สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลานิลแดงด้วยอาหารเสริมสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร

Increasing immune response in *Oreochromis niloticus* by extraction from dragon fruit skin

T104612

โดย

นางสาว สุภัทรา กาญจนรังสิมา

วพ.
สส836ก
2550

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 104612
วันเดือนปี - 5 พ.ย. 2552

b 12160118
i.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลานิลแดงด้วยอาหารเสริมสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร
Increasing immune response in *Oreochromis niloticus* by extraction from dragon fruit skin

ชื่อนักศึกษา นางสาว สุภัทรา กาญจนรังสิมา **รหัสประจำตัว** 47041084

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. ดร.อัจฉรี เรืองเดช

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัจฉรี เรืองเดช)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวิณา ทวีกิจการ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ ..1.... **เดือน** พฤษภาคม **พ.ศ.** 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลานิลแดงด้วยอาหารเสริมสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร

Increasing immune response in *Oreochromis niloticus* by extraction from dragon fruit skin

การศึกษาสารสกัดเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรเพื่อใช้ในการเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับปลานิลแดง ดำเนินการทดลอง โดยเลี้ยงปลานิลแดงด้วยอาหารเสริมสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรในระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ กลุ่มควบคุม (ไม่เสริมเบตาเลนในอาหาร), กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบตาเลน 20 เปอร์เซ็นต์, กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบตาเลน 40 เปอร์เซ็นต์,กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบตาเลน 60 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบตาเลน60 เปอร์เซ็นต์มีผลทำให้ปลานิลแดงมีเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวเพิ่มมากที่สุด ซึ่งมีค่า 13.66±0.66 แสดงให้เห็นว่าปลานิลแดงที่ได้รับอาหารเสริมเบตาเลน 60 เปอร์เซ็นต์ทำให้ปลานิลแดงมีภูมิคุ้มกันเพิ่มมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น และจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* พบว่าปลานิลแดงที่ได้รับอาหารเสริมเบตาเลน 60 เปอร์เซ็นต์มีอัตราการรอดตายสูงที่สุดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 96 ชั่วโมงหลังจากการฉีดเชื้อ ส่วนการเจริญเติบโตของปลานิลแดงในแต่ละชุดการทดลองมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง จากการศึกษานี้สามารถกล่าวได้ว่าสารสกัดเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรสามารถเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในปลานิลแดงได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ต้องขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงที่ให้ความรู้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผศ. ดร.อัจฉรี เรืองเดช และ ผศ. ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ ที่คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำตลอดจนช่วยแก้ไขปัญหาต่างๆ ขอขอบคุณพี่ปริญญาโท ที่ให้ความช่วยเหลือ และให้คำแนะนำในการแก้ปัญหามาโดยตลอด และขอบใจเพื่อนโน้ต เพื่อนเบนซ์ เพื่อนแก่ พี่แอน และเพื่อนๆที่ให้ทั้งกำลังใจและกำลังกายมาตลอด

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบคุณพ่อแม่ที่ให้ทั้งกำลังใจและกำลังทรัพย์มาโดยตลอด และอีกหลายสิ่งหลายอย่างจนทำให้ดิฉันมีวันนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	10
ผลการทดลองและวิจารณ์	15
สรุปและข้อเสนอแนะ	18
เอกสารอ้างอิง	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	รงควัตถุในพืช	5
2	ปฏิกิริยาแอนตี้ออกซิแดนซ์ของเบตาเลน	6
3	จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวของปลานิลแดง	15
4	การเจริญเติบโตของปลานิลแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	17

ตารางผนวกที่

1	ค่า O.D.ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และจำนวนโคโลนีเฉลี่ยที่ความเข้มข้นต่างๆกัน	20
2	น้ำหนักการเจริญเติบโตของปลานิลแดง	21
3	ความยาวของปลานิลแดง	21
4	เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว 4 สัปดาห์	22
5	เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว 8 สัปดาห์	22
6	ค่าวัดสีของปลานิลแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะทั่วไปของปลานิลแดง	2
2	ลักษณะทั่วไปของผลแก้วมังกร	3
3	ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาว	8
4	ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลานิลแดง	16
5	ความสามารถในการต่อต้านเชื้อ Aeromonas hydrophilla	17

ภาพผนวกที่

1	กราฟมาตรฐานระหว่างค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรและจำนวนโคโลนีเฉลี่ยของเชื้อ *Aeromonas hydrophila*	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

