



พฤกษเคมีและฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญของสารสกัดดอกและใบยี่โถสีชมพู
Phytochemical and Larvicidal Activity Against *Culex* sp. of
Nerium oleander L. (Pink cultivar) Flowers and Leaves Extracts

สุนิษา สุวรรณเจริญ¹ อาภาพร บุญมี¹ พัชรี อาษาจันทร์¹ พิศชนก พิษณุภูมิสกุล¹
รุ่งอรุณ พลอาจ¹ และ อีร์พิชญ์ เกษมสุข^{1*}

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี 22000

*Corresponding Author, E-mail: teerapich.k@rbru.ac.th

บทคัดย่อ

พฤกษเคมีและฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญของสารสกัดตัวทำละลายอินทรีย์จากดอกและใบของต้นยี่โถสีชมพู ได้รับการตรวจวิเคราะห์โดยพบว่ามีพฤกษเคมีในสารสกัดหลายชนิด อาทิ สารประกอบฟีนอลิก แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ เทอร์พีนอยด์ ซาโปนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ยกเว้น แอนทราควิโนน และอิริโดออยด์ไกลโคไซด์ ผลการทดสอบฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญพบว่าสารสกัดเมทานอลของใบจากต้นยี่โถสีชมพู มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญดีที่สุดซึ่งมีค่า LC_{50} เท่ากับ 251.70 ± 12.17 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงนี้ อาจสัมพันธ์กับการตรวจพบ สารประกอบฟีนอลิก แอลคาลอยด์ และซาโปนิน ในสารสกัด

ABSTRACT

Phytochemical and larvicidal activity against *Culex* sp. of organic solvent extracts from the fresh flowers and leaves of *Nerium oleander* L. (Pink cultivar) were evaluated. Many substances such as phenolic compounds, alkaloids, flavonoids, terpenoids, saponins, cardiac glycosides except anthraquinones and iridoid glycosides were found in these plant extracts. The result of larvicidal activities show that the methanolic extract from leaves of *N. oleander* exhibited highest activity with a LC_{50} value of 251.70 ± 12.17 mg/l which this activity may related with phenolic compounds, alkaloids and saponins found in the extract.

คำสำคัญ : พฤษเคมี ยุงรำคาญ ต้นยี่โถสีชมพู

Keywords : Phytochemical, *Culex* sp., *Nerium oleander* L. (Pink cultivar)

บทนำ

ยุงรำคาญ (*Culex* Mosquito) เป็นแมลงชนิดหนึ่งที่อยู่ในวงศ์ Culicidae พบมากในทวีปแอฟริกา และทวีปเอเชีย มีลักษณะลำตัวขนาดเล็ก ยาวเพียง 3-6 มิลลิเมตร มีปีกค่อนข้างใส 1 คู่ มีหนวดยาว ขนบริเวณหนวดของตัวเมียจะมีขนาดที่สั้นกว่าตัวผู้ ปากเป็นแบบชนิดเจาะดูด ลำตัวมีสีน้ำตาล ขาของยุงรำคาญจะไม่มีปล้องขาที่เห็นชัดเจน ยุงชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำสกปรก และมักจะออกหากินในเวลากลางคืน ยุงรำคาญที่เป็นพาหะสำคัญของการนำเชื้อโรคมารู่มนุษย์มีอยู่ด้วยกัน 4 ชนิด ได้แก่ *Culex quinquefasciatus* Say เป็นพาหะของโรคเท้าช้าง ส่วน *Culex tritaeniorhynchus* Giles, *Culex gelidus* Theobald และ *Culex fuscocephalus* Aslankhan เป็นพาหะของโรคไข้สมองอักเสบ (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข, 2553) ซึ่งโรคดังกล่าวล้วนส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์เป็นอย่างมาก จึงมีการคิดค้นสารเคมีจากการสังเคราะห์ขึ้นมาใช้ในการกำจัดยุง อย่างไรก็ตามแม้ว่าสารเคมีดังกล่าวจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดยุงได้เป็นอย่างดี แต่กลับพบว่าเกิดปัญหาสารพิษตกค้างต่อสิ่งแวดล้อมทั้งทางดิน น้ำ และอากาศ ซึ่งส่งผลกระทบต่อมนุษย์โดยตรง (Casida and Quistad, 2000; Liu et al., 2006) ดังนั้นจึงได้มีการคิดค้นเพื่อหาสารใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดยุงตลอดจนเป็นมิตรต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมมากขึ้นนั่นก็คือการค้นหายาสารเคมีจากธรรมชาติ จากรายงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าพืชในวงศ์ Apocynaceae หลายชนิด อาทิ *Alstomia scholaris* (L.) R. Br. (Tennyson et al., 2012) *Ichnocarpus frutescens* (L.) R. Br. (Tennyson et al., 2012)

