

ผลและการวิจารณ์

1. การคัดเลือกสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp.

ผลของการศึกษาเบื้องต้นเพื่อคัดเลือกสารสกัดสมุนไพรด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ จำนวน 31 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 100 เปอร์เซ็นต์ ในการยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. ที่คัดแยกได้จากกุ้งกุลาดำที่ป่วยเป็นโรคได้แก่ *V. harveyi* 6 สายพันธุ์ (*V. harveyi* 01, *V. harveyi* 02, *V. harveyi* 03, *V. harveyi* 04, *V. harveyi* 05, *V. harveyi* 06) *V. alginolyticus* 2 สายพันธุ์ (*V. alginolyticus* 01 และ *V. alginolyticus* 02) และ *V. parahaemolyticus* 2 สายพันธุ์ (*V. parahaemolyticus* 01 และ *V. parahaemolyticus* 02) โดยวัดความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) จากการทดสอบด้วยวิธี well assay (ภาพที่ 1)

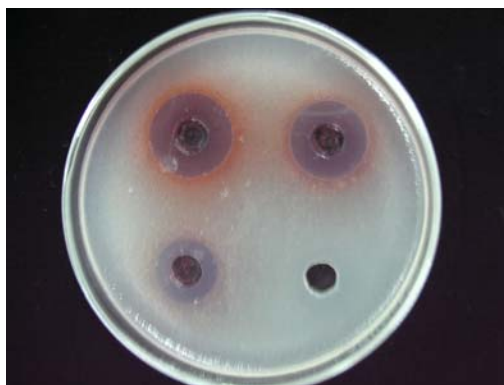
ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่าสารสกัดสมุนไพรสามารถยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. ได้ทั้งหมด 9 สายพันธุ์ ยกเว้น *V. harveyi* 03 ส่วนสารสกัดฝางเสนสามารถยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. ได้ทั้งหมด 9 สายพันธุ์เช่นกัน แต่ยกเว้น *V. parahaemolyticus* 01 รองลงมาคือใบพลู สามารถยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. ได้ทั้งหมด 8 สายพันธุ์ ลูกใต้ใบสามารถยับยั้งได้ 7 สายพันธุ์ ส่วนเจตมูลเพลิงและลูกสลอดสามารถยับยั้งการเติบโตได้ 5 สายพันธุ์ ต้นเลี้ยวชะเอมเทศ และไพลสามารถยับยั้งการเติบโตได้ 3 สายพันธุ์ ใบกระวานและเทียนขาวสามารถยับยั้งการเติบโตได้ 2 สายพันธุ์ ฝอยทอง ใบมะขามแขก พิลังกาสา และมะตูม สามารถยับยั้งการเติบโตได้เพียง 1 สายพันธุ์

สารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์มีประสิทธิภาพยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. ได้เกือบทุกสายพันธุ์แล้ว ยังสามารถยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่น ได้แก่ *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Sato *et al.*, 1998, Farrukh *et al.*, 2004), *Salmonella* และ *Shigella* (Phadke and Kulkarni, 1989) นอกจากสารสกัดสมุนไพรจะสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้แล้วนั้น ยังสามารถยับยั้งไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคริม (Taylor, 1996)

ในทำนองเดียวกันสารสกัดฝางเสนนอกจากจะสามารถยับยั้ง *Vibrio* spp. ได้แล้วยังสามารถยับยั้ง *S. aureus* (MRSA) (Kim *et al.*, 2004) ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดฝางเสนมีสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ตัวอย่างเช่น ฝางเสนมีสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม



(a)



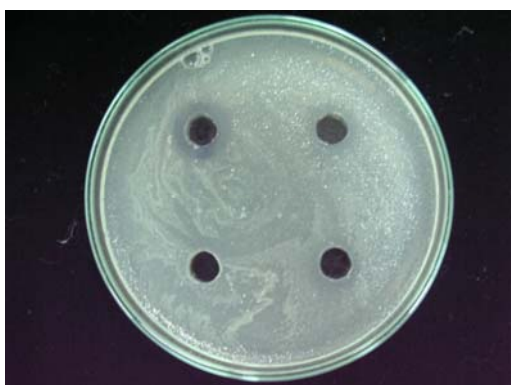
(b)



(c)



(d)



(e)

ภาพที่ 1 ผลของสารสกัดสมุนไพรที่ยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio harveyi* 02

(a) สมอไทย

(b) ฟางเสน

(c) ลูกใต้ใบ

(d) ใบพลู

(e) เจตมูลเพลิง

homoflavonoids ที่มีผลต่อการยับยั้ง *Beauveria bassiana* ซึ่งเป็นเชื้อราที่ก่อโรค (Niranjan *et al.*, 2003) และแก่นไม้ฝางเสนจะมีสารพวก brazilin ซึ่งสามารถยับยั้งการเติบโตของ *S. aureus* ได้ (Fuke *et al.*, 1985) นอกจากนี้ฝางเสนยังมีสาร saponin ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อโรคได้เช่นกัน (โครงการสมุนไพรเพื่อพึ่งพาตัวเอง, 2539) แต่ยังไม่มียางงานการศึกษาศาสตร์สกัดฝางเสนในการยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp.

สารสกัดใบพลูมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Vibrio* spp. ได้เป็นอันดับรองลงมาจากสมอไทยและฝางเสน โดยจะพบว่าสารสกัดใบพลูสามารถยับยั้งการเติบโตของ *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* และยังสามารถยับยั้ง *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *S. stearothermophilus* และ *P. fluorescens* (Jenie *et al.*, 2001) นอกจากนี้สารสกัดใบพลูที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์สามารถยับยั้งการเติบโตของ *Aspergillus* sp. (Dutta *et al.*, 1998; Khilare and Gangawane, 1997)

สารสกัดลูกใต้ใบสามารถยับยั้งการเติบโต *Vibrio* spp. ได้แก่ *V. alginolyticus* และ *V. parahaemolyticus* และ *V. harveyi* ได้เพียง 3 สายพันธุ์เท่านั้น ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ สดาวพรและคณะ (2539) ที่พบว่าสารสกัดจากลูกใต้ใบมีผลในการยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากกุ้งที่ป่วยเป็นโรค

สารสกัดเจตมูลเพลิงสามารถยับยั้ง *Vibrio* spp. ได้เพียง 5 สายพันธุ์ นอกจากนี้มีการศึกษาของ Pongpan *et al.* (1982) พบว่าสารสกัดเจตมูลเพลิงยังสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิด ได้แก่ *S. aureus*, *B. subtilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Candida albicans*, *S. Typhi* และ *Shigella flexneri* ได้

จากผลการทดลองนี้จะเห็นว่าสารสกัดสมุนไพรหลายชนิดสามารถยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียในแต่ละสายพันธุ์ได้แตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณสารประกอบสำคัญที่มีอยู่ในสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดมีมากน้อยแตกต่างกัน สมุนไพรหลายชนิดไม่สามารถยับยั้ง *Vibrio* spp. แม้แต่สายพันธุ์เดียว ซึ่งได้แก่ กวาวเครือ ลูกกระวาน หญ้าหนวดแมว ระย่อม ดอกจันทร์ ดิปลี พิชนายักษ์ แก่นขนุน และใบสาบเสือ ซึ่งสาเหตุที่สารสกัดจากสมุนไพรดังกล่าวไม่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. นั้นส่วนหนึ่งอาจจะมาจากวิธีการที่ใช้ในการสกัดสารจากสมุนไพรนั้นอาจจะไม่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ออกจากสมุนไพร ดังนั้นจึงควรเลือกวิธีการสกัดที่มีความเหมาะสมในการสกัด ส่วนสารสกัดจากต้นเลี้ยว ชะเอมเทศ

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพสารสกัดจากสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. โดยวิธี well assay

สมุนไพร	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (เซนติเมตร $\pm$ S.D. ^a)									
	VH 01	VH 02	VH 03	VH 04	VH 05	VH 06	VA 01	VA02	VP 01	VP02
สมอไทย	2.43 $\pm$ 0.11	3.05 $\pm$ 0.21	-	3.78 $\pm$ 0.04	3.65 $\pm$ 0.14	3.45 $\pm$ 0.07	3.55 $\pm$ 0.04	3.18 $\pm$ 0.04	2.58 $\pm$ 0.07	3.5 $\pm$ 0.00
ฝรั่ง	1.90 $\pm$ 0.14	3.03 $\pm$ 0.04	1.85 $\pm$ 0.21	2.85 $\pm$ 0.07	2.13 $\pm$ 0.18	2.98 $\pm$ 0.04	3.03 $\pm$ 0.04	2.58 $\pm$ 0.04	-	2.68 $\pm$ 0.04
ใบพลู	-	2.88 $\pm$ 0.41	-	3.78 $\pm$ 0.04	3.58 $\pm$ 0.11	3.45 $\pm$ 0.07	3.20 $\pm$ 0.07	1.73 $\pm$ 0.04	3.00 $\pm$ 0.00	2.83 $\pm$ 0.11
ลูกใต้ใบ	1.85 $\pm$ 0.00	1.55 $\pm$ 0.07	-	-	-	1.53 $\pm$ 0.04	1.58 $\pm$ 0.04	2.55 $\pm$ 0.11	1.7 $\pm$ 0.07	1.53 $\pm$ 0.04
เจตมูลเพลิง	-	2.20 $\pm$ 0.00	-	1.9 $\pm$ 0.00	-	-	2.33 $\pm$ 0.04	-	1.90 $\pm$ 0.00	1.78 $\pm$ 0.18
ลูกสลอด	-	-	-	1.63 $\pm$ 0.04	1.45 $\pm$ 0.07	1.58 $\pm$ 0.04	1.83 $\pm$ 0.04	1.70 $\pm$ 0.07	-	-
ต้นเลี้ยว	-	1.40 $\pm$ 0.00	-	1.85 $\pm$ 0.07	-	-	1.83 $\pm$ 0.04	-	-	-

สัญลักษณ์ VH 01 = *V. harveyi* 01, VH 02 = *V. harveyi* 02, VH 03 = *V. harveyi* 03, VH 04 = *V. harveyi* 04, VH 05 = *V. harveyi* 05, VH 06 = *V. harveyi* 06, VA 01 = *V. alginolyticus* 01, VA 02 = *V. alginolyticus* 02, VP 01 = *Vibrio parahaemolyticus* 01, VP 02 = *V. parahaemolyticus* 02

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่ยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรีย
a หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

ตารางที่ 2 (ต่อ) ประสิทธิภาพสารสกัดจากสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. โดยวิธี well assay

สมุนไพร	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (เซนติเมตร± S.D. ^a)									
	VH 01	VH 02	VH 03	VH 04	VH 05	VH 06	VA 01	VA02	VP 01	VP02
ฝอยทอง	-	-	1.85±0.00	-	-	-	-	-	-	-
ชะเอมเทศ	-	-	-	-	-	1.55±0.04	1.53±0.04	1.38±0.04	-	-
กวาวเครือ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ลูกกระวาน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบกระวาน	-	-	-	-	-	-	2.45±0.07	1.78±0.04	-	-
หญ้าหนวดแมว	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ระย่อม	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ดอกจันทน์	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

สัญลักษณ์ VH 01 = *V. harveyi* 01, VH 02 = *V. harveyi* 02, VH 03 = *V. harveyi* 03, VH 04 = *V. harveyi* 04, VH 05 = *V. harveyi* 05, VH 06 = *V. harveyi* 06, VA 01 = *V. alginolyticus* 01, VA 02 = *V. alginolyticus* 02, VP 01 = *Vibrio parahaemolyticus* 01, VP 02 = *V. parahaemolyticus* 02

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่ยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรีย
a หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

ตารางที่ 2 (ต่อ) ประสิทธิภาพสารสกัดจากสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. โดยวิธี well assay

สมุนไพร	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (เซนติเมตร $\pm$ S.D. ^a)									
	VH 01	VH 02	VH 03	VH 04	VH 05	VH 06	VA 01	VA02	VP 01	VP02
ดีป्ली	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบมะขามแขก	-	-	-	-	-	-	2.13 $\pm$ 0.18	-	-	-
พิศนัยก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เทียนขาว	-	-	-	-	-	1.55 $\pm$ 0.04	2.00 $\pm$ 0.00	-	-	-
แก่นขนุน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ไพล	-	-	-	1.55 $\pm$ 0.07	-	1.53 $\pm$ 0.04	1.53 $\pm$ 0.04	-	-	-
พิลังกาส	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.30 $\pm$ 0.00
ใบสาบเสือ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

สัญลักษณ์ VH 01 = *V. harveyi* 01, VH 02 = *V. harveyi* 02, VH 03 = *V. harveyi* 03, VH 04 = *V. harveyi* 04, VH 05 = *V. harveyi* 05, VH 06 = *V. harveyi* 06, VA 01 = *V. alginolyticus* 01, VA 02 = *V. alginolyticus* 02, VP 01 = *Vibrio parahaemolyticus* 01, VP 02 = *V. parahaemolyticus* 02

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่ยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรีย
a หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

ตารางที่ 2 (ต่อ) ประสิทธิภาพสารสกัดจากสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. โดยวิธี well assay

สมุนไพร	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (เซนติเมตร $\pm$ S.D. ^a)									
	VH 01	VH 02	VH 03	VH 04	VH 05	VH 06	VA 01	VA02	VP 01	VP02
ทองพันชั่ง	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
พญาขอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบแค	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
หญ้าแห้วหมู	-	-	-	-	-	-	1.78 $\pm$ 0.04	-	-	-
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
บานไม่รู้โรย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
มะตูม	-	-	-	-	-	-	1.55 $\pm$ 0.21	-	-	-

สัญลักษณ์ VH 01 = *V. harveyi* 01, VH 02 = *V. harveyi* 02, VH 03 = *V. harveyi* 03, VH 04 = *V. harveyi* 04, VH 05 = *V. harveyi* 05, VH 06 = *V. harveyi* 06, VA 01 = *V. alginolyticus* 01, VA 02 = *V. alginolyticus* 02, VP 01 = *Vibrio parahaemolyticus* 01, VP 02 = *V. parahaemolyticus* 02

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่ยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรีย
a หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

ใบกระวาน ไพล เทียนขาว ฝอยทอง ใบมะขามแขก พิลังกาสา และมะตูมสามารถยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. ได้บางสายพันธุ์ ซึ่งอาจเนื่องมาจากช่วงเวลาของการเก็บเกี่ยวสมุนไพรนั้นไม่เหมาะสมจึงทำให้ปริมาณสารประกอบสำคัญที่มีในพืชนั้นมีปริมาณน้อยลง รวมถึงแหล่งที่ปลูกและสภาพภูมิอากาศ ก็มีผลต่อปริมาณสารประกอบสำคัญที่มีในสมุนไพรด้วย

ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดหยาบสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพสูงสุดที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. ได้มากที่สุด 5 ชนิดแรก ได้แก่ สมอไทย ฝรั่ง เสน ไบพลู ลูกใต้ใบ และเจตมูลเพลิง เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง *V. harveyi* 02

2. ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (Minimum Inhibitory Concentrations ; MICs) ของสารสกัดหยาบสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp.

