

**พิษเฉียบพลันของสารสกัดหยาบจากพืชป่าชายเลนบางชนิด
ต่อปลาไนล์ (*Oreochromis niloticus*) ที่เลี้ยงในน้ำกร่อย**
**Acute Toxicity of Crude Extracts from Some Mangrove Plants
to Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Brackish Water System**
ธีรฤดี เลิศสุทธิชवाल

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช

บทคัดย่อ

การเตรียมสารสกัดหยาบที่ได้จากเปลือกของพืชป่าชายเลน 3 ชนิดคือโกงกางใบใหญ่ (*Rhizophora mucronata*), โปรงแดง (*Ceriops tagal*) และฝาดดอกแดง (*Lumnitzera littorea*) ที่รวบรวมได้จากพื้นที่ป่าชายเลนภายในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง โดยใช้น้ำเป็นสารสกัด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ในอัตราส่วน เปลือกตากแห้ง ต่อ น้ำ 1:4 เมื่อนำมาทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันโดยวิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง (static technique) เพื่อหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้ปลาไนล์ที่เลี้ยงในน้ำกร่อย (ความเค็ม 15 psu) ตายครึ่งหนึ่งในเวลา 72 ชั่วโมง (72h-LC₅₀) ได้ผลดังนี้ โกงกางใบใหญ่ให้ค่า 72h-LC₅₀ เท่ากับ 3,775 (3,320 – 4,292) พีพีเอ็ม, โปรงแดง เท่ากับ 610 (527-705) พีพีเอ็ม และ ฝาดดอกแดงเท่ากับ 520 (440 – 614) พีพีเอ็ม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากค่า 72h-LC₅₀ นี้ให้เห็นว่า โกงกางใบใหญ่มีความเป็นพิษเฉียบพลันน้อยที่สุด ขณะที่โปรงแดง และฝาดดอกแดงมีความเป็นพิษอยู่ในช่วงใกล้เคียงกัน แต่โปรงแดงมีแนวโน้มมีความเป็นพิษสูงกว่าเนื่องจากผลการคำนวณค่าฟังก์ชันความเอียง (slope function) มีค่าสูงกว่า (1.715 ต่อ 1.685).

Abstract

Acute toxicity test of crude extracts from of three mangrove plant species, *Rhizophora mucronata*, *Ceriops tagal* and *Lumnitzera littorea* were carried out. Dried barks of these three plants were extracted using water at 1:4 in ratio within 12 hours at room temperature. These three aqueous extracts were then applied in different concentrations to Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) the brackish water system (15 psu). Static technique of bioassay was assigned to determine their median lethal concentration within 72 hours (72h-LC₅₀). The results showed that *R. mucronata* provided the lowest toxicity to Nile Tilapia with 72h-LC₅₀ = 3,775 (3,320 – 4,292) ppm., while *C. tagal* and *L. littorea* gave almost similar value of 72h-LC₅₀, 610 (527-705) ppm. and 520 (440 – 614) ppm., respectively. Comparatively, however, *C. tagal* could have more toxic trend, due to more value of calculated slope function than that of *L. littorea* (1.715 : 1.685).

บทนำ

ในระยะกว่า 20 ปีที่ผ่านมา ปลานิล *Oreochromis niloticus* จัดเป็นปลาเศรษฐกิจที่ได้รับความนิยมในการเลี้ยงกันมาก เนื่องจากราคาดี เป็นที่ต้องการของตลาดมาโดยตลอด มีการพัฒนาสายพันธุ์มากมาย เพื่อให้ได้ปลานิลที่มีคุณภาพดี เลี้ยงง่าย โตเร็ว ทนทานต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ กรมประมงได้พยายามพัฒนาปลานิลสายพันธุ์ทนความเค็มเพื่อนำไปเลี้ยงในระบบน้ำกร่อย (หรือน้ำเค็ม) โดยเฉพาะในบ่อกุ้งร้าง แทนการเลี้ยงกุ้งทะเล ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 เป็นต้นมา (ดูใน นวลภณีและคณะ, 2548) อย่างไรก็ตามการเลี้ยงในระบบน้ำกร่อยนี้ อาจจะทำให้เกิดปัญหาด้านสุขภาพอันเกิดจากสภาพแวดล้อม จุลินทรีย์ก่อโรค หรือปรสิตภายนอกต่าง ๆ รวมทั้งการได้รับบาดเจ็บจากการกระทบกระทั่งกันเองจากความเครียด อันเนื่องจากการเลี้ยงอย่างหนาแน่น แม้จะไม่มีกรอรายงานเรื่องโรคปลานิลในระบบน้ำเค็มหรือน้ำกร่อย แต่การป้องกันรักษาควรได้รับการศึกษาเช่นกัน เพื่อเป็นแนวทางในการหลีกเลี่ยงการเสี่ยงต่อความเสียหายทางเศรษฐกิจในอนาคต

