การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบเล็บครุฑที่มีต่อลูกน้ำยุงลาย

Study on Toxicity of Crude Extracts of *Polyscias fruticosa* Leaves Against Larva of *Aedes* sp.

ปุณยนุช สุขหิรัญ*[1] นรานันท์ ขำมณี[1] และอรวรรณ สืบเสน[2]

Poonyanuch Sukhirun*[1], Naranun Khummanee[1] and Orawan Suebsen[2]

[1] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี

[2] สาขาวิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี

[1] Program in Environmental Science and Technology Faculty of Science and Technology, Suratthani Rajabhat University

[2] Program in Mathematics Faculty of Science and Technology, Suratthani Rajabhat University

**corresponding author, e-mail: poonyanuch.suk@sru.ac.th โทร. 083-4496653*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบเล็บครุฑที่มีต่อลูกน้ำยุงลาย โดยสกัดใบเล็บครุฑด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% โดยใช้เครื่องสกัดซอกห์เลต จากนั้นเตรียมสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 0, 4,000, 6,000, 8,000 และ 10,000 พีพีเอ็ม ทดสอบฤทธิ์ต่อลูกน้ำยุงลาย และพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบ ผลการศึกษาสารที่พบในใบเล็บครุฑ คือ ซาโปนิน ฟินอลิก โฟลบาแทนนิน และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และจากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากใบเล็บครุฑ พบว่าความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม มีค่าเปอร์เซ็นต์การตายสูงสุด เท่ากับ 93.33 ± 5.77 และ 96.67± 5.77 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ และมีค่า LC50 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ,141.95 และ 4,367.09 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากใบเล็บครุฑมีศักยภาพในการควบคุมลูกน้ำยุงลาย

คำสำคัญ : ลูกน้ำยุงลาย สารสกัดหยาบ ใบเล็บครุฑ

Abstract

The objectives of this research were to study the toxicity of the crude extracts from *Polyscias fruticosa* leaves against the larva of *Aedes* sp. The leaves of this plant were extracted with 95% ethanol by using a Soxhlet extractor. The crude extracts at concentrations of 0, 4,000, 6,000, 8,000 and 10,000 ppm were tested for larvicidal activity. Phytochemical screening of the crude extracts revealed the presence of saponin phenolics phobatanins and Cardiac glycosides. The highest concentration 10,000 ppm was the most toxic with larval mortal of 93.33 ± 5.77 and 96.67 ± 5.77 at 24 and 48 hours, respectively. The LC_{50} values of the crude extracts at 24 and 48 hours against larva of *Aedes* sp. were 6,141.95 and 4,367.09 ppm respectively. The results showed that the crude extracts of *P. fruticosa* can be considered as potent source for control of *Aedes* sp.

Keywords : larva of *Aedes* sp., crude extracts, *Polyscias fruticosa*

1. บทนำ

ยุงเป็นแมลงที่ก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสุขภาพของมนุษย์เป็นอย่างมากเพราะยุงจะกัดกินเลือด และก่อให้เกิดความรำคาญ ยุงบางชนิดยังเป็นพาหะนำโรคได้อีกด้วย เช่น ยุงลาย (*Ades*) ยุงรำคาญ (Culex) เป็นต้น โรคที่เกิดจากยุงเป็นพาหะที่สำคัญและพบมากในประเทศไทย ได้แก่ โรคไข้เลือดออก (Dengue Hemorrhagic Fever) โรคไข้สมองอักเสบเจอี (Japanese Encephalitis) โดยพาหะยุงลายสาเหตุของไข้เลือดออก ซึ่งโรคนี้เป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของ

