การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ 14

เรื่อง "วิถีนวัตกรรมเพื่อการพัฒนางานวิจัยสู่เศรษฐกิจชุมชนไทยให้ยั่งยืน"

สัตวแพทยศาสตร์

วันเสาร์ที่ 27 และวันอาทิตย์ที่ 28 เมษายน พ.ศ. 2562

ณ อาคารคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น อำเภอตำลูกกา จังหวัดปทุมธานี

ประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาไทย *(Azadirachta siamensis)* ต่อการกำจัดหนอนสมอในปลาทอง (*Carassius auratus*)

Paraciticidal efficacy of neem (*Azadirachta siamensis*) extract on gold fish after challenged with anchor worm (*Lernaea spp.*)

ผู้วิจัย กัณวีร์ สว่างเนตร
ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น
จรีรัตน์ เอี่ยมสะอาด
ภาควิชาเภสัชวิทยาและพิษวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
บัณฑิตย์ เต็งเจริญกุล
ทักษะ แก้วนอก
ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

โรคปรสิตในสัตว์น้ำโดยเฉพาะปลาสวยงามนั้นได้สร้างความเสียหายเป็นอย่างยิ่งต่อมูลค่าปลาสวยงาม ยิ่งไปกว่านั้นการติดเชื่อปรสิตมักทำให้เกิดการติดเชื้อแทรกซ้อน (secondary infection) ขึ้นและส่งผลต่อการตายได้อย่างรุนแรง หนึ่งในโรคที่สำคัญในอุตสาหกรรมผลิตและส่งออกปลาสวยงามนั้นคือการติดหนอนสมอ (*Lernaea spp.*) ซึ่งพบการระบาดได้ทั่วไปในเขตร้อนชื้นรวมถึงประเทศไทย ซึ่งการรักษามักใช้สารเคมีกำจัดแมลงซึ่งเป็นพิษต่อตัวปลา ผู้เลี้ยงและสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกสมุนไพรที่ปลอดภัยและไม่ตกค้างในสิ่งแวดล้อมแต่มีฤทธิ์ในการกำจัดแมลงได้ดีคือสะเดามาสกัดเป็นสารสกัดสะเดาไทยเพื่อนำมาทดลองศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนสมอในปลาทอง โดยพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดสะเดาที่ทำให้เกิดอัตราการตายกึ่งหนึ่ง (lethal concentration, LC_{50}) โดยคำนวณจากโปรแกรมสำเร็จรูป QUANTX 13 อยู่ที่ 0.012 PPT ในระยะเวลาทั้งสิ้น 96 ชั่วโมง โดยไม่พบการตายของปลาทองและอาการทางคลินิกในแง่ของความเป็นพิษต่อตัวปลา ซึ่งความเป็นพิษต่อตัวปลานั้นจำเป็นที่จะต้องศึกษาอย่างละเอียดต่อไปเพื่อยืนยันถึงความปลอดภัยต่อปลาสวยงามในแต่ละสปีชี่ส์

บทนำ

ปัจจุบันการเลี้ยงปลาสวยงามมีแนวโน้มขยายตัวมากขึ้นและได้รับความนิยมแพร่ขยายไปทั่วโลก ปลาทองนับว่าเป็นปลาที่มีสีสันสวยงาม น่ารัก มีเสน่ห์น่าหลงใหล อีกทั้งเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย ความนิยมสูงมากและราคาดี สามารถปรับตัวได้เป็นอย่างดี ซึ่งในปัจจุบันการเลี้ยงปลาจะเป็นแบบการค้าและอุตสาหกรรม ซึ่งการเกิดโรคกับปลาทองทำให้มูลค่าปลาลดลง ซึ่งมีโรคที่สำคัญในปลาเช่น ปรสิตต่างๆ จึงทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างมาก (Mamdouh A.A. Mousa et al.,2008) ซึ่งในปัจจุบันมักใช้ยาหรือสารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมในการรักษา (Senhorini, 1991; Rodrigues et al., 1997) ดังนั้นการใช้สารกำจัดศัตรูพืชในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อควบคุมโรคปลาปรสิตและศัตรูพืชอื่น ๆ ไม่เพียงแต่นำไปสู่การตกค้างในสัตว์ในระดับสูง แต่ยังอาจรบกวนสมดุลและประสิทธิภาพในการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ (Barton and Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997) การใช้สารเคมีต่างๆในการเลี้ยงปลา เช่น malachite green หรือการใช้ Dipterex เป็นต้น ซึ่ง malachite green มีความเป็นพิษต่อทั้งผู้ใช้ โดย malachite green มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน และเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งได้ (Fernandes et al., 1991;Rao, 1995; Gouranchat, 2000). และ Dipterex ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าการ

