

## บทที่ 3

### ผลการทดลอง

#### 3.1 การสกัดสารอะซาไดแรคติน

##### 3.1.1 การสกัดสารอะซาไดแรคตินจากเมล็ดสะเดาด้วยตัวทำละลายเมทานอล

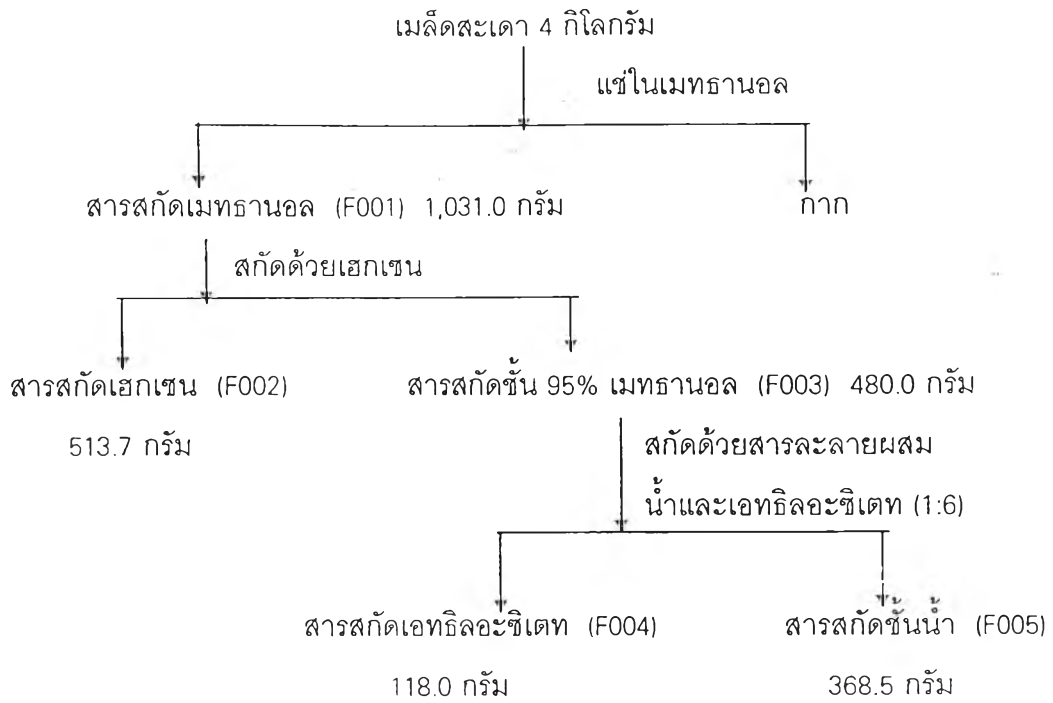
นำสารละลายเมทานอลที่ได้ไประเหยตัวทำละลาย ได้สารสกัดเมทานอล (methanol extract:F001) น้ำหนักแห้ง 1,031.0 กรัม จากการตรวจหาสารด้วยแผ่น TLC พบว่ามีจุดของสารตรงกับสารมาตรฐานอะซาไดแรคติน (รูปที่ 3-2)

##### 3.1.2 การสกัดสารอะซาไดแรคตินจากสารสกัดเมทานอล (F001) ด้วยสารละลายผสม 95%เมทานอลและเฮกเซน(1:1)

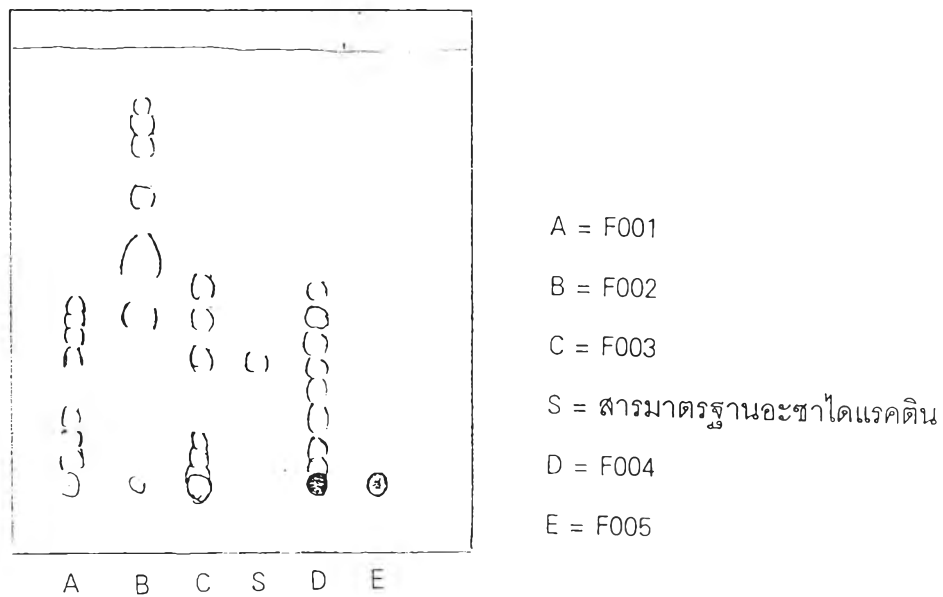
นำสารละลายส่วนที่เป็นเฮกเซนไประเหยตัวทำละลาย ได้สารสกัดเฮกเซน (hexane extract : F002) น้ำหนักแห้ง 513.7 กรัม จากการตรวจหาสารด้วยแผ่น TLC ไม่พบจุดของสารตรงกับสารมาตรฐานอะซาไดแรคติน (รูปที่ 3-2) ส่วนชั้นที่เป็น 95% เมทานอล นำไประเหยเมทานอล ได้สารสกัดเมทานอล (methanol extract : F003) น้ำหนักแห้ง 480.0 กรัม จากการตรวจหาสารด้วยแผ่น TLC พบว่ามีจุดของสารตรงกับสารมาตรฐานอะซาไดแรคติน (รูปที่ 3-2) และเลือก F003 ไปสกัดต่อไป

##### 3.1.3 การสกัดสารอะซาไดแรคตินจากสารสกัดเมทานอล ( F003 ) ด้วยสารละลายผสม น้ำและเอทิลอะซิเตท (1:6)

นำสารละลายส่วนที่เป็นเอทิลอะซิเตทไประเหยตัวทำละลาย ได้สารสกัดเอทิลอะซิเตท (ethyl acetate extract : F004) น้ำหนักแห้ง 118.0 กรัม จากการตรวจหาสารด้วยแผ่น TLC พบว่ามีจุดของสารตรงกับสารมาตรฐานอะซาไดแรคติน (รูปที่ 3-2) ส่วนชั้นน้ำนำไประเหยน้ำออก ได้สารสกัดชั้นน้ำ (F005) มีน้ำหนักแห้ง 368.5 กรัม จากการตรวจหาสารด้วยแผ่น TLC ไม่พบจุดของสารตรงกับสารมาตรฐานอะซาไดแรคติน (รูปที่ 3-2)และเลือก F004 ไปสกัดแยกสารอะซาไดแรคตินด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟีต่อไป



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการสกัดสารจากเมล็ดสะเดา *Azadirachta indica*



รูปที่ 3.2 แสดงรูปแบบของสารสกัด F001, F002, F003, สารมาตรฐานอะซาไดแรคติน, F004 และ F005 บนแผ่น TLC

### 3.2 การแยกสารอะซาไธแรคตินด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี

#### 3.2.1 การแยกสารสกัดเอทิลอะซิเตท (F005)

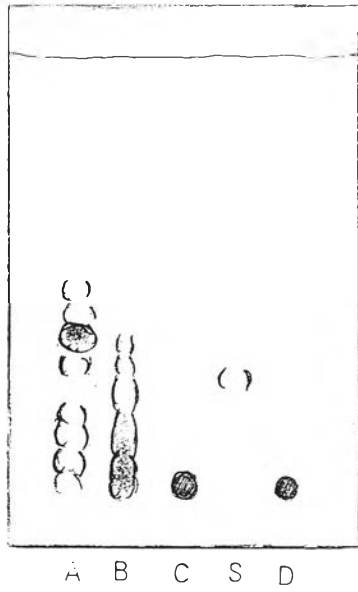
นำสารสกัดเอทิลอะซิเตท (F005) มาแยกโดยใช้คอลัมน์โครมาโตกราฟีใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ สารละลายตัวพาคือ คลอโรฟอร์มต่อเมทานอล (2:1) ทดสอบลำดับส่วนที่เก็บได้ด้วยแผ่นทินแลร์โครมาโตกราฟี ได้สารจากการเก็บลำดับส่วนแบ่งเป็น 4 กลุ่ม คือ F006, F007, F008 และ F009 ผลการตรวจสอบด้วยแผ่น TLC พบว่า F007 มีจุดของ สารตรงกับสารมาตรฐานอะซาไธแรคติน (รูปที่ 3.3) น้ำหนักแห้ง 16.45 กรัม ดังตารางที่ 3.1 และเลือก F007 ไปสกัดต่อไป ตารางที่ 3.1 น้ำหนักและลำดับส่วนของ F006, F007, F008 และ F009 ที่แยกจาก F004

สารสกัด	ลำดับส่วนที่	น้ำหนักของสารสกัด(กรัม)
F006	1-6	25.92
F007	7-41	16.45
F008	42-51	1.68
F009	52-60	50.0

#### 3.2.2 การแยกสารจาก F007

นำ F007 มาแยกโดยใช้คอลัมน์โครมาโตกราฟีใช้เซฟาเดคเจลเป็นตัวดูดซับสารละลายตัวพาคือเมทานอล ทดสอบลำดับส่วนที่เก็บได้ด้วยแผ่นทินแลร์โครมาโตกราฟี ได้สารจากการเก็บลำดับส่วนแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ F010, F011 และ F012 ผลการตรวจสอบด้วยแผ่น TLC พบว่า F011 มีจุดของสารตรงกับสารมาตรฐานอะซาไธแรคติน (รูปที่ 3.4) ซึ่งตรวจพบอะซาไธแรคตินในสาร F011 มีน้ำหนักแห้ง 10.66 กรัม ดังตารางที่ 3.2 และเลือก F011 ไปสกัดต่อไป ตารางที่ 3.2 น้ำหนักและลำดับส่วนของ F010, F011 และ F012 ที่แยกจาก F007

สารสกัด	ลำดับส่วนที่	น้ำหนักของสารสกัด(กรัม)
F010	1-3	2.33
F011	4-10	10.66
F012	11-20	2.71



- A = F006
- B = F007
- C = F008
- S = สารมาตรฐานอะซาไดแรคติน
- D = F009

รูปที่ 3.3 แสดงรูปแบบของสารสกัด F006, F007, F008, สารมาตรฐานอะซาไดแรคติน และ F009 บนแผ่น TLC



- A = F010
- B = F011
- S = สารมาตรฐานอะซาไดแรคติน
- C = F012

รูปที่ 3.4 แสดงรูปแบบของสารสกัด F010, F011, สารมาตรฐานอะซาไดแรคติน และ F012 บนแผ่น TLC

### 3.2.3 การแยกสารจาก F011

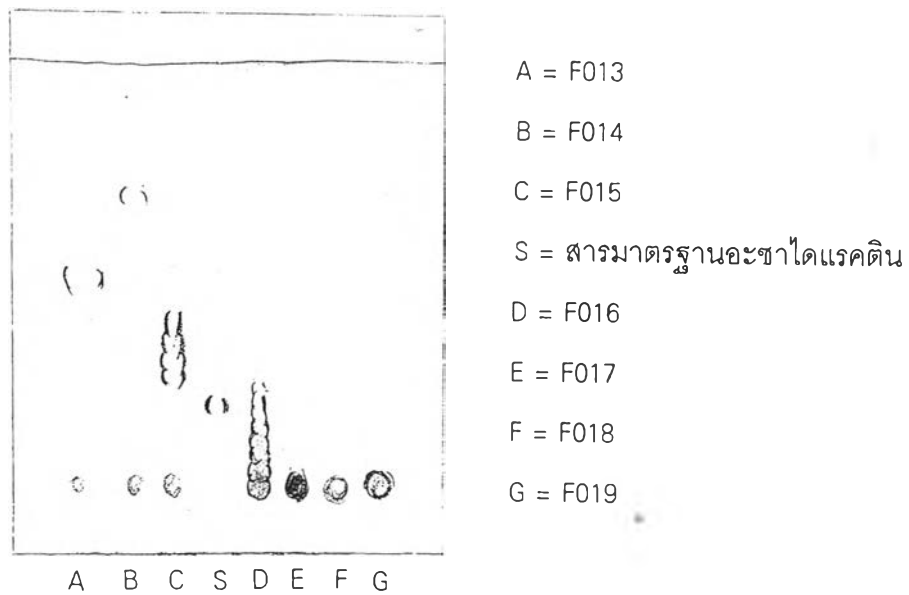
นำ F011 มาแยกโดยใช้คอลัมน์โครมาโตกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ สารละลายตัวพา คือ คลอโรฟอร์มต่ออะซิโตน (5:1) ทดสอบลำดับส่วนที่เก็บได้ด้วยแผ่นทินแลร์โครมาโตกราฟี ได้สารจากการเก็บลำดับส่วนแบ่งเป็น 7 กลุ่ม คือ F013, F014, F015, F016, F017, F018 และ F019 ผลการตรวจสอบด้วยแผ่น TLC พบว่า F016 มีจุดของสารตรงกับสารมาตรฐานอะซาไดแรคติน (รูปที่ 3.5) มีน้ำหนักแห้ง 6.11 กรัม ดังตารางที่ 3.3 ตารางที่ 3.3 น้ำหนักและลำดับส่วนของ F013- F019 ที่แยกจาก F011

สารสกัด	ลำดับส่วนที่	น้ำหนักของสารสกัด(กรัม)
F013	1-7	0.16
F014	8-23	0.69
F015	24-34	0.26
F016	35-130	6.11
F017	131-133	1.38
F018	134-135	1.22
F019	136-140	0.43

