



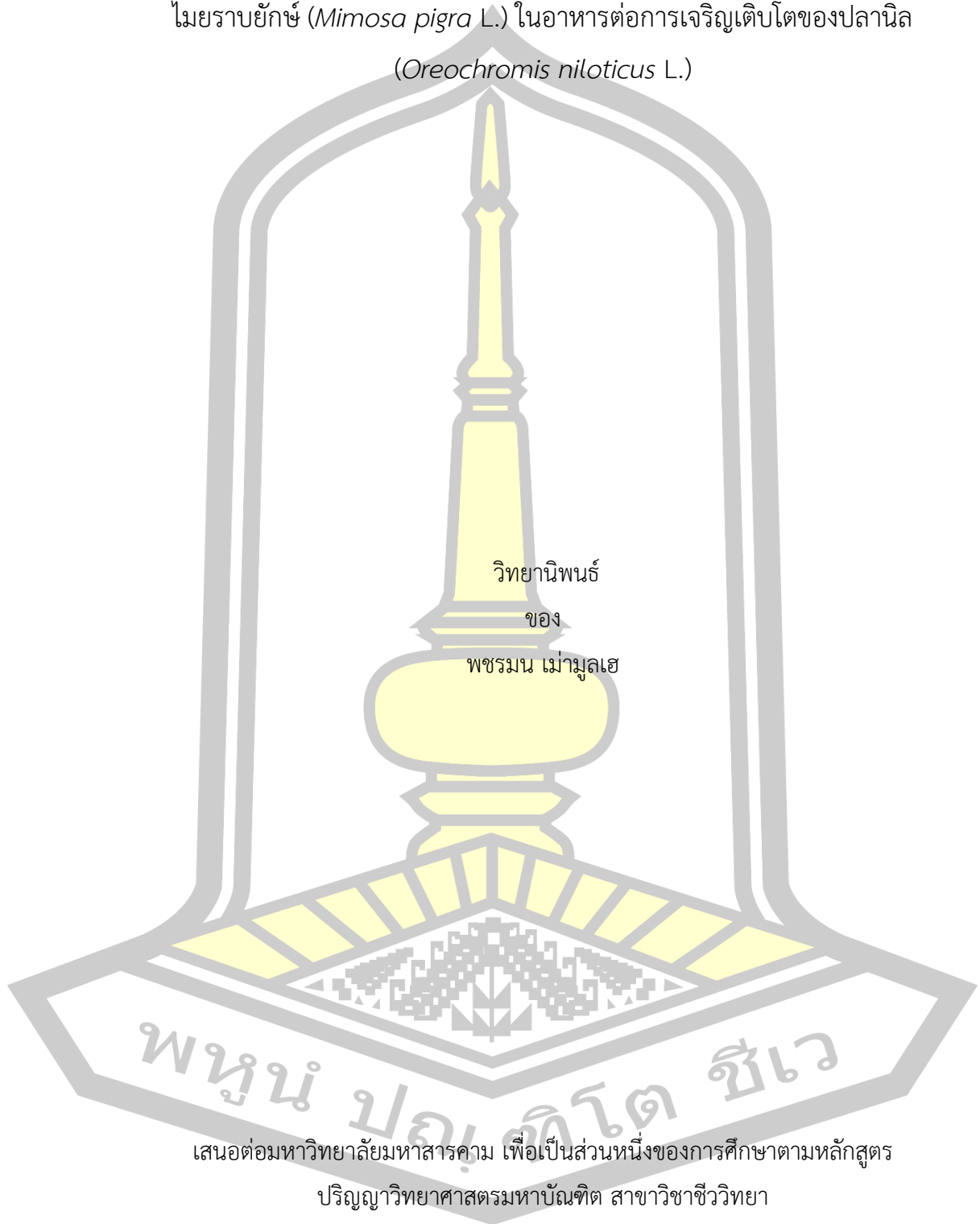
อิทธิพลจากการใช้ใบกระถิน (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) และใบไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra* L.) ในอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลานิล (*Oreochromis niloticus* L.)

วิทยานิพนธ์
ของ
พชรมน แม่มูลเฮ

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
ตุลาคม 2561

สงวนลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

อิทธิพลจากการใช้ใบกระถิน (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) และใบ
ไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra* L.) ในอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลานิล
(*Oreochromis niloticus* L.)



เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

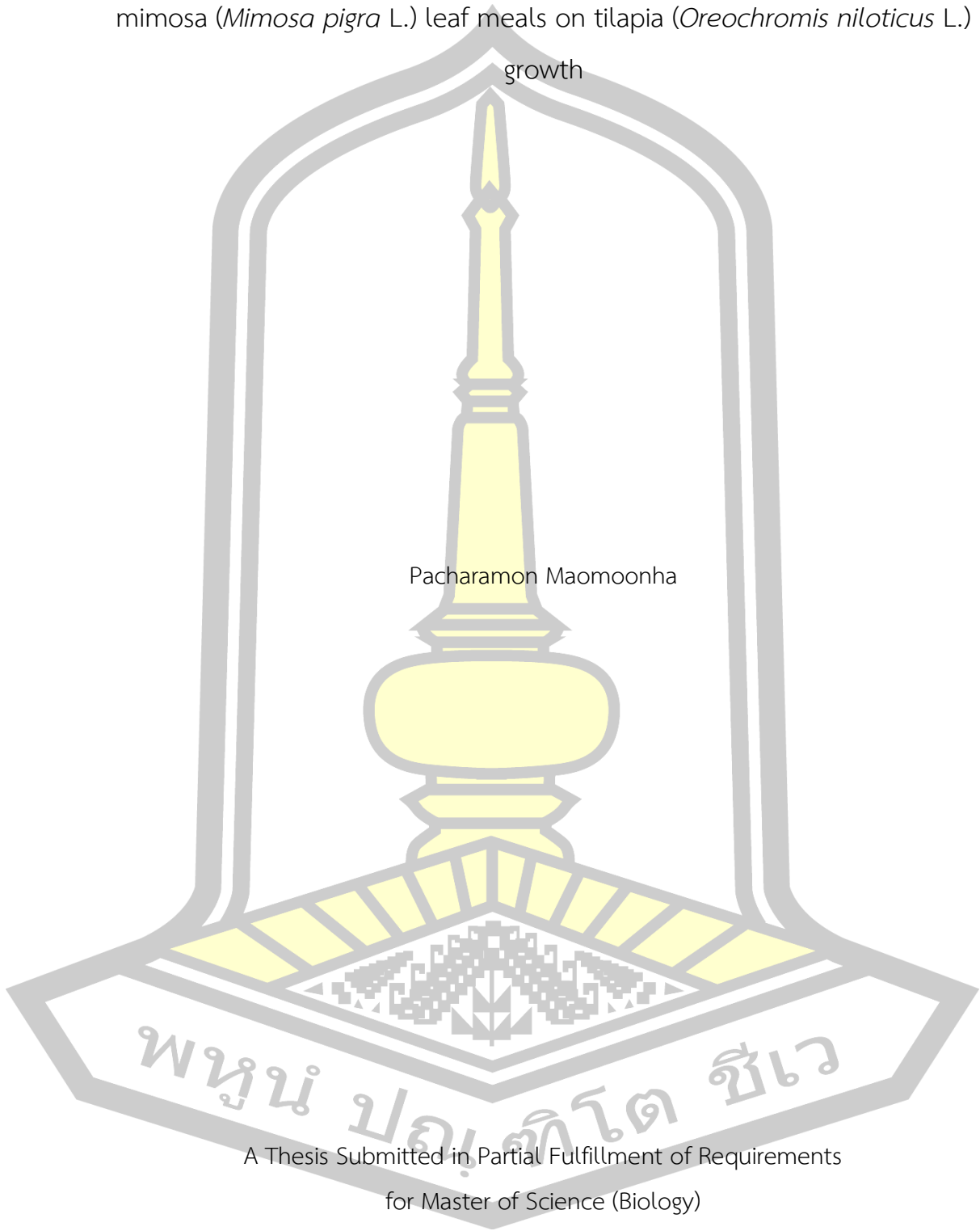
ตุลาคม 2561

สงวนลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Effects of lead tree (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) and giant mimosa (*Mimosa pigra* L.) leaf meals on tilapia (*Oreochromis niloticus* L.)

growth

Pacharamon Maomoonha



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements
for Master of Science (Biology)

October 2018

Copyright of Maharakham University



คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนางสาวพรรณน เม่ามูลเฮ
แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ประธานกรรมการ

(ดร. พักพล มุ่งลือ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผศ. ดร. ปิยนุช คະណະมา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผศ. ดร. จิณฉัตร มานะเสถียร)

กรรมการ

(ผศ. ดร. วิลาวัณย์ พร้อมพรม)

กรรมการ

(ดร. บุษรา ยงค์คำซา)

มหาวิทยาลัยขอนแก่นให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

(ศ. ดร. ไพโรจน์ ประมวล)

(ผศ. ดร. กริสน์ ชัยมูล)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วัน.....เดือน.....ปี.....

ชื่อเรื่อง	อิทธิพลจากการใช้ใบกระถิน (<i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit) และใบไมยราบยักษ์ (<i>Mimosa pigra</i> L.) ในอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลานิล (<i>Oreochromis niloticus</i> L.)		
ผู้วิจัย	พชรมน เม่ามูลเฮ		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยนุช คະເນມາ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จินฉนวนทร์ มานะเสถียร		
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	สาขาวิชา	ชีววิทยา
มหาวิทยาลัย	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	ปีการศึกษา	2561

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้ใบกระถิน (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de wit) และใบไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra* L.) เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในอาหารเลี้ยงปลานิล (*Oreochromis niloticus* L.) โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ตอน คือ ตอนที่ 1 ตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการ สารพิษทุกชนิด (แทนนิน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และมิโมซิน) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษในรูปของสารสกัดหยาบ และตอนที่ 2 ทดสอบประสิทธิภาพของพืชอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลานิลวัยรุ่น ผลการศึกษา พบว่า ใบกระถินและใบไมยราบยักษ์มีคุณค่าโภชนาการค่อนข้างสูง โดยเฉพาะโปรตีนมีค่าเท่ากับ $16.63 \pm 1.25\%$ และ $25.38 \pm 1.25\%$ ตามลำดับ ปริมาณแทนนินและมิโมซินในใบกระถินมีค่ามากกว่าใบไมยราบยักษ์ ($95.22 \pm 0.62 > 93.56 \pm 0.62$ mg TNE/g และ $0.16 \pm 0.02 > 0.09 \pm 0.02$ mg MME/g) แต่สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าต่ำกว่า ($4.97 \pm 0.99 < 5.72 \pm 0.30$ mg GAE/g) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในใบไมยราบยักษ์สูงกว่าใบกระถิน ($IC_{50} 706.14 \pm 51.82 > 770.22 \pm 80.61$ $\mu\text{g/ml}$) เมื่อทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันกับไรทะเล พบว่า ในระยะทดสอบ 24 ชั่วโมง สารสกัดหยาบใบกระถินและสารสกัดหยาบใบไมยราบยักษ์มีค่า LC_{50} อยู่ในช่วงระหว่าง 187.48 - 366.76 $\mu\text{g/ml}$ และ 373.12 - 666.83 $\mu\text{g/ml}$ จากการนำพืชทั้ง 2 ชนิดไปใช้เป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงปลา โดยแบ่งเป็น 7 กลุ่มทดลอง ได้แก่ กลุ่ม T0 อาหารปลาสำเร็จรูป (กลุ่มควบคุม) กลุ่ม T1 อาหารปลาสำเร็จรูป+ใบกระถิน 10% กลุ่ม T2 อาหารปลาสำเร็จรูป+ใบกระถิน 20% กลุ่ม T3 อาหารปลาสำเร็จรูป+ใบกระถิน 30% กลุ่ม T4 อาหารปลาสำเร็จรูป+ใบไมยราบยักษ์ 10% กลุ่ม T5 อาหารปลาสำเร็จรูป+ใบไมยราบยักษ์ 20% และกลุ่ม T6 อาหารปลาสำเร็จรูป+ใบไมยราบยักษ์ 30% พบว่า ทุกกลุ่มทดลองมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย (Weight gain; WG) อัตราเจริญเติบโต (Average daily gain; ADG) และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Protein efficacy ratio; PER) เพิ่มขึ้นแต่ต่ำกว่ากลุ่ม T0 ส่วนอัตรา

การแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio; FCR) ทุกกลุ่มทดลองมีค่ามากกว่ากลุ่ม T0 ผลการวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา พบว่า ทุกกลุ่มทดลองมีค่าจำนวนเม็ดเลือดแดง (Red Blood Cell; RBC) เม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit; Hct) และปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง (Mean corpuscular volume; MCV) ต่ำกว่ากลุ่ม T0 ส่วนจำนวนเม็ดเลือดขาว (White blood cell; WBC) ในกลุ่ม T6 มีค่ามากกว่ากลุ่มอื่นอย่างชัดเจน ค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin; Hb) ในทุกกลุ่มที่ผสมไบโอมยราบยักซ์มีค่าต่ำกว่ากลุ่ม T0 ส่วนปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยต่อเซลล์เม็ดเลือดแดง (Mean corpuscular hemoglobin; MCH) และความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเซลล์เม็ดเลือดแดง (Mean corpuscular hemoglobin concentration; MCHC) ของกลุ่มทดลองมีค่ามากกว่ากลุ่ม T0 (ยกเว้น ค่า MCH ของกลุ่ม T1) และผลการวิเคราะห์จุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับและม้าม พบว่า กลุ่ม T1, T2, T4 และ T5 ไม่แตกต่างจากกลุ่ม T0 ยกเว้น กลุ่ม T3 และ T6 ที่พบว่ามีภาวะเสื่อม (Degeneration) ของเนื้อเยื่อตับและมีการแทรกตัวของเมลานโนแมคโครฟาจเซนเตอร์ (Melanomacrophage center) ในเนื้อเยื่อม้ามเป็นจำนวนมาก

สรุป จากผลการทดลองพบว่าพืชทั้ง 2 ชนิดสามารถนำไปเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในอาหารเลี้ยงปลานิลวัยรุ่นได้ โดยปริมาณการใช้ไม่ควรเกิน 20% อาหารแห้ง จึงจะไม่ส่งผลกระทบต่อ การเจริญเติบโต ค่าทางโลหิตวิทยา และจุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับและม้าม

คำสำคัญ : ไบโอมยราบยักซ์, คุณค่าโภชนะ, ปลานิล

พหุบัณฑิตวิทยาลัย

TITLE	Effects of lead tree (<i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit) and giant mimosa (<i>Mimosa pigra</i> L.) leaf meals on tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i> L.) growth		
AUTHOR	Pacharamon Maomoonha		
ADVISORS	Assistant Professor Piyanut Khanema , Ph.D. Assistant Professor Jinnawat Manasathien , Ph.D.		
DEGREE	Master of Science	MAJOR	Biology
UNIVERSITY	Maharakham University	YEAR	2018

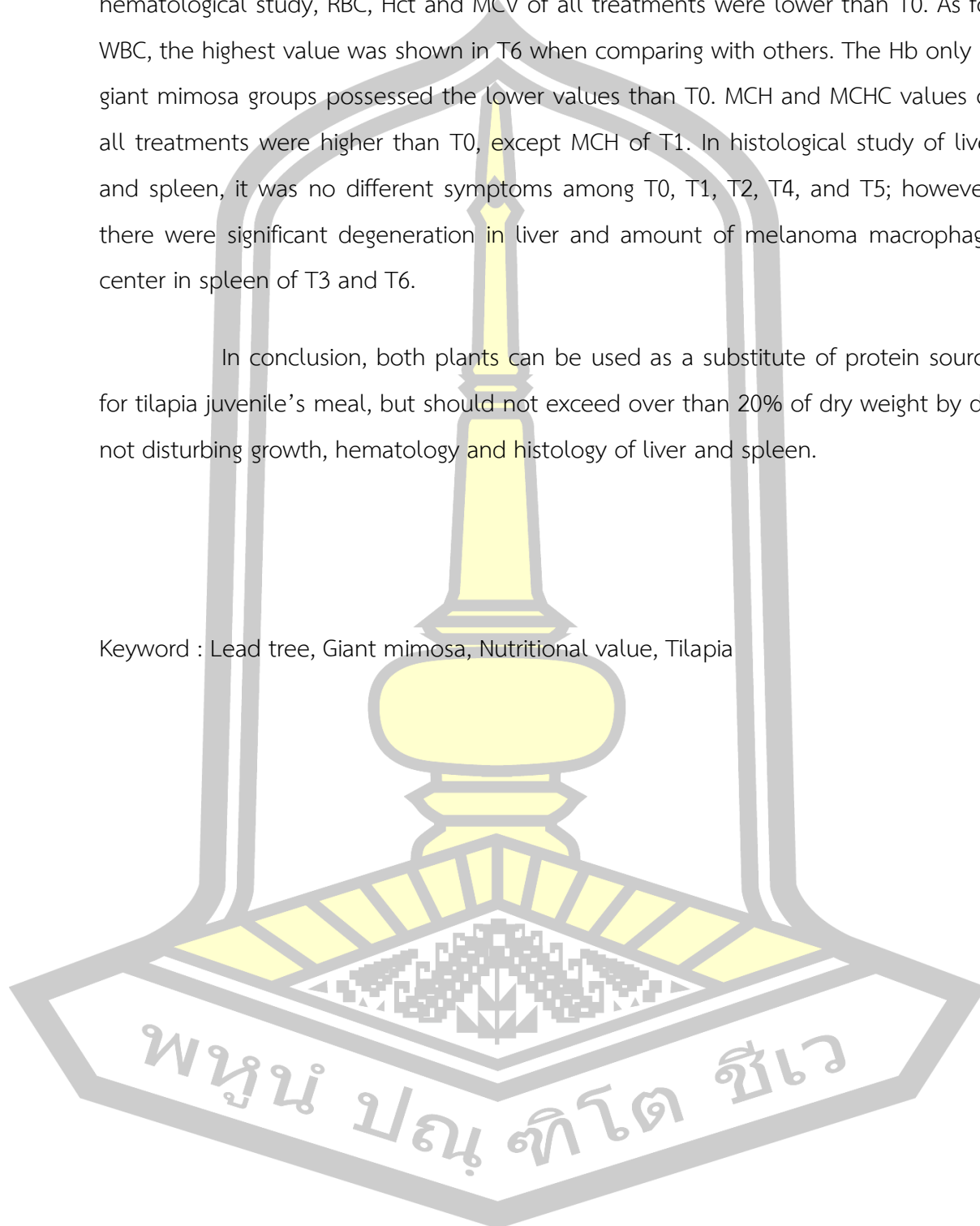
ABSTRACT

This research aimed to study the application of lead tree (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de wit) and giant mimosa (*Mimosa pigra* L.) leaves for a protein source of in tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) meal. The experiment was divided into 2 sections: (i) to investigate nutritional values, phytochemicals (tannin, total phenolic compounds and mimosine), antioxidation, and toxicity of the plant crude extracts; and (ii) to evaluate the potential of the forages on tilapia juvenile's growth. The findings found that the nutritional values of the two plants were relatively high, especially the protein content about $16.63 \pm 1.25\%$ and $25.38 \pm 1.25\%$, respectively). As for phytochemical estimation, tannin and mimosine of lead tree leaves were rather than that of giant mimosa ($95.22 \pm 0.62 > 93.56 \pm 0.62$ mg TNE/g and $0.16 \pm 0.02 > 0.09 \pm 0.02$ mg MME/g), but the antioxidation potential was lower ($IC_{50} 706.14 \pm 51.82 > 770.22 \pm 80.61$ μ g/ml). As for the toxicity study, LC_{50} at 24 hr. of lead tree and giant mimosa crude extract show that ranged between 187.48 - 366.76 μ g/ml and 373.12 - 666.83 μ g/ml, respectively. In the second section, there were 7 treatments composing of different forage ingredients in fish meal: T0, instant meal (the control group); T1, instant meal + lead tree 10%; T2, instant meal + lead tree 20%; T3, instant meal + lead tree 30%; T4, instant meal + giant mimosa 10%; T5, instant meal + giant mimosa 20%; and T6, instant meal + giant mimosa 30%. The findings found that all treatments had an increasing of WG, ADG and PER, but the

results lowered than T0. Conversely, FCR of all treatments was greater than T0. In hematological study, RBC, Hct and MCV of all treatments were lower than T0. As for WBC, the highest value was shown in T6 when comparing with others. The Hb only in giant mimosa groups possessed the lower values than T0. MCH and MCHC values of all treatments were higher than T0, except MCH of T1. In histological study of liver and spleen, it was no different symptoms among T0, T1, T2, T4, and T5; however, there were significant degeneration in liver and amount of melanoma macrophage center in spleen of T3 and T6.

In conclusion, both plants can be used as a substitute of protein source for tilapia juvenile's meal, but should not exceed over than 20% of dry weight by do not disturbing growth, hematology and histology of liver and spleen.

Keyword : Lead tree, Giant mimosa, Nutritional value, Tilapia



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยนุช คະณมา ที่คอยช่วยเหลือ ดูแลการวิจัย และช่วยแนะนำเกี่ยวกับรายละเอียดต่างๆ ในการทดลองของผู้วิจัย ตลอดจนช่วยแก้ไขตรวจสอบรายละเอียดในงานวิจัย ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิณณวัตร มานะเสถียร ที่กรุณาให้คำปรึกษา และช่วยแก้ไขปัญหาคำถามต่างๆ และคอยช่วยแนะนำรายละเอียดในงานวิจัย เพื่อให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร. พักพล มุ่งลือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิลาวัลย์ พร้อมพรม และอาจารย์ ดร. บุษรา ยงคำชา ที่ช่วยตรวจสอบและแนะนำรายละเอียดต่างๆ ในงานวิจัยนี้ รวมถึงขอกราบขอบคุณ ครอบครัวและผู้ที่ไม่ได้เอ่ยนามทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำวิจัยในครั้งนี้จนเสร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และสุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ โครงการพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ (ทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย) ที่สนับสนุนทุน อันเป็นผลทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

พชรมน เม่ามูลเฮ



พหุณ ปณุ ทิโต ชีเว

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ณ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
1.4 สถานที่วิจัย.....	3
1.5 ระยะเวลาในการทำวิจัย.....	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
1.7 นิยามคำศัพท์.....	4
บทที่ 2 ปรัชศน์เอกสารข้อมูล.....	6
2.1 ปลานิล (<i>Oreochromis nilotica</i> L.).....	6
2.2 กระจิน (<i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit).....	7
2.3 ไมยราบยักษ์ (<i>Mimosa pigra</i> L.).....	7
2.4 คุณค่าทางโภชนะที่พบได้ในใบกระจินและใบไมยราบยักษ์.....	8
2.5 สารสำคัญในกระจินและไมยราบยักษ์.....	9
2.6 คุณค่าโภชนะในอาหารเลี้ยงปลานิล.....	12

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	13
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	17
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	17
3.2 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	21
3.2.1 วิธีการเก็บตัวอย่างพืชใบกระถินและใบไมยราบยักษ์	21
3.2.2 วิธีการเตรียมสารสกัดหยาบ	21
3.2.3 วิธีการวิเคราะห์ฟลักซ์เคมี.....	21
3.2.4 วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH.....	22
3.2.5 วิธีการเตรียมสิ่งมีชีวิตที่ใช้ทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน	22
3.2.6 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน	22
3.2.7 ตรวจสอบวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนา.....	23
3.2.8 วิธีหาค่าประกอบทางเคมีของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์.....	25
3.2.9 วิธีการประยุกต์ใช้ใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ในการผลิตอาหารปลานิล	26
3.2.10 การเลี้ยงปลานิล.....	26
3.2.11 การวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา	29
3.2.12 การเตรียมชิ้นเนื้อของอวัยวะต่าง ๆ เพื่อทำสไลด์	31
3.2.13 เกณฑ์การให้คะแนนระดับความเสียหายของเนื้อเยื่อ.....	31
3.2.14 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	32
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปราย	33
4.1 คุณค่าโภชนาของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์.....	33
4.2 ผลผลิตจากกระบวนการสกัด.....	34
4.3 ปริมาณแทนนิน	35
4.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	37
4.5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH.....	39

4.6 ปริมาณมิโมซิน.....	41
4.7 ความเป็นพิษเฉียบพลัน	42
4.8 คุณค่าโภชนะของสูตรอาหารต่าง ๆ ที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิล	45
4.9 สภาพภูมิอากาศในการเลี้ยงปลานิล.....	47
4.10 ผลต่อการเจริญเติบโตของปลานิล	47
4.11 ผลต่อการแลกเปลี่ยนอาหาร	51
4.12 ผลต่อน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะของปลานิล.....	52
4.13 ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยาของปลานิล.....	54
4.14 จุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับและม้าม	58
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	69
บรรณานุกรม.....	71
ประวัติผู้เขียน.....	97



สารบัญตาราง

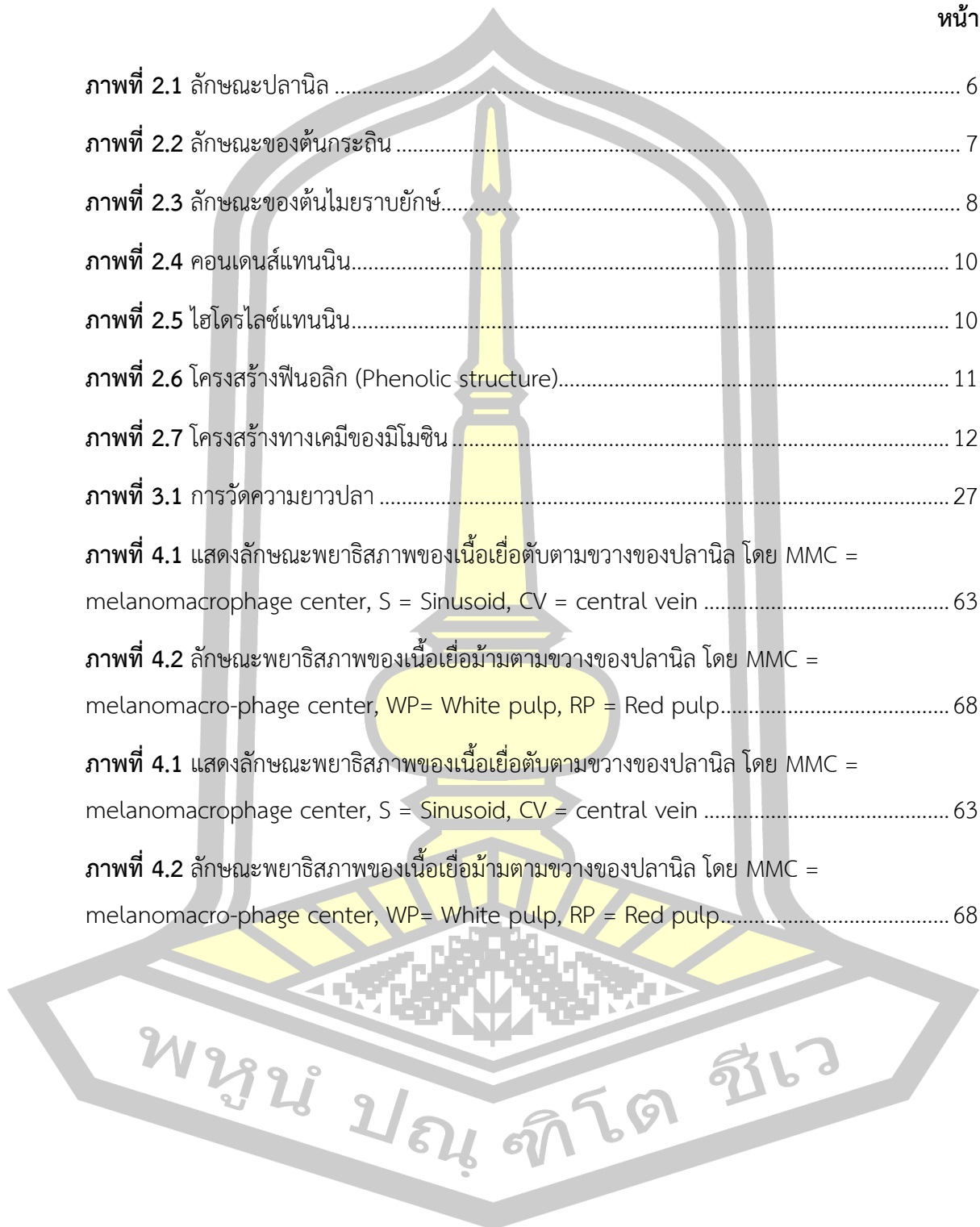
	หน้า
ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของใบกระถิน.....	8
ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของใบไมยราบยักษ์.....	9
ตารางที่ 4.1 คุณค่าโภชนะและองค์ประกอบทางเคมีของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์.....	33
ตารางที่ 4.2 น้ำหนักสารสกัดหยาบและผลผลิตใบกระถินและใบไมยราบยักษ์เมื่อสกัดด้วย DI EtOH 40% และ EtOH 80%.....	35
ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบแทนนิน และฟีนอลิกจากใบกระถินและใบไมยราบยักษ์.....	37
ตารางที่ 4.4ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบใบกระถินและใบไมยราบยักษ์โดยตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH.....	40
ตารางที่ 4.5 ปริมาณสารมิโมซินจากใบกระถินและใบไมยราบยักษ์.....	42
ตารางที่ 4.6 Cytotoxicity, LC ₅₀ และLC ₉₀ ของสารสกัดหยาบใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ โดยวิธี Brine Shrimp Lethal Assay.....	44
ตารางที่ 4.7 การเปรียบเทียบคุณค่าโภชนะและองค์ประกอบทางเคมีในสูตรอาหารต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดสอบกลุ่มปลาไนล.....	46
ตารางที่ 4.8 ค่าพารามิเตอร์ของสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงปลาไนล.....	47
ตารางที่ 4.9 น้ำหนักของปลาไนลที่ได้รับอาหารที่ผสมใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ในอัตราส่วน ...	49
ตารางที่ 4.10 ความกว้างของลำตัวของปลาไนลที่ได้รับอาหารที่ผสมใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ในอัตราส่วนต่าง ๆ.....	49
ตารางที่ 4.11 ความยาวมาตรฐานของลำตัวของปลาไนลที่ได้รับอาหารที่ผสมใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ในอัตราส่วนต่าง ๆ.....	50
ตารางที่ 4.12 ความยาวถึงส่วนหยักลึกของหางของลำตัวปลาไนลที่ได้รับอาหารที่ผสมใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ในอัตราส่วนต่าง ๆ.....	50
ตารางที่ 4.13 ความยาวทั้งหมดของลำตัวของปลาไนลที่ได้รับอาหารที่ผสมใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ในอัตราส่วนต่าง ๆ.....	51

ตารางที่ 4.14 อัตราการเจริญเติบโต (ADG) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) และประสิทธิภาพของการใช้โปรตีนในอาหาร (PER).....	52
ตารางที่ 4.15 น้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของหัวใจ ตับ และม้ามระหว่างกลุ่มปลานิลควบคุมกับกลุ่มปลานิลที่ได้รับไบโกระถินและไบโม่ยราบยักษ์ในปริมาณที่แตกต่างกัน.....	53
ตารางที่ 4.16 ค่าเฉลี่ยของ จำนวนเม็ดเลือดแดง ฮีมาโตคริต จำนวนเม็ดเลือดขาว ฮีโมโกลบิน และดัชนีทางโลหิตระหว่างกลุ่มปลานิลควบคุมกับกลุ่มปลานิลที่ได้รับไบโกระถินและไบโม่ยราบยักษ์ในปริมาณที่แตกต่างกัน.....	55
ตารางที่ 4.17 ระดับความรุนแรงในการเกิดการบวมของเซลล์ตับปลานิลที่ได้รับอาหารที่ผสมไบโกระถินและไบโม่ยราบยักษ์ในอัตราส่วนต่าง ๆ.....	60
ตารางที่ 4.18 ระดับการแทรกตัวของเมลานินมาโครฟาจ เซนเตอร์ในเนื้อเยื่อม้ามของปลานิลที่ได้รับอาหารที่ผสมไบโกระถินและไบโม่ยราบยักษ์ในอัตราส่วนต่าง ๆ.....	65



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2.1 ลักษณะปลานิล	6
ภาพที่ 2.2 ลักษณะของต้นกระถิน	7
ภาพที่ 2.3 ลักษณะของต้นไมยราบยักษ์.....	8
ภาพที่ 2.4 คอนเดนส์แทนนิน.....	10
ภาพที่ 2.5 ไฮโดรไลซ์แทนนิน.....	10
ภาพที่ 2.6 โครงสร้างฟีนอลิก (Phenolic structure).....	11
ภาพที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของมิโมซิน.....	12
ภาพที่ 3.1 การวัดความยาวปลา	27
ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับตามขวางของปลานิล โดย MMC = melanomacrophage center, S = Sinusoid, CV = central vein	63
ภาพที่ 4.2 ลักษณะพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ้ามตามขวางของปลานิล โดย MMC = melanomacrophage center, WP= White pulp, RP = Red pulp.....	68
ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับตามขวางของปลานิล โดย MMC = melanomacrophage center, S = Sinusoid, CV = central vein	63
ภาพที่ 4.2 ลักษณะพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ้ามตามขวางของปลานิล โดย MMC = melanomacrophage center, WP= White pulp, RP = Red pulp.....	68



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปลานิล (*Oreochromis niloticus* L.) เป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจสามารถกินได้ทั้งพืชและสัตว์ สามารถเลี้ยงได้ในทุกสภาพแวดล้อม เป็นปลาที่นิยมนำมาใช้ในการบริโภค มีถิ่นกำเนิดมาจากตอนกลางและตอนเหนือของประเทศแอฟริกา ปลานิลเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว ระยะเวลาประมาณ 8 เดือน - 1 ปี สามารถเจริญเติบโตได้น้ำหนัก 500 กรัม อย่างไรก็ตาม ปลาแต่ละช่วงวัยมีความต้องการโปรตีนที่แตกต่างกัน โดยปลาวัยอ่อน (Fingering fish) มีน้ำหนักระหว่าง 1 - 10 กรัม มีความต้องการโปรตีนร้อยละ 34-36 ปลาวัยรุ่น (Juvenile fish) น้ำหนัก 10 - 100 กรัม มีความต้องการโปรตีนร้อยละ 27 - 35 และปลาขนาดใหญ่ (Adult fish) น้ำหนักมากกว่า 100 กรัม มีความต้องการโปรตีนร้อยละ 20 - 25 (พิเชต พลายเพชร, 2559)

กระถิน (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de wit) และไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra* L.) เป็นพืชที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในธรรมชาติ โดยมักพบการคุกคามพืชประจำถิ่นเสมอ ซึ่งสหพันธ์เพื่อการอนุรักษ์แห่งโลก (IUCN) จึงจัดพืชทั้งสองชนิดเป็นพืชรุกรานชนิดพันธุ์ต่างถิ่น (Invasive alien species) โดยเฉพาะไมยราบยักษ์ที่ถูกขึ้นบัญชีว่าเป็นหนึ่งในร้อยชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่ร้ายแรงของโลก สำหรับประเทศไทยนั้นไมยราบยักษ์ถูกจัดอยู่ในบัญชีพันธุ์ต่างถิ่นรุกรานเช่นกัน พืชทั้งสองชนิดมีความคล้ายคลึงกัน ได้แก่ ผลิตเมล็ดพันธุ์ต่อรอบจำนวนมาก มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และผลิตชีวมวลปริมาณมาก (สุรีย์พร ธรรมิกพงษ์, 2554) เมื่อพืชทั้งสองชนิดเข้าครอบครองพื้นที่แล้วทำให้พืชชนิดอื่นสูญหายไปจากพื้นที่ โดยกระถินและไมยราบยักษ์เป็นพืชกลุ่ม Allelopathy ที่สามารถปล่อยสารออกมายับยั้งการเจริญเติบโตของพืชข้างเคียงได้ (Xuan *et al.*, 2006) โดย Xuan *et al.* (2005) รายงานว่าสารเคมีที่พบในพืชที่ก่อให้เกิดกระบวนการ Allelopathy ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก แอลคาลอยด์ แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และสเตียรอยด์ เป็นต้น นอกจากนี้ พบว่า ใบกระถินและใบไมยราบยักษ์มีสารต้านคุณค่าโภชนา (Antinutritional factor) ได้แก่ แทนนิน และมีโมซิน เป็นต้น ซึ่งเป็นสารที่เป็นโทษต่อร่างกาย โดยแทนนินสามารถตกตะกอนโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตได้ จึงยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และลดการใช้ประโยชน์ของวิตามินและแร่ธาตุบางชนิด (ริกาญจน์ ฉัตรสกุลวิไล, 2561) ตัวอย่างเช่น ในสัตว์เคี้ยวเอื้องที่ได้รับพืชอาหารที่มีแทนนินสูงมากกว่า 5 - 9% ของอาหารวัตถุดิบจะยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน ลดการย่อยอาหารเยื่อใย และสัตว์จะแสดงอาการท้องอืด (ปราโมทย์ แผงคำ, 2545) และพบคอเลสเตอรอล (Cholesterol) ในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้น (Butter *et al.*, 2000) นอกจากนี้ มิโมซินมีความเป็นพิษต่อสัตว์กินพืช โดยกฤษณา ศรีสรรพกิจ และ

ศศิพร คุณาพงษ์กิติ (2538) รายงานว่ามีเกษตรกรนำใบกระถินไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ และพบความเป็นพิษต่อสัตว์กระเพาะเดี่ยว เช่น ไก่ สุกร ม้า และกระต่าย ส่วนในสัตว์กระเพาะรวมที่มีแบคทีเรียอยู่ในรูเมนนั้น แบคทีเรียจะเปลี่ยนโครงสร้างมิโมซินจาก β -N-(3-hydroxy-4-oxypyridyl)- α -amino propionic acid ให้เป็น 3-hydroxy-4-(1H)-pyridone (3,4-DHP) เมื่อ 3,4-DHP เข้าสู่กระแสเลือด อาจทำให้ต่อมไทรอยด์โต ดังนั้น หากสัตว์ได้รับมิโมซินในปริมาณที่มากเกินไป อาจส่งผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตของสัตว์ได้

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลานิล เนื่องจากใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ถือว่าเป็นพืชที่มีโปรตีนค่อนข้างสูง (ร้อยละ 25 และ 23 ตามลำดับ) (Meulen *et al.*, 1979; Vearasilp *et al.*, 1981) ซึ่งปัจจุบันนี้แหล่งโปรตีนที่ใช้ในการผลิตอาหารปลานั้นมีราคาสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งปลาป่นมีการนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนหลักในการผสมอาหารปลา ซึ่งในอนาคตคาดว่าจะมีผลผลิตปลาป่นจะมีปริมาณลดลง ดังนั้น หากสามารถหาแหล่งโปรตีนจากในท้องถิ่นที่มีราคาถูกและสามารถหาได้ง่ายก็จะสามารถช่วยลดต้นทุนในการผลิตอาหารปลานิลได้ อีกทั้งยังสามารถเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้แก่อาหารปลานิลได้อีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อตรวจวัดคุณค่าทางโภชนาการของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์
2. เพื่อตรวจวัดสารพิษทุกชนิด (แทนนิน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และมิโมซิน) ในสารสกัดหยาบใบกระถินและใบไมยราบยักษ์
3. เพื่อตรวจวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบกระถินและใบไมยราบยักษ์
4. เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารสำเร็จรูปและสูตรอาหารที่มีพืชอาหาร
5. เพื่อเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารสำเร็จรูปและสูตรอาหารที่มีพืชอาหาร
6. เพื่อเปรียบเทียบจุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับและม้ามปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารสำเร็จรูปและสูตรอาหารที่มีพืชอาหาร

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. ตัวอย่างใบกระถินและใบไมยราบยักษ์เก็บจากบริเวณรอบมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม
2. อาหารสำเร็จรูปเลี้ยงปลาใช้ของบริษัท ซีพี ออลล์ จำกัด (มหาชน) รุ่น 9921 ประกอบด้วย โปรตีนไม่น้อยกว่า 25% ไขมันไม่น้อยกว่า 3% กากไม่มากกว่า 8% และความชื้นไม่มากกว่า 12%
3. การวิเคราะห์ส่วนประกอบของโภชนะของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ใช้วิธี Proximate Analysis ประกอบด้วยโภชนะ 5 กลุ่ม ได้แก่ ความชื้น (Moisture) โปรตีน (Crude protein) ไขมัน (Ether extract) เยื่อใย (Crude fiber) และเถ้า (Ash) โดยวิธีการวิเคราะห์เป็นไปตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (AOAC, 1995)
4. การทำสารสกัดหยาบใบกระถินและใบไมยราบยักษ์โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ DI EtOH 40% และ EtOH 80%
5. วิเคราะห์สารต้านคุณค่าโภชนะคือ แทนนินและมีโมซินในใบกระถินและใบไมยราบยักษ์
6. วิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบกระถินและใบไมยราบยักษ์
7. การวิเคราะห์ความเป็นพิษของของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ทดสอบโดยใช้ไรน้ำเค็ม (Brine shrimp)
8. ปลาไนที่ใช้ในการศึกษานี้ใช้ลูกปลาไนที่แข็งแรงและได้มาจากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด จังหวัดมหาสารคาม โดยเริ่มเลี้ยงตั้งแต่ปลาวัยรุ่น (น้ำหนัก 10 - 100 กรัม)

1.4 สถานที่วิจัย

1. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม
2. โปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา

