

ชุดโครงการวิจัย การวิจัยและพัฒนาพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการใช้พืชสมุนไพรเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืช

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการใช้และการผลิตสารสกัดจากพืชสมุนไพรเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืช

การทดลองที่ 2 วิจัยการใช้ว่านน้ำทำสูตรผสมกับพืชอื่นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดศัตรูพืช

การทดลองที่ 2.4 ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชต่อลูกปลานิล

ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชต่อลูกปลานิล

Study on acute Toxicity of mixed plant formulation

in Nile Tilapia(*Oreochromis niloticus*)

คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	นางธนิตา คำอำนวย	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
ผู้ร่วมงาน	นางสาวศิริพร สอนท่าโก	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	นางธิตยาภรณ์ อุดมศิลป์	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืช สูตรสะเดา/ว่านน้ำ 80/20(NV), สูตรหางไหล/ว่านน้ำ 60/40(HV) และสูตรสะเดา/หางไหล 20/80(NH) โดยทำการเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์สูตร ตรวจสอบวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ และทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันด้วยวิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง(static technique) เพื่อหาค่าความเข้มข้นของสูตรผลิตภัณฑ์ที่ทำให้ลูกปลานิลตายครึ่งหนึ่งในเวลา 96 ชั่วโมง(96h-LC₅₀) ให้ผลดังนี้ สูตรผสมสะเดา/ว่านน้ำ 80/20 มีปริมาณอะซิติลเรคติน 0.10% /เบต้า-อะซาโรน 2.28% มีค่า 96h-LC₅₀ เท่ากับ 983 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตรผสมหางไหล/ว่านน้ำ 60/40 มีปริมาณโรติโนน 0.64 % /เบต้า-อะซาโรน 4.26% มีค่า 96h-LC₅₀ เท่ากับ 0.5815 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตรผสมสะเดา/หางไหล 20/80 มีปริมาณอะซิติลเรคติน 0.078% /โรติโนน 0.20% มีค่า 96h-LC₅₀ เท่ากับ 0.6681 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ จากค่า 96h-LC₅₀ ของทั้ง 3 สูตร จะเห็นว่าสูตรผสมสะเดา/ว่านน้ำ(80/20) มีความเป็นพิษน้อยที่สุด สูตรผสมหางไหล/ว่านน้ำ(60/40)และสูตรผสมสะเดา/หางไหล(20/80) มีความเป็นพิษใกล้เคียงกัน และทั้ง 2 สูตรมีความเป็นพิษต่อลูกปลานิลสูง ดังนั้นการใช้ผลิตภัณฑ์สูตรผสมหางไหล/ว่านน้ำ(60/40) และสูตรผสมสะเดา/หางไหล(20/80) จึงต้องมีความระมัดระวังในการใช้ ไม่ควรใช้ใกล้แหล่งน้ำ

คำสำคัญ: สารสกัดพืช ผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืช ความเป็นพิษเฉียบพลัน (LC₅₀)

Abstract

The aim of study is investigate acute toxicity of mixed plant formulation on Nile Tilapia. The formulations are NV (formulate from Neem/Sweet flag 80/20), HV (formulate from *Derris elliptica*/Sweet flag 60/40) and NH (formulate from Neem/ *Derris elliptica* 20/80). The formulation were prepared from crude of neem, crude of *Derris elliptica* and volatile oil from sweet flag. Then quantitative analysis β -asarone by GC-MS, azadirachtin and rotenone by HPLC. The result of NV formulations had azadirachtin 0.10% and β -asarone 2.28%. HV formulation had rotenone 0.64% and β -asarone 4.26%. NH formulation had azadirachtin 0.78% and rotenone 0.20%. Then doing acute toxicity test of these formulations on Nile Tilapia. Static technique of bioassay was assigned to determine their median lethal concentration within 96 hours (96 h-LC₅₀). The result showed that NV formulation was 983 mg/l, HV formulation was 0.5815 mg/l and NH formulation was 0.6681 mg/l.

