



วิทยานิพนธ์

ผลของสารสกัดหยาบจากพืชบางชนิดต่อการทำงานของเอนไซม์
เอสเทอเรสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส
ในยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* (L.))

EFFECTS OF CRUDE EXTRACTS FROM SOME PLANT SPECIES ON
ESTERASE AND GLUTATHIONE – S – TRANSFERASE
ACTIVITY IN *Aedes aegypti* (L.)

นางสาวประภาพร ศรีคง

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. ๒๕๔๕



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

ปริญญา

ชีววิทยา

สาขา

สัตววิทยา

ภาควิชา

เรื่อง ผลของสารสกัดหยาบจากพืชบางชนิดต่อการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสและ
กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสในยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* (L.))

Effects of crude extracts from some plant species on Esterase and Glutathione – S –
transferase activity in *Aedes aegypti* (L.)

نامผู้วิจัย นางสาวประภาพร ศรีคง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์สุรพล วิเศษสรรค์, Ph.D.)

กรรมการ

(อาจารย์มันทนา มিলน์, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สรัญญา วัชรโรทัย, Dr.rer.nat.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์สมภพ นวิภาพ, M.S.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อากงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของสารสกัดหยาบจากพืชบางชนิดต่อการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสและ
กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสในยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* (L.))

Effects of crude extracts from some plant species on Esterase and Glutathione – S –
transferase activity in *Aedes aegypti* (L.)

โดย

นางสาวประภาพร ศรีคง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อขอความสมบูรณ์แห่งปริญญา

พ.ศ. 2549

ISBN 974 – 16 – 2948 - 6

ประภาพร ศรีคง 2549: ผลของสารสกัดหยาบจากพืชบางชนิดต่อการทำงานของเอนไซม์
เอสเทอร์เอสและกลูตาไทโอน – เอส – ทรานสเฟอเรสในยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* (L))
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา) สาขาชีววิทยา ภาควิชาสัตววิทยา
ประธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์สุรพล วิเศษสรรค์, Ph.D. 178 หน้า
ISBN 974 – 16 – 2948 – 6

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชต่อเอนไซม์ทำลายพิษ (detoxification enzyme) ในลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* (L.)) โดยใช้สารสกัดจากพืช 3 ชนิดคือ สารสกัดจาก
หัวหญ้าเหี่ยวหมู (*Cyperus rotundus* L.) สารสกัดจากเมล็ดมันแกว (*Pachyrhizus erosus* (L.) Urb.) และ
สารสกัดจากหญ้างวงช้าง (*Heliotropium indicum* L.) ซึ่งสกัดโดยวิธี soxhlet extraction มี 95% เอทานอล
เป็นตัวทำละลายโดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized designs (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ
พบว่าสารสกัดจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูให้ค่าความเป็นพิษ (LC_{50}) ที่ 24 ชั่วโมงเป็น 10.75% w/v ($y = 5.7 + 4.12x$) และที่ 48 ชั่วโมง เป็น 6.17 % w/v ($y = 12.53 + 6.07x$) ในขณะที่สารสกัดจากเมล็ดมันแกวให้ค่า
 LC_{50} ที่ 24 ชั่วโมงเป็น 0.07% w/v ($y = 15.971 + 490.565x$) และที่ 48 ชั่วโมง เป็น 0.05 %w/v ($y = 23.334 + 493.335x$) และสารสกัดจากหญ้างวงช้างที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เป็น 24.32 %w/v ($y = -7.085 + 2.347x$)
และ 20.21 %w/v ($y = -0.696 + 2.508x$) ตามลำดับ

จากการศึกษาผลในการยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ทำลายพิษที่ความเข้มข้นของสารตั้งต้น 0.02 – 0.20 mM พบรูปแบบของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์เอสของสารสกัดทั้งสามชนิดเป็น
แบบ competitive inhibition ในขณะที่เอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสของสารสกัดทั้งสาม
ชนิดเป็นแบบ competitive inhibition ยกเว้นสารสกัดจากเมล็ดมันแกวและหญ้างวงช้างที่ใช้
Dichloronitrobenzene (DCNB) เป็นสารตั้งต้นมีการยับยั้งแบบ noncompetitive inhibition และ
uncompetitive inhibition ตามลำดับ ส่วนหญ้างวงช้างที่ใช้ Chlorodinitrobenzene (CDNB) จะให้การ
ยับยั้งเป็น noncompetitive inhibition และจากการศึกษาพิษของสารสกัดทั้งสามชนิดที่มีต่อปลาซอด
(*Xiphophorus helleri* Heckel) พบว่าค่า LC_{50} ต่ำที่สุด คือ 17.74 % w/v จากสารสกัดหญ้างวงช้างและค่า
 LC_{50} สูงสุดเท่ากับ 0.076 % w/v คือเมล็ดมันแกว ส่วนผึ้งโพรง (*Apis cerana*) พบว่าค่า LC_{50} ต่ำที่สุดคือ
3.47 % w/v จากสารสกัดหญ้างวงช้างและค่า LC_{50} เท่ากับ 2.17 % w/v คือเมล็ดมันแกว ส่วนการศึกษา
ตัวชี้วัดคุณภาพน้ำหลังการใช้สารสกัด พบว่าการใช้สารสกัดทั้งสามชนิดจะทำให้ค่า Dissolved Oxygen
(DO) และ pH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Prapaporn Srikhong 2006: Effects of crude extracts from some plant species on Esterase and Glutathione – S – transferase activity in *Aedes aegypti* (L.). Master of Science (Biology), Major Field: Biology, Department of Zoology. Thesis Advisor: Associate Professor Suraphon Visetson, Ph.D. 178 pages
ISBN 974-16-2948-6

Some plant extracts were studied to evaluate detoxification enzyme activity in larvae of mosquitoes (*Aedes aegypti*(L.)). Three plant materials, nutgrass tuber (*Cyperus rotundus* L.) seeds of yambean (*Pachyrhizus erosus* (L.) Urb.) and Ya-Nguang-Chang (*Heliotropium indicum* L.) were extracted by Soxhlet extraction method using ethanol 95% as a solvent. The completely randomized designs (CRD) with 3 replicates were used to analyse their LC_{50} . The toxicity of nut grass tuber extracts showed 10.75% w/v ($y = 5.7 + 4.12 x$) LC_{50} after exposure at 24 hours and after exposure for 48 hours was 6.17% w/v ($y = 12.53 + 6.07 x$). The jam bean extracts showed 0.07% w/v ($y = 15.971 + 490.565x$) LC_{50} at 24 hours and 0.05 %w/v ($y = 23.334+493.335 x$) at 48 hours. The Ya-Nguang Chang showed LC_{50} of 24.32%w/v ($y = -7.085 + 2.347x$) and 20.21%w/v ($y = -0.696+2.508x$) after exposure at 24 and 48 hours, respectively.

The detoxification enzyme mechanisms in terms of inhibition types at average 0.02-0.2 Mm were studied to evaluate types of inhibition. It revealed that three of extracts were likely to inhibit esterases and glutathione-S-transferase showing of competitive inhibition. Although some experiments indicated that after using Dichloronitrobenzene (DCNB) as a substrate to glutathione-S-transferase, all extracts exhibited as noncompetitive inhibition. While using Chlorodinitrobenzene (CDNB) as a substrate, the Ya - Nguang Chang inhibited glutathione – S - transferase as noncompetitive inhibition. Furthermore, toxicity tests against some nontarget organisms showed that LC_{50} was highest against fish (*Xiphophorus helleri* Heckel) at ca.17.74%w/v for Ya - Nguang Chang extracts. In addition to the lowest LC_{50} was at 0.076% w/v was from jam bean extracts. The adult bees (*Apis cerana*) exhibited LC_{50} at 3.47% w/v from Ya - Nguang Chang extracts. The highest toxicity against bees was from jam bean extracts which showed 2.17%w/v. Finally, Dissolved Oxygen (DO) and pH of water incubating larvae in all treatments were reduced significantly.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

/ /

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สุรพล วิเศษสรรค์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ขอกราบขอบพระคุณ ดร.มณฑนา มินน์ กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรัญญา วัชรโรทัย กรรมการที่ปรึกษาวิชาการ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณศูนย์ควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลง เขตที่ 13 อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้ข้อมูลและให้คำแนะนำเกี่ยวกับการเลี้ยงและดูแลงูลาย คุณวศกร บัลลังก์โพธิ์ และคุณพุทธิพร สายสงเคราะห์ ที่คอยให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำในทุกด้าน ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ น้อง ๆ ทุกคนของภาควิชาสัตววิทยาที่ได้เป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จได้

สุดท้ายนี้ขอขอบกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณยาย และน้องสาวที่คอยให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจตลอดจนชี้แนะและสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ประภาพร ศรีคง

ตุลาคม 2549

สารบัญ

หน้า

สารบัญ.....	(1)
สารบัญตาราง.....	(2)
สารบัญภาพ.....	(6)
คำนำ.....	1
วัตถุประสงค์.....	3
การตรวจเอกสาร.....	4
ลักษณะทั่วไปของยุงลาย (<i>Aedes aegypti</i> L).....	4
สมุนไพรที่นำมาศึกษา.....	18
ระบบเอนไซม์ทำลายพิษในแมลง.....	31
การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์.....	36
ค่า K_m และ ค่า V_{max}	42
อุปกรณ์และวิธีการ.....	43
อุปกรณ์.....	43
วิธีการ.....	46
ผลการทดลอง.....	61
วิจารณ์ผลการทดลอง.....	146
สรุปผลการทดลอง.....	157
ข้อเสนอแนะ.....	161
เอกสารและสิ่งอ้างอิง.....	162
ภาคผนวก.....	173

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ชนิดของปฏิกิริยาออกซิเดชันต่าง ๆ ในช่วงที่ 2.....	33
2 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการได้รับสารสกัด หยาดจากหัวหญ้าเหี่ยวแห้งที่มีความเข้มข้นต่างกัน ในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง....	61
3 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายที่ 50 เปอร์เซ็นต์โดยใช้สารสกัดหยาดจากหัวหญ้า เหี่ยวแห้ง พร้อมกับค่าของสมการ regression เปรียบเทียบกันในช่วงระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	63
4 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการได้รับสารสกัด หยาดจากเมล็ดมันแกวที่มีความเข้มข้นต่างกัน ในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	64
5 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้สารสกัดหยาดจากเมล็ด มันแกว พร้อมกับค่าของสมการ regression เปรียบเทียบกันในช่วงระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง.....	66
6 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการได้รับสารสกัด หยาดจากหญ้าวงช้างที่มีความเข้มข้นต่างกัน ในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง.....	67
7 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้สารสกัดหยาดจากหญ้าวง ช้าง พร้อมกับค่าของสมการ regression เปรียบเทียบกันในช่วงระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง.....	69
8 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ระดับเอนไซม์เอสเทอร์สของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับ สารสกัดหยาดจากหัวหญ้าเหี่ยวแห้งในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง.....	71
9 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ระดับเอนไซม์เอสเทอร์สของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาดจากเมล็ดมันแกวในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	74
10 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ระดับเอนไซม์เอสเทอร์สของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาดจากหญ้าวงช้างในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง.....	77
11 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาดจากหัวหญ้าเหี่ยวแห้งในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง.....	80

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
12	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวในระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง..... 83
13	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างในระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง..... 86
14	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเห่าหมู ในระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง..... 89
15	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวในระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง..... 92
16	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง ในระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง..... 95
17	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณของโปรตีนในลูกน้ำยุงลายหลังจาก ได้รับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเห่าหมู ในระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง..... 98
18	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณของโปรตีนในลูกน้ำยุงลายหลังจาก ได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวในระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง..... 101
19	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณของโปรตีนในลูกน้ำยุงลายหลังจาก ได้รับสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง ในระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง..... 104
20	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน K_m และ V_{max} ของเอนไซม์เอสเทอเรสของ ลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากพืช 3 ชนิด ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง..... 108
21	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน K_m และ V_{max} ของเอนไซม์เอสเทอเรสของ ลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากพืช 3 ชนิด ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง.... 109

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
22	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน K_m และ V_{max} ของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส (CDNB) ของลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากพืช 3 ชนิดในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง..... 110
23	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน K_m และ V_{max} ของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส (CDNB) ของลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากพืช 3 ชนิด ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง..... 111
24	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน K_m และ V_{max} ของเอนไซม์ กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส (DCNB) ของลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัด หยาบจากพืช 3 ชนิดในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง..... 112
25	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน K_m และ V_{max} ของเอนไซม์ กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส (DCNB) ของลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัด หยาบจากพืช 3 ชนิดในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง..... 113
26	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ⁽⁴⁾ ของปลาสดเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหัว หู้าเหี่ยวหมูในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง..... 121
27	อัตราการตายของปลาสดที่ 50 เปอร์เซ็นต์โดยใช้สารสกัดหยาบจากหัวหู้าเหี่ยว หมูพร้อมกับค่าของสมการ regression เปรียบเทียบกันในช่วงระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง..... 123
28	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ⁽⁴⁾ ของปลาสดเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจาก เมล็ดมันแกวในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง..... 125
29	อัตราการตายของปลาสดที่ 50 เปอร์เซ็นต์โดยใช้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว พร้อมกับค่าของสมการ regression เปรียบเทียบกันในช่วงระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง..... 127
30	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ⁽⁴⁾ ของปลาสดเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหู้า วงช้างในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง..... 129

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
31 อัตราการตายของปลาสดที่ 50 เปอร์เซ็นต์โดยใช้สารสกัดจากหุ้ญว้างช้างพร้อม กับค่าของสมการ regression เปรียบเทียบกันในช่วงระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง..	131
32 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ⁽⁴⁾ ของฝั๋งโพรงเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหัว หุ้ญว้างในระยะเวลา 4 , 8 , 12 และ 16 ชั่วโมง.....	133
33 อัตราการตายของปลาสดที่ 50 เปอร์เซ็นต์โดยใช้สารสกัดจากหุ้ญว้างช้างพร้อม กับค่าของสมการ regression เปรียบเทียบกันในช่วงระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง..	135
34 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ⁽⁴⁾ ของฝั๋งโพรงเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ด มันแกวในช่วงเวลา 4 , 8 , 12 และ 16 ชั่วโมง.....	136
35 อัตราการตายของฝั๋งโพรงที่ 50 เปอร์เซ็นต์โดยใช้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว พร้อมกับค่าของสมการ regression ในช่วงระยะเวลา 16 ชั่วโมง.....	138
36 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ⁽⁴⁾ ของฝั๋งโพรงเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหุ้ญ ว้างในช่วงเวลา 4 , 8 , 12 และ 16 ชั่วโมง.....	139
37 อัตราการตายของฝั๋งโพรงที่ 50 เปอร์เซ็นต์โดยใช้สารสกัดหยาบจากหุ้ญว้าง พร้อมกับค่าของสมการ regression ในช่วงระยะเวลา 16 ชั่วโมง.....	141
38 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำและค่าความเป็น กรด - ด่างในน้ำ ในช่วงเวลา 0 , 24 และ 48 ชั่วโมงเมื่อเติมสารสกัดหยาบจากหัว หุ้ญว้างที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วงอุณหภูมิ 24 – 26 องศาเซลเซียส..	143
39 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำและค่าความเป็น กรด - ด่างในน้ำ ในช่วงเวลา 0 , 24 และ 48 ชั่วโมงเมื่อเติมสารสกัดหยาบจากเมล็ด มันแกว ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วงอุณหภูมิ 24 – 26 องศาเซลเซียส.....	144
40 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำและค่าความ เป็นกรด - ด่างในน้ำ ในช่วงเวลา 0 , 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเติมสารสกัดจาก หุ้ญว้างที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วงอุณหภูมิ 24 – 26 องศาเซลเซียส....	145

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 แสดงลักษณะ ของยุงลาย (<i>Aedes aegypti</i> L.) วัยต่าง ๆ.....	9
2 แสดงวงจรชีวิตของยุงลาย (<i>Aedes aegypti</i> L.).....	11
3 แสดงการแพร่กระจายของเชื้อ Dengue ในภูมิภาคต่าง ๆ ของโลก.....	12
4 แสดงลักษณะของหญ้าเหี่ยวหมู (<i>Cyperus rotundus</i> L.).....	21
5 แสดงสูตรโครงสร้างสารที่พบในหัวหญ้าเหี่ยวหมู.....	22
6 แสดงลักษณะของต้นมันแกว (<i>Pachyrhizus erosus</i> Urb.).....	24
7 แสดงสูตรโครงสร้างสารที่พบในเมล็ดมันแกว.....	25
8 แสดงลักษณะของหญ้างวงช้าง (<i>Heliotropium indicum</i> L.).....	26
9 แสดงสูตรโครงสร้างสารที่พบในหญ้างวงช้าง.....	27
10 แสดงแผนผังการผลิตสารทุติยภูมิของพืช.....	28
11 แผนภูมิแสดงการเปลี่ยนแปลงสารพิษและเมแทบอไลซึมในร่างกาย.....	30
12 แสดงปฏิกิริยา hydrolysis ของ esterase.....	32
13 แสดงปฏิกิริยาการเกิดกรดเมอร์แคปตริกจากการทำงานของเอนไซม์กลุ่ม ทรานส เฟอเรส	34
14 แสดงการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของสารแปลกลดชนิดต่าง ๆ ในปฏิกิริยาช่วงที่ 1 และช่วงที่ 2	35
15 แสดงภาพจำลองการทำงานของตัวยับยั้งเอนไซม์แบบ competitive.....	38
16 แสดงภาพจำลองการทำงานของตัวยับยั้งเอนไซม์แบบ noncompetitive.....	40
17 แสดงภาพจำลองการทำงานของตัวยับยั้งเอนไซม์แบบ uncompetitive.....	41
18 แสดงการเลี้ยงลูกน้ำยุงลายและการเลี้ยงยุงลายตัวเต็มวัย.....	47
19 แสดงลักษณะของพืชและสารสกัดหยาบที่ได้จากพืชชนิดต่างๆ.....	48
20 แสดงอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสาร.....	49
21 แสดงวิธีการทดสอบสารสกัดจากพืชกับลูกน้ำยุงลาย.....	52
22 แสดงวิธีการตรวจสอบการทำงานของเอนไซม์.....	54
23 แสดงการทดสอบสารสกัดต่อปลาซอด (<i>Xiphophorus helleri</i> Heckel.)	56
24 แสดงการทดสอบสารสกัดจากพืชต่อผึ้งโพรง (<i>Apis cerana</i>).....	58

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
25 แสดงเครื่องมือที่ใช้วัดค่า DO และวัดค่า pH.....	59
26 แสดงกราฟอัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย จากการให้สารสกัดหยาบจากหัวเห็ด เห็ดหมี.....	62
27 แสดงกราฟอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายจากการให้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว	65
28 แสดงกราฟอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายจากการให้สารสกัดหยาบจากเหียงวงช้าง.	68
29 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสหลังการให้สารสกัดจากหัวเห็ดเห็ดหมี...	72
30 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสหลังการให้สารสกัดจากเมล็ดมันแกว.....	75
31 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์เอสเทอเรสหลังการให้สารสกัดจากเหียงวงช้าง.....	78
32 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสหลังการให้สาร สกัดหยาบจากหัวเห็ดเห็ดหมี.....	81
33 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสหลังการให้สาร สกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว.....	84
34 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสหลังการให้สาร สกัดหยาบจากเหียงวงช้าง.....	87
35 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสหลังการให้สาร สกัดหยาบจากหัวเห็ดเห็ดหมี.....	90
36 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสหลังการให้สาร สกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว.....	93
37 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสหลังการให้สาร สกัดหยาบจากเหียงวงช้าง.....	96
38 กราฟแท่งแสดงปริมาณโปรตีน หลังการให้สารสกัดหยาบจากหัวเห็ดเห็ดหมีต่อ ลูกน้ำยุงลาย.....	99
39 กราฟแท่งแสดงปริมาณโปรตีน หลังการให้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวต่อ ลูกน้ำยุงลาย.....	102
40 กราฟแท่งแสดงปริมาณโปรตีน หลังการให้สารสกัดหยาบจากเหียงวงช้างต่อลูกน้ำ ยุงลาย.....	105

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
41	กราฟแสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์เอสเทอร์ระหว่างความเร็วกับความเข้มข้นของ สับสเตรต หลังจากกลูคน้ำยุงลายได้รับสารสกัดจากพืช ในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมง.....	114
42	กราฟแสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์เอสเทอร์ระหว่างความเร็วกับความเข้มข้นของ สับสเตรต หลังจากกลูคน้ำยุงลายได้รับสารสกัดจากพืช ในช่วงเวลาที่ 48 ชั่วโมง.....	115
43	กราฟแสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส(CDNB) ระหว่าง ความเร็วกับความเข้มข้นของสับสเตรตหลังจากกลูคน้ำยุงลายได้รับสารสกัดจากพืช ในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมง.....	116
44	กราฟแสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส(CDNB) ระหว่าง ความเร็วกับความเข้มข้นของสับสเตรต หลังจากกลูคน้ำยุงลายได้รับสารสกัดจากพืช ในช่วงเวลาที่ 48 ชั่วโมง.....	117
45	กราฟแสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส(DCNB) ระหว่าง ความเร็วกับความเข้มข้นของสับสเตรต หลังจากกลูคน้ำยุงลายได้รับสารสกัดจากพืช ในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมง.....	118
46	กราฟแสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส(DCNB) ระหว่าง ความเร็วกับความเข้มข้นของสับสเตรต หลังจากกลูคน้ำยุงลายได้รับสารสกัดจากพืช ในช่วงเวลาที่ 48 ชั่วโมง.....	119
47	กราฟเส้นแสดงอัตราการตายของปลาสดจากการให้สารสกัดจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู..	122
48	กราฟเส้นแสดงอัตราการตายของปลาสดจากการให้สารสกัดจากเมล็ดมันแกว.....	126
49	กราฟเส้นแสดงอัตราการตายของปลาสดจากการให้สารสกัดจากหญ้าวงช้าง.....	130
50	กราฟเส้นแสดงอัตราการตายของผึ้งโพรงจากการให้สารสกัดจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู...	134
51	กราฟเส้นแสดงอัตราการตายของผึ้งโพรงจากการให้สารสกัดจากเมล็ดมันแกว.....	137
52	กราฟเส้นแสดงอัตราการตายของผึ้งโพรงจากการให้สารสกัดจากหญ้าวงช้าง.....	140

**ผลของสารสกัดหยาบจากพืชบางชนิดต่อการทำงานของเอนไซม์เอสเทอเรสและ
กลูตาไทโอน – เอส – ทรานสเฟอเรสในยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* (L.))**

**Effects of crude extracts from some plant species on Esterase and
Glutathione – S – transferase Activity in *Aedes aegypti* (L.)**

คำนำ

ยุงหลายชนิดเป็นพาหะนำโรคร้ายมาสู่มนุษย์ เช่น โรคมาเลเรีย โรคไข้จับสั่น โรคไข้สมองอักเสบ โรคเท้าช้าง และโรคไข้เลือดออก กลไกในการแพร่เชื้อโดยส่วนใหญ่มักจะเกิดจากยุงซึ่งถือเป็นตัวแพร่เชื้อโรคระหว่างสัตว์กับคน สัตว์กับสัตว์ หรือคนกับคน ในบรรดาโรคต่างๆ เหล่านี้กระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดให้โรคไข้เลือดออกเป็นโรคที่ร้ายแรง โดยมียุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* (L.)) เป็นพาหะสำคัญของโรค ยุงชนิดนี้จะนำเชื้อไวรัสเดงกี (Dengue virus) มาสู่คนหรือสัตว์ที่มันกัด และจากการรายงานของกระทรวงสาธารณสุขพบว่า มีผู้ป่วยเป็นโรคไข้เลือดออกเพิ่มขึ้นทุกปี ในปี พ.ศ. 2540 พบว่ามีผู้ป่วยถึง 101,689 ราย ส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยในเขตชนบทและพบว่าการแพร่ระบาดของโรคจะเป็นช่วงฤดูฝนซึ่งตรงกับช่วงของการแพร่ระบาดของยุงลาย (อุษาวดี, 2545) ดังนั้นการแก้ปัญหาการแพร่ระบาดของยุงลายและลดอัตราการเกิดโรคจึงเป็นสิ่งสำคัญมากที่สุดในขณะนี้ สำหรับการแก้ปัญหาที่ผ่านมาใช้นั้นมักใช้สารเคมีในการกำจัดยุงลาย สารเหล่านั้นส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มออร์กาโนคลอรีน เช่น DDT หรือสารสังเคราะห์อื่น ๆ ซึ่งสารเหล่านี้มักให้ผลในการฆ่าได้อย่างรวดเร็ว แต่หลังจากการใช้แล้วมักทำให้แมลงสร้างความต้านทาน มีสารตกค้างปนเปื้อนอยู่ในธรรมชาติหรือสิ่งแวดล้อม ทำให้เกิดผลเสียในระบบนิเวศและผู้ใช้เอง

ปัจจุบันได้มีการนำสารชีวภาพที่เรียกว่า bioagent เช่น เชื้อแบคทีเรีย และไวรัสมาช่วยในการควบคุมแมลงพาหะนำโรค นอกจากนี้ยังมีการนำสารที่ได้จากพืชมาใช้ สารธรรมชาติแม้จะเป็นสารที่ไม่ให้ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันต่อแมลง แต่ก็มีส่วนช่วยในการลดอัตราการสร้างความต้านทานของแมลง เนื่องจากในสารสกัดจากพืชมีสารที่เป็นองค์ประกอบอยู่มากมาย โดยแมลงจะสร้างความต้านทานต่อองค์ประกอบต่าง ๆ ได้นั้นต้องใช้ระยะเวลายาวนานมาก (Visetson, 1991) ซึ่งวิธีการดังกล่าวไปแล้วนั้นไม่ทำลายระบบนิเวศและตัวผู้ใช้เอง

ประเทศไทยตั้งอยู่ในพื้นที่ที่มีความหลากหลายของพืชสมุนไพรมากที่สุดของโลกแห่งหนึ่ง (เต็ม, 2544 และ Smittinand, 2001) สารจากธรรมชาติจากพืชสมุนไพรหลายชนิดที่พบในประเทศไทยมีผลต่อการยับยั้งระบบภูมิคุ้มกันในกลุ่มของ detoxification enzymes เช่น mixed function oxidase, esterase และ glutathione - S - transferase ในแมลงหลายชนิด เช่น หนอนใยผัก หนอนเจาะสมออเมริกัน ค้างคาวงช้าง สารธรรมชาติเหล่านั้นเป็นกลุ่มของสาร allelochemicals เช่น citronellal จากตะไคร้หอม (เรวดี และสุรพล, 2542) สาร eupathal จากสาบเสือ (จริยา และคณะ, 2542) สาร rotenone จากรากหางไหล (Visetson and Milne, 2001) สาร curcumin จากขมิ้น (สุรพล และคณะ, 2544) สาร capsaicin จากพริกขี้หนู (วสกร และคณะ, 2545) สาร azadirachtin จากเมล็ดสะเดา (Visetson, 2001) สาร selinnadiene จากหัวหมู (Visetson *et. al.* 2001; 2002) สาร sitosterol จากพญายอ (กิติมา, 2545) สาร sesamol จากเมล็ดงา (Visetson *et. al.* 2003) ผลจากการระงับการทำงานของระบบเอนไซม์เหล่านี้มีผลต่อความเป็นพิษ การพัฒนาการและ อัตราการตาย ในแมลง และปัจจุบันมีเอกชนหลายรายทำสารสกัดเหล่านี้ออกขายเพื่อการทดแทนการใช้สารเคมี ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชเป็นการค้าอย่างแพร่หลาย

อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีต่อยุงลาย และแนวทางในการใช้สารสกัดเพื่อป้องกันและกำจัดยุงดังกล่าว ซึ่งการศึกษานี้ถือว่าการศึกษานี้จำเป็นและมีประโยชน์ต่อประชาชนอย่างมาก เพราะการใช้สารเคมีในการกำจัดยุงลายที่ใช้อยู่ในปัจจุบันทำให้เกิดปัญหามากมายตามที่กล่าวมาแล้ว การวิจัยในครั้งนี้จึงได้มีการนำพืชสมุนไพรเช่นสารสกัดจากหัวหมูหัวหมู (*Cyperus rotundus* L.) สารสกัดหญ้างวงช้าง (*Heliotropium indicum* L.) และสารสกัดจากเมล็ดมันแกว (*Pachyrhizus erosus* (L.) Urb.) มาใช้กับยุงลาย และศึกษากลไกการทำลายพิษของเอนไซม์เอสเทอร์เอส และกลูตาไทโอน- เอส- ทรานสเฟอเรส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่มีผลต่อการสร้างความต้านทานและภูมิคุ้มกัน ต่อลูกน้ำยุงลาย (*Aedes aegypti* (L.)) ซึ่งผลของการวิจัยนี้จะประโยชน์ในการพัฒนาการทำสูตรสารสกัดเพื่อทำเป็นสารป้องกันกำจัดลูกน้ำยุงลายต่อไป

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาเปรียบเทียบความเป็นพิษ (LC_{50}) ของสารสกัดหยาบจากหัวเหว้าเหว้าหมู เหง้าวงช้าง และเมล็ดมันแกว ที่มีผลต่ออัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย
2. ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากหัวเหว้าเหว้าหมู เหง้าวงช้าง และเมล็ดมันแกว ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษ esterase และ glutathione – S – transferase รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนในลูกน้ำยุงลาย
3. ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากหัวเหว้าเหว้าหมู เหง้าวงช้าง และเมล็ดมันแกว ต่อการยับยั้งเอนไซม์ esterase และ glutathione – S – transferase ในลูกน้ำยุงลาย
4. ทดสอบผลของสารสกัดหยาบจากหัวเหว้าเหว้าหมู เหง้าวงช้าง และเมล็ดมันแกว ต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมาย (nontarget)
5. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า DO และ pH ของน้ำ หลังจากมีการใช้สารสกัดหยาบทั้งสามชนิด

การตรวจเอกสาร

ลักษณะทั่วไปของยุงลาย *Aedes aegypti* (L.)

1. การจัดอนุกรมวิธานยุงลาย

ยุงเป็น bloodsucking arthropods ซึ่งมีมากมายหลายชนิดและทำความรบกวนให้แก่คน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และนก ยุงส่วนมากหากินในเวลากลางคืน แต่ก็มีบางชนิดหากินในเวลา กลางวัน ยุงแพร่พันธุ์ในน้ำขังแทบทุกชนิด ทั้งน้ำจืดและน้ำกร่อย น้ำสกปรกและน้ำสะอาด น้ำขัง ในกระป๋อง ในยางรถยนต์ รอยเท้าสัตว์ ขอบลำธาร แม่น้ำ ทะเลสาบ และบึง ยุงลายอาศัยอยู่นอกบ้าน บางพวกอาศัยและแพร่พันธุ์ภายในบ้าน ยุงลายเป็นพาหะของโรคไข้เลือดออก ไข้เหลือง สำหรับประเทศไทยพบว่าโรคไข้เลือดออก (Dengue haemorrhagic fever หรือ DHF) เป็นโรค สำคัญและพบอยู่เสมอ เชื้อไข้เลือดออกมีด้วยกัน 4 ชนิด คือ DEN-1, DEN-2, DEN-3 และ DEN-4 ซึ่งเป็นเชื้อในสกุล *Flavivirus* วงศ์ *Flaviviridae* (Gubler, 1995) โดยมียุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) เป็นยุงพาหะหลัก และยุงลายสวน (*Aedes albopictus*) เป็นยุงพาหะรอง สามารถนำโรคได้แต่มี ความสำคัญน้อยกว่า *Aedes aegypti* ซึ่งเป็นยุงที่มีแหล่งกำเนิดเดิมอยู่ในทวีปแอฟริกา (Dyar, 1928) ต่อมายุงได้แพร่กระจายไปยังประเทศต่าง ๆ ระหว่างเส้นละติจูด 40 องศาเหนือและใต้ โดยติดไป กับพาหนะที่ใช้ในการคมนาคมโดยเฉพาะอย่างยิ่งทางเรือ (Chandler, 1945) สำหรับประเทศไทยไม่มีใครทราบแน่นอนว่า ยุงลายได้เข้ามาแพร่พันธุ์ตั้งแต่เมื่อใด จากการรายงานของ Scanlon (1965) พบว่ายุงลายไม่ได้พบในเมืองใหญ่ ๆ เท่านั้น แต่พบอยู่ทั่วไปทุกเมืองรวมทั้งในชนบทภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย และจากการศึกษาที่คอดยปู จังหวัดเชียงใหม่ พบว่าการแพร่กระจายของยุงลาย ถูกจำกัดโดยความสูงของพื้นที่ คือ ไม่พบยุงลาย *Aedes aegypti* (L.) ที่ระดับความสูง 1,000 ฟุต จากระดับน้ำทะเล (กระทรวงสาธารณสุข, 2536) ยุงลายจัดอยู่ในลำดับอนุกรมวิธานดังนี้

Kingdom	Animal
Phylum	Arthropoda
Class	Insecta
Order	Diptera
Family	Culicidae
Genus	<i>Aedes</i>

1.1 ลักษณะภายนอก (External Structure)

ยุงเป็นแมลงขนาดเล็กและบอบบาง ความยาวลำตัวประมาณ 3 – 6 มิลลิเมตรลักษณะสำคัญมากที่สุดที่ใช้แยกตัวแก่ของยุงจาก Diptera อื่น ๆ ทั้งหมด คือ การมี scales ที่ปีกบน เส้นปีก (wing veins) และ posterior margin ของปีกและการมี proboscis ที่ยาว หนวดของยุงจะยาวและมีลักษณะเป็นสายติดต่อกัน (filamentous) ซึ่งประกอบด้วย 14 หรือ 15 ปล้อง หนวดมีขนหนวด (hairs) ตัวผู้หนวดจะมีขนมาก (plumose) ส่วนนอกมีลักษณะเป็น wedge – shaped โดยมีส่วนกว้างอยู่ด้านบน ตัวอ่อนของยุงชนิดนี้อยู่ในน้ำ ตัวอ่อนของยุงแยกจากแมลงที่อาศัยในน้ำได้โดยตัวอ่อนของยุงจะไม่มีขาและส่วนนอกของลูกน้ำจะมีลักษณะขยายใหญ่เป็นค้อนซึ่งจะกว้างกว่าส่วนหัวหรือส่วนท้อง ตัวอ่อนของยุงแตกต่างจาก Dipterous larvae อื่น ๆ โดยตัวอ่อนของยุงมี head capsule ที่สมบูรณ์และมี spiracles ที่ทำหน้าที่เพียง 1 คู่เท่านั้น ซึ่งอยู่ด้านบน (dorsal) ของปล้องที่ 8

1.2 การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของยุง

ยุงจัดได้ว่าเป็นแมลงชนิดหนึ่ง ซึ่งมีโครงสร้างลำตัวต่างจากสัตว์อื่น ๆ คือ มีเปลือกหรือเกราะแข็งห่อหุ้มกล้ามเนื้อและอวัยวะต่างๆภายใน เพื่อป้องกันอันตรายจากภายนอก และช่วยให้แมลงคงรูปอยู่ได้ ดังนั้นเมื่อแมลงจะเพิ่มขนาดลำตัวเพื่อการเจริญเติบโต แมลงจึงต้องมีการลอกคราบหรือสลัดเอาเกราะแข็งหรือคราบเก่าทิ้งและสร้างเกราะแข็งที่มีขนาดใหญ่กว่าขึ้นมาแทน ซึ่งขบวนการนี้เรียกว่า การลอกคราบ (molting หรือ ecdysis) ในการลอกคราบนี้ แมลงจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (metamorphosis) แบบใดนั้น จะถูกควบคุมด้วยระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2 ชนิด คือ juvenile hormone ที่กลั่นออกมาจากต่อมบริเวณส่วนท้ายของสมองแมลง (corpora allata) และ ecdysone hormone ซึ่งหลังจากต่อมบริเวณส่วนอก (thoracic gland) โดยที่ ecdysone hormone จะเป็น ตัวการทำให้เกิดการลอกคราบ juvenile hormone จะทำหน้าที่ควบคุมสภาพของแมลงให้เป็นตัวอ่อน หรือเปลี่ยนไปเป็นตัวเต็มวัยต่อไป

ยุงเป็นแมลงที่ขยายพันธุ์โดยการวางไข่ ตัวอ่อนวัยแรก (first instar larva) ที่ฟักออกมาจากไข่จะเริ่มกินอาหารทันที และเมื่อเจริญเติบโตจนเต็มที่จะสามารถลอกคราบครั้งแรก ออกเป็นตัวอ่อนวัยที่ 2 (second instar larva) และจะมีการลอกคราบต่อไปจนถึงตัวอ่อนวัยที่ 4 (final or last instar larva) ซึ่งระยะนี้มีปฏิกิริยากับเอนไซม์ทำลายพิษสูงสุดและจะเปลี่ยนเข้าสู่คักเค้ (pupal stage) ระยะนี้จะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างที่สำคัญ คือ มีขาและปีก

ที่เคลื่อนไหวได้เป็นอิสระ ไม่ติดกับลำตัว มองเห็นส่วนต่าง ๆ ที่ยื่นออกจากลำตัวได้ชัดเจน ถือว่าระยะดักแด้ของยุงนั้นเป็นระยะพักตัวก่อนที่จะเปลี่ยนรูปร่างเป็นตัวเต็มวัย เมื่อครบกำหนดจึงลอกคราบเป็นตัวเต็มวัยต่อไป

การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของแมลง (metamorphosis) ในแมลงบางพวก รูปร่างลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปอาจไม่เหมือนเดิมเลย แต่บางพวกอาจเปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อยเท่านั้นเอง ในส่วนของยุงนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ์ (complete metamorphosis) ระยะ ตัวอ่อนจะต้องผ่านระยะฟักตัวก่อนแล้วจึงกลายเป็นตัวเต็มวัย มีการลอกคราบทั้งหมด 4 ครั้งในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ลักษณะของหนอนก่อนเข้าดักแด้นั้นจะมีลักษณะเป็นตัวหนอนแบบ vermiform คือจะมีลักษณะไม่มีขา การเคลื่อนที่อาศัยการยืดหดของลำตัว มีส่วนของกะโหลกหัวเห็นได้ชัดเจน

1.3 ชีวิตวัยของยุงลาย

วงจรชีวิตของยุงลายมีการเปลี่ยนรูปร่างเป็นแบบสมบูรณ์ (Complete metamorphosis) การเจริญเติบโตของยุงลายแบ่งเป็น 4 ระยะได้แก่ ไข่ (egg), ลูกน้ำ (larva), ตัวโม่ง (pupa) และตัวเต็มวัย (adult) แต่ละระยะรูปร่างและอายุแตกต่างกันระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตแตกต่างกันตามสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ อาหาร ความหนาแน่น ฯลฯ และสายพันธุ์ของยุงลาย เช่น ยุงลาย สายพันธุ์ไทย สายพันธุ์จีน หรือสายพันธุ์อินโดนีเซีย ในภูมิภาคประเทศไทยอุณหภูมิประมาณ 28–35 องศาเซลเซียส ยุงลายใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากไข่จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยประมาณ 9–14 วัน ดังนั้นจึงขยายพันธุ์ได้เร็วมาก วงจรชีวิตของยุงลายเป็นดังนี้

ระยะที่ 1 ไข่ยุงลาย (egg)

ลักษณะขาวรี เป็นฟองเดี่ยว ขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร ออกมาใหม่ ๆ มีสีขาว ส่วนใหญ่ติดอยู่ที่ข้างภาชนะเหนือระดับน้ำเล็กน้อย ส่วนน้อยประมาณร้อยละ 10–20 ที่ลอยอยู่ผิวน้ำของน้ำ ไข่จะเปลี่ยนเป็นสีดำภายในเวลา 12–24 ชั่วโมง ตามแต่สภาพอากาศ ไข่ที่ออกมาใหม่ ๆ ยังไม่เจริญเต็มที่ใช้เวลาประมาณ 1-2 วัน จึงพร้อมที่จะฟักออกเป็นลูกน้ำยุง ไข่ยุงลายมีชีวิตอยู่ในสภาพแห้งได้เป็นปีและจะฟักออกมาอย่างรวดเร็วภายในเวลาไม่กี่นาทีเมื่อมีน้ำท่วมไข่ แต่อัตราการฟักของไข่ลดลงตามระยะเวลาที่นานขึ้น ยุงลายตัวหนึ่งวางไข่ประมาณ 50–150

ฟอง / ครั้ง ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของตัวแม่พันธุ์และปริมาณเลือดที่ได้รับ แม่ยุ้งลายจะไม่วางไข่พร้อมกันทั้งหมดแต่จะวางไข่ครั้งละ 10 – 100 ฟอง ตลอดชีวิตวางไข่ได้ 1 – 7 ครั้ง

ระยะที่ 2 ลูกน้ำยุ้งลาย (larva)

การเจริญเติบโตมี 4 ระยะ ระยะที่ 1 มีขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร เมื่อเติบโตเต็มที่กลายเป็นระยะที่ 4 จะมีขนาด 6 – 7 มิลลิเมตร โดยใช้เวลาประมาณ 5 – 7 วันที่อุณหภูมิ 28 – 35 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและอาหาร อาหารของลูกน้ำ ได้แก่ ตะไคร่น้ำ อินทรียสารต่าง ๆ และจุลินทรีย์เล็ก ๆ ในคุ่มน้ำ ลูกน้ำยุ้งลายกินอาหารที่บริเวณด้านข้างและก้นภาชนะ โดยใช้ขนบริเวณปากพัดโบกจุลินทรีย์ในน้ำเข้าไป หรือใช้ปากตะเล็มเศษอินทรียสาร ในสภาวะที่มีอาหารสมบูรณ์จะโตเร็ว ใช้เวลาช่วงนี้สั้นขณะที่เป็นลูกน้ำจะหายใจผ่านทางรูหายใจด้านข้างลำตัว (spiracle) และยังมีท่อหายใจสีเข้มอยู่ที่ส่วนปลายของท้อง เรียกว่า siphon บริเวณท่อหายใจมีลิ้นเปิดปิดได้ และมีระบบป้องกันน้ำผ่านเข้าสู่ทางเดินหายใจ ปกติลูกน้ำจะลอยตัวทำมุม 90° กับผิวน้ำ แต่เมื่อมีแสงและเงาหรือถูกรบกวนจะหลบลงสู่ก้นภาชนะในการเปลี่ยนแปลงระยะการเจริญเติบโตของลูกน้ำต้องมีการลอกคราบทุกครั้ง หลังจากการลอกคราบครั้งสุดท้ายจะกลายเป็นตัวมิ่ง ซึ่งยังคงอาศัยอยู่ในภาชนะขังน้ำง่ายต่อการกำจัด ในการจำแนกชนิดยุ้ง อาจใช้ลักษณะวิทยาของลูกน้ำยุ้งในระยะที่ 3 ตอนปลาย หรือระยะที่ 4 จะดีที่สุด เพราะเส้นขนต่าง ๆ เจริญเต็มที่

ระยะที่ 3 ตัวมิ่ง , ดักแด้ (pupa)

จากระยะลูกน้ำ จะมีการลอกคราบและเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นตัวมิ่ง เมื่อตัวมิ่งออกมาใหม่ ๆ มีลักษณะคล้ายเครื่องหมายคอมม่า (,) ส่วนหัวและส่วนอกของตัวมิ่งจะรวมกันแล้วสร้างเป็นก้อนกลมมน เรียกว่า cephalothorax ด้านล่างส่วนหัวและส่วนอกจะเป็นส่วนท้อง ตัวมิ่งมีสีน้ำตาลต่อมาเปลี่ยนเป็นสีดำ มีท่อหายใจคู่หนึ่งอยู่ตอนหัวลักษณะคล้ายแตร เรียกว่า respiratory trumpets หรือ respiratory horn มีนิสัยชอบลอยนิ่งอยู่บนผิวน้ำ แต่จะเคลื่อนที่เร็วเมื่อถูกรบกวน ตัวมิ่งไม่กินอาหาร จึงไม่สามารถกำจัดได้ด้วยผลิตภัณฑ์ประเภทกินเข้าไปแล้วตาย ตัวมิ่งลอกคราบแล้วกลายเป็นยุ้งใช้เวลาในการเจริญเติบโต 1 – 2 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 35 องศาเซลเซียส

ระยะที่ 4 ยุงลายตัวเต็มวัย (adult)

ลักษณะที่เห็นได้ชัด คือ ลำตัวและขาจะมีจุดลายดำสลับขาว ขนาด 4 – 5 มิลลิเมตรทั่วไป *queenslandensis* ตัวชืดเป็นยุงลายบ้านและ *formosus* ตัวดำเป็นยุงลายป่า ยุงตัวผู้ลอกคราบออกมาก่อนยุงตัวเมียและมีขนาดเล็กกว่า ลักษณะแตกต่างกันที่หนวด ยุงตัวผู้หนวดหนาเป็นพุ่มดูค้ำหวานจากเกสรดอกไม้ เพื่อไปสร้างพลังงาน ยุงตัวเมียมีหนวดบางและสั้น นอกจากนั้นแล้วยุงตัวเมียยังต้องการเลือดสำหรับนำไปใช้ในการเจริญของไข่ ปริมาณเลือดที่กินครั้งละประมาณ 0.75 มิลลิกรัม ยุงลายมักใช้ความพยายามหาเหยื่อที่ชอบ (คน) จนกระทั่งได้กินเลือดจนอิ่ม แต่หากถูกรบกวนขณะกินเลือด จะกลับมาหาเหยื่อรายเดิมหรือรายใหม่อีกครั้ง โดยทั่วไปยุงตัวผู้มีอายุเป็นสัปดาห์ถึงหนึ่งเดือน ขณะที่ยุงตัวเมียอายุ 1 – 3 เดือน แต่ในภาวะที่มีอาหารอุดมสมบูรณ์และอุณหภูมิเหมาะสม (ประมาณ 28 องศาเซลเซียส) ของห้องปฏิบัติการ อาจจะมีชีวิตอยู่ได้ 3 – 6 เดือน ได้มีการทดลองให้ยุงตัวเมียกินแต่น้ำหวานอย่างเดียว พบว่ามีอายุประมาณ 5 – 7 วัน แต่หากได้กินทั้งน้ำหวานและเลือดจะมีอายุยาวกว่ากินแต่น้ำหวานหรือกินแต่เลือด เมื่อเปรียบเทียบกันกลุ่มที่กินแต่น้ำหวานก็ยังมีอายุยาวกว่ากลุ่มที่กินเลือด (Hawley, 1988) ในการจำแนกชนิดของยุงลายใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวเต็มวัยแยกออกจากกันได้

ความแตกต่างระหว่างยุงลายบ้านและยุงลายสวน

ยุงลายบ้าน (<i>Aedes aegypti</i>)	ยุงลายสวน (<i>Aedes albopictus</i>)
- ลำตัวและขาทั้ง 3 คู่ มีลักษณะเป็นลายดำสลับขาว	- คล้ายกับยุงลายบ้าน แตกต่างกันที่ลวดลายของเกล็ดบนสันหลังอก
- สันหลังอกด้านบน มีเกล็ดรูปรางคล้ายเคียวเป็นสีขาว 1 คู่	- สันหลังอกด้านบน มีเกล็ดสีขาวเส้นตรง
- ด้านใต้ของอก ส่วนกลางและส่วนหลัง มีหนามแหลม เรียก lateral spines ข้างละคู่	- ไม่มี lateral spine หรือเป็นปมเล็ก ๆ แต่ไม่เจริญเป็นหนาม
- ที่ท้องปล้องที่ 8 มี comb scale 4- 8 อัน	- comb scales ไม่แยกเป็นแฉก
- ลักษณะเป็นสามง่าม หนามแหลมตรงกลางเรียกว่า median spine	
- บริเวณท่อหายใจ (siphon) มี pectens	- pectens รูปรางแข็งแรงกว่า
- ลักษณะคล้ายหนามอ่อนบาง	



(A)



(B)



(C)



(D)

ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของยุงลาย (*Aedes aegypti* (L.)) วัยต่าง ๆ ดังนี้

- (A) ไข่ยุงลาย
- (B) ลูกน้ำยุงลาย (ช่วงวัย 3 เข้าสู่วัย 4)
- (C) ตัวโม่ง
- (D) ยุงลายตัวเต็มวัย

1.4 การสืบพันธุ์ (Reproduction)

มีหลักฐานกล่าวว่า sex pheromone อาจถูกสร้างโดยแต่ละเพศในยุงชนิดต่าง ๆ กัน เพื่อดึงดูดความสนใจของเพศตรงข้าม แต่การดึงดูดความสนใจโดยวิธีดังกล่าวจัดว่าไม่มากเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่นๆ การผสมครั้งแรกเท่านั้นที่ได้ผลและพบบ่อย ๆ ว่าตัวเมียจะไม่ยอมรับการผสมครั้งที่สอง การผสมครั้งที่สองไม่ได้รับความสำเร็จ เนื่องจากสารพวก matrone (เป็น polypeptide) ซึ่งถูกนำเข้าไปในท่อของระบบสืบพันธุ์เพศเมียจาก accessory gland fluid ของยุงตัวผู้ตัวแรกที่ผสม ยุงตัวเมียที่ลอกคราบออกมาใหม่ ๆ ยังไม่ยอมผสมพันธุ์ แต่พบว่าจะยอมรับการผสมหลังจากนั้น 1 หรือ 2 วัน เนื่องจากการสร้าง juvenile hormone และการกระตุ้นของปมประสาทสุดท้ายของปล้องท้องในระบบประสาทส่วนกลาง ปกติแล้วยุงตัวเมียที่ดูดกินเลือดเป็นอาหารต้องการเลือดก่อนวางไข่ อย่างไรก็ตามในยุงบางชนิดการสุกของไข่เกิดขึ้นโดยไม่จำเป็นต้องดูดกินเลือดก่อนการสุกของไข่โดยไม่ต้องการเลือดเป็นอาหารเรียกว่า autogeny ตามปกติแล้วการเจริญของไข่ในหลายชนิดของยุงต้องการเลือดซึ่งเรียกว่า anautogeny จากการศึกษาต่อมาพบว่ามากกว่า 70 ชนิดของยุงอย่างน้อย 13 สกุล เป็นพวก autogenous strain หรือเป็น autogenous ทั้งหมด การสืบพันธุ์แบบ autogenos จะลดโอกาสสำหรับพาหะในการได้รับเลือดที่มีเชื้อโรคปะปน ในช่วงระหว่างการเจริญตามปกติหรือ anautogenous development โปรตีนจากเลือดซึ่งยุงกินเป็นอาหารจะกระตุ้นเซลล์ไข่ (oocyte) ในรังไข่เพื่อสร้าง yolk และเพื่อเจริญเติบโต การสุก (maturation) ของไข่ถูกควบคุมโดยการหลั่งของฮอร์โมนจากสมองและ vitellogenin stimulating hormone จากรังไข่ เชื้อบุผิวของ ovarian follicle จะสร้างเยื่อและเปลือก (chorion) ล้อมรอบไข่ที่กำลังเจริญเติบโต ในบริเวณที่มีอากาศหนาวเย็น ยุงเพศเมียจะเข้าสู่ระยะพักตัว (hibernate) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่ต่ำลง และช่วงเวลาที่แสงแต่ละวันที่สั้นยุงเพศเมียเหล่านี้ดูดกินเลือดซ้ำหรือไม่ตั้งใจดูดกินเลือดและรังไข่จะไม่ mature ในช่วงระยะเวลาจนถึงแม้ว่าจะดูดกินเลือดเข้าไปก็ตาม



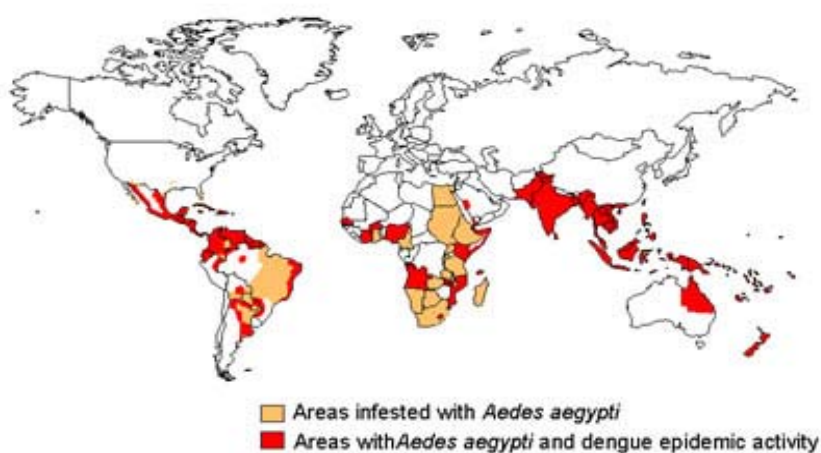
ภาพที่ 2 แสดงวงจรชีวิตของยุงลาย (*Aedes aegypti* (L.))