1.5 ระยะเวลาในการทำวิจัย

ระยะเวลาในการทำวิจัย เดือนสิงหาคม 2559 – กรกฎาคม 2561

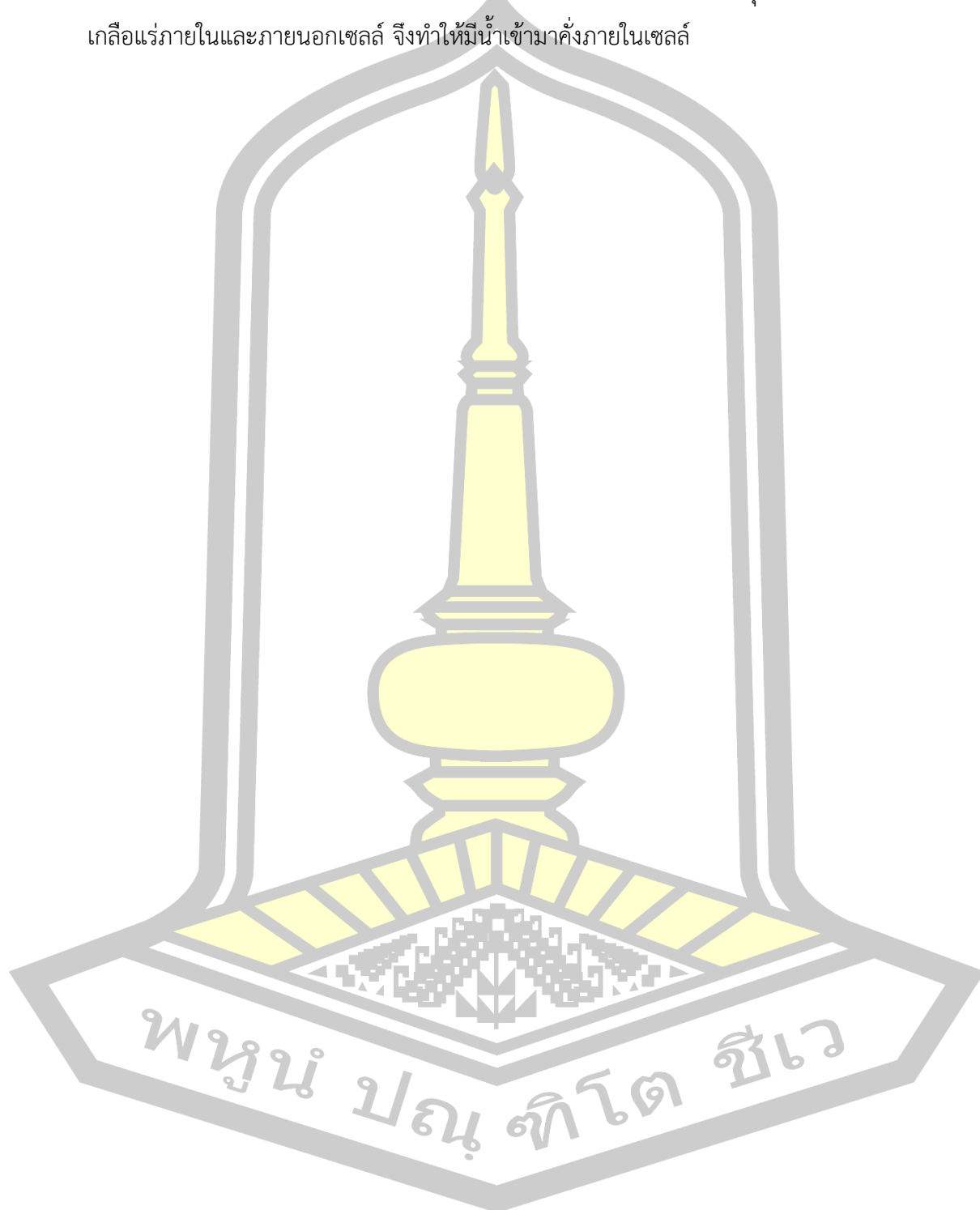
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบคุณค่าโภชนะ แทนิน สารประกอบฟีนอลิก และมีโมซินของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์
2. ทราบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์
3. ทราบระดับความเป็นพิษของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์
4. ทราบสัดส่วนพืชอาหารในสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงปลานิลวัยรุ่น
5. เกษตรกรสามารถนำพืชทั้ง 2 ชนิดนี้ไปใช้เป็นพืชอาหารทดแทนในการเลี้ยงปลานิลได้

1.7 นิยามคำศัพท์

1. พิษเฉียบพลัน (Acute toxicity) หมายถึง การที่โรทะเลเกิดอาการเป็นพิษแสดงออกมาให้เห็นหลังจากที่ให้สารพิษเข้าไปเพียงครั้งเดียวหรือหลายครั้งภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งอาจทำให้เสียชีวิตได้
2. คุณค่าโภชนะ (Nutrition value) หมายถึง สารเคมีที่สามารถใช้บำรุงสัตว์ได้หรือให้คุณค่าทางอาหารแก่สัตว์ได้แก่ ความชื้น (Moisture) โปรตีน (Crude protein) ไขมัน (Ether extract) เยื่อใย (Crude fiber) และเถ้า (Ash)
3. สารต้านโภชนะ (Antinutrition factor) หมายถึง สารเคมีที่เกิดขึ้นในพืชในสภาพธรรมชาติ เป็นกลุ่มของสารพิษที่อยู่ในอาหารสัตว์หรือในพืชอาหารสัตว์ที่เกิดขึ้นเองในพืชตามธรรมชาติ
4. Median Lethal concentration (LC₅₀) หมายถึง ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้กลุ่มของสัตว์ทดลองตายร้อยละ 50
5. Lethal concentration ninety (LC₉₀) หมายถึง ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้กลุ่มของสัตว์ทดลองตายร้อยละ 90
6. Inhibitory Concentration (IC₅₀) หมายถึง ความเข้มข้นของสารสกัดที่ออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50
7. ปลาวัยรุ่น (Juvenile fish) หมายถึง ปลาที่มีน้ำหนักตัวอยู่ในช่วง 10 – 100 กรัม
8. ความยาวลำตัวมาตรฐาน (Standard length) หมายถึง การวัดความยาวเส้นตรงจากส่วนปลายสุดของจงอยปากจนถึงฐานครีบหาง
9. ความยาวลำตัวถึงส่วนหยักลึกของหาง (Fork length) หมายถึง การวัดความยาวเป็นเส้นตรงจากปลายสุดของจงอยปากจนถึงส่วนหยักลึกของหางปลาที่มีลักษณะเป็นรูปส้อม
10. ความยาวลำตัวทั้งหมด (Total length) หมายถึง การวัดความยาวเป็นเส้นตรงจากส่วนปลายสุดของจงอยปากจนถึงส่วนปลายสุดของครีบหาง

11. การบวมของเซลล์ (Swelling) หมายถึง การบวมของเซลล์ที่พบในพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับ โดยการบวมของเซลล์จะเกิดขึ้นเมื่อเซลล์ไม่สามารถรักษาสมดุลของน้ำ และสารละลายเกลือแร่ภายในและภายนอกเซลล์ จึงทำให้มีน้ำเข้ามาคั่งภายในเซลล์



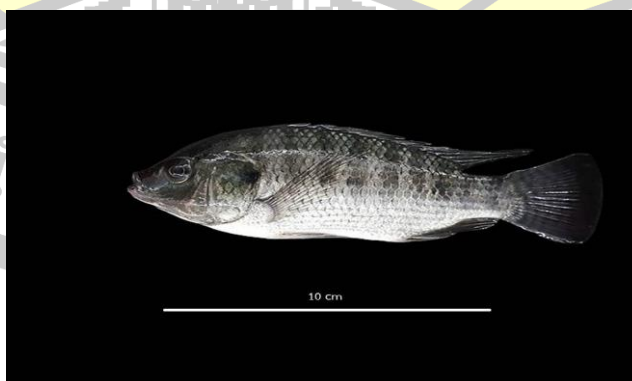
บทที่ 2

ปริทัศน์เอกสารข้อมูล

2.1 ปลานิล (*Oreochromis nilotica* L.)

ปลานิล (*Oreochromis nilotica* L.) อยู่ในวงศ์ Cichlidae (Trewavas, 1982) เป็นสัตว์น้ำที่นิยมเลี้ยงและบริโภคกันอย่างแพร่หลาย ซึ่งปลานิลเป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ นับตั้งแต่ปี พ.ศ. 2508 เป็นต้นมา สามารถเลี้ยงได้ในทุกสภาพ การเพาะเลี้ยงในระยะเวลา 8 เดือน - 1 ปี สามารถเจริญเติบโตได้ถึงขนาด 500 กรัม เนื้อปลามีรสชาติดี มีผู้นิยมบริโภคกันอย่างกว้างขวาง ขนาดปลานิลที่ตลาดต้องการจะมีน้ำหนักตัวละ 200 - 300 กรัม (พิเชต พลายเพชร, 2559)

ลักษณะของปลานิล ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่ง อยู่ในวงศ์ซิคลิดี (Cichlidae) มีถิ่นกำเนิดเดิมอยู่ที่ทวีปแอฟริกา พบทั่วไปตามหนอง บึง และทะเลสาบ ในประเทศชูดาน ยูกันดา แทนแกนยีกา เป็นปลาที่เจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและเลี้ยงง่าย จึงเหมาะสมที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในบ่อได้เป็นอย่างดี จึงได้รับความนิยมและเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในภาคพื้นเอเชีย แม้แต่ในสหรัฐอเมริกาก็นิยมเลี้ยงปลาชนิดนี้ รูปร่างลักษณะของปลานิลคล้ายกับปลาหมอเทศ แต่ลักษณะพิเศษของปลานิลมีดังนี้คือ ริมฝีปากบนและล่างเสมอกัน มีฟันบริเวณขากรรไกรและคอหอยหลายขนาด บริเวณกระดูกเหงือก (Grill arch) มีซี่กรอง 15 - 27 อัน ที่บริเวณแก้มมีเกล็ด 4 แถว ตามลำตัวมีลายพาดขวางจำนวน 9 - 10 แถบ นอกจากนั้นลักษณะทั่วไปมีดังนี้ ครีบหลังมีเพียง 1 ครีบ ประกอบด้วยก้านครีบแข็งและก้านครีบอ่อนเป็นจำนวนมาก ครีบกันประกอบด้วยก้านครีบแข็งและอ่อนเช่นกัน มีเกล็ดตามแนวเส้นข้างตัว 33 เกล็ด ลำตัวมีสีเขียวปนน้ำตาล ตรงกลางเกล็ดมีสีเข้ม ที่กระดูกแก้มมีจุดสีเข้ม อยู่จุดหนึ่งบริเวณส่วนอ่อนของครีบหลัง ครีบกัน และครีบหางนั้นจะมีจุดสีขาวและสีดำตัดขวางแลดูคล้ายลายข้าวตอกอยู่โดยทั่วไป (มานพ ตั้งตรงไพโรจน์ และคณะ, 2536) (ภาพที่ 2.1)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะปลานิล

2.2 กระจิน (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit)

กระจิน ชื่อวิทยาศาสตร์ *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit อยู่ในวงศ์ Leguminosae หรือ Fabaceae สกุล *Leucaena* (Global Invasive Species Database, 2015) มีชื่อสามัญคือ White popanic หรือ Lead tree กระจินเป็นไม้พุ่มขนาดใหญ่ถึงต้นไม้ขนาดเล็กมีการแตกกิ่งก้านสูง ลำต้นมีขนาดสูง 3 - 5 เมตร และสามารถสูงที่สุดได้ 20 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 10 - 50 เซนติเมตร ต้นอ่อนมีเปลือกสีน้ำตาลและเปลือกมีผิวขรุขระเมื่อลำต้นแก่ ใบเป็นใบประกอบขนนก 6 - 9 คู่ ยาว 5 - 10.2 เซนติเมตร ใบย่อยมีความยาว 9 - 16 มิลลิเมตร กว้าง 2 - 4.5 มิลลิเมตร มีขนย่อย 13 - 21 คู่ ใบหุบได้เมื่อมีความร้อน เย็น และขาดน้ำ ดอกมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 - 21 มิลลิเมตร มีประมาณ 100 - 180 ดอก ในช่อดอก มีสีขาว หรือสีครีมซีด ฝักมีความยาว 11 - 19 เซนติเมตร กว้าง 15 - 21 มิลลิเมตร ในแต่ละกิ่งดอกจะมี 5 - 20 ฝักมีลักษณะเรียบ แต่ละฝักมีเมล็ด 8 - 18 เมล็ด สีส้มถึงน้ำตาล มีความเงาเล็กน้อย มีขนสีขาว เมล็ดมีความแข็ง เมื่อแก่จะมีสีน้ำตาล มีความยาว 6.7 - 9.6 มิลลิเมตร กว้าง 4 - 6.3 มิลลิเมตร วางสลับตามแนวเดียวกันในแต่ละฝัก (Orwa et al., 2009) (ภาพที่ 2.2)



ภาพที่ 2.2 ลักษณะของต้นกระจิน

2.3 ไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra* L.)

ไมยราบยักษ์ ชื่อวิทยาศาสตร์ *Mimosa pigra* L. อยู่ในวงศ์ Mimosaceae หรือ Fabaceae สกุล *Mimosa* (Binggeli, 2005) มีชื่อสามัญคือ Giant sensitive plant หรือ Giant mimosa ต้นอ่อนไมยราบยักษ์เมื่อเจริญเติบโตจะมีหนามตามลำต้น มีลักษณะเป็นไม้เลื้อยตามพื้น ต้นแก่มีลักษณะเป็นไม้พุ่ม แตกกิ่งก้านลักษณะคล้ายเขา ลำต้นมีขนาดสูง 3 - 6 เมตร มีการแตกกรากยาวถึง 1 - 2 เมตร ใบมีลักษณะเป็นใบประกอบขนนก สีเขียวคล้ายเฟิร์น เส้นกลางใบมีลักษณะเป็นหนาม มีความยาว 20 - 25 เซนติเมตร แต่ละใบประกอบด้วยใบย่อย 16 ใบ แต่ละใบย่อยยาว

5 เซนติเมตร แบ่งออกเป็น 2 ข้าง ใบจะหุบในเวลาากลางคืนหรือเมื่อสัมผัส ดอกมีลักษณะเป็นกลม ๆ ขนปุย สีชมพูหรือสีม่วงซีด ขนาด 1 - 2 เซนติเมตร ฝักมีลักษณะเป็นท่อนสีน้ำตาล แต่ละท่อนมีความยาว 4 - 5 มิลลิเมตร และกว้าง 2 มิลลิเมตร (Walden *et al.*, 1999) (ภาพที่ 2.3)



ภาพที่ 2.3 ลักษณะของต้นไมยราบยักษ์

2.4 คุณค่าทางโภชนาการที่พบได้ในใบกระถินและใบไมยราบยักษ์

โดยใบกระถินประกอบด้วยโปรตีนหยาบ คาร์โบไฮเดรต เยื่อใย เถ้า และไขมัน เป็นต้น (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของใบกระถิน

ลำดับที่	ส่วนประกอบ	ปริมาณที่พบ (%)
1	โปรตีนหยาบ	17.12
2	คาร์โบไฮเดรต	36.24
3	เยื่อใย	7.88
4	เถ้า	3.69
5	ไขมัน	2.00

ที่มา: วีระพล แจ่มสวัสดิ์ และคณะ (2556)

นอกจากนี้ มีการบริโภคกระถินในแถบอเมริกากลางอินโดนีเซียและไทย สามารถรับประทานได้ โดยผ่านการปรุงหรือไม่ผ่านการปรุง ในจาวามีการนำเมล็ดกระถินมาหมักหรือทำเค้กถั่ว ในหมู่เกาะฟิลิปปินส์ใช้ฝักอ่อนในการปรุงเป็นผักและเมล็ดถั่วจะใช้แทนกาแฟ เมล็ดแห้งอ่อนทำเช่นเดียวกันกับข้าวโพดคั่ว (Hegarty *et al.*, 1964) ในประเทศอินโดนีเซีย ไทย เม็กซิโกและ

อเมริกากลางยังกินใบดอกและฝักอ่อน โดยทำเป็นซूपและสลัด (Azeemoddin *et al.*, 1988) กระถินเป็นพืชที่นิยมนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ในแถบเขตร้อน ซึ่งพัฒนาให้เป็นอาหารสัตว์ในฮาวาย กระถินให้โปรตีนสูงในอาหารเลี้ยงสัตว์สำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องเช่นวัว กระบือ แกะ และแพะ เป็นต้น ซึ่งช่วยเพิ่มผลผลิตนม และช่วยเป็นแหล่งโปรตีนเสริมในอาหารเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Meulen *et al.*, 1979) นอกจากนี้ มีการนำกระถินใช้เลี้ยงสัตว์ที่ไม่ใช่สัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่นปลา สัตว์ฟันแทะ และสัตว์ปีก (Wee and Shun-sen, 1987) ซึ่งถือว่ากระถินเป็นแหล่งโปรตีนที่ได้จากพืชที่มีราคาถูกและให้โปรตีนสูงสามารถนำมาใช้ในการผลิตอาหารสัตว์ได้ดี

ไมยราบยักษ์ ประกอบด้วยโปรตีนสูง ซึ่งได้ถูกนำมาใช้ในการพัฒนาผลิตเป็นอาหารสัตว์ โดยองค์ประกอบทางเคมีแสดง (ตารางที่ 2.2)

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของไมยราบยักษ์

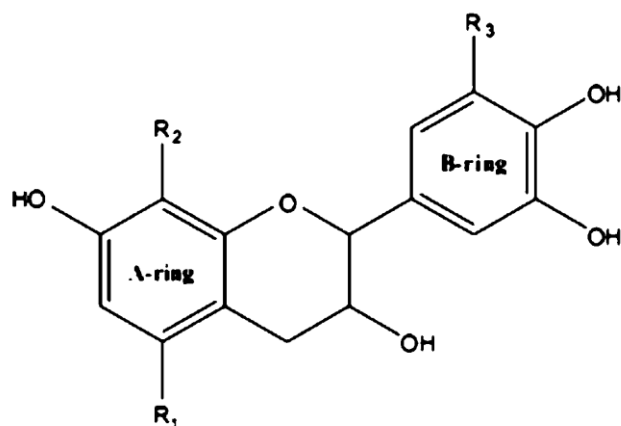
ส่วนประกอบ	ปริมาณที่พบ (%)
โปรตีนหยาบ	18.87
ไขมัน	4.81
เถ้า	6.89
คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยง่าย	50.13
คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยยาก	37.06

ที่มา: Wittayakun *et al.* (2017)

2.5 สารสำคัญในกระถินและไมยราบยักษ์

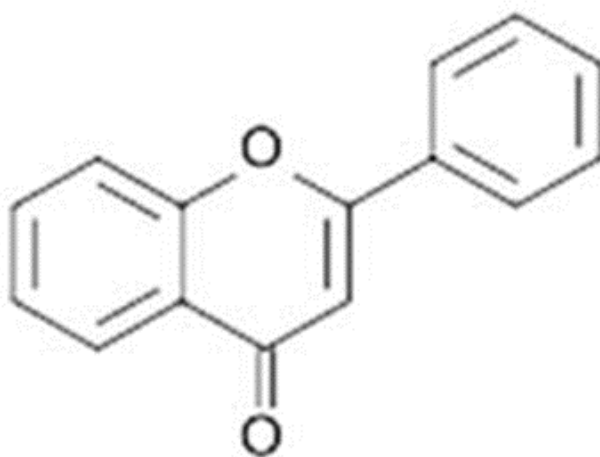
2.5.1 แทนนิน (Tannins)

แทนนินเป็นสารประกอบฟีนอลที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ โมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน มีสถานะเป็นกรดอ่อน รสฝาด เป็นสารให้ความฝาดในพืช พบได้ในพืชหลายชนิด แทนนิน มี 2 ชนิด คือ คอนเดนส์แทนนิน (Condensed tannins) หรือเรียกอีกอย่างว่าโปรแอนโทไซยานิน (Proanthocyanin) (ภาพที่ 2.4) พบได้ในส่วนเปลือกต้นและแก่นไม้เป็นส่วนใหญ่และสารไฮโดรไลซ์แทนนิน (Hydrolysable tannins) (ภาพที่ 2.5) เป็นแทนนินที่พบมากในส่วนใบฝัก และส่วนที่ปูดออกมาจากปกติเมื่อต้นไม้ได้รับอันตราย (Pizzi, 2008) แทนนินมีทั้งประโยชน์และโทษต่อผู้บริโภค เนื่องจาก แทนนินสามารถกักตะกอนโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตได้ จึงยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และลดการใช้ประโยชน์ของวิตามินและแร่ธาตุบางชนิด (ริกาญจน์ ฉัตรสกุลวิไล, 2561)



ภาพที่ 2.4 คอนเดนส์แทนนิน

(ที่มา: Ogata and Nakamo, 2005)



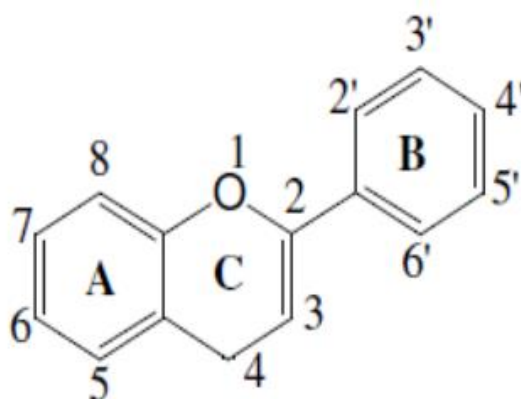
ภาพที่ 2.5 ไฮโดรไลซ์แทนนิน

(ที่มา: Liao *et al.*, 2004)

2.5.2 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิก หรือสารประกอบฟีนอล เป็นสารประกอบทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ที่สามารถพบได้ตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่ว เมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืช ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต สารประกอบฟีนอลิกและมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) สามารถละลายน้ำได้ นอกจากนี้ โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic Ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl Group) 1 หมู่หรือมากกว่า รวมอยู่ในโมเลกุล (ภาพที่ 2.6) ซึ่งการจำแนกว่าพืชที่มีสารประกอบฟีนอลิก

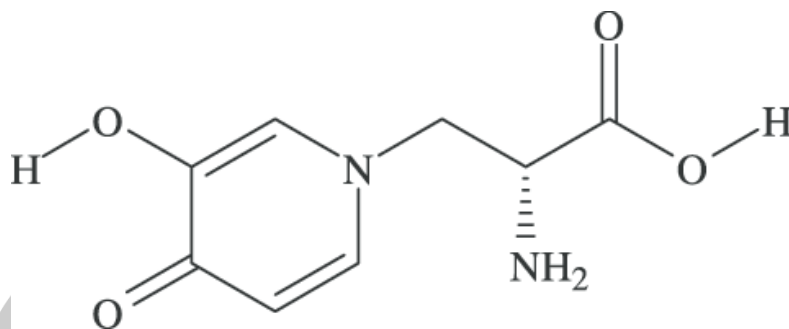
(Phenolic compounds) เป็นแบบใดจะขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่ Phenols ที่อยู่ในโมเลกุล ดังนั้น พืชที่มีสาร Phenolics จะประกอบไปด้วย Simple phenols, Coumarins, Lignins, Linans, Condensed และ Hydrolysable tannins, Phenolic acids, และ Flavonoids (Soto-Vaca *et al.*, 2012) สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารไฟโตเคมีคอลที่สำคัญในพืช ทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารสำคัญต่าง ๆ ของพืช ทั้งยังมีคุณสมบัติที่มีประโยชน์ในเชิงสุขภาพและการแพทย์อีกด้วย สารประกอบในกลุ่มนี้สามารถจำแนกได้เป็นหลายกลุ่ม ที่พบทั่วไปในพืชคือ กลุ่มสารประกอบกรดฟีนอลิก กลุ่มสารประกอบฟลาโวนอยด์ กลุ่มสารประกอบแทนนิน และกลุ่มสารประกอบลิกแนน (Naczka and Shahidi, 2006)



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างฟีนอลิก (Phenolic structure)
(ที่มา: Ghasemzadeh and Ghasemzadeh, 2011)

2.5.3 มิโมซิน (Mimosine)

มิโมซิน (β -3-hydroxy-4-pyridon-1-yl)-L-alanine) คือ Non-protein amino acid (ภาพที่ 2.7) พบได้ในเมล็ด ลำต้น ฝัก และใบ ของพืชตระกูลถั่วสกุล *Leucaena* ซึ่งพบได้ในเมล็ด ลำต้น ฝัก และใบ ซึ่งในสกุล *Leucaena* ที่ต่างชนิดกันพบว่าประกอบด้วยมิโมซินประมาณร้อยละ 1 – 12 (Brewbaker and Hylin, 1965) รวมถึงสามารถพบมิโมซินได้ในไมยราบยักษ์หรือสกุล *Mimosaceae* (Xuan *et al.*, 2013) มิโมซินเป็นอนุพันธ์ของไทโรซีน (Tyrosine analog) ทำหน้าที่ยับยั้งเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ ไทซิเนส (Tyrosinase) ไทโรซินดีคาร์บอกซิเลส (Tyrosine decarboxylase) เพอรอกซิเดส (Peroxidase) และแลคโตเพอรอกซิเดส (Lectoperoxidase) (Ramli *et al.*, 2017) มิโมซินยังถูกจัดเป็นสารในกลุ่ม Allelochemicals ที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์ Allelopathy โดยสามารถยับยั้งการงอกของพืชชนิดอื่นได้ (Tawata, 1990)



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของมิโมซิน

(ที่มา: Xuan *et al.*, 2006)

มิโมซินมีความเป็นพิษต่อสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยเอนไซม์ในกระเพาะส่วนรูเมนจะสามารถเปลี่ยนมิโมซินให้อยู่ในรูป 3-hydroxy-4(1H)-pyridone (3,4DHP) ซึ่ง 3,4 DHP ทำหน้าที่คล้าย Goitrogen จะส่งผลทำให้เกิดโรคคอพอกและมีผลข้างเคียงคือการเจริญเติบโตลดลง ขนร่วง อ่อนแอ ปากและหลอดอาหารเป็นแผล ลดระดับ Thyroxin เป็นผลให้ต่อมไทรอยด์ขยายตัว ทำให้เกิดโรคคอหอยพอก นอกจากนี้ ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง มิโมซินยังส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการย่อยเยื่อใยของแบคทีเรียในกระเพาะรูเมนลดน้อยลง แต่ในสัตว์แรกเกิด ถ้าได้รับสารนี้มากเกินไปอาจตายได้ ดังนั้น อาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ทั่ว ๆ ไป เช่น อาหารสุกร โค กระบือ แพะ แกะ หรือไก่ หากใช้กระถินเป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ควรมีปริมาณที่จำกัด (กฤษณา ศรีสรรพกิจ และศศิพร คุณาพงษ์กิติ, 2538)

2.6 คุณค่าโภชนะในอาหารเลี้ยงปลานิล

ปลานิลเป็นปลาที่สามารถกินได้ทั้งพืชและสัตว์เป็นอาหาร โดยอาหารที่ใช้นำมาเลี้ยงปลานิลนั้นควรมีระดับโปรตีนร้อยละ 25 - 45 (พิเชต พลายเพชร, 2559) และปลาแต่ละช่วงวัยมีความต้องการโปรตีนที่แตกต่างกัน ปลาวัยอ่อน น้ำหนัก 1-10 กรัม มีความต้องการโปรตีนร้อยละ 34 - 36 ปลาวัยรุ่น ขนาด 10-100 กรัม มีความต้องการโปรตีนร้อยละ 27-35 และปลาขนาดใหญ่มากกว่า 100 กรัม มีความต้องการโปรตีนร้อยละ 20-25 ซึ่งปัจจุบันนี้แหล่งโปรตีนที่ใช้ในการผลิตอาหารปลานั้นมีราคาสูง โดยแหล่งโปรตีนที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตในอาหารปลานั้นสามารถพบได้ทั้งในพืชและสัตว์ เช่น ปลาป่น เนื้อป่น เนื้อและกระดูกป่น เลือดป่น นมผง ถั่วเหลืองป่น และถั่วลิสงป่น เป็นต้น (ประเสริฐ สีตะสิทธิ์ และคณะ, 2525)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

รัตนสุตา ไชยเชษฐ์ (2552) ศึกษาผลของการใช้วัตถุดิบโปรตีนบางชนิดทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลาโฌง โดยใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่น 0%, 20%, 40% และใช้ใบกระถินป่นทดแทนปลาป่น 10% และ 20% ตามลำดับ ทำการเลี้ยงปลาโฌง น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 14.30 กรัมต่อตัว ปล่อยลงในกระชังขนาด 0.5 ลูกบาศก์เมตร ในอัตรา 20 ตัวต่อกระชัง ทดลองเป็นเวลา 3 เดือน เก็บข้อมูลเมื่อปลาโฌงมีอายุ 70, 100 และ 130 วัน ผลการทดลอง พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยของปลาโฌงมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P -value < 0.05) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $74.66 \pm 1.65\%$ จากผลการทดลองสรุปว่าปลาป่นยังเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีที่สุดในการเลี้ยงปลาโฌง

Amisah *et al.* (2009) ศึกษาประสิทธิภาพของใบกระถินที่ใช้เป็นอาหารต่อการเจริญเติบโตในปลาดุกแอฟริกา (*Clarias gariepinus*) โดยทดสอบเป็นเวลา 90 วัน ซึ่งทำการทดลองอาหาร 4 สูตรคือ ระดับ 0% (ควบคุม) 10%, 20% และ 30% ของอาหาร โดยให้ใบกระถินถูกแช่ด้วยน้ำ 3 วันและตากแดด 3 วัน มีการควบคุมอาหารของปลาป่นและปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนเพียงอย่างเดียว โดยอาหารทุกสูตรมีโปรตีน Isonitrogenous (โปรตีน 30%) จากการศึกษาทดลอง พบว่าปลาที่ได้รับเสริมใบกระถิน 20% มีอัตราการเจริญเติบโตของตัวน้ำหนักตัวและอัตราการเจริญเติบโตเฉพาะดีที่สุด แม้ว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมจะให้อัตราการให้อาหารที่ดีที่สุด (FCR) แต่อย่างไรก็ตาม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P -value > 0.05) การศึกษาแสดงให้เห็นว่าใบกระถินที่สามารถเสริมในอาหารของปลาดุกแอฟริกาได้ถึง 30% แต่อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพและการคุ้มค่าในการใช้ใบกระถินเป็นอาหารเสริมควรจะใช้ใบกระถินในระดับ 20% เพื่อทดแทนอาหารปลาที่มีราคาแพง

Begum (2011) ได้ศึกษาผลกระทบของใบและเมล็ดกระถินต่อปลากดอเมริกกัน (*Channa punctatus*) และปลานิล พบว่า พฤติกรรมของปลากดอเมริกกันและปลานิลที่ได้รับใบและเมล็ดกระถินมีการสูญเสียความอยากอาหารและการเคลื่อนไหวช้า การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพคือ มีแผลบนผิวหนังและบริเวณหาง, การกักครอนของครีบ เป็นต้น อีกทั้งยังพบว่าการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาในเนื้อเยื่อ ได้แก่ ตา เหงือก กล้ามเนื้อ กระเพาะอาหาร ลำไส้ ตับไตและอวัยวะสืบพันธุ์ของปลา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในใบกระถินที่ 35% และ 40% และในเมล็ดกระถิน 30% และ 35% และการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาและรังไข่ของปลากดอเมริกกันและปลานิลโดยใช้ใบกระถินที่ 25%, 30%, 35%, 40% และกระถินที่ 20%, 25%, 30% และ 35% พบว่า มีการลดลงของจำนวนไข่ เซลล์อสุจิ เมื่อระดับของใบและเมล็ดกระถินสูงขึ้น

Buyukcapar *et al.* (2011) ศึกษาการประเมินผลของไฮโดรไลซ์แทนนินและคอนเดนซ์แทนนินต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตและองค์ประกอบของร่างกายของปลานิล โดยไฮโดรไลซ์แทนนินและคอนเดนซ์แทนนินอยู่ในอาหาร 4 ระดับคือ 0, 5, 15 และ 25 กรัม/กิโลกรัมของอาหาร อาหารที่มีระดับแทนนิน 0 กรัม/กิโลกรัมของอาหาร เป็นตัวอย่างกลุ่มควบคุม พบว่า การเพิ่มน้ำหนักตัว SGR และ PER ของกลุ่มปลาที่กินอาหารที่มีไฮโดรไลซ์แทนนิน 15 และ 25 กรัม/กิโลกรัมของอาหารมีน้ำหนักตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (P -value < 0.05) ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มที่กินอาหารอื่น ๆ แต่กลุ่มปลาที่กินอาหารที่มี HT 15 และ 25 กรัม/กิโลกรัมของอาหารมีอัตราการเปลี่ยนอาหาร (FCR) สูงกว่ากลุ่มที่กินอาหารอื่น ๆ นอกจากนี้ กลุ่มปลาที่กินอาหารที่มีไฮโดรไลซ์แทนนิน 15 และ 25 กรัม/กิโลกรัมของอาหาร มีอัตราการกินอาหารน้อยกว่ากลุ่มอื่น ๆ ยกเว้น กลุ่มปลาที่ได้รับคอนเดนซ์แทนนิน 15 กรัม/กิโลกรัมของอาหาร สรุปได้ว่า ผลกระทบของไฮโดรไลซ์แทนนิน มีผลต่อปลานิลสูงเมื่อเปรียบเทียบกับคอนเดนซ์แทนนิน ดังนั้น แหล่งโปรตีนที่มาจากแหล่งที่มีปริมาณแทนนินสูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งไฮโดรไลซ์แทนนินควรใช้ด้วยความระมัดระวังในการใช้เป็นอาหารทดแทนปลาปนในอาหารปลานิล

Francis *et al.* (2001) พบว่า เมล็ดพืชตระกูลถั่วชนิดต่างๆ ที่เป็นส่วนผสมของอาหารปลาจะถูกจำกัดด้วยสารต้านการออกฤทธิ์ได้แก่ Protease inhibitors, Phytates, Glucosinolates, Sponin, Tannins, Lectins, Oligosaccharides non-starch polysaccharides, Phytoestrogens, Alkaloids, Gossypols, Cyanogens, Mimosine, Cyclopropenoid fatty acids, Canavanine, Antivitamins และ Ester phorbol esters ซึ่งพบว่า Protease inhibitors, Phytates, Antigenic compounds และ Alkaloids มักพบในอาหารปลาที่มีแหล่งโปรตีนจากพืชซึ่งไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลา ในทางตรงข้ามกัน Glucosinolates, Saponins, Tannins, Soluble non-starch polysaccharides, Gossypol และ Phorbol esters จะมีความสำคัญเกี่ยวกับคุณค่าโภชนะในอาหารปลา

Santiago *et al.* (1988) ศึกษาผลของไบโกระถินต่อสมรรถภาพการสืบพันธุ์และการเจริญเติบโตของปลานิล ในการทดลองเบื้องต้นปลานิลที่เลี้ยงได้รับอาหารสูตรควบคุมหรืออาหารทดสอบที่มีไบโกระถินเป็นแหล่งโปรตีนเพียงอย่างเดียวเป็นเวลา 24 สัปดาห์ พบว่า ปลาที่กินอาหารที่มีไบโกระถินน้ำหนักลดลงบางส่วนเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่กินอาหารควบคุม จากนั้นนำอาหารที่ได้รับที่มีปริมาณไบโกระถินที่แตกต่างกัน (0, 20, 40 และ 80%) ไปเลี้ยงปลานิล การเพิ่มน้ำหนักตัวโดยรวมของปลาเพศผู้จะลดลงเมื่อระดับของไบโกระถินเพิ่มขึ้น และเพศเมียที่กินอาหารที่มีไบโกระถิน 80% จะมีน้ำหนักลดลงอย่างสม่ำเสมอ การเพิ่มน้ำหนักเฉลี่ยของเพศผู้ที่ได้รับอาหารควบคุมและอาหารที่มีไบโกระถิน 20 และ 40% ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P -value > 0.05) อย่างไรก็ตาม การเจริญเติบโตเล็กน้อยของปลานิลเพศผู้ที่กินอาหารที่มีไบโกระถิน 80%

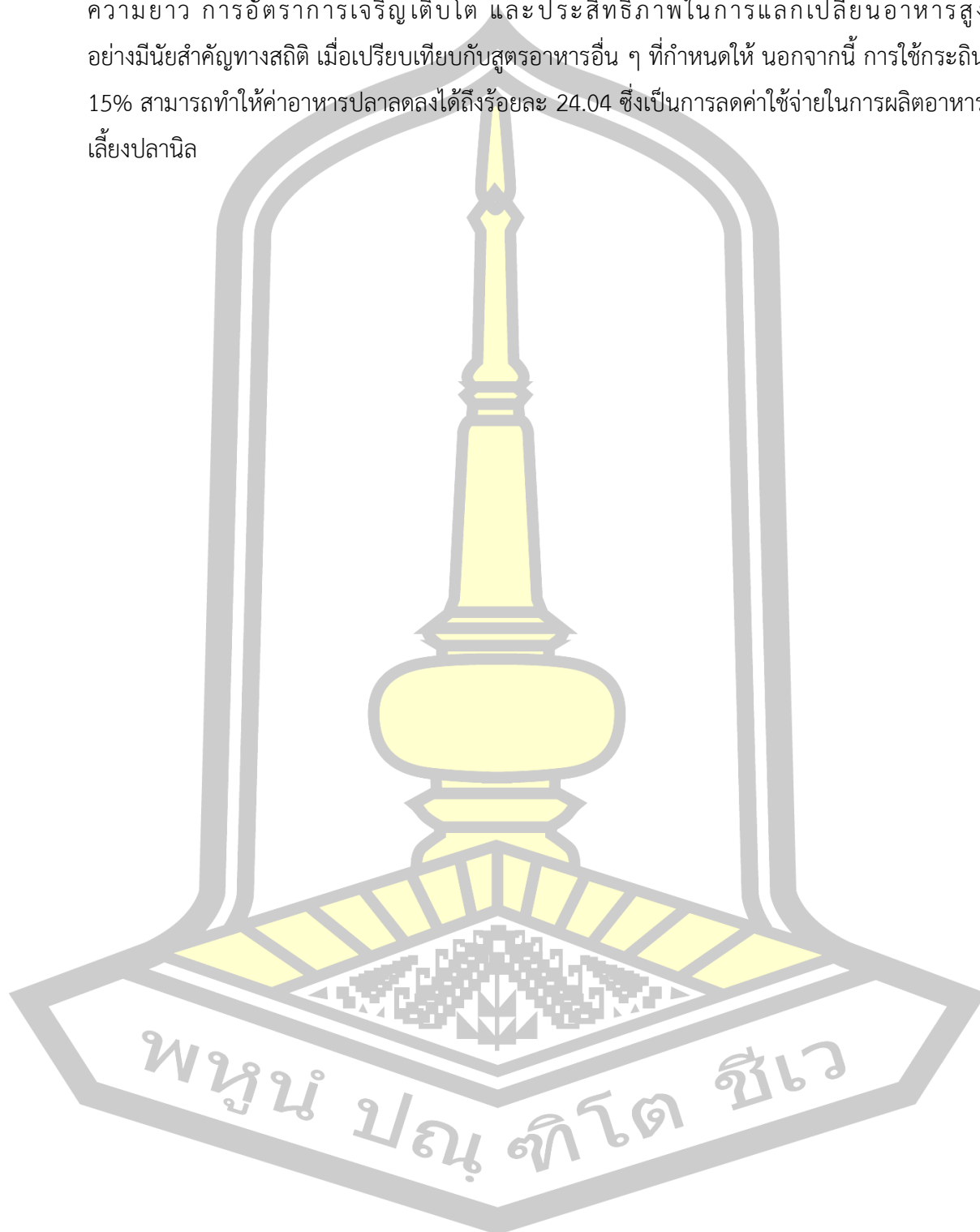
ซึ่งอาหารควบคุมและอาหารที่มีใบกระถิน 20% จะให้ผลผลิตสูงกว่าอาหารที่มีใบกระถิน 40 และ 80% ดังนั้น จากการผลิตอาหารและการเจริญเติบโตของลูกปลาทั้งสองชนิดจะใช้ใบกระถินไม่เกิน 40% ของอาหารปลานิล

Sotolu and Faturoti (2009) ได้ศึกษาการใช้ประโยชน์ของอาหารโดยใช้เมล็ดของใบกระถิน (LSM) เพื่อการผลิตอาหารปลา โดยมีกำหนดโปรตีน 40% และนำเมล็ดกระถินมาแทนที่ถั่วเหลือง (SBM) ใน อัตรา ร้อยละ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ให้อาหารเป็นเวลา 112 วัน จากการทดลอง พบว่า ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น (MWG) และอัตราการเจริญเติบโตเฉพาะ (Specific Growth Rate: SGR) ของปลาที่กินอาหารที่ผสม LSM 20% มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มปลาที่กินอาหารผสม LSMS ใน อัตราที่สูงขึ้น นอกจากนี้ ปริมาณของฮีโมโกลบินของปลามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหาร LSMS 0%, 20% และ 40% ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้การใช้เมล็ดพันธุ์ของกระถินในปริมาณ 20% เป็นวัตถุดิบเป็นทางเลือกที่ดีในการนำมาทดแทนถั่วเหลืองในอาหารเลี้ยงปลาดุก (*Clarias gariepinus*)

Verma *et al.* (2018) ศึกษาอาหารจากผลเมล็ดของกระถิน 33% แทนปลาป่น พบว่าการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว การทดสอบการทำงานของตับ (SGOT, SGPT) และระดับ ALP ใน ซีรัม ดัชนี Phagocytic, เปอร์เซ็นต์ phagocytosis และระดับไนตริกออกไซด์ในตัวใน Macrophages ที่แยกได้จากม้ามและไต ระดับอิมมูโนโกลบูลินของปลาทั้งหมด ผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันที่ดีขึ้นในปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีเมล็ดกระถิน 33% เป็นส่วนผสม อย่างไรก็ตาม มีอัตราการเติบโตที่ต่ำลง

