ผลของสารสกัดรวมของกระเทียม ออริกาโน และอาติโชค ต่อการย่อยได้ของอาหาร และสมรรถภาพการเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)

Effects of Garlic, Oregano, and Artichoke Blend Extract on Feed Digestibility and Growth Performance of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

วัชรินทร์ สุทธิพงศ์[1] ศุภวิทย์ ไตรวุฒานนท์[2] ศรีน้อย ชุ่มคำ[3] และ อรพินท์ จินตสถาพร[1*]

Watcharin Suttipong[1], Supawit Triwutanon[2], Srinoy Chumkam[3] and Orapint Jintasataporn[1*]

[1]ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[2]คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

[2]Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

[3]คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จ. ปทุมธานี 13180

[3]Faculty of Agricultural Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University, under the Royal Patronage, Pathum Thani 13180, Thailand

[*]Corresponding author. Email: ffisora@ku.ac.th

(Received: 2 October 2023; Accepted: 28 November 2023)

Abstract: The study assessed the effectiveness of an herbal extract blend containing garlic 15%, oregano 10%, and artichoke 5% in enhancing the protein and carbohydrate digestibility of Pacific white shrimp fed. The results showed that Pacific white shrimp fed with herb extract blend supplemented at levels of 0.05, 0.15, and 0.25% significantly had higher carbohydrate digestibility than control diet ($P<0.05$). In addition, total reducing sugar of herb extract blend was greater than that of control. Furthermore, the study evaluated the effects of herb extract blend on the growth performance of Pacific white shrimp in a feeding experiment. Four diet treatments were tested with different concentrations of the herb extract blend were 0, 0.05, 0.15 and 0.25 %. Results showed that the herb extract blend significantly improved the shrimp growth performance ($P<0.05$) regarding final weight, specific growth rate, average daily gain, and protein efficiency ratio. Supplementation of the herb extract blend at least 0.05% in shrimp diets has the potential to enhance shrimp fed digestibility and improved growth performance of Pacific white shrimp.

Keywords: Pacific white shrimp, herb extract blend, *in vitro* digestibility, growth performance

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

บทคัดย่อ: การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรรวมที่ประกอบด้วยสารสกัดกระเทียม15 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดออริกาโน 10 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดอาติโชค 5 เปอร์เซ็นต์ ในการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตของอาหารกุ้งขาวแวนนาไม ผลการศึกษาพบว่าอาหารกุ้งที่เสริมสารสกัดจากสมุนไพรรวมดังกล่าวในระดับ 0.05, 0.15 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ส่งเสริมการย่อยคาร์โบไฮเดรตสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่การย่อยโปรตีนไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีการปลดปล่อยน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่าอาหารชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) การศึกษาผลของสารสกัดจากสมุนไพรรวมต่อประสิทธิภาพการเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม โดยทำการศึกษาโดยใช้อาหาร 4 ชุดการทดลองของสารสกัดสมุนไพรรวมที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันในระดับ 0, 0.05, 0.15 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากสมุนไพรรวมช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อพิจารณาจากน้ำหนักสุดท้าย อัตราการเจริญเติบโตเฉพาะ น้ำหนักเฉลี่ยต่อวัน และประสิทธิภาพของโปรตีน ดังนั้นการเสริมสารสกัดจากสมุนไพรรวมที่ประกอบด้วยสารสกัดกระเทียม 15 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดออริกาโน 10 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดอาติโชค 5 เปอร์เซ็นต์ เพียง 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยอาหารและส่งผลให้กุ้งขาวแวนนาไมเติบโตดีขึ้น

คำสำคัญ: กุ้งขาวแวนนาไม สารสกัดจากสมุนไพรรวม การย่อยได้ในห้องปฏิบัติการ ประสิทธิภาพการเติบโต

คำนำ

กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) เป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจสำคัญในการเพาะเลี้ยงในหลายประเทศทั่วโลก เช่น เอกวาดอร์ เวียดนาม อินเดีย มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ จีน และประเทศไทย สำหรับข้อมูลการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2565 มีผลผลิตกุ้งขาวแวนนาไม รวม 369,323 ตัน มูลค่า 58,760 ล้านบาท (Department of Fisheries, 2023) ทั้งนี้พบว่าปริมาณการผลิตกุ้งขาวแวนนาไมลดลง 2.43 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบจากผลผลิตในปี พ.ศ. 2562 ซึ่งหนึ่งในปัญหาอุปสรรคสำคัญของการสูญเสียทางเศษฐกิจที่ทำให้การผลผลิตกุ้งขาวแวนนาไมลดลง มาจากการระบาดของโรคกุ้ง โดยส่วนใหญ่พบการติดเชื้อ *Vibrio* spp. โดยพบการติดเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio parahaemolyticus* ร่วมกับ *Enterocytozoon hepatopenaei* หรือ EHP เป็นกลุ่มของปรสิตไมโครสปอริเดีย พบว่าเชื้อเข้าทำลายเซลล์ตับและตับอ่อนของกุ้ง (Sathish Kumar *et al*., 2022) จะทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของตับและตับอ่อนลดลง เกิดการย่อยอาหารที่ไม่สมบูรณ์ ส่งผลทำให้กุ้งกินอาหารลดน้อยลงและต้านทานต่อเชื้อก่อโรคลดลง การเลี้ยงกุ้งในปัจุบันเกษตรกรไม่สามารถใช้ยาปฏิชีวนะเกินจนทำให้สะสมในการผลิต เนื่องจากต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร : การปฏิบัติทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ดี สำหรับฟาร์มเลี้ยงกุ้งทะเล ตามพระราชบัญญัติมาตรฐานสินค้าเกษตร พ.ศ. 2551 (Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2008) การเลือกใช้พืชสมุนไพรจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ดีในการป้องกันและการรักษาทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ อีกทั้งยังช่วยเสริมการย่อยได้ของอาหารและการเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม เพราะพืชสมุนไพรหลายชนิดเป็นแหล่งของสารที่ออกฤทธิ์ทางยาและเสริมระบบภูมิคุ้มกันที่ดี เช่น กระเทียม (*Allium sativum* Linn.) สารสกัดกระเทียม มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด ได้แก่ อัลลิซิน อัลลิอิน และ อะโจอีน (Dirsch *et al*., 1998) สารประกอบเหล่านี้สามารถปรับปรุงการทำงานของระบบย่อยอาหารในสัตว์น้ำโดยเพิ่มการหลั่งของเอนไซม์ในทางเดินอาหาร กระตุ้นการผลิตน้ำดีและส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในลำไส้ที่มีประโยชน์ จึงสามารถส่งเสริมการเติบโตและการใช้อาหารของสัตว์น้ำหลายชนิด (Rezaei *et al*., 2022) โดยทำหน้าที่เป็นพรีไบโอติก กระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้และ

