สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาวด้วยอาหารเสริมสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร

Increasing immune response in seabass, *Lates calcarifer* (Bloch)

by extraction from dragon fruit skin

T104551

โดย

นางสาวทิพย์วรินทร์ เกื้อสกุล

ส/ว.
ท 468 ก
เลขหมู่ 2550
เลขทะเบียน 104551
วัน,เดือน,ปี - 5 พ.ย. 2552

b 12159384
i

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาวด้วยอาหารเสริมสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร

Increasing immune response in seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) by extraction from dragon fruit skin

ชื่อนักศึกษา นางสาวทิพย์วรินทร์ เกื้อสกุล

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัจฉรี เรืองเดช
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัจฉรี เรืองเดช)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ์)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา ทวีกิจการ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ 10 **เดือน** ม.ค. **พ.ศ.** 51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาวด้วยอาหารเสริมสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร

Increasing immune response in seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) by extraction from dragon fruit skin

ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*, Bloch) จัดเป็นปลาเศรษฐกิจที่นิยมเลี้ยงกันมาก แต่เนื่องจากในการเลี้ยงก่อให้เกิดปัญหาด้านโรคระบาด การใช้สารเคมีและยาในการรักษาก็อาจจะมีสารตกค้างมาถึงผู้บริโภคได้ จึงมีการเปลี่ยนมาใช้สารจากธรรมชาติในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน เบตาเลนก็เป็นสารสีกลุ่มหนึ่งที่พบในเปลือกผลแก้วมังกร ซึ่งน่าจะเสริมสร้างภูมิคุ้มกันได้ การศึกษาในครั้งนี้จึงต้องการศึกษาถึงความสามารถของสารสีในกลุ่มเบตาเลนซึ่งเป็นสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาว โดยนำสารสกัดที่มีความเข้มข้นที่ 20, 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ เคลือบอาหารและให้ปลากินเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าปลากะพงขาวที่ได้รับเบตาเลนที่สกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดขาวมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น โดยมีจำนวน 10.33±0.88 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตน้อยที่สุด 14.72±0.96 เปอร์เซ็นต์ และจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดยเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* พบว่าปลากะพงขาวที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์มีอัตราการรอดตายสูงสุด โดยมีอัตราการรอดตาย 30.00±5.77 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมงหลังจากฉีดเชื้อ) โดยเริ่มมีการตายที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังจากการฉีดเชื้อ และเมื่อทำการวัดค่าสีเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 10 สัปดาห์พบว่ากลุ่มเบตาเลนที่สกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มความสว่างของผิวปลากะพงขาวได้มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น ส่วนการเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไม่มีความแตกต่างกันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง จากการศึกษานี้สามารถกล่าวได้ว่าเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรที่ความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ สามารถเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาวได้ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ ต้องขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัจฉรี เรืองเดช และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ เป็นอย่างสูงที่ได้ให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือมาโดยตลอด ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงที่ได้ให้ความรู้ในด้านต่างๆ ขอขอบคุณ คุณบุปผา คุณนภพล คุณแสง คุณชิดชนก และเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ในการทดลองในด้านต่างๆ ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือเป็นอย่างดี ขอบคุณเพื่อนๆที่คอยช่วยเหลือ โน้ต พี่แอน ปอ ตุ๋ม อ้อ มิลล์ พี่ป่าน และเพื่อนๆอีกหลายคนที่ยังไม่ได้เอ่ยถึง ที่คอยช่วยเหลือให้ปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จด้วยดี และสุดท้ายขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อและคุณแม่ที่ให้กำลังใจ ให้ความรัก อบรมสั่งสอนและให้ทุนทรัพย์ตลอดมา จนประสบความสำเร็จ

นางสาวทิพย์วรินทร์ เกื้อสกุล

มีนาคม 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	9
ผลการทดลองและวิจารณ์	14
สรุปและข้อเสนอแนะ	19
เอกสารอ้างอิง	20
ภาคผนวก	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	จำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดขาวที่เพิ่มขึ้น	14
2	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก อัตรารอด	16
3	ค่าการวัดสีเมื่อสิ้นสุดการทดลองโดยระบบ L*a*b*	17

ตารางผนวกที่		หน้า
1	น้ำหนักเฉลี่ยของปลากะพงขาว เริ่มต้นถึงสิ้นสุดการทดลอง	22
2	ความยาวเฉลี่ยของปลากะพงขาว เริ่มต้นถึงสิ้นสุดการทดลอง	23
3	จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวของปลากะพงขาว	24
4	จำนวนเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตของปลากะพงขาว	25
5	อัตราการรอดชีวิตของปลากะพงขาวหลังจากได้รับเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ที่เวลาต่างกัน	26
6	ค่าสีที่วัดได้เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 10 สัปดาห์	27
7	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก และอัตรารอดก่อนการทดลองการต่อต้านเชื้อ	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะทั่วไปของปลากะพงขาว	3
2	ลักษณะทั่วไปของผลแก้วมังกร	6
3	จำนวนเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตของปลากะพงขาว	15
4	อัตราการรอดหลังจากฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ปลากะพงขาวเป็นปลาน้ำกร่อยขนาดใหญ่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Lates calcarifer* (Bloch) ชื่อสามัญเรียกว่า Sea Bass รูปร่างยาว ลำตัวหนาและด้านข้างแบน สามารถอาศัยอยู่ได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม ปลาชนิดนี้เลี้ยงกันแพร่หลายในเขตจังหวัดชายทะเลของประเทศไทย เนื่องจากเลี้ยงง่าย โตเร็ว เนื้อมีรสชาติดีและมีราคา ปัจจุบันประเทศไทยสามารถเพาะพันธุ์ปลากะพงขาวได้เป็นจำนวนมาก เพื่อเลี้ยงในประเทศและส่งขายต่างประเทศ แต่ในปัจจุบันพบปลากะพงขาวแพร่กระจายอยู่ทุกจังหวัด ทั้งในอ่าวไทยและฝั่งทะเลอันดามันซึ่งจะอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่ไม่ห่างออกไปจากชายฝั่งมากนัก โดยอาศัยอยู่ชุกชุมตามปากแม่น้ำลำคลองและปากทะเลสาบ อย่างไรก็ตามปลากะพงขาวยังสามารถขึ้นไปอาศัยและเจริญเติบโตยังแหล่งน้ำจืดได้อีกด้วย จึงจัดเป็นปลาประเภทสองน้ำอย่างแท้จริง และปลากะพงยังเป็นปลาเศรษฐกิจที่กรมประมงส่งเสริมให้เลี้ยง เกษตรกรนิยมผลิตลูกปลาชนิดนี้เพื่อส่งไปจำหน่ายยังประเทศมาเลเซียและไต้หวันเนื้อมีรสชาติดีนำมาประกอบอาหารได้หลายประเภท

