

การศึกษาในภาคสนาม: ผลการใช้ไขมันมะพร้าวในการลดการเจริญของแบคทีเรีย
Vibrio spp. ในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)
A Field Study: Effect of Virgin Coconut Oil on the Reduction of Gastrointestinal
Vibrio spp. in Pacific Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

วรรณิ ศิริมานะพงษ์^{1*} ณัฐภัทร รุจจนเวท² วสุธร ย้งวนิชเศรษฐ² สรวิศ หลิมรักษาสิน²
ก้องภพ ฟองศรีณย์² และกิตติพัฒน์ อังโชคชัชวาล²

Wanna Sirimanapong^{1*}, Nattapat Rutjanavate², Wasutorn Yangwanitset², Soravis Limruksasin²
Kongpop Fongsaran² and Kittipat Angchokchatchawal²

¹หน่วยวิจัยและดูแลสุขภาพสัตว์น้ำทางสัตวแพทย์ ภาควิชาเวชศาสตร์คลินิกและการสาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล นครปฐม 73170

²คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล นครปฐม 73170

¹Veterinary Aquatic Animal Research Health Care Unit, Department of Clinical Science and Public Health
Faculty of Veterinary Science, Mahidol University, Nakhon Pathom, Thailand 73170

²Faculty of Veterinary Science, Mahidol University, Nakhon Pathom, Thailand 73170

*Corresponding author: wanna.sir@mahidol.edu

Received: February 27, 2020

Revised: December 20, 2020

Accepted: January 27, 2021

Abstract

The objective of this study was to evaluate the growth inhibitory effects of virgin coconut oil (VCO) on *Vibrio* spp. in gastrointestinal tract of Pacific white shrimps (*Litopenaeus vannamei*). Shrimps were fed with 3 different types of feed, feed without VCO (the control), feed with 3% VCO and feed with 6% VCO. The samples were collected at 48 and 96 hours after feeding. The population of *Vibrio* spp. in CFU/ml were decreased in shrimps fed with VCO-mixed feed and significantly lower ($p < 0.05$) in population of *V. alginolyticus* in shrimp fed with VCO-mixed feed. The difference between feed with 3 and 6% could not be observed. This study suggested that VCO had the growth inhibitory effects on *Vibrio* spp. in healthy shrimps, and could replace using of chemicals and antibiotics in shrimp production.

Keywords: Pacific white shrimp, virgin coconut oil, feed, bacteria, *Vibrio* spp.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* spp. ในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) จึงได้นำกุ้งขาวแวนนาไมมาเลี้ยงด้วยอาหารที่ต่างกันสามชนิด คืออาหารกุ้งสำเร็จรูปทั่วไป อาหารกุ้งสำเร็จรูปผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 3% และอาหารกุ้งสำเร็จรูปผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 6% และสุ่มเก็บตัวอย่างทางเดินอาหารที่ 48 และ 96 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าจำนวนเชื้อไวรัสในทางเดินอาหารของกุ้งมีจำนวนลดลงในกลุ่มที่ได้รับน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ และลดลงอย่างมีนัยสำคัญสำหรับสปีชีส์ *V. alginolyticus* ($p < 0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 3% และ 6% และไม่มีผลต่อคุณภาพในระหว่างการทดลอง การวิจัยครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ จึงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* spp. ในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม และน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการใช้ควบคุมประชากรแบคทีเรียก่อโรคโดยไม่ใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะ

คำสำคัญ: กุ้งขาวแวนนาไม น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์
อาหาร แบคทีเรียไวรัส

บทนำ

กุ้งขาวแวนนาไม (Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*) เป็นกุ้งที่นิยมเลี้ยงมากที่สุดในประเทศไทย และมีผลผลิตต่อปีสูงที่สุด (Boyd *et al.*, 2017) ปัจจุบันมีโรคอันเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่ส่งผลต่อการเพาะเลี้ยงกุ้งชนิดนี้อยู่หลายโรค ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* spp. เช่น โรคตายด่วน หรือ EMS (Early Mortality Syndrome) หรือ AHPND (Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease) ที่เกิด

จากเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (Joshi *et al.*, 2014) ที่ทำให้กุ้งตายได้เป็นจำนวนมาก และโรคซีขาวหรือ White feces syndrome ที่อาจจะมีส่วนเกิดมาจากเชื้อ *V. alginolyticus* และ *V. fluvialis* (Kumara and Hettiarachchi, 2017) ที่ทำให้กุ้งเจริญเติบโตช้าและแคระแกร็น เป็นต้น

Vibrio spp. ปกติเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่น (Microflora) ที่พบในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม โดยมีอยู่ทั้งในกระเพาะอาหาร (Stomach) ตับ และตับอ่อน (Hepatopancreas) รวมทั้งลำไส้ (Intestine) โดยไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างขนาดของกุ้งกับจำนวนประชากรของ *Vibrio* spp. ในทางเดินอาหารของกุ้ง (Albuquerque *et al.*, 2013) แบคทีเรียในสกุลนี้พบว่ามีส่วนช่วยในการย่อยอาหารของกุ้งผ่านเอนไซม์ต่างๆ ที่สร้างขึ้น เช่น Lipase ที่กุ้งสามารถสร้างเองได้น้อย เป็นต้น (Tzuc *et al.*, 2014) และเมื่อมีจำนวนมากขึ้น โดยเฉพาะประชากรที่ก่อโรค เช่น *V. Parahaemolyticus* จะทำให้เกิดโรคในกุ้งได้ ทั้งนี้ได้มีการแนะนำว่าการควบคุมประชากรของ *V. parahaemolyticus* ในตับและตับอ่อนของกุ้ง ให้มีจำนวนต่ำกว่า 10^4 Colony-forming unit (CFU) จะสามารถลดการระบาดของโรคในช่วงเดือนแรกของการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวได้ (Leaño *et al.*, 1998) แสดงให้เห็นว่า การควบคุมประชากรของ *Vibrio* spp. ในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม อาจเป็นหนทางที่ดีในการลดการระบาดของโรคในกุ้งได้ และเนื่องจาก *Vibrio* spp. เป็นเชื้อแบคทีเรีย เชื้อเหล่านี้จึงสามารถยับยั้งการเจริญได้ด้วยการใช้ยาปฏิชีวนะ แต่มีกลุ่มยาปฏิชีวนะที่สามารถอนุญาตให้ใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งได้นั้นมีอยู่น้อยมาก ร่วมกับปัจจุบันที่แนวคิดของการดื้อยาปฏิชีวนะ (Antimicrobial drug resistance) ได้รับความสนใจอย่างมาก และผู้บริโภคก็มีความต้องการสินค้าที่มีความเป็นธรรมชาติและปราศจากสารเคมีตกค้างมากขึ้น การเลือกใช้สารที่ได้จากธรรมชาติจึงเป็นทางเลือกอีกทางหนึ่งที่ดีในการควบคุมเชื้อแบคทีเรียในสัตว์ที่จะกลายเป็นอาหารสำหรับการบริโภคของมนุษย์ (Govaris *et al.*, 2010)

