

การศึกษาพิษเฉียบพลันของกากชาต่อปลานิล (*Oreochromis niloticus*),
ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) และกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)
Acute Toxicity of Tea Seed Cake on Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*),
Giant Seaperch (*Lates calcarifer*) and Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

ลิลลา หงษ์คนารัตน์¹ ชลอ ลิมสุวรรณ¹ และ นิตี ชูเชิด¹
Lilla Hongkanarat¹, Chalor Limsuwan¹ and Niti Chuchird¹

บทคัดย่อ

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของกากชาที่ระดับความเค็มต่างๆ ได้แก่ 0, 5 และ 10 พีพีที โดยใช้วิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง (static bioassays) เพื่อหาค่าความเป็นพิษที่ทำให้ลูกปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 72 ชั่วโมง (72-hr LC₅₀) พบว่ากากชาจะมีความเป็นพิษสูงขึ้นในน้ำที่มีระดับความเค็มสูงขึ้น โดยที่ความเค็ม 10 พีพีที ค่า 72-hr LC₅₀ ของกากชามีค่าเท่ากับ 9.04 พีพีเอ็ม และมีค่าความเป็นพิษต่ำลงที่ระดับความเค็ม 5 และ 0 พีพีที โดยมีค่า 72-hr LC₅₀ เท่ากับ 17.90 และ 26.51 พีพีเอ็ม ตามลำดับ สำหรับค่า 72-hr LC₅₀ ของกากชาต่อปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ที่ระดับความเค็ม 0, 10, 20 และ 30 พีพีที มีค่าเท่ากับ 9.24, 8.10, 5.09 และ 2.67 พีพีเอ็ม ตามลำดับ และค่า 48-hr LC₅₀ ของกากชาต่อลูกกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ระยะโพสลาร์วา 10 เท่ากับ 416.14 พีพีเอ็ม ที่ระดับความเค็ม 30 พีพีที ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการใช้กากชาในการกำจัดปลาในน้ำที่มีความเค็ม 20-30 พีพีที ควรใช้ในปริมาณ 15-20 พีพีเอ็ม (24-32 กิโลกรัมต่อไร่) ส่วนในน้ำจืด หรือความเค็มต่ำ ควรใช้ในปริมาณ 25-30 พีพีเอ็ม (40-48 กิโลกรัมต่อไร่) โดยระดับการใช้นี้จะไม่เป็นอันตรายต่อลูกกุ้งขาวแวนนาไม

ABSTRACT

The acute toxicity of tea seed cake on Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) was investigated at salinity 0, 5 and 10 ppt. Static bioassay was used to determine the 72- hr LC₅₀. The results indicated that tea seed cake was more toxic at high salinity and at salinity 10 ppt the 72-hr LC₅₀ was 9.04 ppm while at the salinity 5 and 0 ppt the 72-hr LC₅₀ was 17.90 and 26.51 ppm, respectively. For the 72-hr LC₅₀ of tea seed cake to seabass (*Lates calcarifer*) at various salinity concentration (0, 10, 20 and 30 ppt) was 9.24, 8.10, 5.09 and 2.67 ppm, respectively. The 48-hr LC₅₀ of tea seed cake on Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae 10 (PL10) was 416.14 ppm at salinity of 30 ppt. The results from this study indicated that salinity 20-30 ppt tea seed cake should be used at 15-20 ppm (24-32 kg/rai) for eradicating fish species while at lower salinity ranging from 0 to 5 ppt tea seed cake at 25-30 ppm (40-48 kg/rai) should be used. These dosages of tea seed cake are safe for *L. vannamei* postlarvae.

Keyword : Acute toxicity, Tea seed cake, Nile tilapia, seabass, Pacific white shrimp

E-mail address: bowlice@hotmail.com

¹ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ 10900

Aquaculture Business Research center, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok Campus, Bangkok 10900

คำนำ

อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งของประเทศไทยทำเงินรายได้เข้าประเทศปีละหลายหมื่นล้านบาท โดยเฉพาะกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ในปัจจุบันนี้ หลังจากกรมประมงได้อนุญาตให้มีการนำเข้ามาเลี้ยงในปี พ.ศ. 2545 ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่การเลี้ยงกุ้งกุลาดำกำลังประสบปัญหากุ้งโตช้า ทำให้เกษตรกรส่วนใหญ่ประสบปัญหาขาดทุน ในขณะเดียวกันเกษตรกรบางส่วนได้ทดลองเลี้ยงกุ้งขาว และได้ผลค่อนข้างดี เกษตรกรจึงหันมาเลี้ยงกุ้งขาวกันมากขึ้น (ชลอและพรเลิศ, 2547) เนื่องจากการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีการเลี้ยงแบบพัฒนา โดยปล่อยกุ้งลงเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นสูง (intensive) มีการจัดการในด้านการควบคุมคุณภาพน้ำ, อาหาร และการป้องกันโรคในระหว่างการเลี้ยง

