

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองสิ้นสุด

.....

1. แผนงานวิจัย : -
2. โครงการวิจัย : วิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตรจากสารธรรมชาติจากพืช
กิจกรรม : วิจัยผลิตภัณฑ์สารกำจัดวัชพืชจากแมงลักป่า
3. ชื่อการทดลอง : วิจัยความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์แมงลักป่าต่อลูกปลานิล
ชื่อการทดลอง : Study on Acute Toxicity of wild spikenard formulation in *Nile Tilapia*
4. คณะผู้ดำเนินงาน
หัวหน้าการทดลอง : นางธนิศา คำอำนวย สังกัด กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
ผู้ร่วมงาน : นางพรรณนิภา อัดตนนท์ สังกัด กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
: นางสาวศิริพร สอนท่าโก สังกัด กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

5. บทคัดย่อ

การวิจัยความเป็นพิษเฉียบพลันของผลิตภัณฑ์สารสกัดจากแมงลักป่าต่อลูกปลานิล โดยทำเป็นสูตรสารละลายน้ำมันเข้มข้น (Emulsifiable concentrate : EC) ซึ่งเป็นรูปแบบที่ใช้ผสมน้ำ จำนวน 2 สูตร คือ ผลิตภัณฑ์สูตร A 40%EC และ ผลิตภัณฑ์สูตร B 40%EC โดยเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์สูตรจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากแมงลักป่าที่เก็บในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารและทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันด้วยวิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง (static technique) เพื่อหาค่าความเข้มข้นของสูตรผลิตภัณฑ์ที่ทำให้ลูกปลานิลตายครึ่งหนึ่งในเวลา 96 ชั่วโมง (96h-LC₅₀) พบว่า ผลิตภัณฑ์สูตร A 40%EC มีปริมาณสาร sabinene เท่ากับ 7.61%w/w มี 1,8-cineole เท่ากับ 5.60%w/w และมี *trans*-caryophyllene เท่ากับ 4.24%w/w มีค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน (LC₅₀) ที่ 96 เป็น 27.277 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนผลิตภัณฑ์สูตร B 40%EC มีปริมาณสาร sabinene เท่ากับ 9.61%w/w มี 1,8-cineole เท่ากับ 6.94%w/w และมี *trans*-caryophyllene เท่ากับ 5.22%w/w มีค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน (LC₅₀) ที่ 96 เป็น 0.6584 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน (LC₅₀) ที่ 96 ชั่วโมง ของผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 สูตร จะเห็นว่าผลิตภัณฑ์สูตร B 40%EC มีความเป็นพิษเฉียบพลันต่อลูกปลานิลสูงกว่าผลิตภัณฑ์สูตร A 40%EC การใช้จึงต้องมีความระมัดระวัง ไม่ควรใช้ใกล้แหล่งน้ำ

Abstract

The present study was conducted to provide the acute toxicity of wild spikenard formulation on Nile Tilapia. Wild spikenard was collected from Kanchanaburi province. Then, volatile oil was extracted from wild spikenard and formulated into 2 formulas of 40% emulsifiable concentrate (EC) including formula A and formula B. Wild spikenard formulation was analyzed for quantifying sabinene, 1,8-cineole and *trans*-caryophyllene. The results showed that sabinene 7.61%w/w, 1,8-cineole 5.60%w/w and *trans*-caryophyllene 4.24%w/w were found

in formula A ,sabinene 9.61%w/w, 1,8-cineole 6.94%w/w and trans-caryophyllene 5.22%w/w were found in formula B. Acute toxicity testing with static technique of bioassay was assigned to determine their median lethal concentration within 96 hours (96h-LC₅₀). The 96h- LC₅₀ were 27.277 mg/L and 0.6584 mg/L for formula A and formula B, respectively which indicated that formula B was more toxic for *Nile Tilapia* than formula A. Therefore, it is important to be careful when using the products and do not use these products near water resource.

