

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากจิงจูฉ่าย (*Artemisia Lactiflora* Wall. Ex DC.) เกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน (*Eaeis guineensis* Jacq.) และชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata* (L.) Roxb.) ในการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำและฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้าน

Efficacy of extracts from *Artemisia lactiflora* Wall. Ex DC., *Eaeis guineensis* Jacq. and *Cassia alata* (L.) Roxb. in killing larvae and repelling *Aedes aegypti* mosquitoes

กชพรรณ สุกระ^{1*}, คณพศ ทองขาว², ยุพยง อัดตะ³, กฤตยา มากคง⁴

Kotchapan Sukra^{1*}, Kanaphot Thongkhao², Yuppayong Atta³, Krittaya Makkong⁴

¹กองวัณโรค กรมควบคุมโรค, ²สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 11 จังหวัดนครศรีธรรมราช,

³ศูนย์ควบคุมโรคติดต่อหน้าโดยแมลงที่ 11.5 จังหวัดระนอง, ⁴ศูนย์ควบคุมโรคติดต่อหน้าโดยแมลงที่ 11.1 จังหวัดพังงา

¹ Division of tuberculosis Department of disease control,

²Office of Disease Prevention and Control Region 11 Nakhon Si Thammarat

³Center of Vector Born Disease Control 11.5 ranong, ⁴Center of Vector Born Disease Control 11.1 Pungnga

*Corresponding author email: nasawansukra@hotmail.com

Received: May June 8, 2023

Revised: November 16, 2023

Accepted: November 22, 2023

บทคัดย่อ

การป้องกันควบคุมยุงลายนิยมใช้สารเคมีเป็นหลัก เป็นผลทำให้เกิดความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงทั้งในลูกน้ำและยุงตัวเต็มวัยได้ในอนาคต เพื่อเป็นการลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลงดังกล่าว จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาหาทางเลือกอื่นมาทดแทน การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านและฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้านของสารสกัดจากจิงจูฉ่าย เกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 5, 10 และ 20 ตามลำดับ จากการศึกษาฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน พบว่า สารสกัดจากจิงจูฉ่ายทุกความเข้มข้นลูกน้ำยุงลายมีอัตราการตายร้อยละ 100 ที่ 24 ชั่วโมง ส่วนสารสกัดจากชุมเห็ดเทศและเกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมันให้อัตราตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน ร้อยละ 100 ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดร้อยละ 5 โดยปริมาตรต่อปริมาตร (V/V) จากการศึกษาการออกฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้านตัวเต็มวัยของสารสกัดจิงจูฉ่าย เกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 5, 10 และ 20 ตามลำดับ พบว่า สารสกัดชุมเห็ดเทศมีประสิทธิภาพในการไล่ยุงลายบ้านแบบสัมผัสโดยตรงได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 20 ในอัตราไล่ยุงร้อยละ 38 – 35 รองลงมาคือจิงจูฉ่ายให้อัตราไล่ยุงลายบ้านร้อยละ 20 – 27 ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ส่วนสารสกัดเกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน ไม่มีฤทธิ์ในการไล่ยุง และนอกจากนี้ ควรมีการศึกษาสารสกัดจากจิงจูฉ่ายเพิ่มเติมในส่วนของการฆ่าลูกน้ำยุงชนิดอื่น ๆ ด้วย สำหรับเกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมันไม่มีฤทธิ์ในการไล่ยุง ดังนั้นควรศึกษาในด้านฤทธิ์ในการดึงดูดยุง เพื่อพัฒนาเป็นเหยื่อล่อยุงพาหะนำโรคต่อไป

คำสำคัญ: จิงจูฉ่าย, เกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน, ชุมเห็ดเทศ, ฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน, ฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้าน

ABSTRACT

The prevention and control of *Aedes* mosquitoes mainly uses chemicals. As a result, resistance to chemical insecticides in both larvae and adult mosquitoes will be possible in the future. In order to reduce the use of such insecticides. Therefore, it is necessary to study for other alternatives to replace it. The purpose of this research was to study the killing activity of *Aedes aegypti* larvae and its repellent effective. Jingchu Chai, oil palm stamens and Candle Bush extractances of 1, 5, 10 and 20 percent (v/v), concentrations, respectively. From the study on the killing effect of *Aedes aegypti* larvae, it was found 100% mortality in every concentration of Jingchu chai extractances. A 100% mortality rate. A 100% mortality was found at 5, 10 and 20 percent (v/v) concentrations. Of oil palm stamens and Candle bush. Form the study of the repellent effective of the adult house mosquito, it was found that Candle bush and Jingchu chai extract was the most effective in repelling *Aedes aegypti* of 10% and 20% concentrations at 38-65% and 20-27% respectively oil palm stamen extract was not mosquito repellent effect. There should be further study of the extracts from the Jing Ju Chai in terms of their killing effect on other mosquito larvae. For oil palm stamens, it can be seen that the extract has no effect in repelling mosquitoes at all. But should study the effect of attracting mosquitoes. to be developed as a bait for mosquitoes to carry disease in the future

Keyword: Jingchuchai, oil palm stamens, Candle bush, killing effect on *Aedes aegypti* larvae, mosquito repellent effect, *Artemisia Lactiflora* Wall. Ex DC., *Eaeis guineensis* Jacq., *Cassia alata* (L.) Roxb.