น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (Virgin coconut oil) คือน้ำมันที่ได้จากการสกัดเนื้อลูกมะพร้าวสดโดยกระบวนการที่อาศัยอุณหภูมิต่ำ ในน้ำมันดังกล่าวประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งมีกรดไขมันอิ่มตัวเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ กรดไขมันอิ่มตัวที่พบในน้ำมันมะพร้าวมี Lauric acid เป็นองค์ประกอบหลักคิดเป็น 45-50% และกรดไขมันไม่อิ่มตัวส่วนน้อยอื่นๆ เช่น Caprylic acid 4.6-10%, Capric acid 5-8%, Caproic acid 0-0.7%, Myristic acid 16.8-21%, Stearic acid 2-4%, Palmitic acid 7.5-10.2% เป็นต้น และกรดไขมันไม่อิ่มตัว Linoleic acid 1-2.5 %, Linolenic acid 0-0.2%, Oleic acid 5-10% เป็นต้น พบว่ากรดไขมันเหล่านี้มีอัตราส่วนที่แตกต่างกันไปตามกระบวนการสกัดรวมทั้งชนิดของมะพร้าวที่ปลูกในแต่ละพื้นที่ (Bawalan and Chapman, 2006) กระบวนการผลิตน้ำมันมะพร้าวสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การปั่นเปียก การสกัดร้อน การสกัดเย็นหรือการบีบเย็น (Cold process) ฯลฯ วิธีการที่นิยมมากที่สุด คือ การสกัดเย็น ซึ่งเป็นกระบวนการผลิตที่ปราศจากการใช้ความร้อน และกระบวนการทางเคมี จึงทำให้ได้น้ำมันมะพร้าวที่มีคุณภาพ อุดมไปด้วยวิตามินอี และสารต้านอนุมูลอิสระ สำหรับกรดไขมันอิ่มตัวที่พบมากที่สุด คือ Lauric acid พบว่ามีสรรพคุณในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Antimicrobial activity) และถือเป็นสารออกฤทธิ์หลักของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (Shilling and Woolverton, 2013) โดยพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีมาก เช่น *Clostridium difficile*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. sanguinis*, *S. salivarius* and *S. mutans* (Tangwatcharin and Khopailbool, 2012; Shilling and Woolverton, 2013; Nagase *et al.*, 2017) โดยงานวิจัยของ Shilling and Woolverton (2013) พบว่าการออกฤทธิ์ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ต่อเซลล์ของแบคทีเรียเป็นผลลัพธ์โดยตรงจากการย่อยสลายเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียโดย Lauric acid ซึ่งต้องผ่านการย่อยโดยเอนไซม์ Lipase ออกมาจากน้ำมัน

มะพร้าวบริสุทธิ์ก่อน ด้วยเหตุนี้ สำหรับกึ่งขาวแวนนาไมที่มี *Vibrio* spp. อยู่ในทางเดินอาหารซึ่งมีเอนไซม์ต่างๆ เช่น Lipase ที่ทำหน้าที่ช่วยในการย่อยอาหาร และการนำน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ผสมอาหารให้กึ่งขาวแวนนาไมกิน จึงควรได้ผลลัพธ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Vibrio* spp. ที่อยู่ในทางเดินอาหาร เช่นเดียวกันกับในอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษารังนี้ คือ การนำน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ผสมอาหารให้กึ่งขาวแวนนาไม โดยวัดผลจากจำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS (Thiosulfate-Citrate-Bile Salts-Sucrose) Agar (MikroMedia®) และ CHROMagar™ *Vibrio*

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง

การใช้สัตว์ทดลองได้ผ่านการพิจารณาจาก Mahidol University-Institute Animal Care and Use Committee (MU-IACUC) รหัสโครงการ MU-IACUC 2017/013

กึ่งขาวแวนนาไมจำนวน 90 ตัว ถูกสุ่มจากบ่อเลี้ยง โดยกึ่งทั้งหมดมีสุขภาพดี มีอายุเท่ากัน และน้ำหนัก 5.3 ± 1.9 กรัม เพื่อแยกเลี้ยงในอ่างทรงกลมสูงความจุ 500 ลิตร 3 อ่างๆ ละ 30 ตัว โดยใช้ปริมาตรน้ำอ่างละ 300 ลิตร

การเตรียมอาหาร

อาหารสำหรับกึ่งขาวแวนนาไมแบ่งเป็น 3 กลุ่มตามจำนวนกลุ่มทดลอง คือ อาหารกึ่งสำเร็จรูปสำหรับกึ่งขาวแวนนาไมปกติ อาหารกึ่งสำเร็จรูปที่ได้รับการผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 3% และอาหารกึ่งสำเร็จรูปที่ได้รับการผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 6% น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ได้มาจากการสกัดเย็น (Madame oil®) ซึ่งได้รับการคำนวณและผสมกับอาหารกึ่ง (Pro-grade® A930) จนเข้ากันดีและเก็บไว้ในภาชนะมิดชิดที่ทึบแสง