6. คำนำ

แมงลักป่า หรือ แมงลักคา หรือ กะเพราผี (*Hyptis suaveolens* (L.) Poit.) (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2555) เป็น วัชพืชชนิดหนึ่งที่มีแนวโน้มว่ามีศักยภาพในการควบคุมวัชพืช โดย ช่อ่มและศิริพร (2550) รายงานว่าการสกัดสาร จากแมงลักป่าด้วยน้ำมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกได้ และการพ่นสารสกัดแมงลัก ปาก่อนวัชพืชงอก 7 วัน ทำให้ผักโขมหนามมีความสูงลดลง 10 เปอร์เซ็นต์ และที่ 4 สัปดาห์หลังพ่นสารฯ ผักเบี้ย หินมีน้ำหนักแห้งลดลง 15 เปอร์เซ็นต์ (ช่อ่มและศิริพร, 2551) และสารสกัดกะเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 10.00 กรัม มีประสิทธิภาพในการควบคุมเห็บหมูก่อนงอกและเห็บหมูที่งอกแล้วใกล้เคียงกับอิมาเซทาไพร์ 90 เปอร์เซ็นต์ (ศิริกันยา, 2544) อัฒศยาและคณะ (2560) ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยต่อวัชพืช 4 ชนิด ได้แก่ หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv) ผักโขมหนาม (*Amaranthus spinosus* L.) ถั่วผี (*Phaseolus lathyroides* L.) และไมยราบเลื้อย (*Mimosa diplotricha* C. Wright ex Sauvallen) ใน ห้องปฏิบัติการพบว่า อัตราเทียบเท่าสกัดจากแมงลักป่า 100 กรัม (gE) สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญของ พืชทดสอบได้สูงสุดมากกว่า 70 แมงลักคาเป็นพืชสมุนไพรใช้รักษาอาการติดเชื้อในทางเดินอาหาร เกร็งปวดและ อาการผิวหนังติดเชื้อ แมงลักคามีฤทธิ์แรงต่อเชื้อราในโรงเก็บอาหาร (Mishra and Dubey, 1994) มีฤทธิ์ต้าน bacteria ทั้ง gram-negative และ gram-positive (Asekun *et al.*, 1999; Nantitanon *et al.*, 2007) ควบคุม เพลี้ย *Aphis gossypil* Glov. และ *Orthaga* sp. (กนก, 2540) ควบคุม American ballworms (*Heliothis armigera* Hubn.) (รัชดาภรณ์, 2544) แมลงในโรงเก็บผลิตผล (Palsson and Jaeson, 1999) สารสกัดจาก แมงลักคาด้วยไอน้ำและปิโตรเลียมอีเธอร์มีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าแมลงชนิดเพลี้ยอ่อนของพริกและหนอนท่อใบ มะม่วง (ทวีศักดิ์และคณะ, 2540) ประชาชนพื้นเมืองในหลายพื้นที่ของโลกใช้ใบแมงลักคามาไฟให้เกิดควันไล่แมลง (Aycard *et al.*, 1993) ศิริพรและคณะ (2559) ได้วิจัยหากกลุ่มสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจากแมงลักป่าที่ สำรวจเก็บตัวอย่างจากจังหวัดกาญจนบุรี พบว่า สารที่พบมากและเป็นองค์หลักในน้ำมันหอมระเหยจากแมงลักป่า ได้แก่ Sabinene, β -pinene, 1,8-cineole, trans-caryophyllene, caryophyllene oxide, abietatriene เป็นต้น และพบว่าสาร 1,8-cineol สามารถยับยั้งการงอก ยับยั้งเจริญของราก และยับยั้งการเจริญของลำต้นของ เมล็ดไมยราบยักษ์ ได้มากที่สุด

พืชสมุนไพรของไทยมีการนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชหลายชนิด เช่น สะเดา หางไหล เป็นต้น อาจนำมาใช้ในรูปแบบอย่างง่าย เช่น การแช่น้ำแล้วนำสารสกัดนั้นไปใช้พ่น หรือการนำพืชมาเตรียมเป็นสารสกัด ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ แล้วนำไปใช้ หรือการวิจัยพัฒนาเพื่อทำในรูปแบบผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปของสารสกัดพืช

นั้นๆ เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชทั้ง แมลงศัตรูพืช โรคพืช หรือวัชพืช สำหรับนำมาใช้ทดแทนสารเคมี
ป้องกันกำจัดศัตรูพืช ในการทำผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจำเป็นต้องมีข้อมูลของผลิตภัณฑ์นั้นๆ ทั้งข้อมูลด้านคุณภาพ
ประสิทธิภาพ รวมทั้งข้อมูลด้านความปลอดภัย การศึกษาความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์เพื่อดูผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต
อื่นๆที่ไม่ใช่กลุ่มเป้าหมาย เพื่อพัฒนาให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพและมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ สารเคมี เครื่องแก้ว และเครื่องมือวิทยาศาสตร์