นอกจากปัญหาเรื่องการเกิดโรคในระหว่างการเลี้ยงแล้ว ยังมีปัญหาอื่นๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องกับโรค แต่มีผลกระทบต่อผลผลิตได้แก่ การที่มีปลาชนิดต่างๆ เข้าไปเจริญเติบโตในบ่อกุ้ง จึงทำให้ผลผลิตกุ้งต่ำกว่าเป้าหมาย และเสียค่าใช้จ่ายเป็นค่าอาหารสูงขึ้น เนื่องจากปลาเหล่านี้จะไปแย่งอาหารกุ้งที่ในบ่อ และปลาบางชนิดกินลูกกุ้งอีกด้วย (จิราภรณ์, 2533)

ในการเลี้ยงกุ้งโดยทั่วไปนั้น เกษตรกรนิยมใช้กากชา เพื่อกำจัดปลาในการเตรียมน้ำก่อนปล่อยลูกกุ้ง และในระหว่างการเลี้ยงกุ้ง เนื่องจากความเป็นพิษของสารซาโปนินในกากชา ที่มีต่อปลาที่มีเลือดสีแดงจากฮีโมโกลบิน ซึ่งซาโปนินสามารถเข้าสู่กระแสเลือด และทำลายเม็ดเลือดแดงได้ แต่มีความเป็นพิษต่อกุ้งซึ่งมีเลือดสีฟ้าจากฮีโมไซยานินน้อยมาก ดังนั้น กากชาจึงมีพิษต่อปลามากกว่ากุ้งมาก จากผลการศึกษาความเป็นพิษของซาโปนินในกากชาต่อปลาน้ำจืดและกุ้งก้ามกราม พบว่า กุ้งก้ามกรามมีความทนทานต่อพิษของซาโปนินมากกว่าปลาน้ำจืดหลายเท่า (สมพงษ์, 2517, จารุพรรณ, 2520 และนิตยา, 2523,) นอกจากนั้น ซาโปนินยังเป็นสารที่สลายตัวได้ง่าย และไม่สะสมในร่างกายของคนและสัตว์เลี้ยง (ประพันธ์, 2524)

เนื่องจากในบ่อเลี้ยงกุ้งมีความเค็มของน้ำแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับสถานที่และฤดูกาล ดังนั้นจึงสมควรที่จะศึกษาประสิทธิภาพของกากชาในสภาพน้ำที่มีความเค็มแตกต่างกัน ต่อความเป็นพิษของปลาที่มักจะมีในบ่อเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม เพื่อใช้เป็นแนวทางแนะนำแก่เกษตรกร สำหรับนำไปใช้ในการเตรียมน้ำก่อนปล่อยลูกกุ้ง ให้มีความเหมาะสมกับสภาวะความเค็มต่างๆต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสัตว์ทดลอง

1.1 นำปลานิล จำนวน 3,000 ตัว ขนาดความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร มาปรับสภาพในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 500 ลิตร ที่บรรจุน้ำจืด ความเค็ม 0 พีพีที ปริมาตร 400 ลิตร จำนวน 3 ถัง ใส่ปลาถังละ 1,000 ตัว เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นปรับความเค็มในแต่ละถัง ให้ได้ระดับความเค็มที่ต้องการ โดยถังแรกคงความเค็มไว้ที่ 0 พีพีที ส่วนถังที่ 2 ปรับความเค็มให้เป็น 5 พีพีที และส่วนถังที่ 3 ปรับความเค็มให้เป็น 10 พีพีทีโดยใช้เวลาในการปรับความเค็ม 7 วัน และมีการให้อาการอย่างพอเพียง แล้วจึงนำไปทำการทดลอง

1.2 นำปลากะพงขาว จำนวน 4,000 ตัว ขนาดความยาวประมาณ 2 นิ้ว มาปรับสภาพในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 500 ลิตร ที่บรรจุน้ำความเค็ม 20 พีพีที ปริมาตร 400 ลิตร จำนวน 4 ถัง ใส่ปลาถังละ 1,000 ตัว เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นปรับความเค็มในแต่ละถัง ให้ได้ระดับความเค็มที่ต้องการ โดยถังแรกคงความเค็มไว้ที่ 20 พีพีที ส่วนถังที่ 2 เพิ่มความเค็มให้เป็น 30 พีพีที ส่วนถังที่ 3 ปรับความเค็มลดลงเหลือ 10 พีพีที และส่วนถังที่ 4 ปรับความเค็มลดลงเหลือ 0 พีพีที โดยใช้เวลาในการปรับความเค็ม 7 วัน และมีการให้อาการอย่างพอเพียง แล้วจึงนำไปทำการทดลอง