ปลากะพงขาวจัดเป็นปลาเศรษฐกิจ จึงมีการให้ความสำคัญและมีการนำวิทยาการใหม่ๆ เข้ามาเพื่อให้ได้ผลผลิตที่สูง แต่เมื่อมีการเลี้ยงเป็นจำนวนมากก็มีโอกาสที่จะเกิดโรคได้ง่ายขึ้น จึงมีการหาแนวทางป้องกันโดยการใช้วัคซีนแต่วัคซีนที่ใช้ในปัจจุบันได้มาจากยา สารเคมี สารปฏิชีวนะ แต่สารเหล่านี้จะส่งผลต่อสภาพแวดล้อมของบ่อเลี้ยง ซึ่งไม่เพียงจะทำลายสภาพแวดล้อมของบ่อเลี้ยง แต่ยังมีผลกระทบกับสัตว์น้ำเนื่องจากสารเหล่านี้จะไปสะสมตกค้างในเนื้อเยื่อและสารบางอย่างก็จะยับยั้งภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำอีกด้วย และปลาที่จะนำส่งออกไปต่างประเทศก็ต้องมีการตรวจโรคโดยละเอียดเพื่อป้องกันโรคและสารตกค้าง ดังนั้นเพื่อเป็นการลดปัญหาดังกล่าว จึงได้มีการทดลองใช้สารที่ได้จากธรรมชาติมาใช้ในการป้องกันโรค และนอกจากนี้ยังมีสารบางตัวที่สามารถเพิ่มภูมิคุ้มกันให้สัตว์น้ำได้อีกด้วย เช่นการใช้วิตามินซีผสมในอาหารปลากะพงขาว หรือวิตามินอีในปลานิล และการใช้โปรไบโอติกในปลาคาร์ฟ ก็พบว่าสามารถช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำเพิ่มขึ้นได้ และนอกจากนี้ก็มีสารจากธรรมชาติอีกหลายชนิดที่มีคุณสมบัติที่น่าจะช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำได้ เช่นสารสกัดจากสาหร่าย สารเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกร

แก้วมังกรนอกจากจะมีรูปร่างแปลกตา มีรสอร่อยแล้ว แก้วมังกรยังเป็นผลไม้ที่คนไทยนิยมทานกันเฉลี่ย 6,000 ตัน/ปี โดยมีส่วนเปลือกเหลือทิ้งอยู่ถึง 180 ตัน ภายในเปลือกของผลแก้วมังกรที่เรามักจะเหลือทิ้งนั้นมีสารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพมากมายด้วยกัน หนำซ้ำยังอาจเรียกได้ว่ามีคุณค่าทางอาหารและทางยามากกว่าเนื้อในของผลแก้วมังกรด้วยซ้ำ โดยมีสารเหนียวในเปลือกหุ้มผลแก้วมังกรที่ประกอบไปด้วยน้ำตาลเชิงซ้อน (complex polysaccharides) มากมาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารต้านสารอนุมูลอิสระและมีสารเบตาเลนซึ่งเป็นสารสีแดงเป็นกลุ่ม water-soluble nitrogenous pigment ซึ่งมีสรรพคุณช่วยลดไขมันจำพวกกลีเซอไรด์ และคลอเลสเตอรอลชนิดความหนาแน่นต่ำ (LDL) ในกระแสโลหิตได้ ขณะเดียวกันยังมีส่วนผสมของวิตามินซี ซึ่งมีคุณสมบัติในการสร้างภูมิคุ้มกัน ฟอสฟอรัส โปรตีนและแคลเซียมที่ช่วยกระตุ้นการทำงานของร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพแถมยังลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งได้ ขณะเดียวกันสีที่สกัดได้ก็ยังอาจนำไปใช้ในงานทางวิทยาศาสตร์และการแพทย์ได้อีกด้วยคือใช้ทดแทนสีย้อมเซลล์ในการทดลองวิทยาศาสตร์ จึงได้มีการนำมาทดลองกับการเลี้ยงปลากะพงขาว เพื่อทดสอบว่าสารเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรน่าจะสามารถเพิ่มภูมิคุ้มกันให้ปลากะพงขาวได้เพิ่มขึ้นจากการเลี้ยงปกติซึ่งปลาเองก็มีภูมิคุ้มกันอยู่แล้วตามธรรมชาติ แต่เมื่อเรามีการเพิ่มสารเบตาเลนเข้าไปจะมีผลเป็นอย่างไรซึ่งสารชนิดนี้เป็นสารที่ได้จากธรรมชาติและมีความปลอดภัยจึงแน่ใจว่าจะไม่มีสารตกค้างในเนื้อเยื่อของปลาเมื่อผู้เลี้ยงใช้เลี้ยงปลาและมีการส่งออกไปขายยังต่างประเทศ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาถึงความสามารถของเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาว

2. เพื่อศึกษาถึงความสามารถในการต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* หลังจากที่ได้รับเบตาเลนในระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. หลังจากที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร คาดว่าปลากะพงขาวจะมีระดับภูมิคุ้มกันที่สูงขึ้น และมีอัตรารอดสูงขึ้น

2.เพื่อเป็นการใช้สารจากธรรมชาติให้เกิดประโยชน์ และไม่เกิดสารตกค้างเหมือนกับการใช้สารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

1. อนุกรมวิธานของปลากะพงขาว

ภาพที่ 1 ลักษณะทั่วไปของปลากะพงขาว
ที่มา : http://www.geocities.com/metscience/sea/forest/images/calcarifer.jpg

ปลากะพงขาวมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lates calcarifer* (Bloch) และมีชื่อสามัญว่า Giant Perch หรือ Seabass ลักษณะลำตัวค่อนข้างยาวและหนาแบนข้างเล็กน้อย บริเวณไหล่จะโค้งมน ส่วนตัวจะลาดชันและเว้า ส่วนของขากรรไกรล่างยื่นยาวกว่าขากรรไกรบนเล็กน้อยปากกว้าง ขอบปากบนเป็นแผ่นใหญ่แยกเป็นแนวตอนต้นและตอนท้ายอย่างชัดเจน บริเวณส่วนปากจะยืดหดได้บ้าง ช่องปากเฉียงลงด้านล่างเล็กน้อย มีฟันเล็กละเอียดบนขากรรไกรบนและล่างและที่เพดานปาก ตามีขนาดกลาง ไม่มีเยื่อที่เป็นไขมันหุ้ม แผ่นปิดเหงือกมีขนาดใหญ่ มีขอบหลังเป็นหนามแหลม 4 ซี่ และเรียงต่อด้วยซี่เล็กๆ จัดตามแนวหลัง ด้านบนส่วนหัวและบนแผ่นเหงือกมีเกล็ดขนาดต่างๆ กัน เกล็ดบริเวณลำตัวค่อนข้างใหญ่ ด้านหลังมีสีเทาเงินหรือเขียวปนเทา ส่วนท้องมีสีเงินแกมเหลือง บริเวณด้านข้างของลำตัวมีสีเงิน ครีบหลัง ครีบก้น ครีบหาง จะมีสีเทาปนดำบางๆ มีครีบหลัง 2 ตอน ตอนแรกอยู่ตรงตำแหน่งของครีบท้อง มีก้านครีบแข็ง ที่แหลมคมขนาดใหญ่ 7-8 ก้าน เชื่อมต่อกันด้วยเยื่อบางๆ ครีบหลังตอนที่ 2 แยกจากตอนแรกอย่างเห็นได้ชัด มีก้านครีบแข็ง 1 ก้าน ก้านครีบอ่อนมีปลายแตกแขนงมี 10-11 ก้านครีบหูและครีบอกยาวไม่ถึงรูก้น ครีบก้นมีตำแหน่งใกล้เคียงกับครีบหลังตอนที่ 2 ประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 3 ก้าน ก้านครีบอ่อน 7-8 ก้าน ข้อหางสั้น ครีบหางค่อนข้างกลมเส้นข้างตัวโค้งไปตามแนวสันหลัง เกล็ดบนเส้นข้างตัว 52-61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกล็ด ปลากะพงขาวเป็นปลากินเนื้อเป็นอาหาร (carnivorous fish) สามารถสังเกตเพศได้จากลักษณะภายนอกของตัวปลาปลาเพศผู้จะมีลักษณะลำตัวยาวเรียวกว่าเพศเมีย ลำตัวมีส่วนลึกที่น้อยกว่าปลาเพศเมีย และมีน้ำหนักตัวน้อยกว่าปลาเพศเมียที่มีขนาดลำตัวยาวเท่ากันปลาเพศเมีย เมื่อถึงฤดูวางไข่ในช่วงเดือนพฤษภาคม-กันยายน ส่วนท้องจะอวบเปล่ง สังเกตได้ชัดเจน เมื่อเวลาเอามือคลำที่ท้องจะมีไข่ไหลออกมา (นิรนาม, 2548)

