นิพนธ์ต้นฉบับ

ฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้านและยุงรำคาญของสารสกัดจากเปลือกสะแกนา

ฉัตรลดา หงษ์วิลัย[1] ศิรินทิพย์ พรมเสนสา[1] กองแก้ว ยะอูป[2] พงศธร ทองกระสี[1]
ฉัตรชนก นุกูลกิจ[1] นฤวัตร ภักดี[1] ภานิชา พงศ์นราทร[1] ทัณฑิกา แก้วสูงเนิน[1] เพ็ญศิริ จันทร์แอ[1]
อนรรฆอร จิตต์เจริญธรรม[1] ขนิษฐา ทุมา[1] และจรินยา ขุนทะวาด[1*]

[1] สาขาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

[2] ฝ่ายแมลงนำโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 7 ขอนแก่น

*ผู้นิพนธ์ที่ให้การติดต่อ E-mail: jarinya.ktw@gmail.com

Received date: March 17, 2020; Revised date: April 2, 2020; Accepted date: September 2, 2020

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำระยะที่ 3 ของยุงลายบ้านและยุงรำคาญของสารสกัดจากเปลือกสดและแห้งของสะแกนา และทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีเพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี สารตัวอย่างถูกละลายในเอทานอล 95% โดยมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 5-80 กรัม/ลิตร แล้วนำไปทดสอบและบันทึกผลอัตราการตายของลูกน้ำที่ 48 ชั่วโมง จากนั้นวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบโปรบิท เพื่อวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ลูกน้ำตาย ผลการศึกษาพบว่าลูกน้ำยุงลายบ้านมีความไวต่อสารสกัดมากกว่ายุงรำคาญ สารสกัดจากเปลือกแห้งแสดงให้เห็นฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำได้ดีกว่าเปลือกสดต่อยุงลายและยุงรำคาญโดยให้ค่า LC_{50} (Lethal concentration, 50%) เท่ากับ 3.67±0.74 และ 5.48±6.33 กรัม/ลิตร และค่า LC_{90} (Lethal concentration, 90%) 11.01±3.26 และ 13.22±4.67 กรัม/ลิตร ตามลำดับ โดยสารสกัดจากเปลือกสดไม่สามารถกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้านและยุงรำคาญได้ในความเข้มข้นที่เท่ากัน การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี พบองค์ประกอบเบื้องต้นทั้งหมด 28 ชนิด โดยจากการวิเคราะห์ผลพบว่ามีสารที่เป็นองค์ประกอบหลัก 5 ชนิด คือ Epicurzerenone (12.58%), Copaene (11.88%), β-Caryophyllene (8.30%), β-Cadinene (6.38%) และ 1,1,4,8 – Tetra-methyl-4,7,10-cycloundecatriene (6.11%) การศึกษาครั้งนี้แนะนำว่าสารสกัดจากเปลือกสะแกนาอาจจะนำมาพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการควบคุมประชากรลูกน้ำยุงได้ในอนาคต

คำสำคัญ : สะแกนา, ฤทธิ์กำจัดลูกน้ำยุง, แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี

Original Article

Larvicidal activity against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* from bark extract of *Combretum quadrangulare* Kurz.

Chatlada Hongwilai[1], Sirintip Promsensa[1], Kongkaew Yaoup[2], Pongsathorn Tongkasee[1], Chatchanok Nukulkit[1], Naruwat Pakdee[1], Panicha Pongnaratorn[1], Thanthika Kaewsoongnern[1], Pensiri Chan-ae[1], Anunkaorn Jitcharerntham[1], Kanitta Thuma[1], and Jarinya Khoontawad[1*]

