รายงานการวิจัย

ประสิทธิภาพของสารสกัดตะไคร้หอมเพื่อควบคุม *Zoothamnium* sp. ในกุ้งกุลาดำระยะ PL15

วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล[1] สุรพล วิเศษสรรค์[2] นนทวิทย์ อารีย์ชน[3]
และ สุนทรีย์ ภักตร์ผ่อง[4]

Abstract

Purivirojkul, W.[1], Visetson, S.[1], Areechon, N.[2] and Phakphong, S.[1]

Efficiency of Citronella grass (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) extracts to control *Zoothamnium* sp. in black tiger shrimp (PL15 stage)

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2004, 26(3) : 431-437

Study on the efficiency of Citronella grass (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) extracts to control *Zoothamnium* sp. was conducted in the laboratory at Kasetsart University. Comparison between two methods of extractor, water distillation and soxhlet extractor, revealed that soxhlet extractor was about 225 times more efficient than the water distillation, based on the concentration that could give 100% mortality of *Zoothamnium* sp. in 24 hours (0.008 g/l from soxhlet extractor and 1.8 g/l from water distillation). The LC_{50} of PL15 shrimp in 24 hours of this extract from water distillation was 21.05 g/l while from soxhlet extractor was 1.88 g/l. Those concentrations, 0.008 g/l from soxhlet extractor and 1.8 g/l from water distillation did not harmful to the PL15 shrimp measured by dissolved oxygen and pH of water.

Key words : Citronella grass, *Cymbopogon winterianus*, *Zoothamnium* sp., black tiger shrimp

[1]Department of Zoology, Faculty of Science [2]Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Jatujak, Bangkok, 10900 Thailand.

[1]วท.ม. (วิทยาศาสตร์การประมง) [2]Ph.D. (Toxicology) รองศาสตราจารย์ [4]วท.บ. (ชีววิทยา) นิสิตปริญญาตรี ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ [3]Ph.D. (Fish Diseases) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

Corresponding e-mail: fsciwyp@ku.ac.th

รับต้นฉบับ 19 พฤษภาคม 2546 รับลงพิมพ์ 30 พฤศจิกายน 2546

บทคัดย่อ

วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล สุรพล วิเศษสรรค์ นนทวิทย์ อารีย์ชน และ สุนทรีย์ ภักตร์ผ่อง

ประสิทธิภาพของสารสกัดตะไคร้หอมเพื่อควบคุม *Zoothamnium* sp. ในกุ้งกุลาดำระยะ PL15

ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2547 26(3) : 431-437

ผลการศึกษาการใช้สารสกัดตะไคร้หอม โดยใช้วิธีการสกัด 2 วิธี คือ สกัดโดยใช้ไอน้ำ และการสกัดโดยใช้ soxhlet extractor ซึ่งใช้เอทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดตะไคร้หอมที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี soxhlet มีประสิทธิภาพในการกำจัด *Zoothamnium* sp. ให้หมดภายใน 24 ชั่วโมง ได้ดีกว่า สารสกัดตะไคร้หอมที่ได้จากการสกัดด้วยไอน้ำถึง 225 เท่า โดยจะใช้สารสกัดจากวิธี soxhlet ปริมาณ 0.008 กรัม/ลิตร ในขณะที่ใช้สารจากการสกัดด้วยไอน้ำปริมาณ 1.8 กรัม/ลิตร สำหรับค่าความเป็นพิษของสารสกัดตะไคร้หอมที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 วิธี ต่อลูกกุ้งกุลาดำระยะ P15 พบว่าสารสกัดตะไคร้หอมที่ได้จากการสกัดด้วยไอน้ำมีค่า LC_{50} 21.05 กรัม/ลิตร ในขณะที่สารสกัดตะไคร้หอมที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี soxhlet มีค่า LC_{50} 1.88 กรัม/ลิตร และเมื่อใช้ความเข้มข้นที่สามารถกำจัด *Zoothamnium* sp. เลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำระยะ P15 ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และค่าความเป็นกรด-ด่างไม่ต่ำลงจนเป็นอันตรายต่อลูกกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798) เป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้ให้กับประเทศเป็นอันดับที่ 5 โดยส่งออกในรูปของกุ้งสดแช่เย็น แช่แข็ง โดยในแต่ละปีมีผลผลิตกุ้งกุลาดำ 200,000-250,000 ตัน/ปี มีส่วนแบ่งในตลาดโลก 30% ส่งผลให้ประเทศไทยเป็นผู้นำในการส่งออกกุ้งมาตั้งแต่ปี 2534 จนถึงปัจจุบัน (สิริ, 2545) แต่เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งกุลาดำมักจะประสบปัญหาเรื่องโรคในการเลี้ยงตลอดมา เนื่องจากการเลี้ยงในปัจจุบันเป็นแบบพัฒนา (intensive) มีการปล่อยกุ้งในอัตราความหนาแน่นสูงทำให้มีของเสียจากการขับถ่ายในบ่อเลี้ยงเป็นจำนวนมาก ทำให้คุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ไม่เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของกุ้งเป็นเหตุทำให้กุ้งเกิดความเครียด และมีภูมิต้านทานลดลง ทำให้เชื้อโปรโตซัว แบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส เข้าทำอันตรายกุ้งได้ นอกจากนั้นการที่มีอาหารเหลือตกค้างในบ่อ ทำให้มีการสะสมของสารอินทรีย์ที่พื้นก้นบ่อ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่เหมาะสมของโปรโตซัว แบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส ทำให้เชื้อเหล่านี้เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว เป็นปัจจัยเสริมที่ทำให้กุ้งเป็นโรคได้ง่ายขึ้น