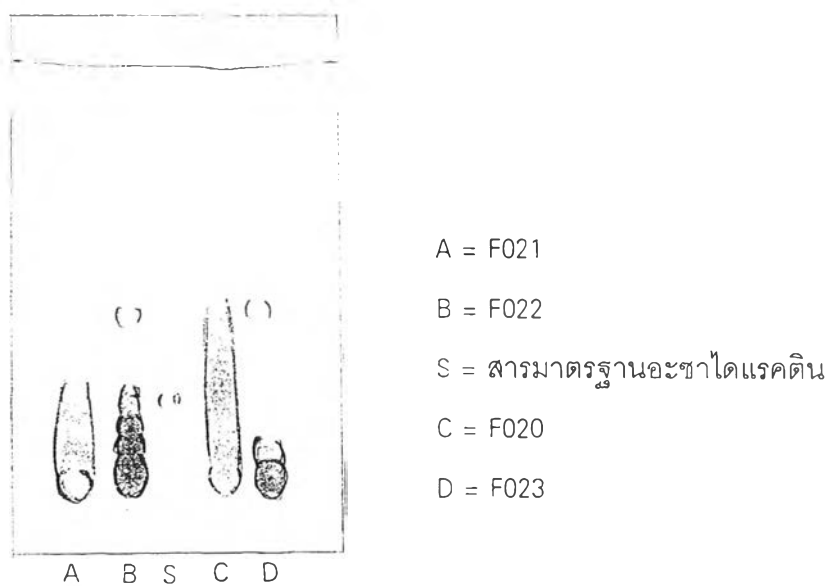
### 3.2.4 การแยกสารจาก F016

นำ F016 มาแยกโดยใช้คอลัมน์โครมาโตกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับสารละลายตัวพา คือ เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม และ อะซิโตน ในอัตราส่วน 3:1:1 ทดสอบลำดับส่วนที่เก็บได้ด้วยแผ่นทินแลร์โครมาโตกราฟี ได้สารจากการเก็บลำดับส่วนแบ่งเป็น 4 กลุ่มคือ F020, F021, F022 และ F023 ผลการตรวจสอบด้วยแผ่น TLC พบว่า F022 มีจุดของ สารตรงกับสารมาตรฐานอะซาไดแรคติน (รูปที่ 3.6) มีน้ำหนักแห้ง 1.93 กรัม ดังตารางที่ 3.4 และเลือก F022 ไปสกัดต่อไป ตารางที่ 3.4 น้ำหนักและลำดับส่วนของ F020, F021, F022 และ F023 ที่แยกจาก F016

สารสกัด	ลำดับส่วนที่	น้ำหนักของสารสกัด(กรัม)
F020	1-7	2.37
F021	8-37	1.28
F022	38-51	1.93
F023	52-65	0.51



รูปที่ 3.5 แสดงรูปแบบของสารสกัด F013, F014, F015, สารมาตรฐานอะซาไดแรคติน, F016, F017, F018 และ F019 บนแผ่น TLC



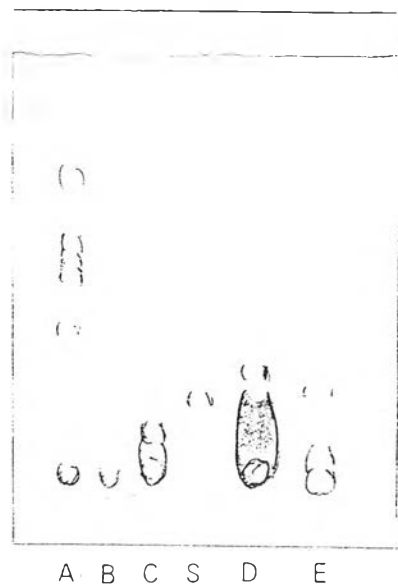
รูปที่ 3.6 แสดงรูปแบบของสารสกัด F021, F022, สารมาตรฐานอะซาไดแรคติน, F020 และ F023 บนแผ่น TLC

## 3.2.5 การแยกสารจาก F022

นำ F022 มาแยกโดยใช้คอลัมน์โครมาโตกราฟีใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับสารละลาย ตัวพา คือ เฮกเซน, คลอโรฟอร์มและอะซิโตนในอัตราส่วน 3:2:2 ทดสอบลำดับส่วนที่สกัดได้ด้วย แผ่นทินแลร์โครมาโตกราฟี ได้สารจากการเก็บลำดับส่วนแบ่งเป็น 5 กลุ่ม คือ F024, F025, F026, F027 และ F028 ผลการตรวจสอบด้วยแผ่น TLC พบว่า F027 มีจุดของ สารตรงกับสารมาตรฐาน อะซาไดแรคติน (รูปที่ 3-7) มีน้ำหนักแห้ง 0.05 กรัม ดังตารางที่ 3.5 และเลือก F027 ไปแยกสาร อะซาไดแรคตินด้วย reversed phase HPLC ต่อไป

ตารางที่ 3.5 น้ำหนักและลำดับส่วนของ F024, F025, F026, F027 และ F028 ที่แยกจาก F022

สารสกัด	ลำดับส่วนที่	น้ำหนักของสารสกัด(กรัม)
F024	1-24	0.03
F025	25-44	0.66
F026	44-62	0.64
F027	63-78	0.05
F028	79-80	0.51



- A = F024  
 B = F025  
 C = F026  
 S = สารมาตรฐานอะซาไดแรคติน  
 D = F027  
 E = F028

รูปที่ 3.7 แสดงรูปแบบของสารสกัด F024, F025, F026, สารมาตรฐานอะซาไดแรคติน, F027 และ F028 บนแผ่น TLC

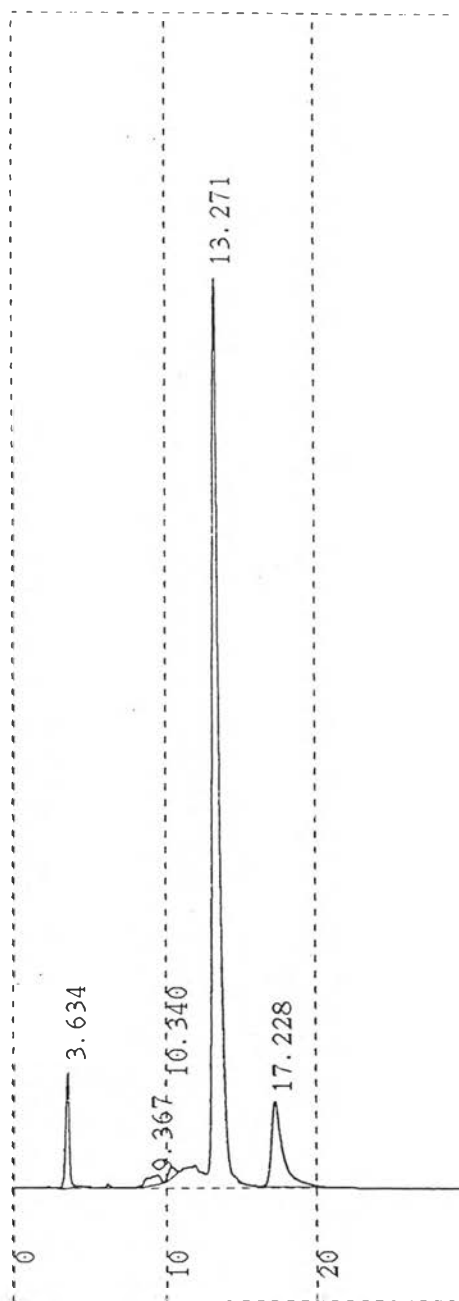
### 3.3 การแยกสารอะซาไดแรคตินด้วย reversed phase HPLC

นำ F027 มาแยกโดย reversed phase HPLC ใช้คอลัมน์สำหรับเก็บลำดับส่วน (preparative column) ยี่ห้อ Shimpack (LC-ODS) สารละลายตัวพาคือ 50% เมทานอลในน้ำ ที่ขจัดไอออนแบบทวิคูณ แยกสารได้ 3 กลุ่ม คือ F029, F030 และ F031 นำไปตรวจหาสารอะซาไดแรคตินด้วยเครื่อง HPLC พบว่า F030 มีพีคขึ้นที่รีเทนชันไทม์ (retention time) ตรงกับสารมาตรฐานอะซาไดแรคติน (รูปที่ 3-8) น้ำหนักแห้ง 11.9 มิลลิกรัม ดังตารางที่ 3.6 และเลือก F030 ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารอะซาไดแรคตินต่อไป

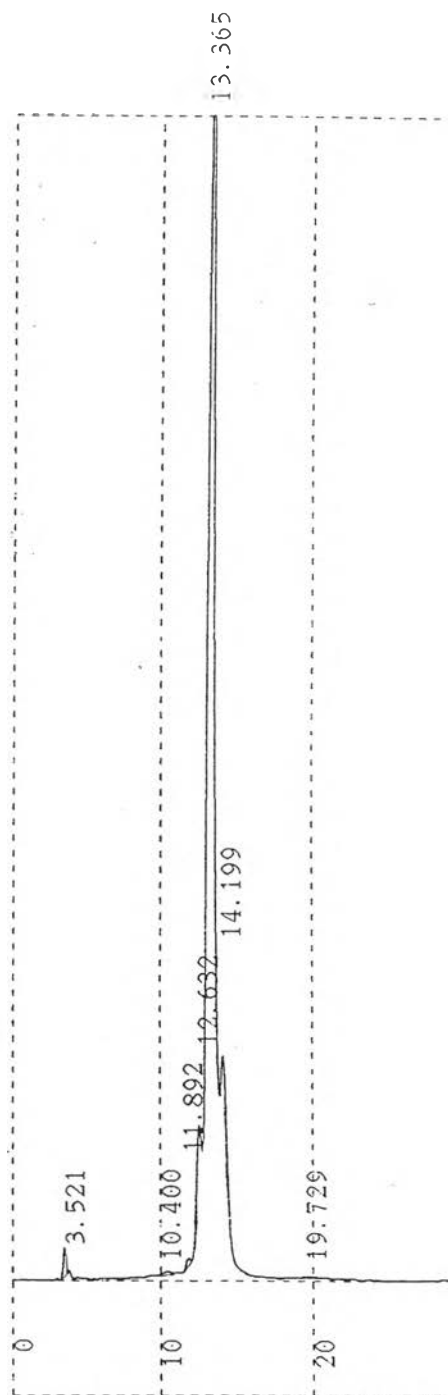
ตารางที่ 3.6 น้ำหนักและลำดับส่วนของ F029, F030 และ F031 ที่แยกจาก F027

สารสกัด	ลำดับส่วนที่	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)
F029	1-13	5.0
F030	14-28	11.9
F031	29-52	6.6



