

## แนวโน้มส่งเสริมการเจริญเติบโตของสารสกัดกระเทียมในปลาบู่

(*Oxyeleotris marmoratus*) Bleeker 1852

Trend to enhance growth of garlic extracts in sand goby

(*Oxyeleotris marmoratus*) Bleeker 1852

มัลลิกา สุภอักษร, สุดาพร ตงศิริ, ประจวบ ฉายบุ และ จิราพร โรจน์ทินกร\*

Malika Supa-aksorn Sudaporn Tongsir Prachaub Chaibu and Jiraporn Rojtinakorn\*

\*คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

### บทคัดย่อ

ปัญหาในการเลี้ยงปลาบู่ทรายด้วยอาหารสำเร็จ คือ มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ งานวิจัยนี้ได้ใช้สารสกัดกระเทียมด้วยน้ำ (DW) เอทานอล 50% (E50) เอทานอล 95% (E95) และ diethyl ether (DE) ผสมในอาหารสำเร็จที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0 (กลุ่มควบคุม), 0.3, 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 % (w/w) เป็นเวลา 7 วัน ตรวจวัดกิจกรรมการทำงานของทริปซินและเอนไซม์ไคโมทริปซิน พบว่า ปลาบู่ที่ได้รับสารสกัดกระเทียมทุกชนิด มีค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ( $p < 0.05$ ) โดยกลุ่ม DW 5.0% มีค่าต่าง ๆ สูงสุด ได้แก่ กิจกรรมจำเพาะของทริปซิน อัตราการกิน และ T/C ratio เมื่อทำการเลี้ยงปลาบู่กลุ่ม DW 5.0% เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าปลาบู่มีแนวโน้มการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเท่ากับ 32.69% และมีค่าประสิทธิภาพของอาหาร (FE) เท่ากับ  $0.55 \pm 0.07$  ผลการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า สารสกัดกระเทียมช่วยให้ปลาบู่ย่อยอาหารโปรตีนได้ดีขึ้น มีแนวโน้มการเจริญเติบโตสูงขึ้น ดังนั้นคาดว่า การเลี้ยงปลาบู่ด้วยอาหารผสมสารสกัดกระเทียมจะส่งเสริมการเจริญเติบโตได้

**คำสำคัญ:** ปลาบู่, กระเทียม, สารสกัด, ทริปซิน, ไคโมทริปซิน

### Abstract

Problem of sand goby culture with commercial feed is low growth rate. This study was to use garlic extracted with water (DW), ethanol 50 (E50) and 95% (E95), and diethyl ether (DE) to produce additive feeds at concentration of 0 (control), 0.3, 0.5, 1.0, 3.0 and 5.0% (w/w) and fed sand goby for 7 days. Trypsin and chymotrypsin activities were then measured. It showed that the enzyme activities of all groups fed with diets containing garlic extracts increased significantly compared with the control group ( $p < 0.05$ ). Group of 5.0% DW showed all highest values of trypsin specific activity, consumption rate and T/C ratio. After group of 5.0% DW had cultured for 2 months, trend growth rate in fish fed with 5.0% DW garlic extract was better than the control groups ( $p < 0.05$ ), with weight gain increasing to 32.69% and feed efficiency (FE) of  $0.55 \pm 0.07$ . In conclusion, garlic extracts could induce protein digestion and improve growth rate. Therefore, it is

expected that culturing sand goby with feed containing garlic extracts can enhance growth obviously.

**Keywords** : sand goby, garlic, extract, trypsin, chymotrypsin

## บทนำ

ปลาบู่ทราย (sand goby, *Oxyeleotris marmoratus* Bleeker 1852) เป็นปลา 2 น้ำอู่ได้ทั้งน้ำจืดและน้ำกร่อยพบได้ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทยและแถบเอเชียอาคเนย์ ซึ่งปลาบู่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นที่ต้องการของตลาดไฮเปอร์มาร์เกตทั้งในประเทศและตลาดต่างประเทศ อย่างไรก็ตามเกษตรกรยังมีการเพาะเลี้ยงปลาบู่ค่อนข้างน้อย เนื่องจากปัญหาที่สำคัญคือ ลูกปลามีอัตราการรอดต่ำ มีอัตราการเจริญเติบโตช้าและต้องเลี้ยงด้วยอาหารมีชีวิตหรืออาหารสด ทำให้การเพาะเลี้ยงมีต้นทุนและความเสี่ยงสูง (Phayao Inland Fisheries Research and Development Center and Postharvest Technology Innovation Center, Chiang mai university, n.d. : online) ได้มีการวิจัยอาหารเลี้ยงปลาบู่ซึ่งต้องใช้อาหารมีชีวิต เช่น กุ้งฝอย ลูกปลา เป็นต้น หรือต้องใช้อาหารสดที่เตรียมใหม่ (chatchai, 2004; Punsak, 2009: online) ทำให้มีต้นทุนสูง อีกประการหนึ่งการฝึกปลาบู่ให้กินอาหารสำเร็จทำได้ยุ่งยาก เพราะปลาบู่ชอบอาหารมีชีวิต (Nitikon *et al.*, n.d.)