1.5 การแพร่กระจาย

ยุงลายแพร่กระจายมาสู่ประเทศไทยตั้งแต่เมื่อใดไม่มีรายงาน จึงมีการสันนิษฐานว่า อาจจะมากับภานะดินเผาจากประเทศจีนหรืออาหรับในหลายศตวรรษก่อน (Scanlon, 1965) เริ่มมีการสำรวจพบยุงลายบ้านครั้งแรก เมื่อปี พ.ศ. 2450 แต่ไม่ได้บอกพื้นที่ที่พบยุง (Theobaid, 1907) ต่อมาในปี พ.ศ. 2453 มีรายงานพบยุงลายบ้านที่จังหวัดปทุมธานี (Theobaid, 1910) และปี พ.ศ. 2469 เริ่มพบยุงลายบ้านทั่วไปในกรุงเทพฯ (Stanton, 1920) จากนั้นแพร่กระจายไปทั่วทุกหมู่บ้าน ตลอดทางรถไฟกรุงเทพฯ-เชียงใหม่ และหลายหมู่บ้านริมฝั่งอ่าวไทย แต่ในขณะนั้นยังไม่พบยุงลายบ้านในหมู่บ้านที่โดดเดี่ยวและอยู่ห่างไกลทางคมนาคม (Causey, 1937) ยุงลายบ้านแพร่กระจายไปอย่างกว้างขวางในเขตกรุงเทพฯ เป็นที่น่าสงสัยว่าเป็นพาหะของโรคไข้เลือดออกในประเทศไทย (Bhatia, 1951, Rudnick & Hammon, 1960) แหล่งเพาะพันธุ์ที่สำคัญได้แก่ ภาชนะขังน้ำกินน้ำใช้ ซึ่งสำรวจพบยุงลายบ้านทั้งปี โดยจะพบมากในฤดูฝน (ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงพฤศจิกายน) และในช่วงหลังมรสุม มีรายงานสำรวจพบยุงลายบ้านในตุ่มน้ำของหมู่บ้านที่อยู่โดดเดี่ยวและพบยุงลายชนิดนี้ในโพรงไม้ไผ่ใกล้บ้าน สำหรับยุงลายสวนพบจำนวนน้อยในกรุงเทพฯ-ธนบุรี

แหล่งเพาะพันธุ์ที่สำคัญขณะนั้นคือ กระจับปี่ไม้ไผ่ ในปี พ.ศ. 2504 เริ่มมีการเก็บตัวอย่างยุงลายในกรุงเทพฯ นำมาตรวจหาเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของไข้เลือดออกสามารถแยกเชื้อไวรัสไข้เลือดออกเดงกีและชิคุนกุนยาได้สำเร็จในปี พ.ศ. 2505 ต่อมาในปี พ.ศ. 2509 มีการระบาดของโรคไข้เลือดออกที่เกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี และสามารถแยกเชื้อไวรัสเดงกีจากยุงลายบ้านและยุงลายสวนได้ (Gould *et al.*, 1968) ผลการศึกษาที่ดอยปุย จังหวัดเชียงใหม่ พบว่าการแพร่กระจายของยุงลายบ้านถูกจำกัดด้วยความสูงของพื้นที่ โดยไม่เคยพบยุงลายชนิดนี้ที่ระดับความสูงกว่า 1,000 ฟุต ต่างจากยุงลายสวน ซึ่งพบทุกระดับความสูงจนกระทั่งถึงยอดเขาที่มีความสูง 6,000 ฟุต (Scanlon, 1965) อย่างไรก็ตามความรู้เรื่องนี้ควรจะมีการศึกษาปรับปรุงข้อมูลใหม่ เพราะในบางประเทศ เช่น อินเดีย โคลัมเบีย มีรายงานพบยุงลายบ้านที่ระดับความสูงกว่า 2,000 เมตร (WHO, 1997)

World Distribution of Dengue - 2005



ภาพที่ 3 แสดงการแพร่กระจายของเชื้อ Dengue ในภูมิภาคต่าง ๆ ของโลก

1.6 ระยะบินและความเร็วในการบิน

ระยะบินของยุงถูกจำกัดโดยปัจจัยภายในตัวยุง เช่น การเจริญของกล้ามเนื้อ อาหาร อายุ สายพันธุ์ยุง และสภาพแวดล้อม เช่น แสง ลม ความชื้น อุณหภูมิ ฯลฯ มีรายงานว่ายุงลายบ้านบินได้ไม่ไกล ระยะประมาณ 30–400 เมตร ส่วนยุงลายสวนบินได้ไกลกว่า พบว่าบินได้ไกลถึง 600 เมตร ภายในเวลา 10 วันในภาวะลมสงบความเร็วลมประมาณ 30–40 ซม./วินาที ยุงลายที่ยังไม่กินเลือดจะบินด้วยความเร็วประมาณ 50–100 ซม./วินาที ค่าเฉลี่ยความเร็วในการบินของยุงลายเท่ากับ 50 ซม./วินาที ยุงตัวผู้บินได้เร็วกว่ายุงตัวเมียความเร็วสูงสุดที่ยุงลายบินได้เท่ากับ 150 ซม./วินาที (Christophers, 1960)

1.7 พฤติกรรมการกินเลือดจากมนุษย์

การศึกษาพฤติกรรมการกินเลือดของยุงลายตลอด 24 ชั่วโมง พบว่ายุงลายส่วนใหญ่จะกัดในเวลากลางวัน มีช่วงเวลาการหาคนเลือดมี 2 ช่วง คือ 9.00–10.00 น. และ 16.00–17.00 น. ช่วงเวลาแตกต่างกันเล็กน้อยในแต่ละฤดูกาล ในฤดูหนาวเวลาที่ยุงกัดสูงสุดช่วงบ่ายซึ่งเร็วกว่าฤดูร้อนและฤดูฝน ซึ่งคาดว่าเป็นเพราะมีการเปลี่ยนแปลงช่วงเวลาของวัน สำหรับเวลาที่กัดสูงสุดในช่วงเช้ามืดถึงกันทุกฤดู และจากการศึกษานี้พบว่าอัตราการกัดของยุงลายต่ำสุดในเดือนมกราคม และสูงสุดในเดือนมีนาคม ซึ่งสัมพันธ์กับการพบผู้ป่วยด้วยโรคไข้เลือดออกจำนวนมากในเดือนมีนาคม และปรากฏการณ์การระบาดในเดือนพฤษภาคมจนกระทั่งถึงเดือนกันยายน หลังจากให้อัตราการกัดสูงขึ้นแล้ว 2 เดือน และพบว่ายุงกินเลือดแล้วส่วนใหญ่มีทั้งเลือดเก่าและเลือดใหม่ปนกัน แสดงว่ายุงลายกินเลือดหลายครั้ง (multiple feeding) ก่อนที่จะครบวงจรการสร้างไข่ทำให้ยุงชนิดนี้มีโอกาสแพร่กระจายเชื้อไวรัสได้มาก ยุงลายเริ่มกินเลือดครั้งแรกเมื่อออกจากดักแด้ประมาณ 36 ชั่วโมง ต่อมาจึงเริ่มผสมพันธุ์และวางไข่หลังจากกลายเป็นยุง 96 ชั่วโมง (Vasuno and Tonn, 1970) อัตราการกัดของยุงลายแตกต่างกันในช่วงเวลาของมัน ช่วงเช้ากัดมากกว่าช่วงบ่าย อย่างไรก็ตามยุงลายยังคงกัดตลอดทั้งวันตั้งแต่เช้ามืดจนกระทั่งพบค่ำ จากการศึกษาบนเกาะสมุยในเดือนมีนาคม พบว่ายุงลายที่มากัดคนและจับได้ในบ้านเป็นยุงลายบ้าน ร้อยละ 75 ยุงลายสวน ร้อยละ 25 ส่วนยุงลายที่มากัดคนและจับได้นอกบ้านเป็นยุงลายสวน ร้อยละ 99 (Thavara *et al.*, 2001)

2. การเป็นพาหะและการควบคุม

ยุงลายเป็นพาหะสำคัญของโรคไข้เลือดออก ซึ่งมีแหล่งเพาะพันธุ์อยู่บริเวณบ้านแทบทุกหลังคาเรือนของประเทศไทย เป็นพาหะของเชื้อไวรัสเดงกี 4 สายพันธุ์ และผลการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่ายุงลายบ้านและยุงลายสวนสามารถถ่ายทอดเชื้อไวรัสเดงกีจากแม่ไปสู่ลูกได้ (Transovarial transmission) เริ่มจากยุงลายเพียง 1 คู่ สามารถผลิตลูกหลานได้เกือบหมื่นตัวภายในเวลาประมาณ 100 วันและหากยุงเหล่านี้ได้รับเชื้อไวรัสเดงกีจากผู้ป่วยภายในเวลา 8 – 10 วัน เชื้อจะเพิ่มปริมาณในตัวยุงออกไปสู่ต่อมน้ำลาย เมื่อกัดคนจะสามารถถ่ายทอดเชื้อไปสู่คนปกติระยะฟักตัวของเชื้อไวรัสเดงกีในคนประมาณ 5 – 8 วัน ผู้ป่วยจะมีอาการป่วยเริ่มด้วยมีไข้กะทันหัน ตัวร้อน หน้าแดง ตาแดง บางคนปวดรอบกระบอกตาพร้อมปวดศีรษะ แต่ส่วนมากไม่มีอาการไอ ไม่มีน้ำมูก ไข้สูงติดต่อกันเป็นระยะเวลา 2 – 7 วัน อาจมองเห็นเลือดออกเป็นจุดเล็ก ๆ สีแดงใต้ผิวหนังซึ่งเป็นที่มาของชื่อ ไข้เลือดออก บางคนมีเลือดกำเดาไหล เลือดออกตามไรฟันหรือมีดำโตทำให้ผู้ป่วยเจ็บบริเวณขาโครงงว ซึ่งเป็นการตำแหน่งของตับ ประมาณ 1 ใน 3 ของผู้ป่วยจะมีอาการรุนแรงมาก จนกระทั่งช็อค

2.1 การควบคุมยุงลาย

ลูกน้ำยุงลายอาศัยอยู่ในภาชนะขังน้ำสะอาดและน้ำซึ่งมีอินทรีย์วัตถุเจือปน แหล่งเพาะพันธุ์ ดังกล่าวมีทั้งในธรรมชาติและมนุษย์สร้างขึ้น ดังนั้นการบริหารจัดการภาชนะเพื่อลดแหล่งเพาะพันธุ์เป็นวิธีที่ดีที่สุดวิธีหนึ่งในการควบคุมยุงลายบ้านและยุงลายสวน

2.1.1. การบริหารจัดการแหล่งเพาะพันธุ์ยุง (Breeding place management)

การจัดการภาชนะซึ่งเป็นแหล่งเพาะพันธุ์จะต้องคำนึงถึงลักษณะการใช้งาน หากประชาชนจำเป็นต้องใช้ภาชนะดังกล่าว เช่น โอ่งใส่น้ำดื่ม น้ำใช้ บ่อคอนกรีตขังน้ำในห้องน้ำ กลยุทธ์ในการจัดการต้องเป็นการหาวิธีป้องกันไม่ให้ภาชนะดังกล่าวเป็นแหล่งเพาะพันธุ์มากกว่าที่จะแนะนำให้ประชาชนเลิกใช้ตุ่ม เลิกปลูกต้นไม้ วิธีที่ควรแนะนำ เช่น ปิดฝาภาชนะให้มิดชิดด้วยผ้า ตาข่าย อลูมิเนียมหรือแผ่นโลหะ ทำความสะอาดขั้วล่างโอ่ง ระบายน้ำทิ้งเปลี่ยนน้ำในแจกันทุก 4 – 5 วัน

วิธีการกับวัสดุที่ไม่ใช้แล้ว เช่น ขวด กระจก โองแตก ไหแตก ถังพลาสติกชำรุด ยางรถยนต์ กะลามะพร้าว เปลือกผลไม้ ถ้วย แก้ว ฯลฯ

1. ฟัง เผ ทำลายหรือเก็บรวบรวมใส่ถุง นำไปทำรองเท้ายาง ถังน้ำ ถังขยะหรือนำไปหลอมกลับมาใช้ใหม่
2. ยางรถยนต์เก่าอาจนำไปปลูกต้นไม้ หรือนำไปทำแนวกันดินป้องกันการถูกคลื่นเซาะทำลาย
3. กะลามะพร้าว เปลือกผลไม้ นำไปใช้เป็นเชื้อเพลิง
4. เรือขนาดเล็กหรือเรือชำรุดให้คว่ำไว้เมื่อไม่ใช้งาน

2.1.2. การควบคุมโดยใช้สารเคมี (Chemical control)

การใช้มาตรการควบคุมโดยใช้สารเคมีนี้จะต้องมีการวางแผนอย่างรัดกุม โดยอาศัยความรู้ทางชีวนิยของยุงพาหะ ระบาดวิทยาของโรค ความเป็นพิษของสารเคมีต่อมนุษย์และราคาของสารเคมีเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ เนื่องจากสารเคมีที่ใช้อย่างปลอดภัยในทางสาธารณสุขนั้นมีจำนวนไม่มากนัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารเคมีที่นำมาใช้พ่นชนิดมีฤทธิ์ตกค้างหรือนำมาใช้ติดต่อกันเป็นเวลายาวนานทางการเกษตร ซึ่งอาจทำให้ยุงพาหะเกิดความต้านทานต่อสารเคมีได้ ดังนั้นการควบคุมยุงพาหะโดยใช้สารเคมี จึงต้องใช้ร่วมกับมาตรการอื่น ๆ

2.2 ประเภทสารเคมีที่ใช้ในประเทศไทยแบ่งออกได้เป็นดังนี้

2.2.1 สารเคมีกลุ่มออร์กาโนคลอรีน (Organochlorine Compounds) สารเคมีที่นำมาใช้ เช่น ดีดีที การใช้จะเป็นแบบสารละลายธรรมดา อิมันชั่น หรือเป็นชนิดตะกอนแขวนลอย ซึ่งถ้าเป็นชนิดตะกอนแขวนลอย เหมาะสมที่จะใช้ในพื้นที่กว้างขวาง แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารในกลุ่มนี้ค่อนข้างจำกัด เนื่องจากการผลิตสารในกลุ่มนี้ได้ถูกควบคุมโดยองค์การอนามัยโลก เนื่องจากเหตุผลทางสภาพแวดล้อม (สุรพล, 2542)

2.2.2 สารเคมีกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphorus Compounds)

เนื่องจากพัฒนาการของยุงพาหะ ซึ่งคือต่อสารเคมีกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในบางพื้นที่ ทำให้ต้องใช้สารเคมีกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และกลุ่มคาร์บาเมต (Carbamate) ทดแทนสารเคมีกลุ่มนี้มีราคาแพงกว่า มีฤทธิ์ตกค้างสั้นกว่ากลุ่มแรก คือมีฤทธิ์ตกค้างประมาณ 3 – 5 เดือน จากองค์ประกอบดังกล่าว ทำให้งบประมาณในการดำเนินการสูงขึ้น ตัวอย่างสารเคมีกลุ่มนี้ เช่น fenitrothion , malathion , dichlorvos แต่อย่างไรก็ตามสารในกลุ่มนี้มีพิษต่อระบบประสาทของมนุษย์และสัตว์อย่างรุนแรง จนสามารถทำให้เกิดการตายอย่างเฉียบพลันได้ (สุรพล, 2542)

2.2.3. สารเคมีกลุ่มคาร์บาเมต (Carbamate Compound) สารเคมีกลุ่มคาร์บาเมตมี

พิษต่อยุงพาหะมากกว่ากลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต มีพิษจากการที่สารฟุ้งกระจายในอากาศ (airborn effect) ตัวอย่างสารเคมีกลุ่มนี้ เช่น propoxur , bendiocarb , methomyl ซึ่งสารบางชนิดมีพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และผึ้งสูง (Visetson, 2001)

2.2.4. สารเคมีกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์ (Synthetic Pyrethroid Compound)

สารเคมีกลุ่มนี้มีฤทธิ์ค่อนข้างดีในการกำจัดยุงพาหะ มีพิษต่อคนหรือสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมน้อย ตัวอย่างสารเคมีกลุ่มนี้ เช่น cypermethrin, permethrin, deltamethrin , lambdacyhalothrin ข้อเสียคือ มีฤทธิ์ตกค้างค่อนข้างสั้น ต้องพ่นทุกสัปดาห์และสารในกลุ่มนี้มีแนวโน้มของการสร้างความต้านทานค่อนข้างไว (สุรพล, 2547) ปัจจุบันได้มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์กำจัดแมลงให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นโดยไม่มีผลกระทบที่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ การสร้างความต้านทาน และสิ่งแวดล้อม

2.2.5. สารเคมีจากธรรมชาติ (Natural Products) ในธรรมชาติมีดอกไม้และพืช

บางชนิดที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ในการกำจัดแมลงอย่างได้ผล อาจจะเป็นการค้นพบโดยบังเอิญและใช้กันมาเป็นพันปีแล้ว เช่น การใช้ดอกไพรีทรัมแห้ง (Pyrethrum) มาบดใช้กำจัดยุงและแมลงบ้าน ขมิ้นชันผลิตเพื่อทาแก้นุง ไพลเหลือง น้ำมันตะไคร้หอม สะระแหน่ น้ำมันจากต้นน้ำมันเขียว (ยูคาลิปตัส) มะกรูด กระเพรา ว่านน้ำ กระเทียม แมงลัก ส่วนในประเทศจีนมีการใช้ดอกไพรีทรัมในการกำจัดยุงมานานกว่าสองพันปี (Visetson, *et al.* 2003)

การควบคุมยุงลายโดยชีววิธี (Biological control)

วิธีนี้เป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยลดผลกระทบจากปัญหาต่าง ๆ เท่าที่มีการศึกษาได้แก่

1. การใช้ฮอร์โมน
2. การใช้แบคทีเรีย
3. การใช้แมลงที่เป็นศัตรูของลูกน้ำ
4. การควบคุมทางพันธุกรรม
5. การใช้ปลากินลูกน้ำ เช่น ปลาหางนกยูง (*Poecilia reticulata*) ปลาแกมบุเซีย

(*Gambusia*)

6. การใช้ลูกน้ำยุงยักษ์ (*Toxorhynchites spp.*) กินลูกน้ำยุงลาย
7. การใช้ตัวห้ำ ตัวเบียน กินลูกน้ำหรือตัวโม่ง ซึ่งวิธีนี้จำเป็นจะต้องสร้างสิ่งแวดล้อมให้เหมาะสมเพื่อช่วยให้ตัวห้ำเพิ่มจำนวนมากพอ เช่น เลี้ยงพืชน้ำไว้ด้วย
8. การใช้เชื้อรา เช่น *Lagenidium giganteum* กำจัดลูกน้ำตัวโม่งของยุง *Aedes melanion* ได้ถึงร้อยละ 85 และทำลายลูกน้ำยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus*) นอกจากนั้นยังมีเชื้อรา *Tolypocladium cylindrosporum* ในการกำจัดลูกน้ำยุงลาย *Aedes aegypti* (L.) ซึ่งถูกทำลายโดยผ่านทางเดินอาหาร ผนังลำตัวและทางทวารในระยะที่ลูกน้ำลอกคราบใหม่
9. การใช้โปรโตซัว เช่น *Lambornella clarki* ทำลายลูกน้ำยุง *Aedes aierrensis* ให้ตายได้ภายใน 3 สัปดาห์

สมุนไพรที่น่าสนใจ

1. หญ้าแห้วหมู (Cyperus rotundus L.)

แห้วหมูจัดเป็นพืชล้มลุก อยู่ในคลาส Angiospermae วงศ์ Cyperaceae สกุล *Cyperus* สามารถเจริญเติบโตและออกดอกติดผลได้หลายครั้ง มักมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศร่วมกับการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการแพร่กระจายมากยากแก่การควบคุม มักขึ้นในที่ชื้นตามข้างทาง ทุ่งนา ที่รกร้าง และสนามหญ้า แห้วหมูมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Cyperus rotundus* L. ชื่อสามัญ nutgrass , Purple nutsedge และมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศเช่น ในประเทศเวียดนาม เรียกว่า huong phu ประเทศอินเดียเรียกว่า musta, mustaka, mutha และ tagernut ประเทศญี่ปุ่น เรียกว่า ko - bushi ใช้เป็นยาพื้นเมืองในการรักษาโรค ส่วนประเทศไทยเรียกว่าหญ้าแห้วหมูที่จังหวัดแม่ฮ่องสอน เรียกว่า หญ้าขนหมู (ลีนา และ รัชชัย, 2530)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้นเหนือดิน (culm หรือ shoot) ตั้งตรงไม่แตกแขนง มีความสูงประมาณ 10 – 60 เซนติเมตร มีลำต้นใต้ดิน สามารถแพร่ขยายไปเป็นเส้นยาว ใบสีเขียวเข้ม กว้าง 0.25 – 0.75 เซนติเมตร ยาว 5 – 20 เซนติเมตร ผิวใบด้านบนมีสารจำพวก waxy cutin เคลือบอยู่เป็นชั้นหนา และไม่มีปากใบ ส่วนผิวใบด้านล่างมี cutin เคลือบอยู่และมีปากใบ (Wills และ Briscoe, 1970) ช่อดอกประกอบด้วยก้านชูดอก ซึ่งเกิดออกจากส่วนยอดของหัวที่โคน มีลักษณะเป็นก้านแข็งรูปสามเหลี่ยม ตั้งตรง ผิวนอกสีเขียวสดเรียบมัน ดอกออกเป็นช่อขนาดเล็กขึ้นจากกลางต้น มีใบประดับรองรับช่อดอก ดอกย่อยไม่มีก้านดอก เกสรตัวผู้มี 3 อัน อับเรณูยาวแคบ ปลายท่อนังไข่มี 3 แฉก ผล รูปขอบขนานแกมรูปไข่กลับ ปลายแหลม มีหน้าตัดเป็นรูป 3 เหลี่ยม สีน้ำตาล หรือดำ เป็นที่สะสมอาหารประเภทแป้ง, alkalioids, cardiac glycoside, flavonoides, polyphenols, vitamin C, essential oils ทำให้มีกลิ่นฉุนเล็กน้อย จากการศึกษาของ Koomai และ Ueki (1981) ถึงการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิศาสตร์ต่อ sesquiterpane (Empirical เป็น $C_{15}H_{24}$ ประกอบด้วย isoprene C_5H_8 3 หน่วย) ของแห้วหมูในสาธารณรัฐประชาชนจีนและญี่ปุ่น พบว่าสามารถแบ่งแห้วหมูเป็น 3 chemotypes คือ

1. **H - type** ประกอบด้วย α -Cyperone และ β -Selinene พบที่ Honshu , Okinawa , Kyushu และ Shikoku
2. **M - type** ประกอบด้วย α -Cyperone และ β -Selinene , cyperone และ cyperonone
3. **O - type** ประกอบด้วย cyperone และ cyperonon

สารที่พบในเหง้าหมู

เมื่อสกัดสารจากส่วนหัวใต้ดินจะได้สารที่มีลักษณะสีน้ำตาลแดง มีกลิ่นฉุน ในหัวของ เหง้าหมูมีน้ำมันหอมระเหย และสารเคมีอื่น ๆ เช่น caryophyllene และ rotundone (วันดี, 2541) มี essential oils ที่ประกอบด้วย α -Cyperone (4,11 – selinadien – 3 – one) (Dadang และคณะ, 1996) pinene และ cineol มี sesquiterpenes และ alcohol, isocyperol และ fatty oil ที่ประกอบด้วย glycerol, lonelenic, oleic, myristic และ stearic acid, น้ำตาล, albuminous matters, แป้ง รวมทั้ง alkaloid ที่ไม่คงตัวบางชนิด นอกจากนี้ยังมีสารพวก sesquiterpenoids เช่น cyperene และ cyperol (Hikino และคณะ, 1969) สาร 4 α , 5 α - oxidoeudesm-11– en - 3 α - ol และจากการ รายงานของ Thebtaranonth พบว่า caryophyllene α -oxide, 10,12 – perpxycalamenene และ 4, 7– dimethyl – 1 – terslone ซึ่งสารประกอบเหล่านี้เป็นสารที่ต่อต้านเชื้อหรือที่เรียกว่า antimalarial

นอกจากนี้การรู้โครงสร้างทางเคมีของสารสกัดที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้กับงานทางด้านต่าง ๆ ความผันแปรทางด้านเคมีของพืชจะเกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายตามเขต ภูมิศาสตร์ของพืชชนิดนั้น ๆ สำหรับเหง้าหมูจะมีรูปแบบลักษณะทางเคมีที่แตกต่างกันในแต่ละ พื้นที่ โดยเฉพาะในเขตเอเชีย ลักษณะทาง chemotype ของเหง้าหมูจะแตกต่างกัน โดยส่วนมาก จะพบ 3 type คือ H – type พบในประเทศญี่ปุ่น M – type พบในประเทศจีน ฮองกง ญี่ปุ่น ไต้หวัน และเวียดนาม ส่วน O – type พบในประเทศญี่ปุ่น ไต้หวัน ไทย และฟิลิปปินส์ สำหรับ type ใหม่ที่พบนี้เรียกว่า K – type พบในฮาวาย ซึ่งมีความแตกต่างจาก type อื่น ๆ คือ มีความเข้มข้นของ p-coumaric acid และ ferulic acid มากกว่า 3 type ที่กล่าวมาแล้ว อย่างไรก็ตามลักษณะต่าง ๆ ที่มีความแตกต่างกันนี้ขึ้นกับปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมด้วยเช่นกัน (Komai และ Tang , 1989)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของหัวหญ้าเหี่ยวหมู

จากการวิจัยพบว่า หัวหญ้าเหี่ยวหมูสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย ด้านเชื้อรา ด้านเชื้อมาลาเรีย ด้านยีสต์ ด้านเชื้อไวรัส ฆ่าไรทะเล แก่ไข แก่ปวด ลดฤทธิ์ของอะฟาทอกซิน ด้านมะเร็ง ขับปัสสาวะ ยับยั้งความเป็นพิษต่อตับ ด้านฤทธิ์ของแอลกอฮอล์ แก่ชัก รักษาแผลในกระเพาะอาหาร เพิ่มความดันโลหิต กระตุ้นการสร้างเม็ดเลือด ยับยั้งการหดเกร็งของลำไส้ คลายกล้ามเนื้อดลูก และกล้ามเนื้อเรียบ กระตุ้นการหายใจ รักษาโรคผิวหนังบางชนิด Scleroderma ลดการอักเสบ ยับยั้ง เอนไซม์ Prostaglandin synthetase , Aldose reductase , Glutamate pyruvate transaminase , γ - Glutamyl transpeptidase ยับยั้งการสังเคราะห์ Prostaglandin มีฤทธิ์เหมือนฮอร์โมน Estrogen ลดระดับไขมันและ cholesterol ในเลือด ลดระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือด เพิ่มความเข้มข้นของ Plasma protein



A



B

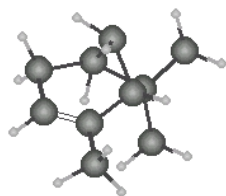


C

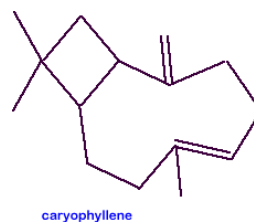
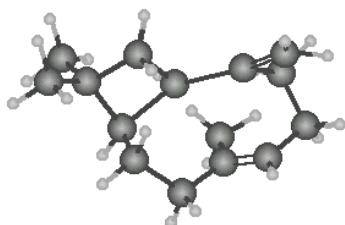
ภาพที่ 4 แสดงลักษณะของหญ้าแห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.)

A ห้วแห้วหมูและห้วแห้วหมูบดละเอียด

B, C ต้นหญ้าแห้วหมู *Cyperus rotundus* L.



A



B

ภาพที่ 5 แสดงสูตรโครงสร้างสารที่พบในหัวหญาเห็ดหมู ดังนี้

A pinene (2,6,6-trimethylbicyclo[3,1,1]hept-2-ene)

B caryophyllene (4,11,11-trimethyl-8-methylene-caryophyllene)

2. มันแกว (*Pachyrhizus erosus* Urb.)

มันแกวเป็นไม้พุ่มเลื้อยอายุหลายปีจัดอยู่ในคลาส Angiospermae อันดับCyperales วงศ์ Leguminoceae และสกุล *Pachyrhizus* ถิ่นกำเนิดเดิมอยู่ในอเมริกาเขตร้อน ฟิlipปีนส์ อินเดีย แอฟริกาตะวันออก จีน อินโดนีเซีย และไทย นิยมปลูกเป็นพืชเก็บหัวเป็นรากสะสมอาหารนำมาบริโภคสดได้โดยตรง มีรสหวานใช้ทำขนมชนิดต่างๆ มันแกวเป็นพืชที่ปลูกได้ง่าย เจริญเติบโตเร็ว ก่อนข้างจะทนทานต่อสภาพแห้งแล้งได้ดี อายุเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 3 – 8 เดือน มันแกวสามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทยชื่อพฤกษศาสตร์ *Pachyrhizus erosus* Urb. ชื่ออื่นๆ เช่น เครือเขานุน หนามบั้ง (เพชรบูรณ์) ถั่วกินหัว ถั่วบั้ง มันแกว มันแกวลาว มันละแวก มันลาว (ภาคเหนือ) หัวแปะก๊วะ (ภาคใต้)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มันแกวเป็นพืชล้มลุกที่มีลำต้นเป็นเถาเลื้อยไปตามดิน ลำต้นมีขนยาวปกคลุม ใบประกอบ ซึ่งมีใบย่อย 3 ใบย่อยที่อยู่ปลายสุดเป็นรูปสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัดหรือรูปไข่กว้าง ส่วนใบย่อยอีกสองใบเป็นรูปไข่หรือรูปสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัด ขอบใบเป็นหยักซี่ฟันหรือมักเป็นคลื่น รากของมันแกวจะเป็นรากแก้วที่สะสมอาหารจนายตัวใหญ่ขึ้นกลายเป็นหัวใช้รับประทานได้ ดอกมันแกวเป็นดอกสมบูรณ์เพศ มีเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ภายในดอกเดียวกัน ดอกมีลักษณะเป็นช่อเริ่มบานจากดอกข้างล่างขึ้นไปปลายช่อดอก ดอกมีสีขาวหรือสีม่วงอมน้ำเงินแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ ดอกมีรูปร่างลักษณะเหมือนดอกถั่วผลออกเป็นฝักยาวได้ถึง 14 เซนติเมตร มีขนปกคลุม เมล็ดเป็นรูปสี่เหลี่ยมและเป็นพิษ (Bailey, 1973) เมล็ดใช้เป็นยาฆ่าแมลง เนื่องจากมีสาร pachyrrhizin เป็นสารพวก 3 – phenyl coumarin และ dolichone เป็นสารพวก rotenoid



A



B



C

ภาพที่ 6 แสดงลักษณะของต้นมันแกว (*Pachyrhizus erosus* Urb.)

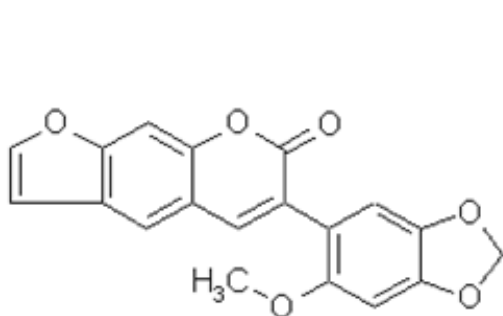
A ฝักของมันแกว

B หัวของมันแกว

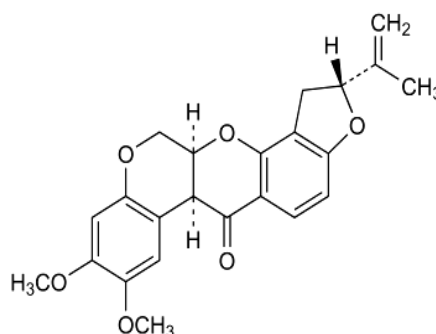
C ดอกของมันแกว

ส่วนที่เป็นพิษ

มันแกวเป็นพืชที่มีหัวใต้ดินซึ่งรับประทานได้ แต่บางส่วนของมันแกวก็เป็นพิษได้เช่นกัน เช่น ใบมีสารพิษเป็นสารพวก glycoside ชื่อ pachyrrhizin และเมล็ดของมันแกวมีสารพิษชื่อ isoflavonoid ชื่อ erosin, pachyrrhizon, pachyrrhizin, rotenone มีรายงานตัวอย่างผู้ป่วยจาก โรงพยาบาลชุมชนเชิงแสน จังหวัดเชียงราย ผู้ป่วยชายรายหนึ่งได้นำฝักมันแกวมาต้มรับประทาน จำนวน 4 ฝัก ญาติได้นำส่งโรงพยาบาลซึ่งขณะนั้นผู้ป่วยมีอาการช็อค หมดสติ และหยุดหายใจ แพทย์ได้ให้ความช่วยเหลือ รักษาอาการ โดย ให้น้ำเกลือและปั๊มหัวใจ ผู้ป่วยมีอาการดีขึ้นแต่ยังคงมีอาการทางสมองอันเป็นผลเนื่องมาจากการหยุดหายใจ จากอาการดังกล่าวข้างต้น จึงเห็นว่าเมล็ดมันแกวเป็นพิษ นอกจากนั้นสารพิษพวก Glycoside มีฤทธิ์ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก การรับประทานเมล็ดมันแกวเข้าไปปริมาณมาก ๆ อาจทำให้ถึงแก่ความตายได้ จากการศึกษาพบว่าเมล็ดมันแกวมีสารพิษอื่น ๆ อีก เช่น 12-(A)-hydroxypachyrrhizone , dehydropachyrrhizone, neodehydrorautenone, dolineone, erosenone, erosenin, erosone, 12-(A)-hydroxylineonone, 12-(A)-hydroxynunduserone, rotenone, pachysaponin A & B



A



B

ภาพที่ 7 แสดงสูตรโครงสร้างสารที่พบในเมล็ดมันแกว ดังนี้

A pachyrrhizin

B rotenone

3. หญ้าวงช้าง (*Heliotropium indicum* L.)

หญ้าวงช้างจัดอยู่ในคลาส Magnoliopsida อันดับ Lamiales วงศ์ Boraginaceae สกุล *Heliotropium* เป็นไม้ล้มลุกฤดูเดียว ใบเดี่ยวเรียงตัวแบบ opposite 1-2 คู่ ที่โคนต้น ใบรูปข้าวหลามตัด (rhomboid) หรือรูปไข่ ผิวใบเป็นคลื่น ฐานเว้าเป็นรูปหัวใจ ดอกช่อแบบ scorpioid cyme เกิดที่ปลายกิ่งก้านช่อดอกยาว 10 – 30 เซนติเมตร ดอกย่อยไม่มีก้านดอก เรียงตัว 2 แถวชิดกันที่ด้านบนของก้านดอก ตอนปลายก้านดอกมีวงกล้ายหางแมงป่อง เส้นผ่าศูนย์กลางดอก 2 - 3 มิลลิเมตร กลีบเลี้ยง 5 กลีบไม่เท่ากัน รูปไข่ ปลายแหลม กว้าง 1 มิลลิเมตร ยาว 1 - 3 มิลลิเมตร กลีบดอก 5 กลีบ สีม่วงอ่อน ติดกันเป็นหลอดรูปกรวย หลอดโค้งเล็กน้อย ยาว 4 – 5 มิลลิเมตร ขอบกลีบดอกแยกเป็น 5 พู เกสรเพศผู้จำนวน 5 อัน ติดบนหลอดกลีบดอก ก้านชูอับเรณูยาว 0.5 มิลลิเมตร ไม่โผล่พ้นหลอดกลีบดอก เกสรเพศเมีย 1 อัน ฝังใน superior ovary ผลและเมล็ดเป็นผลสดแบบ drupe รูปยาวรี มี 2 พู ๆ ละ 1 เมล็ด



ภาพที่ 8 แสดงลักษณะของหญ้าวงช้าง (*Heliotropium indicum* L.)

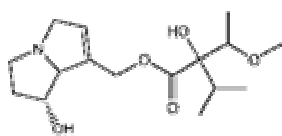
สรรพคุณทางเภสัชวิทยา

ทั้งต้น : แก้โรคลักปิดลักเปิด แก้ไอ ขับปัสสาวะ แก้ไข้ ดับพิษร้อน ปอดอักเสบ เจ็บคอ
น้ำในกระเพาะปัสสาวะ ปากเปื่อย แผลบวม มีหนอง ตาฟาง

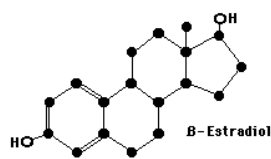
ใบ : ใช้พอกแผล หยอดหู น้ำจากใบรักษาสิว ทำยาหยอดตาแก้ตาฟาง ทำยากลิ้วคอ
แก้เจ็บคอ แก้กระหายน้ำ ลดน้ำตาลในเลือด

ดอก ราก : ใช้จำนวนน้อยเป็นยาขับระดู แต่ถ้าใช้มากอาจทำให้แท้งได้ ราก คั้นน้ำทำ
ยาหยอดตา แก้ตาเจ็บ ตามัว

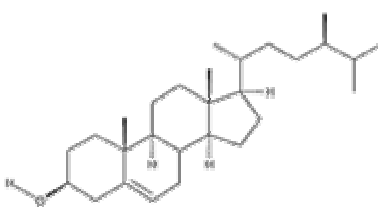
สารที่พบในหญ้างวงช้างมีหลายชนิด เช่น campesterol , chalinasterol , cynoglosine ,
estradiol , europine – N – oxide , heleurine , heleurine –N – oxide, tannin , heliotrine ทั้งต้นมี
Indicine เป็นส่วนใหญ่และมี Acetylindicine กับ Indicine จำนวนน้อย Indicine ทำให้เกิดโรคตับ
อักเสบ ในสัตว์เคี้ยวเอื้องจะแสดงอาการชัดเจน (ลีนา, 2525)



A



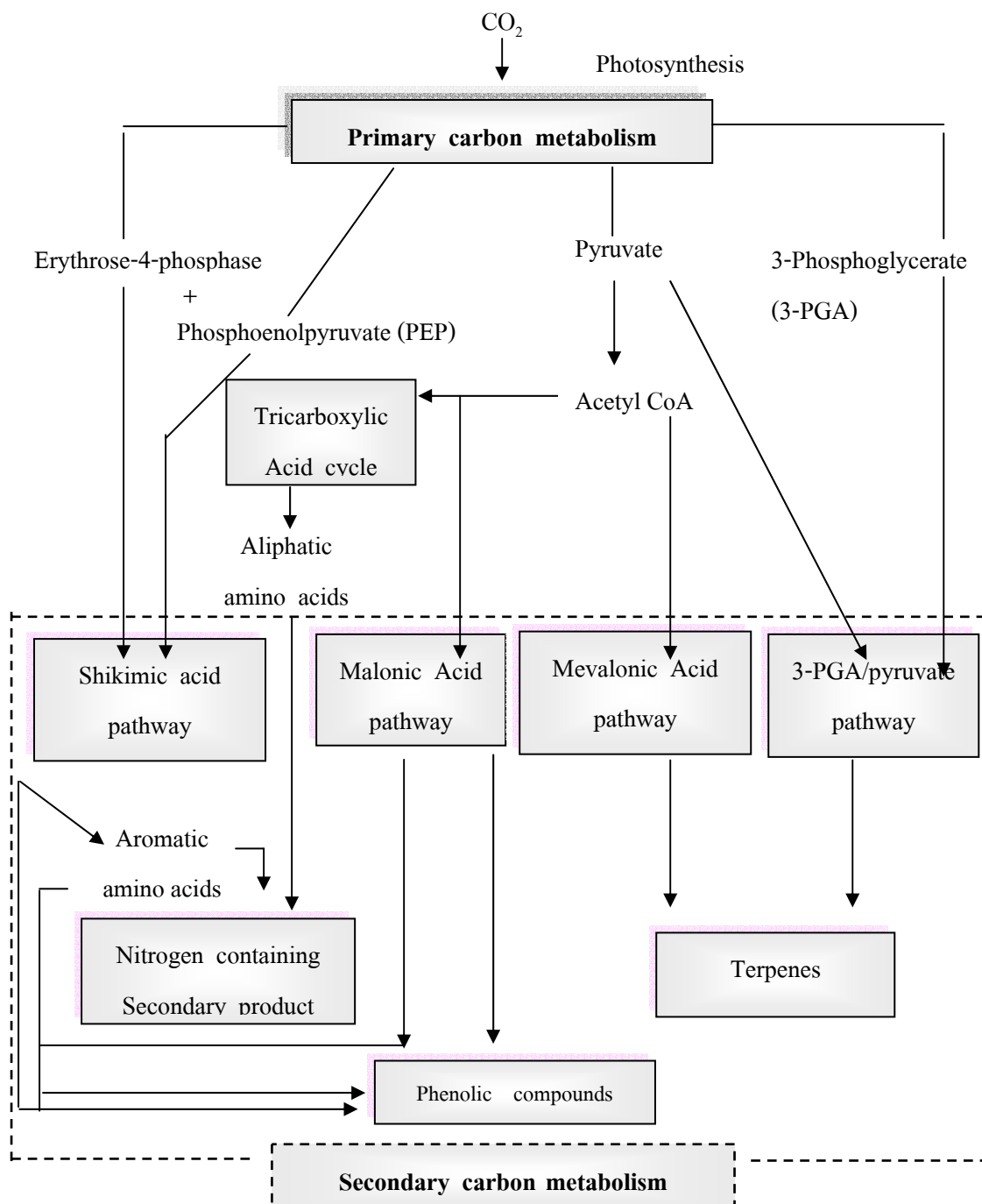
B



C

ภาพที่ 9 แสดงสูตรโครงสร้างสารที่พบในหญ้างวงช้าง ดังนี้

A heliotrine B estradiol C campesterol



ภาพที่ 10 แสดงแผนผังการผลิตสารทุติยภูมิของพืช

ที่มา : Lincoln Taiz, (1998)

4. ความเป็นพิษและอันตราย (Toxicity and Hazard)

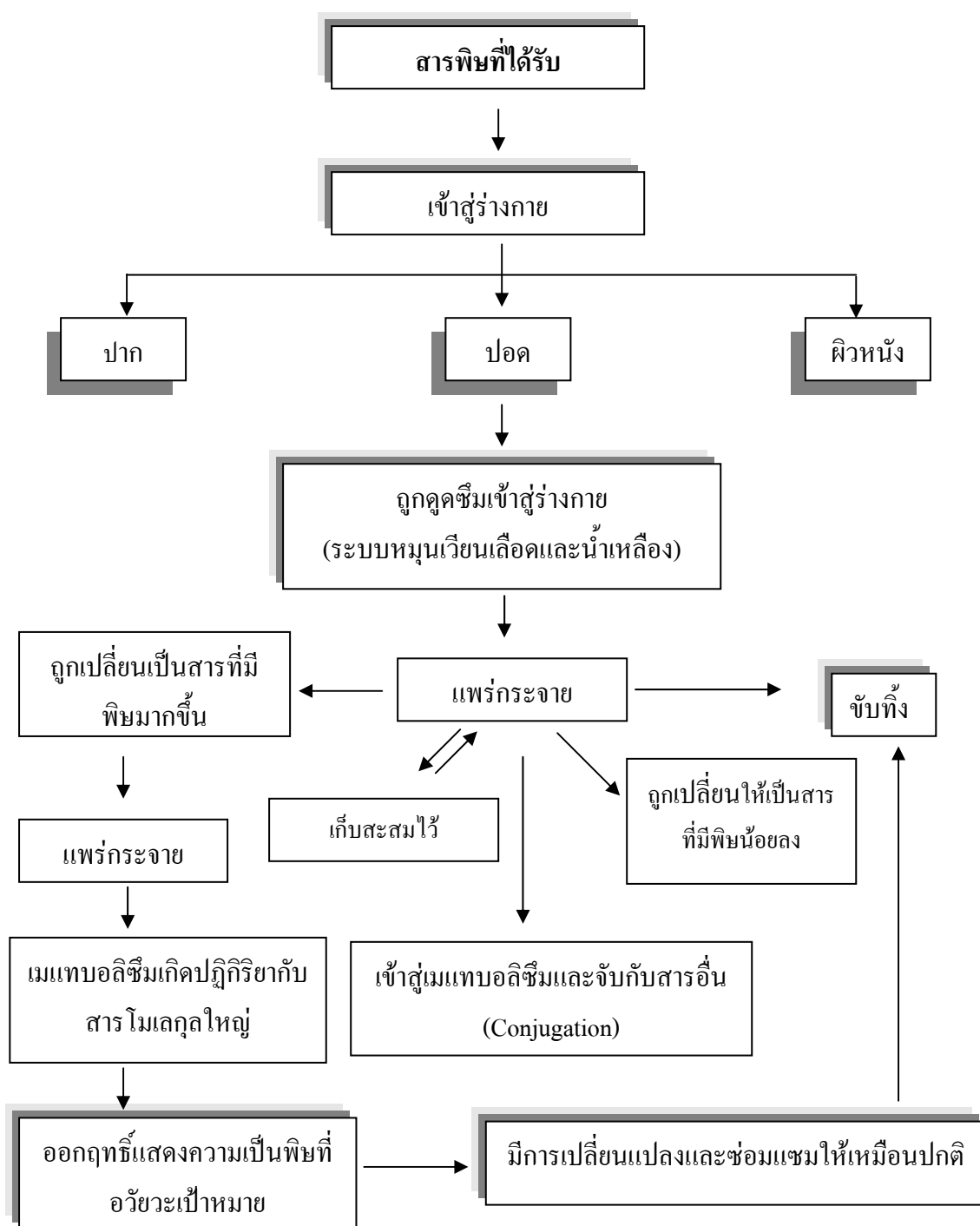
ความเป็นพิษ หรือ Toxicity คือ ความสามารถของสารที่ทำให้เกิดการบาดเจ็บ เมื่อสารกระทบต่อเซลล์หรือตำแหน่งในร่างกายหรือบนร่างกาย ส่วนคำว่าอันตราย หรือ Hazard หมายถึงอันตรายที่เกิดจากการใช้สารดังกล่าว

การได้รับสารพิษอาจแบ่งออกได้ ดังนี้

1. การได้รับสารพิษอย่างเฉียบพลัน (Acute exposure) หมายถึง การได้รับสารพิษครั้งเดียวในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ ซึ่งใช้กับสารที่เข้าสู่ร่างกายโดยการหายใจ สูดดม หรือดูดซึมผ่านผิวหนัง โดยอาจได้รับเป็นเวลาวินาที นาที หรือ ชั่วโมง แล้วส่งผลกระทบต่อร่างกาย
2. การได้รับสารพิษแบบกึ่งเฉียบพลัน (Subacute exposure) หมายถึง การได้รับสารพิษในช่วงระยะเวลาปานกลาง คือ อยู่ระหว่างเฉียบพลันและเรื้อรังโดยทั่วไประยะเวลาที่ให้ไว้ไม่เกิน 90 วัน
3. การได้รับพิษแบบเรื้อรัง (Chronic exposure) หมายถึง การได้รับสารพิษในช่วงเวลาค่อนข้าง ยาวนาน ซึ่งการรับพิษโดยการสูดดม หรือดูดซึมผ่านผิวหนังที่ซ้ำ ๆ กันเป็นระยะเวลาหลายวัน เป็นเดือน เป็นปี คำว่าเรื้อรังแสดงว่าไม่รุนแรง แต่หมายถึงอาจไม่มีอันตรายหรือมีอันตรายน้อยเมื่อได้รับหลาย ๆ ครั้งเป็นเวลานาน และสะสมอยู่ในร่างกายจนมีปริมาณสารมากเกินไปจึงแสดงอาการพิษเกิดขึ้น