ประเทศไทย เนื่องจากมีการระบาดของโรคอย่างต่อเนื่อง ในปี พ.ศ. 2562 (เดือนมกราคม-กรกฎาคม) มีรายงานผู้ป่วยสะสม จำนวน 53,699 ราย (Department of Disease Control, 2019) ซึ่งการกระจายของโรคมีการเปลี่ยนแปลงตามพื้นที่อยู่ตลอดเวลา การป้องกันและควบคุมโรคต้องดำเนินการอย่างเข้มข้นด้วยวิธีต่าง ๆ เพื่อไม่ให้มีการนำเชื้อโรคมาสู่มนุษย์แนวทางการป้องกันโรคมีหลายวิธี เช่น การป้องกันยุงโดยการทำลายแหล่งเพาะพันธุ์ยุง การทายากันยุง การฉีดยากันยุง ยาจุดกันยุง การใช้ทรายอะเบทหรือเทเมฟอส ฆ่าลูกน้ำยุงลาย การใช้สารฆ่าแมลงเป็นวิธีที่นิยมใช้เนื่องจากสะดวก เห็นผลเร็ว อย่างไรก็ตามทรายอะเบทจัดเป็นสารเคมีชนิดออร์กาโนฟอสเฟตซึ่งมีผลต่อมนุษย์และสัตว์ ทำให้เกิดการตกค้างในสิ่งแวดล้อมและทำให้น้ำมีกลิ่นเหม็นสารเคมี และมีรายงานการสร้างความต้านทานของลูกน้ำยุงลายในหลายพื้นที่ของประเทศไทย (Thadtong *et al*., n.d.) เนื่องจากใช้สารเคมีซ้ำ ๆ ในพื้นที่เดิมเป็นเวลานาน ๆ ใช้ในปริมาณที่ไม่ถูกต้องตามคำแนะนำ และการขาดความรู้ในการใช้สารเคมี เป็นสาเหตุทำให้ยุงพาหะนำโรคเกิดการพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีขึ้นได้ทำให้การป้องกันกำจัดยุงลายไม่ได้ผลปัจจุบันประชาชนทั่วโลกหันกลับมาสนใจสิ่งแวดล้อม และการดูแลใส่ใจสุขภาพของตนเองและคนในครอบครัวในลักษณะที่กลับคืนสู่ความเป็นธรรมชาติมากขึ้น และสารสกัดจากพืชเป็นสารกลุ่มหนึ่งที่ช่วยลดอัตราการสร้างความต้านทานของแมลงได้ เนื่องจากสารสกัดจากพืชมีองค์ประกอบมากมาย ซึ่งแมลงจะสร้างความต้านทานต่อองค์ประกอบดังกล่าวได้ต้องใช้เวลานานมาก ฉะนั้นเพื่อให้สามารถนำสมุนไพรพื้นบ้านไปใช้ให้เกิดประโยชน์และได้ผลคุ้มค่าในการป้องกันและกำจัดยุงลายพาหะที่สำคัญทางการแพทย์มากยิ่งขึ้น จึงควรส่งเสริมศึกษาและพัฒนางานวิจัยสมุนไพรในประเทศอย่างต่อเนื่อง การนำสมุนไพรที่มีอยู่ในท้องถิ่นหรือที่ได้มีการศึกษาวิจัยเบื้องต้นเกี่ยวกับฤทธิ์ในการป้องกันและกำจัดแมลงมาศึกษาและพัฒนาต่อไปในเชิงลึกทางวิทยาศาสตร์ให้มากยิ่งขึ้น (Junkum, 2012) ในปัจจุบันมีการศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรหลายชนิดมาใช้ในการควบคุมลูกน้ำยุง เช่น สารสกัดดอกและใบยี่โถมาควบคุมลูกน้ำยุงรำคาญ Suwancharoen *et al*. (2017) สารสกัดเมทานอลของใบจากต้นยี่โถสีชมพูมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญดีที่สุดซึ่งมีค่า LC_{50} เท่ากับ 251.70 ± 12.17 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารสกัดหยาบจากรากสาบเสือด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ปานกลางในการฆ่าลูกน้ำยุงก้นปล่อง *An. dirus* B และ ยุงรำคาญ *Cx. Quinquefasciatus* (Srisuda *et al*., 2017) และจากการศึกษาพฤกษเคมีเบื้องต้นของใบยี่โถการตรวจพบสารประกอบฟีนอลิก แอลคาลอยด์ และซาโปนิน ซึ่งอาจสัมพันธ์กับการตายของลูกน้ำยุงรำคาญ ขณะที่สารสกัดหยาบจากใบสาบเสือด้วยเมทานอล พบสารประกอบแทนนิน และซาโปนิน ที่อาจส่งผลต่อการตายของลูกน้ำยุงก้นปล่อง และยุงรำคาญ

