บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติของเชื้อสเตรฟโตคอคคัส

1.1 แยกเชื้อแบคทีเรียจากปลาป่วยที่เลี้ยงในระบบธรรมชาติ

เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปลากะพงขาวป่วยที่เลี้ยงในธรรมชาติในจังหวัดสุราษฎร์ธานี พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปกลม เรียงตัวกันเป็นสายโซ่ยาว ไม่สามารถสร้างเอนไซม์คะตะเลสและออกซิเดสได้ จากการเก็บตัวอย่างเชื้อจากปลากะพงขาวป่วย พบปลาป่วยที่มีลักษณะอาการภายนอก คือว่ายบริเวณผิวน้ำและขอบกระชัง ลำตัวมีสีดำคล้ำ มีบาดแผลเป็นลักษณะแผลหลุมมีการตกเลือด บริเวณแก้มและข้างลำตัว สอดคล้องกับรายงานของ เฉลิม (2547) และเยาวนิตย์ และคณะ (2543) ที่ได้ทำการแยกเชื้อสเตรฟโตคอคคัสจากปลากะพงขาวที่เลี้ยงบริเวณจังหวัดสงขลาและปัตตานีโดยปลาที่ป่วยจะมีอาการเฉื่อย ลำตัวสีคล้ำ เหงือกซีด ลอยหัวที่ ผิวน้ำ ตกเลือดบริเวณท้อง มีแผลแดงเป็นจุดเล็ก ๆ บนลำตัว ตาโปนหนึ่งข้าง Al-Harbi (1994) และ Perera และคณะ (1994) ศึกษาโรคนี้ในปลานิลลูกผสม และลักษณะอาการภายในของปลากะพงขาวป่วยที่แยกได้ คืออวัยวะภายในโดยส่วนใหญ่มีลักษณะลีบ โดยเฉพาะตับและไต มีสีซีด ม้ามโต สมองมีสีชมพูอ่อนและสามารถแยกเชื้อได้จากอวัยวะภายในและบาดแผล ในการแยกเชื้อจากสมองจะได้เชื้อที่ค่อนข้างบริสุทธิ์กว่าอวัยวะอื่น (Kitao, 1982) โดยส่วนใหญ่ปลาที่ติดเชื้อสเตรฟโตคอคคัสจะมีผลต่ออวัยวะภายใน คือตับ ไต ม้าม และสมอง โดยตับจะมีสีซีด ซึ่งเกิดจากการตายของเซลล์ตับ ตับมีอาการบวมผิดปกติ ซีดเหลืองตกเลือดเป็นแห่ง ๆ ส่วนม้ามมีขนาดใหญ่ขึ้นอย่างผิดปกติ เซลล์ม้ามบวม ม้ามมีสีแดงคล้ำ มีการสะสมของเหลวในช่องท้อง มีเลือดคั่งในระบบทางเดินอาหารและลำไส้มีการอักเสบ (Snieszko and Axelrod,1971 ; Austin and Austin,1987 ; Inglis *et al*.,1993 ; Al-Harbi,1994 ; Plumb,1994) เห็นอาการเหล่านี้ได้ชัดในปลากะพงขาว (เยาวนิตย์ และคณะ, 2543)

1.2 ผลการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อสเตรฟโตคอคคัส

เมื่อทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเม็ดเลือด พบว่าเชื้อสามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแกะ (hemolytic) บน Sheep blood agar (SBA) ได้สมบูรณ์ เป็นแบบ β-hemolytic Streptococci คล้ายกับเยาวนิตย์ และคณะ (2543) ที่รายงานว่า พบการระบาดของโรคสเตรฟโตคอคโคซีสในปลากะพงขาวที่เลี้ยงในจังหวัดปัตตานีและจังหวัดสงขลา โดยเชื้อเป็นแบคทีเรีย

