ผลของพรีไบโอติกและโพรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus*)

ธนภัทร วรปัสสุ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2555

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง

ชื่อเรื่อง

ผลของพรีไบโอติกและโพรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus*)

โดย

ธนภัทร วรปัสสุ

พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการที่ปรึกษา ....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เทพรัตน์ อึ้งเศรษฐพันธ์)

วันที่ 18 เดือน พ.ค. พ.ศ. 2555

กรรมการที่ปรึกษา ....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประจวบ ฉายบุ)

วันที่ 18 เดือน พ.ค. พ.ศ. 55

กรรมการที่ปรึกษา ....

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน)

วันที่ 18 เดือน พ.ค. พ.ศ. 2555

กรรมการที่ปรึกษา ....

(อาจารย์ ดร.จอมสุดา ดวงวงษา)

วันที่ 18 เดือน พ.ค. พ.ศ. 2555

ประธานกรรมการประจำหลักสูตร ....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บัญญัติ มนเทียรอาสน์)

วันที่ 18 เดือน พ.ค. พ.ศ. 2555

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว ....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จำเนียร ยศราช)

ประธานกรรมการบัณฑิตศึกษา

วันที่ 21 เดือน พ.ค. พ.ศ. 2555

ชื่อเรื่อง	ผลของพรีไบโอติกและโพรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus*)
ชื่อผู้เขียน	นายธนภัทร วรปัสสุ
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง
ประธานกรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เทพรัตน์ อึ้งเศรษฐพันธ์

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของพรีไบโอติกและโพรไบโอติกเสริมในอาหารต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในการเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) 3 ซ้ำ โดยใช้อาหารทดลองโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 4 สูตร ได้แก่อาหารทดลองที่ไม่เสริมพรีไบโอติกและโพรไบโอติก (CN) อาหารทดลองที่เสริมด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (YT) อาหารทดลองที่เสริมด้วยฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรต์ ที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (FS) และอาหารทดลองที่เสริมด้วยไคโตซาน ที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (CS) ทดลองเลี้ยงปลานิลแปลงเพศในกระชัง อัตราการปล่อย 10 ตัวต่อตารางเมตร ให้อาหาร 3 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว เป็นระยะเวลา 120 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตร YT, FS และ CS มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ดีกว่าปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตร CN อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วนอัตราการรอดตายไม่แตกต่างกัน (P>0.05) ด้านการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าอาหารทดลองสูตร YT, CS และ FS ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะที่ดีกว่าอาหารทดลองสูตร CN อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ด้านของต้นทุนการผลิตปลา พบว่าอาหารทดลองสูตร FS มีต้นทุนสูงที่สุด และพบว่าต้นทุนการผลิตปลาของอาหารทดลองสูตร CS, YT และ CN ไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) ดังนั้นควรเสริมพรีไบโอติกไคโตซาน 0.1 เปอร์เซ็นต์ หรือโพรไบโอติกยีสต์ *S. cerevisiae* 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารปลานิลแปลงเพศ เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะที่ดีขึ้น

Title	Effects of Prebiotics and Probiotic on Growth and Immune Status of Sex Reversal Tilapia (*Oreochromis niloticus*)
Author	Mr. Thanaput Worapussu
Degree of	Master of Science in Fisheries Technology
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Thepparath Ungsrthaphand

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of prebiotics (chitosan and fructo oligosacharide) and probiotic (yeast) on growth performances and nonspecific immune status of tilapia (*Oreochomis niloticus*). Four diets containing the 30% crude protein were formulated: feed supplemented with 0.1% yeast *Saccharomyces cerevisiae* (YT); feed supplemented with 0.1% fructooligosaccharide (FS); feed supplemented with 0.1% chitosan (CS); and a control diet without any supplement (CN). Diets were fed for 120 days to tilapia fingerlings stocked in net cage hapa placed in earthen pond at a density of 10 fish/m^2. Results indicated that fish fed with diets of YS, CS and FS supplementation had greater growth and enhanced immune responses than those fed with control diet (P<0.05). No significant difference was found in survival rates (P>0.05). FS had a higher feed cost than YT, CS and CN (P<0.05), however, there was no significant difference in feed costs among CS, YT, and CN. In summary, 0.1% chitosan or 0.1% yeast should be added in tilapia diet to provide better growth and immune responses.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เทพรัตน์ อึ้งเศรษฐพันธ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประจวบ ฉายบุ รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และ อาจารย์ ดร.จอมสุดา ดวงวงษา กรรมการที่ปรึกษา ผู้ให้ความเมตตา กรุณา ช่วยเหลือ และให้คำแนะนำในการแก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่าง ๆ รวมทั้งเป็นผู้ถ่ายทอดองค์ความรู้ แนวทางในการปฏิบัติ การดำเนินงานวิจัย และสนับสนุนด้านงบประมาณ เครื่องมืออุปกรณ์ สำหรับการทำวิจัย ทั้งยังสละเวลาอันมีค่าในการตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ชยากร ภูมาศ อาจารย์ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผู้ให้ความเมตตา กรุณาเป็นประธานคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้อนุเคราะห์ให้ใช้สถานที่ในการวิจัย และขอขอบพระคุณคณาจารย์ ที่ถ่ายทอดองค์ความรู้เพื่อใช้ในการทำวิจัยในครั้งนี้ รวมทั้งบุคลากรทุกท่านในคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ ที่เป็นกำลังใจและให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน

ขอขอบพระคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนทุนด้านการวิจัย ในโครงการวิจัยเรื่องแนวทางการใช้ prebiotic และ probiotic เสริมในอาหารเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ เพื่อเข้าสู่ระบบฟาร์มสัตว์น้ำตามแนวทางเกษตรอินทรีย์ ภายใต้ชุดโครงการการวิจัยและพัฒนาระบบการผลิตทรัพยากรประมงเพื่อเป็นอาหารปลอดภัย และสร้างมูลค่าเพิ่มวัตถุดิบท้องถิ่น

และสุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา คุณพ่อธวัชชัย และคุณแม่ถนอมศรี วรปัสสุ ผู้ให้กำเนิด อบรมเลี้ยงดู และสนับสนุนค่าใช้จ่ายในการศึกษาเล่าเรียนของลูกคนนี้มาโดยตลอด รวมทั้งสมาชิกในครอบครัวที่คอยเป็นกำลังใจ ให้ความช่วยเหลือในการแก้ไขอุปสรรคต่างๆ ความสำเร็จของข้าพเจ้าจะเกิดขึ้นไม่ได้ ถ้าไม่มีผู้มีพระคุณให้ความช่วยเหลือและสนับสนุน ข้าพเจ้าขอมอบคุณประโยชน์ให้แก่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

ธนภัทร วรปัสสุ

พฤษภาคม 2555

สารบัญ

หน้า

สารบัญตาราง

สารบัญภาพ

สารบัญภาพผนวก

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญของปัญหา

ปลานิล (Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*) จัดได้ว่าเป็นปลาเขตร้อนที่เลี้ยงง่ายและเจริญเติบโตรวดเร็ว กินอาหารได้เกือบทุกชนิดแต่ส่วนใหญ่เป็นแพลงก์ตอนพืช อีกทั้งเป็นปลาที่มีรสชาติดี ทำให้ปลานิลกลายเป็นปลาที่ได้รับความนิยมบริโภคและเลี้ยงอย่างแพร่หลายทั่วทวีปเอเชีย เพราะสามารถนำมาประกอบอาหารได้หลายรูปแบบเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ มีราคาดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปัจจุบันปลานิลสามารถส่งเป็นสินค้าส่งออกไปยังต่างประเทศในลักษณะของปลาแล่เนื้อ ตลาดที่สำคัญ ๆ อาทิ ญี่ปุ่น อเมริกา อิตาลี (กรมประมง, 2554) จากยุทธศาสตร์การบริหารสินค้าปลานิล และผลิตภัณฑ์เพื่อการส่งออกขึ้นในระหว่างปี พ.ศ. 2551-2554 เพื่อเป็นการเพิ่มศักยภาพการผลิตปลานิลตามมาตรฐานระบบการผลิตที่ถูกต้องในฟาร์ม และขยายช่องทางตลาดการส่งออกปลานิลให้กว้างขวาง (ชวนพิศ และเกวลิน, 2553) ทำให้เกษตรกรพัฒนาระบบการเลี้ยงแบบหนาแน่นเพื่อเพิ่มผลผลิตต่อพื้นที่สูงขึ้น ในระบบการเลี้ยงแบบหนาแน่นอาจส่งผลทางลบต่อสุขภาพของสัตว์น้ำ สุขภาพอ่อนแอลง ทำให้เกิดการติดเชื้อโรคได้ง่าย ชนกันต์ (2552) กล่าวว่าการเกิดโรคปลานิลในกระชังบริเวณแม่น้ำปิงตอนบน เกิดจาก 2 ปัจจัยหลัก คือ ปัจจัยแรกเกิดจากสภาพแวดล้อมที่ส่งผลต่อความเครียดของปลา เช่น การเปลี่ยนแปลงสภาพดินฟ้าอากาศ อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงอย่างเฉียบพลัน การเลี้ยงปลาแบบหนาแน่น ปัจจัยที่สองคือตัวเชื้อก่อโรค ทั้งที่เป็นปรสิตและแบคทีเรีย เช่น ปลิงใส เห็บปลา *Streptococcus* sp. และ *Flavobacterium columnare* เป็นต้น ซึ่งถ้าปลาเกิดความเครียดและสุขภาพอ่อนแอ จะทำให้ติดเชื้อก่อโรคได้ง่ายขึ้น การใช้ยาปฏิชีวนะในการป้องกันและรักษาโรคนั้น เป็นสาเหตุสำคัญให้ยาปฏิชีวนะตกค้างในตัวสัตว์น้ำและถ่ายทอดต่อมายังผู้บริโภค รวมทั้งส่งผลเสียทำให้เชื้อแบคทีเรียพัฒนาตัวเองจนเป็นสายพันธุ์ที่ทนทานต่อยาปฏิชีวนะ (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2002) การศึกษาแนวทางในการผลิตสัตว์น้ำโดยไม่ใช้ยาและสารเคมีจึงเป็นแนวทางที่สำคัญ

การกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำด้วยการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่าง ๆ (immunostimulants) มีความสำคัญต่อการควบคุม และป้องกันโรคในสัตว์น้ำ ซึ่งมีงานวิจัยที่พบว่าการเสริมพรีไบโอติก หรือโพรไบโอติกลงในอาหารสัตว์น้ำนั้น จะช่วยส่งเสริมสุขภาพ รักษาสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคโดยการเพิ่มการทำงานของเซลล์จับกินสิ่งแปลกปลอม กระตุ้นการตอบสนองของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันในการผลิต

ไลโซไซม์ ทำให้การเจริญเติบโตและความต้านทานโรคดีขึ้น (Ortuno *et al.*, 2002; Gibson, 2004; Abdel-Tawwab *et al.*, 2008; กัญช์ และคณะ, 2553) ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งที่มีความน่าสนใจในการทดแทนหรือลดปริมาณการใช้ยาและสารเคมี ทำให้ผลผลิตสัตว์น้ำปลอดภัยต่อผู้บริโภคและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม แต่ในวิธีการปฏิบัตินั้นยังคงมีปัญหาอยู่มาก ทั้งด้านของต้นทุน ชนิดและปริมาณของพรีไบโอติกที่เหมาะสม และความหนาแน่นของโพรไบโอติกที่ใช้อย่างได้ผลในสภาวะแวดล้อมในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำที่แตกต่างกัน

การศึกษาวิจัยนี้จึงมุ่งให้ความสนใจเพื่อหาแนวทางการเลี้ยงปลานิลที่ไม่ใช้ยาปฏิชีวนะ โดยการใช้พรีไบโอติกและโพรไบโอติกที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะที่ส่งผลต่อการเพิ่มความต้านทานต่อโรค และการเจริญเติบโต เพื่อมาใช้ในการเพาะเลี้ยงปลานิล และเป็นแนวทางในการส่งเสริมเกษตรกรในการเพาะเลี้ยงปลานิล และเพิ่มศักยภาพการผลิตปลานิลในเชิงพาณิชย์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเพื่อความยั่งยืนต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของการใช้พรีไบโอติกและโพรไบโอติกเสริมในอาหารต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตในปลานิลแปลงเพศ
2. เพื่อศึกษาผลของการใช้พรีไบโอติกและโพรไบโอติกเสริมในอาหารต่อภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในปลานิลแปลงเพศ
3. เพื่อศึกษาต้นทุนค่าอาหารในการเลี้ยงปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมด้วยพรีไบโอติกและโพรไบโอติก

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบผลของการเสริมพรีไบโอติกและโพรไบโอติกที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในปลานิลแปลงเพศ
2. ทราบแนวทางในการเลี้ยงปลานิลแปลงเพศที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ลดการใช้ยาและสารเคมีในการป้องกันโรค
3. เป็นแหล่งข้อมูลสำหรับเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลแปลงเพศที่สนใจ

ขอบเขตของการวิจัย

ใช้กระบวนการทางวิทยาศาสตร์ (sciencetific method) วางแผนการทดลองเลี้ยงปลานิลแปลงเพศในกระชังที่แขวนในบ่อดินของคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เพื่อศึกษาระดับของพรีไบโอติกและโพรไบโอติกเสริมในอาหารต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลานิลแปลงเพศ ระยะเวลาทำการทดลอง 120 วัน ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2552 ถึง เดือนกันยายน 2552 โดยมีขอบเขตในการศึกษา คือ ศึกษาอัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อัตราการรอดตาย ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ต้นทุนค่าอาหารในการเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ แล้วสรุปผลด้วยวิธีการทางสถิติที่เหมาะสม

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ประวัติปลานิล

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ถูกจัดอยู่ในวงศ์ปลาหมอสี (Cicilidae) มีชื่อภาษาอังกฤษคือ Nile tilapia ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Oreochromis niloticus* (ชื่อเดิมคือ *Tilapia nilotica*) มีถิ่นกำเนิดเดิมอยู่ในทวีปแอฟริกา พบได้ทั่วไปตามหนอง บึง และทะเลสาบ ในประเทศซูดาน ยูกันดา เป็นปลาที่เจริญเติบโตเร็ว และเลี้ยงง่าย เหมาะสมที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในบ่อได้เป็นอย่างดี จึงได้รับความนิยมและเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในภาคพื้นเอเชีย แม้แต่ในสหรัฐอเมริกาก็นิยมเลี้ยงปลาชนิดนี้ (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2552)

ปลานิลถูกนำเข้ามาเผยแพร่ในประเทศไทยครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2508 โดยเจ้าฟ้าอากิฮิโต มงกุฎราชกุมารแห่งประเทศญี่ปุ่นได้จัดส่งปลานิลจำนวน 50 ตัว ขนาด 9 เซนติเมตร มาทูลเกล้าถวายแด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว และพระองค์ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าให้เลี้ยงปลานิลในบ่อดินขนาด 10 ตารางเมตรในบริเวณสวนจิตรลดา ปรากฏว่าปลานิลขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว ออกลูกดก และเติบโตเร็วในเวลาเพียง 1 ปีมีความยาวถึง 1 ฟุต และมีน้ำหนักประมาณครึ่งกิโลกรัม จึงทรงพระกรุณาโปรดเกล้าพระราชทานพันธุ์ปลานิลขนาด 3-4 เซนติเมตร จำนวน 10,000 ตัวให้กรมประมงไปดำเนินการขยายพันธุ์ เพื่อแจกจ่ายให้เกษตรกรนำไปเพาะเลี้ยงพร้อมกับพระราชทานชื่อปลาชนิดนี้ว่า "ปลานิล" (อดุลย์, 2532; ชาติชาย, 2543) ปลานิลมีลักษณะคล้ายปลาหมอไทย แต่แบนกว่า สามารถเลี้ยงได้ทั้งน้ำจืดและน้ำกร่อย ปลาในกลุ่มปลานิลที่รู้จักกันดีคือปลาหมอเทศ ปลาหมอเทศข้างลาย และปลานิลแดง (Red Tilapia) (ประเทือง, 2536)

การเพาะเลี้ยงปลานิล

การเลี้ยงปลานิลในกระชังหรือคอก

การเลี้ยงปลานิลในกระชังนั้นนิยมเลี้ยงมานานแล้ว ทั้งในประเทศและต่างประเทศ สำหรับประเทศไทยนิยมเลี้ยงกันมากที่จังหวัดนครสวรรค์ และจังหวัดอุทัยธานี บริเวณริมฝั่งแม่น้ำ

เจ้าพระยาและแม่น้ำสาขา การเลี้ยงปลาในกระชังเป็นการใช้แหล่งน้ำให้เกิดประโยชน์ด้านการเพิ่มแหล่งอาหารประเภทโปรตีนอีกทางหนึ่ง แต่การเลี้ยงด้วยวิธีนี้ไม่ค่อยได้รับความสนใจมากนักในชนบท เพราะส่วนมากแล้วในชนบทจะประสบปัญหาเรื่องอาหารที่นำมาใช้เลี้ยงปลาและน้ำที่มีไม่เพียงพอตลอดฤดูกาลเลี้ยงปลา ด้วยเหตุนี้การเลี้ยงปลาในกระชังส่วนมากจะทำกันภายในขอบเขตที่จำกัดตามบริเวณที่อยู่ริมแม่น้ำ และผลผลิตที่ได้จากการเลี้ยงปลานิลในกระชังนั้นขึ้นอยู่กับการดูแลรักษา การให้อาหารและระยะเวลา การเลี้ยงตามปกติผลผลิตของปลานิลจะอยู่ประมาณ 30-50 กิโลกรัมต่อตารางเมตรต่อปี ซึ่งสูงกว่าการเลี้ยงในบ่อดินประมาณ 10-20 เท่า (เพิ่มพูน, 2531)

การเลี้ยงปลาในกระชังเป็นรูปแบบการเลี้ยงที่ใช้ผลผลิตสูงก่อให้เกิดผลประโยชน์สูงสุดในเชิงเศรษฐศาสตร์สำหรับการใช้ประโยชน์แหล่งน้ำซึ่งสามารถลดการใช้ประโยชน์ที่ดินขาดแคลนน้ำหรือมีไม่เพียงพอทำการเลี้ยงสัตว์น้ำได้เป็นอย่างดี และช่วยให้ผู้ที่ไม่มีที่ทำกินหันมาเลี้ยงปลาได้ เมื่อปล่อยปลาในอัตราที่เหมาะสมจะทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น ช่วยลดระยะการเลี้ยงให้สั้นลงได้ นอกจากนี้ยังสะดวกในการดูแลจัดการ การเคลื่อนย้าย และการเก็บเกี่ยวผลผลิต การลงทุนต่ำกว่ารูปแบบการเลี้ยงแบบอื่นๆ แต่ให้ผลตอบแทนต่อพื้นที่สูง อีกทั้งยังเหมาะกับสภาพท้องที่ตามแหล่งน้ำตื้น เช่น แม่น้ำ ลำคลอง หนอง บึง แหล่งน้ำกร่อยในทะเลสาบ และทะเลชายฝั่ง ซึ่งสามารถดัดแปลงเป็นที่เลี้ยงได้สะดวก (คีรี, 2542; ปัญญา, 2545) ปลาที่เลี้ยงในกระชังจะมีการเจริญเติบโตรวดเร็วและสามารถอยู่ได้หนาแน่น เนื่องจากมีน้ำไหลถ่ายเทอยู่ตลอดเวลา ไม่ขาดแคลนก๊าซออกซิเจน ทำให้สามารถลดระยะเวลาการเลี้ยงให้สั้นลงได้ นอกจากนั้นการจับก็ง่าย และได้ปลาที่มีขนาดไม่แตกต่างกัน (เมฆ, 2530)

รูปร่างและขนาดของกระชัง

กระชังที่ใช้เลี้ยงปลานิลมีรูปทรงต่างๆ เช่น รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า และรูปวงกลม เป็นต้น รูปร่างของกระชังจะมีผลต่อการไหลผ่านของกระแสน้ำที่ถ่ายเทเข้าไปในกระชัง เมื่อเปรียบเทียบในกระชังปริมาตรที่เท่า ๆ กัน กระชังรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสจะมีพื้นที่ผิวที่ให้กระแสน้ำไหลผ่านได้มากกว่ากระชังรูปแบบอื่น ๆ สำหรับกระชังที่ใช้เลี้ยงปลานิลจะแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความต้องการของผู้เลี้ยง ขนาดพื้นที่ที่แขวนกระชัง ตลอดจนปัจจัยอื่น ๆ ขนาดกระชังที่นิยมใช้โดยทั่วไปคือ กระชังสี่เหลี่ยมจัตุรัสมีขนาด 1.2×1.2×2.5 เมตร หรือ ขนาด 2×2×2.5 เมตร กระชังสี่เหลี่ยมผืนผ้ามีขนาด 4×2×2.5 (อุดม, 2552)

ชีววิทยาของปลานิล

อาหารและนิสัยการกินอาหารของปลานิล

อาหารของปลานิล ตามธรรมชาติปลานิลค่อนข้างจะชอบกินพืช แต่ปลานิลเป็นปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์ (omnivorous) เช่น สาหร่าย แพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ ตะไคร่น้ำและของเน่าเปื่อยต่าง ๆ ส่วนลูกปลาขนาดเล็กกินไรน้ำ สาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella*) หรือสไปรูลินา (*Spirulina*) ปัจจุบันการเลี้ยงปลานิลเป็นการเลี้ยงแบบกึ่งพัฒนา จะเน้นการให้อาหารเพื่อเร่งการเจริญเติบโต จึงจำเป็นต้องใช้โปรตีนในปริมาณสูง แต่สัตว์น้ำในแต่ละช่วงอายุมีความต้องการโปรตีนไม่เท่ากัน สำหรับลูกปลาวัยอ่อน (juvenile) และลูกปลานิ้ว (fingerling) มีความต้องการอาหารที่มีระดับโปรตีน ประมาณ 30-40 เปอร์เซ็นต์ ปลาใหญ่มีความต้องการอาหารที่มีระดับโปรตีนประมาณ 25-30 เปอร์เซ็นต์ ปลานิลเป็นปลาที่ไม่มีกระเพาะอาหารที่แท้จริงจึงกินอาหารได้ทีละน้อย และมีขบวนการย่อยอาหารที่ค่อนข้างช้า การให้อาหารทีละมาก ๆ จะทำให้เกิดการสูญเสียอาหาร และทำให้คุณภาพน้ำเสียได้ ดังนั้นจึงควรให้อาหารทีละน้อยแต่ให้บ่อยครั้ง ความถี่ในการให้อาหารประมาณ 4-5 ครั้งต่อวัน ในประเทศไทยจะนิยมอนุบาลปลานิลให้ได้ขนาดตามที่ต้องการแล้วจึงย้ายไปเลี้ยงในบ่อการผลิตอาหารตามธรรมชาติ สำหรับลูกปลานิล จะใส่ปุ๋ยคอก เช่น มูลไก่ มูลหมู มูลวัวและมูลควาย ในอัตราส่วน 250-300 กิโลกรัมต่อไร่ต่อเดือน หรืออาจใช้ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสดและปุ๋ยเคมี (ปกรณ์, 2545)

คุณสมบัติของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิล

คุณสมบัติของน้ำที่จะนำมาใช้ในการเลี้ยงปลานับว่ามีความสำคัญมาก เพราะน้ำเป็นปัจจัยหลักในการดำรงชีวิตของปลา (ไมตรี, 2528; อุดม, 2552) สำหรับคุณสมบัติของน้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลาสามารถแยกเป็นข้อๆ ได้ดังนี้

อุณหภูมิน้ำ

อุณหภูมิของน้ำ (water temperature) จะมีผลต่อกระบวนการต่าง ๆ ภายในร่างกายของปลาเป็นอย่างมาก เช่น การกินอาหาร การย่อยอาหาร การเคลื่อนไหว การหายใจ การสืบพันธุ์

และการเจริญเติบโต ปลานิลสามารถทนต่อระดับอุณหภูมิได้ในช่วงกว้างคือ ตั้งแต่ 21.1-42.0 องศาเซลเซียส แต่ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียสหรือสูงกว่า 42 องศาเซลเซียส ปลานิลจะอยู่ได้ไม่นานและทำให้ตายได้ นอกจากนี้ปลานิลจะไม่กินอาหารและไม่เจริญเติบโตเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส และจะไม่วางไข่ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อุณหภูมิที่เหมาะสมในการวางไข่อยู่ระหว่าง 26-29 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 19-28 องศาเซลเซียส (อุดม, 2552)

ความเป็นกรดเป็นด่าง

น้ำที่เหมาะต่อการเลี้ยงปลาไม่ควรมีการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) เกินกว่า 2 หน่วยในรอบวัน และน้ำมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ระหว่าง 6.5-8.5 ก่อนพระอาทิตย์ขึ้นเป็นน้ำที่เหมาะแก่การเลี้ยงปลามากที่สุด ส่วนในช่วงความเป็นกรดเป็นด่าง 4-6 และ 9-11 ปลาจะเจริญเติบโตช้าและอ่อนแอ เพราะในน้ำที่เป็นด่างมากปลาจะตาย และถ้าเป็นกรดปลาจะไม่อยากกินอาหาร ทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโตลดลงและความต้านทานต่อโรคต่ำ อ่อนแอและเป็นโรคได้ง่าย แต่โดยทั่วไปปลานิลสามารถอาศัยอยู่ได้ในน้ำที่มีระดับความเป็นกรดเป็นด่าง ตั้งแต่ 7.2-8.3 หรือในช่วงเช้าความเป็นกรดเป็นด่าง 7 และช่วงบ่ายความเป็นกรดเป็นด่าง 10 ก็สามารถอาศัยอยู่ได้ (อุดม, 2552)

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

ปริมาณออกซิเจนในน้ำ (dissolved oxygen : DO) มีความสำคัญมากที่สุดในการเลี้ยงปลา เนื่องจากปลาต้องใช้ออกซิเจนในการหายใจ หากในน้ำมีออกซิเจนต่ำเกินไปปลาก็จะลอยหัวขึ้นมาใช้ออกซิเจนจากผิวน้ำและอากาศ ซึ่งส่งผลทำให้ปลาเกิดอาการเครียดและการเจริญเติบโตลดลง (อุดม, 2552) ไมตรี (2528) กล่าวว่าระดับที่ทำให้ปลานิลตายได้อยู่ระหว่างช่วง 0.8-1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ไม่ควรมีออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำกว่า 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (มั่นสิน และไพพรรณ, 2536)

แอมโมเนีย

ปริมาณแอมโมเนีย (ammonia) ในบ่อปลาได้มาจากการถ่ายของเสียจากตัวปลา และจากการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุโดยแบคทีเรีย ความเป็นกรดเป็นด่างและอุณหภูมิของน้ำจะเป็นตัวควบคุมอัตราการแตกตัวของแอมโมเนียคือ ถ้าความเป็นกรดเป็นด่างสูงขึ้นจะทำให้แอมโมเนียแบบที่ไม่แตกตัวมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นซึ่งเป็นอันตรายต่อปลา (ไมตรี, 2528) ถ้าอุณภูมิของน้ำเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของแอมโมเนียทั้งหมดอาจสูงถึง 3.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้โดยไม่เป็นพิษต่อปลาในน้ำที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 7 แต่ถ้าความเป็นกรดเป็นด่างสูงถึง 9 แอมโมเนียทั้งหมด ต้องไม่เกิน 0.054 มิลลิกรัมต่อลิตร มิฉะนั้นแล้วปลาอาจเป็นอัตรายเนื่องจากพิษของแอมโมเนีย (มั่นสิน และ ไพพรรณ, 2536)

ระบบภูมิคุ้มกันของปลา

ระบบภูมิคุ้มกัน (immune system) เป็นระบบที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับภูมิต้านทานของร่างกายของปลาคล้ายกับระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งประกอบด้วย เซลล์หลายชนิดทำหน้าที่ร่วมกัน เช่น lymphocyte และ phagocyte ในสภาวะปกติเซลล์เหล่านี้ส่วนใหญ่จะอยู่ในเนื้อเยื่อ เลือด น้ำเหลือง และไขกระดูก ยกเว้น plasma cells (สุทธิพัน และคณะ, 2537; Sakai, 1999) ระบบภูมิคุ้มกันของปลา ซึ่งประกอบด้วยระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (non-specific immunity) และ ระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (specific immunity) ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะถือเป็นด่านแรกในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคต่าง ๆ มีการตอบสนองอย่างรวดเร็วเพื่อป้องกันการบุกรุกของเชื้อโรค ส่วนระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะมีการพัฒนาช้ากว่าระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ แต่มีระบบจดจำ ทำให้ปลามีการตอบสนองอย่างรวดเร็วกว่าการถูกกระตุ้นครั้งแรก (Vadstein, 1997) ภูมิคุ้มกันทั้งสองชนิดแบ่งตามลักษณะการทำงานได้ 2 ชนิด คือ

1. ภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวกับเซลล์ (cell mediated immunity) เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆ เซลล์เม็ดเลือดขาวของปลาแบ่งออกได้เป็น 5 ชนิด คือ โมโนไซต์ (monocyte) นิวโทรฟิล (neutrophil) เบโซฟิล (basophil) อีโอสิโนฟิล (eosinophil) และลิมโฟไซต์ (lymphocyte) ซึ่งเซลล์เม็ดเลือดขาวจะทำหน้าที่ในการจับกินสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย (อัมพร, 2545) หน้าที่ของเซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดมีดังนี้ คือ

1.1. โมโนไซต์ (monocyte) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์ประมาณ 9-12 ไมโครเมตร นิวเคลียสเป็นรูปไข่หรือเกือกม้า หรือรูปไต วางอยู่ชิดไปทางด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ โครมาตินในนิวเคลียสมีอยู่เพียงบางๆ ในกระแสเลือดมีโมโนไซต์อยู่ประมาณร้อยละ 3-5 ของ เม็ดเลือดขาวทั้งหมด โมโนไซต์ทำหน้าที่ในการกำจัดแอนติเจนด้วยวิธี phagocytosis หรือวิธี antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC)

1.2. นิวโทรฟิล (neutrophil) ในจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดในกระแสเลือดมีนิวโทรฟิลอยู่ถึงร้อยละ 60 นิวโทรฟิลที่เจริญเต็มที่แล้วมีขนาดประมาณ 12 ไมโครเมตร มีนิวเคลียส 2-5 lobe นิวโทรฟิลทำหน้าที่ในการ phagocytosis โดยนิวโทรฟิลจะออกจากกระแสเลือดเข้าไปสู่เนื้อเยื่อที่มีสิ่งแปลกปลอมอยู่ ด้วยการแทรกตัวไประหว่าง endothelial cell ที่บุผนังเส้นเลือด

1.3. เบโซพิล (basophil) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 12 ไมโครเมตร นิวเคลียสมี 2 lope ในซัยโตพลาสมีแกรนูลขนาดใหญ่กว่าของนิวโทรฟิลและอีโอสิโนฟิล แกรนูลมีจำนวนมากจนบดบังนิวเคลียสไว้เกือบทั้งหมด เบโซพิลเคลื่อนไหวและจับกินสิ่งแปลกปลอมได้ แต่ความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้อยกว่านิวโทรฟิลและอีโอสิโนฟิลมาก

1.4. อีโอสิโนฟิล (eosinophil) มีอยู่ในกระแสเลือดมีอยู่ประมาณร้อยละ 2-5 ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด ขนาดเล็กกว่านิวโทรฟิลเล็กน้อย เส้นผ่านศูนย์ประมาณ 9 ไมโครเมตร นิวเคลียสมักมี 2 lope อีโอสิโนฟิลเป็นฟาโกซัยท์ที่เลือกจับกินเฉพาะสารประกอบเชิงซ้อนของแอนติเจน

1.5. ลิมโฟไซด์ (lymphocyte) ในกระแสเลือดส่วนใหญ่เป็นเซลล์ขนาดเล็กซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 6-8 ไมโครเมตร ลิมโฟไซต์เคลื่อนที่ได้ในจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดมีประมาณร้อยละ 20 (สุทธิพันธ์ และคณะ, 2537)

2. ภูมิคุ้มกันสารน้ำ (humoral immunity) เป็นของเหลวที่อยู่ในน้ำเลือดมีหลายชนิด เช่น

2.1. คอมพลีเมนต์ (complement) เป็นกลุ่มของซีรัมโปรตีนที่มีบทบาทในการป้องกันการรุกรานของสิ่งแปลกปลอม ทำหน้าที่ช่วยในการทำให้เชื้อแบคทีเรียและไวรัสง่ายต่อการถูกทำลาย โดยทำให้เกิดการแตก (lysis) ของเซลล์แบคทีเรีย และไวรัสที่มีเปลือก (enveloped virus) รวมทั้งเป็นตัวตั้งต้นในการเกิด opsonization ที่จะช่วยเสริมการทำงานของเซลล์ phagocytosis เกี่ยวข้องกับการคลุมสิ่งแปลกปลอมด้วยชิ้นส่วนของคอมพลีเมนต์ ซึ่งชิ้นส่วนนี้จะถูก

จดจำได้จากตัวรับ (receptor) บนผิวของ phagocytic cell และเข้ากลืนกินทำลาย (ชนกันต์, 2545; โสมทัต, 2538)

2.2. ไลโซไซม์ (lysozyme) ผลิตมาจากเซลล์ที่ทำหน้าที่จับสิ่งแปลกปลอม แล้วปล่อยมาในกระแสเลือดซึ่งจะอยู่ในส่วนของน้ำเลือด โดยเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการทำลายผนังเซลล์แบคทีเรียให้แตกจนไม่สามารถทำงานได้ แล้วจะถูกจับกินได้ง่ายขึ้น (Dalmo et al., 1997; Lim and Webster, 2001)

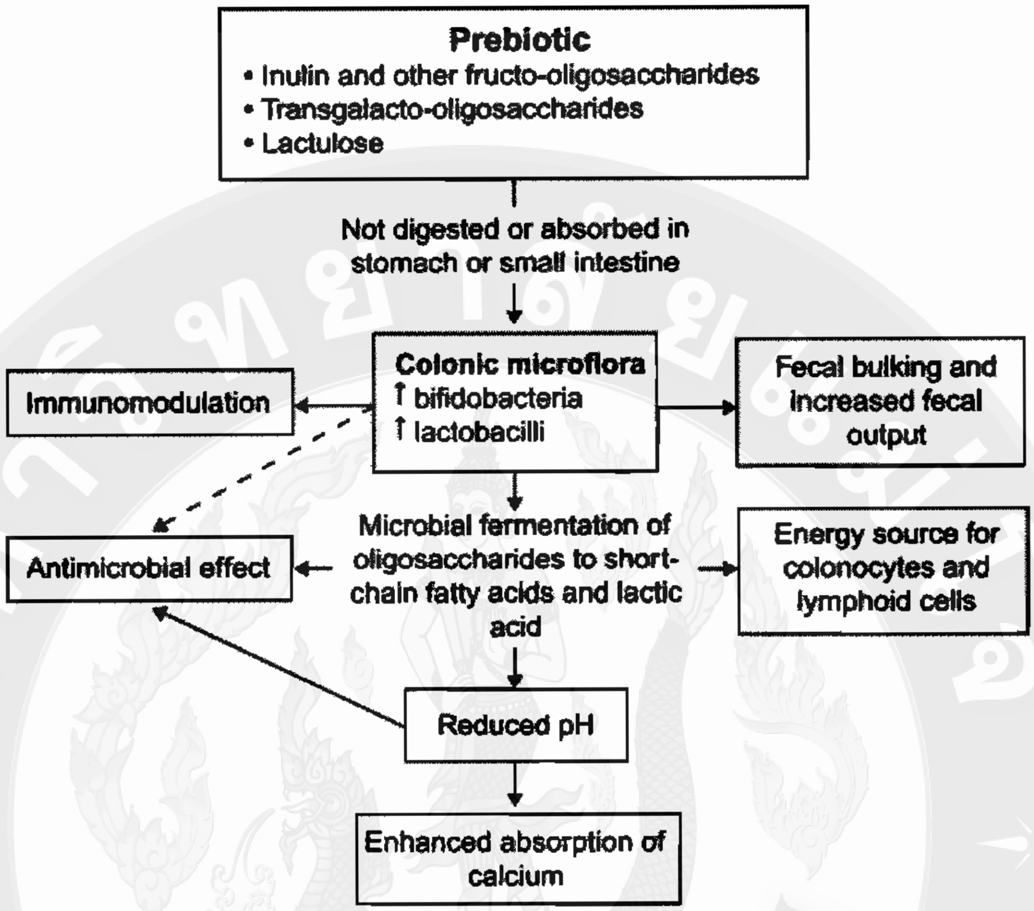
2.3. สารที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ จำพวกทรานสเฟอร์ริน (transferrin) และโปรตีน C-reaction (CRP) ที่อยู่ในซีรัมทำหน้าที่ร่วมกับคอมพลีเมนต์ในการช่วยเพิ่มความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอม (ชนกันต์, 2545)

2.4. ไซโตคายน์ (cytokine) เป็นกลุ่มปรตีนที่ทำหน้าที่ส่งสัญญาณในการกระตุ้น การเคลื่อนที่ การเจริญเติบโต การ differentiation ของเม็ดเลือดขาวและเซลล์อื่น ๆ รวมทั้งยับยั้งการทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกันต่าง ๆ (ชนกันต์, 2545; โสมทัต, 2538)

พรีไบโอติก (prebiotic)

พรีไบโอติก เป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่ไม่สามารถถูกย่อย และไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร แต่แบคทีเรียบางกลุ่มโดยเฉพาะกลุ่มที่มีประโยชน์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่สามารถใช้สารอาหารเหล่านั้นในการเจริญ และส่งผลต่อการเสริมสร้างสุขภาพของเจ้าบ้านให้ดีขึ้นอาทิเช่น *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* และ *Eubacterium* (Cumming et al., 2001)

ส่วนใหญ่สารที่นำมาใช้เป็นพรีไบโอติกมักเป็นใยอาหารธรรมชาติจากพืชที่มีโอลิโกแซคคาไรด์ที่ย่อยไม่ได้ หรือคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนชนิดอื่น ซึ่งยังจะช่วยลดอาการท้องผูก ช่วยรักษาสมดุลน้ำและเกลือแร่ในร่างกาย และช่วยในการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก และสังกะสี (พีร์, 2551) สารอาหารที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกนั้นต้องสามารถทนต่อการย่อยของกรดในกระเพาะอาหาร และลงสู่ลำไส้ใหญ่ได้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง และไม่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็ก เพื่อที่จุลินทรีย์ประจำถิ่น (microflora) ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่สามารถใช้สารเหล่านี้ในการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวน (Gibson, 2004) จุลินทรีย์ประจำถิ่นจะย่อยโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยการหมัก จะผลิตกรดแลกติกและกรดไขมันชนิดสายสั้น ทำให้ความเป็นกรดเป็นด่างในลำไส้ลดลง จึงไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อก่อโรค (Sherman et al., 2009) ดังแสดงในภาพ 1



ภาพ 1 กลไกของพรีไบโอติกในระบบทางเดินอาหาร

ที่มา : Sherman et al. (2009)

ประโยชน์ของพรีไบโอติก

สารอาหารที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกนั้นต้องสามารถทนต่อการย่อยของกรดในกระเพาะอาหาร และลงสู่ลำไส้ใหญ่ได้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง และไม่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็ก จึงจะเกิดประโยชน์ต่อเจ้าบ้าน โดยที่ไปส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ประจำถิ่นภายในลำไส้ใหญ่ ซึ่งสุญาณี (2549) ได้อธิบายประโยชน์ของพรีไบโอติกไว้ดังนี้ คือ

1. ผลต่อระบบทางเดินอาหาร ที่ลำไส้ใหญ่พรีไบโอติกจะเป็นอาหารให้กับแบคทีเรีย ซึ่งเมื่อแบคทีเรียนำไปใช้ก็จะให้พลังงานและสารบางชนิด เช่น กรดแลกติกและกรดไขมันชนิดสายสั้น (short-chain fatty acids) ทำให้มีการกระตุ้นการเจริญของกลุ่มจุลินทรีย์สุขภาพ

และสภาวะความเป็นกรดที่เกิดขึ้นจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียบางชนิดในลำไส้ได้ เช่น *Clostridium perfringens, Salmonella* spp. และ *Esherichia coli* เป็นต้น จึงมีผลช่วยป้องกันอาการท้องเดินโดยเฉพาะจากการติดเชื้อได้

2. ผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด จากการหมักพรีไบโอติกโดยแบคทีเรียในลำไส้ได้กรดไขมันชนิดสายสั้น ความเป็นกรดก็จะช่วยในการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิดได้ เช่น แคลเซียม เหล็ก แมกเนเซียม และสังกะสี

3. ผลต่อการเผาผลาญไขมัน มีการศึกษาเกี่ยวกับการช่วยลดระดับไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) แต่ยังไม่มีข้อมูลมากนักในส่วนเรื่องของการช่วยลดคอเลสเตอรอล แต่ถ้าหากการที่จุลินทรีย์ที่ส่งผลดีต่อสุขภาพเจริญจำนวนมากขึ้น ก็จะช่วยย่อยสลายคอเลสเตอรอล และยับยั้งการดูดซึมผ่านผนังลำไส้ หรืออาจเนื่องจากผลจากกระบวนการหมักที่ได้กรดไขมันสายสั้นบางชนิดโดยเฉพาะกรดโพรพิโอนิก (propionic acid) ซึ่งสามารถไปยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันรวมทั้งคอเลสเตอรอล

4. ผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของระบบทางเดินอาหาร จากการศึกษาพบว่าพรีไบโอติกสามารถช่วยกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยมีผลต่อการทำหน้าที่ของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับภูมิต้านทานในลำไส้ มีผลเพิ่มความแข็งแรงของเซลล์เยื่อบุผิวของลำไส้ซึ่งสามารถป้องกันการติดเชื้อได้ดีด้วย

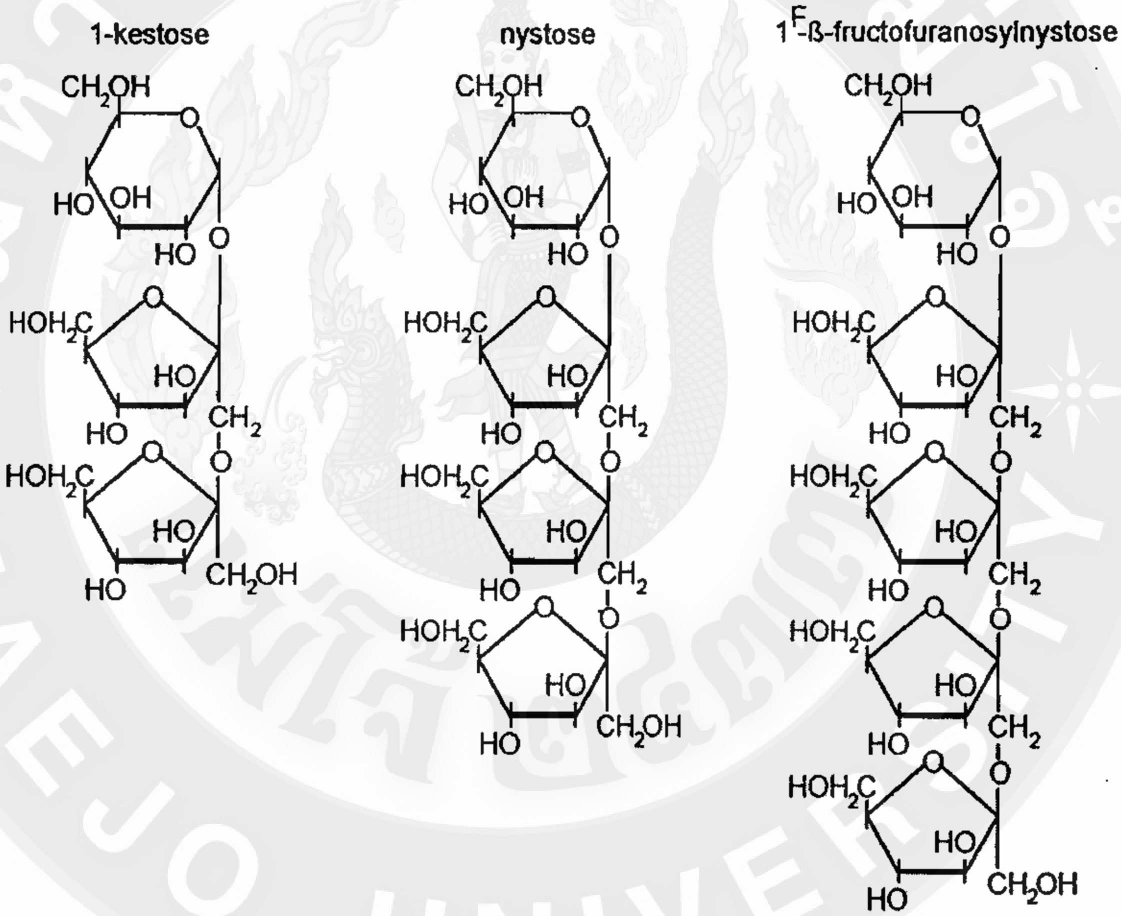
ชนิดของพรีไบโอติก

พรีไบโอติกที่มีการใช้กันอยู่ในขณะนี้อยู่ในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์คือคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยโมโนแซคคาไรด์ ตั้งแต่ 3 หน่วยถึง 10 หน่วย ซึ่งประกอบไปด้วยน้ำตาลหลายชนิดมาต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkage) โดยพันธะที่เชื่อมกันของน้ำตาลจะมีความสัมพันธ์กับเอนไซม์ของแบคทีเรียโพรไบโอติกว่าสามารถสร้างเอนไซม์มาย่อยพันธะดังกล่าวได้หรือไม่