1.3 นำกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาร์วา 10 (พี 10) จากโรงเพาะฟักเอกชน ประมาณ 1,000 ตัว มาปรับสภาพในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 500 ลิตร ที่บรรจุน้ำปริมาตร 400 ลิตร ที่มีความเค็ม 30 พีพีที เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำไปทำการทดลอง

การเตรียมสารละลายกากชา

ละลายกากชาที่มีสารออกฤทธิ์ชาโปนิน 13 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนัก 10 กรัม ต่อน้ำกลั่น 10 ลิตร โดยจะได้สารที่มีความเข้มข้น 1000 ppm เพื่อใช้เป็นสารละลายตั้งต้น (stock solution) ก่อนนำสารละลายกากชามาใช้จะทำการกรองก่อน

1. การศึกษาพิษเฉียบพลันของกากชาที่ทำให้ปลาตาย ที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 0, 5 และ 10 พีพีที ตายครั้งหนึ่งภายใน 72 ชั่วโมง (72-hour LC₅₀)

นำปลานิลจากการปรับสภาพในข้อที่ 1.1 มาทดลองเพื่อหาค่าความเข้มข้นของกากชาที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลาที่กำหนดที่ 72 ชั่วโมง โดยใช้วิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง (static bioassay) โดยเติมสารเคมีในระดับความเข้มข้นที่ต้องการเพื่อเริ่มต้นการทดลองเพียงครั้งเดียวเท่านั้น

การทดลองประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ

การทดลองขั้นต้น (range finding test) เพื่อหาระดับความเข้มข้นช่วงกว้างๆ คือระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้ปลานิลตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ทำให้ปลานิลมีชีวิตรอด 100 เปอร์เซ็นต์ภายใน 72 ชั่วโมง โดยใช้สัตว์ทดลองลงไปไหลแก้วทรงกลมใบละ 10 ตัว หลังจากนั้น ใส่กากชาที่มีความเข้มข้นต่างๆ ในไหลทดลอง ที่ใส่น้ำความเค็ม 0, 5 และ 10 พีพีที ใบละ 4 ลิตร แต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 3 ซ้ำ สังเกตและบันทึกผลจำนวนสัตว์ทดลองที่ตายภายใน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง และนำค่าความเข้มข้นที่ได้ไปจัดระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทดลองอย่างละเอียดต่อไป

การทดลองอย่างละเอียด (definitive test) เป็นการทดลองเพื่อจัดระดับความเข้มข้น ซึ่งอยู่ในช่วงที่ปลานิลทั้งหมด และมีชีวิตรอดทั้งหมดจากการทดลองขั้นต้น เพื่อหาระดับความเข้มข้นของกากชาที่ทำให้ปลานิลตายครั้งหนึ่งภายในเวลา 72 ชั่วโมง โดยการนำผลจากการทดลองขั้นต้น มาจัดระดับความเข้มข้นออกเป็น 5 ระดับ แต่ละระดับทำการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้สัตว์ทดลอง 10 ตัว ตลอดจนการทดลองจะให้อากาศเพื่อป้องกันการขาดออกซิเจน สังเกตลักษณะอาการและบันทึกจำนวนสัตว์ทดลองที่ตายในเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง โดยใช้เกณฑ์ตัดสินว่าสัตว์ทดลองตายจากการหยุดเคลื่อนไหว (Throp and Lake, 1974) เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองนำเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของสัตว์ทดลองในแต่ละระดับความเข้มข้น ไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) ในเวลา 72 ชั่วโมง ตามวิธีของ Litchfield and Wilcoxon (1949).

2. การศึกษาพิษเฉียบพลันของกากชาที่ทำให้ปลากะพงขาว ที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 0, 10, 20 และ 30 พีพีที ตายครั้งหนึ่งภายใน 72 ชั่วโมง (72-hour LC₅₀)

นำปลากะพงขาวจากการปรับสภาพในข้อที่ 1.2 มาทำการทดลองขั้นต้นและการทดลองอย่างละเอียด เช่นเดียวกับการทดลองในข้อที่ 1 โดยใช้ความเค็ม 0, 10, 20 และ 30 พีพีที

3. การศึกษาพิษเฉียบพลันของกากชา ที่ทำให้ลูกกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 5, 15 และ 30 พีพีที ตายครั้งหนึ่งภายใน 48 ชั่วโมง (48-hour LC₅₀)

