รหัสโครงการ SUT1-303-55-12-44

รายงานการวิจัย

ศักยภาพของการใช้แก่นตะวันเป็นอาหารเสริมชีวนะทางเลือกสำหรับปลานิล

(The potential for Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) as an alternative prebiotic for Nile tilapia)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT1-303-55-12-44

รายงานการวิจัย

ศักยภาพของการใช้แก่นตะวันเป็นอาหารเสริมชีวนะทางเลือกสำหรับปลานิล

(The potential for Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) as an alternative prebiotic for Nile tilapia)

คณะผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. สุรินทร บุญอนันธนสาร

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุทิศา เข็มผะกา

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2555

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

มีนาคม 2558

กิตติกรรมประกาศ

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

ผู้วิจัยขอขอบคุณ นายสุนัย พลายมี หัวหน้างานสัตว์น้ำ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี รวมทั้งบุคลกรฝ่ายสนับสนุนทุกท่าน ที่ได้ให้การช่วยเหลือ ให้คำแนะนำต่าง ๆ จนทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

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

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ได้ให้เงินทุนสนับสนุนการวิจัย และขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ในการให้ความอนุเคราะห์การใช้เครื่องมือการวิจัย และฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีในการทำงานวิจัยนี้

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้ทำการทดสอบการใช้อินูลินและแก่นตะวันเป็นสารเสริมพรีไบโอติกส์ในอาหารปลานิล การทดลองนี้มีกลุ่มทดลอง 5 กลุ่ม (แต่ละกลุ่มทดลองมีจำนวนซ้ำ 4 ซ้ำ) ประกอบไปด้วยกลุ่มทดลองที่มีสารเสริมอาหารชนิดของพรีไบโอติกและระดับที่แตกต่างกัน ได้แก่ อาหารที่ไม่มีการเสริมพรีไบโอติก (กลุ่มควบคุม), อาหารที่มีการเสริมอินูลินที่ระดับ 2.5 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และอาหารที่มีการเสริมแก่นตะวันที่ระดับ 5 และ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ทำการทดลองเลี้ยงปลาในบ่อคอนกรีต เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลินมีสมรรถนะการเจริญเติบโตดีกว่าปลาในกลุ่มควบคุม และปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมแก่นตะวันมีสมรรถนะการเจริญเติบโตดีที่สุด ปลาทุกกลุ่มทดลองมีอัตราการรอดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ ค่าความชื้นโปรตีน ไขมัน และเถ้าของปลาทุกกลุ่มทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน ($P>0.05$) การเสริมอินูลินและการเสริมแก่นตะวันในอาหารทำให้ปลามีค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงสูงขึ้น ($P<0.05$) และการเสริมแก่นตะวันที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ ทำให้ค่าฮีโมโกลบินและฮีมาโตคริตสูงขึ้น ($P<0.05$) การศึกษานี้ได้ทำการวิเคราะห์ค่าเคมีในเลือด 14 ค่า และพบว่าการเสริมอินูลินและการเสริมแก่นตะวันทำให้ค่ากลูโคส อัลบูมิน โปรตีน แมกนีเซียม แคลเซียม และเหล็กในเลือดเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อย่างไรก็ตามการเสริมอินูลินและการเสริมแก่นตะวันในอาหารไม่มีผลต่อค่าคอเลสเตอรอล ไตรกลีดซอไรด์ ยูเรียในเลือด ค่าบิลิรูบิน ค่าดัชนีตับ SGOT และ SGPT การเสริมอินูลินที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารทำให้ค่าการทำงานของไลโซไซม์ และค่า alternative complement haemolytic 50 (ACH 50) เพิ่มสูงขึ้น ($P<0.05$) การเสริมแก่นตะวันในอาหารทำให้ปริมาณอิมมูโนโกลบูลินรวม ค่าการทำงานของไลโซไซม์ และค่า ACH 50 เพิ่มสูงขึ้น ($P<0.05$) การเสริมอินูลินและการเสริมแก่นตะวันทำให้ลำไส้มีวิลไลสูงขึ้นและมีจำนวนเซลล์โกเบล็ทสูงขึ้น ($P<0.05$) และส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา การเสริมพรีไบโอติกอินูลินและแก่นตะวันทำให้จำนวน lactic acid bacteria และ *Bifidobacteria* สูงขึ้น และ *Vibrio* ลดลง จากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่าการเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และการเสริมแก่นตะวันในอาหารที่ระดับ 5 – 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีประโยชน์ต่อการพัฒนาเจริญเติบโตและสุขภาพปลานิล ดังนั้นทั้งอินูลินและแก่นตะวันสามารถใช้เป็นสารเสริมพรีไบโอติกส์ให้กับปลา

Abstract

This study evaluated the prebiotic effects of dietary inulin and Jerusalem artichoke tuber (JA) on juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Five dietary treatments (each diet in four replicates) were designed to incorporate inulin at 0 (control), 2.5, and 5 g kg^{-1} and JA at 5 and 10 g kg^{-1}. Fish were reared in concrete ponds for 16 weeks. Fish fed the inulin diets exhibited better growth performances than fish fed the control diet, and fish fed the JA diets had the best growth performances among all diets tested. There were not significant differences in survival rates among experimental diets ($P>0.05$). The body chemical composition including moisture, protein, lipid and ash of fish in all groups appeared to be similar ($P>0.05$). Dietary inulin and JA increased red blood cell number, and dietary inulin at 10 g kg^{-1} for 16 weeks increased haemoglobin and haematocrit ($P<0.05$). Among the fourteen blood chemicals examined, dietary inulin or JA led to increase glucose, albumin, protein, magnesium, calcium, and iron content ($P<0.05$). However, dietary inulin or JA did not affect cholesterol, triglyceride, blood urea nitrogen, bilirubin, SGOT and SGPT ($P>0.05$). Inulin supplementation at 5 g kg^{-1} improved lysozyme activity and alternative complement haemolytic 50 (ACH50) activity ($P<0.05$). Dietary JA increased total immunoglobulin content, lysozyme activity, and ACH50 activity ($P<0.05$). Dietary inulin or JA increased the height of intestinal villi and goblet cell number ($P<0.05$). Inulin or JA supplementation affected the population of intestinal microbiota. Supplementation of either inulin or JA led to increase intestinal lactic acid bacteria and *Bifidobacteria* and decrease *Vibrio* number. These findings indicate that inulin at 5 g kg^{-1} or direct supplementation with JA at 5-10 g kg^{-1} had positive effects on growth and health of Nile tilapia. Thus, both inulin and JA have great potential for use as prebiotics in fish feed.

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ ..... ก
บทคัดย่อ ..... ข
Abstract ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... จ
สารบัญภาพ ..... ช
บทที่ 1 บทนำ
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย 1
การตรวจเอกสารทางวิชาการ 3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย 9
ขอบเขตของการวิจัย 10
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย 10
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย 11
บทที่ 3 ผลการวิจัย
3.1 ผลการศึกษา 24
3.2 อภิปรายผลการศึกษา 43
บทที่ 4 บทสรุป
สรุปผลการวิจัย 50
ข้อเสนอแนะ 52
บรรณานุกรม 53
ประวัติผู้วิจัย 60

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1.1 ประเทศที่มีผลผลิตปลานิล Nile tilapia 10 อันดับแรกของโลก 5
ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ของหัวแก่นตะวัน (JA) 11
ตารางที่ 2.2 กลุ่มทดลองที่ใช้ในการศึกษา..... 12
ตารางที่ 2.3 ปริมาณของวัตถุดิบอาหารและองค์ประกอบทางเคมีของ
อาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลอง..... 13
ตารางที่ 3.1 สมรรถนะการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน
และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 26
ตารางที่ 3.2 สมรรถนะการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน
และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 27
ตารางที่ 3.3 ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่
เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์..... 28
ตารางที่ 3.4 ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิลโตเต็มวัยที่เลี้ยงด้วยอาหาร
ที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 29
ตารางที่ 3.5 ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน
และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์..... 30
ตารางที่ 3.6 ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน
และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 31
ตารางที่ 3.7 ค่าชีวเคมีของโลหิตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน
และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์..... 33
ตารางที่ 3.8 ค่าชีวเคมีของโลหิตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน
และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 34
ตารางที่ 3.9 ค่าภูมิคุ้มกันวิทยาแบบไม่จำเพาะของปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วย
อาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์..... 36
ตารางที่ 3.10 ค่าภูมิคุ้มกันวิทยาแบบไม่จำเพาะของปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วย
อาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 37
ตารางที่ 3.11 ค่าความยาวของวิลไล และจำนวนกอบเลท เซลล์ในลำไส้ส่วนต่าง ๆ
ของปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน
และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 39

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 3.12 ค่าความยาวของวิลไล และจำนวนกอบเลท เซลล์ในลำไส้ส่วนต่าง ๆ
ของปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน
และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ 40
ตารางที่ 3.13 ปริมาณประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลานิลโตเต็มวัย (log CFU g^{-1})
ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวัน
เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 42

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1.1 ผลผลิตของปลานิลจากการเพาะเลี้ยง..... 4
ภาพที่ 1.2 แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke)..... 7
ภาพที่ 1.3 โครงสร้างโมเลกุลของอินูลิน (Inulin)..... 8
ภาพที่ 1.4 โครงสร้างโมเลกุลของฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์
(Fructooligosaccharide; FOS) 8
ภาพที่ 2.1 ช่อง Hemocytometer chamber ที่ใช้นับจำนวนเม็ดเลือดแดง..... 16

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เป็นปลาที่มีการเพาะเลี้ยงเพื่อการบริโภคภายในประเทศ และเป็นปลาน้ำจืดที่มีการส่งออกขายต่างประเทศ มีมูลค่าการผลิตและการส่งออกสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับปลาน้ำจืดชนิดอื่น ปัจจุบันโดยส่วนใหญ่ผลผลิตปลานิลจะได้จากการเพาะเลี้ยงแบบเข้มข้น (intensive aquaculture system) คือมีการเลี้ยงแบบหนาแน่นและมีการให้อาหารสำเร็จรูป (practical diet) อย่างเต็มที่ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาการผลิตอาหารปลานิลทางการค้า (commercial diet) ให้มีคุณค่าทางโภชนาการที่ดี ครบถ้วน เพื่อให้ปลานิลเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว สามารถเลี้ยงปลานิลและเก็บเกี่ยวผลได้ในระยะเวลาอันสั้น ส่งผลให้อุตสาหกรรมการผลิตอาหารปลานิลเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว การวิจัยและพัฒนาการผลิตปลานิลในประเทศไทยได้มีการดำเนินการมาอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ปลานิลมีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว แข็งแรงและมีสุขภาพดี ต้านทานโรคได้ดี ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นทั้งการวิจัยและพัฒนาในด้านต่าง ๆ เช่น การปรับปรุงพันธุ์ปลา การพัฒนาทางด้านอาหารปลา เพื่อหาวัตถุดิบทางเลือกที่มีคุณภาพดี และทำให้อาหารปลานิลมีต้นทุนต่ำลง เช่น การศึกษาวิจัยเพื่อนำเอาพืชและธัญพืชต่าง ๆ มาทดสอบการใช้ในการประกอบสูตรอาหารปลานิล โดยมีการศึกษาหาแหล่งวัตถุดิบอาหารทางเลือกที่มาเป็นแหล่งโปรตีน แหล่งพลังงานทั้งแหล่งไขมันและแป้ง นอกจากนี้การหาแหล่งของสารเสริม (feed additives) ในอาหารปลาก็เป็นอีกทางหนึ่งในการวิจัยและพัฒนาอาหารปลา เนื่องจากสารเสริมในอาหารส่วนใหญ่จะเป็นการนำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้นถ้ามีการศึกษาวิจัยเพื่อหาแหล่งของสารเสริมอาหารในประเทศได้ จะเป็นอีกทางหนึ่งที่จะพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารปลานิลแบบพึ่งพาตนเองในประเทศ

สารเสริมในอาหาร (feed additives) เป็นสารอาหารที่สำคัญในการผลิตอาหารปลาสำหรับระบบการเลี้ยงปลาแบบเข้มข้น เนื่องจากในระบบการเลี้ยงปลาแบบเข้มข้นจะเป็นการเลี้ยงปลาอย่างหนาแน่น ปลาจะได้รับอาหารสมทบเป็นหลัก และได้รับประโยชน์จากอาหารธรรมชาติน้อย ทำให้ปลาอาจได้แร่ธาตุและวิตามินในอาหารได้ไม่ครบถ้วน ดังนั้นการพัฒนาสารเสริมในอาหารปลาจึงมีความจำเป็นในการเพาะเลี้ยงปลานิลซึ่งส่วนใหญ่เป็นระบบการเลี้ยงในเชิงธุรกิจ สารเสริมในอาหารชนิดพรีไบโอติก (prebiotic) เป็นสารเสริมอีกชนิดหนึ่งที่มักใช้ในอาหารปลา โดยพรีไบโอติกที่เสริมในอาหารปลาจะช่วยเสริมการเจริญเติบโตของโปรไบโอติก หรือจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อปลา ส่งผลให้ปลามีประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหารได้ดีขึ้น มีสมรรถนะการเจริญเติบโตสูงขึ้น นอกจากนี้ช่วยเสริมสุขภาพปลาให้มีภูมิคุ้มกันสูงขึ้นด้วย

