

ผลของสารสกัดจากใบชะครามในอาหารต่อการเติบโตและต้านทานเชื้อ

Vibrio parahaemolyticus ในการอนุบาลกุ้งขาวแวนนาไม

Effect of Using *Suaeda maritima* Leave Extract as a Feed Additive on the Resistance to

Vibrio parahaemolyticus and the Growth of Pacific White Shrimp

(*Litopenaeus vannamei*) during Nursing

อภิชาติ ภาวนา¹ นงนุช เลหาหวิสุทธิ^{1*} และสมชาย หวังวิบูลย์กิจ¹

Apichart Pawana, ¹ Nongnuch Laohavisuti^{1*} and Somchai Wangwibulkit¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อปริมาณสารต้านทานอนุมูลอิสระในใบชะคราม และการเสริมสารสกัดจากใบชะครามในอาหารต่อการเติบโตและต้านทานเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในลูกกุ้งขาวแวนนาไม โดยใช้อาหารที่ผสมสารสกัดจากใบชะครามที่ 0, 25, 50 และ 75 ก./กก.อาหาร เป็นเวลา 15 วัน หลังจากนั้นนำลูกกุ้งทดสอบการต้านทานเชื้อ *V. parahaemolyticus* ด้วยการแช่ในเชื้อที่มีความเข้มข้น 10^8 CFU/mL ผลการทดลองพบว่า ใบชะครามที่สกัดด้วยน้ำกลั่นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด เท่ากับ 8.41 ± 0.02 μ g GAE/g รองลงมาเป็น เอทานอลและปิโตรเลียมอีเทอร์โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในใบชะครามที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ มีปริมาณสูงสุด เท่ากับ 47.98 ± 0.12 μ g QE/g รองลงมาเป็น เอทานอลและน้ำกลั่น เท่ากับ 42.89 ± 0.11 และ 5.60 ± 0.04 μ g QE/g ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนอัตราการรอดของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารสกัดจากใบชะครามสูตรต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่กุ้งขาวที่กินอาหารผสมสารสกัดจากใบชะคราม 50 ก./กก. อาหาร มีการเติบโตและอัตราการรอดที่ 4 วัน หลังจากการแช่เชื้อ *V. parahaemolyticus* ดีที่สุด ($P < 0.05$) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการเสริมสารสกัดจากใบชะครามในอาหาร 50 ก./กก.อาหาร ส่งเสริมให้มีการเติบโต และสามารถต้านทานเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้ดี

คำสำคัญ : ใบชะคราม กุ้งขาวแวนนาไม *Vibrio parahaemolyticus*

Abstract

This research aims to study the appropriate types of solvent for the antioxidant substance of seablite, *Suaeda maritima*, extract and supplementation of seablite extract in the diet for growth and resistance to *V. parahaemolyticus* in Pacific white shrimp larvae. Shrimp diets were mixed with *Suaeda maritima* extract at 0, 25, 50 and 75 g / kg diet and cultured for 15 days then be challenged tested for resistance against *V. parahaemolyticus* at concentrations of 10^8 CFU / mL. Total phenolic compounds of *Suaeda maritima* extracted by distilled water was highest 8.41 ± 0.02 μ g GAE/g followed by ethanol and petroleum ether with statistical difference ($P < 0.05$). Total flavonoid contents of *Suaeda maritima* extracted by petroleum ether showed the highest 47.98 ± 0.12 μ g QE/g followed by ethanol and distilled water (42.89 ± 0.11 , 5.60 ± 0.04 μ g QE/g), respectively ($P < 0.05$). Survival rates of shrimp fed extracts from the leaves of *Suaeda maritima* various formulations did not differ statistically ($P > 0.05$), but shrimp fed extracts from the leaves of *Suaeda maritima* 50 g / kg diet had the best growth and survival rate at 4 days challenged

¹ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

Corresponding author: E-mail: nongnuch.la@kmitl.ac.th

with *V. parahaemolyticus* infection ($P < 0.05$). The present study shows that supplementation of the shrimp diet with *Suaeda maritima* extract 50 g / kg diet promotes growth and can resist the infection from *V. parahaemolyticus*.