จากผลการศึกษาในข้อ 1 พบว่า สมอไทย ฝรั่ง เสน ไบพลู ลูกใต้ใบและเจตมูลเพลิง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. เกือบทุกสายพันธุ์ จึงนำมาทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด โดยทำการทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 ซึ่งเป็นเชื้อที่มีผลทำให้เกิดการระบาดของโรคเรื้อรังในกุ้งกุลาดำและกบปัญหาหนักที่สุด ผลการทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 ซึ่งมีปริมาณเชื้อ 10^6 cfu/ml ดังแสดงในตารางที่ 3 และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอไทย ลูกใต้ใบ เจตมูลเพลิง ฝรั่ง เสน และไบพลู มีค่าเท่ากับ 2.5, 2.5, 5.0, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม) ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของสมุนไพรในการยับยั้ง *V. harveyi* 02 แตกต่างกัน ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเพื่อยับยั้งการเติบโตจะขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ ตัวอย่างเช่น สารสกัดจากไบพลูสามารถยับยั้ง *V. harveyi* 02 ได้อย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 20 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม) และสามารถยับยั้ง *E. coli*, *S. aureus*, *S. Typhi* และ *Lactobacillus* sp. โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ในขณะที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 500-1,500 ไมโครกรัมต่อ

มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเติบโตของ *S. Typhimurium*, *L. pentosus* ST10-1 และ *S. Derby* (วาทีนิ, 2546)

สำหรับสารสกัดสมอไทยมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Helicobacter pylori* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด มีค่าเท่ากับ 0.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 0.150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถฆ่า *H. pylori* ได้ เมื่อนำสารสกัดสมอไทยไปผ่านกระบวนการทำไรเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง *H. pylori* มีค่าเท่ากับ 0.150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่า *H. pylori* มีค่าเท่ากับ 0.175 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมอไทยเป็นสารที่มีสมบัติในการทนความร้อนและมีความเป็นไปได้อีกในการนำไปใช้เป็นยารักษาโรค (Malekzadeh *et al.*, 2001) นอกจากนี้ สารสกัดสมอไทยยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) และ methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดนี้มีค่าอยู่ในช่วง 1.3 – 8.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Farrukh *et al.*, 2005)

ผลการศึกษาของ Kim *et al.* (2004) แสดงความสามารถของสารสกัดจากฝางเสนในการยับยั้งการเติบโตและการแพร่กระจายของ methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ในเมือกเยื่อของในร่างกายคน และพบว่าสารสกัดฝางเสนด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่ำสุดอยู่ในช่วง 20-80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเติบโตและการแพร่กระจายของ methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

การศึกษาสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้ง *Vibrio* spp. ที่แยกได้จากกุ้งกุลาดำที่มีอาการป่วยเป็นโรค ผลการทดลองพบว่ามีสมุนไพร 2 ชนิด คือ มะระขี้นกและใบฝรั่ง ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดมะระขี้นกและใบฝรั่ง พบว่าปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งกุลาดำ เท่ากับ 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (สถาพร และคณะ, 2539)

ตารางที่ 3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรที่ยับยั้ง *V. harveyi* 02

ความเข้มข้นสารสกัดสมุนไพร เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (เซนติเมตร $\pm$ S.D. ^a)						
	80	40	20	10	5	2.5	1.25
สมอ	1.95 $\pm$ 0.00	1.95 $\pm$ 0.07	1.80 $\pm$ 0.00	1.75 $\pm$ 0.14	1.55 $\pm$ 0.07	1.53 $\pm$ 0.04	-
ฝรั่ง	2.00 $\pm$ 0.00	1.90 $\pm$ 0.14	1.45 $\pm$ 0.35	1.20 $\pm$ 0.00	-	-	-
ลูกใต้ใบ	2.23 $\pm$ 0.31	2.00 $\pm$ 0.35	1.85 $\pm$ 0.21	1.53 $\pm$ 0.04	1.20 $\pm$ 0.00	1.08 $\pm$ 0.04	-
ใบพลู	1.75 $\pm$ 0.07	1.38 $\pm$ 0.04	1.08 $\pm$ 0.04	-	-	-	-
เจตมูลเพลิง	2.15 $\pm$ 0.00	1.75 $\pm$ 0.07	1.57 $\pm$ 0.04	1.35 $\pm$ 0.07	1.23 $\pm$ 0.04	-	-

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่ยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรีย

a หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

3. ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (Minimum Inhibitory Concentrations ; MICs) ของสารสกัดสมุนไพรที่ยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. โดยวิธี broth dilution

ในการทดลองนี้ได้เลือกสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพสูงสุด 2 ชนิด ได้แก่ สมอไทย และฝางเสน เพื่อศึกษาความสามารถของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. ในอาหาร nutrient broth ผสมโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยกำหนดให้ปริมาณเริ่มต้นของ *V. harveyi* 02 เท่ากับ 10^4 cfu/ml และ 10^6 cfu/ml

3.1 ผลการทดสอบการยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^4 cfu/ml

ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4 พบว่าสารสกัดสมอไทยสามารถยับยั้ง *V. harveyi* 02 ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 0.625 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร) ส่วนสารสกัดฝางเสนสามารถยับยั้ง *V. harveyi* 02 ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 1.25 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร) สามารถควบคุม *V. harveyi* 02 ได้ดี และพบว่าที่ 48 ชั่วโมงจากการเพาะเลี้ยงปริมาณ *V. harveyi* 02 เหลือน้อยกว่า 10^2 cfu/ml เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าเชื้อสามารถเติบโตได้และมีปริมาณเชื้อ 3.05×10^8 cfu/ml ในทำนองเดียวกันการทดสอบการเพาะเลี้ยงเชื้อในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ นั้นพบว่าสารสกัดจากสมอไทยและฝางเสนจะสามารถยับยั้ง *V. harveyi* 02 ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 0.010 และ 0.039 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5 หลังจากเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบชุดการทดลองที่เติมสารสกัดสมุนไพรกับกลุ่มควบคุมพบว่าเชื้อในกลุ่มควบคุมสามารถเจริญได้ปริมาณ 4.00×10^5 cfu/ml ขณะที่ชุดการทดลองที่เติมสารสกัดสมุนไพรสามารถควบคุมปริมาณ *V. harveyi* 02 ได้น้อยกว่า 10^2 cfu/ml หลังจากเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 4 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอไทยและฝรั่งในการยับยั้ง *V. harveyi* 02 (10^4 cfu/ml) โดยวิธี broth dilution ในอาหาร nutrient broth ผสมโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์

ความเข้มข้นสมุนไพรร เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร)		ปริมาณ <i>V. harveyi</i> 02 (cfu/ml)				
		เวลา (ชั่วโมง)				
		0	12	24	36	48
สมอไทย	0.156	3.45×10^4	1.95×10^7	1.61×10^9	2.14×10^9	1.47×10^8
	0.313	6.05×10^4	3.29×10^7	1.32×10^9	5.35×10^9	1.50×10^7
	0.625	5.92×10^4	-	-	-	-
	1.250	4.58×10^4	-	-	-	-
	2.500	5.06×10^4	-	-	-	-
ฝรั่ง	0.156	3.65×10^4	1.86×10^7	4.70×10^9	1.68×10^9	1.19×10^8
	0.313	4.35×10^4	1.75×10^7	3.60×10^9	2.10×10^9	6.40×10^7
	0.625	4.90×10^4	2.00×10^4	1.11×10^7	3.20×10^8	6.00×10^8
	1.250	6.75×10^4	-	-	-	-
	2.500	5.54×10^4	-	-	-	-
กลุ่มควบคุม	0.000	3.55×10^4	2.02×10^7	3.40×10^7	1.57×10^9	3.05×10^8

หมายเหตุ - หมายถึง ปริมาณเชื้อน้อยกว่า 10^2 cfu/ml ที่ระดับความ เจือจาง 10 เท่า

ตารางที่ 5 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอไทยและฝรั่งในการยับยั้ง *V. harveyi* 02 (10^4 cfu/ml) โดยวิธี broth dilution ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์

ความเข้มข้นสมุนไพร เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร)		ปริมาณ <i>V. harveyi</i> 02 (cfu/ml)				
		เวลา (ชั่วโมง)				
		0	12	24	36	48
สมอไทย	0.001	1.02×10^4	1.29×10^5	2.26×10^5	1.97×10^5	5.20×10^5
	0.002	1.06×10^4	8.80×10^4	1.78×10^5	2.57×10^5	2.80×10^5
	0.005	1.61×10^4	1.33×10^5	1.57×10^5	9.20×10^5	7.30×10^5
	0.010	1.21×10^4	1.17×10^4	-	-	-
	0.020	1.35×10^4	-	-	-	-
	0.039	2.44×10^4	-	-	-	-
	0.078	1.09×10^4	-	-	-	-
ฝรั่ง	0.005	1.61×10^4	3.40×10^4	1.68×10^5	4.10×10^5	4.00×10^5
	0.010	1.21×10^4	3.30×10^4	9.10×10^5	8.30×10^5	3.90×10^5
	0.020	1.35×10^4	2.30×10^4	4.00×10^4	5.20×10^5	5.30×10^5
	0.039	2.44×10^4	3.00×10^2	1.40×10^3	-	-
	0.078	1.09×10^4	4.00×10^2	-	-	-
	0.156	1.65×10^4	-	-	-	-
	0.313	2.00×10^4	-	-	-	-
	0.625	1.92×10^4	-	-	-	-
กลุ่มควบคุม	0.0000	1.24×10^4	2.06×10^4	8.60×10^4	4.50×10^5	4.00×10^5

หมายเหตุ - หมายถึง ปริมาณเชื้อน้อยกว่า 10^2 cfu/ml ที่ระดับความ เจือจาง 10 เท่า

จากผลการทดลองจะเห็นว่าเมื่อทำการทดสอบในอาหาร nutrient broth ผสมโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์นั้นค่าความเข้มข้นของสารสกัดสมอไทยที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 จะมีค่าสูงกว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจากในอาหาร nutrient broth มีสารอาหารที่เชื้อสามารถใช้ในการเติบโตได้ดี ทำให้มีปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้นจึงทำให้ต้องใช้ความเข้มข้นของสารสกัดมากขึ้น เพื่อไปยับยั้ง *V. harveyi* 02 สำหรับค่าความเข้มข้นของสารสกัดจากฝางเสนก็เป็นลักษณะเดียวกับสารสกัดจากสมอไทย เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรระหว่างสมอไทยและฝางเสน จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากสมอไทยมีประสิทธิภาพการยับยั้ง *V. harveyi* 02 โดยใช้ความเข้มข้นที่ต่ำกว่าสารสกัดจากฝางเสน จากการทดลองเติมสารสกัดสมุนไพรในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ทราบถึงความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดจากสมุนไพรไปใช้ยับยั้ง *V. harveyi* 02 ที่อยู่ในบ่อเลี้ยงกุ้ง

3.2 ผลการทดสอบการยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^6 cfu/ml

ทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 (10^6 cfu/ml) ของสารสกัดสมุนไพรในอาหาร nutrient broth ผสมโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยเลือกสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพสูงสุด 2 ชนิด ได้แก่ สมอไทย และฝางเสน ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6 และ 7 เมื่อทดสอบในอาหาร nutrient broth ผสมโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นต่ำสุดของสมอไทยและฝางเสนที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 มีค่าเท่ากับ 1.250 และ 2.50 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ จะเห็นว่าสารสกัดสมุนไพรทั้งสองชนิดสามารถควบคุมการเติบโตของ *V. harveyi* 02 ได้เกือบสมบูรณ์ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีปริมาณเชื้อมีค่า 1.22×10^9 cfu/ml หลังจากเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง และเมื่อทดสอบในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรสมอไทยและฝางเสน มีค่าเท่ากับ 0.156 และ 1.250 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าปริมาณ *V. harveyi* 02 สามารถเติบโตและให้ปริมาณเชื้อเท่ากับ 1.52×10^5 cfu/ml หลังจากเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าสารสกัดทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพออกฤทธิ์ยับยั้ง *V. harveyi* 02 ได้ทั้งในอาหาร nutrient broth ผสมโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์

จากผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร nutrient broth ผสมโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าค่าความเข้มข้นของสารสกัดสมอไทยและฝางเสนจะมีค่าสูงกว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจากในอาหาร nutrient broth ผสมโซเดียมคลอไรด์มีสารอาหารที่ส่งเสริมการเติบโตได้ดีกว่าในสารละลายโซเดียมคลอไรด์จึงต้องใช้ความเข้มข้นของสารสกัดสมอไทยและฝางเสนเพื่อไปยับยั้ง *V. harveyi* 02 สูงกว่าในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรระหว่างสมอไทยและฝางเสน จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากสมอไทยมีประสิทธิภาพการยับยั้ง *V. harveyi* 02 ได้ดีกว่าสารสกัดฝางเสนทั้งใน nutrient broth ผสมโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์และในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษาการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้ง *V. harveyi* 02 ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพและความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดจากสมุนไพรไปใช้ยับยั้ง *V. harveyi* 02 ที่อยู่ในบ่อเลี้ยงกุ้ง ซึ่งเป็นความเข้มข้นเกลือของการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่งต่อค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรคือ ปริมาณเริ่มต้นของ *V. harveyi* 02 ผลการทดลองพบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า เมื่อปริมาณเชื้อเริ่มต้นเพิ่มจาก 10^4 cfu/ml เป็น 10^6 cfu/ml ซึ่งเป็นปริมาณเชื้อที่พบการติดเชื้อในกุ้งกุลาดำ (Leano *et al.*, 1998)

4. ผลการศึกษาสารประกอบสำคัญในสมุนไพรที่ยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp.

4.1 ผลของชนิดตัวทำละลายต่อสารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Vibrio* spp.

ทำการสกัดสารจากสมอไทยและฝางเสนด้วยตัวทำละลายหลายชนิดโดยเรียงลำดับตามสภาพการมีขี้จากน้อยไปมาก (ศรีกาญจนา, 2541; Watt and Pretorius, 2000) คือ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตท เมทิลแอลกอฮอล์ และน้ำ เมื่อทำการสกัดแล้วจะนำมาระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยระบบสุญญากาศ ด้วยอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นำสารสกัดสมอไทยและฝางเสน มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 โดยวิธี well assay ผลการทดลองที่ได้แสดงในตารางที่ 8 จะสังเกตเห็นว่าสารสกัดสมอไทยและฝางเสนที่สกัด

ตารางที่ 6 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอไทยและฝรั่งในการยับยั้ง *V. harveyi* 02 (10^6 cfu/ml) โดยวิธี broth dilution ในอาหาร nutrient broth ผสมโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์

ความเข้มข้นสมุนไพรมะนาว เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร)		ปริมาณ <i>V. harveyi</i> 02 (cfu/ml)				
		เวลา (ชั่วโมง)				
		0	12	24	36	48
สมอไทย	0.156	8.80×10^6	5.45×10^9	6.85×10^9	8.45×10^9	3.45×10^8
	0.313	8.90×10^6	4.75×10^9	7.90×10^9	7.70×10^9	5.35×10^9
	0.625	9.06×10^6	2.35×10^9	5.60×10^9	6.25×10^9	1.49×10^9
	1.250	9.20×10^6	-	-	-	-
	2.500	8.46×10^6	-	-	-	-
	5.000	8.60×10^6	-	-	-	-
	10.00	9.01×10^6	-	-	-	-
	20.00	8.75×10^6	-	-	-	-
ฝรั่ง	0.156	9.75×10^6	8.00×10^9	8.00×10^9	3.45×10^9	5.00×10^8
	0.313	8.65×10^6	7.55×10^9	7.55×10^9	3.40×10^9	3.95×10^8
	0.625	9.30×10^6	7.75×10^9	7.75×10^9	3.05×10^9	4.85×10^8
	1.250	8.55×10^6	3.95×10^8	3.95×10^8	6.10×10^9	3.65×10^8
	2.500	9.40×10^6	-	-	-	-
	5.000	8.75×10^6	-	-	-	-
	10.00	8.60×10^6	-	-	-	-
	20.00	9.15×10^6	-	-	-	-
กลุ่มควบคุม	0.000	8.06×10^6	1.45×10^9	5.50×10^9	2.85×10^9	1.22×10^9