ปรสิตที่เป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดโรคในกุ้งกุลาดำและทำความเสียหายให้กับกุ้งกุลาดำที่มักจะพบอยู่เสมอคือ *Zoothamnium* sp. (Figure 1) ซึ่งเป็นโปรโตซัวที่อยู่รวมกันเป็นโคโลนี มีรูปร่างแบบระฆังหงาย มีขนสั้นๆ (cilia) รอบปาก มีก้านที่ยืดหดได้ และมี myoneme ในแกนกลางของก้าน พบปรสิตชนิดนี้ในลูกกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดินช่วงตั้งแต่เริ่มปล่อยกุ้งไปจนถึงกุ้งมีอายุประมาณ 50 วัน หรืออาจพบตลอดช่วงของการเลี้ยงกุ้ง กุ้งที่มีปรสิตชนิดนี้เกาะอยู่จะมองเห็นจากภายนอกว่ามีเส้นฝอยเป็นกระจุกบางๆ เกาะอยู่ตามเหงือก ลำตัว ระยางค์ต่างๆ กุ้งว่ายน้ำช้าลง แพนหางและระยางค์ต่างๆ เปื่อยขาดมีลักษณะคล้ายเมือกเคลือบอยู่ตามข้างตัวทั้งสองด้าน เหงือกสกปรก บางครั้งเหงือกจะเปื่อย บางครั้งจะลอกคราบไม่ออก (ลิลา, 2528)

การรักษาโรคซูโอแทมเนี่ยมนิยมใช้ฟอร์มาลินความเข้มข้น 25-50 ppm ฟอร์มาลินจะทำให้ปริมาณของ *Zoothamnium* sp. ลดลง กุ้งลอกคราบได้ง่ายขึ้น แต่การใช้ฟอร์มาลินจะต้องระวังในเรื่องปริมาณฟอร์มาลินที่จะใช้ การใช้ฟอร์มาลินความเข้มข้นสูงเกินไปจะทำให้ปริมาณของออกซิเจนที่ละลายน้ำลดลง ดังนั้นในการใช้ฟอร์มาลินควรจะเป็นช่วงเวลาที่มีแสงแดดในตอนเช้า และควรจะให้อากาศตลอดเวลาด้วย (พรเลิศ, 2538) นอกจากนี้แล้วการใช้ฟอร์มาลินซึ่งเป็นสารเคมีที่มีกลิ่นฉุน อาจเป็นอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใช้ได้ด้วยหากขาดความระมัดระวังในการใช้ นอกจากใช้ฟอร์มาลินแล้วอาจมีการใช้สารเคมีอื่นอีก เช่น trifluralin, benzalkonium chloride (BKC), คอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulfate), มาลาไคท์กรีน (malachite green), ดิพเทอเร็กซ์ (dipterex)

