

# การเปรียบเทียบปริมาณสาร azadirachtin และฤทธิ์การยับยั้งการกิน ของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาสามชนิดต่อหนอนใยผัก

## A Comparison of Azadirachtin Content and Their Efficacy of Three Varieties of Neem Extracts against *Plutella xylostella* L.

รติยา คูเขตพิทักษ์วงศ์ (Ratiya Kukhetpitakwong)<sup>1</sup> สัจवाल สมบูรณ์ (Sungwarl Somboon)<sup>2</sup>  
สุภาณี พิมพ์สมาน (Supanee Pimsamarn)<sup>4</sup> วัชรีย์ คุณกิตติ (Watcharee Khunkitti)<sup>5</sup>

### บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสาร azadirachtin จากสารสกัดเมล็ดสะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica* A. Juss) สะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs) และสะเดาไทย (*Azadirachta indica* var *siamensis* Valetton) โดยวิธี HPLC และทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการกินของสารสกัดสะเดาต่อหนอนใยผัก จากการศึกษาพบว่าสารสกัดเมล็ดสะเดาไทยที่เก็บจากจังหวัดขอนแก่นและสุพรรณบุรี มีสาร azadirachtin เท่ากับ 0.25% และ 0.82% ตามลำดับ และเมื่อศึกษาเปรียบเทียบปริมาณ azadirachtin ในเมล็ดสะเดาทั้ง 3 ชนิด ซึ่งเก็บมาจากแหล่งปลูกที่ต่างกัน พบว่าสะเดาอินเดีย (จากจังหวัดขอนแก่น) มีปริมาณ azadirachtin มากกว่าสะเดาช้าง (จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี) และสะเดาไทย (จากจังหวัดขอนแก่น) ตามลำดับ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาทั้งสามชนิดต่อการตายของหนอนใยผัก ที่เวลา 72 ชั่วโมง พบว่า เมล็ดสะเดาทั้ง 3 สายพันธุ์มีค่า LC<sub>50</sub> ตามลำดับดังนี้ 9,550, 8,430 และ 14,510 ppm และผลการยับยั้งการกินใบค่น้ำของหนอนใยผักเท่ากับ 55.69, 79.69 และ 44.45% ตามลำดับ ซึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณสาร azadirachtin ในสะเดาไม่สัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนใยผัก

### Abstract

The aims of this study were to investigate an amount of azadirachtin in 3 species of neem seed extracts by HPLC and to compare antifeedant action of the extracts against Diamondback moth (*Plutella xylostella* L). It was found that the percentage of azadirachtin in the extract of *Azadirachta indica* var *siamensis* Valetton collected from Khon Kaen and Suphan Buri was 0.25% and 0.82%, respectively. In comparison, azadirachtin was found in *Azadirachta indica* A. Juss (from Khon Kaen) more than *Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs (from Suratthani) and *Azadirachta indica* var *siamensis* Valetton (from Khon Kaen), respectively. The antifeedant effect of the extracts on Diamondback moth was found at 55.69, 79.69 and 44.45%, respectively. In addition, when the toxicity of the extracts against Diamondback moth was carried out, the LC<sub>50</sub> at 72 hours of the three species were 9,550, 8,430 and 14,510 ppm, respectively. It was interesting to note that the amount of azadirachtin was not related to the lethal and the antifeedant activities of the extracts against Diamondback moth.

**คำสำคัญ :** azadirachtin หนอนใยผัก สะเดา

**Keywords:** Azadirachtin, *Plutella xylostella* L, *Azadirachta*

<sup>1</sup>อาจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>2</sup>นักศึกษาระดับปริญญาเอก ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>3</sup>รองศาสตราจารย์ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>4</sup>รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

