DEVELOPMENT OF BOTANICAL FORMULATIONS FOR INDOOR PEST CONTROL

NITIN CHAUHAN

CENTRE FOR RURAL DEVELOPMENT AND TECHNOLOGY

INDIAN INSTITUTE OF TECHNOLOGY DELHI

JULY 2017

DEVELOPMENT OF BOTANICAL FORMULATIONS FOR INDOOR PEST CONTROL

by

NITIN CHAUHAN

Centre for Rural Development and Technology

Submitted

In fulfilment of the requirements of the degree of doctor of philosophy

to the

INDIAN INSTITUTE OF TECHNOLOGY DELHI

JULY 2017

CERTIFICATE

This is to certify that the thesis entitled "**DEVELOPMENT OF BOTANICAL FORMULATIONS FOR INDOOR PEST CONTROL**" being submitted by **Mr. Nitin Chauhan** to the Indian Institute of Technology Delhi for the award of "**Doctor of Philosophy**" is a record of bonafide research work carried out by him. He has worked under our guidance and supervision and has fulfilled the requirements for the submission of this thesis. To the best of our knowledge the results contained in this thesis have not been submitted in part or full to any other university or institute for award of any degree or diploma.

(Dr. Anushree Malik)
Professor

Centre for Rural Development and Technology
Indian Institute of Technology Delhi
New Delhi- 110016

(Dr. Satyawati Sharma)
Professor

Centre for Rural Development and Technology
Indian Institute of Technology Delhi
New Delhi- 110016

ACKNOWLEDGEMENTS

This is a great pleasure to thank everyone who have helped me during the course of my Ph.d. I owe sincere and earnest thankfulness to my supervisors Prof. Anushree Malik and Prof. Satyawati Sharma whom I cannot emphasize enough how privileged I was to have as my supervisors. I was really inspired working under their guidance, stimulating original thinking, critical analysis and enthusiasm to visualise and resolve complex challenges of research. The patience, affection, and continuous support that I received from my supervisors during thesis writing can't be expressed in words. In fact it was beyond my imagination to have such highly dedicated mentors for my Ph.D without which the completion of this work would not have possible.

I would also like to thanks Dr. R. C Dhiman (NIMR, ICMR) for providing me an opportunity to work in highly advanced institute on malaria research (NIMR, ICMR). I am extremely privileged and grateful for his candid suggestions during my Ph.D.

I extend my heartfelt thanks to Prof. Santosh Satya and Prof. S. N. Naik, CRDT (IITD), for scientific inputs and generous suggestions for completion of this work. I also like to thank Prof. V. K. Vijay, Head CRDT (IITD) for providing necessary support to carry out my research work. My sincere gratitude to all the faculty members, laboratory and office staff of CRDT for sharing their time and making my experience that much better and fruitful.

I would also like to express my sincere thanks to Prof. Hitendra K. Malik (Dept. of Physics, IITD) for moral support and kind encouragement. I am extremely privileged and grateful to the experts of KVIC interface projects, Prof. R. R Gaur, Prof. P.L. Dhar and Prof. M. R Ravi for helping in laying the foundation of socially relevant research work.

Facilities availed from Central Research Facility (CRF), Nano Research facility (IIT Delhi), AIRF (JNU) and SAIF, AIIMS are gratefully acknowledged. Support provided by the people

from village (Sirsali, U.P), Slums/semi-urban areas in NCR for participation in product testing and providing useful feedback are really appreciable and acknowledgeable.

These acknowledgements would not be complete without mentioning my former lab colleagues; Dr. Peeyush, Dr. Sapna, Dr. Amit, Dr. Prachi, Dr. Sanjeev, Dr. Pushap and my current lab members; Mr. Deepak, Mr. Arghya, Mr. Pushpendar, Ms. Priyadarshini, Ms. Poonam, Dr. Megha, Ms. Farhat, Ms. Shweta, Ms. Farah, Mr. Rupobrata, Mr. Sumit, Mr. Sharad and Ms. Ashu. It was a great pleasure working with them and I appreciate their ideas, help and good humor. Special thanks goes to Mr. Sabal, Mr. Vinod and Mr. Satendar for providing necessary assistance during my course of research.

