บทความวิจัย (Research Article)

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรด้วยเอทานอลในการไล่แมลงวันหัวเขียวในกระบวนการตากปลาสลิดแดดเดียว

อิสสริยา เอี่ยมสุวรรณ[1*], วิชาญ จันทร์วิทยานุชิต[2], อรัญญา จุติวิบูลย์สุข[2], สุวรรณา เสมศรี[3], ณัฐริณี หอระตะ[1] และ ภูริต ธนะรังสฤษฎ์[2]

Comparative repellent efficiency of herbal crude ethanolic extracts on blow fly around sun-dried snakeskin gourami fish process

Issariya Ieamsuwan[1*], Wicharn Janwitayanuchit[2], Aranya Jutiviboonsuk[2], Suwanna Semsri[3], Natharinee Horata[1] and Phurit Thanarangsarit[2]

[1] Division of Clinical Immunology, Faculty of Medical Technology, Huachiew Chalermprakiet University, Samutprakarn 10540

[2] Division of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Huachiew Chalermprakiet University, Samutprakarn 10540

[3] Division of Clinical Microscopy, Faculty of Medical Technology, Huachiew Chalermprakiet University, Samutprakarn 10540

* Correspondence author: iss_i@yahoo.com

Naresuan Phayao J. 2021;14(2):83-92.

Received; 24 November 2020; Revised: 30 December 2020; Accepted: 19 August 2021

บทคัดย่อ

ในขั้นตอนการตากปลาสลิดแดดเดียว อาจจะพบแมลงวันซึ่งเป็นพาหะนำโรคไปสู่มนุษย์ เพื่อการลดจำนวนแมลงวันดังกล่าวและหนอนแมลงวันที่ทำให้ปลาเน่าเสียอย่างรวดเร็ว งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรไล่แมลงวันหัวเขียวในกระบวนการทำปลาสลิดแดดเดียว และเป็นทางเลือกหนึ่งที่ปลอดภัยต่อสุขภาพทั้งผู้ผลิต ผู้บริโภค และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยใช้สารสกัดหยาบของสมุนไพร 7 ชนิด ที่สกัดด้วยเอทานอลได้แก่ เมล็ดพริกไทยดำ เหง้าข่า ใบโหระพา กาบใบตะไคร้ เปลือกผลมะนาว เปลือกผลมะกรูด และรากหนอนตายหยาก เนื้อปลาสลิดถูกเตรียมและชุบสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 500, 250 และ 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ชุบน้ำกลั่นจากนั้นนำไปตากแดด สังเกตุและบันทึกจำนวนของแมลงวันที่ตอมปลาสลิดเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดจากกาบใบตะไคร้ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีจำนวนแมลงวันที่เข้ามาตอมปลาสลิดน้อยที่สุด ค่าเฉลี่ยร้อยละของการไล่แมลงวัน คือ 86.8 นอกจากนี้พบว่าสารสกัดจากกาบใบตะไคร้ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวเคลียสเดี่ยวคนปกติ โดยวิธี MTT ดังนั้นสารสกัดจากกาบ

[1] กลุ่มวิชาภูมิคุ้มกันวิทยา คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสมุทรปราการ 10540

[2] กลุ่มวิชาเภสัชเคมีและเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสมุทรปราการ 10540

[3] กลุ่มวิชาจุลทรรศนศาสตร์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสมุทรปราการ 10540

ใบตะไคร้สามารถนำไปเป็นแนวคิดในการต่อยอดพัฒนาผลิตภัณฑ์ไล่แมลงวันในกระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์ปลาสลิดแดดเดียว เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งที่ปลอดภัยต่อสุขภาพทั้งผู้ผลิต ผู้บริโภค และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

คำสำคัญ: ปลาสลิดแดดเดียว, สารสกัดสมุนไพรไทย, ผลิตภัณฑ์ไล่แมลงวัน

Abstract

Dry-salted snakeskin gourami fish is preserving food product which is preferred by consumers. For sun drying method, many flies found in fish drying areas. Flies were vectors carried the pathogens to human such as the food borne illness. In particular, blow fly was the most found from our survey. To decrease the number of flies causing the foodborne illness and fly larvae which made fish to rot quickly. This research aimed to compare the blow fly repellent effects of the herbs ethanolic crude extracts in the dry-salted snakeskin gourami fish, in order to apply for the fly repellent in the dry-salted processes. The seven herb ethanolic extracts include *Piper nigrum* Linn., *Alpinia galanga* (L.) Willd, *Ocimum basilicum* L., *Cymbopogon citratus* Stapf, *Citrus aurantiifolia* (Christm.) Swingle, *Citrus hystrix* DC., and *Stemona collinsae* Craib were tested the repellent effects. Snakeskin Gourami fish were prepared by dipping with each herbal extract at 500, 250, and 125 µg/ml, respectively and dipping with water for the control group, then dried in outdoor areas. In order to determine the number of flies, observation and number of flies that swarm around the Snakeskin Gourami fish were recorded. The results showed that *C. citratus* extract at 500 µg/ml had the most blow fly repellent effects found the significant lowest of fly number and the average repellency rate was 86.8%. Additional, *C. citratus* extract did not cause cytotoxic effects to peripheral blood mononuclear cells by MTT method. Therefore *C. citratus* extract at 500 µg/ml was safe for using for the fly repellant. In conclusion, *C. citratus* showed the most effective that significantly repelled flies compared with the control group, it should be developed for the fly repellant production. The using of herbs for repelling flies was one options that might be safe for health of producers, consumers and environmentally friendly.