1. บทนำ

พาหะนำโรคไข้เลือดออกที่สำคัญคือ ยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) การป้องกันควบคุมยุงพาหะจึงเป็นสิ่งสำคัญต่อการลดการระบาดของโรคไข้เลือดออก ซึ่งการป้องกันและควบคุมยุงพาหะมีด้วยกันหลายวิธี เช่น การใช้สารสกัดจากพืช การใช้สารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มออกแกโนฟอสเฟต กลุ่มคาร์บาเมท กลุ่มไพรีทรอยด์ เป็นต้น สารเคมีกำจัดแมลงสามารถเกิดพิษต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เพราะสารจะออกฤทธิ์ต่อแมลงได้โดยการเข้าไปโจมตีเซลล์ต่าง ๆ และเอนไซม์เป้าหมาย ในปริมาณที่มากพอที่จะฆ่าแมลงได้ ดังนั้นสารเคมีเหล่านี้มักมีคุณสมบัติในด้านการแทรกซึม การคงตัว การกระจายตัว การสลายตัว ในสิ่งมีชีวิต นานอนคนและสัตว์ย่อมได้รับผลกระทบไปด้วย⁽¹⁾ และหากมีการใช้สารเคมีกำจัดแมลงเป็นเวลานานอาจส่งผลให้ยุงเกิดการต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงได้ ยุงลายเป็นพาหะนำโรคไข้เลือดออก ชิคุนกุนยา และโรคติดเชื่อไวรัสซิกา ที่ยังคงเป็นปัญหาของประเทศไทยในเขตร้อน รวมทั้งประเทศไทยที่มีสภาพอากาศเหมาะแก่การแพร่กระจายพันธุ์ จึงต้องมีการควบคุมแหล่งกำเนิดและทำลายยุง เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของโรค การป้องกันไม่ให้ยุงกัดเป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กัน จึงมีการใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์ไล่ยุง

ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารสังเคราะห์และเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ รวมทั้งทำลายสิ่งแวดล้อม ขณะเดียวกันประเทศไทยเป็นแหล่งของพืชสมุนไพรหลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการป้องกันและกำจัดแมลงได้ ปัจจุบันจึงมีการศึกษาและใช้สารจากธรรมชาติในการป้องกันยุงกัดมากขึ้น ได้แก่ สารสกัดจากสมุนไพรที่มีกลิ่นจากน้ำมันหอมระเหย สารป้องกันยุงที่ได้จากธรรมชาติมีข้อดีกว่าสารเคมีสังเคราะห์ที่ไม่เหมาะสมเป็นอันตรายต่อสุขภาพ โดยเฉพาะเมื่อใช้เป็นเวลานาน จึงปลอดภัยต่อผู้ใช้ ปัจจุบันพบว่าได้มีการนำพืชสมุนไพรมาเป็นผลิตภัณฑ์ป้องกันยุงจำนวนมาก เช่น สารสกัดจากพืชหลายชนิด ได้แก่ ตะไคร้หอม สะเดา แมงลัก ขมิ้นชัน มะกรูด กะเพราแดง กานพลู ข่า ทายม์ หนอนตายหยาใหญ่^(2,3) การใช้พืชสมุนไพรในการควบคุมพาหะนำโรคไข้เลือดออกนั้นหากพืชสมุนไพรมีประสิทธิภาพในการกำจัดยุงลายตัวเต็มวัยก็จะเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาทดแทนการใช้สารเคมีได้ เพราะพืชสมุนไพรเป็นสิ่งที่มียูอยู่ในท้องถิ่น หาได้ง่ายสะดวก และไม่มีฤทธิ์ตกค้างในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยุงพาหะนำโรคยังไม่มีวิวัฒนาการสร้างความต้านทานต่อพืชสมุนไพร ทำให้ลดปัญหาการดื้อต่อสารเคมี ลดภาวะเสี่ยงที่เกิดจากการใช้สารเคมีของผู้ใช้ คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษา

สารสกัดจากจิงจูฉ่าย เกลสรตัวผู้ปาล์มน้ำมันและชุมเห็ดเทศ ในการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านและฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้าน ซึ่งเป็นการวิจัยเพื่อพัฒนาหาแนวทางหรือวิธีการอื่น ๆ สำหรับเป็นทางเลือกในการควบคุมกำจัดยุงลาย ทั้งนี้ หากสารสกัดดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการกำจัดยุงลายได้ จะเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรที่มีอยู่ในท้องถิ่นมาใช้ประโยชน์ในการกำจัดยุงลายและมีความปลอดภัยแก่ผู้ใช่มากยิ่งขึ้นด้วย

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาผลเบื้องต้นของสารสกัดจากจิงจูฉ่าย เกลสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ ในการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านและฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้าน เป็นการศึกษาเชิงทดลอง (experimental research) ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ (laboratory scale) โดยดำเนินการวิจัยแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

- 1) การสกัดสารจากจิงจูฉ่าย เกลสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ
- 2) การทดสอบฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน ของสารสกัดจากจิงจูฉ่าย เกลสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ
- 3) การทดสอบฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้าน ของสารสกัดจากจิงจูฉ่าย เกลสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ

การวิจัยนี้วางแผนการทดลองแบบ Factorial experiment in completely randomized design มี 2 ปัจจัย ได้แก่

- 1) ชนิดของสารสกัดจากพืช มี 3 ชนิด คือ จิงจูฉ่าย เกลสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ
- 2) ระดับความเข้มข้น มี 4 ระดับความเข้มข้น ที่ร้อยละ 1, 5, 10 และ 20 โดยปริมาตรต่อปริมาตร (v/v) และมีชุดควบคุม (Control) รวมทั้งสิ้น 13 ทริตเมนต์ (Treatment)