Catharanthus roseus Linn. (Subarani et al., 2013) *Wrightia tinctoria* R. BR. (Sakthivadivel et al., 2014) และ *Picralima nitida* (Erharuyi et al., 2014) มีความสามารถในการกำจัดลูกน้ำยุงหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นยุงลาย ยุงก้นปล่อง และยุงรำคาญ เป็นต้น ต้นยี่โถ (*Nerium oleander* L.) เป็นสมุนไพรท้องถิ่นของจีนที่อยู่ในวงศ์ Apocynaceae ดอกมีสีส้มที่หลากหลาย เช่น สีแดง สีชมพู และสีขาว เป็นต้น สมุนไพรชนิดนี้มีรายงานว่ามียฤทธิ์ต้านการอักเสบ ระวังอาการปวด มีฤทธิ์ในการกดประสาทส่วนกลาง ต้านแบคทีเรีย และต้านมะเร็ง (Zibbu and Batra, 2012) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสกัดจากยี่โถมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุง ดังรายงานของ Raveen และคณะ (Raveen et al., 2014) พบว่าสารสกัดเห็กเซนจากดอกยี่โถมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ ขณะที่ Fakoorziba และคณะ (Fakoorziba et al., 2015) พบว่าสารสกัดคลอโรฟอร์มจากใบยี่โถมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงก้นปล่องได้ อย่างไรก็ตามแม้ว่างานวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากยี่โถมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย รวมไปถึงฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุง แต่ยังไม่มียรายงานเกี่ยวกับพฤษเคมีที่ส่งผลต่อฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพฤษเคมีของสารสกัดต้นยี่โถสีชมพูที่มีผลต่อฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานอันจะนำไปสู่การค้นพบสารออกฤทธิ์ใหม่ในการกำจัดลูกน้ำยุงในอนาคต

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. แหล่งที่มาของพืชตัวอย่าง

ตัวอย่างดอก และใบของต้นยี่โถสีชมพูสดเก็บมาจากบริเวณสี่แยกเขาไร่ยา อำเภอเมือง จังหวัด

จันทร์บุรี ในช่วงเดือนมกราคม-มีนาคม 2559 และได้รับการตรวจเอกลักษณ์ด้วยรูปปริธานโดยอาจารย์ศศิธร พุทธรักษ์ ผู้เชี่ยวชาญด้านพฤกษศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี และเก็บรักษาตัวอย่างพืชแห้งไว้ที่ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี รหัส 7-22000-005-001/1 ถึง 7-22000-005-001/3

2. การเตรียมสารสกัดหยาบของยี่โถสีชมพู

การเตรียมสารสกัดหยาบของยี่โถสีชมพูได้นำดอกสดและใบสดมาทำการสกัดโดยมีรายละเอียดดังนี้

การเตรียมสารสกัดหยาบของดอกยี่โถสีชมพู นำดอกสดของยี่โถสีชมพูที่หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ น้ำหนัก 50.71 กรัม สกัดด้วยเมทานอลด้วยวิธีการหมักแช่ (Maceration) ปริมาตร 0.5 ลิตร เวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 3 ครั้ง กรอง และนำสารละลายรวมกัน จากนั้นนำสารสกัดที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) ได้สารสกัดหยาบเมทานอลของดอกยี่โถสีชมพูหนัก 4.54 กรัม

การเตรียมสารสกัดหยาบของใบยี่โถสีชมพู นำใบสดของยี่โถสีชมพูที่หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ น้ำหนัก 754.78 กรัม สกัดด้วยเมทานอลด้วยวิธีการหมักแช่ ปริมาตร 1.5 ลิตร เวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 3 ครั้ง เช่นเดียวกับการเตรียมสารสกัดของดอกยี่โถสีชมพู ได้สารสกัดหยาบเมทานอลของใบยี่โถสีชมพูหนัก 39.13 กรัม แบ่งสารสกัดหยาบเมทานอลที่ได้ออกมา 35 กรัม เพื่อทำการสกัดแยกส่วน (Partition) ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน และเอทิลแอลกอฮอล์ ตามลำดับดังนี้ นำสารสกัดหยาบเมทานอลที่แบ่งมาละลายด้วยน้ำ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จากนั้นสกัดด้วยเฮกเซน ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง นำส่วนสกัดเฮกเซนที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน ได้สารสกัดหยาบเฮกเซนของใบยี่โถสีชมพู

ส่วนชั้นน้ำนำไปสกัดต่อด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง นำส่วนสกัดเอทิลแอลกอฮอล์ที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกจะได้สารสกัดหยาบเอทิลแอลกอฮอล์ของใบยี่โถสีชมพู

