากแล้วและรากฝอยอยู่ใต้ดิน ส่วนที่เชื่อมต่อกับลำต้นจะมีลักษณะเป็น basal ball (ภาพที่ 2.5)

ภาพที่ 2.5 ลักษณะของรากสาบเสือที่แก่แล้ว
ที่มา: Land protection (2006)

2.1.5 การแพร่กระจาย

ขึ้นทั่วไปทั้งในสภาพดินชื้นหรือ แห้ง แพร่กระจายในแหล่งปลูกพืชยืนต้นและที่รกร้าง ว่างเปล่าและตามที่มีแสงแดดมากๆขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

2.1.6 สรรพคุณ (ธารธรรมแก้ว เชื้อเมือง, 2537; สุรศักดิ์ ราตรี, 2554; พิสุทธิพร ฉ่ำใจ, 2550)

ใบ ใช้ตำให้ละเอียดพอกบาดแผลสด ช่วยห้ามเลือดได้เป็นอย่างดี (ชาวเขานิยมใช้) แก้ตาฟาง ตาแฉะ รักษาริดสีดวงทวาร

ลำต้น แก้ปวดท้อง ท้องเฟ้อ แก้นมคัด แก้ปวด ดูดหนอง
ดอก แก้ร้อนในกระหายน้ำ แก้อ่อนเพลีย บำรุงหัวใจ แก้ไข้
อื่นๆ ใบมีกลิ่นฉุน มีสารยับยั้งการงอกและชะลอการเจริญเติบโตของพืชอื่น

2.2 องค์ประกอบทางเคมี และสารออกฤทธิ์ของสาบเสือ

2.2.1 องค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบ

สารสกัดจากใบสาบเสือที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethanol จะประกอบด้วยสารต่าง ได้แก่ สารกลุ่ม phenolic acids เช่น protocatechuic, *p*-hydroxybenzoic, *p*-coumaric, ferulic and vanillic acids และสารกลุ่มอื่นๆ complex mixtures of lipophilic flavonoid aglycones (flavanones, flavonols, flavones and chalcones) Pisutthanan *et al*. (2005) ทำการแยกสารสกัดหยาบที่ได้สาบเสือจะพบสารชนิดต่างๆ เช่น 3,5,4′-trihydroxy-7-methoxyflavanone; 5,7,3′-trihydroxy-5′-methoxyflavanone และ 3,5,7-trihydroxy-4′-methoxy flavanone (Phan *et al*., 2001) สารสกัดหยาบสาบเสือที่สกัดด้วยน้ำและ methanolจะพบสารพวก tannins, steroids, terpenoids, flavonoids และ cardiac glycosides แต่สาร alkaloids จะพบเมื่อสกัดสารสกัดหยาบด้วย methamol เท่านั้น (Akinmoladun *et al*., 2007)

ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจะทำให้ได้องค์ประกอบของสารแตกต่างกันดังตารางที่ 2.2 ซึ่งสารหรือพฤกษเคมีแต่ละชนิดจะออกฤทธิ์แตกต่างกันดังตารางที่ 2.3 และ มีกลไกการทำงานแตกต่างกันออกไป ดังตารางที่ 2.4

2.2.2 องค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหย

Prabhu *et al.* (2011) ได้ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือสด (*Chromolaena odorata (Asteraceae)* (L.) R. M. King & H. Rob.) โดยกลั่นด้วยน้ำร้อน (hydro-distillation) และทำการแยกชนิดของสารโดยใช้ GC-MS สารที่พบเป็นส่วนใหญ่ ได้แก่ 5, 6-diethenyl-1-methyl- cyclohexene (44.7%), β-guiane (11.9%), elemol (8.5%) และ patchoulene (8.6%)

Suwaibah *et al*. (2012) รายงานว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบและลำต้นสาบเสือที่ทำการสกัดโดยกลั่นด้วยน้ำร้อน (hydro-distillation) และทำการแยกชนิดของสารโดยใช้ GC-MS ควบคู่กับ retention indices (IR) พบว่า สารที่พบมากที่สุดทั้งในใบและลำต้นสาบเสือ คือ β–cubebene (32%) และรองลงมา คือ δ-cadinene (18%) และ carypphyllene (11%) ในน้ำมันหอมระเหยจากใบยังมีสารประกอบ alpha-pinene, cadinene, camphor, limonene, beta-caryophyllene และ cadinol

เปรียบเทียบองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยสาบเสือดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.2 ชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน

Compounds	Water	Ethanol	Methanol	Chloroform	Ether	Acetone
Alkaloids	-	+	-	-	+	-
Anthocyanins	+	-	+	-	-	-
Coumarins	-	-	-	-	+	-
Fatty acids	-	-	-	-	+	-
Flavonols	-	+	-	-	-	+
Flavones	-	-	+	-	-	-
Flavonoids	-	-	-	+	-	-
Lactones	-	-	+	-	-	-
Lectins	+	-	-	-	-	-
Phenol	-	-	-	-	-	+
Polyphenols	-	+	+	-	-	-
Phenones	-	-	+	-	-	-
Polyacetylenes	-	+	-	-	-	-
Polypeptides	+	-	-	-	-	-
Quassinoids	-	-	+	-	-	-
Saponins	+	-	+	-	-	-
Sterols	_	+	-	-	-	-
Starches	+	-	-	-	-	-
Tannins	+	+	+	-	-	-
Terpenoids	+	+	+	+	+	-
Totarol	-	-	+	-	-	-
Xanthoxyllines	-	-	+	-	-	-

+, posistive; -, negative

ที่มา: Tiwari *et al*. (2011)

ตารางที่ 2.3 ลักษณะโครงสร้างและฤทธิ์ของพฤกษเคมีจากพืช

Phytochemicals	Structural features	Example (s)	Activities
Alkaloids	Heterocyclic nitrogen compound	Berberine, piperine, palmatine, and tetrahydropalmatine	Antimicrobial, anthelmintic, and antidiarrhoeal
Coumarins	Phenols made of fused benzene and α-pyrone rings	Warfarin	Antimicrobial
Flavones	-	Abyssinine	-
Flavonoids	Phenolic structure, one carbonyl group, hydroxylated phenols. C_6-C_3 unit linked to an aromatic ring, flavones + 3-hydroxyl group	Chrysin, Quercetin, and Rutin	Antimicrobial, and antidiarrhoeal
Flavonols	-	Totarol	-
Glycosides	Sugar + non carbohydrate moiety	Amygdalin	Antidiarrhoeal
Lectins and polypeptides	Proteins	Mannose-specific agglutinin, Fabatin	Antimicrobial
Phenols and polyphenols	C3 side chain, -OH groups, phenol ring	Catechols, epicatechin, cinnamic acid	Antimicrobial, anthelmintic, and antidirrhoeal
Quinones	Aromatic rings, two ketone substitutions	Hypericin	Antimicrobial
Saponins	Amphipathic glycosides	Vina-ginsenosides-R5 and –R6	Antidiarrhoeal
Tannins	Polymeric phenols (Mol. Wt. 500-3000)	Ellagitannin	Antimicrobial, anthelmintic, and antidiarrhoeal
Terpenoids and essential oils	Acetate units + fatty acids, extensive branching and cyclized	Capsaicin	Antimicrobial, andantidiarrhoeal

ที่มา: Tiwari *et al*. (2011)

ตารางที่ 2.4 กลไกการทำงานของพฤกษเคมีบางชนิด

Phytochemicals	Activity	Mechanisms of action
Quinones	Antimicrobial	Binds to adhesins, complex with cell wall, inactivates enzymes
Flavonoids	Antimicrobial	Complex with cell wall, binds to adhesins
	Antidiarroeal	Inhibits release of autocoids and prostaglandins, Stimulates normalization of the deranged water transport across the mucosal cells, Inhibits GI release of acetylcholine
Polyphenols and tannins	Antimicrobial	Binds to adhesins, enzyme inhibition, substrate deprivation, complex with cell wall, membrane disruption, metal ion complexation
	Antidiarrhoeal	Makes intestinal mucosa more resistant and reduces secretion, stimulates normalization of deranged water transport across the mucosal cells and reduction of the intestinal transit, blocks the binding of B subunit of heat-labile enterotoxin to GM1, resulting in the suppression of heat-labile enterotoxin-induced diarrhea, astringent action
	Anthelmintic	Increases supply of digestible protein by animals by forming protein complexes in rumen, interferes with energy generation by uncoupling oxidative phosphorylation, causes a decrease in G.I. metabolism
Coumarins	Antiviral	Interaction with eukaryotic DNA
Terpenoids and essential oils	Antimicrobial	Membrane disruption
	Antidiarrhoeal	Inhibits release of autocoids and prostaglandins
Alkaloids	Antimicrobial	Intercalates into cell wall and DNA of parasites, Inhibits release of autocoids and prostaglandins
	Antidiarrhoeal	Possess anti-oxidating effects, thus reduces nitrate generation which is useful for protein synthesis, suppresses transfer of sucrose from stomach to small intestine, diminishing the support of glucose to the helminthes, acts on CNS causing paralysis
Lectins and polypeptides	Antiviral	Blocks viral fusion or adsorption, forms disulfide bridges
Glycosides	Antidiarrhoeal	Inhibits release of autocoids and prostaglandins
Saponins	Antidiarrhoeal	Inhibits histamine release in vitro
	Anticancer	Possesses membrane permeabilizing properties
	Anthelmintic	Leads to vacuolization and disintegration of teguments
Steroids	Antidiarrhoeal	Enhance intestinal absorption of Na^+ and water

ที่มา: Tiwari *et al*. (2011)

ตารางที่ 2.5 เปรียบเทียบน้ำมันหอมระเหยจากส่วนของสาบเสือ

Compounds	% composition					
Plant part	Leaves			Stem	Flower	Root
Reference	Félicien et al., 2012	Wognin et al., 2015	Owolabi et al., 2010	Olusegun and Musa, 2014	Joshi, 2013a	Joshi, 2013b
Method	GC and GC/MS	GC-FID	GC/MS	GC and GC/MS	GC and GC/MS	GC-FID and GC/MS
Country name	Bennin	Ivoiry Coast	Nigeria	Nigeria	India	India
Androencecalinol	-		Tr	-	-	14.1
Cadinene	-	1.4-9.5	0.3 (γ-) 1.9 (δ-)	0.49 (δ-)	3.5 (δ-)	0.3 (δ-)
Caryophyllene	-	8.1-18.3	5.4	9.2	0.8	0.2 (β)
Cyperene	-	-	-	-	7.8	-
β-copaen-4-ol	-	-	9.4	-	-	-
n-Dodecane	-	-	-	-	-	5.1
10-epi-γ-Eudesmol	-	-	-	-	4.7	0.8
Geijerene	12.0	3.2-26.4	4.7	-	12.6	-
Germacrene-D	9.7	1-28.5	9.7	5.00	24.8	-
Hexane	-	-	-	12.00	-	-
Heptane	-	-	-	18.10	-	-
Himachalol	-	-	-	-	-	24.2
α-humulene	-	-	-	-	2.4	-
7-Isopropyl-1,4-dimethyl-2-azulenol	-	-	-	-	-	17.6
Limonene	1.8	0.7-1.1	0.7	-	Tr	-
2-Methoxy-6-(1-methoxy-2-propenyl) naphthalene	-	-	-	-	-	5.6
α-Muurolol	-	-	-	-	3.6	-
α-pinene	20.7	0.2-8.5	42.2	13.6	-	0.2
β-pinene	10.3	3.0-5.0	10.6	2.60	-	0.3
Pregeijerene	14.6	0.9-2.1	2.8	-	12.5	-
n-Undecane	-	-	-	-	-	4.9

2.3 การสกัดสารสำคัญจากพืช (Tiwari *et al*., 2011)

2.3.1 การเลือกตัวทำละลาย (choice solvents)

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชจะประสบความสำเร็จได้นั้นต้องอาศัยปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้อง คือ กระบวนการสกัดสาร ซึ่งคุณสมบัติที่ดีที่ใช้ในการสกัดพืชนั้นสารสกัดจะต้องไม่มีความเป็นพิษหรือมีความเป็นพิษน้อย สามารถระเหยได้ที่ความร้อนต่ำ จะต้องมีการซึมเข้าวัสดุที่จะใช้สกัดได้ดี ไม่มีความซับซ้อน ดังนั้นปัจจัยที่มีผลในการเลือกจะส่งเสริมให้ได้ปริมาณพฤกษเคมีของพืชได้ดี คือ อัตราส่วนที่ใช้ในการสกัด (rate of extraction), มีความหลากหลายของสารที่ถูกสกัดออกมา, สารที่สกัดออกมามีฤทธิ์ในการยับยั้งหลากหลาย, สามารถเก็บเกี่ยวเอาสารสกัดออกมาได้ง่ายๆ, สารละลายจะต้องไม่มีความเป็นพิษในกระบวนการวิเคราะห์ทางชีวภาพ, และสารสกัดจะต้องมีความปลอดภัยต่อสุขภาพสูง ดังนั้นการเลือกสารละลายจึงมีความสำคัญต่อการสกัดมาก เนื่องจากสารสกัดที่ได้จะต้องใช้สารละลายในการสกัดน้อยที่สุด ซึ่งสารละลายที่ใช้สกัดจะต้องไม่เป็นพิษ และไม่รบกวนการวิเคราะห์ผลทางชีวภาพอื่นๆ ดังนั้นในการเลือกสารละลายที่ใช้สกัดสารจะต้องขึ้นกับกลุ่มของสารที่ต้องการสกัด ซึ่งตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารมีดังนี้

1) น้ำ (water)

น้ำเป็นตัวทำละลายที่ใช้กันทั่วไปที่ถูกนำมาใช้ในการสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ในการรักษาแผลในสมัยก่อนน้ำก็จะใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดสารจากพืช แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดพืชที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ก็จะให้องค์ประกอบของสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์มากกว่าการสกัดด้วยน้ำ สารในกลุ่ม flavonoids สามารถละลายในน้ำได้ โดยเฉพาะ anthocyanins แต่ไม่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ และสารกลุ่ม phenolics ที่สามารถละลายในน้ำได้นั้นก็จะเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant compound) ถึงแม้ว่าน้ำจะเป็นตัวทำละลายที่ดี หาง่ายราคาถูก แต่น้ำก็จะละลายองค์ประกอบของสารที่ไม่ต้องการออกมาด้วย เช่น น้ำตาล แป้ง ทำให้อาจเกิดการเน่าเสียและปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ได้ง่าย นอกจากนี้ถ้าสารที่สกัดด้วยน้ำมีการทำให้แห้งโดยการระเหิดด้วยเครื่อง lyophilize ซึ่งมีราคาแพง ก็จะต้องทำการระเหยน้ำที่อุณหภูมิสูงจึงอาจทำให้สารสำคัญเสียหายได้

2) Acetone

Acetone เป็นตัวทำละลายที่สามารถละลายสารที่มีองค์ประกอบได้ทั้งที่ชอบน้ำ (hydrophilic components) และชอบไขมัน (lipophilic components) ที่เป็นน้ำมันหอมระเหย และยังมีความเป็นพิษต่ำในการนำไปใช้วิเคราะห์ทางชีวภาพ สารสกัดที่สกัดด้วย acetone มีการนำไปใช้อย่างแผ่หลายโดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ เนื่องจากจะมีสารในกลุ่ม phenolic มาก มีรายงานว่าสารที่สกัดด้วยตัวทำละลาย acetone จะสามารถสกัดสาร tannins สารในกลุ่ม phenolic ชนิดอื่นได้ดีกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลาย methanol ทั้งสารละลายที่เป็น acetone และ methanol นั้นจะสามารถสกัดสาร saponins ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้

3) Alcohol

เป็นตัวทำละลายที่ให้ฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าตัวทำละลายน้ำเนื่องจากให้สาร polyphenols ในปริมาณสูง ซึ่งแสดงว่า alcohol จะมีผลต่อการย่อยผนังเซลล์และเมล็ดพืชทำให้ได้สารที่ไม่มีขั้ว และสาร polyphenol ถูกขับออกมาจากพืชและเมล็ดพืช นอกจากนี้ยังพบว่า เอนไซม์

polyphenol oxidase ในสารที่สกัดด้วย methanol และ ethanol จะไม่ทำงาน จึงไม่สามารถย่อยสาร polyphenol ได้ ในขณะที่สารที่สกัดด้วยน้ำนั้นเอนไซม์ polyphenol oxidase จะยังคงทำงานได้อยู่ ดังนั้นจึงย่อยสาร polyphenol ทำให้การสกัดด้วยน้ำมีปริมาณ polyphenol น้อย

ในการสกัดสารด้วยตัวทำละลาย ethanol นั้น พบว่า ถ้าสกัดด้วย 70 % ethanol จะให้องค์ประของสารกลุ่ม flavonoids ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพปริมาณมากและให้สารที่มีขั้ว (polarity) สูงกว่าการสกัดด้วย pure ethanol เหตุผลเนื่องจากช่วยเพิ่มความมีขั้วให้กับสารละลาย นอกจากนี้ยังพบว่าสารละลาย ethanol จะสามารถซึมผ่านเข้าไปในผนังเมมเบรนของพืชได้ง่าย สารจากพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์นั้นจะเป็นสารกลุ่มที่มีองค์ประกอบที่เป็นสาร aromatic หรือสารอินทรีย์อิ่มตัว ซึ่งจะได้จากการสกัดสารที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethanol และ methanol

สำหรับตัวทำละลาย methanol นั้นจะเป็นสารที่สามารถสกัดสารที่มีขั้วได้ดีแต่จะเป็นสารที่มีความเป็นพิษดังนั้นจึงไม่เหมาะที่นำมาใช้ในการสกัดสารและอาจมีผลทำให้ผลการทดลองผิดพลาดได้

4) Chloroform

สาร trepenoid lactones เป็นสารที่ได้จากการสกัดเปลือกไม้ด้วย hexane, chloroform, และ methanol แต่จะพบสารในส่วนที่เป็น chroloform สำหรับในส่วนที่เป็นน้ำจะพบสาร tannins และ terpenoids

5) Ether

เป็นสารที่ใช้ในการสกัด coumarins และ กรดไขมัน

6) Hexane

เป็นสารที่ใช้ในการสกัดสารไม่มีขั้ว นิยมใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับกำจัดไขมันจากสมุนไพร ข้อดี คือ ราคาถูก

7) Dichloromethanol

เป็นสารละลายที่ใช้ในกระบวนการสกัดสำหรับแยกสาร teroenoids ออกจากกลุ่มอื่นๆ

2.3.2 วิธีการสกัด

วิธีการสกัดสารมีหลากหลายวิธีแต่สิ่งที่ควรพิจาณาถึง คือ

1) เวลาที่ใช้ในการสกัด

2) ตัวทำละลายที่ใช้

3) ค่า pH ของตัวทำละลายที่ใช้

4) อุณหภูมิ

5) ขนาดของส่วนของพืชที่ใช้

6) อัตราส่วนของตัวทำละลายกับตัวอย่างพืช (solvent-to-sample ratio)

โดยพื้นฐานทั่วไปไม่ว่าจะเป็นตัวอย่างพืชที่แห้ง (dry) หรือ เปียก (wet) ก็จะต้งทำการบด (grind) ก่อนที่จะนำไปทำการสกัด เพื่อช่วยเพิ่มพื้นที่ให้ตัวทำละลายซึมเข้าได้ง่ายและเร่งอัตราเร็วในการสกัด Das *et al.* (2010) พบว่า อัตราส่วนของตัวทำละลาย : ตัวอย่างพืช (น้ำหนักแห้ง) ที่เหมาะสม คือ 10:1 (v/w)

2.3.2.1 การผสมพืช (plant tissue homogenization)

นำพืชมาใหม่ๆทั้งที่สดและแห้งมาทำการบดด้วยเครื่อง blender ให้เป็นผงเล็กๆ (fine particles) จากนั้นนำไปเติมตัวทำละลายและนำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องนาน 5-10 min หรือ 24 h แล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง นำไปทำให้สารสกัดแห้งภายใต้แรงดัน หรือ นำไปละลายด้วยตัวทำละลายที่ระเหยง่าย หรือทำการปั่นเหวี่ยง

2.3.2.2 การสกัดแบบต่อเนื่อง (serial exhaustive extraction, continuous extraction)

วิธีนี้เป็นวิธีที่เหมาะสมกับตัวทำละลายที่ช่วยเพิ่มการสกัดสารที่มีขั้วออกมาให้มากขึ้นจากตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น hexane จนถึงตัวทำละลายที่มีขั้วมากๆ เช่น methanol มีผลทำให้ได้สารสกัดมีขั้วกว้างขึ้น ในการทำให้สารสกัดแห้งจะใช้เครื่อง soxhlet ซึ่งการทำงานของเครื่องจะเป็นระบบปิดที่จะต้องใช้ตัวทำละลายที่เป็นสารอินทรีย์ที่มีจุดเดือดต่ำ ทำให้เป็นวิธีที่ต้องให้ความร้อนในระหว่างการทำงานของเครื่อง จึงไม่เหมาะกับสารสกัดที่ไม่ทนความร้อนเนื่องจากจะใช้อุณหภูมิสูง จะทำให้องค์ประกอบของสารถูกสลายได้ด้วยความร้อน

2.3.2.3 การสกัดด้วยเครื่อง soxhlet (soxhlet extraction)

วิธีนี้จะใช้กับสารที่มีข้อจำกัด เช่น ไม่สามารถละลายหรือละลายได้น้อยในตัวทำละลาย และมีการผสมของสารที่ไม่ละลายในตัวทำละลาย ถ้าองค์ประกอบของสารมีการละลายสูงในตัวทำละลายจะทำให้สามารถแยกสารตัวอย่างออกจากสารอื่นโดยการกรองตัวอย่างเพื่อเอาส่วนที่ไม่ละลายในตัวทำละลายทิ้งไป วิธีนี้จะใช้ตัวทำละลายน้อยเนื่องจากตัวทำละลายจะระเหยขึ้นไปแล้วกลั่นตัวลงมาใน thimble ที่บรรจุตัวอย่างไว้ และตัวทำละลายจะผ่านลงตัวอย่างพืชซ้ำแล้วซ้ำอีกจนองค์ประกอบในตัวอย่างพืชถูกสกัดออกมา วิธีนี้จึงไม่เหมาะกับองค์ประกอบของสารที่ไม่ทนความร้อน

2.3.2.4 การแช่ (merceration)

ทำโดยการแช่พืชกับตัวทำละลายในภาชนะแก้วที่มีฝาปิดสนิทที่อุณหภูมิห้อง ทำการกวนเป็นครั้งคราว และแช่นาน 7 วัน จนตัวทำละลายซึมเข้าไปสกัดสารออกมาจากนั้นก็ทำการแยกกรองเอากาก (marc) ออกจากสารสกัด วิธีนี้จึงเหมาะกับการใช้สกัดสารทำยาที่ไม่ทนความร้อน แต่วิธีนี้มีข้อเสีย คือ เป็นการสกัดที่ไม่สมบูรณ์เนื่องจากมีการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายน้อย