Keywords: *Suaeda maritima*, *Litopenaeus vannamei*, *Vibrio parahaemolyticus*

คำนำ

กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) เป็นกุ้งทะเลที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว ได้ปริมาณผลผลิตสูง แต่ในปี พ.ศ. 2555 ประเทศไทยพบการระบาดของโรคตายด่วน (early mortality syndrome, EMS) ผลผลิตกุ้งขาวเสียหายเป็นจำนวนมาก (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2557) ต่อมาในปี พ.ศ. 2556 มีการค้นพบว่าเกิดจากเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (FAO, 2013) การใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย และอาจตกค้างในเนื้อกุ้งซึ่งเป็นผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภคและไม่ผ่านมาตรฐานของประเทศผู้ซื้อ (ขวัญเรือน, 2556) ปัจจุบันจึงมีการนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยา มาใช้เพื่อเสริมการต้านทานเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (สายชลและคณะ, 2557)

ชะคราม (*Suaeda maritima*) เป็นพืชล้มลุกขนาดเล็กในวงศ์ Chenopodiaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มเตี้ย พบบริเวณเขตน้ำกร่อยและป่าชายเลน มีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพร ช่วยขับปัสสาวะ รักษาโรคโกโนเรีย รักษาโรคผิวหนัง (นภาพร, 2549) ใบชะครามมีสารประกอบฟีนอลิกและมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (นภาพร และ นัฏฐพงศ์, 2555) สารสกัดใบชะครามที่ความเข้มข้น 0.1 g/ml มีฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus cereus*, *Leuconostoc mesenteroid*, *Lactobacillus plantarum* และ *Staphylococcus aureus* ในการทดสอบด้วย disc diffusion method (ดวงฤดี และคณะ, 2553) การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษานิสัยของตัวทำลายที่เหมาะสมต่อปริมาณสารต้านทานอนุมูลอิสระในใบชะคราม และการเสริมสารสกัดจากใบชะครามในอาหารต่อการเติบโตและต้านทานเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในลูกกุ้งขาวแวนนาไม

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมต้นชะคราม

รวบรวมใบชะครามจากบริเวณพื้นที่ป่าชายเลน จ.สมุทรสงคราม นำมาล้างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วคัดแยกเอาก้านและดอกออกไปให้เหลือไว้เฉพาะส่วนใบหลังจากนั้นนำใบชะครามไปอบโดยใช้เครื่องอบแห้งเป่าลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 12 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักก่อนและหลังอบแห้ง

การศึกษานิสัยของตัวทำลายที่เหมาะสมต่อปริมาณสารต้านทานอนุมูลอิสระในใบชะคราม

วางแผนการทดลองแบบ complete randomized design (CRD) ปัจจัยที่ศึกษาคือชนิดของตัวทำลายมี 3 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล 95% และปิโตรเลียมอีเทอร์ ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

นำใบชะครามที่อบแห้งแล้วมาบดให้ละเอียดและชั่งน้ำหนักผงใบชะครามเข้าละ 50 กรัมลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. หลังจากนั้นเติมตัวทำลายต่างกัน 3 ชนิด ชนิดละ 3 ซ้ำ ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล 95% และปิโตรเลียมอีเทอร์ แช่ผงใบชะครามนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำสารละลายที่กรองแล้วไประเหยเอาตัวทำลายออกโดยใช้เครื่อง Rotary evaporator และเก็บรักษาสารที่สกัดได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °C จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน (นภาพร และ นัฏฐพงศ์, 2555) และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และใช้ Quercetin เป็นสารมาตรฐาน (อรชร และ กาญจนา, 2558)

การทดสอบความสามารถของสารสกัดจากใบชะครามต่อการยับยั้งเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*

