

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความเป็นพิษระดับเซลล์ในไรน้ำเค็มและ
 ลูกน้ำยุงลายของสารสกัดหยาบทุเรียนเทศ (*Annona muricata* L.)
 Total Phenolic Compounds and Cytotoxicity in Brine Shrimp and
Aedes aegypti Larvae of Thurian-thet (*Annona muricata* L.)
 Crude Extracts

ฌอลินน์ ฟาน เบม^{1*} และอาอีเสาะ สาและ¹
 Cherlynn van Beem^{1*} and Aesoh Salaeh¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและทดสอบความเป็นพิษระดับเซลล์ในไรน้ำเค็มและลูกน้ำยุงลายของสารสกัดหยาบผลอ่อน ผลแก่ เมล็ด ใบ และเปลือกต้นของทุเรียนเทศที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทานอล และเมทานอล พบว่าสารสกัดผลแก่ด้วยเอทานอลมีสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดที่ $2,036 \pm 5.99$ ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิก การทดสอบความเป็นพิษระดับเซลล์ของสารสกัดส่วนต่าง ๆ ของทุเรียนเทศที่ความเข้มข้น 10-1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในไรน้ำเค็มและลูกน้ำยุงลาย พบว่าค่าการตายของลูกน้ำยุงลายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ต่ำสุดที่ทดสอบในไรน้ำเค็มในสารสกัดผลแก่ด้วยเมทานอล เท่ากับ 71.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (24 ชั่วโมง) และค่า LC_{50} ต่ำสุดที่ทดสอบในลูกน้ำยุงลายพบในสารสกัดผลแก่ด้วยเอทานอล เท่ากับ 21.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (24 ชั่วโมง) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดผลแก่ด้วยเอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด สามารถนำไปใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ ส่วนสารสกัดผลแก่ด้วยเอทานอล มีค่า LC_{50} ต่ำที่สุด เมื่อทดสอบกับลูกน้ำยุงลายแสดงว่ามีความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงลายค่อนข้างสูง สามารถนำไปใช้เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการกำจัดลูกน้ำยุงลายได้ ทั้งนี้ อาจจะต้องมีการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดผลแก่ทุเรียนเทศในสัตว์ทดลอง เพื่อใช้เป็นอาหารหรือยารักษาโรคได้ต่อไป

คำสำคัญ: ทุเรียนเทศ สารประกอบฟีนอลิกรวม ความเป็นพิษระดับเซลล์ ไรน้ำเค็ม ลูกน้ำยุงลาย

¹ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมดิจิทัล มหาวิทยาลัยทักษิณ

* Corresponding author e-mail: cherlynn.vb@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.65217/wichchajinstru.2024.v43i1.256645>

Received: 19 October 2022, Revised: 20 April 2023, Accepted: 7 June 2023

Abstract

This research was conducted to determine total phenolic compounds and assess cytotoxicity in brine shrimp and *Aedes aegypti* larvae of crude extracts from various parts of Thurian-thet: unripe fruit, ripe fruit, leaves, seeds and stem bark achieved by adopting different solvents which are hexane, dichloromethane, ethanol, and methane. The maximum phenolic content was found in ethanolic ripe fruit extract at $2,036 \pm 5.99$ microgram of gallic acid equivalent per milligram of extract ($\mu\text{g GAE/g ext}$). The crude extracts at concentrations of 10-1,000 microgram per milliliter ($\mu\text{g/mL}$) were tested for cytotoxicity in brine shrimp and *Aedes aegypti* larvae. It was found that the lowest lethal concentration fifty (LC_{50}) tested in brine shrimp was $71.95 \mu\text{g/mL}$ (24 h) from methanolic ripe fruit extract and in mosquito larvae was $21.39 \mu\text{g/mL}$ (24 h) from ethyl alcoholic ripe fruit extract. The results suggested that the ethanolic ripe fruit extract contained the maximal total phenolic compounds which could be used as natural antioxidants. The ethanolic ripe fruit extract could also be used as a mosquito natural repellent since after being tested with mosquito larva and found the lowest value of LC_{50} . However, the toxicity tests of Thurian-thet ripe fruit extract in laboratory animals should be determined in the future for possible applications in food and medicine.

Keywords: *Annona muricata* L., Total phenolic compounds, Cytotoxicity, Artemia, *Aedes aegypti* larvae

บทนำ

ทุเรียนเทศ (*Annona muricata* L.) จัดอยู่ในวงศ์ Annonaceae เช่นเดียวกับน้อยหน่า จำปี นมแมว และกระดังงา มีถิ่นกำเนิดอยู่ในอเมริกากลาง ลำต้นมีความสูง 3-6 เมตร มีทรงต้นและใบ คล้ายกับน้อยโหน่งและน้อยหน่า มีดอกคล้ายดอกนมแมว มีผลสีเขียวรูปกลมรี มีหนามนูนที่เปลือก ผลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10-20 เซนติเมตร และยาว 15-30 เซนติเมตร น้ำหนัก 0.5-3.0 กิโลกรัม มีเนื้อสีขาวเป็นยวงติดกัน และมีเมล็ดสีดำคล้ายกับน้อยหน่า เปลือกนอกมีรสหวานอมเปรี้ยวและมีกลิ่นหอม เริ่มแพร่กระจายสู่ประเทศเขตร้อนทั่วโลกประมาณศตวรรษที่ 16 เป็นผลไม้ท้องถิ่นทางภาคใต้ที่มีสรรพคุณทางยา ชาวบ้านมักนำเมล็ดมาใช้เป็นยาแก้โรคบิด ยาสมานแผล ห้ามเลือด ทำให้อาเจียน ใช้เบื่อปลา ใช้ฆ่าแมลง นำใบมาต้มน้ำเกลือเพื่อรักษาอาการปวดฟัน หรือนำมาชยผสมกับปูนใช้ทาบริเวณท้องแก่ท้องอืด หรือใช้รักษาโรคผิวหนัง แก้ไอ ปวดตามข้อ ส่วนรากนำมาตำให้ละเอียดผสมกับน้ำข้าวข้าวประคบบริเวณที่โดนครีปลาแทงซึ่งเชื่อว่าจะช่วยให้หายจากอาการเจ็บปวดได้ ส่วนผลดิบนำมารับประทานแก้โรคบิด ผลสุกรับประทานแก้โรคเลือดออกตามไรฟัน และยังเชื่อว่าการบริโภคสดจะช่วยรักษาโรคเบาหวานได้ (วิวัฒน์ และนันทสิทธิ์, 2540) ส่วนแถบประเทศบราซิลมักนำผลและคั้นน้ำดื่มต้านพยาธิ เพิ่มน้ำนมในสตรีหลังคลอด แก้อาการท้องร่วง เมล็ดนำมาบด

