13665

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

T100627

เรื่อง

การศึกษาความเป็นพิษของผลมะค่าดีควายที่มีต่อปลานิล ในระดับความเค็มของน้ำที่แตกต่างกัน

A Study on toxicity of Sapindus emarginatus on Tilapia nilotica at the different salinity.

โดย

นายประสมทรัพย์ บุญเลิศ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา ..... ปรีดา ฟองสวัสดิ์

กรรมการ .....

กรรมการ .....

กรรมการ .....

กรรมการ .....

ปพ.
ป395ก
2551

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(นายทรงศักดิ์ คันพิพัฒน์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

วันที่ ๒๕ เดือน ..มี.ค.... พ.ศ. ๒๕๓๑

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาความเป็นพิษของผลมะคำดีควายที่มีต่อปลานิล ในระดับความเค็มของน้ำที่แตกต่างกัน

A Study on toxicity of Sapindus emarginatus on Tilapia nilotica at the different salinity

โดย

นายประสมทรัพย์ บุญเลิศ

เสนอ

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

พ.ศ. 2531

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาความเป็นพิษของผลมะคำดีควายที่มีต่อปลานิล ในระดับความเค็มของน้ำที่แตกต่างกัน

A Study on toxicity of Sapindus emarginatus on Tilapia nilotica at the different salinity.

ปัจจุบันการเลี้ยงกุ้งทะเลและกุ้งก้ามกราม ยังคงมีปัญหาเกี่ยวกับปลาที่เป็นศัตรูของกุ้งในบ่อเลี้ยง จึงทำให้การเลี้ยงกุ้งทั้ง 2 แบบไม่ค่อยประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร จึงมีการนำเอาสารซาโปนิน (saponin) ซึ่งพบในเมล็ดชาและกากชา มาช่วยแก้ปัญหา เหตุผลที่ใช้สารนี้เพราะว่ากุ้งสามารถทนพิษซาโปนินได้มากกว่าปลา แต่กากชาที่ใช้ส่วนใหญ่นำเข้ามาจากประเทศจีนและไต้หวัน นอกจากกากชาแล้ว ในประเทศไทยยังมีพรรณไม้หลายชนิดที่มีปริมาณของสารซาโปนินอยู่สูงมาก เช่น ผลมะคำดีควาย (Sapindus emarginatus) การทดลองครั้งนี้จึงนำเอาผลมะคำดีควายมาใช้กำจัดปลาที่เป็นศัตรูของกุ้ง คือปลานิล โดยใช้ปลาทดลอง ขนาด 2 – 3 เซนติเมตร น้ำหนัก 0.24 – 0.28 กรัม การศึกษาโดยใช้วิธีชีววิเคราะห์ในน้ำนิ่ง (static bio-assay) แบ่งระดับความเค็มของน้ำ คือ 0, 5, 10 และ 15 ส่วนในพัน แล้ววิเคราะห์ความเป็นพิษของผลมะคำดีควายที่มีต่อปลานิล จากการหาค่าความเข้มข้นของผลมะคำดีควายที่ทำให้ปลานิลตาย 50 เปอร์เซนต์ ภายในระยะเวลาที่กำหนด (LC_{50}) คือ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ผลการทดลองปรากฏว่าค่า LC_{50} (96 ชั่วโมง) ของปลานิลที่ระดับความเค็ม 0, 5, 10 และ 15 ส่วนในพัน คือ 76.20, 75.88, 71.69 และ 63.97 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เห็นได้ว่าเมื่อความเค็มของน้ำเพิ่มขึ้น ความเป็นพิษของผลมะคำดีควายก็เพิ่มขึ้นด้วย และผลมะคำดีควายไม่ทำให้คุณภาพของน้ำเปลี่ยนแปลงจนถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อปลานิล จึงสามารถที่จะนำเอาผลมะคำดีควายมาใช้เป็นยาเบื่อปลาในนากุ้ง โดยที่สามารถจะใช้ได้ทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์ ปวีณา กิจสวัสดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่คอยแนะนำและช่วยเหลือสิ่งต่างๆ ตั้งแต่เริ่มต้นจนเสร็จสิ้นการทดลอง และขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. จรูญ เลียงชเยศ ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำแนะนำในการเตรียมสารทดลองและความรู้ต่างๆที่จำเป็นในการทดลอง ตลอดจนขอขอบคุณน้องๆ ที่ให้ความช่วยเหลือ

นอกจากนี้ ข้าพเจ้า ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้ความช่วยเหลือทางด้านทุนทรัพย์และกำลังใจ จนการศึกษาครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ประสมทรัพย์ บุญเลิศ

มีนาคม 2532

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญ

	หน้า
สารบาญ	(1)
สารบาญตาราง	(2)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	11
ผลการทดลองและวิจารณ์	18
สรุป	27
ข้อเสนอแนะ	28
เอกสารอ้างอิง	29
ภาคผนวก	34

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เปอร์เซนต์การตายสะสมของปลานิลหลังจากได้รับสารสกัดผลมะค่าดีควาย ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน และที่ความเค็มของน้ำ 0 ส่วนในพัน ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง	19
2	เปอร์เซนต์การตายสะสมของปลานิลหลังจากได้รับสารสกัดผลมะค่าดีควาย ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน และที่ความเค็มของน้ำ 5 ส่วนในพัน ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง	19
3	เปอร์เซนต์การตายสะสมของปลานิลหลังจากได้รับสารสกัดผลมะค่าดีควาย ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน และที่ความเค็มของน้ำ 10 ส่วนในพัน ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง	20
4	เปอร์เซนต์การตายสะสมของปลานิลหลังจากได้รับสารสกัดผลมะค่าดีควาย ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน และที่ความเค็มของน้ำ 15 ส่วนในพัน ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง	20
5	แสดงค่า LC_{50} ที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน ภายในระยะเวลา 96 ชั่วโมง	21
6	แสดงผลการวิเคราะห์คุณภาพของน้ำทั้งก่อนการทดลองและภายหลังการทดลองในน้ำจืด	24
7	แสดงผลการวิเคราะห์คุณภาพของน้ำทั้งก่อนการทดลองและภายหลังการทดลองในน้ำ ระดับความเค็ม 15 ส่วนในพัน	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
1	ข้อมูลเบื้องต้นที่ใช้ในการคาดคะเนค่าโปรบิท	35
2	ผลการคำนวณหาค่าโปรบิทสำหรับการคำนวณ (y) และน้ำหนัก (w)	36
3	ผลการคำนวณครั้งที่ 1 เพื่อหาสมการเส้นตรงโปรบิท	37
4	แสดงการเปลี่ยนค่าอัตราการตายให้อยู่ในรูปโปรบิท	40
5	แสดงค่า Yo, Range,W ที่ใช้ในการคำนวณโปรบิท	41
6	แสดงการกระจายของค่า chi-square	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาความเป็นพิษของผลมะค่าดีควายที่มีต่อปลานิล ในระดับความเค็มของน้ำที่แตกต่างกัน

A study on toxicity of Sapindus emarginatus on Tilapia nilotica at the different salinity.

คำนำ

ปัญหาปลาที่เป็นศัตรูกุ้งทะเลและกุ้งก้ามกราม เป็นปัญหาหนึ่งที่ทำให้การเลี้ยงกุ้งไม่ค่อยประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร ปลาที่เป็นศัตรูที่พบในบ่อกุ้ง ได้แก่ ปลานิล (Tilapia nilotica) ปลากระพงขาว (Latus calcarifer) และปลาบู่ (gobies) ปลาเหล่านี้เข้าไปในบ่อขณะที่สูบน้ำเข้าบ่อ ลูกปลาและไข่ปลาจะติดไปกับน้ำหรือทางรูรั่วของบ่อ โดยที่ในปัจจุบันการเลี้ยงกุ้งทะเล ส่วนใหญ่ยังเป็นวิธีอาศัยลูกกุ้งธรรมชาติ โดยเปิดให้น้ำทะเลเข้าไปในนากุ้งด้วยการใช้ระหัดวิดน้ำ หรือเครื่องดันน้ำเข้ามา แล้วปิดกักน้ำไว้ในนา เพื่อให้ลูกกุ้งเจริญเติบโตในนาต่อไป (45 – 60 วัน) และอีกวิธีหนึ่ง เป็นการเลี้ยงกุ้งโดยอาศัยหลักวิชาการที่พัฒนาขึ้นมา โดยการใช้พันธุ์กุ้งหรือลูกกุ้งวัยอ่อนจากการเพาะพัก ซึ่งต้องอาศัยแม่กุ้งสำหรับเพาะพันธุ์ในบ่อเพาะพักที่มีการบำรุงรักษาอย่างดี มาปล่อยเลี้ยงในนากุ้ง ซึ่งวิธีการแบบนี้จะทำให้ผลผลิตสูงขึ้น (พรศักดิ์, 2527) การเลี้ยงกุ้งทั้งสองวิธีดังกล่าว ยังคงมีปัญหาเกี่ยวกับศัตรูกุ้ง ซึ่งจะเข้าไปแย่งอาหารกุ้งและกินกุ้งเป็นอาหาร ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น และศัตรูกุ้งเหล่านี้เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลผลิตของกุ้งตกต่ำ วิธีการกำจัดและป้องกันการระบาดของศัตรูกุ้งเหล่านี้ ทำได้หลายวิธี เช่นใช้สาร Triphenyltin acetate กำจัดหอยเจดีย์ในนากุ้ง (ประพันธ์, 2525) ใช้ไซยาไนด์เบื่อปลาที่เป็นศัตรูของกุ้ง (Bridges, 1985) หรือเบื่อปลาโดยอาศัยหลักการยับยั้งการหายใจของปลาด้วย โรตีโนน (Pillai, 1962) การใช้สารเคมีเหล่านี้อาจเกิดอันตรายต่อผู้ใช้สารเคมีโดยตรง หรือเกิดพิษตกค้างของสารในนากุ้งได้ จึงมีการศึกษาและเลือกใช้สารหลายชนิดในการกำจัดและป้องกันการระบาดของศัตรูกุ้งในนากุ้ง พบว่าสารที่ปลอดภัยและไม่มีพิษตกค้างก็คือ สารซาโปนิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีรายงานการใช้สารซาโปนินในรูปกากชา โดยการใช้สารสกัดซาโปนินอย่างหยาบออกมาทดลองเบื่อปลาที่เป็นศัตรูของกุ้ง ผลการทดลองพบว่า สามารถกำจัดปลาโดยไม่เกิดอันตรายต่อกุ้งเลย และ ประพันธ์ (2524) ยังได้สรุปการใช้กากชากำจัดศัตรูของกุ้งว่าดีกว่าการใช้สารเคมีอื่นๆคือ ไม่เป็นพิษต่อผู้ใช้ และไม่มีพิษตกค้าง และจากรายงานของ Tang (1961) ยืนยันว่า ซาโปนินที่ใช้เบื่อปลาจะไม่สะสมในตัวกุ้งหรือตกค้างในบ่อ เพราะสลายตัวได้ง่าย (Pillai, 1962) โดยกากชาที่ใช้ในปัจจุบันส่วนใหญ่นำเข้ามาจากประเทศจีนและไต้หวัน นอกจากกากชาแล้ว ในประเทศไทยยังมีพรรณไม้หลายชนิดที่มีปริมาณของสารซาโปนินอยู่สูงมาก แต่การศึกษาประสิทธิภาพในการฆ่าสัตว์น้ำยังมีไม่มากและแพร่หลาย การทดสอบนี้จึงเป็นการศึกษาเบื้องต้นที่เกี่ยวกับความเป็นพิษของผลมะคำดีควายที่มีต่อปลานิล ในระดับความเค็มของน้ำที่แตกต่างกัน เหตุผลที่เลือกใช้ผลมะคำดีควายมาศึกษา ก็เพราะว่าผลมะคำดีควายพบในประเทศไทย นอกจากนี้ยังมีราคาถูกและพิษของผลมะคำดีควายก็เป็นสารซาโปนินที่สลายตัวง่าย และไม่สะสมในร่างกายของคนและสัตว์เลี้ยง แต่เป็นพิษรุนแรงเฉพาะสัตว์เลือดเย็นหรือสัตว์น้ำ เช่นปลา (ประพันธ์, 2524)

