การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็นพีวี สำเร็จรูปเพื่อกำจัดหนอนกระทู้หอม

The Product Development of Nucleopolyhedrovirus Formulation for Controlling Beet Armyworm

สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี อิศเรส เทียนทัด

ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ รัตนา นชะพงษ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็นพีวี สำเร็จรูปเพื่อกำจัดหนอนกระทู้หอม ได้ดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการอาคารวิจัยและพัฒนาศัตรูธรรมชาติ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช . ระหว่างเดือน ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2558 โดยศึกษาวิธีการผลิตเชื้อแบบผงด้วยการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) ผลการทดลองพบว่า ผลิตภัณฑ์ไวรัส หนอนกระทู้หอม มีลักษณะโครงสร้างน้ำภายในเช่นเดียว ไวรัสหนอนกระทู้ผัก หรือวัตถุที่มีความชื้นสูง (Hygroscopic materials) ทั่วไป เมื่อทดสอบการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็งตามปกติที่ปฏิบัติอยู่เดิม คือ Automatic run ใช้เวลานานเฉลี่ยไม่น้อยกว่า 3.42 วัน ต่อ 1 รอบการผลิต ในขณะที่วิธี Manual run ซึ่งไม่สามารถกำหนดค่าความดันในการอบแห้งได้ อาจมีสาเหตุได้หลายประการ คือ ประสิทธิภาพในการดักจับความชื้นของ Condensor และโครงสร้างของไวรัส เอ็นพีวี หนอนกระทู้หอม ที่มีการเจือปนค่อนข้างมาก ดังนั้นจึงกำหนดค่าอุณหภูมิแช่แข็งที่ -30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่า ใช้เวลาในการอบแห้งผลิตภัณฑ์เพียง 1.62 วัน หรือ 38.8 ชั่วโมง น้อยกว่าวิธีแรกถึง 1.8 วัน โดยผลผลิตของผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังจากอบแห้งแล้วคิดเป็นร้อยละ 12.91 ของวัตถุดิบตั้งต้น และมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นเฉลี่ย 13.95 เปอร์เซ็นต์ การทดลองนี้แสดงว่า การกำหนดอุณหภูมิและเวลาในการแช่แข็งผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็นพีวี ไม่มีผลกระทบต่อกระบวนการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง กระบวนการต่างๆภายในเครื่องยังคงดำเนินการต่อจนเสร็จสิ้นกระบวนการ สามารถลดเวลาการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็งเมื่อเทียบกับวิธีปฏิบัติเดิม และเพิ่มจำนวนรอบของการอบให้มากขึ้น ซึ่งทำให้ต้นทุนการผลิตไวรัส เอ็นพีวี หนอนกระทู้หอมในรูปผงลดลง

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-02-01-05-54

คำนำ

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

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 องศาเซลเซียล และอุณหภูมิในการแช่แข็ง (Freezing temperature) เท่ากับ -30 องศาเซลเซียล 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 ช่วยป้องกันไม่ให้น้ำที่เป็นตัวพาไวรัสไปสู่ใบพืชระเหยแห้งไปก่อน 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 หนอนกระทู้หอมทั้งรูปสารละลายแขวนลอยเปรียบเทียบกับรูปผง 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±2 องศาเซลเซียส และอีกครึ่งที่เหลือนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 29±2 องศาเซลเซียส

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

3.3 การตรวจสอบคุณภาพชีวผลิตภัณฑ์ชีวผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็น พี วี หนอนกระทู้หอม

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 โดยเก็บผลิตภัณฑ์ในตู้บ่ม พร้อมกับเก็บผลิตภัณฑ์ที่สภาวะควบคุม คือ 5 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็นตัวอ้างอิง นำผลิตภัณฑ์ที่เก็บแต่ละสภาวะที่อุณหภูมิเร่งมาตรวจสอบคุณภาพทุกสัปดาห์ คุณภาพที่ตรวจสอบดังนี้ คุณภาพทางกายภาพได้แก่ ค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง และคุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่ จุลินทรีย์ปนเปื้อนต่างๆ ทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ รา ส่วนการวัดค่าคุณภาพหรือประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ ใช้ทดสอบด้วยวิธี Bioassy กับหนอนกระทู้หอมวัย 3 จำนวน 50 ตัวต่อกรรมวิธี เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนในแต่ละระยะที่ทดสอบแล้วจึงนำระยะเวลาดังกล่าวมาทำนายอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิที่ต้องการตามวิธีของ 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