นำลูกกุ้งขาวแวนนาไมจากการปรับสภาพในข้อที่ 1.3 มาทำการทดลองขั้นต้นและการทดลองอย่างละเอียด เช่นเดียวกับการทดลองในข้อที่ 1 โดยใช้ความเค็ม 5, 15 และ 30 พีพีที

ผลและวิจารณ์ผล

1. การศึกษาพิษเฉียบพลันของกากชาที่ทำให้ปลานิล ที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 0, 5 และ 10 พีพีที ตาย ครึ่งหนึ่งภายใน 72 ชั่วโมง (72-hour LC₅₀)

จากผลการทดลองขั้นต้น พบว่า ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของกากชา ที่ทำให้ปลานิลตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และ ระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่ทำให้ปลานิลตายที่ 72 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็มต่างกัน 0, 5 และ 10 พีพีที มีค่าเท่ากับ 20-30, 15-23 และ 5-15 พีพีเอ็ม ตามลำดับ เมื่อนำความเข้มข้นดังกล่าวมาจัดระดับความเข้มข้นใหม่ตามสัดส่วน ลอการิทึม เพื่อใช้ในการทดลองขั้นละเอียด 6 ระดับ ที่ความเค็ม 10 พีพีที จะได้ค่าดังต่อไปนี้ 5, 6.23, 7.76, 9.67, 12.04 และ 15 พีพีเอ็ม อัตราการตายสะสมที่ 72 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0, 13.33, 23.33, 63.33, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเค็ม 5 พีพีที จะได้ค่าความเข้มข้นของกากชา 15, 16.34, 17.8, 19.38, 21.11, และ 23 พีพีเอ็ม ตามลำดับ หลังจาก 72 ชั่วโมง อัตราการตายสะสมเท่ากับ 0, 30, 46.67, 76.67, 90 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และที่ระดับความเค็ม 0 พีพีที ความเข้มข้นของกากชา 6 ระดับที่ทดลองมีค่าเท่ากับ 20, 21.69, 23.52, 25.51, 27.66 และ 30 พีพีเอ็ม ส่วนอัตราการตายสะสมที่ 72 ชั่วโมง คือ 0, 6.67, 13.33, 23.33, 56.67 และ 100 เปอร์เซ็นต์

เมื่อนำค่าเปอร์เซ็นต์อัตราการตายสะสมที่ 72 ชั่วโมง ไปวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของกากชาที่ทำให้ปลานิล ตายครึ่งหนึ่ง ที่ 72 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็มต่างกัน 0, 5 และ 10 พีพีที ผลที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 พบว่าค่า LC₅₀ ของ กากชา ที่ระดับความเค็ม 0 พีพีที มีค่ามากที่สุด และที่ระดับความเค็ม 5, 10 พีพีที มีค่าน้อยลง ตามลำดับ ซึ่งแสดงได้ว่า ความเค็มมีผลต่อความเป็นพิษของกากชา ยิ่งที่ระดับความเค็มสูง ความเป็นพิษของกากชาก็จะสูงตามไปด้วย ความ เเค็มของน้ำที่เพิ่มขึ้น จะทำให้พิษของสาหร่ายไปนินรุนแรงขึ้น เนื่องจากสาหร่ายมีสูตรโครงสร้างใกล้เคียงกับสารกลุ่ม Cardioglycoside ซึ่งมีผลต่อการลำเลียงโซเดียมของสัตว์น้ำ และเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้น สัตว์น้ำสูญเสียการปรับสมดุล ในร่างกายเร็วกว่าเมื่ออยู่ในน้ำที่มีความเค็มต่ำ (ประพันธ์, 2524, Deetae, 1979 อ้างโดย ธนาภรณ์, 2524)

ประสิทธิภาพของกากชา ที่ฆ่าปลานิลตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 30 พีพีเอ็ม ที่ ระดับความเค็ม 0 พีพีที และที่ระดับความเค็ม 5 และ 10 พีพีที มีค่าเท่ากับ 23 และ 15 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ค่าความเป็น พิษเฉียบพลันของกากชา ในระดับความเข้มข้นที่ทำให้ปลานิลตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 96 ชั่วโมง (96-hour LC₅₀) ที่ ระดับความเค็ม 0 พีพีที มีค่าเท่ากับ 26.51 พีพีเอ็ม และที่ระดับความเค็ม 5 และ 10 พีพีที มีค่าเท่ากับ 17.90 และ 9.04 พี พีเอ็ม ตามลำดับ