การแบ่งกลุ่มการทดลองและการเก็บตัวอย่าง

นำกุ้งขาวแวนนาไมพักในอ่างทรงกลมสูงเพื่อลดความเครียดที่เกิดจากการเปลี่ยนสภาพแวดล้อมเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นเริ่มให้อาหารทุก 6 ชั่วโมง (6.00, 12.00, 18.00 และ 24.00 น.) ครั้งละ 4 กรัม คือ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวเฉลี่ยของกุ้งแยกตามกลุ่มทดลอง เมื่อให้อาหารครบ 48 ชั่วโมง กุ้งจำนวน 8 ตัว จากแต่ละบ่อจะถูกสุ่มออกมาเพื่อทำการการุณฆาตโดยการแช่ในน้ำแข็งและเก็บตัวอย่างโดยใช้หวงเขี่ยเชื้อบริเวณกระเพาะอาหาร ลำไส้ ตับ และตับอ่อน ทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด ได้แก่ TCBS (Thiosulfate-Citrate-Bile Salts-Sucrose) Agar (MikroMedia®) และ CHROMagar™ *Vibrio* ส่วนกุ้งที่เหลือจะทำการทดลองต่อจนให้อาหารครบ 96 ชั่วโมง กุ้งจำนวน 8 ตัวจากแต่ละบ่อจะถูกสุ่มออกมาอีกครั้งเพื่อทำการการุณฆาตและเก็บตัวอย่างในลักษณะเดียวกัน อาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดจะถูกนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียที่พบในหน่วย CFU ต่อ มิลลิลิตร (CFU/ml) โดยนับแยกตามชนิดของ *Vibrio* spp. ที่พบ และแยกตามชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ

การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

น้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งจากแต่ละกลุ่มทดลองจะถูกวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolved Oxygen, DO) ความเค็ม (Salinity) และปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ (Total Dissolved Solid, TDS) โดยใช้เครื่องวัดคุณภาพน้ำยี่ห้อ YSI รุ่น Pro 2030 ในชั่วโมงที่ 0, 24, 48, 72 และ 96 หลังเริ่มการทดลอง จากนั้นตัวอย่างน้ำที่ชั่วโมงเดียวกัน 30 มิลลิลิตร จะถูกเก็บและนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ความเป็นกรด (Power of proton, pH) ความเป็นเบส (Alkalinity) และแอมโมเนีย (Ammonia) ในห้องปฏิบัติการของฟาร์ม คุณภาพน้ำทั้งหมดจะถูกเปรียบเทียบกันในแต่ละกลุ่มทดลองที่ช่วงเวลาต่างๆ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียที่พบจะถูกนำมาทดสอบการกระจายตัวโดยใช้ Shapiro-Wilk test และทดสอบความแปรปรวนด้วย Levene's test แล้วจึงนำมาวิเคราะห์โดยใช้หลักการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way Analysis of Variance, ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของกลุ่มทดลองด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test ในรูปแบบ Mean±SEM โดยให้มีระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$) การคำนวณค่าทางสถิติทั้งหมดจะใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูปภายใต้ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยมหิดล SPSS statistics version 18.0 (U.S.A.)

ผลการทดลอง

สำหรับ TCBS agar ซึ่งสามารถแยก *Vibrio* spp. ได้เพียงสองกลุ่มคือ กลุ่มที่สามารถใช้ Sucrose เป็นพลังงานได้ ซึ่งจะให้โคโลนีสีเหลือง เช่น *Vibrio cholerae* และกลุ่มที่ไม่สามารถใช้ Sucrose เป็นพลังงานได้ ซึ่งจะให้โคโลนีสีเขียว เช่น *V. parahaemolyticus* โดยส่วนใหญ่ *Vibrio* spp. ชนิดก่อโรคจะไม่สามารถใช้ Sucrose เป็นพลังงานได้ จาก Table 1 ผลการทดลองปริมาณเชื้อ *Vibrio* spp. ในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่ผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์และกลุ่มควบคุม พบว่าจำนวนโคโลนีสีเขียวบน TCBS agar ที่ 48 และ 96 ชั่วโมง ระหว่างกลุ่มที่ได้รับอาหารที่ผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์และกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตาม จำนวนโคโลนีของ *Vibrio* spp. กลุ่มนี้พบว่ามีแนวโน้มลดลงในกลุ่มทดลองที่ได้รับอาหารที่ผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