Keyword: Plant extract, mixed plant formulation, acute toxicity, median lethal concentration(LC₅₀)

คำนำ

การใช้สารสกัดจากพืชเพื่อทดแทนสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นทางเลือกในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ซึ่งจะทำให้ผลผลิตทางการเกษตรมีคุณภาพ ปลอดภัยต่อการบริโภคและสิ่งแวดล้อม และเป็นการสนับสนุนให้เกษตรกรใช้เป็นทางเลือกที่ดีและปลอดภัย อย่างไรก็ตามสารสกัดพืช ส่วนมากจะนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชทางการเกษตรโดยมุ่งเน้นการใช้สารสกัดจากพืชชนิดเดียว ซึ่งบางครั้งใช้ไม่ได้ผลดีเท่าที่ควรเพราะสารสกัดพืชส่วนใหญ่เป็น Soft insecticide มีทั้งจุดเด่นจุดด้อยและที่สำคัญคือไม่สามารถป้องกันและกำจัดแมลงได้ดีเหมือนกันทุกชนิด โดยบางชนิดออกฤทธิ์ไล่แมลง บางชนิดยับยั้งการกินอาหารของแมลง เช่น สะเดาใช้ป้องกันกำจัดแมลง บางชนิดได้ผลดีปานกลาง และน้อยหรือไม่ได้ผล สารสกัดธรรมชาติจากพืชส่วนใหญ่ไม่มีฤทธิ์ Knock down ที่จะทำให้แมลงตายทันที จึงไม่สามารถลดความเสียหายได้ ในช่วงที่แมลงเกิดการระบาดมาก และประเทศไทยมีพืชหลายชนิดที่มีศักยภาพเป็นสารกำจัดศัตรูพืช เช่น สะเดา ไล่ดินหรือหางไหลแดง ตะไคร้หอม หนอนตายหยาก สาบเสือ ว่านน้ำ กากเมล็ดขนาน้ำมัน และพืชอื่นๆ

สะเดา(Neem) เป็นพันธุ์ไม้กลางแจ้ง ในประเทศไทยมีสะเดา 3 สายพันธุ์คือสะเดาไทย (*Azadirachta indica* var *Siameis* Valenton) สะเดาอินเดีย(*Azadirachta indica* A. Juss) สะเดาช้างหรือเหียม (*Azadirachta excelsa* Jacobs) สารออกฤทธิ์ที่อยู่ในเมล็ดสะเดามีผลทำให้แมลงมีการเติบโตผิดปกติและมีพฤติกรรมเปลี่ยนแปลง เช่น ยับยั้งการกินอาหาร(antifeedants) ผลในการดึงดูด(attractants) และผลในการไล่(repellents) เป็นต้น (Barnby et al.;1990) อะชาติแรคตินพบในสะเดา สารนี้ไม่มีความเป็นพิษต่อคนและสัตว์ป่าอื่นๆ แต่มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ คือมีความเป็นพิษต่อปลา rainbow trout โดยให้ค่า LC₅₀ 0.48 mg/l ดังนั้นถ้าใช้ในปริมาณมากๆสามารถฆ่าปลาได้ แต่สารอะชาติแรคตินสลายตัวอย่างรวดเร็วในน้ำที่มีแสงแดดผ่าน (50-100 ชั่วโมง) และไม่สะสมในดินตะกอนที่จะมีผลระยะยาวติดตามมา (Extoxnet,1999) ความเป็นพิษของอะ

ชาติเรคตินในแต่ละผลิตภัณฑ์ให้ค่า LC_{50} แตกต่างกัน เนื่องจาก solvent carrier และส่วนผสมในแต่ละผลิตภัณฑ์ (Wan al.,1996) อุดมลักษณ์(2544) ศึกษาความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์สะเดาต่อลูกปลานิล พบว่า LC_{50} (96 ชั่วโมง) อยู่ระหว่าง 0.17-3.8 mg/l

หางไหล (*Derris elliptica*) มีสารออกฤทธิ์หลักคือโรติโนน(Rotenone) โรติโนนจะออกฤทธิ์คล้ายกับสารปราบศัตรูพืชในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส(acetylcholinesterase) ทำให้เกิดการสะสมของโคลีนและกรดอะซิติค(Heong et al.,2011) มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลง โดยออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของระบบหายใจของแมลง เสริม สี่มาและคณะ (2547) ศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์หางไหลและยาฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูถั่วฝักยาว พบว่าหางไหลเข้มข้น 0.005% - 0.001% สามารถใช้ป้องกันหนอนเจาะฝักถั่วเขียว (2548)วิจัยการใช้หางไหลและน้ำมันปิโตรเลียมในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในพริก พบว่าหางไหล ความเข้มข้น 0.019% มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ 50.45% สารโรติโนนมีความเป็นพิษต่อสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เช่น แมลง และมีความเป็นพิษต่อสัตว์เลือดเย็น เช่น ปลา ค่อนข้างสูง (Gingerich and Ratch,1985; อุดมลักษณ์ และคณะ. 2546) ดังจะเห็นได้จากค่า LC_{50} ของสารโรติโนนในปลาชนิดต่างๆดังนี้ ปลาเรนโบว์เทราล์ : LC_{50} (96 ชั่วโมง) 0.031 mg/l , ปลาเซลนอลแคทฟิช : LC_{50} (96 ชั่วโมง) 0.026 mg/l, ปลาบลูกิลล์ : LC_{50} (96 ชั่วโมง) 0.023 mg/l, ปลานิล: LC_{50} (96 ชั่วโมง) 0.008 mg/l

สำหรับว่านน้ำ(*Acorus calamus* L.) เป็นพืชที่มีประสิทธิภาพในการไล่ผีเสื้อและหมัด มีพิษต่อแมลงวัน มีพิษต่อเพลี้ยอ่อนสูง ต่อหนอนกระทู้ปานกลางและปลุก่ง่ายสามารถนำเหง้ามาใช้ได้ตลอดทั้งปีจึงเป็นพืชที่เหมาะสมในการนำมาใช้ผสมเพิ่มประสิทธิภาพพืชสมุนไพรของไทยอื่นๆที่มีศักยภาพเป็นสารกำจัดศัตรูพืช เช่น สะเดา หางไหล มงคัล แก้วเทพ(2547) ได้รายงานวิจัยที่ระบุถึงฤทธิ์ในการกำจัดแมลงของว่านน้ำว่ามีผลต่อระบบสืบพันธุ์ การวางไข่และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของแมลง สารสกัดเมธานอลของว่านน้ำทำให้ด้วงงวงข้าว *Sitophilus oryzae* (L.) และด้วงถั่วเหลือง *Callosobruchus chinensis* ที่ระยะเต็มวัยตายมากกว่า 90% หลังจากการสัมผัสสารสกัดโดยตรง 3 – 4 วัน น้ำมันหอมระเหยจากเหง้าว่านน้ำพบสาร β -asarone(2,4,5-trimethoxypropenylbenzenes), acorangermacrone และ asarylaldehyde ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ที่มีผลต่อแมลงวันผลไม้ 3 ชนิด คือ *Ceratitis capitata*, *Dacus cucurbita* และ *D. dorsalis* เมื่อนำว่านน้ำสะเดา และโล่ตีนมาผสมในอัตราส่วน 1:1:1 พบว่ามีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการกินอาหารของตัวอ่อนผีเสื้อกลางคืน *Earias vittella* (Fab)

การนำจุดเด่นและจุดด้อยของพืชแต่ละชนิดมาผสมรวมกันให้ได้อัตราส่วนที่เหมาะสม มีการผสมปรุงแต่งให้เป็นผลิตภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช อาจทำให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น และ/หรือลดข้อด้อยของการใช้พืชชนิดเดียวของพืชแต่ละชนิด หรือทำให้สามารถลดต้นทุนเมื่อมีการผสมรวมกัน ได้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่หลากหลายมากขึ้น เพื่อให้เป็นทางเลือกให้กับเกษตรกรที่ปลูกพืชปลอดสารเคมี หรือเกษตรกรอินทรีย์ และเป็นการช่วยแก้ปัญหาและเป็นทางเลือกให้แก่ภาคเอกชนที่ประกอบธุรกิจการเกษตรธรรมชาติ อัญชลี สงวนพงษ์ และคณะ (2539)ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพน้ำมันสะเดาอัดเม็ดในการออกฤทธิ์ป้องกันและกำจัดด้วงงวงข้าวสารพบว่าการใช้น้ำมันสะเดาผสม น้ำมันอบเชย น้ำมันตะไคร้หอม และเมนทอลสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของน้ำมัน