ค่า 72-hour LC₅₀ ของกากชาต่อปลานิลจากการทดลองในครั้งนี้ มีความสอดคล้องกับ จารุพรรณ (2520) ได้ รายงานว่า พิษของสาหร่ายไปนินที่สกัดจากกากชา ความเข้มข้น 4 ppm. จะฆ่าปลานิลได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 24 ชั่วโมง โดยที่เมื่อนำค่าความเข้มข้นของสาหร่ายไปนินที่สกัดจากกากชา 4 ppm. มาเทียบจาก 13 เปอร์เซ็นต์ ของสาหร่าย ไปนินที่มีอยู่ในกากชาที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ ก็จะได้ความเข้มข้น 32.5 ppm. ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการทดลองครั้งนี้

Table 1 The 72-hr LC₅₀ of tea seed cake on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at salinity 0, 5 and 10 ppt

Salinity (ppt)	LC ₅₀ (ppm)	Lower limit at 95% (ppm)	Upper limit at 95% (ppm)
0	26.51	24.95	28.57
5	17.90	17.42	18.39
10	9.04	8.46	9.67

การสังเกตพฤติกรรมของปลานิลหลังได้รับกากชา ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน พบว่า ปลานิลในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับกากชา จะมีการว่ายน้ำปกติในโหลทดลอง ส่วนปลานิลที่ได้รับกากชาในระดับที่เพิ่มมากขึ้น จะมีการว่ายน้ำที่ช้าลง ปลาจะหายใจถี่ขึ้น สังเกตจากมีการเปิดปิดของ operculum มากขึ้น และในที่สุดจะตายลอยอยู่บริเวณผิวน้ำ เนื่องจากการใช้เครื่องให้อากาศ และปลาที่ตายบางส่วนจะอยู่บริเวณพื้นโหลทดลอง ปากจะอ้า และ operculum จะเปิด

2. การศึกษาพิษเฉียบพลันของกากชาที่ทำให้ปลากะพงขาว ที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 0, 10, 20 และ 30 พีพีที ตายครั้งหนึ่งใน 72 ชั่วโมง (72-hour LC₅₀)

จากผลการทดลองขั้นต้น พบว่า ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของกากชา ที่ทำให้ปลากะพงขาวตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่ทำให้ปลากะพงขาวตายที่ 72 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็มต่างกัน 0, 10, 20 และ 30 พีพีที มีค่าเท่ากับ 7-11, 5-11, 3-9 และ 1-7 พีพีเอ็ม ตามลำดับ เมื่อนำความเข้มข้นดังกล่าวมาจัดระดับความเข้มข้นใหม่ตามสัดส่วนลอการิทึม เพื่อใช้ในการทดลองขั้นละเอียด 6 ระดับ ที่ความเค็ม 30 พีพีที จะได้ค่าดังต่อไปนี้ 1, 1.48, 2.18, 3.21, 4.74 และ 7 พีพีเอ็ม อัตราการตายสะสมที่ 72 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0, 16.67, 33.33, 60, 86.67 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเค็ม 20 พีพีที จะได้ค่าความเข้มข้นของกากชา 3, 3.74, 4.66, 5.8, 7.23 และ 9 พีพีเอ็ม ตามลำดับ หลังจาก 72 ชั่วโมง อัตราการตายสะสมเท่ากับ 0, 23.33, 50, 63.33, 73.33 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความเค็ม 10 พีพีที ความเข้มข้นของกากชา 6 ระดับที่ทดลอง มีค่าเท่ากับ 5, 5.85, 6.85, 8.02, 9.4 และ 11 พีพีเอ็ม ส่วนอัตราการตายสะสมที่ 72 ชั่วโมง คือ 0, 13.33, 26.67, 40, 63.33 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และที่ระดับความเค็ม 0 พีพีที ค่าความเข้มข้นของกากชา มีค่าเท่ากับ 7, 7.66, 8.39, 9.18, 10.05 และ 11 พีพีเอ็ม ส่วนอัตราการตายสะสมที่ 72 ชั่วโมง คือ 0, 10, 33.33, 40, 60 และ 100 เปอร์เซ็นต์

เมื่อนำค่าเปอร์เซ็นต์อัตราการตายสะสมที่ 72 ชั่วโมง ไปวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของกากชาที่ทำให้ปลากะพงขาวตายครั้งหนึ่ง ที่ 72 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็มต่างกัน 0, 10, 20 และ 30 พีพีที ผลที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2 พบว่า ค่า LC₅₀ ของกากชา ที่ระดับความเค็ม 0 พีพีที มีค่ามากที่สุด และที่ระดับความเค็ม 10, 20, 30 พีพีที มีค่าน้อยลงตามลำดับ ซึ่งแสดงได้ว่า ความเค็มมีผลต่อความเป็นพิษของกากชา ยิ่งที่ระดับความเค็มสูง ความเป็นพิษของกากชา ก็จะสูงตามไปด้วย