ใช้ถ่ายพยาธิ เปลือกต้น รากและใบ ใช้ตำนเชื่อมาลาเรีย ใบใช้รักษาโรคตับอักเสบ น้ำมันจากใบ และผลดิบผสมกับน้ำมันมะกอกใช้รักษาอาการปวด โรครูมาติก และโรคข้ออักเสบ ในประเทศจาเมกา เฮติ และหมู่เกาะอินเดียใต้ ใช้ผลและคั้นน้ำรักษาอาการท้องร่วง เปลือกและใบ ตำนพยาธิ ตำนเชื่อมาลาเรีย แก้ไอ ต้มเพื่อให้คลอดบุตรง่าย โรคหอบหืด เป็นต้น (Jaramillo *et al.*, 2000)

ข้อมูลจากงานวิจัยในต่างประเทศรายงานว่ามีการพบสารสำคัญในทุเรียนเทศครั้งแรกจาก สารสกัดใบและเปลือกในปี ค.ศ. 1976 โดย National Cancer Institute (NCI, USA) เรียกสารนี้ว่า สารประกอบอะซีโทจีนิน (acetogenins) ซึ่งพบในพืชสกุลนี้เท่านั้น สารประกอบอะซีโทจีนินสามารถ ระบุเซลล์มะเร็งได้บางชนิด เช่น มะเร็งปอด มะเร็งเต้านม และมะเร็งปากมดลูก แต่ไม่มีฤทธิ์ต่อ การระงับการเจริญเติบโตของเซลล์ปกติ (Oberlies *et al.*, 1997) ด้วยความน่าสนใจและมีแนวโน้ม ที่สามารถพัฒนาสารสกัดจากพืชท้องถิ่นเป็นยาต้านมะเร็งได้ ในปี ค.ศ. 1997 Purdue University (USA) จึงเน้นการวิจัยฤทธิ์ของสารสกัดโดยใช้เซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก (PC-3) ใน *in vitro* เพื่อเป็น ต้นแบบทดสอบสารออกฤทธิ์ในเซลล์ พบว่าสารประกอบอะซีโทจีนินสามารถยับยั้ง ubiquinone oxidoreductase ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญใน mitochondrial complex I ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ ออกซิเดชัน ฟอสฟอริเลชัน (oxidative phosphorylation) ในไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ได้ และสารนี้สามารถยับยั้ง ubiquinone-linked NADH ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์มะเร็งอีกด้วย (ubiquinone-linked NADH ไม่พบที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ปกติ) ปัจจุบันพบสารใหม่ที่แยกได้จาก สารประกอบอะซีโทจีนิน คือ tucupentol (a novel mono-tetrahydrofuranic acetogenin) มีฤทธิ์ ยับยั้งการทำงานของ mitochondrial complex I เช่นกัน (Huai *et al.*, 2010) ในปี ค.ศ. 2002 นักวิจัยชาวญี่ปุ่นได้ทำการทดสอบฤทธิ์ของสาร annonacin (อนุพันธ์ของสารอะซีโทจีนิน) กับหนูเมาส์ ที่เป็นมะเร็งปอดเทียบประสิทธิภาพกับการรักษาด้วยยา adriamycin (chemotherapy drug) 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่ายา adriamycin สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ 54.6 เปอร์เซ็นต์ แต่หนูเมาส์ ตายจากพิษของยา ขณะที่การรักษาด้วย annonacin ให้ผลยับยั้ง 57.9 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบการตาย ของหนู annonacin จึงเป็นสารที่นักวิจัยให้ความสนใจเพื่อใช้ทดสอบจริงในผู้ป่วยแทนการใช้เคมีบำบัด (Huai *et al.*, 2010) แม้ว่าอะซีโทจีนินจะเป็นสารเด่นที่พบในพืชสกุล *Annona* เท่านั้น (Liaw *et al.*, 2002) แต่ยังมีพบสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง คือ ฟีนอลิก (phenolics) และอัลคาลอยด์ (alkaloids) ด้วย (Alali *et al.*, 1999) ซึ่งปัจจุบันได้แยกสารประกอบฟีนอลิกออกเป็นกรดฟีนอลิก (phenolic acids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และแกลโลแทนนิน (gallotannins) (Hernández *et al.*, 2021) พืช ท้องถิ่นชนิดนี้จึงมีความน่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง อย่างไรก็ตามการวิจัยสารสำคัญที่สกัดจากส่วนต่าง ๆ ของ ทุเรียนเทศที่ได้ศึกษาวิจัยจนทราบรายละเอียดถึงชนิดและโครงสร้างทางเคมีของสารที่ออกฤทธิ์ทาง ชีวภาพทั้งฟีนอลิก อัลคาลอยด์ และอะซีโทจีนิน ยังคงมีน้อย เพราะจำเป็นต้องศึกษาวิธีการสกัด ที่เหมาะสม อุณหภูมิที่สกัด ตัวทำละลายสารสำคัญ ระยะเวลาในการสกัด อายุพืช และสภาพทาง ภูมิศาสตร์ที่พืชเจริญเติบโตอยู่ เป็นต้น (Nolasco *et al.*, 2022) ประเทศไทยมีความได้เปรียบในเชิง ความหลากหลายของชนิดพืช เพราะตั้งอยู่ในแถบเส้นศูนย์สูตรที่เหมาะสม (กามีละห์, 2566) การวิจัย พืชวงศ์นี้โดยเฉพาะทุเรียนเทศ ยังขาดข้อมูลทางวิชาการสนับสนุนภูมิปัญญาอยู่มาก อีกทั้งการปลูก ทุเรียนเทศในภาคใต้ส่วนใหญ่ไม่ได้ปลูกเพื่อเป็นการค้า และนับวันยิ่งเหลือน้อยลงเนื่องจาก คนรุ่นหลังไม่คุ้นกับรสชาติ การรวบรวมพันธุ์และอนุรักษ์พันธุ์กรรมของทุเรียนเทศพันธุ์พื้นเมืองจึง มีความสำคัญมาก ยิ่งกว่านั้นหากมีข้อมูลทางวิชาการมาสนับสนุนประโยชน์ของทุเรียนเทศในแง่มุม

ต่าง ๆ กันจะเป็นหนทางหนึ่งในการส่งเสริมให้ชาวบ้านปลูกทุเรียนเทศและแปรรูปผลผลิตในเชิงพาณิชย์ได้ อีกทั้ง ข้อมูลทางเภสัชวิทยาของทุเรียนเทศที่ปลูกในประเทศไทยยังมีน้อย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบผลของการออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดใบ เปลือกต้น เมล็ด ผลอ่อน แยกเมล็ด และผลแก่แยกเมล็ดของทุเรียนเทศ ด้วยการวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและทดสอบความเป็นพิษระดับเซลล์โรแน้เค็มและลูกน้ำยุงลาย เพื่อเป็นข้อมูลในการนำสารสกัดจากทุเรียนเทศมาใช้ประโยชน์ในอนาคตและเพิ่มมูลค่าทางการค้าให้กับผลไม้ท้องถิ่นชนิดนี้ได้ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสกัดสารออกฤทธิ์จากส่วนต่าง ๆ ของทุเรียนเทศ