2.3.2.5 การสกัดด้วยคลื่นเสียง (sonication)

จะใช้คลื่นเสียงในช่วง 20 kHz ถึง 2000 kHz วิธีนี้ถ้ามีการขยายขนาดของการสกัดจะทำให้มีราคาแพง แต่ใช้เวลาในการสกัดน้อย เหมาะกับองค์ประกอบของสารสกัดที่ไม่ทนความร้อนและใช้สารสกัดน้อย

2.3.2.6 Percolation

เป็นวิธีการสกัดสาระสำคัญแบบต่อเนื่องโดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า percolator เป็นเครื่องที่มีลักษณะเป็นโคนยาวและแคบ นำตัวอย่างมาแช่ในตัวทำละลายเพื่อให้มีความชื้นที่เหมาะสม โดยหมักทิ้งไว้ 4 h เพื่อให้พองตัวเต็มที่ แล้วค่อยๆบรรจุผงยาทีละน้อยเป็นชั้นลงใน percolator เติมตัวทำละลายลงไปให้ระดับตัวทำละลายสูงเหนือสมุนไพร (solvent head) ประมาณ 0.5 ซม. แล้วปิดฝาให้สนิท ทิ้งไว้ 24 ชม. จึงเริ่มไขเอาสารสกัดออกโดยคอยเติมตัวทำ

ละลายเหนือสมุนไพรอย่าให้แห้งเก็บสารสกัดจนการสกัดสมบูรณ์ ทำการบีบกากออกเพื่อเอาสารสกัดให้มากที่สุด ถ้าใช้ percolator ต่อกันหลายตัว เรียกว่า Countercurrent-operated percolator battery และมีการดัดแปลงวิธีการสกัดให้มีการเคลื่อนที่ของสารที่จะสกัด และตัวทำละลายเข้าหากัน เรียกว่า Counter current extraction

2.4 ยุง (Mosquitoes)

ยุง (Mosquitoes) เป็นแมลงที่พบได้ทั่วโลกแต่พบมากในเขตร้อนและเขตอบอุ่น จากหลักฐานทางฟอสซิลสามารถสันนิษฐานได้ว่า ยุงได้ถือกำเนิดขึ้นในโลกตั้งแต่ยุคดึกดำบรรพ์เมื่อประมาณ 38-54 ล้านปีมาแล้วจากรายงานการสำรวจพบว่า ทั่วโลกมียุงอยู่มากมายหลายพันชนิด ประมาณการว่ามีมากถึง 3,500 ชนิด (species) ในประเทศไทยมีประมาณ 459 ชนิด ยุงบางชนิดแค่ก่อความรำคาญโดยการดูดกินเลือดคนและสัตว์เลี้ยงเป็นอาหารเท่า นั้น แต่ก็มียุงอีกหลายชนิดซึ่งนอกจากจะดูดกินเลือดเป็นอาหารแล้ว ยังเป็นพาหะนำโรคร้ายแรงต่างๆ มาสู่คนและสัตว์อีกด้วย ซึ่งนับว่าเป็นอันตรายอย่างยิ่ง (อุษาวดี และธีระภาพ, 2557)

2.4.1 ยุงลายบ้าน

2.4.1.1 ลักษณะทั่วไป

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Aedes aegypti*

Kingdom – Animalia

Phylum – Arthropoda

Class – Insectica

Order - Diptera

Family – Culicidae

Genus – Aedes

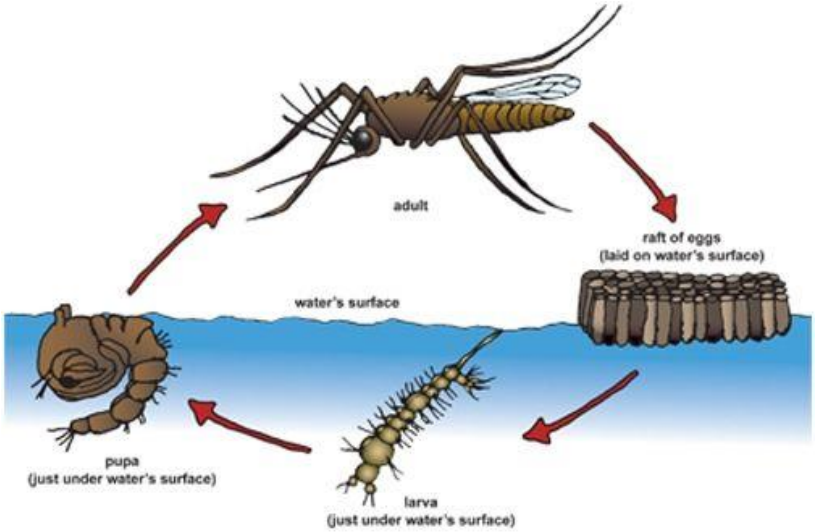
Species– aegypti

ลำตัวมีลายสีขาวสลับดำ รวมทั้งที่ขาด้วย ชอบวางไข่ในน้ำนิ่งและใส ในที่ๆ เป็นแหล่งน้ำเล็กๆ ตัวเต็มวัยชอบหากินตอนกลางวันเป็นพาหะของโรคไข้เลือดออกที่สำคัญของประเทศไทย ชอบวางไข่ในภาชนะที่มีน้ำสะอาด เช่น ถังซีเมนต์ จานรองขาตู้กันมด แจกัน เมื่อออกเป็นลูกน้ำจะอาศัยอยู่ในภาชนะดังกล่าวโดยจะตัวเต็มวัยมีนิสัยหากิน ในบ้านเรือน การที่จะควบคุมยุงให้ได้ผลดีนั้นจะต้องเรียนรู้ยุงให้ถ่องแท้ดีเสียก่อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งชีววิทยาของยุงซึ่งรวมทั้งวงจรชีวิต อุปนิสัยของยุง ถิ่นที่อยู่ และแหล่งเพาะพันธุ์

เป็นตัวการสำคัญในการนำโรคไข้เลือดออกในประเทศไทย (ในประเทศอเมริกาใต้นำโรคไข้เหลือง yellow fever) มีถิ่นกำเนิดจากอัฟริกา ชอบอาศัยอยู่ในบ้านหรือบริเวณรอบๆ บ้าน แหล่งเพาะพันธุ์ ยุงลาย ได้แก่ ภาชนะขังน้ำที่มนุษย์สร้างขึ้น เช่น ตุ่มน้ำ ถังซีเมนต์ใส่น้ำ บ่อคอนกรีตในห้องน้ำ จาน รองขาตู้กันมด ยางรถยนต์เก่า กระป๋อง แจกัน รางน้ำฝนที่มีน้ำขัง กะลามะพร้าว เป็นต้น

2.4.1.2 วงจรชีวิต

ยุงลายบ้านมีวงจรชีวิตเป็นแบบสมบูรณ์เช่นเดียวกับยุงชนิดอื่น การเจริญเติบโตแบ่งเป็น 4 ระยะ คือ ไข่ ลูกน้ำ ตัวโม่ง และตัวเต็มวัย ดังภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 วงจรชีวิตยุงลาย
ที่มา: อุษาวดี และธีระภาพ, 2557

1) ไข่

ไข่ยุงมีขนาดเล็กมากประมาณ 1 มิลลิเมตรเท่านั้น แต่ก็ยังสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ไข่ยุงมีลักษณะรูปร่างแตกต่างกันไป ไข่ยุงก้นปล่องมีทุ่นลอยใสๆ ติดอยู่ด้านข้างของไข่ช่วยพยุงให้ไข่ลอยน้ำได้ ไข่ยุงลายไม่มีทุ่นลอยแต่เกาะติดอยู่ตามผนังภาชนะกักเก็บน้ำ เช่น โอ่งน้ำ โดยเกาะติดอยู่ตามขอบเหนือระดับน้ำเล็กน้อย ไข่ยุงรำคาญเรียงตัวเกาะกันเป็นแพอยู่บนผิวน้ำ ไข่ยุงเสือเกาะติดอยู่ตามขอบใต้ใบพืชน้ำบางชนิดที่อยู่ปริ่มน้ำ ยุงวางไข่ครั้งละประมาณ 100 ฟอง ระยะฟักไข่ประมาณ 2 วัน ก็จะออกมาเป็นลูกน้ำ

ยุงลายจะวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ ติดไว้ที่ผนังด้านในบริเวณที่ชื้นเหนือระดับน้ำ ไขใหม่มีสีขาวต่อมาประมาณ 12-24 ชั่วโมง จะ เปลี่ยนเป็นสีดำ ไข่ยุงลายสามารถอยู่ในที่แห้งได้นานเป็นปี (ความชื้นสูงและอุณหภูมิประมาณ 28-30 องศาเซลเซียส) เมื่อ ระดับน้ำท่วมไข่ จึงฟักตัวออกมาเป็นลูกน้ำ ระยะ ฟักตัวในไข่ประมาณ 2.5-3.5 วัน

2) ลูกน้ำ

แรกเริ่มเมื่อลูกน้ำฟักออกมาจากไข่ มีขนาดเล็กมากเป็นลูกน้ำระยะที่ 1 จากนั้นลูกน้ำจะกินอาหารทำให้เจริญเติบโตขึ้นและลอกคราบเปลี่ยนเป็นลูกน้ำ ระยะที่ 2 ซึ่งมีขนาดโตขึ้นแต่มีรูปร่างเหมือนเดิม ลูกน้ำจะกินอาหารและเจริญเติบโตขึ้นอีกเป็นลูกน้ำระยะที่ 3 และ 4 ต่อไป การเปลี่ยนระยะแต่ละครั้งจะมีการลอกคราบเสมอ เมื่อลูกน้ำระยะที่ 4 เจริญเต็มที่ก็จะลอกคราบครั้งสุดท้าย เปลี่ยนเป็นระยะตัวโม่ง ซึ่งมีลักษณะรูปร่างแตกต่างไปจากลูกน้ำอย่างมาก ระยะที่เป็นลูกน้ำใช้เวลาประมาณ 6 วัน ลูกน้ำยุงก็มีรูปร่างลักษณะรวมทั้งการเกาะที่ผิวน้ำและนิสัยการกิน

อาหารแตก ต่างกันไป เช่น ลูกน้ำยุงก้นปล่องไม่มีท่อหายใจมีแต่เพียงรูหายใจ จึงลอยตัวขนานกับผิวน้ำและหาอาหารที่ผิวน้ำ ลูกน้ำยุงลายมีท่อหายใจสั้น เกาะที่ผิวน้ำโดยห้อยหัวอยู่ใต้น้ำและหาอาหารที่ก้นภาชนะกักเก็บน้ำ ลูกน้ำยุงรำคาญมีท่อหายใจยาว เกาะที่ผิวน้ำโดยห้อยหัวอยู่ใต้น้ำเช่นกันแต่หาอาหารที่แขวนลอยอยู่ในน้ำ

หลังจากออกจากไข่แล้วลูกน้ำเริ่มกินอาหาร การเจริญเติบโตและลอกคราบ 4 ครั้ง ตัวอ่อนที่ได้จากการลอกคราบแต่ละครั้ง เรียกว่า instar เช่น ลูกน้ำที่ฟักออกจากไข่เรียกว่า first instar เมื่อลอกคราบต่อไปกลายเป็น second instar เป็นต้น ลูกน้ำใช้เวลาในการเจริญเติบโตประมาณ 7-10 วัน ลอกคราบครั้งสุดท้ายกลายเป็นตัวโม่งหรือดักแด้

3) ตัวโม่ง

มีลักษณะรูปร่างที่เด่นชัดคือหัวโต ตามปกติจะลอยตัวนิ่งๆ ที่ผิวน้ำ แต่ถ้าถูกรบกวนจะเคลื่อนที่ได้อย่างว่องไว ระยะตัวโม่งนี้จะหยุดกินอาหารและเป็นระยะสุดท้ายที่ใช้ชีวิตอยู่ในน้ำ ระยะตัวโม่งใช้เวลาประมาณ 2 วัน เพื่อให้ตัวอ่อนที่อยู่ภายในเจริญเติบโตเต็มที่ก่อนที่จะลอกคราบออกมาเป็น ตัวยุงตัวเต็มวัย ระยะเวลาเริ่มจากยุงวางไข่จนกระทั่งเจริญจนถึงยุงตัวเต็มวัย ในประเทศเขตร้อยชื้นอย่างเช่นประเทศไทยนั้นใช้เวลาประมาณ 10 วันเท่านั้น แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดยุงด้วย

ระยะนี้ตัวจะโค้งงอ ไม่กินอาหาร ชอบลอยตัวติดกับผิวน้ำใช้เวลา 1-2 วัน จึงลอกคราบออกเป็นตัวเต็มวัย

4) ตัวเต็มวัย

เมื่อตัวโม่งเจริญเต็มที่จะลอยนิ่งๆ อยู่กับที่ จากนั้นเปลือกหุ้มบริเวณส่วนหัวของตัวโม่งเริ่มปริออก ตัวยุงที่อยู่ภายในจะค่อยๆ ดันออกมา ขณะที่ตัวยุงโผล่พ้นเปลือกตัวโม่งเกือบหมดเหลือเฉพาะส่วนขา ก็จะเริ่มคลี่ปีกออก เมื่อปลายขาหลุดออกมาหมดแล้วก็จะเกาะอยู่บนผิวน้ำหรือบริเวณใกล้เคียงประมาณ 2-3 ชั่วโมง เพื่อให้ปีกแข็งแรงพอที่จะบินได้ ตามปกติแล้วยุงตัวผู้ออกมาก่อนยุงตัวเมียและอาศัยบริเวณแหล่งเพาะพันธุ์ตลอด ชีวิต กินอาหารพวกน้ำหวานจากพืชโดยไม่กินเลือด ยุงตัวผู้มีอายุสั้นกว่าตัวเมีย ส่วนยุงตัวเมียเมื่อออกมาจากตัวโม่งจะกินอาหารพวกน้ำหวานจากพืชก่อน เพื่อให้มีพลังงาน จากนั้นก็ผสมพันธุ์โดยยุงตัวเมียผสมพันธุ์ครั้งเดียวเท่านั้นในชีวิตก็สามารถออกไข่ได้ตลอดไป เมื่อยุงตัวเมียได้รับการผสมพันธุ์แล้วก็จะหาอาหารเลือดซึ่งมีโปรตีนและธาตุ อาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของไข่ โดยทั่วไปถ้ายุงตัวเมียไม่ได้กินเลือด ไข่ก็ไม่เจริญจึงไม่สามารถวางไข่ต่อไปได้ ยุงแต่ละชนิดชอบกินเลือดเหยื่อแตกต่างกันไป ยุงบางชนิดชอบกินเลือดคน เช่น ยุงลาย ยุงบางชนิดชอบกินเลือดสัตว์ เช่น ยุงรำคาญ ยุงบางชนิดชอบกินทั้งเลือดคนและเลือดสัตว์ เมื่อยุงได้กินเลือดเต็มที่แล้ว ก็จะไปหาบริเวณที่เหมาะสม เกาะพักนิ่งๆ เพื่อรอเวลาให้ไข่เจริญเติบโต เช่น ตามที่อับชื้น เย็นสบายลมสงบและแสงสว่างไม่มาก ยุงบางชนิดชอบเกาะพักภายในบ้านตามมุมมืดที่อับชื้น ยุงบางชนิดชอบเกาะพักนอกบ้านตามสุ่มทุมพุ่มไม้ที่ชุ่มชื้น ในสภาพภูมิอากาศร้อนชื้นแบบบ้านเรา ยุงจะใช้เวลาเพียง 2-3 วัน ไข่ก็สุกเต็มที่พร้อมที่จะวางไข่ได้ ยุงแต่ละชนิดเลือกแหล่งน้ำสำหรับวางไข่ไม่เหมือนกัน บางชนิดชอบน้ำใส นิ่ง เช่น ยุงลาย บางชนิดชอบน้ำโสโครกตามท่อระบายน้ำ เช่น ยุงรำคาญ ยุงบางชนิดชอบวางไข่ตามแหล่งน้ำตามธรรมชาติ เช่น ยุงก้นปล่อง ยุงวางไข่ครั้งละประมาณ 100 ฟอง เมื่อยุงวางไข่แล้วก็จะบินไปหากินเลือดอีกสำหรับไข่ในรุ่นต่อไป

วนเวียนอยู่ เช่นนี้จนกระทั่งยุงแก่ตาย ยุงตัวเมียโดยเฉลี่ยมีอายุประมาณ 1 เดือน ส่วนยุงตัวผู้มีอายุสั้นกว่ายุงตัวเมีย โดยเฉลี่ยมีอายุประมาณ 1 สัปดาห์

เริ่มผสมพันธุ์เมื่ออายุประมาณ 24 ชั่วโมง ตัวเมียผสมพันธุ์เพียงครั้งเดียวแต่วางไข่ได้หลายครั้ง ส่วนตัวผู้ผสมพันธุ์ได้หลาย สิบครั้งในหนึ่งชั่วโมง หลังจากนั้นยุงตัวเมียจะออกกินเลือด ยุงลายชอบกินเลือดคนและหากินในเวลากลางวัน บางครั้งยุงลายอาจกัดคนในเวลา กลางคืนแต่เป็นภาวะจำเป็น เช่น ไม่มีเหยื่อในเวลากลางวัน หลังจากกินเลือดอิ่มแล้วยุงตัวเมียจะไปเกาะพักรอให้ไข่เจริญเติบโต เรียกช่วงนี้ว่า gonotrophic cycle ซึ่งใช้เวลาประมาณ 2.5-3.5 วัน แหล่งเกาะพักของยุงลาย ได้แก่ บริเวณที่มืดอับลม ในห้องน้ำในบ้าน โดยเฉพาะตาม สิ่งห้อยแขวนภายในบ้าน เช่น เสื้อผ้า มุ้ง ม่าน เป็นต้น หลังจากไข่เจริญเต็มที่แล้วจะบินไปหาที่วางไข่ ชอบที่ร่ม น้ำที่มีใบไม้ร่วงลงไปและมีสี น้ำตาลอ่อน จะกระตุ้นการวางไข่ได้ดีแต่ยุงลายไม่ชอบน้ำที่มีกลิ่นเหม็น ลักษณะของยุงลายบ้านที่สำคัญตรงบริเวณด้านหลังของอกมีเกล็ดสีขาว เป็นรูปเคียว 2 อันคู่กัน (อุษาวดี และธีระภาพ, 2557) ดังภาพที่ 2.7

ภาพที่ 2.7 ลักษณะแต่ละระยะของยุงลายบ้าน
ที่มา: อุษาวดี และธีระภาพ, 2557

2.4.1.2 โรคติดต่อที่มียุงเป็นพาหะในประเทศไทย

1) โรคมาลาเรีย

แหล่งแพร่โรคอยู่ในท้องที่ป่าเขา โดยเฉพาะตามแนวชายแดนติดต่อกับประเทศพม่าและกัมพูชา เชื้อโรคมาลาเรียคือ โปรโตซัว ซึ่งเป็สสัตว์เซลล์เดียวมีขนาดเล็กมากมีชื่อเรียกว่าพลาสโมเดี่ยม ซึ่งมีอยู่ 4 ชนิดด้วยกัน แต่ที่มีอันตรายร้ายแรงจนถึงแก่ชีวิตคือ พลาสโมเดี่ยมฟาลซิฟารั่ม

2) โรคไข้เลือดออก

แหล่งแพร่โรงอาจเกิดขึ้นได้ทั้งในเขตเมืองและชนบททุกจังหวัดทั่วประเทศ ผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็นเด็ก เชื้อโรคไข้เลือดออกคือไวรัสที่มีชื่อว่า เดงกี่ไวรัส ผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงมักเสียชีวิตเนื่องจากเกิดการช็อค

3) โรคเท้าช้าง

แหล่งแพร่โรคอยู่ในท้องที่ชนบทเฉพาะทางภาคใต้และภาคตะวันตกของประเทศ เชื้อโรคเท้าช้างคือพยาธิตัวกลมขนาดเล็ก รูปร่างคล้ายเส้นด้ายอาศัยอยู่ในกระแสโลหิตของ

ผู้ป่วย โรคนี้ทำให้เกิดแขน เท้า ลูกอัณฑะบวมโต เกิดความพิการตามมาแต่โรคไม่รุนแรงถึงขั้นเสียชีวิต เนื่องจากผู้ป่วยในรายที่มีอาการรุนแรงจะมีเท้าบวมใหญ่คล้ายเท้าของช้าง จึงเรียกโรคนี้ว่าโรคเท้าช้าง

4) โรคไข้สมองอักเสบ

แหล่งแพร่โรคอยู่ในท้องที่ชนบทโดยเฉพาะทางภาคเหนือบริเวณที่มีการเลี้ยงสุกร มาก โรคนี้ตามปกติเป็นโรคติดต่อในสัตว์ด้วยกันเองเท่านั้น การที่โรคติดต่อมาถึงคนได้นั้น นับเป็นการบังเอิญที่คนไปถูกยุงที่มีเชื้อโรค กัด เชื้อโรคไข้สมองอักเสบคือไวรัสที่มีชื่อว่า แจแปนิส เอนเซบ ฟาไลติส ไวรัส ถึงแม้จำนวนผู้ป่วยโรคนี้มีไม่มาก แต่โรคนี้ทำให้เกิดอาการรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้ โดยง่ายหรือทำให้เกิดความ พิการทางสมองตามมาได้ (อุษาวดี และธีระภาพ, 2557)

2.4.2 ยุงรำคาญ

2.4.2.1 ลักษณะทั่วไป

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Culex quinquefasciatus*

Kingdom – Animalia

Phylum – Arthropoda

Class – Insectica

Order - Diptera

Family – Culicidae

Genus – Culex

Species– quinquefasciatu

ลำตัวบอบบาง มีขนาดเล็ก ไม่มีลวดลายตามตัว มีมากที่สุดในจำนวนยุงทั้งหมด วางไข่ในแหล่งน้ำทุกชนิด ตัวเต็มวัยออกหากินทั้งกลางวันและกลางคืน แต่ส่วนใหญ่ออกหากินตอนหัวค่ำ ไข่ของยุงจะวางในลักษณะเดี่ยวๆ เป็นแพลอยอยู่ที่ผิวน้ำ ไข่จะฟักในเวลา 24 ชั่วโมง ออกเป็นตัวลูกน้ำและเจริญเติบโตอยู่ในน้ำ จากนั้นก็จะลอกคราบเพื่อเข้าดักแด้หรือที่เรียกว่าตัวโม่ง และจากตัวโม่งจะออกเป็นตัวยุง ระยะเวลาตั้งแต่ไข่ถึงตัวเต็มวัยใช้เวลาประมาณ 9-10 วัน

ยุงรำคาญหรือบางครั้งเรียกว่ายุงบ้าน เป็นพาหะนำโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบและโรคเท้าช้าง

2.4.2.2 วงจรชีวิต

1) ระยะตัวแก่ ตัวแก่ของยุงรำคาญลำตัวจะมีสีดำหรือสีน้ำตาลอ่อน ปีกลำตัว หรือขาหรือส่วนอื่น ๆ ของร่างกายไม่มีจุดหรือแต้มที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า นอกจากมองผ่านแว่นขยาย ในขณะดูดเลือดจะมีส่วนของลำตัวขนานกับพื้นผิว ส่วนใหญ่ออกหากินในเวลาพลบค่ำหรือตอนกลางคืน เพราะไม่ชอบแสงสว่าง

2) ระยะลูกน้ำ ลูกน้ำยุงรำคาญมีท่อหายใจที่ยาวเรียวและมีกระจุกขนขึ้นอยู่ด้านล่างของท่อหายใจหลายจุก ลูกน้ำจะเกาะที่ผิวน้ำ โดยห้อยหัวอยู่ใต้น้ำทำมุมเอียงกับผิวน้ำ และหาอาหารที่**แขวนลอยอยู่ในน้ำ**

3) ระยะไข่ ไข่ของยุงรำคาญมีรูปร่างคล้ายตอร์ปิโดเรียงตัวเกาะกันเป็นแพอยู่บนผิวน้ำ

2.4.2.3 แหล่งเพาะพันธุ์

ยุงรำคาญมักจะวางไข่ตามแหล่งน้ำเน่าเสีย ท่อน้ำทิ้งหรือน้ำโสโครกตามท่อระบายน้ำ (อุษาวดี และธีระภาพ, 2557)

2.4.3 ยุงก้นปล่อง

2.4.3.1 ลักษณะทั่วไป

ชื่อวิทยาศาสตร์ Anopheles sp.