แพร่กระจายของสารในอากาศและ ทำให้เกิดการยับยั้ง cholinesterase ในเลือด (ChE) ซึ่งอาจทำให้เกิดอาการทางประสาทและกล้ามเนื้อ (Xiaohan et al.,1986) ปัจจุบันนี้การใช้พืชสมุนไพรจากตระกูลต่าง ๆ ได้ถูกนำมาใช้ในการจัดการกับสัตว์น้ำที่กำลังได้รับความนิยมอย่างมาก เพราะปลอดภัยมีประสิทธิภาพใช้ได้อย่างกว้างขวางและราคาไม่แพง นอกจากนี้ยังปลอดสารเคมีซึ่งจะเป็นอันตรายต่อสุขภาพคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อมต่างๆ สะเดาหรือ Azadirachta indica (A. indica) เป็นหนึ่งในพืชสมุนไพรที่มีแนวโน้มในการใช้มากกว่าสมุนไพรชนิดอื่นๆซึ่งมีคุณสมบัติในการกำจัดแมลง (ICAR, 1993) ทุกส่วนของต้นสะเดามีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่หลากหลายโดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านการต่อต้านแบคทีเรีย, เชื้อรา, ยาฆ่าแมลง, ต้านการเกิดแผลหลุม, ยากันยุง, ยับยั้งการลอกคราบของแมลง, ลดความอยากอาหารของแมลงและสารกำจัดศัตรูพืช (Biswas et al., 2002; Das et al., 2002) และด้วยเหตุนี้จึงใช้เพื่อรักษาโรคจำนวนมาก (Van Der Nat et al., 1991) น้ำมันสะเดานำมาใช้กำจัดแมลงศัตรูพืช เช่น เพลี้ยอ่อน ไร ตั๊กแตน แมลงวันผลไม้ โดยหลักการคือน้ำมันสะเดาซึ่งมีสาร azadirachtin ซึ่งคล้ายกับฮอร์โมนของแมลงเรียกว่า ecdysones ซึ่งควบคุมขบวนการ metamorphosis ของหนอนเป็นดักแด้และเข้าสู่ตัวเต็มวัย และทำให้ระงับการกิน (antifeedant) ยับยั้งการเจริญเติบโต ยับยั้งการสร้างและการวางไข่ (Schmutter, 1992) ซึ่งหนอนสมอจัดอยู่ใน phylum Arthropoda เช่นเดียวกับแมลงที่มีข้อปล้องดังนั้นงานวิจัยจึงใช้น้ำมันสะเดาในการกำจัดหนอนสมอ และเป็นการใช้พืชสมุนไพรท้องถิ่นที่มีมากในประเทศไทยให้เกิดประโยชน์ และอาจเป็นไปได้ที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์ที่เป็นผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นรายงานครั้งนี้จึงต้องการศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาไทย (Azadirachta siamensis) ต่อการกำจัดหนอนสมอในปลาทอง (Carassius auratus) อีกทั้งเพื่อยืนยันถึงความปลอดภัยของน้ำมันสะเดาต่อปลาทอง เพื่อที่จะถูกนำมาใช้ป็นทางเลือกสำหรับการควบคุมและรักษาปรสิตในปลาและเป็นการใช้พืชสมุนไพรท้องถิ่นที่มีมากในประเทศไทยให้เกิดประโยชน์ และอาจเป็นไปได้ที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าเพื่อเพิ่มมูลค่าสะเดาไทย และลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์ที่เป็นผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

การดำเนินการวิจัย

การขอจรรยาบรรณสัตว์ทดลอง

ก่อนการเริ่มงานวิจัยครั้งนี้ทางคณะผู้ทำงานทดลองได้ขออนุญาตใช้สัตว์ทดลองเพื่องานวิจัยผ่านคณะกรรมการสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น โดยมีการทำการทดลองที่เกี่ยวข้องกับตัว สัตว์ตามเกณฑ์มาตรฐานและทำให้เกิดการเจ็บปวดน้อยที่สุด สัตว์ทดลองทุกตัวหลังจากเสร็จสิ้นการศึกษาครั้งนี้จะถูกเลี้ยงในรูปแบบสัตว์เลี้ยงต่อไปโดยไม่มีการทำลาย

สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น ตำบลสระลงเรือ อำเภอห้วยกระเจา จังหวัดกาญจนบุรี

การสกัดเมล็ดสะเดา

การเตรียมสารสกัดแบบหยาบ (crude extract) ทำการบดเมล็ดสะเดาที่แกะเอาเปลือกหุ้มเมล็ดออกเหลือส่วนในที่มีสีเขียวน้ำหนัก 500 กรัม ผสมกับเมธานอล 2000 มิลลิลิตร หมักทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง กวนทุก 1 ชั่วโมง ระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และเก็บ crude extract (สารเหนียวสีน้ำตาลอมเขียว) การเตรียมสารสกัด NR-1

ทำการบดเมล็ดสะเดาที่แกะเอาเปลือกหุ้มเมล็ดออกเหลือส่วนในที่มีสีเขียวน้ำหนัก 500 กรัม ผสมลงใน hexane ปริมาณ 500 มิลลิลิตร หมักที่อุณหภูมิห้อง กวนทุก 1 ชั่วโมง แล้วเทสารละลายทิ้ง สกัดด้วย hexane ซ้ำจำนวน 4 ครั้ง เพื่อแยกน้ำมันสะเดาออกจากเมล็ด นำผงเมล็ดสะเดาที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกไปผึ่งให้แห้ง แล้วผสมกับเมธานอล 500 มิลลิลิตร หมักทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เทส่วนสารละลายเก็บไว้ สกัดด้วยเมธานอลซ้ำอีกจำนวน 3 ครั้ง และเก็บส่วนสารละลายที่ได้ ประมาณ 2000 มิลลิลิตร นำไปประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และเก็บ crude extract ที่ได้ทำการสกัด crude extract ที่ได้โดยละลายในเมธานอล 80% ปริมาณ 150 มิลลิลิตร และเติม hexane อีกปริมาณที่เท่ากัน เขย่าเพื่อแยกสกัดส่วนน้ำมันสะเดาออก แยกเก็บส่วนของเมธานอลนำมาสกัดซ้ำกับ hexane จนกระทั่งของเหลวชั้น hexane ใส เก็บของเหลวชั้นเมธานอลไประเหยเอาตัวทำละลายออก ได้สารสกัด NR -1