การแพร่กระจาย

ปลากะพงขาวเป็นปลาน้ำกร่อยขนาดใหญ่ที่สุด เจริญเติบโตได้ดีในน้ำกร่อยและน้ำจืด จัดได้ว่าเป็นปลาประเภท 2 น้ำ (catadromous fish) ปลากะพงขาวขนาดใหญ่จะอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่ไม่ห่างไกลออกไปจากฝั่งมากนัก พบมากบริเวณปากแม่น้ำลำคลอง ปากทะเลสาบและปากอ่าวบริเวณที่เป็นป่าชายเลน ที่มีน้ำเค็มท่วมถึงโดยจะพบอยู่ทั่ว ๆ ไปในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นับตั้งแต่พม่า ไทย มาเลเซีย เวียดนาม และแถบชายฝั่งทะเลของจีน ก็พบปลาชนิดนี้เช่นเดียวกัน ประเทศไทยสามารถพบปลากะพงขาวตามชายฝั่งทะเล โดยเฉพาะบริเวณปากแม่น้ำใหญ่ ๆ ที่มีทางออกติดต่อกับทะเล ที่มีป่าชายเลนขึ้นปกคลุม ทางจังหวัดตราด จันทบุรี ฉะเชิงเทรา สมุทรปราการ สมุทรสงคราม สงขลา กระบี่ ระนอง พังงา ภูเก็ต เป็นต้น ปลากะพงขาวจะผสมพันธุ์และวางไข่ในน้ำทะเลที่มีความเค็มประมาณ 28-32 ppt ในทะเลที่มีความลึก หลังจากนั้นไข่จะถูกพัดพาเข้าสู่บริเวณชายฝั่ง และฟักออกเป็นตัว ลูกปลากะพงขาวที่ฟักออกเป็นตัว จะดำรงชีวิตในน้ำกร่อยและในน้ำจืด จนมีอายุได้ 2-3 ปี มีขนาด 3-5 กก. จะอพยพออกสู่ทะเลเพื่อทำการผสมพันธุ์และวางไข่ต่อไป (นิรนาม, 2548)

โรคที่เกิดในปลากะพงขาวเช่น

1.โรคจุดขาว เกิดจากซิลิเอตโปรโตซัว (Ciliate protozoa) ในสกุลคริปโตแคริออน (*Cryptocaryon* sp.) เข้ามาเกาะตามภาชนะที่ใช้อนุบาลหรือเลี้ยงหรือตามวัตถุในแหล่งน้ำ

2.โรคปลิงใส เกิดจากปรสิตพวกตัวแบนหรือที่เรียกว่าปลิงใส จัดอยู่ในกลุ่ม monogenetic trematode เข้าไปเกาะตามตัวและเหงือก

3.โรคเห็บระฆัง เกิดจากซิลิเอตโปรโตซัว ในสกุลทริคอดิน่า (*trichodina* sp.) ซึ่งเรียกกันทั่วไปว่าเห็บระฆัง โปรโตซัวนี้เพิ่มจำนวนได้ดีในแหล่งน้ำที่ถ่ายเทน้ำไม่ดีหรือแหล่งน้ำที่สกปรกจากการให้อาหารมากเกินไป

4.โรคแฟลกซิแบคเตอร์ เกิดจากแบคทีเรียในสกุลแฟลกซิแบค (*Flexibaeter columnaris* และ *F.maritimus*) เข้าทำลายปลาที่เกิดแผลถลอกหลังจากคัดแยก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.โรคหูดปลา เกิดเฉพาะปลากะพงขาวเกิดจากไวรัสพวกลิมโฟซิสทิส (lymphocystis) เข้าไปทำให้เซลล์ผิวหนังขยายตัวอย่างผิดปกติ เป็นต้น

(http://www.shrimpcenter.com/fishpage0011.html, 19/12/07)

2. **ภูมิคุ้มกัน**

เนื่องจากในปัจจุบันมีการหันมาใช้สารที่มาจากธรรมชาติมากขึ้นเพื่อความปลอดภัย ป้องกันสารตกค้าง และยังสามารถช่วยรักษาสภาพแวดล้อมของสัตว์น้ำได้อีกด้วยและเป็นการลดต้นทุนการใช้สารเคมี

โดยสามารถดูผลได้จาก

Lysozyme activity เป็นการตรวจสอบระดับของ lysozyme ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบในไข่ขาว น้ำตา น้ำลาย เลือดโดย lysozyme จะช่วยทำลายผนังของเซลล์แปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย โดยที่ระดับของ lysozyme ยิ่งมีปริมาณมากจะยิ่งทำให้มีภูมิคุ้มกันมากขึ้นโดยวัดผลจากการทดลองแล้ววิเคราะห์ผล serum lysozyme (Ellis, 1990: อ้างตาม Ai *et al.*, 2004, 2006) ในแต่ละกลุ่ม

Alternative complement pathway (ACP) activity เป็นการกระตุ้นภูมิคุ้มกันร่างกายโดยไม่จำเป็นต้องกระตุ้น antibody complex ในการทำลายและกำจัดเซลล์แปลกปลอมออกจากร่างกายโดยการทำให้เกิดการแตกสลายของเซลล์แปลกปลอม เกิดการเคลือบเซลล์แปลกปลอมเพื่อทำให้เกิด phagocytosis ได้ง่ายขึ้นโดยเซลล์เม็ดเลือดขาวทำ phagocyte แล้ววิเคราะห์ serum ACP activity (Yano, 1992: อ้างตาม Ai *et al.*, 2004, 2006) โดยการเจือจาง serum และนับจำนวนระดับของserum producing 50% haemolysis (ACH50)และจำนวนของ ACH50 unit ml^{-1}ที่ได้รับในแต่ละกลุ่ม

Respiratory burst activity โดยธรรมชาติเซลล์เม็ดโลหิตขาวพวก neutrophil, eosinophil และ monocyte สามารถสร้างอนุมูลออกซิเจนขึ้นมาทำลายเชื้อโรคโดยอาศัยก๊าซออกซิเจน (O_2) การใช้ออกซิเจนในรูปแบบนี้เกิดจากขบวนการที่เรียกว่า respiratory burst เซลล์เม็ดโลหิตขาวพวกนี้จะเพิ่มการใช้ออกซิเจนอย่างมากเพื่อนำไปใช้สร้างอนุมูลออกซิเจน อนุมูลออกซิเจนที่เกิดขึ้นนี้พบว่าสามารถฆ่าเชื้อได้เป็นอย่างดี การหายใจเอาก๊าซออกซิเจนปริมาณสูง ๆ เข้าไป (hyperoxia) สามารถก่อให้เกิดอนุมูลออกซิเจนเพิ่มขึ้นได้ ซึ่งสามารถหาค่าโดยการวิเคราะห์ Nitroblue Tetrazolium Test (NBT) เป็นการตรวจเพื่อวิเคราะห์โดยใช้หลักการที่ว่า เมื่อ phagocyte มีกระบวนการ phagocytosis จะเกิดปฏิกิริยา respiratory burst คือมีการเพิ่มของ metabolic activity และมีการสร้าง superoxide ที่จะไป reduce NBT dye ซึ่งเป็นสีชนิดหนึ่ง จาก

