# ใบรับรองวิทยานิพนธ์

## บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

**ปริญญา**

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ — **สาขา**

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ — **ภาควิชา**

**เรื่อง** ผลของสารสกัดจากโอริกาโนแบบห่อหุ้มต่อสมรรถภาพการผลิต สุขภาพและคุณภาพเนื้อปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus*)

Effect of Encapsulated Oregano Extracts on Growth Performance, Fish Health and Fillet Quality in Red Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

**นามผู้วิจัย** นางสาวปนิตา กุลธนปารมี

**ได้พิจารณาเห็นชอบโดย**

**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก** .....

( รองศาสตราจารย์อรพินท์ จินตสถาพร, Ph.D. )

**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม** .....

( รองศาสตราจารย์ประทักษ์ ตาบทิพย์วรรณ, Doctorat de 3 cycle )

**หัวหน้าภาควิชา** .....

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์พงศ์เชฎฐ์ พิชิตกุล, วท.ม. )

**บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว**

.....

( รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr. )

**คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย**

**วันที่** ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

# ผลของสารสกัดจากโอริกาโนแบบห่อหุ้มต่อสมรรถภาพการผลิต สุขภาพ และคุณภาพเนื้อปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus*)

# Effect of Encapsulated Oregano Extracts on Growth Performance, Fish Health and Fillet Quality in Red Tilapia (*Oreochromis niloticus*)


โดย

นางสาวปนิตา กุลธนปารมี


เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)
พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปนิตา กุลธนปารมี 2557: ผลของสารสกัดจากโอริกาโนแบบห่อหุ้มต่อสมรรถภาพการผลิต สุขภาพและคุณภาพเนื้อปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus*) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์อรพินท์ จินตสถาพร, Ph.D. 60 หน้า

การศึกษาผลของ สารสกัดจากโอริกาโนแบบห่อหุ้มต่อสมรรถภาพการผลิต สุขภาพและคุณภาพเนื้อปลา ทำการศึกษาในปลานิลแดงโดยใช้อาหารทุกชุดการทดลองที่มีระดับโปรตีนร้อยละ 30 วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง เสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มลงไปในอาหารในระดับที่แตกต่างกัน คือ ที่ระดับ 0, 0.5, 1.0, 2.0 กรัม/ กก.อาหาร น้ำหนักปลาเฉลี่ยเริ่มต้น 163.4 $\pm$ 10.7 กรัม เลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1000 ลิตร ปล่อยปลาที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ถัง ให้อาหารวันละ 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว เลี้ยง 12 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า การเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มในอาหารไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิต โดยน้ำหนักเพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน (ADG) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนการเปลี่ยนแปลงของสุขภาพสัตว์น้ำ พบว่า ค่ากลูโคสในเลือด ค่าอิมโมโนโกลบูลิน (IgM) ในเลือด ดัชนีตับต่อตัว ไม่แตกต่างกัน ( $P > 0.05$) ดังนั้นการเสริมสารโอริกาโนจึงไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และสุขภาพของปลานิลแดง

การศึกษาผลของการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มต่อคุณภาพเนื้อปลา พบว่า การเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มชะลอการเสื่อมสภาพของไขมันในเนื้อปลา โดยพบว่าเมื่อนำเนื้อปลาทุกชุดการทดลองเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 $^{o}$C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ค่า Thiobabituric acid value (TBA) และเนื้อปลาที่ไม่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนมีค่ามากที่สุด ( $P< 0.05$ ) คือ 1.257 mg.malonaldehyde/kg ขณะที่ค่า TBA ของเนื้อปลาที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโน 0.5 ,1.0 และ 2.0 กรัม ในอาหารมีค่า 0.366-0.457 mg.malonaldehyde/kg ดังนั้นการเสริมสารสกัดโอริกาโนในอาหารสามารถชะลอการเสื่อมสภาพของเนื้อปลานิลแดง ทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อปลาสดในสภาวะแช่เย็นได้

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Panita Kulthaparamee 2014: Effect of Encapsulated Oregano Extracts on Growth Performance, Fish Health and Fillet Quality in Red Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Master of Science (Aquaculture), Major Field: Aquaculture, Department of Aquaculture. Thesis Advisor: Associate Professor Orapint Jintasataporn, Ph.D. 60 pages.

The study on effect of encapsulated oregano extracts on growth performance fish health and fillet quality of red tilapia was conducted. The study was assigned in CRD with 4 treatments and 4 replicates. Red tilapia with average weight of 163.4 $\pm$ 10.7 g/fish, were stocked in 1,000 L fiber tank at density of 10 fish/tank. In 12 weeks trial, red tilapia were fed 3 times a day with isonitrogenous of 30% CP and diets supplemental encapsulated oregano extracts 4 levels, 0, 0.5, 1.0, 2.0 g/kg feed. The results showed no statistical difference ($P>0.05$) on growth performance in term of average daily gain (ADG), and feed conversion ratio (FCR). Blood glucose, Immunoglobulin(IgM) and hepatosomatic index have no statistical different ($P>0.05$). Dietary treatment using oregano extracts showed no improvement ($P>0.05$) on growth performance and fish health.

Focusing on fillet quality after feeding trial, diet containing encapsulated oregano essential oil presented antioxidant effects by retarding lipid oxidation in fish fillet during chilled at $4^{o}$C for 48 hours. The TBA value of control group was 1.257 $\pm$ 0.120 mg.malonaldehyde/kg fillet which was highest ($P <0.05$). This indicated the deterioration of lipid in fillet. Whereas TBA in those fishes fed diet containing 0.05- 0.2% encapsulated oregano extracts ranged between 0.366-0.457 mg.malonaldehyde/kg fillet. Therefore supplemental encapsulated oregano extracts in red tilapia diet can retard the deterioration of the fish fillet and prolong shelf life of the product during chilled.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. อรพินท์ จินตสถาพร ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆในวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ตลอดจนให้การสนับสนุนทุนในการศึกษาและวิจัยวิทยานิพนธ์ และอำนวยความสะดวกในทุกๆ ด้าน

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ประทักษ์ ตาบทิพย์วรรณ กรรมการที่ปรึกษาร่วม ประธานการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย และผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ได้ให้ความกรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์และสำเร็จลงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ในภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือด้วยดี

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่บิดา มารดา และพี่ๆ ที่ได้อบรมสั่งสอน สนับสนุนการศึกษาตั้งแต่แรกเริ่มจนถึงปัจจุบัน และให้กำลังใจข้าพเจ้ามาตลอดในทุกๆ เรื่อง

ปนิตา กุลธนปารมี

มิถุนายน 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# สารบัญ

หน้า


| | |
|---|---|
| สารบัญ | (1) |
| สารบัญตาราง | (2) |
| สารบัญภาพ | (3) |
| คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ | (4) |
| คำนำ | 1 |
| วัตถุประสงค์ | 3 |
| การตรวจเอกสาร | 4 |
| อุปกรณ์และวิธีการ | 22 |
| อุปกรณ์ | 22 |
| วิธีการ | 24 |
| ผลและวิจารณ์ | 29 |
| สรุปและข้อเสนอแนะ | 42 |
| สรุป | 42 |
| ข้อเสนอแนะ | 42 |
| เอกสารและสิ่งอ้างอิง | 43 |
| ภาคผนวก | 53 |
| ประวัติการศึกษาและการทำงาน | 60 |


ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# สารบัญตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | ส่วนประกอบของอาหารที่ใช้ในการเสริมสารสกัดโอริกาโน | 25 |
| 2 | องค์ประกอบทางเคมีของอาหารปลานิลแดง | 26 |
| 3 | การเจริญเติบโต และอัตราการรอด ของปลานิลแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย ± SD) | 30 |
| 4 | การใช้ประโยชน์จากอาหาร เมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย ± SD) | 33 |
| 5 | ค่าโลหิตวิทยาแต่ละช่วงการทดลองและค่าดัชนีตับต่อเมื่อสิ้นสุดการทดลองของปลานิลแดงที่เสริมโอริกาโนแบบห่อหุ้มในระดับความเข้มข้นต่างๆ | 36 |
| 6 | อัตรารอดของปลานิลในการทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้อ (Disease resistance test) Streptococcus spp. เมื่อสิ้นสุดการทดลอง | 37 |
| 7 | เปอร์เซ็นต์ซากของปลานิลที่ได้รับสูตรอาหารเสริมโอริกาแบบห่อหุ้มโนระดับต่างๆ | 39 |
| 8 | แสดงระดับการหืนของไขมันในเนื้อปลาที่บริโภคได้ ไปแช่ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 2 วัน | 40 |


ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# สารบัญภาพ


| ภาพที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | ลักษณะของต้นโอริกาโน | 16 |
| 2 | แสดงโครงสร้างทางเคมีของ Carvacrol และ Thymol | 17 |
| 3 | รูปแบบการห่อหุ้มสารสกัดโอริกาโน | 20 |
| 4 | ความคงทนคงของสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มเทียบกับแบบไม่ห่อหุ้มเมื่อผ่านความร้อนที่ระดับต่างๆ | 21 |
| 5 | แสดงการเปลี่ยนแปลงค่า TBA ในเนื้อปลาที่เก็บรักษาไว้ที่ อุณหภูมิ 4 $^{o}$C | 41 |

**ภาพผนวกที่**

| | | |
|---|---|---|
| 1 | ลักษณะการปล่อยปลาในตู้กระจกในการทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้อ | 54 |


ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

| | | |
|---|---|---|
| FCR | = | feed conversion efficiency |
| Ig M | = | immunoglobulin M |
| PER | = | protein efficiency ratio |
| SGR | = | specific growth rate |

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# ผลของสารสกัดจากโอริกาโนแบบห่อหุ้มต่อสมรรถภาพการผลิต สุขภาพ และคุณภาพเนื้อปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus*)

# Effect of Encapsulated Oregano Extracts on Growth Performance, Fish Health and Fillet Quality in Red Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

## คำนำ

ปัจจุบันปลานิลแดงเป็นปลาน้ำจืดที่รู้จักและนิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย เพราะเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว แข็งแรง และทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี สามารถแพร่ขยายพันธุ์วางไข่ได้ทั้งในบ่อเลี้ยงและแหล่งน้ำธรรมชาติทั่วไป นอกจากนี้ยังมีรสชาติดีอีกด้วย

สำหรับการบริโภคปลานิลแดงในประเทศและต่างประเทศ มีแนวโน้มในการบริโภคมากขึ้น นำไปประกอบอาหารเช่นเดียวกับปลากะพง ปลาบู่และปลาเก๋า แปรรูปเป็นปลาดิบ ปลาชุบแป้งทอด และปลาแล่แช่แข็ง ตลาดส่งออกที่สำคัญ ได้แก่ ออสเตรเลีย ฮ่องกง ไต้หวัน ซึ่งนิยมบริโภคปลาเนื้อขาว ประเทศสหรัฐอเมริกา แคนาดา อิตาลี ตะวันออกกลาง นิยมบริโภคในรูปปลาทั้งตัว นอกจากนี้ยังส่งออกเป็นปลาแล่ (fillets) ไปยังประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และยุโรป

แต่ปัจจุบันพบว่า อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลานิลแดงประสบปัญหาผลผลิตเสียหายเป็นจำนวนมากจากโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย โดยเฉพาะแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptococcus* spp. ทำให้เกษตรกรต้องใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อการแก้ไขปัญหามากขึ้น ซึ่งจะนำมาซึ่งปัญหาเรื่องการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อปลา และอาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค และตลาดส่งออก ซึ่งหลายๆ ประเทศที่เป็นตลาดส่งออกที่สำคัญก็เข้มงวดกับเรื่องดังกล่าว ดังนั้นการใช้พืชสมุนไพรที่สามารถที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพ ( Antimicrobial Activity ) จึงเป็นทางเลือกที่ดีในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว

โอริกาโน (*Origanum spp.*) เป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติดังกล่าว โดยพบว่าสารประกอบฟีนอล (Phenolic compounds) ที่พบอยู่มากในน้ำมันที่สกัดจากโอริกาโน่ (Oregano essential oils :OEO) มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลยังมีคุณสมบัติที่สำคัญอีกประการหนึ่ง คือคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น(Antioxidant) ซึ่งมีส่วนสำคัญในยืดอายุการรักษาเนื้อปลาที่นำมาเพื่อแปรรูปจำหน่าย ดังนั้นการใช้สารสกัดจากโอริกาโนจึงเป็นทางเลือกหนึ่งทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการเสริมสารที่สกัดจากโอริกาโนแบบห่อหุ้มระดับต่างกันต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร

2. เพื่อศึกษาผลของสารที่สกัดจากโอริกาโนแบบห่อหุ้มระดับต่างกันต่อสุขภาพปลานิลแดง

3. เพื่อศึกษาผลของสารที่สกัดจากโอริกาโนแบบห่อหุ้มต่อคุณภาพเนื้อปลา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# การตรวจเอกสาร

## ปลานิล

ปลานิล (*Tilapia nilotica Linn*.) เป็นปลาน้ำจืดที่รู้จักและนิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย เพราะเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว แข็งแรง และทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี สามารถแพร่ขยายพันธุ์วางไข่ได้ทั้งในบ่อเลี้ยงและแหล่งน้ำธรรมชาติทั่วไป นอกจากนี้ยังมีรสชาติดีอีกด้วย (สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, 2526)

ปลานิล ได้ถูกนำเข้ามาในประเทศไทยเป็นครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ.2508 โดยเจ้าฟ้าอากิฮิโตมกุฎราชกุมารแห่งประเทศญี่ปุ่น โดยทรงนำปลานิลจำนวน 50 ตัว ขึ้นทูลเกล้าฯ ถวายแด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว เมื่อวันที่ 28 มีนาคม 2508 พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ได้ทรงโปรดเกล้าฯ ให้เลี้ยงไว้ในบ่อดินขนาด 10 ตารางเมตร ในบริเวณสวนจิตรลดา พระราชวังดุสิตและโปรดเกล้าฯ พระราชทานชื่อปลาชนิดนี้ว่า “ปลานิล” อีก 1 ปีต่อมา ก็ได้ทรงพระราชทานลูกปลาขนาดเล็กที่เกิดจากพ่อแม่ที่เลี้ยงไว้แก่กรมประมงเพื่อนำไปเลี้ยง และขยายพันธุ์ และกรมประมงได้ส่งเสริมให้ประชาชนเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย โดยการเพาะพันธุ์จำหน่ายและจ่ายแจก จากการเพาะขยายพันธุ์ปลานิลในระยะหลัง ปรากฏว่ามีลูกปลานิลจำนวนหนึ่งมีสีสันผิดไปจากเดิมอย่างเด่นชัด กล่าวคือ สีของลำตัวซึ่งปกติเป็นสีเขียวปนน้ำตาลดำ ได้เปลี่ยนเป็นสีขาวอมชมพู เหลือง ส้ม หรือแดง อุบัติการณ์ดังกล่าวจัดว่าเป็นการผ่าเหล่า (mutant) กรมประมงจึงให้ชื่อปลาที่เกิดจากการผ่าเหล่านี้ว่า “ปลานิลสีแดง” (สถานบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, 2526) ปลานิลสีแดงพบครั้งแรกในประเทศไทยที่สถานีประมงจังหวัดอุบลราชธานี ในปี พ.ศ.2511 โดยพบปะปนอยู่ในบ่อเลี้ยงปลานิล (มานพ และคณะ, 2527)

Guerrero and Cagauan (1980) พบว่า ปลานิลสีแดงในประเทศฟิลิปปินส์มีกำเนิดจากลูกผสมระหว่างปลา *Tilapia hornorum* และ *Tilapia mossambica* หรือ เป็นพันธุ์ปลานิลสีแดงที่นำมาจากประเทศไต้หวัน *Tilapia aurea* และ *Tilapia nilotica* หรือเป็นปลาที่มีการผันแปรทางพันธุกรรมมาจากปลานิลที่เลี้ยงอยู่ในประเทศฟิลิปปินส์

มานพ และคณะ (2527) รายงานว่า ปลานิลสีแดงที่พบในประเทศไทยยังไม่มีการทดสอบทางพันธุกรรมให้แน่ชัดว่ามีต้นกำเนิดมาอย่างไร แต่จากการศึกษาประวัติความเป็นมาของปลาใน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สกุล Tilapia ที่เลี้ยงอยู่ในประเทศไทย กับการศึกษาลักษณะภายนอกของปลานิลสีแดง พอจะสรุปได้ 2 กรณี คือ

1. ปลานิลสีแดงที่เกิดขึ้นน่าจะเป็นปลาลูกผสมระหว่างปลานิลและปลาหมอเทศ โดยการผสมข้ามพันธุ์ตามธรรมชาติ เกิดการรวมตัวระหว่างยีนของปลาทั้ง 2 ชนิด ในฤดูผสมพันธุ์เป็นสัดส่วนที่พอเหมาะแบบใดแบบหนึ่ง ทำให้ปรากฏเป็นปลานิลสีแดง

2. ปลานิลสีแดงที่เกิดขึ้นอาจจะเป็นปลาที่มีการผันแปรทางพันธุกรรมมาจากปลานิลเช่นเดียวกับปลานิลสีแดงที่พบในประเทศฟิลิปปินส์

**ลักษณะทางอนุกรมวิธาน**

Kingdom Animalia
Phylum Chordata
Class Actinopterygii
Order Perciformes
Famil Cichlidae
Genus *Oreochromis*
Species *niloticus*