ปรับปรุงการใช้สารอาหาร (Hamed *et al*., 2021) กลไกการออกฤทธิ์ของพรีไบโอติกนั้นมาจากคุณสมบัติของอัลลิซิน ซึ่งส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งด้วยการปรับปรุงการย่อยอาหาร ทำให้ระบบย่อยอาหารมีประสิทธิภาพมากขึ้น เพิ่มเอนไซม์ย่อยอาหารและลดระดับของแบคทีเรียที่เป็นอันตราย พืชสมุนไพรออริกาโน (oregano) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Origanum vulgare* มีสารประกอบออกฤทธิ์หลายชนิด เช่น คาร์วาครอล ไทมอล และกรดโรสมารินิก (Oreopoulou *et al*., 2020) มีคุณสมบัติต้านจุลชีพและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยส่งเสริมจุลินทรีย์ในลำไส้ที่ดีต่อสุขภาพในปลาและสัตว์น้ำ อื่น ๆ (Guo *et al*., 2022) สารประกอบเหล่านี้สามารถช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและไวรัสที่เป็นอันตรายในสัตว์น้ำ สารสกัดจากออริกาโนยังมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฟีนอลและฟลาโวนอยด์ ซึ่งสามารถช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำ สารต้านอนุมูลอิสระช่วยต้านอนุมูลอิสระซึ่งสามารถทำลายเซลล์และทำให้ระบบภูมิคุ้มกันเสียหายได้ และยังสามารถช่วยลดความเครียดในสัตว์น้ำส่งผลดีต่อการทำงานของระบบย่อยอาหารโดยรวม (Hou *et al*., 2022) พืชสมุนไพรอาติโชค (artichoke) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Cynara cardunculus* ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น ไซนาริน กรดคลอโรเจนิก และลูทีโอลิน ซึ่งมีประโยชน์ต่อการย่อยอาหารในสัตว์น้ำ สารประกอบเหล่านี้กระตุ้นการผลิตน้ำดีซึ่งช่วยสลายไขมันและเพิ่มการหลั่งของเอนไซม์ในทางเดินอาหาร เช่น อะไมเลส ไลเปส และโปรตีเอส ซึ่งช่วยย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีนตามลำดับ ปรับปรุงประสิทธิภาพและช่วยให้การย่อยอาหารโดยรวมดีขึ้น (Matuschowski *et al*., 2005) นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดจากอาติโชคมีสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถช่วยปกป้องเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารจากความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระด้วยการลดการเสียสภาพของเอนไซม์ (Carpentieri *et al*., 2022) ผลการศึกษาปัจจุบันแสดงให้เห็นว่าการเสริมอาหารด้วยสารสกัดจากสมุนไพรช่วยเพิ่มการเติบโตและการใช้อาหารของกุ้งขาวอย่างมีนัยสำคัญ (Ghosh *et al*., 2021) ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรรวมของกระเทียม ออริกาโน และอาติโชค ในระดับต่าง ๆ กันต่อการย่อยได้ของอาหาร และการเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม

อุปกรณ์และวิธีการ

สารสกัดสมุนไพรรวม

สารสกัดหยาบผ่านกระบวนการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบต่อเนื่องโดยใช้ความร้อนและทำแห้งโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dry) ประกอบด้วยสารสกัดกระเทียม 15 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดออริกาโน 10 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดอาติโชค 5 เปอร์เซ็นต์

สัตว์ทดลอง

กุ้งที่ใช้ในการทดลอง เป็นกุ้งขนาด 1.25-1.50 กรัม จำนวน 5,000 ตัว จากฟาร์มเอกชนใน จังหวัดสมุทรสงคราม ประเทศไทย นำกุ้งมาพักไว้ในถังขนาด 1,000 ลิตร จำนวน 5 ถัง เป็นเวลา 7 วัน ก่อนคัดขนาดให้สม่ำเสมอ ที่น้ำหนัก 1.50 ± 0.05 กรัม แล้วย้ายไปใส่ในถังสำหรับทดลองก่อนเริ่มการทดลอง 5 วัน เพื่อปรับให้คุ้นเคยกับสภาวะการทดลองที่ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน โดยใช้อาหารกุ้งสูตรควบคุมที่มีโปรตีน 35.58 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 6.26 เปอร์เซ็นต์ และไฟเบอร์ 2.03 เปอร์เซ็นต์ (Table 1)

สัตว์ทดลองผ่านการรับรองอนุมัติให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เลขที่เอกสาร ACKU 61-FIS-040