เก็บตัวอย่างส่วนต่าง ๆ ของต้นทุเรียนเทศ อายุ 5 ปี (มิถุนายน พ.ศ. 2563) ที่ปลูก ณ อาคารปฏิบัติการพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ (พิกัด 7.80776, 99.9394) ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์จากห้องพิพิธภัณฑพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ (herbarium number TSU-260315) เตรียมตัวอย่างใบ เปลือกของลำต้น เมล็ดผลแก่ ผลอ่อนแยกเมล็ด (ขนาด 7x12 เซนติเมตร) และผลแก่แยกเมล็ด บันทึกร้าน้ำหนักสด ล้างทำความสะอาดส่วนต่าง ๆ ของพืชแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ใบ เปลือกของลำต้น และเมล็ดผลแก่) และ 60 องศาเซลเซียส (ผลอ่อนและผลแก่แยกเมล็ด) เป็นเวลา 120 ชั่วโมง บันทึกร้าน้ำหนักแห้งหลังการอบ คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ที่ได้จากสารสกัดหยาบของพืช (% yield) เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่ได้กับปริมาณสารตั้งต้น ทำให้ทราบต้นทุนการผลิตในแต่ละครั้ง

ก่อนทำการสกัดต้องตัดส่วนของพืชตามยาวหรือเป็นรูปเหลี่ยมและบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นเพื่อให้ตัวทำละลายที่ใช้สกัด (solvent) ได้แทรกซึมและสัมผัสกับสารต่าง ๆ ในเซลล์พืชให้ได้มากที่สุด เก็บส่วนของพืชที่บดแล้วใส่ขวด เก็บในที่แห้ง มีดและเย็น (4 องศาเซลเซียส) ในขั้นตอนนี้เป็นไปตามมาตรฐานของ Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) (Baur and Ensminger, 1977) ทำการสกัดสารออกฤทธิ์จากทุเรียนเทศด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvents) ที่มีขั้ว (polarity) ต่างกัน โดยชั่งน้ำหนักแห้งตัวอย่างพืชแต่ละส่วน แล้วนำมาแช่ในตัวทำละลายต่าง ๆ ด้วยวิธีสกัดแบบลำดับขั้น (sequential extraction) ด้วยการหมัก (maceration) แล้วแยกสารสกัดออกเป็นส่วน ๆ ตามความมีขั้ว ตามลำดับดังนี้ เฮกเซน (hexane) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) เอทานอล (95% ethyl alcohol) และเมทานอล (methanol) โดยเทสารละลายจนท่วม ปิดฝาทิ้งไว้เป็นเวลา 5 วัน นำมากรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นสารละลาย (supernatant) นำไปกลั่นในสภาวะสุญญากาศ (distillation in vacuo) ด้วยเครื่อง rotary vacuum evaporator ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเหนียวข้น นำสารสกัดไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง lyophilizer ชั่งน้ำหนักและเก็บสารสกัดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดหยาบ (crude) ในชั้นเฮกเซน วิธีการเตรียมสารสกัดหยาบในชั้นตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนทำซ้ำขั้นตอนเดิม โดยเทสารละลายไดคลอโร-มีเทนลงในกากพืชที่เหลือจนท่วม (150 มิลลิลิตร) ปิดฝาทิ้งไว้เป็นเวลา 5 วัน นำมากรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นสารละลาย นำไปกลั่นจะได้สารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทน ทำขั้นตอนเช่นเดียวกันนี้จนได้สารสกัดหยาบครบทั้ง 4 ตัวทำละลาย

2. การตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (ดัดแปลงจากวิธีการของ Singelton *et al.*, 1999)

เตรียมสารละลายตัวอย่างของสารสกัดหยาบทูเรียนเทศ (ผลอ่อนแยกเมล็ด ผลแก่แยกเมล็ด เมล็ด ใบ และเปลือกต้น) ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเอทานอล (70 เปอร์เซ็นต์) จากนั้นเติม Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในสารละลายจากตัวอย่างพืช ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที เติมน้ำกลั่น โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) 2 เปอร์เซ็นต์ ลงไป 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามด้วยน้ำกลั่น 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัมสมมูลของการดกลักต่อกรัมสารสกัด ($\mu\text{g GAE/g ext.}$)

3. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบทูเรียนเทศต่อไรน้ำเค็มและลูกน้ำยุงลาย

3.1 การฟักไรน้ำเค็ม

การทดสอบส่วนนี้ดัดแปลงจากวิธีการของ Solis *et al.* (1993) โดยเตรียมน้ำทะเลเทียมด้วยโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 38 กรัมต่อลิตร ที่กรองผ่านกระดาษกรองลงในกล่องพลาสติกกัน 2 ด้านสำหรับเพาะเลี้ยง (ด้านหนึ่งปิดทึบ อีกด้านส่องหลอดไฟ ที่ก้นกลางกล่องมีรูเล็ก ๆ ให้ไรน้ำเค็มที่ฟักแล้วว่ายผ่าน) ไรไซโรไรน้ำเค็ม (*artemia cyts*) ด้านที่ปิดทึบ ตั้งไว้ 24 ชั่วโมง (อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส) จะมองเห็นตัวอ่อนลักษณะเป็นตัวสีขาวขุ่น ว่ายน้ำลดมายังด้านที่ส่องไฟ ตัวอ่อนที่ฟักออกมาพร้อมที่จะนำไปใช้สำหรับการทดลองต่อไปอยู่ระยะที่ 1 (1st instar)

3.2 การเตรียมสารสกัดไมโครเพลท (microplate)

ชั่งสารสกัดจากตัวอย่างทูเรียนเทศส่วนต่าง ๆ 4 กรัม ผสมกับ 1 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ไดเมทิล ซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide: DMSO) ปริมาตร 80 ไมโครลิตร แล้วใส่น้ำทะเลเทียม 3,920 ไมโครลิตร ได้เป็นสารละลายที่ 1 ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ด้วยเครื่องเขย่าสาร จากนั้นเตรียม dilution series จนได้สารละลายที่ 2 และ 3 ที่มีความเข้มข้น 100 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

3.3 การเตรียมไรน้ำเค็มในไมโครเพลท

ใช้ไมโครปิเปตดูดตัวไรน้ำเค็ม 10 ตัว (ในน้ำทะเลเทียม 100 ไมโครลิตร) นำมาใส่ในหลุมไมโครเพลท ดูดสารสกัดที่เตรียมไว้ทั้ง 3 ความเข้มข้นปริมาตร 400 ไมโครลิตร ใส่ลงหลุมไมโครเพลท ความเข้มข้นละ 3 หลุม (3 ซ้ำ)