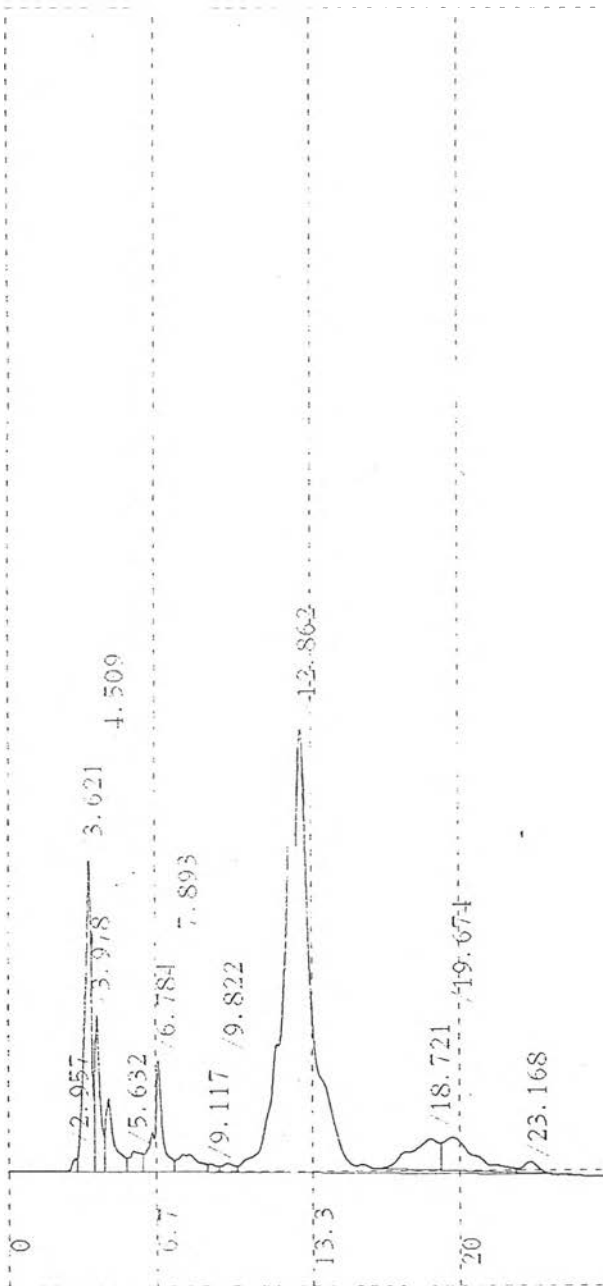


รูปที่ 3.8 ก. แสดงโครมาโตแกรมของ สารมาตรฐานอะซาไดแรคติน

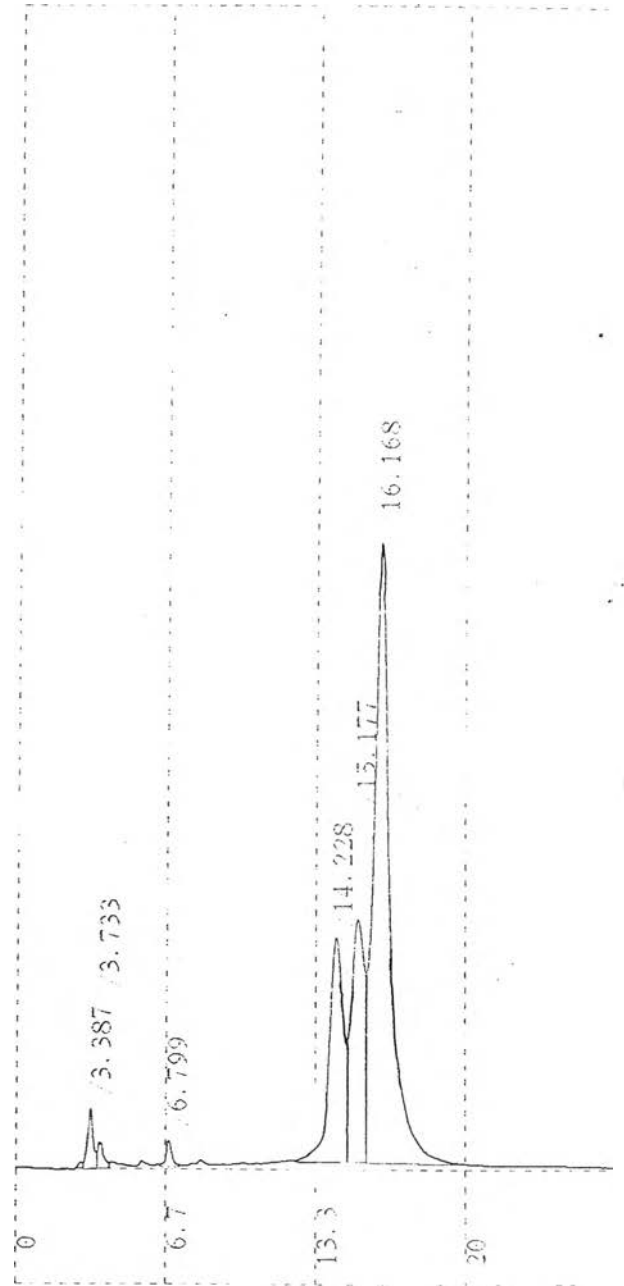


รูปที่ 3.8 ข. แสดงโครมาโตแกรมของ F030

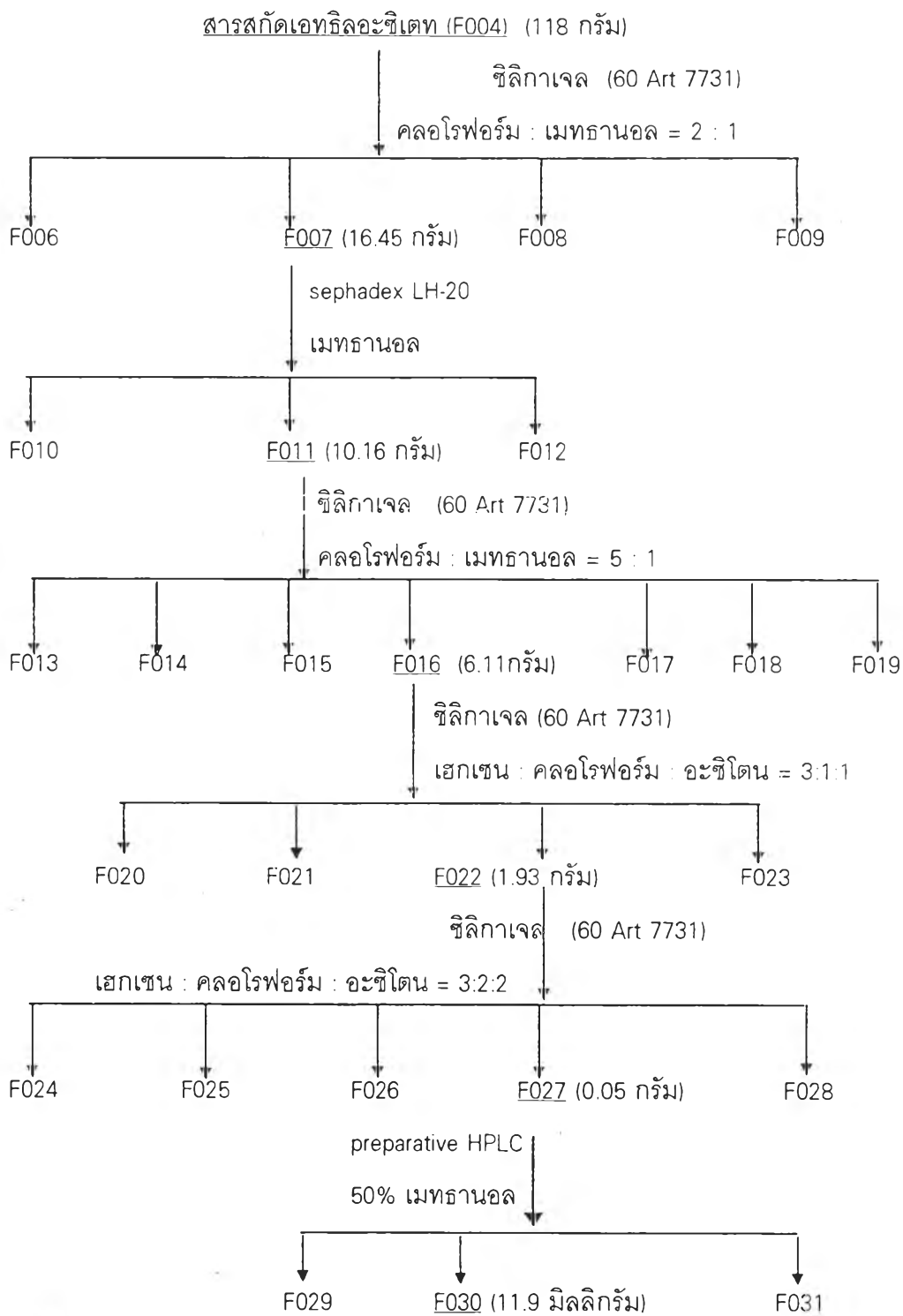
รูปที่ 3.8 แสดงโครมาโตแกรมของสารที่แยกด้วย reverse phase HPLC



รูปที่ 3.8 ค. แสดงโครมาโตแกรมของ F029



รูปที่ 3.8 ง. แสดงโครมาโตแกรมของ F031

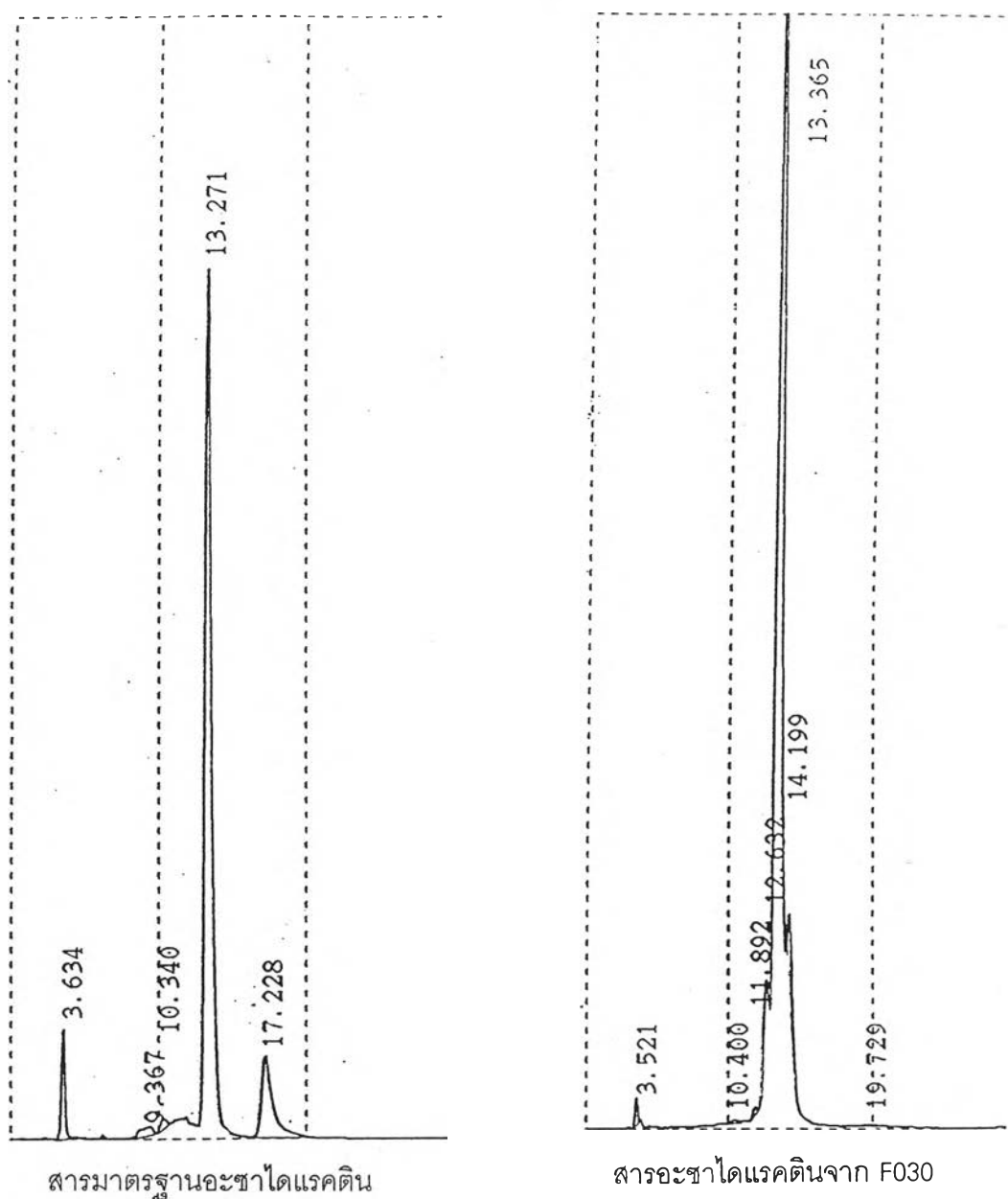


รูปที่ 3.9 ขั้นตอนการแยกสารอะซาไดแรคตินจากเมล็ดสะเดา *Azadirachta indica*

### 3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารอะซาไดแรคตินจาก F030 ด้วยเครื่อง HPLC

จากการเตรียมสารละลายมาตรฐานอะซาไดแรคตินให้มีความเข้มข้น 200, 400, 600, 800, 1,000 และ 1,200 ppm ได้พื้นที่ใต้พีคจากโครมาโตแกรม จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานสารอะซาไดแรคติน (ภาคผนวก ค )

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารอะซาไดแรคตินจาก F030 ด้วยการฉีด HPLC พบว่า F030 มีพีคขึ้นที่นาทีที่ 13.365 ใกล้กับสารมาตรฐานอะซาไดแรคตินที่มีพีคขึ้นที่นาทีที่ 13.271 (รูปที่ 3.10) นำพื้นที่ใต้พีคซึ่งมีค่าเท่ากับ 1,642.268 ไปคำนวณหาปริมาณสารอะซาไดแรคตินจากสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ง) ได้ความเข้มข้นของสารอะซาไดแรคตินจาก F030 เท่ากับ 928.736 ppm นำหนักเท่ากับ 11.9 มก. ความบริสุทธิ์ของสารอะซาไดแรคตินเท่ากับ 92.87 %



รูปที่ 3.10 แสดงโครมาโตแกรมของสารมาตรฐานอะซาไดแรคติน และสารอะซาไดแรคตินจาก F030

### 3.5 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดโดยชีววิธี

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดโดยชีววิธี นำสารมาทดสอบฤทธิ์กับหนอนผีเสื้อกินไข่ม้วนขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.)

3.5.1 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน (acute toxicity) เพื่อหาค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 72 ชั่วโมง

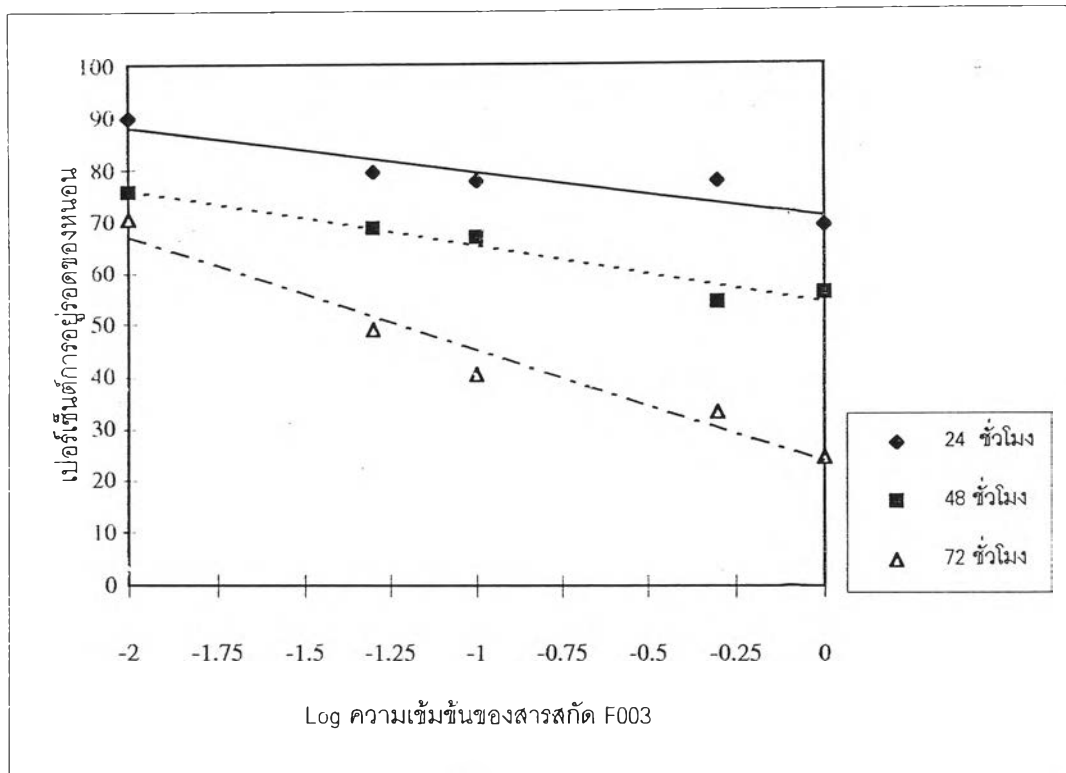
3.5.1.1 หาค่า  $LC_{50}$  จากการทดสอบสารสกัดที่แยกได้ด้วยตัวทำละลายเมทานอล (F003)

นำสารสกัด F003 มาเตรียมสารละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก./มก. ของอาหารทดสอบ จากผลการทดสอบ หาค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่สามารถหาค่าได้ เนื่องจากเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนมีค่าไม่ถึง 50 % และที่เวลา 72 ชั่วโมงหาค่า  $LC_{50}$  ได้เท่ากับ 0.0470 มก./มก. เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01-1.0 มก./มก. มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 3.7 และ รูปที่ 3.11)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัด F003 มีการออกฤทธิ์ทำให้หนอนตาย 50% ได้ดีที่เวลา 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.7 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ทดสอบด้วยสารสกัด F003 ที่ความเข้มข้นของสารต่างๆ กัน (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัด F003 (มก./มก.)	เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	3.33	5.00	5.00
0.01	10.34	24.56	29.82
0.05	20.69	31.58	50.87
0.1	22.42	33.34	59.65
0.5	22.42	45.61	66.66
1.0	31.03	43.86	75.44



รูปที่ 3.11 เปอร์เซนต์การอยู่รอดของหนอนผีเสื้อกินไผ่ฝิ่งขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่ได้รับสารสกัด F003 (มก.ของสารละลาย/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

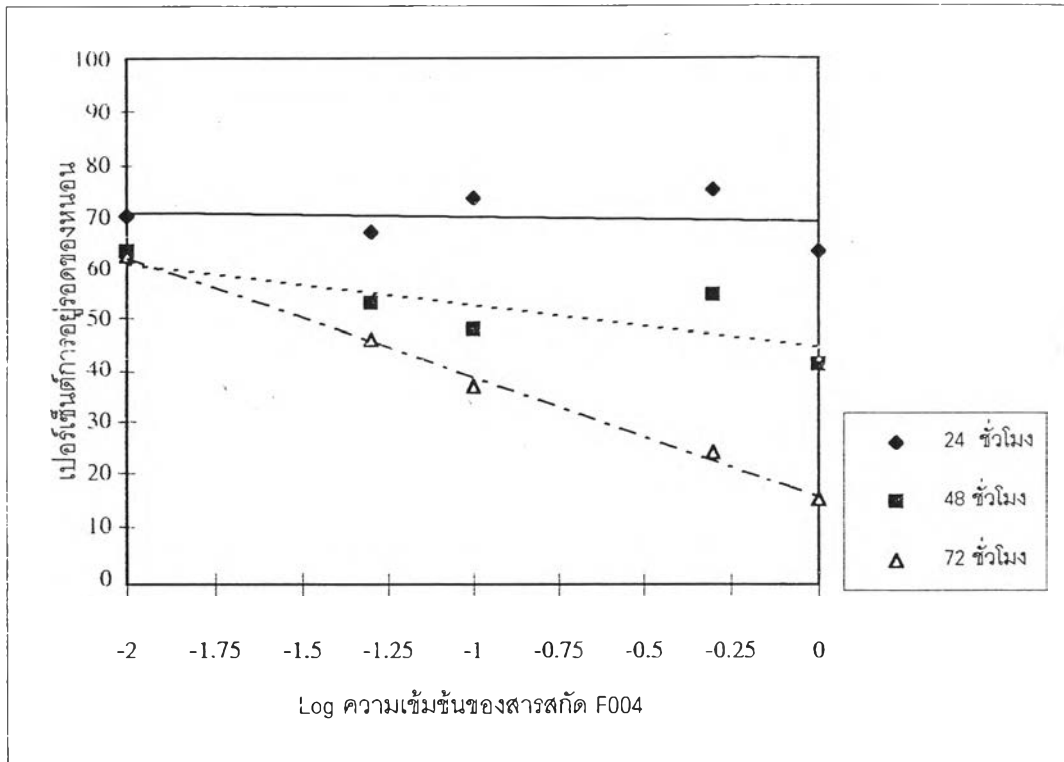
3.5.1.2 หาค่า  $LC_{50}$  จากการทดสอบสารสกัดที่แยกได้ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (F004)