อาหารทดลอง

จัดเตรียมอาหารทดลองตามความต้องการโภชนาการของกุ้งโดยจัดเตรียมวัตถุดิบตามสูตรที่กำหนด (Table 1) ทั้งหมด 4 สูตร สำหรับกุ้งในแต่ละชุดการทดลองจำนวน 30 กิโลกรัมต่อชุดการทดลอง จากนั้นทำการชั่งวัตถุดิบทุกชนิดตามสูตรที่กำหนด แล้วบดวัตถุดิบทั้งหมดที่เป็นของแข็งให้ผ่านตะแกรงร่อนขนาด 0.5 มิลลิเมตร แล้วผสมวัตถุดิบตามสูตรอาหารให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปอัดเม็ดผ่านรูหน้าแว่นขนาด 1.5 มิลลิเมตร นำอาหารมานึ่งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาผึ่งให้เย็นลงในถาด

Table 1. Composition of the experimental feed

Ingredient (kg)	T1(Control)	T2	T3	T4
Fish meal	15.00	15.00	15.00	15.00
Soybean meal	37.50	37.50	37.50	37.50
Wheat flour	20.45	20.40	20.30	20.20
Raw rice bran	9.00	9.00	9.00	9.00
Squid liver powder	5.00	5.00	5.00	5.00
Poultry meat	5.00	5.00	5.00	5.00
Fish oil and lecithin	2.40	2.40	2.40	2.40
Vitamin-mineral premix	5.65	5.65	5.65	5.65
Herb extract blend	-	0.05	0.15	0.25
Total	100.00	100.00	100.00	100.00

จากนั้นนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง ตรวจสอบความชื้นให้เหลือใกล้เคียง 10 เปอร์เซ็นต์ (Hien *et al*., 2022) นำมาผึ่งให้อาหารเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำอาหารกุ้งเม็ดมาบี้ให้แตกเป็นเกล็ดเล็ก ๆ ขนาดตามต้องการ จากนั้นบรรจุใส่ถุงพลาสติกเพื่อป้องกันความชื้นจากอากาศวิเคราะห์ค่าทางเคมี ความชื้น (AOAC (2019) 930.15) โปรตีน (AOAC (2019) 992.15) ไขมัน (AOCS (2017) AM 5-04) ไฟเบอร์ (AOCS (2017) Ba 6a-05) แคลเซียม (AOAC (2019) 985.01) และฟอสฟอรัส (AOAC (2019) 985.01)

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 5 ซ้ำ

T1: ชุดการทดลอง 1 อาหารกุ้งไม่เสริมสารสกัดสมุนไพรรวม (0 เปอร์เซ็นต์)

T2: ชุดการทดลอง 2 อาหารกุ้งเสริมสารสกัดสมุนไพรรวม 0.5 กรัม ต่อกิโลกรัม (0.05 เปอร์เซ็นต์)

T3: ชุดการทดลอง 3 อาหารกุ้งเสริมสารสกัดสมุนไพรรวม 1.5 กรัม ต่อกิโลกรัม (0.15 เปอร์เซ็นต์)

T4: ชุดการทดลอง 4 อาหารกุ้งเสริมสารสกัดสมุนไพรรวม 2.5 กรัม ต่อกิโลกรัม (0.25 เปอร์เซ็นต์)

สภาวะการทดลอง

คัดแยกกุ้งขาวแวนนาไม น้ำหนัก 1.50 ± 0.05 กรัม ลงในถังขนาด 0.50 ลูกบาศก์เมตร ที่มีปริมาณน้ำ 0.40 ลูกบาศก์เมตร ถังละ 30 ตัว (75 ตัวต่อลูกบาศก์เมตร) จำนวน 20 ถัง โดยกุ้งขาวแวนนาไมได้รับอาหารชนิดเม็ด ขนาด 1.50 มิลลิเมตร ที่มีสารสกัดสมุนไพรรวมของกระเทียม ออริกาโน และอาติโชค ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.05, 0.15 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ โดยให้อาหารที่อัตรา 5-6 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัว แบ่งการให้อาหารเป็น 4 มื้อ ตามช่วงเวลา 06.00, 10.00, 14.00, 18.00 น. (Hien *et al*., 2022) ระยะเวลา 28 วัน ในระหว่างการทดลองมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน วันละ 30 เปอร์เซ็นต์ของน้ำภายในถังทดลอง เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำให้มีค่า ออกซิเจนละลายในน้ำ >4 พีพีเอ็ม อุณหภูมิน้ำ 28-31 องศาเซลเซียส ความเค็ม 15-25 พีพีที ความเป็นกรด-ด่าง 7.4-8.2 แคลเซียม 200-300 พีพีเอ็ม แมกนีเซียม >300 พีพีเอ็ม โพแทสเซียม >120 พีพีเอ็ม ความกระด้าง >2,000 พีพีเอ็ม อัลคาไลน์ 140-180 พีพีเอ็ม ไนไตรท์ <0.10 พีพีเอ็ม แอมโมเนีย <0.30 พีพีเอ็ม

การศึกษาค่าการย่อยได้ของโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตในอาหารกุ้งขาวแวนนาไมที่เสริมสารสกัดสมุนไพรรวม ในห้องปฏิบัติการ (*in vitro* digestibility)

การสกัดเอนไซม์

สกัดเอนไซม์จากกุ้งขาว ที่มีน้ำหนักกุ้งเฉลี่ย 8-10 กรัมต่อตัว โดยเก็บรวบรวมระบบย่อยอาหารของกุ้งขาวส่วนของตับและลำไส้รวมกัน จากนั้นทำ