การวิเคราะห์หาปริมาณ Azadirachtin โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

การวิเคราะห์นี้ได้พัฒนาวิธีของ Yakkundi SR และคณะ (1995) ใช้เครื่อง HPLC (Perkin Elmer®,model 1022) ต่อกับปั๊ม (Perkin Elmer®,series 200 LC pump) และ mobile phase ประกอบด้วย acetonitrile และน้ำเป็นส่วนสัดส่วน 40 ต่อ 60 โดยปริมาตร ใช้ flow rate เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นเวลา 6 นาที ใช้คอลัมน์ Waters Novapak C18 (4.6 มิลลิเมตร x 15 เซนติเมตร บรรจุด้วย octadecylsilica ขนาด 4 ไมโครเมตร) ใช้ UV detector (Perkin Elmer®, model 785A/CORAD) ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร และใช้ propylparaben เป็นสารมาตรฐาน

สัตว์ทดลอง

ปลาทองอายุ 1 เดือนที่มีสุขภาพแข็งแรงโดยนำมาจากตลาดค้าส่งปลาบ้านโป่ง จ.ราชบุรี ขนาดความยาว (maximum standard length) 3 ±0.21 นิ้ว น้ำหนัก 12 ±2.32 กรัม/ตัว จำนวน 210 ตัว โดยทำการปรับสภาพปลาให้คุ้นชินกับสิ่งแวดล้อม และกำจัดปรสิตภายนอกด้วยเกลือ 5 ppt (Part Per Thousand) เป็นเวลา 7 วัน

หนอนสมอขนาด 0.8 ±0.17 เซนติเมตรโดยได้มาจากฟาร์มเอกชนในจังหวัดสุพรรณบุรีและจากสัตว์ป่วยที่ทำการรักษาในโรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น นำมาทำเป็นพ่อแม่พันธุ์โดยเลี้ยงในบ่อปลาทองขนาด 50 ลิตร บรรจุน้ำบาดาลผ่านการกรองสะอาดปริมาณ 20 ลิตร ให้อากาศตลอดเวลา โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 27 $^{\circ}$C ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) มีค่าไม่ต่ำกว่า 5 PPM และค่า pH 7.25-8.25 อนุบาลตัวอ่อนหนอนสมอเป็นเวลา 1 เดือนเพื่อให้เกิดการเพิ่มจำนวนและนำมาใช้เพื่อทำสอบจำนวนทั้งสิ้น 210 ตัว

การหา Dose น้ำมันสะเดาต่อปลาทองและการกำจัดหนอนสมอ

การหา Dose น้ำมันสะเดาในปลาทองโดยนำปลาทองลงในตู้ แล้วจึงนำน้ำมันสะเดาลงไปในหลอดทดลองโดยมีความเข้มข้นระหว่าง 0.01 - 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยจะดูการตายของปลาและใช้ความเข้มข้นสูงสุดที่ปลาไม่ตาย และนำความเข้มข้นที่ได้มาทดลองในหนอนสมอ โดยนำหลอดทดลองมาเติมน้ำในหลอดทดลองแล้ว นำหนอนสมอลงไปในหลอดทดลอง และนำความเข้มข้นที่ได้จากการทดลองปลาทอง ใช้ในหนอนสมอ โดยจะดูการตายของหนอนสมอและเวลาที่หนอนตาย

การปรับสภาพปลา

การปรับภาพปลาการทำการทดลอง โดยใช้เกลือแกง 5 ppt (Part Per Thousand) ในการปรับสภาพปลา การแบ่งกลุ่มสัตว์ทดลองและหาค่า LC50 ต่อหนอนสมอหลังจากที่ได้ปรับสภาพปลาทองเป็นเวลา 7 วันแล้ว จากนั้นแบ่งปลาทองออกเป็น 7 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยแบ่งกลุ่มได้ดังนี้

Group Control (C) : ไม่ทำการรักษา

Group Treatment ($T_{0.0005}$, $T_{0.0010}$, $T_{0.0015}$, $T_{0.0020}$, $T_{0.0025}$) : รักษาด้วยน้ำมันสะเดาที่ความเข้มข้น 0.0005, 0.0010, 0.0015, 0.0020, 0.0025 PPT ตามลำดับ