โอลิโกแซคคาไรด์ที่ใช้นิยมนำมาใช้เป็นพรีไบโอติกมีดังนี้ คือ Lactulose, Fructo-oligosaccharides, Galacto-oligosaccharides, Soybcan oligosaccharides, Lactosucrose, Isomalto-oligosaccharides, Gluco-oligosaccharides, Xylo-oligosaccharides, Palatinose (Manning and Gibson, 2004; ฤดี, 2548)

ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์

ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharides, FOS) เป็นโพลีแซคคาไรด์สายสั้นๆ ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวได้แก่ กลูโคส และฟรุกโตส ต่อกัน 2-10 โมเลกุล โดยที่โมเลกุลของน้ำตาลฟรุกโตสจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ beta-(2,1)-glycosidic ทำให้ได้ฟรุคโตโอลิโก แซคคาไรด์ชนิดต่างๆ ได้แก่ 1-ketose (GF2), nystose (GF3) และ fructofuranusylnystose (GF4) (ภาพ 2) (สุญาณี, 2549)



ภาพ 2 โครงสร้างฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์

ที่มา : Hussein et al. (1998)

คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ คือ เป็นผงละเอียดสีขาว ไม่มีกลิ่น มีความหวานเป็นร้อยละ 30 ของน้ำตาลซูโครสดูดความชื้นเล็กน้อย ให้

พลังงานต่ำ (ประมาณ 1.5 กิโลแคลอรี่ต่อกรัม) เนื่องจากไม่สามารถย่อยได้โดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร มีความคงตัวสูงค่าความเป็นกรดเป็นด่างมากกว่า 3 และทนต่ออุณหภูมิไม่เกิน 140 องศาเซลเซียส ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์พบในพืชมากกว่า 36,000 ชนิด โดยแหล่งอาหารที่มีฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในปริมาณสูง ได้แก่ กล้วย หอมหัวใหญ่ กระเทียม หน่อไม้ฝรั่ง มะเขือเทศ ข้าวสาลี ชิคอรี เป็นต้น (ตาราง 1) นอกจากนี้ในระดับอุตสาหกรรมอาหารยังมีการผลิตฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากน้ำตาลซูโครสโดยอาศัยปฏิกริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ของเอนไซม์อินนูลิเนส (inulinase) ได้อีกด้วย ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์จะช่วยเพิ่มจำนวนแบคทีเรียตัวดีในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งส่งผลให้การทำงานและสุขภาพของระบบทางเดินอาหารดีขึ้น (สุญาณี, 2549)

ตาราง 1 ปริมาณของฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในอาหารธรรมชาติ

แหล่ง	FOS (%)
ข้าวบาร์เลย์	0.15
มะเขือเทศ	0.15
หัวหอม	0.23
กล้วย	0.3
น้ำตาลทรายแดง	0.3
ข้าวไรย์	0.5
กระเทียม	0.6
น้ำผึ้ง	0.75

ที่มา : Sangeetha et al. (2005)

การใช้ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

Hui-yuan et al. (2007) ทดสอบผลของฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นต่อจุลินทรีย์ในลำไส้ อัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลานิลพันธุ์ผสม *Oreochromis aureus x O. niloticus* โดยเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ที่ระดับแตกต่างกัน 0, 0.8 และ 1.2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ปล่อยปลา 40 ตัวต่อกลุ่ม น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 5.55±0.02 กรัม หลังสิ้นสุดการ

ทดลองพบว่าปลาน้ำหนักสุดท้าย และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เพิ่มขึ้นตามระดับของการเพิ่มฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.10$) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และ hepatopancreasomatic index (HI, เปอร์เซ็นต์) ลดลงตามระดับของการเพิ่มฟรุคโตโอลิโกแซคคา-ไรด์ แต่ไม่มีผลต่ออัตราการรอดตายของปลานิลพันธุ์ผสม การศึกษาครั้งนี้พบว่าของฟรุคโตโอลิ-โกแซคคาไรด์สายสั้น เป็นผลดีต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ จุลินทรีย์ในลำไส้ ระดับที่เหมาะสมที่สุดคือ 1.2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

การเสริมอินนูลิน โอลิโกฟรุคโตส และแลคโตซูโครส ต่อการเจริญเติบโตและแบคทีเรียในลำไส้ของปลา turbot (*Psetta maxima*) โดยเสริมในอาหารทดลองอย่างละ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่าน้ำหนักสุดท้ายในปลาที่กินอาหารเสริมโอลิโกฟรุคโตสสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ แบคทีเรียสามารถใช้โอลิโกฟรุคโตสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ ซึ่งจะเป็นผลดีต่อการเจริญเติบโตของปลา turbot (Mahious et al., 2006)

Ai et al. (2011) ศึกษาผลของการเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และ *Bacillus subtilis* ในอาหารต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ และความต้านทานต่อเชื้อ *Vibrio harveyi* ของปลา yellow croaker (*Larimichthys crocea*) ซึ่งมีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 7.82±0.68 กรัม ใช้อาหาร 9 สูตร ประกอบด้วย *B. subtilis* แตกต่างกัน 3 ระดับคือ 0.0, 0.42 และ 1.35×10^{7} cfu/g ผสมกับฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 3 ระดับคือ 0.0, 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ และอาหารที่เสริมทั้ง *B. subtilis* และ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 3 ระดับ หลังจากทดลองเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า การเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในทุกระดับไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ แต่การเสริมทั้ง *B. subtilis* และ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ทำให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงขึ้นแตกต่างกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม ส่วนอัตราการรอดตายไม่แตกต่างกันในอาหารทั้ง 9 สูตร การเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในทุกระดับไม่มีผลต่อไลโซไซม์ แต่การเสริมทั้ง *B. subtilis* และ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ทำให้ไลโซไซม์มีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Grisdale-Helland et al. (2008) ศึกษาผลของพรีไบโอติกแมนแนนโอลิโกแซคคา-ไรด์ (MOS), ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) และ กาแลตโตโอลิโกแซคคาไรด์ (GOS) ที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์จากอาหารของปลา Atlantic salmon (*Salmo salar*) เป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่าการเสริมเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ทำให้ปลา Atlantic salmon มีประสิทธิภาพการกินอาหารดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารควบคุม และพบว่าซีรัมไลโซไซม์ไม่มีความแตกต่างกัน

Zhou et al. (2010) ได้ศึกษาการเสริมพรีไบโอติก 4 ชนิด คือ ฟรุกโตโอลิโกแซค-คาไรด์ (FOS) ที่ได้จากอินนูลิน กาแลตโตโอลิโกแซคคาไรด์ (GOS), Bio-MOS และ Previda™ ในปริมาณ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ในอาหารที่มีระดับโปรตีน 41 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 10 เปอร์เซ็นต์ ทดสอบในปลา Red drum (*Sciaenops ocellatus*) พบว่า ปลา Red drum ที่ได้รับอาหารเสริม Previda™ มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่น ๆ และปลาที่ได้รับอาหารเสริม Bio-MOS มีอัตราการรอดตายต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่นๆ ส่วนกิจกรรมไลโซไซม์ของปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกทั้ง 4 ชนิด (P<0.05) ดังนั้นการเสริมพรีไบโอติกมีผลต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองภูมิคุ้มกัน

Zhou et al. (2007) ทดลองเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (ScFOS, Profeed 95%) ลงในอาหารอนุบาลกุ้งขาววัยอ่อน พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารเสริม ScFOS มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น การเจริญเติบโตจำเพาะดีขึ้น และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อลดลง

Zhang et al. (2010) ทดสอบความสัมพันธ์ของโพรไบโอติก *Bacillus subtilis* และพรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกัน จุลินทรีย์ภายในลำไส้ และความต้านทานต่อเชื้อโรค *Vibrio splendidus* ของปลิงทะเล (sea cucumber, *Apostichopus japonicus*) โดยใช้ *B. subtilis* แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 0, 1.82 และ 4.95×107 CFU/g ผสมกับฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 0,0.25 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการเสริม *B. subtilis* ในอาหารเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ coelomocytes, phagocytosis และความต้านทานเชื้อโรค *V. splendidus* (P < 0.05) แต่ไม่มีผลต่อ phenoloxidase และพบว่าฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ จำนวนแบคทีเรีย และจำนวน *Vibrio* ในกลุ่มที่เสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เพิ่ม coelomocytes, phagocytosis และ phenoloxidase และพบว่าการเสริม *B. subtilis* และฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีอิทธิพลร่วมกัน ในการส่งเสริมประสิทธิการเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกัน และความต้านทานเชื้อโรค

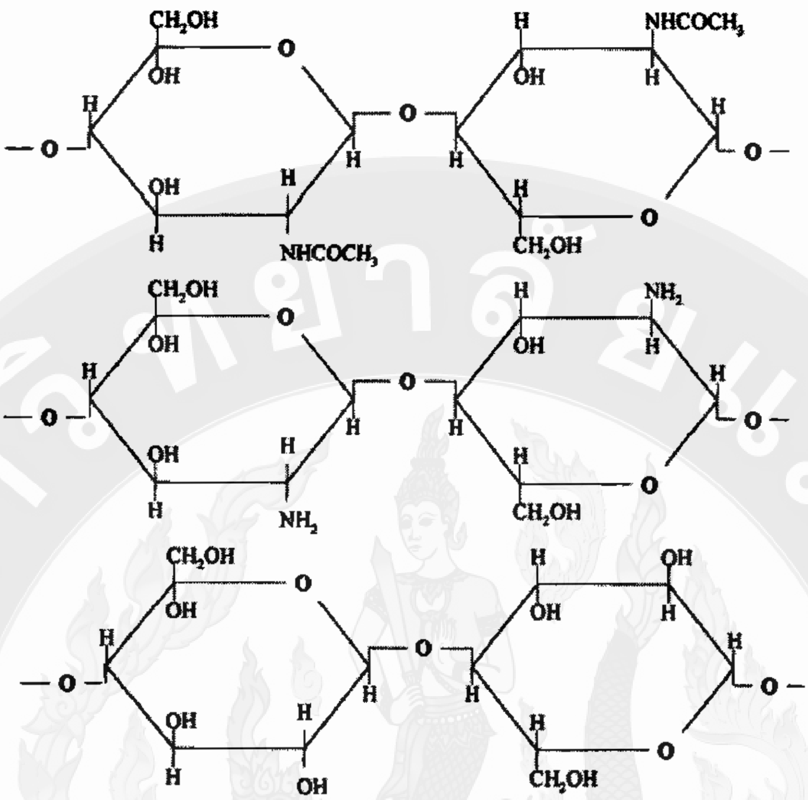
Soleimani et al. (2012) ศึกษาประสิทธิภาพของพรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคา-ไรด์ต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ความทนต่อความเครียด เอนไซม์ของระบบการย่อย ปัจจัยด้านการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของลูกปลา Caspian Roach (*Rutilus rutilus*) ใช้ลูกปลาน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 0.67±0.03 กรัม 50 ตัวต่อถัง จำนวน 12 ถัง ให้อาหารเสริมด้วยฟรุค-โตโอลิโกแซคคาไรด์ ที่ระดับ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ หลังสิ้นสุดการทดลอง (7 สัปดาห์) พบว่าการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (serum Ig levels, lysozyme activity และ alternative complement activity (ACH50)) สูงขึ้น จากการได้รับอาหารเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ที่ระดับ

2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มเพียง ไลโซไซม์ การเสริมฟรุคโตโอลิโกแซค-คาไรด์ ทุกระดับ ทำให้ทนต่อความเครียดจากเกลือเพิ่มขึ้น และมีอัตราการรอดตายสูงในระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ ในทำนองเดียวกัน เอนไซม์ของระบบทางเดินอาหารอาหารเพิ่มสูงขึ้น ในส่วนของประสิทธิภาพการเจริญเติบโต พบว่าน้ำหนักสุดท้าย อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ เพิ่มขึ้นจากการได้รับอาหารเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์

ไคโตซาน (chitosan)

ไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคติน ซึ่งเป็นโพลิแซคคาไรด์ที่พบมากในธรรมชาติเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส (Knorr, 1984) ไคตินและไคโตซานพบได้ทั่วไปทั้งในพืชและสัตว์ ได้แก่ กุ้ง หอย แมลง รา และยีสต์ ปริมาณไคตินที่พบจะแตกต่างกันไปตามชนิดของสิ่งมีชีวิต ไคโตซานที่ได้จากการกำจัดหมู่ อะซิติลของไคตินด้วยด่างเข้มข้นทำให้โครงสร้างทางเคมีของไคตินเปลี่ยนแปลงโดยหมู่อะซิตามิโดของไคตินถูกแทนที่ด้วยอะตอมของไฮโดรเจนกลายเป็นหมู่อะมิโน ($-NH_2$) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่สอง ดังนั้นไคโตซาน คือ D-glucosamine(2-amino-2-deoxy-D-glucose) หรือ Poly-ß(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glucose มีสูตรทั่วไปเป็น ($C_6H_{11}NO_4$) (ภาพ 3) (ลิลา, 2542; ภาวดี และคณะ, 2543) โดยทั่วไปถ้าหมู่อะซิติลถูกตัดออกไปประมาณร้อยละ 60 ไคตินจะถูกเรียกว่าไคโตซาน และถ้าหมู่อะซิติลถูกตัดหรือหลุดออกไปประมาณร้อยละ 90-100 จะเรียกว่า fully deacetylated chitosan ความสามารถในการกำจัดหมู่อะซิติลจะขึ้นอยู่กับแหล่งของไคตินและกระบวนการผลิต (ขวัญใจ, 2541)

ไคโตซานได้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลาย ทั้งด้านการแพทย์ ด้านการเกษตร ด้านอาหารและเครื่องสำอาง ในวงการแพทย์ได้นำไคโตซานมาทำเป็นแผ่นปิดแผล ช่วยให้ผู้ป่วยมีอาการเจ็บปวดจากบาดแผลผ่าตัดน้อยกว่าการใช้ผ้ากอซชุบน้ำมันวาสลินปิดแผล และยังป้องกันการติดเชื้อของแผล (อัธยา, 2541)



ภาพ 3 โครงสร้างไคติน ไคโตซาน และเซลลูโลส
ที่มา : Ponce-Jimenez et al. (2002)

การใช้ไคโตซานในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

มนต์สรวง และคณะ (2550) ศึกษาการเจริญเติบโตของปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเคลือบด้วยไคโตซานระดับต่าง ๆ โดยทดลองเลี้ยงปลานิลแปลงเพศที่มีน้ำหนักอยู่ในช่วง 2.18 – 2.42 กรัม ด้วยอาหารสำเร็จรูป 7 สูตร โดยแต่ละสูตรจะมีความแตกต่างกันของระดับไคโตซานที่ใช้ในการเคลือบเม็ดอาหาร ดังนี้ 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมอาหาร ตามลำดับ การทดลองทำในตู้กระจกซึ่งมีปริมาตรน้ำ 160 ลิตร ระยะเวลาทำการทดลอง 10 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าการเคลือบด้วยไคโตซานในระดับ 10 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระดับที่ทำให้ปลามีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว ($P<0.05$) น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น ($P<0.05$) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ($P<0.05$) สูงที่สุด และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ($P<0.05$) ต่ำที่สุด และพบว่าอาหารที่เคลือบด้วยไคโตซานในระดับ 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมอาหาร

ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน อัตราการกินอาหารต่อวัน อัตราการรอดตาย การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ และดัชนีตับต่อตัว

Gopalakannan and Arul (2006) ศึกษาผลของไคติน ไคโตซาน และ levamisole ต่อระบบภูมิคุ้มกัน และการเจริญเติบโตของปลาไน (*Cyprinus carpio*) ให้อาหารปลาเป็นระยะเวลา 90 วัน และทดสอบด้วยเชื้อ *Aeromonas hydrophila* จากการทดลองพบว่าอาหารเสริมไคติน ไคโตซาน และ levamisole เพิ่มการเจริญเติบโตทุกกลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเทียบกับอาหารที่ไม่เสริม มีผลการเจริญเติบโตที่สูงในปลาที่กินอาหารเสริมไคโตซาน 94.92±9.36 กรัม รองลงมาคือ levamisole 93.25±8.4 กรัม และ ไคติน 63.54±4.7 กรัม อาหารที่เสริมไคติน ไคโตซาน และ levamisole สามารถกระตุ้นกิจกรรมของไลโซไซม์ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.001) และ nitroblue tetrazolium ลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.001) เมื่อทดสอบด้วยเชื้อ *A. hydrophila* พบว่าเปอร์เซ็นต์ความสัมพันธ์ของอัตราการรอดตายมีค่าสูงในปลาที่กินอาหารเสริมไคโตซาน (80 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาเป็น levamisole (66.7 เปอร์เซ็นต์) และไคติน (40 เปอร์เซ็นต์) อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์ความสัมพันธ์ของอัตราการรอดตายลดลง 68.9, 57.8 และ 37.5 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 90 หลังจากทดสอบด้วยเชื้อ *A. hydrophila* ผลบ่งชี้ว่าอาหารที่เสริมไคโตซานช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ และอัตราการรอดตายของปลาไน สรุปได้ว่าการเสริมไคติน ไคโตซาน และ levamisole ในอาหาร จะช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันในการป้องกันและต่อต้านการติดเชื้อ *A. hydrophila* ได้

Geng et al. (2011) ศึกษาผลของการเสริม *B. subtilis* และ ไคโตซานในอาหารต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ และความต้านทานต่อเชื้อ *Vibrio harveyi* ในปลาช่อนทะเล (cobia, *Rachycentron canadum*) น้ำหนักเฉลี่ย 10.1 ± 0.5 กรัม เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีอัตราการรอดตายที่ไม่แตกต่างกัน อยู่ในช่วง 81.3-84.0 เปอร์เซ็นต์ ปลาช่อนทะเลที่ได้รับไคโตซานที่ระดับ 3 และ 6 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และปลาช่อนทะเลที่ได้รับ *B. subtilis* ที่ระดับ 1 และ 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารผสมกับไคโตซานทั้งสองระดับคือที่ระดับ 3 และ 6 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารควบคุม รวมทั้งเพิ่มปัจจัยทางภูมิคุ้มกันให้สูงขึ้น (lysozyme activity, phagocytosis, respiratory burst activity, alternative complement pathway activity) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

กัญช์ และคณะ (2553) ศึกษาผลการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันของปลากระพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch) ต่อการเสริมไคโตซานเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1 และ 1.5 ของน้ำหนักอาหาร จากการทดลองเป็นเวลา 47 วัน พบว่าการเสริมไคโตซานเข้มข้นร้อยละ 1.5 ของน้ำหนักอาหาร นาน 26 และ 36 วัน มีผลให้ปริมาณเม็ดเลือดขาวรวมลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(P<0.05) ในขณะที่การเสริมไคโตซานร้อยละ 1 ของน้ำหนักอาหาร นาน 47 วันมีผลให้ประสิทธิภาพการจับกินสิ่งแปลกปลอม และ Phagocytosis Index เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่การเสริมไคโตซานเข้มข้นร้อยละ 0.5 ของน้ำหนักอาหารให้ผลด้านการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การเสริมอาหารด้วยไคโตซานเข้มข้นร้อยละ 1 ของน้ำหนักอาหารสามารถช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิดไม่จำเพาะในปลากระพงขาวได้

มีการนำสารละลายไคโตซานมาใช้เคลือบอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ในพื้นที่ความเค็มต่ำ (ประมาณ 5±2 พีพีที) ขนาดบ่อ 2 ไร่ พบว่าการใช้ไคโตซานเคลือบอาหารกุ้งสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร และเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันในกุ้งกุลาดำได้มากขึ้น ปริมาณไคโตซานที่เหมาะสมที่ใช้ในการเคลือบอาหารกุ้ง คือ 400 พีพีเอ็ม เนื่องจากทำให้ได้น้ำหนักรวมของกุ้งที่จับได้มากที่สุด เท่ากับ 3,083.25 กิโลกรัม โดยมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ใช้ไคโตซานอย่างมีนัยสำคัญถึง 1,233.25 กิโลกรัม เพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารมากที่สุดเท่ากับ 1.15 และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันเท่ากับ 0.1972 กรัมต่อตัวต่อวัน น้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 21.69 กรัมต่อตัว อัตราการรอดตายสูงที่สุด 78.97 เปอร์เซ็นต์ ยิ่งไปกว่านั้นการใช้ไคโตซานเคลือบอาหารกุ้งยังมีผลทำให้กุ้งมีสุขภาพแข็งแรงสมบูรณ์ และมีขนาดตัวที่โตสม่ำเสมอมากที่สุด (ปิยะบุตร และคณะ, 2544)

ผลของไคตินหรือไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของปลานิล *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* เสริมในอาหารในระดับที่แตกต่างกัน คือ 0, 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 0.99±0.01 กรัม เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าปลามีน้ำหนักสุดท้ายในกลุ่มที่เสริมไคติน และไคโตซานต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) น้ำหนักสุดท้ายของปลาลดลงตามการเสริมไคตินและไคโตซานที่เพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) น้ำหนักสุดท้ายของปลาที่กินอาหารเสริมไคติน 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์สูงกว่าปลาที่กินอาหารเสริมไคโตซานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเป็นไปทำนองเดียวกับน้ำหนัก ดังนั้นการเสริมไคตินหรือไคโตซานในระดับสูงเกินไปจะไปขัดขวางการเจริญเติบโตของปลานิล (Shiau and Yu, 1999)

ดวงกมล (2552) ศึกษาผลของไคโตซานต่อการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลสายพันธุ์จิตรดา 3 โดยศึกษาผลต่อกิจกรรมของ phagocytic cells และการสร้างแอนติบอดี ทดลองให้อาหารผสมไคโตซานในอัตรา 2.5, 5.0, 7.5 และ 10.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารปกติ จากผลการศึกษาพบว่าค่า haematocrit index ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาว เปอร์เซ็นต์ฟาโกไซต์ และค่า phagocytic index ของ