พืชป่าชายเลนนอกจากจะเป็นตัวปกป้องการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำแล้ว อาจจะสามารถนำส่วนประกอบบางส่วน เช่น ราก ลำต้น กิ่งก้าน ใบ ดอก ผล ต้นอ่อน มาใช้ประโยชน์ในทางเภสัชวิทยา เนื่องจากมีองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์หลายชนิด อาทิ แทนนิน (tannins) ไกลโคไซด์ (glycosides) เทอร์ปีนส์ (terpenes) แอลคาลอยด์ (alkaloids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เบนโซควิโนน (benzoquinone) (สุวิภาล, 2544; Anjaneyulu *et al.*, 2003; Miles *et al.*, 1999) ซึ่งจากการศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า พืชป่าชายเลนหลายชนิดมีสารออกฤทธิ์ทางเภสัช โดยมีผลยับยั้งแบคทีเรีย (anti-bacterial activity) มีฤทธิ์ฟาดสมาน (ดูใน ธีรวุฒิ และคณะ, 2552ก; ธีรวุฒิ และคณะ, 2552ข) และมีการนำเอาเปลือกของพืชกลุ่ม *Rhizophora* มาสกัดเป็นยารักษาโรคเบาหวาน รักษาอาการท้องเสีย อาเจียน และเป็นยาปฏิชีวนะ ยารักษาอาการอักเสบ สารต่อต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงการรักษาบาดแผล (Anjaneyulu *et al.*, 2002; Fernandez *et al.*, 2002; Laphookhieo *et al.*, 2004; Melchor *et al.*, 2001) ซึ่งจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชเหล่านี้ส่วนใหญ่ประกอบด้วยแทนนิน ซึ่งมีทั้งแบบละลายน้ำ (hydrolyzed tannins) และแบบไม่ละลายน้ำ (condense tannins) โดยสามารถสกัดได้ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ทั้งนี้ Li และคณะ (2005) ระบุว่าเปลือกของพืชป่าชายเลน มีการสะสมของแทนนินอยู่ถึง 1 – 30 เปอร์เซ็นต์

อย่างไรก็ตามเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาน้ำกร่อย (ปลากะพงขาว, ปลากะรัง) หลายรายในฝั่งอันดามัน ได้นำเอาโครงสร้างส่วนต่าง ๆ ของพืชเหล่านี้ เช่น กิ่ง ก้าน และใบ แช่ลงในกระชังหรือบ่อเลี้ยงปลา เพื่อรักษาบาดแผลอย่างได้ผล (ข้อมูลจากการสอบถาม) ดังนั้นหากนำมาใช้ป้องกันรักษาโรค และบาดแผลในปลานิลที่เลี้ยงในน้ำกร่อยได้ จะเป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายเรื่องเคมีภัณฑ์ และลดปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะได้เป็นอย่างดี ทั้งนี้ การเลือกใช้พืชเหล่านี้ควรคำนึงถึงความเป็นพิษของสารออกฤทธิ์ด้วย เนื่องจากสารออกฤทธิ์ในส่วนประกอบต่าง ๆ

ของพืชจะมีความแตกต่างกันทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ ซึ่งอาจจะมีผลต่อปลาที่เลี้ยงได้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้เลือกพืช 3 ชนิด ได้แก่ โกงกางใบใหญ่ (*Rhizophora mucronata*), โปรงแดง (*Ceriops tagal*) และฝาดดอกแดง (*Lumnitzera littorea*) ที่ได้รับการตรวจสอบขั้นต้นมาแล้วว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลาได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนเปลือก ที่สามารถออกฤทธิ์ได้ดีกว่าส่วนอื่น ๆ (ธีรวุฒิ และคณะ, 2552ข) เพื่อนำมาสกัดและศึกษาพิษเฉียบพลันต่อปลานิลที่เลี้ยงในน้ำกร่อย เพื่อเป็นการยืนยันประสิทธิภาพในการป้องกันรักษาโรคต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเลือกกลุ่มพืชที่ศึกษาและเตรียมการสกัดหยาบ