สำหรับ CHROMagar™ ซึ่งสามารถแยก *Vibrio* spp. ได้สามกลุ่ม คือ *V. parahaemolyticus* ที่ให้โคโลนีสีม่วง (Mauve) *V. vulnificus* และ *V. cholerae* ที่ให้โคโลนีสีน้ำเงิน (Turquoise blue) และ *V. alginolyticus*

ที่ให้โคลินที่ไม่มีสี (Colourless) พบว่าจำนวนโคลินของ *V. parahaemolyticus* และจำนวนโคลินของ *V. vulnificus* และ *V. cholerae* ที่ 48 และ 96 ชั่วโมง ระหว่างกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จำนวนโคลินของ *V. alginolyticus* ที่ 48 และ 96 ชั่วโมง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลองที่ไม่ได้ผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์กับกลุ่มที่

ได้รับน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ ($P<0.05$) (Table 2) และพบว่าจำนวนโคลินของ *Vibrio* spp. ระหว่างกลุ่มทดลองที่ได้รับน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีแนวโน้มลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

คุณภาพน้ำระหว่างกลุ่มทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทั้งคุณภาพเชิงกายภาพและคุณภาพเชิงเคมี ที่ 48 และ 96 ชั่วโมง

Table 1 Comparison of 0, 3 and 6% vergin coconut oil feeding in shrimp groups against *Vibrio* spp. on TCBS (Thiosulfate-Citrate-Bile Salts-Sucrose) agar in 48 and 96 hours (Mean $\pm$ SEM, n=30)

<i>Vibrio</i> spp.	Colony-forming unit (CFU)/ml			P-value
	0% Feeding (control)	3% Feeding	6% Feeding	
48 hours	51.3 $\pm$ 12.9	13.5 $\pm$ 1.3	14.8 $\pm$ 1.2	0.56
96 hours	122.1 $\pm$ 6.80	38.3 $\pm$ 3.3	13.4 $\pm$ 1.7	0.17

Table 2 Comparison of 0, 3 and 6% Vergin coconut oil feeding in shrimp groups against *Vibrio parahaemolyticus* (VP), *Vibrio vulnificus* (VV), *Vibrio cholerae* (VC) และ *Vibrio alginolyticus* (VA) on CHROMagar™ *Vibrio* in 48 and 96 hours (Mean $\pm$ SEM, n=30).

<i>Vibrio</i> spp.	Colony-forming unit (CFU)/ml			P-value
	0% Feeding (control)	3% Feeding	6% Feeding	
48 hours				
VP	51.3±4.2	46.4±2.4	12.1±1.4	0.27
VW/VC	21.9±2.1	46.7±3.2	13.5±1.7	0.38
VA	6,165.6±28.1 ^a	134.9±5.0 ^b	28.8±1.8 ^b	0.04
96 hours				
VP	912.0±7.4 ^a	380±26.3 ^a	31.6±12.3 ^a	0.06
VW/VC	218.8±9.3	162.2±15.5	82.5±6.3	0.38
VA	5,6234.1±29.5 ^a	1,949.8±13.1 ^b	1,479±20.0 ^b	0.03

Different letters indicate significant differences ($P<0.05$) between groups at a given time point.

CHROMagar™ *Vibrio* ที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีความจำเพาะต่อ *Vibrio* spp. เช่นเดียวกับ TCBS agar แต่มีคุณสมบัติในการทำให้ *Vibrio* spp. ฟื้นตัวได้ดีกว่า TCBS agar (Di Pinto *et al.*, 2011) โดยพบว่าจำนวนโคโลนีของ *Vibrio* spp. บน TCBS agar มีจำนวนน้อยซึ่งไม่แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