Wee and Wang (1987) หาความเหมาะสมของใบกระถินที่ได้รับการยอมรับว่าเป็นส่วนผสมในอาหารของปลานิล โดยมีการทดลองทำอาหารทดลอง 9 สูตร โดยกำหนด 25, 50 และ 100% ของ ใบกระถิน จากนั้นนำมาใช้แช่น้ำ (แช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง) ตากแดด (ตากแดด 2 วัน) และใบกระถินสด ซึ่งอาหารจะถูกควบคุมโปรตีนเท่ากับ 30% ยกเว้น ในใบกระถิน 100% จะมีโปรตีนอยู่ 21% โดยให้อาหารเป็นระยะเวลา 70 วัน ผลการศึกษา พบว่า การเจริญเติบโตลดลงและมีประสิทธิภาพในการใช้อาหารเพิ่มมากขึ้นในทุก ๆ อาหารที่มีใบกระถินเป็นส่วนผสม โดยปกติแล้วอาหารที่ผ่านการแช่น้ำจะส่งผลทำให้มีการเจริญเติบโตดีกว่าอาหารที่ตากแดดและ ใบกระถินสดเป็นผลสาเหตุมาจากมิโมซินที่อยู่ในใบกระถินส่งผลทำให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตลดลง

Zamal *et al.* (2009) พบว่า เมื่อนำไบโกระถิน 15% ไปใช้ในการผลิตอาหารปลา พบว่า น้ำหนัก ความยาว การอัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพในการแลกเปลี่ยนอาหารสูง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารอื่น ๆ ที่กำหนดให้ นอกจากนี้ การใช้กระถิน 15% สามารถทำให้ค่าอาหารปลาลดลงได้ถึงร้อยละ 24.04 ซึ่งเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการผลิตอาหาร เลี้ยงปลานิล



บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการสกัดใบกระถินและใบไมยราบยักษ์

- 3.1.1.1 เครื่องเขย่า
- 3.1.1.2 ถุงผ้าขาว
- 3.1.1.3 DI
- 3.1.1.4 Ethanol 40%
- 3.1.1.5 Ethanol 80%

3.1.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแทนนินในใบกระถินและใบไมยราบยักษ์

- 3.1.2.1 ขวดปรับปริมาตร 100 ml
- 3.1.2.2 DI
- 3.1.2.3 Tannic acid
- 3.1.2.4 Folin-Ciocalteu reagent
- 3.1.2.5 Na_2CO_3 7%

3.1.3 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณมิโมซินในใบกระถินและใบไมยราบยักษ์

- 3.1.3.2 ขวดปรับปริมาตร 100 ml
- 3.1.3.3 DI
- 3.1.3.3 Pure mimosine
- 3.1.3.4 Ferric chloride
- 3.1.3.5 HCl 0.1 N

3.1.4 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกในใบกระถินและใบไมยราบยักษ์

- 3.1.4.1 ไมโครปิเปต (Micropipette)
- 3.1.4.2 24-well plate
- 3.1.4.3 Microplate reader
- 3.1.4.4 DI
- 3.1.4.5 Folin-Ciocalteu reagent

3.1.4.6 Na₂CO₃ 2%

3.1.4.7 Gallic acid

3.1.4.8 Dimethyl Sulfoxide (DMSO)

3.1.5 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี 2,2-dihenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

3.1.5.1 ไมโครปิเปต

3.1.5.2 24-well plate

3.1.5.3 Microplate reader

3.1.5.4 DPPH

3.1.5.5 Methanol

3.1.5.6 DI

3.1.5.7 DMSO

3.1.5.8 Gallic acid

3.1.5.9 Ascorbic acid

3.1.6 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดสอบความเป็นพิษ Brine shrimp lethality assay (BSLA)

3.1.6.1 ไมโครปิเปต

3.1.6.2 24-well plate

3.1.6.3 เกลือ

3.1.6.4 ไรทะเล (Artemia)

3.1.6.5 โคมไฟ

3.1.6.6 DI

3.1.7 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาและองค์ประกอบทางเคมีของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์

3.1.7.1 ตู้อบ

3.1.7.2 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น PA214

3.1.7.3 เครื่องปั่น

3.1.7.4 เครื่องย่อยโปรตีน รุ่น VELD UDK139

3.1.7.5 ชุดกำจัดไอกกรด รุ่น VELD DK6

3.1.7.6 เต้าเผา

3.1.7.7 โถดูดความชื้น

- 3.1.7.8 ถ้วยทนไฟ
- 3.1.7.9 กระจกตาชกรอง
- 3.1.7.10 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ รุ่น SP-830
- 3.1.7.11 ชุดสกัด ยีห้อ Labheat
- 3.1.7.12 Thimble
- 3.1.7.13 เครื่องหล่อเย็น ยีห้อ Yamato รุ่น CF800
- 3.1.7.14 ถาดใส่ถ้วยทนไฟ
- 3.1.7.15 ตู้ดูดควัน
- 3.1.7.16 Potassium sulfate (K_2SO_4)
- 3.1.7.17 Copper sulfate ($CuSO_4$)
- 3.1.7.18 Sulphuric acid (H_2SO_4)
- 3.1.7.19 Sodium hydroxide (NaOH) 45%
- 3.1.7.20 Boric acid 4%
- 3.1.7.21 Standard H_2SO_4 0.1 N
- 3.1.7.22 Methyl red
- 3.1.7.23 Alcohol 96%
- 3.1.7.24 Bromocresol green
- 3.1.7.25 Petroleum Ether
- 3.1.7.26 Sodium hydroxide (NaOH) 1.25%
- 3.1.7.27 DI
- 3.1.7.28 Standard Potassium 1,000 ppm
- 3.1.7.29 Standard Phosphorus 1,000 ppm
- 3.1.7.30 Standard Fe 1,000 ppm

3.1.8 สัตว์ทดลอง

ปลาไนลช่วงอายุวัยรุ่น (น้ำหนักตัว 10 -100 กรัม)

3.1.9 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการผสมอาหารปลา

- 3.1.9.1 เครื่องปั่น
- 3.1.9.2 เครื่องบดอาหาร
- 3.1.9.3 ตู้อบ
- 3.1.9.4 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- 3.1.9.5 แป้งมันสำปะหลัง

3.1.9.6 DI

3.1.9.7 ไบกระถินบดในอัตราส่วน 10, 20 และ 30%

3.1.9.8 ไบไมยราบยักษ์บดในอัตราส่วน 10, 20 และ 30%

3.1.10 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำบ่อเลี้ยงปลา

3.1.10.1 บ่อซีเมนต์ขนาด 40.5 นิ้ว x 19.5 นิ้ว

3.1.10.2 สายยาง

3.1.10.3 ฝ้ายางรองบ่อ

3.1.11 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการผ่าสัตว์ทดลอง

3.1.11.1 น้ำมันกานพลู

3.1.11.2 ถาดผ่าตัด

3.1.11.3 กรรไกรผ่าตัด

3.1.11.4 มีดผ่าตัด

3.1.11.5 คีมคีบ

3.1.11.6 เครื่องซั่ง

3.1.12 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาค่าทางโลหิตวิทยา

3.1.12.1 กระจกเข็มฉีดยา 1 ml

3.1.12.2 เข็มฉีดยาเบอร์ 26

3.1.12.3 หลอด EDTA

3.1.13 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทำสไลด์เนื้อเยื่อ

3.1.13.1 ขวดแก้วใส่ฝาเกลียวขนาด 50 ml

3.1.13.2 กล้องจุลทรรศน์

3.1.13.3 สไลด์พร้อมกระจกปิดสไลด์

3.1.13.4 ชุดอุปกรณ์ผ่าตัด

3.1.13.5 เครื่องตัดเนื้อเยื่อ

3.1.13.6 หม้อหลอมพาราฟิน ยี่ห้อ Leica

3.1.13.7 หม้ออุ่นสไลด์ ยี่ห้อ Leica

3.1.13.8 Chloroform

3.1.13.9 Xylene

3.1.13.10 Paraplast

3.1.13.11 สีย้อม Haematoxylin และ Eosin

3.1.13.12 Ethanol 70, 95 และ 100%

3.1.13.13 Acid Alcohol 1%

3.2 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.2.1 วิธีการเก็บตัวอย่างพืชใบกระถินและใบไมยราบยักษ์

ตัวอย่างใบกระถินและใบไมยราบยักษ์เก็บจากบริเวณรอบมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม ในช่วงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2560 โดยเลือกเก็บตัวอย่างเฉพาะใบที่เจริญเติบโตเต็มที่ จากนั้นนำแบ่งตัวอย่างมาทำพันธุ์ไม้ตัวอย่างได้แก่ Maomoonha-01 และ Maomoonha-02 จากนั้นนำตัวอย่างใบพืชมาฟิ้งในที่ร่ม และเก็บตัวอย่างในภาชนะแห้ง เพื่อทำการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

3.2.2 วิธีการเตรียมสารสกัดหยาบ

การสกัดสารสำคัญจากตัวอย่างพืชใช้วิธีการหมัก (Maceration) ด้วยตัวทำละลายได้แก่ น้ำกลั่น (DI), เอทานอล 40% (EtOH 40%) และ 80% (EtOH 80%) โดยนำตัวอย่างพืชบดละเอียด 20 g แช่ในตัวทำละลาย 200 ml เขย่าด้วยเครื่องเขย่าสาร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นกรองเพื่อนำส่วนใสไปทำระเหยด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) นำสารสกัดที่ได้ทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง และเก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.2.3 วิธีการวิเคราะห์ฟลักซ์เคมี

3.2.3.1 วิธีวิเคราะห์ปริมาณแทนนิน

การวิเคราะห์ปริมาณแทนนินอ้างอิงตาม Wongsooksin and Phansamdaeng (2558) ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ โดยกำหนดความเข้มข้นของตัวอย่าง ได้แก่ 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 และ 0.05 mg/ml เติมโพลินเดนนิสต์-รีเอเจนต์ 5 ml และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 7% ปริมาตร 10 ml แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 ml ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 762 nm และเปรียบเทียบปริมาณสารแทนนินจากกราฟมาตรฐานแทนนิน

3.2.3.2 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิธี Folin-Ciocalteu อ้างอิงตาม (Shimada *et al.*, 1992) ปิเปตสารละลายตัวอย่าง ได้แก่ 100 $\mu\text{g/ml}$ ปริมาตร 14 μl DI 65.3 μl และสารละลายโพลิน 14 μl ผสมให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้ 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 2% ปริมาตร 187 μl เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 60 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader และเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

3.2.3.3 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณมิโมซิน

การวิเคราะห์ปริมาณมิโมซินอ้างอิงตาม Matsumoto and Sherman (1951) ปิเปตสารละลายตัวอย่างสารสกัดหยาบใบกระถิน ได้แก่ 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 และ 0.05 mg/ml และสารสกัดหยาบใบไมยราบยักษ์ ได้แก่ 0.03, 0.06, 0.09, 0.12 และ 0.15 mg/ml เติมสารละลายเพอริคลอไรด์ 0.5% ปริมาตร 4 ml และปรับปริมาตรเป็น 100 ml และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 535 nm และเปรียบเทียบปริมาณสารมิโมซินจากกราฟมาตรฐาน มิโมซิน

3.2.4 วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

ปิเปตตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (แต่ละความเข้มข้น) 7 μ l ลงในหลอดทดสอบ จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 273 μ l เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 45 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader นำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณค่า DPPH radical inhibition และเปรียบเทียบ % DPPH Inhibition กับสารมาตรฐาน Ascorbic acid

3.2.5 วิธีการเตรียมสิ่งมีชีวิตที่ใช้ทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน

เพาะไรน้ำเค็ม (Brine shrimp) ในห้องปฏิบัติการ ภายใต้ความเข้มแสง 12,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 26 - 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง คัดเลือกไรทะเลที่มีสุขภาพดี ในระยะ Nauplii เพื่อใช้ในการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันต่อไป

3.2.6 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน

ปิเปตไรทะเลในระยะ Nauplii จำนวน 15 ตัวต่อหลุม โดยกำหนดความเข้มข้นสารสกัด 0 - 100 μ g/ml บันทึกการตาย ณ เวลา 12, 24 และ 36 ชั่วโมง โดยนับจำนวนไรน้ำเค็มที่ไม่เคลื่อนไหวภายใน 15 วินาที และคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ไรน้ำเค็มตาย (Lethal concentration; LC) 50% และ 90% (LC₅₀ และ LC₉₀) โดยค่า LC₅₀ และ LC₉₀ คำนวณได้จากการแทนค่าในสมการถดถอยระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดและเปอร์เซ็นต์การตายของไรทะเล

3.2.7 ตรวจสอบวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการตามวิธี Proximate Analysis อ้างอิงตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (AOAC, 1995; กมลทิพย์ ประสมเพชร, 2554) โดยจะวิเคราะห์โภชนาการ 5 กลุ่ม ได้แก่ ความชื้น โปรตีนรวม ไขมัน เถ้า และเยื่อใย

3.2.7.1 การวิเคราะห์ความชื้น (Moisture)

ซึ่งตัวอย่างใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ก่อนและหลังอบที่อุณหภูมิ 100 - 105 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักใบพืชคงที่ และคำนวณความชื้นดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{Moisture (\%)} = \left[\frac{a - b}{w} \right] \times 100$$

a = น้ำหนักของอาหารก่อนอบแห้ง

b = น้ำหนักของอาหารหลังอบแห้ง

w = น้ำหนักของอาหารก่อนอบแห้ง

3.2.7.2 การวิเคราะห์ โปรตีนหยาบ (Crude protein)

การวิเคราะห์โปรตีนรวมตามวิธี Kjeldahl method โดยประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลักๆ คือ การย่อยสลาย การกลั่น และการไตเตรท

คำนวณปริมาณโปรตีนรวมดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{Crude Protein (\%)} = \left[\frac{1.4 \times (v1 - v2) N \times 6.25}{w} \right]$$

v1 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

v2 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบ

N = เป็นความเข้มข้นของกรดเกลือเป็นนอร์มอล

w = น้ำหนักตัวอย่างอาหาร (กรัม)

3.2.7.3 การวิเคราะห์ไขมันด้วยวิธีซอกซ์เลต

ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 4 - 5 กรัม ใส่ในผ้าขาวบาง จากนั้นนำตัวอย่างใส่ชุดซอกซ์เลต เดิมเฮกเซนเป็นตัวทำละลายปริมาตร 400 ml ปรับอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ผ่านการสกัดมาทำให้แห้งชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เหลือ

$$\text{Fat (\%)} = \left[\frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \right] \times 10$$

3.2.7.4 การวิเคราะห์เถ้า (Ash)

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างแห้งก่อนเผาประมาณ 1 g จากนั้นเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะได้เถ้าที่สมบูรณ์ (สีขาว) นำตัวอย่างใส่ในตู้ดูดความชื้นจนกระทั่งอุณหภูมิตัวอย่างเท่ากับอุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักเถ้าเพื่อคำนวณร้อยละเถ้าดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{Ash (\%)} = \left[\frac{b - a}{w} \right] \times 100$$

a = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ

b = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบกับน้ำหนักของเถ้าภายหลังการเผา

w = น้ำหนักของอาหารก่อนเผา

3.2.7.5 การวิเคราะห์เยื่อใย (Crude fiber)

Neutral Detergent Fiber (NDF) เป็นส่วนของเยื่อใยที่อยู่ที่ผนังเซลล์ ไม่ละลายในตัวทำละลายที่เป็นกลาง ประกอบด้วยเซลลูโลส ลิกนิน ซิลิกา เฮมิเซลลูโลส และโปรตีนปริมาณเล็กน้อย การวิเคราะห์หา NDF โดยวิธีการของ Van Soest มีขั้นตอนดังนี้ ชั่งตัวอย่างพืชแห้งปริมาณ 1 g จากนั้นนำตัวอย่างไปต้มกับ Acid detergent solution (49.04 g conc. H₂SO₄) และ Cetyl trimethyl ammonium bromide/L) 20 g เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทำการกรอง นำตะกอนที่กรองได้ใส่ลงใน Crucible (ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน) แล้วนำไปทำให้แห้ง ซึ่งน้ำหนัก ซึ่งน้ำหนักที่ได้นี้จะประกอบด้วย Crucible + NDF (น.น.คงที่) แล้วล้างตะกอนที่อยู่ใน Crucible ให้หมด แล้วนำ Crucible ไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นชั่งน้ำหนักหลังจากตัวอย่างเย็นแล้วคำนวณหา NDF จากสูตรต่อไปนี้

$$\text{NDF (\%)} = \left[\frac{(\text{Crucible} + \text{เยื่อใย NDF}) - \text{น้ำหนัก Crucible}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \right] \times 100$$

3.2.7.6 การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่ายหรือไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรก (nitrogen free extract, NFE)

สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{NFE (\%)} = 100 - \% \text{ โปรตีน} - \% \text{ ไขมัน} - \% \text{ เถ้า} - \% \text{ เยื่อใย} - \% \text{ ความชื้น}$$

3.2.8 วิธีหาองค์ประกอบทางเคมีของโบกระถินและใบไมยราบยักษ์

3.2.8.1 วิธีการวิเคราะห์ฟอสฟอรัส

ชั่งตัวอย่าง 0.5 g ใส่ในขวดแก้วกันแบน ขนาด 50 ml จากนั้นเติมน้ำยาสกัด Bray II 10 ml เขย่า 1 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง ปิเปตสารละลายที่สกัดได้ในอัตราส่วน 1 ส่วนต่อ working solution 16 ส่วน (เท่ากับ 17 เท่าโดยใช้ Auto-dilutor) ลงในหลอดแก้ว ทิ้งไว้ครึ่งชั่วโมง นำไปอ่านค่าความเข้มข้น (Concentration) ด้วยเครื่อง Vis-Spectrophotometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 882 nm เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553)

วิธีการคำนวณ

$$\text{Phosphorus (\%)} = \left[\frac{r \times v \times \text{d.f.}}{10^6 s} \right] \times 100$$

r = ค่าที่อ่านได้จากเครื่อง หน่วยเป็น ppm

v = ปริมาณน้ำยาสกัด (ml)

s = น้ำหนักตัวอย่างที่ชั่ง

d.f. = dilution factor

3.2.8.2 การวิเคราะห์ โพแทสเซียม และเหล็ก

ชั่งตัวอย่าง 0.5 g ใส่ในขวดชมพู ขนาด 50 ml เติม 1 M NH₄OAc pH 7.0 25 ml เขย่าด้วยเครื่องเขย่า 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง นำสารละลายที่กรองได้วิเคราะห์ด้วย Flame spectrophotometer โดยเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553)

การคำนวณ

$$\text{Potassium/Iron (\%)} = \left[\frac{r \times v \times \text{d.f.}}{10^6 s} \right] \times 100$$

r = ค่าที่อ่านได้จากเครื่อง หน่วยเป็น ppm

v = ปริมาณน้ำหนักรายสกัด (ml)

s = น้ำหนักของตัวอย่างที่ชั่ง

d.f. = dilution factor

3.2.8.3 การวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์วัตถุ

ชั่งตัวอย่าง 0.5 g ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต (K₂Cr₂O₇) 1.0 N 10 ml เติม H₂SO₄ เข้มข้น 20 ml โดยใช้ Dispenser พยายามให้กรดไหลลงข้าง ๆ ขวดให้ชะล้างตัวอย่างลงไปอยู่ในขวดให้หมด เพื่อป้องกันไม่ให้เม็ดดินเกาะติดอยู่ตามข้างขวดเขย่าเบาๆ ให้ตัวอย่างเข้ากันดีเป็นเวลาประมาณ 1 นาที ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายเย็นเท่าอุณหภูมิห้องเติม DI 50 ml แล้วทิ้งไว้ให้เย็น หยดอินดิเคเตอร์ออร์โทไฟแนนโทรลีน 5 หยด

จากนั้นไตเตรทด้วยสารละลาย FAS 0.5 N ที่จุด end point สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียว เป็นสีน้ำตาลแดง เปรียบเทียบกับ Blank (กรมพัฒนาที่ดิน , 2553)

$$\text{Organic carbon (\%)} = \left[\frac{10 \times (B-S) \times 100 \times 3 \times 100 \times N}{B \times 77 \times 1000 \times N} \right] \times 100$$

$$\% \text{ อินทรีย์คาร์บอน (Organic Carbon, O.C.)} = \frac{10 \times (B-S) \times 100 \times 3 \times 100 \times N}{B \times 77 \times 1000 \times N}$$

B = ปริมาณ FAS ที่ใช้ในการไตเตรท Blank (ml)

S = ปริมาณ FAS ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (ml)

W = น้ำหนักที่ใช้ (กรัม)

N = ความเข้มข้นของ $K_2Cr_2O_7$ (ในกรณีที่ความเข้มข้นไม่ใช่ 1.0 นอร์มอล)

3.2.9 วิธีการประยุกต์ใช้ไบโกระถินและไบไมยราบยักษ์ในการผลิตอาหารปลานิล

ในการเลี้ยงปลานิลโดยทั่วไปสูตรอาหารสำเร็จรูปผสมกับไบโกระถินและไบไมยราบยักษ์ในอาหาร เลี้ยงปลานิลโดยมีอัตราส่วนร้อยละ 10 20 และ 30 จากนั้นนำมาอัดเป็นเม็ดในเครื่องบด และเก็บใส่ ภาชนะที่แห้งสนิทเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.10 การเลี้ยงปลานิล

3.2.10.1 วิธีการอนุบาลปลานิล

ลูกปลานิลคละเพศในช่วงอายุวัยรุ่นมาพักในบ่ออนุบาลเป็นเวลา 2 - 3 วัน ก่อนเริ่มการทดลอง เพื่อให้ลูกปลาได้ปรับตัวกับสภาพแวดล้อมใหม่ และให้อาหารสำหรับลูกปลาวัยอ่อน ตามสูตรอาหารควบคุม โดยให้อาหารร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา

3.2.10.2 วิธีการเลี้ยงปลานิล

3.2.10.2.1. การเตรียมบ่อเลี้ยงปลา

เตรียมบ่อเลี้ยงปลาจำนวน 14 บ่อ บ่อละ 2 ตัว โดยใช้บ่อเลี้ยงปลาขนาด 40.5x19.5 นิ้ว และรองบ่อปลาด้วยผ้าพลาสติกกันพื้น เพื่อป้องกันการกัดของปูนกัดต่อตัวปลา และเติมน้ำ จากนั้นเติมน้ำยาปรับสภาพน้ำเพื่อป้องกันการเกิดโรคพยาธิในปลา

3.2.10.2.2 การเลี้ยงปลา

คัดเลือกลูกปลานิลขนาดเท่าๆ กัน จำนวนบ่อละ 2 ตัว โดยมีการพักปลาก่อนทำการทดสอบ สูตรอาหารเป็นระยะเวลา 3 วัน จากนั้นบันทึกข้อมูลน้ำหนักตัวเริ่มต้นและขนาดตัวและอาหารปลา

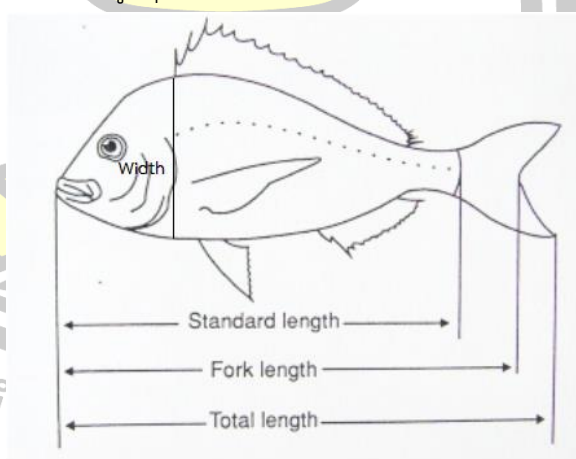
ตามสูตรอาหารที่กำหนด โดยกำหนด T0 คือกลุ่มปลานิลที่ได้รับอาหารปลาสำเร็จรูป (ควบคุม) T1 คือ กลุ่มปลานิลที่ได้รับอาหารปลาสำเร็จรูป+ใบกระถิน 10% T2 คือ กลุ่มปลานิลที่ได้รับอาหารปลาสำเร็จรูป + ใบกระถิน 20% T3 คือ กลุ่มปลานิลที่ได้รับอาหารปลาสำเร็จรูป + กระถิน 30% T4 คือ กลุ่มปลานิลที่ได้รับอาหารปลาสำเร็จรูป + ใบไมยราบยักษ์ 10% T5 คือ กลุ่มปลานิลที่ได้รับอาหารปลาสำเร็จรูป + ไมยราบยักษ์ 20% และ T6 คือ กลุ่มปลานิลที่ได้รับอาหารปลาสำเร็จรูป + ใบไมยราบยักษ์ 30% และใช้วิธีวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomize Design, CRD) เลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ โดยให้อาหารปลา 2 ช่วงเวลา คือ 9.00 น. และ 16.00 น. (เนื่องจากปลาจะกินอาหารได้ดีในช่วงเวลากลางวัน เมื่อมีปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำสูง) ปริมาณการให้อาหารจะให้อาหารร้อยละ 5 - 6 ของน้ำหนักตัว นอกจากนี้ มีการเปลี่ยนน้ำทำความสะอาดบ่อปลาทุก ๆ สัปดาห์ เพื่อป้องกันการเกิดโรคต่อปลา

3.2.10.3 วิธีการบันทึกสภาพแวดล้อมในการเลี้ยง

เก็บข้อมูลสภาพแวดล้อมโดยวัดอุณหภูมิน้ำโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์จุ่มต่ำกว่าระดับน้ำเป็นระยะ 10 เซนติเมตร วัดค่า pH ของน้ำ โดยใช้เครื่องวัด pH และเก็บข้อมูลความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศและความเข้มแสง โดยจะตรวจสอบทุกวันในช่วง 9.00-10.00 น.

3.2.10.4 วิธีการเก็บข้อมูลปลา

การเก็บข้อมูลปลาโดยมีการชั่งน้ำหนัก วัดความยาว ความกว้างของลำตัวปลา (ภาพที่ 3.1) จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย โดยเก็บข้อมูลทุก 2 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 2 เดือน



ภาพที่ 3.1 การวัดความยาวปลา

(ที่มา : ดัดแปลงจาก Goddara, 1996)

จากนั้นนำข้อมูลมาคำนวณพารามิเตอร์ต่าง ๆ ได้แก่ อัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหาร เป็นเนื้อ และประสิทธิภาพของการใช้โปรตีนในอาหาร ดังสูตรคำนวณต่อไปนี้

ดัดแปลงจาก Sotolu & Faturoti (2009)

3.2.10.4.1 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain)

$$\text{Weight gain (\%)} = 100 \times \left[\frac{\text{น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)} - \text{น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)}} \right]$$

3.2.10.4.2 ความกว้างที่เพิ่มขึ้น (Width gain)

$$\text{Width gain (\%)} = 100 \times \left[\frac{\text{ความกว้างสุดท้าย (กรัม)} - \text{ความกว้างเริ่มต้น (กรัม)}}{\text{ความกว้างเริ่มต้น (กรัม)}} \right]$$

3.2.10.4.3 ความยาวลำตัวมาตรฐานที่เพิ่มขึ้น (Standard length gain)

$$\text{Standard length gain (\%)} = 100 \times \left[\frac{\text{ความยาวสุดท้าย (กรัม)} - \text{ความยาวเริ่มต้น (กรัม)}}{\text{ความยาวเริ่มต้น (กรัม)}} \right]$$

3.2.10.4.4 ความยาวลำตัวถึงส่วนหยักของหาง (Fork length gain)

$$\text{Fork length gain (\%)} = 100 \times \left[\frac{\text{ความยาวสุดท้าย (กรัม)} - \text{ความยาวเริ่มต้น (กรัม)}}{\text{ความยาวเริ่มต้น (กรัม)}} \right]$$

3.2.10.4.5 ความยาวลำตัวทั้งหมด (Total length gain)

$$\text{Total length gain (\%)} = 100 \times \left[\frac{\text{ความยาวสุดท้าย (กรัม)} - \text{ความยาวเริ่มต้น (กรัม)}}{\text{ความยาวเริ่มต้น (กรัม)}} \right]$$

3.2.10.4.6 การเจริญเติบโต (Average Daily Gain, ADG)

$$\text{ADG} = \frac{\text{น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)} - \text{น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)}}{\text{จำนวนวัน}}$$

3.2.10.4.7 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Ratio, FCR)

$$\text{FCR} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม)}}{\text{น้ำหนักสัตว์ที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}$$

3.2.10.4.8 ประสิทธิภาพของการใช้โปรตีนในอาหาร (Protein Efficiency Ratio, PER)

$$\text{PER} = \frac{\text{น้ำหนักสัตว์ที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{ปริมาณโปรตีนที่กิน (กรัม)}}$$

3.2.11 การวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา

3.2.11.1 วิธีการสลับปลานิล

งดให้อาหารปลา 24 ชั่วโมง ก่อนทำการสลับ ด้วยการใช้น้ำมันกานพลู โดยเตรียมให้อยู่ในรูปสารละลายเข้มข้น (Stock solution) โดยผสมน้ำมันกานพลูกับ 95% แอลกอฮอล์ ในอัตราส่วน 1:10 (น้ำมัน 1 ส่วนและแอลกอฮอล์ 9 ส่วน) ซึ่งจะได้น้ำมันกานพลูเข้มข้นประมาณ 100 mg/ml เมื่อต้องการวางยาสลับปลา ให้แช่น้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้น 40-100 mg/L หลังจากแช่ปลา 1 - 2 นาที ปลาจะเริ่มเสียการทรงตัวจะนอนตะแคงหรือหงายท้อง หายใจช้าลง จึงดำเนินการทดลองต่อไป

3.2.11.2 วิธีการเจาะเลือดปลานิล

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดโดยการดูดเลือดด้วยเข็มฉีดยาแบบ Monovette ที่เคลือบด้วยสารละลาย EDTA (Ethylene diamine tetra acetic acid di-sodium salt) โดยเก็บตรงตำแหน่งคอรัลลเวิน (caudal vein) เพื่อนำไปตรวจหาค่าโลหิตวิทยาและเก็บเลือดใส่หลอดเก็บเลือดที่เคลือบด้วยสารละลาย EDTA เพื่อไม่ให้เลือดแข็งตัวในระหว่างการตรวจเลือด

3.2.11.3 จำนวนเม็ดเลือดแดง (Red blood cell count)

จำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) ด้วยวิธี Manual method อาศัยหลักการเจือจางเม็ดเลือดแดง โดยปิเปตนับเม็ดเลือดแดง เมื่อนำตัวอย่างเลือดมาทำการเจือจางด้วยน้ำยา ซึ่งน้ำยาจะสามารถทำลายเซลล์เม็ดเลือดขาวได้อย่างสมบูรณ์จะเหลือแต่เม็ดเลือดแดง โดยน้ำยาที่ใช้คือ Gowers's solution โดยใช้ปิเปตดูดตัวอย่างเลือดที่จะทำการวิเคราะห์ให้ถึงขีด 0.5 และดูดน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดแดง Gower's solution ให้ถึง 101 แล้วเขย่าส่วนผสมให้เข้ากัน หยดส่วนผสมบนปลายปิเปตทิ้งก่อนประมาณ 3 - 5 หยด แล้วหยดลงบนแผ่นตารางนับเม็ดเลือด ประมาณ 2 - 3 หยด แล้วปิดทับด้วยกระจกให้กระจายทั่วแผ่น ตั้งทิ้งไว้ 2- 3 นาที เพื่อให้เซลล์เม็ดเลือดอยู่กับที่และกระจายตัวทำการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือด โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ส่องดูภายใต้กำลังขยายต่ำสุดแล้วเปลี่ยนเป็นกำลังขยาย 40x ในช่อง R นับทั้งหมด 5 ช่อง นำผลที่ได้มารวมกันคำนวณกลับเป็นจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (cu mm³) โดยคำนวณจากจำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับได้ทั้งหมด 5 ช่อง

สูตรคำนวณ

$$\text{Red blood cell} = [\text{เม็ดเลือดแดงที่นับได้} \times 200 \times 50]$$

3.2.11.4 ฮีมาโทคริต (Hematocrit)

Hematocrit (Hct) นำเลือดที่บรรจุในหลอด EDTA 1.0% ทำการตรวจวัดค่า Hematocrit (Hct) ด้วย Capillary tube โดยใช้หลอดแก้วจุ่มลงในเลือด ให้ได้เลือดปริมาณสามส่วนสี่ของความยาว ปิดปลายหลอด Capillary tube ด้วยดินน้ำมันนำไปปั่นด้วยเครื่อง Microhematocrit centrifuge ที่ ความเร็ว 11,500 - 15,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที นำมาอ่านค่าโดยนำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานสำหรับอ่านค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

3.2.11.5 จำนวนเม็ดเลือดขาว White blood cell count

นับจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) ด้วยวิธี Manual method อาศัยหลักการเจือจางเม็ดเลือด โดยปิเปตนับเม็ดเลือดขาว โดยเริ่มต้นด้วยการดูดตัวอย่างเลือดจากหลอดเก็บเลือดเข้าปิเปต ถึงขีด 0.5 จากนั้นทำการดูดน้ำยาเจือจางเลือดด้วยน้ำยานับเม็ดเลือดขาว ตามสูตร Natt Herrick's stain ของ Edward (2000) ถึงขีดปริมาตร 11 โดยปิดปลายทั้งสองข้างด้วยหัวแม่มือและนิ้วกลาง สบัดข้อมือกลับไปมาเป็นระยะเวลา 3 - 5 นาที เพื่อผสมเลือดและน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดเข้าด้วยกัน จึงทำให้เม็ดเลือดขาวมีการกระจายตัวและไม่เกาะเป็นกลุ่มหยดตัวอย่างเลือดของปลาในหลอดปิเปต ทั้ง 3 - 4 หยด เพราะส่วนนี้จะเป็นส่วนที่ไม่มีการผสมระหว่างน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดขาวกับเลือดของปลาจากนั้นตั้งทิ้งไว้ 2 - 3 นาที เพื่อให้เซลล์เม็ดเลือดอยู่กับที่และกระจายทั่วแผ่น หลังจากนั้นนำตัวอย่างเลือดไปนับด้วย Hemocytometer หรือ Counting chamber ภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้เลนส์กำลังขยายต่ำ 40x ในช่อง W ทั้ง 4 มุม และนำจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดรวมกันคำนวณเป็นเม็ดเลือดขาวทั้งหมดต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (cu mm^3) โดยคำนวณจากจำนวนเม็ดเลือดขาวที่นับได้ทั้งหมด 4 ช่อง

สูตรคำนวณ

$$\text{White blood cell} = [\text{เม็ดเลือดขาวที่นับได้} \times 2.5 \times 20]$$

3.2.11.6 ฮีโมโกลบิน (Haemoglobin)

โดยวิธี Sahli-hemoglobinometer โดยมีหน่วยเป็น กรัมต่อ 100 ml ของเลือด หยด HCl 0.1 N ลงใน Graduated tube 5 หยดจากนั้นใช้ Sahli-pipette ดูดเลือดจนถึงขีด 20 μl แล้วนำเลือดใส่ในหลอด Graduated tube จากนั้นใช้หลอดแก้วคน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เพื่อเกิดการฟอร์ม Acid hematin ซึ่งสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล นำ Graduated tube ใส่ Permanent colour red glass comparative standard หยด DI จนสีของสารละลายในหลอด Graduated tube เหมือนสีมาตรฐานที่ใช้เทียบ จากนั้นอ่านค่ากรัมเปอร์เซ็นต์ข้างหลอด

3.2.11.7 ค่าดัชนีทางโลหิต

ดัชนีเม็ดเลือดแดง (Red blood cell indices หรือ Blood index) เป็นการคำนวณค่าเฉลี่ยของขนาดและปริมาณและความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงจากค่าปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ปริมาณฮีโมโกลบิน และจำนวนเม็ดเลือดแดง (อรุณี เจตศรีสุภาพ, 2559)

3.2.11.7.1 ปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง (Mean corpuscular volume, MCV) มีหน่วยเป็นเฟมโตลิตร (Femtoliter:10⁻¹⁵ L)

$$MCV = \frac{HCT\%}{RBC (10^6)} \times 10$$

3.2.11.7.2 ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยต่อเซลล์เม็ดเลือดแดง (Mean corpuscular hemoglobin, MCH) มีหน่วยเป็นพิโคกรัมต่อเซลล์ (Pictogram/cell:10⁻¹² g/cell)

$$MCH = \frac{Hb (g/dl)}{RBC (10^6)} \times 10$$

3.2.11.7.3 ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเซลล์เม็ดเลือดแดง (Mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC) มีหน่วยเป็นกรัมต่อเดซิลิตร (g/dl)

$$MCHC = \frac{Hb (g/dl)}{Hct (\%)} \times 100$$

3.2.12 การเตรียมชิ้นเนื้อของอวัยวะต่าง ๆ เพื่อทำสไลด์

หลังจากซังน้ำหนักเสร็จแล้ว นำส่วนของตับและม้ามที่ฟิกในฟอร์มาลีน 10% มาตัดใส่ Embedding cassette จากนั้นนำไปล้างผ่านน้ำไหลแล้วนำไปใส่ในเครื่องเตรียมชิ้นเนื้อ 24 ชั่วโมง เพื่อดึงน้ำออกจากตัวอย่างโดยใช้ Ethyl alcohol จากความเข้มข้นต่ำ (70%) ไปสูง (100%) นำไปหลอมพาราฟิน ทำการตัดชิ้นเนื้อด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อแบบกึ่งอัตโนมัติขนาด 0.5 ไมครอน และย้อมด้วยสี Hematoxylin และ eosin นำไปทำเป็นสไลด์ถาวรและนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้จำนวนเนื้อเยื่อ 3 สไลด์ในการประเมินความรุนแรงความเสียหายของเนื้อเยื่อ

3.2.13 เกณฑ์การให้คะแนนระดับความเสียหายของเนื้อเยื่อ

กำหนดความเสียหายของพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับ ดังนี้

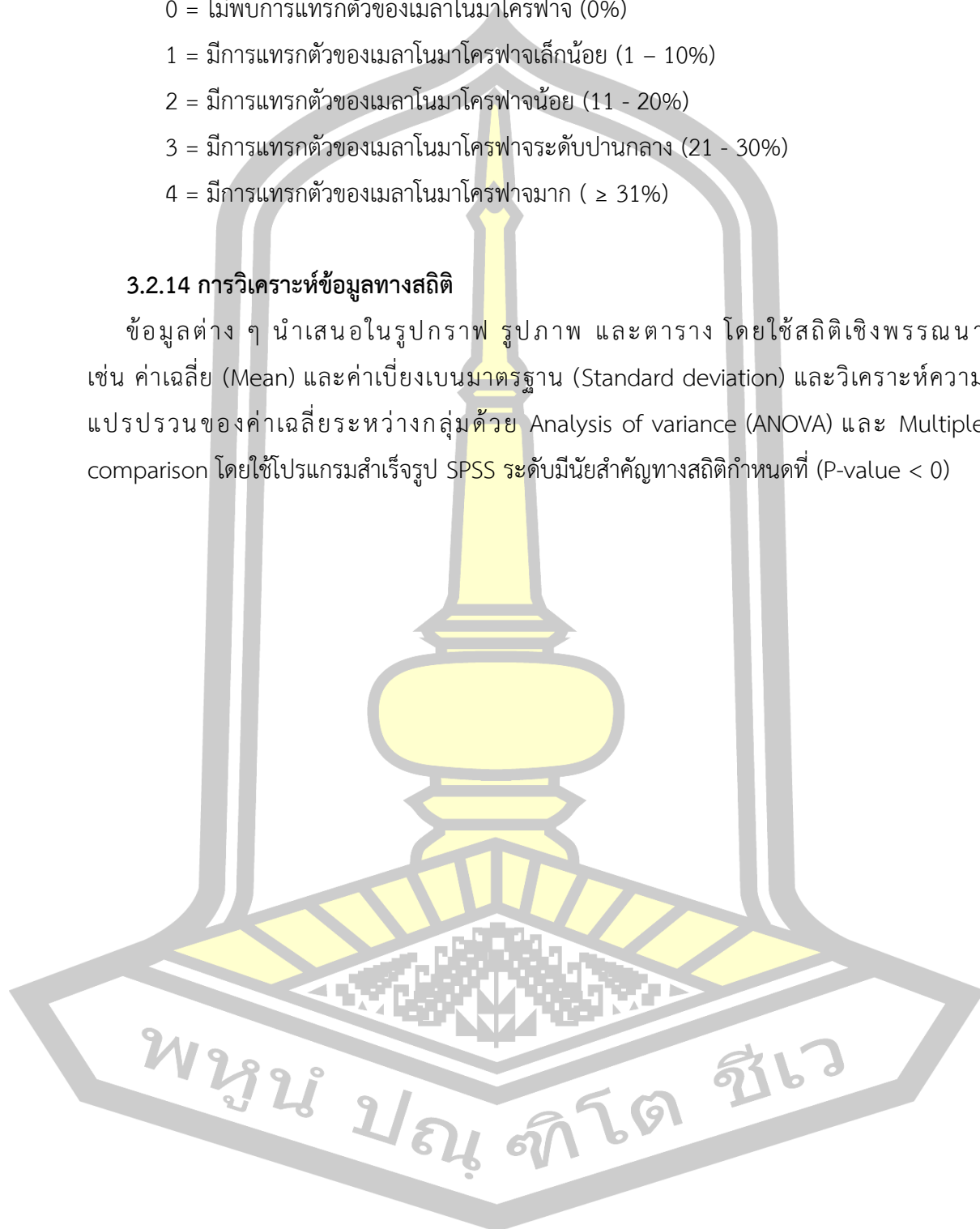
- 0 = ไม่พบการบวม (Swelling) ของเซลล์ตับ (0%)
- 1 = เซลล์ตับเกิดการบวมเล็กน้อย (1 – 10%)
- 2 = เซลล์ตับเกิดการบวมน้อย (11 - 20%)
- 3 = เซลล์ตับเกิดการบวมระดับปานกลาง (21 - 30%)
- 4 = เซลล์ตับเกิดการบวมระดับรุนแรง (≥ 31%)

กำหนดความเสียหายของพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อมี

- 0 = ไม่พบการแทรกตัวของเมลานินมาโครฟาจ (0%)
- 1 = มีการแทรกตัวของเมลานินมาโครฟาจเล็กน้อย (1 - 10%)
- 2 = มีการแทรกตัวของเมลานินมาโครฟาจน้อย (11 - 20%)
- 3 = มีการแทรกตัวของเมลานินมาโครฟาจระดับปานกลาง (21 - 30%)
- 4 = มีการแทรกตัวของเมลานินมาโครฟาจมาก ($\geq 31\%$)

3.2.14 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลต่าง ๆ นำเสนอในรูปภาพ รูปภาพ และตาราง โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา เช่น ค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) และวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มด้วย Analysis of variance (ANOVA) และ Multiple comparison โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ระดับมีนัยสำคัญทางสถิติกำหนดที่ ($P\text{-value} < 0$)



บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปราย

4.1 คุณค่าโภชนะของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์

จากการศึกษาคุณค่าโภชนะและองค์ประกอบทางเคมีของใบกระถิน ใบไมยราบยักษ์ พบว่า ใบกระถินมีปริมาณโปรตีนหยาบ (Crude protein) ไขมัน (Fat) คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่าย (nitrogen free extract, NFE) ความชื้น (Moisture) เถ้า (Ash) เยื่อใย (Crude fiber) ฟอสฟอรัส (P) คาร์บอนอินทรีย์ (OC) และเหล็ก (Fe) เท่ากับ $16.63 \pm 1.25\%$, $12.26 \pm 0.03\%$, $37.90 \pm 1.37\%$, $10.35 \pm 0.14\%$, $9.56 \pm 0.78\%$, $13.30 \pm 0.73\%$, $0.81 \pm 0.27\%$, $70.50 \pm 3.21\%$ และ $0.01 \pm 0.00\%$ ตามลำดับ สำหรับใบไมยราบยักษ์เท่ากับ $25.38 \pm 1.25\%$, $9.81 \pm 0.12\%$, $25.53 \pm 2.11\%$, $11.06 \pm 1.08\%$, $8.99 \pm 1.14\%$, $19.22 \pm 1.03\%$, $0.44 \pm 0.40\%$, $66.79 \pm 0.00\%$ และ $0.01 \pm 0.00\%$ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1)

จากการทดลอง พบว่า คุณค่าโภชนะของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์มีค่าใกล้เคียงกับผลการทดลองของเฉลา พิทักษ์สินสุข และคณะ (2553) รายงานว่าใบกระถินแห้งมีโปรตีนโดยรวมเท่ากับ 22.3% ไขมัน 4.1% เยื่อใย 11.7% เถ้า 7.5% และ NFE 45.9% ตามลำดับและรายงานว่ ใบไมยราบยักษ์มีโปรตีนโดยรวมเท่ากับ 22.6% ไขมัน 0.7% เยื่อใย 17.2% เถ้า 8.0% และ NFE 43.1% ตามลำดับ และ Wittayakun *et al.* (2017) รายงานว่า ใบไมยราบยักษ์มีโปรตีน 18.87 % ไขมัน 4.81 % คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยง่าย 50.13% ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 คุณค่าโภชนะและองค์ประกอบทางเคมีของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์

Nutrition	Lead tree	Giant mimosa
Crude protein (%)	16.63 ± 1.25	25.38 ± 1.25
Fat (%)	12.26 ± 0.03	9.81 ± 0.12
NFE (%)	37.90 ± 1.37	25.53 ± 2.11
Moisture (%)	10.35 ± 0.14	11.06 ± 1.08
Ash (%)	9.56 ± 0.78	8.99 ± 1.14
Crude fiber.(%)	13.30 ± 0.73	19.22 ± 1.03
P (%)	0.81 ± 0.27	0.44 ± 0.40
OC (%)	70.50 ± 3.21	66.79 ± 0.00
Fe (%)	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00

หมายเหตุ mean \pm S.D.

