รหัสโครงการ SUT-303-56-12-27

รายงานการวิจัย

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอินูลินจากหัวแก่นตะวันและชิโครี่เพื่อใช้เป็นพรีไบโอติคในอาหารปลานิลวัยอ่อน

(A comparative study of enhancing the utilization of inulin from Kaentawan or chicory roots as prebiotics in diet of Nile tilapia larvae)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT-303-56-12-27

รายงานการวิจัย

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอินูลินจากหัวแก่นตะวันและชิโครี่เพื่อใช้เป็นพรีไบโอติคในอาหารปลานิลวัยอ่อน

(A comparative study of enhancing the utilization of inulin from Kaentawan or chicory roots as prebiotics in diet of Nile tilapia larvae)

คณะผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. สุรินทร บุญอนันธนสาร

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

ธันวาคม 2558

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ นายณัฐนันท์ เที่ยงธรรม นักศึกษาปริญญาเอก นางสาวศุภมาศ ถนอมมัน นางสาวอารยา แจ้งไพร นางสาวธาราทิพย์ พิทักษ์สงค์ นายสุขสันต์ ขำคง นักศึกษาปริญญาโท ที่ได้ช่วยดำเนินการวิจัยนี้จนสำเร็จลุล่วง

ผู้วิจัยขอขอบคุณ นายสุนัย พลายมี หัวหน้างานสัตว์น้ำ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี รวมทั้งบุคลกรฝ่ายสนับสนุนทุกท่าน ที่ได้ให้การช่วยเหลือ ให้คำแนะนำต่าง ๆ จนทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ผู้วิจัยขอขอบคุณนางสาวศิริวรรณ เพชรสมบัติ หัวหน้างานกลุ่มห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ และนายมานะ ชาญเวช พนักงานวิทยาศาสตร์ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ ที่ได้ให้การช่วยเหลือ และคำแนะนำต่าง ๆ ในการทำงานวิจัยนี้ ท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณคณาจารย์ บุคลากรและนักศึกษา ของสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ที่ได้ให้การช่วยเหลือ คำแนะนำ และการสนับสนุนในทุก ๆ ด้าน ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่สนับสนุนการวิจัยในโครงการนี้

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้ทำการทดสอบการใช้อินูลินจากชิโครี่และแก่นตะวันเป็นสารเสริมพรีไบโอติกส์ในอาหารปลานิลในระยะการแปลงเพศปลา และการอนุบาลลูกปลานิลต่อจนถึงระยะวัยรุ่น การทดลองนี้มีกลุ่มทดลอง 5 กลุ่ม (แต่ละกลุ่มทดลองมีจำนวนซ้ำ 4 ซ้ำ) ประกอบไปด้วย กลุ่มทดลองที่ได้รับอาหารที่ไม่มีการเสริมพรีไบโอติก (กลุ่มควบคุม), อาหารที่มีการเสริมอินูลินที่ระดับ 2.5 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และอาหารที่มีการเสริมแก่นตะวันที่ระดับ 5 และ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร การอนุบาลลูกปลานิลแปลงเพศทำโดยเลี้ยงลูกปลานิลวัยอ่อนในกระชังที่อยู่ในบ่อดิน ด้วยอาหารตามกลุ่มทดลองที่มีการเสริมฮอร์โมน 17α-methyltestosterone เป็นระยะเวลา 28 วัน ผลการทดลองพบว่าการเสริมอินูลินไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) อัตราการอด จุลสัณฐานของลำไส้ และประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา ถึงแม้ว่าการเสริมผงแก่นตะวันจะไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต FCR อัตราการอด จุลสัณฐานของลำไส้ แต่ทว่าการเสริมผงแก่นตะวันส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ โดยที่การเสริมผงแก่นตะวันเพิ่มจุลินทรีย์ในกลุ่ม lactic acid bacteria และ *Bifidobacteria* แต่ลด *Vibrio* ยีสต์ และรา หลังจากการแปลงเพศปลา ลูกปลาได้นำมาเลี้ยงด้วยอาหารทดลองต่ออีก 54 วันจนถึงระยะวัยรุ่น การเสริมอินูลินที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารและการเสริมแก่นตะวันที่ระดับ 5 และ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ส่งผลต่อการพัฒนาการเจริญเติบโตและ FCR พบว่าปลาทุกกลุ่มทดลองมีอัตราการรอดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ ค่าความชื้นโปรตีน ไขมัน และเถ้าของปลาทุกกลุ่มทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน (P>0.05) การเสริมอินูลินและการเสริมแก่นตะวันในอาหารทำให้ปลามีค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงสูงขึ้น (P<0.05) แต่ไม่มีผลต่อค่าฮีโมโกลบินและค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (P>0.05) จากการวิเคราะห์ค่าเคมีในเลือด 14 ค่า พบว่าการเสริมอินูลินและการเสริมแก่นตะวันทำให้ค่าโปรตีน และแมกนีเซียมในเลือดสูงขึ้น(P<0.05) การเสริมผงแก่นตะวันทำให้เลือดมีค่าแคลเซียมและเหล็กสูงขึ้น อย่างไรก็ตามการเสริมอินูลินและแก่นตะวันไม่มีผลต่อ กลูโคส คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ อัลบูมิน ยูเรียในเลือด ค่าบิลิรูบิน ค่าดัชนีตับ SGOT และ SGPT และคลอไรด์ในเลือด (P>0.05) การเสริมอินูลินและการเสริมแก่นตะวันทำให้ปริมาณอิมมูโนโกลบูลินรวม ค่าการทำงานของไลโซไซม์ และค่า alternative complement haemolytic 50 เพิ่มสูงขึ้น (P<0.05) การเสริมอินูลินและการเสริมแก่นตะวันทำให้ลำไส้มีวิลไลสูงขึ้นและมีจำนวนเซลล์โกเบล็ทสูงขึ้น (P<0.05) และส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา การเสริมพรีไบโอติกอินูลินและแก่นตะวันทำให้จำนวน lactic acid bacteria และ *Bifidobacteria* สูงขึ้น แต่มี *Vibrio* และ ยีสต์และราลดลง จากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่าการเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และการเสริมแก่นตะวันในอาหารที่ระดับ 5 – 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

ส่งผลดีต่อการพัฒนาเจริญเติบโต สุขภาพปลานิล และเพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ปลานิล ในการผลิตพันธุ์ปลานิลจนถึงระยะวัยรุ่น

Abstract

This study evaluated the prebiotic effects of dietary inulin from chicory root and Jerusalem artichoke tuber (JA) on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during sex reversal process and juvenile stage. Five dietary treatments (each diet in four replicates) were designed to incorporate inulin at 0 (control), 2.5, and 5 g kg^{-1} and JA at 5 and 10 g kg^{-1}. During sex reversal process, fish larvae were reared in cages which were located in earthen pond. Experimental diets which were incorporated with 17α-methyltestosterone were fed to larvae for 28 weeks. Dietary inulin had no effects on growth, FCR, survival rate and intestinal villi height and microbiota. Although dietary JA had no effect on growth, FCR, survival rate and intestinal villi height, it altered intestinal microbiota. Dietary JA increased lactic acid bacteria and *Bifidobacteria* whereas it decreased *Vibrio* and yeast and fungi. In addition, dietary both prebiotic had no effects on sex reversal efficiency. After sex reversal process, fish larvae were continued to grow to reach juvenile stage for 54 days. Dietary inulin at 5 g kg^{-1} and JA at 5 and 10 g kg^{-1} improve growth and FCR of juvenile fish. There were not significant differences in survival rates among experimental diets ($P>0.05$). The body chemical composition including moisture, protein, lipid and ash of fish in all groups appeared to be similar ($P>0.05$). Dietary inulin and JA increased red blood cell number ($P<0.05$), but they had no effects on hemoglobin and hematocrit ($P>0.05$). Among the fourteen blood chemicals examined, dietary inulin or JA led to increase total protein and magnesium in blood ($P<0.05$). Dietary JA increased blood calcium and iron ($P<0.05$). However, dietary neither inulin nor JA affected glucose, cholesterol, triglyceride, albumin, blood urea nitrogen, total bilirubin, serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT), serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) and chloride ($P>0.05$). Dietary inulin or JA improved total immunoglobulin content, lysozyme activity and alternative complement haemolytic 50 (ACH50) activity ($P<0.05$). Dietary inulin or JA increased the height of intestinal villi and goblet cell number ($P<0.05$). Inulin or JA supplementation modulated the population of intestinal microbiota. Supplementation of either inulin or JA increased intestinal lactic acid bacteria and *Bifidobacteria* and decrease *Vibrio* and yeast and fungi number. Taken together, dietary inulin or JA at 5 g kg^{-1} had positive effects on growth, health and intestinal bacteria in juvenile Nile tilapia production.

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ ..... ก
บทคัดย่อ ..... ข
Abstract ..... ง
สารบัญ ..... จ
สารบัญตาราง ..... ฉ
สารบัญภาพ ..... ช
บทที่ 1 บทนำ
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย 1
การตรวจเอกสารทางวิชาการ 4
วัตถุประสงค์ของการวิจัย 11
ขอบเขตของการวิจัย 11
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย 12
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย 13
บทที่ 3 ผลการวิจัย
3.1 ผลการศึกษา 30
3.2 อภิปรายผลการศึกษา 45
บทที่ 4 บทสรุป
สรุปผลการวิจัย 53
ข้อเสนอแนะ 54
บรรณานุกรม 55
ประวัติผู้วิจัย 62

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1.1 ประเทศที่มีผลผลิตปลานิล Nile tilapia 10 อันดับแรกของโลก 6
ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ของหัวแก่นตะวัน (JA) 13
ตารางที่ 2.2 กลุ่มทดลองที่ใช้ในการศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติกใน
ระยะการแปลงเพศปลานิล..... 14
ตารางที่ 2.3 ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการวิเคราะห์ชนิดจุลินทรีย์..... 16
ตารางที่ 2.4 กลุ่มทดลองที่ใช้ในการศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติกใน
การอนุบาลปลานิลจนถึงระยะวัยรุ่น..... 18
ตารางที่ 2.5 ส่วนผสมและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลอง..... 20
ตารางที่ 3.1 สมรรถนะการเจริญเติบโตของปลานิลวัยอ่อนระยะแปลงเพศที่เลี้ยง
ด้วยอาหารที่เสริมอินูลินและผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 28 วัน 32
ตารางที่ 3.2 ค่าความยาวของวิลไลในลำไส้ส่วนต่าง ๆ ของปลานิลวัยอ่อนระยะแปลงเพศ
ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลินและผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 28 วัน 33
ตารางที่ 3.3 ประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลานิลวัยอ่อนระยะแปลงเพศ (log CFU g^{-1})
ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลินและผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 28 วัน..... 34
ตารางที่ 3.4 สมรรถนะการเจริญเติบโตของปลานิลวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหาร
ที่เสริมอินูลินและผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 54 วัน..... 36
ตารางที่ 3.5 ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหาร
ที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 54 วัน..... 37
ตารางที่ 3.6 ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน
และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 54 วัน..... 38
ตารางที่ 3.7 ค่าชีวเคมีของโลหิตของปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน
และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 54 วัน..... 40
ตารางที่ 3.8 ค่าภูมิคุ้มกันวิทยาแบบไม่จำเพาะของปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหาร
ที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 54 วัน..... 41
ตารางที่ 3.9 ค่าความยาวของวิลไล และจำนวนกอบเลท เซลล์ในลำไส้ส่วนต่าง ๆ
ของปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน
และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 54 วัน..... 43

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 3.10 ปริมาณประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลานิลวัยรุ่น (log CFU g^{-1}) ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 54 วัน 36

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1.1 ผลผลิตของปลานิลจากการเพาะเลี้ยง..... 5
ภาพที่ 1.2 แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke)..... 8
ภาพที่ 1.3 โครงสร้างโมเลกุลของอินูลิน (Inulin)..... 9
ภาพที่ 1.4 โครงสร้างโมเลกุลของฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์
(Fructooligosaccharide; FOS) 9
ภาพที่ 2.1 ช่อง Hemocytometer chamber ที่ใช้นับจำนวนเม็ดเลือดแดง..... 22

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เป็นปลาที่มีการเพาะเลี้ยงเพื่อการบริโภคภายในประเทศ และเป็นปลาน้ำจืดที่มีการส่งออกขายต่างประเทศ มีมูลค่าการผลิตและการส่งออกสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับปลาน้ำจืดชนิดอื่น ๆ ในปัจจุบัน โดยส่วนใหญ่ผลผลิตปลานิลจะได้จากการเพาะเลี้ยงแบบปราณีต (intensive aquaculture system) คือมีการเลี้ยงปลาด้วยความหนาแน่นสูงและมีการให้อาหารสำเร็จรูป (practical diet) อย่างเต็มที่ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาการผลิตอาหารปลานิลทางการค้า (commercial diet) ให้มีคุณค่าทางโภชนาการที่ดี ครบถ้วน เพื่อให้ปลานิลเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว สามารถเลี้ยงปลานิลและเก็บเกี่ยวผลได้ในระยะเวลาอันสั้น ส่งผลให้อุตสาหกรรมการผลิตอาหารปลานิลเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ผลผลิตปลานิลจากการเพาะเลี้ยงเพิ่มสูงขึ้น การวิจัยและพัฒนาการผลิตปลานิลในประเทศไทยได้มีการดำเนินการมาอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ปลานิลมีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว แข็งแรง และมีสุขภาพดี ต้านทานโรคได้ดี ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นทั้งการวิจัยและพัฒนาในด้านต่าง ๆ เช่น การปรับปรุงพันธุ์ปลา การพัฒนาทางด้านอาหารปลา เพื่อหาวัตถุดิบทางเลือกที่มีคุณภาพดี และทำให้อาหารปลานิลมีต้นทุนต่ำลง เช่น การศึกษาวิจัยเพื่อนำเอาพืชและธัญพืชต่าง ๆ มาทดสอบการใช้ในการประกอบสูตรอาหารปลานิล โดยมีการศึกษาหาแหล่งวัตถุดิบอาหารทางเลือกที่มาเป็นแหล่งโปรตีน แหล่งพลังงานทั้งแหล่งไขมันและคาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้การศึกษาแหล่งของสารเสริม (feed additives) ในอาหารปลาก็เป็นอีกทางหนึ่งในการวิจัยและพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารปลา เนื่องจากสารเสริมในอาหารส่วนใหญ่จะเป็นการนำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้นถ้ามีการศึกษาวิจัยเพื่อหาแหล่งของสารเสริมอาหารในประเทศได้ จะเป็นอีกทางหนึ่งที่จะพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารปลานิลแบบพึ่งพาตนเองในประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสถานการณ์ปัจจุบันที่มีการห้ามใช้ยาปฏิชีวนะหลายชนิด หรือการใช้ยาปฏิชีวนะมีข้อจำกัดมาก ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์ และผลผลิตในการเลี้ยงสัตว์มาก การวิจัยและพัฒนาเพื่อหาสารเสริมในอาหาร ที่น่าจะมีศักยภาพที่จะใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะได้ ได้รับความสนใจในการศึกษาอย่างมาก

สารเสริมในอาหาร (feed additives) เป็นสารอาหารที่สำคัญในการผลิตอาหารปลาสำหรับระบบการเลี้ยงปลาแบบปราณีต เนื่องจากในระบบการเลี้ยงปลาแบบเข้มข้นจะเป็นการเลี้ยงปลาด้วยความหนาแน่นสูง ปลาจะได้รับอาหารสมทบเป็นหลัก และได้รับประโยชน์จากอาหารธรรมชาติน้อย ทำให้ปลาอาจได้แร่ธาตุและวิตามินในอาหารได้ไม่ครบถ้วน ดังนั้นการพัฒนาสารเสริมในอาหารปลาจึงมีความจำเป็นในการเพาะเลี้ยงปลานิลซึ่งส่วนใหญ่เป็นระบบการเลี้ยงในเชิงธุรกิจ สารเสริมในอาหารชนิดพรีไบโอติก (prebiotic) เป็นสารเสริมอีกชนิดหนึ่งที่มักใช้ในอาหารปลา โดยพรีไบโอติกที่เสริมใน

อาหารปลาจะช่วยเสริมการเจริญเติบโตของโปรไบโอติก หรือจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อปลา ส่งผลให้ปลามีประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหารได้ดีขึ้น มีสมรรถนะการเจริญเติบโตสูงขึ้น นอกจากนี้ช่วยเสริมสุขภาพปลาให้มีภูมิคุ้มกันสูงขึ้นด้วย

พรีไบโอติก (Prebiotic) เป็นสารประกอบพวกโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharide) ซึ่งเป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยไม่ได้โดยเอ็นไซม์ของสัตว์ แต่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์โดยการช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตและการทำงานของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในบริเวณลำไส้ใหญ่ (Pool-Zobel et al., 2002; Roberfroid, 2002; Flickinger et al., 2003) ซึ่งเป็นการช่วยส่งเสริมสุขภาพของเจ้าบ้าน (Gibson and Roberfroid, 1995) อินูลิน (Inulin) เป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทโพลีแซคคาร์ไรด์ (Polysaccharide) ชนิดหนึ่งในกลุ่มฟรุกแตน (Fructan) ซึ่งเป็นหนึ่งในพรีไบโอติกที่นิยมใช้ในอาหารสำหรับสัตว์น้ำและสัตว์บก มีผลต่อการพัฒนาสมรรถนะการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำหลายชนิด และมีผลต่อการพัฒนาภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำ อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยในสัตว์น้ำหลายชนิดก็ได้รายงานว่าไม่มีผลต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตและเสริมสร้างภูมิคุ้มกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (He et al., 2002; Mahious et al., 2006a; Reza et al., 2009; Ibrahem et al., 2010; Mourino et al., 2012; Nabizadeh, 2012; Ortiz et al., 2013) ดังนั้นการศึกษาวิจัยการใช้พรีไบโอติกชนิดอินูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์จึงยังต้องการการศึกษาในสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ เพื่อให้ทราบถึงผลของการนำไปใช้ได้จริงและวิธีการใช้ที่ถูกต้องต่อไป

สารเสริมในอาหารชนิดที่เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากพืช หรือที่เรียกว่า phytogenic feed additives ได้รับความสนใจในการศึกษาวิจัย เพื่อที่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ สารเสริมในอาหารที่ได้จากพืช เป็นผลิตภัณฑ์ที่สกัดได้จาก ใบพืช หรือสมุนไพรต่าง ๆ เมล็ดพืช ราก เป็นต้น พรีไบโอติกส่วนใหญ่มักเป็นผลิตภัณฑ์ในกลุ่ม phytogenic compounds ปัจจุบันได้มีการผลิตอินูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ออกมาจำหน่ายเชิงการค้า ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการนำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้นถ้ามีการศึกษาหาแหล่งของอินูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ภายในประเทศได้ น่าจะนำไปสู่การผลิตอาหารปลาที่มีต้นทุนต่ำ และเพื่อให้เป็นอุตสาหกรรมแบบพึ่งพาตนเองภายในประเทศได้