ปลานิลเพิ่มขึ้นเมื่อปลานิลได้รับไคโตซานในอัตรา 10.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองอื่น ๆ และกลุ่มควบคุม ค่า haematocrit index ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาว เปอร์เซ็นต์ฟาโกไซต์ และค่า phagocytic index มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการได้รับไคโตซาน โดยมีค่าสูงที่สุดเมื่อได้รับไคโตซานเป็นเวลา 12 สัปดาห์ แต่เมื่อพิจารณาในแง่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะพบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสมไคโตซานมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ปลานิลที่ได้รับอาหารผสมไคโตซานในอัตรา 10.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำที่สุด

Cha et al. (2008) ทดสอบผลของอาหารเม็ดแบบเปียก (moist pellet : MP) ที่เคลือบด้วยไคโตซานต่อการปรับปรุงคุณภาพน้ำ และภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลา olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) โดยเคลือบไคโตซาน 1 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เคลือบไคโตซาน เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่เคลือบไคโตซานช่วยลด COD (chemical oxygen demand) และ SS (suspended solid) ได้ ในด้านของการเจริญเติบโตพบว่ามีน้ำหนักสุดท้ายไม่แตกต่างกัน แต่ปัจจัยทางภูมิคุ้มกันบางตัวสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เคลือบไคโตซาน เช่น myeloperoxidase (MPO), neutrophil respiratory burst และ skin mucus lysozyme activity อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Harikrishnan et al. (2012) ศึกษาผลของไคตินและไคโตซานในอาหารที่ระดับ 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเลือด การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ในปลา kelp grouper (*Epinephelus bruneus*) และความต้านทานต่อเชื้อ *Vibrio alginolyticus* เป็นระยะเวลา 1, 2 และ 4 สัปดาห์ พบว่าปริมาณเม็ดเลือดแดงเพิ่มมากขึ้นจากการได้รับทั้งไคตินและไคโตซาน ส่วนเม็ดเลือดขาว ฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบินและไลโซไซม์เพิ่มขึ้นจากการได้รับไคโตซานทั้ง 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Lin et al. (2012) ศึกษาผลของ chitosan oligosaccharides (COS) และ *Bacillus coagulans* ต่อการเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ และความต้านทานต่อเชื้อก่อโรค *Aeromonas veronii* ในปลา koi (*Cyprinus carpio koi*) โดยใช้อาหารผสม COS ที่ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ *B. coagulans* ที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ COS ที่ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับ *B. coagulans* ที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารในกลุ่ม COS ผสมกับ *B. coagulans* มีน้ำหนักสุดท้าย อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการแลกเนื้อ เม็ดเลือดขาว respiratory burst activity, phagoeytie activity, lysozyme aetivity, SOD activity และความต้านทานต่อเชื้อ *A. veronii* ดีที่สุด ($P < 0.05$) รองลงมาคือ กลุ่มที่ได้รับ *B. coagulans* และ COS ส่วนอัตราการรอดตายไม่แตกต่างกันทั้ง 4 กลุ่มการทดลอง

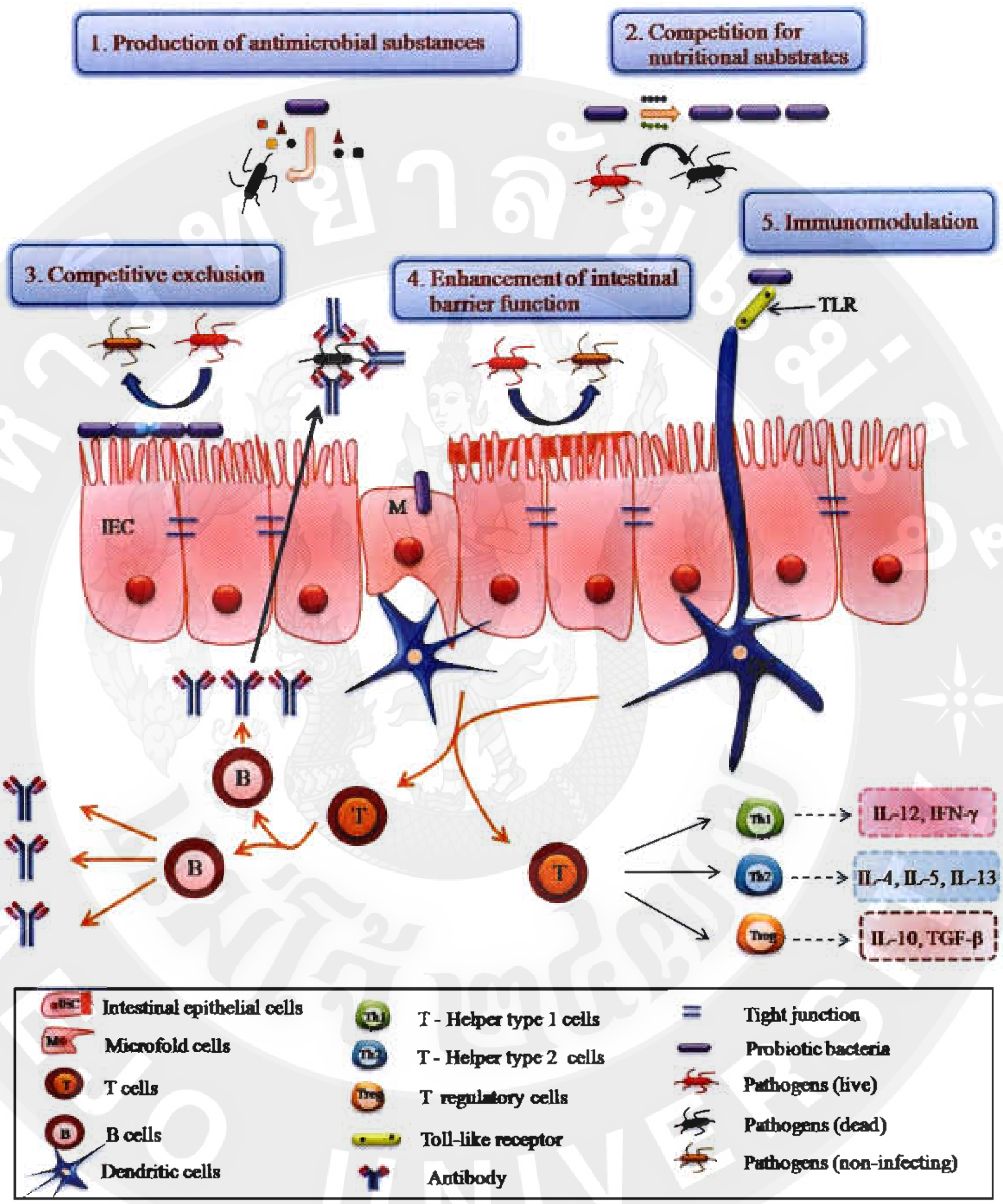
B. coagulans และ COS มีอิทธิพลร่วมกันต่อการเพิ่มภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและความต้านทานต่อเชื้อก่อโรค ($P < 0.05$)

โพรไบโอติก

โพรไบโอติก (probiotics) หมายถึง จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของเจ้าบ้าน มีผลต่อความสมดุลของจุลินทรีย์ภายในลำไส้ มีคุณสมบัติทนต่อสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะอาหารและทนต่อเกลือน้ำดีในลำไส้ โดยส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มแบคทีเรียพวก *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria* นอกจากนี้ยังมีกลุ่มอื่น ๆ ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก ซึ่งเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ หรืออาหารเสริมที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิต ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ ซึ่งสามารถปรับสมดุลย์ในระบบทางเดินอาหาร เช่น microflora ในทางเดินอาหาร (Parker, 1974; Fuller, 1989)

Gatesoupe (1999) กล่าวว่าโพรไบโอติก คือเซลล์ของจุลินทรีย์ที่เติมลงไปโดยวิธีการใด ๆ ก็ตามแล้วสามารถเข้าไปอยู่ในลำไส้ของเจ้าบ้าน และสามารถมีชีวิตอยู่ได้เพื่อพร้อมที่จะไปปรับปรุงสุขภาพของตัวเจ้าบ้านนั้น ๆให้ดีขึ้น จุลินทรีย์โพรไบโอติกมีหลายชนิดทั้งแบคทีเรีย เชื้อราและยีสต์ กลุ่มแบคทีเรีย เช่น *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium longum*, *Pediococcus pentosaceus* กลุ่มเชื้อราและยีสต์ เช่น *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pediocuceus* sp. (พิกุล, 2543)

โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ซึ่งอาจเป็นชนิดเดียวหรือเป็นส่วนผสมของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตหลายชนิดที่สามารถไปปรับปรุงคุณสมบัติของจุลินทรีย์ดั้งเดิมที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์นั้น โดยจุลินทรีย์เหล่านี้อาจอยู่ในรูปของเซลล์แห้งจากกระบวนการระเหิดแห้ง (freeze dried cells) หรืออยู่ในรูปผลิตภัณฑ์หมัก เมื่อคนหรือสัตว์บริโภคเข้าไปแล้วจุลินทรีย์เหล่านี้จะสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในระบบทางเดินอาหาร และก่อให้เกิดประโยชน์แก่ผู้บริโภค จุลินทรีย์ที่เป็นโพรไบโอติกจะทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพ ทำให้เกิดสมดุลย์ของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ลดปริมาณเชื้อที่เป็นโทษและเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ให้มีปริมาณมากขึ้น (ธวัชชัย และคณะ, 2547) แบคทีเรียโพรไบโอติกจะช่วยในการป้องกันการติดเชื้อภายในระบบทางเดินอาหาร โดยจะผลิตสารปฏิชีวนะที่เป็นพิษ แข่งขันแย่งอาหาร พื้นที่ยึดเกาะกับเชื้อก่อโรค และเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของผนังลำไส้ในการป้องกันเชื้อก่อโรค รวมทั้งปรับภูมิคุ้มกัน (Thirabunyanon, 2011) ดังแสดงในภาพ 4



ภาพ 4 กลไกของโพรไบโอติกในการป้องกันโรคและเสริมภูมิคุ้มกันในระบบทางเดินอาหาร

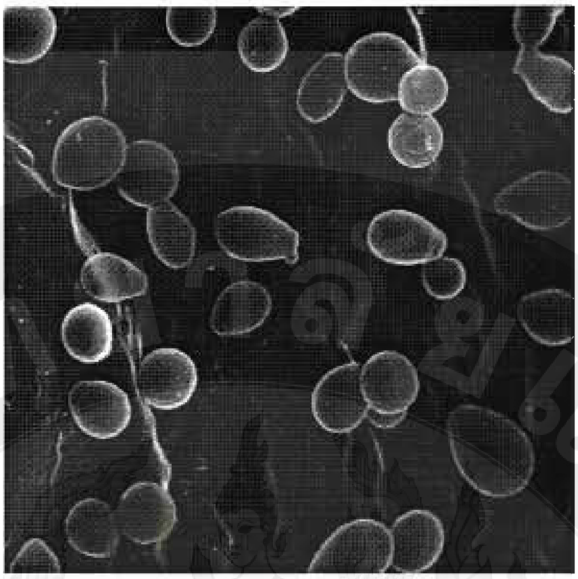
ที่มา : Thirabunyanon (2011)

ยีสต์

ยีสต์ (yeast) คือ จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มนุษย์รู้จักนำมาใช้ประโยชน์ในหลายด้าน ได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอางเละเภสัชกรรม การแพทย์ การเกษตร และสิ่งแวดล้อม การใช้ประโยชน์ของเซลล์ยีสต์ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การผลิตยีสต์สกัด (yeast extract) สำหรับใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นคล้ายเนื้อสัตว์ สารให้กลิ่น และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ ใช้ในกระบวนการหมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ อาทิเช่น เบียร์ ไวน์ และวิสกี้ ทางด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนั้นมีการใช้ยีสต์เสริมในอาหารเพิ่มกระตุ้นการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกัน (Ortuno et al., 2002; สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ, 2549; Abdel-Tawwab et al, 2008)

ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

ยีสต์ชนิด *S. cerevisiae* จัดอยู่ในกลุ่มของจุลินทรีย์โพรไบโอติก (อัจฉรา, 2550) อยู่ใน Phylum Eumycetes, Class Acctomycetes, Order Saccharomyces, Family Saccharomycetaceae, Sub-family Saccharomycetoidae, Genus *Saccharomyces*, Species *cerevisiae* เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มของราชนิดหนึ่ง ที่มีการดำรงชีวิตเป็นแบบเซลล์เดี่ยว ที่ไม่สร้างเส้นใย แต่อยู่เป็นเซลเดี่ยว ๆ รูปไข่ ทรงกลม หรือทรงกระบอก รูปร่างของยีสต์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ดังแสดงในภาพ 5 ผนังเซลล์ของยีสต์ จะมีความหนาประมาณ 70 นาโนเมตร และคิดเป็นร้อยละ 25 ของน้ำหนักแห้งของเซลล์ โครงสร้างของผนังเซลล์ยีสต์ จะมีลักษณะเป็นโครงร่างตาข่าย (sieve like structure) ของสารพวกพอลิแซคคาไรด์ ซึ่งยีสต์ *S. cerevisiae* นี้มักจะใช้ในการผลิตขนมปัง (baker's yeast) และในอุตสาหกรรมผลิตเบียร์ (brewer's yeast) มีองค์ประกอบที่เป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น ß-glucans, nucleic acids, mannan oligosaccharides และ ไคติน และพบว่ามีปริมาณแมนแนน 31 เปอร์เซ็นต์ กลูแคน 30.8 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักเซลล์แห้งซึ่งบางตัวสามารถใช้ในการเพิ่มการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำ (ชนกันต์, 2545; ดวงพร, 2545; Ortuno et al., 2002; สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ, 2549; Abdel-Tawwab et al., 2008)



ภาพ 5 ลักษณะของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*
ที่มา : Kelly (2008)

การใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

Lara-Flores et al. (2003) ศึกษาผลของโพรไบโอติกสามชนิด ซึ่งมีแบคทีเรียสองชนิด และยีสต์หนึ่งชนิด ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของลูกปลานิล โดยเลี้ยงลูกปลานิลด้วยอาหารสามสูตรที่มีระดับโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่หนึ่งเสริมแบคทีเรีย *Streptococcus faecium* และ *Lactobacillus acidophilus* ที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่สองเสริมยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ และสูตรที่สามเป็นอาหารควบคุม เพิ่มอาหารอีกสองสูตรที่มีโปรตีนต่ำ 27 เปอร์เซ็นต์ เพื่อเป็นปัจจัยของความเครียด โดยเสริมโพรไบโอติกแบคทีเรียผสม 0.1 เปอร์เซ็นต์ และยีสต์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงลูกปลานิล 9 สัปดาห์ ในถัง 20 ลิตร 2 ความหนาแน่น ที่ความหนาแน่นสูง 20 ตัวต่อถังเพื่อเป็นปัจจัยของความเครียด และความหนาแน่นต่ำ 10 ตัวต่อถัง หลังสิ้นสุดการทดลองพบว่าลูกปลากินอาหารที่เสริมโพรไบโอติกมีการเจริญเติบโตมากกว่าอาหารควบคุม อาหารที่มีโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ เสริมด้วยยีสต์ มีการเจริญเติบโตดีที่สุด และมีประสิทธิภาพการกินอาหารที่ดีขึ้น ดังนั้นจึงสามารถใช้ยีสต์เพื่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตในการเลี้ยงปลานิลได้

Abdel-Tawwab et al. (2008) ศึกษาการใช้ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกันของปลานิล *O. niloticus* ในลูกปลาขนาด 0.33 กรัม สุ่ม 25 ตัวต่อถัง 140 ลิตร เลี้ยงด้วยอาหารปลาเสริมด้วยยีสต์ ที่ระดับต่างกัน คือ 0, 0.25, 0.50,

1.0, 2.0 และ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นเวลา 12 สัปดาห์ หลังการทดลองนำปลามาทดสอบด้วยเชื้อก่อโรค *Aeromonas hydrophila* ฉีดเข้าที่ช่องท้อง สังเกต 10 วัน จดบันทึกลักษณะอาการและอัตราการตายต่อวัน จากการทดลองพบว่าปลามีการเจริญเติบโตสูงสุด การใช้ประโยชน์จากอาหาร และ protein turn-over ในอาหารเสริมด้วยยีสต์ ที่ระดับ 1.0-5.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร การเสริมยีสต์ ที่ระดับ 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร จะเพิ่มองค์ประกอบของเลือดสูงที่สุด จากการทดสอบการต่อต้านเชื้อ พบว่าจำนวนเชื้อในซีรัมลดลง เมื่อเพิ่มระดับของยีสต์ในอาหารปลา อย่างไรก็ตามในปลาที่กินอาหารเสริมยีสต์ ที่ระดับ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีจำนวนปลาที่ตายและจำนวนแบคทีเรียน้อยที่สุด ผลบ่งชี้ว่ายีสต์ขนมปังเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถใช้เพื่อป้องกันโรคในการเลี้ยงปลานิล ระดับที่เหมาะสมของยีสต์ขนมปังคือ 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เพราะเพิ่มการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิล

การเสริมยีสต์ *S. cerevisiae* ในอาหารต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) โดยใช้อาหารที่เสริมยีสต์แตกต่างกัน 4 ระดับคือ 0, 1, 5 และ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าการเสริมยีสต์ช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันของปลา Gilthead seabream ยีสต์สามารถใช้เป็นตัวกระตุ้นทางภูมิคุ้มกันได้ (Ortuno et al., 2002)

Li and Gatlin III (2003) ทดสอบการเสริมยีสต์ขนมปัง (*S. cerevisiae*) เสริมในอาหารปลา hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) ที่ระดับ 1, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเสริมยีสต์ในอาหารช่วยเพิ่มน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และประสิทธิภาพการกินอาหารดีขึ้น แต่การเสริมยีสต์ในอาหารไม่มีอิทธิพลต่อ ซีรัมไลโซไซม์ และ ฮีมาโตคริต

Ai et al. (2007) ศึกษาผลของการเสริม ß -1, 3 glucan ต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ และการป้องกันการติดเชื้อ *Vibrio harveyi* ของปลา yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) โดยใช้อาหารทดลอง 3 สูตร เสริม ß -1, 3 glucan ที่ระดับ 0, 0.09 และ 0.18 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงปลาในกระชังลอยน้ำในทะเลขนาด 1.5×1.5×2.0 เมตร แต่ละกระชังปล่อยปลา 100 ตัว น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 9.75±0.35 กรัม ให้อาหารปลาทุกวัน วันละ 2 ครั้งจนอิ่ม ช่วงเวลา 05:00 และ 17:00 เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปลามีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นในสูตรอาหารที่เสริม ß -1, 3 glucan ระดับต่ำ (0.09 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การเจริญเติบโตไม่เพิ่มจากการเสริม ß -1, 3 glucan ระดับสูง (0.18 เปอร์เซ็นต์) และพบว่า ซีรัมไลโซไซม์เพิ่มขึ้นตามการเพิ่มของระดับ ß -1, 3 glucan ในอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และปลาที่กินอาหารเสริมด้วย ß -1, 3 glucan ในระดับสูงมีไลโซไซม์สูงเมื่อเปรียบเทียบกับ ß -1, 3 glucan ในระดับต่ำ แต่ไม่มีความแตกต่างใน alternative complement pathway (ACP) activity ระหว่างปลาที่กินอาหารเสริม และไม่เสริม ß -1, 3 glucan และพบว่า percent phagocytosis (PP) และ respiratory burst activity ในปลาที่กินอาหาร

เสริม ß -1, 3 glucan ที่ระดับ 0.09 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าปลาในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ปัจจัยทางภูมิคุ้มกันลดลงในปลาที่กินอาหารเสริม ß -1, 3 glucan ในระดับสูงเมื่อเปรียบเทียบกับระดับต่ำ และไม่แตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่เสริม ß -1, 3 glucan ในระดับสูง การทดสอบเชื้อ *V. harveyi* ปลาที่กินอาหารเสริม ß -1, 3 glucan ในระดับต่ำมีอัตราการรอดตายต่ำ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริม ß -1, 3 glucan ในระดับสูง ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่เสริม ß -1, 3 glucan ในระดับสูง ผลบ่งชี้ว่าการเสริม ß -1, 3 glucan ในระดับสูงไม่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโต แต่ ß -1, 3 glucan ในระดับต่ำเพิ่มการเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลา yellow croaker

Li and Gatlin III (2005) ทดสอบการเสริมพรีไบโอติก (GroBiotic®-A) ผสมกับยีสต์ ขนมปัง (Brewtech®) ในอาหารปลา hybrid striped bass (*M. chrysops* x *M. saxatilis*) โดยเสริมยีสต์ขนมปัง 1 หรือ 2 เปอร์เซ็นต์ และพรีไบโอติก 2 เปอร์เซ็นต์ทดสอบในปลาสองกลุ่มคือ ขนาดเล็กน้ำหนักเฉลี่ย 64.5 กรัมต่อตัว และขนาดใหญ่น้ำหนักเฉลี่ย 118 กรัมต่อตัว เลี้ยงในถัง 1,187 ลิตร ให้อาหารวันละสองครั้ง เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการเจริญเติบโตเป็นเวลา 16 สัปดาห์ ทดสอบความต้านทานต่อเชื้อก่อโรค *Mycobacterium marinum* ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 16 สังเกตอัตราการรอดตายจนถึง 21 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า การเสริมพรีไบโอติก และยีสต์เพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตดีกว่าอาหารควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) น้ำหนักเพิ่มขึ้นหลังจากกินอาหารเสริมด้วยยีสต์ในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง ปลาในกลุ่มที่กินอาหารเสริมยีสต์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพการกินอาหารสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ ปลาที่กินอาหารเสริมพรีไบโอติก 2 เปอร์เซ็นต์มีอัตราการรอดตาย 80 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ (72-73 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) การเสริมยีสต์ในอาหารช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและความต้านทานโรคได้

He et al. (2009) ทดสอบยีสต์ *S. cerevisiae* จากผลิตภัณฑ์ DVAQUA® ในอาหารปลานิลพันธุ์ผสม (*O. niloticus* × *O. aureus*) ที่ระดับ 0, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ และภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ พบว่าการเสริม DVAQUA ในอาหารไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตาย แต่มีผลต่อแบคทีเรียในลำไส้ โดยแบคทีเรียที่มีประโยชน์จะถูกกระตุ้นจาก DVAQUA ที่เสริมในอาหาร ในช่วงระยะเวลาที่แตกต่างกัน ในด้านของภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ปลานิลพันธุ์ผสมที่กินอาหารเสริมด้วย DVAQUA มีซีรัมไลโซไซม์ alternative complement pathway activities, head kidney macrophage phagocytic activity, และ head kidney macrophage respiratory burst activity เพิ่มขึ้น