กลไกการแพร่กระจายของสารพิษ

สารพิษเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะเกิดกระบวนการ toxicodynamic นั่นคือ สารพิษจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ตำแหน่ง ความเข้มข้น ลักษณะทางเคมี อาจถูกขยับย้ายได้อย่างอิสระในระบบหมุนเวียนเลือด ถูกดูดซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อต่าง ๆ เก็บสะสม ออกฤทธิ์ ถูกกำจัดทิ้ง หรือถูกกระตุ้นให้พิษมากขึ้นก็ได้ แผนภูมิแสดงการเปลี่ยนแปลงมีดังนี้



ภาพที่ 11 แผนภูมิแสดงการเปลี่ยนแปลงสารพิษและเมแทบอลิซึมในร่างกาย

ที่มา : Guthrie and Hodgson (1987a)

5. ระบบเอนไซม์ทำลายพิษในแมลง

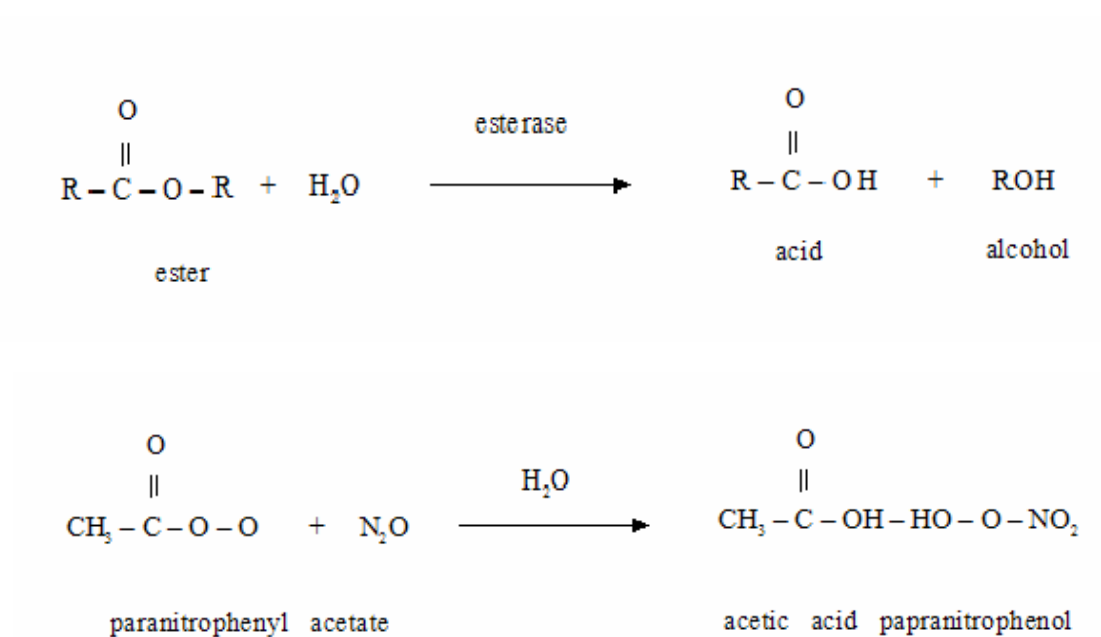
ระบบเอนไซม์ทำลายพิษหรือระบบเอนไซม์กำจัดพิษในแมลง (detoxification in insect) เป็นเอนไซม์ที่มีไว้เพื่อป้องกันและมีกลไกในการทำลายพิษของสารแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย แมลงสารพิษต่าง ๆ ที่อยู่ในสภาพแวดล้อมรวมทั้งสารที่สังเคราะห์ขึ้นมา สารเหล่านี้ถ้าเข้าสู่ร่างกายทางใดก็ตามจะกลายเป็นสารตั้งต้น (Substrate) ของเอนไซม์ต่าง ๆ ซึ่งบางชนิดจะเป็นสารยับยั้งและบางชนิดอาจมีคุณสมบัติในการเหนี่ยวนำให้เอนไซม์ทำงาน (Emest, 1994) ปฏิกริยาต่าง ๆ ในสิ่งมีชีวิตมักจะต้องมีเอนไซม์เป็นตัวเร่งทำให้สารตั้งต้นถูกเปลี่ยนแปลงรูปร่างไป คุณสมบัติของเอนไซม์กำจัดพิษนั้นเป็นเอนไซม์ที่ไม่เจาะจงต่อสารพิษ หรือสิ่งแปลกปลอมตัวใดตัวหนึ่ง (non – specific enzyme) และในการทำงานนั้นก็จะต้องขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ที่มาควบคุม เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรดและด่าง และลักษณะอื่น ๆ ในสภาวะที่เฉพาะต่อการทำงานของเอนไซม์ (Visetson , 1991) อัตราการสังเคราะห์เอนไซม์ ถูกกำหนดโดยการถ่ายทอดจากยีนผ่านโครโมโซม (gene transcription) ซึ่งอาจเกิดจากการเหนี่ยวนำ (induce) ของสารแปลกปลอมหรือสารพิษ (xenobiotic) ที่ร่างกายไม่ได้สังเคราะห์ขึ้นมา จึงทำให้ mRNA เกิดกระบวนการแปลรหัส (translation) ผลสุดท้ายก็จะเกิดการสังเคราะห์โปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อสารแปลกปลอมหรือสารพิษมากขึ้น (Emest and Patricia , 1994) เอนไซม์ที่สร้างขึ้นใหม่นี้จะทำงานได้รวดเร็วและมีประสิทธิภาพสูง กระบวนการเมแทบอลิซึมของสารแปลกปลอมเหล่านี้จะเกิดขึ้นโดยอาศัยเอนไซม์ที่ไม่มีความจำเพาะเจาะจง และสามารถแบ่งปฏิกริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นออกได้เป็น 2 ช่วง (phase) คือ

1. ปฏิกริยาในช่วงที่ 1 (Phase I reaction)

เป็นปฏิกริยาที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่โมเลกุลของสารแปลกปลอมหรือสารพิษ ทำให้สารพิษมีประจุหรือมีหมู่พอลาร์เกิดขึ้น เพื่อสามารถละลายได้ดีในน้ำและมีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะทำหน้าที่เป็น substrate ใหม่ คือพร้อมที่จะไปรับการเติมหมู่สำหรับปฏิกริยาในช่วงที่สอง ตัวอย่างของปฏิกริยาที่เกิดขึ้นในช่วงที่หนึ่ง ได้แก่ ออกซิเดชัน รีดักชัน และไฮโดรไลซิส นอกจากนั้นยังอาจมีปฏิกริยาไฮดรชันของสารอีพอกไซด์และไฮโดรฮาโลจิเนชันด้วย

2. ปฏิกริยาในช่วงที่ 2 (Phase II reaction)

เป็นปฏิกริยาการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของสารแปลกปลอมหรือสารพิษ โดยไปรวมกับสารประกอบบางชนิดที่อยู่ภายในร่างกายได้เป็นสารใหม่ที่จะละลายได้ดีในน้ำและพร้อมที่จะถูกขับออกจากร่างกาย เรียกว่า ปฏิกริยาคอนจูเกชัน (conjugation) ซึ่งปฏิกริยานี้ต้องอาศัยเอนไซม์หลายชนิดและต้องมีสารต่าง ๆ เช่น น้ำตาลกลูโคส กรดอะมิโน และ กลูคูโรไนด์มาจับกับโมเลกุลของสารพิษทำให้เกิดเป็น product ที่ละลายได้ดีในน้ำและขับออกทางปัสสาวะ



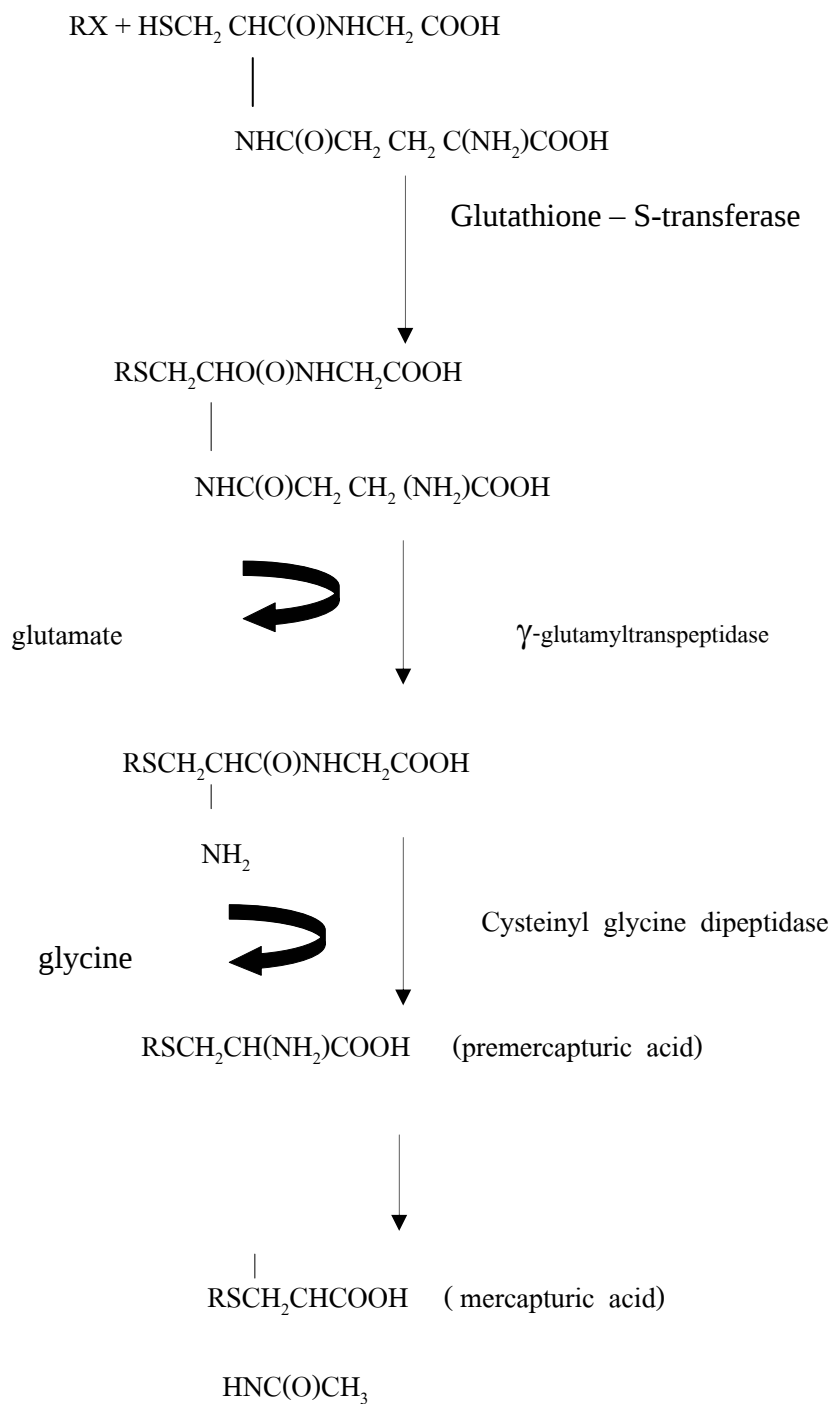
ภาพที่ 12 แสดงปฏิกริยา hydrolysis ของ esterase

ที่มา : Visetson (1991)

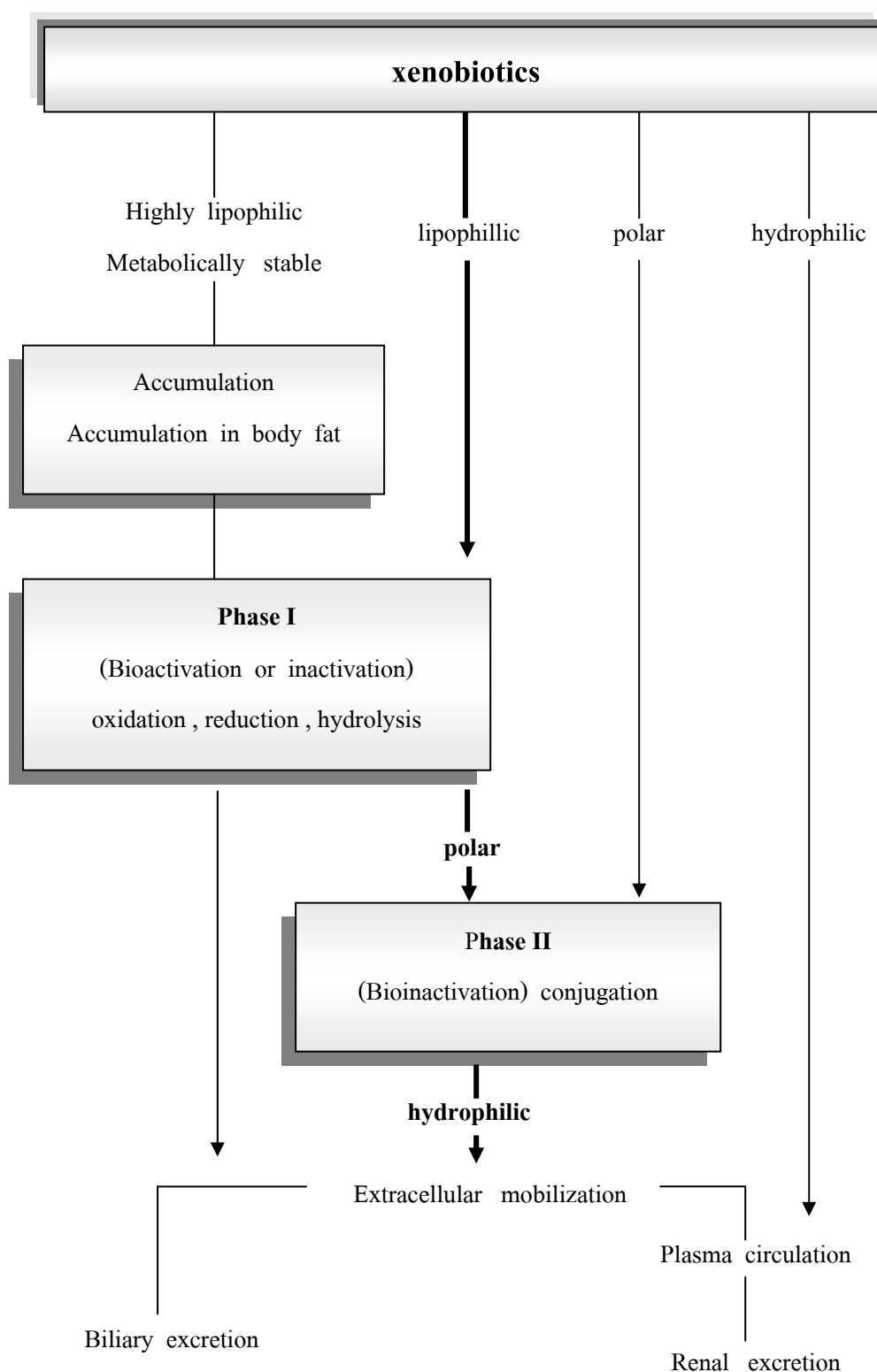
ตารางที่ 1 ชนิดของปฏิกิริยาconjucenต่าง ๆ ในช่วงที่ 2

ปฏิกิริยา	เอนไซม์	หมู่ที่ทำหน้าที่
Glucuronidation	UDP- glucuronyltransferase	OH , COOH , NH ₂ , SH , C-C
Glucosidation	UDP-glucosyltransferase	OH , COOH , SH , C-C
Sulfation\	Sulfotransferase	NH ₂ , OH
Acetylation	Acetyltransferase	NH ₂ , SO ₂ NH ₂ , OH
Methylation	Methyltransferase	OH , NH ₂ , SH
Amino Acid Conjugation	Acyltransferase	COOH
Glutathione Conjugation	Glutathione –S- transferase	Epoxides , Organic halides, Organic nitro compounds Unsaturated compounds COOH , OH

ที่มา : Dauterman (1994)



ภาพที่ 13 แสดงปฏิกิริยาการเกิดกรดเมอร์แคปตริก จากการทำงานของเอนไซม์ทรานสเฟอเรส
ที่มา : Hodgson and Levi, 1994



ภาพที่ 14 แสดงการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของสารแปลกปลอมชนิดต่าง ๆ ในปฏิกิริยาช่วงที่ 1 และช่วงที่ 2

ที่มา : Niesink *et.al*, (1996)

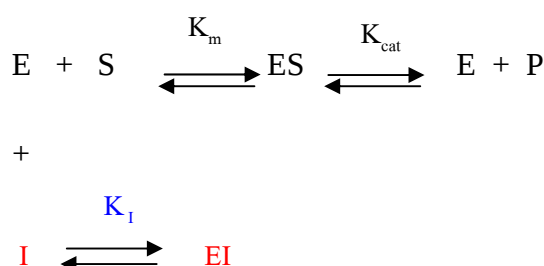
6. การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

ตัวยับยั้ง คือ สารที่ทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งลดลง การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เป็นวิธีสำคัญวิธีหนึ่งที่สิ่งมีชีวิตใช้ควบคุมอัตราเร็วของปฏิกิริยาต่าง ๆ ภายในเซลล์ ตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ถูกนำมาใช้เป็นยารักษาโรค (drug) ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ยาพิษ (poison) และสารพิษ (toxin) การยับยั้งเอนไซม์แบ่งเป็น 2 ประเภทด้วยกัน คือ การยับยั้งแบบทวนกลับได้ (reversible inhibition) และการยับยั้งแบบถาวร (irreversible inhibition)

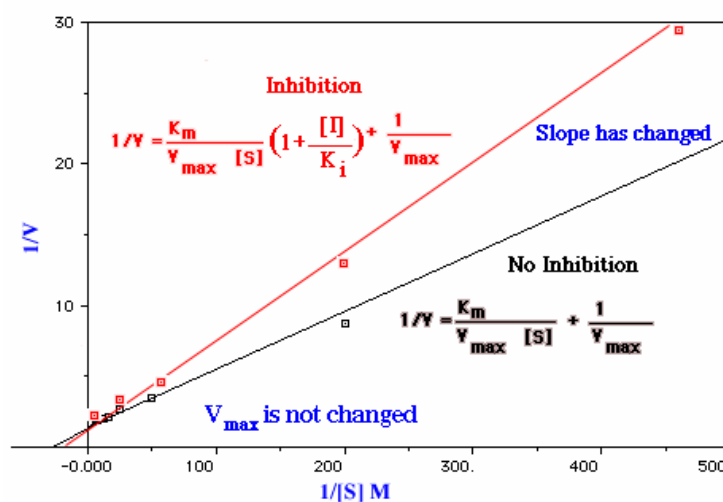
1. การยับยั้งแบบทวนกลับได้ (reversible inhibition) แบ่งออกเป็น 3 ประเภท ดังนี้

1.1 การยับยั้งแบบแข่งขัน (Competitive inhibitor)

ตัวยับยั้งแบบนี้จะมีโครงสร้างคล้ายคลึงกับสับสเตรต ทำให้เอนไซม์นั้นไม่สามารถจับกับสับสเตรตได้ หรือในทางตรงกันข้ามเอนไซม์ที่มีสับสเตรตจับอยู่ก่อนแล้ว (ES complex) จะไม่สามารถจับกับตัวยับยั้งได้เช่นกัน ทั้งนี้เป็นเพราะตัวยับยั้งไปจับกับเอนไซม์ตรงบริเวณเดียวกันกับที่สับสเตรตจับ หรือจับที่คนละบริเวณกับที่สับสเตรตจับ ปฏิกิริยาการยับยั้งแบบแข่งขันมีดังนี้



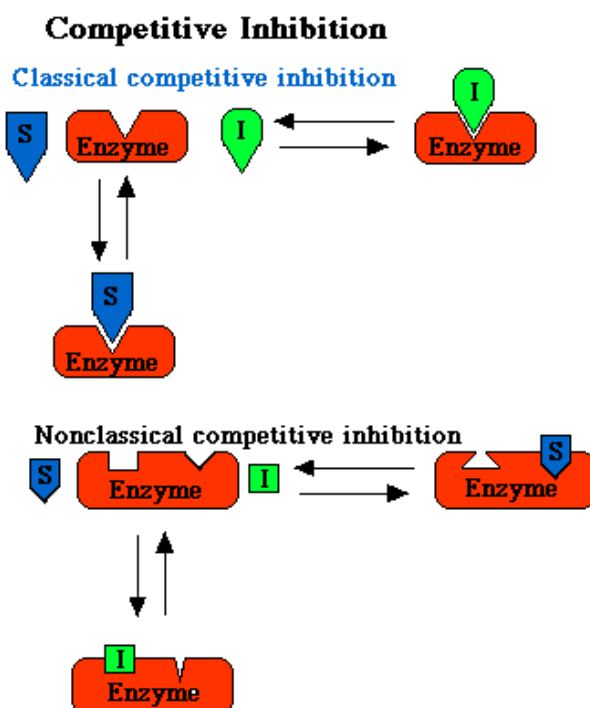
ถ้าเขียนกราฟแบบ Lineweaver – Burk เมื่อมีและไม่มีตัวยับยั้งอยู่ด้วย จะได้ดังนี้



สมการของ Lineweaver – Burk ในขณะที่มีตัวยับยั้งแบบแข่งขันอยู่ด้วย เขียนได้ดังนี้

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} \left[1 + \frac{[I]}{K_i} \right] + \frac{1}{V_{\max}}$$

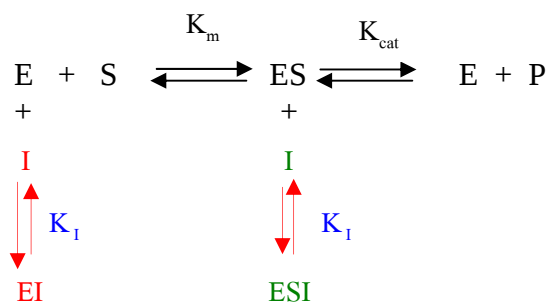
จะเห็นว่าอัตราเร็วสูงสุดของปฏิกิริยา ($V_{\max}$) จะไม่เปลี่ยนแปลง ไม่ว่าจะมีความเข้มข้นของตัวยับยั้งหรือไม่มีก็ตาม แต่ส่วนที่เปลี่ยนแปลงคือ K_m ซึ่งจะสูงขึ้นเท่ากับ $1 + \frac{[I]}{K_i}$ โดยที่ K_i คือ inhibition constant ถ้าค่า K_i มีค่าน้อยแสดงว่าตัวยับยั้งเอนไซม์ทำงานได้ดี



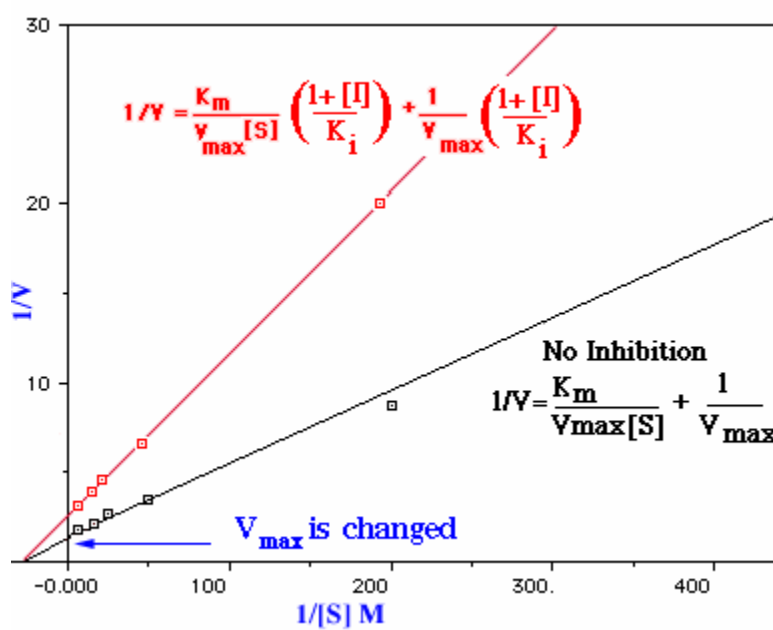
ภาพที่ 15 แสดงภาพจำลองการทำงานของตัวยับยั้งเอนไซม์แบบ competitive

1.2 การยับยั้งไม่แข่งขันแบบ Noncompetitive (Noncompetitive inhibition)

ตัวยับยั้งประเภทนี้ไม่มีอิทธิพลต่อการจับของสารตั้งต้นกับเอนไซม์ ทั้งสารตั้งต้นและตัวยับยั้งสามารถจับกับเอนไซม์ได้โดยไม่มีอิทธิพลต่อกัน ตัวยับยั้งสามารถจับได้ทั้งเอนไซม์อิสระ (E) และสารประกอบเชิงซ้อนเอนไซม์ – สับสเตรต (ES) และสับสเตรตสามารถจับได้ทั้งเอนไซม์อิสระ (E) และสารประกอบเชิงซ้อนเอนไซม์ – ตัวยับยั้ง (EI) แต่สารประกอบเชิงซ้อน ESI ที่เกิดขึ้นไม่สามารถสลายให้ผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการจับของตัวยับยั้งกับเอนไซม์จะทำให้หมู่เร่ง (catalytic group) ไม่อยู่ในตำแหน่งที่เหมาะสมสำหรับการเร่งปฏิกิริยา ปฏิกิริยา การยับยั้งไม่แข่งขันแบบ Noncompetitive เขียนสมการได้ดังนี้



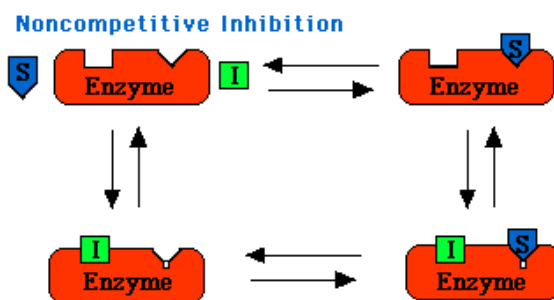
ถ้าเขียนกราฟแบบ Lineweaver – Burk เมื่อมีและไม่มีตัวยับยั้งอยู่ด้วย จะได้ดังนี้



สมการของ Lineweaver – Burk ในขณะที่มีตัวยับยั้งแบบไม่แข่งขันอยู่ด้วย เขียนได้ดังนี้

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[S]} \left[1 + \frac{[I]}{K_i} \right] + \frac{1}{V_{max}} \left[1 + \frac{[I]}{K_i} \right]$$

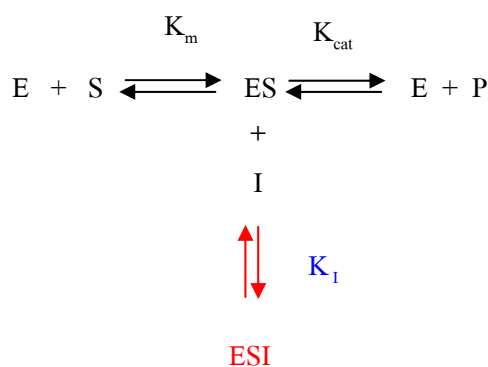
จากกราฟและสมการจะเห็นว่า ค่า K_m จะคงที่ไม่ว่าจะมีตัวยับยั้งอยู่ด้วยหรือไม่ก็ตาม แต่อัตราเร็วสูงสุด (V_{max}) ของปฏิกิริยาจะลดลง แต่ไม่ได้หมายความว่าตัวยับยั้งไปลดค่าอัตราเร็วคงที่ แต่สิ่งที่ลดลงคือระดับความเข้มข้นของ ES ในขณะที่มีตัวยับยั้งแบบไม่แข่งขันแบบ noncompetitive เข้ามาเกี่ยวข้อง



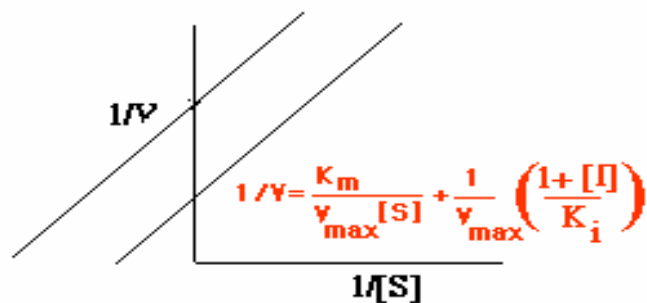
ภาพที่ 16 แสดงภาพจำลองการทำงานของตัวยับยั้งเอนไซม์แบบ noncompetitive

1.3 การยับยั้งไม่แข่งขันแบบ Uncompetitive (Uncompetitive inhibition)

ตัวยับยั้งชนิดนี้จะจับกับสารประกอบเชิงซ้อนเอนไซม์ - สับสเตรต (ES) แบบทวนกลับเกิดเป็น ESI ซึ่งไม่สามารถจะเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ได้ ตัวยับยั้งจะไม่สามารถจับกับเอนไซม์อิสระได้ การจับของสับสเตรตกับเอนไซม์อาจทำให้เอนไซม์เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปจนทำให้ตัวยับยั้งเข้าจับด้วยได้ ตัวยับยั้งชนิดนี้จะไม่แข่งขันกับสับสเตรตในการเข้าจับกับบริเวณ activesite ดังนั้นจึงไม่สามารถลดปริมาณการยับยั้งที่เกิดโดยเพิ่มความเข้มข้นของสับสเตรต อาจเขียนแผนผังของปฏิกิริยาได้ดังนี้



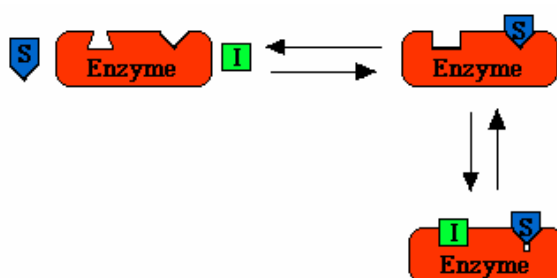
ถ้าเขียนกราฟแบบ Lineweaver – Burk เมื่อมีและไม่มีตัวยับยั้งอยู่ด้วย จะได้ดังนี้



สมการของ Lineweaver – Burk ในกรณีที่ตัวยับยั้งแบบไม่แข่งขันอยู่ด้วย เขียนได้ดังนี้

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \left[1 + \frac{[I]}{K_i} \right]$$

จากกราฟและสมการจะเห็นว่าตัวยับยั้งแบบ uncompetitive จะลดค่า $V_{\max}$ และ K_m ลงเป็นปริมาณเท่ากัน และถ้าความเข้มข้นของตัวยับยั้งมีค่าเท่ากับ K_i จะทำให้ค่า $V_{\max}$ และ K_m ลดลงครึ่งหนึ่ง



ภาพที่ 17 แสดงภาพจำลองการทำงานของตัวยับยั้งเอนไซม์แบบ uncompetitive

7. ค่า K_m และ ค่า V_{max}

K_m หรือ Michaelis – Menten Constant หมายถึง การจับรวมตัวระหว่างโมเลกุลของ สับสเตรตกับเอนไซม์เพื่อเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ES มีค่าเท่ากับ $1/K_{eq}$ กล่าวคือในกรณีที่ค่า K_m ต่ำ ค่า K_{eq} จะสูง ปฏิกิริยาจะดำเนินไปได้ดี ดังนั้นเอนไซม์ที่มีค่า K_m ต่ำ สับสเตรตต่ำแสดงว่า สับสเตรตนั้นเป็นสับสเตรตที่แท้จริงของเอนไซม์นั้น ๆ

V_{max} ของปฏิกิริยาเอนไซม์ หมายถึง อัตราเร็วสูงสุดของปฏิกิริยาซึ่งเกิดขึ้นเมื่อทุกโมเลกุลของเอนไซม์ทำงานหมด ดังนั้นเราสามารถหาค่า V_{max} ในการบอกความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ได้ และเนื่องจากค่า V_{max} แปรผันตรงกับปริมาณของเอนไซม์เราจึงใช้ค่านี้เป็นตัวบอกถึงปริมาณของเอนไซม์ในปฏิกิริยาได้อีกด้วย

นอกจากนี้ลักษณะของการเปลี่ยนแปลงค่า K_m และ V_{max} ของปฏิกิริยาเอนไซม์ที่เกิดจากผลของตัวยับยั้ง (inhibitor) ยังใช้บอกชนิดของตัวยับยั้งหรือรูปแบบของกระบวนการยับยั้งได้ด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เลี้ยงยุง
 - ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* L.)
 - น้ำผึ้งและวิตามิน
 - กรงเลี้ยงยุง
 - โอ่งดินขนาดเล็กสำหรับให้ยุงวางไข่
2. หัวเห็ดหมู เหง้าวงช้าง และเมล็ดมันแกว
3. หนูแฮมเตอร์
4. อาหารเลี้ยงหมู (อาหารลูกน้ำยุง)
5. อาหารเลี้ยงหนูแฮมเตอร์
6. ปลาสด
7. ผึ้งโพรง
8. อุปกรณ์สำหรับการทดลอง
 - กล่องพลาสติก
 - ปีเปต ขนาด 1 มิลลิลิตร
 - บิวเรตต์
 - ขวดแก้วใส่สารเคมี
 - แท่งแก้วคนสาร
 - ขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 มิลลิลิตร
 - ขวดบีโอดี ขนาด 300 มิลลิลิตร
 - กระบอกตวง ขนาด 10 , 100 และ 500 มิลลิลิตร
 - ปีกเกอร์ ขนาด 50 , 100 และ 200 มิลลิลิตร
 - กรวยกรองขนาดเล็ก
 - โกร่งบด
 - Plate ใส่สาร
 - ขวดสีชาขนาด 500 มิลลิลิตร

- กล้องโฟมใส่น้ำแข็ง
- น้ำกลั่น
- น้ำแข็ง
- ผ้าขาวบาง
- สำลี
- ปากคืบ
- ถังมือ
- ผ้าปิดจมูก
- กระดาษทิชชู
- Label paper

- Parafilm

9. เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

- ตู้เย็นปรับอุณหภูมิ
- pH meter
- เครื่องปั่นละเอียด
- Refrigerated high speed centrifuge (Hettich – Universal 16R)
- Rotary evaporator
- Soxhlet extractor
- Pasture pipette
- Micropipette tip ขนาด 1,100 และ 1,000 ไมโครลิตร
- Microtube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- Quatze cuvelt
- Freeze dry (Heto – FD3)
- Refrigerator (4 °C)
- Spectrophotometer and Printer (Perkin Elmer – Lamda 25) พร้อมโปรแกรม

Winlab

- Vacuum pump

10. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- alcohol 95%
- Sodium carbonate
- Potassium phosphate buffer
- Polyvinyl polypyrrolidone (PVPP)
- Ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA)
- Glutathione reduced form
- Paranitrophenol acetate (PNPA)
- Sodium hydroxide
- Hydrochloric acid
- Standard Esterase (E.C.3.1.1.1) from Porcine Liver, Sigma Chemical Product
- Standard Glutathione – S - transferase (E.C.2.5.1.18) from Porcine Liver, Sigma

Chemical Product

- Copper sulphate
- Follin- Ciocalteu reagent
- Potassium Tartrate
- Dichloronitrobenzene (DCNB)
- Chlorodinitrobenzene (CDNB)

วิธีการ

1. การเลี้ยงยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* (L.))

การเลี้ยงยุงลายบ้านในห้องปฏิบัติการสำหรับการทดลอง โดยนำไข่ยุงลายบ้านจาก กองควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลง อำเภอมะนัง จังหวัดสระบุรี สังกัดกรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข มาลอยในน้ำที่ผ่านการกรองแล้วประมาณ 5 – 10 นาที จะได้ ลูกน้ำยุงลายระยะวัย 1 หลังจากนั้นเลี้ยงลูกน้ำยุงลายโดยใช้อาหารหมูปดพอละเอียด (บดให้เป็น ก้อนเล็ก ๆ) โดยให้อาหารวันละ 1 ครั้ง เปลี่ยนน้ำสัปดาห์ละ 2 – 3 ครั้ง เพื่อป้องกันน้ำเน่าเสีย เมื่อลูกน้ำยุงลายเจริญถึงระยะตัวมอด (pupa) จึงนำมาเลี้ยงในกรงเลี้ยงยุงจนได้ระยะตัวเต็มวัย เมื่อได้อายุประมาณ 2 – 3 วันให้อาหาร 2 ชนิด คือ น้ำหวานสำหรับยุงตัวผู้และยุงตัวเมียและให้อาหารโดยใช้หนูแฮมเตอร์ใส่ในกระบอกที่เป็นตะแกรงลวดเพื่อให้หนูอยู่นิ่ง ยุงตัวเมียจะดูดเลือดของหนูแฮมเตอร์เพื่อเป็นอาหาร ให้เลือดทุกวันประมาณครั้งละ 1 ชั่วโมง โดยให้ในช่วงเวลา 9.00 – 10.00 น. ซึ่งเป็นเวลาที่ยุงลายออกหาอาหาร (อุษาวดี, 2545) ยุงจะใช้เวลาในการย่อยเลือด และพัฒนาไข่ประมาณ 36 ชั่วโมง ต่อมาจึงผสมพันธุ์และวางไข่ (Yasuna and Tonn, 1970) หลังจากที่ได้ไข่ยุงลายแล้วนำมาลอยในน้ำที่ผ่านการกรอง เพื่อที่จะได้ลูกน้ำยุงลาย และเลี้ยงต่อจนกระทั่งได้ลูกน้ำยุงลายระยะวัย 1 ถึงระยะวัย 4 ตอนต้น ซึ่งจะนำไปใช้ในการทดสอบกับสารสกัดจากพืช 3 ชนิด คือ ห้วหญ้าเหี่ยวหมู หญ้าวงช้าง และเมล็ดมันแกว โดยใช้วิธี soxhlet extraction โดยมีแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย



A



B

ภาพที่ 18 แสดงการเลี้ยงลูกน้ำยุงลายและการเลี้ยงยุงลายตัวเต็มวัย

A การเลี้ยงลูกน้ำยุงลาย

B การเลี้ยงยุงลายตัวเต็มวัย

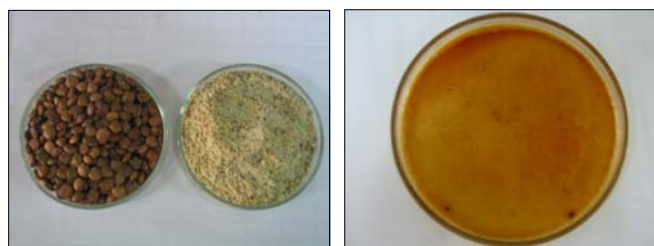
2. การเตรียมสารสกัดหยาบจากหญ้าเหี่ยวห่ม หญ้าวงช้าง และเมล็ดมันแกว

การสกัดหญ้าเหี่ยวห่มโดยวิธีการสกัดแบบ soxhlet (สุรพล, 2546) โดยนำหญ้าเหี่ยวห่มมาบดละเอียด จากนั้นชั่งน้ำหนักหญ้าเหี่ยวห่มที่บดได้จำนวน 80 กรัม ใส่รังไหมแล้วนำมาสกัดโดยวิธี soxhlet extraction โดยใช้ ethyl alcohol 95 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 300 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลายที่อุณหภูมิ 70 – 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง สารสกัดที่ได้แต่ละครั้งจะนำมารวมกันแล้วนำเข้าเครื่อง evaporator ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำมาทำให้แห้ง

แล้วเก็บสารที่ได้ไว้สำหรับการทดลอง ส่วนการสกัดสารจากหญ้างวงช้าง และเมล็ดมันแกว ทำเช่นเดียวกับการสกัดหัวหญ้าเหี่ยวหมู



A



B



C

ภาพที่ 19 แสดงลักษณะของพืชและสารสกัดหยาบที่ได้จากพืชชนิดต่าง ๆ ดังนี้

- A หญ้างวงช้างและสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง
- B เมล็ดมันแกวและสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว
- C หัวหญ้าเหี่ยวหมูและสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู



A



B



C



D

ภาพที่ 20 แสดงอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสารและสารสกัดหยาบจากพืช ดังนี้

A การสกัดสารโดยวิธี soxhlet

B เครื่อง Rotary evaporator

C เครื่อง freeze dry

D สารสกัดหยาบที่สกัดได้จากชาไปขวา คือ หัวหญ้าเหี่ยวหมู, หญ้าวงช้าง และ
เมล็ดมันแกว

3. การทดลองหาอัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย

การทดลองหาอัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย (*Aedes aegypti* (L.)) โดยใช้สารสกัดจากพืชที่สกัดได้ การทดลองได้วางแผนการทดลองแบบ completely randomized designs จำนวน 6 กลุ่มการทดลอง รวมชุดควบคุม ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้ลูกน้ำยุงลาย 30 ตัว ซึ่งมีสารสกัดแต่ละชุดจากพืชทั้ง 3 ชนิด ดังนี้

3.1 สารสกัดจากหัวหญ้าเหี่ยวห่ม ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อน้ำรวมทั้งหมดปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ซึ่งมีดังต่อไปนี้

- | | |
|----------------|---|
| T ₁ | กลุ่มควบคุมไม่มีส่วนผสมของสารสกัดและตัวทำลาย |
| T ₂ | กลุ่มควบคุม ไม่มีการใส่สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวห่ม แต่เลี้ยงลูกน้ำยุงลายในน้ำที่ผสม 1 เปอร์เซ็นต์ของตัวทำลาย |
| T ₃ | ลูกน้ำยุงลายได้รับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวห่ม 4 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร |
| T ₄ | ลูกน้ำยุงลายได้รับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวห่ม 8 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร |
| T ₅ | ลูกน้ำยุงลายได้รับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวห่ม 12 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร |
| T ₆ | ลูกน้ำยุงลายได้รับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวห่ม 16 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร |

3.2 สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อน้ำรวมทั้งหมดปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ซึ่งมีดังต่อไปนี้

T ₁	กลุ่มควบคุม ไม่มีส่วนผสมของสารสกัดและตัวทำละลาย
T ₂	กลุ่มควบคุม ไม่มีการใส่สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว แต่เลี้ยงลูกน้ำขุกลงในน้ำที่ผสม 1 เปอร์เซ็นต์ของตัวทำละลาย
T ₃	ลูกน้ำขุกลงได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร
T ₄	ลูกน้ำขุกลงได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว 0.10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร
T ₅	ลูกน้ำขุกลงได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว 0.15 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร
T ₆	ลูกน้ำขุกลงได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว 0.20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร

3.3 สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อน้ำรวมทั้งหมดปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ซึ่งมีดังต่อไปนี้

T ₁	กลุ่มควบคุม ไม่มีส่วนผสมของสารสกัดและตัวทำละลาย
T ₂	กลุ่มควบคุม ไม่มีการใส่สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง แต่เลี้ยงลูกน้ำขุกลงในน้ำที่ผสม 1 เปอร์เซ็นต์ของตัวทำละลาย
T ₃	ลูกน้ำขุกลงได้รับสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร
T ₄	ลูกน้ำขุกลงได้รับสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง 20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร
T ₅	ลูกน้ำขุกลงได้รับสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง 30 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร
T ₆	ลูกน้ำขุกลงได้รับสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง 40 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร

หลังจากนั้นทำการนับจำนวนลูกน้ำยุงลายที่ตายที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง แล้วหาอัตราการตายของยุงลายที่ LC_{50} โดยใช้วิธี Abbott's Formula (Matsumura, 1975) แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยสมการ regression เพื่อหาอัตราการตาย โดยใช้โปรแกรม SPSS ในการคำนวณ



ภาพที่ 21 แสดงวิธีการทดสอบสารสกัดหยาบจากพืชกับลูกน้ำยุงลาย

4. การตรวจสอบระดับการทำงานของเอนไซม์ esterase และ GSH – S - transferase

4.1 การตรวจวัดระดับเอนไซม์ esterase

ใช้วิธี PNPA assay ของ Macknes *et al.* (1983), Visetson *et.al.* (2002) โดยอาศัยหลักการ คือ เอนไซม์ esterase จะเร่งการเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ของสารที่ใช้ paranitrophenyl acetate (PNPA) ไปเป็น paranitrophenol ซึ่งเป็นสารละลายสีเหลือง สำหรับการตรวจวัดจะใช้เครื่อง spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนแสงของ paranitrophenol ที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 400 n

4.2 การตรวจวัดระดับเอนไซม์ GSH – S – transferase

4.2.1 โดยใช้วิธี DCNB assay ของ Booth *et al.* (1961), Visetson *et.al.* (2002) ใช้ความยาวคลื่นที่ 344 นาโนเมตร ตรวจวัดค่าความดูดกลืนแสงของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นซึ่งเกิดจาก dichloronitrobenzene (DCNB) โดยมี glutathione – S – transferase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

4.2.2 โดยใช้วิธี CDNB assays ของ Booth *et. Al*, (1961), Visetson *et.al.*, (2002) ใช้ความยาวคลื่นที่ 344 นาโนเมตร โดยอาศัยหลักการเดียวกันกับวิธี 4.2.1 แต่เปลี่ยนสารตั้งต้นจาก DCNB เป็น CDNB (chlorodinitrobenzene) โดยจะใช้ spectrophotometer เป็นเครื่องมือวัดค่าของการดูดกลืนแสง

การทดลองใช้ลูกน้ำยุงลายที่ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองหาอัตราการตาย โดยกำหนดเวลาที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เลือกเฉพาะลูกน้ำยุงลายที่ยังมีชีวิตมาสกัดเอนไซม์ ตามวิธีการดังนี้

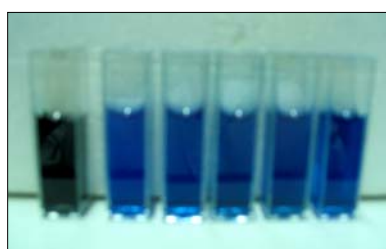
1. นำลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิตในแต่ละชุดการทดลองมาชั่งน้ำหนักแล้วใส่ในโถรงบที่แช่ในน้ำแข็งเพื่อรักษาสภาพเอนไซม์เติมสารละลายผสมระหว่าง phosphate buffer กับ EDTA ที่ pH 7.5 จำนวน 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสมระหว่าง phosphate buffer กับ GSH จำนวน 1 มิลลิลิตร และ 50% ของ PVPP ต่อน้ำหนักลูกน้ำยุงลายที่ชั่งได้
2. บดลูกน้ำยุงลายพร้อมสารละลายดังกล่าวให้ละเอียดกรองสารละลายที่ได้ใส่ microtube นำไปแยกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge ที่ 18,000 rpm ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เก็บสารละลายส่วนที่ใสไว้ในที่เย็น เพื่อวัดอัตราการเกิดปฏิกิริยาต่อไป
3. นำสารละลายจาก microtube มาทดสอบการเกิดปฏิกิริยา โดยใช้ spectrophotometer เป็นเครื่องมือวัดค่าของการดูดกลืนแสง
4. ทำการตรวจสอบปริมาณโปรตีนในลูกน้ำยุงลายซึ่งจะทำให้ทราบปริมาณโปรตีนรวมเพื่อนำมาเปรียบเทียบกับระดับเอนไซม์ที่วัดได้จากการทดลอง หลังจากทีลูกน้ำยุงลายได้รับสารสกัดจากหัวหุ้มหัวหมู หัวกุ้งขี้ไก่และเมล็ดมันแกวจากทุกความเข้มข้น โดยวิธีการของ Bradford



A



B



C

ภาพที่ 22 แสดงวิธีการตรวจสอบการทำงานของเอนไซม์ ดังนี้

- A การบดลูกน้ำยุงลาย , การกรองสารละลายที่บดได้ และการทำให้ตกตะกอน
- B การหาปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยใช้เครื่อง spectrophotometer
- C ลักษณะของสารละลายเพื่อศึกษาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford

5. การทดสอบผลของสารสกัดหยาบหัวหญ้าเหี่ยวหมู หญ้าวงช้าง และเมล็ดมันแกวต่อปลาสด

การทดสอบผลของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่มีต่อปลาสด ทำการทดลองดังนี้

5.1 สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู

1. ทำการทดสอบกับปลาสด (*Xiphophorus helleri heckel*) อายุ 30 – 60 วัน
2. จัดชุดการทดลองจำนวน 6 ชุด โดยใช้ปลาสดจำนวน 10 ตัวต่อชุดการทดลอง ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ
3. นำปลาสดมาทดสอบกับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู โดยใช้ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0 (ชุดควบคุมที่มีตัวทำละลาย), 3, 6, 9 และ 12 % ตามลำดับ โดยใช้ปริมาณสารสกัด 10 มิลลิตรต่อน้ำ 5,000 มิลลิตรที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงธรรมชาติและให้อาหารเม็ดแก่ปลา
4. ตรวจสอบการตายที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง
5. นำเปอร์เซ็นต์การตายไปวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นพิษของสารสกัดต่อปลาสด

5.2 สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

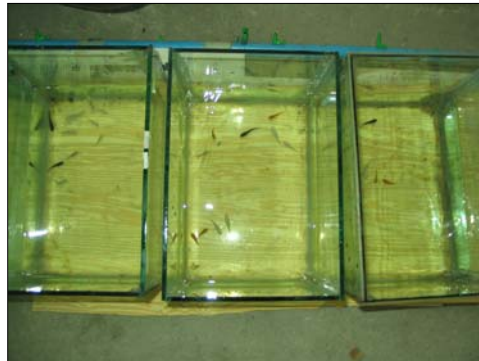
1. ทำการทดสอบกับปลาสด (*Xiphophorus helleri heckel*) อายุ 30 – 60 วัน
2. จัดชุดการทดลองจำนวน 6 ชุด โดยใช้ปลาสดจำนวน 10 ตัวต่อชุดการทดลอง ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ
3. นำปลาสดมาทดสอบกับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว โดยใช้ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0 (ชุดควบคุมที่มีตัวทำละลาย), 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20 % ตามลำดับโดยใช้ปริมาณสารสกัด 300 ไมโครลิตร ต่อน้ำ 5,000 มิลลิตรที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงธรรมชาติและให้อาหารเม็ดแก่ปลา
4. ตรวจสอบการตายที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง
5. นำเปอร์เซ็นต์การตายไปวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นพิษของสารสกัดต่อปลาสด

5.3 สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง

1. ทำการทดสอบกับปลาสด (*Xiphophorus helleri heckel*) อายุ 30 – 60 วัน
2. จัดชุดการทดลองจำนวน 6 ชุด โดยใช้ปลาสดจำนวน 10 ตัวต่อชุดการทดลอง ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ
3. นำปลาสดมาทดสอบกับสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างโดยใช้ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0 (ชุดควบคุมที่มีตัวทำละลาย), 5, 10, 15 และ 20 % ตามลำดับโดยใช้ปริมาณสารสกัด 10 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 5,000 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้อาหารเม็ดแก่ปลา
4. ตรวจสอบการตายที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง
5. นำเปอร์เซ็นต์การตายไปวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นพิษของสารสกัดต่อปลาสด