[1] Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan, Sakon Nakhon Campus

[2] Entomology, The Office of Disease Prevention and Control 7, Khon Kaen

*Corresponding Author E-mail: jarinya.ktw@gmail.com

Abstract

This research aims to evaluate the efficacy of fresh and dry barks of Combretum quadrangulare Kurz. extracts against third instar larvae of Aedes aegypti and Culex quinquefasciatus and the chemical composition was analyzed by using gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). The samples were dissolved in ethanol 95% at final concentration of 5-80 g/L. The mortality of lavae was observed at 48 h after treatment and data were subjected to probit analysis to determine lethal concentration. The results found that the larvae of Ae. aegypti were more susceptible to the extracts than the larvae of Cx. quinquefasciatus. The extract from dry bark exhibited better larvicidal toxicity than the fresh bark extract against Ae. aegypti and Cx. quinquefasciatus with LC50 of 3.67±0.74 and 5.48±6.33 g/L and LC90 11.01±3.26 and 13.22±4.67 g/L respectively while fresh bark extract was not toxic to mosquito larvae in the same concentration. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) profile found that dry bark of C. quadrangulare Kurz. extracts contained at least 28 compounds. The major constituents were Epicurzerenone (12.58%), Copaene (11.88%), β-Caryophyllene (8.30%), β-Cadinene (6.38%) and 1,1,4,8-Tetramethyl-4,7,10-cycloundecatriene (6.11%). This study suggests that these extracts may be used as bioactive agents to control the mosquito larvae population in the future.

Keywords: Combretum quadrangulare Kurz., Larvicidal activity, Gas chromatography-mass spectrometry

บทนำ

ยุงเป็นแมลงที่สร้างความรำคาญและเป็นพาหะหลักในการนำโรคทางด้านสาธารณสุขเป็นอย่างมาก โดยในประเทศไทยพบโรคที่เกิดจากยุงเป็นพาหะ ได้แก่ โรคไข้เลือดออกและโรคเท้าช้าง เป็นต้น ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อไวรัสที่มียุงพาหะนำโรคหลักคือ ยุงลายบ้าน (Aedes aegypti) และยุงรำคาญ (Culex quinquefasciatus) ซึ่งโรคเหล่านี้เป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญในประเทศภูมิภาคเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน โดยโรคไข้เลือดออกเกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี่ (Dengue virus) ซึ่งเป็น RNA virus มี 4 ชนิด ได้แก่ DEN-1, DEN-2, DEN-3 และ DEN-4 จากการรายงานผู้ป่วยตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม ถึงวันที่ 28 เมษายน พ.ศ. 2563 พบผู้ป่วยไข้เลือดออกทั้งหมด 10,093 ราย เสียชีวิต 9 ราย จาก 77 จังหวัด ผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกสามารถพบได้ในทุกกลุ่มอายุ โดยกลุ่มที่มีอัตราป่วยสูงที่สุดอยู่กลุ่มเด็กวัยเรียน (5-14 ปี) และวัยผู้ใหญ่ตอนต้น (15-24 ปี)[1] ปัจจุบันมีวัคซีนป้องกันโรคไข้เลือดออกที่มีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัสเดงกี่ทั้ง 4 ชนิด ที่ได้รับการรับรองจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ของประเทศไทย คือ วัคซีน Dengvaxia® และ Dengvaxia MD®[2] นอกจากนี้มีการใช้วิธีการทางกายภาพหลายแบบในการควบคุมลูกน้ำยุง เช่น การใช้ทรายอะเบท[3] ซึ่งเป็นสารเคมีสังเคราะห์ในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphate) เป็นสารกำจัดลูกน้ำยุงที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีการแจกโดยหน่วยงานสาธารณสุขและมีจำหน่ายตามท้องตลาดทั่วไป แต่มีข้อเสียคือทำให้ยุงดื้อต่อสารเคมี และในคนบางกลุ่มหากสัมผัสหรือสูดดมอาจเกิดอาการแพ้และมีความเป็นพิษต่อระบบทางเดินหายใจของผู้บริโภคหรือสัตว์เลี้ยงได้ ดังนั้นการใช้สมุนไพรกำจัดลูกน้ำยุงพาหะนำโรคจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยลดปัญหาการดื้อต่อสารเคมีของยุงและลดผลกระทบของสารเคมีที่จะตกค้างในธรรมชาติ โดยในปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับการนำพืชสมุนไพรที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการฆ่าลูกน้ำยุงอย่างมากมาย เช่น เมล็ดละหุ่ง[4] ใบสาบเสือ[5] เมล็ดน้อยหน่า[6] เป็นต้น

