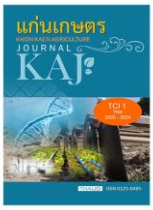
วารสารแก่นเกษตร THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj



ผลของสารสกัดจากพืช มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) หอมแดง (*Allium ascalonicum*) และ ดอกแค (*Sesbania grandiflora*) ต่อการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

Effect of plant extracts (*Phyllanthus emblica Allium ascalonicum* and *Sesbania grandiflora*) on growth hematology and non-specific immune response of tilapia (*Oreochromis niloticus*)

จอมสุดา ดวงวงษา[1]* และ เทพรัตน์ อึ้งเศรษฐพันธ์[1]

Jomsuda Duangwongsa[1]* and Thepparath Ungsethaphand[1]

[1] คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

[1] Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiangmai, 50290

* Corresponding author: Daungwongsa2000@gmail.com

Received: date; January 15, 2020 Accepted: date; September 1, 2020 Published: date

บทคัดย่อ: ศึกษาการใช้สารสกัดจากพืช มะขามป้อม (Phyllanthus emblica) หอมแดง (Allium ascalonicum) และ ดอกแค (Sesbania grandiflora) เสริมในอาหารทดลอง ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลา และภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ในการเลี้ยงปลานิล ใช้อาหารทดลอง 4 สูตร ได้แก่ อาหารเสริมวิตามินซี (VC) เป็นอาหารควบคุม, อาหารเสริมด้วยมะขามป้อม (MP), อาหารเสริมด้วยหอมแดง (HD) และ อาหารเสริมด้วยดอกแค (DK) เลี้ยงปลานิลขนาดเริ่มต้นเฉลี่ย 53 ก. จำนวน 3 ซ้ำ ในกระชัง ระยะเวลาทดลอง 90 วัน ผลการทดลองพบว่า ปลานิลที่เลี้ยงด้วย VC, MP และ HD มีน้ำหนักสุดท้าย, น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น, อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) สูงกว่าปลาที่เลี้ยงด้วย DK อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อัตราการแลกเนื้อ (FCR) ของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม DK และ HD มีค่าต่ำกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารควบคุม VC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม MP ($P < 0.05$) อัตราการรอดตาย ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในอาหารทดลองทุกสูตรกับชุดควบคุม ($P < 0.05$) หลังเสร็จสิ้นการทดลอง พบว่า ปริมาณโปรตีนในเนื้อปลาที่เลี้ยงด้วยอาหาร HD มีค่าต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรอื่น แต่ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหาร MP มีปริมาณโปรตีนในเนื้อปลาไม่แตกต่างจากอาหารเสริมวิตามินซี (VC) นอกจากนี้ยังพบว่า ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหาร MP มีปริมาณฮีมาโตครีต และปริมาณโปรตีนในซีรั่ม สูงกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหาร DK อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่าง ($P > 0.05$) จากชุดควบคุม (VC) สูตรอาหารที่ต่างกันในการทดลองครั้งนี้ไม่ส่งผลต่อ ปริมาณ ซีรั่มไลโซไซม์ ปริมาณเม็ดเลือดแดง และปริมาณเม็ดเลือดขาว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ผลการทดลองในครั้งนี้สรุปได้ว่า สามารถใช้สารสกัดจากมะขามป้อม (MP) เสริมในอาหารทดลองเลี้ยงปลานิลแทนการใช้วิตามินซี โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลา และภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ

คำสำคัญ: ปลานิล; การเจริญเติบโต; ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ; องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลา

ABSTRACT: The effects of plant extracts, (*Phyllanthus emblica, Allium ascalonicum,* and *Sesbania grandiflora*), on growth performances, chemical composition of fish meat and non-specific immune of tilapia were investigated. Tilapia fingerlings (initial weight 53 g) were allocated into triplicate nylon net hapas and were fed one of four treatment diets: diet supplemented with vitamin C (control), diet supplemented with *Phyllanthus emblica* (MP), diet supplemented with *Allium ascalonicum* (HD) and diet supplemented with *Sesbania grandiflora* (DK) for 90 days. The results showed that fish fed diet of MP, HD, and VC significantly ($P < 0.05$) enhanced growth performances (final weight, weight gain, average daily weight gain – ADG) compared with DK group. There were no significant differences on survival rate among groups. The protein content in fish meat was significantly ($P < 0.05$) lower in fish fed DK diet. The hematocrit and plasma protein levels were significantly higher ($P < 0.05$) when fish fed with MP than those fed DK. However, serum lysozyme, red blood cell, and white blood cell levels were not influenced by the treatments. The results presented in the current study demonstrated that *Phyllanthus emblica* extract can be supplemented in diet replacing vitamin C without adverse effects on growth parameters, non-specific immune response and meat chemical compositions of tilapia.