การหาค่า Minimal inhibitory concentration (MIC) ด้วยวิธี broth dilution test ทำใน microtiter plate 96-well โดยเจือจาง stock solution ด้วย broth แบบ 2-fold serial dilution แต่ละหลุมมีปริมาตรเท่ากับ 50 ไมโครลิตร มีหลุมควบคุมเป็น broth ที่ไม่มีสารสกัดชะคราม ใส่เชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ปรับขนาดแล้วลงในแต่ละหลุม ปิดฝาแล้วบ่มในตู้บ่มเชื้อที่ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบการเติบโตของเชื้อและความเข้มข้นที่สามารถฆ่าเชื้อได้โดยสังเกตการเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีชมพู แสดงว่ามีการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาของสารละลาย resazurin ที่เป็นอินดิเคเตอร์ตามวิธีของ Sarker *et al.* (2007)

การเสริมสารสกัดจากใบชะครามในอาหารต่อการเติบโตและต้านทานเชื้อในกุ้งขาวแวนนาไม

1. วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากใบชะคราม 4 ระดับ คือ 0, 25, 50 และ 75 ก./กก.อาหาร ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้กุ้งขาว 80 ตัว ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงกุ้งขาวด้วยอาหารไม่ผสมสารสกัดจากใบชะคราม (ชุดควบคุม) และชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 เลี้ยงกุ้งขาวด้วยอาหารผสมสารสกัดจากใบชะคราม 25, 50 และ 75 ก./กก.อาหาร ตามลำดับ

2. การเตรียมสารสกัดจากใบชะคราม โดยนำชะครามที่อบแห้งแล้วมาปั่นด้วยเครื่องปั่น แล้วนำมาสกัดด้วย ethanol 70% ในอัตราส่วนผงชะคราม 1 กรัมต่อตัวทำละลาย 50 มิลลิลิตร แช่ไว้ 1 สัปดาห์ จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำไประเหยด้วยเครื่องกลั่นลำดับส่วนที่อุณหภูมิ 80 °C

3. การเตรียมอาหารทดลอง นำอาหารผงสำเร็จรูปเป็นอาหารสูตรควบคุม (ไม่ผสมสารสกัดจากใบชะคราม) และอาหารผสมกับสารสกัดจากใบชะครามที่มีความเข้มข้น 25, 50 และ 75 ก./กก.อาหาร คลุกเคล้าให้ทั่ว จากนั้นเคลือบด้วยน้ำมันปลาหมึก 30-40 มล./กก.อาหาร เพื่อดึงดูดให้กุ้งกินอาหาร นำมาอัดเม็ด และอบที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเก็บรักษาในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C

4. การเตรียมแบคทีเรียสำหรับแช่กุ้งขาว นำแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ปริมาตร 1 มล. มาเลี้ยงในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) ที่มีเกลือความเข้มข้น 2% ปริมาตร 10 มล. และบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C นาน 18 ชั่วโมง นำเชื้อที่ได้มาปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 °C ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที นาน 8 นาที แล้วรินส่วนใสที่เป็นอาหารทิ้งไป ทำการล้างเซลล์ด้วยน้ำเกลือความเข้มข้น 2% ล้างซ้ำ 2 รอบ นำเชื้อที่ได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เพื่อเตรียมเชื้อที่มีความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

5. การเตรียมกุ้งขาว ใช้น้ำความเค็ม 15 ppt เดิมลงในถังเลี้ยงขนาด 250 ลิตร นำกุ้งขาว PL 9 จากฟาร์มบ้านโพธิ์ อ.บ้านโพธิ์ จ.ฉะเชิงเทรา มาเลี้ยงเพื่อปรับสภาพจนถึง PL 15 ใช้อาหารผงสำเร็จรูปให้อาหารวันละ 4 ครั้ง โดยเครื่องให้อาหารอัตโนมัติ

