

ประสิทธิภาพของมะกรูด (*Citrus hystrix*) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Vibrio* spp.

Efficacy of Kaffir Lime (*Citrus hystrix*) on Growth Inhibition of *Vibrio* spp.

ทัศนีย์ นลวชัย^{1*}

Thasanee Nonwachai^{1*}

บทคัดย่อ: การศึกษาประสิทธิภาพของมะกรูด โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิดได้แก่ น้ำกลั่น และเอทานอลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ทั้งหมด 7 สายพันธุ์ได้แก่ *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. harveyi*, *V. flurialis*, *V. alginolyticus* และ *V. mimicus* โดยวิธี Agar well diffusion และ Broth dilution ผลการทดลองพบว่าวิธี Agar well diffusion มะกรูดที่สกัดด้วยน้ำกลั่นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. vulnificus* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางส่วนใสเท่ากับ 1.66 ± 0.06 ซม. ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับการยับยั้งเชื้อสายพันธุ์อื่น มะกรูดที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. alginolyticus* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางส่วนใสเท่ากับ 2.36 ± 0.10 ซม. ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับการยับยั้งเชื้อ *V. vulnificus* (2.26 ± 0.29 ซม.) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับการยับยั้งเชื้อสายพันธุ์อื่น วิธี Broth dilution สารสกัดมะกรูดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. vulnificus* ได้ดีที่สุดโดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.49 และ 0.98 ppt ตามลำดับ ส่วนสารสกัดมะกรูดที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. alginolyticus* ได้ดีที่สุดโดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.0076 และ 0.02 ppt ตามลำดับ

คำสำคัญ: มะกรูด, การยับยั้งเจริญเติบโต, *Vibrio* spp.

ABSTRACTS: The study of efficacy of Kaffir Lime (*Citrus hystrix*) with 2 different solvents consist of distilled water and ethanol on growth inhibition of 7 strains of *Vibrio* that was *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. harveyi*, *V. flurialis*, *V. alginolyticus* and *V. mimicus*. The efficacy test was conducted by Agar well diffusion and Broth dilution method. The experiment result of Agar well diffusion method revealed that Kaffir Lime extracted by using distilled water had the best result for inhibited growth of *V. vulnificus*, diameter of clear zone was 1.66 ± 0.06 cm significantly different ($P < 0.05$) from growth inhibition of other strains of *Vibrio*. Kaffir Lime extracted by using ethanol had the best result for inhibited growth of *V. alginolyticus*, diameter of clear zone was 2.36 ± 0.10 cm not significantly different ($P > 0.05$) from growth inhibition of *V. vulnificus* (2.26 ± 0.29 cm) but significantly different ($P < 0.05$) from growth inhibition of other strains of *Vibrio*. The result of Broth dilution method revealed that Kaffir Lime extracted by using distilled water shown the best inhibition of *V. vulnificus*, MIC and MBC were 0.49 and 0.98 ppt respectively. Kaffir Lime extracted by using ethanol shown the best inhibition of *V. alginolyticus*, MIC and MBC were 0.0076 and 0.02 ppt respectively.

Keywords: Kaffir Lime, Growth inhibition, *Vibrio* spp.

¹ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ 60 หมู่ 3 ถนนสายเอเชีย ตำบลหันตรา อำเภอพระนครศรีอยุธยา จังหวัดพระนครศรีอยุธยา 13000

Faculty of Agricultural Technology and Agro-Industry Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi 60 Moo 3 Asian Highway, Phranakhon Si Ayutthaya 13000.