4.2 ผลผลิตจากกระบวนการสกัด

ผลผลิตของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์จากกระบวนการสกัดด้วยวิธีการ Mercuration โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันได้แก่ DI EtOH 40% และ EtOH 80% พบว่า ผลผลิตของใบกระถินที่ได้จากกระบวนการสกัดเท่ากับ 6.87 – 27.63% โดย EtOH 40% สามารถสกัดปริมาณสารสำคัญออกจากใบกระถินได้มากที่สุด (27.63%) รองลงมาคือ DI (10.44%) และ EtOH 80% (6.87%) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) และสำหรับใบไมยราบยักษ์ พบว่า ผลผลิตของใบไมยราบยักษ์ที่ได้จากกระบวนการสกัดเท่ากับ 8.07 – 20.35% โดย EtOH 80% สามารถสกัดปริมาณสารสำคัญออกมาได้มากที่สุด (20.35%) รองลงมาคือ DI (13.68%) และ EtOH 40% (8.07%) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

จากการสกัดใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ พบว่า EtOH ให้ผลผลิตจากกระบวนการสกัดได้ดีกว่า DI เนื่องจากความสามารถของตัวทำละลายแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการทำละลายสารสำคัญที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นผลมาจากค่าคงที่ของโครงสร้างทางเคมีของตัวทำละลายอินทรีย์และคุณสมบัติทางเคมีของพืชพฤษเคมี (Felhi *et al.*, 2017) นอกจากนี้ ผลผลิตที่ได้จากกระบวนการสกัดคาดว่าป็นสารประกอบแทนนิน แอลคาลอยด์ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และมีโมซิน เป็นต้น ซึ่งสารประกอบเหล่านี้สามารถพบได้ในพืชวงศ์ Fabaceae (Hanganu *et al.*, 2010) โดยสารประกอบเหล่านี้มีโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันออกไป นอกจากนี้ ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Sajid *et al.* (2012) ที่ใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัดใบหยิน้ำ (*Pongamia pinnata* (L.)) ซึ่งเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Fabaceae พบว่า EtOH เจือจางให้ผลผลิตจากกระบวนการสกัดสูงที่สุด รองลงมาคือ EtOH บริสุทธิ์ และ DI ตามลำดับ (12.51 ± 0.46 , 12.01 ± 0.36 และ $9.70 \pm 0.23\%$ ตามลำดับ)

ดังนั้น แสดงให้เห็นว่า EtOH เจือจางเป็นตัวละลายที่ดีที่สุดในการทำกรสกัดตัวอย่างในใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ อย่างไรก็ตาม ผลผลิตของสารสกัดหยาบก็ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ตัวทำละลาย รวมถึงระยะเวลาในการสกัด

พจนานุกรมพืชโต ชีเว

ตารางที่ 4.2 น้ำหนักสารสกัดหยาบและผลผลิตใบกระถินและใบไมยราบยักษ์เมื่อสกัดด้วย DI EtOH 40% และ EtOH 80%

Sample	Solvent	Initial weight (g)	Crude extract weight (g)	Yield (%)
Lead tree	DI	20	2.09	10.44
	EtOH 40%	20	5.71	27.63
	EtOH 80%	20	1.39	6.87
Giant mimosa	DI	20	2.76	13.68
	EtOH 40%	20	1.63	8.07
	EtOH 80%	20	4.1	20.35

4.3 ปริมาณแทนนิน

จากการวิเคราะห์ปริมาณแทนนินในใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ที่สกัดตัวทำละลายที่แตกต่างกันได้แก่ DI EtOH 40% และ EtOH 80% พบว่า สารสกัดหยาบแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\text{-value} < 0.05$) โดยสารสกัดหยาบใบกระถินมีปริมาณแทนนินอยู่ในช่วง $24.55 \pm 1.31 - 95.22 \pm 0.22$ mg TNE/g ซึ่งสารสกัดหยาบใบกระถินด้วย EtOH 80% สามารถสกัดแทนนินได้ปริมาณสูงที่สุด (95.22 ± 0.22 mg TNE/g) รองลงมาได้แก่ EtOH 40% (88.00 ± 1.51 mg TNE/g) และ DI (24.55 ± 1.31 mg TNE/g) ตามลำดับ (ตาราง 4.3) และสำหรับสารสกัดหยาบใบไมยราบยักษ์ พบว่า สารสกัดหยาบใบไมยราบยักษ์มีปริมาณแทนนินอยู่ในช่วง $21.95 \pm 1.43 - 93.56 \pm 0.62$ mg TNE/g สารสกัดหยาบไมยราบยักษ์ด้วย EtOH 40% สามารถสกัดแทนนินได้ปริมาณสูงที่สุด (93.56 ± 0.62 mg TNE/g) รองลงมา คือ EtOH 80% (76.16 ± 1.52 mg TNE/g) และ DI (21.95 ± 1.43 mg TNE/g) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3)

แทนนินเป็นกลุ่มของพอลิฟีนอลจัดจำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ ไฮโดรไลต์แทนนินมีโครงสร้างประกอบด้วย น้ำตาลหรือ polyols และ phenolic acid หรือ hexahydroxydiphenic acid (HHDP) หรืออนุพันธ์ของ HHDP ซึ่ง phenolic acid จะมากกว่าน้ำตาลหรือ polyols โดยเชื่อมกันด้วยพันธะเอสเตอร์ โดยสามารถแยกออกเป็นโมเลกุลเล็กๆ เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดอ่อนหรือเบสอ่อน และคอนเดนส์แทนนินเป็นสารประกอบ polyphenols ซึ่งมีโครงสร้างเป็นอนุพันธ์ของสารประกอบกลุ่ม flavonoids (flavan-3-ol หรือและ flavan-3,4-diol) (ประกร รามกุล, 2553; Santos and Mello 2004; Dai and Mumper, 2014)

จากการศึกษา พบว่า EtOH เป็นตัวทำละลายในการสกัดปริมาณแทนนินได้ดีสุดเมื่อเปรียบเทียบกับ DI เนื่องจากแทนนินสามารถจับตัวกับเอนไซม์และโปรตีนได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อน เรียกว่า โปรตีนแทนนิน (Tannins-protein complex) ซึ่งมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำหรือละลายน้ำได้เล็กน้อย (FAO/IAEA, 2000; Nishira, 1960; Baldosano *et al.*, 2015) นอกจากนี้ การใช้ DI และ EtOH ที่เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ร่วมกันจะช่วยให้สามารถสกัดสารที่ละลายในน้ำและละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (Do *et al.*, 2014) ออกมาได้ดีกว่าการใช้น้ำหรือเอทานอลเพียงอย่างเดียว (Downey & Hanlin, 2010)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแทนนินในใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ที่สกัดด้วยเอทานอลในงานวิจัยนี้ (95.22 ± 0.22 mg TNE/g หรือ 0.66% และ 93.56 ± 0.62 mg TNE/g หรือ 0.76% ตามลำดับ) พบว่า ปริมาณแทนนินในใบกระถินมีปริมาณน้อยกว่ารายงานของเดชภาทร วงศ์เดชจร และคณะ (2550) ซึ่งมีปริมาณแทนนินเท่ากับ 2.03 %DM สำหรับใบไมยราบยักษ์ พบว่า มีปริมาณสูงกว่ารายงานของวุฒิพันธุ์ เนตรวิชัย และคณะ (2554) ซึ่งใช้ใบรวมกันใบในการหาปริมาณแทนนินคือ 0.19 %DM

นอกจากนี้ แทนนินยังมีประโยชน์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ *Vibrio* sp. ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่พบในสัตว์น้ำ เช่น น้ำกร่อย (ธีรวุฒิ เลิศสุทธิชวาล, 2553) *Aeromonas hydrophila* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำจืด (สถิตย์ อรุณแสง, 2549) เมื่อได้รับความเครียดจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น สิ่งแวดล้อม และ *Streptococcus agalactiae* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบระบาดรุนแรงในน้ำร้อน ทำให้ปลาตายในเวลาอันสั้นหากติดเชื้อรุนแรง (ชนกันต์ จิตมนัส, 2556; Mian *et al.*, 2009) จากรายงานของ Maisak *et al.* (2013) ที่ใช้แทนนินเพื่อต้านเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* และ *S. agalactiae* จากการศึกษาสามารถนำไปสู่การใช้แทนนินเติมในอาหารปลาเพื่อต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและอาจใช้ร่วมกับยาต้านจุลชีพในการควบคุมการติดเชื้อแบคทีเรีย นอกจากนี้ เมื่อสัตว์ได้รับปริมาณแทนนินมากเกินไปจะทำให้เกิดความเป็นพิษหรือทำให้สัตว์ตายได้ ซึ่งปริมาณแทนนินที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษเฉียบพลันหรือทำให้ตายร้อยละ 50 (ของปลาจะอยู่ที่เวลา 96 ชั่วโมง เท่ากับ 97.5 mg/l) จะทำให้สัตว์มีพฤติกรรมเปลี่ยนไป เช่น ในปลานิลจะมีการลอยตัวอยู่นิ่งที่บริเวณผิวน้ำ อ้าปากและสับสนหายใจถี่ขึ้น อย่างไรก็ตาม เมื่อสัตว์ได้รับแทนนินในปริมาณมากเป็นเวลานาน จะไม่ทำให้สัตว์ตาย แต่จะทำให้สัตว์มีการเจริญเติบโตช้าลง และผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเหงือก ลำไส้ และตับ (ประสาทร บิริสุทธิ์เพชร, 2543)

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบแทนนิน และฟีนอลิกจากใบกระถินและใบไมยราบยักษ์

Sample	Solvent	Tannins (mg TNE/g)	Total phenolic (mg GAE/g)
Lead tree	DI	24.55 ± 1.31 ^c	3.29 ± 0.35 ^b
	EtOH 40%	88.00 ± 1.51 ^{Bb}	4.97 ± 0.99 ^a
	EtOH 80%	95.22 ± 0.22 ^{Aa}	4.11 ± 0.72 ^{Bab}
Giant mimosa	DI	21.95 ± 1.43 ^c	3.87 ± 1.48 ^b
	EtOH 40%	93.56 ± 0.62 ^{Aa}	5.72 ± 0.30 ^a
	EtOH 80%	76.16 ± 1.52 ^{Bb}	5.36 ± 0.25 ^{Aab}

หมายเหตุ mean ± S.D. ^{A,B} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม และ ^{a,b...} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติภายในกลุ่ม (P-value < 0.05)

4.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากการตรวจสอบสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดซึ่งเป็นสารกลุ่มสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ที่สกัดด้วย DI EtOH 40% และ EtOH 80% โดยใช้ Gallic acid เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบพบว่าสารสกัดหยาบแต่ละชนิดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05) โดยสารสกัดหยาบใบกระถินมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วง 3.29 ± 0.35 - 4.97 ± 0.99 mg GAE/g โดย EtOH 40% มีความสามารถในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด (4.97 ± 0.99 mg GAE/g) รองลงมา คือ EtOH 80% (4.11 ± 0.72 mg GAE/g) และ DI 3.29 ± 0.35 mg GAE/g ตามลำดับ (ตาราง 4.3) สำหรับสารสกัดหยาบใบไมยราบยักษ์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วง 3.87 ± 1.48 - 5.72 ± 0.30 mg GAE/g โดย EtOH 40% มีความสามารถในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด (5.72 ± 0.30 mg GAE/g) รองลงมา คือ EtOH 80% (5.36 ± 0.25 mg GAE/g) และ DI (3.87 ± 1.48 mg GAE/g) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3)

จากผลการทดลอง พบว่า ตัวทำละลาย EtOH มีประสิทธิภาพในการละลายสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้มากกว่า DI ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกมีโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic Ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl Group)

อย่างน้อย 1 หมู่ รวมอยู่ในโมเลกุล (Soto-Vaca *et al.*, 2012) ซึ่งประกอบด้วย 3 กลุ่ม ได้แก่ phenolic acids, polyphenols และ flavonoids โดย EtOH เป็นตัวทำละลายที่ดีชนิดหนึ่งในการสกัดฟีนอลิก (Shi *et al.*, 2005) นอกจากนี้ การสกัดสารปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจะลดลงเมื่อมีน้ำในตัวทำละลาย EtOH เพิ่มขึ้น (Do *et al.*, 2014) ซึ่ง EtOH เป็นตัวทำละลายกึ่งมีขั้วจึงส่งผลทำให้มีประสิทธิภาพในการละลายสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้ดีกว่า DI นอกจากนี้ สารประกอบฟีนอลิกจะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความขั้วสูง แต่ละลายได้เล็กน้อยในน้ำ (Walter & Purcell, 1979)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดหยาบใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ที่สกัดได้มากที่สุด 4.97 ± 0.99 mg GAE/g และ 5.72 ± 0.30 mg GAE/g ตามลำดับ พบว่า มีปริมาณมากกว่ารายงานของ Sharma and Chaurasia (2015) ที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในใบกระถินเท่ากับ $1.34 \pm 0.08 - 2.849 \pm 0.02$ mg GAE/g และรายงานของ Zarin *et al.* (2016) ที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในใบกระถินเท่ากับ 3.21 mg GAE/g สำหรับใบไมยราบยักษ์ พบว่า มีปริมาณมากกว่ารายงานของ Koodkaew *et al.* (2018) ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในใบกระถินอยู่ในช่วง 21.95 ± 1.52 $\mu\text{g/mL}$ ถึง 42.25 ± 1.43 $\mu\text{g/mL}$

สารประกอบฟีนอลิกยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์กับกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระ (Daduang *et al.*, 2011) นอกจากนี้ สารประกอบฟีนอลิกยังมีประโยชน์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Escherichia Coli* และ *Staphylococcus aureus* (สุวรรณณี แสันทวิสุข และคณะ, 2555; Esekhiagbe *et al.*, 2009; Sengul *et al.*, 2009) อย่างไรก็ตาม การเพิ่มสารประกอบฟีนอลิกที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในอาหารปลาจะช่วยให้ปลามีสุขภาพดี เพิ่มการเจริญเติบโต มีภูมิต้านทานโรค ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ช่วยลดระดับภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) และมีอัตราการรอดสูงกว่าปลาที่ให้อาหารปกติ นอกจากนี้ การได้รับสารประกอบฟีนอลิกหรือการที่ปลาสร้างสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณที่มากหรือน้อยเกินไปจะทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งเป็นภาวะที่เกิดจากความไม่สมดุลของปริมาณอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในตัวปลา ทำให้อนุมูลอิสระเป็นพิษต่อเซลล์ มีการเปลี่ยนแปลงการทำงานของไขมันและโปรตีนของเซลล์ ส่งผลต่อปลาทำให้เป็นโรคร่างและมีการเจริญเติบโตช้า (ธีระวัฒน์ รัตนพจน์ และคณะ, 2555; มนต์สรวง ยางทอง, 2557; ดวงพร อมรเลิศพิศาล และคณะ 2558; Oost, Beyer, & Vermeulen, 2003)

4.5ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ในสารสกัดหยาบใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ ที่สกัดด้วย DI EtOH 40% และ EtOH 80% ซึ่งผลการทดลองรายงานในรูปแบบ IC₅₀ พบว่า สารสกัดหยาบแต่ละชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05) โดยสารสกัดหยาบใบกระถินมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันอยู่ในช่วง 770.22 ± 80.61 - 2,861.03 ± 31.99 µg/ml โดยสารสกัดหยาบใบกระถินที่สกัดด้วย EtOH 40% มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันดีที่สุด (770.22 ± 80.61 µg/ml) รองลงมา คือ EtOH 80% (2,130.52 ± 48.09 µg/ml) และ DI (2,861.03 ± 31.99 µg/ml) ตามลำดับ (ตาราง 4.4) และสารสกัดหยาบใบไมยราบยักษ์มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันอยู่ในช่วง 706.14 ± 51.82 - 4,334.26 ± 77.35 µg/ml โดยสารสกัดหยาบใบไมยราบยักษ์ด้วย EtOH 80% มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันดีที่สุด (706.14 ± 51.82 µg/ml) รองลงมา คือ ตัวทำละลายด้วย EtOH 40% (731.51 ± 19.23 µg/ml) และ DI (4,334.26 ± 77.35 µg/ml) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบสารสกัดหยาบชนิดใดที่มีความสามารถเทียบเท่ากับ สารมาตรฐาน Ascorbic acid ซึ่งเป็น กลุ่มควบคุมเชิงบวก (Positive control) โดยพบว่ามีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05)

จากผลการทดลอง พบว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วย EtOH มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วย DI ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจวัดปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (ตารางที่ 4.3) อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารประกอบฟีนอลิกมิได้อยู่ภายใต้อิทธิพลของ จำนวนหมู่ฟีนอลิกเพียงอย่างเดียว แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระยังขึ้นกับตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group, OH) ที่อยู่ในโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก โดยพบว่า Monohydroxy benzoic acids ที่มีหมู่ OH อยู่ในตำแหน่ง meta จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าอยู่ในตำแหน่ง ortho หรือ para (Morel *et al.*, 1998)

พหุบัณฑิต ชีวะ

ตารางที่ 4.4 ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบใบกระถินและใบไมยราบยักษ์โดยตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH

Sample	Solvent	Concentrations	Inhibition (%)	IC ₅₀ (µg/ml)	
Lead tree	DI	0	0	2,861.03 ± 31.99 ^{Ba}	
		1000	22.82		
		2000	33.54		
Lead tree	EtOH 40%	0	0	770.22 ± 80.61 ^C	
		500	23.04		
		1000	69.96		
Lead tree	EtOH 80%	0	0	2,130.52 ± 48.09 ^{Ab}	
		500	16.04		
		1000	42.83		
Giant mimosa	DI	0	0	4,334.26 ± 77.35 ^{Aa}	
		1000	20		
		2000	32.35		
	Giant mimosa	EtOH 40%	0	0	731.51 ± 19.23 ^b
			500	31.94	
			1000	70.2	
Giant mimosa	EtOH 80%	0	0	706.14 ± 51.82 ^{Bb}	
		500	32.43		
		1000	72.72		
Ascorbic acid		0	0	38.89 ± 1.23	
		25	31.69		
		50	63.38		

หมายเหตุ mean ± S.D. ^{A,B...} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม และ ^{a,b...} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติภายในกลุ่ม (P-value < 0.05)

4.6 ปริมาณมิโมซิน

จากการวิเคราะห์ปริมาณมิโมซินในสารสกัดหยาบใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ที่สกัดด้วย DI EtOH 40% และ EtOH 80% พบว่า สารสกัดหยาบแต่ละชนิดที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\text{-value} < 0.05$) ยกเว้น สารสกัดหยาบจากใบไมยราบยักษ์ โดยสารสกัดหยาบใบกระถินมีปริมาณมิโมซินอยู่ในช่วง $0.07 \pm 0.01 - 0.16 \pm 0.02$ mg MME/g โดยสารสกัดหยาบใบกระถินด้วย EtOH 40% มีความสามารถในการสกัดมิโมซินได้ปริมาณสูงที่สุด (0.16 ± 0.02 mg MME/g) รองลงมา คือ EtOH 80% (0.10 ± 0.03 mg MME/g) และ DI (0.07 ± 0.01 mg MME/g) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5) สำหรับสารสกัดหยาบใบไมยราบยักษ์ พบว่า สารสกัดหยาบใบไมยราบยักษ์มีปริมาณมิโมซินอยู่ในช่วง $0.07 \pm 0.00 - 0.09 \pm 0.02$ mg MME/g โดย EtOH 40% มีความสามารถในการสกัดมิโมซินได้ปริมาณสูงที่สุดเช่นกัน (0.09 ± 0.02 mg MME/g) รองลงมา คือ EtOH 80% (0.08 ± 0.01 mg MME/g) และ DI (0.07 ± 0.00 mg MME/g) ตามลำดับ (ตาราง 4.5) สำหรับการตรวจสอบปริมาณมิโมซินในใบของพืชทั้งสองชนิดนั้น พบว่า EtOH 40% มีประสิทธิภาพในการสกัดมิโมซินจากใบพืชมาอยู่ในรูปสารสกัดหยาบได้มากที่สุด (ตารางที่ 4.5)

จากผลการทดลอง พบว่า EtOH เป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพในการสกัดมิโมซินมากกว่า DI เนื่องจากลักษณะโครงสร้างทางเคมีของมิโมซิน คือ β -N-(3-hydroxy-4-pyridone)- α -amino propionic acid ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่มีขั้วมากกว่าส่วนที่ไม่มีขั้ว (Pund *et al.*, 2017) ดังนั้น จึงทำให้ EtOH ซึ่งเป็นตัวทำละลายอินทรีย์กึ่งขั้วสามารถทำละลายมิโมซินออกจากพืชตัวอย่างได้มากกว่า DI เมื่อเปรียบเทียบปริมาณมิโมซินในใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ที่สกัดได้ปริมาณมากที่สุดด้วย EtOH 40% คือ 0.16 ± 0.02 mg MME/g (หรือ $0.0046\%/g$ dw) และ 0.09 ± 0.02 mg MME/g (หรือ $0.0007\%/g$ dw) ตามลำดับ พบว่า มีปริมาณมิโมซินต่ำมากเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Xuan *et al.* (2006) ที่กล่าวว่าปริมาณมิโมซินในใบกระถินจะอยู่ในช่วง $2.03 - 4.89\% /g$ dw ทั้งนี้ความเป็นพิษของมิโมซินเกิดจากมิโมซินเองและสารทุติยภูมิตัวกลางคือ 3,4-DHP และไอโซเมอร์ของมิโมซินและ 3,4-DHP คือ 2,3-dihydroxypyridine ที่เกิดจากการย่อยสลายในกระเพาะรูเมนของสัตว์กระเพาะรวม อย่างไรก็ตาม สัตว์กระเพาะรวมจะมีความทนทานต่อความเป็นพิษของมิโมซินได้มากกว่าสัตว์กระเพาะเดี่ยว เนื่องจากจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนมีความสามารถในการลดความเป็นพิษของสารต่อต้านโภชนาต่าง ๆ ได้ (ปราโมทย์ แพงคำ, 2545)

ตารางที่ 4.5 ปริมาณสารมิโมซินจากใบกระถินและใบไมยราบยักษ์

Sample	Solvent	Mimosine (mg MME/g)
Lead tree	DI	0.07 ± 0.01 ^b
	EtOH 40%	0.16 ± 0.02 ^{Aa}
	EtOH 80%	0.10 ± 0.03 ^b
Giant Mimosa	DI	0.07 ± 0.00
	EtOH 40%	0.09 ± 0.02 ^B
	EtOH 80%	0.08 ± 0.01

หมายเหตุ mean ± S.D. ^{A,B...} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม และ ^{a,b...} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติภายในกลุ่ม (P-value < 0.05)

4.7 ความเป็นพิษเฉียบพลัน

ในการศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของสารสกัดหยาบจากใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ ที่มีต่อไรทะเลด้วยวิธี Brine shrimp lethality assay (BSLA) เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัด เนื่องจากสะดวก รวดเร็ว ผลการทดสอบเชื่อถือได้ และประหยัดค่าใช้จ่าย (Chanda and Baravalia, 2011) เมื่อนำมาคำนวณหาความเข้มข้นที่ทำให้ไรทะเลตายห้าสิบเปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) ผลจากการทดลอง พบว่า ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 12, 24 และ 36 ชม. พบว่า สารสกัดหยาบจากใบกระถินด้วย DI มีความเป็นพิษสูงที่สุด (190.09 ± 49.79, 161.10 ± 24.39 และ 49.35 ± 10.32 µg/ml ตามลำดับ) รองลงมา EtOH 80% (233.33 ± 0.00, 178.69 ± 28.08 และ 104.45 ± 7.70 µg/ml ตามลำดับ) และ EtOH 40% (237.04 ± 6.41, 191.20 ± 25.58 และ 115.28 ± 16.84 µg/ml ตามลำดับ) และเมื่อนำมาคำนวณค่าระดับความเข้มข้นที่ทำให้ไรทะเลตายเก้าสิบเปอร์เซ็นต์ (LC₉₀) ระยะเวลาการเลี้ยง 12, 24 และ 36 ชม. พบว่า สารสกัดหยาบจากใบกระถินด้วย DI มีความเป็นพิษสูงที่สุด (346.75 ± 90.17, 301.09 ± 41.55 และ 142.92 ± 14.84 µg/ml ตามลำดับ) รองลงมา EtOH 80% (440.74 ± 6.41, 361.79 ± 56.96 และ 224.47 ± 7.70 µg/ml ตามลำดับ) และ EtOH 40% (437.04 ± 6.41, 374.53 ± 54.03 และ 271.94 ± 57.35 µg/ml ตามลำดับ)

เมื่อทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบไมยราบยักษ์ที่มีต่อไรทะเล พบว่า LC₅₀ ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 12, 24 และ 36 ชม. สารสกัดหยาบจากใบไมยราบยักษ์ด้วย EtOH 40% มีความเป็นพิษสูงที่สุด (187.48 ± 0.00 , 146.52 ± 12.78 และ 58.79 ± 17.14 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ) ตามมาด้วย DI (325.08 ± 0.00 , 147.24 ± 26.52 และ 72.22 ± 7.86 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ) และ EtOH 80% (366.76 ± 11.79 , 266.73 ± 11.79 และ 89.18 ± 3.54 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ) สำหรับค่า LC₉₀ ระยะเวลาการเลี้ยง 12, 24 และ 36 ชม. พบว่า สารสกัดหยาบจากใบไมยราบยักษ์ด้วย EtOH 40% มีความเป็นพิษสูงที่สุด (373.12 ± 61.77 , 321.51 ± 48.15 และ 242.12 ± 36.88 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ) ตามมาด้วย DI (625.16 ± 0.00 , 329.63 ± 12.83 และ 272.22 ± 7.86 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ) และ EtOH 80% (666.83 ± 11.79 , 566.81 ± 24.05 และ 299.41 ± 32.43 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ) (ตารางที่ 4.6)

จากการทดสอบระดับความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดหยาบใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ พบว่า เมื่อความเข้มข้นของตัวทำละลายเพิ่มขึ้นและระยะเวลาในการทดสอบนานขึ้น มีผลโดยตรงต่อเปอร์เซ็นต์การตายของไรทะเลที่เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดนี้ มีความสามารถในการสกัดสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน ฟีนอลิก แอลคาลอยด์ สเตอรอยด์ และน้ำตาล (Widyawati *et al.*, 2014) ซึ่งพืชในสกุล *Mimosa* ถูกตรวจพบว่า มีสารสำคัญ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ ควิโนน ซาโปนิน สเตอรอยด์ และแทนนิน (Miller, 2004) ซึ่งสารสำคัญเหล่านี้มักถูกใช้เป็นการก่อกำเนิดความเป็นพิษระดับเซลล์ (Cytotoxicity) (Maridass, 2008; Asaduzzaman *et al.*, 2015) และ Coe *et al.* (2010) กล่าวว่า พืชชนิดใดที่มี สารสำคัญเหล่านี้มากจะแสดงความเป็นพิษต่อไรทะเลสูง นอกจากนี้ ค่า LC₅₀ มีความใกล้เคียงกับ ผลการทดลองของ Das *et al.* (2014) ซึ่งทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบใบไมยราบเลื้อย (*M. pudica*) กับไรทะเลเช่นกัน และตรวจพบค่า LC₅₀ มีค่าเท่ากับ 282.3495 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งมีประโยชน์ ในการนำใบไมยราบเลื้อยนี้ไปใช้ในการต้านการอักเสบของเชื้อจุลินทรีย์ และ จากการทดลองของ Wakawa & Fasihuddin (2017) ทดสอบความเป็นพิษของ สารสกัดหยาบใบมะกล่ำตาหนู (*Abrus Precatorius* Linn.) วงศ์ Fabaceae พบว่า มีค่า LC₅₀ เท่ากับ 226.05 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งมีประโยชน์ในการรักษาอาการไข้ตัวร้อนจากการติดเชื้อจุลินทรีย์ได้ จากงานวิจัยนี้ สารสกัดหยาบใบกระถินมีค่า LC₅₀ อยู่ในช่วง $190.09 - 237.04$ $\mu\text{g/ml}$ และสารสกัดหยาบใบไมยราบยักษ์มีค่า LC₅₀ อยู่ในช่วง $187.48 - 366.26$ $\mu\text{g/ml}$ มีรายงานว่าใบไมยราบยักษ์และถั่วชนิดอื่น ๆ มีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ 4 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Candida albicans* แต่ไม่สามารถต้านเชื้อ *Escherichia coli* จึงใช้รักษาโรคติดเชื้อเรื้อรังชนิดต่าง ๆ และ จากการอักเสบของเนื้อเยื่อผิวหนัง และตา แต่ไม่สามารถรักษาโรคที่องรงได้ (Miller, 2004)

ตารางที่ 4.6 Cytotoxicity, LC₅₀ และ LC₉₀ ของสารสกัดหยาบใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ โดยวิธี Brine Shrimp Lethal Assay

Sample	Solvent	Concentrations (µg/ml)	12 hr.			24 hr.			36 hr.		
			Mortality (%)	LC ₅₀ (µg/ml)	LC ₉₀ (µg/ml)	Mortality (%)	LC ₅₀ (µg/ml)	LC ₉₀ (µg/ml)	Mortality (%)	LC ₅₀ (µg/ml)	LC ₉₀ (µg/ml)
Lead tree	DI	0	0.00 ± 0.00	190.09 ± 49.79 ^B	346.75 ± 90.17 ^B	4.44 ± 3.85	161.10 ± 24.39	301.09 ± 41.55	26.67 ± 6.67	49.35 ± 10.32 ^B	142.92 ± 14.84 ^{Bb}
		50	13.33 ± 6.67			17.78 ± 3.85			51.11 ± 10.18		
		100	26.67 ± 6.67			33.33 ± 6.67			71.11 ± 3.85		
Giant mimosa	DI	0	0.00 ± 0.00	237.04 ± 6.41	437.04 ± 6.41	4.44 ± 3.85	191.20 ± 25.48	374.52 ± 54.03	48.89 ± 3.85	115.28 ± 16.84 ^a	271.94 ± 57.35 ^a
		50	17.78 ± 3.85			22.22 ± 7.70			51.11 ± 3.85		
		100	20.00 ± 6.67			28.89 ± 3.85			55.56 ± 3.85		
Giant mimosa	DI	0	0 ± 0.00	233.33 ± 0.00	440.74 ± 6.41	6.67 ± 6.67	178.69 ± 28.08 ^B	361.79 ± 56.96 ^B	15.56 ± 7.70	104.45 ± 7.70 ^a	224.47 ± 7.70 ^a
		50	20.00 ± 6.67			24.44 ± 7.70			33.33 ± 11.54		
		100	24.44 ± 13.88			35.56 ± 10.18			46.67 ± 6.67		
Giant mimosa	DI	0	4.44 ± 3.85	325.08 ± 0.00 ^{Ab}	625.16 ± 0.00 ^{Ab}	17.78 ± 3.85	147.24 ± 26.52 ^b	329.63 ± 12.83 ^b	37.78 ± 3.85	72.22 ± 7.86 ^b	272.22 ± 7.86 ^A
		50	15.56 ± 3.85			31.11 ± 3.85			44.44 ± 3.85		
		100	20.00 ± 0.00			42.22 ± 3.85			53.33 ± 6.67		
Giant mimosa	DI	0	0.00 ± 0.00	187.48 ± 0.00 ^c	373.12 ± 61.77 ^b	15.56 ± 3.85	146.52 ± 12.78 ^b	321.51 ± 48.15 ^b	44.44 ± 3.95	58.79 ± 17.14 ^b	242.12 ± 36.88
		50	11.11 ± 3.85			28.89 ± 3.85			48.89 ± 13.88		
		100	24.44 ± 3.85			37.78 ± 3.85			57.78 ± 3.85		
Giant mimosa	DI	0	0.00 ± 0.00	366.76 ± 11.79 ^a	666.83 ± 11.79 ^a	11.11 ± 3.85	266.73 ± 11.79 ^{Ab}	566.81 ± 24.05 ^{Ab}	28.89 ± 10.18	89.18 ± 3.54 ^a	299.41 ± 32.43
		50	8.89 ± 3.85			22.22 ± 3.85			37.78 ± 3.85		
		100	11.11 ± 3.85			26.67 ± 3.85			51.11 ± 3.85		

หมายเหตุ mean ± S.D. ^{A,B,...} แสดงค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่ม และ ^{a,b,...} ภายในกลุ่ม (P-value < 0.05)

4.8 คุณค่าโภชนะของสูตรอาหารต่าง ๆ ที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิล

ในการศึกษาครั้งนี้กำหนดให้ T0 คือ อาหารปลาสำเร็จรูป (ควบคุม) T1 คือ อาหารปลาสำเร็จรูป + ไบโกระถิน 10% T2 คือ อาหารปลาสำเร็จรูป + ไบโกระถิน 20% T3 คือ อาหารปลาสำเร็จรูป + ไบโกระถิน 30% T4 คือ อาหารปลาสำเร็จรูป + ไบไมยราบยักษ์ 10% T5 คือ อาหารปลาสำเร็จรูป + ไบไมยราบยักษ์ 20% และ T6 คือ อาหารปลาสำเร็จรูป + ไบไมยราบยักษ์ 30%

จากการคำนวณคุณค่าโภชนะสูตรอาหารต่าง ๆ ที่มีไบโกระถินและไบไมยราบยักษ์เป็นส่วนผสม ในอัตราส่วน 10, 20 และ 30% พบว่า มีโปรตีนอยู่ในช่วง 28.88 - 34.13% ไขมันอยู่ในช่วง 10.08 - 11.61% NEF อยู่ในช่วง 30.46 - 35.89% ความชื้นอยู่ในช่วง 7.89 - 11.82% เถ้าอยู่ในช่วง 7.61 - 8.03% เยื่อใยอยู่ในช่วง 3.68 - 8.34% ฟอสฟอรัสอยู่ในช่วง 0.13 - 0.23% อินทรีย์คาร์บอน (OC) อยู่ในช่วง 64.01 - 66.51% และเหล็ก (Fe) อยู่ในช่วง 0.01% (ตารางที่ 4.7)

โดยพิเชต พลายเพชร (2559) รายงานว่า อาหารของปลานิลควรมีระดับโปรตีน 25 - 45% ไขมัน 5 - 12% คาร์โบไฮเดรต 20 - 50% โยอาหาร \leq 6% แคลเซียม 0.3% และฟอสฟอรัส 0.7% นอกจากนี้ อาหารที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงปลานิลนั้นควรมีปริมาณโปรตีนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลานิล ซึ่งที่มีช่วงที่อายุต่างกันจะมีความต้องการโปรตีนที่แตกต่างกัน โดยสำหรับลูกปลาวัยอ่อน (Juvenile) และลูกปลานิ้ว (Fingerling) จะต้องการอาหารที่ระดับโปรตีนประมาณ 30 - 40% แต่ในปลาใหญ่จะต้องการอาหารที่มีโปรตีนประมาณ 25 - 30% (ณรงค์ กมลรัตน์, 2560) ดังนั้น คุณค่าโภชนะของสูตรอาหารปลาที่มีไบโกระถินและไบไมยราบยักษ์เป็นส่วนผสมมีคุณค่าทางโปรตีนจึงเพียงพอกับปลานิลในกลุ่มการทดลอง เนื่องจาก กลุ่มปลานิลที่นำมาใช้ในการทดลองอยู่ในปลาช่วงอายุวัยรุ่น (10 - 100 กรัม)



ตารางที่ 4.7 การเปรียบเทียบคุณค่าโภชนาและองค์ประกอบทางเคมีในสูตรอาหารต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดสอบกลุ่มปลาชนิด

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Crude protein (%)	34.13 ± 1.24	32.38 ± 0.99	30.63 ± 0.74	28.88 ± 0.49	33.25 ± 1.24	32.38 ± 1.24	31.50 ± 1.24
Fat (%)	10.19 ± 0.83	10.40 ± 0.75	10.61 ± 0.66	11.34 ± 1.32	10.15 ± 0.74	10.11 ± 0.64	10.08 ± 0.55
NFE (%)	32.57 ± 1.73	36.89 ± 1.22	33.63 ± 1.11	33.64 ± 1.54	35.65 ± 1.15	31.16 ± 0.96	30.46 ± 0.57
Moisture (%)	11.82 ± 0.00	7.89 ± 0.11	11.53 ± 0.01	11.38 ± 0.08	7.96 ± 0.30	11.67 ± 0.40	11.59 ± 0.49
Ash (%)	7.61 ± 0.21	7.81 ± 0.11	8.00 ± 0.01	8.20 ± 0.08	7.75 ± 0.30	7.89 ± 0.40	8.03 ± 0.49
Crude fiber (%)	3.68 ± 0.13	4.64 ± 0.19	5.60 ± 0.25	6.57 ± 0.31	5.23 ± 0.30	6.79 ± 0.31	8.34 ± 0.40
P (%)	0.22 ± 0.00	0.13 ± 0.16	0.23 ± 0.05	0.23 ± 0.08	0.21 ± 0.01	0.20 ± 0.02	0.18 ± 0.03
OC (%)	64.01 ± 14.73	64.84 ± 3.54	65.12 ± 2.36	66.51 ± 2.75	64.29 ± 3.54	64.56 ± 3.15	64.84 ± 2.75
Fe (%)	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00

หมายเหตุ mean ± S.D.