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษานี้ พบว่า ผลิตภัณฑ์ไวรัส หนอนกระทู้หอม มีลักษณะโครงสร้างน้ำภายในเช่นเดียวกับไวรัส เอ็นพีวี หนอนกระทู้ผักซึ่งได้ศึกษาไปก่อนหน้านี้ และวัตถุที่มีความชื้นสูง (Hygroscopic materials) ทั่วไป เมื่อทดสอบการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็งตามปกติที่ปฏิบัติอยู่เดิม คือ Automatic run ใช้เวลานานเฉลี่ยไม่น้อยกว่า 3.42 วัน ต่อ 1 รอบการผลิต ในขณะที่วิธี Manual run ซึ่งไม่สามารถกำหนดค่าความดันในการอบแห้งได้ อาจมีสาเหตุได้หลายประการ คือ ประสิทธิภาพในการดักจับความชื้นของ Condensor และโครงสร้างของไวรัส เอ็นพีวี หนอนกระทู้

หอม ที่มีการเจือปนค่อนข้างมาก ดังนั้นจึงกำหนดค่าอุณหภูมิแช่แข็งที่ -30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่า ใช้เวลาในการอบแห้งผลิตภัณฑ์เพียง 1.62 วัน หรือ 38.8 ชั่วโมง น้อยกว่าวิธีแรกถึง 1.8 วัน โดยผลผลิตของผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังจากอบแห้งแล้วคิดเป็นร้อยละ 12.91 ของวัตถุดิบตั้งต้น และมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นเฉลี่ย 13.95 เปอร์เซ็นต์ การทดลองนี้แสดงว่า การกำหนดอุณหภูมิและเวลาในการแช่แข็งผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็นพีวี ไม่มีผลกระทบต่อกระบวนการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง กระบวนการต่างๆภายในเครื่องยังคงดำเนินการต่อจนเสร็จสิ้นกระบวนการ สามารถลดเวลาการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็งเมื่อเทียบกับวิธีปฏิบัติเดิม และเพิ่มจำนวนรอบของการอบให้มากขึ้น ซึ่งทำให้ต้นทุนการผลิตไวรัส เอ็นพีวี หนอนกระทู้หอมในรูปผงลดลง อย่างไรก็ตามเพื่อให้การทดลองเป็นไปตามแผนที่ตั้งไว้ จำเป็นต้องตรวจสอบหาสาเหตุเพื่อแก้ไขการทำงานของ Condensor ให้มีประสิทธิดังเดิมในครั้งต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไวรัส เอ็นพีวี หนอนกระทู้หอม มีลักษณะโครงสร้างน้ำภายในเช่นเดียวกับวัตถุที่มีความชื้นสูง (Hygroscopic materials) ทั่วไป เมื่อทดสอบการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็งตามปกติที่ปฏิบัติอยู่เดิม คือ Automatic run ที่ปล่อยให้เครื่อง Freeze dry ดำเนินการโดยอัตโนมัติ ใช้เวลานานเฉลี่ยไม่น้อยกว่า 3.42 วัน ต่อ 1 รอบการผลิต แต่เมื่อกำหนดค่าอุณหภูมิแช่แข็งที่ -30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่า ใช้เวลาในการอบแห้งผลิตภัณฑ์เพียง 1.62 วัน หรือ 38.8 ชั่วโมง น้อยกว่าวิธีแรกถึง 1.8 วัน โดยผลผลิตของผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังจากอบแห้งแล้วคิดเป็นร้อยละ 12.91 ของวัตถุดิบตั้งต้น และมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นเฉลี่ย 13.95 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามเพื่อให้การทดลองเป็นไปตามแผนที่ตั้งไว้ จำเป็นต้องตรวจสอบหาสาเหตุเพื่อแก้ไขการทำงานของ Condensor ให้มีประสิทธิภาพในการดักจับความชื้นในระหว่างการอบแห้ง เพื่อลดเวลาในการอบแห้งไวรัส เอ็นพีวี ชนิดผงต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2549. ไวรัสของแมลงนิวคลีโอโพลิฮีโดรไวรัส. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 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.