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

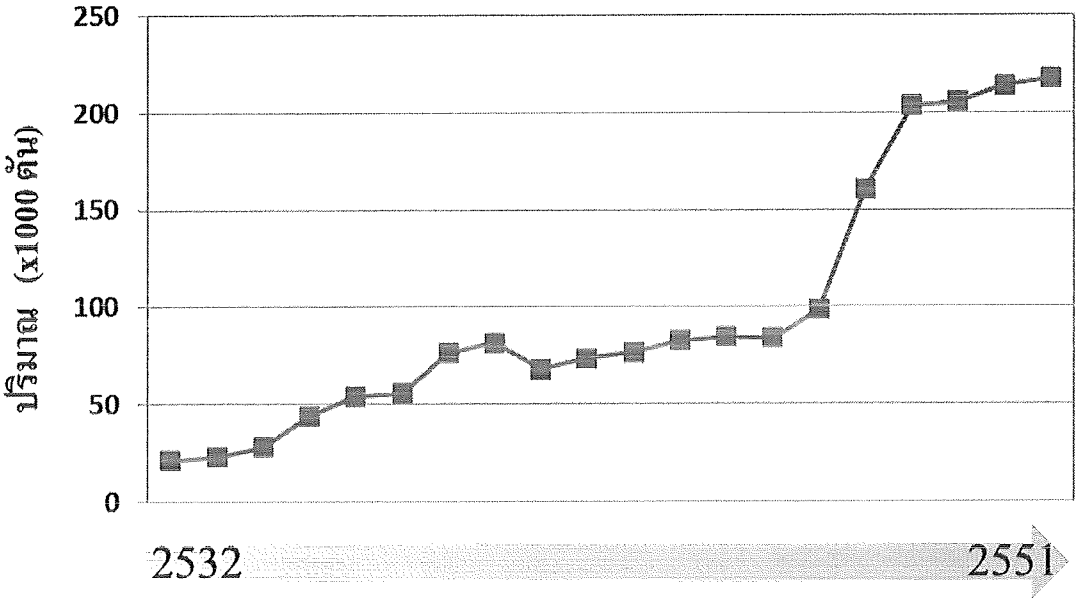
ปัจจุบันได้มีการผลิตอินูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ออกมาจำหน่ายเชิงการค้า ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการนำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้นถ้ามีการศึกษาหาแหล่งของอินูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ภายในประเทศได้ น่าจะนำไปสู่การผลิตอาหารปลาที่มีต้นทุนต่ำ และเพื่อให้เป็นอุตสาหกรรมแบบพึ่งพาตนเองภายในประเทศได้ แก่นตะวัน (Jerusalem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

ในการศึกษาครั้งนี้ จึงเป็นการศึกษาถึงผลของการเสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันในอาหารปลานิล เพื่อเป็นการศึกษาถึงศักยภาพในการใช้แก่นตะวันเป็นสารเสริมในอาหารปลาโดยตรง โดยไม่ต้องทำการสกัดสารพรีไบโอติกจากแก่นตะวัน โดยศึกษาถึงผลของการใช้อินูลินและแก่นตะวันต่อต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ปริมาณจุลินทรีย์ในลำไส้ และค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่บ่งบอกถึงสุขภาพปลา เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการที่จะพัฒนาในการใช้แก่นตะวันเป็นสารเสริมพรีไบโอติกในอาหารปลาในเชิงธุรกิจต่อไป

การตรวจเอกสารวิชาการ

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

ปัญหาหนึ่งของการเลี้ยงปลานิลในปัจจุบันนี้คือการเกิดโรคระบาดในปลานิล ได้มีรายงานเกี่ยวกับการเกิดโรคระบาดในปลานิลมากขึ้น โดยเฉพาะในช่วงฤดูกาลที่คุณภาพน้ำมีความแปรปรวนสูง ก่อให้เกิดการใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารปลานิลเพื่อป้องกันและรักษาโรคมากขึ้น ดังนั้นการศึกษาวิจัยในปลานิลในปัจจุบัน จึงเน้นไปด้านการป้องกันโรคในปลานิล การพัฒนาการใช้สารเสริมในอาหารที่มีผลต่อการเพิ่มภูมิต้านทานโรคให้กับปลานิลเป็นแนวทางหนึ่งที่น่าจะนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงปลานิลเชิงการค้าให้จริงจัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าสารเสริมนั้นมีคุณสมบัติในการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารปลาให้ดีขึ้นได้ด้วย ก็จะเป็นการพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแบบปลอดภัยและยั่งยืน



ภาพที่ 1.1 ผลผลิตของปลานิลจากการเพาะเลี้ยง

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

ตารางที่ 1.1 ประเทศที่มีผลผลิตปลานิล Nile tilapia 10 อันดับแรกของโลก

หน่วย : 1,000 ตัน

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

ที่มา : สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร (2552)

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

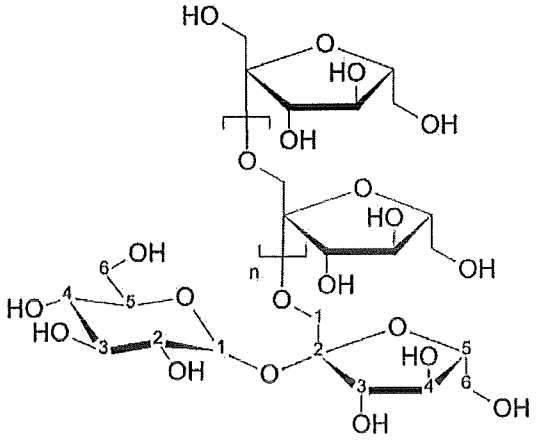
แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke) เป็นพืชหัวใต้ดินคล้ายมันฝรั่งที่อยู่ในตระกูลเดียวกันกับทานตะวัน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Helianthus tuberosus* มีถิ่นกำเนิดมาจากทวีปอเมริกาเหนือ (Rogers et al., 1982; Kays and Nottingham, 2007) โดยใช้บริโภคเป็นอาหาร และต่อมาจึงใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ (ภาพที่ 1.2) (Wyse and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

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

Clostridium และ *E. Coli* ทำให้ปริมาณแอมโมเนียในลำไส้และในกระแสเลือดลดลง มีผลยับยั้งสารก่อมะเร็ง การสังเคราะห์ไขมันในตับ ส่งผลให้ระดับไขมัน และคอเลสเตอรอล (Cholesterol) ในเลือดลดลง (Younes et al., 1995; Kaur and Gupta, 2002)

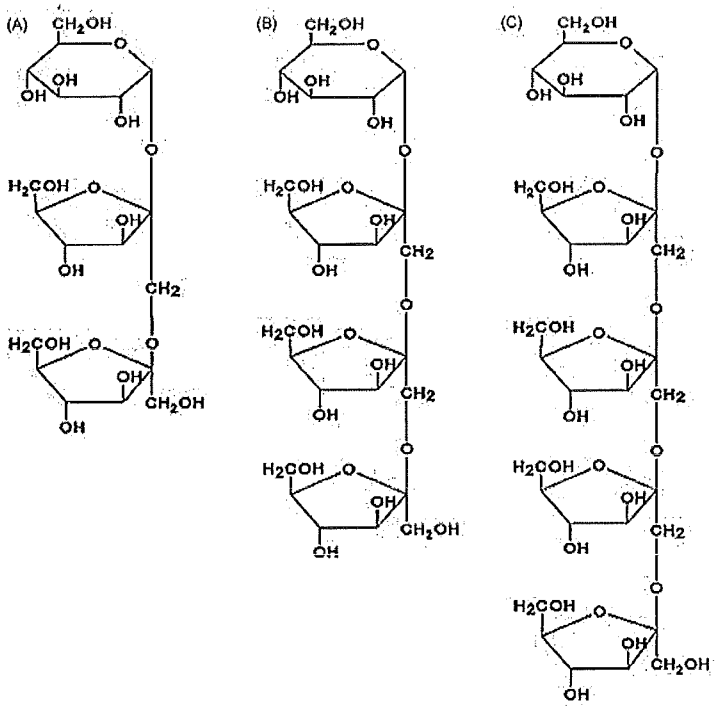
ภาพที่ 1.2 แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke)

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



ภาพที่ 1.3 โครงสร้างโมเลกุลของอินูลิน (Inulin)

ที่มา: Wikipedia Foundation. Inc. (2013)



ภาพที่ 1.4 โครงสร้างโมเลกุลของฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (Fructooligosaccharide; FOS)

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

ที่มา: (Kuhn and Filho, 2010)

อินูลิน และฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ เป็น Dietary fiber ที่ไม่ถูกย่อยในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก แต่จะถูกย่อยโดยแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่เพื่อเป็นอาหาร โดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียที่มีเอ็นไซม์อินนูเลส (Inulase) (Leon, 1999; Patkai et al., 2002) จึงได้ถูกนำมาใช้เป็นพรีไบโอติกเสริมในอาหารปลา เพราะมีบทบาทต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร เพิ่มอัตราการเจริญเติบโต ลดแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค (Enteropathogen) ให้ลดจำนวนลง (Gibson et al., 2004) จึงทำให้มีประโยชน์ต่อสุขภาพเพราะเป็นการเพิ่มภูมิคุ้มกันโรคให้กับปลาได้ (Grisdake-Helland et al. 2008) แต่การทดลองส่วนใหญ่เป็นการทดลองในปลาต่างประเทศซึ่งเป็นการทดลองใช้สารพรีไบโอติกต่าง ๆ ได้แก่ Mannanoligosaccharide, Brewers yeast (GroBiotic) (Li and Gatlin, 2004; Mundheim et al. 2004; Refstie et al. 2006) ผลงานศึกษาเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าสารพรีไบโอติก มีศักยภาพในการนำมาใช้ประโยชน์เป็นสารเสริมในอาหารปลา เพื่อเป็นการพัฒนาการใช้สารพรีไบโอติกส์ เป็นสารเสริมในอาหารปลานิลเพื่อให้เกิดรูปแบบที่นำไปใช้ได้จริง เป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้เองในประเทศ และใช้เป็นประโยชน์ได้จริงโดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับการเกษตรซึ่งเป็นกิจกรรมหลักของประเทศไทย ควรมีการศึกษาวิจัยในการนำเอาผลิตภัณฑ์สุขภาพจากแก่นตะวันซึ่งมีองค์ประกอบของอินูลิน และฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ ที่ผลิตได้เองภายในประเทศมาใช้เป็นสารเสริมพรีไบโอติกในอาหารปลานิลซึ่งเป็นปลาเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปพัฒนาในเชิงอุตสาหกรรมการเกษตร

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

การศึกษาวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาถึงผลของการใช้อินูลินและผงแก่นตะวันเป็นสารเสริมในอาหารปลา โดยมีวัตถุประสงค์ของการศึกษาดังต่อไปนี้

1. เพื่อศึกษาถึงระดับที่เหมาะสมของการใช้อินูลินเป็นสารเสริมในอาหารปลานิลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา สุขภาพปลา จุลสัณฐานของลำไส้ปลา และประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา
2. เพื่อศึกษาถึงความสามารถในการใช้ผงแก่นตะวันเป็นสารเสริมในอาหารปลานิลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา สุขภาพปลา จุลสัณฐานของลำไส้ปลา และประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา โดยการเปรียบเทียบกับการใช้อินูลินเป็นสารเสริมในอาหาร

ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้จะเป็นการใช้อินูลินและผงแก่นตะวันเป็นสารเสริมพรีไบโอติกในอาหารปลานิลสำเร็จรูป โดยศึกษาถึงผลดังกล่าวในปลานิลที่ระยะปลาวัยรุ่นจนถึงระยะปลาขนาดตลาด ประมาณ 400 – 500 กรัม โดยสูตรอาหารปลานิลที่ได้กำหนดจะใช้วัตถุดิบอาหารที่เป็นที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารปลานิลทางการค้า อินูลินที่ใช้เป็นอินูลินที่ได้ผลิตเพื่อใช้เป็นสารเสริมพรีไบโอติกในอาหารสัตว์ และกำหนดระดับอินูลินในการทดลองให้อยู่ในช่วงที่บริษัทผู้ผลิตแนะนำให้ใช้ในอาหารปลาทั่วไป เพื่อนำระดับการใช้ดังกล่าวเป็นตัวเปรียบเทียบกับการใช้ผงแก่นตะวันเป็นสารเสริมในอาหารโดยตรง ซึ่งจะใช้ผงแก่นตะวันในระดับที่มีฟรุคแตนเทียบเท่ากับระดับของอินูลินทางการค้า