## บทนำ

สาร azadirachtin เป็นสารที่สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของต้นสะเดา เช่น เมล็ดใน (seed kernel) เปลือกลำต้น ใบ ราก และลำต้น เป็นต้น โครงสร้างของ azadirachtin คล้ายกับฮอร์โมนของแมลงที่เรียกว่า ecdysones ซึ่งควบคุมขบวนการ metamorphosis ของแมลงในการเจริญเติบโตจากหนอนเป็นดักแด้และเข้าสู่ตัวเต็มวัย เช่น ระบุการกินอาหาร (antifeedant) ยับยั้งการเจริญเติบโต ยับยั้งการสร้างไข่และการวางไข่ รวมถึงฤทธิ์ไล่แมลงศัตรูพืช (repellant) เป็นต้น (Schmutter, 1992) ปริมาณสาร azadirachtin มากที่สุดในเมล็ดในคิดเป็นร้อยละ 0.25 ของน้ำหนักเมล็ดในสดที่มีความชื้นร้อยละ 25 (Sundaram, 1996) การเก็บเกี่ยวเมล็ดสะเดาเพื่อให้ได้สาร azadirachtin ปริมาณสูงที่สุด เมื่อผลสะเดาเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นเหลือง หรือผลสะเดามีอายุประมาณ 17 สัปดาห์ และควรนำผลที่เก็บได้มาทำการสกัดโดยเร็วที่สุด เพื่อให้มีปริมาณ azadirachtin คงเหลือมากที่สุด เมื่อเก็บเมล็ดสะเดาไว้ที่มีอุณหภูมิ 20-35°C ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50-60 เป็นเวลา 1 และ 4 เดือน พบว่าปริมาณสาร azadirachtin ลดลงถึงร้อยละ 5 และ 32 ตามลำดับ นอกจากนี้การเก็บในที่โดนแสงแดดจะทำให้สูญเสียสาร azadirachtin มากขึ้น (Yakkundi และคณะ, 1995)

การวิจัยครั้งนี้เป็นการเปรียบเทียบปริมาณสาร azadirachtin ที่มีอยู่ในสารสกัดสะเดาของเมล็ดสะเดาอินเดีย สะเดาช้าง และสะเดาไทย โดยวิธี HPLC และฤทธิ์ยับยั้งการกินของสารสกัดสะเดาจากแหล่งต่างๆ ต่อหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.) ซึ่งเป็นแมลงศัตรูข้าว

## วิธีการวิจัย

### สารเคมี

Azadirachtin ความบริสุทธิ์มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ (Sigma<sup>®</sup>), Acetonitrile, HPLC grade (Labscan<sup>®</sup>) และสารเคมีอื่นๆ เป็น analytical grade เมล็ดสะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica* A. Juss)

เก็บจากจังหวัดขอนแก่น เมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs) เก็บจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี และ เมล็ดสะเดาไทย (*Azadirachta indica* var *siamensis* Valetton) เก็บจากจังหวัดขอนแก่นและจังหวัดสุพรรณบุรี ช่วงเดือนมีนาคมถึงเมษายน พ.ศ.2542 และน้ำที่ใช้สำหรับ HPLC ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ระบบ Milli Q Water Purification (Millipore<sup>®</sup>)

### การสกัดเมล็ดสะเดา ตามวิธีของ Schroeder และ Nakanishi

*การเตรียมสารสกัดสะเดาแบบหยาบ (crude extract)*

ทำการบดเมล็ดสะเดาที่แกะเอาเปลือกหุ้มเมล็ดออกเหลือส่วนของเมล็ดในที่มีสีเขียวน้ำหนัก 500 กรัม ผสมกับเมทานอล 2,000 ml หมักทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง กวนทุก 1 ชั่วโมง ระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 60°C และเก็บ crude extract (สารเหนียวสีน้ำตาลอมเขียว) ที่ได้

### *การเตรียมสารสกัด NR-1*

ทำการบดเมล็ดสะเดาที่แกะเอาเปลือกหุ้มเมล็ดออกเหลือส่วนของเมล็ดในที่มีสีเขียวน้ำหนัก 500 กรัม ผสมลงใน hexane ปริมาตร 500 ml หมักที่อุณหภูมิห้อง กวนทุก 1 ชั่วโมง แล้วเทสารละลายทิ้ง สกัดด้วย hexane ซ้ำจำนวน 4 ครั้ง เพื่อแยกน้ำมันสะเดาออกจากเมล็ด นำผงเมล็ดสะเดาที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกไปมา ผึ่งให้แห้ง แล้วผสมกับเมทานอล 500 ml หมักทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เทส่วนสารละลายเก็บไว้ สกัดด้วยเมทานอลซ้ำอีกจำนวน 3 ครั้ง และเก็บส่วนสารละลายที่ได้ ประมาณ 2,000 ml นำไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 60°C และเก็บ crude extract ที่ได้

ทำการสกัด crude extract ที่ได้ต่อโดยละลายในเมทานอล 80% ปริมาตร 150 ml และเติม hexane อีกปริมาตรที่เท่ากัน เขย่าเพื่อแยกสกัดส่วนน้ำมันสะเดาออก แยกเก็บส่วนของเมทานอลนำมาสกัดซ้ำกับ hexane จนกระทั่งของเหลวชั้น hexane สี เก็บของเหลวชั้นเมทานอล ไประเหยเอาตัวทำละลายออก ได้สารสกัด NR-1