Keywords: Dried salted snakeskin gourami fish, Thai herbal extracts, Fly repellent

บทนำ

แมลงวันเป็นพาหะนำพาโรคมาสู่มนุษย์ เป็นสาเหตุการเกิดโรคท้องร่วงและอหิวาตกโรค ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ จากการสำรวจในประเทศไทยพบว่า แมลงวันที่พบได้มากที่สุดในชุมชนและชอบหากินใกล้ชิดกับคน คือแมลงวันบ้าน (*Musca domestica*) และแมลงวันหัวเขียว (*Chrysomya megacephala*) ซึ่งเป็นแมลงวันที่มีความสำคัญทางการแพทย์ เนื่องจากเมื่อแมลงวันตอมหรือกินอาหารทำให้เกิดเชื้อโรคปนเปื้อนอาหาร [1,2,3]

ปลาสลิดแดดเดียวเป็นผลิตภัณฑ์ขึ้นชื่อของจังหวัดสมุทรปราการ โดยเฉพาะปลาสลิดบางบ่อจะมีเอกลักษณ์เฉพาะตัว มีรสชาติอร่อยแตกต่างจากแหล่งอื่นจึงเป็นที่นิยมและมีชื่อเสียงเป็นที่รู้จักไปทั่วประเทศ [4] กระบวนการทำปลาสลิดแดดเดียว มีหลายขั้นตอน ตั้งแต่การนำปลาสลิดสดที่โตเต็มวัยมาขอดเกล็ด ตัดหัว ควักไส้ปลาออกและล้างทำความสะอาดแล้วนำไปหมักเกลือด้วยวิธีแบบโบราณ แล้วนำมาตากแดดเป็นเวลาครึ่งวันถึงหนึ่งวัน [5] เพื่อให้บริเวณที่ผลิตปลาสลิดแดดเดียวมีสุขลักษณะที่ดี และผู้ผลิตปลอดภัยจากแมลงวันรบกวน โดยในขั้นตอนการเตรียมปลาสลิดแดดเดียวสามารถพบทั้งแมลงวันบ้านและแมลงวันหัวเขียวมาตอมปลาสลิด ผู้ผลิตบางรายอาจจะมีการฉีดพ่นยาฆ่าแมลงหรือฟอร์มาลินเพื่อป้องกันแมลงวันหรือแมลงอื่นๆ รบกวน และป้องกันไม่ให้ปลาสลิดเน่าเสียเร็ว [6] ดังนั้นการนำสมุนไพรที่มีฤทธิ์ไล่

หรือฆ่าแมลงวันมาประยุกต์ใช้ในการแปรรูปปลาสลิด ในขั้นตอนของการตากปลา เป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยให้ผลิตภัณฑ์ปลาสลิดแดดเดียวมีคุณภาพและมีความปลอดภัยต่อทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค อีกทั้งยังช่วยลดโอกาสที่จะเกิดการดื้อยาของแมลงและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

จากการศึกษาฤทธิ์ไล่หรือฆ่าแมลงวันของพืชสมุนไพรหลายชนิดในห้องปฏิบัติการ เช่น น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้สามารถขับไล่ ป้องกัน และกำจัดแมลงวันบ้านตัวเต็มวัยได้ [7, 8] สารสกัดจากใบโหระพาและเปลือกผลมะนาวมีฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อน ไล่และยับยั้งการวางไข่ของแมลงวัน น้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 มีประสิทธิภาพดีในการไล่แมลงวันบ้าน [9, 10] น้ำมันหอมระเหยจากเปลือกผลมะนาวมีประสิทธิภาพในการฆ่าแมลงวันบ้าน และเมื่อทำการทดสอบโดยการชุบตัวอย่างชิ้นเนื้อด้วยสารสกัดจากใบมะนาวพบว่าสามารถไล่แมลงวันบ้านได้ [11] น้ำมันหอมระเหยจากเปลือกผลมะกรูดมีฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของแมลงวันบ้านและแมลงวันหัวเขียว [12, 13] สารสกัดเอทานอลจากเมล็ดพริกไทยดำมีฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อนและไล่แมลงวันบ้าน [14] หนอนตายหยากเป็นสมุนไพรอีกชนิดที่มีรายงานการศึกษาความเป็นพิษต่อตัวอ่อนของแมลงวันบ้าน ทำให้หนอนแมลงวันตายร้อยละ 69 ภายในเวลา 102 ชั่วโมง [15] สารสกัดข่าทำให้หนอนและตัวเต็มวัยแมลงวันบ้านตายร้อยละ 82-100 หลังการทดลอง 72 ชั่วโมง [16]

เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคและยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยของการผลิตปลาสลิดแดดเดียว การศึกษาครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการไล่แมลงวันหัวเขียวของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรด้วยเอทานอลในขั้นตอนการตากปลาสลิดเพื่อทำปลาสลิดแดดเดียว สมุนไพรที่ได้จะถูกนำไปเป็นพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรไล่แมลงวันที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค เพื่อนำไปใช้ไล่แมลงวันในกระบวนการทำปลาสลิดแดดเดียวต่อไป

วัสดุและวิธีการ

พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองทั้ง 7 ชนิด ประกอบด้วย เมล็ดพริกไทยดำ (*Piper nigrum* Linn.), เหง้าข่า (*Alpinia galanga* (L.) Willd), ใบโหระพา (*Ocimum basilicum* L.), กาบใบตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* Stapf), เปลือกผลมะนาว (*Citrus aurantiifolia (Christm.)* Swingle), เปลือกผลมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) และรากหนอนตายหยาก (*Stemona collinsae* Craib) พืชสมุนไพรถูกนำไปอบเพื่อไล่ความชื้นด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บดด้วยเครื่องบดแล้วเก็บในภาชนะที่ปิดสนิท ตั้งไว้ในที่แห้ง ณ อุณหภูมิห้องและปราศจากแสง พืชแต่ละชนิดถูกสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ในอัตราส่วนพืช ต่อ ตัวทำละลายเอทานอล 1 ต่อ 8 ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดมากรองผ่านกระดาษ Whatman No.1 โดยใช้เครื่องดูดสุญญากาศ (vacuum suction pump) ช่วยในการกรอง และนำไประเหยแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่องระเหยแห้งแบบหมุนชนิดสุญญากาศ (vacuum rotary evaporator) สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลที่ได้จะเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

งานวิจัยนี้ได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ (อ.572/2560) โดยเก็บเลือดจากกลุ่มตัวอย่างซึ่งเป็นอาสาสมัครในคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่มีสุขภาพดี เก็บเลือดจากหลอดเลือดดำที่แขน (venipuncture) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดแยกเซลล์ PBMC สำเร็จรูป (BD vacutainer CPT) ทำการปั่นแยกเซลล์ที่ความเร็ว 1,800 x g. เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นทำการเก็บเซลล์ PBMC แล้วปั่นล้างด้วย sterile phosphate buffered saline จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที ที่ความเร็ว 300 x g. หลังจากนั้นเก็บเซลล์เพื่อทำการทดสอบต่อไป [17]

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดี่ยว (PBMC) ใช้เซลล์ความเข้มข้น 3.5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพาะเลี้ยงเซลล์ใน 96-well tissue culture plate ด้วย

อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด RPMI 1640 ที่มีซีรัมของตัวอ่อนลูกวัว (fetal bovine serum) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มในตู้อบ 37 องศาเซลเซียส ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเติม 100 ไมโครลิตร อาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนผสมของสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยในชุดควบคุม (vehicle control หรือ VC) เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีเฉพาะ dimethyl sulfoxide (DMSO) โดยมีความเข้มข้นสุดท้ายเป็นร้อยละ 0.4 เลี้ยงเซลล์นาน 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเติม 20 ไมโครลิตรของสารละลาย MTT [3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-5 iphenyltetrazolium bromide] ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วบ่มต่ออีก 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเทส่วนใสทิ้งให้เหลือแต่ผลึกที่ก้นหลุม หลังจากนั้นเติม DMSO จำนวน 150 ไมโครลิตร เพื่อละลายผลึกฟอร์มาซาน (formazan) ที่เกิดขึ้น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 และ 620 nm. เป็น reference wavelength โดยในแต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 3 หลุม และแต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน การคำนวณร้อยละของการมีชีวิตของเซลล์ (% cell viability) โดยเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงในหลุมควบคุม ดังสมการ ร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ (% cell viability) = (ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบ / ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม) x 100 [18,19]

ศึกษาประสิทธิภาพสมุนไพรไล่แมลงวัน ในการสำรวจจำนวน และชนิดของแมลงวัน พบว่าแมลงวันที่มาตอมปลาสลิดในขั้นตอนการทำปลาสลิดแดดเดียวมีสัดส่วนของแมลงวันหัวเขียวต่อแมลงวันบ้านเป็น 3.5 ต่อ 1 ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นไปที่การสังเกตแมลงวันหัวเขียวเป็นหลัก ปลาสลิดที่นำมาใช้ในการทำปลาสลิดแดดเดียวเพื่อใช้ในการทดลองนี้ได้มาจาก 2 แหล่ง คือ อ.บางพลี และ อ.บางบ่อ ลักษณะบ่อเป็นบ่อดินเลี้ยงแบบธรรมชาติ ปลาสลิดที่ได้มาจากการสุ่ม โดยเฉลี่ยอายุปลาประมาณ 6-7 เดือน สารสกัดสมุนไพรทั้ง 7 ชนิด ที่ถูกเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 500, 250 และ 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำเนื้อปลาสลิดสดที่แล่เตรียมไว้ชุบสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 วินาที กลุ่มควบคุมชุบปลาสลิดด้วยน้ำกลั่น โดยใช้ปลาสลิด 1 ตัวต่อ สารสกัด 1 ความเข้มข้น ตากปลาในกระด้งบริเวณที่มีแดดตามธรรมชาติ จากนั้นเลือกสารสกัดสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการไล่แมลงวันหัวเขียวได้ดี 3 อันดับแรก เพื่อนำสารสกัดสมุนไพรมาผสมกันในอัตราส่วนสมุนไพรแต่ละชนิดเป็น 1:1 โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิด 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำปลาสลิดที่ชุบสารสกัดสมุนไพรตากปลาในกระด้งบริเวณที่มีแดดตามธรรมชาติ