ลักษณะลำตัวของปลานิลสีแดงคล้ายคลึงกับปลานิลธรรมดามาก ต่างกันเพียงแต่สีของลำตัว กล่าวคือสีบริเวณลำตัวของปลานิลสีแดงมี สีส้ม ส้มแดง แดง ส้มเหลือง หรือชมพู บางตัวอาจมีเม็ดสีดำ (melanin pigment) ขนาดเล็กกระจายทั่วไปบนบริเวณลำตัว ที่ปลายครีบหลัง ครีบก้นและครีบหาง มีจุดสีส้มแดงเล็กๆ เรียงกันเป็นแถว ทำให้เห็นเป็นแถบสีส้มแดง ซึ่งต่างจากปลานิลธรรมดาที่ลำตัวมีสีเขียว เขียวปนน้ำตาลหรือเทาปนน้ำเงิน จำนวนก้านครีบและสัดส่วนบนลำตัวของปลานิลสีแดงกับปลานิลธรรมดาแตกต่างกันน้อยมาก ลักษณะต่างกันที่เห็นได้ชัด คือ ลักษณะสีของผนังช่องท้อง (peritoneum) ในปลานิลสีแดง ผนังช่องท้องมีสีขาว เนื่องจากไม่มีเม็ดสีสีดำ ส่วนปลานิลธรรมดาผนังช่องท้องมีสีดำเนื่องจากมีเม็ดสีดังกล่าว และในช่องท้องของปลานิลสีแดงมีปริมาณไขมันมากกว่าปลานิลธรรมดาหลายเท่าตัว (สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, 2526)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มานพ และคณะ (2527) รายงานว่า ปลานิลสีแดงมีรูปร่างลำตัวเหมือนกับเปลานิลธรรมดา แต่ริมฝีปากเฉียงขึ้น บริเวณครีบหางไม่มีลายเส้นตามขวาง ลำตัวมีสีแดง ส้ม ส้มแดง ชมพูหรือขาว บางตัวมีสีแดงและเกล็ดสีน้ำเงินเป็นหย่อมๆ นัยน์ตาของปลานิลสีแดงมีหลายแบบ เช่น นัยน์ตาสีแดง วงรอบตาสีเหลือง หรือนัยน์ตาสีดำ วงรอบตาสีแดง เป็นต้น มีเกล็ด 3 แถวที่บริเวณแก้ม ครีบหลังมีอันเดียว ประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 15-17 อัน ก้านครีบอ่อน 12-13 อัน ครีบอกมีเฉพาะก้านครีบอ่อน 13 อัน ครีบท้องมีก้านครีบแข็ง 1 อัน ก้านครีบอ่อน 5 อัน ครีบก้นมีก้านครีบแข็ง 3 อัน ก้านครีบอ่อน 9-11 อัน และครีบหางมีก้านครีบอ่อน 16-18 อัน จำนวนเกล็ดบนเส้นข้างตัว 28-33 เกล็ด และเกล็ดรอบคอดหาง 18-19 เกล็ด

**อาหารและอุปนิสัยการกินอาหาร**

ปลานิลสีแดงเป็นปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์เป็นอาหาร เช่นเดียวกับปลานิลธรรมดา แต่ค่อนข้างจะชอบกินสัตว์มากกว่า คือ มีนิสัยค่อนข้างก้าวร้าว กินปลาอื่นที่มีขนาดเล็กกว่า พ่อแม่ปลามักจะจับลูกปลากินเป็นอาหารทันทีที่ลูกปลาเริ่มแตกฝูง ซึ่งลักษณะพฤติกรรมเช่นนี้ไม่ปรากฏในปลานิลธรรมดา(สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, 2526)

**การผสมพันธุ์และวางไข่**

ปลานิลสีแดงมีลักษณะการผสมพันธุ์และการวางไข่เหมือนกับปลานิลธรรมดา คือ สามารถผสมพันธุ์และวางไข่ได้ปีละประมาณ 3-4 ครั้ง ตัวเมียจะเริ่มวางไข่เมื่อมีความยาวเฉลี่ย 6.5 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 200-250 กรัม จะให้ลูกรุ่นละประมาณ 400-1,000 ตัว (สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, 2526)

**การเจริญเติบโตปลานิลสีแดงและปลาในสกุล Tilapia**

วิทย์ และ เวียง (2515) ได้ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของปลานิลสีแดงเปรียบเทียบกับปลานิลธรรมดา โดยเลี้ยงในบ่อคอนกรีตขนาด 1.5 x 1 x 0.5 เมตร ปล่อยปลาลงเลี้ยงบ่อละ 50 ตัว เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดในปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวปลา เป็นเวลา 3 เดือน ปรากฏว่า ปลานิลสีแดงมีอัตราการเจริญเติบโตใกล้เคียงกับปลานิลธรรมดา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประเทศไต้หวันใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์โดยการคัดพันธุ์ปลานิลสีแดงเป็นเวลา 9 ปี พบว่าปลานิลสีแดงมีอัตราการเจริญเติบโตเร็วขึ้น คำนวณจากช่วงอายุการเลี้ยงที่เท่ากัน คือ 4 เดือนในบ่อดิน ปลานิลสีแดงที่คัดพันธุ์แล้วมีน้ำหนักเฉลี่ย 150.5 กรัม ในขณะที่ปลานิลสีแดงที่ไม่ได้คัดพันธุ์มีน้ำหนักเฉลี่ย 141.5 กรัม (Fitzgerald, 1979)

ในการทดลองเลี้ยงปลานิลสีแดงในกระชังขนาด 0.8 ลูกบาศก์เมตร ในบ่อเลี้ยงกุ้งน้ำจืดและน้ำกร่อยที่มีความเค็มอยู่ระหว่าง 11-17 ppt โดยปล่อยลูกปลาลงเลี้ยงกระชังละ 100 ตัว ลูกปลามีน้ำหนักเฉลี่ย 9 กรัม ให้อาหารสมทบและอาศัยอาหารธรรมชาติ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ปรากฏว่าในกระชังที่ให้อาหารสมทบและอาศัยอาหารธรรมชาติในบ่อน้ำกร่อย มีอัตราการเจริญดีกว่ากระชังที่อยู่ในบ่อน้ำจืด และพบว่า อาหารธรรมชาติที่อยู่ในบ่อเลี้ยงกุ้งน้ำจืดเป็นพวกสาหร่ายชนิดต่างๆ ทั้งเซลล์เดียว หลายเซลล์ และที่เป็นเส้นๆ รวมทั้งแพลงค์ตอนสัตว์พวกโคพีพอด ส่วนในบ่อเลี้ยงกุ้งน้ำกร่อยพบพวกไดอะตอมชนิดต่างๆ สาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน โปรโตซัว โรติเฟอร์ และตัวอ่อนของแมลง ( Meriwether *et al*., 1982)

พรรณศรี และ อภิรัตนา (2528) ได้ทดลองศึกษาผลผลิตของปลานิลสีแดงที่เลี้ยงในกระชังขนาด 1 x 1 x 1.5 เมตร โดยปล่อยลูกปลาที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 6 กรัม ลงเลี้ยงในอัตรา 100, 150, และ 200 ตัวต่อกระชัง ใช้เวลาในการเลี้ยง 30 สัปดาห์ ปรากฏว่า ปลาที่ปล่อยในอัตรา 100, 150, และ 200 ตัวต่อกระชังมีน้ำหนักเฉลี่ย 140.8, 134.8 และ 112.8 กรัม ตามลำดับ โดยปล่อยปลาในอัตรา 100 ตัวต่อกระชัง ให้ผลผลิตดีที่สุด คือ 21.8 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ในสัปดาห์ที่ 28

พรรณศรี และ อภิรัตนา (2528) อ้างรายงานของ Lias and Chang (1983) ว่า ปลานิลสีแดงที่เลี้ยงในน้ำทะเล มีสีสันและรสชาติใกล้เคียงกับปลากะพงแดงและเป็นที่นิยมในประเทศไต้หวัน

**การเลี้ยงและผลผลิตปลานิลแดง**

รูปแบบการเลี้ยงปลานิลแดงที่นิยมกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เป็นการเลี้ยงหนาแน่นเชิงพาณิชย์ (Intensive systems) การเลี้ยงในระบบนี้มีอัตราการปล่อยด้วยความหนาแน่นสูง ที่ระดับ 40-100 ตัวต่อตารางเมตร เป็นการเลี้ยงที่มีการลงทุนสูง จะเลี้ยงในบ่อดินหรือกระชังเป็นหลัก แต่ส่วนใหญ่จะนิยมเลี้ยงในกระชัง ซึ่งพบว่าการเลี้ยงในกระชังให้ผลผลิตสูงในอัตรา 30-60 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ในระยะเวลาการเลี้ยง 4-5 เดือน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของปลา**

ปลาเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังชนิดแรกที่มีระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งคล้ายคลึงกับสัตว์เลือดอุ่นทั่วไป ระบบภูมิคุ้มกันของปลาประกอบด้วยเซลล์หลายชนิด เช่น Plasma cell, Macrophage Lymphocyte, Basophil, Eosinophil และอวัยวะในระบบน้ำเหลือง (Lymphoid organ) ได้แก่ ไตส่วนหน้า ประกอบด้วย Haemopoietic tissue ที่มี Lymphocyte,Macrophage และ Plasma cell ซึ่งมีหน้าที่สำคัญในการสร้าง antibody ม้าม ประกอบไปด้วยหลอดเลือดขนาดเล็ก (Ellipsoid) ที่มี macrophage และ reticular fiber จำนวนมาก ม้ามมีหน้าที่สำคัญในการทำลายเม็ดเลือดแดง และเก็บสะสมเหล็กเพื่อนำกลับมาสร้างเม็ดเลือด และต่อมไธมัส พบบริเวณผนังด้านบนส่วนปลายของคอหอย บริเวณช่องกระพุ้งแก้มใกล้โคนครีบหู ซึ่งประกอบด้วย lymphocyte ที่กำลังพัฒนาจำนวนมาก จะมีหน้าที่สำคัญเกี่ยวกับการสร้างภูมิคุ้มกัน โดยเฉพาะในลูกปลาขนาดเล็ก (Ellis, 1988)

การตอบสนองภูมิคุ้มกัน (Immune Response) เป็นปฏิกิริยาตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมหรือ antigen ที่เข้าสู่ร่างกายแบ่งได้ 2 ประเภทคือ การตอบสนองแบบไม่จำเพาะ (Non-specific immune response) เป็นการกำจัดสิ่งแปลกปลอมโดยการทำงานของเซลล์พวก Polymorphonuclear cell และ macrophage โดยขบวนการ Phagocytosis แล้วย่อยสลายด้วยเอนไซม์และขบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ แล้วจึงปล่อยส่วนที่ถูกทำลายออกนอกเซลล์ ขบวนการ Phagocytosis จะเกิดได้ดีเมื่อมีการช่วยเหลือของ Antibody และ Complement การตอบสนองประเภทที่ 2 คือ การตอบสนองแบบจำเพาะ (Specific immune response) เป็นการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่มีคุณสมบัติเป็น antigen โดยการทำงานร่วมกันของเซลล์ Macrophage, T-lymphocyte และ B- lymphocyte แบ่งได้เป็น 2 แบบคือ การตอบสนองทางด้านการสร้าง Antibody จำเพาะต่อ Antigen ในการกำจัด Antigen (Humoral immune response) โดยการทำงานของเซลล์ B- lymphocyte และ Plasma cell และการตอบสนองทางด้านเซลล์ ( Cell-mediated immune response) เป็นการตอบสนองของ T-lymphocyte ร่วมกับเซลล์ชนิดอื่นๆ เช่น Active macrophage และ Natural killer cell เพื่อทำหน้าที่ในการกำจัด Antigen (สุทธิพันธ์ และคณะ, 2537)

โดยปกติการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันไม่เฉพาะเจาะจงจะมีประสิทธิภาพการต่อต้าน Antigen ไม่ดีเท่ากับระบบภูมิคุ้มกันแบบเฉพาะเจาะจง ปลาซึ่งถือว่าเป็นสัตว์มีกระดูกสัตว์หลังมีการพัฒนาของระบบภูมิคุ้มกันจะแตกต่างจากสัตว์บกและสัตว์เลือดอุ่นทั่วไป เช่น สุกร และสัตว์ปีก โดยระบบภูมิคุ้มกันทั่วไปจะมีการทำงานร่วมกันทั้งสารน้ำ (Humoral immunity) และเซลล์ในภูมิคุ้มกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(cell–mediated immunity) ในสัตว์น้ำโดยเฉพาะปลาจะเป็นเซลล์ในภูมิคุ้มกันเป็นหลัก ที่มีบทบาทอย่างสูงในการต่อสู้กับสิ่งแปลกปลอมหรือ Antigen ที่จะเข้าสู่ร่างกาย ระบบการป้องกันสิ่งแปลกปลอมของร่างกายสัตว์ จะเริ่มจากระบบการป้องกันของร่างกาย (body defenses) ในส่วนของพื้นผิวสัมผัส (surface barriers) ทั้งทางกายภาพและสารเคมี เช่น ผิวหนัง สารคัดหลั่งต่าง ๆ ในระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินอาหาร แต่ในปลาจะมีส่วนของเหงือกซึ่งเป็นอวัยวะสำคัญในการแลกเปลี่ยนออกซิเจนในน้ำที่สัมผัสกับสิ่งแวดล้อมตลอด เวลา (Iwama and Nakanishi, 1996) โดยมีกระบวนการ phagocytosis เป็นกระบวนการแรกที่ช่วยป้องกันสิ่งแปลกปลอมไม่ให้เข้าสู่ตัวปลา โดยเฉพาะในระยะที่ระบบภูมิคุ้มกันยังพัฒนาไม่เต็มที่ (Manning and Mughal, 1985)

อวัยวะน้ำเหลือง (lymphoid organ) ของปลากระดูกแข็งประกอบด้วย ต่อมไธมัส พบอยู่ในบริเวณผนังด้านบนส่วนปลายของคอหอยบริเวณช่องกระพุ้งแก้มใกล้โคนครีบหู มีเซลล์ lymphocyte ที่กำลังพัฒนาจำนวนมาก haemopoietic tissue เป็นส่วนประกอบของไตส่วนหน้า มีเซลล์ lymphocyte, macrophage และ plasma cell ทำหน้าที่ในการสร้าง Antibody และ macrophage ในม้ามทำหน้าที่ในการทำลายเม็ดเลือดแดง และเก็บสะสมเหล็กเพื่อนำกลับไปสร้างเม็ดเลือด การพัฒนาของอวัยวะน้ำเหลืองในปลาพิจารณาจากการพบเซลล์ lymphocyte ในอวัยวะดังกล่าว โดยพบว่าในปลาส่วนใหญ่ มีการพัฒนาต่อมไธมัส เป็นอวัยวะแรก ถัดมาเป็นไตส่วนหน้าและม้าม ตามลำดับ ซึ่งการพัฒนาต่อมไธมัสและไตส่วนหน้าจะมีความสัมพันธ์กับ ขนาด น้ำหนักตัว มากกว่าอายุ และมีความแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด (Ellis, 1988)

เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน (cell–mediated immunity) ของปลากระดูกแข็งประกอบด้วยเซลล์หลายชนิด เช่น lymphocyte, plasma cell, macrophage, basophil, eosinophil และ neutrophil เป็นต้น (Anderson, 1974) โดยจะมี monocyte หรือ macrophage และ neutrophils เป็นหลัก ส่วน eosinophils และ basophils พบน้อยมาก monocyte หรือ macrophage ของปลาพบในช่องลำตัว (body cavity) เหงือก ม้าม และ Endothelial cells ในไตซึ่งเป็น lymphoid organ ของปลา แต่ไม่พบในตับเหมือน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และยังพบ natural cytotoxic cell (NCC) ซึ่งทำหน้าที่ต่างๆ เหมือนกับ natural killer cell ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมด้วย (Iwama and Nakanishi, 1996)

การสร้าง Antibody ของปลาจะแตกต่างจากสัตว์เลือดอุ่น อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง Antibody และชนิดของ Antibody สารน้ำในระบบภูมิคุ้มกันของปลา (humoral immunity) มีทั้ง คอมพลีเมนต์ (complement) และอิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin) ที่พบได้ในซีรัมและในของเหลว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในตัวปลา การทำงานเหมือนกับสัตว์เลี้ยงทั่วไปอิมมูโนโกลบูลินของสัตว์ชั้นสูงจะมี 5 ชนิด คือ IgG, IgM, IgE, IgA และ IgD แต่ในปลาจะพบมีเพียง IgM เท่านั้น และเป็น tetramer คือ มี 4 แขน (4 domain) แตกต่างจาก IgM ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่เป็น Pentamer คือมี 5 แขน (5 domain) ดังนั้นประสิทธิภาพการทำงานของ IgM ในปลาจะด้อยกว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Tizard, 2004)

ลิมโฟซัยท์ชนิดทีหรือเซลล์ที (T-cells) สร้างจากเซลล์ต้นแบบ(stem cell) ในถุงไข่แดง ตับ ม้าม หรือไขกระดูก ขณะเจริญและพัฒนาจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นต้นกำเนิดของเซลล์ที เรียกว่า พรีเซลล์ที (Precursor T-cells; Pre T-cells) แล้วจะผ่านไปยังต่อมไธมัส ต่อมน้ำเหลือง ม้าม และต่อมน้ำเหลืองขนาดเล็กในที่ต่างๆ เพื่อทำหน้าที่รับผิดชอบในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ (Cell Mediated Immune Response; CMIR)

เซลล์ทีในร่างกายยังแบ่งได้หลายชนิดตามหน้าที่ดังนี้ (Roitte, 1984)

1.1 เซลล์ทีควบคุม (regulatory cell T-cell) มีหน้าที่ควบคุมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย คือควบคุมทั้งเซลล์ทีและเซลล์บีให้ทำงานเป็นไปตามปกติไม่มากหรือน้อยเกินไป ซึ่งเซลล์ทีควบคุมนี้มี 2 ชนิด คือเซลล์ทีผู้ช่วย (helper T-cells; Th) เป็นลิมโฟซัยท์ที่มีหน้าที่ช่วย บี-ลิมโฟซัยท์ และ ที-ลิมโฟซัยท์ให้มีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อสิ่งแปลกปลอมได้ดียิ่งขึ้น อีกชนิดหนึ่งคือ เซลล์ที ยับยั้ง (suppressor T-cells; Ts) เป็นที-ลิมโฟซัยท์ที่ไปกดหรือลดการทำงานของบี-ลิมโฟซัยท์ และที-ลิมโฟซัยท์ชนิดอื่นไม่ให้ทำหน้าที่มากเกินไป