* Corresponding author: tsnonwachai@gmail.com

บทนำ

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลของประเทศไทยมีรูปแบบการเลี้ยงแบบหนาแน่นสูง (intensive culture system) ทำให้มีการสะสมสารอินทรีย์ในรูปของอาหารเหลือและสิ่งขับถ่ายจากกุ้งในปริมาณมาก สารอินทรีย์ภายในบ่อจะกลายเป็นแหล่งอาหารของแบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียสามารถเพิ่มจำนวนได้มากขึ้น และคุณภาพน้ำในบ่อเสื่อมโทรมลง ส่งผลให้กุ้งอ่อนแอ ติดเชื้อได้ง่าย ป่วยและตายในที่สุด ซึ่งแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ถือเป็นสาเหตุสำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคในกุ้ง โดยกุ้งที่ติดเชื้อจะมีการลอยตัวอยู่ตามขอบบ่อหรือผิวน้ำ มีลักษณะลำตัวหลวม บางส่วนของแผ่นปิดเหงือกจะบวม ตับและตับอ่อน (hepatopancreas) ของกุ้งจะมีขนาดเล็กกว่าปกติ (ชลช, 2535; ชลช, 2543; มณฑกานต์, 2552; มณฑกานต์, 2557; อัครพล และจิราพร, 2547; อธิญา, 2536; Ruangpan et al., 1995) แนวทางการรักษาโรคจากแบคทีเรียส่วนใหญ่เกษตรกรมักนิยมใช้ยาปฏิชีวนะ (พุทธ, 2557) ส่งผลให้มีปัญหาการดื้อยา รวมทั้งการตกค้างของยาต่อสัตว์น้ำและสิ่งแวดล้อม ทั้งยังมีผลกระทบต่อผู้ที่บริโภคกุ้งที่มีการใช้ยาเหล่านี้ โดยจะเกิดการสะสมสารปฏิชีวนะในตัวผู้บริโภค ซึ่งสารเหล่านี้เมื่อเข้าสู่ร่างกายผู้บริโภคแล้วจะกลายเป็นสารพิษ และอาจกลายเป็นสารก่อมะเร็งได้ (วลัยพร, 2544) ดังนั้นการนำสมุนไพรไทยมาใช้ในการรักษาโรคสัตว์น้ำที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ที่จะช่วยลดปัญหาการตกค้างของยา และการดื้อยาได้ เนื่องจากสมุนไพรไทยมีรายงานการพบสารสำคัญหลายชนิด ทั้งน้ำมันหอมระเหย สารต้านอนุมูลอิสระ สารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา (นันทวัน และอรนุช, 2542) ทั้งยังเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์น้ำอีกด้วย

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จะนำมะกรูด (*Citrus hystrix*) ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรไทยที่หาง่าย ราคาถูก และมีสาร β -pinene citronelal และ citric acid ซึ่งเป็นสารประกอบสำคัญที่ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของ

เชื้อจุลินทรีย์ได้ (Wattenberg and Coccia, 1991) มาศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Vibrio* spp. โดยวิธี Agar well diffusion และ Broth dilution ผลจากการศึกษาในครั้งนี้จะใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการประยุกต์ใช้มะกรูดในการรักษาโรคจากแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* เพื่อลดการใช้ยาและสารเคมีในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้ง ซึ่งจะทำให้การเลี้ยงกุ้งประสบความสำเร็จอย่างยั่งยืนต่อไป

วิธีการศึกษา

1. การสกัดสมุนไพรไทย

นำผิวมะกรูดมาสกัดสารโดยใช้วิธีการสกัดแบบการหมัก (Maceration) กับตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น และเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ในภาชนะปิด ทิ้งไว้ 3 วัน ในอัตราส่วนมะกรูด 1 ส่วน : ตัวทำละลาย 10 ส่วน (w/v) เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารสกัดที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ (rotary evaporator) จากนั้นเก็บสารละลายที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, 2545; จิราภรณ์ และเรื่อนแก้ว, 2555; วัชรียา และนนทวิทย์, 2549)

2. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio*

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ทั้งหมด 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. fluvialis*, *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus* และ *V. harveyi* ซึ่งแยกได้จากกุ้งขาวแวนนาไม ด้วยอาหาร Thiosulphate Citrate Bile-salt Sucrose agar (TCBS) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำแบคทีเรีย *Vibrio* แต่ละสายพันธุ์มาเจือจางด้วยน้ำเกลือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ให้อยู่ในรูป suspension bacteria แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร ทำการวัดค่า Optical Density (OD) ให้ได้ค่าเท่ากับ 1 (ปริมาณเชื้อมีค่าเท่ากับ 10^8 CFU/มิลลิลิตร) เพื่อนำไปทดสอบต่อไป

3. การศึกษาประสิทธิภาพของมะกรูดต่อการยับยั้งเชื้อ *Vibrio* spp. โดยวิธีการ Agar well diffusion

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด โดยนำสำลีพันก้านที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงใน suspension bacteria ของแบคทีเรียสกุล *Vibrio* แต่ละสายพันธุ์ นำมา swap ให้ทั่วอาหาร Muller Hinton Agar (MHA) ที่เติมเกลือ 1.5 เปอร์เซ็นต์สายพันธุ์ละ 5 ซ้ำ จากนั้นนำจานเพาะเชื้อมาเจาะรูด้วยปลายหลอดหยดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วเติมสารสกัดมะกรูดลงไปในหลุม หลุมละ 20 ไมโครลิตร แล้วทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วอ่านผลโดยการดูบริเวณส่วนใส (clear zone) ที่เกิดขึ้น เปรียบเทียบความแตกต่างของเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใสโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (อนันต์ชัย, 2542)