3.4 การเตรียมสารควบคุมในไมโครเพลท

เตรียม DMSO ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำทะเลเทียมปริมาตร 3,200 ไมโครลิตร แล้วแบ่งใส่ลงในหลุมจำนวน 6 หลุม ๆ ละ 400 ไมโครลิตร จากนั้นดูดไรน้ำเค็ม 10 ตัว พร้อมกับน้ำทะเลเทียม 100 ไมโครลิตร ตามลงไป

นำไมโครเพลทส่องไฟเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส) นับจำนวนการตายเมื่อครบ 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ [เปอร์เซ็นต์การตาย = (จำนวนการตาย/จำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด) $\times$ 100] วิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีการสถิติ ประเมินค่า Probit analysis ตามสูตรของ Abbot (Abbot's formula) และค่าการตายของลูกน้ำยุงลายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด แบ่งออกเป็น 3 ระดับ คือ สารสกัดที่มีฤทธิ์ในระดับสูง (high activity) จะมีค่า

LC₅₀ เท่ากับ 1-10 ไมโครลิตร ระดับปานกลาง (medium activity) จะมีค่า LC₅₀ เท่ากับ 11-100 ไมโครลิตร ระดับต่ำ (low activity) จะมีค่า LC₅₀ ตั้งแต่ 100 ไมโครลิตร ขึ้นไป (Meyer *et al.*, 1982)

ส่วนการฟักและการเพาะเลี้ยงลูกน้ำยุงลาย ดัดแปลงจากวิธีการของ Ciccia (2000) โดยเติมน้ำสะอาดลงในกล่องพลาสติกสำหรับเพาะเลี้ยง แบ่งไข่ยุงที่ฝังอยู่บนกระดาษกรอง (ใช้วิธีฉีก) แช่ลงในน้ำโดยหยาด้านที่มีไข่ติดอยู่ขึ้น เก็บภาชนะเลี้ยงไว้ในที่มืด 1-3 วัน เพื่อให้ลูกน้ำฟักออกจากไข่ซึ่งสังเกตเห็นจุดสีดำดำขึ้นมาในน้ำ ช่วงนี้ลูกน้ำจะมีการเจริญเติบโตโดยการลอกคราบ สังเกตเห็นคราบเก่าลอยอยู่บนผิวน้ำ จากระยะ 1-4 ใช้เวลาประมาณ 5 วัน จึงกลายเป็นระยะตัวมด และทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดทุเรียนเทศส่วนต่าง ๆ ใน 24-well plate ประเมินค่า Probit analysis และ LC₅₀ จากการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัด (Ciccia, 2000) ด้วยขั้นตอนเดียวกันกับการทดสอบความเป็นพิษต่อตัวอ่อนไร้น้ำเค็ม

ผลการวิจัย

ในขั้นตอนการสกัดสารสกัดหยาบด้วยการหมักในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ระเหยได้ง่าย ต้องใช้ปริมาณตัวทำละลายในการสกัดที่มากพอเพื่อให้ตัวทำละลายแทรกซึมเข้าไปละลายสารในเซลล์พืชออกมาและสารสกัดที่ได้จะต้องไม่สัมผัสความร้อน ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้ได้เรียงจากสารที่มีขั้วน้อยไปจนถึงสารที่มีขั้วมาก คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทานอล และเมทานอล ตามลำดับ หลังจากที่ได้ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง lyophilizer จึงคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ที่ได้จากสารสกัดหยาบของพืชได้ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปอร์เซนต์ที่ได้จากสารสกัดหยาบของพืชจากส่วนต่าง ๆ ของทุเรียนเทศที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

ส่วนต่าง ๆ ของทุเรียนเทศ	เปอร์เซนต์ที่ได้จากสารสกัดหยาบของพืชในตัวทำละลายต่าง ๆ			
	เฮกเซน	ไดคลอโรมีเทน	เอทานอล	เมทานอล
ผลอ่อนแยกเมล็ด	3.63	2.99	5.26	6.80
ผลแก่แยกเมล็ด	3.31	4.79	6.11	5.42
ใบ	3.42	4.65	6.02	6.62
เมล็ด	3.08	4.80	5.85	6.13
เปลือกต้น	2.34	3.85	5.22	7.75

เมื่อทำการวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดผลอ่อน ผลแก่ เมล็ด ใบ และเปลือกต้นของทุเรียนเทศ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทานอล และเมทานอล เทียบกับสมการเส้นถดถอยของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ($y = 0.0009x$, $r^2 = 0.994$) พบว่า สารสกัดผลแก่ด้วยเอทานอลมีสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดที่ $2,036 \pm 5.99$ ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิก สารสกัดจากเมล็ดด้วยไดคลอโรมีเทนมีสารประกอบฟีนอลิกรวมต่ำสุดที่ $1,302 \pm 13.00$ ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิก (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดทุเรียนเทศจากส่วนต่าง ๆ

ส่วนต่าง ๆ ของ ทุเรียนเทศ	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) (ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิก)			
	ตัวทำละลาย			
	เฮกเซน	ไดคลอโรมีเทน	เอทานอล	เมทานอล
ผลแก่	1,558.78 $\pm$ 8.58	1,896.56 $\pm$ 6.49	2,036.00 $\pm$ 5.99	1,990.44 $\pm$ 6.14
ผลอ่อน	2,012.00 $\pm$ 6.06	1,984.33 $\pm$ 6.16	2,012.00 $\pm$ 6.06	1,941.00 $\pm$ 6.32
ใบ	1,979.33 $\pm$ 6.18	1,302.00 $\pm$ 13.00	1,521.00 $\pm$ 8.96	2,013.22 $\pm$ 6.05
เมล็ด	1,404.33 $\pm$ 10.56	1,711.00 $\pm$ 7.42	1,423.78 $\pm$ 10.23	2,017.11 $\pm$ 6.05
เปลือกต้น	1,913.78 $\pm$ 6.42	1,540.44 $\pm$ 8.75	1,400.44 $\pm$ 10.63	2,025.44 $\pm$ 6.02

หมายเหตุ: - ระดับความเข้มข้นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ (n=3)