1.1 เลือกกลุ่มพืชที่ผ่านการทดลองขั้นต้น (screening test) ในการศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ เช่น *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae* และ *Vibrio vulnificus* (ดูในธีรวุฒิ และคณะ, 2552) ซึ่งได้แก่ โกงกางใบใหญ่ (*Rhizophora mucronata*), โปรงแดง (*Ceriops tagal*) และฝาดดอกแดง (*Lumnitzera littorea*)

1.2 เลือกพืชทั้ง 3 ชนิด โดยให้มีความสูงของเรือนยอด ไม่ต่ำกว่า 3 เมตร แล้วฉีกส่วนเปลือกบริเวณลำต้น โดยสูงจากพื้น ประมาณ 1.5 – 2 เมตร ให้ได้ปริมาณมากพอในการศึกษา นำมาหั่นให้ละเอียด แล้วตากแห้งเก็บบรรจุไว้ในภาชนะกันชื้น (ภาพที่ 1A -1C)



ภาพที่ 1A เปลือกโกงกางใบใหญ่



ภาพที่ 1B เปลือกโปรงแดง



ภาพที่ 1C เปลือกฝาดดอกแดง

1.3 เตรียมสารสกัดหยาบโดย ชั่งเปลือกของพืชทั้ง 3 ชนิด มาสกัดด้วยน้ำในอัตราส่วน 100 กรัมต่อน้ำ 400 มิลลิลิตร (1 : 4) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา ไร่ 24 ชั่วโมง แล้วกรองสารสกัดด้วย ผ้าขาวบาง บรรจุในขวดพลาสติกเก็บตัวอย่าง เก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 5 – 10 องศาเซลเซียส (ใช้ภายใน 1 สัปดาห์) (ดัดแปลงจาก Gomez *et al.*, 1986)

2. การศึกษาพิษเฉียบพลันของสารสกัดหยาบจากพืชป่าชายเลนต่อปลานิลที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 15 พีเอสยู (psu)

2.1 การเตรียมปลาทดลอง

รวบรวมปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ขนาด 1.5 – 2.0 เซนติเมตร ประมาณ 2,000 ตัว จากบ่อเลี้ยงปลาภายใน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช นำมาปรับความเค็มวันละ 2-3 พีเอสยู ให้ได้ความเค็มที่ 15 พีเอสยู (ใช้เวลาประมาณ 5 วัน) เลี้ยงต่อในถังไฟเบอร์ขนาด 1 ตัน อีกประมาณ 1 สัปดาห์ ให้อากาศตลอดเวลา ให้อาหารปลาเม็ดสำเร็จรูปสำหรับปลากินพืชวันละ 1 มื้อ ดูดตะกอน ถ่ายน้ำทุกวัน คัดปลาที่สุขภาพแข็งแรง จำนวน 400 ตัว เพื่อใช้ในการทดลอง โดยแยกไปไว้ในตู้กระจก ที่มีสภาพคล้ายภาชนะทดลอง เลี้ยงไว้ 1-2 วัน งดอาหารก่อนการทดลอง 1 วัน

2.2 การเตรียมน้ำ และภาชนะทดลอง

เตรียมน้ำทดลองให้มีความเค็ม 15 พีเอสยู ในถังไฟเบอร์ขนาด 1 ตัน ให้อากาศเต็มที่ และเตรียมตู้กระจกขนาด 40 ลิตร รวม 24 ตู้ แบ่งเป็น 3 กลุ่มทดลอง ตามระดับความเข้มข้น และกลุ่มควบคุม เติมน้ำทดลองที่เตรียมไว้ ให้ได้ปริมาตร 15 ลิตร

2.3 การดำเนินการทดลอง

ศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ต่ำที่สุดที่ทำให้ปลาทดลองตายทั้งหมด และความเข้มข้นสูงสุดที่ทำให้ปลาทดลองรอดตายทั้งหมด โดยทำการทดลองขั้นต้น (Preliminary test) ซึ่งจะได้ช่วงระดับที่ต้องการคือ โกงกางใบใหญ่ อยู่ในช่วงระหว่าง 2,500 – 5,000 พีพีเอ็ม โปรงแดงมีค่าระหว่าง 400 – 900 พีพีเอ็ม และฝาดดอกแดง จะได้ค่าความเข้มข้นระหว่าง 300 – 900 พีพีเอ็ม นำช่วงระดับความเข้มข้นดังกล่าว มาคำนวณค่าระดับความเข้มข้นในการทดลองอย่างละเอียด ตามวิธีการของ (Litchfield & Wilcoxon (1949)