A



B

ภาพที่ 23 แสดงการทดสอบสารสกัดหยาบต่อปลาสด (*Xiphophorus helleri heckel*)

- A ปลาสดที่เลี้ยงเพื่อปรับสภาพ
- B ทดสอบกับสารสกัดหยาบชนิดต่าง ๆ

6. การทดสอบผลของสารสกัดหยาบหัวหญ้าเหี่ยวห่ม หญ้าวงช้าง และเมล็ดมันแกวต่อผึ้งโพรง

การทดสอบค่าความเป็นพิษ LC_{50} ของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่มีต่อผึ้งโพรง ทำการทดลอง ดังนี้

6.1 สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวห่ม

1. ทำการทดสอบกับตัวเต็มวัยของผึ้งโพรง (*Apis cerana*)
2. จัดชุดการทดลองจำนวน 6 ชุด โดยใช้ผึ้งโพรงจำนวน 10 ตัวต่อชุดการทดลอง ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ
3. นำผึ้งงานของผึ้งโพรงมาทดสอบเพื่อหาค่าความเป็นพิษกับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวห่ม โดยใช้ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0 (ชุดควบคุมที่มีตัวทำลาย), 1, 2, 3 และ 4 % โดยวิธีการฉีดพ่นสารสกัดปริมาตร 300 ไมโครลิตร ต่อผึ้ง 10 ตัว
4. ตรวจสอบการตายที่เวลา 4, 8, 12 และ 16 ชั่วโมง
5. นำเปอร์เซ็นต์การตายไปวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นพิษของสารสกัดที่มีต่อผึ้งโพรง

6.2 สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

1. ทำการทดสอบกับตัวเต็มวัยของผึ้งโพรง (*Apis cerana*)
2. จัดชุดการทดลองจำนวน 6 ชุด โดยใช้ผึ้งโพรงจำนวน 10 ตัวต่อชุดการทดลอง ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ
3. นำผึ้งงานของผึ้งโพรง มาทดสอบเพื่อหาค่าความเป็นพิษกับสารสกัดหยาบจากเมล็ด มันแกว ซึ่งใช้ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0 (ชุดควบคุมที่มีตัวทำลาย), 1, 2, 3 และ 4 % โดยวิธีการฉีดพ่นสารสกัดปริมาตร 300 ไมโครลิตร ต่อผึ้ง 10 ตัว
4. ตรวจสอบการตายที่เวลา 4, 8, 12 และ 16 ชั่วโมง
5. นำเปอร์เซ็นต์การตายไปวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นพิษของสารสกัดที่มีต่อผึ้งโพรง

6.3 สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง

1. ทำการทดสอบกับตัวเต็มวัยของผึ้งโพรง (*Apis cerana*)
2. จัดชุดการทดลองจำนวน 6 ชุด โดยใช้ผึ้งโพรงจำนวน 10 ตัวต่อชุดการทดลอง ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ
3. นำฝั่งงานของผึ้งโพรง มาทดสอบเพื่อหาค่าความเป็นพิษกับสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง โดยใช้ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0 (ชุดควบคุมที่มีตัวทำละลาย), 1, 2, 3 และ 4 % โดยวิธีการฉีดพ่นสารสกัดปริมาตร 300 ไมโครลิตร ต่อฝั่ง 10 ตัว
4. ตรวจสอบการตายที่เวลา 4, 8, 12 และ 16 ชั่วโมง
5. นำเปอร์เซ็นต์การตายไปวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นพิษของสารสกัดที่มีต่อผึ้งโพรง



A



B

ภาพที่ 24 แสดงการทดสอบสารสกัดหยาบจากพืชต่อผึ้งโพรง (*Apis cerana*)

A แสดงวิธีการจับผึ้งโพรง

B ทดสอบสารสกัดโดยวิธีการฉีดพ่น

7. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำ หลังจากมีการใช้สารสกัดหยาบทั้งสามชนิด

7.1 การวัดค่าความเป็นกรด – เบส (pH) ด้วยเครื่อง pH meter

7.1.1 ล้างอิเล็กโทรดให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น ซับให้แห้ง

7.1.2 ปรับเครื่องมือให้ได้มาตรฐานโดยใช้สารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนต และโพแทสเซียมฟอสเฟต ปรับค่ามาตรฐาน จนเครื่องมืออ่านค่าได้ถูกต้องแม่นยำ (ตามวิธีการในคู่มือ)

7.1.3 ทำการวัด pH ของตัวอย่างน้ำ ซึ่งได้ทำการปรับอุณหภูมิให้ใกล้เคียงกับอุณหภูมิของสารละลายมาตรฐานแล้ว

7.1.4 อ่านค่าและบันทึกผลที่ได้

7.2 หาปริมาณของออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved Oxygen, DO)

7.2.1 เก็บน้ำตัวอย่างใส่ขวดบีโอดีขนาด 300 มิลลิลิตร จนเต็ม ปิดฝาให้สนิทเพื่อป้องกันอากาศเข้า

7.2.2 นำไปวัดค่า DO โดยใช้เครื่อง DO meter ก่อนใช้ล้างอิเล็กโทรดให้สะอาดด้วย น้ำกลั่นและซับให้แห้ง

7.2.3 ทำการวัดค่า DO ของตัวอย่างน้ำ

7.2.4 อ่านค่าและบันทึกผลที่ได้



ภาพที่ 25 แสดงเครื่องมือที่ใช้วัดค่า DO และวัดค่า pH (จากซ้ายไปขวา)

8. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1. สถิติพรรณนา (Descriptive statistics) เช่น การคำนวณค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2. สถิติวิเคราะห์ (Analysis statistics)

- คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง โดยวิธี Abbott's formular เพื่อนำค่ามา plot graph ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละชนิดต่อเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลาย หลังจากได้รับสารสกัดแล้วหาค่า LC_{50} ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ลูกน้ำยุงลายตาย หลังจากได้รับสารสกัด 50%

- สถิติวิเคราะห์ความแปรปรวน (Covariance) ทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยตรวจสอบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT (Duncan's New Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SPSS

9. สถานที่ทำการทดลอง

สถานที่ทำการวิจัย

- ภาควิชาสัตววิทยา บริเวณศาลาลอยชั้น 3 ห้อง 4/6 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน
- ห้องปฏิบัติการกลางภาควิชาสัตววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน
- บ้านสวนของผู้ทำการวิจัย จังหวัดสระบุรี

10. ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทำการวิจัยตั้งแต่เดือนมีนาคม 2547 ถึงเดือนธันวาคม 2548 รวมระยะเวลาทำการทดลอง 21 เดือน

ผลการทดลอง

1. ผลของสารสกัดหยาบจากพืชต่ออัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย

1.1 ผลของสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูต่ออัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย

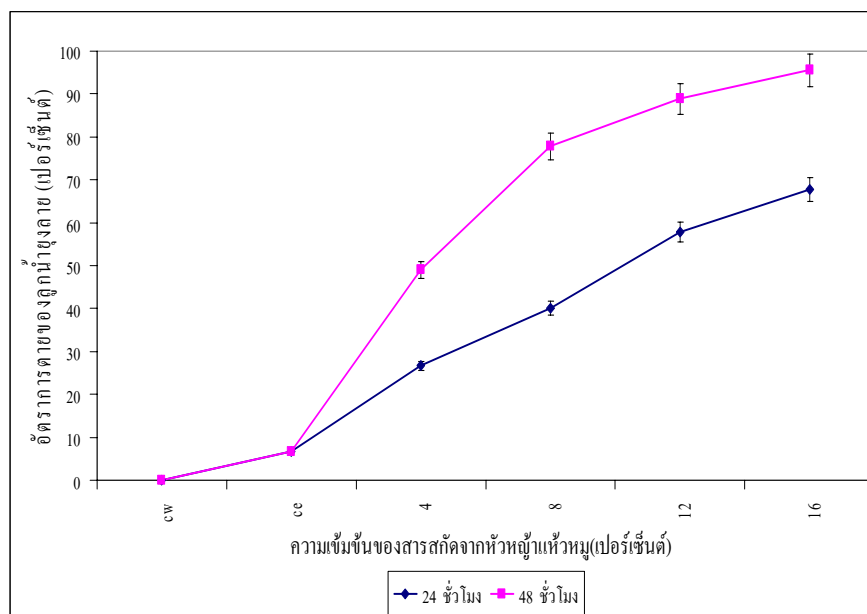
เมื่อนำสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูที่สกัดด้วยวิธี soxhlet extraction โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ปรากฏว่ามีประสิทธิภาพในการนำมาทดลองเพื่อหาอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายที่ 24 และ 48 ชั่วโมง โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูเท่ากับ 0, 0.4, 0.8, 1.2 และ 1.6 % w/v ได้ผลอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0, 6.67, 26.67, 40, 57.78 และ 67.78 % w/v ตามลำดับ และเมื่อใช้ระยะเวลาเป็น 48 ชั่วโมง อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายเพิ่มขึ้นเป็น 0, 6.67, 49.0, 77.78, 88.90 และ 95.56 % w/v ตามลำดับ

ตารางที่ 2 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการได้รับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูที่มีความเข้มข้นต่างกัน ในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

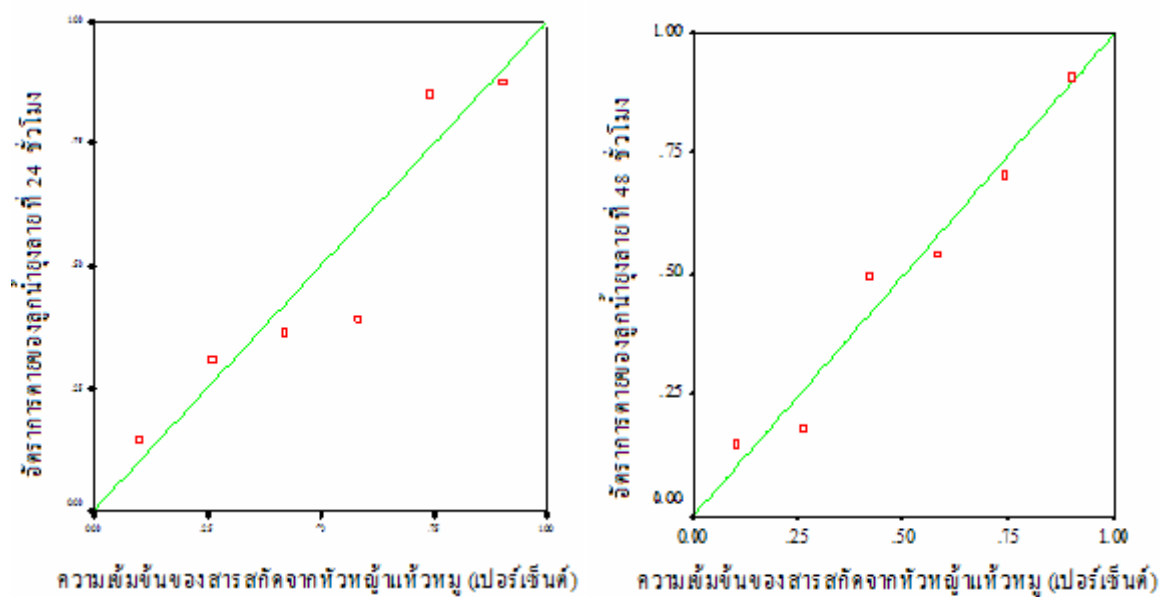
ความเข้มข้นของ				
สารสกัดหยาบจาก หัวหญ้าเหี่ยวหมู (% w/v)	จำนวนลูกน้ำ ทั้งหมด	จำนวนซ้ำของการ ทดลอง	อัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย (% w/v)	
			24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
0 ⁽¹⁾	90	3	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a
0 ⁽²⁾	90	3	6.67 $\pm$ 3.33 ^a	6.67 $\pm$ 3.33 ^a
4	90	3	26.67 $\pm$ 6.94 ^b	49.00 $\pm$ 1.11 ^b
8	90	3	40.00 $\pm$ 8.39 ^b	77.78 $\pm$ 5.89 ^c
12	90	3	57.78 $\pm$ 4.00 ^c	88.90 $\pm$ 2.22 ^d
16	90	3	67.78 $\pm$ 2.22 ^c	95.56 $\pm$ 2.94 ^d

หมายเหตุ ⁽¹⁾ ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

⁽²⁾ ชุดควบคุม (95% เอทิลแอลกอฮอล์)



A



B

ภาพที่ 26 แสดงกราฟอัตราการคายของลูกน้ำยุงลาย จากการให้สารสกัดหยาบจากหัวเหว้าแห้ง

A แสดงอัตราการคายของลูกน้ำยุงลาย

B แสดงกราฟจากสมการ regression ของอัตราการคาย ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ได้ตัวทำละลายเอทานอล

ผลของสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู่ต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ของลูกน้ำยุงลาย จากการให้สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู่เป็นช่วงเวลา 24 ชั่วโมง หาค่าสมการ regression ได้เท่ากับ $y = 5.7 + 4.12 x$ แทนค่า y เป็นเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50 จะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 10.75 % w/v และเมื่อใช้ช่วงระยะเวลา 48 ชั่วโมง ค่าสมการ regression คือ $y = 12.53 + 6.07 x$ ดังนั้นจะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 6.17 % w/v

ตารางที่ 3 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายที่ 50 เปอร์เซ็นต์โดยใช้สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู่ พร้อมกับค่าของสมการ regression เปรียบเทียบกันในช่วงระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	สมการ regression ⁽¹⁾	LC_{50} ⁽²⁾	r ⁽³⁾	r^2 ⁽⁴⁾
24	$y = 5.70 + 4.12 x$	10.75	.990	.979
48	$y = 12.53 + 6.07 x$	6.17	.951	.905

⁽¹⁾ สมการ regression เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลายหลังจากให้สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู่

X = เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู่ที่มี 95% เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

Y = เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลาย

⁽²⁾ LC_{50} = The median lethal concentration

⁽³⁾ r = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient) ของเปอร์เซ็นต์การตาย

⁽⁴⁾ r^2 = ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient Determination) ของเปอร์เซ็นต์การตาย

1.2 ผลของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวต่ออัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย

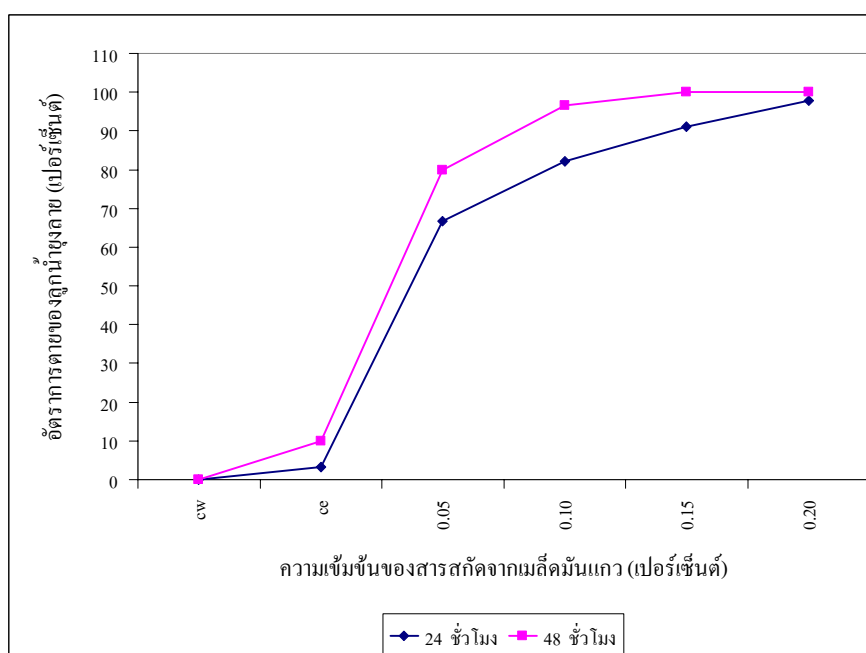
เมื่อนำสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวที่สกัดด้วยวิธี soxhlet extraction โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายนั้น ปรากฏว่ามีประสิทธิภาพในการนำมาทดลองเพื่อหาอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายที่ช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวเท่ากับ 0, 0, 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20 % w/v ได้ผลอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายที่ 24 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 0, 3.33, 66.67, 82.22, 91.11 และ 97.78 % w/v ตามลำดับ และเมื่อใช้ช่วงระยะเวลาเป็น 48 ชั่วโมง อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายเพิ่มขึ้นเป็น 0, 10.00, 80.00, 96.67, 100 และ 100 % w/v ตามลำดับ

ตารางที่ 4 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวที่มีความเข้มข้นต่างกัน ในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

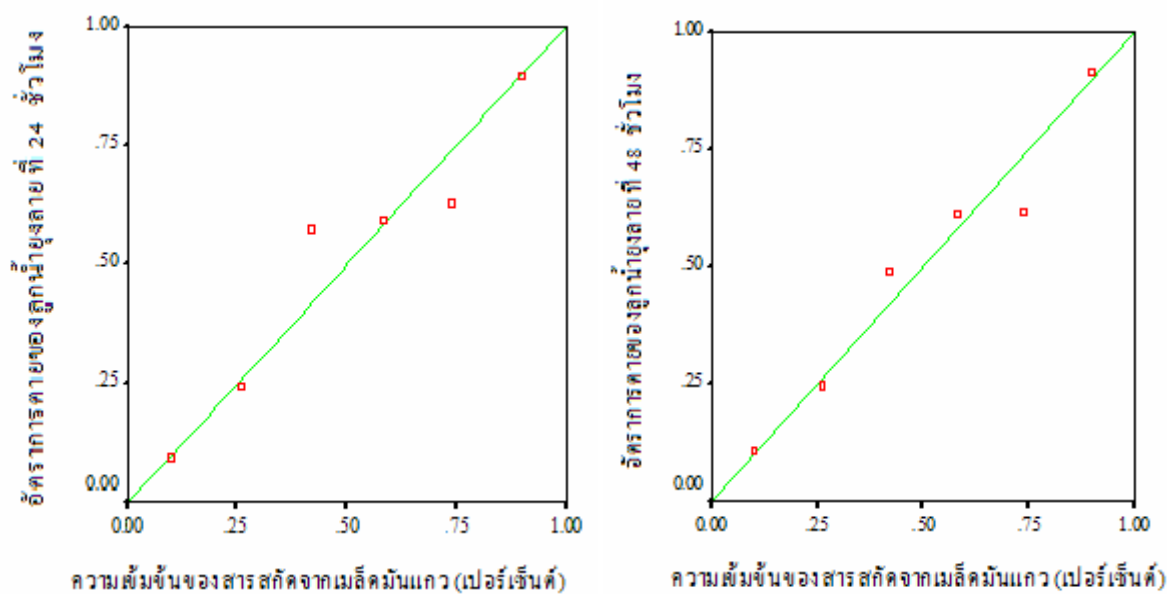
ความเข้มข้นของ สารสกัดหยาบจาก เมล็ดมันแกว (% w/v)	จำนวนลูกน้ำ ทั้งหมด	จำนวนซ้ำของ การทดลอง	อัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย (%w/v)	
			24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
0 ⁽¹⁾	90	3	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a
0 ⁽²⁾	90	3	3.33 $\pm$ 3.33 ^a	10.00 $\pm$ 5.09 ^b
0.05	90	3	66.67 $\pm$ 10.18 ^b	80.00 $\pm$ 3.85 ^c
0.10	90	3	82.22 $\pm$ 5.88 ^{bc}	96.67 $\pm$ 3.33 ^d
0.15	90	3	91.11 $\pm$ 4.00 ^c	100.00 $\pm$ 0.00 ^d
0.20	90	3	97.78 $\pm$ 1.11 ^c	100.00 $\pm$ 0.00 ^d

หมายเหตุ ⁽¹⁾ ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

⁽²⁾ ชุดควบคุม (95% เอทิลแอลกอฮอล์)



A



B

ภาพที่ 27 แสดงกราฟอัตราการคายของลูกน้ำยุงลายจากการให้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

A แสดงอัตราการคายของลูกน้ำยุงลาย

B แสดงกราฟจากสมการ regression ของอัตราการคาย ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลายเอทานอล

ผลของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซนต์ (LC_{50}) ของลูกน้ำยุงลาย จากการให้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หาค่าสมการ regression ได้เท่ากับ $y = 15.971 + 490.565 x$ แทนค่า y เป็นเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50 จะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 0.07 % w/v และเมื่อใช้ระยะเวลา 48 ชั่วโมง ค่าสมการ regression คือ $y = 23.334 + 493.335 x$ ดังนั้นจะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 0.05 % w/v

ตารางที่ 5 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายที่ 50 เปอร์เซนต์ โดยใช้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว พร้อมกับค่าของสมการ regression เปรียบเทียบกันในช่วงระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	สมการ regression ⁽¹⁾	LC_{50} ⁽²⁾	r ⁽³⁾	r^2 ⁽⁴⁾
24	$Y = 15.971 + 490.565 x$	0.07	.910	.828
48	$Y = 23.334 + 493.335 x$	0.05	.826	.743

⁽¹⁾ สมการ regression ของเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลาย หลังจากให้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

X = เปอร์เซนต์ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวที่มี 95% เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

Y = เปอร์เซนต์การตาย

⁽²⁾ LC_{50} = The median lethal concentration

⁽³⁾ r = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient) ของเปอร์เซ็นต์การตาย

⁽⁴⁾ r^2 = ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient Determination) ของเปอร์เซ็นต์การตาย

1.3 ผลของสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างต่ออัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย

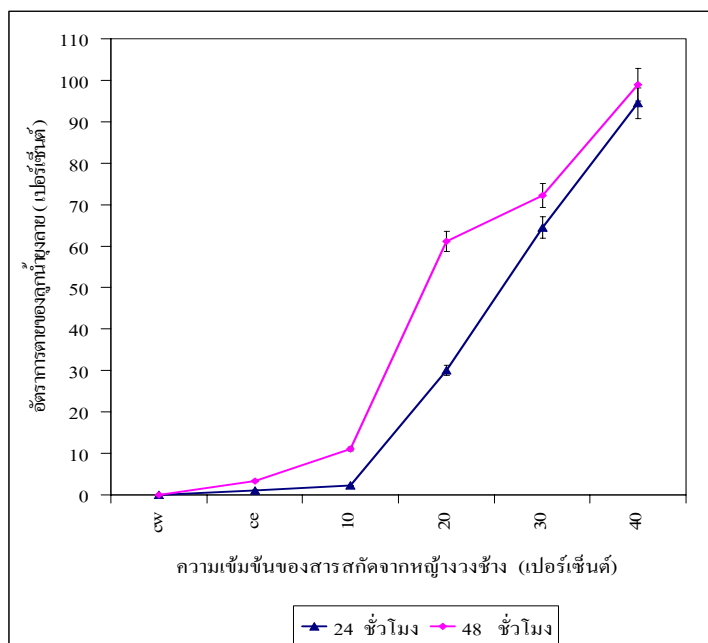
เมื่อนำสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างที่สกัดด้วยวิธี soxhlet extraction โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายนั้น ปรากฏว่ามีประสิทธิภาพในการนำมาทดลองเพื่อหาอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายในช่วงเวลาที่ 24 และ 48 ชั่วโมง โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง เท่ากับ 0, 0, 10, 20, 30 และ 40 % w/v ได้ผลอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0, 1.11, 2.22, 30.00, 64.44 และ 94.45 % w/v ตามลำดับ และเมื่อใช้ช่วงเวลาที่ 48 ชั่วโมง อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายเพิ่มขึ้นเป็น 0, 3.33, 11.11, 61.11, 72.22 และ 98.89 % w/v ตามลำดับ

ตารางที่ 6 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการได้รับสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างที่มีความเข้มข้นต่างกัน ในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

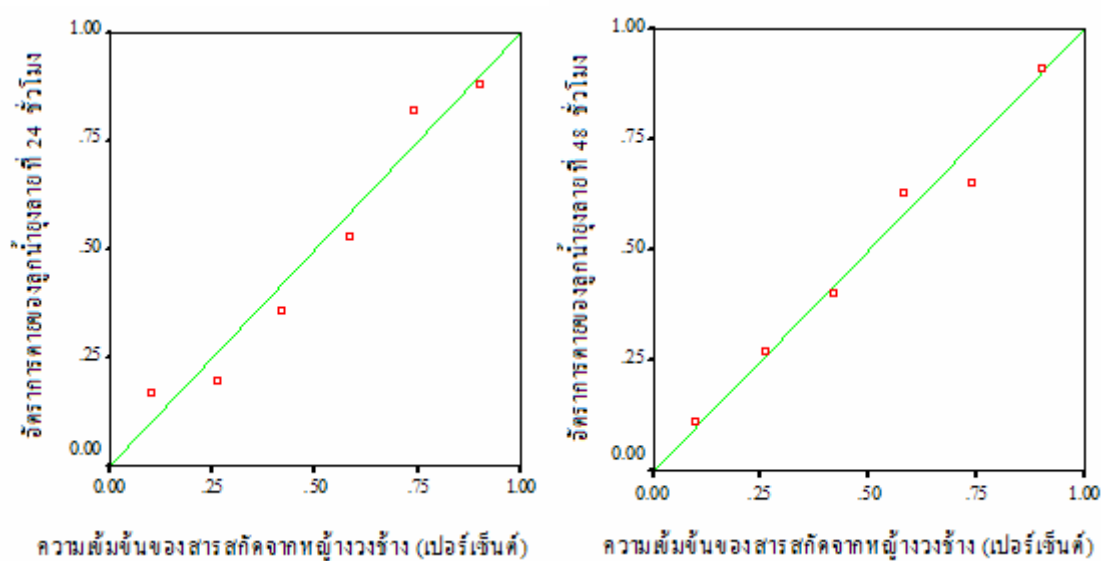
ความเข้มข้นของ สารสกัดหยาบ จากหญ้างวงช้าง (% w/v)	จำนวนลูกน้ำ ทั้งหมด	จำนวนซ้ำของ การทดลอง	อัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย (%w/v)	
			24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
0 ⁽¹⁾	90	3	0.00 $\pm$ 0.0 ^a	0.00 $\pm$ 0.0 ^a
0 ⁽²⁾	90	3	1.11 $\pm$ 1.11 ^a	3.33 $\pm$ 1.93 ^a
10	90	3	2.22 $\pm$ 2.22 ^a	11.11 $\pm$ 2.94 ^a
20	90	3	30.00 $\pm$ 3.33 ^b	61.11 $\pm$ 9.10 ^b
30	90	3	64.44 $\pm$ 9.87 ^c	72.22 $\pm$ 10.94 ^b
40	90	3	94.45 $\pm$ 2.22 ^d	98.89 $\pm$ 1.11 ^c

หมายเหตุ ⁽¹⁾ ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

⁽²⁾ ชุดควบคุม (95% เอทิลแอลกอฮอล์)



A



B

ภาพที่ 28 แสดงกราฟอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายจากการให้สารสกัดหยาบจากหญ้าวงช้าง

A แสดงอัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย

B แสดงกราฟจากสมการ regression ของอัตราการตาย ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ได้ตัวทำละลายเอทานอล

ผลของสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซนต์ (LC_{50}) ของลูกน้ำ ยุงลาย จากการให้สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างเป็นช่วงเวลา 24 ชั่วโมง หาค่าสมการ regression ได้เท่ากับ $y = -7.085 + 2.347x$ แทนค่า y เป็นเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50 จะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 24.32 % w/v และเมื่อใช้ช่วงระยะเวลา 48 ชั่วโมง ค่าสมการ regression คือ $y = -0.696 + 2.508x$ ดังนั้นจะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 20.21 % w/v

ตารางที่ 7 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายที่ 50 เปอร์เซนต์ โดยใช้สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง พร้อมกับค่าของสมการ regression เปรียบเทียบกันในช่วงระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	สมการ regression ⁽¹⁾	LC_{50} ⁽²⁾	r ⁽³⁾	r^2 ⁽⁴⁾
24	$Y = -7.085 + 2.347x$	24.32	0.969	0.939
48	$Y = -0.696 + 2.508x$	20.21	0.982	0.964

⁽¹⁾ สมการ regression ของเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลาย หลังจากให้สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง

X = เปอร์เซนต์ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างที่มี 95% เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

Y = เปอร์เซนต์การตาย

⁽²⁾ LC_{50} = The median lethal concentration

⁽³⁾ r = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient) ของเปอร์เซ็นต์การตาย

⁽⁴⁾ r^2 = ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient Determination) ของเปอร์เซ็นต์การตาย

2. ผลของสารสกัดหยาบพืชบางชนิดต่อระดับเอนไซม์เอสเทอร์ในลูกน้ำยุงลาย

จากการทดสอบเอนไซม์เอสเทอร์สโดยใช้ PNPA เป็นสับสเตรต ตรวจวัดโดยใช้เครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร ทำให้เกิดสารละลายสีเหลืองซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยา hydrolysis ของสาร paranitrophenyl cetate (PNPA) ไปเป็น paranitrophenol ซึ่งผลของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดเป็นดังต่อไปนี้

2.1 สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู

เนื่องจากสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูซึ่งมีสารสำคัญหลายชนิด เช่น caryophyllene และ rotundone มี essential oils ที่ประกอบด้วย α - Cyperone (4,11 – selinadien – 3 – one) , pinene และ cineol sesquiterpenoids เช่น cyperene และ cyperol ซึ่งสารดังกล่าวมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพืชที่ศึกษาคือ เอสเทอร์สในลูกน้ำยุงลาย ดังนั้นเมื่อทำการศึกษาเอนไซม์ทำลายพืสดังกล่าวโดยนำลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิตจากการทดลองในแต่ละความเข้มข้นพร้อมทั้งชุดควบคุมมาเปรียบเทียบระดับเอนไซม์ว่ามีผลอย่างไร

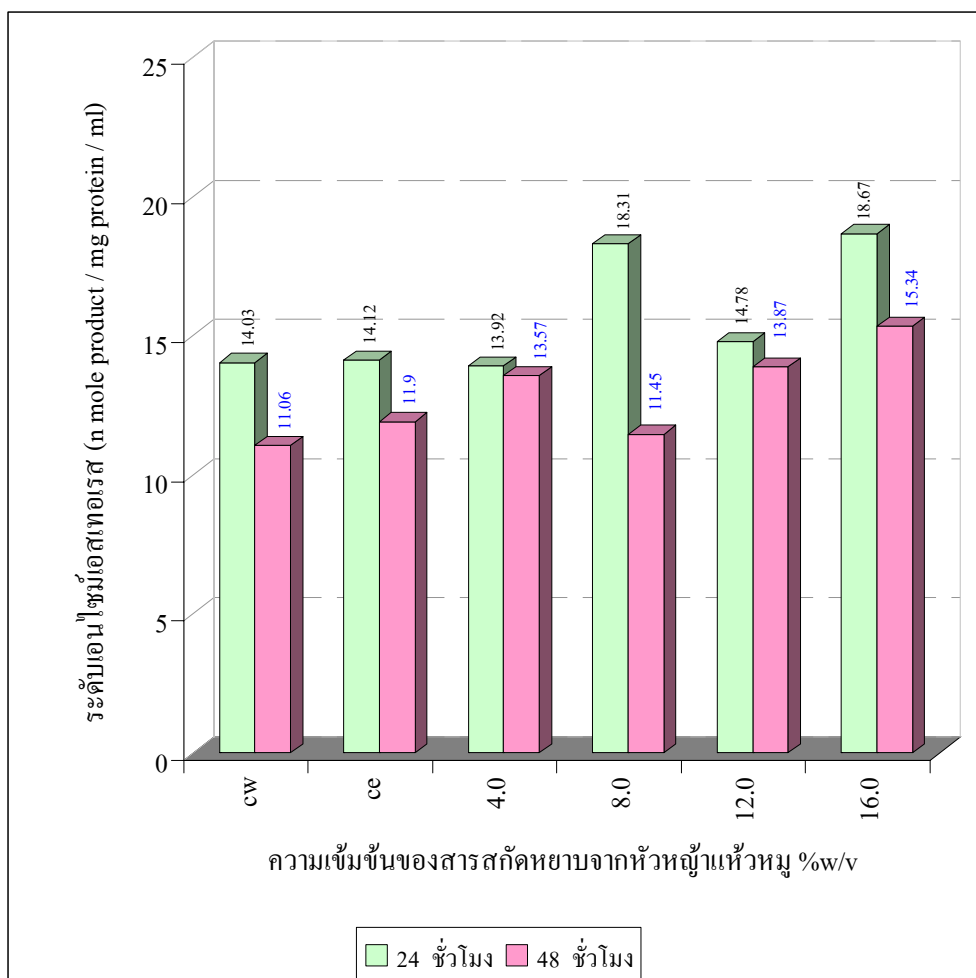
จากการทดลองใช้สารสกัด 6 ชุด คือ ชุดควบคุม , ชุดควบคุมที่ใส่ตัวละลาย , 4 , 8 , 12 และ 16 % w/v ระดับเอนไซม์เอสเทอร์ส ที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 14.03, 14.12, 13.92, 18.31, 14.78 และ 18.67 n mole product/mg protein / ml ตามลำดับ ส่วนที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ค่าของเอนไซม์เอสเทอร์สมีค่าเท่ากับ 11.06, 11.90, 13.57, 11.45, 13.87 และ 15.34 n mole product / mg protein / ml ซึ่งระดับเอนไซม์เอสเทอร์สที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ในกลุ่มชุดควบคุม , ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลายและ 4 % แตกต่างกับความเข้มข้นของสารสกัดที่ 8% และ 16% อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ส่วนระดับเอนไซม์เอสเทอร์สที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ในชุดควบคุม , ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลาย, 4 % , 8 % , 12 % และ 16 % ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ระดับเอนไซม์เอสเทอร์ของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหัวเหว้าเหี่ยวหมูในระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจาก หัวเหว้าเหี่ยวหมู(เปอร์เซ็นต์)	ระดับเอนไซม์เอสเทอร์ ⁽³⁾	
	n mole product / mg protein /ml	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
ควบคุม ⁽¹⁾	14.03 $\pm$ 0.14 ^a	11.06 $\pm$ 0.67 ^a
ควบคุม ⁽²⁾	14.12 $\pm$ 0.66 ^a	11.90 $\pm$ 0.75 ^a
4	13.92 $\pm$ 0.36 ^a	13.57 $\pm$ 0.17 ^a
8	18.31 $\pm$ 0.38 ^b	11.45 $\pm$ 1.76 ^a
12	14.78 $\pm$ 0.66 ^a	13.87 $\pm$ 1.55 ^a
16	18.67 $\pm$ 0.73 ^b	15.34 $\pm$ 1.66 ^a

หมายเหตุ

- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ได้เฉพาะตัวทำลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวดังเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT , P < 0.05)



ภาพที่ 29 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์เอสเทอร์สหลังการให้สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ได้ตัวทำละลายเอทานอล

2.2 สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

เนื่องจากสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวซึ่งมีสารสำคัญหลายชนิด เช่น pachyrrhizin , erosenin erosone , rotenone ซึ่งสารดังกล่าวมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษที่ศึกษาคือ เอสเทอร์สในลูกน้ำยุงลาย ดังนั้นจึงทำการศึกษาเอนไซม์ทำลายพิษดังกล่าว โดยนำลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิตจากการทดลองในแต่ละความเข้มข้นพร้อมทั้งชุดควบคุมมาเปรียบเทียบระดับเอนไซม์ว่ามีผลอย่างไร

จากการทดลองใช้สารสกัด 6 ชุด คือ ชุดควบคุม , ชุดควบคุมที่ใส่ตัวละลาย, 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20 % w/v ระดับเอนไซม์เอสเทอร์ส ที่เวลาช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 16.04, 15.65, 7.49, 7.54 , 6.71 และ 5.9 n mole product /mg protein / ml ตามลำดับ ส่วนที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ค่าของเอนไซม์เอสเทอร์สมีค่าเท่ากับ 19.79, 22.95, 4.32 และ 3.72 n mole product / mg protein / ml ส่วนความเข้มข้น 0.15 และ 0.20 % ไม่สามารถหาปฏิกิริยาของเอนไซม์ได้ เนื่องจากไม่มีลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิตจึงไม่สามารถนำมาสกัดหาระดับเอนไซม์ได้ ซึ่งระดับเอนไซม์เอสเทอร์สที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ในกลุ่มชุดควบคุม และชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลาย แตกต่างกับความเข้มข้นของสารสกัดที่ 0.05% , 0.10% , 0.15% และ 0.20% อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนระดับเอนไซม์เอสเทอร์สที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ในชุดควบคุม , ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลาย , 0.05 % และ 0.10 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เช่นเดียวกัน

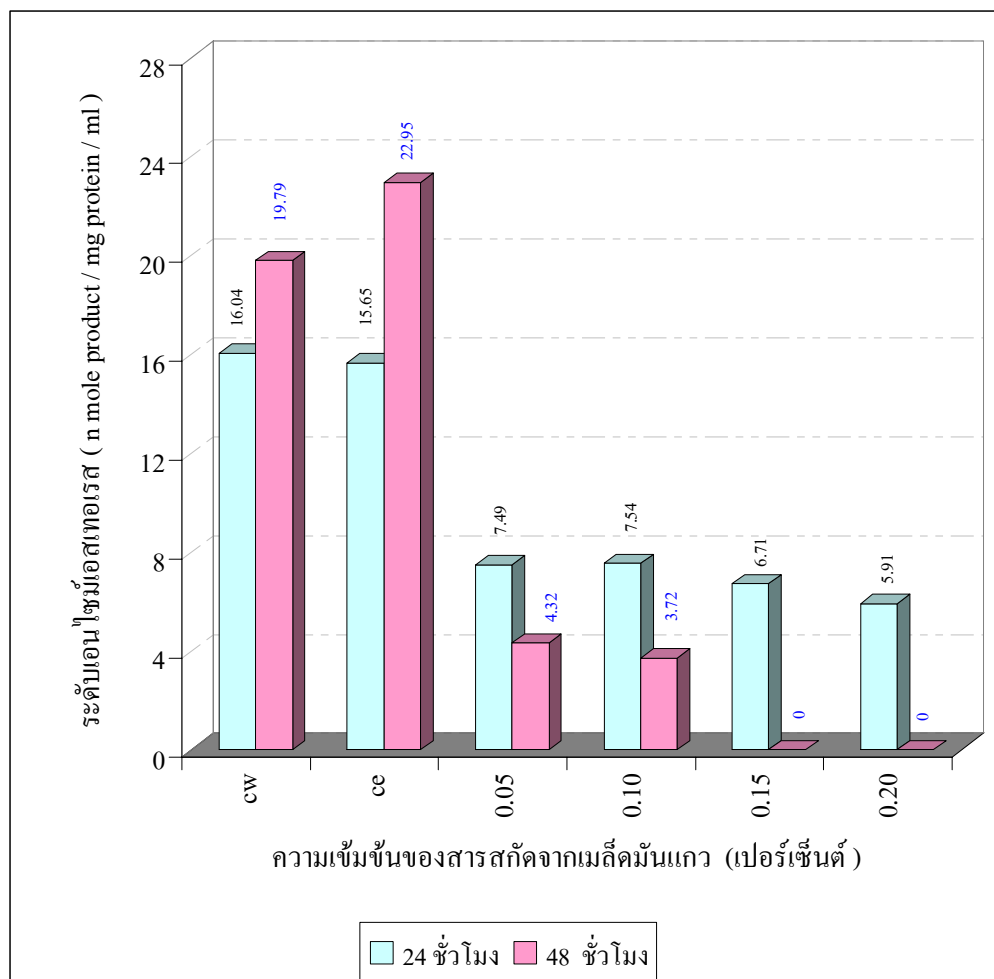
ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ระดับเอนไซม์เอสเทอร์สของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากเมล็ดมันแกว (เปอร์เซ็นต์)	ระดับเอนไซม์เอสเทอร์ส ⁽³⁾ n mole product / mg protein / ml	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
ควบคุม ⁽¹⁾	16.04 $\pm$ 0.81 ^a	19.79 $\pm$ 2.48 ^a
ควบคุม ⁽²⁾	15.65 $\pm$ 0.72 ^a	22.95 $\pm$ 0.70 ^b
0.05	7.49 $\pm$ 0.46 ^b	4.32 $\pm$ 0.47 ^c
0.10	7.54 $\pm$ 0.60 ^{bc}	3.72 $\pm$ 0.07 ^c
0.15	6.71 $\pm$ 0.30 ^c	*****
0.20	5.91 $\pm$ 0.64 ^c	*****

หมายเหตุ

- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ได้สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ได้เฉพาะตัวทำละลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวดังเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, P < 0.05)

* คือ ไม่สามารถหาปริมาณเอนไซม์ได้



ภาพที่ 30 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์เอมเลสเทอเรสหลังการให้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลายเอทานอล

2.3 สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง

เนื่องจากสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างซึ่งมีสารสำคัญหลายชนิด เช่น campesterol , chalinasterol , cynoglosine , estradiol , europine – N – oxide , heleurine , tannin , heliotrine ซึ่งสารดังกล่าวมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษที่ศึกษาคือ esterase ในลูกน้ำยุงลาย ดังนั้นจึงทำการศึกษาเอนไซม์ทำลายพิษดังกล่าวโดยนำลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิตจากการทดลองในแต่ละความเข้มข้นพร้อมทั้งชุดควบคุมมาเปรียบเทียบกับระดับเอนไซม์ว่ามีผลอย่างไร

จากการทดลองใช้สารสกัด 6 ชุด คือ ชุดควบคุม, ชุดควบคุมที่ใส่ตัวละลาย, 10, 20, 30 และ 40 % w/v ระดับเอนไซม์เอสเทอร์ส ที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 10.59, 11.79, 11.92, 13.08, 13.57 และ 14.02 n mole product /mg protein /ml ตามลำดับ ส่วนที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ค่าของเอนไซม์เอสเทอร์สมีค่าเท่ากับ 15.66, 16.21, 17.53 และ 19.63 n mole product /mg protein /ml ส่วนความเข้มข้น 30 และ 40 % ไม่สามารถหาปฏิกิริยาของเอนไซม์ได้ เนื่องจากไม่มีลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิตจึงไม่สามารถนำมาสกัดหาระดับเอนไซม์ได้ ซึ่งระดับเอนไซม์เอสเทอร์สที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ในทุกชุดทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนระดับเอนไซม์เอสเทอร์สที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ในชุดควบคุม , ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลาย มีความแตกต่างกับความเข้มข้นที่ 10 % และ 20% อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 10 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ระดับเอนไซม์เอสเทอร์สของลูกน้ำ
 ยุงลายเมื่อได้รับสารสกัดหยาดจากหญ้างวงช้างในระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

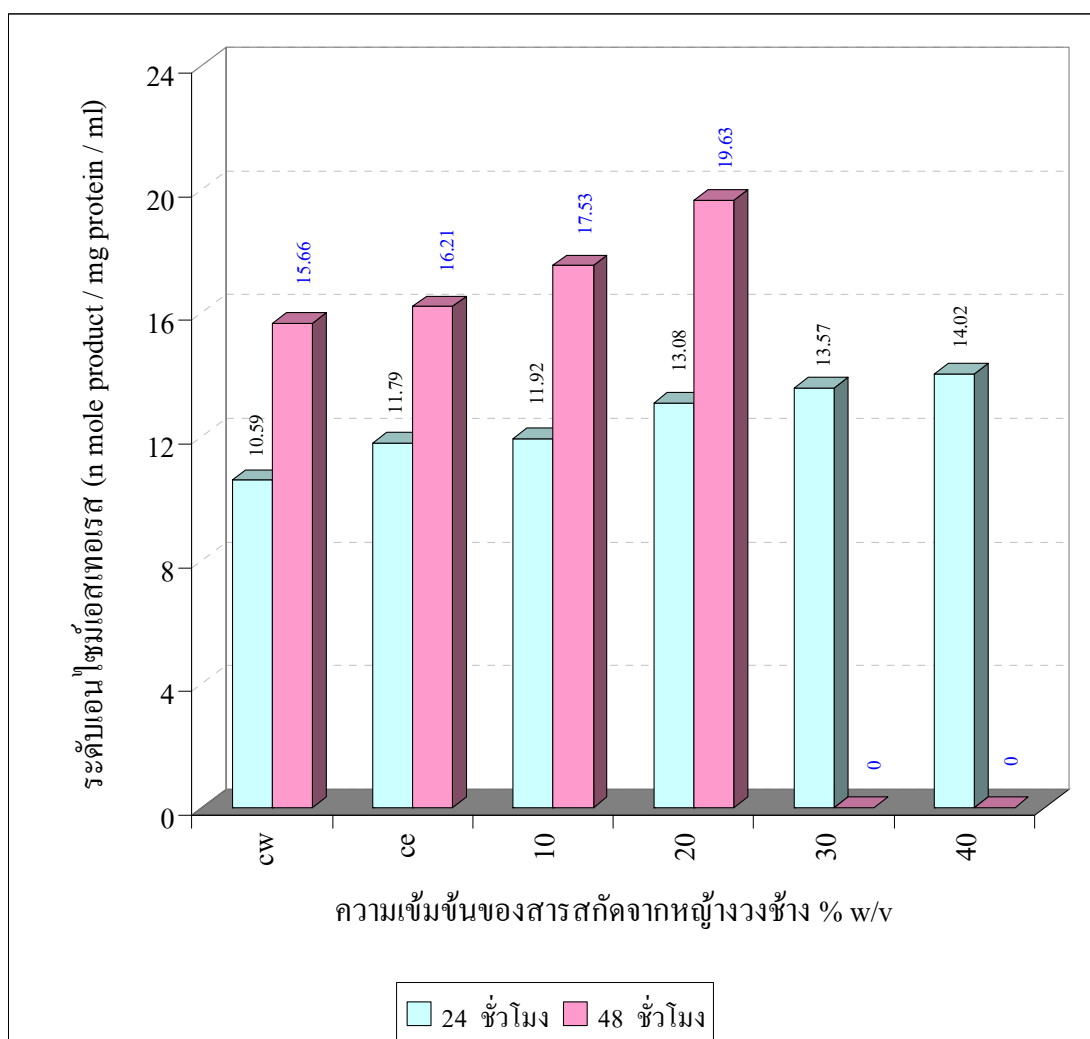
ความเข้มข้นของสารสกัดหยาด จากหญ้างวงช้าง (เปอร์เซ็นต์)	ระดับเอนไซม์เอสเทอร์ส ⁽³⁾ n mole product / mg protein /ml	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
ควบคุม ⁽¹⁾	10.59 $\pm$ 1.65 ^a	15.66 $\pm$ 0.58 ^a
ควบคุม ⁽²⁾	11.79 $\pm$ 1.34 ^{ab}	16.21 $\pm$ 0.31 ^a
10	11.92 $\pm$ 0.19 ^{ab}	17.53 $\pm$ 0.75 ^b
20	13.08 $\pm$ 0.01 ^{ab}	19.63 $\pm$ 0.36 ^c
30	13.57 $\pm$ 0.16 ^{ab}	*****
40	14.02 $\pm$ 0.06 ^b	*****

หมายเหตุ

- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะตัวทำละลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวดังเดียวกัน จะไม่แตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญ (DMRT , P < 0.05)

* คือ ไม่สามารถหาปริมาณเอนไซม์ได้



ภาพที่ 31 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์เอสเทอร์สหลังการให้สารสกัดจากหญ้างช้าง

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลายเอทานอล

3. ผลของสารสกัดหยาบจากพืชต่อระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสในลูกน้ำยุงลาย

จากการทดสอบเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส โดยใช้สับสเตรต 2 ชนิด คือ CDNB (Chlorodinitrobenzene) และ DCNB (Dichloronitrobenzene) ตรวจวัดปฏิกิริยาโดยใช้เครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 340 และ 344 นาโนเมตร ตามลำดับ ซึ่งผลของสารสกัดหยาบทั้ง 3 ชนิดเป็นดังต่อไปนี้

3.1 การทดสอบโดยใช้ CDNB เป็นสับสเตรต

3.1.1 สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวห่ม

หลังจากให้สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวห่มต่อลูกน้ำยุงลาย พบว่าปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส โดยใช้สาร chlorodinitrobenzene เป็นสับสเตรต และตรวจสาร conjugated product ที่เป็นกลุ่มของ mercapturic acid ผลจากการให้สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวห่มต่อลูกน้ำยุงลายโดยการทดลอง 6 ชุด การทดลอง คือ ชุดควบคุม, ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลาย, 4, 8, 12 และ 16 % w/v ในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมงเท่ากับ 2.1, 2.3, 2.3, 1.8, 1.6 และ 1.1 n mole product / mg protein / ml ตามลำดับ ส่วนที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ค่าของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส มีค่าเท่ากับ 2.43, 1.93, 2.13, 2.47, 2.40, 2.80 n mole product / mg protein / ml ตามลำดับ ทุกค่าเฉลี่ยคูณด้วย 10^{-6} ซึ่งระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมงในชุดควบคุม, ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลาย และ 4 % ระดับเอนไซม์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมงในทุกชุดทดลองระดับเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรสของ
ลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหัวเห็ดเหี่ยวหมูในช่วงเวลา 24 และ 48
ชั่วโมง