<u>วัตถุประสงค์</u>

1. เพื่อศึกษาหาปริมาณสารซาโปนินในผลมะคำดีควายแห้ง
2. เพื่อศึกษาหาระดับความเป็นพิษของผลมะคำดีควายที่ทำให้ปลานิลตาย 50 เปอร์เซนต์ ภายในเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็มของน้ำ 0, 5, 10 และ 15 ส่วนในพัน
3. เพื่อศึกษาพฤติกรรมการตอบสนองของปลานิลที่มีต่อผลมะคำดีควาย
4. เพื่อศึกษาคุณภาพน้ำเมื่อมีการใช้ผลมะคำดีควายเป็นยาเบื่อปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ซาโปนิน (saponin)

ซาโปนินเป็นไกลโคไซด์ชนิดหนึ่ง(oligoglycoside) ซึ่งพบอยู่ในพืชมากมาย และมีหลายชนิดแตกต่างกันตรงส่วนของคาร์โบไฮเดรท (oligosaccharidel) และส่วนที่เป็น aglycone (อนุพันธ์สเตอรอยด์)

องค์ประกอบและโครงสร้างของซาโปนิน

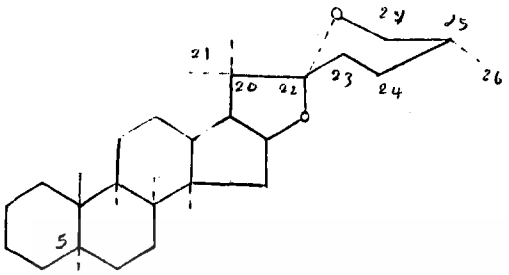
ซาโปนินมีองค์ประกอบของ aglycone หรือ Sapogenin แตกต่างกัน แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ steroid saponin และ triterpenoid saponin ทั้ง 2 ชนิดเป็น glycoside มีน้ำตาลเชื่อมโยง ที่ C – 3 และมีขบวนการชีวสังเคราะห์ เริ่มต้นมาจากสารเดียวกัน คือ mevelonic acid และ Isoprenoid Unit ส่วนที่เป็นน้ำตาลประกอบด้วย น้ำตาลตั้งแต่ 1 หน่วย ถึงในบางกรณี aglycone ไม่รวมกับน้ำตาล แต่รวมกับสารอื่นที่ใกล้เคียงกัน เช่น Uronic acid (พยอม, 2529)

Triterpenoid saponin ที่ใช้ในการผลิตยาประเภทต่างๆ ใช้เป็นสารชักล้าง เป็นส่วนที่ทำให้เกิดฟองในน้ำยาดับเพลิง และเป็นสารพิษฆ่าปลา มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 30 อะตอม เมื่อทำปฏิกริยากับน้ำ (Hydrolysis) จะได้น้ำตาล napthalene และ picnic dervatives

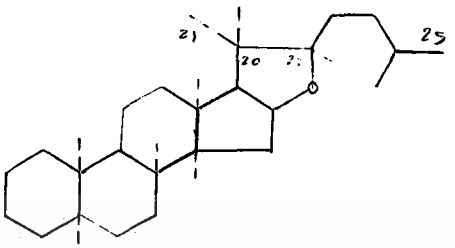
Steroid saponin มีฤทธิ์เป็นยากระตุ้นหัวใจ และยังใช้ในการผลิตสารกระตุ้นทางเพศ (sex hormone) อีกด้วย มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 27 อะตอม เมื่อทำปฏิกริยากับน้ำจะได้น้ำตาล และ lipid พวก steroids (Rose และ Ron, 1956)

ซาโปนินประกอบด้วย 2 ส่วนคือ น้ำตาล และอกลับโคน (aglycone) ในกลุ่มสเตียรอยด์ (steroid) ยังมีโครงสร้างต่างกัน 2 แบบคือ spirostan และ Furostan แสดงในภาพที่ 1 (อ้อมบุญ, 2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



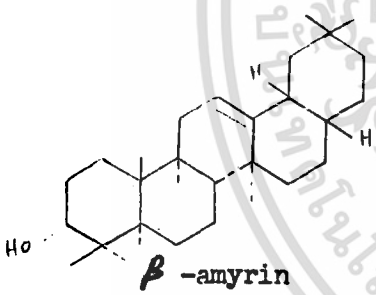
SPIROSTAN



FUROSTAN

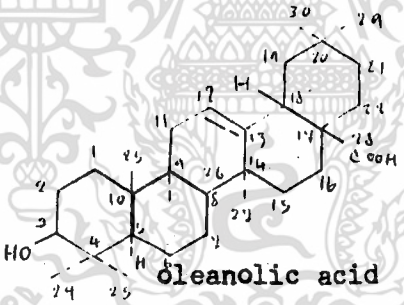
ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างของ steroid sapogenin

ในกลุ่มที่มี ซาโปเลนิน เป็นไตรเทอร์ปีน จะมีโครงสร้างได้ 4 ลักษณะ คือ oleanane, Dammarane, Lupane และ Ursan นอกจาก Dammarane แล้ว ล้วนมีโครงสร้างเป็น pentacyclic triterpenoid แสดงในภาพที่ 2 (อ้อมบุญ, 2529)



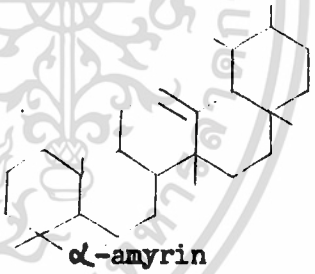
β -amyrin

(OLEANNANE SERIES)



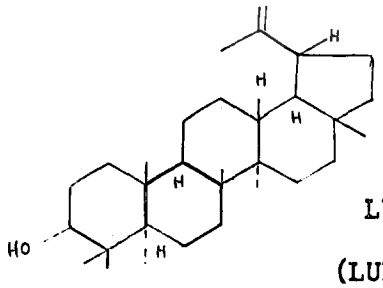
oleanolic acid

(ACIDIC TRITERPENE)



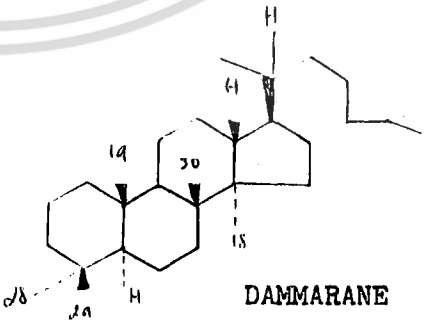
α-amyrin

(URSANE SERIES)



LUPEOL

(LUPANE SERIES)



DAMMARANE

ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างของ Triterpenoid Sapogenin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>คุณสมบัติของซาโปนิน</u>

คุณสมบัติของซาโปนิน มีทั้งทางเคมีและทางกายภาพ นิตยา (2523) ได้กล่าวไว้ดังต่อไปนี้

ทางเคมี ได้แก่

1. ละลายได้ในน้ำและ alcohol ที่ร้อน แต่จะไม่ละลายใน alcohol ที่เย็น ether, benzine และ chloroform

2. ซาโปนินที่ได้จากพืชบางชนิด แสดงคุณสมบัติเป็นกรด และบางชนิดจะแสดงคุณสมบัติเป็นกลาง

3. ทำปฏิกริยากับ ferric chloride ใน alcoholic sulphuric acid จะได้สีเขียว

4. ไม่ตกตะกอนในน้ำกระด้าง แต่ตกตะกอนในสารละลายเกลือที่อิ่มตัว เช่น เกลืออัมโมเนียมซัลเฟตที่อิ่มตัว

5. เมื่อสลายตัวจะได้สารประกอบพวก sapogenin และน้ำตาลอีกหลายชนิด เช่น glucose , galactose, arominose และ rammose เป็นต้น (Heftman และ Mosetting, 1960; Anon, 1964; Solman, 1964)

ทางกายภาพ ได้แก่

1. ซาโปนินที่สกัดจากพืชจะมีลักษณะเป็นผงสีขาวหรือสีครีม

2. เป็นสารละลายแขวนลอยในน้ำ (colloidal solution)

3. มีรสเผ็ดขม

4. มีคุณสมบัติลดแรงตึงผิวของน้ำ (surface tension) คล้ายกับพวก detergent คือเมื่อรวมกับน้ำจะเกิดฟองคงทนอยู่นาน และฟองจะมีรูปร่างแบบรังผึ้ง (Chopra และคณะ, 1965)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งที่มาของซาโปนิน

ในโลกนี้ พบสาร Triterpenoid saponin จากพืชต่างๆ อย่างน้อย 79 สกุล 106 ชนิด (Simes, 1959 ; Harborne, 1973) สำหรับเมืองไทย พบประมาณ 18 สกุล 19 ชนิด และที่ไม่ได้เป็นชนิดเดียวกันอีก 20 สกุล Triterpenoid saponin เป็นชนิดที่นำมาใช้กำจัดสัตว์น้ำบางชนิด (ยะอบ, 2524)

ผลมะคำดีควาย

ชื่อวิทยาศาสตร์ Sapindus emarginatus

วงศ์ Sapindaceae

ชื่อท้องถิ่น ชะแช ชะเหล่เค (กระเหรี่ยง – แม่ฮ่องสอน) มะคำดีควาย (ภาคกลาง, ภาคใต้) มะซีก ส้มป่อยเทศ (ภาคเหนือ)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ มะคำดีควาย เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูง 5 – 10 เมตร เรือนยอดเป็นพุ่มกลมทึบ ตามส่วนต่างๆเกลี้ยงไม่มีขน เปลือกสีน้ำตาลอมเทา ค่อนข้างเรียบ หรือแตกเป็นร่องตามยาวลำต้น ใบเป็นช่อ ใบใหญ่ติดกับลำต้นแบบสลับ ประกอบด้วย ใบย่อย รูปใบเรียวยาว หรือขอบใบค่อนข้างขนานกัน ปลายและโคนใบแหลม เนื้อใบ 2 ข้างไม่เท่ากัน ดอกเล็ก สีขาวอมเหลืองหรืออมเขียว ดอกเป็นช่อยาว ผลค่อนข้างกลมสีส้ม รวมกันเป็นพวงโตๆ ภายในมีเมล็ดกลมสีดำ มีเปลือกแข็งหุ้ม 1 เมล็ด