1.2 เซลล์ทีทำลาย (cytotoxic หรือ Killer หรือ Effector T-cells) เป็นเซลล์ที ที่สามารถทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย ทำลายเซลล์เนื้องอกหรือเซลล์มะเร็ง

1.3 เซลล์ทีสร้างลิมโฟไคน์ (lymphokine producing T-cells) สามารถปล่อยและสร้างลิมโฟไคน์ซึ่งเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ (Cell Mediated Immune Respones; CMIR)

1.4 เซลล์ทีจดจำ (memory T-lymphocyte) มีหน้าที่จดจำสิ่งแปลกปลอมชนิดต่างๆที่เคยเข้าสู่ร่างกายมาแล้ว เซลล์ที่เคยรู้จัก Antigen มาแล้วเรียกว่า สเปคชิฟิคัลลี เซนซิไทซ์ ลิมโฟซัยท์ (Specifically Sensitized Lymphocyte; SSL)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลิมโฟซัยท์ชนิดบี หรือเซลล์บี (B-cells) สร้างจากเซลล์ต้นแบบ (stem cell) ในไขกระดูกจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นกำเนิดของเซลล์บี เรียกว่า พรีเซลล์บี (Precursor B-cell, pre B-cells) หลังจากนั้นจะเดินทางไปยังเนื้อเยื่อน้ำเหลือง (lymphoid tissue) ซึ่งในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้แก่ ส่วนของไขกระดูก (bone marrow) ตับในตัวอ่อน (fetal liver) และเนื้อเยื่อน้ำเหลือง (lymphoid tissue) บริเวณทางเดินอาหาร เมื่อพัฒนาและเจริญเติบโตเต็มที่เป็นเซลล์บี ก็จะออกจากไขกระดูกเข้าสู่ระบบเลือดและระบบน้ำเหลืองต่อไป (ฤทัย และคณะ, 2539) เซลล์บีเป็นแหล่งผลิต Antibody ซึ่งแต่ละเซลล์จะสร้าง Antibody ต่างชนิดกัน โดยแอนติบอดีที่สร้างนี้สามารถจับกับสิ่งแปลกปลอม เรียกขบวนการนี้ว่า Humoral antibody response (Roitte, 1984)

ระบบภูมิคุ้มกันประกอบขึ้นจากเครือข่ายการทำงานของเซลล์ชนิดต่าง ๆ ที่มีการติดต่อสื่อสารกันโดยการส่งสัญญาณ ซึ่งอาจจะประกอบไปด้วยโมเลกุลของโปรตีนที่ปล่อยออกจากเซลล์ เช่น ไซโตคายน์ (cytokine) หรือ เคโมคายน์ (chemokine) (สันนิภา, 2549; Tizard, 2004) ไซโตคายน์มีหลายชนิด เช่น อินเตอร์ลิวคิน (interleukins: IL) เป็นสารส่งสัญญาณสื่อสารระหว่างลิมโฟซัยท์ด้วยกันเอง หรือ อินเตอร์เฟอร์ลอน (interferons; IFN) จะมีการหลั่งเมื่อมีการติดเชื้อไวรัสในร่างกาย เป็นต้น ซึ่งการหลั่งไซโตคายน์ออกมานั้นเซลล์เป้าหมายต้องมีตัวรับสัญญาณ (receptor) ที่ส่งออกมาจากเซลล์ต่าง ๆ เพื่อรับคำสั่งและปฏิบัติตามคำสั่งหรือสัญญาณที่ได้รับ ตัวอย่างเช่น การหลั่ง ILชนิดต่าง ๆ (IL-1, IL-2 เป็นต้น) เซลล์เป้าหมายจำเป็นต้องมีตัวรับสัญญาณที่จะสามารถรับสัญญาณนั้นๆ ได้อย่างจำเพาะเจาะจง เช่น เซลล์เป้าหมายจะต้องมีการสร้าง IL-2 receptor เพื่อจำเพาะต่อการจับกับ IL-2 เป็นต้น (Tizard, 2004)

## การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาสด

การเปลี่ยนแปลงจะเกิดขึ้นตั้งแต่จับสัตว์น้ำ และหลังปลาตาย คือ

### ปฏิกิริยาที่กล้ามเนื้อปลา (Rigor mortis)

Rigor mortis คือ การเสื่อมเสียที่เกิดขึ้นในขั้นที่กล้ามเนื้อปลาเกิดการเกร็งตัวหลังปลาตาย ขณะที่ปลายังมีชีวิตกล้ามเนื้อปลาจะยืดหดโดยอาศัย ปัจจัย ATP (Adenosine triphosphate) เมื่อปลาตาย กล้ามเนื้อปลาจะสูญเสียคุณสมบัติดังกล่าว คือไม่สามารถยืดหดตัวได้ตามปกติ โปรตีนกล้ามเนื้อปลาอยู่ในรูปแอกโตไมโอซิน (Actomyosine) การเกร็งตัวของกล้ามเนื้อปลาอาจเกิดขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภายใน 1 - 3 ชั่วโมง หรือหลายวันหลังปลาตาย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพของปลาก่อนตาย และการดูแลรักษาหลังปลาตาย

**ปฏิกิริยาการสลายตัวของไกลโคเจน (glycolysis)**

ไกลโคเจนที่สะสมไว้ที่ตับและกล้ามเนื้อ หลังปลาตายจะถูกขับออกมาจากที่เก็บแล้วย่อยสลายกลายเป็นกรดแล็กติก (lactic acid) ในสภาพไร้อากาศ มีผลทำให้ pH ลดลง การลดลงมากน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณไกลโคเจน ปลาบางชนิด เช่น ปลาทูน่า ปลาลิ้นหมา มีปริมาณไกลโคเจนค่อนข้างสูง pH จะลดลงถึง 5.5 และหากอุณหภูมิของสัตว์น้ำสูง การเกิดกรดแล็กติก และ pH จะเปลี่ยนแปลงมากขึ้น หาก pH ใกล้เคียงกับจุด isoelectric point จะทำให้น้ำและโปรตีนแยกออกจากกัน

**การสลายตัวของ ATP (adenosine triphosphate degradation)**

เมื่อปลาตายจะสลายตัวได้โมเลกุลที่เล็กลง คือ ADP(adenosine diphoshpate), AMP(adenosine monophosphate), IMP (inosine-5-phosphate), HxR(inosine), Hx(hypoxanthine) และ D-ribose อัตราการสลายตัวขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในการเก็บรักษาปลา

**การย่อยสลายตัวเอง (autolysis)**

หลังจากปลาตายเอนไซม์ทั้งหลายยังมีกิจกรรมอยู่ และย่อยองค์ประกอบของเนื้อปลาให้มีโมเลกุลที่เล็กลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีน ซึ่งจะถูกย่อยสลายเป็นเปปไทด์ (peptide), กรดอะมิโน (amino acid), แอมโมเนีย(ammonia), เอมีน(amine) และอื่นๆ สารประกอบบางอย่างที่เกิดขึ้นจะให้กลิ่น เช่น แอมโมเนีย อินโดล(indole) และ TMA(trimethylamine) (มยุรี, 2532)

**การเน่าเสียที่เกิดจากแบคทีเรีย (bacteria spoilage)**

แบคทีเรียในปลามีชีวิต จะพบทั่วไปบนพื้นผิวตัวปลา เมือก เหงือก และในอวัยวะภายในต่าง ๆ แต่แบคทีเรียไม่สามารถทำอันตรายปลาได้ เนื่องจากปลายังมีความแข็งแรงและมีความต้านทานตามธรรมชาติไว้ช่วยป้องกันการทำลายจากแบคทีเรีย เนื้อปลาจะมีสภาพปลอดเชื้อ(sterile) แต่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หลังจากปลาตายแล้ว แบคทีเรียที่ติดมากับตัวปลาจะเริ่มเข้าย่อยสลายเนื้อเยื่อของปลาทันที โดยเข้าทางเหงือกและไต เข้าสู่เส้นเลือดแดงและเส้นเลือดดำนอกจากนี้แบคทีเรียยังเข้าไปในเนื้อปลาโดยตรง โดยผ่านทางหนังปลาและทางเดินอาหาร อุณหภูมิยิ่งสูง จะยิ่งเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จากแบคทีเรียให้ทำงานได้รวดเร็วยิ่งขึ้น ปริมาณของแบคทีเรียเริ่มต้นยิ่งมากก็จะเพิ่มจำนวนได้มากเป็นทวีคูณ ปริมาณของเอนไซม์ที่ปล่อยออกมาก็มากตามไปด้วย ทำให้ปลาเน่าเสียได้เร็วยิ่งขึ้น การเจริญของจุลินทรีย์เป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการกำหนดอายุการเก็บรักษาของเนื้อสด การเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์จะขึ้นกับจำนวนที่มีเริ่มแรก อุณหภูมิการเก็บรักษา และสภาวะบรรยากาศที่ใช้เก็บรักษา เช่น MAP หรือการบรรจุภายใต้สูญญากาศ เนื้อสัตว์เริ่มมีกลิ่นผิดปกติ ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเมื่อมีจุลินทรีย์ตั้งแต่ 107 CFU/$cm^2$ ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจน (มัทนา, 2538)

การวัดการเน่าเสียของปลาโดยปฏิกิริยาของแบคทีเรีย สามารถวัดได้จากค่าทางเคมีคือค่า TMA (Trimethylamine) ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสาร TMAO (Trimethylamineoxide) โดยปฏิกิริยาของเอนไซม์จากแบคทีเรีย TMAO พบมากในปลาทะเล ส่วนในปลาน้ำจืดหรือปลาฉลามไม่มีสารประกอบชนิดนี้ กลิ่นของ TMA เป็นสาเหตุของกลิ่นคาวที่พบในปลาปริมาณเริ่มต้นของ TMAO และอัตราการเกิด TMA แตกต่างกันด้วย จึงเป็นการยากที่จะนำมาสัมพันธ์กับคุณภาพทางประสาทสัมผัส อย่างไรก็ตาม ได้มีผู้สรุปปริมาณ TMA(มิลลิกรัม/100กรัม) ของปลาที่มีคุณภาพระดับต่าง ๆ ดังนี้คือ 0.0 - 0.4 = สด, 0.4 - 2.0 = เริ่มเสื่อมคุณภาพ, 2.0 - 4.0 = ไม่สด, 4.0 - 10 = เน่าเสีย ปลาในเขตร้อนบางชนิด อาจมีปริมาณ TMA น้อยมาก หรือไม่พบเลยในช่วงการเก็บรักษาในช่วงแรก ๆ และเพิ่มสูงอย่างรวดเร็วเมื่อเกิดการเน่าเสียขึ้น

การวัดปริมาณการเสื่อมคุณภาพหรือการเน่าเสีย นอกจากจะวัดปริมาณ TMA แล้ว การตรวจสอบปริมาณ total volatile base nitrogen(TVB-N) ก็นิยมใช้เป็นดัชนีทางเคมีเช่นกัน สารประกอบ TMA และแอมโมเนีย มักเรียกรวมกันว่า TVB-N ปลาที่มีปริมาณ TVB-N มาก แสดงว่ามีปริมาณแบคทีเรียมาก ในปลาหรือสัตว์น้ำที่มีคุณภาพดี ควรมีค่า TVB - N ไม่เกิน 30 มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง (สถาบันอาหาร ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2542) Oehlenschlager (1997) กล่าวว่า ปริมาณ TVB - N ที่พบอยู่ในกล้ามเนื้อปลาทะเลทั่วไปที่นำมาบริโภค มีปริมาณต่ำกว่า 20 มิลลิกรัม/100 กรัมโดยน้ำหนักเปียก ความแตกต่างของปริมาณ TVB-N ขึ้นอยู่กับชนิดของปลา ปลาหน้าดินมีค่า TVB-N ระหว่าง 10- 20 มิลลิกรัม/100 กรัม พวกครัสตาเซียนและหอยมักพบ TVB-N ในปริมาณสูงกว่าปลาในปลาสด TVB มีแอมโมเนียเป็นส่วนประกอบหลักประมาณร้อยละ 75 โดยแทรกซึมอยู่ในกล้ามเนื้อของปลา ดังนั้นในปลาแล่ จึงนิยมใช้ค่านี้เป็น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดัชนีวัดการเสื่อมเสีย การตรวจสอบปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด(TVB-N, total volatile base nitrogen) ในปลาสดควรมีปริมาณต่ำกว่า 12 มิลลิกรัม/100 กรัม ปลาที่ยังบริโภคได้มี 12-20 มิลลิกรัม/100 กรัม ปลาที่เริ่มเน่าเสียแต่บริโภคได้มี TVB- N อยู่ระหว่าง 20-25 มิลลิกรัม/100 กรัม และปลาที่เน่าเสียแล้วมี TVB-N สูงกว่า 25มิลลิกรัม/100 กรัม (มัทนา, 2545)

**การเกิดปฏิกิริยาการเติมออกซิเจน (oxidation)**

การเติมออกซิเจนทำให้เกิดการหืน(rancidity) ขึ้นในสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์ การเติมออกซิเจนอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับทั้งน้ำย่อยของแบคทีเรียและตัวปลาเอง ซึ่งย่อยสลายไขมัน แต่น้ำย่อยของแบคทีเรียจะย่อยโปรตีนได้ดีกว่า และในระยะแรกของการเน่าเสียที่เกิดจากการเติมออกซิเจนมักไม่ได้กลิ่น เนื่องจากมีกลิ่นของการย่อยสลายโปรตีนอยู่ก่อนแล้ว ปลาสดที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำหรือแช่แข็งไม่เหมาะกับการย่อยสลายโปรตีน กลิ่นและรสจากการเกิดปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนจึงเด่นชัดขึ้น ปลาสดทุกชนิดเสื่อมคุณภาพได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากกระบวนการนี้เพราะปลามีไขมันประเภทไม่อิ่มตัวมาก เอนไซม์ไลเปส(lipase) สามารถย่อยสลายไขมันไม่อิ่มตัวได้ง่าย เกิดเป็นสารประกอบคาร์บอนิล(Carbonyl) ซึ่งเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ การสะสมขององค์ประกอบที่เกิดจากปฏิกิริยาดังกล่าว ก่อให้เกิดกลิ่นและรสชาติหืน ถ้าบรรจุปลาเป็นบล็อก (block) โดยใส่ถาดเอาน้ำใส่ก่อนไปแช่แข็ง น้ำจะหุ้มตัวปลาเอาไว้ ไม่ให้ไขมันสัมผัสกับออกซิเจน หรือเอาใส่ในภาชนะที่ไม่ให้อากาศผ่าน ก็สามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนได้ การเกิดปฏิกิริยาเติมออกซิเจนยังทำให้เนื้อปลาซึ่งมีสีขาวเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอีกด้วย ดัชนีที่ใช้วัดความหืนได้แก่ค่า peroxide value และ 2-thiobarbituric acid (สถาบันอาหาร ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2542)

ในผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อนิยมใช้ค่า TBA เป็นดัชนีวัดการเสื่อมคุณภาพของไขมันในเนื้อ สำหรับปลาสดจะเริ่มเกิดการหืนเมื่อค่า TBA มากกว่า 1.0 mg.malonaldehyde/kg (Sweet, 1973; Chen *et al*., 1984)

**ปัจจัยที่มีผลต่อการเสื่อมคุณภาพในปลาสด**

1. ความแตกต่างในด้านชีววิทยาของปลา ได้แก่ ชนิดของปลา องค์ประกอบทางเคมีของปลา ขนาดของปลา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. สภาวะในการจับสัตว์น้ำ ได้แก่ วิธีการจับสัตว์น้ำ การให้ความเย็น วิธีการละลายน้ำแข็ง การขนส่งขึ้นฝั่ง ระยะเวลาที่ขนส่งสัตว์น้ำ และสภาวะการเก็บที่มีอากาศ

3. การปฏิบัติหลังการจับสัตว์น้ำ การจับสัตว์น้ำรวมกันในปริมาณมาก ถ้าปลาไม่สลบโดยเร็ว อาจเกิดรอยช้ำขณะปลาดิ้นรนอยู่บนเรือ การดิ้นรนทำให้ต้องใช้ ATP และ glycogen ในกล้ามเนื้อ นอกจากนี้การเอาเลือดและอวัยวะภายในของปลาออกก่อนการแช่แข็ง จะช่วยลดการปนเปื้อนและลดการเสื่อมคุณภาพของปลาลงได้ (Shahidi and Botta, 1994)

อัตราการให้ความเย็นในสัตว์น้ำขึ้นอยู่กับขนาดของตัวปลา รวมทั้งชนิดของตัวปลาที่ให้ความเย็น เช่น น้ำแข็ง น้ำเย็น อากาศ ตัวกลางที่ให้ความเย็นมีผลโดยตรงต่อคุณภาพของปลา น้ำแข็งมีความสามารถในการให้ความเย็นสูง แต่ไม่คงตัว และมีผลต่อผิวหนังของปลา การใช้น้ำทะเลเย็นที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ผ่านตัวปลาอาจมีปัญหาเรื่องฟอง ในปลาน้ำจืดการใช้น้ำทะเลเย็นส่งผลให้ปลาตาขุ่นและมีลักษณะทึบแสง

โดยทั่วไปการเก็บรักษาปลาสดที่มีไขมันสูง(fatty fish) การแช่เย็นใช้อุณหภูมิ -1.1 ถึง 2.2 องศาเซลเซียส ซึ่งจะช่วยรักษาคุณภาพของปลาสดอยู่ได้ 5- 8 วัน และคุณภาพของปลายังเป็นที่ยอมรับในด้านประสาทสัมผัสในปลาเนื้อขาว เช่น ปลาแฮดดอก(haddock) ปลาฮาลิบัต (halibut) เก็บได้ 21 วัน ปลากะพงเก็บได้ 18 วัน ส่วนปลากระบอก(mullets) หรือปลาทรายแดง(thread fin breams) ซึ่งมาจากกระแสน้ำอุ่นเก็บได้นานถึง 30 วัน (Shahidi and Botta, 1994)

**โอริกาโน**

ชื่อสามัญ : โอริกาโน (Oregono)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Origanum vulgare*

