นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศต่อการป้องกันโรคสเตรฟโตคอคโคซีสในปลานิลแดงแปลงเพศ

หิรัญ กังแฮ[1] นเรศ ซ่วนยุก[2] เรวัตร คงประดิษฐ์[3] สนั่น ศุภธีระสกุล[4] และ กิจการ ศุภมาตย์[5]

Abstract

Kanghear, H.[1], Suanyuk, N.[2], Khongpradit, R.[3], Subhadhirasakul, S.[4] and Supamattaya, K.[1]

Effect of cinnamon bark oil (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) on the preventation of streptococcosis in sex-reversed red tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*)

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2005, 27(Suppl. 1) : 347-358

The minimal inhibitory concentration of cinnamon bark oil extract against pathogenic *Streptococcus* sp. was 250 ppm. An analysis of the extract by gas chromatography and mass spectrophotometer showed three active substances, cinnamaldehyde (C_9H_8O) at 83.1 %, coumarin ($C_9H_6O_2$) at 12.6 % and cinnamic acid ($C_9H_8O_2$) at 2.2 %.

An effect of cinnamon bark oil extract on growth and resistance to *Streptococcus* sp. in sex-reversed red tilapia after feeding the extract-supplemented diets for 8 week was investigated. Four experimental diets were formulated to contain the extract at 0, 250, 500 and 1,000 ppm.

---

[1]Aquatic Animal Health Research Center, Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources, [2]Department of Industrial Biotechnology, Faculty of Agro-Industry, [4]Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, [3]Aquatic Animal Inspection and Quarantine, Department of Fisheries, Khlong Hoi Khong, Songkhla 90115, Thailand.

---

[1]นักศึกษาหลักสูตร วท.ม. สาขาวาริชศาสตร์ [5]Dr. rer. nat. (Aquatic Animal Disease) รองศาสตราจารย์ ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ [2]นักศึกษาหลักสูตร ปร.ด. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร [4]Ph.D. (Chemistry and Natural Products) รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112 [3]วท.ม. (วาริชศาสตร์) นักวิชาการประมง ด่านตรวจสัตว์น้ำจังหวัดสงขลา กรมประมง อำเภอคลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา 90115

Corresponding e-mail : kidchakan.s@psu.ac.th

รับต้นฉบับ 3 กันยายน 2547 รับลงพิมพ์ 7 มกราคม 2548

The fish fed diet supplemented with 250 ppm cinnamon bark oil extract showed the best feed conversion ratio ($p \leq 0.05$). Although weight gain and specific growth rate were the same as in the control group ($p \geq 0.05$), fish fed 250 ppm extract-supplemented diet showed the highest resistance to *Streptococcus* sp. After six weeks, the fish fed diet supplemented with cinnamon oil extract at 1,000 ppm showed abnormal hepatic cells such as atrophy and degeneration and hepatic sinusoids.

Key words : *Streptococcus* sp., cinnamon bark oil, sex-reversed red tilapia

บทคัดย่อ

หิรัญ กังแฮ นเรศ ซ่วนยุก เรวัตร คงประดิษฐ์ สนั่น ศุภธีระสกุล และ กิจการ ศุภมาตย์

ผลของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศต่อการป้องกันโรคสเตรฟโตคอคโคซีสในปลานิลแดงแปลงเพศ

ว.สงขลานครินทร์ วทท. 2548 27(ฉบับพิเศษ 1) : 347-358

ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ยับยั้งเชื้อ *Streptococcus* sp.มีค่า MIC เท่ากับ 250 ส่วนในล้านส่วน และเมื่อนำมาวิเคราะห์หาส่วนประกอบและสูตรโมเลกุลของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ ด้วยวิธี GC - MS พบสารสำคัญ 3 ชนิด คือ cinnamaldehyde (C_9H_8O) 83.1%, coumarin ($C_9H_6O_2$) 12.6% และ cinnamic acid ($C_9H_8O_2$) 2.2% การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการต้านทานเชื้อ *Streptococcus* sp. ของปลานิลแดงแปลงเพศหลังจากได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ระดับต่าง ๆ คือ 0, 250, 500 และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน กินเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 ส่วนในล้านส่วน มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ระดับ 250 ส่วนในล้านส่วน สามารถต้านทานการติดเชื้อได้ดีที่สุด และพบลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 1,000 ส่วนในล้านส่วน ในสัปดาห์ที่ 6 มีเนื้อเยื่อตับหดเล็กลง (atrophy) และ hepatic sinusoid ขยายกว้างขึ้น

ปัจจุบันปลานิลมีการเลี้ยงกันมากขึ้นในหลาย ๆ ประเทศ เนื่องจากสามารถนำเนื้อมาทดแทนปลาที่มีเนื้อสีขาวที่มีความต้องการสูงของตลาดผู้บริโภคในต่างประเทศ (ปกรณ์, 2527 ; เครือวัลย์, 2542) จึงมีการเลี้ยงในอัตราที่หนาแน่นขึ้น เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาด อันก่อให้เกิดผลกระทบทางด้านโรคตามมาในภายหลัง โดยเฉพาะโรคที่มีสาเหตุจากการติดเชื้อ *Streptococcus* sp. ซึ่งในประเทศไทยมีรายงานการเกิดโรคสเตรฟโตคอคโคซีสครั้งแรกในปลาบู่ทราย (*Oxyeleotris marmoratus*) (จิราพร และคณะ, 2529) จากนั้นในปี 2530 มีรายงานการเกิดโรคนี้ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) (สถาพร และเยาวนิตย์, 2530) หลังจากนั้นเป็นต้นมา ได้มีการระบาดของโรคนี้ในปลากะพงขาวที่เลี้ยงในภาคใต้ของประเทศไทย เช่น ในพื้นที่ของจังหวัดปัตตานีและจังหวัดสงขลา (เยาวนิตย์ และคณะ, 2543) และยังมีการระบาดของเชื้อชนิดนี้อย่างมากในปลาหลายชนิดทั่วโลก ทั้งในปลาน้ำจืดและน้ำเค็มรวมถึงสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ (Teska and Shotts, 1994) และที่สำคัญมีรายงานการเกิดโรคนี้ในปลานิล (*Tilapia nilotica*) ที่เลี้ยงในประเทศญี่ปุ่น (Kitao *et al*., 1981) และในปลานิลลูกผสม (*Oreochromis niloticus* × *O.aureus*) (Al-Harbi, 1994) เป็นต้น โดยทั่วไปเกษตรกรผู้เลี้ยงมักแก้ปัญหาการติดเชื้อแบคทีเรียในปลาโดยการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะ ซึ่งการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะที่ไม่ถูกวิธีมักก่อให้เกิดการตกค้างของสารเหล่านั้นในปลาที่เลี้ยงและสิ่งมีชีวิตอื่นในแหล่งน้ำ อีกทั้งยังก่อให้เกิดปัญหาการดื้อยาของเชื้อก่อโรค ซึ่งทำให้ยากแก่การควบคุมและรักษาโรคได้ต่อไป โดยในแต่ละปีประเทศไทยต้องนำเข้าสารเคมีและยาปฏิชีวนะจากต่าง