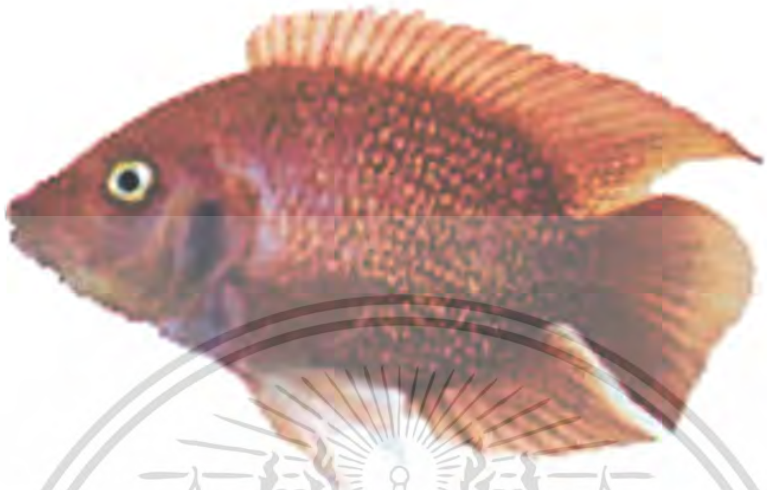
ปลานิลแดง (OreoChromis niloticus) เป็นปลาที่นิยมเลี้ยงเพื่อบริโภคและปัจจุบันปลานิลแดงยังเป็นปลาเศรษฐกิจของประเทศ เนื่องจากเป็นปลาที่มีเนื้อคุณภาพดี เลี้ยงง่ายและเติบโตได้เร็ว ต่อมามีการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ปลาเพื่อให้สอดคล้องกับความต้องการของตลาดระดับบนที่มีกำลังซื้อและได้ปลาที่มีเนื้อคุณภาพดีราคาที่ขายก็สูงขึ้นสามารถสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรได้เป็นอย่างดี การเลี้ยงปลานิลแดงถึงแม้จะมีการเลี้ยงได้ง่าย แต่ยังมีปัญหาที่ส่งผลให้ในการเลี้ยง เช่น ปลาเกิดโรค การให้อาหาร การอนุบาลปลาเป็นต้น ประกอบกับในปัจจุบันมีการเลี้ยงปลานิลแดงมากขึ้นและมีการเลี้ยงแบบหนาแน่นโอกาสที่ปลาจะเครียดและอ่อนแอทำให้ปลาเกิดโรคเป็นไปได้สูง

ปลาที่เกิดโรคอาจมีการใช้สารเคมีเข้ามารักษาโรคของปลา แต่ในปัจจุบันนิยมใช้สิ่งที่ได้จากธรรมชาติมากกว่าที่จะใช้สารเคมี สารที่ได้จากธรรมชาติมีมากมายที่จะใช้เสริมความแข็งแรงให้กับปลา เช่น วิตามินซี วิตามินอี และสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติ เช่น เบตาเลน (Betalain) สารสกัดที่ได้จากเปลือกแก้วมังกร แก้วมังกรเป็นผลไม้ที่มีเปลือกสีแดงเมื่อทานผลของแก้วมังกรแล้วช่วยให้สดชื่นผ่อนคลาย คุณค่าทางอาหารที่มีอยู่ในแก้วมังกรก็มีทั้งแคลเซียม ฟอสฟอรัส ธาตุเหล็ก วิตามินบี1 วิตามินบี2 วิตามินบี3 แต่ที่พบมากสุดคือวิตามินซี ซึ่งในวิตามินซีมีสารต้านอนุมูลอิสระและสามารถช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันได้ และสามารถป้องกันและรักษาการอักเสบอันเนื่องมาจากแบคทีเรียและไวรัสได้ ประโยชน์ของวิตามินซีช่วยในการดูดซึมธาตุเหล็กดีขึ้นและสร้างเม็ดเลือดทางอ้อมทั้งยังช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงเซลล์ ปลาที่มีระบบภูมิคุ้มกันที่ดีก็จะทำให้ปลาไม่เป็นโรคได้ง่าย ทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดี จึงทำให้ปลาแข็งแรง และมีการเจริญเติบโตที่ดี แต่การที่เลี้ยงปลาแบบหนาแน่นจึงควรมีการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันให้กับปลา เบตาเลนสารสกัดที่ได้จากเปลือกแก้วมังกรสามารถที่จะช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันให้กับปลาได้และในทางอ้อมเบตาเลนสามารถที่จะช่วยเพิ่มสีให้กับปลานิลแดงได้เพราะในทางเคมีเบตาเลนแบ่งออกเป็นสองกลุ่มย่อย คือ กลุ่มของ betaxanthins ซึ่งมีสีเหลือง และกลุ่มของ betacyanins ซึ่งเป็นสีม่วง และแดงเป็นรงควัตถุที่จะช่วยให้ตัวปลามีสีที่สดขึ้นได้ สำหรับในปลานิลแดงยังไม่มีข้อมูลการใช้เบตาเลนในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้กับปลา ด้วยเหตุนี้จึงนำเบตาเลนมาผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปเพื่อใช้ในการเลี้ยงปลานิลแดงและคาดว่าจะทำให้การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลแดงและความต้านทานโรคของปลาเพิ่มมากขึ้นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