สังเกตจำนวนแมลงวันหัวเขียวที่เข้ามาตอมปลาสลิดและบันทึกผลภายในระยะเวลา 1 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ค่าร้อยละการไล่แมลงวันของสารสกัดสมุนไพร (% repellency; %R) คำนวณ โดยใช้สูตร R (%) = [(Nc – Nt)/Nc] x 100 โดย Nc คือ จำนวนของแมลงวันหัวเขียวที่ตอมปลาสลิดที่ชุบด้วยน้ำกลั่น (negative control) ส่วน Nt คือ จำนวนของแมลงวันหัวเขียวที่ตอมปลาสลิดที่ชุบสารสกัดสมุนไพร คำนวณจำนวนการตอมของแมลงวันหัวเขียวและวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) โดยเทียบกับกลุ่มควบคุม

ผลการศึกษา

สารสกัดหยาบของสมุนไพรที่ได้มี % yield ดัง**ตาราง 1** โดยสารสกัดที่มี % yield สูงสุดเรียงตามลำดับคือ เหง้าข่า เปลือกมะนาว ใบโหระพา กาบใบตะไคร้ เปลือกผลมะกรูด รากหนอนตายหยากและเมล็ดพริกไทยดำ ลักษณะของสารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะต่อไปนี้ สารสกัดหยาบจากเมล็ดพริกไทยดำเป็นของแข็ง สีน้ำตาลเข้ม มีกลิ่นพริกไทย สารสกัดหยาบจากเหง้าข่ามีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว มีน้ำมันลอยอยู่ด้านบนสีน้ำตาล มีกลิ่นข่า สารสกัดจากใบโหระพามีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว สีเขียวเข้ม มีกลิ่นโหระพา สารสกัดจากกาบใบตะไคร้มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว สีน้ำตาล มีกลิ่นตะไคร้ สารสกัดจากเปลือกผลมะนาวมีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว สีเขียวอ่อน มีกลิ่นมะนาว สารสกัดจากเปลือกผลมะกรูด กึ่งแข็งกึ่งเหลว สีเขียวเข้ม มีกลิ่นผิวมะกรูด สารสกัดจากรากหนอนตายหยากเป็นของแข็ง สีน้ำตาล มีกลิ่นเฉพาะ

ตาราง 1 พืชสมุนไพร น้ำหนักแห้ง น้ำหนักสารสกัดหยาบและปริมาณสารสกัด

พืช	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)	ปริมาณสารสกัด (% Yield)
เมล็ดพริกไทยดำ	1,962	72.53	3.70
เหง้าข่า	750	146.76	19.57
ใบโหระพา	975	106.86	10.96
กาบใบตะไคร้	1,374	121.57	8.85
เปลือกผลมะนาว	626	81.88	13.08
เปลือกผลมะกรูด	1,400	122.99	8.79
รากหนอนตายหยาก	1,515	98.37	6.49

จากการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 7 ชนิด ต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวเคลียสเดี่ยวคนปกติ โดยวิธี MTT พบว่าสารสกัดหนอนตายหยาก ใบโหระพา และกาบใบตะไคร้ ที่ถูกเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวเคลียสเดี่ยวคนปกติ ในขณะที่สารสกัดจากเมล็ดพริกไทยดำ เปลือกมะนาวและมะกรูด เหง้าข่า มีความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวเคลียสเดี่ยวคนปกติ โดยยับยั้งการเจริญของเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวเคลียสเดี่ยวคนปกติครึ่งหนึ่ง (the half maximal inhibitory concentration (IC_{50})) ที่ระดับความเข้มข้น 94.20, 56.19, 45.80 และ 10.71 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ **(ตาราง 2)**

ตาราง 2 ความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวเคลียสเดี่ยว ด้วยวิธี MTT

สารสกัดสมุนไพร	ความเข้มข้นของสารสกัดที่มีความเป็นพิษ (IC_{50}) ต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวเคลียสเดี่ยว (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		
	Mean	SD	SEM
เมล็ดพริกไทยดำ	94.20	7.30	4.20
เหง่าข่า	10.71	1.75	1.01
ใบโหระพา	>500	0.00	0.00
กาบใบตะไคร้	>500	0.00	0.00
เปลือกผลมะนาว	56.19	12.33	7.12
เปลือกผลมะกรูด	45.80	8.25	4.76
รากหนอนตายหยาก	>500	0.00	0.00