4.9 สภาพภูมิอากาศในการเลี้ยงปลานิล

อุณหภูมิน้ำเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการกินอาหารเช่นกัน เนื่องจาก ปลานิลเป็นสัตว์เลือดเย็นที่มีการปรับอุณหภูมิของร่างกายให้ใกล้เคียงกับอุณหภูมิของน้ำ ดังนั้น เมื่ออุณหภูมิน้ำสูงขึ้น ปลานิลจะกินอาหารมากขึ้น เพื่อสร้างพลังงานความร้อนที่ทำให้ร่างกายมีอุณหภูมิสูงขึ้น ในทางตรงข้ามหากอุณหภูมิน้ำลดลงปลานิลจะกินอาหารลดลงไปด้วย จากการทดสอบสูตรอาหารในการเลี้ยงปลานิลโดยทำการเลี้ยงในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2560 – มกราคม พ.ศ. 2561 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ จากการวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในช่วง 9.00 - 12.00 น. พบว่ามีอุณหภูมิเฉลี่ย อยู่ที่ 18.98 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60.68% นอกจากนี้ จากการวัดความเข้มแสง พบว่า ค่าความเข้มแสงในช่วง 9.00-12.00 น. ของระยะเวลาในการเลี้ยงมีความเข้มแสงเฉลี่ยเท่ากับ 5,637.92 Lux และค่า pH เฉลี่ยเท่ากับ 7.30 (ตารางที่ 4.8)

พิเชต พลายุเพชร (2559) รายงานว่า แม้ปลานิลจะทนต่ออุณหภูมิที่สูงถึง 40 องศาเซลเซียส แต่จะอ่อนแอและติดเชื้อง่ายหากอุณหภูมิสูงกว่า 37 - 38 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ ปลานิลจะหยุดสืบพันธุ์หากอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส และ หยุดกินอาหารหากอุณหภูมิต่ำกว่า 16 - 17 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิต่ำที่อาจทำให้ปลานิลตายได้ คือ 10 - 11 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Agbo (2008) รายงานว่า ค่า pH ที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลานิลอยู่ที่ 6.5 - 8.5

ตารางที่ 4.8 ค่าพารามิเตอร์ของสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงปลานิล

Parameter	Minimum	Maximum	Average
Temperature (°C)	11	25	18.98
Humidity (%)	49	69	60.68
Light Intensity (Lux)	4,638	7,235	5,637.92
pH	6.99	7.65	7.3

4.10 ผลต่อการเจริญเติบโตของปลานิล

จากการทดลอง พบว่า น้ำหนักปลานิล ความกว้างของลำตัวของปลานิล ความยาวมาตรฐานของลำตัวของปลานิล ความยาวถึงส่วนหยักลึกของหางของลำตัวปลานิล และความยาวลำตัวทั้งหมดของปลานิลที่เพิ่มขึ้นในทุกกลุ่มการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\text{-value} < 0.05$) โดยน้ำหนักของปลานิลกลุ่ม T2 มีเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักสูงที่สุด รองลงมาคือกลุ่ม T1, T4, T3, T5, T6 และ T0 ตามลำดับ (29.81, 24.30, 23.77, 16.35, 8.33, 7.86 และ 7.61% ตามลำดับ) (ตารางที่ 4.9) อย่างไรก็ตาม พบว่า ความกว้างของปลานิลที่เพิ่มขึ้นในแต่ละกลุ่มการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\text{-value} < 0.05$)

ยกเว้น ในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 โดยเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์พบว่า ปลานิลกลุ่ม T4 มีเปอร์เซ็นต์ความกว้างที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุด รองลงมาคือกลุ่ม T1, T0, T5, T6, T3 และ T2 ตามลำดับ (38.00, 34.38, 28.13, 25.00, 25.00, 18.79 และ 9.09% ตามลำดับ) (ตารางที่ 4.10) นอกจากนี้ ความยาวลำตัวในแต่ละส่วนของปลานิล ได้แก่ ความยาวมาตรฐาน พบว่า ปลานิลกลุ่ม T1 มีเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นสูงที่สุด รองลงมาคือกลุ่ม T0, T6, T2, T5, T3 และ T4 ตามลำดับ (34.55, 25.00, 20.24, 20.00, 19.51 และ 11.94% ตามลำดับ) ความยาวถึงส่วนหยักลึกของหาง พบว่า ปลานิลกลุ่ม T1 มีเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นสูงที่สุด รองลงมาคือกลุ่ม T5, T6, T2, T0, T4 และ T3 ตามลำดับ (24.88, 23.95, 20.00, 18.24, 17.06, 15.43 และ 15.37% ตามลำดับ) และความยาวทั้งหมดของลำตัวของปลานิล พบว่า ปลานิลกลุ่ม T0 มีเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นสูงที่สุด รองลงมาคือกลุ่ม T6, T4, T2, T3, T1 และ T5 ตามลำดับ (16.78, 15.26, 14.90, 14.84, 14.82, 14.54 และ 14.18% ตามลำดับ) (ตารางที่ 4.11, 4.12 และ 4.13 ตามลำดับ)

การศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Santiago *et al.* (1988) ที่ศึกษาผลของใบกระถินต่อสมรรถภาพการสืบพันธุ์และการเจริญเติบโตของปลานิล พบว่า ปลาที่กินอาหารที่มีใบกระถิน น้ำหนักลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับปริมาณของใบกระถินที่แตกต่างกัน (0, 20, 40 และ 80%) พบว่า น้ำหนักตัวโดยรวมของปลานิลเพศผู้จะมีน้ำหนักลดลงเมื่อระดับของใบกระถินเพิ่มขึ้นและปลานิลเพศเมียที่กินอาหารที่มีใบกระถิน 80% จะมีน้ำหนักลดลงอย่างสม่ำเสมอ เนื่องจากใบกระถินและใบไมยราบยักษ์มีสารต้านคุณค่าโภชนาได้แก่ แทนนินและมิโมซิน เป็นต้น ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลา (Sotolu and Faturoti, 2009) และ Chanchay and Poosaran (2009) รายงานว่า Condense Tannins 2.4% สามารถส่งผลทำให้การเจริญเติบโตของปลานิลและปลาอีศกเทศลดลงได้ โดยแทนนินจะมีผลไปมีผลต่อระบบย่อยอาหาร โดยแทนนินจะเข้าจับกับเอนไซม์ที่อยู่ในกระเพาะอาหารเช่น ทริปซินและอะไมเลส เป็นต้น ทำให้เกิดการตกตะกอนหรือแทนนินสามารถจับกับโปรตีนในอาหารที่สัตว์ทานเข้าไปและทำให้เกิดการตกตะกอนได้เช่นกัน (Helsper *et al.*, 1993) นอกจากนี้ แทนนินยังมีส่วนทำให้พืชอาหารมีรสชาติขม รวมถึงลดการดูดซึมวิตามินบี 12 อีกด้วย (Akande, 2010) ดังนั้น จึงส่งผลทำให้ปลานิลไม่สามารถนำพืชอาหารไปใช้ได้อย่างเต็มที่ส่งผลทำให้การเจริญเติบโตลดลง

ตารางที่ 4.9 น้ำหนักของปลานิลที่ได้รับอาหารที่ผสมใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ในอัตราส่วนต่าง ๆ

Treatment	Weight (g)				Weight Gain (%)
	2 week	4 week	6 week	8 week	
T0	47.73 ± 10.78 ^a	58.75 ± 14.81 ^a	59.25 ± 14.24 ^a	59.75 ± 13.07 ^a	7.61
T1	33.45 ± 7.67 ^b	32.25 ± 4.35 ^b	34.75 ± 4.86 ^{bc}	36.25 ± 4.57 ^{bc}	24.30
T2	41.33 ± 2.23 ^{ab}	43.00 ± 2.16 ^b	43.75 ± 2.63 ^{bc}	44.75 ± 3.77 ^{bc}	29.81
T3	39.27 ± 4.72 ^{ab}	37.50 ± 4.43 ^b	38.00 ± 3.92 ^{bc}	38.25 ± 3.77 ^{bc}	16.35
T4	33.04 ± 6.78 ^b	35.25 ± 7.37 ^b	37.00 ± 7.16 ^{bc}	37.25 ± 7.27 ^{bc}	23.77
T5	32.10 ± 4.78 ^b	33.50 ± 4.65 ^b	33.75 ± 2.75 ^c	37.71 ± 1.71 ^c	8.33
T6	39.18 ± 8.30 ^{ab}	43.25 ± 6.95 ^b	44.75 ± 2.06 ^b	45.75 ± 1.71 ^b	7.86

หมายเหตุ mean ± S.D. ^{a,b,c} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติภายในกลุ่ม

(P-value < 0.05)

ตารางที่ 4.10 ความกว้างของลำตัวของปลานิลที่ได้รับอาหารที่ผสมใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ในอัตราส่วนต่าง ๆ

Treatment	Width (cm.)				Width gain (%)
	2 week	4 week	6 week	8 week	
T0	4.25 ± 0.50 ^a	4.75 ± 0.50 ^a	4.88 ± 0.50	5.13 ± 0.50	28.13
T1	4.38 ± 0.48 ^b	4.50 ± 0.00 ^b	4.75 ± 0.25	5.38 ± 0.62	34.38
T2	4.13 ± 0.25 ^b	4.25 ± 0.29 ^{ab}	4.38 ± 0.25	4.50 ± 0.25	9.09
T3	4.38 ± 0.48 ^b	4.68 ± 0.29 ^{ab}	4.68 ± 0.29	4.90 ± 0.19	18.79
T4	4.38 ± 0.48 ^b	4.50 ± 0.41 ^b	4.75 ± 0.48	5.18 ± 0.34	38.00
T5	4.50 ± 0.63 ^b	4.73 ± 0.25 ^b	4.90 ± 0.25	5.00 ± 0.21	25.00
T6	4.13 ± 0.25 ^b	4.38 ± 0.48 ^{ab}	4.75 ± 0.00	5.00 ± 0.42	25.00

หมายเหตุ mean ± S.D. ^{a,b,c} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติภายในกลุ่ม

(P-value < 0.05)

ตารางที่ 4.11 ความยาวมาตรฐานของลำตัวของปลานิลที่ได้รับอาหารที่ผสมใบกระถินและใบไมยราบ
ยักษ์ในอัตราส่วนต่าง ๆ

Treatment	Standard length (cm.)				Standard length gain (%)
	2 week	4 week	6 week	8 week	
T0	12.38 ± 1.03 ^a	13.20 ± 0.85 ^a	13.70 ± 0.36 ^a	14.00 ± 0.44 ^a	25.00
T1	11.38 ± 0.48 ^{ab}	11.90 ± 0.84 ^b	12.38 ± 1.03 ^b	12.95 ± 1.17 ^b	34.55
T2	10.88 ± 0.25 ^{bc}	11.13 ± 0.25 ^{bc}	12.00 ± 0.41 ^b	12.33 ± 0.39 ^{bc}	20.24
T3	10.75 ± 0.50 ^{bc}	11.63 ± 0.48 ^{bc}	11.88 ± 0.25 ^b	12.25 ± 0.33 ^{bc}	19.51
T4	10.50 ± 0.91 ^{bc}	11.13 ± 1.03 ^{bc}	11.63 ± 0.48 ^{bc}	11.95 ± 0.53 ^{bc}	11.94
T5	10.00 ± 0.58 ^c	10.75 ± 0.29 ^c	10.75 ± 0.96 ^c	11.40 ± 0.70 ^c	20.00
T6	11.00 ± 1.08 ^{bc}	11.63 ± 0.63 ^{bc}	12.13 ± 0.25 ^b	12.50 ± 0.37 ^b	25.00

หมายเหตุ mean ± S.D. ^{a,b,c} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติภายในกลุ่ม
(P-value < 0.05)

ตารางที่ 4.12 ความยาวถึงส่วนหยักลึกของหางของลำตัวปลานิลที่ได้รับอาหารที่ผสมใบกระถินและ
ใบไมยราบยักษ์ในอัตราส่วนต่าง ๆ

Treatment	Fork length (cm.)				Fork length gain (%)
	2 week	4 week	6 week	8 week	
T0	14.13 ± 0.95 ^a	14.63 ± 1.18 ^a	14.25 ± 0.87 ^a	14.93 ± 1.37 ^a	17.06
T1	11.88 ± 0.63 ^b	12.63 ± 0.25 ^b	13.23 ± 0.45 ^{bc}	13.43 ± 0.42 ^b	24.88
T2	12.38 ± 0.48 ^b	12.88 ± 0.48 ^b	13.25 ± 0.50 ^{bc}	13.45 ± 0.67 ^b	18.24
T3	12.50 ± 0.41 ^b	12.88 ± 0.48 ^b	13.63 ± 0.63 ^{bc}	14.08 ± 0.65 ^{ab}	15.37
T4	12.00 ± 0.58 ^b	12.13 ± 0.95 ^b	12.50 ± 1.08 ^b	13.28 ± 0.97 ^b	15.43
T5	11.63 ± 1.11 ^b	12.25 ± 0.50 ^b	12.50 ± 0.41 ^b	13.33 ± 0.36 ^b	23.95
T6	12.25 ± 1.44 ^b	12.58 ± 1.25 ^b	13.38 ± 0.63 ^{bc}	13.80 ± 0.54 ^{ab}	20.00

หมายเหตุ mean ± S.D. ^{a,b,c} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติภายในกลุ่ม
(P-value < 0.05)

ตารางที่ 4.13 ความยาวทั้งหมดของลำตัวของปลานิลที่ได้รับอาหารที่ผสมใบกระถินและใบไมยราบ
ยักษ์ในอัตราส่วนต่าง ๆ

Treatment	Total Length (cm.)				Total Length Gain (%)
	2 week	4 week	6 week	8 week	
T0	13.20 ± 1.82	15.26 ± 1.10 ^a	16.30 ± 0.57 ^a	16.60 ± 0.65 ^a	16.78
T1	12.00 ± 1.00	13.24 ± 0.43 ^{bc}	13.80 ± 0.76 ^{bc}	14.20 ± 0.86 ^{bc}	14.54
T2	12.50 ± 0.71	13.54 ± 0.62 ^{bc}	13.94 ± 0.72 ^{bc}	14.28 ± 0.47 ^{bc}	14.84
T3	12.90 ± 0.65	13.30 ± 0.76 ^{bc}	13.94 ± 0.93 ^{bc}	14.54 ± 0.60 ^{bc}	14.82
T4	12.70 ± 1.48	13.40 ± 1.09 ^{bc}	14.12 ± 0.76 ^{bc}	14.40 ± 0.82 ^{bc}	14.90
T5	12.50 ± 0.93	12.80 ± 0.86 ^c	13.30 ± 0.83 ^c	13.70 ± 0.45 ^c	14.18
T6	13.20 ± 1.82	14.50 ± 1.72 ^{ab}	14.74 ± 1.35 ^b	15.00 ± 1.34 ^b	15.26

หมายเหตุ mean ± S.D. ^{a,b,c} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติภายในกลุ่ม
(P-value < 0.05)

4.11 ผลต่อการแลกเปลี่ยนอาหาร

จากการศึกษาค่าเฉลี่ยของอัตราการเจริญเติบโต (ADG) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) และประสิทธิภาพของการใช้โปรตีนในอาหาร (PER) ของปลานิลกลุ่ม T0 - T6 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า กลุ่มปลานิลในกลุ่ม T0 มีอัตราการเจริญเติบโต (ADG) มากกว่ากลุ่มปลานิลในกลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05) สำหรับ FCR ของปลานิลในกลุ่ม T1 - T6 มีค่า FCR มากกว่าปลานิลกลุ่ม T0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05) และค่า PER ของปลานิลกลุ่ม T0 มีค่า PER มากกว่าปลานิลกลุ่ม T1 - T6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05) (ตารางที่ 4.14)

จากผลการทดลอง ค่า ADG, FCR และ PER พบว่า กลุ่ม T1 - T6 มีประสิทธิภาพการแลกเปลี่ยนอาหารต่ำกว่ากลุ่ม T0 เนื่องจากเป็นผลของสารต้านคุณค่าโภชนาที่อยู๋ในใบของพืชอาหาร โดยเฉพาะแทนนินที่มีผลต่อการรบกวนในระบบการย่อยอาหารและลดการใช้ประโยชน์ของวิตามินและแร่ธาตุบางชนิด (ริกาญจน์ ฉัตรสกุลวิไล, 2561) จึงทำให้ปลานิลไม่สามารถใช้ประโยชน์จากพืชอาหารได้อย่างเต็มที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต รวมถึงผลต่อการแลกเปลี่ยนอาหารของปลานิล นอกจากนี้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Amisahand *et al.* (2009) ที่พบว่า สูตรอาหารที่มีส่วนผสม

ของใบกระถิน 30% 10% และ 20% มีค่า FCR ในปลาตุ๊กแอฟริกาที่มีค่ามากกว่าสูตรอาหารควบคุม เท่ากับ 6.39 ± 1.12 , 6.27 ± 0.13 , 5.13 ± 0.83 และ 4.95 ± 0.23 ตามลำดับ และ Sotolu & Faturoti (2009) พบว่า ค่า FCR และ PER ของปลาตุ๊กแอฟริกันที่ให้อาหารที่มีส่วนผสมของเมล็ดกระถินในอัตราส่วน 0, 20, 40, 60, 80 และ 100% มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยอาหารที่มีส่วนผสมของเมล็ดกระถินในอัตราส่วนต่าง ๆ มีค่า FCR มากกว่ากลุ่มปลาตุ๊กแอฟริกันในกลุ่มควบคุม (0.71, 0.75, 0.79, 0.90, 1.17 และ 1.36 ตามลำดับ) นอกจากนี้ เมื่อปริมาณที่ให้อาหารเพิ่มมากขึ้นส่งผลทำให้ค่า PER ลดลง โดยค่า PER เท่ากับ 0.35, 0.33, 0.32, 0.29, 0.21 และ 0.18 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.14 อัตราการเจริญเติบโต (ADG) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) และ ประสิทธิภาพของการใช้โปรตีนในอาหาร (PER)

Treatment	ADG (g/day)	FCR	PER
T0	0.37 ± 0.08^a	0.33 ± 0.06^b	0.18 ± 0.02^a
T1	0.20 ± 0.11^{bc}	1.08 ± 0.77^a	0.12 ± 0.07^{bc}
T2	0.12 ± 0.03^c	1.11 ± 0.38^a	0.07 ± 0.02^{cd}
T3	0.13 ± 0.02^c	0.81 ± 0.12^{ab}	0.07 ± 0.01^{cd}
T4	0.29 ± 0.08^{ab}	0.36 ± 0.08^{ab}	0.14 ± 0.04^{ab}
T5	0.14 ± 0.02^c	0.75 ± 0.05^{ab}	0.07 ± 0.00^{cd}
T6	0.18 ± 0.11^c	1.09 ± 0.55^a	0.03 ± 0.02^d

หมายเหตุ mean \pm S.D. ^{a,b,c} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม (P-value < 0.05)

4.12 ผลต่อน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะของปลานิล

จากการทดลองเลี้ยงปลานิลเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า น้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของหัวใจของทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างจากกลุ่ม T0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05) ยกเว้น กลุ่ม T4 ซึ่งกลุ่ม T4 มีน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของหัวใจสูงที่สุดเท่ากับ 0.17 ± 0.03 กรัม รองลงมาคือกลุ่ม T5, T3, T6, T1, T2 และ T0 ตามลำดับ (0.15 ± 0.00 , 0.15 ± 0.03 , 0.14 ± 0.03 , 0.13 ± 0.01 , 0.13 ± 0.03 และ 0.11 ± 0.01 กรัม) น้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของตับพบว่า ทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างจากกลุ่ม T0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value > 0.05) ยกเว้น กลุ่ม T6 ซึ่งกลุ่ม T6 มีน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของตับสูงที่สุด เท่ากับ 1.44 ± 0.23 กรัม รองลงมา คือ กลุ่ม T0, T4, T1, T2, T3 และ T5 ตามลำดับ (1.44 ± 0.23 , 1.10 ± 0.30 ,

1.07 ± 0.14, 0.95 ± 0.27, 0.80 ± 0.28 และ 0.76 ± 0.09 กรัม) น้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของม้ามพบว่า ทุกกลุ่มมีน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยไม่มีความแตกต่างจากกลุ่ม T0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05) ยกเว้น กลุ่ม T3 ซึ่งกลุ่ม T0 มีน้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของม้ามสูงที่สุดเท่ากับ 0.41 ± 0.04 กรัม รองลงมา คือ กลุ่ม T1, T4, T2, T5, T6 และ T3 (0.36 ± 0.01, 0.34 ± 0.04, 0.33 ± 0.01, 0.33 ± 0.03, 0.27 ± 0.16 และ 0.22 ± 0.06 กรัม) (ตารางที่ 4.15)

จากการศึกษาครั้งนี้ น้ำหนักสัมพัทธ์ค่าเฉลี่ยของหัวใจและตับในปลาในทุกลกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Agbede (2003) ที่ได้ใช้ใบกระถินเป็นโปรตีนทดแทนในอาหารเพื่อใช้ในการเลี้ยงไก่ พบว่า เมื่อใช้ใบกระถินทดแทนในอาหารในอัตราส่วน 0, 25, 50, 75 และ 100% ส่งผลให้น้ำหนักของหัวใจและตับของไก่มีผลไม่แตกต่างกัน แต่ส่งผลทำให้น้ำหนักของม้ามไก่มีผลแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและ Ayssiwede *et al.* (2011) ที่ศึกษาผลการเจริญเติบโต ลักษณะซาก และอวัยวะ และผลทางเศรษฐศาสตร์ของไก่พื้นเมืองเซเนกัล ในอาหารที่มีกระถินในระดับต่าง ๆ พบว่า ไก่ที่ได้รับใบกระถินในอัตราส่วน 0, 7, 14 และ 21% ไม่มีความแตกต่างของน้ำหนักของหัวใจและตับไก่

ตารางที่ 4.15 น้ำหนักสัมพัทธ์เฉลี่ยของหัวใจ ตับ และม้ามระหว่างกลุ่มปลานิลควบคุมกับกลุ่มปลานิลที่ได้รับใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ในปริมาณที่แตกต่างกัน

Treatment	Weight (g)		
	Heart	Liver	Spleen
T0	0.11 ± 0.01 ^b	1.26 ± 0.04 ^{ab}	0.41 ± 0.04 ^a
T1	0.13 ± 0.03 ^{ab}	1.07 ± 0.14 ^{ab}	0.36 ± 0.01 ^{ab}
T2	0.13 ± 0.01 ^{ab}	0.95 ± 0.27 ^{ab}	0.33 ± 0.01 ^b
T3	0.15 ± 0.04 ^{ab}	0.80 ± 0.28 ^b	0.22 ± 0.06 ^c
T4	0.17 ± 0.03 ^a	1.10 ± 0.30 ^{ab}	0.34 ± 0.04 ^{ab}
T5	0.15 ± 0.00 ^{ab}	0.76 ± 0.09 ^b	0.33 ± 0.03 ^b
T6	0.14 ± 0.03 ^{ab}	1.44 ± 0.23 ^a	0.27 ± 0.16 ^{bc}

หมายเหตุ mean ± S.D. ^{a,b...}แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม

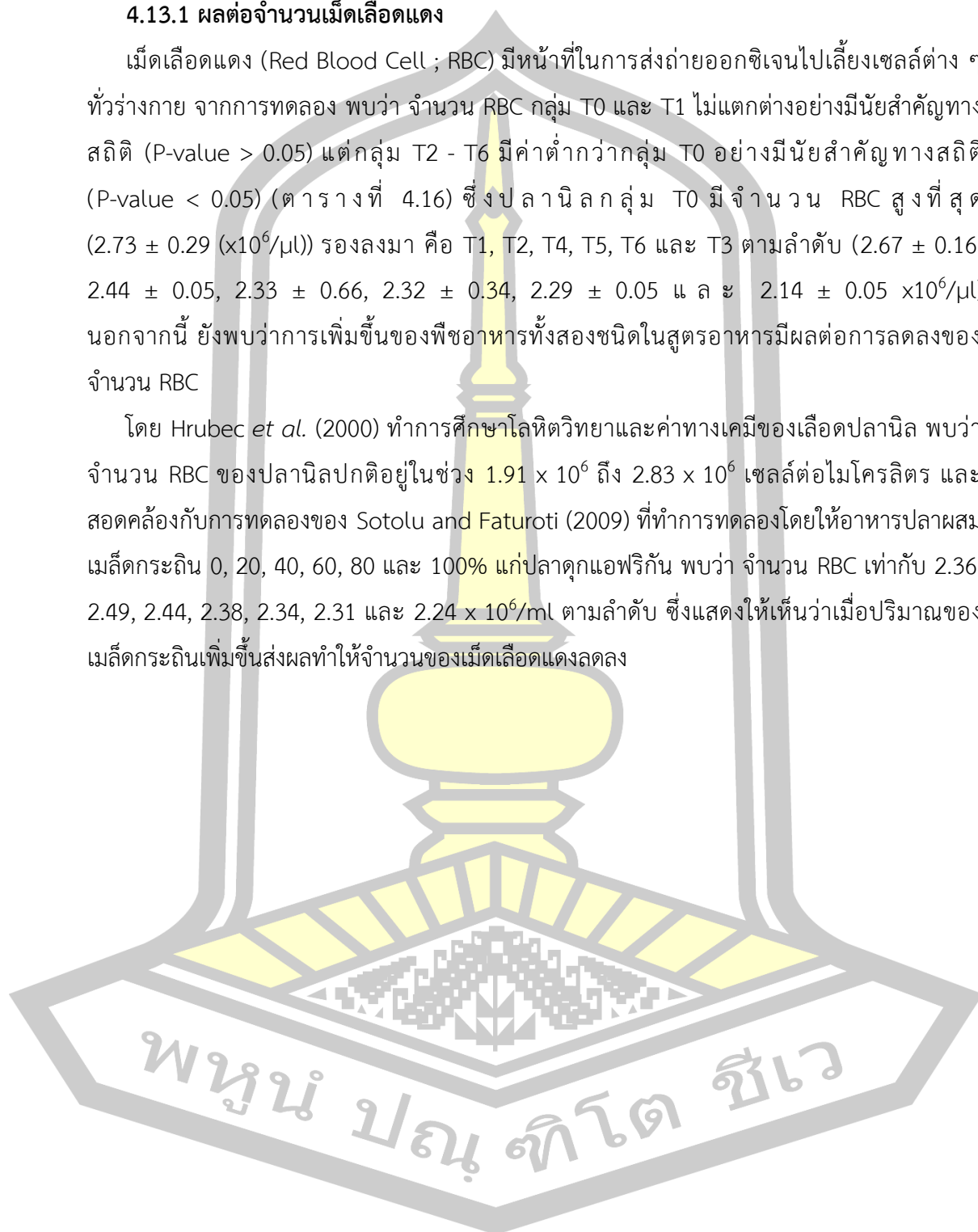
(P-value < 0.05)

4.13 ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยาของปลานิล

4.13.1 ผลต่อจำนวนเม็ดเลือดแดง

เม็ดเลือดแดง (Red Blood Cell ; RBC) มีหน้าที่ในการส่งถ่ายออกซิเจนไปเลี้ยงเซลล์ต่าง ๆ ทั่วร่างกาย จากการทดลอง พบว่า จำนวน RBC กลุ่ม T0 และ T1 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value > 0.05) แต่กลุ่ม T2 - T6 มีค่าต่ำกว่ากลุ่ม T0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05) (ตารางที่ 4.16) ซึ่งปลานิลกลุ่ม T0 มีจำนวน RBC สูงที่สุด ($2.73 \pm 0.29 \times 10^6/\mu\text{l}$) รองลงมา คือ T1, T2, T4, T5, T6 และ T3 ตามลำดับ (2.67 ± 0.16 , 2.44 ± 0.05 , 2.33 ± 0.66 , 2.32 ± 0.34 , 2.29 ± 0.05 และ $2.14 \pm 0.05 \times 10^6/\mu\text{l}$) นอกจากนี้ ยังพบว่าการเพิ่มขึ้นของพืชอาหารทั้งสองชนิดในสูตรอาหารมีผลต่อการลดลงของจำนวน RBC

โดย Hrubec *et al.* (2000) ทำการศึกษาโลหิตวิทยาและค่าทางเคมีของเลือดปลานิล พบว่าจำนวน RBC ของปลานิลปกติอยู่ในช่วง 1.91×10^6 ถึง 2.83×10^6 เซลล์ต่อไมโครลิตร และสอดคล้องกับการทดลองของ Sotolu and Faturoti (2009) ที่ทำการทดลองโดยให้อาหารปลาผสมเมล็ดกระถิน 0, 20, 40, 60, 80 และ 100% แก่ปลาตุ๊กแอฟริกัน พบว่า จำนวน RBC เท่ากับ 2.36, 2.49, 2.44, 2.38, 2.34, 2.31 และ $2.24 \times 10^6/\text{ml}$ ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อปริมาณของเมล็ดกระถินเพิ่มขึ้นส่งผลทำให้จำนวนของเม็ดเลือดแดงลดลง



ตารางที่ 4.16 ค่าเฉลี่ยของ จำนวนเม็ดเลือดแดง ฮีมาโตคริต จำนวนเม็ดเลือดขาว ฮีโมโกลบิน และดัชนีทางโลหิตระหว่างกลุ่มปลาชนิดควบคุมกับกลุ่มปลาชนิดที่ได้รับใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ในปริมาณที่แตกต่างกัน

Hematology	Treatment						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	2.73 \pm 0.29 ^a	2.67 \pm 0.16 ^a	2.44 \pm 0.05 ^b	2.14 \pm 0.05 ^c	2.33 \pm 0.66 ^{bc}	2.32 \pm 0.34 ^{bc}	2.29 \pm 0.05 ^{bc}
Hematocrit (%)	35.00 \pm 1.41 ^a	26.75 \pm 0.35 ^{bc}	28.70 \pm 2.40 ^b	23.35 \pm 0.92 ^{cd}	16.00 \pm 2.83 ^e	22.00 \pm 1.41 ^d	25.58 \pm 0.35 ^{bc}
WBC ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	11.50 \pm 03.32 ^{bc}	9.46 \pm 0.28 ^c	11.89 \pm 0.57 ^b	12.88 \pm 0.24 ^{bc}	13.86 \pm 3.44 ^{bc}	12.86 \pm 0.71 ^{bc}	15.10 \pm 0.58 ^a
Hemoglobin (g%)	8.70 \pm 0.14 ^a	8.40 \pm 0.28 ^b	8.65 \pm 0.07 ^a	8.80 \pm 0.28 ^a	7.65 \pm 0.07 ^c	7.55 \pm 0.07 ^c	8.00 \pm 0.28 ^b
MCV (fl)	125.80 \pm 14.51 ^a	101.48 \pm 5.88 ^c	110.91 \pm 2.13 ^b	112.06 \pm 2.58 ^b	60.19 \pm 1.71 ^e	96.73 \pm 1.45 ^d	117.95 \pm 2.70 ^{ab}
MCH (pg)	32.19 \pm 3.71 ^d	31.57 \pm 1.83 ^d	35.53 \pm 0.68 ^b	41.09 \pm 0.95 ^a	32.89 \pm 0.93 ^{cd}	32.62 \pm 0.52 ^{cd}	34.95 \pm 0.80 ^{bc}
MCHC (g/dl)	24.88 \pm 1.41 ^c	31.40 \pm 0.64 ^{bc}	30.24 \pm 2.29 ^{bc}	37.69 \pm 0.27 ^b	48.61 \pm 9.04 ^a	34.40 \pm 2.53 ^b	29.35 \pm 0.66 ^{bc}

หมายเหตุ mean \pm S.D. ^{a,b...} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม (P-value < 0.05)

4.13.2 ผลต่อปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit ; Hct) หมายถึง เปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดแดงต่อปริมาณเลือดทั้งหมด จากการทดลอง พบว่า ค่าเฉลี่ย Hct ของปลานิลกลุ่ม T1 - T6 เมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลกลุ่ม T0 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\text{-value} < 0.05$) (ตารางที่ 4.16) ซึ่งปลานิลกลุ่ม T0 มีค่า Hct สูงที่สุด ($35.00 \pm 1.41\%$) รองลงมาคือกลุ่ม T2, T1, T6, T3, T5 และ T4 ตามลำดับ (28.70 ± 2.40 , 26.75 ± 0.35 , 25.58 ± 0.35 , 23.35 ± 0.92 , 22.00 ± 1.41 และ $16.00 \pm 2.83\%$)

จากการทดลอง แม้ว่าค่า Hct ของกลุ่ม T1 - T6 มีค่าต่ำกว่ากลุ่ม T0 แต่ยังคงอยู่ในช่วงมาตรฐานของปลานิล โดย Rodrigues *et al.* (2003) รายงานว่าค่า Hct ของปลานิลจะพบอยู่ในช่วง 15 - 45% อย่างไรก็ตาม จากการทดลองนี้ค่า Hct ในกลุ่ม T4 แสดงค่าต่ำที่สุด ($16.00 \pm 2.83\%$) ซึ่งไม่สอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์ของพืชอาหารที่เพิ่มขึ้นในชุดทดลอง คาดว่าน่าจะเป็นเพราะการตอบสนองต่อการสร้างเม็ดเลือดแดงของปลาเป็นรายตัวมากกว่าปัจจัยอื่น ๆ โดยปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างเม็ดเลือดแดงมีหลายปัจจัย ได้แก่ วิตามินบี 6 วิตามินบี 12 กรดโฟลิก และอินทรินสิกแฟกเตอร์ (Intrinsic factor) ที่ช่วยในการดูดซึมวิตามินและกรดโฟลิกในอาหารเพื่อใช้ในการสร้างเม็ดเลือดแดง

4.13.3 ผลต่อจำนวนเม็ดเลือดขาว

เม็ดเลือดขาว (White Blood Cells ; WBC หรือ leucocyte) คือ เซลล์ที่สร้างจากไขกระดูกใช้ในระบบภูมิคุ้มกันทำหน้าที่ทำลายเชื้อก่อโรคและสารแปลกปลอมต่าง ๆ ที่เข้าสู่กระแสเลือด

จากการทดลอง พบว่า จำนวน WBC ของกลุ่ม T0 - T5 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\text{-value} > 0.05$) ยกเว้น กลุ่ม T6 ที่มีจำนวน WBC มากกว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\text{-value} < 0.05$) (ตารางที่ 4.16) จำนวน WBC ในกลุ่ม T6 มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ $15.10 \pm 0.58 \times 10^4/\mu\text{l}$ รองลงมาคือกลุ่ม T4, T3 T5, T2, T0 และ T1 ตามลำดับ (13.86 ± 3.44 , 12.88 ± 0.24 , 12.86 ± 0.71 , 11.89 ± 0.57 , 11.50 ± 03.32 และ $9.46 \pm 0.28 \times 10^4/\mu\text{l}$) นอกจากนี้ ยังพบว่า การเพิ่มขึ้นของพืชอาหารทั้งสองชนิดในสูตรอาหารมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของ จำนวน WBC ยกเว้น กลุ่ม T5

ในการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Nghonjuyi *et al.* (2016) รายงานว่า การให้สารสกัดใบไมยราบเลื้อย (*Mimosa pudica* L.) กับไก่ โดยศึกษาถึงเรื้อรัง ได้แก่ 80, 160, 320 และ 640 mg/Kg/day ตามลำดับ เป็นเวลา 42 วัน พบว่า ไม่พบความผิดปกติอื่น ๆ เช่น การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว ปริมาณการกินอาหารและน้ำ รวมถึงค่าทางโลหิตวิทยา ยกเว้น พบการเพิ่มขึ้นของจำนวนเม็ดเลือดขาวชั่วคราวของในระยะเวลาการทดสอบ แต่อย่างไรก็ตาม กลุ่มปลานิลที่ศึกษาในงานวิจัยนี้ทุกกลุ่มการทดลองมีจำนวน WBC อยู่ในช่วงค่าปกติ โดย Hrubec *et al.* (2000) ทำการศึกษา

โลหิตวิทยาและค่าทางเคมีของเลือดปลานิล พบว่า จำนวน WBC ของปลานิลปกติอยู่ในช่วง $2.45 \times 10^4 - 15.46 \times 10^4$ เซลล์ต่อไมโครลิตร

4.13.4 ผลต่อปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน

ฮีโมโกลบิน (Hemoglobin ; Hb) หมายถึง โปรตีนโกลบิน 4 โมเลกุลที่ประกอบด้วย 2 alpha globulin chain และ 2 beta globulin chain รวมกับธาตุเหล็ก พบ Hb ได้ในเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยทำหน้าที่นำพาออกซิเจนไปยังเซลล์และอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย (อารีรัตน์ ขอไชย และคณะ, 2013) จากการทดลอง พบว่า กลุ่ม T2 และ T3 มีค่าเฉลี่ย Hb ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับกลุ่ม T0 (P-value > 0.05) แต่กลุ่ม T1, T4, T5 และ T6 มีค่าเฉลี่ย Hb ต่ำกว่ากลุ่ม T0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05) (ตารางที่ 4.16) โดยทั่วไปแล้วค่า Hb จะเป็น 1 ใน 3 เท่าของ Hct ซึ่งทุกชุดการทดลองสอดคล้องกับข้อความดังกล่าว ยกเว้นกลุ่ม T4 ที่มีค่า Hb ประมาณ 1 ใน 2 เท่าของ Hct ที่เป็นเช่นนี้สืบเนื่องจากความผิดปกติของค่า Hct ที่ได้กล่าวมาแล้ว จากรายงานของ Hrubec et al. (2000) พบว่า ค่า Hb ของปลานิลอยู่ในช่วงระหว่าง 7.0 - 9.8 g/dl ซึ่งจากผลการทดลองครั้งนี้พบว่า กลุ่มปลานิลในทุกกลุ่มการทดลองมีค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินอยู่ในช่วงปกติ

4.13.5 ผลต่อค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง

ค่าเฉลี่ยดัชนีเม็ดเลือดแดง (Red Blood Cell Indices) คือ การวิเคราะห์ที่เกี่ยวกับฮีโมโกลบิน และขนาดของเม็ดเลือดแดง ซึ่งค่าที่ผิดปกติสามารถบ่งบอกถึงการเป็นโลหิตจาง รวมถึง สามารถใช้แยกชนิดของโลหิตจางได้ด้วย โดยวิเคราะห์ค่าดังต่อไปนี้ ได้แก่ ค่าเฉลี่ยปริมาตรของเซลล์เม็ดเลือดแดงหนึ่งเซลล์ (Mean corpuscular volume ; MCV) ค่าเฉลี่ยน้ำหนักฮีโมโกลบินต่อเม็ดเลือดแดงหนึ่งเซลล์ (Mean corpuscular hemoglobin ; MCH) และค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮีโมโกลบินภายในเม็ดเลือดแดงแต่ละเซลล์ (Mean corpuscular hemoglobin concentration ; MCHC) โดยผลของค่า MCV, MCH และ MCHC (ตารางที่ 4.16)

จากการทดลอง พบว่า ค่า MCV ในทุกกลุ่มทดลอง (ยกเว้น T6) แตกต่างกับกลุ่ม T0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05) ค่า MCV ในกลุ่ม T0 มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 125.80 ± 14.51 รองลงมาคือกลุ่ม T6, T3, T2, T1, T5 และ T4 ตามลำดับ (117.95 ± 2.70 , 112.06 ± 2.58 , 110.91 ± 2.13 , 101.48 ± 5.88 , 96.73 ± 1.45 และ 60.19 ± 1.71 fl)

ค่า MCH ในกลุ่ม T2, T3 และ T6 มีค่ามากกว่ากลุ่ม T0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05) แต่กลุ่ม T1, T4 และ T5 ไม่แตกต่างจากกลุ่ม T0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05) ในกลุ่ม T3 มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 41.09 ± 0.95 รองลงมาคือ T2, T6, T4, T5, T0 และ T1 ตามลำดับ (35.53 ± 0.68 , 34.95 ± 0.80 , 32.89 ± 0.93 , 32.62 ± 0.52 , 32.19 ± 3.71 และ 31.57 ± 1.83 pg)

ค่า MCHC ในกลุ่ม T3, T4 และ T5 มีค่ามากกว่ากลุ่ม T0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05) แต่กลุ่ม T1, T2 และ T6 ไม่แตกต่างจากกลุ่ม T0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value < 0.05) ในกลุ่ม T4 มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 48.61 ± 9.04 รองลงมาคือ T3, T5, T1, T2, T6 และ T0 ตามลำดับ (37.69 ± 0.27 , 34.40 ± 2.53 , 31.40 ± 0.64 , 30.24 ± 2.29 , 29.35 ± 0.66 และ 24.88 ± 1.41 g/dl)

จากการศึกษาของ Bittencourt *et al.* (2003) แสดงค่าทางโลหิตวิทยาของปลาไนที่เลี้ยงในระบบกึ่งพัฒนา (Semi-intensive system) ที่เหมาะสม พบว่า ค่า MCV มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 148.80 fl (ช่วง 12.36 – 528.57 fl) ค่า MCH มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 40.74 pg (ช่วง 5.07 – 120.86 pg) และค่า MCHC มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 35.24 g/dl (ช่วง 19.84 – 87.73g/dl) ซึ่งค่า MCV, MCH และ MCHC ของปลาไนในทุกกลุ่มทดลองในการศึกษาครั้งนี้อยู่ในช่วงของค่าทางโลหิตวิทยาดังกล่าว

ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองทางโลหิตวิทยามีหลายปัจจัย ได้แก่ เพศ อายุ ขนาดสภาพแวดล้อม และสภาวะทางสรีรวิทยา พบว่า เพศผู้จะมีการตอบสนองทางโลหิตวิทยาต่อสภาวะเครียดมากกว่าเพศเมียแม้ว่าจะผ่านการปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมแบบใหม่ (acclimation) ก็ตามที นอกจากนี้ อิทธิพลของช่วงอายุและขนาดตัวต่างมีผลต่อการตอบสนองทางโลหิตวิทยา พบว่า ตัวเต็มวัยมีอิทธิพลเรื่องฮอร์โมนและขนาดตัวเข้ามาเกี่ยวข้องในการแสดงออกของค่าทางโลหิตวิทยา (Gabriel *et al.*, 2011)

