

**การใช้ Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนเพื่อทดแทนการใช้ปลาป่น
ในอาหารปลาสวายโฌง (Thai Panga)**

นางสาวจิราพร พงศ์เพชร



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2557

**THE REPLACEMENT OF FISHMEAL BY BREWER'S
YEAST (*Saccharomyces cerevisiae*) IN DIETS OF
THAI PANGA**

JirapornPongpet



**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree Master of Science in Animal Production Technology**

Suranaree University of Technology

Academic Year 2014

การใช้ Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนเพื่อทดแทนการใช้ปลาป่นในอาหารปลาสาวยโมง
(Thai Panga) (THE REPLACEMENT OF FISH MEAL BY BREWER'S YEAST
(*Saccharomyces cerevisiae*) IN DIETS OF THAI PANGA) อาจารย์ที่ปรึกษา :
อาจารย์ ดร.สมร พรชื่นชูวงศ์, 93 หน้า.

จากการศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeast เพื่อเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโมง โดยทำการเลี้ยงลูกปลาสาวยโมงที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 36.35 ± 0.07 กรัม ในกระชังขนาด $1 \times 1 \times 1.5$ ลูกบาศก์เมตร จำนวน 40 ตัวต่อกระชังเลี้ยงด้วยอาหารทดลองที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนและพลังงานเท่ากับทุกสูตร โดยมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนเท่ากับ 320 กรัมต่อ กิโลกรัม และพลังงานเท่ากับ 15.30 กิโลจูลต่อกรัม อาหารทดลองมีทั้งหมด 6 สูตร (ทรีทเมนต์) ประกอบด้วย อาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโมงที่ระดับ 30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์ (D30 D45 D60 และ D75) ตามลำดับ และใช้อาหารกลุ่มควบคุม 2 กลุ่ม ได้แก่ อาหารสูตรทางการค้า (CA) และสูตรอาหารที่ไม่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่น (CB) ทำการเลี้ยงปลาสาวยโมงเป็นระยะเวลาทั้งหมด 9 เดือน พบว่าปลาที่ได้รับอาหาร D45 มีน้ำหนักสุดท้าย (Final weight) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain) ปริมาณการกินได้ (Feed intake) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (Daily growth rate; DGR) สูงที่สุด ($P < 0.05$) และผลสมรรถนะการเจริญจะต่ำสำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้า ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับทรีทเมนต์อื่น ๆ และเมื่อมีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์ (D60 และ D75) มีผลทำให้ Final weight Weight gain SGR และ DGR ลดลง ($P < 0.05$) สูตรอาหารทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ไม่มีผลต่ออัตราการแลกเนื้อ (Feed conversion ratio; FCR) ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Feed efficiency ratio; FE) และดัชนีตับ (Hepatosomatic index; HSI) ($P > 0.05$) นอกจากนี้ปลาสาวยโมงที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่น พบว่ามีอัตราการรอด (Survival rate) สูงกว่าปลาที่ไม่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่น (CB) ($P < 0.05$) สำหรับค่าโลหิตวิทยา ค่าชีวเคมีในโลหิต และระบบภูมิคุ้มกัน พบว่าการทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast ไม่มีผลต่อค่าโลหิตวิทยา กลูโคสในเลือด และคอเลสเตอรอลในพลาสมา ($P > 0.05$) แต่เมื่อมีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในระดับที่เพิ่มสูงขึ้นจะมีผลทำให้โปรตีนในพลาสมา และระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ Alternative complement activity (ACH50) Lysozyme activity และ Total Immunoglobulin (Ig) มีค่าเพิ่มสูงขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้การศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโมงต่อคุณภาพเนื้อพบว่าปลาสาวยโมงที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่น มีผลทำให้โปรตีนในเนื้อและค่าความขาวของเนื้อปลาสด (Whiteness) สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้า ($P < 0.05$) และพบว่าเนื้อของปลาสาวยโมงที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's

yeast ทดแทนปลาป่นจะมีค่าสีเหลืองของเนื้อปลาสด (Yellowness) ต่ำกว่าเนื้อของปลาที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้า ($P<0.05$) อีกทั้งการที่ปลาได้รับอาหาร D45 มีผลทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัสดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทริทเมนต้อื่น ๆ ($P<0.05$) นอกจากนี้การใช้อาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโงะไม่มีผลกระทบต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหลังการเก็บรักษา (Drip loss) เปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหลังการทำให้สุก (Cook loss) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของเนื้อปลาหลังทำการเก็บรักษา และผลจากการศึกษาต้นทุนค่าอาหาร พบว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโงะในระดับที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ต้นทุนค่าอาหารลดลง และเมื่อเปรียบเทียบต้นทุนค่าอาหารต่ออัตราการแลกเนื้อพบว่าอาหารสูตร D45 มีต้นทุนการผลิตอาหารต่ำที่สุด ดังนั้นการใช้ Brewer's yeast น่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับนำมาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบโปรตีนเพื่อทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลาสวายโงะ และพบว่าการทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast ที่ระดับ 45 เปอร์เซ็นต์ (D45) มีความเหมาะสม เนื่องจากทำให้สมรรถนะการเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้น ช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหาร และไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพเนื้อ



JIRAPORN PONGPET : THE REPLACEMENT OF FISHMEAL BY
BREWER'S YEAST (*Saccharomyces cerevisiae*) IN DIETS OF THAI
PANGA. THESIS ADVISOR : SAMORN PONCHUNCHOOVONG,
Ph.D., 93 PP.

BREWER'S YEAST/THAI PANGA/FISHMEAL/REPLACEMENT/GROWTH
PERFORMANCE

Feeding trials were carried out to evaluate the efficacy of replacing fishmeal with brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in the diets of Thai Panga (*Pangasianodon hypophthalmus* × *Pangasius bocourti*). Thai Panga juveniles with an initial average weight of 36.35 ± 0.07 g were randomly stocked in cages ($1 \times 1 \times 1.5$ m³) at a rate of 40 fishes per cage. Experimental diets were formulated to provide isonitrogenous (320 g/kg) and isocaloric (15.30 kJ/g) diets, by increasing brewer's yeast levels to replace 30%, 45%, 60% or 75% of dietary fishmeal. The control groups' diets were comprised of the commercial feed (CA) and the basal diet without brewer's yeast (CB). The fish were fed according to feeding trials and reared for 9 months. The highest final weight, weight gain, feed intake, specific growth rate (SGR), and daily growth rate (DGR) were obtained from the D45 diet, while the commercial diet (CA) yielded the lowest results ($P < 0.05$). Increasing the percentages of fishmeal replacement by 60% and 75% (D60 and D75) brewer's yeast resulted in a significantly lower growth performance compared to the diets of D45 ($P < 0.05$). Dietary treatments did not affect feed efficiency in Thai Panga ($P > 0.05$). The replacement of fishmeal by brewer's yeast resulted in a significantly higher survival rate compared to the basal diet without brewer's yeast (CB) ($P < 0.05$). However, blood haematology and blood

chemicals (glucose and cholesterol) showed no significant differences ($P > 0.05$). Plasma protein, alternative complement activity (ACH50), lysozyme activity and total immunoglobulin (Ig) obtained from the replaced fishmeal diet groups were significantly higher than that of the control groups ($P < 0.05$). The protein content and whiteness in fillets fed with replaced fishmeal by brewer's yeast diets were significantly higher than those of the control groups and the highest breaking force was obtained from the D45 diet ($P < 0.05$). The fillets from groups which received the commercial diet (CA) yielded higher undesirable yellowness (b^* -value) compared to the replaced fishmeal diets. In addition, dietary treatments did not affect drip loss, cook loss, and pH in fillets of Thai Panga ($P > 0.05$). The cost per kilogram of feed was generally reduced as the dietary brewer's yeast was increased. The D45 diet was found to be the cheapest feed per kilogram of the feed conversion ratio compared to the other treatments. Therefore, replacing 45% fishmeal with brewer's yeast can improve growth performance, feed efficiency and immune response without any adverse effect on meat quality in Thai Panga.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากได้รับทุนสนับสนุนจาก“สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ 2556 ร่วมกับมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี” อีกทั้งยังได้รับความช่วยเหลืออย่างยิ่ง ทั้งด้านวิชาการและด้านการดำเนินการวิจัยจากบุคคลและกลุ่มบุคคลต่างๆ ได้แก่

ดร.สมรพร ชื่นชูวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ผศ.ดร.กาญจนา พุฒะ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ สนับสนุนงานด้านการทดลองในตลอดระยะเวลาของการศึกษาและช่วยเหลือตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ อีกทั้งยังช่วยให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์นอกจากนี้ขอขอบพระคุณอาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ ตลอดจนอาจารย์ผู้สอนทุกท่าน ที่ช่วยอบรมสั่งสอนจนสำเร็จการศึกษา และให้ความรู้ทางด้านวิชาการที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษางานวิจัย

ขอขอบพระคุณ บริษัท ขอนแก่น บริวเวอรี่ จำกัด ที่มีความอนุเคราะห์ห่มอบ Brewer's yeast ที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณสุนัย พลายมี หัวหน้างานสัตว์น้ำ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ ขอขอบคุณพี่น้องบัณฑิตศึกษาทุกท่าน ที่ให้คำปรึกษา ด้านวิชาการ และให้กำลังใจมาโดยตลอด

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ผู้วิจัยขอมอบให้กับบิดา มารดา ทุกคนในครอบครัว ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ผู้วิจัยตลอดมา

จิราพร พงศ์เพชร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ณ
สารบัญภาพ	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ฎ
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	3
1.3 สมมติฐานของการศึกษา	3
1.4 ขอบเขตของการศึกษา	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2 ปฏิทัศน์และวรรณกรรมงานที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 ชีวิตวิทยาของปลาสาวยโมง	4
2.2 ความต้องการโปรตีนของปลา	6
2.3 Brewer's yeast	8
2.4 ผลของการใช้ Brewer's yeast ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลา	11
2.5 ผลของการใช้ Brewer's yeast ต่อระบบภูมิคุ้มกันของปลา	16
2.6 ผลของการใช้ Brewer's yeast ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตของปลา	19
2.7 ผลของการใช้ Brewer's yeast ต่อองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และ คุณภาพเนื้อของปลา	21
3 วิธีการดำเนินการวิจัย	24
3.1 สถานที่ทำการทดลอง	24
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี	24
3.2.1 อุปกรณ์สำหรับการเลี้ยงปลา	24

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.2	อุปกรณ์สำหรับการทำอาหารปลา.....	24
3.2.3	อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกัน	24
3.2.4	สารเคมี.....	25
3.3	สัตว์ทดลอง	26
3.4	การเตรียมอาหารทดลอง	26
3.5	การเตรียมกระชัง.....	28
3.6	การเก็บข้อมูลเพื่อประเมินสมรรถนะการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร... ..	28
3.7	การเก็บตัวอย่างเลือดปลา	30
3.8	การวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา.....	30
3.9	การวิเคราะห์ค่าชีวเคมีในโลหิต.....	33
3.10	การวิเคราะห์การทำงานของการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน.....	34
3.11	การเก็บตัวอย่างเนื้อปลา	35
3.12	การวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของเนื้อ	36
3.13	การวิเคราะห์ลักษณะทางเคมีของเนื้อ.....	37
3.14	การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	38
4	ผลการศึกษา.....	39
4.1	ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโม่ต่อ สมรรถนะการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร	39
4.2	ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโม่ต่อค่า โลหิตวิทยา ค่าชีวเคมีของโลหิต และการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันของปลา.....	42
4.3	ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโม่ต่อ องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และคุณภาพเนื้อของปลา	45
5	อภิปรายผล.....	48
5.1	ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโม่ต่อ สมรรถนะการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร	48
5.2	ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโม่ต่อค่า โลหิตวิทยา ค่าชีวเคมีของโลหิต และการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันของปลา.....	50
5.3	ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโม่ต่อ องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และคุณภาพเนื้อของปลาสาวยโม่	52

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

6 สรุปและข้อเสนอแนะ.....	55
6.1 สรุป.....	55
6.2 ข้อเสนอแนะ.....	55
รายการอ้างอิง.....	56
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก วิธีการดำเนินงานในห้องปฏิบัติการ	70
ภาคผนวก ข ตารางแสดงการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS	80
ประวัติผู้เขียน	91



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ความต้องการโปรตีนของปลากลุ่ม Catfish	7
2.2 องค์ประกอบทางเคมีของ Brewer's yeast	9
2.3 องค์ประกอบกรดอะมิโนต่างๆของ Brewer's yeast ที่ใช้ในการศึกษา.....	10
2.4 ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาชนิดต่าง ๆ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต (Growth performance) ของปลา.....	13
2.5 ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาชนิดต่าง ๆ ต่อประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Feed efficiency) ของปลา.....	14
2.6 ผลของการใช้ Brewer's yeast และ Brewer's waste ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาชนิดต่าง ๆ ต่อปริมาณการกินได้ (feed intake) ของปลา.....	15
3.1 องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบที่ใช้ในการสร้างสูตรอาหารทดลองที่ผลิตขึ้นเอง.....	26
3.2 ส่วนผสมของวัตถุดิบในอาหารทดลองที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารต่างกัน 5 ระดับ (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์).....	27
3.3 แคลเซียม ฟอสฟอรัส และองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นในอาหารทดลองที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ กัน (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)	28
4.1 สมรรถนะการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาสาวยโม่งที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับต่างๆ (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 9 เดือน	41
4.2 ค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาสาวยโม่งที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับต่างๆ (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์) ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 9 เดือน.....	43
4.3 องค์ประกอบทางเคมีของปลาทั้งตัวที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับต่างๆ (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)หลังการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 9 เดือน	46
4.4 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาสาวยโม่งที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์) หลังการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 9 เดือน.....	46

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.5 ผลการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโหมงที่ระดับต่าง ๆ (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์) ต่อค่าสีและความขาวของเนื้อปลาสด (Fillet color and Whiteness).....	47
4.6 การสูญเสียไนโตรเจนในระหว่างการเก็บรักษาและการทำให้สุก ลักษณะเนื้อสัมผัส และความเป็นกรด-ด่างของเนื้อปลาสวายโหมงที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับต่างๆ (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์).....	47



สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ปลาสวายโมง	4
2.2 ส่วนประกอบของเซลล์สัตว์	9
2.3 การทำงานของ Mannan-Oligosaccharide (MOS)	11
2.4 โครงสร้างของเบต้า-กลูแคน	16
2.5 การทำงานของเบต้ากลูแคนต่อระบบภูมิคุ้มกัน	17
3.1 แสดงพื้นที่การนับเม็ดเลือดแดง (R) และเม็ดเลือดขาว (W)	31
3.2 Microhaematocrit capillary tube ที่ผ่านการปั่นเหวี่ยง	33
3.3 เนื้อปลาสวายโมงแบบแล่แผ่น	36
4.1 ผลของการใช้ Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโมง ต่อการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ Alternative complement activity (a) lysozyme activity (b) และ total Immunoglobulin (c)	44

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

BY	=	Brewer's yeast (กากยีสต์แห้ง)
CA	=	อาหารเม็ดสำเร็จรูปสูตรทางการค้า
CB	=	อาหารที่ผลิตขึ้นเองโดยไม่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่น
D30	=	อาหารที่ผลิตขึ้นเองโดยทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast 30 เปอร์เซ็นต์
D45	=	อาหารที่ผลิตขึ้นเองโดยทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast 45 เปอร์เซ็นต์
D60	=	อาหารที่ผลิตขึ้นเองโดยทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast 60 เปอร์เซ็นต์
D75	=	อาหารที่ผลิตขึ้นเองโดยทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast 75 เปอร์เซ็นต์
FCR	=	Feed conversion ratio
SGR	=	Specific conversion ratio
DGR	=	Daily growth rate
FE	=	Feed efficiency
PER	=	Protein efficiency ratio
HSI	=	Hepatosomatic index
RBC	=	Red blood cells count
WBC	=	White blood cells count
MCV	=	Mean corpuscular volume
MCH	=	Mean corpuscular haemoglobin
MCHC	=	Mean corpuscular haemoglobin concentration
BUN	=	Blood urea nitrogen
ACH50	=	Alternative complement activity
NFE	=	Nitrogen free extract
DE	=	Digestibility energy

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

จากการที่รัฐบาลมีนโยบายในการส่งเสริมให้เกษตรกรในจังหวัดนครพนม เลี้ยงปลาสาวยโมงเพื่อการส่งออก ซึ่งเป็นปลาลูกผสมระหว่างพ่อพันธุ์ปลาโมง(*Pangasius bocourti*) และแม่พันธุ์ปลาสาวย (*Pangasianodon hypophthalmus*) แต่จากการสัมภาษณ์เกษตรกรในจังหวัดนครพนมที่เลี้ยงปลาชนิดนี้พบว่าเกษตรกรนิยมใช้อาหารปลาลูกในการเลี้ยง เนื่องจากปลาสาวยโมงใช้เวลาเลี้ยงนานกว่าปลาลูก ปลาลูกใช้เวลาเลี้ยงประมาณ 3-4 เดือน (เวียงเชื้อโพธิ์หัก, 2542) และปลาสาวยโมงใช้เวลาเลี้ยงประมาณ 8 เดือน (สุวิภา จรจันทิก, 2553) จึงเป็นสาเหตุทำให้ต้นทุนค่าอาหารเพิ่มสูงขึ้น ด้วยเหตุนี้การศึกษาเพื่อลดต้นทุนค่าอาหาร ในปลาสาวยโมงจึงน่าจะเป็นประโยชน์ สำหรับเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาโปรตีนเป็นสารอาหารที่มีความสำคัญในการผลิตอาหารปลา ซึ่งอาหารปลาส่วนใหญ่นิยมใช้แหล่งอาหารโปรตีนจากปลาป่นเพราะปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพ มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงประมาณ 50-60 เปอร์เซ็นต์ (NRC, 1993) อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะเป็นแหล่งของโปรตีนที่มีคุณภาพเมื่อเทียบกับวัตถุดิบตัวอื่นๆ แต่ก็มีข้อจำกัดทางด้านราคา (ราคา 30-40 บาทต่อกิโลกรัม) เป็นเหตุให้ต้นทุนด้านอาหารสูงตามไปด้วย การค้นหาแหล่งของโปรตีนชนิดใหม่เพื่อจะทดแทนการใช้ปลาป่นจึงน่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งในการลดต้นทุนค่าอาหารปลาโดยวัตถุดิบที่จะนำมาใช้ในการทดแทนจะต้องไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาและไม่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตและสิ่งแวดล้อม(Hardy and Tacon, 2002)

Brewer's yeast น่าจะเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกชนิดหนึ่งที่จะนำมาใช้ทดแทนปลาป่นได้ โดย Brewer's yeast เป็นเซลล์ยีสต์ที่ไม่สามารถทำงานได้ และเป็นผลพลอยได้ (by-product) จากอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนประมาณ 30-46 เปอร์เซ็นต์ (สารโรจน์ คำเจริญ, 2547; NRC, 1998; Tacon, Metian and Hasan, 2009; Loong, 2013) มีราคา 9.3 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งถูกกว่าเมื่อเทียบกับราคาปลาป่น นอกจากนี้พบว่าการผลิตเบียร์ของไทยมีแนวโน้มการผลิตเพิ่มสูงขึ้น โดยศูนย์วิจัยกสิกรไทยคาดว่าปริมาณการผลิตเบียร์ในปี 2555 จะเพิ่มขึ้นสูงถึงประมาณ 2,000 ล้านลิตร หรือขยายตัวร้อยละ 14.5 ซึ่งผลผลิตที่เพิ่มขึ้นนี้เอง ส่งผลทำให้ผลพลอยได้จำพวก Brewer's yeast ก็จะเพิ่มขึ้นด้วยจากการศึกษาที่ผ่านมาได้มีการทดลองนำเอา Brewer's yeast มาใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาหลายชนิด เช่น ปลา Atlantic salmon (*Salmo salar*) (Engstad, Robertsen and Frivold, 1992) ปลา Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Siwicki, Anderson and Rumsey, 1994) ปลา Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) (Oliva-Teles and Goncalves, 2001) ปลาคูดัง (*Clarias*

batrachus) (Kumari and Sahoo, 2006) และปลาจระเมื่อน้ำจืด (*Piaractus mesopotamicus*) (Ozório, Turini, Moro, Oliveira, Portz and Cyrino, 2010) เป็นต้น ซึ่งผลจากการทดแทนดังกล่าวไม่มีผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต ระบบภูมิคุ้มกัน และไม่ส่งผลกระทบต่อมนุษย์ และสิ่งแวดล้อมรวมถึงคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลา (Vechklang, Boonanuntanasarn, Ponchunchoovong, Pirarat and Wanapu, 2011; Fournier, Gouillou-Coustans, Metailler, Vachot, Moriceau, Le Delliou, Huelvan, Desbruyeres and Kaushik, 2002; Oliva-Teles, Guedes, Vachot and Kaushik, 2006) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ยีสต์ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่ระดับ 200 กรัมต่อกิโลกรัมของอาหารสามารถปรับปรุงสมรรถนะการเจริญเติบโตได้ (Hisano, Narváez-Solarte, Barros and Pezzato, 2007) และ Oliva-Teles and Goncalves (2001) รายงานว่าการใช้ Brewer's yeast ที่ 30 เปอร์เซ็นต์ในอาหารปลา Sea bass ไม่มีผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตหรือ feed intake แต่ช่วยในการปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลา และ Li, Burr, Goff, Whiteman, Davis, Vega, Neill and Gatlin (2005) และ Hoseinifar, Mirvaghefi, Merrifield, Amiri, Yelghi and Bastami (2011a) รายงานว่าการเสริม Brewer's yeast ที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ในอาหารปลา Red drum (*Sciaenops ocellatus*) และปลา Beluga (*Huso huso*) ตามลำดับ ช่วยปรับปรุงสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลา นอกจากการใช้ Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นแล้ว พบว่า Brewer's yeast ยังประกอบไปด้วย สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันมากมาย เช่น β -glucannucleic acid และ mannan-oligosaccharides (White, Newman, Cromwell and Lindemann, 2002) ซึ่งสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันเหล่านี้สามารถช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกัน (Ortuño, Cuesta, Rodríguez, Esteban and Meseguer, 2002; Siwicki et al., 1994) และอาจจะช่วยส่งเสริมสุขภาพของปลาในการเพาะเลี้ยงได้ โดยมีงานวิจัยชี้ให้เห็นว่าการใช้ยีสต์และยีสต์สกัดอาจจะมีผลต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในโลหิตซึ่งใช้เป็นดัชนีชี้วัดถึงสุขภาพของปลาได้ (Abdel-Tawwab, Abdel-Rahman and Ismael, 2008; Andrews, Sahu, Pal and Kumar, 2009; Reyes-Becerril, Tovar-Ramírez, Ascencio-Valle, Civera-Cerecedo, Gracia-López, Barbosa-Solomieu and Esteban, 2008) นอกจากนี้ Li and Gatlin (2003) รายงานว่าการเสริมยีสต์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกัน และสามารถต้านทานแบคทีเรียในปลา Hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) ได้ อีกทั้งมีการรายงานว่าการให้อาหารปลาที่มีบทบาทต่อการชีวิตความสดและลักษณะที่ปรากฏของเนื้อปลา (Lie, 2001) ดังนั้นการนำเอา Brewer's yeast มาใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารปลานั้น จะต้องคำนึงถึงคุณภาพของเนื้อปลาซึ่งมีการรายงานเกี่ยวกับการใช้ยีสต์ในอาหารปลาต่อสีของเนื้อปลาพบว่ายีสต์เป็นแหล่งของ carotenoid ในปลา Salmon (Sanderson and Jolly, 1994; Whyte and Sherry, 2001) ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการนำเอา Brewer's yeast มาเป็นแหล่งโปรตีนเพื่อทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลาสาวยโงมเพื่อศึกษาผลการทดแทนดังกล่าวที่มีต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิต ระบบภูมิคุ้มกัน และคุณภาพเนื้อของปลาสาวยโงมเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดกับเกษตรกรผู้เลี้ยงปลา

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนเพื่อทดแทนการใช้ปลาป่นในสูตรอาหารปลาสาวยโม่งต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตประสิทธิภาพการใช้อาหารค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิต ระบบภูมิคุ้มกัน และคุณภาพเนื้อของปลาสาวยโม่ง

1.3 สมมติฐานของการศึกษา

Brewer's yeast มีความเหมาะสมสำหรับการเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกเพื่อทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลาสาวยโม่ง โดยจะมีผลทำให้สมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพเนื้อของปลาสาวยโม่งไม่แตกต่างจากการใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนและระบบภูมิคุ้มกันของปลาสาวยโม่งนั้นจะดีขึ้นกว่าการใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีน

1.4 ขอบเขตของการศึกษา

ศึกษาการใช้ Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนที่ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลาสาวยโม่งที่ระดับต่างๆ มีขั้นตอนดำเนินการวิจัยโดยเริ่มจากการนำลูกปลาสาวยโม่งขนาดประมาณ 36.35 ± 0.07 กรัม มาเลี้ยงเป็นระยะเวลา 9 เดือน หลังสิ้นสุดการทดลองจะทำการประเมินสมรรถนะการเจริญเติบโตประสิทธิภาพการใช้อาหารค่าทางโลหิตวิทยาชีวเคมีในโลหิต ระบบภูมิคุ้มกัน และคุณภาพเนื้อจากนั้นนำผลการทดลองในพารามิเตอร์ต่างๆ ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ เพื่อนำผลงานวิจัยไปปรับใช้ให้เกิดประโยชน์

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ทำให้ทราบผลของการใช้ผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์คือ Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนการใช้ปลาป่นในอาหารปลาสาวยโม่งเพื่อนำไปสู่การพัฒนาสูตรอาหารเพื่อลดต้นทุนค่าอาหารสำหรับอุตสาหกรรมการผลิตอาหาร ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อผู้เลี้ยงปลาโดยตรง

บทที่ 2

ปรีทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชีววิทยาของปลาสวายโมง

ปลาสวายโมง(Thai Panga; ภาพที่2.1) เป็นปลาลูกผสมที่เกิดจากการผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่างแม่พันธุ์ปลาสวาย (*P.hypophthalmus*) และพ่อพันธุ์ปลาโมง (*P. bocourti*) (เดชา รอดกระรัง และศิริภรณ์ โคตรมี, 2550)ปลาสวายโมงเป็นปลาที่อยู่ในวงศ์ Pangasiidae โดยมักเรียกรวมเป็นปลาในกลุ่มปลาหนัง(Catfish)



ภาพที่ 2.1ปลาสวายโมง

ลักษณะสำคัญของปลาในกลุ่ม Pangasiidae คือ มีหนวด 2 คู่ รูปร่างของหน้าและหลังมีขนาดเท่ากัน ตั้งขนานกับแนวขอบหน้าจึงอวบปาก รูปร่างเพรียวจนถึงป้อม มีครีบไขมันเล็ก ครีบท้องมีก้านครีบ 6-8 อัน กระเพาะลมมีขนาดใหญ่รูปร่างยาว มี 1-4 ตอนในช่องท้อง (อนุพงษ์ สนิทชน ประภาส โฉลก พันธุ์รัตน์ และ วิรัช จิวแหยม, 2548) จากข้อมูลทางด้านชีววิทยาของปลาสวายโมง ลูกที่ออกมาจะมีลักษณะคล้ายไปทางพ่อพันธุ์มากกว่าแม่พันธุ์ ซึ่งทำให้ปลาสวายโมงมีลักษณะเด่น คือ เป็นปลาเนื้อขาว มีรสชาติดี มีก้างน้อย และไขมันต่ำ ทำให้เป็นที่นิยมของผู้บริโภคในต่างประเทศ อีกทั้งสามารถผลิตลูกปลาได้ในจำนวนที่มากกว่า และมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าปลาโมงพันธุ์แท้(สุวิภา จรจันทิก, 2553) ดังนั้นประเทศไทยจึงสนับสนุนให้มีการเลี้ยงปลาสวายโมงเพื่อการส่งออกไปยังกลุ่มประเทศสหภาพยุโรป รัสเซียยูเครน และสหรัฐอเมริกา เป็นต้น(สุภาณีพรตุลยพงศ์รัศมิ์ ปัทมา ระตะนนะอาพรและ จิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร, 2551) ซึ่งส่งเสริมให้มีการเลี้ยงอย่างแพร่หลายในบริเวณลุ่มแม่น้ำ