อนุกรมวิธานของปลานิลแดง



ภาพที่ 1 ลักษณะทั่วไปของปลานิลแดง

ที่มา : http://www.aquanic.org/images/photos/3hybrids.jpg

ปลานิลแดง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oreochromis niloticus* มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอาฟริกา ปลานิลแดงมีรูปร่างและลักษณะคล้ายกับปลาหมอเทศมากที่สุดหัวจะมีลักษณะเล็กลาดเรียบ บริเวณริมฝีปากล่างกับริมฝีปากบนจะเสมอกันลำตัวป้อมมีลายประจุดสีขาวปลานิลแดงชอบอาศัยอยู่รวมกันเป็นฝูงเป็นปลาน้ำจืด แต่สามารถนำปลานิลแดงไปเลี้ยงยังน้ำกร่อยได้เนื่องจากปลานิลแดงมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมได้ดี ปลานิลแดงเป็นปลาที่เลี้ยงง่ายและกินอาหารง่ายส่วนมากจะนิยมให้อาหารสำเร็จรูปแต่เน้นปริมาณโปรตีนในอาหารผสมเพื่อช่วยให้ปลาโตเร็วขึ้น สำหรับการแพร่พันธุ์ของปลานิลแดงตามปกติแล้วลักษณะภายนอกของปลานิลแดงเพศผู้และเพศเมียจะมีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก แต่เมื่อปลามีอายุประมาณ 3 เดือนจะมีขนาดโตพอที่จะสังเกตลักษณะเพศภายนอกได้อย่างชัดเจน ซึ่งลักษณะเพศผู้ จะมีลำตัวเรียวยาวส่วนหัวจะใหญ่ยื่นยาวกว่าเพศเมียสีค่อนข้างเข้มอวัยวะเพศจะมีรูปร่างลักษณะเป็นติ่งยื่นยาวออกมา มีช่องเปิดเพียงช่องเดียวอยู่ตรงปลาติ่งทำหน้าที่ขับถ่ายปัสสาวะและน้ำเชื้อ ลักษณะเพศเมีย จะมีลำตัวค่อนข้างป้อมและมีสีซีดกว่าตัวผู้ลักษณะของติ่งเพศจะสั้นแต่ใหญ่กว่าของ เพศผู้ ปลานิลแดงเป็นปลาที่สามารถผสมพันธุ์และวางไข่ได้ตลอดปี แต่จะชอบวางไข่ในฤดูร้อนและฤดูฝนตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนพฤศจิกายน ในขณะที่ยังไม่เติบโตได้ขนาดผสมพันธุ์หรือสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมที่จะวางไข่ ปลาจะอยู่รวมกันเป็นฝูง แต่เมื่อโตได้ขนาดที่จะสืบพันธุ์ได้แล้ว ปลาตัวผู้จะแยกออกจากฝูงและเริ่มสร้างรัง โดยเลือกบริเวณชานบ่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตื้นๆ วิธีการสร้างรังปลาจะปักหัวลงโดยตัวมันจะตั้งฉากกับพื้นดิน ใช้ปากพร้อมกับเคลื่อนไหวของลำตัวเขี่ยดินตะกอนออกทำเช่นนี้จนกว่าจะได้รังที่มีลักษณะเป็นหลุมที่มีขนาดตามต้องการ หลังจากสร้างรังเสร็จมันจะพยายามขับไล่ปลาตัวอื่นๆ ให้ออกไปนอกรัง และจะว่ายวนเวียนอยู่รอบๆรัง ในขณะที่ตัวเมียว่ายเข้ามาใกล้ อาการเช่นนี้เป็นการเชิญชวนให้ตัวเมียเข้ามาในรัง เมื่อต่างได้คู่ที่ถูกใจแล้วก็จะแสดงอาการจับคู่โดยการว่ายเคล้าเคลียคู่กันไป หลังจากนั้นปลาก็จะผสมพันธุ์กัน โดยตัวผู้จะใช้บริเวณหน้าผากดุนที่ใต้ท้องของตัวเมีย เพื่อเป็นการกระตุ้นให้ตัวเมียวางไข่ เมื่อตัวเมียวางไข่ตัวผู้จะว่ายเหนือไข่พร้อมกับปล่อยน้ำเชื้อแล้วตัวเมียจะเก็บไข่ที่ได้รับการผสมน้ำเชื้อแล้วอมเข้าไปในปากทันทีแล้วว่ายออกจากรังไปยังบริเวณก้นบ่อประมาณ 4-5 วันไข่ก็จะฟักออกเป็นตัว ส่วนตัวผู้จะคอยเคล้าเคลียตัวอื่นต่อไป (เพิ่มพูน ศักดิ์เกษม, 2531)