หมายเหตุ - หมายถึง ปริมาณเชื้อน้อยกว่า 10^2 cfu/ml ที่ระดับความเจือจาง 10 เท่า

ตารางที่ 7 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอไทยและฝรั่งในการยับยั้ง *V. harveyi* 02 (10^6 cfu/ml) โดยวิธี broth dilution ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์

ความเข้มข้นสมุนไพรมะนาว เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร)		ปริมาณ <i>V. harveyi</i> 02 (cfu/ml)				
		เวลา (ชั่วโมง)				
		0	12	24	36	48
สมอไทย	0.020	1.66×10^6	1.54×10^6	8.50×10^5	1.43×10^6	5.25×10^5
	0.039	1.53×10^6	1.65×10^5	1.40×10^6	2.75×10^5	1.85×10^5
	0.078	1.58×10^6	1.47×10^6	9.25×10^5	1.46×10^6	-
	0.156	1.60×10^6	-	-	-	-
	0.313	1.49×10^6	-	-	-	-
	0.625	1.49×10^6	-	-	-	-
	1.250	1.43×10^6	-	-	-	-
ฝรั่ง	0.156	1.44×10^6	1.18×10^6	6.25×10^5	2.05×10^5	1.95×10^5
	0.313	1.45×10^6	1.63×10^6	2.50×10^5	2.25×10^5	1.63×10^5
	0.625	1.41×10^6	8.70×10^5	3.75×10^4	6.90×10^4	1.16×10^5
	1.250	1.36×10^6	-	-	-	-
	2.500	1.60×10^6	-	-	-	-
	5.000	1.39×10^6	-	-	-	-
	10.00	1.58×10^6	-	-	-	-
	20.00	1.50×10^6	-	-	-	-
กลุ่มควบคุม	0.000	1.56×10^6	2.03×10^6	3.45×10^6	2.03×10^6	1.52×10^5

หมายเหตุ - หมายถึง ปริมาณเชื้อน้อยกว่า 10^2 cfu/ml ที่ระดับความ เจือจาง 10 เท่า

ด้วยเฮกเซนและคลอโรฟอร์มไม่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 แต่เมื่อสกัดสารด้วย เอทิลอะซิเตท เมทิลแอลกอฮอล์ และน้ำ สารสกัดที่ได้สามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในสมอและฝางเสน สามารถละลายได้ดีใน เอทิลอะซิเตท เมทิลแอลกอฮอล์ และน้ำ ทั้งนี้เนื่องจากตัวทำละลายดังกล่าวเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วซึ่งมีค่าสภาพของการมีขั้ว เท่ากับ 6.0, 33.0 และ 80.0 ตามลำดับ ซึ่งจัดว่าเป็นค่าสภาพการมีขั้วที่สูง และสารออกฤทธิ์สำคัญจัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (Yizhong *et al.*, 2004.)

สารสกัดสมอไทยที่สกัดด้วยเมทิลแอลกอฮอล์สามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02, *V. alginolyticus* 01, *V. parahaemolyticus* 02 ได้ และยังสามารถยับยั้ง *S. aureus*, *Enterococcus aerogenes* และ *C. Albicans* (Andrensek *et al.*, 2004) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดสมอไทยที่สกัดด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์นั้น มีผลในการยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็ง โดยทำการทดสอบกับหนูทดลอง ซึ่งสารออกฤทธิ์ที่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งนั้นเป็นสารในกลุ่มฟีนอลิกที่อยู่ในสารสกัดสมอไทย ได้แก่ กรดแกลลิก (gallic acid) เอทิลแกลเลท (ethyl gallate) ลูทีโอลิน (luteolin) และกรดแทนนิก (tannic acid) (Cai *et al.*, 2004; Kaur, 1998; Saleem *et al.*, 2002)

สารสกัดสมอไทยด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02, *V. alginolyticus* 01, *V. parahaemolyticus* 02 ได้ และยังพบว่าการสกัดสารจากสมอไทยด้วยน้ำ สามารถยับยั้งการเติบโตของ *B. subtilis* ATCC 6051, *Proteus vulgaris* ATCC 23564, *P. aeruginosa* ATCC 25619, *E. coli* K-12 และ *S. aureus* (Ahmad, 1998) นอกจากนี้จากการทดลองของ Jagtap and Karkera (1999) พบว่าการสกัดสารจากสมอไทยด้วยน้ำสามารถยับยั้ง *Streptococcus mutans* และแบคทีเรียที่พบในน้ำลายซึ่งมีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

สารสกัดฝางเสนที่สกัดด้วยเมทิลแอลกอฮอล์สามารถยับยั้ง *V. harveyi* 02, *V. alginolyticus* 01, *V. parahaemolyticus* 02 ได้ สอดคล้องกับการรายงานของ Kim *et al.* (2004) ว่าเมื่อทำการสกัดสารจากฝางเสนด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ บิวทานอล คลอโรฟอร์ม เมทิลแอลกอฮอล์ และน้ำ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดฝางเสนที่สกัดด้วยเมทิลแอลกอฮอล์นั้น สามารถยับยั้ง methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อเกิดโรคใน

คนและสามารถเจริญและแพร่กระจายในเมือกเยื่อภายในร่างกายคนและมีผลในการรักษาโรคเท้าเนื่องจากสามารถสกัดสาร neosappanone A ที่ใช้เป็นยาในการรักษา (Nguyen *et al.* 2004)

ตารางที่ 8 ผลของตัวทำลายต่อสารสกัดสมอไทยและฝางเสนที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp.

สมุนไพร	ตัวทำลาย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (เซนติเมตร) $\pm$ S.D. ^a		
		<i>V. harveyi</i> 02	<i>V. alginolyticus</i> 01	<i>V. parahaemolyticus</i> 02
สมอไทย	เฮกเซน	-	-	-
	คลอโรฟอร์ม	-	-	-
	เอทิลอะซิเตท	1.28 $\pm$ 0.04	1.33 $\pm$ 0.04	1.28 $\pm$ 0.04
	เมทิลแอลกอฮอล์	2.28 $\pm$ 0.11	2.68 $\pm$ 0.11	2.83 $\pm$ 0.18
	น้ำ	1.83 $\pm$ 0.04	2.18 $\pm$ 0.04	2.18 $\pm$ 0.25
ฝางเสน	เฮกเซน	-	-	-
	คลอโรฟอร์ม	-	-	-
	เอทิลอะซิเตท	1.58 $\pm$ 0.04	2.08 $\pm$ 0.04	2.18 $\pm$ 0.25
	เมทิลแอลกอฮอล์	2.25 $\pm$ 0.14	2.78 $\pm$ 0.04	3.02 $\pm$ 0.11
	น้ำ	1.45 $\pm$ 0.07	1.93 $\pm$ 0.04	2.15 $\pm$ 0.07

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02

a หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

ผลจากตารางที่ 8 จะเห็นว่าสารสกัดสมอไทยและฝางเสนที่สกัดด้วยเมทิลแอลกอฮอล์และน้ำจะสามารถยับยั้ง *V. harveyi* 02, *V. alginolyticus* 01, *V. parahaemolyticus* 02 ได้ ซึ่งสารสกัดสมอไทยที่สกัดด้วยเมทิลแอลกอฮอล์นั้นสามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดสมอไทยด้วยน้ำ โดยพิจารณาจากเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง ดังนั้นในการศึกษาหาสารออกฤทธิ์ที่มีในสารสกัดสมอไทยจึงนำสารสกัดสมอไทยและฝางเสนที่สกัดด้วยเมทิลแอลกอฮอล์มาทำการศึกษาด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดคอลัมน์ในการศึกษาขั้นต่อไป

4.2 การแยกสารประกอบสำคัญของสารสกัดสมอไทยที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี

4.2.1 ผลของการแยกสารประกอบสำคัญของสารสกัดสมอไทยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดคอลัมน์

นำสารสกัดจากสมอไทยและฝางเสนที่สกัดด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ (จากผลการทดลองที่ 4.1) มาศึกษาการแยกสารที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio* spp. ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดคอลัมน์ ซึ่งมีวัฏภาคคงที่คือ ซิลิกาเจล จี 60 (silica gel G 60) และวัฏภาคเคลื่อนที่ประกอบด้วย เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตท เมทิลแอลกอฮอล์ และน้ำ ตามลำดับ เก็บสารที่ถูกชะออกจากคอลัมน์ทุกๆ 50 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ตั้งแต่ความยาวคลื่นที่สามารถมองเห็นได้ (visible light) คือ 750-400 นาโนเมตร ถึงความยาวคลื่น 400-170 นาโนเมตร ในช่วงอุลตราไวโอเลต (ultraviolet light) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์แบบส่องกราด จากนั้นนำสารแต่ละลำดับส่วน (fraction) ที่มีสเปกตรัมเหมือนกันมารวมกัน (ภาคผนวก ข) เพื่อนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 ซึ่งแสดงผลในตารางที่ 9

ผลการยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 ด้วยสารสกัดสมอไทยที่ได้จากโครมาโทกราฟีชนิดคอลัมน์ จะพบว่าลำดับส่วนที่ 13-16 ที่ใช้เอทิลอะซิเตทและเมทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวชะ สามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 ซึ่งสเปกตรัมของสารสกัดสมอไทยที่ใช้เอทิลอะซิเตทและเมทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวชะ จะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 280 นาโนเมตร (ภาคผนวก ข) ซึ่งผลการทดลองที่ได้จะสอดคล้องกับการทดลองของ Saleem *et al.* (2002) ได้ศึกษาการยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็งด้วยสารสกัดหยาบของสมอไทย โดยพบว่าจะมีค่าดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 280 นาโนเมตร

เมื่อคอลัมน์ถูกชะด้วยตัวทำละลายที่มีสภาพความมีขั้วเพิ่มขึ้น จะพบว่าสารสกัดสมอไทยลำดับส่วนที่ 17-20 ที่ใช้เมทิลแอลกอฮอล์และน้ำเป็นตัวชะสามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 ได้เช่นกัน แต่ขนาดของขนาดยับยั้ง (inhibition zone) จะมีขนาดเล็กกว่าลำดับที่ 13-16 เนื่องจากสารที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 ถูกชะออกมาในลำดับที่ 13-16 ก่อนแล้ว จึงทำให้ปริมาณสารที่อยู่ในลำดับส่วนที่ 17-20 นั้นน้อยลง

ตารางที่ 9 ลำดับส่วนของสารสกัดสมอไทยและฝางเสนจากโครมาโทกราฟีชนิดคอลัมน์ที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02

ลำดับส่วน	ตัวชะ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง ของบริเวณยับยั้ง (เซนติเมตร $\pm$ S.D. ^a)	
		สมอไทย	ฝางเสน
1-4	เฮกเซน	-	-
5-8	เฮกเซน + คลอโรฟอร์ม	-	-
9-12	คลอโรฟอร์ม + เอทิลอะซิเตท	-	1.80 $\pm$ 0.14
13-16	เอทิลอะซิเตท + เมทิลแอลกอฮอล์	2.05 $\pm$ 0.07	1.25 $\pm$ 0.07
17-20	เมทิลแอลกอฮอล์ + น้ำ	1.38 $\pm$ 0.25	-
21-24	น้ำ	-	-

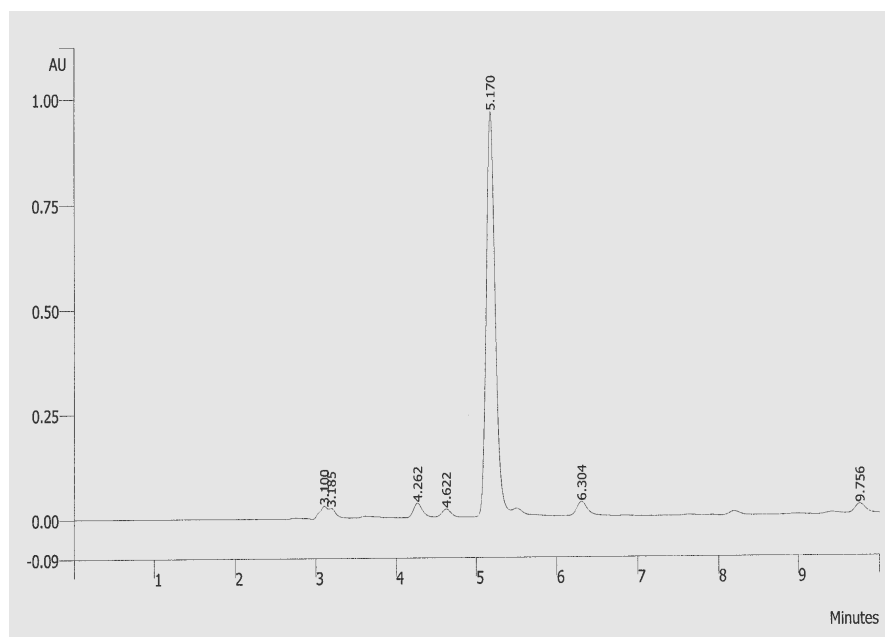
หมายเหตุ - หมายถึง ไม่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02
a หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

สำหรับผลการยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 ด้วยสารสกัดฝางเสนที่ได้จากโครมาโทกราฟีชนิดคอลัมน์ จะพบว่าลำดับส่วนที่ 9-12 ที่ใช้คลอโรฟอร์มและเอทิลอะซิเตทเป็นตัวชะ สามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 ซึ่งสเปกตรัมของสารสกัดฝางเสนที่ใช้เอทิลอะซิเตทและเมทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวชะ จะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 280 นาโนเมตร (ภาคผนวก ข)

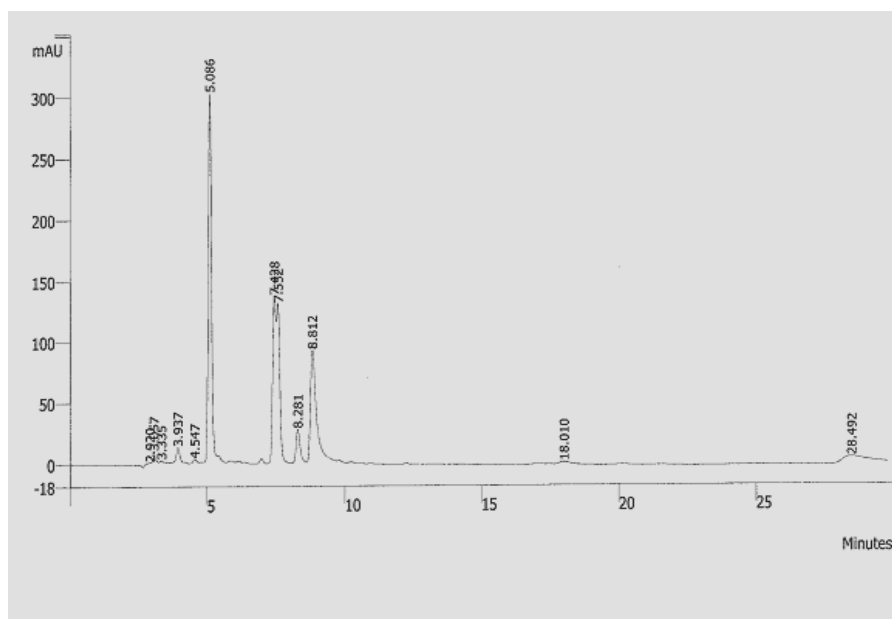
เมื่อคอลัมน์ถูกชะด้วยตัวทำละลายที่มีสภาพความมีขี้ผึ้งเพิ่มขึ้น จะพบว่าสารสกัดฝางเสนลำดับส่วนที่ 13-16 ที่ใช้เอทิลอะซิเตทและเมทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวชะสามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 ได้เช่นกันแต่ขนาดของขนาดยับยั้ง (inhibition zone) จะมีขนาดเล็กกว่าลำดับที่ 9-12 เนื่องจากสารที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 ถูกชะออกมาในลำดับที่ 9-12 ก่อนแล้ว จึงทำให้ปริมาณสารที่อยู่ในลำดับส่วนที่ 13-16 นั้นน้อยลง