Kingdom – Animalia

Phylum – Arthropoda

Class – Insectica

Order - Diptera

Family – Culicidae

Genus – Anopheles

Species– dirus (minimus , maculates, sundaicus)

เป็นยุงที่ นำไข้มาลาเรีย อาศัยอยู่ตามป่า เขา พบทั่วไปทุกจังหวัดของไทย แต่ที่นำโรค จะพบตาม ชายแดน ติดต่อกับ พม่า เขมร เขต จังหวัดจันทบุรี ตราด สระแก้ว กาญจนบุรี เป็นต้น ภาคกลางหรือภาคอื่นๆก็มีครับ แต่ไม่มีเชื้อเข้าไป เลยไม่มีโรคเกิดขึ้น

2.4.3.2 วงจรชีวิต

1) ระยะตัวแก่ ตัวแก่ของยุงก้นปล่องจะมีจุดสีดำแต้มอยู่บนปีกเป็นหย่อม ๆ ส่วนใหญ่จะออกหากินในเวลากลางคืน สังเกตยุงชนิดนี้ได้ง่ายเวลามันเกาะพักหรือดูดเลือด จะยกก้นชี้เป็นปล่อง

2) ระยะลูกน้ำ ลูกน้ำยุงก้นปล่องไม่มีท่อหายใจมีแต่เพียงรูหายใจ จึงลอยตัวขนานกับผิวน้ำ**และหาอาหารที่ผิวน้ำ**

3) ระยะไข่ รูปร่างของไข่เพรียวเหมือนเรือบดมีทุ่นทำให้ลอยน้ำได้ แหล่งเพาะพันธุ์ ยุงก้นปล่องมักจะชอบวางไข่ตามแหล่งน้ำธรรมชาติ ลำห้วยหรือลำธารในพื้นที่ป่า

2.4.3.3 นำเชื้อโรคมาลาเรียมาสู่คน

ยุงก้นปล่อง ที่เป็นพาหะหลักของการนำเชื้อโรคมาลาเรียที่สำคัญ ได้แก่

1) *Anopheles dirus* ตัวเมีย ส่วนของปาก (proboscis) จะยาวเกือบเท่าระยางค์ปาก (maxillary palpi) และส่วนปลายอก (scutellum) จะโค้งเรียบไม่มี รอยหยัก ส่วนขาจะขาลายทั้ง 3 คู่ ข้อต่อระหว่างขาคู่หลังตรงส่วน Tibia และ Tarsi จะมีปื้นขาวยาวมาก เห็นได้ชัดเจน *Anopheles dirus* พบในป่าทึบชอบออกไข่ตามแอ่งน้ำนิ่งขังตามธรรมชาติ ลักษณะนิสัยชอบกินเลือดคนมาก ไม่ชอบกินเลือดสัตว์อื่นออกหากินตอนกลางคืนถึงเช้ามืด แต่ถ้าป่าทึบมาก ๆ ก็หากินช่วงกลางวันด้วย ยุงชนิดนี้ เป็นชนิดที่มีความสามารถในการแพร่เชื้อมาลาเรียมากกว่ายุงพาหะชนิดอื่นในประเทศไทย

2) *Anopheles minimus* ลักษณะปาก, ระยางค์ปากและส่วนปลายของอกคล้าย *An.dirus* แต่ส่วนของปากและขาดำตลอด *Anopheles minimus* พบตามชายป่า ชอบวางไข่ในลำธาร น้ำใส ไหลเอื่อย ๆ ยุง *Anopheles* จะชอบออกไข่ในน้ำนิ่ง ดังนั้น วิธีหนึ่งที่เราจะช่วยกำจัดมาลาเรียคือ ทำลายแหล่งน้ำนิ่งทั้งในและนอกบ้านให้หมดสิ้น

3) *Anopheles maculatus* ลักษณะปาก,ระยางค์ปาก และส่วนปลายขอ งอกคล้าย An.dirus แต่ลักษณะของขาจะลายทั้ง 3 คู่ ขาคู่หลังจะมีปื้นขาวที่ส่วนปลาย

4) *Anopheles sundaicus* ลักษณะปาก,ระยางค์ปาก และส่วนปลายของอก คล้าย An.dirus แต่ลักษณะของขาทุกขา จะมีจุดขาวเป็นกระไม่มีปื้นขาวเลย

ยุงมีปากที่เป็นท่อแหลมสำหรับดูดเลือดจากคนเพื่อเอาโปรตีนไปสร้างไข่ ยุงตัวเมียมักออกหาเหยื่อเวลากลางคืน โดยใช้ปากที่มีลักษณะเป็นท่อเจาะผิวหนังเพื่อดูดกินเลือด กระบวนการนี้ ตามปรกติจะดำเนินไปโดยเหยื่อไม่รู้ตัว เนื่องจากยุงจะปล่อยน้ำลายออกมา เพื่อทำหน้าที่เป็นยาชา ทำให้คนถูกกัดไม่รู้สึกเจ็บ ซึ่งน้ำลายนี่เองที่มีเชื้อมาลาเรีย โดยยุงได้เชื้อนี้จากคนที่มันไปกัดมาก่อน (อุษาวดี และธีระภาพ, 2557)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.5.1 สารสกัดหยาบของสาบเสือ

ลักษณะของสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากตัวทำลายที่แตกต่างกันก็จะได้ทั้งปริมาณและชนิดของสารแตกต่างกันรวมทั้งลักษณะสีและความหนืดของสาร (consistency) ดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 ปริมาณสารสกัดหยาบจากสาบเสือที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

Solvent extract	Ratio of plant and solvent (w/v)	Yield		Refrence
		Gram	%	
Aqueous (cold)	1:2	3.5	3.5	Stanley *et al*. (2014)
	1:25	101.25	20.25±0.54	Mondal *et al.* (2012)
Chloroform	1:10	ND	ND	Yahya *et al.* (2014)
Ethanol	1:2	3.8	3.8	Stanley *et al*. (2014)
	1:10	ND	ND	Yahya *et al.* (2014)
	1:4	ND	ND	Alisi *et al*. (2011)
80% Ethanol	1:1	ND	ND	Kigigha *et al.* (2013)
80% Methanol, 75% Ethanol and Ethyl acetate	1:10	ND	ND	Vijiayaraghavan *et al.*(2013)
95% ethanol	1:25	145.40 (500g)	29.08±0.65	Mondal *et al.* (2012)
Methanol	1:25	123.70 (500g)	24.74±0.79	Mondal *et al.* (2012)

ND = not detected

2.5.1.1 สารสกัดหยาบ

ชนิดของพฤกษเคมีจากสารสกัดหยาบสาบเสือ *E. odoratum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำและ methanol โดยใช้ GC-MS ดังตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 ชนิดของพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสาบเสือ *E. odoratum* เมื่อสกัดด้วยน้ำและ methanol โดยใช้ GC-MS

RT	Name of the compound	Molecular formula	Mol. Wt.	Peak area (%)	Activity
		Aqueous extract			
16.825	O-(alpha-methylbenzyl) phenol	$C_{14}H_{14}O$	198	2.07	Good antioxidant
19.497	2-(2,4-di-tert-pentylphenoxyl)-butyric acid	$C_{20}H_{32}O_3$	320	3.41	Agrochemical intermediate
21.419	n-Octadecyl ethanoate	$C_{20}H_{40}O_2$	312	2.44	Ant-repellent
23.259	2,4,6-tris-(1-phenylethyl)-phenol**	$C_{30}H_{30}O$	406	20.77	Antibacterial and antioxidant
24.143	Monoethylhexyl phthalate	$C_{16}H_{22}O_4$	278	15.17	Potent antimicrobial, antioxidant, anticancer
27.713	Hoslundin	$C_{23}H_{18}O_7$	406	18.95	Significant action on Gonorrhooea, cystitis, hookworm, cough, fevers, colds, wounds bilharzias and also shows anti-malarial
27.827	2,4,6-tris-(1-phenylethyl)-phenol	$C_{30}H_{30}O$	406	20.77	Antibacterial and antioxidants
		Methanol extract			
11.578	4-hydroxy-2-methylproline	$C_6H_{11}NO_3$	145	0.38	Anti–inflammatory
12.490	Copaene	$C_{15}H_{24}$	204	0.35	Antimicrobial and antioxidant
13.103	Caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	204	0.54	Antimicrobial and antioxidant, Anti-tumor, analgesic, antibacterial, anti-inflammatory, sedative, fungicide
15.197	Caryophyllene oxide	$C_{15}H_{24}O$	220	0.71	Antimicrobial, Anti-inflammatory, antioxidant, uses in manufacturing of Fragrances and Flavors of all types
15.519	6,8-Nonadien-2-One, 8-Methyl-5-(1-Methylethyl)-, (E)-	$C_{13}H_{22}O$	194	0.69	Antimicrobial
16.060	beta.-Eudesmol	$C_{15}H_{26}O$	222	0.55	Antimicrobial and antioxidant
16.399	Mome Inositol	$C_7H_{14}O_6$	194	1.96	No activity reported

ตารางที่ 2.7 (ต่อ)

RT	Name of the compound	Molecular formula	Mol. Wt.	Peak area (%)	Activity
17.829	Neophytadiene	$C_{20}H_{38}$	278	5.40	antipyretic, analgesic, and anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant
18.085	(2E)-3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	$C_{20}H_{40}O$	296	1.13	Antituberculosis , insecticidal, anti-inflammatory, antioxidant, antimicrobial
18.276	3,7,11,15- Tetramethylhexadec-2-en-1-ol	$C_{20}H_{40}O$	296	1.71	Anti-inflammatory, antioxidant, antimicrobial
20.548	Phytol	$C_{20}H_{40}O$	296	3.29	Antimicrobial, anticancer, anti-inflammatory, antidiuretic, immunostimulatory and anti-diabetic
21.007	Methyl linolelaidate	$C_{19}H_{34}O_2$	294	0.27	Antioxidant, catalase activator
21.070	Ethyl linolenate	$C_{20}H_{34}O_2$	306	0.39	Antioxidant
22.903	Dihydro-Neoclovene-(II)	$C_{15}H_{26}$	206	0.39	Antimicrobial
24.052	2,3-Dihydroxypropyl palmitate	$C_{19}H_{38}O_4$	330	1.26	Antioxidant and anti-inflammatory
25.349	1-Tricosanol	$C_{23}H_{48}O$	340	1.26	Antibacterial and antifungal
25.581	5-Hydroxy-4',7-dimethoxyflavanone	$C_{17}H_{16}O_5$	300	1.66	Anti-inflammatory, Immuno Co-stimulatory enhancer, anticancer, antimicrobial, antioxidant
26.150	Squalene	$C_{30}H_{50}$	410	2.35	Neutralize different xenobiotics, antiinflammatory, anti-atherosclerotic and antineoplastic, role in skin aging and pathology, and Adjuvant activities.
26.221	Sakuranin	$C_{22}H_{24}O_{10}$	448	1.28	Antiinflammatory, antiallergic, anticancer, Cox-2inhibitor
26.291	1,2,4-oxadiazol-5-amine, 3-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-N-[2-(4-methoxyphenyl]-	$C_{13}H_{14}N_6O_3$	302	3.31	Anti-inflammatory

ตารางที่ 2.7 (ต่อ)

RT	Name of the compound	Molecular formula	Mol. Wt.	Peak area (%)	Activity
26.784	1-Heptacosanol	$C_{27}H_{56}O$	396	3.34	Nematicidal , anticancer, antioxidant and Antimicrobial
27.715	2,4,6-Tris-(1-Phenylethyl)-Phenol**	$C_{30}H_{30}O$	406	0.92	Antioxidant activity, Food additive
27.135	(3S)-7-O-Methoxymethylvestitol	$C_{17}H_{18}O_4$	286	5.85	Antioxidant
27.460	4-Acetyl-3-Hydroxy-2,6-Dimethoxytoluene	$C_{11}H_{14}O_4$	210	8.34	Antioxidant activity, Food additive
27.841	Beta,-Tocopherol	$C_{28}H_{48}O_2$	416	2.03	Antioxidant, anti-inflammatory antimicrobial, oestrogenic and insecticidal
28.011	5,7- Dihydroxy-8-methoxychroman-4-One	$C_{10}H_{10}O_5$	210	1.97	Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory, antifungal, anticancer
28.126	Octacosanol	$C_{28}H_{58}O$	410	2.52	Anticancer, cholesterol lowering effect, Anticoagulant, Increase stamina and improve strength and reaction time for athletes.
28.358	dl-,alpha,-Tocopherol	$C_{29}H_{50}O_2$	430	3.06	Anti-inflammatory, antioxidant, antimicrobial , radical scavenging, antispasmodic
28.685	N-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-2-(2-thienyl)-4-pquinolinecarboxamide	$C_{21}H_{14}N_2O_3S$	374	2.09	Antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, Antifungal
28.874	Tetra-O-methylscutellarein	$C_{19}H_{18}O_6$	342	5.22	Antioxidant, anti-diabetic, anti-inflammatory, antibacterial, anti-mycobacterial, Anticancer
29.422	Stigmasterol	$C_{29}H_{48}O$	412	3.88	Anti-inflammatory, inhibit tumor promotion, anti-HIV reverse transcriptase, anti-inflammatory
29.683	1-Eicosanol	$C_{20}H_{42}O$	298	1.49	Antimalarial, antifungal, Antioxidant

ตารางที่ 2.7 (ต่อ)

RT	Name of the compound	Molecular formula	Mol. Wt.	Peak area (%)	Activity
29.971	gamma.-Sitosterol	$C_{29}H_{50}O$	414	4.38	Anti-diabetic, Anti-angeogenic, Anticancer, antimicrobial, anti-inflammatory, antidiarrhoeal and antiviral
30.461	Alpha-Amyrin	$C_{30}H_{50}O$	426	7.57	Anti-diabetic, anti-inflammatory, Anti-arthritic Activity, anticancer, Three times more potent than Aspirin
30.969	Methyl commate D	$C_{31}H_{50}O_4$	486	8.55	Antimicrobial, anti-inflammatory
31.304	Olean-12-en-3-yl acetate	$C_{32}H_{52}O_2$	468	1.18	Antimicrobial, anti-diabetic, anti-amylase inhibitor
32.225	1,2-Epoxyoctadecane	$C_{18}H_{36}O$	268	2.96	No Activity reported

ที่มา: Venkata *et al.* (2012)

2.5.1.2 น้ำมันหอมระเหย

Felicien *et al*. (2012) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยสาบเสือพบว่า ประกอบด้วย α-pinene 20.7 % pregeijerene 14.6% geijerene 12.0% β-pinene 10.3% และ D-germacrene 9.7% เป็นต้น ดังตารางที่ 2.8

Suwaibah *et al* (2012) รายงานว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบและลำต้นสาบเสือที่ทำการสกัดโดยกลั่นด้วยน้ำร้อน (hydro-distillation) และทำการแยกชนิดของสารโดยใช้ GC-MS ควบคู่กับ retention indices (IR) พบว่า สารที่พบมากที่สุดทั้งในใบและลำต้นสาบเสือ คือ β–cubebene (32%) และรองลงมา คือ δ-cadinene (18%) และ carypphyllene (11%) ในน้ำมันหอมระเหยจากใบยังมีสารประกอบ alpha-pinene, cadinene, camphor, limonene, beta-caryophyllene และ cadinol

2.5.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาบเสือ

Akinmoladun *et al*. (2007) ศึกษาสารสกัดสาบเสือด้วยตัวทำละลายที่เป็นน้ำและเมทานอลมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า มี total phenolic content, มีการลดฤทธิ์ของอนุมูลอิสระ (reducing power) และมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ได้เท่ากับ 0.01± 0.00 mg/g GAE, 0.22 ± 0.01 and 28.85 ± 0.99% ตามลำดับ แต่มีในปริมาณต่ำมาก

ตารางที่ 2.8 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่างของสาบเสือในแต่ละประเทศ

Country	Part of plant	Chemical compounds	Reference
Benin	Fresh leaves	α-pinene (20.7%), pregeijerene (14.6%), geijerene (12.0%), β-pinene (10.3%), germacrene-D (9.7%)	Félicien *et al.* (2012)
Cameroon	Leaves	pregeijerene and geijerene (34.1%), alpha-pinene (14.3%) and gamma-muurolene (9.8%) (Cameroon)	Lamaty *et al.* (1992)
Congo	Leaves	pregeijerene and geijerene (19%), p-cymene (22.2%) and thymyl acetate (15.8%)	Lamaty *et al.* (1992)
India	Fresh leaves	5,6-diethenyl-1-methyl-cyclohexane (44.75%), β-guiane (11.9%), elemol (8.5%), patchoulene (8.6%)	Prabhu *et al.* (2011)
	Flower	pregeijerene (14.2%), *epi*-cubebol (9.8%), cubebol (8.6%), *cis*-sabinene hydrate (5.7%), 10-*epi*-γ-eudesmol (3.8%), germacrene-D-4-cyperene (7.8%), 10-*epi*-γ-eudesmol (4.7%), α-muurolol(3.6%) and khusimone (3.4%)	Joshi (2013)
	Root	himachalol (24.2%),7-isopropyl-1,4-dimethyl-2-azulenol (17.6%), Androencecalinol (14.1%), 2-methoxy-6-(1-methoxy-2-propenyl) naphthalene (5.65%)	Joshi, (2013)
Ivoirian	Fresh leaves	germacrene D (15-20%), geijerene (14-17%), pregeijerene (11-12%), α-pinene (7-10%), β-caryophyllene (7-10%), β-pinene (4-10%) and δ-cadinene (3-5%)	Touré *et al.* (2014)
Nigeria	Dried leaves	α-pinene (42.2%), β-pinene (10.6%), germacrene D (9.7%), β-copaen-4α-ol (9.4%), (*E*)-caryophyllene (5.4) and geijerene/pregijerene (7.5%)	Owolabi *et al.* (2010)
	Stem	pregeijerene (17.6%), germacrene D (11.1%), α-pinene (8.4%), β-caryophyllene (7.3%), vestitenone (6.5%), β-pinene (5.6%), δ-cadinene (4.9%), geijerene (3.1%), bulnesol (2.9%), and *trans*-ocimene (2.2%).	Olusegun & Musa (2014)
Thailand	Aerial part	pregeijerene (17.6%), germacrene D (11.1%), α-pinene (8.4%), β-caryophyllene (7.3%), vestitenone (6.5%), β-pinene (5.6%), δ-cadinene (4.9%), geijerene (3.1%), bulnesol (2.9%), and *trans*-ocimene (2.2%).	Pisutthanan *et al.* (2005)

2.5.3 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสาบเสือ

2.5.3.1 สารสกัดหยาบ

1) ดอก

Suksamrarn *et al*. (2004) รายงานว่า ดอกสาบเสือ (*Chromolaena odorata* หรือ *Eupatorium odoratum*) จะประกอบด้วยสารประกอบ flavonoids 4 ชนิด คือ isosakuranetin (5,7-dihydroxy-4'-methoxyflavanone), persicogenin (5,3'-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavanone), 5,6,7,4'-tetramethoxyflavanone และ 4'-hydroxy-5,6,7-trimethoxyflavanone สารประกอบ flavones 2 ชนิด คือ acacetin (5,7-dihydroxy-4'-methoxyflavone) และ luteolin (5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone) และสารประกอบ chalcones 2 ชนิด คือ 2'-hydroxy-4,4',5',6'-tetramethoxychalcone และ 4,2'-dihydroxy-4',5',6'-trimethoxychalcone จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

Mycobacterium tuberculosis พบว่า สาร isosakuranetin (5,7-dihydroxy-4'-methoxyflavanone) มีความสามรถยับยั้งเชื้อได้ในระดับปานกลาง (MIC= 174.8 μmol) สำหรับสาร 4'-hydroxy-5,6,7-trimethoxyflavanone,, acacetin (5,7-dihydroxy-4'-methoxy flavone) และ luteolin (5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone) มีความสามรถยับยั้งเชื้อได้ให้ค่า MIC เท่ากับ 606.0, 704.2 และ 699.3 μmol ตามลำดับ

2) ใบ

Pisutthanan *et al.* (2005) ทำการศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากต้นสาบเสือ *Chromolaena odorata* ที่ทำการสกัดด้วยน้ำ พบว่า มีฤทธิ์ต้าน *Stap. aureus* และ *E. coli*

Vital & Rivera (2009) รายงานว่า สารสกัดหยาบจากใบสาบเสือที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethanol มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *B. subtilis*, *Stap. aureus*, และ *Sal. typhimutium* ให้ค่าโซนใสในการยังยั้งแบคทีเรียเท่ากับ 8.33±0.58, 10.00±0.00 และ 9.00±0.00 ตามลำดับ