ย้อมติดแกรมบวก รูปร่างกลม เรียงตัวกันเป็นโซ่ สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดได้สมบูรณ์เช่นกัน แต่ เฉลิม (2547) รายงานว่าเชื้อที่แยกได้จากปลากะพงขาวป่วยในจังหวัดสงขลาไม่สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงได้ และสถาพรและเยาวนิตย์ (2530) ได้รายงานว่า เชื้อสเตรฟโตคอคคัสที่แยกได้จากปลากะพงขาวไม่สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดได้เช่นกัน และจากการทดลองทางกายภาพยังพบว่าเชื้อไม่สามารถทนต่อสภาวะความเป็นด่าง (pH 9.6) และไม่สามารถเจริญได้ในความเค็ม 6.5 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับรายงานของ เยาวนิตย์ และคณะ (2543) และ Bromage และคณะ (1999) ที่พบว่าเชื้อที่แยกได้จากปลากะพงขาว ไม่สามารถสามารถทนต่อสภาวะความเป็นด่างและไม่สามารถเจริญได้ในความเค็ม 6.5 เปอร์เซ็นต์ ได้ แต่ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

1.3 ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ

จากการทดสอบความไวของเชื้อยาปฏิชีวนะ ซึ่งเชื้อที่แยกได้จากปลากะพงขาวมีความไวต่อยาทั้ง 8 ชนิด คือเพนนิซิลิน ซัลฟาไตรเมโทรพริม อีรีโทรมัยซิน ไนโตรฟูรานโทอิน นอร์ฟล็อคซาซิน แอมพิซิลิน คลอแรมฟินิคอล และออกซี่เตตราซัยคลิน แต่จะดื้อต่อยานาลิไดซิค แอซิด และออกโสลินิค แอซิด ซึ่งมีความสอดคล้องกับรายงานของ เฉลิม (2547) ที่รายงานว่า เชื้อสเตรฟโตคอคคัสที่แยกได้จากปลากะพงขาวเมื่อนำมาทดสอบกับยาปฏิชีวนะ พบว่าเชื้อมีความไวต่อยาทั้ง 8 ชนิดข้างต้นเหมือนกัน และสามารถต้านทานต่อยานาลิไดซิก แอซิด และออกโซลินิค แอซิดได้เช่นกัน ซึ่งการนำยาปฏิชีวนะที่ได้นำมาทดสอบบางชนิด เช่น คลอแรมฟินิคอลและไนโตรฟูแรนโทอิน มีการบังคับห้ามใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อบริโภค แต่สามารถนำมาใช้กับปลาสวยงามและพ่อแม่พันธุ์ได้ ยาปฏิชีวนะที่สามารถนำมาใช้ได้ในการเพาะเลี้ยงปลาที่ติดเชื้อชนิดนี้สามารถใช้ยากลุ่มซัลฟาและยาออกซี่เตตราซัยคลิน กฎข้อบังคับอนุญาตใช้ยาปฏิชีวนะในสหรัฐอเมริกา (นฤมล และสุนทรีย์, 2545) และสหภาพยุโรป (รพีพร, 2545) ที่ระบุว่าอนุญาตใช้ได้

2. ผลของปริมาณเชื้อสเตรฟโตคอคคัสที่ทำให้ปลานิลแดงแปลงเพศตายครึ่งหนึ่ง (LD_{50} ที่ 10 วัน)

จากการหาค่า LD_{50} ของเชื้อที่แยกได้จากปลากะพงขาวทดสอบในปลานิลแดงแปลงเพศนั้น พบว่าปลานิลแดงแปลงเพศมีการยอมรับการติดเชื้อได้รวดเร็ว โดยปริมาณเชื้อที่ทำให้ปลาตายจะแปรผกผันกับขนาดของปลา คือปลาที่มีขนาดใหญ่มีการยอมรับการติดเชื้อได้ง่ายกว่าปลาที่มีขนาดเล็ก ซึ่งจากผลการทดลองเชื้อมีค่า LD_{50} ในปลาเล็กเท่ากับ $3.59x10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร และปลาใหญ่เท่ากับ $5.87x10^2$ โคโลนี/มิลลิลิตร แตกต่างกับรายงานของ เฉลิม (2547) ที่ศึกษาการ

ยอมรับการติดเชื้อในปลากะพงขาวที่พบว่า ปลาที่มีขนาดเล็กมีการยอมรับการติดเชื้อง่ายกว่าปลาที่มีขนาดใหญ่ขึ้น การติดเชื้อสเตรฟโตคอคคัสในปลานิลและปลาสไตรปแบสที่พบว่าปลาขนาดเล็กทั้งสองชนิดมีการยอมรับเชื้อได้มากกว่าปลาขนาดใหญ่ (Evans *et al*., 2002)