4. การศึกษาประสิทธิภาพของมะกรูดต่อการยับยั้งเชื้อ *Vibrio* spp. โดยวิธีการ Broth dilution

นำสารสกัดมะกรูดมาเจือจางแบบ two fold dilution ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton broth (MHB) ใน 96-well microtiter plates ให้มีค่าความเข้มข้นระหว่าง 0.0019-500 ส่วนในพันส่วน (ppt) ปริมาณ 50 ไมโครลิตร เติมเชื้อแบคทีเรีย จำนวนเซลล์ 10^8 CFU/ml ลงไปในหลุมปริมาณ 50 ไมโครลิตร บ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมง ใส่สารละลายไอโอดีนไตรเดทระโซเลียม คลอไรด์ ความเข้มข้น 0.06 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หลุมละ 10 ไมโครลิตร สังเกตผลโดยถ้ามีสีแดงแสดงว่ามีเชื้อแบคทีเรียเจริญเติบโตอยู่ ทำการทดลองเป็นจำนวน 3 ซ้ำ (จิราภรณ์ และ เรือนแก้ว, 2555)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดมะกรูดโดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น และ

เอทานอล ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ทั้งหมด 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. harveyi*, *V. fluvialis*, *V. alginolyticus* และ *V. mimicus* โดยเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใส (clear zone) โดยวิธี Agar well diffusion ได้ผลการทดลองดังนี้ การใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายพบว่า สารสกัดมะกรูดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. vulnificus* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใสเท่ากับ 1.66 ± 0.06 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับการยับยั้งเชื้อสายพันธุ์อื่นๆ โดยเชื้อที่สารสกัดมะกรูดสามารถยับยั้งได้คือรองลงมาได้แก่ *V. alginolyticus* (1.38 ± 0.06 ซม.), *V. parahaemolyticus* (1.35 ± 0.05 ซม.), *V. fluvialis* (1.35 ± 0.17 ซม.), *V. harveyi* (1.33 ± 0.15 ซม.), *V. cholerae* (1.25 ± 0.09 ซม.) และ *V. mimicus* (1.25 ± 0.05 ซม.) ตามลำดับ การใช้อเอทานอลเป็นตัวทำละลายพบว่า สารสกัดมะกรูดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. alginolyticus* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใสเท่ากับ 2.36 ± 0.10 เซนติเมตร ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับการยับยั้งเชื้อ *V. vulnificus* (2.26 ± 0.29 ซม.) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับการยับยั้งเชื้อสายพันธุ์อื่นๆ โดยเชื้อที่สามารถยับยั้งได้คือรองลงมาได้แก่ *V. cholerae* (1.67 ± 0.11 ซม.), *V. harveyi* (1.66 ± 0.06 ซม.), *V. fluvialis* (1.65 ± 0.09 ซม.), *V. parahaemolyticus* (1.52 ± 0.15 ซม.) และ *V. mimicus* (1.40 ± 0.08 ซม.) ตามลำดับ (Table 1)

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดมะกรูดต่อการยับยั้งเชื้อ *Vibrio* spp. โดยวิธีการ Broth dilution ผลการทดลองพบว่า สารสกัดมะกรูดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. vulnificus* ได้ดีที่สุดโดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.49 และ 0.98 ppt ตามลำดับ ส่วนสารสกัดมะกรูดที่ใช้อเอทานอลเป็นตัวทำละลายสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. alginolyticus* ได้ดีที่สุดโดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.0076 และ 0.02 ppt ตามลำดับ (Table 2)

Table 1 The diameters of clear zone (cm.) of Kaffir Lime (*Citrus hystrix*) extracted with distilled water and ethanol on *Vibrio* spp.

| <i>Vibrio</i> spp. | The diameters of clear zone (cm.) | |
|--------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| | Distilled water | Ethanol |
| <i>Vibrio vulnificus</i> | 1.66±0.06 ^a | 2.26±0.29 ^a |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | 1.35±0.05 ^b | 1.52±0.15 ^{bc} |
| <i>Vibrio cholerae</i> | 1.25±0.09 ^b | 1.67±0.11 ^b |
| <i>Vibrio harveyi</i> | 1.33±0.15 ^b | 1.66±0.06 ^b |
| <i>Vibrio fluvialis</i> | 1.35±0.17 ^b | 1.65±0.09 ^b |
| <i>Vibrio alginolyticus</i> | 1.38±0.06 ^b | 2.36±0.10 ^a |
| <i>Vibrio mimicus</i> | 1.25±0.05 ^b | 1.40±0.08 ^c |