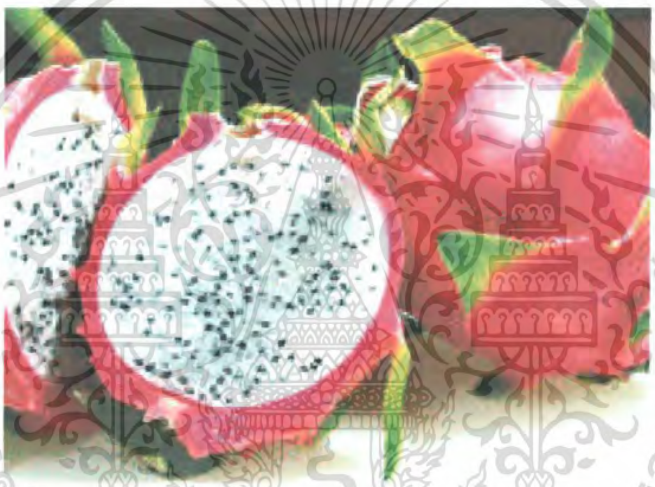
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีเหลืองให้เป็น formazan ซึ่งมีสีน้ำเงินใน neutrophil (Secombes, 1990: อ้างตาม Ai *et al.*, 2006)

Phagocytosis เป็นขบวนการกินและทำลายเซลล์แปลกปลอมเมื่อ neutrophil และ macrophage มาถึงจะเคลื่อนตัวไปหาเซลล์แปลกปลอมนั้น (chemotaxis) แล้วประกบติด (attachment) ต่อมาจะกลืน (ingestion) แล้วจึงจะมีการย่อย (intracellular digestion) ด้วยกลไกหลายอย่างในเซลล์ แล้วจึงปล่อยเซลล์แปลกปลอมที่ถูกทำลายแล้วออกจากเซลล์ (elimination)

อัตราการเจริญเติบโต โดยวัดค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตรารอด อัตราการตาย

3. อนุกรมวิธานของแก้วมังกร



ภาพที่ 2 ลักษณะทั่วไปของผลแก้วมังกร

ที่มา : http://www.whitemedia.org/wma/content/view/902/26/

แก้วมังกร (Dragon Fruit) เป็นพืชตระกูลเดียวกับตะบองเพชร มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกากลาง และมีปลูกแพร่หลายในเวียดนาม ต้นแก้วมังกรอยู่ในตระกูล *Hylocereus* sp. ชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Hylocercus undatus* (Haw) Brit. & Rose. เพิ่งเข้ามาในไทยเมื่อประมาณ 5 ปี แต่เป็นพันธุ์เนื้อในขาวส่วนพันธุ์เนื้อในแดงที่ชื่อแดงสยามเป็นพันธุ์มาจากไต้หวันเมื่อประมาณ 1-2 ปีนี้เอง มีลำต้นยาวประมาณ 5 เมตร มีรากทั้งในดินและรากอากาศ ชอบดินร่วนระบายน้ำดี ชอบแสงแดดพอเหมาะโล่งแจ้ง แต่ไม่แรงกล้าเกินไป ดอกขนาดใหญ่ยาวประมาณเกือบหนึ่งฟุต เริ่มบานตอนพระอาทิตย์ตกเพียงคืนเดียว ดอกหุบตอนพระอาทิตย์ขึ้นมีกลิ่นหอมอ่อนๆ แก้วมังกรเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม้เลื้อยมีอายุยาวนานหลายปี ลำต้นมีลักษณะเป็น 3 แฉกมีสีเขียวอวบน้ำ ซึ่งแท้จริงแล้วส่วนนั้นคือใบที่เปลี่ยนรูปไป

1.ประโยชน์จากผลแก้วมังกร

แก้วมังกรเป็นผลไม้บริสุทธิ์ปลอดภัยจากสารพิษ มีกากใยสูง แคลอรี่ต่ำ อุดมไปด้วยวิตามินซี คลอโรฟิลล์ เมล็ดของแก้วมังกรอุดมไปด้วยไขมันไม่อิ่มตัวสามารถต่อต้านปฏิกิริยา oxidation การรับประทานจึงนิยมบริโภคในรูปแบบของแก้วมังกรสด อีกทั้งยังมีการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่างๆ สีของแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงมีลักษณะเหมือนสีของหัวบีท โดยเปลือกแก้วมังกรที่มีสีบานเย็นเป็นแหล่งของรงควัตถุสีแดงธรรมชาติที่มีปริมาณสูง

2.ประโยชน์จากเปลือกแก้วมังกร

ในเปลือกของแก้วมังกรมีสารเหนียวในเปลือกหุ้มผลที่ประกอบไปด้วยน้ำตาลเชิงซ้อน (complex polysaccharides) มากมาย สารต้านสารอนุมูลอิสระและมีสารเบตาเลนซึ่งเป็นสารสีแดงเป็นกลุ่ม water-soluble nitrogenous pigment ขณะเดียวกันยังมีส่วนผสมของวิตามินซี ซึ่งมีคุณสมบัติในการสร้างภูมิคุ้มกัน ฟอสฟอรัส โปรตีนและแคลเซียมที่ช่วยกระตุ้นการทำงานของร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงมีการนำสารสกัดออกมาใช้เป็นสารสีให้เป็นสีธรรมชาติในการเร่งสีปลาและสามารถสร้างภูมิคุ้มกันให้กับปลา โดยรงควัตถุสีแดงในเปลือกแก้วมังกรที่สำคัญคือเบตาไซยานิน ซึ่งเป็นสารประกอบของเบตาเลน (Betalain) (Castellar *et. al.,2003*)

และเนื่องจากรงควัตถุในกลุ่มเบตาเลน ยังไม่พบว่ามีผู้นำมาใช้ในการสร้างภูมิคุ้มกันของปลากะพงขาวดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาใช้สารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรมาใช้ในในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันของปลากะพงขาว เพื่อในอนาคตจะได้นำมาใช้แทนสารเคมีในด้านการเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน

นอกจากนี้ยังมีการใช้รงควัตถุในการเพิ่มภูมิคุ้มกันเนื่องจากรงควัตถุต่างๆมีคุณสมบัติที่คล้ายคลึงกันคือมีสารต้านอนุมูลอิสระ

รงควัตถุที่พบในพืช

อาจแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ๆ ดังนี้

1.Chlorophylls เป็นกลุ่มของรงควัตถุสีเขียว มีหน้าที่จับพลังงานแสง เพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง

2.Carotenoid เป็นรงควัตถุกลุ่มใหญ่ให้สีแดง ส้มและเหลือง แบ่งออกเป็นสองกลุ่มย่อย คือ carotenes และ xanthophylls มีหน้าที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์แสง

3.Flavonoids เป็นรงควัตถุที่ให้สีเหลือง ส้ม แดงและน้ำเงิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.Betalains เป็นรงควัตถุที่ให้สีเหลือง ส้ม แดงและม่วง มีคุณสมบัติช่วยต้านสารอนุมูลอิสระ

Mara *et. al.*, (2006) ที่ได้ทำการทดลองใช้ lipopolysaccharide ของ *Chlorella* เพื่อเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันเลือดในปลาคาร์ฟ ซึ่ง*Chlorella* จัดเป็นสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก และอยู่ในกลุ่มรงควัตถุของ Chlorophylls ในขณะที่ Amar *et. al.*, (2006) ได้ทำการเสริมโภชนาการอาหารจาก carotenoids จากธรรมชาติ ในปลา rainbow trout โดยให้ชนิดต่างกัน 2 ชนิดและในระดับที่ต่างกัน 2 ระดับที่ความเข้มข้น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และจากการทดลองใช้เวลา 9 สัปดาห์ ผลปรากฏว่า carotenoids ทำให้ดรรชนี phagocytic เพิ่มขึ้น แสดงว่าโภชนาการ carotenoids ทั้ง 2 ชนิด สามารถปรับบางอย่างของกลไกการป้องกันโดยธรรมชาติในปลา rainbow trout