Naidoo *et al*. (2011) รายงานว่า สารสกัดหยาบจากใบสาบเสือจากประเทศดูไบที่สกัดด้วย methanol จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis, B. cereus, Stap. aereus,* และ *Stap. epidermidis*) ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ สำหรับแบคทีเรียแกรมลบสามารถยับยั้งได้เพียงชนิดเดียว คือ *E. coli* ในส่วนของลำต้นที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตรทและเมทานอลจะมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus epidermis* สารสกัดจากใบและลำต้นที่สกัดด้วยน้ำ methanol และ ethyl acetate จะไม่มีผลยับยั้ง *Pro. vulgaris*, *Shigella sonnei* และ *Enterobacter aerogenes*

Sukanya *et al.* (2011) ศึกษาสารสกัดหยาบจากใบสาบเสือ (*Chromolaena odorata*) ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้ง *E. coli, Stap. aureus, Xanthomonas vesicatoria* และ *R. solanaccearum* ที่ให้โซนใสเท่ากับ 8, 7, 5 และ 7 mm ตามลำดับ สำหรับสารสกัดหยาบที่สกัดด้วย ethyl acetate ต่อ hexane ในอัตราส่วน 5:5 จะสามารถยับยั้ง *E. coli, Stap. aureus, X. vesicatoria* และ *Ralstonia solanaccearum* ให้ค่าโซนใสเท่ากับ 11, 10, 9 และ 7mm ตามลำดับ และให้ค่า MIC ของ *Xanthomonas vesicatoria* และ *Ralstonia solanaccearum* เท่ากับ 0.35 to 4.0 mg/mL และ 0.25 to 4.0 mg/mL ตามลำดับ

Mondal *et al.* (2012) รายงานว่า สารสกัดหยาบใบสาบเสือ *Chromolaena odorata* (Lin.) มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อก่อโรคทางเพศสัมพันธุ์ gonorrheal โดยให้บริเวณยับยั้ง 12.5±0.2 และ 8.8±0.3 mm และให้ค่า MIC 90 และ 300 μg/ml ของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethanol และ methanol ตามลำดับ

Venkata *et al*. (2012) ทำการศึกษาสารสกัดหยาบจาก 4 ส่วนของต้นสาบเสือ คือ ดอก ใบ ลำต้น และราก ที่สกัดด้วยน้ำและสารอินทรีย์ ได้แก่ ethyl alcohol methanol, chroroform และ methanol: chloroform: water (MCW) ในสัดส่วน 12:5:3 ต่อแบคทีเรีย 9 ชนิด ได้แก่ *B. subtilis* (MTCC763) *Corynebacterium glutamicum* (MTCC2807)

E. coli (MTCC1572) *Klebsiella pneumonia* (MTCC7028) *Pro. vulgaris* (MTCC1771) *Sal. thphi* (MTCC733) *Stap. aureus* (MTCC1771) *Strep. thermophilus* (MTCC1938) และ *Vibrio parahaemolyticus* (MTCC451) พบว่า ส่วนใบและรากจะมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 9 ชนิด ที่ใช้ในการทดสอบอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามส่วนของดอกและต้นจะไม่มีฤทธิ์ต่อการยับยั้งแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญ สารสกัดใบสาบเสือที่สกัดด้วย น้ำ และ MCW จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.001$) ยกเว้น *Pro. vulgaris* และ *Sal. typhi*

Anitndehou *et al.* (2013) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคท้องเสีย (diarrheal) 4 ชนิด ได้แก่ *Klebseilla oxytoca*, *Sal. enterica*, *Shigella sonnei* และ *Vibrio cholera* ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบของสาบเสือที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ cyclohexane, dichloromethane, ethyl acetate และ butanol พบว่า สารสกัดหยาบจากใบที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด จะให้ค่า MIC กับเชื้อทั้ง 4 ชนิด อยู่ในช่วง 0.156 – 1.25 mg/ml

Eze *et al.* (2013) ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบใบสาบเสือที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethanol ต่อการยับยั้งแบคทีเรีย ได้แก่ *Stap. aureus, B. cereus, Sal.* spp., *E. coli* และ *Pseu. aeruginosa* โดยวิธี agar well diffusion ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 100 mg/ml พบว่า สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิดได้ โดยให้ค่าบริเวณยับยั้งในช่วง 16 – 22 mm และให้ค่า MIC เฉลี่ยในช่วง 2.0 ถึง 7.8 mg/ml โดยสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ตามลำดับดังนี้ *Stap. aureus* > *B. cereus,* (*Sal.* spp.= *E. coli* = *Pseu. aeruginosa*)

Kigigha *et al.* (2013) ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบสาบเสือที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethanol ต่อแบคทีเรียก่อโรค enteric คือ *E. coli* และ โรค superficial คือ *Stap. aureus* ที่แยกได้จากโรงพยาบาล พบว่า ยาปฏิชีวนะ 1% Ampiclox ที่เป็น broad-spectum จะให้ค่าบริเวณยับยั้ง *E. coli* ในช่วง 26.19±2.77 ถึง 9.43±3.64 mm ซึ่งมากกว่าสารสกัดจากใบสาบเสืออย่างมีนัยสำคัญ แต่สารสกัดจากใบสาบเสือจะให้ค่าบริเวณยับยั้ง *Stap. aureus* ในช่วง 10.47±3.76 ถึง 6.28±1.82 ซึ่งสูงกว่า ยาปฏิชีวนะ 1% Ampiclox

Stanley *et al*. (2014) ได้ทำการสกัดสารจากใบสาบเสือต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคในคนบางชนิด พบว่า สารสกัดหยาบจากส่วนใบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethanol จะให้ค่า MIC ต่อการยับยั้ง *Stap. aureus* และ *E. coli* เท่ากับ 0.25 และ 0.125 mg/ml ตามลำดับ แต่ไม่ให้ค่า MIC กับสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำในเชื้อทั้ง 2 ชนิด สำหรับผลการยับยั้งของรา *C. albicans* พบว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethanol และน้ำแบบเย็นจะให้ค่า MIC ที่ความเจือจางเท่ากับ 0.25 และ 0.5 ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดหยาบจากใบสาบเสือที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethanol จะมีผลต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคมากกว่าการสกัดด้วยน้ำ

ตารางที่ 2.9 สรุปประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากใบ และต้น (ตารางที่ 2.10) สาบเสือที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

ตารางที่ 2.9 ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบใบสาบเสือ *Chromoleana odorata* ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

Country	Solvents	Microorganisms	Inhibition zone (mm)	MIC (mg/ml)	References
	Aqueous	**Gram's positive bacteria**			
Durban		*B. subtilis*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
India			8	0.6	Maji *et al.* (2010)
Durban		*B. cereus*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
India			12	0.53	Maji et al. (2010)
Durban		*Stap. Aureus*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Nigeria			ND	NA	Stanley *et al.* (2014)
India			4	NA	Maji *et al.* (2010)
Durban		*Stap. Epidermis*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
		Gram's negative bacteria			
Nigeria		*E. coli*	ND	NA	Stanley *et al.* (2014)
Durban			ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
India			4	NA	Maji *et al.* (2010)
Durban		*Enterobacter aerogenes*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
India		*Klebsiella pneumonia*	4	NA	Maji *et al.* (2010)
Durban		*Shigella sonnei*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Proteus vulgaris*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
India		*Vibrio cholera*	4	NA	Maji *et al.* (2010)
		Yeast			
Nigeria		*C. albicans*	2.0 ±0.1	0.5	Stanley *et al.* (2014)
	Acetone	**Gram's positive bacteria**			
India		*B. cereus*	7	0.60	Maji et al. (2010)
India		*Stap. Aureus*	12	0.50	Maji *et al.* (2010)
		Gram's negative bacteria			
India		*E. coli*	10	0.53	Maji *et al.* (2010)
India		*Klebsiella pneumonia*	12	0.51	Maji *et al.* (2010)
India		*Vibrio cholera*	9	0.60	Maji *et al.* (2010)
		Yeast			
India		*C. albicans*	10	0.50	Maji *et al.* (2010)
	Benzene	**Gram's positive bacteria**			
India		*B. cereus*	9	0.60	Maji et al. (2010)
India		*Stap. Aureus*	12	0.55	Maji *et al.* (2010)
		Gram's negative bacteria			
India		*E. coli*	8	0.50	Maji *et al.* (2010)
India		*Klebsiella pneumonia*	9	0.52	Maji *et al.* (2010)
India		*Vibrio cholera*	13	0.40	Maji *et al.* (2010)
		Yeast			
India		*C. albicans*	13	0.45	Maji *et al.* (2010)

ตารางที่ 2.9 (ต่อ)

Country	Solvents	Microorganisms	Inhibition zone (mm)	MIC (mg/ml)	References
	Ethanol	**Gram's positive bacteria**			
Philippines		*B. subtilis*	8.3±0.58	ND	Vital and Rivera (2009)
Nigeria		*B. cereus*	ND	3.125	EA *et al.* (2013)
Philippines		*Stap. Aureus*	10.0±0.0	ND	Vital & Rivera (2009)
Nigeria			6.0 ±0.1	0.125	Stanley *et al.* (2014)
Nigeria			ND	2.0	Eze *et al.* (2013)
		Gram's negative bacteria			
Nigeria		*E. coli*	7.0 ±0.1	0.25	Stanley *et al.* (2014)
Nigeria			ND	6.25	Eze *et al.* (2013)
Nepal		*Neisseria gonorrhoeae*	12.5±0.5	90 µg/ml	Mondal *et al*. (2012)
Nigeria		*P. aeruginosa*	ND	5.47	Eze *et al.* (2013)
Philippines		*Salmonella typhimutium*	9.00±0.00	ND	Vital & Rivera (2009)
Nigeria		*Salmonella* spp.	ND	7.8	Eze *et al.* (2013)
		Yeast			
Nigeria		*C. albicans*	4.0 ±0.1	0.25	Stanley *et al.* (2014)
	Chloroform	**Gram's positive bacteria**			
India		*Stap. Aureus*	4	ND	Sukanya *et al*. (2011)
		Gram's negative bacteria			
India		*E. coli*	8	ND	Sukanya *et al*. (2011)
	Cyclohexane	**Gram's negative bacteria**			
Benin		*Klebsiella oxytoca*	ND	1.25	Antindehou *et al*. (2013)
Benin		*Salmonella enterica*	ND	1.25	Antindehou *et al*. (2013)
Benin		*Shigella sonnei*	ND	1.25	Antindehou *et al*. (2013)
Benin		*Vibrio cholera*	ND	1.25	Antindehou *et al*. (2013)
	Dichloromethane	**Gram's negative bacteria**			
Benin		*Klebsiella oxytoca*	ND	0.625	Antindehou *et al*. (2013)
Benin		*Salmonella enterica*	ND	0.625	Antindehou *et al*. (2013)
Benin		*Shigella sonnei*	ND	0.625	Antindehou *et al*. (2013)
Benin		*Vibrio cholera*	ND	0.156	Antindehou *et al*. (2013)

ตารางที่ 2.9 (ต่อ)

Country	Solvents	Microorganisms	Inhibition zone (mm)	MIC (mg/ml)	References
	Ethyl acetate	**Gram's positive bacteria**			
Durban		*B. subtilis*	ND	7.0	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*B. cereus*	ND	8.0	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Stap. Aureus*	ND	8.0	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Stap. Epidermis*	ND	7.0	Naidoo *et al.* (2011)
		Gram's negative bacteria			
Durban		*E. coli*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Enterobacter aerogenes*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Benin		*Klebsiella oxytoca*	ND	0.625	Antindehou *et al.* (2013)
Durban		*Shigella sonnei*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Benin			ND	0.625	Antindehou *et al.* (2013)
Durban		*Proteus vulgaris*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Benin		*Shigella sonnei*	ND	0.625	Antindehou *et al.* (2013)
Benin		*Vibrio cholera*	ND	0.625	Antindehou *et al.* (2013)
	Butanol	**Gram's negative bacteria**			
Benin		*Klebsiella oxytoca*	ND	1.25	Antindehou *et al.* (2013)
Benin		*Salmonella enterica*	ND	0.265	Antindehou *et al.* (2013)
Benin		*Shigella sonnei*	ND	0.625	Antindehou *et al.* (2013)
Benin		*Vibrio cholera*	ND	0.312	Antindehou *et al.* (2013)
	Methanol	**Gram's positive bacteria**			
Durban		*B. subtilis*	ND	8.0	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*B. cereus*	ND	7.5	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Stap. Aureus*	NID	8.0	Naidoo *et al.* (2011)
India			9	ND	Sukanya *et al.* (2011)
Durban		*Stap. Epidermis*	ND	8.0	Naidoo *et al.* (2011)
		Gram's negative bacteria			
India		*E. coli*	10	ND	Sukanya *et al.* (2011))
Durban		*Enterobacter aerogenes*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Nepal		*Neisseria gonorrhoeae*	8.8±0.3	0.3	Mondal *et al.* (2012)
Durban		*Shigella sonnei*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Proteus vulgaris*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)

ตารางที่ 2.10 ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบลำต้นสาบเสือ *Chromoleana odorata* ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

Country	Solvents	Microorganisms	Inhibition zone (mm)	MIC (mg/ml)	References
	Aqueous	**Gram's positive bacteria**			
Durban		*B. subtilis*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*B. cereus*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Stap. Aureus*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Stap. epidermis*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
		Gram's negative bacteria			
Durban		*E. coli*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Enterobacter aerogenes*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Shigella sonnei*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Proteus vulgaris*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
	Ethyl acetate	**Gram's positive bacteria**			
Durban		*B. subtilis*	ND	9.0	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*B. cereus*	ND	8.5	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Stap. Aureus*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Stap. Epidermis*	ND	8.0	Naidoo *et al.* (2011)
		Gram's negative bacteria			
Durban		*E. coli*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Enterobacter aerogenes*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Shigella sonnei*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Proteus vulgaris*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
	Methanol	**Gram's positive bacteria**			
Durban		*B. subtilis*	ND	9.0	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*B. cereus*	ND	8.5	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Stap. Aureus*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Stap. Epidermis*	ND	8.5	Naidoo *et al.* (2011)
		Gram's negative bacteria			
Durban		*E. coli*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Enterobacter aerogenes*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Shigella sonnei*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)
Durban		*Proteus vulgaris*	ND	NA	Naidoo *et al.* (2011)

ND = not determined, NA = not activity

3) ทั้งต้น

Chomnawang *et al.* (2005) ทำการศึกษาฤทธิ์ของต้นสาบเสือ *Eupatorium odoratum* ต่อเชื้อ *P. acnaes* และ *Stap. epidermis* โดยวิธี disc diffusion พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดได้ดี (> 15 mm) และให้ค่า MIC เท่ากับ 0.039 mg/mL ในแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด แต่ให้ค่า MBC ของ *P. acnaes* เท่ากับ 0.039 mg/mL และ *Stap. epidermis* เท่ากับ 0.156 mg/mL แต่เมื่อแยกสารโดยวิธี TLC และทดสอบแต่ละแบนไม่มีฤทธิ์ต่อการยับยั้ง *P. acnaes* แสดงว่าสารที่แยกได้อาจมีปริมาณน้อยอยู่

2.5.3.2 น้ำมันหอมระเหย

1) ใบ

Prabhu *et al.* (2011) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือสด *(Chromolaena odorata (Asteraceae)* (L.) R.M. King & H. Rob.) พบว่า มีความสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *B. cereus, B. subtili, B. megaterium,* และ *Stap. aureus* แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *E. coli, Shigella boydii, Sal. typhi*, *Aeromonas hydrophila* และ *Pseu. aerogonisa* ยับยั้งเชื้อรา ได้แก่ *A. niger, A. flavus, A. terreus,* และ *Penicillium notatum* ยับยั้งยีสต์ ได้แก่ *C. albicans* รวมทั้งยับยั้งสายพันธุ์ MRSA

Félicien *et al.* (2012) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากใบสาบเสือ *Chromoleana odorata* พบว่า มีฤทธิ์ต่อการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 และ *Stap. aureus* ATCC 25923 ให้ค่า MIC เท่ากับ 5.11±0.25 และ 1.28±0.06 mg/ml นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ใกล้เคียงกับยาปฏิชีวนะโดยให้บริเวณยับยั้งดังตารางที่ 2.11

ตารางที่ 2.11 การประเมินค่าความไวของจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบด้วยยาปฏิชีวนะอ้างอิงและน้ำมันหอมระเหยจากสาบเสือ *Chromoleana odorata*

	E. coli ATCC 25922				*S. aureus* ATCC 25923		
	Chloramphenicol	Gentamycine	Nalidixic	Ceftriazone	Lyncomycine	Erythromycine	Tetracycline
	18.0±0.7	18.0±0.7	00.0±0.0	21.0±0.8	24.0±0.9	24.0±0.9	30.0±1.2
Essential oil	14.02±0.25	12.5±0.5	14.0±0.7	14.0±0.8	28.0±1.1	28.0±1.1	30.0±1.2

ที่มา: Félicien *et al.* (2012)

2.5.4 ฤทธิ์ยับยั้งไบโอฟิล์ม (Antibiofilm activity)

Yahya *et al.* (2014) ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบสาบเสือต่อการฆ่า biofilm ของ *Pseu. aeruginosa* ATCC 10145 พบว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วย chloroform จะมีฤทธิ์ในการยับยั้ง biofilm ของ *Pseu. aeruginosa* ได้มากกว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วย ethanol ภายใต้สภาวะที่มีอากาศ แต่ในทางตรงกันข้าม สารสกัดหยาบที่สกัดด้วย ethanol จะให้ผลการยับยั้ง biofilm ของ *Pseu. aeruginosa* ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วย ethanol ภายใต้สภาวะที่มีอากาศ จากผลการทดลองนี้แสดงว่า ฤทธิ์การยับยั้ง biofilm ของสารสกัดหยาบสาบเสือจะขึ้นกับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

2.5.5 ความเป็นพิษของสาบเสือ

ต้นสาบเสือเมื่อยังอ่อนจะมีสาร nitrate ในปริมาณสูงถ้าลูกวัวกินก็อาจทำให้เสียชีวิตได้ (Land protection, 2006) Suksamrarn *et al*. (2004) ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (cytotoxicity) ในคนของสารประกอบจากดอกสาบเสือ พบว่า สาร acacetin (5,7-dihydroxy-4'-methoxyflavone) แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCl-H187) ในระดับปานกลางที่ค่า MIC เท่ากับ 24.6 ในขณะที่สาร luteolin (5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone) แสดงความ

เป็นพิษต่อเซลล์ NCl-H187 ในระดับปานกลาง (MIC= 19.2 μmol) และ แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งระบบหายใจ (Breast cancer, BC) ในระดับต่ำ (MIC= 38.4 μmol)

2.5.6 ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง

Prabhu *et al.* (2011) ได้นำน้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือสด *(Chromolaena odorata (Asteraceae)* (L.) R.M. King & H. Rob.) มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง พบว่าสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง HeLa, HEp-2 and NIH 3T3 ได้ที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 60.3, 67.5 และ 72.00 μg/mL ได้อย่างมีนัยสำคัญ ตามลำดับ

Hung *et al.* (2011) ได้ทำการแยกชนิดของสารที่ได้จากใบสาบเสือที่สกัดด้วยเอทานอล 70% พบ สารกลุ่มใหม่ของ flavonoid glycosides จำนวน 2 ชนิด โดยใช้ NMR spectroscopic interpretation เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง LLC และ HL-60 พบว่า สารชนิดที่ 1 แสดงการยับยั้งเซลล์มะเร็ง LLC และ HL-60 ได้ที่ค่า IC50 เท่ากับ 28.2 และ 11.6 mM ตามลำดับ สำหรับสารชนิดที่ 2 พบว่า แสดงการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ชนิดเดียว คือ HL-60 ที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 10.8 mM อย่างมีนัยสำคัญ

Prabhu & Ravi (2012) ได้ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือ (*Chromalaena odorata* (L.) R.M. King & Rob. โดยการกลั่นด้วยน้ำร้อน จากนั้นทำการแยกสารสกัดที่ได้โดยใช้คอลัมน์โครมาโตรกราฟฟีและศึกษาคุณลักษณะของสารสกัดโดยใช้ IR, H-NMR และ MS พบว่า สารที่แยกได้เป็นอนุพันธ์ของ tritrepene เมื่อทำการทดสอบการยับยั้งเซลล์มะเร็งตับของคนชนิด HepG2 (human hepatoma cells) โดยเทคนิค MTT assay พบว่า สามารถยับยั้งหรือต้านเซลล์มะเร็งตับชนิด HepG2 ได้ที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 206.7 μg/m

2.5.7 ฤทธิ์ป้องกันตับ (hepthology)

โดยปกติตับจะได้รับอันตรายจาก carbon tetrachloride (CCl_4) แต่จากการศึกษาของ Alisi *et al.* (2011) พบว่า การ pre-treated หนูด้วยสารสกัดหยาบจากใบสาบเสือ *Chromolaena odorata* Linn. ที่สกัดด้วย ethanol ที่ความเข้มข้น 400 mg/kg/day โดยให้ 2 ช่วงคือ ช่วงเช้า (200mg/kg/day) และเย็น(200mg/kg/day) จะมีฤทธิ์ในการป้องกันตับถูกทำลายจากการถูกทำลายของ CCL_4 ได้

สารสกัดจากใบสาบเสือ *Chromolaena odorata* ที่สกัดด้วยน้ำพบว่ามีผลต่อตับ ซึ่งจากการศึกษาความเป็นพิษแบบฉียบพลัน (acute) และเนื้อรัง (sub chronic) ในหนูเพศเมีย Wistar albino เมื่อทำการทดสอบเลี้ยงหนูเป็นเวลา 90 วัน พบว่า ให้ค่า LD50 เท่ากับ 2154 mg/kg และให้ค่าระดับของซีรั่มที่มีกลูโคส เอนไซม์ lactate dehydrogenase เอนไซม์ aspartate aminotransferase transaminase และ ปริมาณ bilirubin ทั้งหมด เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เท่ากับ 538.5 และ 1077 mg/kg dose groups ตามลำดับ ในขณะเดียวกันระดับของ albumin ในซีรั่มและระดับของโปรตีนตีนทั้งหมดในซีรั่มก็ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งแสดงถึงอาการของโรค histopathology ดังนั้นในการที่จะนำสารสัด ใบสาบเสือ *Chromolaena odorata* ที่สกัดด้วยน้ำไปใช้เป็นยาจึงจะต้องมีความระมัดระวังสูงเกี่ยวกับ dose ที่จะต้องใช้ เนื่องจากมีผลในการทำลายตับด้วย (Asmugha *et al*., 2014)

2.5.8 ฤทธิ์ต้านมาลาเรีย

Pisutthanan *et al*. (2005) ทำการศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของสารสกัดหยาบต้นสาบเสือ *Chromolaena odorata* ที่ทำการสกัดด้วยน้ำ พบว่า มีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* K1 ให้ค่า EC_{50} เท่ากับ 9.39 ¼g/mL