เตรียมภาชนะทดลอง น้ำทดลอง สารสกัดหยาบ ปลาทดลอง ตาม 2.3 แต่เพิ่มปริมาตรน้ำเป็น 20 ลิตร และเพิ่มจำนวนปลาเป็น 15 ตัวต่อระดับความเข้มข้น และทำ 2 ซ้ำ (duplication) รวมทั้งกลุ่มควบคุม

การบันทึกผล โดยสังเกตอาการปลา และนับจำนวนปลาตาย ตลอดการทดลอง ปลาที่ตายจะถูกนำขึ้นทันทีของทุกตู้ทดลอง จนครบ 72 ชั่วโมง (3 วัน) ทั้งนี้งดอาหารและอากาศตลอดการทดลอง ตรวจวัดคุณภาพน้ำที่สำคัญระหว่างทดลอง

2.4 การคำนวณค่า 72h LC₅₀

บันทึกการตายสะสมของปลาในแต่ละความเข้มข้น นำผลเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่อเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของปลาแต่ละชนิดบนกราฟ log-log scale คำนวณการยอมรับ

เส้นกราฟ โดยวิธี Chi-square Test แล้วคำนวณค่า 72h LC₅₀ และฟังก์ชันความเสี่ยง พร้อมช่วงความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธีของ Litchfield & Wilcoxon (1949) ทำการเปรียบเทียบค่า 72h LC₅₀ และฟังก์ชันความเสี่ยงของสารสกัดแต่ละชนิด

3. การวิเคราะห์หาปริมาณแทนนิน

วิเคราะห์ปริมาณแทนนิน จากปริมาณ polyphenols ตามวิธีของ AOAC (1990) โดยนำสารสกัดแต่ละชนิดมาเตรียมเป็นสารละลายให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเมทานอล จากนั้นเติมสารละลายที่ได้ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตรแล้วผสมกับสารละลาย Folin –Ciocalteu' phenol reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 นาที เติม 35% (w/v) Na₂CO₃ ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาวัดการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรเทียบกับ blank ซึ่งใช้เมทานอลแทนสารสกัดหาปริมาณ polyphenols ในสารสกัดโดยเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิก (tannic acid)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากพืชป่าชายเลนในการศึกษา

จากการทดลองขั้นต้น เมื่อนำค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกของพืชทั้ง 3 ชนิด มาคำนวณระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองขั้นละเอียด (definitive test) ได้ผลดังนี้ โกงกางใบใหญ่ได้ความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 2,500, 2,865, 3,289, 3,775, 4,335 และ 5,000 พีพีเอ็ม โปรงแดงได้ความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 400, 457, 522, 597, 682, 780 และ 900 พีพีเอ็ม ตามลำดับ และฝาดดอกแดง ได้ความเข้มข้น 7 ระดับ ได้แก่ 300, 355, 432, 518, 620, 748 และ 900 พีพีเอ็ม ตามลำดับ (ดูตารางที่ 1)

2. ผลของสารสกัดหยาบจากพืชป่าชายเลนต่อการตายของปลานิล

2.1 โกงกางใบใหญ่: พบว่าเมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 6-7 ชั่วโมง ในระดับความเข้มข้นที่ 3,775-5,000 พีพีเอ็ม ปลานิลเริ่มมีอาการว่ายน้ำกระวนกระวาย และเริ่มมีการตายประมาณชั่วโมงที่ 8-9 ในช่วงระดับความเข้มข้นดังกล่าว และจะมีการตายเพิ่มขึ้นประมาณชั่วโมงที่ 24 ในระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 2,500-5,000 พีพีเอ็ม การตายยังคงเป็นไปอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 60 หลังจากนั้นจะไม่มีปลานิลตายเพิ่มอีก เมื่อครบ 72 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมในแต่ละความเข้มข้นจากความเข้มข้นน้อยไปมากดังนี้ 13, 20, 40, 53, 73 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