2. วิธีดำเนินการวิจัย

1) การสกัดสารจากจิงจูฉ่าย เกลสรตัวผู้ปาล์มน้ำมันและชุมเห็ดเทศ

นำจิงจูฉ่าย เกลสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ หั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อแห้งดีแล้ว จึงนำมาสกัดสารด้วยวิธีแช่เย็น โดยใช้เอทานอล 90% เป็นตัวทำละลาย ซึ่งจิงจูฉ่าย เกลสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ จำนวนตัวอย่างละ 1 กิโลกรัม แล้วนำไปใส่ในขวดแก้วขนาด 5,000 มิลลิลิตร จากนั้นใส่เอทานอล 90% จำนวน 2,500 มิลลิลิตร จนท่วมตัวอย่างพืช แล้วใช้จุกยางปิดปากขวดให้แน่น และใช้แผ่นอลูมิเนียม (aluminum foil) ปิดทับ ใช้พาราฟินพันรอบ ๆ เพื่อป้องกันไม่ให้เอทานอลระเหยออกได้ แล้ว

ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ($25\pm 5^{\circ}\text{C}$) เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำสารละลายสารสกัดที่ได้จากการสกัดมากรองด้วยผ้าขาวบาง และกรอง อีกครั้งด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำสารละลายสารสกัดจิงจูฉ่าย เกลสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) โดยให้สารละลายที่สกัดได้ มีปริมาตรลดลงครึ่งหนึ่ง ณ ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา แล้วนำสารสกัดที่ได้จากพืชทั้ง 3 ชนิดไปใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพ ในการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านและฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้านต่อไป

2) การเตรียมสารละลายสารสกัดสำหรับการทดสอบ

นำสารละลายสารสกัดจากจิงจูฉ่าย เกลสรตัวผู้ปาล์ม น้ำมัน และชุมเห็ดเทศ ที่ได้จากการสกัดสารตามข้อ 1 (คิดเป็นความเข้มข้นเป็นร้อยละ 100) มาเตรียมให้มีระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 5, 10 และ 20 โดยปริมาตร/ปริมาตร (v/v) โดยใช้น้ำกรองในการผสมสารสกัด ให้ได้ความเข้มข้นละ 1 ลิตร

3) การเตรียมลูกน้ำยุงลายบ้านสำหรับทดสอบ

วิธีการทดสอบการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน ผู้วิจัย ได้อ้างอิงจำนวนยุงลายบ้านตัวเต็มวัย จากงานวิจัยของคณพศ และคณะ⁽⁴⁾ ก่อนการทดสอบจะมีการเตรียมลูกน้ำยุงลายบ้าน สายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ ที่จะใช้ในการทดสอบไว้ โดยจะดูด ลูกน้ำยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการที่คัดเลือกพักไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อดูความแข็งแรง หากมีลูกน้ำยุงลายบ้านสายพันธุ์ ห้องปฏิบัติการที่อ่อนแอ หรือตาย หรือเป็นตัวไม่งให้ดูตออก และดูตัวใหม่ใส่เข้าไปทดแทน

4) การเตรียมยุงลายบ้านตัวเต็มวัยสำหรับทดสอบ

วิธีการทดสอบการออกฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้าน ผู้วิจัยยึด จำนวนยุงลายบ้านตัวเต็มวัย ตามงานวิจัยเรื่อง “การทดสอบ ฤทธิ์ไล่ยุงของสารสกัดจากสัก (*Tectona grandis* L.f.) ต่อยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) (L.)” ของคณพศและคณะ⁽⁴⁾ ก่อนการทดสอบจะมีการเตรียมยุงที่จะใช้ในการทดสอบไว้ โดยจะพักยุงที่คัดเลือกไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อดูความแข็งแรง ของยุง หากมียุงที่ไม่สมบูรณ์ มีปีกและขาจำนวนไม่ครบ บาดเจ็บ หรือตาย ให้ดูตยุงตัวนั้นออก และดูยุงตัวใหม่ ใส่เข้าไปทดแทน

5) การทดสอบการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน

ศึกษาการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน โดยดัดแปลง วิธีของคณพศและคณะ⁽⁴⁾ ทำการทดสอบโดยวิธีการทดสอบทางชีวภาพ (Bioassay test) สำหรับลูกน้ำยุงลายบ้าน ตามขั้นตอน ดังนี้

5.1) นำสารสกัดจากพืชแต่ละชนิด ที่เตรียมไว้ จำนวน 4 ความเข้มข้น (ร้อยละ 1, 5, 10, 20 ปริมาตร/ปริมาตร (v/v)) ความเข้มข้นละ 1,000 มิลลิลิตร นำสารสกัดแต่ละความเข้มข้นใส่ในบีกเกอร์ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร จำนวน 4 ข้ว ต่อความเข้มข้น

5.2) ใส่ลูกน้ำยุงระยะ 3 ตอนปลายหรือระยะ 4 ตอนต้น ที่คัดเลือกไว้ จำนวน 25 ตัวต่อบีกเกอร์

5.3) สำหรับชุดควบคุมที่เป็น Negative control ใช้น้ำกรองจำนวน 250 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ และใส่ลูกน้ำยุงระยะ 3 ตอนปลายหรือระยะ 4 ตอนต้นที่คัดเลือกไว้ จำนวน 25 ตัวต่อบีกเกอร์ ทั้งหมดจำนวน 4 ข้วต่อความเข้มข้น

5.4) บันทึกอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และเวลาทดสอบ ที่เริ่มใส่ลูกน้ำยุงลายบ้าน

5.5) หลังจากดำเนินการทดสอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้นำจำนวนลูกน้ำยุงลายบ้านที่ตายในแต่ละข้วของแต่ละระดับความเข้มข้นและชุดควบคุมทั้งหมด แล้วบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกผล (ลูกน้ำยุงตาย คือ ลูกน้ำยุงที่ไม่สามารถเคลื่อนไหวได้ตามปกติให้ตัดออก)

5.6) ในการทดสอบหากลูกน้ำยุงในชุดควบคุมมีอัตราการตายไม่เกิน 10% ต้องทำการปรับค่าอัตราการตายโดยใช้ Abbott⁽⁵⁾ ดังนี้

$$\text{อัตราการตาย} = \frac{\text{อัตราการตายของลูกน้ำยุงทดสอบ} - \text{อัตราการตายของลูกน้ำยุงเปรียบเทียบ} \times 100}{100 - \text{อัตราการตายของลูกน้ำยุงเปรียบเทียบ}}$$

และหากชุดควบคุมมีอัตราการตายมากกว่า 10% ต้องทำการทดสอบใหม่

5.7) การเก็บรวบรวมข้อมูล - บันทึกผลจำนวนตายของลูกน้ำยุงลายบ้านหลังการทดสอบ 24 ชั่วโมง

5.8) วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา

$$5.8.1 \text{ อัตราตายของลูกน้ำยุง (\% Mortality)} = \frac{\text{จำนวนลูกน้ำที่ตาย}}{\text{จำนวนลูกน้ำที่ใช้ทดสอบ}} \times 100$$

5.8.2 วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงวิเคราะห์ โดยใช้โปรแกรม Statistical Tool for Agricultural Research (STAR) Version: 2.0.1 (c) Copyright International Rice Research Institute (IRRI) 2013 - 2020 และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างอัตราการตายของลูกน้ำในแต่ละสารสกัดในแต่ละระดับความเข้มข้น ชุดควบคุมที่เป็น Positive control และชุดควบคุมที่เป็น Negative control โดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

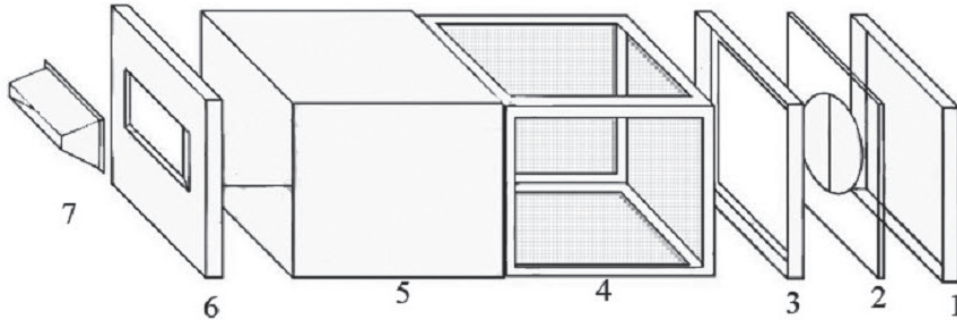
6) การทดสอบฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้านโดยใช้ชุดทดสอบ Excito-Repellency assay

ศึกษาการออกฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้านโดยดัดแปลงวิธีของ คณพศและคณะ⁽⁴⁾

การเตรียมสารทดสอบ เตรียมสารสกัดจิงจูฉ่าย เกสรตัวผู้

ปาล์มน้ำมัน และซุมเห็ดเทศ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 5, 10 และ 20 โดยปริมาตร/ปริมาตร (v/v)

การเตรียมกระดาษชุปสารทดสอบ กระดาษทดสอบที่ใช้เป็นกระดาษกรอง WHATMAN เบอร์ 1 ตัดให้มีขนาด 15 x 17.5 ตร.ซม. จากนั้นทำการหยดสารทดสอบในปริมาตร 2.9 มิลลิลิตรด้วยปิเปตขนาด 5 มิลลิลิตร ลงบนกระดาษที่ตัดได้ขนาดแล้ว ตามความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เตรียมไว้ คือ ใช้ในการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 5, 10 และ 20 โดยปริมาตร/ปริมาตร (v/v) แล้ววางผึ่งให้แห้ง ส่วนกระดาษควบคุม (control) หยดด้วยเอทานอล 90% เพียงอย่างเดียวในปริมาตรเท่ากัน ในแต่ละกล่องทดสอบ จะใช้กระดาษทดสอบ 4 แผ่น ประกอบในชุดทดสอบ Excito-Repellency assay⁽⁶⁾



- 1) rear door cover 2) Plexiglas with rubber-sealed door 3) Plexiglas holding frame
4) screened inner chamber 5) outer chamber 6) front panel 7) exit portal

ภาพที่ 1 เครื่องมือทดสอบ Excito-Repellency assay⁽⁷⁾

วิธีการทดสอบการฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้าน (Repellency test)⁽⁸⁾

1) ทำการเปรียบเทียบฤทธิ์การไล่ยุงลายบ้านของสารสกัดจิงจูฉ่าย ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 5, 10 และ 20 โดยปริมาตร/ปริมาตร (v/v) โดยชุดทดสอบ Excito-repellency ซึ่งประกอบด้วยกล่องทดสอบ 4 กล่อง คือ

- 1.1) กล่องควบคุมแบบไม่ให้ยุงสัมผัสกับกระดาดทดสอบโดยตรง (control noncontact chamber)
- 1.2) กล่องทดสอบสารสกัดแบบไม่ให้ยุงสัมผัสกับกระดาดทดสอบโดยตรง (noncontact chamber)
- 1.3) กล่องควบคุมแบบให้ยุงสัมผัสกับกระดาดทดสอบโดยตรง (control contact chamber)
- 1.4) กล่องทดสอบสารสกัดแบบให้ยุงสัมผัสกับกระดาดทดสอบโดยตรง (contact chamber)