4.14 จุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับและม้าม

4.14.1 ผลจุลพยาธิสภาพต่อเนื้อเยื่อตับ

เซลล์ตับ (Liver cells หรือ hepatocyte) มีทั้งรูปร่างกลม (Round shape) และหลายเหลี่ยม (Polygonal shape) พบการเรียงตัวเป็นแถวล้อมรอบหลอดเลือดดำ (Vein) เรียกรวมการเรียงตัวของเซลล์ตับในลักษณะนี้ว่า Liver cell cord และเรียกหลอดเลือดดำที่อยู่ตรงกลางว่า Central vein แต่เมื่อเซลล์ตับอยู่ห่างจากหลอดเลือดดำแล้ว การจัดเรียงตัวของเซลล์ตับจะไม่ชัดเจน (ศิลาชัย บุญยัง และคณะ, 2559) นอกจากนี้ พบหลอดเลือดฝอย (Sinusoids) กระจายอยู่ทั่วเนื้อเยื่อตับเพื่อทำหน้าที่แลกเปลี่ยนก๊าซ อาหาร และของเสียระหว่างหลอดเลือดและเซลล์ตับ ส่วนนิวเคลียสของเซลล์ตับจะมีรูปร่างกลมและอยู่ตรงกลางเซลล์ แต่ในกรณีที่มีไขมันหรือเกิดการสะสมน้ำในแวคิวโอ นิวเคลียสจะถูกเบียดไปอยู่ด้านข้างเซลล์ได้ ในการศึกษาความสัมพันธ์ (Degeneration) ของเซลล์ตับวิเคราะห์ได้จากการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (Cellular alteration) ได้แก่ การเสื่อมแบบแวคิวโอลา (Vacuolar degeneration หรือ hydropic degeneration หรือ ballooning degeneration คือ การบวมของเซลล์เมื่อเซลล์ไม่สามารถรักษาสมาดุลของน้ำและสารละลายเกลือแร่ภายในและภายนอกเซลล์ได้) การหดตัวของนิวเคลียส (Pyknotic nuclei) และ

การสลายของนิวเคลียส (Karyolysis) นอกจากนี้ ยังพบอาการที่สำคัญ ได้แก่ การแทรกตัวของเม็ดเลือดขาว (Leukocyte infiltrations) และการสะสมของเมลานอมาโครฟาจ เซนเตอร์ (Melanomacrophage center) เป็นต้น (Boonyoung *et al.*, 2559)

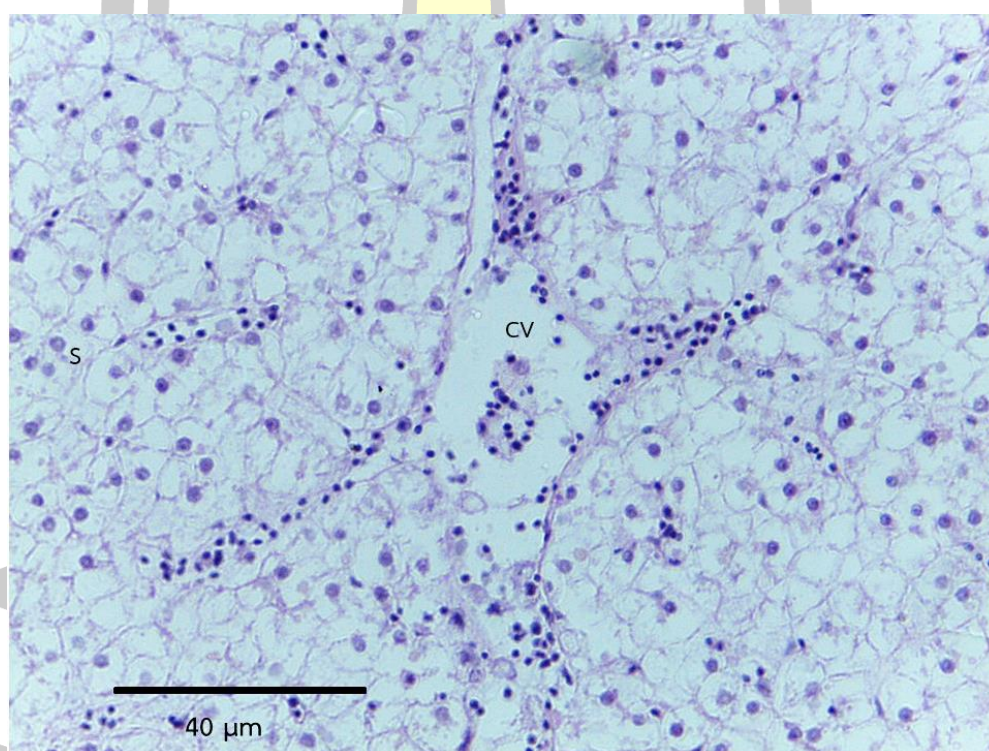
จากการทดลอง พบว่า จุลพยาธิสภาพเนื้อเยื่อตับของปลานิลทุกกลุ่มไม่แตกต่างจากกลุ่ม T0 ยกเว้นกลุ่ม T3 และ T6 (ภาพที่ 4.1) โดยกลุ่ม T0 พบว่า มีการกระจายตัวของเซลล์ตับหนาแน่น ล้อมรอบบริเวณ CV รูปร่างของเซลล์เนื้อเยื่อตับมีทั้งรูปร่างกลม หรือหลายเหลี่ยม โดยมีขอบเขตเซลล์ชัดเจน นิวเคลียสรูปร่างกลม และตั้งอยู่กลางเซลล์เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ ยังเกิดการรวมตัวของหลอดเลือดฝอยที่อยู่ระหว่าง Liver cell cord กลุ่ม T1, T2, T4 และ T5 พบว่า มีลักษณะคล้ายกับกลุ่ม T0 คือ รูปร่างของเซลล์เนื้อเยื่อตับมีทั้งรูปร่างกลมหรือหลายเหลี่ยม โดยมีขอบเขตเซลล์ชัดเจน นิวเคลียสรูปร่างกลม และตั้งอยู่กลางเซลล์เป็นส่วนใหญ่ และเกิดการรวมตัวของหลอดเลือดฝอยที่อยู่ระหว่าง Liver cell cord อย่างไรก็ตาม เมื่อตรวจสอบระดับความรุนแรงในการเกิดการบวมของเซลล์ตับ พบว่า กลุ่ม T0 ไม่เกิดการเกิดการบวมของเซลล์ตับ สำหรับกลุ่ม T1, T2, T4 และ T5 มีระดับความการ เกิดการบวมของเซลล์เล็กน้อย (ระดับ 1) (6.33, 9.00, 6.00 และ 9.67% ตามลำดับ) (ตารางที่ 4.17) นอกจากนี้ พบว่า กลุ่ม T3 และ T6 พบว่า รูปร่างของเซลล์เนื้อเยื่อตับมีการเปลี่ยนแปลง ขอบเขตเซลล์ไม่ชัดเจน นิวเคลียสถูกเบียดไปอยู่ด้านข้างของเซลล์ ซึ่งอาจเป็นเพราะการแทรกของไขมันในเซลล์หรือเกิด Vacuolar degeneration นอกจากนี้ ในกลุ่ม T3 และ T6 มีระดับความรุนแรงในการเกิดการบวมของเซลล์ตับในระดับน้อย (ระดับ 2) (20.00 และ 18.33% ตามลำดับ) (ตารางที่ 4.17)

ความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับที่พบใน T3 และ T6 คาดว่าน่าจะมีสาเหตุมาจากแทนนินและมิโมซินในพืชอาหารสัตว์ที่ใช้ แม้ว่าปริมาณแทนนินและมิโมซินในใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ในงานวิจัยนี้ตรวจพบในปริมาณค่อนข้างต่ำ (ผลการทดลองที่ 4.3 และ 4.6) แต่หากได้รับต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ก็อาจจะส่งผลกระทบต่ออวัยวะที่ใช้ในการกำจัดสารพิษ เช่น ตับ เป็นต้น นอกจากนี้ ช่วงอายุยังมีผลต่อการตอบสนองต่อความเป็นพิษและระบบการกำจัดสารพิษได้แตกต่างกัน โดยปลาอายุรุ่นจะมีการตอบสนองต่อความเป็นพิษและระบบการกำจัดสารพิษได้ต่ำกว่าปลาในช่วงโตเต็มวัย

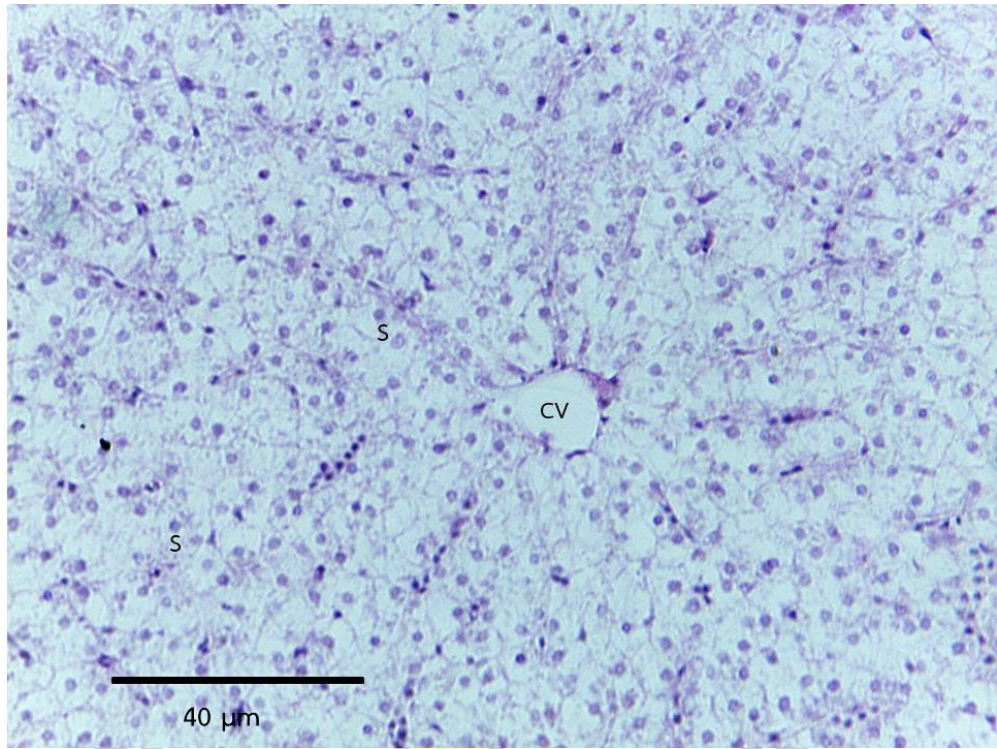
ตารางที่ 4.17 ระดับความรุนแรงในการเกิดการบวมของเซลล์ตับปลานิลที่ได้รับอาหารที่ผสมใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ในอัตราส่วนต่าง ๆ

Treatment	Average swelling degeneration (%)	Level
T0	0.00	0
T1	6.33	1
T2	9.00	1
T3	20.00	2
T4	6.00	1
T5	9.67	1
T6	18.33	2

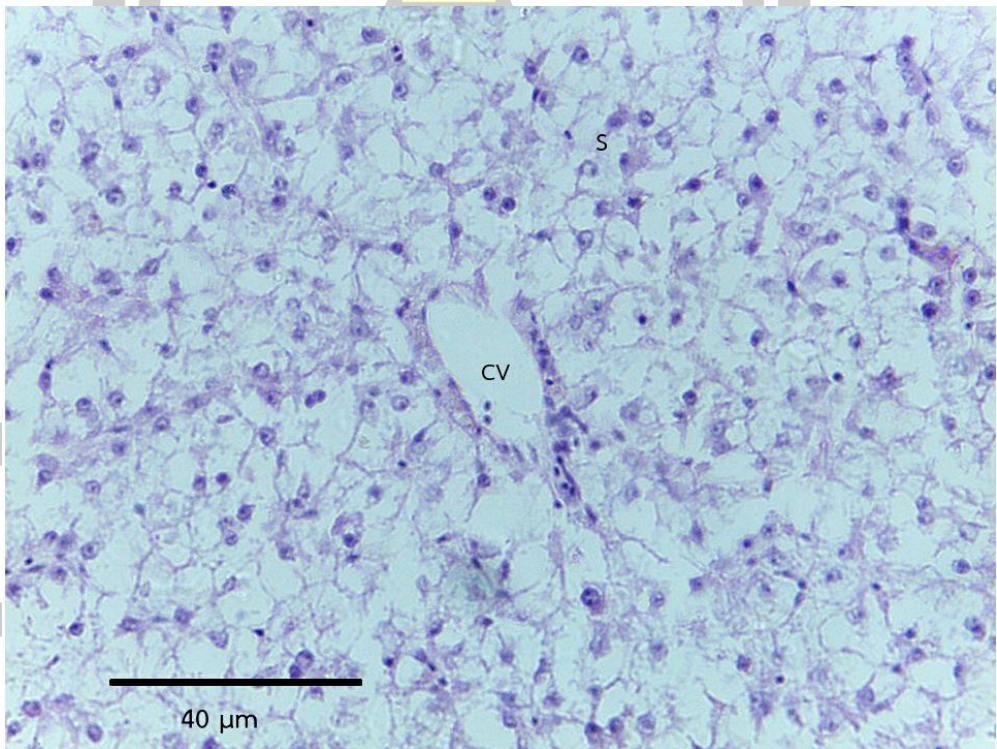
หมายเหตุ n = 3



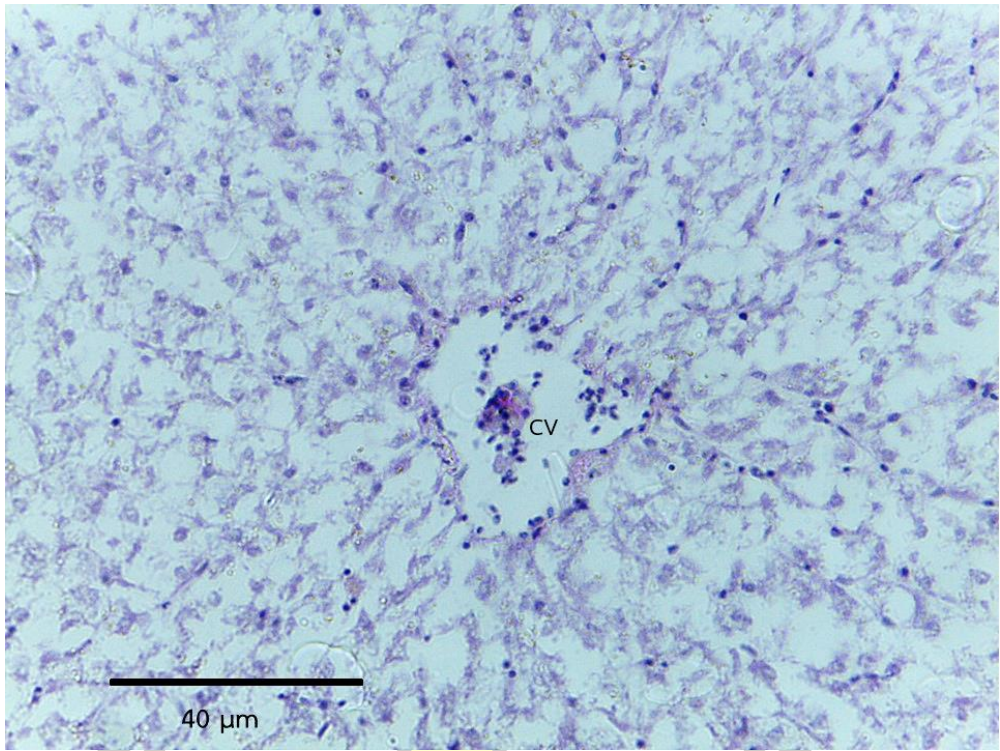
T0



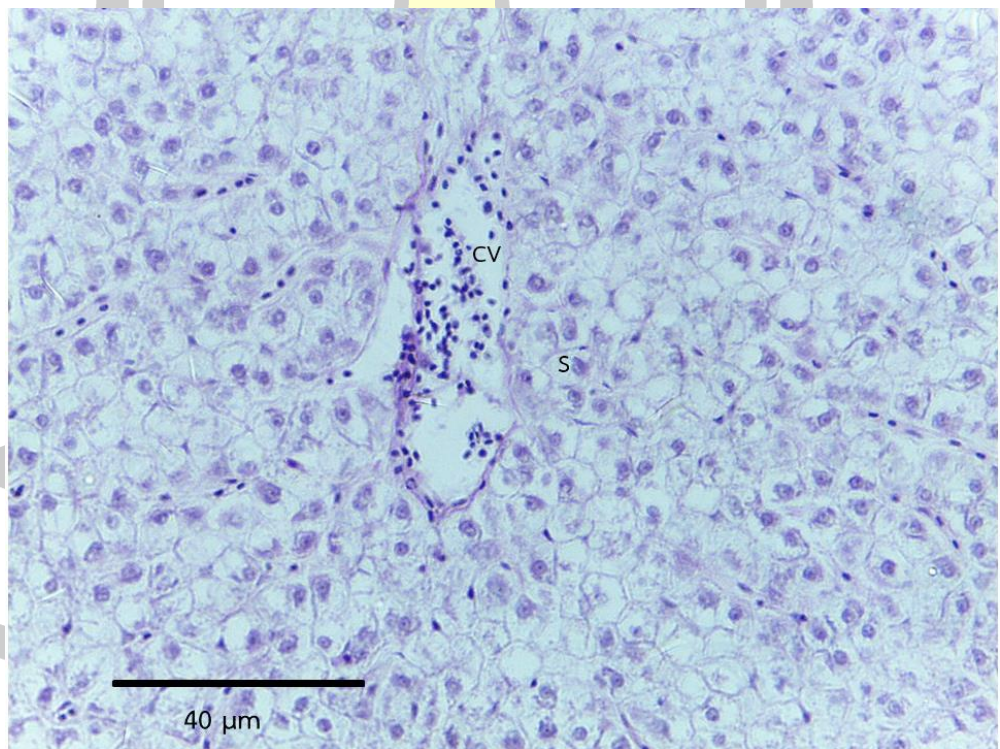
T1



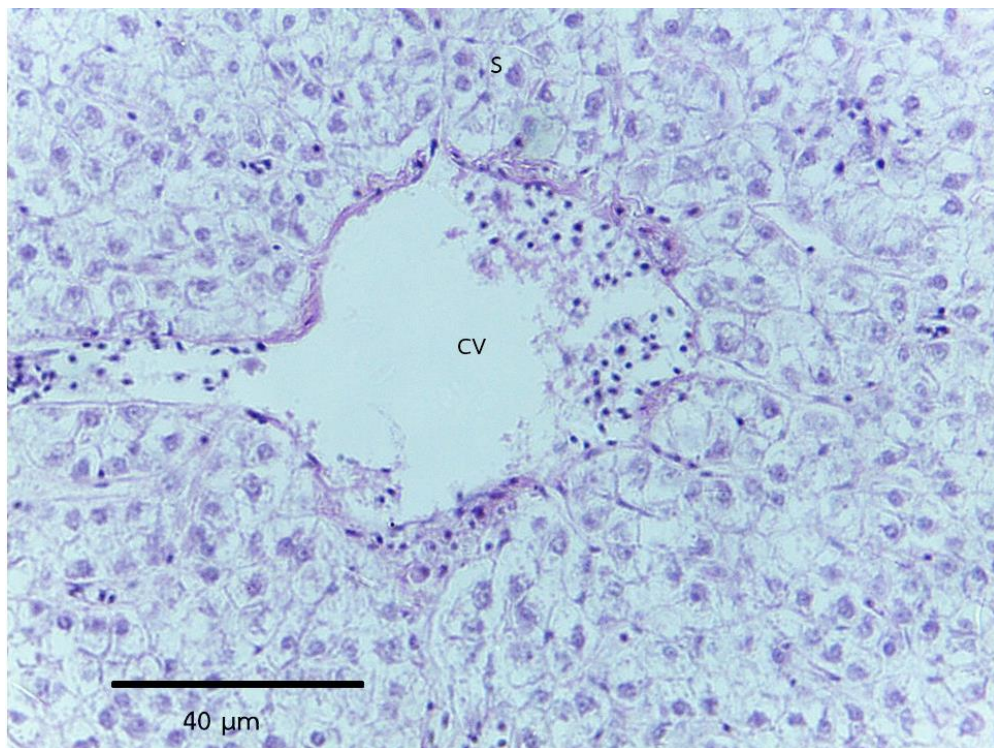
T2



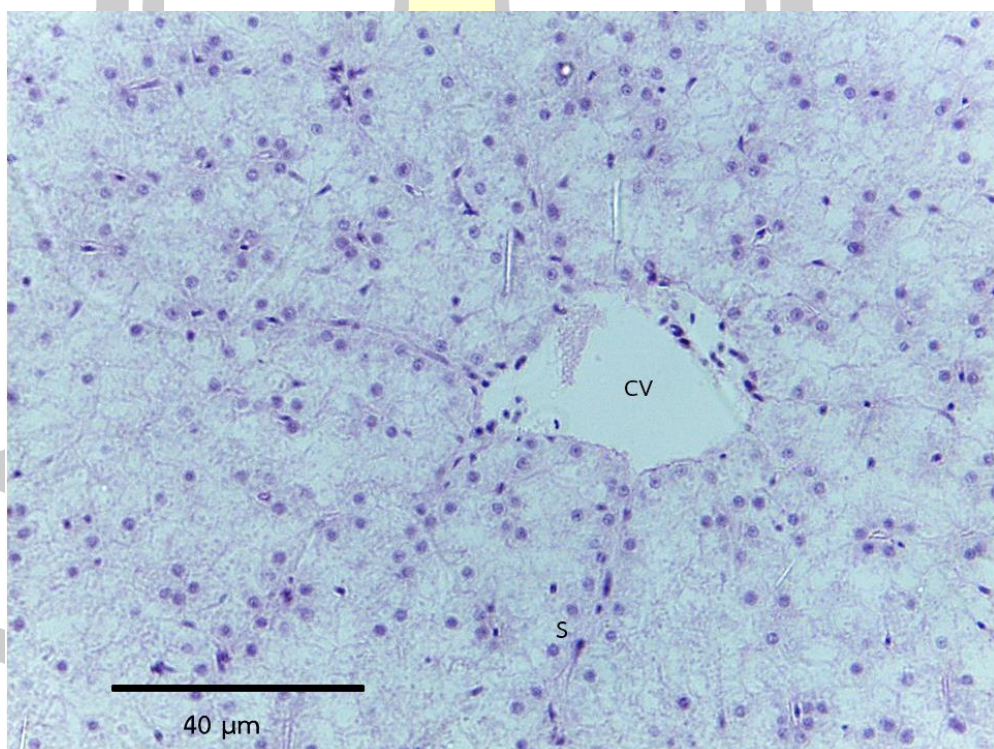
T3



T4



T5



T6

ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับตามขวางของปลานิล โดย MMC = melanomacrophage center, S = Sinusoid, CV = central vein

4.14.2 ผลจุลพยาธิสภาพต่อเนื้อเยื่อม้าม

ม้ามปลา มีหน้าที่หลักในการขจัดเชื้อโรค ทำลายเม็ดเลือดแดงที่ตายแล้ว และเก็บสะสม แร่ธาตุเหล็กเพื่อนำไปสร้างเม็ดเลือดแดงใหม่ เนื้อเยื่อม้ามปกติของปลาประกอบด้วย red pulp และ white pulp โดย red pulp มีเส้นเลือดฝอยที่เรียกว่า ellipsoid มาเลี้ยงและเต็มไปด้วยเม็ดเลือดแดง ส่วน white pulp เป็นบริเวณที่มี B-lymphocyte เป็นส่วนใหญ่ และอาจมี T-lymphocyte และ melanomacrophage เล็กน้อย (Agius, 1980) ซึ่งจะสังเกตบริเวณ white pulp ได้ง่ายจากการติดสีน้ำเงินจางของสีย้อม Hematoxylin and eosin (H&E) (Boonyoung *et al.*, 2016)

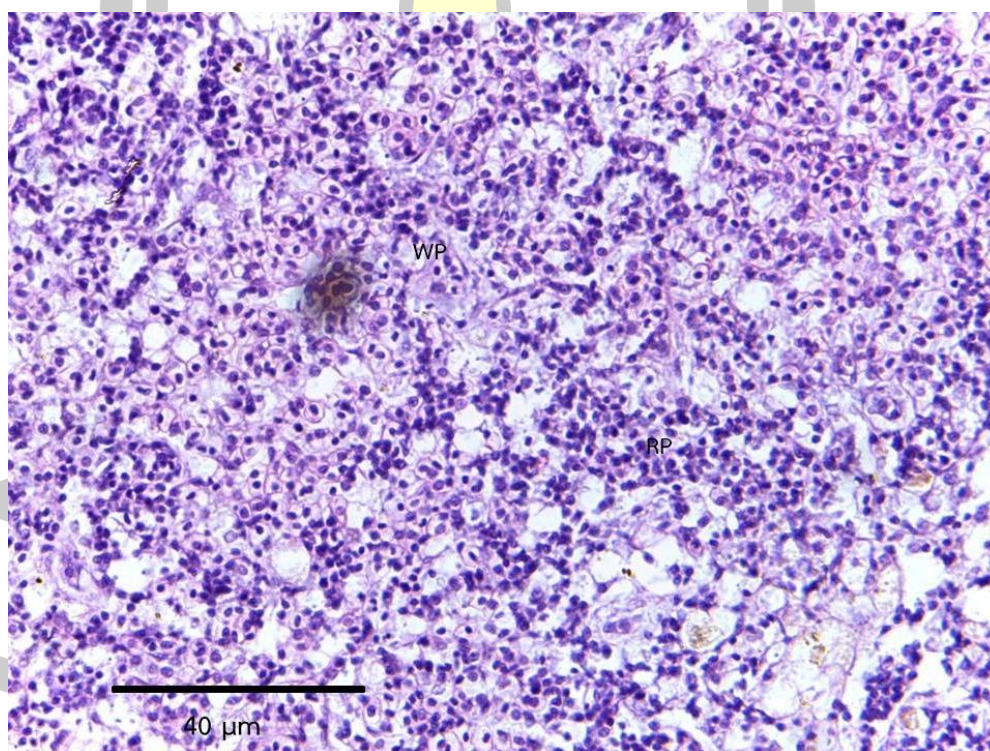
จากการตรวจสอบจุลพยาธิสภาพของม้ามในกลุ่ม T0, T1, T2, T4 และ T5 พบบริเวณ white pulp แทรกตัวอยู่ใน Red pulp ชัดเจน ซึ่งทั้งการแทรกตัวของทั้งสองส่วนนี้จะกระจายตัวอยู่ทั่วเนื้อเยื่อม้าม นอกจากนี้ พบการแทรกตัวของเมลาโนมาโครฟาจ เช่นเตอร์ในเนื้อเยื่อม้ามเล็กน้อย (ภาพที่ 4.2) โดยกลุ่ม T1 และ T4 มีการแทรกตัวของเมลาโนมาโครฟาจ เช่นเตอร์เล็กน้อย (ระดับ 1) (8.67 และ 7.00% ตามลำดับ) และกลุ่ม T2 และ T5 มีการแทรกตัวของเมลาโนมาโครฟาจ เช่นเตอร์น้อย (ระดับ 2) (13.33 และ 13.67% ตามลำดับ) (ตารางที่ 4.18) อย่างไรก็ตาม พบว่ากลุ่ม T3 และ T6 มีการแทรกตัวของเมลาโนมาโครฟาจ เช่นเตอร์เป็นกลุ่มระดับปานกลาง (ระดับ 3) (21.67 และ 23.00% ตามลำดับ) (ตารางที่ 4.18) ทั้งนี้ คาดว่าเนื่องมาจากสภาวะเครียดของสัตว์ทดลองที่เป็นผลจากการได้รับพิษอาหารในสัดส่วนที่เพิ่มขึ้น

สอดคล้องกับงานวิจัยของ David and Kartheek (2015) ที่เลี้ยงปลาไน (*Cyprinus carpio*) ในน้ำที่ปนเปื้อนโซเดียมไซยาไนด์ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 10 และ 20 วัน และพบการเพิ่มขึ้นของจำนวนกลุ่มเมลาโนมาโครฟาจ เช่นเตอร์ โดยคาดว่าน่าจะเป็นผลจากความเครียดจากการได้รับสารพิษในระหว่างการเลี้ยง

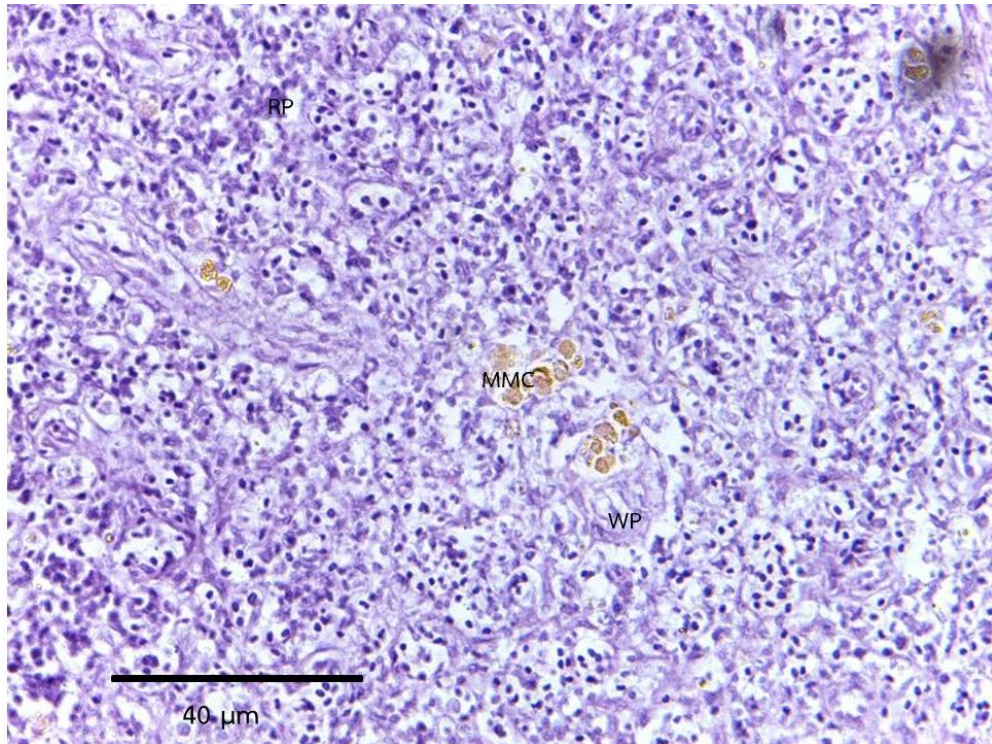
ตารางที่ 4.18 ระดับการแทรกตัวของเมลานोมาโครฟาจ เซนเตอร์ในเนื้อเยื่อไขมันของปลานิลที่ได้รับอาหารที่ผสมใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ในอัตราส่วนต่าง ๆ

Treatment	Average melanomacrophage appearance (%)	Level
T0	0.00	0
T1	8.67	1
T2	13.33	2
T3	21.67	3
T4	7.00	1
T5	13.67	2
T6	23.00	3

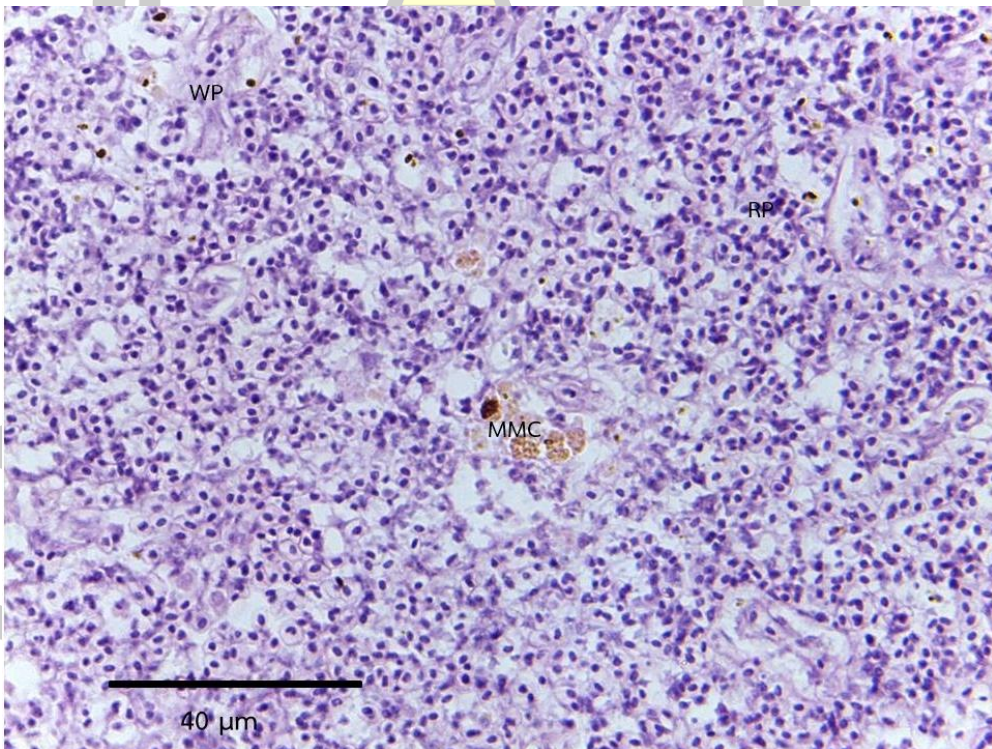
หมายเหตุ n = 3



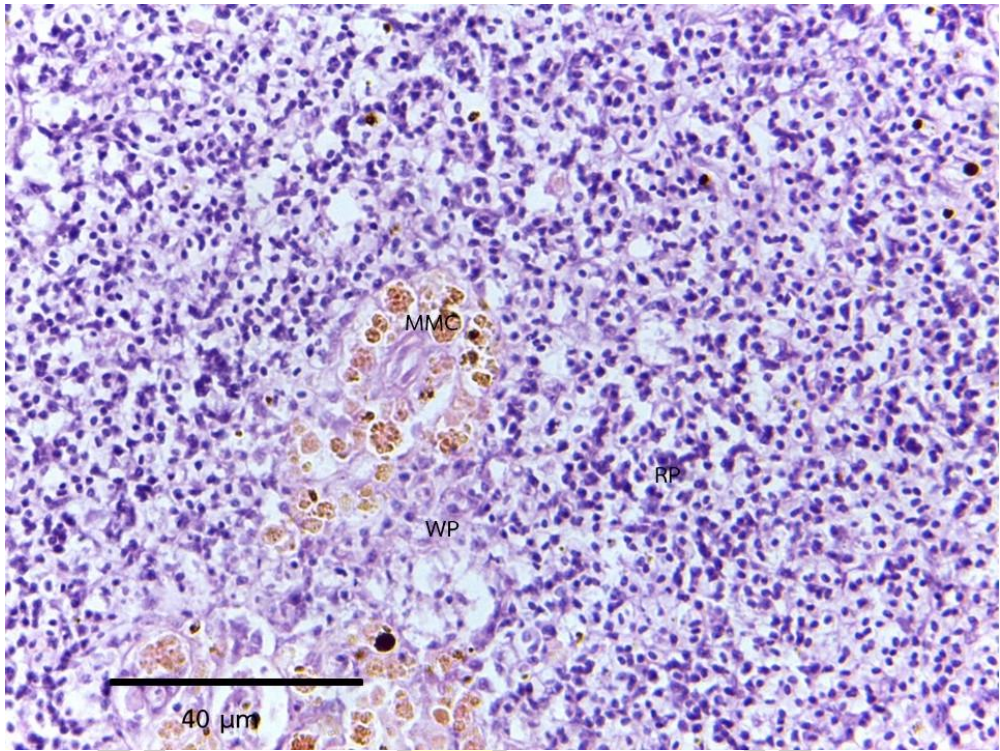
T0



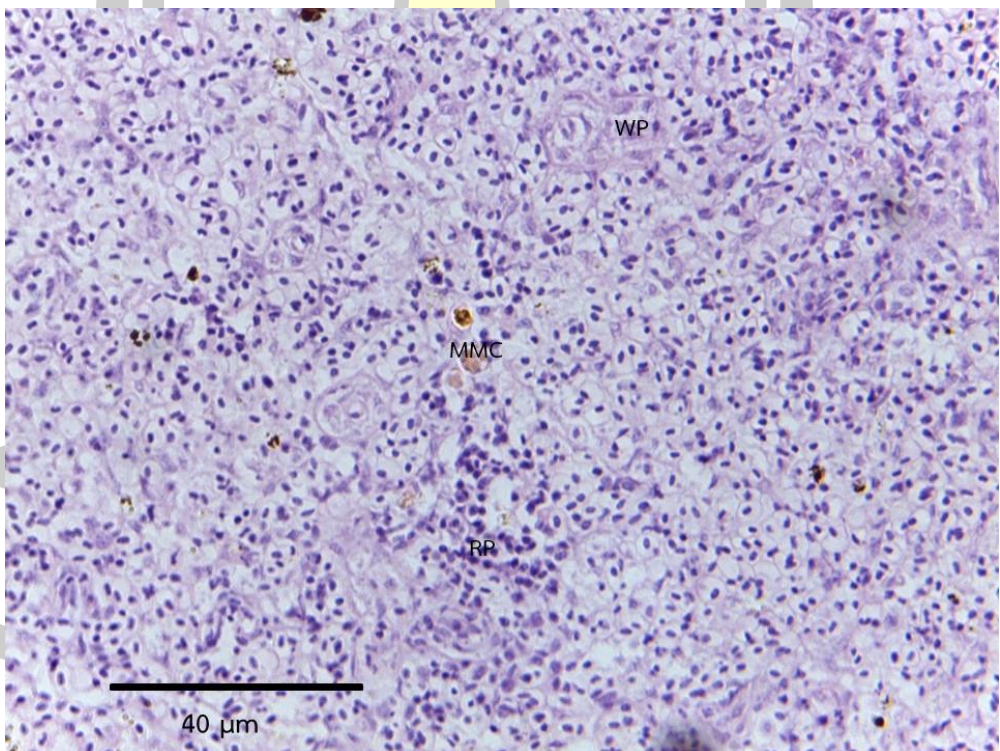
T1



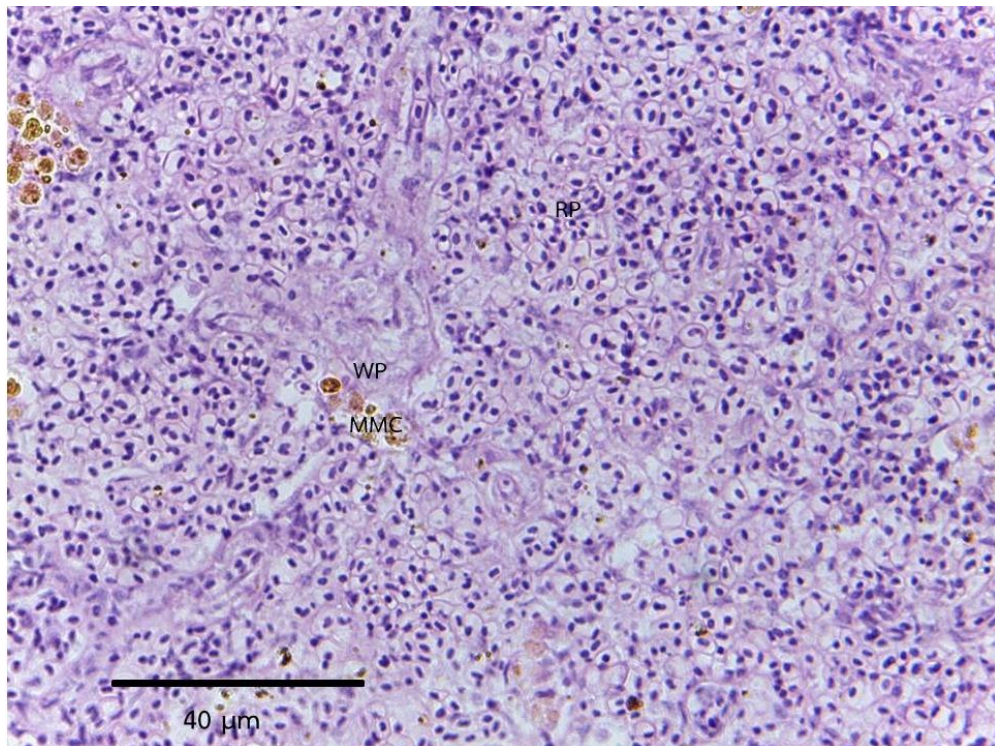
T2



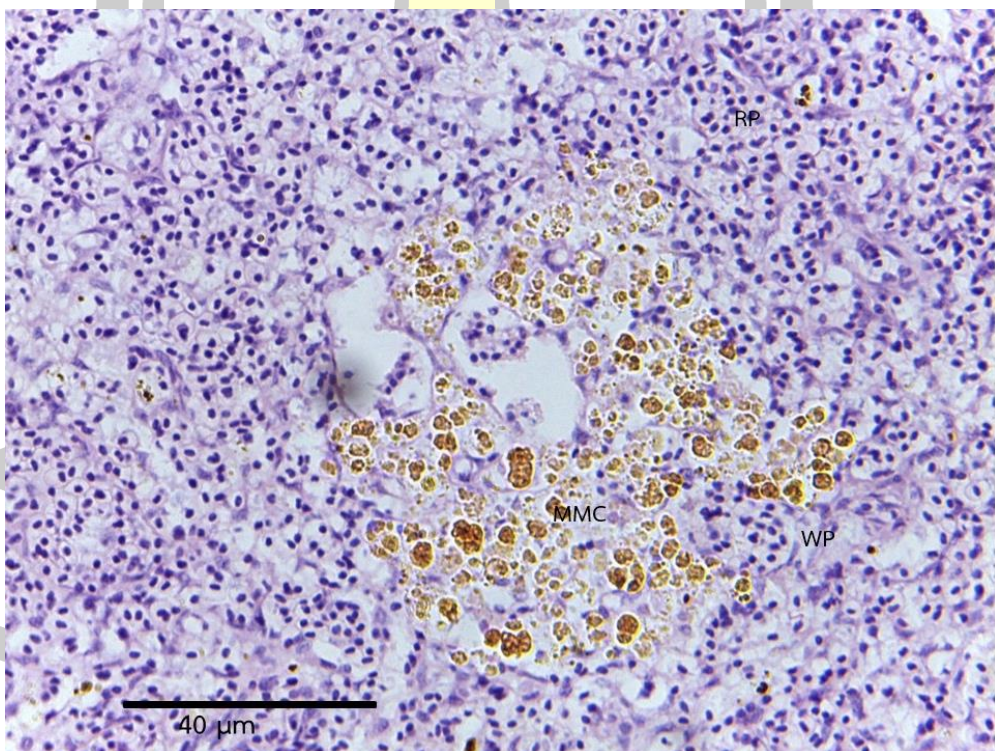
T3



T4



T5



T6

ภาพที่ 4.2 ลักษณะพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อม้ามตามขวางของปลานิล โดย MMC = melanomacrophage center, WP= White pulp, RP = Red pulp