การกระจายพันธุ์ พบขึ้นกระจายตามป่าเบญจพรรณชื้น และป่าดิบแล้ง ตามภาคต่างๆ ของประเทศ ที่สูงจากระดับน้ำทะเล 100 – 1,300 เมตร ออกดอกเป็นผล ระหว่างเดือน มีนาคม – มิถุนายน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การขยายพันธุ์ ใช้เมล็ดเพาะเป็นต้นกล้าอ่อน แล้วจึงย้ายลงปลูกในที่ที่เตรียมไว้ คอยดูแลน้ำและกำจัดวัชพืชอย่างสม่ำเสมอ

ส่วนที่เป็นยา ผลแก่

ช่วงเวลาที่เก็บผล เก็บช่วงผลแก่ และตากแดดจนแห้ง

รสและสรรพคุณยาไทย รสขม แก้กาฬภายใน แก้พิษไข้ ดังพิษร้อน ลูกต้มแล้วเกิดฟอง สุมหัวเด็กแก้หวัด แก้รังแค ใช้ซักผ้าและสระผมได้

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ สารเคมีที่พบคือ saponin, emarginatonede เป็นต้น

<u>พิษของซาโปนินที่มีต่อสัตว์น้ำ</u>

นิตยา (2523) กล่าวว่า ซาโปนินมีพิษต่อสัตว์น้ำ ดังนี้

1. เป็นพิษต่อสัตว์เลือดเย็น (cold blood) มากกว่าสัตว์เลือดอุ่น (warm blood) ดังนั้น เมื่อกบหรือปลาได้รับซาโปนิน จะแสดงอาการเป็นพิษมากกว่าคนได้รับ

2. ก่อให้เกิดความระคายเคืองต่อ mucus membrane (ได้แก่ เยื่อเมือก เช่น เนื้อเยื่อผิวเหงือก เนื้อเยื่อโพรงปาก และผนังลำไส้ เป็นต้น) ทำให้เกิดการระคายเคืองจมูก ทำให้จาม และต่อมน้ำลายขับน้ำลายออกมามากกว่าปกติ

3. อาการเกี่ยวกับระบบประสาท เมื่อสัตว์น้ำได้รับสารนี้ คือทำให้เกิดอาการสั่นกระตุก (convolusion) อย่างรุนแรง กล้ามเนื้อจะอ่อนเปลี้ย และเป็นอัมพาต (paralysis นอกจากนี้ ยังมีผลต่อศูนย์ประสาทที่ควบคุมการหายใจอีกด้วย (Sollman, 1964) ทำให้เกิดการสลายตัวของเม็ดเลือดแดง (Alstead, 1938; Chopra และคณะ, 1965)

จารุพันธ์ (2520) กล่าวว่า ซาโปนินไม่ทำให้ผิวเซลล์บุบสลาย เพียงแต่คุณสมบัติบางประการเปลี่ยนไป เนื่องจาก chloresterolและน้ำ ทำให้แรงยึดเหนี่ยวระหว่างธาตุเปลี่ยนไป ในกรณีของผนังเซลล์ ทำให้มีการเคลื่อนย้ายธาตุบางอย่าง ทำให้ช่องของผิวเซลล์ขยายใหญ่ขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นสารต่างๆจึงผ่านเข้าออกได้มากขึ้น และสารโมเลกุลใหญ่ก็จะเข้าไปในเซลล์ได้ (Liener, 1969)

สำหรับพิษของซาโปนินที่มีต่อสัตว์น้ำ สามารถแบ่งออกได้เป็น

พิษของซาโปนินที่มีต่อแพลงค์ตอน จากการทดลองของประพันธ์ (2524) ทดลองกับแพลงค์ตอน 3 ชนิด ที่เป็นอาหารของกุ้ง ได้แก่ Brachionus plicatilis, Schizopera subteranea และ Colurella sp. พบว่าถ้าใช้ซาโปนินต่ำกว่า 6 มิลลิกรัมต่อลิตร แพลงค์ตอนจะไม่ตาย

พิษของซาโปนินที่มีต่อหอย ประพันธ์ (2524) ได้ทดลองใช้พิษของซาโปนินกำจัดหอยฝาเดียวหรือหอยเจดีย์ (Cerithidea cingulata Gmelin) ที่ระบาดในนากุ้ง พบว่าหอยมีการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมมาก โดยหอยจะเดินไปเกาะผนังบ่อใกล้ระดับผิวน้ำ หลังจากนั้น 2 – 3 วัน หอยจะตายหมด

พิษของซาโปนินที่มีต่อกุ้ง นิตยา (2523) ได้ทดลองเกี่ยวกับกุ้งก้ามกราม(Macrobrachium rosenbergii deman) พบว่า ระยะแรกกุ้งจะเดินไปมาที่พื้นตู้ และหาที่หลบซ่อนบริเวณขอบและมุมตู้ ต่อมาจะไม่เคลื่อนที่อีกเลย เป็นเวลาหลายชั่วโมง หลังจากนั้นกุ้งจะพยายามว่ายไปยังผิวน้ำ และพยายามดีดตัวให้พ้นผิวน้ำ จนกระทั่งตาย กุ้งขนาดใหญ่ตายเร็วกว่าขนาดเล็ก สำหรับกุ้งทะเลทนกว่ากุ้งน้ำจืด เมื่อใช้ซาโปนินจากเมล็ดชา 1.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง หลังจากนั้นจึงใส่ปลาที่เป็นศัตรูของกุ้ง และกุ้งแชบ๊วย(P. merguiensis) ลงไป พบว่าภายใน 24 ชั่วโมง สามารถกำจัดปลาโดยไม่เกิดอันตรายต่อกุ้งเลย และเมื่อเพิ่มขนาดของซาโปนินเป็น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร กุ้งก็ยังมีชีวิตอยู่ ขนาดของซาโปนินที่จะก่อให้เกิดพิษต่อกุ้งครึ่งหนึ่งคือ 50.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (Terazaki และคณะ, 1980)

พิษของซาโปนินที่มีต่อปลา พิษของซาโปนินร้ายแรงกว่าพิษของโรติโนน (โล่ติ๊น) เพราะแม้แต่ปลาช่อนซึ่งทนทาน หมกโคลนได้เป็นระยะเวลานาน ไม่ว่าขนาดใหญ่เพียงใดก็ตาม เมื่อได้รับพิษของซาโปนิน ก็จะผุดขึ้นมาตาย (บุญลือ, 2500) นอกจากนี้ Lander (1926) ยังกล่าวว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซาโปนินจะเข้ามาทางเหงือกปลา โดยผ่านมาทางกระแสน้ำ แล้วเข้าสู่กระแสโลหิต หลังจากนั้นก็ปล่อยพิษออกมา แม้ว่าสารนั้นเจือจางถึง 1 ต่อ 200,000 เท่าก็ตาม เหตุที่ทำให้ปลาตายเพราะไปมีอิทธิพลต่อระบบหายใจของปลา โดยสารจะผ่านเข้าไปทางเหงือกอย่างรวดเร็ว และตามความคิดเห็นของ Martin และ Fullerton (1961) กล่าวว่า ซาโปนินยังทำลายเซลล์อื่นๆด้วย เช่น ปมประสาท ทำให้ระบบประสาทรวนเร เป็นอัมพาต เนื่องจากเม็ดเลือดแดงถูกทำลาย ทำให้การหายใจติดขัด และถ้าปลากินสารนี้เข้าไป ทำให้ไตทำงานผิดปกติ มีผลทำให้มีการขับถ่ายเพิ่มขึ้น มีการแนะนำให้ใช้ซาโปนินในรูปของกากชากำจัดศัตรูกุ้งในนากุ้งกุลาดำ คือใช้กากเมล็ดชา 25 กรัมต่อน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร ทำให้ปลาตายภายใน 10 ชั่วโมง ถ้าต้องการให้ปลาตายเร็วกว่านี้ ก็เพิ่มปริมาณกากเมล็ดชาเป็น 2 เท่า หรือ 4 เท่าก็ได้ (นิรนาม, 2530)

พิษของซาโปนินที่มีต่อสัตว์น้ำอื่นๆ เช่น แมลงในน้ำ กบ ปู และปลิง พบว่าซาโปนินมีพิษต่อสัตว์เหล่านี้ (Pillay, 1972 ; ชัยเชษฐ และคณะ, 2518 ; กรมประมง, 2522)

<u>ปัจจัยที่มีผลต่อความเป็นพิษของซาโปนิน</u>

มีปัจจัยบางอย่างเมื่อสัตว์น้ำได้รับพร้อมกับซาโปนิน จะทำให้พิษของซาโปนินเพิ่มขึ้นจากสภาวะปกติ เช่น ความเค็มของน้ำ และปูนขาว

1. ความเค็มของน้ำ (Salinity) จากการทดลองของประพันธ์ (2524) พอสรุปได้ว่าความเค็มของน้ำที่เพิ่มขึ้น ทำให้ปลาที่ได้รับพิษของซาโปนินจะตายเร็วขึ้น คือเป็น synergism ซึ่งเป็นการเพิ่มพิษ ทำให้พิษของซาโปนินรุนแรงขึ้น Deetae (1979) อธิบายไว้ว่า สารซาโปนินมีสูตรโครงสร้างใกล้เคียงกับสารกลุ่ม cardioglycoside ซึ่งมีผลต่อการลำเลียงโซเดียม (Sodium transport) ของสัตว์น้ำ และเมื่อความเค็มสูงขึ้น สัตว์น้ำจะสูญเสียการปรับสมดุลย์ในร่างกายเร็วกว่าเมื่ออยู่ในน้ำที่มีความเค็มต่ำ

2. ปูนขาว (Calcium carbonate) มีการพบว่า ถ้าใช้กากชาร่วมกับปูนขาวในการกำจัดศัตรูในบ่อปลาก่อนการปล่อยปลาลงเลี้ยง โดยให้บ่อปลามีน้ำน้อยมาก หรือเกือบแห้ง จะทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศัตรูของปลาตายเร็วขึ้น (นิตยา, 2523) โดย Pillay (1972) แนะนำให้ใช้กากชา 12 กิโลกรัม ร่วมกับปูนขาว 18 กิโลกรัม ต่อพื้นที่ 1/12 hactare (1 hactare= 10,000 ตารางเมตร) สำหรับกำจัดศัตรูในการเตรียมบ่อ (ขณะที่มีน้ำน้อยมากหรือแห้ง) นำไปละลายน้ำสาดให้ทั่วบ่อ

<u>พิษตกค้างของซาโปนินในสิ่งแวดล้อม</u>

Terazaki และคณะ (1980) อ้างตาม ธนาภรณ์ (2524) พบว่าความเป็นพิษของซาโปนิน จะลดน้อยลงตามช่วงระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น หรือยาวนานขึ้น และ นิตยา (2523) กล่าวว่า สารละลายซาโปนินความเข้มข้นต่ำ จะลดและหมดพิษเร็วกว่าความเข้มข้นสูง สำหรับพิษซาโปนินในรูปกากชา ประพันธ์ (2524) ได้ทดลองกับปลาหมอเทศ สรุปผลว่า พิษของกากชาจะหมดความเป็นพิษไปในเวลา 7 – 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมสารสกัดผลมะคำดีควาย

   1.1 ผลมะคำดีควายแห้ง

   1.2 ถังพลาสติก

   1.3 เครื่องชั่งชนิดละเอียด

   1.4 ขวดแก้วทรงกลม

   1.5 เครื่อง Lyophilyzer (Leybold - Heracus GT-2)

   1.6 น้ำแข็งแห้ง

   1.7 Acetone

   1.8 ซันอลูมิเนียม

   1.9 น้ำกลั่น

2. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบสารซาโปนินจากสารสกัดผลมะคำดีควาย

   2.1 แผ่น TLC เคลือบด้วย Silica gel GF 254

   2.2 Chamber ขนาด 8 x 24 x 21 cm^3

   2.3 ตู้อบ

   2.4 ตู้ดูดควัน

   2.5 Spraying bottle

   2.6 สารสกัดผลมะคำดีควาย

   2.7 Commercial saponin

   2.8 Solvent system chloroform-methanol-water (70:30:4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 Spray reagent Vanillin-sulphuric acid reagent

5 % Ethanolic sulphuric acid (Solution I), 1% Ethanolic Vanillin (Solution II)

2.10 Chloroform

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองความเป็นพิษของผลมะค่าดีควายที่มีต่อปลานิลที่ระดับความเค็มของน้ำที่แตกต่างกัน

3.1 โหลแก้วทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 22.5 เซนติเมตร ความสูง 35 เซนติเมตร

3.2 ลูกปลานิล (Tilapia nilotica) ขนาดความยาว 2 – 3 เซนติเมตร น้ำหนัก 0.24 – 0.28 กรัม

3.3 สารสกัดผลมะค่าดีควาย

3.4 เครื่องวัดความเค็ม

3.5 เครื่องแก้ว เช่น บีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปต และขวดตวง

4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์คุณภาพที่ใช้ทดลอง

4.1 เทอร์โมมิเตอร์

4.2 เครื่องวัด พี เอช (pH meter)

4.3 ขวดแก้ว บีโอดี ขนาด 250 มิลลิลิตร พร้อมเครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

4.4 สารเคมี สารละลายมาตรฐาน อินดิเคเตอร์ สำหรับใช้ในการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

1. แผนการทดลอง

วิธีการทดลอง โดยทดลองหาความเป็นพิษของผลมะค่าดีควายที่มีต่อปลานิล ในระดับความเค็มของน้ำที่ 0, 5, 10 และ 15 ส่วนในพัน ในระยะเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

2. การดำเนินการทดลอง

2.1 การเตรียมการทดลอง

2.1.1 การเตรียมสารสกัดผลมะค่าดีควาย โดยใช้ผลมะค่าดีควายแห้ง ที่ซื้อมาจากร้านขายยาสมุนไพร บริเวณตลาดเยาวราช กรุงเทพมหานคร นำมาสกัดด้วยน้ำ โดยทำการชั่งน้ำหนักผลมะค่าดีควายให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน คือ 500 กรัม แล้วนำมาแช่ในน้ำกลั่น ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นขยี้ให้เนื้อของผลมะค่าดีควายหลุดออกจากเมล็ดภายใน นำสารละลายสีน้ำตาลมากรองโดยใช้สำลี เพื่อกรองเอากากออก เหลือเฉพาะสารละลายสีน้ำตาล จากนั้นก็แบ่งสารละลายใส่ลงในขวดแก้วทรงกลม ขนาด 1 ลิตร โดยใส่สารละลายลงไปในขวดประมาณ 250 มิลลิลิตร นำขวดแก้วทรงกลมไปทำให้สารละลายแข็งตัว โดยแช่ลงในขันอลูมิเนียมที่มีส่วนผสมของ Acetone และน้ำแข็งแห้ง แช่แล้วหมุนขวดไปรอบๆจนสารละลายแข็งตัว จึงนำไปประกอบเข้ากับเครื่อง Lyophilyzer ซึ่งจะทำให้สารละลายแห้ง โดยใช้ความเป็น เป็นเวลานาน 8 ชั่วโมง จนสารแห้ง จะได้สารสกัด(crude extract) ที่มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาล ทำการชั่งสารสกัดที่ได้ จากนั้นนำสารสกัดเก็บไว้ในขวดแก้วสีน้ำตาลที่แห้งสนิท ปิดฝาให้แน่น นำไปเก็บรักษาในตู้เย็น เมื่อต้องการใช้จึงตักสารออกมาชั่งด้วยเครื่องชั่งละเอียด ละลายในน้ำกลั่นเพื่อทำให้สารละลายเข้มข้น (Stock solution) ซึ่งทราบความเข้มข้นแน่นอน โดยใช้ Volumetric Flask และจากสารละลายเข้มข้นนี้ จึงนำไปเจือจางตามความเข้มข้นที่ต้องการ

2.1.2 การทดสอบสารซาโปนินจากสารสกัดผลมะค่าดีควาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก. Spot commercial saponin และสารสกัดผลมะคำดีควาย โดยละลายใน Chloroform บน TLC Plate

ข. นำ Plate ไป run แบบ Asconding technique จนได้สาร solvent front ประมาณ 15 เซนติเมตร

ค. นำ TLC Plate มาวางให้ solvent ระเหยไป แล้วนำไปอบที่ 100°C นาน 30 นาที รอให้เย็น นำไป spray ด้วย Solution I แล้วตามด้วย Solution II อบที่ 110°C นาน 5 – 10 นาที

ง. ถ้ามี saponin จะให้สีฟ้า ฟ้าอมม่วง หรือม่วง

จ. เปรียบเทียบสีของสารสกัดผลมะคำดีควาย และ Commercial saponin

2.1.3 การเตรียมการทดลอง

ก. การเตรียมปลาทดลอง ปลาที่นำมาทดลองคือปลานิล นำมาเลี้ยงให้เคยชินกับสภาพน้ำที่ใช้ทดลอง 7 วัน และงดอาหารก่อนการทดลองอย่างน้อย 2 วัน และงดให้อาหารตลอดระยะเวลาทดลอง

ข. การเตรียมภาชนะทดลอง ภาชนะที่ใช้ทดลองเป็นโหลแก้วทรงกระบอก ความสูง 35 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 22.5 เซนติเมตร บรรจุน้ำที่ใช้ทดลอง 10 ลิตร เท่ากันทุกภาชนะ ครบทุกหน่วยการทดลอง

ค. การเตรียมน้ำทดลอง น้ำสำหรับทดลองใช้น้ำประปาที่พักอย่างน้อย 7 วัน ทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำด้านต่างๆก่อนใช้ทดลอง

ง. การสุ่มปลาทดลอง ตามคำแนะนำของ Spraque (1969) โดยใช้สวิงตักปลาทดลอง สุ่มปลาทดลองดังนี้

รอบที่ 1 ปลาตัวที่ 1 ใส่ลงในโหลแก้วหมายเลข 1 ปลาตัวที่ 2 ใส่ในโหลแก้วหมายเลข 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จนครบทุกหน่วยการทดลอง

รอบที่ 2 ปลาตัวที่ 1 ใส่ลงในโหลแก้วหมายเลข 2 ปลาตัวที่ 2 ใส่ในโหลแก้วหมายเลข 3 ...จนครบทุกหน่วยการทดลอง ปลาตัวสุดท้ายของรอบที่ 2 ใส่ในโหลแก้วหมายเลข 1 กระทำเช่นนี้เวียนไปเรื่อยๆจนครบ 10 รอบ ตามจำนวนปลาทดลองทั้งหมด

2.2 การทดลอง

2.2.1 การหาความเป็นพิษของผลมะค่าดีควายที่มีต่อปลานิลในระดับความเค็มของน้ำ ที่ 0, 5, 10 และ 15 ส่วนในพัน ในระยะเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

การทดลองนี้ใช้วิธีชีววิเคราะห์ในน้ำนิ่ง (Static bioassay) โดยการเติมสารทดลองในระดับความเข้มข้นที่ต้องการเมื่อเริ่มต้นการทดลองเพียงครั้งเดียว ความเป็นพิษแสดงโดยค่าของระดับความเข้มข้นที่ทำให้ปลาตาย 50 เปอร์เซนต์ (median lethal concentration, LC_{50}) การหาค่า LC_{50} ของผลมะค่าดีควาย ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ

ขั้นตอนการทดลองเบื้องต้น (Exploratory tests) เป็นการทดลองเพื่อหาระดับความเข้มข้นช่วงกว้างที่ทำให้ปลาทดลองไม่ตาย และตายหมด (Range finding tests) เพื่อจะได้นำข้อมูลมาใช้กำหนดความเข้มข้นของสารสกัดผลมะค่าดีควายที่เหมาะสมในการทดลองจริง โดยใช้โหลแก้วทรงกระบอกบรรจุน้ำ 5 ลิตร และบรรจุสารละลายสกัดผลมะค่าดีควายที่ใช้ทดลองที่มีความเข้มข้นต่างๆกัน 4 ระดับ พร้อมกลุ่มควบคุม ใช้ปลาทดลองโหลแก้วละ 10 ตัว สังเกตการทดลองภายใน 48 ชั่วโมง

ขั้นตอนการทดลองอย่างละเอียด (Full-scale tests) เป็นการทดลองจริง โดยนำผลการทดลองจากการทดลองเบื้องต้นมาใช้พิจารณาจัดระดับความเข้มข้นของสารทดลองที่จะให้ เพื่อหาอัตราการตายของปลาทดลองในแต่ละระดับความเข้มข้น โดยใช้สารละลายทดลอง 5 ระดับๆละ 2 ซ้ำพร้อมทั้งกลุ่มควบคุมเพื่อใช้เปรียบเทียบด้วย การทดลองทำในโหลแก้ว ระดับของสารละลายในแต่ละหน่วยทดลองประมาณ 28 เซนติเมตร จำนวนปลาในทุกหน่วยทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน่วยละ 10 ตัว ใช้วิธีการจัดกลุ่มปลาทดลองแบบสุ่ม เพื่อให้มีการกระจายของปลาทดลองอย่างสม่ำเสมอในแต่ละหน่วยทดลอง การทดลองหาระดับความเข้มข้นของสารละลายสกัดผลมะค่าดีควายจะทำการทดลองกับปลาในแต่ละระดับความเค็มที่แตกต่างกัน คือ 0, 5, 10 และ 15 ส่วนในพันตามลำดับ ซึ่งน้ำเค็มที่ใช้ทดลองเตรียมจากน้ำเค็มจากนาเกลือมาผสมน้ำจืด ให้ได้ความเค็มตามที่ต้องการ แต่ละซ้ำจะใส่น้ำเค็ม 10 ลิตร บันทึกจำนวนปลาทดลองที่ตายเมื่อครบ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง เกณฑ์ที่ใช้ตัดสินปลาทดลองที่ตายคือ การเปิด – ปิด ของกระพุ้งแก้มหยุดลง และปลาไม่แสดงอาการตอบสนองเมื่อใช้เข็มเขี่ยแตะตัวปลาเป็นเวลานานกว่า 2 – 3 นาที ปลาที่ตายให้รีบนำออกจากภาชนะทดลองทันที ทุกครั้งที่ตรวจพบ นำข้อมูลจำนวนปลาตายสะสมเมื่อครบ 96 ชั่วโมง ไปวิเคราะห์หา LC_{50}