จากการฉีดเชื้อในปลานิลแดงทั้งสองขนาดในข้างต้น พบว่าอาการหลังจากฉีดเชื้อใน 3 วันแรก พบว่าปลามีอัตราการตายสูง โดยตายอย่างเฉียบพลันปลาแสดงลำตัวมีสีซีด เสียการทรงตัว ว่ายน้ำควงสว่าน เคลื่อนที่ช้า และหลังจากฉีดเชื้อปลาในวันที่ 4 เป็นต้นไป ในปลาใหญ่จะมีอาการแสดงให้เห็นได้ชัดเจนกว่าปลาที่มีขนาดเล็ก แต่ลักษณะอาการมีความคล้ายคลึงกันมาก ดังเช่น อาการตาขุ่น ตาโปนข้างเดียวหรือ 2 ข้าง การเกิดบาดแผลบริเวณตามีผลเกิดมาจากเลือดคั่งอยู่ในบริเวณด้านหลังของลูกตาและเกิดการบวมน้ำ (edema) และมีการอักเสบ โดยมีการตายของเนื้อเยื่อบริเวณ optic nerve และ choroid ส่วนเบ้าตา (orbit) ขยายกว้าง เกิดการตกเลือดบริเวณเนื้อเยื่อในลูกตา (retina) ในส่วนของวุ้นใสที่อยู่ในเบ้าตา (vitreous humour) ต่อมาจะเกิดการตายของเนื้อเยื่อบริเวณกระจกตา และเกิดการฉีกขาดของเนื้อเยื่อตา ทำให้เกิดแผลบริเวณแก้วตา (cornea) (Inglis *et al*., 1993) และบางตัวมีอาการท้องบวม มีของเหลวในช่องท้อง ตับมีสีซีด ม้ามโต สมองมีสีชมพู ซึ่งกมลพร (2539) ได้ศึกษาโรคในปลานิลที่เลี้ยงในจังหวัดฉะเชิงเทรา โดยพบว่าปลาที่ป่วยเป็นโรคนี้มีอาการ ตาขุ่นขาว ว่ายน้ำช้า ๆ ว่ายเป็นวงกลมหรือลอยตัวนิ่ง ๆ รอบ ๆ ช่องขับถ่ายมีสีแดง ตาโปน อาการดังกล่าวที่รายงานข้างต้นสอดคล้องกับรายงานของ Al-Harbi (1994) และ Perera และคณะ (1994) ที่ได้รายงานถึงอาการของปลานิลลูกผสม (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) ว่าปลาที่เป็นโรคมีอาการดังกล่าวข้างต้น

3. ผลของสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อสเตรฟโตคอคคัสในปลานิลแดงแปลงเพศ

3.1 จากการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดสมุนไพร 19 ชนิด ต่อเชื้อสเตรฟโตคอคคัส

จากการศึกษา พบว่าน้ำมันเปลือกอบเชยเทศสามารถยับยั้งเชื้อสเตรฟโตคอคคัสได้ดีที่สุด ให้ค่า MIC เท่ากับ 250 พีพีเอ็ม และรองลงมาคือ น้ำมันตะไคร้หอม 500 พีพีเอ็ม น้ำมันตะไคร้ 500 พีพีเอ็ม น้ำมันพลู 500 พีพีเอ็ม น้ำมันกานพลู 500 พีพีเอ็ม น้ำมันโหระพา 1,000 พีพีเอ็ม และน้ำมันผิวมะกรูด 1,000 พีพีเอ็ม ตามลำดับ สอดคล้องกับ Kim และคณะ (2004) ได้สกัดสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde จากน้ำมันอบเชยจีนและนำมายับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* สายพันธุ์ O 157:H 7 พบว่าสาร cinnamaldehyde สามารถต่อต้านเชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ O157:H7 และสายพันธุ์ O26 ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 250 พีพีเอ็ม และ ที่ค่า MIC 500 พีพีเอ็ม สามารถต่อต้านเชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ ATCC 11105 และสายพันธุ์ O 111 ได้ และ Bullerman