การศึกษาประสิทธิภาพสมุนไพรไล่แมลงวันหัวเขียว โดยการสังเกตและบันทึกการทดลองจำนวนแมลงวันหัวเขียวที่เข้ามาตอมปลาสลิดที่ชุบสารสกัดสมุนไพร 7 ชนิดที่ถูกเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 500, 250 และ 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้แก่ เมล็ดพริกไทยดำ เหง้าข่า ใบโหระพา กาบใบตะไคร้ เปลือกผลมะนาว เปลือกผลมะกรูด และรากหนอนตายหยาก โดยที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากกาบใบตะไคร้มีจำนวนแมลงวันหัวเขียวที่เข้ามาตอมปลาสลิดที่ตากไว้น้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ (%R=86.82) รองลงมาคือ สารสกัดจากเมล็ดพริกไทยดำ (%R=76.93) และใบโหระพา (%R=75.81) ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากเปลือกผลมะนาว มีจำนวนแมลงวันที่เข้ามาตอมปลาสลิดน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ (%R=82.40) รองลงมาคือสารสกัดจากกาบใบตะไคร้ (%R=79.10) ที่ความเข้มข้น 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากเปลือกผลมะกรูด มีจำนวนแมลงวันที่เข้ามาตอมปลาสลิดน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ (%R=85.69) รองลงมาคือ สารสกัดจากรากหนอนตายหยาก (%R=78.05) เปลือกผลมะนาว (%R=75.81) และกาบใบตะไคร้ (%R=74.75) ตามลำดับดัง**ตาราง 3** จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากใบโหระพา กาบใบตะไคร้ มีประสิทธิภาพในการไล่แมลงมากขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพร (dose dependent)

ตาราง 3 ค่าเฉลี่ยร้อยละของการไล่แมลงวันของสารสกัดสมุนไพรแบบเดี่ยวที่ 3 ความเข้มข้น 500, 250 และ 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

สมุนไพร	**ค่าเฉลี่ยร้อยละของการไล่แมลงวัน (%)**		
	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		
	125	**250**	**500**
เมล็ดพริกไทยดำ	70.34±2.43*	69.22±1.75*	76.93±1.38*
เหง่าข่า	62.62±2.58*	61.57±3.31*	43.97±2.88*
ใบโหระพา	59.33±2.86*	67.04±2.45*	75.81±1.03*
กาบใบตะไคร้	74.75±2.40*	79.10±0.98*	86.82±0.89*
เปลือกผลมะนาว	75.81±1.03*	82.40±0.52*	73.63±0.89*
เปลือกผลมะกรูด	85.69±0.98*	74.75±2.14*	71.46±1.51*
รากหนอนตายหยาก	78.05±1.75*	60.45±5.33*	43.97±2.59*

**P*-value < 0.05

จากผลการทดลองการชุบสารสกัดสมุนไพรแบบผสม โดยการสังเกตและบันทึกการทดลองจำนวนแมลงวันหัวเขียวที่เข้ามาตอมปลาสลิดที่ชุบสารสกัดสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ เมล็ดพริกไทยดำ ใบโหระพา และกาบใบตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยบันทึกผลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง และทำการทดลอง 3 ซ้ำ พบว่า สารสกัดจากกาบใบตะไคร้กับใบโหระพาโดยผสม 1:1 มีจำนวนแมลงวันที่เข้ามาตอมปลาสลิดน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ (%R=52.61) **ตาราง 4**

ตาราง 4 ค่าเฉลี่ยร้อยละของการไล่แมลงวันของสารสกัดสมุนไพรแบบผสม ได้แก่ เมล็ดพริกไทยดำ ใบโหระพา และกาบใบตะไคร้ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ชื่อสมุนไพร (ความเข้มข้นของสารสกัด 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยร้อยละของการไล่แมลงวัน (%) (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)
เมล็ดพริกไทยดำกับใบโหระพา (1:1)	36.81±1.00
เมล็ดพริกไทยดำกับกาบใบตะไคร้ (1:1)	42.02±1.15
กาบใบตะไคร้กับใบโหระพา (1:1)	52.61±1.00*
เมล็ดพริกไทยดำ ใบโหระพา กาบใบตะไคร้ (1:1:1)	42.02±1.53

