

Thesis Title	Chemical Composition and Larvicidal Efficacy of Essential Oils and Their Combined Formulations Against <i>Anopheles cracens</i>	
Author	Miss Jitrawadee Intirach	
Degree	Master of Science (Parasitology)	
Thesis Advisory Committee	Dr. Anuluck Junkum	Advisor
	Prof. Dr. Wej Choochote	Co-advisor
	Assoc. Prof. Dr. Udom Chaithong	Co-advisor
	Assoc. Prof. Dr. Atchariya Jitpakdi	Co-advisor

ABSTRACT

Five medicinal plants; *Piper sarmentosum* (Wild betel), *Foeniculum vulgare* (Fennel), *Curcuma longa* (Turmeric), *Myristica fragrans* (Nutmeg), and *Zanthoxylum piperitum* (Japanese Prickly Ash) were selected for investigating the larvicidal efficacy of extracted essential oils against laboratory-reared *Anopheles cracens* mosquito. Extraction by steam distillation provided yields of volatile oils that ranged from 0.31-3.41% (v/w) according to dry weight. The highest oil content was found in *M. fragrans* (3.41%), followed by *F. vulgare* (0.57%), *C. longa* (0.56%), *Z. piperitum* (0.34%) and *P. sarmentosum* (0.31%). The chemical compositions of these essential oils were analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS). The main component in the oil derived from leaf and stem of *P. sarmentosum* was coveacin (71.01%), followed by minor amounts of β -caryophyllene (7.38%), α -copaene (3.77%), and elemicin (2.47%). Compounds in *C. longa* rhizome oil comprised mostly ar-turmerone (30.19%), followed by tumerone (19.02%) and curlone (13.30%), with minor quantities of α -curcumene (9.53%) and β -sesquiphellandrene (8.55%). The oil of *F. vulgare* fruit was composed mainly of anethole (63.00%), followed by 4-anisaldehyde (16.29%), with minor contents of fenchone (8.90%), estragole (5.70%) and limonene (2.07%). The principal

constituents found in essential oil isolated from the dried mace of *M. fragrans* were safrole (46.60%), followed by β -terpinene (16.13%), sabinene (14.25%), and 1-terpinen-4-ol (6.56%), together with trace amounts of methyleugenol (2.80%) and γ -terpinene (2.66%). The oils obtained from *Z. piperitum* fruit had 1,8-cineole (21.27%) and α -limonene (12.03%) as major components, while limonene (8.50%), piperitone (7.31%), brevifolin (6.15%), sabinene (6.13%), and β -linalool (6.10%) were seen as minor constituents.

For larvicidal bioassay, all five essential oils exerted promising efficacy in a dose-dependent manner and different performance on *An. cracens* after 24 h exposure. The highest larvicidal potential was established from *P. sarmentosum*, followed by *F. vulgare*, *C. longa*, *M. fragrans*, and *Z. piperitum*, with LC₅₀ values of 16.03, 32.77, 33.61, 40.00, and 63.17 ppm, respectively. Addition of *P. sarmentosum*, the most effective, in the oil-combined formulations led to the enhancement of oil toxicity against *An. cracens* in a dose-dependent manner. The binary mixtures between *P. sarmentosum* oil and the others, including *F. vulgare*, *C. longa*, *M. fragrans*, and *Z. piperitum* at the ratios of 25% : 75%, 50% : 50%, and 75% : 25% demonstrated the improved larvicidal activity with LC₅₀ values ranging from 28.60 – 18.32, 27.10 – 16.81, 35.72 – 18.18, and 41.40 – 17.99 ppm, respectively, and the co-toxicity coefficient (CTC) were ranged from 90.8595 – 100.3105, 97.3354 – 109.7055, 81.5108 – 103.7110, and 87.9356 – 109.5410, respectively. Combinations between *P. sarmentosum* and the other oils at the highest ratio (75% : 25%) were found to be the most effective with CTC value greater than 100, indicating synergistic activity. The results concerning the mixed formulations between different essential oils generating synergistic reaction may prove helpful in developing more effective mosquitocides, which may be an alternative to exist and provide a solution to combat the ever-increasing problem of the world's mosquito population.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	องค์ประกอบทางเคมีและประสิทธิภาพฆ่าลูกน้ำยุงของ น้ำมันหอมระเหยและสูตรผสมต่อยุงก้นปล่อง <i>Anopheles cracens</i>	
ผู้เขียน	นางสาวจิตรวดี อินธิราช	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ปรสตีวิทยา)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร. อนุถักขณ์ จันทร์คำ	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	ศ. ดร. เวช ชูโชติ	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	รศ. ดร. อุดม ชัยทอง	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	รศ. ดร. อัจฉริยา จิตต์ภักดี	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงของน้ำมันหอมระเหยได้ทำการคัดเลือกพืชสมุนไพรจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ชะพลู (*Piper sarmentosum*), เทียนแกลบ (*Foeniculum vulgare*), ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*), จันทน์เทศ (*Myristica fragrans*) และพริกหอม (*Zanthoxylum piperitum*) มาสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation) เพื่อทดสอบกับยุงก้นปล่อง *Anopheles cracens* ที่เลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการ จากการสกัดพบว่าพืชทั้ง 5 ชนิดให้ผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยอยู่ในช่วง 0.31-3.41% (v/w) จากน้ำหนักแห้ง โดยพืชที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือ จันทน์เทศ (3.41%) รองลงมาได้แก่ เทียนแกลบ (0.57%), ขมิ้นชัน (0.56%), พริกหอม (0.34%) และชะพลู (0.31%) เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 5 ชนิด โดยวิธี Gas chromatography/Mass spectrometry (GC/MS) พบว่าองค์ประกอบหลักทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยจากใบและก้านชะพลูคือ coveacin (71.01%) และสารอื่นๆ ได้แก่ β -caryophyllene (7.38%), α -copaene (3.77%) และ elemicin (2.47%) สารประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าขมิ้นชัน ได้แก่ ar-turmerone (30.19%) รองลงมาได้แก่ tumerone (19.02%) และ curlone (13.30%) นอกจากนี้ยังพบ α -curcumene (9.53%) และ β -sesquiphellandrene (8.55%) ในปริมาณต่ำ น้ำมันหอมระเหยจากผลเทียนแกลบประกอบด้วยสารประกอบหลักคือ anethole (63.00%) รองลงมาคือ 4-anisaldehyde (16.29%) และพบ fenchone (8.90%), estragole (5.70%) และ limonene (2.07%) ปริมาณเล็กน้อย องค์ประกอบหลักทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยจากกรกุ่มเมล็ดจันทน์เทศ ได้แก่ safrole (46.60%)