Finally, my deepest appreciation to my family, my guru "Sri Sri Ravi Shankar" and all the people who directly and indirectly helped and supported me during my journey of Ph.D.

Now, this is not the end. It is not even the beginning of the end. But it is, perhaps, the end of the beginning.

Nitin Chauhan

ABSTRACT

Indoor environment is often inhabited by housefly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) and mosquitoes associated with vectoring of various harmful pathogens especially in rural/semi-urban areas. The present study utilized some plant extracts i.e., *Jatropha curcas* (Malpighiales: Euphorbiaceae), *Datura stramonium* (Solanales: Solancea) and essential oils such as *Mentha piperita* (Lamiales: Lamiacea), *Eucalyptus globulus* (Myrtales: Myrtaceae), *Cymbopogan citratus* (Poacea: Poales), and *Citrus sinensis* (Myrtales: Myrtaceae) for evaluating the efficacy against housefly (*M. domestica*) and mosquito (*Anopheles stephensi*). The preliminary screening of plant extracts (*J. curcas* and *D. stramonium*) was carried out through larvicidal, pupicidal and adulticidal assays against housefly. The results indicated a superior insecticidal activity of hexane leaf extract of *J. curcas* with LC_{50} of 0.27, 8.88 and 3.0 mg/cm^2 against larval, pupal and adult stages of housefly, respectively. The chemical analysis (GC-MS) of *J. curcas* hexane leaf extract revealed the presence of trans-phytol (60 %) and squalene (28 %) as the major components responsible for efficient anti-housefly activity. Further, the aqueous *J. curcas* leaf extract was utilised for the synthesis of silver nanoparticles (Jc-AgNps) which showed significant larvicidal (LC_{50}: 9 mg/ml), pupicidal (LC_{50}: 12.7 mg/ml) and adulticidal (LC_{50}: 17.5 mg/ml) activity against *M. domestica.* The larvicidal assay of Jc-AgNps showed the LC_{50} of 1.02 ppm against *A. stephensi*. Moreover, the microscopic (SEM, TEM and AFM) and other analytical techniques (Zeta potential, DLS, FTIR, XRD, UV-vis) established the stability and nano size (43 nm) with spherical shape and smooth surface of developed Jc-AgNps.

The efficiency of essential oils and blends was studied using larvicidal and repellency activities against *M. domestica*, and larvicidal assay against *A. stephensi*. *M. piperita* was found to be the most effective larvicidal agent against *M. domestica* and *A. stephensi* with LC_{50} values of 0.66 µl/cm2 and 44.66 ppm, respectively, after 48 h. Addition of mentha oil

to other oils (*C. citratus*, *E. globulus*a and *C. sinensis*) improved their larvicidal activity. The repellency of adult housefly in lab studies showed superior activity of *M. piperita* (RC_{95}: 0.009 µl/cm^2) and (70:30) blend of *M. piperita* + *C. citratus* (RC_{95}: 0.009 µl/cm^2). Incidentally, the selected blend (*M. piperita*+ *C. cymbopogan*; 70:30) of essential oils was more acceptable by the users due to pleasant aroma as compared to a single oil. The GC-MS analysis showed the presence of active components such as menthol and menthone in *M. piperita* oil, whereas *C. citratus* oil was found to contain citral as main component.