2) การทดสอบแต่ละครั้ง กล่องทดสอบถูกแบ่งออกเป็น 2 คู่ โดยในแต่ละคู่จะแบ่งเป็นการทดสอบแบบที่ไม่ให้ยุงสัมผัสกับกระดาดทดสอบโดยตรงและแบบให้ยุงสัมผัสกับกระดาดทดสอบโดยตรง⁽⁶⁾ ซึ่งแตกต่างกันตรงที่ถ้าเป็นการทดสอบแบบไม่ให้ยุงสัมผัสสารโดยตรงจะต้องติดตั้งกระดาดซุบสารให้อยู่ใต้แผ่นมุ้งลวด ดังนั้นชาวยุงจะไม่มีโอกาสได้สัมผัสกับสารทดสอบเลยจะได้รับเฉพาะไอของสารที่ระเหยออกมาเท่านั้น

3) ยุงที่นำมาทดสอบ ต้องให้อัดน้ำหวานเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนเริ่มทำการทดสอบ และการทดสอบทั้งหมดจะทดสอบในช่วงเวลา 08.00 - 16.30 น. จากนั้นนำยุงเพศเมีย

ปล่อยในกล่องทดสอบทั้ง 4 กล่องดังกล่าวข้างต้น กล่องละ 15 ตัว โดยใช้ mouth aspirator แล้วปิดฝากล่องด้านนอก โดยมีกล่องกระดาดติดทางด้านทางออกของกล่องทดสอบและใช้แผ่นโฟมสอดเข้าไปปิดช่องทางออกไว้ก่อน พักยุงในกล่องทดสอบเป็นเวลา 3 นาที เพื่อให้ยุงปรับสภาพ หลังจากนั้นเปิดช่องทางออก ทำการจับเวลา

4) บันทึกจำนวนยุงที่บินออกจากกล่องทั้ง 4 กล่อง ทุก ๆ 1 นาที พร้อมทั้งดูดออกใส่ในถ้วยกระดาดที่ทำเป็นภาชนะใส่ยุงจนครบ 30 นาที บันทึกจำนวนยุงที่เหลือในแต่ละกล่องต่าง ๆ ทั้งยุงที่สลบและไม่สลบ โดยแยกใส่ถ้วยกระดาดเลี้ยงยุงอีก 1 ใบ ส่วนถ้วยกระดาดใส่ยุงที่หนีออกมาจากช่องทางออกให้ดำเนินการบันทึกจำนวนยุงที่สลบเช่นกัน โดยแต่ละกล่องจะมีถ้วยกระดาดเลี้ยงยุง 2 ใบ

5) นำถ้วยกระดาดที่มียุงไปเลี้ยงต่อ 24 ชั่วโมงหลังการทดสอบเสร็จ ในห้องเลี้ยงแมลง แต่ละถ้วยกระดาดให้วางสำลีชุบน้ำหวานความเข้มข้น 10% พอหมาด ๆ บนผ้ามุ้งที่ปากปิดถ้วยกระดาด

6) เมื่อครบ 24 ชั่วโมงบันทึกจำนวนยุงที่ตายในแต่ละถ้วยกระดาด แล้วคำนวณอัตราการตายหลังจาก 24 ชั่วโมงในแต่ละกล่องทดสอบ หากยุงควบคุมกรงใดกรงหนึ่งในซ้ำใดมีอัตราการตายเกิน 20% ควรดำเนินการทดสอบใหม่ในซ้ำนั้น ๆ แล้วทำการทดสอบซ้ำเป็นจำนวนอย่างน้อย 3 ครั้งของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น

การเก็บรวบรวมข้อมูล

- 1) บันทึกจำนวนตัวของยุงที่บินออกจากกล่องทั้ง 4 กล่อง (ชุดที่มีสาร 2 กล่อง และชุดควบคุม 2 กล่อง) ทุก ๆ 1 นาที จนครบ 30 นาที
- 2) บันทึกจำนวนยุงที่ตายในกล่องทดสอบและกล่องรับยุง หลังจากสิ้นสุดนาที่ที่ 30 ในทั้ง 4 กล่องทดสอบ
- 3) บันทึกจำนวนยุงที่ตายในแต่ละกล่อง แล้วคำนวณอัตราการตายหลังจาก 24 ชั่วโมงในแต่ละชุดการทดลอง

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Kaplan-Meier survival analysis method และแปลผลข้อมูลพฤติกรรม การตอบสนองของยุง⁽⁹⁾ ซึ่ง Survival analysis ถูกใช้ในการประมาณค่าความน่าจะเป็นของเวลาที่ยุงหนีออกจากกล่องทดสอบ (escape time, ET) และเปรียบเทียบความแตกต่างของการตอบสนองในยุงต่อลักษณะการหลีกเลี่ยงสารจากสารทดสอบในแต่ละระดับความเข้มข้น โดยดูจากรูปแบบการหลบหนีของยุงในแต่ละนาที่ ซึ่งยุงที่หนีออกจากกล่องทดสอบในแต่ละนาที่ก่อนสิ้นสุดการทดสอบ ให้หมายถึงยุงที่ตอบสนองและได้รับผลกระทบจากสิ่งเร้า ซึ่งก็คือ สารไล่ยุง ซึ่งในการวิเคราะห์ survival analysis จะเรียกยุงเหล่านี้ว่า deaths ส่วนยุงที่ยังเหลืออยู่ในกล่องทดสอบในแต่ละนาที่นั้น ๆ ถือว่าเป็นยุงที่รอดชีวิต ซึ่งต่อไปจะเรียกยุงเหล่านี้ว่า survivals ส่วนยุงที่หลงเหลืออยู่ในกล่องทดสอบตามจำนวนที่พบจริงจะถูกเรียกว่า censored^(9,10) และหลังจากนั้นแต่ละความเข้มข้นหรือวิธีการ จะถูกนำมาเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มและภายในกลุ่มด้วยวิธี logrank test⁽¹¹⁾ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ต่อไป