นำสารสกัด F004 มาเตรียมสารละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 -มก./มก. ของอาหารทดสอบ จากผลการทดสอบ หาค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 24 ชั่วโมง ไม่สามารถหาค่าได้ เนื่องจากเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนมีค่าไม่ถึง 50 % ที่เวลา 48 หาค่า  $LC_{50}$  ได้เท่ากับ 0.6414 มก./มก. และที่เวลา 72 ชั่วโมงหาค่า  $LC_{50}$  ได้เท่ากับ 0.1829 มก./มก. เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01-1.0 มก./มก. มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 3.8 และ รูปที่ 3.12)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัด F004 มีการออกฤทธิ์เริ่มทำให้หนอนตาย 50% ได้ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.8 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ทดสอบด้วยสารสกัด F004 ที่ความเข้มข้นของสารต่างๆ กัน (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24,48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัด F004 (มก./มก.)	เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	0	0	6.67
0.01	30.00	36.67	37.50
0.05	33.00	46.67	53.57
0.1	26.67	51.67	62.50
0.5	25.00	45.00	75.00
1.0	36.67	58.33	83.93



รูปที่ 3.12 เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของหนอนผีเสื้อกินไข่ม้วนขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่ได้รับสารสกัด F004 (มก.ของสารละลาย/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง



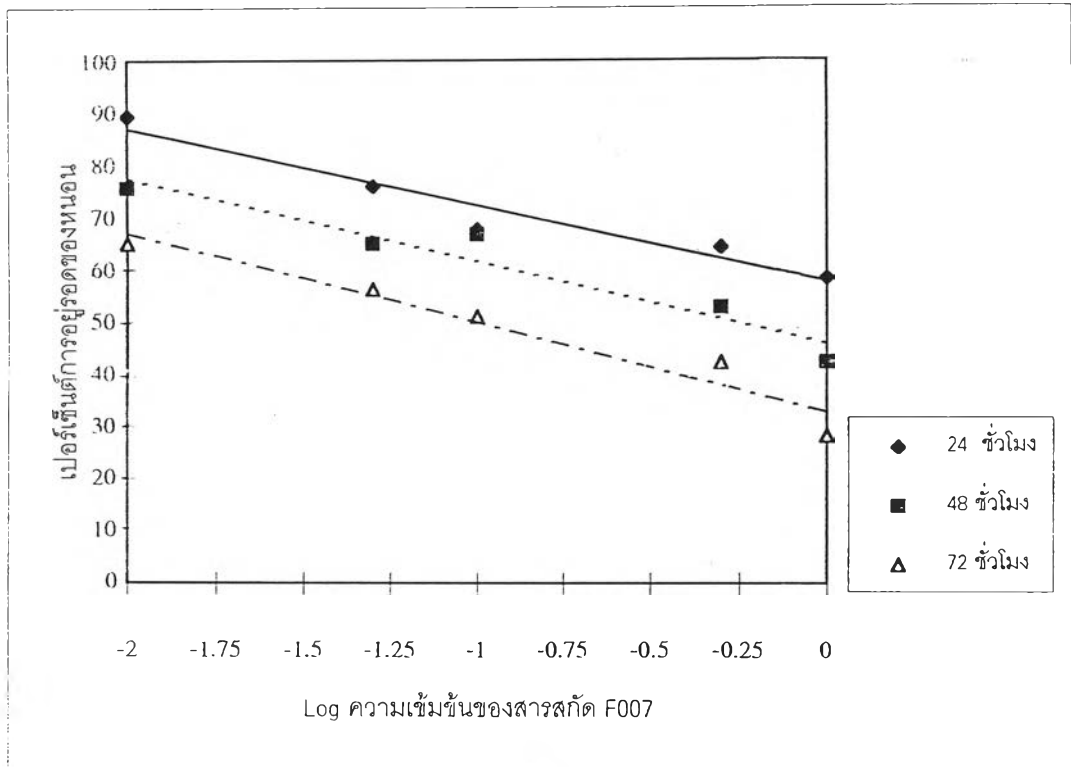
### 3.5.1.3 หาค่า $LC_{50}$ จากการทดสอบสารสกัดที่แยกได้จากคอลัมน์โครมาโตกราฟี F007

นำสารสกัด F007 มาเตรียมสารละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก./มก. ของอาหารทดสอบ จากผลการทดสอบหาค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 24 ชั่วโมง ไม่สามารถหาค่าได้ เนื่องจากเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนมีค่าไม่ถึง 50 % ที่เวลา 48 ชั่วโมงหาค่า  $LC_{50}$  ได้เท่ากับ 0.3734 มก./มก. ส่วนที่เวลา 72 ชั่วโมงหาค่า  $LC_{50}$  ได้เท่ากับ 0.0676 มก./มก. เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01-1.0 มก./มก. มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 3.9 และ รูปที่ 3.13)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัด F007 มีการออกฤทธิ์เริ่มทำให้หนอนตาย 50% ได้ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.9 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ทดสอบด้วยสารสกัด F007 ที่ความเข้มข้นของสารต่างๆ กัน (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัด F007 (มก./มก.)	เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	0	5.00	5.00
0.01	10.67	26.32	35.08
0.05	24.00	35.08	43.86
0.1	32.33	33.34	49.13
0.5	35.67	47.37	57.89
1.0	41.67	57.89	71.93



รูปที่ 3.13 เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของหนอนผีเสื้อกินใบไม้ขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่ได้รับสารสกัด F07 (มก.ของสารละลาย/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

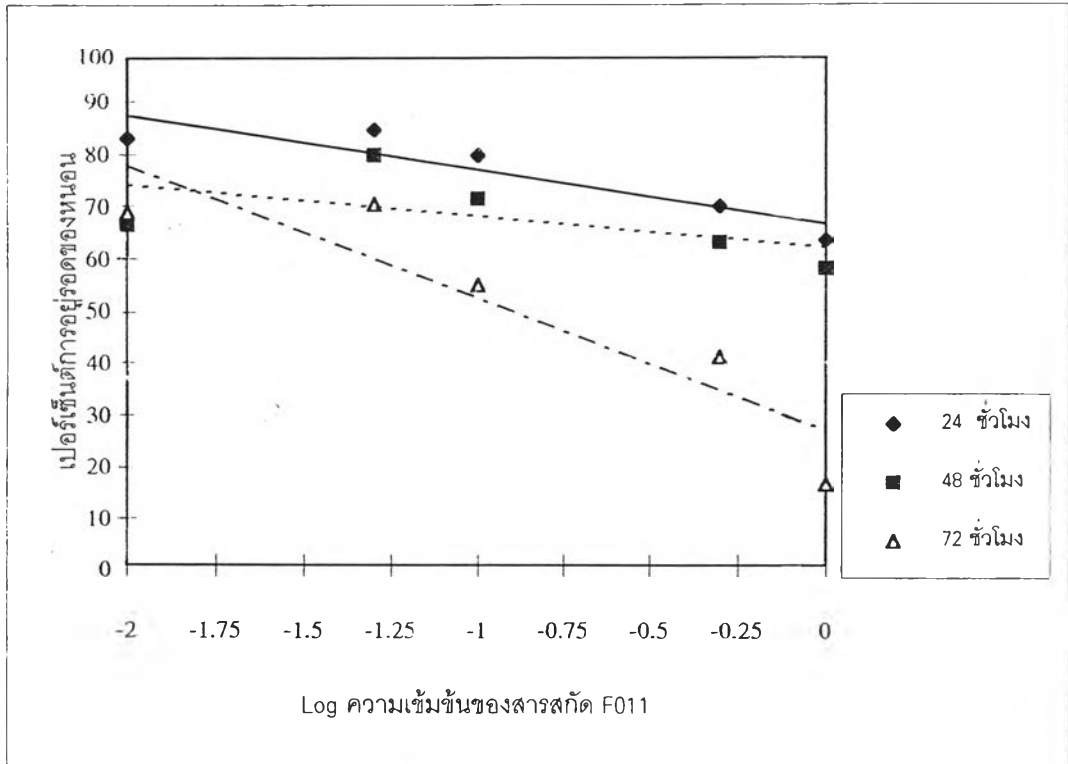
### 3.5.1.4 หาค่า $LC_{50}$ จากการทดสอบสารสกัดที่แยกได้จากคอลัมน์โครมาโตกราฟี F011

นำสารสกัด F011 มาเตรียมสารละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก./มก. ของอาหารทดสอบ จากผลการทดสอบหาค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่สามารถหาค่าได้ เนื่องจากเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนมีค่าไม่ถึง 50% ที่เวลา 72 ชั่วโมงหาค่า  $LC_{50}$  ได้เท่ากับ 0.0917 มก./มก. ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01-1.0 มก./มก. มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 3.10 และรูปที่ 3.14)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัด F011 มีการออกฤทธิ์เริ่มทำให้หนอนตาย 50% ได้ที่เวลา 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.10 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ทดสอบด้วยสารสกัด F011 ที่ความเข้มข้นของสารต่างๆ กัน (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัด F011 (มก./มก.)	เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	0	3.33	6.67
0.01	15.67	32.76	30.35
0.05	14.00	18.97	28.57
0.1	19.00	27.59	44.64
0.5	29.00	36.21	58.93
1.0	35.67	41.38	83.93



รูปที่ 3.14 เปอร์เซนต์การอยู่รอดของหนอนผีเสื้อกินไขผึ้งขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่ได้รับสารสกัด F011 (มก.ของสารละลาย/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

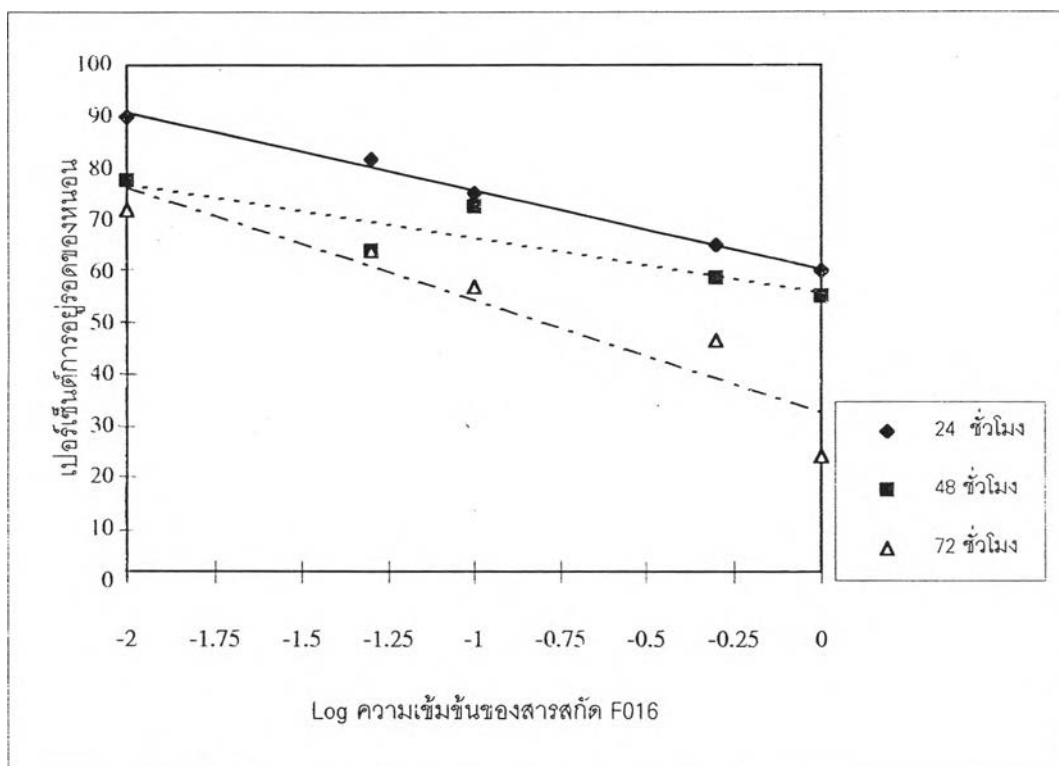
### 3.5.1.5. หาค่า $LC_{50}$ จากการทดสอบสารสกัดที่แยกได้จากคอลัมน์โครมาโตกราฟี F016

นำสารสกัด F016 มาเตรียมสารละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก./มก. ของอาหารทดสอบ จากผลการทดสอบหาค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่สามารถหาค่าได้ ที่เวลา 72 ชั่วโมงหาค่า  $LC_{50}$  ได้เท่ากับ 0.1243 มก./มก. เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01 - 1.0 มก./มก. มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 3.11 และ รูปที่ 3.15)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัด F016 มีการออกฤทธิ์เริ่มทำให้หนอนตาย 50% ได้ที่เวลา 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.11 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ทดสอบด้วยสารสกัด F016 ที่ความเข้มข้นของสารต่างๆ กัน (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัด F016 (มก./มก.)	เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	1.67	5.00	5.00
0.01	10.17	22.81	28.67
0.05	18.64	36.84	36.84
0.1	25.42	28.07	43.86
0.5	35.59	42.11	54.39
1.0	40.68	45.61	77.19



รูปที่ 3.15 เปอร์เซนต์การอยู่รอดของหนอนผีเสื้อกินไผ่ฝั่ขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่ได้รับสารสกัด F016 (มก.ของสารละลาย/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