สะแกนา มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ Combretum quadrangulare Kurz. เป็นไม้ยืนต้นที่จัดอยู่ในวงศ์ Combretaceae ภูมิปัญญาในการแพทย์แผนไทยใช้เมล็ดฆ่าพยาธิ ใช้ใบแก้ไข้ เป็นต้น จากการศึกษาเบื้องต้นของคณะผู้วิจัยพบว่าสารสกัดจากเปลือก กิ่ง และใบสะแกนา พบสารฟีนอลิกและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงมาก ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา และลดความเสี่ยงต่อการเกิดเนื้องอก และจากการศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของคณะผู้วิจัยในเปลือกสะแกนาสดที่สกัดด้วย เอทานอล 95% พบสารแทนนิน เทอร์ปีนอยด์ และซาโปนิน ซึ่งสารแทนนินมีฤทธิ์ในการฆ่าแมลงได้[7] สารซาโปนินมีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงได้[8] และในปัจจุบันพบว่ามีสารสำคัญจากสมุนไพรที่สามารถฆ่าลูกน้ำยุงได้ เช่น Carvacrol, p-Cymene, γ-Terpenine และ β-Caryophyllene เป็นต้น[9] ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะใช้สารสกัดหยาบของเปลือกของสะแกนามาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี จากนั้นนำสารสกัดหยาบไปทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงระยะที่ 3 ของยุง 2 ชนิด คือ ยุงลายบ้าน (Ae. aegypti) และยุงรำคาญ (Cx. quinquefasciatus) เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกสะแกนาในการควบคุมประชากรลูกน้ำยุงในอนาคต

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากเปลือกสะแกนา และเพื่อประเมินฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำระยะที่ 3 ของยุงลายบ้านและยุงรำคาญ

ระเบียบวิธีการศึกษา

1. การเตรียมสารสกัดเปลือกสะแกนา

นำเปลือกสะแกนาสดมาล้างทำความสะอาดแล้วนำไปผึ่งให้น้ำแห้ง จากนั้นแบ่งเปลือกสะแกนาที่ผึ่งไว้ครึ่งหนึ่งมาหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเปลือกสะแกนาสดและแห้งที่ได้ไปบดด้วยเครื่องบดแบบหยาบ ชั่งสมุนไพรที่บดให้ได้ปริมาณอย่างละ 1,000 กรัม ใส่ลงในภาชนะ เติมเอทานอล 95% ลงไปในปริมาตร 4,000 มิลลิลิตร ในอัตราส่วน 1:4 ตามลำดับ และปิดฝาให้สนิท เก็บไว้ให้พ้นแสง แช่ทิ้งไว้ 7 วัน เขย่าทุกวัน เช้า-เย็น เมื่อครบกำหนดตามเวลา จึงนำสารสกัดมากรองด้วยผ้าขาวบางนำกากแยกทิ้งแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออกโดยการใช้เครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สูญญากาศ (Rotary evaporator) สารสกัดที่ได้เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

