

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบเขยตายในการควบคุม ลูกน้ำยุงลายบ้าน

Efficacy of *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) DC. Leaf Extract for Controlling *Aedes aegypti* (L.) larvae

ยุวดี สีนวนขำ¹ กาญจนา เกตุอ่อน¹ กิรติ ตันเรื่อน² ทิวรัตน์ นาพิรุณ² วิษณุ ธงไชย³
ณัฐดนัย ลิขิตตระการ⁴ และ พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ^{1*}

Yuwadee Srinuankham¹, Kanchana Ket-on¹, Keerati Tanruean², Tiwtawat
Napiroon², Wisanu Thongchai³, Natdanai Likhitrakarn⁴ and Pisit Poolprasert^{1*}

¹ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม จังหวัดพิษณุโลก 65000

¹ Biology Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok 65000

² สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม จังหวัดพิษณุโลก 65000

² Biotechnology Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok 65000

³ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม จังหวัดพิษณุโลก 65000

³ Chemistry Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok 65000

⁴ สาขาวิชาอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290

⁴ Division of Plant Protection, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai 50290

* Corresponding author: poolprasert_p@psru.ac.th

Abstract

Although, the use of synthetic chemical insecticides to control mosquito vectors has short-term effectiveness, the chemical resistance in many target insects can be developed and environment can also be contaminated. Natural phytochemicals isolated from herbal plants applied as insecticides to control those vectors are considered as good alternatives. In this study, hexane and ethanolic leaf extracts of *Glycosmis pentaphylla* were estimated for their toxicity of 3rd-4th instar larvae of *Aedes aegypti*.

Percentage larval mortality was evaluated after 24, 36, 48 and 72 h exposure at different concentrations (0, 1,250, 2,500, 5,000 and 10,000 mg/L). It was found that *G. pentaphylla* leaf hexane extract exhibited median lethal concentrations to kill 50% (LC_{50}) of the treated larvae in 24, 36, 48 and 72 h of 3,242.13, 1,920.62, 1,329.07 and 1,251.32 mg/L, respectively. Meanwhile, *G. pentaphylla* leaf ethanolic extract displayed LC_{50} of the treated larvae in 24, 36, 48 and 72 h of 2,493.59, 1,204.88, 1,534.69 and 1,099.50 mg/L, respectively. With regard to the mortality rate, the concentration at 10,000 mg/L of *G. pentaphylla* leaf extracts in both solvents showed high effectiveness in killing *Ae. aegypti* larvae with 100% mortality after exposure for 24 h. No mortality of the insects was observed in any of the controls. The mortality increased when exposed to a higher concentration in all trials. Further, the results of the independent *t*-test demonstrated no significant difference in the mean total mortality of *Ae. aegypti* between the hexane and ethanolic extracts in all times of exposure ($P \geq 0.05$). From these results, both extracts trended to be further utilized in preventing this *Ae. aegypti* larvae and other arthropods of medical and veterinary importance in the area.

Keywords: *Glycosmis pentaphylla* leaf extract, *Aedes aegypti* larvae, toxicity test

บทคัดย่อ

แม้การใช้สารเคมีสังเคราะห์ในการควบคุมยุงพาหะนำโรคจะมีประสิทธิภาพดีในระยะเวลายสั้น แต่ในขณะที่เดียวกันกลับส่งผลกระทบต่อความต้านทานของสารเคมีกับแมลงในระยะยาว รวมถึงการตกค้างของสารเคมีในสิ่งแวดล้อม การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรเพื่อกำจัดยุงพาหะจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถช่วยลดบทบาทของการใช้สารเคมีสังเคราะห์ลงได้ การวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากใบเขยตาย *Glycosmis pentaphylla* โดยวิธีการสกัดด้วยเฮกเซนและแอลกอฮอล์ 95% ต่อยุงลายบ้าน *Aedes aegypti* ในวัย 3-4 ด้วยวิธีหดยดสารละลายที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน (0, 1,250, 2,500, 5,000 และ 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร) ภายหลังจากทดสอบ พบว่า สารสกัดจากใบเขยตายที่สกัดด้วยเฮกเซน มีค่า LC_{50} ต่อยุงลายบ้าน ที่ 24, 36, 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 3,242.13, 1,920.62, 1,329.07 และ 1,251.32 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ขณะที่ สารสกัดจากใบเขยตายที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ 95% มีค่า LC_{50} ต่อยุงลายบ้าน ที่ 24, 36, 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 2,493.59, 1,204.88, 1,534.69 และ 1,099.50 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ อัตราการตายของสารสกัดจากใบเขยตายที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพสูง โดยที่ความเข้มข้นที่ 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร มีผลทำให้ยุงลายบ้านตาย 100% ภายหลังจากทดสอบที่ 24 ชั่วโมง ทั้งนี้ไม่พบอัตราการตายในชุดควบคุม พบว่าระยะเวลาที่