และคณะ (1977) ได้รายงานว่า น้ำมันเปลือกอบเชยเทศ ความเข้มข้น 200-250 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเชื้อรา *Aspergillus paraticus* ที่สร้างสารพิษได้เช่นกัน โดยสารสำคัญที่มีประกอบอยู่ในสมุนไพรทั่ว ๆ ไปจะสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ ซึ่งคุณสมบัติที่สำคัญของสารที่สามารถตกตะกอนโปรตีนได้ดี จึงสามารถตกตะกอนโปรตีนของแบคทีเรียทำให้แบคทีเรียไม่สามารถสร้างผนังเซลล์ได้ นอกจากนี้ยังมีผลต่อเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นกระบวนการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา Oxidative phosphorylation (Scalbert, 1991) จิรานุช และสุเพ็ญ, (2542) ที่รายงานว่า น้ำมันหอมระเหยมีสารประกอบที่สำคัญอยู่หลายชนิดที่มีฤทธิ์สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด จากการทดลองครั้งนี้ยังพบว่าสารสกัดสมุนไพรอีก 12 ชนิดไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 1,000 พีพีเอ็ม คือ สารสกัดขมิ้น น้ำมันขมิ้น น้ำมันใบมะกรูด น้ำมันกะเพรา สารสกัดหยาบไพล สารสกัดหยาบเปลือกสะเดา สารสกัดหยาบใบสะเดาบ้าน สารสกัดหยาบข่อย สารสกัดหยาบคำแสด สารสกัดหยาบน้ำนมราชสีห์ สารสกัดหยาบหญ้าละออง และสารสกัดหยาบมะกล่ำตาช้าง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าสารสกัดหยาบชนิดต่าง ๆ ที่ศึกษาอาจไม่มีสารสำคัญชนิดที่สามารถยับยั้งเชื้อชนิดนี้หรืออาจมีปริมาณน้อยไม่เพียงพอที่จะสามารถยับยั้งได้ Lin และคณะ (1999) และ Nimiri และคณะ (1999) ยังรายงานว่า ผลของสารสกัดสมุนไพรที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ในการทดสอบการยับยั้งเชื้อ น่าจะมีผลมาจากปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยวข้อง เช่น ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัด แหล่งที่มาของสมุนไพร ความแตกต่างของระดับสารสำคัญที่มีอยู่ในพืชสมุนไพร ซึ่งในการเก็บพืชมาในแต่ละครั้งเมื่อนำมาสกัดกลุ่มสารสำคัญที่สกัดได้ในแต่ละครั้งจะไม่เท่ากัน

3.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ

จากรายงานการศึกษาข้างต้น พบว่าสารสำคัญชนิด cinnamaldehyde เป็นสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ จึงได้ทำการวิเคราะห์สารสำคัญของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ โดยวิธี GC-MS ได้พบสารสำคัญ 3 ชนิด คือ **cinnamaldehyde** (C_9H_8O) 83.1 เปอร์เซ็นต์, **coumarin** ($C_9H_6O_2$) 12.6 เปอร์เซ็นต์ และ **cinnamic acid** ($C_9H_8O_2$) 2.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Shelef (1983) และ Ka และคณะ (2003) ที่พบว่า สารสำคัญหลักที่แยกได้จากน้ำมันเปลือกอบเชย ได้แก่สาร cinnamaldehyde และ eugenol แต่ Hu และคณะ (1985) ได้แยกสารในน้ำมันอบเชย พบสาร cinnamaldehyde และ coumarin ดังนั้นจากการวิเคราะห์หาสารสำคัญสามารถนำมาเปรียบเทียบปริมาณสาร cinnamaldehyde ที่แยกได้จากการทดลองกับรายงานจากการวิเคราะห์หาสารสำคัญจากน้ำมันอบเชยชนิดต่าง ๆ ได้ดังตารางที่ 9 เห็นได้ว่าปริมาณสาร cinnamaldehyde จากชนิดและส่วนต่าง ๆ ของต้นอบเชยมีปริมาณสารประกอบอยู่ไม่