2.2.2 การศึกษาอาการและพฤติกรรมการตอบสนองของปลาทดลองหลังจากได้รับสารสกัดผลมะค่าดีควาย ว่ามีการตอบสนองอย่างไร

2.2.3 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำที่ใช้ทดลอง

ทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำที่ใช้ทดลองก่อนการทดลอง และภายหลังทำการทดลอง โดยวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ, ค่าความกระด้าง, ค่าความเป็นด่าง โดยใช้วิธีติเตรชั่น ตามวิธีการของ Swingle (1969) อุณหภูมิของน้ำ โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์, ความเป็นกรด–ด่าง โดยใช้ pH meter สำหรับการทดลองในน้ำเค็มไม่ต้องหาค่าความเป็นด่างและค่าความกระด้าง เนื่องจากในน้ำทะเล พบว่ามีค่าทั้ง 2 สูงมาก จึงไม่จำเป็นต้องวิเคราะห์หา

3. <u>การบันทึกข้อมูล</u>

3.1 สังเกตและบันทึกจำนวนปลาที่ตายตลอดระยะเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

3.2 สังเกตพฤติกรรมของปลาทดลองหลังจากได้รับสารสกัดผลมะค่าดีควาย

3.3 วิเคราะห์คุณภาพน้ำที่ใช้ทดลอง ก่อนการทดลองและหลังการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ค่า LC 50 ที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยวิธีการวิเคราะห์ของโปรบิท (Finney, 1964) และ ปรีชา (2520)

5. สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ และที่ห้องวิจัยกลาง คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ

6. ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มตั้งแต่ 25 ตุลาคม 2531 ถึง 4 มีนาคม 2532

100627

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

ศึกษาปริมาณสารซาโปนินในผลมะคำดีควายแห้ง

พบว่า ผลมะคำดีควายแห้ง 500 กรัม เมื่อนำมาสกัดด้วยน้ำแล้วทำให้แห้ง ได้สารสกัดประมาณ 286.85 กรัม หรือ 57.37 เปอร์เซนต์ โดยน้ำหนัก

ความเป็นพิษของผลมะคำดีควายที่มีต่อปลานิลในระดับความเค็มที่แตกต่างกัน

จากการทดลองศึกษาพิษของผลมะคำดีควายที่มีต่อปลานิลในน้ำที่มีความเค็ม 0, 5, 10 และ 15 ส่วนในพัน ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดผลมะคำดีควาย 65 – 105 ส่วนในล้าน พบว่าที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวทำให้ปลานิลมีเปอร์เซนต์การตายสะสมแตกต่างกันในช่วงเวลาต่างๆ ตามตารางที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ สำหรับปลานิลในโหลควบคุม ไม่มีการตาย

นำเปอร์เซนต์การตายสะสมของปลานิลมาหาค่ามัธยฐานของความเข้มข้นของสารสกัดผลมะคำดีควายที่ทำให้ปลานิลตาย 50 เปอร์เซนต์ (LC_{50}) พบว่า ที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็ม 0, 5, 10 และ 15 ส่วนในพัน ค่า LC_{50} มีค่าเท่ากับ 83.78, 83.92, 87.86 และ 70.61 ส่วนในล้าน ตามลำดับ ค่า LC_{50} ที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็ม 0, 5, 10 และ 15 ส่วนในพัน มีค่าเท่ากับ 77.69, 82.41, 79.24 และ 67.07 ส่วนในล้าน ตามลำดับ ค่า LC_{50} ที่ช่วงเวลา 72 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็ม 0, 5, 10 และ 15 ส่วนในพัน มีค่าเท่ากับ 76.20, 77.18, 74.31 และ 65.28 ส่วนในล้าน ตามลำดับ ค่า LC_{50} ที่ช่วงเวลา 96 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็ม 0, 5, 10 และ 15 ส่วนในพัน มีค่าเท่ากับ 76.20, 75.88, 71.69 และ 63.97 ส่วนในล้าน ตามลำดับ (ตารางที่ 5) เห็นได้ว่า เมื่อระยะเวลานานมากขึ้น และความเค็มของน้ำเพิ่มขึ้น ทำให้ความเป็นพิษของสารสกัดผลมะคำดีควายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งผลการทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับที่ ประพันธ์ (2524) รายงานไว้ว่า ความเค็มของน้ำที่เพิ่มขึ้น จะทำให้ปลาที่ได้รับพิษของซาโปนินตายเร็วขึ้น ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการที่สารซาโปนินมีสูตรโครงสร้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 เปอร์เซนต์การตายสะสมของปลานิล หลังจากได้รับสารสกัดผลมะค่าดีควายในระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ภายใต้ระดับความเค็มของน้ำ 0 ppt ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (มก./ล.)	จำนวนปลาที่ใช้ทดลอง (ตัว)	เปอร์เซนต์การตายสะสมของปลานิลในชั่วโมงที่			
		24	48	72	96
0	10	0	0	0	0
65	10	0	0	0	0
73.28	10	20	40	40	40
82.61	10	40	60	70	70
93.14	10	80	80	90	90
105	10	100	100	100	100

ตารางที่ 2 เปอร์เซนต์การตายสะสมของปลานิลหลังจากได้รับสารสกัดผลมะค่าดีควายในระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ภายใต้ระดับความเค็มของน้ำ 5 ppt ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (มก./ล.)	จำนวนปลาที่ใช้ทดลอง (ตัว)	เปอร์เซนต์การตายสะสมของปลานิลในชั่วโมงที่			
		24	48	72	96
0	10	0	0	0	0
65	10	0	5	20	20
73.28	10	20	30	45	55
82.61	10	45	50	60	60
93.14	10	75	75	80	80
105	10	100	100	100	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 เปอร์เซนต์การตายสะสมของปลานิลหลังจากได้รับสารสกัดผลมะค่าดีควายในระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ภายใต้ระดับความเค็มของน้ำ 10 ppt ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง

ความเข้มข้น	จำนวนปลาที่ใช้	เปอร์เซนต์การตายสะสมของปลานิลในชั่วโมงที่			
(มก./ล.)	ทดลอง (ตัว)	24	48	72	96
0	10	0	0	0	0
65	10	20	30	35	40
73.28	10	25	35	40	50
82.61	10	40	45	65	65
93.14	10	60	80	85	85
105	10	100	100	100	100

ตารางที่ 4 เปอร์เซนต์การตายสะสมของปลานิลหลังจากได้รับสารสกัดผลมะค่าดีควายในระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ภายใต้ระดับความเค็มของน้ำ 15 ppt ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง

ความเข้มข้น	จำนวนปลาที่ใช้	เปอร์เซนต์การตายสะสมของปลานิลในชั่วโมงที่			
(มก./ล.)	ทดลอง (ตัว)	24	48	72	96
0	10	0	0	0	0
65	10	35	40	45	50
73.28	10	55	75	80	85
82.61	10	80	80	85	90
93.14	10	90	95	100	100
105	10	100	100	100	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13665

ตารางที่ 5 แสดงค่า LC 50 ที่ระดับความเค็มแตกต่างกันภายในระยะเวลา 96 ชั่วโมง และช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ระดับความเค็ม (ส่วนในพัน)	LC 50 .			
	24	48	72	96
0	83.78 (78.13–89.84)	77.69 (69.02–87.45)	76.20 (69.46–83.56)	76.20 (69.46–83.58)
5	83.92 (77.73–90.61)	82.41 (76.24–89.07)	77.18 (70.37–84.65)	75.88 (68.77–83.73)
10	87.86 (74.22–104.00)	79.24 (70.64–88.87)	74.31 (66.79–82.67)	71.69 (62.69–81.98)
15	70.61 (63.73–78.22)	67.07 (59.35–75.78)	65.28 (56.83–74.99)	63.97 (55.68–73.49)

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ทำซ้ำหรือดัดแปลงเนื้อหาส่วนใดส่วนหนึ่งของเอกสารนี้ก่อนได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใกล้เคียงกับสารกลุ่ม cardiac glycesides ซึ่งมีผลต่อการลำเลียงโซเดียม (Sodium transport) ในระบบการรักษาสมดุลย์ออสโมซิสในร่างกายของปลา และเมื่อความเค็มของน้ำสูงขึ้น ปลาจะสูญเสียการปรับสมดุลย์ในร่างกายเร็วกว่าเมื่ออยู่ในน้ำที่มีความเค็มต่ำ (Deetae, 1979) เห็นได้ว่า สามารถใช้ผลมะค่าตีควายเป็นยาเบื่อปลาได้ทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ต่อการเบื่อปลาในนากุ้งได้

<u>ลักษณะพฤติกรรมการตอบสนองของปลานิลต่อสารสกัดผลมะค่าตีควาย</u>

จากการสังเกตจำแนกพฤติกรรมการตอบสนองของปลานิลทั้งในน้ำจืดและในน้ำเค็ม สามารถแบ่งได้เป็น 4 ระยะ ดังนี้

1. เป็นระยะแรกที่ปลาได้สัมผัสกับสารละลาย โดย 5 – 10 นาทีแรก ปลาว่ายน้ำอย่างรวดเร็ว จากนั้นจะโบกครีบเพื่อการทรงตัวอยู่ใกล้พื้นล่างของภาชนะ นานๆจึงจะว่ายขึ้นมาสูดอากาศใกล้ผิวน้ำ หลังจากผ่านไป 45 – 90 นาที ปลาจะเริ่มตุ้นเคย ว่ายน้ำวนเวียนเป็นปกติ

2. ปลาเริ่มแสดงอาการผิดปกติ คือลำตัวกระตุกนานๆครั้ง กระพุ้งแก้มเปิด – ปิดเร็วขึ้นจากเดิม และเร็วกว่าปลาในโหลแก้วควบคุม ปลาขับเมือกออกมามาก บางครั้งเสียการทรงตัว คาดว่าปลาได้รับสารซาโปนินโดยทางเหงือก (gill) และสารซาโปนินเข้าสู่กระแสโลหิตพร้อมๆกับการทำงานของเหงือก (Sallmann, 1964)

3. ปลาเริ่มแสดงอาการผิดปกติอย่างรุนแรง คือลำตัวกระตุกถี่ขึ้น และเกร็ง ควบคุมทิศทางการว่ายน้ำไม่ได้ อาจเป็นผลจากสารซาโปนินที่มีต่อระบบประสาท (Sollmann, 1964) พบว่าเมือกออกมาก สังเกตได้ว่าน้ำเริ่มขุ่นขาว สารซาโปนินก่อให้เกิดความระคายเคืองต่อ Mucus membrane (Sollmann, 1964 ; Anon, 1968) Mucus cell จึงสร้างและขับเมือกออกมา อัตราการเปิด – ปิด กระพุ้งแก้มเร็วขึ้น ประมาณ และประไพสิริ (2520) ให้เหตุผลว่า เพื่อดึงเอาออกซิเจนจากน้ำไปใช้ให้มากที่สุด ดังนั้นการเปิด – ปิดกระพุ้งแก้มเร็วขึ้นที่ปรากฏกับปลานิล จึงน่าแสดงถึงภาวะที่ต้องการออกซิเจนเพิ่มขึ้น ทั้งนี้การขาดแคลนออกซิเจนอาจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องมาจากสารซาโปนินมีคุณสมบัติทำให้เม็ดเลือดแดงแตก (Alstead, 1938, Sollmann, 1964, Chopra และคณะ, 1965) ปริมาณเม็ดเลือดแดงจึงลดน้อยลง ไม่เพียงพอที่จะขนส่งออกซิเจนไปยังเซลล์ต่างๆของร่างกายได้ หรือการขับเมือกออกมามากอาจเป็นสาเหตุให้เหงือกทำหน้าที่แยกออกซิเจนออกจากน้ำได้น้อยกว่าปกติ และ/หรือ อาจด้วยสาเหตุทั้งสองประการ ฯนในที่สุดปลาจะอ่อนแรง ตกลงสู่พื้นโหลแก้ว นานๆจะพยายามพุ่งตัวหรือว่ายน้ำในลักษณะควงสว่านขึ้นไปสูบอากาศบริเวณผิวน้ำ แล้วตกลงสู่พื้นโหลแก้วอย่างรวดเร็ว อนึ่งการสูญเสียการทรงตัวของปลาอาจเป็นผลมาจากการยับยั้ง Sodium transport โดยสารซาโปนิน ด้วยเหตุที่สารซาโปนินมีสูตรคล้ายคลึงกับสารพวก Cardiac glycesides เช่น Ovabain ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติยับยั้ง Sodium transport (Jame, 1972)

4. เป็นระยะที่ปลาเริ่มตาย มีการเกร็งลำตัว บางครั้งมีอาการค้างของกระพุ้งแก้ม ปลาควบคุมการทรงตัวไม่ได้ และหลังจากกระพุ้งแก้มหยุดทำงาน 1 นาที แสดงว่าปลานั้นตายแล้ว

<u>การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำก่อนและหลังเสร็จสิ้นการทดลอง</u>

การนำสารพิษมาใช้ประโยชน์เพื่อการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จำเป็นต้องทราบคุณภาพของน้ำที่จะเปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้เพราะคุณภาพน้ำมีผลต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยในน้ำทั้งทางตรงและทางอ้อม ดังนั้นในการทดลองจึงมีการศึกษาคุณภาพน้ำด้วย ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ดังตารางที่ 6 และ 7

อุณหภูมิ การทดลองความเป็นพิษของผลมะคำดีควายที่มีต่อปลานิลที่ระดับความเค็มของน้ำที่แตกต่างกัน พบว่า ก่อนการทดลองมีอุณหภูมิ 26 – 28 °C และภายหลังการทดลองมีอุณหภูมิ 26 – 28 °C อุณหภูมิที่ลดลงในหน่วยการทดลอง จัดอยู่ในระดับที่ปลาทดลองสามารถมีชีวิตอยู่ได้ อุณหภูมิน้ำ สุพจน์ (2523) อ้างถึงรายงานของ Lagler และคณะ (1962) อุณหภูมิของน้ำมีผลต่อกิจกรรมของปลา เพราะปลาเป็นสัตว์เลือดเย็น (Poiklotherms) อุณหภูมิของร่างกายจะเปลี่ยนไปตามสภาพแวดล้อม อัตราเมตาบอลิซึมและกิจกรรมของชีวิตจะมีอัตราสูงต่ำตามระดับของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 แสดงผลวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ทั้งก่อนการทดลองและภายหลังการทดลอง ในน้ำจืด

ความเข้มข้น	ก่อนการทดลอง					หลังการทดลอง				
(มก./ล.)	DO	pH	Temp C	Alk. ppm. as $CaCO_3$	Hard ppm. as $CaCO_3$	DO	pH	Temp. C	Alk.ppm. as $CaCO_3$	Hard ppm. as $CaCO_3$
0	6.2	7.62	26	70	100	3.2	7.78	28	85	115
65	5.4	7.64	27	74	106	2.4	8.21	27	85	117
73.28	6.8	7.60	26	76	104	2.4	8.26	27	82	125
82.61	5.2	7.82	26	74	98	2.6	8.12	28	85	115
93.14	5.8	8.21	27	72	92	2.6	7.60	27	82	114
105	7.0	8.06	27	70	97	2.4	7.68	27	84	114

ตารางที่ 7 แสดงผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ทั้งก่อนการทดลองและภายหลังการทดลอง ในน้ำเค็ม 15 ppt

ความเข้มข้น (มก./ล.)	ก่อนการทดลอง			หลังการทดลอง		
	DO	pH	Temp. C	DO	pH	Temp. C
0	6.4	7.62	27	3.4	7.82	28
65	5.8	7.64	27	2.4	7.72	28
73.28	5.2	7.59	27	2.2	8.05	28
82.61	5.0	8.20	27	2.2	8.34	28
93.14	6.2	8.19	27	2.4	8.28	28
105	5.8	7.42	27	2.6	8.05	28

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อุณหภูมิ ลูกปลาจะทนการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิได้ดีกว่าปลาตัวโต เพราะลูกปลามีอัตราส่วนระหว่างเหงือกกับลำตัวสูงกว่าปลาตัวโต การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างทันทีทันใด จากอุณหภูมิปานกลางไปสู่อุณหภูมิสูงหรือต่ำ จะทำให้ปลาตายได้ แต่ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจากสูงหรือต่ำมาสู่อุณหภูมิปานกลาง จะไม่ทำให้ปลาตาย

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ พบว่าก่อนการทดลอง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่า 5.0 – 7.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และหลังการทดลอง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่า 2.2 – 3.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าลดลงมากในโหลที่มีการใส่สารสกัดผลมะค่าดีควาย แต่ถือว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม เพราะปลาทดลองที่ได้รับสารสกัดผลมะค่าดีควาย มี activity สูงกว่ากลุ่มควบคุม จึงใช้ออกซิเจนมากกว่า จึงทำให้เหลือออกซิเจนหลังการทดลองน้อย ซึ่งอาจจะไม่ได้เกิดจากสารซาโปนินที่ทำให้ออกซิเจนลดลงโดยตรง

ความเป็นกรดเป็นด่าง(pH) พบว่าก่อนการทดลองจะมี pH ของน้ำอยู่ในช่วง 7.58 ถึง 8.21 และหลังการทดลองจะมี pH ของน้ำอยู่ในช่วง 7.60 – 8.34 pH ของน้ำจัดอยู่ในช่วงที่ปลาทดลองสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ ไมตรี (2522) รายงานไว้ว่า น้ำที่เหมาะสมแก่การเลี้ยงสัตว์น้ำ ควรมี pH อยู่ในช่วง 6.5 – 8.5

ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) พบว่าก่อนการทดลองมีค่า 70 – 76 มิลลิกรัมต่อลิตร และหลังการทดลองมีค่า 82 – 85 มิลลิกรัมต่อลิตร การเปลี่ยนแปลงของความเป็นด่างที่เพิ่มขึ้นยังจัดอยู่ในช่วงที่เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ

ความกระด้าง (Hardness) ค่าความกระด้างของน้ำจะอยู่ในรูปคาร์บอเนต คำนวณออกมาในรูปแคลเซียมคาร์บอเนต พบว่าก่อนการทดลองมีค่า 92 – 106 มิลลิกรัมต่อลิตร และหลังการทดลองมีค่า 114 – 125 มิลลิกรัมต่อลิตร การเปลี่ยนแปลงของความกระด้างที่เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ยังจัดอยู่ในช่วงที่ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ และจัดว่าเป็นน้ำที่มีความกระด้างปานกลาง (Moderately hard, 75-150 mg/l (as $CaCO_3$)) (Sayer และ McCarthy, 1967)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการศึกษาความเป็นพิษของผลมะคำดีควาย (Sapindus emarginatus) ที่มีต่อปลานิล (Tilapia nilotica) ในระดับความเค็มของน้ำที่แตกต่างกัน สรุปผลได้ดังนี้

1. ผลมะคำดีควายเมื่อนำมาสกัดด้วยน้ำแล้วนำไปทำให้แห้ง พบว่ามีสารสกัดซาโปนินอยู่ประมาณ 57.37 เปอร์เซนต์ โดยน้ำหนัก

2. เมื่อความเค็มของน้ำเพิ่มขึ้น ความเป็นพิษของสารสกัดผลมะคำดีควายจะเพิ่มขึ้นด้วย โดยที่ค่าความเข้มข้นของผลมะคำดีควายที่ทำให้ปลานิลตาย 50 เปอร์เซนต์ ในเวลา 96 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็มของน้ำ 0, 5, 10 และ 15 ส่วนในพัน มีค่าเท่ากับ 76.20, 75.88, 71.69 และ 63.97 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

3. คุณภาพของน้ำก่อนการทดลองและภายหลังการทดลอง พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย แต่ไม่มีผลต่อการดำรงชีวิตของปลาทดลอง ดังนั้นสารสกัดผลมะคำดีควายจะไม่ทำให้คุณภาพของน้ำเปลี่ยนแปลงจนทำให้ปลาทดลองเกิดอันตราย

จากการทดลองนี้ สามารถจะนำเอาผลมะคำดีควายมาใช้ประโยชน์เป็นยาเบื่อปลาได้ทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม โดยเฉพาะเบื่อปลาในนากุ้งได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. ถ้าจะนำเอาผลมะคำดีควายแห้งไปใช้เบื่อปลาศัตรูของกุ้งในบ่อเลี้ยง โดยที่ต้องการทำให้ปลาตายภายใน 24 ชั่วโมง ควรจะใช้ผลมะคำดีควายแห้ง 90 กิโลกรัมต่อไร่ ที่ระดับน้ำลึก 30 เซนติเมตร (วิธีการคำนวณแสดงไว้ในภาคผนวก)

2. ควรจะมีการศึกษาต่อไปในกุ้งทะเลและกุ้งก้ามกราม เพื่อจะได้ทราบความเข้มข้นที่กุ้งทั้ง 2 ชนิดสามารถทนอยู่ได้ เมื่อมีการใช้ผลมะคำดีควายเบื่อปลาที่เป็นศัตรูของกุ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง . 2522 . การเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืดในประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน . เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 9 . ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ 29 น.

จารุพรรณ สุขกฤต . 2520 . ระดับความเข้มข้นของสารซาโปนิน โรติโนนและไซยาไนด์ที่เป็นพิษต่อปลาช่อน ปลาดุก และปลานิล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชัยเชษฐ์ รจิตปริญญา, ยิ่งยง เจียมเจริญสิน และวิเชษฐ อิ่มใจสุข . 2528 . พิษของกากชาต่อปลา, กุ้ง และปูน้ำกร่อยบางชนิด . วารสารการประมง . 28(3):397–399.

ธนาภรณ์ จิตตปาลพงศ์ . 2524 . พิษของซาโปนินที่มีต่อสัตว์น้ำ . เอกสารประกอบการสัมนาเรื่องวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม . บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 19 น.