Key word: tilapia; growth performance; non-specific immune; fish meat chemical composition

บทนำ

ในภาวะปัจจุบันการเลี้ยงสัตว์น้ำเชิงอุตสาหกรรม และสภาวะแวดล้อมที่เสื่อมโทรมลง การใช้ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นสาเหตุให้ยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในตัวสัตว์น้ำและถ่ายทอดต่อมายังผู้บริโภค ส่งผลเสียทำให้เชื้อแบคทีเรียพัฒนาตัวเองจนเป็นสายพันธุ์ที่ทนทานต่อยาปฏิชีวนะ (FAO, 2002) การศึกษาแนวทางในการผลิตสัตว์น้ำโดยไม่ใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีจึงเป็นแนวทางสำคัญเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม

การป้องกันโรคโดยให้อาหารเสริมวิตามีอาจเป็นทางหนึ่งในการลดการใช้ยาปฏิชีวนะ วิตามินซีเป็นวิตามินละลายน้ำที่มีความสำคัญ โดยที่มีส่วนช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันและป้องกันโรคในสัตว์น้ำ (Leonardo et al., 2000) ทำให้มีการเสริมวิตามินซีอย่างแพร่หลายในการผลิตอาหารสัตว์น้ำเชิงอุตสาหกรรม นอกจากนี้ ในการเลี้ยงปลามีความจำเป็นต้องเสริมวิตามินซีลงในอาหาร เพื่อป้องกันอาการที่เกิดจากการขาดวิตามินซี ปลานิลจะแสดงอาการขาดวิตามินซี หากได้รับวิตามินซีจากอาหารไม่เพียงพอ ทำให้มีการเจริญเติบโตและภูมิต้านทานลดลง วิตามิซีมีแหล่งที่มาจากทั้งการสังเคราะห์และจากธรรมชาติ วิตามินซีสังเคราะห์ที่เสริมในอาหารสัตว์น้ำอยู่ในรูป L-ascorbic acid (Shiau และ Hsu, 1995) มีงานวิจัยจำนวนมากกล่าวถึงปริมาณของวิตามินซีในผัก ผลไม้พื้นเมืองของไทยหลายชนิดว่ามีปริมาณวิตามินซีที่สูงมาก น่าจะมีศักยภาพในการนำมาใช้ทดแทนวิตามินซีในรูปสารเคมีที่ใช้กันในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เช่น สารสกัดจากมะขามป้อม หอมแดง และดอกแค มีปริมาณวิตามินซีสูง 636.0, 616.4 และ 485.7 มก./100 ก. ตามลำดับ ซึ่งการใช้พืชหรือสมุนไพรผสมในอาหารเลี้ยงสัตว์นั้นมีการใช้ทั้งในรูปของการผสมโดยตรงและการสกัดเอาสารสำคัญออกมาด้วยน้ำหรือตัวทำละลายแล้วจึงผสมลงในอาหาร (Maisuthisakul et al., 2008)

นอกจากนี้ ยังมีรายงานการวิจัยในการผลิตสัตว์น้ำที่ใช้สารจากธรรมชาติในกระบวนการผลิต ทดแทนการใช้สารเคมี มีการวิจัยหลายชิ้นในต่างประเทศที่กล่าวถึงการใช้สมุนไพรเครื่องยาจีนและเกาหลีผสมในอาหารสามารถช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันไม่จำเพาะและการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Yin et al., 2009; Harikrishnan et al., 2010a; Harikrishnan et al., 2010b)

การทดลองครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาผลของการใช้ สมุนไพรไทยที่มีประมาณวิตามินซีสูงดังกล่าวข้างต้นเพื่อทดแทนวิตามินซีเสริมในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและภูมิต้านทานแบบไม่เฉพาะในการเลี้ยงปลานิล ซึ่งเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เพราะปัจจุบันผลิตภัณฑ์ปลอดสารพิษมีมูลค่าสูงและเป็นที่ต้องการของกลุ่มผู้บริโภคที่ใส่ใจต่อสุขภาพและมีกำลังซื้อสูง เป็นตลาดเฉพาะทาง

วิธีการดำเนินงาน

การเตรียมหน่วยทดลอง

ใช้กระชังทำด้วยตาข่ายไนลอน ขนาด 1.8×3.0×1.2 ม. (กว้าง×ยาว×ลึก) ขึงในบ่อดินขนาด 1,000 ตร.ม. ด้วยเสาไม้ไผให้ก้นกระชังอยู่เหนือระดับพื้นบ่ออย่างน้อย 0.5 ม. รักษาระดับให้ขอบด้านบนของกระชังอยู่เหนือผิวน้ำ 20 ซม. เพื่อให้มีส่วนของกระชังแช่อยู่ในน้ำ 100 ซม. ตลอดการทดลอง

การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้ปลานิล ขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 53 ก. โดยนำลูกปลามาพักให้ปรับตัวในกระชังขนาด 5 ตร.ม. ด้วยความหนาแน่น 200 ตัว/ตร.ม เป็นเวลา 18 ชม. ก่อนทำการสุ่มนับและชั่งน้ำหนักลูกปลาเริ่มต้นเพื่อปล่อยลงเลี้ยงในกระชังทดลอง ด้วยความหนาแน่น 10 ตัว/ตร.ม. ให้อาหารด้วยอาหารควบคุมเป็นเวลา 7 วันเพื่อให้ปลาปรับสภาพ ก่อนเริ่มให้อาหารทดลอง อัตราอาหารที่ให้ตลอดการทดลองของทุกการทดลอง คือ 5% ของน้ำหนักตัว/วัน วันละ 2 ครั้ง (09.00-10.00 น. และ 15.00-16.00 น.) ปรับปริมาณอาหารที่ให้ ทุก 14 วัน