ประเทศมาใช้ในการรักษาโรคในสัตว์น้ำเป็นจำนวนมาก ดังนั้นเพื่อลดการสูญเสียเงินตราให้แก่ต่างประเทศ รัฐบาลโดยเฉพาะกระทรวงสาธารณะสุขได้กำหนดให้นำสมุนไพรมาใช้ในงานสาธารณะสุขมูลฐานในโครงการ "พัฒนาสมุนไพรมาเป็นยา" ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 6 พ.ศ. 2530 - 2534 (บุญเทียม และคณะ, 2537 ; ลัดดาวัลย์, 2541)

อบเชย (*Cinnamomum* sp.) เป็นสมุนไพรที่มีการนำมาใช้ประโยชน์กันมาก โดยเฉพาะในประเทศจีนมีการใช้อบเชยนานกว่า 4,000 ปี และมีการใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วโลก ซึ่งนำมาใช้ประโยชน์ในหลายลักษณะ เช่น ด้านอาหารและการแพทย์ (Qin *et al*., 2003) โดยเฉพาะน้ำมันอบเชย (cinnamon oil) ที่นิยมใช้เติมลงไปในอาหารไว้เพื่อป้องกันอาหารเน่าเสีย โดยมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ (antimicrobial) เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (foodborne) แก่คนและสัตว์ที่บริโภคอาหารนั้นๆ (Hu *et al*., 1985 ; Masuda *et al*.,1998 ; Smith *et al*., 1998 ; Friedman *et al*., 2000 ; Alzoreky and Nakahara, 2003 ; Mau *et al*., 2000 ; Burt, 2004 ; Kim *et al*., 2004) และทางด้านการแพทย์มีการนำน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) มาใช้ในการป้องกันการเกิดแผลเปื่อย (anti-ulcerous) (Qin *et al*., 2003) มะเร็ง (anticarcinogenesis) เนื้องอก (antitumor) และการกลายพันธุ์ (antimutagenic) ของแบคทีเรียฉวยโอกาส (Shaughnessy *et al*., 2001)

ดังนั้นการนำน้ำมันเปลือกอบเชยเทศมาใช้ประโยชน์ในการต้านทานเชื้อ *Streptococcus* sp.ใน ปลานิลแดงแปลงเพศ ตลอดจนการศึกษาวิธีการและปริมาณการใช้น้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่เหมาะสมและพัฒนาเป็นยาที่มีราคาถูก ปลอดภัย นับเป็นแนวทางที่ดีอันสามารถช่วยลดปัญหาการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงปลา ลดปัญหาการขาดดุลทางการค้ากับต่างประเทศที่เป็นผู้ผลิตสารเคมีและยาปฏิชีวนะและเป็นการใช้ทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่ในประเทศให้เกิดประโยชน์สูงสุดและยั่งยืนที่สุด

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ตัวอย่างน้ำมันอบเชย

น้ำมันเปลือกอบเชยเทศ (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) ของบริษัทอุตสาหกรรมเครื่องหอม ไทย-จีน จำกัด (Thai-China Flavours and Fragrances Industry Co., Ltd.) ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) และใช้เอทธานอลเป็นตัวทำละลาย มีค่าความถ่วงจำเพาะ (specific gravity) เท่ากับ 1.0370-1.0530 และมีค่าดัชนีหักเหของแสงเท่ากับ 1.5800-1.6250

2. การเตรียมเชื้อ

เชื้อ *Streptococcus* sp. ที่แยกได้จากปลาป่วยที่เลี้ยงในแหล่งน้ำธรรมชาติบริเวณพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งมีค่าความรุนแรงของเชื้อที่ทำให้ปลาตายครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) เท่ากับ 1.42×10^2 CFU/มล. นำมาเพาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเลือดแกะ (sheep blood agar : SBA) และบ่มที่อุณหภูมิ 35 ^oC นาน 18-24 ชั่วโมง ไว้พร้อมสำหรับทดลอง

3. การเตรียมปลาทดลอง

เตรียมปลานิลแดงแปลงเพศขนาด 1.5-2 นิ้ว น้ำหนักปลาเฉลี่ยต่อตัวเริ่มต้นอยู่ในช่วง 2.33±0.01 - 2.35±0.01 กรัม จำนวน 1,000 ตัว จากสถานีประมงน้ำจืดพัทลุง จังหวัดพัทลุง มาอนุบาลในถังไฟเบอร์ขนาด 1,000 ลิตร นาน 7-14 วัน โดยให้กินอาหารทดลองสูตรควบคุม เพื่อให้ปลาปรับสภาพเข้ากับสิ่งแวดล้อมและอาหารใหม่ได้ แล้วนำมาชั่งน้ำหนักก่อนปล่อยลงเลี้ยงในตู้ทดลองขนาด 8.5×10×14 ซม. มีปริมาตรน้ำเท่ากับ 20 ลิตร และปล่อยปลา 20 ตัว/ตู้ จำนวน 20 ตู้

4. ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันเปลือกอบเชยที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Streptococcus* sp. โดยวิธี Agar dilution method (ดัดแปลงจาก Washington, 1974)

1) นำน้ำมันเปลือกอบเชยเทศมาละลายด้วยสารทำละลาย dimethylsulphoxide (DMSO) (Hili *et al*., 1997) แล้วนำมาผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MHA) ในอัตราส่วน 1:100 (สารสกัด 0.2 ml :

MHA 19.8 ml) ทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นลดลง 2 เท่า (2-fold serial dilution) ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 5 ระดับ คือ 1,000, 500, 250, 125 และ 62.5 ส่วนในล้านส่วน ผสมให้เข้ากันในหลอดทดลอง นำมาเทลงในจานเพาะเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็ง ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ ส่วนชุดควบคุมใช้ MHA ผสมกับ DMSO (มาลิน, 2540)

2) นำเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่มีอายุ 18-24 ชั่วโมง ละลายในน้ำเกลือ 0.85 % ที่ฆ่าเชื้อแล้วให้มีความขุ่นเท่ากับ Standard Mcfarland No. 0.5 ซึ่งจะมีเชื้อ 1.5×10^8 CFU/ มล (มาลิน, 2540) หลังจากนั้นทำการเจือจางเชื้อให้ลดลงแล้วหยด (drop plating techniques) เชื้อลงบนจานเพาะเชื้อที่มีน้ำมันเปลือกอบเชยเทศไว้ในขั้นต้น โดยมีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^4 CFU/มล (ดัดแปลงจาก Straka and Stokes, 1957) แล้วนำไปบ่มที่ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยดูความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus* sp. เทียบกับชุดควบคุม

5. การศึกษาปริมาณส่วนประกอบของสารสำคัญและสูตรโมเลกุลของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ

ทำการตรวจหาสารสำคัญของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ GC-MS ด้วยวิธี WI-RES-GC/MS-001 ใช้เครื่อง HP 5890 Gas Chromatograph คอลัมน์ HP-INNOWAX โดยการฉีดตัวอย่างน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่อุณหภูมิ 250 °C ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ภายใต้สภาวะคอลัมน์ที่อุณหภูมิเริ่มต้น 65 °C เพิ่มขึ้นจนถึง 200 °C ที่ความเร็ว 5 °C/นาที โดยมีแก๊สฮีเลี่ยม (He) เป็นตัวพา (mobile phase) ที่อัตราเร็ว (flow rate) เท่ากับ 1 มล./นาที โดยสารที่ผ่านการแยกด้วย GC จะถูกนำเข้า mass spectrometry เพื่อศึกษาโครงสร้างและมวลโมเลกุลของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ ด้วยเครื่อง HP 5972 Mass Selective Detector โดยผ่านฟิลเตอร์เพื่อทำให้เข้มข้นขึ้น จากนั้นโมเลกุลของน้ำมันเปลือกอบเชยจะถูกทำให้แตกตัวเป็นไอออนด้วยการให้โมเลกุลรับพลังงานที่มากพอที่ทำให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออน ด้วยอุณหภูมิ 220 °C และติดตามประจุบวกที่เกิดขึ้นที่มีน้ำหนักระหว่าง 35-350 amu โดยเปรียบเทียบสเปกตรัมกับสารตัวอย่างมาตรฐาน

6. การศึกษาน้ำมันเปลือกอบเชยเทศต่อการเจริญเติบโตและความต้านทานต่อเชื้อ *Streptococcus* sp. ในปลานิลแดงแปลงเพศ

1) การเจริญเติบโตของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) โดยแบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ๆ ละ 5 ซ้ำ (replication) (ซึ่งแบ่ง 3 ซ้ำเพื่อศึกษาการเจริญเติบโต อีก 2 ซ้ำ นำไปศึกษาความต้านทานโรคและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อปลานิลที่ได้รับสารสกัดน้ำมันอบเชย) โดยแต่ละซ้ำจะใช้ปลาจำนวน 20 ตัว โดยน้ำหนักเฉลี่ยของปลาต่อตู้เท่ากับ 46.40-47.19 กรัม แต่ละตู้ทดลองบรรจุน้ำ 20 ลิตร ในระบบเลี้ยงให้อากาศตลอดระยะเวลาการเลี้ยงและให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เวลาเช้า 9.00 น. และเย็น 16.00 น. (วิมลและกิจจา, 2535) โดยให้ปลากินอาหารตามเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว (กรมประมง, 2541) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารชุดควบคุม 0 ส่วนในล้านส่วน

ชุดการทดลองที่ 2 อาหารผสมน้ำมันหอมระเหยเปลือกอบเชยเทศ 250 ส่วนในล้านส่วน

ชุดการทดลองที่ 3 อาหารผสมน้ำมันหอมระเหยเปลือกอบเชยเทศ 500 ส่วนในล้านส่วน

ชุดการทดลองที่ 4 อาหารผสมน้ำมันหอมระเหยเปลือกอบเชยเทศ 1,000 ส่วนในล้านส่วน

ทำการชั่งน้ำหนักปลาทุก 2 สัปดาห์ เพื่อวิเคราะห์น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (% weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% specific growth rate) คำนวณตามวิธีของ Jantrarotai และคณะ (1994) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio) คำนวณตามวิธีของ Dupree และ Sneed (1966)

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) แบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Test (Steel and Torrie, 1980)

2) การศึกษาความต้านทานโรค (disease resistance)

ทุก 2 สัปดาห์ หลังปลาได้รับอาหารผสมน้ำมัน

เปลือกอบเชยที่ความเข้มข้นต่างๆ ทำการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อ *Streptococcus* sp. โดยนำปลา 10 ตัว จากแต่ละชุดการทดลองที่แยกไว้ 2 ซ้ำ โดยวิธีการฉีดเชื้อมีความเข้มข้นเท่ากับค่า LD_{50} (3.59×10^3 CFU/มล) เข้าช่องท้องของปลาตัวละ 0.1 มล. บันทึกการตายของปลาในแต่ละวันแล้วนำไปหาค่า Relative Percent Survival (RPS) (Ellis, 1988)

7. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อของปลานิลแดงแปลงเพศหลังจากได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ

เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อของปลา 2 ตัว จากแต่ละชุดการทดลองที่แยกไว้ 2 ซ้ำข้างต้น ทุก 2 สัปดาห์ จนครบ 8 สัปดาห์ โดยเก็บเนื้อเยื่อเหงือก และอวัยวะภายใน ได้แก่ ตับ ไต และม้าม ดองเนื้อเยื่อในน้ำยาฟอร์มาลินเข้มข้น 10 % เพื่อรักษาสภาพของเนื้อเยื่อ นำอวัยวะทั้งหมดผ่านขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อ โดยใช้เครื่อง automatic tissue processor นำเนื้อเยื่อมาฝังในพาราพลาสท์ แล้วนำมาตัดด้วยเครื่องไมโครโตม (sliding microtome) หนา 3 ไมครอน ตามวิธีของ Humason (1979) และย้อมด้วยสี hematoxylin และ eosin ตามวิธีของ Bancroft (1967) เพื่อนำมาทำเป็นสไลด์ถาวรและนำไปตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อโดยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา

ผลการทดลอง

1. ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Streptococcus* sp.