กระเทียมเป็นพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลายทั้งการต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ปรสิตและเชื้อไวรัส (Yoshida *et al.*, 1987, Harish, 2001) และกระตุ้นการย่อยอาหาร เพิ่มการบีบตัวของลำไส้ (Ingkaninan *et al.*, 2003 อ้างโดย Sirinatd, 2011) โดยมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ คือ อัลไลซิน (allicin) และสารประกอบซัลเฟอร์ (sulfur compounds) การสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันจะทำให้ได้สารสำคัญต่างๆ ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน กล่าวคือ สารสกัดกระเทียมด้วยน้ำ จะได้ อัลไลซิน (allicin) เอสอัลลิลซิสทีอีน (S-allylcysteine) เอสอัลลิลเมอแคปโตซิสทีอีน (S-allylmercaptocysteine) สารสกัดกระเทียมด้วยเอทานอล จะได้ อัลลิอิน (alliin) อัลลิซิน (allicin) ไดอัลลิลไดซัลไฟด์ (diallyl disulfide) และสารสกัดกระเทียมด้วย diethyl ether จะได้ เอสอัลลิลซิสทีอีน (S-allylcysteine) (Gillian *et al.*, 2006)

งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียมด้วยตัวทำละลายต่างกันต่อกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยโปรตีน อัตราการกิน อัตราการเจริญเติบโต เพื่อเป็นองค์ความรู้ในการใช้อาหารสำเร็จผสมสารสกัดกระเทียมเพื่อการอนุบาลลูกปลาบู่เป็นปลารุ่นต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### ปลาบู่ทดลอง

ทำการเก็บรวบรวมปลาบู่จากตลาดแม่จู้ และตลาดแม่แก้ว อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ นำมาปรับพฤติกรรมการกินอาหาร เป็นระยะเวลา 1-2 เดือน จากนั้นคัดเลือกปลาบู่ที่มีขนาด 20-30 กรัม นำมาใส่ถังเลี้ยงขนาด 20 ลิตร

### การเตรียมสารสกัดกระเทียม

ใช้กระเทียมที่ซื้อจากตลาดแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ปอกเปลือกและล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้งและนำมาสับให้ละเอียด แล้วทำการเติมตัวทำละลาย น้ำหรือเอทานอล นำสารสกัดที่ได้มากรอง หยาดด้วยตะแกรงและผ้าขาวบาง และกรองละเอียดด้วย filter membrane 0.45  $\mu\text{m}$  นำสารสกัดไปทำให้แห้ง โดยเทคนิค freeze dry แล้วเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้ทดลอง

### การทดลองเลี้ยงปลาตู้ด้วยอาหารผสมสารสกัดกระเทียม

เลี้ยงปลาตู้ โดยให้อาหารสำเร็จสำหรับปลากินเนื้อผสมสารสกัดกระเทียมชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 0.3, 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0% (w/w) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งให้อาหารสำเร็จปกติเป็นเวลา 7 วัน สังเกตพฤติกรรมการกินของลูกปลา เมื่อสิ้นสุดการทดลองเก็บตัวอย่างระบบย่อยอาหารของปลาตู้ สกัดโปรตีนนำตัวอย่างโปรตีนไปวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินและโคโมทริปซิน และคำนวณอัตราการกินอาหาร ทำการเลี้ยงปลาตู้ด้วยอาหารผสมสารสกัดกระเทียมที่ทำให้ปลาตู้มีค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์สูงที่สุด ติดตามอัตราการเจริญเติบโต เป็นเวลา 2 เดือน โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ให้อาหารสำเร็จปกติ

### การเตรียม crude enzyme extract

นำปลาตู้แช่น้ำเย็นเพื่อให้สลบ จากนั้นก็ทำการผ่าช่องท้องและตัดชิ้นส่วนลำไส้มาล้างและปั่นให้เป็นเนื้อเดียวด้วยโกร่งบดโดยแช่อยู่ในถาดน้ำแข็งตลอดเวลา เจือจางด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 xg นาน 15 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดส่วนที่เป็นชิ้นไขมันที่ลอยอยู่ด้านบนออก แบ่งเก็บส่วนใสที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

### การศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาตู้

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินและโคโมทริปซินในลำไส้ปลาตู้ตามวิธีการของ Sunde *et al.* (2001) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Torrissen *et al.* (1998) วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินและโคโมทริปซิน ใช้ สารละลาย N-benzoyl-L-arginine-p-nitroanilide (BAPNA) และสารละลาย N-succinyl-ala-ala-pro-phenylalanine-p-nitroanilide (SAPNA) เป็นซับสเตรต วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ที่เวลา 0-15 วินาที เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง A410 กับเวลา(วินาที) เพื่อหาค่าอัตราเร็วเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยา (Vi) จากความชัน เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน p-nitroaniline

### การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนใน crude enzyme extract ตามวิธีการของ Lowry *et al.* (1951) โดยเตรียมสารละลาย bovine serum albumin (BSA) เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารละลายมาตรฐานโปรตีน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน BSA

### การคำนวณ

อัตราการกินอาหาร (consumption rate) ตามวิธีการของ Yone และ Fujii (1975) จากสมการดังนี้

$$\text{อัตราการกินอาหาร (เปอร์เซ็นต์ต่อตัวต่อวัน)} = \frac{F \times 100}{\frac{W_o + W_t}{2} \times \frac{N_o + N_t}{2} \times t}$$

โดย

F	= น้ำหนักอาหารแห้งที่ปลากิน (กรัม)	N <sub>o</sub>	= จำนวนปลาเริ่มต้น (ตัว)
W <sub>o</sub>	= น้ำหนักปลาเฉลี่ยเริ่มต้น (กรัม)	N <sub>t</sub>	= จำนวนปลาสุดท้าย (ตัว)
W <sub>t</sub>	= น้ำหนักปลาเฉลี่ยสุดท้าย (กรัม)	t	= ระยะเวลาที่ปลาได้รับอาหารทดลอง (วัน)

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มขึ้น (% weight gain) คำนวณตามวิธีการของ Wimon *et al.* (1992) จากสมการ ดังนี้

$$\text{น้ำหนักเพิ่มขึ้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)} - \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักเมื่อปลาเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100$$

ประสิทธิภาพของอาหาร (feed efficiency) คำนวณตามวิธีการของ Wimon *et al.* (1992) จากสมการ ดังนี้

$$\text{ประสิทธิภาพของอาหาร (FE)} = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากิน}}$$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) คำนวณตามวิธีการของ Wimon *et al.* (1992) จากสมการ ดังนี้

$$\text{SGR (\%/วัน)} = \frac{(\ln \text{ น้ำหนักปลาสุดท้าย} - \ln \text{ น้ำหนักปลาเริ่มต้น})}{\text{ระยะเวลาทดลอง}} \times 100$$

### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำข้อมูลไปวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) ด้วย one-way และ two-way ANOVA เปรียบเทียบกับกลุ่มทดลอง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

### ผลและวิจารณ์ผล

#### ประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียมต่อเอนไซม์ย่อยโปรตีน

จากการเลี้ยงปลาบู่ด้วยอาหารผสม สารสกัดกระเทียมด้วยน้ำ (DW) เอทานอล 50% (E50) เอทานอล 95% (E95) และ diethyl ether (DE) เสริมผสมในอาหารสำเร็จที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0 (กลุ่มควบคุม), 0.3, 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 % (w/w) เป็นเวลา 7 วัน พบว่ากิจกรรมการทำงานของทริปซินและโคไมทริปซินของปลาบู่ทุกกลุ่มที่ได้รับสารสกัดกระเทียม มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

สำหรับเอนไซม์ทริปซิน ในปลาบู่กลุ่ม DW 5.0% มีค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์สูงกว่าทุกกลุ่ม การทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) รองลงมาคือปลาบู่กลุ่ม DW 3.0 % โดยมีค่าเท่ากับ  $84.50 \pm 0.012$  และ  $82.50 \pm 0.005$  U/mg protein ตามลำดับ และพบว่าค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ต่ำสุดในกลุ่ม E95 0.3% มีค่าเท่ากับ  $3.50 \pm 0.707$  U/mg protein (Figure 1)

ส่วนเอนไซม์โคโมทริปซิน ในปลาบู่กลุ่ม E95 3.0% มีค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) รองลงมาคือ ปลาบู่กลุ่ม E95 1.0% โดยมีค่าเท่ากับ  $541 \pm 2.121$  และ  $392 \pm 2.820$  U/mg protein ตามลำดับ ค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์โคโมทริปซิน ต่ำสุดในกลุ่ม DE  $7.50 \pm 0.707$  U/mg protein (Figure 1)

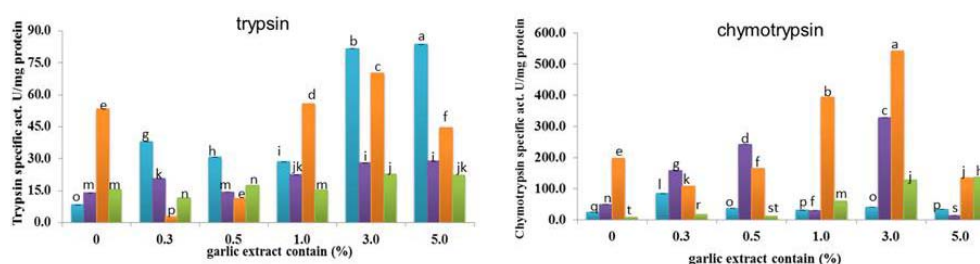


Figure 1 Trypsin and chymotrypsin specific activities.