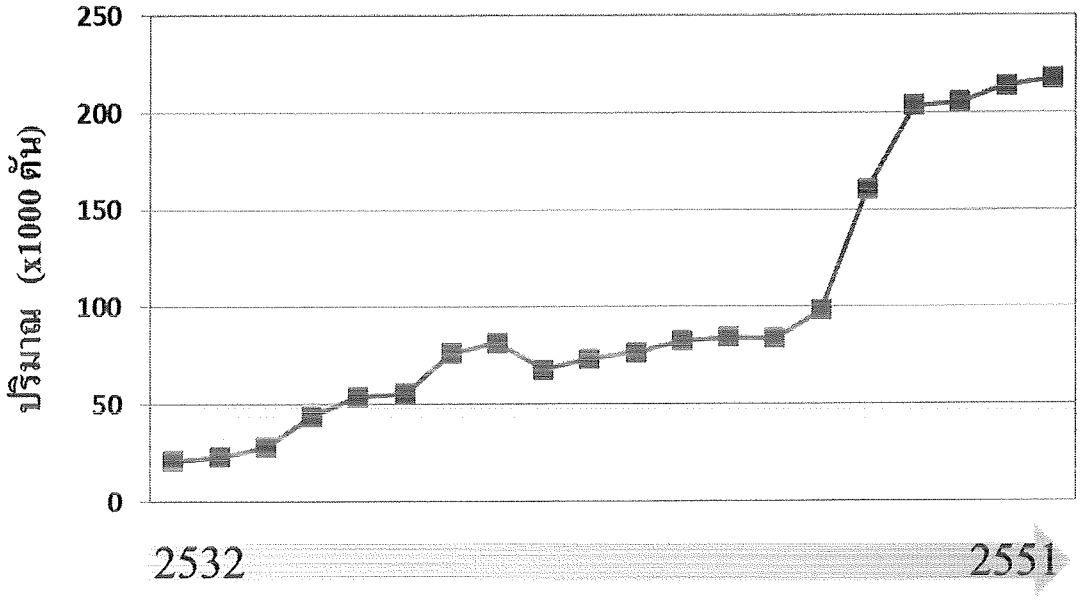
แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke) เป็นพืชหัวใต้ดินคล้ายมันฝรั่ง มีถิ่นกำเนิดมาจากทวีปอเมริกาเหนือ (Rogers et al., 1982; Kays and Nottingham, 2007) สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปีในพื้นที่เขตร้อน ในประเทศไทยแก่นตะวันสามารถเก็บผลผลิตได้ในช่วงอายุ 100 – 140 วัน และให้ผลผลิตสูงประมาณ 2 – 3 ตันต่อไร่ หัวของแก่นตะวัน ประกอบด้วยอินูลินประมาณ 160 – 200 กรัมต่อกิโลกรัม และฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (Fructooligosaccharide; FOS) 120 – 150 กรัมต่อกิโลกรัม (Moshfegh et al., 1999) ดังนั้นจึงเป็นแหล่งของพรีไบโอติกที่อุดมไปด้วยอินูลิน ถึงแม้ว่าการเลี้ยงปลานิลและการเพาะปลูกแก่นตะวันสามารถเกิดขึ้นร่วมกันได้ในเขตร้อน แต่การศึกษาถึงศักยภาพการใช้แก่นตะวันเป็นพรีไบโอติกโดยตรงในอาหารสัตว์น้ำยังไม่มีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย

ในการศึกษาครั้งนี้ จึงเป็นการศึกษาถึงผลของการเสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันในอาหารปลานิลวัยอ่อน เพื่อการอนุบาลลูกปลานิลวัยอ่อนจนถึงระยะวัยรุ่น เพื่อเป็นการศึกษาถึงศักยภาพในการใช้แก่นตะวันเป็นสารเสริมในอาหารปลาวัยอ่อน โดยตรงโดยไม่ต้องทำการสกัดสารพรีไบโอติกจากแก่นตะวัน โดยศึกษาถึงผลของการใช้อินูลินและแก่นตะวันต่อต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีของลูกปลาวัยอ่อน ปริมาณจุลินทรีย์ในลำไส้ และค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่บ่งบอกถึงสุขภาพปลาวัยอ่อน เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการที่จะพัฒนาในการใช้แก่นตะวันเป็นสารเสริมพรีไบโอติกในการผลิตลูกพันธุ์ปลานิลแปลงเพศในเชิงธุรกิจต่อไป

การตรวจเอกสารวิชาการ

ปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) เป็นปลาน้ำจืดที่มีการเลี้ยงอยู่ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ ไทย และมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจโดยเป็นปลาที่มีผลผลิตเป็นอันดับหนึ่งของไทย (ภาพที่ 1.1 และ ตารางที่ 1.1) ดังจะเห็นได้จากสถิติผลผลิตของการเพาะเลี้ยงปลานิลปี 2552 มีปริมาณ 258,500 ตัน คิดเป็นมูลค่า 9881.5 ล้านบาท (ส่วนเศรษฐกิจการประมง, 2553) เนื่องจากปลานิลเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย และเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว สามารถกินอาหารได้หลากหลาย ดำรงชีวิตอยู่ได้ทั้งในน้ำจืดและน้ำกร่อย อีกทั้งยังเป็นปลาที่มีรสชาติดี สามารถนำมาประกอบอาหารได้หลายประเภท จึงได้มีการเพิ่มการผลิตการเพาะเลี้ยงปลานิลเพื่อให้ได้ผลผลิตเพิ่มมากขึ้นเพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค การผลิตปลานิลในปัจจุบันใช้วัตถุดิบอาหารหลักจากในประเทศ แต่ก็มีการใช้สารเสริมในอาหาร (feed additives) ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ นำมาเสริมในอาหารเพื่อทำให้ปลานิลมีสุขภาพแข็งแรงขึ้น สามารถทนทานต่อการเป็นโรคได้มากขึ้น ส่งผลให้ราคาต้นทุนอาหารของปลานิลสูงขึ้น และยังนำไปสู่การทำให้ราคาต้นทุนการผลิตปลานิลเพื่อการส่งออกสูงขึ้น ซึ่งทำให้เกิดข้อจำกัดในการแข่งขันการผลิตปลานิลเพื่อการส่งออกกับประเทศเพื่อนบ้าน ที่มีต้นทุนการผลิตปลานิลที่ต่ำกว่าประเทศไทย ดังนั้นการวิจัยเพื่อหาผลผลิตหรือพืชที่สามารถปลูกในประเทศมาใช้เป็นสารเสริมในอาหาร เพื่อลดการนำเข้าสารเสริม และลดต้นทุนการผลิตจึงเป็นหัวข้อการวิจัยที่มีความสำคัญและมีความจำเป็นอย่างยิ่ง

ปัญหาหนึ่งของการเลี้ยงปลานิลในปัจจุบันนี้คือการเกิดโรคระบาดในปลานิล ได้มีรายงานเกี่ยวกับการเกิดโรคระบาดในปลานิลมากขึ้น โดยเฉพาะในช่วงฤดูกาลที่คุณภาพน้ำมีความแปรปรวนสูง ก่อให้เกิดการใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารปลานิลเพื่อป้องกันและรักษาโรคมากขึ้น ดังนั้นการศึกษาวิจัยในปลานิลในปัจจุบัน จึงเน้นไปด้านการป้องกันโรคในปลานิล การพัฒนาการใช้สารเสริมในอาหารที่มีผลต่อการเพิ่มภูมิต้านทานโรคให้กับปลานิลเป็นแนวทางหนึ่งที่น่าจะนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงปลานิลเชิงการค้า โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าสารเสริมนั้นมีคุณสมบัติในการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารปลาให้ดีขึ้นได้ด้วย ก็จะเป็นการพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแบบปลอดภัยและยั่งยืน



ภาพที่ 1.1 ผลผลิตของปลานิลจากการเพาะเลี้ยง

ที่มา: www.fisheries.go.th/it-stat/yearbook/data_2551/menu.2551.htm

ตารางที่ 1.1 ประเทศที่มีผลผลิตปลานิล Nile tilapia 10 อันดับแรกของโลก

หน่วย : 1,000 ตัน

ประเทศ	ปี พ.ศ.					อัตราการขยายตัวต่อปี (%)
	2544	2545	2546	2547	2548	
จีน	671.7	706.6	805.8	897.3	978.1	10.41
อียิปต์	128.8	138.4	166.3	176.9	206.6	12.64
อินโดนีเซีย	105.1	109.8	123.7	139.0	189.6	15.21
ฟิลิปปินส์	106.7	122.4	130.0	145.9	163.0	10.77
ไทย	84.5	83.8	98.3	160.2	109.7	12.41
ไต้หวัน	82.8	85.0	85.3	89.3	83.4	0.64
บราซิล	35.8	42.0	62.5	69.1	67.8	19.42
มาเลเซีย	16.2	20.7	22.5	25.6	28.6	14.44
ลาว	22.5	26.9	29.2	29.2	19.6	-1.92
อื่น ๆ	132.17	154.97	160.04	167.4	179.16	
รวมทั้งหมด	1,386.27	1,490.57	1,683.64	1,899.00	2,025.56	10.52

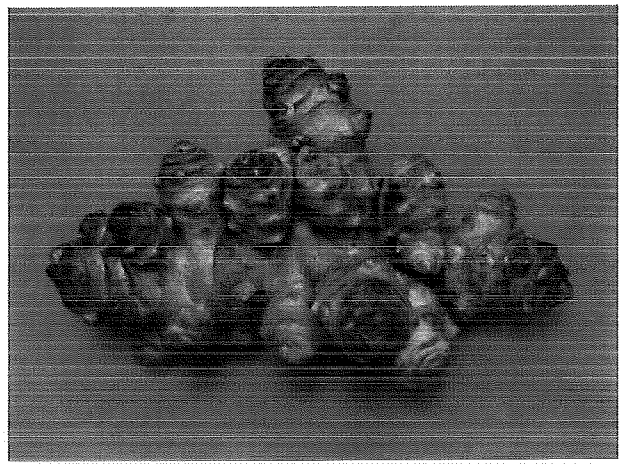
ที่มา : สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร (2552)

พรีไบโอติก (Prebiotic) เป็นสารประกอบพวกโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharide) ซึ่งเป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยไม่ได้โดยเอ็นไซม์ของสัตว์ แต่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์โดยการช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตและการทำงานของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในบริเวณลำไส้ใหญ่ ซึ่งเป็นการช่วยส่งเสริมสุขภาพของเจ้าบ้าน (Gibson and Roberfroid, 1995) พรีไบโอติกจัดเป็นผลิตภัณฑ์อาหารชนิดหนึ่งเพื่อสุขภาพ หรือจัดเป็น functional food ชนิดหนึ่ง อินูลิน (Inulin) เป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทโพลีแซคคาร์ไรด์ (Polysaccharide) ชนิดหนึ่งในกลุ่มฟรุกแตน (Fructan) ซึ่งเป็นหนึ่งในพรีไบโอติกที่นิยมใช้ในอาหารสำหรับสัตว์น้ำและสัตว์บก โครงสร้างของอินูลิน ประกอบด้วย ฟรุกโตส (Fructose) และกลูโคส (Glucose) ยึดต่อกันด้วยพันธะ $\beta - 2, 1$ (Goodwin and Mercer, 1983; Burr et al., 2005; Yousefian and Amiri, 2009; Ringø et al., 2010b) ในมนุษย์และสัตว์กระเพาะเดี่ยว ฟรุกแตนไม่สามารถย่อยได้โดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร (Pool-Zobel et al., 2002) แต่ถูกย่อยได้ที่ลำไส้ใหญ่โดยแบคทีเรียที่มีประโยชน์ชนิด *Bifidobacteria* และแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) ซึ่งเป็นการช่วยเพิ่มปริมาณประชากรแบคทีเรียที่มีประโยชน์เหล่านั้น (Pool-Zobel et al., 2002; Roberfroid, 2002; Flickinger et al., 2003) โดยมีอาหารทางการค้าหลายชนิดที่มีส่วนผสมของอินูลินและถูกใช้เป็นอาหารเสริมในอาหารสัตว์ และแสดงให้เห็นว่าสามารถเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต ปริมาณจุลินทรีย์ในลำไส้ ปรับปรุงค่าโลหิตวิทยา และภูมิคุ้มกันในปลา สัตว์ปีก และสุกรได้ (He et al., 2002; Mahious et al., 2006a; Reza et al., 2009; Ibrahem et al., 2010; Mourino et al., 2012; Nabizadeh, 2012; Ortiz et al., 2013) อย่างไรก็ตามอินูลินที่ใช้เป็นอาหารเสริมในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ยังเป็นการนำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้นจึงควรมีการเสาะหาแหล่งสารเสริมฟรุคแตนที่ผลิตได้ในประเทศไทย เพื่อนำมาใช้เป็นสารเสริมในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ เพื่อเป็นการส่งเสริมอุตสาหกรรมเกษตรแบบพึ่งพาตนเองภายในประเทศไทย อันจะเป็นการพัฒนาอุตสาหกรรมการเกษตรแบบยั่งยืนภายในประเทศต่อไป

แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke) เป็นพืชหัวใต้ดินคล้ายมันฝรั่งที่อยู่ในตระกูลเดียวกันกับทานตะวัน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Helianthus tuberosus* มีถิ่นกำเนิดมาจากทวีปอเมริกาเหนือ (Rogers et al., 1982; Kays and Nottingham, 2007) โดยใช้บริโภคเป็นอาหาร และต่อมาจึงใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ (ภาพที่ 1.2) (Wyse and Wilfahrt, 1982) สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปีในพื้นที่เขตร้อน ในประเทศไทยแก่นตะวันสามารถเก็บผลผลิตได้ในช่วงอายุ 100 – 140 วัน และให้ผลผลิตสูงประมาณ 2 – 3 ตันต่อไร่ หัวของแก่นตะวัน ประกอบด้วยอินูลินประมาณ 160 – 200 กรัมต่อกิโลกรัม และฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (Fructooligosaccharide; FOS) 120 – 150 กรัมต่อกิโลกรัม (Moshfegh et al., 1999)

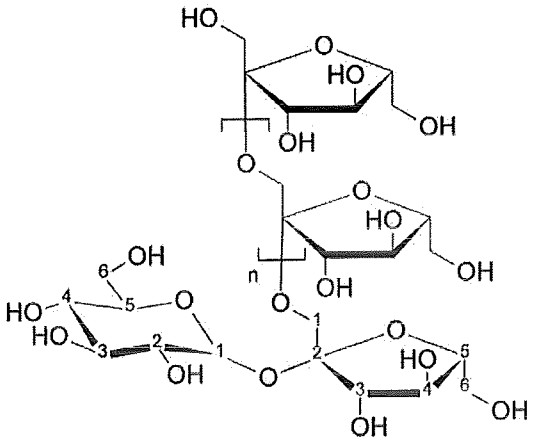
แก่นตะวันสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งของพลังงานเชื้อเพลิงประเภทแอลกอฮอล์ อะซิโตน (Acetone) บิวทานอล (Butanol) และเอทานอล (Ethanol) ได้อีกด้วย (Denoroy, 1996) ส่วนลำต้นใช้ทำพืชหมัก (Silage) เพื่อเป็นอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มจุลินทรีย์ชนิด *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* ในลำไส้ ขณะเดียวกันก็ช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ เช่น *Clostridium* และ *E. Coli* ทำให้ปริมาณแอมโมเนียในลำไส้และในกระแสเลือดลดลง การสังเคราะห์

ไขมันในตับ ส่งผลให้ระดับไขมัน และคอเลสเตอรอล (Cholesterol) ในเลือดลดลง (Younes et al., 1995; Kaur and Gupta, 2002)



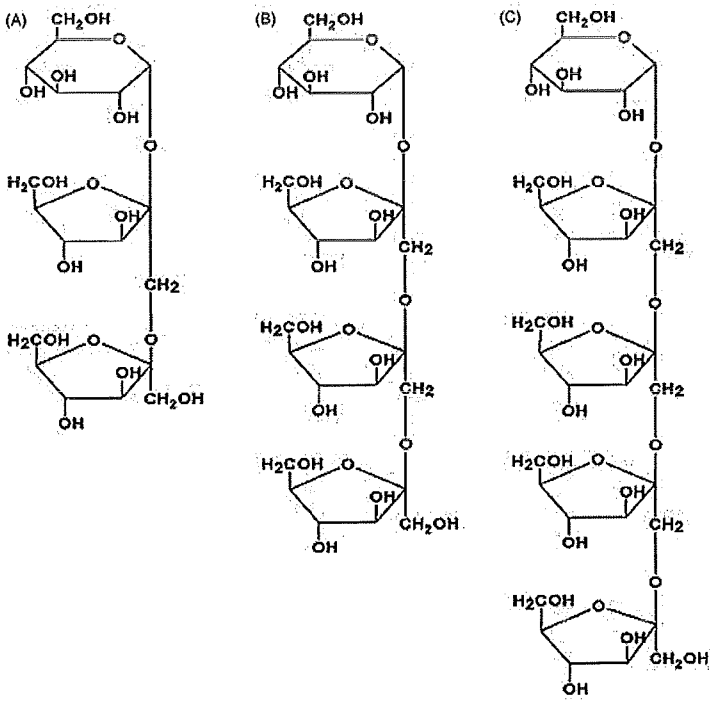
ภาพที่ 1.2 แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke)

ส่วนหัวของแก่นตะวันประกอบด้วยฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (Fructooligosaccharide; FOS) 120 – 150 กรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นประเภทโอลิโกแซคคาร์ไรด์ย่อยยาก (Non-digestible oligosaccharides) มีโครงสร้างประกอบด้วย บีต้า-ดี ฟรุกแตน (β – D fructans) สายสั้น คือ ฟรุกโตซิล (Fructosyl) ยึดต่อกันด้วย พันธะ β – 2, 1 (β – 2, 1) และยังประกอบด้วย อินูลิน (Inulin) ประมาณ 160 – 200 กรัมต่อกิโลกรัม (Moshfegh et al., 1999) ทั้งนี้ อินูลิน เป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทโพลีแซคคาร์ไรด์ (Polysaccharide) ชนิดหนึ่งในกลุ่มฟรุกแตน (Fructan) โครงสร้างของอินูลิน ประกอบด้วย ฟรุกโตส (Fructose) 80 เปอร์เซ็นต์ และกลูโคส (Glucose) 20 เปอร์เซ็นต์ ยึดต่อกันด้วยพันธะ β – 2, 1 ไม่สามารถย่อยได้โดยเอ็นไซม์ในระบบทางเดินอาหาร แต่ถูกย่อยได้ที่ลำไส้ใหญ่โดยแบคทีเรีย (Leon, 1999; Patkai et al., 2002) โครงสร้างพื้นฐานของอินูลินเป็น ฟรุกแตน (Fructan) ที่มีสายสั้นที่สุดคือ 1 เคสโทส (Kestose) อินูลินส่วนใหญ่จะมีสายยาวระหว่าง 2 – 60 หน่วยฟรุกโตส (Degree of polymerization, DP) บางโครงสร้างอาจมีน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อที่ปลายสายด้วย (ภาพที่ 1.3) เมื่ออินูลินถูกย่อยโดยเอ็นไซม์อินูเลส (Inulase) ทำให้ความยาวสั้นลงเหลือ 2 – 4 หน่วยฟรุกโตส ได้แก่ 1-kestose (1-kestotriose; GF2), nystose (1, 1-kestotetraose; GF3), และ 1F-β-fructofuranosyl nystose (1, 1, 1-kestopentaose; GF4) เรียกว่า Fructo-oligosaccharides (FOS) ซึ่งให้ความหวาน 30 เปอร์เซ็นต์ของซูโครส (ภาพที่ 1.4) (Niness, 1999)



ภาพที่ 1.3 โครงสร้างโมเลกุลของอินูลิน (Inulin)

ที่มา: Wikipedia Foundation. Inc. (2013)



ภาพที่ 1.4 โครงสร้างโมเลกุลของฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (Fructooligosaccharide; FOS)

(A: Kestose, B : Nystose และ C: Fructofuranosyl nystose)

ที่มา: (Kuhn and Filho, 2010)

อินูลิน และฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ เป็น Dietary fiber ที่ไม่ถูกย่อยในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก แต่จะถูกย่อยโดยแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่เพื่อเป็นอาหาร โดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียที่มีเอ็นไซม์อินนูเลส (Inulase) (Leon, 1999; Patkai et al., 2002) จึงได้ถูกนำมาใช้เป็นพรีไบโอติกเสริมในอาหารปลา เพราะมีบทบาทต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร เพิ่มอัตราการเจริญเติบโต ลดแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค (Enteropathogen) ให้ลดจำนวนลง (Gibson et al., 2004) จึงทำให้มีประโยชน์ต่อสุขภาพเพราะเป็นการเพิ่มภูมิคุ้มกันโรคให้กับปลาได้ (Grisdake-Helland et al. 2008) แต่การทดลองส่วนใหญ่เป็นการทดลองในปลาต่างประเทศซึ่งเป็นการทดลองใช้สารพรีไบโอติก ต่าง ๆ ได้แก่ Mannanoligosaccharide, Brewers yeast (GroBiotic) (Li and Gatlin, 2004; Mundheim et al. 2004; Refstie et al. 2006)

การศึกษาวิจัยการเสริมพรีไบโอติกที่ผ่านมามักจะเป็นการศึกษาในระยะปลาวัยรุ่น และระยะปลาขุนเป็นปลาเนื้อ การศึกษาในปลาวัยอ่อนยังอยู่ค่อนข้างจำกัด ได้แก่ การศึกษาการใช้พรีไบโอติก fermacto เป็นสารเสริมในอาหารปลาไน (*Cyprinus carpio*) วัยอ่อน พบว่า การเสริมพรีไบโอติก fermacto ในอาหารสำหรับการอนุบาลลูกปลาส่งผลทำให้ลูกปลาไนมีสมรรถนะการเติบโตดีขึ้น (Mazurkiewicz et al., 2008) นอกจากนี้การศึกษาโดย Eleraky และคณะ (2014) ได้รายงานว่าการเสริมพรีไบโอติก organoferum ที่ระดับ 2.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารส่งผลให้ลูกปลาไนมีสมรรถนะการเจริญเติบโตดีขึ้น และช่วยพัฒนาภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงให้ดีขึ้น ซึ่งการอนุบาลลูกปลาวัยอ่อนเป็นระยะการเพาะเลี้ยงปลาที่มีความสำคัญมาก เนื่องจากเป็นระยะที่ปลามีขนาดเล็ก และปลามีความอ่อนแอ เกษตรกรมักประสบปัญหาปลาตายจำนวนมาก ก่อให้เกิดความสูญเสียในการผลิตลูกพันธุ์ปลาเป็นอย่างมาก การศึกษาวิจัยการใช้สารเสริมพรีไบโอติกเพื่อเสริมสุขภาพลูกปลา จึงมีความสำคัญและควรได้รับการศึกษาวิจัยเป็นอย่างมาก

ผลงานศึกษาเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าสารพรีไบโอติก มีศักยภาพในการนำมาใช้ประโยชน์เป็นสารเสริมในอาหารปลา ตลอดวงจรการผลิตปลาทั้งระยะการอนุบาลลูกปลาวัยอ่อนและการเลี้ยงปลาเพื่อให้ได้ขนาดตลาดสำหรับผู้บริโภค การวิจัยโดยทดสอบการใช้สารเสริมพรีไบโอติกที่ได้จากการนำเข้าจากต่างประเทศเป็นการศึกษาวิจัยเพื่อให้ได้ข้อมูลที่นำไปใช้ได้จริงในการเลี้ยงปลาในเชิงธุรกิจต่อไป นอกจากนี้การพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้เองในประเทศ และใช้เป็นประโยชน์ได้จริง โดยเฉพาะการวิจัยเพื่อให้ได้ข้อมูลการใช้สารเสริมพรีไบโอติกจากแหล่งที่ผลิตได้ภายในประเทศ เปรียบเทียบกับการใช้สารเสริมทางการค้าที่นำเข้าจากต่างประเทศ จึงจะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปพัฒนาในเชิงอุตสาหกรรมการเกษตรต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

การศึกษาวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาถึงผลของการใช้อินูลินและผงแก่นตะวันเป็นสารเสริมในอาหารปลาวัยอ่อนโดยมีวัตถุประสงค์ของการศึกษาดังต่อไปนี้

1. เพื่อศึกษาถึงระดับที่เหมาะสมของการใช้อินูลินเป็นสารเสริมในอาหารปลานิลวัยอ่อนในระยะการแปลงเพศปลา และระยะการอนุบาลปลาวัยรุ่น ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา สุขภาพปลา จุลสัณฐานของลำไส้ปลา และประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา
2. เพื่อศึกษาถึงความสามารถในการใช้ผงแก่นตะวันเป็นสารเสริมในอาหารปลานิลวัยอ่อนในระยะการแปลงเพศปลา และระยะการอนุบาลปลาวัยรุ่น ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา สุขภาพปลา จุลสัณฐานของลำไส้ปลา และประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา โดยการเปรียบเทียบกับการใช้อินูลินเป็นสารเสริมในอาหาร

ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้จะเป็นการใช้อินูลินและผงแก่นตะวันเป็นสารเสริมพรีไบโอติกในอาหารปลานิลวัยอ่อน ตั้งแต่ละยะการอนุบาลลูกปลาเพื่อแปลงเพศปลาให้เป็นเพศผู้ล้วน จนถึงระยะปลาวัยรุ่น ประมาณ 40 – 50 กรัม โดยสูตรอาหารปลานิลที่ได้กำหนดจะใช้วัตถุดิบอาหารที่เป็นที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารปลานิลทางการค้า อินูลินที่ใช้เป็นอินูลินที่ได้ผลิตเพื่อใช้เป็นสารเสริมพรีไบโอติกในอาหารสัตว์ และกำหนดระดับอินูลินในการทดลองให้อยู่ในช่วงที่บริษัทผู้ผลิตแนะนำให้ใช้ในอาหารปลาทั่วไป เพื่อนำระดับการใช้ดังกล่าวเป็นตัวเปรียบเทียบกับการใช้ผงแก่นตะวันเป็นสารเสริมในอาหารโดยตรง ซึ่งจะใช้ผงแก่นตะวันในระดับที่มีฟรุคแตนเทียบเท่ากับระดับของอินูลินทางการค้า

การศึกษาถึงผลของการเสริมสารพรีไบโอติกในอาหารปลานิลวัยอ่อนนี้ จะศึกษาถึงผลของการเสริมสารดังกล่าวต่อค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต และทำการตรวจวัดพารามิเตอร์ด้านสุขภาพของปลา โดยวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา ค่าชีวเคมีของโลหิต และค่าองค์ประกอบทางเคมีของปลา ค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง และติดตามผลของการเสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันในอาหารต่อจุลสัณฐานวิทยาของลำไส้ และปริมาณประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของปลานิล

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

ผลการวิจัยในครั้งนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาการบวนการอนุบาลลูกปลานิล การผลิตลูกพันธุ์ปลานิลแปลงเพศ เพื่อปรับปรุงสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลานิล และสุขภาพปลานิล โดยจะเป็นการทดสอบถึงผลของการใช้อินูลินเป็นสารเสริมพรีไบโอติกในอาหารปลานิลวัยอ่อน นอกจากนี้ผลของการศึกษาเปรียบเทียบการใช้ผงแก่นตะวันกับการใช้อินูลินเป็นอาหารเสริมพรีไบโอติกในอาหารสำเร็จรูปสำหรับปลานิลวัยอ่อน จะนำไปสู่การพัฒนาการใช้แก่นตะวันซึ่งเป็นพืชที่สามารถปลูกได้ภายในประเทศมาใช้เป็นอาหารเสริมพรีไบโอติกโดยตรง ซึ่งเป็นการช่วยลดการนำเข้าพรีไบโอติกจากต่างประเทศ ก่อให้เกิดการอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลานิลทุกระยะแบบพึ่งพาตนเองได้ในประเทศไทย เพื่อให้การเพาะเลี้ยงปลานิลในเมืองไทยเป็นการเกษตรแบบยั่งยืน

บทที่ 2
วิธีดำเนินการวิจัย

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแก่นตะวัน

หัวแก่นตะวัน (Jerusalem artichoke; JA) ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้รับมาจากสถานีวิจัยเพชรบูรณ์ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาระบบนิเวศเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นำหัวแก่นตะวันมาล้างให้สะอาด ปอกเปลือกออก ตากแดดจนแห้ง และบดเป็นผงเพื่อทำการวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมี

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมี (วัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า) ของแก่นตะวัน ตามวิธีการมาตรฐานของ AOAC (1990) และวิเคราะห์ปริมาณโอลิโกฟรุกโตส (Oligofructose) ในผงแก่นตะวัน โดยวิธีการแก๊สโครมาโทกราฟี ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ของหัวแก่นตะวัน (JA)

ส่วนประกอบ	กรัม/กิโลกรัม (โดยน้ำหนักแห้ง)
วัตถุแห้ง	934.4
โปรตีน	57.8
ไขมัน	1.7
ไฟเบอร์	126.0
เถ้า	80.8
ฟรุกแตน (อินูลิน +โอลิโกฟรุกโตส)	502.0

2. การศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติกอินูลินและผงแก่นตะวันในอาหารที่ใช้ในการแปลงเพศปลานิล

2.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) โดยมีกลุ่มทดลอง (treatment) ทั้งหมด 5 กลุ่มทดลอง และแต่ละกลุ่มทดลองมีจำนวนซ้ำ 4 ซ้ำ เพื่อศึกษาถึงผลของการเสริมอินูลิน (inulin) ที่แตกต่างกัน 2 ระดับ และการเสริมผงแก่นตะวันที่แตกต่างกัน 2 ระดับ และและกลุ่มควบคุม คือสูตรอาหารพื้นฐาน (basal diet) ที่ไม่มีการเสริมสารพรีไบโอติก (prebiotic) ในการผลิตลูกปลานิลแปลงเพศ โดยมีกลุ่มทดลองและอาหารของแต่ละกลุ่มทดลองดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 กลุ่มทดลองที่ใช้ในการศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติกในระยะการแปลงเพศปลานิล

กลุ่มทดลอง (ตัวย่อกลุ่มทดลอง)	**อาหารทดลอง**	**พรีไบโอติก**
กลุ่มควบคุม	ปลาป่น (โปรตีน 58 %)	-
(C)	17-MT[1]	
2.5 อินูลิน	ปลาป่น (โปรตีน 58 %)	[2] อินูลิน
(2.5 Inulin)	17-MT[1]	(2.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร)
5.0 อินูลิน	ปลาป่น (โปรตีน 58 %)	[2] อินูลิน
(5.0 Inulin)	17-MT[1]	(5.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร)
5.0 แก่นตะวัน	ปลาป่น (โปรตีน 58 %)	[3] ผงแก่นตะวัน
(5.0 JA)	17-MT[1]	(5.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร)
10.0 แก่นตะวัน	ปลาป่น (โปรตีน 58 %)	[3] ผงแก่นตะวัน
(10.0 JA)	17-MT[1]	(10.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร)

[1] 17α-methyltestosterone 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

[2] อินูลินจากรากชิคอรี่ (chicory) (PREBIOFEED 88; Warcoing, Belgium)

[3] ผงแก่นตะวันที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม และ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม มีส่วนประกอบพรีไบโอติกในระดับที่เท่ากับระดับการเสริมอินูลิน 2.5 กรัมต่อกิโลกรัม และ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

2.2. การเตรียมอาหารทดลอง การเตรียมปลาทดลอง และการอนุบาลปลาทดลอง

อาหารสูตรพื้นฐานในระยะการแปลงเพศปลา เตรียมโดยผสมปลาป่นที่มีโปรตีนประมาณ 58 เปอร์เซ็นต์ กับอินูลิน (Probiofeed 88) หรือ ผงแก่นตะวัน ตามอัตราส่วนที่แสดงดังตารางที่ 2.2 และทำการฉีดพ่นสารละลายฮอร์โมน 17 α-methyltestosterone (17 α-methyltestosterone 1 มิลลิกรัม ใน 95 % ethanol 4 มิลลิลิตร) 240 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เพื่อให้อาหารมีความเข้มข้นของฮอร์โมน เท่ากับ 60 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง (ประมาณ 6-10 ชั่วโมง) และเก็บอาหารไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาให้ลูกปลา

การศึกษานี้ใช้ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) สายพันธุ์จิตรลดา 3 ซึ่งพ่อแม่พันธุ์ปลานิลได้นำมาเลี้ยงในฟาร์มประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และได้ทำการเก็บไข่ปลาจากแม่พันธุ์ปลา มาเลี้ยงในถาดฟักไข่ปลา จนได้ระยะที่ลูกปลาเริ่มกินอาหารจากภายนอก (ระยะที่ถุงไข่แดงยุบแล้วและว่ายน้ำขึ้นมาที่ผิวน้ำ) จึงนำลูกปลาใน จำนวน 500 ตัว มาเลี้ยงในกระชังขนาด 2 * 2 * 0.9 (กว้าง * ยาว * สูง) จำนวน 20 กระชัง ผูกในบ่อดินที่ได้มีการเตรียมบ่อให้เกิดน้ำเขียว (น้ำที่มีการเตรียมบ่อโดยการใส่ปูนขาวที่อัตรา 160 กิโลกรัมต่อไร่ และปุ๋ยมูลไก่ในอัตรา 240 กิโลกรัมต่อไร่ ประมาณ 1 สัปดาห์ น้ำจะมีสีเขียวขุ่น อันเนื่องจากแพลงก์ตอนพืชที่เกิดขึ้นในน้ำ) ทำการอนุบาลลูกปลานิลในกระชัง ด้วย

อาหารที่ได้เตรียมไว้เป็นระยะเวลา 28 วัน วันละ 4 ครั้ง ที่เวลา 9:00, 11:00, 13:00 และ 15:00 น. โดยให้ในอัตราดังต่อไปนี้

สัปดาห์ที่	อัตราการให้อาหาร (เปอร์เซนต์ของน้ำหนักตัว)
1	30
2	20
3-4	15

สภาพอุณหภูมิอากาศและอุณหภูมิน้ำตลอดระยะเวลาการทดลองอยู่ในช่วงระหว่าง 29.00 – 30.50 องศาเซลเซียส และ 27.00 – 28.50 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) อยู่ในช่วง 5.05 – 5.27 มิลลิกรัม/ลิตร และค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 7.50 – 7.78

2.3. การเก็บข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตรารอด

การทดลองนี้ได้ทำการเก็บข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโตลูกปลานิลแปลงเพศ ที่ระยะเวลา 28 วัน ดังต่อไปนี้

อัตราการเพิ่มน้ำหนักตัว [Relative weight gain; RWG (%)]

$$= \frac{(\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}) \times 100}{\text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}}$$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ [Specific growth rate, SGR (%/day)]

$$= \frac{[(Ln\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - Ln\text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง})] \times 100}{\text{ระยะเวลาการทดลอง}}$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักของอาหารที่ปลากิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

ทำการนับจำนวนปลาที่เหลือในทุก ๆ ซ้ำ ของทุกกลุ่มทดลองเพื่อคำนวณอัตรารอด

อัตรารอด [Survival rate (%)]

$$= \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

2.4. การศึกษาจุลสัณฐานวิทยาของลำไส้

ทำการเก็บตัวอย่างลูกปลาจากแต่ละซ้ำของทุกกลุ่มทดลอง จำนวนซ้ำละ 2 ตัว มาผ่าตัดเก็บเนื้อเยื่อบริเวณลำไส้ส่วนต้น (anterior) ลำไส้ส่วนกลาง (middle) และลำไส้ส่วนปลาย (posterior) แล้วคงสภาพในสารละลาย Neutral buffered formalin (NBF) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ อย่างน้อย 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเนื้อเยื่อมาผ่านกระบวนการตรึงเนื้อเยื่อในพาราฟิน ตัดเนื้อเยื่อให้มีความหนาประมาณ 5 ไมครอน และนำเนื้อเยื่อที่ตัดได้มาติดบนสไลด์ ย้อมด้วยสี Hematoxylin & Eosin เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลสัณฐานวิทยาของเยื่อบุผิวในลำไส้ ตามวิธีการของ Humason (1979) เพื่อวัดความสูงของวิลไล (Villus height)

2.5. การวิเคราะห์ประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา

ทำการเก็บตัวอย่างลำไส้ปลานิลมาบดในสภาวะปลอดเชื้อ และเจือจางในน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ที่ปลอดเชื้อ เจือจางลำไส้บด 1 กรัมในน้ำเกลือ ให้ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และทำการคำนวณปริมาณเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ ดังตารางที่ 2.3 ด้วยวิธี serial dilution spread plate บันทึกจำนวนจุลินทรีย์แต่ละชนิด ที่ระดับการเจือจางที่มีจำนวนจุลินทรีย์ประมาณ 100 – 200 เซลล์ และทำการคำนวณปริมาณเชื้อได้โดย

$$\text{จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (CFU/g intestine)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้ * sample dilution factor}}{\text{ปริมาตรที่ใช้ spread plate}}$$

ตารางที่ 2.3 ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการวิเคราะห์ชนิดจุลินทรีย์

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	กลุ่มจุลินทรีย์
Plate count agar	Total plate count
de Man, Rogosa, and Sharpe agar	*Lactobacillus*
Thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose agar	*Vibrio*
Sabouraud dextrose agar	Yeast and Fungi
Raffinose *Bifidobacterium* agar	*Bifidobacterium*

2.6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์ความแตกต่างทางด้านสถิติ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มทดลอง โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($\alpha = 0.05$) (Steel and Torrie, 1980) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS version 10.0

3. การศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติกอินูลินและผงแก่นตะวันในอาหารที่ใช้ในการอนุบาลปลานิลจนถึงระยะวัยรุ่น (50 diy,)

3.1 **การวางแผนการทดลอง**

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) โดยมีกลุ่มทดลอง (treatment) ทั้งหมด 5 กลุ่มทดลอง และแต่ละกลุ่มทดลองมีจำนวนซ้ำ 4 ซ้ำ เพื่อศึกษาถึงผลของการเสริมอินูลิน (inulin) ที่แตกต่างกัน 2 ระดับ และการเสริมผงแก่นตะวันที่แตกต่างกัน 2 ระดับ และและกลุ่มควบคุม คือสูตรอาหารพื้นฐาน (basal diet) ที่ไม่มีการเสริมสารพรีไบโอติก (prebiotic) ในการอนุบาลลูกปลานิลหลังจากผ่านการแปลงเพศแล้วจนถึงระยะวัยรุ่น โดยมีกลุ่มทดลองและอาหารของแต่ละกลุ่มทดลองดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 กลุ่มทดลองที่ใช้ในการศึกษาผลของการเสริมพรีไบโอติกในการอนุบาลปลานิลจนถึงระยะวัยรุ่น

กลุ่มทดลอง (ตัวย่อกลุ่มทดลอง)	**อาหารทดลอง**
กลุ่มควบคุม (C)	อาหารพื้นฐาน (basal diet)[1]
2.5 อินูลิน (2.5 Inulin)	อาหารพื้นฐาน[1] + [2] อินูลิน (2.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร)
5.0 อินูลิน (5.0 Inulin)	อาหารพื้นฐาน[1] + [2] อินูลิน (5.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร)
5.0 แก่นตะวัน (5.0 JA)	อาหารพื้นฐาน[1] + [3] ผงแก่นตะวัน (5.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร)
10.0 แก่นตะวัน (10.0 JA)	อาหารพื้นฐาน[1] + [3] ผงแก่นตะวัน (10.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร)

[1] อาหารพื้นฐานมีส่วนประกอบแสดงดังตารางที่ 2.5

[2] อินูลินจากรากชิคอรี (chicory) (PREBIOFEED 88; Warcoing, Belgium)

[3] ผงแก่นตะวันที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม และ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม มีส่วนประกอบพรีไบโอติกในระดับที่เท่ากับระดับการเสริมอินูลิน 2.5 กรัมต่อกิโลกรัม และ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

3.2. การเตรียมอาหารทดลอง การเตรียมปลาทดลอง และการอนุบาลปลาทดลอง

อาหารสูตรพื้นฐานในระยะการอนุบาลลูกปลาต่อการแปลงเพศปลา แสดงดังตารางที่ 2.5 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า) ของอาหารทดลองโดยวิเคราะห์ตามวิธีการมาตรฐานของ AOAC (1990) ก่อนที่จะทำการผลิตสูตรอาหาร ส่วนผสมของอาหารทั้งหมดจะถูกวิเคราะห์เพื่อทราบถึงค่าองค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด (ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า) ตามวิธีการมาตรฐานของ AOAC (1990) อาหารทดลองทั้งหมดได้ถูกผลิตโดยใช้เครื่องบดอาหาร เครื่องผสมอาหาร และเครื่องอัดเม็ดอาหารชนิดเม็ดลอยน้ำ (ปักธงชัยปศุสัตว์, นครราชสีมา, ประเทศไทย) โดยอาหารเม็ดชนิดลอยน้ำจะถูกอัดเม็ดที่อุณหภูมิ 120 – 160 องศาเซลเซียส และเม็ดอาหารมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร อาหารที่ผลิตได้จะถูกนำไปตากแดดให้แห้ง ประมาณ 2 – 3 วัน เมื่ออาหารแห้งดีแล้วจึงทำการบรรจุอาหารทดลองลงในภาชนะที่ปิดมิดชิด