### การวิเคราะห์หาปริมาณ Azadirachtin โดย วิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

การวิเคราะห์นี้ได้พัฒนาวิธีของ Yakkundi SR และคณะ (1995) ใช้เครื่อง HPLC (Perkin Elmer<sup>®</sup>, model 1022) ต่อกับปั๊ม (Perkin Elmer<sup>®</sup>, series 200 LC pump) และ mobile phase ประกอบด้วย acetonitrile และน้ำ เป็นสัดส่วน 40 ต่อ 60 โดยปริมาตร ใช้ flow rate เท่ากับ 1 ml/min เป็นเวลา 6 นาที ใช้คอลัมน์ Waters Novapak C18 (4.6 mm x 15 cm บรรจุด้วย octadecylsilica ขนาด 4  $\mu$ m) ใช้ UV detector (Perkin Elmer<sup>®</sup>, model 785A/CORAD) ความยาวคลื่น 210 nm และใช้ propylparaben เป็นสารมาตรฐานภายใน (internal standard)

### การเลี้ยงหนอนใยผัก

นำหนอนใยผักจากแปลงผักของเกษตรกร มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการตามวิธีของวิชากรณ (2545) โดยนำหนอนใยผักมาเลี้ยงในกล่องพลาสติก จนกระทั่งแมลงเข้าดักแด้ เก็บดักแด้ใส่กล่องขนาดเล็ก แล้วนำไปวางไว้ในกรงผ้าไนลอนที่มีโครงเป็นลวดขนาด 20 x 30 x 30 เซนติเมตร เพื่อให้เจริญเป็นตัวเต็มวัย และผสมพันธุ์กัน ใส่ต้นคะน้าที่ปลูกโดยไม่ใช้สารฆ่าแมลงอายุ 3-5 วัน เพื่อให้เป็นที่วางไข่และให้สารละลายน้ำผัก 10 % เป็นอาหารของตัวเต็มวัย ปล่อยให้ผีเสื้อวางไข่ หลังจากนั้น 2 วัน ย้ายกระถางคะน้าที่มีกลุ่มไข่ หนอนใยผักไปไว้ในกรงที่ใช้เลี้ยงตัวหนอนทำด้วยพลาสติกไมลาร์ขนาด 30 x 30 x 75 เซนติเมตร แล้วเลี้ยงด้วยต้นคะน้าอายุ 5-6 สัปดาห์ เปลี่ยนคะน้าทุก 1-2 วัน เลี้ยงจนเข้าดักแด้รุ่นใหม่แล้วเก็บดักแด้ไปวางไว้ในกรงผ้าเพื่อให้เป็นตัวเต็มวัย ผสมพันธุ์และวางไข่ต่อไป เมื่อต้องการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการกินของสารสกัดสะเดาให้เลือกหนอนใยผักอายุ 4 วัน มาทำการทดสอบต่อไป

### การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสะเดาในการยับยั้ง การกินของหนอนใยผัก

วิธี feeding leaf disc (Feeding test) โดยเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 5,000, 10,000, 30,000 และ 50,000 ppm แล้วนำไปคะน้าปลอดสารพิษที่ตัดเป็นวงกลมเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร จุ่มในสารละลายปริมาตร 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 วินาที ผึ่งให้แห้งจึงปล่อยหนอนใยผักวัย 2 จำนวน 10 ตัว ทำการทดลอง 5 ชุด (แผนการทดลอง completely randomized design) ตรวจสอบผลการตายของหนอนใยผักทุก 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ข้อมูล Probit analysis ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป QUANTX 13 หาความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้หนอนใยผักตาย 50% ( $LC_{50}$ ) ที่เวลา 72 ชั่วโมง และศึกษาการยับยั้งการกินของหนอนใยผักเมื่อใช้สารละลายของสารสกัดที่ความเข้มข้น 10,000 ppm โดยการวัดพื้นที่การกินของหนอนใยผักและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินจากสมการ

$$\text{Feeding Inhibitor (\%)} = 100 - \left( 100 \times \frac{\text{Treatment}}{\text{Control}} \right)$$