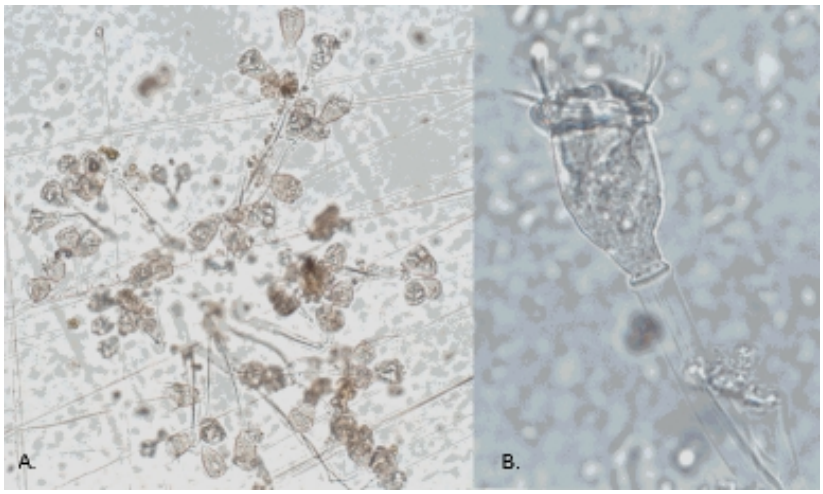

Figure 1. ***Zoothamnium* sp. A. 10X B. 40X**

สารที่ใช้ในการรักษากุ้งที่ป่วยด้วยโรคซูโอแทมเนี่ยมที่ได้กล่าวถึงมาทั้งหมดนี้ล้วนแต่เป็นสารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้นมาทั้งสิ้น ซึ่งในปัจจุบันเนื่องจากการแข่งขันทางการค้าในตลาดโลกมีมากขึ้น รวมทั้งตลาดของผู้บริโภคจะเน้นในด้านสุขอนามัยและความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อมมากขึ้น จึงควรที่จะมีการค้นคว้าถึงสารที่สกัดได้จากพืชสมุนไพรที่หาได้ง่ายมาทดแทนการใช้สารเคมี

ตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus* JEWITTI) เป็นพืชล้มลุก ใบเลี้ยงเดี่ยว เจริญเติบโตด้วยการแตกหน่อ หรือเหง้าเป็นกอ คล้ายตะไคร้แกง ได้มีการสกัดน้ำมันตะไคร้หอมเพื่อนำมาใช้เป็นน้ำหอม แต่งกลิ่นรสอาหาร ใช้ไล่ยุง (ขวัญชัย และไพบูลย์, 2521) และใช้ในการกำจัดลูกน้ำยุงรำคาญ (วรสรรค์, 2543) จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงเห็นควรที่จะนำมาทดลองใช้ในการกำจัด *Zoothamnium* sp. ในกุ้งกุลาดำ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสกัดตะไคร้หอม

1.1 การสกัดตะไคร้หอมโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ

การสกัดใช้วิธีของ สุรพล (2528) โดยนำใบตะไคร้หอมสดมาสับให้มีความยาวไม่เกิน 1 ซม. จำนวน 150 กรัม ใส่ในขวดแก้วรูปชมพู่ (flask) ซึ่งมีท่อต่อกับขวดกลมขนาด 1,500 มล. ที่มีน้ำกลั่นอยู่ภายใน ทำการสกัดด้วยไอน้ำ (stream distillation) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง 30 นาที เริ่มนับเวลาตั้งแต่ได้สารสกัดหยดแรก และวัดปริมาณสารสกัดที่ได้ออกมา เพื่อนำไปใช้คำนวณความเข้มข้น

1.2 การสกัดตะไคร้หอมโดยวิธีการสกัดแบบใช้ soxhlet

นำตะไคร้หอมสดมาอบที่อุณหภูมิ 50ºC สกัดตะไคร้หอมสมุนไพรโดยใช้วิธีการสกัดแบบใช้ soxhlet (สุรพล, 2528) โดยใช้ตะไคร้หอมที่อบแล้วเข้าเครื่องบด (homogenizer) เพื่อบดให้ละเอียด จากนั้นนำตะไคร้หอมที่ได้ใส่ถุงผ้าขาวบางจำนวน 60 กรัม ใส่ในหลอดแก้วทรงสูง (column) ใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95% จำนวน 250 มล. เป็นตัวทำละลายที่อุณหภูมิ 70-80ºC ใช้เวลาสกัด 8 ชั่วโมง สารสกัดที่ได้นำเข้าเครื่องทำระเหย (evaporator) เพื่อแยกเอาตัวทำละลาย (solvent) ออกจากสารสกัด นำสารสกัดที่ได้ไปชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสกัด นำสารสกัดที่ได้ละลายในแอลกอฮอล์ 10 มล. เนื่องจากสารสกัดจะละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ และเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณ 100 มล. เก็บไว้เป็นสารตั้งต้น (stock) เพื่อใช้ในการทดสอบความสามารถในการกำจัด *Zoothamnium* sp. และ ใช้ในการหาค่า LC_{50}

2. การทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นของสารสกัดตะไคร้หอมแต่ละวิธี ในการกำจัด *Zoothamnium* sp.

เลี้ยง *Zoothamnium* sp. ในตู้ทดลองให้ได้ปริมาณมาก โดยวางแผ่นพลาสติกเพื่อใช้เป็นที่ยึดเกาะของ

Zoothamnium sp. จากนั้นนำกุ้งที่มี *Zoothamnium* sp. เกาะอยู่ใส่ลงไป เลี้ยงในตู้ทดลอง ทิ้งไว้จนมีปริมาณ *Zoothamnium* sp. เกาะบนแผ่นพลาสติกมากพอ ทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดตะไคร้หอมแต่ละวิธี โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized designs จำนวน 3 ซ้ำ นำสารตั้งต้นของสารสกัดตะไคร้หอมที่ได้มาทำการเจือจางโดยใช้น้ำเค็มความเค็ม 20 ppt ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ 6 ความเข้มข้นในบีกเกอร์ โดยมีกลุ่มควบคุม 1 กลุ่ม โดยในการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดตะไคร้หอมจากการกลั่น จะใช้น้ำเค็ม ความเค็ม 20 ppt เพียงอย่างเดียว ส่วนกลุ่มควบคุมในการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดตะไคร้หอมโดยวิธี soxhlet จะใช้น้ำกลั่น 90 มล. ผสมกับแอลกอฮอล์ 95% 10 มล. นำไปผสมในน้ำเค็มความเค็ม 20 ppt จากนั้นนำสารละลายที่ได้เทใส่จานแก้ว โดยเทความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ เพื่อเตรียมใช้ในการทดสอบ ตัดแผ่นพลาสติกที่มี *Zoothamnium* sp. เกาะอยู่ ขนาด 1×1 ซม. ใส่ลงในจานแก้วที่เตรียมไว้ นับจำนวนเซลล์ของ *Zoothamnium* sp. เริ่มต้น และนับจำนวนเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปทุก 3 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง หากความเข้มข้นที่เลือกมาใช้ทำให้ *Zoothamnium* sp. ลดลงหมดตั้งแต่ 3 ชั่วโมงแรก ให้เลือกความเข้มข้นที่ต่ำกว่านั้นมาทดลองใหม่ รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์ที่เปลี่ยนแปลงไป เนื่องจากจำนวนเซลล์ที่เริ่มต้นในแต่ละความเข้มข้น และแต่ละซ้ำ จะมีไม่เท่ากัน

3. การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดตะไคร้หอมจากแต่ละวิธีต่อลูกกุ้งกุลาดำระยะ P15

ใส่น้ำเค็มจำนวน 2 ลิตร ลงในตู้ทดลองแต่ละตู้ จำนวน 18 ตู้ นำสารสกัดตะไคร้หอมตั้งต้นที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 วิธี ใส่ลงในตู้ทดลอง ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ 6 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำกุ้งกุลาดำระยะ P15 ที่เลี้ยงไว้ใส่ในตู้ทดลองตู้ละ 20 ตัว เลี้ยงไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนกุ้งที่ตาย หาค่า LC_{50} โดยวิเคราะห์สมการการถดถอย (regression) ระหว่างความเข้มข้นของสมุนไพร (X) และเปอร์เซ็นต์การตายของกุ้ง (Y) หากความเข้มข้นที่เลือกไว้ทั้ง 6 ความเข้มข้นไม่ทำให้กุ้งตายหรือตายหมดภายใน 24 ชั่วโมง จะไม่สามารถนำมาคำนวณหาค่า LC_{50} ได้ จะทำการเลือกความเข้มข้นใหม่ให้ได้อย่างน้อย 5 ความเข้มข้นที่ทำให้กุ้งตายในช่วง 0-100%