เท่ากัน จากรายงานในอดีต พบว่ามีการนำสาร cinnamaldehyde ที่แยกบริสุทธิ์จากน้ำมันเปลือกอบเชยชนิดต่าง ๆ มายับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น ทางด้านการแพทย์ได้มีการนำสารสำคัญที่แยกบริสุทธิ์จากเปลือกอบเชย คือ cinnamaldehyde มาต่อต้านการเกิดมะเร็ง และการกลายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้ (Shaughnessy *et al*., 2001) ส่วน Ouattara และคณะ (1997) รายงานว่าน้ำมันเปลือกอบเชยเทศสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เจริญในเนื้อต้มได้ และที่สำคัญสาร cinnamaldehyde สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* สร้างสารพิษที่อันตรายมากในวัตถุดิบอาหารสัตว์

ตารางที่ 9 แสดงเปอร์เซ็นต์ของ cinnamaldehyde ในน้ำมันอบเชยชนิดต่าง ๆ

ชนิดน้ำมันอบเชย	Cinnamaldehyde ที่แยกได้ (เปอร์เซ็นต์)	เอกสารอ้างอิง
1.*C. zeylanicum* (เปลือกอบเชยเทศ)	65	Lens- Lisbonne *et al*., (1987)
2. *C. zeylanicum* (เปลือกอบเชยเทศ)	75	Jayaprakasha *et al*., (2000)
3. *C. osmophloeum* (ใบอบเชย)	76	Chang *et al*., (2001)
4. *C. cassia* (รากอบเชยจีน)	96.5	Kim *et al*., (2004)
5. *C. cassia* (เปลือกอบเชยจีน)	81	Friedman *et al*., (2000)
6.*C. zeylanicum* (เปลือกอบเชยเทศ)	83.1	Present study

3.3 ผลของสารสกัดน้ำมันเปลือกอบเชยต่อการเจริญเติบโตในปลานิลแดงแปลงเพศ

การเจริญเติบโตของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทั้ง 4 สูตร ในช่วงแรกของการให้อาหาร ปลาที่ได้รับอาหารทดลองผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 พีพีเอ็ม กินอาหารได้น้อยกว่า ชุดควบคุมและชุดที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 พีพีเอ็ม จึงทำให้มีค่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีสาเหตุมาจากปริมาณของสารสกัดเข้มข้นสูงและมีกลิ่นฉุนของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ จากการสังเกตพฤติ

กรรมการกินอาหาร พบว่าปลาอมอาหารไว้ในปาก แล้วคายอาหารทิ้ง จึงทำให้ปลาลดความอยากกินอาหาร และยอมรับอาหารได้น้อยลง ปลาจึงกินอาหารได้น้อยกว่าปกติ (Watanabe *et al*., 1993) ส่งผลให้ปลาได้รับสารอาหารได้น้อยกว่าทำให้มีการเจริญเติบโตต่ำ แต่เมื่อถึงสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 ปลาในชุดควบคุมและปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันอบเชยเทศ 250 พีพีเอ็ม มีค่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงที่สุด ส่วนปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันอบเชยเทศที่สูงกว่า 250 พีพีเอ็ม ปลามีการปรับพฤติกรรมการกินอาหารและลักษณะการกินอาหารได้เป็นปกติในช่วงท้ายของการทดลอง

จากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารชุดควบคุมและชุดที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 พีพีเอ็ม มีผลการเจริญเติบโต (น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) และประสิทธิภาพการใช้อาหาร (อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ) ที่ไม่แตกต่างกันและมีค่าดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันอบเชยเทศที่ระดับ 500 และ 1,000 พีพีเอ็ม