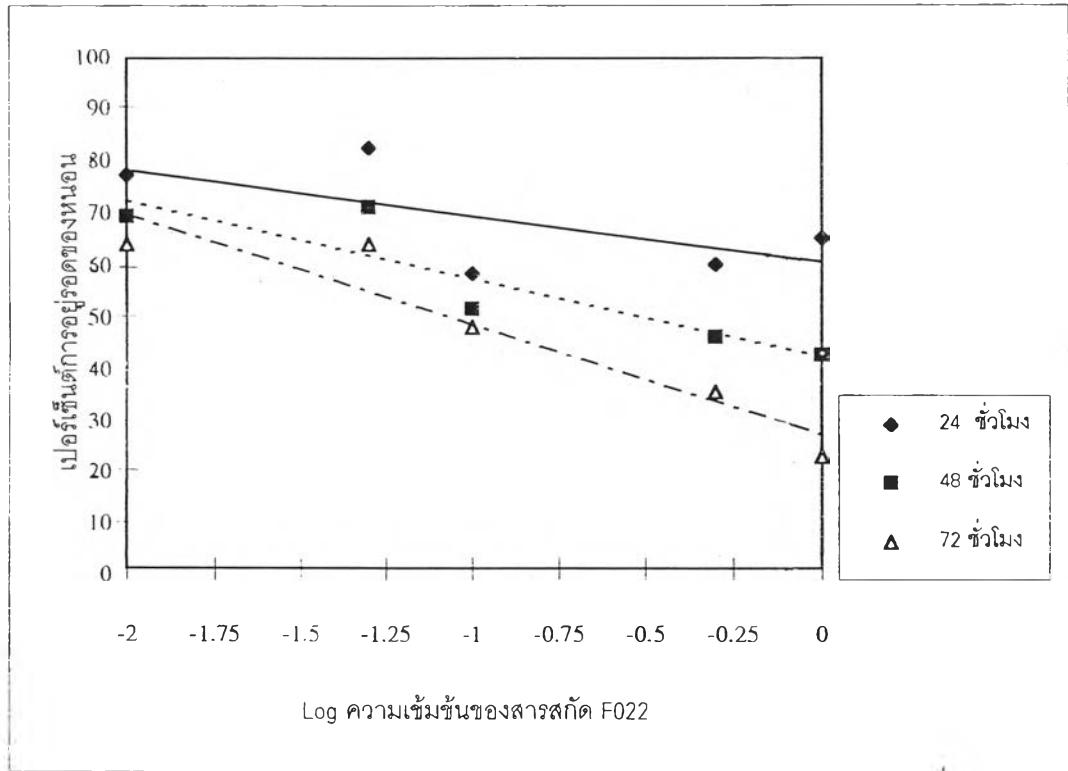
### 3.5.1.6 หาค่า $LC_{50}$ จากการทดสอบสารสกัดที่แยกได้จากคอลัมน์โครมาโตกราฟี F022

นำสารสกัด F022 มาเตรียมสารละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก./มก. ของอาหารทดสอบ จากผลการทดสอบหาค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 24 ชั่วโมงไม่สามารถหาค่าได้ ที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมงหาค่า  $LC_{50}$  ได้เท่ากับ 0.1421 และ 0.0485 มก./มก. ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01-1.0 มก./มก. มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 3.12 และ รูปที่ 3.16)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัด F022 มีการออกฤทธิ์เริ่มทำให้หนอนตาย 50% ได้ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.12 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ทดสอบด้วยสารสกัด F022 ที่ความเข้มข้นของสารต่างๆ กัน (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัด F022 (มก./มก.)	เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	5	8.33	8.33
0.01	22.81	30.92	36.37
0.05	17.55	29.09	36.37
0.1	42.11	49.09	52.73
0.5	40.35	54.54	65.45
1.0	35.08	58.19	78.18



รูปที่ 3.16 เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของหนอนผีเสื้อกินไผ่ขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่ได้รับสารสกัด F022 (มก.ของสารละลาย/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง



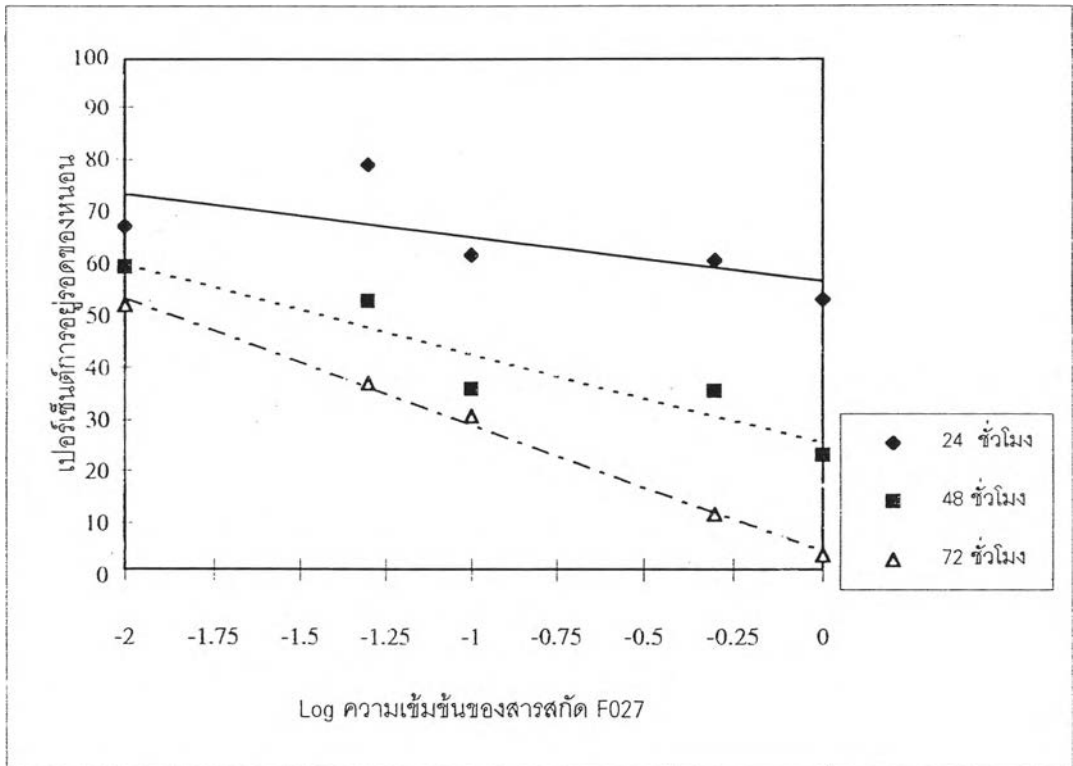
### 3.5.1.7 หาค่า $LC_{50}$ จากการทดสอบสารสกัดที่แยกได้จากคอลัมน์โครมาโตกราฟี F027

นำสารสกัด F027 มาเตรียมสารละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก./มก. ของอาหารทดสอบ จากผลการทดสอบหาค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 24 ชั่วโมง ไม่สามารถหาค่าได้ ที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง หาค่า  $LC_{50}$  ได้เท่ากับ 0.0190 และ 0.0121 มก./มก. ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01-1.0 มก./มก. มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 3.13 และ รูปที่ 3.17)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัด F027 มีการออกฤทธิ์เริ่มทำให้หนอนตาย 50% ได้ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.13 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ทดสอบด้วยสารสกัด F027 ที่ความเข้มข้นของสารต่างๆ กัน (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัด F027 (มก./มก.)	เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	5	8.33	8.33
0.01	32.79	40.74	48.14
0.05	20.69	47.28	63.34
0.1	38.46	64.46	69.85
0.5	39.49	64.85	89.19
1.0	46.90	77.56	97.19



รูปที่ 3.17 เปอร์เซนต์การอยู่รอดของหนอนผีเสื้อกินไขผึ้งขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่ได้รับสารสกัด F027 (มก.ของสารละลาย/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

3.5.1.8 หาค่า  $LC_{50}$  จากการทดสอบสารอะชาไดแรคตินที่แยกได้จาก reversed phase HPLC (F030)

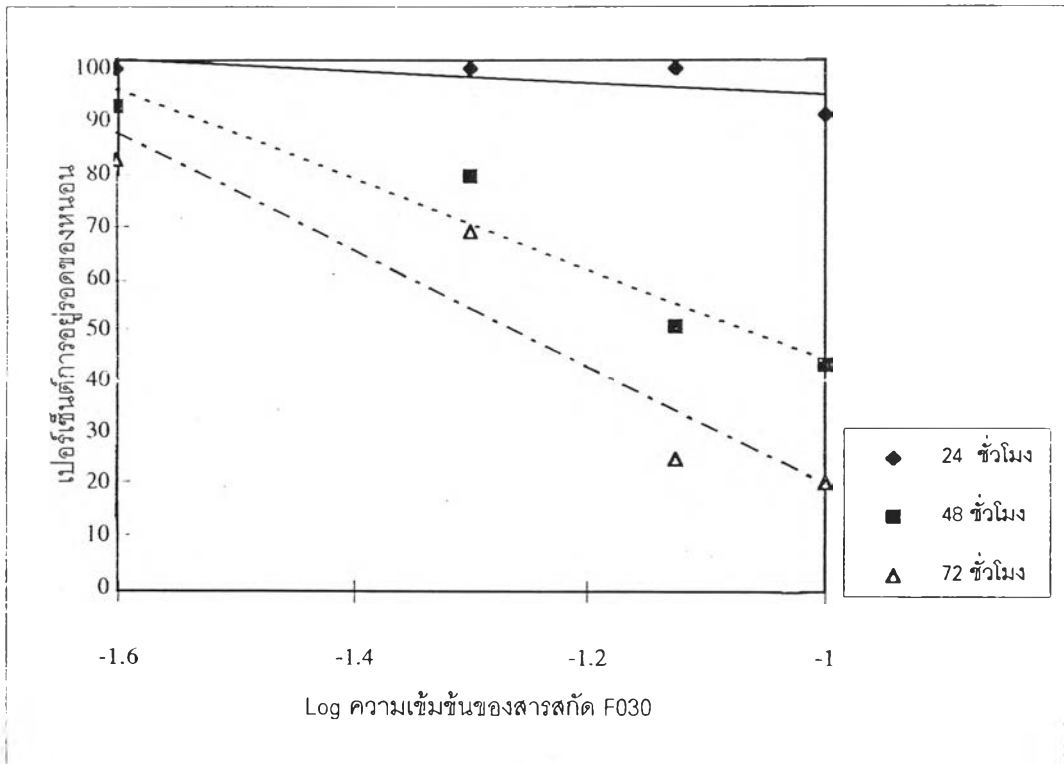
เตรียมความเข้มข้นของสารให้เป็น 0.025, 0.050, 0.075 และ 0.10 มก./มก. ของอาหาร ทดสอบ เพื่อหาค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 72 ชั่วโมง

จากผลการทดสอบหาค่า  $LC_{50}$  พบว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง ไม่สามารถหาค่าได้ ส่วนที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมงหาค่า  $LC_{50}$  ได้เท่ากับ 0.0652 และ 0.0412 มก./มก. ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ความเข้มข้น 0.025, 0.050, 0.075 และ 0.10 มก./มก. มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 3.14 และ รูปที่ 3.18)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารอะชาไดแรคติน F030 มีการออกฤทธิ์เริ่มทำให้หนอนตาย 50% ได้ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.14 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่ทดสอบด้วยสารอะชาไดแรคตินบริสุทธิ์ 92.87% ( F030 ) ที่ความเข้มข้นของสารต่างๆกัน (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สาร F030 (มก./มก)	เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของหนอนที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	2.86	2.86	2.86
0.025	1.43	8.69	18.82
0.050	1.43	22.06	32.36
0.075	1.43	50.00	74.99
0.100	10.29	57.35	79.41



รูปที่ 3.18 เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของหนอนผีเสื้อกินไข่ม้วนขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่ได้รับสารสกัด F030 (มก.ของสารละลาย/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

จากการทดสอบสารสกัดเมทธานอล (F003), สารสกัดเอทิลอะซิเตท (F004), สารสกัดที่ได้จากการแยกด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี ( F007, F011, F016, F022, F027 ) และสารอะซาไดแรคตินที่บริสุทธิ์ 92.87% (F030) สามารถนำมาเปรียบเทียบประสิทธิภาพ การออกฤทธิ์ฆ่าแมลงได้

ค่า  $LC_{50}$  ที่แสดงดังตารางที่ 3.15 จะเห็นว่าที่เวลา 48 ชั่วโมง สารสกัด F027 มีค่า  $LC_{50}$  ต่ำที่สุด คือ 0.0190 มก./มก.แสดงว่ามีการออกฤทธิ์ฆ่าแมลงได้ดีที่สุดที่เวลา 48 ชั่วโมง ส่วนสารตัวอื่นที่มีค่า  $LC_{50}$  สูงกว่าแสดงว่ามีการออกฤทธิ์ฆ่าแมลงต่ำกว่า เรียงตามลำดับดังนี้ F027, F030, F022, F007, F004 และ F016 มีค่า  $LC_{50}$  เท่ากับ 0.0190, 0.0652, 0.1421, 0.3734, 0.6414 และ 1.5851 มก./มก. ของอาหารทดสอบเรียงตามลำดับ (ตารางที่ 3.15 และ รูปที่ 3.19)

จากค่า  $LC_{50}$  ที่ได้จะเห็นว่า F027 ซึ่งเป็นสารที่มีอะซาไดแรคตินอยู่และยังมีสารอื่นเจือปน มีฤทธิ์ในการทำให้หนอนตาย 50 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้สารเพียง 0.0190 มก./มก. ของอาหารทดสอบเมื่อเทียบกับสารอะซาไดแรคติน (F030) ที่มีค่า  $LC_{50}$  สูงกว่าคือ 0.0652 มก./มก. อาจเป็นเพราะว่าใน F027 นั้นมีสารตัวอื่นที่ออกฤทธิ์ร่วมกับสารอะซาไดแรคตินแล้วเสริมให้มีฤทธิ์เพิ่มขึ้น สารออกฤทธิ์ร่วมอาจเป็นอนุพันธ์ของสารอะซาไดแรคติน ดังในการทดลองของ Klocke และ Yamasaki ในปี 1991 ได้ทดสอบ azdirachtin และอนุพันธ์ 3 - deacetylazadirachtin, 22,23 - dihydroazadirachtin กับตัวอ่อน *Heliothis virescens* หาค่า  $LC_{50}$  ได้เท่ากับ 0.80, 0.37 และ 0.47 ไมโครกรัม ตามลำดับจะเห็นว่าอนุพันธ์ของสารอะซาไดแรคติน ออกฤทธิ์ได้ดีกว่าสารอะซาไดแรคติน

ค่า  $LC_{50}$  ที่แสดงดังตารางที่ 3.15 จะเห็นว่าที่เวลา 72 ชั่วโมงสารสกัด F027 มีค่า  $LC_{50}$  ต่ำที่สุด คือ 0.0121 มก./มก. ของอาหารทดสอบ แสดงว่ามีการออกฤทธิ์ฆ่าแมลงได้ดีที่สุดที่เวลา 24 ชั่วโมง ส่วนสารตัวอื่นที่มีค่า  $LC_{50}$  สูงกว่าแสดงว่ามีการออกฤทธิ์ฆ่าแมลงต่ำกว่า เรียงตามลำดับดังนี้ F027, F030, F022, F007, F011, F016, F004 และ F003 มีค่า  $LC_{50}$  เท่ากับ 0.0121, 0.0412, 0.0485, 0.0676, 0.0917, 0.1242, 0.1827 และ 0.4699 มก./มก. เรียงตามลำดับ (ตารางที่ 3.15 และรูปที่ 3.19)