ปลาทดลอง คือปลานิลที่ได้จากการแปลงเพศจากการทดลองใน 2. และนำมาอนุบาลต่อตามกลุ่มทดลองเดิม เลี้ยงปลาทดลองด้วยสูตรอาหารตามกลุ่มทดลองเดิม โดยการย้ายปลาลงเลี้ยงในกระชังขนาด 2 x 4 x 0.9 (กว้าง * ยาว * สูง) ลูกบาศก์เมตร จำนวน 20 กระชังแขวนในบ่อดิน ในอัตราความหนาแน่นกระชังละ 100 ตัว และทำการปรับปริมาณอาหารที่ให้เป็นวันละ 2 มื้อ เช้า-เย็น โดยให้อาหารแบบกินเต็มที่ (*ad labitum*) ทำการอนุบาลลูกปลานิลต่อไป 54 วัน จนถึงขนาดระยะปลาวัยรุ่น

หรือมีน้ำหนักประมาณ 40-50 กรัม ตลอดการทดลองสภาพอุณหภูมิอากาศและอุณหภูมิน้ำอยู่ในช่วงระหว่าง 28.00 – 31.00 องศาเซลเซียส และ 27.50 – 29.00 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) อยู่ในช่วง 5.09 – 5.41 มิลลิกรัม/ลิตร และค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 7.48–7.73

ตารางที่ 2.5 ส่วนผสมและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบอาหาร	กรัม/กิโลกรัม
ปลาป่น	300
กากถั่วเหลือง	270
รำข้าว	150
ข้าวโพด	145
มันเส้น	120
พรีมิกซ์[ก]	10
วิตามินซี	5
องค์ประกอบทางเคมี	**กรัม/กิโลกรัม (โดยน้ำหนักแห้ง)**
วัตถุแห้ง	933
โปรตีน	320
ไขมัน	74
เถ้า	97
ไฟเบอร์	39
Nitrogen-free extract[ข]	403

[ก] Vitamin and trace mineral mix provided the following (IU kg^{-1} or g kg^{-1}diet): biotin, 0.25 g; folic acid, 0.003 g; inositol, 0.25 mg; niacin, 0.0215 g; pantothenic acid, 0.03 g; vitamin A, 5,000 IU; vitamin B1, 0.0025 g; vitamin B2, 0.0012 g; vitamin B6, 0.0075 g; vitamin B12 0.00005 mg; vitamin C, 1 g; vitamin D3, 1,000 IU; vitamin E, 100 IU; vitamin K, 0.008 g; copper, 0.02 g; iron, 0.2 g; selenium, 0.3 mg; zinc, 0.32 g

[ข] Nitrogen-free extract = 1,000 – (ความชื้น + โปรตีน + ไขมัน + เถ้า + เยื่อใย)

3.3. การเก็บข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตรารอด

การทดลองนี้ได้ทำการเก็บข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโตในการอนุบาลลูกปลา ด้วยพารามิเตอร์เดียวกับที่ได้อธิบายไว้ในข้อที่ 2.3

3.4. การเก็บตัวอย่างเลือด

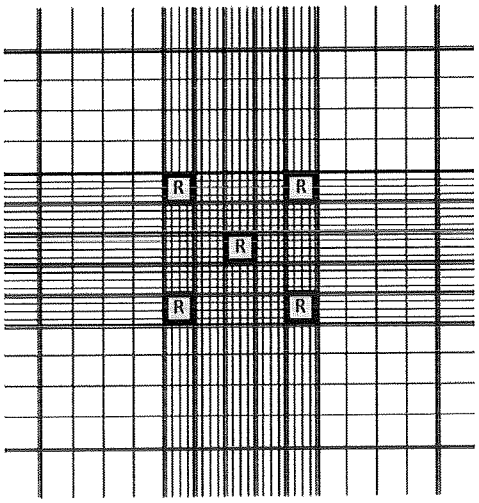
ทำการเก็บตัวอย่างเลือดปลา หลังจากการอนุบาลลูกปลาเป็นระยะเวลา 54 วัน โดยการสุ่มลูกปลาจากแต่ละซ้ำของทุกกลุ่มทดลองมาจำนวนซ้ำละ 4 ตัว โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือด Caudal vein ด้วยเข็มขนาด 21G ความยาว 1 นิ้ว ใช้กระบอกฉีดยาขนาด 3 มิลลิลิตร แบ่งเก็บเลือดในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร จำนวน - หลอด หลอดละ 500 ไมโครลิตร โดยหลอดที่ 1 และ 2 มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) หลอดที่ 1 จะใช้วิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา หลอดที่ 2 นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บพลาสมาที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำการเก็บพลาสมาไว้ที่อุณหภูมิ – 80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ค่าชีวเคมีของโลหิต และค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง ส่วนหลอดที่ 3 เป็นหลอดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ทำการเก็บซีรั่มโดยปล่อยให้เลือดแข็งตัวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บซีรั่มที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำการเก็บซีรั่มไว้ที่อุณหภูมิ – 80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ค่าชีวเคมีของโลหิต และค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง

3.5. การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา

3.5.1. การนับจำนวนเม็ดเลือดแดง

ก่อนการนับจำนวนเม็ดเลือดแดงได้ทำการเจือจางเลือดปลาที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ด้วยสารละลาย Gower's solution (Sodium sulfate 12.5 กรัม, Glacial acetic acid 33.3 มิลลิลิตร ปรับน้ำกลั่นให้ได้ 200 มิลลิลิตร)โดยใช้ปิเปตสำหรับเจือจางเพื่อนับเม็ดเลือดแดง (Thoma diluting red cell pipette) ดูดเลือดถึงขีด 0.5 จากนั้นดูด Gower's solution ถึงขีด 101 จะได้อัตราส่วนเจือจาง 1:200 เขย่าให้เข้ากัน 2 – 3 นาที หยดสารละลายทิ้ง 3 หยด จากนั้นหยดลงบน Hemocytometer chamber ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ นับในช่องพื้นที่ใหญ่ตรงกลาง ซึ่งมีพื้นที่เล็ก 25 ช่อง นับเพียง 5 ช่อง ตรงมุมบน ล่าง ซ้าย ขวา และตรงกลาง ดังตัวอักษร R ในภาพที่ 2.1

จำนวนเม็ดเลือดแดงต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร = จำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับได้ทั้งหมดใน 5 ช่อง x 10 x 5 x 200



ภาพที่ 2.1 ช่อง Hemocytometer chamber ที่ใช้นับจำนวนเม็ดเลือดแดง

3.5.2. การวัดค่าฮีโมโกลบิน

การวัดค่าฮีโมโกลบินใช้ชุดน้ำยา Hemoglobin set (Cyanmethemoglobin method) (บริษัท Biotechnical) เติมน้ำยา Drabkin reagent ลงในหลอดแก้ว 5 มิลลิลิตร ใส่เลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA) ลงในหลอด 20 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที และทำการสร้างกราฟมาตรฐานด้วยสารเคมีที่มาพร้อมกับชุดน้ำยา นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้ Drabkin reagent เป็น Blank นำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่าฮีโมโกลบินโดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

3.5.3. การวัดค่าฮีมาโตคริต

ทำการเขย่าหลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดให้แน่ใจว่าเม็ดเลือดไม่ตกตะกอน จากนั้นนำปลายหลอด Microhematocrit capillary tube จุ่มลงในหลอดเก็บเลือดให้เลือดไหลเข้ามาใน Capillary tube ประมาณ 4 ใน 5 ของความยาวหลอด แล้วอุดปลายด้วยดินน้ำมัน นำไปปั่นด้วยเครื่อง Haematocrit centrifuge ที่ความเร็ว 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที วัดความยาวของการอัดตัวเม็ดเลือดแดง และความยาวทั้งหมดของเม็ดเลือดแดง แล้วคำนวณจากสูตร

$$\% \text{ ฮีมาโตคริต} = \frac{\text{ปริมาตรของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (เซนติเมตร) x 100}}{\text{ปริมาตรเลือดทั้งหมด (เซนติเมตร)}}$$

3.6. การวิเคราะห์ค่าชีวเคมีของโลหิต

3.6.1. การวิเคราะห์ค่า Serum Glucose

การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในเลือดใช้วิธี Enzyme-colorimatric method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม Working reagent (ละลาย Glucose enzyme mix powder ด้วย Enzyme buffered diluent) 1 มิลลิลิตร ปิเปตซีรั่มลงในหลอด 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 505 นาโนเมตร โดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหา Serum glucose จากกราฟมาตรฐาน

3.6.2. การวิเคราะห์ค่า Plasma cholesterol

การวิเคราะห์ค่าคอเลสเตอรอล (cholesterol) ใช้วิธี Enzyme-colorimetric method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม Working reagent (ละลาย Cholesterol enzyme power ด้วย Cholesterol enzyme diluent) ลงในหลอดแก้ว 1 มิลลิลิตร ปิเปตพลาสมาลงในหลอด 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร โดยใช้ Working reagent เป็น Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่า Cholesterol จากกราฟมาตรฐาน

3.6.3. การวิเคราะห์ค่า Plasma triglyceride

การวิเคราะห์ค่าไตรกลีดซอไรด์ (triglyceride) ใช้วิธี Enzyme-colorimatric method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม Working reagent (ละลาย Triglycerides enzyme powder ด้วย Triglycerides enzyme diluent) 1 มิลลิลิตร ปิเปตพลาสมาลงในหลอด 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 505 นาโนเมตร โดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหา Plasma triglyceride จากกราฟมาตรฐาน

3.6.4. การวิเคราะห์ค่า Plasma total protein

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนรวม (total protein) ใช้วิธี Biuret method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม Biuret reagent ลงในหลอดแก้ว 500 ไมโครลิตร ปิเปตพลาสมาลงในหลอด 25 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร โดยใช้ Biuret reagent เป็น Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่า Total protein จากกราฟมาตรฐาน

3.6.5. การวิเคราะห์ค่า Plasma Albumin

การวิเคราะห์อัลบูมินใช้วิธี Bromocresol Green Method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม BCG Reagent ลงในหลอดแก้ว 1.5 มิลลิลิตร ปิเปตพลาสมาลงในหลอด 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตรโดยใช้ BCG Reagent เป็น Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่า Albumin จากกราฟมาตรฐาน

3.6.6. การวิเคราะห์ค่า Plasma urea nitrogen (BUN)

การวิเคราะห์ค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือด (Blood Urea Nitrogen) ใช้วิธี Enzymatic method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม Working reagent 1 (ละลาย BUN enzyme suspension ด้วย BUN enzyme diluent) ลงในหลอดแก้ว 500 ไมโครลิตร Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส ปิเปตพลาสมาลงในหลอด 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นเติม Working reagent 2 (เจือจาง Conc. BUN colour reagent 1 ส่วน ด้วยน้ำกลั่น 3 ส่วน) 1 มิลลิลิตร ในหลอดแก้วเดิม แล้วนำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรโดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่า Urea nitrogen จากกราฟมาตรฐาน

3.6.7. การวิเคราะห์ค่า Plasma Bilirubin

การวิเคราะห์ค่าบีลิรูบิน (Bilirubin) ใช้วิธี New Diazo-DMSO Method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ในการวิเคราะห์ค่า Plasma Total Bilirubin ทำโดยการเติม Total Reagent 2 มิลลิลิตร และเติม Sodium Nitrite 1 หยด ปิเปตพลาสมาลงในหลอด 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตรโดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่า Plasma Total Bilirubin จากกราฟมาตรฐาน

3.6.8. การวิเคราะห์ค่า Serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT)

การวิเคราะห์ค่าดัชนีตับ Serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT) ใช้วิธี Reitman and Frankel colorimetric method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม SGOT substrate 250 ไมโครลิตร นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ปิเปตซีรั่มลงใน

หลอด 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เติม Colour reagent 250 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที เติม 0.4 N Sodium hydroxide เขย่าให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหา Serum SGOT จากกราฟมาตรฐาน

3.6.9. การวิเคราะห์ค่า Serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT)

การวิเคราะห์ค่าดัชนีตับ Serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) ใช้วิธี Reitman and Frankel colorimetric method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม SGPT substrate 250 ไมโครลิตร นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ปิเปตซีรั่มลงในหลอด 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เติม Colour reagent 250 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที เติม 0.4 N Sodium hydroxide เขย่าให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหา Serum SGPT จากกราฟมาตรฐาน

3.6.10. การวิเคราะห์ค่า Serum Chloride

การวิเคราะห์ค่าคลอไรด์ในเลือดใช้วิธี O-Cresolphthalein Direct Method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยการเติม Reagent 1.5 มิลลิลิตร ปิเปตซีรั่มลงในหลอด 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร โดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหา Serum Chloride จากกราฟมาตรฐาน

3.6.11. การวิเคราะห์ค่า Serum calcium

การวิเคราะห์แคลเซียมในเลือดใช้วิธี O-Cresolphthalein Direct Method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยการเติม Reagent 1 มิลลิลิตร ปิเปตซีรั่มลงในหลอด 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 565 นาโนเมตร โดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหา Serum calcium จากกราฟมาตรฐาน

3.6.12. การวิเคราะห์ค่า Serum magnesium

การวิเคราะห์ค่าแมกนีเซียมในเลือดใช้วิธี Photometric Colorimetric Test for Magnesium with Lipid Clearing Factor โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยการเติม Reagent 1 มิลลิลิตร ปิเปตซีรั่มลงในหลอด 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรโดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหา Serum magnesium จากกราฟมาตรฐาน

3.6.13. การวิเคราะห์ค่า Serum iron ferene

การวิเคราะห์ค่าสารละลายเหล็กในเลือดใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม Buffer reagent 1 มิลลิลิตร ปิเปตซีรั่มลงในหลอด 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติม Ferene buffer 50 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตรโดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหา Serum iron ferene จากกราฟมาตรฐาน

3.7. การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง

3.7.1. การวิเคราะห์ Lysozyme activity

เตรียมสารละลาย 0.06 M Phosphate citrate buffer pH 6.0, 0.09 % NaCl โดยชั่ง NaCl 0.225 กรัม เติมสารละลาย 0.06 M Phosphate citrate buffer pH 6.0 (ประกอบด้วย 0.1 M Citric acid ปริมาตร 37.9 มิลลิลิตร ผสมกับ 62.1 มิลลิลิตร ของ 0.2 M Phosphate solution จะได้สารละลาย 0.06 M Phosphate citrate buffer pH 6.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร) เก็บในตู้เย็นจนกว่าจะใช้

เจือจาง Standard lysozyme ให้ได้ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 10, 15 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยสารละลาย 0.06 M Phosphate citrate buffer pH 6.0, 0.09 % NaCl จากนั้นใส่ Standard lysozyme ความเข้มข้นต่าง ๆ และตัวอย่างซีรั่มที่ต้องการวิเคราะห์ลงใน plate 96 หลุม หลุมละ 10 ไมโครลิตร เติมเชื้อ *Micrococcus lysodeikiticus* (Sigma) ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ชั่ง *M. lysodeikiticus* 0.012 กรัม เติมสารละลาย 0.06 M Phosphate citrate buffer pH 6.0, 0.09 % NaCl 40 มิลลิลิตร แช่ในน้ำแข็งตลอดการวิเคราะห์) หลุมละ 190 ไมโครลิตร นำไปเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 3 วินาที จากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร นำออกมาเขย่าอีก 30 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงอีกครั้ง

นำค่าดูดกลืนแสงครั้งแรกลบกับค่าดูดกลืนแสงครั้งที่สอง แล้วนำค่าดูดกลืนแสงของ Standard lysozyme ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 10, 15 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไปสร้างกราฟเส้นตรง โดยให้ความเข้มข้นเป็นแกน x และให้ค่าดูดกลืนแสงเป็นแกน y จากนั้นหาสมการเส้นตรง แล้วนำค่า

ดูดกลืนแสงของตัวอย่างซีรั่มที่ผ่านการลบกันแล้วมาแทนค่าในสมการเพื่อหาค่าความเข้มข้นของ Lysozyme เมื่อเทียบกับ Standard lysozyme

3.7.2. การวิเคราะห์ Total immunoglobulin

การวิเคราะห์อิมมูโนโกลบูลินรวมนั้น ทำโดยการวิเคราะห์โปรตีนรวมในพลาสมา และโปรตีนของพลาสมาที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนชนิดโกลบูลินด้วย 12 % Polyethylene glycol จากนั้นนำความเข้มข้นของโปรตีนรวมในพลาสมาลบกับโปรตีนของพลาสมาที่ผ่านการตกตะกอนจะได้โปรตีนที่เป็นอิมมูโนโกลบูลินทั้งหมด

การวิเคราะห์โปรตีนรวมในพลาสมา ใช้ Total protein Kit (Biuret Method ; Weichselbaum, 1946) ปิเปต Biuret reagent 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมตัวอย่างพลาสมา 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร แล้วคำนวณความเข้มข้นของโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน โดยมี Bovine serum albumin (BSA) เป็นโปรตีนมาตรฐาน

ทำการตกตะกอนโปรตีนชนิดโกลบูลินของพลาสมาด้วย 12 % Polyethylene glycol (ผสมพลาสมากับ 24 % polyethylene glycol ในอัตราส่วน 1:1) (Siwicki and Anderson, 1993) ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงความเร็ว 12500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใส 10 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลองที่มี Biuret reagent 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร แล้วคำนวณความเข้มข้นของโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน โดยมี *Bovine* serum albumin (BSA) เป็นโปรตีนมาตรฐานซึ่งอยู่ในชุด Total protein Kit เมื่อได้ความเข้มข้นของโปรตีนที่ไม่ได้ถูกตกตะกอนด้วย 12% Polyethelene glycol แล้วจะสามารถหาค่าอิมมูโนโกลบูลินรวมได้จากสมการ

อิมมูโนโกลบูลินรวม = โปรตีนรวมในพลาสมา – โปรตีนที่ผ่านการตกตะกอนด้วย 12% Polyethelene glycol

3.7.3. การวิเคราะห์ Alternative complement

การวิเคราะห์ ประสิทธิภาพการทำงานของคอมพลีเมนต์ ดัดแปลงบางส่วนจากวิธีการของ Sunyer and Tort (1995) ล้างเม็ดเลือดแดงแพะด้วย GVB-EGTA (Gelatin Veronol Buffer;10 mM barbital, 145 mM NaCl, 0.1% gelatin, 0.5 mM MgCl2,10mM EGTA, pH 7.3–7.4) ปรับความเข้มข้นเม็ดเลือดแดงให้ได้ 5 x 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เจือจางซีรัมด้วย GVB-EGTA ใน หลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้นของซีรัมเป็น 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.313 และ 0.157% ตามลำดับ โดยมีปริมาตรรวมเท่ากับ 250 ไมโครลิตร เติมเม็ดเลือดแดงแพะ 50 ไมโครลิตร ลงในทุกหลอด โดยมี