2.5.9 ฤทธิ์ต้านโปรโตซัวและพยาธิตัวกลม (Anthelmientic activity)

Vital & Rivera (2009) รายงานว่า สารสกัดหยาบจากใบสาบเสือที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบว่า ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 0.1, 0.5 และ 1.0 % สามารถลดจำนวนโปรโตซัว *Trichomonas vaginalis* ได้ 84.9, 92.8 และ 90.9 % เมื่อเวลาผ่านไป 72, 72 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ สำหรับการยับยั้งการเจริญของโปรโตซัว *Blastocystis hominis* พบว่า ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 0.1, 0.5 และ 1.0 % สามารถลดจำนวนโปรโตซัว *Blastocystis hominis* ได้ 90.1 และ 93.6 % เมื่อเวลาผ่านไป 96 ชั่วโมง

2.5.10 ฤทธิ์ต้านไวรัส HIV

Pisutthanan *et al.* (2005) ทำการศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากต้นสาบเสือ *Chromolaena odorata* ที่ทำการสกัดด้วยน้ำ พบว่า มีฤทธิ์ต้าน HSV-1 ที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 1.74 ¼g/mL

2.5.11 ฤทธิ์ในการควบคุมโรคพืช

Sukanya *et al.* (2009) รายงานว่า สารสกัดหยาบจากใบสาบเสือที่สกัดด้วยเมทานอล สามารถยับยั้งเชื้อราโรคพืช *Xanthomonas vesicatoria* และ *Ralstonia solanacearum* ที่ให้ค่าโซนใสของการยับยั้งเท่ากับ12 mL และใบสาบเสือที่สกัดด้วย chloroform สามารถยับยั้ง ที่ให้ค่าโซนใสของการยับยั้งเชื้อราโรคพืช *Xanthomonas vesicatoria* และ *Ralstonia solanacearum* เท่ากับ 4 mL สำหรับสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ methanol, ethanol, ethylacetate และchloroform จะให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งสองชนิด (MIC) อยู่ในช่วง 0.25 ถึง 4.0 mg/mL

2.5.12 ฤทธิ์ในการกำจัดศัตรูพืช

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากใบสาบเสือที่มีต่อการตายของหนอนใยผัก พบว่า สารสกัดจากใบสาบเสือโดยวิธีการหมักซึ่งมีน้ำเป็นตัวทำละลายและวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำมีผลต่อการตายของหนอนใยผักน้อยมาก สำหรับสารสกัดจากใบสารเสือที่สกัดโดยวิธีการสกัดซอกซ์เลตซึ่งมี ethanol และ hexane เป็นตัวทำละลายมีผลต่อการตายของหนอนใยผัก 100% ที่ความเข้มข้น 1.50 และ 2.00% (w/v) ในการศึกษาผลของสารสกัดจากใบสาบเสือต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ขจัดพิษของหนอนใยผัก เลือกสารสกัดจากใบสาบเสือโดยวิธีการสกัดซอกซ์เลตซึ่งมี ethanol เป็นตัวทำละลาย ผลของสารสกัดใบสาบเสือ *Chromolaena odorata* (L.) ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ขจัดพิษของหนอนใยผัก *Plutella xylostella* L. โดยเลี้ยงด้วยคะน้าชุบสารสกัดจากใบสาบเสือความเข้มข้น 0.05, 0.25 และ 0.50% (w/v) จากใบสาบเสือในกรณีที่หนอนใยผักต้านทานต่อสารสกัดจากใบสาบเสือในอนาคต (มนัญญา เพียรเจริญ, 1996**)** Thoden *et al.* (2007) รายงานว่า สาร1,2-dehydropyrrholizidine alkaloids (PAs) ซึ่งเป็น secondary plant compound จากรากสาบเสือจะมีความสามารถลดการการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* ที่ทำให้เกิดโรครากปม (root-knot) ในผักกาดขาวที่ความเข้มข้น 70-350 ppm ได้

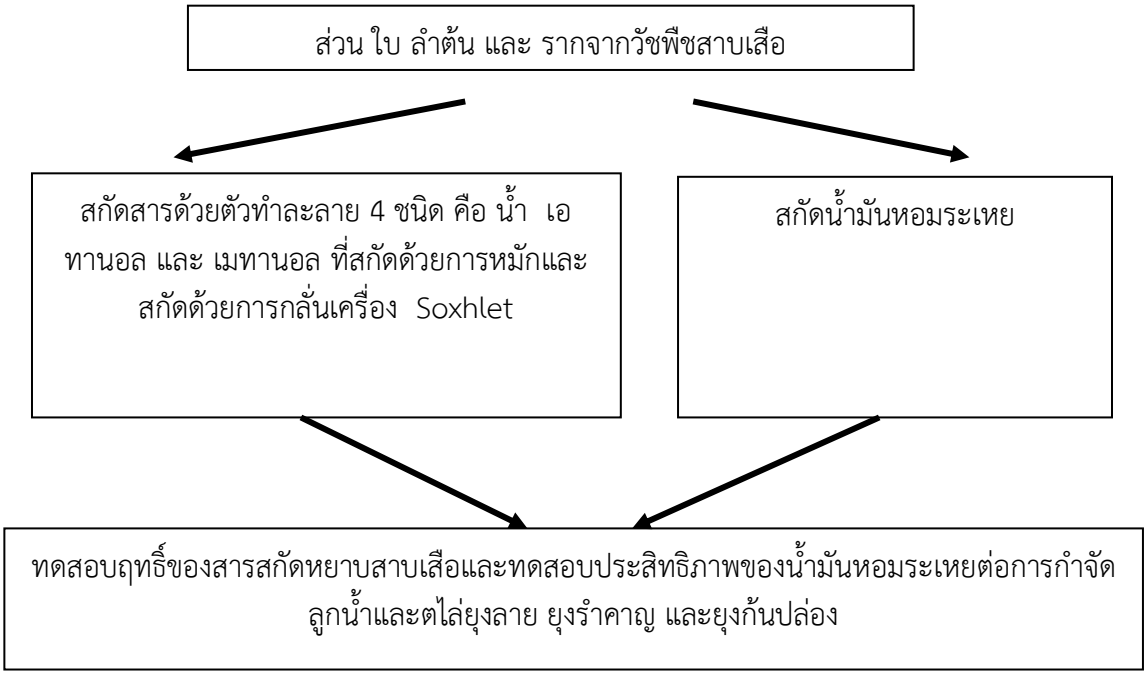
2.5.13 ฤทธิ์ในการกำจัดลูกยุง

มีรายงานการทดสอบประสิทธิภาพการฆ่าลูกน้ำยุงลาย (*Aedes aegypti*) และยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus*) ของสารสกัดสมุนไพรจำนวน 18 ชนิด พบว่ามีเพียง 9 ชนิด คือ เมล็ดน้อยหน่า ใบน้อยหน่า (แห้ง) ฝักยี่โถ เมล็ดเทียนหยด เหง้าว่านน้ำ เมล็ดสลอด หัวบอระเพ็ดพุงช้าง ผลมะคำดีควาย และรากหนอนตายหยาก ด้วยวิธีการสกัดด้วยน้ำและเอทานอล 70 % ที่อุณหภูมิห้อง นาน 72 ชั่วโมง และทดสอบชีววิเคราะห์ ด้วยวิธีการขององค์การอนามัยโลก ค.ศ. 1996 และวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารสกัดที่ฆ่ายุงตายที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% พบว่าที่ ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง สารสกัดเมล็ดน้อยหน่าที่สกัดด้วยเอทานอล 70 % มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการฆ่าลูกน้ำยุงลาย และยุงรำคาญ โดยให้ค่า LC_{50} ต่อลูกน้ำยุงลายและยุงรำคาญ เท่ากับ 34.56 และ 4.96 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือ สารสกัดเมล็ดน้อยหน่าที่สกัดด้วยน้ำต่อลูกน้ำยุงลายและยุงรำคาญมีค่าเท่ากับ 1,714.12 และ 1,031.30 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ช่วงเวลาทดสอบ 48 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดเมล็ดน้อยหน่าด้วยเอทานอล 70% มีประสิทธิภาพฆ่าลูกน้ำยุงลายและยุงรำคาญดีที่สุดให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 16.61 และ 4 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (เพ็ญนภา, 2549) นอกจานี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์ของสะเดาอินเดียอย่างหลากหลาย พบว่า มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงลาย (*Aedes mosquitoes*) (Marcello *et al*., 2010; Rajan & Savarimuthu, 2012) ยุงก้นปล่อง (*Anopheles mosquitoes*) (Aliero, 2003; Fredros *et al*., 2007) และมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงและดักแด้ยุงรำคาญได้ (*Culex mosquitoes*) (Lata *et al*., 2009 ; Preeti *et al*., 2006; Andress *et al*., 2011; Gunasekaran *et al*., 2009) เมื่อเร็วๆนี้มีการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบสาบเสือด้วยตัวทำละลาย hexane, ethyl acetate และ methanol พบว่า มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญที่ค่า LC_{50} เท่ากับ 708.84, 2,386.66 และ 397.44 ppm ตามลำดับ และมีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงลายที่ค่า LC_{50} เท่ากับ 847.07, 524.82 และ 246.78 ppm ตามลำดับ (Appadurai *et.al*., 2014) นอกจากนี้สารสกัดหยาบจากใบสาบเสือที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงลาย *Ae. aegypti* โดยให้ค่า LC_{50} และ LC_{90} เท่ากับ 138 และ 463 ppm ตามลำดับ มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. auinquefasciatus* ให้ค่า LC_{50} และ LC_{90} เท่ากับ 43 และ 110 ppm ตามลำดับ และยังมีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงลาย *An. stephensi* ให้ค่า LC_{50} และ LC_{90} เท่ากับ 1,613 และ 8,306 ppm (Sukhthankar, *et al*., 2014)

alkaloids tannin และ stearoid เป็นสารที่พบในส่วนต่างๆของพืชที่มีฤทธ์ในการกำจัดแมลง (pesticide) เช่น alkaloids จาก *Piper longum* พบว่ามีฤทธิ์ larvicidal activity ต่อลูกน้ำยุง *C. pipiens* แทนนินที่พบใน *Hemides musindicus* , *Gymne masylvestre* และ *Eclipta prostrate* มีฤทธิ์กำจัดลูกน้ำยุง *Cx. quinquefasciatus* (Lee, 2000) สเตียรอยด์ที่พบใน Ocicum bacillum พบว่ามีฤทธิ์กำจัดลูกน้ำ *Cx. quinquefasciatus* เช่นกัน (WHO, 2005) สารสกัดเมทานอลจากลำต้น/เปลือกและใบของ *Jatropha curcas*, *Citrus grandis* และ *Tinospora rumphii* มีสารออกฤทธิ์ เช่น alkaloids, saponins, flavonoids, steroids และ tannins ซึ่งมีฤทธิ์ในการเป็นสารฆ่าแมลงและกำจัดลูกน้ำยุงลายได้ โดยทำให้ลูกน้ำยุงตาย 90% และ 93% เมื่อสัมผัสสารเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ (Pedro *et al*., 2014)

สาร saponins เป็นสารไกลโคไซด์ที่พบในส่วนต่างๆของพืช ได้แก่ ใบ ลำต้น ราก หัว ดอกและผล saponins จะมีความเป็นพิษสูงต่อสัตว์เลือดเย็น โดยจะทำลายเซลล์เม็ดเลือดแดงของสัตว์เลือดเย็น นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ในกระเทียมหรือผักโขมและพบในส่วนของลำต้นมากกว่าใบ สารสกัดจากลำต้นจึงมีสารซาโปนินมากกว่าใบและเป็นผลทำให้ลูกน้ำตายได้ ซึ่งสาร saponin มีความสามารถในการละลายได้ไม่ว่าจะสกัดด้วยน้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ โดยสารจะเข้าทำลาย cuticle membrane ของลูกน้ำยุงและรบกวนเซลล์เมมเบรน ทำให้ fluid ไหลออกจากเซลล์ ระบบเสียสมดุลส่งผลให้ลูกน้ำตายในที่สุด (Gubitz *et al*., 1999) สาร saponin ที่สกัดได้จาก *Balanites aegyptica* พบว่าทำให้ลูกน้ำของ *Stegomyia aegypti* ตาย 100 เปอร์เซ็นต์ (Hostettmann *et al*., 2005)

2.6 กรอบแนวความคิดของแผนงานวิจัยดังแสดงในแผนภูมิ



บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 บีกเกอร์ (beaker)

3.1.2 หลอดทดสอบ (test tubes)

3.1.3 ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)

3.1.4 ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask)

3.1.5 กระบอกน้ำฉีด (wash bottle)

3.1.6 กระบอกตวง (graduated cylinder)

3.1.7 หลอดหยดสารละลาย (dropper)

3.1.8 แท่งแก้วสำหรับคน (stirring rod)

3.1.9 กระจกนาฬิกา (watch glass)

3.1.10 กรวยกรอง (funnel)

3.1.11 กระดาษกรอง (filter paper) เบอร์ 1

3.1.12 กระดาษกรอง (filter paper) เบอร์ 4

3.1.13 โถดูดความชื้น (desiccator)

3.1.14 ตู้อบความร้อน (hot oven)

3.1.15 เครื่องชั่งทศนิยมสี่ตำแหน่ง (analytical balance) ยี่ห้อ Ohaus รุ่น Adventure

3.1.16 เครื่องชั่งทศนิยมสองตำแหน่ง (analytical balance) ยี่ห้อ ADAM รุ่น PGL 2002ae

3.1.17 เครื่องปั่นหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ยี่ห้อ Gemmy Industrial Corp

3.1.18 เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV-2401PC UV-VIS RECORDING SPECTROPHOTOMETER

3.1.19 เครื่องระเหยสารแบบลดความดัน (rotary evaporator)

3.1.20 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

3.1.21 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (sartorius)

3.1.22 ปิเปตอัตโนมัต (auto pipette) ยี่ห้อ Brand รุ่น Transferpette® S

3.1.23 เดสซิเคเตอร์

3.1.24 ตู้บ่มเชื้อ (incubator)

3.1.25 Pipette tip ขนาด 10 μl, 20 μl และ 1000 μl

3.2 สารเคมี

3.2.1 Dimethyl Sulfoxide (DMSO)

3.2.2 Ethanol

3.2.2 Methanol

3.2.3 95% Ethanol จากบริษัททีทีเค ซายน์จำกัด

3.3 สารสกัดและน้ำมันจากสาบเสือ

3.3.1 การเก็บตัวอย่างสาบเสือ

เก็บตัวอย่างต้นสาบเสือบริเวณป่าสวนยาง ต.นาวัง อ.เมือง จ. อำนาจเจริญ ครั้งที่ 3 ในช่วงเดือน มีนาคม-เมษายน 2556 ลักษณะตัวอย่างที่เก็บ เป็นต้นสาบเสือที่เจริญเติบโตมากที่สุด โดยสูงตั้งแต่ 100 เซนติเมตร ขึ้นไป บริเวณป่าสวนยาง ต.นาวัง อ.เมือง จ. อำนาจเจริญ ทำการแยกพืชออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ใบ ต้น และราก จากนั้นนำมาล้างให้สะอาดนำมาผึ่งในที่ร่มเป็นเวลา 1-2 วัน ดังภาพที่ 3.1 และ 3.2

ภาพที่ 3.1 เก็บตัวอย่างสาบเสือ บริเวณป่าสวนยาง ต.นาวัง อ.เมือง จ. อำนาจเจริญ

ภาพที่ 3.2 การเก็บแยกและตากลมของใบ ลำต้น และรากสาบเสือ

3.3.2 การเตรียมตัวอย่างสาบเสือ

3.3.2.1 การอบ

นำส่วน ใบ ลำต้น และรากของสาบเสือที่ตากแดดแห้งสนิทแล้ว นำมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ นำเข้าตู้อบ(Memmert) ที่อุณหภูมิ 50° C เป็นเวลา 2 วัน นำพืชตัวอย่างออกจากตู้อบชั่งน้ำหนัก โดยน้ำหนักสดใบ ลำต้น และราก รวม 1 กิโลกรัม อบแล้วเหลือน้ำหนักแห้ง 415 กรัม ดังภาพที่ 3.3

ภาพที่ 3.3 การอบใบ ลำต้น และรากของสาบเสือ

3.3.2.2 การบดละเอียด

นำส่วนใบ ลำต้นและรากของสาบเสือที่อบแล้ว ไปทำให้ละเอียดโดยนำส่วนใบไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ สำหรับส่วนของลำต้นและรากจะนำไปบดด้วย เครื่องบด Wiley Mill ส่วนใบจะทำการบดด้วยเครื่องปั่นผลไม้ ภาพที่ 3.4

ภาพที่ 3.4 การบดพืชด้วยเครื่อง Wiley mill และเครื่องปั่นผลไม้

3.3.2.3 การสกัดสารสกัดหยาบ (Crude extraction)

ทำการสกัดพืชตัวอย่างทั้ง 3 ส่วน โดยทำการสกัดแต่ละส่วนของพืชด้วยการสกัดร้อนและเย็น โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ตัวทำละลาย คือ น้ำ เอทานอล และ เมทานอล

3.3.2.3.1 การสกัดด้วยการหมัก

ขั้นตอนการสกัดสารสกัดหยาบจากใบ ลำต้น และรากสาบเสือ

1) นำผงบดละเอียดของส่วนต่างๆของต้นสาบเสือ ได้แก่ ใบ ลำต้น และราก มาชั่งด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักปริมาณ 20 กรัม (ภาพที่ 3.5) เพื่อนำไปสกัดโดยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ น้ำ เอทนอล 95% และ เมทานอล โดยใช้กระบอกตวงวัดปริมาตรตัวทำละลายแต่ละชนิดให้ได้ 400 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเทลงในผงพืชที่ชั่งไว้แล้วในฟลาสก์ (ภาพที่ 3.6) คิดเป็นอัตราส่วน 1:20 (อัตราส่วนน้ำหนักต่อปริมาตร)

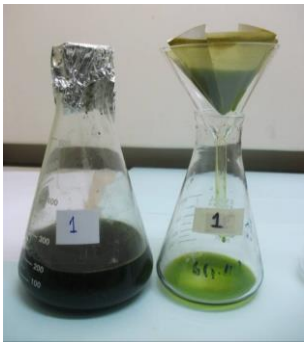
ภาพที่ 3.5 การชั่งผงบดละเอียดของรากสาบเสือ 20 กรัม

ภาพที่ 3.6 นำตัวทำละลายมาผสมกับส่วนต่างๆของสาบเสือ

2) หลังจากที่ผสมผงพืชสาบเสือกับตัวทำละลายในขวดแก้วแล้ว ปิดฝาให้สนิทและนำมาเขย่าด้วยเครื่อง shaker ที่ความเร็ว150 รอบต่อนาที (ภาพที่ 3.7) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของพืชถูกชะล้างออกมากับตัวทำละลายสำหรับใช้ในขั้นตอนต่อไป

ภาพที่ 3.7 สกัดสารจากสาบเสือบนเครื่องเขย่า

3) นำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อแยกกากทิ้งไปให้ได้แต่ส่วนที่ต้องการคือสารละลายที่ผ่านกระดาษกรองออกมา ซึ่งได้แก่สารสกัดหยาบจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ (ภาพที่ 3.8)

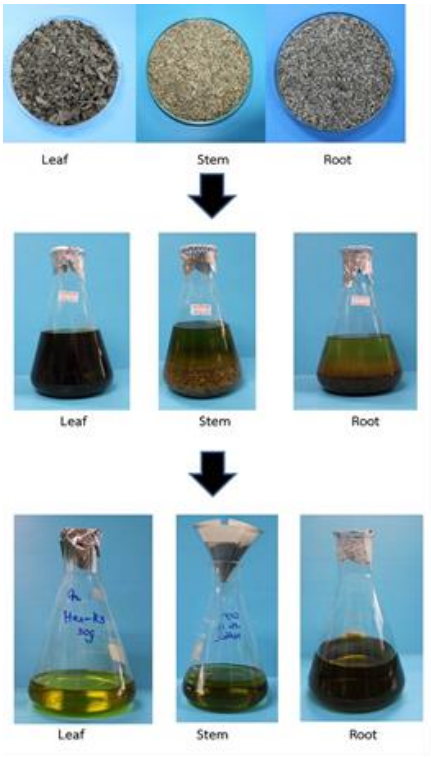


ภาพที่ 3.8 การกรองเพื่อแยกกากพืชออกจากสารสกัดหยาบ

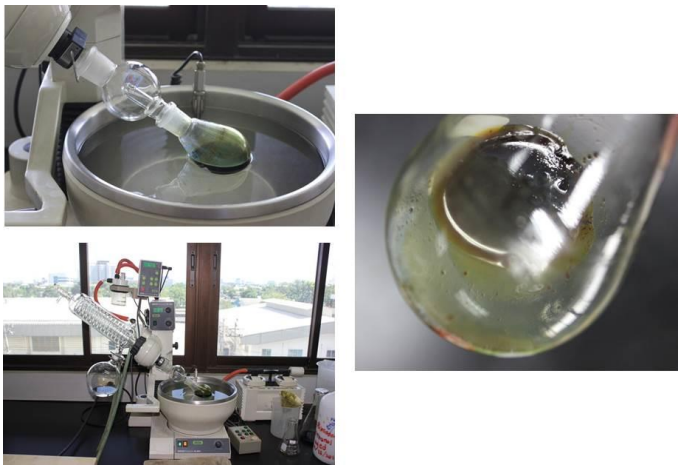
3.3.2.3.2 การสกัดสารด้วยการกลั่นด้วยเครื่อง soxhlet

นำตัวอย่างพืช มาทำการสกัดร้อนด้วยเครื่อง soxshlet extractor โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ คือ น้ำ เอทานอล และ เมทานอล ทำการสกัดต่อเนื่องจนสารละลายใน extracting chamber นำส่วนใสของสารที่ได้จากการสกัดมากรองและนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ (crude extract) ทำการสกัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำสารสกัดหยาบที่ได้มาชั่งและน้ำหนัก และทำการเก็บสารสกัดในขวดที่สะอาดและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศา เซลเซียสจนกระทั่งทำการวิเคราะห์ (ดัดแปลงจาก รัตนา, 2547)

ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ (ดัดแปลงจาก Sang *et al*., 2008) แสดงการหมักและสกัดสารจากส่วนต่างๆ ของพืช ดังภาพที่ 3.9, 3.10 และ 3.11



ภาพที่ 3.9 การหมักและกองสารสกัดพืชด้วยตัวทำละลาย



ภาพที่ 3.10 การระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator

ภาพที่ 3.11 เครื่อง Soxshlet extractor

3.3.2.4 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

1) นำสารละลายที่ผ่านการกรองไปทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator (Buchi R-200, USA.) แบ่งสารละลายที่ทำการระเหยตัวทำละลายออกแล้วลงสู่หลอดขนาด 50 มิลลิลิตร ในปริมาตรหลอดละ 5-10 มิลลิลิตรและใช้กระดาษทิชชู่หุ้มบริเวณปากหลอดนำหลอดที่บรรจุสารละลายไปทำการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสด้วย Ultra-low freezer (Coolsafe, USA.)