3. การตรวจสอบเบื้องต้นทางพิษเคมี

สารพิษเคมีที่ตรวจสอบเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากดอกและใบของยี่โถสีชมพู ทั้ง 8 ชนิด ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แอนทราควิโนน เทอร์ปีนอยด์ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และ อิริดอยด์ไกลโคไซด์ ด้วยปฏิกิริยาการเกิดสีตะกอน หรือฟอง (ศรินรัตน์ และคณะ, 2556; สุนิษา และคณะ, 2558; Ayoola et al., 2008) ดังนี้

การตรวจสอบฟีนอลิก ชั่งสารสกัด 0.02 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่น แล้วกรองสารละลาย จากนั้นเติมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (1% FeCl_3) 2-3 หยด ลงไปในของเหลว หากปรากฏสีเขียวปนดำ เขียวปนน้ำตาล ดำปนน้ำตาล ม่วง หรือน้ำเงินปนดำ แสดงว่าพบสารประกอบฟีนอลิก

การตรวจสอบแอลคาลอยด์ ชั่งสารสกัด 0.02 กรัม ละลายด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก (2% H_2SO_4) 15 มิลลิลิตร นำไปอุ่นประมาณ 2-3 นาที กรอง จากนั้นนำของเหลวที่กรองได้ไปหยดน้ำยาตราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) หากปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่าพบแอลคาลอยด์

การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ ชั่งสารสกัด 0.02 กรัม สกัดสีของสารสกัดออกด้วยไดเอทิลอีเทอร์ ครั้งละ 5 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง ละลายสารสกัดส่วนที่เหลือด้วยสารละลาย 50% เอทานอล 3 มิลลิลิตร ใส่หลอดแมกนีเซียม ชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 2-3 ชิ้น นำไปต้มและหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) ถ้าให้สารละลายสีเหลือง ส้ม หรือแดงแสดงว่าพบฟลาโวนอยด์

การตรวจสอบแอนทราควิโนน ชั่งสารสกัด 0.02 กรัม เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก (10% H_2SO_4) 10 มิลลิลิตร นำไปอุ่น 5 นาที กรอง แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมสารละลายแอมโมเนีย (10% NH_3) 2-3 หยด หากเกิดสีชมพูถึงแดงในชั้นต่าง แสดงว่าพบแอนทราควิโนน

การตรวจสอบเทอร์พีนอยด์ ใช้การทดสอบ ซาลโควสกี (Salkowski test) ชั่งสารสกัด 0.02 กรัม สกัดสีของสารสกัดออกด้วยไดเอทิลอีเทอร์ครึ่งละ 5 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง เติมคลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร เขย่า และค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) หากเกิดสีน้ำตาลแดงระหว่างรอยต่อของสารละลายแสดงว่าพบเทอร์พีนอยด์

การตรวจสอบซาโปนิน ใช้การทดสอบฟอง โดยชั่งสารสกัด 0.02 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือด กรอง และนำของเหลวที่กรอง (Filtrate) มาเติมน้ำกลั่น 2-3 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรง หากมีฟองเกิดขึ้นแสดงว่าพบซาโปนิน

การตรวจสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แบ่งการทดสอบออกเป็น 2 ส่วน ตามโครงสร้างพื้นฐานของคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ คือ ส่วนสเตียรอยด์ และส่วนน้ำตาล ดืออกซี การทดสอบทำได้ดังนี้ ชั่งสารสกัด 0.02 กรัม สกัดสีออกด้วยไดเอทิลอีเทอร์ ครึ่งละ 5 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง ละลายสารสกัดด้วย 80% เอทานอล ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ทดสอบส่วนสเตียรอยด์ด้วยการทดสอบลิเบอร์แมน (Liebermann test) โดยการเติมกรดแกซีลลิกแอซิด (Gracial acetic acid) 3 หยด และกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 3 หยด ถ้าปรากฏสีน้ำตาล หรือสีน้ำตาลเขียว แสดงว่าพบสเตียรอยด์ และทดสอบส่วนน้ำตาลดืออกซีด้วยการทดสอบเคลเลอร์-คิเลียนี (Keller-Kiliani test) ซึ่งประกอบด้วยกรด

แอซิดิก 1 มิลลิลิตร และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (10% $FeCl_3$) 1-2 หยด ผสมให้เข้ากันเอียงหลอดทดลอง ค่อย ๆ หยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ลงไปตามผนังด้านในของหลอดทดลองให้เกิดการแยกชั้น หากปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลแดงบริเวณรอยต่อระหว่างสารสกัดกับกรดซัลฟิวริกแสดงว่าพบส่วนน้ำตาลดืออกซี

การตรวจสอบอิริดอยด์ไกลโคไซด์ ชั่งสารสกัด 0.02 กรัม เติมกรดแอซิดิก 5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย คอปเปอร์ (II) ซัลเฟต (2% $CuSO_4$) 1 มิลลิลิตร และเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร ถ้าสารละลายกลายเป็นสีน้ำตาล หรือสีน้ำตาลแสดงว่าพบอิริดอยด์ไกลโคไซด์