ตารางที่ 1 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านจากสารสกัดจากจิงจูฉ่าย เกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ

ชนิดสารสกัด	ระดับความเข้มข้น (%)	อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน (%) ที่ 24 ชั่วโมง
จิงจูฉ่าย	1	100
	5	100
	10	100
	20	100

Thai AGDP network⁽¹²⁾ อธิบายว่า Survival Analysis เป็นการศึกษาการอยู่รอด หรือการวิเคราะห์การดำรงอยู่ มีชื่อเรียกหลายชื่อเช่น Reliability Analysis, Duration Analysis, Event History Analysis, Transition Analysis, Failure Time Analysis เป็นต้น เป็นการดูว่าเหตุการณ์นั้น ๆ เกิดขึ้นหรือไม่ เมื่อเวลาผ่านไป เพราะฉะนั้นตัวแปรตามคือ ระยะเวลาที่ดำเนินไปถึงจุดที่เราติดตามสังเกตการณ์ จนเห็นเหตุการณ์นั้น หมายความว่าถ้าจะเก็บข้อมูลต้องมีข้อมูลเวลาอย่างน้อย 2 ค่า คือ เวลาเริ่มต้น และเวลาที่เกิดเหตุการณ์ขึ้น ถ้าเก็บแค่ค่าเดียวก็ทำการวิเคราะห์แบบนี้ไม่ได้ การนำเสนอข้อมูลมักทำในรูป survival graph ซึ่งสามารถเสนอได้ 2 วิธี คือ Kaplan-Meier Method หรือ Live Table Method โดย Kaplan-Meier Method ใช้ Survival function ในการคำนวณ นิยมใช้กรณีข้อมูลน้อย และ Live Table Method ใช้ Hazard function ในการคำนวณ นิยมใช้กรณีข้อมูลมาก

การควบคุมการวิจัย

การทดสอบดำเนินการทดสอบระหว่างเวลา 08.00 - 16.30 น. ในห้องปฏิบัติการที่มีแสงสว่างอยู่ในช่วง 300 - 500 Lux อุณหภูมิ 25±5 °C และความชื้นสัมพัทธ์ที่ 80±10%

3. ผลการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน

การศึกษาฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านของสารสกัดจากจิงจูฉ่าย เกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ ที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 1, 5, 10 และ 20 โดยปริมาตร/ปริมาตร (v/v) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านจากสารสกัดจากจิงจูฉ่าย เกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ (ต่อ)

ชนิดสารสกัด	ระดับความเข้มข้น (%)	อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน (%)	
		ที่ 24 ชั่วโมง	
เกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน	1	0.00	
	5	100	
	10	100	
	20	100	
ชุมเห็ดเทศ	1	0.00	
	5	100	
	10	100	
	20	100	
Control	1	0.00	
	5	0.00	
	10	0.00	
	20	0.00	

การศึกษาฤทธิ์ในการไล่ยุงลายบ้าน

การศึกษาฤทธิ์ในการไล่ยุงลายบ้านของสารสกัดจากจิงจูฉ่าย เกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ ที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 1, 5, 10 และ 20 โดยปริมาตร/ปริมาตร (v/v) ทั้งสารสกัดเปรียบเทียบกับฤทธิ์ไล่ยุงโดยใช้กล่องทดสอบแบบไม่ให้ยุงสัมผัสกับสารสกัดโดยตรง (มีแผ่นมุ้งลวดตาข่ายกัน) หรือใช้กล่องทดสอบแบบให้ยุงสัมผัสกับสารสกัดโดยตรง (ไม่มีแผ่นมุ้งลวดตาข่ายกัน) พบว่าสารสกัดชุมเห็ดเทศมีประสิทธิภาพในการไล่ยุงลายบ้านแบบสัมผัสโดยตรงได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 20

โดยปริมาตร/ปริมาตร (v/v) ในอัตรา 38 - 65% รองลงมาคือ จิงจูฉ่ายอยู่ที่ร้อยละ 20 - 27 ในความเข้มข้นเดียวกัน และสารสกัดเกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมันไม่มีฤทธิ์ในการไล่ยุงในทุกความเข้มข้น ดังตารางที่ 2

จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า ฤทธิ์การไล่ยุงระหว่างกล่องควบคุม (control) และกล่องทดสอบ (treatment) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในยุงลายบ้าน ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร/ปริมาตร (v/v) ในทุกสารสกัด ($P>0.05$) ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาฤทธิ์ไล่ของสารสกัดจากเกสรเพศผู้ปาล์มน้ำมัน จิงจูฉ่าย และชุมเห็ดเทศต่อยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) จากการสัมผัสสารและไม่สัมผัสสารโดยใช้เครื่องมือ Excito-repellency test