การศึกษาถึงผลของการเสริมสารพรีไบโอติกในอาหารปลานิลนี้จะศึกษาถึงผลของการเสริมสารดังกล่าวต่อค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต และทำการตรวจวัดพารามิเตอร์ด้านสุขภาพของปลา โดยวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา ค่าชีวเคมีของโลหิต ค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง และติดตามผลของการเสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันในอาหารต่อจุลสัณฐานวิทยาของลำไส้ และปริมาณประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของปลานิล นอกจากนี้จะมีการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลานิลเพื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของคุณค่าทางโภชนะของปลานิลเมื่อได้รับอินูลิน และผงแก่นตะวัน

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

ผลการวิจัยในครั้งนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาคุณภาพอาหารสำเร็จรูปสำหรับปลานิล เพื่อปรับปรุงสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลานิลและสุขภาพปลานิล โดยจะเป็นการทดสอบถึงผลของการใช้อินูลินเป็นสารเสริมพรีไบโอติกในอาหารสำเร็จรูปสำหรับปลานิล นอกจากนี้ผลของการศึกษาเปรียบเทียบการใช้ผงแก่นตะวันกับการใช้อินูลินเป็นอาหารเสริมพรีไบโอติกในอาหารสำเร็จรูปสำหรับปลานิล จะนำไปสู่การพัฒนาการใช้แก่นตะวันซึ่งเป็นพืชที่สามารถปลูกได้ภายในประเทศมาใช้เป็นอาหารเสริมพรีไบโอติกโดยตรง ซึ่งเป็นการช่วยลดการนำเข้าพรีไบโอติกจากต่างประเทศ ก่อให้เกิดการอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลานิลแบบพึ่งพาตนเองในประเทศไทย เพื่อให้การเพาะเลี้ยงปลานิลในเมืองไทยเป็นการเกษตรแบบยั่งยืน

บทที่ 2
วิธีดำเนินการวิจัย

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแก่นตะวัน

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

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

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ของหัวแก่นตะวัน (JA)

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

2. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) เพื่อศึกษาถึงผลของการเสริมอินูลิน (inulin) ที่แตกต่างกัน 2 ระดับ และผลของการเสริมผงแก่นตะวันที่แตกต่างกัน 2 ระดับ และกลุ่มควบคุม คือสูตรอาหารพื้นฐาน (basal diet) ที่ไม่มีการเสริมสารพรีไบโอติก (prebiotic) ดังนั้นในการศึกษาจึงมีกลุ่มทดลอง (treatment) 5 กลุ่ม และแต่ละกลุ่มทดลองมี 4 ซ้ำ (Replication) กลุ่มทดลองแสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 กลุ่มทดลองที่ใช้ในการศึกษา

กลุ่มทดลอง (ตัวย่อกลุ่มทดลอง)	อาหารทดลอง
กลุ่มควบคุม (C)	สูตรอาหารพื้นฐาน (basal diet)
2.5 อินูลิน (2.5 Inulin)	สูตรอาหารพื้นฐานเสริมอินูลิน 2.5 g kg^{-1}
5.0 อินูลิน (5.0 Inulin)	สูตรอาหารพื้นฐานเสริมอินูลิน 5.0 g kg^{-1}
5.0 แก่นตะวัน (5.0 JA)	สูตรอาหารพื้นฐานเสริมผงแก่นตะวัน 5.0 g kg^{-1}
10.0 แก่นตะวัน (10.0 JA)	สูตรอาหารพื้นฐานเสริมผงแก่นตะวัน 10.0 g kg^{-1}

หมายเหตุ :

กลุ่มทดลอง 5.0 JA เป็นการเสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 5.0 g kg^{-1} โดยมี oligofrutosaccharide ในสูตรอาหารเทียบเท่ากับการเสริมอินูลิน 2.5 g kg^{-1}

กลุ่มทดลอง 10.0 JA เป็นการเสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 10.0 g kg^{-1} โดยมี oligofrutosaccharide ในสูตรอาหารเทียบเท่ากับการเสริมอินูลิน 5.0 g kg^{-1}

กลุ่มอาหารทดลอง 2.5 inulin และ 5.0 inulin เตรียมโดยการเสริมอินูลิน (PREBIOFEED 88; Warcoing, Belgium) ในระดับ 2.5 กรัมต่อกิโลกรัม และ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนกลุ่มอาหารทดลอง 5.0 JA และ 10.0 JA ถูกเตรียมโดยการเสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม และ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งเป็นระดับที่เท่ากับระดับการเสริมอินูลิน 2.5 กรัมต่อกิโลกรัม และ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

3. สูตรอาหาร และการเตรียมอาหารทดลอง

ตารางที่ 2.3 แสดงปริมาณของวัตถุดิบอาหารในสูตรอาหารพื้นฐาน (basal diet) และองค์ประกอบทางเคมี (ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า) ของอาหารทดลอง การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหารและอาหารพื้นฐานได้ทำตามวิธีการมาตรฐานของ AOAC (1990) โดยก่อนที่จะทำการสร้างสูตรอาหาร ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหาร

อาหารทดลองทั้งหมดได้ถูกผลิตโดยใช้เครื่องบดอาหาร เครื่องผสมอาหาร และเครื่องอัดเม็ดอาหารชนิดเม็ดลอยน้ำ (ปักธงชัยปศุสัตว์, นครราชสีมา, ประเทศไทย) โดยอาหารเม็ดชนิดลอยน้ำจะถูกอัดเม็ดที่อุณหภูมิ 120 – 160 องศาเซลเซียส และเม็ดอาหารมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร อาหารที่ผลิตได้จะถูกนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง และทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 2.3 ปริมาณของวัตถุดิบอาหารและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลอง

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

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

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

4. ปลาทดลองและการเลี้ยงปลา

การศึกษานี้ใช้ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) สายพันธุ์จิตรลดา 3 และเป็นปลานิลแปลงเพศ จากฟาร์มประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี มีน้ำหนักเริ่มต้น 42-48 กรัม

ทำการสุ่มปลาลงเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ขนาด 2 x 2 x 1 (กว้าง x ยาว x สูง) ลูกบาศก์เมตร จำนวน 20 บ่อ (กลุ่มทดลอง 5 กลุ่ม ๆ ละ 4 ซ้ำ 5) บ่อละ 30 ตัว สภาพบ่อทดลองมีการให้อากาศและน้ำไหลเวียนอย่างต่อเนื่อง (5 ลิตร/นาที) นอกจากนี้ยังมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำปริมาณ 1/3 ของน้ำที่มีอยู่ในแต่ละบ่อทุกสัปดาห์ ปรับสภาพปลานิลให้เข้ากับสภาพการทดลอง โดยการให้อาหารพื้นฐานที่มี

ระดับเปอร์เซ็นต์โปรตีน 32 เปอร์เซ็นต์ วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นทำการเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารทดลองตามกลุ่มทดลอง (ตารางที่ 2.2) โดยให้ปลากินอาหารจนอิ่ม วันละ 2 มื้อ เช้า – เย็น ตลอดการทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์ สภาพอุณหภูมิอากาศและอุณหภูมิน้ำตลอดระยะเวลาการทดลองอยู่ในช่วงระหว่าง 25 – 33 องศาเซลเซียส และ 25 – 28 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen; DO) อยู่ในช่วง 5.24 – 5.98 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 7.48–8.16

5. การเก็บข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตรารอด

การทดลองนี้ทำการเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ และทำการเก็บข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโตที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ และ 16 สัปดาห์ โดยทำการสุ่มปลาจากแต่ละซ้ำของทุกกลุ่มทดลอง จำนวนซ้ำละ 4 ตัว มาชั่งน้ำหนัก และวัดความยาว เพื่อคำนวณค่าสมรรถนะการเจริญเติบโตดังต่อไปนี้

อัตราการเพิ่มน้ำหนักตัว [Relative weight gain; RWG (%)]

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

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

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

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

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

ทำการนับจำนวนปลาที่เหลือในทุก ๆ ซ้ำ ของทุกกลุ่มทดลองเพื่อคำนวณอัตรารอด

อัตรารอด [Survival rate (%)]

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

6. การเก็บตัวอย่างเลือด

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดปลาที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ และ 16 สัปดาห์ จากแต่ละซ้ำของทุกกลุ่มทดลองมาจำนวนซ้ำละ 4 ตัว โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือด Caudal vein ด้วยเข็มขนาด 21G ความยาว 1 นิ้ว ใช้กระบอกฉีดยาขนาด 3 มิลลิลิตร แบ่งเก็บเลือดในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด หลอดละ 500 ไมโครลิตร โดยหลอดที่ 1 และ 2 มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) หลอดที่ 1 จะใช้วิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา หลอดที่ 2 นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บพลาสมาที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำการเก็บพลาสมาไว้ที่อุณหภูมิ – 80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ค่าชีวเคมีของโลหิต และค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง ส่วนหลอดที่ 3 เป็นหลอดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ทำการเก็บซีรั่มโดยปล่อยให้เลือดแข็งตัวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บซีรั่มที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำการเก็บซีรั่มไว้ที่อุณหภูมิ – 80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ค่าชีวเคมีของโลหิต และค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง

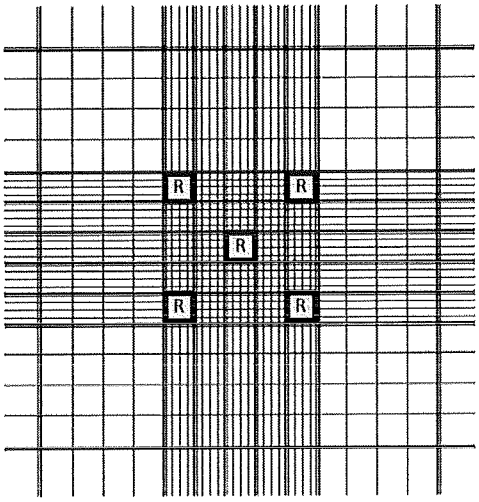
7. การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา

7.1 การนับจำนวนเม็ดเลือดแดง

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

จำนวนเม็ดเลือดแดงต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร =

จำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับได้ทั้งหมดใน 5 ช่อง x 10 x 5 x 200



ภาพที่ 2.1 ช่อง Hemocytometer chamber ที่ใช้นับจำนวนเม็ดเลือดแดง

7.2 การวัดค่าฮีโมโกลบิน

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

7.3 การวัดค่าฮีมาโตคริต

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

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

8. การวิเคราะห์ค่าชีวเคมีของโลหิต

8.1 การวิเคราะห์ค่า Serum Glucose

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

8.2 การวิเคราะห์ค่า Plasma cholesterol

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

8.3 การวิเคราะห์ค่า Plasma triglycerides

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

8.4 การวิเคราะห์ค่า Plasma total protein

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนรวม (total protein) ใช้วิธี Biuret method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม Biuret reagent ลงในหลอดแก้ว 500 ไมโครลิตร ปิเปตพลาสมาลงในหลอด 25 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่า

ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร โดยใช้ Biuret reagent เป็น Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่า Total protein จากกราฟมาตรฐาน

8.5 การวิเคราะห์ค่า Plasma Albumin

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

8.6 การวิเคราะห์ค่า Plasma urea nitrogen (BUN)

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

8.7 การวิเคราะห์ค่า Plasma Bilirubin

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

ในการวิเคราะห์ค่า Plasma Direct Bilirubin ทำโดยการเติม Direct Reagent 2 มิลลิลิตร และเติม Sodium Nitrite 1 หยด ปิเปตพลาสมาลงในหลอด 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน

นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร โดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่า Plasma Direct Bilirubin จากกราฟมาตรฐาน

8.8 การวิเคราะห์ค่า Serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT)

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

8.9 การวิเคราะห์ค่า Serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT)

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

8.10 การวิเคราะห์ค่า Serum Chloride

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

8.11 การวิเคราะห์ค่า Serum calcium

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

8.12 การวิเคราะห์ค่า Serum magnesium

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

8.13 การวิเคราะห์ค่า Serum iron ferene

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

9. การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง

9.1 การวิเคราะห์ Lysozyme activity

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

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

นำค่าดูดกลืนแสงครั้งแรกลบกับค่าดูดกลืนแสงครั้งที่สอง แล้วนำค่าดูดกลืนแสงของ Standard lysozyme ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 10, 15 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไปสร้างกราฟเส้นตรงโดยให้ความเข้มข้นเป็นแกน x และให้ค่าดูดกลืนแสงเป็นแกน y จากนั้นหาสมการเส้นตรง แล้วนำค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างซีรั่มที่ผ่านการลบกันแล้วมาแทนค่าในสมการเพื่อหาค่าความเข้มข้นของ Lysozyme เมื่อเทียบกับ Standard lysozyme