สะเดาที่มีต่อตัววงข้าวสารโดยมีผลทำให้แมลงทำลายพืชอาหารได้น้อยลง จรรยา จรรย์นุสรณ์. (2545) ได้พัฒนาสูตรผสมสารสกัด ข้า ว่านน้ำและทองพันชั่ง เพื่อควบคุมโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว พบว่าสารสกัดว่านน้ำและข่ามีฤทธิ์ควบคุมเชื้อราได้ดี นอกจากนี้ ในการนำสารสกัดพืชมาพัฒนาผลิตภัณฑ์เป็นผลิตภัณฑ์นั้นก็ยังคำนึงถึงความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของผลิตภัณฑ์เพื่อดูผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตอื่นๆที่ไม่ใช่กลุ่มเป้าหมาย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น ปีกเกอร์ กระบอกตวง ขวดวัดปริมาตร ปิเปต เป็นต้น
3. เครื่อง Gas chromatograph/Mass spectrometry (GC-MS)
4. เครื่อง High Performance Liquid Chromatograph (HPLC)
5. เครื่องระเหยแบบลดความดัน(Rotary evaporator)
6. เครื่องกลั่น Hydro-Distillation
7. อุปกรณ์สำหรับเลี้ยงปลาไนล์ ได้แก่
 - โหลแก้วกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 นิ้ว สูง 14 นิ้ว ความจุ 12 ลิตร
 - อ่างเลี้ยงปลาขนาดความกว้าง 10 นิ้ว ความยาว 10 นิ้ว และสูง 10 นิ้ว
 - อ่างสำหรับพักปลา ขนาดความกว้าง 34 นิ้ว ความยาว 53 นิ้ว และสูง 16 นิ้ว และขนาดความกว้าง 20 นิ้ว ความยาว 42 นิ้ว และสูง 20 นิ้ว
 - ชุดอุปกรณ์สำหรับให้ออกซิเจนในน้ำขณะทำการทดลอง ซึ่งประกอบด้วย เครื่องอัดอากาศ ท่อยาง และลูกหินอากาศ
 - ชุดอุปกรณ์สำหรับการเปลี่ยนถ่ายน้ำที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งประกอบด้วย เครื่องดูดน้ำและสายยาง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 นิ้ว
 - สวิตช์ปลาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3, 5 และ 12 นิ้ว
8. อุปกรณ์สำหรับวัดคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำในอ่างเลี้ยงปลา ได้แก่
 - กระดาษวัด pH, Cl_2 , NO_2^- , NO_3^-
 - เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิ
9. ไม้บรรทัดและเวอร์เนีย สำหรับวัดขนาดตัวปลา
10. สารมาตรฐานอะซาดิแรคติน, สารมาตรฐานเบต้า-อะซาโรน, สารมาตรฐานโรติโนน
11. ตัวทำลายอินทรีย์ เช่น เมทานอล เอทานอล เป็นต้น
11. อาหารอัดเม็ดแห้งสำหรับเลี้ยงปลา

วิธีการ

1. เตรียมผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืช และวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ ดังนี้

1.1 ผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืช วานน้ำ/สะเดา จากน้ำมันวานน้ำและสารสกัดหยาบจากสะเดา และทำการผสมปรุงแต่งสารทำลาย, emulsifier แล้วนำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารเบต้า-อะชาโรน ด้วย GC-MS และอะชาติแรคตินด้วย HPLC ในสูตรผสมที่เตรียม

1.2 ผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืช วานน้ำ/หางไหล จากน้ำมันวานน้ำและสารสกัดหยาบจากหางไหล ทำการผสมปรุงแต่งสารทำลาย, emulsifier แล้วนำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารเบต้า-อะชาโรน ด้วย GC-MS และโรติโนนด้วย HPLC ในสูตรผสมที่เตรียม

1.3 ผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืช หางไหล/สะเดา จากสารสกัดหยาบจากหางไหลและสารสกัดหยาบจากสะเดา ทำการผสมปรุงแต่งสารทำลาย, emulsifier แล้วนำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารโรติโนน และอะชาติแรคตินด้วย HPLC ในสูตรผสมที่เตรียม

2. ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน(LC₅₀)ของผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชต่อลูกปลานิล
แผนการทดลอง แบบ CRD