Alphabet represents statistic value at  $p < 0.05$ .

■ water extract ■ 50% ethanol extract ■ 95% ethanol extract ■ diethyl ether extract

ผลที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ Supaluck (2012) พบว่าเอนไซม์ในบริเวณที่มีการย่อยอาหารของปลาบู่ที่กินอาหารผสมสารสกัดกระเทียมด้วยน้ำ และ เอทานอล 95% ให้ผลสูงสุด ที่ความเข้มข้น 3.0% (w/w) รองลงมาในปลาบู่ที่กินอาหารผสมสารสกัดกระเทียมด้วยเอทานอล 50% ที่ความเข้มข้น 5.0% (w/w) และกิจกรรมการทำงานของโคโมทริปซินในบริเวณที่มีการย่อยอาหารของปลาบู่ที่กินอาหารผสมสารสกัดกระเทียมด้วยน้ำ ให้ผลสูงที่สุดที่ความเข้มข้น 5.0% (w/w) รองลงมาในปลาบู่ที่กินอาหารผสมสารสกัดสมุนไพรกระเทียมที่สกัดด้วยเอทานอล 50% และ 95% ที่ความเข้มข้น 3.0% (w/w) ตามลำดับ

โคโมทริปซิน เป็นเอนไซม์ที่เกิดจากการกระตุ้นของทริปซิน โดยโคโมทริปซินมีความจำเพาะต่อชนิดของสารตั้งต้น และสามารถตัดพันธะเอไมน์ และเอสเทอร์ได้เช่นเดียวกับทริปซินโดยตัดพันธะเปปไทด์หลังกรดอะมิโนที่มีโซ่ข้างเป็นวงแหวน ได้แก่ ฟีนอลอะลานีน ทริปโทเฟน ไทโรซีน และกรดอะมิโนที่มีโซ่ข้างเป็นไฮโดรโฟบิก เช่น เมทไธโอนีน (Stryer, 1988) และสามารถเร่งปฏิกิริยาได้ดีที่พีเอช 7-10 (karun *et al.*, 2012) จากการศึกษาในปลาแซลมอน (*Salmo salar* L.) ตั้งแต่ก่อนระยะฟักตัวถึงวัยเจริญพันธุ์ พบว่าการแสดงออกของโคโมทริปซินมีผลต่อการเติบโตในทิศทางตรงกันข้ามกับทริปซิน โดยกิจกรรมของทริปซินจะมีค่าสูงในช่วงที่สัตว์น้ำมีการเติบโตสูง และโคโมทริปซินจะมีค่าสูงในช่วงที่สัตว์น้ำมีการเติบโตช้าหรือถูกจำกัดโดยปัจจัยต่างๆ (Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2006)

เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่างทริปซินและโคโมทริปซิน (T/C Ratio) พบว่า ในปลาบู่กลุ่ม DW 5.0% มีค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) รองลงมาคือปลาบู่กลุ่ม E50 5.0% โดยมีค่าเท่ากับ  $2.65 \pm 0.070$

และ  $2.35 \pm 0.212$  ตามลำดับ ค่า T/C Ratio ต่ำสุดในกลุ่ม E95  $0.3\% 0.00 \pm 0.001$  (Figure 2) ซึ่งค่า T/C ratio มีแนวโน้มเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับอัตราการกินอาหาร คือ มีค่าสูงสุดในปลาบู่กลุ่ม DW 5.0% รองลงมาในปลาบู่กลุ่ม E50 5.0% และ E95 5.0% เท่ากับ 5.67% 5.66% และ 5.56% น้ำหนักตัว/วัน ตามลำดับ ส่วนกลุ่มควบคุมมีอัตราการกินต่ำสุด เท่ากับ 1.75% น้ำหนักตัว/วัน และมีค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Figure 3)

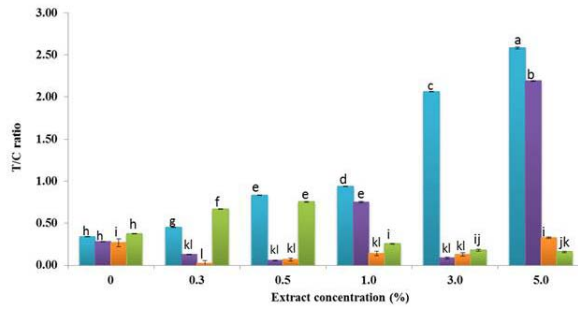


Figure 2 Trypsin to chymotrypsin ratio Alphabet represents statistic value at  $p < 0.05$ .

