นิภาวรรณ์ จิตโสภากุล. 2543. *การผลิตสารประกอบอะซาดิแรคตินจากเซลล์สะเดาไทยเพาะเลี้ยง*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. [ISBN 974-678-412-9]

**คณะกรรมการที่ปรึกษา** : รศ. ดร. สัณห์ พณิชยกุล และ รศ. บุญยืน กิจวิจารณ์

## บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการและสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณและแยกสารประกอบอะซาดิแรคตินจากเมล็ดสะเดาไทยด้วยเทคนิค HPLC โดยใช้คอลัมน์ reverse phase สภาวะไอโซเครติคพบว่า วิธีการดังกล่าวสามารถแยกองค์ประกอบของอะซาดิแรคติน เอ, 1-tigloyl-3-acetylazadirachtol และอะซาดิแรคติน บี จากสารสกัดเมล็ดสะเดาไทยด้วยเมทธานอลได้ วิธีการทำให้สารสกัดจากเมล็ดสะเดาบริสุทธิ์บางส่วนโดยผ่านคอลัมน์ซิลิกาเจลโดยใช้เอทธิลอะซีเตทเป็นตัวชะ สามารถทำให้อะซาดิแรคติน เอ บริสุทธิ์ขึ้นประมาณ 1 เท่า โดยมีปริมาณอะซาดิแรคตินเอ เหลือถึง 97.8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากสะเดาที่ทำให้บริสุทธิ์บางส่วนพบว่ามีฤทธิ์ในการฆ่าหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) ($LD_{50}$) ต่ำกว่าสารมาตรฐานอะซาดิแรคติน เอ เล็กน้อย การศึกษารูปแบบการผลิตอะซาดิแรคติน เอ ระหว่างการพัฒนาของผลสะเดาที่ได้จากต้นในเขตจังหวัดขอนแก่น พบว่า มีการสะสมของอะซาดิแรคติน เอ ตั้งแต่ระยะดอกตูม และเพิ่มสูงสุดในสัปดาห์ที่ 7 โดยระดับอะซาดิแรคติน เอ เฉลี่ย 3-3.5 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ระยะนี้ผลสะเดาจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง การสะสมของอะซาดิแรคติน เอ ลดลงอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 10 ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนสีของผลสะเดาเป็นสีน้ำตาลเข้ม

ผลการศึกษาวิธีการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเนื้อเยื่อสะเดาและการหวลคืนกลับเป็นต้นใหม่จากแคลลัสและเนื้อเยื่อสะเดาไทยเพาะเลี้ยงพบว่าแคลลัสจากใบเลี้ยงสะเดาสามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เสริมด้วย 2,4-D 1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ BA 2 มิลลิกรัม/ลิตร ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน และผลิตอะซาดิแรคติน เอ ได้ค่าเฉลี่ยประมาณ 69 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง เซลล์แขวนลอยที่ได้จากแคลลัสเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกันโดยใช้กลูโคส 30 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนสามารถผลิตอะซาดิแรคติน เอ สูงกว่าเมื่อใช้ซูโครส แคลลัสจากเนื้อเยื่อกิ่งสะเดาที่เพาะเลี้ยงต่อเนื่องเป็นเวลา 10 เดือน สามารถทำให้หวลคืนกลับเป็นต้นใหม่ได้มากกว่า 45 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วย IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 9 สัปดาห์ ในขณะที่แคลลัสจากใบเลี้ยงสะเดาซึ่งเพาะเลี้ยงต่อเนื่องเป็นเวลา 24 เดือน เมื่อย้ายลงอาหารสูตร Linsmaier and Skoog (LS) ที่เสริมด้วย BA 2 และ 3 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 13 สัปดาห์ สามารถเกิดยอดได้ 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มระยะเวลาของการเลี้ยงเป็น 9 เดือน สามารถเกิดยอดเพิ่มขึ้นได้ถึง 50 และ 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ BA 2 และ 3 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ การเพาะเลี้ยงเพื่อขยายพันธุ์พืชจำนวนมากทำได้โดยใช้ตาข้างของสะเดาไทยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้นต่าง ๆพบว่า การเพาะเลี้ยงตาข้างบนอาหารที่มี BA 3 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 30 วัน จะทำให้เกิดการสร้างยอดได้จำนวนมากที่สุดคือ 15 ยอด/ชิ้น ยอดเพาะเลี้ยงสามารถชักนำให้เกิดรากได้เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วย IAA 0.5, 1 และ 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 45 วัน ผลการศึกษาระดับการผลิตอะซาดิแรคติน เอ จากเซลล์สะเดาไทยเพาะเลี้ยงที่หวลคืนกลับเป็นต้นใหม่ พบว่า ลำต้นที่ได้จากการหวลคืนกลับเป็นต้นใหม่สามารถผลิตอะซาดิแรคติน เอ ได้สูงที่สุด คือ 193.4 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง สารสกัดจากต้นสะเดาที่หวลคืนกลับเป็นต้นใหม่มีความเป็นพิษต่อหนอนใยผักด้วยค่า $LD_{50}$ เท่ากับ 0.784 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักตัว ในขณะที่สารสกัดจากแคลลัสเพาะเลี้ยงต่อเนื่องมีค่า $LD_{50}$ เท่ากับ 68.946 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักตัว