

ชื่อเรื่อง	ประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรไทยในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งก้ามกราม
ชื่อผู้เขียน	นางสาวอัญชลี ถ้ามรงค์คงสถิต
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง
ประธานกรรมการที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.จิราพร โรจน์ทินกร

### บทคัดย่อ

สารตกค้างเป็นปัญหาสำคัญอันหนึ่งในการส่งออกผลิตภัณฑ์กุ้ง การตกค้างเกิดจากการใช้ยาปฏิชีวนะ เช่น ออกซีเตตราซัยคลิน คลอแรมฟินิคอล เป็นต้น เพื่อรักษาโรคในกุ้ง การใช้สมุนไพร เพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะเป็นทางเลือกที่สำคัญ และสามารถแก้ไขปัญหาสารตกค้างดังกล่าวได้ งานวิจัยนี้ได้สำรวจและศึกษาสารสกัดของสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคสำคัญในกุ้งก้ามกราม ได้แก่ เชื้อ *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *V. harveyi* และศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการรักษาโรคจากเชื้อ *A. hydrophila*

ศึกษาสมุนไพรไทย 35 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคสำคัญทั้ง 3 ชนิด โดยสกัดด้วยเอทานอล 50% (T1) และเอทานอล 50% ดม ที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (T2) ทำการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธี disc diffusion พบว่าสำหรับเชื้อ *A. hydrophila* สารสกัดใบหูกวาง T2 มีฤทธิ์ในการยับยั้งสูงสุด รองลงมา คือ สารสกัดใบหูกวางสด T2 และสารสกัดใบหูกวาง T1 มีขนาดวงใส เท่ากับ  $15.78 \pm 0.22$ ,  $14.20 \pm 0.62$  และ  $13.90 \pm 0.3$  มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนการทดสอบเชื้อ *V. parahaemolyticus* พบว่าสารสกัดใบหูกวาง T2 มีฤทธิ์ในการยับยั้งสูงสุด รองลงมา คือ สารสกัดใบหูกวาง T1 และสารสกัดกระเทียมสด T2 มีขนาดวงใส เท่ากับ  $19.35 \pm 0.85$ ,  $18.45 \pm 0.05$  และ  $17.58 \pm 1.85$  มิลลิเมตร ตามลำดับ และเชื้อ *V. harveyi* พบว่าสารสกัดกระเทียมสด T1 มีฤทธิ์ในการยับยั้งสูงสุด รองลงมา คือ สารสกัดใบหูกวาง T2 และ T1 มีขนาดวงใส เท่ากับ  $19.80 \pm 3.34$ ,  $18.42 \pm 1.88$  และ  $18.30 \pm 1.1$  มิลลิเมตร ตามลำดับ

ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อแบคทีเรีย โดยหาค่า MIC (Minimum Inhibitory Concentration)/MBC (Minimum Bactericidal Concentration) โดยวิธี broth dilution สำหรับเชื้อ *A. hydrophila* พบว่าสารสกัดกระเทียมสด T1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุด (MIC = 5 ppt; MBC = 10 ppt) รองลงมา คือ สารสกัดเปลือกทับทิม T1 (MIC = 9 ppt; MBC = 15 ppt) และ T2 (MIC = 10 ppt; MBC = 20 ppt) ส่วนเชื้อ *V. parahaemolyticus* พบว่าสารสกัดใบหูกวางด้วย T2 (MIC = 2 ppt; MBC = 3 ppt) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุด รองลงมา คือ T1

(MIC = 2 ppt; MBC = 4 ppt) และสารสกัดเปลือกหอยทิม T1 (MIC = 3 ppt; MBC = 20 ppt) และเชื้อ *V. harveyi* พบว่าสารสกัดใบหูกวาง T2 (MIC = 1 ppt; MBC = 9 ppt) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุด รองลงมา คือ T1 (MIC = 1 ppt; MBC = 12 ppt) และใบมะระหวาน T1 (MIC = 2 ppt; MBC = 10 ppt)

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพร โดยหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้ลูกกุ้ง ขนาด PL15 ตาย 50% ที่เวลา 96 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดใบมะระหวาน T1 มีพิษระดับต่ำที่สุดต่อกุ้ง ( $LC_{50}$  96 h =  $13.26 \pm 0.42$  ppt) และสารสกัดกระชายม่วง T1 มีพิษระดับสูงที่สุดต่อกุ้ง ( $LC_{50}$  96 h =  $0.92 \pm 0.07$  ppt)

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการรักษาโรคแอโรโมแนส โดยการแช่ ทำโดยแช่กุ้งก้ามกรามขนาด 4-6 กรัม ในน้ำที่มีเชื้อ *A. hydrophila*  $10^8$  cells/ml พบว่าสารสกัดเปลือกหอยทิม T1 ที่ความเข้มข้น 4, 9 และ 15 ppt ใบหูกวาง T1 ที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 40 ppt กระเทียมสด T1 ที่ความเข้มข้น 3, 5 และ 10 ppt ชาเขียวญี่ปุ่น T2 ที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 25 ppt และใบชะพลู T2 ที่ความเข้มข้น 5, 20 และ 30 ppt สามารถใช้ป้องกันและรักษาได้ โดยการแช่ระยะเวลายาว แช่ระยะสั้น และการจุ่ม