นิตยา สระพัฒน์ . 2523 . พิษของสารซาโปนินที่มีต่อกุ้งก้ามกรามขนาดต่างๆและปลาน้ำจืดบางชนิด . วิทยานิพนธ์ปริญญาโท . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นิพนธ์ ศิริพันธ์ . 2511 . การทดลองเลี้ยงปลาช่อนด้วยหอยและปลาป่น . วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นิรนาม. 2530 . การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ, น. 14 ใน จุฬาวิชาการ' 30 สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึกนิสิตเกาะสีชัง และภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

บุญลือ สมบูรณ์วงษ์ . 2500 . การใช้ "แต่จิ๋โค้ว" กำจัดศัตรูในบ่อปลา. ข่าวสารการประมง. 10(2) : 153 – 154.

ประพันธ์ ธารบุปผา . 2524 . การกำจัดหอยระบาดในนากุ้ง . เอกสารวิชาการฉบับที่ 3/2524 กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 15 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประพันธ์ ชารนุปยา . 2524 . การศึกษาและทดลองค้นคว้าการใช้เมล็ดชากำจัดศัตรูกุ้ง. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 6/2524 . กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 15 น.

_____ . 2525 . การกำจัดหอยเจดีย์ในนากุ้ง . วารสารการประมง . 33(3): 305 – 307.

ประมาณ พรหมสุทธิรักษ์ และ ประไพสิริ ศิริกาญจน์ . 2520 . ผลของโลหะหนักที่มีต่อปลาน้ำจืดบางชนิด. คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 27 น.

ปรีชา สมมณี . 2520 . การวิเคราะห์ความเป็นพิษของสารที่มีต่อสัตว์น้ำโดยวิธีโปรบิท. ข่าวสารเกษตรศาสตร์ . 21(4) : 84 – 99.

ผะอบ ใจเย็น . 2524 . พิษของ Saponins ที่มีต่อสัตว์น้ำ . ข่าวสิ่งแวดล้อมประมง. 1(5): 6 – 8.

พยอม ตันติวัฒน์ . 2529 . พฤกษเคมี เล่ม 1 คาร์โบไฮเดรทและกลัยโคไซด์ . แผนกวิชาเภสัชพฤกษศาสตร์, คณะเภสัชศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 374 น.

พรศักดิ์ ศุภวรรธน์ . 2527 . เศรษฐกิจการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล . วารสารการประมง. 37(5): 444 – 450.

ไมตรี ดวงสวัสดิ์ . 2522 . คุณสมบัติของน้ำกับการเลี้ยงปลา . วารสารการประมง. 32(4): 415 – 419.

สุพจน์ ทองนพคุณ . 2523 . ปริมาณการใช้ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำของปลาน้ำจืดบางชนิดที่ระดับอุณหภูมิต่างกัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อ้อมบุญ ล้วนรัตน์ . 2529 . เภสัชวินิจฉัย เล่ม 2 ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย, คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ. 425 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alstead, S. 1938. Pharmacology and therapeutics. อ้างโดย นิตยา สระพัฒน์. 2523. พิษของสารซาโปนินที่มีต่อกุ้งก้ามกรามขนาดต่างๆและปลาน้ำจืดบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Anonymous. 1964. International encyclopedia of chemical science. D. Van nostrand Company, New York. 1028 p.

Bridges, W.R. 1985. Sodium cyanids as fish poison. Wildl. serv fish . 153 : 1 - 11.

Chopra, R.N., R.L. Badhwar and S. Ghosh. 1965. Poisonous of India Vol.I Indian Council of Agriculture Press, Delhi. 249 p.

Deetae, Suchint. 1979. Report on Shrimp and Praw - culture, development and servation. อ้างโดย นิตยา สระพัฒน์. 2523. พิษของสารซาโปนินที่มีต่อกุ้งก้ามกรามขนาดต่างๆและปลาน้ำจืดบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

Finney,D.J. 1964. Statiscal Methods in Bioassay Method. Charles Griffin and Company Limited, London. 668 p.

Harborne, J.B. 1973. Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Chapman and Hall, London. 185 p.

Heftman, E. and E. Mosetting. 1960. Biochemistry of steroids. อ้างโดย นิตยา สระพัฒน์. 2523. พิษของสารซาโปนินที่มีต่อกุ้งก้ามกรามขนาดต่างๆและปลาน้ำจืดบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Jame,A.W. 1972. Principle of Animal Physiology. Manill and Publishing Co. Inc. New York. 386 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lander,G.D. 1926. Toxicity. อ้างโดย นิตยา สระพัฒน์. 2523. พิษของสารซาโปนินที่มีต่อกุ้งก้ามกรามขนาดต่างๆและปลาน้ำจืดบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Liener,I.E. 1969. Toxic constituents of Plant Food Stuffs. Academic Press Inc.,New York. 42 p.

Martin,E.W. and C.E. Fullerton. 1961. Remington's Practice of Pharmacy. อ้างโดย นิตยา สระพัฒน์. 2523. พิษของสารซาโปนินที่มีต่อกุ้งก้ามกรามขนาดต่างๆและปลาน้ำจืดบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Pillai,T.G. 1962. Fish Farming Methods in the Philippines, Indonesia and Hong Kong. FAO. Fish Biol. 18 : 1 - 16.

Pillay,T.V.R. 1972. Coastal aquaculture in the Indo-Pacific region. The White Priars Press, London. 30 p.

Sayer,C.N. and P.L. McCarthy. 1967. Chemistry for sanitary engineers. McGraw-Hill Book Company, Toronto. 194 p.

Sollmann,T. 1964. A manual of phamarcology. อ้างโดย นิตยา สระพัฒน์. 2523. พิษของสารซาโปนินที่มีต่อกุ้งก้ามกรามขนาดต่างๆและปลาน้ำจืดบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Spraque,J.B. 1969. Measurement of pollutant toxicity to fish I . Bioassay methods for acute toxicity. Water Res. 3 : 793-821.

Swingle,H.S. 1969. Methods of Analysis for water, Organic Matter and Pond Bottom Soils Used in Fisheries Research. Auburn University. 119 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tang,Y.A. 1966. The use of saponin to control predaceous fishes in the shrimp ponds. Prog Fish Cult. 23 : 43-45.

Terazaki,M., P. Tharbuppa, Y. Nakayama. 1980. Eradication of Predatory fishes in shrimp farms by utilization of Thai tea seed. Aquaculture. 19 : 235-242.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

1. การคำนวณเพื่อหาค่า 24 – h LC_{50} โดยวิธีโปรบิท

เนื่องจากว่าความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซนต์การตายสะสมของสัตว์ทดลองกับระดับความเข้มข้นของสารพิษที่ใช้ทดลองไม่เป็นเส้นตรง ดังนั้นจึงต้องเปลี่ยนค่าเปอร์เซนต์การตายสะสมให้เป็นค่าโปรบิท และเปลี่ยนค่าความเข้มข้นเป็นค่าลอการิทึมของความเข้มข้นนั้น เพื่อให้ได้ความสัมพันธ์ระหว่างค่าโปรบิทกับค่าลอการิทึมของความเข้มข้นเป็นเส้นตรง ดังตัวอย่างข้างล่างนี้

ตัวอย่างการคำนวณต่อไปนี้เป็นการคำนวณหาค่า 24-h LC_{50} ของสารสกัดผลมะคำดีควายที่มีต่อปลานิล

ตารางผนวกที่ 1 ข้อมูลเบื้องต้นที่ใช้ในการคาดคะเนค่าโปรบิท (expected probit, Y)

ความเข้มข้น C	X	r 1/ (จำนวนปลาที่ตาย)	n (จำนวนปลาที่ใช้)	p (r/n)	y* 2/ (empirical probit)	y 3/ (expected probit)
73.28	1.8650	2.00	10	0.200	4.16	4.0
82.61	1.9170	4.00	10	0.400	4.75	4.9
93.14	1.9691	8.00	10	0.800	5.84	5.7

1/ อาจหาได้จากสูตร $r = \frac{\text{เปอร์เซนต์การตายสะสมในระยะเวลา 24 ชั่วโมง}}{10}$

2/ ค่า y^* หาจากตารางผนวกที่ 4

3/ ค่า y คาดคะเนได้จากกราฟเส้นตรงระหว่าง x (แกนนอน) กับ y^*(แกนตั้ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า Y ที่ได้จากตารางผนวกที่ 1 นำไปหาค่า Yo (ค่าโปรบิทต่ำสุด) หรือ Y_1 (ค่าโปรบิทสูงสุด), A (range) จากตารางผนวกที่ 5 และหาค่า W จากตารางผนวกที่ 5 แล้วคำนวณหาค่าโปรบิท สำหรับการคำนวณ (y) และน้ำหนัก (w) จากสมการ

$$y = Yo + pA$$

หรือ $$y = Y_1 - (1 - p)A$$

และ $$W = nw$$

ได้ผลดังตารางผนวกที่ 2

ตารางผนวกที่ 2 ผลการคำนวณหาค่าโปรบิทสำหรับการคำนวณ (y) และน้ำหนัก (w)

x	Y	Yo	A	w	W	y
1.8650	4.0	3.3443	4.1327	0.43863	4.3863	4.1708
1.9170	4.9	3.7407	2.5192	0.63431	6.3431	4.7483
1.9691	5.7	3.2724	3.2025	0.53159	5.3159	5.8344

นำค่า x, W และ y ในตารางผนวกที่ 2 ไปคำนวณหาค่า Sxx, Sxy, Syy และสมการเส้นตรงโปรบิท ดังต่อไปนี้ (ตารางผนวกที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 ผลการคำนวณครั้งที่ 1 เพื่อหาสมการเส้นตรงโปรบิท

x	y	W	Wx	Wx^2	Wxy	Wy	Wy^2	Y
1.8650	4.1708	4.3863	8.1804	15.2565	34.1190	18.2943	76.3022	4.06
1.9170	4.7483	6.3431	12.1597	23.3101	57.7380	30.1189	143.0137	4.90
1.9691	5.8344	5.3159	10.4675	20.6116	61.0718	31.0150	180.9544	5.73
ผลรวม ( )		16.0453	30.8076	59.1782	152.9288	79.4282	400.2703	

$Sxx = \Sigma Wx^2 - (\Sigma Wx)^2/\Sigma W$

$= 0.0264$

$Sxy = \Sigma Wxy - (\Sigma Wx)(\Sigma Wy)/\Sigma W$

$= 0.4236$

$Syy = \Sigma Wy^2 - (\Sigma Wy)^2/\Sigma W$

$= 7.0811$

$\bar{X} = \Sigma Wx/\Sigma W = 1.9200$

$\bar{y} = \Sigma Wy/\Sigma W = 4.9502$

ค่าประมาณความเอียงของเส้นตรง (b) $= Sxy/Sxx$

$= 16.0454$

จุดตัดแกนดิ่งของเส้นตรง (a) $= \bar{y} - b\bar{x}$

$= -25.8569$

หาค่า Y จากสมการ Y $= a + bx$

ทำการเปรียบเทียบค่า Y ที่คำนวณได้ (ในตารางผนวกที่ 3) กับค่า Y ที่คาดคะเน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้ (ในตารางผนวกที่ 1) ปรากฏว่าค่า Y ทั้งสองแถวต่างกันไม่เกิน 0.2 จึงถือว่าค่า a และ b ที่ได้ เป็นค่าประมาณที่ดีแล้ว ดังนั้นจึงได้สมการเส้นตรงโปรบิท เป็น

$$Y = -25.6569 + (16.0454)X$$

ทำการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง โดยใช้สมการ

$$X^2 = Syy - S^2xy/Sxx$$

$$= 0.2843$$

ที่ขั้นแห่งความเป็นอิสระ (degree of freedom) = k - 2 = 3 - 2 = 1

จากตารางค่าการกระจาย x^2 (ตารางผนวกที่ 6) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และ deg. of free มีค่า $X^2 = 3.8$ ซึ่งมีค่ามากกว่าค่าที่คำนวณได้ จึงหมายความว่า การทดลองในรูปของโปรบิทไม่เบี่ยงเบนไปจากเส้นตรง และค่าวาเรียนซ์ต่อหน่วยน้ำหนัก มีค่าเท่ากับ 1