การสกัดสารจากสมุนไพร

นำสมุนไพรมาล้างด้วยน้ำดื่มบริสุทธิ์ แล้วผึ่งให้แห้งในที่ร่มเป็นเวลา 10 วัน จนน้ำหนักคงที่ บดสมุนไพรให้ละเอียดด้วยเครื่องบดอาหารแห้ง (Philips, HR2118, China) นำสมุนไพรที่บดแล้วผสมตัวทะละลายในอัตราส่วน สมุนไพร 10 กรัมต่อสารละลายเอทานอล 70% 100 มล. ใส่ในขวดลูกชมพู่ ปิดปากขวดด้วยแผ่นอะลูมิเนียม เขย่าด้วยเครื่องเขย่าอัตโนมัติ (GFL 3018, Germany) ทิ้งไว้ 7 วัน กรองด้วยผ้าขาวบาง นำไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่อง rotary vacuum (Steroglass, Strike 102, Italy) ที่อุณหภูมิ 39 ˚C ความเร็วรอบ 50 rpm เก็บสารสกัดที่ได้ไว้ในขวดสีชาและแช่ตู้แช่แข็ง -20 ˚C ตามวิธีการของ Harikrishnan et al. (2010 b) จนกว่าจะนำไปใช้ผสมอาหารทดลอง โดยเจือจางสารสกัดในน้ำกลั่นตามปริมาณที่ต้องการก่อนผสมในอาหารทดลอง (Table 1) โดยคำนวณปริมาณสารสกัดให้มีปริมาณวิตามินซีเท่ากับวิตามินซีที่ผสมในอาหารชุดควบคุม

การเตรียมอาหารทดลอง

ผลิตอาหารทดลองด้วยวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้โดยทั่วไป ได้แก่ ปลาป่น รำละเอียด ปลายข้าว กากถั่วเหลือง ปริมาณโปรตีน 30% และมีพลังงานเท่ากันทุกสูตร (Table 1) และปรับให้มีปริมาณวิตามินซี 500 มก./อาหาร 1 กก. เท่ากันทุกสูตร โดยคำนวณจากปริมาณวิตามินซีและโปรตีนในพืชสมุนไพรดังกล่าวตามรายงานของ Maisuthisakul et al. (2008) อัดเม็ดด้วยเครื่องบดเนื้อ อาหารที่ผลิตได้จะนำไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 35 ˚C ประมาณ 6 ชม. เพื่อให้มีความชื้นเหลืออยู่ประมาณ 10% บรรจุอาหารทดลองในถุงพลาสติกแล้วเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ -20 ˚C ตลอดช่วงเวลาของการทดลอง

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลอง แบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ ผลิตอาหารทดลอง จำนวน 4 สูตร (**Table 1**) ใช้อาหารที่เสริมด้วยวิตามินซี 500 มก./อาหาร 1 กก. เป็นอาหารควบคุม ส่วนอาหารอีก 3 สูตร ได้แก่ อาหารที่เสริมด้วยสารสกัดจาก มะขามป้อม หอมแดง และดอกแค ระยะเวลาการทดลอง 90 วัน

Table 1 Ingredients of the experimental diets

Ingredients (%)	Diets			
	VC	MP	HD	DK
Fish meal	20.00	20.00	20.00	20.00
Rice bran	36.50	36.40	36.64	35.35
Soybean meal	30.50	30.57	30.55	30.75
Broken rice	12.50	12.24	12.00	12.87
Vitamin C	0.50	0	0	0
Phyllanthus emblica	0	0.79	0	0
Allium ascalonicum	0	0	0.81	0
Sesbania grandiflora	0	0	0	1.03
Crude protein (%)	30.0	30.0	30.0	30.0
Gross energy (Kcal/100 g)	375.99	374.82	374.73	373.85

VC: vitamin C supplement, MP: extract of *Phyllanthus emblica* supplement, HD: extract of *Allium ascalonicum* supplement, DK: extract of *Sesbania grandiflora* supplement

การเก็บและวิเคราะห์ข้อมูลด้านสมรรถนะการเจริญเติบโต

นับและชั่งน้ำหนักปลาในแต่ละกระชัง ทุกๆ 14 วัน ตลอดการทดลองในแต่ละการทดลอง นำข้อมูลที่ได้ไปปรับปริมาณการให้อาหาร และคำนวณหาค่าต่าง ๆ ได้แก่ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Total biomass increase), อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (Average Daily Weight Gain; ADG), อัตราการแลกเนื้อ (FCR) และอัตรารอด (Survival) %

การวิเคราะห์ทางกายภาพและเคมี

การวิเคราะห์อาหารทดลองและองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา (chemical composition)

วิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารอาหารในอาหารทดลองและเนื้อปลาเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลอง โดยวิธีการดังต่อไปนี้ วิเคราะห์หาโปรตีนโดย micro-Kjeldahl, ไขมันโดยวิธี dichloromethane extraction ตาม Soxlhet method, เยื่อใย โดยวิธี fritted glass crucible, เถ้า โดยการเผาใน muffle furnace 550 ˚C 12 ชม. และความชื้น โดยการอบแห้งในตู้อบ 105 ˚C 24 ชม. ตามวิธีการของ AOAC (1990)

การตรวจสอบระบบภูมิคุ้มกัน (non-specific immune responses)

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุ่มตัวอย่างปลาในแต่ละชุดการทดลองมาทดสอบระบบภูมิคุ้มกันโรค โดยวางยาสลบปลาด้วย MS222 80 มก./มล. ในน้ำที่มีการให้อากาศตลอดเวลา สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดจากปลาซ้ำละ 3 ตัว เก็บตัวอย่างเลือดจากโคนครีบหางตัวละประมาณ 0.5 มิลลิลิตร โดยใช้เข็มเบอร์ 25G ตามวิธีการของ CCAC (2005) นำไปวิเคราะห์ตามวิธีการต่อไปนี้

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Lowry (1961) โดยใช้ซีรั่มปลา 25 ไมโครลิตร เติมลงในถาดหลุมขนาดเล็ก (96-well plate) เติม Folin reagent 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที อ่านผลที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader (Multiskan GO 51119250, Japan) โดยใช้ Bovine serum albumin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) เป็นโปรตีนมาตรฐานในการเปรียบเทียบ

วิเคราะห์ปริมาณไลโซไซม์ในซีรั่มตามวิธีที่ดัดแปลงมาจาก Puangkaew *et al*. (2004) ใช้ซีรั่ม 100 ไมโครลิตร เติมลงในถาดหลุมขนาดเล็ก (96-well plate) เติมสารละลายแบคทีเรีย *Micrococcus lysodeikticus* ((Sigma-Aldrich, St.

Louis, MO, USA) 0.2 มก./มล. (ในสารละลาย 0.04 PBS, pH 6.0) จำนวน 50 ไมโครลิตร นำไปวัดความสามารถของไลโซไซม์ในซีรั่มในการย่อยสลายเชื้อแบคทีเรีย โดยสังเกตจากความขุ่นของเซลล์แบคทีเรียที่ลดลง ทุก 5 นาที ที่ความยาวคลื่นแสง 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader

การตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำ

ตรวจสอบคุณภาพน้ำในกระชังทดลองเมื่อเริ่มต้นและทุก 14 วันจนเสร็จสิ้นการทดลอง ทั้งในและนอกกระชัง ได้แก่ อุณหภูมิและ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ด้วยเครื่อง oxygen meter (Yellow Springs, YSI Model 59, USA), pH ด้วยเครื่อง pH meter (Schott-Geräte, CG 840, Netherlands) และ Total ammonia วิเคราะห์หาค่าโดยใช้ spectrophotometer (Hach, DR 2000, USA)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เพื่อศึกษาความแตกต่างของแต่ละทรีตเมนต์ จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์ โดยวิธีของ Tukey's test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

จากการศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชทดแทนวิตามินซี ได้แก่ มะขามป้อม (MP), หอมแดง (HD) และดอกแค (DK) ผสมในอาหารทดลองเลี้ยงปลานิลเป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหาร VC, MP และ HD มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักเพิ่ม และอัตราการเจริญเติบต่อวัน (ADG) สูงกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมดอกแค (DK) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สอดคล้องกับการทดลองของ Miguel et al.(1998) ทดลองเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารที่ใช้เมล็ดแค (*Sesbania grandiflora*) ทดแทนปลาป่น พบว่า ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองมีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักเพิ่ม ต่ำกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ทั้งนี้เพราะในพืชตระกูลแคมีสาร anti-nutrition (L-canavanine) ที่สามารถทนความร้อนและละลายได้ดีในตัวทำละลาย ซึ่งส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของปลา ในขณะที่ Maisuthisakul et al.(2008) กล่าวว่าในหอมแดงมีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิก และสารฟาโรโวนอยด์สูง ซึ่งสารฟีนอลลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระทำหน้าที่เป็นตัวออกซิเดชัน โดยการกำจัดอนุมูลอิสระ และช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของปลาได้ดี อย่างไรก็ตามการทดลองครั้งนี้ก็แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของการใช้พืชที่มีวิตามินซีสูงทดแทนการใช้วิตามินซีที่เป็นสารเคมีได้ โดย Maisuthisakul et al. (2008) รายงานว่า สารสกัดจากมะขามป้อม หอมแดง และดอกแค มีปริมาณวิตามินซีสูง 636.0, 616.4 และ 485.7 มก./100 ก. ตามลำดับ