โขง โดยเฉพาะที่จังหวัดนครพนม ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการเลี้ยงปลาโพงมากที่สุดของประเทศสำหรับการเพาะพันธุ์ปลาสาวยโพง จะใช้วิธีการฉีดฮอร์โมนร่วมกับการผสมเทียม สามารถทำได้โดยเริ่มตั้งแต่การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ในช่วงฤดูผสมพันธุ์ระหว่างเดือนเมษายน-มิถุนายนปลาพ่อแม่พันธุ์ที่ใช้คือปลาโพงน้ำหนักประมาณ 3.5 กิโลกรัม ซึ่งปลาโพงเพศผู้ที่สมบูรณ์พันธุ์เต็มที่เมื่อใช้มือบีบที่ช่องเพศเบาๆจะมีน้ำเชื้อสีขาวไหลออกมาเห็นได้ชัดเจน นำพ่อแม่พันธุ์ปลาโพงที่แข็งแรง และสมบูรณ์เพศมาทำการฉีดฮอร์โมนด้วยการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ LHRHa (Suprefact) ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ Domperidone (Motilium M) โดยใช้ LHRHa 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมร่วมกับ Domperidone 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (สมร พรชื่นชูวงศ์อรณพ อัมศิลป์ และ สมบัติ สิงห์สี, 2553) และปลาแม่พันธุ์ที่ใช้คือ ปลาสาวยน้ำหนักประมาณ 4.3 กิโลกรัมซึ่งปลาสาวยเพศเมียที่มีความสมบูรณ์เพศเต็มที่บริเวณช่องเพศจะมีลักษณะบวมแดง ท้องอูมโป่ง โดยจะทำการฉีดฮอร์โมนจำนวน 2 เข็ม ซึ่งเข็มแรกฉีดเพื่อกระตุ้นการพัฒนาของไข่ โดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ LHRHa 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมร่วมกับ Domperidone 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมหลังจากนั้น 6-8 ชั่วโมง จึงฉีดเข็มที่ 2 เพื่อกระตุ้นการตกไข่โดยใช้ LHRHa 30 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับ Domperidone 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (สมร พรชื่นชูวงศ์ สุพรรณ ชันน้ำเที่ยง สุรัช ภาสดา สุคนธา เลขะพันธุ์รัตน์ นิสารัตน์ ปุณณารักษ์ และ นฤพล สุขมาศวิน, 2550) จากนั้น 8-10 ชั่วโมง ก็ทำการรีดน้ำเชื้อและไข่ผสมกัน เพื่อทำการผสมเทียมแบบแห้งและนำไข่ที่ผสมกับน้ำเชื้อไปฟักในโรงเพาะฟักที่มีระบบน้ำหมุนเวียน

การอนุบาลลูกปลาสาวยโพงสามารถทำได้ 2 รูปแบบคือ การอนุบาลในระบบรางน้ำหมุนเวียน โดยนำลูกปลาสาวยโพงอายุ 3 วัน อนุบาลในรางขนาด $0.30 \times 3.00 \times 0.25$ เมตร ที่ระดับน้ำ 20 เซนติเมตร อัตราการหมุนเวียนของน้ำ 4 ลิตรต่อนาที ด้วยอัตราความหนาแน่น 66 ตัวต่อลิตรหรือ 1,200 ตัวต่อราง (สุภาพ แก้วละเอียด อุดมชัย อาภากุลอนุ บรรจง จานงศิธรธรรม และอายุวัฒน์ นิลศรี, 2554) และอนุบาลในบ่อซีเมนต์กลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เมตร สูง 80 เซนติเมตร ระดับน้ำเริ่มอนุบาลสูง 40 เซนติเมตร (ปริมาตรน้ำ 1,260 ลิตร) ปล่อยลูกปลาสาวยโพงอายุ 3 วัน โดยใช้อัตราความหนาแน่นเริ่มแรก 12 ตัวต่อลิตรและเมื่ออนุบาลได้เป็นเวลา 10 วัน ให้ลดอัตราความหนาแน่นลงเหลือ 8 ตัวต่อลิตร และเพิ่มระดับน้ำเป็น 60 เซนติเมตร (1,880 ลิตร) (เดช รอดระรัง และศิริภรณ์ โคตรมี, 2550) สำหรับการให้อาหารควรให้ความสำคัญในเรื่องของความถี่ในการให้อาหารเป็นพิเศษเนื่องจากลูกปลามีลำไส้สั้นย่อยอาหารได้เร็วทำให้มีความต้องการอาหารบ่อย ดังนั้นควรให้อาหาร 4-5 ครั้งต่อวัน และควรมีระยะห่างระหว่างมื้อเท่าๆกัน โดยให้อาหารผงที่มีโปรตีนไม่ต่ำกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ และควรให้ไรแดงมีอยู่ในบ่ออนุบาลตลอดเวลาจะช่วยทำให้ลูกปลามีขนาดสม่ำเสมอและมีอัตราการรอดสูงเมื่อลูกปลาอายุ 15-24 วัน ควรให้อาหารชนิดเม็ดขนาด 1.5-2 มิลลิเมตร ที่มีโปรตีนไม่ต่ำกว่า 37 เปอร์เซ็นต์ จะได้ลูกปลาขนาดประมาณ 1 นิ้ว หากเลี้ยงต่อไปเป็นระยะเวลา 35-60 วัน จะได้ลูกปลาขนาด 3 นิ้ว ซึ่งสามารถนำไปเลี้ยงในกระชังได้ สำหรับการเลี้ยงปลาในเชิงพาณิชย์เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้กระชังที่มีขนาด $3 \times 2 \times 1.8$ เมตร โดยจะปล่อยปลาสาวยโพงในอัตราความหนาแน่นเท่ากับ 600 ตัวต่อกระชัง ซึ่งปลาต่อกระชังจะมีอัตราการรอดร้อยละ 70

และใช้เวลาการเลี้ยงประมาณ 8 เดือนต่อรอบ จะได้น้ำหนักตัวปลาสายโมงเฉลี่ยประมาณ 0.7 กิโลกรัม (สุวิภา จรจันทิก, 2553)

2.2 ความต้องการโปรตีนของปลา

ในการพัฒนาประสิทธิภาพของอาหารและสูตรอาหารสำหรับการเลี้ยงปลา จำเป็นจะต้องทราบข้อมูลพื้นฐาน เช่น ความต้องการสารอาหารของปลาชนิดที่จะเลี้ยง องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติของวัตถุดิบที่ใช้ในการทำสูตรอาหารและความสามารถในการย่อยและดูดซึมเพื่อนำสารอาหารไปใช้ในร่างกายของปลาแต่ละชนิด (Lall, 1990) ซึ่งสารอาหารที่มีความสำคัญ และจำเป็นต่อร่างกายของปลาประกอบด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามิน เกลือแร่ และน้ำ โดยทั่วไปถือว่าโปรตีนเป็นสารอาหารหลักที่สำคัญและมีราคาแพงที่สุด (จู่อะดี พงศ์มณีรัตน์พิชญา ชัยนาททวี จินตามัยกุล และชูศักดิ์ บริสุทธิ, 2545; เวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2542) และยังมีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตมากกว่าสารอาหารชนิดอื่น ๆ ดังนั้นความต้องการโปรตีนของปลาจึงเป็นสารอาหารที่ได้รับความสนใจมากในการประกอบสูตรอาหารปลา ความต้องการโปรตีนของปลามี 3 ส่วนได้แก่ความต้องการโปรตีนเพื่อการดำรงชีพโปรตีนต่ำสุดที่ปลาได้รับเพื่อรักษาสมดุลย์ในโตรเจนในร่างกายไม่ให้น้ำหนักตัวของปลาเปลี่ยนแปลงโปรตีนส่วนเกินจากนี้จะใช้สำหรับการซ่อมแซมเนื้อเยื่อส่วนที่สึกหรอและเสริมสร้างเนื้อเยื่อใหม่ โดยปกติปลาจะมีความต้องการโปรตีนเพื่อการดำรงชีวิต ประมาณ 1 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวต่อวัน (วุฒิพร พรหมขุนทอง, 2541) ซึ่งความต้องการดังกล่าวเป็นปริมาณต่ำสุดที่ปลากินเข้าไป แต่ในความเป็นจริงความต้องการโปรตีนเพื่อการเจริญเติบโต เป็นความต้องการที่มีผลโดยตรงต่อการเลี้ยงปลา ซึ่งเป็นการมุ่งเน้นที่จะทำให้ปลามีน้ำหนักเพิ่มขึ้น ปลามีความต้องการโปรตีนอย่างน้อยที่สุดเท่ากับโปรตีนที่สะสมอยู่ในร่างกายของปลาปลากินพืช ปลากินทั้งพืชและเนื้อ และปลากินเนื้อมีความต้องการโปรตีน 18-25 25-32 และ 30-35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ศักดิ์ชัย ชูโชติ, 2536) ความต้องการโปรตีนนิยมแสดงในรูปเปอร์เซ็นต์โปรตีนในอาหารโดยปลา กินเนื้อต้องการโปรตีนประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปในขณะที่ปลากินพืชมีความต้องการโปรตีนในอาหารต่ำกว่า โดยมีความต้องการโปรตีน 20-25 เปอร์เซ็นต์ (วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2536) เมื่อเปรียบเทียบความต้องการโปรตีนของปลากับสัตว์บก พบว่าปลามีความต้องการโปรตีนเท่ากับ 30-50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหารในขณะที่ความต้องการโปรตีนของสัตว์ปีกและสุกรเท่ากับ 18-23 และ 14-16 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร ตามลำดับ (Lovell, 1989) ดังนั้นการเข้าใจถึงข้อจำกัดและการใช้สารอาหารโปรตีนที่มาจากความต้องการโปรตีนของปลาโดยตรงจึงมีความสำคัญเพื่อนำไปสู่การประยุกต์ใช้ให้เหมาะสม

สำหรับความต้องการโปรตีนของปลาสายโมง ที่จัดว่าเป็นปลาในกลุ่ม Catfish จากการรวบรวมเอกสารความต้องการโปรตีนของปลากลุ่ม Catfish เช่น จากการศึกษาความต้องการโปรตีนของปลาเทโพวัยรุ่น ที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 138-352 กรัม (ศุภรัตน์ ฉัตรจริยเวศน์สมเกียรติ พงษ์ศิริ จันทร และสมศักดิ์ เจนศิริศักดิ์, 2541) โดยใช้อาหารทดลองที่มีโปรตีนต่างกัน 5 ระดับ คือ 15 20 25

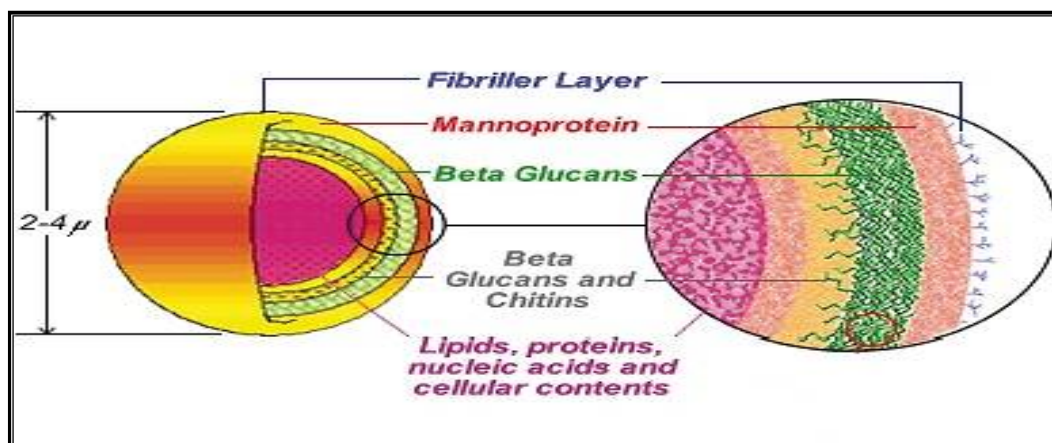
30 และ 35 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาเทโพวัยรุ่นมีความต้องการโปรตีนที่ 20 เปอร์เซ็นต์ โดยพิจารณาจากระดับโปรตีนต่ำสุดที่ทำให้ปลามีการเจริญเติบโตดีที่สุดซึ่งจะเห็นได้ว่าปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความต้องการโปรตีนของปลากลุ่ม Catfish ยังขึ้นอยู่กับขนาดของปลา โดยพบว่าปลาที่มีขนาดเล็กจะมีความต้องการโปรตีนมากกว่าปลาขนาดใหญ่เช่นเดียวกับการรายงานความต้องการโปรตีนของ Page and Andrews (1973) พบว่าในปลาคออเมริกัน (*Ictalurus punctatus*) ที่มีน้ำหนัก 14-100 กรัม มีความต้องการโปรตีน 35-40 เปอร์เซ็นต์ และน้ำหนัก 114-500 กรัม พบว่ามีความต้องการโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2.1) และการรายงานความต้องการโปรตีนของปลากลุ่ม *Pangasuius sp.* พบว่าปลาที่มีน้ำหนัก 0.5-10 กรัมมีความต้องการโปรตีน 27-39 เปอร์เซ็นต์ (Jantrarotai et al., 1992; Chutjareyaves, Pongsirijun and Janesirisak, 1998) และปลาที่มีน้ำหนัก 25 กรัมมีความต้องการโปรตีน 18 เปอร์เซ็นต์ (Chuapoe huk, 1994; ตารางที่ 2.1) อีกทั้งการรายงานความต้องการโปรตีนของปลาคูก้าน (*Clarias batrachus*) พบว่าปลาคูก้านที่มีน้ำหนัก 0.38 และ 0.1 กรัม มีความต้องการโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ (อำนาจ โชติญาณวงษ์ และเวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2525; Chuapoe huk, 1987) (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 ความต้องการโปรตีนของปลากลุ่ม Catfish

Species	Weight (g)	Protein Requirement (%)	Reference
ปลาคออเมริกัน	14-100	35-40	Page and Andrews (1973)
ปลาคออเมริกัน	114-500	25	Page and Andrews (1973)
ปลาคออเมริกัน	-	32	NRC (1993)
ปลาคออเมริกัน	24	40	Andrew and Stickney (1972)
ปลาคออเมริกัน	-	30	Bondari and Sheppard (1981)
ปลาซวาย	0.5-10	27-29	Jantrarotai et al. (1992)
ปลาซวาย	25	18	Chuapoe huk (1994)
ปลาเทโพ	0.5-10	35	Chutjareyaves et al. (1998)
ปลาคูก้าน	0.38	30	อำนาจ โชติญาณวงษ์ และเวียง เชื้อโพธิ์ หัก (2525)
ปลาคูก้าน	0.1	30	Chuapoe huk (1987)

2.3 Brewer's yeast

Brewer's yeast เป็นผลพลอยได้ที่ได้จากการผลิตเบียร์ในขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการหมัก โดยจะมีการ centrifuge เพื่อแยกเซลล์ยีสต์ออกจาก Brewer's yeast มีราคาถูก และไม่ถูกทำลายหลังจากการให้ความร้อน ซึ่งมีการนำมาใช้ทั้งในรูปแบบของเหลว และรูปแบบแห้ง ยีสต์ที่ได้จากการผลิตเบียร์ เป็นยีสต์ที่มีประโยชน์ และเป็นยีสต์ที่ตายแล้ว คงเหลือแต่ผนังเซลล์ของยีสต์ ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนคุณภาพ มีความเหมาะสมอย่างยิ่งที่จะนำมาทำเป็นอาหารสัตว์ โดย Brewer's yeast ที่ได้จากการผลิตเบียร์คือ ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisias* นอกจากนี้ Brewer's yeast ยังมีคุณสมบัติการเป็นอาหารเสริมชีวิต (Prebiotic) (สาโรจน์ คำเจริญ, 2547; Fairchild, Grimes, Jones, Wineland, Edens and Sefton, 2001) ซึ่งผนังเซลล์ของยีสต์ประกอบด้วย แมนแนน (mannan) 30 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง เบต้ากลูแคน (glucan) 55-65 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Klis, Mol, Hellingwerf and Brul, 2002) ไคติน (Chitin) 1-2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Kapteyn, Van Den Ende and Klis, 1999) โปรตีน (Protein) 12 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง และไขมัน (Lipid) 6 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Calleja, 1987) โดยแมนแนนเป็น polysaccharide ที่ประกอบด้วย mannose พบที่ชั้นนอกของผนังเซลล์ ทำหน้าที่ยึดองค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ให้คงที่ปกติ แมนแนนจะเกาะอยู่กับโปรตีนด้วยพันธะ covalent จึงมีชื่อเรียกว่า mannoprotein มีความสามารถในการเกาะจับกับแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดความเสียหายแก่เยื่อเซลล์ในลำไส้ทำให้จำนวนของแบคทีเรียที่ก่อโรคลดน้อยลงและมีผลดีต่อลำไส้ทำให้การดูดซึมอาหารดีขึ้น และกลูแคน (Glucan) จะเกี่ยวข้องกับ การกำหนดรูปร่างและความแข็งแรงของเซลล์สามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ beta-1,3-glucan ที่มีความสามารถในการละลายในเบส และ beta-1,6-glucan ที่ไม่มีความสามารถในการละลายในเบส มีคุณสมบัติในการเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (ภาพที่ 2.2)



ภาพที่ 2.2 ส่วนประกอบของเซลล์ยีสต์

ที่มา: <http://www.bgmarvels.com>

Brewer's yeast ประกอบด้วยโปรตีนประมาณ 30-46 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2.2) อุดมไปด้วยฟอสฟอรัสและกรดอะมิโนที่จำเป็น ยกเว้นเมทไธโอนีนที่มีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับปลาป่น (ตารางที่ 2.3) และเป็นแหล่งของวิตามินบีเกือบทุกชนิด ยกเว้นวิตามินบี 12 นอกจากนี้ยังมีเกลือแร่คือโครเมียม สังกะสี เหล็ก ฟอสฟอรัส และเซเลเนียมในปริมาณสูง ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ Brewer's yeast ได้รับการยอมรับว่ามีศักยภาพเหมาะสมสำหรับใช้เป็นแหล่งทดแทนอาหารโปรตีนจำพวกปลาป่นในปลาหลายชนิด เช่น Rainbow trout, Sea bass, ปลานิล และปลากะพงแดงน้ำจืด เป็นต้น (Rumsey, Hughes, Smith, Kinsella and Shetty, 1991a; Oliva-Teles and Gonçalves, 2001; Zerai, Fitzsimmons, Collier and Duff, 2008; Ozório *et al.*, 2010) นอกจากนี้ยังมีรายงานกล่าวว่า ปลากินเนื้อชนิดต่างๆ สามารถใช้ yeast ทดแทนปลาป่นได้ในระดับ 30-50 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลกระทบต่อ การเจริญเติบโต (Beck, Gropp, Koops and Tiews, 1979; Rumsey, Hughes and Kinsella, 1990)

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของ Brewer's yeast (หน่วยเป็น เปอร์เซ็นต์)

Ingredient	CP	Crude Fat	Ash	Fiber	Moisture	Ref.
BY	44.00	9.50	3.57	3.00	8.00	NRC (1998)
BY	46.10	1.30	8.10	2.90	7.60	Tacon <i>et al.</i> (2009)
BY	43.80	0.90	-	3.00	-	สารวจนัค้ำเจริญ(2547)
Spent BY	30.51	1.30	8.45	4.48	17.00	Loong (2013)
BY	44.23	2.93	6.45	0.30	3.77	BY ที่ใช้ในการศึกษา

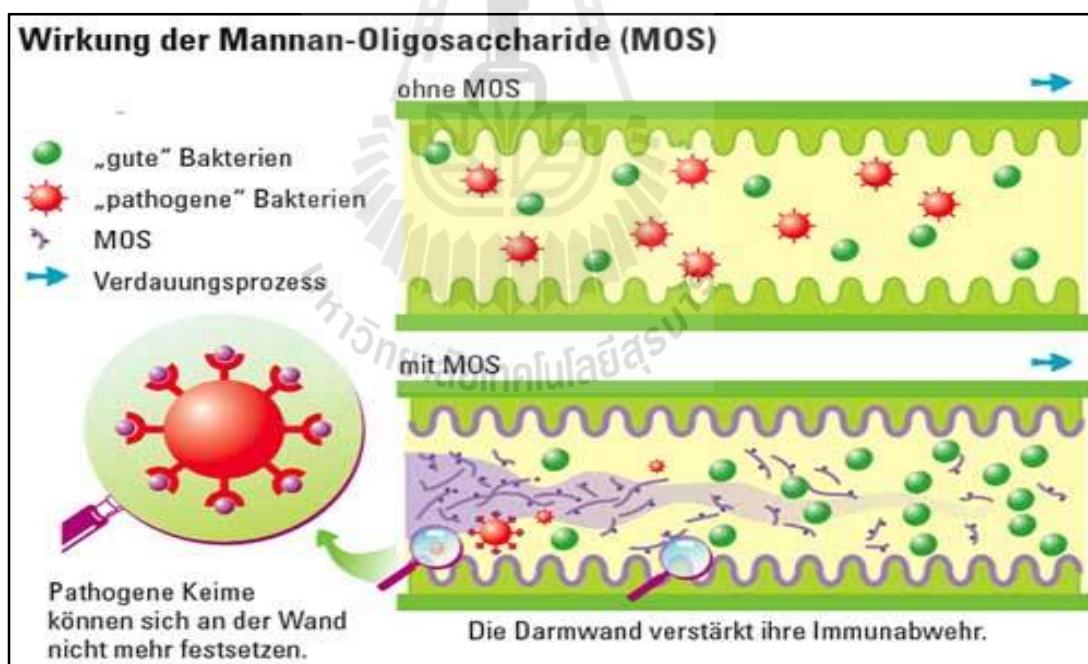
หมายเหตุ: BY (Brewer's yeast); CP (Crude protein)

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบกรดอะมิโนที่จำเป็น ฟอสฟอรัส และแคลเซียมของ Brewer's yeast และปลาป่นที่ใช้ในการศึกษา

Proximate composition	Brewer's yeast	Fish meal
Total phosphorus (mg kg ⁻¹)	13010.00	94880.00
Calcium (mg kg ⁻¹)	2997.00	49780.00
Essential amino acid (mg kg ⁻¹)		
Alanine	11385.00	16310.00
Arginine	<50.00	<50.00
Aspartic acid	13650.00	15620.00
Cystine	5378.25	<50.00
Glutamic acid	26875.00	33210.00
Glycine	8665.20	21750.00
Histidine	34570.00	41000.00
Hydroxylysine	<50.00	<50.00
Hydroxyproline	<50.00	4030.00
Isoleucine	28205.00	30890.00
Leucine	43120.00	57960.00
Lysine	131190.00	160940.00
Methionine	6462.95	6670.00
Phenylalanine	49085.00	49550.00
Proline	9928.50	15560.00
Serine	5470.55	5640.00
Threonine	5211.65	9390.00
Tryptophan	9119.50	2620.00
Tyrosine	40785.00	60730.00

2.4 ผลของการใช้ Brewer's yeast ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลา

การเจริญเติบโตเป็นพารามิเตอร์หนึ่งที่มีความสำคัญต่อการประเมินประสิทธิภาพของการใช้อาหารของปลา เนื่องจาก Brewer's yeast มีคุณสมบัติในการเป็นอาหารเสริมชีวณะประเภท Mannan-oligosaccharide (MOS) ซึ่งผลของการเป็นอาหารเสริมชีวณะนี้จะไปกระตุ้นการดูดซึมสารอาหารของลำไส้ และกระตุ้นการคัดหลั่งของเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ภายในลำไส้(ภาพที่ 2.3) และส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลานอกจากนี้นิวคลีโอไทด์ที่เป็นองค์ประกอบในBrewer's yeast ซึ่งโดยทั่วไปจะอยู่ในรูปของ Ribonucleic acid (RNA) ประมาณ 20-25 เปอร์เซ็นต์(Oliva-Teles and Gonçalves, 2001; Lara-Flores *et al.*, 2003; Li and Gatlin, 2003; Li *et al.*, 2005)ยังมีส่วนช่วยทำให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ดีเนื่องจากนิวคลีโอไทด์เป็นโครงสร้างที่ปลาสามารถย่อย และดูดซึมไปใช้ได้ง่าย เพราะมีโครงสร้างเป็นเปปไทด์สายสั้น ๆ จึงส่งผลทำให้การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาดีขึ้น(Cosgrove, 1988; Burrells, Williams and Forno, 2001; Low, Wadsworth, Burrells and Secombes, 2003; Li *et al.*, 2004)



ภาพที่ 2.3การทำงานของ Mannan-Oligosaccharide (MOS)

ที่มา:<http://www.royal-canin.de>

จากการรวบรวมเอกสารงานวิจัยพบว่า Brewer's yeast มีความสามารถในการนำมาทดแทนปลาป่นได้ในปลาบางชนิดที่ระดับต่าง ๆ เช่น ปลา Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) ปลาช่อนทะเล (*Rachycentron canadum*) ปลา Sea bass และปลาจาระเม็ดน้ำจืด ที่พบว่ามีความสามารถใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นได้ที่ระดับ 23 25 50 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Oliva-Teles, Guedes, Vachot and Kaushik, 2006 ; Lunger, Craig and McLean, 2006 ; Oliva-Teles and Gonçalves, 2001 ; Ozório *et al.*, 2010) แต่เมื่อมีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในระดับที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลทำให้สมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาลดลงเช่นการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลานิลที่ระดับ 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (Zerai *et al.*, 2008) และปลาจาระเม็ดน้ำจืดที่ระดับ 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (Ozório *et al.*, 2010) ดังตารางที่ 2.4 นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับต่ำ (10-30 เปอร์เซ็นต์) จะส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลา Sea bass และปลาช่อนทะเลดีกว่าการใช้ปลาป่น (Oliva-Teles and Gonçalves, 2001; Lunger *et al.*, 2008) ดังตารางที่ 2.5 อีกทั้งยังพบว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลา Gilthead sea bream ปลาจาระเม็ดน้ำจืด ปลานิลและหอยเป่าฮื้อ จะส่งผลทำให้ปลาที่มีปริมาณการกินได้ (feed intake) ดีกว่าการใช้ปลาป่น (Oliva-Teles *et al.*, 2006 ; Ozório *et al.*, 2010 ; Pereira-da-Silva and Peazto (2000) ; Shipton and Britz, 2001) แต่เมื่อมีการทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast ในระดับที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลทำให้ feed intake ของปลา Rainbow trout และปลานิลลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับปลาป่น (Rumsey *et al.*, 1991b ; Baccarin *et al.*, 2000) ดังตารางที่ 2.6 จะเห็นได้ว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในปลาชนิดต่างๆ จำเป็นต้องคำนึงถึงชนิดของปลาและระดับการทดแทนที่เหมาะสมดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงต้องการศึกษาระดับที่เหมาะสมสำหรับการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสุวโมงโดยไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา

ตารางที่ 2.4 ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาชนิดต่าง ๆ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต (Growth performance) ของปลา

ปัจจัยที่ทำการศึกษา	ผลของการศึกษา	Reference
สมรรถนะการ เจริญเติบโต (Growth performance)	● การใช้ Brewer's yeast Lactic yeast และ Baker's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลา Sea bass ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้สมรรถนะการเจริญเติบโตดีกว่าการใช้ปลาป่น	Metailler and Huelvan 1993)
	● การใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์และ 50 เปอร์เซ็นต์รวมกับการเสริม Methionine มีผลทำให้ SGR ของปลา Sea bass ไม่แตกต่างจากการใช้ปลาป่น	Oliva-Telesand Gonçalves (2001)
	● การใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์มีผลทำให้ weight gain ของปลา ช่อนทะเลดีที่สุด แต่ไม่แตกต่างจากการใช้ปลาป่น	Lungeret <i>al.</i> (2008)
	● การใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 12 และ 23 เปอร์เซ็นต์มีผลทำให้ SGR ของปลา Gilthead sea bream สูงกว่าการใช้ปลาป่น	Oliva-Teleset <i>al.</i> (2006)
	● ปลาชนิดที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในระดับที่เพิ่มสูงขึ้น 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์จะส่งผลทำให้ weight gain มีค่าลดลงกว่าการใช้ปลาป่น	Zeraiet <i>al.</i> (2008)
	● ปลาจาระเม็ดน้ำจืดที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ จะช่วยปรับปรุง weight gain ได้ แต่เมื่อใช้ทดแทนที่ระดับ 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลทำให้การเจริญเติบโตของปลาลดลง	Ozórioet <i>al.</i> (2010)

ตารางที่ 2.5 ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาชนิดต่าง ๆ ต่อประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Feed efficiency) ของปลา

ปัจจัยที่ทำการศึกษา	ผลของการศึกษา	Reference
ประสิทธิภาพ การใช้อาหาร (Feed efficiency)	● การใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์และ 50 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับการเสริม Methionine มีผลทำให้ FCR ของปลา Sea bass ไม่แตกต่างจากการใช้ปลาป่นและเมื่อใช้ทดแทนที่ระดับ 10 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีผลทำให้ FCR ดีกว่าการใช้ปลาป่น	Oliva-Teles and Gonçalves (2001)
	● การใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์มีผลทำให้ FCR ของปลาช่อนทะเล ดีกว่าการใช้ปลาป่น	Lunger et al. (2008)
	● ปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นมีผลทำให้ FCR ไม่แตกต่างจากการใช้ปลาป่น	Zeraiet al. (1991b)

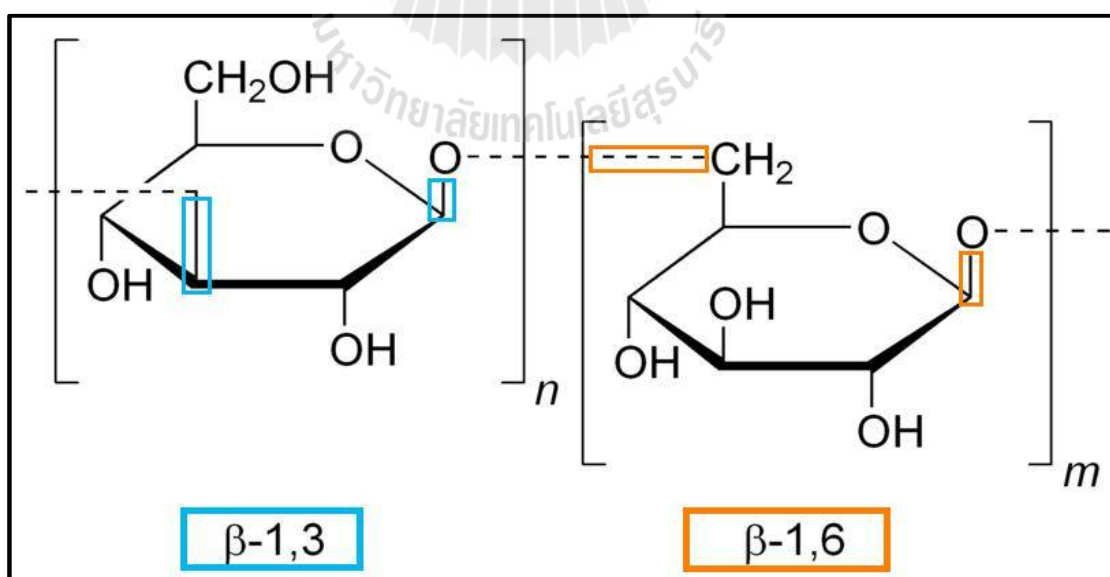
ตารางที่ 2.6 ผลของการใช้ Brewer's yeast และ Brewer's waste ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาชนิดต่าง ๆ ต่อปริมาณการกินได้ (feed intake) ของปลา