■ water extract ■ 50% ethanol extract ■ 95% ethanol extract ■ diethyl ether extract,

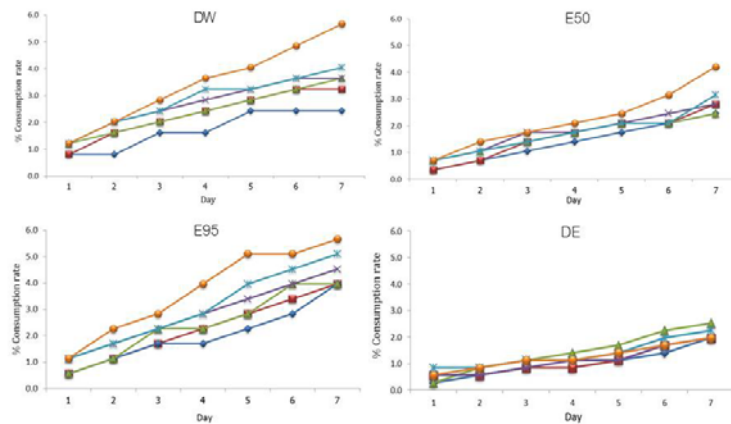


Figure 3 Consumption rate of sand goby

● 0% ■ 0.3% ▲ 0.5% ◆ 1.0% ◆ 3.0% ● 5.0%

โดยการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารสามารถบอกถึงการเติบโตและพัฒนาการของสัตว์น้ำได้ การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของทริปซินและโคไมทริปซินทำให้ T/C ratio มีการเปลี่ยนแปลง ส่งผลต่อประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน ปริมาณกรดอะมิโนอิสระในพลาสมาและในกล้ามเนื้อ สมดุลของการสร้างและการสลายโปรตีน และอัตราการเติบโต (Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2000) ทั้งนี้เนื่องจากอัตราการหลั่งของทริปซินและโคไมทริปซินมีความสัมพันธ์กับความอยากอาหารของปลา อัตราการดูดซึม การสังเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับการสร้างโปรตีน และระดับการหลั่งของพลาสมาอินซูลิน (Einarsson, 1996) ดังนั้นอัตราส่วนดังกล่าวจึงสัมพันธ์การเติบโต และไม่ขึ้นกับการแสดงออกของทริปซินหรือโคไมทริปซิน (Chan,

2008) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Sunde *et al.* (2001) พบว่า T/C ratio ในปลาแอตแลนติกแซลมอน *Salmo salar* L. มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโต โดยมีค่าสูงสุดในปลาสุวยหนูขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร และมีค่าลดลงเมื่อปลาเจริญเติบโตแล้ว นอกจากนี้ Hofer (1981) พบว่ายังสัมพันธ์กับการใช้ประโยชน์ของโปรตีน พบว่าสามารถใช้ประเมินพฤติกรรมการกินอาหารของสัตว์น้ำได้เช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Rungruangsak-Torrissen *et al.* (2006) ได้ศึกษาในปลาแอตแลนติกแซลมอน *Salmo salar* L. พบว่า T/C ratio มีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตของปลา โดยเมื่อปลาอยู่ในระยะที่มีการเจริญเติบโต T/C ratio จะมีค่าสูง และจะมีค่าต่ำลงเมื่ออัตราการเจริญเติบโตของปลาลดลง เนื่องจากทริปซินแสดงกิจกรรมจำเพาะได้สูงและมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการย่อยอาหารในช่วงที่ปลามีการเจริญเติบโตสูง ตรงข้ามกับเอนไซม์ไคโมทริปซินซึ่งแสดงกิจกรรมจำเพาะได้สูงขึ้นเมื่ออัตราการเจริญเติบโตลดลง ดังนั้น T/C ratio จึงสามารถใช้เป็นดัชนีวัดคุณภาพการเจริญเติบโตของสัตว์แต่ละระยะได้

จากอัตราส่วนระหว่างของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซิน (T/C ratio) ยังพบว่ามีความสัมพันธ์ต่ออัตราการกินอาหารในปลาทุกกลุ่มที่ให้อาหารผสมด้วยสารสกัดกระเทียม 5.0% และ 3.0% ตามลำดับ เนื่องจากสารสกัดกระเทียมที่ใช้ในการผสมอาหารนั้น มีสารสำคัญที่ทำให้กระเทียมมีกลิ่นหอมฉุนเผ็ดร้อน คือ เอนไซม์อัลลิเนส (Allinase) ซึ่งเปลี่ยนสารอินทรีย์กำมะถันอัลลิอิน แตกตัวได้สารอัลลิซิน ซึ่งสารอัลลิซินจะสามารถละลายได้ดีในน้ำเมื่อเปรียบเทียบกับ เอทานอล น้ำมัน และ diethyl ether ซึ่งสารอัลลิซินมีคุณสมบัติช่วยกระตุ้นการทำงานของจุลชีพในลำไส้ (intestinal flora) ทำให้การบีบตัวของลำไส้เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงเป็นการช่วยกระตุ้นระบบการทำงานของกระบวนการย่อยอาหารได้ดียิ่งขึ้น เมื่อระบบภายในร่างกายอยู่ในภาวะสมดุล กระบวนการเผาผลาญและกระบวนการย่อยก็จะทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ สารอัลลิซินที่มีอยู่ในกระเทียมมีส่วนช่วยกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร กระตุ้นการบีบและหดตัวของลำไส้ ทำให้การย่อยอาหารและขับถ่ายเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ (Ingkaninan *et al.*, 2003 อ้างโดย Sirinatd, 2011) นอกจากนี้การเสริมสารสกัดกระเทียมให้ปลาบูกิ่งยังช่วยเพิ่มกระตุ้นความอยากกินอาหาร เนื่องจากกลิ่นฉุนของกระเทียมอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Supaluck (2012) พบว่ากลิ่นฉุน เป็นตัวที่ช่วยกระตุ้นพฤติกรรมการอยากกินอาหารของปลาบูกิ่งอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการผสมกระเทียมลงไปในการอาหาร