N.B. Values in the same column followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$)

Table 2 Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of Kaffir Lime (*Citrus hystrix*) extracted with distilled water and ethanol on *Vibrio* spp.

| <i>Vibrio</i> spp. | Distilled water | | Ethanol | |
|--------------------------------|-----------------|-----------|-----------|-----------|
| | MIC (ppt) | MBC (ppt) | MIC (ppt) | MBC (ppt) |
| <i>Vibrio vulnificus</i> | 0.49 | 0.98 | 0.02 | 0.02 |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | 7.81 | 7.81 | 0.98 | 1.95 |
| <i>Vibrio cholerae</i> | 15.63 | 15.63 | 0.49 | 0.98 |
| <i>Vibrio harveyi</i> | 3.91 | 7.81 | 0.49 | 0.98 |
| <i>Vibrio fluvialis</i> | 3.91 | 7.81 | 0.24 | 0.98 |
| <i>Vibrio alginolyticus</i> | 3.91 | 7.81 | 0.0076 | 0.02 |
| <i>Vibrio mimicus</i> | 7.81 | 15.63 | 1.95 | 3.91 |

มะกรูดถือเป็นพืชสมุนไพรไทยที่หาง่าย ราคาถูก และมีสาร β -pinene citronelal และ citric acid ซึ่งเป็นสารประกอบสำคัญที่ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Wattenberg and Coccia, 1991) สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคสัตว์น้ำในกลุ่มโรคจากแบคทีเรีย สอดคล้องกับการศึกษาของ กัลทิมา (2555) ซึ่งทำการศึกษากฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 12 ชนิด ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Colletotrichum* sp. ของพริกในห่อปฏิบัติการ โดยใช้วิธี Poisoned food technique พบว่าสารสกัดจากมะกรูดที่ใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำลาย สามารถยับยั้งเชื้อราได้ 70.78 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาของ กรรณิการ์ และคณะ (2547)

ที่พบว่ามะกรูดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Fusarium* sp. ได้

การศึกษาในครั้งนี้ยังพบว่าการใช้เอทานอลเป็นตัวทำลายจะให้ผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ทั้ง 7 สายพันธุ์ได้ดีกว่าการใช้น้ำกลั่นแม้ว่าน้ำกลั่นจะเป็นตัวทำลายที่หาได้ง่าย ราคาถูก เหมาะสมกับการสกัดสารมีขั้วที่ละลายน้ำได้ แต่มีข้อจำกัดสำหรับสมุนไพรบางชนิดที่มีองค์ประกอบเป็นสารเมือกซึ่งเป็น complex polysaccharide ทำให้สารสกัดที่ได้มีลักษณะข้นเหนียว ซึ่งยากต่อการนำมาทดสอบ ส่วนเอทานอลจัดเป็นตัวทำลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารจากพืชสมุนไพร เนื่องจากแยกตัวทำลายออกได้ง่าย

และสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ทำให้เก็บสารสกัดได้นานขึ้น สารสกัดที่ใช้เอทานอล ร้อยละ 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลายจะสามารถละลายสารสี (pigment) ออกมาได้มากกว่าตัวทำละลายน้ำ (ธิดา, 2555; พิมพ์, 2547)

การใช้สารสกัดสมุนไพรไทยซึ่งเป็นพืชที่มีอยู่ในท้องถิ่น ที่สามารถหาได้ง่าย สะดวก และราคาถูก ทั้งยังเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเสริมสร้างสุขภาพให้แก่สัตว์น้ำ เพิ่มความต้านทาน และป้องกันเชื้อก่อโรค ทำให้สัตว์น้ำแข็งแรงขึ้น รวมทั้งเป็นการลดการใช้ยาปฏิชีวนะ และสารเคมี ป้องกันไม่ให้เกิดปัญหาการดื้อยา และปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะและสารเคมีในตัวสัตว์น้ำและในสิ่งแวดล้อม สร้างความมั่นใจให้กับผู้บริโภค และทำให้เกิดความยั่งยืนในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

สรุป

การศึกษาประสิทธิภาพของมะกรูดในการยับยั้งเชื้อ *Vibrio* spp. โดยวิธี Agar well diffusion พบว่า สารสกัดมะกรูดที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. vulnificus* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางส่วนในสเท่ากับ 1.66 ± 0.06 เซนติเมตร การใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายพบว่า สารสกัดมะกรูดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. alginolyticus* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางส่วนในสเท่ากับ 2.36 ± 0.10 เซนติเมตร