ปัจจัยที่ทำการศึกษา	ผลของการศึกษา	Reference
ปริมาณการกินได้ (Feed intake)	● Feed intake ของปลา Rainbow trout และปลา Turbot ที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในระดับ 9 และ 18 เปอร์เซ็นต์ และ 12 และ 24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างจากการใช้ปลาป่น	Fournier <i>et al.</i> (2002)
	● Feed intake ของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's waste ทดแทนปลาป่นในระดับ 25 50 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างจากการใช้ปลาป่น	Zeraiet <i>et al.</i> (2008)
	● Feed intake ของปลา Gilthead sea bream ที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในระดับ 12 และ 23 เปอร์เซ็นต์ ดีกว่าการใช้ปลาป่น	Oliva-Teleset <i>et al.</i> (2006)
	● Feed intake ของปลาจาระเม็ดน้ำจืดที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ ดีกว่าการใช้ปลาป่น	Ozório <i>et al.</i> (2010)
	● ปลานิลและหอยเปาฮื้อที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ในอาหารปลานิลจะมีผลทำให้ feed intake ของปลาเพิ่มขึ้น	Pereira-da-Silva and Peaazto (2000) และ Shipton and Britz (2001)
	● ปลา Rainbow trout ที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในระดับที่เพิ่มสูงขึ้นจะมีผลทำให้ feed intake ของปลาลดลง	Rumsey <i>et al.</i> (1991b)
	● ปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในระดับที่เพิ่มสูงขึ้นจะมีผลทำให้ feed intake ของปลาลดลง	Baccarinet <i>et al.</i> (2000)



2.5 ผลของการใช้ Brewer's yeast ต่อระบบภูมิคุ้มกันของปลา

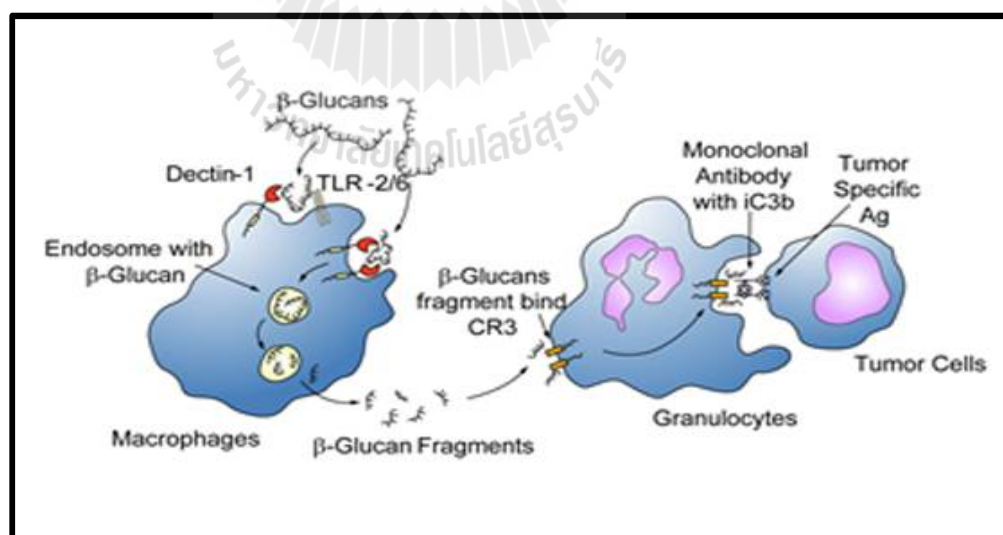
สารอาหาร เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน โดยสารอาหารมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของปลา สารอาหารแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ สารอาหารหลัก (macronutrient) เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน และสารอาหารรอง (micronutrient) เช่น วิตามินและเกลือแร่ หากร่างกายได้รับสารอาหารทั้งสองประเภทในปริมาณเพียงพอและเหมาะสม นอกจากจะทำให้การเจริญเติบโตดีแล้วยังสามารถส่งเสริมให้ระบบการทำงานของร่างกาย รวมทั้งระบบภูมิคุ้มกันมีประสิทธิภาพเช่นเดียวกัน (วุฒิพรพรหมขุนทอง, 2541) ซึ่งสารที่ช่วยกระตุ้นการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันโดยช่วยทำให้ระดับภูมิคุ้มกันของสัตว์เพิ่มสูงขึ้นและสามารถต้านทานการรุกรานของเชื้อโรคได้มีชื่อว่า สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Immunostimulants) (Granam and Schrock, 2001) สำหรับสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่นิยมนำมาศึกษาเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำส่วนใหญ่เป็นสารที่ผลิตได้จากธรรมชาติ เช่น สารสกัดจากเชื้อราหรือยีสต์แบคทีเรีย โพลีแซคคาไรด์ ฟิชสมูนไฟรต่างๆ ฮอร์โมน เป็นต้น (Sakai, 1999; Gannam and Schrock, 2001) มีนักวิจัยหลายท่านให้ความสนใจเกี่ยวกับการนำเอาสารธรรมชาติมาเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันของปลารวมถึงการใช้ Brewer's yeast ที่มีสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันคือ เบต้า-กลูแคน (β -glucan) (Dalmo and Bogwald, 2008) ซึ่งเบต้า-กลูแคน เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ของยีสต์ มีลักษณะเป็นโพลีแซคคาไรด์สายยาวของน้ำตาลกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ glycosidic bonds ตรงโมเลกุลของออกซิเจนที่ตำแหน่ง C1 กับ Hydroxyl ที่ตำแหน่ง C3 ของอีกกลุ่มหนึ่ง (ภาพที่ 2.4)



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของเบต้า-กลูแคน

ที่มา: <http://okdbeyoung.wordpress.com>

กลไกการทำงานของเบต้า-กลูแคนจะเริ่มจากการที่บนผิวเซลล์ของ macrophage มีตัวรับที่จำเพาะต่อเบต้ากลูแคนเช่น Dectin-1 และ Toll-like receptors ซึ่งสามารถพบได้ในสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง (Li and Gatlin, 2004) โดยตัวรับดังกล่าวเป็นกลุ่มของโปรตีนที่มีขนาดประมาณ 1 ไมครอน โดย α -Helix ที่เป็นโครงสร้างสามมิติของเบต้า-กลูแคนที่ประกอบไปด้วยน้ำตาลประมาณ 7 หน่วยเข้าไปจับกับตัวรับบนผิวเซลล์และไปกระตุ้นเซลล์ macrophage ให้ตื่นตัวเพื่อทำหน้าที่กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันต่อไป (ภาพที่ 2.5)ซึ่งในภาวะปกติเซลล์ macrophage ส่วนใหญ่มักจะอยู่ในสภาวะสงบซึ่งหมายความว่าระบบภูมิคุ้มกันต่างๆของร่างกายจะไม่ทำงานจนกว่าจะตรวจพบสิ่งแปลกปลอมจากภายนอกที่เข้าสู่ร่างกาย เช่น แบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา หรือสารเคมี แต่เมื่อร่างกายได้รับเบต้ากลูแคนอยู่เป็นประจำเบต้ากลูแคนเหล่านี้จะคอยกระตุ้นการทำงานของเซลล์ macrophage ให้เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพอยู่ตลอดเวลา ซึ่งกระบวนการในการกระตุ้นเซลล์ macrophage ของเบต้ากลูแคนนั้นมีอยู่หลายทาง เช่น การเพิ่มประสิทธิภาพในการทำละลายและตรวจจับสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายของเซลล์ macrophage การควบคุมการหลั่ง cytokines เช่น interleukins เพื่อกระตุ้นการสื่อสารระหว่างเซลล์ต่างๆในระบบภูมิคุ้มกัน และการกระตุ้นการหลั่ง colony stimulating factor เพื่อเพิ่มปริมาณการสร้างและการเจริญเติบโตของเม็ดเลือดขาว เช่น neutrophils และ eosinophils กระบวนการเหล่านี้เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพให้แก่เซลล์ macrophage ในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่จะเข้ามาสู่ร่างกาย (Valman, Ramakers and Plat, 2008)



ภาพที่ 2.5การทำงานของเบต้ากลูแคนต่อระบบภูมิคุ้มกัน

ที่มา: <http://premacare.blogspot.com/2013/04/beta-glucan-4.html>

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเบต้า-กลูแคนที่พบในยีสต์มีผลทำให้การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นในภาวะที่สัตว์มีความกดดันและความเครียดที่เกิดจากสิ่งแวดล้อม (Lara-Flores, Olvera-Novoa, Guzmán-Méndez and López-Madrid, 2003; Olvera-Nova, Martinez-Palacios and Olivera-Castillo, 2002; Li and Gatlin, 2004; Li, Lewis and Gatlin, 2004; McLean and Craig, 2004; Bagni, Romano, Finoia, Abelli, Scapigliati, Tiscar, Sarti and Marino, 2005; Choudhury, Pal, Sahu, Kumar, Das and Mukherjee, 2005) และเป็นที่ยอมรับว่ามีประสิทธิภาพสูงในการกระตุ้นการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลาหลายชนิดเช่นปลา Turbot (Santarem, Novoa and Figueras, 1997) และปลาสติก (*Trichogaster trichopterus*) (Samuel, Lam and Sin, 1996) พบว่าเมื่อปลาได้รับเบต้า-กลูแคนในช่วงระยะเวลาหนึ่งจะทำให้การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันเพิ่มสูงขึ้นได้จากการศึกษาของ Li and Gatlin (2003) เกี่ยวกับการใช้ Brewer's yeast (Brewtech®) เสริมในอาหารปลา Hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) ที่ระดับ 0 1 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์พบว่า การเสริม Brewer's yeast ทุกระดับไม่มีผลต่อ Lysozyme และ Intracellular superoxide anion ในขณะที่การเสริม Brewer's yeast ที่ระดับ 1 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้การทดสอบ NBT (Blood neutrophil oxidative radical production) และ Extracellular superoxide anion แตกต่างจากการไม่เสริม Brewer's yeast (0 เปอร์เซ็นต์) ($P > 0.05$) อีกทั้งการศึกษาของ Li and Gatlin (2004) พบว่าการเสริม Brewer's yeast (Brewtech®) ที่ระดับ 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ในอาหารปลา Hybrid striped bass มีผลทำให้ค่า Intracellular superoxide anion แตกต่างจากการไม่เสริม Brewer's yeast ($P > 0.05$) แต่สำหรับค่า Lysozyme และ Extracellular superoxide anion นั้นไม่แตกต่างจากการไม่เสริม Brewer's yeast ($P > 0.05$) อีกทั้งจากการรายงานของ Ortuño *et al.* (2002) กล่าวว่า การเสริม Lyophilised whole yeast (*S. cerevisiae*) มีผลทำให้การตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของระบบเซลล์ในปลา Gilthead sea bream เพิ่มขึ้น และการศึกษาของ Jarmolowicz *et al.* (2012) เกี่ยวกับการเสริม Brewer's yeast (NuPro®) ลงในอาหารปลา Pikeperch ที่ระดับ 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์มีผลทำให้ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะที่เกี่ยวกับเซลล์ ได้แก่ metabolic killing activity และ proliferative และระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะที่ใช้สารน้ำ ได้แก่ lysozyme activity และระดับ Immunoglobulin ของปลาเพิ่มสูงขึ้น

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของการใช้เบต้า-กลูแคนที่ได้จากยีสต์ (*S. cerevisiae*) เพื่อเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันของปลาตัวอย่างเช่นการศึกษาของ Kumari and Sahoo (2006) ที่ได้ทำการศึกษาผลของการเสริมเบต้า-กลูแคนในอาหารต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลาดุกด้าน โดยแบ่งออกเป็นกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับเบต้า-กลูแคน 0.1 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 1 2 และ 3 สัปดาห์ โดยวัด Superoxide production Serum myeloperoxidase (MPO) content Natural haemagglutinin level Complement และ Lysozyme activities และทดสอบการต้านทานเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ผลการทดลองพบว่าการเสริมเบต้า-กลูแคน 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 สัปดาห์สามารถ

เพิ่มการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงและสามารถต้านทานโรคได้และการศึกษาของ Ai, Kangsen, Lu, Beiping, Wenbing, Wei and Huitao (2007) โดยศึกษาผลของการเสริมเบต้า-กลูแคนในอาหารที่ระดับ 0 0.09 และ 0.18 เปอร์เซ็นต์ต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงและการต้านการติดเชื้อ *Vibrioharveyi* ในปลาจวดเหลือง (*Pseudosciaena crocea*) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ แสดงให้เห็นว่า Lysozyme activity มีค่าเพิ่มขึ้นในปลากลุ่มที่ได้รับเบต้า-กลูแคน 0.18 เปอร์เซ็นต์มากกว่าปลากลุ่มที่ได้รับเบต้า-กลูแคน 0.09 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่พบความแตกต่างของ Alternative Complement Pathway (ACP) ระหว่างปลากลุ่มที่เสริมเบต้า-กลูแคนและกลุ่มควบคุม สำหรับการทดสอบการต้านเชื้อปลากลุ่มที่ได้รับเบต้า-กลูแคน 0.09 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการตายสะสมต่ำกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเบต้า-กลูแคน 0.18 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการเสริมเบต้า-กลูแคนในปริมาณ 0.09 เปอร์เซ็นต์ลงในอาหารของปลาจวดเหลืองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ สามารถเพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะได้และจากการรายงานของ Jorgensen, Lunde and Robertsen (1993) พบว่าปลา Atlantic salmon ที่ได้รับเบต้า-กลูแคนมีค่า respiratory burst activity เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลาในกลุ่มควบคุม จากการรวบรวมเอกสารแสดงให้เห็นว่าไม่ว่าจะเป็น Brewer's yeast หรือเบต้า-กลูแคนที่อยู่ภายในผนังเซลล์ของ Brewer's yeast มีความสามารถในการเพิ่มการทำงานของภูมิคุ้มกันของปลาได้ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสายโอมต่อระบบภูมิคุ้มกันของปลา

2.6 ผลของการใช้ Brewer's yeast ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีในโลหิตของปลา

เลือดปลา เป็นตัวกลางสำคัญในการนำสารอาหารและออกซิเจนไปเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต่างๆของร่างกาย เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงหรือมีความผิดปกติของระบบใดระบบหนึ่งในร่างกายปลา ก็จะส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบของเลือดโดยตรงการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเลือดขึ้นอยู่กับชนิดสายพันธุ์ อายุ ระยะเจริญพันธุ์และสุขภาพของปลา อีกทั้งการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม ไม่ว่าจะเป็นอุณหภูมิ สารพิษที่ปนเปื้อน และการให้อาหารหรือวิตามินเสริม (กิจการ สุภมาตย์สาวิตรี ศิลา เกษวุฒิพร พรหมขุนทองและสิทธิ บุญยรัตผลิน, 2530; นิรุทธิ์ สุขเกษมจริพร เรืองศรี และกิจการ สุภมาตย์, 2548; Puangkaew, Kiron, Somamoto, Okamoto, Satoh, Takeuchi and Watanabe, 2004; Hrubec, Cardinale and Smith, 2000) ดังนั้นการศึกษาค่าโลหิตวิทยาบางประการจึงสามารถใช้เป็นข้อมูลบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงทางสุขภาพของปลาได้ (Brown and Barbara, 1993) จากการศึกษาของ Li and Gatlin (2003) ศึกษาการเสริม Brewer's yeast ลงในอาหารปลา Hybrid striped bass ที่ระดับ 0 1 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น แสดงให้เห็นว่า Brewer's yeast ที่เสริมลงในอาหารปลาไม่มีผลต่อสุขภาพของปลา Hybrid striped bass เช่นเดียวกับการรายงานของ Hoseinifar, Mirvaghefi and Merrifield (2011b) รายงานว่าการเสริม

Brewer's yeast (*S. cerevisiae* Var. *ellipioideus*) ในระดับที่ต่ำกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารปลา Beluga ไม่มีผลกระทบต่อจำนวนเม็ดเลือดแดง ค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง (MCV MCH และ MCHC) จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดหรือจำนวนเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดโปรตีนในพลาสมา คอเลสเตอรอล และกลูโคส และในปลานิลพบว่าการใช้ยีสต์ที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ไม่มีผลต่อจำนวนเม็ดเลือดขาว และจำนวนเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด (Reque, Moraes, De Andrade Belo and De Moraes, 2010) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Lungeret *et al.* (2006) ที่ทำการศึกษาในปลาช่อนทะเล ที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast ที่ระดับ 0 25 50 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast ทุกระดับ มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น และโปรตีนในพลาสมา (Protein plasma) สูงกว่าการใช้ปลาป่น เช่นเดียวกับการศึกษาในปลานิลของ Abdel-Tawab *et al.* (2008) ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม Baker's yeast ที่ระดับ 1.0-5.0 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่าจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และปริมาณฮีโมโกลบินของปลานิลสูงกว่าปลานิลที่ได้รับโปรตีนจากปลาป่นและการใช้ยีสต์ในระดับต่ำ (0.025-0.5 เปอร์เซ็นต์) มีผลทำให้โปรตีนในซีรัม และกลูโคสสูงกว่าปลานิลที่ได้รับโปรตีนจากปลาป่นอีกทั้งจากการรายงานของ Jarmolowicz *et al.* (2012) กล่าวว่าการศึกษาเสริม Brewer's yeast (NuPro[®]) ที่ระดับ 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลา Pike perch มีผลทำให้ค่า Aspartate aminotransferase (AST) และ Alanine aminotransferase (ALT) สูงกว่าการใช้ปลาป่น แต่ไม่มีผลต่อ Alkaline phosphatase (ALP) Bilirubin และ Ceruloplasmin โดยพารามิเตอร์ดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า Brewer's yeast ที่ใช้ไม่มีผลต่อการทำงานของตับ ทางเดินอาหารและไต โดย AST และ ALT ที่เพิ่มสูงขึ้นชี้ให้เห็นว่า Brewer's yeast ส่งผลทำให้การทำงานของตับดีขึ้น (Metwally, 2009) และการรายงานของ Ozório *et al.* (2010) กล่าวว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาระเม็งน้ำจืดที่ระดับ 0 30 35 50 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการใช้ Brewer's yeast ที่ระดับ 35 และ 50 เปอร์เซ็นต์มีผลทำให้โปรตีนในพลาสมาเพิ่มสูงขึ้น แต่ที่ระดับ 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีผลทำให้โปรตีนในพลาสมาลดลง ซึ่งตรงข้ามกับระดับกลูโคสในพลาสมาพบว่าการใช้ Brewer's yeast ที่ระดับ 35 และ 50 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้กลูโคสในพลาสมาลดลง แต่ที่ระดับ 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้กลูโคสในพลาสมาเพิ่มสูงขึ้นซึ่งการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของกลูโคสและโปรตีนในพลาสมาจะเป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นถึงความสามารถในการใช้อาหารของปลาเช่นเดียวกับการรายงานของ Salnur, Gulpepe and Hossu (2009) กล่าวว่าการใช้ยีสต์ทดแทนปลาป่นในอาหารปลา Gilthead sea bream มีผลทำให้กลูโคสในพลาสมาเพิ่มขึ้นนอกจากนี้จากการรายงานผลการศึกษาลักษณะการใช้ Brewer's yeast ในอาหารปลา Gilthead sea bream ปลา Rainbow trout และปลา Turbot มีผลทำให้ค่า Blood Urea Nitrogen (BUN) เพิ่มขึ้น (Oliva-Teles *et al.*, 2006; Fournier *et al.*, 2002) ผลของ Brewer's yeast ที่ทำให้ BUN เพิ่มขึ้นเกิดจากการที่ปลามีการสลายนิวคลีโอไทด์แล้วให้ผลผลิตเป็นยูเรีย (Walsh and Mommsen, 2001) โดยปกติปลาจะมีการขับของเสียประเภทไนโตรเจนออกมาในรูปของ

แอมโมเนียอย่างต่อเนื่อง และจะมีการสะสมยูเรียไว้ในร่างกายซึ่งจะขับก็ต่อเมื่อสภาพแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลง

เช่น

อุณหภูมิ



สูง ความเป็นกรด-ด่างสูง และแอลคาไลน์สูง เป็นต้น(Randall, Wood, Perry, Bergman, Maloiy, Mommsen and Wright, 1989; Saha and Ratha, 1989) นอกจากนี้ยังรู้เกี่ยวกับที่สะสมในร่างกายของปลา ยังมีความสามารถในการลดความเป็นพิษของแอมโมเนีย และรักษาสมดุลการแลกเปลี่ยนไอออนของปลาทะเล (Haussinger and Gerok, 1985)

นอกจากนี้ยังมีนักวิจัยหลายท่านที่ให้ความสนใจเกี่ยวกับผลของการใช้เบต้า-กลูแคนซึ่งเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในผนังเซลล์ของBrewer's yeast ต่อองค์ประกอบของเลือดปลาหลายชนิด เช่น จากการศึกษาของ จุฬารัตน รุ่งกำเนิดวงศ์ จำเริญศรี พวงแก้ว และ กิจการ สุขมาตย์ (2550) รายงานว่าการเสริมเบต้า-กลูแคนในอาหารปลากะรังดอกแดง (*Epinephelus coioides*) ที่ระดับ 1 และ5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีผลทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาวสูงกว่าปลาที่ไม่ได้รับการเสริม($P<0.05$) แต่จำนวนเม็ดเลือดแดงของแต่ละทรีทเมนต์นั้นไม่มีความแตกต่างกัน($P>0.05$) เช่นเดียวกับการรายงานของMisra, Das, Mukherjee and Pattnaik (2006) กล่าวว่าเม็ดเลือดขาวของปลาชี่สกเทศ(*Labeo rohita*) ที่ได้รับเบต้า-กลูแคนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าสูงกว่าปลาชี่สกเทศที่ได้รับอาหารกลุ่มควบคุม และการศึกษาของDuncan andKlesius (1996) พบว่าปลาคูอเมริกันที่ได้รับเบต้า-กลูแคนมีผลทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาวเพิ่มสูงขึ้นในขณะที่เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมจากการรวบรวมเอกสารเกี่ยวกับการเสริมเบต้า-กลูแคนในอาหารปลาชี้ให้เห็นว่าเบต้า-กลูแคนมีผลทำให้เม็ดเลือดขาวเพิ่มสูงขึ้นผลของการเพิ่มขึ้นดังกล่าวเกิดจากการที่เบต้า-กลูแคน ไปเหนี่ยวนำการหลั่งcytokine ซึ่ง cytokine จะไปกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดขาว (Raa, 1996) นอกจากนี้เบต้า-กลูแคน ยังไปกระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาว เช่น macrophage granulocytes และ monocytes ซึ่งเม็ดเลือดขาวเหล่านี้จะทำหน้าที่ในการป้องกันการติดเชื้อและสนับสนุนการซ่อมแซมความเสียหายของเนื้อเยื่อ (Gannam and Schrock, 2001) จะเห็นได้ว่าการนำ Brewer's yeast หรือเบต้า-กลูแคนมาใช้ในอาหารปลาจะส่งผลทำให้ปลาบางชนิดมีสุขภาพที่ดีหรือไม่มีผลกระทบทางลบต่อสุขภาพของปลา ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในโลหิตของปลาสาวยโมง

2.7 ผลของการใช้ Brewer's yeast ต่อองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และคุณภาพเนื้อของปลา

องค์ประกอบทางเคมีหมายถึงโภชนาที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในร่างกายสัตว์น้ำได้แก่น้ำ โปรตีนและไขมัน รวมกันทั้งหมดเป็นปริมาณร้อยละ 98 ของน้ำหนักเนื้อ โดยมีผลต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่ คุณค่าทางโภชนาการและลักษณะเนื้อสัมผัสของสัตว์น้ำสำหรับองค์ประกอบอื่นๆ เช่น คาร์โบไฮเดรต วิตามินและเกลือแร่มีในปริมาณน้อยแต่มีบทบาทสำคัญต่อกลืน รสชาติและคุณค่าทางโภชนาการเช่นกัน(สุทธิวัฒน์เบญจกุล,2548) อาหารเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลผลต่อ

องค์ประกอบทางเคมีของปลา เช่น ในช่วงการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำเมื่อสัตว์น้ำโตหรือมีอายุมากขึ้น และได้รับอาหารที่เพียงพอแก่ความต้องการจะทำให้สัตว์น้ำมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนและไขมันสูงขึ้น ตรงกันข้ามในช่วงขาดแคลนอาหารสัตว์น้ำจะชะงักการเจริญเติบโต ร่างกายจะมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนและไขมันลดลงส่วนน้ำและไขมันจะยังคงพบในปริมาณเท่าเดิมหรือเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาในการขาดแคลนอาหาร แต่ถ้าได้รับอาหารในปริมาณที่เหมาะสมหรือปริมาณที่เกินความต้องการจะทำให้สัตว์น้ำมีประสิทธิภาพในการใช้ประโยชน์จากอาหารลดลง (เวียงเชื้อโพธิ์หัก, 2542) ดังนั้น การนำวัตถุดิบชนิดใดมาใช้ในอาหารปลาจึงจำเป็นจะต้องทราบผลกระทบที่มีต่อองค์ประกอบทางเคมีของปลา ซึ่งจากการรวบรวมเอกสารเกี่ยวกับการใช้ Brewer's yeast หรือ yeast ในอาหารปลาพบว่าจากการศึกษาของ Hoffman, Prinsloo and Rukan (1997) ที่มีการใช้กากถั่วเหลือง Brewer's yeast และกากมะเขือเทศทดแทนปลาป่นในอาหารปลาดุกแอฟริกา (*Clarias gariepinus*) พบว่าการใช้แหล่งโปรตีนต่างๆ ไม่มีผลต่อโปรตีนและไขมันของตัวปลา แต่สำหรับการใช้ Brewer's yeast เป็นแหล่งทดแทนมีผลทำให้ไขมันในตัวปลาดำกว่าการใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนเช่นเดียวกับการรายงานของ Peterson, Booth and Manning (2012) ได้ทำการศึกษาผลของการทดแทนปลาป่นด้วย Yeast-derived protein (NuPro®) ในอาหารปลาคอเมอริกันที่ระดับ 0 2.5 5 7.5 10 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าระดับการทดแทนปลาป่นด้วย NuPro® ที่มากกว่า 7.5 เปอร์เซ็นต์มีผลทำให้ไขมันในตัวปลาลดลง นอกจากนี้จากการศึกษาของ Oliva-Teles and Goncalves (2001) เกี่ยวกับการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลา Sea bass ที่ระดับ 10 20 30 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้องค์ประกอบของไขมันและโปรตีนในตัวปลาไม่มีความแตกต่างกันยกเว้นองค์ประกอบของโปรตีนในตัวปลาพบว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์นั้นมีค่าสูงกว่าการใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีน และจากการศึกษาของ Fournier, Gouillou-Coustans, Métailler, Vachot, Moriceau, Le Delliou, Huelvan, Desbruyeres and Kaushik (2003) เกี่ยวกับการใช้ Brewer's yeast และ RNA extract ที่มีความเข้มข้นของ N ที่ระดับ 6.8 และ 8.8 เปอร์เซ็นต์ ในปลา Rainbow trout และปลา Turbot พบว่าการใช้อาหารดังกล่าวไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของปลา Turbot แต่สำหรับในปลา Rainbow trout พบว่าการใช้ Brewer's yeast ที่มีความเข้มข้นของ N ที่ระดับ 6.8 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้โปรตีนในปลาทั้งตัวเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่นๆ ตรงข้ามกับการรายงานองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา Gilthead sea bream ของ Oliva-Teles *et al.* (2006) ที่ได้รับอาหารที่มี Brewer's yeast ที่ระดับ 12 และ 23 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการใช้ Brewer's yeast ในอาหารปลา Gilthead sea bream ไม่ส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาและจากการศึกษาของ Ozório *et al.* (2010) เกี่ยวกับการทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast ที่ระดับ 0 30 35 50 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์สิ่งแห้ง โปรตีน ไขมันและกรดไขมันในตัวปลาจะเมื่อน้ำจืดที่ได้รับอาหารที่มี Brewer's yeast ทุกระดับไม่มีความแตกต่างกัน และการรายงานของ Hoseinifar *et*

al. (2011b) ที่มีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ Brewer's yeast ในอาหารปลา Beluga ที่ระดับ 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีผลต่อ