9.2 การวิเคราะห์ Total immunoglobulin

การวิเคราะห์อิมมูโนโกลบูลินรวมนั้น ทำโดยการวิเคราะห์โปรตีนรวมในพลาสมาและโปรตีนของพลาสมาที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนชนิดโกลบูลินด้วย 12 % Polyethylene glycol จากนั้นนำความเข้มข้นของโปรตีนรวมในพลาสมาลบกับโปรตีนของพลาสมาที่ผ่านการตกตะกอนจะได้ โปรตีนที่เป็นอิมมูโนโกลบูลินทั้งหมด

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

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

เมื่อได้ความเข้มข้นของโปรตีนที่ไม่ได้ถูกตกตะกอนด้วย 12% Polyethelene glycol แล้วจะสามารถหาค่าอิมมูโนโกลบูลินรวมได้จากสมการ

อิมมูโนโกลบูลินรวม = โปรตีนรวมในพลาสมา – โปรตีนที่ผ่านการตกตะกอนด้วย 12% Polyethelene glycol

9.3 การวิเคราะห์ Alternative complement

การวิเคราะห์ ประสิทธิภาพการทำงานของคอมพลีเมนต์ ดัดแปลงบางส่วนจากวิธีการของ Sunyer and Tort (1995) ล้างเม็ดเลือดแดงแพะด้วย GVB-EGTA (Gelatin Veronol Buffer;10 mM barbital, 145 mM NaCl, 0.1% gelatin, 0.5 mM MgCl2,10mM EGTA, pH 7.3–7.4) ปรับความเข้มข้นเม็ดเลือดแดงให้ได้ 5 x 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เจือจางซีรัมด้วย GVB-EGTA ใน หลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้นของซีรัมเป็น 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.313 และ 0.157% ตามลำดับ โดยมีปริมาตรรวมเท่ากับ 250 ไมโครลิตร เติมเม็ดเลือดแดงแพะ 50 ไมโครลิตร ลงในทุกหลอด โดยมี Positive control (100% lysis) เป็นหลอดที่ประกอบด้วย น้ำ DI 250 ไมโครลิตร และเม็ดเลือดแดงแพะ 50 ไมโครลิตร ส่วน Negative control (spontaneous lysis) คือ GVB-EGTA 250 ไมโครลิตร และเม็ดเลือดแดงแพะ 50 ไมโครลิตร นำหลอดไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 90 นาทีโดยใช้เครื่องเขย่าตลอดเวลา จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เพื่อตกตะกอนเม็ดเลือดแดงแพะที่ไม่ถูกทำให้แตก ดูดส่วนใส 200 ไมโครลิตร ลงใน plate 96 หลุม แบบ flat-bottom microtiter plate นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ประสิทธิภาพการทำงานของคอมพลีเมนต์มีหน่วยเป็น unit/ml ประมาณการได้จากการพล็อตกราฟ Y/(100 – Y) ต่อปริมาตรของซีรัม

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

หมายเหตุ: A = ส่วนใสของหลุมที่เจือจางซีรัม

B = ส่วนใสของ Negative control

C = ส่วนใสของ Positive control

10. การศึกษาจุลสัณฐานวิทยาของลำไส้

ทำการเก็บตัวอย่างปลาที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ และ 16 สัปดาห์ ทำการเก็บตัวอย่างปลาจากแต่ละซ้ำของทุกกลุ่มทดลอง จำนวนซ้ำละ 2 ตัว มาผ่าตัดเก็บเนื้อเยื่อบริเวณลำไส้ส่วนต้น

(anterior) ลำไส้ส่วนกลาง (middle) และลำไส้ส่วนปลาย (posterior) แล้วคงสภาพในสารละลาย Neutral buffered formalin (NBF) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ อย่างน้อย 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเนื้อเยื่อมาผ่านกระบวนการพาราฟินเทคนิค ตัดเนื้อเยื่อให้มีความหนาประมาณ 5 ไมครอน และนำเนื้อเยื่อที่ตัดได้มาติดบนสไลด์ ย้อมด้วยสี Hematoxylin & Eosin เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลสัณฐานวิทยาของเยื่อบุผิวในลำไส้ ตามวิธีการของ Humason (1979) โดยวัดความสูงของวิลไล (Villus height) และจำนวน Goblet cells ด้วยกล้องจุลทรรศน์

11. การวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา

ทำการเก็บตัวอย่างปลาที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ และ 16 สัปดาห์ ทำการสุ่มปลาจากแต่ละซ้ำของทุกกลุ่มทดลองมาจำนวนซ้ำละ 4 ตัว จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิล ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น ตามวิธีการของ AOAC (1990)

12. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

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

บทที่ 3
ผลการวิจัย

สมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตรารอดของปลานิล

ผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกจากอินูลิน และผงแก่นตะวันในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตรารอดของปลานิล แสดงดังตารางที่ 3.1 – 3.2 ที่ระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ (ตารางที่ 3.1) พบว่าปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลินในอาหารมีการตอบสนองการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ดีขึ้น โดยมีน้ำหนักตัวสุดท้าย (Final body weight) อัตราการเพิ่มน้ำหนักตัว (Weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate) สูงขึ้น และมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio) ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($P < 0.05$) และการตอบสนองการเจริญเติบโตจะเพิ่มขึ้นตามระดับการเสริมอินูลินที่สูงขึ้น และพบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมผงแก่นตะวันจะแสดงผลสมรรถนะการเจริญเติบโตดีที่สุด ($P < 0.05$) โดยปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารมีน้ำหนักตัวสุดท้าย อัตราการเพิ่มน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองที่เสริมอินูลิน (2.5 Inulin และ 5.0 Inulin) และมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio) ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และกลุ่มทดลองที่เสริมอินูลิน (2.5 Inulin และ 5.0 Inulin) ($P < 0.05$) และพบว่าการเพิ่มระดับการเสริมผงแก่นตะวันจะส่งผลให้ปลานิลมีสมรรถนะการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น แต่ทว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) นอกจากนี้พบว่า อัตราการรอดของปลานิลในทุกกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ที่ระยะเวลาการทดลอง 16 สัปดาห์ (ตารางที่ 3.2) พบว่าผลการศึกษาเป็นไปในทางเดียวกับผลการศึกษาที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ คือ ปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลินในอาหารมีการตอบสนองการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ดีขึ้น โดยมีน้ำหนักตัวสุดท้าย อัตราการเพิ่มน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($P < 0.05$) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($P < 0.05$) และการตอบสนองการเจริญเติบโตจะเพิ่มขึ้นตามระดับการเสริมอินูลิน และปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมผงแก่นตะวันจะมีน้ำหนักตัวสุดท้าย อัตราการเพิ่มน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($P < 0.05$) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($P < 0.05$) และมีค่าสมรรถนะการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มทดลองที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วยอินูลินที่ระดับ 2.5 กรัม

ต่อกิโลกรัม แต่ไม่แตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วยอินูลินที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม ($P > 0.05$) และพบว่าอัตราการรอดของปลานิลในทุกกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิล

ผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกจากอินูลินและผงแก่นตะวันในอาหารต่อค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิล (ตารางที่ 3.3 -3.4) ที่ระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ (ตารางที่ 3.3) พบว่าค่าองค์ประกอบทางเคมีของปลานิลในแต่ละกลุ่มทดลองได้แก่ค่าความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และพบว่าที่ระยะเวลาการทดลอง 16 สัปดาห์ (ตารางที่ 3.4) เป็นไปในทางเดียวกับระยะเวลาการทดลองที่ 8 สัปดาห์ คือค่าองค์ประกอบทางเคมีของปลานิลในแต่ละกลุ่มทดลองได้แก่ค่าความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ค่าโลหิตวิทยาของปลานิล

ผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกจากอินูลิน และผงแก่นตะวันในอาหารต่อค่าโลหิตวิทยาของปลานิลแสดงผลดังตารางที่ 3.5 – 3.6 ที่ระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ (ตารางที่ 3.5) พบว่าปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลิน หรือผงแก่นตะวันในอาหารจะมีจำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($P < 0.05$) แต่พบว่าค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) และฮีมาโตคริต (Hematocrit) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ($P > 0.05$) ที่ระยะเวลาการทดลอง 16 สัปดาห์ (ตารางที่ 3.6) พบว่าปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลิน หรือผงแก่นตะวันในอาหารจะมีจำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($P < 0.05$) และพบว่าปลาในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลินและผงแก่นตะวันค่าฮีโมโกลบินและฮีมาโตคริตสูงกว่าปลาในกลุ่มควบคุม แม้ว่าการเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจะพบได้เฉพาะในปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม (10.0 JA) ($P < 0.05$)

ตารางที่ 3.1 สมรรถนะการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (mean ± SD, $n = 4$)[1]

อาหาร	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% day^{-1})	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	อัตรารอด (%)
Control	44.56±0.17	233.43 ± 4.86^{a}	423.79 ± 9.36^{a}	2.76 ± 0.03^{a}	1.49 ± 0.03^{d}	99.17 ± 0.83
2.5 Inulin	44.44±0.19	257.91 ± 6.21^{b}	480.53 ± 16.08^{b}	2.93 ± 0.05^{b}	1.33 ± 0.04^{c}	100.00 ± 0.00
5.0 Inulin	44.25±0.13	280.29 ± 11.19^{c}	$533.55 + 26.27^{c}$	3.07 ± 0.07^{c}	1.16 ± 0.05^{b}	99.17 ± 0.83
5.0 JA	44.33±0.10	308.03 ± 6.33^{d}	594.99 ± 15.74^{cd}	3.23 ± 0.04^{d}	0.97 ± 0.02^{a}	99.17 ± 0.83
10.0 JA	44.33±0.07	325.50 ± 5.94^{d}	634.32 ± 12.67^{d}	3.32 ± 0.03^{d}	0.92 ± 0.02^{a}	99.17 ± 0.83

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

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

ตารางที่ 3.2 สมรรถนะการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ (mean ± SD, $n = 4$)[1]

อาหาร	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% day^{-1})	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	อัตรารอด (%)
Control	233.43 ± 4.86^{a}	394.52 ± 7.86^{a}	785.33 ± 16.5^{a}	1.82 ± 0.02^{a}	1.64 ± 0.04^{d}	96.41 ± 1.38
2.5 Inulin	257.91 ± 6.21^{b}	441.04 ± 9.27^{b}	892.75 ± 24.77^{b}	1.91 ± 0.02^{b}	1.48 ± 0.03^{c}	98.33 ± 0.96
5.0 Inulin	280.29 ± 11.19^{c}	481.03 ± 15.46^{c}	987.04 ± 34.66^{c}	1.99 ± 0.03^{c}	1.31 ± 0.05^{b}	98.33 ± 1.67
5.0 JA	308.03 ± 6.33^{d}	483.13 ± 12.89^{c}	989.91 ± 29.02^{c}	1.99 ± 0.02^{c}	1.20 ± 0.03^{a}	99.17 ± 0.83
10.0 JA	325.50 ± 5.94^{d}	504.69 ± 8.98^{c}	1038.59 ± 19.83^{c}	2.03 ± 0.01^{c}	1.15 ± 0.02^{a}	99.17 ± 0.83

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

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

ตารางที่ 3.3 ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (mean ± SD, $n = 4$)[1]

อาหาร	ความชื้น (g kg^{-1})	โปรตีน (g kg^{-1})	ไขมัน (g kg^{-1})	เถ้า (g kg^{-1})
Control	700.3 ± 7.9	120.3 ± 2.6	38.5 ± 2.5	40.4 ± 0.9
2.5 Inulin	700.5 ± 10.9	122.1 ± 2.3	38.6 ± 3.0	40.9 ± 1.7
5.0 Inulin	710.6 ± 5.7	123.1 ± 1.6	42.4 ± 2.3	43.7 ± 0.8
5.0 JA	700.6 ± 10.9	124.5 ± 1.9	39.8 ± 2.6	42.6 ± 2.3
10.0 JA	710.5 ± 2.4	125.9 ± 0.3	40.4 ± 1.9	46.1 ± 1.4

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 3.4 ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิลโตเต็มวัยที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ (mean ± SD, $n = 4$)[1]

อาหาร	ความชื้น ($g\ kg^{-1}$)	โปรตีน ($g\ kg^{-1}$)	ไขมัน ($g\ kg^{-1}$)	เถ้า ($g\ kg^{-1}$)
Control	705.7 ± 7.7	121.5 ± 2.0	42.1 ± 2.3	41.0 ± 2.8
2.5 Inulin	706.5 ± 3.6	123.2 ± 0.9	43.9 ± 1.3	44.8 ± 2.4
5.0 Inulin	722.4 ± 6.7	123.6 ± 0.2	45.3 ± 1.2	47.9 ± 1.3
5.0 JA	707.4 ± 6.0	124.7 ± 1.4	44.1 ± 1.7	49.0 ± 2.8
10.0 JA	720.1 ± 7.4	128.0 ± 1.8	44.4 ± 0.7	50.3 ± 2.1

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 3.5 ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (mean ± SD, $n = 4$)[1]