Positive control (100% lysis) เป็นหลอดที่ประกอบด้วย น้ำ DI 250 ไมโครลิตร และเม็ดเลือดแดงแพะ 50 ไมโครลิตร ส่วน Negative control (spontaneous lysis) คือ GVB-EGTA 250 ไมโครลิตร และเม็ดเลือดแดงแพะ 50 ไมโครลิตร นำหลอดไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 90 นาทีโดยใช้เครื่องเขย่าตลอดเวลา จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เพื่อตกตะกอนเม็ดเลือดแดงแพะที่ไม่ถูกทำให้แตก ดูดส่วนใส 200 ไมโครลิตร ลงใน plate 96 หลุมแบบ flat-bottom microtiter plate นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ประสิทธิภาพการทำงานของคอมพลีเมนต์มีหน่วยเป็น unit/ml ประมาณการได้จากการพล็อตกราฟ Y/(100 – Y) ต่อปริมาตรของซีรัม

$$Y = 100\,[Abs\,(A) - Abs\,(B)]/\,[Abs(C) - Abs\,(B)]$$

หมายเหตุ: A = ส่วนใสของหลุมที่เจือจางซีรัม

B = ส่วนใสของ Negative control

C = ส่วนใสของ Positive control

3.8. การศึกษาจุลสัณฐานวิทยาของลำไส้

ทำการเก็บตัวอย่างปลาจากแต่ละซ้ำของทุกกลุ่มทดลอง จำนวนซ้ำละ 2 ตัว มาผ่าตัดเก็บเนื้อเยื่อบริเวณลำไส้ส่วนต้น (anterior) ลำไส้ส่วนกลาง (middle) และลำไส้ส่วนปลาย (posterior) และทำการตรึงเนื้อเยื่อในพาราฟิน ตัดเนื้อเยื่อ ย้อมสี ตามรายละเอียดที่ได้อธิบายไว้ในข้อ 2.4 และทำการวัดความสูงของวิลไล (Villus height) และจำนวน Goblet cells ด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.9. การวิเคราะห์ประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา

ทำการวิเคราะห์ประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ ตามรายละเอียดที่ได้แสดงไว้ในข้อที่ 2.5

3.10. การวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา

ทำการสุ่มปลาจากแต่ละซ้ำของทุกกลุ่มทดลองมาจำนวนซ้ำละ 4 ตัว จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิล ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น ตามวิธีการของ AOAC (1990)

3.11. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์ความแตกต่างทางด้านสถิติ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) และ

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มทดลอง โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($\alpha = 0.05$) (Steel and Torrie, 1980) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS version 10.0

บทที่ 3
ผลการวิจัย

3.1 ผลของการเสริมอินูลินและผงแก่นตะวันในอาหารปลานิลวัยอ่อนในระยะการแปลงเพศปลานิล

ผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกอินูลิน และผงแก่นตะวันในอาหารปลานิลวัยอ่อนที่มีการผสมฮอร์โมนแปลงเพศ 17α –methyltestossterone ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตรารอดของปลานิลวัยอ่อน แสดงดังตารางที่ 3.1 พบว่าการเสริมอินูลินในอาหารลูกปลา (2.5Inulin และ 5.0 Inulin) ในระยะการแปลงเพศนี้ ทำให้ลูกปลานิลวัยอ่อนมีน้ำหนักตัวสุดท้าย เปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการเสริมอินูลิน และปลานิลวัยอ่อนที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวัน (5.0 JA และ 10.0 JA) มีค่าการเจริญเติบโตดังกล่าวสูงกว่าปลานิลวัยอ่อนในกลุ่ม 2.5 Inulin และ 5.0 Inulin แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มสูงขึ้นของค่าการเจริญเติบโตนี้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ของปลานิลทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ถึงแม้ว่าปลานิลในกลุ่มที่ได้อาหารที่มีการเสริมพรีไบโอติกอินูลินและแก่นตะวันจะมีค่า FCR ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมก็ตาม และปลานิลวัยอ่อนทุกกลุ่มทดลองมีค่าอัตราการรอดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้จากการตรวจประสิทธิภาพการแปลงเพศปลานิลวัยอ่อนปลานิลทุกกลุ่มทดลอง ไม่พบปลาปลานิลเพศเมียในทุกกลุ่มทดลอง

ผลการศึกษาจุลสัณฐานวิทยาในลำไส้ของปลานิลวัยอ่อน (ตารางที่ 3.2) พบว่าที่ลำไส้ส่วนต้น (anterior) ลำไส้ส่วนกลาง (middle) และลำไส้ส่วนปลาย (Posterior) มีความยาวของวิลไลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่สามารถสังเกตได้ว่าความยาววิลไลของลำไส้ทุกส่วนของปลานิลในกลุ่มทดลองที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกมีแนวโน้มสูงกว่าปลานิลในกลุ่มควบคุม โดยพบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมผงแก่นตะวันมีค่าความยาวของวิลไลสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ

ผลการเสริมพรีไบโอติกในอาหารต่อประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลานิลวัยอ่อน (ตารางที่ 3.3) พบว่าประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลามีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลองต่าง ๆ โดยพบว่าปลานิลในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (10.0 JA) มีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด จุลินทรีย์ในกลุ่ม Lactic acid bacteria กลุ่ม Bifidobacteria และกลุ่มยีสต์และรา สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ในขณะที่ปลานิลวัยอ่อนในกลุ่ม 5.0 JA ที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันในระดับต่ำและปลานิลในกลุ่มที่ได้รับการเสริมอินูลินทั้ง 2 ระดับ (2.5 Inulin และ 5.0 Inulin) มีจำนวนจุลินทรีย์ดังกล่าวไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) นอกจากนี้พบว่าจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Vibrio* ในปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (10.0 JA) มีค่าต่ำที่สุด และแตกต่างจาก

กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อย่างไรก็ตามกลุ่มทดลองอื่น ๆ ได้แก่ กลุ่ม 2.5 Inulin, 5.0 Inulin และ 5.0 JA มีจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Vibrio* ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($P>0.05$)

ตารางที่ 3.1 สมรรถนะการเจริญเติบโตของปลานิลวัยอ่อนระยะแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลินและผงแก่นตะวัน เป็นระยะเวลา 28 วัน (mean ± SE, $n = 4$)[1]

กลุ่มทดลอง	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% day^{-1})	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	อัตรารอด (%)
กลุ่มควบคุม	0.03 ± 0.00	2.24 ± 0.19	7165.53 ± 694.44	15.26 ± 0.32	1.57 ± 0.12	97.85 ± 0.22
2.5 Inulin	0.03 ± 0.00	2.26 ± 0.12	7511.21 ± 494.10	15.45 ± 0.24	1.48 ± 0.08	97.85 ± 0.15
5.0 Inulin	0.03 ± 0.00	2.28 ± 0.05	7558.46 ± 180.31	15.49 ± 0.09	1.46 ± 0.04	98.15 ± 0.43
5.0 JA	0.03 ± 0.00	2.63 ± 0.15	8782.19 ± 652.92	15.99 ± 0.27	1.27 ± 0.08	98.10 ± 0.19
10.0 JA	0.03 ± 0.00	2.65 ± 0.17	8823.25 ± 631.43	16.01 ± 0.24	1.26 ± 0.08	98.20 ± 0.08

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (อาหาร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 3.2 ค่าความยาวของวิลไลในลำไส้ส่วนต่าง ๆ ของปลานิลวัยอ่อนระยะแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 28 วัน (mean ± SE, $n = 4$)[1]

กลุ่มทดลอง	Anterior	Middle	Posterior
	Villi height (μm)	Villi height (μm)	Villi height (μm)
กลุ่มควบคุม	257.49 ± 13.11	181.41 ± 6.48	153.26 ± 8.05
2.5 Inulin	263.73 ± 24.89	192.21 ± 9.32	155.75 ± 2.86
5.0 Inulin	289.43 ± 15.05	199.87 ± 9.85	164.07 ± 5.85
5.0 JA	295.05 ± 18.55	201.58 ± 9.58	161.60 ± 3.98
10.0 JA	311.85 ± 9.28	205.72 ± 11.63	169.66 ± 4.21

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (อาหาร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 3.3 ประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลานิลวัยอ่อนระยะแปลงเพศ (log CFU g^{-1}) ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 28 วัน (mean ± SE, $n = 4$)[1]

กลุ่มทดลอง	Total bacteria	Lactic acid bacteria	*Bifidobacteria* spp.	*Vibrio* spp.	Yeast and fungi
กลุ่มควบคุม	5.65 ± 0.06^{a}	3.96 ± 0.03^{a}	5.62 ± 0.06^{a}	5.00 ± 0.02^{b}	3.82 ± 0.03^{b}
2.5 Inulin	5.70 ± 0.02^{a}	3.98 ± 0.04^{a}	5.66 ± 0.03^{a}	4.98 ± 0.02^{b}	3.81 ± 0.04^{b}
5.0 Inulin	5.72 ± 0.02^{a}	3.99 ± 0.04^{a}	5.66 ± 0.04^{a}	4.97 ± 0.02^{b}	3.79 ± 0.03^{b}
5.0 JA	5.75 ± 0.03^{ab}	4.04 ± 0.04^{ab}	5.72 ± 0.04^{ab}	4.93 ± 0.02^{b}	3.80 ± 0.05^{b}
10.0 JA	5.84 ± 0.04^{b}	4.11 ± 0.01^{b}	5.83 ± 0.03^{b}	4.85 ± 0.03^{a}	3.67 ± 0.04^{a}

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (อาหาร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3.2 ผลของการเสริมอินูลินและผงแก่นตะวันในอาหารปลานิลวัยรุ่น

ผลของการเสริมพรีไบโอติกในอาหารปลานิลวัยรุ่นต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตแสดงดังตารางที่ 3.4 พบว่าปลานิลวัยรุ่นที่ได้รับการเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (5.0 Inulin) และการเสริมผงแก่นตะวันทั้งที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (5.0 JA) และ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (10.0 JA) มีน้ำหนักตัวสุดท้าย (Final body weight) สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) อย่างไรก็ตามปลานิลทุกกลุ่มทดลองมีค่าอัตราการเพิ่มน้ำหนักตัว (Weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate) ไม่แตกต่างกัน และพบว่าปลานิลวัยรุ่นที่ได้รับการเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (5.0 Inulin) และการเสริมผงแก่นตะวันทั้งที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (5.0 JA) และ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (10.0 JA) มีค่า FCR ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เปอร์เซ็นต์อัตรารอดของปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกจากอินูลินและผงแก่นตะวันในอาหารต่อค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิลวัยรุ่น (ตารางที่ 3.5) พบว่าค่าองค์ประกอบทางเคมีของปลานิลในแต่ละกลุ่มทดลองได้แก่ค่าความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกจากอินูลิน และผงแก่นตะวันในอาหารต่อค่าโลหิตวิทยาของปลานิลแสดงผลดังตารางที่ 3.6 พบว่าปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลินทั้ง 2 ระดับ (2.5 Inulin และ 5.0 Inulin) หรือผงแก่นตะวันทั้ง 2 ระดับ (5.0 JA และ 10.0 JA) ในอาหารจะมีจำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($P < 0.05$) แต่พบว่าค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) และฮีมาโตคริต (Hematocrit) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง (P>0.05)

ตารางที่ 3.4 สมรรถนะการเจริญเติบโตของปลานิลวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลินและผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 54 วัน (mean ± SE, $n = 4$)[1]

กลุ่มทดลอง	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% day^{-1})	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	อัตรารอด (%)
กลุ่มควบคุม	2.24 ± 0.19	47.15 ± 0.54^{a}	2133.67 ± 188.00	5.73 ± 0.17	1.06 ± 0.02^{b}	97.51 ± 0.08
2.5 Inulin	2.26 ± 0.12	47.26 ± 0.40^{a}	2014.29 ± 132.68	5.64 ± 0.11	1.06 ± 0.01^{b}	97.80 ± 0.07
5.0 Inulin	2.28 ± 0.05	50.89 ± 0.44^{b}	2135.33 ± 49.33	5.75 ± 0.04	0.98 ± 0.01^{a}	98.08 ± 0.14
5.0 JA	2.63 ± 0.15	51.19 ± 1.22^{b}	1869.51 ± 156.68	5.51 ± 0.14	0.98 ± 0.03^{a}	98.08 ± 0.14
10.0 JA	2.65 ± 0.17	53.60 ± 3.33^{b}	1950.39 ± 160.89	5.58 ± 0.16	0.94 ± 0.03^{a}	98.15 ± 0.18

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (อาหาร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 3.5 ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 54 วัน (mean ± SE, $n = 4$)[1]

อาหาร	ความชื้น (g kg^{-1})	โปรตีน (g kg^{-1})	ไขมัน (g kg^{-1})	เถ้า (g kg^{-1})
กลุ่มควบคุม	726.1 ± 4.1	119.2 ± 1.6	25.2 ± 0.4	38.4 ± 1.5
2.5 Inulin	727.4 ± 4.3	121.0 ± 4.3	25.3 ± 0.7	39.0 ± 1.9
5.0 Inulin	739.8 ± 5.2	123.2 ± 1.6	26.7 ± 1.1	39.1 ± 1.7
5.0 JA	732.2 ± 2.5	121.4 ± 2.9	26.1 ± 0.7	39.1 ± 1.5
10.0 JA	739.9 ± 3.4	124.3 ± 1.6	26.3 ± 0.4	41.0 ± 1.5

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตารางที่ 3.6 ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 54 วัน (mean ± SE, $n = 4$)[1]

กลุ่มทดลอง	RBC[2] (cell x 10^{12} L^{-1})	Hemoglobin (g L^{-1})	Hematocrit (L L^{-1})
กลุ่มควบคุม	2.13 ± 0.02^{a}	71.40 ± 1.70	0.25 ± 0.01
2.5 Inulin	2.21 ± 0.02^{b}	73.90 ± 1.80	0.25 ± 0.01
5.0 Inulin	2.23 ± 0.01^{b}	74.70 ± 1.20	0.25 ± 0.01
5.0 JA	$2.24 + 0.02^{b}$	76.00 ± 1.40	0.26 ± 0.01
10.0 JA	$2.26 + 0.02^{b}$	77.40 ± 1.40	0.26 ± 0.01

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (อาหาร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

[2] RBC = จำนวนเม็ดเลือดแดง

ผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกจากอินูลิน และผงแก่นตะวันในอาหาร ต่อค่าชีวเคมีของโลหิตปลานิล (ตารางที่ 3.7) พบว่าการเสริมอินูลิน หรือผงแก่นตะวันในอาหาร ไม่มีผลต่อค่า Glucose, Cholesterol, Triglyceride, Albumin, BUN, T-bilirubin, SGOT, SGPT และ Chloride ในกระแสเลือด แต่การเสริมอินูลินและการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารมีผลต่อค่า Total protein และ Calcium, Magnesium และ Iron โดยพบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมอินูลินที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (5.0 Inulin) และการเสริมผงแก่นตะวันทั้ง 2 ระดับ (5.0 JA และ 10.0 JA) มีค่า Total protein ในเลือดสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมอินูลินผงแก่นตะวัน ที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร(10.0 JA) เพียงกลุ่มเดียวที่มีค่า Calcium ในเลือดสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมอินูลินที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (5.0 Inulin) และการเสริมผงแก่นตะวันทั้ง 2 ระดับ (5.0 JA และ 10.0 JA) มีค่า Magnesium ในเลือดสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และพบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมผงแก่นตะวันทั้ง 2 ระดับ (5.0 JA และ 10.0 JA) มีค่า iron ในเลือดสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกจากอินูลิน และผงแก่นตะวันในอาหาร ต่อค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของปลานิล (ตารางที่ 3.8) พบว่าการเสริมอินูลินที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (5.0 Inulin) และการเสริมผงแก่นตะวันทั้ง 2 ระดับ (5.0 JA และ 10.0 JA) ในอาหารมีผลทำให้ค่า Total immunoglobulin (Total Ig) เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และปลานิลในกลุ่ม 10.0 JA มีค่า Total Ig สูงที่สุด และพบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมอินูลินที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (5.0 Inulin) และการเสริมผงแก่นตะวันทั้ง 2 ระดับ (5.0 JA และ 10.0 JA) มีค่าการทำงานของเอ็นไซม์ไลโซไซม์ (Lysozyme activity) เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) นอกจากนี้พบว่าการเสริมอินูลินทั้ง 2 ระดับ (2.5 Inulin และ 5.0 Inulin) และการเสริมผงแก่นตะวันทั้ง 2 ระดับ (5.0 JA และ 10.0 JA) ในอาหารมีผลทำให้ค่า Alternative complement activity (ACH50) เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยที่การเสริมอินูลินในระดับสูงและการเสริมผงแก่นตะวันทั้ง 2 ระดับ (5.0 Inulin, 5.0 JA และ 10.0 JA) ส่งผลให้ปลานิลมีค่า ACH50 สูงกว่าปลานิลในกลุ่ม 2.5 Inulin (P<0.05)

ตารางที่ 3.7 ค่าชีวเคมีของโลหิตของปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 54 วัน (mean ± SE, $n = 4$)[1]

ค่าชีวเคมีของโลหิต	กลุ่มทดลอง				
	กลุ่มควบคุม	2.5 Inulin	5.0 Inulin	5.0 JA	10.0 JA
Glucose (mmol L^{-1})	2.97±0.17	2.69±0.21	3.45±0.19	3.10±0.20	3.32±0.23
Cholesterol (mmol L^{-1})	3.79±0.16	3.89±0.22	4.26±0.13	3.91±0.13	4.05±0.23
Triglycerides (mmol L^{-1})	1.62±0.09	1.61±0.09	1.79±0.09	1.75±0.11	1.80±0.10
Total protein (g L^{-1})	34.90±1.40^{a}	37.60±1.40^{ab}	40.00±0.80^{b}	39.80±1.50^{b}	40.70±0.70^{b}
Albumin (g L^{-1})	17.70±1.40	19.20±1.10	19.70±1.60	19.50±1.30	21.90±1.10
BUN (mmol L^{-1})	0.84±0.03	0.81±0.04	0.79±0.02	0.73±0.02	0.75±0.01
Total bilirubin (µmol L^{-1})	2.91±0.68	2.57±0.51	2.22±0.51	2.39±0.86	1.88±0.17
SGOT (U L^{-1})	35.29±2.42	35.12±1.84	30.49±1.45	27.70±2.64	29.68±2.04
SGPT (U L^{-1})	21.37±0.83	21.03±0.78	19.26±1.02	17.59±1.08	18.71±0.85
Chloride (mmol L^{-1})	127.35±1.85	131.23±2.54	132.48±3.91	132.54±3.64	134.04±2.41
Calcium (mmol L^{-1})	3.03±0.09^{a}	3.16±0.06^{ab}	3.26±0.11^{ab}	3.30±0.08^{ab}	3.43±0.08^{b}
Magnesium (mmol L^{-1})	0.99±0.02^{a}	1.01±0.02^{a}	1.11±0.03^{b}	1.11±0.02^{b}	1.12±0.05^{b}
Iron (µmol L^{-1})	11.45±0.53^{a}	11.70±0.78^{a}	13.66±0.81^{ab}	14.33±0.60^{b}	15.06±1.01^{b}

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (อาหาร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

[2] BUN = blood urea nitrogen; [3] SGOT = serum glutamic oxaloacetic transaminase; [4] SGPT = serum glutamic pyruvic transaminase

ตารางที่ 3.8 ค่าภูมิคุ้มกันวิทยาแบบไม่จำเพาะของปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 54 วัน (mean ± SE, $n = 4$)[1]

ค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ	กลุ่มทดลอง				
	กลุ่มควบคุม	2.5 Inulin	5.0 Inulin	5.0 JA	10.0 JA
Total Ig ($g\ L^{-1}$)	30.10 ± 1.40^{a}	31.10 ± 1.50^{ab}	34.70 ± 1.00^{bc}	34.60 ± 1.50^{bc}	36.10 ± 1.00^{c}
Lysozyme activity ($\mu g\ mL^{-1}$)	8.37 ± 0.84^{a}	8.91 ± 0.31^{ab}	9.79 ± 0.12^{b}	9.98 ± 0.19^{b}	10.12 ± 0.26^{b}
ACH50 (units mL^{-1})	288.40 ± 13.50^{a}	317.70 ± 11.20^{b}	372.70 ± 4.80^{c}	375.00 ± 6.50^{c}	386.60 ± 6.60^{c}

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (อาหาร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