องค์ประกอบทางเคมีของปลา อีกทั้งยังมีการรายงานการศึกษาของ Essa, Mabrouk, Mohamed and Michael (2011) เกี่ยวกับการเสริมยีสต์ในอาหารปลาแอฟริกาที่ระดับ 0 1 1.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่าผลการเสริมดังกล่าวไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา จะเห็นได้ว่า Brewer's yeast สามารถนำมาใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาได้ ภายใต้ระดับการใช้ที่เหมาะสม ดังนั้นการที่จะนำ Brewer's yeast มาเป็นทดแทนแหล่งโปรตีนที่ได้จากปลาป่นในอาหารปลาสาวยโฌจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาถึงผลกระทบของผลการใช้ Brewer's yeast ที่มีต่อองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาด้วย

คุณภาพของเนื้อปลา (Flesh quality) หมายถึง คุณภาพการในการบริโภค โดยผู้บริโภคให้ความสำคัญกับปริมาณเนื้อส่วนที่บริโภคได้ (yield) และขนาดของเนื้อปลา ปริมาณโปรตีนสูงไขมันไม่มากเกินไป อีกทั้งยังมีความนุ่มของเนื้อและรสชาติที่ดีด้วย ดังนั้นระดับความพึงพอใจทั้งหมดของการบริโภคจึงประกอบไปด้วยปัจจัยรวมหลายๆปัจจัย ซึ่งรวมไปถึงลักษณะที่ปรากฏต่อสายตา เช่น สี กลิ่น และเนื้อสัมผัส เป็นต้น (สัญญา จตุรติธธา, 2543) อาหารปลามีบทบาทสำคัญต่อความสดและลักษณะที่ปรากฏของเนื้อปลา และมีความสำคัญต่อการกำหนดคุณภาพของเนื้อปลา (Lie, 2001) การนำเอาวัตถุดิบอาหารชนิดใดก็ตามมาใช้ในกระบวนการผลิตอาหารเพื่อนำไปให้ปลาบริโภคจึงจำเป็นต้องมีการคำนึงถึงผลของวัตถุดิบอาหารชนิดนั้นต่อคุณภาพเนื้อของปลา จากการรวบรวมเอกสารเกี่ยวกับการใช้ Brewer's yeast ในอาหารปลาต่อคุณภาพเนื้อของปลาจากรายงานของ Lungeret *et al.* (2006) การศึกษาเกี่ยวกับการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 0 25 50 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ในปลาช่อนทะเลพบว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในระดับที่เพิ่มสูงขึ้น (75 และ 100 เปอร์เซ็นต์) จะส่งผลทำให้โปรตีนในเนื้อลดลง สำหรับไขมันในเนื้อพบว่าระดับการทดแทนที่ 25 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ไขมันในเนื้อมีค่าสูงที่สุดและต่ำที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์สำหรับเนื้อ พบว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์มีค่าสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรอื่นๆ และจากการรายงานของ สุรินทร์ เรื่องสมบูรณปริญา ทวิจักร และดุสิต เอื้อ อำนวย (2553) ศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลานิลแดง ที่ระดับ 24 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์โปรตีนในเนื้อปลานิลแดงสูงกว่าการใช้ปลาป่น และพบว่าการใช้ Brewer's yeast ในอาหารปลานิลแดงไม่ได้มีผลต่อสีเนื้อของปลานิลแดง สอดคล้องกับรายงานของ Ozório *et al.* (2010) ศึกษาการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลาจาระเม็ดน้ำจืด ที่ระดับ 0 30 35 50 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มี Brewer's yeast สูงขึ้นไม่มีผลต่อค่าสีเนื้อของปลา จะเห็นได้ว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาจะมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา แต่อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างของสีเนื้อปลาเมื่อมีการใช้ Brewer's yeast ในอาหารปลา ดังนั้นการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโฌจึงจำเป็นที่จะต้องศึกษาวิจัยเกี่ยวกับคุณภาพทางกายภาพและเคมีของเนื้อปลาสาวยโฌ

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 สถานที่ทำการทดลอง

ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (งานสัตว์น้ำ) อาคารเครื่องมือ 13 และ 10 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสุรนารี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 อุปกรณ์สำหรับการเลี้ยงปลา

- 1) บ่อดินขนาด 5 ไร่
- 2) โครงกระชังเหล็ก และกระชังขนาด 2×2×2.5 เมตร และ 1×1×1.5 เมตร
- 3) เครื่องปั๊มลม
- 4) สวิงขนย้ายปลาเป็นต้น

3.2.2 อุปกรณ์สำหรับการทำอาหารปลา

- 1) เครื่องบดวัตถุดิบอาหาร
- 2) เครื่องผสมอาหารสัตว์
- 3) เครื่องอัดเม็ดอาหารสัตว์แบบลอยน้ำ
- 4) วัตถุดิบอาหารสัตว์ ได้แก่ ปลาป่น Brewer's yeast กากถั่วเหลืองรำข้าว ปลาขี้ขาวมันเส้น น้ำมันพืช และฟอสฟอรัส

- 5) ตาชั่งขนาด 17 และ 60 กิโลกรัม

- 6) เครื่องชั่ง 2 และ 4 ตำแหน่งเป็นต้น

3.2.3 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกัน

- 1) เครื่องแก้วสำหรับการเตรียมสารเคมี
- 2) กระบอกฉีดขนาด 3 มิลลิลิตร
- 3) เข็มฉีดยาเบอร์ G21 ยาว 1 นิ้ว
- 4) ตู้ควบคุมอุณหภูมิ -80 -20 4 และ 37°C
- 5) Haemocytometer พร้อมด้วย Cover glass
- 6) กล้องจุลทรรศน์
- 7) Microhaematocrit tube reader เป็นต้น

3.2.4 สารเคมี

1) น้ำมันกานพลู

2) Dipotassiummethylenediaminetetraacetic acid(K_2EDTA)

3) น้ำยาเจือจางเม็ดเลือดแดง Grower's solution

- Sodium sulfate

-Glacial acetic acid

4) น้ำยาค้นเม็ดเลือดขาวตามสูตร Natt Herrick's stain

- Sodium chloride ($NaCl$)

- Sodium sulfate (Na_2SO_4)

- Sodium phosphate (NaH_2PO_4)

- Potassium phosphate (KH_2PO_4)

- Formalin 37เปอร์เซ็นต์

- Methyl violet เป็นต้น

5) สารเคมีที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ Lysozyme activity

- Chicken egg white lysozyme

- 0.1 M phosphate citrate buffer (pH 5.8)

- *Micrococcus lysodekticus*(Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, USA)

6) สารเคมีที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ Complement activity

- Sheep red blood cell

- Phosphate Buffered Saline(Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, USA)

-Calcium chloride ($CaCl_2$)

- Magnesium chloride ($MgCl_2$)

- Gelatin

7)สารเคมีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในเลือด

- Total Protein kit(บริษัท แปซิฟิค ไบโอเทค จำกัด)

- Cholesterol kit(บริษัท แปซิฟิค ไบโอเทค จำกัด)

- Blood Urea Nitrogenkit(บริษัท แปซิฟิค ไบโอเทค จำกัด)

3.3 สัตว์ทดลอง

นำลูกปลาซวายโงมมาจากสถานีประมงน้ำจืดจังหวัดนครพนมที่ได้จากการผสมระหว่างพ่อพันธุ์ปลาโงมและแม่พันธุ์ปลาซวายโดยวิธีการฉีดฮอร์โมนและการผสมเทียม มาทำการเลี้ยงในกระชังขนาด 2×2×2.5 เมตรเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ด้วยอาหารปลาตุ๊กเล็กที่มีโปรตีน 32 เปอร์เซ็นต์ ทำการสุ่มปลาทดลองที่มีน้ำหนักประมาณ 36.35 ± 0.07 กรัม ลงในกระชัง กระชังละ 40 ตัว และเลี้ยงเพื่อให้คุ้นเคยกับสภาพทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ก่อนเริ่มการทดลอง

3.4 การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารทดลองที่ใช้ในการทดลองแบ่งออกเป็น 6 ทริทเมนต์ ซึ่งอาหารแต่ละทริทเมนต์จะมีระดับโปรตีนในอาหารเท่ากับ 320 กรัมต่อกิโลกรัม และพลังงานเท่ากับ 15.30 กิโลจูลต่อกิโลกรัมดังนี้

ทริทเมนต์ที่ 1 อาหารเม็ดสำเร็จรูปสูตรทางการค้า (Control A, CA)

ทริทเมนต์ที่ 2 อาหารที่ผลิตขึ้นเองโดยทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast 0 เปอร์เซ็นต์

(Control B, CB)

ทริทเมนต์ที่ 3 อาหารที่ผลิตขึ้นเองโดยทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast 30 เปอร์เซ็นต์ (D30)

ทริทเมนต์ที่ 4 อาหารที่ผลิตขึ้นเองโดยทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast 45 เปอร์เซ็นต์ (D45)

ทริทเมนต์ที่ 5 อาหารที่ผลิตขึ้นเองโดยทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast 60 เปอร์เซ็นต์ (D60)

ทริทเมนต์ที่ 6 อาหารที่ผลิตขึ้นเองโดยทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast 75 เปอร์เซ็นต์ (D75)

โดยก่อนที่จะทำการประกอบสูตรอาหารจะต้องมีการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบแต่ละชนิดที่นำมาใช้เป็นส่วนผสมของอาหารที่ผลิตขึ้นเองตามวิธีของ AOAC (2000) ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบทางเคมี (กรัมต่อกิโลกรัม) ของวัตถุดิบที่ใช้ในการสร้างสูตรอาหารทดลองที่ผลิตขึ้นเอง

วัตถุดิบ	โปรตีน	ไขมัน	เยื่อใย	เถ้า	NFE
ปลาป่น	522.30	83.50	11.50	234.90	143.77
กากถั่วเหลือง	435.00	8.30	66.00	73.90	413.00
Brewer's yeast	442.30	29.30	3.00	64.50	457.20
ปลายข้าว	65.00	71.30	35.00	15.50	806.70
รำข้าว	91.70	144.50	107.30	85.50	566.00
มันเส้น	15.20	14.90	33.80	55.50	876.00

หลังจากนั้นทำการสร้างสูตรอาหารสำหรับอาหารที่ผลิตขึ้นเองในฟาร์มที่ 2-6 ที่มีระดับของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารแตกต่างกัน 5 ระดับ โดยมีการปรับให้สูตรอาหารทุกสูตรมีระดับโปรตีนเท่ากับ 320 กรัมต่อ กิโลกรัม และระดับพลังงานเท่ากับ 15.30 กิโลจูลต่อกรัม ดังแสดงในตารางที่ 3.2 หลังจากนั้นนำวัตถุดิบอาหารที่มีขนาดใหญ่มาบดด้วยเครื่องบดอาหารสัตว์ให้มีขนาด 0.5 มิลลิเมตร แล้วนำส่วนผสมในแต่ละสูตรเข้าเครื่องผสมอาหาร คลุกเคล้าส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ยกเว้นน้ำมันพืชและ premix ที่จะผสมเป็นลำดับสุดท้าย หลังจากผสมแล้วนำไปเข้าเครื่องอัดเม็ด ที่มีอุณหภูมิประมาณ 125-150°C

ตารางที่ 3.2 ส่วนผสมของวัตถุดิบและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารต่างกัน 5 ระดับ (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)

วัตถุดิบ	อาหารทดลอง(กรัมต่อกิโลกรัม)					
	CA	CB	D30	D45	D60	D75
ปลาป่น	-	300	210	165	120	75
กากถั่วเหลือง	-	358	365	369	381	403
Brewer's yeast	-	0	90	135	180	225
ปลายข้าว	-	50	50	50	40	30
รำข้าว	-	40	40	40	40	30
มันสำปะหลัง	-	190	190	190	190	190
น้ำมันพืช	-	42	35	31	29	27
Premix vitamin	-	10	10	10	10	10
Premix mineral	-	10	10	10	10	10
Proximate analysis (กรัมต่อกิโลกรัม)						
โปรตีน	320.0	319.0	322.0	324.0	319.0	323.0
ไขมัน	68.0	74.0	73.0	73.0	73.0	74.0
NFE	418.5	425.0	429.7	427.5	431.2	426.4
เยื่อใย	42.5	36.0	35.3	36.5	34.8	34.6
เถ้า	96.0	94.0	90.0	85.0	86.0	91.0
DE(กิโลจูลต่อกรัม) ¹	14.9	15.2	15.3	15.3	15.3	15.3

หมายเหตุ: ¹การคำนวณ DE (กิโลจูลต่อกรัม) = (Crude protein×16.7)+(Crude fat×16.7)+(NFE×37.7)ตาม
วิธีการของ Garling and Wilson (1977)



ตารางที่ 3.3 แคลเซียม ฟอสฟอรัส และองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นในอาหารทดลองที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ กัน (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)

วัตถุดิบ	อาหารทดลอง (กรัมต่อกิโลกรัม)					
	CA	CB	D30	D45	D60	D75
Calcium (g kg^{-1})	-	16.4	14.6	9.8	7.8	5.7
Available Phosphorus (g kg^{-1})	-	19.9	22.3	19.7	20.2	21.2
Arginine(g 100 g^{-1})	-	25.5	24.3	23.0	22.5	22.2
Histidine(g 100 g^{-1})	-	8.2	8.2	7.9	8.0	8.1
Isoleucine(g 100 g^{-1})	-	14.4	14.5	14.2	14.3	14.6
Leucine(g 100 g^{-1})	-	25.4	25.3	24.2	24.1	24.3
Lysine(g 100 g^{-1})	-	22.5	22.6	22.2	22.4	22.7
Valine(g 100 g^{-1})	-	16.5	16.8	16.3	16.5	16.8
Phenylalanine(g 100 g^{-1})	-	15.3	15.3	14.9	15.0	15.2
Methionine(g 100 g^{-1})	-	6.4	5.5	4.8	4.4	4.0
Threonine(g 100 g^{-1})	-	14.0	14.1	13.7	13.8	14.0
Tryptophan(g 100 g^{-1})	-	3.6	3.9	4.0	4.1	4.4

3.5 การเตรียมกระชัง

กระชังที่ใช้ในการทดลองมีขนาด $1 \times 1 \times 1.5$ เมตร เป็นจำนวน 18 กระชังแขวนอยู่ในโครงกระชังเหล็กที่ลอยอยู่ในบ่อดินขนาด 5 ไร่ ความลึก 2 เมตร ทำการสุมกระชังโดยวิธีสุมอย่างง่ายด้วยการจับสลาก ดังนี้ เขียนหมายเลขกระชังจำนวน 18 กระชังด้วย 18 หมายเลข แล้วทำการจับสลากครั้งที่ 1 หมายเลขที่ได้ คือทริทเมนต์ที่ 1 ซ้ำที่ 1 จับสลากครั้งที่ 2 หมายเลขที่ได้คือทริทเมนต์ที่ 1 ซ้ำที่ 2 จนถึงการจับสลากครั้งสุดท้าย หมายเลขที่ได้คือทริทเมนต์ที่ 6 ซ้ำที่ 3 โดยใส่ปลากระชังละ 40 ตัว โดยมี 3 กระชังต่อทริทเมนต์ (อาหารทดลอง)

3.6 การเก็บข้อมูลเพื่อประเมินสมรรถนะการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

1) ให้ปลากินอาหารทดลองทั้งหมด 6 ทริทเมนต์ (ตารางที่ 3.2) ทริทเมนต์ละ 3 ซ้ำ โดยให้ปลากินจนอิ่มทุกวัน วันละ 2 ครั้ง คือเวลา 10.00 น. และ 16.00 น. เป็นระยะเวลา 9 เดือน

2) บันทึกข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโต โดยทำการชั่งน้ำหนัก วัดความยาวของปลา เพื่อเป็นน้ำหนักและความยาวเริ่มต้น หลังสิ้นสุดการทดลองทำการชั่งน้ำหนักและวัดความยาวของปลา

เพื่อเป็นน้ำหนักและความยาวสุดท้าย หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้อาศึกษาผลของอาหารทดลองแต่ละสูตรต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของและประสิทธิภาพการใช้อาหารดังนี้

$$\text{Final weight (g)} = \frac{\text{น้ำหนักปลาหลังสิ้นสุดการเลี้ยงทั้งหมด}}{\text{จำนวนปลาที่มีอยู่}}$$

$$\text{Weight gain (g)} = \text{น้ำหนักปลาหลังสิ้นสุดการเลี้ยง} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}$$

$$\text{Specific growth rate, SGR (\%/day)} = (\ln W_{t+1} - \ln W_t) / T \times 100$$

เมื่อ W_{t+1} คือน้ำหนักปลาหลังสิ้นสุดการเลี้ยง
 W_t คือน้ำหนักปลาเริ่มต้น
 T คือ ระยะเวลาการเลี้ยง (วัน)

$$\text{Daily growth rate, DGR (g/day)} = \frac{\text{น้ำหนักปลาหลังสิ้นสุดการเลี้ยง} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}}{\text{ระยะเวลาการเลี้ยง}}$$

$$\text{Survival rate (\%)} = \frac{\text{จำนวนปลาหลังสิ้นสุดการเลี้ยง} \times 100}{\text{จำนวนปลาที่ปล่อยเริ่มต้น}}$$

$$\text{Feed conversion ratio, FCR} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ให้}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

$$\text{Feed efficiency, FE (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{น้ำหนักอาหารที่ให้}} \times 100$$

$$\text{Protein efficiency ratio, PER} = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{น้ำหนักของโปรตีนในอาหารที่ปลาได้รับ}}$$

$$\text{Hepatosomatic index, HSI (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตับ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวปลา}}$$

Cost per kg feed (Baht/kg) = ราคาวัตถุดิบอาหาร×จำนวนวัตถุดิบอาหารในแต่ละสูตร

Feed cost per kg FCR (Baht/kg) = ต้นทุนค่าอาหาร 1 กิโลกรัม×FCR

3.7 การเก็บตัวอย่างเลือดปลา

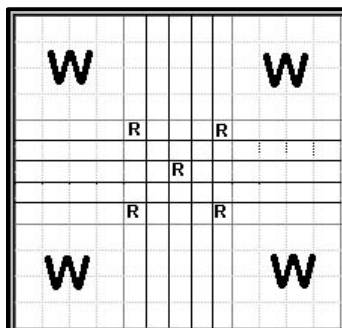
เก็บเลือดตัวอย่างเลือดปลาสวายโง่งจำนวน 9 ตัวต่อทรีทเมนต์ โดยทำการสลบปลาด้วยน้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้น 220 ppm ทำการเจาะเลือดบริเวณส่วนหาง (caudal peduncle) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ด้วยเข็มฉีดยาขนาด 21G โดยแบ่งเลือดเป็น 3 ส่วน ส่วนที่หนึ่งใส่ลงในหลอดที่มีการเคลือบด้วย K₂EDTA ทำการเก็บเลือดไว้ที่อุณหภูมิ 4°C สำหรับการวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาและค่ากลูโคสในเลือดส่วนที่สองใส่ลงในหลอดที่มีการเคลือบด้วย K₂EDTA นำตัวอย่างเลือดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 x g อุณหภูมิ 4°C นาน 10 นาที จะได้ส่วนที่เป็นพลาสมา หลังจากนั้นใช้ Auto micropipette ดูดพลาสมาใส่ eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตรแล้วเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิ -80°C เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าชีวเคมีของโลหิต เช่น โปรตีนทั้งหมดในพลาสมา คอเลสเตอรอล และปริมาณยูเรียในโตรเจน และส่วนที่สามใส่ลงในหลอด eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตรโดยไม่มีสาร K₂EDTA ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง เลือดจะเริ่มตกตะกอนบางส่วน นำตัวอย่างเลือดปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2500 x g อุณหภูมิ 4°C นาน 15 นาที ใช้ Auto micropipette ดูดส่วนของซีรัมใส่ลงใน eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตรแล้วเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิ -80°C เพื่อนำไปวิเคราะห์ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ

3.8 การวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา

การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาสามารถทำได้โดย การนับจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) การตรวจจำแนกชนิดของเม็ดเลือดขาว การนับจำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) การคำนวณค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง การวัดค่าฮีโมโกลบิน และการวัดปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น โดยมีวิธีการและขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้

1) WBC (White Blood cells count) นับจำนวนเม็ดเลือดขาวของปลาสวายโง่ง โดยการอาศัยหลักการเจือจางเม็ดเลือดด้วย WBC pipette ดูดตัวอย่างเลือดจากเลือดส่วนที่ 1 (มี K₂EDTA ผสมอยู่) เข้า WBC pipette ให้ถึงขีด 0.5 พอดี ทำการดูดน้ำยาเจือจางเลือดด้วยน้ำยานับเม็ดเลือดขาวตามสูตร Natt-Herrick's stain ของ Edward (2000) ถึงขีดปริมาตร 11 จากนั้นใช้นิ้วหัวแม่มือกับนิ้วชี้ปิดปลายปิเปตทั้งสองเข้าไประหว่างนิ้วโป้งประมาณ 2-3 นาที หยดตัวอย่างเลือดของปลาในหลอด Pipette ที่ 3-4 หยดทิ้ง หลังจากนั้นนำตัวอย่างเลือดไปนับด้วย Haemocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เลนส์กำลังขยายต่ำ (40x) นับในช่อง W ทั้ง 4 ช่อง ดังแสดงในภาพที่ 3.1 แล้วนำมาคำนวณจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ด้วยสูตรคำนวณด้านล่างนี้

WBC = ค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาวที่นับได้ทั้งหมด 4 ช่อง $\times 20$ (1:20 dilution) $\times 2.5$ (1/0.4)



ภาพที่ 3.1 แสดงพื้นที่การนับเม็ดเลือดขาว(W) และเม็ดเลือดแดง(R)

ที่มา: Susan (2000)

2) การตรวจจำแนกชนิดเม็ดเลือดขาว (Differential white blood cells count) ทำการสเมียร์เลือดลงบนสไลด์แก้วที่สะอาด ทิ้งไว้ให้แห้ง นำมาตรึงเซลล์ด้วย Absolute methanol ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ย้อมสไลด์ด้วยสี Giemsa เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นแช่ในบัพเฟอร์เป็นเวลา 5 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นและทิ้งไว้ให้แห้ง นำมานับจำนวนชนิดของเม็ดเลือดขาวด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40x โดยนับเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมด 100 เซลล์ต่อ 1 สไลด์

3) Red blood cells count (RBC) ทำการนับจำนวนเม็ดเลือดแดง โดยนำตัวอย่างเลือด (ส่วนที่ 1) มาทำการเจือจางด้วยน้ำยาเจือจาง Gower's solution โดยอาศัยหลักการทำลายเซลล์เม็ดเลือดขาวได้อย่างสมบูรณ์ ทำการเจือจางเลือด 1 ส่วน ต่อ Gower's solution 200 ส่วน คือ เดิมเลือด (ส่วนที่หนึ่ง) 20 ไมโครลิตร ลงใน Gower's solution 4 มิลลิลิตร แล้วเขย่าส่วนผสมให้เข้ากัน หยดเลือดที่ผสมกับน้ำยาเจือจางลงใน Haemocytometer ให้เต็มทั้งสองด้าน แล้วนำมานับจำนวนเม็ดเลือดแดงด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้กำลังขยาย 40 เท่า นับในช่อง R ทั้ง 5 ช่อง ดังแสดงในรูปที่ 3.1 แล้วนำมาคำนวณจำนวนเม็ดเลือดแดงต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ด้วยสูตรคำนวณด้านล่างนี้

RBC = ค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดแดงที่ได้ทั้งหมด 5 ช่อง (R) $\times 200$ (1:200 dilution) $\times 25 \times 10^4$

4) ค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง (Wintrobe Erythrocyte indices) ประกอบด้วยปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง (Mean corpuscular volume, MCV) มีหน่วยเป็นเฟมโตลิตร (femtoliter, fl หรือ 10^{-15} L) เป็นค่าที่ใช้ในการแยกชนิดของภาวะเลือดจางตามลักษณะรูปร่างของเม็ดเลือดแดง ดังสูตร

$$\text{MCV (fL)} = \frac{\text{Haematocrit (\%)} \times 10}{\text{RBC (10}^{12}/\text{L)}}$$

ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยต่อเซลล์เม็ดเลือดแดง (Mean corpuscular haemoglobin; MCH) มีหน่วยเป็นพิโกกรัมต่อเซลล์ (picogramme: 10^{-12} g/cell) คำนวณได้จากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (Hb) และจำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) ดังสูตร

$$\text{MCH (pg/cell)} = \frac{\text{Haemoglobin (g/L)} \times 10}{\text{RBC (10}^{12}/\text{L)}}$$

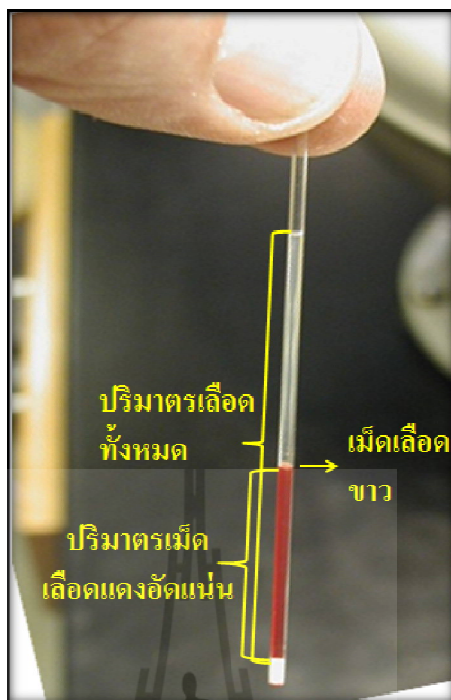
ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเซลล์เม็ดเลือดแดง (Mean corpuscular haemoglobin concentration; MCHC) มีหน่วยเป็นกรัมต่อลิตร (g/L) สามารถคำนวณได้จากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ Hb และความเข้มข้นของปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hct)

$$\text{MCHC (g/L)} = \frac{\text{Haemoglobin (g/L)} \times 100}{\text{Haematocrit (\%)}}$$

5) ฮีโมโกลบิน (Haemoglobin; Hb) ใช้ชุด Haemoglobin set (Cyanmethemoglobin Method) เติมน้ำยา Drabkin Reagent ลงในหลอดแก้ว 5 มิลลิลิตร ใส่เลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด K_2EDTA (ส่วนที่หนึ่ง) ลงในหลอด 20 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นแสง 540 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่าฮีโมโกลบินจากกราฟมาตรฐานซึ่งอยู่ในชุด Hemoglobin set

6) ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Haematocrit; Hct) เขย่าเลือดในหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (ส่วนที่หนึ่ง) จากนั้นนำปลายหลอด microhaematocrit capillary tube จุ่มลงในหลอดเก็บเลือดให้เลือดไหลเข้ามาใน capillary tube ประมาณ 4 ใน 5 ของความยาว tube แล้วอุดปลายด้วยดินน้ำมัน นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10000 rpm อุณหภูมิ 4°C นาน 10 นาที วัดความยาวของการอัดตัวเม็ดเลือด และความยาวทั้งหมดของเม็ดเลือดแดง ดังภาพที่ 3.2 แล้วคำนวณจากสูตร

$$\text{ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (\%)} = \frac{\text{ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (เซนติเมตร)} \times 100}{\text{ปริมาตรเลือดทั้งหมด (เซนติเมตร)}}$$



ภาพที่3.2 Microhaematocrit capillary tube ที่ผ่านการปั่นเหวี่ยง

3.9 การวิเคราะห์ค่าชีวเคมีในโลหิต

การวิเคราะห์ค่าชีวเคมีในโลหิตสามารถทำได้โดย การวัดกลูโคสในเลือด การวัดโปรตีนในพลาสมา การวัดปริมาณยูเรียไนโตรเจนในพลาสมา และการวัดปริมาณคอเลสเตอรอลในพลาสมา โดยมีวิธีการและขั้นตอนการวิเคราะห์ ดังนี้

1) กลูโคสในเลือด สามารถทำได้โดยนำเลือดในส่วนที่หนึ่งมาทำการวิเคราะห์ระดับกลูโคสในเลือดโดยใช้เครื่องวัดระดับกลูโคสในเลือดยี่ห้อ Accutrend รุ่น GCT Meter (Mannheim Germany) โดยใช้แผ่นทดสอบกลูโคสที่ต้องการทำการทดสอบเข้าทางด้านท้ายของเครื่อง จากนั้นเปิดฝาเครื่องและหยดเลือดลงบนแผ่นทดสอบจำนวน 15 ไมโครลิตรให้เต็มบริเวณแถบทดสอบ จากนั้นปิดฝาและรออ่านผลการทดสอบ

2) โปรตีนรวมในพลาสมา สามารถทำได้โดยนำเลือดส่วนที่สองมาทำการวิเคราะห์โดยใช้ชุดทดสอบ Total protein kit ซึ่งอาศัยหลักการ Biuret method จากชุดทดสอบสำเร็จรูปของบริษัท แปซิฟิค ไบโอเทค จำกัด โดยวิธีการตรวจวิเคราะห์จะทำตามวิธีการที่ระบุมาจากชุดทดสอบสำเร็จรูป

3) ปริมาณยูเรียไนโตรเจน (Blood Urea Nitrogen) ในพลาสมา สามารถทำได้โดยนำเลือดส่วนที่สองมาทำการวิเคราะห์ ซึ่งอาศัยหลักการ Urease colorimetric method จากชุดทดสอบ

สำเร็จรูปของบริษัท แปซิฟิค ไบโอเทค จำกัด โดยวิธีการตรวจวิเคราะห์จะทำตามวิธีการที่ระบุมาจากชุดทดสอบสำเร็จรูป