4. การเพาะเลี้ยงและเก็บตัวอย่างลูกน้ำยุงรำคาญ

การเพาะเลี้ยงลูกน้ำยุงรำคาญโดยนำเศษฟางหรือหญ้าแห้งใส่ลงในกะละมังที่บรรจุน้ำไว้ ทำการหมัก 2-3 วัน เพื่อล่อให้ยุงมาวางไข่ จากนั้นคัดแยกแพะไข่ที่มีลักษณะเป็นแพะสีดาร์รูบวรีขนาดเล็ก มีความกว้างประมาณ 1 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 3-5 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นไข่ยุงรำคาญออกมาทำการเพาะลูกน้ำยุงต่อ โดยนำกะละมังใบใหม่ใส่น้ำประปาที่เตรียมทิ้งไว้อย่างน้อย 1 คืน ใส่แพะไข่ที่คัดแยกได้ พร้อมกับใส่อาหารไก่ที่บดละเอียดลงไป ในปริมาณที่พอเหมาะและปิดด้วยผ้าขาวบางตลอดเวลา ทำการเลี้ยงลูกน้ำยุงต่อไประหว่างนี้ ต้องให้อาหารแก่ลูกน้ำยุงวันละ 2 ครั้ง คือตอนเช้าและเย็น เป็นระยะเวลา 5-7 วัน ลูกน้ำจะโตอยู่ในระยะที่ 3 ซึ่งเป็นระยะที่เหมาะสมแก่การนำไปทดสอบ หากนานกว่านี้ลูกน้ำจะกลายเป็นระยะดักแด้ (ตัวไม่ง) และเจริญไปเป็นยุงโตเต็มวัยที่สุด

5. การทดสอบฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ

การทดสอบฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญโดยประยุกต์จากวิธีมาตรฐานของ WHO (World Health

Oganization, 1996) มีรายละเอียดดังนี้ ดูดูกน้ำยุง
รำคาญ จำนวน 25 ตัว ใส่กระบอกตวง ปริมาตร 300
มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลาย
ตัวอย่างเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 25
มิลลิลิตร ลงในกระบอกตวง ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
ในกระบอกตวงให้ได้ 250 มิลลิลิตร แล้วถ่ายใส่ขวด
ทดสอบที่ 1 ทำเช่นเดิมอีก 3 ขวดทดสอบ จะได้ชุด
ทดสอบที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งไว้จน
ครบ 24 ชั่วโมง สังเกตและบันทึกผล ทำซ้ำอีก 2 ชุด
ทดสอบ นำผลที่ได้ไปคำนวณค่าร้อยละการตายของ
ลูกน้ำยุง (% Mortality) จากนั้นเปลี่ยนความเข้มข้น
ของชุดทดสอบเป็น 250, 125 และ 62.5 มิลลิกรัมต่อ
ลิตร ตามลำดับ ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และนำผลที่ได้ไป
คำนวณค่า LC_{50}

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

ดอกสดและใบสดของยี่โถสีชมพู (รูปที่ 1) ถูก
นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล ได้สารสกัดหยาบ
เมทานอลจากดอกมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีแดง
เข้มข้น 4.54 กรัม มีร้อยละผลผลิตเป็น 8.95 ส่วน
สารสกัดหยาบเมทานอลจากใบมีลักษณะเป็นของเหลว
หนืดสีน้ำตาลอมเขียว หนืด 39.13 กรัม มีร้อยละ
ผลผลิตเป็น 5.18 และเมื่อนำสารสกัดเมทานอลของใบ
มาสกัดแยกส่วนด้วยเฮกเซนและเอทิลเอซิเตท พบว่า
ได้สารสกัดหยาบเฮกเซน และเอทิลเอซิเตท มีลักษณะ
เป็นของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม และ สีน้ำตาลเข้ม หนืด
18.41 และ 16.08 กรัม คิดเป็นร้อยละ 2.44 และ
2.13 ตามลำดับ ดังตารางที่ 1



รูปที่ 1 ลักษณะดอกและใบของยี่โถสีชมพู

ตารางที่ 1 น้ำหนักและลักษณะสารจากการสกัดดอกและใบของยี่โถสีชมพูด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

สารสกัดหยาบ	ลักษณะสาร	น้ำหนัก (กรัม)	ร้อยละผลผลิต
เมทานอลจากดอก	ของเหลวหนืดสีแดงเข้ม	4.54	8.95
เมทานอลจากใบ	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลอมเขียว	39.13	5.18
เอทิลเอซิเตทจากใบ	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม	16.08	2.13
เฮกเซนจากใบ	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม	18.41	2.44