On the basis of results obtained from various bioassays and also from user's feedback, different essential oil based formulations (herbal mat, stick or *dhoopbatti*, emulsion and vaporiser) were developed with different usage options suiting the feasibility of the users in both rural and urban/semi urban areas. The products were tested successfully in lab and pilot/semi field levels, with appreciable protection efficacy and time (up-to 4- 8 h). Under semi enclosed set ups (rural kitchens, ~ 6 m^3), results showed slight variation in repellency for herbal mat (60 ± 5 %), *dhoopbatti* (50 ± 5 %), vaporiser (70 ± 5 %) and O/W emulsion (100 ml: 55± 5 %) against adult housefly. On the other hand, the enclosed indoor setup (10×10 ft.) for mosquitoes repellency showed the repellency pattern as, mat: 85 ± 5 %; *dhoopbatti*: 80 ± 5 %; vaporiser: 95 ± 5 %; emulsion: 90 ± 5 %. The economic analysis of developed formulation was also performed in order to visualise the market potential for their commercialisation. Besides, post field testing, people's feedback on performance of products was very encouraging indicating general acceptance for regular use.

सारांश

अन्तर्वासी वातावरण प्रयातः मक्खियों (*Musca domestica L)* एवं मच्छरों के प्रकोप से प्रभावित रहता है। यह घरेलू कीट आमतौर पर ग्रामीण एवं अर्ध-नगरीय क्षेत्रों में विभिन्न प्रकार की बीमारियों के कारक है। प्रस्तुत अध्ययन में विविध वनस्पतिकअवयवों जैसे: *Jatropha curcas* (Malpighiales: Euphorbiaceae), *Datura stramonium* (Solanales: Solancea) एवं सगंध तेल जैसे: *Mentha piperita* (Lamiales: Lamiacea), *Eucalyptus globulus* (Myrtales: Myrtaceae), *Cymbopogan citratus* (Poacea: Poales), एवं *Citrus sinensis* (Myrtales: Myrtaceae) की कीट विरोधी क्षमता का आकलन किया गया। प्रारम्भिक प्रयोग में *J. curcas* और *D. stramonium* का प्रभाव मक्खियों के विभिन्न अवस्थाओं जैसे: लार्वा, प्युपे एवं एडल्ट पर जांचा गया। परिणामो से सिद्ध हुआ की *J. curcas* की पत्तियों का हेक्सेन उद्धरण अन्य अवयवों में सबसे श्रेष्ठतर है। *J. curcas* का LC_{50} मान लार्वा, प्युपे एवं एडल्ट पर 0.27, 8.88 एवं 3 mg/ml पाया गया। हेक्सेन उद्धरण के रासायनिक विश्लेषण में transphytol और squalene जैसे घटक अधिक मात्रा में पाए गए जो की मक्खियों के नियंत्रण में लाभकारी है। आगामी अध्यनन में *J.curcas* की पत्तियों को सिल्वर धातु के नैनो कड़ो के निर्माण हेतु उपयोग में लाया गया। परीक्षणो से सिद्ध हुआ की *J.curcas* की पत्तिया बहुत ही कुशलता से सिल्वर धातु के नैनो कड़ो को बना सकती है जो की मक्खियों की विभिन्न अवस्थाओं को सुगमता से नियंत्रित कर सकते है। LC_{50} मान दर्शाते है की सिल्वर धातु के नैनो कढ मक्खियों के लार्वा (9 mg/ml), प्युपे (12.7 mg/ml), एडल्ट (17.5 mg/ml) एवम *A. stephensi* के लार्वा (1.02 ppm) को बहुत ही सार्थकता से नियंत्रित कर सकते है। सिल्वर के नैनो कड़ो के सफल परीक्षण के पश्चात, आगे की कार्यवाही में सूक्ष्मदर्शी उपकरण जैसे: SEM, TEM, AFM एवं अन्य विश्लेषणात्मक उपकरण जैसे: Zeta potential, DLS, FTIR, XRD, UV-vis का उपयोग किया गया। परीक्षणो से यह ज्ञात हुआ की सिल्वर धातु के कढ़

गोल आकर के साथ-साथ अतिसूक्ष्म (43 nm) स्तर के है। तथ्य यह भी दर्शाते है की विकसित सूक्ष्म (नैनो) कढ़ श्लिलषाभीय (colloidal) अवस्था में स्थायित्व (stable) रहने में पूरी तरह से सक्षम है।