วิจารณ์

งานวิจัยชิ้นนี้เลือกศึกษาเฉพาะแมลงวันหัวเขียวเนื่องจากการสำรวจเบื้องต้นพบจำนวนของแมลงวันที่ตอมปลาสลิดในขั้นตอนการตากปลา มีสัดส่วนของแมลงวันบ้านน้อยเมื่อเทียบกับแมลงวันหัวเขียว ซึ่งสอดคล้องกับพฤติกรรมของแมลงวันหัวเขียวที่ชอบตอมและกินอาหารที่เป็นเนื้อสัตว์และมักมีการผสมพันธุ์บริเวณแหล่งอาหารที่มีโปรตีนสูง ต่างจากแมลงวันบ้านที่ชอบกินอาหารจำพวกแป้งและมีการผสมพันธุ์บริเวณแหล่งอาหารที่เป็นพวกผักและข้าว [2] นอกจากนี้แมลงวันหัวเขียวยังเป็นพาหะนำโรคได้มากกว่าแมลงวันบ้าน เนื่องจากขนาดของลำตัวที่มีขนาดใหญ่จึงมีโอกาสที่จะพาเชื้อโรคต่างๆ เกาะติดกับลำตัวและขาได้มากกว่าแมลงวันบ้าน [20]

จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสมุนไพรไล่แมลงวันหัวเขียวในกระบวนการผลิตปลาสลิดแดดเดียว ในขั้นตอนการตากแห้งปลา พบว่าสมุนไพรทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ เมล็ดพริกไทยดำ เหง้าข่า ใบโหระพา กาบใบตะไคร้ เปลือกผลมะนาว เปลือกผลมะกรูด รากหนอนตายหยาก สามารถลดจำนวนการตอมของแมลงวันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งชุบด้วยน้ำกลั่น สารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดมีองค์ประกอบของสารพฤกษเคมี (phytochemical) ซึ่งมี เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จากการศึกษาพบว่าสารกลุ่ม alkaloids, steroids, terpenoids, essential oils และ phenolic ซึ่งมีคุณสมบัติในการกำจัดแมลง [21] นอกจากนี้สารสกัดสมุนไพรยังมีกลิ่นจำเพาะซึ่งอาจจะมีผลในการไล่แมลงวันได้ดียิ่งขึ้น เมื่อพิจารณาจากจำนวนการตอมของแมลงวันหัวเขียวพบว่า สารสกัดจากกาบใบตะไคร้ให้ผลดีที่สุด โดยที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวนแมลงวันหัวเขียวที่เข้ามาตอมปลาสลิดน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยความเข้มข้นดังกล่าวไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวเคลียสเดี่ยวคนปกติ ซึ่งเป็นตัวแทนของเซลล์ปกติโดยวิธี MTT การศึกษาก่อนหน้านี้รายงานว่าสารสกัดตะไคร้ที่สกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ normal human fibroblast cell line และ peripheral blood nuclear cells จากคนปกติ ไม่เหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบอะพอพโทซิสเมื่อทำการศึกษาด้วยการย้อมสี Annexin V และ propidium iodide บนผิวของเซลล์ และตรวจวัดด้วยเครื่อง flow cytometer [19]

ในการศึกษาครั้งนี้ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ มยุรา สุนย์วีระและคณะ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้านมีคุณสมบัติในการกำจัดแมลงวันบ้านตัวเต็มวัย (*Musca domestica* L.) ได้ดี หลังการทดลองเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 พบการตายของแมลงวันบ้านตัวเต็มวัยร้อยละ 100 และการศึกษาของ Kumar P และคณะ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้สามารถควบคุมแมลงวันบ้านได้โดยทดสอบกับตัวอ่อนและดักแด้แมลงวันด้วยวิธีการรมควัน พบว่ามีฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อน (lethal dose fifty เท่ากับ 48.6 ไมโครลิตรต่อลิตร) และยับยั้งการเจริญของดักแด้เป็นตัวเต็มวัย (percent inhibition rate ร้อยละ 100) จากศึกษาก่อนหน้าแสดงให้เห็นว่า

การศึกษาประสิทธิภาพในการไล่แมลงวันของตะไคร้จะมุ่งเน้นศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยเป็นหลัก จากการศึกษาของจิริสุดา สินธุศิริ และคณะ พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอมมีประสิทธิภาพในการไล่แมลงวันบ้านได้ดีที่สุด รองลงมาคือตะไคร้บ้าน [22] ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ภานุกิจ กันหาจันทร์ และคณะ พบว่า น้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอมและโหระพาที่ความเข้มข้น 15% มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการไล่แมลงวันบ้าน โดยสารออกฤทธิ์ในน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม คือ geraniol, citronellal, camphor, cineol, eugenol, citral เป็นต้น [23] สารสกัดตะไคร้มีฤทธิ์ในการไล่และสามารถฆ่าตัวอ่อนและดักแด้แมลงวันได้ สารออกฤทธิ์ในน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ คือ citral และ 1,8-cineole [8] ซึ่งเป็นสารกำจัดตัวเต็มวัยของแมลง (Adulticidal activity) และเป็นสารสกัดจากพืชมีความเป็นพิษต่อแมลงโดยการสัมผัส การกิน หรือ การรมควัน เพื่อใช้เป็นสารไล่ สารล่อ และสารรมของแมลงศัตรูพืช [24] นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยยังมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารและมีฤทธิ์ต้านการอักเสบได้อีกด้วย [25] ในการทดลองนี้ศึกษาประสิทธิภาพการไล่แมลงวันโดยใช้สารกัดหยาบสมุนไพรด้วยเอทานอล สารออกฤทธิ์ที่พบในใบและลำต้นตะไคร้บ้าน คือ citral, myrcene, cineole, geraniol, menthol, citronellol, eugenol, inalool ซึ่งสารออกฤทธิ์ตะไคร้หอมและตะไคร้บ้านมีสารสำคัญคล้ายกันและมีกลิ่นสามารถไล่แมลงวันได้เช่นเดียวกัน แต่เนื่องจากงานวิจัยนี้มีไม่ได้นำกาบใบตะไคร้หอมมาทำการศึกษาเปรียบเทียบเนื่องจากตะไคร้หอมไม่นิยมนำมาประกอบอาหารและรับประทาน เพราะที่บริเวณลำต้นของตะไคร้หอมโดยเฉพาะรอยต่อระหว่างใบกับกาบใบจะมีกลิ่นฉุนมากกว่าตะไคร้บ้านมากและมีข้อควรระวังในการรับประทาน เช่น กระตุ้นการบีบตัวของมดลูก ยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อน ดังนั้นจึงนิยมนำตะไคร้หอมมาใช้ไล่ยุงเป็นส่วนใหญ่