4) ปริมาณคอเลสเตอรอล(Cholesterol) ในพลาสมา สามารถทำได้โดยนำเลือดส่วนที่สองมาทำการวิเคราะห์ อาศัยหลักการ Enzymatic colorimetric method จากชุดทดสอบสำเร็จรูปของบริษัท แปซิฟิค ไบโอเทค จำกัด โดยวิธีการตรวจวิเคราะห์จะทำตามวิธีการที่ระบุมาจากชุดทดสอบสำเร็จรูป

3.10 การวิเคราะห์การทำงานของการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

การวิเคราะห์การทำงานของการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันสามารถทำได้โดย การวิเคราะห์ Lysozyme activity การวิเคราะห์ Alternative complement activity และการวิเคราะห์ Total immunoglobulin โดยมีวิธีการและขั้นตอนการวิเคราะห์ ดังนี้

1) การวิเคราะห์ Lysozyme activity ทำการวิเคราะห์ตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Demers and Bayne (1997) ซึ่งวิธีการนี้จะใช้ *Micrococcus lysodeikticus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก เป็นเซลล์ตั้งสเตรท (Substrate) เพื่อดูความสามารถในการทำงานของไลโซไซม์ ต่อการทำลาย *M. lysodeikticus* เปรียบเทียบกับการทำลาย *M. lysodeikticus* ด้วยสารละลายมาตรฐานไลโซไซม์ chicken egg white lysozyme (Sigma Chemical Co. St. Louis Missouri USA) ที่ทราบค่าความเข้มข้น โดยมีขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้ เตรียมสารละลายไลโซไซม์ในบัฟเฟอร์ 0.1 M phosphate citrate buffer (pH 5.8) ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0 2 4 6 8 10 12 และ 14 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ และเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรีย *M. lysodeikticus* ให้มีความเข้มข้น 0.075 เปอร์เซ็นต์ ทำการสร้างกราฟมาตรฐานของระดับเอนไซม์โดยการเติมสารละลายมาตรฐานไลโซไซม์ตามความเข้มข้นที่เตรียมไว้ ปริมาตร 25 ไมโครลิตรลงใน Plate 96 well หรือเติม Serum ของเลือดในส่วนที่สาม (ไม่มี K_2EDTA) ตัวอย่างละ 25 ไมโครลิตร ลงใน Plate 96 well โดยใส่ตัวอย่างละ 3 หลุม หลังจากนั้นเติม 0.075 เปอร์เซ็นต์ *M. lysodeikticus* ปริมาตร 175 ไมโครลิตรลงใน Plate 96 well ที่มีสารละลายมาตรฐานหรือ Serum อยู่ในหลุม หลังจากนั้นทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ที่ 0 นาที และทุกๆ 30 นาที แล้วเปรียบเทียบระดับไลโซไซม์ใน serum กับค่าการทำงานของสารละลายมาตรฐานไลโซไซม์

2) การวิเคราะห์ Alternative complement activity ทำการวิเคราะห์โดยดัดแปลงมาจากวิธีการของ Montero, Tort, Izquierdo, Robaina and Vergara (1998) สามารถทำได้โดยนำเม็ดเลือดแดงแกะมาล้างด้วยสารละลาย Phosphate Buffered saline pH 7.4 with Ca^{2+} Mg^{2+} และ Gelatin (PBS^{+++}) 3 ครั้ง แล้วปรับความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงให้เท่ากับ 5×10^7 เซลล์ต่อมิลลิตรทำการเจือจาง serum ของตัวอย่างเลือดด้วย PBS^{+++} ให้ได้ปริมาตรเท่ากับ 200 ไมโครลิตร ที่ระดับ 0.625 1.25 2.5 5 และ

10เปอร์เซ็นต์ ใช้ PBS⁺⁺⁺ เพื่อเป็นกลุ่มของspontaneous lysisและใช้น้ำกลั่นเป็นหลอดที่มีการ haemolysis 100 เปอร์เซ็นต์ ทำการเติมเม็ดเลือดแดงกะที่ปรับความเข้มข้นแล้วปริมาตร40 ไมโครลิตรลงในหลอดที่มี serum หลอดที่มี PBS⁺⁺⁺ อย่างเดียว และหลอดที่มีน้ำกลั่น ตั้งไว้ที่ อุณหภูมิห้อง 60 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำสารละลายใสด้านบนมาทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร และทำการคำนวณ haemolytic titer ดังนี้

$$\% \text{ lysis (y)} = \frac{(\text{OD540 ของ Serum} - \text{OD540 ของ spontaneous lysis}) \times 100}{(\text{OD540 ของ haemolysis 100\%} - \text{OD540 ของ spontaneous lysis})}$$

และทำการคำนวณ $y/(1-y)$ ของแต่ละปฏิกิริยา และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า $y/(1-y)$ และ ปริมาตร serum และหาค่า $1/\text{CH}_{50}$ คือ ค่าของปริมาตรของ serum ที่ทำให้ได้ 50% lysis(หรือ $y/(1-y) = 1$)

3)การวิเคราะห์ Total immunoglobulin สามารถทำได้โดย การหาค่าความแตกต่างระหว่าง โปรตีนรวมในพลาสมากับโปรตีนของพลาสมาที่ผ่านการตกตะกอน โปรตีนชนิดโกลบูลินด้วย Polyethylene glycol 12เปอร์เซ็นต์โดยใช้ชุดทดสอบ Total protein kit ของบริษัท แปะซิฟิค ไบโอเทค จำกัด ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของAmar, Kiron, Satoh and Watanabe (2004)

3.11การเก็บตัวอย่างเนื้อปลา

เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเลี้ยงปลาทดลอง (9 เดือน) จะทำการเก็บตัวอย่างเนื้อปลาสวายโง้ง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างเนื้อปลาจากปลาสวายโง้ง9ตัวต่อที่รันทมนต์บันทึกน้ำหนักและความยาวของปลา หลังจากนั้นทำการตัดเหงือกแล้วแช่ตัวปลาลงในน้ำที่มีอุณหภูมิประมาณ 1°C จนกว่าเลือดจะไหลออกจากตัวปลาหมด เพื่อเป็นการป้องกันการปนเปื้อนของเลือดในเนื้อ หลังจากนั้นทำการแล่เนื้อ ปลาออกเป็น 2 ชิ้น (ซ้าย-ขวา) ดังภาพที่ 3.3ล้างด้วยน้ำอุณหภูมิ 4°Cแล้วพักไว้บนตะแกรงประมาณ 5 นาที จากนั้นบันทึกน้ำหนักของเนื้อปลา



ภาพที่ 3.3 เนื้อปลาทรายแดงแบบแล่ (fillet)

3.12 การวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของเนื้อ

นำเนื้อปลาทางด้านซ้ายของลำตัวปลา มาทำการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของเนื้อ ได้แก่ สีของเนื้อ ลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อปลาที่ทำให้สุก ค่าการสูญเสียน้ำของเนื้อปลาระหว่างการเก็บ (Drip loss) และค่าการสูญเสียน้ำหลังจากการทำให้สุก (Cook loss)

1) วิเคราะห์สีของเนื้อ (Meat color) สามารถทำได้โดย ตัดเนื้อปลาสดเป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาด กว้าง×ยาว×หนาเท่ากับ 3×3×1 เซนติเมตรจำนวน 3 ตำแหน่งต่อเนื้อปลา 1 ชิ้น ซึ่งการประเมินค่าเฉลี่ยของสีเนื้อ จะกระทำโดยใช้เครื่อง Hunter Lab ยี่ห้อ Color Quest XE Spectrophotometer (Hunter Associates Laboratory Inc. Virginia USA) ที่ใช้พื้นที่การวัดประมาณ 8 มิลลิเมตร ซึ่งรายงานค่าที่ได้ภายใต้ระบบ CIE (Complete International Commission on Illumination) ตามวิธีของ Hunter (1987) ซึ่งมีการจำแนกค่าสี (colour profile) ออกเป็น ค่า L*-value (lightness) ค่า a*-value (redness) และค่า b*-value (yellowness) และความขาวของเนื้อสามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\text{Whiteness} = 100 - [(100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$$

เมื่อค่า L* คือ ค่าความสว่าง มีค่าระหว่าง 0 (สีดำ) – 100 (สีขาว)

ค่า a* คือ ค่าบวก (+) แสดงค่าสีแดง ค่า a* คือ ค่าลบ (-) แสดงค่าสีเขียว

ค่า b* คือ ค่าบวก (+) แสดงค่าสีเหลือง ค่า b* คือ ค่าลบ (-) แสดงค่าสีน้ำเงิน

2) ค่าการสูญเสียน้ำของเนื้อปลาระหว่างการเก็บ (Drip loss) วิเคราะห์โดยนำเนื้อปลาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C เป็นระยะเวลา 3 เดือน มาทำละลายบนตระแกรงที่อุณหภูมิห้อง จนอุณหภูมิ

ของปลาเท่ากับอุณหภูมิห้องซึ่งน้ำหนักปลาหลังการทำละลาย คำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บ ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีการของไชยวรรณ วัฒนจันทร์อาภรณ์ ส่งแสงพิทยา อุดุลย



ธรรม และเสาวคนธ์ วัฒนจันทร์ (2545) ดังนี้

$$\% \text{ การสูญเสียไอน้ำระหว่างการเก็บ} = \frac{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักปลาหลังการทำละลาย} \times 100}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}}$$

3) ค่าการสูญเสียไอน้ำหลังจากการทำให้สุก (Cook loss) วิเคราะห์โดยนำเนื้อปลาที่ได้หลังจากการทำ drip loss บรรจุลงในถุงพลาสติกปิดชนิดทนความร้อน (poly-bag zipper) นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อน (water bath) ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นนำไปแช่ในน้ำเย็นทันทีเป็นเวลา 10 นาที แล้วผึ่งเนื้อปลาไว้บนตะแกรงเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นทำการชั่งน้ำหนักเนื้อปลาแล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไอน้ำหลังจากการทำให้สุกที่คิดแปลงมาจากวิธีการของ ไชยวรรณวัฒนจันทร์ และคณะ (2545) ดังสมการ

$$\% \text{ การสูญเสียไอน้ำหลังการทำให้สุก} = \frac{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักปลาหลังการทำให้สุก} \times 100}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}}$$

4) วิเคราะห์เนื้อสัมผัสของเนื้อปลาที่ทำให้สุก (Puncher force) โดยตัดเนื้อปลาที่ได้หลังจากการวิเคราะห์ cook loss ขนาด 2x2 มิลลิเมตร (กว้างxยาว) ตรวจวัดด้วยเครื่อง Texture Analyzer (TA.XT.Plus Stable Micro Systems Surrey UK) หัววัดแบบ cylindrical ขนาด 10 มิลลิเมตร ที่อัตราการเคลื่อนที่ของหัววัด 1 มิลลิเมตรต่อวินาที คิดแปลงมาจากวิธีการของ Zhu *et al.* (2004)

3.13 การวิเคราะห์ลักษณะทางเคมีของเนื้อ

นำเนื้อที่ได้จากการแลในส่วนด้านขวาของลำตัวปลามาทำการวิเคราะห์ลักษณะทางเคมีของเนื้อ ได้แก่ ปริมาณโภชนะในเนื้อปลา และความเป็นกรด-ด่าง โดยทำการบดเนื้อปลารวมกัน และแบ่งเนื้อปลาเพื่อนำไปวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ซึ่งการวิเคราะห์ปริมาณโภชนะในเนื้อปลา (Nutritive values) สามารถทำได้โดย นำตัวอย่างเนื้อปลาที่บดให้ละเอียดมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ตามวิธีการของ AOAC (2000) ดังนี้วิเคราะห์ความชื้น (Moisture) ด้วยวิธี Oven drying วิเคราะห์โปรตีนหยาบ (Crude Protein) ด้วยวิธี macro-Kjeldahl วิเคราะห์ไขมัน (Crude lipid) ด้วยวิธี ether extraction และวิเคราะห์เถ้าทั้งหมด (Ash) ด้วยวิธี muffle furnace combustion และการวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง (pH) สามารถทำได้โดย นำเนื้อปลาที่บดแล้วมาชั่งให้ได้ 10 กรัม ผสมน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร ปั่นให้เข้ากันและวัดความเป็นกรด-ด่างด้วย pH meter ตามวิธีการของ Benjakul

and Bauer (2001)

3.14 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeast เพื่อเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสายโอม่งต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ค่าโลหิตวิทยา ชีวเคมีในโลหิต การตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน และคุณภาพเนื้อ มีการวางแผนแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design CRD) จากนั้นทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างทรีทเมนต์ด้วยวิธี Analysis of variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ CRD โดยมีการตรวจสอบการกระจายตัวของข้อมูลด้วยสถิติ Shapiro-wilk test และมีการทดสอบความแปรปรวนของข้อมูลด้วย Homogeneity test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ด้วยวิธี Duncan's new multiple rang test ที่ระดับนัยสำคัญ $P < 0.05$ นอกจากนี้ทำการวิเคราะห์แนวโน้มของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ ด้วยวิธี Orthogonal polynomials โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS V.16



บทที่ 4

ผลการศึกษา

4.1 ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโหม่งต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

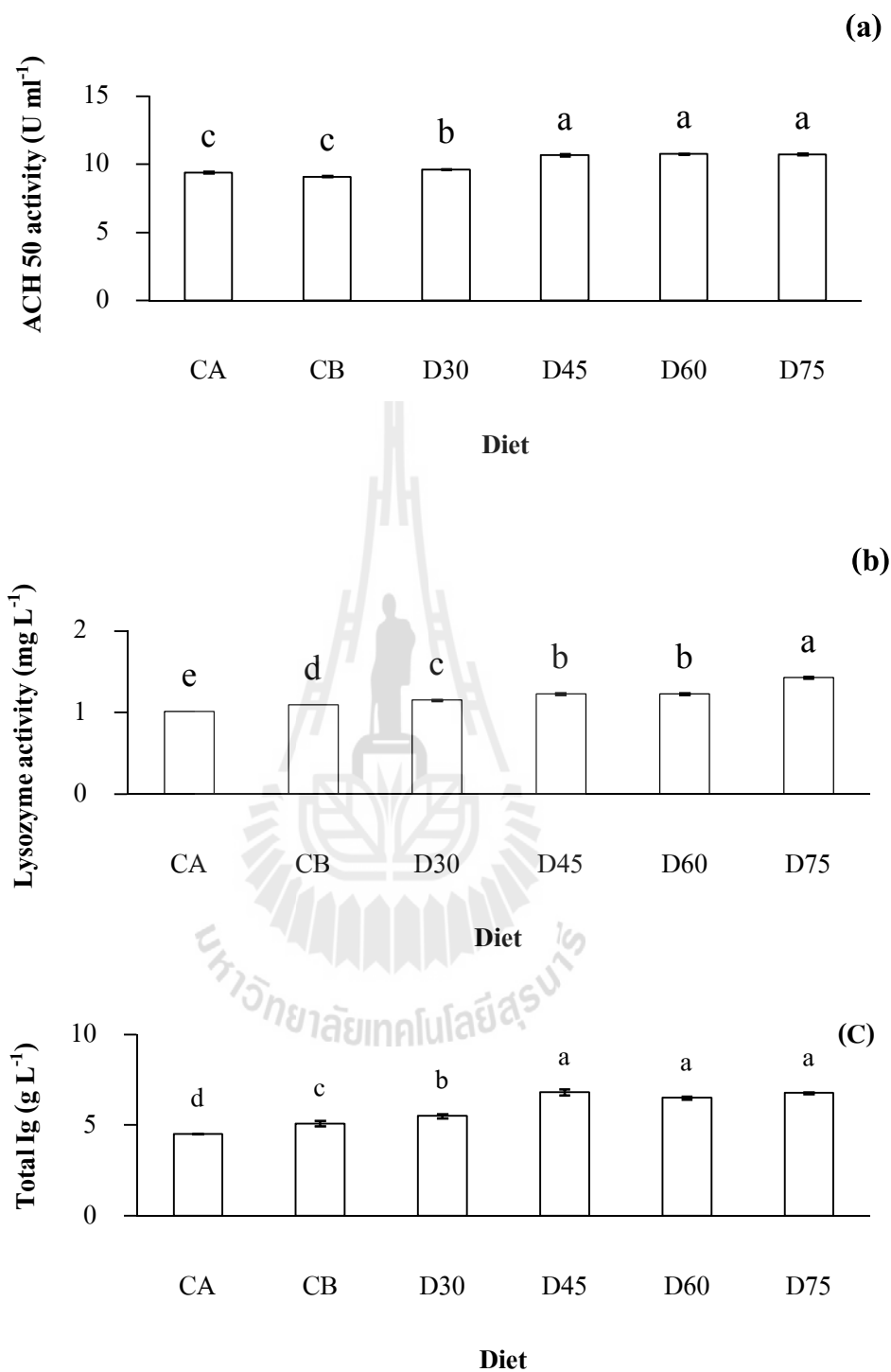
ผลการศึกษาการใช้ Brewer's yeast เพื่อเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาสวายโหม่ง โดยเริ่มเลี้ยงปลาที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 36.35 ± 0.07 กรัม ด้วยอาหารทดลองที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนและพลังงานเท่ากันทุกสูตรซึ่งเปอร์เซ็นต์โปรตีนมีค่าเท่ากับ 320 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และพลังงานมีค่าเท่ากับ 15.30 กิโลจูลต่อกรัมโดยอาหารทดลองจะมีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์ และมีอาหารกลุ่มควบคุม 2 กลุ่ม ได้แก่ อาหารสูตรทางการค้า (CA) และอาหารที่ทำขึ้นเองโดยไม่มีการใช้ Brewer's yeast (CB) ใช้อาหารดังกล่าวเลี้ยงปลาสวายโหม่งเป็นระยะเวลา 9 เดือน พบว่า น้ำหนักสุดท้าย (Final weight) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (DGR) ของปลาสวายโหม่งที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast ที่ระดับ 45 เปอร์เซ็นต์ (D45) มีค่าสูงที่สุดและปลาสวายโหม่งที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้า (CA) มีค่าต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทริทเมนต์อื่น ๆ ($P < 0.05$; ตารางที่ 4.1) สอดคล้องกับปริมาณการกินได้ (Feed intake) ของปลาที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้า (CA) พบว่ามีค่าต่ำสุดเช่นกันเมื่อเปรียบเทียบกับทริทเมนต์อื่น ๆ ($P < 0.05$) และปลาที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast ที่ระดับเพิ่มขึ้น 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้มีสมรรถนะการเจริญเติบโตลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast ที่ระดับ 45 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลของการวิเคราะห์แนวโน้มของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโหม่งต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตเป็นแบบโค้งกำลังสอง (Quadratic) ($P > 0.05$) นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่าอาหารที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ไม่มีผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (FE) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) และค่าดัชนีดัชนี (HSI) ($P > 0.05$; ตารางที่ 4.1) และหลังสิ้นสุดการทดลองพบว่าอัตราการรอดของปลาสวายโหม่งที่ได้รับอาหารสูตรที่ทำขึ้นเองโดยไม่มีการใช้ Brewer's yeast (CB) มีค่าต่ำที่สุด และมีความแตกต่างจากทริทเมนต์อื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษา ($P < 0.05$) นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาดัชนีต้นทุนค่าอาหารต่อกิโลกรัม พบว่าระดับของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ 30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 28.22 27.16 26.38 และ 25.63 บาทต่อกิโลกรัมตามลำดับ ซึ่งพบว่าในระดับการทดแทนที่เพิ่มสูงขึ้นในอาหาร

ปลาซวายโมงมีผลทำให้ต้นทุนค่าอาหารต่อกิโลกรัมมีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรทางการค้า (27.50 บาทต่อกิโลกรัม)และเมื่อพิจารณาต้นทุนค่าอาหารต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ พบว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 45 เปอร์เซ็นต์มีราคาถูกที่สุด (65.20 บาทต่อกิโลกรัม) เมื่อเปรียบเทียบกับกับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 30 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ที่มีต้นทุนค่าอาหารต่ออัตราการแลกเนื้อเท่ากับ 73.36 68.58 และ 66.64 บาทตามลำดับ ซึ่งจากผลทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 45 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในอาหารปลาซวายโมง โดยไม่มีผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาและมีต้นทุนค่าอาหารถูกเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรอื่นๆ



4.2 ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโงมต่อค่าโลหิตวิทยา ค่าชีวเคมีของโลหิต และการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันของปลา

จากการศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโงมต่อค่าโลหิตวิทยา พบว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโงมไม่มีผลต่อค่าฮีโมโกลบิน (Hb) เม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hct) จำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) จำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) Thrombocyte Lymphocyte MCV และ MCH ($P>0.05$; ดังตารางที่ 4.2) ซึ่งผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโงมในระดับที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้ค่า MCH Hb WBC และ Lymphocyte มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแบบเส้นตรง (linear) ($P<0.05$) และจากผลการศึกษา ค่าชีวเคมีของโลหิตวิทยาของปลาสวายโงมที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับต่างๆ พบว่า Glucose และ Cholesterol ในพลาสมาของปลาสวายโงมที่ได้รับอาหารที่รืทเมนดต่างๆ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$; ดังตารางที่ 4.2) และในพลาสมาของปลาสวายโงมที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้า (CA) พบว่ามีค่า Blood Urea Nitrogen (BUN) ต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับรืทเมนดอื่นๆ ($P<0.05$) โดยการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโงมในระดับที่เพิ่มขึ้น มีผลทำให้ค่า BUN มีแนวโน้มแบบโค้งกำลังสอง (Quadratic) ($P<0.05$) และปลาสวายโงมที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหาร มีผลทำให้ค่าโปรตีนในพลาสมาสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($P<0.05$) นอกจากนี้ การศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโงมต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน อันได้แก่ Alternative complement activity (ACH50) Lysozyme activity และ Total immunoglobulin (Total Ig) พบว่าการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันมีค่าสูงขึ้นเมื่อได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ในอาหารเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ดังภาพที่ 4.1; $P<0.05$) และพบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้า (CA) มีค่า Lysozyme activity และ Total Ig ต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับรืทเมนดอื่นๆ ($P<0.05$; ภาพที่ 4.1b และ 4.1c) ซึ่งแนวโน้มของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในระดับที่เพิ่มสูงขึ้นจะมีผลทำให้ค่าการ ACH50 และ Lysozyme เพิ่มขึ้นแบบเส้นตรง (linear) ($P>0.05$)



ภาพที่ 4.1 ผลของการใช้ Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายต่อการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ Alternative complement activity (a) lysozyme activity (b) และ total Immunoglobulin (c) ตัวอักษรที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟ หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.3 ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโงมต่อองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และคุณภาพเนื้อของปลา

จากผลการศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโงมต่อองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา พบว่าอาหารที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของปลาทั้งตัว ($P>0.05$; ตารางที่ 4.3) โดยองค์ประกอบทางเคมีของปลาสวายโงมทั้งตัว อันได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า มีค่าอยู่ในช่วง 604.17-615.30 300.36-317.37 211.04-215.19 และ 47.69-76.87 กรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ในขณะที่องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาพบว่าเนื้อของปลาที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารที่ระดับ 30 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ มีค่าระดับโปรตีนในเนื้อสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้า (CA) ($P<0.05$; ตารางที่ 4.4) ซึ่งแนวโน้มของการใช้ Brewer's yeast ในระดับที่เพิ่มสูงขึ้น จะส่งผลทำให้ค่าโปรตีนในเนื้อเป็นแบบโค้งกำลังสาม (Cubic) ($P<0.05$) ในขณะที่ความชื้น ไขมัน และ เถ้า ของปลาที่ได้รับอาหารทดลองทุกทรีทเมนต์นั้น ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) นอกจากนี้จากการศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารต่อค่าสีเนื้อของปลาสวายโงมสด พบว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโงมที่ระดับต่างๆ ไม่มีผลต่อค่าความสว่าง (Lightness; L^* -value) ของเนื้อปลาสวายโงมสด ($P>0.05$; ตารางที่ 4.5) แต่สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้า (CA) พบว่ามีผลทำให้ค่าสีแดง (Redness; a^* -value) และค่าสีเหลือง (Yellow; b^* -value) สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทรีทเมนต์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ผลิตขึ้นเองไม่มีการใช้ Brewer's yeast (CB) และมีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับต่างๆ มีผลทำให้ค่าความขาว (Whiteness) ของเนื้อปลาสดสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้า (CA) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$; ตารางที่ 4.5) และจากการศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโงมต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียในระหว่างการเก็บรักษา (Drip loss) เป็นระยะเวลา 3 เดือน และหลังการทำให้สุก (Cookloss) พบว่าอาหารทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียในระหว่างการเก็บรักษาและหลังการทำให้สุก ($P>0.05$; ตารางที่ 4.6) โดยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียในระหว่างการเก็บรักษาอยู่ในช่วง 9.60-9.71 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียหลังการทำให้สุกอยู่ในช่วง 8.71-8.78 เปอร์เซ็นต์เช่นเดียวกับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของเนื้อปลาปลาสวายโงมที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยค่า pH ของเนื้อปลามีค่าอยู่ในช่วง 6.70-6.82 และสำหรับการศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาต่อลักษณะเนื้อสัมผัส พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 45 เปอร์เซ็นต์มีค่า breaking force สูงที่สุด (256.73 g) และแตกต่างจากทรีทเมนต์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$; ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.3 องค์ประกอบทางเคมีของปลาทั้งตัวที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทน ปลาป่นที่ระดับต่างๆ (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์) หลังการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 9 เดือน

Diet	ความชื้น (g/kg)	โปรตีน (g/kg)	ไขมัน (g/kg)	เถ้า (g/kg)
CA	614.22±6.91	317.37±6.29	212.42±0.80	76.87±9.63
CB	604.17±1.67	301.40±4.70	212.13±0.60	47.69±2.02
D30	604.88±4.90	301.59±3.15	211.04±0.73	58.80±5.24
D45	615.30±4.99	309.69±9.37	214.94±1.65	67.16±9.28
D60	606.98±4.55	316.21±8.26	215.19±1.95	55.50±3.56
D75	605.26±1.76	300.36±5.57	212.97±0.26	60.60±5.99

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์หมายถึงค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาสาวยโม่งที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับต่างๆ (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์) หลังการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 9 เดือน

Diet	ความชื้น (g/kg)	โปรตีน (g/kg)	ไขมัน (g/kg)	เถ้า (g/kg)
CA	831.3±5.44	135.8±1.10 ^c	13.0±0.37	15.2±0.23
CB	818.3±8.74	152.4±0.37 ^b	13.7±0.66	15.4±0.17
D30	811.1±2.04	155.4±1.80 ^{ab}	13.1±0.30	15.6±0.36
D45	813.9±11.66	155.5±1.72 ^{ab}	13.5±0.26	15.8±0.15
D60	812.6±7.46	158.0±1.22 ^a	13.4±0.27	15.6±0.19
D75	808.8±9.48	155.0±0.56 ^{ab}	13.9±0.09	15.7±0.23

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์หมายถึงค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 4.5 ผลการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโหมงที่ระดับต่างๆ (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์) ต่อค่าสีและความขาวของเนื้อปลาสวายโหมงสด (Fillet color and Whiteness)

Diet	Lightness (L*-value)	Redness (a*-value)	Yellowness (b*-value)	Whiteness
CA	49.28±0.36	-0.59±0.15a	5.00±0.26a	48.99±0.37b
CB	50.35±0.32	-1.63±0.15b	1.31±0.18b	50.28±0.32a
D30	50.21±0.03	-1.42±0.13b	1.36±0.18b	50.14±0.03a
D45	50.06±0.36	-1.61±0.09b	1.31±0.18b	49.99±0.11a
D60	50.06±0.11	-2.17±0.09c	1.24±0.20b	49.97±0.11a
D75	50.02±0.30	-2.07±0.86c	0.96±0.14b	49.94±0.31a

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์หมายถึงค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 4.6 เปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำในระหว่างการเก็บรักษาและการทำให้สุก ลักษณะเนื้อสัมผัส และความเป็นกรด-ด่างของเนื้อปลาสวายโหมงที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับต่างๆ (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)

Diet	Drip loss (%)	Cook loss (%)	Breaking force (g)	pH
CA	9.61±0.22	8.71±0.33	175.65±10.89 ^b	6.79±0.09
CB	9.60±0.14	8.76±0.40	211.64±23.25 ^b	6.77±0.06
D30	9.71±0.10	8.75±0.07	176.25±9.57 ^b	6.70±0.01
D45	9.69±0.19	8.77±0.36	256.73±22.31 ^a	6.78±0.05
D60	9.64±0.01	8.78±0.27	172.80±6.78 ^b	6.79±0.05
D75	9.64±0.20	8.75±0.08	194.31±9.02 ^b	6.82±0.06

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์หมายถึงค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

บทที่ 5

อภิปรายผล

5.1 ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโง้มต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