การปั่นละเอียดให้เป็นเนื้อเดียวกันบนถาดน้ำแข็ง ผสมกับสารละลาย Tris-HCL 50 mM pH 7.0 ผสมให้เข้ากันโดยใช้ micro-homogenizer (THP-220,OMNI International, USA) และทำการเหวี่ยงแยกให้ตกตะกอนแล้วนำส่วนที่ใสไว้ทำการทดลองต่อไป โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 ºC นำไปใช้ในการศึกษาการย่อยได้ในหลอดทดลอง

สภาวะการย่อยได้ในหลอดทดลองสำหรับการย่อยสารอาหาร

นำอาหารกุ้งที่ใช้ในการทดลองมาบดให้ละเอียด เพื่อศึกษาการย่อยได้ในหลอดทดลอง จากนั้นชั่งน้ำหนักตัวอย่างแล้วเติม phosphate buffer pH 8.0 เติมยาปฏิชีวนะเพื่อควบคุมจุลินทรีย์ แล้วนำส่วนผสมทั้งหมดผสมให้เข้ากันและบ่มเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 ºC แล้วนำสารละลายส่วนหนึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 ºC เพื่อเป็นชุดควบคุม (0 ชั่วโมง) และแบ่งสารละลายที่เหลือเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกไม่มีการเติมเอนไซม์จากกุ้งขาวบ่มเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ส่วนที่เหลือนำสารละลายมาเติมเอนไซม์ที่สกัดได้จากทางเดินอาหารกุ้งขาวบ่มเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 ºC เมื่อครบกำหนดเวลา นำไปปั่นเหวี่ยงแล้วเก็บส่วนใสมาประเมินการย่อยได้ของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีน

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนของอาหารกุ้งในหลอดทดลอง โดยวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนที่ถูกย่อยและปลดปล่อยจากอาหาร โดยวิธี ninhydrin assay โดยนำสารละลายทั้ง 3 ส่วนที่ปั่นเหวี่ยงแล้วมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย cd-ninhydrin แล้วบ่มที่ 84 ˚C จากนั้นทำให้เย็นในน้ำแข็งทันทีแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 507 นาโนเมตร คำนวณความเข้มข้นของกรดอะมิโนโดยใช้ tyrosine เป็นสารละลายมาตรฐาน ประสิทธิภาพในการย่อยได้ในหลอดทดลองของโปรตีนมีค่าเท่ากับปริมาณ tyrosine (กรัมต่อ100 กรัมตัวอย่าง)

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนโดยวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ถูกย่อยและละลายน้ำ (soluble protein; peptide) โดยวิธี biuret test โดยนำสารละลายทั้ง 3 ส่วนที่ปั่นเหวี่ยงแล้วมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย biuret แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 25 ºC แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร คำนวณความเข้มข้นของโปรตีนที่ละลายน้ำโดยใช้เซรั่มอัลบูมินเป็นสารละลายมาตรฐานประสิทธิภาพในการย่อยได้ของโปรตีนมีค่าเท่ากับ ปริมาณเซรั่มอัลบูมิน (กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง)

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรต

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตของอาหารกุ้งในหลอดทดลอง โดยวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วย 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) ตามวิธีการของ Bedford and Classen (1993) และ Miller (1959) โดยนำสารละลายทั้ง 3 ส่วนที่ปั่นเหวี่ยงแล้ว มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย DNS จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 25 ˚C หยุดปฏิกิริยาที่ 100 ˚C แล้วทำให้เย็นลงด้วยน้ำเย็นจัดวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานมอลโตสและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคสส่วนการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 480 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานไซโลสและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 590 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานแมนโนสปริมาณรวมของน้ำตาลที่วิเคราะห์ได้แสดงประสิทธิภาพย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตมีค่าเท่ากับปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง)

การศึกษาการเติบโต

ทำการบันทึกน้ำหนักกุ้งทุกชุดการทดลองทุก 14 วัน การให้อาหารในแต่ละมื้อให้จดบันทึกน้ำหนักอาหารที่ให้ในแต่ละถังในทุกชุดการทดลองจนสิ้นสุดการทดลองใน 28 วัน รวบรวมเป็นน้ำหนักรวมของแต่ละถัง

การศึกษาการเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม

เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 28 วัน ทำการบันทึกข้อมูลการเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม โดยศึกษาเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น การเติบโตจำเพาะ น้ำหนักเฉลี่ยต่อวัน อัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอด

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น; Percent weight gain, %PWG = 100 x (final weight – initial weight)/ initial weigh

น้ำหนักเฉลี่ยต่อวัน (Average daily gain); ADG (g/day) = (avg. final weight – avg. initial weight)/ number of days

การเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate); SGR (%/day) =100 x (ln final weight – ln initial weight)/ number of days

อัตราการแลกเนื้อ (Feed conversion ratio); FCR = feed intake / [final body weight (g) – initial body weight (g)]

อัตราการรอด (Survival rate); %SR = 100 x (final shrimp number / initial shrimp number)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติค่าเฉลี่ย

ผลการศึกษา นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) แบบทางเดียว (one way ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) และวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละชุดการทดลอง โดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธีของ Steel and Torrie (1980)