[2] Total Ig = total immunoglobulin; [3] ACH50 = alternative complement activity

ผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกอินูลินและผงแก่นตะวันในอาหาร ต่อจุลสัณฐานวิทยาของลำไส้ปลานิล (ตารางที่ 3.9) พบว่าการเสริมแก่นตะวันที่ระดับ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม (10.0 JA) ส่งผลให้วิลไลที่บริเวณลำไส้ส่วนต้น (anterior) มีความยาวมากกว่าความยาวของวิลไลในลำไส้ส่วนต้นของปลานิลในกลุ่มควบคุม (P<0.05) และพบว่าที่บริเวณลำไส้ส่วนกลาง (middle) ปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลินที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับในอาหาร (5.0 JA และ 10.0 JA) จะมีความยาววิลไล (Villi) เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม (P<0.05) อย่างไรก็ตาม ความสูงของวิลไลที่บริเวณลำไส้ส่วนปลายไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลอง นอกจากนี้พบว่าที่บริเวณลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ส่วนกลางของปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลินที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับในอาหาร (5.0 JA และ 10.0 JA) จะมีจำนวน Goblet cells มากกว่าจำนวน Goblet cells ที่บริเวณลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ส่วนกลางของปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม (P<0.05) ในขณะที่จำนวน Goblet cells ที่บริเวณลำไส้ส่วนปลายไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลอง

ผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกจากอินูลิน และผงแก่นตะวันในอาหาร ต่อประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลานิลวัยรุ่น ที่ระยะเวลาการทดลอง 54 วัน (ตารางที่ 3.10) พบว่า ปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับในอาหาร (5.0 JA และ 10.0 JA) จะมีจำนวนประชากรรวมของแบคทีเรีย (Total bacteria) เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม (P<0.05) ปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลินที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับในอาหาร (5.0 JA และ 10.0 JA) มีจำนวนประชากรแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม (P<0.05) และพบว่าปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลินที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับในอาหาร (5.0 JA และ 10.0 JA) มีจำนวนประชากรแบคทีเรียในกลุ่ม *Bifidobactiria* spp. เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม (P<0.05) โดยที่ปลานิลในกลุ่ม 10.0 JA มีจำนวนประชากรแบคทีเรียในกลุ่ม *Bifidobactiria* spp. สูงที่สุด และมีเพียงปลานิลในกลุ่ม 10.0 JA กลุ่มเดียวที่มีจำนวนประชากรแบคทีเรียในกลุ่มยีสต์และราสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม การเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับในอาหาร (5.0 JA และ 10.0 JA) มีผลทำให้จำนวนประชากรแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. ลดลง (P<0.05) และปลานิลในกลุ่ม 10.0 JA มีจำนวนประชากรแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. ต่ำที่สุด

ตารางที่ 3.9 ค่าความยาวของวิลไล และจำนวนกอบเลท เซลล์ในลำไส้ส่วนต่าง ๆ ของปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 54 วัน (mean ± SE, $n = 4$)[1]

กลุ่มทดลอง	Anterior		Middle		Posterior	
	Villi height (μm)	No. of goblet cells	Villi height (μm)	No. of goblet cells	Villi height (μm)	No. of goblet cells
กลุ่มควบคุม	355.36 ± 13.99^{a}	25.67 ± 1.51^{a}	282.33 ± 21.03^{a}	23.50 ± 1.64^{a}	180.01 ± 9.20	18.50 ± 1.17
2.5 Inulin	378.80 ± 23.18^{a}	26.75 ± 2.02^{a}	315.63 ± 21.19^{ab}	26.00 ± 1.29^{a}	185.69 ± 10.13	18.67 ± 1.09
5.0 Inulin	402.04 ± 18.60^{ab}	33.92 ± 1.08^{b}	345.63 ± 15.86^{b}	31.50 ± 0.93^{b}	210.37 ± 11.02	20.75 ± 0.70
5.0 JA	405.40 ± 13.65^{ab}	34.00 ± 1.71^{b}	349.19 ± 13.84^{b}	31.75 ± 1.92^{b}	208.43 ± 6.10	21.17 ± 1.31
10.0 JA	446.83 ± 13.54^{b}	35.50 ± 2.20^{b}	360.53 ± 17.27^{b}	31.83 ± 2.20^{b}	213.46 ± 7.54	21.50 ± 0.80

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (อาหาร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 3.10 ปริมาณประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลานิลวัยรุ่น (log CFU g^{-1}) ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 54 วัน (mean ± SE, $n = 4$)[1]

Diet	Total bacteria	Lactic acid bacteria	*Bifidobacteria* spp.	*Vibrio* spp.	Yeast and fungi
Control	5.86 ± 0.01^{a}	5.83 ± 0.01^{a}	3.97 ± 0.03^{a}	5.02 ± 0.02^{c}	3.79 ± 0.01^{b}
2.5 Inulin	5.87 ± 0.02^{a}	5.85 ± 0.03^{a}	4.00 ± 0.02^{ab}	4.98 ± 0.01^{bc}	3.76 ± 0.02^{b}
5.0 Inulin	5.95 ± 0.04^{ab}	5.95 ± 0.02^{b}	4.07 ± 0.02^{bc}	4.96 ± 0.02^{bc}	3.74 ± 0.03^{b}
5.0 JA	5.96 ± 0.03^{b}	5.97 ± 0.02^{b}	4.08 ± 0.02^{bc}	4.92 ± 0.02^{b}	3.75 ± 0.03^{b}
10.0 JA	6.02 ± 0.02^{b}	6.00 ± 0.04^{b}	4.12 ± 0.03^{c}	4.82 ± 0.03^{a}	3.63 ± 0.01^{a}

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (อาหาร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3.2 อภิปรายผลการศึกษา

การศึกษาการใช้สารเสริมพรีไบโอติกในอาหารปลาส่วนใหญ่จะมีการวิจัยในปลานิลในระยะการเลี้ยงขุน การศึกษาในปลาวัยอ่อน หรือในระยะของการอนุบาลลูกปลายังมีการศึกษาน้อย การวิจัยนี้เป็นการศึกษาถึงผลของการใช้สารเสริมพรีไบโอติกในอาหารปลาในระยะการอนุบาลลูกปลาวัยอ่อนของปลานิล ซึ่งเป็นระยะของการผลิตลูกพันธุ์ปลานิลแปลงเพศ รวมทั้งการอนุบาลลูกปลาจนถึงระยะวัยรุ่น ซึ่งเป็นระยะการเลี้ยงปลาที่มีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงปลานิลเพศผู้ล้วนทางการค้าเป็นอย่างมาก เพราะถ้าหากลูกพันธุ์ปลามีการเจริญเติบโตที่ดี มีสุขภาพดี มักจะส่งผลให้การเลี้ยงปลาในระยะต่อไปจนถึงระยะการเลี้ยงขุน เพื่อไปสู่ตลาดผู้บริโภคประสบผลสำเร็จได้อย่างดี ในปัจจุบันการเสริมสารเสริม (feed additive) ในอาหารได้กลายเป็นหัวข้อที่น่าสนใจ ซึ่งไม่เพียงแต่เพื่อการปรับปรุงอัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร แต่ยังรวมถึงการปรับปรุงสุขภาพของปลาด้วย การพัฒนาการใช้พรีไบโอติกส์ (prebiotics) ในเชิงอุตสาหกรรมยังต้องการการประเมินถึงผลการใช้เป็นสารเสริมในอาหารสัตว์ และผลต่อการผลิตสัตว์ โดยอินูลิน ได้มีบทบาทต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต และสุขภาพในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Coudray et al., 1997; Trautwein et al., 1998; Brighenti et al., 1999; He et al., 2002; Kaur and Gupta, 2002) อย่างไรก็ตาม ผลดังกล่าวยังมีการศึกษาน้อยมากในปลานิล (Ibrahem et al., 2010) โดยเฉพาะในการอนุบาลปลานิลวัยอ่อน ในการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการแสดงถึงผลข้อมูลที่เกี่ยวกับผลของการเสริมอินูลินในอาหารปลานิลในระหว่างการแปลงเพศปลานิลจนถึงการอนุบาลปลานิลจะถึงระยะปลาวัยรุ่น

อินูลินทางการค้าที่มีการใช้เป็นสารเสริมในอาหารสัตว์เป็นผลิตภัณฑ์ของต่างประเทศ ในประเทศไทยเองก็มีพืชหลายชนิดที่เป็นแหล่งของสารพรีไบโอติก ได้แก่ หัวแก่นตะวัน ที่มีองค์ประกอบของสารพรีไบโอติกส์สูงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2.1) แต่การพัฒนานำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ โดยเฉพาะอาหารปลาวัยอ่อนยังมีน้อยมาก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาถึงผลของการใช้แก่นตะวันเป็นสารเสริมชนิดพรีไบโอติกส์ในด้านต่าง ๆ ในการผลิตปลานิลแปลงเพศ จนถึงการอนุบาลจนเป็นปลานิลวัยรุ่น เช่น ด้านสมรรถนะการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีของปลา ค่าพารามิเตอร์ทางสุขภาพด้านต่าง ๆ เนื่องจากแก่นตะวันมีองค์ประกอบของ fructooligosaccharide สูงประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการใช้หัวแก่นตะวันที่บดเป็นผง เป็นสารเสริมโดยตรง ในอาหารปลานิลแปลงเพศที่มีการผสมฮอร์โมน โดยหวังว่าผลการศึกษาที่ได้จะนำไปสู่การพัฒนาแหล่งพรีไบโอติกชนิดใหม่ โดยเฉพาะแหล่งของฟรุกแตก (fructan) อินูลิน (inulin) ในอุตสาหกรรมอาหารปลาน้ำจืดวัยอ่อนต่อไป

ผลการศึกษาการเสริมอินูลินหรือการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลาที่ใช้ในการแปลงเพศปลา ซึ่งเป็นอาหารปลาที่ได้มีการผสมกับฮอร์โมน 17α-methyltestosterone ที่ใช้ในการแปลงเพศปลา เป็นระยะเวลา 28 วัน พบว่าการเสริมอินูลินในอาหาร หรือการเสริมผงแก่นตะวันในอาหาร มีผลทำ

ให้ปลาวัยอ่อนในระยะนี้ มีน้ำหนักตัวสุดท้าย (Final weight) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ไม่แตกต่างกัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ก็ไม่แตกต่างกัน ถึงแม้ว่ากลุ่มทดลองที่ได้รับการเสริมแก่นตะวันในอาหารจะมีค่าดังกล่าวสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ ก็ตาม แต่เมื่อนำปลาแต่ละกลุ่มทดลองมาอนุบาลต่อจนถึงระยะปลาวัยรุ่น พบว่า กลุ่มปลาทดลองที่ได้รับการเสริมอินูลินในระดับสูง และผงแก่นตะวันทั้ง 2 ระดับ มีน้ำหนักตัวสุดท้ายที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกในอาหารปลาวัยอ่อน เช่น การเสริมพรีไบโอติก fermacto ในอาหารปลาไน (*cyprinus carpio*) วัยอ่อน พบว่าปลาไนที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมพรีไบโอติกในอาหารมีค่าสมรรถนะการเจริญเติบโตได้แก่ น้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ความยาวลำตัว อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการเสริมพรีไบโอติกในอาหาร และกลุ่มทดลองที่ได้รับการเสริมพรีไบโอติก fermacto ที่ระดับ 3 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีการเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงที่สุด (Mazurkiewicz et al., 2008) และรายงานการศึกษาการเสริมพรีไบโอติก Organoferum ที่มีส่วนผสมของ mannan-oligosaccharide และ β-glucan ในปลาไนวัยอ่อน มีผลทำให้ปลาไนมีสมรรถนะการเจริญเติบโตสูงกว่าลูกปลาในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการเสริมพรีไบโอติกในอาหาร และมีสมรรถนะการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากลูกปลาไนที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกในอาหาร (Eleraky et al., 2014) การศึกษาในปลาเรนโบว์เทร้าพบว่า การเสริม mannan-oligosaccharide ส่งผลให้ปลาเรนโบว์เทร้า (*Oncorhynchus mykiss*) มีน้ำหนักตัวที่สูงขึ้นและค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำลง (Staykov et al., 2007) อย่างไรก็ตามการทดลองการเสริมพรีไบโอติกที่มีสารผสม autolyzed brewers yeast (Grobiotic) ไม่มีผลต่อการพัฒนาการเจริญเติบโตในปลา hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) (Li and Gatlin, 2004) การศึกษาการเสริมพรีไบโอติกชนิดต่าง ๆ ได้แก่ mannan-oligosaccharide, fructooligosaccharide และ galactosaccharide ในปลาแอตแลนติกซาลมอน (*Salmo salar*) ไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Grisdale-Helland et al., 2008) นอกจากนี้ยังมีการวิจัยการใช้พรีไบโอติกในปลา turbot (*Psetta maxima*) วัยอ่อน ที่ได้รายงานว่า การเสริมพรีไบโอติกชนิดที่ต่างกันมีผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ซึ่งได้ทำการเปรียบเทียบการเสริมพรีไบโอติกที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ อินูลิน oligofructose lactosucrose กับกลุ่มควบคุมที่ใช้ cellulose พบว่าการเสริม oligofructose ส่งผลให้ปลา turbot วัยอ่อนมีน้ำหนักตัวสูงกว่าปลากลุ่มควบคุม ในขณะที่กลุ่มที่เสริมพรีไบโอติกชนิดอื่น ๆ มีน้ำหนักตัวไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (Mahious et al., 2006) ดังนั้นผลของการเสริมพรีไบโอติกในอาหารปลาต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต อาจมีความแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของพรีไบโอติก และชนิดของปลา

ในการศึกษาวิจัยนี้ได้ทดสอบการใช้ผงแก่นตะวันเป็นสารเสริมโดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการสกัดสารพรีไบโอติกก่อน และจึงใช้การเปรียบเทียบคุณสมบัติพรีไบโอติกกับอินูลิน โดยสูตรอาหารที่มีแก่นตะวันเป็นองค์ประกอบที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม และ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม จะมีองค์ประกอบ

ของพรีไบโอติกเทียบเท่าได้กับสูตรอาหารที่ใส่สารเสริมอินูลินที่ระดับ 2.5 กรัมต่อกิโลกรัม และ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ดังนั้นผลที่คาดว่าจะได้รับของงานวิจัยนี้จึงคาดหวังว่า ผลของการเสริมผงแก่นตะวันต่อปลาในกลุ่มทดลอง 5.0 JA น่าจะเทียบเท่ากับผลของการเสริมสารอินูลินในกลุ่มทดลอง 2.5 Inulin และ ผลของการเสริมผงแก่นตะวันต่อปลาในกลุ่มทดลอง 10.0 JA น่าจะเทียบเท่ากับผลของการเสริมสารอินูลินในกลุ่มทดลอง 5.0 Inulin และในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมผงแก่นตะวันโดยตรงในอาหารปลาวัยอ่อนจนถึงปลาวัยรุ่นได้ผลที่พัฒนาสมรรถนะการเจริญเติบโตได้ดีกว่าการใช้อินูลินทางการค้าเป็นสารเสริม เมื่อเปรียบเทียบในระดับของการเสริมอินูลินที่เท่ากัน ที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดเนื่องจากความแตกต่างของ Degree of polymerization ของพรีไบโอติกในผงแก่นตะวัน และอินูลินเชิงการค้า เนื่องจากการวิเคราะห์พรีไบโอติคในผงแก่นตะวันในครั้งนี้ ไม่สามารถวิเคราะห์สัดส่วนของ oligosaccharide แต่ชนิด ได้มีการรายงานผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกต่างชนิดกันในปลา ให้ผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เช่น ในปลา Turbot การเสริมอาหารปลาด้วยด้วยฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์จะให้ผลด้านอัตราการเจริญเติบโตที่ดีกว่าการเสริมด้วยอินูลิน (Mahious et el., 2006a) อย่างไรก็ตาม Ortiz et al. (2013) รายงานว่าการเสริมอินูลิน หรือฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ในอาหารปลาเรนโบว์เทร้า จะให้ผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตที่คล้ายคลึงกัน นอกจากนี้ผงแก่นตะวันอาจมีสารอาหารอื่น ๆ ที่ดีต่อการใช้ประโยชน์ในอาหารของปลานิลวัยอ่อน เช่น แร่ธาตุ และวิตามินต่าง ๆ ได้มีการรายงานว่าแก่นตะวันมีส่วนประกอบของแร่ธาตุและวิตามินต่าง ๆ เช่น Iron Calcium Potassium Vitamin B complex Vitamin C และ vitamin A (Van Loo et al., 1995; Kays and Nottingham, 2007) ซึ่งควรจะมีการวิจัยและการวิเคราะห์เพิ่มเติม เพื่ออธิบายถึงผลของการใช้ผงแก่นตะวันเป็นสารเสริมอาหารในอาหารปลาโดยตรง เพื่อการพัฒนาการใช้ผงแก่นตะวันเป็นสารเสริมในอาหารสัตว์น้ำ หรืออาหารสัตว์เศรษฐกิจชนิดอื่น ๆ ต่อไป

รายงานการศึกษาถึงผลของการเสริมพรีไบโอติกในอาหารปลาต่อค่าอัตราการรอดของปลาไน ปลา turbot ปลา hybrid striped bass และการทดลองในปลานิลในการทดลองนี้ ที่พบว่าการเสริมพรีไบโอติกไม่มีผลต่ออัตราการอดของปลาในระหว่างการทดลอง อย่างไรก็ตามในการศึกษาในปลาไนวัยอ่อน ปลาเรนโบว์เทร้า ปลาแอตแลนติกซาลมอน ได้รายงานว่าการเสริมพรีไบโอติกมีผลทำให้ปลามีอัตรารอดสูงขึ้น (Staykov et al., 2007; Grisdale-Helland et al., 2008; Eleraky et al., 2014)

ในการผลิตลูกปลานิลแปลงเพศเชิงการค้า ประสิทธิภาพการแปลงเพศปลามีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงปลานิลเพศผู้ล้วนทางการค้า ซึ่งควรมีค่าประสิทธิภาพการแปลงเพศไม่ต่ำกว่า 98 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากปลาเพศเมียมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่าปลาเพศผู้มาก (Boonanuntanasarn et al., 2013) และการมีปลาเพศเมียปะปนในระหว่างการเลี้ยงขุนปลา มักจะส่งผลให้ปลามีการผสมพันธุ์วางไข่ทำให้มีปลาหลายขนาดในบ่อหรือในกระชัง ซึ่งไม่เป็นที่ยอมรับของการเพาะเลี้ยงปลานิลเชิงพาณิชย์ การศึกษาครั้งนี้พบว่าประสิทธิภาพของการแปลงเพศไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลองต่าง ๆ ซึ่งแสดง

ให้เห็นว่า การเสริมพรีไบโอติกอินูลินหรือผงแก่นตะวันในอาหาร ไม่ส่งผลกระทบต่อการแปลงเพศปลานิล ซึ่งข้อมูลการศึกษานี้น่าจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรที่ผลิตลูกพันธุ์ปลานิลแปลงเพศเชิงการค้า