เมื่อ Treatment คือ พื้นที่การกินใบคะน้าที่มีสารสกัดของหนอนใยผัก

Control คือ พื้นที่การกินใบคะน้าปลอดสารพิษของหนอนใยผัก

### ผลการวิจัย

การวิเคราะห์หาปริมาณสาร azadirachtin ด้วยวิธี HPLC มีค่าพิกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้เท่ากับ 472 ng/ml (9.5 ng) และพิกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดปริมาณได้เท่ากับ 2.12 mg/ml (42.4 ng) ค่าความไวเท่ากับ 16 ng/ml โดยตรวจพบสาร azadirachtin และ propylparaben ที่เวลาประมาณ 3.9 และ 5.2 นาที ตามลำดับ

เมล็ดสะเดาไทยที่ปลูกในจังหวัดขอนแก่นและสุพรรณบุรี (ตารางที่ 1) มีปริมาณสาร azadirachtin

ในสารสกัด NR-1 น้ำหนัก 1 กรัมเท่ากับ  $2.54 \pm 0.124$  และ  $8.15 \pm 0.528$  มิลลิกรัม ตามลำดับ หากนำสารสกัด NR-1 มาทำให้บริสุทธิ์เพิ่มขึ้น โดยนำสารสกัด NR-1 มาละลายใน เมทานอล 50% และสกัดด้วย dichloromethane พบว่าความเข้มข้นของสาร azadirachtin สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญจาก 0.25% เป็น 18.20% (ปริมาณสาร azadirachtin  $182.0 \pm 10.839$  มิลลิกรัม/กรัม) และได้สารสกัดที่เป็นผงแห้งสีเขียว สารสกัดจากเมล็ดในของสะเดา NR-1 ที่สกัดได้โดยวิธีการนี้มีลักษณะเหนียวสีน้ำตาลอมเขียว และพบว่ามีสาร azadirachtin เป็นองค์ประกอบหลักเช่นเดียวกับในสะเดาอีกทั้ง 2 ชนิด โดยพบว่าสารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาอินเดียมีปริมาณสาร azadirachtin สูงที่สุด (ตารางที่ 1) รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาช้าง และสะเดาไทย ตามลำดับ

สารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาช้างมีค่า  $LC_{50}$  เท่ากับ 8,430 ppm (ตารางที่ 1) ซึ่งมีความเป็นพิษสูงที่สุดในการทำให้หนอนใยผักตายโดยเหลือหนอนใยผักที่มีชีวิตรอด 50% รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาอินเดียและสะเดาไทย ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันสารสกัดจากเมล็ดสะเดายังมีผลยับยั้งการกินใบคะน้าของหนอนใยผัก พบว่าหนอนใยผักกินใบคะน้าได้น้อยที่สุดเมื่อมีสารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาช้าง ตกค้างอยู่ (ค่าการยับยั้งการกิน เท่ากับ 79.69%) ดังรูปที่ 1 รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาอินเดีย ส่วนสารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาไทยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการกินใบคะน้าของหนอนใยผักน้อยที่สุด การศึกษาการยับยั้งการกินของหนอนใยผักของสารสกัดสะเดาทั้งสามชนิดพบว่า ลักษณะการกินของหนอนใยผักมีการกระจายไม่เป็นปกติจึงวิเคราะห์ข้อมูลสถิติแบบไม่ใช่พาราเมตริก ด้วย Jonckheere-Terpstra test พบว่าสารสกัดสะเดามีผลยับยั้งการกินของหนอนใยผักแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p=0.012$ ) โดยพบว่าสารสกัดหยาบของสะเดาไทยและอินเดียมีผลต่อการยับยั้งการกินของหนอนใยผักไม่แตกต่างกัน ขณะที่สารสกัดหยาบของสะเดาช้างสามารถยับยั้งการกินของหนอนใยผัก

ได้ดีกว่าสารสกัดสะเดาทั้งสองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อทดสอบข้อมูลด้วย Mann-Whitney test