อัตราการแลกเนื้อ (FCR) ของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสารสกัดจากพืชมีแนวโน้มดีกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารควบคุม (VC) ในการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับ Khalafalla (2009) และ Reverter et al. (2014) รายงานการทดลองใช้พืชสมุนไพรหลายชนิดผสมในอาหารเลี้ยงปลานิล พบว่า สามารถช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และอัตราการแลกเนื้อได้ อย่างไรก็ตามผลที่ได้ก็ยังคงแปรผันตามชนิดของพืชสมุนไพรที่ต่างกัน นอกจากนี้ Zaki et al. (2012) รายงานว่า ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมพืชสมุนไพรที่มีสารแอนตีออกซิเดนท์กลุ่ม ฟีโนลิค และฟลาโวนอยด์ สูงจะมีปรสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้น เพราะสารกลุ่มนี้สามารถช่วยเพิ่มการหลั่งของน้ำย่อย โดย Maisuthisakul et al. (2008) รายงานว่าสารสกัดจากมะขามป้อม มีสารโพลีฟีนอล กลุ่ม ฟีโนลิค และฟลาโวนอยด์ สูงกว่าหอมแดง และดอกแค ในการทดลองครั้งนี้จึงพบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหาร MP จึงมี FCR ไม่ต่างจากอาหาร VC ในขณะที่ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรอื่น (HD และ DK) มี FCR สูงกว่าอาหาร VC (อาหารควบคุม)

อัตราการรอดตาย ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในอาหารทดลองทุกสูตรกับชุดควบคุม ($P > 0.05$) สอดคล้องกับ Wutiporn (1994) ทำการทดลองใน ลูกปลานิล (น้ำหนัก 1.13-1.20 กรัม) พบว่าการเสริมวิตามินซีไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และอัตรารอด ทั้งนี้เพราะลูกปลาได้รับวิตามินซีจากอาหารอย่างพอเพียงอยู่แล้ว สอดคล้องกับข้อสรุปของ Shiau

and Hsu (1995) ที่ทดลองในปลานิลลูกผสม (*O. niloticus* x *O. aureus*) และ Stickney et al. (1984) ที่ทดลองในลูกปลานิล พบว่า การเสริมวิตามินซีไม่มีผลต่ออัตราการรอดของลูกปลา Cavichiolo et al. (2000) ทดลองเลี้ยงลูกปลานิลขนาด 0.30 ก. เป็นเวลา 57 วัน ด้วยอาหารเสริมวิตามินซี 300-1200 มก./กก. พบว่าลูกปลามีอัตรารอดไม่แตกต่างกัน และการเสริมวิตามินซีในอาหารมีผลต่อการป้องกันพาราไซต์ได้ดี Leonardo et al. (2000) ทดลองเสริมวิตามินซี 0-2000 มก./กก. ในอาหารอนุบาลลูกปลานิล ขนาด 0.13-0.20 ก. พบว่าลูกปลามีอัตรารอดไม่แตกต่างกัน

Table 2 Growth, feed conversion ratio and survival rate of tilapia after 90 days

Indicator	Diets			
	VC	MP	HD	DK
INITIAL weight (g)	53.55±2.23	53.97±2.13	53.96±2.16	53.35±1.82
FINAL weight (g)	259.64±7.83 [a]	271.97±2.86 [a]	269.49±2.10 [a]	245.45±4.76 [b]
weight gain (g)	206.09±7.69 [a]	218.00±3.07 [a]	215.53±2.70 [a]	192.10±4.43 [b]
ADG (g/day)	2.29±0.09 [a]	2.42±0.03 [a]	2.40±0.02 [a]	2.14±0.05 [b]
FCR	3.81±0.12 [a]	3.44±0.42 [ab]	3.16±0.10 [b]	3.09±0.07 [b]
Survival (%)	100.0±0.1	100.0±0.00	99.3±0.52	95.0±5.02

Means + SD within a row with different superscripts letters are significantly different ($p<0.05$) as determined by Tukey' test.
VC: vitamin C supplement, MP: extract of *Phyllanthus emblica* supplement, HD: extract of *Allium ascalonicum* supplement, DK: extract of *Sesbania grandiflora* supplement
ADG: Average daily weight gain, FCR: Feed conversion ratio

องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลา

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลานิลภายหลังเสร็จสิ้นการทดลอง (**Table 3**) พบว่า มีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 58.49%-62.86% (น้ำหนักแห้ง) โดยปริมาณโปรตีนในเนื้อปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหาร HD มีค่าต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรอื่น แต่ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหาร MP มีปริมาณโปรตีนในเนื้อปลาไม่แตกต่างจากอาหารควบคุม (VC) สอดคล้องกับ Miguel et al. (1998) รายงานว่าการใช้เมล็ดแค (*Sesbania grandiflora*) ผสมในอาหารเลี้ยงปลานิลจะส่งผลให้ ปริมาณโปรตีนและไขมันในเนื้อปลาลดต่ำลง โดยเป็นผลมาจากสาร anti-nutrition ในพืชตระกูลแค นอกจากนี้ มีงานวิจัยจำนวนมากระบุว่า องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลาที่แตกต่างกันเป็นผลมาจาก ปริมาณอาหารที่ได้รับ อัตราการเจริญเติบโตของปลาในแต่ละช่วงวัย วัตถุดิบที่เป็นองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงปลา และองค์ประกอบทางเคมีและสารอาหารในอาหารเลี้ยงปลา (Degani et al., 1989; Toko et al., 2007; Toko et al., 2008)