ชื่อวงศ์ : LABIATAE

โอริกาโนเป็นพืชตระกูลเดียวกับสะระแหน่ เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ลำต้นและใบมีขนปกคลุม การเจริญเติบโตเป็นแบบเลื้อย บริเวณข้อที่สัมผัสดินจะออกรากได้ ใบมีสีเขียวอมเทา โอริกาโน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชอบดินที่มีหินปูนและอินทรียวัตถุเป็นองค์ประกอบ การระบายน้ำดี ไม่ชอบน้ำขัง ไม่ชอบฝน ชอบแดดจัดและอุณหภูมิค่อนข้างอบอุ่น อุณหภูมิที่เหมาะสม 15-20 องศาเซลเซียส

**ภาพที่ 1** ลักษณะของต้นโอริกาโน

**ที่มา**: VeggieHarvest (2009)

**คุณสมบัติของสารสกัดจากโอริกาโน**

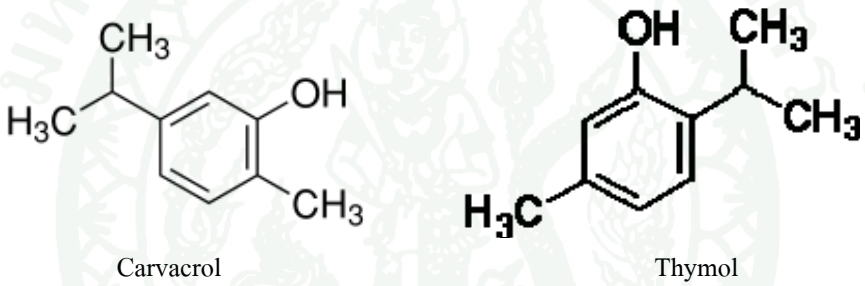
สารประกอบที่สำคัญ คือ สารประกอบฟีนอล (Phenolic compounds) ที่พบอยู่มากในน้ำมันที่สกัดจากโอริกาโน(Oregano essential oils: OEO) ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Hammer et al., 1999; Dorman and Deans, 2000) นอกจากสารประกอบฟีนอลจะมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแล้ว คุณสมบัติที่สำคัญอีกประการหนึ่งก็คือคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น(Antioxidant)

การศึกษาน้ำมันที่สกัดจากโอริกาโน พบว่า ประกอบด้วยสารในกลุ่มฟีนอล ประกอบด้วย carvacrol (79.6%) cymene (8.7%) thymol (2.5%) และ terpinene (2.1%) ซึ่งสาร carvacrol และ thymol เป็นสารหลักที่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย (Gill *et al*., 1998)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารประกอบฟีนอล (Phenolic compounds) เป็นสารประกอบที่ประกอบด้วย อนุพันธ์ของ hydroxyl และ benzoic acid (C6–C1) ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปอิสระ หรือรวมกับ ester หรือ glycosides (gallic acid) (Bruneton, 1999)

คาร์วาคอล (Carvacrol) สูตรทางเคมี $C_{10}H_{14}O$ เรียกว่า 2-methyl-5(1-methylethyl) phenol มีมวลโมเลกุล 150.22 g/mol ลักษณะเป็นของเหลวสีเหลืองอ่อน มีจุดเดือด 237 °C ความหนาแน่น 0.976 mg/kg ส่วนไธมอล (Thymol) สูตรทางเคมี $C_{10}H_{14}O$ เรียกว่า 5-methyl-2-(1-methylethyl) phenol มีมวลโมเลกุล 150.22 g/mol มีจุดเดือด 232 ความหนาแน่น 0.965 mg/kg (Sivropoulou *et al*., 1996)




Carvacrol Thymol

**ภาพที่ 2** แสดงโครงสร้างทางเคมีของ Carvacrol และ Thymol

แม้ว่าความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial activity ) น้ำมันที่สกัดจากโอริกาโน ( OEO ) จะมีการศึกษาไว้อย่างมากมาย แต่ก็ไม่ได้มีการศึกษาถึงรายละเอียดของกลไกการออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรีย เช่น กลไกการออกฤทธิ์ที่ต่างกันของแบคทีเรียต่างชนิดกัน หรือคุณสมบัติของสารแต่ละตัวที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันสกัด เช่น Carvacrol และ Thymol (Cox *et al*., 1998; Helander *et al*., 1998; Ultee *et al*., 1999; Skandamis *et al*., 2000; Tassou *et al*., 2000)

การออกฤทธิ์ในการต้านจุลชีพของน้ำมันที่สกัดจากโอริกาโนอาจเนื่องมาจากการเข้าไปมีผลต่อศักยภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ ขัดขวาง หรือทำลายการทำงานของเอนไซม์ ต่างๆ ของจุลชีพ รวมทั้งการขัดขวางกระบวนการสร้างพลังงานและสังเคราะห์โครงสร้างต่างๆ ภายในเซลล์ (Conner and Beuchat, 1984) ซึ่งการศึกษาจะเป็นวิธีการศึกษาโดยรวมที่จะอธิบายถึงผลกระทบต่อเยื่อหุ้มเซลล์ เช่น ความสามารถในการซึมผ่านเข้าออกของของเหลวและการเคลื่อนที่ของโปรตอนเข้าออก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เซลล์ (Denyer and Hugo, 1991; Cox *et al*., 1998; Helander *et al*., 1998; Ultee *et al*., 1999; Tassou *et al*., 2000)

สารคาร์วาคอล (Carvacrol) และไธมอล (Thymol) ซึ่งจะทำงานเสริมฤทธิ์กันในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียและจุลินทรีย์ สารทั้งสองมีผลทำให้การแลกเปลี่ยนระหว่างประจุระหว่างไฮโดรเจนไอออน และโพแทสเซียมไอออนที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียเสียสมดุล ทำให้ผนังเซลล์ไม่สามารถทำงานได้อย่างเต็มที่เซลล์แตกและตายในที่สุด และยังซึ่งส่งผลต่อเนื่องโดยทำให้แบคทีเรียไม่สามารถสังเคราะห์พลังงานและตายไปเอง สามารถหยุดการเจริญเติบโตของเชื้อราในอาหาร (Willium, 2002)

โดย Carvacrol ช่วยในการเปลี่ยนแปลงและยับยั้งการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย ทำให้เกิดการซึมผ่านของของเหลวออกจากเซลล์และทำให้แบคทีเรียตายในที่สุด (Lambert *et al*., 2001)

การทดสอบหาค่าระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาสมุนไพรสกัดโอริกาโน ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* ด้วยวิธี Agar dilution test ตามมาตรฐานของ National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS) พบว่าค่า MIC50 และMIC90 เท่ากับ 1,800 และ 5,000 µg/ml ตามลำดับ (ภาณุวัฒน์ และคณะ, 2548)

มีการศึกษาว่า สารตัวนี้ยังสามารถใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตและไม่เกิดการตกค้างอีกด้วย (Kyriskis *et al*., 1998) สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์เยื่อบุทางเดินอาหาร ในชั้นของแอนทีโรไซด์ที่โตเต็มที่ และเร่งการสร้างแอนทีโรไซด์ที่ผนังของวิลไลในลำไส้เล็ก ซึ่งจะมีผลต่อการลดการปนเปื้อนของเชื้อโรคบนแอนทีไรไซด์ จะช่วยให้ประสิทธิภาพการดูดซึมสารอาหารได้ดีขึ้น ป้องกันการฝังตัวของเชื้อโรคที่เยื่อบุทางเดินอาหาร การใช้สารสกัดจากโอริกาโนและไทม์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ สารสกัดจากโอริกาโน และไทม์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในท่อทางเดินอาหารและเพิ่มการย่อยได้ของโภชนะ ซึ่ง Carvacrol และ Thymol มีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ สารต่อต้านอนุมูลอิสระ และยาฆ่าเชื้อ (Lee and Ahn, 1998) ส่งผลต่อสมรรถนะการผลิต และการย่อยอาหารในไก่กระทง (Bassett, 2000) และยังสามารถเพิ่มการหลั่งของเอนไซม์ที่ย่อยอาหารจากตับอ่อนในไก่กระทง (Jang *et al*., 2004) กระตุ้นการทำงานและหลั่งเอนไซม์ amylase (Willam and Losa, 2001)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น(Antioxidant) พบว่า Carvacrol และ Thymol ซึ่งส่วนประกอบหลักในน้ำมันที่สกัดจากโอริกาโนประมาณ 78-82% (Adam *et al*., 1998) จะทำหน้าที่หลักในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น โดยทำปฏิกิริยากับไขมัน และอนุมูล ไฮดรอกซิล (Hydroxyl radicals) ให้อยู่ในรูปที่เสถียรมากขึ้น (Yanishlieva *et al*., 1999)

โอริกาโนและสารสกัดจากโอริกาโนมีความสามารถในการลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันเมื่อใส่ลงไปในอาหารหลายชนิด (Bishov *et al*., 1977; Abdalla and Roozen, 2001) การเสริมของน้ำมันออริกาโนในอาหารไก่เนื้อ จะเพิ่มความสามารถในการรักษาคุณภาพเนื้อไก่สดระหว่างการเก็บรักษาในตู้เย็น (Botsoglou *et al*., 2002)

พบว่า การเสริม สารกสัด Carvacrol หรือ สารสกัดที่ประกอบด้วย Carvacrol และ Thymol ในอาหารปลากดอเมริกันสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของปลากดอเมริกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารสกัด Carvacrol และThymol จาก *Origanum heracleoticum L.* ที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโต เพิ่มประสิทธิการใช้อาหารหรือโปรตีนให้สูงขึ้น (Zheng *et al*., 2009)

นอกจากนี้การเสริมสารสกัด Carvacrol และThymol ในอาหาร ยังสามารถลดค่า Hepatosomatic index (HSI) ของปลากดอเมริกัน แต่ไม่มีผลต่อองค์ประกอบหรือคุณค่าทางโภชนะของเนื้อปลา การเพิ่มการเสริมสารสกัด Carvacrol และThymol สามารถเพิ่มความสามารถในการตกตะกอนของโปรตีนในกล้ามเนื้อ กล่าวคือ สามารถเพิ่มกิจกรรมของ lysozymes, superoxide dismutase และ catalase (Zheng *et al*., 2009)

การเสริมน้ำมันสกัดโอริกาโน (Oregano essential oils) ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์ซาก คุณลักษณะของกล้ามเนื้อของแกะ แต่พบว่า การให้อาหารที่มีการเสริมน้ำมันสกัดโอริกาโน มีผลทำให้การเกิดออกซิเดชันของไขมันในเนื้อแกะเกิดช้าลง ในระหว่างการเก็บรักษาด้วยการแช่แข็งและแช่เย็นระยะยาว (Zimitzis *et al*., 2008)

โอริกาโนและน้ำมันสกัดโอริกาโนมีประสิทธิภาพ ทำให้การเกิดออกซิเดชั่นของไขมันระหว่างการเก็บรักษาในตู้เย็นของเนื้อหน้าอกและน่องของไก่งวงดีขึ้น ซึ่งน่าจะเกิดจากการที่สารต้านอนุมูลอิสระเข้าไปในระบบหมุนเวียนเลือด กระจายในเนื้อเยื่อ และออกฤทธิ์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น อย่างไรก็ตามยังไม่ได้มีการศึกษา หรือพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ที่มี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความสามารถในการจำแนกและหาปริมาณองค์ประกอบน้ำมันสกัดโอริกาโนและปริมาณในระดับเนื้อเยื่อ จึงยังไม่สามารถอธิบายกระบวนการทางชีวภาพการยับยั้งการเกิดออกซิเดชั่นดังกล่าว (Florou-Paneri *et al*., 2005)

พบว่า ออริกาโนเพิ่มเสถียรภาพในการเก็บรักษาเนื้อหลังฆ่าในสัตว์ปีก(Botsoglou *et al*., 2003) และกระต่าย (Botsoglou *et al*., 2004) ป้องกันผลกระทบของความเครียดต่อคุณภาพเนื้อไก่ (Young *et al*., 2003) และลดการปล่อยของเสียและกลิ่นภายในฟาร์ม (Varel, 2002)

ฉะนั้นจึงสารสกัดจากโอริกาโนจึงสามารถเป็นอีกทางเลือกในการใช้แทนสารปฏิชีวนะ ใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของเนื้อปลา เป็นการเพิ่มศักยภาพการผลิตทั้งทางด้านปริมาณและคุณภาพเพื่อให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

**สารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้ม (Encapsulate oregano oils)**

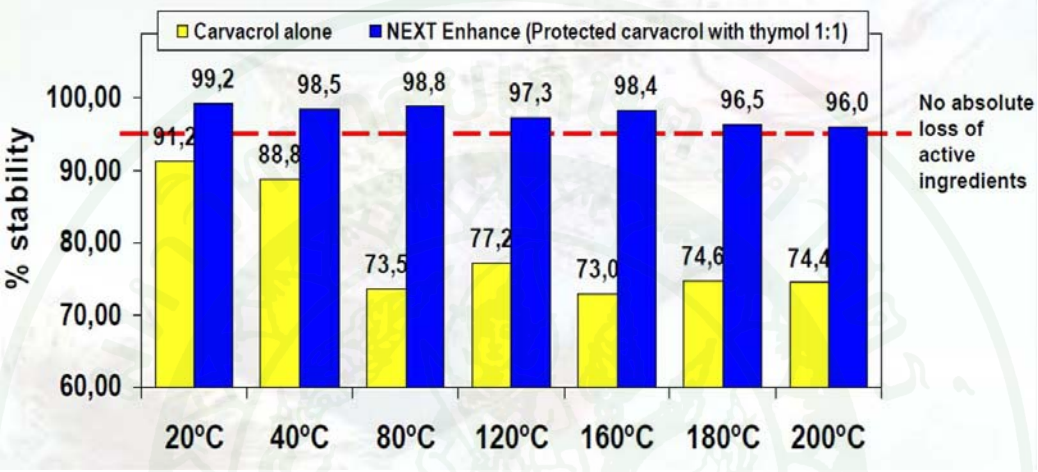
เนื่องจากในกระบวนการผลิตอาหารสัตว์มีบางช่วงการผลิตที่ต้องใช้อุณหภูมิที่สูง ส่งผลให้เกิดการสลายตัวหรือเสื่อมสภาพไปได้ ทำให้บริษัทคาโรเทค มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์สารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มขึ้นมา ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่รวมเอาสารประกอบหลักที่ได้จากสารสกัดโอริกาโน ได้แก่ สารคาร์วาคอล (Carvacrol) และ ไธมอล (Thymol) ห่อหุ้มด้วยสารพิเศษที่ทางบริษัทคาโรเทคพัฒนาขึ้นมา

**ภาพที่ 3** รูปแบบการห่อหุ้มสารสกัดโอริกาโน

**ที่มา**: CaroTech Fish Technical Dossier (2008)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การห่อหุ้มดังกล่าวทำให้สารสกัดโอริกาโนอยู่ในรูปที่คงทนมากขึ้น ป้องกันการสูญเสียของสารออกฤทธิ์ เช่น การเสื่อมสลายจากความร้อนในกระบวนการผลิต ซึ่งพบว่าโอริกาโนแบบห่อหุ้มเมื่อผ่านความร้อนที่ระดับ 200 องศาเซลเซียส จะยังคงพบสารสกัดโอริกาโนคงอยู่มากถึง 96 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่ แบบไม่ห่อหุ้มเหลือคงอยู่เพียง 74.4 เปอร์เซ็นต์ (ดังภาพที่ 4)




**ภาพที่ 4** ความคงทนคงของสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มเทียบกับแบบไม่ห่อหุ้มเมื่อผ่านความร้อนที่ระดับต่างๆ

**ที่มา**: CaroTech Fish Technical Dossier (2008)

นอกจากนี้การห่อหุ้มป้องกันการทำปฏิกิริยากับแร่ธาตุอื่นในอาหาร สารที่ใช้ห่อหุ้มดังกล่าวจะทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารแล้วจึงจะปลดปล่อยสารCarvacrol และ Thymol ออกสู่ภายนอก ทำให้ทำให้สารออกฤทธิ์ไปออกส่งผลหรือออกฤทธิ์ในบริเวณอวัยวะที่ต้องการได้ เช่น ในกระเพาะอาหาร ลำไส้

ปกติสารประกอบฟีนอลในสารสกัดโอริกาโนทีมี ประกอบด้วย Carvacrol และThymol รวมกันประมาณ 82.1 % และมีสัดส่วนของ Carvacrol ต่อ Thymol เท่ากับ 79.6 ต่อ 2.5 (Gill *et al*., 1998) แต่ในสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มนี้มีการปรับสัดส่วนของ Carvacrol ต่อ Thymol เป็น 1 ต่อ 1 เพื่อเพิ่มความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น(Antioxidant) ให้มากขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# อุปกรณ์และวิธีการ

## อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

ใช้ปลานิลแดง ( *Oreochromis niloticus* ) ขนาด 163.4 $\pm$ 10.7 กรัม จำนวน 160 ตัว จากฟาร์มเอกชน จังหวัดสุพรรณบุรี โดยในการศึกษาครั้งนี้มีการดูแล และมีการจัดการด้านการเลี้ยงที่ดีและเป็นไปตามเกณฑ์ว่าด้วยจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลองแห่งชาติ

2. ถังทดลอง

ถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1,000 ลิตร พร้อมอุปกรณ์หัวทรายให้ออกซิเจน 2 จุดต่อถัง เติมน้ำให้ได้ปริมาตร 800 ลิตร

3. วัตถุดิบอาหารสัตว์
   - ข้าวโพด มันสำปะหลัง รำ ปลาป่น กากถั่วเหลือง แป้งสาลี
   - น้ำมันปลา
   - แร่ธาตุวิตามินและแร่ธาตุ
   - สารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้ม ( NEXT Enhance® 150; CaroTech)

4. อุปกรณ์ สารเคมี วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร
   - อุปกรณ์ สารเคมีวิเคราะห์ความชื้น
   - อุปกรณ์ สารเคมีวิเคราะห์โปรตีน
   - อุปกรณ์ สารเคมีวิเคราะห์ไขมัน
   - อุปกรณ์ สารเคมีวิเคราะห์เถ้า
   - อุปกรณ์ สารเคมีวิเคราะห์เยื่อใย

5. อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา
   - เครื่องชั่งน้ำหนักดิจิตอล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดของปลานิลแดง

7. เครื่องวัดระดับน้ำตาลในเลือด (Blood glucose level) one touch ultra รุ่น life scan

8. อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับศึกษา Total immunoglobulin (IgM)

9. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพซาก

10. อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับศึกษา Thiobarbituric acid test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# วิธีการ

## แผนการทดลอง

แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่มการทดลอง จัดหน่วยการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) การทดลองละ 4 ซ้ำ โดยมี

กลุ่มการทดลองที่ 1 อาหารปลานิล โปรตีน 30%

กลุ่มการทดลองที่ 2 อาหารปลานิล โปรตีน 30% + สารสกัดโอริกาโน 0.05 %

กลุ่มการทดลองที่ 3 อาหารปลานิล โปรตีน 30% + สารสกัดโอริกาโน 0.1 %

กลุ่มการทดลองที่ 4 อาหารปลานิล โปรตีน 30% + สารสกัดโอริกาโน 0.2 %

## สภาวะการทดลอง

ปล่อยปลานิลแดงขนาด 163.4 $\pm$ 10.7 กรัม หลังจากปรับสภาพประมาณ 2 สัปดาห์ ในถังไฟเบอร์ขนาด 1,000 ลิตร ในอัตรา 10 ตัว ต่อ ถัง มีการให้อากาศอย่างเพียงพอ ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 2 ครั้ง / สัปดาห์ ให้อาหารวันละ 3 ครั้ง เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ อัตราการให้อาหารจะให้ในปริมาณเกินความต้องการ และทำการเก็บอาหารที่เหลือหลังจากให้อาหารประมาณ 30 นาที แล้วนำไปชั่งน้ำหนักอาหารที่เหลือ เพื่อหาปริมาณอาหารที่ปลากิน ชั่งน้ำหนักปลาก่อนเริ่มทำการทดลอง และทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักทุก 4 สัปดาห์ ระหว่างทำการทดลอง โดยทำการชั่งน้ำหนักรวมในแต่ละชุดการทดลอง บันทึกปริมาณอาหารที่กินเพื่อศึกษาน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน อัตรารอด ปริมาณการกินอาหาร

## การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารปลานิลแดงเป็นอาหารสำเร็จรูปผลิตจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตอาหารปลา ซึ่งเป็นอาหารชนิดเม็ดลอยน้ำ โดยมีส่วนประกอบวัตถุดิบเหมือนกันทุกเบอร์ แต่แตกต่างกันที่ระดับการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้ม ดังตาราง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางที่ 1** ส่วนประกอบของอาหารที่ใช้ในการเสริมสารสกัดโอริกาโน

| วัตถุดิบอาหาร | สูตรอาหาร | | | |
|---|---|---|---|---|
| | สูตรที่ 1 0% โอริกาโน | สูตรที่ 2 0.05 % โอริกาโน | สูตรที่ 3 0.10 % โอริกาโน | สูตรที่ 4 0.20% โอริกาโน |
| ข้าวโพด | 15.0 | 15.0 | 15.0 | 15.0 |
| มันสำปะหลัง | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 |
| รำสกัด | 15.0 | 15.0 | 15.0 | 15.0 |
| น้ำมันปลา | 4.5 | 4.5 | 4.5 | 4.5 |
| ปลาป่น | 22.0 | 22.0 | 22.0 | 22.0 |
| กากถั่วเหลือง | 25.0 | 25.0 | 25.0 | 25.0 |
| แป้งสาลี | 7.5 | 7.5 | 7.5 | 7.5 |
| สารสกัดโอริกาโน | 0 | 0.05 | 0.1 | 0.2 |
| วิตามิน + แร่ธาตุ | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| | 100.00 | 100.05 | 100.10 | 100. 20 |

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลองโดย วิเคราะห์หาความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า โดยวิเคราะห์ตามวิธี Proximate analysis (AOAC, 2000) ดังนี้

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Micro-Kjeldahl (AOAC, 2000)

วิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธี Ether-extraction (AOAC, 2000)

วิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยวิธี Oven-drying (AOAC, 2000)

วิเคราะห์ปริมาณเถ้าโดยวิธี Muffle furnace combustion (AOAC, 2000)

วิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยโดยวิธี Classical- method (AOAC, 2000)

ซึ่งได้ผลการวิเคราะห์ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางที่ 2** องค์ประกอบทางเคมีของอาหารปลานิลแดง

| เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง | สูตรอาหาร | | | |
|---|---|---|---|---|
| | สูตรที่ 1 0% โอริกาโน | สูตรที่ 2 0.05 % โอริกาโน | สูตรที่ 3 0.10 % โอริกาโน | สูตรที่ 4 0.20% โอริกาโน |
| โปรตีน | 31.49 | 30.90 | 31.69 | 31.54 |
| ไขมัน | 8.56 | 8.23 | 7.83 | 7.86 |
| เยื่อใย | 3.77 | 3.78 | 2.97 | 3.58 |
| เถ้า | 9.96 | 10.22 | 10.19 | 10.45 |
| ความชื้น | 7.59 | 6.82 | 7.94 | 7.23 |

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารวิเคราะห์ตามวิธี AOAC (2000)

**การศึกษาการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์ของอาหาร**

บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตโดยชั่งน้ำหนักปลาก่อนเริ่มทำการทดลอง บันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักทุก 4 สัปดาห์ ระหว่างทำการทดลอง โดยชั่งน้ำหนักรวมในแต่ละชุดการทดลอง บันทึกปริมาณอาหารที่กินเพื่อศึกษาน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตรารอด ปริมาณการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพของโปรตีน ดังสูตรต่อไปนี้

น้ำหนักเพิ่ม (weight gain) = (น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักปลาเริ่มต้น)

น้ำหนักเพิ่มต่อตัวต่อวัน (average daily gain) = $\frac{\text{(น้ำหนักปลาเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักปลาเฉลี่ยเริ่มต้น)}}{\text{ระยะเวลาการทดลอง}}$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) = $\frac{(\ln\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}) \times 100}{\text{ระยะเวลาการทดลอง}}$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อัตรารอด (survival rate) = $\frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง x 100}}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}}$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio) = $\frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่ม}}$

ประสิทธิภาพของโปรตีน (protein efficiency ratio) = $\frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลา}}{\text{น้ำหนักของโปรตีนที่ปลากิน}}$

**การศึกษาสุขภาพสัตว์น้ำ**

ก่อนเริ่มทำการทดลองและ ทุก 4 สัปดาห์ จนสิ้นสุดการทดลองทำการเก็บตัวอย่างเลือดในปลานิลแดงในแต่ละชุดการทดลองโดยนำเลือดปลาในแต่ละซ้ำรวมกันเพื่อ

1. ศึกษาระดับโปรตีนในน้ำเลือดที่มีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อโรค Total immunoglobulin (IgM ) (ดูรายละเอียดในภาคผนวก)

2. วัดระดับน้ำตาลในเลือดด้วยเครื่องวัดระดับน้ำตาลในเลือด (Blood glucose level) one touch ultra รุ่น life scan

3. เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการเก็บตัวอย่างตับจากแต่ละชุดการทดลองชั่งน้ำหนักตับเพื่อหาค่า Hepatosomatic index (HSI)

4. ทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้อ (Disease resistance test) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการฉีดเชื้อ *Streptococcus* spp. $1 \times 10^{10}$ CFU/ml ในแต่ละชุดการทดลอง (ดูรายละเอียดในภาคผนวก)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ศึกษาคุณภาพซากและคุณภาพเนื้อของปลานิลแดง**

1. การศึกษาคุณภาพซาก เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการแยกส่วนของตัวปลาเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนของเนื้อปลาที่บริโภคได้ ส่วนหัว กระดูก และครีบ และส่วนของอวัยวะภายใน ชั่งน้ำหนักแต่ละส่วน จากนั้นคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว

2. การศึกษาการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน ในปลานิลแดงที่เก็บรักษาในอุณหภูมิแช่เย็น ศึกษาการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันเพื่อยืดอายุการรักษาเนื้อปลาจากค่า TBA ตามวิธีการของ Shibata and Kinumaki (1979) ซึ่งเป็นค่าแสดงระดับการหืนของไขมันที่มีผลต่ออายุการรักษาเนื้อปลา โดยนำส่วนของเนื้อปลาที่บริโภคได้ ไปแช่ที่อุณหภูมิ 4 $^{o}$C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง วิเคราะห์ ค่า TBA ในเนื้อปลาก่อนทำการแช่เย็น และหลังแช่เย็น 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง (ดูรายละเอียดในภาคผนวก)

**การวิเคราะห์ทางสถิติ**

เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำ ข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance) แล้วนำ มาเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยวิธีของ Duncan's New Multiple Range Test (อนันต์ชัย, 2539)

**สถานที่ทำการวิจัย**

ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

**ระยะเวลาทำการทดลอง**

เริ่มต้นทดลองตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2552 สิ้นสุดเดือนสิงหาคม 2552

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# ผลและวิจารณ์

**การเจริญเติบโตและอัตรารอด**

จากการศึกษาผลของการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มในอาหารที่ระดับ 0, 0.05, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่อสมรรถภาพการผลิตของปลานิลแดง ขนาดน้ำหนักปลาเริ่มต้นเฉลี่ย 163.4±10.7 กรัม เลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ปลานิลแดงที่กินอาหารทั้ง 4 สูตร มีน้ำหนักเพิ่ม น้ำหนักเพิ่มต่อตัวต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตรารอดมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 3)

ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตรที่ 4 (ชุดที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มในอาหาร 0.2 เปอร์เซ็นต์) มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 221.8 กรัม แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับปลาที่กินอาหารสูตรที่ 1, 2 และ 3 (ชุดที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มที่ระดับ 0, 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ยเท่ากับ 217.6, 195.5 และ 190.1 กรัม ตามลำดับ

เช่นเดียวกับน้ำหนักที่เพิ่มต่อตัวต่อวัน พบว่า ปลาที่กินอาหารสูตรที่ 4 คือ เท่ากับ 2.55 กรัม/ตัว/วัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับปลาชุดทดลองที่กินอาหาร สูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 ซึ่งมีค่าน้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ย เท่ากับ 2.50, 2.25 และ 2.19 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ

นอกจากนี้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลามีค่าสูงสุดในชุดที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มในอาหาร 0.2 เปอร์เซ็นต์โดยมีค่าเท่ากับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ และรองลงมา คือ ชุดที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มที่ระดับ 0, 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เท่ากับ 0.96, 0.91 และ 0.90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

อัตรารอด เมื่อเลี้ยงปลานิลแดงไปจนสิ้นสุดระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า อัตรารอดตายของปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มที่ระดับต่างๆ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) อัตรารอดตายของปลานิลแดงที่ได้รับการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มที่ระดับ 0.20 เปอร์เซ็นต์ มีอัตรารอดตายต่ำกว่ากลุ่มอื่น มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 85.0 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ปลานิลที่ได้รับได้รับการสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มที่ระดับ 0, 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีอัตรารอดเฉลี่ยเท่ากับ 97.5, 90 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางที่ 3** การเจริญเติบโต และอัตราการรอด ของปลานิลแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย ± SD)

| พารามิเตอร์ | สูตรอาหาร | | | | P-value |
|---|---|---|---|---|---|
| | สูตรที่ 1 0.00 % โอริกาโน | สูตรที่ 2 0.05 % โอริกาโน | สูตรที่ 3 0.10 % โอริกาโน | สูตรที่ 4 0.20% โอริกาโน | |
| การเจริญเติบโต | | | | | |
| น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น (กรัม/ตัว) | 167.2±14.8[a] | 164.5±11.9[a] | 161.3±8.9[a] | 160.5±9.5[a] | 0.8305 |
| น้ำหนักเฉลี่ยสิ้นสุด (กรัม/ตัว) | 384.9±12.1[a] | 35.5±10.6[a] | 351.4±16.6[a] | 382.3±36.7[a] | 0.1841 |
| น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ย (กรัม/ตัว) | 217.6±26.8[a] | 195.5±3.54[a] | 190.1±9.5[a] | 221.8±29.3[a] | 0.2094 |
| น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยต่อวัน(กรัม/ตัว/วัน) | 2.50±0.31[a] | 2.25±0.04[a] | 2.19± 0.11[a] | 2.55±0.34[a] | 0.2176 |
| อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ(%/ตัว/วัน) | 0.96±0.11[a] | 0.91±0.07[a] | 0.90±0.11[a] | 1.00±0.13[a] | 0.4579 |
| อัตรารอด(เปอร์เซ็นต์) | 97.5±3.7[a] | 90.0±7.1[a] | 95.0±2.6[a] | 85.0±7.1[a] | 0.0884 |

**หมายเหตุ** a อักษรในแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างอย่างไม่มีมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P$>0.05)

จากผลการเจริญเติบโตจะเห็นว่า การเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มในอาหารไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลานิลแดงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลองที่ไม่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้ม ผลดังกล่าวสอดคล้องการทดลองในปลาเรนโบว์เทราต์ ขนาด 113.0±10.4 กรัม พบว่าการเจริญเติบโตของปลาไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างปลาที่กินอาหารชุดควบคุม และที่มีการเสริมสารคาร์วาคอล (Carvacrol) และไธมอล (Thymol) ในอาหาร ถึงแม้ว่าปลาในชุดที่มีการเสริมไธมอลจะมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าชุดควบคุมก็ตาม(Giannenas *et al.*, 2012)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แต่ไม่สอดคล้องกับ Ahmadifar *et al*. (2011) ที่ศึกษาในลูกปลาเรนโบว์เทราต์ขนาด 8.4±0.1 กรัม พบว่า การเสริมสารสกัดโอริกาโนที่ระดับ 1, 2 และ 3 กรัมต่ออาหาร 1 กก.ในอาหาร มีผลให้ปลามีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยพบว่าการเสริมสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มที่ระดับ 2 และ 3 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีน้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลองและน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมากที่สุด ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองในลูกปลาไน พบว่า ชุดทดลองที่มีการเสริมสารโอริกาโนในการอนุบาลลูกปลาไนเป็นเวลา 93 วัน น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ดีกว่าชุดควบคุม (Gabor *et al*., 2012) ซึ่งต่างกับการทดลองครั้งนี้ที่ชุดทดลองที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มที่ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ หรือ 2 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (ดังตารางที่ 3) น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลองและน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ให้ค่าที่ไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) กับชุดควบคุม

นอกจากนี้การทดลองในปลากดอเมริกัน พบว่า การเสริมสารสกัดไธมอล 0.05 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดคาร์วาคอล 0.0485 เปอร์เซ็นต์กับสารสกัดไธมอล 0.0015 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลามีปลามีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมากกว่าในชุดควบคุม (P<0.05) โดยพบว่าปลาที่มีการเสริมสารโอริกาโน 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักที่เพิ่มมากที่สุดและแตกต่างจากชุดทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และการเสริมสารสกัดไธมอล 0.05 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดคาร์วาคอล 0.0485 เปอร์เซ็นต์กับสารสกัดไธมอล 0.0015 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตดีกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (Zheng *et al*., 2009)

ในงานทดลองของ Mansoub (2011) พบว่า การเสริมโอริกาโนที่ระดับ 100, 150 และ200 ppm ในไก่เนื้ออายุ 1วันจนถึง 42 วัน พบว่า การเสริมที่ระดับ 150 และ 200 ppm มีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เช่นเดียวกับ Ertas *et al*. (2005) ที่พบว่า ในการทดลองเลี้ยงไก่เนื้อเป็นเวลา 35 วัน การเสริมสารสกัดโอริกาโนที่ระดับ 200 ppm ส่งผลให้ไก่เนื้อมีอัตราการเจริญเติบที่ดีกว่าชุดควบคุมโดยมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมากกว่าชุดควบคุมประมาณ 16 เปอร์เซ็นต์ และมากกว่าชุดที่ให้ยาปฏิชีวนะประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์

Giannenas *et al*. (2004) รายงานว่า น้ำหนักของไก่เนื้ออายุ 35 วัน ซึ่งกินอาหารที่มีการเสริมโอริกาโนในระดับ 2.5, 5, 7.5 และ 10 กรัม ต่อ กิโลกรัม มีน้ำหนักน้อยกว่าชุดควบคุมแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) Halle *et al*. (2004) พบว่า การเสริมโอริกาโนในอาหารระดับ 2, 4, 10 และ 20 กรัม ต่อ กิโลกรัม เพื่อใช้ เลี้ยงไก่เนื้ออายุ 1-35 วัน ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้อง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่า การเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มในอาหารปลานิลแดงไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต

การทดลองสุกรก็เช่นกัน ( Neill *et al*.,2006) การเสริมสารสกัดโอริกาโนที่ระดับ 25, 50 และ 100 กรัม/ตันอาหาร ในการอนุบาลลูกสุกรขนาด 5.9 กิโลกรัม เป็นเวลา 28 วัน พบว่า ชุดทดลองที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนมีอัตราการเจริญเติบโตแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

แต่ในการทดลองของ Simitzis *et al*.(2010) รายงานว่า การเสริมน้ำมันโอริกาโนในอาหารที่ระดับ 0.25, 0.5 และ 1 มิลลิลิตร ต่อ อาหาร 1 กิโลกรัม เปรียบเทียบกับอาหารควบคุม หลังสิ้นสุดการทดลอง พบว่า น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) และให้ผลเช่นเดียวกันกับการทดลองในแกะ(Simitzis *et al*., 2008)