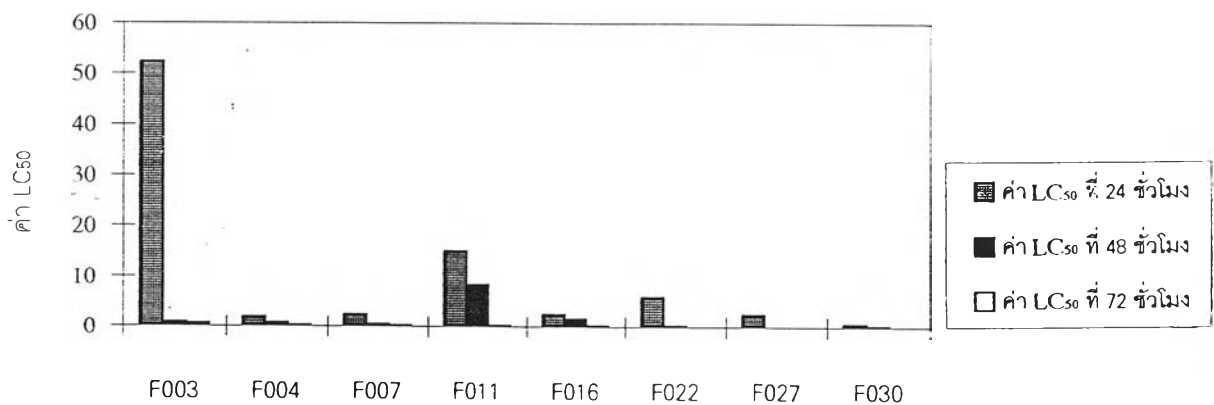
จากค่า  $LC_{50}$  ที่ได้จะเห็นว่า F027 มีฤทธิ์ทำให้หนอนตายโดยใช้สารทดสอบ 0.0121 มก./มก. ของอาหารทดสอบเมื่อเทียบกับสารอะซาไดแรคติน (F030) ที่มีค่า  $LC_{50}$  สูงกว่าคือ 0.0412 มก./มก.ของอาหารทดสอบแสดงว่า F027 มีสารที่ออกฤทธิ์ร่วมกับสารอะซาไดแรคตินเมื่อเปรียบเทียบกับที่เวลา 48 ชั่วโมงจะเห็นว่าทั้ง F027 และสารอะซาไดแรคติน (F030)มีฤทธิ์เพิ่มขึ้นจากเดิมคิดเป็น 1.6 เท่า แสดงให้เห็นว่าเวลาที่ทดสอบมีผลกับการออกฤทธิ์ของสารด้วย

ตารางที่ 3.15 แสดงค่า LC<sub>50</sub> ที่ 48 และ 72 ชั่วโมง ของสารสกัดจากเมล็ดสะเดา fractions ต่างๆ ต่อหนอนผีเสื้อกินไข่ม้วนขนาดใหญ่

fraction No.	เวลา 48 ชั่วโมง		เวลา 72 ชั่วโมง	
	ค่า LC <sub>50</sub> (มก./มก.)	P value	ค่า LC <sub>50</sub> (มก./มก.)	P value
F003	-	-	0.4699	0.5470
F004	0.6414	0.0000	0.1827	0.0000
F007	0.3734	0.5850	0.0676	0.5730
F011	-	-	0.0917	0.0270
F016	1.5851	0.6310	0.1242	0.1710
F022	0.1421	0.4380	0.0485	0.3340
F027	0.0190	0.3710	0.0121	0.5000
F030	0.0652	0.0980	0.0412	0.0000

- หมายถึง ไม่สามารถคำนวณค่า LC<sub>50</sub> ได้

P value คือค่าที่แสดงความแตกต่างของแต่ละชุดการทดลอง ถ้าค่า  $P > 0.05$  แสดงว่าแต่ละชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ถ้าค่า  $P < 0.05$  แสดงว่าในแต่ละชุดการทดลอง มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



รูปที่ 3.19 กราฟเปรียบเทียบค่า LC<sub>50</sub> ของสารสกัด fractions ต่างๆ ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

### 3.5.2 การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนผีเสื้อกินไข่ม้วนขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.)

#### 3.5.2.1 การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอน จากการทดสอบด้วยสารสกัดที่แยกได้ด้วยตัวทำละลายลายเมทานอล (F003)

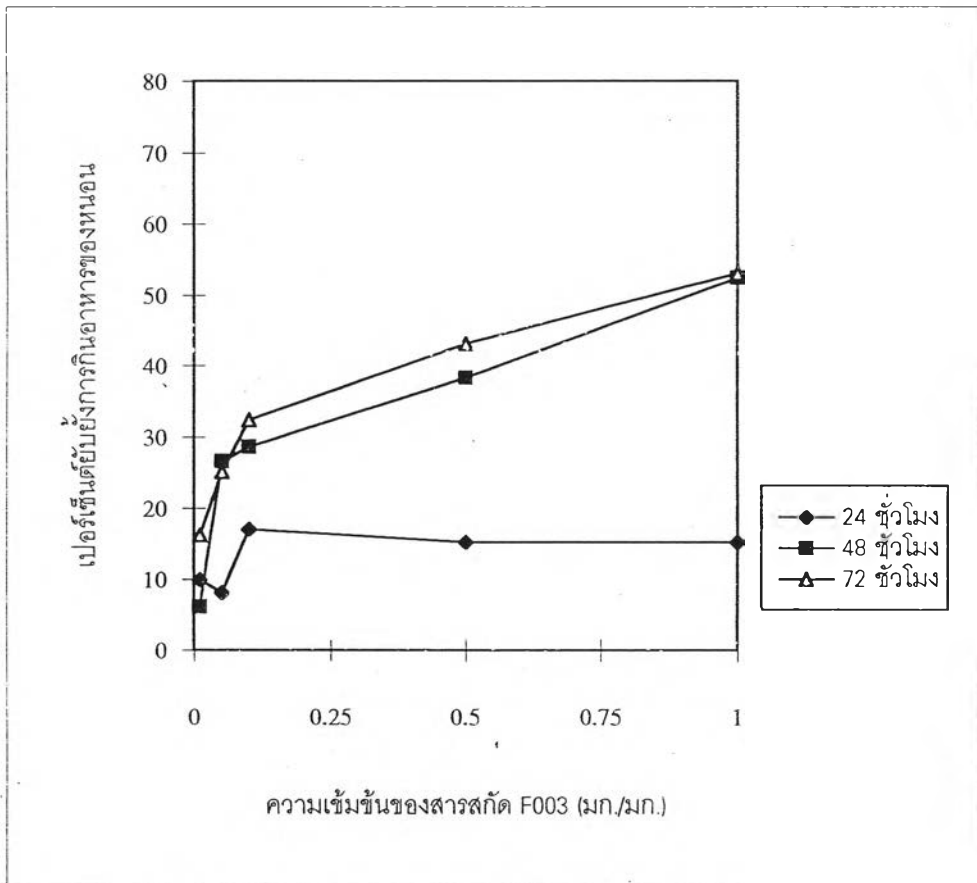
นำสารสกัด F003 มาเตรียมสารละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก./มก. ของอาหารทดสอบ จากผลการทดสอบที่เวลา 24 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนอยู่ในช่วง 11 - 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ ที่เวลา 48 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01- 0.10 มก./มก. อยู่ในช่วง 11 - 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ และที่ความเข้มข้น 0.5 -1.0 มก./มก. อยู่ในช่วง 41 -70 % แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารปานกลาง และที่เวลา 72 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01 มก./มก. อยู่ในช่วง 11 - 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ และที่ความเข้มข้น 0.05-1.00 มก./มก. อยู่ในช่วง 41 -70% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารปานกลาง (ตารางที่ 3.16 และ รูปที่ 3.20)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัด F003 ออกฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาทดสอบดังนี้ ที่เวลา 24 ชั่วโมงมีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำ ที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมงมีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำถึงปานกลาง

ตารางที่ 3.16 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ทดสอบด้วยสารสกัด F003

ที่ความเข้มข้นของสารต่างกัน (มก.ของสารสกัด / มก.ของอาหาร)  
ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัด F003 (มก./มก.)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอน ที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	0	0	0
0.01	5.17	15.24	48.61
0.05	11.21	27.62	51.14
0.10	11.21	42.38	56.20
0.50	14.66	45.24	58.48
1.00	32.76	45.71	67.09



รูปที่ 3.20 เปอร์เซนต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนผีเสื้อกินไข่ม้วนขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อให้สารสกัด F003 (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร)



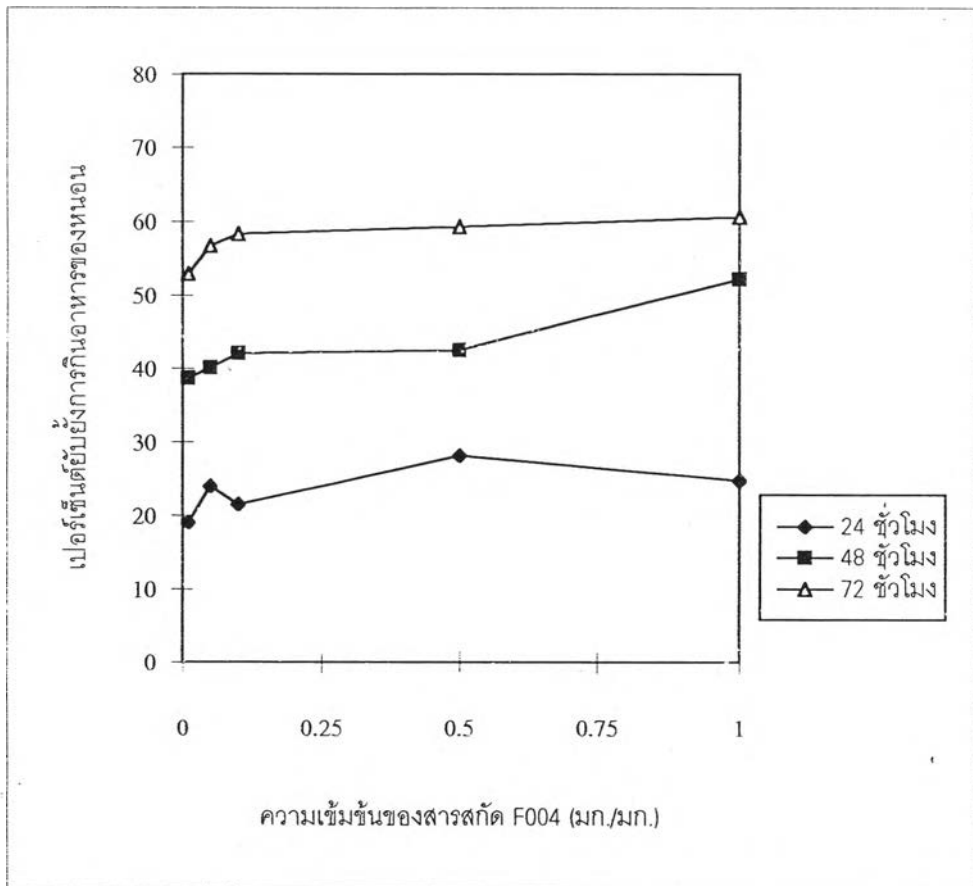
### 3.5.2.2 การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอน จากการทดสอบด้วยสารสกัด ที่แยกได้ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (F004)

นำสารสกัด F004 มาเตรียมสารละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก./มก. ของอาหารทดสอบ จากผลการทดสอบที่เวลา 24 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนอยู่ในช่วง 11 - 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ ที่เวลา 48 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01 มก./มก.อยู่ในช่วง 11 - 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ และที่ความเข้มข้น 0.05 - 1.0 มก./มก.อยู่ในช่วง 41 - 70 % แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารปานกลาง และที่เวลา 72 ชั่วโมงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01 มก./มก. อยู่ในช่วง 11 - 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ ที่ความเข้มข้น 0.05-1.00 มก./มก. อยู่ในช่วง 41 - 70% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารปานกลาง (ตารางที่ 3.17 และรูปที่ 3.21)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัด F004 ออกฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาทดสอบดังนี้ ที่เวลา 24 ชั่วโมงมีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำ ที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง มีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำถึงปานกลาง

ตารางที่ 3.17 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ทดสอบด้วยสารสกัด F004  
ที่ความเข้มข้นของสารต่างกัน (มก.ของสารสกัด / มก.ของอาหาร)  
ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัด F004 (มก./มก.)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอน ที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	0	0	0
0.01	19.01	38.65	52.88
0.05	23.97	40.10	56.73
0.10	21.49	42.03	58.33
0.50	28.10	42.51	59.29
1.00	24.79	52.14	60.58



รูปที่ 3.21 เปอร์เซ็นต์การรับประทานอาหารของหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อให้สารสกัด F004 (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร)

### 3.5.2.3 การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนจากการทดสอบด้วยสารสกัด

ที่แยกได้จากคอลัมน์โครมาโตการพี F007

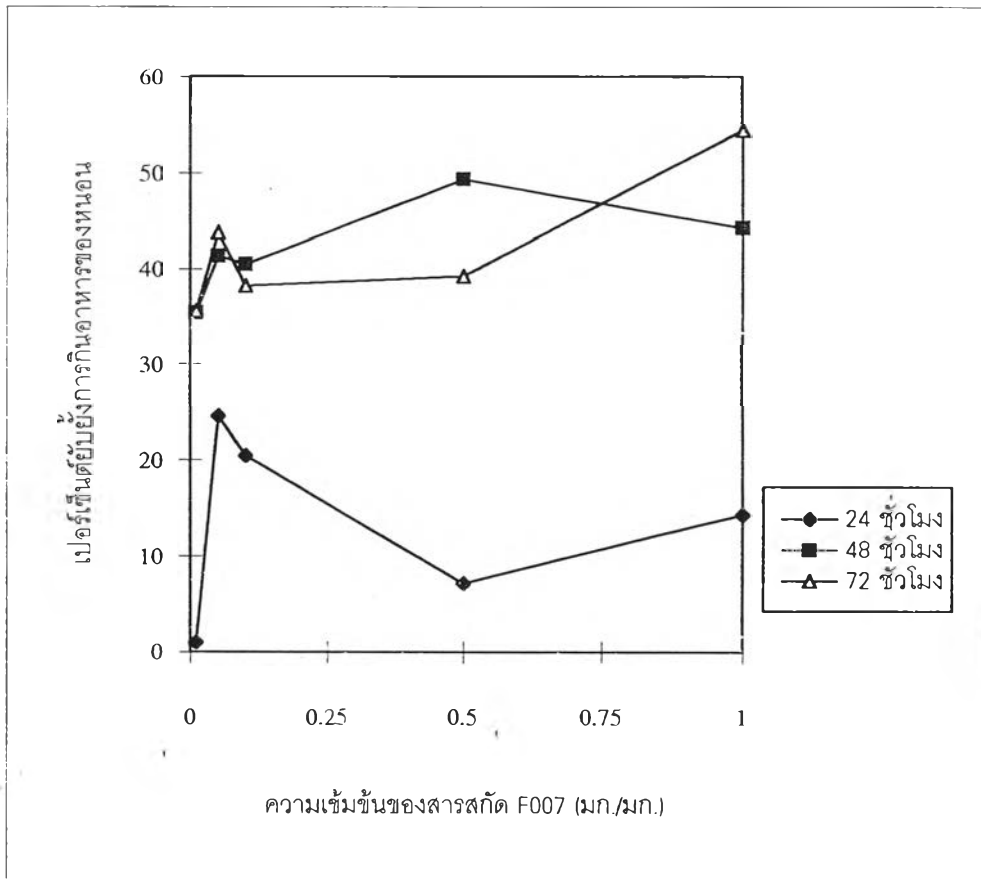
นำสารสกัด F007 มาเตรียมสารละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก./มก. ของอาหารทดสอบ จากผลการทดสอบที่เวลา 24 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนอยู่ในช่วง 11 - 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ ที่เวลา 48 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01 มก./มก. อยู่ในช่วง 11 - 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ และที่ความเข้มข้น 0.05 -1.0 มก./มก. อยู่ในช่วง 41 -70 % แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารปานกลาง และที่เวลา 72 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01-0.5 มก./มก. อยู่ในช่วง 11 - 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ และที่ความเข้มข้น 1.0 มก./มก. อยู่ในช่วง 41 - 70% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารปานกลาง (ตารางที่ 3.18 และ รูปที่ 3.22)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัด F007 ออกฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาทดสอบดังนี้ ที่เวลา 24 ชั่วโมงมีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำ ที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง มีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำถึงปานกลาง

#### ตารางที่ 3.18 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ทดสอบด้วยสารสกัด F007

ที่ความเข้มข้นของสารต่างๆกัน (มก.ของสารสกัด / มก.ของอาหาร)  
ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัด F007 (มก./มก.)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอน ที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	0	0	0
0.01	1.02	35.44	35.65
0.05	24.49	41.35	43.81
0.10	20.41	40.51	38.27
0.50	7.14	49.37	39.27
1.00	14.29	44.30	54.38



รูปที่ 3.22 เปอร์เซนต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนผีเสื้อกินไข่ม้วนขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อให้สารสกัด F07 (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร)

3.5.2.4 การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอน จากการทดสอบด้วยสารสกัด  
ที่แยกได้จากคอลัมน์โครมาโตกราฟี F011

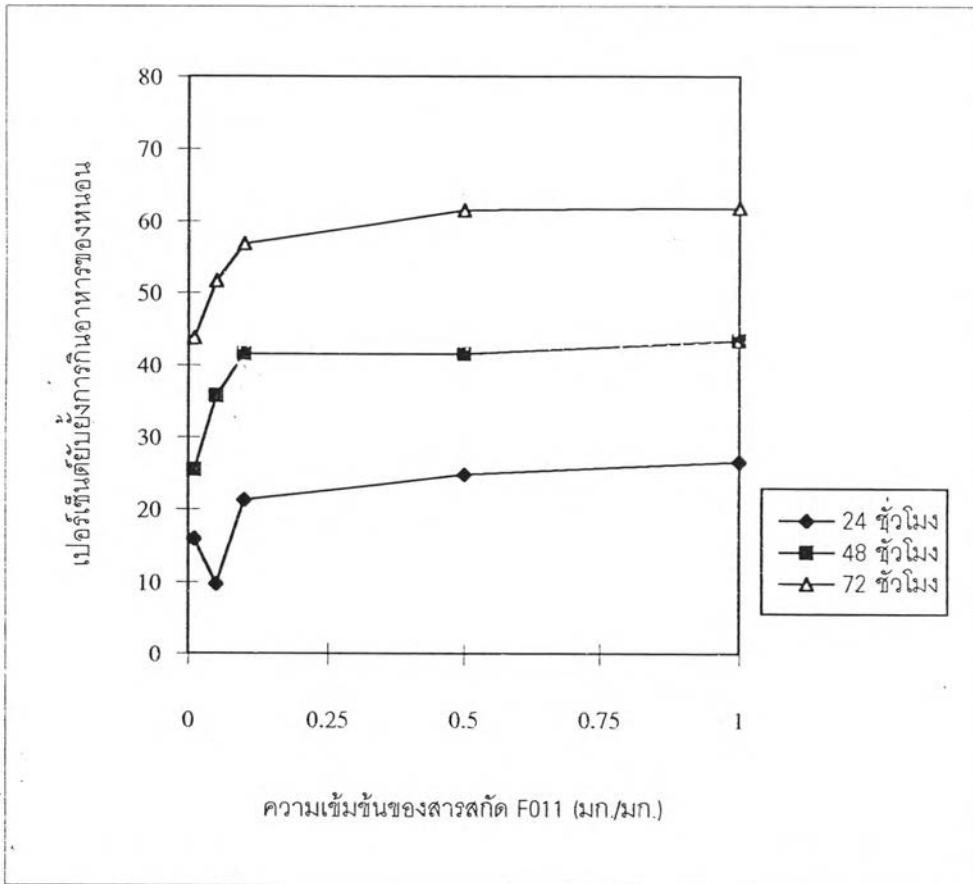
นำสารสกัด F011 มาเตรียมสารละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก./มก. ของอาหารทดสอบ จากผลการทดสอบที่เวลา 24 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนอยู่ในช่วง 11- 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ ที่เวลา 48 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01 - 0.05 มก./มก. อยู่ในช่วง 11 - 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำและที่ความเข้มข้น 0.01- 1.0 มก./มก. อยู่ในช่วง 41-70 % แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารปานกลาง และที่เวลา 72 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01 - 1.0 มก./มก. อยู่ในช่วง 41-70% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารปานกลาง (ตารางที่ 3.19 และ รูปที่ 3.23)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัด F011 ออกฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาทดสอบดังนี้ ที่เวลา 24 ชั่วโมงมีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำ ที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง มีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำถึงปานกลาง

ตารางที่ 3.19 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ทดสอบด้วยสารสกัด F011

ที่ความเข้มข้นของสารต่างกัน (มก. ของสารสกัด/ มก. ของอาหาร)  
ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัด F011 (มก./มก.)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอน ที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	0	0	0
0.01	15.92	25.37	43.70
0.05	9.73	35.61	51.61
0.10	21.24	41.46	56.89
0.50	24.78	41.46	61.58
1.00	26.55	43.41	61.88



รูปที่ 3.23 เปอร์เซนต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนผีเสื้อกินไผ่ผัขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อให้สารสกัด F011 (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร)

### 3.5.2.5 การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอน จากการทดสอบด้วยสารสกัด ที่แยกได้จากคอลัมน์โครมาโตกราฟี F016

นำสารสกัด F016 มาเตรียมสารละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก./มก. ของอาหารทดสอบ จากผลการทดสอบที่เวลา 24 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนอยู่ในช่วง 11 - 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ ที่เวลา 48 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01 - 0.05 มก./มก. อยู่ในช่วง 11 - 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ และที่ความเข้มข้น 0.10 - 1.0 มก./มก. อยู่ในช่วง 41 - 70 % แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารปานกลาง และที่เวลา 72 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01-0.05 มก./มก. อยู่ในช่วง 11-40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ และที่ความเข้มข้น 0.1-1.0 มก./มก. อยู่ในช่วง 41-70% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารปานกลาง (ตารางที่ 3.20 และ รูปที่ 3.24)

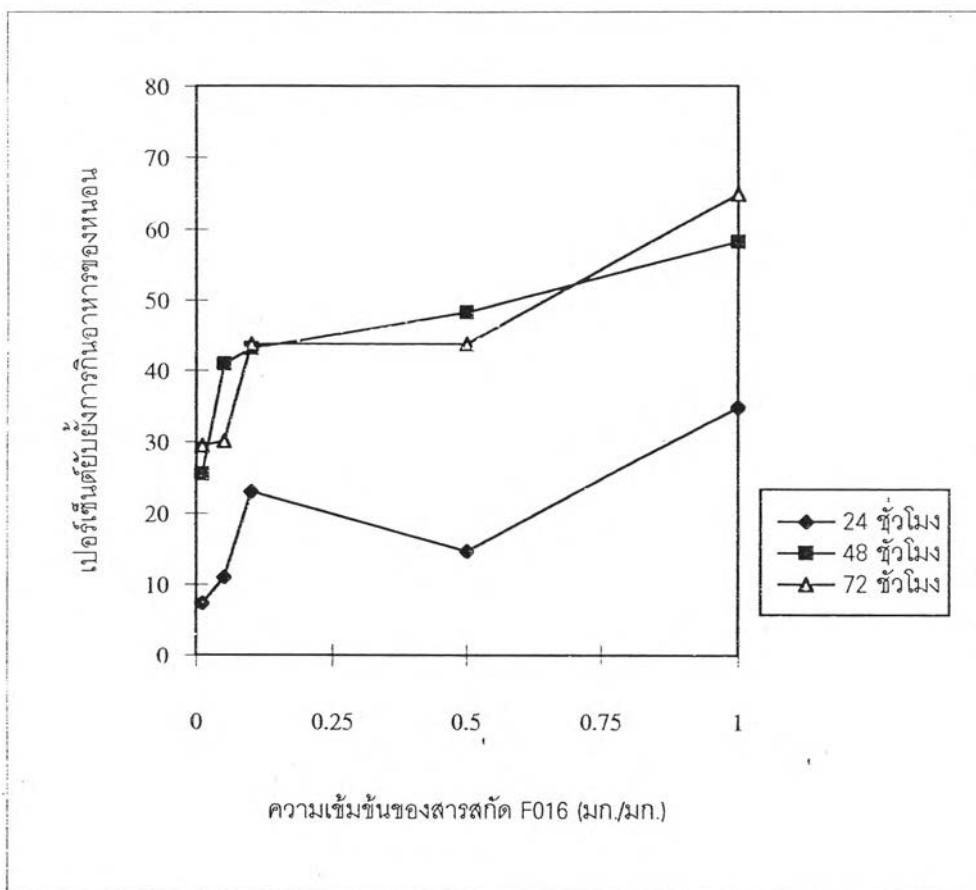
จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัด F016 ออกฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาทดสอบดังนี้ ที่เวลา 24 ชั่วโมงมีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำ ที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง มีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำถึงปานกลาง

ตารางที่ 3.20 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ทดสอบด้วยสารสกัด F016

ที่ความเข้มข้นของสารต่างกัน (มก. ของสารสกัด / มก. ของอาหาร)

ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัด F016 (มก./มก.)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอน ที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	0	0	0
0.01	7.34	25.43	29.50
0.05	11.01	40.95	30.12
0.10	22.94	43.10	43.79
0.50	14.68	48.28	43.76
1.00	34.86	58.19	64.91



รูปที่ 3.24 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนผีเสื้อกินไผ่ขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อให้สารสกัด F016 (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร)



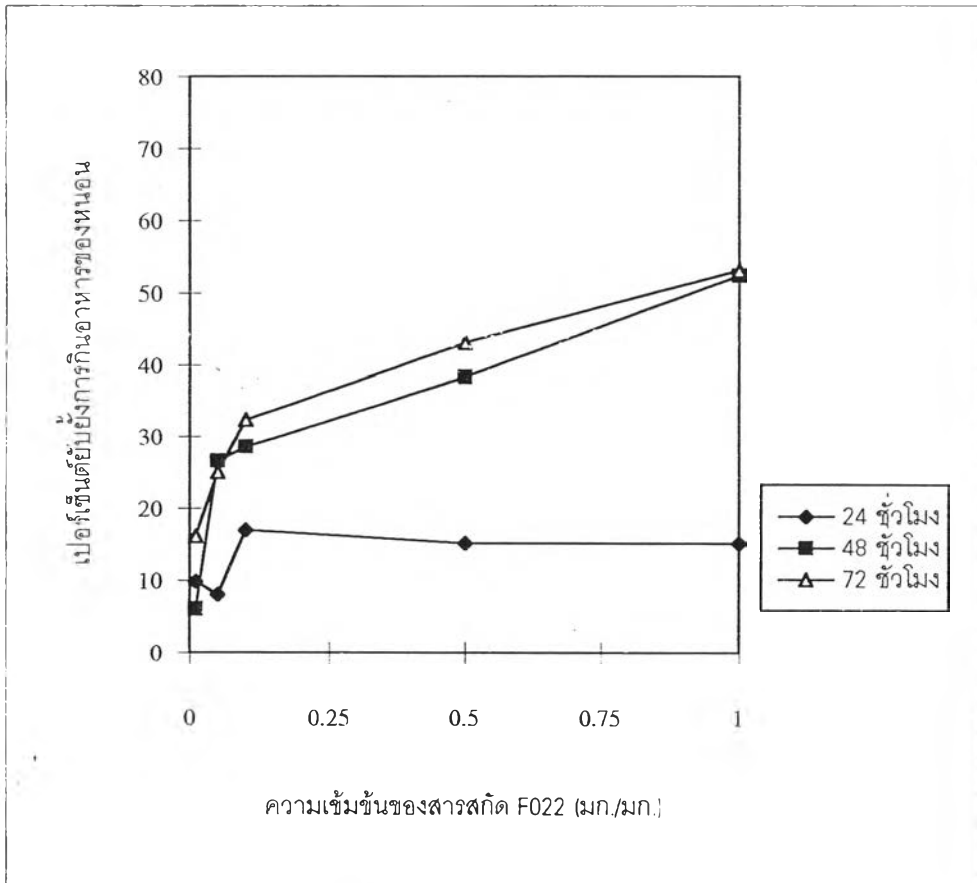
### 3.5.2.6 การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอน จากการทดสอบด้วยสารสกัด ที่แยกได้จากคอลัมน์โครมาโตกราฟี F022

นำสารสกัด F022 มาเตรียมสารละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก./มก. ของอาหารทดสอบ จากผลการทดสอบที่เวลา 24 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนอยู่ในช่วง 11 - 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำที่เวลา 48 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ความเข้มข้น 0.05 - 1.0 มก./มก. อยู่ในช่วง 41-70 % แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารปานกลาง และที่เวลา 72 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01-0.1 มก./มก. อยู่ในช่วง 11 - 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำที่ความเข้มข้น 0.1 - 1.0 มก./มก. อยู่ในช่วง 41 - 70% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารปานกลาง (ตารางที่ 3.21 และ รูปที่ 3.25)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัด F022 ออกฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาทดสอบดังนี้ ที่เวลา 24 ชั่วโมงมีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำ ที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง มีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำถึงปานกลาง

ตารางที่ 3.21 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ทดสอบด้วยสารสกัด F022 ที่ความเข้มข้นของสารต่างกัน (มก.ของสารสกัด / มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง .

ความเข้มข้นของ สารสกัด F022 (มก./มก.)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอน ที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	0	0	0
0.01	9.82	6.05	16.17
0.05	8.04	26.61	25.07
0.10	19.96	28.63	32.35
0.50	15.18	38.31	43.13
1.00	15.18	52.42	53.10



รูปที่ 3.25 เปอร์เซนต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนผีเสื้อกินไผ่ฝั่ขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อให้สารสกัด F022 (มก. ของสารสกัด/มก. ของอาหาร)

### 3.5.2.7 การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอน จากการทดสอบด้วยสารสกัด ที่แยกได้จากคอลัมน์โครมาโตกราฟี F027

นำสารสกัด F027 มาเตรียมสารละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มก./มก. ของอาหารทดสอบ จากผลการทดสอบที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนอยู่ในช่วง 11 - 40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ และที่เวลา 72 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ความเข้มข้น 0.01-0.5 มก./มก. อยู่ในช่วง 11-40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ และที่ความเข้มข้น 1.0 มก./มก. อยู่ในช่วง 41 - 70% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารปานกลาง (ตารางที่ 3.22 และ รูปที่ 3.26)

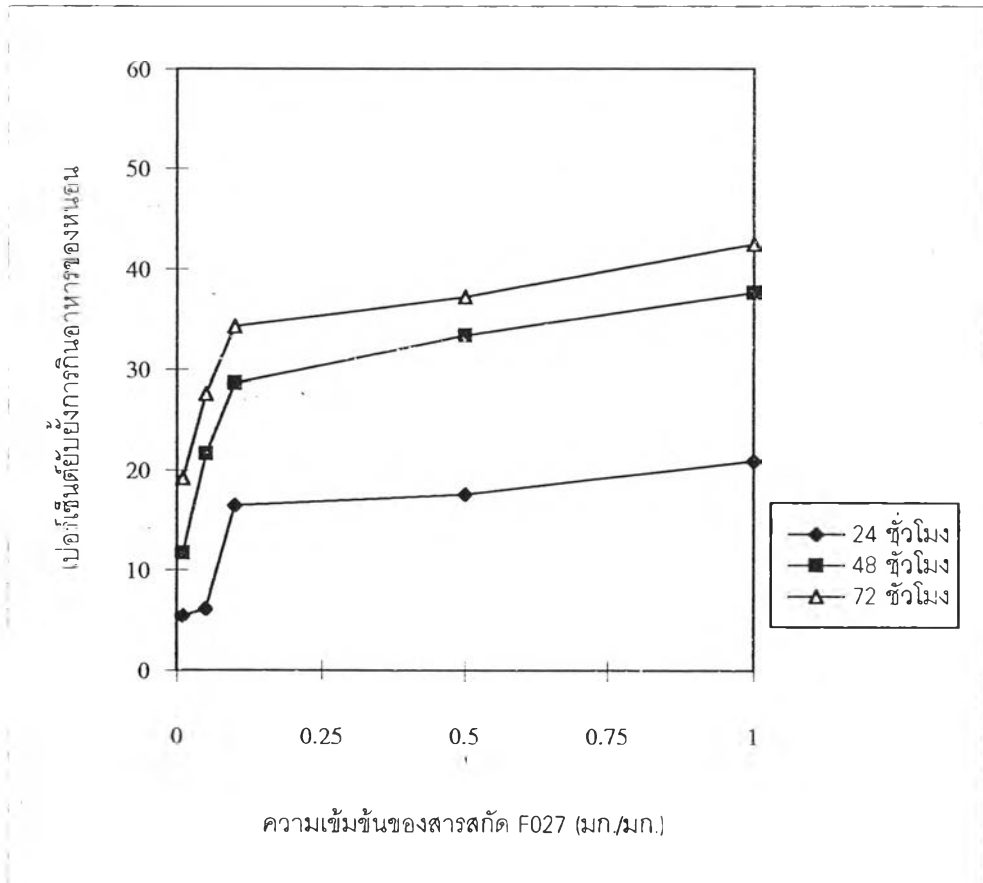
จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัด F027 ออกฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาทดสอบดังนี้ ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงมีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำ ที่เวลา 72 ชั่วโมง มีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำถึงปานกลาง

ตารางที่ 3.22 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ทดสอบด้วยสารสกัด F027

ที่ความเข้มข้นของสารต่างๆกัน (มก.ของสารสกัด / มก.ของอาหาร)

ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัด F027 (มก./มก.)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอน ที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	0	0	0
0.01	5.38	11.69	19.21
0.05	6.11	21.64	27.59
0.10	16.44	28.67	34.27
0.50	17.57	33.38	37.17
1.00	20.93	40.62	42.43



รูปที่ 3.26 เปอร์เซนต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนผีเสื้อกินไขผึ้งขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อให้สารสกัด F027 (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร)

### 3.5.2.8 การทดสอบสารอะซาไดแรคตินที่แยกได้จาก reversed phase HPLC (F030)

เตรียมความเข้มข้นของสารให้เป็น 0.025, 0.050, 0.075 และ 0.10 มก./มก. ของอาหารทดสอบ เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอน ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

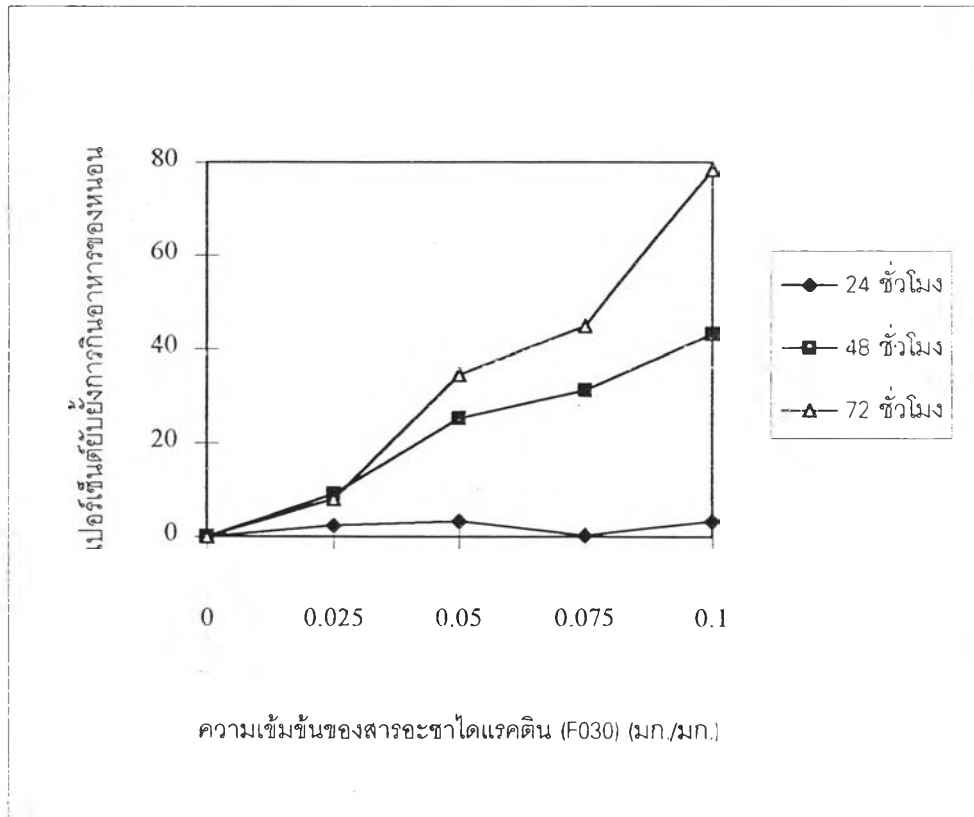
จากผลการทดสอบที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนอยู่ในช่วง 0 -10 % แสดงว่าไม่ออกฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหาร และที่เวลา 72 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ความเข้มข้น 0.025 มก./มก. อยู่ในช่วง 0 -10% แสดงว่าไม่ออกฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหาร ที่ความเข้มข้น 0.050 มก./มก. อยู่ในช่วง 11-40% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารต่ำ ที่ความเข้มข้น 0.075 มก./มก. อยู่ในช่วง 41 - 70% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารปานกลาง และที่ความเข้มข้น 0.10 มก./มก. อยู่ในช่วง 71-100% แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารสูง (ตารางที่ 3.23 และ รูปที่ 3.27)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารอะซาไดแรคติน F030 ออกฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาทดสอบดังนี้ ที่เวลา 24 ชั่วโมงมีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำ ที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมงมีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำถึงปานกลาง

ตารางที่ 3.23 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่ทดสอบด้วยสารอะซาไดแรคตินบริสุทธิ์ 92.87% (F030) ที่ความเข้มข้นของสารต่างกัน (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร) ที่เวลา 24,48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสาร F030 (มก./มก.)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนที่เวลา		
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
0	0	0	0
0.025	2.34	9.11	8.12
0.050	3.34	25.32	34.53
0.075	0.25	31.25	44.91
0.100	3.34	43.21	78.31

- ไม่สามารถคำนวณค่า  $LC_{50}$  ได้



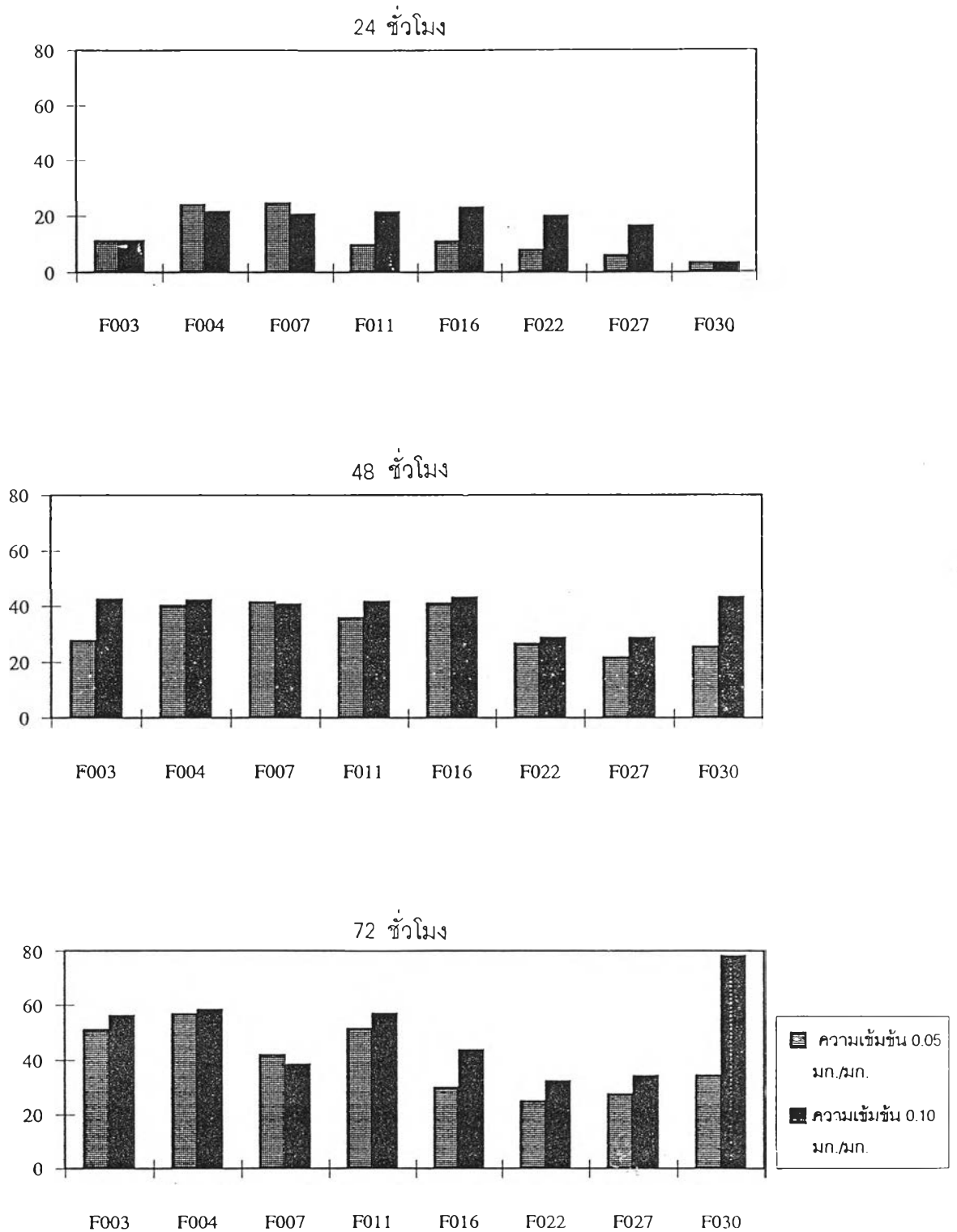
รูปที่ 3.27 เปอร์เซนต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนผีเสื้อกินไข่ม้วนขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อให้สารอะซาไดแรคติน (F030) (มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร)

จากการหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารสามารถนำทุก fractions มาเปรียบเทียบกันที่ความเข้มข้น 0.05 และ 0.10 มก./มก. ของอาหารทดสอบจะพบว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย จากตารางที่ 3.24 และ รูปที่ 3.28 fraction F030 มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารอยู่ในช่วง 71 - 100 % แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับสูงที่เวลา 72 ชั่วโมง ขณะที่ในเวลาเดียวกัน fractions อื่นๆ มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารอยู่ในช่วง 10 - 40 % และ 41 - 70 % แสดงว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารระดับต่ำถึงระดับปานกลาง

ตารางที่ 3.24 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของสารสกัดจากเมล็ดสะเดา fractions ต่างๆ

ที่ความเข้มข้น 0.05 และ 0.10 มก. ของสารสกัด/มก. ของอาหาร ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

fractions No.	เวลา 24 ชั่วโมง		เวลา 48 ชั่วโมง		เวลา 72 ชั่วโมง	
	0.05 มก./มก.	0.10 มก./มก.	0.05 มก./มก.	0.10 มก./มก.	0.05 มก./มก.	0.10 มก./มก.
F003	11.21	11.21	27.62	42.38	51.14	56.20
F004	23.97	21.49	40.10	42.03	56.73	58.33
F007	24.49	20.41	41.35	40.51	41.81	38.27
F011	9.73	21.24	35.61	41.46	51.61	56.89
F016	11.01	22.94	40.95	43.10	30.12	43.79
F022	8.04	19.96	26.61	28.63	25.07	32.35
F027	6.11	16.44	21.64	28.67	27.59	34.27
F030	3.34	3.34	25.32	43.21	34.53	78.31



รูปที่ 3.28 กราฟเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนผีเสื้อกินไข่ม้วนขนาดใหญ่ (*Galleria mellonella* L.) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อให้สารสกัดจากเมล็ดสะเดา fractions ต่างๆ ที่ความเข้มข้น 0.05 และ 0.10 มก.ของสารสกัด/มก.ของอาหาร