งานวิจัยครั้งนี้ได้คัดเลือกสมุนไพรพื้นบ้าน คือ ใบเล็บครุฑ (*Polyscias fruticosa*) สมุนไพรชนิดนี้เป็นสมุนไพรที่นิยมปลูกกันมากในภาคใต้มากำจัดลูกน้ำยุงลาย ซึ่งยังมีข้อมูลการศึกษาวิจัยน้อยจากการรายงานสารสกัดใบเล็บครุฑด้วยน้ำร้อนสามารถกำจัดลูกน้ำของยุงลายได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (Suratpittaya School, 1999) ผู้วิจัยจึงทำการศึกษาเพิ่มเติมโดยทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดใบเล็บครุฑด้วยเอาทนอล 95% ในการฆ่าลูกน้ำยุงลาย และตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบ ซึ่งยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับพฤกษเคมีที่ส่งผลต่อลูกน้ำยุงลาย หากพบว่ามีประสิทธิภาพดีจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสารสกัดจากใบเล็บครุฑเพื่อมาใช้แทนสารเคมีในการกำจัดยุงลายต่อไป

2. วิธีการทดลอง

2.1 การเก็บเตรียมตัวอย่างและการสกัดสารจากใบเล็บครุฑ

เก็บตัวอย่างใบเล็บครุฑ (*Polyscias fruticosa*) จากหมู่ 2 ตำบลปากแพรก อำเภอดอนสัก จังหวัดสุราษฎร์ธานี นำมาล้างผึ่งให้แห้งในที่ร่ม ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำส่วนใบเล็บครุฑที่อบแล้วไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น แล้วนำไปสกัดด้วยวิธีซอกห์เลต (Soxhlet extractor) โดยใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย นาน 8 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดหยาบ (Crude extract) ชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบ แล้วคำนวณค่าร้อยละผลผลิต เก็บสารสกัดหยาบในขวดสีชาและเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

2.2 การตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบ

นำสารสารสกัดหยาบมาตรวจสอบสารพฤกษเคมี โดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตกตะกอนหรือฟอง ซึ่งดัดแปลงบางส่วนมาจากวิธีการของ Suwancharoen *et al*. (2017) และ Sriyathep *et al*. (2020)

2.2.1 การตรวจสอบแอลคาลอยด์

ทดสอบกับรีเอเจนต์แวกเนอร์ (Wagner's reagent) ชั่งสารสกัดหยาบ 0.02 กรัม เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เข้มข้น 10% ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่าแล้วนำไปอุ่นบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรองไปหยดด้วยสารละลายเวกเนอร์จำนวน 5 หยด เขย่าสังเกตผลการทดลอง ถ้าปรากฏตะกอนสีน้ำตาล แสดงว่าพบสารกลุ่มแอลคาลอยด์

2.2.2 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์

ชั่งสารสกัดหยาบ 0.02 กรัม สกัดสีของสารสกัดออกด้วยไดเอทิลอีเทอร์ ครั้งละ 5 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง ละลายสารสกัดส่วนที่เหลือด้วยสารละลายเอทานอล 50% ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ใส่ลวดแมกนีเซียมชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 2-3 ชิ้น นำไปต้ม และหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) ถ้าให้สารละลายสีเหลือง ส้ม หรือแดง แสดงว่าพบฟลาโวนอยด์

2.2.3 การตรวจสอบสารซาโปนิน

ชั่งสารสกัดหยาบ 0.02 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือด กรอง และนำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) มาเติมน้ำกลั่น 2-3 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรง หากมีฟองเกิดขึ้นแสดงว่าพบซาโปนิน

2.2.4 การตรวจสอบเทอร์พีนอยด์

ใช้การทดสอบซาลโควสกี (Salkowski test) ชั่งสารสกัดหยาบ 0.02 กรัม สกัดสีของสารสกัดออกด้วยไดเอทิลอีเทอร์ ครั้งละ 5 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง เติมคลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร เขย่า และค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) หากเกิดสีน้ำตาลแดงระหว่างรอยต่อของสารละลายแสดงว่าพบเทอร์พีนอยด์

2.2.5 การตรวจสอบโฟลบาแทนนิน

ชั่งสารสกัดหยาบ 0.02 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร เขย่า นำไปอุ่นในอ่างน้ำร้อน เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมากรองขณะร้อนแยกส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรองแล้ว หยดกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 10% จำนวน 5 หยด เขย่า แล้วนำไปอุ่นในอ่างน้ำร้อน เป็นเวลา 5 นาที สังเกตผลการทดลอง ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเขียวหรือสีน้ำเงินดำ แสดงว่าพบสารกลุ่มโฟลบาแทนนิน