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดมะกรูดต่อการยับยั้งเชื้อ *Vibrio* spp. โดยวิธีการ Broth dilution ผลการทดลองพบว่า สารสกัดมะกรูดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. vulnificus* ได้ดีที่สุดโดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.49 และ 0.98 ppt ตามลำดับ ส่วนสารสกัดมะกรูดที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. alginolyticus* ได้ดีที่สุดโดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.0076 และ 0.02 ppt ตามลำดับ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ที่สนับสนุนงบประมาณจากเงินกองทุนส่งเสริมงานวิจัย สำหรับใช้ในการทำงานวิจัยจนงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- กรรณิกา เนื่องภา, ปรากรม ประยูรรัตน์ และแสงมณี ชิดดวง. 2547. ประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรบางชนิดที่มีผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Fusarium* sp. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.
- กัลทิมา พิชัย. 2555. การศึกษาการใช้สารสกัดพืชสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญในพื้นที่สะลวง อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ท้องถิ่น. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- จิราภรณ์ นูราคร และ เรือนแก้ว ประพฤติ. 2555. ผลของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7 ชนิดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. 10(1): 11-22.
- คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 2545. คู่มือการวิจัยสมุนไพรในการผลิตสัตว์. โรงพิมพ์แสงเทียนการพิมพ์. 87 หน้า.
- ชลอ ลิมสุวรรณ. 2535. คัมภีร์การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์ฐานเศรษฐกิจ จำกัด, กรุงเทพฯ. 202 น.
- ชลอ ลิมสุวรรณ. 2543. กุ้งไทย 2000 สู่ความยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม. โรงพิมพ์เจริญรัฐการพิมพ์. กรุงเทพฯ. 260 หน้า.
- ธิดา ไชยวงศ์ศรี. 2555. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพร ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ. วารสารนเรศวรพระยา. 5(3): 333-342.
- นันทวัน บุญยะประภัสร์ และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2542. สมุนไพร:ไม่พื้นบ้าน. โรงพิมพ์บริษัท ประชาชน จำกัด, กรุงเทพฯ. 823 หน้า.
- พิมพ์พร ลีลาพรพิสิฐ. 2547. เครื่องสำอางธรรมชาติผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหน้า. สำนักพิมพ์ไอเดียนิสเตอร์. กรุงเทพฯ. 353 หน้า.
- พุทธ ส่องแสงจินดา. 2557. คู่มือการเลี้ยงกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) แบบพัฒนา. สถาบันวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง, กรมประมง. 28 หน้า.

- มนทกานต์สมบุรณ์. 2552. ผลของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ชนิดต่างๆ ในการควบคุมแบคทีเรีย (*Vibrio* spp.) และ คุณภาพน้ำในการอนุบาลลูกกุ้งและการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 118 หน้า.
- มนทกานต์ สมบุรณ์. 2557. การศึกษาสาเหตุการเกิดโรคเชื้อขาวในกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*). วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วลัยพร ทิมบุญธรรม. 2544. การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 124 หน้า.
- วัชรียา ภูวีโรจน์กุล และนนทวิทย์ อารีย์ชน. 2549. ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปลา กัด และความเป็นพิษของสารสกัดใบหูกวางต่อปลากัด. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44, 30 ม.ค.-2 ก.พ. 2549, กรุงเทพฯ.
- อัศวพล ปานสุวรรณ และจิราพร คำโม. 2547. ผลของผงสมุนไพรต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*). รายงานการวิจัย. สาขาชีววิทยาประยุกต์. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม. 56 น.
- อรัญญา พลพรพิสิฐ. 2536. โรคในกุ้งกุลาดำ. วารสารสัตว์น้ำ. 5(51): 64-71.
- อนันต์ชัย เชื้อนธรรม. 2542. วิธีการทางสถิติ และการวิเคราะห์ข้อมูล. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 569 หน้า.
- Ruangpan, L., R. Tabkaew, and K. Sangrungg Ruang. 1995. Bacterial flora of ponds with different stocking densities of black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, p.141-149. In Diseases in Asian Aquaculture II. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- Wattenberg, L.W., and J. B. Coccia. 1991. Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone carcinogenesis in mice by D-limonene and citrus fruit oils. *Carcinogenesis*. 12: 115-117.