จากการใช้ Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโง้มเป็นการพัฒนาทางด้านอาหารที่คาดว่าจะเป็ผลดีต่อการเพาะเลี้ยงปลาสวายโง้ม ซึ่ง Brewer's yeast ได้รับการยอมรับว่ามีศักยภาพในการทดแทนอาหารมีชีวิตของปลาบางชนิด (Nayar, Hegde, Rao and Sudha, 1988) หรือมีศักยภาพในการทดแทนปลาป่น (Oliva-Teles and Goncalves, 2001; Rumsey *et al.*, 1991a; Rumsey *et al.*, 1991b) จากการศึกษาค้นคว้าพบว่า การใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายโง้มที่ระดับ 45 เปอร์เซ็นต์ (D45) มีผลทำให้สมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาสวายโง้มดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทริทเมนต้อื่นๆ ($P < 0.05$) และ การใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาสวายโง้มทั้งนี้อาจเกิดจากการที่ Brewer's yeast ประกอบไปด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็น อุดมไปด้วยฟอสฟอรัส และวิตามินบี ดังนั้นการใช้ Brewer's yeast ในระดับที่เหมาะสมจึงอาจช่วยปรับปรุงสมรรถนะการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาสวายโง้มได้สอดคล้องกับการรายงานที่ผ่านมา ซึ่งพบว่า Brewer's yeast เป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ในอาหารปลากระดี่น้ำจืด (Ozório *et al.*, 2010) ปลาช่อนทะเล (Luger *et al.*, 2006) ปลา Sea bass (Oliva-Teles and Gonçalves, 2001) ปลานิล (Zerafi *et al.*, 2008) และปลา Red sea bream (*Pagrus major*) (Takii, Maoka, Seoka, Kondo, Nakamura, Kitano and Kumai, 1999) โดยไม่มีผลกระทบทางลบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลา ซึ่งปลาดังกล่าวสามารถใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นได้ในระดับ 25-50 เปอร์เซ็นต์ และจากผลการศึกษาพบว่าปลาสวายโง้มที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้า (CA) มีสมรรถนะการเจริญเติบโตต่ำที่สุดสาเหตุที่ทำให้สมรรถนะการเจริญเติบโตต่ำ น่าจะเกิดจากอาหารที่ปลาได้รับมีความน่ากินลดลง สังกเหตุได้จากอาหารที่เหลือภายในกระชังหลังการให้อาหาร จึงส่งผลทำให้ Feed intake ของปลาสวายโง้มที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้ามีค่าลดลง ในทางกลับกันเมื่อมีการใช้ Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารในระดับที่เหมาะสม พบว่ามีผลทำให้ Feed intake เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากใน Brewer's yeast มีนิวคลีโอไทด์จำพวก active nucleotide (5'-IMP และ 5'-GMP) และกรดอะมิโนอิสระ เช่น glutamic

หรือ glutamate ที่มีความสามารถในการกระตุ้นการกินอาหารของปลา(Li, Robinson, Oberle and Lucas, 2010)



สอดคล้องกับการรายงานเกี่ยวกับการใช้ยีสต์ในอาหารปลานิล (Pereira-da-Silva and Pezzato, 2000) ปลาดูบ (Ozório *et al.*, 2010) ปลา Turbot (Fournier *et al.*, 2003) และหอยเป้า (Haliotis) (Shipton and Britz, 2001) ที่พบว่ามีความน่ากินของอาหารเพิ่มสูงขึ้น จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโมงในระดับที่เพิ่มสูงขึ้น (60 และ 75 เปอร์เซ็นต์) มีผลทำให้สมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาลดลง ทั้งนี้อาจเกิดจากการที่โปรตีนที่ได้จาก Brewer's yeast มักจะขาดกรดอะมิโนจำพวกเมทไธโอนีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีความสำคัญในการเจริญเติบโตของปลาซึ่งหากใช้มีการใช้ Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในระดับสูง อาจเป็นสาเหตุทำให้ปลาที่มีการเจริญเติบโตลดลง สอดคล้องกับการรายงานในปลาคอดอเมริกัน (Peterson *et al.*, 2012) ปลาดูบ (Ozório *et al.*, 2010) ปลาซ็อนทะเล (Lunger *et al.*, 2006) และปลา Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) (Kikushi, Honda and Kiyono, 1993) กล่าวว่า การใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาดังกล่าวในระดับที่เพิ่มสูงขึ้น มีผลทำให้การเจริญเติบโตลดลงและจากการรายงานที่ผ่านมาพบว่า การเสริมเมทไธโอนีนร่วมกับการใช้ยีสต์ลงในอาหารปลาจะส่งผลทำให้การเจริญเติบโตของปลามีค่าเพิ่มสูงขึ้น (Mahnken, Spinelli, and Waknitz, 1980 ; Murray and Marchant, 1986) นอกจากนี้จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า การใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโมง ไม่มีผลต่อค่าดัชนีตับ (Hepatosomatic Index, HSI) นั่นหมายถึง Brewer's yeast ที่ทดแทนลงในอาหารไม่มีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมและเนื้อเยื่อที่ใช้ในการดูดซึมสารอาหารของตับ และจากการศึกษา พบว่าการให้อาหารที่ผลิตขึ้นเองโดยไม่มีการใช้ Brewer's yeast (CB) กับปลาสาวยโมง มีผลทำให้อัตราการรอดของปลาสาวยโมงต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับฟิรเมนส์อื่นๆ ทั้งนี้เกิดจากอาหารดังกล่าวมีสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันลดลง (Immunostimulant) สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาว่าการเสริมยีสต์ (*S. cerevisiae*) ในอาหารปลามีผลทำให้ปลาปกติและปลาที่เป็นโรคมีอัตราการรอดเพิ่มสูงขึ้น (Abdel-Tawwab *et al.*, 2008; Lara-Flores *et al.*, 2003; Li and Gatlin, 2003; Mohanty, Swain and Tripathi, 1996; Siwicki *et al.*, 1994)

สำหรับผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโมงต่อต้นทุนค่าอาหาร พบว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารที่ระดับเพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้ต้นทุนค่าอาหารลดต่ำลง เนื่องจาก Brewer's yeast มีราคาถูกกว่าปลาป่นประมาณ 3 เท่า (Brewer's yeast ราคา 9.30 บาท และ ปลาป่นราคา 30.20 บาท) อย่างไรก็ตามเมื่อทำการพิจารณาต้นทุนค่าอาหารต่ออัตราการแลกเนื้อของปลาสาวยโมง พบว่าการใช้ Brewer's yeast ในระดับที่เพิ่มสูงขึ้น (60 และ 75 เปอร์เซ็นต์) ในอาหารปลาสาวยโมง ไม่ได้ทำให้ต้นทุนค่าอาหารต่ออัตราการแลกเนื้อลดลง เนื่องจากอัตราการแลกเนื้อของปลาสาวยโมงดังกล่าวมีค่าสูงกว่าปลาสาวยโมงที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast 45 เปอร์เซ็นต์จึงส่งผลทำให้การใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารสาวยโมงที่

ระดับ 45 เปอร์เซ็นต์ เป็นสูตรอาหารที่มีต้นทุนค่าอาหารต่ำที่สุด และมีสมรรถนะการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทริทเมนต์อื่น ๆ สอดคล้องกับการรายงานของ Ortuño *et al.* (2002) ที่กล่าวว่าประโยชน์ของการใช้ยีสต์ในอาหารปลา มีผลทำให้การเจริญเติบโตของปลาดีขึ้น และลดค่าใช้จ่ายในด้านของต้นทุนค่าอาหาร

5.2 ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโฌมต่อค่าโลหิตวิทยา ค่าชีวเคมีของโลหิตและการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันของปลา

โภชนาการที่เหมาะสมได้รับการยอมรับว่าเป็นปัจจัยสำคัญในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและสุขภาพของปลาอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงปลาไม่ได้ทำหน้าที่เพื่อเป็นแหล่งของสารอาหารที่จำเป็นเท่านั้น แต่ยังมีความจำเป็นสำหรับการช่วยให้ร่างกายของปลาทำงานได้อย่างปกติ และทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบอื่นๆที่อาจจะส่งผลต่อสุขภาพของปลาได้ (Gatlin, 1997, 2002; Webster, 2002) ค่าโลหิตวิทยา (Haematological) และค่าชีวเคมีในโลหิต (biochemical blood) เป็นดัชนีที่ใช้ในการชี้วัดสุขภาพ การตอบสนองทางสรีรวิทยาภาวะทางโภชนาการ และสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อปลา (Cnaani, Tinman, Avidar, Ron and Hulata, 2004; Hoseinifaret *et al.* (2011a) หากค่าโลหิตวิทยามีการเปลี่ยนแปลง นั้นหมายถึงมีความผิดปกติของระบบใดระบบหนึ่งเกิดขึ้นภายในร่างกายของตัวปลา จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโฌมไม่มีผลต่อสุขภาพของปลา สอดคล้องกับการรายงานของปลาหมออเมริกันและปลา Beluga ที่กล่าวว่า การใช้ Brewer's yeast ในอาหารไม่มีผลต่อสุขภาพของปลา (Welker, Lim, Yildirim-Aksoy, Shelby and Klesius, 2007; Hoseinifaret *et al.*, 2011a) และพบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาว(WBC) และ lymphocyte ของปลาสาวยโฌมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่น แต่ไม่สูงเท่ากับกรณีของการที่ปลาติดเชื้อ สาเหตุที่ทำให้ WBC และ Lymphocyte มีค่าเพิ่มสูงขึ้น เกิดจากเบต้า-กลูแคนที่อยู่ในผนังเซลล์ของ Brewer's yeast ไปกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดขาวให้มากขึ้นระดับหนึ่ง หากปลาได้รับเชื้อโรคจำนวนเม็ดเลือดขาวที่มีมากพอก็สามารถกำจัดโรคออกไปได้ซึ่ง WBC และLymphocyte ของปลาสาวยโฌมอยู่ในช่วง $5.50-8.50 \times 10^9/L$ และ $91.00-97.67$ เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งถือได้ว่าเป็นค่าปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับปลาบึกที่เป็นปลาในกลุ่ม *Pangasius*เช่นเดียวกัน ที่มี WBC และ Lymphocyte เท่ากับ $6.0-33.0 \times 10^9/L$ และ $59-93$ เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (พิสุทธิ มังกรกาญจน์ ลำพอง ทองป่น กรรณิกา ชัชชวลวานิช วีระชัย โชติรัตนศักดิ์ สุขใจ มหรรทศนพงศ์ วรณชไม การณัด ถนิมาภรณ์ ตั้งดัยรัตนกุล และ เสน่ห์ ผลประสิทธิ์, 2533) อีกทั้ง WBC และ Lymphocyte ที่เพิ่มขึ้นจะเป็นตัวบ่งชี้ถึงการมีสุขภาพที่ดีของปลาเมื่อได้รับอาหารดังกล่าว (Zhu, Liu, Yan, Wang and Liu, 2012) ระดับกลูโคสในพลาสมาเป็นตัวชี้วัดหลักของกระบวนการเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต (Akramiet *et al.*, 2013) ซึ่งปัจจัยที่มีผล

ต่อระดับของกลูโคสในเลือดของปลาจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิความเป็นกรด-ด่างความเครียด องค์ประกอบของอาหาร และวิธีการให้อาหาร (Hemreid *et al.*, 1996) จากการศึกษาการใช้ Brewer's yeastทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโฌ พบว่าอาหารทดลองทุกทริทเมนต์ไม่มีผลต่อระดับกลูโคสในเลือดโดยอยู่ในช่วง 4.51-4.83 mmol/L ซึ่งถือว่าอยู่ในช่วงที่เป็นปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับระดับกลูโคสในเลือดปลาที่มีค่าอยู่ในช่วง 0.14-19.43 mmol/L (Shakoori *et al.*, 1996) แสดงให้เห็นว่า Brewer's yeast ที่ใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโฌไม่มีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในปลาสาวยโฌเช่นเดียวกับค่าคอเลสเตอรอลในพลาสมาของปลาสาวยโฌที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหาร ที่พบว่าพลาสมาของปลาที่ได้รับอาหารทุกทริทเมนต์ไม่มีความแตกต่างกันแสดงให้เห็นว่าการใช้ Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโฌไม่มีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของไขมันสอดคล้องกับการรายงานของ Hoseinifaret *et al.* (2011a) กล่าวว่า การเสริม Brewer's yeast ลงในอาหารปลา Beluga ไม่มีผลต่อระดับกลูโคสในเลือดและคอเลสเตอรอลในพลาสมาของปลา นอกจากนี้ในการตรวจวัดปริมาณยูเรียไนโตรเจน (Blood urea nitrogen; BUN) ในพลาสมาที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ เป็นการวิเคราะห์เบื้องต้นเพื่อใช้ประเมินประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของสัตว์ หากในอาหารมีโปรตีนเกินความต้องการของร่างกายสัตว์ สัตว์จะขับออกมาในรูปของเสียประเภทยูเรียแต่สำหรับในปลาส่วนใหญ่จะมีความสามารถในการขับของเสียออกจากร่างกายโดยใช้เหงือกและไตส่วนใหญ่ของเสียที่ได้จะออกมาในรูปของแอมโมเนีย และยูเรียเป็นส่วนน้อยมาก ยูเรียที่อยู่ในพลาสมาของปลาจะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อสภาพแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว หรือเพื่อต้องการป้องกันความเป็นพิษของแอมโมเนียและอาหารเป็นก็ปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการผลิตยูเรียของปลา (Beamish and Thomas, 1984) ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้การใช้ Brewer's yeast เป็นวัตถุดิบโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโฌ พบว่าค่า BUN ในพลาสมาของปลาสาวยโฌที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast มีค่าสูงกว่าปลาสาวยโฌที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้า (CA) ซึ่งค่า BUN ที่สูงขึ้นจากการใช้ Brewer's yeast ในอาหาร อาจเกิดจากการสลายนิวคลีโอไทด์ที่มีอยู่ใน Brewer's yeast ซึ่งการสลายนิวคลีโอไทด์จะเป็นกระบวนการหนึ่งที่ทำให้เกิดยูเรียจึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ BUN มีค่าเพิ่มสูงขึ้นโดยค่า BUN ของปลาสาวยโฌที่ได้รับอาหารทดลองอยู่ในช่วง 0.32-0.35 mmol/L ซึ่งถือว่าเป็นค่าปกติสำหรับค่า BUN ในพลาสมาของปลาดุกแอฟริกันปกติมีค่าอยู่ในช่วง 0.3-3.4 mmol/L (Myburgh *et al.*, 2008) สอดคล้องกับการรายงานของ Oliva-Teleset *et al.* (2006) กล่าวว่า ปลา Gilthead sea bream ที่ได้อาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่น มีผลทำให้ค่า BUN เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ปลาป่น สำหรับระดับโปรตีนในพลาสมา มักจะทำการวิเคราะห์เพื่อใช้เป็นตัวชี้วัดความแข็งแรงของระบบภูมิคุ้มกันของปลา (Jha *et al.*, 2007) ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่า การใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโฌในระดับที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้ค่าระดับโปรตีนใน

พลาสมาของปลาสร้อยโหม่งเพิ่มสูงขึ้นด้วย แสดงให้เห็นว่าปลามีความสามารถในการตอบสนองต่อระบบ
ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ



เพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบสำคัญในพลาสมาซึ่งส่วนใหญ่จะทำหน้าที่เป็นภูมิคุ้มกันโรคให้ร่างกาย รักษาสมดุลของแรงดันออสโมติกระหว่างเลือดที่ไหลเวียนกับช่องว่างในเนื้อเยื่อ ช่วยในการแข็งตัวของเลือด และสภาพทางสรีรวิทยาสอดคล้องกับการรายงานของ Abdel-Tawwab *et al.* (2008) กล่าวว่าการใช้ยีสต์ที่ระดับ 0.025-0.5 เปอร์เซ็นต์ในอาหารปลานิลมีผลทำให้ระดับโปรตีนในพลาสมาเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนนอกจากนี้ Brewer's yeast ยังเป็นแหล่งของ กรดนิวคลีอิกแมนโนโปรตีน ไคติน และกลูแคน ซึ่งเบต้า-กลูแคน ใน Brewer's yeast ได้รับการยอมรับว่าเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน (Gannam and Schrock, 2001) ซึ่งจากการศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโง่งต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน อันได้แก่ค่า Alternative complement activity (ACH50) Lysozyme activity และ Total Immunoglobulin (Ig) พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ในอาหารมีค่าการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันสูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งการเพิ่มขึ้นของการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันอาจเกิดจากการที่ Brewer's yeast มีคุณสมบัติการเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Immunostimulant) สอดคล้องกับการรายงานของ Rumsey, Winfree and Hughes (1992) และ Cabib, Roberts and Bowers (1982) กล่าวว่าผนังเซลล์ของยีสต์ประกอบด้วยกลูแคน และไคตินมีความสามารถในการเพิ่มการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะได้แก่ ACH50 และ Lysozyme activity ในปลาคอกแอฟริกัน (Yoshida, Kruger and Inglis, 1995) ปลา Atlantic salmon (Engstad *et al.*, 1992) และปลา Rainbow trout (Jørgensen *et al.*, 1993; Siwicki *et al.*, 1994)

5.3 ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโง่งต่อองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และคุณภาพเนื้อของปลาสาวยโง่ง

องค์ประกอบทางเคมี จะเกี่ยวข้องกับการประเมิน ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา เช่น ขนาดของตัวปลา ความสมบูรณ์เพศ อุณหภูมิ ความเค็ม กิจกรรม ความถี่ในการให้อาหารชนิดและปริมาณองค์ประกอบของวัตถุดิบอาหาร เป็นต้น (Shearer, 1994) นอกจากนี้องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ยังใช้เป็นพารามิเตอร์หนึ่งในการบ่งชี้ประสิทธิภาพการให้อาหารของปลา (Shearer, 1994; Machiels and Henken, 1985; Henken, Machiels, Dekker and Hogendoorn, 1986; Bureau, De La Noüe and Jaruratjamorn, 1995) จากการศึกษาค้นคว้าของการใช้ Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโง่ง องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาพบว่า การใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาไม่มีผลต่อความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้าของปลาทั้งตัวโดยเฉพาะองค์ประกอบของโปรตีนในปลาทั้งตัว ที่ให้ผลสอดคล้องกับค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหาร (PER) ของปลาสาวยโง่งที่พบว่าไม่มีความ

แตกต่างกัน ($P>0.05$)แสดงให้เห็นว่าBrewer's yeast มีความสามารถในการนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโมงได้ เช่นเดียวกับการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลา Githead sea bream และปลาจาระเม็ดน้ำจืด พบว่าไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา (Oilva-Teleset *et al.*, 2006; Ozório *et al.*, 2010)และผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโมงต่อองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา พบว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 30 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (D30 D45 และ D60) มีผลทำให้โปรตีนในเนื้อปลาสูงกว่าเนื้อปลาสาวยโมงที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้า(CA) ซึ่งเนื้อของปลาสาวยโมงที่มีโปรตีนเพิ่มขึ้นอาจเกิดจากการที่ปลาสาวยโมงได้รับฟอสฟอรัสที่เป็นองค์ประกอบในBrewer's yeast เนื่องจากการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในระดับที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลทำให้ฟอสฟอรัสในอาหารเพิ่มสูงขึ้น โดยฟอสฟอรัสที่อยู่ในอาหารปลาจะเป็นส่วนหนึ่งของnucleic acid ซึ่งเป็นตัวส่งผ่านรหัสพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนดังนั้นอาจส่งผลทำให้โปรตีนในเนื้อของปลาเพิ่มสูงขึ้นสอดคล้องกับการศึกษาของRumsey *et al.* (1992)พบว่าปลา Rainbow trout ที่ได้รับ Brewer's yeast ในอาหารเพิ่มสูงขึ้น จะมีผลทำให้โปรตีนในเนื้อของปลาเพิ่มสูงขึ้นด้วย ในขณะที่ผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโมง ไม่มีผลต่อความชื้นไขมัน และเถ้าในเนื้อของปลาสาวยโมงนั้นหมายถึงปลาสาวยโมงได้รับอาหารที่มีแร่ธาตุ และไขมันในสัดส่วนที่เพียงพอและเป็นไปตามความต้องการของปลา

ปลาสาวยโมง เป็นปลาที่ได้รับการผสมพันธุ์ เพื่อให้มีลักษณะเด่นทางคุณภาพเนื้อ คือเป็นปลาเนื้อขาวจากการศึกษาผลของอาหารทดลองต่อสีของเนื้อปลา พบว่าปลาสาวยโมงที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้า (CA) มีผลทำให้เนื้อปลามีค่าสีเหลือง (Yellowness ; b^* -value) เพิ่มขึ้นและมีค่าความขาว (Whiteness) ต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทรีทเมนต์อื่น ๆ ($P<0.05$) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าอาหารสูตรทางการค้าไม่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการเลี้ยงปลาสาวยโมง เพราะอาจจะมีผลทำให้ราคาเนื้อปลามีมูลค่าลดลงอันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อโดยเนื้อปลาที่มีค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้นอาจเกิดจากการที่ปลาสาวยโมงได้รับวัตถุดิบอาหารที่มีส่วนผสมของสารสีในข้าวโพดซึ่งเมื่อสีจากวัตถุดิบอาหารที่ปลากินเข้าไปจะไปรวมเป็นเนื้อเดียวกับเนื้อและไขมันของปลา สอดคล้องกับการรายงานของ Brinker and Reiter (2011) กล่าวว่าการใช้โปรตีนจากพืชมีความเสี่ยงต่อการได้มาซึ่งสีที่ไม่พึงประสงค์ เช่น ลูทีน (lutein) ซีแซนทีน (zeaxanthin) แคโรทีนอยด์ (carotenoid) และไฮโดรอกซีแคโรทีนอยด์ (hydroxycarotenoid) เป็นต้น ซึ่งสารดังกล่าวจะมีผลทำให้เนื้อของปลามีสีเหลือง ในขณะที่การใช้Brewer's yeastเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลาสาวยโมงมีผลทำให้ค่าความขาว (Whiteness) ของเนื้อปลาสาวยโมงสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรทางการค้า(CA) จึงสามารถกล่าวได้ว่า Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโมงโดยไม่มีผลกระทบต่อค่าสีของเนื้อปลาสาวยโมง นอกจากนี้การศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeastทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสาวยโมง พบว่าไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียใน

ระหว่างการเก็บรักษา (Drip loss) เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหลังการทำให้สุก (Cook loss) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยค่า pH ของเนื้อปลาสาวยังคงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาอยู่ในช่วง 6.70-6.82 แสดงให้เห็นว่า เนื้อปลาสาวยังคงที่ได้รับอาหารดังกล่าวถือเป็นเนื้อที่มีคุณภาพดีเนื่องจากค่า pH ของเนื้ออยู่ในช่วงที่เป็นกรดอ่อนที่เกิดจากการสลายตัวของไกลโคเจนในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเหมาะสำหรับการบริโภคเป็นอาหาร (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548) และลักษณะเนื้อสัมผัสประเมินได้จากการค่าแรงสูงสุดที่ใช้ในการเจาะ (breaking force) ตัวอย่างเนื้อปลา สะท้อนให้เห็นถึงความเหนียว (Toughness) ของเนื้อปลา (Zhu *et al.*, 2004) ซึ่งจากการศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นต่อลักษณะเนื้อสัมผัส พบว่าเนื้อของปลาที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 45 เปอร์เซ็นต์ มีค่า breaking force สูงที่สุดโดยค่า breaking force ที่มีค่าสูงของเนื้อปลาบ่งบอกได้ว่า เนื้อปลาที่ได้รับอาหารดังกล่าวแล้วนำไปรักษาสภาพด้วยการแช่แข็งจะส่งผลทำให้เนื้อปลามีความเหนียวนุ่ม และไม่แตกยุ่ยง่ายเมื่อเปรียบเทียบกับทริทเมนต้อื่น ๆ สอดคล้องกับการเจริญเติบโตของปลาสาวยังคงที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast 45 เปอร์เซ็นต์ ที่พบว่าการเจริญเติบโตดีที่สุดซึ่งลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดีของปลาจะเกิดขึ้นเมื่อปลาได้รับอาหารที่สมบูรณ์ (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548)



บทที่ 6

สรุปและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุป

จากการศึกษาผลของการใช้ Brewer's yeast เพื่อเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสายไหม โดยศึกษาผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตประสิทธิภาพการใช้อาหาร ค่าโลหิตวิทยา และชีวเคมีของโลหิต ระบบภูมิคุ้มกัน และคุณภาพเนื้อ พบว่า Brewer's yeast เป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกเพื่อทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสายไหม ซึ่งผลของการทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาสายไหมเป็นแบบโค้งกำลังสอง (Quadratic) และแนวโน้มของการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน อันได้แก่ Alternative complement activity (ACH50) และ Lysozyme activity ต่อการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสายไหม พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรง (linear) นอกจากนี้การใช้ Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น ไม่ส่งผลต่อสุขภาพของปลา และไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพเนื้อของปลาสายไหมซึ่งระดับการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสายไหมที่เหมาะสมคือ 45 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีผลทำให้สมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาสายไหมดีที่สุด และช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหาร ไม่มีผลต่อค่าโลหิตวิทยา และส่งผลทำให้ระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้น และในด้านของต้นทุนการผลิตอาหาร พบว่าต้นทุนค่าอาหารจะลดลงเมื่อมีการทดแทนปลาป่นด้วย Brewer's yeast ในระดับที่เพิ่มสูงขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบต้นทุนค่าอาหารต่ออัตราการแลกเนื้อ พบว่าการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสายไหมที่ระดับ 45 เปอร์เซ็นต์ มีต้นทุนค่าอาหารต่ำที่สุด

6.2 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า อาหารสำเร็จรูปทางการค้าอาจจะไม่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้เลี้ยงปลาสายไหม เนื่องจากอาหารดังกล่าวมีผลทำให้ปริมาณการกินได้ (feed intake) ของปลาสายไหมลดลง อีกทั้งทำให้เนื้อปลามีสีเหลืองและงานวิจัยที่ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้การเลี้ยงปลาสายไหมมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น คือควรทำการศึกษา protein sparing effect เนื่องจากปลาสายไหมเป็นปลากลุ่มเดียวกับปลาสายซึ่งพบว่ามีความสามารถในการใช้คาร์โบไฮเดรตได้ดีและคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงานที่มีราคาถูกโดยเฉพาะแหล่งของคาร์โบไฮเดรตจากมันสำปะหลัง เพื่อให้การลดต้นทุนค่าอาหารของปลาสายไหมประสบความสำเร็จมากยิ่งขึ้น

รายการอ้างอิง

- กิจการ สุภมาตย์สาวิตรี ศิลาเกษวุฒิพร พรหมขุนทอง และสิทธิ บุญยรัตผลิน. (2539). โรคและพยาธิปลา.มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 212.
- จุฬารัตน รุ่งกำเนิดวงศ์ จำเริญศรี พวงแก้ว และกิจการ สุภมาตย์. (2550). ผลของเบต้ากลูแคนต่อองค์ประกอบเลือดระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและความต้านทานโรคในปลากะรังคอกแดง. วารสารการประมง. 60(2):152-160.
- จู่เอ๋อ ฟงซันฉีรัตน์ พิษญา ชัยนาททวี จินตามัยกุล และชูศักดิ์ บริสุทธิ. (2545). ระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารปลากะพงแดง.วารสารการประมง. 55(5): 413-421.
- ไชยวรรณ วัฒนจันทร์ อารักษ์ ส่งแสง พิทยา อุดุลยธรรม และเสาวคนธ์ วัฒนจันทร์. (2547). คุณภาพซาก องค์ประกอบทางเคมี ลักษณะทางกายภาพ ลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อไก่ก่อนและเนื้อไก่พื้นเมือง.รายงานการวิจัยโครงการพัฒนาไก่พื้นเมือง. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 158.
- เดชา รอดระรัง และศิริภรณ์ โคตรมี. (2550). การอนุบาลปลาสาวยโมงในบ่อซีเมนต์.[ออนไลน์].ได้จาก: http://www.fisheries.go.th/if-udonthani/data/Hybrid_nurse.pdf
- นิรุทธิ์ สุขเกษมจิรพร เรืองศรี และกิจการ สุภมาตย์. (2548). การศึกษาองค์ประกอบเลือดของปลาหมอไทย.วารสารสงขลานครินทร์.27(ฉบับพิเศษ 1): 419-424.
- พิสุทธิมังกฎาญจน์ลำพองทองปณกรณิกาชัชชาวลวานิช วีระชัยโชติรัตน์ศักดิ์สุขใจ มหรรทศนพงศ์ วรรณชไม การณัด ถนิมาภรณ์ ตั้งชัยรัตนกุล และเสน่ห์ ผลประสิทธิ์. (2533). ค่าโลหิตวิทยาและรูปร่างลักษณะเมื่อดเลือดของปลาบึก.รายงานวิจัยสาขาสัตวแพทย์. 583-588.
- วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2536). อาหารปลา.กรุงเทพมหานคร. โอเดียนสโตร์. 216.
- วุฒิพร พรหมขุนทอง. (2541). โภชนศาสตร์สัตว์น้ำ.ภาควิชาวาริชศาสตร์.คณะทรัพยากรธรรมชาติ.มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- เวียง เชื้อโพธิ์หัก. (2542). โภชนศาสตร์สัตว์น้ำและการให้อาหารสัตว์น้ำ.ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศักดิ์ชัยชูโชติ. (2536). การเลี้ยงปลาน้ำจืด.ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์.คณะเทคโนโลยีการเกษตร.สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

- สุภรัตน์ ฉัตรจริยเวศน์ สมเกียรติ พงษ์ศิริจันทร์ และสมศักดิ์ เจนศิริศักดิ์. (2541). ความต้องการโปรตีนของปลาเทโพวัยรุ่น. เอกสารฉบับวิชาการฉบับที่ 1/2541. ศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืดอุบลราชธานี. กรมประมง. 26.
- สัญญาชัย จตุรสิทธา. (2543). เทคโนโลยีเนื้อสัตว์. เชียงใหม่. สำนักพิมพ์ชนบรรณการพิมพ์.
- สาโรชคำเจริญ. (2547). อาหารและการให้อาหารสัตว์ไม่เลี้ยงเอง. ภาควิชาสัตวศาสตร์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สุญาณีพร ดุลยพงษ์รักษา ปัทมา ระตะนระอาพรและจิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร. (2551). การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาของปลาสร้อยโพงที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง. รายงานการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 46 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาประมง. 29 ม.ค.-1 ก.พ. 2551. 228-235.
- สุทธิวัฒน์ เบญจกุล. (2548). เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ. โอเดียนสโตร์.
- สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์ ปวีณา ทวีกิจการ และดุสิต เอื้ออำนวย. (2553). ผลของการเสริมกากยีสต์ในอาหารต่อการเจริญเติบโต คุณภาพเนื้อ และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในปลานิลแดง. รายงานวิจัยประจำปีงบประมาณ 2553. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สุภาพ แก้วละเอียด อุดมชัย อากุลอนุ บรรจง จ้างนิจธรรม และอายุวัฒน์ นิลศรี. (2554). การผลิตปลาสร้อยโพงขนาด 1 นิ้ว ด้วยอัตราความหนาแน่นต่างกันในระบบน้ำหมุนเวียน. เอกสารวิชาการ. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด. กรมประมง. 4:1-25.
- สมร พรชื่นชูวงศ์อรณพ อัมศิลป์ และสมบัติ สิงห์สี. (2553). การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแพะ (*Pangasius bocourti*) โดยวิธีการแช่แข็ง. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- สมร พรชื่นชูวงศ์ สุพรรณ จันทน์เที่ยง สุรัช ภาสดา สุคนธา เลขะพันธุ์รัตน์ นิสารัตน์ ปุณณารักษ์ และนฤพล สุขุมาสวิน. (2550). ผลของสาร Extenders และสาร Cryoprotectants ที่มีผลต่ออัตราการปฏิสนธิของน้ำเชื้อปลาสร้อยโพงโดยวิธีการแช่แข็ง. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง. 1: 11-22.
- สุวิภา จรจันทิก. (2553). การศึกษาความเป็นไปได้ในการเลี้ยงปลาสร้อยโพงในกระชังเชิงพาณิชย์จังหวัดนครพนม. สารนิพนธ์ปริญญาโท. ภาควิชาเศรษฐศาสตร์. มหาวิทยาลัยรามคำแหง.
- อนุพงษ์ สนิทชน ประภาส โฉลกพันธุ์รัตน์ และวิรัช จิวแหยม. (2548). ลักษณะภายนอกและภายในที่ใช้จำแนกปลาสร้อยและปลาลังกะวาดที่พบในแม่น้ำโขงจังหวัดหนองคายและนครพนม. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น. 5(2): 53-62.
- อำนวย โชติญาณวงษ์ และเวียง เชื้อโพธิ์หัก. (2525). ความต้องการโปรตีนของปลาอุกค้ำ. วารสารการประมง. 35(5): 251-260.

- Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A.M., and Ismael, N. (2008). Evaluation of commercial live baker's yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture**. 280: 185-189.
- Ai, Q., Kangsen, M., Lu, Z., Beiping, T., Wenbing, Z., Wei, X., and Huitao, L. (2007). Effects of dietary β -1,3glucan on innate immune response of Large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. **Fish and Shellfish Immunology**. 22: 394-402.
- Akrami, R., Iri, Y., Rostami, H. K., and Mansour, M. R. (2013). Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. **Fish and Shellfish Immunology**. 35: 1235-1239.
- Amar, E.C., Kiron, V., Satoh, S., and Watanabe, T. (2004). Enhancement of innate immunity in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) associated with dietary intake of carotenoids from natural products. **Fish and Shellfish Immunology**. 16: 527-537.
- Andrews, J.W., and Stickey, R.R. (1972). Interactions of feeding rates and environment temperature on growth, food conversion and body composition of Channel catfish. **Transactions of the American Fisheries Society**. 101:94-99.
- Andrews, S.R., Sahu, N.P., Pal, A.K., and Kumar S. (2009). Haematological modulation and growth of *Labeo rohita* fingerlings: effect of dietary mannan oligosaccharide, yeast extract, protein hydrolysate and chlorella. **Aquaculture Research**. 41: 61-69.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (2000). Official Methods of analysis, 17th edn. AOAC, Washington, D.C., USA.
- Baccarin, A.E., Pezzato, L.E., and Urbinati, E.C. (2000). Effect of diets with molasse yeast in the glycemia and in the levels of liver glycogen and total liver lipid of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Boletim do Instituto de Pesca**. 26: 163-167.
- Bagni, M., Romano, N., Finoia, M. G., Abelli, L., Scapigliati, G., Tiscar, P. G., Sarti, M., and Marino, G. (2005). Short and long-term effects of a dietary yeast beta glucan (*Macrogade*) and alginic acid (*Ergosan*) preparation on immune response in seabass (*Dicentrarchus labrax*). **Fish and Shellfish Immunology**. 18: 311-325.
- Beamish, F. W. H., and Thomas, E. (1984). Effects of dietary protein and lipid on nitrogen losses in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Aquaculture**. 41: 359-371.

- Beck, H., Gropp, J., Koops, H., and Tiews, K. (1979). Single cell proteins in trout diets. In Halver, J. E., and Tiews, K. (eds.). **Finfish Nutrition and Fish feed Technology**. pp. 269-280. Heenemann, Berlin.
- Benjakul, S., and Bauer, F. (2001). Biochemical and physicochemical change in catfish (*Silurus glanis* Linne) muscle as influenced by difference freeze-thaw cycles. **Food chemistry**. 72: 207-217.
- Bondari, K., and Sheppard, D.C. (1981). Soldierfly larvae as feed in commercial fish production. **Aquaculture**. 24: 103-109.
- Brinker, A., and Reiter, R. (2011). Fish meal replacement by plant protein substitution and guar gum addition in trout feed, part I: Effects on feed utilization and fish quality. **Aquaculture**. 310: 350-360.
- Brown, H., and Barbara, P. (1993). Hematology: Principles and Procedures. 6th edition, **Lea & Febiger**, Philadelphia
- Bureau, D. P., De La Noüe, J., and Jaruratjamorn, P. (1995). Effect of dietary incorporation of crop residues on growth, mortality and feed conversion ratio of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). **Aquaculture Research**. 26: 351-360.
- Burrells, C., Williams, P.D., and Forno, P.F. (2001). Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds 1. Effects on resistance to disease in salmonids. **Aquaculture**. 199: 159-169.
- Cabib, E., Roberts, R., and Bowers, B. (1982). Synthesis of the yeast cell wall and its regulation. **Annual Review of Biochemistry**. 51: 763-793.
- Calleja, G. B. (1987). Cell aggregation. In Rose, A. H. and Haarisson (eds). **The Yeast**. pp. 265-238. Yeast and the environment, Academic Press, London.
- Choudhury, D., Pal, A. K., Sahu, N. P., Kumar, S., Das, S. S., and Mukherjee, S. C. (2005). Dietary yeast RNA supplementation reduces mortality by *Aeromonas hydrophila* in rohu (*Labeo rohita* L.) juveniles. **Fish and Shellfish Immunology**. 19: 281-291.
- Chuapoehek, W. (1994). Development of a low protein high energy practical diet for Sutchi's catfish, *Pangasius sutchi* Fowler. **Thai journal of agricultural Science**. 27: 19-25.
- Chuapoehek, W. (1987). Protein requirement of walking catfish (*Clarias batrachus* L.) fry. **Aquaculture**. 63: 15-219.

- Chutjareyaves, S., Pongsirijun, S., and Janesirisak, S. (1998). Protein Requirement of juvenile Black Ear Catfish (*Pangasiuslmaudii*). **National Inland Fisheries Institute annual Report**, Bangkok, Thailand, 26.
- Cnaani, A., Tinman, S., Avidar, Y., Ron, M., and Hulata, G. (2004). Comparative study of biochemical parameters in response to stress in *Oreochomisaureus*, *O. mossambicus* and two strains of *O. niloticus*. **Aquaculture Research**. 35: 1434-1440.
- Cosgrove, M. (1998). Nucleotides. **Nutrition**. 14: 748-751.
- Dalmo, R.A., and Bogwald, J. (2008). β -glucan as conductors of immune symphonies. **Fish and Shellfish Immunology**. 25: 384-396.
- Demers, N.E., and Bayne, C.J. (1997). The immediate effects of stress on hormone and plasma lysozyme in Rainbow trout. **Developmental and Comparative Immunology**. 21: 363-373.
- Duncan, P. L., and Klesius, P.H. (1996). Dietary immunostimulants enhance nonspecific immune responses in Channel catfish but not resistance to *Edwardsiella ictaluri*. **Journal of Aquatic Animal Health**. 8: 241-248.
- Edward, J. N. (2000). **Fish disease diagnosis and treatment**. State Avenue, Ames: Blackwell Publishing Professional.
- Engstad, R. E., Robertsen, B., and Frivold, E. (1992). Yeast glucan induces increase in lysozyme and complement mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood. **Fish and Shellfish Immunology**. 2: 287-297.
- Essa, M.A., Mabrouk, H.A., Mohamed R.A., and Michael, F.R. (2011). Evaluating different additive levels of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, on the growth and production performances of hybrid of two populations of Egyptian African catfish, *Clarias gariepinus*. **Aquaculture**. 320:137-141.
- Fairchild, A. S., Grimes, J. L., Jones, F.T., Wineland, M. J., Edens, F. W., and Sefton, A. E. (2001). Effects of hen age, bio-mos and flavomycin, on poult susceptibility to oral *Escherichia coli* challenge. **Journal of Poultry Science**. 80:562-571.
- Ferreira, I. M. P. L. V. O., Pinho, O., Vieira, E., and Tavarela, J. G. (2010). Brewer's saccharomyces yeast biomass: Characteristics and potential applications. **Trends in Food Science and Technology**. 21: 77-84.

- Fournier, V., Gouillou-Coustans, M.F., Métailler, R., Vachot, C., Moriceau, J., Le Delliou, H., Huelvan, C., Desbruyeres, E., and Kaushik, S.J.(2003). Excess dietary arginine affects urea excretion but does not improve N utilisation in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and turbot *Psetta maxima*. **Aquaculture**. 217: 559-576.
- Fournier, V., Gouillou-Coustans, M.F., Metailler, R., Vachot, C., Moriceau, J., Le Delliou, H., Huelvan, C., Desbruyeres, E., and Kaushik, S.J. (2002). Nitrogen utilisation and ureogenesis as affected by dietary nucleic acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and turbot (*Psetta maxima*). **Fish Physiology and Biochemistry**. 26: 177-188.
- Gannam, A.L., and Schrock, R.M.(2001). Immunostimulants in fish diets. In Lim, C., and Webster, C. D. (eds.). **Nutrition and Fish Health**. pp. 35-266. Haworth Press, Binghamton, New York, USA.
- Garling, D. L., Jr., and Wilson, R. P. (1976). Optimum dietary protein-to-energy ratios for Channel catfish fingerlings, *Ictalurus punctatus*. **Journal of Nutrition**. 106: 1368-1375.
- Gatlin III, D.M. (1997). Nutrition and feeding of striped bass and hybrid striped bass. In Harrell, R. M. (eds.). **Striped Bass and Other Morone Culture**. pp. 235-251. Elsevier, Amsterdam, Netherlands.
- Gatlin III, D.M. (2002). Nutrition and fish health. In Halver, J. E., and Hardy, R. W. (eds.). **Fish Nutrition**. pp. 671-702. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Hardy, R.W., and Tacon, A.G.J.(2002). Fish meal: historical uses, production trends and future outlook for sustainable supplies. In Stickney, R. R., and McVey, J. P. (eds.). **Responsible Marine Aquaculture**. pp. 311-325. CAB International, Oxon, UK.
- Haussinger, D. and Gerok, W. (1985). Hepatic urea synthesis and pH regulation. Role of CO₂, HCO₃⁻, pH and the activity of carbonic anhydrase. **European Journal of Applied Physiology**. 152: 381-386.
- Hemre, G. I., Waagbø, R., Hjeltne, B., and Aksnes, A. (1996). Effect of gelatinized wheat and maize starch in diets for large Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) on glycogen retention, plasma glucose and fish health. **Aquaculture**. 46: 173-177.
- Henken, A. M., Machiels, M. A. M., Dekker, W., and Hogendoorn, H. (1986). The effect of dietary protein to energy content on the growth rate and feed utilization of the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). **Aquaculture**. 58: 119-127.

- Hisano, H., Narva'ez-Solarte, W. V., Barros, M. M., and Pezzato, L. E. (2007). Growth performance of Nile tilapia fingerling fed on yeast and yeast derivation. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 42: 1035-1042.
- Hoffman, L.C., Prinsloo J.F., and Rukan, G. (1997). Partial replacement of fish meal with either soybean meal brewers yeast or tomato meal in the diets of African sharptooth catfish *Clarias gariepinus*. **Water SA**. 23: 181-186.
- Hoseinifar, S., Mirvaghefi, A., Merrifield, D., Amiri, B., Yelghi, S., and Bastami, K. (2011a) The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile Beluga (*Husohuso*) fed oligofructose. **Fish Physiology and Biochemistry**. 37: 91-96.
- Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., and Merrifield, D.L. (2011b). The effects of dietary inactive brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* on the growth, physiological responses and gut microbiota of juvenile beluga (*Husohuso*). **Aquaculture**. 318: 90-94.
- Hrubec, T.C., Cardinale, J.L., and Smith, S. A. (2000). Hematology and plasma chemistry reference intervals for Cultured Tilapia (*Oreochromis Hybrid*). **Veterinary Clinical Pathology**. 29: 7-12.
- Hunter, R.S. (1987). The Measurement of Appearance, 2nd edn. Wiley Interscience, New York.
- Jantrarotai, W., Sitasit, P., Chumsumgnern, S., and Chinmoog, S. (1992) Effect of various protein levels in isocaloric diets on growth and fat deposit of striped catfish (*Pangasiussutchi*). **National Inland Fisheries Institute Annual Report**, Bangkok, Thailand.
- Jarmolowicz, S., Zakes, Z., Kowalska, A., Hopko, M., Glabski, E., Demska-zakes, K., and Partyka, K. (2012). Effect of brewer's yeast extract on growth performance and health of juvenile pikeperch *Sander lucioperca* (L.). **Aquaculture nutrition**. 18: 457-464.
- Jha, A. K., Pal, A. K., Sahu, N. P., Kumar, S., and Mukherjee, S. C. (2007). Haematoimmunological response to dietary yeast RNA, n-3 fatty acid and b-carotene in *Catlacatla* juveniles. **Fish and Shellfish Immunology**. 23: 917-927.
- Jørgensen, J.R., Lunde, H., and Robertsen, B. (1993). Peritoneal and head kidney cell response to intraperitoneally injected yeast glucan in Atlantic salmon. **Journal of Fish Diseases**. 16: 313-325.
- Kapteyn, J. C., Van Den Ende H., and Klis, F. M. (1999). The contribution of cell wall proteins to the organization of the yeast cell wall. **Biochimica et Biophysica Acta**. 1426: 373-383.

- Kikushi, K., Honda, H., and Kiyono, M. (1993) Effect of dietary protein source on growth and nitrogen excretion of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Carrillo, M. Dahle, L. Morales, J. Sorgeloos, P. Svennevig, N. Wyban, J. (eds.). **World Aquaculture '93 Int. Conf.**, Torremolinos (Spain), 26–28 May. pp. 400.
- Klis, F. M., Mol, P., Hellingwerf, K., and Brul, S. (2002). Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. **FEMS Microbiology Reviews**. 26: 239-256.
- Kumari, J., and Sahoo, P.K. (2006). Dietary β -1,3glucan potentiates innate immunity and disease resistance of Asian catfish, *Clarias batrachus* (L.). **Journal of Fish Diseases**. 29: 95-101.
- Lall, S. P. (1990). Concepts in the formulation and preparation of a complete fish diet. In DeSilva, S. S. (eds.). **Fish Nutrition Research in Asia**. Proceedings of the Fourth Asian Fish Nutrition Workshop. Asian Fish. Soc. Spec. Publ. 5. pp. 205. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M.A., Guzmán-Méndez, B.E., and López-Madrid, W. (2003). Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**. 216:193–201.
- Lie, Ø. (2001). Flesh quality: the role of nutrition. **Aquaculture Research**. 32: 341–348.
- Li, M. H., Robinson, E. H., Oberle, D. F., and Lucas, P. M. (2010). Effect of various corn distillers by-products on growth and feed efficiency of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture Nutrition**. 16: 188-193.
- Li, P., and Gatlin III, D. M. (2003). Evaluation of brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). **Aquaculture**. 219: 681-692.
- Li, P., and Gatlin III, D.M. (2004). Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic™ AE influence growth performance, immune response and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. **Aquaculture**. 231: 445-456.
- Li, P., Burr, G. S., Goff, J., Whiteman, K. W., Davis, K. B., Vega, R. R., Neill, W. H., and Gatlin III, D. M. (2005). A preliminary study on the effects of dietary supplementation of brewer's yeast and nucleotides, singularly or in combination, on juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. **Aquaculture Research**. 36: 1120–1127.

- Li, P., Lewis, D.H., and GatlinIII, D.M. (2004). Dietary nucleotides from yeast RNA influence immune response and resistance of hybrid striped bass *Moronechrysops*×*Morone saxatilis* to *Streptococcus* infection. **Aquaculture**. 231:445-456.
- Loong, J.M. (2013). Evaluation of spent brewer's yeast as an alternative fish feed. **Bachelor of science (HONS) biochemistry**. Faculty of science. University Tunku Abdul Rahman. 90.
- Lovell, R.T. (1989). Nutrition and feeding of fish. **Van Nostrand Reinhold**, New York.
- Low, C., Wadsworth, S., Burrells, C., and Secombes, C. J. (2003) Expression of immune genes in turbot (*Scophthalmus maximus*) fed a nucleotide-supplemented diet. **Aquaculture**. 221: 23-40.
- Lunger, A.N., Craig, S.R., and McLean, E. (2006). Replacement of fish meal in Cobia (*Rachycentron canadum*) diets using an organically certified protein. **Aquaculture**. 257: 393-399.
- Machiels, M. A. N., and Henken, A. M. (1985). Growth rate, feed utilization and energy metabolism of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822), as affected by dietary protein and energy metabolism. **Aquaculture**. 44: 271-284.
- McLean, E., and Craig, S.R. (2004). Growth performance of Nile tilapia fed an organically certified yeast-based alternative protein source. In Flick, G.J., Correa, A. and Rakestraw, T. (eds.). **Proceedings of the 5th International Conference on Recirculating Aquaculture**, 22-25 July. pp. 580-586.
- Metailler, R., and Huelvan, C. (1993). Utilisation de levures dans l'alimentation du juvénile de bar (*Dicentrarchus labrax*). In Kaushik, S. J., and Luquet, P. (eds.). **Fish Nutrition in Practice**. 61: 945-948.
- Metwally, M.A.A. (2009). Effects of garlic (*Allium sativum*) on some antioxidant activities in Tilapia Nilotica (*Oreochromis niloticus*). **World Journal of Fish and Marine Sciences**. 1: 56-64.
- Misra, C. K., Das, B. K., Mukherjee, S. C., and Pattnaik, P. (2006). Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. **Aquaculture**. 225: 82-94.
- Mohanty, S.N., Swain, S.K., and Tripathi, S.D. (1996). Rearing of catla (*Catla catla* Ham.) spawn on formulated diets. **Journal of aquaculture in the tropics**. 11: 253-258.

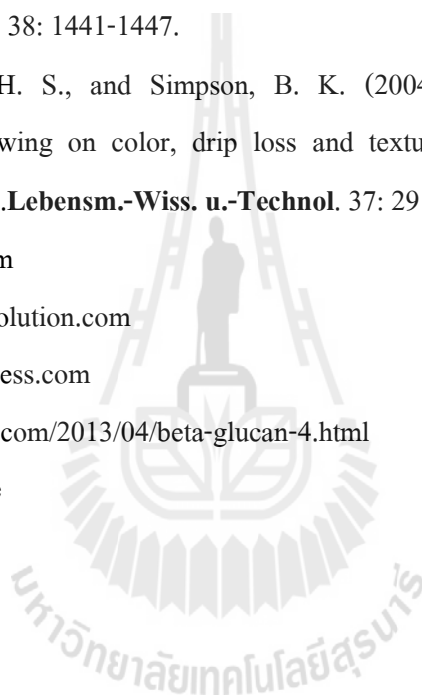
- Montero, D., Tort, L., Izquierdo, M.S., Robaina, L., and Vergara, J.M. (1998). Depletion of serum alternative complement pathway activity in Gilthead seabream caused by α -tocopherol and n-3 hufa dietary deficiencies. **Fish Physiology and Biochemistry**. 18: 399-407.
- Myburgh, J. G., Botha, C. J., Booysse, D. G., and Reyers, F. (2008). Provisional clinical chemistry parameters in the African Sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*). **Journal of the South African Veterinary Association**. 79(4): 156-160.
- Nayar, S., Hegde, S., Rao, P.S., and Sudha, P. (1998). Live organisms as feed in aquaculture. **Infofish International**. 4: 36-39.
- NRC (National Research Council). (1993). **Nutrition Requirement of fish**. National Academy of Press, Washington, DC.
- NRC (National Research Council). (1998). **Nutrient requirements of swine**. National Academy Press, Washington, D.C.
- Oliva-Teles, A., and Goncalves, P. (2001). Partial replacement of fishmeal by brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in diets for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquaculture**. 202: 269-278.
- Oliva-Teles, A., Guedes, M. J., Vachot, C., and Kaushik, S. J. (2006). The effect of nucleic acids on growth, ureagenesis and nitrogen excretion of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. **Aquaculture**. 253: 608-617.
- Olvera-Nova, M., Martinez-Palacios, C., and Olivera-Castillo, L. (2002). Utilization of torula yeast (*Candida utilis*) as a protein source in diets for tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters) fry. **Aquaculture Nutrition**. 8: 257-264.
- Ortuño, J., Cuesta, A., Rodríguez, A., Esteban, M. A., and Meseguer, J. (2002). Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). **Veterinary Immunology and Immunopathology**. 85: 41-50.
- Ozório, R.O.A., Turini, B.G.S., Moro, G.V., Oliveira, L.S.T., Portz, L., and Cyrino, J.E.P. (2010). Growth, nitrogen gain and indispensable amino acid retention of pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg 1887) fed different brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) levels. **Aquaculture nutrition**. 16: 276-283.

- Page, J. W., and Andrews, J. W. (1973). Interactions of dietary levels of protein and energy on channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Journal of Nutrition**. 103: 1339-1346.
- Pereira-da-Silva, E. M., and Pezzato, L. E. (2000). Response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to the attraction and palatability of the used ingredients in the feeding of fishes. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 29: 1273-1280.
- Peterson, B. C., Booth, N. J., and Manning, B. B. (2012). Replacement of fish meal in juvenile channel catfish, *Ictalurus punctatus*, diets using a yeast-derived protein source: the effects on weight gain, food conversion ratio, body composition and survival of catfish challenged with *Edwardsiella ictaluri*. **Aquaculture Nutrition**. 18: 132-137.
- Puangkaew, J., Kiron, V., Somamoto, T., Okamoto, N., Satoh, S., Takeuchi, T., and Watanabe, T. (2004). Nonspecific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids. **Fish and Shellfish Immunology**. 16: 25-39.
- Raa, J. (1996). The use of immunostimulatory substances in Fish and Shellfish farming. **Reviews in Fisheries Science**. 4: 229-288.
- Randall, D. J., Wood, C. M., Perry, S. F., Bergman, H. L., Maloiy, G. M. O., Mommsen, T. P., and Wright, P. A. (1989). Urea excretion as a strategy for survival in a fish living in a very alkaline environment. **Nature**. 337: 165-166.
- Reque, V.R., De Moraes, J.R.E., De Andrade Belo, M.A., and De Moraes, F.R. (2010). Inflammation induced by inactivated *Aeromonas hydrophila* in Nile tilapia fed diets supplemented with *Saccharomyces cerevisiae*. **Aquaculture**. 300: 37-42.
- Reyes-Becerril, M., Tovar-Ramírez, Ascencio-Valle, F., Civera-Cerecedo, R., Gracia-López, V., Barbosa-Solomieu, V., and Esteban, M.Á. (2008). Effects of dietary live yeast *Debaryomyces hansenii* on the immune and antioxidant system in juvenile leopard grouper *Mycteroperca rosacea* exposed to stress. **Aquaculture**. 280: 39-44.
- Rumsey, G.L., Hughes, S.G., and Kinsella, J.L. (1990). Use of dietary yeast *Saccharomyces cerevisiae* nitrogen by lake trout. **Journal of the World Aquaculture Society**. 21: 205-209.
- Rumsey, G. L., Hughes, S. G., Smith, R. R., Kinsella, J. E., and Shetty, K. J. (1991a). Digestibility and energy values of intact, disrupted and extracts from dried yeast fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Animal Feed Science and Technology**. 33: 185-193.

- Rumsey, G.L., Kinsella, J.E., Shetty, K.J., and Hughes, S.G. (1991b). Effect of high dietary concentrations of brewer's dried yeast on growth performance and liver uricase in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Animal Feed Science and Technology**. 33: 177-183.
- Rumsey, G. L., Winfree, R. A., and Hughes, S. G. (1992). Nutrition value of dietary nucleic acid and purine bases to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**. 108: 97-110.
- Saha, N. and Ratha, B. K. (1989). Comparative study of ureagenesis in freshwater, air-breathing teleosts. **Journal of Experimental Zoology**. 252: 1-8.
- Sakai, M. (1999). Current research status of fish immunostimulants [Review]. **Aquaculture**. 172: 63-92.
- Salnur S., Gultepe N., and Hossu B. (2009). Replacement of fish meal by yeast (*Saccharomyces cerevisiae*): effects on digestibility and blood parameters for gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Journal of Animal and Veterinary Advances**. 8: 2557-2561.
- Samuel, M., Lam, T. J., and Sin, Y.M. (1996). Effect of Laminaran (β -1,3glucan) on the protective immunity of Blue gourami, *Trichogaster trichopterus* against *Aeromonas hydrophila*. **Fish and Shellfish Immunology**. 6: 443-454.
- Sanderson, G.W., and Jolly, S.O. (1994). The value of Phaffia yeast as a feed ingredient for salmonid fish. **Aquaculture**. 124: 193-200.
- Santarem, M., Novoa, B., and Figueras, A. (1997). Effects of beta 1, 3 glucan on the non-specific immune responses of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). **Fish and Shellfish Immunology**. 7: 443-454.
- Shakoori, A. R., Mugha, A. L., and Iqbal, M. J. (1996). Effects of sublethal doses of fenvalerate (a synthetic pyrethroid) administered continuously for four weeks on the blood, liver and muscles of a freshwater fish, *Ctenopharyngodon idella*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. 57: 487-494.
- Shipton, T. A., and Britz, P. J. (2001). The effect of animal size on the ability of *Halotiismidae* L. to utilize selected dietary protein sources. **Aquaculture Research**. 32: 393-403.
- Siwicki, A.K., Anderson, D.P., and Rumsey G.L. (1994). Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. 41: 125-139.

- Susan, M. (2000). Blood Collection and Analysis [Online]. Available: http://www2.ivcc.edu/caley/108/lab_checklists/blood_lab/blood.html. April 18, 2003.
- Tacon, A. G. J., Metian, M., and Hasan, M. R. (2009). Feed ingredients and fertilizers for farmed aquatic animals: sources and composition. [Online]. Available: <http://www.fao.org/docrep/012/i1142e/i1142e.pdf>. March 1, 2014.
- Takii, K., Maoka, T., Seoka, M., Kondo, T., Nakamura, M., Kitano, H., and Kumai, H. (1999). Preliminary assessment of dietary yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, protein for red sea bream. **Suisanzoshoku**. 47: 71-76.
- Valman, J.J., Ramakers, J.D., and Plat, J. (2008). Dietary modulation of immune function by β -glucans. **Physiology & Behavior**. 94: 276-284.
- Vechklang, K., Boonanutanasarn, 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. **Aquaculture Nutrition**. 17: 685-694
- Walsh, P. J., and Mommsen, T. H. (2001). Evolutionary considerations of nitrogen metabolism and excretion. In Wright P. A. and Anderson P. M. (eds.). **Fish physiology: nitrogen excretion**. pp. 1-26. Academic Press, New York .
- Webster, C. D. (2002). Hybrid striped bass. In Webster, C. D. and Lim, C. (eds.). **Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture**. pp. 327-343. C.A.B. International, Wallingford, UK.
- Welker, T.L., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R., and Klesius, P.H. (2007). Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. **Journal of the World Aquaculture Society**. 38: 24-35.
- White, L. A., Newman, M. C., Cromwell, G. L., and Lindemann, M. D. (2002). Brewer's dried yeast as a source of mannan oligosaccharides for weanling pigs. **Journal of Animal Science**. 80: 2619-2628.
- Whyte, J. N. C., and Sherry, K. L. (2001). Pigmentation and composition of flesh of Atlantic salmon fed diets supplemented with the yeast *Phaffiarhodozyma*. **North American Journal of Aquaculture**. 63: 52-57.