Essa et al. (2011) ศึกษาระดับของยีสต์ *S. cerevisiae* ที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลา Egyptian African catfish (*Clarias gariepinu*) โดยผสมยีสต์ในอาหารที่ระดับ 0.0, 1.0, 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ ทดลองเป็นระยะเวลา 214 วัน พบว่าการผสมยีสต์ในอาหารทุกระดับทำให้ปลา Egyptian African catfish มีการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และที่ระดับ 2.0 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักสุดท้าย อัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงที่สุด และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุด ส่วนอัตราการรอดตายไม่แตกต่างกัน

Hoseinifar et al. (2011) ทดสอบบริเวอร์ยีสต์ *S. cerevisiae* ในอาหาร ที่ระดับ 0, 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย องค์ประกอบของเลือด และจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลา beluga sturgeon (*Huso huso*) ขนาด 11.44±0.56 กรัม เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าการเสริมยีสต์ที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลามีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการรอดตาย อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีอัตราการรอดตายไม่แตกต่างกันในทั้ง 3 ระดับ มีจำนวนเม็ดเลือดแดงและฮีมาโตคริต ไม่แตกต่างกันทั้ง 3 ระดับ และพบว่ามี Lactic acid bacteria ในลำไส้สูงขึ้นในกลุ่มที่ได้รับยีสต์ 2 เปอร์เซ็นต์

ธัชนนท์ และ สมเกียรติ (2552) ทดลองเลี้ยงปลากระพงขาวด้วยอาหารเม็ดที่มีระดับของบริเวอร์ยีสต์ 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ และนิวคลีโอไทด์ 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับอาหารควบคุมโดยใช้ปลากระพงขาวน้ำหนักเฉลี่ย 0.43 กรัม ความยาวเฉลี่ย 2.95 เซนติเมตร เลี้ยงในกระชังขนาด 35×60×70 เซนติเมตร กระชังละ 30 ตัว ทดลองเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรบริเวอร์ยีสต์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด ($P < 0.05$) ผลของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในปลาที่เลี้ยงด้วยบริเวอร์ยีสต์ทั้ง 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าการเลี้ยงด้วยนิวคลีโอไทด์และอาหารสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่อัตราการรอดตายของปลาที่เลี้ยงด้วยบริเวอร์ยีสต์ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับการทดลองอื่น

Lara-Flores et al. (2010) ทดสอบผลของโพรไบโอติกต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและเอนไซม์ในลำไส้ปลานิล ใช้อาหาร 3 สูตร คือ สูตรที่ 1 เสริมแบคทีเรียผสมระหว่าง *Streptococcus faecium* และ *Lactobacillus acidophilus* 0.1 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 2 เสริมยีสต์ *S. cerevisiae* 0.1 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 3 อาหารควบคุม โดยมี 2 สภาวะ คือ ระดับโปรตีนในอาหารสูงที่สุด (40 เปอร์เซ็นต์) และ ระดับโปรตีนต่ำ (27 เปอร์เซ็นต์) โดยเปอร์เซ็นต์ต่ำ 27 เปอร์เซ็นต์ เป็นปัจจัยของความเครียด ทดลองเป็นระยะเวลา 9 สัปดาห์ พบว่าการเสริมโพรไบโอติกทำให้ปลามีการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารควบคุม กลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ระดับ

0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารที่มีระดับโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและการกินอาหารสูงที่สุด

Barnes et al. (2006) ทดสอบยีสต์ *S. cerevisiae* จากผลิตภัณฑ์ DVAQUA ในอาหารปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ที่ระดับ 0.125 และ 0.25 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ ที่ระดับ 0.125 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักเพิ่ม และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม แต่อัตราการรอดตายต่ำกว่า และพบว่าที่ระดับ 0.25 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักเพิ่ม อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตายดีกว่ากลุ่มควบคุม

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. ลูกปลานิลแปลงเพศ
2. กระชังทำด้วยเนื้ออวน (Polyethylene, PE) ขนาด 1.0×3.0×1.5 เมตร (กว้าง×ยาว×ลึก)
3. วัตถุดิบอาหาร ได้แก่ รำละเอียด ปลายข้าว ปลาป่น และกากถั่วเหลือง
4. ไคโตซาน ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ และยีสต์ผง *Saccharomyces cerevisiae*
5. เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 2 ตำแหน่ง
6. เครื่อง spectrophotometer
7. เครื่องมือและอุปกรณ์เก็บข้อมูล
8. เครื่องมือและอุปกรณ์วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ
9. เครื่องมือและอุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพน้ำ
10. เครื่องมือและอุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบของเลือด

วิธีการวิจัย

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized design, CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ระยะเวลาการทดลอง 120 วัน โดยผลิตอาหารทดลอง จำนวน 4 สูตร (ตาราง 2) ให้มีค่าพลังงานในอาหารเท่ากัน (isocaloric diet) และปริมาณโปรตีนในอาหารเท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ทุกสูตร ซึ่งประกอบด้วยระดับของพรีไบโอติกและโพรไบโอติกที่แตกต่างกันดังนี้คือ

ชุดการทดลองที่ 1 ไม่เสริมพรีไบโอติกและโพรไบโอติกเป็นอาหารควบคุม (CN)

ชุดการทดลองที่ 2 เสริมยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักอาหาร (YT)

ชุดการทดลองที่ 3 เสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักอาหาร (FS)

ชุดการทดลองที่ 4 เสริมไคโตซาน ที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักอาหาร (CS)

สัตว์ทดลองและการเตรียมหน่วยทดลอง

ใช้ลูกปลานิลแปลงเพศขนาดความยาวประมาณ 6 เซนติเมตร ซื้อจากโรงเพาะฟักเอกชน โดยนำลูกปลามาพักไว้ในกระชังขนาด 5 ตารางเมตร ด้วยอัตราความหนาแน่น 200 ตัวต่อตารางเมตร เป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง ก่อนทำการสุ่มนับและชั่งน้ำหนักลูกปลาเริ่มต้น เพื่อปล่อยลงกระชังทดลอง ด้วยความหนาแน่น 10 ตัวต่อตารางเมตร

ใช้กระชังทำด้วยเนื้ออวน PE (Polyethylene) ขนาดช่องตา 1 เซนติเมตร ขนาด 1.0×3.0×1.5 เมตร (กว้าง×ยาว×ลึก) จำนวน 12 กระชัง ขึงในบ่อดินขนาด 1,000 ตารางเมตร ด้วยเสาไม้ไผ่ให้ก้นกระชังอยู่เหนือระดับพื้นบ่ออย่างน้อย 25 เซนติเมตร ใส่ถาดรองอาหารภายในกระชังบริเวณกึ่งกลางของกระชังให้ลึกจากระดับของผิวน้ำ 60 เซนติเมตร เพื่อป้องกันอาหารจมลงสู่ก้นกระชัง และรักษาระดับกระชัง ให้ขอบด้านบนของกระชังอยู่เหนือผิวน้ำ 30 เซนติเมตร เพื่อให้มีส่วนของกระชังแช่อยู่ในน้ำ 120 เซนติเมตร ตลอดการทดลอง

การเตรียมอาหารและการให้อาหาร

ผลิตอาหารทดลองตามอัตราส่วนดังตาราง 3 โดยผสมวัตถุดิบให้เป็นเนื้อเดียวกัน เติมน้ำ และคลุกเคล้าเพื่อให้อาหารจับตัวกันเป็นก้อน ทำการอัดอาหารผ่านเครื่องอัดอาหารให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร อาหารที่ผลิตได้จะนำไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ประมาณ 6 ชั่วโมง เพื่อให้มีความชื้นเหลืออยู่ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ บรรจุอาหารทดลองในถุงพลาสติกแล้วเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ก่อนการทดลอง ให้อาหารทดลองสูตรที่ไม่เสริมพรีไบโอติกและโพรไบโอติก (CN) ในถาดรองอาหารภายในกระชังทดลอง เพื่อให้ลูกปลานิลปรับสภาพและคุ้นชินกับการกินอาหารเม็ดจมภายในถาดรองอาหาร เป็นระยะเวลา 7 วัน

ศึกษาผลของการเสริมโพรไบโอติก และพรีไบโอติกต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบและภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ โดยให้อาหารสูตร CN, YT, FS และ CS วันละ 2 ครั้งในอัตรา 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน ที่ช่วงเวลา 09:00-10:00 น. และ 15:00-16:00 น. ปรับปริมาณอาหารที่ให้ตามน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นทุก 14 วัน ตลอดช่วงระยะเวลาของการทดลอง 120 วัน

ตาราง 2 สูตรอาหารและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองที่ใช้ในการทดลองเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ (เปอร์เซ็นต์)

ส่วนประกอบ (เปอร์เซ็นต์)	สูตรอาหาร			
	CN	**YT**	**FS**	**CS**
ปลาป่น	26.00	27.70	27.70	27.70
กากถั่วเหลือง	22.00	20.00	20.00	20.00
ปลายข้าว	13.90	16.80	16.80	16.80
รำละเอียด	37.70	35.00	35.00	35.00
วิตามินซี	0.40	0.40	0.40	0.40
ยีสต์ (*S. cerevisiae*)	0.00	0.10	0.00	0.00
ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์	0.00	0.00	0.10	0.00
ไคโตซาน	0.00	0.00	0.00	0.10
องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง (เปอร์เซ็นต์)				
ความชื้น	9.65	5.07	6.01	7.40
โปรตีน	30.13	29.92	30.01	29.80
ไขมัน	9.14	9.31	9.84	8.86
คาร์โบไฮเดรต	43.40	41.70	42.34	42.89
เถ้า	9.77	11.07	10.48	9.97
เยื่อใย	7.59	7.98	7.39	8.50
พลังงาน (kcal/100g)	376.91	376.66	376.66	376.66

3.2.4. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

นำอาหารทดลองไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีตามวิธีมาตรฐานของ Association of Official Agricultural Chemists [AOAC] (1990) ดังตาราง 3 ได้ผลองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองตามตาราง 2

ตาราง 3 วิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารอาหาร

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์/เครื่องมือ
ความชื้น (Moisture)	โดยการอบแห้งที่ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง
เถ้า (Ash)	โดยการเผาใน muffle furnace 550 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง
โปรตีน (Protein)	โดย micro-Kjeldahl
ไขมัน (Lipid)	โดยวิธี dichloromethane extraction ตาม Soxlhet method
เยื่อใย (Fiber)	โดยวิธี fritted glass crucible

การเก็บรวบรวมและการวิเคราะห์ข้อมูล

1. การวิเคราะห์ข้อมูลด้านการเจริญเติบโต

นับจำนวนและชั่งน้ำหนักปลานิลแปลงเพศทุก 14 วัน ตลอดระยะเวลาทำการทดลอง 120 วันในแต่ละชุดการทดลอง (ภาพผนวก 1 และ 2) นำข้อมูลที่ได้ไปปรับปริมาณการให้อาหาร และคำนวณหาค่าต่าง ๆ ดังนี้

1. อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (Average diary growth : ADG) (กรัมต่อวัน)

$$\text{ADG} = \frac{(\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง})}{\text{จำนวนวันที่ทดลอง}}$$

2. อัตราการรอดตาย (Survival rate : SR) เปอร์เซ็นต์

$$\text{SR} = \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

3. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion rate : FCR)

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

4. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Weight gain : WG) (กรัม)

WG = น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง

2. การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิต

1. ต้นทุนในการผลิตปลานิล (บาทต่อกิโลกรัม) คิดจากน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นจากปริมาณอาหารที่ให้ โดยคำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

ต้นทุนในการผลิดปลานิล (บาทต่อกิโลกรัม) = น้ำหนักอาหารที่ปลากิน × ราคาอาหาร

โดยต้นทุนค่าอาหาร 1 กิโลกรัม คำนวณจากราคาวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหารทดลอง ดังแสดงในตาราง 4

ตาราง 4 ราคาวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหารทดลอง

ส่วนประกอบ	ราคา (บาทต่อกิโลกรัม)
ปลาป่น	40
กากถั่วเหลือง	25
รำ	8
ปลายข้าว	12
วิตามินซี	200
ยีสต์	360
ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์	2,460
ไคโตซาน	1,500

3. การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำ

วิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำก่อนเริ่มทำการทดลอง และระหว่างทำการทดลองทุก ๆ 14 วัน จนเสร็จสิ้นการทดลองเพื่อศึกษาค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ดังตาราง 5

ตาราง 5 วิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำ

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์/เครื่องมือ
ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolve Oxygen)	DO meter (YSI model 59)
อุณหภูมิ (Temperature)	DO meter (YSI model 59)
ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)	pH-meter (HI 9812)
แอมโมเนีย-ไนโตรเจน	วิธีฟีนอล (Phenol Method)

4. การตรวจสอบระบบภูมิคุ้มกัน

ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทางปัจจัยด้านภูมิคุ้มกันทุก 30 วัน (ไม่เก็บค่าเริ่มต้นของการทดลองเพราะใช้การเทียบกับชุดควบคุมในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง) โดยสุ่มเก็บตัวอย่างเลือดจากปลาซ้ำละ 3 ตัว โดยดูดเลือดจากบริเวณโคนครีบหางปลา (caudal vein) ตัวละประมาณ 0.5 มิลลิลิตร (ภาพผนวก 3) มาทดสอบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1. ค่าฮีมาโตคริต (Haematocrit)

ฮีมาโตคริต หรือเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Packed red blood cell volume, %PCV) นำเลือดใส่หลอด microhaematocrit (ภาพผนวก 4) ประมาณ ¾ ของความยาวหลอด ใช้ดินน้ำมันอุดปลายด้านที่มีเลือดอยู่ ทิ้งไว้ค้างคืนในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อให้เลือดแข็งตัว แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที (ภาพผนวก 8 แสดงถึงการแยกชั้นหลังจากการปั่นเหวี่ยง) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น} = \frac{\text{ความสูงของเม็ดเลือดแดง (มิลลิเมตร)}}{\text{ความสูงของเลือดทั้งหมด (มิลลิเมตร)}} \times 100$$

2. จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว นำเลือดปลาหยดลงบนสไลด์ที่สะอาด เกลี่ยเลือดให้เป็นฟิล์มบางๆ ทิ้งให้แห้ง แล้วย้อมสีด้วยวิธี Dip Quick ด้วยชุดน้ำยา Wright instant stain set โดยจุ่มสไลด์ลงใน Fixative Solution จำนวน 5 ครั้ง และจุ่มสไลด์ลงใน Wright stain A จำนวน 5 ครั้ง จากนั้นนำสไลด์จุ่มลงใน Wright stain B จำนวน 5 ครั้ง ล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่นทิ้งให้แห้ง (ภาพผนวก 5) ทำการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Olympus : CX21FS2) โดยเลือกบริเวณพื้นที่ของเม็ดเลือดที่บางที่สุด และหยด mineral oil เพื่อส่องดูด้วยเลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 100 เท่า

3. ปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมด เจือจางเลือดปลาในสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA 5 เปอร์เซ็นต์) ในอัตราส่วน 1 : 250 (ภาพผนวก 6) แล้วนับจำนวนโดยใช้สไลด์นับเม็ดเลือด Haemacytometer คำนวณปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมดโดยใช้สูตร

ปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมด = ค่าเฉลี่ยเม็ดเลือดแดง 5 ช่อง $\times$ 1/4 $\times$ 1/1000 $\times$ 10^6

4. ปริมาณไลโซไซม์ นำเลือดปลาใส่หลอด microfuge tube เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เลือดแข็งตัว จากนั้นนำไปปั่นแยกซีรัมที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที (ภาพผนวก 7 แสดงถึงการแยกชั้นของน้ำเลือดและเซลล์เลือดหลังจากการปั่นเหวี่ยง) เก็บซีรัมไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์ไลโซไซม์

วิเคราะห์ปริมาณไลโซไซม์ในซีรัมตามวิธีที่ดัดแปลงมาจาก Puangkaew et al. (2004) ใช้ซีรัม 25 ไมโครลิตร เติมลงในถาดหลุมขนาดเล็ก (96-well plate) ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ แล้วเติมสารละลายแบคทีเรีย *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma) ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลาย PBS 0.05 โมล ที่ความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 7.4 จำนวน 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดความสามารถของไลโซไซม์ในซีรัมในการย่อยสลายเชื้อแบคทีเรีย โดยสังเกตจากความขุ่นของเซลล์แบคทีเรียที่ลดลง ทุก 5 นาที ที่ความยาวคลื่นแสง 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader (GDV : DV990BV4) หน่วยเป็นยูนิตต่อนาที

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เพื่อศึกษาความแตกต่างของแต่ละทรีตเมนต์ จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์ โดยวิธีของ Tukey's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

บทที่ 4
ผลการวิจัย

ประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

ผลของการเสริมพรีไบโอติกและโพรไบโอติกในอาหารทดลอง พบว่าปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วยโพรไบโอติกยีสต์ (YT) พรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโก-แซคคาไรด์ (FS) และพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน สูงกว่าปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารควบคุม (CN) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) ของน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตต่อวันในปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติก และโพรไบโอติก (YT, FS, CS) ดังแสดงในภาพ 6, 7, 8 และตาราง 6

ตาราง 6 ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและต้นทุนการผลิตของปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมพรีไบโอติกและโพรไบโอติกเป็นระยะเวลา 120 วัน

พารามิเตอร์	สูตรอาหาร				P-Value
	CN	YT	FS	CS	
น้ำหนักเริ่มต้น(กรัมต่อตัว)	81.78±1.28	82.00±1.40	80.89±1.54	77.44±2.94	0.361
น้ำหนักสุดท้าย (กรัมต่อตัว)	302.00±1.82^{a}	323.53±1.13^{b}	321.13±3.89^{b}	319.77±4.28^{b}	0.002
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อตัว)	220.23±2.93^{a}	241.53±1.39^{b}	240.20±1.07^{b}	242.33±1.45^{b}	0.000
อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (กรัมต่อวัน)	1.83±0.02^{a}	2.01±0.01^{b}	2.00±0.01^{b}	2.02±0.01^{b}	0.000
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	2.19±0.02^{b}	2.09±0.02^{a}	2.08±0.03^{a}	2.05±0.18^{a}	0.014
อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00	-
ต้นทุนการผลิตปลา (บาทต่อกิโลกรัม)	46.81±0.48^{a}	46.06±0.71^{a}	51.13±1.30^{b}	47.55±0.32^{a}	0.001

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

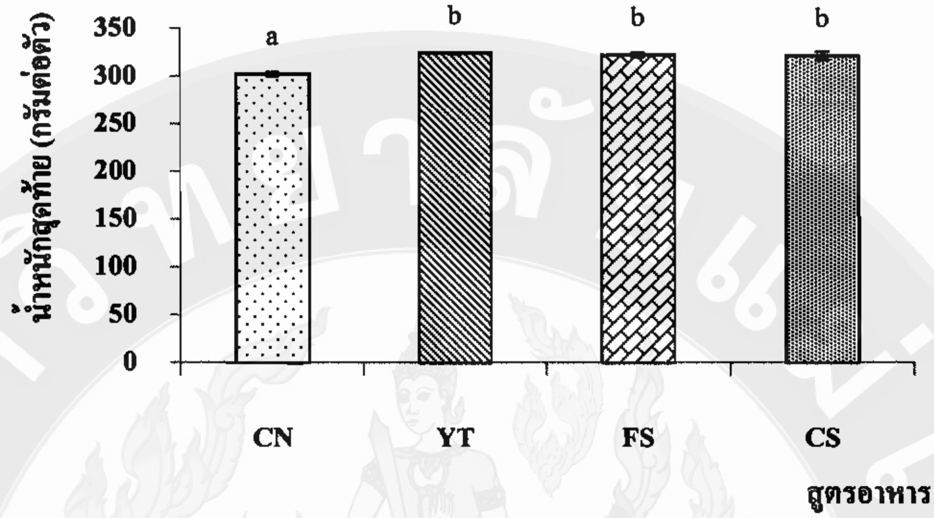
ปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วยโพรไบโอติกยีสต์ (YT) พรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) และพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่าปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารควบคุม (CN) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) ของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตายในปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติก และโพรไบโอ-ติก (YT, FS, CS) ดังแสดงในภาพ 9 และตาราง 6

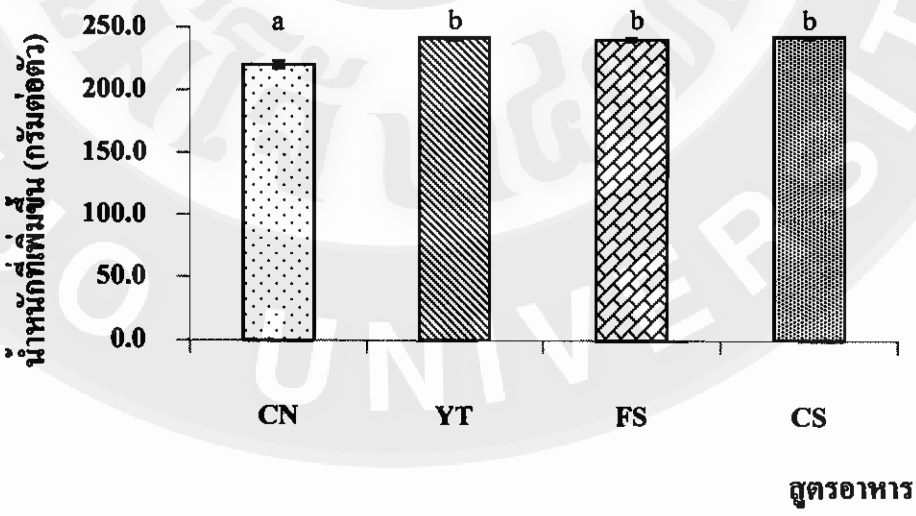
ต้นทุนการผลิตปลา (บาทต่อกิโลกรัม)

ด้านต้นทุนการผลิตปลา พบว่าการเสริมพรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) จะทำให้ต้นทุนต่อกิโลกรัมในการผลิตปลานิลแปลงเพศเพิ่มสูงสุด (51.13±1.30 บาทต่อกิโลกรัม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรอื่น