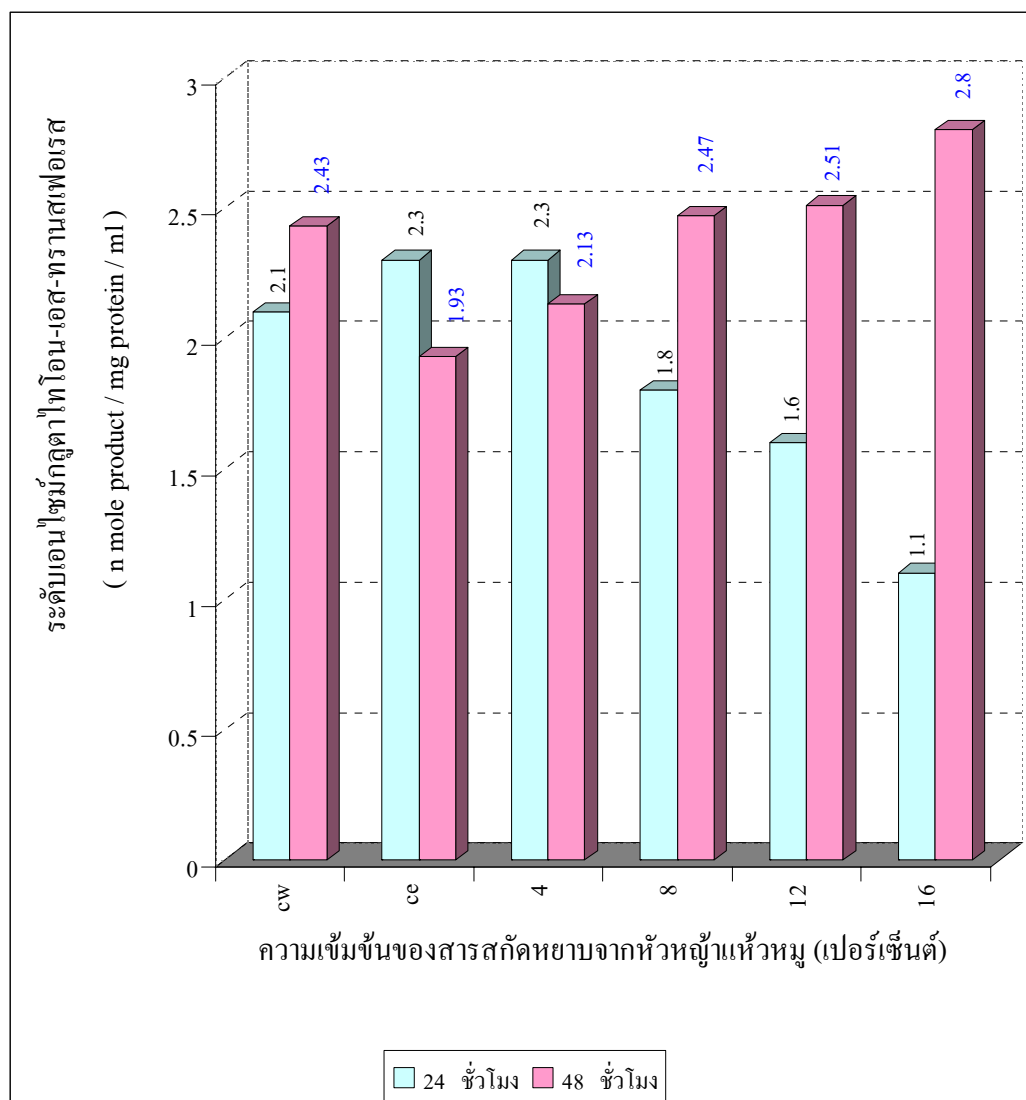
ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากหัวเห็ดเหี่ยวหมู (เปอร์เซ็นต์)	ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ⁽³⁾⁽⁴⁾ n mole product / mg protein / ml	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
ควบคุม ⁽¹⁾	2.1 $\pm$ 0.20 ^a	2.43 $\pm$ 0.49 ^a
ควบคุม ⁽²⁾	2.3 $\pm$ 0.20 ^a	1.93 $\pm$ 0.34 ^a
4	2.3 $\pm$ 0.30 ^a	2.13 $\pm$ 0.34 ^a
8	1.8 $\pm$ 0.20 ^{bc}	2.47 $\pm$ 0.46 ^a
12	1.6 $\pm$ 0.20 ^b	2.51 $\pm$ 0.38 ^a
16	1.1 $\pm$ 0.07 ^b	2.80 $\pm$ 0.64 ^a

หมายเหตุ

- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะตัวทำละลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญ (DMRT , P < 0.05)

- (4) คือ เท่ากับค่าเฉลี่ยคูณด้วย 10^{-6}



ภาพที่ 32 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส หลังการให้สารสกัดหยาดจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลายเอทานอล

3.1.2 สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

หลังจากให้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวต่อลูกน้ำยุงลาย พบว่าปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส โดยใช้สาร chlorodinitrobenzene เป็นซับสเตรต และตรวจสอบ conjugated product ที่เป็นกลุ่มของ mercapturic acid ผลจากการให้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวต่อลูกน้ำยุงลายโดยทำการทดลอง 6 ชุด การทดลอง คือ ชุดควบคุม, ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลาย, 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20% w/v ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 11.50, 12.50, 5.30, 5.63, 6.73 และ 5.80 n mole product / mg protein / ml ตามลำดับ ส่วนที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ค่าของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส มีค่าเท่ากับ 3.10, 4.75, 2.35, 0.63, 0, 0 n mole product / mg protein / ml ตามลำดับ ทุกค่าเฉลี่ยคูณด้วย 10^{-6} ซึ่งระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ในชุดควบคุมทั้ง 2 ชุดมี ระดับเอนไซม์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับชุดทดลองที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ในชุดควบคุมและที่ความเข้มข้นที่ 0.05 % ระดับเอนไซม์มีความแตกต่างกันกับชุดทดลองที่ความเข้มข้น 0.10 % อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนระดับความเข้มข้น 0.15 และ 0.20 % ไม่สามารถหาปฏิกิริยาของเอนไซม์ได้ เนื่องจากไม่มีลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิตจึงไม่สามารถนำมาสกัดหาระดับเอนไซม์

ตารางที่ 12 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากเมล็ดมันแกว (เปอร์เซ็นต์)	ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ⁽³⁾⁽⁴⁾	
	n mole product / mg protein / ml	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
ควบคุม ⁽¹⁾	11.5 $\pm$ 2.12 ^a	3.10 $\pm$ 0.75 ^a
ควบคุม ⁽²⁾	12.5 $\pm$ 0.71 ^a	4.75 $\pm$ 0.64 ^b
0.05	5.30 $\pm$ 1.81 ^b	2.35 $\pm$ 0.21 ^a
0.10	5.63 $\pm$ 1.56 ^b	0.63 $\pm$ 0.06 ^c
0.15	6.73 $\pm$ 2.00 ^b	*****
0.20	5.80 $\pm$ 1.39 ^b	*****

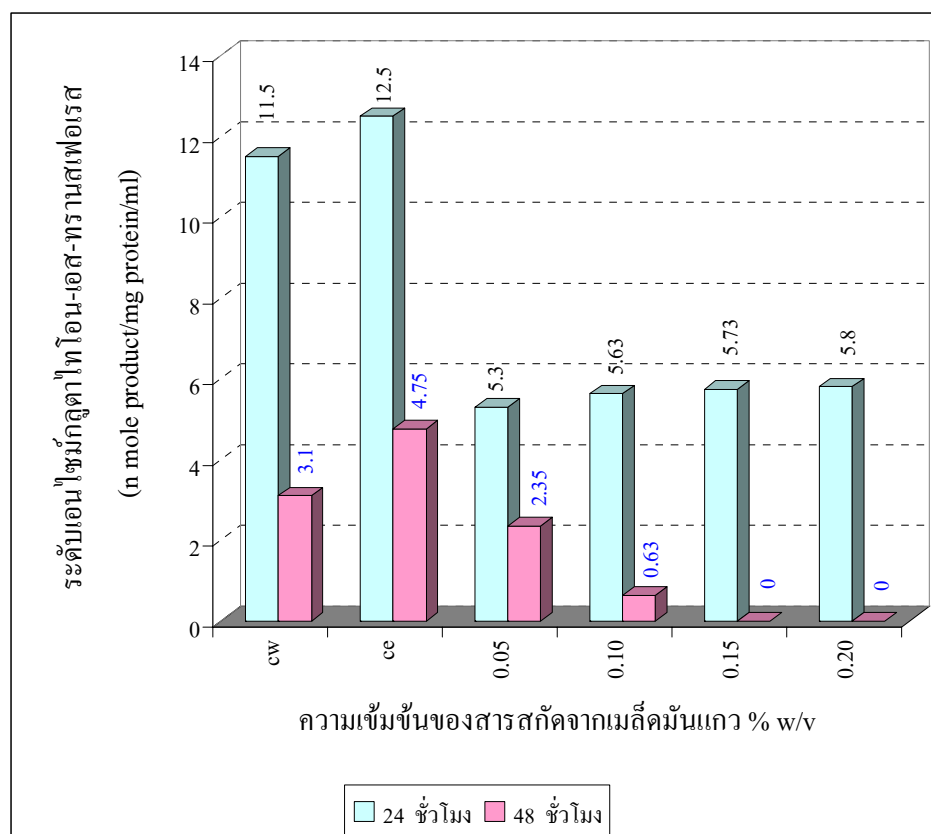
หมายเหตุ

- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะตัวทำละลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวดังเดียวกัน จะไม่แตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญ (DMRT , P < 0.05)

- (4) คือ เท่ากับค่าเฉลี่ยคูณด้วย 10^{-6}

* คือ ไม่สามารถหาปริมาณเอนไซม์ได้



ภาพที่ 33 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส หลังการให้สารสกัด
หยาบจากเมล็ดมันแกว

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลายเอทานอล

3.1.3 สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง

หลังจากให้สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างต่อลูกน้ำยุงลาย พบว่าปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรส โดยใช้สาร chlorodinitrobenzene เป็นซับสเตรต และตรวจสาร conjugated product ที่เป็นกลุ่มของ mercapturic acid ผลจากการให้สารสกัดจากหญ้างวงช้างต่อลูกน้ำยุงลายโดยทำการทดลอง 6 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุม, ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลาย, 10, 20, 30 และ 40 % w/v ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 9.25, 12.00, 10.00, 11.00, 11.50 และ 13.50 n mole product / mg protein / ml ตามลำดับ ส่วนที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ค่าของเอนไซม์ กลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรส มีค่าเท่ากับ 22.67, 24.67, 20.67, 20.33, 0 และ 0 n mole product / mg protein / ml ตามลำดับ ทุกค่าเฉลี่ยคูณด้วย 10^{-6} ซึ่งระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรส ที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง ระดับเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนที่ระดับความเข้มข้นที่ 30 และ 40 % ไม่สามารถหาระดับเอนไซม์ได้ เนื่องจากไม่มีลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิตจึงไม่สามารถนำมาสกัดหาระดับเอนไซม์

ตารางที่ 13 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากหญ้างวงช้าง (เปอร์เซ็นต์)	ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ⁽³⁾⁽⁴⁾	
	n mole product / mg protein / ml	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
ควบคุม ⁽¹⁾	9.25 $\pm$ 2.39 ^a	22.67 $\pm$ 1.45 ^a
ควบคุม ⁽²⁾	12.0 $\pm$ 1.68 ^a	24.67 $\pm$ 2.03 ^a
10	10.0 $\pm$ 1.96 ^a	20.67 $\pm$ 0.88 ^a
20	11.0 $\pm$ 4.00 ^a	20.33 $\pm$ 1.86 ^a
30	11.5 $\pm$ 5.50 ^a	*****
40	13.5 $\pm$ 2.50 ^a	*****

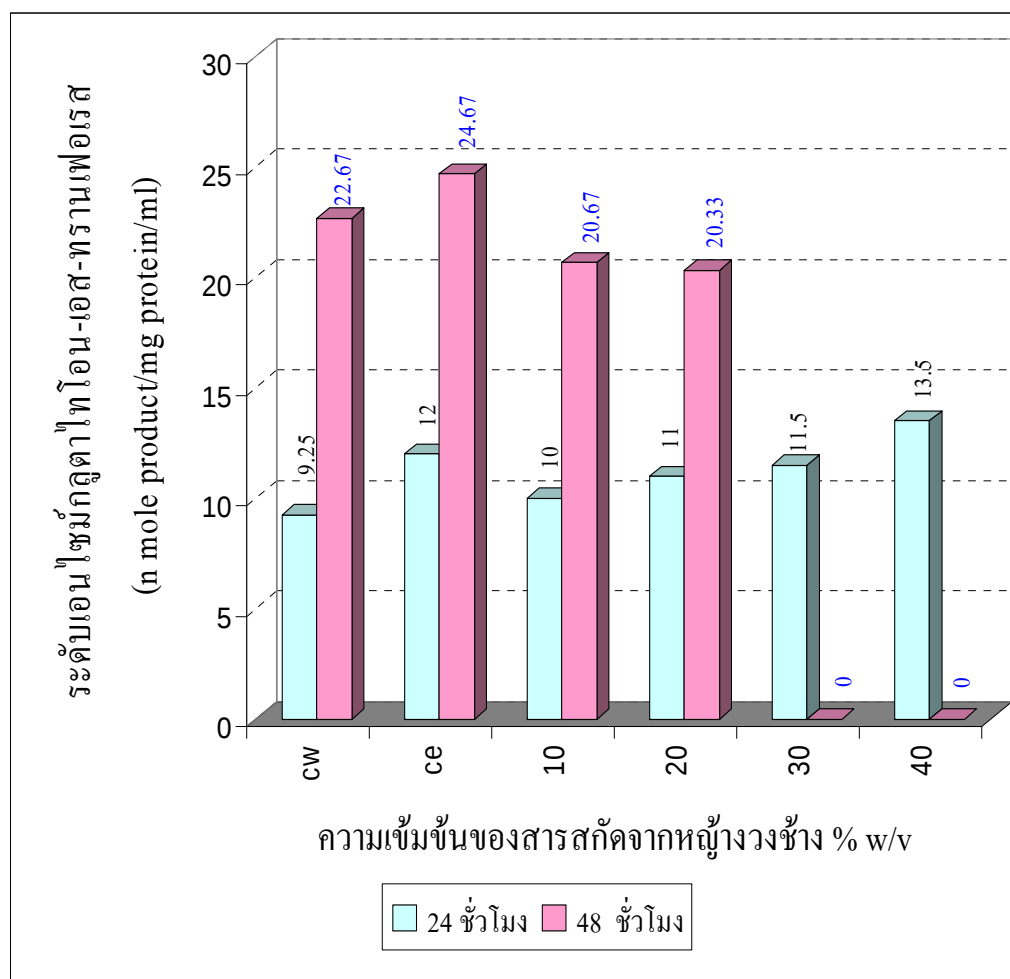
หมายเหตุ

- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด
 (2) คือ ชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะตัวทำละลาย
 (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวดังเดียวกัน จะไม่แตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญ (DMRT , P < 0.05)

- (4) คือ เทากับค่าเฉลี่ยคูณด้วย 10^{-6}

* คือ ไม่สามารถหาปริมาณเอนไซม์ได้



ภาพที่ 34 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรส หลังการให้สารสกัดเห็ดนางฟ้า

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลายเอทานอล

3.2 การทดสอบโดยใช้ DCNB เป็นสับสเตรต

3.2.1 สารสกัดหยาบจากหัวเห็ดเหี่ยวเหี่ยว

หลังจากให้สารสกัดหยาบจากหัวเห็ดเหี่ยวเหี่ยวต่อลูกน้ำยุงลาย พบว่าปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส โดยใช้สาร dichloronitrobenzene เป็นสับสเตรต และตรวจสาร conjugated product ที่เป็นกลุ่มของ mercapturic acid ผลจากการให้สารสกัดหยาบจากหัวเห็ดเหี่ยวเหี่ยวต่อลูกน้ำยุงลายโดยการทดลอง 6 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุม, ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลาย, 4, 8, 12 และ 16 % w/v ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 12.50, 10.67, 8.67, 8.00, 6.00 และ 8.50 n mole product / mg protein / ml ตามลำดับ ส่วนที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ค่าของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส มีค่าเท่ากับ 18.50 , 13.00, 6.50, 7.50, 4.50, 3.00 n mole product / mg protein / ml ตามลำดับ ทุกค่าเฉลี่ยคูณด้วย 10^{-7} ซึ่งระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ระดับเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนช่วงเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าระดับเอนไซม์ชุดควบคุมกับชุดทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 14 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูในระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

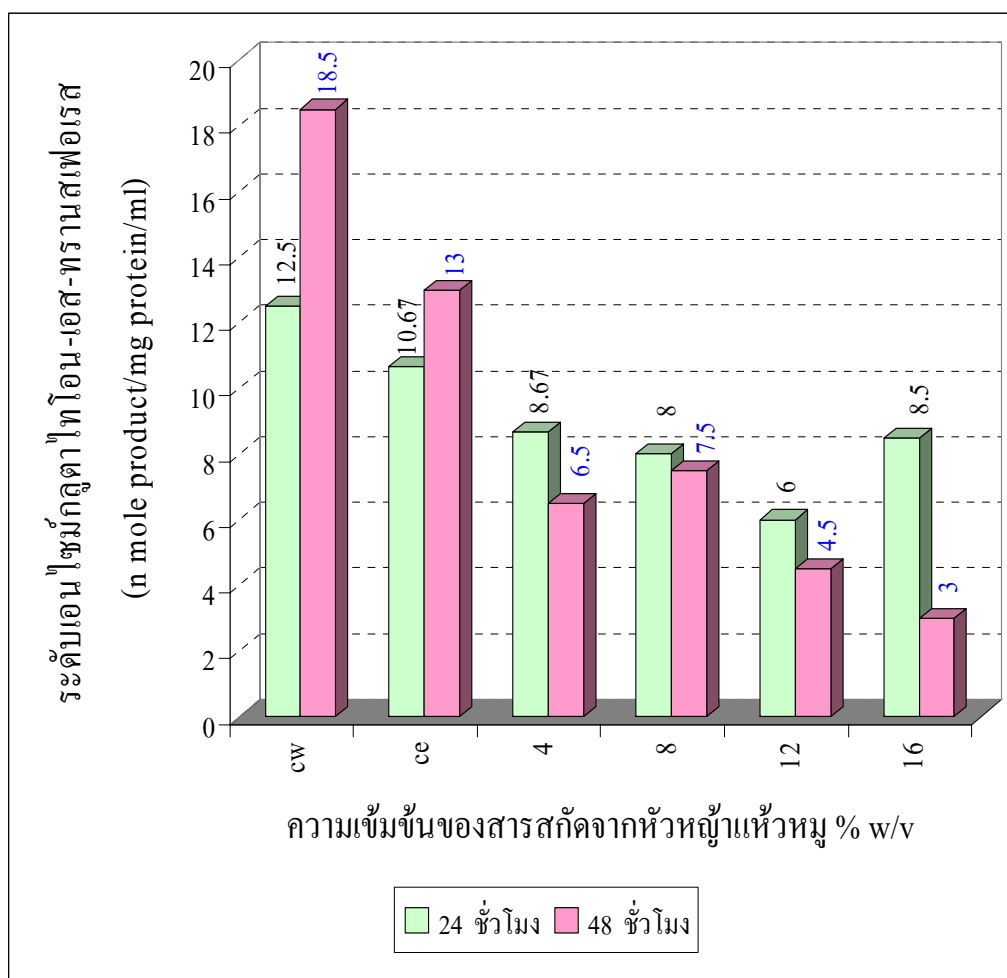
ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากหัวหญ้าเหี่ยวหมู (เปอร์เซ็นต์)	ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ⁽³⁾⁽⁴⁾	
	n mole product / mg protein /ml	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
ควบคุม ⁽¹⁾	12.50 $\pm$ 4.50 ^a	18.5 $\pm$ 0.50 ^a
ควบคุม ⁽²⁾	10.67 $\pm$ 1.45 ^a	13.0 $\pm$ 2.00 ^b
4	8.67 $\pm$ 4.18 ^a	6.5 $\pm$ 2.50 ^c
8	8.00 $\pm$ 2.00 ^a	7.5 $\pm$ 0.50 ^c
12	6.00 $\pm$ 4.00 ^a	4.5 $\pm$ 0.50 ^c
16	8.50 $\pm$ 2.50 ^a	3.0 $\pm$ 2.00 ^c

หมายเหตุ

- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะตัวทำละลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญ (DMRT , P < 0.05)

- (4) คือ เท้ากับค่าเฉลี่ยคูณด้วย 10^{-7}



ภาพที่ 35 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรส หลังการให้สารสกัดหยาบจากหัวเห็ดเห็ดหมู

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลายเอทานอล

3.2.2 สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

หลังจากให้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวต่อลูกน้ำยุงลาย พบว่าปฏิกิริยาของเอนไซม์ กลูตาไทโอน - เอส - ทรานสเฟอเรส โดยใช้สาร dichloronitrobenzene เป็นซับสเตรต และตรวจสาร conjugated product ที่เป็นกลุ่มของ mercapturic acid ผลจากการให้สารสกัดจากเมล็ดมันแกวต่อลูกน้ำยุงลายโดยการทดลอง 6 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุม , ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลาย , 0.05 , 0.10 , 0.15 และ 0.20 % w/v ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 1.37, 1.60, 2.50, 2.13, 1.85 และ 1.80 n mole product /mg protein /ml ตามลำดับ ส่วนที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ค่าของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส มีค่าเท่ากับ 0.90, 1.55, 0.45, 0.55, 0 และ 0 n mole product / mg protein / ml ตามลำดับ ทุกค่าเฉลี่ยคูณด้วย 10^{-7} ซึ่งระดับเอนไซม์ กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ระดับเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนช่วงเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าระดับเอนไซม์ชุดควบคุมกับชุดทดลอง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ส่วนที่ระดับความเข้มข้นที่ 0.15 และ 0.20 % ไม่สามารถหาระดับเอนไซม์ได้ เนื่องจากไม่มีลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิตจึงไม่สามารถนำมาสกัดหาระดับเอนไซม์

ตารางที่ 15 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว ในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากเมล็ดมันแกว (เปอร์เซ็นต์)	ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ⁽³⁾⁽⁴⁾	
	n mole product / mg protein / ml	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
ควบคุม ⁽¹⁾	2.50 ± 0.18^a	0.90 ± 0.71^a
ควบคุม ⁽²⁾	2.13 ± 0.28^a	1.25 ± 0.07^a
0.05	1.85 ± 0.71^a	0.45 ± 0.35^{ab}
0.10	1.80 ± 0.25^a	0.55 ± 0.07^{ab}
0.15	1.37 ± 0.92^a	*****
0.20	1.30 ± 0.56^a	*****

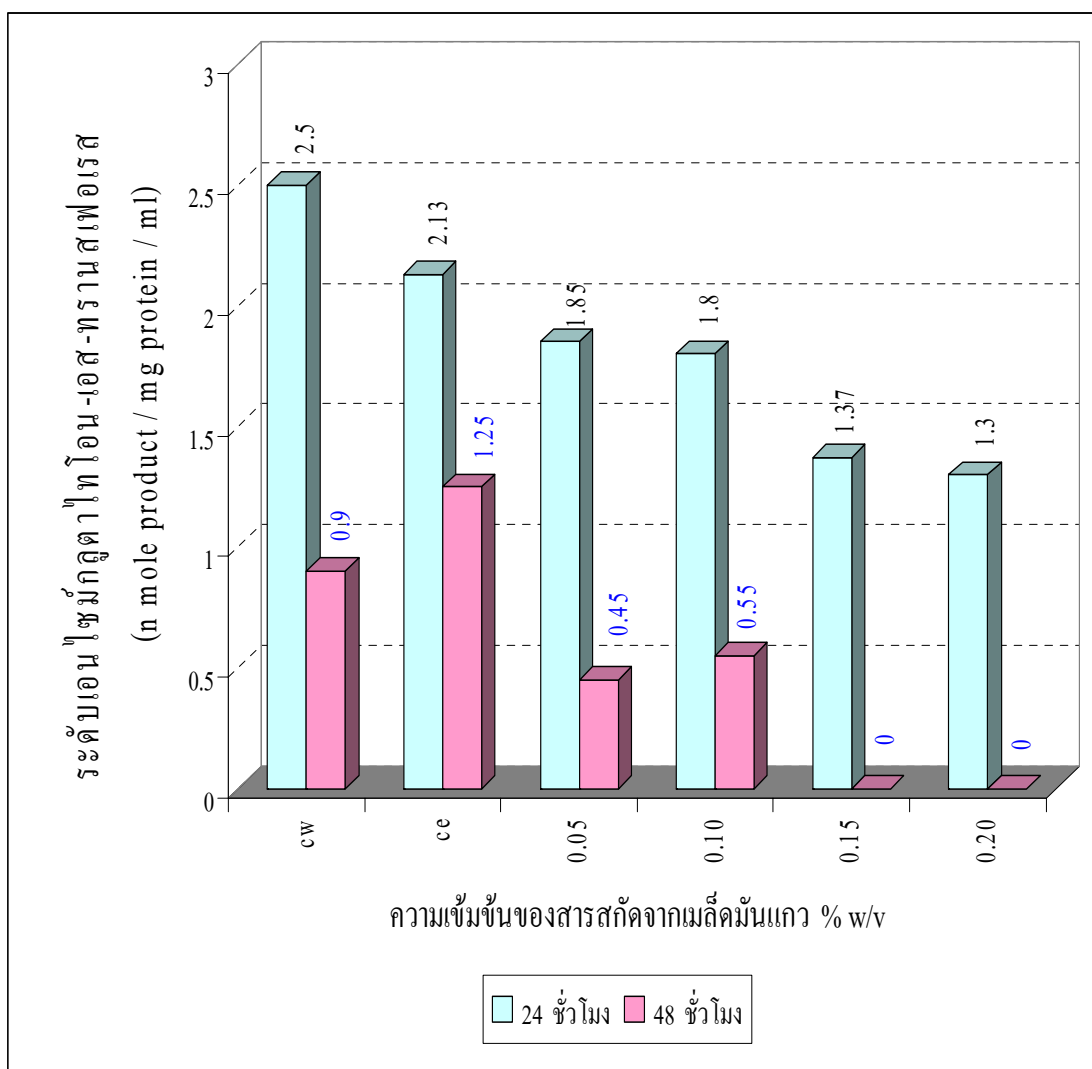
หมายเหตุ

- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะตัวทำละลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวดังเดียวกัน จะไม่แตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P < 0.05$)

- (4) คือ เท่ากับค่าเฉลี่ยคูณด้วย 10^{-7}

* คือ ไม่สามารถหาปริมาณโปรตีนได้



ภาพที่ 36 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรส หลังการให้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย
ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ได้ตัวทำละลายเอทานอล

3.2.3 สารสกัดหยาบจากหอยนางรม

หลังจากให้สารสกัดหยาบจากหอยนางรมต่อลูกน้ำยุงลาย พบว่าปฏิกิริยาของเอนไซม์ กลูตาไทโอน - เอส - ทรานสเฟอเรส โดยใช้สาร dichloronitrobenzene เป็นซับสเตรต และตรวจสาร conjugated product ที่เป็นกลุ่มของ mercapturic acid ผลจากการให้สารสกัดจากหอยนางรมต่อลูกน้ำยุงลายโดยทำการทดลอง 6 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุม, ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลาย, 10 , 20 , 30 และ 40 % w/v ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 7.50, 9.25, 5.25, 6.50, 7.50 และ 7.25 n mole product / mg protein /ml ตามลำดับ ส่วนที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ค่าของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส มีค่าเท่ากับ 7.50, 6.75, 5.75, 6.25, 4.00 และ 0 n mole product /mg protein /ml ตามลำดับ ทุกค่าเฉลี่ยคูณด้วย 10^{-7} ซึ่งระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงระดับเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนความเข้มข้น 40 % ไม่สามารถหาระดับเอนไซม์ได้ เนื่องจากไม่มีลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิตจึงไม่สามารถนำมาสกัดหาระดับเอนไซม์

ตารางที่ 16 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ของลูกน้ำยุงลาย เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง ในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากหญ้างวงช้าง (เปอร์เซ็นต์)	ระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ⁽³⁾⁽⁴⁾	
	n mole product / mg protein / ml	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
ควบคุม ⁽¹⁾	7.50 $\pm$ 2.53 ^a	7.50 $\pm$ 0.87 ^a
ควบคุม ⁽²⁾	9.25 $\pm$ 2.93 ^a	6.75 $\pm$ 1.11 ^a
10	5.25 $\pm$ 1.70 ^a	5.75 $\pm$ 1.80 ^{ab}
20	6.50 $\pm$ 2.60 ^a	6.24 $\pm$ 0.85 ^{ab}
30	7.50 $\pm$ 2.30 ^a	4.00 $\pm$ 0.41 ^{ab}
40	7.25 $\pm$ 2.02 ^a	*****

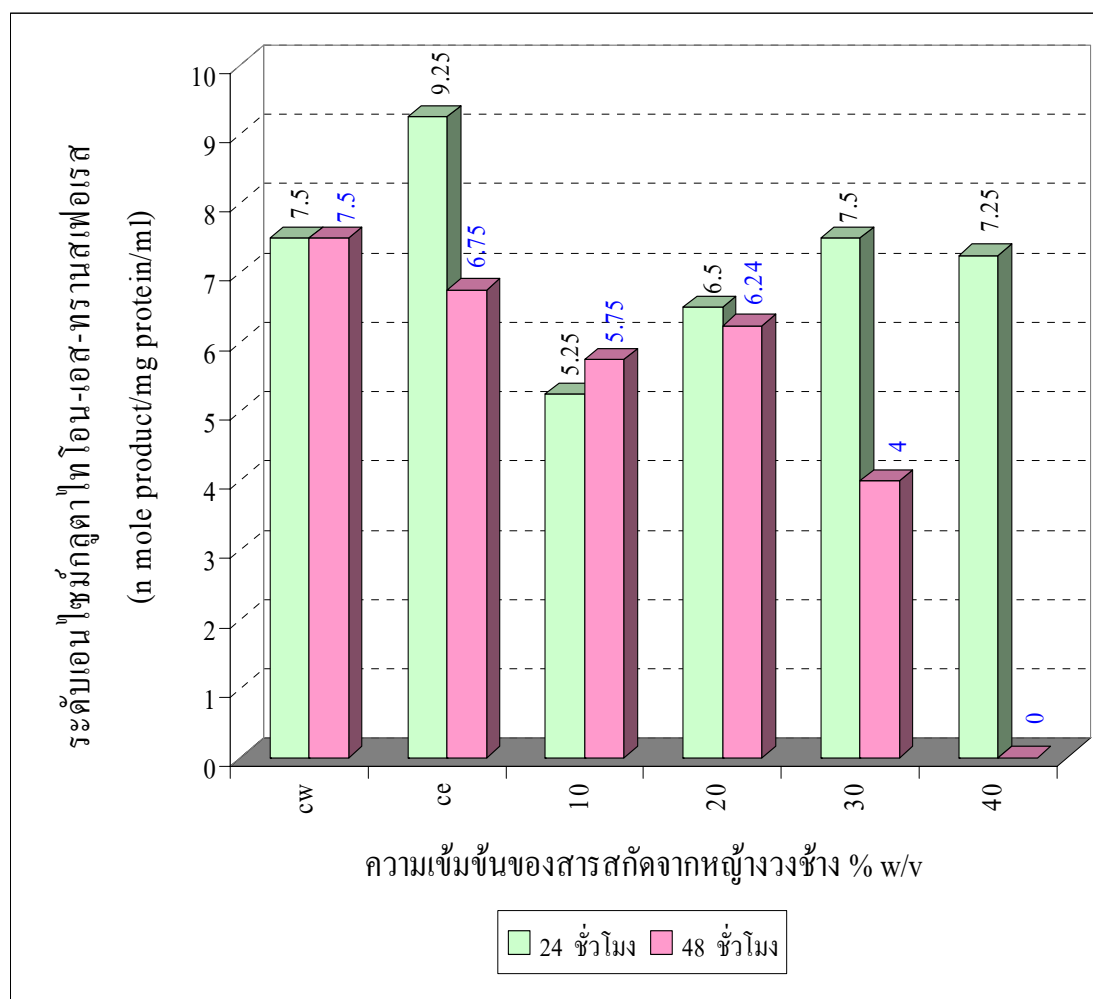
หมายเหตุ

- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะตัวทำละลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวดังเดียวกัน จะไม่แตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญ (DMRT , P < 0.05)

- (4) คือ เทากับค่าเฉลี่ยคูณด้วย 10^{-7}

* คือ ไม่สามารถหาปริมาณโปรตีนได้



ภาพที่ 37 กราฟแท่งแสดงระดับเอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรส หลังการให้สารสกัดหยาบจากหญ้างช้าง

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย
ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ได้ตัวทำละลายเอทานอล

4. ผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนของลูกน้ำยุงลาย

4.1 สารสกัดหยาบจากหัวเหว้าเหี่ยวหมู

หลังจากให้สารสกัดหยาบจากหัวเหว้าเหี่ยวหมูต่อลูกน้ำยุงลาย โดยทำการทดลอง 6 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุม ,ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลาย , 4 , 8 , 12 และ 16 % w/v ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าปริมาณของโปรตีน เท่ากับ 5.69, 5.79, 5.75, 5.57, 5.81 และ 5.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนปริมาณโปรตีนในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 2.19 , 2.78, 2.61, 2.09, 2.63 และ 2.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ DMRT พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมง ส่วนช่วงเวลาที่ 48 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ซึ่งทั้ง 24 และ 48 ชั่วโมง มีความแตกต่างกันภายในชุดการทดลองเพียงเล็กน้อย

ตารางที่ 17 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณของโปรตีนในลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากหัวเห็ดเห็ดหลินจือ ในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากหัวเห็ดเห็ดหลินจือ (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม / มิลลิลิตร) ⁽³⁾	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
ควบคุม ⁽¹⁾	5.67 $\pm$ 0.01 ^b	2.19 $\pm$ 0.03 ^a
ควบคุม ⁽²⁾	5.79 $\pm$ 0.01 ^b	2.78 $\pm$ 0.07 ^b
4	5.75 $\pm$ 0.10 ^b	2.61 $\pm$ 0.10 ^b
8	5.57 $\pm$ 0.03 ^a	2.09 $\pm$ 0.08 ^a
12	5.81 $\pm$ 0.03 ^b	2.63 $\pm$ 0.18 ^b
16	5.56 $\pm$ 0.03 ^a	2.56 $\pm$ 0.12 ^b

หมายเหตุ

- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ได้เฉพาะตัวทำละลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมี

นัยสำคัญ (DMRT , P < 0.05)

* คือ ไม่สามารถหาปริมาณโปรตีนได้

4.2 สารสกัดจากเมล็ดมันแกว

หลังจากให้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวต่อลูกน้ำยุงลาย โดยทำการทดลอง 6 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุม ,ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลาย , 0.05 , 0.10 , 0.15 และ 0.20 % w/v ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าปริมาณของโปรตีน เท่ากับ 4.78, 4.84, 5.34, 5.47, 5.50 และ 5.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนปริมาณโปรตีนในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 3.50, 2.81, 2.50 และ 2.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นที่ 0.15 และ 0.20 % ไม่สามารถหาปริมาณโปรตีนได้เนื่องจากไม่พบลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิต และจากการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้ DMRT ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมง ส่วนช่วงเวลาที่ 48 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเข้มข้นของชุดควบคุมกับชุดทดลองทุกความเข้มข้น แต่ภายในชุดทดลองค่าทางสถิติไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 18 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณของโปรตีนในลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวในระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

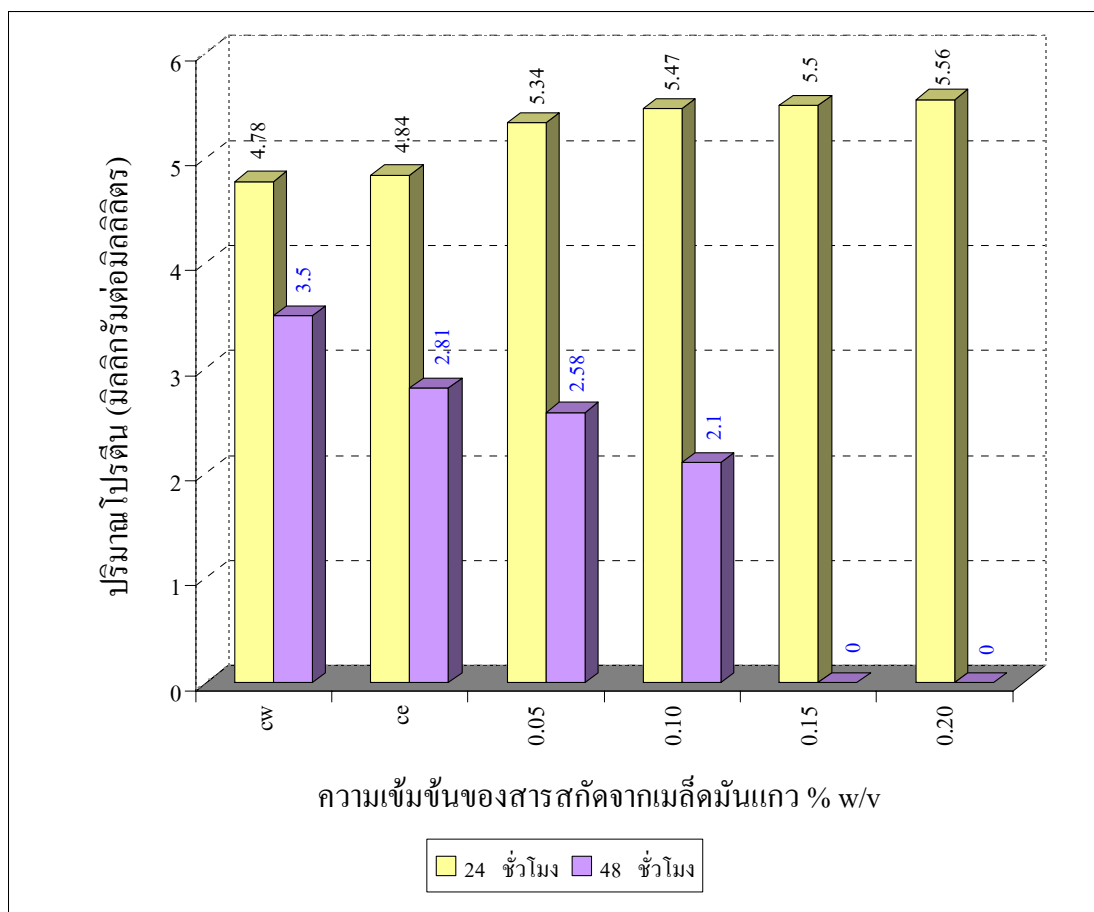
ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากเมล็ดมันแกว (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม / มิลลิลิตร) ⁽³⁾	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
ควบคุม ⁽¹⁾	4.78 $\pm$ 0.52 ^a	3.50 $\pm$ 0.58 ^a
ควบคุม ⁽²⁾	4.84 $\pm$ 0.46 ^a	2.81 $\pm$ 0.08 ^{ab}
0.05	5.34 $\pm$ 0.25 ^a	2.58 $\pm$ 0.10 ^b
0.10	5.47 $\pm$ 0.07 ^a	2.10 $\pm$ 0.63 ^b
0.15	5.50 $\pm$ 0.01 ^a	*****
0.20	5.56 $\pm$ 0.03 ^a	*****

หมายเหตุ

- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะตัวทำละลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญ (DMRT , P < 0.05)

* คือ ไม่สามารถหาปริมาณโปรตีนได้



ภาพที่ 39 กราฟแท่งแสดงปริมาณโปรตีน หลังการให้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวต่อ
ลูกน้ำขุยลาย

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลายเอทานอล

4.3 สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง

หลังจากให้สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างต่อลูกน้ำยุงลาย โดยทำการทดลอง 6 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุม ,ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลาย , 10 , 20 , 30 และ 40 % w/v ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าปริมาณของโปรตีนเท่ากับ 9.34, 9.14, 9.16, 9.38, 8.44 และ 8.67 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนปริมาณโปรตีนในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 3.48, 3.81, 2.66 และ 3.35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นที่ 30 และ 40 % ไม่สามารถหาปริมาณโปรตีนได้เนื่องจากไม่พบลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิต และจากการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้ DMRT พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมงในระดับความเข้มข้นที่ 30 และ 40 % กับชุดควบคุมและระดับความเข้มข้นที่ 10 , 20 และ 30 % ส่วนช่วงเวลาที่ 48 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเข้มข้นของชุดควบคุมกับชุดทดลองทุกความเข้มข้น

ตารางที่ 19 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณของโปรตีนในลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง ในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

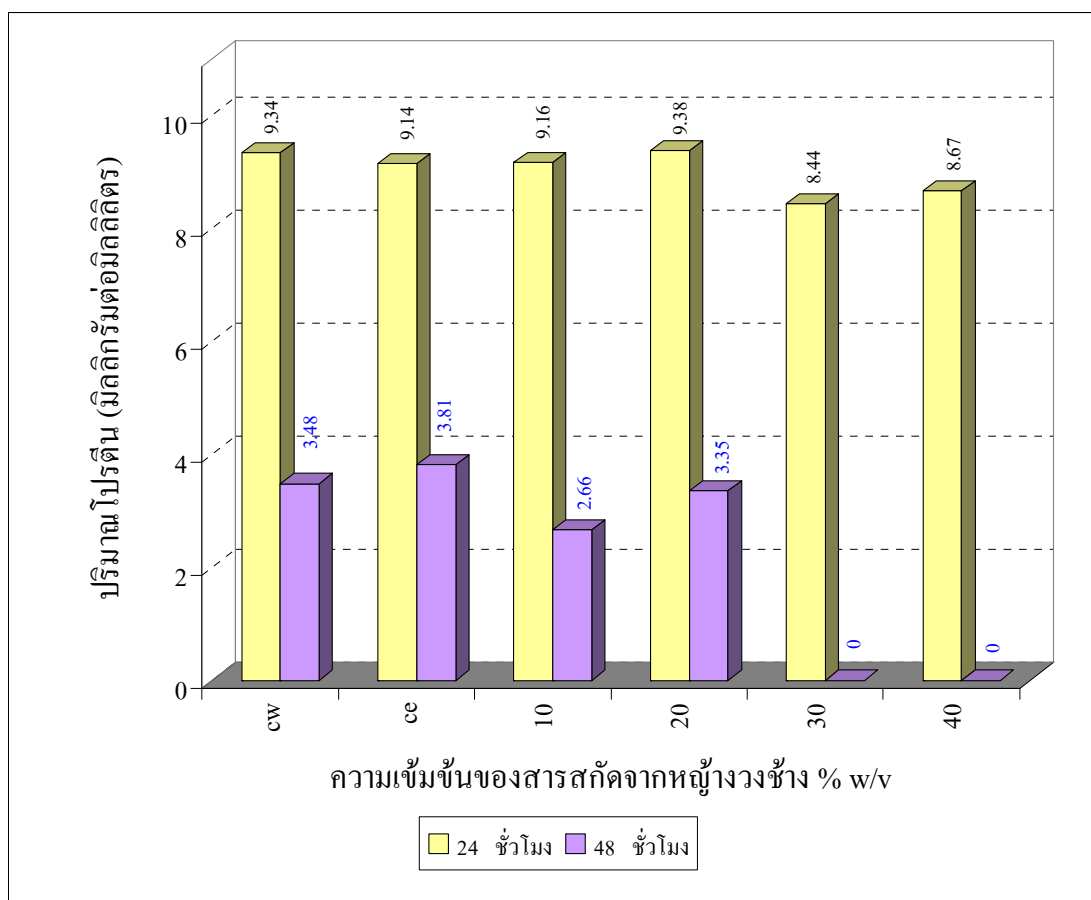
ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากหญ้างวงช้าง(เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม / มิลลิลิตร) ⁽³⁾	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
ควบคุม ⁽¹⁾	9.34 $\pm$ 0.09 ^a	3.48 $\pm$ 0.01 ^c
ควบคุม ⁽²⁾	9.14 $\pm$ 0.57 ^a	3.81 $\pm$ 0.01 ^d
10	9.16 $\pm$ 0.13 ^a	2.66 $\pm$ 0.01 ^a
20	9.38 $\pm$ 0.06 ^a	3.35 $\pm$ 0.003 ^b
30	8.44 $\pm$ 0.09 ^b	*****
40	8.67 $\pm$ 0.08 ^b	*****

หมายเหตุ

- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะตัวทำละลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญ (DMRT , P < 0.05)

* คือ ไม่สามารถหาปริมาณโปรตีนได้



ภาพที่ 40 กราฟแท่งแสดงปริมาณโปรตีน หลังการให้สารสกัดหยาบจากหญ้าวงช้างต่อ
ลูกน้ำขุ่นลาย

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลายเอทานอล

5. ผลการยับยั้งเอนไซม์ต่อลูกน้ำยุงลาย

ผลของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด คือ หัวหูก้าเหี่ยวหมู เมล็ดมันแกว และหญ้างวงช้างมีผลต่อการยับยั้งเอนไซม์เอสเทอร์เอสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ในลูกน้ำยุงลาย ซึ่งสารสกัดจากพืชมีผลต่อค่า K_m และ ค่า V_{max} ต่อการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ ซึ่งการทดลองปรับระดับความเข้มข้นของสับสเตรต 10 ระดับความเข้มข้น เริ่มตั้งแต่ 0.02 – 0.20 mM พบว่าสารสกัดจากพืชต่างชนิดกันจะให้ผลต่อการยับยั้งเอนไซม์ที่ต่างกัน ดังนี้

5.1 สารสกัดหยาบจากหัวหูก้าเหี่ยวหมู

ผลของสารสกัดหยาบจากหัวหูก้าเหี่ยวหมูต่อการยับยั้งเอนไซม์เอสเทอร์เอสและกลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรส ในลูกน้ำยุงลายในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ความเข้มข้น 10.75 % มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า K_m และค่า V_{max} เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ทดสอบสารสกัดจะให้ค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 21) และเมื่อพิจารณาค่า K_m และ ค่า V_{max} ของสารสกัดหยาบจากหัวหูก้าเหี่ยวหมูจะมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เอสเทอร์เอสในลักษณะ competitive inhibition ผลการยับยั้งเอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรส โดยใช้ CDNB และ DCNB เป็นสับสเตรตให้ผลการยับยั้งแบบ competitive inhibition สำหรับในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง โดยใช้ความเข้มข้น 6.17 % มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า K_m และค่า V_{max} เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ทดสอบสารสกัด จะให้ค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 22) และเมื่อพิจารณาค่า K_m และค่า V_{max} ของสารสกัดหยาบจากหัวหูก้าเหี่ยวหมูจะมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เอสเทอร์เอสและเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส โดยใช้ CDNB และ DCNB เป็นสับสเตรตให้ผลการยับยั้งแบบ competitive inhibition เช่นกัน

5.2 สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

ผลของสารสกัดจากเมล็ดมันแกวต่อการยับยั้งเอนไซม์เอสเทอร์และกลูตาไทโอน-เอส - ทรานสเฟอเรส ในลูกน้ำขุยมะพร้าวในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ความเข้มข้น 0.07 % มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า K_m และค่า V_{max} เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ทดสอบสารสกัด จะให้ค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 21) และเมื่อพิจารณาค่า K_m และ ค่า V_{max} ของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวจะมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลักษณะ competitive inhibition ผลการยับยั้งเอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรส โดยใช้ CDNB และ DCNB เป็นสับสเตรตให้ผลการยับยั้งแบบ competitive inhibition สำหรับในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง โดยใช้ความเข้มข้น 0.05 % มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า K_m และค่า V_{max} เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ทดสอบสารสกัด จะให้ค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 22) และเมื่อพิจารณาค่า K_m และ ค่า V_{max} ของสารสกัดจากเมล็ดมันแกวจะมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ให้ผลการยับยั้งแบบ competitive inhibition และเอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรส โดยใช้ CDNB เป็นสับสเตรตให้ผลการยับยั้งแบบ competitive inhibition แต่เมื่อใช้ DCNB จะให้ผลการยับยั้งเอนไซม์ในลักษณะ noncompetitive inhibition

5.3 สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง

ผลของสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างต่อการยับยั้งเอนไซม์เอสเทอร์และกลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรส ในลูกน้ำขุยมะพร้าวในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ความเข้มข้น 24.32 % มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า K_m และค่า V_{max} เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ทดสอบสารสกัด จะให้ค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 21) และเมื่อพิจารณาค่า K_m และ ค่า V_{max} ของสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างจะมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ในลักษณะ competitive inhibition ผลการยับยั้งเอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรส โดยใช้ CDNB และ DCNB เป็นสับสเตรตให้ผลการยับยั้งแบบ competitive inhibition สำหรับในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง โดยใช้ความเข้มข้น 20.21 % มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า K_m และค่า V_{max} เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ทดสอบสารสกัด จะให้ค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 22) และเมื่อพิจารณาค่า K_m และ ค่า V_{max} ของสารสกัดจากหญ้างวงช้างจะมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เอสเทอร์ให้ผลการ

ยับยั้งแบบ competitive inhibition และเอนไซม์ กลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรส โดยใช้ CDNB เป็นสับสเตรตให้ผลการยับยั้งแบบ noncompetitive inhibition แต่เมื่อใช้ DCNB จะให้ผลการยับยั้งเอนไซม์ในลักษณะ uncompetitive inhibition

ตารางที่ 20 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน K_m และ V_{max} ของเอนไซม์เอสเทอเรส ของลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากพืช 3 ชนิด ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง

ชนิดและความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากพืช (เปอร์เซ็นต์)	เอนไซม์เอสเทอเรส ⁽¹⁾	
	ค่า K_m ⁽³⁾	ค่า V_{max} ⁽³⁾
ชุดควบคุม ⁽²⁾	0.97 ± 0.01	13.04 ± 0.02
สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าแห้วหมู ความเข้มข้น 10.75	2.10 ± 0.01	7.21 ± 0.02
สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว ความเข้มข้น 0.07	1.62 ± 0.01	12.49 ± 0.01
สารสกัดหยาบจากหญ้าขจรสี ความเข้มข้น 24.32	3.82 ± 0.00	10.65 ± 0.01

⁽¹⁾ คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P < 0.05$)

⁽²⁾ คือ ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดหรือตัวยับยั้ง

⁽³⁾ คือ V_{max} มีหน่วยเป็น n mole conjugated product / mg protein / min และ k_m มีหน่วยเป็น mM

ตารางที่ 21 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน K_m และ V_{max} ของเอนไซม์เอสเทอร์ส ของลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากพืช 3 ชนิด ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง

ชนิดและความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากพืช(เปอร์เซ็นต์)	เอนไซม์เอสเทอร์ส ⁽¹⁾	
	ค่า K_m ⁽³⁾	ค่า V_{max} ⁽³⁾
ชุดควบคุม ⁽²⁾	0.97 ± 0.01	13.04 ± 0.02
สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู ความเข้มข้น 10.75	1.98 ± 0.01	15.28 ± 0.02
สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว ความเข้มข้น 0.07	1.43 ± 0.14	12.60 ± 0.03
สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง ความเข้มข้น 24.32	3.75 ± 0.15	10.50 ± 0.03