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาคุณค่าโภชนะ สารพฤกษเคมี (แทนนิน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และมีโมซิน) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษของใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ในรูปของสารสกัดหยาบ ด้วยตัวทำละลาย DI EtOH 40% และ EtOH 80% สรุปได้ว่า

1. เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพในการดึงสาระสำคัญจากใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ได้ดีกว่า DI

2. ใบกระถินและใบไมยราบยักษ์มีคุณค่าโภชนะค่อนข้างสูงโดยเฉพาะโปรตีน ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในอาหารเลี้ยงสัตว์ได้

3. จากการวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีในใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ พบว่าปริมาณแทนนินและมีโมซินในใบกระถินมีค่ามากกว่าใบไมยราบยักษ์ แต่สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าต่ำกว่าใบไมยราบยักษ์

4. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในใบไมยราบยักษ์มีค่ามากกว่าใบกระถิน

5. เมื่อทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันกับไรทะเล พบว่า สารสกัดหยาบใบกระถินและสารสกัดหยาบใบไมยราบยักษ์มีความเป็นพิษระดับปานกลาง

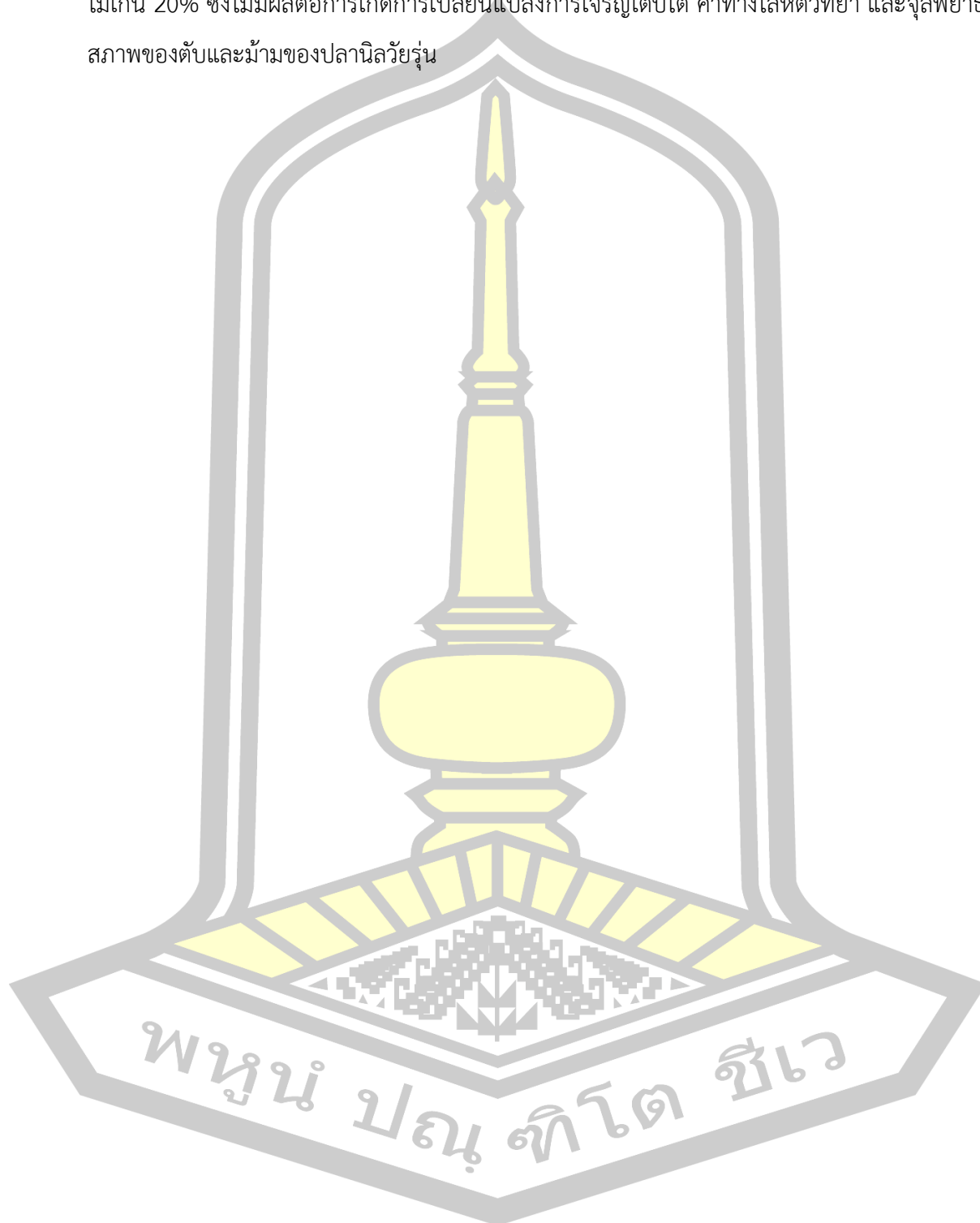
เมื่อนำใบกระถินและใบไมยราบยักษ์มาใช้เป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงปลาฉลามวัยรุ่น ในอัตราส่วน 10, 20 และ 30% ของวัตถุดิบอาหารแห้ง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ สรุปว่า ปลาฉลามที่ได้รับฟีดอาหารมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวมากกว่ากลุ่มควบคุม

1. ปลาฉลามกลุ่มควบคุมอัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสูงสุด และอัตราการแลกเปลี่ยนเป็นเนื้อในปลาฉลามที่สุด นอกจากนี้ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสัมผัสของหัวใจและตับ แต่พบน้ำหนักสัมผัสของม้ามลดลงตามปริมาณฟีดอาหารที่เพิ่มขึ้น

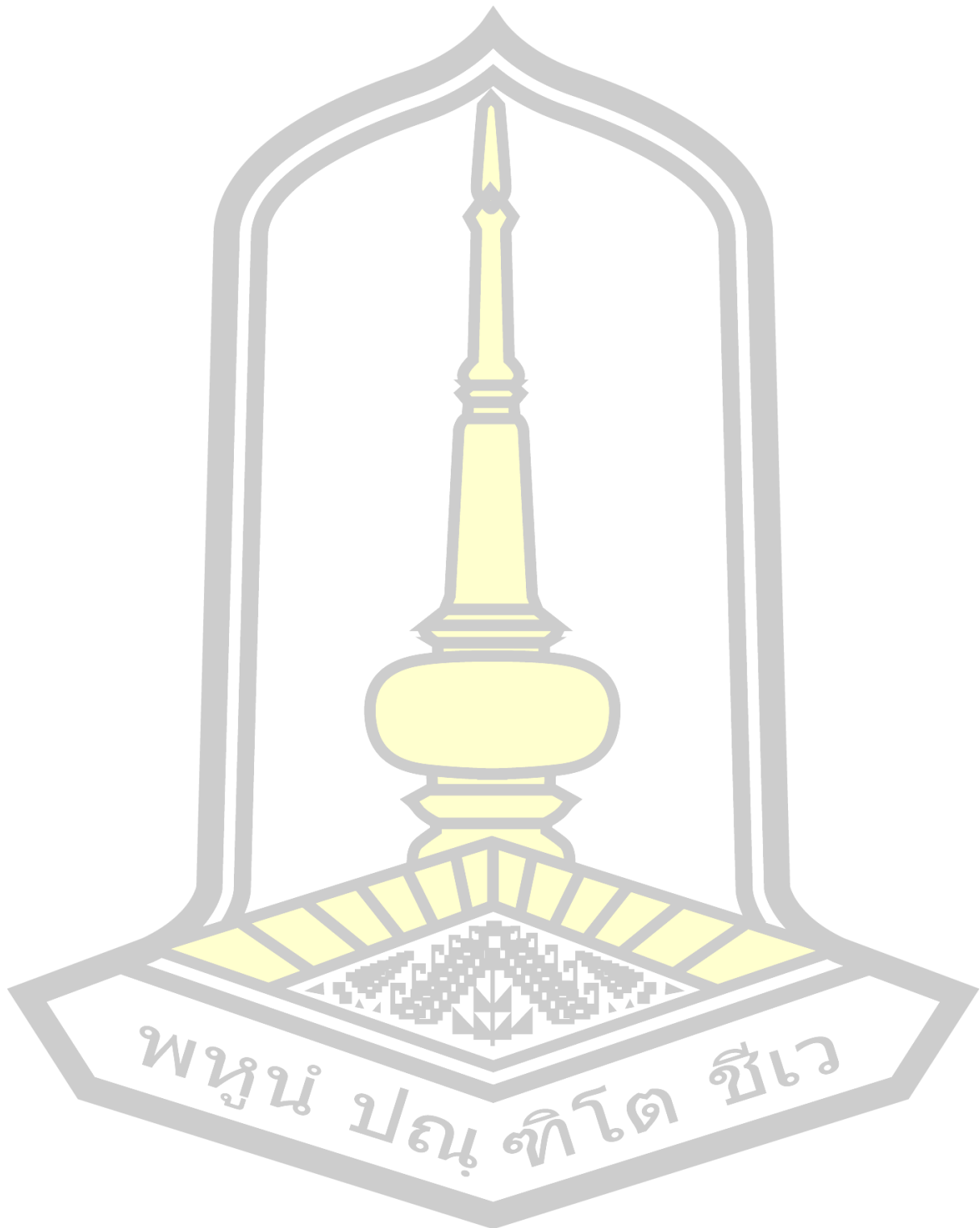
2. ใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ส่งผลกระทบต่อจำนวนเม็ดเลือดแดง ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน และปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง อีกทั้ง ทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาวเพิ่มสูงขึ้นจากกลุ่มควบคุม ยกเว้น กลุ่มที่ได้รับอาหารปลาสำเร็จรูปผสมใบกระถิน 10% นอกจากนี้ การใช้ใบกระถินและใบไมยราบยักษ์ในสูตรอาหารทำให้ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยต่อเซลล์เม็ดเลือดแดงและความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเซลล์เม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น

3. ใบกระถินและใบไมยราบยักษ์มีผลกระทบต่อจุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับและม้าม แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน ยกเว้น กลุ่มที่ได้รับฟีดอาหารทั้ง 2 ชนิด ปริมาณ 30%

ในการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า การใช้ไบโกระถินและใบไมยราบยักษ์ในอาหารเลี้ยงปลาควรมีปริมาณไม่เกิน 20% ซึ่งไม่มีผลต่อการเกิดการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโต ค่าทางโลหิตวิทยา และจุลพยาธิสภาพของตับและม้ามของปลานิลวัยรุ่น



บรรณานุกรม



บรรณานุกรม

- กมณชนก วงศ์สุขสิน & ปันตดาผ่านสำแดง. (2558). Extraction of Tannin from Cassava Leaves. *การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ครั้งที่ 2.*, 214–224.
- กรมพัฒนาที่ดิน. (2553). คู่มือการปฏิบัติงานกระบวนการวิเคราะห์ตรวจสอบดินทางเคมี. 51 หน้า
- กฤษณา คุณาพงษ์กิติ, & ศศิพรศรีสรรพกิจ. (2538). สารพิษในพืชอาหารสัตว์. (กลุ่มงานวิเคราะห์อาหารสัตว์, กรมปศุสัตว์, กรุงเทพฯ, 18 หน้า
- ฉลภา พัทธ์สินสุข, จริญญา บุญจรัสชชะ & จีระพัฒน์ วงศ์พิพัฒน์. (2553). การรวบรวมและจัดทำข้อมูลด้านคุณค่าทางโภชนาของพืชอาหารสัตว์. *กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์*, 79 หน้า
- ไชยเชษฐ รัตนสุตา. (2552). ผลของการใช้วัตถุปรับปรุงดินบางชนิดทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารที่มีต่อการเจริญเติบโตของปลาโฌง (Pangasius bocourti). *วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง ปีที่ 3*, 2, 15–23.
- ชนกันต์ จิตมนัส. (2556). โรคปลานิล. *เชียงใหม่สัตวแพทยสาร*, 11(1), 75–85.
- ณรงค์ กมลรัตน์. (2560). การศึกษารูปแบบการให้อาหารที่เหมาะสมเพื่อลดต้นทุนการเลี้ยงปลานิลในกระชัง แขนงในบ่อดิน. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*, 19(3), 80–87.
- ดวงพร อมรเลิศพิศาล, เมธัส เงินจันทร์, เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน, รัตนาภรณ์ จันทร์ทิพย์ & ชูติมา ศรีมะเร็ง. (2558). สารสำคัญและการป้องกันภาวะออกซิเดชันของสาหร่ายไก่อในปลาหนังลูกผสม. *วารสารวิจัยและพัฒนา มจร.*, 38(4), 393–406.
- เดชภาพร วงศ์เดชขจร, อาคม สังข์วรานนท์, ลักษณะ เพียงซ้าย & สมเกียรติ ประสานพานิช. (2550). ผลของสารแทนนินจากกระถินสดต่อการลดจำนวนไข่พยาธิกลุ่มสตรองไจลิตในอุจจาระและอัตราการเจริญเติบโตของแพะ. 10 หน้า.
- ธีระวัฒน์ รัตนพจน์, เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน, ชูติมา ศรีมะเร็ง, จันทร์ทิพย์ รัตนาภรณ์ & วงพร อมรเลิศพิศาล. (2555). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและผลการเสริมสาหร่ายเตา ต่อการเจริญเติบโตของปลานิลในกระชัง. *วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง*, 2, 23–34.
- ธีรวุฒิ เลิศสุทธิชวาล. (2553). พิษเฉียบพลันของสารสกัดหยาบจากพืชป่าชายเลนบางชนิดต่อปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่เลี้ยงในน้ำกร่อย. *วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง*, 4(1), 120–130.
- ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร. (2543). ระดับของแทนนินที่ทำให้ปลาตายและไม่ตายต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะจุลพยาธิวิทยาของเหงือก ลำไส้ ตับ และไตของปลานิล. *คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*.

- ประเสริฐ สีตะสิทธิ์, นันทิยา อุ่นประเสริฐ & มะลิ บุญยรัตผลิน. (2525). อาหารปลา. สถาบันการประมงน้ำจืดกองประมงน้ำจืด, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 88 หน้า
- ปราโมทย์ แพ่งคำ. (2545). ความคุ้มค่าจากสารประกอบคอนเดนซ์แทนนินในพืชโปรตีนอาหารสัตว์สำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง. 1, 20-25.
- พิเชต พลายเพชร. (2559). การจัดการทางโภชนาการสำหรับการเลี้ยงปลานิล. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 1, 11-39.
- มนต์สรวง ยางทอง. (2557). Oxidative stress in Fish Organs. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*, 32(2), 66-75.
- มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, มณีกุล ภาณุเวรัตน์, พรรณศรี จริโมภาส, สุจินต์ หนูขวัญ, วัลย์วุฒิ กำชัยลา, วีระ จันทโรทัย & โยธิน วิมลวัชรกร. (2536). การพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลานิล. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด, กรมประมง, 96 หน้า.
- วีระพล แจ่มสวัสดิ, วรวรรณ สังข์แก้ว & จารุวัฒน์ ชินสุวรรณ. (2556). การใช้ใบชี้เหล็ก ใบจามจู้ และใบกระถินเป็นอาหารเสริมโปรตีนสำหรับโคเนื้อ. *วารสารการพัฒนาชุมชนและคุณภาพชีวิต*, 1(3), 243-249.
- วิไลรักษาญจน์ ฉัตรสกุล. (2561). ลิกนิน-แทนนิน. Retrieved from <http://www2.diw.go.th>
- วุฒิพันธุ์ เนตรวิชัย, อานุภาพ เสี่ยงสาย & สุรนนท์ น้อยอุทัย. (2554). การใช้ไมยราบยักษ์แห้งเป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงแพะพันธุ์ลูกผสมพื้นเมือง. *รายงานผลงานวิจัยกองอาหารสัตว์*, 137-148.
- ศิลปะชัย บุญยัง, เกษฏ์ เสนารัตน์, ปิยากร เกษตรระทัต, มงคล ชัยชนะ, พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ & วรณีย์ จีระอังกูรสกุลเอสร่า. (2559). โครงสร้างและการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อตับของปลาตะกรับ *Scatophagus argus* ระยะเวลาวัยรุ่น จากบริเวณปากแม่น้ำปราณบุรี ประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มจร.*, 2, 1-6.
- สุรีย์พร ธรรมิกพงษ์. (2554). การศึกษาสถานภาพของชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานในลุ่มน้ำป่าสัก. มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ สถาบันวิจัยและพัฒนา.
- สุวรรณณี แสนทวีสุข, ดวงใจ จงตามกลาง, ทศน์วรรณ สมจันทร์ & ปิติพงษ์ ไต่บันลือภพ. (2555). ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรบางชนิด. *แก่นเกษตร* 40, 2, 480-483.
- อรุณ แสงสถิตย์. (2549). การศึกษาคุณลักษณะด้านเชื้อแบคทีเรียแอโรโมนาส ไฮโดรฟิลล่าในปลาคาร์พ ด้วยสารสกัดใบฝรั่ง. *คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*.
- อรุณี เจตศรีสุภาพ. (2559). การตรวจทางห้องปฏิบัติการพื้นฐานทางโลหิตวิทยาและปัสสาวะที่ทำให้ผลคลาดเคลื่อน. *วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต*, 26(2), 91-95.

- อารีรัตน์ ขอไชย, สิริภากร แสงกิจพร, สาวิตรี ดั่งเรือง, ชลลดา ยอดทัพ, อัจฉราพร คำบัว, อภิชาติ โชติชูศรี, สมชาย แสงกิจพร. (2013). จากการศึกษาวิเคราะห์ ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน. *วารสารวิชาการสาธารณสุข*, 22(6), 1042-1051.
- Abu Zarin, M., Wan, H. Y., Isha, A., & Armania, N. (2016). Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic potential of condensed tannins from *Leucaena leucocephala* hybrid-Rendang. *Food Science and Human Wellness*, 5(2), 65-75.
- Agbede, J.O. (2003). Equi-protein replacement of fishmeal with *Leucaena* leaf protein concentrate: An assessment of performance characteristics and muscle development in the chicken. *International Journal of Poultry Science*, 2(6), 421-426.
- Agbo, N.W. (2008). *Oilseed Meals as Dietary Protein Sources for juvenile Nile Tilapia (Oreochromis niloticus L.)* (Institute). University of Sterling, Scotland. 210.
- Agius, C. (1980). Phylogenetic development of melano-macrophage centers in fish. *Journal of Zoology.*, 191, 11-31.
- Amisah, S., Oteng, M.A., & Ofori, J.K. (2009). Growth performance of the African catfish, *Clarias gariepinus*, fed varying inclusion levels of *Leucaena leucocephala* leaf meal. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 13(1), 21-26.
- Asaduzzaman, M., Rana, D.M.S., Hasan, S.M.R., Hossain, M.M., & Das, N. (2015). Cytotoxic (Brine Shrimp Lethality Bioassay) and Antioxidant Investigation of *Barringtonia acutangula* (L.). *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*, 6(8), 1179-1185.
- Ayssiwede, S., Chrysostome, C.A.A.M., Zanmenou, J.C., Dieng, A., Houda, M.R., Dahouda, M. & Missohou, A. (2011). Effects of *Moringa oleifera* (Lam.) Leaves Meal Incorporation in Diets on Growth Performances, Carcass Characteristics and Economics Results of Growing Indigenous Senegal Chickens. *International Journal of Poultry Science*, 10(12), 1132-1145.
- Azeemuddin, G., & Jagan Mohan Rao, S. Thirumala-Rao, S.D. (1988). Amino acid composition of subabul (*Leucaena leucocephala*) seed kernel proteins. *Journal of Food Science and Technology*, 25, 158.

- Baldosano, H.Y., Beatriz, M., Castillo, M.G., Elloran, C.D.H., & Bacani, F.T. (2015). Effect of particle size , solvent and extraction time on tannin extract from *Spondias purpurea* bark through Soxhlet extraction. *Proceedings of the DLSU Research Congress*, 3, 4–9.
- Begum, T. (2011). Dedicated to my beloved Parents and Grand mother *Effects of Leucaena Leucocephala (Lam. de Wit) Leaves and Seeds on Channa Punctatus (Bloch and Schneider) and Oreochromis Niloticus (Linnaeus)*, (98), 51.
- Binggeli, P. (2005). *Mimosa pigra* L . *Crop Protection Compendium*, 1–14.
- Bittencourt, N.L.D.R., Molinari, L.M., Scoaris, D.O., Pedroso, R.B., Nakamura, C.V., Ueda-nakamura, T. & Filho, B.P.D. (2003). Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 25(2), 385–389.
- Boonyoung, P., Senarat, S., Poolprasert, P., Jiraungkoorskul, W., & Wangkulangu, S. (2016). Splenic microanatomy of *Scatophagus argus* (Linnaeus, 1766) during juvenile stage. *YRU Journal of Science and Technology*, 1(2), 1–6.
- Brewbaker, J.L. & Hylin, J.W. (1965). Variations in mimosine content among *Leucaena* species and related mimosaceae. *Crop Science*, 5(4), 348–349.
- Butter, N.L., Dawson, J. M. & Buttery, P.J. (2000). Dietary Tanins Help Reduce Parasits in sheep. *Feed Mix*, 8(2), 32–34.
- Buyukcapar, H.M., Atalay, A.İ. & Kamalak, A. (2011). Growth Performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fed with Diets Containing Different Levels of Hydrolysable and Condensed Tannin. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13(October 2015), 1045–1051.
- Chanchay, N. & Poosaran, N. (2009). The reduction of mimosine and tannin contents in leaves of *Leucaena leucocephala*. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 137–144.
- Chanda, S. & Baravalia, Y. (2011). Brine shrimp cytotoxicity of *Caesalpinia pulcherrima* aerial parts, antimicrobial activity and characterization of isolated active fractions. *Natural Product Research*, 25, 1955–1964.

- Coe, F.G., Parikh, D.M. & Johnson, C.A. (2010). Alkaloid presence and brine shrimp (*Artemia salina*) bioassay of medicinal species of eastern Nicaragua. *Pharmaceutical Biology*, 48(4), 439-445.
- Daduang, J., Vichitphan, S., Daduang, S., Hongsprabhas, P., & Boonsiri, P. (2011). High phenolics and antioxidants of some tropical vegetables related to antibacterial and anticancer activities. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(5), 608-615.
- Dai, J. & Mumper, R.J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- David, M & Kartheek, R.M. (2015). Histopathological alterations in spleen of freshwater fish *Cyprinus carpio* exposed to sublethal concentration of sodium cyanide. *Open Veterinary Journal*, 5(1), 1-5.
- Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetaredjo, F.E., Ismadji, S. & Ju, Y.H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content , total flavonoid content , and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22, 296-302.
- Downey, M.O. & Hanlin, R.L. (2010). Comparison of ethanol and acetone mixtures for extraction of condensed tannin from grape skin. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 31(2), 154-159.
- Esekiagbe, M., Agatemor, M.M.U. & Agatemor, C. (2009). Phenolic content and antimicrobial potentials of *Xylopia aethiopica* and *Myristica Argentea*. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 28(2), 159-162.
- FAO/IAEA. (2000). Quantification of tannins in tree foliage. *IAEA, VIENNA*, 31.
- Felhi, S., Daoud, A., Hajlaoui, H., Mnafigui, K., Gharsallah, N. & Kadri, A. (2017). Solvent Extraction Effects on Phytochemical Constituents Profiles, Antioxidant and Antimicrobial Activities and Functional Group Analysis of *Ecballium elaterium* Seeds and Peels Fruits. *Food Science and Technology*, 37(3), 483-492.
- Francis, G., Makkar, H.P.S. & Becker, K. (2001). *Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture*, 199(3-4), 197-227.

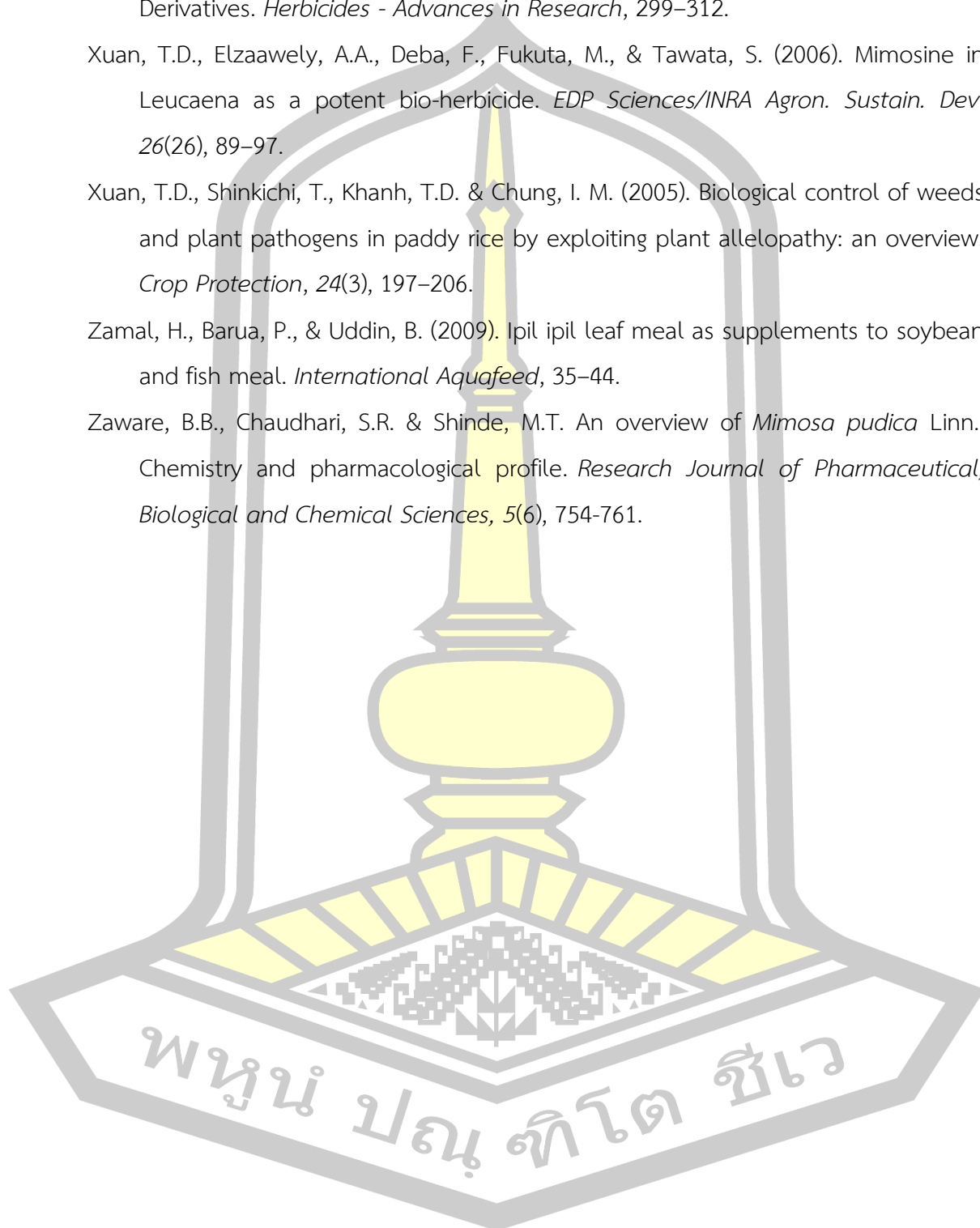
- Gabriel, U., Akinrotimi, O.A. & Esemokumo, F. (2011). Haematological Responses of Wild Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* after Acclimation to Captivity. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 4(4), 225–230.
- Ghasemzadeh, A. & Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(31), 6697–6703.
- Goddara, S. (1996). *Feed management in intensive aquaculture*. New York: Chapman & Hill.
- Hammond, A.C. (1995). Leucaena toxicosis and its control in ruminants. *Journal of Animal Science*, 73(5), 1487–1492.
- Hanganu, D., Vlase, L., & Olah, N. (2010). Phytochemical analysis of isoflavons from some Fabaceae species extracts. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(1), 57–60.
- Hegarty, M., Schinckel, P., & Court, R. (1964). Reaction of sheep to the consumption of *Leucaena glauca* Benth. and to its toxic principle mimosine. *Australian Journal of Agricultural Research*, 15(1), 153–162.
- Hrubec, T.C., Cardinale, J.L., & Smith, S.A. (2000). Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultured Tilapia (*Oreochromis Hybrid*). *Veterinary Clinical Pathology*, 29, 7–12.
- Koodkaew, I., Senaphan, C., Sengseang, N. & Suwanwong, S. (2018). Characterization of phytochemical profile and phytotoxic activity of *Mimosa pigra* L. *Agriculture and Natural*, 1-20.
- Liao, X., Zhang, M. & Shi, B. (2004). Collagen-Fiber-Immobilized Tannins and their Adsorption of Au (III) . *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 9, 2222–2227.
- Maisak, H., Jantrakajorn, S., Lukkana, M. & Wongtavatchai, J. (2013). Antibacterial activity of tannin from sweet chestnut wood against aeromonas and streptococcal pathogens of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 43(1), 105–111.

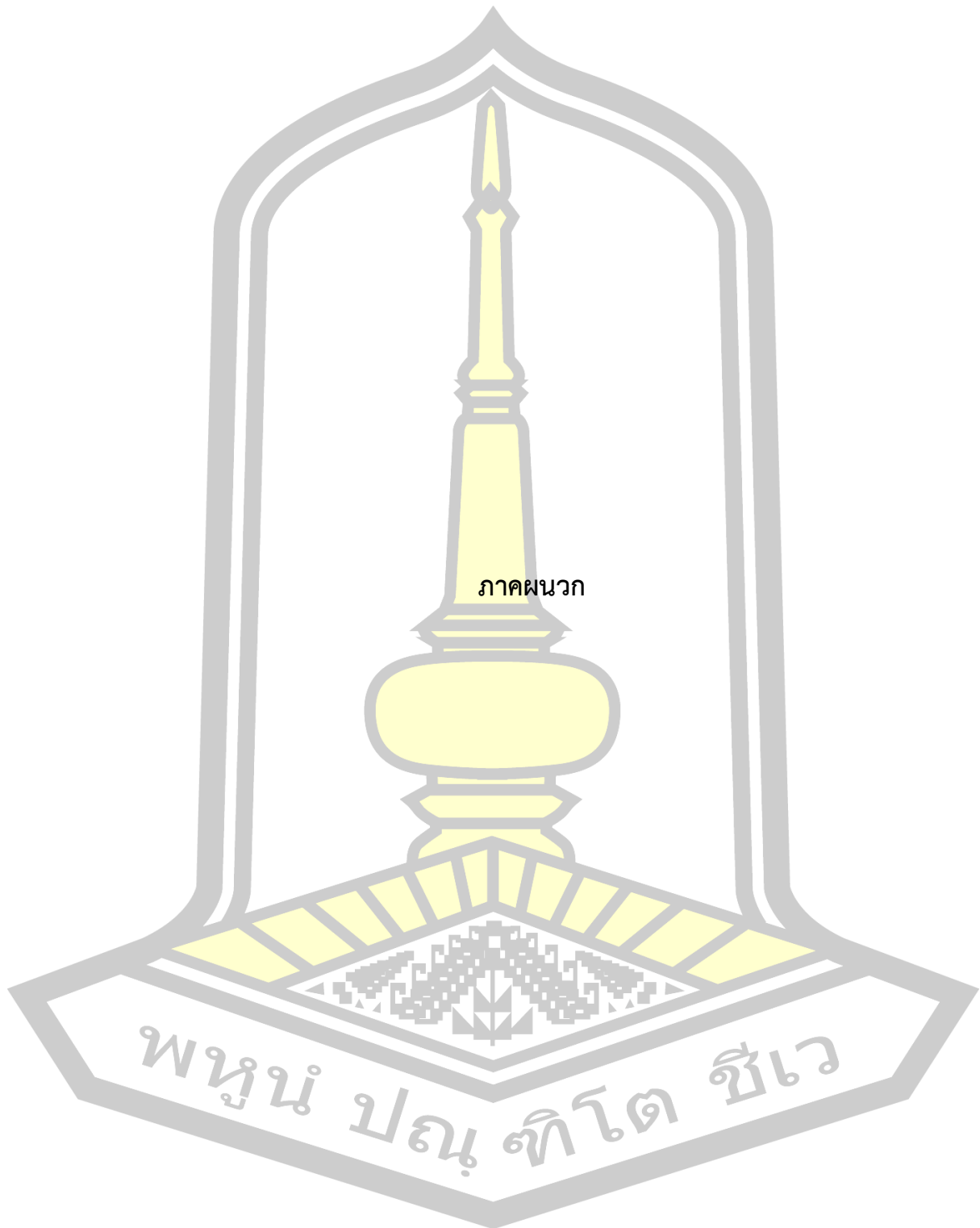
- Matsumoto, H. & Sherman, G. (1951). A rapid colorimetric method for the determination of mimosine. *Arch Biochem Biophys.*, 33(2), 195–200.
- Meulen, U. Ter, Struck, S., Schulke, E., El-Harith, E.A. & Harith, E.El. (1979). a Review on the Nutritive Value and Toxic Aspects of *Leucaena Leucocephala*. *Trop Anim Prod*, 4(2), 113–126.
- Mian, G., Godoy, D., Leal, C., Yuhara, T., Costa, G. & Figueiredo, H. (2009). Aspects of the natural history and virulence of *S. agalactiae* infection in Nile tilapia. *Veterinary Microbiology*, 136(1–2), 180–183.
- Miller, I.L. (2004). Uses for *Mimosa pigra*. *Research and Management of Mimosa pigra*, 63-67.
- Naczki, M. & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J Pharm Biomed Anal*, 41(5), 1523–1542.
- Nishira, H. (1960). Hydrolytic of Tannin-Protein-Complex by Tannase. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 24(7), 739–740.
- Nondo, R.S.O., Mbwambo, Z.H., Kidukuli, A.W., Innocent, E.M., Mihale, M.J., Erasto, P. & Moshi, M.J. (2011). Larvicidal, antimicrobial and brine shrimp activities of extracts from *Cissampelos mucronata* and *Tephrosia villosa* from coast region, Tanzania. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11. 1-7.
- Ogata, T. & Nakamo, Y. (2005). Mechanisms of gold recovery from aqueous solutions using a novel tannin gel adsorbent synthesized from natural condensed tannin. *Water Research*, 39, 4281–4286.
- Oost, D., Beyer, J., & Vermeulen, N.P.E. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13(2), 57–149.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., Anthony, S. (2009). *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit Fabaceae - Mimosoideae *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit Fabaceae - Mimosoideae. *Agroforestry Database: A Tree Reference and Selection Guide Version 4.0*, 0, 1–8.
- Pizzi, A. (2008). Tannins: Major Sources, Properties and Applications. *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources.*, 179–199.

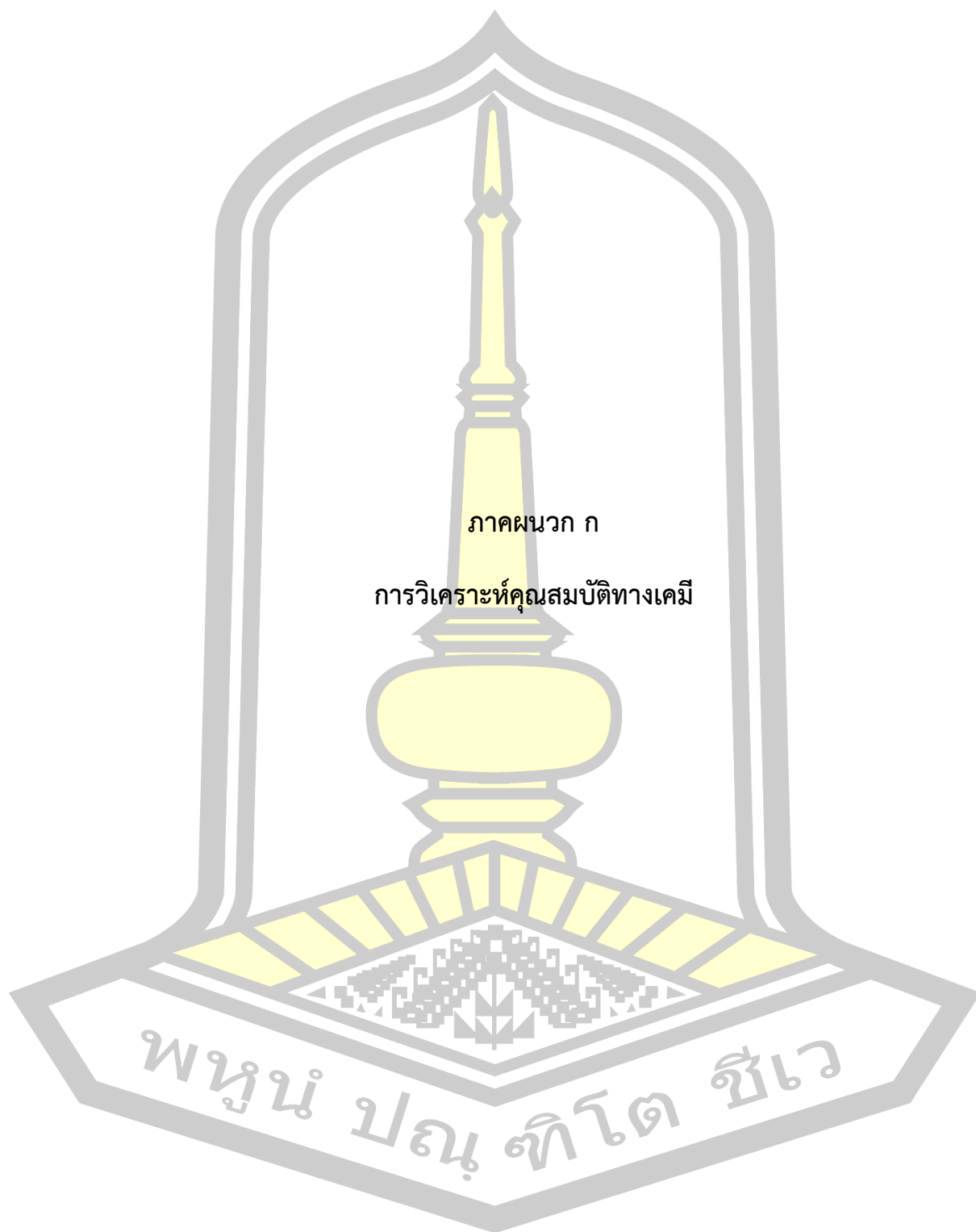
- Ramli, N. & Ilham, Z. (2017). Mimosine Toxicity in Leucaena Bio mass : A Hurdle Impeding Maximum use for Bioproducts and Bioenergy. *International Journal of Environmental Science & Natural Resorces*, 6(5), 1–5.
- Sajid, Z.I., Anwar, F., Shabir, G., Rasul, G., Alkharfy, K.M. & Gilani, A.H. (2012). Antioxidant, antimicrobial properties and phenolics of different solvent extracts from bark, leaves and seeds of Pongamia pinnata (L.) pierre. *Molecules*, 17(4), 3917–3932.
- Santiago, C.B., Aldaba, M., Laron, M.A. & Reyes, O.S. (1988). Reproductive performance and growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock fed diets containing *Leucaena leucocephala* leaf meal. *Aquaculture*, 70(1–2), 53–61.
- Sengul, M., Yildiz, H., Gungor, N., Cetin, B., Eser, Z. & Ercisli, S. (2009). Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(1), 102–106.
- Sharma, P. & Chaurasia, S. (2015). Evaluation of total phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity of *Acokanthera oppositifolia* and *Leucaena leucocephala*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7(1), 175–180.
- Shi, J., Nawaz, H., Pohorly, J., Mittal, G., Kakuda, Y. & Jiang, Y. (2005). Extraction of polyphenolics from plant material for functional foods-engineering and technology. *Food Reviews International*, 21, 139–166.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Agric. Food Chem*, 40(6), 945–948.
- Soto-Vaca, A., Gutierrez, A., Losso, J., Xu, Z. & Finley, J. (2012). Evolution of phenolic compounds from color and flavor problems to health benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(28), 6658–6677.
- Sotolu, A. & Faturoti, E. . (2009). Growth performance and haematology of *Clarias gariepinus* (Burchell , 1822) fed varying inclusions of *Leucaena leucocephala* seed meal based-diets, 9(4), 979–985.