ค่า log ของ LC_{50} ของสารสกัดผลมะค่าดีควายต่อปลานิล เป็น

$$\log (24\text{-h } LC_{50}) = m = \frac{5 - a}{b}$$

$$= 1.9230$$

ดังนั้นค่า 24-h LC_{50} จึง = antilog (1.9230)

= 83.75 TU

ค่า 24-h LC_{50} ของสารสกัดผลมะค่าดีควายต่อปลานิล เท่ากับ 83.75 หน่วยความเป็นพิษ

2. <u>การคำนวณช่วงความเชื่อมั่นของค่า 24-h LC_{50} ที่ 95%</u>

ช่วงความเชื่อมั่นของค่า 24-h LC_{50} ที่ 95% หาได้ดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$m_L,\ m_u = \frac{(m - \frac{gV_{12}}{V_{22}}) \pm \frac{1.96}{b}\sqrt{V_{11} - 2mV_{12} + m^2V_{22} - \frac{g(V_{11} - V_{12}^2)}{V_{22}}}}{1 - g}$$

เมื่อ

$V_{11} = \sum Wx^2/(Sxx\sum W)$

$= 139.7056$

$V_{12} = \bar{x}/Sxx$

$= 72.7272$

$V_{22} = 1/Sxx$

$= 37.8787$

$g = (1.96)^2 V_{22}/b^2$

$= 0.5652$

แทนค่าลงในสูตร จะได้

$m_L = 1.88$

$m_u = 1.97$

ดังนั้น ช่วงความเชื่อมั่นของค่า 24-h LC_{50} ที่ 95% จึงมีค่าตั้งแต่ antilog(1.88) ถึง antilog (1.97) คือมีค่าอยู่ในช่วง 75.85 – 93.32 หน่วย ความเป็นพิษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 4 แสดงการเปลี่ยนค่าอัตราการตายให้อยู่ในรูป probit

อัตรา	00	.01	.02	.03	.04	.05	.06	.07	.08	.09
.00	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
.10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
.20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
.30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
.40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
.50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
.60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
.70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
.80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
.90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 5 แสดงค่า Yo, Range, W ที่ใช้ในการคำนวณ probit

Minimum working probits			Maximum working probits		weighting coefficient
Expected probit Y	y_o=Y-P/Z	Range 1/Z	y_1=Y+Q/Z	Expected probit Y	W
1.1	0.8579	5033.8402	9.1421	8.9	.00082
1.2	0.9522	3425.2797	9.0478	8.8	.00118
1.3	1.0462	2354.1580	8.9538	8.7	.00167
1.4	1.1400	1634.2486	8.8600	8.6	.00235
1.5	1.2334	1145.8917	8.7666	8.5	.00327
1.6	1.3266	811.5439	8.6734	8.4	.00451
1.7	1.4194	580.5282	8.5806	8.3	.00614
1.8	1.5118	419.4475	8.4882	8.2	.00828
1.9	1.6038	306.1081	8.3962	8.1	.01104
2.0	1.6954	225.6395	8.3046	8.0	.01457
2.1	1.7866	167.9957	8.2134	7.9	.01903
2.2	1.8772	126.3352	8.1228	7.8	.02458
2.3	1.9673	95.9607	8.0327	7.7	.03143
2.4	2.0568	73.6216	7.9432	7.6	.03977
2.5	2.1457	57.0506	7.8543	7.5	.04979
2.6	2.2339	44.6538	7.7661	7.4	.06168
2.7	2.3214	35.3020	7.6786	7.3	.07564
2.8	2.4081	28.1892	7.5919	7.2	.09179
2.9	2.4938	22.7357	7.5062	7.1	.11026
3.0	2.5786	18.5216	7.4214	7.0	.13112
3.1	2.6624	15.2402	7.3376	6.9	.15436
3.2	2.7449	12.6662	7.2551	6.8	.17994
3.3	2.8261	10.6327	7.1739	6.7	.20774
3.4	2.9060	9.0154	7.0940	6.6	.23753
3.5	2.9842	7.7210	7.0158	6.5	.20207

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 5 (ต่อ)

Minimum working probits			Maximum working		weighting coefficient
Expected probit		Range		Expected probit	
Y	$y_o=Y-P/Z$	1/Z	$y_1=Y+Q/Z$	Y	W
3.6	3.0606	6.6788	6.9394	6.4	.30199
3.7	3.1351	5.8354	6.8649	6.3	.33589
3.8	3.2074	5.1497	6.7926	6.2	.37031
3.9	3.2773	4.5903	6.7227	6.1	.40474
4.0	3.3443	4.1327	6.6557	6.0	.43863
4.1	3.4083	3.7582	6.5917	5.9	.47144
4.2	3.4687	3.4519	6.5313	5.8	.50260
4.3	3.5251	3.2025	6.4749	5.7	.53159
4.4	3.5770	3.0010	6.4230	5.6	.55788
4.5	3.6236	2.8404	6.3764	5.5	.58099
4.6	3.6643	2.7154	6.3357	5.4	.60052
4.7	3.6982	2.6220	6.3018	5.3	.61609
4.8	3.7241	2.5573	6.2759	5.2	.62742
4.9	3.7407	2.5192	6.2593	5.1	.63431
5.0	3.7467	2.5066	6.2533	5.0	.63662
5.1	3.7401	2.5192	6.2599	4.9	.63431
5.2	3.7187	2.5573	6.2813	4.8	.62742
5.3	3.6798	2.6220	6.3202	4.7	.61609
5.4	3.6203	2.7154	6.3797	4.6	.60052
5.5	3.5360	2.8404	6.4640	4.5	.58099
5.6	3.4220	3.0010	6.5780	4.4	.55786
5.7	3.2724	3.2025	6.7276	4.3	.53159
5.8	3.0794	3.4519	6.9206	4.2	.50260
5.9	2.8335	3.7582	7.1665	4.1	.47144
6.0	2.5229	4.1327	7.4771	4.0	.43863

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 5 (ต่อ)

Minimum working probits			Maximum working		weighting coefficient
Expected probit		Range		Expected probit	
Y	y_o=Y-P/Z	1/Z	y_1=Y+Q/Z	Y	W
6.1	2.1325	4.5903	7.8675	3.9	.40474
6.2	1.6429	5.1497	8.3571	3.8	.37031
6.3	1.0295	5.8354	8.9705	3.7	.33589
6.4	0.2606	6.6788	9.7394	3.6	.30199
6.5	-0.7051	7.7210	10.7051	3.5	.26907

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 6 แสดงการกระจายค่า chi - square

Degrees of freedom	Probability								
	.90	.70	.50	.30	.10	.05	.02	.01	.001
1	.016	.15	.45	1.1	2.7	3.8	5.4	6.6	10.8
2	.21	.71	1.4	2.4	4.6	6.0	7.8	9.2	13.8
3	.58	1.4	2.4	3.7	6.3	7.8	9.8	11.3	16.3
4	1.1	2.2	3.4	4.9	7.8	9.5	11.7	13.3	18.5
5	1.6	3.0	4.4	6.1	9.2	11.1	13.4	15.1	20.5
6	2.2	3.8	5.3	7.2	10.6	12.6	15.0	16.8	22.5
7	2.8	4.7	6.3	8.4	12.0	14.1	16.6	18.5	24.3
8	3.5	5.5	7.3	9.5	13.4	15.5	18.2	20.1	26.1
9	4.2	6.4	8.3	10.7	14.7	16.9	19.7	21.7	27.9
10	4.9	7.3	9.3	11.8	16.0	18.3	21.2	23.2	29.6
12	6.3	9.0	11.3	14.0	18.5	21.0	24.1	26.2	32.9
14	7.8	10.8	13.3	16.2	21.1	23.7	26.9	29.1	36.1
16	9.3	12.6	15.3	18.4	23.5	26.3	29.6	32.0	39.3
18	10.9	14.4	17.3	20.6	26.0	28.9	32.3	34.8	42.3
20	12.4	16.3	19.3	22.8	28.4	31.4	35.0	37.6	45.3
22	14.0	18.1	21.3	24.9	30.8	33.9	37.7	40.3	48.3
24	15.7	19.9	23.3	27.1	33.2	36.4	40.3	43.0	51.2
26	17.3	21.8	25.3	29.2	35.6	38.9	42.9	45.6	54.1
28	18.9	23.6	27.3	31.4	37.9	41.3	45.4	48.3	56.9
30	20.6	25.5	29.3	33.5	40.3	43.8	48.0	50.9	59.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการคำนวณ

สมมติบ่อเลี้ยงกุ้งขนาด 1 ไร่ มีความยาว 64 เมตร กว้าง 25 เมตร น้ำลึก 0.3 เมตร ต้องการกำจัดศัตรูกุ้งก่อนปล่อยกุ้ง โดยใช้ผลมะคำดีความแห้ง (มีสารซาโปนินออกฤทธิ์ 56 เปอร์เซนต์) ใส่ในอัตราส่วน 105 มิลลิกรัมต่อลิตร จงหาว่าจะต้องใช้ผลมะคำดีความแห้งกี่กิโลกรัม

ขั้นตอนการคำนวณ

หาปริมาตรของน้ำในบ่อ = กว้าง + ยาว + ลึก

แทนค่า ปริมาตรของน้ำในบ่อ = 25 + 64 + 0.3

= 480 ลูกบาศก์เมตร

ใช้ผลมะคำดีความในอัตราส่วน 105 มิลลิกรัมต่อลิตร

หรือ 0.105 กรัมต่อลิตร

จาก 1,000 ลิตร จะเท่ากับ 1 ลูกบาศก์เมตร

ดังนั้น 1 ลูกบาศก์เมตร จะใช้ผลมะคำดีความ 0.105 + 1,000

แต่บ่อเลี้ยงมีปริมาตรน้ำ 480 ลูกบาศก์เมตร

จึงจะต้องใช้ผลมะคำดีความ เท่ากับ 480 + 0.105 + 1,000

แต่ผลมะคำดีความแห้งมีสารซาโปนินออกฤทธิ์ 56 เปอร์เซนต์

จาก สารซาโปนิน 56 กรัม ได้มาจากผลมะคำดีความแห้ง 100 กรัม

" " " 1 " " " $\frac{100}{56}$ "

ดังนั้น ถ้าต้องการ 480 + 0.105 + 1,000 จะต้องใช้ผลมะคำดีความแห้ง

คิดเป็น = $480 + 0.105 + 1{,}000 + \frac{100}{56}$

= 90,000 กรัม หรือ = 90 กิโลกรัม

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้