(1) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P < 0.05$)

(2) คือ ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดหรือตัวยับยั้ง

(3) คือ V_{max} มีหน่วยเป็น n mole conjugated product / mg protein / min และ k_m มีหน่วยเป็น mM

ตารางที่ 22 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน K_m และ V_{max} ของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส (CDNB) ของลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากพืช 3 ชนิด ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง

ชนิดและความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากพืช (เปอร์เซ็นต์)	เอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ⁽¹⁾	
	ค่า K_m ⁽³⁾	ค่า V_{max} ⁽³⁾
ชุดควบคุม ⁽²⁾	3.80 ± 0.04	10.87 ± 0.04
สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู ความเข้มข้น 10.75	1.46 ± 0.03	12.08 ± 0.04
สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว ความเข้มข้น 0.07	3.82 ± 0.06	21.42 ± 0.22
สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง ความเข้มข้น 24.32	0.26 ± 0.05	11.22 ± 0.12

⁽¹⁾ คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P < 0.05$)

⁽²⁾ คือ ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดหรือด้วยขี้

⁽³⁾ คือ V_{max} มีหน่วยเป็น n mole conjugated product / mg protein / min และ k_m มีหน่วยเป็น mM

ตารางที่ 23 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน K_m และ V_{max} ของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส (CDNB) ของลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากพืช 3 ชนิด ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง

ชนิดและความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากพืช (เปอร์เซ็นต์)	เอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ⁽¹⁾	
	ค่า K_m ⁽³⁾	ค่า V_{max} ⁽³⁾
ชุดควบคุม ⁽²⁾	3.80 ± 0.04	10.87 ± 0.04
สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู ความเข้มข้น 10.75	3.54 ± 0.02	15.88 ± 0.05
สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว ความเข้มข้น 0.07	2.88 ± 0.01	23.20 ± 0.03
สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง ความเข้มข้น 24.32	0.61 ± 0.06	9.54 ± 0.06

⁽¹⁾ คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P < 0.05$)

⁽²⁾ คือ ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดหรือตัวยับยั้ง

⁽³⁾ คือ V_{max} มีหน่วยเป็น n mole conjugated product / mg protein / min และ k_m มีหน่วยเป็น mM

ตารางที่ 24 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน K_m และ V_{max} ของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส (DCNB) ของลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากพืช 3 ชนิด ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง

ชนิดและความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากพืช (เปอร์เซ็นต์)	เอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส ⁽¹⁾	
	ค่า K_m ⁽³⁾	ค่า V_{max} ⁽³⁾
ชุดควบคุม ⁽²⁾	3.72 ± 0.09	13.05 ± 0.23
สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู ความเข้มข้น 10.75	0.77 ± 0.06	12.41 ± 0.07
สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว ความเข้มข้น 0.07	4.11 ± 0.05	13.23 ± 0.13
สารสกัดหยาบจากหญ้าวงช้าง ความเข้มข้น 24.32	2.99 ± 0.07	10.42 ± 0.09

⁽¹⁾ คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P < 0.05$)

⁽²⁾ คือ ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดหรือด้วยขี้

⁽³⁾ คือ V_{max} มีหน่วยเป็น n mole conjugated product / mg protein / min และ k_m มีหน่วยเป็น mM

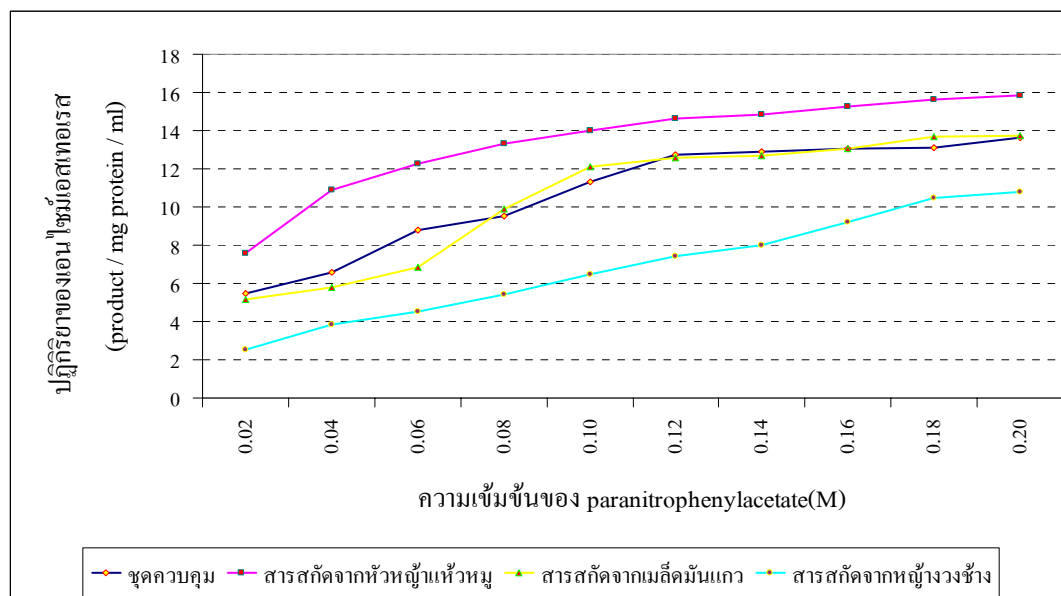
ตารางที่ 25 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน K_m และ V_{max} ของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส (DCNB) ของลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากพืช 3 ชนิด ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง

ชนิดและความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากพืช (เปอร์เซ็นต์)	เอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส – ทรานสเฟอเรส ⁽¹⁾	
	ค่า K_m ⁽³⁾	ค่า V_{max} ⁽³⁾
ชุดควบคุม ⁽²⁾	3.72 ± 0.09	13.05 ± 0.23
สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยว ความเข้มข้น 10.75	2.93 ± 0.04	10.49 ± 0.06
สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว ความเข้มข้น 0.07	3.96 ± 0.05	8.14 ± 0.08
สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง ความเข้มข้น 24.32	2.79 ± 0.05	8.40 ± 0.05

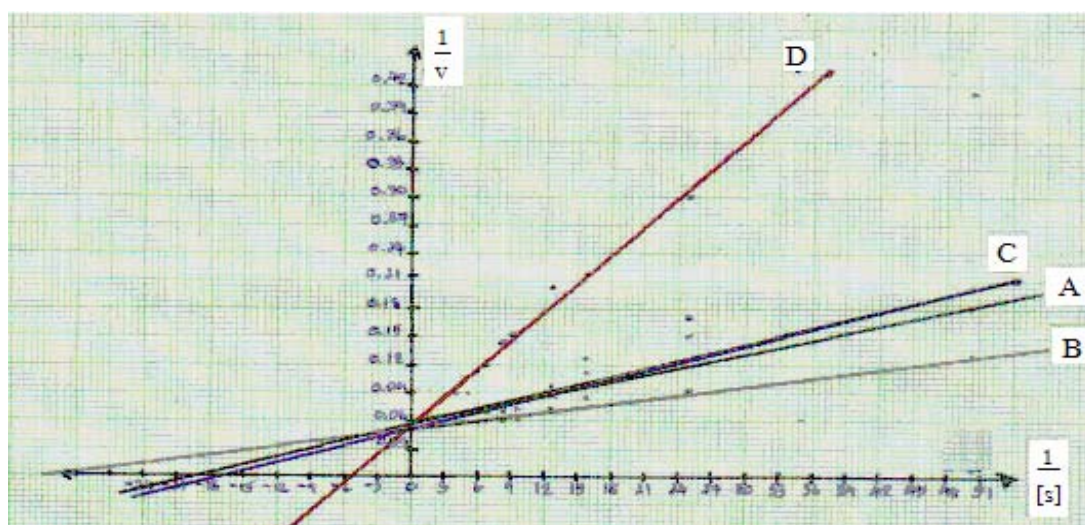
(1) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P < 0.05$)

(2) คือ ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดหรือด้วยขี้

(3) คือ V_{max} มีหน่วยเป็น n mole conjugated product / mg protein / min และ k_m มีหน่วยเป็น mM



A



B

ภาพที่ 42 กราฟแสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์เอสเทอร์ระหว่างความเร็วกับความเข้มข้นของ
 สับสเตรต หลังจากถูกน้ำยุงลายได้รับสารสกัดหยาบจากพืช ในช่วงเวลาที่ 48 ชั่วโมง
 A ผลของปฏิกิริยาของลูกน้ำยุงลาย

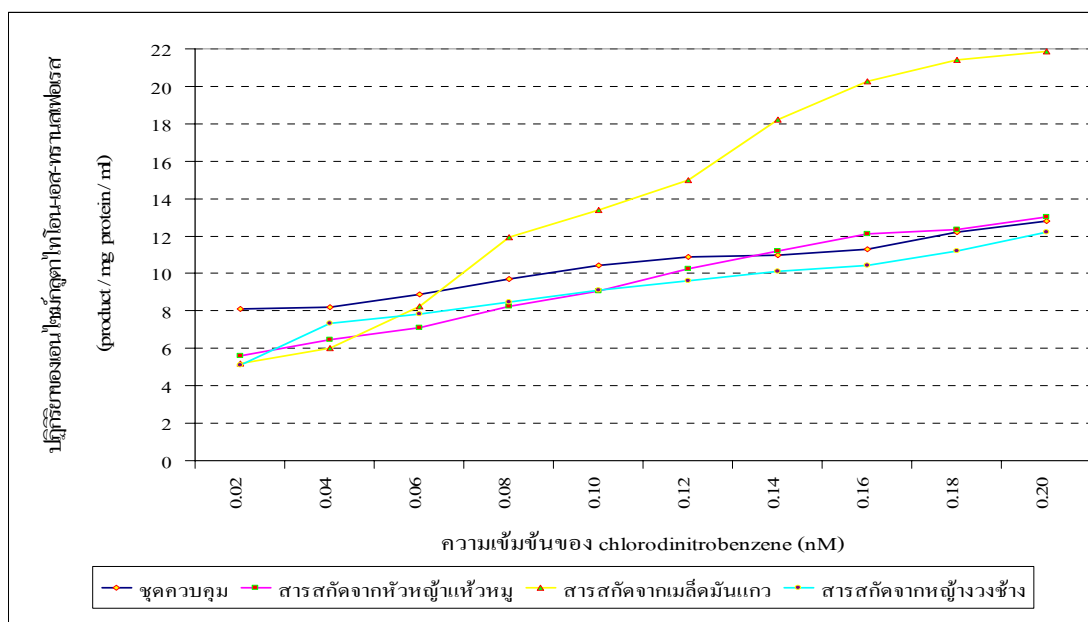
B Lineweaver – Burk plot ของปฏิกิริยา โดยที่อักษรในกราฟแทนสารดังนี้

A = ชุดควบคุม

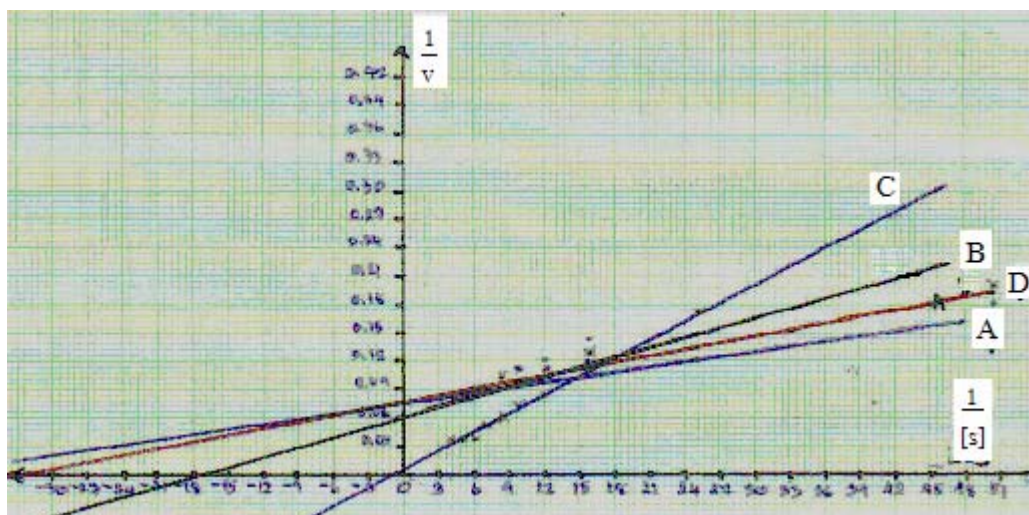
B = สารสกัดหยาบจากหัวฟ้าเห็ดหมู

C = สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

D = สารสกัดหยาบจากหญ้าหางช้าง



A



B

ภาพที่ 43 กราฟแสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส (CDNB) ระหว่างความเร็วกับความเข้มข้นของสับสเตรต หลังจากกลูต้าไธโอนได้รับสารสกัดจากพืชในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมง

A ผลของปฏิกิริยาของกลูต้าไธโอน

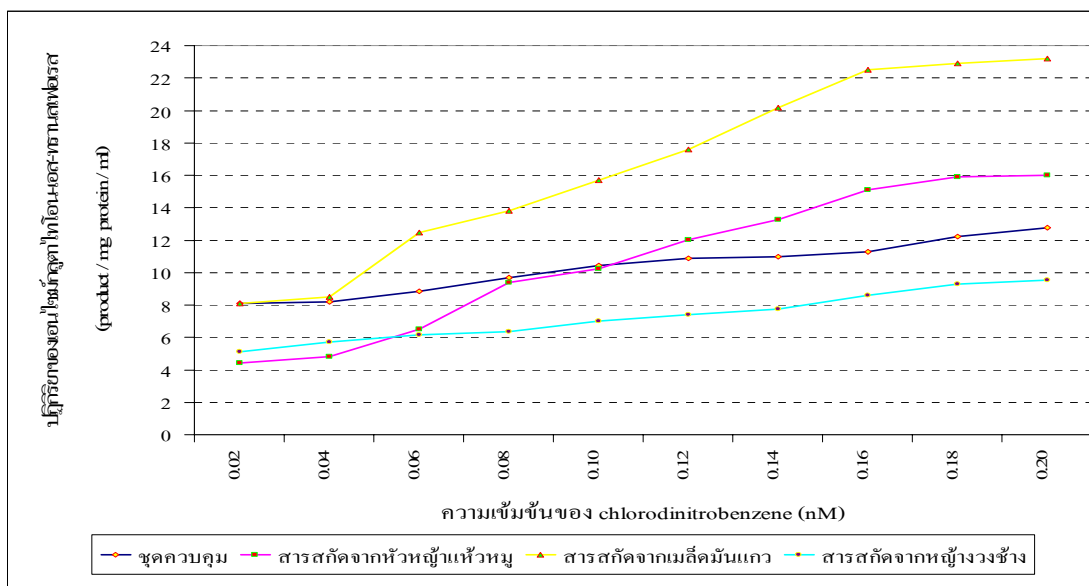
B Lineweaver – Burk plot ของปฏิกิริยา โดยที่อักษรในกราฟแทนสารดังนี้

A = ชุดควบคุม

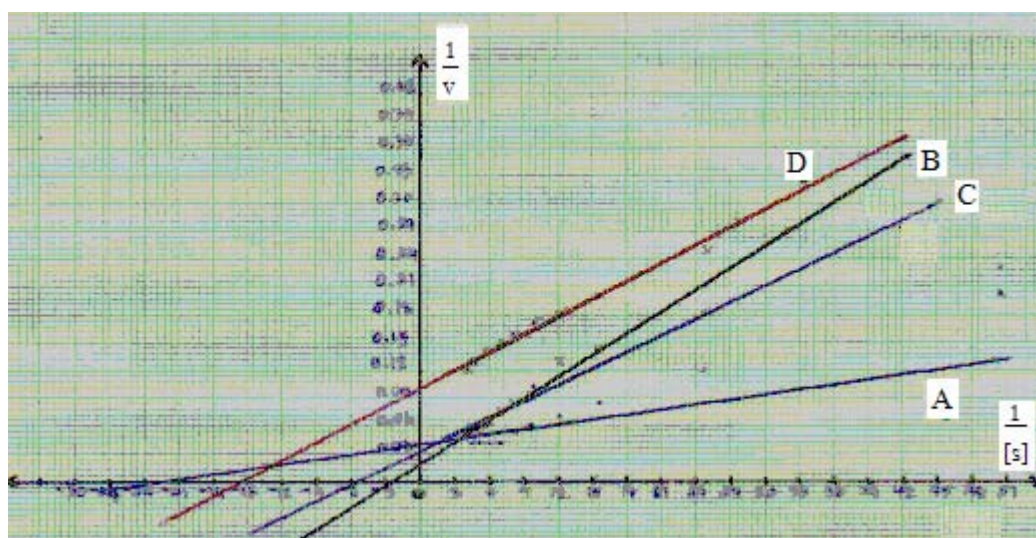
B = สารสกัดจากหัวเหว้าเหี่ยว

C = สารสกัดจากเมล็ดมันแกว

D = สารสกัดจากหัวงาช้าง



A



B

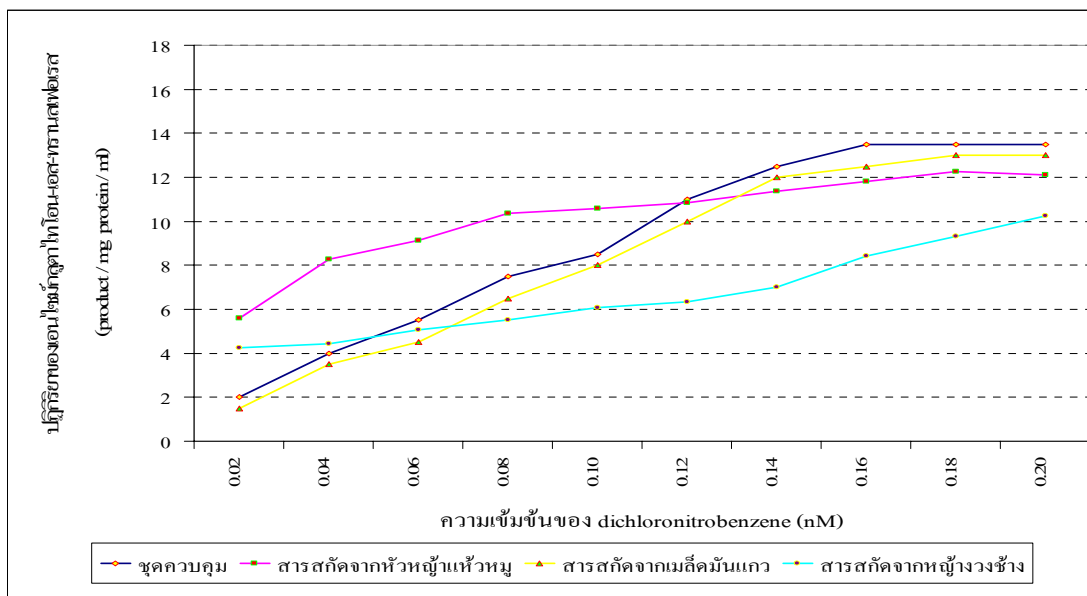
ภาพที่ 44 กราฟแสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส (CDNB) ระหว่างความเร็วกับความเข้มข้นของสับสเตรต หลังจากกลูต้าไทโอนได้รับสารสกัดจากพืชในช่วงเวลาที่ 48 ชั่วโมง

A ผลของปฏิกิริยาของกลูต้าไทโอน

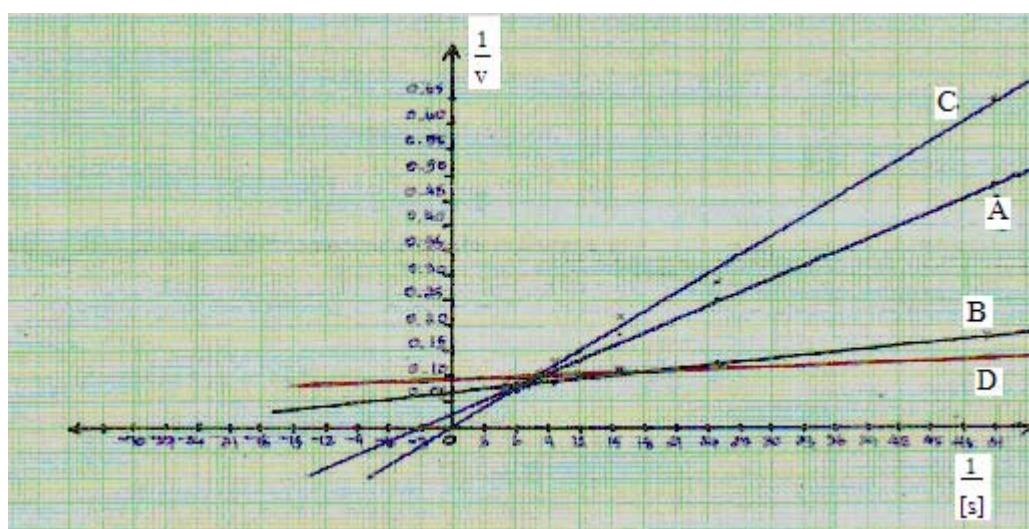
B Lineweaver – Burk plot ของปฏิกิริยา โดยที่อักษรในกราฟแทนสารดังนี้

A = ชุดควบคุม B = สารสกัดหยาบจากหัวขมิ้นหัวหอม

C = สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว D = สารสกัดหยาบจากขมิ้นผงขมิ้น



A



B

ภาพที่ 45 กราฟแสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส (DCNB) ระหว่างความเร็วกับความเข้มข้นของสับสเตรต หลังจากกลูต้าไธโอนละลายได้รับสารสกัดจากพืชในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมง

A ผลของปฏิกิริยาของกลูต้าไธโอน

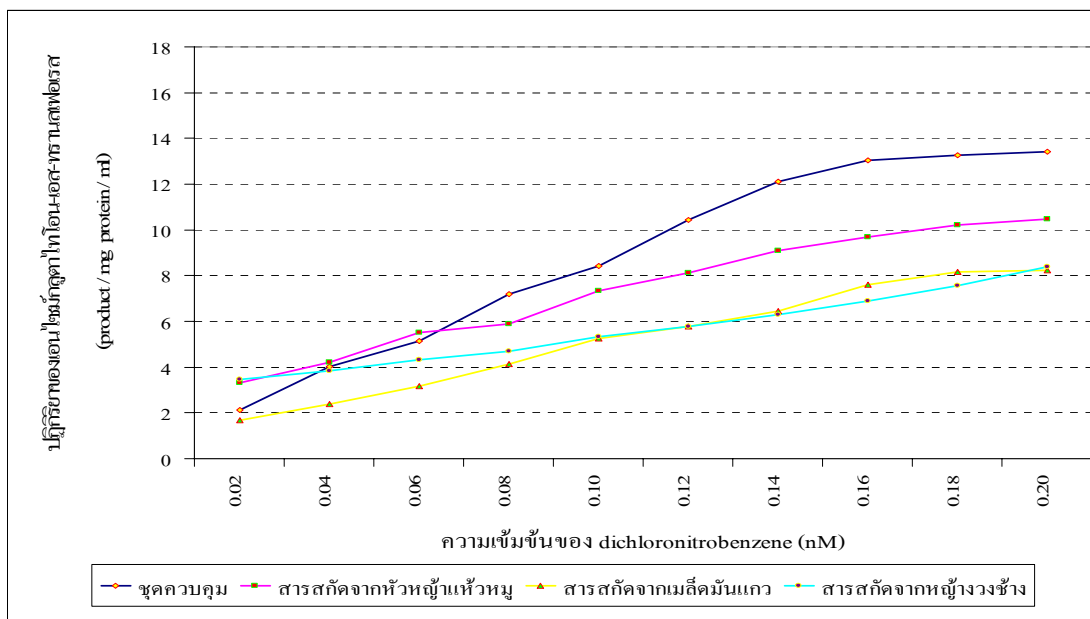
B Lineweaver – Burk plot ของปฏิกิริยา โดยที่อักษรในกราฟแทนสารดังนี้

A = ชุดควบคุม

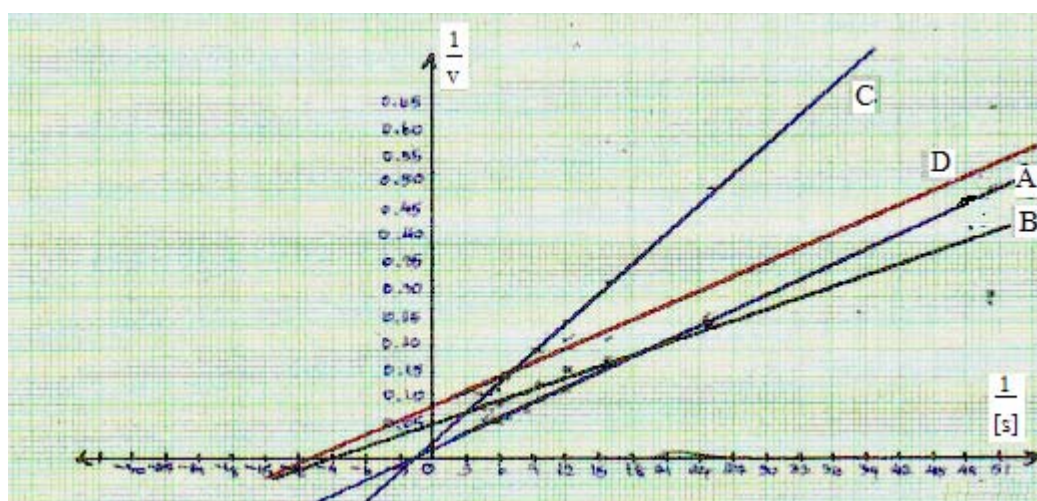
B = สารสกัดหยาบจากหัวขมิ้นแห้งหุ้ม

C = สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

D = สารสกัดหยาบจากหญ้าขจรไข



A



B

ภาพที่ 46 กราฟแสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส (DCNB) ระหว่างความเร็วกับความเข้มข้นของสับสเตรต หลังจากกลูต้าไธโอนได้รับสารสกัดจากพืชในช่วงเวลาที่ 48 ชั่วโมง

A ผลของปฏิกิริยาของกลูต้าไธโอน

B Lineweaver – Burk plot ของปฏิกิริยา โดยที่อักษรในกราฟแทนสารดังนี้

A = ชุดควบคุม

B = สารสกัดจากหัวหน้้าเห้วหมู

C = สารสกัดจากเมล็ดมันแกว

D = สารสกัดจากหน้้าวงช้าง

6. ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมาย (Non-target)

6.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษกับปลาสด

6.1.1 สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าแห้วหมู

สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าแห้วหมูที่สกัดโดยแอลกอฮอล์ 95 % เป็นตัวทำละลาย ซึ่งทำการทดสอบความเป็นพิษกับปลาสด โดยทำการทดลอง 6 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุม, ชุดควบคุมที่ใส่ตัวละลาย, 3, 6, 9 และ 12 % w/v ในน้ำ 5,000 มิลลิลิตรพบอัตราการตายในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 0.00, 3.33, 13.33, 60.00, 76.67 และ 93.33 ตามลำดับ มีค่า LC_{50} จากสมการ regression คือ $Y = 0.415 + 8.14 x$ เท่ากับ 6.09 % w/v ส่วนในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง พบอัตราการตาย เท่ากับ 0.00, 6.67, 20.00, 73.33, 86.67 และ 96.67 ตามลำดับ มีค่า LC_{50} จากสมการ regression คือ $Y = 4.554 + 8.528 x$ เท่ากับ 5.33 % w/v

ส่วนพฤติกรรมของปลาสดหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าแห้วหมูพบว่าในช่วงเวลาแรกปลายังว่ายน้ำเป็นปกติ มีการว่ายน้ำไปรอบ ๆ ตู้และขึ้นลงระหว่างผิวน้ำกับก้นตู้ แต่พอเวลาผ่านไปประมาณ 10 – 12 ชั่วโมง ปลาสดที่อยู่ในช่วงความเข้มข้นที่ 6 – 12 เริ่มมีอาการว่ายน้ำช้าลง ไม่ค่อยเคลื่อนไหว และอยู่ที่ก้นตู้มากกว่าที่ผิวน้ำ

ตารางที่ 26 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน⁽⁴⁾ ของปลาสดเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจาก หัวหญ้าแห้วหมูในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

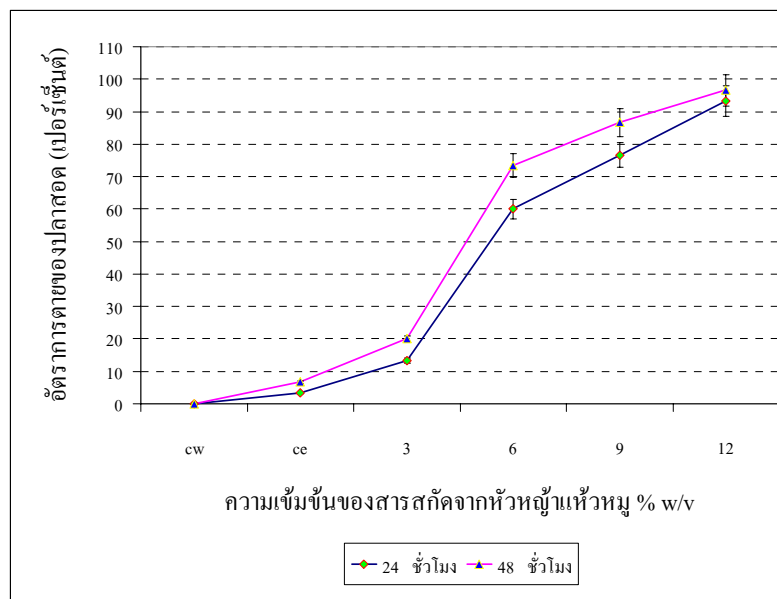
ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจาก หัวหญ้าแห้วหมู(เปอร์เซ็นต์)	อัตราการตายของปลาสด ⁽³⁾	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
ควบคุม ⁽¹⁾	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00
ควบคุม ⁽²⁾	3.33 $\pm$ 3.33 ^a	6.67 $\pm$ 3.33 ^a
3	13.33 $\pm$ 6.67 ^a	20.00 $\pm$ 5.77 ^b
6	60.00 $\pm$ 5.77 ^b	73.33 $\pm$ 3.33 ^c
9	76.67 $\pm$ 3.33 ^c	86.67 $\pm$ 3.33 ^d
12	93.33 $\pm$ 3.33 ^d	96.67 $\pm$ 3.33 ^d

หมายเหตุ

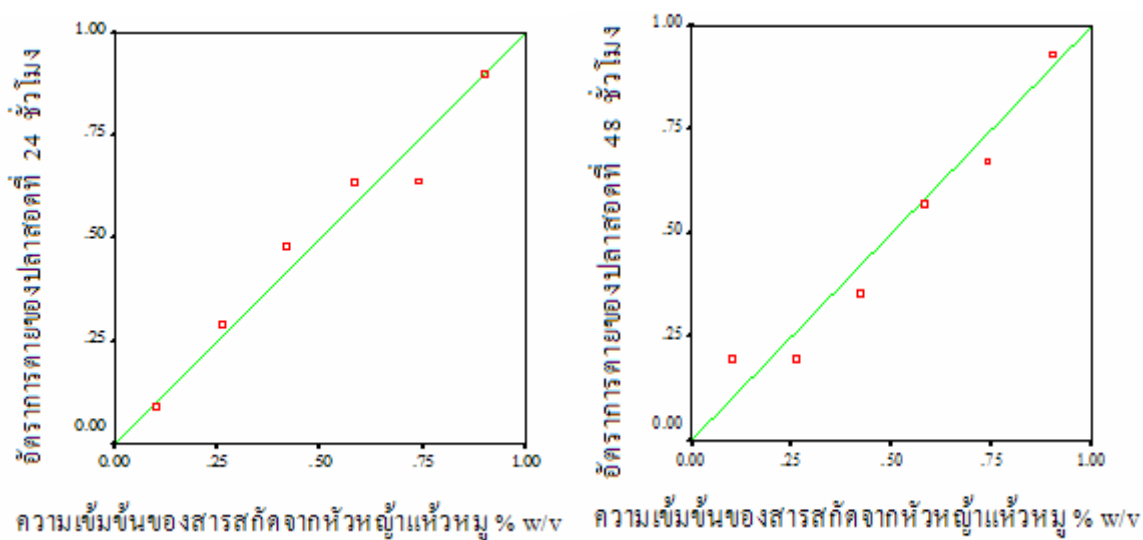
- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ได้สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ได้เฉพาะตัวทำละลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวดังเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมี

นัยสำคัญ (DMRT , P < 0.05)

- (4) คือ เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว



A



B

ภาพที่ 47 กราฟเส้นแสดงอัตราการตายของปลาสดจากการให้สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยว

A แสดงอัตราการตายของปลาสด

B แสดงกราฟจากสมการ regression ของอัตราการตายของปลาสด

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ได้ตัวทำละลายเอทานอล

ผลของสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู่ต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ของปลาสดจากการให้สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู่เป็นช่วงเวลา 24 ชั่วโมง หาค่าสมการ regression ได้เท่ากับ $y = 0.415 + 8.139 x$ แทนค่า y เป็นเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50 จะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 6.09 % w/v และเมื่อใช้ช่วงระยะเวลา 48 ชั่วโมง ค่าสมการ regression คือ $y = 4.554 + 8.528 x$ ดังนั้นจะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 5.33 % w/v

ตารางที่ 27 อัตราการตายของปลาสดที่ 50 เปอร์เซ็นต์โดยใช้สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู่ พร้อมกับค่าของสมการ regression เปรียบเทียบกันในช่วงระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	สมการ regression ⁽¹⁾	LC_{50} ⁽²⁾	r ⁽³⁾	r^2 ⁽⁴⁾
24	$Y = 0.415 + 8.139 x$	6.09	.982	.965
48	$Y = 4.554 + 8.528 x$	5.33	.969	.939

⁽¹⁾ สมการ regression เปอร์เซนต์การตายของปลาสดหลังจากให้สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู่

X = เปอร์เซนต์ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู่ที่มี 95% เอทานอล เป็นตัวทำละลาย

Y = เปอร์เซนต์การตายของปลาสด

⁽²⁾ LC_{50} = The median lethal concentration

⁽³⁾ r = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient) ของเปอร์เซนต์การตาย

⁽⁴⁾ r^2 = ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient Determination) ของเปอร์เซนต์การตาย

6.1.2 สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวที่สกัดโดยแอลกอฮอล์ 95 % เป็นตัวทำละลาย ซึ่งทำการทดสอบความเป็นพิษกับปลาสด โดยทำการทดลอง 6 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุม, ชุดควบคุมที่ใส่ตัวละลาย, 0.05 , 0.10 , 0.15 และ 0.20 % w/v ในน้ำ 5,000 มิลลิลิตร พบอัตราการตายในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 0.00, 3.33, 33.33, 63.33, 86.67 และ 100.00 ตามลำดับ มีค่า LC_{50} จากสมการ regression คือ $Y = 4.997 + 513.35 x$ เท่ากับ 0.088 % w/v ส่วนในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง พบอัตราการตาย เท่ากับ 0.00, 6.67, 53.33, 73.33, 90.00 และ 100.00 ตามลำดับ มีค่า LC_{50} จากสมการ regression คือ $Y = 12.5 + 496.66 x$ เท่ากับ 0.076 % w/v

ส่วนพฤติกรรมของปลาสดหลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดมันแกว พบว่าในช่วงเวลาผ่านไปประมาณ 30 นาที ปลาเริ่มมีอาการว่ายน้ำช้าลง ไม่ค่อยเคลื่อนไหว และอยู่ที่ก้นตู้มากกว่าที่ผิวน้ำ บางตัวว่ายน้ำวนขึ้นลงระหว่างผิวน้ำกับก้นตู้ในลักษณะการว่ายบิดเป็นเกลียว

ตารางที่ 28 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน⁽⁴⁾ ของปลาสดเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ด
มันแกวในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

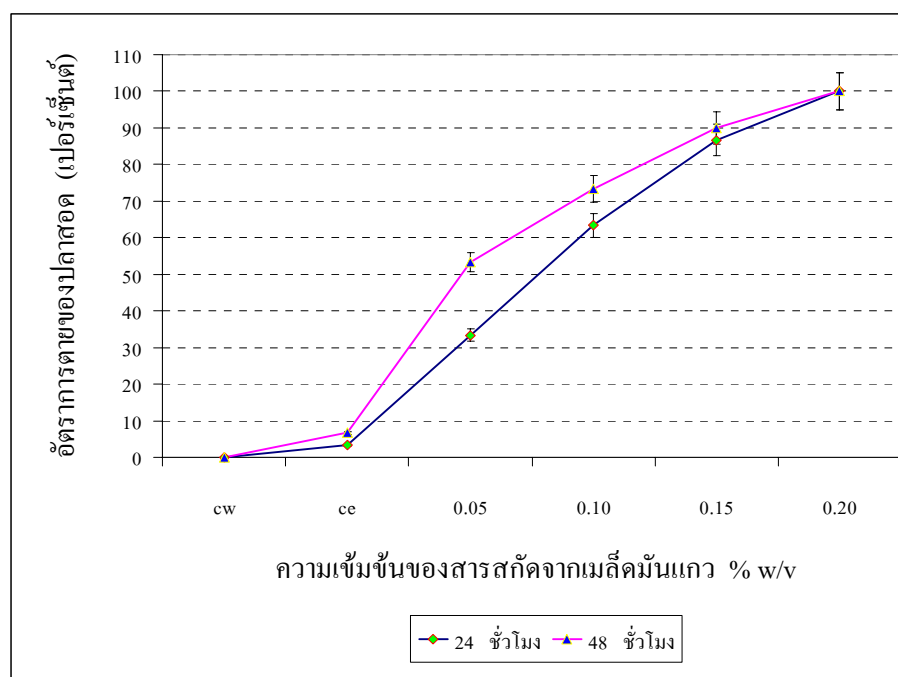
ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจาก เมล็ดมันแกว(เปอร์เซ็นต์)	อัตราการตายของปลาสด ⁽³⁾	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
ควบคุม ⁽¹⁾	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a
ควบคุม ⁽²⁾	3.33 $\pm$ 3.33 ^a	6.67 $\pm$ 6.67 ^a
0.05	33.33 $\pm$ 3.33 ^b	53.33 $\pm$ 3.33 ^b
0.10	63.33 $\pm$ 3.33 ^c	73.33 $\pm$ 3.33 ^c
0.15	86.67 $\pm$ 3.33 ^d	90.00 $\pm$ 0.00 ^d
0.20	100.0 $\pm$ 0.00 ^c	100.0 $\pm$ 0.00 ^d

หมายเหตุ

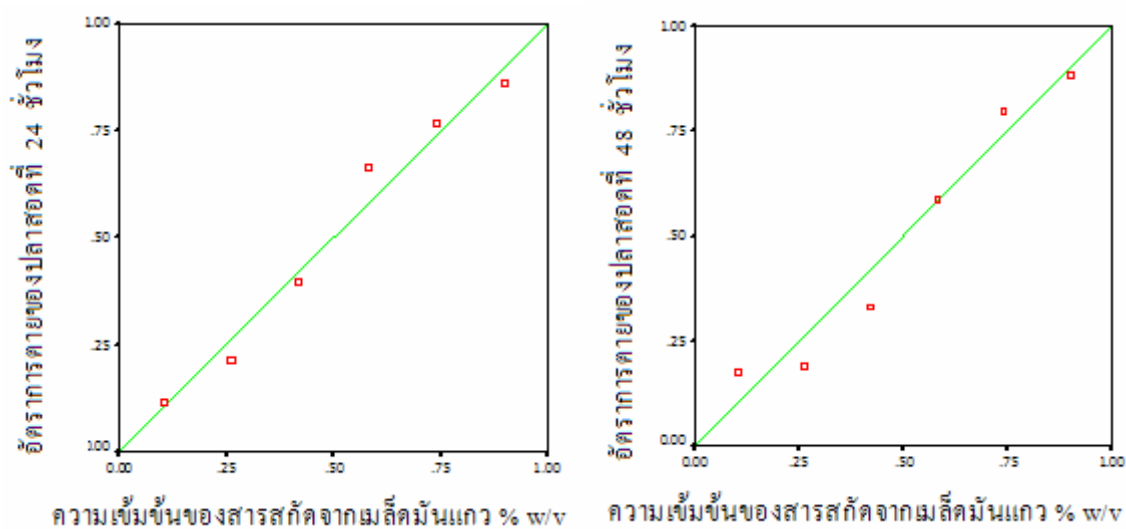
- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะตัวทำละลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวดังเดียวกัน จะไม่แตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญ (DMRT , P < 0.05)

- (4) คือ เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว



A



B

ภาพที่ 48 กราฟเส้นแสดงอัตราการตายของปลาสดจากการให้สารสกัดจากเมล็ดมันแกว

A แสดงอัตราการตายของปลาสด

B แสดงกราฟจากสมการ regression ของอัตราการตายของปลาสด

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลายเอทานอล

ผลของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซนต์ (LC_{50}) ของปลา สอดจากการให้สารสกัดจากเมล็ดมันแกวเป็นช่วงเวลา 24 ชั่วโมง หาค่าสมการ regression ได้เท่ากับ $y = 4.997 + 513.35 x$ แทนค่า y เป็นเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50 จะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 0.088 % w/v และเมื่อใช้ช่วงระยะเวลา 48 ชั่วโมง ค่าสมการ regression คือ $y = 12.5 + 496.66 x$ ดังนั้นจะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 0.076 % w/v

ตารางที่ 29 อัตราการตายของปลาสดที่ 50 เปอร์เซนต์โดยใช้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว พร้อมกับค่าของสมการ regression เปรียบเทียบกันในช่วงระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	สมการ regression ⁽¹⁾	LC_{50} ⁽²⁾	r ⁽³⁾	r^2 ⁽⁴⁾
24	$Y = 4.997 + 513.35 x$	0.088	.991	.982
48	$Y = 12.50 + 496.66 x$	0.076	.959	.920

⁽¹⁾ สมการ regression เปอร์เซนต์การตายของปลาสดหลังจากให้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว
 X = เปอร์เซนต์ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวที่มี 95% เอทานอล
 เป็นตัวทำละลาย

Y = เปอร์เซนต์การตายของปลาสด

⁽²⁾ LC_{50} = The median lethal concentration

⁽³⁾ r = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient) ของเปอร์เซนต์การตาย

⁽⁴⁾ r^2 = ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient Determination) ของเปอร์เซนต์การตาย

6.1.3 สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง

สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างที่สกัดโดยแอลกอฮอล์ 95 % เป็นตัวทำละลาย ซึ่งทำการทดสอบความเป็นพิษกับปลาสด โดยทำการทดลอง 6 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุม, ชุดควบคุมที่ใส่ตัวละลาย, 5, 10, 15 และ 20 % w/v ในน้ำ 5,000 มิลลิลิตร พบอัตราการตายในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 0.00, 3.33, 13.33, 23.33, 46.67 และ 56.67 ตามลำดับ มีค่า LC_{50} จากสมการ regression คือ $Y = 0.414 + 2.817 x$ เท่ากับ 17.60 % w/v ส่วนในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง พบอัตราการตาย เท่ากับ 0.00, 6.67, 20.00, 33.33, 56.67 และ 70.00 ตามลำดับ มีค่า LC_{50} จากสมการ regression คือ $Y = 2.918 + 3.383 x$ เท่ากับ 13.92 % w/v

ส่วนพฤติกรรมของปลาสดหลังจากได้รับสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างพบว่าในช่วงเวลาแรกการว่ายน้ำของปลาเป็นปกติไม่มีอาการเซื่องซึม แต่เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 15 – 20 ชั่วโมง ลักษณะการว่ายน้ำของปลาเริ่มช้าลง บางตัวว่ายน้ำแบบหงายท้อง ไม่ค่อยขึ้นมาว่ายน้ำบริเวณผิวน้ำ

ตารางที่ 30 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน⁽⁴⁾ ของปลาสดเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหญ้า
งวงช้างในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

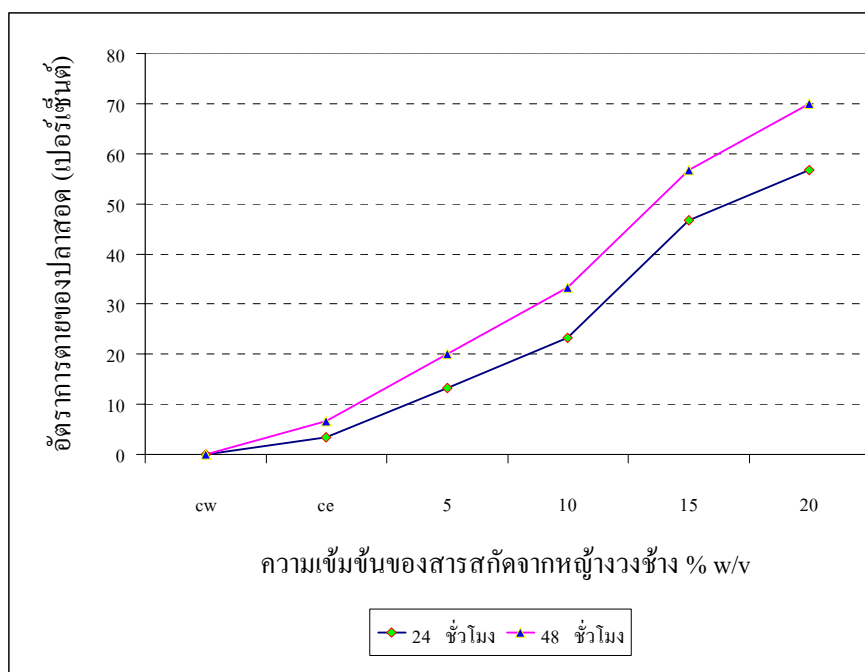
ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจาก หญ้างวงช้าง(เปอร์เซ็นต์)	อัตราการตายของปลาสด ⁽³⁾	
	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	
	24	48
ควบคุม ⁽¹⁾	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a
ควบคุม ⁽²⁾	3.33 $\pm$ 3.33 ^a	6.67 $\pm$ 3.33 ^a
5	13.33 $\pm$ 3.33 ^b	20.00 $\pm$ 5.77 ^b
10	23.33 $\pm$ 3.33 ^c	33.33 $\pm$ 3.33 ^c
15	46.67 $\pm$ 3.33 ^d	56.67 $\pm$ 3.33 ^d
20	56.67 $\pm$ 0.00 ^c	70.00 $\pm$ 5.77 ^c

หมายเหตุ

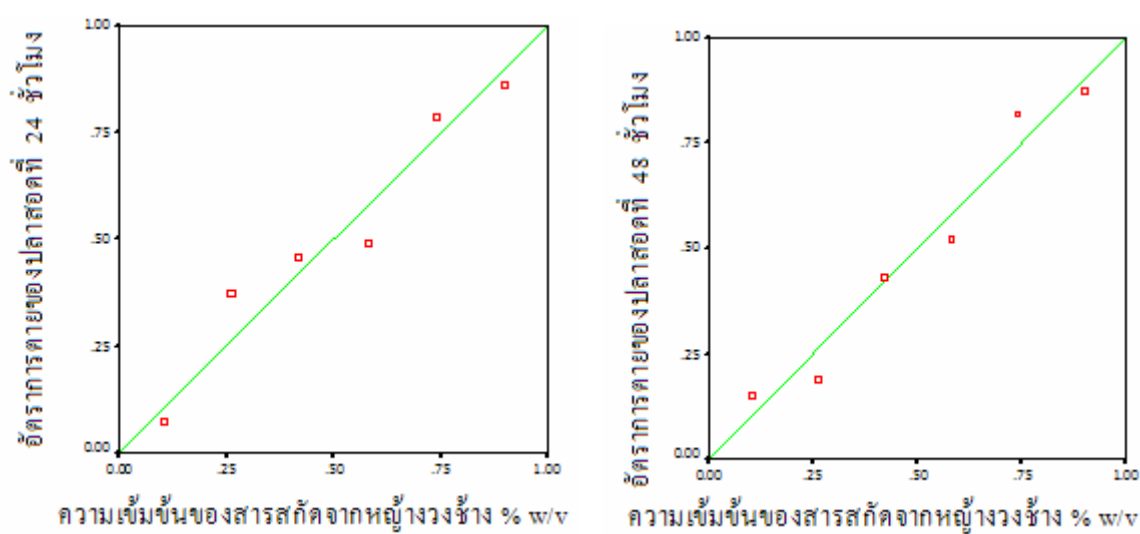
- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะตัวทำละลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญ (DMRT , P < 0.05)

- (4) คือ เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว



A



B

ภาพที่ 49 กราฟเส้นแสดงอัตราการตายของพลาสติกจากการให้สารสกัดจากเหู้งวงช้าง

A แสดงอัตราการตายของพลาสติก

B แสดงกราฟจากสมการ regression ของอัตราการตายของพลาสติก

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลายเอทานอล

ผลของสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซนต์ (LC_{50}) ของปลา สอดจากการให้สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างเป็นช่วงเวลา 24 ชั่วโมง หาค่าสมการ regression ได้เท่ากับ $y = 0.414 + 2.817 x$ แทนค่า y เป็นเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50 จะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 17.74 % w/v และเมื่อใช้ช่วงระยะเวลา 48 ชั่วโมง ค่าสมการ regression คือ $y = 2.918 + 3.383 x$ ดังนั้นจะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 13.92 % w/v

ตารางที่ 31 อัตราการตายของปลาสดที่ 50 เปอร์เซนต์โดยใช้สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง พร้อมกับค่าของสมการ regression เปรียบเทียบกันในช่วงระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	สมการ regression ⁽¹⁾	LC_{50} ⁽²⁾	r ⁽³⁾	r^2 ⁽⁴⁾
24	$Y = 0.414 + 2.817 x$	17.74	.990	.980
48	$Y = 2.918 + 3.383 x$	13.92	.994	.989

⁽¹⁾ สมการ regression เปอร์เซนต์การตายของปลาสดหลังจากให้สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง
 X = เปอร์เซนต์ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างที่มี 95% เอทานอล
 เป็นตัวทำละลาย