ลูกน้ำยุงลายบ้านสัมผัสสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายทั้งสองชนิดนานขึ้นอัตราการตายก็เพิ่มขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้งสองชนิดให้ผลการตายของลูกน้ำยุงลายที่ไม่แตกต่างกันในทุกๆ ชั่วโมงของการทดสอบ ($P \geq 0.05$) จากผลการวิจัยในครั้งนี้ สารสกัดจากใบเขยตายมีแนวโน้มที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการป้องกันกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้านและสัตว์ขาข้ออื่นๆ ที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขในสภาพพื้นที่ต่อไปได้

คำสำคัญ: สารสกัดใบเขยตาย ลูกน้ำยุงลายบ้าน การทดสอบความเป็นพิษ

คำนำ

ยุงเป็นแมลงที่สำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุขของประเทศไทย ซึ่งเป็นตัวนำพาให้เกิดการระบาดของโรคไข้เลือดออก โดยมียุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) เป็นหนึ่งในกลุ่มยุงที่เป็นตัวพาหะในประเทศไทยมีการระบาดของโรคไข้เลือดออกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้ในปี พ.ศ. 2562 (31 กรกฎาคม 2562) มีรายงานผู้ป่วยมากกว่าเท่าตัวเมื่อเทียบกับปี พ.ศ. 2561 ในช่วงเวลาเดียวกัน จำนวน 59,167 คน คิดเป็นร้อยละ 89.57 ของอัตราป่วยต่อประชากรแสนคน (กรมควบคุมโรค, 2562) แนวทางป้องกันการระบาดของโรคไข้เลือดออก คือ การควบคุมยุงพาหะนำโรค สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การทำลายแหล่งเพาะพันธุ์ยุง การป้องกันยุงกัดโดยใช้มุ้ง การใช้ยาทากันยุง และการใช้สารฆ่าแมลงแบบพ่นหมอกควัน เป็นต้น (พิสิษฐ์ และ เฉลิมพร, 2558; นิดา และคณะ, 2560; Thongpoon and Poolprasert, 2015; Tanruean *et al.*, 2019) สำหรับวิธีการที่จะสามารถกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้านในระยะที่เป็นตัวอ่อนลูกน้ำ สามารถกำจัดได้ง่าย และทำได้โดยทั่วไป คือการกำจัดแหล่งเพาะพันธุ์ เช่น ตรวจสอบภาชนะภายในและนอกบ้านที่มีน้ำขัง กำจัดโดยการคว่ำภาชนะชนิดนั้น เพื่อป้องกันการเพาะพันธุ์ยุงลายบ้าน และอีกหนึ่งวิธีก็คือการใช้สารเคมีในการกำจัด ซึ่งจะให้ผลสะดวก

และรวดเร็ว แต่อย่างไรก็ตาม หากมีการใช้สารเคมีในการกำจัดในปริมาณมาก อาจส่งผลเสียให้เกิดการตกค้างและส่งผลกระทบต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมได้ การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรนับว่าเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ทดแทนสารเคมีและส่งผลดีและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