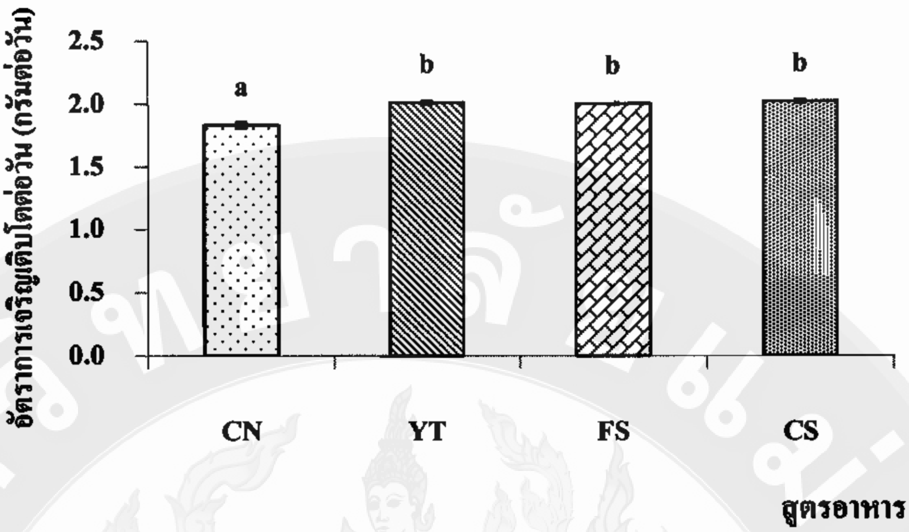
อย่างไรก็ตามการเสริมพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) และโพรไบโอติกยีสต์ (YT) มีต้นทุนต่อกิโลกรัมในการผลิตปลานิลแปลงเพศไม่แตกต่าง (P>0.05) กับอาหารความคุม (CN) ดังแสดงในตาราง 6



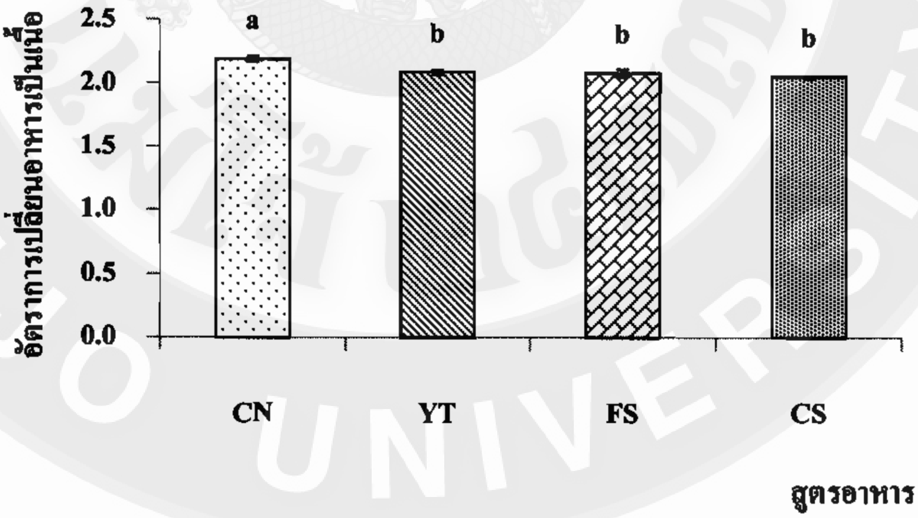
ภาพ 6 น้ำหนักสุดท้ายของปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกและโพรไบติก



ภาพ 7 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกและโพรไบติก



ภาพ 8 อัตราการเจริญเติบโตต่อวันของปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติก และโพรไบติก



ภาพ 9 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกและโพรไบติก

องค์ประกอบเลือดและภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลานิลแปลงเพศหลังจากได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกและโพรไบโอติก

1. เซลล์เม็ดเลือดแดง

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วยโพรไบโอติกยีสต์ (YT) และพรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) มีเซลล์เม็ดเลือดแดงสูงกว่าปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารควบคุม (CN) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

อย่างไรก็ตามปลานิลแปลงเพศที่ได้รับพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) มีเซลล์เม็ดเลือดแดงไม่แตกต่าง (P>0.05) จากปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารควบคุม (CN) และพบว่าปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วยพรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) มีเซลล์เม็ดเลือดแดงสูงกว่าปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารควบคุม (CN) อย่างชัดเจนตั้งแต่วันที่ 90 ของการทดลอง (P<0.05) ดังแสดงในภาพ 10 และตาราง 7

2. เซลล์เม็ดเลือดขาว

พบว่าปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วยโพรไบโอติกยีสต์ (YT) พรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) และพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) มีเซลล์เม็ดเลือดขาวสูงกว่าปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารควบคุม (CN) อย่างชัดเจนในวันที่ 30 ของการทดลอง จนสิ้นสุดการทดลอง 120 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) ในปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกและโพรไบโอติก (YT, FS, CS) ดังแสดงในภาพ 11 และตาราง 7

3. ฮีมาโตคริต

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วยโพรไบโอติกยีสต์ (YT) พรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) และพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) มีฮีมาโตคริตสูงกว่าปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารควบคุม (CN) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (*P*>0.05) ในปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติก และโพรไบโอติก (YT, FS, CS) ดังแสดงในภาพ 12 และตาราง 7

4. ซีรัมไลโซไซม์

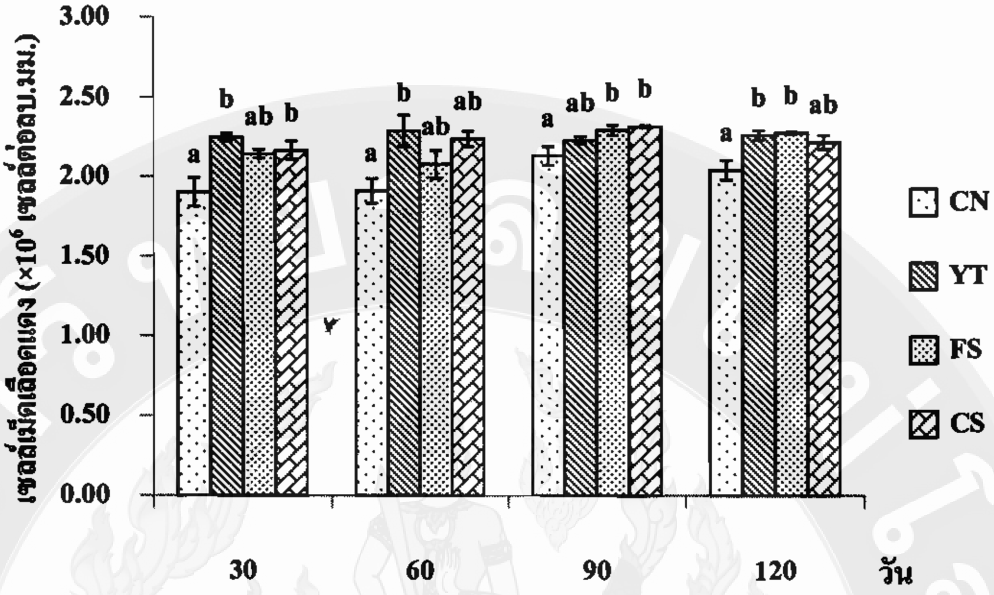
พบว่าปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วยโพรไบโอติกยีสต์ (YT) พรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) และพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) มีซีรัมไลโซไซม์สูงกว่าปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารควบคุม (CN) อย่างชัดเจนในวันที่ 30 ของการทดลอง จนสิ้นสุดการทดลอง 120 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*<0.05)

เมื่อพิจารณาในกลุ่มปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติก และโพรไบโอติก พบว่าปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วยโพรไบโอติกยีสต์ (YT) มีค่าซีรัมไลโซไซม์สูงสุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลานิลแปลงเพศที่ได้รับพรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) (*P*<0.05) แต่ไม่แตกต่าง (*P*>0.05) กับปลานิลแปลงเพศที่ได้รับพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) ดังแสดงในภาพ 13 และตาราง 7

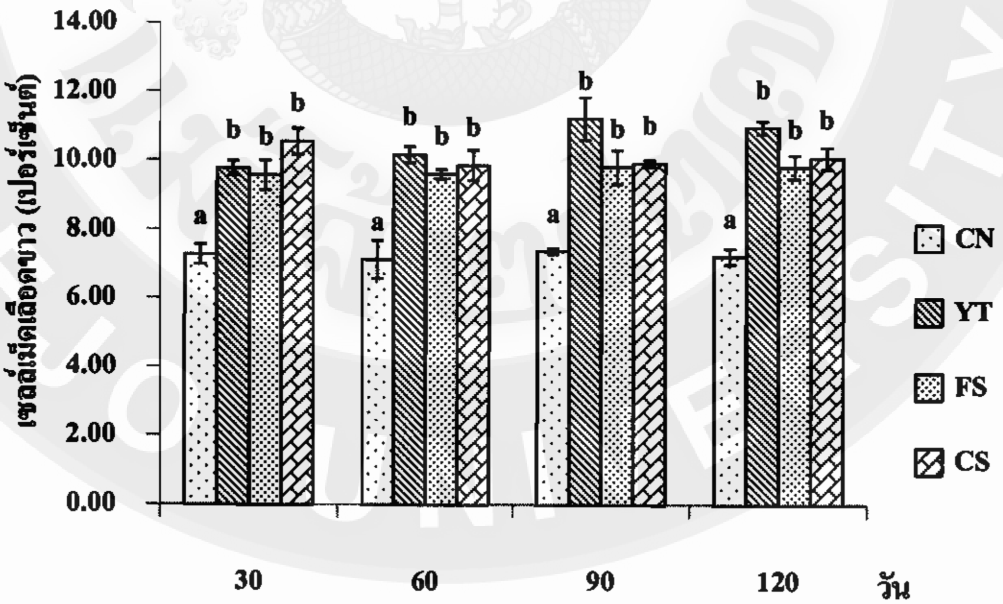
ตาราง 7 องค์ประกอบของเลือดปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมพรีไบโอติกและโพรไบโอติกเป็นระยะเวลา 120 วัน

อาหารทดลอง	จำนวนวันที่ทดลอง			
	30วัน	60วัน	90วัน	120วัน
เซลล์เม็ดเลือดแดงทั้งหมด ($\times 10^6$ เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร)				
CN	1.90 ± 0.09^{a}	1.91 ± 0.08^{a}	2.13 ± 0.06^{a}	2.03 ± 0.06^{a}
YT	2.25 ± 0.02^{b}	2.29 ± 0.10^{b}	2.23 ± 0.02^{ab}	2.26 ± 0.03^{b}
FS	2.14 ± 0.27^{ab}	2.08 ± 0.09^{ab}	2.29 ± 0.03^{b}	2.27 ± 0.01^{b}
CS	2.17 ± 0.06^{b}	2.24 ± 0.05^{ab}	2.31 ± 0.01^{b}	2.21 ± 0.05^{ab}
เซลล์เม็ดเลือดขาว (เปอร์เซ็นต์)				
CN	7.27 ± 0.29^{a}	7.11 ± 0.56^{a}	7.35 ± 0.08^{a}	7.19 ± 0.23^{a}
YT	9.76 ± 0.21^{b}	10.16 ± 0.23^{b}	11.21 ± 0.62^{b}	10.95 ± 0.20^{b}
FS	9.57 ± 0.43^{b}	9.59 ± 0.14^{b}	9.80 ± 0.49^{b}	9.80 ± 0.34^{b}
CS	10.54 ± 0.38^{b}	9.85 ± 0.44^{b}	9.90 ± 0.10^{b}	10.06 ± 0.31^{b}
ฮีมาโตคริต (เปอร์เซ็นต์)				
CN	35.53 ± 0.59^{a}	36.71 ± 0.57^{a}	37.23 ± 0.57^{a}	36.40 ± 0.70^{a}
YT	39.51 ± 1.31^{b}	41.86 ± 0.75^{b}	38.49 ± 0.17^{a}	39.34 ± 0.65^{b}
FS	38.48 ± 0.68^{ab}	41.37 ± 0.72^{b}	37.47 ± 0.10^{a}	38.80 ± 0.16^{b}
CS	39.29 ± 0.56^{ab}	40.76 ± 0.73^{b}	38.68 ± 0.34^{a}	38.91 ± 0.20^{b}
ซีรัมไลโซไซม์ (ยูนิตต่อนาที)				
CN	15.85 ± 0.60^{a}	14.42 ± 0.65^{a}	13.87 ± 0.72^{a}	14.93 ± 0.42^{a}
YT	22.07 ± 0.25^{c}	19.87 ± 0.37^{c}	21.47 ± 0.41^{c}	20.67 ± 0.60^{c}
FS	19.62 ± 0.43^{b}	17.49 ± 0.10^{b}	18.09 ± 0.15^{b}	17.20 ± 0.35^{b}
CS	19.87 ± 0.23^{b}	18.71 ± 0.47^{b}	19.11 ± 0.25^{b}	18.67 ± 0.56^{bc}

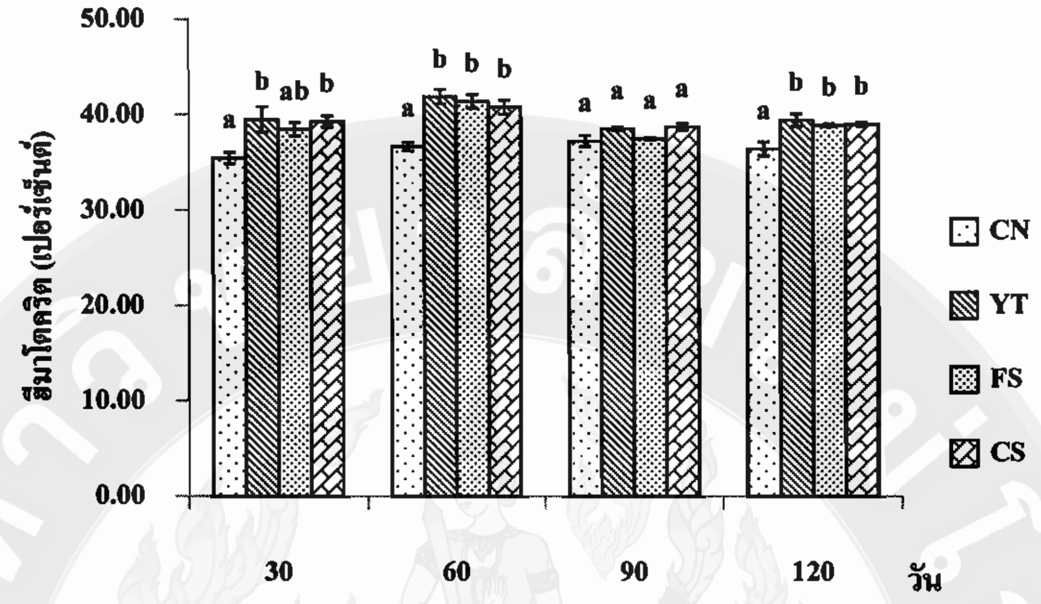
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



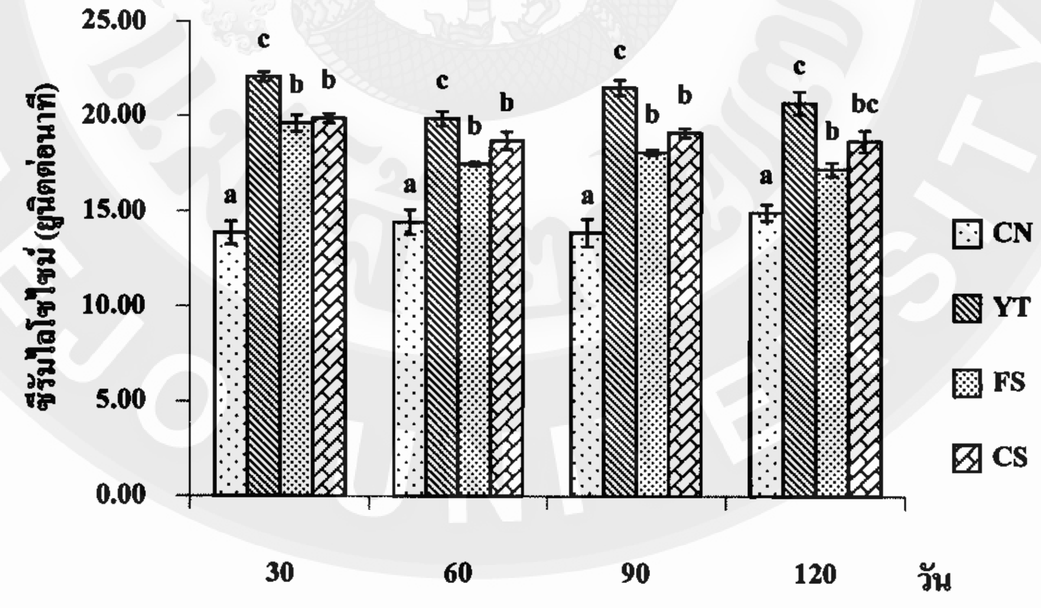
ภาพ 10 เซลล์เม็ดเลือดแดงของปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกและโพรไบติก



ภาพ 11 เซลล์เม็ดเลือดขาวของปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกและโพรไบติก



ภาพ 12 ฮีมาโตคริตของปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกและโพรไบติก



ภาพ 13 ซีรัมไลโซไซม์ของปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกและโพรไบติก

คุณภาพน้ำในกระชังทดลอง

คุณภาพน้ำในกระชังเลี้ยงปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกและโพรไบโอติก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยมีค่าคุณภาพน้ำดังต่อไปนี้ ความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ในช่วง 6.77-6.87 อุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 30.03-30.13 องศาเซลเซียส ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ อยู่ในช่วง 3.07-3.13 มิลลิกรัมต่อลิตร แอมโมเนียอยู่ในช่วง 0.179-0.191 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตาราง 8)

ตาราง 8 คุณภาพน้ำในกระชังของปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมพรีไบโอติกและโพรไบโอติกเป็นระยะเวลา 120 วัน

อาหารทดลอง	พารามิเตอร์			
	ความเป็นกรดเป็นด่าง	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	แอมโมเนีย (มิลลิกรัมต่อลิตร)
CN	6.80 ± 0.06	30.03 ± 0.03	3.10 ± 0.06	0.191 ± 0.004
YT	6.87 ± 0.03	30.07 ± 0.03	3.07 ± 0.03	0.183 ± 0.002
FS	6.77 ± 0.09	30.13 ± 0.07	3.13 ± 0.03	0.179 ± 0.005
CS	6.83 ± 0.03	30.10 ± 0.00	3.10 ± 0.06	0.191 ± 0.006
P-Value	0.659	0.400	0.802	0.221

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการวิจัย

ประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

1. น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน

ผลของการเสริมพรีไบโอติกและโพรไบโอติกในอาหารทดลอง พบว่าปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วยโพรไบโอติกยีสต์ (YT) พรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโก-แซคคาไรด์ (FS) และพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน สูงกว่าปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารควบคุม (CN) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ในการทดลองครั้งนี้ใช้โพรไบโอติกยีสต์ *S. cerevisiae* ผสมในอาหารทดลอง ซึ่งยีสต์สายพันธุ์นี้ จัดเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกชนิดหนึ่งที่อยู่ในกลุ่มของเชื้อรา (Gatesoupe, 1999; พิกุล, 2543; ดวงพร, 2545) มีหลายงานวิจัยที่มีผลสอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้ อาทิ เช่น Abdel-Tawwab et al. (2008) พบว่าการเสริม *S. cerevisiae* ในอาหารปลานิล (tilapia, *Oreochromis niloticus*) ที่ระดับ 1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ทำให้ปลานิลมีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตดีขึ้น เช่นเดียวกับการเสริมยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลานิลมีประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการกินอาหารดีขึ้น (Lara-Flores et al., 2003; 2010) การเสริมยีสต์ *S. cerevisiae* ในอาหาร ทำให้ปลา hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) มีน้ำหนักที่เพิ่มดีขึ้น (Li and Gatlin III, 2003; 2005)

ส่วนการทดลองของ He et al. (2009) ทดสอบยีสต์ *S. cerevisiae* จากผลิตภัณฑ์ DVAQUA® ในอาหารปลานิลพันธุ์ผสม (*O. niloticus* × *O. aureus*) (0.125-2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร) พบว่าการเสริม DVAQUA ในอาหารไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต แต่ Barnes et al. (2006) พบว่ายีสต์จากผลิตภัณฑ์เดียวกันนี้ (DVAQUA) ทำให้ปลา rainbow trout มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ดีกว่ากลุ่มควบคุม จากการเสริมยีสต์ 0.25 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

การเสริมพรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) และพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) ช่วยให้ปลานิลแปลงเพศมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกันกับ Geng et al. (2011) รายงานว่าการเสริมไคโตซานในอาหารที่ระดับ 3 และ 6 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารทำให้ปลาช่อนทะเล (Cobia, *Rachycentron canadum*) มีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น Gopalakannan and Arul

(2006) รายงานว่าการเสริมไคโตซานช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของปลาไน นอกจากนี้ มนต์สรวง และคณะ (2550) พบว่าอาหารที่เคลือบด้วยไคโตซาน ทำให้ปลานิลมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้น การทดลองของปิยะบุตร และคณะ (2544) พบว่ากุ้งที่กินอาหารเคลือบไคโตซาน มีประสิทธิภาพการใช้อาหารและอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันเพิ่มขึ้น Lin et al. (2012) พบว่า chitosan oligosaccharides (COS) ที่ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลา koi (*Cyprinus carpio koi*) มีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น

อย่างไรก็ตามการเสริมไคโตซานในอัตราที่สูงเกินไป อาจส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำได้ ดังเช่นการทดลองของกัญช์ และคณะ (2553) พบว่าการเสริมไคโตซานที่ระดับ 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลากระพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch) มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ไม่เสริมไคโตซาน Cha et al. (2008) พบว่าการเคลือบด้วยไคโตซานที่ผิวอาหารเม็ด (moist pellet : MP) ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลา olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) มีน้ำหนักสุดท้ายไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม และยิ่งไปกว่านั้นการเสริมไคโตซานในอาหารมากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้อัตราการเจริญเติบโตของปลานิลลดลง (Shiau and Yu, 1999; ดวงกมล, 2552)

Grisdale-Helland et al. (2008) พบว่าการเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารเป็นระยะเวลา 4 เดือน ทำให้ปลา Atlantic salmon (*Salmo salar*) มีประสิทธิภาพการกินอาหารสูงกว่าปลาที่ให้อาหารควบคุม และ Hui-yuan et al. (2007) พบว่าการเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ทำให้น้ำหนักสุดท้าย และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเพิ่มขึ้น ตามการเพิ่มของปริมาณฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหาร (0.8-1.2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) Soleimani et al. (2012) พบว่าการเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารลูกปลา Caspian Roach (*Rutilus rutilus*) เป็นระยะเวลา 7 สัปดาห์ ทำให้ปลามีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตาการเจริญติบโตจำเพาะสูงขึ้นกว่ากลุ่มควบคุม ส่วนการทดลองของ Mahious et al. (2006) มีการเสริมโอลิโกฟรุคโตสในระดับที่สูงกว่าการทดลองในครั้งนี้ คือ 2 เปอร์เซ็นต์ และส่งผลให้ ปลา turbot (*Psetta maxima*) มีน้ำหนักสุดท้ายสูงที่สุด