อาหาร	RBC[2] (cell x 10^{12} L^{-1})	Hemoglobin (g L^{-1})	Hematocrit (L L^{-1})
Control	2.22 ± 0.01^{a}	84.80±1.10	0.34±0.00
2.5 Inulin	2.33 ± 0.03^{b}	86.70±2.80	0.35±0.01
5.0 Inulin	2.34 ± 0.03^{b}	88.30±2.50	0.35±0.00
5.0 JA	2.36 ± 0.00^{b}	88.60±2.90	0.36±0.00
10.0 JA	2.39 ± 0.01^{b}	88.80±3.50	0.36±0.00

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

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

[2] RBC = จำนวนเม็ดเลือดแดง

ตารางที่ 3.6 ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ (mean ± SD, $n = 4$)[1]

อาหาร	RBC[2] (cell x 10^{12} L^{-1})	Hemoglobin (g L^{-1})	Hematocrit (L L^{-1})
Control	2.41 ± 0.02^{a}	91.10 ± 0.60^{a}	0.35 ± 0.00^{a}
2.5 Inulin	2.52 ± 0.00^{b}	92.20 ± 0.70^{ab}	0.36 ± 0.00^{ab}
5.0 Inulin	2.55 ± 0.01^{b}	92.80 ± 0.70^{ab}	0.36 ± 0.00^{ab}
5.0 JA	2.56 ± 0.01^{b}	93.10 ± 0.40^{ab}	0.36 ± 0.01^{ab}
10.0 JA	2.58 ± 0.02^{b}	94.20 ± 0.80^{b}	0.37 ± 0.01^{b}

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

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

[2] RBC = จำนวนเม็ดเลือดแดง

ค่าชีวเคมีของโลหิตปลานิล

ผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกจากอินูลิน และผงแก่นตะวันในอาหาร ต่อค่าชีวเคมีของโลหิตปลานิล (ตารางที่ 3.7 – 3.8) ที่ระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ (ตารางที่ 3.7) พบว่าการเสริมอินูลิน หรือผงแก่นตะวันในอาหาร ไม่มีผลต่อค่า Triglyceride, Cholesterol, BUN, T-bilirubin, D-bilirubin, SGOT, SGPT และ Chloride ในกระแสเลือด แต่การเสริมอินูลินและการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารมีผลทำให้ระดับของค่า Glucose และ Albumin ในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีผลทำให้ค่า Total protein ในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้น โดยพบว่าค่า Total protein ในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจะพบเฉพาะในกลุ่มปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมผงแก่นตะวัน (5.0 JA และ 10.0 JA) เท่านั้น ($P < 0.05$) นอกจากนี้การเสริมอินูลินที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และการเสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม และ 10 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหาร (5.0 JA และ 10.0 JA) มีผลทำให้ระดับของค่า Magnesium ในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้น ($P < 0.05$) ส่วนระดับของค่า Calcium และ Iron ในกระแสเลือดจะเพิ่มขึ้นสูงสุดในกลุ่มปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัม (10.0 JA) ($P < 0.05$)

ที่ระยะเวลาการทดลอง 16 สัปดาห์ (ตารางที่ 3.8) พบว่าการเสริมอินูลินและการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลา ไม่มีผลต่อค่า Triglyceride, Cholesterol, BUN, T-bilirubin, D-bilirubin, SGOT, SGPT และ Chloride ในกระแสเลือด แต่การเสริมอินูลินและการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารมีผลทำให้ระดับของค่า Glucose ในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีผลทำให้ระดับของค่า Total protein และ Albumin ในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้น แม้ว่าการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจะพบเฉพาะในกลุ่มปลาที่ได้รับการเสริมอินูลินที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และกลุ่มปลาที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม และ 10 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหาร (5.0 JA และ 10.0 JA) ($P < 0.05$) นอกจากนี้ การเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับในอาหาร (5.0 JA และ 10.0 JA) มีผลทำให้ระดับของค่า Iron ในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้น ($P < 0.05$) และพบว่าค่า Calcium และ Magnesium ในกระแสเลือดในกลุ่มปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัม (10.0 JA) จะมีค่าสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$)

ตารางที่ 3.7 ค่าชีวเคมีของโลหิตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (mean ± SD, $n = 4$)[1]

ค่าชีวเคมีของโลหิต	อาหาร				
	Control	2.5 Inulin	5.0 Inulin	5.0 JA	10.0 JA
Glucose (mmol L^{-1})	2.71±0.40^{a}	4.09±0.33^{b}	4.81±0.25^{b}	4.10±0.59^{b}	4.19±0.33^{b}
Cholesterol (mmol L^{-1})	4.10±0.09	4.19±0.16	4.69±0.25	4.37±0.13	4.41±0.18
Triglycerides (mmol L^{-1})	1.70±0.10	1.66±0.11	1.71±0.11	1.75±0.07	1.89±0.10
Total protein (g L^{-1})	36.40±1.50^{a}	39.30±1.60^{ab}	40.40±0.70^{ab}	41.60±1.70^{b}	42.50±0.40^{b}
Albumin (g L^{-1})	16.90±1.10^{a}	20.40±1.00^{b}	20.90±0.50^{b}	21.20±1.10^{b}	23.10±0.60^{b}
BUN (mmol L^{-1}) [2]	0.85±0.05	0.82±0.04	0.80±0.10	0.77±0.07	0.78±0.04
Total bilirubin (µmol L^{-1})	4.62±0.68	3.42±1.03	2.99±0.68	3.17±0.51	2.82±0.34
Direct bilirubin (µmol L^{-1})	2.39±0.51	1.71±0.17	1.50±0.17	1.64±0.51	1.46±0.34
SGOT (U L^{-1}) [3]	34.52±2.17	33.18±2.52	32.04±2.58	29.49±1.98	30.29±2.00
SGPT (U L^{-1}) [4]	21.00±0.71	20.86±0.99	19.90±0.59	19.58±0.36	19.79±0.72
Chloride (mmol L^{-1})	130.70±9.22	128.20±5.80	132.70±7.80	138.20±4.04	139.70±4.65
Calcium (mmol L^{-1})	3.48±0.16^{a}	3.46±0.14^{a}	3.59±0.04^{a}	3.71±0.04^{a}	4.05±0.12^{b}
Magnesium (mmol L^{-1})	1.00±0.03^{a}	0.96±0.04^{a}	1.14±0.04^{b}	1.15±0.04^{b}	1.17±0.05^{b}
Iron (µmol L^{-1})	12.00±0.48^{a}	13.73±0.83^{ab}	14.04±0.93^{ab}	14.52±0.74^{ab}	16.05±0.99^{b}

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

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

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

ตารางที่ 3.8 ค่าชีวเคมีของโลหิตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ (mean ± SD, $n = 4$)[1]

ค่าชีวเคมีของโลหิต	อาหาร				
	Control	2.5 Inulin	5.0 Inulin	5.0 JA	10.0 JA
Glucose (mmol L^{-1})	2.81±0.24^{a}	4.47±0.37^{b}	4.35±0.48^{b}	4.22±0.31^{b}	4.27±0.41^{b}
Cholesterol (mmol L^{-1})	4.34±0.21	4.57±0.15	4.79±0.21	4.67±0.12	4.75±0.09
Triglycerides (mmol L^{-1})	1.76±0.11	1.71±0.09	1.81±0.10	1.91±0.11	1.94±0.12
Total protein (g L^{-1})	32.40±1.10^{a}	32.60±1.60^{a}	36.70±1.30^{b}	37.40±0.90^{b}	40.40±1.20^{b}
Albumin (g L^{-1})	20.70±0.30^{a}	21.20±0.40^{a}	23.10±0.60^{b}	23.10±0.60^{b}	24.00±0.50^{b}
BUN (mmol L^{-1}) [2]	1.01±0.13	0.94±0.02	0.88±0.04	0.80±0.03	0.79±0.02
Total bilirubin (µmol L^{-1})	3.42±0.51	3.08±0.68	2.91±0.86	2.91±0.68	2.22±0.68
Direct bilirubin (µmol L^{-1})	1.88±0.34	1.88±0.17	1.71±0.17	1.71±0.17	1.54±0.34
SGOT (U L^{-1}) [3]	39.96±2.02	37.43±3.45	34.71±0.80	34.54±2.53	33.29±2.60
SGPT (U L^{-1}) [4]	26.99±3.27	23.83±0.51	23.67±1.39	23.50±1.05	22.52±0.82
Chloride (mmol L^{-1})	133.38±6.64	131.50±6.77	137.13±6.49	137.75±8.07	142.75±4.73
Calcium (mmol L^{-1})	3.66±0.16^{a}	3.56±0.20^{a}	3.67±0.04^{a}	3.70±0.10^{a}	4.19±0.05^{b}
Magnesium (mmol L^{-1})	1.04±0.06^{a}	1.04±0.04^{a}	1.17±0.05^{ab}	1.19±0.06^{ab}	1.32±0.05^{b}
Iron (µmol L^{-1})	12.84±0.43^{a}	13.87±1.07^{ab}	14.43±1.25^{ab}	16.05±0.81^{b}	16.73±0.62^{b}

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

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

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

ค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของปลานิล

ผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกจากอินูลิน และผงแก่นตะวันในอาหาร ต่อค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของปลานิล (ตารางที่ 3.9 – 3.10) ที่ระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ (ตารางที่ 3.9) พบว่า การเสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารมีผลทำให้ค่า Total immunoglobulin เพิ่มสูงขึ้น แม้ว่าการเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จะพบได้เฉพาะในกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม (10.0 JA) พบว่าการเสริมอินูลินที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม และ 10 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0JA และ 10.0 JA) จะทำให้ปลามีค่า Lysozyme activity สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้พบว่ากลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมอินูลินที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และอาหารเสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0JA) มีผลทำให้ปลามีค่า ACH50 activity สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และปลาที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะสันที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัม (10.0 JA) มีค่า ACH50 activity สูงที่สุด

ที่ระยะเวลาการทดลอง 16 สัปดาห์ (ตารางที่ 3.10) พบว่า การเสริมอินูลินระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม และ 10 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0JA และ 10.0 JA) มีผลทำให้ค่า Total immunoglobulin และ ค่า Lysozyme activity เพิ่มสูงขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และเช่นเดียวกับผลการทดลองที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมอินูลินที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และอาหารเสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0JA) มีผลทำให้ปลามีค่า ACH50 activity สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และปลาที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะสันที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัม (10.0 JA) มีค่า ACH50 activity สูงที่สุด

ตารางที่ 3.9 ค่าภูมิคุ้มกันวิทยาแบบไม่จำเพาะของปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (mean ± SE, $n = 4$)[1]

ค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ	อาหาร				
	Control	2.5 Inulin	5.0 Inulin	5.0 JA	10.0 JA
Total Ig ($g\ L^{-1}$)	32.00 ± 1.80^{a}	34.10 ± 1.60^{a}	35.60 ± 1.00^{ab}	36.10 ± 1.20^{ab}	38.80 ± 0.80^{b}
Lysozyme activity[2] ($\mu g\ mL^{-1}$)	8.64 ± 0.31^{a}	8.71 ± 0.31^{a}	10.01 ± 0.43^{b}	10.13 ± 0.55^{b}	10.42 ± 0.46^{b}
ACH50[3] (units mL^{-1})	311.97 ± 5.68^{a}	327.50 ± 6.24^{a}	354.87 ± 2.91^{b}	363.55 ± 4.39^{b}	387.68 ± 6.39^{c}

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

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

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

ตารางที่ 3.10 ค่าภูมิคุ้มกันวิทยาแบบไม่จำเพาะของปลานิลโตเต็มวัยที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ (mean ± SE, $n = 4$)[1]

ค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ	อาหาร				
	Control	2.5 Inulin	5.0 Inulin	5.0 JA	10.0 JA
Total Ig ($g\ L^{-1}$)	26.90 ± 1.00^{a}	27.20 ± 1.30^{a}	31.10 ± 1.70^{b}	31.90 ± 1.20^{b}	34.90 ± 0.70^{b}
Lysozyme activity[2] ($\mu g\ mL^{-1}$)	8.92 ± 0.59^{a}	9.00 ± 0.52^{a}	10.41 ± 0.35^{b}	10.62 ± 0.40^{b}	10.64 ± 0.38^{b}
ACH50[3] (units mL^{-1})	335.52 ± 3.36^{a}	338.05 ± 8.17^{a}	377.81 ± 7.01^{b}	382.94 ± 6.44^{b}	405.34 ± 5.39^{c}