เขยตาย (*Glycosmis pentaphylla* (Retz.) DC) เป็นพืชสมุนไพรท้องถิ่นจัดอยู่ในวงศ์ส้ม (Rutaceae) ที่มีสรรพคุณทุกส่วนของลำต้นในตำราไทยใช้รากของเขยตายในการกระตุ้งพิษแก้พิษฝีภายนอกและภายใน ขับน้ำนม แก้พิษแมลงกัดต่อย เปลือกต้นสามารถกระตุ้งพิษหรือแก้พิษงูได้ ดอกและผลใช้รักษาหิด รวมถึงการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (Ansari, *et al.*, 2015; Asha, 2015; Bulbul and Jahan, 2016; Howlader *et al.*, 2011; Sreejith and Asha, 2015) จากอดีตที่ผ่านมา มีการรายงานการใช้พืชในวงศ์ส้มมาใช้ควบคุมในการควบคุมแมลงที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขอย่างแพร่หลาย โดยมีการนำมาสกัดเป็นน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้เป็นสารไล่และฆ่ายุงและแมลงวัน (Mar Soonwera, 2015; Mukandiwa *et al.*, 2015; Oshaghi *et al.*, 2003; Ramkumar *et al.*, 2015; Soonwera and Phasomkusolsil, 2017) สำหรับเขยตาย ในประเทศจีนมีรายงานการนำสารสกัดจากเขยตายเพื่อไล่แมลงในโรงเก็บ (Yang

et al., 2015) นอกจากนี้ยังได้มีการใช้สารสกัดจากพืชชนิดนี้เพื่อเป็นสารฆ่าลูกน้ำยุงพาหะนำโรคชนิดต่างๆ ในประเทศอินเดียอีกด้วย (Ramkumar et al., 2016; Vignesh et al., 2016) อย่างไรก็ตาม การศึกษาถึงการออกฤทธิ์ของพืชชนิดนี้ในประเทศไทย ยังมีข้อมูลอยู่อย่างจำกัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในการควบคุมแมลงเป็นปัญหาทางสาธารณสุข

จากที่กล่าวมาข้างต้น จึงนำมาสู่การวิจัยในครั้งนี้โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากใบเขยตาย (*G. Pentaphylla*) โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและแอลกอฮอล์ 95% ต่อยุงลายบ้าน (*Ae. Aegypti*) ในตัวอ่อนวัย 3-4 โดยผลของการศึกษาในครั้งนี้สามารถเป็นประโยชน์ในการวางแผนการควบคุมประชากรยุงลายบ้านในพื้นที่ อีกทั้งยังเป็นแนวทางในการลดการใช้สารเคมีและพัฒนาส่งเสริมการใช้พืชสมุนไพรในท้องถิ่นเพื่อเป็นสารสกัดในการควบคุมแมลงที่เป็นปัญหาทั้งทางสาธารณสุขและทางการแพทย์ต่อไปอีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมสารสกัดเขยตาย

เขยตาย (*G. pentaphylla*) ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เก็บจากพื้นที่ในตำบลหนองกะท้าว อำเภอนครไทย จังหวัดพิษณุโลก โดยเก็บส่วนใบมาล้างทำความสะอาด จากนั้นผึ่งลมให้แห้ง เป็นเวลา 2-3 วัน และนำมาหั่นหรือสับให้เป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นนำไปแช่แล้วห่อด้วยผ้าขาวบางและเก็บใส่ขวดโหลแก้วที่มีฝาปิด เพื่อทำการแช่ด้วยตัวทำละลายต่อไป

ทำการสกัดใบเขยตายโดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน (hexane) และแอลกอฮอล์

95% (95% alcohol) โดยใช้พืชตัวอย่างและตัวทำละลายแต่ละชนิดในอัตราส่วน 1:2 (น้ำหนักต่อปริมาตร; w/v) แช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปกลั่นระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) แล้วนำสารสกัดที่ได้มาชั่งน้ำหนักและเก็บใส่ขวดสีชาพร้อมปิดฝา เก็บรักษาสารสกัดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อรอทำการทดสอบกับลูกน้ำยุงลายบ้าน

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบเขยตายในการควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้าน