จากการทดสอบค่าความเป็นพิษต่อโรน้าเค็มของสารสกัดทุเรียนเทศดังแสดงในตารางที่ 3 และ 4 ส่วนใบ เปลือกต้น เมล็ด ผลอ่อน และผลแก่ในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทานอล และเมทานอล ที่ความเข้มข้น 10-1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เทียบกับชุดควบคุม โดยทำการทดลองระดับละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 ตัว พบว่าค่า LC_{50} สูงสุดที่ทดสอบในโรน้าเค็ม คือ 985.34 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 12 ชั่วโมง จากสารสกัดเปลือกต้นด้วยตัวทำละลายเฮกเซน รองลงมา คือ 898.07 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 12 ชั่วโมง สกัดเมล็ดด้วยตัวทำละลายเมทานอล) 833.26 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 12 ชั่วโมง สกัดใบด้วยตัวทำละลายเอทานอล และที่เวลา 18 ชั่วโมง สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน) 525.37 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 6 ชั่วโมง สกัดผลแก่ด้วยตัวทำละลายเอทานอล) และ 484.23 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 6 ชั่วโมง สกัดผลอ่อนด้วยตัวทำละลายเมทานอล) ตามลำดับ

ส่วนค่า LC_{50} ต่ำสุดจากการทดสอบค่าความเป็นพิษต่อโรน้าเค็ม คือ 71.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง จากสารสกัดผลแก่ด้วยตัวทำละลายเมทานอล รองลงมา คือ 74.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 24 ชั่วโมง สกัดเมล็ดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนและเอทานอล) 89.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 24 ชั่วโมง สกัดผลอ่อนด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน) 104.70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 18 ชั่วโมง สกัดใบด้วยตัวทำละลายเอทานอล) และ 104.26 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 24 ชั่วโมง สกัดเปลือกด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน) ตามลำดับ

ค่า LC_{50} สูงสุดที่ทดสอบในลูกน้ำยุงลาย คือ 851.65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 18 ชั่วโมง จากสารสกัดเมล็ดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน รองลงมา คือ 815.94 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 24 ชั่วโมง สกัดเปลือกต้นด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน) 623.56 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 6 ชั่วโมง สกัดใบด้วยตัวทำละลายเมทานอล) 526.78 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 6 ชั่วโมง สกัดผลแก่ด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน) และ 448.18 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 6 ชั่วโมง สกัดผลอ่อนด้วยตัวทำละลายเมทานอล) ตามลำดับ

ส่วนค่า LC_{50} ต่ำสุด คือ 21.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง จากสารสกัดผลแก่ด้วยตัวทำละลายเอทานอล รองลงมา คือ 45.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 24 ชั่วโมง สกัดผลอ่อนด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน) 97.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 12 ชั่วโมง สกัดเปลือกด้วยตัวทำละลายเอทานอล) 104.44 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 6 ชั่วโมง สกัดใบด้วยตัวทำละลายเฮกเซน) และ 118.19 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ที่เวลา 12 ชั่วโมง สกัดเมล็ดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนและเอทานอล) ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ผลของสารสกัดหยาดทุเรียนเทศส่วนต่าง ๆ ต่อค่าการตายของไรน้ำเค็มที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀)

เวลา (ชั่วโมง)	ความ เข้มข้น (ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร)	ค่าการตาย (เปอร์เซ็นต์) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน				ค่า LC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			
		ตัวทำละลาย				ตัวทำละลาย			
		เฮกเซน	ไดคลอโร มีเทน	เอทานอล	เมทานอล	เฮกเซน	ไดคลอโร มีเทน	เอทานอล	เมทานอล
ใบ									
6	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	30.00±3.33	43.33±2.30	36.67±2.72	43.33±2.30	351.94	351.94	128.74	664.85
	100	63.33±1.57	100.00±0.00	63.33±1.57	46.67±2.14				
	1,000	73.33±1.36	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
12	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	33.33±3.00	43.33±2.30	36.67±2.72	46.67±2.14	664.85	104.47	833.26	161.86
	100	66.67±1.50	100.00±0.00	66.67±1.50	53.33±1.87				
	1,000	80.00±1.25	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
18	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	40.00±2.50	43.33±2.30	73.33±1.36	53.33±1.87	833.26	664.85	104.7	161.86
	100	70.00±1.42	100.00±0.00	76.67±1.30	63.33±1.57				
	1,000	86.67±1.15	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
24	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	50.00±2.00	73.33±1.36	70.00±1.42	70.00±1.42	798.59	664.85	156.29	472.17
	100	80.00±1.25	100.00±0.00	90.00±1.11	83.33±1.20				
	1,000	96.67±1.03	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
เปลือกต้น									
6	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	40.00±2.50	46.67±2.14	43.33±2.30	40.00±2.50	133.35	109.14	639.87	517.94
	100	53.33±1.87	100.00±0.00	53.33±1.87	60.00±1.66				
	1,000	73.33±1.36	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
12	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	13.33±7.50	56.67±1.76	50.00±2.00	43.33±2.30	985.34	282.72	649.29	898.07
	100	43.33±2.30	100.00±0.00	56.67±1.76	70.00±1.42				
	1,000	80.00±1.25	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
18	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	46.67±2.14	63.33±1.57	60.00±1.66	60.00±1.66	452.51	207.33	326.5	298.56
	100	66.67±1.50	100.00±0.00	66.67±1.50	76.67±1.30				
	1,000	83.33±1.20	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
24	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	76.67±1.30	80.00±1.25	70.00±1.42	76.67±1.30	121.84	104.26	180.12	122.46
	100	83.33±1.20	100.00±0.00	80.00±1.25	93.33±1.07				
	1,000	96.67±1.03	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
เมล็ด									
6	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	63.33±1.57	96.67±2.14	50.00±2.00	30.00±3.33				
	100	66.67±1.50	100.00±0.00	63.33±1.57	43.33±2.30				
	1,000	86.67±1.15	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	197.37	197.37	605.08	622.29
12	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	66.67±1.50	56.67±1.76	56.67±1.76	36.67±2.72				
	100	66.67±1.50	100.00±0.00	70.00±1.42	56.67±1.76				
	1,000	93.33±1.07	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	194.66	194.66	248.82	154.49

ตารางที่ 3 (ต่อ)