4. การตรวจวัดคุณภาพน้ำที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อใช้สารสกัดตะไคร้หอมจากแต่ละวิธีระหว่างการเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำ

นำสารสกัดตะไคร้หอมตั้งต้นจากการสกัดทั้ง 2 วิธี มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ รวมทั้งความเข้มข้นที่หาไว้แล้วว่าเหมาะสมในการใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำในตู้ทดลองขนาด 50×25×50 ซม. ใส่ลูกกุ้งกุลาดำจำนวน 20 ตัวลงไปเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำ โดยวัดจากปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ระหว่างการทดลองโดยไม่มีการให้อากาศระหว่างการทดลอง เพื่อดูว่าเมื่อใช้สารสกัดตะไคร้หอมแต่ละวิธีจะมีผลทำให้คุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลงจนมีอันตรายต่อลูกกุ้งกุลาดำหรือไม่

ผลการทดลอง

1. ผลการสกัดตะไคร้หอม

1.1 ผลการสกัดตะไคร้หอมโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ

การสกัดตะไคร้หอมโดยใช้ไอน้ำ ใช้ตะไคร้หอมสด 150 กรัม ใช้เวลาสกัด 2 ชั่วโมง 30 นาที วิธีการนี้จะได้สารสกัดที่เป็นน้ำมันระเหย (volatile oil) โดยได้สารสกัดมาปริมาณ 100 มล. เก็บไว้เป็นสารตั้งต้น

1.2 ผลการสกัดตะไคร้หอมโดยวิธีการสกัดแบบใช้ soxhlet

การสกัดตะไคร้หอมโดยวิธีการสกัดแบบใช้ soxhlet ใช้ตะไคร้หอมอบแห้ง 79 กรัม ได้สารสกัด 13.91 กรัม มีเปอร์เซ็นต์การสกัดเฉลี่ย 23.18% เมื่อได้สารสกัดเข้มข้นออกมาแล้ว นำไปเจือจางด้วยแอลกอฮอล์ 10 มล. เพื่อให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน และเติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มล. เก็บไว้เป็นสารตั้งต้น เพื่อทดลองต่อไป

2. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสมุนไพรในการกำจัด *Zoothamnium* sp.

2.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดตะไคร้หอมโดยวิธีสกัดไอน้ำ

จากการนำสารตั้งต้นของสารสกัดตะไคร้หอมที่ได้

จากการกลั่นไอน้ำ มาทำการเจือจางโดยใช้น้ำเค็ม ความเค็ม 20 ppt ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ 6 ความเข้มข้นในบีกเกอร์ โดยความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองคือ 0, 0.6, 1.2, 1.8, 2.25 และ 4.5 กรัม/ลิตร

พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดที่สามารถกำจัด *Zoothamnium* sp. ภายใน 24 ชั่วโมง คือ 1.8 กรัม/ลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้สารสกัดตะไคร้หอมปริมาณ 2.25 และ 4.5 กรัม/ลิตร แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับการใช้สารสกัดตะไคร้หอมปริมาณ 0.6, 1.2 และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ใช้สารสกัดตะไคร้หอม (Table 1)

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดตะไคร้หอมโดยวิธี soxhlet

จากการนำสารตั้งต้นของสารสกัดตะไคร้หอมที่ได้จากวิธี soxhlet มาทำการเจือจางโดยใช้น้ำเค็ม ความเค็ม 20 ppt ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ 6 ความเข้มข้นในบีกเกอร์ โดยความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองคือ 0, 0.008, 0.08, 0.8, 4 และ 8 กรัม/ลิตร

พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดที่สามารถกำจัด *Zoothamnium* sp. ภายใน 24 ชั่วโมง คือ 0.008 กรัม/ลิตร ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้สารสกัดตะไคร้หอมปริมาณ 0.08, 0.8, 4 และ 8 กรัม/ลิตร แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ใช้สารสกัดตะไคร้หอม (Table 2)

3. ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดตะไคร้หอมต่อลูกกุ้งกุลาดำระยะ P15