1. เครื่องซึ่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น ปีกเกอร์ กระจกตวง ขวดวัดปริมาตร ปีเปต เป็นต้น
3. เครื่อง Gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890N
4. เครื่องระเหยแบบลดความดัน(Rotary evaporator)
5. เครื่องกลั่น Hydro-distillation
6. อุปกรณ์สำหรับเลี้ยงปลานิล ได้แก่
 - อ่างเลี้ยงปลาขนาดความกว้าง 10 นิ้ว ความยาว 10 นิ้ว และสูง 10 นิ้ว
 - อ่างสำหรับพักปลาขนาดความกว้าง 34 นิ้ว ความยาว 53 นิ้ว สูง 16 นิ้วและขนาดความกว้าง 20 นิ้ว ความยาว 42 นิ้ว สูง 20 นิ้ว
 - ชุดอุปกรณ์สำหรับให้ออกซิเจนในน้ำขณะทำการทดลอง ซึ่งประกอบด้วย เครื่องอัดอากาศ ท่อยาง และลูกหินอากาศ
 - ชุดอุปกรณ์สำหรับการเปลี่ยนถ่ายน้ำที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งประกอบด้วย เครื่องดูดน้ำและสายยาง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 นิ้ว
 - สวิตช์ปลาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3, 5 และ 12 นิ้ว
7. อุปกรณ์สำหรับวัดคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำในอ่างเลี้ยงปลา ได้แก่
 - กระดาษวัด pH, Cl_2 , NO_2^- , NO_3^-
 - เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิ
8. สารมาตรฐาน ได้แก่ sabinene, 1,8-cineole และ *trans*-caryophyllene
9. ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เมทานอล เอทานอล เป็นต้น
10. อาหารอัดเม็ดแห้งสำหรับเลี้ยงปลา

วิธีการ

1. เตรียมผลิตภัณฑ์สารสกัดจากแมงลักป่า สูตร A และ สูตร B

สำรวจและเก็บตัวอย่างแมงลักป่า บริเวณจังหวัดกาญจนบุรีและจังหวัดราชบุรี สับตัวอย่างพอละเอียด นำมากลั่นแบบ Hydrodistillation เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำน้ำมันหอมระเหยที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ และนำมาเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์สารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากแมงลักป่า (สูตรผลิตภัณฑ์จากการทดลองวิจัยสูตรและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สารสกัดจากแมงลักป่าเพื่อการควบคุมวัชพืช)

2. ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน (LC_{50}) ของผลิตภัณฑ์สูตรผสมรวมพืชต่อลูกปลานิล

แผนการทดลอง แบบสุ่มตลอด(Completely Randomized Design : CRD) มีระดับความเข้มข้นเป็นกรรมวิธีๆละ 3 ซ้ำ

2.1 การเตรียมลูกปลานิล

สูตร A 40 %EC ที่ 0-100 มิลลิกรัมต่อลิตร และผลการทดลองชั้นละเอียดของสูตรผลิตภัณฑ์สูตร A 40 %EC เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน (LC₅₀) ที่ 96 ชั่วโมง โดยวิธี Probit analysis(Finney,1971) พบว่า ผลิตภัณฑ์สูตร A 40 %EC มีค่า LC₅₀ เป็น 27.277 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 1)

3. ความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์สารสกัดแมงลักป่าสูตร B 40 %EC ต่อลูกปลานิล

3.1 ลูกปลานิลที่ใช้ทดสอบจากอำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา อายุ 70 วัน มีขนาดเฉลี่ย 3.40 เซนติเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 1.32 กรัม

3.2 จากการศึกษาความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์สูตร B 40 %EC ด้วยวิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง (static bioassay) ในห้องปฏิบัติการ ภายในเวลา 96 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองขั้นต้น (range finding test) ในสูตรผลิตภัณฑ์ B 40 %EC ที่ 0-10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการทดลองชั้นละเอียดของสูตรผลิตภัณฑ์สูตร B 40 %EC นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน (LC₅₀) ที่ 96 ชั่วโมง โดยวิธี Probit analysis(Finney,1971) ในแต่ละสูตรผลิตภัณฑ์พบว่า ผลิตภัณฑ์สูตร B 40 %EC มีค่า LC₅₀ เป็น 0.6584 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 1)

เมื่อพิจารณาค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน (LC₅₀) ที่ 96 ชั่วโมง ของผลิตภัณฑ์สูตรทั้ง 2 สูตร จะเห็นว่า ผลิตภัณฑ์สูตร A 40 %EC มีความเป็นพิษเฉียบพลันต่อลูกปลานิลน้อยกว่าผลิตภัณฑ์สูตร B 40 %EC

ตารางที่ 1 ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันต่อลูกปลานิล(LC₅₀) ที่ 96 ชั่วโมง ของผลิตภัณฑ์สารสกัดจากแมงลักป่า

สูตรผลิตภัณฑ์	ค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน (LC ₅₀) mg/l (ที่ 96 ชั่วโมง)
ผลิตภัณฑ์สูตร A 40 %EC	27.277
ผลิตภัณฑ์สูตร B 40 %EC	0.6584

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน (LC₅₀) ของผลิตภัณฑ์สารสกัดจากแมงลักป่าต่อลูกปลานิล ทั้ง 2 สูตรผลิตภัณฑ์ คือ ผลิตภัณฑ์สูตร A 40 %EC และผลิตภัณฑ์สูตร B 40 %EC มีค่า LC₅₀ (96 ชั่วโมง) 27.277 และ 0.6584 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากผลที่ได้ผลิตภัณฑ์สูตร A ที่มีความเป็นพิษต่อลูกปลานิลมากกว่า ผลิตภัณฑ์สูตร B เนื่องจากมีความแตกต่างกันของส่วนผสมในแต่ละผลิตภัณฑ์ ดังนั้นควรมีการวิจัยและพัฒนาเพิ่มเติม หรือวิจัยสูตรในรูปแบบอื่นๆ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สูตรที่มีทั้งคุณภาพ ประสิทธิภาพและมีความปลอดภัยต่อไป