4.2.2 ผลของการวิเคราะห์สารประกอบสำคัญของสารสกัดสมอไทยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC)

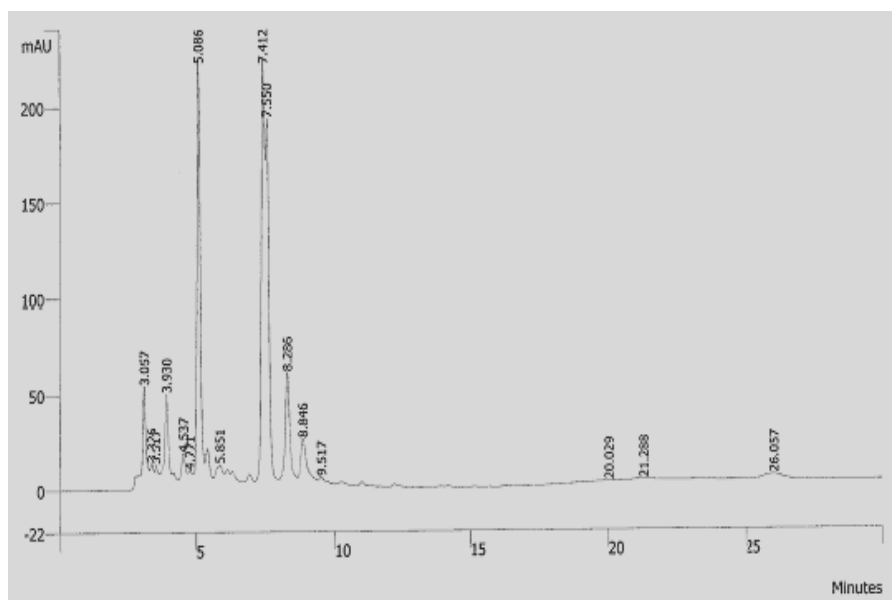
ในการทดลองนี้จะทำการวิเคราะห์สารประกอบสำคัญของสารสกัดสมอไทยเท่านั้น จากรายงานของ Cai *et al.* (2004) พบว่าสารสำคัญในสมอไทยได้แก่ กรดแทนนิก (tannic acid) และกรดแกลลิก (gallic acid) จึงใช้เป็นสารมาตรฐานในการหาสารสำคัญที่อยู่ในลำดับส่วนที่ 13-16 และ 17-20 ผลจากการแยกสารสกัดสมอไทยลำดับส่วนที่ 13-16 และ 17-20 ที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *V. harveyi* 02 ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC) เพื่อทราบชนิดของสารออกฤทธิ์ที่สามารถยับยั้ง *V. harveyi* 02 จะพบว่าพีคของสารจะมีค่า retention time เท่ากับ 5.086 นาที ซึ่งจะมีค่าใกล้เคียงกับค่า retention time ของกรดแทนนิก (tannic acid) ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่อ้างอิง มีค่าเท่ากับ 5.170 นาที (ภาพที่ 2) สารประกอบสำคัญมีอยู่ในสมอไทยจะเป็นสารในกลุ่มของฟีนอลิก (phenolic compound) ซึ่งประกอบด้วย กรดแกลลิก (gallic acid) เอทิลแกลเลต (ethyl gallate) ลูทีโอลิน (luteolin) และกรดแทนนิก (tannic acid) (Cai *et al.*, 2004; Kaur, 1998; Saleem *et al.*, 2002) โดยมีการศึกษาพบว่ากรดแทนนิก (tannic acid) มีประสิทธิภาพในการเป็นสารยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรีย รา และยีสต์



(a) กรดแทนนิก (tannic acid)



(b) ลำดับส่วนที่ 13-16 ของสารสกัดสมอไทย



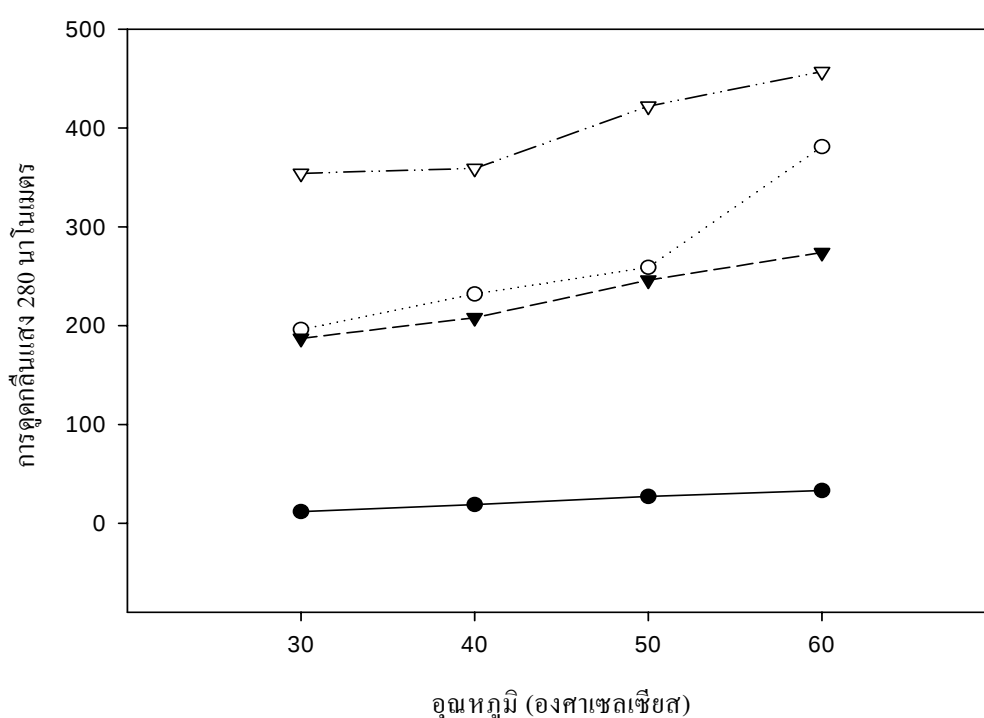
(c) ลำดับส่วนที่ 17-20 ของสารสกัดสมอไทย

ภาพที่ 2 โครมาโทแกรมของการวิเคราะห์สารประกอบสำคัญของสารสกัดสมอไทยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC)

5. ผลการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากสมอไทยและฝางเสน

5.1 ผลของอุณหภูมิต่อการสกัดสารจากสมอไทยและฝางเสน

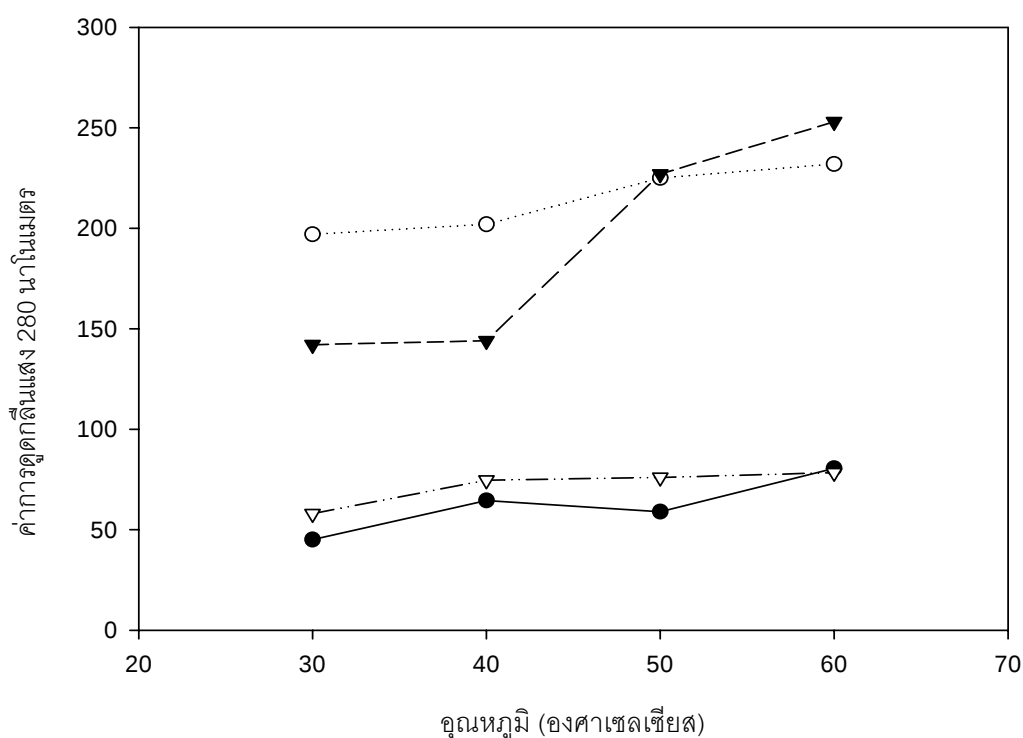
ผลการสกัดสารจากสมอไทยด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ เอทิลอะซิเตท เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ และน้ำ ที่อุณหภูมิ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส แสดงดัง ภาพที่ 3 พบว่าการสกัดด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์และน้ำ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการ สกัดจะทำให้ปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้น แต่การสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทนั้นมีปริมาณเพิ่มขึ้นเพียง เล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าการสกัดสารจากสมอไทยด้วยเอทิลอะซิเตทนั้น การเพิ่มอุณหภูมิในการ สกัดไม่มีผลต่อปริมาณของสารสกัดจากสมอไทย



สัญลักษณ์ เอทิลอะซิเตท(●), เมทิลแอลกอฮอล์ (○), เอทิลแอลกอฮอล์ (▼), น้ำ (▽)

ภาพที่ 3 ผลของอุณหภูมิต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดสมอไทยด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

ซึ่งตามทฤษฎีการสักระยะได้กล่าวว่าเมื่ออุณหภูมิการสักระยะสูงขึ้นและระยะเวลาในการสักระยะนานขึ้น ปริมาณสารสักระยะจะสูงขึ้นด้วยเพราะความร้อนช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายของสาร (อัญริยา, 2538) ซึ่งสอดคล้องกับ Houghton and Roman (1998) กล่าวว่าในการสักระยะนั้นการให้ความร้อนแบบต่อเนื่องอาจจะเป็นผลดีในการเพิ่มปริมาณสารสักระยะ แต่ในการทดลองนี้ได้ใช้อุณหภูมิสูงสุดในการสักระยะเท่ากับ 60 องศาเซลเซียส เนื่องจากเมทิลแอลกอฮอล์มีจุดเดือดที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ดังนั้นหากมีการใช้อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมินี้ อาจเกิดการสูญเสียตัวทำละลายได้ ดังนั้นการสักระยะจากสมอไทยด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ และน้ำ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสักระยะคืออุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



สัญลักษณ์ เอทิลอะซิเตท(●), เมทิลแอลกอฮอล์ (○), เอทิลแอลกอฮอล์ (▼), น้ำ (▽)

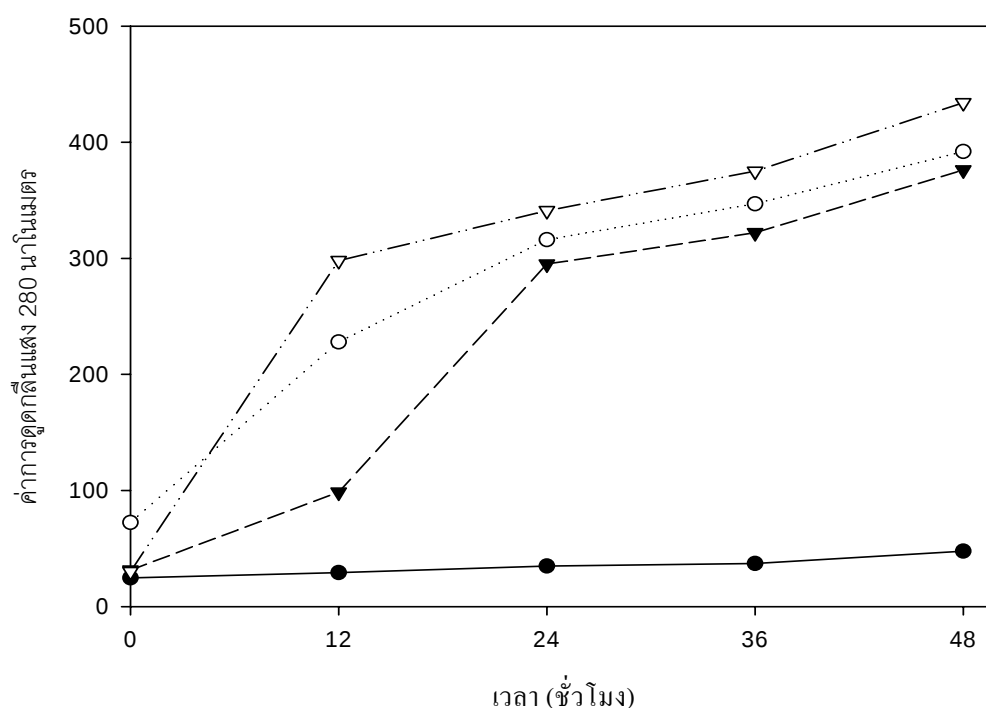
ภาพที่ 4 ผลของอุณหภูมิต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดฝางเสนด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

การสกัดสารจากฝางเสนด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด เอทิลอะซิเตท เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ และน้ำ ที่อุณหภูมิห้อง 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส ผลการทดลองที่ได้แสดงดังภาพที่ 4 พบว่าเมื่อสกัดสารจากฝางเสนด้วยเมทิลแอลกอฮอล์และเอทิลแอลกอฮอล์ ปริมาณสารสกัดจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการสกัดเพิ่มขึ้น แต่เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นเอทิลอะซิเตทและน้ำ พบว่าแม้จะมีการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 60 องศาเซลเซียส แต่ปริมาณสารสกัดก็จะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น แสดงว่าการเพิ่มอุณหภูมิไม่มีผลต่อการสกัดสารจากฝางเสน ดังนั้นการสกัดสารจากฝางเสนด้วยเมทิลแอลกอฮอล์และเอทิลแอลกอฮอล์ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสกัดคือ 60 องศาเซลเซียส

จากผลการทดลองมีความสอดคล้องกับการสกัดสีจากลูกพุดเมื่อใช้เอทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสกัดคืออุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (อัจฉริยา, 2530) นอกจากนี้การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารแทนนินจากเปลือกไม้โกงกางจะทำการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายโดยใช้อุณหภูมิในการสกัดคือ 60 องศาเซลเซียส (ประเชิญ, 2530)