2.1 การเตรียมปลาทดลอง

นำลูกปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linn.) อายุประมาณ 3 สัปดาห์ มาอนุบาลในอ่างสำหรับเลี้ยงปลา ขนาดกว้าง 34 นิ้ว ยาว 53 นิ้ว และสูง 16 นิ้ว ให้อาหารอัดเม็ดแห้ง เลี้ยงเพื่อให้ปรับสภาพประมาณ 1 สัปดาห์ จากนั้นทำการคัดเลือกปลานิลที่มีลักษณะสมบูรณ์ แข็งแรง ขนาดใกล้เคียงกัน ลูกปลานิลที่ทำการทดลองมีอายุ 4-6 สัปดาห์ ทำการชั่งน้ำหนักและวัดความยาวของลูกปลานิลที่ใช้ทดสอบ และงดให้อาหารก่อนการทดลอง 24 ชั่วโมง น้ำที่ใช้ทำการทดลองปราศจากคลอรีน

2.2 ทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชต่อลูกปลานิล

ทำการทดสอบหาระดับความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชที่ทำให้ปลานิลตายครึ่งหนึ่ง(50%) ด้วยวิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง (static bioassay) ในห้องปฏิบัติการ ภายในเวลา 96 ชั่วโมง โดยทำการทดลองในตู้เลี้ยงปลาขนาดเล็กหรือโหลแก้วทรงกลม เติมน้ำสำหรับกลุ่มควบคุม หรือผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชสำหรับกลุ่มทดลองตามความเข้มข้นที่ต้องการ ให้ได้ปริมาตร 10 ลิตร จากนั้นจึงนำลูกปลานิลอายุ 1 เดือนที่ทำการคัดเลือกไว้มาทำ Range finding test และ Definitive test ดังต่อไปนี้

- การทดลองขั้นต้น (range finding test) เพื่อหาระดับความเข้มข้นช่วงกว้างๆ คือระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้ ปลานิลตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ทำให้ปลานิลมีชีวิตรอด 100 เปอร์เซ็นต์ และนำค่าความเข้มข้นที่ได้ไปจัดระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทดลองอย่างละเอียดต่อไป

- การทดลองอย่างละเอียด (definitive test) เพื่อหาระดับความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชที่ทำให้ปลานิลตายครึ่งหนึ่ง(50%) โดยการนำผลจากการทดลองขั้นต้นมาจัดระดับความเข้มข้นออกเป็น 6 ระดับ แต่ละระดับทำ 3 ซ้ำ โดยตลอดการทดลองจะให้อากาศเพื่อป้องกันการขาดออกซิเจน สังเกตลักษณะอาการและนับจำนวนปลาที่ตายและบันทึกผลการทดลองทุกๆ 24 ชั่วโมง จนครบ 96 ชั่วโมง จึงนำข้อมูลที่ได้มาหาค่า LC₅₀ ที่ 96 ชั่วโมงโดยวิธี Probit analysis(Finney,1971) ต่อไป

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

ระยะเวลา 1 ตุลาคม 2557 - 30 กันยายน 2558

สถานที่ดำเนินการ กลุ่มงานวิจัยวัฏมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กลุ่มวิจัยวัฏมีพิษการเกษตร
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. เตรียมผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืช และวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ

ได้ผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืช 3 สูตร ดังนี้ สูตรสะเดา/ว่านน้ำ 80/20(NV), สูตรหางไหล/ว่านน้ำ 60/40(HV) และสูตรสะเดา/หางไหล 20/80(NH) ได้ข้อมูลปริมาณสารสำคัญในแต่ละสูตรผลิตภัณฑ์(ตารางที่ 1) ดังนี้

ตารางที่ 1 สูตรผลิตภัณฑ์ และปริมาณสารสำคัญ

สูตรผลิตภัณฑ์	ปริมาณสารสำคัญ		
	β -asarone (%)	Azadirachtin (%)	Rotenone(%)
สะเดา/ว่านน้ำ 80/20 (NV)	2.28	0.10	-
หางไหล/ว่านน้ำ 60/40 (HV)	4.26	-	0.64
สะเดา/หางไหล 20/80 (NH)	-	0.078	0.20

2. ทดสอบความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชต่อลูกปลานิล

2.1 ลูกปลานิลที่ใช้ทดสอบจากบ่อปลา อ.บ้านโพธิ์ จ.ฉะเชิงเทรา อายุ 4 สัปดาห์ มีขนาดเฉลี่ย 3.86 เซนติเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 0.72 กรัม