ตัวอย่างลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) ที่นำมาทดสอบในการทดลองนี้ใช้ลูกน้ำยุงลายบ้านที่หาได้จากในสภาพพื้นที่จริง (field strain) ตามแหล่งน้ำขังในภาชนะต่างๆ และตามบริเวณบ้านเรือนในตำบลหนองกะท้าว อำเภอนครไทย จังหวัดพิษณุโลก โดยทำการคัดเลือกลูกน้ำยุงลายวัย 3-4 แยกไว้โดยใช้หลอดหยดสาร (dropper) ดูดลูกน้ำยุงเตรียมไว้ในแก้วทดสอบ จำนวนแก้วละ 10 ตัว เพื่อใช้ในการทดสอบกับสารสกัดที่ได้ในห้องปฏิบัติการ

นำสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายทั้ง 2 มาทดสอบกับลูกน้ำยุงลายบ้านในวัย 3-4 ที่เตรียมไว้ทำการทดสอบด้วยวิธีหยดสารละลายที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน ได้แก่ 0 (ควบคุม), 1,250, 2,500, 5,000 และ 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร ทั้งนี้ในชุดควบคุมของกลุ่มสารสกัดจากเฮกเซนทำการผสมอะซิโตน (acetone) ประมาณ 1% และชุดควบคุมของกลุ่มสารสกัดจากแอลกอฮอล์ 95% ทำการผสมแอลกอฮอล์เพียง 1% วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design; CRD) การทดสอบแต่ละความเข้มข้นจำนวน 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้จำนวนลูกน้ำยุงลายบ้าน 10 ตัว โดยตั้งทิ้งไว้ที่

อุณหภูมิห้อง บันทึกรูปผล ที่ 24, 36, 48 และ 72 ชั่วโมง ภายหลังจากทดสอบ ตามลำดับ

3. วิเคราะห์ข้อมูล

นำผลที่ได้มาคำนวณหาร้อยละอัตราการตาย และคำนวณหาค่า LC_{50} (Median Lethal Concentration) ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองตายร้อยละ 50 ภายหลังจากทดสอบ โดยคำนวณตามสูตรของ Abbott (1925) โดยผ่านการวิเคราะห์หาค่าจุดตัดความเข้มข้นด้วยวิธี Probit analysis ของ Finney (1971) ทดสอบความแตกต่างของความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA: F-Test) ของอัตราการตายที่เกิดขึ้น และเปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการตายที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) อีกทั้งเปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการตายจากวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันโดยวิธี t-test independent ด้วยโปรแกรมทางสถิติ SPSS v. 23 (IBM Corp., Armonk, NY, US)

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

ผลของสารสกัดจากใบเขยตายที่ทำการทดลองโดยใช้สารละลายเฮกเซนและแอลกอฮอล์ 95% เป็นตัวทำละลาย ตามระดับความเข้มข้น (0, 1,250, 2,500, 5,000 และ 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร) พบว่า ภายหลังจากตรวจสอบที่ 24 ชั่วโมง อัตรา

การตายของลูกน้ำยุงลายบ้านในกรรมวิธีที่สกัดด้วยเฮกเซนมีค่าเท่ากับ 0, 26.67, 6.67, 73.33, และ 100% ภายหลังจากตรวจสอบที่ 36 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0, 46.67, 40.67, 83.33 และ 100% ภายหลังจากตรวจสอบที่ 48 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 0, 60, 53.33, 96.67 และ 100% และภายหลังจากทดสอบที่ 72 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 0, 60, 60, 96.67 และ 100% ตามลำดับ สำหรับอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านในกรรมวิธีที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ 95% พบว่าภายหลังจากตรวจสอบที่ 24 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 0, 20, 43.33, 83.33 และ 100% ภายหลังจากตรวจสอบที่ 36 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 0, 40, 73.33, 97.67 และ 100% ภายหลังจากตรวจสอบที่ 48 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 0, 50, 90, 96.67 และ 100% และภายหลังจากตรวจสอบที่ 72 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 0, 60, 93.33, 100 และ 100% ตามลำดับ นอกจากนี้ พบว่า สารสกัดจากใบเขยตายที่สกัดด้วย เฮกเซน มีค่า LC_{50} ต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน ที่ 24, 36, 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 3,242.13, 1,920.62, 1,329.07 และ 1,251.32 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ขณะที่ สารสกัดจากใบเขยตายที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ 95% มีค่า LC_{50} ต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน ที่ 24, 36, 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 2,493.59, 1,204.88, 1,534.69 และ 1,099.50 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้อัตราการตายที่เกิดขึ้นจากความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่าให้ผลการตายที่แตกต่างกันออกไปอีกด้วย (Table 1)