5.2 ผลของระยะเวลาต่อการสกัดสารจากสมอไทยและฝางเสน

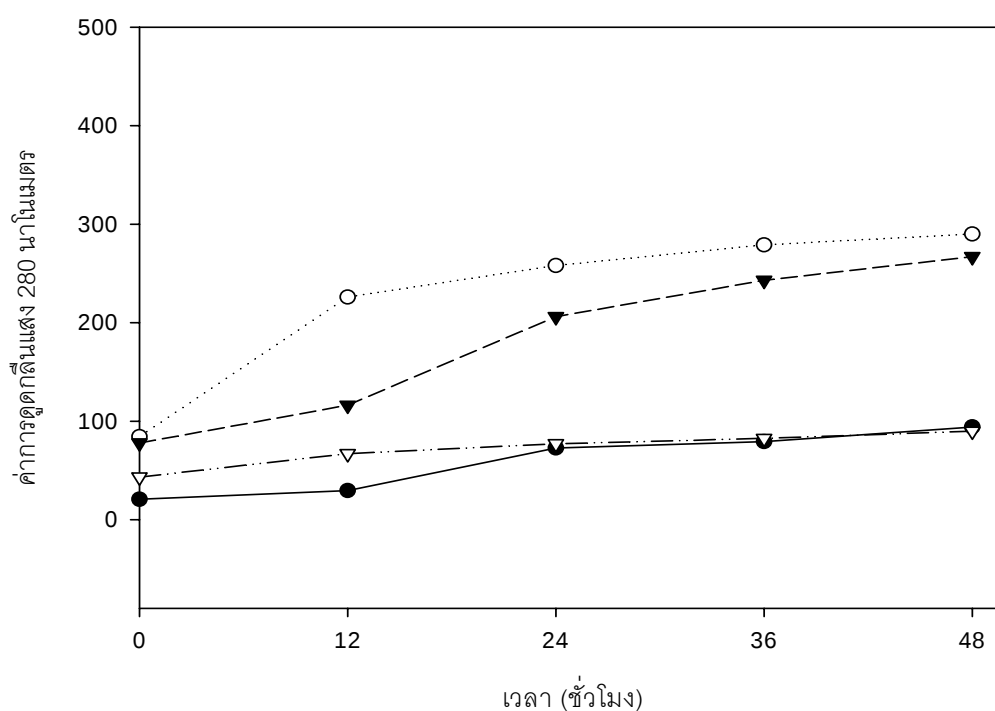
จากผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารจากสมอไทยโดยทำการแปรผันระยะเวลาในการสกัด โดยใช้อัตราส่วนระหว่างสมอไทยแห้งต่อตัวทำละลาย 10:100 (กรัมต่อมิลลิลิตร) ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้แก่ เอทิลอะซิเตท เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ และน้ำ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด 60 องศาเซลเซียส (จากผลการทดลองข้อ 5.1) ผลดังแสดงในภาพที่ 5 เมื่อทำการสกัดสารจากสมอไทยโดยใช้เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ และน้ำเป็นตัวทำละลายนั้น พบว่าเมื่อใช้เวลาในการสกัดนานขึ้น จะทำให้ปริมาณสารสกัดที่ได้เพิ่มขึ้น แต่สำหรับการใช้เอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารนั้นพบว่าแม้มีการเพิ่มระยะเวลาในการสกัดสารจากสมอไทยไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณของสารสกัด ดังนั้นการสกัดสารจากสมอไทยด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์และน้ำนั้นเวลาที่เหมาะสมต่อการสกัดคือ 48 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Kaur *et al.* (1998) ได้ทำการสกัดสารจากสมอไทยด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เวลาในการสกัดสารเป็นเวลา 48 ชั่วโมง



สัญลักษณ์ เอทิลอะซิเตท(●), เมทิลแอลกอฮอล์ (○), เอทิลแอลกอฮอล์ (▼), น้ำ (▽)

ภาพที่ 5 ผลของระยะเวลาต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดสมอไทยด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

สำหรับการสกัดสารจากฝางเสนผลที่ได้แสดงในภาพที่ 6 ซึ่งผลที่ได้ก็พบว่าในการสกัดสารจากฝางเสนด้วยเมทิลแอลกอฮอล์และเอทิลแอลกอฮอล์ ที่เวลาช่วงต่างๆ นั้น พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดสารจากฝางเสนให้นานขึ้นจะทำให้ปริมาณสารสกัดที่ได้นั้นเพิ่มขึ้น แต่เมื่อทำการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทและน้ำ พบว่าแม้จะใช้เวลาในการสกัดนานขึ้นแต่ทำให้มีปริมาณของสารสกัดจากฝางเสนเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงกล่าวได้ว่าการสกัดสารจากฝางเสนด้วยเมทิลแอลกอฮอล์และเอทิลแอลกอฮอล์นั้น เวลาที่เหมาะสมต่อการสกัดสารคือ 48 ชั่วโมง



สัญลักษณ์ เอทิลอะซิเตท(●); เมทิลแอลกอฮอล์ (O); เอทิลแอลกอฮอล์(▼); น้ำ (▽)

ภาพที่ 6 ระยะเวลาต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดฝางเสนตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ

จากผลการทดลองพบว่าการสกัดสารจากสมอไทยด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์และน้ำ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะมีปริมาณสารสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทที่อุณหภูมิและเวลาเดียวกัน และสำหรับการสกัดสารจากฝางเสนด้วยเมทิลแอลกอฮอล์และเอทิลแอลกอฮอล์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะมีปริมาณสารสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทและน้ำ ที่อุณหภูมิและเวลาเดียวกัน

6. ผลการศึกษาการใช้สารสกัดหยาบสมุนไพรในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

การศึกษาศักยภาพของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 6 ชนิด ซึ่งได้แก่ สมอไทย ฝรั่ง เสน ไบพลู ลูกใต้ใบ ลูกสลอด และเจตมูลเพลิง ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำพบว่าสารสกัดสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียและ *Vibrio* spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งและในตับกุ้ง นอกจากนี้ยังมีผลต่อน้ำหนักและการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำ ดังนี้

6.1 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp.

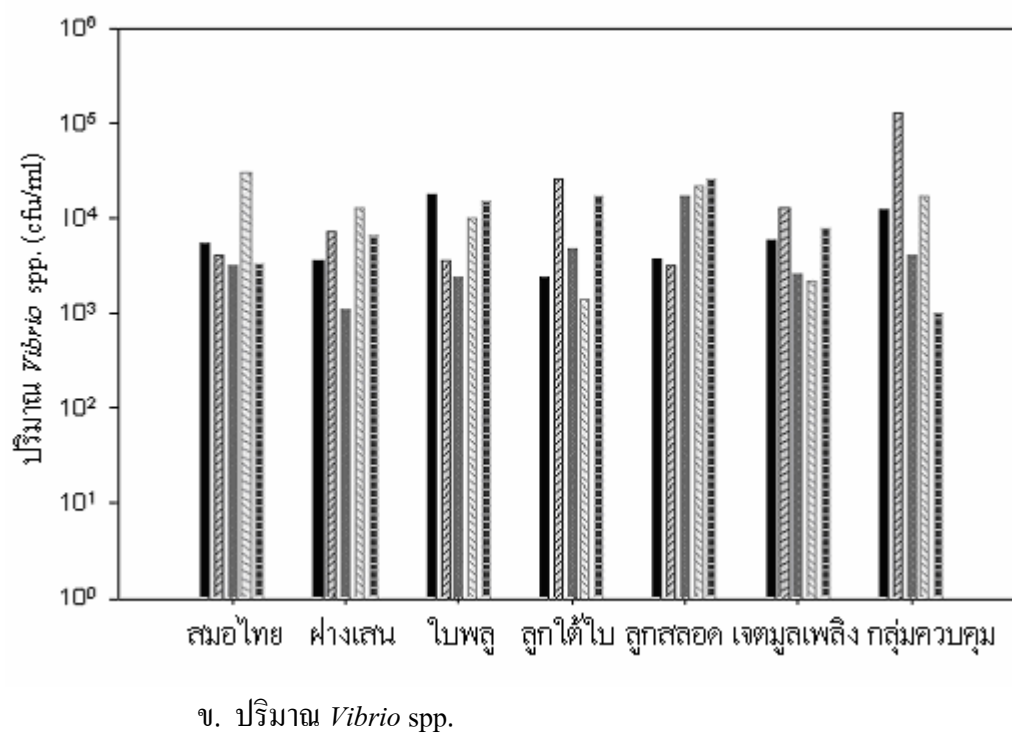
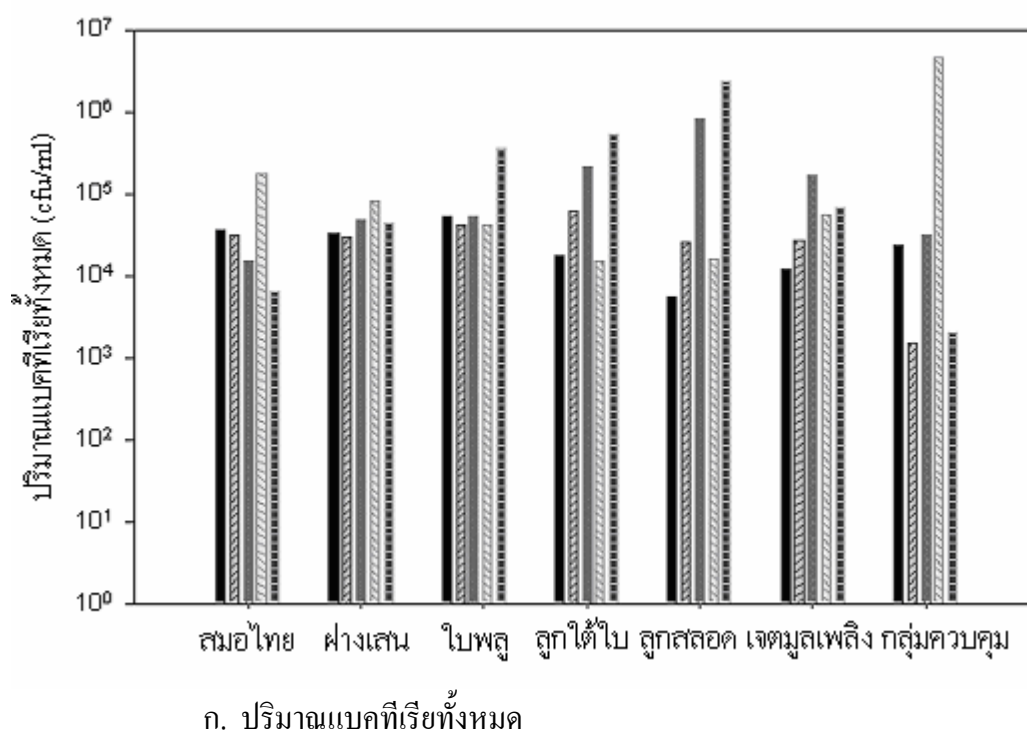
6.1.1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp. ในน้ำ

เมื่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดสมุนไพร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ และเก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงกุ้ง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและ *Vibrio* spp. ทุกๆ 7 วัน ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 7 จะเห็นว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดมีค่ามากกว่า 10^4 cfu/ml และปริมาณ *Vibrio* spp. มีค่ามากกว่า 10^3 cfu/ml โดยประมาณ ซึ่งค่ามีการเปลี่ยนแปลงในแต่ละสัปดาห์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้ง ทุกๆ 2 วัน ซึ่งมีลักษณะเหมือนกันในทุกกลุ่มการทดลอง

แม้ว่าในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำจะมีปริมาณ *Vibrio* spp. สูงกว่า 10^3 cfu/ml ซึ่งเป็นปริมาณที่อาจส่งผลให้กุ้งกุลาดำเกิดการติดเชื้อและเป็นโรคได้ (Saulnier *et al.*, 2000) แต่ผลที่ได้กลับไม่ปรากฏให้เห็นว่ากุ้งกุลาดำเป็นโรค แสดงให้เห็นว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรสารสกัดสมุนไพรจากอาหารสามารถต้านทานโรคได้ดี

6.1.2 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp. ในตับกุ้งกุลาดำ

ภาพที่ 8 แสดงผลการเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดสมุนไพร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นทำให้กุ้งกุลาดำติดโรคด้วย *V. harveyi* 02 (ปริมาณเชื้อ 5×10^6 cfu/ml) ซึ่งเชื่อดังกล่าวเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำและเป็นปัญหามากที่สุด เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำกลับมาเลี้ยงในตู้กระจกเป็นเวลา 1 สัปดาห์ สังเกตการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำและวิเคราะห์หาค่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและ *Vibrio* spp. ในตับกุ้งกุลาดำ



สัญลักษณ์ 0 วัน 7 วัน 14 วัน 21 วัน 28 วัน

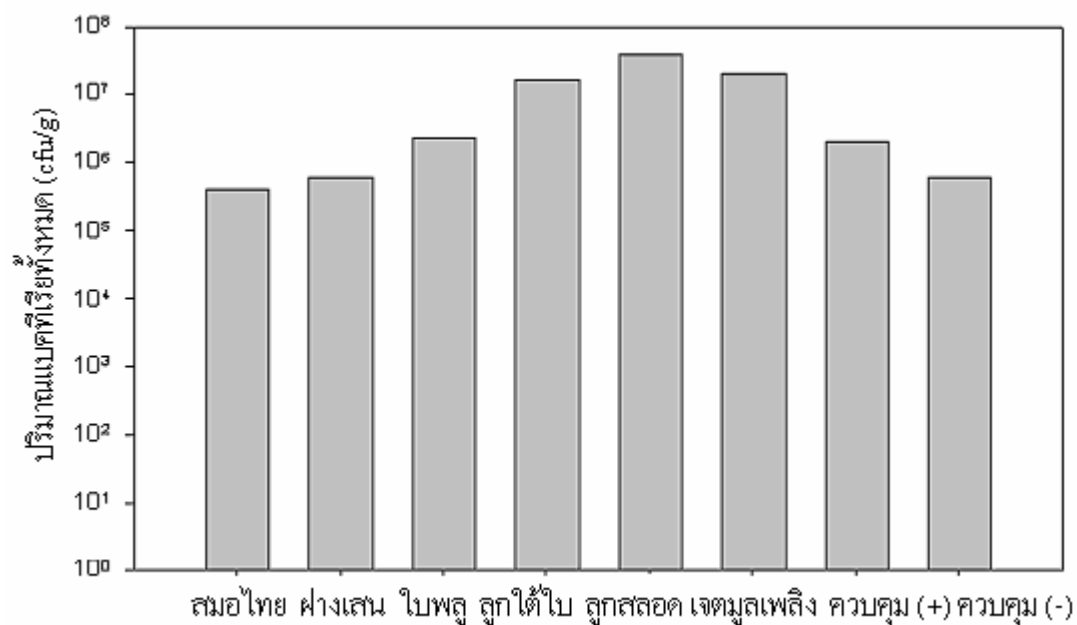
ภาพที่ 7 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp. ในน้ำ

จากผลการทดลองจะเห็นว่าสารสกัดสมุนไพรมีผลต่อปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและ *Vibrio* spp. ในดับกึ่งกลาดำที่แตกต่างกัน และพบว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 3.90×10^5 , 5.90×10^5 , 2.25×10^6 , 1.58×10^7 , 3.95×10^7 และ 2.12×10^7 cfu/g เมื่อให้อาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดสมอไทย ฟางเสน ใบพลู ลูกใต้ใบ ลูกสลอด และเจตมูลเพลิง ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในกลุ่มควบคุม (+) พบว่าการผสมสารสกัดสมอไทยและฟางเสนนั้นมีปริมาณน้อยกว่ากลุ่มควบคุม (+) (2.00×10^6 cfu/g) สำหรับปริมาณ *Vibrio* spp. ในดับกึ่งกลาดำเท่ากับ 9.80×10^3 , 1.45×10^4 , 9.90×10^4 , 1.59×10^5 , 1.78×10^5 และ 1.68×10^5 cfu/g เมื่อให้อาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดสมอไทย ฟางเสน ใบพลู ลูกใต้ใบ ลูกสลอด และเจตมูลเพลิง ตามลำดับ จากผลการทดลองจะเห็นว่าปริมาณ *Vibrio* spp. ในดับกึ่งกลาดำที่ให้สารสกัดสมอไทยและฟางเสนนั้นจะมีปริมาณน้อยกว่ากลุ่มควบคุม (+) (2.00×10^4 cfu/g)