ผลการศึกษา

ผลของสมุนไพรวมต่อการย่อยได้ของอาหารในห้องปฏิบัติการ

อาหารกุ้งขาวแวนนาไมที่เสริมสมุนไพรรวมที่ระดับ 0, 0.05, 0.15 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ นำมาย่อยโดยใช้เอนไซม์จากทางเดินอาหารของกุ้งขาว ผลการศึกษาการย่อยได้ของโปรตีน (Table 2) พบว่า การเสริมสารสกัดสมุนไพรรวมในปริมาณ 0.05-0.25 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้การปลดปล่อยโปรตีนที่ละลายน้ำได้และการปล่อยกรดอะมิโนเพิ่มขึ้นไม่มากนักเมื่อเทียบกับอาหารที่ไม่เสริมสารสกัดสมุนไพรรวม ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) นอกจากนี้ การทดสอบการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตในอาหารกุ้งผสมสารสกัดสมุนไพรรวมในปริมาณ 0.05 - 0.25 เปอร์เซ็นต์ (Table 3) พบว่า การเสริมสารสกัดสมุนไพรรวมเพิ่มการปลดปล่อยน้ำตาลรีดิวซ์ มอลโตส กลูโคส และแมนโนส สูงขึ้นซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) และการปลดปล่อยไซโลสสูงขึ้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่มีส่วนผสมของสารสกัดจากสมุนไพรรวม

ผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม

การศึกษาการเสริมสารสกัดจากสมุนไพรรวมในระดับต่าง ๆ ในอาหารกุ้งเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 28 วัน ผลการศึกษาการเติบโตของกุ้ง พบว่าการเติบโตของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสารสกัดสมุนไพรรวมเมื่อเทียบกับกุ้งที่ได้รับอาหารควบคุมนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีสารสกัดสมุนไพรผสม 0.05, 0.15 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีการเติบโตดีกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารควบคุม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยพิจารณาจาก น้ำหนักสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเติบโตจำเพาะ อัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และอัตราการแลกเนื้อ จากการศึกษาเมื่อระดับการเสริมสมุนไพรรวมเพิ่มขึ้นกุ้งมีการเติบโตเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรรวมที่เพิ่มขึ้น (Table 4) โดยการใช้สารสกัดสมุนไพรรวมที่ความเข้มข้นของ

Table 2. In vitro digestibility of protein in shrimp feed supplemental herb extract blend

Treatments	Protein digestibility (g/100 g sample)	
	Amino acid	Soluble protein
Shrimp feed (SF) without herb extracts **(control)**	1.72±0.52	9.57±0.12
SF + herb extracts 0.05%	1.73±0.22	10.04±0.59
SF + herb extracts 0.15%	1.83±0.15	10.94±1.43
SF + herb extracts 0.25%	1.83±0.24	11.46±0.64
P-value	0.948^{ns}	0.088^{ns}

^{ns} Not significant

Table 3. In vitro digestibility of carbohydrate in shrimp feed supplemental herb extract blend

Treatments	Carbohydrate digestibility (g/100 g sample)				
	Total reducing sugar	Maltose	Xylose	Glucose	Mannose
SF without herb extracts (control)	17.23±1.43[b]	6.45±0.18[b]	4.24±0.72[b]	4.79±0.30[b]	1.75±0.29
SF + herb extracts 0.05%	26.00±1.23[a]	7.66±0.70[a]	8.43±0.48[a]	6.36±0.62[a]	3.55±0.4[a]
SF + herb extracts 0.15%	25.82±2.11[a]	7.70±0.06[a]	7.97±2.24[a]	6.36±0.04[a]	3.79±0.19[a]
SF + herb extracts 0.25%	26.12±1.10[a]	7.77±0.36[a]	8.07±1.56[a]	6.41±0.10[a]	3.87±0.25[a]
P-value	0.000	0.011	0.022	0.001	0.000

The average values with the letters [a, b] in the same column indicate a significant difference ($P<0.05$)

Table 4. Growth performance of white shrimp fed a blended of herbal extracts for 28 days

Growth performance	Treatments				*P*-value
	0% (Control)	0.05%	0.15%	0.25%	
Initial weight (g)	1.46±0.03	1.46±0.02	1.46±0.02	1.46±0.03	0.997[ns]
Final weight (g)	4.15±0.19[b]	4.68±0.29[a]	4.80±0.29[a]	4.91±0.34[a]	0.003
Percent weight gain (%)	184.56±14.75[b]	219.91±21.44[a]	228.05±17.11[a]	236.54±26.64[a]	0.005
Specific growth ratio (%•day^{-1})	3.73±0.19[b]	4.15±0.24[a]	4.24±0.19[a]	4.32±0.29[a]	0.004
Average daily gain (g•day^{-1})	0.10±0.01[b]	0.11±0.01[a]	0.12±0.01[a]	0.12±0.01[a]	0.004
Feed conversion ratio	1.51±0.07[a]	1.16±0.07[b]	1.14±0.05[b]	1.10±0.11[b]	0.000
Survival rate (%)	87.2±4.38	95.2±4.38	93.6±6.69	93.6±3.58	0.086[ns]

The average values with the letters [a, b] in the same row indicate a highly significant difference ($P<0.01$)

[ns] Not significant

0.05-0.25 เปอร์เซ็นต์ มีการเติบโตใกล้เคียงกัน ในส่วนของอัตรารอด เมื่อระดับการเสริมสารสกัดสมุนไพรรวมเพิ่มขึ้นพบว่า อัตราการรอดมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังนั้น การเสริมสารสกัดสมุนไพรรวมที่ระดับ 0.05% ถึง 0.25% มีผลให้ประสิทธิภาพการย่อยการใช้ประโยชน์อาหารดีขึ้นและกุ้งมีการเติบโตเพิ่มขึ้น