ประสิทธิภาพของกากชา ที่ฆ่าปลากะพงขาวตายหมด 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 11 พีพีเอ็ม ที่ระดับความเค็ม 0 พีพีที ส่วนที่ระดับความเค็ม 10, 20 และ 30 พีพีที มีค่าเท่ากับ 11, 9 และ 7 พีพีเอ็ม ตามลำดับ และค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของกากชา ในระดับความเข้มข้นที่ทำให้ปลานิลตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 96 ชั่วโมง

(96-hour LC_{50}) ที่ระดับความเค็ม 0 พีพีที มีค่าเท่ากับ 9.24 พีพีเอ็ม และที่ระดับความเค็ม 10, 20 และ 30 พีพีที มีค่าเท่ากับ 8.10, 5.09 และ 2.67 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

การสังเกตพฤติกรรมของปลากะพงขาวหลังได้รับกากชา ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน พบว่า ปลากะพงขาวที่ไม่ได้รับกากชา จะมีการว่ายน้ำปกติในโหลทดลอง ส่วนปลากะพงขาวที่ได้รับความเข้มข้นของกากชาที่สูงขึ้น จะมีการว่ายน้ำที่ช้าลง มีการเปิดปิดของ operculum มากขึ้น และเมื่อตายบางตัวจะลอยอยู่บริเวณผิวน้ำ และบริเวณพื้นโหลทดลอง ปากจะอ้า และ operculum จะเปิด

Table 2 The 72-hr LC_{50} of tea seed cake on seabass (*Lates calcarifer*) at salinity 0, 10, 20 and 30 ppt

Salinity (ppt)	LC_{50} (ppm)	Lower limit at 95% (ppm)	Upper limit at 95% (ppm)
0	9.24	8.96	9.54
10	8.10	7.69	8.57
20	5.09	4.71	5.50
30	2.67	2.37	3.01

เมื่อเปรียบเทียบพิษเฉียบพลันของกากชาต่อปลานิลและปลากะพงขาว พบว่า การที่ปลากะพงขาวซึ่งใช้เป็นตัวแทนของปลาน้ำกร่อย มีความทนทานต่อกากชาได้น้อยกว่าปลานิล ซึ่งเป็นปลาน้ำจืด อาจเนื่องมาจากความเค็มของน้ำทะเลเข้ามาเกี่ยวข้อง (Deetae, 1979) และอาจจะเป็นเนื่องจากความแตกต่างของการปรับสมดุลของน้ำและเกลือแร่ของปลาน้ำจืดและปลาน้ำกร่อย (Richard, 1976)

ซึ่งพฤติกรรมของปลานิล และปลากะพงขาว ในขณะที่สภาพแวดล้อมปกติ จะมีการว่ายน้ำปกติในโหลทดลอง แต่หลังจากที่ได้รับกากชา ปลาจะมีปฏิกิริยาตอบสนอง โดยจะมีการว่ายน้ำเร็วขึ้น และมีการเปิด-ปิด ของ operculum ที่มากขึ้น ซึ่งสารชาไปนินก่อให้เกิดความระคายเคืองต่อผิว mucus membrane (Sollman, 1964; Anon, 1968) mucus cell หรือเซลล์ต่อมเมือกจึงสร้างและขับเมือกออกมามาก อัตราการเปิด-ปิดกระพุ้งแก้มเร็วขึ้น ประมาณและประไฟสิริ (2520) ให้เหตุผลว่าเพื่อดึงเอาออกซิเจนจากน้ำไปใช้ให้มากที่สุด ดังนั้นอาการเปิด-ปิดกระพุ้งแก้มเร็วขึ้นที่ปรากฏกับปลาทั้ง 2 ชนิด จึงน่าจะแสดงถึงภาวะที่ต้องการออกซิเจน ทั้งนี้การขาดออกซิเจน อาจเนื่องมาจากสารชาไปนิน มีคุณสมบัติทำให้เม็ดเลือดแดงแตก (haemolysis) (Alstead, 1938; Sollmann, 1964; Chopra *et al.*, 1965) ปริมาณเม็ดเลือดแดงจึงลดน้อยลงไม่เพียงพอที่จะขนส่งออกซิเจนไปยังเซลล์ต่างๆของร่างกายได้

3. การศึกษาพิษเฉียบพลันของกากชาที่ทำให้กุ้งขาวแวนนาไม ที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 30 พีพีที ตายครั้งหนึ่งใน 48 ชั่วโมง (48-hour LC_{50})

