

การพัฒนาารูปแบบผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็นพีวี สำเร็จรูปเพื่อกำจัดหนอนกระทู้หอม  
The Product Development of Nucleopolyhedrovirus formulations for  
Controlling Beet armyworm

ผู้ดำเนินการ สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ภัทรพร สรรพพญเคราะห์ อิศเรศ เทียนทัต รัตนา นชะพงษ์  
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

### บทคัดย่อ

การพัฒนาารูปแบบผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็นพีวี สำเร็จรูปเพื่อกำจัดหนอนกระทู้หอม ได้ดำเนินการผลิตไวรัส เอ็นพีวี สูตรสำเร็จรูปชนิดสารละลายแขวนลอย โดยผสมสารเพิ่มฤทธิ์ชนิดต่างๆ ได้แก่ สาร sticker เพื่อให้ไวรัสเกาะติดแน่นบนใบพืช ได้แก่ skim milk , สาร humectant ช่วยป้องกันไม่ให้น้ำที่เป็นตัวพาไวรัสไปสู่อากาศแห้งเกินไปก่อน สารกลุ่มนี้ได้แก่ sorbital และ molasses สาร feeding attractant ช่วยกระตุ้นการกินของหนอน เช่น soy flour และน้ำตาล sucrose โดยหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการผสมส่วนผสมทั้งหมดนี้ด้วยวิธี Mixture design และทดสอบประสิทธิภาพด้วยวิธี Bioassay กับหนอนกระทู้หอมวัย 3 จำนวน 30 ตัวต่อกรรมวิธี และอยู่ระหว่างดำเนินการทดลอง ส่วนไวรัส เอ็นพีวี สูตรผงบยังไม่สามารถดำเนินการได้ เนื่องจากเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) อยู่ระหว่างการซ่อมแซม

### คำนำ

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็นพีวี ทั้งสูตรสารแขวนลอยในน้ำและสูตรผงละลายน้ำ เป็นเป้าหมายหลักในการพัฒนาคุณภาพเชื้อไวรัสเพื่อนำไปใช้ ไวรัส เอ็นพีวี ผลิตจากตัวหนอนซึ่งเป็นแมลงอาศัยโดยตรง ประสิทธิภาพของไวรัส เอ็นพีวี จะคงที่อยู่ได้นานเพียงใดอยู่ที่การทำสูตรสำเร็จ (formulation) ซึ่งในหลักการผลิตจุลินทรีย์นั้น จุลินทรีย์ที่ผลิตได้ควรเก็บไว้ได้นานเกินกว่า 12 เดือน (Hunter-Fujita et al.,1998 ) ดังนั้นการวิจัยเพื่อการทำสูตรสำเร็จเพื่อให้เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็นพีวี ในสภาพอากาศร้อนในประเทศไทยจึงมีความสำคัญมากกว่าประเทศที่มีอากาศเย็น เช่น ในยุโรปและอเมริกา รูปแบบการทำสูตรสำเร็จที่เหมาะสมของแต่ละชนิดจุลินทรีย์และสภาพแวดล้อมมีส่วนสำคัญต่อการเก็บรักษาและต่อประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆ (ทิพย์วดี, 2549) ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาสูตรสำเร็จสามารถนำไปใช้ได้จริงในแปลงเกษตรกรโดยประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชไม่ลดลงซึ่งการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในสภาพไร่จริง เพื่อเป็นข้อมูลชี้ให้เห็นว่า การพัฒนาสูตรสำเร็จไวรัส เอ็นพีวี สามารถเพิ่มศักยภาพในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชเมื่อเทียบกับสูตรดั้งเดิมที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-02-01-05-54

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

วิธีการ แบ่งเป็น 4 ขั้นตอน คือ

#### ขั้นตอนที่ 1 การพัฒนากรรมวิธีการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

การศึกษากรรมวิธีการอบที่เหมาะสมด้วยความดันต่างๆคือ 1,000, 750, 500 และ 250 มิลลิทอร์ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการอบแห้งด้วย Automatic Program วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) มี 3 ซ้ำ 5 กรรมวิธี โดยกำหนดอุณหภูมิสุดท้าย (Shelf temperature) เท่ากับ 20 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิในการแช่แข็ง (Freezing temperature) เท่ากับ -30 องศาเซลเซียส โดยมีกรรมวิธี ดังนี้

- (1) อบแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ความดัน 1,000 mT
- (2) อบแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ความดัน 750 mT
- (3) อบแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ความดัน 500 mT
- (4) อบแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ความดัน 250 mT
- (5) อบแห้งแบบแช่เยือกแข็งด้วย Automatic run

**ขั้นตอนที่ 2** การพัฒนาสูตรผงสำเร็จรูปด้วยสารเพิ่มฤทธิ์ชนิดต่างๆ ได้แก่ สาร sticker เพื่อให้ไวรัสเกาะติดแน่นบนใบพืช ได้แก่ skim milk , สารhumectant ช่วยป้องกันไม่ให้น้ำที่เป็นตัวพาไวรัส ไปสู่ใบพืชระเหยแห้งไปก่อน สารกลุ่มนี้ได้แก่ sorbital และ molasses เป็นต้น สาร feeding attractant ช่วยกระตุ้นการกินของหนอน เช่น soy flour และน้ำตาล sucrose เป็นต้น โดยหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการผสมส่วนผสมทั้งหมดนี้ด้วยวิธี Mixture design และทดสอบประสิทธิภาพด้วยวิธี Bioassay กับหนอนกระทู้หอมวัย 3 จำนวน 30 ตัวต่อกรรมวิธี