โปรเจกต์: เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 5-6 ชั่วโมง ปลาเริ่มมีอาการว่ายน้ำกระวนกระวายและเริ่มว่ายน้ำขึ้นมามบนผิวน้ำในระดับความเข้มข้นที่ 682-900 พีพีเอ็ม และปลาเริ่มตายในชั่วโมงที่ 8-9 และมีการตายเพิ่มขึ้นประมาณชั่วโมงที่ 20 โดยที่มีการตายของปลาในทุกระดับความเข้มข้น (400-900 พีพีเอ็ม) และตายต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 60 หลังจากนั้น จำไม่พบการตายเพิ่มอีก เมื่อครบ 72 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมในแต่ละความเข้มข้นจากความเข้มข้นน้อยไปมากดังนี้ 20,33,47,53,53,67 และ 73 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

ฝาดดอกแดง: เมื่อเวลาผ่านไปเพียง 30 นาที ปลาเริ่มมีอาการว่ายน้ำกระวนกระวายและว่ายน้ำขึ้นมามบนผิวน้ำ และปลาเริ่มมีการตายตั้งแต่ชั่วโมงแรกในระดับความเข้มข้นที่ 900 พีพีเอ็ม และในระดับความเข้มข้นที่ 900 พีพีเอ็ม นี้ ปลาตายหมดภายใน 6 ชั่วโมง และในระดับความเข้มข้นที่ 620 และ 748 พีพีเอ็ม ปลาจะเริ่มตายในชั่วโมงที่ 4 และตายเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ส่วนในระดับความเข้มข้น 300-518 พีพีเอ็ม ปลามีการตายน้อยกว่า ปลาจะมีการตายอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 60 หลังจากชั่วโมงที่ 60 ปลาจะมีการหยุดตาย เมื่อครบ 72 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมในแต่ละความเข้มข้นจากความเข้มข้นน้อยไปมากดังนี้ 20,33,33,40,47,100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

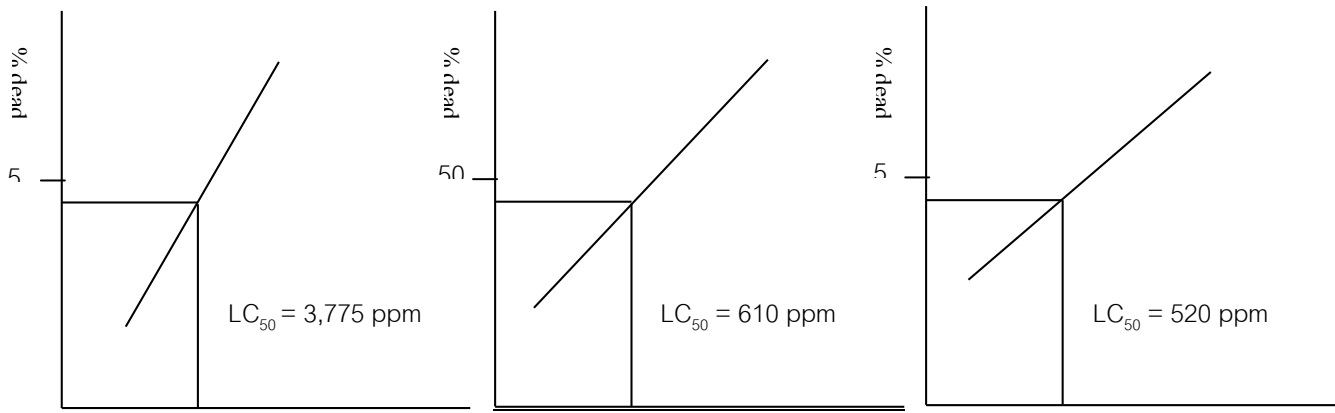
ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของปลานิล ที่ได้รับสารสกัดหยาบจากพืชป่าชายเลน 3 ชนิด ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในเวลา 72 ชั่วโมง

โกก่างใบใหญ่		โปรเจกต์		ฝาดดอกแดง	
ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	การตายสะสม (เปอร์เซ็นต์)	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	การตายสะสม (เปอร์เซ็นต์)	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	การตายสะสม (เปอร์เซ็นต์)
2,500	13	400	20	300	20
2,865	20	457	33	355	33
3,289	40	522	47	432	33
3,775	53	597	53	518	40
4,335	73	682	53	620	47
5,000	100	780	67	748	100
-	-	900	73	900	100