Table 1 Larvicidal activity of hexane and ethanolic extracts of *Glycosmis pentaphylla* against 3rd instar larvae of *Aedes aegypti* after 24, 36, 48, and 72 hours of exposure. Means with the same letter were not significantly different.

Extractions Solvent	Concentrations (mg/L)	Mortality Rate ($\bar{X} \pm S.D$)			
		24 hours	36 hours	48 hours	72 hours
Hexane	10,000	100.00 \pm 0.00 c	100.00 \pm 0.00 b	100.00 \pm 0.00 b	100.00 \pm 0.00 b
	5,000	73.33 \pm 37.86 bc	83.33 \pm 20.82 b	96.67 \pm 5.77 b	96.67 \pm 5.77 b
	2,500	6.67 \pm 5.77 a	40.67 \pm 45.83 ab	53.33 \pm 32.15 ab	60.00 \pm 20.46 b
	1,250	26.67 \pm 37.86 ab	46.67 \pm 40.41 ab	60.00 \pm 40.40 ab	60.00 \pm 40.00 b
Control	0.00 \pm 0.00 a	0.00 \pm 0.00 a	0.00 \pm 0.00 a	0.00 \pm 0.00 a	
LC ₅₀ (mg/L)		3,242.13	1,920.62	1,329.07	1,251.32
Ethanol	10,000	100.00 \pm 0.00 d	100.00 \pm 0.00 d	100.00 \pm 0.00 d	100.00 \pm 0.00 c
	5,000	83.33 \pm 11.55 d	96.67 \pm 5.77 cd	96.67 \pm 5.77 d	100.00 \pm 0.00 c
	2,500	43.33 \pm 15.28 c	73.33 \pm 15.28 c	90.00 \pm 10.00 c	93.33 \pm 5.77 c
	1,250	20.00 \pm 10.00 b	40.00 \pm 0.00 b	50.00 \pm 0.00 b	60.00 \pm 10.00 b
Control	0.00 \pm 0.00 a	0.00 \pm 0.00 a	0.00 \pm 0.00 a	0.00 \pm 0.00 a	
LC ₅₀ (mg/L)		2,493.59	1,204.88	1,534.69	1,099.50

นอกจากนี้ เมื่อทดสอบทางสถิติด้วยวิธี t-test independent ระหว่างอัตราการตายของลูกน้ำ ยุงลายบ้านที่ได้จากวิธีการสกัดสารจากตัวทำละลายที่แตกต่างกันยังพบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้งเฮกเซนและแอลกอฮอล์ 95% ให้ผลอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายที่ไม่แตกต่างกันในทุกๆ ชั่วโมงของการทดสอบ ($P \geq 0.05$) โดยที่ 24 ชั่วโมงหลังการทดสอบ พบว่า มีค่าเฉลี่ยอัตราการตายโดยรวมของสารสกัดจากเฮกเซนและแอลกอฮอล์ 95% เป็น 41.33% และ 49.33% ตามลำดับ ($t = -0.515$; $df = 28$; $P = 0.611$) และ

ที่ 36, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังการทดสอบ พบว่ามีค่าเฉลี่ยอัตราการตายโดยรวมของสารสกัดจากทั้งสองตัวทำละลายเป็น (54.00%, 62.00%, $t = -0.526$; $df = 28$; $P = 0.603$), (62.00%, 67.33%, $t = -0.356$; $df = 28$; $P = 0.725$) และ (63.33%, 70.67%, $t = -0.493$; $df = 28$; $P = 0.626$) ตามลำดับ โดยเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาที่ลูกน้ำยุงลายบ้านสัมผัสสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายทั้งสองชนิดนานขึ้นอัตราการตายก็เพิ่มขึ้นตามไปด้วย (Table 2)

Table 2 Mean mortality rate (\pm SD) of the mean total death rate of *Aedes aegypti* obtained from hexane and ethanolic extracts of *Glycosmis pentaphylla* at concentration after 24, 36, 48, and 72 hours of exposure.