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

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

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

จุลสัณฐานวิทยาของลำไส้ปลานิล

ผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกจากอินูลิน และผงแก่นตะวันในอาหาร ต่อจุลสัณฐานวิทยาของลำไส้ปลานิล (ตารางที่ 3.11 – 3.12) พบว่า ที่ระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ (ตารางที่ 3.11) บริเวณลำไส้ส่วนต้น (anterior) และส่วนกลาง (middle) ของปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลินที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับในอาหาร (5.0 JA และ 10.0 JA) จะมีความยาววิลไล (Villi) เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($P < 0.05$) และที่บริเวณลำไส้ส่วนต้น ความยาววิลไลสูงสุดจะถูกพบในบริเวณลำไส้ส่วนหน้าของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม อย่างไรก็ตาม ความสูงของวิลไลที่บริเวณลำไส้ส่วนปลายไม่มีความแตกต่างกัน ระหว่างกลุ่มทดลอง และพบว่าจำนวน Goblet cells ในบริเวณลำไส้ทุกส่วนของปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลินที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับในอาหาร (5.0 JA และ 10.0 JA) จะมีจำนวน Goblet cells มากกว่าปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($P < 0.05$)

ที่ระยะเวลาการทดลอง 16 สัปดาห์ (ตารางที่ 3.12) บริเวณลำไส้ส่วนต้น (anterior) ลำไส้ส่วนกลาง (middle) และลำไส้ส่วนท้าย (posterior) ของปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลินที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับในอาหาร (5.0 JA และ 10.0 JA) จะมีความยาววิลไล (Villi) เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($P < 0.05$) และพบว่าจำนวน Goblet cells ในบริเวณลำไส้ทุกส่วนของปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลินที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับในอาหาร (5.0 JA และ 10.0 JA) จะมีจำนวน Goblet cells มากกว่าปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($P < 0.05$)

ตารางที่ 3.11 ค่าความยาวของวิลไล และจำนวนกอบเลท เซลล์ในลำไส้ส่วนต่าง ๆ ของปลานิลวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (mean ± SE, $n = 4$)[1]

อาหาร	Anterior		Middle		Posterior	
	Villi height (μm)	No. of goblet cells	Villi height (μm)	No. of goblet cells	Villi height (μm)	No. of goblet cells
Control	408.59 ± 23.53^{a}	31.50 ± 2.60^{a}	309.61 ± 22.15^{a}	28.25 ± 1.59^{a}	206.45 ± 14.76	18.42 ± 1.52^{a}
2.5 Inulin	421.37 ± 19.98^{ab}	32.25 ± 1.72^{a}	321.66 ± 25.22^{ab}	29.00 ± 1.53^{a}	213.76 ± 11.34	18.67 ± 1.16^{a}
5.0 Inulin	525.58 ± 38.72^{bc}	38.42 ± 1.36^{b}	392.37 ± 25.60^{b}	35.67 ± 2.38^{b}	225.19 ± 20.23	23.59 ± 1.47^{b}
5.0 JA	530.97 ± 38.01^{bc}	39.00 ± 2.22^{b}	394.59 ± 23.20^{b}	36.83 ± 2.56^{b}	229.60 ± 19.18	24.00 ± 1.99^{b}
10.0 JA	576.00 ± 52.64^{c}	40.42 ± 1.93^{b}	404.11 ± 30.92^{b}	36.83 ± 1.81^{b}	243.11 ± 17.59	24.25 ± 1.39^{b}

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

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

ตารางที่ 3.12 ค่าความยาวของวิลไล และจำนวนกอบเลท เซลล์ในลำไส้ส่วนต่าง ๆ ของปลานิลโตเต็มวัยที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ (mean ± SE, $n = 4$)[1]

อาหาร	Anterior		Middle		Posterior	
	Villi height (μm)	No. of goblet cells	Villi height (μm)	No. of goblet cells	Villi height (μm)	No. of goblet cells
Control	480.13 ± 28.05^{b}	35.25 ± 1.63^{b}	343.86 ± 22.47^{b}	33.00 ± 1.74^{c}	231.53 ± 17.67^{b}	19.75 ± 1.83^{b}
2.5 Inulin	492.55 ± 31.28^{b}	35.67 ± 1.91^{b}	359.05 ± 18.11^{b}	34.92 ± 2.83^{bc}	242.89 ± 16.52^{b}	21.83 ± 1.37^{ab}
5.0 Inulin	619.82 ± 20.03^{a}	42.75 ± 2.11^{a}	447.43 ± 29.78^{a}	40.67 ± 1.28^{ab}	295.92 ± 8.64^{a}	25.59 ± 1.81^{a}
5.0 JA	621.14 ± 23.66^{a}	43.08 ± 2.31^{a}	449.20 ± 26.21^{a}	41.17 ± 1.95^{a}	302.42 ± 14.17^{a}	25.75 ± 1.59^{a}
10.0 JA	629.17 ± 37.43^{a}	45.92 ± 2.30^{a}	471.18 ± 20.95^{a}	42.00 ± 1.57^{a}	308.88 ± 18.57^{a}	27.42 ± 2.23^{a}

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

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

ปริมาณประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลานิล

ผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกจากอินูลิน และผงแก่นตะวันในอาหาร ต่อปประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลานิล ที่ระยะเวลาการทดลอง 16 สัปดาห์ (ตารางที่ 3.13) พบว่า ปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลินที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับในอาหาร (5.0 JA และ 10.0 JA) จะมีจำนวนประชากรรวมของแบคทีเรีย (Total bacteria) และจำนวนประชากรแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($P < 0.05$) นอกจากนี้การเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับในอาหาร (5.0 JA และ 10.0 JA) มีผลทำให้จำนวนประชากรแบคทีเรียกลุ่ม *Bifidobacteria* spp. มีจำนวนเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($P < 0.05$) ส่วนจำนวนประชากรแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp และจำนวนประชากรของยีสต์และเชื้อรา จะมีจำนวนลดลง ($P < 0.05$) ในกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมอินูลินที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 Inulin) และกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม และ 10 กรัมต่อกิโลกรัม (5.0 JA และ 10.0 JA)

ตารางที่ 3.13 ปริมาณประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลานิลโตเต็มวัย (log CFU g^{-1}) ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลิน และผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ (mean ± SE, $n = 4$)[1]

Diet	Total bacteria	Lactic acid bacteria	*Bifidobacteria* spp.	*Vibrio* spp.	Yeast and fungi
Control	5.92 ± 0.03^{a}	3.04 ± 0.13^{a}	5.93 ± 0.02^{a}	5.13 ± 0.03^{d}	3.36 ± 0.10^{d}
2.5 Inulin	5.96 ± 0.04^{a}	3.53 ± 0.24^{ab}	6.02 ± 0.01^{a}	5.01 ± 0.01^{cd}	2.93 ± 0.14^{cd}
5.0 Inulin	6.30 ± 0.07^{b}	3.80 ± 0.25^{bc}	6.12 ± 0.03^{ab}	4.76 ± 0.13^{bc}	2.60 ± 0.16^{bc}
5.0 JA	6.33 ± 0.07^{b}	4.08 ± 0.23^{bc}	6.30 ± 0.12^{b}	4.58 ± 0.08^{ab}	2.09 ± 0.10^{b}
10.0 JA	6.47 ± 0.15^{b}	4.34 ± 0.07^{c}	6.52 ± 0.10^{c}	4.33 ± 0.15^{a}	1.78 ± 0.14^{a}

[1] ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

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

3.2 อภิปรายผลการศึกษา

ปลานิลเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ผลผลิตปลานิลที่เพิ่มสูงขึ้นเป็นผลผลิตที่มาจากการเพาะเลี้ยงเป็นหลัก ปัจจัยหลักที่จะส่งผลต่อผลผลิตและผลสำเร็จของการผลิตปลานิลเชิงพาณิชย์คือการพัฒนาทางด้านการผลิตอาหารปลา การพัฒนาทางด้านอาหารปลานิลมีการพัฒนาและการวิจัยมาอย่างต่อเนื่อง (Bhujel, 2001) เพื่อให้ได้อาหารที่มีคุณภาพสูงและมีต้นทุนต่ำ เพื่อให้การเพาะเลี้ยงปลานิลพัฒนาทั้งในแง่ของการเพิ่มปริมาณผลผลิต ปลานิลมีคุณภาพดี และมีต้นทุนการผลิตที่ต่ำ เพื่อให้ปลานิลเป็นอาหารโปรตีนคุณภาพสูงสำหรับมนุษยชาติต่อไป

ในปัจจุบันการเสริมสารเสริม (feed additive) ในอาหารได้กลายเป็นหัวข้อที่น่าสนใจ ซึ่งไม่เพียงแต่เพื่อการปรับปรุงอัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร แต่ยังรวมถึงการปรับปรุงสุขภาพของปลาด้วย การพัฒนาการใช้พรีไบโอติกส์ (prebiotics) ในเชิงอุตสาหกรรมยังต้องการการประเมินถึงผลการใช้เป็นสารเสริมในอาหารสัตว์ และผลต่อการผลิตสัตว์ โดยอินูลิน ได้มีบทบาทต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต และสุขภาพในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Coudray et al., 1997; Trautwein et al., 1998; Brighenti et al., 1999; He et al., 2002; Kaur and Gupta, 2002) อย่างไรก็ตาม ผลดังกล่าวยังมีการศึกษาน้อยมากในปลานิล (Ibrahem et al., 2010) ในการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการแสดงถึงผลข้อมูลที่เกี่ยวกับผลของการเสริมอินูลินในอาหารปลานิลตั้งแต่ระยะปลาวัยรุ่น จนถึงระยะการเลี้ยงปลาขุนเพื่อให้ได้ปลาขนาดตลาดต่อไป

อินูลินทางการค้าที่มีการใช้เป็นสารเสริมในอาหารสัตว์ส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์ของต่างประเทศ ในประเทศไทยเองก็มีพืชหลายชนิดที่เป็นแหล่งของสารพรีไบโอติก ได้แก่ หัวแก่นตะวัน ที่มีองค์ประกอบของสารพรีไบโอติกส์สูงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2.1) แต่การพัฒนานำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ โดยเฉพาะอาหารปลายังมีน้อยมาก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาถึงผลของการใช้แก่นตะวันเป็นสารเสริมชนิดพรีไบโอติกส์ในด้านต่าง ๆ ในปลานิลที่เป็นปลาที่มีความสำคัญทางศรษฐกิจ เช่น ด้านสมรรถนะการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีของปลา ค่าพารามิเตอร์ทางสุขภาพด้านต่าง ๆ เนื่องจากแก่นตะวันมีองค์ประกอบของพรีไบโอติกอินูลิน (inulin) และฟรุกแตน (fructan) สูงเกือบ 50 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการใช้หัวแก่นตะวันที่บดเป็นผง เป็นสารเสริมโดยตรง โดยหวังว่าผลการศึกษาที่ได้จากการศึกษานี้จะนำไปสู่การพัฒนาแหล่งพรีไบโอติกส์ โดยเฉพาะแหล่งของฟรุกแตกและอินูลิน จะเป็นประโยชน์ และสามารถพัฒนาไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมอาหารปลาต่อไป

ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะทดสอบการใช้แก่นตะวันผงเป็นสารเสริมพรีไบโอติกในอาหารปลานิล เนื่องจากแก่นตะวันมีฟรุคแตนเป็นองค์ประกอบประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2.1) ในการศึกษาวิจัยนี้จึงจะทดสอบการใช้ผงแก่นตะวันเป็นสารเสริมโดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการสกัดสารพรีไบโอติกก่อน จึงใช้การเปรียบเทียบคุณสมบัติพรีไบโอติกกับอิ

นูลิน โดยสูตรอาหารที่มีแก่นตะวันเป็นองค์ประกอบที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม และ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม จะมีองค์ประกอบของพรีไบโอติกเทียบเท่าได้กับสูตรอาหารที่ใส่สารเสริมอินูลินที่ระดับ 2.5 กรัมต่อกิโลกรัม และ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ดังนั้นผลที่คาดว่าจะได้รับของงานวิจัยนี้จึงคาดหวังว่า ผลของการเสริมผงแก่นตะวันต่อปลาในกลุ่มทดลอง 5.0 JA น่าจะเทียบเท่ากับผลของการเสริมสารอินูลินในกลุ่มทดลอง 2.5 Inulin และ ผลของการเสริมผงแก่นตะวันต่อปลาในกลุ่มทดลอง 10.0 JA น่าจะเทียบเท่ากับผลของการเสริมสารอินูลินในกลุ่มทดลอง 5.0 Inulin ดังนั้นการอภิปรายผลต่อไปนี้จะเป็นการอภิปรายผลของการเสริมแก่นตะวันในอาหารต่อปลาในเชิงเปรียบเทียบกับผลของการเสริมอินูลินในอาหารต่อปลา