การทดลองในขั้นต้น พบว่าระดับความเข้มข้นต่ำสุดของกากชา ที่ทำให้กุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วา 10 ตาย 100 เปอร์เซ็นต์ คือ 650 พีพีเอ็ม และระดับความเข้มข้นสูงสุดของกากชา ที่ไม่ทำให้ลูกกุ้งขาวตาย คือ 100 พีพีเอ็ม ที่ 48 ชั่วโมง เมื่อนำความเข้มข้นดังกล่าวมาจัดระดับช่วงความเข้มข้นตามสัดส่วนลอการิทึม เพื่อใช้ในการทดลองขั้นละเอียด 6 ระดับ เพื่อหาความเข้มข้นของกากชาที่ทำให้กุ้งขาวตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 48 ชั่วโมง ได้เป็น 100, 145.41, 211.43, 307.43, 447.02 และ 650 พีพีเอ็ม

การตายของลูกกุ้งขาวแวนนาไม แสดงไว้ในตารางที่ 3 หลังจากเดิมกากชา พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ไม่พบการตายของลูกกุ้งตลอดการทดลอง ที่ระดับความเข้มข้น 145.41 พีพีเอ็ม เริ่มมีลูกกุ้งตายในช่วง 24 ชั่วโมงแรก 13.33 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 211.43 พีพีเอ็ม อัตราการตายสะสมของลูกกุ้ง เป็น 13.33 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 307.43 พีพีเอ็ม อัตราการตายสะสมของลูกกุ้งเป็น 23.33 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 447.02 พีพีเอ็ม อัตราการตายสะสมของลูกกุ้งเป็น 43.33 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้น 650 พีพีเอ็ม อัตราการตายสะสมของลูกกุ้งเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

พฤติกรรมกรรมการตายของลูกกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับกากชา ที่ทุกระดับความเข้มข้น ในช่วง 24 ชั่วโมงแรก บางส่วนยังคงมีพฤติกรรมปกติ แต่มีบางส่วนที่ตายที่บริเวณพื้นภาชนะทดลอง ไม่มีปฏิกิริยาตอบสนองเมื่อเชี่ยด้วยวัตถุ และบางตัวจะเปลี่ยนสีเป็นสีขาวขุ่นต่อมา ระดับความเข้มข้นของกากชาที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด ทำให้ลูกกุ้งขาวมีเปอร์เซ็นต์ตายสะสมคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง การที่ไม่ปรากฏการตายต่อไปอีก อาจเนื่องมาจากสาหร่ายไปนินเป็นสารที่สลายตัวได้เร็ว และลดความเป็นพิษลงเรื่อยๆ (Lennon *et al.*, 1970; Anon, 1978) จนอยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อลูกกุ้งขาวแวนนาไม ซึ่ง บุญลือ (2500) รายงานว่า สาหร่ายไปนินเป็นสารที่สลายตัวง่าย ความเป็นพิษจึงหมดไปเร็ว ซึ่งการเสื่อมพิษของสาหร่ายไปนินที่สกัดจากกากชา จะเริ่มเสื่อมพิษในเวลา 7 วัน และความเป็นพิษจะหมดไปประมาณ 14 วัน (ประพันธ์, 2518) แต่มีบางรายงานเสนอว่า สาหร่ายไปนินจะสลายตัวในระยะเวลา 2-3 วัน (Anon, 1978)

Table 3 Cumulative mortality of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) after exposure to tea seed cake at salinity 30 ppt for 48 hours

Concentration of tea seed cake (ppm)	Duration (hrs)	Replication			Total	Average	Percent
		1	2	3			
0 (control)	24	0	0	0	0	0	0
	48	0	0	0	0	0	0
100	24	0	0	0	0	0	0
	48	0	0	0	0	0	0
145.41	24	1	1	2	4	3.33	13.33
	48	1	1	2	4	3.33	13.33
211.43	24	2	1	1	4	3.33	13.33
	48	2	1	1	4	3.33	13.33
307.43	24	2	2	3	7	2.33	23.33
	48	2	2	3	7	2.33	23.33
447.02	24	5	4	4	28	4.33	43.33
	48	5	4	4	28	4.33	43.33
650	24	10	10	10	30	10	100
	48	10	10	10	30	10	100

จากตารางที่ 3 พบว่า เมื่อนำอัตราการตายของลูกกุ้งที่ได้รับกากชา ที่ 48 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ มาคำนวณหาค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง ตามวิธีของ Finney (1971) มีค่าเท่ากับ 416.14 (371.63 – 460.66) พีพีเอ็ม ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่ นิตยา (2523) รายงานว่า ค่า LC_{50} ของสาหร่ายไปนินต่อกุ้งก้ามกราม ที่ 24 ชั่วโมง คือ 108 ppm.

สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษานี้พบว่า กากชามีความเป็นพิษต่อปลามากกว่ากุ้ง นอกจากนี้ความเป็นพิษของกากชาเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเค็มเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นของกากชาที่เหมาะสมในการกำจัดปลาที่ระดับความเค็ม 20-30 พีพีเอ็ม เท่ากับ 15-20 พีพีเอ็ม (24-32 กิโลกรัม/ไร่) ส่วนในน้ำจืด ควรใช้ในปริมาณ 25-30 พีพีเอ็ม (40-48 กิโลกรัม/ไร่) โดยกากชาที่ระดับ

ความเข้มข้นนี้จะไม่เป็นอันตรายต่อลูกกุ้งขาวแวนนาไม ซึ่งมีความสอดคล้องกับที่ ธนาภรณ์ (2524) รายงานว่า กากชาที่มีการแนะนำเพื่อใช้กำจัดปลาในบ่อกุ้งนั้น จะใช้ในปริมาณความเข้มข้น 10-25 ppm. หรือ 1.1 ppm. ของชาไปนิน

การใช้กากชาในบ่อกุ้งนั้น Minsalan and Chiu (1985) ได้แนะนำว่า ควรมีการลดระดับน้ำก่อนใช้กากชา เพื่อประหยัดปริมาณกากชาที่จะใช้ และเพื่อเจือจางความเข้มข้นของกากชาในบ่อ เพราะถึงแม้ว่ากากชาจะมีการสลายตัวได้ในเวลา 12 ชั่วโมง แต่การสลายตัวก็ดำเนินไปอย่างช้าๆ

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- จารุพรรณ สุขกฤต. 2520. **ระดับความเข้มข้นของสารชาไปนิน โรติโนนและไซเตียมไฮยาไนด์ที่เป็นพิษต่อปลาช่อน ปลาดุก และปลานิล.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จิราภรณ์ ไตรศักดิ์. 2533. **ระยะเวลาการลอกคราบของกุ้งกุลาดำขนาดต่างๆ และการทดลองกระตุ้นการลอกคราบ โดยการเปลี่ยนน้ำ การปรับความเค็ม การตัดก้านตา และการใช้กากชา.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชลอ ลิ้มสุวรรณ และ พรเลิศ จันทวีรัชกุล. 2547. **อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย.** สนับสนุนการจัดการพิมพ์โดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เพื่อเฉลิมพระเกียรติ พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดช เนื่องในวโรกาสพระราชพิธีมหามงคลเฉลิม พระชนมพรรษา 5 ธันวาคม พ.ศ. 2547. บริษัทเมจิคพับลิเคชั่น จำกัด.
- ธนาภรณ์ จิตตบาลพงศ์. 2524. **พิษของชาไปนินที่มีต่อสัตว์.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นิตยา สุระพัฒน์. 2523. **พิษของสารชาไปนินที่มีต่อกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) ขนาดต่างๆ และปลาน้ำจืดบางชนิด.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- บุญลือ สมบุญวงศ์. 2520. การใช้ “แต่จีโคว” กำจัดศัตรูในบ่อปลา. **วารสารประมง** 10:153-154.
- ประพันธ์ ธารบุปผา. 2524. **การศึกษาและการทดลองค้นคว้าการใช้เมล็ดกากชากำจัดศัตรูกุ้ง.** เอกสารวิชาการฉบับที่ 6/2524. ฝ่ายทดลองและวิจัยเพื่อการเพาะเลี้ยง, กองประมงน้ำจืด, กรมประมง, กรุงเทพฯ. 15 น.
- ยนต์ มุสิก. 2530. **การใช้ชาไปนินจากเมล็ดชากำจัดปลาในบ่อเลี้ยงกุ้งก้ามกราม.** คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 11 น.
- สมพงษ์ สุวรรณทศ. 2517. **การทดลองใช้กากชาในบ่อเลี้ยงกุ้งก้ามกราม.** รายงานกองบำรุงพันธุ์สัตว์น้ำ. กรมประมง.
- APHA, AWWA and AWCA. 1995. **Standard Methods for Examination Water and Wastewater.** 20th ed. United Book Press, Maryland.
- Finney, D.J. 1971. **Probit Analysis.** Third edition Cambridge University.
- Litchfield, J.T. and F.W. Wilcoxon. 1949. A simplified method of evaluation dose-effect experiments. **J. Pharm. And Exp. Therap.** 96 : 99-115.
- Minsalan, C.L.O. and Y.N. Chiu. 1986. Effect of tea seed cake on selective elimination of finfish in shrimp ponds, *In: Maclean J.L., L.B. Dizon and L.V. Hosillos. (ed). The first asian fisheries forum: (pp. 79-82). Manila: Philippins.*
- Terazaki, M., P. Tharnbuppa and Y. Nakayama. 1980. Eradication of predatory fishes in shrimp farms in utilization of Thai tea seed. **Aquaculture** 19: 235-242.