Group alcohol (A) : รักษาด้วย Ethyl alcohol

โดยทำการเลี้ยงปลาในตู้พลาสติกใสขนาด 20 ลิตร บรรจุน้ำบาดาลผ่านการกรองสะอาดปริมาณ 20 ลิตร ให้อากาศตลอดเวลา โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 27°C ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) มีค่าไม่ต่ำกว่า 5 PPM และค่า pH 7.25-8.25 โดยมีการจดบันทึกทุกวัน วันละ 1 ครั้ง ควบคุมอาหารที่ 5% น้ำหนักตัวต่อวันโดยในอาหารปลากินเนื้อที่มีเปอร์เซ็นโปรตีนมากกว่า 40% กำหนดเวลาการกินอาหารไม่เกิน 10 นาทีแล้วจึงตักอาหารที่เหลือออกเพื่อรักษาคุณภาพน้ำ จากนั้นจึงนำสารสกัดสะเดาใส่ลงในแต่ละความเข้มข้นแล้วบันทึกอัตราการตายของหนอนสมอและปลาทอง อีกทั้งสังเกตอาการทางคลินิกทุกวันเป็นเวลาทั้งสิ้น 96 ชั่วโมง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดสอบสมมติฐานการวิจัยโดยวัดความเข้มข้นของสารสกัดสะเดาที่ทำให้เกิดอัตราการตายกึ่งหนึ่ง (lethal concentration, LC50) โดยคำนวณจากโปรแกรมสำเร็จรูป QUANTX 13 โดยเครื่องมือ Linear Regression กำหนด $P < 0.05$ ได้รับการพิจารณาว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการทดลอง

ความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดสะเดานั้น จากการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสาร สกัดที่ได้จากตัวทำละลายเอทานอล นับจำนวนหนอนสมอที่ตายที่เวลา24 ชั่วโมง หลังการ ทดลอง พบว่าจำนวนหนอนสมอที่ตายจะเพิ่มขึ้น เมื่อ ความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดหยาบเพิ่มขึ้นใน ทุกช่วงเวลาที่ศึกษา และมีจำนวนตัวที่ตาย คิดเป็น 21%, 34%, 71% และ 100% ที่ความเข้มข้น 0.0005, 0.0010, 0.0015 และ 0.0020 PPT ตามลำดับ โดยปลาทองทุกตัวไม่มีการตายเกิดขึ้นที่ความเข้มข้น 0.0005 – 0.0025 PPT (Figure 1.) จากการนำค่าจำนวนหนอนสมอที่ตายในแต่ละ ความเข้มข้นที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงมาคำนวณเพื่อหาค่า LC_{50} ด้วยการวิเคราะห์โพรบิท พบว่าค่า LC_{50} ที่เวลา 48 ชั่วโมงของหนอนสมอมีค่า LC_{50} สูงที่สุด คือ 0.012 PPT โดยในทุกความเข้มข้นและระยะเวลานั้นมาพบการตายของปลาทองเลย

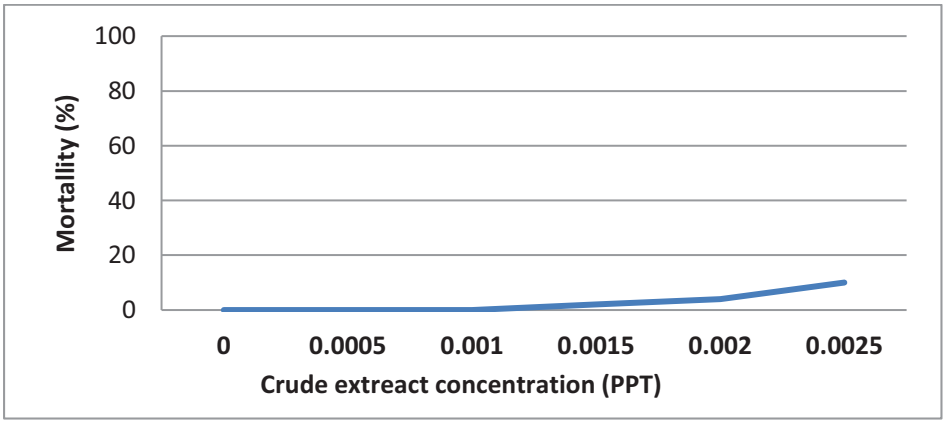

Figure 1 Percentage of mortality of anchor worms performed to 24 hours in each values of crude Neem extract

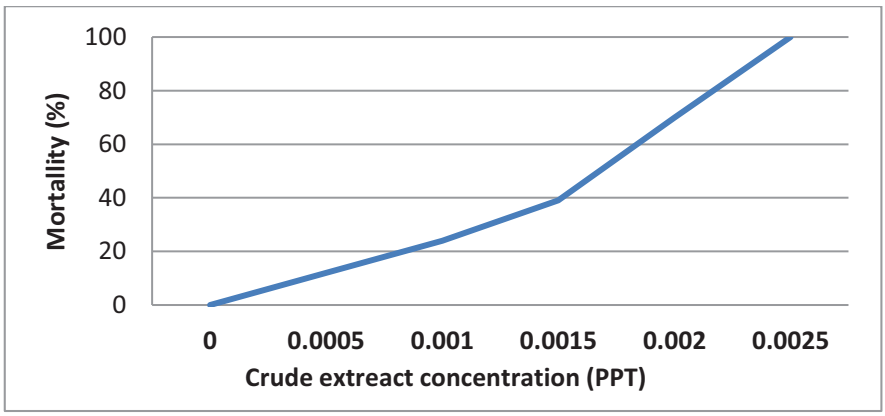

Figure 2 Percentage of mortality of anchor worms performed to 48 hours in each values of crude Neem extract