ปริมาณไขมันในเนื้อปลาที่เลี้ยงด้วยอาหาร HD มีค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับอาหารสูตรอื่น แต่ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหาร VC MP และ DK มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และปริมาณเถ้าในเนื้อปลาที่กินอาหาร DK มีค่าสูงกว่าปลาที่กินอาหาร MP และ HD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่าง ($P > 0.05$) จากปลาที่กินอาหารควบคุม (VC) โดย Maisuthisakul et al. (2008) รายงานว่าสารสกัดจากมะขามป้อม มีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้าต่ำกว่า หอมแดง และดอกแค มาก โดยมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 1.9, 21.4 และ 24.7 ก./100 ก. ตามลำดับ และมีปริมาณไขมันและเถ้าเท่ากับ 1.1, 3.8, 2.2 และ 2.5, 7.5, 7.9 ตามลำดับ ดังนั้นปริมาณสารอาหารในสารสกัดจากพืชที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้จึงไม่น่าส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลา ผลการทดลองที่ได้จึงเป็นผลมาจาก

ปริมาณวิตามินซีและสารแอนตีออกซิเดนท์ที่แตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด ซึ่งผลการทดลองในครั้งนี้ พบว่า องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลาที่กินอาหาร MP ไม่แตกต่างจากอาหาร VC

Table 3 Proximate composition (% dry weight) in tilapia meat fed experimental diets after 90 days

Indicator	Diets			
	VC	MP	HD	DK
Moisture	72.30±0.52	72.52±0.90	73.47±0.07	73.22±0.45
Crude protein	62.85±0.02 [a]	62.57±0.42 [a]	60.59±0.38 [b]	58.49±0.42 [c]
Crude lipid	12.05±0.05 [a]	11.99±0.59 [a]	13.21±0.66 [b]	11.76±0.10 [a]
Ash	5.83±0.05 [a]	5.59±0.16 [b]	5.61±0.02 [b]	5.92±0.02 [a]

Means + SD within a row with different superscripts letters are significantly different ($p<0.05$) as determined by Tukey' test.
VC: vitamin C supplement, MP: extract of *Phyllanthus emblica* supplement, HD: extract of *Allium ascalonicum* supplement, DK: extract of *Sesbania grandiflora* supplement

ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหาร MP มีปริมาณฮีมาโตคริต และปริมาณโปรตีนในซีรั่มสูงกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหาร DK อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (VC) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) Reverter et al. (2014) กล่าวว่าสารสกัดจากพืชถูกนำมาใช้ผสมอาหารในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพิ่มมากขึ้น เพราะมีคุณสมบัติในการช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำ China et al. (2012) รายงานว่าสารกลุ่มโพลีฟีนอลจะไม่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็ก แต่จะทำงานร่วมกับจุลินทรีย์ในลำไส้ช่วยสร้างภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย นอกจากนี้สารกลุ่มโพลีฟีนอลยังสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้อีกด้วย Maisuthisakul et al. (2008) รายงานว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีสารโพลีฟีนอล กลุ่ม ฟีโนลิค และฟลาโวนอยด์ สูงกว่าหอมแดง และดอกแค (69.1, 55.7, 58.6 และ 23.4, 20.2, 13.1 มก./ก. db(dried basis) ตามลำดับ) El-Barabay และ Mehrim (2009) และ Zaki et al. (2012) พบว่าระดับภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ เช่น พลาสมา โปรตีน, ฮีมาโตคริต และฮีโมโกลบิน ในปลานิลที่ทดลองเลี้ยงด้วยอาหารผสมพืชสมุนไพรหลายชนิดแปรผันตามชนิดของพืชสมุนไพร โดยปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมพืชที่มีปริมาณและชนิดของสาร แอนตีออกซิแดนท์สูงจะมีระดับภูมิคุ้มกันที่ไม่จำเพาะสูงกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปริมาณสาร แอนตีออกซิแดนท์ต่ำ

สูตรอาหารที่ต่างกันในการทดลองครั้งนี้ไม่ส่งผลต่อ ปริมาณ ซีรั่มไลโซไซม์ ปริมาณเม็ดเลือดแดง และปริมาณเม็ดเลือดขาว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) Yin et al., (2006) รายงานว่าไลโซไซม์เป็นระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ระดับไลโซไซม์ ในเลือดปลาจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อปลาเกิดการติดเชื้อหรือได้รับสิ่งแปลกปลอม มีงานวิจัยจำนวนมากที่รายงานว่าพืชสมุนไพรหลายชนิดกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มระดับของไลโซไซม์ การทดลองในปลานิลพบว่า สารสกัดจากสมุนไพรจีน อึ่งคี้ (*Astagalus* root) กระตุ้นให้เกิดการเพิ่มระดับไลโซไซม์ได้ แต่สารสกัดจาก อึ่งงิ้ม (*Scutellaria*) ไม่เพิ่มระดับระดับไลโซไซม์ในปลานิล อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยยืนยันได้ว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยที่ใช้ทางการแพทย์หลายชนิดช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันและต้านเชื้อก่อโรคในสัตว์น้ำได้ เช่น ต้านทานเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และ เชื้อ *Aphanomyces invadans* ในปลาไน (Harikrishnan et al., 2003; Harikrishnan et al., 2005)