2.2.6 การตรวจสอบฟีนอลิก

ชั่งสารสกัดหยาบ 0.02 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นแล้วกรองสารละลาย จากนั้นเติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ (1% $FeCl_3$) 2-3 หยด ลงไปในของเหลว หากปรากฏสีเขียวปนดำ เขียวปนน้ำตาล ดำปนน้ำตาล ม่วงหรือน้ำเงินปนดำ แสดงว่าพบสารประกอบฟีนอลิก

2.2.7 การตรวจสอบแอนทราควิโนน

ชั่งสารสกัดหยาบ 0.02 กรัม เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก (10% H_2SO_4) 10 มิลลิลิตร นำไปอุ่นนาน 5 นาที นำมากรองแล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมสารละลายแอมโมเนีย (NH_3) เข้มข้น 10% 2-3 หยด หากเกิดสีชมพูถึงแดง แสดงว่าพบแอนทราควิโนน

2.2.8 การตรวจสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

การทดสอบแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ตามโครงสร้างพื้นฐานของคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ คือ ส่วนสเตียรอยด์ และส่วนน้ำตาลดีออกซี การทดสอบทำได้ดังนี้ ชั่งสารสกัดหยาบ 0.02 กรัม สกัดสีออกด้วยไดเอทิลอีเทอร์ ครั้งละ 5 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง ละลายสารสกัดด้วยเอทานอล ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ทดสอบส่วนสเตียรอยด์ ด้วยการทดสอบลีเบอร์แมน (Liebermann test) โดยการเติมกรดแกเชียลแอซีติก (Gracial acetic acid) 3 หยด และกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 3 หยด ถ้าปรากฏสีน้ำเงิน หรือน้ำเงินเขียว แสดงว่าพบสเตียรอยด์ และทดสอบส่วนน้ำตาลดีออกซีด้วยการทดสอบเคลเลอร์-

คิเลียนิ (Keller-Kiliani test) ซึ่งประกอบด้วยกรดแอซีติก 1 มิลลิลิตร และสารละลายเฟอริกคลอไรด์ (10% $FeCl_3$) 1-2 หยด ผสมให้เข้ากันเอียงหลอดทดลองค่อย ๆ หยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ลงไปตามผนังด้านในของหลอดทดลองให้เกิดการแยกชั้น หากปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลแดงบริเวณรอยต่อระหว่างสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก แสดงว่าพบส่วนน้ำตาลดีออกซี

2.3 การเก็บตัวอย่างเพาะเลี้ยงและลูกน้ำยุงลาย

ดัดแปลงวิธีการของ Thongwat and Boonchu (2015) และ Waeyusoh (2014) เก็บลูกน้ำยุงลายจากแหล่งน้ำขังบริเวณรอบมหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี นำลูกน้ำยุงลายที่เก็บได้มายังห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี เพื่อแยกเฉพาะลูกน้ำยุงลาย และนำไปเลี้ยงในกล่องพลาสติกสีขาวด้วยน้ำประปาที่ระเหยสารคลอรีนออกแล้ว ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปและเปลี่ยนน้ำทุก 2 วัน ดูดตัวโม่งใส่ถ้วย แล้ววางในกรงเลี้ยงยุงขนาด 30x30x30 เซนติเมตร เมื่อดักแด้ออกมาเป็นตัวเต็มวัย ให้อาหารตัวเต็มวัยด้วยน้ำหวาน 10% โดยชุบสำลีพันกับไม้ใส่ในขวดปากกว้างแล้ววางในกรงเลี้ยง เปลี่ยนน้ำหวานทุก ๆ 2 วัน เลี้ยงที่อุณหภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส เมื่อยุงตัวเต็มวัยได้ 7 วัน ยุงจะเริ่มผสมพันธุ์ปล่อยให้ผสมพันธุ์กันเป็นเวลา 2 วัน แล้วให้อดน้ำหวาน 1 วัน จากนั้นจึงให้เลือดเป็นอาหารสำหรับยุงเต็มวัยเพศเมีย และทำการเพาะเลี้ยงจนได้ยุงลายปริมาณเพียงพอสำหรับการทดลอง