2) นำหลอดที่บรรจุสารละลายที่ผ่านการแช่แข็งไปทำการระเหยแห้งด้วย Dryer freezer (CoolSafe DK-3450, Denmark) เป็นเวลา 24 ชั่วโมงจากนั้นทำการเก็บตัวอย่างที่ผ่านการระเหยแห้ง เพื่อนำไปคำนวณหาค่า % yield ที่สกัดได้ดังสมการ (Modal *et al*., 2012) และเพื่อนำไปใช้ในการทดลองถัดไป

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดหยาบ (weight of extract)}}{\text{น้ำหนักของพืช (weight of ground plant material}} \times 100$$

3.3.2.5 การสกัดน้ำมันหอมระเหย (ดัดแปลง Felicien *et al*., 2012)

นำส่วนต่างๆของสาบเสือที่บดและอบแห้งแล้ว 200 g ทำการสกัดด้วย water distillation เป็นวิธีการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรโดยต้มกับน้ำ เมื่อน้ำและน้ำมันหอมระเหยระเหยขึ้นไปถึง condenser จะกลั่นตัว แล้วจึงนำของเหลวที่ได้ไปแยกน้ำมันหอมระเหยจากชั้นน้ำ เครื่องมือที่ใช้คือ Cleveneaur's apparatus นาน 10 ชั่วโมง ทำการดึงน้ำส่วนเกินออกจากน้ำมันหอมระเหยด้วย Na_2SO_4 จากนั้นเก็บในถุงซิบที่ 10 องศาเซลเซียสเพื่อนำไปใช้ศึกษาต่อไป

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสารสกัดและน้ำมันสาบเสือต่อการกำจัดลูกน้ำยุง

3.4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยสาบเสือต่อการกำจัดลูกน้ำยุง

3.4.1.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้ลูกน้ำยุงในระยะ 3 ถึง 4 และชนิดของลูกน้ำยุงที่ใช้ในการวิจัย ได้แก่ ยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ซึ่งลูกน้ำยุงได้รับการสนับสนุนจากงานสนับสนุนกีฏวิทยา ฝ่ายพิพิธภัณฑ์แมลงและอนุกรมวิธานและสนับสนุนงานกีฏวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข โดยนำไข่ยุงที่ติดบนกระดาษกรองลงฟักในถาดพลาสติก ใช้ระยะเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นไข่จะเริ่มฟักเป็นลูกน้ำยุงเรียกระยะที่ 1 เริ่มให้อาหารหนูบดละเอียดและเลี้ยงลูกน้ำยุงลายต่อที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลาประมาณ 4-5 วัน ยุงรำคาญเลี้ยงนาน 6-10 วัน และยุงก้นปล่องเลี้ยงนาน 8-10 วัน จะได้ลูกน้ำยุงระยะที่ 3 ถึงระยะที่ 4 สามารถนำไปใช้ทดลองได้ โดยแบ่งเป็นกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองกลุ่มละ 20 ตัว ในแต่ละระดับความเข้มข้นของการทดสอบ

3.4.1.2 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดลูกน้ำยุง (Larvicidal activity)

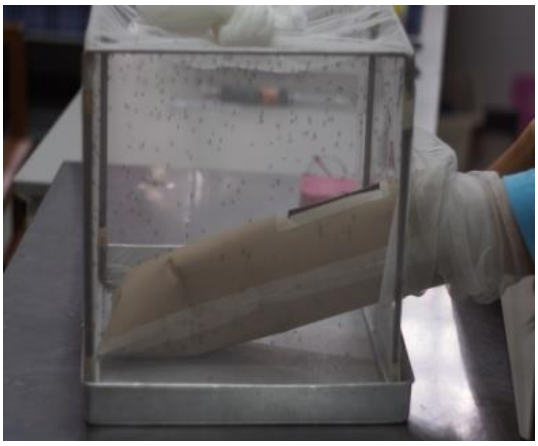
ดัดแปลงตามวิธีทดสอบของ WHO (2005) และ Rahuman *et al.,* 2000 โดยเตรียมสารละลายของสารสกัดสาบเสือที่แต่ละระดับความเข้มข้นจาก 250-1,500 ppm ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในแก้วพลาสติกขนาดความจุ 200 มิลลิลิตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ควบคุมสภาวะแวดล้อมของการทดลองที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75-85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเติมลูกน้ำยุงระยะ 3 หรือ 4 จำนวน 20 ตัว ใส่ลงในสารละลายของสารสกัดสาบเสือที่แต่ละระดับความเข้มข้นปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยใช้ DMSO เป็น negative control และใช้ GPO เป็น positive control บันทึกผลจำนวนการตายของลูกน้ำยุงหลังจาก 24, 48, 72, 96 ชั่วโมงของการทดสอบ รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุง การวิเคราะห์ผลทางสถิติ วิเคราะห์ผลเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำโดยใช้ Abbott's formula คำนวณหาค่าอัตราการตายของลูกน้ำยุง (LC_{50}) โดยใช้ probit analysis

3.5 การทดสอบประสิทธิภาพการไล่ยุงของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยสาบเสือ

ตามวิธีทดสอบ (SOP) ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข โดยก่อนการทดสอบอาสาสมัครทุกคนต้องล้างมือและแขนให้สะอาดด้วยน้ำประปาและผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดแล้วเช็ดให้แห้งสนิท กำหนดให้ใช้แขนข้างหนึ่งเป็นแขนควบคุมซึ่งจะไม่ถูกทาสารใดๆ ส่วนแขนอีกข้างเป็นแขนทดสอบโดยขีดแขนด้วยดินสอสำหรับเขียนผิวหนังให้ได้พื้นที่ 3 X 10 ตารางเซนติเมตร เตรียมสมุนไพรแต่ละตัวอย่างที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทาบนผิวหนังที่หน้าแขนของอาสาสมัครให้ทั่วพื้นที่ ปิดผิวหนังส่วนอื่นๆให้มิดชิดด้วยซองกระดาษ ซึ่งเจาะช่องไว้ขนาดเท่ากับพื้นที่ที่ทาตัวอย่างทดสอบ จากนั้นยื่นแขนเข้าไปในกรงยุงที่เตรียมไว้ทีละข้าง โดยให้แช่แขนทดสอบอยู่ในกรงยุงนานจนกว่ายุงจะกัดครบ 2 ตัว ส่วนแขนควบคุมซึ่งสวมทับด้วยซองกระดาษที่เตรียมไว้เป็นซองควบคุม อยู่ในกรงยุงนานครั้งละ 1

นาที ช่วงเวลาที่มียุงตัวที่ 2 กัดในบริเวณผิวหนังส่วนที่ทาผลิตภัณฑ์บนแขนทดสอบ ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ตัวอย่างทดสอบดังกล่าวหมดประสิทธิภาพในการป้องกันยุงกัด ระยะเวลาทดสอบนาน 7 ชั่วโมง จากนั้นหาค่าเฉลี่ยเวลาในการป้องกันยุง (protection time) จากอาสาสมัครทั้งหมดแสดงผลประสิทธิภาพในการป้องกันยุงเป็นชั่วโมง

สารป้องกันยุงที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานป้องกันการกัดของยุงลายบ้านได้ไม่น้อยกว่า 2 ชั่วโมง (หมายเหตุ: ยุงกลางวันจะใช้ยุงลายบ้านตัวเต็มวัยเพศเมียยังไม่กินเลือด 250 ตัวต่อกรง ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิ 24-28 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-80 เปอร์เซ็นต์ แสงสว่าง 200-300 ลักซ์ และยุงกลางคืนจะใช้ยุงรำคาญตัวเต็มวัยเพศเมียยังไม่กินเลือด 250 ตัวต่อกรง ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิ 24-28 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-80 เปอร์เซ็นต์ แสงสว่าง 5-10 ลักซ์) (ภาพที่ 3.12)



ภาพที่ 3.12 การทดสอบประสิทธิภาพของสารต่อการไล่ยุง

3.6 การประเมินผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) แบบ Complete Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan’s Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 4
ผลการวิจัย

การทดสอบฤทธิ์สารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจาก ใบ ลำต้น และรากสาบเสือต่อการกำจัดลูกน้ำยุงและไล่ยุง โดยการสกัดสารแบบหมัก และการกลั่นด้วยเครื่อง soxhlet ด้วยตัวทำละลาย น้ำ เอทานอล 95% และ เมทานอล

4.1 สารสกัดสาบเสือ

จากผลการสกัดสารโดยวิธีการหมักจากส่วนของพืช 3 ส่วน คือ ส่วนของใบ ต้น และราก ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ น้ำ เอทานอล 95% และ เมทานอล จากการเปรียบเทียบสารสกัดที่ได้จากส่วนของพืช พบว่า ส่วนใบที่สกัดด้วยน้ำ (19.49±0.68) เอทานอล 95% (19.64±1.08) และเมทานอล (29.19±2.71) มีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตมากกว่าส่วนลำต้นและรากจากการสกัดด้วยทั้ง 3 ตัวทำละลายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารสกัดจากส่วนลำต้นและรากที่สกัดด้วยน้ำจะให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตมากที่สุดรองลงมาคือ เมทานอล และ เอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติยกเว้นสารสกัดจากส่วนใบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลจะให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสารสกัดมากที่สุด (29.19±2.71) และมากกว่าสกัดด้วยน้ำและเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้สารสกัดหยาบจากส่วนของใบพืชและลำต้นพบว่าจะมีสีเข้มหรืออาจมีสีเขียวของคลอโรฟิลล์ แต่สารสกัดหยาบจากส่วนของรากจะให้สีน้ำตาลแดงเนื่องจากบริเวณรากจะไม่มีคลอโรฟิลล์อยู่

จากผลการสกัดสารโดยการกลั่นด้วยเครื่อง soxhlet จากส่วนของพืช 3 ส่วน คือ ส่วนของใบ ลำต้น และราก สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 คือ น้ำ เอทานอล 95% และเมทานอล พบว่า ส่วนใบที่สกัดด้วย (21.30±2.07) เอทานอล 95% (26.66±1.87) และ เมทานอล (20.52±0.94) มีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตมากกว่าส่วนลำต้นและรากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่ใช้สกัดสารจะให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสารสกัดมากกว่าน้ำและเมทานอลของพืชทั้ง 3 ส่วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สำหรับวิธีการหมักและวิธีการกลั่นด้วยเครื่อง soxhlet ในการสกัดสาร พบว่า วิธีการกลั่นด้วยเครื่อง soxhlet จะให้ปริมาณสารมากกว่าวิธีการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ สารสกัดส่วนใบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% (26.66±1.87) สารสกัดจากส่วนลำต้นที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% (12.92±2.65) และ เมทานอล (10.08±0.35) และ สารสกัดจากส่วนรากที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% (11.28±0.39) และ เมทานอล (9.04±0.15) ยกเว้นสารสกัดส่วนใบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% และสารสกัดส่วนรากที่สกัดด้วยน้ำ จะให้ปริมาณสารสกัดโดยวิธีการหมักมากกว่าวิธีการกลั่นด้วยเครื่อง soxhlet อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การสกัดด้วยน้ำจากส่วนใบและลำต้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญในทั้ง 2 วิธีการสกัดสารดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลผลิตจากการสกัดสารด้วยการหมักและการกลั่นด้วยเครื่อง Soxhlet จากตัวทำละลาย 3 ชนิด และ 3 ส่วนของพืช

Plant parts	Solvents	Yield (%)	
		Maceration extraction	Soxhlet extraction
Leaf	Water	19.49 ± 0.68^{Ab}	21.30 ± 2.07^{Ab}
	Ethanol	$19.64\pm1.08^{Ab*}$	$26.66\pm1.87^{Aa*}$
	Methanol	$29.19\pm2.71^{Aa*}$	$20.52\pm0.94^{Ab*}$
Stem	Water	11.04 ± 0.23^{Bc}	9.90 ± 0.78^{Bde}
	Ethanol	$6.25\pm0.15^{Be*}$	$12.92\pm2.65^{Bc*}$
	Methanol	$8.89\pm0.15^{Bd*}$	$10.08\pm0.35^{Bed*}$
Root	Water	$9.04\pm0.58^{Cd*}$	$7.56\pm0.39^{Cf*}$
	Ethanol	$4.43\pm0.30^{Cf*}$	$11.28\pm0.39^{Ccd*}$
	Methanol	$6.70\pm0.30^{Ce*}$	$9.04\pm0.15^{Cde*}$

หมายเหตุ: มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (alpha = 0.05) โดยใช้สถิติ Duncan's multiple range tests (DMRT) โดยตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างส่วนของพืช (plant parts); ตัวอักษรพิมพ์เล็กเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชนิดของตัวทำละลาย; * แสดงการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างวิธีการสกัดโดยใช้สถิติ t-test

4.2 สารสกัดน้ำมันหอมระเหยสาบเสือ

จากการนำส่วนต่างๆของสาบเสือ ได้แก่ ใบ ลำต้น และราก มาต้มด้วยเครื่องแก้วเป็นเวลา 10 ชั่วโมง พบว่า เปอร์เซ็นต์ผลผลิตน้ำมันหอมระเหยจากส่วนใบสาบเสือจะมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด คือ 0.25±0.015 % ส่วนของลำต้น และราก เท่ากับ 0.16±0.017 และ 0.002±0.001 % (v/w) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำมันหอมระเหยจากส่วนใบ ลำต้น และ รากสาบเสือ

Plant parts	Yield %)
Leaf	0.25±0.015
Stem	0.16±0.017
Root	0.002±0.001

4.3 ฤทธิ์สารสกัดสาบเสือโดยวิธีการหมักและวิธีการกลั่นด้วยเครื่อง soxhlet ต่อการกำจัดลูกน้ำยุง

จากผลการศึกษาฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงก้นปล่อง *An. dirus* B พบว่า สารสกัดสาบเสือมีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ได้ดีที่สุดรองลงมาคือลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และลูกน้ำลายบ้าน *Ae. aegypti* สารสกัดจากส่วนใบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุง ยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ได้ดีที่สุด สารสกัดส่วนต้นที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ในขณะที่สารสกัดส่วนรากที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดทั้งลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างวิธีการสกัดโดยการหมักและการกลั่นด้วยเครื่อง soxhlot พบว่า สารสกัดสาบเสือพืช 3 ส่วนและตัวทำละลาย 3 ชนิดที่สกัดโดยวิธีการหมักจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงทั้ง 3 ชนิดได้ดีกว่าวิธีการกลั่นด้วยเครื่อง soxhlot ยกเว้นสารสกัดด้วยน้ำจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดยุงก้นปล่อง *Anopheles dirus* B ได้ดีเมื่อสกัดส่วนรากด้วยการกลั่นด้วยเครื่อง soxhlot เท่านั้น (ตารางที่ 4.3) จากผลการทดลองแสดงว่าสารสกัดสาบเสือมีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงแต่ละชนิดได้แตกต่างกันขึ้นกับวิธีการสกัด ชนิดตัวทำละลายและส่วนต่างๆของสาบเสือที่ใช้ในการศึกษา

ตารางที่ 4.3 ฤทธิ์การกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ของสารสกัดสาบเสือโดยวิธีการหมักและใช้เครื่อง Soxhlet เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

Plant parts	Extraction solvents	LC_{50} (ppm)					
		Ae. Aegypti		*Cx. Quinquefasciatus*		*An. dirus* B	
		Maceration extraction	Soxhlet extraction	Maceration extraction	Soxhlet extraction	Maceration extraction	Soxhlet extraction
Leaf	Water	IA	> 1,423.26	IA	IA	IA	> 1,000
	Ethanol	> 1,500.00	> 1,500.00	IA	IA	396.78	433.21
	Methanol	> 1,500.00	1,500.00	IA	IA	654.54	623.00
Stem	Water	IA	IA	IA	IA	IA	> 1,000
	Ethanol	1,115.53	1,059.77	1,500.00	712.53	396.78	> 1,000
	Methanol	IA	> 1,500.00	491.16	IA	396.78	396.78
Root	Water	IN	IA	IA	IA	IA	396.78
	Ethanol	1,015.25	> 1,500.00	397.09	448.68	396.78	815.75
	Methanol	IA	> 1,500.00	IA	IA	633.82	519.53
	100µl DMSO	IA	IA	IA	IA	IA	IA
	GPO	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20

LC_{50}, Lethal concentration (ppm); IA, Inactive; Negative control, DMSO; Positive control, GPO

4.4 ฤทธิ์สารสกัดสาบเสือโดยวิธีการหมักและการกลั่นด้วยเครื่อง Soxhlet ต่อการไล่ยุง

จากผลการศึกษาฤทธิ์ในการป้องกันยุงทั้ง 3 ชนิด พบว่า สารสกัดสาบเสือที่ความเข้มข้น 0.66 mg/cm^2 จะมีฤทธิ์ในการไล่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ยุงก้นปล่อง *An. dirus* B และมีผลน้อยที่สุดกับลุงลายบ้าน *Ae. aegypti* สารสกัดส่วนใบที่สกัดด้วยเอทานอลจากการกลั่นด้วยเครื่อง Soxhlet พบว่า มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการป้องกันยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้เป็นระยะเวลานาน 95.5±11.31 นาที รองลงมา คือ สารสกัดส่วนใบและส่วนลำต้นที่สกัดด้วยน้ำจากการกลั่นด้วยเครื่อง Soxhlet สามารถป้องกันยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้เป็นระยะเวลานาน 85.87±4.71 นาที และ 65.83±13.72 นาที ตามลำดับ สำหรับฤทธิ์การไล่ยุงก้นปล่อง *An. dirus* B พบว่าสารสกัดจากส่วนของใบที่สกัดด้วยเอทานอลจากการกลั่นด้วยเครื่อง Soxhlet มีประสิทธิภาพดีที่สุดสามารถป้องกันยุงได้นาน 53.13±5.33 นาที รองลงมา คือสารสกัดส่วนใบที่สกัดด้วยน้ำจากการกลั่นด้วยเครื่อง Soxhlet ได้เป็นระยะเวลานาน 47.8±5.96 นาที สารสกัดสาบเสือมีประสิทธิภาพน้อยที่สุดต่อการไล่ยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* โดยมีประสิทธิภาพในการไล่ยุงได้นาน 27.23±7.16 นาทีจากสารสกัดส่วนของลำต้นที่สกัดด้วยเอทานอลโดยวิธีการหมัก เมื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดสาร พบว่าวิธีการสกัดโดยการกลั่นด้วยเครื่อง Soxhlet จะมีประสิทธิภาพต่อการไล่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ได้ดีกว่าการสกัดด้วยการหมักยกเว้นยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* นอกจากนี้สารสกัดส่วนใบสาบเสือที่สกัดด้วยเอทานอลจะมีประสิทธิภาพต่อการไล่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ได้ดีกว่าสารสกัดจากส่วนอื่นและจากตัวทำละลายอื่น สารอย่างไรก็ตามสารสกัดสาบเสือทุกชนิดทั้งสกัดโดยวิธีการหมักและวิธีการกลั่นด้วยเครื่อง Soxhlet ก็ยังคงมีประสิทธิภาพน้อยกว่าสารเคมี 15 % IR3535 ที่ใช้กันอยู่ในท้องตลาด (ตารางที่ 4.4)

4.5 ฤทธิ์น้ำมันหอมระเหยสาบเสือต่อการกำจัดลูกน้ำยุง

จากการศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยสาบเสือในการกำจัดลูกน้ำยุง พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือมีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ให้ค่า LC_{50} ต่อการฆ่าลูกน้ำยุงเท่ากับ 365.28, 519.53 และ 1,015.25 ppm ตามลำดับ ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากลำต้นและรากไม่มีฤทธิ์ต่อการกำจัดลูกน้ำยุงทั้ง 3 ชนิด (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.4 ฤทธิ์การไล่ยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และ ยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ของสารสกัดสาบเสือโดยวิธีการหมักและวิธีการกลั่นด้วยเครื่อง Soxhlet เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย 0.66 mg/cm^2

Plant parts	Extraction solvents	Protection time (min)					
		Ae. aegypti		*Cx. quinquefasciatus*		*An. dirus* B	
		Merceration extraction	Soxchlet extraction	Merceration extraction	Soxchlet extraction	Merceration extraction	Soxchlet extraction
Leaf	Water	21.50 ± 11.33	11.87 ± 0.96	48.0 ± 5.82	85.87 ± 4.71	42.07 ± 1.25	47.8 ± 5.96
	Ethanol	4.18 ± 0.97	13.30 ± 3.10	27.27 ± 3.79	95.5 ± 11.31	35.0 ± 6.09	53.13 ± 5.33
	Methanol	13.17 ± 8.47	12.63 ± 6.95	50.57 ± 3.09	47.9 ± 2.20	30.2 ± 6.32	40.0 ± 1.48
Stem	Water	14.97 ± 12.33	7.70 ± 2.48	26.8 ± 2.95	65.83 ± 13.72	24.27 ± 5.95	39.97 ± 4.10
	Ethanol	27.23 ± 7.16	14.3 ± 0.72	27.27 ± 4.88	32.53 ± 4.05	36.57 ± 5.05	26.03 ± 4.02
	Methanol	19.73 ± 9.85	16.8 ± 3.73	52.63 ± 3.47	30.8 ± 1.84	27.67 ± 13.18	24.4 ± 3.89
Root	Water	10.73 ± 10.09	11.63 ± 1.25	29.57 ± 8.23	30.63 ± 0.46	17.27 ± 7.13	21.97 ± 2.89
	Ethanol	5.93 ± 4.39	8.10 ± 3.40	24.7 ± 4.26	21.82 ± 7.04	27.63 ± 1.33	17.6 ± 6.01
	Methanol	17.95 ± 4.12	14.65 ± 7.39	24.53 ± 13.52	23.0 ± 13.03	11.6 ± 5.26	34.4 ± 4.59
	15 % IR3535	320 ± 70.36	320 ± 70.36	255 ± 17.32	255 ± 17.32	123.75 ± 4.79	123.75 ± 4.79
	20 % DMSO	0.14 ± 4.43	0.14 ± 4.43	10.5 ± 1.54	10.5 ± 1.54	4.1 ± 1.05	4.1 ± 1.05

15 % IR3535 = Positive control; 20 % DMSO = Negative control

ตารางที่ 4.5 ฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยสาบเสือต่อการกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และยุงก้นปล่อง *An. dirus* B