การศึกษาครั้งนี้พบว่า การเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มในอาหารไม่ได้ส่งผลให้ปลามีอัตรารอดแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางทางสถิติ เช่นเดียวกับการทดลองในปลากดอเมริกันที่พบว่า การเสริมสารสกัดไธมอล 0.05 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดคาร์วาคอล 0.0485 เปอร์เซ็นต์ กับสารสกัดไธมอล 0.0015 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลให้อัตรารอดของปลากดอเมริกันดีขึ้น (P>0.05) (Zheng *et al*., 2009) และการทดลองในลูกปลาเรนโบว์เทราต์ ที่การเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มที่ระดับ 1, 2 และ 3 กรัมต่ออาหาร 1 กก.ในอาหาร ไม่ทำให้อัตรารอดของปลาแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05 )(Ahmadifar *et al*., 2011)

จากผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มไม่ได้มีผลทำให้สมรรถภาพการผลิตของปลานิลแดงระยะเติบโตดีขึ้น ทั้งในส่วนของอัตราการเจริญเติบโต ซึ่งดูจากน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตรารอด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P>0.05) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

**การใช้ประโยชน์ได้ของอาหาร**

จากผลการศึกษา พบว่า การเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้ม ไม่ได้ส่งผลต่ออาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน (Feed intake; g/fish) ให้มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ปลานิลในชุดทดลองที่มี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มที่ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีการกินอาหารดีที่สุด คือ 4.28 กรัมต่อตัวปลา และรองลงมาคือ ชุดทดลองที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้ม ที่ระดับ 0, 0.05 และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ ค่าการกินอาหารเท่ากับ 3.89, 3.81 และ 3.66 กรัมต่อตัวปลา ตามลำดับ

อัตราแลกเนื้อ (Feed conversion ration; FCR) ของทุกชุดการทดลอง พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) แม้ว่าค่าเฉลี่ยอัตราแลกเนื้อในชุดทดลองที่มีไม่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มให้ผลดีที่สุด โดยในชุดที่ไม่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มมีค่า FCR เท่ากับ 1.61 และรองลงมา คือ ชุดที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้ม ที่ระดับ 0.05, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่า 1.65, 1.68 และ 1.68 ตามลำดับ

**ตารางที่ 4** การใช้ประโยชน์จากอาหาร เมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย± SD)

| พารามิเตอร์ | สูตรอาหาร | | | | P-value |
|---|---|---|---|---|---|
| | สูตรที่ 1 0.00 % โอริกาโน | สูตรที่ 2 0.05 % โอริกาโน | สูตรที่ 3 0.10 % โอริกาโน | สูตรที่ 4 0.20% โอริกาโน | |
| อาหารที่กินเฉลี่ย (กรัม/ตัว) | 3.89±0.21[a] | 3.81±0.43[a] | 3.66±0.27[a] | 4.28±0.58[a] | 0.1862 |
| อัตราการแลกเนื้อ | 1.61±0.11[a] | 1.65±0.07[a] | 1.68±0.11[a] | 1.68±0.13[a] | 0.3405 |
| ประสิทธิภาพของโปรตีน | 1.98±0.14[a] | 1.76±0.45[a] | 1.89±0.13[a] | 1.89±0.14[a] | 0.6800 |

**หมายเหตุ** a อักษรในแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างอย่างไม่มีมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (Protein efficiency ratio; PER) ซึ่งเป็นการประเมินประสิทธิภาพการใช้โปรตีนที่มีผลให้น้ำหนักของปลานิลเพิ่มขึ้น พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารในชุดทดลองที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้ม ที่ระดับ 0, 0.05, 0.10 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.98, 1.76, 1.89 และ 1.89 ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลในการศึกษาครั้งนี้แตกต่างกับการทดลองในปลากดอเมริกัน ที่พบว่า การเสริมสารสกัดโอริกาโน 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการแลกเนื้อดีกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (Zheng *et al*., 2009) การทดลองในลูกปลาไนที่เสริมสารสกัดโอริกาโนที่ 1 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราแลกเนื้อดีกว่าชุดควบคุม (Gabor *et al*., 2012) และในการอนุบาลลูกปลาเรนโบว์เทราต์ พบว่า อัตราแลกเนื้อดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในชุดที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้ม เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (Ahmadifar *et al*., 2011)

ในการทดลองของ Ertas *et al*., (2005) ก็เช่นกัน ที่พบว่าอัตราแลกเนื้อของไก่เนื้อที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับชุดควบคุมและชุดที่เสริมยาปฏิชีวนะ การเสริมสารสกัดโอริกาโน ที่ระดับ 200 ppm ทำให้อัตราการแลกเนื้อดีขึ้น 12 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมและดีขึ้น 6.8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดที่เสริมยาปฏิชีวนะ นอกจากนี้ยังพบว่า ถ้าเพิ่มสารสกัดโอริกาโนในปริมาณที่มากขึ้นกลับให้ผลทางลบ จากการที่เสริมสารกัดโอริกาโนที่ระดับ 400 ppm กลับทำให้อัตราแลกเนื้อต่ำกว่าชุดควบคุม

ซึ่งเช่นเดียวกับ Alcicek *et al*. (2003) ที่รายงานว่า การใช้สารสกัดน้ำมันจากโอริกาโนรวมพืชอื่นๆที่ระดับ 48 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารทำให้อัตราแลกเนื้อให้ดีขึ้นได้ เช่นเดียวกับการทดลองในลูกหมู ( Neill *et al*., 2006) ที่พบว่า การเสริมสารสกัดโอริกาโนในอาหารอนุบาลลูกหมูที่ระยะเวลา 28 วัน ทำให้อัตราแลกเนื้อแลกเนื้อดีกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

การเสริมการสกัดโอริกาโนในการเลี้ยงไก่เนื้อ พบว่า มีอัตราแลกเนื้อดีขึ้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุมและชุดที่มีการเสริมยาปฏิชีวนะ และมีความแตกต่างกันทางสถิติ($P<0.05$) ซึ่ง Hong *et al*., (2011) สรุปว่า การเสริมสารกัดโอริกาโนมีผลต่อการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ และเป็นไปได้ว่าการใช้สารกัดโอริกาโนจึงเป็นทางเลือกที่ดีในการใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงไก่เนื้อ ในการที่จะใช้เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโต

ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองของ Halle *et al*., (2004) ที่รายงานว่าการเสริมสารสกัดโอริกาโนทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารในไก่เนื้อดีขึ้น แต่กลับไม่สอดคล้องกับ Botsoglou *et al*. (2002) ที่พบว่า การเสริมสารสกัดโอริกาโนไม่ได้มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารทั้งในส่วนของอัตราการเจริญเติบโตและอัตราแลกเนื้อ ในไก่เนื้อที่ให้อาหารที่ประกอบด้วยข้าวสาลีและถั่วเหลือง ซึ่งการตอบสนองที่แตกต่างออกไปนี้ Botsoglou *et al*. (2002) ให้ความเห็นว่าอาจเกิด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากประเภทหรือปริมาณของสารสกัดโอริกาโน วัตถุดิบหลักประกอบสูตร ปริมาณอาหารที่ได้รับ สภาพแวดล้อมที่ก่อให้เกิดความเครียด เช่น อุณหภูมิ สภาพการให้อาหาร

จากการศึกษานี้ แสดงให้เห็นว่าการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มในสภาวะการจัดการการเลี้ยงที่ดี และในปลาระยะเติบโตที่มีขนาดใหญ่มีการพัฒนาร่างกายสมบูรณ์ไม่ได้ส่งผลให้การใช้ประโยชน์ได้ของอาหารของปลานิลแดงดีขึ้น เนื่องจากพบว่าค่าอัตราแลกเนื้อและประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารในชุดการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) กับชุดควบคุม

**ผลต่อสุขภาพปลา**

ผลจากการศึกษาผลของการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มในอาหารที่ระดับ 0 , 0.05 ,0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่อสุขภาพปลาโดยเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยา และ ค่าดัชนีตับต่อเมื่อสิ้นสุดการทดลองของปลานิลแดงแสดงดังตารางที่ 5

จากผลการทดลองในตารางที่ 5 จะเห็นว่าสัปดาห์ที่ 4 ชุดทดลองที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีระดับโปรตีนในน้ำเลือดที่มีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อโรค Total immunoglobulin (IgM ) มากที่สุด และมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) คือมีค่าเท่ากับ 1.05 กรัม/เดซิลิตร และรองลงมาคือ ชุดควบคุม ชุดที่เสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มที่ระดับ 0.2 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.54 ,0.32 และ 0.28 กรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ แต่กลับพบว่าในสัปดาห์ที่ 8 และสัปดาห์ที่ 12 โปรตีนในน้ำเลือดที่มีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อโรคไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างชุดทดลอง เป็นที่ทราบกันดีว่าอายุของปลาทั้งนี้เนื่องจากในช่วง 4 สัปดาห์แรกปลานิลแดงยังมีขนาดเล็ก ระบบภูมิคุ้มกันโรคยังมีการพัฒนาน้อย จึงยังมีการตอบสนองต่อความเครียดและสิ่งเล้าภายนอกมากกว่าในปลาขนาดใหญ่ การตอบสนองต่อสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มจึงแสดงผลได้ชัดเจนกว่าในปลาขนาดใหญ่ เนื่องจากความสามารถในการต้านทานโรคเปลี่ยนไปตามอายุที่เพิ่มขึ้น เช่น ความเข้มข้นของ Immunoglobulin ใน Serum ความ สามารถในการตอบสนองต่อ Antigen ของ Antibody เพิ่มขึ้นเมื่อมาอายุปลามากขึ้น และการเพิ่มขึ้นนี้ยังดำเนินต่อไปตลอดชีวิต (Zapata *et al.*, 2006).

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ตารางที่ 5** ค่า Immunoglobulin(IgM ) แต่ละช่วงการทดลองและค่าดัชนีตับต่อเมื่อสิ้นสุดการทดลองของปลานิลแดงที่เสริมโอริกาโนแบบห่อหุ้มในระดับความเข้มข้นต่างๆ

| พารามิเตอร์ | สูตรอาหาร | | | | P-value |
|---|---|---|---|---|---|
| | สูตร 1 0.0 % โอริกาโน | สูตร 2 0.05 % โอริกาโน | สูตร 3 0.10 % โอริกาโน | สูตร 4 0.20 % โอริกาโน | |
| **สัปดาห์ที่ 4** | | | | | |
| IgM (g/dl) | 0.54 ±0.37[a] | 0.28±0.08[a] | 1.05±0.06[b] | 0.32±0.17[a] | 0.0077 |
| น้ำตาลในเลือด (mg/dl) | 56.50±2.12[a] | 60.00±1.4[a] | 61.00±4.24[a] | 60.00±4.24[a] | 0.5841 |
| **สัปดาห์ที่ 8** | | | | | |
| IgM (g/dl) | 0.81 ± 0.20[a] | 0.46 ± 0.24[a] | 0.94 ± 0.43[a] | 0.59 ± 0.32[a] | 0.3035 |
| น้ำตาลในเลือด (mg/dl) | 59.50±3.53[a] | 59.50±3.53[a] | 63.50±2.12[a] | 60.00±1.4[a] | 0.4976 |
| **สัปดาห์ที่ 12** | | | | | |
| IgM (g/dl) | 0.27 ± 0.10[a] | 0.25 ± 0.09[a] | 0.24 ± 15.79[a] | 0.26 ± 0.08[a] | 0.9839 |
| น้ำตาลในเลือด (mg/dl) | 54.50±3.53[a] | 52.50±0.71[a] | 52.50±3.53[a] | 54.50±7.77[a] | 0.9411 |
| HSI (%) | 1.92 ± 0.38[a] | 1.81 ± 0.26[a] | 1.37 ± 0.80[a] | 2.63 ± 0.22[a] | 0.0653 |

**หมายเหตุ** a b ที่ต่างกันในแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

IgM = Immunoglobulin M , HIS = Hepatosomatic Index

Mansoub (2011) รายงานว่า การเสริมโอริกาโนที่ระดับ 100, 150 และ200 ppm ในไก่เนื้ออายุ 1วันจนถึง 42 วัน ไม่ได้ทำให้เกิดความแตกต่างของค่าโลหิตวิทยาในระบบภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อมีความแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P>0.05) เช่นเดียวกันการทดลองของ Hong *et al*. (2012) ที่รายงานว่า การเสริมสารสกัดโอริกาโนไม่ได้มีผลต่อค่าโลหิตวิทยาที่เกี่ยวข้องระบบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภูมิคุ้มกันในไก่เนื้อ จึงได้สรุปว่าการเสริมสารสกัดโอริกาโนไม่มีอิทธิพลต่อการตอบสนองภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ

ผลของการทดลองที่ได้นี้ไปในทิศทางเดียวกันกับการทดลองในลูกปลาเรนโบว์เทราต์ ของ Ahmadifar *et al*. (2011) ที่พบว่า ค่าโลหิตวิทยาของปลาที่ได้รับการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) กับชุดควบคุมที่ไม่ได้มีการเสริมสารสกัดโอริกาโน

ค่าน้ำตาลในเลือดในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ที่ระยะเวลาสัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 ระหว่างชุดทดลอง (ดังตารางที่ 5) ในส่วนของค่าดัชนีน้ำหนักตับของปลา พบว่า ในชุดการทดลองที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้ม ที่ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากที่สุด คือ 2.63 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ชุดควบคุมและชุดที่เสริมสารสกัดโอริกาโนที่ระดับ 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่า เท่ากับ 1.92, 1.81 และ 1.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มในอาหาร ไม่มีผลในการเปลี่ยนแปลงค่าระดับโปรตีนในน้ำเลือดที่มีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อโรคในปลานิลแดง เนื่องจากพบว่า ค่าระดับโปรตีนในน้ำเลือดที่มีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อโรคในปลานิลแดงชุดที่มีการการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) กับชุดควบคุม

**ตารางที่ 6** อัตรารอดของปลานิลแดงในการทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้อ (Disease resistance test) *Streptococcus* spp. เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

| | สูตรอาหาร | | | |
|---|---|---|---|---|
| | สูตรที่ 1 0.0 % โอริกาโน | สูตรที่ 2 0.05 % โอริกาโน | สูตรที่ 3 0.10 % โอริกาโน | สูตรที่ 4 0.20 % โอริกาโน |
| จำนวนปลาเริ่มต้น (ตัว) | 15 | 15 | 15 | 15 |
| จำนวนปลาที่เหลือ (ตัว) | 9 | 10 | 11 | 10 |
| อัตรารอด (%) | 60.00 | 66.67 | 73.33 | 66.67 |

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในส่วนของการทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้อ (Disease resistance test) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการฉีดเชื้อ *Streptococcus* spp. ที่ระดับความเข้มข้น $1 \times 10^{10}$ พบว่า ชุดทดลองที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีอัตรารอดสูงสุด คือ 73.33 เปอร์เซ็นต์ (ดังตารางที่ 6)

ในการศึกษาความสามารถในการต้านทานเชื้อให้ผลไปในทำนองเดียวกันกับการศึกษาในปลากดอเมริกัน ที่ทดสอบความต้านทานเชื้อโดยใช้เชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยพบว่าชุดทดลองที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนมีความสามารถในการต้านทานเชื้อดีกว่าปลาในชุดควบคุม (Zheng *et al*., 2009)

การศึกษาความสามารถในการต้านทานเชื้อในลูกปลาไน โดยใช้เชื้อ *Aeromonas hydrophila* (Gabor *et al*., 2012) พบว่า ชุดทดลองที่เสริมสารสกัดโอริกาโนร่วมกับ สารสกัดสมุนไพร Echinacea มีอัตรารอดสูงกว่าชุดควบคุม ทั้งนี้เนื่องจาก Carvacrol ช่วยในการเปลี่ยนแปลงและยับยั้งการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย ทำให้เกิดการซึมผ่านของของเหลวออกจากเซลล์และทำให้แบคทีเรียตายในที่สุด (Lambert *et al*., 2001)

จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มมีผลให้ปลานิลแดงมีความสามารถในการต้านทานเชื้อ *Streptococcus* spp. มากกว่าในชุดควบคุมเนื่องจากพบว่าปลานิลแดงในชุดที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มมีอัตรารอดที่ดีกว่า

**การศึกษาคุณภาพซาก**

จากการศึกษาคุณภาพซาก พบว่า การเสริมสารสกัดโอริกาโนในอาหารไม่มีผลต่อ คุณภาพซาก ($P>0.05$) โดย พบว่า ชุดทดลองที่เสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสัดส่วนของส่วนเนื้อที่บริโภคได้มากที่สุด คือ 35.96 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ชุดทดลองที่เสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มที่ระดับ 0 , 0.2 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าสัดส่วนของส่วนเนื้อที่บริโภคเท่ากับ 35.91 , 35.09 และ 33.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์ซากของปลานิลแดงขนาด 369.01 กรัม ที่ได้รับอาหารโอริกาโนแบบห่อหุ้มระดับ 0, 0.05 , 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ แสดงใน ตารางที่ 4

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เปอร์เซ็นต์ซากของปลานิลแดง โดยแยกออกเป็นเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่บริโภคได้ กระดูก อวัยวะภายใน จากการทดลองนี้ พบว่าเปอร์เซ็นต์กระดูก และเปอร์เซ็นต์อวัยวะภายในของทุกกลุ่มทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยเปอร์เซ็นต์กระดูกมีค่าอยู่ในช่วง 53.74 – 55.75 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์อวัยวะภายในมีค่าอยู่ในช่วง 8.86 – 11.17 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่บริโภคได้ค่าอยู่ในช่วง 33.37 – 35.96 เปอร์เซ็นต์

**ตารางที่ 7** เปอร์เซ็นต์ซากของปลานิลที่ได้รับสูตรอาหารเสริมโอริกาโนแบบห่อหุ้มระดับต่างๆ

| พารามิเตอร์ | สูตรอาหาร | | | | P-value |
|---|---|---|---|---|---|
| | สูตรที่ 1 0.0 % โอริกาโน | สูตรที่ 2 0.05 % โอริกาโน | สูตรที่ 3 0.10 % โอริกาโน | สูตรที่ 4 0.20 % โอริกาโน | |
| เนื้อส่วนที่บริโภค (%) | 35.91±3.52[a] | 33.37±1.56[a] | 35.96±2.28[a] | 35.09±1.39[a] | 0.528 |
| กระดูก (%) | 54.07±4.03[a] | 55.75±0.97[a] | 55.18±3.78[a] | 53.74±2.54[a] | 0.838 |
| อวัยวะภายใน (%) | 10.02±0.94[a] | 10.88±0.69[a] | 8.86±1.86[a] | 11.17±1.58[a] | 0.235 |