6. ทดลองในถังพลาสติกขนาด 19 x 27 x 12 ซม. บรรจุน้ำ 10 ลิตร แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุด แต่ละชุดการทดลองมี 3 ถัง แต่ละถังใช้กุ้งขาว PL 15 จำนวน 80 ตัว ให้อาหาร 8% ของน้ำหนักตัวกุ้ง แบ่งให้วันละ 4 ครั้ง โดยใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติ ดูดตะกอนที่พื้นตู้และเปลี่ยนถ่ายน้ำ 10% ทุก 2 วัน เมื่อครบอายุการเลี้ยง 15 วัน ตรวจสอบจำนวนกุ้งที่เหลือของแต่ละถังทดลอง และทดสอบการต้านทานเชื้อโดยใช้กุ้งขาวถึงละ 60 ตัว ด้วยการแช่ในเชื้อ *V. parahaemolyticus* ความเข้มข้น 10^8 CFU/mL เป็นระยะเวลา 4 วัน

7. บันทึกข้อมูล การเติบโตโดยชั่งน้ำหนักกุ้งก่อนทำการทดลองและสิ้นสุดการทดลอง ตรวจสอบจำนวนกุ้งที่เหลือ แล้วนำมาคำนวณหาอัตราการรอด และน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลการเติบโตและอัตราการรอดของกุ้งขาว หลังการทดสอบการต้านทานเชื้อมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดทดลองด้วยวิธี Duncan's new multiple's range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อปริมาณสารต้านทานอนุมูลอิสระในใบชะคราม

สารสกัดใบชะครามจากน้ำกลั่นมีปริมาณ TPC มากที่สุดเท่ากับ 8.41 ± 0.02 μg GAE/g รองลงมาเป็น เอทานอล และปิโตรเลียมอีเทอร์เท่ากับ 7.00 ± 0.03 และ 4.90 ± 0.03 μg GAE/g ตามลำดับ (Table 1) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สารสกัดใบชะครามจากปิโตรเลียมอีเทอร์มีปริมาณ TFC สูงสุดเท่ากับ 47.98 ± 0.12 μg QE/g รองลงมาเป็นเอทานอล และน้ำกลั่นเท่ากับ 42.89 ± 0.11 และ 5.60 ± 0.04 μg QE/g ตามลำดับ (Table 1) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สอดคล้องกับการทดลองของ Pornpitakdamrangan and Sudjaroen (2014) พบว่า การสกัดใบชะครามด้วยน้ำกลั่นได้ปริมาณ TPC สูงกว่าเอทานอล มีค่าเท่ากับ 14.47 และ 6.93 GAE/g DW ตามลำดับ และสารสกัดใบชะครามจากปิโตรเลียมอีเทอร์มีปริมาณ TFC สูงสุดเท่ากับ 47.98 ± 0.12 μg QE/g รองลงมาเป็นเอทานอล 95% และน้ำกลั่นเท่ากับ 42.89 ± 0.11 และ 5.60 ± 0.04 μg QE/g ตามลำดับ

ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus* จากสารสกัดจากใบชะคราม

ทดสอบสารสกัดใบชะครามจากตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่น และ เอทานอล 95% พบว่า สารสกัดจากเอทานอล 95% ได้ค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus* ต่ำที่สุด ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 ppm (Figure 1) สอดคล้องกับ Kulwadee *et al.* (2011) ซึ่งทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* ของสารสกัดสาหร่าย *Gracilaria fisheri* จากตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ Hexane, chloroform, methanol และ ethanol พบว่า สารสกัดสาหร่าย *Gracilaria fisheri* จากเอทานอล ได้ค่า MIC ต่ำที่สุด (Hexane= 190 ± 10.3 , chloroform= 90 ± 9.7 , methanol= 100 ± 9.5 และ ethanol= 90 ± 5.5 $\mu\text{g/ml}$) และการศึกษาของ Patra *et al.* (2011) พบว่า สารสกัดใบชะครามจากเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* และ *E. coli* การศึกษาครั้งนี้จึงเลือกสารสกัดใบชะครามจากเอทานอลมาใช้ผสมในอาหารสำหรับทดลองเลี้ยงกุ้งขาว

Table 1 TPC and TFC of leaves extracts of *S. maritima*.