วิจารณ์ผลการทดลอง

กระเทียม ออริกาโน และอาติโชคเป็นสมุนไพรที่ใช้กันมานานหลายศตวรรษ โดยมีคุณสมบัติในการป้องกันรักษาโรคเป็นสำคัญ สมุนไพรทั้งสามชนิดนี้อุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด ซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพหลายประการ เช่น ต้านการอักเสบ ต้านจุลชีพ ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ในช่วงที่ผ่านมาผู้วิจัยในสาขาการเลี้ยงสัตว์มีความสนใจเพิ่มขึ้นในการใช้สารสกัดจากสมุนไพรในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ งานวิจัยจำนวนมากได้รายงานถึงประโยชน์ที่เป็นไปได้ของการใช้สารสกัดจากสมุนไพรเป็นสารเสริมอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำหลายชนิด เช่น กุ้งขาว ปลานิล ปลาดุก ปลายี่สก ปลาจีน เป็นต้น (Irianto *et al*., 2015; Kasornchandra *et al*., 2005; Mariappan *et al*., 2023; Shalaby *et al*., 2006) ซึ่งสาร

สกัดจากพืชสมุนไพรหลายชนิดมีสารประกอบที่ช่วยในการย่อยอาหาร โดยเพิ่มการหลั่งของเอนไซม์ในทางเดินอาหารและปรับปรุงการทำงานของระบบย่อยอาหารโดยรวม นอกจากนี้สารเหล่านี้ยังสามารถทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งช่วยปกป้องเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารจากความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ สามารถปรับปรุงประสิทธิภาพโดยรวมของการย่อยอาหาร (Majeed and Bhat, 2022)

สารสกัดสมุนไพรรวมที่ใช้ในการศึกษานี้ประกอบด้วยสารสกัดจากกระเทียม 15 เปอร์เซ็นต์ ออริกาโน 10 เปอร์เซ็นต์ และอาติโชค 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ทำหน้าที่ในการขจัดอนุมูลอิสระ รวมทั้งคุณสมบัติต้านจุลชีพในกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา เชื้อไวรัส และเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันในการเพิ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวปลดปล่อย cytokine ในกระบวนการ phagocytosis เพื่อทำลายเซลล์ก่อโรค (Kumar and Berwal, 1998; Kyo *et al*., 1998) สารสกัดกระเทียมจึงช่วยปรับปรุงการทำงานของระบบย่อยอาหารโดยเพิ่มการหลั่งของเอนไซม์ในทางเดินอาหาร กระตุ้นการผลิตน้ำดีและส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในลำไส้ที่มีประโยชน์ จึงมีผลให้การเติบโตสูงขึ้น (Nohara *et al*., 2013; Swiderski *et al*., 2007) ออริกาโนมีโพลีฟีนอลและฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบฟีนอล ช่วยกระตุ้นการหลั่งของเอนไซม์ย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหารนำไปสู่การย่อยอาหารและการดูดซึมสารอาหารที่ดีขึ้น อีกทั้งยังมีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ซึ่งช่วยลดอุบัติการณ์ของการติดเชื้อในทางเดินอาหารและช่วยลดความเครียดในกุ้ง ซึ่งส่งผลดีต่อการทำงานของระบบย่อยอาหารโดยรวม (Hou *et al*., 2022) คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของออริกาโนช่วยปกป้องเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารจากความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระช่วยลดผลกระทบที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ สามารถปรับปรุงการทำงานของเอนไซม์ให้ดีขึ้นได้ (Gutierrez-Grijalva *et al*., 2019) อาติโชคมีสารโพลีฟีนอลและฟลาโวนอยด์ในรูปไซนาริน กรดคลอโรเจนิก กรดแอฟโฟอิลควินิก ลูโธลิน เอพิเจนิน และเควอซิติน (Domínguez-Fernández *et al*., 2021) ช่วยการย่อยอาหารออกฤทธิ์กระตุ้นการผลิตน้ำดี ช่วยสลายและดูดซึมไขมันในอาหาร เพิ่มการหลั่งของเอนไซม์ในทางเดินอาหาร เช่น อะไมเลส ไลเปส และโปรตีเอส ช่วยย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน ตามลำดับ (Matuschowski *et al*., 2005) และสารสกัดจากอาติโชคมีสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระที่สูง แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการปกป้องโครงสร้างของเอนไซม์ย่อยอาหาร ลดการเสียสภาพของเอนไซม์ ส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ให้ออกฤทธิ์ได้นานขึ้น (Da Silva Carneiro *et al*., 2021; Carpentieri *et al*., 2022) สารสกัดสมุนไพรรวมในการศึกษาส่งเสริมการย่อยอาหารกุ้งขาวแวนนาไม ดังแสดงใน Table 2 และ 3 และส่งผลให้กุ้งเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ดังแสดงใน Table 4 อย่างไรก็ตามผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการย่อยอาหารในสัตว์น้ำแต่ละชนิดอาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสัตว์น้ำที่กำลังศึกษาและปริมาณของสารสกัดสมุนไพรที่ใช้ ซึ่งจำเป็นต้องมีการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อให้เข้าใจถึงประโยชน์ที่เป็นไปได้ของสารสกัดสมุนไพรต่อสุขภาพทางเดินอาหารในสัตว์น้ำแต่ละชนิด

ในส่วนของการเติบโตนั้น กระเทียม ออริกาโน และอาติโชคมีผลในการส่งเสริมการเติบโตของกุ้งขาว โดยสามารถเพิ่มความอยากอาหารและการย่อย ทำให้การใช้ประโยชน์จากอาหารดีขึ้นและการเติบโตเพิ่มขึ้น จากการปรับสมดุลระหว่างการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ทำให้เกิดอนุมูลอิสระที่ก่อให้เกิดความเครียด ส่งผลต่อการย่อยการใช้ประโยชน์สารอาหารและกดภูมิคุ้มกันโรคมีผลให้การเติบโตลดลง ความสามารถในการต้านทานและขจัดอนุมูลอิสระของสมุนไพรรวม จะช่วยลดความเครียดและลดผลกระทบที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ โดยที่กระเทียมมีสารอินทรีย์กลุ่มกำมะถัน เช่น อะลิซิน ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์สามารถกำจัดอนุมูลอิสระและลดความเครียดในกุ้ง ออริกาโนมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ จากสารประกอบฟีนอล เช่น คาร์วาครอลและไทมอล สารต้านอนุมูลอิสระสามารถช่วยจัดการกับความเครียดทางออกซิเดชันในกุ้ง ทำให้สุขภาพกุ้งดีขึ้น อาติโชคเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระ ซินาริน และกรดคลอโรเจนิก สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้