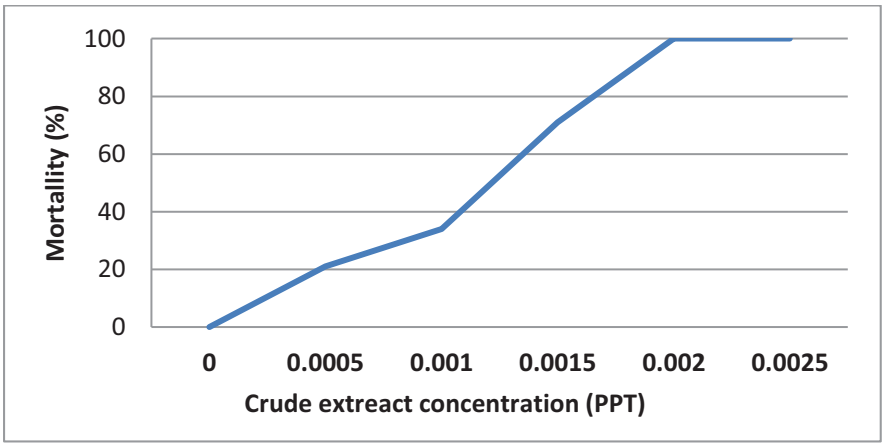

Figure 3 Percentage of mortality of anchor worms performed to 72 hours in each values of crude Neem extract

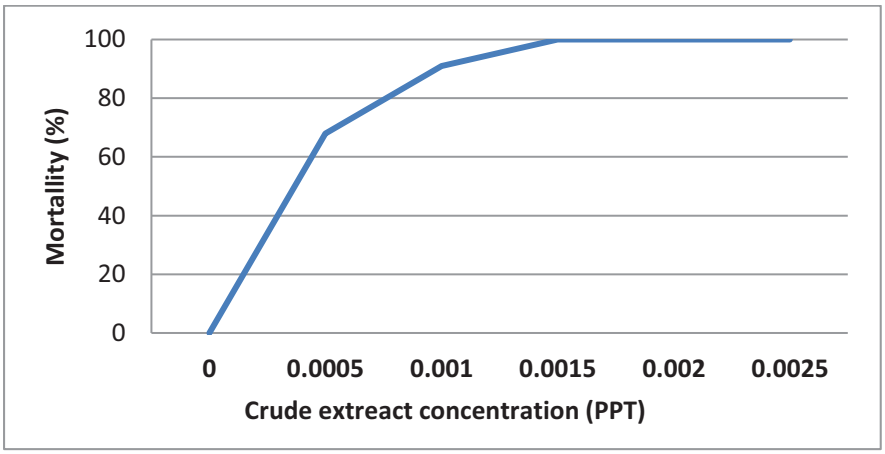

Figure 4 Percentage of mortality of anchor worms performed to 96 hours in each values of crude Neem extract

โดยค่า LC_{50} จะมีค่าแตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลาโดยที่ค่า LC_{50} ของสารสกัดสะเดาต่อหนอนสมอสูงที่สุด คือ 48 ชั่วโมงที่ 0.0287 ดังตารางที่ 1

Animal testing	LC_{50} value (PPT)				rage ofLC_{50} value (PPT)
	24 hrs	48 hrs	72hrs	96 hrs	
Anchor worms (*Lernaea spp.*)	0.0047	0.00358	0.00189	0.00141	0.00137-0.0054 (96 hrs)