2.2 ความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชต่อลูกปลานิล

จากการศึกษาความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชทั้ง 3 ผลิตภัณฑ์ ด้วยวิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง (static bioassay) ในห้องปฏิบัติการ ภายในเวลา 96 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองขั้นต้น (range finding test) ในแต่ละสูตรผลิตภัณฑ์ คือ ผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืช สะเดา/ว่านน้ำ 80/20(NV) 517-1,143 มิลลิกรัมต่อลิตร, ผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชหางไหล/ว่านน้ำ 60/40(HV) 0.1871-1.1226 มิลลิกรัมต่อลิตร และผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชสะเดา/หางไหล 20/80(NH) 0.4605-2.7632 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำมาจัดระดับความเข้มข้นเพื่อใช้ในการทดลองขั้นละเอียดของแต่ละสูตรผลิตภัณฑ์ แล้วนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน (LC_{50}) ที่ 96 ชั่วโมง โดยวิธี Probit analysis (Finney, 1971) ในแต่ละสูตรผลิตภัณฑ์ พบว่า ผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชสะเดา/ว่านน้ำ 80/20(NV) มีค่า LC_{50} เป็น 983 มิลลิกรัมต่อลิตร, สูตรผสมรวมพืชหางไหล/ว่านน้ำ 60/40(HV) มีค่า LC_{50} เป็น 0.5815 มิลลิกรัมต่อลิตร, ผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชสะเดา/หางไหล 20/80(NH) มีค่า LC_{50} เป็น 0.6681 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันต่อลูกปลานิล(LC_{50}) ที่ 96 ชั่วโมง ของผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืช

สูตรผลิตภัณฑ์รวมพืช	ค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน (LC ₅₀) mg/l (ที่ 96 ชั่วโมง)
สะเดา/ว่านน้ำ 80/20 (NV)	983
หางไหล/ว่านน้ำ 60/40 (HV)	0.5815
สะเดา/หางไหล 20/80 (NH)	0.6681

จากผลการทดลองค่า LC₅₀ ของทั้ง 3 สูตร จะเห็นว่าสูตรผสมสะเดา/ว่านน้ำ(80/20) มีความเป็นพิษน้อยที่สุด(LC₅₀ 983 มิลลิกรัมต่อลิตร) ส่วนสูตรผสมหางไหล/ว่านน้ำ(60/40) และสูตรผสมสะเดา/หางไหล(20/80) มีความเป็นพิษสูงใกล้เคียงกัน (LC₅₀ 0.5815 และ 0.6681 มิลลิกรัมต่อลิตร) และทั้ง 2 สูตรมีความเป็นพิษสูงกว่าสูตรผสมสะเดา/ว่านน้ำ(80/20) มาก เพราะในสูตรผลิตภัณฑ์มีส่วนผสมของสารสกัดจากหางไหลซึ่งมีสารโรติโนน ที่มีความเป็นพิษสูงกับสัตว์เลือดเย็น สอดคล้องกับพันธุ์พร ปลั่งกลางและคณะ(2557) ที่ศึกษาพิษเฉียบของสารสกัดหยาบจากรากหางไหลขาวต่อสัตว์น้ำ 4 ชนิด พบว่าค่า LC₅₀ ของสารสกัดหยาบหางไหลขาวต่อลูกปลานิลที่เวลา 96 ชั่วโมง คือ 0.685 มิลลิกรัม/ลิตร

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน(LC₅₀)ของผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชทั้ง 3 สูตร ให้ค่าความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์สูตรดังนี้ ผลิตภัณฑ์สูตรสะเดา/ว่านน้ำ(80/20) มี LC₅₀ (96 ชั่วโมง) 983 มิลลิกรัมต่อลิตร, ผลิตภัณฑ์สูตรหางไหล/ว่านน้ำ(60/40) มี LC₅₀ (96 ชั่วโมง) 0.5815 มิลลิกรัมต่อลิตร และผลิตภัณฑ์สูตรสะเดา/หางไหล(20/80) มี LC₅₀(96 ชั่วโมง) 0.6681 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นผลิตภัณฑ์สูตรผสมที่มีความเป็นพิษสูงต่อปลา การใช้จะต้องมีความระมัดระวัง และไม่ใช้ในพื้นที่ใกล้แหล่งน้ำ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้ข้อมูลความเป็นพิษ (LC₅₀) ของสูตรผลิตภัณฑ์ที่วิจัยในโครงการนี้ สำหรับเป็นข้อมูลส่วนหนึ่งทางด้านพิษวิทยาของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้น เพื่อทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สารสกัดพืชที่ดี มีคุณภาพ ประสิทธิภาพ และความปลอดภัยทั้งต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจคุณภาพน้ำสำหรับการทดลองไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