สามารถช่วยลดความเครียดทางออกซิเดชัน ส่งเสริมการเติบโตของกุ้งขาว นอกจากนี้สารสกัดสมุนไพรยังมีผลในการต้านจุลชีพ และเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน (Kumar and Berwal, 1998; Kyo *et al*., 1998) จึงส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันและควบคุมเชื้อก่อโรคในทางเดินอาหาร จึงมีผลให้การเติบโตของกุ้งเพิ่มขึ้น มีอัตราการแลกเนื้อดีขึ้นเมื่อกุ้งได้รับปริมาณอาหารที่เท่ากัน

ดังนั้นในการศึกษานี้ สมุนไพรรวมของกระเทียม ออริกาโน และอาติโชคในระดับต่าง ๆ กัน ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อย ทำให้การใช้ประโยชน์จากอาหารของกุ้งขาวดีขึ้นจึงส่งผลต่อการเติบโตดีขึ้น อีกทั้งสมุนไพรรวมที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านจุลชีพ ช่วยลดออกซิเดชั่น ลดความเครียด ส่งเสริมภูมิคุ้มกันโรคของกุ้ง และควบคุมเชื้อก่อโรค จึงส่งผลต่อสุขภาพกุ้งในภาพรวมให้ดีขึ้น ผลกระทบจากการติดเชื้อก่อโรคลดลง ส่งผลดีต่อผลผลิตกุ้งขาวแวนนาไมที่เพิ่มขึ้นช่วยลดความสูญเสียทางเศรษฐกิจที่เกิดจากปัญหาจากการระบาดของโรคกุ้ง

สรุป

การเสริมอาหารกุ้งด้วยสารสกัดสมุนไพรรวมที่มีส่วนผสมของกระเทียม 15 เปอร์เซ็นต์ ออริกาโน 10 เปอร์เซ็นต์ และอาติโชค 5 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีผลส่งเสริมการย่อยได้ของสารอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งผลต่อการย่อยคาร์โบไฮเดรตในอาหารกุ้ง ($P<0.05$) ทำให้การเติบโตและการใช้ประโยชน์อาหารของกุ้งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากห้องปฏิบัติการโภชนศาสตร์และอาหารสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และได้รับความร่วมมือ ช่วยเหลือในการดูแลสัตว์ทดลอง ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง การเก็บข้อมูล และการวิเคราะห์ตัวอย่างต่าง ๆ จากอาจารย์เจ้าหน้าที่ และนิสิตปริญญาโทและเอก ของห้องปฏิบัติการฯ ผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างยิ่ง ในการสนับสนุนทุนวิจัยและความอนุเคราะห์ต่าง ๆ ตลอดการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

AOAC, 2019. Official Methods of Analysis, 21st ed. Association of Official Analytical, In G. W. Latimer, Jr. (Ed.)

AOCS, 2017. Official Methods and Recommended Practices, 7th ed. The American Oil Chemists' Society, Crude fiber in feed by filter bag technique. Urbana, IL: Ba 6a-05.

AOCS, 2017. Official Methods and Recommended Practices, 7th ed. The American Oil Chemists' Society, Urbana, IL. Method Am 5-04.

Bedford, M.R. and H.L. Classen. 1993. An *in vitro* assay for prediction of broiler intestinal viscosity and growth when fed rye-based diets in the presence of exogenous enzymes. Poultry Science 72(1): 137-143.

Carpentieri, S., D. Larrea-Wachtendorff, F. Donsi and G. Ferrari. 2022. Functionalization of pasta through the incorporation of bioactive compounds from agri-food by-products: Fundamentals, opportunities, and drawbacks. Trends in Food Science & Technology 122: 49-65.

Da Silva Carneiro, C. L., C.E. de Assis, A.L.S. Modesto, J.F.R. Maciel, D.A.V. Campelo, R.K. Luz, J.A.S. Zuanon and A.L. Salaro. 2021. Oregano essential oil (*Origanum vulgare*) dietary supplementation improved growth performance, body protein retention and muscle hyperplasia of the Neotropical catfish *Lophiosilurus alexandri*. Aquaculture Nutrition 27(4): 1221-1231.

Department of Agriculture and Cooperatives, 2023, Statistics of marine shrimp culture, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Fisheries Statistics Group, Fisheries Development Policy and Planning Divison, No.7/2023: 43 p. (in Thai)

Dirsch, V.M., A.K. Kiemer, H. Wagner and A.M. Vollmar. 1998. Effect of allicin and ajoene, two compounds of garlic, on inducible nitric oxide synthase. . Atherosclerosis 139(2): 333 -339.

Domínguez-Fernández, M., Á. Irigoyen, M. de los Angeles Vargas-Alvarez, Ludwig, M.-P. De Peña and C. Cid. 2021. Influence of culinary process on free and bound (poly) phenolic compounds and antioxidant capacity of artichokes. International Journal of Gastronomy and Food Science, 25: 100389, doi:10.1016/j.ijgfs.2021.100389.

Ghosh, A. K., S.K. Panda and W. Luyten. 2021. Anti-vibrio and immune-enhancing activity of medicinal plants in shrimp: A comprehensive review. Fish & Shellfish Immunology 117: 192-210.