จากการผลการทดลองเปรียบเทียบจำนวนการตอมของแมลงวันหัวเขียวของการชุบสารสกัดสมุนไพรแบบเดี่ยวและแบบผสม พบว่าแบบเดี่ยวให้ผลการทดลองที่ดีกว่าคือมีจำนวนการตอมของแมลงวันหัวเขียวน้อยกว่าแบบผสมซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นสารสกัดจากเมล็ดพริกไทยดำ ใบโหระพา และกาบใบตะไคร้ไม่มีคุณสมบัติในการเสริมฤทธิ์ (synergistic effect) กันในการไล่แมลงวัน

สารสกัดจากกาบใบตะไคร้มีคุณสมบัติที่ดีทั้งในการละลายน้ำ มีกลิ่นหอมจากตะไคร้ เมื่อนำมาชุบเนื้อปลาสลิดช่วยทำให้ลดกลิ่นคาวปลาและไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของเนื้อปลาและรสชาติของปลาสลิดแดดเดียว ตะไคร้ยังเป็นสมุนไพรที่ใช้ในการปรุงอาหารจึงมีความปลอดภัย เป็นสมุนไพรที่ปลูกง่าย นิยมปลูกตามบ้านเรือน ตามขอบบ่อเลี้ยงปลา และในจังหวัดสมุทรปราการสามารถหาซื้อได้ทั่วไป ราคาไม่แพง เกษตรกรผู้เลี้ยงและแปรรูปปลาสลิดตากแห้งสามารถนำต้นตะไคร้มาทำเป็นวัตถุดิบในการใช้ไล่แมลงวันได้ โดยที่ราคาไม่แพงและปลอดภัยต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค ดังนั้นสารสกัดจากกาบใบตะไคร้สามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถไล่แมลงวันหัวเขียวได้และมีราคาย่อมเยาว์

จากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่า สารสกัดจากกาบใบตะไคร้ให้ผลในการไล่แมลงวันหัวเขียวได้ดีที่สุดในการทดลองโดยจำลองสภาพแวดล้อมจริงในการตากปลาสลิดเมื่อเทียบกับกลุ่มเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และสามารถนำไปเป็นแนวคิดในการต่อยอดพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรไล่แมลงวันในกระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์ปลาสลิดแดดเดียวโดยใช้สารสกัดจากกาบใบตะไคร้ เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งที่ปลอดภัยต่อสุขภาพทั้งผู้ผลิต ผู้บริโภค และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติผู้ให้การสนับสนุนด้านงบประมาณทุนวิจัย และขอขอบคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่คณะเทคนิคการแพทย์และคณะเภสัชศาสตร์ หน่วยงานสนับสนุนต่างๆของมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติที่ให้ความอนุเคราะห์และสนับสนุนสิ่งอำนวยความสะดวกต่างๆ ในการทำงานศึกษาวิจัยชิ้นนี้ให้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Sukonthasan K, Sukonthasan K. Medical important flies in Thailand. Chiang Mai: Chiang Mai Digital Works Co., Ltd; 2005.
2. Suntharawithoon P. Flies: an important role in medicine. Songkhla Nakarin Medical Message. 2012; 30(3) :167-78.
3. Department of Fisheries. Department of Fisheries developed a good quality dry salted gourami fish production method. Technology chaoban. 2000; 12(242):82.
4. Ministry of Science and Technology. Processing ready-to-use information for gourami processing Bangkok: Office of the Library 3. Committee of Document Processing and Archives Department The Organizing Committee for His Majesty the King; 2013.
5. Tantawanich S, Akarachantachote N, Praykaew A, Chiewpricha Y, Pumtian J, Changtam C, et al. Community preparation: Thai geographical indication logo for Pla-Salid Bang-Bo, Samut Prakan Province. Area Based Development Research Journal. 2020; 12(4):289-306.
6. Samut Prakan Province 4- year development plan (2018- 2021) . Provincial Development Strategy Group Samut Prakan Provincial Office; 2017.
7. Soonwera M. Efficiency of crude extracts from some medicinal plants for controlling house fly ((*Musca domestica* L.). Proceedings of the 39th Kasetsart University Annual Conference: Plants, Agricultural Extension and Communication; 2001 Feb 5-7; Bangkok: Kasetsart University; 2001.
8. Kumar P, Mishra S, Malik A, Satya S. Housefly (*Musca domestica* L.) control potential of *Cymbopogon citratus* Stapf. (Poales: Poaceae) essential oil and monoterpenes (citral and 1,8-cineole). Parasitol Res. 2013; 112(1):69-76.
9. Morey Rashmi A. Evaluation of crude extracts of *Citrus limon* and *Ocimum basilicum* against *Musca domestica* L. National Conference on Environment and Development; 2016; 9(10):2016.
10. Rajan N. Orientational effect of aqueous leaf extract of *Citrus aurantifolia* on house fly, *Musca domestica* (diptera: Muscidae). Proceedings of the 2nd International Conference on Agriculture and Forestry, ICOAF; 2015 Jun 10-12; Colombo, Sri Lanka; 2015.
11. Palacios SM, Bertoni A, Rossi Y, Santander R, Urzua A. Efficacy of essential oils from edible plants as insecticides against the house fly, *Musca domestica* L. Molecules. 2009; 14:1938-47.
12. Suwannayod S, Sukontason K, Somboon P, Junkum A, Leksomboon R, Chaiwong T, et al. Activity of kaffir lime (*Citrus hystrix*) essential oil against blow flies and house fly. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2018; 49(1):32-46.
13. Mansour SA, Bakr RFA, Hamouda LS, Mohamed RI. Adulticidal activity of some botanical extracts, commercial insecticides and their binary mixtures against the housefly *Musca domestica* L. Egypt Acad J Biolog Sci. 2012; 5(1):151-67.
14. Bullangpoti V. Botanical insecticides in Thailand: Hopes and hindrances. Biopesticides international. 2009; 5(2):75-99.
15. Khoployklang K and Khoployklang J. Effect of dried extract of neem seeds (Azadirachta sp.), Annona sp.), Rootworm root (Stemona sp.) And derris sp. Death of larvae, flies, larvae,

mosquitoes, mosquitoes, and cattle ticks. RMUTSV Res. J. 2014; 6(1):39-47.

16. Sukontason KL, Boonchu N, Sukontason K, Choochote W. Effect of eucalyptol on house fly (diptera: Muscidae) and blow fly (diptera: Calliphoridae). Rev Inst Med trop S Paulo. 2004; 46(2):97-101.
17. Semsri S, Khawon T, Sukasem J, Janwitayanuchit W, Nilsri N and Homvisasevongsa S. Effect of *Eclipta prostrata*, *Chromolaena odorata*, *Centella asiatica* (Linn.) Urban and *Quercus infectoria* olivier extracts on in vitro hemostasis activities. Huachiew Chalermprakiet Science and Technology Journal 2017; 3(2):42-53.
18. Semsri S**,** Anuchapreeda S, Janwitayanuchit W. Inhibitory effects of crude ethanolic leave extract from *Moringa oleifera* Lam. on Wilms' tumor 1 protein expression in K562 leukemic cell line. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci, 2016; 49:53-64.
19. Philion C, Ma D, Ruvinov I, Mansour F, Pignanelli C, Noel M, et al. *Cymbopogon citratus* and Camellia sinensis extracts selectively induce apoptosis in cancer cells and reduce growth of lymphoma xenografts in vivo. Oncotarget, 2017; 8(67):110756-73.
20. Monzon RB, Sanchez AR, Tadiaman BM, Najos OA, Valencia EG, de Rueda RR, et al. A comparison of the role of *Musca domestica* (Linnaeus) and *Chrysomya megacephala* (Fabricius) as mechanical vectors of helminthic parasites in a typical slum area of Metropolitan Manila. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 1991 Jun; 22(2):222-228.
21. Shaalan EA, Canyon D, Younes MW, Abdel-Wahab H, Mansour AH. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. Environ Int. 2005; 31(8):1149-66.
22. Sinthusiri J and Soonwera M. Thai essential oils as botanical insecticide against house fly (*Musca domestica* L.). International Conference on Agricultural, Ecological and Medical Sciences (AEMS-2014); Feb 6-7; Bali (Indonesia); 2014.
23. Kunhachan P, Chompoosri J, Bhakdeenuan P, thiemsing L, Mukkhun P, Sirisopa P, et al. Efficacy of eight essential oils against housefly, *Musca domestica*. Journal of Health Science, 2018; 27(2): 364-75.
24. Natural pesticides from essential oils of plant. Information Repackaging. Science Library - Department of Science Service. March 2010
25. Rattanapitigorn P. Essential oils from plant extracts and theirs application as antimicrobial agents in food products. Journal of Food Technology, 2018; 13(2):1-10.