จรรยา จริยานุสรณ์. 2545. การพัฒนาสูตรผสมสารสกัดจากข่า ว่านน้ำ และทองพันชั่ง เพื่อควบคุมโรคแอน

- แทรกนอสของมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยว. วิทยาศาสตร์สุขภาพบัณฑิต (วท.ด. (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ณัฐพร ปลั่งกลาง และ ศุภิภรณ์ อธิบาย. 2557. พืชเนียบพลันของสารสกัดหยาบทางไหลขาวต่อสัตว์น้ำบางชนิด. เกษตร 42(ฉบับพิเศษ1): 749-755.
- มงคล แก้วเทพ. 2547. ว่านน้ำสมุนไพรฆ่าแมลง จุลสารข้อมูลสมุนไพร ปีที่ 21 ฉบับที่ 4 หน้า 8-11
- เสริม สี่มา ถวิล จอมเมือง และ สมบัติ แผนดี. 2548. ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ทางไหลและสารฆ่าแมลงใน การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูถั่วฝักยาว. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2547: เล่มที่ 1. กรุงเทพฯ. น. 98-108
- เสริม สี่มา ถวิล จอมเมือง และ สมบัติ แผนดี. 2547 ข. ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ทางไหล และน้ำมัน ปีโตรเลียมในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟพริกในพริก. รายงานผลการปฏิบัติงานประจำปี งบประมาณ 2548 เล่มที่ 1 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและ สหกรณ์ หน้า 211-220.
- อัญชลี สวงพงษ์ งามผ่อง คงคาทิพย์ และ ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2543. การเพิ่มประสิทธิภาพน้ำมันสะเดา อัตราในการออกฤทธิ์ป้องกันและกำจัดด้วงงวงข้าวสาร. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว และแปรรูป สสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. 56 หน้า.
- อุดมลักษณ์ อุณจิตต์วรธนะ สมนึก คชรัตน์ และ อารมย์ แสงวนิชย์. 2546. พืชเนียบพลันของสารสกัดไล่ตืด และผลต่อเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในลูกปลานิล (*Tilapia nilotica* L.). รายงานการประชุมทาง วิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 (สาขาประมง). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. น. 298-303.
- อุดมลักษณ์ อุณจิตต์วรธนะ เฉลิชัย สุวรรณรักษ์ อารมย์ แสงวนิชย์ และ Klaus Ermer. 2544. ศึกษาพืช เนียบพลันของผลิตภัณฑ์สะเดาต่อลูกปลานิล (*Tilapia nilotica* L.). รายงานการประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 (สาขาประมง). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. น. 228-235.
- <http://extoxnet.orst.edu/pips/rotenone.htm> 1996. Extension Toxicology Network, Pesticide information Profiles ; A Pesticide Information Project of Cooperative Extension Office of Cornell University, Oregon State.
- <http://ace.orst.edu/info/extoxnet/pips/azadirac.htm> 1999. Extension Toxicology Network, Pesticide information Profiles ; A Pesticide Information Project of Cooperative Extension Office of Cornell University, Oregon State.
- Barnby, M.A., R.B. Yamasaki, J.A. Klocke. 1990. Biological activity of azadirachtin, their derivatives and their ultraviolet radiation degradation products against tobacco budworm (Lepidoptera : Noctuidae) larvae, J. Econ. Entomol. 82,58-63.
- Finney, D.J. 1971. Probit Analysis, 3rd edition, Cambridge U., Press, London, 333 pp.

- Gingerich, W.H. and J.J. Rach. 1985. Update, biotransformation and elimination of rotenone by bluegills (*Lepomis macrochirus*). *Aquatic Toxicology*, 6(3): 179-186.
- Heong, K.L., K.H. Tan, C.P.F. Garcia, L.T. Fabellar, and Z. Lu. 2011. Research methods in toxicology and insecticide resistance monitoring of rice planthoppers. International Rice Research Institute, Los Baños.
- Wan, M.T., R.G. Watts, M.B. Isman and R. Strub. 1996. "Evaluation of the Acute Toxicity to Juvenile Pacific Northwest Salmon of Azadirachtin, Neem Extract, and Neem-Based Products." *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 56, 432-439.