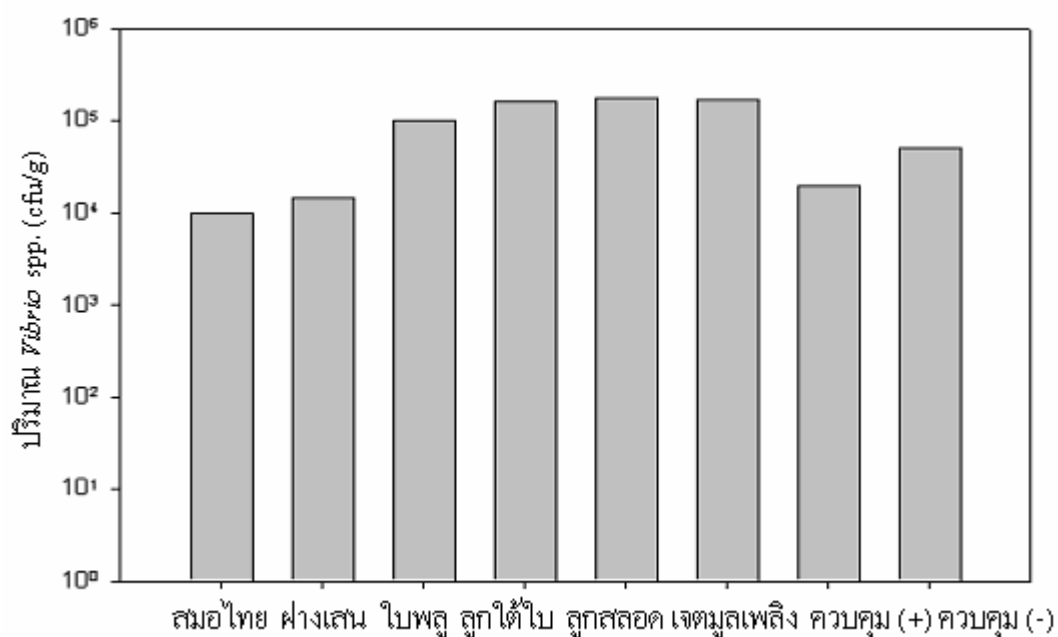
ก่อนเริ่มเลี้ยงกึ่งกลาดำนำดับกึ่งมาตรวจปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp. ผลการตรวจพบว่ามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดภายในดับกึ่ง เท่ากับ 1.81×10^5 cfu/g และมีปริมาณ *Vibrio* spp. 2.67×10^5 cfu/g และสำหรับในกลุ่มควบคุม (-) พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 6.00×10^5 cfu/g และปริมาณ *Vibrio* spp. เท่ากับ 5.00×10^4 cfu/g และในกลุ่มควบคุม (+) พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 2.00×10^6 cfu/g และปริมาณ *Vibrio* spp. เท่ากับ 2.00×10^4 cfu/g เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในกึ่งกลาดำก่อนการทดลองและกลุ่มควบคุม (-) จะมีค่าใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มควบคุม (+) จะมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเนื่องจากต้องทำให้กึ่งติดโรคด้วย *V. harveyi* 02 จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นว่าปริมาณ *Vibrio* spp. ในดับกึ่งกลาดำที่ให้สารสกัดสมอไทยและฟางเสนมีค่าน้อยกว่ากลุ่มควบคุม (+) และ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบอาจเป็นสายพันธุ์ที่ไม่สามารถต้านทานต่อสารสกัด และเป็น *Vibrio* spp. ที่พบในกึ่งกลาดำก่อนการทดลอง

6.2 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อน้ำหนักของกึ่งกลาดำ

ผลการเลี้ยงกึ่งกลาดำด้วยการผสมสารสกัดสมอไทย ฟางเสน ใบพลู ลูกใต้ใบ ลูกสลอด และเจตมูลเพลิง เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของกึ่งกลาดำหลังการทดลองเท่ากับ 10.20, 10.44, 10.11, 9.51, 10.01 และ 8.46 กรัม ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มควบคุม (+) และ (-) มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 10.84 และ 9.51 กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 9) ซึ่งน้ำหนักกึ่งกลาดำในทุกกลุ่มการ



ก. ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด



ข. ปริมาณ *Vibrio* spp.

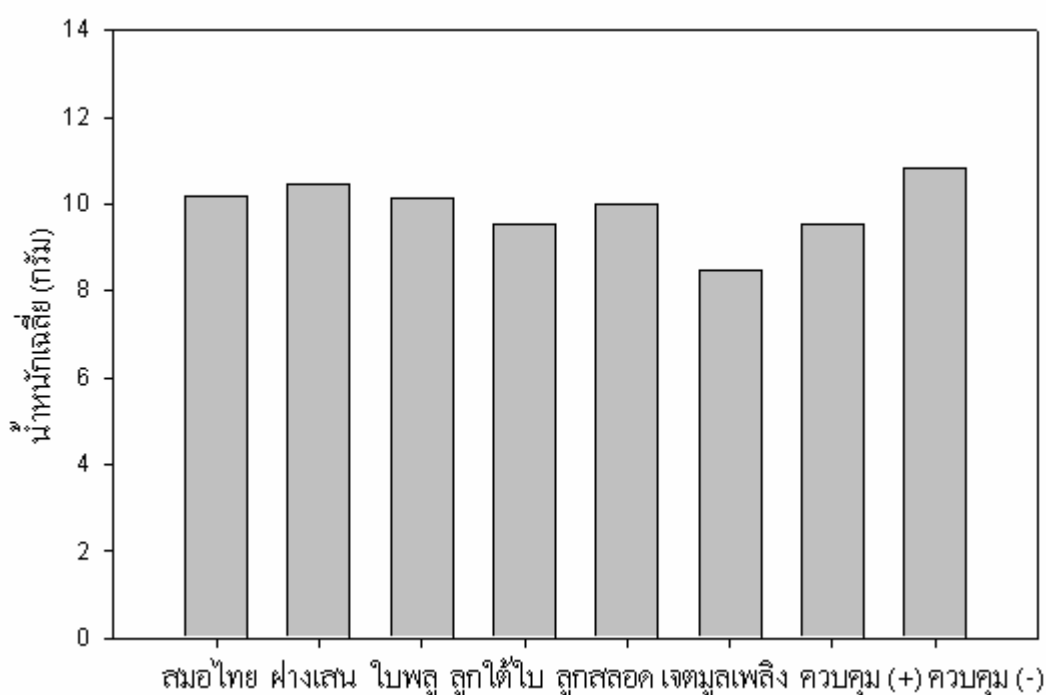
ภาพที่ 8 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp. ในตัวของ
กุ่มกลาดำที่รอดชีวิตจากการทำให้กุ่มกลาดำติดโรค

กำหนดให้ ควบคุม (+) เป็นกลุ่มที่ทำให้ติดโรคด้วย *V. harveyi* 02

ควบคุม (-) เป็นกลุ่มที่ไม่ทำให้ติดโรคด้วย *V. harveyi* 02

ทดลองจะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักเฉลี่ยของกึ่งก่อนการทดลองที่มีน้ำหนักเท่ากับ 8.20 กรัม โดยแต่ละกลุ่มให้อาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดและแต่ละกลุ่มควบคุมทั้งสองจะมีน้ำหนักเฉลี่ยใกล้เคียงกัน

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักเฉลี่ยของกึ่งที่เลี้ยงในบ่อดินในช่วงอายุเท่ากันจะมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 15.09 กรัม (บรรจง, 2530) จะเห็นว่าการเลี้ยงกึ่งกุลาค่าในระดับห้องปฏิบัติการ กึ่งกุลาค่าจะมีการเจริญเติบโตช้ากว่า เนื่องจากกึ่งกุลาค่าได้รับอาหารที่เป็นอาหารสำเร็จรูปกุลาค่าผสมสารสกัดสมุนไพร ซึ่งจะทำให้กลิ่น รส และสภาพของอาหารแตกต่างไปจากอาหารสำเร็จรูป จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ลดความอยากอาหารและกินอาหารได้น้อยลง นอกจากนี้การเลี้ยงกึ่งกุลาค่าในตู้กระจก กึ่งกุลาค่าจะได้รับเฉพาะสารอาหารจากอาหารสำเร็จรูปเท่านั้น แต่ถ้าเลี้ยงในสภาพบ่อดิน กึ่งจะได้รับสารอาหารจากธรรมชาติ ได้แก่ แพลงก์ตอนพืช สัตว์น้ำขนาดเล็ก ซึ่งช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของกึ่งกุลาค่าได้เป็นอย่างดี และทำให้กึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่าการเลี้ยงในตู้กระจก



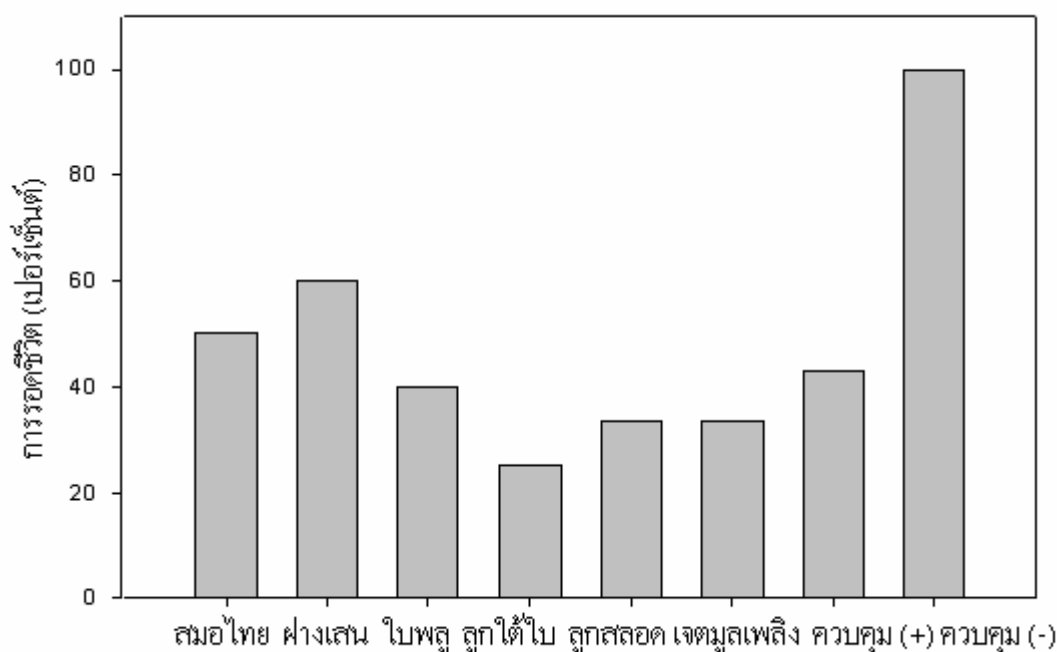
ภาพที่ 9 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อน้ำหนักของกึ่งกุลาค่า

กำหนดให้ ควบคุม (+) เป็นกลุ่มที่ทำให้ติดโรคด้วย *V. harveyi* 02

ควบคุม (-) เป็นกลุ่มที่ไม่ทำให้ติดโรคด้วย *V. harveyi* 02

6.3 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการรอดชีวิตของกิ้งกูดำ

จากผลการเลี้ยงกิ้งกูดำด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดสมอไทย ฝรั่ง เบบี้ลู ลูกใต้ใบ ลูกสลอด และเจตมูลเพลิงจะพบว่าการรอดชีวิตเท่ากับ 50, 60, 40, 25, 33 และ 33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มควบคุม (+) จะมีการรอดชีวิตเท่ากับ 42.85 แสดงดังภาพที่ 10 ผลการทดลองที่ได้จะเห็นว่าการใช้สารสกัดสมอไทยและฝรั่งมีประสิทธิภาพดีที่ช่วยทำให้กิ้งกูดำรอดชีวิตสูงกว่ากลุ่มควบคุม (+) เนื่องจากสารสกัดสมอไทยและฝรั่งช่วยยับยั้ง *V. harveyi* 02 ภายในกิ้งกูดำ ทำให้กิ้งกูดำแข็งแรงจึงสามารถต้านทานการเกิดโรคจาก *V. harveyi* 02



ภาพที่ 10 ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการรอดชีวิตของกิ้งกูดำ

กำหนดให้ ควบคุม (+) เป็นกลุ่มที่ทำให้ติดโรคด้วย *V. harveyi* 02

ควบคุม (-) เป็นกลุ่มที่ไม่ทำให้ติดโรคด้วย *V. harveyi* 02

สำหรับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยสารสกัดใบพลู ลูกใต้ใบ ลูกสลอด และเจตมูลเพลิงนั้น กลับทำให้กุ้งกุลาดำมีการรอดชีวิตน้อยกว่ากลุ่มควบคุม (+) เนื่องจากสารสกัดดังกล่าวออกฤทธิ์ยับยั้ง *V. harveyi* 02 ได้น้อยกว่าสารสกัดสมอไทยและฝางเสน จึงทำให้ปริมาณ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบในตับของกุ้งกุลาดำมีปริมาณสูงกว่าและเป็น *V. harveyi* 02 ที่ก่อให้เกิดโรคน้ำในกุ้ง ซึ่งทำให้กุ้งตาย จากการสังเกตการกินอาหารของกุ้งจะพบว่ากุ้งกินอาหารได้น้อยลง ทำให้มีสุขภาพไม่แข็งแรง ดังนั้นจึงเป็นโอกาสที่เชื้อจะเข้าทำลายได้ง่ายขึ้น ปริมาณ *Vibrio* spp. จึงมากกว่าในกลุ่มควบคุม (+)

สาเหตุที่ทำให้กุ้งกินอาหารได้น้อยลงเนื่องการผสมสารสกัดหยาบสมุนไพรดังกล่าวในอาหารสำเร็จรูปนั้นทำให้กุ้งกุลาดำมีความต้องการอาหารลดลงอาจเป็นเพราะสารสกัดหยาบสมุนไพรมีผลให้กลิ่น รส และเนื้อสัมผัสของอาหารเสียไป (กิจการ และคณะ, 2548) เนื่องจากเห็นได้ชัดว่าเมื่อผสมสารสกัดสมุนไพร แต่ละชนิดจะทำให้ความต้องการอาหารของกุ้งกุลาดำลดลง โดยเฉพาะสารสกัดลูกสลอดซึ่งจะมีกลิ่นค่อนข้างแรง ผลจากการที่กุ้งกินอาหารได้ลดลงนั้นทำให้กุ้งมีสุขภาพร่างกายอ่อนแอ ทำให้กุ้งกุลาดำที่ได้รับ *V. harveyi* 02 เข้าไปมีโอกาสดติดเชื้อได้ง่าย เนื่องจากสภาพร่างกายที่อ่อนแอ ซึ่งคล้ายกับการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยขมิ้นชันผสมอาหารทำให้กุ้งมีความต้องการอาหารลดลง ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองระบบภูมิคุ้มกันลดลง (กิจการ, 2548)

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำข้างต้นนี้ทำให้สามารถคัดเลือกสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพสูงสุด 2 ชนิด คือ สมอไทยและฝางเสน เพื่อนำมาใช้ในการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำ โดยแปรผันความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด

7. ผลการศึกษาการใช้สารสกัดสมอไทยและฝางเสนในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

จากการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำโดยให้อาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดสมุนไพร 2 ชนิด ได้แก่ สมอไทย และฝางเสน โดยแปรผันความเข้มข้นเท่ากับ 8.34, 16.67 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัมต่อกรัม) และในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำพบว่าสารสกัดสมอไทยและฝางเสนที่ความเข้มข้นต่างๆ นั้น มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียและ *Vibrio* spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งและในตับกุ้ง นอกจากนี้ยังมีผลต่อน้ำหนักและการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำ ดังนี้

7.1 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดสมอไทยและฝางเสนต่อปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp.