เวลา (ชั่วโมง)	ความ เข้มข้น (ไมโครกรัม ต่อมิลลิเมตร)	ค่าการตาย (เปอร์เซ็นต์) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน				ค่า LC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร)			
		ตัวทำละลาย				ตัวทำละลาย			
		เฮกเซน	ไดคลอโร มีเทน	เอทานอล	เมทานอล	เฮกเซน	ไดคลอโร มีเทน	เอทานอล	เมทานอล
18	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	73.33±1.36	63.33±1.57	63.33±1.57	43.33±2.30				
	100	76.67±1.30	100.00±0.00	76.67±1.30	70.00±1.42				
	1,000	96.66±1.03	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	144.95	144.95	249.62	898.07
24	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	90.00±1.11	83.33±1.20	86.67±1.15	36.67±2.72				
	100	93.33±1.07	100.00±0.00	96.66±1.03	86.67±1.15				
	1,000	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	74.95	74.95	74.95	819.18
ผลอ่อน									
6	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	56.67±1.76	30.00±3.33	60.00±0.50	30.00±1.00				
	100	80.00±1.25	100.00±0.00	70.00±1.42	76.67±1.30				
	1,000	90.00±1.11	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	260.03	432.53	317.8	484.23
12	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	66.67±1.50	50.00±0.60	73.33±1.36	40.00±2.50				
	100	86.67±1.15	100.00±0.00	80.00±1.25	86.67±1.15				
	1,000	93.33±1.07	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	94.04	426.85	152.64	78.67
18	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	70.00±1.42	60.00±0.50	73.33±1.36	53.33±1.87				
	100	86.67±1.15	100.00±0.00	86.67±1.15	90.00±1.11				
	1,000	96.67±1.03	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	157.77	246.54	144.51	366.5
24	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	80.00±1.25	83.33±1.20	83.33±1.20	70.00±1.42				
	100	93.33±1.07	100.00±0.00	96.67±1.03	96.67±1.03				
	1,000	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	108.95	89.63	93.9	158.48
ผลแก่									
6	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	46.67±2.14	50.00±2.00	53.33±1.87	53.33±1.87				
	100	53.33±1.87	86.67±1.15	53.33±1.87	66.67±1.50				
	1,000	80.00±1.25	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	464.47	478.31	525.37	454.43
12	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	53.33±1.87	53.33±1.87	60.00±1.66	60.00±1.66				
	100	66.67±1.50	86.67±1.15	66.67±1.50	76.67±1.30				
	1,000	86.67±1.15	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	321.98	376.74	326.5	298.56
18	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	56.67±1.76	60.00±1.66	73.33±1.36	66.67±1.30				
	100	76.67±1.30	90.00±1.11	76.67±1.30	83.33±1.20				
	1,000	93.33±1.07	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	289.82	266.39	156.29	197.88
24	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	73.33±1.36	76.67±1.30	90.00±1.11	90.00±1.11				
	100	90.00±1.11	96.66±1.03	90.00±1.11	100.00±0.00				
	1,000	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	141.18	119.73	76.51	71.95

หมายเหตุ: - ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซนต์ (n=3)

ตารางที่ 4 ผลของสารสกัดหยาดทุเรียนเทศส่วนต่าง ๆ ต่อค่าการตายของลูกน้ำยุงลายที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀)

เวลา (ชั่วโมง)	ความ เข้มข้น (ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร)	ค่าการตาย (เปอร์เซ็นต์) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน				ค่า LC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			
		ตัวทำละลาย				ตัวทำละลาย			
		เฮกเซน	ไดคลอโร มีเทน	เอทานอล	เมทานอล	เฮกเซน	ไดคลอโร มีเทน	เอทานอล	เมทานอล
ใบ									
6	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	3.33±30.00	6.67±15.00	10.00±10.00	13.33±7.50	562.11	214.25	142.44	623.56
	100	16.67±6.00	60.00±1.66	93.33±1.07	50.00±2.00				
	1,000	23.33±4.28	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
12	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	13.33±7.50	13.33±7.50	16.67±6.00	16.67±6.00	104.44	372.03	181.90	358.73
	100	26.67±3.75	66.67±1.50	96.67±1.03	56.67±1.76				
	1,000	30.00±3.33	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
18	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	30.00±3.33	20.00±6.00	20.00±6.00	20.00±6.00	232.14	328.62	184.05	340.16
	100	26.67±3.75	70.00±1.42	96.67±1.03	60.00±1.66				
	1,000	36.67±2.72	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
24	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	36.67±2.72	36.67±2.72	23.33±4.28	20.00±6.00	436.77	492.49	138.08	135.83
	100	36.67±2.72	73.33±1.36	96.67±1.03	70.00±1.42				
	1,000	36.67±2.72	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
เปลือกต้น									
6	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	10.00±10.00	10.00±10.00	13.33±7.50	13.33±7.50	196.93	169.98	321.13	321.13
	100	23.33±4.28	23.33±4.28	20.00±5.00	20.00±5.00				
	1,000	36.67±2.72	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
12	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	13.33±7.50	16.67±6.00	16.67±6.00	13.33±7.50	648.55	85.16	97.95	107.87
	100	26.67±3.75	26.67±3.75	23.33±4.28	20.00±5.00				
	1,000	36.67±2.72	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
18	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	16.67±6.00	20.00±5.00	20.00±5.00	20.00±5.00	326.07	334.82	431.93	807.12
	100	26.67±3.75	30.00±3.33	23.33±4.28	20.00±5.00				
	1,000	36.67±2.72	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
24	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	23.33±4.28	23.33±4.28	26.67±3.75	26.67±3.75	813.47	815.94	321.36	321.36
	100	36.67±2.72	36.67±2.72	30.00±3.33	30.00±3.33				
	1,000	40.00±2.50	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
เมล็ด									
6	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	6.67±15.00	10.00±10.00	10.00±10.00	13.33±7.50	151.92	232.83	232.83	195.97
	100	20.00±1.50	70.00±1.42	70.00±1.42	30.00±3.33				
	1,000	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
12	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	13.33±7.50	20±5.00	20.00±5.00	16.67±6.00	195.97	118.19	118.19	741.94
	100		80±1.25	80.00±1.25					
	1,000		100.00±0.00	100.00±0.00					

ตารางที่ 4 (ต่อ)