#### **ประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียมต่อการเจริญเติบโต**

ทำการเลี้ยงปลาบูกิ่งกลุ่ม DW 5.0% ซึ่งให้ผลกิจกรรมเอนไซม์และแนวโน้มการเจริญเติบโตสูงสุด เพื่อติดตามอัตราการเจริญเติบโต เป็นเวลา 2 เดือน โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ให้อาหารสำเร็จรูปปกติโดยพบว่า ในปลาบูกิ่งกลุ่ม DW 5.0% มีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นเท่ากับ  $30.71 \pm 0.05$  กรัม/ตัว น้ำหนักเฉลี่ยสิ้นสุดเท่ากับ  $40.75 \pm 0.06$  กรัม/ตัว และน้ำหนักเพิ่มขึ้นเท่ากับ 32.69% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นเท่ากับ  $30.46 \pm 0.78$  กรัม/ตัว น้ำหนักเฉลี่ยสิ้นสุดท้ายเท่ากับ  $35.98 \pm 0.37$  กรัม/ตัว และน้ำหนักเพิ่มขึ้นเท่ากับ 18.12% ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Figure 4)

ส่วนอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ในปลาบูกิ่งกลุ่ม DW 5.0% มีค่าเท่ากับ  $0.219 \pm 0.06$  %/วัน เทียบกับกลุ่มควบคุม มีค่าเท่ากับ  $0.107 \pm 0.03$  %/วัน ซึ่งมีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

( $p < 0.05$ ) (Figure 4) ซึ่งผลสอดคล้องกับประสิทธิภาพของอาหาร (FE) ในปลาในกลุ่ม DW 5.0% มีค่าเท่ากับ  $0.55 \pm 0.07$  หรือปลาที่มีประสิทธิภาพการใช้อาหาร 55% และกลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ  $0.35 \pm 0.04$  หรือปลาที่มีประสิทธิภาพการใช้ 35% ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Figure 4) ทั้งนี้การศึกษาของ Metwally (2009) พบว่าสารสำคัญในกระเทียมสดกระเทียมผงและน้ำมันกระเทียมเสริมในอาหารมีส่วนช่วยในการควบคุมอัตราการเจริญเติบโตลดอัตราการตายและเพิ่มการทำงานของ antioxidant ภายในปลานิลได้สอดคล้องกับงานของ Sajera (2006) พบว่ากระเทียมมีผลต่อการสร้างกล้ามเนื้อในไก่ โดยเมื่อเสริมกระเทียมสดในอาหารทุกระดับ ไม่ได้มีผลทำให้ขนาดของเซลล์กล้ามเนื้อใหญ่ขึ้น แต่ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อมีขนาดเล็กลงและมีจำนวนมากขึ้น หรืออาจกล่าวได้ว่าปริมาณเนื้อเพิ่มมากขึ้น สอดคล้องการศึกษาของ Auly (2004) พบว่าการเสริมกระเทียมผงที่มีสารอัลลิซิน 150-250 mg/kg มีส่วนช่วยเพิ่มปริมาณเนื้อและอัตราการเจริญเติบโตอีกด้วย ซึ่งสารสกัดกระเทียมมีส่วนช่วยเพิ่มอัตราการกินอาหาร และส่งผลให้เกิดผลดีในการช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต โดยสังเกตได้จากเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและค่าประสิทธิภาพของอาหาร (FE) และสอดคล้องกับรายงานของ Supaluck (2012) พบว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อในปลาที่กินอาหารผสมสารสกัดกระเทียมด้วยน้ำ ที่ความเข้มข้น 3.0% (w/w) เป็นเวลา 2 เดือน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยในกลุ่มสารสกัดกระเทียมด้วยน้ำ มีค่าเท่ากับ  $2.14 \pm 0.42$  เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม มีค่าเท่ากับ  $3.79 \pm 0.41$  ส่วนงานวิจัยของ Diab *et al.* (2002) รายงานว่าปลานิลที่เจริญเติบโตดีเมื่อได้รับอาหารผสมกระเทียมที่ 2.5% ซึ่งสอดคล้องกับ Abou-Zeid (2002) รายงานว่ากระเทียมมีผลในทางบวกต่อ SGR ของปลานิลอีกด้วย เมื่อเพิ่มกระเทียมในอาหารปริมาณการกินอาหารก็เพิ่มขึ้นด้วย โดยการเจริญเติบโตขึ้นอยู่กับการย่อยและการขนส่งสารอาหาร จะเห็นได้ว่าปัจจัยหลายอย่างมีผลต่อระดับการย่อยอาหารอาจเป็นตัวส่งเสริมหรือจำกัดการเจริญเติบโต ซึ่งประกอบด้วยประสิทธิภาพในการดูดซึมและประสิทธิภาพการใช้อาหารซึ่งสัมพันธ์กับขนาดอาหารและคุณภาพของอาหารด้วย