- Tawata, S. (1990). Effective reduction and extraction of mimosine from *Leucaena* and the potential for its use as a lead compound of herbicides. *Pesticide and Alternatives*, 541–554.
- Trewavas, E. (1982). Tilapias: taxonomy and speciation. *ICLARM Conference Proceedings*, 7, 3–13.
- Vearasilp, T., Phuagphong, B. & Ruengpaibul, S. (1981). A comparison of *Leucaena leucocephala* and *Mimosa pigra* L. in pig diets. *Thai J. Agric. Sci*, (14), 311–317.
- Verma, V., Rani, K.V., Kumar, S.R. & Prakash, O. (2018). *Leucaena leucocephala* pod seed protein as an alternate to animal protein in fish feed and evaluation of its role to fight against infection caused by *Vibrio harveyi* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Fish and Shellfish Immunology*, 1–29.
- Walden, D., Finlayson, C. M., Dam, R. van & Storrs, M. (1999). Information for a risk assessment and management of *Mimosa pigra* in Tram Chim National Park. *Proceedings of the EnviroTox'99 International Conference*, 160–170.
- Walter, W. J. & Purcell, A. (1979). Evaluation of several methods for analysis of sweet potato phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27(5), 942–946.
- Wakawa, H.Y. & Fasihuddin, B.A. (2017). Brine Shrimp Lethality Bioassay Of *Abrus Precatorius* (Linn.) Leaves and Root Extract. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9(1), 29-31.
- Wee, K.L. & Shun-sen, W. (1987). Nutritive value of *Leucaena* leaf meal in pelleted feed for Nile tilapia. *Aquaculture*, 62(2), 97–108.
- Wee, K.L., & Wang, S-S. (1987). Nutritive value of *Leucaena* leaf meal in pelleted feed for Nile tilapia. *Aquaculture*, 62(2), 97–108.
- Widyawati, P.S., Budianta, T.D.W., Kusuma, F.A. & Wijaya, E.L. (2014). Difference of solvent polarity to phytochemical content and antioxidant activity of *Pluchea indica* less leaves extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(4), 850-855.
- Wittayakun, S., Innaree, W., & Pranamornkith, P. (2017). Yield, nutrient content and rumen in vitro digestibility of giant sensitive tree (*Mimosa pigra*) as dairy feed. *Asian Journal of Agriculture and Biology*, 5(4), 355–360.

- Xuan, T., Tawata, S. & Khanh, T.D. (2013). Herbicidal Activity of Mimosine and Its Derivatives. *Herbicides - Advances in Research*, 299–312.
- Xuan, T.D., Elzaawely, A.A., Deba, F., Fukuta, M., & Tawata, S. (2006). Mimosine in *Leucaena* as a potent bio-herbicide. *EDP Sciences/INRA Agron. Sustain. Dev*, 26(26), 89–97.
- Xuan, T.D., Shinkichi, T., Khanh, T.D. & Chung, I. M. (2005). Biological control of weeds and plant pathogens in paddy rice by exploiting plant allelopathy: an overview. *Crop Protection*, 24(3), 197–206.
- Zamal, H., Barua, P., & Uddin, B. (2009). Ipil ipil leaf meal as supplements to soybean and fish meal. *International Aquafeed*, 35–44.
- Zaware, B.B., Chaudhari, S.R. & Shinde, M.T. An overview of *Mimosa pudica* Linn.: Chemistry and pharmacological profile. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(6), 754-761.







ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี

พหุ ประจักษ์ ชัยเว

1. ไนโตรเจน (total N) โดยวิธี Kjeldahl method (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551)

สารเคมี

- กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ 40%
- ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 400 กรัม ใน DI แล้วทำสารปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วย DI
- กรดบอริก (Boric acid) 3%
- ละลายกรดบอริก 300 กรัม ในDI แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วย DI
- Mixed catalyty ผสม K_2SO_4 และ $CuSO_4 \cdot 10H_2O$ ในอัตราส่วน 10:1
- อินดิเคเตอร์ผสม (Mixed indicator) ละลาย 0.2 กรัม Bromocresol green และ 0.075 กรัม methyl red ละลายใน 95% ethyl alcohol จำนวน 96 ml เติม NaOH 0.1 M ปริมาตร 3.5 ml ผสมเข้าด้วยกัน
- สารละลายไฮโดรคลอริก (HCL) 0.1 M

วิธีการ

1. การย่อยสลาย (digestion)

- ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม ใส่ในหลอดย่อย digestion tube ขนาด 250 ml เติม Mixed catalyst 1 ซ้อนกาแฟ (ที่ประกอบด้วย K_2SO_4 , $Cu SO_4 \cdot 10H_2O$ และ Se ในอัตราส่วน 100:10:1)
- เติม conc H_2SO_4 15 ml ในหลอดย่อย
- ทำ blank และตัวอย่างอ้างอิง (reference sample) โดยวิธีเดียวกัน
- นำไปย่อยด้วย digestion block ใช้อุณหภูมิประมาณ $420^{\circ}C$ จนได้สารละลายใส ใช้เวลาประมาณ 3 ชม. ทิ้งไว้ให้เย็น

2. การกลั่น (distillation)

เครื่องกลั่นสำหรับ Block : ใส่สารละลายกรดบอริก 25 มล. ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มล. หยด Mixed indicator 4-5 หยด ในทำนองเดียวกัน เติมสารละลายต่าง (NaOH 40%) ในหลอดแก้วลงในสารละลายตัวอย่างปริมาณ 50 มล. จากเครื่องทำการกลั่นจนได้ปริมาตร 150 มล. ใช้เวลาประมาณ 4.30 นาที แล้วนำไปไทเทรต

3. การไทเทรต

- ไทเทรตของเหลวที่กลั่นได้ด้วย HCL มาตรฐานความเข้มข้น 0.1 M จนกระทั่งสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง (purple) คือจุดยุติ (end point)
- ไทเทรต blank ในทำนองเดียวกัน

2. ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในปุ๋ยโดยวิธี Bray II

- น้ำยาสกัด Bray II (0.03 N NH_4F , 0.1 N HCl) (Bray และ Kurtz, 1945)

ละลายแอมโมเนียมฟลูออไรด์ (NH_4F) 11.10 กรัม ใน DI 8 ลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc.HCl) ลงไป 86 มิลลิลิตร แล้วปรับให้มีปริมาตร 10 ลิตร ปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 1.5 - 1.6

- Stock solution (Reagent A: Sulfuric-molybdate-tartrate solution) (Reid และ Copeland, 1969, Hue และ Evans, 1978)

ละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต $[(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ 50 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 2 L. เติม DI 200 ml คนให้ละลาย ละลายแอนติโมนีโพแทสเซียมตาร์เตรท (antimony potassium tartrate, $\text{KSbO} \cdot \text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$) 1.213 กรัม ใน DI 50 ml (ถ้าไม่ละลาย นำไปอุ่นแต่ต้องไม่เกิน 60°C) เมื่อละลายเข้ากันดีแล้ว เทใส่ในบีกเกอร์ที่ใส่แอมโมเนียมโมลิบเดต คนให้เข้ากันอีกครั้ง ค่อยๆเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) 700 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น เทลงในขวด Volumetric flask ขนาด 1 L. แล้วทำให้มีปริมาตร 1 L. ด้วย DI เทเก็บไว้ในขวด polyethylene หรือ ขวด pyrex สีน้ำตาลและเก็บไว้ในที่มืดและเย็น น้ำยานี้ทิ้งไว้ได้นาน 6 เดือน

- น้ำยา develop สี (Working solution, Reagent B) (The Auburn University modified Murphy and Riley (1962) ; Watanbe and Olsen, (1965) และ Mehlich, (1978))

ละลาย ascorbic acid 1.76 กรัม ใน DI ประมาณ 1,600 ml เติมสารละลายข้อ (2) ลงไป 40 ml ทำให้มีปริมาตร 2 L. ด้วย DI ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 2 ชั่วโมง จึงนำมาใช้ สารละลายนี้เก็บได้ไม่เกิน 24 ชั่วโมง ดังนั้นจึงต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง

- สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 50 มก./กก.P

ละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium dihydrogen phosphate, KH_2PO_4 ที่อบให้แห้งที่ 40°C นาน 2 ชั่วโมง) 0.2195 กรัม ใน DI พอสมควร ปรับสภาพให้เป็นกรดด้วยซัลฟูริก 1-2 หยดแล้วทำให้มีปริมาตร 1 L.

- นำสารละลายมาตรฐานข้อ 4 มาทำให้มีความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 15 มก. กก. P. ด้วยน้ำยาสกัด

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างดิน กรัมใส่ในขวดแก้วกันแบน (Erlenmeyer flask) ขนาด 50 ml
2. เติมน้ำยาสกัด Bray II 10 มิลลิลิตร เขย่า 1 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง No.5
3. ปิเปตสารละลายที่สกัดได้ในข้อ (2) อัตราส่วน 1 ส่วนต่อ working solution 16 ส่วน (เท่ากับ 17 เท่าโดยใช้ Auto-dilutor) ลงในหลอดแก้ว ทิ้งไว้ครึ่งชั่วโมง นำไปอ่านค่าความ

เข้มข้น (concentration) ด้วยเครื่อง Vis-Spectrophotometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 882 นาโนเมตร

4. ทำ blank และชุดของสารละลายมาตรฐาน (standard set) เช่นเดียวกับข้อ (3)

3. ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (O.C.) (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551)

สารเคมีและวิธีเตรียม

- สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) 1.0 N
ละลาย ($K_2Cr_2O_7$) 49.04 กรัมใน DI แล้วทำปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วย DI
- สารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (FAS) 0.5 N
ละลาย $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ 196.1 ใน DI 800 มล. ที่มีกรด H_2SO_4 เข้มข้นอยู่ที่ 20 มล.
แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วย DI เก็บไว้ในขวดสีน้ำตาล
- สารละลายออร์โทฟีแนนโทลีน อินดิเคเตอร์
ละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) 0.7 กรัม และออร์โทฟีแนนโทลีน 1.48 กรัม ใน DI แล้ว
ปรับปริมาตรเป็น 100

วิธีการ

1. ชั่งดิน 0.5 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล.
2. เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) 1.0 N 10 มล.
3. เติม H_2SO_4 เข้มข้น 20 มล. โดยใช้ Dispenser พยายามให้กรดไหลลงข้างๆขวดให้ชะ
ล้างตัวอย่างลงไปอยู่ในขวดให้หมด เพื่อป้องกันไม่ให้เม็ดดินเกาะติดอยู่ตามข้างขวดเขย่าเบาๆให้
ตัวอย่างเข้ากันดี เป็นเวลาประมาณ 1 นาที
4. ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายเย็นเท่าอุณหภูมิห้อง
5. เติม DI 50 มล. แล้วทิ้งไว้ให้เย็น
6. หยดอินดิเคเตอร์ออร์โทฟีแนนโทลีน 5 หยด
7. ไตเตรทด้วยสารละลาย FAS 0.5 N ที่จุด end point สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสี
เขียวเป็นสีน้ำตาลแดง
8. ทำ Blank โดยเริ่มทำตั้งแต่ขั้นตอนที่ 2 ถึงขั้นตอนที่ 6

4. การวิเคราะห์ โพแทสเซียมและเหล็ก

สารเคมีและวิธีเตรียม

- สารละลายแอมโมเนียมอะซิเตต (NH_4OAc) 1 M pH 7.0
- สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม $1,000 \text{ mg L}^{-1}$
ละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 1.9067 กรัม (ที่อบแห้ง) ใน DI แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 L.

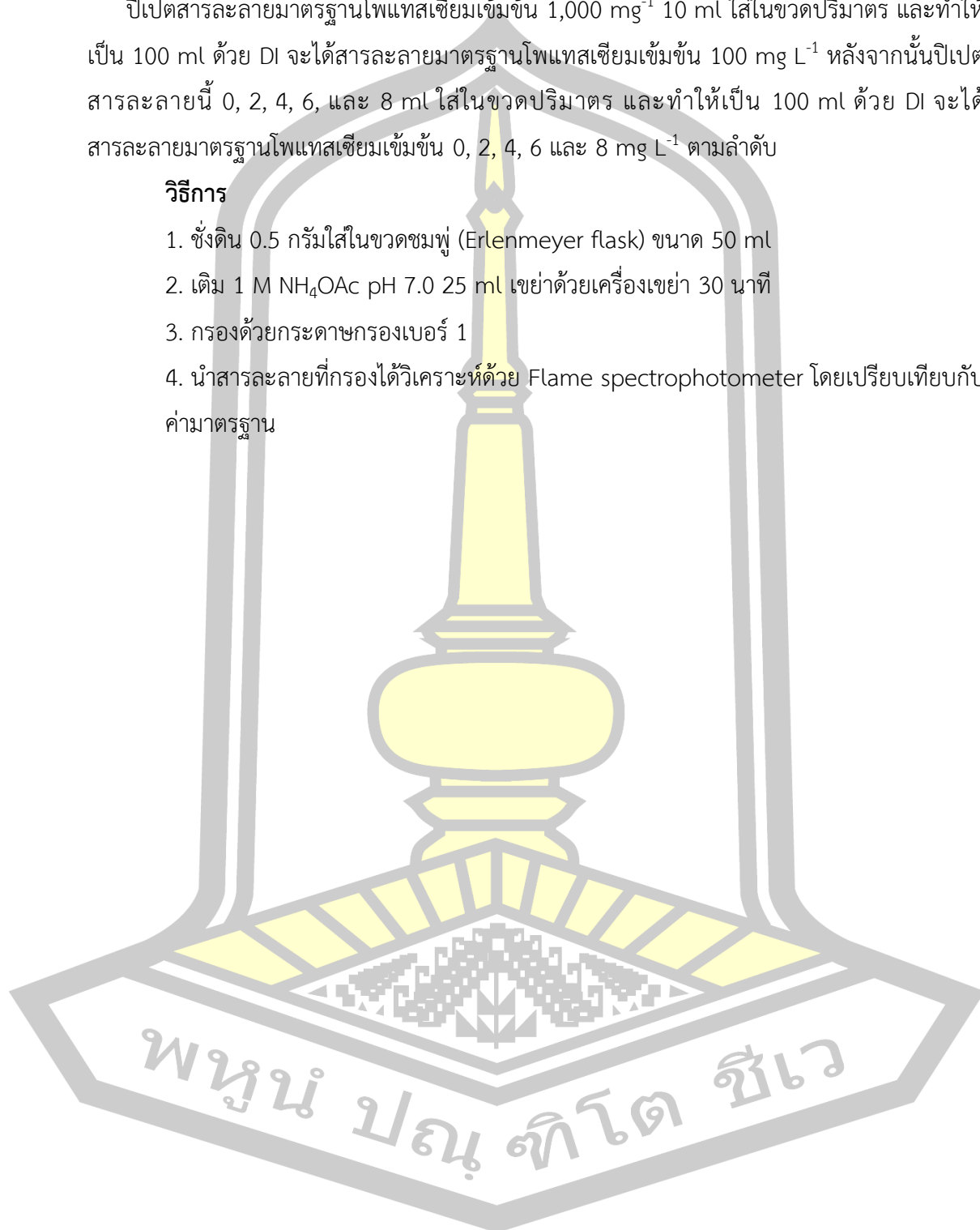
ด้วย DI

- สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเข้มข้น 0, 2, 4, 6 และ 8 mg⁻¹

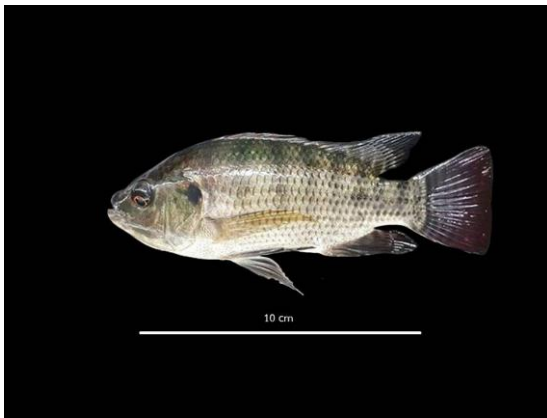
ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเข้มข้น 1,000 mg⁻¹ 10 ml ใส่ในขวดปริมาตร และทำให้เป็น 100 ml ด้วย DI จะได้สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเข้มข้น 100 mg L⁻¹ หลังจากนั้นปิเปตสารละลายนี้ 0, 2, 4, 6, และ 8 ml ใส่ในขวดปริมาตร และทำให้เป็น 100 ml ด้วย DI จะได้สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเข้มข้น 0, 2, 4, 6 และ 8 mg L⁻¹ ตามลำดับ

วิธีการ

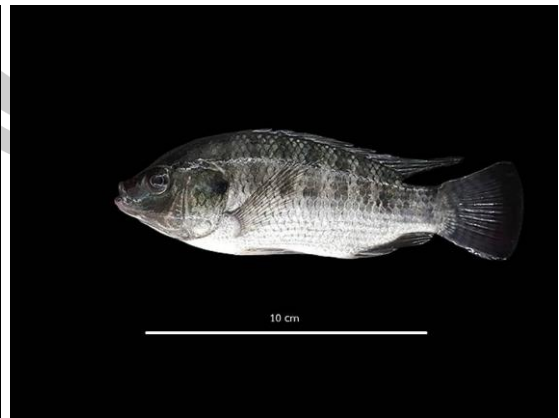
1. ชั่งดิน 0.5 กรัมใส่ในขวดชมพู (Erlenmeyer flask) ขนาด 50 ml
2. เติม 1 M NH₄OAc pH 7.0 25 ml เขย่าด้วยเครื่องเขย่า 30 นาที
3. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1
4. นำสารละลายที่กรองได้วิเคราะห์ด้วย Flame spectrophotometer โดยเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน



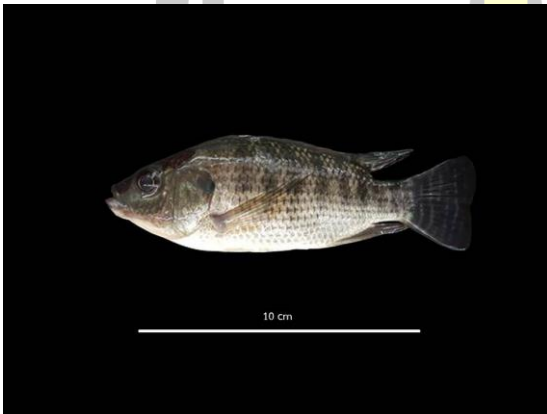




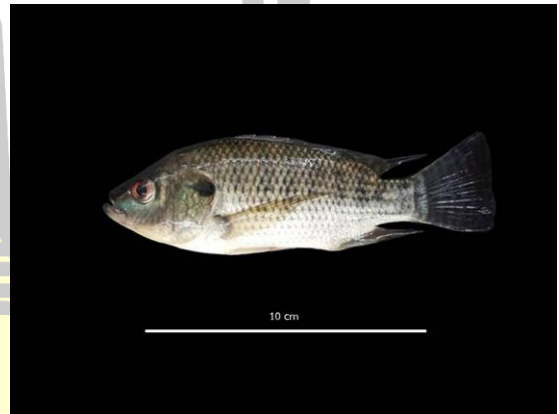
T0



T1



T2



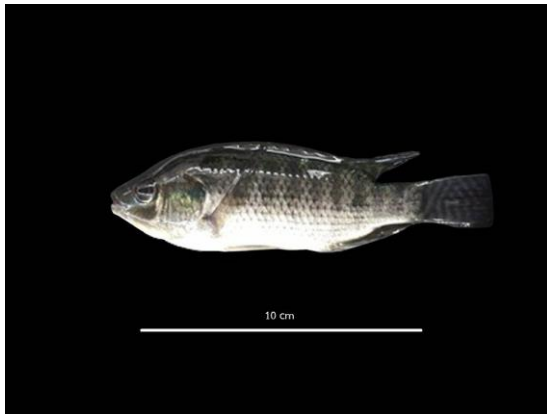
T3



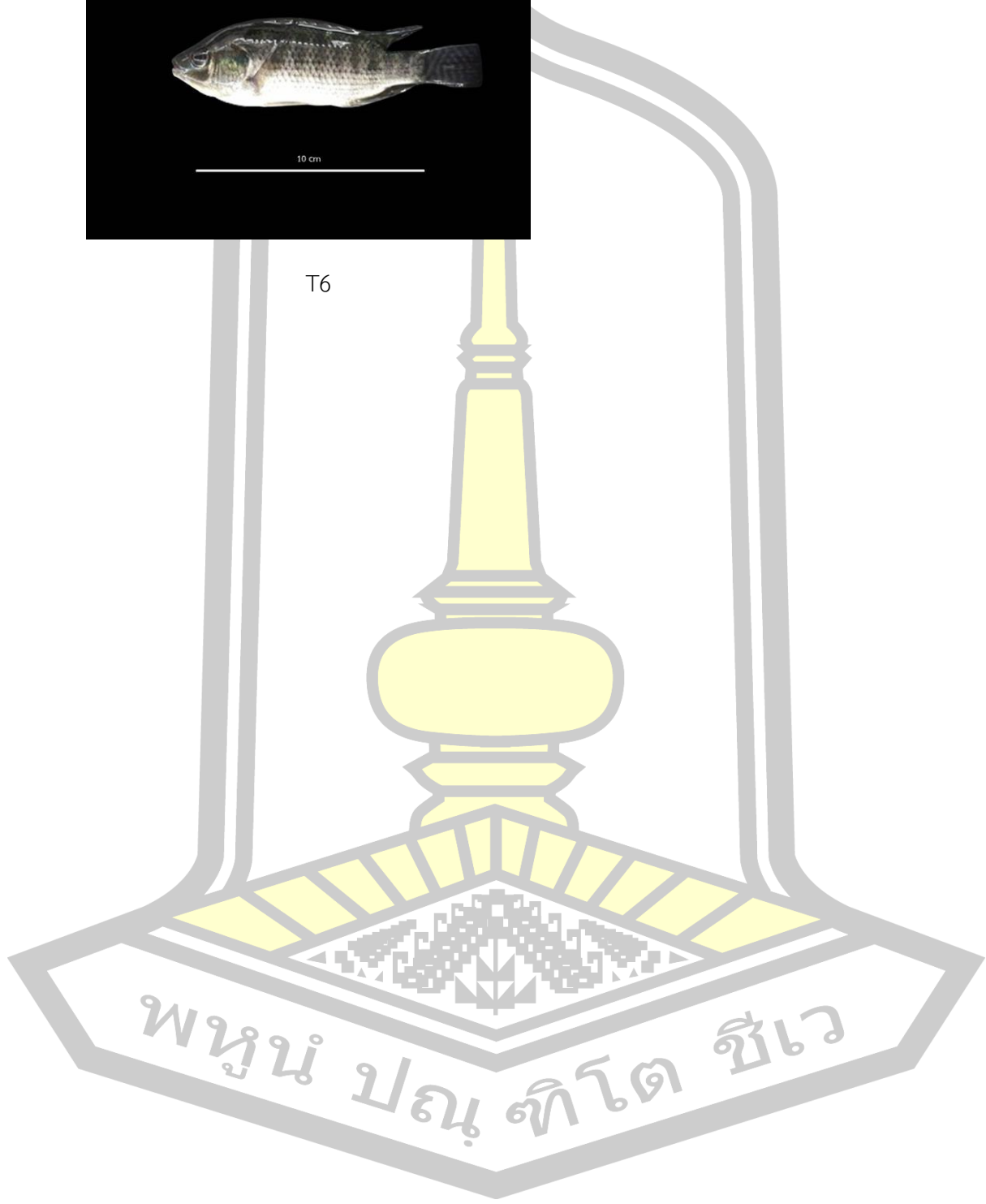
T4



T5



T6

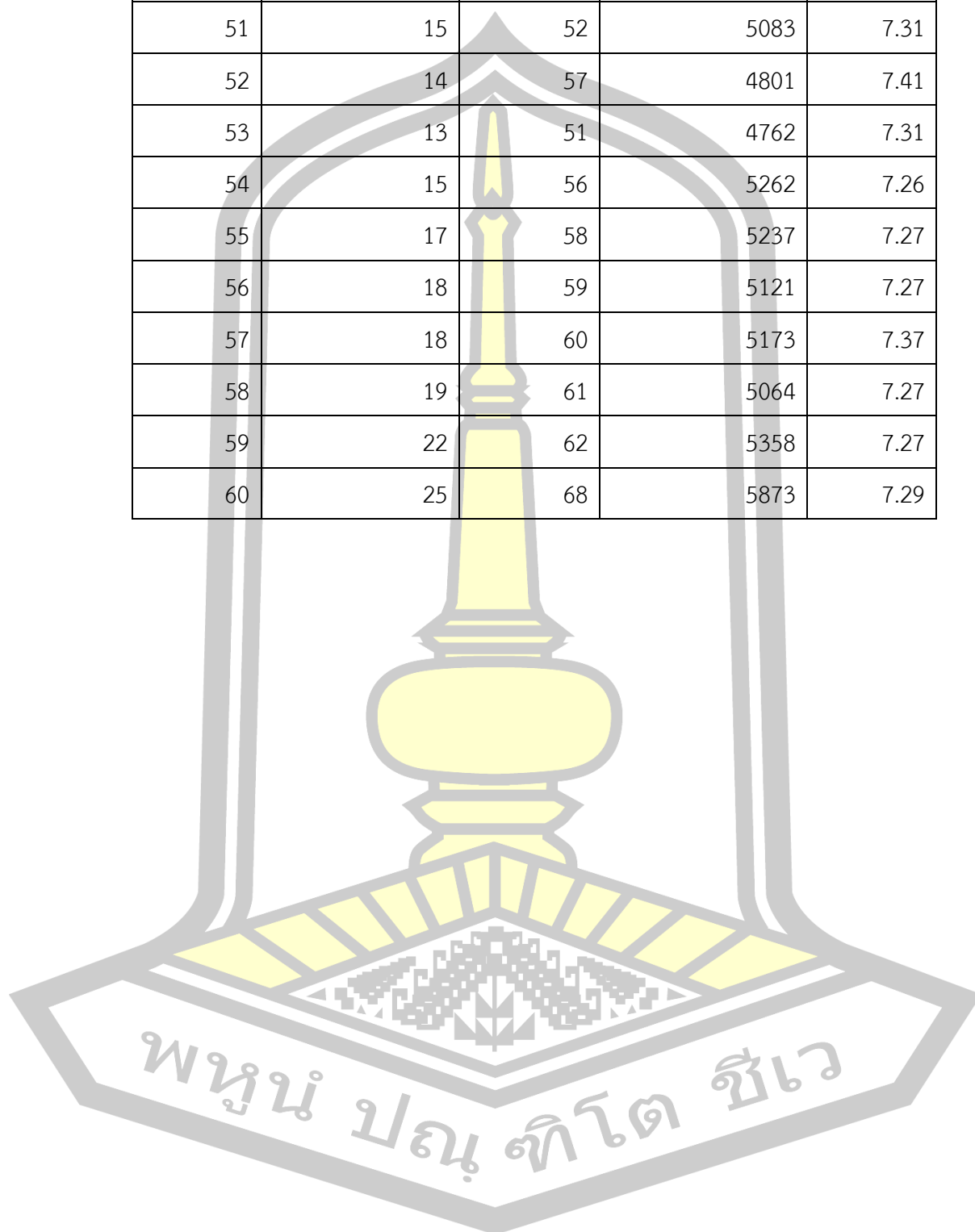


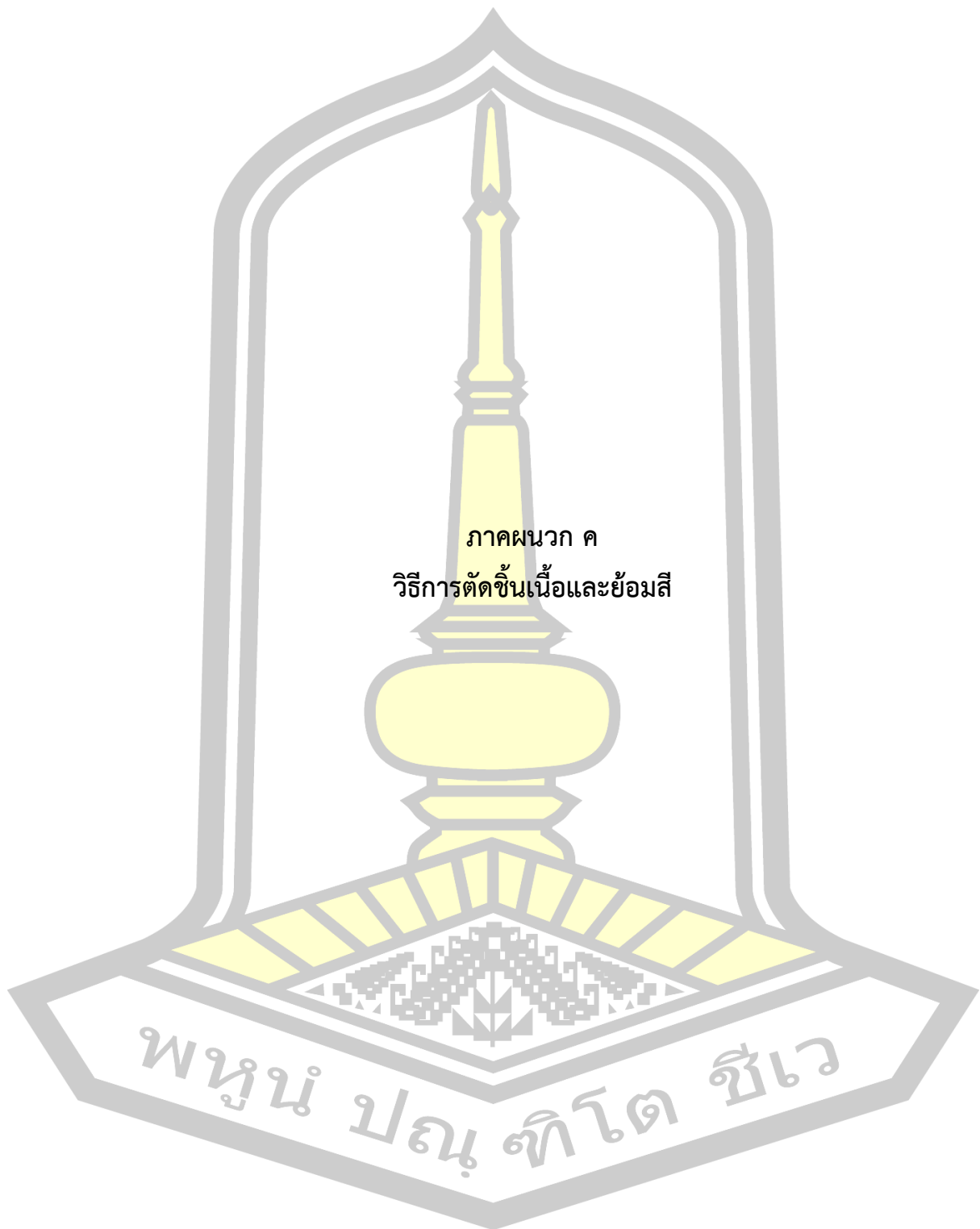
ค่าพารามิเตอร์ของสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงปลานิลเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

Day	Temperature	Moisture	Light Intensity	pH
1	22	65	6382	7.42
2	23	67	7134	7.22
3	21	64	6421	7.2
4	20	60	6392	7.08
5	22	68	7235	6.99
6	20	62	6402	7.14
7	22	64	6423	7.23
8	20	63	6327	7.08
9	18	57	5746	7.08
10	20	63	6417	7.08
11	22	69	6431	7.21
12	19	60	5851	7.21
13	19	62	5782	7.41
14	21	66	6391	7.65
15	22	67	6463	7.4
16	23	69	6579	7.14
17	21	64	6573	7.19
18	20	62	6437	7.21
19	15	55	5248	7.24
20	13	53	5109	7.14
21	11	50	4879	7.08
22	11	49	4638	7.34
23	12	52	4793	7.21
24	15	56	5183	7.21
25	17	59	5369	7.27

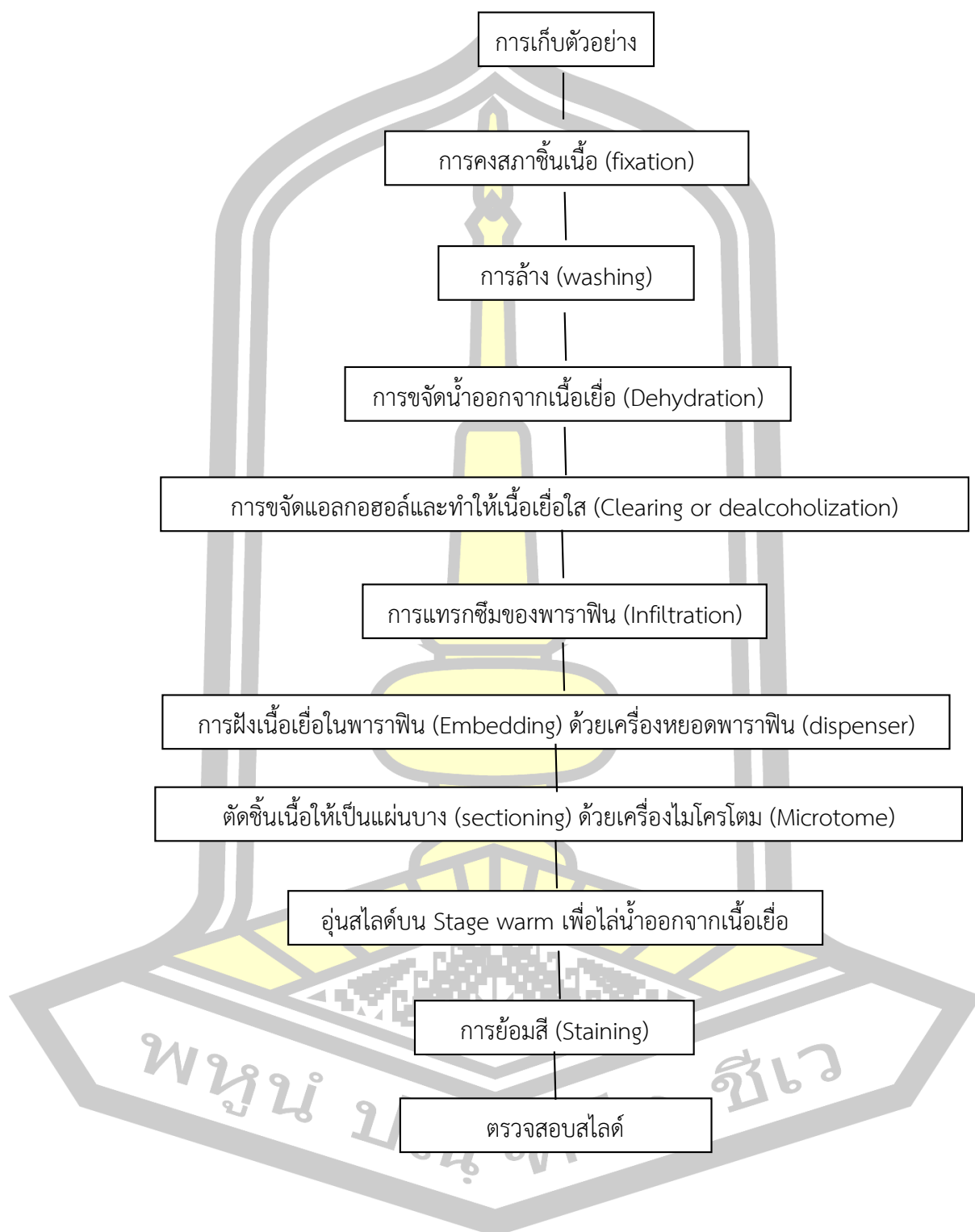
Day	Temperature	Moisture	Light Intensity	pH
26	19	60	5741	7.14
27	17	58	5038	7.39
28	18	57	5014	7.53
29	17	57	5399	7.39
30	20	63	5783	7.35
31	19	53	5392	7.41
32	20	63	5841	7.52
33	20	66	5749	7.39
34	18	58	5296	7.39
35	18	59	5301	7.39
36	20	60	5484	7.46
37	20	62	5371	7.33
38	21	66	5583	7.36
39	23	65	5709	7.51
40	20	61	5473	7.51
41	18	59	5629	7.57
42	18	60	5291	7.33
43	20	61	5310	7.39
44	20	58	5325	7.27
45	21	63	5421	7.26
46	23	69	5738	7.33
47	25	70	5813	7.31
48	23	64	5302	7.39
49	19	61	5026	7.27
50	17	58	4907	7.27

Day	Temperature	Moisture	Light Intensity	pH
51	15	52	5083	7.31
52	14	57	4801	7.41
53	13	51	4762	7.31
54	15	56	5262	7.26
55	17	58	5237	7.27
56	18	59	5121	7.27
57	18	60	5173	7.37
58	19	61	5064	7.27
59	22	62	5358	7.27
60	25	68	5873	7.29

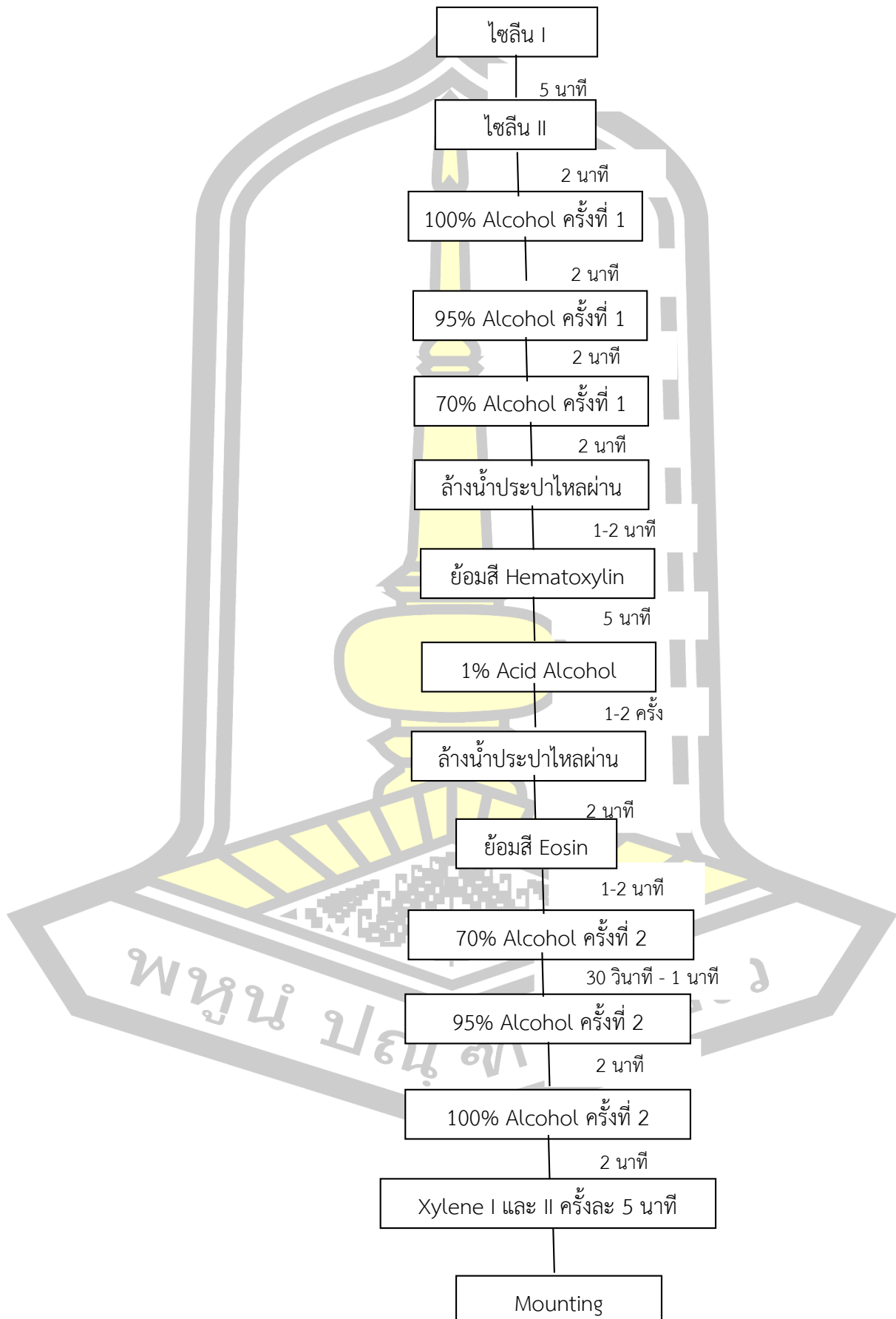




กระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อเยื่อจนเป็นบล็อกพาราฟิน



ขั้นตอนในการย้อมสี Hematoxylin and eosin (H&E)



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวพรรณน เม่ามูลเฮ
วันเกิด	วันที่ 23 พฤศจิกายน พ.ศ. 2535
สถานที่เกิด	อำเภอกระทุ่มแบน จังหวัดสมุทรสาคร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 5 หมู่ 8 ตำบลทุ่งกระตาดพัฒนา อำเภอหนองกี่ จังหวัดบุรีรัมย์ รหัสไปรษณีย์ 31210
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2547 ประถมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนอนุบาลหนองกี่ ตำบลหนองกี่ อำเภอหนองกี่ จังหวัดบุรีรัมย์ พ.ศ. 2553 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนบุญวัฒนา ตำบลหัวทะเล อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา พ.ศ. 2557 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ. 2561 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ทุนวิจัย	โครงการพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ (ทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย)

พรรณน ปรณ ทิโต ชีเว