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมอินูลินและการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลานิลแปลงเพศในระยะการแปลงเพศปลาไม่มีผลต่อจุลสัณฐานของลำไส้ปลานิลวัยอ่อน อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อมีการใช้อาหารที่มีการเสริมพรีไบโอติกอินูลินที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารในการอนุบาลลูกปลาต่อไปให้เป็นปลานิลระยะวัยรุ่น ส่งผลให้ความสูงของวิลไลที่ลำไส้ส่วนกลางสูงกว่าความสูงของวิลไลในลำไส้ส่วนกลางของกลุ่มควบคุม และมีผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์โกเบล็ท (Goblet cell) ของลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ส่วนกลาง นอกจากนี้การเสริมผงแก่นตะวัน ทั้ง 2 ระดับ ในอาหารสำหรับการอนุบาลปลานิลในระยะวัยรุ่นมีผลต่อการเพิ่มความสูงของวิลไลที่ส่วนต้นและส่วนกลางของลำไส้ปลา และมีผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์โกเบล็ทด้วยเช่นกัน ซึ่งผลการศึกษาจุลสัณฐานของลำไส้นี้สอดคล้องกับค่าสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลานิล ที่เห็นผลของการเสริมพรีไบโอติกในอาหารปลาต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตเฉพาะในช่วงของการอนุบาลลูกปลาเป็นปลานิลวัยรุ่นเท่านั้น โดยที่ Caspary (1992) ได้รายงานว่าการเพิ่มความยาวของวิลไลในลำไส้นำไปสู่การเพิ่มพื้นที่ผิวในการดูดซึมสารอาหาร ซึ่งจะส่งผลต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต และการใช้ประโยชน์ได้ของอาหารในสัตว์ สารพรีไบโอติกในอาหารจะถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารหรือที่ลำไส้ ซึ่งการหมักของพรีไบโอติกอินูลินจะช่วยให้เกิดการผลิตสารหลายชนิดที่สามารถกระตุ้นให้การแบ่งเซลล์ในลำไส้ ซึ่งมีผลทำให้ความยาวของวิลไลเพิ่มสูงขึ้น (Blottiere et al., 2003; Rehman et al., 2007; Nabizadeh, 2012) อย่างไรก็ตาม ผลของการเสริมอินูลินในอาหารปลากินเนื้อ (carnivore) ให้ผลที่แตกต่างกัน การเสริมอินูลินในอาหารปลา Arctic char (*Salvelinus alpinus*) มีผลเสียต่อโครงสร้างภายในระบบทางเดินอาหาร (Olsen et al., 2001) และ การเสริมอินูลินในอาหาร ทำให้วิลไลของลำไส้ปลา Gilthead sea bream มีความสูงลดลงและมีจำนวนเซลล์โกเบล็ทลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับอาหารที่เสริมอินูลิน (Cerezuela et al., 2013)

จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของปลาสามารถพบได้ตั้งแต่ระยะปลาวัยอ่อน หรือหลังจากปลาฟักเป็นตัว (Olafsen, 2001; Denev et al., 2009) ดังนั้นการปรับสมดุลประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของปลาวัยอ่อน เพื่อให้ปลาวัยอ่อนมีประชากรจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์มากขึ้นและลดจุลินทรีย์ที่ก่อโทษ จึงน่าจะเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต และภูมิคุ้มกันในปลาวัยอ่อน และในปลาในระยะเลี้ยงขุนต่อไป พรีไบโอติก คือ functional fodod ชนิดหนึ่ง ที่จัด non-digestible food หรืออาหารที่ไม่ถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์ของสัตว์เจ้าบ้าน แต่จะถูกหมักย่อยด้วยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ หรือโปรไบโอติกในลำไส้ของสัตว์ ดังนั้นพรีไบโอติกจึงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ของสัตว์ โดยทั่วไป Lactic acid bacteria และแบคทีเรียกลุ่ม *Bifidobacteria* spp. สามารถใช้ประโยชน์จากอินูลิน fructooligosaccharide (Kaplan and Hutkins 2000; Buddington et al., 2002; Roller et al., 2004) ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้ส่วนใหญ่จะถูกจัดให้เป็นแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ใน

ระบบนิเวศของลำไส้ของสัตว์โดยการผลิตแบคเทอริโอซิน (Bacteriocins) กรดแลคติก และสารต้านการเจริญเติบโตของเชื้อโรคอื่น ๆ ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ซึ่งอาจเป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโทษได้ (Ringø and Gatesoupe 1998; Ringø et al. 2010a) การศึกษาครั้งนี้พบว่า การเสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารในอาหารปลานิลในระยะแปลงเพศมีผลทำให้ลำไส้ของปลานิลวัยอ่อนมีจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ได้แก่ Lactic acid bacteria และ *Bifidobacterium* สูงขึ้น และลดจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Vibrio* และการเสริมผงแก่นตะวันทั้ง 2 ระดับ ในระยะการอนุบาลลูกปลาต่อจากการแปลงเพศปลามีผลทำให้ลำไส้ของปลานิลวัยอ่อนมีจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ได้แก่ Lactic acid bacteria และ *Bifidobacterium* สูงขึ้น และลดจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Vibrio* โดยเฉพาะการเสริมอินูลินที่ระดับสูงเท่านั้น (5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร) ในอาหารที่ใช้อนุบาลลูกปลา ส่งผลต่อการเพิ่มจำนวน Lactic acid bacteria และ *Bifidobacterium* ให้สูงขึ้น และลดจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Vibrio* ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาที่ได้รายงานไว้ในปลาหลายชนิด การเสริมอินูลินในอาหาร (10.0 กรัมต่อกิโลกรัม) ส่งผลให้จำนวนประชากร Lactic acid bacteria ในปลา Beluga เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม (Reza et al.ม 2009) รายงานการศึกษาในปลา turbot พบว่า Fructooligosaccharide ลดจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Vibrio* และเพิ่มประชากรจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Bacillus* นอกจากนี้การเสริมอินูลินในอาหาร (5.0 กรัมต่อกิโลกรัม) ทำให้จำนวนประชากร Lactic acid bacteria ในปลา Hybrid surubim (*Pseudoplatystoma* sp.) เพิ่มสูงขึ้น (Mourino et al., 2012) ในขณะเดียวกันการเสริมอินูลินในอาหาร (5.0 กรัมต่อกิโลกรัม - 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม) ส่งผลต่อการลดจำนวนประชากรแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. จนถึงระดับที่ไม่สามารถตรวจพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ในลำไส้ส่วนปลายของปลา Rainbow trout (Ortiz et al., 2013)

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมโปรไบโอติกในอาหารปลา ทั้งการเสริมอินูลินและการเสริมแก่นตะวัน ไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิลวัยรุ่น ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า ความชื้น ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาถึงผลของการใช้สารเสริมพรีไบโอติกในปลา Hybrid striped bass ปลาแอตแลนติกซาลมอน และปลา Beluga ที่พบว่าการเสริมอินูลินในอาหารไม่มีผลต่อค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา (Grisdale-Helland et al., 2008; Reza et al., 2009; Burr et al., 2010) อย่างไรก็ตามการศึกษาในปลาไนวัยอ่อน พบว่า พรีไบโอติกส่งผลให้องค์ประกอบทางเคมีของร่างกายปลาได้แก่ โปรตีน ไขมัน และเถ้า สูงขึ้น (Eleraky et al., 2014)

ผลของพรีไบโอติกในอาหารต่อค่าทางโลหิตวิทยาในปลาแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ซึ่งอาจเป็นผลมาจากระดับของการเสริมอินูลินในอาหารที่แตกต่างกันและระยะเวลาของการได้รับอาหารที่แตกต่างร่วมด้วย ยกตัวอย่างเช่น การเสริมพรีไบโอติกไม่มีผลต่อจำนวนเม็ดเลือดแดง ในปลา Hybrid surubim ที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมอินูลินที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหารเป็นเวลา 15 วัน และในปลา Beluga ที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมอินูลินที่ระดับ 10.0 – 20.0 กรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (Mourino et al., 2012; Reza et al., 2009) อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมอินูลินหรือการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารที่ใช้ในการอนุบาลลูกปลา เป็นระยะเวลา 54 วัน ส่งผลให้ปลานิล

วัยรุ่นมีจำนวนเม็ดเลือดแดงเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ถึงแม้ว่าจำนวนเม็ดเลือดแดงของปลานิลที่ได้รับการเสริมพรีไบโอติกในอาหารจะเพิ่มสูงขึ้น แต่การศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของฮีโมโกลบินและค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นระหว่างกลุ่มทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของIbrahem et al. (2010) และ Mourino et al. (2012) ที่ได้รายงานว่าการเสริมอินูลินไม่มีผลต่อค่าฮีโมโกลบินในปลา Hybrid surubim (*Pseudoplatystoma* sp.)

ค่าชีวเคมีในโลหิต สามารถนำมาใช้ในการอธิบายผลของการเสริมอินูลินและการเสริมผงแก่นตะวัน ต่อภาวะทางด้านโภชนาการและสุขภาพของปลานิล โดยทั่วไปพรีไบโอติก ซึ่งจะเป็นอาหารจุลินทรีย์ในลำไส้ ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนโปรไบโอติก (probiotic) หรือแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ โดยเฉพาะ *Bifidobacteria* และ *Lactobacilli*) (Van Loo et al., 1999; Kolida et al., 2002; Manning and Gibson, 2004) ซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มเอ็นไซม์ย่อยอาหาร (Amylase และ Protease) ของปลา Blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) (Wu et al., 2013) และปลา Caspian roach (*Rutilus rutilus*) (Soleimani et al., 2012) และโปรไบโอติกยังมีผลทำให้เอ็นไซม์ย่อยอาหาร เช่น Amylase Protease และ Lipase เพิ่มสูงขึ้น (Ringø and Gatesoupe, 1998; Ziaei-Nejad et al., 2006; Wang, 2007) การเพิ่มขึ้นของเอ็นไซม์ย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหาร ส่งผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหารของปลาได้ ซึ่งการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางด้านชีวเคมีของโลหิตอาจจะเป็นพารามิเตอร์หนึ่งในการบ่งบอกถึงประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลา การศึกษานี้ได้วัดค่าชีวเคมีในโลหิตปลา ได้แก่ กลูโคส (glucose) คอเลสเตอรอล (cholesterol) ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ปริมาณโปรตีนรวม (total protein) อัลบูมิน (albumin), blood urea nitrogen (BUN), total bilirubin, direct bilirubin, SGOT, SGPT, คลอไรด์ (chloride), แคลเซียม (calcium), แมกนีเซียม (magnesium) และเหล็ก (iron)

ผลการศึกษานี้พบว่าการเสริมอินูลินและการเสริมแก่นตะวันในอาหารไม่มีผลต่อระดับกลูโคส และ อัลบูมิน ในลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในปลา Beluga ที่ได้รายงานว่าการเสริมอินูลินในอาหาร (10.0 – 30.0 กรัมต่อกิโลกรัม) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ไม่มีผลต่อระดับกลูโคสและอัลบูมินในเลือดของปลา Beluga (Reza et al., 2009) และการศึกษาในปลาไนก็พบว่าการเสริมพรีไบโอติกไม่มีผลต่อระดับอัลบูมินในเลือดปลา (Eleraky et al., 2014) ในขณะที่รายงานการศึกษาในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พบว่าการเสริมอินูลินในอาหารส่งผลต่อการลด Cholesterol และ Triglyceride ในกระแสเลือด (Trautwein et al., 1998; Brighenti et al., 1999; Flickinger et al., 2003) แต่ทว่าผลการศึกษานี้พบว่าคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในปลา Beluga ที่ได้รายงานว่าการเสริมอินูลินไม่มีผลต่อค่า คอเลสเตอรอล และ ไตรกลีเซอไรด์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Reza et al., 2009)

ค่าปริมาณโปรตีนรวมในเลือดเพิ่มสูงขึ้น เมื่อปลาได้รับอาหารที่มีการเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับสูงสุด และการเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับ ซึ่งผลการศึกษานี้ขัดแย้งกับผลการศึกษาในปลา Beluga ที่ได้รายงานว่าการเสริมอินูลินในอาหารมีผลทำให้ค่า Total protein ในปลา Beluga ลดลง

(Reza et al., 2009) อย่างไรก็ตามรายงานการศึกษาในปลาไนวัยอ่อนพบว่า การเสริมพรีไบโอติกไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าโปรตีนรวมในเลือด (Eleraky et al., 2014) ความแตกต่างของผลของการเสริมอินูลินในอาหารต่อค่าปริมาณโปรตีนรวม อาจเป็นผลเนื่องจากความแตกต่างของลักษณะการกินอาหารของปลา 2 ชนิด โดยทั่วไปปลานิลเป็นปลากินพืช (herbivore) และปลา Beluga เป็นปลากินเนื้อเป็นอาหาร (carnivore หรือ piscivore) ความแตกต่างของลักษณะการกินอาหาร ซึ่งจะมีผลต่อความแตกต่างของลักษณะของอวัยวะในระบบทางเดินอาหาร การทำงานของเอ็นไซม์ย่อยอาหาร ประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร และอาจมีผลต่อความแตกต่างของการใช้ประโยชน์ของสารพรีไบโอติกในอาหาร

ค่า blood urea nitrogen, T-bilirubinม SGOT และ SGPT ในเลือดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลองของการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Reza et al. (2009) รายงานว่าการเสริมอินูลินในอาหารไม่มีผลกระทบต่อค่าชีวเคมีของโลหิตเหล่านี้ในปลา Beluga

การศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมอินูลินและการเสริมผงแก่นตะวันในอาหาร ส่งผลต่อการเพิ่มระดับความเข้มข้นของแร่ธาตุต่าง ๆ ในกระแสเลือด ได่แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม และเหล็ก ของปลานิลระยะวัยรุ่น ที่เป็นเช่นนี้อาจอธิบายได้ว่าการหมักของอินูลิน หรือผงแก่นตะวันด้วยจุลินทรีย์ในลำไส้อาจมีผลต่อค่า pH ในลำไส้ อาจมีผลทำให้ค่า pH ต่ำลง ซึ่งค่า pH ที่ต่ำลงนี้อาจส่งผลต่อการเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุ รายงานการศึกษาในเลี้ยงลูกด้วยนมพบว่า พรีไบโอติก โอลิโกแซคคาร์ไรด์ สามารถปรับกระบวนการเมตาบอลิซึมของแร่ธาตุได้โดยการกระตุ้นการดูดซึมของแร่ธาตุโดยเฉพาะอย่างยิ่ง Calcium Magnesium และ Iron (Chonan et al., 1995; Delzenne et al., 1995; Ohta et al., 1995; Coudray et al., 1997; Scholz-Ahrens et al., 2001) การเสริมอินูลินและการเสริมผงแก่นตะวันไม่มีผลต่อระดับคลอไรด์ในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทั่วไปการดูดซึมเกลือแร่ผ่านเหงือกเป็นการควบคุมสภาวะสมดุลคลอไรด์ในปลา ซึ่งมีอิทธิพลอย่างมากต่อค่าคลอไรด์ในเลือด ซึ่งผลของสารอาหารอาจไม่มีผลเด่นชัดเพียงพอต่อการเปลี่ยนแปลงค่าคลอไรด์ในเลือด

การเสริมพรีไบโอติกทั้งอินูลินและผงแก่นตะวันมีผลทำให้ค่าพารามิเตอร์ทางภูมิคุ้มกัน ได้แก่ Total immunoglobulin, Lysozyme และ ACH50 สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาในปลานิล ที่พบว่าการเสริมอินูลินที่ระดับ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหารเป็นเวลา 60 วัน สามารถเพิ่มค่าการทำงานของเอ็นไซม์ Lysozyme (Ibrahem et al., 2010) พรีไบโอติกช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้กับสัตว์ได้ด้วยการเลือกเพิ่มจำนวนประชากรของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ และ/หรือการมีปฏิสัมพันธ์กับตัวรับคาร์โบไฮเดรตของเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้ และเซลล์ภูมิคุ้มกัน (Seifert and Watzl, 2007) ซึ่งส่วนประกอบของเซลล์ เช่น Lipopolysaccharides ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์จะสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในตัวสัตว์ได้ (Sakai, 1999; Bricknell and Dalmo, 2005) อย่างไรก็ตาม Cerezuela et al. (2008) รายงานว่าการเสริมอินูลินในอาหาร (5.0 กรัมต่อกิโลกรัม หรือ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ไม่มีผลกระทบต่อค่า ACH50 activity ในปลา

Gilthead seabream (*Sparus aurata*) เมื่อปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการเสริมพรีไบโอติก นอกจากนี้Mourino et al. (2012) พบว่าการเสริมอินูลิน 5.0 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหารเป็นเวลา 15 วัน ไม่มีผลกระทบต่อค่า Total immunoglobulin และ Lysozyme activity ของปลา Hybrid surubim ซึ่งความแตกต่างของผลการศึกษาการเสริมอินูลินในอาหารต่อค่าภูมิคุ้มกันเหล่านี้อาจเกิดเนื่องจากช่วงระยะเวลาในการได้รับสารเสริมพรีไบโอติกที่แตกต่างกัน และชนิดปลาที่แตกต่างกัน

บทที่ 4
บทสรุป

จากการศึกษาครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นถึงผลของการเสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหาร ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและสุขภาพของปลานิล ในระยะการแปลงเพศปลา โดยพบว่าการเสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ ในระยะการแปลงเพศปลานิล และการเสริมอินูลิน ที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารของปลานิลที่ระดับ 5 - 10 กรัมต่อกิโลกรัม มีผลดีต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และสุขภาพของปลานิลวัยรุ่น ซึ่งสามารถสรุปผลของการเสริมอินูลินและการเสริมผงแก่นตะวันได้ดังต่อไปนี้

1. การเสริมอินูลินในอาหารปลานิลแปลงเพศไม่ส่งผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต จุลสัณฐานของลำไส้ และประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลานิลในระยะแปลงเพศปลา

2. ถึงแม้ว่าการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลานิลแปลงเพศไม่ส่งผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และจุลสัณฐานของลำไส้ ในปลานิลวัยอ่อน แต่การเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลานิลที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ โดยส่งผลให้จุลินทรียในกลุ่ม Lactic acid bacteria และ *Bifidobactrerium* สูงขึ้น และลดจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Vibrio* และยีสต์และรา

3. การเสริมพรีไบโอติกอินูลินและผงแก่นตะวันไม่มีผลต่ออัตราการรอดของลูกปลานิลแปลงเพศวัยอ่อน และไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการแปลงเพศปลา

4. การเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับสูงคือที่ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และการเสริมผงแก่นตะวันทั้ง 2 ระดับ คือที่ 5 และ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ในอาหารที่ใช้ในการอนุบาลปลานิลวัยรุ่น ส่งผลให้ปลานิลวัยรุ่นมีการเจริญเติบโตสูงขึ้น และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำลง

5. การเสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวันไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ค่าความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้าของตัวปลานิลในระยะวัยรุ่น

6. การเสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวันส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนเม็ดเลือดแดง แต่ไม่มีผลต่อค่าฮีโมโกลบินและค่าฮีมาโตคริตในปลานิลระยะวัยรุ่น

7. การเสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวันไม่มีผลต่อค่าชีวเคมีในเลือดต่อไปนี้ กลูโคส คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ อัลบูมิน ค่ายูเรียในเลือด (Blood Urea Nitrogen) บิลิรูบิรวม serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT), serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) และ คลอไรด์ในเลือดปลานิลระยะวัยรุ่น

8. การเสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลาวัยรุ่นส่งผลต่อการเพิ่มค่าโปรตีนในเลือด และแร่ธาตุในเลือดได้แก่ แมกนีเซียม

9. การเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลาวัยรุ่นส่งผลต่อการเพิ่มค่าแคลเซียมและเหล็กในเลือดปลา

10. การเสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลาวัยรุ่นทำให้ค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ได้แก่ ปริมาณอิมมูโนโกลบูลินรวม การทำงานของเอ็นไซม์ไลโซไซม์ และ alternative complement activity เพิ่มสูงขึ้น

11. การเสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลาวัยรุ่นมีผลต่อจุลสัณฐานของลำไส้ปลานิล โดยทำให้ลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ส่วนกลางของปลานิลมีวิลไลสูงขึ้น และมีจำนวนเซลล์โกเบล็ท (goblet cell) สูงขึ้น

12. การเสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลาวัยรุ่นส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา โดยเพิ่มจุลินทรีย์ในกลุ่ม Lactic acid bacteria และ *Bifidobactrerium*

13. การเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลาวัยรุ่นลดจุลินทรีย์ในกลุ่มยีสต์และราในลำไส้ปลานิล

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาวิจัยนำเอาการเสริมอินูลินและการเสริมแก่นตะวันไปใช้จริงในการผลิตลูกพันธุ์ปลานิลแปลงเพศเชิงพาณิชย์ และติดตามการนำลูกพันธุ์ดังกล่าวไปเลี้ยงต่อในระยะปลาขุน ในกระชังและในบ่อดินของเกษตรกรต่อไป

บรรณานุกรม

ส่วนเศรษฐกิจการประมง. (2553). **รายงานสถานการณ์สินค้าปลานิลและผลิตภัณฑ์ ในปี พ.ศ. 2552.** กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

AOAC. (1990). AOAC Official methods of analysis. **Association of Official Analytical Chemists, 14th ed.** AOAC, Arlington, VA.