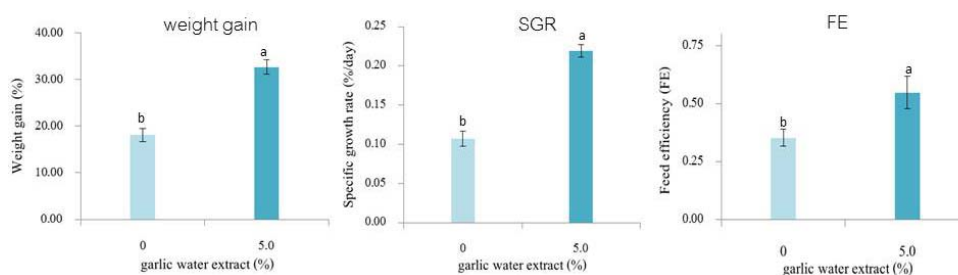


Figure 4 Weight gain (%), specific growth rate (%/day) and feed efficiency (FE) of sand goby fed with diet containing garlic extract with water extract at 5.0% in comparing control group for 2 months. Alphabet represents statistic value at  $p < 0.05$



### สรุปผลการวิจัย

ปลาบู่ที่ได้รับอาหารที่ผสมด้วยสารสกัดกระเทียมทั้ง 4 สารสกัด เป็นเวลา 7 วัน สามารถช่วยกระตุ้นกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีนให้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ปลาบู่ที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดกระเทียมด้วยน้ำที่ระดับ 5.0% (w/w) เป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่าให้ผลการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพของอาหารในปลาบู่เป็นไปในทิศทางที่ดีขึ้น มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม สารสกัดกระเทียมด้วยน้ำและเอทานอล มีผลส่งเสริมกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร และการเจริญเติบโตของปลาบู่ได้

### เอกสารอ้างอิง

- Abou-Zeid S.M (2002). The effects of some medical plants in reproductive and productive performance of Nile tilapia fish. Master Thesis Cairo University, Faculty of Agriculture.
- Allison, G. L., Lowe, G. M., Rahman, K. (2006). Aged garlic extract and its constituents inhibit platelet aggregation through multiple mechanisms. The Journal of nutrition, 136 (3) : 782S-788S.
- Areekijserree, M., A. Engkagul, U. Kovitvadhi, A. Thongpan, M. Mingmuang and S. Kovitvadhi. 2002. Activity profiles at different pH and temperature of cellulase and lipase in freshwater pearl mussel: *Hyriopsis (Hyriopsis bialatus*, Simpson 1900). Kasetsart J. (Nat. Sci.). 36: 399-407.
- Sankun Taw, A. 2004. Effects of garlic (*Allium sativum* Linn.) as powdered herbal feed additive in diets on carcass quality of broilers Veterinary Pharmacology. 69-73. [in Thai]
- Bernfeld P. 1951. Enzymes of starch degradation and synthesis. Advances Enzymology 12:379-428.
- Chatakan, C. 2004. Sand goby. [Online]. Available : [http://www.nicaonline.com/articles1/site/view\\_article.asp?idarticle=143](http://www.nicaonline.com/articles1/site/view_article.asp?idarticle=143) สืบค้น [15 August 2009]. [in Thai]
- C-R.Chan, D-L.Lee, Y-H.Cheng, D. J-Y.Hsieh, and C-F. Weng. 2008. Feed deprivation and re-feeding on alterations of proteases in tilapia *Oreochromis mossambicus*. Zoological Studies. 47: 207-214.
- Nuchsuk, C. 2007. Feed Development Using Digestive Enzyme Technology for Culture of Shark Catfish, *Helicophagus leptorhynchus*. PhD Thesis Kasetsart University. 145 p. [in Thai]
- Diab, A.S, El-Nagar, G.O and Abd-El Hady (2002). Evaluation of *Nigella sativa* (black seed; Baraka), *Allium sativum* (garlic) and BIOGEN as feed additives on growth performance and immunostimulant of *O.niloticus* fingerlings. Suez Canal Vet. Med. Journal. 745-775.