आगामी अन्वेषणो में सगंध तेलों की क्षमता का विश्लेषण किया गया, जिसके अंतर्गत चुने गए तेलों का प्रभाव घरेलू कीटो के विकर्षण एवं विभिन्न अवस्थाओं पर कीटनाशक प्रभाव के रूप में देखा गया। *M. piperita* सगंध तेल, अन्य सभी अमिश्रित एवं संयोजित तेलों की अपेक्षा अधिक दक्ष पाया गया। *M. domestica* एवं *A. stephensi* के लारवे का LC_{50} मान 48 घंटो के उपरान्त, 0.66µl/cm^{2}और 44.66 ppm पाया गया। आगामी अध्ययन में पाया गया की *M. piperita* का अन्य तेलों के साथ संयोजन उनकी कीटनाशक क्षमता में वृद्धि करने में भी उपयोगी है। विकर्षण परीक्षणों में *M. piperita* (RC_{95}: 0. 009 µl/cm^2) एवं (70:30) *M. piperita+ C. citratus* (RC_{95}: 0. 009 µl/cm^2) सगंध तेल अन्य सभी अमिश्रित एवं संयोजित तेलों की अपेक्षा श्रेष्ठ सिद्ध हुऐ। किये गए घरेलु उपयोगो के बाद उपयोगकर्ताओ ने *M. piperita+C. citrates* की सुगंध को *M. piperita* से ज्यादा पसंद किया। रासायनिक विश्लेषण में *M. piperita* तेल में menthol एवं menthone जबकि *C. citratus* में citral जैसे घटको की उपस्थिति का स्पष्टीकरण हुआ।

विभिन्न कीट विरोधी परीक्षणो एवं उपयोगकर्ताओं की परेशानियों और उनकी प्रतिक्रिाओं पर सोच विचार कर विविध प्रकार के सूत्रीकरणो की कल्पना एवं उत्थान पर कार्य शुरू किया गया। अनेको प्रयोगात्मक प्रयासों के पश्चात्, घरेलू कीट विरोधी हर्बल उत्पाद जैसे Mat, *Dhoopbatti*, Emulsion एवं Vaporiser की संरचना की गई, जो की ग्रामीण एवं अर्ध-नगरीय क्षेत्रों के उपभोक्ताओं की सहजता और सुगमता पर आधारित थी। विकसित किये गए हर्बल उत्पादो की संरक्षण क्षमता (4 - 6 घंटे) विविध लघु रूपी कक्षों एवं विभिन्न घरेलू क्षेत्रों (ग्रामीण, अर्ध-शहरी, शहरी) में सफलतापूर्वक देखी गई। ग्रामीण रसोई घरो (6 m^3) में मक्खियों पर किये गए परीक्षणों में हर्बल उत्पाद जैसे Mat (60±5 %), *Dhoopbatti* (50± 5 %),

Emulsion (55± 5 %) एवं Vaporizer (70±5 %) की उत्तम विकर्षण क्षमता का स्पष्टीकरण हुआ। वही दूसरी ओर, मच्छरों पर अन्तर्वासी विकर्षण परीक्षणों में भी Mat (85± 5 %), *Dhoopbatti* (80± 5 %), Emulsion (95± 5 %) एवं Vaporizer (95± 5 %) अत्यंत लाभकारी सिद्ध हुऐ। विकसित उत्पादो के व्यापारीकरण एवं पहले से उपलब्ध उत्पादों से तुलनात्मक अध्ययन के लिए सभी हर्बल उत्पादों का आर्थिक विश्लेषण भी प्रस्तुत अनुसंधान कार्य में किया गया है। विकसित हर्बल उत्पादों की दक्षता, उपभोक्ताओं द्वारा किये गए घरेलू परीक्षण पर प्रतिपुष्टि एवं स्वीकृति अत्यन्त सराहनीय और संतोषजनक पाई गयी।

Contents **Page no.**

List of Figures

List of Tables