**หมายเหตุ** a อักษรในแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างอย่างไม่มีมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

การทดลองในไก่เนื้อ พบว่า การเสริมโอริกาโน ในไก่เนื้อมีผลให้สัดส่วนของซากแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยพบว่า การเสริมสารสกัดโอริกาโนที่ระดับ 150 ppm มีค่าสัดส่วนไขมันหน้าท้องน้อยที่สุด และการเสริมสารสกัดโอริกาโนที่ระดับ 200 ppm มีค่าสัดส่วนของเนื้อบริเวณอกไก่มากที่สุด (Mansoub, 2011) เช่นเดียวกันกับการทดลองในสุกร พบว่า การเสริมสารสกัดโอริกาโนไม่มีผลทำให้เกิดความแตกต่างของความหนาของไขมันบริเวณสันหลังของสุกร

จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมโอริกาโนแบบห่อหุ้มในอาหารปลานิลแดงไม่มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่บริโภคได้เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากพบว่า สัดส่วนเนื้อส่วนที่บริโภคได้ของปลานิลแดงที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มมีค่าไม่แตกต่างทางสถิติ(P<0.05) กับชุดควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**การศึกษาการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน ในปลานิลแดงที่เก็บรักษาในอุณหภูมิแช่เย็น**

จากการวิเคราะห์ค่า TBA พบว่า การเสริมสารสกัดโอริกาโนในอาหารมีผลต่อค่า TBA ในเนื้อปลาอย่างมีนัยสำคัญ ($P< 0.05$) หลังจากมีการเก็บรักษาเนื้อปลาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ค่า TBA ในเนื้อปลากลุ่มที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มในอาหารที่ระดับ 0.5 , 1.0 และ 2.0, กรัม/ กิโลกรัม มีค่า $0.366 \pm 0.018$, $0.345 \pm 0.018$ และ $0.457 \pm 0.170$ mg.malonaldehyde/kg fillet ตามลำดับ และน้อยกว่าเนื้อปลากลุ่มที่ไม่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มซึ่งมีค่า TBA มากที่สุด คือ $1.257 \pm 0.120$ mg.malonaldehyde/kg fillet

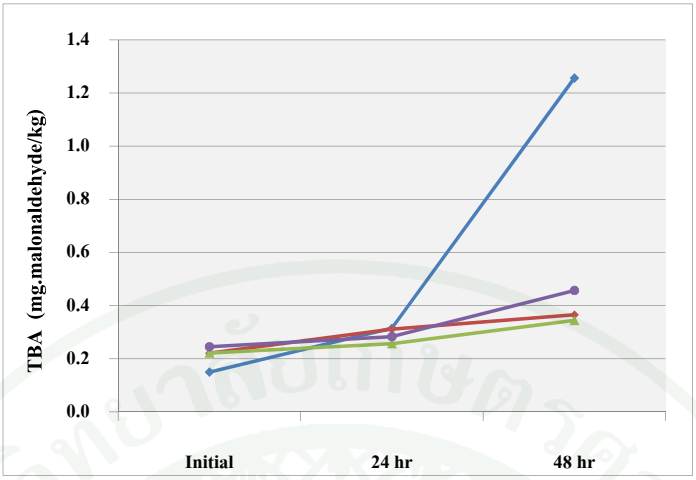
ค่า TBA ใช้เป็นดัชนีวัดการเกิดปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนในเนื้อปลา ซึ่งเกิดจากการที่เอนไซม์ไลเปส (lipase) ย่อยสลายไขมันไม่อิ่มตัวในเนื้อปลา มีผลให้เนื้อปลาที่เป็นสีขาวเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (สถาบันอาหาร ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2542) โดยปลาสดจะเริ่มเสื่อมสภาพเมื่อค่า TBA มากกว่า 1.0 mg.malonaldehyde/kg (Sweet, 1973; Chen *et al*., 1984)

**ตารางที่ 8** ระดับการหืนของไขมันในเนื้อปลาที่บริโภคได้ไปแช่ที่อุณหภูมิ 4 $^{o}$C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

| TBA (mg.malonaldehyde /kg) | ระดับโอริกาโน (%) สูตรที่ 1 0.0 % โอริกาโน | สูตรที่ 2 0.05% โอริกาโน | สูตรที่ 3 0.10% โอริกาโน | สูตรที่ 4 0.20 % โอริกาโน | p-value |
|---|---|---|---|---|---|
| เริ่มต้น | 0.150±0.024$^{a}$ | 0.221±0.003$^{a}$ | 0.222±0.004$^{a}$ | 0.246±0.059$^{a}$ | 0.1353 |
| 24 ชั่วโมง | 0.315±1.56$^{a}$ | 0.312±0.002$^{a}$ | 0.257±0.030$^{a}$ | 0.284±0.008$^{a}$ | 0.0557 |
| 48 ชั่วโมง | 1.257±0.120$^{a}$ | 0.366±0.018$^{b}$ | 0.345±0.018$^{b}$ | 0.457±0.170$^{b}$ | 0.0025 |

**หมายเหตุ** a,b อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์




**ภาพที่ 5** การเปลี่ยนแปลงค่า TBA ในเนื้อปลาที่เก็บรักษาไว้ที่ อุณหภูมิ 4 °C

ซึ่งจากการทดลองพบว่าในชุดควบคุมที่อายุการเก็บ 48 ชั่วโมง ค่า TBA เท่ากับ 1.257± 0.120 mg.malonaldehyde/kg fillet และในชุดที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนในอาหารที่ระดับ 0.5 , 1.0 และ 2.0, กรัม/ กก. มีค่า 0.366 ± 0.018, 0.345 ± 0.018 และ 0.457 ± 0.170 mg.malonaldehyde/kg fillet ตามลำดับ แสดงว่าเนื้อปลาในชุดควบคุมเริ่มเสื่อมสภาพ ในขณะที่ชุดที่เสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มยังคงมีคุณภาพดีอยู่

จากผลการทดลองก็แสดงให้เห็นว่าการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้ม สามารถชะลอการเสื่อมสภาพของเนื้อปลาระหว่างการเก็บรักษาได้ น่าจะเป็นผลมาจาก Carvacrol และ Thymol ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของสารประกอบฟีนอล (Phenolic compounds) ในสารสกัดจากโอริกาโน (Adam *et al*., 1998) ที่ทำหน้าที่ในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น โดยทำปฏิกิริยากับไขมันและอนุมูลไฮดรอกซิล(hydroxyl radicals) ให้อยู่ในรูปที่เสถียรมากขึ้น (Yanishlieva *et al*., 1999)

ซึ่งผลที่ได้เป็นไปในทางเดียวกันกับการทดลองในไก่งวง โดยพบว่า สารสกัดโอริกาโนที่เสริมในอาหารมีประสิทธิภาพทำให้อัตราการเกิดออกซิเดชั่นของไขมันระหว่างการเก็บรักษาในตู้เย็นของเนื้อหน้าอกและน่องของไก่งวงน้อยลง จากการที่สารต้านอนุมูลอิสระเข้าไปในระบบหมุนเวียนเลือด กระจายในเนื้อเยื่อและออกฤทธิ์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น(Florou-Paneri *et al.*, 2005 ) เช่นเดียวกันกับในแกะ การให้อาหารที่มีการเสริมน้ำมันสกัดโอริกาโน มีผลทำให้การเกิดออกซิเดชั่นของไขมันในเนื้อแกะเกิดช้าลงในระหว่างการเก็บรักษาด้วยการแช่เย็นและแช่แข็งระยะยาว (Simitzis *et.al.,* 2008)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# สรุปและข้อเสนอแนะ

## สรุป

1. การเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มในอาหารปลานิลแดง ไม่มีผลต่อน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตรารอด และอัตราแลกเนื้อ โดยปลานิลแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมสารสกัดจากโอริกาโนแบบห่อหุ้ม ที่ระดับ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 กรัม/กิโลกรัมอาหาร เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 12 สัปดาห์ มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตรารอด และอัตราแลกเนื้อ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

2. สุขภาพของปลา เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า Total immunoglobulin(IgM) น้ำตาลในเลือด และดัชนีดับ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ดังนั้นการเสริมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มในอาหารจึงไม่มีผลให้ ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลแดงเปลี่ยนแปลง

3. การเติมสารสกัดโอริกาโนแบบห่อหุ้มลงไปในอาหารมีผลช่วยชะลอการเสื่อมสภาพของไขมันในเนื้อปลา ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 $^{o}$C นาน 48 ชั่วโมง โดยพบว่า ค่า TBA ในเนื้อปลาที่ไม่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโนมีค่าสูงขึ้นมากที่สุด คือ $1.257 \pm 0.120$ mg.malonaldehyde/kg ซึ่งเป็นค่า TBA ที่แสดงถึงการเริ่มมีการเสื่อมสภาพของเนื้อปลา ขณะที่ชุดการทดลองที่มีการเสริมสารสกัดโอริกาโน ค่า TBA เพิ่มขึ้นน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และน้อยกว่า 1.0 mg.malonaldehyde/kg ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงการเสื่อมสภาพของเนื้อปลา แสดงให้เห็นว่าการเสริมสารสกัดโอริกาโนในอาหารจะช่วยชะลอการเสื่อมคุณภาพจากการหืนของไขมันในเนื้อปลาได้

## ข้อเสนอแนะ

1. วัตถุดิบอาหารในชุดที่ใช้ มีปริมาณการกินต่ำ ควรมีการเสริมสารช่วยกระตุ้นการกินอาหาร

2. การทดสอบสุขภาพปลาในสภาวะเครียด เช่น ความหนาแน่น การลำเลียงขนส่ง หรือการติดเชื้อโรค อาจจะพบความแตกต่างของระบบภูมิคุ้มกันและสุขภาพ เนื่องจากสภาวะการเลี้ยงที่ดีทำให้ปลาไม่แสดงความแตกต่างด้านการเติบโตและสุขภาพ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# เอกสารและสิ่งอ้างอิง


กมลพร ทองอุทัย . 2539. **โรคปลานิล**. สถาบันวิจัยประมงน้ำจืด กรมประมง. กรุงเทพฯ.

นนทวิทย์ อารีย์ชน. 2547. **การวินิจฉัยและการป้องกันรักษาโรคสัตว์น้ำ**. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

พรรณศรี จริโยภาส. 2531. ปลานิลสีแดงสายพันธุ์ไทย. **วารสารการประมง** 41: 41 – 43.

พรรณศรี จริโมภาส และ อภิรัตนา คุ้มเณร. 2528. การศึกษาผลผลิตของปลานิลสีแดงที่เลี้ยงในกระชังด้วยอัตราการเลี้ยงต่างๆกัน. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง, กรุงเทพฯ.

ภาณุวัฒน์ แย้มสกุลม, ประภาส พัชนี, โกษา ปัญญาโกษา, สมปรียา แสงไฟ, ดวงพร พิชผล. 2548 ศึกษาความเข้มข้นของยาสมุนไพรสกัดออลิกาโน ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* ที่แยกได้จากอุจจาระสุกรหลังหย่านมที่มีอาการท้องเสียในฟาร์มเขตเชียงใหม่-ลำพูน ในห้องปฏิบัติการ, น.34-40. ในรายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43 (สาขาสัตวแพทยศาสตร์) กรุงเทพฯ.

มยุรี จัยวัฒน์. 2532. **การให้ความเย็นผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ**. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2538. **จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ประมง**. สหมิตรออฟเซท, นนทบุรี.

มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2545. **ผลิตภัณฑ์ประมงไทย**. โรงพิมพ์หาวิทยาลัยกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, สุภัทรา อุไรวรรณ และ พรรณศรี เชิดชูพรรณเสรี. 2527. **ปลานิลสีแดง** . สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง, กรุงเทพฯ .

วิทย์ ธารชลานุกิจ และ เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2515. การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของปลานิลเผือกกับปลานิลธรรมดา, น. 475-476. ในรายงานการประชุมทางวิชาการเกษตรศาสตร์และชีววิทยา ครั้งที่ 9. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.


ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ . 2526 . ปลานิลสีแดง. **เอกสารวิชาการฉบับที่ 17**, กรมประมง. กรุงเทพฯ .

สถาบันอาหาร ศูนย์พันธุวิศวกรรม และ เทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. 2542. การดูแลรักษาคุณภาพสัตว์น้ำและการตรวจสอบคุณภาพ, น. 1-30. ใน **เอกสารประกอบการสัมมา- อบรมวิชาการด้าน อุตสาหกรรมอาหาร** วันที่ 22 - 23 มิถุนายน 2542. สถาบันอาหาร, กรุงเทพฯ.

สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ, วิบูลย์ศรี พิมลพันธุ์, นราธร บานชื่น, ธารารัชต์ ธรากุล, ศันสนีย์ เสนะวงษ์, สิริฤกษ์ ทรงศิวิไล และ ทัศนีย์ สุโกศล. 2537. **อิมมูโนวิทยา**. มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

สันนิภา สุรทัตต์. 2549. **วิทยาภูมิคุ้มกันทางสัตวแพทย์ภาคปฏิบัติ.** โรงพิมพ์ตีรณสาร, กรุงเทพฯ.

Abdalla, A. E.and J.P. Roozen. 2001. The effects of stabilised extracts of sage and oregano on the oxidation of salad dressings. **Eur.Food Res. Technol**. 212: 551-560.

Adam, K., A. Sivropoulou, S. Kokkini, T. Lanaras and M. Arsenakis. 1998. Antifungal activities of *Origanum* V*ulgare* susp. Hirtum, *Mentha spicata*, *La*V*andula angustifolia* and *Sal*V*ia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. **J. Agric. Food Chem**. 46: 1739-1745

Ahmadifar, E., B. Falahatkar, R. Akrami. 2011. Effects of dietary thymol-carvacrol on growth performance, hematological parameters and tissue composition of juvenile rainbow trout, Oncorhynchus mykiss . **J. Appl. Ichthyol.** 27: 1057–1060

Al-Harbi, A.H. 1994. First isolation of Streptococcus sp. From hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus x O. aureus*) in Saudi Arabia. **Aquaculture** 128: 195-206.

Al-Harbi, A.H. and M. Naim Uddin. 2005. Bacterial diversity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in brackish water in Saudi Arabia. **Aquaculture** 250: 566-572.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Al-Harbi, A.H. and M. Naim Uddin. 2004. Seasonal variation in the intestinal bacterial flora of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) cultured in earthern ponds in Saudi Arabia. **Aquaculture** 229: 37-44.

Anderson, D.P. 1974. **Fish Immunology.** TFH Publishing Company, Inc. New Jersey.

Bassett, R. 2000. Oregano's positive impact on poultry production. **World Poultry** 16 (9): 31-34.

Bishov, S.J., Y. Masuoka and J.G. Kapsalis. 1977. Antioxidant effect of spices, herbs and protein hydrolysates in freeze-dried model systems: synergistic action with synthetic phenolic antioxidants. **J. Food Process. PreserV.** 1: 153-166.

Botsoglou, N.A., E. Christaki, D.J. Fletouris, P. Florou-Paneri and A.B. Spais. 2002. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. **Meat Sci**. 62: 259-265.

Botsoglou, N.A., P. Florou-Paneri, E. Christaki, D.J. Fletouris, A.B. Spais. 2002. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. **Br. Poult. Sci.** 43: 223-230.

Botsoglou, N.A., P. Florou-Paneri, E. Christaki, I. Giannenas and A.B. Spais. 2004. Performance of rabbits and oxidative stability of muscle tissues as affected by dietary supplementation with oregano essential oil. **Archives of Animal Nutrition** 58: 209-218.

Botsoglou, N.A., A. Govaris, E.N. Botsoglou, S.H. Grigoropoulou and , G. Papageorgiou. 2003. Antioxidant activity of dietary oregano essential oil and alpha-tocopheryl acetate supplementation in longterm frozen stored turkey meat. **Journal of griculture and Food Chemistry** 51: 2930–2936.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Bruneton, J. 1999 . Pharmacognosy. Phytochemistry. Medicinal plants (second ed.). Paris: Lavoisier Publishing.

CaroTech Fish Technical Dossier. 2008. NEXT Enhance® 150 Technical product presentation. Caro Tech Inc. Spain.

Conner, D.E. and L.R. Beuchat. 1984. Effect of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. **Journal of Food Science** 49: 429-434.

Cox, S.D., J.E. Gustafson, C.M. Mann, J.L. Markham, Y.C. Liew, R.P. Hartland, H.C. Bell, J.R. Warmington and S.G. Wyllie. 1998. Tea tree oil causes $K^+$ leakage and inhibits respiration inEscherichia coli. **Letters in Applied Microbiology** 26: 355-358.

Denyer, S.P. and W.B. Hugo. 1991. Biocide induced damage to the bacterial cytoplasmic membrane. In Mechanisms of Action of Chemical Biocides; their study and exploitation the society of for applied bacteriology. Technical Series No 27, eds Denyer, S.P. and Hugo, W.B. pp. 171-188. Oxford: Oxford Blackwell Scientific Publications.

Dorman, H.J.D. and S.G Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology** 88: 308–316.

Ellis, A.E. 1988. Ontogeny of the immune system in teleost fish, pp. 20-31. In A.E. Eillis(ed.). Fish Vaccination. Academic Press, London.

Ertas, O.N., T. Guler, M. Ciftci1, B. Dalkilicl and U.G Simsek. 2005. The Effect of an Essential Oil Mix Derived from Oregano, Clove and Anise on Broiler Performance. **International Journal of Poultry Science** 4 (11): 879-884.

Fitgerald, Jr. and J. William. 1979. The red-orange tilapia-a hybrid that could become a world favorite. **Fish Farming International** 6(2): 26-27.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Florou-Paneri .P., G. Palatos, A. Govaris, D. Botsoglou, I. Giannenas and I Ambrosiadis. 2005. Oregano Herb Versus Oregano Essential Oil as Feed Supplements to Increase the Oxidative Stability of Turkey Meat. **International Journal of Poultry Science** 4 (11): 866-871.