สรุปและวิจารณ์

การใช้เอททานอลเป็นตัวทำละลายเพื่อสกัดสาร สำคัญในสะเดาให้ผลดีเพียงพอที่จะได้สารออกฤทธิ์ชื่อว่า azadirachtin อีกทั้งมีสารกลุ่ม isoflavonoids และ tannins ละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลาง (Andersen and Markham, 2006) เอททานอลเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลาง จึงสกัดสาระสำคัญจากเมล็ดสะเดาได้ในเกณฑ์ดีกว่าสารที่เป็นตัวทำละลายอื่นๆ เช่น เมทานอล และเฮกเซน ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มี ขั้วสูง และไม่มีขั้ว ตามลำดับ อีกทั้งเอททานอลยังมีความเป็นพิษต่อปลาทองต่ำ ค่า LC_{50} ของสารสกัดสะเดาต่อหนอนสมอที่เวลา 96 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0.00141 PPT ซึ่งน้อยกว่าค่าดังกล่าวที่อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์ วรรธนะและคณะ (2546) ได้ทำการศึกษาไว้ในราก หางไหลแดง (*Derris elliptica Benth.*) โดยมีค่าเพียง 0.0058 มิลลิกรัมต่อลิตร สารสกัดหยาบของหางไหลทั้ง 2 ชนิด สกัดด้วยตัวทำละลายแอลกอฮอล์เหมือนกัน และใช้หนอนสมอเหมือนกัน จึงสามารถกล่าวได้ว่าสารสกัดสะเดามีประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนสมอได้ดีกว่าสารสกัดจากรากของหางไหลแดง นอกจากนี้หางไหลขาวยังมีพิษต่อปลา ซึ่งในงานวิจัยดังกล่าวใช้ลูกปลานิลซึ่งเป็นปลาที่อยู่ในวงศ์เดียวกับปลาทอง คือวงศ์ cyprinidae จึงสามารถนำมาอนุมานได้ว่าสารสกัดสะเดามีพิษน้อยกว่าสารสกัดจากรากหางไหลแดง เนื่องจากปลาทองที่ได้รับสัมผัสสารสกัดสะเดาตั้งแต่วันแรกจนถึงชั่วโมงที่ 96 นั้นไม่พบอัตราการตายเลย พืชชนิดอื่นที่สร้างสารที่ออกฤทธิ์คล้ายกับ azadirechtin นั้นยังไม่มีการทำวิจัยต่อตัวหนอนสมอเลย จึงเป็นไปได้ว่าในอนาคตนั้นสามารถทำสมุนไพรตัวอื่นๆมาทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดหนอนสมอได้อีก ในการทำวิจัยครั้งนี้ถึงแม้ว่าสะเดาที่นำมาศึกษาและวิธีการสกัดสารจะให้ความเข็มข้นของสารออกฤทธิ์แตกต่างกัน แต่มีรายงานว่าสะเดาไทยให้สารออกฤทธิ์ดีที่สุดซึ่งอยู่ที่ 18.24 PPT รองลงมาคือสะเดาอินเดีย และให้สารออกฤทธิ์น้อยที่สุดคือสะเดาช้างซึ่งให้สารออกฤทธิ์ที่ 17.33 และ 14.52 PPT ตามลำดับ

คำขอบคุณ

การศึกษานี้ได้ส่วนหนึ่งรับทุนอุดหนุนโครงการวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไปประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอขอบคุณอ.ดร.จรีรัตน์ เอี่ยมสะอาด ภาควิชาเภสัชวิทยาและพิษวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และสารเคมี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงการเกษตรและสหกรณ์.2548. สะเดาและการนำไปใช้ประโยชน์. (108 หน้า) ISBN : 974-436- 462-9

ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2537. สะเดาและการใช้สารสกัดสะเดาป้องกันและกำ จัดแมลง. เอกสารเผยแพร่ สำ นักส่งเสริมและฝึกอบรม อันดับที่ 61 25 หน้า

ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2540. สะเดา มิติใหม่ของการป้องกันและกำจัดแมลง: ห้างหุ้นส่วนจำกัด ป.สัมพันธ์ พาณิชย์, กรุงเทพฯ.

คณิต ขอพลอยกลาง และ จารุยา ขอพลอยกลาง. 2557. ผลของสารสกัดจากสภาพแห้งของเมล็ดสะเดา (*Azadirachta sp.*) เมล็ดน้อยหน่า (*Annona sp.*) รากหนอนตายหยาก (*Stemona sp.*) และรากหางไหล (*Derris sp.*) ต่ออัตราการตายของหนอนแมลงวัน แมลงวัน ลูกน้ำยุง ยุง และเห็บโค. วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.

ตุลฮาบ หวังสุข. 2549. บัญญัติ 10 ประการของปลาทอง. นิตยสารคุณภาพคนรักปลา 5: 74 – 78.

ธนากร ฤทธิ์ไธสง. 2549. สายพันธุ์และการเพาะเลี้ยง ปลาทอง เชิงธุรกิจ ฉบับสมบูรณ์. ไทยสุวรรณอินเตอร์. กรุงเทพฯ : หน้า 189

ผกามาศ ออมสิน, ภาคสกร รักกลัด และ ยุพิน พูนดี. 2548. การตัดการคุณภาพน้ำในการเลี้ยงปลานิลแดงโดยระบบหมุนเวียนน้ำผ่านบึงประดิษฐ์.สารนิพนธ์การศึกษาค้นคว้าด้วยตัวเอง วิทยาศาสตรบัณฑิต. มหาวิทยาลัยนเรศวร.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์ และ ไพวรรณ พรประภา.2539. การจัดการคุณภาพน้ำและการบำบัดน้ำเสียในบ่อเลี้ยงปลาและสัตว์น้ำอื่นๆ. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,กรุงเทพฯ

รติยา คูเขตพิทักษ์วงศ์,สังวาล สมบูรณ์,สุภาณี พิมพ์สมานและวัชรี คุณกิตติ.2546. การเปรียบเทียบปริมาณสาร Azadirechtin และฤทธิ์การยับยั้งการกินของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาสามชนิดต่อหนอนใยผัก. วารสารวิจัย มข.8(2) : ก.ค. – ธ.ค. 2546

รมย์นลิน เขียนจูม, วงเดือน ปั้นดี, สุภาวดี บุญชื่น, สุเทพ ศิลปานันทกุล และขวัญชัย สมบัติศิริ. 2555. ผลของสารสกัดจากเมล็ดและใบสะเดาไทยต่อการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน.การประชุมวิชาการแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 9

วัญเพ็ญ มณีกาญจน์ และกาญนรี พงษ์ฉวี. 2543. พรรณไม้น้ำสวยงาม. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำ สวยงามและสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำ. กรมประมง.