3.4 ค่าสัมพันธ์เปอร์เซ็นต์การรอดตายของปลานิลแดงแปลงเพศ

พบว่าปลาที่ได้รับน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ระดับ 250 พีพีเอ็ม มีความต้านทานโรคสูงที่สุด ซึ่งมีค่า RPS เท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และชุดการทดลอง อื่น ๆ ในสัปดาห์ที่ 2 เนื่องจากปลาได้รับปริมาณน้ำมันเปลือกอบเชยเทศในปริมาณที่เหมาะสมที่สุด โดยสาร cinnamaldehyde ที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศไปทำลายตำแหน่งและกลไกของเซลล์แบคทีเรียให้เกิดความเสียหายหรือเกิดรอยรั่ว (Leakage) ของผนังเซลล์ (cell wall) และเยื่อหุ้มเซลล์ (cytoplasmic membrane) (Sikkema *et al*.,1994 ; Helender *et al*., 1998) ทำให้หน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ทำงานผิดปกติ โดยเฉพาะการป้องกันไม่ให้สารต่าง ๆ เข้าออกจากเซลล์ (osmotic barrier) อีกทั้งมีหน้าที่เกี่ยวกับระบบการขนส่งอิเล็คตรอน (electron transport) และ oxidative phosphorylation ทำให้พลังงานในตัวแบคทีเรียถูกปลดปล่อยออกมาได้น้อยลง (Burt, 2004) ทำให้แบคทีเรียอ่อนแอและตาย และยังสามารถสรุปได้ว่าปลาในชุดการทดลองที่ได้รับปริมาณน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 500 และ 1000 พีพีเอ็ม อาจได้รับปริมาณสารที่ไม่เหมาะสม ทำให้มีอัตราการรอดตายต่ำ อีกทั้งอาจมีอาการผิดปกติของเนื้อเยื่อภายใน โดยเฉพาะเนื้อเยื่อตับอ่อนที่ผลิตเอนไซม์ทริปซินที่ทำหน้าที่ย่อยโปรตีน (Robaina *et al*., 1998) จึงทำให้ปลามีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนต่ำ อันมีสาเหตุมาจากปลาอดอาหารในช่วงสัปดาห์แรก ๆ (Hibaya, 1982) เพราะปริมาณน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ผสมในอาหารมีความเข้มข้นที่สูงเกินไป

3.5 ผลของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศต่อเนื้อเยื่อปลานิลแดงแปลงเพศ

การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 1,000 พีพีเอ็ม ในสัปดาห์ที่ 6 พบว่าเนื้อเยื่อตับหดเล็กลง (atrophy) และ Hepatic sinusoid ขยายกว้างขึ้น และเนื้อเยื่อไตเกิดการหดตัวของโกลเมอรูลัส การเพิ่มจำนวน acidophilic group เนื่องจากการแตกหักของโครงสร้างโปรตีน เมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ เซลล์ตายจะมีนิวเคลียสเล็กกว่า ติดสีฮีมาทอกไซลีน แน่นทึบ โดยโครมาตินอยู่ชิดขอบนิวเคลียสและในระยะรุนแรงจะพบนิวเคลียสหดตัวและแตก (Hibaya, 1982 ; Wheater *et al*., 1985) อีกทั้ง Burkit และคณะ (1996) รายงานว่าการที่นิวเคลียสหดตัวอาจเกิดจากการหดทึบของโครมาติน ซึ่งเกิดจากค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH) ลดลง เนื่องจากกระบวนการเมตาโบลิซึมแบบไม่ใช้ออกซิเจน และสาเหตุที่ทำให้เนื้อเยื่อของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 พีพีเอ็ม มีการเปลี่ยนแปลงเกิดจากการที่ปลาได้รับปริมาณน้ำมันเปลือกอบเชยเทศสูงเกินไป ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับ ตับอ่อนและไต โดยสาร courmarin เป็นสารที่ก่ออันตรายแก่ ตับ ซึ่ง Tisser และ Balacs, (1995) รายงานว่า สุนัขที่ได้รับอาหารผสมสาร coumarin 100 พีพีเอ็ม ต่อวัน เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยสารไปทำลายเนื้อเยื่อตับ และพบอีกว่าค่า LD_{50} ของสาร coumarin ในหนูมีค่าเท่ากับ 68 พีพีเอ็ม โดยประเทศอังกฤษมีการควบคุมมาตรฐานของการมีสาร coumarin ในอาหาร ไม่เกิน 2 พีพีเอ็ม จากรายงานข้างต้นสาร coumarin จะทำลายเนื้อเยื่อตับทำให้ประสิทธิภาพการทำงานลดน้อยลง ส่งผลให้ปลามีประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำลง ปลาจึงมีการเจริญเติบโตดีไม่เท่ากับปลาปกติ Hibiya (1982) รายงานว่าความผิดปกติในตับอ่อน มักพบเซลล์หดลีบ เซลล์ตาย ไซโมเจนกรานูลลดลง เนื่องจากปลาอดอาหารเป็นเวลานาน จึงส่งผลให้เกิดความผิดปกติของเซลล์ตับอ่อน (Zhalka and Bdolah, 1987 ; Beccaria *et al.,* 1992 ; Zhaobin and Xuefu, 2000)