Time (hour)	Extraction Solvent	N	Mortality Rate ($\bar{X} \pm$ S.D.)	t	df	P-value
24	Hexane	15	41.33 \pm 45.18	-0.515	28	0.611
	Ethanol	15	49.33 \pm 39.73			
36	Hexane	15	54.00 \pm 43.72	-0.526	28	0.603
	Ethanol	15	62.00 \pm 39.50			
48	Hexane	15	62.00 \pm 42.29	-0.356	28	0.725
	Ethanol	15	67.33 \pm 39.73			
72	Hexane	15	63.33 \pm 41.52	-0.493	28	0.626
	Ethanol	15	70.67 \pm 39.90			

จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากใบเขยตายด้วยตัวทำละลายทั้งสองชนิด คือ เฮกเซนและแอลกอฮอล์ 95% มีประสิทธิภาพสูงสามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้ โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถทำให้ลูกน้ำ

ยุงลายบ้านตายได้ถึง 100% ภายหลังจากทดลองที่ 24 ชั่วโมง ทั้งนี้มีค่า LC_{50} จากสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายจากเฮกเซนและแอลกอฮอล์ เท่ากับ 3,242.13 และ 2,493.59 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากใบเขยตายด้วยตัวทำละลาย

แอลกอฮอล์ 95% มีประสิทธิภาพในการควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้านได้สูงกว่าจากสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายจากเฮกเซน แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อทดสอบทางสถิติ (t-test independent) กลับพบว่าอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านจากสารสกัดที่ตัวทำละลายต่างกัน ให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน ($P \geq 0.05$) แสดงให้เห็นว่า สามารถเลือกใช้ตัวทำละลายใดก็ได้ในการสกัดสารในพืชดังกล่าว แม้กระนั้นก็ตาม ในรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ที่มีการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบเขยตายต่อลูกน้ำยุงพาหะนำโรค 3 ชนิด ได้แก่ ยุงก้นปล่อง (*Anopheles stephensi*), ยุงรำคาญ (*Culex quiquefesciatus*) และยุงลายบ้าน (*Ae. Aegypti*) ด้วยวิธีการสกัดแบบซอกซ์เลต (Soxhlet) โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ อะซิโตน (acetone) เมทานอล (methanol) คลอโรฟอร์ม (chloroform) และเอทิลอะซิเตต (ethyl acetate) พบว่า มีค่า LC_{50} ภายหลังการทดสอบกับลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Ae. Aegypti*) ที่ 24 ชั่วโมง เท่ากับ 58, 121, 112 และ 204 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (Ramkumar *et al.*, 2016) นอกจากนี้ในปีเดียวกัน Vignesh *et al.* (2016) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากใบเขยตายด้วยวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยไอน้ำ (hydrodistillation) พบว่า มีค่า LC_{50} ภายหลังการทดสอบกับลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 32.481 และ 21.451 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่า ฤทธิ์ของสารสกัดจากใบเขยตายต่อลูกน้ำยุงลายบ้านมีประสิทธิภาพที่สูงกว่าการศึกษาในครั้งนี้อย่างเห็นได้ชัด เป็นไปได้ว่า วิธีในการสกัด ตัวทำละลายที่ใช้ มีความแตกต่างกัน ซึ่งวิธีการสกัดแบบซอกซ์เลตถือเป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous extractor) ทำให้ตัวทำละลายไหลเวียน