การเสริมอินูลินในอาหารมีผลทำให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น ซึ่งจะเห็นได้จากค่าน้ำหนักตัวสุดท้าย อัตราการเพิ่มน้ำหนักตัว และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ได้ทำการวัดตลอดการทดลองมีค่าสูงกว่ากลุ่มปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารกลุ่มควบคุม ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการรายงานการศึกษาในปลาชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ปลานิล ปลา Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) และปลา Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Mahious et al., 2006b; Ibrahem et al., 2010; Ortiz et al., 2013) อย่างไรก็ตามการเสริมอินูลินในอาหารกลับไม่มีผลต่อการตอบสนองการเจริญเติบโตในปลา Weaning turbot (*Psetta maxima*), Atlantic salmon (*Salmo salar*) และ Hybrid striped bass (*M. chrysops* x *M.saxatilis*) (Mahious et el., 2006a; Bakke-McKellep et al., 2007; Burr et al., 2010) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการเสริม อินูลินส่งผลกระทบในเชิงลบต่อการตอบสนองการเจริญเติบโตของปลา Beluga (*Huso huso*) (Reza et al., 2009) ดังนั้นผลของการเสริมอินูลินในอาหารต่อการตอบสนองการเจริญเติบโตในปลาจึงยังคงมีความแตกต่างกันในระหว่างชนิดปลา ซึ่งการศึกษาเพิ่มเติมในดัชนีชี้วัดอื่น ๆ จึงมีความจำเป็นเพื่อให้เข้าใจถึงกระบวนการเมตาบอลิซึมของอินูลินในตัวปลา

ผลการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าการเสริมอินูลินในอาหารจะช่วยปรับปรุงอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิล และผลการศึกษาก็สอดคล้องกับการศึกษาในปลา Siberian sturgeon (Mahious et al., 2006b) อย่างไรก็ตามในการศึกษาอื่น ๆ รายงานว่าการเสริมอินูลินในอาหารไม่มีผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อในปลา Rainbow trout ปลา Hybrid striped bass และปลา Beluga (Reza et al., 2009; Burr et al., 2010; Ortiz et al., 2013) Ibrahem et al. (2010) รายงานว่าการเสริมอินูลินในอาหารมีผลทำให้อัตราการรอดของปลานิลเพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ และจากการรายงานในการศึกษาของปลาชนิดต่าง ๆ พบว่าอินูลินไม่มีผลต่ออัตราการรอดของปลา (Mahious et al., 2006a; Reza et al., 2009)

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า ปลาในกลุ่มทดลองที่มีการเสริมแก่นตะวันที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม และ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม มีสมรรถนะการเจริญเติบโตซึ่งประกอบด้วย น้ำหนักตัวสุดท้าย อัตราการเพิ่มน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็น

เนื้อ ดีกว่าปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมอินูลินที่ระดับ 2.5 กรัมต่อกิโลกรัม และ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ถึงแม้ว่าอาหารที่มีการเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับจะมีปริมาณอินูลินและฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ในระดับที่เทียบเท่ากับอาหารที่มีการเสริมอินูลินที่ระดับ 2.5 กรัมต่อกิโลกรัม และ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ดังนั้นสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาในกลุ่มทดลองที่เสริมผงแก่นตะวันที่ดีกว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมอินูลินทางการค้าในระดับที่เทียบเท่ากัน อาจเกิดจากความแตกต่างของ Degree of polymerization ของพรีไบโอติกในผงแก่นตะวัน และอินูลินเชิงการค้า เนื่องจากการวิเคราะห์พรีไบโอติคในผงแก่นตะวันในครั้งนี้ ไม่สามารถวิเคราะห์สัดส่วนของ oligosaccharide แต่ละชนิดได้ ได้มีการรายงานผลการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกต่างชนิดกันในปลา ให้ผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เช่น ในปลา Turbot การเสริมอาหารปลาด้วยด้วยฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์จะให้ผลด้านอัตราการเจริญเติบโตที่ดีกว่าการเสริมด้วยอินูลิน (Mahious et el., 2006a) อย่างไรก็ตาม Ortiz et al. (2013) รายงานว่าการเสริมอินูลิน หรือฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ในอาหารปลาเรนโบว์เทร้า จะให้ผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตที่คล้ายคลึงกัน นอกจากนี้สารอาหารอื่น ๆ ในผงแก่นตะวันอาจมีผลในเชิงบวกต่อการพัฒนาสมรรถนะการเจริญเติบโตในปลานิล โดยทั่วไปแก่นตะวันจะประกอบด้วยแร่ธาตุ และวิตามินต่าง ๆ ที่ได้มีการรายงานว่ามีผลต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตในปลา ได้แก่ Iron Calcium Potassium Vitamin B complex Vitamin C และ vitamin A (Van Loo et al., 1995; Kays and Nottingham, 2007)

องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาได้ถูกนำมาใช้เป็นค่าพารามิเตอร์บ่งบอกถึงสภาวะโภชนาการของตัวปลา ในการศึกษาวิจัยด้านโภชนศาสตร์ในปลา (Dumas et. al., 2010) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิลของทุกกลุ่มทดลอง ได้แก่ ความชื้น ไขมัน โปรตีน และเถ้า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาถึงผลของการใช้สารเสริมพรีไบโอติกในปลา Hybrid striped bass และปลา Beluga ที่พบว่าการเสริมอินูลินในอาหารไม่มีผลต่อค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา (Reza et al., 2009; Burr et al., 2010)

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมพรีไบโอติก ทั้งกลุ่มทดลองที่เสริมอินูลินและการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลานิลมีผลต่อการเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดแดงของปลา และพบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมพรีไบโอติกอินูลินและผงแก่นตะวันเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ จะมีค่าฮีโมโกลบิน และค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นสูงขึ้น อย่างไรก็ตามการศึกษาในปลา Hybrid surubim พบว่าการเสริมอินูลินที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหารเป็นเวลา 15 วัน หรือในปลา Beluga ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอินูลินที่ระดับ 10.0 – 20.0 กรัมต่อกิโลกรัม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (Mourino et al., 2012; Reza et al., 2009) ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดแดง Ibrahem et al. (2010) และ Mourino et al. (2012) รายงานว่าการเสริมอินูลินไม่มีผลต่อค่าฮีโมโกลบินในปลา Hybrid surubim (*Pseudoplatystoma* sp.) และในปลานิล นอกจากนี้ค่าฮีโมโกลบิน และฮีมาโตคริตในปลา Juvenile beluga จะลดลง เมื่อปลาได้รับการเสริมอินูลินที่ระดับ 2 กรัมต่อกิโลกรัม และ 3

กรัมต่อกิโลกรัมในอาหาร (Reza et al., 2009) ผลการศึกษาในปลาอื่น ๆ และในปลานิลของการศึกษานี้ อาจจะสรุปได้ว่าการเสริมพรีไบโอติก ได้แก่ การเสริมอินูลินในอาหารมีผลต่อค่าโลหิตวิทยาแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด นอกจากนี้ระดับของการเสริมอินูลินในอาหารที่แตกต่างกันและระยะเวลาของการกินอาหารที่แตกต่างกันอาจส่งผลต่อค่าโลหิตวิทยาของปลา

การศึกษานี้ได้ทำการวิเคราะห์ค่าชีวเคมีของโลหิตต่าง ๆ ได้แก่ กลูโคส (glucose) คอเลสเตอรอล (cholesterol) ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ปริมาณโปรตีนรวม (total protein) อัลบูมิน (albumin), blood urea nitrogen (BUN), total bilirubin, direct bilirubin, SGOT, SGPT, คลอไรด์ (chloride), แคลเซียม (calcium), แมกนีเซียม (magnesium) และเหล็ก (iron) เพื่อนำมาใช้ในการอธิบายภาวะทางด้านโภชนาการและสุขภาพของปลานิล เมื่อได้รับอาหารที่เสริมอินูลินและผงแก่นตะวัน โดยทั่วไปพรีไบโอติก เช่น อินูลิน มีประโยชน์ต่อสุขภาพเนื่องจากช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนโปรไบโอติก (probiotic) หรือแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ โดยเฉพาะ *Bifidobacteria* และ *Lactobacilli*) (Van Loo et al., 1995; Kolida et al., 2002; Manning and Gibson, 2004) สอดคล้องกับรายงานการใช้ฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์เป็นพรีไบโอติกในอาหาร ซึ่งพบว่าสามารถเพิ่มเอนไซม์ย่อยอาหาร (Amylase และ Protease) ของปลา Blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) (Wu et al., 2013) และปลา Caspian roach (*Rutilus rutilus*) ได้ (Soleimani et al., 2012) นอกจากนี้ในการศึกษาอื่น ๆ ยังได้แสดงให้เห็นว่าโปรไบโอติกมีผลทำให้เอนไซม์ย่อยอาหาร เช่น Amylase Protease และ Lipase เพิ่มสูงขึ้น (Ringø and Gatesoupe, 1998; Ziaei-Nejad et al., 2006; Wang, 2007) โดยการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ย่อยอาหารในลำไส้น่าจะมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาได้ ซึ่งการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางด้านชีวเคมีของโลหิตอาจจะเป็นพารามิเตอร์หนึ่งในการบ่งบอกถึงประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลา ผลการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าค่าชีวเคมีของโลหิตส่วนใหญ่ในปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมอินูลินและผงแก่นตะวัน มีผลแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าตลอดระยะการทดลอง ค่ากลูโคส ปริมาณโปรตีนรวม อัลบูมิน ในเลือดปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมอินูลินและผงแก่นตะวันมีค่าสูงกว่ากลุ่มปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม Reza et al. (2009) รายงานว่าการเสริมอินูลินในอาหาร (10.0 – 30.0 กรัมต่อกิโลกรัม) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ไม่มีผลต่อระดับกลูโคสและอัลบูมินในเลือดของปลา Beluga ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับสูงสุด และการเสริมผงแก่นตะวันทั้งสองระดับในอาหารมีผลทำให้ค่าปริมาณโปรตีนรวมในเลือดเพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามการเสริมอินูลินในอาหารมีผลทำให้ค่า Total protein ในปลา Beluga ลดลง (Reza et al., 2009) ความแตกต่างของผลของการเสริมอินูลินในอาหารต่อค่า กลูโคส อัลบูมิน และปริมาณโปรตีนรวม อาจเป็นผลเนื่องจากความแตกต่างของลักษณะการกินอาหารของปลา 2 ชนิด โดยทั่วไปปลานิลเป็นปลากินพืช (herbivore) และปลา Beluga เป็นปลากินเนื้อเป็นอาหาร (carnivore หรือ piscivore) ความแตกต่างของลักษณะการกิน

อาหาร ซึ่งจะมีผลต่อความแตกต่างของลักษณะของอวัยวะในระบบทางเดินอาหาร การทำงานของเอ็นไซม์ ประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร อาจส่งผลต่อความแตกต่างของการใช้ประโยชน์ของสารพรีไบโอติกในอาหาร

การศึกษาในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พบว่าการเสริมอินูลินในอาหารสามารถลด Cholesterol และ Triglyceride ในกระแสเลือดได้ (Trautwein et al., 1998; Brighenti et al., 1999; Flickinger et al., 2003) อย่างไรก็ตามผลการศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของ คอเลสเตอรอล และ ไตรกลีเซอไรด์ ระหว่างกลุ่มทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในปลา Beluga ที่ได้รายงานว่าการเสริมอินูลินไม่มีผลต่อค่า คอเลสเตอรอล และ ไตรกลีเซอไรด์ ด้วยเช่นกัน (Reza et al., 2009) นอกจากนี้ค่า T-bilirubin D-bilirubin SGOT และ SGPT ในเลือดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลองของการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Reza et al. (2009) รายงานว่าการเสริมอินูลินในอาหารไม่มีผลกระทบต่อค่าชีวเคมีของโลหิตเหล่านี้ในปลา Beluga

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมอินูลินหรือการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารสามารถเพิ่มระดับความเข้มข้นของแร่ธาตุต่าง ๆ ในกระแสเลือดของปลานิลระยะวัยรุ่นได้ ซึ่งประกอบด้วย Magnesium Calcium และ Iron โดยการหมักของอินูลิน หรือผงแก่นตะวันในลำไส้อาจมีผลต่อค่าความเป็นกรดในลำไส้ และ pH ที่ต่ำจะช่วยเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุ จากการศึกษาในเลี้ยงลูกด้วยนมพบว่า พรีไบโอติก โอลิโกแซคคาร์ไรด์ สามารถปรับกระบวนการเมตาบอลิซึมของแร่ธาตุได้โดยการกระตุ้นการดูดซึมของแร่ธาตุโดยเฉพาะอย่างยิ่ง Calcium Magnesium และ Iron (Chonan et al., 1995; Delzenne et al., 1995; Ohta et al., 1995; Coudray et al., 1997; Scholz-Ahrens et al., 2001) ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับคลอไรด์ในเลือดที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ซึ่งอาจจะอธิบายได้ว่า โดยทั่วไปการดูดซึมเกลือแร่ผ่านเหงือกเป็นการควบคุมสภาวะสมดุลคลอไรด์ในปลา ดังนั้นการเสริมอินูลินหรือผงแก่นตะวันในอาหารจึงไม่ส่งผลต่อระดับ Chloride ในเลือดปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