ผลการตรวจสอบพบทุกษเคมีเบื้องต้นของสาร
สกัดหยาบจากดอกและใบของยี่โถสีชมพู 8 ชนิด ได้แก่
สารประกอบฟีนอลิก แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์

ซาโปนิน เทอร์พีนอยด์ แอนทราควิโนน คาร์ดิแอกไกล
โคไซด์ และอิริโดอยด์ไกลโคไซด์ ดังแสดงในตารางที่ 2
พบว่าทุกษเคมีที่ตรวจพบในสารสกัดเมทานอลจาก

ดอกและใบมีองค์ประกอบที่คล้ายคลึงกัน คือตรวจพบสารประกอบฟีนอลิก แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และเทอร์ปีนอยด์ ขณะที่คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ในรูปสเตียรอยด์ไกลโคไซด์ ตรวจพบในใบเท่านั้น ส่วนแอนทราควิโนน และ อิริดอยด์ไกลโคไซด์ตรวจไม่พบ นอกจากนี้ยังพบว่าฟลักซ์เคมีของสารสกัดเอทิล-แอลซิเตท และเฮกเซนจากใบที่ได้จากการสกัดแยกส่วน มีความแตกต่างจากสารสกัดหยาบเมทานอลของใบโดย สารประกอบฟีนอลิกพบว่ามีอยู่ในสารสกัดหยาบเมทานอลเท่านั้น แต่ตรวจไม่พบในส่วนสกัด เฮกเซน และเอทิลแอลซิเตท นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดเอทิล-แอลซิเตทสามารถสกัดแยกส่วนฟลักซ์เคมีในกลุ่มเทอร์-ปีนอยด์ออกมาได้ ในขณะที่เฮกเซนสามารถแยกส่วนของคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ได้ดีกว่า ซึ่งฟลักซ์เคมีที่ตรวจ

พบในสารสกัดหยาบทั้งจากดอกและใบมีความคล้ายคลึงกับรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่าสารสกัดเอทานอลของใบยี่โถมีฟลักซ์เคมี 9 ชนิด คือ คาร์โบไฮเดรต แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ สเตียรอยด์ ซาโปนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แทนนิน โพรตีน และอะมิโนแอซิด (Santhi et al., 2011; Yadav et al., 2013) ขณะที่ฟลักซ์เคมีของสารสกัดเมทานอลของใบยี่โถสีขาวพบฟลักซ์เคมี 4 ชนิด คือ สารประกอบฟีนอลิก คาร์โบไฮเดรต คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และแอลคาลอยด์ (Chaudhary et al., 2015) แสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบทางฟลักซ์เคมีของต้นยี่โถที่แตกต่างกัน ขึ้นกับ ชนิดพันธุ์ของพืช ส่วนของพืชที่นำมาสกัดตัวทำละลายที่ใช้สกัด และสถานที่ในการเก็บตัวอย่าง

ตารางที่ 2 ฟลักซ์เคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบดอก และใบยี่โถสีชมพูด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

ฟลักซ์เคมี	สารสกัดหยาบ			
	เมทานอลจากดอก	เมทานอลจากใบ	เอทิลแอลซิเตทจากใบ	เฮกเซนจากใบ
สารประกอบฟีนอลิก	++	+++	-	-
แอลคาลอยด์	++	+++	+	+
ฟลาโวนอยด์	+++	+	+	-
แอนทราควิโนน	-	-	-	-
เทอร์ปีนอยด์	+	+++	+++	+
ซาโปนิน	++	+++	-	+
คาร์ดิแอกไกลโคไซด์				
- สเตียรอยด์	-	+	-	+++
- น้ำตาลดีออกซี	-	-	-	-
อิริดอยด์ไกลโคไซด์	-	-	-	-

หมายเหตุ เครื่องหมาย +++ หมายถึง ตรวจพบฟลักซ์เคมีปริมาณมาก เครื่องหมาย ++ หมายถึง ตรวจพบฟลักซ์เคมีปริมาณปานกลาง เครื่องหมาย + หมายถึง ตรวจพบฟลักซ์เคมีปริมาณน้อย เครื่องหมาย - หมายถึง ตรวจไม่พบฟลักซ์เคมี

การทดสอบฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญโดยประยุกต์บางขั้นตอนจากวิธีมาตรฐานของ WHO ที่กำหนดให้ใช้ลูกน้ำยุง 20 ตัวต่อปริมาตร 250 มิลลิลิตร สำหรับการทดลองนี้ใช้ลูกน้ำยุง 25 ตัวต่อปริมาตร 250

มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบผลของสารสกัดเมทานอลจากดอก และใบของยี่โถสีชมพูความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร เวลา 24 ชั่วโมง ที่มีผลต่อการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญในระยะที่ 3 แสดงดังตารางที่ 3 พบว่า