Solvent	TPC (μg GAE/g)	TFC (μg QE/g)
Aqueous	8.41 ± 0.02^a	5.60 ± 0.04^c
Ethanol 95%	7.00 ± 0.03^b	42.89 ± 0.11^b
Petroleum ether	4.90 ± 0.03^c	47.98 ± 0.12^a

Means $\pm$ SE values in each column followed by different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$)

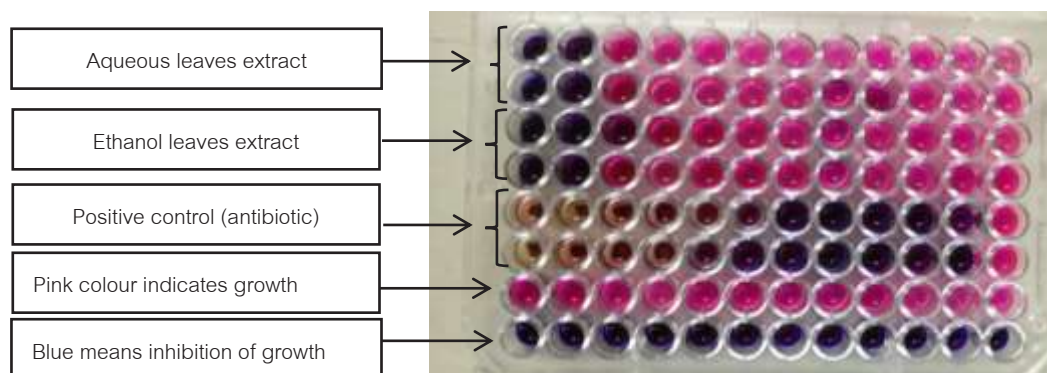


Figure 1 Antimicrobial activity of leaves extracts of *S. maritima* against *V. parahaemolyticus*

ผลของสารสกัดจากใบชะครามที่เสริมในอาหารต่อการเติบโตและความต้านทานต่อเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารสกัดจากใบชะครามสูตรต่าง ๆ มีการเติบโต และการต้านทานเชื้อ *V. parahaemolyticus* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ยของกุ้งขาวที่กินอาหารผสมสารสกัดจากใบชะคราม 0, 25, 50, และ 75 ก./กก. อาหาร เท่ากับ 61.23 ± 0.26 , 62.30 ± 0.04 , 66.13 ± 2.31 และ 59.08 ± 0.28 มก./ตัว ตามลำดับ โดยกุ้งขาวที่กินอาหารผสมสารสกัดจากใบชะคราม 50 ก./กก. อาหาร มีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายและน้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ยมากกว่ากุ้งขาวที่กินอาหารผสมสารสกัดจากใบชะคราม 0, 25 และ 75 ก./กก. อาหาร ในขณะที่อัตราการรอดของลูกกุ้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Immanuel *et al.* (2004) พบว่า การเสริมสารสกัดสมุนไพรและสาหร่ายทะเลในอาร์ทีเมียที่ใช้เลี้ยงกุ้ง สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิต อัตราการเติบโตจำเพาะ และลดปริมาณ *V. parahaemolyticus* ในเนื้อและเนื้อเยื่อตับกับตับอ่อนของกุ้งแชบ๊วย เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งแชบ๊วยชุดทดลองที่ไม่เสริมสารสกัดสมุนไพรและสาหร่ายทะเลในอาร์ทีเมีย