2. การเพาะเลี้ยงยุง

ลูกน้ำยุงที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) และยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*) ระยะที่ 3 โดยได้รับการสนับสนุนมาจากฝ่ายแมลงนำโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 7 ขอนแก่น การเลี้ยงและการทดสอบยุงอยู่ภายใต้จริยธรรมในสัตว์ทดลองหมายเลข 3/2563 ซึ่งผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ของสถานที่ดำเนินการ (คกส.) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน การเพาะเลี้ยงยุงทำโดยนำไข่ยุงลายบ้านและยุงรำคาญมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75-80 ด้วยการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่เป็นระบบปิด โดยการเลี้ยงยุงลายบ้านจะเริ่มจากการนำแผ่นกระดาษที่มีไข่ยุงไปแช่น้ำประปาในถาดพลาสติก ส่วนยุงรำคาญจะนำไข่ที่มีลักษณะเป็นแพไปใส่ในถาดพลาสติกใส่น้ำ ใช้เวลา 1-2 วัน ไข่จะฟักเป็นลูกน้ำ จากนั้นจะทำการแยกเลี้ยงลูกน้ำจำนวน 500 ตัวต่อ 1 ถาด ลูกน้ำจะได้รับอาหารคืออาหารเม็ดสำหรับกระต่าย หลังจากนั้นใช้เวลาประมาณ 7-8 วัน ลูกน้ำจะเข้าสู่ระยะตัวโม่งจึงทำการแยกตัวโม่งเข้ากรงตาข่ายขนาด 30x30x30 เซนติเมตร หลังจากนั้นประมาณ 2 วัน ตัวโม่งจะเจริญเป็นตัวเต็มวัย ยุงตัวเต็มวัยจะถูกเลี้ยงโดยใช้ 5% Multivitamin และยุงตัวเมียจะให้อาหารเพิ่มเติมคือให้กินเลือดจากหนูตะเภา เพื่อให้มีการสร้างและพัฒนาไข่ที่สมบูรณ์ และวางไข่ในภาชนะที่เตรียมไว้ การเลี้ยงยุงมีการแบ่งช่วงเวลา คือ 12 ชั่วโมง เป็นกลางวันและ 12 ชั่วโมง เป็นกลางคืน

3. การทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำยุง (Larvicidal activity)

การทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้านและยุงรำคาญ ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐานของ WHO (2005)[10] เริ่มจากการเตรียมสารตัวอย่างเปลือกสดและเปลือกแห้งสะแกนาละลายในเอทานอล 95% และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 5 10 20 40 และ 80 กรัม/ลิตร จากนั้นนำน้ำประปาปริมาตร 99 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์แล้วนำสารตัวอย่างทุกความเข้มข้นที่เตรียมไว้ใส่ลงในแต่ละบีกเกอร์ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร คนสารละลายให้เข้ากัน โดยกลุ่มควบคุมเชิงลบ (Negative control) ใช้เอทานอล 95% จากนั้นเติมลูกน้ำยุงระยะที่ 3 จำนวน 25 ตัว ลงไปในบีกเกอร์ที่เตรียมไว้ ทำการทดสอบทั้งหมด 4 ซ้ำ บันทึกผลการตายของลูกน้ำเมื่อครบเวลาเวลา 48 ชั่วโมง รายงานผลเป็นร้อยละการตายของลูกน้ำยุง (%Mortality) ด้วยสูตร

เปอร์เซ็นต์การตาย (%Mortality) = จำนวนลูกน้ำยุงที่ตาย/จำนวนลูกน้ำยุงทั้งหมด x 100

4. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปคโทรเมตรี (Gas chromatography–mass spectrometry, GC-MS)

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบจากสะแกนาเฉพาะในกลุ่มสารตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำที่ดีที่สุด โดยตัวอย่างจะถูกทดสอบด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปคโทร-เมตรี รุ่น GCMS-QP2020 Ultra (Shimadzu) โดยประยุกต์วิธีการทดสอบจากงานวิจัยที่ผ่านมา[11] ในการศึกษาจะใช้ SH-Rtx-5MS แคปพิลลารี่คอลัมน์ในการวิเคราะห์ (ความยาว 30 เมตร x เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 ไมโครเมตร x ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร; อุณหภูมิไม่เกิน 330 องศาเซลเซียส) และใช้แมสสเปคโทรเมตรี (MS รุ่น QP2020 Ultra:Shimadzu) ภายใต้สภาวะแก๊สตัวพา (Carrier gas) คือ แก๊สฮีเลี่ยม ด้วยอัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตร/นาที ใช้ Split mode ในการวิเคราะห์ อุณหภูมิของ Injection ที่ 250 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของ Ion source ที่ 280 องศาเซลเซียส กำหนดโปรแกรมควบคุมอุณหภูมิของ Oven ที่ 50-260 องศาเซลเซียส คงที่ไว้เป็นเวลา 19 นาที ภายใต้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส/นาที ทำการกรองตัวอย่างสารละลายของสารสกัดหยาบก่อนทำการวิเคราะห์ โดยปริมาณที่ใช้ในการทดสอบ คือ 1 ไมโครลิตร ภายใต้ระบบ Spilt ratio 5:1 ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างข้อมูลทั้งหมดด้วย Mass spectra โดยระบบ Full-scan (35-350 amu) พิจารณาร้อยละขององค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบของเปลือกแห้งสะแกนาด้วยพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) และระบุชนิดของสารประกอบทางเคมีที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดเปลือกสะแกนา โดยพิจารณาจากค่า Retention time และ Mass spectrum เปรียบเทียบกับค่าจากฐานข้อมูล Library NIST17