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ข้อมูลความเป็นพิษ (LC₅₀) ของสูตรผลิตภัณฑ์ที่วิจัยได้ สำหรับเป็นข้อมูลส่วนหนึ่งทางด้านพิษวิทยาของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้น และเป็นแนวทางในการวิจัยสูตรผลิตภัณฑ์จากสารสกัดพืชสำหรับใช้ในป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่นๆ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ดี มีคุณภาพ ประสิทธิภาพและมีความปลอดภัยทั้งต่อผู้ใช้ ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม

11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ข้าราชการและพนักงานของกลุ่มงานวิจัยวัฏมีพิษทางการเกษตรจากสารธรรมชาติที่ได้ให้ความร่วมมือในการทำวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

12. เอกสารอ้างอิง

- กนก อุไรสกุล. 2540. การทดสอบสารสกัดแมงลักคากับเพลี้ยอ่อนพริก (*Aphis gossypii* Glov) และหนอนรังห่อใบมะม่วง (*Orthaga* sp.) โครงการการศึกษาองค์ประกอบและทดสอบสารสกัดแมงลักคากับเพลี้ยอ่อน (*Aphis gossypii* Glov). สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตพระนครศรีอยุธยา หันตรา : 1-15.
- กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2555. คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2554. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 149 หน้า.
- ช่อม เปรมัชฐีเยร์ และศิริพร ซึ่งสนธิพร. 2550. ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารจากแมงลักป่าเพื่อให้ได้สารที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชสูงสุด. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 650 หน้า
- ช่อม เปรมัชฐีเยร์ และศิริพร ซึ่งสนธิพร. 2551. ศึกษาอัตราของสารสกัดจากแมงลักป่าที่เหมาะสมในการควบคุมวัชพืชก่อนและหลังพืชและวัชพืชงอก. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 649 หน้า
- ทวีศักดิ์ สุนทรธนาศาสตร์ ศิรินันท์ ทับทิมเทศ และกนก อุไรกุล. 2540. การศึกษาองค์ประกอบและทดสอบผลการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนในพริกและหนอนใบห่อมะม่วงของสารสกัดจากต้นแมงลักคา. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 31 หน้า
- รัชดาภรณ์ พิทักษ์ธรรม. 2544. ศึกษาความทนเค็ม ทนแล้ง และความเป็นพิษของต้นแมงลักคา (*Hyptis suaveolens* Linn.) ต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน (*Heliothis armigera* Hubn.). คุชฎินิพนธ์ สาขาวิชาชีววิทยาสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ISBN 974-533-027-2.
- ศิริกันยา ตรีประสิทธิ์ผล. 2544. สารสกัดจากใบกระเพราผีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของหญ้าแห้วหมู. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 89 หน้า
(<http://cuir.car.chula.ac.th/handle/123456789/4263>). 24 มีนาคม 2557.
- ศิริพร สอนท่าโก, พรรณีกา อัดตนนท์, ธนิตา คำอำนวย และอันศยา พรมมา. 2559. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2559. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 308 หน้า
- อันศยา พรมมา, ศิริพร สอนท่าโก, ธัญชนก จงรักไทย, ธนิตา คำอำนวย, พรรณีกา อัดตนนท์, ศิริพร ซึ่งสนธิพร, คมสัน นครศรี, ภัทร์พิชชา รุจิระพงษ์ชัย, จริญญา ปิ่นสุภา และวิไลวรรณ พรหมคำ. 2560. ผลงานวิจัยดีเด่น กรมวิชาการเกษตรประจำปี 2560. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 199 หน้า
- Asekun, O. T., O. Ekundayo and B. A., Adevini. 1999. Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Hyptis suaveolens* Leaves. *Fitoterapia*. 70:440-442.

- Mishra, A.K. and N.K. Dubey. 1994. Evaluation of Some Essential Oils for Their Toxicity Against Fungi Causing Deterioration of Stored Food Commodities. *Appl. Envir. Mirobiol.* 60:1101-1105.
- Nantitanon, W., S. Chowwanapoonpohn and S. Okonogi. 2007. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Hyptis suaveolens Essential oil. *Sci. Pharm.* 75:35-46.
- Palsson, K., and T.G.T. Jaeson. 1999. Plant Products Used as Mosquito Repellents in *Guinea Bissau*, West Africa., *Acta Tropica.* 72:39-57.

13. ภาคผนวก

-