Essential oil	LC_{50} (ppm)		
	Aedes aegypti	*Culex quinquefasciatus*	*Anopheles dirus* B
Leaf oil	1,015.25	519.53	365.28
Stem oil	IA	IA	IA
Root oil	IA	IA	IA
20% DMSO	IA	IA	IA
GPO	< 20	< 20	< 20

Negative control, 20 % DMSO; Positive control, GPO

4.6. ฤทธิ์น้ำมันหอมระเหยสาบเสือต่อฤทธิ์ไล่ยุง

จากการศึกษาฤทธิ์ไล่ยุงของน้ำมันหอมระเหยสาบเสือต่อการไล่ยุง พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบมีประสิทธิภาพในการป้องกันการกัดของยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้ดีที่สุด สามารป้องกันยุงได้นาน 107.67±2.52 นาที และ รองลงมา คือยุงก้นปล่อง *An. dirus* B และยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* สามารถป้องกันยุงนาน 95.0±5.0 นาที และ 83.0±9.85 นาที ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 0.66 mg/cm^2 แต่น้ำมันหอมระเหยสาบเสือจากส่วนลำต้นและรากไม่มีประสิทธิภาพในการป้องกันการกัดของ (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 ฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยสาบเสือต่อการไล่ยุงลายบ้าน *As. aegypti* ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และ ยุงก้นปล่อง *An. dirus* B

Essential oil	Protection time (min)		
	Ae. Aegypti	*Cx. quinquefasciatus*	*An. dirus* B
Leaf (0.66 mg/cm^2)	82.0 ± 9.85	107.67 ± 2.52	95.0 ± 5.0
Stem (0.66 mg/cm^2)	IA	IA	IA
Root (0.66 mg/cm^2)	IA	IA	IA
DMSO (0.66 mg/cm^2)	0.14 ± 4.43	10.5 ± 1.54	4.1 ± 1.05
IR3535	320 ± 70.36 (IR3535, 0.5 mg/cm^2)	255 ± 17.32 (IR3535, 0.1 mg/cm^2)	123.75 ± 4.79 (IR3535, 0.33 mg/cm^2)

Negative control, DMSO; Positive control, IR3535

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยอภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สารสกัดและน้ำมันหอมระเหยสาบเสือ

จาก 3 ส่วนของสาบเสือที่นำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด พบว่า ส่วนใบของสาบเสือจะให้ปริมาณสารสกัดมากกว่าส่วนอื่นๆของพืชในทั้ง 3 ชนิดของตัวทำละลายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในสารสกัดที่สกัดโดยวิธีการหมักพบว่า ตำทำละลายเมทานอลจะสามารถสกัดสารออกมาได้มากที่สุดกว่าสารสกัดทั้งหมดอย่างมีนัยทางสถิติ เนื่องจากตัวทำละลายเมทานอลนั้นจะเป็นสารที่สามารถสกัดสารที่มีขั้วได้ดี (Tiwari *et al*., 2011) และสอดคล้องกับรายงานของ Mondal *et al.* (2012) พบว่าสารสกัดใบสาบเสือที่สกัดด้วยตัวทำละลายกลุ่มแอลกอฮอล์ เช่น เอทานอล 95% (29.08±0.65%) และ เมทานอล (24.74±0.79%) จะให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสารสกัดมากกว่าน้ำ (20.25±0.54%) ในขณะที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล 95% จากส่วนใบจะให้ปริมาณสารสกัดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติซึ่งสอดคล้องกับ Stanley *et al.* (2014) ที่สกัดใบสาบเสือด้วยน้ำและตัวทำละลายเอทานอลพบว่าไม่มีความแตกต่างกันของปริมาณสารสกัดที่ได้ ในส่วนของลำต้นและรากสาบเสือพบว่าการสกัดด้วยน้ำจะให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเนื่องจากน้ำจะละลายองค์ประกอบของสารที่ไม่ต้องการออกมาด้วย เช่น น้ำตาลและแป้ง เป็นต้น (Tiwari *et al*., 2011)

ในการสกัดสารโดยวิธีการกลั่นด้วยเครื่อง soxhlet ส่วนของใบพืชที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% (26.66±1.87 %) จะให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตมากกว่าสารสกัดจากลำต้นและรากของสาบเสือด้วยตัวทำละลายเมทานอลและน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และตัวทำละลายเอทานอล 95% สามารถสกัดสารได้มากกว่าตัวทำละลายอื่นในแต่ละส่วนของพืชอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัดสารสกัดสาบเสือโดยวิธีการกลั่นด้วยเครื่อง soxhlet คือ ตัวทำละลายเอทานอล 95%

สารสกัดจากใบ ลำต้น และรากสาบเสือที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% และเมทานอลโดยใช้เครื่อง Soxhlet จะให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตมากกว่าการสกัดสารโดยวิธีการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติยกเว้นสารสกัดจากส่วนใบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Kothari *et al*. (2012) ที่รายงานว่าการสกัดสารโดยการกลั่นด้วยเครื่อง soxhlet จะได้ปริมาณมากว่าการหมัก วิธีนี้จะใช้กับสารที่ไม่สามารถละลายหรือละลายได้น้อยในตัวทำละลายเนื่องจากจะใช้ความร้อนระหว่างการกลั่น (Tiwari *et al.,* 2011)

5.2 ฤทธิ์สารสกัดสาบเสือที่สกัดด้วยการหมักและการกลั่นด้วยเครื่อง Soxhlet ต่อการกำจัดลูกน้ำยุงและไล่ยุง

จากผลการศึกษาฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำยุงครั้งนี้ พบว่าสารสกัดสาบเสือมีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงได้แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับตัวทำละลายแต่ละชนิดและแต่ละส่วนของสาบเสือที่ใช้ในการศึกษา กล่าวคือ สารสกัดที่มีฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำยุงดีที่สุด คือ สารสกัดรากที่สกัดด้วยเอทานอลด้วยวิธีการหมักจะมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการกำจัดลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx.*

quinquefasciatus และ ยุงก้นปล่อง *An. dirus* B เท่ากับ 397.09 และ 396.78 ppm ตามลำดับ แต่สารสกัดใบที่สกัดด้วยเอทานอลโดยวิธีการหมักจะมีฤทธิ์กำจัดลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ได้ดี (LC_{50} เท่ากับ 396.78 ppm) มีผลน้อยกับยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* และไม่มีผลกับลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ซึ่งรายงานการวิจัยนี้จะแตกต่างจากรายงานที่ผ่านมาในส่วนของพืช ซึ่งจากรายงานของ Appadurai *et al*. (2014) พบว่าฤทธิ์ของสารสกัดจากใบสาบเสือด้วยตัวทำละลายเมทานอลมีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* (LC_{50} เท่ากับ 397.44 ppm) ในขณะที่งานวิจัยนี้พบว่าส่วนรากของสาบเสือจะมีประสิทธิภาพต่อการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้ดีและใช้ปริมาณสารสกัดที่ใกล้เคียงกัน (LC_{50} เท่ากับ 397.09 ppm) นอกจากนี้งานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดจากใบที่สกัดด้วยเมทานอลทั้งโดยวิธีการหมัก (LC_{50} เท่ากับ 654.54 ppm) และวิธีการกลั่นด้วยเครื่อง Soxhlet (LC_{50} เท่ากับ 623.00 ppm) มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการกำจัดลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. dirus* B แต่ไม่มีผลกับลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Sukhthankar *et al*. (2014) ที่พบว่าสารสกัดจากใบสาบเสือที่สกัดด้วยเมทานอลให้ค่า LC_{50} ต่อการกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* และยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* เท่ากับ 138 และ 43 ppm ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากแหล่งของที่ปลูกของสาบเสือ ลักษณะภูมิประเทศของพืช สายพันธุ์ของพืช และอายุการเก็บเกี่ยว นอกจากนี้ความเข้มข้นที่ใช้ในการกำจัดลูกน้ำยุงที่เลี้ยงในประเทศไทยจะใช้ความเข้มข้นที่สูงกว่าในการกำจัดลูกน้ำยุงที่เลี้ยงในต่างประเทศ อาจจะเนื่องมาจากยุงในประเทศไทยเป็นสายพันธุ์ที่มีความแข็งแรงมากกว่าสายพันธุ์ที่เลี้ยงในต่างประเทศ จึงทำให้ผลการทดลองที่ได้มีความแตกต่างกัน ซึ่งนับว่าเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่องานวิจัยในครั้งนี้

ประสิทธิภาพในการไล่ยุงของสารสกัดสาบเสือพบว่าสารสกัดสาบเสือมีประสิทธิภาพต่อการไล่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ยุงก้นปล่อง *An. dirus* B และมีผลน้อยที่สุดกับยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ซึ่งผลการทดลองนี้แสดงว่ายุงต่างชนิดกันมีความไว (susceptible) หรือต้านทาน (resistance) ต่อสารสกัดสมุนไพรชนิดเดียวกันได้ต่างกัน ผลวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานของ Reegan *et al*. (2015) ที่พบว่าไข่ของยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* (การฆ่าไข่ยุงเท่ากับ 42.4%) มีความไวต่อสารสกัดมากกว่าไข่ของยุงยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* (การฆ่าไข่ยุงเท่ากับ 13.6%) ที่ความเข้มข้นของสารสกัดใบสาบเสือที่สกัดด้วย ethyl acetate เท่ากับ 500 ppm

สำหรับผลของวิธีการสกัดสารพบว่าฤทธิ์ต่อการกำจัดลูกน้ำยุงจะต้องสกัดด้วยวิธีการหมัก แต่ถ้าเป็นประสิทธิภาพในการไล่ยุงของสาบเสือจะต้องสกัดด้วยวิธีการกลั่นเครื่อง Soxhlet ซึ่งสารสกัดสาบเสือด้วยการหมักในตัวทำละลายเอทานอล ประกอบด้วย alkaloids, flavonols, polyphenols, polyacetylenes, sterols, tannins และ terpenoids และสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลประกอบด้วย anthocyanins, flavones, lactone, polyphenols, phenones, quassinoids, saponins, tannins, tatarol และ xanthoxyallines (Tiwari *et al*., 2011) ซึ่งสารสกัดจากสาบเสือนี้จะมีความเหมือนกับสารที่มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุง ได้แก่ สาร flavonoids, terpenoids และ lactones มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน *Aedes aegypti* (Kumar et al., 2014) สาร α-terpinene มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านทั้ง *Aedes aegypti* และ *Aedes albopictus*

(Cheng *et al*., 2009) สาร saponins สารที่มีฤทธิ์ต่อยุงรำคาญ *Culex quinquefasciatus* (Neetu *et al*., 2011) ดังนั้นสารสกัดสาบเสือโดยการหมักจึงมีฤทธิ์ฆ่ายุงลายได้ดีกว่าวิธีการกลั่นเครื่อง soxhlet เนื่องจากสารอื่นที่มีฤทธิ์ต่อการฆ่าลูกน้ำยุงที่สกัดด้วยวิธีการกลั่นเครื่อง soxhlet อาจสลายไปเนื่องจากการสกัดสารโดยวิธีการกลั่นเครื่อง Soxhlet เป็นวิธีที่ต้องใช้ความร้อนในการต้มตัวทำละลายจนกลายเป็นไอจึงอาจทำให้สารบางชนิดสลายตัวไป ซึ่งการคัดเลือกประสิทธิภาพของวิธีการสกัดสารที่ดีควรเลือกจากผลการทดสอบฤทธิ์นั้นๆที่ต้องการ

5.3 ฤทธิ์น้ำมันหอมระเหยสาบเสือต่อการกำจัดลูกน้ำยุงและไล่ยุง

จากการศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยสาบเสือต่อการการกำจัดลูกน้ำยุง พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากส่วนใบสาบเสือมีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ดีที่สุดให้ค่า LC_{50} ต่อการฆ่าลูกน้ำยุงเท่ากับ 365.28 ppm รองลงมาคือ กำจัดลูกน้ำยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* และ ลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 519.53 และ 1,015.25 ppm ซึ่งให้ประสิทธิภาพดีกว่าที่เป็นสารสกัดสาบเสือ แต่น้ำมันหอมระเหยจากส่วนลำต้นและรากไม่มีฤทธิ์ต่อการกำจัดลูกน้ำยุงทั้ง 3 ชนิด จากผลการทดลองนี้ฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยสาบเสือมีผลต่กการฆ่ายุงลายบ้าน *Ae. aegypti* มากกว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอม (citronella) *Cymbopogon nadus* (LC_{50} เท่ากับ 1374.05 ppm) แต่มีฤทธิ์น้อยกว่าน้ำมันหอมระเหยจากยูคาลิปตัส *Eucalyptus globulus* (LC_{50} เท่ากับ 106.21 ppm) ตะไคร้ (lemon grass) *Cymbopogon flexuosus* (LC_{50} เท่ากับ 138.36 ppm) และส้ม *Citrus sinensis* (LC_{50} เท่ากับ 85.93 ppm (Tennyson *et al*., 2013)

น้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือจะมีฤทธิ์ต่อการไล่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ดีที่สุดนาน 1.8 ชั่วโมง (107.67 ± 2.52 นาที) ยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ไล่ได้นาน 1.6 ชั่วโมง (95.0 ± 5.0 นาที) และยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ไล่ได้นาน 1.4 ชั่วโมง (82.0 ± 9.85 นาที) ที่ความเข้มข้น 0.66 mg/cm^2 ของผิว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Amer and Mehlhorn (2006) ที่พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากพืช 41 ชนิด จะสามารถป้องกันการกัดของยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้นานที่สุด รองลงมาคือ ป้องกันการกัดของยุงก้นปล่อง *An. dirus* และป้องกันการกัดของยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ได้น้อยที่สุด ผลการทดสอบน้ำมันหอมระเหยนี้ให้ค่ามากกว่าข้อกำหนดตามการทดสอบของ WHO (1998) ที่กำหนดให้การทดสอบความไวของยุงจะต้องสามารถป้องกันยุงได้นาน 1 ชั่วโมง ซึ่งผลน้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือจะมีฤทธิ์ต่อการไล่ยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ดีกว่าน้ำมันส้ม *Citrus aurantifolia* สามารถป้องกันไดนาน 65.0±22.91 นาที และ ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ได้นาน 71.7±5.8 นาที ที่ความเข้มข้น 0.33 µl/cm^2 (Soonwera, 2015) นอกจากนี้การทดสอบน้ำมันหอมระเหยใบสาบเสือจะมีประสิทธิภาพในการไล่ยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ได้น้อยกว่าน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดขึ้นฉ่าย (2.75 ชั่วโมง) (Kumar *et al*., 2014) น้ำมันหอมระเหยผกากรอง *Lantana camara* L. (3.75 ชั่วโมง) ต่อพื้นที่ความเข้มข้น 1.66 mg/cm^2 แต่ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยสูงกว่าน้ำมันหอมระเหยใบสาบเสือ 2.5 เท่า (0.66 mg/cm^2) (Bhargava *et al*., 2013)

เนื่องจากในน้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือมีสารออกฤทธิ์ -α-pinene, pregeijerene, geijerene, β-pinene, และ germacrene-D (Felicien *et al*., 2012) ที่มีรายงานว่า มีฤทธิ์ในการไล่แมลงศัตรูพืชได้ดี ดังนั้นจึงทำให้น้ำมันหอมระเหยจากใบเสือมีฤทธิ์ต่อการไล่ยุงได้ดี

5.4 สรุป

สารสกัดสาบเสือที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์กำจัดลูกน้ำยุง คือสารสกัดส่วนรากที่สกัดด้วยเอทานอลด้วยวิธีการหมัก สารสกัดที่เหมาะสมในการป้องกันยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ป้องกันการกัดได้นาน 1.6 ชั่วโมง และยุงก้นปล่อง *An. dirus* ป้องกันการกัดได้นาน 53.13 ± 5.33 นาที คือ สารสกัดจากส่วนใบที่สกัดด้วยเอทานอลจากการกลั่นด้วยเครื่อง Soxhlet แต่สารสกัดที่เหมาะสมในการป้องกันยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* คือสารสกัดส่วนของลำต้นที่สกัดด้วยเอทานอลโดยวิธีการหมัก สำหรับน้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือจะมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการกำจัดลูกน้ำยุงก้นปล่องยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ได้ดีที่สุดให้ค่า LC_{50} ต่อการฆ่าลูกน้ำยุงเท่ากับ 365.28 และไล่ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* ดีที่สุดป้องกันการกัดได้นาน 1.8 ชั่วโมง ยุงก้นปล่อง *An. dirus* B ป้องกันการกัดได้นาน 1.6 ชั่วโมงและยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ป้องกันการกัดได้นาน 1.4 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 0.66 mg/cm^2 ของผิว ชนิดของยุงที่มีความไวต่อสารสกัดมากที่สุด คือ ยุงรำคาญ *Cx quinquefasciatus* รองลงมาคือ ยุงก้นปล่อง *An. dirus* และยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* เพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์กำจัดลูกน้ำยุงและผลิตภัณฑ์ไล่ยุงต่อไป ถ้าจะกำจัดลูกน้ำยุงจะต้องสกัดด้วยวิธีการหมักแต่ถ้าใช้ในการไล่ยุงของสาบเสือจะต้องสกัดด้วยการกลั่นเครื่อง Soxhlet

5.5 ข้อเสนอแนะ

1. สามารถนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ไล่ยุง ให้เป็นทางเลือกหนึ่งกับผู้บริโภคในการเลือกใช้ และสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการไล่ยุงด้วยการผสมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น อาจจะได้ผลิตภัณฑ์ป้องกันยุงที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันยุงได้นานขึ้น ทำให้สะดวกในการใช้ และยังมีผลข้างเคียงน้อย เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ไล่ยุงที่มีคุณภาพและเป็นที่พึงพอใจของผู้บริโภค
2. จากการศึกษาฤทธิ์กำจัดลูกน้ำยุงทั้ง 3 ชนิด ด้วยสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่างๆของสาบเสือ พบว่า สารสกัดสาบเสือจะส่งผลให้เกิดปัญหาในเรื่องของสี กลิ่น คราบฝ้าและยังส่งผลให้น้ำเน่าเสีย ทำให้อาจจะไม่เป็นที่พึงประสงค์ของผู้อุปโภคบริโภคได้ถ้ามีการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์กำจัดลูกน้ำยุงต่อไปในอนาคต ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่หาแนวทางและวิธีแก้ไขปัญหาต่างๆนี้ เพื่อให้เป็นที่พึงพอใจของผู้บริโภค
3. ควรทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของทางเคมีของสารสกัดหยาบลำต้น ใบ และ ราก สาบเสือด้วยเครื่อง HPLC และ น้ำมันหอมระเหยจากใบสาบเสือด้วยเครื่อง GC-MS

บรรณานุกรม

บรรณานุกรมภาษาไทย

ชนานนท์ แพงไทย และ จักรกฤษณ์ มหัจฉริยวงศ์. 2550. การคัดเลือกและผลิตสารสกัดจากพืชในการควบคุมลูกน้ำ ยุงลาย. การประชุมวิชาการด้านพลังงานสิ่งแวดล้อมและวัสดุ ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร. 6 หน้า.

เพ็ญนภา ชมะวิต, ชำนาญ อภิวัฒนศร, นฤมล โกมลมิศร, ยุวดีตรงต อกิจ, ขวัญชนก ชูจิตต, พรพรรณ นฤภัย และ สาวิตรี บุตรี. (2549). ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่มีต่อลูกน้ำยุงลายและยุงรำคาญ.การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44, กรุงเทพมหานคร.หน้า 703-709.

มนัสวี พัฒนกุล,สนั่น ศุภธีรสกุล, และ สุนทร พิพิธแสงจันทร์. (2551). ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้า (*Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs.) ในการป้องกันการดูดเลือดของยุงลาย (*Aedes aegypti* L.) *วารสามหาวิทยาลัยทักษิณ.* 11(1), มกราคม - มิถุนายน.

วิภาวดี ชำนาญ. (2548). การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack.) เพื่อไล่ยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus* Say.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พิสุทธิพร ฉ่ำใจ. (2550). *สมุนไพรสรรพคุณและประโยชน์เพื่อการนำมาใช้.* ต้นธรรมสำนักพิมพ์, กรุงเทพฯ. 304 หน้า.

สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. (2559). คาดการณ์โรคและภัยสุขภาพที่สำคัญปี พ.ศ. 2559. รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาประจำสัปดาห์. 47(1), 1-8.

สุรศักดิ์ ราตรี. (2554). *พรรณไม้หนองระเวียง.* เอ็กซ์เดคคอร์, 231 หน้า.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 215.

ธารธรรมแก้ว เชื้อเมือง. (2537). *สมุนไพรสำคัญที่ควรรู้.* สำนักพิมพ์กำแก้ว, 271 หน้า.

อุษาวดี ถาวระ และ ธีระภาพ เจริญวิริยะภาพ. (2557). ยุง (Mosquitoes) ใน: อุษาวดี ถาวระ บรรณาธิการ.การควบคุมแมลงทางการแพทย์, นนทบุรี, บริษัท ดีไซร์ จำกัด, หน้า 1-16.

บรรณานุกรมภาษาอังกฤษ

Akinmoladun, A. C., Ibukun, E. O., & Dan-Ologe, I. A. (2007). Phytochemical constituents and antioxidant properties of extracts from the leaves of *Chromolaena odorata. Scientific Research and Essay*. 2(6), 191-194.

Aliero, B. L. (2003). Larvicidal effects of aqueous extracts of *Azadirachta indica* (neem) on the larvae of *Anopheles* mosquito. *African Journal of Biotechnology*. 2(9), 325-327.

Alisi, C. S., Onyeze, G. O. C., Ojiako, O. A. and 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.

Amer, A. and Mehlhorn, H. (2006). Repellency effect of forty-one essential oils against *Ardes, Anopheles,* and *Culex* mosquitoes*. Parasitology Research.* 99, 478-490.

Andreas, A. A., Bem, M. A., & Mary, B. A. (2011). Aqueous neem extract versus neem powder on *Culex quinquefasciatus*: implications for control in anthropogenic habitats. *Journal of Insect Science*. 142, 1-9.

Antindehou, M., Lagnika, L., Guérold, B., Strub, J. M., Zhao, M., Dorsselaser, A. V., Marchioni, E., Prévost, G., Haikel, Y., Taddéi, C., Sanni, A., Metz-Boutigue, M.-H. (2013). Isolation and identification of two antibacterial agents from *Chromolaena odorata* L. activity against four diarrheal strains. *Advances in Microbiology*. 3, 115-121.

Anyasor, G. N., Aina, D. A., Olushola, M., & Aniyikaye, A. (2011). Phytochemical constituent, proximate analysis, antioxidant, antibacterial and wound healing properties of leaf extracts of *Chromolaena odorata. Annals of Biological Research*. 2(2): 441-451.