ส่วนการทดสอบรักษาโรคแอโรโมแนสโดยการกิน ในกุ้งก้ามกราม ขนาด 20-30 กรัม ทำโดยฉีดเชื้อ *A. hydrophila*  $10^8$  เซลล์/ตัว เข้าทางกลัมน้ำเลี้ยงลำตัวกุ้ง แล้วให้อาหารเคลือบสมุนไพรในปริมาณต่างๆ พบว่าสารสกัดเปลือกหอยทิม T1 ที่ปริมาตร 9 มิลลิลิตร/อาหาร 100 กรัม ใบหูกวาง T1 ที่ปริมาตร 10 มิลลิลิตร/อาหาร 100 กรัม กระเทียมสด T1 ที่ปริมาตร 15 มิลลิลิตร/อาหาร 100 กรัม ชาเขียวญี่ปุ่น T2 ที่ปริมาตร 10 มิลลิลิตร/อาหาร 100 กรัม และใบชะพลู T2 ที่ปริมาตร 5 มิลลิลิตร/อาหาร 100 กรัม ให้ผลใกล้เคียงกับ oxytetracycline

ดังนั้นสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดนี้ สามารถใช้เพื่อรักษาโรคแบคทีเรียในกุ้งโดยวิธีการแช่และการกินได้ จึงเหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาเพื่อใช้ในการป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio parahaemolyticus*, *V. harveyi*, สมุนไพรไทย,

กุ้งก้ามกราม, การแช่, การจุ่ม, การกิน

<b>Title</b>	Effective of Thai Herb Extracts to Inhibit Bacterial Pathogens in Giant Freshwater Prawn ( <i>Macrobrachium rosenbergii</i> )
<b>Author</b>	Miss Anchalee Tummarongkongsatit
<b>Degree of</b>	Master of Science in Fisheries Technology
<b>Advisory Committee Chairperson</b>	Dr. Jiraporn Rojtinakorn

### ABSTRACT

Residues of antibiotics is the particular problem for exported shrimp product. It is because of disease treatment using antibiotics, such as oxytetracycline chloramphenicol etc. Application of herbs is the important alternative way for substitution of antibiotics and solving the residue problem. This study aims to survey effective Thai herb extracts showing inhibition to particular bacteria; i.e. *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio parahaemolyticus* and *V. harveyi*. The treatment of *A. hydrophila* was determined.

Thai herbs 35 species were tested. Herbs were extracted with 50% ethanol (T1) and 50% ethanol then boiled at 70°C for 1 h (T2). Their activities were tested by a disc diffusion method. For *A. hydrophila*, it was found that the highest activities were Indian almond leaf T2, fresh Indian almond leaf T2 and Indian almond leaf T1 with inhibition zone of 15.78±0.22, 14.20±0.62 and 13.90±0.3 mm, respectively. For *V. parahaemolyticus*, it was found that the highest activities were Indian almond leaf T2, T1 and fresh garlic T1 with inhibition zone of 19.35±0.85, 18.45±0.05 and 17.58±1.85 mm, respectively. And for *V. harveyi*, it was found that the highest activities were fresh garlic T1, Indian almond leaf T2 and T1 with inhibition zone of 19.80±3.34, 18.42±1.88 and 18.30±1.1 mm, respectively.

The efficiency value was determined with MIC/MBC (Minimum Inhibitory Concentration / Minimum Bactericidal Concentration) by broth dilution method. For *A. hydrophila*, it was results that the highest effectiveness were fresh garlic T1 (MIC = 5 ppt; MBC = 10 ppt), pomegranate peel T1 (MIC = 9 ppt; MBC = 15 ppt) and T2 (MIC = 10 ppt; MBC = 20 ppt), respectively. For *V. parahaemolyticus*, it was results that the highest effectiveness were Indian almond leaf T2 (MIC = 2 ppt; MBC = 3 ppt), T1 (MIC = 2 ppt; MBC = 4 ppt) and pomegranate

peel T1 (MIC = 3 ppt; MBC = 20 ppt), respectively. And for *V. harveyi*, it was results that the highest effectiveness were Indian almond leaf T2 (MIC = 1 ppt; MBC = 9 ppt), T1 (MIC = 1 ppt; MBC = 12 ppt) and chayote leaf T1 (MIC = 2 ppt; MBC = 10 ppt), respectively.

The toxicity was determined by  $LC_{50}$  96 h (50% kill concentration at 96 hours) of PL15 giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). It was revealed that the extract of bitter cucumber leaf T1 showed the lowest toxicity ( $LC_{50}$  96 h =  $13.26 \pm 0.42$  ppt) and *Belamcanda chimensis* T2 showed the highest toxicity ( $LC_{50}$  96 h =  $0.92 \pm 0.07$  ppt).

Prevention and treatment of Motile Aeromonas Septicemia (MAS) with herb extracts were tested. Giant freshwater prawns of 4-6 g were examined. It was found that pomegranate peel T1 4, 9 and 15 ppt, Indian almond leaf T1 5, 10 and 40 ppt, fresh garlic T1 3, 5 and 10 ppt, Japanese green tea T2 5, 10 and 25 ppt and piper leaf T1 5, 20 and 30 ml showed high effectiveness and low toxicity with tendency appropriate concentrations for long-bath, short-bath and dip.

Prawns of 20-30 g were injected intramuscularly with  $10^8$  cells of *A. hydrophila* and fed with herbs extracts coated feeds. It was founded that feed coated with pomegranate peel T1 9 ml/100 g feed, Indian almond leaf T1 10 ml/100 g feed, fresh garlic T1 15 ml/100 g feed, Japanese green tea T2 10 ml/100 g feed and piper leaf T2 5 ml/100 g feed showed effective treat similar to oxytetracycline. Therefore, these 5 herbs are satisfied to develop for prevention and treatment of bacterial diseases.

**Keywords:** *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio parahaemolyticus*, *V. harveyi*, Thai herbs, Giant freshwater prawn, bath, dip, additive