จากข้อสังเกตอาการ และเปอร์เซ็นต์การตายสะสมในแต่ละวัน (24 ชั่วโมง) สามารถบอกได้ว่า สารสกัดหยาบจากฝาดดอกแดงมีพิษรุนแรงสุด ซึ่งในระดับที่ 900 พีพีเอ็ม มีผลทำให้ปลาทดลองตายในระยะเวลาที่สั้นมาก

และแม้ว่าสารสกัดหยาบจากโปรงแดงจะมีผลต่อการตายในช่วงความเข้มข้นที่ใกล้เคียงกัน แต่ความรุนแรงเฉียบพลันจะต่ำกว่า ในขณะที่สารสกัดหยาบจากโกงกางใบใหญ่ น่าจะปลอดภัยที่สุดต่อปลานิล เนื่องจากช่วงความเข้มข้นจะสูงกว่า สารสกัดทั้ง 2 ชนิด ถึงเกือบ 5 เท่า

เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองรวม 72 ชั่วโมง (3 วัน) และนำมาเขียนกราฟ พบว่าค่า 72h-LC₅₀ โกงกางใบใหญ่ต่อปลานิลมีค่า เท่ากับ 3,775 (3,320 – 4292) พีพีเอ็ม, โปรงแดง มีค่าเท่ากับ 610 (527-705) พีพีเอ็ม และ ฝาดดอกแดงให้ค่าเท่ากับ 520 (440 – 614) พีพีเอ็ม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 7 – 9) จากค่า 72h-LC₅₀ ซึ่งให้เห็นว่าโกงกางใบใหญ่มีความเป็นพิษเฉียบพลันน้อยที่สุด ขณะที่โปรงแดงและฝาดดอกแดงมีความเป็นพิษอยู่ในช่วงใกล้เคียงกัน แต่ผลจากการคำนวณฟังก์ชันความเอียง (slope function) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างฝาดดอกแดงกับโปรงแดง พบว่าโปรงแดงมีแนวโน้มความเป็นพิษสูงกว่าเล็กน้อย (1.715 ต่อ 1.685) (ตารางที่ 2)



ภาพที่ 7A ค่า 72 h LC₅₀ ของโกงกางใบใหญ่

ภาพที่ 7B ค่า 72 h LC₅₀ ของโปรงแดง

ภาพที่ 7C ค่า 72 h LC₅₀ ของฝาดดอกแดง

ตารางที่ 2 ค่า 72-h LC₅₀ และฟังก์ชันความเอียง ของสารสกัดหยาบจากเปลือกของพืชป่าชายเลนต่อปลาชนิด

สารสกัดหยาบ	72h-LC ₅₀ (ppm) (lower - upper limit)	Slope function (lower - upper limit)
โกกงางใบใหญ่	3775 (3320 - 4290)	1.495 (1.169 - 1.912)
โปรงแดง	610 (527 - 705)	1.715 (1.267 - 2.322)
ฝาดดอกแดง	520 (440 - 614)	1.685 (1.346 - 2.109)

3. ปริมาณแทนนินที่ละลายน้ำ

จากการศึกษาปริมาณแทนนินที่ละลายน้ำ จากปริมาณ polyphenols ตามวิธีของ AOAC (1990) พบว่าปริมาณแทนนินในสารสกัดหยาบของเปลือกโปรงแดงจะมีปริมาณสูงสุดคือ 3.56 กรัมเปอร์เซ็นต์ ตามด้วยฝาดดอกแดง (3.56 กรัมเปอร์เซ็นต์) และโกกงางใบใหญ่ (2.78 กรัมเปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ปริมาณโพลีฟีนอล (polyphenol) และแทนนิน (tannin) ของส่วนเปลือกที่ละลายอยู่ในชั้นน้ำ

สารสกัดหยาบ	Polyphenol (กรัมเปอร์เซ็นต์: % g)	Tannin (กรัมเปอร์เซ็นต์: % g)
โกกงางใบใหญ่	2.17	2.78
โปรงแดง	3.56	4.56
ฝาดดอกแดง	2.78	3.56

4. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแทนนินกับความเป็นพิษเฉียบพลันต่อปลาชนิด

จากการศึกษาค่า 72 h LC₅₀ ของสารสกัดจากเปลือกของพืชทั้ง 3 ชนิด เมื่อพิจารณาร่วมกับปริมาณแทนนินที่วิเคราะห์ได้ พบว่ามีความสอดคล้องกัน กล่าวคือสารสกัดหยาบจากโปรงแดง และฝาดดอกแดงจะมีปริมาณแทนนินสะสมสูงกว่าในโกกงางใบใหญ่ (4.56 : 3.56 : 2.78 กรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ซึ่งมีผลทำให้มีพิษต่อปลานิลสูงกว่าด้วยเช่นกัน