3.1 ผลการหาค่า LC_{50} ของสารสกัดตะไคร้หอมที่สกัด

Table 1. Percent changes of *Zoothamnium* sp. compared to the numbers of initial population after treatment with lemon grass (*Cymbopogon winterianus* JEWITTI) extracts from water distillation at different concentrations and times

Concentration	Percent changes of *Zoothamnium* sp. at (hours)								
(g/l)	0	3	6	9	12	15	18	21	24
0	0	0.3824	1.9088	15.649	18.317	19.084	22.897	23.665	31.302[a]
0.6	0	-41.75	-65.29	-68.93	-30.1	-49.76	-44.42	-34.71	-33.98[b]
1.2	0	-20	-46.05	-62.33	-70.23	-58.6	-28.84	-63.26	-61.86[b]
1.8	0	-36.25	-41.25	-52.5	-64.58	-77.92	-87.92	-91.67	-95[c]
2.25	0	-31.77	-43.65	-55.69	-63.71	-83.28	-88.46	-93.14	-97.99[c]
4.5	0	-21.17	-31.08	-32.88	-39.64	-72.07	-86.49	-96.4	-100[c]

Means values within the same column sharing the same superscript are not significantly different at P>0.05

Table 2. Percent changes of *Zoothamnium* sp. compared to the numbers of initial population after treatment with lemon grass (*Cymbopogon winterianus* JEWITTI) extracts from soxhlet extractor at different concentrations and times

Concentration	Percent changes of *Zoothamnium* sp. at (hours)								
(g/l)	0	3	6	9	12	15	18	21	24
0	0	0.3893	1.9123	15.653	18.321	19.089	22.902	23.669	31.307[a]
0.008	0	-34.06	-55.8	-65.94	-84.78	-86.96	-89.13	-93.48	-99.28[b]
0.08	0	-56.32	-79.31	-83.91	-90.8	-95.4	-100	-100	-100[b]
0.8	0	-51.19	-83.33	-86.9	-94.05	-100	-100	-100	-100[b]
4	0	-68.68	-89.16	-99.4	-100	-100	-100	-100	-100[b]
8	0	-100	-100	-100	-100	-100	-100	-100	-100[b]

Means values within the same column sharing the same superscript are not significantly different at P>0.05

โดยใช้ไอน้ำ

เมื่อนำลูกกุ้งกุลาดำมาเลี้ยงในน้ำที่ผสมสารสกัดตะไคร้หอมที่ได้จากการสกัดโดยใช้ไอน้ำที่ ความเข้มข้น 0, 6, 12, 18, 22.5 และ 45 กรัม/ลิตร แล้วนับอัตราการตายที่ 24 ชั่วโมง ค่าที่ได้นำมาคำนวณด้วยสมการการถดถอยเชิงเส้น (linear regression) $Y = -0.726+2.41X$

โดย Y = เปอร์เซ็นต์การตาย,

X = ความเข้มข้นของสารสกัดตะไคร้หอม (กรัม/ลิตร)

จากการคำนวณได้ค่า LC_{50} เท่ากับ 21.05 กรัม/ลิตร

3.2 ผลการหาค่า LC_{50} ของสารสกัดตะไคร้หอมที่สกัดโดยใช้ soxhlet

เมื่อนำลูกกุ้งกุลาดำ มาเลี้ยงในน้ำที่ผสมสารสกัดตะไคร้หอมที่ได้จากการสกัดโดยใช้ soxhlet ที่ความเข้มข้น 0, 0.008, 0.08, 0.8, 2 และ 4 กรัม/ลิตร แล้วนับอัตราการตายที่ 24 ชั่วโมง ค่าที่ได้นำมาคำนวณด้วยสมการการถดถอยเชิงเส้น $Y = 4.78+24.11X$

โดย Y = เปอร์เซ็นต์การตาย,

X = ความเข้มข้นของสารสกัดตะไคร้หอม (กรัม/ลิตร)

จากการคำนวณได้ค่า LC_{50} ได้เท่ากับ 1.88 กรัม/ลิตร

4. ผลการตรวจวัดคุณภาพน้ำของสารสกัดตะไคร้หอมระหว่างการเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำ

4.1 ผลการตรวจวัดคุณภาพน้ำของสารสกัดตะไคร้หอมที่สกัดโดยใช้ไอน้ำ

ผลการใช้สารสกัดตะไคร้หอม ซึ่งสกัดโดยใช้ไอน้ำ ความเข้มข้น 1.8 กรัม/ลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ใช้ในการกำจัด *Zoothamnium* sp. ได้ภายใน 24 ชั่วโมง เลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าน้ำในตู้มีค่า DO เท่ากับ 3.9 มก./ลิตร pH เท่ากับ 7.51 ซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อลูกกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงไว้ เมื่อทดลองใช้ความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรสูงขึ้น พบว่าค่า DO และค่า pH ลดต่ำลงเช่นเดียวกัน และเมื่อใช้สารสกัดปริมาณ 45 กรัม/ลิตร พบว่าค่า DO มีค่าเท่ากับ 1.91 มก./ลิตร ค่า pH มีค่าเท่ากับ 7.27

4.2 ผลการตรวจวัดคุณภาพน้ำของสารสกัดตะไคร้หอมที่สกัดโดย soxhlet

พบว่าการใช้สารสกัดตะไคร้หอม ซึ่งสกัดโดยใช้ soxhlet extractor ความเข้มข้น 0.008 กรัม/ลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ใช้ในการกำจัด *Zoothamnium* sp. ได้ภายใน 24 ชั่วโมง เลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าน้ำในตู้ทดลองมีค่า DO เท่ากับ 3.14 มก./ลิตร pH เท่ากับ 7.41 ซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ เมื่อทดลองใช้ความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรสูงขึ้น พบว่าค่า DO และค่า pH ลดต่ำลงเช่นเดียวกัน และเมื่อใช้สารสกัดปริมาณ 3 กรัม/ลิตร พบว่าค่า DO มีค่าเท่ากับ 0.13 มก./ลิตร ค่า pH มีค่าเท่ากับ 6.84

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาการใช้สารสกัดตะไคร้หอม ซึ่งมีสารประกอบที่เป็นสารสำคัญคือ citronellal, citronellol และ geraniol โดยเฉลี่ย 32.7, 15.9 และ 23.9% ตามลำดับ โดยใช้วิธีการสกัด 2 วิธี คือ สกัดโดยใช้ไอน้ำ และการสกัดโดยใช้ soxhlet extractor พบว่าทั้ง 2 วิธีจะได้สารสกัดที่มีคุณสมบัติแตกต่างกัน โดยสารสกัดตะไคร้หอมที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี soxhlet มีประสิทธิภาพในการกำจัด *Zoothamnium* sp. ได้ดีกว่า สารสกัดตะไคร้หอมที่ได้จากการสกัดด้วยไอน้ำ โดยสารสกัดตะไคร้หอมที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี soxhlet ซึ่งมีเอทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายจะใช้ปริมาณ 0.008 กรัม/ลิตร เพื่อกำจัด *Zoothamnium* sp. ให้หมดภายใน 24 ชั่วโมง ในขณะที่สารสกัดตะไคร้หอมที่ได้จากการสกัดด้วยไอน้ำใช้ปริมาณ 1.8 กรัม/ลิตร ซึ่งต่างจากการสกัดด้วยวิธี soxhlet ถึง 225 เท่า

จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการสกัดด้วยวิธี soxhlet โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายจะทำให้ได้สารออกฤทธิ์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัด *Zoothamnium* sp. สูงกว่าการสกัดด้วยไอน้ำ โดยเซลล์ของ *Zoothamnium* sp. เมื่อได้รับสารสกัดจะมีการเปลี่ยนแปลงให้เห็นโดยหลุดออกจากแผ่นพลาสติดที่เป็น substrate หรือบางเซลล์ที่เกาะบนแผ่นพลาสติกมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างโดยหดกลมเปลี่ยนแปลงสีเป็นสีน้ำตาล และไม่มีการเคลื่อนไหว ซึ่งการสกัดด้วยไอน้ำนั้นสารสกัดที่ได้เป็น