หยดเชื้อลงบนจานเพาะเชื้อที่มีน้ำมันเปลือกอบเชยเทศผสมในอาหาร MHA ในระดับต่าง ๆ คือ 62.5, 125, 250, 500 และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 250, 500 และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน สามารถยับยั้งเชื้อ *Streptococcus* sp. ได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเชื้อขึ้นปรกติเฉลี่ย 4.732×10^4 CFU/มล และสามารถสรุปได้ว่ามีค่า MIC ของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศเท่ากับ 250 ส่วนในล้านส่วน

2. ปริมาณและส่วนประกอบของสารสำคัญของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ

เมื่อวิเคราะห์หาสารสำคัญของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วยวิธี GC-MS จะพบสเปกตรัมของสารเกิดขึ้น 6 พีก และเมื่อนำตัวอย่างที่ได้มาตรวจหาโครงสร้างและมวลโมเลกุลด้วย MS พบส่วนประกอบของสารสำคัญของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 3 ชนิด คือ cinnamaldehyde (C_9H_8O) 83.1 %, coumarin ($C_9H_6O_2$) 12.6 % และ cinnamic acid ($C_9H_8O_2$) 2.2 %

3. ผลของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศต่อการเจริญเติบโตและการต้านทานเชื้อ *Streptococcus* sp. ในปลานิลแดงแปลงเพศ

3.1 ผลต่อการเจริญเติบโตของปลานิลแดงแปลงเพศ

3.1.1 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว

เมื่อเริ่มการทดลองน้ำหนักปลาเฉลี่ยต่อตัวอยู่ในช่วง 2.33±0.01-2.35±0.01 กรัม น้ำหนักเฉลี่ยของปลาที่ได้รับอาหารทดลอง 4 สูตร เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เลี้ยงตลอด 8 สัปดาห์ โดยพบว่าในสัปดาห์ที่ 2 ปลาในชุดควบคุมมีน้ำหนักเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 ส่วนในล้านส่วน แต่สูงกว่าชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 500 และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน ($p < 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 ส่วนในล้านส่วน มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงกว่าชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 500 และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน อย่างมีนัยสำคัญ (Table 1)

3.1.2 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น การเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทั้ง 4 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลานิลแดงแปลงเพศทั้ง 4 ชุดการทดลองสัมพันธ์กัน โดยปลาในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ระดับ 250 ส่วนในล้านส่วนมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุดและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ส่วนชุดการ

ทดลองที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 500 และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน มีค่าลดลงตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองข้างต้น (Table 1)

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลานิลแดงแปลงเพศทั้ง 4 ชุดการทดลอง มีความแปรผันตามน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นและมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าอยู่ในช่วง 1.04±0.00 - 1.22±0.16 โดยปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 ส่วนในล้านส่วน มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด ส่วนปลาในชุดที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ระดับ 500 และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อรองลงมา ในขณะที่ปลาในชุดควบคุมมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำสุดและมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 ส่วนในล้านส่วน (Table 2)

3.2 ความต้านทานโรคของปลานิลแดงแปลงเพศ

จากการทดสอบการต้านทานเชื้อของปลานิลแดงแปลงเพศหลังได้รับอาหารทดลอง โดยการฉีดเชื้อ *Streptococcus* sp. พบว่าสัปดาห์ที่ 2 ปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ระดับ 250 ส่วนในล้านส่วน มีประสิทธิภาพในการต้านทานโรคสูงสุด มีค่า RPS เท่ากับ 50 % และที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน มีค่า RPS เท่ากับ 17 % เท่ากัน ในสัปดาห์ที่ 4 ปลาหลังจากได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250, 500 และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน มีความต้านทานโรคเท่ากันทุกชุดการทดลอง โดยมีค่า RPS เท่ากับ 37.5 % ในสัปดาห์ที่ 6 ปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 ส่วนในล้านส่วน มีความต้านทานโรคสูงที่สุด มีค่า RPS เท่ากับ 33 % ซึ่งสูงกว่าชุดที่ปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 500 และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน ที่มีค่า RPS เท่ากับ 17 % และในสัปดาห์สุดท้าย พบว่าปลาที่ได้

Table 1. Growth performance of sex-reversed red tilapia fed test diet supplemented with cinnamon bark oil extract.

Treatment	Period (Weeks)				
	0	2	4	6	8
1. Control	2.35±0.00[a]	4.13±0.12[a]	7.72±0.36[a]	11.52±1.04[a]	17.64±1.76[a]
2. 250 ppm	2.35±0.00[a]	3.96±0.09[a]	7.86±0.37[a]	11.43±0.40[a]	18.09±1.01[a]
3. 500 ppm	2.33±0.01[a]	3.30±0.23[b]	6.23±0.51[b]	8.90±0.90[b]	14.85±1.05[b]
4. 1,000 ppm	2.35±0.01[a]	2.88±0.13[c]	5.22±0.27[c]	7.21±0.49[c]	11.44±0.63[c]

[1] Mean ± standard deviation of three replications.
Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05).

Table 2. Weight gain, specific growth rate and feed conversion ratio of sex-reversed red tilapia fed test diet for 8 weeks.

Treatment	% Weight gain	Specific growth rate (% / days)	Feed consumption (g)	Feed conversion ratio
1. Control	652.08±80.90[a]	3.60±0.19[a]	146.29±4.82[a]	1.22±0.16[b]
2. 250 ppm	669.40±42.18[a]	3.64±0.10[a]	129.92±10.78[b]	1.04±0.00[a]
3. 500 ppm	536.14±46.33[b]	3.30±0.13[b]	118.58±12.01[b]	1.14±0.08[ab]
4. 1,000 ppm	387.03±28.16[c]	2.83±0.11[c]	82.52±3.96[c]	1.10±0.06[ab]

[1]Mean±standard deviation of three replications.
Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05).

รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250, 500, และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน สามารถต้านทานโรคลดลงเท่ากัน โดยมีค่า RPS เท่ากับ 14 % เท่ากันทุกชุดการทดลอง (Figure 1)

4. ผลของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศต่อเนื้อเยื่อปลานิลแดงแปลงเพศ

จากการศึกษาไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับและไตของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศในสัปดาห์ที่ 2 และ 4 ส่วนปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชย 1,000 ส่วนในล้านส่วน นาน 6 สัปดาห์ และปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำเปลือกอบเชยเทศ 500 ส่วนในล้านส่วน นาน 8 สัปดาห์ พบว่าเนื้อเยื่อตับหดเล็กลง (atrophy) และเซลล์เสื่อมสภาพ (degeneration) รวมทั้ง hepatic sinusoids ขยายกว้างขึ้น เนื้อเยื่อไตเกิดการหดตัวของโกลเมอรูลัส (Figure 2-6)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาพบว่าน้ำมันเปลือกอบเชยเทศสามารถยับยั้งเชื้อ *Streptococcus* sp. ได้โดยให้ค่า MIC เท่ากับ 250 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ

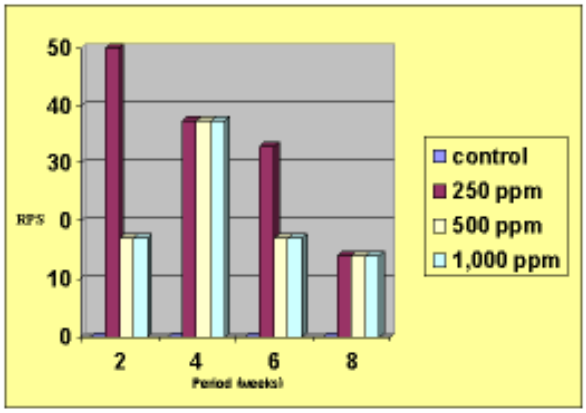

Figure 1. Disease resistance of sex-reversed red tilapia fed with fish test diet and after challenge with *Streptococcus* sp. .

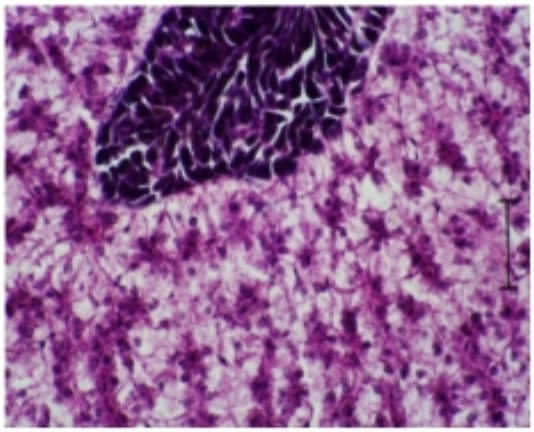

Figure 2. Liver of sex-reversed red tilapia in control group (H&E, Bar = 100 µm).

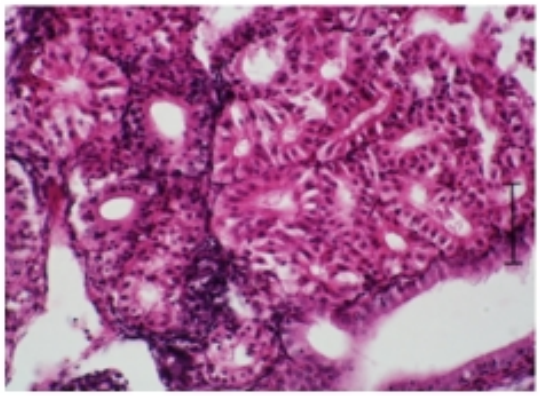

Figure 3. Kidney of sex-reversed red tilapia in control group (H&E, Bar = 100 µm).

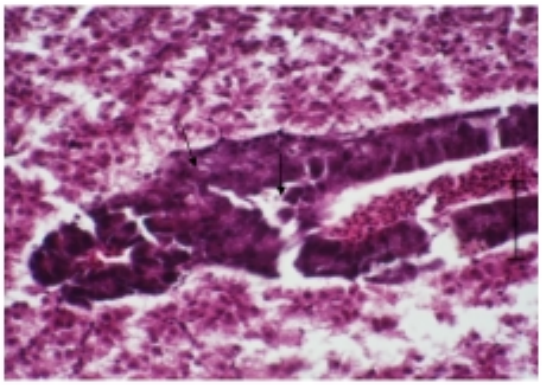

Figure 4. Liver of sex-reversed red tilapia fed with cinnamon bark oil 500 ppm for 8 weeks pancreatic acinar showed the reduction of zymogen granulus (H&E, Bar = 100 µm).

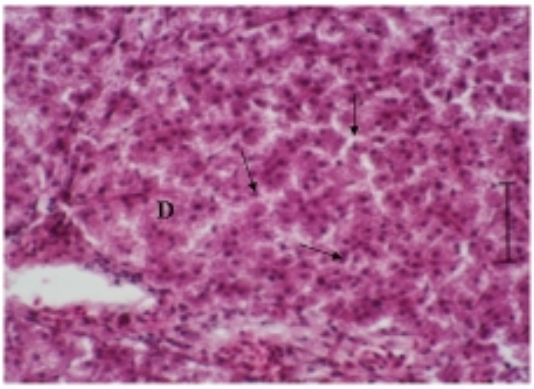

Figure 5. Liver of sex-reversed red tilapia fed with cinnamon bark oil 1,000 ppm showing atrophic (arrows) change of hepatic cord and dilation of hepatic sinusoid (H&E, Bar = 100 μm).

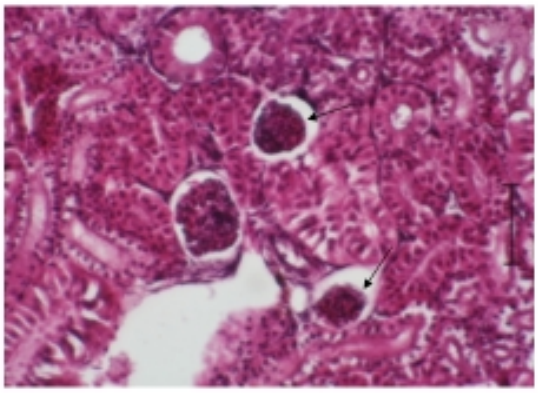

Figure 6. Kidney of sex-reversed red tilapia fed feed with cinnamon bark oil 1,000 ppm showing shrinken of glomerulus (arrows) kidney tubule apparently normal (H&E, Bar = 100 μm).