สารสกัดเมทานอลจากใบของยี่โถสีชมพูมีร้อยละการตายอยู่ที่ร้อยละ 90 ± 1.00 ซึ่งสูงกว่าสารสกัดเมทานอลจากดอกที่มีร้อยละการตายเท่ากับ 77 ± 2.89 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเมทานอลจากใบมีประสิทธิภาพฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญได้ดีกว่าดอกของยี่โถสีชมพู ผู้วิจัยจึงนำสารสกัดเมทานอลของใบมาสกัดแยกส่วนด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน และเอทิลเอซีเตท ส่วนสกัดที่ได้เมื่อทดสอบฤทธิ์ ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลของใบยี่โถสีชมพู มีค่า LC_{50} เท่ากับ 251.70 ± 12.17 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่ส่วนสกัดเอทิลเอซีเตท และเฮกเซน มีค่า LC_{50} เท่ากับ 334.28 ± 18.13 และ 415.84 ± 17.41 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบเมทานอลของใบยี่โถสีชมพูมีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ

สูงที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดเอทิลเอซีเตท และสารสกัด เฮกเซน ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Fakoorziba และคณะ (Fakoorziba et al., 2015) ที่รายงานว่าสารสกัดคลอโรฟอร์มจากใบยี่โถต่อฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงกันปล่องได้ดีที่สุดโดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.588 กรัมต่อลิตร แสดงว่าสารสกัดจากใบยี่โถสีชมพูสามารถฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญได้ดีกว่ายุงกันปล่อง แต่พบว่าสารสกัดเฮกเซนของดอกยี่โถมีฤทธิ์ ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญโดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 102.54 มิลลิกรัมต่อลิตร (Raveen et al., 2014) ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารสกัดเมทานอลจากใบ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากกรรมวิธี และใช้ตัวอย่างดอกแห้งบดในการสกัด

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญของสารสกัดจากดอกและใบของยี่โถสีชมพูด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

สารสกัดยี่โถสีชมพู	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละการตาย (% Mortality \pm SD)	ค่า $LC_{50} \pm$ SD (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่า UCL-LCL (มิลลิกรัมต่อลิตร)
เมทานอลจากดอก	500	77 ± 2.89	-	-
เมทานอลจากใบ	500	90 ± 1.00	251.70 ± 12.17	238.56-262.59
	250	58 ± 6.43		
	125	30 ± 4.51		
เอทิลเอซีเตทจากใบ	62.5	9 ± 1.00	334.28 ± 18.13	313.55-347.17
	500	71 ± 5.13		
	250	44 ± 3.06		
เฮกเซนจากใบ	125	18 ± 2.00	415.84 ± 17.41	396.34-429.82
	62.5	11 ± 3.06		
	500	60 ± 4.73		
ชุดควบคุมน้ำ	250	32 ± 6.24	-	-
	125	14 ± 1.53		
	62.5	9 ± 2.52		
ชุดควบคุม 2% เอทานอล		0	-	-
		5 ± 0	-	-

หมายเหตุ $LC_{50} \pm$ SD = Lethal Concentration 50 \pm SD ที่ 3 ชั่วโมง, UCL = upper confidence limit, LCL = lower confidence limit

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญของสารสกัดพืชจากวงศ์ Apocynaceae ดังตารางที่ 4 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากทั้งดอก และใบของยี่โถสีชมพูมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญได้ดีกว่าสารสกัดน้ำจากผลของต้น *Wrightia tinctoria* R. BR. แต่มีฤทธิ์ต่ำกว่าสารสกัดเอทิลแอลกอฮอล์จากใบของต้น *Catharanthus roseus* ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแม้จะเป็นพืชในวงศ์เดียวกัน แต่คนละสายพันธุ์ และใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกันมีผลต่อความสามารถในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญได้ต่างกัน หากพิจารณาผลของสารสกัดจากพืชต่างวงศ์ต่อประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญดังตารางที่ 4 พบว่าสารสกัดของพืชในวงศ์ Apocynaceae บางชนิดสามารถออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญได้ดีกว่าพืชในวงศ์อื่น ๆ เช่น สารสกัดจากใบของต้น *Catharanthus roseus* ที่ออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญได้ดีกว่าสารสกัดจากใบของต้น *Andrographis paniculata* Burm. f. และต้น *Delonix elata* (L.) Gamble ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Acanthaceae และ Fabaceae ตามลำดับ รวมไปถึงสารสกัดเฮกเซนจากดอกยี่โถ (*Nerium oleander* L.) ที่สามารถออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญได้ดีกว่าสารสกัดจากใบของต้น *Delonix elata* (L.) Gamble เช่นกัน อย่างไรก็ตามพบว่าสารสกัดของพืชบางวงศ์สามารถแสดงฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญได้ดีกว่าสารสกัดพืชจากวงศ์ Apocynaceae อาทิ สารสกัดจากใบของต้น *Cassia fistula* Linn. (Leguminosae) และต้น *Nelumbo nucifera* (Nymphaeaceae) และสารสกัดจากเมล็ดต้น *Trachyspermum ammi* (Umbelliferae) เป็นต้น แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญไม่น่าจะขึ้นกับชนิดของสกุลของพืชหรือส่วนของพืชที่นำมาสกัด แต่น่าจะขึ้นอยู่กับ