อนุกรมวิธานของแก้วมังกร

ภาพที่ 2 ลักษณะทั่วไปของผลแก้วมังกร

ที่มา : http//www.ndoae.doae.go.th/news/images_news/news_038_1.jpg

แก้วมังกร (Dragon Fruit) เป็นพืชตระกูลเดียวกับตะบองเพชร มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกากลาง และมีปลูกแพร่หลายในเวียดนาม ต้นแก้วมังกรอยู่ในตระกูล *Hylocereus* spp. ชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Hylocercus undatus* (Haw) Brit. & Rose. เพิ่งเข้ามาในไทยเมื่อประมาณ 5 ปี แต่เป็นพันธุ์เนื้อในขาวส่วนพันธุ์เนื้อในแดงที่ชื่อแดงสยามเป็นพันธุ์มาจากไต้หวัน เมื่อประมาณ 1-2 ปีนี้เองมีลำต้นยาวประมาณ 5 เมตร มีรากทั้งในดินและรากอากาศ ชอบดินร่วนระบายน้ำดี ชอบแสงแดดพอเหมาะ โล่งแจ้ง แต่ไม่แรงกล้าเกินไป ดอกขนาดใหญ่ยาวประมาณเกือบหนึ่งฟุต เริ่มบานตอนพระอาทิตย์ตกเพียงคืนเดียวดอกหุบตอนพระอาทิตย์ขึ้นมีกลิ่นหอมอ่อนๆ แก้วมังกร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นไม้เลื้อย มีอายุยาวนานหลายปี ลำต้นมีลักษณะเป็น 3 แฉกมีสีเขียว อวบน้ำ ซึ่งแท้จริงแล้วส่วนนั้นคือใบที่เปลี่ยนรูปไป ส่วนลำต้นที่แท้จริงอยู่ในตำแหน่งที่เป็นศูนย์กลางของแฉกทั้ง 3 บริเวณตาข้างจะมีหนาม 1-5 หนาม ดอกจะเกิดบริเวณปลายกิ่งในช่วงเดือนเมษายน เมื่อบานมีลักษณะคล้ายปากแตร จะบานในช่วงหัวค่ำจนถึงเช้า เมื่อติดผลแล้ว ผลอาจมีสีชมพูหรือเหลือง เนื้อผลภายในมีทั้งสีขาวและแดงขึ้นอยู่กับพันธุ์และมีเมล็ดสีดำอยู่ในเนื้อผล

การใช้ประโยชน์จากผลแก้วมังกร

แก้วมังกร ผลไม้บริสุทธิ์ปลอดภัยจากสารพิษ มีกากใยสูง แคลอรี่ต่ำ อุดมไปด้วยวิตามินซี คลอโรฟิลล์ เมล็ดของแก้วมังกรอุดมไปด้วยไขมันไม่อิ่มตัวสามารถต่อต้านปฏิกริยาอ๊อกซิเดชั่น (www. http://ndoae.doae.go.th, 19/12/50) การรับประทานจึงนิยมบริโภคในรูปแบบของแก้วมังกรสด อีกทั้งยังมีการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่างๆ สีของแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงมีลักษณะเหมือนสีของหัวบีท โดยเปลือกแก้วมังกรที่มีสีบานเย็นเป็นแหล่งของรงควัตถุสีแดงธรรมชาติที่มีปริมาณสูง ซึ่งสารสกัดออกมาใช้เป็นสารสีให้เป็นธรรมชาติในการเร่งสีปลาและสามารถสร้างภูมิคุ้มกันให้กับปลา โดยรงควัตุสีแดงในเปลือกแก้วมังกรที่สำคัญคือ เบตาไซยานิน ซึ่งเป็นสารประกอบของเบตาเลน (Betalain)

รงควัตถุที่พบในพืช

รงควัตถุในพืชอาจแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ๆ ตามคุณสมบัติทางเคมี : chorophylls, carotenoid, flavonoids และ betalain (ตารางที่ 1)

1. คลอโรฟิลล์ (Chlorophylls) เป็นกลุ่มของรงควัตถุที่มีสีเขียว มีหน้าที่จับพลังงานแสง (primary light-accepting pigment) เพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง คลอโรฟิลล์ แบ่งออกเป็น 4 ชนิด คือ

1.1 คลอโรฟิลล์ เอ มีสีเขียวแกมน้ำเงิน พบในพืชชั้นสูงทุกชนิดที่สังเคราะห์แสงได้

1.2 คลอโรฟิลล์ บี มีสีเขียวแกมเหลือง พบในพืชชั้นสูงทุกชนิดและสาหร่ายสีเขียว (geen algae)

1.3 คลอโรฟิลล์ ซี พบในสาหร่ายสีน้ำตาล (brown algae) และสาหร่ายสีทอง (golend algae) แต่ไม่พบในพืชชั้นสูง

1.4 คลอโรฟิลล์ ดี พบในสาหร่ายสีแดง (red algae) แต่พบในพืชไม่ชั้นสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 รงควัตถุในพืช

	สี	ตำแหน่งที่พบภายในเซลล์	ความสามารถในการละลายน้ำ
Chlorophylls	Blue-green, yellow-green	Chloroplasts	ไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายใน acetone, ether, alcohols
Carotenoids	Yellow, orange-red	Chloroplasts, chromplasts	ไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายใน acetone, ether, alcohols
Flavonoid	Yellow, orange, red, blue	Vacuole	ละลายในน้ำ
Betalain	Yellow, orange, red, violet	Vacuole, cytosol	ละลายในน้ำ

ที่มา : (Kays, 1991)

2. แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) เป็นรงควัตถุกลุ่มใหญ่พบอยู่ร่วมกับ คลอโรฟิลล์ ในคลอโรพลาสต์ และโครโมพลาสต์ ให้สีแดง ส้มและเหลือง เป็นรงควัตถุใบไม้ที่เปลี่ยนสีในฤดูใบไม้ร่วง แคโรทีนอยด์ แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ

2.1 กลุ่มแคโรทีน (carotenes) จะมีมากในฟักทอง มันเทศ และแครอท ซึ่งให้สารสีเหลืองหรือสีส้มแดงสารกลุ่มนี้จะละลายได้ดีในตัวทำละลายไขมัน

2.2 กลุ่มของแซนโทฟิล (xanthophylls) เป็นอนุพันธ์ที่มีการเติมออกซิเจนแซนโทฟิลมีคุณสมบัติในการไม่ชอบน้ำน้อยกว่าแคโรทีน

3. ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารประกอบที่ละลายน้ำให้สีเลือง ส้ม แดง และน้ำเงิน ความแตกต่างของสีต่างๆเนื่องมาจากโครงสร้างที่แตกต่างกันและความเข้มข้นของรงควัตถุภายในเซลล์

4. เบตาเลน (Betalain) พบในดอกไม้ ผลไม้และในบางกรณีในส่วนอื่นๆของพืช ให้สีเหลือง ส้ม แดง และม่วง ตัวอย่างเช่น สีม่วงแดงจาก beet root ซึ่งเป็นเบตาเลนตัวแรกที่สกัดได้ในรูปของผลึกและจึงเป็นที่มาของชื่ออนุพันธ์ของเบตาเลนในทางเคมีเบตาเลนแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2 กลุ่ม คือ กลุ่ม betacyanins ซึ่งเป็นสีม่วงแดง มีทั้ง betanidin และ betanin และกลุ่ม betaxanthins ซึ่งมีสีเหลือง คือ vulgaxanthin I และ II (ผศ.ดร. สุจิตรา รตนะมโน ม.ป.ป.)

เบตาเลน คือ กลุ่มของสารประกอบที่มีอยู่ในรงควัตถุของพืช ซึ่งเป็นสารที่เป็นส่วนประกอบสำคัญในการทำให้พืชมีสีที่แตกต่างกัน โดยรงควัตถุชนิดนี้สามารถนำไปใช้เป็นสีผสมอาหารแทนการใช้สีสังเคราะห์ได้ เนื่องจากไม่เป็นอันตราย (Cai et.al., 1998) แต่เบตาเลนจะสลายตัวได้ง่ายเมื่อสัมผัสกับอากาศ หรือถูกแสงซึ่งมักทำให้เกิดสีน้ำตาลขึ้น และในการทดลองนี้ได้นำเปลือกของแก้วมังกรมาสกัดเบตาเลน เพราะนอกจากเบตาเลนจะเป็นรงควัตถุที่สามารถช่วยเร่งสีของปลาได้นั้นยังสามารถนำไปทดสอบหาภูมิคุ้มกันให้กับปลา พบว่า เปลือกแก้วมังกรมีองค์ประกอบของเบตาเลนอยู่ด้วยและยังมีสารแอนตี้ออกซิแดนซ์ (ตารางที่ 2)สามารถที่จะเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับปลาได้จึงมีการทดลองนำสารสกัดจากเบตาเลนมาใช้ทดสอบภูมิคุ้มกันในปลานิลแดง

ตารางที่ 2 ปฏิกิริยาแอนตี้ออกซิแดนซ์ของเบตาเลน

Table 4. Antioxidant activity of betalains separated from plants in the Amaranthaceae by preparative HPLC

Compounds	Botanical source	EC_{50} (μM)[a]	Inhibition (%)[b]
Betacyanins			
Amaranthin-type betacyanins			
Amaranthin	*Amaranthus tricolor*	8.37	31.1
Isoamaranthin	*Amaranthus tricolor*	8.35	31.1
Iresinins	*Iresine herbstii*	8.08	32.4
(acylated amaranthin)			
Celosianins	*Celosia cristata*	7.13	34.6
(acylated amaranthin)	(violet)		
Gomphrenin-type betacyanins			
(Iso)gomphrenin I	*Gomphrena globosa*	3.35	74.5
Acylated gomphrenins (II and III)	*Gomphrena globosa*	4.11	59.9
Betanin-type betacyanins[c]			
Betanin	*Beta vulgaris*	4.88	50.8
Isobetanin	*Beta vulgaris*	4.89	50.8
Betaxanthins			
Dopamine-betaxanthin	*Celosia plumosa*	4.08	60.3
3-Methoxytyramine-betaxanthin	*Celosia plumosa*	4.21	56.9
(S)-Tryptophan-betaxanthin	*Celosia plumosa*		53.6
Standard antioxidants (ck)			
Ascorbic acid		13.93	17.1

Data from Cai et al. (2003).
[a] EC_{50} values were calculated from the slope equations of the dose-response curves (r^2 = 0.967–0.999).
[b] Values were means of inhibition (%) of DPPH• at 5 μM antioxidants ± standard derivation (SD) (n = 3).
[c] Small amount of betanin and isobetanin could be obtained from some *Amaranthus* species, but pure betanin/isobetanin samples used in this study were from red beet powder.