รองลงมาคือ β -terpinene (16.13%), sabinene (14.25%) และ 1-terpinen-4-ol (6.56%) และพบ methyleugenol (2.80%) และ γ -terpinene (2.66%) ปริมาณเล็กน้อย น้ำมันหอมระเหยจากผลพริก หอมมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญคือ 1,8-cineole (21.27%) และ α -limonene (12.03%) โดยพบ limonene (8.50%), piperitone (7.31%), brevifolin (6.15%), sabinene (6.13%) และ β -linalool (6.10%) ในปริมาณเล็กน้อย

การทดสอบฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุง *An. cracens* ในห้องปฏิบัติการโดยการแช่ลูกน้ำยุงในสารทดสอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าน้ำมันหอมระเหยทั้ง 5 ชนิด มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงแตกต่างกันและแปรผันตามระดับความเข้มข้นของสารทดสอบ โดยน้ำมันหอมระเหยชะพลูมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงสูงสุด รองลงมาได้แก่ น้ำมันหอมระเหยเทียนแกลบ, ขมิ้นชัน, จันทน์เทศและพริกหอม โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 16.03, 32.77, 33.61, 40.00 และ 63.17 ppm ตามลำดับ ในการทดสอบฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงของ สูตรผสมน้ำมันหอมระเหย พบว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยชะพลูผสมกับน้ำมันหอมระเหยอื่นๆ จะสามารถเพิ่มความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงได้มากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยชะพลู โดยสูตรผสมระหว่างน้ำมันหอมระเหยชะพลูกับน้ำมันหอมระเหยอื่นๆ ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยเทียนแกลบ, ขมิ้นชัน, จันทน์เทศและพริกหอม ในอัตราส่วน 25% : 75%, 50% : 50% และ 75% : 25% มีประสิทธิภาพฆ่าลูกน้ำยุงสูงขึ้น โดยมีค่า LC_{50} อยู่ในช่วง 28.60 – 18.32, 27.10 – 16.81, 35.72 – 18.18 และ 41.40 – 17.99 ppm ตามลำดับ และมีค่า co-toxicity coefficient (CTC) อยู่ในช่วง 90.8595 – 100.3105, 97.3354 – 109.7055, 81.5108 – 103.7110 และ 87.9356 – 109.5410 ตามลำดับ สูตรผสมระหว่างน้ำมันหอมระเหยชะพลูกับน้ำมันหอมระเหยอื่นๆ ในอัตราส่วนสูงสุด (75% : 25%) จะมีประสิทธิภาพฆ่าลูกน้ำยุงสูงสุด โดยมีค่า CTC สูงกว่า 100 ซึ่งแสดงว่ามีการเสริมฤทธิ์เกิดขึ้น จากผลทดลองชี้ให้เห็นว่าสูตรผสมระหว่างน้ำมันหอมระเหยที่ต่างชนิดกันจะสามารถเสริมฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงได้โดยอาจเป็นประโยชน์ในการพัฒนาสารฆ่ายุงที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ซึ่งอาจใช้เป็นตัวเลือกและเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการรับมือกับปัญหาการเพิ่มขึ้นของประชากรยุงทั่วโลกได้