พรีไบโอติกมีศักยภาพในการใช้เป็นสารชีวบำบัดทางเลือกสำหรับอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลา โดยพรีไบโอติกสามารถช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้กับสัตว์ได้ด้วยการเลือกเพิ่มจำนวนประชากรของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ และ/หรือการมีปฏิสัมพันธ์กับตัวรับคาร์โบไฮเดรตของเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้ และเซลล์ภูมิคุ้มกัน (Seifert and Watzl, 2007) ซึ่งส่วนประกอบของเซลล์ เช่น Lipopolysaccharides ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์จะสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในตัวสัตว์ได้ (Sakai, 1999; Bricknell and Dalmo, 2005) จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลินและการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารให้ผลไปในทางเดียวกัน คือ การเสริมพรีไบโอติกทั้งอินูลินและผงแก่นตะวันมีผลทำให้ค่าภูมิคุ้มกัน ได้แก่ Total immunoglobulin, Lysozyme และ ACH50 สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาในปลานิล ที่พบว่าการเสริมอินูลินที่ระดับ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหารเป็นเวลา 60 วัน พบว่าสามารถเพิ่ม

Lysozyme activity ได้ (Ibrahem et al., 2010) อย่างไรก็ตาม Cerezuela et al. (2008) รายงานว่าการเสริมอินูลินในอาหาร (5.0 กรัมต่อกิโลกรัม หรือ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ไม่มีผลกระทบต่อค่า ACH50 activity ของปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata*) เมื่อปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (0 กรัมต่อกิโลกรัม) Mourino et al. (2012) พบว่าการเสริมอินูลิน 5.0 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหารเป็นเวลา 15 วัน ไม่มีผลกระทบต่อค่า Total immunoglobulin และ Lysozyme activity ของปลา Hybrid surubim ซึ่งความแตกต่างของผลการศึกษาการเสริมอินูลินในอาหารต่อค่าภูมิคุ้มกันเหล่านี้อาจเกิดจากช่วงระยะเวลาในการให้อาหารที่แตกต่างกัน และความแตกต่างกันของชนิดปลา

Caspary (1992) รายงานว่าการเพิ่มความยาวของวิลไลในลำไส้นำไปสู่การเพิ่มพื้นที่ผิวในการดูดซึมสารอาหารซึ่งจะส่งผลต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต และการใช้ประโยชน์ได้ของอาหารในสัตว์ โดยมีหลายงานวิจัยรายงานว่าการหมักของอินูลินจะช่วยให้เกิดการผลิตสารหลายชนิดที่สามารถกระตุ้นให้การแบ่งเซลล์ในลำไส้ ซึ่งมีผลทำให้ความยาวของวิลไลเพิ่มสูงขึ้น (Blottiere et al., 2003; Rehman et al., 2007; Nabizadeh, 2012). จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าอาหารที่มีการเสริมอินูลิน (5.0 กรัมต่อกิโลกรัม) และผงแก่นตะวัน (5.0 กรัมต่อกิโลกรัม และ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม) มีผลทำให้ความยาวของวิลไลในลำไส้ทุกส่วนของปลานิลระยะวัยรุ่นเพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตาม ผลของการเสริมอินูลินในอาหารปลากินเนื้ออาจให้ผลที่แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น Olsen et al. (2001) รายงานว่าการเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับสูง (150 กรัมต่อกิโลกรัม) มีผลทำให้โครงสร้างภายในระบบทางเดินอาหารของปลา Arctic char (*Salvelinus alpinus*) เสียหาย นอกจากนี้ (Cerezuela et al. (2013) รายงานว่าความยาววิลไลของปลา Gilthead sea bream จะลดลงเมื่อได้รับอาหารที่มีการเสริมอินูลินที่ระดับ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า กลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมอินูลินที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม และกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม และ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม จะมีจำนวน Goblet cell เพิ่มสูงขึ้นมากกว่ากลุ่มทดลองอื่น ๆ อย่างไรก็ตามได้มีรายงานการวิจัย พบว่าการเสริมอินูลินที่ระดับ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหารมีผลกระทบในเชิงลบต่อจำนวน Goblet cell ของปลา Gilthead sea bream (Cerezuela et al., 2013) ดังนั้นการเสริมพรีไบโอติกในอาหารปลาจึงอาจส่งผลต่อจุลสัณฐานวิทยาในลำไส้ปลาแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด

เนื่องจากพรีไบโอติกจะถูกจุลินทรีย์บางชนิดในลำไส้นำไปใช้ประโยชน์ เพิ่มจำนวนเซลล์ในลำไส้ของปลาได้ การเสริมสารพรีไบโอติกในอาหารปลาอาจส่งผลให้ลำไส้ปลามีประชากรจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่แตกต่างไป เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่ได้รับการเสริมสารพรีไบโอติก ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าปลานิลที่ได้รับการเสริมอินูลิน (5.0 กรัมต่อกิโลกรัม) และเสริมผงแก่นตะวัน (5.0 กรัมต่อกิโลกรัม และ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม) ในอาหารมีผลทำให้จำนวนประชากรรวมของแบคทีเรีย จำนวนประชากรแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก และจำนวนประชากรแบคทีเรียกลุ่ม *Bifidobacteria* spp. เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนจำนวน

ประชากรแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp และจำนวนประชากรของยีสต์และเชื้อรา จะมีจำนวนลดลงในกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารทั้งสามสูตรนี้ด้วยเช่นกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้อินูลิน หรือผงแก่นตะวันเป็นอาหารเสริมพรีไบโอติก อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลานิล ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในปลาชนิดต่าง ๆ ก่อนหน้านี้ เช่น Reza et al. (2009) รายงานว่าการเสริมอินูลินในอาหาร (10.0 กรัมต่อกิโลกรัม) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีผลทำให้จำนวนประชากรแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในปลา Beluga เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม Mourino et al. (2012) พบว่าการเสริมอินูลินในอาหาร (5.0 กรัมต่อกิโลกรัม) เป็นเวลา 15 วันมีผลทำให้จำนวนประชากรแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในปลา Hybrid surubim (*Pseudoplatystoma* sp.) เพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ Ortiz et al., (2013) พบว่าการเสริมอินูลินในอาหาร (5.0 กรัมต่อกิโลกรัม - 10.0 กรัมต่อกิโลกรัม) เป็นเวลา 49 วัน สามารถลดจำนวนประชากรแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. จนถึงระดับที่ไม่สามารถตรวจพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ในลำไส้ส่วนปลายของปลา Rainbow trout โดยความจริงแล้วแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก และแบคทีเรียกลุ่ม *Bifidobacteria* spp. เป็นที่ทราบกันดีว่าสามารถใช้ประโยชน์จากอินูลิน และฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ได้ (Kaplan and Hutkins 2000; Buddington et al. 2002; Roller et al. 2004) ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้ส่วนใหญ่จะถูกจัดให้เป็นแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในระบบนิเวศของลำไส้ของสัตว์โดยการผลิตแบคเทอริโอซิน (Bacteriocins) กรดแลคติก และสารต้านการเจริญเติบโตของเชื้อโรคอื่น ๆ ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคได้ (Ringø and Gatesoupe 1998; Ringø et al. 2010a)

บทที่ 4
บทสรุป

จากการศึกษาครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของการเสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหาร ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและสุขภาพของปลานิล โดยพบว่าระดับการเสริมอินูลินที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารของปลานิลที่ระดับ 5 - 10 กรัมต่อกิโลกรัม มีผลดีต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และสุขภาพของปลานิลคือ ซึ่งสามารถสรุปผลของการเสริมอินูลินและการเสริมผงแก่นตะวันได้ดังต่อไปนี้

1. การเสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลานิล มีผลต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต อันได้แก่ น้ำหนักตัวสุดท้าย อัตราการเพิ่มน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมผงแก่นตะวันจะแสดงผลสมรรถนะการเจริญเติบโตดีที่สุด ($P < 0.05$)

2. การเสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลานิลระยะปลานิ้ว จนถึงระยะปลาวัยรุ่น ไม่มีผลต่ออัตราการรอดของปลานิลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

3. การเสริมอินูลินและการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลานิล ไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา อันได้แก่ ค่าความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้าของตัวปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

4. การเสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลานิล ในระยะสั้น (8 สัปดาห์) มีผลทำให้จำนวนเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อค่าฮีโมโกลบิน และฮีมาโตคริต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และการเสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลานิลในระยะยาว (16 สัปดาห์) มีผลทำให้จำนวนเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) และการเสริมผงแก่นตะวันที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีผลต่อการเพิ่มค่าฮีโมโกลบิน และฮีมาโตคริตให้สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

5. ค่าชีวเคมีของโลหิตส่วนใหญ่ในปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมอินูลินและผงแก่นตะวัน มีผลแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน

6. ปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวัน มีค่ากลูโคส และ อัลบูมิน ในเลือดมีสูงขึ้น และมีระดับความเข้มข้นของแร่ธาตุ ได้แก่ Magnesium ในเลือดของปลานิลสูงขึ้น

7. ปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมอินูลินในระยะยาว (16 สัปดาห์) และปลานิลที่ได้รับการเสริมผงแก่นตะวัน มีผลทำให้ค่าปริมาณโปรตีนรวมในเลือดมีสูงขึ้น

8. ปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมผงแก่นตะวัน มีระดับความเข้มข้นของแร่ธาตุ ได้แก่ calcium และ iron ในเลือดของปลานิลสูงขึ้น

9. การเสริมอินูลิน และการเสริมผงแก่นตะวัน ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ BUN, T-bilirubin, Direct bilirubin, SGOT และ SGPT ในเลือด

10. การเสริมผลแก่นตะวันมีผลทำให้ปลามีค่าปริมาณอิมมูโนโกลบูลินรวม สูงขึ้น และการเสริมอินูลินในอาหารปลาที่ระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ จะส่งผลให้ปลามีค่า ปริมาณอิมมูโนโกลบูลินรวม สูงขึ้น

11. การเสริมอินูลินและผงแก่นตะวันในอาหารมีผลทำให้ปลามีค่าการทำงานของเอนไซม์ไลโซไซม์สูงขึ้น

12. การเสริมอินูลินมีผลทำให้ปลามีค่าคอมพลีเมนต์ ACH50 สูงขึ้น และการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารมีผลทำให้ปลามีค่า ACH50 สูงที่สุด

13. การเสริมอินูลินและการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลามีผลทำให้วิลไลในลำไส้ปลานิล และจำนวนเซลล์โกเบล็ทที่ลำไส้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

14. การเสริมอินูลินและการเสริมผงแก่นตะวันในอาหารปลานิล มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ อันได้แก่ จำนวนประชากรรวมของแบคทีเรีย จำนวนประชากรแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก และจำนวนประชากรแบคทีเรียกลุ่ม *Bifidobacteria* spp. เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนจำนวนประชากรแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp และจำนวนประชากรของยีสต์และเชื้อรา จะมีจำนวนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการทดลองศึกษาผลของการใช้อินูลิน และการใช้แก่นตะวันเป็นพรีไบโอติกในปลานิลวัยอ่อน เพื่อศึกษาว่าการเสริมอินูลินและการเสริมแก่นตะวันจะมีผลต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต และการเสริมสร้างสุขภาพปลานิลวัยอ่อนได้ดีขึ้นหรือไม่
2. ควรมีการศึกษานำเอาการเสริมอินูลินและการเสริมแก่นตะวันไปใช้จริงในการเลี้ยงในฟาร์มเกษตรกร
3. ควรมีการทดสอบนำเอาการเสริมอินูลินและการเสริมแก่นตะวันไปใช้ในฟาร์มเกษตรกระที่มักปัญหาเรื่องโรคระบาด
4. ควรมีการศึกษาถึงผลของการเสริมอินูลินและการเสรริมแก่นตะวันในอาหารในการเลี้ยงปลานิลในกระชังและในบ่อดินของเกษตรกรต่อไป
5. ควรมีการศึกษาถึงผลของการเสริมอินูลินและการเสริมแก่นตะวันต่อประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ที่แน่นอนยิ่งขึ้น โดยอาจมีการนำเอาเทคนิคอณูพันธุศาสตร์มาร่วมใช้

บรรณานุกรม

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ประวัตินักวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาวสุรินทร บุญอนันธนสาร

(ภาษาอังกฤษ) Ms. Surintorn Boonanuntanasarn

2. เลขหมายประจำตัวประชาชน 3 2097 00017 95 1

3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์

4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อ

สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

อ. เมือง จ.นครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 044-224371, 224378

โทรสาร 044-224150

Email : surinton@sut.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

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

6. ผลงานตีพิมพ์

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Vechklang, K., Lim, C., Boonanuntanasarn, S., Welker, T., Ponchunchoovong, S., Klesius, P.H., Wanapu, C. 2012. Growth performance and resistance to *Streptococcus iniae* of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus)* fed diets supplemented with GroBiotic-A and brewtech dried brewers yeast. Journal of Applied Aquaculture. 24:183-198.

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

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

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