หลังจากให้กุ้งขาวกินอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร เป็นระยะเวลา 15 วัน จึงนำกุ้งมาทำการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* โดยสุ่มกุ้งแต่ละ 60 ตัว มาแช่ในเชื้อความเข้มข้น 10^8 CFU/mL นาน 4 วัน พบว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสารสกัดจากใบชะคราม 50 และ 75 ก./กก. มีอัตราการรอดสูงเท่ากับ 85.00 ± 0.68 และ $85.83 \pm 2.59\%$ ตามลำดับ มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดทดลองที่กินอาหารผสมสารสกัดจากใบชะครามที่ความเข้มข้น 0 และ 25 ก./กก. อาหาร ที่มีอัตราการรอดต่ำเท่ากับ 40.83 ± 2.59 และ $42.08 \pm 3.87\%$ ตามลำดับ ผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Balcazar *et al.* (2007) ที่ทดลองเสริมโปรไบโอติกในอาหารและศึกษาความทนทานต่อเชื้อ *V. Parahaemolyticus* ในกุ้งขาว ซึ่งพบว่ากุ้งเริ่มมีการตายในวันที่ 4 หลังทำการแช่เชื้อ

Table 2 Growth performance of shrimp fed with *S. maritima* leave extract-supplemented diets.

	<i>S. maritima</i> leave extract (g/kg feed)			
	0	25	50	75
Initial weight (mg/shrimp)	4.0 ± 0.14^a	4.08 ± 0.08^a	4.00 ± 0.12^a	4.08 ± 0.16^a
Final weight (mg/shrimp)	61.23 ± 0.26^b	62.30 ± 0.04^b	66.13 ± 2.31^a	59.08 ± 0.28^b
Weight gain (mg/shrimp)	57.20 ± 0.18^b	58.23 ± 0.09^b	62.13 ± 2.32^a	55.00 ± 0.23^b
Survival rate ^A (%)	81.25 ± 0.51^a	85.31 ± 1.07^a	85.94 ± 1.29^a	81.88 ± 2.19^a
Survival rate ^B (%)	40.83 ± 2.59^a	42.08 ± 3.87^a	85.00 ± 0.68^b	85.83 ± 2.59^b

Means $\pm$ SE values in each row followed by different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$)

Survival rate^A (%) = Survival rate of shrimp fed with *S. maritima* leaves extract for 15 days

Survival rate^B (%) = Survival rate of shrimp after challenged with *V. parahaemolyticus* for 4 days

สรุป

สารสกัดใบชะครามจากน้ำกลั่นได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดเท่ากับ 8.41 ± 0.02 μ g GAE/g ส่วนสารสกัดใบชะครามจากปีโตรเลียมอีเทอร์ได้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุด เท่ากับ 47.98 ± 0.12 μ g QE/g และสารสกัดใบชะครามจากเอทานอลได้ค่า MIC ต่ำที่สุด เท่ากับ 50,000 ppm จึงเลือกใช้สารสกัดใบชะครามจากเอทานอลมาทดลองผสมในอาหารเลี้ยงกุ้งขาวที่ความเข้มข้น 0, 25, 50 และ 75 ก./กก.อาหาร หรือเทียบเท่ากับ 25,000 ppm 50,000 ppm และ 75,000 ppm ตามลำดับ ระยะเวลาทดลอง 15 วัน พบว่า กุ้งขาวที่กินอาหารผสม

สารสกัดจากใบชะคราม 50 ก./กก. อาหาร มีการเติบโตสูงกว่าชุดทดลองอื่นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนอัตราการรอดของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) หลังจากให้น้ำส้มกุ้งขาวถึงทดลองละ 60 ตัว ไปทดสอบการต้านทานเชื้อ *V. parahaemolyticus* โดยการแช่ในเชื้อที่ความเข้มข้น 10^8 CFU/mL เป็นเวลา 4 วัน ผลการทดลองพบว่า กุ้งขาวชุดทดลองที่กินอาหารผสมสารสกัดจากใบชะคราม 50 และ 75 ก./กก.อาหาร มีอัตราการรอดสูงเท่ากับ 85.00 ± 0.68 และ $85.83 \pm 2.59\%$ ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกุ้งขาวชุดทดลองที่กินอาหารผสมสารสกัดจากใบชะคราม 0 และ 25 ก./กก.อาหาร ที่มีอัตราการรอดต่ำเท่ากับ 40.83 ± 2.59 และ $42.08 \pm 3.87\%$ ตามลำดับ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการเสริมสารสกัดจากใบชะครามในอาหาร 50 ก./กก.อาหาร ส่งเสริมให้กุ้งขาวมีการเติบโตและการต้านทานเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้ดี