Guo, G., K. Li, Q. Zhu, C. Zhao, C. Li, Z. He, S. Hu and Y. Ren. 2022. Improvements of immune genes and intestinal microbiota composition of turbot (*Scophthalmus maximus*) with dietary oregano oil and probiotics. Aquaculture 547: 737442, doi : 10.1016/j. aquaculture.2021.737442 .

Gutierrez-Grijalva, E. P., M. Antunes-Ricardo, B.A. Acosta-Estrada, J.A. Gutierrez-Uribe, and J. Basilio Heredia. 2019. Cellular antioxidant activity and *in vitro* inhibition of alpha-glucosidase, a-amylase and pancreatic lipase of oregano polyphenols under simulated gastrointestinal digestion. Food Research International 116: 676-686.

Hamed, H. S., S.M. Ismal and C. Faggio. 2021. Effect of allicin on antioxidant defense system, and immune response after carbofuran exposure in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 240: 108919, doi: 10.1016/j. cbpc.2020.108919.

Hien, T. T. T., C.T. Tao, T.T.T. Hoa, T.G. Huynh, T.L.C. Tu, T.N. Hai, D.H. Nguyen, S.H. Kim, J.W. Song, H.T. Nhan and P.M. Duc. 2022. Effects of dietary supplementation with Pro-A on growth performance, feed utilization, immune responses, and intestinal microbiota of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture Reports 24: 101125, doi: 10.1016/j.aqrep.2022.101125

Hou, T., S.S. Sana, H. Li, Y. Xing, A. Nanda, V.R. Netala and Z. Zhang. 2022. Essential oils and its antibacterial, antifungal and anti-oxidant activity applications: A review. Food Bioscience 47: 101716, doi: 10.1016/j.fbio. 2022.101716

Irianto, A., S. Nuryati, E.H. Purnawan, S.B. Prayitno and W. Suwinarti. 2015. Garlic (*Allium sativum*) feeding enhances immune responses and disease resistance of catfish (*Clarias gariepinus*). Journal of Aquatic Animal Health 27(1): 37-44.

Kasornchandra, J., W. Chutchawanchaipan, M. Thavornyutikarn and J. Puangkaew. 2005. Application of garlic (*Allium sativum*) as an alternate therapeutic for marine shrimp. pp. 114-119. *In*: Proceedings of the JSPS-NRCT International Symposium: Productivity Techniques and Effective Utilization of Aquatic Animal Resources into the New Century. Kasetsart university, Bangkok.

Kumar, M. and J.S. Berwal. 1998. Sensitivity of food pathogens to garlic (*Allium sativum*). Journal of Applied Microbiology 84(2): 213-215.

Kyo, E., N. Uda, A. Suzuki, M. Kakimoto, M. Ushijima, S. Kasuga and Y. Itakura. 1998. Immunomodulation and antitumor activities of aged garlic extract Phytomedicine 5(4): 259-267.

Majeed, T. and N.A. Bhat. 2022. Health benefits of plant extracts. pp. 269-294. *In*: S.A. Mir, A. Manickavasagan and M.A. Shah (eds.). Plant Extracts: Applications in the Food Industry. Academic Press, London.

Mariappan, B., V. Kaliyamurthi and A. Binesh. 2023. Medicinal plants or plant derived compounds used in aquaculture. pp. 153-207. *In*: J. Mathew, M.S. Jose, E.K. Radhakrishnan and A. Kumar (eds.). Recent Advances in Aquaculture Microbial Technology. Academic Press, London.

Matuschowski, P., A. Nahrstedt and H. Winterhoff. 2005. Pharmacological study of the choleretic efficacy of fresh plant extract from *Cynara scolymus*. Zeitschrift für Phytotherapie 26(5): 216-221.

Miller, G.L.1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry 31(3): 426-428.

Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2022, Regulation on the standardization of agricultural products: Good Aquaculture Practices for shrimp in accordance with the Agricultural Product Standards Act of 2008, Royal Gazette, Announces the Ministry of Agriculture and Cooperatives, June 6, 2022: 9 p. (in Thai)

Nohara, T., Y. Fujiwara, T. Ikeda, K. Murakami, M. Ono, D. Nakano and J. Kinjo. 2013. Cyclic sulfoxides garlicnins B_2, B_3, B_4, C_2, and C_3 from *Allium sativum*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 61(7): 695-699.

Oreopoulou, A., G. Goussias, D. Tsimogiannis and V. Oreopoulou. 2020. Hydro-alcoholic extraction kinetics of phenolics from oregano: Optimization of the extraction parameters. Food and Bioproducts Processing, 123, 378-389.

Rezaei, O., M.S. Mehrgan and H. Paknejad. 2022. Dietary garlic (*Allium sativum*) powder improved zootechnical performance, digestive enzymes activity, and innate immunity in narrow-clawed crayfish (*Postantacus leptodactylus*). Aquaculture Reports, 24: 101129, doi: 10.1016/j.aqrep.2022.101129.

Sathish Kumar, T., P. Ezhil Praveena, M. Makesh, M. Poornima and K.P. Jithendran. 2022. Artificial germination of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) spores induced by ions under the scanning electron microscope. Journal of Invertebrate Pathology 194: 107820. doi: 10.1016/j.jip.2022.107820.

Shalaby, A. M., Y. A. Khattab and A.M. Abdel Rahman. 2006. Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases 12(2): 172-201.

Steel, R. G. D. and J.H. Torrie. 1980. Principles and Procedures of Statistics: A Biometric Approach. 2nd ed. McGraw-Hill Book Company, New York.

Swiderski, F., M. Dabrowska, A. Rusaczonek and B. Waszkiewicz-Robak. 2007. Bioactive substances of garlic and their role in dietoprophylaxis and dietotherapy. Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny 58(1): 41-46.