Table 4 Non-specific immune of tilapia after 90 days

Parameter	Diets			
	VC	MP	HD	DK
Hematocrit (%)	27.60±0.09 [ab]	28.90±0.87 [a]	26.26±0.66 [b]	27.40±0.26 [b]
Plasma protein (mg/L)	2.97±0.02 [a]	3.08±0.05 [a]	2.90±0.02 [ab]	2.75±0.12 [b]
Serum lysozyme (µg/mL)	16.35±0.61	16.06±0.38	16.39±0.55	16.01±0.14
Red blood cell (10^6 cell/ul)	1.64±0.28	1.79±0.16	1.43±0.14	1.82±0.17
White blood cell (%)	8.15±0.35	9.19±0.74	8.04±0.40	8.01±0.16

Means + SD within a row with different superscripts letters are significantly different ($p<0.05$) as determined by Tukey' test.
VC: vitamin C supplement, MP: extract of *Phyllanthus emblica* supplement, HD: extract of *Allium ascalonicum* supplement, DK: extract of *Sesbania grandiflora* supplement

คุณภาพน้ำในบ่อทดลอง

คุณภาพน้ำในบ่อทดลอง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และ มีคุณภาพน้ำเหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงปลานิล (Bhujel, 2000) และไม่ก่อให้เกิดมลพิษ ไม่เกินค่ามาตรฐาน ในประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด (Announcement of the Ministry of Natural Resources and Environment: Issue 2, 2008)

Table 5 water quality in the experimental pond

Indicator	Diets			
	VC	MP	HD	DK
Temperature(C)	27.93±0.52	28.58±0.09	28.05±0.73	28.50±0.33
Dissolve oxygen (DO) (mg/l)	4.05±0.42	4.04±0.21	4.19±0.45	3.92±0.12
pH	7.67±0.09	7.54±0.12	7.58±0.17	7.62±0.05
Total Ammonia (mg/l)	0.16±0.02	0.15±0.03	0.13±0.03	0.14±0.02

Means + SD within a row with different superscripts letters are significantly different ($p<0.05$) as determined by Tukey' test.
VC: vitamin C supplement, MP: extract of *Phyllanthus emblica* supplement, HD: extract of *Allium ascalonicum* supplement, DK: extract of *Sesbania grandiflora* supplement

สรุป

ผลการทดลองในครั้งนี้สรุปได้ว่า สามารถใช้สารสกัดจากมะขามป้อม (MP) เสริมในอาหารทดลองเลี้ยงปลานิลแทนการใช้วิตามินซี โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลา และภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้การสนับสนุนในการจัดสรรงบประมาณวิจัย รหัสโครงการวิจัย มจ. 1-62—01-011.4 และขอขอบคุณคณาจารย์ ข้าราชการและเจ้าหน้าที่ คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และบุคคลอื่นที่มิได้กล่าวถึงในที่นี้ ที่ได้ให้ความเกื้อหนุน ทำให้การวิจัยในครั้งนี้เสร็จสิ้นอย่างสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

Announcement of the Ministry of Natural Resources and Environment: Issue 2. 2008. Freshwater Aquaculture Discharge Water Criteria Standard. In Royal Government Gazette, 125, Part 21 Ngor, dated January 30, 2008 (pp. 16-19). Ministry of Natural Resources and Environment, Thailand. [In Thai]

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.

Bhujel, R.C. 2000. A review of strategies for the management of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish in seed production systems, especially hapa-based systems. Aquaculture. 181: 37-59.

Cavichiolo, F., L. D. Vargus, R. P. Ribeiro, H.L.M. Moreira, D. Botaro, and J.M. Leonardo. 2000. Different levels of vitamin C (Ascorbic acid) and occurrence of ectoparasites, survival and biomass in fingerlings of Tilapia (*Oreochromis niloticus*). P: 512-523. In: K. Fitzsimmons and J.C. Filho. Tilapia Aquaculture in the 21st century. Proceedings from the fifth international symposium on Tilapia aquaculture. 3-7 September 2000, RJ, Brazil.

CCAC. 2005. CCAC guidelines on: the care and use of fish in research, teaching and testing. Canadian Council on Animal Care. Ottawa, CANADA.

China, R., S. Mukherjee, S. Sen, S. Bose, S. Datta, H. Koley, S. Ghosh, and P. Dhar. 2012. Antimicrobial activity of *Sesbania grandiflora* flower polyphenol extracts on some pathogenic bacteria and growth stimulatory effect on the probiotic organism *Lactobacillus acidophilus*. Microbiological Research. 67: 500-506

Degani, G., Y. Ben-Zvi, and D. Levanon. 1989. The effect of different protein levels and temperatures on growth and feed utilization, growth and body composition of *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). Aquaculture. 76: 293–301.