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำผลร้อยละการตายของลูกน้ำยุงไปวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของสารสกัดซึ่งทำให้ลูกน้ำตายครึ่งหนึ่ง (Lethal concentration 50%, LC50) และความเข้มข้นของสารสกัดซึ่งทำให้ลูกน้ำตายร้อยละ 90 (Lethal concentration 90, LC90) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Probit analysis และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Independent T-Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

ผลของการสกัดสารจากเปลือกสดและเปลือกแห้งสะแกนา

ผลของสารสกัดจากเปลือกสะแกนาโดยสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ในอัตราส่วน 1:4 เป็นเวลา 7 วัน หลังจากสกัดแล้วได้สารสกัดตัวอย่างนำมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบจากเปลือกสดที่มีสีดำและสารสกัดหยาบจากเปลือกแห้งมีสีน้ำตาล จากนั้นตรวจสอบลักษณะของสารสกัดหยาบและคำนวณหาร้อยละของผลผลิต (%Yield) เมื่อเปรียบเทียบร้อยละของผลผลิตของสารสกัดหยาบพบว่าสารสกัดจากเปลือกแห้งมีร้อยละของผลผลิตสูงกว่าสารสกัดจากเปลือกสด โดยมีค่าเท่ากับ 7.87 และ 3.05 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 1 ทั้งนี้ปริมาณร้อยละของผลผลิตที่สูงกว่าในสมุนไพรแห้งอาจจะเกิดจากปริมาณสมุนไพรที่มากกว่าถึงแม้จะชั่งมาในน้ำหนักที่เท่ากัน เนื่องจากได้ทำการอบจนน้ำในเปลือกระเหยออกจนหมดแล้ว

ผลการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดเปลือกสดและเปลือกแห้งสะแกนาในการกำจัดลูกน้ำยุง

ผลการศึกษาฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำยุงระยะที่ 3 ของยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) และยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*) ของสารสกัดหยาบเปลือกสะแกนา แสดงดังตารางที่ 2 พบว่าสารสกัดจากเปลือกแห้งมีฤทธิ์ใน

การกำจัดลูกน้ำยุงได้ดีกว่าสารสกัดจากเปลือกสด โดยสารสกัดจากเปลือกแห้งมีฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้านได้ดีกว่ายุงรำคาญ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 3.67±0.74 และ 5.48±6.33 กรัม/ลิตร และค่า LC_{90} เท่ากับ 11.01±3.26 และ 13.22±4.67 กรัม/ลิตร ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่สารสกัดจากเปลือกสดไม่สามารถกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้านและยุงรำคาญได้เมื่อใช้ความเข้มข้นที่เท่ากัน กลุ่มควบคุมไม่มีฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำ จากการเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่น พบว่าเปลือกแห้งสะแกนามีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำต่ำกว่าสมุนไพรบางชนิด เช่น ฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำของสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าที่หมักด้วยน้ำส้มควันไม้ต่อลูกน้ำยุงลายบ้าน มีค่า LC_{50} เท่ากับ 3.11 กรัม/ลิตร ที่เวลา 48 ชั่วโมง[6] และผลของสารสกัดจากสมอไทยที่สกัดด้วยเมทานอลต่อลูกน้ำยุงก้นปล่อง (*Anopheles stephensi)* ยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti)* และยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus)* โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.88, 0.93 และ 1.12 กรัม/ลิตร ที่เวลา 48 ชั่วโมง ตามลำดับ[12] และสารสกัดเมล็ดสะแกนาที่สกัดด้วย 70% เอทานอล มีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ที่มีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.72 กรัม/ลิตร ที่เวลา 48 ชั่วโมง[13] อย่างไรก็ตามสารสกัดจากเปลือกแห้งสะแกนาก็ยังมีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงได้สูงกว่าสารสกัดจากสมุนไพรบางชนิด เช่น สารสกัดจากใบขนุนที่สกัดด้วยเอทานอล 95% พบว่ามีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* มีค่า LC_{50} เท่ากับ 4.11 กรัม/ลิตร[14] ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้แนะนำว่าสารสกัดจากเปลือกสะแกนานี้อาจจะนำมาพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการควบคุมประชากรลูกน้ำยุงได้ในอนาคต