Betalains

รงควัตถุในกลุ่มเบตาเลนเป็นสารสีแดงเป็นกลุ่ม water-soluble nitrogenous pigment พบในส่วนของ cytosol และ vacuoles ในทางเคมี เบตาเลน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ เบตาไซยานินและเบตาแซนทิน เบตาเลนมีสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดไขมันจำพวกกลีเซอไรด์ และคอเลสเตอรอลชนิดความหนาแน่นต่ำ (LDL) ในกระแสโลหิตได้ ขณะเดียวกันยังมีส่วนผสมของวิตามินซี ซึ่งมีคุณสมบัติในการสร้างภูมิคุ้มกัน ฟอสฟอรัส โปรตีนและแคลเซียมที่ช่วยกระตุ้นการทำงานของร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพแถมยังลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1.อุปกรณ์ในการเลี้ยงปลากะพงขาว

1.1 ปลากะพงขาว (seabass)

1.2 อาหารเม็ดชนิดลอยน้ำสำหรับปลากะพง

1.3 ถังพลาสติกขนาด 49 x 68 x37

1.4 สายให้อากาศกับหัวทราย

1.5 สายยางดูดตะกอน

1.6 เครื่องวัดความเค็ม (Salinometer)

1.7 ระบบกรอง

1.8 เทอร์โมมิเตอร์ (max-min)

1.9 เครื่อง pH Meter

1.10 น้ำเค็ม 5 ppt

2. อุปกรณ์ในการสกัดสาร

2.1 เปลือกแก้วมังกร

2.2 เครื่องปั่นน้ำผลไม้

2.3 เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง

2.4 ขวดสีชา 500 มิลลิลิตร

2.5 มีด เขียง กรรไกร

2.6 ผ้าขาวบาง

2.7 บีกเกอร์ 500 มิลลิลิตร

2.8 ถาดผสมอาหาร

2.9 เอทานอล 80%

2.10 กระดาษฟลอยด์อะลูมิเนียม

2.11 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

2.12 เครื่องวัดค่าดูดกลืนคลื่นแสง (Spectrophotometer)

2.13 คิวเวตแก้ว

2.14 เครื่องวัดสี (Chromameter)

2.15 กระบอกตวงขนาด 100 และ 1,000 มิลลิลิตร

2.16 กระบอกน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การตรวจภูมิคุ้มกันปลากะพงขาว

3.1 เข็มฉีดยา เบอร์ 25 G

3.2 หลอดฮีมาโตคริต

3.3 สไลด์นับจำนวนเม็ดเลือด

3.4 กล้องจุลทรรศน์

3.5 โซเดียมซิเตรท 10%

3.6 บีกเกอร์ 100 มิลลิลิตร

4. การเปรียบเทียบการต้านเชื้อ

4.1 เชื้อ *Aeromonas hydrophilla*

4.2 เครื่องแก้วสำหรับเลี้ยงเชื้อ

4.3 เครื่องแก้วปรับปริมาตร

4.4 ขวดสีใส 500 มิลลิลิตร

4.5 ไมโครปิเปต

4.6 ตู้เขี่ยเชื้อ

4.7 ตู้บ่มเชื้อ

4.8 Autoclave

4.9 Hot air oven

4.10 อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB)

4.11 โซเดียมคลอไรด์

วิธีการ

แผนการทดลอง

การทดลองการเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาวด้วยอาหารเสริมสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยแบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดละ 3 ซ้ำๆละ 30 ตัว ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม (ให้อาหารปกติ)

ชุดการทดลองที่ 2 กลุ่มความเข้มข้นสารสกัดเบตาเลน 20%

(อาหาร 1 กิโลกรัมต่อเปลือกแก้วมังกร 100 กรัมต่อเอทานอล 500 มิลลิลิตร)

ชุดการทดลองที่ 3 กลุ่มความเข้มข้นสารสกัดเบตาเลน 40%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(อาหาร 1 กิโลกรัมต่อเปลือกแก้วมังกร 200 กรัมต่อเอทานอล 500 มิลลิลิตร)

ชุดการทดลองที่ 4 กลุ่มความเข้มข้นสารสกัดเบตาเลน 60%

(อาหาร 1 กิโลกรัมต่อเปลือกแก้วมังกร 300 กรัมต่อเอทานอล 500 มิลลิลิตร)

ทำการเลี้ยงทั้งหมด 70 วัน หรือ 10 สัปดาห์

วิธีการทดลอง

1.การสกัดสารเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกร

1.1 คัดเลือกผลแก้วมังกรสดที่อยู่ในสภาพที่ดี ผิวเรียบกลีบเลี้ยงยังสดอยู่ นำมาล้างให้สะอาด ตัดส่วนกลีบเลี้ยง ส่วนหัวและท้ายออก

1.2 ผ่าแก้วมังกรตามทางยาวออกเป็น 4 ส่วนลอกเปลือกออกและขูดส่วนเนื้อและเมือกที่ติดกับเปลือกออก

1.3 นำเปลือกมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปสกัดด้วยตัวทำละลาย ได้แก่น้ำกลั่นและเอทานอล 80% โดยใช้ความเข้มข้นในอัตราส่วน 20%ใช้เปลือกแก้วมังกร 100 กรัมต่อเอทานอล 500 มิลลิลิตร 40%ใช้เปลือกแก้วมังกร 200 กรัมต่อเอทานอล 500 มิลลิลิตร 60%ใช้เปลือกแก้วมังกร 300 กรัมต่อเอทานอล 500 มิลลิลิตร

1.4 ใส่เปลือกและตัวทำละลายในเครื่องปั่นอาหารปั่นให้ละเอียด จากนั้นกรองกากส่วนที่เหลือออกด้วยผ้าขาวบางเมื่อกากที่เหลือไม่มีสี

1.5 นำสารสกัดที่ได้ไปทำการหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,600 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที

1.6 เก็บสารสกัดส่วนบนใส่ไว้ในขวด 500 มิลลิลิตรที่ห่อด้วยกระดาษอะลูมิเนียมนำบางส่วนไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตรและนำไปเก็บไว้ในช่องแช่เย็นเพื่อรอการเตรียมอาหาร

2. การเตรียมอาหาร

2.1 เตรียมอาหารปลากะพงโดยใช้อาหาร 1 กิโลกรัมต่อสารสกัดปริมาตร 500 มิลลิลิตร โดยการชั่งอาหารเป็น 4 ชุดการทดลอง คือ กลุ่มควบคุมใส่เฉพาะเอทานอล 80%, ระดับความเข้มข้นสารสกัดเบตาเลน 20, 40 และ 60% ของน้ำหนักเปลือกต่อตัวทำละลาย

2.2 ใส่สารสกัดที่เตรียมไว้คลุกอาหารกับสารสกัดให้ทั่วแล้วผึ่งให้แห้งชักพักในตู้มืดเพื่อให้เอทานอลระเหยออก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 เมื่ออาหารแห้งดีแล้วเก็บใส่ถุงและห่อด้วยกระดาษอะลูมิเนียมนำไปเก็บรักษาเพื่อรอนำไปให้เป็นอาหารปลา

3. การให้อาหารปลา

การให้อาหารปลากะพงขาวจะให้ในปริมาณ 5-7% ต่อน้ำหนักตัวต่อวันโดยให้วันละ 3 เวลา ประมาณ 09.00 น., 12.30 น., 16.30 น. ของทุกวัน โดยแบ่งปลาออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ เป็นเวลา 10 สัปดาห์หรือ 70 วัน