El-Barabay, M.I. and A. I. Mehrim. 2009. Protective effect of antioxidant medicinal herbs, rosemary and parsley ,on sub acute aflatoxicosis in Nile tilapia, *O. niloticus*). Journal of Fisheries and Aquatic Science. 4(4): 178-190.

FAO. 2002. Antibiotics Residue in Aquaculture Products. The State of World Fisheries and Aquaculture, Rome.

Harikrishnan R, M. Nisha Rani, and C. Balasundaram C. 2003. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. Aquaculture. 221: 41-50

Harikrishnan, R., C. Balasundaran, and R. Bhuvaneswari. 2005. Restorative effect of *Azadirachta indica* aqueous leaf extract dip treatment on haematological parameter changes in *Cyprinus carpio* (L.) experimentally infected with *Aphanomyces invadans* fungus. Journal of Applied Ichthyology. 21: 410-414.

Harikrishnan, R., C. Balasundaramb, and M.S. Heo. 2010a. Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophila*. Fish & Shellfish Immunology. 28: 354-361.

Harikrishnan, R., J. Heo, C. Balasundaramb, M.C. Kima, J.S. Kima, Y. J. Han, and M.S. Heo. 2010 b. Effect of traditional Korean medicinal (TKM) triherbal extract on the innate immune system and disease resistance in *Paralichthys olivaceus* against *Uronema marinum.* Veterinary Parasitology. 170: 1–7.

Toko, I., E.D. Fiogbe, B. Koukpode, and P. Kestemont, 2007. Rearing of African catfish (*Clarias gariepinus*) and vundu catfish (*Heterobranchus longifilis*) in traditional fish ponds (whedos): effect of stocking density on growth, production and body composition. Aquaculture. 262: 65–72.

Toko, I., E.D. Fiogbe, B. Koukpode, and P. Kestemont. 2008. Mineral status of African catfish (*Clarias gariepinus*) fed diets containing graded levels of soybean or cottonseed meals. Aquaculture. 275: 298-305.

Khalafalla, M.E. 2009. Utilization of some medical plants as feed additives for Nile tilapia, *O. niloticus*, feeds. Mediterranean Aquaculture Journal. 2: 10-19.

Leonardo, J.M.L.O., L. Vargas, R.P. Ribeiro, F. Cavichiolo, and H.L. Marques. 2000. Effect of different levels of vitamin C on ectoparasite occurrence, survival rate and total biomass of thailandese Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae. P: 512-523. In: K. Fitzsimmons and J.C. Filho. Tilapia Aquaculture in the 21st century. Proceedings from the fifth international symposium on Tilapia aquaculture, 3-7 September 2000, RJ, Brazil.

Lowry, O.H., N. J. Rosenbough, A. L. Farr, and R. J. Randall. 1961. Protein measurement with the Folin phenol reagent**.** The Journal of Biological Chemistry. 193: 265-275.

Maisuthisakul, P., S., Pasukb, and P. Ritthiruangdej. 2008. Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. Journal of Food Composition and Analysis. 21: 229–240.

Miguel A., N. Olvera, A. Carlos, P. Martinez, C. R. Galvan, and C. Chaves. 1988. The use of seed of the leguminous plant *Sesbania grandiflora* as a partial replacement for fish meal in diets for tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Aquaculture. 71: 51-60.

Puangkaew, J., V. Kiron, T. Somamoto, N. Okamoto, S. Satoh, T. Takeuchi, and T. Watanabe. 2004. Nonspecific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids. Fish Shellfish Immunol 16: 25-39.

Reverter, M., N. Bontemps, D. Lecchini, B. Banaigs, and P. Sasal. 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. Aquaculture. 433: 50–61.

Shiau, S.Y. and T.S.L. Hsu. 1995. L-ascorbyl-2-sulfate has equal antiscorbutic activity as L-ascorbyl-2-monophosphate for tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. Aquaculture. 133: 147-157.

Stickney, R.R., R.B. Mc Geachin, D.H. Lewis, J. Mazks, A. Riggs, E.H. Robinson, and W. Wurts. 1984. Response of tilapia aurea (*Oreochromis aureus*) to dietary vitamin C. Journal of the World Mariculture Society. 15: 179-185.

Wutiporn, P. 1994. Effect of vitamin C levels on growth performance, feed conversion rates, survival rates and histopathology of gill, liver and kidney of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University. 16: 113-124.

Yin, G., G. Jeney, T. Racz, P. Xu, X. Jun, and Z. Jeney. 2006. Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture. 253: 39–47.

Yin, G., L. Ardo, K.D. Thompson, A. Adams, Z. Jeney, and G. Jeney. 2009. Chinese herbs (*Astragalus* radix and *Ganoderma lucidum*) enhance immune response of carp, *Cyprinus carpio*, and protection against *Aeromonas hydrophila*. Fish & Shellfish Immunology. 26: 140–145.

Zaki, M. A., E. M. Labib, A. M. Nour, H. D. Tonsy, and S. H. Mahmoud. 2012. Effect some medicinal plants diets on mono sex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), growth performance, feed utilization and physiological parameters. APCBEE Procedia. 4: 220-227.