เอกสารอ้างอิง

- ขวัญเรือน สุวรรณรัตน์. 2556. มาตรฐานกุ้งไทย...ต้องใส่ใจเรื่องสารตกค้าง. [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.nicaonline.com/index.php?option=com_content&view=article&id=1149:2013-10-29-06-02-36&catid=37:2012-02-20-02-58-06&Itemid=117. สืบค้น 10 พฤศจิกายน 2559.
- ดวงฤดี หวันหนู อรุณ เกิดชูชื่น ญัฐฐา เลหากุลจิตต์ และศิริวรรณ ตั้งแสงประทีป. 2553. ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชะคราม (*Suaeda maritima*). ว.วิทย. กษ. 41(3/1) (พิเศษ) : 367-340.
- นภาพร แก้วดวงดี และ ณัฐพงศ์ อินทร์สมบัติ. 2555. การศึกษาสมบัติสารต้านอนุมูลอิสระและผลิตภัณฑ์จากชะคราม. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์ ปีที่ 12 (2) : 107-120.
- เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. 2549. สมุนไพรในอุทยานแห่งชาติภาคใต้. กรุงเทพฯ : สามเจริญพาณิชย์.สายชล เพลินจิตต์ศิริลักษณ์ วงศ์พิเชษ และ ธนิต ผิวนิม. 2557. ผลการเสริมน้ำสมุนไพรในอาหารต่อการรอดตายและการเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม. การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษามหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรวิทยาราม ครั้งที่ 4.
- สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. 2557. สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้มปี 2558. [Online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodfti.com/Files/Name/CONTENT474087522960.pdf>.
- อรรช ไอลันเทียะ และ กาญจนา วงศ์กระจ่าง. 2558. การศึกษาระบบตัวทำลายลายของการสกัดสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดจากดอก
- ดาวเรืองสด. รายงานสืบเนื่องจากการประชุมสัมมนาวิชาการนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ (Proceedings) เครือข่ายบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ ครั้งที่ 15.
- Balcazar, J.L., T. Rojas-Luna and D.P. Cunningham. 2007. Effect of the addition of four potential probiotic strains on the survival of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following immersion challenge with *Vibrio parahaemolyticus*. Journal of Invertebrate Pathology. 96 : 147-150.
- FAO. 2013. Report of the FAO/MARD technical workshop on early mortality syndrome (EMS) or acute hepatopancreatic necrosis syndrome (AHPNS) of cultured Shrimp (under TCP/VIE/3304). FAO Fisheries and Aquaculture Report No. 1053. Rome : 54 pp.
- Immanuel, G., V.C. Vincybai, V. Sivaram, A. Palavesam and M.P. Marian. 2004. Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles. Aquaculture. 236 : 53-65.
- Patra, JK., NK. Dhal and HN. Thatoi. 2011. *In vitro* bioactivity and phytochemical screening of *Suaeda maritima* (Dumort): A mangrove associate from Bhitarkanika, India. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 4 : 727-734.
- Pornpitakdamrong, A. and Y. Sudjaroen. 2014. Seablite (*Suaeda maritima*) product for cooking, Samut Songkram province, Thailand. Scientific Research. 5: 850-856.
- Sarker, S.D., L. Nahar and Y. Kumarasamy. 2007. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. Methods. 42 : 321-324.