นอกจากนี้ยังมีน้ำมันสกัดอื่นๆ ที่สามารถต่อต้านเชื้อ *Vibrio* spp. ได้อีกด้วย เช่น น้ำมันสกัดจากเมล็ดเทียนดำ (*Nigella sativa*) สามารถป้องกันไรทะเลหรืออาร์ทีเมีย (*Artemia* spp.) จากการติดเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้ (Manju et al., 2016) ยังพบว่าน้ำมันมะพร้าวสามารถช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันต้านออกซิเดชันหรือกำจัดอนุมูลอิสระ (Antioxidant) และเกี่ยวข้องกับ mTOR และกลไก NF- κ B ต่อการต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ในปลา *Spinibarbus sinensis* (Wu et al., 2019) มากกว่านั้นมีการใช้น้ำมันสกัด 5 ชนิด (น้ำมันมะพร้าว น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันเมล็ดฝ้าย น้ำมันถั่วลิสง และน้ำมันปลา) ผสมอาหารให้กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ระยะวัยอ่อนเพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอด การสะสมของกรดไขมันในตับและตับอ่อน และกล้ามเนื้อ (Gonzalez-Felix et al., 2002) การใช้น้ำมันมะพร้าวในสัตว์ชนิดอื่น เช่น การให้หนูแรทกินน้ำมันมะพร้าวต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 45 วัน จากการศึกษาของ Nevin and Rajamoha (2006) พบว่าน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (Virgin coconut oil) สกัดที่ 50°C. สามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าน้ำมันมะพร้าวที่ผลิตจากเนื้อมะพร้าวแห้ง (Copra oil) และ

น้ำมันถั่วลิสง (Groundnut oil) นอกจากนี้ น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ยังสามารถลดการสูญเสียกระดูกในหนูแรทที่มีภาวะกระดูกพรุน (Osteoporosis) ได้อีกด้วย (Hayatullina *et al.*, 2012)

สารออกฤทธิ์ที่สำคัญของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์คือ Lauric acid ซึ่งได้จากการย่อยสลายของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์โดยใช้เอนไซม์ Lipase พบได้ทั้งจากทางเดินอาหารของกุ้งและจากเชื้อ *Vibrio* spp. การให้อาหารกุ้งผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์จึงสามารถใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้ โดยไม่มีผลต่อคุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้ง เพื่อควบคุมประชากรของ *Vibrio* spp. ในทางเดินอาหารของกุ้งให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดโรค ซึ่งจะสอดคล้องกับการทดลองของ Leño *et al.* (1998) ซึ่งได้กล่าวถึงความสำคัญของประชากร *Vibrio* spp. ในตับและตับอ่อนของกุ้งไว้ในแนวทางเดียวกัน

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นที่แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Vibrio* spp. ในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม หากแต่ยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในส่วนของความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด ความคงตัว และระยะเวลา ฯลฯ นอกจากนี้ น้ำมันมะพร้าวที่ได้จากขั้นตอนการสกัดที่แตกต่างกันก็อาจจะส่งผลให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแตกต่างกันได้ อย่างไรก็ตาม น้ำมันมะพร้าวน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการใช้ควบคุมประชากรแบคทีเรียก่อโรคโดยไม่ใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าของฟาร์ม และพนักงานเลี้ยงกุ้งประจำมารีนฟาร์ม ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติการทดลองการทำงานวิจัย และหน่วยวิจัยและดูแล

สุขภาพสัตว์น้ำทางสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล สำหรับเครื่องมือ และอุปกรณ์ในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Albuquerque, C., S. Cristina and H.S. Regine. 2013. Microbiota of *Vibrio* sp. in the hepatopancreas of cultured white pacific shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Revista MVZ Córdoba* 18(2): 3439-3443.
- Bawalan, D.D. and K.R. Chapman. 2006. **Virgin Coconut oil Production Manual for Micro- and Village-scale Processing** Bangkok: Thammada Press. 15 p.
- Boyd, C.E., A.A. McNevin and C. Engle. 2017. Resource use assessment of shrimp, *Litopenaeus vannamei* and *Penaeus monodon*, production in Thailand and Vietnam. *Journal of the World Aquaculture Society* 48(2): 201-226.
- Di Pinto, A., V. Terio and G. Tantillo. 2011. Comparison between thiosulphate-citrate-bile salt sucrose (TCBS) agar and CHROM agar vibrio for isolating *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Control* 22(1): 124-127.
- Gonzalez-Felix, M.L., A.L. Lawrence, D.M. Gatlin III, and M. Perez-Velazquez. 2002. Growth, survival and fatty acid composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* fed different oils in the presence and absence of phospholipids. *Aquaculture* 205(3-4): 325-343.