2.4 การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากใบเล็บครุฑในการกำจัดลูกน้ำยุงลาย

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์จำนวน 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 5 ซ้ำ ทดสอบโดยวิธีจุ่มสาร (dipping bioassay test) ดัดแปลงจากวิธีของ Ungsunak *et al*. (2016) โดยเติมน้ำสะอาด 99 มิลลิลิตร ลงในถ้วยการทดลอง จากนั้นดูดลูกน้ำยุงลายวัยที่ 3 ตอนปลาย หรือวัยที่ 4 ตอนต้น ใส่ถ้วยการทดลอง ถ้วยละ 10 ตัว เตรียมสารสกัดความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 4,000, 6,000, 8,000 และ 10,000 พีพีเอ็ม แล้วหยดสารสกัดจากใบเล็บครุฑปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในถ้วยทดลอง นับจำนวนลูกน้ำที่ตายภายหลังการทดลองที่ 24 และ 48 ชั่งโมง คำนวนหาเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง และคำนวณค่าความเป็นพิษ (LC_{50}) ของสารสกัดโดยใช้ Probit Analysis จากโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

3.1 การสกัดสารจากใบเล็บครุฑ

ผลการสกัดสารจากใบเล็บครุฑ โดยใช้อัตราส่วนใบเล็บครุฑแห้งต่อเอทานอล 95% ที่ 1:15 (w/v) สกัดด้วยเครื่องสกัดซอกห์เลต นาน 8 ชั่วโมง สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นสารหนืดสีเขียวเข้ม มีร้อยละผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 33.21 ± 3.19 หรือ 6.64 กรัม (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 น้ำหนักสารสกัดหยาบ และร้อยละผลผลิต ของใบเล็บครุฑแห้งจากการสกัดโดยใช้เครื่องซอกห์เลต

น้ำหนักแห้งของพืช (กรัม)	ปริมาณเอทานอล 95% (มิลลิลิตร)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละผลผลิต
20	300	7.19	35.95
20	300	6.79	33.98
20	300	5.94	29.70
ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	**6.64 ± 0.63**	**33.21 ± 3.19**	

3.2 การตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากใบเล็บครุฑ

จากการตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบใบเล็บครุฑที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่า สารที่พบในใบเล็บครุฑ คือ ซาโปนิน ฟินอลิก โฟลบาแทนนิน และ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (ตารางที่ 2) ซึ่งผลการทดลองคล้ายคลึงกับงานวิจัยของ Suwancharoen *et al*. (2017) ได้ศึกษาฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญของสารสกัดดอกและใบยี่โถสีชมพู พบว่าพฤกษเคมีที่อาจส่งผลให้สารสกัดใบมีฤทธิ์ คือ สารประกอบฟีนอลิก และซาโปนิน ซึ่งซาโปนินเมื่อทำปฏิกิริยากับคิวติเคิล ทำให้เกิดน้ำในเซลล์จำนวนมาก คิวติเคิลทำหน้าที่เป็นเยื่อเลือกผ่านไม่ให้น้ำเข้าสู่ร่างกายลูกน้ำจึงเสียสภาพคิวติเคิล คือ ไคตินเมื่อคิวติเคิลถูกทำลาย จะทำให้เสียสมดุลของร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุให้ลูกน้ำยุงลายตายได้ เพราะมีน้ำเข้าเซลล์เป็นจำนวนมาก และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Srithong and Laupraser (2017) พบว่าสารสกัดหยาบจากมะละกอมีสารสำคัญ คือ สารซาโปนินซึ่งเป็นสาเหตุให้ลูกน้ำยุงลายตาย การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากใบเล็บครุฑมีความเป็นพิษและฤทธิ์ต่อลูกน้ำยุงลาย ซึ่งอาจนำไปสู่การพัฒนาเพื่อใช้เป็นสารในการควบคุมลูกน้ำยุงลายได้

ตารางที่ 2 ผลการตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% จากใบเล็บครุฑ

พฤกษเคมี	ผลการทดสอบ
แอลคาลอยด์	-
ฟลาโวนอยด์	-
ซาโปนิน	+
เทอร์พีนอยด์	-
โฟลบาแทนนิน	+
ฟีนอลิก	+
แอนทราควิโนน	-
คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	+