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปคโทรเมตรี (Gas chromatography–mass spectrometry, GC-MS)

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดสะแกนาจะวิเคราะห์เฉพาะสารสกัดจากเปลือกแห้ง เนื่องจากเป็นส่วนที่มีฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำยุงได้ดีกว่าสารสกัดจากเปลือกสดในความเข้มข้นที่เท่ากัน จากตารางที่ 3 พบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากเปลือกแห้งสะแกนาที่มีพื้นที่ใต้กราฟมากกว่าร้อยละ 0.4 ทั้งหมด 28 ชนิด โดยมีสารที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ Epicurzerenone (12.58%), Copaene (11.88%), β-Caryophyllene (8.30%), β-Cadinene (6.38%) และ 1,1,4,8-Tetramethyl-4,7,10-cycloundecatriene (6.11%) และเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมาพบองค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์กำจัดลูกน้ำยุง คือ β-Caryophyllene (8.30%), Camphor (7.49%), Eucalyptol (4.35%), Isoborneol (4.09%), Linalool (1.44%), Myrcene (0.83%), α-Pinene (0.74%), α-Terpineol (0.70%) และ β-Pinene (0.48%)[15] จากการศึกษาที่ผ่านมายังพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบสดสะแกนามีองค์ประกอบทางเคมี 9 ชนิด โดยพบ Palmitic acid (17.74%) มากที่สุด รองลงมาคือ Hexahydrofarnesyl acetone (17.36%), Phytol (11.52%), n-Nonacosane (5.37%), n-Heptacosane (4.75%) ตามลำดับ[16] นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจากใบสะแกนามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง KB และ NCI-H187 ได้[17] และสารสกัดจากเมล็ดสะแกนาพบองค์ประกอบทางเคมีคือ Steroidal alkaloid ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้[18]

บทสรุป

การศึกษาฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำยุงระยะที่ 3 ในยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) และยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*) ของสารสกัดจากเปลือกสดและเปลือกแห้งสะแกนา พบว่า และสารสกัดจากเปลือกแห้งมีฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้านได้ดีกว่ายุงรำคาญ โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 3.67±0.74 และ 5.48±6.33 กรัม/ลิตร

ตามลำดับ สารสกัดจากเปลือกสดไม่สามารถกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้านและยุงรำคาญได้ในความเข้มข้นที่เท่ากับเปลือกแห้ง จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี พบว่าสารสกัดจากเปลือกแห้งสะแกนาพบองค์ประกอบทางเคมี 28 ชนิด โดยมีสารที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ Epicurzerenone (12.58%), Copaene (11.88%), β-Cadinene (6.38%) และ 1,1,4,8-Tetramethyl-4,7,10-cycloundecatriene (6.11%) การศึกษานี้ให้ข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ใช้กำจัดลูกน้ำยุงต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณนายแพทย์ธีรวัฒน์ วลัยเสถียร ผู้อำนวยการสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 7 จังหวัดขอนแก่น คุณบุญส่ง กุลโฮง ที่อำนวยความสะดวกในการให้สถานที่เพาะเลี้ยงยุงลาย และอุปกรณ์ในการทดสอบ ให้คำปรึกษาแนะนำในการทำวิจัย รวมถึงสนับสนุนข้อมูลทางวิชาการ

ตาราง ภาพ และแผนภาพ

ตารางที่ 1 ลักษณะของสารสกัดหยาบและร้อยละของผลผลิต (%Yield) ของเปลือกสดและเปลือกแห้งสะแกนาที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	สีของสาร	น้ำหนัก	น้ำหนักสาร	%Yield
Combretum	เปลือกสด	สีดำ	1,000 g	30.53 g	3.05
quadrangulare Kurz.	เปลือกแห้ง	สีน้ำตาล	1,000 g	78.73 g	7.87