## วิจารณ์ผลการวิจัย

การวิเคราะห์ปริมาณสาร azadirachtin ที่มีในสารสกัดเมล็ดสะเดาไทยจากจังหวัดขอนแก่นและสุพรรณบุรี พบว่าเมล็ดสะเดาไทยที่เก็บจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีปริมาณสาร azadirachtin มากกว่าที่เก็บจากจังหวัดขอนแก่น ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าสารอาหารในดินและสภาพอากาศที่จังหวัดสุพรรณบุรี อาจแตกต่างจากที่จังหวัดขอนแก่นส่งผลให้ปริมาณ azadirachtin ในสารสกัดสะเดาที่เก็บจากพื้นที่ต่างกันมีปริมาณที่ไม่เท่ากัน ซึ่งยืนยันผลของการรวบรวมรายงานการศึกษาเกี่ยวกับสะเดาว่าปริมาณสาร azadirachtin ที่มีอยู่ในเมล็ดสะเดานั้นขึ้นอยู่กับชนิด แหล่งปลูก และการเก็บรักษาเมล็ดสะเดา (นพมาศ, 2535) และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณสาร azadirachtin ที่มีอยู่ในเมล็ดสะเดา 3 ชนิด พบว่า ในเมล็ดสะเดาอินเดียมีปริมาณสาร azadirachtin มากที่สุด รองลงมาเป็นเมล็ดสะเดาช้างและเมล็ดสะเดาไทย ตามลำดับ

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาต่อการตายของหนอนใยผัก พบว่า ค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาช้างที่ทำให้หนอนใยผักตายใกล้เคียงกันกับการศึกษาสารสกัดจากใบสะเดาช้างด้วยเมทานอลต่อการตายของหนอนใยผักวัยที่ 3 ของ สุนทร และคณะ (2543) ซึ่งพบว่าค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 72 ชั่วโมงของสารสกัดดังกล่าวเมื่อให้โดยการหยดสารละลาย 1 ml ลงบนบริเวณอกปล้องแรก (pronotum) ของหนอนใยผัก และการพ่นสเปรย์สารละลาย 10 ml ต่อหนอนใยผัก 1 ตัว เป็น 847.6 mg/L และ 469.7 mg/L ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดที่ได้จากเมล็ดและใบของสะเดาช้างมีปริมาณสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ต่อหนอนใยผักใกล้เคียงกันหรืออาจมีสารสำคัญที่ต่างกันแต่มีผลทำให้หนอนใยผักตายใกล้เคียงกันทั้งนี้ต้องทำการศึกษาเปรียบเทียบต่อไป

ถึงแม้ว่าสารสกัดหยาบของเมล็ดสะเดาข้างจะมีปริมาณ azadirachtin น้อยกว่าสารสกัดเมล็ดสะเดาอินเดียก็ตาม จากการศึกษาการตายของหนอนใยผักและการยับยั้งการกินใบคะน้าของหนอนใยผักพบว่า สารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาข้างมีผลทำให้หนอนใยผักตายและยับยั้งการกินของหนอนใยผักได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาอินเดียและสะเดาไทยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าปริมาณสาร azadirachtin ที่มีอยู่ในเมล็ดสะเดาไม่มีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพต่อหนอนใยผัก ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า นอกจาก azadirachtin ที่เป็นสารสำคัญแล้วน่าจะมีสารอื่นที่มีผลต่อหนอนใยผัก และยังอาจเป็นผลจากสารอื่น ๆ ซึ่งมีรายงานว่ามีพิษต่อหนอนใยผักเช่นกัน เพราะสารสกัดสะเดาหลัก ๆ จะเป็นส่วนผสมของสารประกอบ 3-4 ชนิด ได้แก่ azadirachtin ซึ่งสามารถไล่ รบกวนการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ของแมลงศัตรู และสารในกลุ่ม Limonoids อย่างน้อย 9 ชนิด ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลงหลายชนิด (Schmutter, 1992) Cohen และคณะ (1996) รายงานการศึกษาความเป็นพิษของสาร limonoids 6 ชนิดต่อเซลล์ของแมลงและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พบว่า nimbolide เป็นสารที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยมีความเข้มข้นสำหรับการยับยั้งเซลล์จำนวน 50% ( $IC_{50}$ ) เฉลี่ย 6 mM และออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้รวดเร็วภายในเวลา 25-50 นาที ที่ทำให้มีเซลล์รอดชีวิต 50% ขณะที่สาร azadirachtin ต้องใช้ความเข้มข้นมากกว่า 200 mM จึงจะยังคงมีพิษต่อเซลล์แมลง *Drosophila* KC แต่ไม่มีผลต่อเซลล์แมลง *Sopodoptera frugiperda* Sf9 และเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ดังนั้นในการควบคุมคุณภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาโดยใช้ปริมาณ azadirachtin ชนิดเดียวเป็น marker อาจไม่เพียงพอ ทั้งนี้จะต้องศึกษาเพื่อหาสารสำคัญอื่นที่สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารสำคัญในสารสกัดกับประสิทธิภาพของสารสกัดต่อแมลงเป็นสารมาตรฐานร่วมต่อไป