Bullerman และคณะ (1977) ที่รายงานว่าน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ความเข้มข้น 200-250 ส่วนในล้านส่วน สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* ที่สร้างสารพิษ (mycotoxin) ส่วน Kim และคณะ (2004) รายงานว่าได้สกัดสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde จากน้ำมันอบเชยจีนมายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* สายพันธุ์ O 157:H 7 และสายพันธุ์ O26 โดยมีค่า MIC เท่ากับ 250 ส่วนในล้านส่วน ซึ่ง Masuda และคณะ (1998) ได้รายงานว่า cinnamaldehyde ที่แยกบริสุทธิ์จากน้ำมันเปลือกอบเชยเทศสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ที่ระดับความเข้มข้นของสารสำคัญ 500 ส่วนในล้านส่วน โดยสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Bacillus* sp. และ *Enterobacter* sp. จากรายงานการศึกษาข้างต้นพบว่าสารสำคัญชนิด cinnamaldehyde เป็นสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ จึงได้ทำการวิเคราะห์สารสำคัญของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ โดยวิธี GC-MS ได้พบสารสำคัญ 3 ชนิด คือ cinnamaldehyde (C_9H_8O) ปริมาณ 83.1 %, coumarin ($C_9H_6O_2$) ปริมาณ 12.6 % และ cinnamic acid ($C_9H_8O_2$) ปริมาณ 2.15 % ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Shelef (1983) และ Ka และคณะ (2003) ที่พบว่า สารสำคัญหลักที่แยกได้จากน้ำมันเปลือกอบเชย ได้แก่สาร cinnamaldehyde และ eugenol แต่ Hu และคณะ (1985) ได้แยกสารในน้ำมันอบเชย พบสาร cinnamaldehyde และ coumarin ดังนั้นจากการวิเคราะห์หาสารสำคัญสามารถนำมาเปรียบเทียบปริมาณสาร cinnamaldehyde ที่แยกได้จากการทดลองกับรายงานจากการวิเคราะห์หาสารสำคัญจากน้ำมันอบเชยชนิดต่างๆ ได้ดัง Table 3 ซึ่งเห็นได้ว่าปริมาณสาร cinnamaldehyde จากชนิดและส่วนต่างๆ ของต้นอบเชยมีปริมาณสารประกอบอยู่ไม่เท่ากัน จากรายงานในอดีต พบว่ามีการนำสาร cinnamaldehyde ที่แยกบริสุทธิ์จากน้ำมันเปลือกอบเชยชนิดต่างๆ มายับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น ทางด้านการแพทย์ได้มีการใช้นำสารสำคัญที่แยกบริสุทธิ์จากเปลือกอบเชย คือ cinnamaldehyde มาต่อต้านการเกิดมะเร็งและการกลายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้และโดยทั่วไปนิยมนำน้ำมันเปลือกอบเชยเทศมาใช้กันมากในอุตสาหกรรมผลิตอาหาร โดยใช้เติมลงในอาหารเพื่อเป็นการถนอมอาหาร เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อีกทั้งสามารถต้านทานจุลินทรีย์ที่มักก่อให้เกิดการเน่าเสียของน้ำผักและผลไม้ ส่วน Ouattara และคณะ (1997) รายงานว่าน้ำมันเปลือกอบเชยเทศสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เจริญในเนื้อต้มได้และที่สำคัญ สาร cinnamaldehyde สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* ที่สารสารพิษที่อันตรายมากที่ปนเปื้อนอยู่ในวัตถุดิบอาหารสัตว์

Table 3. Comparison of percent cinnamaldehyde compound present in cinnamon oil.

Species of cinnamon	Compound of cinnamaldehyde	Reference
1. *Cinnamomum zeylanicum* (bark)	65	Lens- Lisbonne *et al*., (1987)
2. *C. zeylanicum* (bark)	75	Jayaprakasha *et al*., (2000)
3. *C. osmophloeum* (leaf)	76	Chang *et al*., (2001)
4. *C. cassia* (shoot)	96.5	Kim *et al*., (2004)
5. *C. cassia* (bark)	81	Friedman *et al*., (2000)
6. *C. zeylanicum* (bark)	81.3	Present study

การเจริญเติบโตของปลานิดแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทั้ง 4 สูตร ในช่วงแรกของการให้อาหาร ปลาที่ได้รับอาหารทดลองผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน กินอาหารได้น้อยกว่าชุดควบคุมและชุดที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 ส่วนในล้านส่วน จึงทำให้มีค่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีสาเหตุมาจากปริมาณของสารสกัดเข้มข้นสูงและมีกลิ่นฉุนของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ จากการสังเกตพฤติกรรมการกินอาหารพบว่า ปลาอมอาหารไว้ในปาก แล้วคายอาหารทิ้ง จึงทำให้ปลาลดความอยากกินอาหาร (palatability) และยอมรับอาหารได้น้อยลง (acceptability) ปลาจึงกินอาหารได้น้อยกว่าปรกติ ส่งผลให้ปลารับสารอาหารได้น้อยกว่าทำให้มีการเจริญเติบโตต่ำ (Watanabe *et al*., 1988) แต่เมื่อถึงสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 ปลาในชุดควบคุมและปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันอบเชยเทศ 250 ส่วนในล้านส่วน มีค่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงที่สุด ปลามีลักษณะความต้องการกินอาหารมากกว่าสูตรอื่น ๆ จึงสามารถกินอาหารได้ในปริมาณมากกว่า ส่วนปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันอบเชยเทศที่สูงกว่า 250 ส่วนในล้านส่วน ปลามีการปรับพฤติกรรมการกินอาหารและลักษณะการกินอาหารได้เป็นปรกติ

จากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารชุดควบคุมและชุดที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 ส่วนในล้านส่วน มีผลการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ไม่แตกต่างกันและมีค่าดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมอบเชยเทศที่ระดับ 500 และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน เมื่อพิจารณาค่าสัมพันธ์เปอร์เซ็นต์การรอดตาย พบว่าปลาที่ได้รับน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ระดับ 250 ส่วนในล้านส่วน มีความต้านทานโรคสูงที่สุด ซึ่งมีค่า RPS เท่ากับ 50 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และชุดการทดลองอื่น ๆ ในสัปดาห์ที่ 2 เนื่องจากปลาได้รับปริมาณน้ำมันเปลือกอบเชยเทศในปริมาณที่เหมาะสมที่สุด โดยสาร cinnamaldehyde ที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศไปทำลายตำแหน่งและกลไกของเซลล์แบคทีเรียให้เกิดความเสียหายหรือเกิดรอยรั่ว (leakage) ของผนังเซลล์ (cell wall) และเยื่อหุ้มเซลล์ (cytoplasmic membrane) (Helender *et al*., 1998 ; Sikkema *et al*.,1994) ทำให้หน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ทำงานผิดปรกติ โดยเฉพาะการป้องกันไม่ให้สารต่างๆ เข้าออกจากเซลล์ (osmotic barrier) อีกทั้งมีหน้าที่เกี่ยวกับระบบการขนส่ง electron transport และ oxidative phosphorylation ทำให้พลังงานในตัวแบคทีเรียถูกปลดปล่อยออกมาได้น้อยลง (Burt, 2004) ทำให้แบคทีเรียอ่อนแอและตาย และยังสามารถสรุปได้ว่าปลาในชุดการทดลองที่ได้รับปริมาณน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 500 และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน อาจได้รับปริมาณสารที่ไม่เหมาะสมทำให้มีอัตราการรอดตายต่ำ อีกทั้งอาจมีอาการผิดปรกติของเนื้อเยื่อภายใน โดยเฉพาะเนื้อเยื่อตับอ่อนที่ผลิตเอนไซม์ทริปซินที่ทำหน้าที่ย่อยโปรตีน (Robaina *et al*., 1998) จึงทำให้ปลามีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนต่ำ อันมีสาเหตุมาจากปลาอดอาหารในช่วงสัปดาห์แรกๆ (Hibiya, 1982) เพราะปริมาณน้ำมันเปลือกอบเชยที่ผสมในอาหารในความเข้มข้นที่สูงเกินไปซึ่งส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อสอดคล้องในรูปที่ 4-6 ของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 1,000 ส่วนในล้านส่วน

ในสัปดาห์ที่ 6 พบว่าเนื้อเยื่อตับหดเล็กลง (atrophy) และ Hepatic sinusoid ขยายกว้างขึ้น และเนื้อเยื่อไตเกิดการหดตัวของโกลเมอรูลัส การเพิ่มจำนวน acidophilic group เนื่องจากการแตกหักของโครงสร้างโปรตีนเมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ เซลล์ตายจะมีนิวเคลียสเล็กกว่า ติดสีฮีมาทอกไซลีนแน่นทึบ โดยโครมาตินอยู่ชิดขอบนิวเคลียสและในระยะรุนแรงจะพบนิวเคลียสหดตัวและแตก (Wheater *et al*., 1985 ; Hibaya, 1982) อีกทั้ง Burkit และคณะ (1996) รายงานว่าการที่นิวเคลียสหดตัวอาจเกิดจากการหดทึบของโครมาติน ซึ่งเกิดจากค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ลดลง เนื่องจากกระบวนการเมตาโบลิซึมแบบไม่ใช้ออกซิเจนและสาเหตุที่ทำให้เนื้อเยื่อของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 พีพีเอ็ม ซึ่งเกิดจากการที่ปลาได้รับน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ผสมในอาหารในความเข้มข้นที่สูงเกินไปและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับผิดปกติ จะทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของตับลดน้อยลง ส่งผลให้ปลามีประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำลง จึงส่งผลให้ปลามีการเจริญเติบโตดีไม่เท่ากับปลาปรกติ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Hibiya (1982) รายงานว่าความผิดปกติในตับอ่อน มักพบเซลล์หดลีบ เซลล์ตาย ไซโมเจนกรานูลลดลง เนื่องจากปลาอดอาหารเป็นเวลานาน จึงส่งผลให้เกิดความผิดปรกติของเซลล์ตับ (Zhalka and Bdolah, 1987 ; Beccaria *et al*., 1992 ; Zhaobin and Xuefu, 2000)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประเภทเชื่อมโยงกับบัณฑิตศึกษามหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณเฉลิม หวันหมาน ที่ได้ให้คำชี้แนะในระหว่างการทดลองตลอดมาและขอบคุณ คุณถนอมพงศ์ บัวบรรจง และ คุณวัชรพงษ์ หนูเพชร ที่ได้ให้ความช่วยเหลือต่าง ๆ

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2541. คู่มือการเลี้ยงปลานิลเพศผู้ สายพันธุ์จิตรลดา 2. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เครือวัลย์ สถิติรัต. 2542. ตลาดสัตว์น้ำตระกูลปลาหมอเทศ/ปลานิล (Tilapia) ในซีกโลกตะวันออก. ว. การประมง. 52 : 263-266.

จิราพร เกษรจันทร์ สิทธิ บุณยรัตผลิน และ กิจการ ศุภมาตย์. 2529. *Streptococcus* sp. แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคในปลาบู่ทราย. ว.สงขลานครินทร์ วทท 8(3) : 329 - 332.

บุญเทียม คงศักดิ์ตระกูล รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล วิสุดา สุวิทยาสมใจ นครชัย และ ยุวดี วงศ์กระจ่าง. 2537. การศึกษาฤทธิ์ลดไข้ของบอระเพ็ด. ว. เภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยมหิดล. 21(1) : 1 - 6.

ปกรณ์ อุ่นประเสริฐ. 2527. ปลานิลแดง. ว. การประมง. 37 : 229-234.

มาลิน จุลศิริ. 2540. ยาต้านจุลชีพ : ความรู้พื้นฐานและการประยุกต์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์สถาบันพัฒนาการสาธารณสุขอาเซียน.

เยาวนิตย์ ดนยดล สถาพร ดิเรกบุษราคม และ เพ็ญศรี เมืองเยาว์. 2543. คุณสมบัติของเชื้อและการเกิดโรคจากเชื้อ β-hemolytic *Streptococcus* sp. ในปลากะพงขาวที่เลี้ยงในจังหวัดปัตตานีและจังหวัดสงขลา. เอกสารวิชาการฉบับที่ 8/2543. สงขลา : สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดสงขลา กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ลัดดาวัลย์ บุญรัตรกรกิจ. 2541. โอกาสและทางเลือกของสมุนไพรไทย. ว. ศรีนครินทรวิโรฒเภสัชสาร. 3:43-51.

วิมล จันทรโรทัย และ กิจจา ใจเย็น. 2535. การศึกษาชนิดของอาหารสำเร็จรูปเพื่อใช้ในการเลี้ยงลูกปลานิลแดงแปลงเพศ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 123/2535. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยประมงน้ำจืด จตุจักร กรุงเทพฯ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สถาพร ดิเรกบุษราคม และ เยาวนิตย์ ดนยดล. 2530. โรคระบาดที่เกิดจาก non-hemolytic *Streptococcus* sp. ในปลากระพงขาว. เอกสารวิชาการฉบับที่ 6/2530. สงขลา : สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งน้ำชายฝั่งจังหวัดสงขลา กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Al-Harbi, A.H. 1994. First isolation of *Streptococcus* sp. from hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) in Saudi Arabia. Aquacult. 128 : 195 - 201.