4. การทดสอบการต้านเชื้อ

เพิ่มจำนวนเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ใน Nutrient broth (NB) ที่มีโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ผสมอยู่ 0.85 % โดยบ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อที่ 32^{o}C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ล้างเซลล์ของเชื้อด้วย 0.85 % NaCl จำนวน 2 ครั้ง โดยปั่นเหวี่ยงที่ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4^{o}C วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 nm แล้วหาจำนวนเซลล์ โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและจำนวนเซลล์ นำเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* มาฉีดเข้าช่องท้องของปลาความเข้มข้น 10^{9} CFUs / ml ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร บันทึกอัตราการรอดชีวิต ที่เวลา 24 , 48 , 72 และ 96 ชั่วโมง หลังจากฉีดเชื้อ

การบันทึกข้อมูล

ทำการชั่งน้ำหนัก วัดความยาวทุก 2 สัปดาห์ และทำการเจาะเลือดปลาเพื่อเก็บตัวอย่างเม็ดเลือดและเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตที่ระยะเวลาเริ่มต้นการทดลอง ที่ 5 สัปดาห์และครั้งสุดท้ายที่ 10 สัปดาห์เมื่อสิ้นสุดการทดลองเพื่อเปรียบเทียบจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวและเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตที่พบในแต่ละกลุ่ม และหลังจาก 10 สัปดาห์แล้วทำการทดสอบโดยการสุ่มตัวอย่างปลา 10 ตัวของแต่ละกลุ่มมาทดสอบภูมิคุ้มกันโดยการฉีดเชื้อแอโรโมแนส ไฮโดรฟิลล่า (*Aeromonas hydrophilla*) ในปลากลุ่มที่สุ่มมาโดยดูอัตราการรอดหลัง 96 ชั่วโมง แล้วบันทึกข้อมูลและเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 10 สัปดาห์ จึงวัดค่าสีของปลาที่เปลี่ยนแปลงไปซึ่งเปรียบเทียบกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง และนำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาทำการคำนวณหา อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (FCR) อัตรารอด น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมการสำหรับการวิเคราะห์

1. อัตราแลกเนื้อ = ปริมาณอาหารที่กิน / น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น
2. อัตรารอด = จำนวนปลาที่เหลือ x 100 / จำนวนปลาเริ่มต้น
3. เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต = ปริมาณเม็ดเลือดแดง x 100 / ปริมาณเลือดทั้งหมด

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก อัตรารอด น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตและค่าการเปลี่ยนแปลงของสีที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์และประเมินผลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS for Window version 11.0 เพื่อหาค่าความสัมพันธ์ และค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกลุ่มการทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

ระยะเวลาในการทดลอง

เดือนธันวาคม 2550 ถึง มีนาคม 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

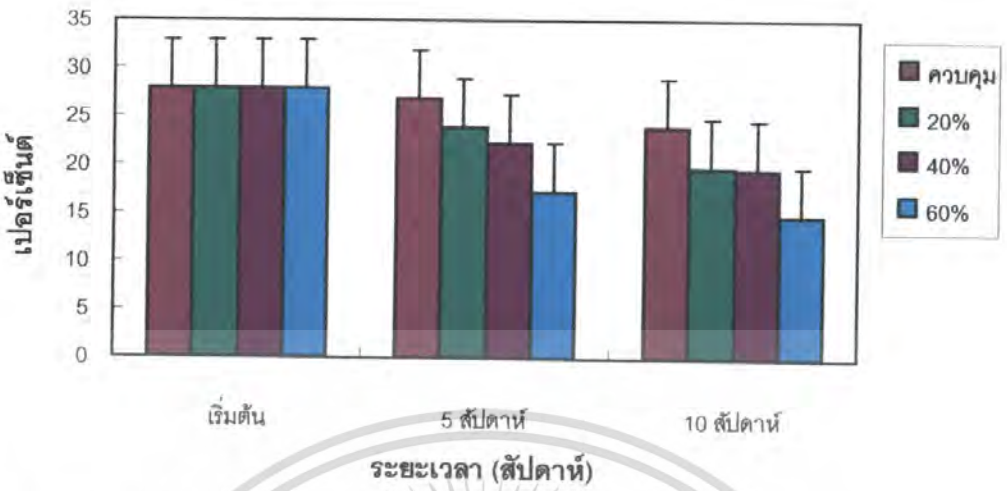
จากการตรวจนับจำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) พบว่าจำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดขาวเมื่อสิ้นสุดการทดลองครบ 10 สัปดาห์ ของกลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) กับกลุ่มการทดลองอื่นโดยมีจำนวน 10.33±0.88 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมด ซึ่งมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์คือปริมาณ 1.67±0.33, 3.67±0.67 และ 7.33±0.33 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จำนวนเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตที่ 10 สัปดาห์พบว่ากลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนการลดเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตลงมากที่สุด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) กับกลุ่มการทดลองอื่นโดยมีจำนวน 14.72±0.96 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งกลุ่มควบคุมมีการลดจำนวนเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตน้อยที่สุดมีจำนวน 23.99±1.47 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์มีจำนวนเปอร์เซ็นต์ลดลง 19.84±3.38 และ19.62±3.74 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาพที่3)

ตารางที่ 1 จำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดขาวที่เพิ่มขึ้น

กลุ่ม	เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว		
	เริ่มต้น	5 สัปดาห์	10 สัปดาห์
ควบคุม	1.75±0.25	1.33±0.33[a]	1.67±0.33[a]
20%	1.75±0.25	2.00±0.58[a]	3.67±0.67[b]
40%	1.75±0.25	3.67±0.67[b]	7.33±0.33[c]
60%	1.75±0.25	5.67±.033[c]	10.33±0.88[d]

ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแต่ละปัจจัย หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

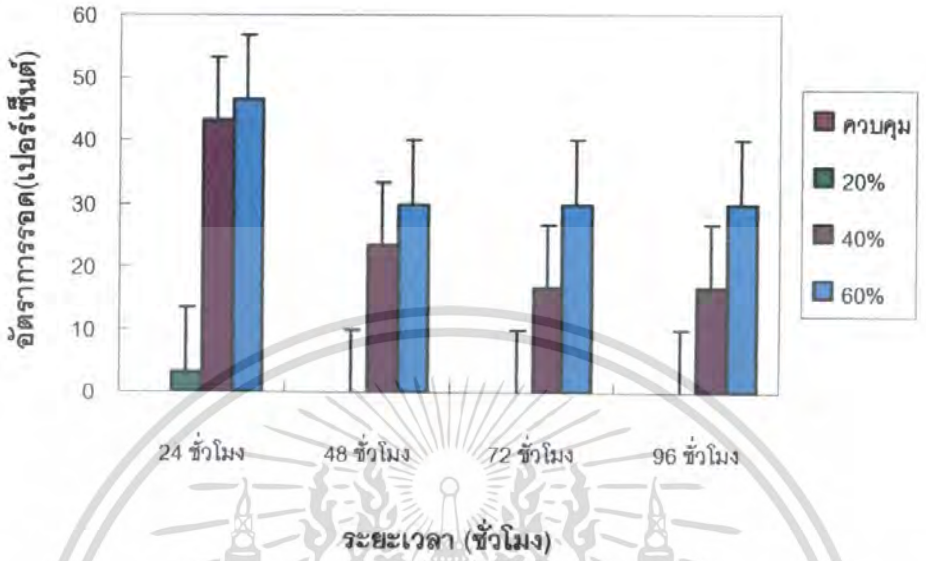


ภาพที่ 3 จำนวนเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตของปลากะพงขาว

จากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดยเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* โดยการฉีดที่บริเวณช่องท้องของปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) พบว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง ปลากะพงขาวในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดที่ 0.00±0.00 และ 3.33±3.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ กลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 60 และ 40 เปอร์เซ็นต์มีอัตราการรอดมากที่สุดโดยมีอัตรา 46.67±8.82 และ 43.33±6.67 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ หลังจากใส่เชื้อ 48 ชั่วโมงพบว่าปลากะพงขาวในกลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์มีอัตราการรอดลดลงที่ 0.00±0.00 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 60 และ 40 เปอร์เซ็นต์ มีอัตรารอดลดลงอยู่ที่ 30.00±5.77 และ 23.33±3.33 เปอร์เซ็นต์ หลังจากใส่เชื้อ 72 ชั่วโมงพบว่าปลากะพงขาวในกลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์มีอัตราการรอดลดลงอยู่ที่ 16.67±5.77 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ มีอัตรารอดลดลงคงที่ หลังจากใส่เชื้อ 96 ชั่วโมงพบว่าปลากะพงขาวในกลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดคงที่อยู่ที่จำนวน 30.00±5.77 และ 16.67±3.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดลองนี้สามารถกล่าวได้ว่า ปลากะพงขาวในกลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ มีอัตรารอดมากที่สุด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) กับกลุ่มการทดลองอื่น โดยมีอัตรารอด 30.00±5.77 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์มีอัตรารอดที่ 16.67±3.33 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ในกลุ่มควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และกลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P> 0.05) (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 อัตรารอดหลังจากฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

การเจริญเติบโตน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก อัตรารอดก่อนการฉีดเชื้อของปลากะพงขาว ในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 20, 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P> 0.05) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก อัตรารอด

กลุ่ม	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก	อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์)
ควบคุม	46.40±1.11[a]	1.01 ±0.01[a]	88.89±2.22[a]
20%	45.47±1.50[a]	1.05 ±0.03[a]	85.55±6.19[a]
40%	43.53±1.63[a]	1.02±0.01[a]	85.56 ±2.94[a]
60%	46.23±2.20[a]	1.04 ±0.03[a]	94.44 ±2.94[a]

ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแต่ละปัจจัย หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 10 สัปดาห์ได้ทำการวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (Chromameter) ยี่ห้อ Konica Minolta รุ่น CR-10 ในระบบ L* a* b* โดยค่า L* = ค่าความสว่างของสี, a* = ค่าระดับความเข้มของสีแดง และ b* = ค่าระดับความเข้มของสีเหลือง ค่าความสว่างของสีพบว่ากลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความสว่างมากที่สุดที่ค่า 83.26±0.16 ตามด้วยกลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 40, 20 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มควบคุม ตามลำดับที่ระดับค่าสีที่ 78.07±0.67, 67.61±2.43 และ 41.66±1.43 ซึ่งทุกกลุ่มการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P< 0.05$) ค่าระดับความเข้มของสีแดงและค่าระดับความเข้มของสีเหลืองพบว่ากลุ่มที่ได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากที่สุดที่ 3.40±0.26 และ 8.38±0.09 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ค่าการวัดสีเมื่อสิ้นสุดการทดลองโดยระบบ L* a* b*

กลุ่ม	L	a	b
ควบคุม	41.66±1.43^{a}	2.35 ±0.21^{a}	7.59±0.13^{a}
20%	67.61±2.43^{b}	2.63 ±0.14^{ab}	7.85±0.27^{a}
40%	78.07±0.67^{c}	3.16±0.16^{bc}	7.77 ±0.08^{a}
60%	83.26±0.16^{d}	3.40 ±0.26^{c}	8.38 ±0.09^{b}

ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแต่ละปัจจัย หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

จากการทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ ทิพย์วรรณ และคณะ (2541) ที่ต้องการศึกษาผลของ astaxanthin สารสีในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีต่อปลาเงินปลาทองโดยใช้อัตรา 0, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งพบว่าตั้งแต่ที่ 25 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ขึ้นไปจะกระตุ้นการเกิดสีผิวได้มากขึ้นและมีอัตราการตายลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งจากการทดลองพบว่าเมื่อปลากะพงขาวได้รับเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น ทำให้ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวสูงขึ้นด้วย จึงอาจส่งผลให้ปลากะพงขาวที่ได้รับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

104551

เบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรที่ระดับความเข้มข้นสูงมีระบบภูมิคุ้มกันที่ดีขึ้น จากรายงานของ Miller and Leavell (1972) กล่าวว่าเม็ดเลือดขาวมีหน้าที่สำคัญคือ ทำลายเชื้อโรคและสารแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย สร้างเอนไซม์ขึ้นภายในไซโทพลาซึม นอกจากนี้ยังช่วยสร้างแอนติบอดี ให้แก่ร่างกายอีกด้วย ดังนั้นเมื่อเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวในปลากะพงขาวได้จึงน่าจะส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของปลาให้ดีขึ้นด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการตรวจนับเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดขาว และเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต พบว่าปลากลุ่มที่ให้อาหารด้วยสารสกัดเบตาเลนเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ให้ผลในการพบเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวมากที่สุด และลดเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตได้มากที่สุด จากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดยเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* โดยการฉีดที่บริเวณช่องท้องของปลากะพงขาว หลังจาก 96 ชั่วโมงมีอัตรารอดหลังการทดลองฉีดเชื้อมากที่สุด

การเจริญเติบโตของปลากะพงขาวพบว่า น้ำหนัก อัตรารอดก่อนฉีดเชื้อและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่เสริมสารสกัดเบตาเลนและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

จากการวัดค่าสีผิวของปลากะพงขาวก็พบว่าปลากลุ่มที่ให้อาหารด้วยสารสกัดเบตาเลนเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความสว่างดีที่สุด

จากการทดลองนี้สามารถกล่าวได้ว่าเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้กุ้งขาวมีภูมิคุ้มกันสูงขึ้นมากที่สุด โดยทำให้กุ้งขาวมีความสามารถในการต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ดีที่สุด และสามารถเพิ่มความสว่างของสีผิวปลากะพงขาวได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาต่อไปว่าถ้ามีการเพิ่มความเข้มข้นของเบตาเลนสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรมากขึ้นอาจจะทำให้ปลามีภูมิคุ้มกันดีขึ้นอีก และศึกษาว่าถ้ามีการหยุดให้สารสกัดเบตาเลนแล้วภูมิคุ้มกันจะลดลงหรือไม่ และจะอยู่ได้นานเท่าไหร่หลังจากการหยุดให้สารสกัดเบตาเลนและเบตาเลนไปกระตุ้นการทำงานในส่วนใดของระบบภูมิคุ้มกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ทิพย์วรรณ ปริพัฒนานนท์, จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์, อัจฉริยา ไศละสูต และ นันทริกา ชันชื่อ. 2541. Effect of astaxanthin on pigmentation of goldfish. รายงานผลงานวิจัยเสนอต่อมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ 2541:1-16

นิรนาม. 2548. นวัตกรรมใหม่สำหรับการเลี้ยงปลากะพงขาวด้วยอาหารเม็ด. วารสารสัตว์น้ำ 17(195):167-170

Ai,Q., K. Mai, B. Tan, W. Xu, W. Zhang, H. Ma and Z. Liufu. 2006. Effects of dietary vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. Aquaculture 261:327-336.

Ai,Q., K. Mai, C. Zhang, W. Xu, Q. Duan, B. Tan and Z. Liufu. 2004. Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Aquaculture 242:489-500.

Amar,E.C., V. Kiron, S. Satoh and T. Watanabe. 2004. Enhancement of innate immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) associated with dietary intank of carotenoids from natural products. Fish and Shellfish Immunology 16:527-537.

Azad,I.S., J. Syama Dayal, M. Poornima and S.A. Ali. 2007. Supra dietary levels of vitamins C and E enhance antibody production and immune memory in juvenile milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal) to formalin-killed *Vibrio vulnificus*. Fish and Shellfish Immunology 23:154-163.