ในระบบและเกิดการชะสารถออกจากตัวพืชได้แบบหมุนเวียน อีกทั้งการใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เป็นผลทำให้ตัวถูกสกัดหรือพืชถูกดึงสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ในปริมาณที่แตกต่างกันออกไปตามหลักของความมีขั้วของตัวทำละลาย (solvent polarity) ตั้งแต่ความไม่มีขั้วหรือมีขั้วน้อยไปจนกระทั่งมีขั้วสูง อาทิ เฮกเซน/ปิโตรเลียมอีเทอร์ เป็นสารไม่มีขั้ว มักสกัดได้กลุ่มของน้ำมัน (essential oil) ในคลอโรฟอร์ม/เอทิลอะซิเตต จะมีขั้วปานกลาง ซึ่งสกัดได้สารในกลุ่มสเตียรอยด์และอัลคาลอยด์ สำหรับการใช้น้ำเป็นตัวสกัดจะได้สารที่มีความเป็นขั้วสูง มักได้ตะกอนโปรตีนและไกลแคน (Ghosh *et al.*, 2012) ทั้งนี้ มีรายงานขององค์ประกอบทางเคมี (Chemical composition) ของเขยตายโดยรวมมากกว่า 50 ชนิด เช่น biocyclo (6.1.0) non-1-ene, benzaldehyde oxime, caryophyllene oxide และ aromadendrene เป็นต้น (Vegnesh *et al.*, 2016) ซึ่งเป็นไปได้ว่า สารสำคัญเหล่านี้อาจส่งผลต่ออัตราการตายของลูกน้ำยุงได้ นอกจากนี้อาจสกัดสารเหล่านี้ออกมาได้ในปริมาณที่แตกต่างกันตามวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ละเอียดและชัดเจนมากขึ้น ในการศึกษาครั้งต่อไป ควรทำการแยกการทดสอบฤทธิ์ของสารเหล่านี้

สรุปผลการวิจัย

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบเขยตายต่อการควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้านในครั้งนี้ พบว่า สารสกัดจากใบเขยตายที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้งเฮกเซนและแอลกอฮอล์มีประสิทธิภาพในการควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้านในวัย 3-4 ได้ดี และเมื่อระยะเวลาที่ลูกน้ำยุงลายบ้านได้สัมผัสสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายทั้งสองชนิดนานขึ้นอัตราการตายก็เพิ่มขึ้นตามไปด้วย จึงมีแนวโน้มที่ดีที่จะนำ

สารสกัดจากใบเขยตายนี้มาประยุกต์ใช้ในการป้องกันกำจัดลูกน้ำยุงลายรวมถึงแมลงศัตรูชนิดอื่นๆ ที่เป็นปัญหาทางทั้งด้านสาธารณสุขและการเกษตร ทั้งนี้สามารถใช้เป็นทางเลือกหนึ่งให้กับประชาชนในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรในท้องถิ่นแทนการใช้สารเคมีต่อไป อย่างไรก็ตามมีข้อเสนอแนะว่าการศึกษาวิจัยในครั้งต่อไปควรจะต้องศึกษาองค์ประกอบของสารเคมีอย่างละเอียดและแยกทดสอบ และพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการกำจัดยุงหรือไล่ยุงให้สะดวกต่อการใช้งานต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กรมควบคุมโรค. 2562. สถานการณ์โรคไข้เลือดออก. แหล่งข้อมูล <https://ddc.moph.go.th/uploads/ckeditor/6f4922f45568161a8cdf4ad2299f6d23/files/Dangue/Situation/2562/DHF%2029.pdf> (31 กรกฎาคม 2562).
- นิดา นันทกรปรีดา สมฤทัย ในแสน กิรติ ต้นเรือน พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ มนตรา ศรีษะแย้ม ดุซิด โปธิ์ทอง และ ยุวดี ตรงต่อกิต. 2560. ฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ของสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า (*Annona squamosa*) ที่หมักด้วยน้ำส้มควันไม้. PSRU Journal of Science and Technology. 2(3): 33-40.
- พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ และเฉลิมพร ทองพูน. 2558. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากดอกพญาสัตบรรณที่มีต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน. สักทอง:วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สทวท.). ปีที่ 2 ฉบับที่ 2 (กรกฎาคม-ธันวาคม) น. 23-29.
- Abbott, W.S. 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. Journal of Economic Entomology. 18: 265-267.
- Ansari, P., A. Ulla, A.R.U. Islam, M. Sultana, M.N. Alam, M. Mustakim and M.N. Uddin. 2015. Ex-vivo cytotoxic, antibacterial and DPPH free radical scavenging assay with 171 ethanolic leaf extract of *Glycosmis pentaphylla* to justify its traditional use. Biomedical Research and Therapy. 2(7): 324-332.
- Bulbul, I. and N. Jahan. 2016. Study on antioxidant and antimicrobial activities of methanolic leaf extract of *Glycosmis pentaphylla* against various microbial strains. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 5(4): 53-57.
- Finney, D.J. 1971. Probit analysis. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Ghosh, A., N. Chowdhury and G. Chandra. 2012. Plant extracts as potential mosquito larvicides. Indian J Med Res. 135: 581-598.
- Howlader, M.A., F. Rizwan, S. Sultana, M.R. Rahman, K.M. Shams-Ud-Doha, R. Mowla and A.S. Apu. 2011. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic effects of methanolic extracts of leaves and stems of *Glycosmis pentaphylla* (Retz.). J App Pharm Sci. 1(8): 137-140.