เวลา (ชั่วโมง)	ความ เข้มข้น (ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร)	ค่าการตาย (เปอร์เซ็นต์) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน				ค่า LC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			
		ตัวทำละลาย				ตัวทำละลาย			
		เฮกเซน	ไดคลอโร มีเทน	เอทานอล	เมทานอล	เฮกเซน	ไดคลอโร มีเทน	เอทานอล	เมทานอล
18	0	30.00±3.33	0.00±0.00	0.00±0.00	30.00±3.33				
	10	100.00±0.00	20.00±5.00	20.00±5.00	100.00±0.00	851.65	373.35	373.35	231.36
	100	0.00±0.00	83.33±1.20	83.33±1.20	0.00±0.00				
	1000	16.67±6.00	100.00±0.00	100.00±0.00	26.67±3.75				
24	0	26.67±3.75	0.00±0.00	0.00±0.00	30.00±3.33				
	10	100.00±0.00	26.67±3.75	26.67±3.75	100.00±0.00	259.75	394.54	394.54	143.05
	100	0.00±0.00	83.33±1.20	83.33±1.20	0.00±0.00				
	1000	36.67±2.72	100.00±0.00	100.00±0.00	43.33±2.30				
ผลอ่อน									
6	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	10.00±10.00	3.33±30.00	6.67±15.00	10.00±0.00	159.93	267.85	267.85	448.18
	100	23.33±4.28	33.33±3.00	36.66±2.72	30.00±3.33				
	1000	36.67±2.72	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
12	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	13.33±7.50	10.00±10.00	13.33±7.50	16.67±6.00	72.02	218.72	154.7	74.19
	100	23.33±4.28	36.66±2.72	36.66±2.72	30.00±3.33				
	1000	36.67±2.72	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
18	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	13.33±7.50	13.33±7.50	13.33±7.50	20.00±5.00	367.65	154.7	154.7	33.48
	100	26.67±3.75	36.67±2.72	36.67±2.72	30.00±3.33				
	1000	43.33±2.30	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
24	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	16.67±6.00	16.67±6.00	23.33±4.28	33.33±3.00	241.18	45.25	124.64	338.98
	100	40.00±2.50	13.33±7.50	43.33±2.30	40.00±2.50				
	1000	36.67±2.72	100.00±0.00	100.00±0.00	40.00±2.50				
ผลแก่									
6	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	3.33±30.00	6.67±15.00	13.3±7.50	6.67±15.00	331.99	526.78	172.11	739.99
	100	10.00±3.00	36.67±2.72	33.33±30.0	30.00±3.33				
	1000	16.67±6.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
12	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	6.67±15.00	10.00±3.00	20.00±5.00	10.00±10.00	33.91	457.54	301.21	414.81
	100	10.00±3.00	40.00±2.50	33.33±30.00	30.00±3.33				
	1000	20.00±5.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
18	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	6.67±15.00	16.67±6.00	20.00±5.00	13.30±7.50	69.03	54.61	27.61	195.97
	100	16.67±6.00	40.00±2.50	36.67±2.72	30.00±3.33				
	1000	30.00±3.33	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				
24	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00				
	10	10.00±10.00	16.67±6.00	20.00±5.00	16.67±6.00	44.53	42.43	21.39	49.79
	100	26.67±3.75	50.00±2.00	46.67±2.14	43.33±2.30				
	1000	50.00±2.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00				

หมายเหตุ: - ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ (n=3)

การอภิปรายผลการวิจัย

การสกัดสารสำคัญทางชีวภาพจากตัวอย่างส่วนต่าง ๆ ของทุเรียนเทศที่ศึกษา โดยใช้ตัวทำละลายที่มีความต่างขั้วจากขั้วน้อยไปจนถึงสารที่มีขั้วมากเพื่อให้สารเคมีในพืช (phytochemistry) ละลายออกมามากที่สุด (Nolasco *et al.*, 2022) ผลการวิจัยแสดงว่าส่วนต่าง ๆ ของทุเรียนเทศ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในธรรมชาติที่แตกต่างกันตามชนิดของตัวทำละลาย ซึ่งโดยทั่วไป สารประกอบฟีนอลิกมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant) และสารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagens) มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ สามารถการป้องกันโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือดและมะเร็ง อีกทั้งใช้เป็นสารกันหืน ป้องกันปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation) ได้ (Wilfred and Ralph, 2006) เมื่อนำสารสกัดทดสอบกับโรสน้ำเค็ม สารสกัดเปลือกต้นที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ให้ค่า LC_{50} สูงสุด 985.34 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 12 ชั่วโมง สอดคล้องกับค่า LC_{50} สูงสุด ที่ทดสอบในลูกน้ำยุงลาย (851.65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 18 ชั่วโมง) ซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลาย ชนิดเดียวกัน ส่วนค่า LC_{50} ต่ำสุดที่ได้จากการทดสอบในโรสน้ำเค็มและลูกน้ำยุงลาย มีค่าไม่เกิน 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คือ 71.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง จากการสกัดผลแก่ด้วย ตัวทำละลายเมทานอลและ 21.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง จากสารสกัดผลแก่ด้วย ตัวทำละลายเอทานอล ตามลำดับ จากผลการทดลองค่า LC_{50} ต่ำสุดพบในสารสกัดจากผลแก่ของ ทุเรียนเทศและมีฤทธิ์สูงต่อการตายของโรสน้ำเค็มและลูกน้ำยุงลาย ซึ่งลูกน้ำยุงลายมีความไวต่อพิษ สารสกัดสูงกว่าโรสน้ำเค็มซึ่งเป็นตัวชี้วัด (indicator) ที่ใช้ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากพืช (Mackeen *et al.*, 2000) สารสกัดนี้จึงมีประสิทธิภาพดีต่อการทำลายลูกน้ำยุงลายได้ ซึ่งเป็นข้อมูล ใหม่ที่พบเพิ่มเติมจากงานวิจัยอื่น ๆ ที่ทดสอบเพียงสารสกัดจากเปลือกต้นและเมล็ดเท่านั้น (Hlywkai *et al.*, 1997; Solis *et al.*, 1993) สารประกอบฟีนอลิกรวมเป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่เกิดขึ้นจากสารมัธยันตร์หรือสารเมแทบอไลต์ปฐมภูมิ (primary metabolites) ที่เกิดขึ้นหลังจากที่เซลล์หยุดการเติบโตไปแล้ว สารประกอบฟีนอลิกรวมถูกสังเคราะห์จากวิถีเพนโทส ฟอสเฟต (pentose phosphate pathway) วิถีชิคิเมต (shikimate pathway) และวิถีฟีนิลโพรพา- นอยด์ (phenylpropanoid pathway) ซึ่งมีหน่วยโครงสร้างของลิกนิน (lignin) ถูกสร้างขึ้นในด้วย เพื่อใช้ในกลไกการต้านเชื้อโรคและการติดเชื้ของพืช (Randhir *et al.*, 2004) จากสารสกัดทุเรียนเทศ ต่อโรสน้ำเค็มและลูกน้ำยุงลาย คาดว่าส่วนต่าง ๆ ของทุเรียนเทศ (ใบ เปลือกลำต้น เมล็ดผลแก่ ผลอ่อน แยกเมล็ด และผลแก่แยกเมล็ด) ที่นำมาศึกษามีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกัน สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งลูกน้ำยุงลายได้ แต่มีพิษน้อยมากหรือไม่มีพิษต่อโรสน้ำเค็ม ข้อมูลจากผลการศึกษาสามารถ นำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับผลไม้ท้องถิ่นชนิดนี้ได้

สรุปผลการวิจัย

พืชท้องถิ่นหลายชนิดรวมถึงทุเรียนเทศ มีรสชาติและคุณสมบัติเฉพาะถิ่นปลูก พืชเหล่านี้ นับเป็นทรัพยากรที่มีค่าของประเทศ มีความสำคัญ และมีประโยชน์อย่างมากในแง่การพึ่งพาตนเอง ของประชาชนและเศรษฐกิจ ความสนใจในการพัฒนาพืชเหล่านี้เป็นยารักษาโรคหรือการเพิ่มมูลค่า เป็นสิ่งที่มีประโยชน์ต่อทุกฝ่าย เป็นหนทางหนึ่งที่จะกระตุ้นให้มีการศึกษาวิจัยในเชิงลึก ให้ชุมชนใน ท้องถิ่นเห็นความสำคัญและตระหนักถึงคุณค่าและความปลอดภัยของการใช้ประโยชน์จากฤทธิ์ของพืช อีกทั้งยังเป็นการต่อยอดภูมิปัญญาท้องถิ่นให้เกิดประโยชน์เชิงการแพทย์ พานิชย์ และสาธารณะ เพื่อ