- Govaris, A., N. Solomakos and P. Chatzopoulou. 2010. The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against *Salmonella enteritidis* in minced sheep meat during refrigerated storage. **International Journal of Food Microbiology** 137(2-3): 175-180.
- Gracia-Valenzuela, M., M. Vergara-Jimenez and F. Cabrera-Chavez, 2014. Antimicrobial effect of dietary oregano essential oil against *Vibrio* bacteria in shrimps. **Archives of Biological Sciences** 66(4): 1367-1370.
- Harahap, U. and J. Silalahi. 2014. Antibacterial activity of enzymatic hydrolysis of virgin coconut oil against *Salmonella*. **International Journal of Pharm Tech Research** 6(2): 589-599.
- Hayatullina, Z., N. Muhammad, N. Mohamed and I.N. Soelaiman. 2012. Virgin coconut oil supplementation prevents bone loss in osteoporosis rat model. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine** 2012(237236): 1-8.
- Joshi, J., J. Srisala and S. Thitamadee. 2014. Variation in *Vibrio parahaemolyticus* isolates from a single Thai shrimp farm experiencing an outbreak of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). **Aquaculture** 428-429(2014): 297-302.
- Kumara, K.R.P.S. and M. Hettiarachchi. 2017. White faeces syndrome caused by *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio fluvialis* in shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius 1798)-multimodal strategy to control the syndrome in Sri Lankan grow-out ponds. **Asian Fisheries Science** 30(4): 245-261.
- Leaño, E.M., C.R. Lavilla-Pitogo and M.G. Paner. 1998. Bacterial flora in the hepatopancreas of pond-reared *Penaeus monodon* juveniles with luminous vibriosis. **Aquaculture** 164(1-4): 367-374.
- Manju, S., B. Malaikozhundan, B. Withyachumnamkul and B. Vaseeharan. 2016. Essential oils of *Nigella sativa* protects *Artemia* from the pathogenic effect of *Vibrio parahaemolyticus* Dahv2. **Journal of Invertebrate Pathology** 136: 43-49.
- Nagase, S., M. Matsue, Y. Mori, M. Honda-Ogawa, K. Sugitani, T. Sumitomo, M. Nakata, S. Kawabata and S. Okamoto. 2017. Comparison of the antimicrobial spectrum and mechanisms of organic virgin coconut oil and lauric acid against bacteria. **Journal of Wellness Health Care** 41(1): 87-95.
- Nevin, K.G. and R. Rajamohan. 2006. Virgin coconut oil supplemented diet increases the antioxidant status in rats. **Food Chemistry** 99(2): 260-266.

- Ogbolu, D.O., A.A. Oni, O.A. Daini and A.P. Oloko. 2007. *In Vitro* antimicrobial properties of coconut oil on *Candida* species in Ibadan, Nigeria. **Journal of Medicinal Food** 10(2): 384-387.
- Shilling, M., L. Matt and C.J. Woolverton, 2013. Antimicrobial effects of virgin coconut oil and its medium-chain fatty acids on *Clostridium difficile*. **Journal of Medicinal Food** 16(12): 1079-1085.
- Tangwatcharin, P. and P. Khopaibool. 2012. Activity of virgin coconut oil, lauric acid or monolaurin in combination with lactic acid against *Staphylococcus aureus*. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health** 43(4): 969-985.
- Tzuc, J.T., D.R. Escalante and M.L.A Ortiz. 2014. Microbiota from *Litopenaeus vannamei*: digestive tract microbial community of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **SpringerPlus** 3(1): 280.
- Wu., P., W. Yang, Y. Dong, Y. Wang, Y. Zhang, X. Zou, H. Dongue, Y. Cui and Z. Chen. 2019. Feasibility of cultivation of *Spinibarbus sinensis* with coconut oil and its effect on disease resistance (nonspecific immunity, antioxidation and mTOR and NF-kB signaling pathways). **Fish & Shellfish Immunology** 93: 726-731.