- Mukandiwa, L., J. Eloff and V. Naidoo. 2015. Larvicidal activity of leaf extracts and seselin from *Clausena anisata* (Rutaceae) against *Aedes aegypti*. South African journal of botany. 100: 169-173.
- Oshangi, M.A., R. Ghalandari, H. Vatandoost, M. Shayeghi, M. Kamali-nejad, H. Tourabi-Khaledi, M. Abolhassani and M. Hashemzadeh. 2003. Repellent effect of extracts and essential oils of Citrus limon (Rutaceae) and Melissa officinalis (Labiatae) against main malaria vector, Anopheles stephensi (Diptera: Culicidae). Iranian Journal of Public Health. 2003(32): 47-52.
- Ramkumar, G., S. Karthi, R. Muthusamy, D. Natarajan and M.S. Shivakumar. 2015. Insecticidal and repellent activity of *Clausena dentata* (Rutaceae) plant extracts against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* mosquitoes (Diptera: Culicidae). Parasitol. Res. 114(3): 1139-1144.
- Ramkumar, G., S. Karthi, R. Muthusamy, P. Suganya, D. Natarajan, E.J. Kweka. 2016. Mosquitocidal effect of *Glycosmis pentaphylla* leaf extracts against three mosquito species (Diptera: Culicidae). PLoS ONE. 11(7): 1-11.
- Soonwera, M. 2015. Larvicidal and oviposition deterrent activities of essential oils against house fly (*Musca domestica* L.; Diptera: Muscidae). International Journal of Agricultural Technology. 11(3): 657-667.
- Soonwera, M. and S. Phasomkusolsil. 2017. Adulticidal, larvicidal, pupicidal and oviposition deterrent activities of essential oil from *Zanthoxylum limonella* Alston (Rutaceae) against *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 7(11): 967-978.
- Sreejith, P.S. and V.V. Asha. 2015. Glycopentalone, a novel compound from *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) Correa with potent anti-hepatocellular carcinoma activity. J Ethnopharmacol. 22(172): 38-43.
- Tanruean, K., T. Napiroon, S. Phusing, J.R.D. Torres, P.M. Villanueva and P. Poolprasert. 2019. Larvicidal effects of *Paederia pilifera* Hook.f. leaf and *Cuscuta reflexa* Roxb. stem extracts against the dengue vector mosquito *Aedes aegypti* Linn. The Journal of Applied Science. 18(1): 31-38.
- Thongpoon, C. and P. Poolprasert. 2015. Phytochemical screening and larvicidal activity of *Millingtonia hortensis* L.f. flower extract against *Aedes aegypti* Linn. Kasetsart Journal (Natural Science). 49(4): 597-605.

- Vignesh, A., D. Elumalai, P. Rama, K. Elangovan and K. Murugesan. 2016. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oil of *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) against three mosquito vectors. 3(2): 62-67.
- Yanng, K., S.S. Guo, W.J. Zhang, C.F. Wang, J. Han, Z.F. Geng, Y. Wu, S.S. Du and Z.W. Deng. 2015. Repellent activity of *Glycosmis* plant extracts against two stored product insects. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 14(6): 462-469.