- Yoshida, T., Kruger, R., and Inglis, V. (1995). Augmentation of non-specific protection in African catfish, *Clarias gariepinus* (burchell), by the long-term oral administration of immunostimulants. **Journal of Fish Diseases**. 18: 195-198.
- Zeraï, D.B., Fitzsimmons, K.M., Collier, R.J., and Duff, G.C. (2008). Evaluation of brewer's waste as partial replacement of fish meal protein in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, diets. **Journal of the World Aquaculture Society**. 39: 556-564.
- Zhu, H., Liu, H., Yan, J., Wang, R., and Liu, L. (2012). Effect of yeast polysaccharide on some hematologic parameter and gut morphology in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Fish Physiol Biochem**. 38: 1441-1447.
- Zhu, S., Ramaswamy, H. S., and Simpson, B. K. (2004). Effect of high-pressure versus conventional thawing on color, drip loss and texture of Atlantic salmon frozen by different methods. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol**. 37: 291-299.
- <http://www.bgmarvels.com>
- <http://www.foodnetworksolution.com>
- <http://okdbeyoung.wordpress.com>
- <http://premacare.blogspot.com/2013/04/beta-glucan-4.html>
- <http://www.royal-canin.de>



ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ



1. การวิเคราะห์ความชื้นและสิ่งแห้ง (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ AOAC, 2000)

1.1 วัสดุและอุปกรณ์

- 1) ตู้อบแห้ง (Dry oven)
- 2) ถ้วยอะลูมิเนียม
- 3) ช้อนตักตัวอย่าง
- 4) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 5) โถดูดความชื้น หรือ ตู้ดูดความชื้น (Desiccator)

1.2 วิธีการวิเคราะห์

- 1) นำถ้วยอะลูมิเนียมอบที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ไม่เกิน 2 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งและบันทึกน้ำหนัก
- 2) ชั่งตัวอย่างประมาณ 5 กรัม ใส่ในถ้วยอะลูมิเนียมแล้วเขย่าเล็กน้อยเพื่อให้ตัวอย่างกระจายเต็มพื้นที่สม่ำเสมอ แล้วนำไปอบที่ 105°C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง
- 3) เมื่อครบกำหนดเวลา นำถ้วยออกจากตู้อบใส่โถดูดความชื้น แล้วปล่อยให้เย็น ไม่เกิน 2 ชั่วโมง ชั่งและบันทึกน้ำหนัก

1.3 การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(W_1 - W_2)}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

$$\begin{array}{lll} \text{เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง} & = & 100 - (\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น}) \\ \text{เมื่อ } W_1 & \text{คือ} & \text{น้ำหนักถ้วยอบ + น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} \\ W_2 & \text{คือ} & \text{น้ำหนักถ้วยอบ + น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ} \end{array}$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ AOAC, 2000)

2.1 วัสดุและอุปกรณ์

- 1) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 2) เตาเผา (Muffle furnace)
- 3) ถ้วยกระเบื้องเคลือบสำหรับเผาเถ้า (Porcelain dish)

4) โถดูดความชื้น (Dessicator)

2.2 วิธีการ

1) นำถ้วยกระเบื้องเคลือบไปอบที่อุณหภูมิ 100°C นาน 1 ชั่วโมง นำไปใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็น แล้วชั่งและบันทึกน้ำหนัก

2) ชั่งตัวอย่างลงในถ้วยประมาณ 2 กรัม แล้วนำไปเผาในเตาเผา ที่มีอุณหภูมิ 600°C นาน 2 ชั่วโมง แล้วปิดสวิตช์เตาเผา รอจนอุณหภูมิลดลง

3) นำถ้วยออกมาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นแล้วชั่งและบันทึกน้ำหนัก

2.3 การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า} = \frac{(W_1 - W_2)}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักถ้วย
 W_2 คือ น้ำหนักถ้วย+น้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา

3. การวิเคราะห์โปรตีนหยาบ (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ AOAC, 2000)

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

- 1) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 2) เครื่องย่อย (Block digester)
- 3) ชุดเครื่องกลั่น (Distilling unit)
- 4) หลอด Kjeldahl digestion flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 5) ชุดไตเตรท
- 6) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 200 มิลลิลิตร
- 7) กระดาษซังสารที่ปราศจากไนโตรเจน สำหรับชั่งและห่อตัวอย่าง
- 8) ตู้ดูดควัน (Fume hood)

3.2 สารเคมี

- 1) กรดซัลฟูริก เข้มข้น 93-98 เปอร์เซ็นต์ (Conc. H_2SO_4)
- 2) สารเร่งปฏิกิริยา (catalyst mixture)
 - เป็นสารผสมระหว่าง Copper sulfate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) กับ Potassium sulfate (K_2SO_4) ในอัตราส่วน 1: 9
- 3) สารอินดิเคเตอร์

-ซิงเมทิลเรด 0.1 กรัม และโบรโมครีซอลกรีน (bromocresol) 0.1 กรัม ละลายใน 96 เปอร์เซ็นต์ เอธิทแอลกอฮอล์ 100 มิลลิลิตร เก็บในที่เย็นไม่ถูกแสง โดยจะให้สีชมพูในสารละลายที่เป็นกรด และให้สีเขียวในสารละลายที่เป็นด่าง

4) Boric acid ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

-ละลายกรดบอริก 40 กรัม ด้วยน้ำกลั่นร้อน รองนสารละลายเย็น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

5) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

-ละลาย NaOH 320 กรัม ในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

6) สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นมาตรฐาน 0.1 N

-ตวงกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้นปริมาณ 9 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร ซึ่งมีน้ำกลั่นบรรจุอยู่บ้าง แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน ได้เป็นสารละลายในกรดเกลือเข้มข้น 0.1 N ซึ่งสามารถหาความเข้มข้นมาตรฐานโดยการชั่ง โซเดียมเตตราโบเรต (Borax, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) ให้ได้น้ำหนักแน่น 0.4 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 50 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 3 ขวด แต่ละขวดเติม mixindicator 2-3 หยด แล้วไตเตรทกับสารละลายกรดเกลือที่เตรียมไว้ข้างต้น สีของสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูที่จุดยุติ คำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดเกลือได้จาก

$$\text{ความเข้มข้นที่แน่นอนของ HCl (N)} = \frac{\text{น้ำหนักของ } \text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O (g)}}{\text{ปริมาตร HCl ที่ใช้ไตเตรท (ml)} \times 0.1907}$$

3.3 วิธีการ

1) ชั่งตัวอย่างอาหารบนกระดาษชั่งสารที่ไม่มีไนโตรเจนเป็นสารประกอบโดยตัวอย่างอาหารที่มีโปรตีนสูงใช้ประมาณ 1-2 กรัม ส่วนอาหารที่มีโปรตีนต่ำ ใช้ประมาณ 2-4 กรัม แล้วนำไปใส่ Kjeldahl flask

2) เติมสารเร่งปฏิกิริยา 1 กรัม และ H_2SO_4 เข้มข้น 15 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

3) นำไปต้มบนเครื่องย่อย โดยนำ Kjeldahl flask ไปต่อเข้ากับเครื่องย่อย ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 380-400°C ย่อยทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง หรือทำการย่อยได้จนได้สารละลายใส หลังจากนั้นนำ flask ไปตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

4) นำ flask ไปต่อเข้ากับเครื่องสำหรับกลั่น โดยจะมีการเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และเติม NaOH 32 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 80 มิลลิลิตร

5) เติม Boric acid 4 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 25 มิลลิลิตร ใน Erlenmeyer flask หยด mixindicator 3 หยด แล้ว นำไปต่อเข้ากับชุดเครื่องกลั่น

6) ทำการกลั่นจนสารละลายใน Erlenmeyer flask มีปริมาตร 200 มิลลิลิตร กรดบอริกจะเปลี่ยนจากสีชมพูแดงเป็นสีเขียว

7) นำสารละลายใน Erlenmeyer flask ไปไทเตรท กับ Std. HCl 0.1 N จนกระทั่งสีเปลี่ยนเป็นสีชมพูแดง จดบันทึกปริมาณที่ใช้ในการไทเตรท

8) ทำ Blank ด้วยวิธีการเดียวกันแต่ไม่ต้องมีตัวอย่าง

3.4 การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน} = \frac{(A-B) \times 0.014 \times N \times 100}{C}$$

เมื่อ	A	คือ	ปริมาตร Std. HCl ที่ใช้ในการไทเตรทตัวอย่าง
	B	คือ	ปริมาตร Std. HCl ที่ใช้ในการไทเตรท Blank
	C	คือ	น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์
	N	คือ	ความเข้มข้นของ Std. HCl ที่ทราบว่ามีมาตรฐานแน่นอน ประมาณ 0.1 N

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีน} = \text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน} \times \text{Empirical factor}$$

* Empirical factor

ค่าโดยทั่วไป	6.25
โปรตีนจากเมล็ดธัญพืช	5.70
โปรตีนจากนม	6.38

4. การวิเคราะห์ไขมันหยาบ (Soxhlet apparatus) (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ AOAC, 2000)

4.1 วัสดุและอุปกรณ์

- 1) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 2) เครื่องสกัดไขมัน Auto soxhlet (Soxtec 2050)
- 3) Cellulose thimble
- 4) ถ้วยรองรับ (Extraction cup) ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 5) ตู้อบแห้ง (Dry oven)
- 6) โถดูดความชื้น หรือ ตู้ดูดความชื้น (Desiccator)
- 7) สารที่ผ่านการแช่ Petroleum ether

4.2 สารเคมี

- 1) Petroleum ether จุดเดือด 40-60°C

4.3 วิธีการ

- 1) ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดขนาด 1 มิลลิกรัม ประมาณ 1-2 กรัม ลงใน cellulose thimble ที่มี การรองกัน thimble ด้วยสำลี
- 2) นำ thimble ที่มีตัวอย่าง ไปอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 105°C นาน 3 ชั่วโมง
- 3) นำถ้วยรองรับเปล่าไปอบที่อุณหภูมิ 105°C นาน 1 ชั่วโมง แล้วนำออกมาปล่อยให้เย็นใน โถดูดความชื้น ชั่งและบันทึกน้ำหนัก
- 4) ใส่ petroleum ether ประมาณ 80 มิลลิกรัม ลงในถ้วยรองรับ แล้วต่อเข้ากับเครื่องสกัด Soxhlet
- 5) ใช้เวลาสกัดประมาณ 2 ชั่วโมง คอยตรวจสอบอยู่เสมอว่า มีน้ำไหลผ่าน condense อยู่ตลอดเวลา
- 6) หลังจากเสร็จ ให้นำถ้วยรองรับที่มีไขมันอยู่ในที่ 105°C นาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำให้ เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งและบันทึกน้ำหนัก

4.4 การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมันหยาบ} = \frac{(W_2 - W_1) \times 100}{C}$$

เมื่อ	W_1	คือ	น้ำหนักของถ้วยรองรับที่มีน้ำหนักคงที่
	W_2	คือ	น้ำหนักของถ้วยรองรับ + ไขมัน
	C	คือ	น้ำหนักตัวอย่าง

5. การวิเคราะห์เยื่อใยหยาบ (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ AOAC, 2000)

5.1 วัสดุและอุปกรณ์

- 1) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 2) เครื่องวิเคราะห์เยื่อใยหยาบ
- 3) ครุชีเบิ้ล (Fritted glass crucible)
- 4) ตู้อบแห้ง (Dry oven)
- 5) โถดูดความชื้น หรือ ตู้ดูดความชื้น (Desiccator)

5.2 สารเคมี

- 1) สารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ความเข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์

-ละลาย H_2SO_4 12.5 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

2) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์

-ละลาย NaOH 12.5 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

3) อะซีโตน

4) Octanol

5.3 วิธีการ

- 1) ชั่งน้ำหนักครุชีเบิลที่ล้างสะอาด และผ่านการอบให้แห้งแล้ว
- 2) ชั่งตัวอย่างอาหารที่ผ่านการสกัดไขมันแล้ว ประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในครุชีเบิล
- 3) นำถ้วยครุชีเบิลต่อเข้ากับเครื่องวิเคราะห์เชื้อใยหยาบ
- 4) เติมกรดซัลฟูริก 1.25 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 200 มิลลิลิตร หยด octanol 2-3 หยด เพื่อป้องกันการเกิดฟอง เปิดเครื่องวิเคราะห์ต้มให้เดือด แล้วต้มต่อไปอีก 30 นาที (นับเวลาดังแต่เริ่มเดือด)
- 5) เมื่อครบ 30 นาที ให้กรองเอากรดออกโดยล้างด้วยน้ำกลั่นร้อน 3-4 ครั้ง
- 6) เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.25 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 200 มิลลิลิตร หยด octanol 2-3 หยด เพื่อป้องกันการเกิดฟอง เปิดเครื่องวิเคราะห์ต้มให้เดือด แล้วต้มต่อไปอีก 30 นาที (นับตั้งแต่เริ่มเดือด) เมื่อครบ 30 นาที ให้กรองเอาด่างออกโดยล้างน้ำกลั่นร้อน 3-4 ครั้ง
- 7) นำครุชีเบิลออกจากเครื่องวิเคราะห์เชื้อใยแล้วนำไปล้างด้วย acetone ประมาณ 30 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง
- 8) นำครุชีเบิล+เชื้อใย ไปอบในตู้อบแห้งที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งและบันทึกน้ำหนัก
- 9) นำครุชีเบิลในข้อ 8) ไปเผาที่อุณหภูมิ 600°C เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งและบันทึกน้ำหนัก

5.4 การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์เชื้อใยหยาบ} = \frac{(W_2 - W_3)}{W_1} \times 100$$

เมื่อ	W_1	คือ	น้ำหนักตัวอย่าง
	W_2	คือ	น้ำหนัก crucible+น้ำหนักตัวอย่างหลังการอบ
	W_3	คือ	น้ำหนัก crucible+น้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา

6. การวิเคราะห์หาคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่าย (Nitrogen free extract, NFE)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ NFE} = 100 - (\% \text{ Moisture} + \% \text{ Ash} + \% \text{ CP} + \% \text{ EE} + \% \text{ CF})$$

เมื่อ % Moisture	คือ	เปอร์เซ็นต์ความชื้น
% Ash	คือ	เปอร์เซ็นต์เถ้า
% CP	คือ	เปอร์เซ็นต์โปรตีนหยาบ
% EE	คือ	เปอร์เซ็นต์ไขมัน
% CF	คือ	เปอร์เซ็นต์เยื่อใยหยาบ

7. วิธีการวัดค่า pH meter ตามวิธีการของ Benjakul and Bauer (2001)

7.1 วัสดุและอุปกรณ์

- 1) เครื่อง pH meter
- 2) Magnetic bar
- 3) ปีกเกอร์
- 4) เครื่อง plate stirrer
- 5) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

7.2 วิธีการ

- 1) ทำการตรวจสอบเครื่องโดยการตั้งค่า AUTO CALIBRATION WITH TWO BUFFERS โดยเสียบขั้ว electrode เข้ากับตัวเครื่อง เลือก buffer 2 ค่า ให้ครอบคลุมช่วง pH ของตัวอย่าง ที่จะทำการวัด โดยค่าทั้ง 2 ต่างกันไม่เกิน 3 pH Unit
- 2) ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดให้เป็นเนื้อเดียวกัน 10 กรัม ลงในปีกเกอร์และผสมด้วยน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร ใส่ Magnetic bar ลงในปีกเกอร์ปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่อง plate stirrer
- 3) นำ electrode ของ pH จุ่มลงในตัวอย่าง รอจนค่านิ่ง แล้วจึงบันทึกค่า pH

8. วิธีการวัดค่าสีของเนื้อ ตามวิธีของ Hunter (1987)

8.1 วัสดุและอุปกรณ์

- 1) เครื่อง Hunter Lab ยี่ห้อ Color Quest XE Spectrophotometer (Hunter Associates Laboratory Inc., Virginia, USA)
- 2) กระดาษชำระชนิดหนา

8.2 วิธีการ

- 1) เปิดโปรแกรม universal
- 2) ทำการปรับค่ามาตรฐาน โดยเทียบกับแผ่นเทียบสี (Standardization) ดังนี้
 - กดปุ่มคำสั่ง cal standardize
 - เลือกขนาดช่องวางตัวอย่าง (Port size) โดยปกติจะต้องเลือกขนาด 8 มิลลิเมตร แล้วกดปุ่ม OK หน้าจอจะแสดง “Please place the Black Glass at the reflectance port/OK” ให้ทำการวางแผ่นเทียบแผ่นสีดำลงบนช่องด้านบนของเครื่องวัดแล้วกดปุ่ม OK
 - หลังจากนั้นหน้าจอจะแสดง “Please place the white standard tile at the reflectance port/OK” ให้ทำการวางแผ่นเทียบสีขาวลงบนช่องด้านบนของเครื่องวัดและกดปุ่ม OK
 - เมื่อเครื่องทำการปรับตั้งค่าเรียบร้อยแล้ว จะแสดง “Sensor successfully standardized/OK” หลังจากนั้นทำการกดปุ่ม OK ซึ่งควรมีการทำการ standardized ทุกครั้งที่มีการเปิดเครื่องใหม่
 - ทำการกำหนดค่าสีมาตรฐานโดยเรียกหน้าต่าง master color data window เพื่อแสดงค่าสีที่วัดได้ แล้ววางแผ่น standard ที่ต้องการกำหนดค่า แล้วกดปุ่มคำสั่ง read std. เพื่อกำหนดค่าที่อ่านให้เป็นมาตรฐานและเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบกับค่าตัวอย่าง
- 3) นำตัวอย่างเนื้อที่มีความกว้าง×ยาว×หนา เท่ากับ 3×3×1 เซนติเมตร วางลงบนช่องวางตัวอย่างให้แนบสนิท แล้วกดปุ่มคำสั่ง read sam. เพื่ออ่านค่าตัวอย่าง
- 4) ใส่รายละเอียดตัวอย่างที่ต้องการวัด แล้วกดปุ่ม OK ค่าที่อ่านได้จะแสดงในบรรทัดของ sample

9. การวิเคราะห์ภูมิคุ้มกันรวม (Total Immunoglobulin) คัดแปลงจากวิธีการของ Amar *et al.* (2004)

9.1 วัสดุและอุปกรณ์

- 1) Auto Micropipette
- 2) หลอด eppendorf
- 3) Vortex
- 4) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
- 5) Plate 96 well
- 6) เครื่อง ELISA

9.2 สารเคมี

- 1) Polythylene glycol (PEG) 24 เปอร์เซ็นต์
 - ชั่ง Polythylene glycol 24 กรัม และเติมน้ำ DI ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
- 2) ชุดทดสอบโปรตีน (Biuret method, Biotech reagent)

9.3 การเตรียมกราฟมาตรฐานโปรตีน

- 1) ใช้ Protein standard ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 6.0 g/dl (ที่บรรจุอยู่ในกล่องชุดทดสอบโปรตีน)

2) ทำการเจือจาง Protein standard ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน (DI) ให้สารละลายมีความเข้มข้นเท่ากับ 0 1 2 4 และ 6 g/dl หลังจากนั้นดูดสารละลายลงใน Plate 96 well หลุมละ 150 ไมโครลิตร แล้วทำการวัดค่า Absorbance ที่ความยาวคลื่นแสง 550 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง ELISA แล้วนำมาเขียนกราฟมาตรฐาน Protein standard

9.4 วิธีการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ภูมิคุ้มกันรวม จะทำได้โดยอาศัยหลักการหาค่าส่วนต่างระหว่างโปรตีนในพลาสมาทั้งหมดกับโปรตีนที่ตกตะกอนด้วย Polyethylene glycol (PEG) ซึ่ง PEG มีคุณสมบัติในการจับกับโปรตีนชนิดโกลบูลิน ดังนั้น ค่าส่วนต่างที่ได้ก็จะเป็นภูมิคุ้มกันรวม (Total Immunoglobulin)

1) ทำการตกตะกอนพลาสมา โดยนำพลาสมาใส่ลงในหลอด eppendorf 10 ไมโครลิตร และใส่ PEG 24 เปอร์เซนต์ 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบเท่ากับ 12500 rpm อุณหภูมิ 4°C นาน 10 นาที แล้วทำการดูดส่วนใสออกมาใส่หลอด eppendorf หลอดใหม่

2) นำเอาส่วนใสที่ได้จาก ข้อ 1) และพลาสมาที่ไม่ได้ทำการตกตะกอน มาทำการทดสอบด้วยชุดทดสอบโปรตีน โดยใส่ตัวอย่างที่ต้องการทดสอบลงในหลอด eppendorf เป็นจำนวน 5 ไมโครลิตร และเติม Biuret reagent ลงในหลอดตัวอย่างจำนวน 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex และตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่า Absorbance ที่ความยาวคลื่นแสง 550 นาโนเมตร โดยใช้ Blank ปรับ 0

3) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานซึ่งทราบความเข้มข้นของโปรตีนที่แน่นอน

9.5 การคำนวณ

$$\text{Total immunoglobulin} = A - B$$

เมื่อ	A	คือ	ความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมาที่ผ่านการตกตะกอน×2
	B	คือ	ความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมาที่ไม่ผ่านการตกตะกอน



ภาคผนวก ข

ตารางแสดงการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS

ตารางที่ ข. 1 One way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาสวายโพงที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)

Parameter	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Initial. Wt	Between Groups	.158	5	.032	.313	.896
	Within Groups	1.215	12	.101		
	Total	1.373	17			
Final. Wt	Between Groups	31681.182	5	6336.236	29.934	.000
	Within Groups	2540.083	12	211.674		
	Total	34221.265	17			
Weight gain	Between Groups	31749.279	5	6349.856	29.781	.000
	Within Groups	2558.655	12	213.221		
	Total	34307.934	17			
SGR	Between Groups	.022	5	.004	29.877	.000
	Within Groups	.002	12	.000		
	Total	.023	17			
DGR	Between Groups	.542	5	.108	31.046	.000
	Within Groups	.042	12	.003		
	Total	.583	17			

ตารางที่ ข. 2 One way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้
อาหารของปลาสวายโพงที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลา
ป่นในสูตรอาหาร (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)

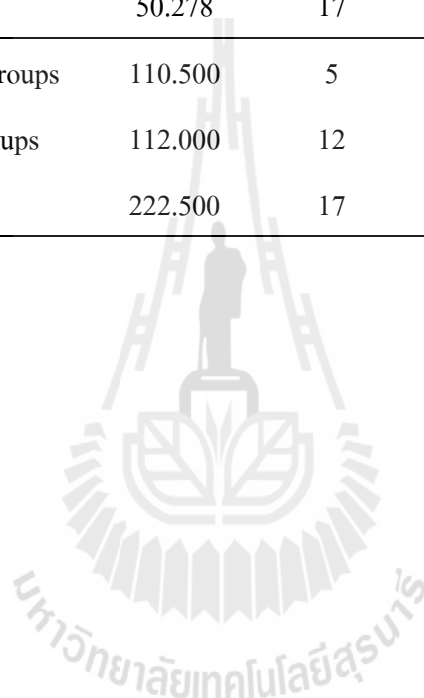
Parameter	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
FCR	Between Groups	.132	5	.026	1.634	.225
	Within Groups	.193	12	.016		
	Total	.325	17			
Feed intake	Between Groups	103545.720	5	20709.144	5.386	.008
	Within Groups	46139.345	12	3844.945		
	Total	149685.065	17			
FE	Between Groups	33.638	5	6.728	2.082	.138
	Within Groups	38.782	12	3.232		
	Total	72.420	17			
PER	Between Groups	.024	5	.005	1.555	.246
	Within Groups	.038	12	.003		
	Total	.062	17			
HSI	Between Groups	.006	5	.001	.024	1.000
	Within Groups	2.580	48	.054		
	Total	2.586	53			
Survival rate	Between Groups	1596.667	5	319.333	9.842	.001
	Within Groups	389.333	12	32.444		
	Total	1986.000	17			

ตารางที่ ข. 3 One way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของค่าโลหิตวิทยาของปลาซวายโมงที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)

Parameter	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
WBC	Between Groups	18.000	5	3.600	2.400	.099
	Within Groups	18.000	12	1.500		
	Total	36.000	17			
RBC	Between Groups	.081	5	.016	.914	.504
	Within Groups	.212	12	.018		
	Total	.293	17			
MCV	Between Groups	686.356	5	137.271	.388	.848
	Within Groups	4249.767	12	354.147		
	Total	4936.123	17			
MCH	Between Groups	380.744	5	76.149	1.721	.204
	Within Groups	530.960	12	44.247		
	Total	911.704	17			
MCHC	Between Groups	19.238	5	3.848	4.891	.011
	Within Groups	9.440	12	.787		
	Total	28.678	17			
Hb	Between Groups	3.111	5	.622	2.800	.067
	Within Groups	2.667	12	.222		
	Total	5.778	17			
Hct	Between Groups	4.667	5	.933	.525	.753
	Within Groups	21.333	12	1.778		
	Total	26.000	17			

ตารางที่ ข. 4 One way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของค่าโลหิตวิทยาของปลาสวายโมงที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)

Parameter	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Thrombocyte	Between Groups	27.611	5	5.522	2.924	.059
	Within Groups	22.667	12	1.889		
	Total	50.278	17			
Lymphocyte	Between Groups	110.500	5	22.100	2.368	.103
	Within Groups	112.000	12	9.333		
	Total	222.500	17			



ตารางที่ ข. 5 One way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของค่าชีวเคมีในโลหิต
 วิทยาของปลาสวายโมงที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทน
 ปลาป่นในสูตรอาหาร (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)

Parameter	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Glucose	Between Groups	72.444	5	14.489	.855	.538
	Within Groups	203.333	12	16.944		
	Total	275.778	17			
Cholesterol	Between Groups	1.578	5	.316	.159	.973
	Within Groups	23.839	12	1.987		
	Total	25.417	17			
BUN	Between Groups	.020	5	.004	10.568	.000
	Within Groups	.005	12	.000		
	Total	.024	17			
Plasma protein	Between Groups	.046	5	.009	92.900	.000
	Within Groups	.001	12	.000		
	Total	.048	17			

ตารางที่ ข. 6 One way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของค่าการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันของปลาชเวยโมงที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)

Parameter	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ACH50	Between Groups	5.720	5	1.144	229.968	.000
	Within Groups	.030	6	.005		
	Total	5.750	11			
Lysozyme activity	Between Groups	.319	5	.064	547.362	.000
	Within Groups	.001	12	.000		
	Total	.321	17			
Total Ig	Between Groups	.145	5	.029	80.406	.000
	Within Groups	.004	12	.000		
	Total	.150	17			

ตารางที่ ข. 7 One way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาสาวยโม่งที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)

Parameter	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ความชื้น	Between Groups	7.422	5	1.484	1.204	.331
	Within Groups	36.999	30	1.233		
	Total	44.420	35			
โปรตีน	Between Groups	18.044	5	3.609	1.396	.254
	Within Groups	77.563	30	2.585		
	Total	95.607	35			
ไขมัน	Between Groups	.403	5	.081	2.150	.129
	Within Groups	.450	12	.037		
	Total	.853	17			
เถ้า	Between Groups	30.073	5	6.015	2.323	.067
	Within Groups	77.666	30	2.589		
	Total	107.739	35			

ตารางที่ ข. 8 One way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของค่าองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาสดที่ยังมีชีวิตที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)

Parameter	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ความชื้น	Between Groups	878.459	5	175.692	.892	.499
	Within Groups	5909.616	30	196.987		
	Total	6788.074	35			
โปรตีน	Between Groups	1120.217	5	224.043	3.790	.009
	Within Groups	1773.593	30	59.120		
	Total	2893.810	35			
ไขมัน	Between Groups	1.467	5	.293	1.015	.450
	Within Groups	3.467	12	.289		
	Total	4.933	17			
เถ้า	Between Groups	1.710	5	.342	1.631	.182
	Within Groups	6.288	30	.210		
	Total	7.997	35			

ตารางที่ ข. 9 One way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของค่าสีของเนื้อปลาสด
 โมงที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร (30 45
 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)

Parameter	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
L*-value	Between Groups	37.335	5	7.467	1.763	.120
	Within Groups	1347.222	318	4.237		
	Total	1384.557	323			
a*-value	Between Groups	86.301	5	17.260	22.157	.000
	Within Groups	247.721	318	.779		
	Total	334.022	323			
b*-value	Between Groups	643.041	5	128.608	62.714	.000
	Within Groups	652.129	318	2.051		
	Total	1295.170	323			
Whiteness	Between Groups	56.667	5	11.333	2.648	.023
	Within Groups	1361.015	318	4.280		
	Total	1417.682	323			

ตารางที่ ข. 10 One way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เปอร์เซ็นต์การสูญเสียระหว่างการรักษา (drip loss) เปอร์เซ็นต์การสูญเสียหลังการทำให้สุก (cook loss) และลักษณะเนื้อสัมผัสของปลาสาวยโมงที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้ Brewer's yeast ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร (30 45 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์)

Parameter	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pH	Between Groups	.023	5	.005	.478	.786
	Within Groups	.116	12	.010		
	Total	.140	17			
Drip loss	Between Groups	.020	5	.004	.082	.993
	Within Groups	.300	6	.050		
	Total	.320	11			
Cook loss	Between Groups	.013	5	.003	.008	1.000
	Within Groups	5.763	18	.320		
	Total	5.777	23			
Breaking force	Between Groups	42046.117	5	8409.223	4.584	.002
	Within Groups	77045.342	42	1834.413		
	Total	119091.459	47			

ประวัติผู้เขียน

นางสาวจิราพร พงศ์เพชร เกิดเมื่อวันที่ 4 พฤศจิกายน พ.ศ. 2531 ที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เริ่มศึกษาชั้นประถมศึกษาที่โรงเรียนวรวัฒนวิทยา อำเภอสามร้อยยอด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ได้ศึกษาต่อชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายที่โรงเรียนประจวบวิทยาลัย อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์น้ำ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากรวิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี ในปีการศึกษา 2554 และได้ศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ในปี 2554