**ขั้นตอนที่ 3** ศึกษาคุณลักษณะสูตรสำเร็จรูปของชีวผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็น พี วี หนอนกระทู้หอม ทั้งรูปสารละลายแขวนลอยเปรียบเทียบกับรูปผง ในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ ได้แก่ ซองอลูมิเนียมฟอยด์ ขวดพลาสติกสีชา และขวดพลาสติกทึบสีขาว

3.1 เตรียมไวรัส เอ็นพีวี หนอนกระทู้หอม ชนิดสารละลายแขวนลอยปริมาณ 300 มล. และชนิดผงปริมาณ 300 กรัม แบ่งใส่ขวดพลาสติกทึบสีขาวขวดละ 50 มล.และ 50 กรัม จำนวนประเภทละ 6 ขวด รวม 12 ขวดหรือซอง แล้วนำไวรัส เอ็นพีวี ทั้งสองประเภทอย่างละครึ่งไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ  $5 \pm 2$  องศาเซลเซียส และอีกครั้งที่เหลือนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ  $29 \pm 2$  องศาเซลเซียส

3.2 นำผลิตภัณฑ์ทั้งสองสูตรทั้งที่เก็บในตู้เย็นและเก็บที่อุณหภูมิห้องชนิดละ 1 ขวด มาตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์ทุกเดือน เป็นเวลา 6 เดือน คุณภาพที่ตรวจได้แก่ การตรวจนับผลึกได้ กล้องจุลทรรศน์ ความเป็นกรด-ด่าง จุลินทรีย์ปนเปื้อนชนิดต่างๆ และการทดสอบการตายของหนอนกระทู้หอมวัยที่ 3 จำนวน 30 ตัวต่อสูตร

### 3.3 การตรวจสอบคุณภาพชีวผลิตภัณฑ์ชีวผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็น พี วี หนองกระทุ

หอม

#### 3.3.1 การตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพ

- เปอร์เซ็นต์ความชื้น
- ความสามารถในการละลายน้ำ

#### 3.3.2 การตรวจสอบคุณภาพทางเคมี (A.O.A.C, 1995)

- ความเป็นกรด-ด่าง

#### 3.3.3 การตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ (A.O.A.C, 1995)

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด
- ยีสต์และรา

**ขั้นตอนที่ 4** การศึกษาอายุการเก็บรักษาชีวผลิตภัณฑ์โดยวิธีเร่งสภาวะ (Accelerated Shelf-Life Testing; ASLT)

ศึกษาและทำนายอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยนำชีวผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป บรรจุในขวดที่ผ่านการทดสอบแล้ว ขวดละ 50 กรัม เก็บใน 2 สภาวะคือ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิเร่ง โดยเก็บผลิตภัณฑ์ในตู้ป่น พร้อมกับเก็บผลิตภัณฑ์ที่สภาวะควบคุม คือ 5 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็นตัวอ้างอิง นำผลิตภัณฑ์ที่เก็บแต่ละสภาวะที่อุณหภูมิเร่งมาตรวจสอบคุณภาพทุกสัปดาห์ คุณภาพที่ตรวจสอบดังนี้ คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง และคุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่ จุลินทรีย์ปนเปื้อนต่างๆ ทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ รา ส่วนการวัดค่าคุณภาพหรือประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ ใช้ทดสอบด้วยวิธี Bioassy กับหนองกระทุหอมวัย 3 จำนวน 50 ตัวต่อกรรมวิธี เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนในแต่ละระยะที่ทดสอบ แล้วจึงนำระยะเวลาดังกล่าวมาทำนายอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิที่ต้องการตามวิธีของ ASLT

#### การบันทึกข้อมูล

- บันทึก น.น. ก่อนอบและหลังอบไวรัส เอ็นพีวี ของแต่ละกรรมวิธี
- บันทึกเวลาในการอบและวัดค่าคุณภาพต่างๆ ได้แก่ ค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง ความสามารถในการละลาย และปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนชนิดต่างๆ
- เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนจากการทดสอบในขั้นตอนต่างๆ

#### เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : ตุลาคม 2553 – กันยายน 2558

สถานที่ : ห้องปฏิบัติการอาคารวิจัยและพัฒนาศัตรูธรรมชาติ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา  
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

#### คำขอขอบคุณ

ขอขอบคุณส่วนบริหารโครงการวิจัย ที่ได้จัดสรรงบประมาณจากกรมวิชาการเกษตร ในการซ่อมเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

## เอกสารอ้างอิง

ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2549. ไวรัสของแมลงนิวคลีโอโพลีฮีดรไวรัส. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัย  
เกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพมหานคร. 395 หน้า.

Hunter-Fujita, Philip, F. E., Hugh, F. E. and Norman, E. C. 1998. Insect Viruses and Pest  
Management. John Wiley & Sons Ltd. England. 620 pp.