Asmugha, R. H., Okafor, P. N., Ijeh, I. I., Orisakwe, O. E. & Asomugha, A. L. (2014). Hepatic effects of aqueous extract of *Chromolaena odorata* in male Wistar albio rats. *Phamacology online*. 1: 127-136.

Appadurai DR, Arokia VK, Michael GP, Savarimuthu I. (2013) Larvicidal, Ovicidal, and repellent activities of Marine Sponge *Cliona celata* (Grant) extracts against *Culex quinquefasciatus* Say and*Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) . ISRN Entomol, pp. 1–9.

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 & Applied Science*. 5(1), 170-174.

Balakrishna, A., Josthna, P., & Naidu. (2014). Evaluation of *in vitro* antioxidant activity of root bake of *Chromolaena odorata* an important antidiabetic medicinal plant. *Pharmacophore*. 5(1): 49-57.

Barnard D.R., Posey, K.H., Smith, D., & Schreck, C.E. (1998). Mosquito density, biting rate and cage size effects on repellent tests. *Med. Vet. Entomol*. 12: 39-45.

Chakraborty, A. K., Rambhade, S. & Patil, U. (2011). *Chromolaena odorata* (L.): an overview. *Journal of Pharmacy Research*. 4(3), 573-576.

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.

Chomnawange, M. T., Surassmo, S., Nukoolkarn, V. S. & Gritsanapan, W. (2005). Antimicrobial effects of Thai medical plants against acne-inducing bacteria. *Journal of Ethnoparmacology*. 101, 330-333.

Danlami, U., Adebisi, F. A., David, B. M., Lawal, D. R. & Galadanchi, K. M. (2013). Proximate and phytochemical analyses of the hexane, ethyl acetate and ethanol extracts of *Chromolaena odoratum* (Linn.) leaves. *Asian J. Pharm Biol Res Short Communication*. 3(1): 34-35.

Das, K., Tiwari, R. K. S., & Shrivastava, D. K. (2010). Techniques for evaluation of medicine plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(2), 104-111.

Das N.G., Baruah, I, Talukdar P.K., & Das, S.C. (2003). Evaluation of botanicals as repellents against mosquitoes. *J. Vector Borne Dis.* 40, 49-53.

Dash, G. H. & Murthy, P. N. (2011). Antimicrobial activity of few selected medical plants. *International Research Journal of Pharmacy*. 2(1), 146-152.

Eze, E. A., N. E. Oruche, V. C. Onuora & C. N. Eze. (2013). Antibacterial screening of crude ethanolic leaf extracts of four medicinal plants. *Journal of Asian Scientific Research*. 3(5): 431-439.

Fredros, O. O., Bart, G. J. & Ulrike, F. (2007). Larvicidal effects of a neem (*Azadirachta indica*) oil formulation on the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Malaria Journal*. 63, 1-8.

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.

Ghosh, A., Chowdhury, N. & Chandra, G. (2012). Plant extracts as potential mosquito larvicides. *Indian Journal of Medical Research.* 135, 581-598.

Gubitz, G. M, Mittelbach, M. & Trabi, M. (1999). Exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L. *Bioresource Technology*. (67), 73-82.

Gunasekaran, K., Vijayakumar, T. & Kalyanasundaram, M. (2009). Larvicidal and emergence inhibitory activities of Neem Azal T/S1.2 percent EC against vectors of malaria, filariasis & dengue. *Indian Journal* of *Medical Research*. 130, 138-145.

Hostettmann, K., & Marston, A. S. 2005. Chemistry and pharmacology of natural products, Ser. Cambridge University Press.

Hung, T. M., Cuong, T. D., Dang, N. H., Zhu, S., Long, P. Q., Komatsu, K. & Min, B. S. (2011). Flavonoid glycosides from *Chromolaena odorata* leaves and their *in vitro* cytotoxic activity. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 59(1), 129-131.

Joshi, R. K. (2013b). Chemical composition of the essential oil of *Chromolaena odorata* (L.) R. M. King & H. Rob. roots from India. Hindawi Publishing Corporation, *Journal of Chemistry*. 1-4. ID 195057, http://dx.doi.org/10.1155/203/195057

Joshi, R. K. (2013a). 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. TEOP. 16(1), 71-75.

Kiran, S. R., Devi, P. S., & Reddy, K. J. (2007). Bioactivity of essential oils and sesquiterpenes of *Chloroxylon swietenia* DC against *Helicoverpa armigera*. *Current Science*. 93(4), 544-548.

Kigigha, L. & Zige, D. V. (2013). Activity of *Chromolaena odorata* on enteric and superficial etiologic bacterial agents. *American Journal of Research Communication*. 1(11): 266-276.

Kothari, V., Gupta, A., & Naraniwal, M. (2012). Comparative study of various methods for extraction of antioxidant and antibacterial compounds from plant seeds. *Journal of Nature Remedies*. 12(2), 162-173.

Kumar, S., Mishra, M., Wahab, N., & Warikoo, R. (2014). Larvicidal, repellent, and irritant potential of the seed-derived essential oil of *Apium graeolens* against degue vector, *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Original Research Article.* 2, 1-6.

Lamaty, G., Menut, C., & Zollo, P. H. A. (1992). Aromatic plants of tropical central Africa. IV. Essential oils of *Eupatorium odoratum* from Cemeroon and Congo. *Journal of Essential Oil Research*. 4, 101-105.

Land protection. (2006). Siam weed *Chromolaena odorata* Declared class1. Natural Resources and water. Retrieved October 1, 2014, Website: http://www.nqccs.com.au/library/weeds/siam_weed.pdf.

Lata, B., Preeti, S., Lalit, M., Prejwltta, M. & Srivastava, C. N. (2009). Relative toxicity of neem fruit, bitter gourd, and castor seed extracts against the larvae of filaria vector*, Culex quinquefasciatus* (Say). *Journal of Parasitology Research*.105, 1205-1210.

Lee, S. E. (2000). Mosquito larvicidal activity of pipernonaline, a piperidine alkaloid derived from Long Pepper, *Piper longum*, *Journal of the American Mosquito Control Association.* 16(3), 245-247.

Marcello, N., Mauro, S., Andrea, A., Andrea, A. D. & Susana, M. (2010). Toxic effects of neem cake extracts on *Aedes albopictus* (Skuse) larvae. *Journal of Parasitology Research*. 107(1), 89-94.

Maji, S., Dandapat, P., Ojha, D., Maity, C., Halder, S. K., Das Mohatra, P. K., Pathak, T. K., Pati, B. R., Samanta, A. & Mondal, K. C. (2010). *In vitro* antimicrobial potentialities of different solvent extracts of ethnomedicinal plants against clinically isolated human pathogens. *Journal of Phytology*. 2(4), 57-64.

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. and 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.

Ngozi, I. M., I. C. Jude and I. C. Catherine. (2009). Chemical Profile of *Chromolaena odorata* L. (King and Robinson) Leaves. *Pakistan Journal of Nutrition*. 8(5), 521-524.

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., and 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.

Panda, D., Dash, S. K., & Dash, G. K. (2012). Isolation and antimicrobial evaluation of various leaf extracts of *Chromolaena odorta* Linn. collection from nearby areas of Lathi village, Ganjam, Odisha. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Research*. 3(2), 25-33.

Pedro, M. G., J., Aubrey, N. A., Bryle, A. L. E., Maria, F. L. S. (2014). Larvicidal activity of selected plant extracts against the dengue vector *Aedes aegypti* Mosquito. *International Research Journal of Biological Sciences.* 3(4), 23-32.

Peterson, L.R. & Shanholtzer, C. J. (1992). Tests for bactericidal effects of antimicrobial agents: technical performance and clinical relevance. *Clinical Microbiology Reviews*. 5(4), 420-432.

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.

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.

Preeti, S., Lalit, M. & Srivastava, C. N. (2006). Impact analysis of neem kernel extracts on the developmental profile of *Anopheles stephensi* . *Journal of Asia Pacific Entomology*. 9(1), 11-17.

Qeensland government . (2011). Siam weed *Chromolaena odorata*. Retrieved October 1, 2014, from fact sheet DECLARED CLASS 1 PEST PLANT Website: http://www.daff.qld.gov.au/documents/ Biosecurity_EnvironmentalPests/IPA-Siam-Weed-PP49.pdf

Rajan, M. & Savarimuthu, I. (2012). A novel herbal formulation against dengue vector mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Journal of Parasitology Research*. 110, 1801-1813.

Rajkumar, S. & Jebanesan, A. (2004). Mosquitocidal activities of octacosane from *Moschosma polystachyum* Linn (lamiaceae). *Journal of Ethnopharmacology.* 90, 87-9.

Rahuman, A. A., Gopalakrishnan, G., Venkatesan, P. & Geetha, K. (2008). Isolation and identification of mosquito larvicidal compound from *Abutilon indicum* (Linn.) sweet. *Parasitology Research*. 102, 981-988.

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.

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.

Stuart, A. E., Brooks, C. J., Prescott, R.J., & Blackwell, A. (2000). Repellent and antifeedant activity of salicylic acid and related compounds against the biting midge, *Culicoides impunctatus* (Diptera: Ceratopogonidae). *J. Med. Entomol*. 37, 222-227.

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.

Suksamrarn, A., Chotipong, A., Suavansri, T., Boongird, S., Timsuksai, P., Vimuttipong, S. & Chuaynugul, A. (2004). Antimycobaterial activity and cytotoxicity of flavonoids from the flowers of *Chromolaena odorata*. *Archibes of Pharmacal Research*. 27(5), 507-511.

Sukhthankar, J. H., Kumar, H., M. H. S. Godinho, M. H. S. and 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.

Suwaibah, M., Zatilfarihiah, R., Aslizah, M. A. & Baharum, S. N. (2012).

Chemical composition of local *Eupatorium odoratum* essential oil using GC-MS. UMT ^{11}th International Annual Symposium on Sustainability Science and Management. 1383-1388.

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.

Thoden, T. C., Boppré, M. & Hallmann, J. (2007). Pyrolizidine alkaloids of *Chromolaena odorata* act as nematicidal agents and reduce infection of lettuce roots by *Meloidogyne incognita*. *Nematology.* 9(3), 343-349.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur H. (2011). Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Science.* 1(1), 98-106.

Tawatsin, A., Wratten, S.D., Scott, R.R., Thavara, U., & Techadamrongsin, Y. 2001. Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. *J Vector Ecol*. 26: 76-82.

Touré, D., Kouamé, B. K. F. P., Bedi, G., Joseph, A., Guessennd, N., Oussou, R., Chalchat, J. C., Dosso, M. & 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.

Vaisakh, M. N. & Pandey, A. (2012). The invasive weed with healing properties: a review on *Chromolaena odorata*. *International Journal Pharmaceutical Sciences and Research*. 3(1), 80-83.

Venkata, R. B., L., Samuel, S. M. Pardha, R. B., Narashimha, V. K. A., Naga, M. Sudhakarm, & T. M. Radhak. (2012). Antibacterial, antioxidant activity and GC-MS analysis of *Eupatorium odoratum. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* 5(2), 100-106.

Vijayaraghavan, K., Mohamed, S. & Maruthi, R. (2013). Studies on phytochemical screening and antioxidant activity of *Chromolaena odorata* and *Annona squamosu. International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*. 2(12), 7315-7321.

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 Jounal of Phytochemistry*. 8(3): 64-73.

World Health Organization. 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. Available from URL: WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13. p 41.

World Health Organization. 2012. Dengue and severe dengue. Available from URL: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/, 4 January 2012.

ภาคผนวก

ประวัติผู้วิจัย

1) ชื่อ นาง.ศรีสุดา หาญภาคภูมิ
(Mrs. Srisuda Hanphakphoom)
2) ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
3) สถานที่ทำงาน คณะวิทยาศาตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต
295 ถนนราชสีมา แขวงดุสิต เขตดุสิต กรุงเทพมหานคร 10300
4) ประวัติการศึกษา วท.บ.(สัตวศาสตร์)สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล (บางพระ)
วท.ม. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ปร.ด. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5) สาขาที่มีความชำนาญพิเศษ: จุลชีววิทยาทางอาหาร เอนไซม์เทคโนโลยี จุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม

6) ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและนอกประเทศผลงานวิจัย

ปีงบประมาณ 2556

1) ศรีสุดา หาญภาคภูมิ, สุชาดา โทผล และ ปิยาภรณ์ วรานุสันติกูล. (2557). การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากลำต้นและรากของต้นสาบเสือ. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต (ระยะเวลาที่ใช้ในโครงการวิจัย 2 ปี) (ทุนวช. 2556, ระยะเวลา 1.5 ปี)

2) ฤทธิ์ต้านมาลาเรีย ต้านแบคทีเรีย และความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดจากพืชนมสวรรค์ (*Clerodendrum*) แหล่งทุน ทุน วช. 2557 (ผู้ร่วมโครงการ)

ปีงบประมาณ 2557

1) การผลิตเอนไซม์ย่อยสลาย PLLA โดยเชื้อ *Laceyella sacchari* LP175 ด้วยการหมักแบบแห้ง แหล่งทุน วช.มุ่งเป้า 2557 (ผู้ร่วมวิจัย) รอผู้ทรงคุณวุฒิประเมินเล่มวิจัยฉบับสมบูรณ์ (ระยะเวลาทำวิจัย 1 ปี)

ปีงบประมาณ 2558

1) ฤทธิ์การกำจัดลูกน้ำและการไล่ของสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยจากสาบเสือต่อยุงในประเทศไทย สกอ. 2558 (หัวหน้าโครงการ) กำลังเขียนเล่มวิจัยฉบับสมบูรณ์ (ระยะเวลาทำวิจัย 1.5 ปี)

2) การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคติดเชื้อทางผิวหนังของจุลินทรีย์เอนโดไฟท์จากสาบเสือ แหล่งทุน บกศ. 2558 (หัวหน้าโครงการ) กำลังทำวิจัยขั้นสุดท้าย (ระยะเวลาทำวิจัย 1 ปี)

ปีงบประมาณ 2559

1) การพัฒนากระบวนการหมักข้าวแดงเพื่อเพิ่มผลผลิตสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิโดย *Monascus purpureus* IFRPD 4046 สายพันธุ์กลายจากปลายข้าว แหล่งทุน ทุน วช. 2559 (หัวหน้าโครงการ) เริ่มทำวิจัย

บทความวิจัย

1. Hanphakphoom, S., N. Maneewong, S. Sukhumaporn, S . Tokuyama and V. Kitpreechavanich. **(2014).** Characterization of poly (L-lactide)-degrading enzyme produced by thermophilic filamentous bacteria *Laceyella sacchari* LP175. *J. Gen. Appl. Microbiol***.** 60 (1):13-22.

2. Lomthong, T., **Hanphakphoom, S**., Yaksan, R. and Kitpreechavanich, V**. (2015).** Co-production of poly(L-lactide)-degrading enzyme and raw starch-degrading enzyme by *Laceyella sacchari* LP175 using agricultural products as substrate, and their efficiency on biodegradration of poly(L-lactide)/thermoplastic starch blend film. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 104: 401-410.

การนำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการ

1. **Hanphankphoom, S**., Maneewong N., Sukkhum S., Tokuyama and Kitpreechavanich, V.2013. Poly(L-lactide)-degrading thermophilic bacteria: screening and optimum conditions for PLA-degrading enzyme production. March 28-29, **2013**. I-KUSTARS The Internatinal Kasetsart University Science and Technology Annual Research Symposium with the Theme Science Frontier Toward ASEAN. Oral presentation.1. Atchara Promsang,

2. Hanphankphoom, S., Maneewong N., Suriyachagkun C. Kitpreechavanich, V. 2012. Screening of poly(L-lactide)-degrading thermophilic bacteria, enzyme production and characterization. Aug 24, **2012.** P24. RGJ Seminar Series LXXXVIII Microbial Resources: Their Biodiversity and Utilization. Kasetsart University, Thailand.

3. **Hanphankphoom, S.,** Maneewong N., Suriyachagkun C., Tokuyama and Kitpreechavanich, V. 2012. Screening poly(L-lactide)-degrading thermophilic bacteria, enzyme production and characterization. 4-6 Oct **2012**. International Conference on Microbial Taxonomy, Basic and Applied Microbiology. Poster on 3rd October 2012 at Kosa Hotal, Khon Kean, Thailand.

4. Hanphankphoom, S., Maneewong N., Sukkhum S., Tokuyama and Kitpreechavanich, V. **2010**. Purification and characteristics of PLA-degrading enzyme produced from *Laceyella sacchari* LP175. 19-21 Nov. 2010. p. 56.The 2nd Joint Seminar in Asian Core Program Khon Kaen, Thailand.

ผู้ร่วมวิจัยคนที่ 1

1) ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) พายุ ภักดีนวน

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Payu Bhakdeenuan

2) หมายเลขประจำตัวประชาชน 3-4601-00364-85-4

3) ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ

4) หน่วยงานที่สังกัด ฝ่ายชีววิทยาและนิเวศวิทยา,
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข
88/7 ถ.ติวานนท์ ต.ตลาดขวัญ
อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000
โทรศัพท์: 02-5899850–8 ต่อ 99245
โทรสาร: 02-5915449
E-mail address: payu.b@dmsc.mail.go.th

5) ประวัติการศึกษา

วท.บ.จุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี (2546)

วท.ม.วิทยาศาสตร์การแพทย์ (ปรสิตวิทยา) มหาวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (2555)

6) สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชา

กีฏวิทยาทางการแพทย์

7) ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

7.1) ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย -

7.2) หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย -

8) งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว: ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และสถานภาพในการทำวิจัย

8.1) Field evaluation of novaluron, a chitin synthesis inhibitor larvicide against mosquito larvae in polluted water in urban areas of Bangkok, Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth* 2007*;* 38(3): 434-441. (ผู้ร่วมวิจัย)

8.2) Larvicidal efficacy of new formulations of temephos in non-woven sachets against larvae of *Aedes ageypti* (L.) (Diptera:

Culicidae) in water-storage containers. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth* 2007; 38(4): 641-645. (ผู้ร่วมวิจัย)

8.3) Repellent activity of essential oils against cockroaches (Dictyoptera : Blattidae, Blattellidae, and Blaberidae) in Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth* 2007; 38(4): 663-673. (ผู้ร่วมวิจัย)

8.4) Outbreak of chikungunya fever in Thailand and virus detection in field population of vector mosquitoes, *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2009; 40: 951-62. (ผู้ร่วมวิจัย)

8.5) Insecticide resistance in bedbugs in Thailand and laboratory evaluation of insecticides for the control of *Cimex hemipterus* and *Cimex lectularius* (Hemiptera: Cimicidae). *J Med Entomol 2011*; 48(5): 1023-30. (ผู้ร่วมวิจัย)

8.6) Molecular Analysis of Medically and Veterinary Important Muscid Flies (Diptera: Muscidae) in Thailand. *Thai J Vet Med. 2012. 42(3): 333-342.*

ผู้ร่วมวิจัยคนที่ 2

1) ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) ภานุกิจ กันหาจันทร์

(ภาษาอังกฤษ) Phanukit Kunhachan

2) หมายเลขประจำตัวประชาชน 5-4504-00012-15-1

3) ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ

4) หน่วยงานที่สังกัด ฝ่ายชีววิทยาและนิเวศวิทยา, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข
88/7 ถ.ติวานนท์ ต.ตลาดขวัญ
อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000
โทรศัพท์: 02-5899850–8 ต่อ 99245
โทรสาร: 02-5915449
E-mail address: phanukit08@gmail.com

5) ประวัติการศึกษา

วท.บ.สาธารณะสุข (อาหารและโภชนาการ) มหาวิทยาลัยมหิดล (2543)

วท.ม. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (2546)

ปร.ด. (เภสัชศาสตร์ชีวภาพ) มหาวิทยาลัยมหิดล (2555)

6) สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชา
กีฏวิทยาทางการแพทย์

7) ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

1) ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย -

2) หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย -

8) งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว: ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และสถานภาพในการทำวิจัย

8.1) Isolation of Enterotoxin Producing *Staphylococcus aureus* and Sensitivity Test for Drug Resistance Strains from Cafeterial Foods in Hospital in Bangkok . Kasetsart J. (Nat. Sci.) (2005); 39 : 711 – 717.

8.2) Chemical Composition, Toxicity and Vasodilatation Effect of the Flowers Extract of *Jasminum sambac* (L.) Ait. “G. Duke of Tuscany”. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine (2012; Article ID 471312, 7 pages.

ผู้ร่วมวิจัยคนที่ 3

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาว สุชาดา โทผล
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss, Suchada Thophon
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3100200132095
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ประจำ
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก
   คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต
   เลขที่ 295 ถนนราชสีมา เขตดุสิต กรุงเทพฯ 11000โทรศัพท์ที่ทำงาน 02-2445939
   โทรศัพท์มือถือ 089-1240849 e-mail suthophon@yahoo.com
5. ประวัติการศึกษา
   - วิทยาศาสตร์บัณฑิต (พยาบาล) วิทยาลัยพยาบาลบรมราชชนนีนครราชสีมา
   - วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สรีรวิทยา) คณะแพทย์ศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล (ทุนการศึกษามหาวิทยาลัยมหิดล)
   - ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ชีววิทยา) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล (ทุนเสริมสร้างนักวิทยาศาสตร์รุ่นใหม่ สถาบันพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ)
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
   พยาธิวิทยา
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
   ผลงานตีพิมพ์วารสารต่างประเทศ

- Lohsiriwat, S., **Thophon, S** ., 2000. Effects of Vegetable and Animal Protein Meals on Glomerular Filtration Rate. The Nephrology Society of Thailand . 6 (2), 217-223.

- **Thophon, S.**, Kruatrachue, M., Upatham, E.S., Pokethitiyook, P., Sahaphong, S., Jaritkhuan. 2003. Histopathological alterations of white seabass, Lates calcarifer in acute and subchronic cadmium exposure. Environmental Pollution. 2, 307-320.

- **Suchada Thophon**, Prayad Pokethitiyook, Kashane Chalermwat, E . Suchart Upatham, Somphong Sahaphong . 2004. Ultrastructural alterations in liver and kidney of white seabass, Lates calcarifer in acute and subchronic cadmium exposure. Environmental Toxicology. 19 (1), 11-19.

- Panichakul T., **Thophon S**. Hand, foot and mouth disease in children. J Public Health. 2009, 39: 214-223.

- Panichakul T., **Thophon S.,** Kakhai C., Patumasut P., Somboon S., Sukasem C., Srichanrusami C. Surveillance and prevention of enterovirus spreading and hand-foot-mouth disease occurrence in young children. J Public Health & Develop. 2010, 8.