องค์ประกอบทางพฤกษเคมี ซึ่งอาจแตกต่างกันได้แม้เป็นพืชในสกุลเดียวกันหรือเป็นคนละส่วนกัน และกรรมวิธีที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญ

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างพฤกษเคมีที่ตรวจพบและฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญของสารสกัดดอกและใบด้วยเมทานอล พบว่าพฤกษเคมีที่อาจส่งผลให้สารสกัดใบมีฤทธิ์สูงกว่าสารสกัดดอก คือสารประกอบฟีนอลิก ซาโปนินแอลคาลอยด์ และเทอร์ปีนอยด์ ซึ่งพบในสารสกัดใบปริมาณที่มากกว่าสารสกัดดอก แต่เมื่อนำสารสกัดเมทานอลของใบมาสกัดแยกส่วนด้วยเฮกเซน และเอทิลแอลกอฮอล์ พบว่ามีฤทธิ์ลดลงเนื่องจากตรวจไม่พบสารประกอบฟีนอลิก รวมถึงปริมาณของแอลคาลอยด์ และซาโปนินที่ตรวจพบลดลงเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่าสารในกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ และ สเตอรอยด์ไกลโคไซด์มีผลต่อการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญน้อย โดยจะเห็นได้จากสารสกัดเฮกเซน และเอทิลแอลกอฮอล์ที่พบสารทั้งสองกลุ่มในปริมาณมาก แต่ไม่ทำให้ฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญสูงขึ้น ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าพฤกษเคมีที่คาดว่าจะมีส่วนสำคัญในการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ คือ สารประกอบฟีนอลิก แอลคาลอยด์ และซาโปนิน

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้พบว่าพฤกษเคมีของยี่โถสีชมพูที่ตรวจพบขึ้นกับส่วนของพืช และชนิดตัวทำละลายที่ใช้สกัด สารสกัดเมทานอลของใบมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญได้ดีที่สุด ($LC_{50} = 251.70 \pm 12.17$ มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยพฤกษเคมีที่สัมพันธ์ต่อฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก แอลคาลอยด์ และซาโปนิน ซึ่งตรวจพบจากสารสกัดเมทานอลของใบยี่โถสีชมพูในปริมาณสูง

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบสารสกัดของพืชบางชนิดที่มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ

ปี	พืช	วงศ์	ส่วนที่ใช้	ตัวทำละลาย	ค่า LC ₅₀ (ppm)	อ้างอิง
2011	<i>Cassia fistula</i> Linn.	Leguminosae	ใบ	เมทานอล	45.57	Govindarajan et al.
2011	<i>Andrographis paniculata</i> Burm. f.	Acanthaceae	ใบ	คลอโรฟอร์ม	91.92	Govindarajan
2011	<i>Nelumbo nucifera</i>	Nymphaeaceae	ใบ	เอทิลแอลกอฮอล์	37.49	Kamaraj et al.
2011	<i>Trachyspermum ammi</i>	Umbelliferae	เมล็ด	เมทานอล	37.49	Kamaraj et al.
2012	<i>Delonix elata</i> (L.) Gamble	Fabaceae	ใบ	เมทานอล	124.84	Govindarajan et al.
2013	<i>Catharanthus roseus</i>	Apocynaceae	ใบ	เอทิลแอลกอฮอล์	76.84	Subarani et al.
2014	<i>Wrightia tinctoria</i> R. BR.	Apocynaceae	ผล	น้ำ	1700	Sakthivadivel et al.
2014	<i>Nerium oleander</i> L.	Apocynaceae	ดอกแห้ง	เฮกเซน	102.54	Raveen et al.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงบประมาณจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพราชสุตา ฯ สยามบรมราชกุมารี ประจำปีงบประมาณ 2558 ผู้วิจัยขอขอบคุณ อาจารย์ศศิธร พุทธรักษ์ ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ในการตรวจสอบและจัดทำทะเบียนพรรณพืชตัวอย่าง ขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ที่อนุเคราะห์เครื่องมือและสถานที่ในการทำงานวิจัยครั้งนี้จนเสร็จสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

สุนิษา สุวรรณเจริญ ทรงวิทย์ จันทรา และ อาภาพร บุญมี. (2558). พืชสมุนไพรและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดแมงกะพรุนดอกฝาด. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 43(1): 106-115.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข. (2553). ชีววิทยาและการควบคุมแมลงที่เป็นปัญหาสาธารณสุข. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: บริษัท หนังสือนิตยสาร จำกัด. หน้า 1-24.