หมายเหตุ : - = ตรวจไม่พบพฤกษเคมี, + = ตรวจพบ

3.3 การทดสอบพิษของสารสกัดหยาบใบเล็บครุฑต่อลูกน้ำยุงลาย

จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากใบเล็บครุฑในการกำจัดลูกน้ำยุงลายที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ที่ความเข้มข้น 0, 4,000, 6,000, 8,000 และ 10,000 พีพีเอ็ม ตามลำดับ พบว่า เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลาย ที่เวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0.00 ± 0.00, 13.33 ± 5.77, 50.00 ± 10.00, 70.00 ± 10.00 และ 93.33 ± 5.77 ตามลำดับ และที่ 48 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลายมีค่าเท่ากับ 0.00 ± 0.00, 36.66 ± 5.77, 86.67 ± 15.27, 93.33 ± 5.77 และ 96.67± 5.77 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Suratpittaya School (1999) พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดใบเล็บครุฑต่อน้ำอัตราส่วน 1:30 (v/v) สามารถกำจัดลูกน้ำของยุงลายและยุงธรรมดาได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบเล็บครุฑส่งผลต่อการตายของลูกน้ำยุงลาย เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลายเพิ่มขึ้น ซึ่งค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลายมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลาย (*Aedes* sp.) หลังจากทดสอบด้วยสารสกัดหยาบใบเล็บครุฑที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	เปอร์เซ็นต์การตาย (mean ± SD)	
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
0 (ชุดควบคุม)	0.00 ± 0.00[a]	0.00 ± 0.00[a]
4,000	13.33 ± 5.77[b]	36.66 ± 5.77[b]
6,000	50.00 ± 10.00[c]	86.67 ± 15.27[c]
8,000	70.00 ± 10.00[d]	93.33 ± 5.77[d]
10,000	93.33 ± 5.77[e]	96.67 ± 5.77[e]

หมายเหตุ : [a,b,c] ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

และจากการศึกษาค่าความเข้มข้นของสารสกัดจากใบเล็บครุฑที่ทำให้ลูกน้ำยุงลายมีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมเท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์ (Lethal Concentration 50, LC_{50}) ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่า มีค่า LC_{50} เท่ากับ 6,140.95 และ 4,367.09 พีพีเอ็ม ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อให้ลูกน้ำสัมผัสกับสารสกัดนานขึ้นเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ความเป็นพิษจะสูงขึ้น

ตารางที่ 4 ค่าความเป็นพิษ (LC_{50}, พีพีเอ็ม) ของสารสกัดใบเล็บครุฑที่มีต่อลูกน้ำยุงลาย ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	Log10[LC_{50}] ± SE	LC_{50} (LCL-LUL)	*P* value	X^2
24	3.78 ± 0.01	6,140.95 (5,795.53 - 6,480.84)	0.72	0.65
48	3.84 ± 0.04	4,367.09 (2699.09 - 7065.87)	0.32	2.25

หมายเหตุ : LC_{50} = ค่าความเข้มข้นของสารเคมีที่ทำให้สัตว์ทดลองที่ถูกทดสอบตายไปครึ่งหนึ่งของจำนวนที่ใช้ทดสอบทั้งหมด
LCL = ขอบเขตล่างของช่วงความเชื่อมั่น (Lower confidence limit)
LUL = ขอบเขตบนของช่วงความเชื่อมั่น (Upper confidence limit)

4. สรุป

การสกัดสารจากใบเล็บครุฑด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% โดยใช้เครื่องซอกห์เลตได้สารสกัดหนืดสีเขียว และมีร้อยละผลผลิต เฉลี่ยเท่ากับ 33.21 ± 3.19 และจากการตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบ พบสารซาโปนิน ฟินอลิก โฟลบาแทนนิน และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และผลการทดสอบพิษของสารสกัดหยาบต่อลูกน้ำยุงลายที่ความเข้มข้น 0, 4,000, 6,000, 8,000 และ 10,000 พีพีเอ็ม ตามลำดับ พบว่า เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลายที่เวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0.00 ± 0.00, 13.33 ± 5.77, 50.00 ± 10.00, 70.00 ± 10.00 และ 93.33 ± 5.77 ตามลำดับ และที่ 48 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การตายของลูกน้ำยุงลายมีค่าเท่ากับ 0.00 ± 0.00, 36.66 ± 5.77, 86.67 ± 15.27, 93.33 ± 5.77 และ 96.67 ± 5.77 ตามลำดับ และได้สารพิษมีค่า LC_{50} ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ต่อลูกน้ำยุงลายเท่ากับ 6,140.95 และ 4,367.09 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

5. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตเกษม หล้าสะอาด และ รองศาสตราจารย์ ดร.วสกร บัลลังก์โพธิ์ ผู้ทรงคุณวุฒิ ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจทานแก้ไขรายงานวิจัยให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณ หมวดเงินรายได้ มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2563

6. เอกสารอ้างอิง

Department of Disease Control. 2019. **Weekly report of dengue fever surveillance report, Health Area 3, week 28, 14-20 July 2019**. http://odpc3.ddc.moph.go.th/login/sys/content/depshowmem/fol_jul/upload_jul/myfile/DHF-week-28_62.pdf (in Thai). Accessed 25 Aug. 2019.

Hanphakphoom, S, P. Kunhachan, P.Bhakdeenuan, S. Thophon, S. Krajangsang, J. Chompoosri and A. Tawatsin. 2017. **Larvicidal and Repellent Activities of Crude Extracts and Essential Oils from *Eupatorium odorata* against *Aedes aegypti, Culex quinquefasciatus* and *Anopheles dirus* B**. SDU Res.J.10 (3): 129-157. (in Thai)

Junkum, A. 2012. **Application of Thai medicinal plants for controlling mosquito vectors**. J Assoc Med Sci. 45(1): 9-22. (in Thai)

Srithong, W. and P. Laupraser. 2017. **Toxicity of papaya (*Carica papaya,* Linnaeus) extracts against larvae of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus***. Journal of the Office of DPC 7 Khon Kaen. 24(3): 54-59. (in Thai)

Sriyathep, T., J. Kongkeaw, T. Thongkam, W. Sengkokul and S. Amornkit. 2020. **Preliminary phytochemical study and bgiological activity from the leaves, stems, fruit and root extract of Vitex rotundifolia L.f.** Proceeding of the 5th national academic conference on science and technology network of higher education institutions in southern Thailand. Rajamangala University of Technology Srivijaya Nakhon Si Thammarat Province. 1-12. (in Thai)

Suratpittaya School. 1999. **Mosquito larvicidal activity of *Polyscias extract***. Science project database. http://elib.ipst.ac.th/elib/cgi-bin/opacexe.exe?op=dsp&cat=aut&lang=1&db=SCP&pat=%a1&cat=aut&skin=u&lpp=16&catop=&scid=zzz&sid=&bid=444 (in Thai). Accessed 17 Dec. 2021.

Suwancharoen, S., A. Boonmee, P. Asakhan, P. Pitchphusakul, R. Polart, and T. Kasemsuk. 2017. **Phytochemical and Larvicidal Activity Against *Culex* sp. of *Nerium oleander* L. (Pink cultivar) Flowers and Leaves Extracts**. KKU Sci. J. 45(3): 521-530. (in Thai)

Thadtong. U., T. Glamseeda and W. Ritthison. n.d. **Insecticide susceptibility status of *Aedes aegypti* larvae against temephos in Rayong Province**. file:///C:/Users/nao_b/Downloads/title%2011%20(1).pdf (in Thai). Access 9 Jan. 2020.

Thongwat, D. and N. Boonchu. 2015. **Larvicidal activity of *Dracaena loureiri* fruit crude extracts against *Aedes aegypti* mosquito** (Research report). Phitsanulok: Naresuan University. (in Thai)

Ungsunak, N., A. Sukpong, S. Promkot, P. Buawan, J. Sinthusiri, and T. Poopa. 2016. **Efficacy of Herbal Extracts against Dengue Mosquito Larvae *Aedes aegypti* (Culicidae: Diptera)**. Proceeding of the 16th academic conferences and national research presentations graduate network Northern Rajabhat University and national academic conference 3rd Phetchabun Rajabhat University. 659-670. (in Thai).

Waeyusoh, S. 2014. **Shelf Life and Effect of Thaim (*Azadirachta excelsa* Jack) Seed oil Againt Larva of *Aedes aegypti* Linnaeus**. Master's thesis. Department of Science in Entomology, Prince of Songkla University, Songkla. (in Thai)

(Received: 31/Oct/2021, Revised: 18/Dec/2021, Accepted: 25/Dec/2021)