Florou-Paneri, P., I. Giannenas, E. Christaki, A. Govaris and N. Botsoglou. 2006. Performance of chickens and oxidative stability of the produced meat as affected by feed supplementation with oregano, vitamin C, vitamin E and their combinations. **Arch. Geflügelk** 70: 223–240.

Foo, J.T.H., B. Ho and T.J.Lam. 1985. Mass mortality in Siganus canaliculatis due to Streptococcal infection. **Aquaculture** 49: 185-195.

Giannenas, I.A., P. Florou-Paneri, M. Papazahariadou, N.A. Botsoglou, E. Christaki, A.B. Spais. 2004. Effect of the diet supplementation with ground oregano on performance of broiler chickens challenged with Eimeria tenella. **Arch. Geflügelk**. 68, 247–252.

Giannenas,I., El. Triantafillou, S. Stavrakakis, M. Margaroni, S. Mavridis, T. Steiner and E. Karagouni . 2012. Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). **Aquaculture** 32: 350-353.

Gill Clayton. 1998. Herbs and plant extracts as Growth promotors. **Feed Ineternational** 65, 20- 23.

Gabor, E., A. Sara, M. Bentea, C. Creta and A. Baciu. 2012. The effect of phytoadditive combinations on growth and consumption indices and resistance to *Aeromonas hydrophila* in common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. **Animal Science and Biotechnologies** 45 (2): 49-52.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Hammer, K.A., C.F. Carson and T.V. Riley. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of Applied Microbiology** 86: 985–990.

Halle, I., R. Thomann, U. Bauermann, M. Henning and P. Köhler. 2004. Effects of a graded supplementation of herbs and essential oils in broiler feed on growth and carcass traits. **Landbauforsh.Volk**. 54: 219–229.

Helander, I.K., H.L. Alakomi, K. Latva-Kala, T. Mattila-Sandholm, I., Pol, E.J. Smid and A. Wright. 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram negative bacteria. **Journal of Agricultural Chemistry** 46: 3590-3595.

Halle, I., R. Thomann, U. Bauermann, M. Henning and P. Kohler. 2004. Effects of a graded supplementation of herbs and essential oils in broiler feed on growth and carcass traits. **Landbauforsch. Völkenrode** 54: 219-229.

Hong, J., T. Steiner, A. Aufy and T. Lien. 2012. Effects of supplemental essential oil on growth performance, lipid metabolites and immunity, intestinal characteristics, microbiota and carcass traits in broilers. **Livestock Science** 144: 253-262.

Inglis, V., R.J. Roberts and N.R. Bromage. 1993. Bacterial Diseases of Fish. Academic Press. New York. 312p.

Iwama, G. and T. Nakanishi. 1996. **The Fish Immune System.** Academic Press, Inc., California.

Jang, I.S., Y.H. Ko, H.Y. Yang, J.S. Ha, J.Y. Kim, J.Y. Kim, S.Y. Kang, D.H. Yoo, D.S. Nam, D.H. Kim, C.Y. Lee. 2004 . Influence of essential oil components on growth performance and the functional activity of the pancreas and small intestine in broiler chickens. **Asian–Aust. J. Anim. Sci.** 17 (3): 394–400.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Kusuda, R., I. Komatsu and K. Kawai. 1978. *Streptococcus sp.* Isolated from an eqizootic of culture eels. **Bull.Jap. Soc. Sci. Fish.** 44: 295-298.

Kusuda, R., K. Kawai, T. Toyoshima and , I. Komatsu. 1976. A new pathogenic bacterium belonging to genus *Streptococcus sp.* Isolated from an epizootic of culture yellowtail. **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish**. 42: 1345-1352.

Kyriakis, S.C., K. Sarris, S. Lekkas, A.C. Tsinas , C. Glannakopoulos, C. Alxoppoulos and K. Saoulidis. 1998. Control of post weaning diarrhea syndrome of piglets by feed application of origanum essential oils. Proc. Of 15th IPVS Congr. Birmingham

Lamnert, R.J.W., P.N. Skandamis, P. Coote and G.J.E. Nychas. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano esential oils, thymol and carbacrol. **Journal of applied Microbilogy** 91: 453-462.

Lee, H.S.and Ahn, Y.J. 1998. Growing-inhibiting effects of cinnamomun cassia bark-derived materials on human intestinal bacteria. **J. Agric. Food Chem**. 46: 8–12.

Manning, M. J. and M. S. Mughal. 1985. Factors affacting the immune response of immature fish, pp.27– 40. *In* A.E Ellis (ed.). **Fish and Shellfish Pathology.** Academic Press, London.

Mansoub, M.H. 2011. Performance, carcass quality, blood parameters and Immune System of broilers fed diets supplemented with oregano oil (*Origanum* sp.). **Annals of Biological Research** 2(6): 652-656.

Matthew T. Cabeen and Christine Jacobs-Wagner. 2005. Bacterial cell shape. **Nature Reviews Microbiology** 3: 601-610.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Meriwether II, F.H., E.D. Seura and W.Y. Okamura. 1982. Cage culture of red tilapia in prawn and shrimp ponds. Reprint from 1982. **Meeting of World Aquaculture Soc**. 30 p.

Oehlenschlager, J. 1997. Volatile amine as freshness/spoilage indicators, pp. 57-578. In Seafood from producer to consumer, Integrate approach to quality. Proceedings of International Seafood Conference on the occasion of the 25 th anniversary of the WEFTA, held in Noordwijkerhout. Netherlands.

Perera, R.P., F.K. Johnsonand and D.H.Lewis. 1997. Epizootiological aspects of *Streptococcus iniae* affecting tilapia in Texas. **Aquaculture** 152: 25-33.

Plumb, J.A. 1997. Infectious Diseases of Tilapia. *In*: Costa-Pierce, B.A., Rakocy, J.E.(Eds.). Tilapia Aquaculture in the Americas vol.1, World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA.

Plumb, J.A. 1999. Health Maintenance and Principal Microbial Diseases of Cultured Fishes. Iowa State University Press.

Plumb, J.A., J.H. Schachte, J.L. Gaines, W. Peltierand and B Carroll. 1974. *Streptococcus sp*. From marine fishes along the Alabama and northwest Florida coast of the Gulf of Mexico. **Trans. Am. Fish. Soc.** 103: 358-361.

Robinson, J.A. and F.P. Meyer. 1966. Streptococcal fish pathogen. **J.Bacteriol**. 92: 512.

Roitte, I. M. 1984. **Essential Immunology.** Blackwell Sciencific, Oxford. United Kingdom.

Sakai, M., R. Kubota, S. Atsuta and M. Kobayashi. 1987. Vaccination of rainbow trout *Salmogairdneri against* B-haemolytic Strptococcal disease. **Bull. Jan. Soc. Sci. Fish** 53:1373-1376.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Shahidi, F. and J.R. Botta. 1994. Seafood chemistry technology and quality**.** Edmudsbury Press, Great Britain.

Simitzis, P.E., S.G. Deligeorgis, J.A. Bizelis, A. Dardamani, I. Theodosiou and K. Fegeros. 2008. Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. **Meat Science** 79: 217-223.

Simitzis, P.E, G.K. Symeon, M.A. Charismiadou, J.A. Bizelis, S.G. Deligeorgis. 2010. The effects of dietary oregano oil supplementation on pig meat characteristics. **Meat Science** 84: 670-676.

Sivropoulou, A., E. Papanikolaou, C. Nikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras and M. Arsenakis. 1996 . Antimicrobial and cytotoxic activities of Origanum essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 44(5): 1202-1205.

Skandamis, P., E. Tsigaridaand and G.J.E. Nychas. 2000. Ecophysiological attributes of *Salmonella typhimurium* in liquid culture and within gelatin gel with or without the addition of oregano essential oil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 16: 31-35.

Tassou, C.C., K. Koutsoumanis and G.-J.E. Nychas. 2000. Inhibition of Salmonella enteritidis and *Staphylococccus aureus* in nutrient broth by mint essential oil**. Food Research International** 33: 273-280.

Tizard, I. R. 2004. **Veterinary Immunology: An Introduction, 7th ed.** Suanders College Publishing, Florida.

Ultee, A., Kets, E.P.W. and Smid, E.J. 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen Bacillus cereus. **Applied and Environmental Microbiology** 65: 4606- 4610.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

VeggieHarvest. 2009. Oregano Growing and Harvest information. Available Source: http://veggieharvest.com/herbs/oregano.html , 11 July 2010.

William, P. and Losa, R. 2001. The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition. **World Poultry** 17 (4): 14-15.

Yanishlieva, N.V., E.M., Marinova, M.H. Gordon and V.G. Raneva. 1999. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. **Food Chem**. 64: 59-66.

Zapata A, B. Diez, T. Cejalvo, C.F. Gutierrez-De and A. Cortes . 2006. Ontogeny of the immune system of fish. Fish Shellfish Immunol 20:126–136.

Zheng Z.L., Y.W. Justin Tan, H.Y. Liu, X.H. Zhou, X. Xiang and K.Y. Wang. 2009. Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum L.*) on growth,antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture** 292: 214-218.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**ทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้อ (Disease resistance test)**

1. นำ stock เชื้อ *Streptococcus* spp. จากห้องปฏิบัติการโรคสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มาปรับให้ได้ระดับความเข้มข้น $1 \times 10^{10}$ CFU/ml

2. นำปลาทั้ง 4 ชุดการทดลองมาใส่ในตู้กระจก ขนาด 20×12× 15 นิ้ว เติมน้ำประมาณ 15 ลิตร ปล่อยปลาในอัตรา 1 ตัว/ตู้ โดยสุ่มปลามา 15 ตัว ต่อ 1 ชุดทดลอง

**ภาพผนวกที่ 1** ลักษณะการปล่อยปลาในตู้กระจกในการทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้อ

3. ทำการฉีดเชื้อ *Streptococcus* spp. ที่ปรับระดับความเข้มข้นแล้ว ฉีดเข้าบริเวณช่องท้องตัวละ 0.1 ml บันทึกการตายของปลาทุกวันเป็นเวลา 10 วัน

4. นำผลการทดลองที่ได้ในแต่ละชุดการทดลองมา คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การรอดตาย

**การวิเคราะห์ค่าอิมโมนูกลอบูลิน เอ็ม ดัดแปลงจากวิธีการของ Siwicki et al. (1994)**

อิมโมนูกลอบูลิน (immunoglobulin) เป็นโปรตีนในน้ำเลือดที่มีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อโรค พบได้ในซีรัมและของเหลวในตัวปลา อิมมูโนโกลบูลินของสัตว์ชั้นสูงทั่วไป มี 5 ชนิด คือ IgG, IgM, IgE, IgA, และ IgD แต่ในปลาจะพบมีเพียง IgM เท่านั้น (Tizard, 2004) ค่าอิมโมนูกลอบูลินสามารถวัดได้โดยอาศัยหลักการวัดปริมาณโปรตีน โดยแบ่งตัวอย่างพลาสมาเป็น 2 ชุด ชุดที่ 1 วัดปริมาณโปรตีนรวมในพลาสมาและ ชุดที่ 2 ตกตะกอนโปรตีนส่วนที่เป็น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

immunoglobulin ด้วย polyethylene glycol แล้วนำส่วนพลาสมา มาวัดปริมาณโปรตีน ความแตกต่างระหว่างค่าโปรตีนรวมและโปรตีนหลังจากตกตะกอน immunoglobulin แล้วคือค่า total immunoglobul

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Spectrophotometer
2. Automatic pipette
3. หลอดทดลอง ขนาด 10 ml

สารเคมี

1. Bovine serum albumin (BSA)
2. Folin reagent เจือจาง 1: 10 เก็บในตู้เย็น
3. Working alkaline copper Solution ประกอบด้วย

0.5% $CuSO_4$. $5H_2O$ 1 ส่วน

ชั่ง $CuSO_4$. $5H_2O$ มา 0.015 g ละลายในน้ำกลั่น deionized sterilized 3 ml

1% NaKtatrate 1 ส่วน

ชั่ง NaKtatrate มา 0.03 g ละลายในน้ำกลั่น deionized sterilized 3 ml

1% $NaCO_3$ ใน 0.5 NaOH 50 ส่วน

ต้มน้ำกลั่น deionized sterilized 100 ml แล้ววางทิ้งไว้ให้เย็นสนิท แล้วใส่ NaOH จำนวน 2 g เมื่อละลายแล้วจึงเติม $NaCO_3$ ลงไป 1 g ปั่นหรือคนให้ละลายจนหมด ผสมสารทั้งสามตามสัดส่วน

4. 12 % polyeyhylene glycol (PEG)

ละลาย 12 g PEG ในน้ำกลั่น 100 ml (ปริมาตรที่เตรียมขึ้นกับจำนวนตัวอย่าง)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

**1. การทำ standard curve**

เตรียม stock ของ standard albumin (BSA) ความเข้มข้น 1000 µg/ml
(ผสม 10 g albumin ในน้ำกลั่น 10 ml)

↓

ปรับความเข้มข้น stock ให้ได้ดังตาราง

| ความเข้มข้น (g/dl) | Stock (ml) | Distilled water (ml) |
|---|---|---|
| 0 | 0 | 10 |
| 0.2 | 1 | 4 |
| 0.4 | 2 | 3 |
| 0.8 | 4 | 1 |
| 1.0 | 5 | 0 |

นำ standard แต่ละหลอดมาหาปริมาณโปรตีนโดย
เติม alkaline copper Solution 2 ml เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 10 นาที

↓

เติม folin reagent 1 : 10 (folin reagent 1 ส่วน : น้ำกลั่น 10 ส่วน) 3 ml
เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 10 นาที

↓

วัด OD ที่ 640 nm โดยใช้น้ำกลั่นที่เติมสารเดียวกันกับตัวอย่างเป็น blank

↓

เขียนกราฟมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. **การวัดโปรตีนในเลือด ดัดแปลงจากวิธี Lowry' s method** (Lowry *et al*., 1951)

2.1 total protein

ผสม 10 µl plasma กับ 990 µl น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ

↓

เติม alkaline copper Solution 2 ml เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 10 นาที

↓

เติม folin reagent 1 : 10 (folin reagent 1 ส่วน : น้ำกลั่น 10 ส่วน) 3 ml
เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 10 นาที

↓

วัด OD ที่ 640 nm โดยใช้น้ำกลั่นที่เติมสารเดียวกันกับตัวอย่างเป็น blank

↓

หาปริมาณโปรตีนโดยเทียบกับค่า standard curve

2.2 non-immunoglobulin

ผสม 100 µl plasma กับ 100 µl 12 % PEG ที่ อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง

↓

ปั่นที่ 5000 x g 4 $^{o}$C 15 นาที

↓

ผสม 20 µl plasma กับ 980 µl น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ

↓

เติม alkaline copper Solution 2 ml เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 10 นาที

↓

เติม folin reagent 1 : 10 (folin reagent 1 ส่วน : น้ำกลั่น 10 ส่วน) 3 ml
เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 10 นาที

↓

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัด OD ที่ 640 nm โดยใช้น้ำกลั่นที่เติมสารเดียวกันกับตัวอย่างเป็น blank

↓

หาปริมาณโปรตีนโดยเทียบกับค่า standard curve

1.3 calculation

total immunoglobulin = total protein - non-immunoglobulin

**วิธีการวิเคราะห์ค่า Thiobarbituric acid number (TBA) (Shibata and Kinumaki, 1979)**

1. ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดแล้ว 5 กรัม ใส่เครื่องปั่นเติมน้ำกลั่น ใช้เวลาในการปั่น 2 นาที แล้วปรับปริมาตรทั้งหมดเป็น 30 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

2. ใช้ปิเปตดูดสารละลายในข้อ 1. มา 2 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองชนิดฝาเกลียวขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายของวัตถุกันหืน 3 หยด สารละลาย EDTA ความเข้มข้นร้อยละ 20 จำนวน 1 มิลลิลิตร สารละลายไทโอบาร์บิทูริก 3 มิลลิลิตร และสารละลายผสมของกรดเกลือและกรดไตรคลอโรอะซิติก จำนวน 17 มิลลิลิตร

3. ผ่านก๊าซไนโตรเจนลงไปแทนที่อากาศภายในหลอดทดลอง ปิดฝาให้แน่นแล้วนำ สารละลายที่ได้ไปเขย่าโดยใช้เครื่องเขย่าเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำ ไปต้มในน้ำเดือดนาน 30 นาที โดยทำ blank ควบคู่ไปด้วย

4. ถ่ายสารละลายใส่หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร เติมคลอโรฟอร์มจำนวน 5 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นทำ การหมุนเหวี่ยงโดยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 นาที

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. นำสารละลายส่วนใสตอนบนมาวัดค่า OD (optical density) ช่วงความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร จากนั้นนำ ค่า OD ที่ได้ไปคำนวณหาค่า TBA ในรูปของ mg. malonaldehyde ต่อ 1000 กรัม

ตัวอย่าง โดยใช้สูตร

$$\text{TBA number} = \frac{\frac{A \times MW \times 103}{Am(100/X)}}{W}$$

โดย A = ค่า OD ที่อ่านได้ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร

MW = มวลโมเลกุลของ malonaldehyde ซึ่งมีค่าเท่ากับ 72

Am = Molar absorptivity index ของ malonaldehyde ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.56 x 105

X = Dilution factor ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

# ประวัติการศึกษา และการทำงาน

| | |
|---|---|
| ชื่อ –นามสกุล | นางสาวปนิตา กุลธปารมี |
| วัน เดือน ปี ที่เกิด | 31 สิงหาคม 2517 |
| สถานที่เกิด | อ.เมือง จ.อุดรธานี |
| ประวัติการศึกษา | วท.บ. (ประมง) มหาวิทยาลัยแม่โจ้ |
| ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน | ผู้ชำนาญการด้านสัตว์น้ำ |
| สถานที่ทำงานปัจจุบัน | บริษัท เบทาโกร จำกัด(มหาชน) |
| ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ | |
| ทุนการศึกษาที่ได้รับ | |

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์