เป็นที่น่าสังเกตว่าการเสริมโพรไบโอติก และพรีไบโอติก (YT, FS, CS) ในระดับที่ไม่สูงนัก (0.1 เปอร์เซ็นต์) ก็สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลานิลแปลงเพศได้ ซึ่งเป็นระดับที่ต่ำกว่าการทดลองของ Essa et al. (2011) พบว่าระดับของยีสต์ *S. cerevisiae* ที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลา Egyptian African catfish (*Clarias gariepinu*) อยู่ที่ระดับ 1-2 เปอร์เซ็นต์ โดยทดสอบเป็นระยะเวลา 214 วัน และ Hoseinifar et al. (2011) ทดสอบ บริเวอร์ยีสต์ (*S. cerevisiae*) ในระดับ 0, 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

พบว่าที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลา beluga sturgeon (*Huso huso*) มีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตดีที่สุด เช่นเดียวกับการทดลองของ ธัชนนท์ และ สมเกียรติ (2552) พบว่าบริเวอร์ยีสต์ ที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ทำให้ปลากระพงขาวมีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตดีที่สุด

Shiau and Yu (1999) พบว่าการเสริมไคโตซานที่ระดับ 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้น้ำหนักสุดท้ายของปลาลดลงตามการเพิ่มของปริมาณไคโตซานในอาหาร การทดลองของ Ai et al. (2011) พบว่าการเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารปลา yellow croaker (*Larimichthys crocea*) ที่ระดับ 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะจากการเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในทุกระดับ ซึ่งระดับที่เหมาะสมในการเสริม โพรไบโอติก และพรีไบโอติกที่แตกต่างกันนี้ อาจเนื่องมาจากปัจจัยที่เกี่ยวข้องและส่งผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต เช่น ชนิดและสายพันธุ์ของสัตว์ทดลอง ระยะเวลาของการทดลอง รวมทั้งสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ที่ส่งผลกระทบต่อการทดลอง

2. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

การเสริมโพรไบโอติกยีสต์ (YT) ทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิลแปลงเพศต่ำกว่าปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารควบคุม (CN) ขัดแย้งกับการทดลองของ He et al. (2009) ทดสอบยีสต์ *S. cerevisiae* จากผลิตภัณฑ์ DVAQUA® ในอาหารปลานิลพันธุ์ผสม (*O. niloticus* × *O. aureus*) (0.125-2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร) พบว่าไม่มีผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิลพันธุ์ผสม แต่ Barnes et al. (2006) พบว่ายีสต์จากผลิตภัณฑ์ DVAQUA ที่ระดับ0.25 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ทำให้ปลา rainbow trout มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่ากลุ่มควบคุม Lara-Flores et al. (2010) พบว่าการเสริมยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ระดับเดียวกันกับการทดลองนี้ ช่วยให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิลดีกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารควบคุม เช่นเดียวกับการทดลองของ Li and Gatlin III (2005) ในปลา hybrid striped bass นอกจากนี้ Abdel–Tawwab et al. (2008) พบว่ายีสต์ *S. cerevisiae* ทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อลดลง ตามการเพิ่มของระดับยีสต์ *S. cerevisiae* ในอาหาร (0.25-5.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร) เนื่องจากการเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยสลายโปรตีนภายในระบบทางเดินอาหาร Essa et al. (2011) พบว่าการเสริมยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลา Egyptian African catfish มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุด

ในทำนองเดียวกันการเสริมพรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) และพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) ก็ทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิลแปลงเพศต่ำกว่าปลา

นิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารควบคุม (CN) คล้ายกับการทดลองของ Hui-yuan et al. (2007) พบว่าฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นที่ระดับ 1.2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ทำให้ปลานิลพันธุ์ผสม (*O. aureus x O. niloticus*) มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อลดลง Soleimani et al. (2012) พบว่าการเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารลูกปลา Caspian Roach ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม แต่ที่ระดับ 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มนต์สรวง และคณะ (2550) พบว่าปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเคลือบไคโตซานในระดับ 10 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่ต่ำสุด และ Lin et al. (2012) พบว่า chitosan oligosaccharides (COS) ที่ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลา koi (*Cyprinus carpio koi*) มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อลดลง

3. อัตราการรอดตาย

การเสริมโพรไบโอติก และพรีไบโอติก (YT, FS, CS) ไม่มีผลต่ออัตรารอดตาย (P>0.05) สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมา เช่น การทดลองของ Mahious et al. (2006) เสริมโอลิโกฟรุคโตสทดสอบในปลา turbot (*Psetta maxima*) Hui-yuan et al. (2007) เสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ทดสอบในปลานิล Soleimani et al. (2012) เสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารลูกปลา Caspian Roach มนต์สรวง และคณะ (2550) ใช้อาหารเคลือบไคโตซานทดสอบในปลานิลแปลงเพศ Essa et al. (2011) เสริมยีสต์ *S. cerevisiae* ทดสอบในปลา Egyptian African catfish และ He et al. (2009) ทดสอบยีสต์จากผลิตภัณฑ์ DVAQUA® ในปลานิลพันธุ์ผสม พบว่าอัตราการรอดตายของปลาที่ใช้ในการทดลองไม่แตกต่างกันกับปลาที่กินอาหารควบคุม

ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ

ปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วยโพรไบโอติกยีสต์ (YT) พรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) และพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) มีเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต และซีรัมไลโซไซม์สูงขึ้น กว่าปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารควบคุม (CN) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

1. โพรไบโอติกยีสต์

การเสริมโพรไบโอติกยีสต์ (YT) ช่วยเพิ่มปัจจัยทางภูมิคุ้มกันของปลานิลแปลงเพศให้สูงขึ้น สอดคล้องกับ Abdel–Tawwab et al. (2008) พบว่าการเสริมยีสต์ *S. cerevisiae* ในอาหารที่ระดับเดียวกับการทดลองครั้งนี้ (0.1 เปอร์เซ็นต์) ช่วยเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดแดง และค่าฮีมาโตคริตให้สูงขึ้น He et al. (2009) พบว่าการเสริมยีสต์ *S. cerevisiae* จากผลิตภัณฑ์ DVAQUA ทำให้ปลานิลมีซีรัมไลโซไซม์สูงขึ้น Ortuno et al. (2002) พบว่าการเสริมยีสต์ที่ระดับ 5 และ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันของปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) โดยไปเพิ่มประสิทธิภาพของเซลล์จับกินสิ่งแปลกปลอมให้สูงขึ้น

แต่การทดลองของ Li and Gatlin III (2005) กลับพบว่าการเสริมยีสต์ลงในอาหารไม่ทำให้ปลา hybrid striped bass มีซีรัมไลโซไซม์สูงขึ้น และไม่แตกต่างกับปลาในกลุ่มควบคุม และ Hoseinifar et al. (2011) เสริมบริเวอร์ยีสต์ *S. cerevisiae* ในอาหารปลา beluga sturgeon (*Huso huso*) ที่ระดับ 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีเม็ดเลือดแดง และฮีมาโตคริตไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม แต่ยีสต์ *S. cerevisiae* มีองค์ประกอบที่เป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น ß –glucans, nucleic acids และ mannan oligosaccharides และพบว่ามีปริมาณแมนแนน 31 เปอร์เซ็นต์ และ กลูแคน 30.8 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งเป็นที่ยอมรับว่าสามารถเพิ่มการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันให้ดีขึ้นได้ (ชนกันต์, 2545; Ortuno et al., 2002; สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ, 2549; Abdel-Tawwab et al., 2008) และ Ai et al. (2007) กล่าวว่าการเสริม ß -1, 3 glucan ที่ได้จากผนังเซลล์ของยีสต์ *S. cerevisiae* จะเพิ่มซีรัมไลโซไซม์ของปลา yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) ให้สูงขึ้นตามการเพิ่มระดับของ ß -1, 3 glucan (0.09-0.18 เปอร์เซ็นต์) ในอาหาร

2. พรีไบโอติกไคโตซาน

การเสริมพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) ช่วยเพิ่มปัจจัยทางภูมิคุ้มกันของปลานิลแปลงเพศให้สูงขึ้น สอดคล้องกับ Gopalakannan and Arul (2006) พบว่าการเสริมไคโตซานในอาหาร สามารถกระตุ้นซีรัมไลโซไซม์ให้เพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.001) และช่วยในการต่อต้านการติดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ของปลาไน (*Cyprinus carpio*) ดวงกมล (2552) พบว่าการเสริมไคโตซานที่ระดับ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารทำให้ปลานิล มีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาว และฮีมาโตคริตเพิ่มขึ้น และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการได้รับไคโตซาน โดยมีค่าสูงที่สุดเมื่อได้รับไคโตซานเป็นเวลา 12 สัปดาห์ Harikrishnan et al. (2012) พบว่าการเสริมไคโตซาน

ในอาหารที่ระดับ 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลา kelp grouper (*Epinephelus bruneus*) มีปริมาณเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว ฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน และไลโซไซม์เพิ่มมากขึ้นจากการได้รับไคโตซานทั้ง 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) Lin et al. (2012) พบว่า chitosan oligosaccharides (COS) ที่ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลา koi (*Cyprinus carpio koi*) มีเม็ดเลือดขาว ไลโซไซม์ และความต้านทานต่อเชื้อ *A. veronii* ดีขึ้น (P < 0.05) Geng *et al.* (2011) พบว่าการเสริมไคโตซานในอาหารทำให้ปลาช่อนทะเล (cobia, *Rachycentron canadum*) มีซีรัมไลโซไซม์สูงขึ้น Cha et al. (2008) พบว่าการเคลือบไคโตซาน 1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลา olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) มี skin mucus lysozyme activity สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) แต่การทดลองของกัญช์ และคณะ (2553) พบว่าการเสริมไคโตซานเข้มข้นร้อยละ 1.5 ของน้ำหนักอาหาร นาน 26 และ 36 วัน มีผลให้ปริมาณเม็ดเลือดขาวรวมของปลากระพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

3. พรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์

การเสริมพรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) ช่วยเพิ่มปัจจัยทางภูมิคุ้มกันของปลานิลแปลงเพศให้สูงขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Zhou et al. (2010) พบว่าการเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหาร จะเพิ่มซีรัมไลโซไซม์ของปลา red drum (*Sciaenops ocellatus*) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) Soleimani et al. (2012) ทดลองเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารลูกปลา Caspian Roach พบว่ามีปริมาณไลโซไซม์สูงขึ้นจากการได้รับอาหารเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ทั้ง 3 ระดับ และ Zhang et al. (2010) พบว่าการเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารปลิงทะเล (sea cucumber, *Apostichopus japonicus*) ที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทำให้มี coelomocyte เพิ่มขึ้นสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่ขัดแย้งกับการทดลองของ Ai et al. (2011) พบว่าการเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรต์ ที่ระดับ 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลต่อไลโซไซม์ในปลา yellow croaker และ Grisdale-Helland et al. (2008) พบว่าการเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหาร ไม่ทำให้ซีรัมไลโซไซม์แตกต่างกับกลุ่มควบคุม

Mahious et al. (2006) กล่าวว่าฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ของ turbot (*Psetta maxima*) และส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลานิลพันธุ์ผสม *Oreochromis aureus x O. niloticus* (Hui-yuan et al., 2007) การเพิ่มขึ้นของปัจจัยทางภูมิคุ้มแบบไม่จำเพาะจากการเสริมพรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) นี้ อาจ

มาจากการไปเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์เฉพาะถิ่นในกลุ่มที่มีประโยชน์ และจุลินทรีย์เหล่านั้นไปกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลานิลแปลงเพศ รวมทั้งแข่งขัน และแย่งพื้นที่ในการยึดเกาะบริเวณลำไส้กับเชื้อก่อโรคที่เข้ามาสู่ร่างกาย ซึ่งมีรายงานว่าจุลินทรีย์สามารถใช้ฟรุกโตโอลิโกแซค-คาไรด์เป็นแหล่งคาร์บอนได้ โดยเฉพาะจุลินทรีย์กลุ่มที่มีประโยชน์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ สามารถใช้ในการเจริญ เพิ่มจำนวน และส่งผลต่อการเสริมสร้างสุขภาพของเจ้าบ้านให้ดีขึ้น แข่งขันแย่งอาหารและพื้นที่ยึดเกาะกับเชื้อก่อโรค โดยผลิตสารที่เป็นพิษ ผลิตกรดไขมันชนิดสายสั้นและกรดแลกติก ทำให้ความเป็นกรดเป็นด่างในลำไส้ลดลง จึงไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อก่อโรค (Cumming et al., 2001; Gibson, 2004; Sherman et al., 2009; Thirabunyanon, 2011)

การทดลองครั้งนี้ได้พิสูจน์แล้วว่าการเสริมโพรไบโอติก และพรีไบโอติก (YT, FS, CS) ช่วยให้ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (nonspecific immunity) มีประสิทธิภาพการทำงานที่เพิ่มขึ้น โดยไปเพิ่มซีรัมไลโซไซม์และเซลล์เม็ดเลือดขาว ซึ่งไคโตซาน กลูแคนจากผนังเซลล์ของยีสต์ รวมทั้งฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ถือเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดหนึ่ง โดยชนกันต์ (2545) กล่าวว่า ไคโตซาน และกลูแคน เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน จะช่วยเพิ่มการทำงานของเซลล์จับกินสิ่งแปลกปลอม กระตุ้นการตอบสนองของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันทำให้มีการเพิ่มการผลิตไลโซไซม์ โดยองค์ประกอบของตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกันจะถูกดูดซึมที่เยื่อเมือกในลำไส้เล็ก (Petrunov et al., 2007; Rozy and Chorostowska-Wynimko, 2008) จากนั้นร่างการจะมีการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาสู่ร่างกาย โดยการทำงานร่วมกันระหว่างภูมิคุ้มกันแบบสารน้ำและภูมิคุ้มกันแบบเซลล์ ซึ่งภูมิคุ้มกันแบบเซลล์ประกอบไปด้วยเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆ ที่สำคัญคือ นิวโทรฟิว และโมโนไซต์ โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวจะเข้าทำลายสิ่งแปลกปลอมด้วยวิธี phagocytosis (อัมพร, 2545) เซลล์เม็ดเลือดขาวหรือเซลล์ฟาโกไซต์จะถูกดึงดูดจากคอมพลีเมนต์ (chemotaxis) ที่เป็นภูมิคุ้มกันแบบสารน้ำ โดยคอมพลีเมนต์จะรวมตัวกับผิวของสิ่งแปลกปลอม จากนั้นเซลล์ฟาโกไซต์จะยื่นขาเทียมไปโอบล้อมทั้งคอมพลีเมนต์และสิ่งแปลกปลอมให้เข้าไปอยู่ภายในเซลล์ สิ่งแปลกปลอมจะถูกทำลายด้วยกระบวนการที่ไม่ใช้ออกซิเจนจากไลโซไซม์ในการย่อยสลาย และอีกวิธีหนึ่งคือกระบวนการใช้ออกซิเจน เซลล์ฟาโกไซต์จะใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้นหลังจากที่ผิวเซลล์ฟาโกไซต์ได้สัมผัสกับสิ่งแปลกปลอม ซึ่งจะออกซิไดซ์ NADPH ไปเป็น NADP และจะปล่อยออกซิเจนเมแทบอไลต์ที่มีความเป็นพิษสูง เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เพื่อที่จะไปทำลายสิ่งแปลกปลอม (สุทธิพันธ์ และคณะ, 2537; โสมทัต, 2538) แต่ในกรณีที่ไม่สามารถกลืนกินสิ่งแปลกปลอมได้ เซลล์ฟาโกไซต์จะปล่อยไลโซไซม์ออกมานอกเซลล์ (โสมทัต, 2538) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการทำลายผนังเซลล์แบคทีเรีย ที่พันธะ ß - 1,4 glycosidic ระหว่าง N -acetylmuramic acid และ N-acetyl glucose ให้แตกจนไม่สามารถทำงานได้

แล้วจะถูกจับกินได้ง่ายขึ้น (Dalmo et al., 1997; Lim and Webster, 2001) ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวและซีรัมไลโซไซม์ที่เพิ่มขึ้น เพื่อที่จะไปทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาสู่ร่างกาย ในทางเดียวกันนี้ ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เพิ่มขึ้น อาจมาจากความต้องการออกซิเจนที่เพิ่มขึ้นในการทำลายสิ่งแปลกปลอม เพราะเม็ดเลือดแดงทำหน้าที่ในการขนส่งออกซิเจนไปสู่ระบบต่าง ๆ (ยุทธนา, 2551)

แต่อย่างไรก็ตามการเสริมสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่มากเกินไป หรือระยะเวลาที่นานเกินไปอาจส่งผลเสียมากกว่าผลดีต่อสัตว์น้ำได้ Zhang et al. (2010) พบว่าการเสริมฟรุคโตโอลิโก-แซคคาไรด์ ที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับ *Bacillus subtilis* ที่ระดับ 4.95×10^7 CFU/g ทำให้ประสิทธิภาพของเซลล์จับกินสิ่งแปลกปลอมลดลง แต่ในระดับที่ต่ำกว่านั้นมีประสิทธิภาพการทำงานสูงกว่า ชนกันต์ (2545) กล่าวว่าระยะเวลาที่ควรใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และระยะเวลาในการป้องกันสัตว์น้ำจากการติดเชื้อหลังสิ้นสุดการให้สารกระตุ้น เป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อความสำเร็จของการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

ต้นทุนการผลิตปลา (บาทต่อกิโลกรัม)

จากการทดลองครั้งนี้พบว่า การเสริมพรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) จะทำให้ต้นทุนต่อกิโลกรัมในการผลิตปลานิลแปลงเพศเพิ่มสูงขึ้นถึง 51.13 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งสูงกว่าการเสริมพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) 47.55 บาทต่อกิโลกรัม โพรไบโอติกยีสต์ (YT) 46.06 บาทต่อกิโลกรัม และอาหารควบคุม (CN) 46.81 บาทต่อกิโลกรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่การเสริมพรีไบโอติกไคโตซาน และโพรไบโอติกยีสต์มีต้นทุนต่อกิโลกรัมในการผลิตปลานิลแปลงเพศไม่แตกต่างกับอาหารควบคุม (P<0.05) เมื่อทำการเปรียบเทียบในด้านต้นทุนการผลิตแล้ว จึงควรเลือกการเสริมพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) หรือโพรไบโอติกยีสต์ (YT) ในการเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ เพราะให้ผลด้านการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันที่ดีกว่าอาหารควบคุม โดยที่ไม่เพิ่มต้นทุนต่อกิโลกรัมในการผลิตปลานิลแปลงเพศ

คุณภาพน้ำ

คุณภาพน้ำในกระชังเลี้ยงปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกและโพรไบโอติก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ

อยู่ในช่วง 6.77-6.87 อุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 30.03-30.13 องศาเซลเซียส ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำอยู่ในช่วง 3.07-3.13 มิลลิกรัมต่อลิตร แอมโมเนียอยู่ในช่วง 0.179-0.191 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งคุณภาพน้ำดังที่กล่าวมาอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ ความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำอยู่ในช่วง 6.5-9.0 (เคชา, 2543) อุดม (2552) กล่าวว่าปลานิลสามารถทนอยู่ในอุณหภูมิช่วง 21.1-42.0 องศาเซลเซียสได้ มั่นสิน และ ไพพรรณ (2536) กล่าวว่าไม่ควรมีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในต่ำกว่า 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และระดับต่ำสุดที่ทำให้ปลาตายอยู่ในช่วง 0.1-2.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (ประเทือง, 2534) ถ้าอุณภูมิของน้ำเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของแอมโมเนียทั้งหมดอาจสูงถึง 3.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไม่เป็นพิษต่อปลา ในน้ำที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 7 (มั่นสิน และ ไพพรรณ, 2536)

การทำวิจัยในอนาคตและการนำไปประยุกต์ใช้

การทดลองในอนาคตควรศึกษาโพรไบโอติก และพรีไบโอติก เสริมในอาหารปลานิลแปลงเพศ ทั้งในระดับที่ต่ำและสูงกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งการเสริมทั้งโพรไบโอติก และพรีไบโอติก (synbiotics) เพื่อศึกษาหาระดับที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ โดยคำนึงถึงระยะเวลาการได้รับที่ส่งผลต่อการกระตุ้นสูงที่สุด และระยะเวลาที่มีการตอบสนองหลังจากหยุดให้อาหารเสริมภูมิคุ้มกัน ชนิดของพรีไบโอติกที่เหมาะสมกับโพรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของโพรไบโอติก และควรมีการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อก่อโรคในปลานิล เช่น *Aeromonas hydrophila* หรือ *Streptococcus agalactiae* เป็นต้น เพื่อยืนยันประสิทธิภาพการทำงานของภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้น ว่าสามารถทนทานต่อเชื้อก่อโรคได้ในระดับใดหากมีการระบาดของโรคเกิดขึ้น รวมทั้งคำนึงถึงต้นทุนการผลิตต่ำสุดที่ให้ผลการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด

ในแง่การนำไปใช้ประโยชน์ของเกษตรกร ในการทดลองครั้งนี้ได้ทดลองเลี้ยงปลานิลแปลงเพศในกระชังซึ่งมีสภาพแวดล้อมที่ใกล้เคียงกับที่เกษตรกรใช้เลี้ยงในเชิงพาณิชย์ จึงเป็นการง่ายที่เกษตรกรสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการเลี้ยงปลานิลของตนเอง ซึ่งวิธีการที่ง่ายที่สุดคือ การนำไปคลุกกับอาหารเม็ดลอยน้ำ โดยแนะนำให้ใช้ไคโตซานหรือยีสต์เสริมในอาหารเพราะมีต้นทุนที่ต่ำกว่าฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ แต่ประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน การเสริมยีสต์ทำได้โดยนำยีสต์ผงไปกระตุ้นด้วยน้ำอุ่น ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที แล้วนำไปเคลือบให้ทั่วอาหารเม็ด แต่

ไม่ให้อาหารแฉะเกินไป นำไปผึ่งในร่มให้แห้งก่อนนำไปใช้ ไคโตซานก็เช่นเดียวกัน โดยใช้ไคโต-ซานแบบผงละเอียดผสมน้ำนำไปเคลือบให้ทั่วอาหารเม็ด ผึ่งในร่มให้แห้งก่อนนำไปใช้

การเสริมพรีไบโอติกและโพรไบโอติกในอาหารนั้นอาจเสริมในช่วงที่ปลายังมีขนาดเล็ก เพื่อช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันและเพิ่มอัตราการรอดตาย เนื่องจากปลาขนาดเล็กมีระบบภูมิคุ้มกันที่น้อยกว่าและยังพัฒนาไม่สมบูรณ์เท่ากับปลาขนาดใหญ่ เมื่อปลามีขนาดที่โตขึ้นอาจจะหยุดเสริม หรือเสริมเป็นช่วง ๆ เพราะปลามีภูมิคุ้มกันที่พัฒนาดีแล้ว และการเสริมในอาหารเป็นช่วง ๆ เป็นการประหยัดต้นทุนค่าอาหารมากกว่าการเสริมตลอดระยะเวลาการเลี้ยง

บทที่ 6
สรุปผลการวิจัย

การเสริมโพรไบโอติกยีสต์ (YT) พรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) และพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) ที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทดลองโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ทดลองเลี้ยงปลานิลแปลงเพศในกระชัง ทำให้ปลานิลแปลงเพศมีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตดีขึ้น แตกต่างกับกลุ่มควบคุม (CN) เมื่อพิจารณาจากน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

การเสริมโพรไบโอติกยีสต์ (YT) พรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) และพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) ในอาหารปลานิลแปลงเพศ ทำให้ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะดีขึ้น แตกต่างกับกลุ่มควบคุม (CN) โดยมีปริมาณเม็ดเลือดขาวและซีรัมไลโซไซม์สูงขึ้น

การเสริมโพรไบโอติกยีสต์ (YT) และพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) ในอาหารไม่ทำให้ต้นทุนการผลิตปลานิลแปลงเพศ (บาทต่อกิโลกรัม) แตกต่างกับกลุ่มควบคุม (CN) แต่การเสริมพรีไบโอติกฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FS) ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น ดังนั้นในการเลี้ยงปลานิลแปลงเพศจึงควรเลือกเสริมโพรไบโอติกยีสต์ (YT) หรือพรีไบโอติกไคโตซาน (CS) ที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ

บรรณานุกรม

กรมประมง. 2554. **ยุทธศาสตร์การพัฒนาปลานิล (พ.ศ.2553-2557).** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.fisheries.go.th/freshwater/web3/images/download/yutasat.pdf (20 ตุลาคม 2554).