ตารางที่ 2 ร้อยละการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) และยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*) จากการใช้สารสกัดเปลือกสดและเปลือกแห้งของสะแกนา ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ส่วนของพืช	สายพันธุ์ยุง	ความเข้มข้น (mg/L)	%Mortality±SD	LC_{50}±SD (g/L)	LC_{90}±SD (g/L)
เปลือกสด	ยุงลายบ้าน	5	Nil	>3.67	>11.01
		10	Nil		
		20	Nil		
		40	Nil		
		80	Nil		
	ยุงรำคาญ	5	Nil	>5.48	>13.22
		10	Nil		
		20	Nil		
		40	Nil		
		80	Nil		
เปลือกแห้ง	ยุงลายบ้าน	5	5.00±2.00	3.67±0.74	11.01±3.26
		10	16.00±3.27		
		20	26.00±2.31		
		40	47.48±3.43		
		80	94.00±2.31		
เปลือกแห้ง	ยุงรำคาญ	5	13.00±2.70	5.48±6.33	13.22±4.67
		10	34.00±2.06		
		20	46.00±2.31		
		40	65.30±1.89		
		80	91.00±2.00		

หมายเหตุ: Nil คือ ไม่สามารถอ่านค่าได้

Control มีร้อยละการตาย (%Mortality) ของลูกน้ำยุงลายบ้านและยุงรำคาญเท่ากับ 0±0.00

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากเปลือกแห้งของสะแกนา

No.	Chemical constituent	Retention (min)	Relative peak area (%)
1	α-Pinene	4.324	0.74
2	Camphene	4.574	3.70
3	β-Pinene	4.962	0.48
4	Myrcene	5.037	0.83
5	Eucalyptol	5.798	4.35
6	Linalool	6.915	1.44
7	Camphor	8.172	7.49
8	Isoborneol	8.472	4.09
9	α-Terpineol	9.074	0.70
10	Bornyl acetate	11.336	0.52
11	σ-Elemene	12.625	1.07
12	α-Cubebene	12.957	1.06
13	Copaene	14.102	11.88
14	Elemene	14.358	3.33
15	α-Cyperene	14.629	0.85
16	β-Caryophyllene	15.271	8.30
17	1,1,4,8-Tetramethyl-4,7,10-cycloundecatriene	16.035	6.11
18	β-copaene	16.625	3.71
19	Curzerene	17.011	5.95
20	β-Cadinene	17.686	6.38
21	Caryophyllene oxide	18.329	1.98
22	γ-Elemene	18.520	0.63
23	Epicurzerenone	19.959	12.58
24	Epicubenol	20.366	2.71
25	α-Cadinol	20.688	2.92
26	Curdione	22.218	0.50
27	Curcumenol	22.445	0.80
28	Isofuranodienone	24.145	0.46
	Total identified		95.56