ความเข้มข้นของสารสกัด	ER assay	อัตราไล่ยุงลายบ้าน (ร้อยละ)					
		เกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน		จิงจูฉ่าย		ชุมเห็ดเทศ	
		Treatment	Control	Treatment	Control	Treatment	Control
1%	NC	0	0	0	0	6.67	1.67
	CT	0	0	0	0	8.33	6.67
5%	NC	0	0	0	0	6.67	1.67
	CT	11.66	0	15	0	18.33	0

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาฤทธิ์ไล่ของสารสกัดจากเกสรเพศผู้ปาล์มน้ำมัน จิงจูฉ่าย และชุมเห็ดเทศต่อยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) จากการสัมผัสสารและไม่สัมผัสสารโดยใช้เครื่องมือ Excito-repellency test (ต่อ)

ความเข้มข้นของสารสกัด	ER assay	อัตราไต่ยุงลายบ้าน (ร้อยละ)					
		เกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน		จิงจูฉ่าย		ชุมเห็ดเทศ	
		Treatment	Control	Treatment	Control	Treatment	Control
10%	NC	0	0	1.67	0	6.67	1.67
	CT	11.67	0	20	0	38.33	0
20%	NC	0	0	1.67	0	6.67	1.67
	CT	8.33	0	26.67	0	65	0

NC = non contact treatment (ไม่สัมผัสสาร)

CT = contact treatment (สัมผัสสาร)

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ไล่ยุงจากสารสกัดเกสรปาล์มน้ำมันเพศผู้ จิงจูฉ่าย และชุมเห็ดเทศ ระหว่างชุดทดลองและชุดควบคุมของกล่องทดสอบที่สัมผัสและไม่สัมผัสสาร

สารสกัด	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	P-value		
		NC vs NT	CC vs CT	NT vs CT
เกสรตัวผู้ปาล์มน้ำมัน	1	1	1	1
	5	1	0.0066	0.0066
	10	1	0.0066	0.0066
	20	1	0.0222	0.0229
จิงจูฉ่าย	1	1	1	1
	5	1	0.0019	0.0019
	10	0.3213	0.0003	0.001
	20	0.3173	<0.0001	<0.0001
ชุมเห็ดเทศ	1	0.1717	0.7317	0.7213
	5	0.1712	0.0005	0.0549
	10	0.1717	<0.0001	<0.0001
	20	0.1712	<0.0001	<0.0001

NC= กล่องควบคุมที่ไม่มีการสัมผัสสารสกัดโดยตรง (มีตะแกรงกั้น)

CC= กล่องควบคุมที่มีการสัมผัสสารสกัดโดยตรง(ไม่มีตะแกรงกั้น)

NT= กล่องทดสอบที่ไม่มีการสัมผัสสารสกัดโดยตรง (มีตะแกรงกั้น)

CT= กล่องทดสอบที่มีการสัมผัสสารสกัดโดยตรง(ไม่มีตะแกรงกั้น)

* $P < 0.05$ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

$P > 0.05$ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

4. อภิปราย/วิจารณ์ผล

จากการทดสอบฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านของสารสกัด ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากจิงจูฉ่าย เกลสรเพศผู้ปาล์มน้ำมัน และชุมเห็ดเทศ พบว่า สารสกัดจากจิงจูฉ่ายมีฤทธิ์ในการ ฆ่าลูกน้ำร้อยละ 100 ทั้ง 4 ระดับความเข้มข้น แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากจิงจูฉ่ายมีประสิทธิภาพผลดีที่สุดในการ ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดอีก 2 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันร้อยละ 1 ที่ให้อัตราการตายของ ลูกน้ำยุงลายบ้านร้อยละ 0 อย่างไรก็ตาม สารสกัดทั้ง 2 ชนิด ให้อัตราตายของลูกน้ำยุงลายบ้านร้อยละ 100 ที่ระดับความเข้มข้น น้อยที่สุดร้อยละ 5

จากการทดสอบฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้าน ที่ระดับ ความเข้มข้นร้อยละ 1, 5, 10 และ 20 โดยปริมาตร/ ปริมาตร (v/v) พบว่า สารสกัดจากชุมเห็ดเทศความเข้มข้นร้อยละ 20 มีฤทธิ์ระคายเคือง (contact treatment) ต่อยุงลายบ้านมากที่สุด รองลงมาคือ ความเข้มข้นร้อยละ 10 ส่วนที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 และ 1 ไม่มีฤทธิ์ ระคายเคืองต่อยุงลายบ้าน และสารทั้ง 3 ชนิดไม่มีฤทธิ์ ในการไล่ (non contact treatment) ยุงลายบ้าน ในทุกระดับ ความเข้มข้น

สำหรับเกลสรเพศผู้ปาล์มน้ำมัน สารที่ออกฤทธิ์ ในการไล่ยุงน่าจะมีผลต่อเมื่อได้รับความร้อน ดังการศึกษา ของ Katinka Palsson Thomas และ G.T Jaenson ในปี ค.ศ.1999⁽¹³⁾ กินี-บิสเซา แอฟริกาตะวันตก พบว่าชาวบ้าน ใช้เกลสรเพศผู้ของปาล์มน้ำมันมาเผาให้เกิดควันเพื่อลดจำนวนยุง ในบ้านช่วงเวลากลางคืน ซึ่งสามารถลดจำนวนยุงได้ถึง 69% และในไทยประชาชนส่วนใหญ่ในจังหวัดระนองชาวบ้านบางคน ใช้เกลสรตัวผู้มาจุดไฟเผาเพื่อไล่ยุงบริเวณบ้าน ซึ่งเช่นเดียวกับ เกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อในพื้นที่อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร

7. เอกสารอ้างอิง

1. สำนักโรคติดต่อฯ โดยแมลง กรมควบคุมโรค. การใช้ใช้เครื่องพ่นสำหรับผู้ปฏิบัติการเพื่อป้องกันและควบคุมไข้เลือดออก. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2559.
2. ประคอง พันธุ์ไธ. รายงานย่อ บันทึกการสังเกตพบว่า น้ำ (*Acorus calamus* Linn.) ออกฤทธิ์ทำให้ ลูกน้ำยุงลายตายได้. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2520;19:251-2.
3. อุษาวดี ถาวรระ, อภิวิทย์ รัชชสิน, ฤทัยรัตน์ ศรีธรรมรัตน์, ปณวรรณ บุโรตกานนท์. สมุนไพรป้องกันกำจัดแมลงทางการแพทย์. กรุงเทพฯ: บริษัท ดีไซน์ จำกัด; 2546.
4. คนพศ ทองขาว, กษพรธณ สุภระ, โสภาวดี มูลเมฆ, วาสนิ ศรีปลั่ง, ปิติ มงคลกลางกูร. การทดสอบฤทธิ์ไล่ยุงของสารสกัดจากสัก (*Tectona grandis* L.f.) ต่อยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) (L.). วารสารโรคติดต่อฯ โดยแมลง 2558;12:36-9.
5. Abbott W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J Econ Entomol 1925;18:265-67.

ที่ได้นำวัสดุเหลือใช้ที่มีอยู่ในพื้นที่อย่างทะลายปาล์มน้ำมันเปล่านำมาใช้ประโยชน์โดยการนำมาใส่ในภาชนะที่ทนไฟ เช่น ถังปิ้ง หรือหม้ออะลูมิเนียมเก่าที่ไม่ใช้แล้ว จากนั้นจุดไฟในภาชนะ เพื่อให้เกิดควันขึ้น ซึ่งควันที่ได้จากการจุดทะลายปาล์มจะมีคุณสมบัติไล่ยุงและแมลงได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังมี การศึกษารูปไล่ยุงจากพืชชนิดต่าง ๆ ของหนึ่งฤทัย สอนสกุล⁽¹⁴⁾ ในพื้นที่อำเภอพรเจริญ จังหวัดบึงกาฬ และอำเภอเขาชัยสน จังหวัดพัทลุง พบว่าปาล์มน้ำมันเป็นพืชชนิดหนึ่งที่สามารถ นำมาผลิตเป็นรูปเพื่อใช้ไล่ยุงได้ดี

5. สรุป/ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาสารสกัดจากจิงจูฉ่ายเพิ่มเติมในส่วน ของฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงชนิดอื่น ๆ ด้วย

6. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณดำเนินการโครงการวิจัย ขอขอบคุณ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการสกัดสารจากพืช ขอขอบคุณ รศ.ดร.อรัญ งามพ่องใส ภาควิชาการจัดการศัตรู พืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้คำปรึกษาในการสกัดสารจากพืช ดร.กรกาญญา ถาวรินชุม สาขาวิชา วัตกรรมการเกษตร และการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และ ดร.จิโรจ นระรักษ์ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ที่ให้คำปรึกษาและ ข้อเสนอแนะในการวิเคราะห์ทางสถิติ การแปรผลและ สรุปผลการวิจัย

6. Chareonviriyaphap T, Prabaripai A, Sungvornyothin S. An improved excito - repellency for mosquito behavioral test. *J Vector Ecol* 2002;27:250-2.
7. Noosidum A, Prabaripai A, Chareonviriyaphap T, Chandrapatya A. Excito-repellency Properties of essential oils from *Melaleuca Leucadendron* L., *Litsea cubeba* (Lour.) Persoon, and *Litsea salicifolia* (Nees) on *Aedes aegypti* (L.) mosquitoes. *J Vector Ecol* 2008;33:305-12.
8. Mongkalagoon P, Grieco JP, Achee NL, Suwonkerd W, Chareonviriyaphap T. Irritability and repellency of synthetic pyrethroids on an *Aedes aegypti* population from Thailand. *J Vector Ecol* 2009;34:217-24.
9. Roberts DR, Chareonviriyaphap T, Harlan HH, Hshieh P. Methods of testing and analyzing excitorepellency responses of malaria vectors to insecticides. *J Am Mosq Contr Assoc* 1997;13:13-7.
10. Chareonviriyaphap T, Roberts DR, Andre RG, Harlan HJ, Manguin S, Bangs MJ. Pesticide avoidance behavior in *Anopheles albimanus*, a malaria vector in the Americas. *J Am Mosq Contr Assoc* 1997;13:171-83.
11. Mantel N, Haenzel W. Statistic aspects of the analysis of data from retrospective studies of diseases. *J Natl Cancer Inst* 1959;22:719-48.
12. Thai AGDP network vlog. Survival Analysis [Internet]. 2555 [เข้าถึงเมื่อ 17 ก.ย. 2555]. เข้าถึงได้จาก: <http://thaiagdpnetworkvlog.blogspot.com/2008/03/survival-analysis.html>
13. Palsson K, Thomas and G.T Jaenson. Plant products used as mosquito repellents in Guinea Bissau, West Africa. *Acta Tropica* 1999;15:39-52.
14. หนึ่งฤทัย สอนสกุล. รูปสมุนไพรรไล่ยุง [อินเทอร์เน็ต]. 2563 [เข้าถึงเมื่อ 31 ส.ค. 2563]. เข้าถึงได้จาก: <https://bkpho.moph.go.th/ssjweb/bkresearch/require/files/post-doc/20170109120425.pdf>