Bakke-McKellep, A.M., Penn, M.H., Salas, P.M., Refstie, S., Sperstad, S., Landsverk, T., Ringø, E., and Krogdahl, Å. (2007). Effects of dietary soyabean meal, inulin and oxytetracycline on intestinal microbiota and epithelial cell stress, apoptosis and proliferation in the teleost Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Br. J. Nutr.** 97: 699 – 713.

Bhujel, R.C. (2001). Recent advances in tilapia nutrition, feeds and feed management. **Global Aquaculture Advocate.** 4(2): 44 – 47.

Blottiere, H.M., Buecher, B., Galmiche, J.P., and Cherbut, C. (2003). Molecular analysis of the effect of short-chain fatty acids on intestinal cell proliferation. **Proc. Nutr. Soc.** 62: 101 – 106.

Bricknell, I., and Dalmo, R.A. (2005). The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. **Fish Shellfish Immunol.** 19: 457 – 472.

Brighenti, F., Casiraghi, M., Canzi, E., and Ferrari, A. (1999). Effect of consumption of a ready-to-eat breakfast cereal containing inulin on the intestinal milieu and blood lipids in healthy male volunteers. **Eur. J. Clin. Nutr.** 53: 726 – 733.

Buddington, K.K., Donahoo, J.B., and Buddington, R.K., (2002). Dietary oligofructose and inulin protect mice from enteric and systemic pathogens and tumor inducers. **J. Nutr.** 132: 472 – 477.

Burr, G., Gatlin, D., and Ricke, S. (2005). Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture. **J. World Aquac. Soc.** 36(4): 425 – 436.

Burr, G., Hume, M., Ricke, S., Nisbet, D., and Gatlin III, D. (2010). In vitro and in vivo evaluation of the prebiotics GroBiotic®-A, inulin, mannanoligosaccharide, and galactooligosaccharide on the digestive microbiota and performance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*). **Microb. Ecol.** 59: 187 – 198.

Caspary, W.F. (1992). Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. **Am. J. Clin. Nutr.** 55: 299S – 308S.

Cerezuela, R., Cuesta, A., Meseguer, J., and Ángeles Esteban, M. (2008). Effects of inulin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune parameters. **Fish Shellfish Immunol.** 24: 663 – 668.

Cerezuela, R., Fumanal, M., Tapia-Paniagua, S.T., Meseguer, J., Moriñigo, M.Á., and Esteban, M.Á. (2013). Changes in intestinal morphology and microbiota caused by dietary administration of inulin and *Bacillus subtilis* in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) specimens. **Fish Shellfish Immunol.** 34: 1063 – 1070.

Chonan, O., Matsumoto, K., and Watanuki, M. (1995). Effect of galactooligosaccharides on calcium absorption and preventing bone loss in ovariectomized rats. **Biosci. Biotech. Biochem.** 59: 236 – 239.

Coudray, C., Bellanger, J., Castiglia-Delavaud, C., Remesy, C., Vermorel, M., and Rayssignuier, Y. (1997). Effect of soluble or partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinc in healthy young men. **Eur. J. Clin. Nutr.** 51: 375 – 380.

Delzenne, N., Aertssens, J., Verplaetse, H., Roccaro, M., and Roberfroid, M. (1995). Effect of fermentable fructo-oligosaccharides on mineral, nitrogen and energy digestive balance in the rat. **Life Sci.** 57(17): 1579 – 1587.

Denoroy, P. (1996). The crop physiology of *Helianthus tuberosus* L: A model oriented view. **Biomass and bioenergy.** 11(1): 11 – 32.

Doumas, B.T., Watson, W.A., and Biggs, H.G. (1971). Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. **Clin. Chim. Acta.** 31: 87 – 96.

Dumas, A., France, J., and Bureau, D. (2010). Modelling growth and body composition in fish nutrition: where have we been and where are we going?. **Aquac. Res.** 41(2): 161-181.

FAO. (2013). Culture aquatic species information programme: *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). [online]: Available: **http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis _niloticus/en**

Flickinger, E.A., Van Loo, J., and Fahey, G.C. (2003). Nutritional response to the presence of inulin and oligofructose in the diets of domesticated animals: a review. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 43: 19 – 60.

Gibson, G.R. (2004). Prebiotic. **Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.** 18: 287 – 298.

Gibson, G.R., and Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **J. Nutr.** 125: 1401 – 1412.

Goodwin, T.W., and Mercer, E.I. (1983). Fructosans. In: Goodwin, T.W., Mercer, E.I. (Ed.). **Introduction to plant biochemistry.** Pergamon Press, Oxford, pp. 261 – 264.

Grisdale-Helland, B., Helland, S.J., and Gatlin III, D.M. (2008). The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture.** 283(1): 163 – 167.

He, G., Baidoo, S.K., Yang, Q., Golz, D., and Tungland, B. (2002). Evaluation of chicory inulin extracts as feed additive for early-weaned pigs. **J. Anim. Sci.** 80(1): 81.

Humason, G.L. (1979). **Animal tissue techniques,** 4th Edition. W.H. Freeman and Company, San Francisco, USA.

Ibrahem, M.D., Fathi, M., Mesalhy, S., and Abd, E.A. (2010). Effect of dietary supplementation of inulin and vitamin C on the growth, hematology, innate immunity, and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish Shellfish Immunol.** 29: 241 – 246.

Kaplan, H., and Hutkins, R.W. (2000). Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and Bifidobacteria. **Appl. Environ. Microbiol.** 66: 2682 – 2684.

Kaur, N., and Gupta, A.K. (2002). Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. **J. Biosci.** 27(7): 703 – 714.

Kays, S.J., and Nottingham, S.F. (2007). **Biology and chemistry of Jerusalem artichoke: *Helianthus tuberosus* L.** CRC press, New York.

Kolida, S., Tuohy, K., and Gibson, G.R. (2002). Prebiotic effects of inulin and oligofructose. **Br. J. Nutr.** 87(S2): S193 – S197.

Kuhn, R.C., and Filho, F.M. (2010). Purification of fructooligosaccharides in anactivated charcoal fixed bed column. **New Biotechnology.** 27(6): 862 – 869.

Leboffe, M. J., and Pierce, B.E. (2011). **A photographic atlas for the microbiology laboratory,** 4th Edition. Morton Publishing Company, New York, USA.

Leon, P., (1999). Inulin and oligofructose are part of the dietary fiber complex. **Journal of AOAC International.** 82(2): 223 – 226.

Li, P., and Gatlin III, D.M., (2004). Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic™ AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to Streptococcus iniae infection. **Aquaculture.** 231: 445 – 456.

Mahious, A.S., Gatesoupe, F.J., Hervi, M., Mêtailler, R., and Ollevier, F. (2006a). Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C 1758). **Aquacult. Int.** 14: 219 – 229.

Mahious, A.S., Van Loo, J., and Ollevier, F. (2006b). Impact of the prebiotics, inulin and oligofructose on microbial fermentation in the spiral valve of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). In: **Proceedings of the World Aquaculture Society Meeting. World Aquaculture Society and European Aquaculture Society,** Florence, Italy, pp. 564 – 565.

Manning, T., and Gibson, G.R. (2004). Prebiotics. **Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.** 18: 287 – 298.

Moshfegh, A.J., Friday, J.E., Goldman, J.P., and Chugahuja, J.K. (1999). Presence of inulin and oligofructose in the diets of Americans. **J. Nutr.** 129: 1407S – 1411S.

Mourino, J.L.P., Vieira, F.N., Jatoba, A.B., Silva, B.C., Jesus, G.F.A., Seiffert, W.Q., and Martins, M.L. (2012). Effect of dietary supplementation of inulin and *W. cibaria* on haemato-immunological parameters of hybrid surubim (*Pseudoplatystoma* sp). **Aquacult. Nutr.** 18: 73 – 80.

Mundheim, H., Aksnes, A., and Hope, B. (2004). Growth, feed efficiency and digestibility in salmon (*Salmo salar* L.) fed different dietary proportions of vegetable protein sources in combination with two fish meal qualities. **Aquaculture.** 237: 315 – 331.

Nabizadeh, A. (2012). The effect of inulin on broiler chicken intestinal microflora, gut morphology, and performance. **J. Anim. Feed Sci.** 21: 725 – 734.

Niness, K.R. (1999). Nutritional and health benefits of inulin and oligofructose. **J. Nutr.** 129: 1402S – 1406S.

Ohta, A., Ohtsuki, M., Baba, S., Adachi, T., Sakata, T., and Sakaguchi, E. (1995). Calcium and magnesium absorption from the colon and rectum are increased in rats fed fructooligosaccharides. **J. Nutr.** 125: 2417 – 2424.

Olsen, R.E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T.M., and Ringø, E. (2001). Damaging effect of dietary inulin to intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). **Aquacult. Res.** 32: 931 – 934.

Ortiz, L.T., Rebolé, A., Velasco, S., Rodríguez, M.L., Treviño, J., Tejedor, J.L., and Alzueta, C. (2013). Effects of inulin and fructooligosaccharides on growth performance, body chemical composition and intestinal microbiota of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquacult. Nutr.** 19: 475 – 482.

Patkai, G., Barta, J., and Ivanics, J. (2002). Nutritive value of different Jerusalem artichoke varieties. In: **Proceedings of Ninth Seminar on Inulin,** Budapest, Hangary. p. 9.

Pool-Zobel, B., Van Loo, J., Rowland, I., and Roberfroid, M.B. (2002). Experimental evidences on the potential of prebiotic fructans to reduce the risk of colon cancer. **Br. J. Nutr.** 87(S2): S273 – S281.

Rawling, M.D., Merrifield, D.L., and Davies, S.J. (2009). Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit® on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. **Aquaculture.** 294(1): 118 – 122.

Refstie, S., Bakke-McKellep, A.M., Penn, M.H., Sundby, A., Shearer, K.D., and Krogdahl, Å., (2006). Capacity for digestive hydrolysis and amino acid absorption in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with soybeanmeal or inulinwith orwithout addition of antibiotics. **Aquaculture.** 261: 392 – 406.

Rehman, H., Rosenkranz, C., Böhm, J., and Zentek, J. (2007). Dietary inulin affects the morphology but not the sodium-dependent glucose and glutamine transport in the jejunum of broilers. **Poult. Sci.** 86: 118 – 122.

Reza, A., Abdolmajid, H., Abbas, M., and Abdolmohammad, A.K. (2009). Effect of dietary prebiotic inulin on growth performance, intestinal microflora, body composition and hematological parameters of juvenile beluga, *Huso huso* (linnaeus, 1758). **J. World Aquac. Soc.** 40: 771 – 779.

Ringø, E., and Gatesoupe, F. (1998). Lactic acid bacteria in fish: a review. **Aquaculture.** 160: 177 – 203.

Ringø, E., Løvmo, L., Kristiansen, M., Bakken, Y., Salinas, I., Myklebust, R., Olsen, R.E., and Mayhew, T., (2010a). Lactic acid bacteria vs. pathogens in the gastrointestinal tract of fish: a review. **Aquac. Res.** 41: 451 – 467.

Ringø, E., Olsen, R.E., Gifstad, T.Ø., Dalmo, R.A., Amlund, H., HEMRE, G.I., and Bakke, A.M. (2010b). Prebiotics in aquaculture: a review. **Aquacult. Nutr.** 16: 117 – 136.

Roberfroid, M.B. (2002). Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. **Br. J. Nutr.** 87(S2): S139 – S143.

Rogers, C.E., Thompson, T.E., and Seiler, G.J. (1982). **Sunflower Species of the United States.** Bismark, ND, USA: National Sunflower Association.

Roller, M., Rechkemmer, G., and Watz, B., (2004). Prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* modulates intestinal immune functions in rats. **J. Nutr.** 134: 153 – 156.

Sakai, M. (1999). Current research status of fish immunostimulants. **Aquaculture.** 172: 63-92.

Scholz-Ahrens, K.E., Schaafsma, G., van den Heuvel, E.G., and Schrezenmeir, J. (2001). Effects of prebiotics on mineral metabolism. **Am. J. Clin. Nutr.** 73: 459S – 464S.

Seifert, S., and Watzl, B. (2007). Inulin and oligofructose: review of experimental data on immune modulation. **J. Nutr.** 137: 2563S – 2567S.

Soleimani, N., Hoseinifar, S.H., Merrifield, D.L., Barati, M., and Abadi, Z.H. (2012). Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. **Fish Shellfish Immunol.** 32: 316 – 321.

Sunyer, J.O., and Tort, L. (1995). Natural hemolytic and bactericidal activities of seabream, *Sparus aurata* serum are affected by the alternative complement pathway. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 45: 333 – 345.

Trautwein, E.A., Rieckhoff, D., and Erbersdobler, H.F. (1998). Dietary inulin lowers plasma cholesterol and triacylglycerol and alters biliary bile acid profile in hamsters. **J. Nutr.** 128: 1937 – 1943.

Van Loo, J., Coussement, P., De Leenheer, L., Hoebregs, H., and Smits, G. (1995). On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 35: 525 – 552.

Van Loo, J., Cummings, J., Delzenne, N., Franck, A., Hopkins, M., MacFarlane, G., Newton, D., Quigely, M., Roberfroid, M., Van Vliet, T., and Van den Heuvel, E. (1999). Functional food properties of non-digestible oligosaccharide: a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94-1095). **Br. J. Nutr.** 81: 121 – 132.

Wang, Y.B. (2007). Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei.* **Aquaculture.** 269: 259 – 264.

Wikipedia Foundation. Inc. (2013). Inulin. [Online]: Avialable: **http://www.en.wikipedia.org/wiki/Inulin**

Wu, Y., Liu, W.B., Li, H.Y., Xu, W.N., He, J.X., Li, X.F., and Jiang, G.Z. (2013). ZaEffects of dietary supplementation of fructooligosaccharide on growth performance, body composition, intestinal enzymes activities and histology of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fingerlings. **Aquacult. Nutr.** 19: 886 – 894.

Wyse, D.L., and Wilfahrt, L. (1982). Today's weed (Jerusalem artichoke, *Helianthus tuberosus*), food source for diabetics. **Weed Today.** 13(1): 14 – 16.

Younes, H., Garleb, K., Behr, H., Remesy, C., Remesy, C., and Demigne, C. (1995). Fermentable fiber or oligosaccharide reduce urinary nitrogen excretion by increasing urea disposal in the rat cecum. **J. Nutr.** 125: 1010 – 1016.

Yousefian, M., and Amiri, M.S. (2009). A review of the use of prebiotic in aquaculture for fish and shrimp. **Afr. J. Biotechnol.** 8(25): 7313 – 7318.

Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, G.A., Lovett, D.L., Mirvaghefi, A.R., and Shakouri, M. (2006). The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. **Aquaculture.** 252: 516 – 524.

ประวัตินักวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาวสุรินทร บุญอนันธนสาร

(ภาษาอังกฤษ) Ms. Surintorn Boonanuntanasarn

2. เลขหมายประจำตัวประชาชน 3 2097 00017 95 1

3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์

4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อ

สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

อ. เมือง จ.นครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 044-224371, 224378

โทรสาร 044-224150

Email : surinton@sut.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ระดับการศึกษา	ชื่อปริญญา	สาขาวิชา	สถาบันการศึกษา
ปริญญาตรี	วิทยาศาสตรบัณฑิต	วาริชศาสตร์	มหาวิทยาลัยบูรพา
ปริญญาโท	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	เทคโนโลยีชีวภาพ	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปริญญาเอก	Ph.D.	Aquatic Biosciences	Tokyo University of Fisheries

6. ผลงานตีพิมพ์

Boonanuntanasarn, S., Yoshizaki,G., Takeuchi, Y., Morita, T. and Takeuchi T. 2002. Gene knock-down in rainbow trout embryos using antisense morpholino phosphorodiamidate oligonucleotides. *Mar. Biotechnol.* 4: 256-266

Boonanuntanasarn, S., Yoshizaki,G. and Takeuchi T. 2003. Specific gene silencing using small interfering RNAs in fish embryos. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 310: 1089-1095

Boonanuntanasarn, S., Yoshizaki,G., Iwai, K. and Takeuchi T. 2004. Molecular cloning, expression in albino mutants, and gene knockdown studies of two types of tyrosinase mRNA in rainbow trout embryos. *Pigment Cell Res.* 17: 413-421

Boonanuntanasarn, S., Takeuchi, T., Yoshizaki, G. 2005. High-efficiency gene knockdown using chimeric ribozymes in fish embryos. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 336: 438.443

Boonanuntanasarn, S. 2008. Gene knockdown: a powerful tool for gene function study in fish. *J. World Aquac. Soc.* 39: 311-323.

Boonanuntanasarn, S., Panyim, S., Yoshizaki, G. 2008. Characterization and organization of the U6 snRNA gene in zebrafish and usage of their promoters to express short hairpin RNA. *Marine Genomics*, doi:10.1016/j.margen.2008.10.001 (available online)

Boonanuntanasarn, B., Panyim, S., Yoshizaki, G. 2009. Usage of putative zebrafish U6 promoters to express shRNA in Nile tilapia and shrimp cell extracts. *Transgenic Res.* In press

Jangprai, A., Boonanuntanasarn, S., Yoshizaki, G. 2011. Characterization of melanocortin 4 receptor in snakeskin gourami and its expression in relation to daily feed intake and short-term fasting. Gen. Comp. Endocrinol. 173:27-37.

Vechklang, K., Boonanuntanasarn, S. Ponchunchoovong, S., Pirarat, N., and Wanapu, C. 2011. The potential for rice wine residual as an alternative protein source in a practical diet for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus)* at the juvenile stage. Aquac Nutri. 17:385-694.

Pitaksong, T. Kuppitayanan, P., Boonanuntanasarn, S. 2013 Effects of vitamins C and E on growth, tissue accumulation, and prophylactic response upon thermal and acidic stress in hybrid catfish. Aquac. Nutri. 19: 148-162.

Phymyu, N., Boonanuntanasarn, S., Jangprai, A. Yoshizaki, G. Na-Nakorn, U. 2012. Pubertal effects of 17α-methyltestosterone on GH-IGF-related genes of the hypothalamic-pituitary-liver-gonadal axis and other biological parameters in male, female and sex reversed Nile tilapia. Gen. Comp. Endocrinol. 177: 278-292.

Boonanuntanasarn, S., Jangprai, A., Yoshizaki, G. 2012. Characterization of neuropeptide Y in snakeskin gourami and the change in its expression due to feeding status and melanocortin 4 receptor expression. Gen. Comp. Endocrinol. 179: 184-195.

Boonanantanasarn, K., Janebodin, K., Suppakpatana, P., Arayapisit, T., Rodsutthi, J., Chunabundit, P., Boonanuntanasarn, S., Sripairojthikoon, W. 2012. *Morinda citrifolia* leaf enhances osteogenic differentiation and mineralzation by human periodontal ligament cells. Dental material Journal. 31(5): 1-9

Vechklang, K., Lim, C., Boonanuntanasarn, S., Welker, T., Ponchunchoovong, S., Klesius, P.H., Wanapu, C. 2012. Growth performance and resistance to *Streptococcus iniae* of juvenile

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus)* fed diets supplemented with GroBiotic-A and brewtech dried brewers yeast. Journal of Applied Aquaculture. 24:183-198.

Tanomman, S., Ketudat-Cairns, K., Jangprai, A., Boonanuntanasarn, S. 2013. Characterization of fatty acid delta-6 desaturase gene in Nile tilapia and heterogenous expression in *Saccharomyces cerevisiae.* Comparative Biochemistry and Physiology, Part B. 166: 148-156.

Boonanuntanasarn, S., Khaomek, P., Pitaksong, T., Hua, Y. 2014. The effects of the supplementation of activated charcoal on the growth, health status and fillet composition-odor of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) before harvesting. Aquaculture Internation. 22:1417-1436.

Booanuntanasarn S., Jangprai A., Yoshizaki, G. 2014. Characterization of proopiomelanocortin in the snakeskin gourami (*Trichopodus pectoralis*) and its expression in relation to feeding status. Domestic Animal Endocrinology. Accepted