ศรินทร์ต์ ฉัตรธีระนันท์ วรางคณา สบายใจ และ สิริมาส นิยมไทย. (2556). การทดสอบของค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบข่อยดำ. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 41(3): 723-730.

Ayoola, G. A., Coker, H. A. B., Adesegun, S. A., Adepoju-Bello, A. A., Obaweya, K., Ezennia, E. C., and

Atangbayila, T. O. (2008). Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 7(3): 1019-1024.

Casida, J. E. and Quistad, G. B. (2000). Insecticide targets: learning to keep up with resistance and changing concepts of safety. *Agricultural Chemistry & Biotechnology* 43: 185-191.

Chaudhary, K., Prasad, D. N. and Sandhu, B. S. (2015). Preliminary pharmacognostic and phytochemical studies on *Nerium oleander* Linn. (White cultivar). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 4(1): 185-188.

Erharuyi, O., Falodun, A. and Langer, P. (2014). Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of *Picalima nitida* (Apocynaceae) in tropical diseases: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 7(1): 1-8.

Fakoorziba, M. R., Moemenbellah-Fard, M. D., Azizi, K. and Mokhtari, F. (2015). Mosquitocidal efficacy of medicinal plant, *Nerium oleander* (Apocynaceae), leaf and flower extracts against malaria vector, *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae) larvae. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 5(1): 33-37.

- Govindarajan, M. (2011). Evaluation of *Andrographis paniculata* Burm.f. (Family : Acanthaceae) extracts against *Culex quinquefasciatus* (Say.) and *Aedes aegypti* (Linn.) (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 4(3): 176-181.
- Govindarajan, M., Rajeswary, M. and Sivakumar, R. (2012). Mosquito larvicidal and ovicidal activity of *Delonix elata* (L.) Gamble against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 2(Suppl 2): S571-S573.
- Govindarajan, M., Sivakumar, R. and Rajeswari, M. (2011). Larvicidal efficacy of *Cassia fistula* Linn. leaf extract against *Culex tritaeniorhynchus* Giles and *Anopheles subpictus* Grassi (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 1(4): 295-298.
- Kamaraj, C., Rahuman, A. A., Bagavan, A., Elango, G., Zahir, A. A. and Santhoshkumar, T. (2011). Larvicidal and repellent activity of medicinal plant extracts from Eastern Ghats of South India against malaria and filariasis vectors. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 4(9): 698-705.
- Liu, N., Xu, Q., Zhu, F. and Zhang, L. (2006). Pyrethroid resistance in mosquitoes. *Journal of Insect Science* 13(3): 159-166.
- Raveen, R., Kamakshi, K. T., Deepa, M., Arivoli, S. and Tennyson, S. (2014). Larvicidal activity of *Nerium oleander* L. (Apocynaceae) flower extracts against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *International Journal of Mosquito Research* 1(1): 38-42.
- Sakthivadivel, M., Gunasekaran, P., Annapoorani, J. T., Samraj, D. A., Arivoli, S. and Tennyson, S. (2014). Larvicidal activity of *Wrightia tinctoria* R. BR. (Apocynaceae) fruit and leaf extracts against the filarial vector *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 4(Suppl 1): S373-S377.
- Santhi, R., Lakshmi, G., Priyadharshini, A. M. and Anandaraj, L. (2011). Phytochemical screening of *Nerium oleander* leaves and *Momordica charantia* leaves. *International Research Journal of Pharmacy* 2(1): 131-135.
- Subarani, S., Sabhanayakam, S., Kamaraj, C., Elango G. and Kadir, M. A. (2013). Efficacy of larvicidal and pupicidal activity of *Catharanthus roseus* aqueous and solvent extracts against *Anopheles stephensi* Liston and *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 6(8): 625-630.
- Tennyson, S., Ravindran, K. J. and Arivoli, S. (2012). Screening of twenty five plant extracts for larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2(2): S1130-S1134.
- World Health Organization. (1996). Report of the WHO informal consultation on the evaluation and testing of insecticides. CTD/WHOPES/IC/96.1. Geneva: WHO.
- Yadav, CH. S. D. P. D., Bharadwaj, N. S. P., Yedukondalu, M., Methushala, CH. and Kumar, A. R. (2013). Phytochemical evaluation of *Nyctanthes arbortristis*, *Nerium oleander* and *Catharathus roseus*. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology* 1(3): 333-338.
- Zibbu, G. and Batra, A. (2012). A Review on Chemistry and Pharmacological activity of *Nerium oleander* L. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2(2): S1130-S1134.