เป็นพื้นฐานในการพัฒนาเศรษฐกิจชุมชนอย่างยั่งยืนต่อไป ข้อมูลจากงานวิจัยนี้ เช่น สารสกัดผลแก่ด้วยเอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด สามารถนำไปใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ หรือสารสกัดผลแก่ด้วยเอทานอล มีค่า LC_{50} ต่ำที่สุด เมื่อทดสอบกับลูกน้ำยุงลายแสดงว่ามีความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงลายค่อนข้างสูง สามารถนำไปใช้เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการกำจัดลูกน้ำยุงลายได้ ทั้งนี้จะต้องมีการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดผลแก่ทุเรียนเทศในสัตว์ทดลองเพื่อใช้เป็นอาหารหรือยารักษาโรคต่อไป ข้อมูลจากงานวิจัยจึงสามารถนำมาเป็นข้อมูลส่งเสริมและสร้างความเชื่อมั่นให้คนในชุมชนเห็นความสำคัญของพืชในท้องถิ่นและมีความภูมิใจต่อภูมิปัญญาของบรรพบุรุษ สร้างรายได้แก่ชุมชน อีกทั้งยังสามารถนำข้อมูลจากงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ในหน่วยงานวิจัยด้านสมุนไพรและการแพทย์รวมถึงหน่วยงานด้านเกษตรกรรมและกลุ่มชุมชน โดยต้องอาศัยความร่วมมือจากหลายฝ่ายในการพัฒนาการปลูกและแปรรูปทุเรียนเทศในทุกรูปแบบให้มีมาตรฐานตามหลักเกณฑ์ที่ดีในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กามีละห์ ยะโกะ. (2566). ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้านในจังหวัดสุราษฎร์ธานี. *วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*, 42(1), 93-103, doi: <https://doi.org/10.65217/wichchajinstru.2023.v42i1.256643>.
- วิวัฒน์ พันธวุฒิยานนท์ และนนทสิทธิ์ บุญยะรัตเวช. (2540). ผลไม้พื้นบ้านภาคใต้. *วารสารสารคดี*, 11(14), 54-72.
- Alali, F.Q, Liu, X.X. and McLaughlin, J.L. (1999). *Annonaceous acetogenins: Recent progress. Journal of Natural Products*, 62(3), 504-540, doi: <https://doi.org/10.1021/np980406d>.
- Baur, F.J., and Ensminger, L.G. (1977). The association of official analytical chemists (AOAC). *Journal of American Oil Chemical Society*, 54, 171-172, doi: <https://doi.org/10.1007/BF02670789>.
- Ciccia, G., Coussio, J. and Mongelli, E. (2000). Insecticidal activity against *Aedes aegypti* larvae of some medicinal South American plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(1-2), 185-189, doi: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00241-5](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00241-5).
- Hernández-Fuentes, G.A., García-Argáez, A.N., Campos, A.L.P., Delgado-Enciso, I., Muñoz-Valencia, R., Martínez-Martínez, F.J., Toninello, A., Gómez-Sandoval, Z., Mojica-Sánchez, J.P., Vía, L.D. and Parra-Delgado, H. (2021). Cytotoxic acetogenins from the roots of *Annona purpurea*. *International Journal of Molecular Science*, 20(8), doi: <https://doi.org/10.3390/ijms20081870>.
- Hlywka, J.J., Bech, M.M. and Bullerman, L.B. (1997). The use of the chicken embryo screening test and brine shrimp (*Artemia salina*) bioassays to assess the toxicity of fumonisin B1 mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology Research*, 35(10-11), 991-999, doi: [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(97\)87268-7](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(97)87268-7).

- Huai, H., Dong, Q. and Lui, A. (2010). Ethnomedicinal analysis of toxic plants from five ethnic groups in China. *Ethnobotany Research and Applications*, 8, 169-179, doi: <https://doi.org/10.17348/era.8.0.169-179>.
- Jaramillo, M.C., Arango, G.J., González, M.C., Robledo, S.M. and Velez, I.D. (2000). Cytotoxicity and antileishmanial activity of *Annona muricata* pericarp. *Fitoterapia*, 71(2), 183-186, doi: [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(99\)00138-0](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(99)00138-0).
- Liaw, C.C., Chang, F.R., Lin, C.Y., Chou, C.J., Chiu, H.F., Wu, M.J. and Wu, Y.C. (2002). New cytotoxic monotetrahydrofuran annonaceous acetogenins from *Annona muricata*. *Journal of Natural Products*, 65(4), 470-475, doi: <https://doi.org/10.1021/np0105578>.
- Mackeen, M.M., Khan, M.N., Zamadi, Z. and Lajis, N.H. (2000). Brine shrimp toxicity of fractionated extracts of Malaysian medicinal plants. *Natural Product Sciences*, 6(3), 131-134.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E. and McLaughlin, J.L. (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(5), 31-34, doi: <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>.
- Nolasco, Y.G., Chacón-López, M.A., Basurto, R.I.O., Aguirre, S.A., González-Aguilar, G.A., Rodríguez-Aguayo, C., Cortez, M.C.N., Galindo, H.S.G., Magaña, M.L.G., Espinoza, L.M. and González, E.M. (2022). *Annona muricata* leaves as a source of bioactive compounds: Extraction and quantification using ultrasound. *Horticulturae*, 8(7), doi: <https://doi.org/10.3390/horticulturae8070560>.
- Oberlies, N.H., Chang, C.J. and McLaughlin, J.L. (1997). Structure-activity relationships of diverse *Annonaceous acetogenins* against multidrug resistant human mammary adeno-carcinoma (MCF-7/Adr) cells. *Journal of Medicinal Chemistry*, 40(13), 2102-2106, doi: <https://doi.org/10.1021/jm9700169>.
- Randhir, R., Lin, Y.T. and Shetty, K. (2004). Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Asia Pacific Journal Clinical Nutrition*, 13(3), 295-307.
- Singelton, V.L., Orthofer, R. and Lameela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method in Enzymology*, 299, 152-178, doi: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).
- Solis, P.N., Wright, C.W., Anderson, M.M., Gupta, M.P. and Philipson, J.D. (1993). A microwell cytotoxicity assay using *Artemia salina* (brine shrimp). *Planta Medica*, 59(3), 250-252, doi: <https://doi.org/10.1055/s-2006-959661>.
- Wilfred, V. and Ralph, N. (2006). *Phenolic compound biochemistry*. London: Academic Press.