## สรุปผลการวิจัย

เมล็ดสะเดาไทยที่เก็บได้จากแหล่งปลูกต่างกัน คือ จังหวัดขอนแก่นและจังหวัดสุพรรณบุรี พบปริมาณสาร azadirachtin แตกต่างกัน โดยสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยที่เก็บจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีปริมาณของสาร azadirachtin 0.82% ซึ่งมีปริมาณมากกว่าในสารสกัดจากสะเดาไทยจากจังหวัดขอนแก่นซึ่งมีสาร azadirachtin เพียง 0.25%

ปริมาณ azadirachtin มีมากที่สุดในเมล็ดสะเดาอินเดีย รองลงมาได้แก่ สะเดาข้างและสะเดาไทย ตามลำดับ ส่วนประสิทธิภาพของสารสกัดเมล็ดสะเดาต่อการตายของหนอนใยผักและการยับยั้งการกินของหนอนใยผัก พบว่าสารสกัดจากเมล็ดสะเดาข้างมีประสิทธิภาพดีที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดจากเมล็ดสะเดาอินเดียและสะเดาไทย ตามลำดับ

สาร azadirachtin เป็นองค์ประกอบหลักในเมล็ดสะเดาที่สกัดด้วยเมธานอล แต่ไม่ใช่สารสำคัญเพียงชนิดเดียวในเมล็ดสะเดาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการกินหรือการเจริญเติบโตของแมลง ดังนั้นประสิทธิภาพของสารสกัดต่อแมลงจึงไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณสาร azadirachtin ซึ่งพบว่าสารสกัดจากเมล็ดสะเดาข้างมีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งการกินของหนอนใยผักและทำให้หนอนใยผักตาย เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาอินเดียและสะเดาไทย

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้เป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยที่ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากกรมการแพทย์แผนไทย กระทรวงสาธารณสุข โดยความร่วมมือระหว่างภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ และภาควิชาเทคโนโลยีสารสนเทศ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

## เอกสารอ้างอิง

- นพมาศ สรรพคุณ. 2535. ยาฆ่าแมลงจากสะเดา. **จุลสารข้อมูลสมุนไพร**. 9 (3) : 12-19.
- วชิราภรณ์ อังกาสี. 2545. ประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาต่อการวางไข่ การสืบพันธุ์ และการรอดชีวิต. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สุนทร พิพิธแสงจันทร์, ทิวา บุตรผา, ปาริชาติ ปาลินทร, สุปรียา ยืนยงสวัสดิ์ และสนั่น ศุภธีรสกุล. 2543. การศึกษาฤทธิ์ของพืชบางชนิดในท้องถิ่นภาคใต้ประเทศไทยต่อการตายของหนอนใยผัก. **วารสารสงขลานครินทร์**. 22 (4): 447-455.
- Cohen E, Quistad GB and Casida JE. 1996. Cytotoxicity of nimbolide, epoxyazadiradione and other limonoids from neem insecticide. **Life Sciences**. 58 (13) : 1075-1081.
- Finney DJ. 1971. Probit Analysis. 3<sup>rd</sup> ed. London : Cambridge University Press.

- Raymond M. 1985. Pre'sentation d'un programme d'analysis log-probit pour micro-ordinatour. **J. Parasitology**. 22 (2) : 117-121.
- Schmutter H. 1992. **Neem : A tree for solving global problems**. Washington, D.C. : National Academic Press.
- Sundaram K.M.S. 1996. **Azadirachtin biopesticide : A review of studies conducted on its analytical chemistry, environmental behaviour and biological effects**. Federal Republic of Germany : Weinheim.
- Yakkundi SR, Thejavathi R. and Ravindranath B. 1995. Variation of azadirachtin content during growth and storage of neem (*Azadirachta indica*) seeds. **J Agric Food Chem** 43. : 2517-2519.

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณสาร azadirachtin ในสารสกัดหยาบ (crude extract) และประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบต่อหนอนใยผักวัย 2 ที่เวลา 72 ชั่วโมง

สารสกัด	สาร azadirachtin (%)	LC <sub>50</sub> (ppm)	95% Fiducial Limit	Slope + SE
สะเดาไทย	0.0173	14,510	4,440 - 17,350	1.708 + 0.285
สะเดาอินเดีย	0.0301	9,550	7,160 - 12,970	1.741 ± 0.289
สะเดาข้าง	0.0224	8,430	3,940 - 18,160	0.877 ± 0.318

รูปที่ 1 แสดงประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาหยาบต่อการยับยั้งการกินของหนอนใยผัก