ถึงแม้จะไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับพืชเขียวพลันจากสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำ (aqueous extract) ของพืชป่าชายเลนในประเทศไทยมาก่อน แต่ในภูมิภาคเอเชีย พบว่ามีการสนใจที่จำศึกษาถึงประสิทธิภาพของพืชเหล่านี้ในประโยชน์ทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ดังจะเห็นได้จากการศึกษาพืชเขียวพลันจากส่วนประกอบต่าง ๆ ของพืชป่าชายเลน 4 ชนิด ได้แก่ *Aegiceras corniculatum*, *Excoecaria agallocha*, *Derris trifoliata* และ *Heritiera littoralis* ต่ปลาชนิด ในประเทศฟิลิปปินส์ (Gomez et al., 1986) พบว่า ส่วนประกอบต่าง ๆ ของพืชจะออกฤทธิ์ต่อปลาต่างกัน แต่ในการศึกษาครั้งนี้ ได้เน้นเฉพาะส่วนเปลือกเท่านั้น เนื่องจากผลจากการวิเคราะห์ปริมาณโพลีฟีนอล (polyphenol) และแทนนิน (tannin) พบว่าส่วนใบจะมีปริมาณน้อยกว่าส่วนเปลือก และยังพบว่าสารสกัดจากส่วนใบ ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำ (ธีรภูมิ และคณะ, 2552)

จากการวิเคราะห์คุณภาพน้ำบางประการในระหว่างการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบจากเปลือกของพืชทั้ง 3 ชนิด มีผลทำให้ค่าออกซิเจนละลายน้ำจะลดลงจาก 7.0 เหลือ 5.0 พีพีเอ็ม เมื่อผ่านไป 48 ชั่วโมง แต่ ในชุดการทดลองของสารสกัดหยาบจากโปรงแดง และฝาดดอกแดงจะมีผลค่าต่อการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างมากที่สุด คือ จาก 7.9 ลดลงเหลือ 7.1 -7.2 ขณะที่โกงางใบใหญ่ ค่าความเป็นกรด-ด่างจะเปลี่ยนแปลง น้อยที่สุด คือ จาก 7.9 ลดลงเหลือ 7.4 -7.8 ซึ่งมีสาเหตุจากแทนนินซึ่งมีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน อย่างไรก็ตาม คุณภาพน้ำในระหว่างการทดลอง ไม่น่ามีผลต่อการตายของปลา เพราะคุณภาพน้ำที่สำคัญ เช่น ออกซิเจนละลายน้ำ ความเป็นกรด-ด่าง ความเค็ม และอุณหภูมิ มีการเปลี่ยนแปลงน้อย และอยู่ในช่วงปลอดภัยต่อปลาทดลอง

สรุป

ส่วนประกอบของพืชป่าชายเลน จัดเป็นแหล่งสารชีวภาพที่สำคัญ โดยเฉพาะแทนนิน ในการเลือกใช้พืชเหล่านี้ให้เกิดประโยชน์ในเชิงอนุรักษ์ มีความจำเป็นต้องศึกษาถึงคุณสมบัติและการออกฤทธิ์ ในแง่มุมต่าง ๆ ทั้งนี้เพื่อให้มั่นใจว่าสามารถเลือกใช้พืชได้อย่างเหมาะสม ปลอดภัย และอาจเป็นแนวทางใหม่ในการเลือกใช้สารจากธรรมชาติ (natural products) ทดแทนสารเคมี ซึ่งนอกจากจะลดความเสี่ยงในการตกค้าง และเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมแล้ว ยังสามารถลดการนำเข้าของเคมีภัณฑ์อีกทางหนึ่ง จึงถือเป็นอีกทางเลือกที่ควรให้ความสนใจและการศึกษาต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยชิ้นนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยเรื่อง “องค์ประกอบและการออกฤทธิ์ของสารสกัดชีวภาพจากพืชป่าชายเลนและแนวทางในการใช้ประโยชน์จากสารสกัดในการป้องกันและควบคุมการระบาดของโรคและปรสิตในระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง” ซึ่งได้รับทุนอุดหนุนโครงการวิจัยจาก คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี

ราชชมงคลศรีวิชัย ประจำปี 2550-2551 ขอขอบคุณ ผศ.วัฒนา วัฒนกุล ผศ.อุไรวรรณ วัฒนกุล คุณวันเพ็ญ สายน้ำ และคุณพิรพงษ์ พึ่งแย้ม ตลอดจนนักศึกษาสาขาประมง คณะเกษตรศาสตร์ ที่ได้มีส่วนช่วยในการเก็บ ตัวอย่าง วิเคราะห์ และดำเนินการทดลองได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารอ้างอิง

- ธีรวุฒิ เลิศสุทธิชวาล, อุไรวรรณ วัฒนกุล และ วันเพ็ญ สายน้ำ. 2552ก. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกแดง (*Lumnitzera littorea*) ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio* sp. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง. 3(1): 97-1003.
- ธีรวุฒิ เลิศสุทธิชวาล, อุไรวรรณ วัฒนกุล, วัฒนา วัฒนกุล, ชาญยุทธ สุดทองคง และสุริยะ จันทร์แก้ว. 2552ข. องค์ประกอบและการออกฤทธิ์ของสารสกัดชีวภาพจากพืชป่าชายเลน และแนวทางการใช้ประโยชน์จากสารสกัดในการป้องกัน และควบคุมการระบาดของโรค และปรสิตในระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. รายงานผลการวิจัยเสนอต่อ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย. 61 น.
- สุวิกาล เพ็ชรประดับ. 2544. การตรวจสอบกลุ่มสารจากต้นเสม็ดขาวที่สัมพันธ์กับการรักษาของแพทย์แผนไทย. รายงานการวิจัย. โครงการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุพืช. ฝ่ายกิจการพิเศษ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง, ตรัง. 16 น.
- นวลมณี พงศ์ธนา, เบญจพร สัมฤทธิ์เวช, นนทบุรี วิจิ ออกแดง, สายฝน เสียงหวาน, ประจักษ์ บัวเนียม และ มัลลิกา ทองสง่า. 2548. การเจริญเติบโตและความทนทานต่อความเค็มของปลานิลแดง 4 สายพันธุ์, นน. 13 – 25. ใน การประชุมวิชาการประมง ประจำปี 2548. กรมประมง.
- Anjaneyulu, A. S.R., V. Anjaneyulu and V. L. Rao. 2002. New beyerane and isopimarane diterpenoids from *Rhizophora mucronata*. J Asian Nat. Prod. Res. 4: 53-61.
- Anjaneyulu, A. S. R., Y. L N. Murthy, V. L. Rao and K. Sreedhar. 2003. A new aromatic ester from the mangrove plant *Lumnitzera racemosa* Willd. ARKIVOC 2003 iii: 25-30.
- Fernandez, O., J. Z. Capdevila, G. Dalla and G. Melchor, 2002. Efficacy of *Rhizophora mangle* aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds. Fitoterapia, 73: 564 – 568.
- Gomez, E. D., A. de La Cruz, V. B. Chavez, D. H. Miles and G. J. B. Cajipe. 1986. Toxicant from mangrove plants: II. Toxicity of aqueous extracts to fish. Philippine J. Sci. 115(2): 81-89.
- Laphookhieo, S., C. Karalai and C. Ponglomanont. 2004. New sesquiterpenoid and triterpenoids from the fruits of *Rhizophora mucronata*. J. Asian Nat. Prod. Res. 4: 53-61.

- Li, Y. M., P. Xiang and P. Lin. 2005. Studies on tannins of mangroves – A review. *Mar. Sci.* 2005, 29: 59-63.
- Litchfield, J.T. Jr. and F. Wilcoxon. 1949. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96(2): 99-113.
- Melchor, G., M. Armenteros, O. Fernandez. E. Linares and I. Fragas. 2001. Antimicrobial activity of *Rhizophora mangle* bark. *Fitoterapia*, 17: 689-691.
- Miles, D. H., U. Kokpol, V. Chittawong, S. Tip-payang, K. Tunsuwan and C. Nguyen. 1999. Mangrove forests – the important of conservation as a bioresource for ecosystem diversity and utilization as a source of chemical constituents with potential medicinal and agricultural value. *In* International Conference of Biodiversity and Bioresources; Conservation and utilization. 23 – 27 November, 1997. Phuket. IUPAC.