Y = เปอร์เซนต์การตายของปลาสด

⁽²⁾ LC_{50} = The median lethal concentration

⁽³⁾ r = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient) ของเปอร์เซนต์การตาย

⁽⁴⁾ r^2 = ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient Determination) ของเปอร์เซนต์การตาย

6.2 ผลการทดสอบกับฝิ่งโพรง

จากการทดสอบหาค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากพืชทั้ง 3 ชนิดต่อฝิ่งโพรงพบว่าสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูและสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างที่ทำการทดสอบในช่วงเวลา 4 , 8 และ 12 ชั่วโมง มีอัตราการตายของฝิ่งโพรงจำนวนไม่มากนัก ซึ่งไม่สามารถหาอัตราการตายครั้งหนึ่ง (LC_{50}) ของฝิ่งโพรงได้ แต่ที่ช่วงเวลา 16 ชั่วโมงสามารถหาอัตราการตายครั้งหนึ่ง (LC_{50}) ได้ในทุกสารสกัดหยาบที่ใช้ในการทดลอง

6.2.1 สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู

จากการทดสอบสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูกับฝิ่งโพรงพบว่าอัตราการตายของฝิ่งโพรงจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารที่เพิ่มมากขึ้น โดยอัตราการตายนั้นจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ 95 % ระหว่างชุดควบคุมกับชุดทดลองของทุก ๆ ความเข้มข้นและทุกช่วงระยะเวลา (ตารางที่ 32)

6.2.2 สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

จากการทดสอบสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวกับฝิ่งโพรงพบว่าอัตราการตายของฝิ่งโพรงจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารที่เพิ่มมากขึ้น โดยอัตราการตายนั้นจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ 95 % ระหว่างชุดควบคุม กับชุดทดลองในช่วงระยะเวลาที่ 4 และ 8 ชั่วโมง และตั้งแต่ช่วงระยะเวลาที่ 12 และ 16 ชั่วโมง ทุกชุดควบคุมและทุกชุดทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ 95 % (ตารางที่ 34)

6.2.3 สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง

จากการทดสอบสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างกับฝิ่งโพรงพบว่าอัตราการตายของฝิ่งโพรงจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารที่เพิ่มมากขึ้น โดยอัตราการตายนั้นจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ 95 % ระหว่างชุดควบคุมและ 1% กับชุดทดลองตั้งแต่ความเข้มข้นที่ 2 ถึง 4 % ในทุกช่วงระยะเวลา (ตารางที่ 36)

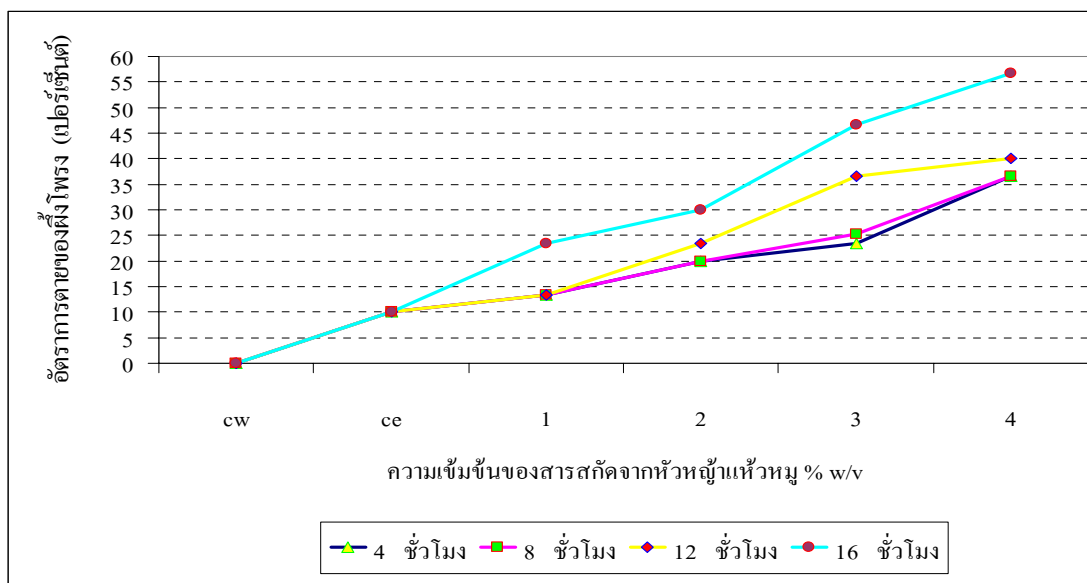
ตารางที่ 32 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน⁽⁴⁾ ของฟัฟงเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจาก หัวหญ้าเหี่ยวหมู ในช่วงเวลา 4, 8, 12 และ 16 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัดหยาบจาก หัวหญ้าเหี่ยวหมู (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการตายของฟัฟง ³⁾			
	ช่วงเวลา (ชั่วโมง)			
	4	8	12	16
ควบคุม ⁽¹⁾	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a
ควบคุม ⁽²⁾	10.00 $\pm$ 0.00 ^b	10.00 $\pm$ 0.00 ^b	10.00 $\pm$ 0.00 ^{ab}	10.00 $\pm$ 0.00 ^{ab}
1	13.33 $\pm$ 3.33 ^{bc}	13.33 $\pm$ 3.33 ^{bc}	13.33 $\pm$ 3.33 ^b	23.33 $\pm$ 3.33 ^b
2	20.00 $\pm$ 0.00 ^{cd}	20.00 $\pm$ 0.00 ^{cd}	23.33 $\pm$ 0.00 ^{bc}	30.00 $\pm$ 0.00 ^c
3	23.33 $\pm$ 3.33 ^{de}	25.33 $\pm$ 3.33 ^{de}	36.67 $\pm$ 6.67 ^c	46.67 $\pm$ 6.67 ^d
4	36.67 $\pm$ 3.33 ^e	36.67 $\pm$ 3.33 ^e	40.00 $\pm$ 5.77 ^d	56.67 $\pm$ 3.33 ^d

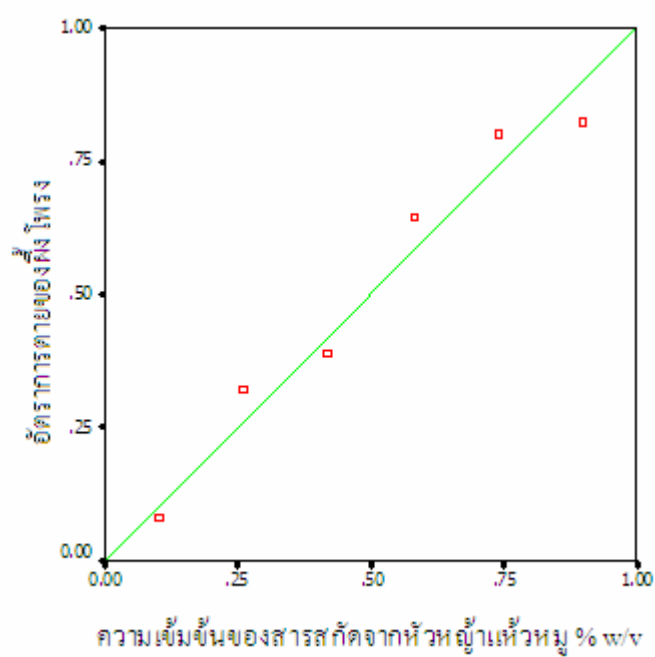
หมายเหตุ

- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ได้เฉพาะตัวทำลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P < 0.05$)

- (4) คือ เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว



A



B

ภาพที่ 50 แสดงกราฟอัตราการตายของพืชไฟจากสารสกัดจากหัวเหว้าเหว้าหมู

A แสดงอัตราการตายของพืชไฟ

B แสดงกราฟจากสมการ regression อัตราการตายของพืชไฟ

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลายเอทานอล

ผลของสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหวหมต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ของผึ้ง
 โพรงจากการให้สารสกัดในช่วงเวลา 16 ชั่วโมง หาค่าสมการ regression ได้เท่ากับ $y = 9.167 + 18.834x$ แทนค่า y เป็นเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50 จะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 3.39 % w/v

ตารางที่ 33 อัตราการตายของผึ้งโพรงที่ 50 เปอร์เซ็นต์โดยใช้สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหวหม
 พร้อมกับค่าของสมการ regression ในช่วงระยะเวลา 16 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	สมการ regression ⁽¹⁾	LC_{50} ⁽²⁾	r ⁽³⁾	r^2 ⁽⁴⁾
16	$Y = 6.249 + 12.918x$	3.39	.983	.966

⁽¹⁾ สมการ regression เปอร์เซนต์การตายของผึ้งโพรงหลังจากให้สารสกัดจากหัวหญ้าเหวหม
 X = เปอร์เซนต์ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวหญ้าเหวหมที่มี 95% เอทานอล
 เป็นตัวทำละลาย

Y = เปอร์เซนต์การตายของผึ้งโพรง

⁽²⁾ LC_{50} = The median lethal concentration

⁽³⁾ r = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient) ของเปอร์เซนต์การตาย

⁽⁴⁾ r^2 = ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient Determination) ของเปอร์เซนต์การตาย

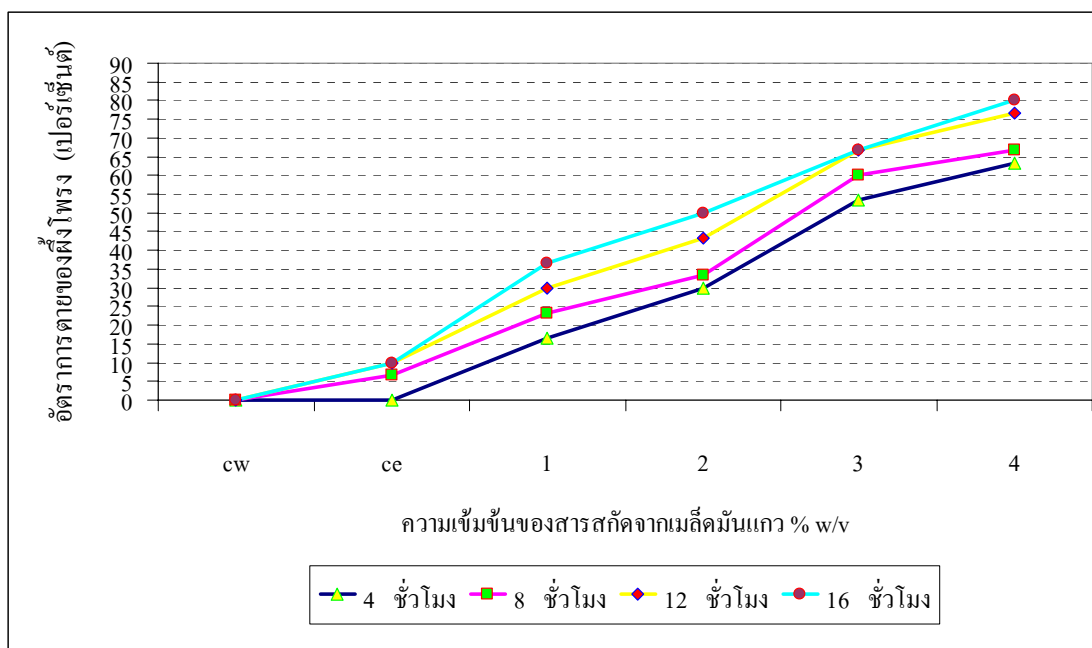
ตารางที่ 34 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน⁽⁴⁾ ของฟั๋งโพรงเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวในช่วงเวลา 4, 8, 12 และ 16 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัดหยาบจาก เมล็ดมันแกว (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการตายของฟั๋งโพรง ³⁾			
	ช่วงเวลา (ชั่วโมง)			
	4	8	12	16
ควบคุม ⁽¹⁾	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a
ควบคุม ⁽²⁾	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	6.67 $\pm$ 3.33 ^a	10.00 $\pm$ 0.00 ^b	10.00 $\pm$ 0.00 ^b
1	16.67 $\pm$ 3.33 ^b	23.33 $\pm$ 3.33 ^b	30.00 $\pm$ 0.00 ^c	36.67 $\pm$ 3.33 ^c
2	30.00 $\pm$ 0.00 ^c	33.33 $\pm$ 3.33 ^c	43.33 $\pm$ 3.33 ^d	50.00 $\pm$ 0.00 ^d
3	53.33 $\pm$ 3.33 ^d	60.00 $\pm$ 0.00 ^d	66.67 $\pm$ 3.33 ^e	66.67 $\pm$ 3.33 ^e
4	63.33 $\pm$ 3.33 ^e	66.67 $\pm$ 3.33 ^d	76.67 $\pm$ 3.33 ^f	80.00 $\pm$ 5.77 ^f

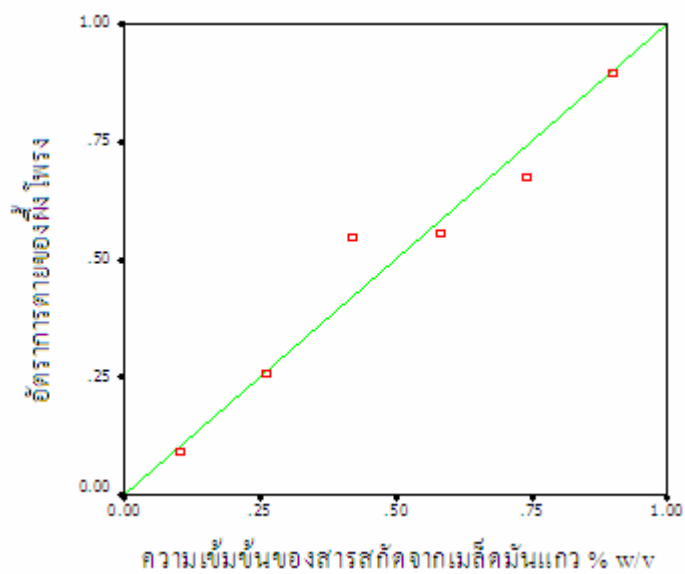
หมายเหตุ

- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ได้เฉพาะตัวทำลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, $P < 0.05$)

- (4) คือ เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว



A



B

ภาพที่ 51 แสดงกราฟอัตราการทำลายของน้ำมันปลาจากการให้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

A แสดงอัตราการทำลายของน้ำมันปลา

B แสดงกราฟจากสมการ regression อัตราการทำลายของน้ำมันปลา

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลายเอทานอล

ผลของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ของ ผีเสื้อโพรงจากการให้สารสกัดในช่วงเวลา 16 ชั่วโมง หาค่าสมการ regression ได้เท่ากับ $y = 9.167 + 18.834 x$ แทนค่า y เป็นเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50 จะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 2.17 % w/v

ตารางที่ 35 อัตราการตายของผีเสื้อโพรงที่ 50 เปอร์เซ็นต์โดยใช้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว พร้อมกับค่าของสมการ regression ในช่วงระยะเวลา 16 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	สมการ regression ⁽¹⁾	LC_{50} ⁽²⁾	r ⁽³⁾	r^2 ⁽⁴⁾
16	$Y = 9.167 + 18.834 x$	2.17	.980	.961

⁽¹⁾ สมการ regression เปอร์เซ็นต์การตายของผีเสื้อโพรงหลังจากให้สารสกัดจากเมล็ดมันแกว

X = เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดมันแกวที่มี 95% เอทานอล

เป็นตัวทำลาย

Y = เปอร์เซ็นต์การตายของผีเสื้อโพรง

⁽²⁾ LC_{50} = The median lethal concentration

⁽³⁾ r = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient) ของเปอร์เซ็นต์การตาย

⁽⁴⁾ r^2 = ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient Determination) ของเปอร์เซ็นต์การตาย

ตารางที่ 36 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน⁽⁴⁾ ของฟัฟงเมื่อได้รับสารสกัดหยาดจากหญ้า
วงช้างในช่วงเวลา 4, 8, 12 และ 16 ชั่วโมง

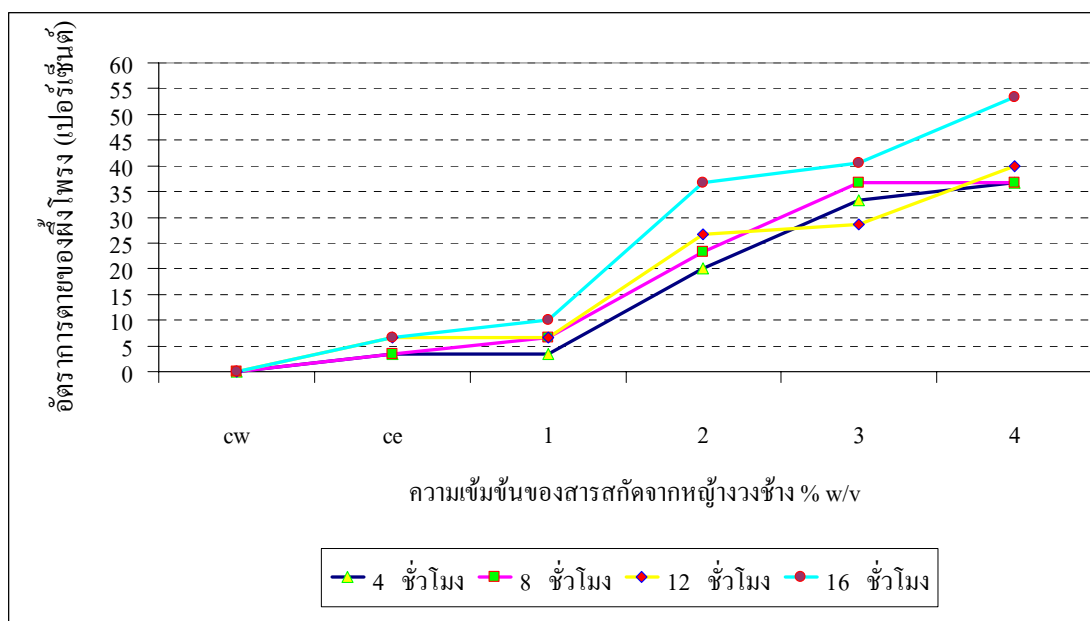
ความเข้มข้นของ สารสกัดหยาดจาก หญ้างวงช้าง (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการตายของฟัฟง ³⁾			
	ช่วงเวลา (ชั่วโมง)			
	4	8	12	16
ควบคุม ⁽¹⁾	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a
ควบคุม ⁽²⁾	3.33 $\pm$ 3.33 ^a	3.33 $\pm$ 3.33 ^a	6.67 $\pm$ 3.33 ^a	6.67 $\pm$ 3.33 ^a
1	3.33 $\pm$ 3.33 ^a	6.67 $\pm$ 3.33 ^a	6.67 $\pm$ 3.33 ^a	10.00 $\pm$ 5.77 ^a
2	20.00 $\pm$ 0.00 ^b	23.33 $\pm$ 3.33 ^b	26.67 $\pm$ 3.33 ^b	36.67 $\pm$ 3.33 ^b
3	33.33 $\pm$ 3.33 ^c	36.67 $\pm$ 3.33 ^c	38.67 $\pm$ 6.67 ^b	40.67 $\pm$ 6.67 ^b
4	36.67 $\pm$ 3.33 ^c	36.67 $\pm$ 3.33 ^c	40.00 $\pm$ 5.77 ^b	53.33 $\pm$ 3.33 ^c

หมายเหตุ

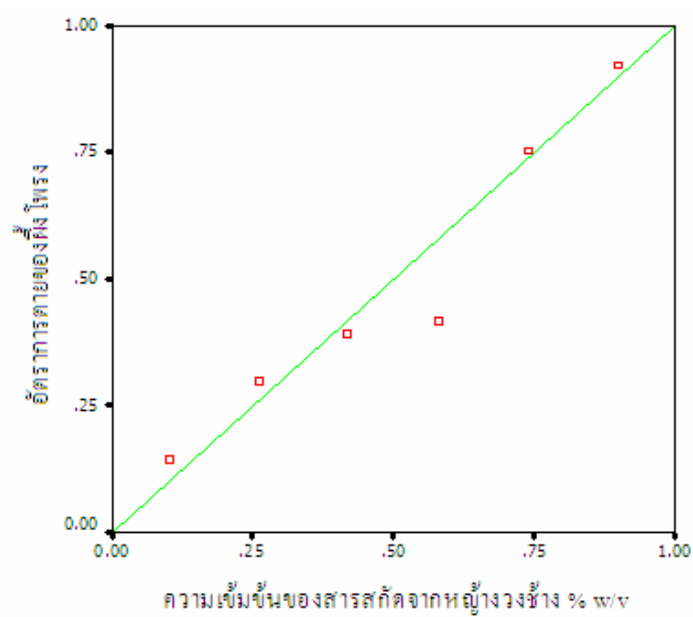
- (1) คือ ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด
- (2) คือ ชุดควบคุมที่ได้เฉพาะตัวทำลาย
- (3) คือ ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมี

นัยสำคัญ (DMRT, $P < 0.05$)

- (4) คือ เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยได้จากการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว



A



B

ภาพที่ 52 แสดงกราฟอัตราตายของผีเสื้อจากการให้สารสกัดจากหญ้าวงช้าง

A แสดงอัตราตายของผีเสื้อ

B แสดงกราฟจากสมการ regression อัตราตายของผีเสื้อ

หมายเหตุ cw หมายถึง ชุดควบคุมโดยไม่เติมสารละลายใดเลย

ce หมายถึง ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลายเอทานอล

ผลของสารสกัดจากหัวหนั้วงช้างต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ของผึ้งโพรงจากการให้สารสกัดที่ช่วงเวลา 16 ชั่วโมง หาค่าสมการ regression ได้เท่ากับ $y = 2.919.167 + 13.583 x$ แทนค่า y เป็นเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50 จะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 3.47 % w/v

ตารางที่ 37 อัตราการตายของผึ้งโพรงที่ 50 เปอร์เซ็นต์โดยใช้สารสกัดจากหัวหนั้วงช้าง พร้อมกับค่าของสมการ regression ในช่วงระยะเวลา 16 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	สมการ regression ⁽¹⁾	LC_{50} ⁽²⁾	r ⁽³⁾	r^2 ⁽⁴⁾
16	$Y = 2.919 + 13.583 x$	3.47	.974	.949

⁽¹⁾ สมการ regression เปอร์เซนต์การตายของผึ้งโพรงหลังจากให้สารสกัดหยาบจากหัวหนั้วงช้าง
 X = เปอร์เซนต์ความเข้มข้นของสารสกัดจากหัวหนั้วงช้างที่มี 95% เอทานอล
 เป็นตัวทำละลาย

Y = เปอร์เซนต์การตายของผึ้งโพรง

⁽²⁾ LC_{50} = The median lethal concentration

⁽³⁾ r = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient) ของเปอร์เซนต์การตาย

⁽⁴⁾ r^2 = ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient Determination) ของเปอร์เซนต์การตาย

7. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำเมื่อเติมสารสกัดหยาบจากพืชทั้ง 3 ชนิดลงในน้ำ

7.1 การวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ

เมื่อทำการทดสอบโดยการเติมสารสกัดหยาบจากพืช 3 ชนิด คือ สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าแห้วหมู สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวและสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง โดยใช้เครื่องวัดคุณภาพน้ำ (DO meter) พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำในช่วงเวลา 0 (น้ำก่อนทำการทดลอง) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากในแต่ละสารสกัดโดยค่าเฉลี่ยอยู่ในระหว่าง 4.60 – 5.50 มิลลิกรัมต่อลิตร และในแต่ละความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 24 และ 48 ชั่วโมง ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำเริ่มมีความแตกต่างกัน คือ จะลดลงเรื่อย ๆ (ตารางที่ 38 - 40)

7.2 การวัดความเป็นกรด – ด่าง ของน้ำ

เมื่อทำการทดสอบโดยการเติมสารสกัดหยาบจากพืช 3 ชนิด คือ สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าแห้วหมู สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวและสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง โดยใช้เครื่องวัดคุณภาพน้ำ (DO meter) พบว่าตั้งแต่ช่วงเวลาที่ 0 - 48 ชั่วโมงค่าความเป็นกรด – ด่างของน้ำมีค่าใกล้เคียงกันไม่แตกต่างกันมากนัก คือ อยู่ในช่วงประมาณ 6.80 – 7.90 ถึงแม้ความเข้มข้นของสารสกัดจะเพิ่มขึ้นก็ตาม (ตารางที่ 38 - 40)

ตารางที่ 38 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำและค่าความเป็นกรด - ด่างในน้ำ ในช่วงเวลา 0, 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเติมสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าแห้วหมู ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วงอุณหภูมิ 24 – 26 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจาก หัวหญ้าแห้วหมู (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ⁽¹⁾ ในช่วงเวลา (ชั่วโมง)			ค่าความเป็นกรด - ด่าง ของน้ำ		
	0	24	48	0	24	48
ควบคุม ⁽²⁾	5.42 $\pm$ 0.22 ^a	5.65 $\pm$ 0.19 ^a	5.92 $\pm$ 0.03 ^a	7.57 $\pm$ 0.03 ^a	7.36 $\pm$ 0.03 ^a	7.21 $\pm$ 0.06 ^a
ควบคุม ⁽³⁾	5.63 $\pm$ 0.02 ^a	5.89 $\pm$ 0.05 ^a	5.74 $\pm$ 0.02 ^a	7.88 $\pm$ 0.04 ^a	7.41 $\pm$ 0.02 ^a	7.12 $\pm$ 0.04 ^a
4	5.80 $\pm$ 0.11 ^a	5.75 $\pm$ 0.11 ^a	5.10 $\pm$ 0.11 ^a	7.35 $\pm$ 0.01 ^a	7.11 $\pm$ 0.71 ^a	7.09 $\pm$ 0.05 ^a
8	4.84 $\pm$ 0.32 ^b	4.25 $\pm$ 0.02 ^b	4.84 $\pm$ 0.32 ^b	7.28 $\pm$ 0.01 ^a	7.21 $\pm$ 0.01 ^a	6.29 $\pm$ 0.06 ^b
12	4.95 $\pm$ 0.30 ^b	3.65 $\pm$ 0.30 ^c	3.95 $\pm$ 0.30 ^c	7.36 $\pm$ 0.01 ^a	7.13 $\pm$ 0.03 ^a	6.28 $\pm$ 0.04 ^b
16	4.99 $\pm$ 0.06 ^b	2.89 $\pm$ 0.06 ^d	2.69 $\pm$ 0.06 ^d	6.83 $\pm$ 0.01 ^b	6.95 $\pm$ 0.10 ^b	6.60 $\pm$ 0.06 ^b

(1) ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแถวเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, P > 0.05)

(2) ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดหยาบ

(3) ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะตัวทำละลาย

ตารางที่ 39 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำและค่าความเป็นกรด - ด่างในน้ำ ในช่วงเวลา 0, 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเติมสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วงอุณหภูมิ 24 – 26 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจาก หัวหญ้าเหี่ยวหมู (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ⁽¹⁾ ในช่วงเวลา (ชั่วโมง)			ค่าความเป็นกรด - ด่าง ของน้ำ		
	0	24	48	0	24	48
ควบคุม ⁽²⁾	5.65 $\pm$ 0.03 ^a	5.71 $\pm$ 0.01 ^a	5.68 $\pm$ 0.02 ^a	7.60 $\pm$ 0.01 ^a	7.43 $\pm$ 0.03 ^a	7.37 $\pm$ 0.06 ^a
ควบคุม ⁽³⁾	5.29 $\pm$ 0.09 ^a	5.54 $\pm$ 0.02 ^a	5.54 $\pm$ 0.04 ^a	7.44 $\pm$ 0.02 ^b	7.35 $\pm$ 0.06 ^a	7.31 $\pm$ 0.05 ^a
0.05	5.11 $\pm$ 0.05 ^a	5.16 $\pm$ 0.04 ^a	5.27 $\pm$ 0.03 ^a	7.47 $\pm$ 0.11 ^b	7.39 $\pm$ 0.03 ^a	7.36 $\pm$ 0.03 ^a
0.10	5.01 $\pm$ 0.03 ^a	5.09 $\pm$ 0.00 ^a	5.15 $\pm$ 0.03 ^a	7.51 $\pm$ 0.04 ^{ab}	7.40 $\pm$ 0.01 ^a	7.32 $\pm$ 0.02 ^a
0.15	4.98 $\pm$ 0.06 ^b	4.87 $\pm$ 0.00 ^b	4.95 $\pm$ 0.02 ^b	7.47 $\pm$ 0.07 ^b	7.42 $\pm$ 0.01 ^a	7.23 $\pm$ 0.03 ^b
0.20	4.94 $\pm$ 0.02 ^b	4.81 $\pm$ 0.02 ^b	4.90 $\pm$ 0.03 ^b	7.47 $\pm$ 0.08 ^b	7.35 $\pm$ 0.02 ^a	7.18 $\pm$ 0.02 ^b

(1) ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT, P > 0.05)

(2) ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดหยาบ

(3) ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะตัวทำละลาย

ตารางที่ 40 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำและค่าความเป็นกรด - ด่างในน้ำ ในช่วงเวลา 0 , 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเติมสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วงอุณหภูมิ 24 – 26 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจาก หญ้างวงช้าง (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ⁽¹⁾ ในช่วงเวลา (ชั่วโมง)			ค่าความเป็นกรด - ด่าง ของน้ำ		
	0	24	48	0	24	48
ควบคุม ⁽²⁾	5.60 $\pm$ 0.05 ^a	5.66 $\pm$ 0.19 ^a	4.26 $\pm$ 0.10 ^a	6.96 $\pm$ 0.11 ^a	7.27 $\pm$ 0.01 ^a	7.36 $\pm$ 0.03 ^a
ควบคุม ⁽³⁾	5.01 $\pm$ 0.05 ^a	5.63 $\pm$ 0.02 ^a	4.32 $\pm$ 0.15 ^a	7.28 $\pm$ 0.16 ^b	7.17 $\pm$ 0.12 ^a	7.30 $\pm$ 0.01 ^a
10	5.10 $\pm$ 0.22 ^a	4.21 $\pm$ 0.14 ^b	1.42 $\pm$ 0.17 ^b	7.03 $\pm$ 0.15 ^b	7.05 $\pm$ 0.03 ^a	7.29 $\pm$ 0.02 ^a
20	5.12 $\pm$ 0.04 ^b	3.08 $\pm$ 0.03 ^c	1.38 $\pm$ 0.13 ^b	7.32 $\pm$ 0.03 ^b	6.95 $\pm$ 0.02 ^b	7.09 $\pm$ 0.01 ^b
30	5.06 $\pm$ 0.11 ^b	2.01 $\pm$ 0.02 ^d	1.51 $\pm$ 0.14 ^b	7.17 $\pm$ 0.04 ^b	6.94 $\pm$ 0.03 ^b	7.06 $\pm$ 0.00 ^b
40	5.11 $\pm$ 0.07 ^b	1.40 $\pm$ 0.20 ^c	1.30 $\pm$ 0.13 ^b	6.92 $\pm$ 0.04 ^a	6.80 $\pm$ 0.02 ^b	6.97 $\pm$ 0.01 ^c

(1) ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่เหมือนกันภายในแนวตั้งเดียวกัน จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (DMRT , P > 0.05)

(2) ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดหยาบ

(3) ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะตัวทำละลาย

วิจารณ์ผลการทดลอง

ปัจจุบันได้มีการนำสารชีวภาพและสารสกัดจากพืชมาช่วยในการควบคุมแมลงพาหะนำโรคและแมลงศัตรูพืช สารธรรมชาติแม้จะเป็นสารที่ไม่ให้ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันต่อแมลง แต่ก็มีผลช่วยในการลดอัตราการสร้างความต้านทานของแมลง เนื่องจากในสารสกัดหยาบจากพืชมีสารที่เป็นองค์ประกอบอยู่มากมาย ซึ่งมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงได้ (สุภาณี, 2532 ; Jayaraj, 1993) โดยแมลงจะสร้างความต้านทานต่อองค์ประกอบต่าง ๆ ได้นั้นต้องใช้ระยะเวลายาวนานมาก (Visetson, 1991) แล้วสารเหล่านี้ไม่ทำลายระบบนิเวศและตัวผู้ใช้ ซึ่งสอดคล้องกับ Schmuttrier (1980) ที่รายงานว่าสารสกัดจากพืชนำมาใช้ลดปัญหาสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการใช้สารฆ่าแมลงในประเทศที่กำลังพัฒนาที่มีอาชีพพื้นฐานทางการเกษตรได้เป็นอย่างดี

จากการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากพืช 3 ชนิด คือ สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าแห้วหมู ซึ่งมีสารต่าง ๆ ประกอบอยู่ เช่น caryophyllene และ rotundone (วันดี , 2541) มี essential oils ที่ประกอบด้วย α - Cyperone (4,11 – selinadien – 3 – one) (Dadang และคณะ, 1996) alkaloid ที่ไม่คงตัวบางชนิด นอกจากนี้ยังมีสารพวก sesquiterpenoids เช่น 4,5- secoeudesmane , cyperene และ cyperol (Hikino และคณะ, 1966) ซึ่งสารประกอบเหล่านี้เป็นสารที่ต่อต้านเชื้อหรือที่เรียกว่า antimalarial ส่วนสารสกัดจากเมล็ดมันแกวมียาส pachyrrhizin เป็นสารพวก 3 – phenyl coumarin และ dolichone ซึ่งเป็นสารพวก rotenoid สารเหล่านี้ใช้เป็นมีพิษสามารถใช้เป็นสารฆ่าแมลงได้หลายชนิดและสารสกัดจากหญ้าวงช้าง พบสารประกอบหลายชนิด เช่น campesterol, chalinasterol, cynoglosine, estradiol, europine – N – oxide, heleurine, heleurine –N – oxide , hexacosan – 1 – ol , tannin , heliotrine สารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการลดการอักเสบ แก้ปวด รักษาแผลเปื่อย ขับปัสสาวะ จากการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากพืชทั้ง 3 ชนิดมีประสิทธิภาพต่ออัตราการตาย การเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์เอสเทอร์เอสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานเฟอเรส การยับยั้งเอนไซม์ของลูกน้ำยุงลายได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามจากการศึกษาสามารถแบ่งขอบเขตของการทำการทดลองได้เป็นหัวข้อต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. ผลของสารสกัดหยาบจากพืชต่ออัตราการตายของลูกน้ำยุงลาย

1.1 สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู

จากผลการทดลองเมื่อนำสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูที่สกัดด้วยวิธี soxhlet extraction โดยใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายนั้น ปรากฏว่ามีประสิทธิภาพในการนำมาทดลองเพื่อหาอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายที่ 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 10.75% และ 6.17% ตามลำดับ และให้ค่า correlation coefficient เท่ากับ 0.99 และ 0.951 สำหรับพฤติกรรมของลูกน้ำยุงลายเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูในระยะแรกปกติแต่เมื่อเวลาผ่านไป ลักษณะตัวจะซีดขาว ตัวบวม มีการขับถ่ายมากซึ่งสังเกตได้จากมีสายสีดำมีลักษณะเป็นเมือกบริเวณท้องหายใจ มีการเคลื่อนไหวช้าถึงแม้จะใช้ปลายเข็มแตะบริเวณลำตัว

1.2 สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

จากผลการทดลองเมื่อนำสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวที่สกัดด้วยวิธี soxhlet extraction โดยใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายนั้น ปรากฏว่ามีประสิทธิภาพในการนำมาทดลองเพื่อหาอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายที่ 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 0.07% และ 0.05% ตามลำดับ และให้ค่า correlation coefficient เท่ากับ 0.910 และ 0.826 ตามลำดับ สำหรับพฤติกรรมของลูกน้ำยุงลายเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวปรากฏว่าในระยะแรกเป็นปกติ แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปประมาณ 6 – 10 ชั่วโมง พบว่ามีลูกน้ำยุงลายบางส่วนตายโดยบริเวณท้องหายใจมีลักษณะไหม้เป็นสีดำทุกตัว ลำตัวไม่บวม สำหรับตัวที่รอดชีวิตมีการเคลื่อนไหวช้าตอบสนองต่อสิ่งเร้าที่มากกระตุ้นเพียงเล็กน้อย

1.3 สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง

จากผลการทดลองเมื่อนำสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างที่สกัดด้วยวิธี soxhlet extraction โดยใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายนั้น ปรากฏว่ามีประสิทธิภาพในการนำมาทดลองเพื่อหาอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายที่ 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 24.32 % w/v และ 20.21% w/v ตามลำดับ และให้ค่า correlation coefficient เท่ากับ 0.969 และ 0.982 ตามลำดับ สำหรับพฤติกรรมของลูกน้ำยุงลายเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างปรากฏว่าในระยะแรกเป็นปกติ แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป พบว่าลูกน้ำยุงลายที่ตายมีลักษณะซีดขาวแต่ไม่พบสายสีดำเป็นเมือกบริเวณท่อยหายใจ ตัวบวม สำหรับบางตัวที่รอดชีวิตยังมีอาการปกติแต่จะมีการเคลื่อนไหวช้าลง มีการตอบสนองต่อสิ่งที่มากระตุ้นบ้างเล็กน้อย

จากการทดลองจะเห็นว่าสารสกัดหยาบจากพืชทั้ง 3 ชนิดมีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงลาย โดยพบว่าประสิทธิภาพของสารสกัด ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสาร จะมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลายมีอัตราการตายจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารที่เพิ่มขึ้นและระยะเวลาที่ยาวนานขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของวัชรภรณ์ (2545) ที่ผลของสารสกัดจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูต่อหอยเชอรี่ที่ให้ค่าสหสัมพันธ์เชิงเส้นที่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดด้วยเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของวัชรภรณ์ (2545) ที่ผลของสารสกัดจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูต่อหอยเชอรี่ที่ให้ค่าสหสัมพันธ์เชิงเส้นเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด นอกจากนี้สอดคล้องกับ Ermel และคณะ (1983) ได้ศึกษาน้ำมันสะเดา(neem oil) สามารถนำมาใช้ป้องกันกำจัดแมลงได้ โดยมีผลเป็นสารไล่และสารยับยั้งการเจริญเติบโต มีประสิทธิภาพเป็นสารฆ่าลูกน้ำยุง *Culex fatigan* วัย 1 ได้ 100 % และ มานิตย์ (2542) พบว่าสารสกัดสะเดาและน้ำมันสะเดามีผลต่อการตายของยุงลาย *Aedes aegypti* (L.) จากที่กล่าวมาพบว่าสารสกัดหยาบจากพืชมีประสิทธิภาพในการฆ่าและกำจัดยุงลายได้ และจากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดที่ใช้ทดลองทั้ง 3 ชนิดพบว่าสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวมมีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงลายดีที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู และสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างตามลำดับ

2. ผลของสารสกัดหยาบจากพืชต่อระดับเอนไซม์ทำลายพืชในลูกน้ำยุงลาย

การศึกษาเอนไซม์ทำลายพืช 2 ชนิด คือ เอสเทอร์เอสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ในลูกน้ำยุงลาย โดยใช้สารสกัดหยาบจากพืช 3 ชนิด ให้ผลการทดลองดังนี้

2.1 เอนไซม์เอสเทอร์เอส

จากการศึกษาระดับเอนไซม์ทำลายพืชในกลุ่มเอสเทอร์เอสในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าระดับเอนไซม์เอสเทอร์เอสของลูกน้ำยุงลายมีค่าเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมแปรผันตามค่าของความเป็นพิษสอดคล้องกับวรรณคดี (2543) ที่ว่าสารสกัดจากตะไคร้หอมทำให้ระดับเอนไซม์เอสเทอร์เอสในลูกน้ำยุงลายเพิ่มขึ้นแปรผันตามค่าความเป็นพิษที่เพิ่มขึ้นและสอดคล้องกับ Srikhong (2004) ที่กล่าวว่าสารชาลินาไดอินจากสารสกัดจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูทำให้เอนไซม์เอสเทอร์เอสของลูกน้ำยุงลายวัยที่ 3 เข้าสู่วัยที่ 4 เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารที่เพิ่มขึ้น จากการทดลองเอนไซม์มีค่าเพิ่มขึ้นเฉลี่ยประมาณ 1-2 เท่า เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูและหญ้างวงช้าง ส่วนสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวทำให้ระดับเอนไซม์ลดลงจากชุดควบคุมซึ่งสอดคล้องกับเรวดี (2541) จากการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์เอสเทอร์เอสแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากพืชสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์เอสเทอร์เอสขึ้น เนื่องจากสารสกัดมีสารประกอบอยู่ในกลุ่ม ester ที่สามารถถูกขบวนการไฮโดรไลซิสโดยเอนไซม์เอสเทอร์เอสในลูกน้ำยุงลายได้ ซึ่งในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง การเพิ่มขึ้นในกลุ่มชุดควบคุม, ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำลาย 4 และ 12 % แตกต่างกับความเข้มข้นของสารสกัดที่ 8% และ 16% อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ส่วนสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างมีระดับเอนไซม์เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู โดยที่ช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ระดับเอนไซม์เอสเทอร์เอสในทุกชุดทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % สำหรับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวทำให้ค่าระดับเอนไซม์ลดลงในกลุ่มชุดควบคุมแสดงว่าสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวมีความเป็นพิษสูงสามารถทำลายเอนไซม์ทำลายพืชได้ ซึ่งการลดลงของเอนไซม์ตรงกับเรวดี (2541) ซึ่งพบว่าระดับเอนไซม์เอสเทอร์เอสของเห็ดลดลงประมาณ 30 % จากชุดควบคุมเมื่อให้สารสกัดจากสะเดา และสอดคล้องกับ Vasakorn (2004) ซึ่งพบว่าระดับเอนไซม์ของด้วงข้าวสารลดลงเมื่อใช้สารสกัดจากเปลือกมังคุด และสอดคล้องกับ ประภาพร (2548) ที่สารแพคไริซินจากเมล็ดมันแกวทำให้

เอนไซม์เอสเทอร์ของลูกน้ำยุงลายลดลงทุกชุดการทดลอง และพุทธิพร (2549) พบว่าสารสกัดจากเมล็ดมันแกวทำให้ระดับเอนไซม์เอสเทอร์ของหนอนกระทู้ผักลดลงด้วยเช่นกัน

2.2 เอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส

2.2.1 CDNB เป็นสับสเตรต

เอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรสที่ใช้ CDNB เป็นสับสเตรต ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าระดับเอนไซม์ของลูกน้ำยุงลายลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูและสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว ส่วนสารสกัดหยาบจากหญ้าวงช้างทำให้ระดับเอนไซม์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารซึ่งเมื่อได้รับสารมากขึ้นเท่าใดก็ต้องสังเคราะห์เอนไซม์มากขึ้นตามไปด้วย (Ernest and Patricai, 1994) ส่วนที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมงสารสกัดที่ทำให้ระดับเอนไซม์เพิ่มขึ้นคือ สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู สารสกัดที่ทำให้เอนไซม์ลดลง คือ สารสกัดหยาบจากหญ้าวงช้างและสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว สอดคล้องกับประภาพร (2548) ที่กล่าวว่าสารแคโรทีนจากเมล็ดมันแกวทำให้เอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรสลดลง สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ในชุดควบคุม , ชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำลาย และ 4 % ระดับเอนไซม์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ในทุกชุดทดลอง ระดับเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ในชุดควบคุมทั้ง 2 ชุดมี ระดับเอนไซม์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับชุดทดลอง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ในชุดควบคุมและที่ความเข้มข้นที่ 0.05 % ระดับเอนไซม์มีความแตกต่างกันกับชุดทดลองที่ความเข้มข้น 0.10 % อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนระดับความเข้มข้น 0.15 และ 0.20 % ไม่สามารถหาปฏิกิริยาของเอนไซม์ได้ เนื่องจากไม่มีลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิตจึงไม่สามารถนำมาสกัดหาระดับเอนไซม์ สารสกัดหยาบจากหญ้าวงช้างในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง ระดับเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนที่ระดับความเข้มข้นที่ 30 และ 40 % ไม่สามารถหาระดับเอนไซม์ได้ เนื่องจากไม่มีลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิตจึงไม่สามารถนำมาสกัดหาระดับเอนไซม์

2.2.2 DCNB เป็นสับสเตรต

เอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสที่ใช้ DCNB เป็นสับสเตรตในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าระดับเอนไซม์ของลูกน้ำยุงลายลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว ส่วนสารสกัดหยาบจากหัวหูก้าเห้วหมูและสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างทำให้ระดับเอนไซม์ลดลง ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมงสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ทำให้ระดับเอนไซม์ลดลงทุกชุดการทดลอง สำหรับสารสกัดหยาบจากหัวหูก้าเห้วหมู ที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ระดับเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนช่วงเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าระดับเอนไซม์ชุดควบคุมกับชุดทดลอง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว ที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ระดับเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนช่วงเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าระดับเอนไซม์ชุดควบคุมกับชุดทดลอง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ส่วนที่ระดับความเข้มข้นที่ 0.15 และ 0.20 ไม่สามารถหาระดับเอนไซม์ได้ เนื่องจากไม่มีลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิตจึงไม่สามารถนำมาสกัดหาระดับเอนไซม์ และสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงระดับเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนความเข้มข้น 40 % ไม่สามารถหาระดับเอนไซม์ได้ เนื่องจากไม่มีลูกน้ำยุงลายที่รอดชีวิตจึงไม่สามารถนำมาสกัดหาระดับเอนไซม์ ในการหาปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส - ทรานสเฟอเรสที่ใช้ DCNB เป็นสับสเตรต ทุกค่าเฉลี่ยคูณด้วย 10^{-6} ส่วนที่ใช้ DCNB เป็นสับสเตรต ทุกค่าเฉลี่ยคูณด้วย 10^{-7}

เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการกำจัดสารพิษออกจากร่างกาย เอสเทอเรสเป็นเอนไซม์ในช่วงแรกที่ทำปฏิกิริยากับสารแปลกปลอมได้ง่ายทำให้สารพิษถูกกำจัดออกได้ง่าย ส่วนเอนไซม์กลูตาไทโอน- เอส-ทรานสเฟอเรสเป็นเอนไซม์ที่ทำปฏิกิริยาในช่วงที่ 2 เป็น Glutathione Conjugation ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยาแล้วทำให้เกิดการรวมตัวเป็นสารใหม่ เรียกว่า conjugated products (สุรพล, 2547) หลังจากนั้นสารต่าง ๆ จะถูกกำจัดออกจากร่างกายได้ จาก การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ในสิ่งมีชีวิตขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ที่มาควบคุม เช่น อุณหภูมิ ความ เป็นกรด-ด่าง ความแตกต่างทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดที่ตอบสนองต่อสารสกัดจากพืชไม่เหมือนกันซึ่งก็ขึ้นอยู่กับโครงสร้างที่แตกต่างกันของสารสกัดจากพืชและสายพันธุ์ของสัตว์ ซึ่ง

แมลงบางชนิดสามารถทนต่อสารฆ่าแมลงได้ เนื่องจากมีความว่องไวในการทำลายสับสเตรตสูงกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ ขึ้นอยู่กับเอนไซม์ทำลายพิษของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้น (Clark and Dauterman, 1982)

3. ผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนของลูกน้ำยุงลาย

เอนไซม์ทำลายพิษเป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง การได้รับสารสกัดหยาบจากพืชจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของเอนไซม์ได้ (Visetson, 1991) ดังนั้นผลการทดลองของสารสกัดหยาบจากพืชทั้ง 3 ชนิดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีน คือ สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหุ่ม ที่ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีน โดยใช้ DMRT พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ในช่วงเวลาที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ซึ่งมีความแตกต่างกันภายในชุดการทดลองเพียงเล็กน้อย สารสกัดจากเมล็ดมันแกวปริมาณโปรตีนไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมง สอดคล้องกับ วราภรณ์ (2545) ทำการทดลองพบว่าปริมาณโปรตีนรวมของหอยเชอรี่ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อใช้สารสกัดจากหัวหญ้าเหี่ยวหุ่ม ส่วนช่วงเวลาที่ 48 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเข้มข้นของชุดควบคุมกับชุดทดลองทุกความเข้มข้น แต่ภายในชุดทดลองค่าทางสถิติไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และสารสกัดหยาบจากหญ้าวงช้างปริมาณโปรตีน พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมงในระดับความเข้มข้นที่ 30 และ 40 % กับชุดควบคุม และระดับความเข้มข้นที่ 10 , 20 และ 30 % ส่วนช่วงเวลาที่ 48 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเข้มข้นของชุดควบคุมกับชุดทดลองทุกความเข้มข้น

4. ผลการยับยั้งเอนไซม์ต่อลูกน้ำยุงลาย

จากภาพที่ 41 - 46 แสดงถึงชนิดการยับยั้งเอนไซม์เอสเทอร์เอสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสของสารสกัดหยาบจากพืชทั้ง 3 ชนิดให้ผลดังนี้ หัวหญ้าเหี่ยวหุ่ม การทดสอบการยับยั้งของเอนไซม์ในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ของเอนไซม์เอสเทอร์เอสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส พบว่าการยับยั้งเป็นแบบ competitive inhibition สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว จากการทดสอบในช่วงเวลาที่ 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่ามีการยับยั้งเอนไซม์เอสเทอร์เอสและเอนไซม์ กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ในแบบ competitive inhibition ยกเว้นเมื่อใช้ DCNB

เป็นสับสเตรตในช่วง 48 ชั่วโมง จะเป็นการยับยั้งแบบ noncompetitive inhibition สารสกัดหยาบจากหญ้าแว้งจากการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์เอสเทอร์และกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าการยับยั้งเป็นลักษณะ competitive inhibition ส่วนที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง เอนไซม์เอสเทอร์มีการยับยั้งแบบ competitive inhibition สำหรับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส เมื่อใช้ CDNB เป็นสับสเตรตจะมีการยับยั้งแบบ noncompetitive inhibition และเมื่อใช้ DCNB เป็นสับสเตรตจะมีการยับยั้งแบบ uncompetitive inhibition ศึกษาการยับยั้งเอนไซม์จากค่า K_m และค่า V_{max} Yu (1984) กล่าวว่าพืชหลายชนิดสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์หลายรูปแบบรวมทั้งมีลักษณะเป็น nonspecific noncompetitive inhibition ด้วย สารสกัดจากพืชหลายชนิดเช่น สารสกัดจากหญ้าแห้วหมู สารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า สารสกัดจากขมิ้นชัน สารสกัดจากตะไคร้หอม สามารถยับยั้งเอนไซม์ทำลายพืชของแมลงได้หลายชนิด (Visetson and Milne, 2001) แต่จะยับยั้งในรูปแบบใดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัดและชนิดของสิ่งมีชีวิตที่ใช้ทดสอบ

5. ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมาย (Non-target)

ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมายได้ทดสอบกับปลาสดและผึ้งโพรง ซึ่งสิ่งมีชีวิตทั้ง 2 นี้จัดได้ว่าปลาสดเป็นดัชนีทางชีวภาพที่สำคัญในการบ่งชี้คุณภาพน้ำ (นันทนา, 2539) เนื่องจากปลาสดเป็นปลาที่เลี้ยงไว้ตามบ้านและมีอยู่ตามแหล่งน้ำธรรมชาติซึ่งมีโอกาสที่จะได้รับผลกระทบทั้งโดยตรงและทางอ้อมจากสารสกัดจากพืชที่เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และทางเคมีในสภาพแวดล้อม ส่วนผึ้งโพรงถือว่าเป็น pollinator ที่สำคัญในระบบนิเวศและมีโอกาสที่จะได้รับผลกระทบจากการใช้สารสกัดจากพืชเช่นกัน จากการทดสอบสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดให้ผลต่อความเป็นพิษต่อปลาสดและผึ้งโพรงดังนี้

5.1 สารสกัดหยาบจากหญ้าแห้วหมู

มีผลต่อการตายของปลาสดที่ระดับความเข้มข้นในกลุ่มควบคุม, กลุ่มควบคุมแต่เติมตัวทำละลาย, 3, 6, 9 และ 12 % w/v ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง มีค่า LC_{50} จากสมการ regression คือ $Y = 0.415 + 8.14 x$ เท่ากับ 6.09 % w/v ส่วนในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง มีค่า LC_{50} จาก

สมการ regression คือ $Y = 4.554 + 8.528 x$ เท่ากับ 5.33 % w/v จากการเปรียบเทียบค่าความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากหัวเหว้าเหี่ยวเหี่ยวระหว่างปลาสดกับลูกน้ำยุงลายพบว่าสารสกัดหยาบจากหัวเหว้าเหี่ยวเหี่ยวมีผลต่ออัตราการตายของปลาสดมากกว่าลูกน้ำยุงลายในทุกช่วงการทดลองและทุกความเข้มข้น โดยความเป็นพิษของสารสกัดจะส่งผลต่อพฤติกรรมของปลาสดหลังจากได้รับสารสกัด คือ ในช่วงเวลาแรกปลายังว่ายน้ำเป็นปกติ มีการว่ายน้ำไปรอบ ๆ ตู้และขึ้นลงระหว่างผิวน้ำกับก้นตู้ แต่พอเวลาผ่านไปประมาณ 10 – 12 ชั่วโมง ปลาสดที่อยู่ในช่วงความเข้มข้นที่ 6 – 12 % w/v เริ่มมีอาการว่ายน้ำช้าลง ไม่ค่อยเคลื่อนไหว และอยู่ที่ก้นตู้มากกว่าที่ผิวน้ำ ส่วนความเป็นพิษต่อสิ่งโพร่งซึ่งทดสอบในช่วงเวลา 4 , 8 , 12 และ 16 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นในกลุ่มควบคุม , กลุ่มที่ควบคุมแต่เติมตัวทำละลาย , 1 , 2 , 3 และ 4 % w/v มีผลกระทบต่อสิ่งโพร่ง คือ สามารถหาค่า LC_{50} ได้เท่ากับ 3.39 % w/v ($Y = 6.249 + 12.918 x$) ที่ช่วงเวลา 16 ชั่วโมง จึงสรุปได้ว่าสารสกัดจากหัวเหว้าเหี่ยวเหี่ยวมีความเป็นพิษต่อสิ่งโพร่งเพียงเล็กน้อย แต่ถ้าใช้ความเข้มข้นของสารสกัดมากขึ้นอาจส่งผลกระทบต่ออัตราการตายของสิ่งโพร่งได้ เมื่อเปรียบเทียบผลกระทบบกับลูกน้ำยุงลายพบว่าสารสกัดหยาบจากหัวเหว้าเหี่ยวเหี่ยวมีผลต่อการตายของสิ่งโพร่งมากกว่าลูกน้ำยุงลาย แต่เนื่องจากการทดลองนี้ทำการฉีดพ่นสารไปยังผิวน้ำโดยตรงจึงทำให้สิ่งโพร่งมีเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่าการรับสารตามสภาพธรรมชาติ ดังนั้นโอกาสที่สิ่งโพร่งจะได้รับสารจึงลดลง 100 เท่า (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2542)

5.2 สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว

มีผลต่อการตายของปลาสดที่ระดับความเข้มข้นในกลุ่มควบคุม , กลุ่มควบคุมแต่เติมตัวทำละลาย , 0.05 , 0.10 , 0.15 และ 0.20 % w/v ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง มีค่า LC_{50} จากสมการ regression คือ $Y = 4.997 + 513.35 x$ เท่ากับ 0.088 % w/v ส่วนในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง มีค่า LC_{50} จากสมการ regression คือ regression คือ $Y = 12.5 + 496.66 x$ เท่ากับ 0.076 % w/v จากการเปรียบเทียบค่าความเป็นพิษของสารสกัดจากเมล็ดมันแกวระหว่างปลาสดกับลูกน้ำยุงลายพบว่าสารสกัดจากเมล็ดมันแกวมีผลต่ออัตราการตายของปลาสดมากกว่าลูกน้ำยุงลายในทุกช่วงการทดลองและทุกความเข้มข้น โดยความเป็นพิษของสารสกัดจะส่งผลต่อพฤติกรรมของปลาสดหลังจากได้รับสารสกัด คือ ช่วงเวลาผ่านไปประมาณ 30 นาที ปลาเริ่มมีอาการว่ายน้ำช้าลง ไม่ค่อยเคลื่อนไหว และอยู่ที่ก้นตู้มากกว่าที่ผิวน้ำ บางตัวว่ายน้ำขึ้นลงระหว่างผิวน้ำกับก้นตู้ในลักษณะการว่ายบิดเป็นเกลียวและตายในที่สุด ส่วนความเป็นพิษต่อ

ฝักรงซึ่งทดสอบในช่วงเวลา 4 , 8 , 12 และ 16 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นในกลุ่มควบคุม , กลุ่มที่ควบคุมแต่เติมตัวทำละลาย , 1 , 2 , 3 และ 4 % w/v สารสกัดจากเมล็ดมันแกว มีค่า LC_{50} จากการให้สารสกัดจากเมล็ดมันแกวเป็นช่วงเวลา 16 ชั่วโมง โดยหาจากค่าสมการ regression ได้เท่ากับ $y = 9.167 + 18.834 x$ แทนค่า y เป็นเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50 จะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 2.17 % w/v เมื่อเปรียบเทียบกับผลกระทบกับลูกน้ำยุงลายพบว่า สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวมีผลกระทบต่อลูกน้ำยุงลายมากกว่าฝักรง

5.3 สารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง

มีผลต่อการตายของปลาสอดที่ระดับความเข้มข้นในกลุ่มควบคุม , กลุ่มควบคุมแต่เติมตัวทำละลาย , 5, 10 , 15 และ 20 % w/v ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง มีค่า LC_{50} จากสมการ regression คือ $Y = 0.414 + 2.817 x$ เท่ากับ 17.60 % ส่วนในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง มีค่า LC_{50} จากสมการ regression คือ $Y = 2.918 + 3.383 x$ เท่ากับ 13.92 % w/v จากการเปรียบเทียบค่าความเป็นพิษของสารสกัดจากหญ้างวงช้างระหว่างปลาสอดกับลูกน้ำยุงลายพบว่าสารสกัดจากหญ้างวงช้างมีผลต่ออัตราการตายของปลาสอดมากกว่าลูกน้ำยุงลายในทุกช่วงการทดลองและทุกความเข้มข้น โดยความเป็นพิษของสารสกัดจะส่งผลกระทบต่อพฤติกรรมของปลาสอดหลังจากได้รับสารสกัด คือ เวลาแรกการว่ายน้ำของปลาเป็นปกติไม่มีอาการเซื่องซึม แต่เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 15 – 20 ชั่วโมง ลักษณะการว่ายน้ำของปลาเริ่มช้าลง บางตัวว่ายน้ำแบบหงายท้อง ไม่ค่อยขึ้นมาว่ายน้ำบริเวณผิวน้ำ ส่วนความเป็นพิษต่อฝักรงซึ่งทดสอบในช่วงเวลา 4 , 8 , 12 และ 16 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นในกลุ่มควบคุม , กลุ่มที่ควบคุมแต่เติมตัวทำละลาย , 1, 2, 3 และ 4 % w/v มีผลกระทบต่อฝักรงคือ สามารถหาค่า LC_{50} ได้เท่ากับ 3.47 % w/v ($y = 2.919 + 13.583 x$) ที่ช่วงเวลา 16 ชั่วโมง จึงสรุปได้ว่าสารสกัดจากหญ้างวงช้างมีความเป็นพิษต่อฝักรงเพียงเล็กน้อย แต่ถ้าใช้ความเข้มข้นของสารสกัดมากขึ้นอาจส่งผลกระทบต่ออัตราการตายของฝักรงได้ การเปรียบเทียบผลกระทบกับลูกน้ำยุงลายพบว่าสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างมีผลต่ออัตราการตายของฝักรงมากกว่าลูกน้ำยุงลาย แต่เนื่องจากการทดลองนี้ทำการฉีดพ่นสารไปยังฝักรงโดยตรง จึงทำให้ฝักรงมีเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่าการรับสารตามสภาพธรรมชาติ ดังนั้นโอกาสที่ฝักรงจะได้รับสารจึงลดลง 100 เท่า (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2542) สำหรับการเปรียบเทียบความเป็นพิษของสารสกัดจากพืช 3 ชนิด ต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมาย พบว่าสารสกัด

จากเมล็ดมันแกวมีความเป็นพิษมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากหัวหญ้าเหี่ยวห่ม และสารสกัดจากหญ้าวงช้าง ตามลำดับ

7. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำเมื่อเติมสารสกัดหยาบจากพืชทั้ง 3 ชนิดลงในน้ำ

ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในด้านปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และความเป็นกรด-ด่าง ในช่วงเวลา 24 – 48 ชั่วโมง พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำในช่วงเวลาที่ 0 ของแต่ละความเข้มข้น(น้ำก่อนทำการทดลอง) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำไม่เปลี่ยนแปลงมากในแต่ละสารสกัด โดยค่าเฉลี่ยอยู่ในระหว่าง 4.60 – 5.50 มิลลิกรัมต่อลิตร และในแต่ละความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 24 และ 48 ชั่วโมง ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำเริ่มมีความแตกต่างกัน คือ จะลดลงเรื่อย ๆ ซึ่งค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำนั้นไม่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตบางชนิดในน้ำโดยศึกษาได้จากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าระดับต่ำสุดของค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่ทำให้ปลาตายอยู่ในเกณฑ์ระหว่าง 0.1 – 2.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (ไมตรีและจารุวรรณ, 2540) แต่จากการทดลองในตารางที่ 38 - 40 ต่อลูกน้ำยังตายพบว่าพบว่ามีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำสุดในช่วงเวลา 48 ชั่วโมงของสารสกัดหยาบจากหญ้าวงช้างอยู่ระหว่าง 5.92 - 1.30 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีผลต่ออัตราการตายของลูกน้ำยังตายในความเข้มข้นที่ 30 และ 40 % w/v แต่ในขณะเดียวกันบางช่วงที่ค่า DO เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำสภาพธรรมชาติของน้ำสามารถปรับค่า DO ที่ละลายในน้ำโดยมีกลุ่มจุลินทรีย์ในน้ำเป็นตัวช่วยให้น้ำมีคุณภาพที่ดีขึ้นได้ (Boyd,1982) ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำในตารางที่ 38 – 40 ของทุกสารสกัดในช่วง 24 และ 48 ชั่วโมงมีค่าอยู่ระหว่าง 6.28 - 7.88 ซึ่งมีฤทธิ์เป็นกรดอ่อนและด่างอ่อน มีค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยตามค่าสถิติ ($P > 0.05$ DMRT) จึงสรุปได้ว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง ไม่มีผลต่อการตายของลูกน้ำยังตายและรวมถึงสิ่งแวดล้อมในธรรมชาติด้วย การทดลองนี้สอดคล้องกับ Schmutterer (1991) ที่รายงานว่าสารสกัดจากพืชนำมาใช้ลดปัญหาสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการใช้สารฆ่าแมลงในประเทศที่กำลังพัฒนา

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืช 3 ชนิดต่ออัตราการตายและระดับเอนไซม์ทำลายพิษบางชนิดในลูกน้ำยุงลายระยะที่ 3 เข้าสู่ระยะที่ 4 ซึ่งสารสกัด 3 ชนิดที่ใช้คือสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว และสารสกัดหยาบจากหญ้าวงช้าง พืชแต่ละชนิดมีสารประกอบที่สำคัญแตกต่างกัน คือ สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูมีสารสำคัญ คือ caryophyllene และ rotundone, α -Cyperone (4,11 – selinadien – 3 – one), pinene และ cineol สารเหล่านี้สามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านเชื้อมาลาเรีย ต้านยีสต์ ต้านเชื้อไวรัส สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวซึ่งใช้เมล็ดแก่สีน้ำตาลมีคุณสมบัติเป็นยาฆ่าแมลง เนื่องจากมีสาร Pachyrrhizin เป็นสารพวก 3-phenyl coumarin และ Dolichone เป็นสารพวก Rotenoid และสารสกัดหยาบจากหญ้าวงช้าง มีสารหลายชนิด เช่น campesterol, chalinasterol, cynoglosine, estradiol, eupopine-N-oxide, heleurine, heleurine-N-oxide, tannin, heliotrine สารเหล่านี้มีสรรพคุณในการขับปัสสาวะ แก้ไข้ ขับพิษร้อน แก้อักเสบ จากการทดลองนี้ไม่ได้เจาะจงที่จะใช้สารใด สารหนึ่งเป็นตัวเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ทำลายพิษในลูกน้ำยุงลาย สารสกัดทั้ง 3 ชนิดนี้ใช้การสกัดโดยวิธี soxhlet extraction ซึ่งมี 95% เอทานอลเป็นตัวทำละลาย และเมื่อนำสารสกัดทั้ง 3 ชนิดไปทดสอบหาอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายได้ผลดังนี้ ผลของสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ของลูกน้ำยุงลาย จากการให้สารสกัดในระยะเวลา 24 ชั่วโมง หาค่าสมการ regression ได้เท่ากับ $y = 5.7 + 4.12x$ แทนค่า y เป็นเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50 จะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 10.75 % w/v และเมื่อใช้ช่วงระยะเวลา 48 ชั่วโมง ค่าสมการ regression คือ $y = 12.53 + 6.07x$ ดังนั้นจะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 6.17 % w/v ผลของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ของลูกน้ำยุงลาย จากการให้สารสกัดในระยะเวลา 24 ชั่วโมง หาค่าสมการ regression ได้เท่ากับ $y = 15.971 + 490.565x$ แทนค่า y เป็นเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50 จะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 0.07 % w/v และเมื่อใช้ระยะเวลา 48 ชั่วโมง ค่าสมการ regression คือ $y = 23.334 + 493.335x$ ดังนั้นจะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 0.05 % w/v และผลของสารสกัดหยาบจากหญ้าวงช้างต่ออัตราการตายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ของลูกน้ำยุงลาย จากการให้สารสกัดในระยะเวลา 24 ชั่วโมง หาค่าสมการ regression ได้เท่ากับ $y = -7.085 + 2.347x$ แทนค่า y เป็นเปอร์เซ็นต์การตายที่ 50 จะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ

24.32 % w/v และเมื่อใช้ช่วงระยะเวลา 48 ชั่วโมง ค่าสมการ regression คือ $y = -0.696 + 2.508x$ ดังนั้นจะได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 20.21 % w/v

จากการศึกษาถึงระดับเอนไซม์ทำลายพิษบางชนิดในตัวลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดจากพืช 3 ชนิด พบว่าสารจากพืชแต่ละชนิดมีผลต่อระดับเอนไซม์เอสเทอร์เอสและกลูตาไทโอน – เอส-ทรานสเฟอเรส ต่างกันดังนี้ ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าระดับเอนไซม์เอสเทอร์เอสของลูกน้ำยุงลายมีค่าเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมแปรผันตามค่าของความเป็นพิษซึ่งจะมีค่าเพิ่มขึ้นเฉลี่ยประมาณ 1-2 เท่า เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูและหญ้างวงช้าง ส่วนสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวทำให้ระดับเอนไซม์ลดลงจากชุดควบคุม จากการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์เอสเทอร์เอสแสดงให้เห็นว่าสารสกัดสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์เอสเทอร์เอสขึ้น เนื่องจากสารสกัดเหล่านี้มีสารประกอบอยู่ในกลุ่ม ester ที่สามารถถูกขบวนการไฮโดรไลซิสโดยเอนไซม์เอสเทอร์เอสในลูกน้ำยุงลายได้ ซึ่งจากปฏิริยานี้เป็นการสังเคราะห์เอนไซม์ในช่วง phase I สำหรับเอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส-ทรานสเฟอเรสที่ใช้ CDNB เป็นสับสเตรตในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าระดับเอนไซม์ของลูกน้ำยุงลายลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูและเมล็ดมันแกว ส่วนสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างทำให้ระดับเอนไซม์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสาร ส่วนที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมงสารสกัดที่ทำให้ระดับเอนไซม์เอสเทอร์เอสเพิ่มขึ้นคือ สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู สารสกัดที่ทำให้เอนไซม์เอสเทอร์เอสลดลงคือสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวและหญ้างวงช้าง เอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส – ทรานสเฟอเรส ที่ใช้ DCNB เป็นสับสเตรตในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าระดับเอนไซม์ของลูกน้ำยุงลายลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น เมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว สารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูและสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้าง จากการทดลองสังเกตได้ว่าสารประกอบของสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูและสารสกัดหยาบจากหญ้างวงช้างสามารถถูกเอนไซม์ทำลายความเป็นพิษได้ตั้งแต่ในช่วง phase I โดยเอนไซม์เอสเทอร์เอส หลังจากนั้นจึงถูกส่งไปเปลี่ยนรูปของสารให้กำจัดออกจากร่างกายได้ง่าย ในช่วง phase II โดยเอนไซม์กลูตาไทโอน – เอส-ทรานสเฟอเรส ส่วนสารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวเป็นสารที่มีพิษมากจึงทำให้เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดทำงานไม่ได้จึงส่งผลให้ลูกน้ำยุงลายตายเป็นจำนวนมากเพียงแค่ว่าใช้สารสกัดที่มีความเข้มข้นน้อย

จากการศึกษาระดับปริมาณโปรตีนที่เปลี่ยนแปลงของลูกน้ำยุงลายหลังจากได้รับสารสกัดทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมูที่ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีน โดยใช้ DMRT พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ในช่วงเวลาที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ซึ่งมีความแตกต่างกันภายในชุดการทดลองเพียงเล็กน้อย สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกวปริมาณโปรตีนไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมง ส่วนช่วงเวลาที่ 48 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเข้มข้นของชุดควบคุมกับชุดทดลองทุกความเข้มข้น แต่ภายในชุดทดลองค่าทางสถิติไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และสารสกัดหยาบจากหญ้าวงช้างปริมาณโปรตีน พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมงในระดับความเข้มข้นที่ 30 และ 40 % w/v กับชุดควบคุม และระดับความเข้มข้นที่ 10 , 20 และ 30 % w/v ส่วนช่วงเวลาที่ 48 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเข้มข้นของชุดควบคุมกับชุดทดลองทุกความเข้มข้น

การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์เอสเทอร์เอสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสของสารสกัดหยาบจากพืชทั้ง 3 ชนิดให้ผลดังนี้ หัวหญ้าเหี่ยวหมู การทดสอบการยับยั้งของเอนไซม์ในช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ของเอนไซม์เอสเทอร์เอสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส พบว่าการยับยั้งเป็นแบบ competitive inhibition สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว จากการทดสอบในช่วงเวลาที่ 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่ามีการยับยั้งเอนไซม์เอสเทอร์เอสและเอนไซม์ กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ในแบบ competitive inhibition ยกเว้นเมื่อใช้ DCNB เป็นสับสเตรตในช่วง 48 ชั่วโมง จะเป็นการยับยั้งแบบ noncompetitive inhibition สารสกัดหยาบจากหญ้าวงช้างจากการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์เอสเทอร์เอสและกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ที่ช่วงเวล 24 ชั่วโมง พบว่าการยับยั้งเป็นลักษณะ competitive inhibition ส่วนที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง เอนไซม์เอสเทอร์เอสมีการยับยั้งแบบ competitive inhibition สำหรับเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส เมื่อใช้ CDNB เป็นสับสเตรตจะมีการยับยั้งแบบ noncompetitive inhibition และเมื่อใช้ DCNB เป็นสับสเตรตจะมีการยับยั้งแบบ uncompetitive inhibition

จากการศึกษาผลของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมายคือปลาสดกับพืช โพร่งพบว่าสารสกัดหยาบจากหัวหญ้าเหี่ยวหมู สารสกัดหยาบจากเมล็ดมันแกว และสารสกัดหยาบจากหญ้าางวงช้างมีผลต่อปลาสดกับพืชโพร่งจึงควรใช้สารสกัดอย่างระมัดระวังและไม่ควรใช้ในบริเวณที่มีสัตว์น้ำอาศัยอยู่ และเมื่อดูถึงสภาพทางเคมีและกายภาพของน้ำเมื่อเติมสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดพบว่าสารทุกชนิดไม่มีผลต่อสภาพทางกายภาพ คือ ความเป็นกรด – ด่างของน้ำไม่เปลี่ยนแปลงจากชุดควบคุมมากนัก ส่วนสภาพทางเคมีคือค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำพบว่ามีความใกล้เคียงกันทุกสารและไม่แตกต่างจากชุดควบคุมมากนักแต่เมื่อเวลาผ่านไปสารสกัดจึงมีผลต่อค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ คือจะลดลงเรื่อย ๆ แต่ก็ยังอยู่ในเกณฑ์ที่สิ่งมีชีวิตสามารถอยู่รอดได้ยกเว้นสารสกัดหยาบจากหญ้าางวงช้างที่ความเข้มข้น 30 และ 40 % w/v มีค่า DO ลดลงเกินกว่าที่สัตว์น้ำจะอาศัยอยู่ได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารสกัดหยาบจากพืชส่งผลเสียต่อสภาพแวดล้อมและสิ่งแวดล้อมไม่มากนักเนื่องจากสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ

ข้อเสนอแนะ

1. การวิจัยเกี่ยวกับสารสกัดจากพืชที่มีผลต่อลูกน้ำยุงลายในครั้งนี้เป็นการทดลองโดยใช้สารสกัดหยาบ (crude extracts) ซึ่งเป็นสารที่ไม่เฉพาะเจาะจงว่าสารใดมีผลเอนไซม์ทำลายพิษต่อลูกน้ำยุง ในการศึกษาครั้งต่อไปผู้ที่สนใจควรนำสารสกัดไปแยกเพื่อศึกษาว่าสารที่มีผลต่อเอนไซม์ทำลายพิษคือชนิดใดบ้าง โดยอาจใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟีในการแยก
2. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดว่ามีความเป็นพิษต่อช่วงวัยอื่นของยุงลายหรือไม่ ดังนั้นควรมีการศึกษาเอนไซม์ทำลายพิษในตัวโม่งและในตัวเต็มวัยของยุงลายด้วย โดยอาจนำมาเปรียบเทียบกับอัตราการตายหรืออัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ทำลายพิษที่มีต่อตัวโม่งและตัวเต็มวัย
3. ควรมีการนำผลการทดลองไปขยายผลในพื้นที่ภายใต้สภาพแวดล้อมตามธรรมชาติ เนื่องจากมีปัจจัยของสภาพแวดล้อมที่จะส่งผลทำให้การทดสอบในห้องปฏิบัติการมีความแตกต่างจากพื้นที่จริง
4. ในการใช้สารสกัดหยาบทั้ง 3 ชนิดควรใช้ในบริเวณที่ไม่มีสัตว์น้ำอาศัยหรือปะปนอยู่ด้วยเนื่องจากสารสกัดบางชนิดมีผลกระทบต่อวงจรชีวิตของสิ่งมีชีวิต เช่น ปลาสด
5. ในอนาคตควรมีการประยุกต์การใช้สารสกัดในรูปแบบอื่น ๆ เช่น ทำเป็นเม็ดหรือเป็นผงแทนในรูปของสารละลาย ซึ่งการทำในรูปแบบดังกล่าวอาจจะทำให้สามารถรักษาประสิทธิภาพของสารได้นานกว่า และนำไปใช้ได้สะดวกกว่า

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร.2545.พืชฆ่าแมลงและพืชมีพิษบางชนิดในประเทศไทย : **Insecticidal plants and some species of poisonous plants in Thailand**.เอกสารวิชาการ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ , กรุงเทพฯ ๗.70 น.
- กรรณิการ์ สิริสิงห์.2544.เคมีของน้ำ น้ำโสโครกและการวิเคราะห์ . พิมพ์ครั้งที่ 3.ประยูรวงศ์, กรุงเทพฯ ๗
- กิตติมา ชลสิทธิ์.2545. ความสามารถของสารสกัดพญาอ[(*Clinacanthus nutans* (BURM.F.) LINDAU)] ในการยับยั้งการติดเชื้อ NEWCASTLE DISEASE VIRUS (NDV) ในเซลล์เพาะเลี้ยง.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 89 น.
- จริยา เล็กประยูร,สุรพล วิเศษสรรค์ และ มนูญญา เพ็ชรเจริญ. 2542. ผลของสารสกัดใบสาบเสือ *Chromolaena odorata* (L.) ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์กำจัดพิษของหนอนใยผัก *Plutella xylostella* L., น. 870 – 873. ในรายงานผลการวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย การประชุมประจำปี โครงการ BRT ครั้งที่ 3, 11 – 14 ตุลาคม 2542. หาดใหญ่ , สงขลา.
- จิตติ จันทรแสง. 2540. การสำรวจความชุกชุมของยุงลายแบบเลือกตัวอย่างเชิงสุ่มเพื่อการเฝ้าระวังโรคไข้เลือดออก. วารสารวิชาการสาธารณสุข. 7 (8) : 21 – 29
- ัชชาวล เรื่องประพันธ์.2544. การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS for Windows.ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 620 น.
- ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว, ชีรยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และ ปัญญา เต็มเจริญ. 2439. หลักการทางพิษวิทยา. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ. 228 น.

ทิพนาด อันตรเสน, สุรพล วิเศษสรรค์, มณฑนา มิลน์, จอห์น มิลน์, ประภาพร ศรีคง และ พุทธิพร สายสงเคราะห์.2548. การวิเคราะห์พิษของสารสกัดจากพืชบางชนิดต่อปลาสด (*Xiphophorus helleri*). การประชุมวิชาการการรักษาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7 ระหว่างวันที่ 2 - 4 พฤศจิกายน 2548 ณ โรงแรมโลตัสปางสวนแก้ว จังหวัดเชียงใหม่.

นันทนา คชเสนี. 2539. คู่มือปฏิบัติการนิเวศวิทยาน้ำจืด. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ ๑. 136 น.

นันทวัน บุญยะประสงค์ และ อรุณ โชคชัยเจริญพร.2545. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน เล่ม 5. ประชาชนจำกัด , กรุงเทพฯ

นิธิยา รัตนานนท์ และ วิบูลย์ รัตนานนท์. 2543. สารพิษในอาหาร. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ

ประภาพร ศรีคง,สุรพล วิเศษสรรค์,สรัญญา วัชรโรทัย, มณฑนา มิลน์ และ กัญชลี จงรักวิทย์. 2548. ประสิทธิภาพของสารแพคไครซินจากสารสกัดเมล็ดมันแกวต่อระดับเอนไซม์ เอสเทอร์สในตับน้ำยุงลาย.การประชุมวิชาการการรักษาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7 ระหว่างวันที่ 2 - 4 พฤศจิกายน 2548 ณ โรงแรมโลตัสปางสวนแก้ว จังหวัดเชียงใหม่.

ปัทมา แซ่กิม. 2543. ผลของสารสกัดจากสาบเสือต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษใน หอยเชอรี่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ.

ฝ่ายชีววิทยาและนิเวศวิทยา กลุ่มงานกีฏวิทยา.2545.ชีววิทยานิเวศวิทยาและการควบคุมยุงในประเทศไทย.สถาบันวิจัยสาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ , กรุงเทพฯ

ฝ่ายชีววิทยาและนิเวศวิทยา กลุ่มงานกีฏวิทยา.2545.ชีววิทยาและการควบคุมแมลง.สถาบันวิจัยสาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ , กรุงเทพฯ

พัชรา วีระกะลีส.2543. เอนไซม์. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย , กรุงเทพฯ. 344 น.

- พุทธิพร สายสงเคราะห์. 2549. ปฏิกริยาเอนไซม์เอสเทอร์และกลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส
ในหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* L.) หลังสัมผัสสารสกัดจากพืชบางชนิด.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- มานิตย์ นาคสุวรรณ. 2542. ประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาและน้ำมันสะเดาต่อยุงลาย
Aedes aegypti(L.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ไมตรี สุทธิจิตต์. 2540. สารพิษรอบตัวเรา. พิมพ์ครั้งที่ 2. เชียงใหม่. คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- เรวดี ชูช่วย. 2541. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากตะไคร้หอม(*Cymbopogon winterianus* Jewitti)
และสะเดา (*Azadirachta indica* var *siamensis* Valeton) กับการเปลี่ยนแปลงระดับ
เอนไซม์ทำลายพิษในเห็บสุนัข (*Rhipicephalus sanguineus* Latreille). วิทยานิพนธ์
ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เรืองลักษณ์ จามิกรณ์. 2547. ชีวเคมี 2. พิมพ์ครั้งที่ 10. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง ,
กรุงเทพฯ. 338 น.
- ลีนา ผู้พัฒนพงษ์. 2525. สมุนไพรไทย ตอนที่ 3. ชูติมาการพิมพ์. กรุงเทพฯ. 731 น.
- ลีนา ผู้พัฒนพงษ์ และ ธวัชชัย วงศ์ประเสริฐ. 2530. สมุนไพรไทย ตอนที่ 5. ชูติมาการพิมพ์.
กรุงเทพฯ. 731 น.
- วรสรรค์ ธรรมสร้างกูร. 2543. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากตะไคร้หอม(*Cymbopogon*
winterianus JEWITTI) ต่ออัตราการตายและระดับเอนไซม์ทำลายพิษบางชนิดในลูกน้ำ
ยุงรำคาญ (*Culex pipien quinquefasciatus*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วสกร บัลลังก์โพธิ์, จันทรา เป็นสุข, พรทิพย์ วิสารทนนท์ และ สุรพล วิเศษสรรค์.2545. สารสกัดจากพริกขี้หนู (*Capsicum frutescens* L.) ในการควบคุมด้วงงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais* Motschulsky). การสัมมนาวิชาการวิทยาการหลังเก็บเกี่ยว/หลังการผลิตแห่งชาติ ครั้งที่ 1. 21-23 สิงหาคม 2545. โรงแรมอิมพลีเรียล แม่ปิ้ง เชียงใหม่.

วลัยรัตน์ ตันตพระศาสน์.2539.การศึกษาประสิทธิภาพ ประสิทธิผลและความคงทนของสารสกัดจากใบและเมล็ดมันแกวในการควบคุมลูกน้ำยุงลาย.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยมหิดล , นครปฐม.

วันดี กฤษณพันธ์.2541.สมุนไพรน้ำรู้.พิมพ์ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 273 น.

วัชรภรณ์ รวมธรรม.2545.ผลของสารสกัดหัวเห็ดเหู ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ เอสเทอร์เอส และกลูตาไทโอน - เอส – ทรานสเฟอเรส ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอรี่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

วิไลลักษณ์ กิจจนะพานิช.2531. คู่มือการวิเคราะห์น้ำและน้ำเสีย. ภาควิชาวิศวกรรมสภาวะแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สมสุข มัจฉาชีพ.2542.พืชสมุนไพร.พิมพ์ครั้งที่ 2.รุ่งศิลป์การพิมพ์, กรุงเทพฯ. 317 น.

สุจิตรา นิมนานนิตย์. 2540. ไข่เลือดออก. พิมพ์ครั้งที่ 3 , โรงพิมพ์ดีไซร์, กรุงเทพฯ. 160 น.

สุรติ วิบูลเจริญ. 2519. การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและพิษวิทยาของสารสกัดจากเมล็ดมันแกว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 26 น.

สุภาณี พิมพ์สมาน. 2532. พืช : แหล่งของสารเคมีธรรมชาติในการป้องกันกำจัดแมลง.แก่นเกษตร 17 (6) : 370 – 372

สุรพล วิเศษสรรค์. 2536. ผลของการใช้สารสกัดสะเดาต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ของแมลง. เอกสารสัมมนาเชิงปฏิบัติการใช้สารสกัดจากพืชทดแทนการใช้สารเคมีกำจัดทางเกษตร.

สุรพล วิเศษสรรค์. 2542. พืชวิทยาชีวภาพ. เอกสารประกอบการสอนวิชา พืชวิทยาเบื้องต้น รหัส 424281. 320 น.

สุรพล วิเศษสรรค์. 2545. ผลการวิจัยการอบรมการใช้สารธรรมชาติเพื่อทดแทนสารเคมีทางการเกษตร เพื่อลดความเสี่ยงต่อความเป็นพิษของสารเคมีสังเคราะห์ในสังคมเกษตรกรรม. เอกสารวิชาการ โครงการพัฒนาวิชาการ ภาควิชาสัตววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 100 น.

สุรพล วิเศษสรรค์. 2547. เอกสารประกอบการสอนกลไกของสารพิษในสัตว์. ภาควิชาสัตววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 718 น.

อรัญ งามผ่องใส และ ศุนทร พิพิธแสงจันทร์. 2547. เอกสารประกอบการสอนสารพิษในการควบคุมศัตรูพืช. ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

อาคม สังข์วานนท์. 2538. กัญญาวิทยาทางสัตวแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 4, สหมิตรพรินติ้ง, นนทบุรี. 968 น.

อุสาวดี ถาวรระ. 2545. ชีววิทยา นิเวศวิทยาและการควบคุมยุงในประเทศไทย . พิมพ์ครั้งที่ 2 โรงพิมพ์ดีไซร์ , กรุงเทพฯ. 150 น.

Bailey, L.H. 1973. **Manual of cultivated plants** . United states of America. p.573

Bhatia , M.L. 1951. **Bangkok mosquito survey**. WHO. S.E. Asia office. Report to the Director of Public Health , Thailand. (mimeographed)

- Boyd, C.E. 1982. **Water quality management for Pond Fish Culture**. Elsevier Scientific Publishing Co., New York. 318 p.
- Bullangpoti, V.,S. Visetson, J. Milne and S. Pornbanlualap.2004. **Effects of mangostin from mangosteen peel on toxicity, esterase and glutathione-S-transferase in rice weevils (*Sitophilus oryzae* L.). The 2nd Asian International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety (SECOTOX 2004) . Organized by Postgraduate Education and Research Program in Chemistry , Prince of Songkla University, September, 26 – 29, 2004. BP Samila Beach Hotel, Songkla, Thailand.**
- Bullangpoti, V.,S. Visetson, J. Milne and S. Pornbanlualap.2004. **Effects of Mangosteen' s Peels and Rambutan' s Seed on Toxicity , Esterase and Glutathione – S – transferase in Rice Weevil (*Sitophilus oryzae* L.)** Kasetsart J. (Nat. Sci.) 38:84-89
- Bullangpoti , V.2004. **Effects of some plant extracts on toxicity and activities of esterase and glutathione–S–transferase in Rice Weevils (*Sitophilus oryzae* L.).** M.S.Thesis, Kasetsart University, BKK Thailand.
- Causey , O.R.1937. Some Anopheline and Culicine mosquitoes of Siam with remarks on malaria control in Bangkok. **Amer. J. Hyg.** 25 : 400 – 200.
- Chandler,A.C.1945.Factors influencing the uneven distribution of *Aedes aegypti* in Taxascities. **Amer. J. Trop.Med.** 25 : 145 – 149
- Christophers , S.R.1960. ***Aedes aegypti* (L.) : The yellow fever mosquito. Its life History , bionomics and structure.** Cambridge University Press , London. 379 p.

- Clark, A.G. and W.C. Dauterman. 1982. The characterization by affinity chromatography of glutathione – S – transferase from different strains of house fly. **Pestic. Biochem. Physiol.** 17 : 307 – 314.
- Dadang, K. Ohasawa, S. Kato and I. Yamamoto. 1996. Insecticidal compound in tuber of *Cyperus rotundus* L. against the diamondback moth larvae. **J. Pesticide Sci.** 21 : 444-446
- Dyar, H.G. 1928. **The Mosquitoes of the America.** Carnegie Institute, Washington. 247 p.
- Ermel, K., E. Pahlich and H. Schumutterer. 1983. **Comparison of the azadirachtin content of neem seeds from ecotype of Asian and African origin**, pp. 91 – 94. *In* Proceedings of the second International Neem Conference. Rauischholzhausen. Federal Republic of Germany. 25 – 28 May, 1983. GTZ Press, Eschborn.
- Ernest, H. and E.L. Patricia. 1994. **Metabolism of toxicants ; Phase I reaction**, pp. 75 – 111. *In* H. Ernest and E.L. Patricia (eds.). Introduction to Biochemical Toxicology 2d. ed., Appleton & Lange Norwalk, Connecticut.
- Gould, D.J. *et al.* 1968. An Insular outbreak of dengue hemorrhagic fever. III Identification of vectors and observations on vector ecology. **Amer. J. Trop. Med. Hyg.** 17 : 609 - 18
- Gubler, D.J. and Clark, G.G. 1995. Community involvement in the control of *Aedes aegypti*. **Acta Tropica**, 61:169 – 179
- Hawley, W.A. 1998. **The biology of *Aedes albopictus***. *J Am Mosq Control Assoc*, (Supplement 1), 4 : 1 – 40.

- Hikino, H. and K. Aota. 1976. 4α , 5α -oxidoeudesm-11-en-3 α ol, sesquiterpenoid of *Cyperus rotundus*. **Phytochem.** 15 : 1265 – 1266.
- Hikino, H., K. Aota and T. Takemoto. 1966. Structure and absolute configuration of cyperotundone. **Chem. Pharm.Bull.** 14 (8) : 890 – 896.
- Jayaraj, S. 1993. **Neem in pest control** : Progress and perspectives, pp. 37 – 43. In World Neem Conference. Bangalore, India.
- Laukom, N., Chankaewmace, B. and S. Visetson. 2004. **“ECO₂FUM” an insecticide alternative againsts some stored product pests in Thailand.** The 2nd Asian International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety (SECOTOX 2004) . Organized by Postgraduate Education and Research Program in Chemistry , Prince of Songkla University, September, 26 – 29, 2004. BP Samila Beach Hotel, Songkla, Thailand.
- Lincoln, T., Eduardo Z. 1998. **Plant Physiology**. 2nd ed. Sinauer Associates, U.S.A. 792 p.
- Matsumura , F. 1976. **Toxicology of Insecticide**. 2nd ed., Plenum Pree , New York. 503 p.
- Medical Entomology Group. 2004. **Scientific Publications Relating to Insect Vectors from 1995 to 2004**. Biology and Ecology Section , Medical Entomology Group , National of Health, Department of Medical Sciences , Ministry of Public Health.
- Norman , R. Farnsworth and Bunyaphrathatsara , N. 1992. **Thai Medicinal Plants**. Prachachon Co., Ltd. BKK Thailand.
- Pornbanlualap , S. 2004. **Inhibitor Design**. Kasetsart University , BKK Thailand.

- Rohani, A. 2001. Effect Of fpur chlorophytes on larval survival, development and Adult body size of the mosquito *Aedes aegypti*. **Journal of Applied Phycology**. 13 : 369 – 374
- Rudnick, A., and Hammon , W. McD. 1960. **Newly recognized *Aedes aegypti* problems in Manila and Bangkok**. Mosquito News 20 : 247 – 49.
- Saisongkhroh, B. and S. Visetson. 2004. **Toxicity and detoxification enzyme activity of *Spodoptera exique* L. against anonine from seeds of sweet apple (*Annona squamosa* L.). The 2nd Asian International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety (SECOTOX 2004) .** Organized by Postgraduate Education and Research Program in Chemistry , Prince of Songkla University, September, 26 – 29, 2004. BP Samila Beach Hotel, Songkla, Thailand.
- Scanlon, J.E. and Sandhinand.1965. The distribution and biology of *Anophrhrs balabacensis* In Thailand. **J. Med. Entomol.** 2 : 61 – 69
- Schmutterer, H. and H. Rembold. 1980. **Zur Wirkung einiger reinfraktionen aus samen von *Azadirachta indica* auf fravaktivitat and metamorphose von *Epilachna varivestis***. J. Agri.Ent. 2: 179 – 188.
- Sen-Sung Cheng, et al. 2003. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Journal Elsevier.Bioresource Technology** 89: 99 – 102

- Srikhong,P, S. Visetson, S. Vajrodaya and M. Milne.2004.**Effects of selinnadiene from Nutgrass (*Cyperus rotundus* L.) extracts on toxicity and activity of Esterase and Glutathione – S – transferase in *Aedes aegypti* L. The 2nd Asian International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety (SECOTOX 2004) . Organized by Postgraduate Education and Research Program in Chemistry , Prince of Songkla University, September, 26 – 29, 2004. BP Samila Beach Hotel, Songkla, Thailand.**
- Timbrell, J. 2000. **Principles of Biochemical Toxicology**. 3rd ed. T.J. International Ltd, Padstow, UK. 394 p.
- Thavara . 2001. Larval occurrence, oviposition behavior and biting activity of potential morquito vectors of dengue on Samui Island, Thailand. **J. Vector Ecology, 26(2) : 172 - 80**
- Theobald , F .V. 1907. **A monograph of the Culicidae of the World**. Vol. IV. British Museum London Theobald , F .V. 1910. Ibid. Vol. V.
- Visetson,S. and M. Milne.2001. **Effects of root extract from (*Dreiss elliptica* Benth) on mortality and detoxification enzyme levels in the diamondback moth larvae (*Plutella xylostella* Linn.)**. Kasetsart J. (Nat.Sci.) 35 : 157 – 163
- Visetson,S.1991. **Insecticide resistance mechanisms in the rust flour beetle (*Tribolium castaneum* Herbst)**. PhD. Thesis. The University of Sydney . Australia 256 p.

Visetson,S.2001. **Effects of azadirachtin from variour Thai neem extracts on some detoxification enzyme activities in *Callosobruchus maculatus* F.**, p.95. In 20th Aseam/2nd APEC,Seminar on Postharvest Technology , 11 – 14 September 2001. Chiang Mai , Thailand.

_____.2003. **Introduction to Biotoxicology**. Department of Zoology,Faculty of science,Kasetsart University. BKK.Thailand.

_____.2004.**Toxicant mechanisms in animal**. Department of Zoology,Faculty of science,Kasetsart University. BKK Thailand.

WHO.1997. **Dengue haemorrhagic fever** : Diagnosis , Treatment , prevention and control.second edition Geneva , 69 pp.

Vasuno , M , Tonn. R.j.1970. A study of biting habits of *Aedes aegypti* in Bangkok, Thailand., **Bull. Wld. Hlth Org.** 43 : 319 – 25.

Yu, S.J. 1984. Interaction of allelochemical with detoxification enzymes of insecticides susceptible and resistense fall armyworm. **Pestic.Biochem. Physiol.** 14 : 275 – 281.

Zar , H.J. 1999. **Biostatistical Analysis**.4th ed. Prentice Hall International , Inc. USA. 663 p

ภาคผนวก

การหาเปอร์เซ็นต์การตายจริง โดยวิธี Abbott's formula ของ Matsumura (1975)

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

เมื่อ X คือ เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในกลุ่มควบคุม
Y คือ เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในกลุ่มทดลอง

โดยเปอร์เซ็นต์การตายในกลุ่มควบคุมต้องน้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์

การวิเคราะห์ Esterase

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

แทนค่า OD/min ที่วัดได้จากเครื่อง spectrophotometer ด้วย A และปริมาตรรวมที่ใช้
วิเคราะห์เอนไซม์ใน 1 cuvette = 3.0 ml

$$\text{ฉะนั้น ปริมาณเอนไซม์ที่วัดได้} = A \times 58.8235 \times 3 \text{ n mole}$$

การวิเคราะห์ glutathione – S- transferase

$$\text{DCNB produced} = \text{OD/min} \times 1.316 / 10 \times 1000 \text{ n mole}$$

แทนค่า OD/min ที่วัดได้จากเครื่อง spectrophotometer ด้วย B

$$\text{ฉะนั้น ปริมาณเอนไซม์ที่วัดได้} = B \times 1.316 / 10 \times 1000 \text{ n mole}$$

$$\text{CDNB produced} = \text{OD/min} \times 1.316 / 9.6 \times 1000 \text{ n mole}$$

แทนค่า OD/min ที่วัดได้จากเครื่อง spectrophotometer ด้วย C

$$\text{ฉะนั้น ปริมาณเอนไซม์ที่วัดได้} = C \times 1.316 / 9.6 \times 1000 \text{ n mole}$$

วิธีวิเคราะห์ปฏิกิริยาของเอนไซม์

1. การเตรียมสารเคมี

1.1 Phosphate Buffer

0.1 M KH_2PO_4 (Phosphate buffer : M.W = 136.09) เตรียมโดยใช้

Phosphate buffer จำนวน 13.509 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่า pH เท่ากับ 7.5

1.2 Phosphate buffer with EDTA

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

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

1.4 PVPP (PolyVinylPoryPyrolidone) จากการทดลองจะใช้สารนี้ในปริมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณสารประกอบที่ใช้

1.5 0.12 M PNPA (ParaNitroPhenylAcetate) เตรียมโดยใช้ PNPA ปริมาณ 0.1 กรัม เติมลงในเอทิลแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร คนให้สารละลายจนหมด

1.6 150 mM CDNB (ChloroDiNitroBenzene) เตรียมโดยใช้ CDNB ปริมาณ 0.152 กรัม เติมลงในเอทิลแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร คนให้สารละลายจนหมด

1.7 150 mM DCNB (DiChloroNitroBenzene) เตรียมโดยใช้ DCNB ปริมาณ 0.144 กรัม เติมลงในเอทิลแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร คนให้สารละลายจนหมด

หมายเหตุ

การเตรียมสารละลายในข้อ 1.5 – 1.7 จะต้องเตรียมในช่วงเวลาที่ใช้ทดลอง ไม่ควรเตรียมทิ้งไว้หลายวันเพราะอาจทำให้สารละลายไม่มีประสิทธิภาพในการทำงาน

2. ขั้นตอนการวิเคราะห์สาร

2.1 วิเคราะห์สาร PNPA

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

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

สารละลาย	Blank	Sample
0.1 M Phosphate buffer (pH 7.5)	2900 μl	2900 μl
Substrate (0.12 M PNPA)	50 μl	50 μl
Phosphate buffer (pH 7.5) + EDTA	50 μl	-
Supernatant (Enzyme)	-	50 μl

2.2 วิเคราะห์สาร CDNB

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส จากการวิเคราะห์สารละลาย CDNB โดยเติมสารละลายดังตาราง วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ในค่าการดูดกลืนแสงที่ 340 นาโนเมตร แล้วอ่านค่า OD/min ที่ได้แล้วนำมาคำนวณตามสูตรต่อไปนี้

$$\text{CDNB conjugated product} = (\text{OD/min} \times 1.316) / (9.6 \times 1000)$$

สารละลาย	Blank	Sample
0.1 M Phosphate buffer (pH 7.5)	1150 µl	1150 µl
Substrate (150 m M CDNB)	10 µl	10 µl
Phosphate buffer (pH 7.5) + GSH reduced form	20 µl	-
Supernatant (Enzyme)	-	20 µl

2.2 วิเคราะห์สาร DCNB

การศึกษาปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส จากการวิเคราะห์สารละลาย DCNB โดยเติมสารละลายดังตาราง วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ในค่าการดูดกลืนแสงที่ 344 นาโนเมตร แล้วอ่านค่า OD/min ที่ได้แล้วนำมาคำนวณตามสูตรต่อไปนี้

$$\text{CDNB conjugated product} = (\text{OD/min} \times 1.316) / (10 \times 1000)$$

สารละลาย	Blank	Sample
0.1 M Phosphate buffer (pH 7.5)	1100 µl	1100 µl
Substrate (150 m M DCNB)	10 µl	10 µl
Phosphate buffer (pH 7.5) + GSH reduced form	200 µl	-
Supernatant (Enzyme)	-	200 µl

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวประภาพร ศรีคง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 5 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2523
สถานที่เกิด	อำเภอหนองโดน จังหวัดสระบุรี
ประวัติการศึกษา	กศ.บ. (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (2542)
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	รับราชการครู สังกัดกรุงเทพมหานคร ในตำแหน่งอาจารย์ 1 ระดับ 3
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	โรงเรียนบ้านบัวมด (เจริญราษฎร์อุทิศ) เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	- เข้าร่วมเสนอผลงาน(โปสเตอร์)ในหัวข้อ Effects of selinnadiene from Nutgrass (<i>Cyperus rotundus</i> L.) extracts on toxicity and activity of Esterase and Glutathione – S – transferase in <i>Aedes aegypti</i> L. In the 2 nd Asian International conference on Ecotoxicology and Environmental safety , September 26 – 29 2004.BP Samila Beach Hotel, Songkla , Thailand. - เข้าร่วมเสนอผลงานในงานประชุมวิชาการอัคราพิชแห่งชาติ ครั้งที่ 7 ระหว่างวันที่ 2-4 พฤศจิกายน 2548 ณ โรงแรมโลตัสปางสวนแก้ว จังหวัดเชียงใหม่
ประสบการณ์การทำงาน	- ผู้ช่วยสอน คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาสัตววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภาควิชาที่ 1/2547 - อาจารย์พิเศษ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ภาควิชาที่ 1/2548
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-