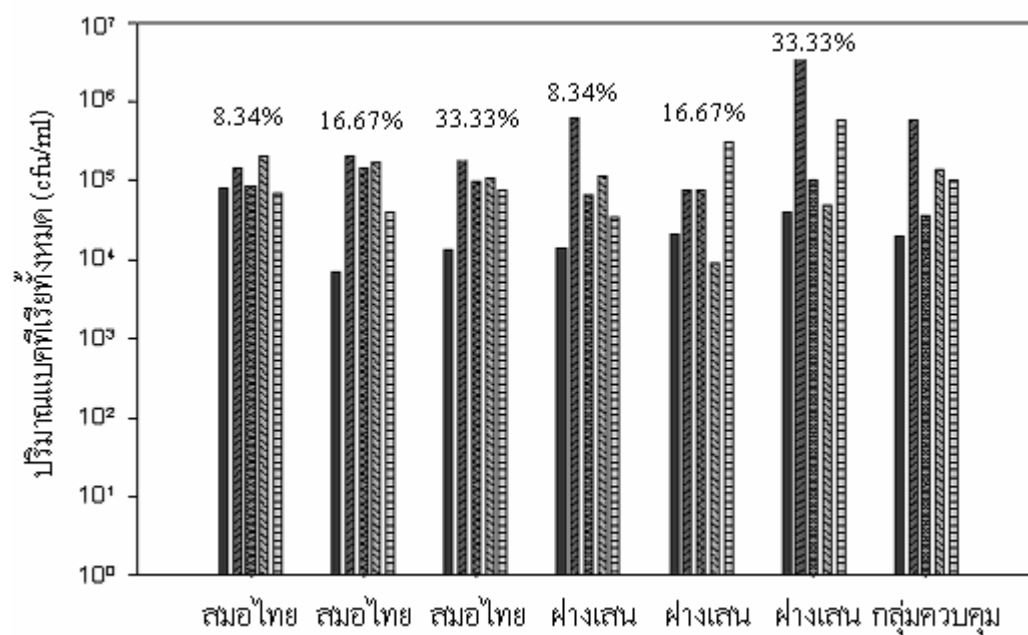
7.1.1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp. ในน้ำ

เมื่อทำการเลี้ยงกึ่งกลาดำด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดสมอไทยและฝางเสน โดยแปรผันความเข้มข้น เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ และเก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงกึ่ง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและ *Vibrio* spp. ทุกๆ 7 วัน ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 11 จะเห็นว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดมีค่ามากกว่า 10^4 cfu/ml และปริมาณ *Vibrio* spp. มีค่ามากกว่า 10^3 cfu/ml โดยประมาณ ซึ่งมีค่าเปลี่ยนแปลงในแต่ละสัปดาห์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนน้ำที่ใช้เลี้ยงกึ่ง ทุก ๆ 2 วัน ซึ่งมีลักษณะเหมือนกันในทุกกลุ่มการทดลอง

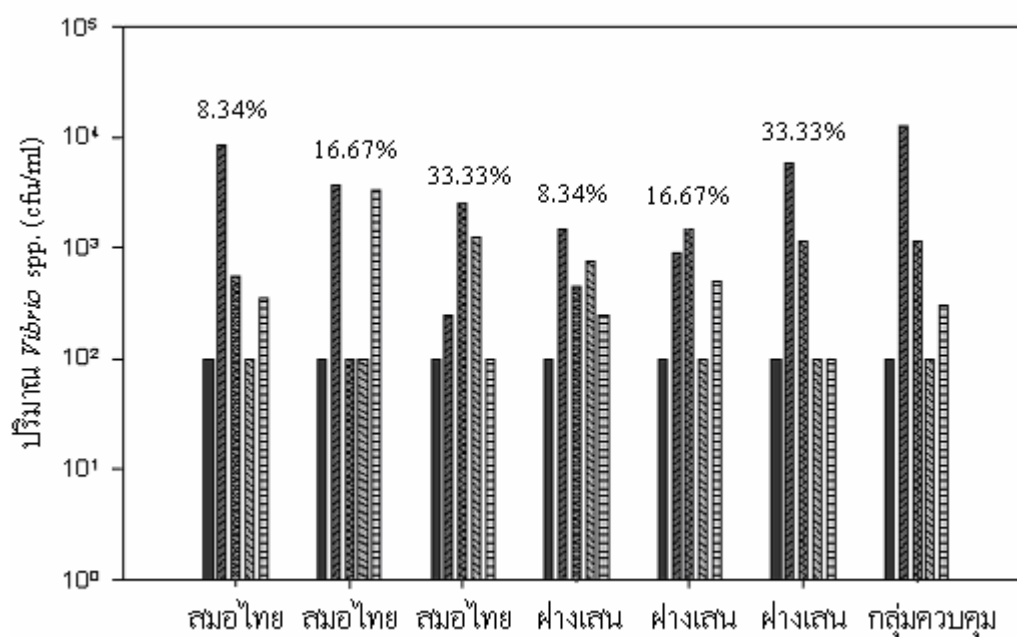
แม้ว่าในน้ำเลี้ยงกึ่งกลาดำจะมีปริมาณ *Vibrio* spp. มากกว่า 10^3 cfu/ml ซึ่งเป็นปริมาณที่อาจส่งผลให้กึ่งกลาดำเกิดการติดเชื้อและเป็นโรคได้ (Saulnier *et al.*, 2000) แต่ผลที่ได้กลับไม่แสดงอาการให้เห็นว่ากึ่งกลาดำเป็นโรค แสดงให้เห็นว่ากึ่งกลาดำที่ได้รับสารสกัดสมอไทยและฝางเสน ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 8.34, 16.67 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อกรัม) สามารถต้านทานโรคได้ โดยได้รับสารสกัดสมุนไพรผ่านทางอาหาร

7.1.2 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp. ในตับกึ่งกลาดำ

เมื่อเลี้ยงกึ่งกลาดำด้วยการให้อาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดสมุนไพรสมอไทยและฝางเสนที่แปรผันความเข้มข้น เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และทำให้กึ่งกลาดำติดโรค (ปริมาณเชื้อ 5×10^6 cfu/ml) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นเลี้ยงกึ่งกลาดำอีก 1 สัปดาห์ และสังเกตความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น ซึ่งพบว่ากึ่งบางส่วนตายเนื่องจากได้รับ *V. harveyi* 02 จึงนำกึ่งที่ตายมาตรวจนับปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp. พบว่าการผสมสารสกัดสมอไทยความเข้มข้น 8.34 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อกรัม) มีนับปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในตับกึ่งกลาดำที่ตายเท่ากับ 3.49×10^7 และ 4.70×10^7 cfu/g ตามลำดับ และสารสกัดฝางเสนความเข้มข้น 8.34 และ 16.67 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อกรัม) มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในตับกึ่งกลาดำที่ตายเท่ากับ 1.08×10^6 และ 1.60×10^4 cfu/g ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 12



ก. ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด



ข. ปริมาณ *Vibrio* spp.

สัญลักษณ์ 0 วัน 7 วัน 14 วัน 21 วัน 28 วัน

ภาพที่ 11 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดสมอไทยและฝางเสนต่อปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp. ในน้ำ

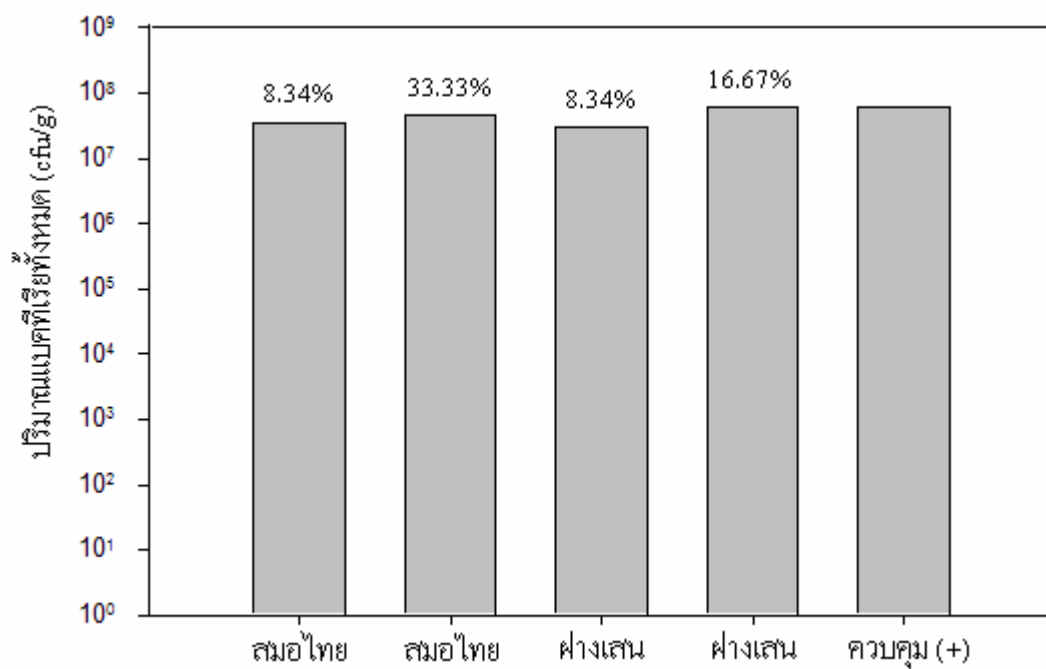
เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (+) ซึ่งมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 4.63×10^5 cfu/g จะพบว่า กุ้งที่ตายจะมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดมากกว่ากลุ่มควบคุม (+) สำหรับปริมาณ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบในตั๊กกุ้งที่ตาย เมื่อผสมสารสกัดสมอไทยความเข้มข้น 8.34 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อกรัม) พบปริมาณ *Vibrio* spp. ในตั๊กเท่ากับ 1.38×10^5 และ 4.10×10^5 cfu/g และสารสกัดฝางเสนความเข้มข้น 8.34 และ 16.67 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อกรัม) จะมีปริมาณ *Vibrio* spp. เท่ากับ 1.08×10^6 และ 1.60×10^4 cfu/g สำหรับในกลุ่มควบคุม (+) มีปริมาณ *Vibrio* spp. เท่ากับ 4.63×10^5 cfu/g ดังแสดงในภาพที่ 12 ในแต่ละกลุ่มการทดลองและกลุ่มควบคุม (+) พบว่ามีปริมาณ *Vibrio* spp. เพิ่มขึ้นในช่วงระหว่าง 10^4 - 10^7 cfu/g เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งกุลาดำก่อนการทดลองซึ่งมีปริมาณ *Vibrio* spp. อยู่เพียง 1.47×10^3 cfu/g

จากผลปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp. ในกุ้งกุลาดำพบว่า ถึงแม้กุ้งกุลาดำจะได้รับอาหารผสมสารสกัดสมอไทย แต่กุ้งกุลาดำบางตัวอาจมีสุขภาพอ่อนแอ ซึ่งอาจเกิดจากความเครียดหรืออยู่ในระยะลอกคราบ ทำให้กุ้งกุลาดำกินอาหารได้น้อยลงและติดเชื้อได้ง่าย จึงทำให้กุ้งกุลาดำป่วยและตายอย่างรวดเร็วหลังจากได้รับการทำให้ติดโรคด้วย *V. harveyi*

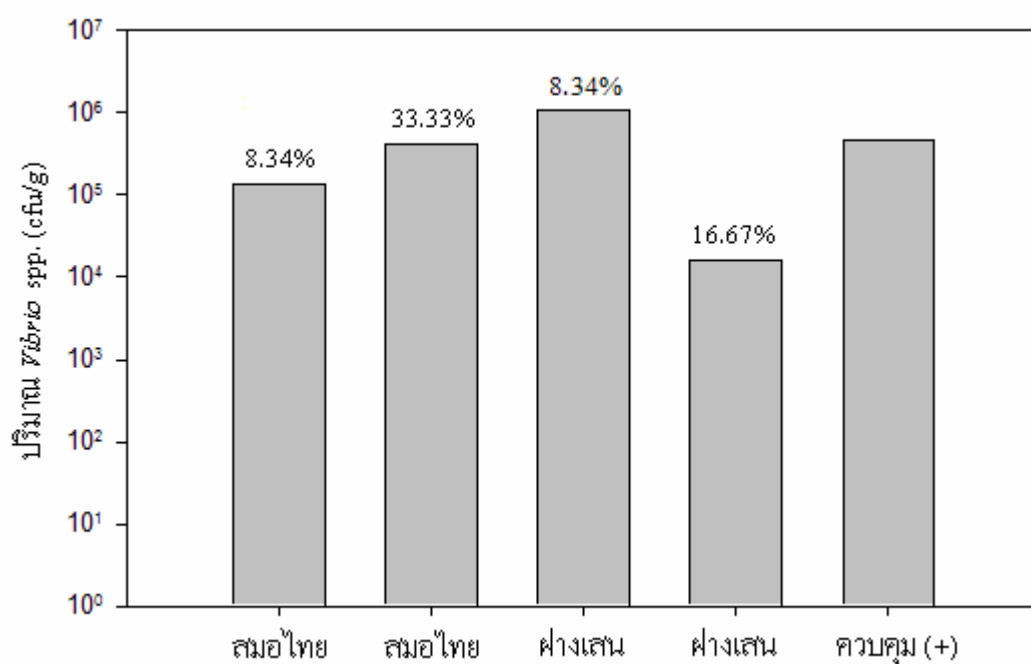
02

ภาพที่ 13 แสดงผลของความเข้มข้นสารสกัดสมอไทยและฝางเสนต่อปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp. ในตั๊กของกุ้งกุลาดำที่รอดชีวิตหลังจากทำให้ติดโรค เมื่อให้อาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดสมอไทยความเข้มข้น 16.67 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อกรัม) พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในตั๊กกุ้งที่รอดชีวิตเท่ากับ 5.70×10^5 และ 1.20×10^6 cfu/g และเมื่อให้อาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดฝางเสนความเข้มข้น 16.67 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อกรัม) มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในตั๊กกุ้งรอดชีวิตเท่ากับ 1.33×10^6 และ 6.18×10^6 cfu/g ส่วนกลุ่มควบคุม (+) และ (-) มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในตั๊กกุ้งเท่ากับ 7.30×10^7 และ 5.00×10^5 cfu/g

ผลของปริมาณ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบในตั๊กกุ้งที่รอดชีวิต เมื่อให้อาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดสมอไทยความเข้มข้น 16.67 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อกรัม) มีค่าเท่ากับ 1.00×10^2 cfu/g และให้อาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดฝางเสนความเข้มข้น 16.67 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตรต่อกรัม) มีค่าเท่ากับ 8.80×10^3 และ 5.26×10^3 cfu/g ส่วนกลุ่มควบคุม (+) และ (-) มีปริมาณ *Vibrio* spp. ในตั๊กกุ้งเท่ากับ 3.00×10^4 และ 2.30×10^3 cfu/g