- Dupree, H.K. and K.P. Sneed. 1966. Response of channel catfish to different levels of major nutrients in purified diets. U.S. Bureau of Sports Fish and Wildlife Tech. Pap. No. 9.
- S. Einarsson, D.P. Spencer, and Talbot, C., 1996. The effect of feeding on the secretion of trypsin, pepsin and chymotrypsin. *Fish Physiology and Biochemistry*. 15:5:439–446.
- Harish J.C., Cottrell S.L., Plummer S. and Lloyd D. 2001. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (Garlic). *Applied Microbiology and Biotechnology*. 57:282-286.
- R. Hofer and F. Schiemer. 1981. Proteolytic activity in the digestive tract of several species of fish with different feeding habits. *Oecologia*. 48:3:342-345.
- Thongprajakawe, K. and Kovitvadh, U. 2012. Digestive Enzymes and Food Development for Aquaculture. *The Journal of KMUTNB*. 22:3. [in Thai]
- Lowry, H.O., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275. Lovell, T. 1989. *Nutrition and Feeding of Fish*. New York: Chapman & Hall. 260.
- Metwally M.A.A. 2009. Effects of Garlic (*Allium sativum*) on Some Antioxidant Activities in Tilapia Nilotica (*Oreochromis niloticus*). *World Journal of Fish and Marine Sciences* 1(1): 56-64.
- Piwpong, N., Chailuk, P. and Nitsupap, R. n.d. Protein Requirement of *Oxyeleotris marmoratus* (Bleeker). Department of Fisheries. [in Thai]
- Nirpjit, D.S. and J. Kaur. 2002. Immobilization, stability and esterification studies of a lipase from a *Bacillus* sp. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 36: 7-12
- Postharvest Technology Innovation Center, Chiang mai university. n.d. [Online]. Available : <http://www.phtnet.org/news52/view-news.asp?nID=455> [26 August 2009]. [in Thai]
- Phayao Inland Fisheries Research and Development Center. n.d. Aquaculture of Sand goby. [Online]. Available : [http://www.fisheries.go.th/ifphayao/web2/index.php?option=com\\_content&view=article&id=35&Itemid=46](http://www.fisheries.go.th/ifphayao/web2/index.php?option=com_content&view=article&id=35&Itemid=46). [30 August 2009]. [in Thai]
- Tuntidachamongkol, P. 2009. Aquaculture of Sand goby by Chai song achip. *Matichon*. 15 March 2009. 21. 451. [in Thai]
- Rungruangsak-Torrissen, K., E. Lied and M. Espe. 1998. Differences in digestion and absorption of dietary protein in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) with genetically different trypsin isozymes. *J. Fish Biol.* 45:1087-1104.
- Rungruangsak-Torrissen and A. Sundby, 2000. "Protease activities, plasma free amino acids and insulin at different ages of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) with genetically different trypsin isozymes," *Fish Physiology and Biochemistry*. 22:4:337–347.

- Rungruangsak-Torrissen, R. Moss, L. H. Andresen, A. Berg, and R. Waagbo. 2006. Different expressions of trypsin and chymotrypsin in relation to growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) Fish Physiology and Biochemistry. 32:1:7–23.
- Kupittayanant, S. 2006. Effects of garlic (*Allium sativum* Linn) supplementation on male characteristic in broiler chickens. Nakhon Ratchasima: Suranaree University of Technology. 37. [in Thai]
- Jaitong, S. 2011. Garlic. [Online]. Available :  
<http://sirinpharmacy.exteen.com/20110324/entry-1>. (30 September. 2012). [in Thai]
- Rittiplang, S. 2012. Natural Substances As Growth Enhancer of Sand Goby (*Oxyeleotris marmoratus*.) Master Thesis. Maejo university. 112. [in Thai]
- L. Stryer. 1988. Biochemistry. 3rd eds. New York: WH Freeman.
- J. Sunde, G.L. Taranger, and K. Rungruangsak-Torrissen. 2001. Digestive protease activities and free amino acids in white muscle as indicators for feed conversion efficiency and growth rate in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Fish Physiology and Biochemistry. 25:4:335–345.
- Van, M.V, A. B. A. Munafi, A. W. M. Effendy and M. A. Soh. 2005. The effect of different diets on proteolytic enzymes activity of early marble goby (*oxyeleotris marmoratus*) larvae. Journal of Animal Veterinary Advances. 835-838.
- Juntarothai, W. and Jaiyen, K. 1992. Study type of Aquaculture in red tilapia feed. Freshwater Fisheries Institute, Department of Fisheries, Bangkok. 11. [in Thai]
- Wuttipunchai, W. 1993. Nutrition of fish. Odeonstore Publishers. Bangkok. 242. [in Thai]
- Yoshida S., Kasuga S., Hayashi N., Ushiroguchi T., Matsuura H. and Nakagawa S. 1987. Antifungal activity of ajoene derived from garlic. Applied and Environmental Microbiology 53:3:615-617.
- Yone, Y. and Fujii, M. 1975. Studies on Nutrition of red sea bream-XI Effect of 3 fatty acid supplement in a corn oil diet on growth rate and feed efficiency. Bull. Jap. Soc. sci Fish. 41:73-77.