เอกสารอ้างอิง

1. กองโรคติดต่อนำโดยแมลง กระทรวงสาธารณสุข. (2563). **สถานการณ์โรคไข้เลือดออก ปี 2563**. สืบค้นเมื่อ 18 กรกฎาคม 2563 จาก http://www.http://phanhospital.go.th/.
2. นันทพร เล็กพิทยา และ เบญญาภา เพชรปวรรักษ์. (2563). วัคซีนป้องกันไข้เลือดออก (Dengue vaccine). **นิตยสารวาไรตี้เพื่อสุขภาพ,** 35, 1-2.
3. ธำรงค์ ผลชีวิน และคณะ. (2559). การศึกษาฤทธิ์คงทนของทรายอะเบทในการควบคุมลูกน้ำยุงลายบ้าน *Aedes aegypti* ในสภาพธรรมชาติและกึ่งจำลองธรรมชาติ. **วารสารกรมวิทย์**, ที่ 58(3), 161-168.
4. Nisha Sogan, Neera Kapoor, Himmat Singh, Smriti Kala, A. Nayak and B.N. Nagpal. (2018). Larvicidal activity of *Ricinus communis* extract against mosquitoes. **Journal of Vector Borne Diseases,** 55, 282-290.
5. ศรีสุดา หาญภาคภูมิ และคณะ. (2560). ฤทธิ์การกำจัดลูกน้ำยุงและการไล่ยุงของสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยสาบเสือต่อยุงลายบ้าน ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง. **SDU research journal,** 10(3), 129-157.
6. นิดา นันทกรปรีดา และคณะ. (2560). ฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ของสารสกัดเมล็ดน้อยหนา (*Annona squamosa*) ที่หมักด้วยน้ำส้มควันไม้. **PSRU journal of science and technology,** 2(3), 33-40.
7. อุษาวดี ถาวะระ และคณะ. (2546). **สมุนไพรป้องกันกำจัดแมลงทางการแพทย์**. (พิมพ์ครั้งที่ 1). นนทบุรี: บริษัท ดีไซร์ จำกัด.
8. A. Bagavan, A. A. Rahuman, C. Kamaraj and K. Geetha. (2008). Larvicidal activity of saponin from *Achyranthes aspera* against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research,** 103(1), 223–229.
9. Hsiang Ting Huang, Chien Chung Lin, Tai Chih Kuo, Shiang Jiuun Chen, Rong Nan Huang. (2019). Phytochemical composition and larvicidal activity of essential oils from herbal plants. **Planta,** 1-10.
10. World health organization. (2005). Comprehensive guidelines for prevention and control of dengue and dengue haemorrhagic fever.
11. Matulyte, I., Marksa, M., Ivanauskas, L., Kalveniene, Z., Lazauskas, R. and Bernatoniene, J. (2019). GC-MS analysis of the composition of the extracts and essential oil from *Myristica fragrans* seeds using magnesium aluminometasilicate as excipient. **Molecules,** 24(6), 1-12.
12. Thangapandi Veni, Thambusamy Pushpanathan, Jeyaraj Mohanraj. (2017). Larvicidal and ovicidal activity of *Terminalia chebula* Retz. (Family: Combretaceae) medicinal plant extracts against *Anopheles stephensi, Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Journal of Parasitic Diseases,** 41(3), 693–702.

13. Narumon Komalamisra, Yuwadee Trongtokit, Yupha Rongsriyam and Chamnarn Apiwathnasorn. (2005). Screening for larvicidal activity in some thai plants against four mosquito vector species. **Southeast asian journal tropical medicine public health,** 36(6), 1412-1422.
14. Maria Ruth B. Pineda-Cortel et al. (2018). Larvicidal and ovicidal activities of *Artocarpus blancoi* extracts against *Aedes aegypti*. **Pharmaceutical biology 2019**, 57(1), 120–124.
15. S. Andrade-Ochoa, J. Correa-Basurto, L. M. Rodriguez-Valdez, L. E. Sanchez-Torres, B. Nogueda-Torres and G. V. Nevarez-Moorillon. (2018). In vitro and in silico studies of terpenes, terpenoids and related compounds with larvicidal and pupaecidal activity against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Chemistry Central Journal,** 12, 1-21.
16. Wimaluk Nopsiri, Sunee Chansakaow, Somporn Putiyanan, Surapol Natakankitkul, Khesorn Nantachit and Banyong Khantawa et al. (2015). Chemical constituents and antibacterial activity of volatile oils of *Combretum latifolium* Bl. and *C. quadrangulare* Kurz leaves. **Chaing Mai university journal natural science,** 14(3), 245-256.
17. Wimaluk nopsiri, sunee Chansakaow, somporn Putiyanan, surapol natakankitkul and Dammrong santiarworn. (2014). Antioxidant and anticancer activities from leaf extracts of four combretum species from northern Thailand. **Chaing Mai university journal natural science,** 13(2), 195-205.
18. Khesorn Nantachit, Patoomratana Tuchinda, Banyoung Khantawa and Somjing Roongjang. (2016). Antibacterial activity of extract and an isolated steroidal alkaloid from the seeds of *Combretum quadrangulare* Kurz. **Journal of pharmacy and pharmacology,** 4, 261-267.