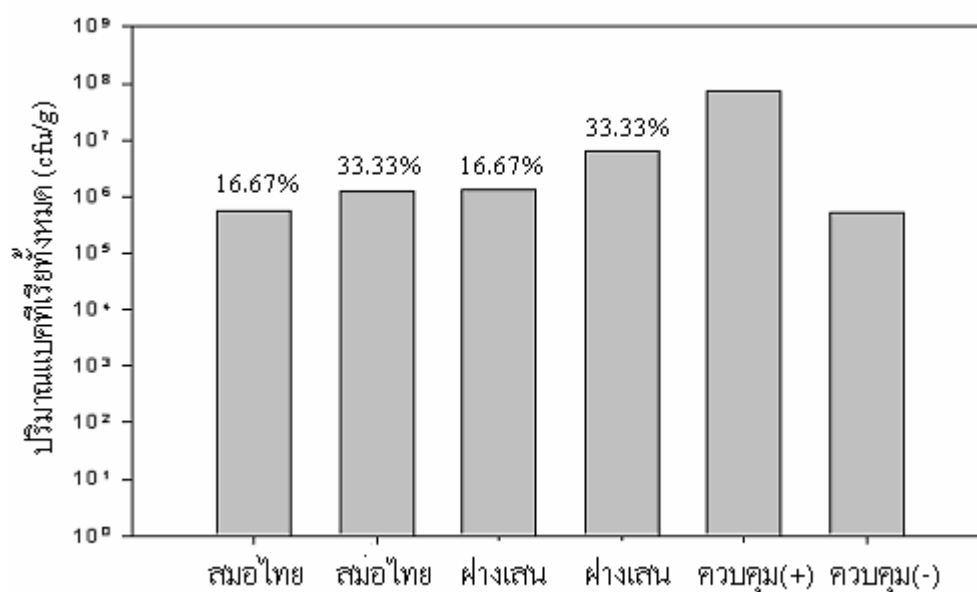


ก. ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด

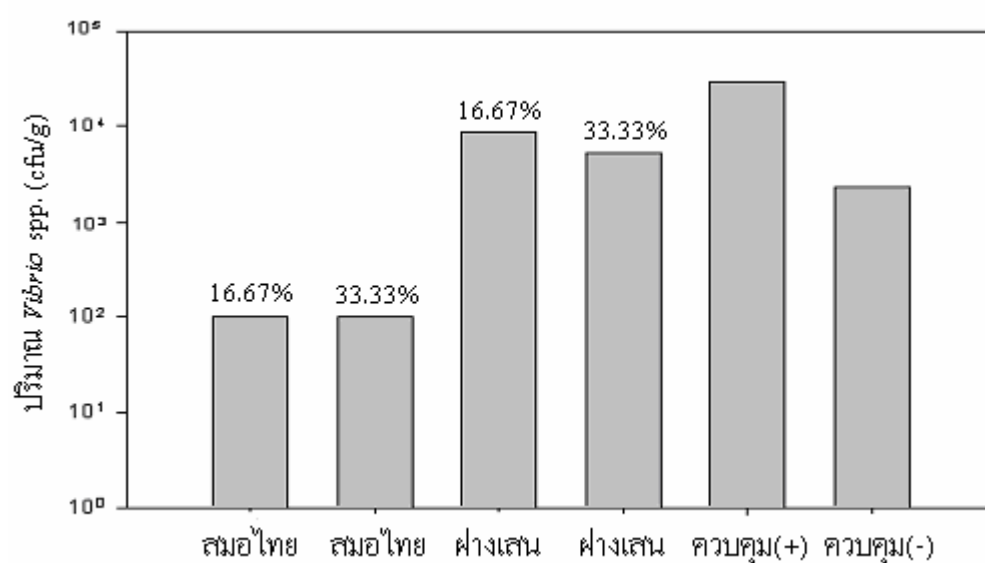


ข. ปริมาณ *Vibrio* spp.

ภาพที่ 12 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดสมอไทยและฟางเสนต่อปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp. ในตับกึ่งกุลาคำที่ตายหลังจากทำให้ติดโรค
กำหนดให้ ควบคุม(+) เป็นกลุ่มที่ทำให้ติดโรคด้วย *V. harveyi* 02



ก. ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด



ข. ปริมาณ *Vibrio* spp.

ภาพที่ 13 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดสมอไทยและฟ้างเสนต่อปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp. ในตับกุ้งกุลาดำที่รอดชีวิตหลังจากทำให้ติดเชื้อ

กำหนดให้ ควบคุม (+) เป็นกลุ่มที่ทำให้ติดเชื้อด้วย *V. harveyi* 02

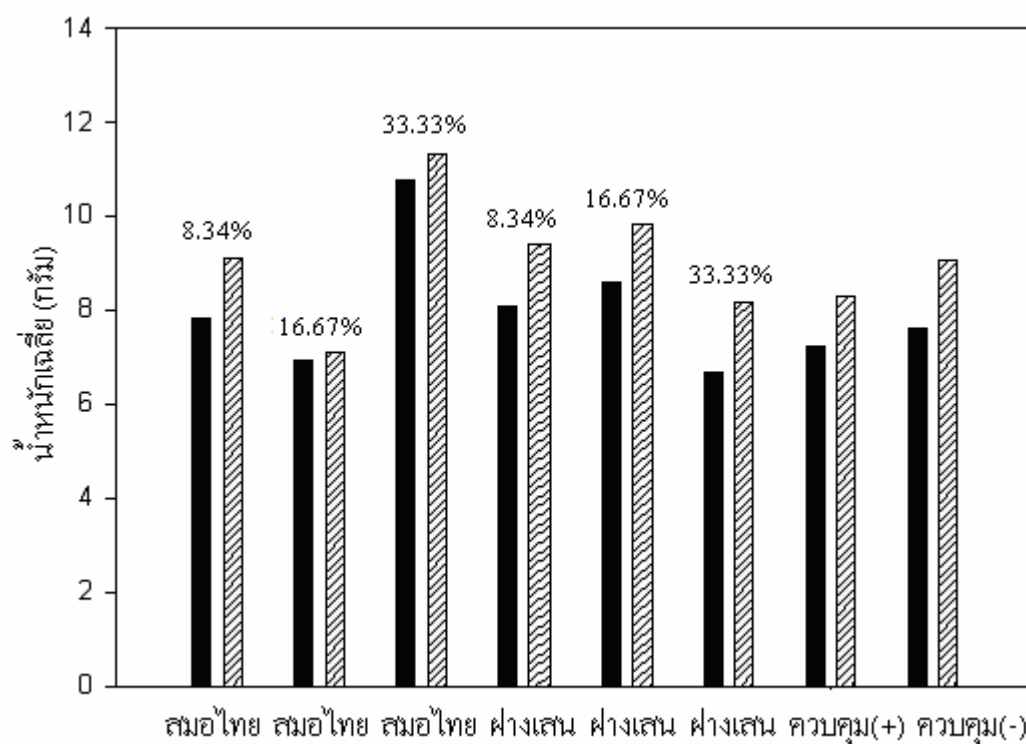
ควบคุม (-) เป็นกลุ่มที่ไม่ทำให้ติดเชื้อด้วย *V. harveyi* 02

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp. ที่มีในกุ้งกุลาดำที่รอดชีวิต พบว่าการให้อาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดสมอไทยและฝางเสนความเข้มข้น 16.67 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัมต่อกรัม) มีผลช่วยให้กุ้งกุลาดำมีสุขภาพแข็งแรง และรอดชีวิตจากการทำติดโรคด้วย *V. harveyi* 02 โดยปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบในตับกุ้งกุลาดำในกลุ่มการทดลองนั้นจะมีปริมาณลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตับกุ้งกุลาดำในกลุ่มควบคุม (+) ซึ่งจะแสดงให้เห็นว่าแม้จะมีปริมาณแบคทีเรียและปริมาณ *Vibrio* spp. ในตับของกุ้งแต่กุ้งยังสามารถรอดชีวิตนั้น เนื่องจากมีให้สารสกัดสมอไทยและฝางเสนที่ความเข้มข้น 16.67 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัมต่อกรัม) ซึ่งทำให้กุ้งสามารถต้านทานต่อการเกิดโรคจาก *Vibrio* spp. ในลักษณะเดียวกับผลการศึกษาการใช้สารสกัดขมิ้นชัน พญาปล้องทอง และฟ้าทะลายโจร เพื่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียในตับอยู่ในช่วง $10^6 - 10^9$ cfu/g และปริมาณ *Vibrio* spp. ในตับกุ้งอยู่ช่วง $10^5 - 10^7$ cfu/g แต่ก็พบว่าแม้จะมีเชื้อปริมาณสูงแต่กุ้งก็สามารถรอดชีวิตและไม่ติดโรค ซึ่งอาจจะเกิดจากสภาพแวดล้อมของการเลี้ยงที่ดีคือ สภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงมีคุณภาพดี ทำให้กุ้งมีโอกาสดูดโรคได้น้อยลง และสาเหตุอีกประการคือการเสริมสมุนไพรในอาหารกุ้งทำให้กุ้งสามารถต้านทานการเกิดโรคได้ (กิจการ, 2548)

7.2 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดสมอไทยและฝางเสนต่อน้ำหนักของกุ้งกุลาดำ

จากผลการทดลองการเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดสมอไทยและฝางเสนความเข้มข้น 8.34, 16.67 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัมต่อกรัม) พบว่ากุ้งกุลาดำมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยเท่ากับ 1.29, 0.17 และ 0.56 กรัม ตามลำดับ และเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดฝางเสน พบว่ากุ้งกุลาดำมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยเท่ากับ 1.34, 1.25 และ 1.50 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มควบคุม (+) และกลุ่มควบคุม (-) มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเท่ากับ 1.21 และ 1.04 กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 14) จากผลจะเห็นว่าการให้อาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดฝางเสนจะทำให้มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยมากกว่ากลุ่มควบคุมทั้งสอง จากการสังเกตการกินอาหารของกุ้งจะเห็นว่าเมื่อให้อาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดสมอไทยความเข้มข้นต่ำจะทำให้กุ้งกินอาหารได้มากกว่าการให้สารสกัดที่ความเข้มข้นสูง เนื่องจากความเข้มข้นต่ำจะทำให้อาหารคงสภาพเดิมได้มากกว่าการให้อาหารผสมสารสกัดความเข้มข้นสูง ดังนั้นกุ้งจึงกินอาหารได้มากกว่า

สำหรับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในระดับห้องปฏิบัติการจะแตกต่างจากการเลี้ยงในฟาร์มกุ้งกุลาดำที่เป็นบ่อดิน เนื่องจากมีอาหารตามธรรมชาติที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งได้เป็นอย่างดี โดยการเลี้ยงกุ้งในระดับห้องปฏิบัติการกุ้งกุลาดำจะได้รับเฉพาะอาหารสำเร็จรูปเท่านั้น นอกจากนี้ยังต้องมีการผสมสารสกัดสมุนไพรเพิ่มเข้าไปในอาหารและทำให้กลิ่น รส และลักษณะของอาหารสำเร็จรูปเปลี่ยนไปจากเดิม จึงมีส่วนทำให้ความอยากอาหารของกุ้งกุลาดำลดลง จากข้อจำกัดของการเลี้ยงกุ้งทั้งสองแบบส่งผลให้การเติบโตและน้ำหนักของกุ้งที่ได้จากการเลี้ยงนั้นแตกต่างกัน



สัญลักษณ์ ■ น้ำหนักก่อนการทดลอง ▨ น้ำหนักหลังการทดลอง

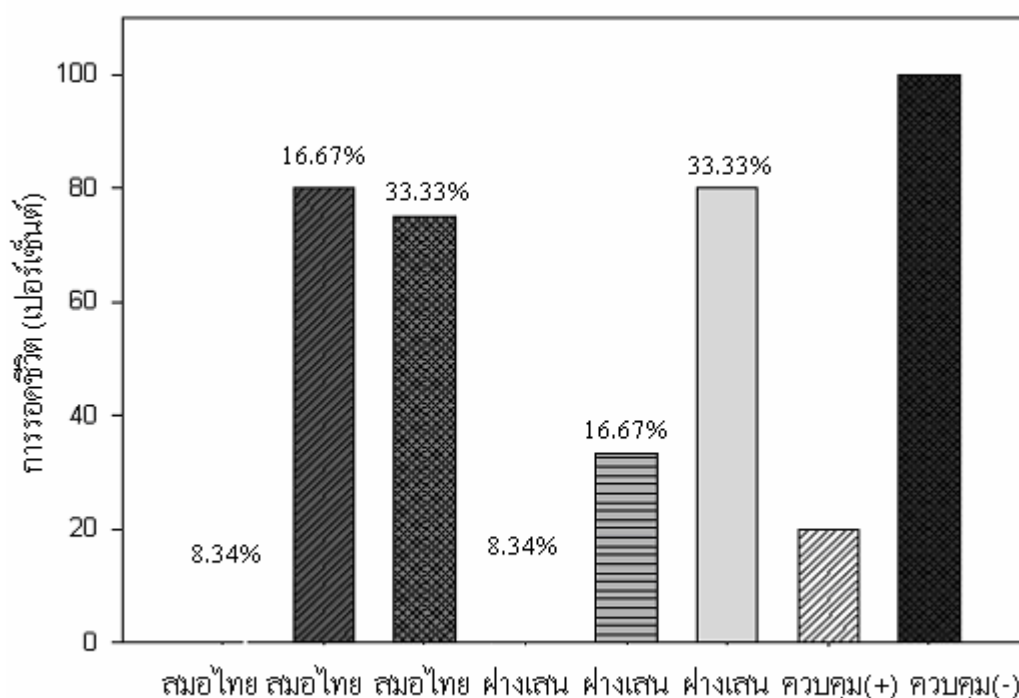
ภาพที่ 14 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดสมอไทยและฟางเสนต่อน้ำหนักของกุ้งกุลาดำ

กำหนดให้ ควบคุม (+) เป็นกลุ่มที่ทำให้ติดโรคด้วย *V. harveyi* 02

ควบคุม (-) เป็นกลุ่มที่ไม่ทำให้ติดโรคด้วย *V. harveyi* 02

7.3 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดสมอไทยและฝรั่งต่อการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำ

เมื่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดสมอไทยและฝรั่งความเข้มข้น 8.34, 16.67 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัมต่อกรัม) พบว่าการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารสกัดสมอไทย มีค่าเท่ากับ 0, 80 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารสกัดฝรั่งมีค่าเท่ากับ 0, 33 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกลุ่มควบคุม (+) พบว่ามีการรอดชีวิตเพียง 20 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 15



ภาพที่ 15 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดสมอไทยและฝรั่งต่อการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำ

กำหนดให้ ควบคุม (+) เป็นกลุ่มที่ทำให้ติดโรคด้วย *V. harveyi* 02

ควบคุม (-) เป็นกลุ่มที่ไม่ทำให้ติดโรคด้วย *V. harveyi* 02

จากผลการทดลองจะเห็นว่าสารสกัดสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 33.33 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัมต่อกรัม) ให้ค่าการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำสูงกว่ากลุ่มควบคุม (+) ถึง 4 เท่า ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดสมุนไพรและฟางเส้นที่ความเข้มข้นดังกล่าวสามารถยับยั้ง *V. harveyi* 02 ได้ดี และผลจากข้อ 7.1.2 แสดงปริมาณ *Vibrio* spp. ในกุ้งกุลาดำกลุ่มนี้น้อยกว่ากลุ่มควบคุม (+) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรนี้จะช่วยทำให้กุ้งกุลาดำแข็งแรงและต้านทานเชื้อก่อโรคได้ดี แต่ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 8.34 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัมต่อกรัม) พบว่ากุ้งกุลาดำตายทั้งหมด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารสกัดไม่สามารถยับยั้ง *V. harveyi* 02 ส่งผลให้กุ้งเกิดโรคและตายได้ นอกจากนี้ยังพบว่ากุ้งกุลาดำกินอาหารได้น้อยลงเป็นผลให้มีสุขภาพอ่อนแอและง่ายต่อการเกิดโรค เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (+) ที่มีการรอดชีวิตเพียง 20 เปอร์เซ็นต์