น้ำมันหอมระเหยทั้งหมด ได้แก่ citronellal, citronellol และ geraniol โดยเปอร์เซ็นต์ที่สามารถสกัดได้ประมาณ 10.35, 5.16 และ 17.26% ตามลำดับ ซึ่งสารทั้ง 3 ชนิดนี้เป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญของตะไคร้หอม ในขณะที่การสกัดด้วยวิธี soxhlet โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายจะได้สารออกฤทธิ์ทั้ง 3 ออกมาน้อยกว่า คือ citronellal 0.07%, citronellol 0.06% และ geraniol 0.20% โดยประมาณ เนื่องจากวิธีการสกัดใช้ความร้อนสูงจึงทำให้น้ำมันหอมระเหยดังกล่าวระเหยออกไป แต่สารสกัดที่ได้โดยวิธี soxhlet ยังได้สารอื่นๆ ออกมาอีกหลายชนิดนอกเหนือจากน้ำมันหอมระเหย ซึ่งสารเหล่านั้นอาจมีผลในการกำจัด *Zoothamnium* sp. มากกว่าน้ำมันหอมระเหย เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยนั้นจะปิดอยู่บนผิวหน้าน้ำ ในขณะที่สารอื่นๆ สามารถที่จะละลายลงไปในน้ำได้ แต่เนื่องจากในการทดลองนี้เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของสารที่สกัดออกมาได้ทั้งหมดรวมกัน (crude extract) จึงไม่ได้ระบุว่าสารที่สกัดออกมานั้นมีสารใดอีกบ้าง

สำหรับค่าความเป็นพิษของสารสกัดตะไคร้หอมที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 วิธี ต่อลูกกุ้งกุลาดำระยะ P15 พบว่าสารสกัดตะไคร้หอมที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี soxhlet มีค่า LC_{50} 1.88 กรัม/ลิตร ในขณะที่สารสกัดตะไคร้หอมที่ได้จากการสกัดด้วยไอน้ำมีค่า LC_{50} 21.05 กรัม/ลิตร ซึ่งต่างกัน 11.2 เท่า

ส่วนการวัดค่าคุณภาพน้ำพบว่าเนื่องจากตะไคร้หอมมีน้ำมันเป็นส่วนประกอบอยู่ เมื่อใช้ในปริมาณมากใส่ลงไปในน้ำจะทำให้น้ำมันไปปิดผิวหน้าน้ำ มีผลทำให้ออกซิเจนลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 24 ชั่วโมง แต่ความเข้มข้นที่ใช้ในการกำจัด *Zoothamnium* sp. นั้น เนื่องจากเป็นปริมาณที่ไม่สูงมากจึงไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ อีกทั้งในการทดลองไม่ได้มีการให้อากาศ แต่ในสภาพการเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำในโรงเพาะฟักจริงจะมีการให้อากาศตลอด จึงไม่มีโอกาสที่น้ำมันตะไคร้หอมจะมาปิดผิวหน้าน้ำได้ ดังนั้นตะไคร้หอมจึงเป็นสมุนไพรที่น่าจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำได้ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

ขวัญชัย สุวรรณสัมฤทธิ์ และ ไพบูลย์ ธรรมรัตนวาสิก. 2521. ตะไคร้หอม. ว. เคมีสัมพันธ์. 2(2): 17-21.

ประสบ บูรณมานัส. 2528. เภสัชวิทยาทางสัตวแพทย์ เล่ม 1. บริษัทโรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช จำกัด. 438 หน้า.

พรเลิศ จันทร์รัชชกูล. 2538. การใช้ยาและสารเคมีบางชนิดในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. ว. ข่าวโรคสัตว์น้ำ. 5(1): 1.

ลิลา เรืองแป้น. 2528. โปรโตซัวที่ทำให้เกิดปัญหาในการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล (*Penaeus monodon* & *Penaeus merguiensis*). เอกสารวิชาการฉบับที่ 8/2528. ฝ่ายทดลองและวิจัยเพื่อการเพาะเลี้ยง กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง. 13 หน้า.

วรสรรค์ ธรรมสรางกูร. 2543. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากตะไคร้หอม (*Cymbopogon winterianus* JEWITTI) ต่ออัตราการตายและระดับเอนไซม์ทำลายพิษบางชนิดในลูกน้ำยุงรำคาญ (*Culex pipien quinque fasciatus*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

สิริ ทุกข์วินาศ. 2545. ระบบรับรองคุณภาพกุ้งเลี้ยงของกรมประมง. ว. การประมง 55(3): 227-243.

สุรพล วิเศษสรรค์. 2528. แนวโน้มการนำสารพิษที่สกัดได้จากพืชตามธรรมชาติมาทดแทนสารเคมี. ข่าวสารวัตถุมีพิษ. 12(2): 58-67.