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. 2552. **ศักยภาพการผลิตและการตลาดปลานิล.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.oae.go.th/download/article/article_20090306163215.pdf (24 กันยายน 2554).

กัญช์ เกลี้ดมณี ปภาศิริ กาญจโนภาศ-บาร์เนท คเชนทร เฉลิมวัฒน์ วิชชุดา ประสาทแก้ว สุกานดา ทับเมฆา และหยาดเพชร โอเจริญ. 2553. การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch) ต่อการเสริมอาหารด้วยไคโตซาน. น. 55-63. <u>ใน</u> **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 48**: สาขาประมง. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ขวัญใจ สุขินพงศ์พันธ์. 2541. **การนำไคโตแซนไปใช้ประโยชน์ทางด้านภาชนะบรรจุ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 120 น.

คีรี กออนันกุล. 2542. **การเพาะเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ.** กรุงเทพฯ: กองประมงน้ำจืด กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 47 น.

ชนกันต์ จิตมนัส. 2545. สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันสัตว์น้ำ. **วารสารสงขลานครินทร์** 24(4): 739-747.

____________. 2552. การวิเคราะห์ความเสี่ยงของโรคที่เกิดกับการเลี้ยงปลานิลในกระชังบริเวณแม่น้ำปิงตอนบน. น. 471-480. <u>ใน</u> **ประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47**: สาขาประมง. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชวนพิศ สิทธิมังค์ และ เกวลิน หนูฤทธิ์. 2553. **เศรษฐกิจปลานิลระหว่างแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่3-ปัจจุบัน.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://fisheconomic.blogspot.com/ (18 เมษายน 2554).

ชาติชาย คงประเสริฐ. 2543. **การเลี้ยงปลา.** นนทบุรี: เกษตรบุ๊ค. 89 น.

ดวงกมล แสนสวาท. 2552. **ผลของไคโตซานต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในปลานิล.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 59 น.

ดวงพร คันธโชติ. 2545. **นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์.** กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. 216 น.

เดชา นาวานุเคราะห์. 2543. **คุณภาพน้ำทางการประมง.** พิษณุโลก: สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตพิษณุโลก. 104 น.

ปกรณ์ อุ่นประเสริฐ. 2545. **การเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืด**. กรุงเทพฯ: นลิน. 196 น.

ประเทือง เชาว์วันกลาง. 2534. **คุณภาพน้ำทางการประมง**. ลำปาง: แผนกประมง คณะสัตวศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตลำปาง. 86 น.

____________. 2536. **การเลี้ยงปลาน้ำจืด**. ลพบุรี: คณะวิชาสัตวศาสตร์ วิทยาลัยเกษตรกรรมลพบุรี. 141 น.

ปัญญา สุวรรณสมุทร. 2545. **ปลาในกระชัง**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 119 น.

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์ นบชนก ธนพงศธร และสุวลี จันทร์กระจ่าง. 2544. การใช้ไคติน-ไคโตซานเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในกุ้งกุลาดำ. น. 30-37 ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 39 :** สาขาประมง. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พิกุล จิรวาณิชไพศาล. 2543. การใช้โปรไบโอติก (probiotics) ในสัตว์น้ำ. **วารสารโรคสัตว์น้ำ** 10(1): 2-6 .

พีร์ เหมะรัชตะ. 2551. ความสำคัญของ Probiotics ต่อการแพทย์. **จุฬาลงกรณ์เวชสาร.** 52(3): 193-204.

เพิ่มพูน ศักดิ์เกษม. 2531. **ปลานิล**. กรุงเทพฯ: ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร. 72 น.

ภาวดี เมธะคานนท์ อศิรา เฟื่องฟู และ ก้องเกียรติ คงสุวรรณ. 2543. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับ ไคติน-ไคโตซาน. **MTEC เทคโนโลยีวัสดุ**. 19: 69-75.

มนต์สรวง ยางทอง แขวลี วิบูลย์กิจ และ พิมาน เถาสมบัติ. 2550. ศึกษาการเจริญเติบโตของปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเคลือบไคโตซานระดับต่างๆ. **วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง** 1(2): 223 – 234.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศน์ และ ไพพรรณ พรประภา. 2536. **การจัดการคุณภาพน้ำและการบำบัดน้ำเสียในบ่อเลี้ยงปลา**. กรุงเทพฯ: ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 319 น.

เมฆ บุญพราหมณ์. 2530. **การเลี้ยงปลา**. กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์. 135 น.

ไมตรี ดวงสวัสดิ์. 2528. คุณสมบัติของน้ำกับการเลี้ยงปลา. **กสิกร.** 52(2): 141-148.

ยุทธนา หมั่นดี. 2551. เลือดและผลิตภัณฑ์เลือด (Blood and blood products). **วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่** 41(2): 53-61.

ธัชนนท์ พุ่มโภคัย และ สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล. 2552. ผลของบริเวอร์ยีสต์และนิวคลีโอไทด์ในอาหารต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*). น. 444-452. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 47**: สาขาประมง. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธวัชชัย โพธิ์เฮือง เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล และ กัลยา เจือจันทร์. 2547. ประสิทธิภาพของการใช้โปรไบโอติกในการเลี้ยงไก่. **วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข.** 14(2): 52-61.

ฤดี สุราฤทธิ์. 2548. **น้ำตาล.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://dental.anamai.moph.go.th/sweet2/StockData/story01.pdf (2 มกราคม 2554).

ลิลา เรืองแป้น. 2542. ไคโตซาน. **สัตว์น้ำ.** 12(142): น. 65-68.

สมควร ดีรัสมี. 2542. **การเลี้ยงปลาน้ำจืดในกระชัง.** กรุงเทพฯ: แสงปัญญาเลิศ. 86 น.

สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ. 2549. **ยีสต์ คุณประโยชน์ในอุตสาหกรรม.** กรุงเทพฯ: กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 39 น.

สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ วิบูลย์ศรี พิมลพันธุ์ นภาธร บานชื่น ทัศนีย์ สุโกศล ศันสนีย์ เสนะวงษ์ ธาราวัชต์ ธารากุล และ สิริฤกษ์ ทรงศิวิไล. 2537. **อิมมูโนวิทยา.** กรุงเทพฯ: บริษัท เค.พี. พริ้นติ้ง จำกัด. 389 น.

สุญาณี พงษ์ธนานิกร. 2549. **พรีไบโอติก และ โพรไบโอติก : อาหารสุขภาพ.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.kanomkobkid.com/articles/prebiotic_probiotic.pdf (20 กันยายน 2554).

โสมทัต วงศ์สว่าง. 2538. **วิทยาภูมิคุ้มกันทางสัตว์แพทย์.** กรุงเทพฯ: ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิยาลัย. 114 น.

อดุลย์ พงศ์สุวรรณ. 2532. **ปลาน้ำจืดที่เลี้ยงง่าย.** นนทบุรี: ศูนย์ผลิตตำราเกษตรเพื่อชนบท. 21 น.

อัจฉรา เพิ่ม. 2550. **แบคทีเรียแลคติก.** สงขลา: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา. 179 น.

อัมพร ภิญโญวิทย์. 2545. **มีนวิทยา.** กรุงเทพฯ: คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏรำไพพรรณี. 314 น.

อัธยา กังสุวรรณ. 2541. ไคตินผลิตภัณฑ์ธรรมชาติสำหรับศตวรรษที่ 21. **วารสารกรมประมง** 51(1): 57-67.

อุดม เรืองนพคุณ. 2552. **การเพาะพันธุ์และการเลี้ยงปลานิล.** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: ธนธัชการพิมพ์. 96 น.

Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A.M. and Ismael, N.E.M. 2008. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture** 280: 185–189.

Ai, Q., Mai, K., Zhang, L., Tan, B., Zhang, W, U, W; and Li, H. 2007. Effects of dietary ß -1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea.* **Fish & Shellfish Immunology** 22: 394-402.

Ai, Q., Xu, H., Mai, K., Xu, W., Wang, J. and Zhang, W. 2011. Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea.* **Aquaculture** 317: 155–161.

Association of Official Agricultural Chemists, 1990. **Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists.** 15^{th} ed. Arlington, VA: Association of Official Agricultural Chemists. 1360 p.

Barnes, M. E., Durben, D. J., Reeves, S. G. and Sanders, R. 2006. Dietary yeast culture supplementation improves initialrearing of McConaughy strain rainbow trout. **Aquaculture Nutrition** 12: 338-394.

Cha, S. H., Lee, J. S., Song, C. B., Lee, K. J. and Jeon, Y. J. 2008. Effects of ehitosan-coated diet on improving water quality and innate immunity in the olive flounder, *Paralichthys olivaceus.* **Aquaculture** 278: 110–118.

Cumming, J. H., Macfarlane, G. T. and Englyst, H. N. 2001. Prebiotic digestion and fermentation. **American Journal of Clinical Nutrition** 73: 415S-420S.

Dalmo, R. A., Ingebrigtsen, K. and Bogwald, J. 1997. Non-specific defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). **Journal of Fish Diseases** 20: 241-273.

Essa, M. A., Mabrouk, H. A., Mohamed, R. A. and Michael, F. R. 2011. Evaluating different additive levels of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, on the growth and production performances of a hybrid of two populations of Egyptian African catfish, *Clarias gariepinus*. **Aquaculture** 320: 137–141.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2002. **Antibiotics residue in aquaculture products.** Rome: The State of World Fisheries and aquaculture. 168 p.

Fuller, R. 1989. Probiotic in man and animal. **Journal of applied bacteriology** 66: 365-378.

Gatesoupe F. J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. **Aquaculture** 180: 147-165.

Geng, X., Dong, X. H., Tan B. P., Yang, Q. H., Chi, S. Y., Liu, H. Y., and Li, X. Q. 2011. Effects of dietary chitosan and *Bacillus subtilis* on the growth performance, non-specific immunity and disease resistance of cobia, *Rachycentron canadum*. **Fish & Shellfish Immunology** 31: 400-406.

Gibson, G. R. 2004. Prebiotic. **Journal of Gastroenterology–Supplement**. 18: 287-298.

Gopalakannan, A. and Arul, V. 2006. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds. **Aquaculture** 255: 179-187.

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: 163–167.

Harikrishnan, R., Kim, J. S., Balasundaram, C. and Heo, M. S. 2012. Immunomodulatory effects of chitin and chitosan enriched diets in *Epinephelus bruneus* against *Vibrio alginolyticus* infection. **Aquaculture** 326-329: 46–52.

He, S., Zhou, Z., Liu, Y., Shi, P., Yao, B., Ringo, E. and Yoon, I. 2009. Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product (DVAQUA®) ongrowth performance, intestinal autochthonous bacterial community and non-specificimmunity of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀×*O. aureus* ♂) cultured in cages. **Aquaculture** 294: 99–107.

Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A. and Merrifield, D. L. 2011. The effects of dietary inactive brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* on the growth, physiological responses and gut microbiota of juvenile beluga (*Huso huso*). **Aquaculture** 318: 90–94.

Hussein, H.S., Campbell, T.M., Bauer, L.L., Fahey Jr, G.C., Lewis Hogarth, A.J.C., Wolf, B.W., and Hunter, E. 1998. Selected Fructooligosaccharide Composition of Pet-Food Ingredients. **J ournal of nutrition** 128: 2803S–2805S.

Hui-yuan, L.V., Zhi-gang, Z., Rudeaux, F. and Respondek, F. 2007. Effects of dietary Short Chain Fructo-oligosaccharides on intestinal microflora, mortality and growth performance of *Oreochromis aureus* ♂× *O. niloticus* ♀. **Chinese Journal of Animal Nutrition**. 19(6): 1-6.

Kelly, J. 2008. **Yeast antibodies predict more severe as.** [Online]. Available http://www.mskreport.com/articles.cfm?articleID=2911 (20 December 2011).

Knorr, D. 1984. Use of chitinous polymer. **Food Technology**. 38: 85-97.

Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M.A., Guzman-Mendez, B.E. and Lopez-Madrid, W. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cererisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*O. niloticus*). **Aquaculture** 216: 193-201.

Lara-Flores, M., Olivera-Castillo, L. and Olvera-Novoa, M A. 2010. Effect of the inclusion of a bacterial mix (*Streptococcus faecium and Lactobacillus acidophilus*), and the yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth, feed utilization and intestinal enzymatic activity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **International Journal of Fisheries and Aquaculture** 2(4): 93-101.

Li, P. and Gatlin III, D. M. 2003. Evaluation of brewers yeast(*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). **Aquaculture** 219: 681 – 692.

_____________. 2005. Evaluation of the prebiotic GroBiotic®-A and brewers yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. **Aquaculture** 248:197-205.

Lim, C. and Webster, C. D. 2001. **Nutrient and fish health**. New York: Food products press. 396 p.

Lin, S., Mao, S., Guan, Y., Luo, L., Luo, L. and Pan, Y. 2 012. Effects of dietary chitosan oligosaccharides and *Bacillus coagulans* on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*). **Aquaculture** 342-343: 36–41.

Manning, T.S. and Gibson, G.R. 2004. Prebiotics. **Best Pract Res Clin Gastroenterol.** 18: 287-98.

Mahious, A. S., Gatesoupe, F. J., Hervi, M., Metailler, R. and Ollervier, F. 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, Psetta maxima(Linnaeus, C. 1758). **Aquaculture International** 14: 219-229.

Ortuno, J., Cuesta, A., Rodriguez, A., Esteban, M. A. and Meseguer, J. 2002. Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the eellular innate immune respone of gilhead seabream (*Sparus aurata* L.). **Veterinary Immunology and Immunopathology** 85: 41-50.

Parker, R. B. 1974. Probiotic, the other half of the antibiotic story. **Animal Nutrition and Health** 29: 4-8.

Petrunov, B., Nenkov, P. and Shekerdjiisky, R. 2007. The role of immunostimulants in immunotherapy and immunoprophylaxis. **Biotechnol & Biotechnol Equipment.** 21(4): 454-462.

Ponce-Jimenez, M. D. P., Lopes-Dellamary Toral, F. A., and Gutierres-Puido, H. 2002. Antifungal Protection and Sizing of Paper with Chitosan Salts and Cellulose Ethers. Part 1, Physical Effects. **Journal of the American Institute for Conservation** 41(3): 255-268.

Puangkaew, J., Kiron, V., Somamoto, T., Okamoto, N., Satoh, S., Takeuchi, T. and Watanabe, T. 2004. Nonspecific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids. **Fish & Shellfish Immunology** 16: 25-39.

Rozy, A. and Chorostowska-Wynimko, J. 2008. Bacterial immunostimulants-mechanism of action and clinical application in respiratory diseases. **Pneamonol. Alergol. Pol.** 76: 353-359.

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

Sangeetha, P.T. Ramesh, M.N. and Prapulla, S.G. 2005. Recent trends in the microbial production, analysis and application of Fructooligosaccharides. **Trends in Food Science & Technology** 16: 442–457.

Sherman, P.M., Cabana, M., Gibson, G.R., Koletzko, B.V., Neu, J., Veereman-Wauters., Ziegler, E.E. and Walker, W.A. 2009. Potential Roles and Clinical Utility of Prebiotics in Newborns, Infants, and Children. **The Journal of pediatrics** 155: 61-70.

Shiau, S.Y. and Yu, Y.P. 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in Tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. auratus*. **Aquaculture** 179: 439-446.

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 Immunology** 32: 316-321.

Suanyuk, N., Kong, F., Ko, D., Gilbert, G. L. and Supamattaya, K. 2008. Occurrence of rare genotypes of *Streptococcus agalactiae* in cultured red tilapia *Oreochromis* sp. and Nile tilapia *O. niloticus* in Thailand-relationship to human isolates?. **Aquaculture** 284: 35-40.

Thirabunyanon, M. 2011. Biotherapy for and protection against gastrointestinal pathogenic infections via action of probiotic bacteria. **Maejo International Journal of Science and Technology** 5(01): 108-128.

Vadstein, O. 1997. The use of immunostimulation in marine larviculture: possibilities and challenges. **Aquaculture** 155: 401-417.

Zhang, Q., Ma, H., Mai, K., Zhang, W., Liufu., Z. and Xu, W. 2010. Interaction of dietary *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on the growth performance, non-specific immunity of sea cucumber, *Apostichopus japonicas*. **Fish &Shellfish Immunology** 29: 204-211.

Zhou, Z., Ding, Z. and Huiyuan, L.V. 2007. Effects of Dietary Short-chain Fructooligosaccharides on Intestinal Microflora, Survival, and Growth Performance of Juvenile White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal World Aquaculture Society** 38: 296–301.

Zhou, Q.C., Buentello, J.A and Gatlin III, D.M. 2010. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*) **Aquaculture** 309: 253–257.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

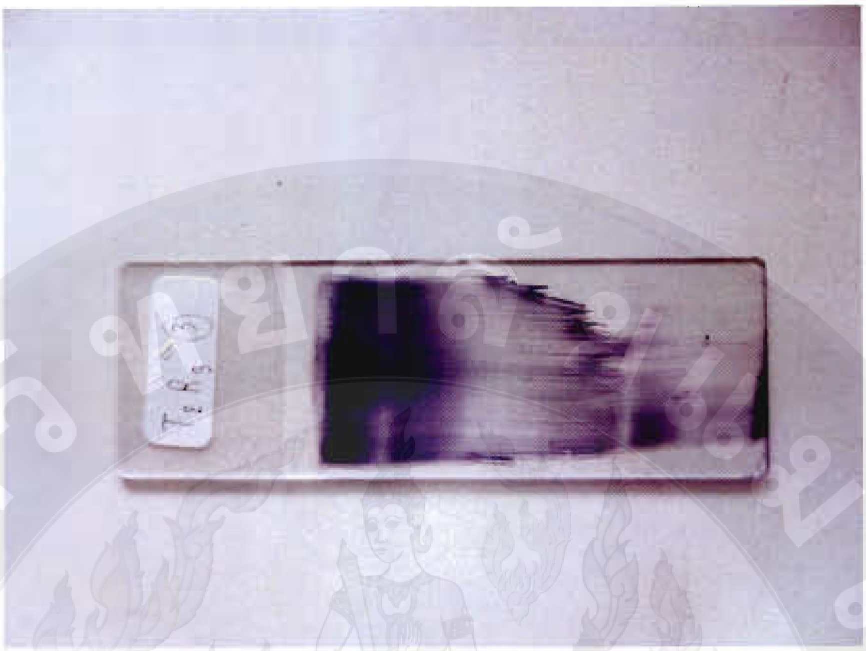
ภาพการเก็บตัวอย่างการทดลอง

ภาพผนวก 1 การเก็บตัวอย่างปลานิลแปลงเพศ

ภาพผนวก 2 การนับจำนวนและชั่งน้ำหนักปลานิลแปลงเพศ

ภาพผนวก 3 การเก็บตัวอย่างเลือดปลานิลแปลงเพศ

ภาพผนวก 4 การใส่เลือดในหลอด microhaematocrit



ภาพผนวก 5 เซลล์เลือดที่ย้อมด้วยชุดน้ำยา Wright instant stain set

ภาพผนวก 6 การเก็บเลือดในสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด EDTA 5 เปอร์เซ็นต์

ภาพผนวก 7 ซีรัมที่แยกจากการปั่นเหวี่ยง

ภาพผนวก 8 เม็ดเลือดแดงอัดแน่น

ภาคผนวก ข

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นายธนภัทร วรปัสสุ	
เกิดเมื่อ	7 เมษายน 2530	
ภูมิลำเนา	80/1 หมู่ 2 ต.เชียงกลม อ.ปากชม จ.เลย	
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2545	มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนหล่มสักวิทยาคม จังหวัดเพชรบูรณ์
	พ.ศ. 2548	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนหล่มสักวิทยาคม จังหวัดเพชรบูรณ์
	พ.ศ. 2552	ปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิตการประมง มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

ผลงาน

ธนภัทร วรปัสสุ เทพรัตน์ อึ้งเศรษฐพันธ์ ประจวบ ฉายบุ เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และ จอมสุดา ดวงวงษา. 2554. ผลของพรีไบโอติก และโพรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus*). น. 249-256 ใน **งานประชุมวิชาการ มอบ.วิจัย ครั้งที่ 5.** โรงแรมสุนีย์แกรน แอนด์ คอนเวนชั่น เซ็นเตอร์ จังหวัดอุบลราชธานี ระหว่างวันที่ 4-5 สิงหาคม 2554. อุบลราชธานี: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

เทพรัตน์ อึ้งเศรษฐพันธ์ ทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล และ ธนภัทร วรปัสสุ. 2554. การอนุบาลลูกปลาหมอในกระชังด้วยสูตรอาหารและความหนาแน่นที่ต่างกัน. **วารสารเทคโนโลยีการประมง** 5(2): 1-11