Castellar,R., J.M. Obon, M. Alacid and J.A. Fernandez. 2003. Color properties and stability of betacyanins from Opuntia fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51:2772-2776

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mara,L.C., R.L. Pardy, N. Wainwright, A. Child and P.B. Armstrong. 2006. Response of the blood clotting system of the American horseshoe crab,*Limulus polyphemus*, to a novel form of lipopolysaccharide from a green alga. Comparative Biochemistry and Physiology Part A 144:423–428

Nayak,S.K., P. Swain and S.C. Mukherjee. 2007. Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of Indian major carp, *Labeo rohita*(Ham.). Fish and Shellfish Immunology xx:1-5.

Rattanachaikunsopon,P. and P. Parichat. 2007. Bacteriostatic effect of flavonoids isolated from leaves of *Psidium guajava* on fish pathogens. Fitoterapia 78:434-436

Miller,M.A. and L.C. Leavell. 1972. Anatomy and Physiology [online] (December, 2007) http://www.rbru.ac.th/courseware/science/4031102/lesson5/lesson5.6.html

http://www.geocities.com/metscience/sea/forest/images/calcarifer.jpg(December, 2007)

http://www.shrimpcenter.com/fishpage0011.html (December, 2007)

http://www.whitemedia.org/wma/content/view/902/26/ (December, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

ตารางผนวกที่ 1 น้ำหนักเฉลี่ยของปลากะพงขาว เริ่มต้นถึงสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)

กลุ่ม	เริ่มต้น	2 สัปดาห์	4 สัปดาห์	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์	10 สัปดาห์
ควบคุม	4.3	5.2	5.6	8.4	19	49.3
ควบคุม	4.3	5	6.6	10.2	16.4	49.9
ควบคุม	4.3	6	9	12.4	17.8	52.9
20%	4.3	5.8	6	8.4	14	47.5
20%	4.3	4.8	9.6	14.4	16	52.6
20%	4.3	5.2	6	11.2	18.4	49.2
40%	4.3	4.6	5.8	6.2	14.4	44.8
40%	4.3	4.4	7.6	10.4	17.4	48.3
40%	4.3	5	7.2	9.2	18.8	50.4
60%	4.3	4.6	12.2	14.8	22.8	53.3
60%	4.3	4.6	5.6	9	17.6	46.2
60%	4.3	4.8	6.6	12.2	21.4	52.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 ความยาวเฉลี่ยของปลากะพงขาว เริ่มต้นถึงสิ้นสุดการทดลอง (เซนติเมตร)

กลุ่ม	เริ่มต้น	2 สัปดาห์	4 สัปดาห์	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์	10 สัปดาห์
ควบคุม	4.7	4.9	6.8	9.2	10.9	12.3
ควบคุม	4.6	4.9	7.3	10.1	11.1	13.1
ควบคุม	5.1	5.8	8.5	9.8	11.1	14.1
20%	5	5.8	6.2	8.2	10.6	12.4
20%	4.9	5.4	9.2	10.2	11.6	13.7
20%	5.5	6.3	7.8	9.6	12.3	13.6
40%	5.4	6	6.5	7.9	10.5	12.4
40%	5.3	5.6	7.2	9.6	11.2	13.5
40%	4.9	5.2	6.8	9.1	11.7	13.8
60%	5.2	5.7	9.3	10.2	11.8	14.2
60%	4.9	5.1	6	8.8	11.6	12.7
60%	5.2	5.5	6.9	9.8	12.1	14.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว (เปอร์เซ็นต์) ของปลากะพงขาว

กลุ่ม	เม็ดเลือดขาว (เปอร์เซ็นต์)	
	5 สัปดาห์	10 สัปดาห์
ควบคุม	1	2
ควบคุม	2	2
ควบคุม	1	1
20%	3	5
20%	2	3
20%	1	3
40%	5	7
40%	3	7
40%	3	8
60%	6	12
60%	5	9
60%	6	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 4 จำนวนเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต (เปอร์เซ็นต์) ของปลากะพงขาว

กลุ่ม	เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต (เปอร์เซ็นต์)	
	5 สัปดาห์	10 สัปดาห์
ควบคุม	24.63	25.45
ควบคุม	25.71	25.49
ควบคุม	30.43	21.05
20%	23.94	13.63
20%	22.85	20.63
20%	25	25.26
40%	23.18	17.77
40%	26.22	26.82
40%	17.72	14.28
60%	18.86	16.38
60%	15.53	13.07
60%	17.74	14.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 5 อัตราการรอดชีวิตของปลากะพงขาวหลังจากได้รับเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ที่เวลาต่างกัน

กลุ่ม	อัตราการรอด(เปอร์เซ็นต์) ที่เวลา (ชั่วโมง)			
	24	48	72	96
ควบคุม	0	0	0	0
ควบคุม	0	0	0	0
ควบคุม	0	0	0	0
20%/	10	0	0	0
20%/	0	0	0	0
20%/	0	0	0	0
40%/	50	30	20	20
40%/	30	20	20	20
40%/	50	20	10	10
60%/	60	40	40	40
60%/	30	20	20	20
60%/	50	30	30	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 6 ค่าสีที่วัดได้เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 10 สัปดาห์

กลุ่ม	ค่าสีที่ได้		
	L	a+	b+
ควบคุม	38.97	2.22	7.37
ควบคุม	43.85	2.08	7.82
ควบคุม	42.15	2.76	7.57
20%	65.58	2.75	8.33
20%	64.8	2.78	7.4
20%	72.45	2.36	7.82
40%	78.53	3.46	7.9
40%	76.76	2.88	7.62
40%	78.93	3.13	7.78
60%	83.02	3.2	8.53
60%	83.56	3.08	8.22
60%	83.2	3.9	8.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (FCR) และอัตรารอดก่อนการทดลองการต่อต้านเชื้อ

กลุ่ม	น้ำหนักเพิ่มขึ้น	FCR	อัตรารอด
ควบคุม	45	1.02	86.67
ควบคุม	45.6	1.005	86.67
ควบคุม	48.6	1.008	93.33
20%/	43.2	1.117	73.33
20%/	48.3	1.032	90
20%/	44.9	1.001	93.33
40%/	40.5	1.004	80
40%/	44	1.042	90
40%/	46.1	1.026	86.67
60%/	49	1.101	100
60%/	41.9	1.002	90
60%/	47.8	1.022	93.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.
การคำนวณปริมาณเบตาไซยานินในสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร

สูตรในการคำนวณปริมาณเบตาไซยานิน

$$A = abc$$

เมื่อ A = **ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง ที่ความยาวคลื่น** 538 **นาโนเมตร**

a = ค่า Extriction coefficient **ของเบตาไซยานินที่** 538 **นาโนเมตร เท่ากับ** 1120

b = **ความกว้างเซลล์ (คิวเวต)** 1 **เซนติเมตร**

c = **ปริมาณเบตาไซยานินในสารสกัดตัวอย่าง (กรัม)**

ตัวอย่าง

สารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรที่ระดับการเจือจาง 10 เท่า มีค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.298

แทนค่าสูตร $0.298 = 1120 \times 1 \times c$

$c = 2.66 \times 10^{-4}$ กรัม

สารสกัดมีระดับการเจือจาง 10 **เท่า มีปริมาณเบตาไซยานิน** $= 2.66 \times 10^{-4}$ กรัม

สารสกัดระดับความเข้มข้นปกติ มีปริมาณเบตาไซยานิน $= 2.66 \times 10^{-3}$ กรัม

(ระดับความเข้มข้นปกติของสารสกัดได้จากเปลือกผลแก้วมังกร 100 **กรัมต่อตัวทำละลาย** 500 **มิลลิลิตร)**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้