Alzoreky N.S. and Nakahara K. 2003. Antibacterial activity of extracts from some edible plants

commonly consumed in Asia. Int. J. Food Micro. 80 : 223-230.

Bancroft, J.D. 1967. Histochemical Techniques. London : Butterworths.

Beccaria, C., Diaz, J.P. and Connes, R. 1992. Effects of dietary conditions on the exocrine pancreas of the seabass, *Dicentrarchus labrax* L. (Teleostei). Aquacult. 101 : 163-176.

Bullerman, L.B., Lieu, F.Y. and Seier S.A. 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamaldehyde and eugenol. J. Food Sci. 42 : 1107-1109.

Burkit, G., Stevens, A., Lowe, J. and Young, B. 1996. Wheater's Basic Histopathology. A colour atlas and text. 3rd ed. Hong Kong : Churchill Livingstone.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. A review. Int. J. Food Micro. 94 : 223-253.

Dupree, H.K. and Sneed, K.P. 1966. Response of channel catfish fingerling to different level of major nutrients in purified diets. U.S. Bureau of sports Fish and Wildlife Tech. Pap. No. 9.

Ellis, A.E. 1988. Fish Vaccination. London : Academic Press Limited.

Friedman, M., Kozukue, N. and Harden, L.A. 2000. Cinnamaldehyde Content in Foods Determined by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. J. Agric. Food Chem. 48 : 5702 -5709.

Helander, I.M., Alakomi, H.L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E.J., Gorris, L.G.M. and Von Wright, A., 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. J. Agricl and Food Chem. 46, pp. 3590-3595.

Hibaya, T. 1982. An Atlas of Fish Histology Normal and Pathological Feature. New York : Kodansha Ltd.

Hili, P., Evans, C.S. and Veness, R.G. 1997. Antimicrobial action of essential oil : the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. Letters in Applied Microbiology. 24 : 269-275.

Hu, T.W., Lin, Y.T. and Ho, C.K. 1985. Natural variation of chemical components of the leaf oil of *Cinnamomum osmophloeum* Kaneh. Bull. of Tai. For. Rese. Inst New Seri. 78 :18 pp.

Humason, G.L. 1979. Animal Tissue Technique (4th edition). San Francisco : W.H. Freeman and Company.

Jantraotai, W., Sitasit, P. and Rajchapakdee, S. 1994. The optimum carbohydrate to lipid ratio in hybrid Clarias catfish (*Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus*) diets containing raw broken rice. Aquacult. 127 : 61-68.

Ka, H., Park, H.J., Jung, H.J., Choi, J.W., Cho, K.S., Ha, J. and Lee, K. Tae. 2003. Cinnamaldehyde induces apoptosis by ROS-mediated mitochondrial permeability transition in human promyelocytic leukemia HL-60 cells. Cancer Letter. 196 : 143-152.

Kim, H.O., Park, S.W. and Park, H.D. 2004. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by cinnamic aldehyde purified from *Cinnamomum cassia* shoot. J. Food micro. 21 : 105-110.

Kitao, T., Aoki, T. and Sakoh, R. 1981. Epizootic caused by β-haemolytic *Streptococcus* species in cultured freshwater fish. J. Fish Patho. 15 : 301-307.

Masuda, S., Hara-Kudo, Y. and Kumagai, S. 1998. Reduction of *E. coli* O157: H7 populations in soy sauce, a fermented seasoning. J. Food Prot. 61 : 657-661.

Mau, J.L., Chen, C.P., and Hsieh, P.C. 2000. Antimicrobial effect of extracts from chinese chive, cinnamon, and corni fructus. J. Agric. Food Chem. 49 : 183 -188.

Ouattara, B., Simard,R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.P., and Begin, A. 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. Inter. J. Food Micro. 37 : 155-162.

Qin, B., Nagasak, M., Ren, M., Bajotto, G., Oshida, Y. and Sato, Y. 2003. Cinnamon extract (traditional herb) potentiates *in vivo* insulin-regulated glucose utilization via enhancing insulin signaling

in rats. Diab. Rese. and Cli. Pract. 62 : 139-148.

Robaina, L., Izquierd, M.S., Moyana, F.J., Socorro, J., Vergara, J.M., Montero, D. 1998. Increase of the dietary n-3/n-6 fatty acid ration and addition of phosphorus improves live histological alterations induced by feeding diets containing soybean meal to gilthead seabream (*Sparus aurata*). Aquacult. 161: 281-293.

Shaughnessy, D.T., Setzer, R.W. and DeMarini, D.M. 2001. The antimutagenic effect of vanillin and cinnamaldehyde on spontaneous mutation in *Salmonella* TA104 is due to a reduction in mutations at GC but not AT sites. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 481 : 55-69.

Shelef, L.A., 1983. Antimicrobial effects of spices. J. Food Safety. 6 : 29-44.

Sikkema, J., De Bont, J.A.M. and Poolman, B., 1995. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. Microbiological Reviews 59 2, pp. 201-222.

Smith, P.A., Stewart, J. and Fyfe, L. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. Letters in Food Microbiology. 26: 118-122.

Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. Principle and Procedures of Statistics. 2nd edition. McGraw Hill, New York.

Straka, R.P. and Stokes, J.L. 1957. Rapid destruction of bacteria in commonly used diluent and its elimination. App. Microbiol. 5:21.

Teska, J.D. and Shotts, E.B. 1994. Non-haemolytic group B Streptococci from humans, fish and frogs. Biomed. Lett. 199 : 195 - 201.

Washington III, J.A. 1974. The agar dilution techniques. **In** : A. Balows (ED.), Curent Techniques of Antibiotics Susceptibility Testing, pp. 127-141.

Watanabe, T., Satoh, S. and Takeuchi, T. 1988. Availability of minerals in fish meal to fish Asian Fish. Soc. 1: 175-195.

Wheater, P.R., Burkitt, H.G., Stevens, A. and Lowe, J.S. 1985. Basic Histopatology. New York : Churchill Livingstone.

Zhalka, M. and Bdolah, A. 1987. Dietary regulation of digestive enzyme levels in the water snake, *Natrix tessellate*. J. Exp. Zool. 243 : 9-13.

Zhaobin, S. and Xuefu, H. 2000. Effects of starvation on morphology and histology of digestive system in larval and juvenile *Silurus meridionalis* Chen. Acta. Hydrobiol. Sin ; Shuisheng. Shengwu. Xuebao. 24 : 155-160.