ศิริวัฒน์ ดูเจริญไพบูลย์. 2544. การกำจัดสารประกอบไนโตรเจนในตู้เลี้ยงปลาน้ำจืดระบบปิดโดยกระบวนการไนตริฟิเคชั่นและดีไนตริฟิเคชั่น.วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรศักดิ์ วงศ์กิตติเวช. 2542. คู่มือการเลี้ยงปลาทอง. บริษัทเอมซับพลาย จำกัด, กรุงเทพฯ

สมหมาย เชี่ยววารีสัจจะ.2539. เอกสารคำสอนวิชาการจัดการคุณภาพน้ำ. ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

ศ.ดร.ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2549. หลักการและวิธีการใช้สะเดาป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ ฉบับที่ 1 โครงการเกษตรกู้ชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อัญชลี สงวนพงษ์. 2546. การใช้น้ำมันสะเดาอัดเม็ดในการควบคุมประชากรของด้วงงวงข้าว. ภาควิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวและแปรสภาพ. คณะวิศวกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีราชมงคลปทุมธานี

อัญชลี สงวนพงษ์. 2555. การผลิตและการใช้สารสกัดสะเดาในการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช. บริษัท ทริปเพิ้ล กรุ๊ป จำกัด. กรุงเทพฯ

อุ่นจิตต์ วรรธนะ. 2544.”ศึกษาผลกระทบของสารสกัดและผลิตภัณฑ์สะเดาต่อต่อการเปลี่ยนแปลงเอมไซม์โคลีนเอสเตอเรสในลูกปลานิล”. ผลงานวิจัยประจำปี. กรมวิชาการเกษตร (หน้า12)

Abhishek Kumar, ManiRam Prasad, Diwakar Mishra, Sunil Kumar Srivastav and Ajai Kumar Srivastav. 2012. Acute toxicity of azadirachtin to a teleost *Heteropneustes fossilis*. Department of Zoology, D.D.U. Gorakhpur University, Gorakhpur 273009, India.

Ascher, K. R. S. 1993. Nonconventional insecticidal effects of pesticides available from the neem:. tree, Azadirachtaindica. Arch. Insect Biochem. Physiol. 22: 433-449.

A.A. Akinwande, A.O. Sogbesan, F.O. Moody and A.A.A. Ugwumba.2007. Piscicidal potential of mesocarp of neem plant (*Azadirachta indica* L.) fruit on hybrid, “Heteroclarias”. Journal of Environmental Biology. July, 2007

Badam, L., Joshi, S.P., Bedekar, S.S., 1999. In vitro antiviral activity of neem (*Azadirachta indica*, A. Juss) leaf extract against group B Coxsackieviruses. J. Commun. Dis. 31, 79–90

Barton, B. A. and G. K. Iwama. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids.Annu. Rev. Fish Dis. 1: 3–26.

Biswas, K., I. Chattopadhyay, R. K. Banerjee and U. Bandyopadhyay. 2002. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*).Curr. Sci. 82: 1336–1345.

Camila R. Murussi , Maiara D. Costa, JossieleW. Leitemperger , Fábio Flores-Lopes, Charlene C. Menezes, Luisa Loebens , Luis Antonio de Avila, Tiele M. Rizzetti ,Martha B. Adaime , Renato Zanella , Vania L. Loro.2015. Acute exposure to the biopesticide azadirachtin affects parameters in the gills of common carp (*Cyprinus carpio*). 1532-0456/© 2015 Published by Elsevier Inc.

Chapman, R. F 1974. The chemical inhibition of feeding by phytophagous insects: a review. Bull. Entomol. Res. 64:339-363.

Das, B. K., S. C. Mukherjee and O. Murjani. 2002. Acute toxicity of neem (*Azadiractha indica*) in Indian major carps. J. Aquac. Trop., 17: 23–33.

Debashri Mondal, Sudip Baratand M. K. Mukhopadhyay.2007. Toxicity of neem pesticides on a fresh water loach, *Lepidocephalichthys guntea* (Hamilton Buchanan) of Darjeeling district in West Bengal. Aquaculture and Limnology Laboratory, Department of Zoology University of North Bengal, Darjeeling–734 013, India.

Eisa Osman Mohamed Ali, Najam Akhtar Shakil, Virendra Singh Rana, Dhruba Jyoti Sarkar,Sujan Majumder, Parshant Kaushik, Braj Bhushan Singh, Jitendra . 2017. Antifungal activity of nano emulsions of neem and citronella oils against phytopathogenic fungi, Rhizoctonia solani and Sclerotium rolfsii. Division of Agricultural Chemicals, ICAR-Indian Agricultural Research Institute, New Delhi 110012, India

Kumar.2017. Antifungal activity of nano emulsions of neem and citronella oils against phytopathogenic fungi, Rhizoctonia solani and Sclerotium rolfsii. Division of Agricultural Chemicals, ICAR-Indian Agricultural Research Institute, New Delhi 110012, India

Elissandra U. Winkaler , Thiago R.M. Santos ,Joaquim G. Machado-Neto , Cláudia B.R. Martinez. 2007. Acute lethal and sublethal effects of neem leaf extract on the neotropical freshwater fish *Prochilodus lineatus*. Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista (CAUNESP), Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castelane, 14884-900, Jaboticabal, SP, Brazil

Fazil Hasan and M. Shafiq Ansari .2010. Toxic effects of neem-based insecticides on Pieris brassicae (Linn.). 0261-2194 see front matter 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved. doi:10.1016/j.cropro.2010.11.029

Flavia A.C. Da Silva1 AND Sueli S. Martinez .2004. Effect of Neem Seed Oil Aqueous Solutions on Survival and Development of the Predator *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae). Neotropical Entomology 33(6):751-757 (2004)

Fernandes, C., Lalitha, V.S., Rao, V.K., 1991. Enhancing effects of malachite green on the development of hepatic preneoplastic lesions induced by N-nitrosodiethylamine in rats. Carcinogenesis 12, 839–845.

Gouranchat, C., 2000. Malachite green in fish culture (state of the art and perspectives). Bibliographic studies. Ecole Natl. Veterinaire ENVT, Nantes, France, 142 pp.

Heck HA, Casanova M, Starr TB. Formaldehyde toxicity - new understanding. Critical Reviews in Toxicology 1990; 20 (6): 397-326.

Hoffman, G. 1967. Parasites of North American Freshwater Fishes. Berkeley and Los Angeles: University of California Press.

ICAR. 1993. World Neem Conference Souvenir ICAR, Bangalore, India

ผลของยูวีซีต่อการลดเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำนม

Effect of UV-C irradiation to Reduce Microorganisms In Milk

ผู้วิจัย จรีพร บุญล้อม
สาขาวิชา สาขาจุลชีววิทยา ปรสิตวิทยา และสัตวแพทย์สาธารณสุข
คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น

บทคัดย่อ

การใช้รังสียูวีซีร่วมกับการพาสเจอร์ไรส์ในการลดเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้ระบบการส่องแสง UV ทดสอบกับนมดิบ และนมพาสเจอร์ไรส์ โดยศึกษาอัตราการไหลของนมที่ 3.6 และ 10.8 ml/s ควบคู่กับจำนวนรอบที่นมไหลผ่าน UV 1 รอบ และ 3 รอบ พบว่าการลดลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในนมพาสเจอร์ไรส์ไม่เห็นเด่นชัด เมื่อเทียบกับผลในนมดิบ ซึ่งอาจเนื่องมาจากจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้นมีจำนวนน้อย ซึ่งตรงกันข้ามกับนมดิบที่มีเชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้นมาก การลดลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จึงเห็นชัดเจนพบว่าสภาวะในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในนมดิบได้ดี คือที่อัตราการไหล 3.6 ml/s จำนวน 3 รอบ ถึงแม้นมพาสเจอร์ไรส์ที่ผ่านแสง UV มีปริมาณจุลินทรีย์รวมใกล้เคียงกับนมพาสเจอร์ไรส์ที่ไม่ผ่านแสง UV แต่มีแนวโน้มมีอายุการเก็บรักษาที่นานกว่านมพาสเจอร์ไรส์ที่ไม่ผ่านแสง UV

คำสำคัญ : นมดิบ รังสีอุลตราไวโอเลต พาสเจอร์ไรส์ และอายุการเก็บรักษา

ABSTRACT

Using the ultraviolet radiation UV-C combined with pasteurization to reduce microorganism drinking milk. Using vertical flow UV system tested raw and pasteurized raw milk at flow rate of 3.6 and 10.8 ml/s along with number of UV cycle at 1 and 3 cycles. The results, showed that the decrease amount of microorganisms in pasteurized milk was not Significantly different comparing to the decrease in raw milk. The reasonable condition for decreasing microorganisms in raw milk was at the flow rate of 3.6 ml/s 3 cycles of the UV light and the milk. Although UV-treated pasteurized milk had similar amount of microorganisms to untreated pasteurized milk, the UV-treated pasteurized milk tended to have longer shelf life than the untreated milk.

Key Words : Raw milk, UV radiation, pasteurize, shelf life

บทนำ

อัตราการบริโภคนมในประเทศไทยมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น รัฐบาลสนับสนุนให้เยาวชนบริโภคนมโดยมีโครงการนมโรงเรียน เพื่อส่งเสริมให้เยาวชนมีโอกาสบริโภคนมพาสเจอร์ไรส์ ในการช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโตของร่างกายและพัฒนาการทางสมอง เนื่องจากน้ำนมโคมีประโยชน์และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง สารอาหารที่สำคัญคือโปรตีน ไขมัน และวิตามิน อย่างไรก็ตามนมพาสเจอร์ไรส์ที่ดีต้องได้จากนมดิบที่มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์น้อย ซึ่งปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้นในนมดิบขึ้นอยู่กับแม่โค การจัดการฟาร์มและการขนส่ง เมื่อนมผ่านการพาสเจอร์ไรส์ เชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่ไม่ทนต่ออุณหภูมิสูงจะถูกกำจัด การเก็บรักษาจึงต้องไว้ที่อุณหภูมิต่ำเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่ โดยทั่วไปนมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส จะมีอายุการเก็บรักษาประมาณ 10 วัน