ที่มา : Cai et al. (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีที่สามารถใช้ตรวจภูมิคุ้มกันของปลา

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

Alternative complement pathway (ACP) activity เป็นการกระตุ้นภูมิคุ้มกันร่างกาย โดยไม่จำเป็นต้องกระตุ้น antibody complex ในการทำลายและกำจัดเซลล์แปลกปลอมออกจากร่างกายโดยการทำให้เกิดการแตกสลายของเซลล์แปลกปลอม เกิดการเคลือบเซลล์แปลกปลอมเพื่อทำให้เกิด phagocytosis ได้ง่ายขึ้นโดยเซลล์เม็ดเลือดขาวทำ phagocyte แล้ววิเคราะห์ serum ACP activity (Yano, 1992: อ้างตาม Ai *et al.*, 2004, 2006)

Respiratory burst activity โดยธรรมชาติเซลล์เม็ดโลหิตขาวพวก neutrophil, eosinophil และ monocyte สามารถสร้างอนุมูลออกซิเจนขึ้นมาทำลายเชื้อโรคโดยอาศัยก๊าซออกซิเจน (O_2^4) การใช้ออกซิเจนในรูปแบบนี้เกิดจากขบวนการที่เรียกว่า respiratory burst เซลล์เม็ดโลหิตขาวพวกนี้จะเพิ่มการใช้ออกซิเจนอย่างมากเพื่อนำไปใช้สร้างอนุมูลออกซิเจน อนุมูลออกซิเจนที่เกิดขึ้นนี้พบว่าสามารถฆ่าเชื้อได้เป็นอย่างดี ซึ่งสามารถหาค่าโดยการวิเคราะห์ Nitroblue Tetrazolium Test (NBT) เป็นการตรวจเพื่อวิเคราะห์โดยใช้หลักการที่ว่า เมื่อ phagocyte มีกระบวนการ phagocytosis จะเกิดปฏิกิริยา respiratory burst และมีการสร้าง superoxide ที่จะไป reduce NBT dye ซึ่งเป็นสีชนิดหนึ่ง จากสีเหลืองให้เป็นสีน้ำเงิน ใน 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)

การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว หน้าที่สำคัญของเม็ดเลือดขาว คือ ต่อต้านการติดเชื้อและกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายมี 5 ชนิด คือ neutrophils, lymphocytes, monocytes, eosinophils และ basophils (เรียงลำดับพบมากไปน้อย) มีแหล่งกำเนิดที่ pluripotent stem cell ในไขกระดูกเช่นเดียวกับเม็ดเลือดแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3 ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาว

ที่มา : www.nstlearning.com/.../2007/05/blood_cells2.jpg

เม็ดเลือดขาวทำหน้าที่ phagocytosis ได้อย่างดีที่สุดคือ monocyte ซึ่งมีอยู่ประมาณ 5% ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด เมื่อ monocyte ออกจากกระแสเลือดไปอยู่ที่เนื้อเยื่อจะมีขนาดใหญ่ขึ้น และกลายเป็น macrophage (= big eater) เมื่อมีเชื้อโรคเข้ามา macrophage จะห่อหุ้ม (engulf) เชื้อไว้แล้วปล่อยเอนไซม์จาก lysozyme ออกมาย่อย แต่มีเชื้อบางชนิดเช่น Mycobacterium tuberculosis ทนต่อเอนไซม์ดังกล่าวและสามารถเจริญได้ใน macrophage ส่วนใหญ่ macrophage จะอยู่ในม้ามและต่อมน้ำเหลือง และมีบางส่วนไปอยู่ถาวรตามเนื้อเยื่อต่าง ๆ และมีชื่อเรียกแตกต่างกันออกไปเช่น ในปอดคือ alveolar macrophage ในตับคือ Kuffer's cell ในไตคือ mesoglial cell ในสมองคือ microglial cell และในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันคือ histiocytes เป็นต้น นอกจาก macrophage แล้วยังมี neutrophil (มีประมาณ 60-70% ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด) ทำหน้าที่ phagocytosis ได้เช่นเดียวกัน โดยจะ engulf เชื้อเข้าไว้ภายในเซลล์แล้วตัวเองก็ตายไปพร้อมกับเชื้อ ดังนั้น neutrophil จึงมีอายุสั้นประมาณ 2-3 วันส่วน eosinophil (มีประมาณ 1.5% ของเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมดมีหน้าที่ทำลายปรสิตซึ่งมีขนาดโต เช่น พยาธิ โดยเข้าเกาะที่ตัวพยาธิแล้วปล่อยน้ำย่อยออกมาทำลายเซลล์อีกชนิดหนึ่งในระบบภูมิคุ้มกันที่ทำหน้าที่กำจัดเซลล์ของร่างกายที่ติดเชื้อไวรัสและเซลล์ของร่างกายที่ผิดปกติไป เช่น เซลล์มะเร็ง คือ Natural Killer cells (NK cell) โดยจะจู่โจมที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์เป้าหมายแล้วหลั่งสารพวก cytolytic ทำลายเซลล์เป้าหมายโดยการทำให้เซลล์แตก

การสร้างภูมิคุ้มกันมีอยู่ด้วยกันหลายวิธีและก็เป็นที่ยอมรับกันว่าการทำให้เกิดภูมิคุ้มกันในปลานั้นจะเกิดได้ในระยะเวลาสั้น ฉะนั้นการฉีดหรือการซึมของสารที่กระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันใน

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลาขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุณหภูมิจากการทดลอง แสดงให้เห็นว่าการฉีด antigen หรือการกิน antigen จะพบว่าการกินมีความจำเป็นมากในการคงสภาวะและการจะรักษาสภาพภูมิคุ้มกัน แต่ก็ยังไม่มีรายงานอย่างชัดเจนเท่าใดนัก เทคนิคหรือวิธีการสร้างภูมิคุ้มกันโรคในปลา หลักๆนั้นมีหลักการคือ

1. การฉีด Antigens เข้าสู่ตัวปลา หรือที่เรียกว่า Parenteral Injection ในที่นี้เราจะทำการฉีดเข้าสู่ช่องท้อง กล้ามเนื้อ เส้นเลือดหรือส่วนต่างๆของร่างกาย เพื่อกระตุ้นให้ร่างกายสร้างฮอร์โมนคุ้มกันตัวเอง วิธีการนี้สามารถให้ผลได้รวดเร็ว แต่ข้อเสียอยู่ที่จะใช้ได้ดีกับปลาจำนวนไม่มากนัก ซึ่งอาจจะใช้กับพ่อแม่พันธุ์หรือปลาขนาดใหญ่ เช่น ปลาคาร์พ

2. การกิน Antigens หรือที่เราเรียกว่า Oral Immunization จะเป็นวิธีการที่จะทำให้ปลาจำนวนมากๆเกิดภูมิคุ้มกัน และปลาสามารถที่จะดูดซึมชิ้นส่วนขนาดใหญ่ได้ทางลำไส้

3. สร้างภูมิคุ้มกันด้วยการแช่ มีข้อดีคือ สามารถแช่ปลาจำนวนมากได้ในครั้งเดียวกัน ในทางปฏิบัตินิยมแช่ปลาที่มีขนาดเล็ก

4. การแช่ปลาในน้ำเกลือที่มีแบคทีเรียหรือไวรัส ที่เรียกว่า Vacum Infiltration โดย Antigen ในถังสุญญากาศ ปลาและ Antigen ที่แขวนลอยจะถูกทำให้อยู่ในสภาพลดความกดอากาศ และเพิ่มขึ้นเท่าระดับปกติอย่างรวดเร็ว 3 ครั้ง ขบวนการนี้ใช้เวลาทั้งสิ้น 2-3 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุ

1. ปลานิลแดง
2. เปลือกแก้วมังกร
3. อาหารเม็ดลอยน้ำ

อุปกรณ์

1. ชุดเตรียมอาหารสำหรับการเลี้ยงและอุปกรณ์สำหรับการเลี้ยง

1.1 ถังพลาสติก

1.2 อุปกรณ์ให้อากาศ

1.3 เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง

1.4 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuged)

1.5 เครื่องมือวัดความยาวคลื่นแสง (Spectrophotometer)

1.6 มีด, เขียง

1.7 กระดาษอะลูมิเนียมฟลอยด์

1.8 ผ้าขาวบาง

1.9 คิวเวต

1.10 เทอร์โมมิเตอร์

1.11. ถาดอะลูมิเนียม

1.12. กระบอกตวงขนาด 100 และ 1,000 มิลลิลิตร

1.13 บีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร

1.14 ขวดขนาด 500 มิลลิลิตร

1.15 กระบอกน้ำกลั่น

1.16 น้ำกลั่น

1.17 เอทานอล 80%

2.การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดปลา

2.1 เข็มฉีดยา (Syringe) เบอร์ 25G

2.2 สไลด์

2.3 หลอด hematocrit

2.4 ดินน้ำมันขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ผ้าขนหนู

2.6 cover glass

2.7 ยาสลบ

2.8 โซเดียมซิเตรต 10 เปอร์เซ็นต์

2.9 กล้องจุลทรรศน์

3.การเปรียบเทียบความสามารถในการต่อต้านเชื้อ

3.1 เชื้อ *Aeromonas hydrophila*

3.2 เครื่องแก้วสำหรับเลี้ยงเชื้อ

3.3 เครื่องแก้วปรับปริมาตร

3.4 ไมโครปิเปต

3.5 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.6 ตู้เลี้ยงเชื้อ (Laminar Flow)

3.7 ตู้บ่มเชื้อ (Incubater)

3.8 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

3.9 เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนความเร็วสูง (Centrifuge)

3.10 หม้อนึ่งไอน้ำความดันสูง (Autoclave)

3.11 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

3.12 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

3.13 อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA), Nutrient broth (NB)

วิธีการ

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ completely Randomzied Design (CRD) โดยมีระดับความเข้มข้นของเบต้าเลนที่แตกต่างกัน ได้แก่ ระดับความเข้มข้นที่ 0, 20 เปอร์เซ็นต์, 40 เปอร์เซ็นต์และ 60 เปอร์เซ็นต์

ปลาที่ใช้ในการทดลอง

ปลานิลแดงโดยแบ่งปลาออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดทดลองละ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมอาหาร

1. คัดเลือกผลแก้วมังกรสดที่อยู่ในสภาพดี ผิวเรียบเป็นสีแดง นำมาล้างให้สะอาด ตัดส่วนกลีบเลี้ยงขั้วหัวท้ายและส่วนที่เป็นตำหนิออก

2. ผ่าผลแก้วมังกรตามยาวออกเป็นสี่ส่วนลอกเปลือกออกและขูดส่วนที่มีเนื้อติดอยู่กับเปลือกด้านในออกไป

3. นำเปลือกที่ได้มาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปสกัดด้วยตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำกลั่นและเอทานอล 80%โดยใช้ความเข้มข้นในอัตราส่วน 20%ใช้เปลือกแก้วมังกร 100 กรัมต่อตัวทำละลาย 500 มิลลิลิตร 40% ใช้เปลือกแก้วมังกร 200 ต่อตัวทำละลาย 500 มิลลิลิตร 60% ใช้เปลือกแก้วมังกร 300 กรัม ต่อตัวทำละลาย 500 มิลลิลิตร

4.ใส่เปลือกและตัวทำละลายในเครื่องปั่นอาหารปั่นให้ละเอียด จากนั้นกรองส่วนที่เหลือของเปลือกออกด้วยผ้าขาวบางนำกากไปปั่นซ้ำจนกากไม่มีสี

5.นำสารสกัดที่ได้ไปทำการหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 3600 รอบนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

6. เก็บส่วนบนที่เป็นน้ำไว้เพื่อนำไปวัดหาค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดความยาวคลื่นแสง (Spectrophotometer) จากนั้นเก็บสารสกัดที่เหลือไว้ในภาชนะที่ห่อด้วยอะลูมิเนียมฟลอยด์เพื่อป้องกันไม่ให้ถูกแสง

7. นำอาหารที่เตรียมไว้ใส่ถาดอะลูมิเนียมแล้วนำสารสกัดที่ได้มาคลุกกับอาหารให้ทั่ว หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำใส่ถุงพลาสติกมัดให้แน่นเอากระดาษอะลูมิเนียมฟลอยด์ห่อให้สนิทแล้วเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่ช่องแช่แข็ง

การให้อาหารปลา

การให้อาหารปลาจะให้วันละ 2 เวลา ได้แก่ 9.00น. และ 16.00น. ของทุกวัน โดยแบ่งปลาออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดทดลองละ 3 ซ้ำ ได้แก่

ชุดทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม (ไม่ได้เสริมสารเบต้าเลน)

ชุดทดลองที่ 2 กลุ่มความเข้มข้นสารสกัด 20 %
(ใช้เปลือกแก้วมังกร 100 กรัม ต่อตัวทำละลาย 500 มิลลิลิตร)

ชุดทดลองที่ 3 กลุ่มความเข้มข้นสารสกัด 40%
(ใช้เปลือกแก้วมังกร 200 กรัม ต่อตัวทำละลาย 500 มิลลิลิตร)

ชุดทดลองที่ 4 กลุ่มความเข้มข้นสารสกัด 60%
(ใช้เปลือกแก้วมังกร 300 กรัม ต่อตัวทำละลาย 500 มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจสอบภูมิคุ้มกัน

1. การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือด เก็บตัวอย่างเลือดโดยใช้สารละลายโซเดียมซิเตรท10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นสารป้องกันเลือดแข็งตัว (anticoagulant) ที่บรรจุในกระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร และใช้เข็มเบอร์ 25 G นำไปเจาะเลือดปลาที่ตำแหน่งโคนหาง นำเลือดใส่หลอด hematocrit และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและนำไปคำนวณปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น แล้วนำเลือดที่เจาะได้มาสเมียร์เพื่อนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว

2. การเปรียบเทียบความสามารถในการต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* โดยมีขั้นตอนดังนี้

2.1เพิ่มจำนวนเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ใน Nutrient broth (NB) ที่มีโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ผสมอยู่ 0.85 เปอร์เซ็นต์ โดยบ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อ ที่ 32 องศาเซลเซียส ประมาณ 18 ชั่วโมง

2.2ทำกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและจำนวนเซลล์ของเชื้อในปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยนำเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ที่อยู่ใน NB ไปปั่นเหวี่ยงที่ 3500รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเทอาหารทิ้ง แล้วล้างเชื้อด้วย 0.85 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำความดันสูง (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง จากนั้นเติม 2 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ ปริมาตรเท่ากับปริมาตรของ NB แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร จากนั้นทำการเจือจางเชื้อด้วย 0.85 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความเจือจาง แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความเจือจางของเชื้อไปหาจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการหยดเชื้อ 10 จุด ใช้ปริมาตรจุดละ 10 ไมโครลิตร บน Nutrient agar (NA) ที่มีโซเดียมคลอไรด์ผสมอยู่ 0.85 เปอร์เซ็นต์ แล้วบ่มเชื้อประมาณ 16-18 ชั่วโมง หลังจากนั้นนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ ทำการคำนวณหาจำนวนเซลล์ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำค่าที่ได้มาทำกราฟมาตรฐาน และหาสมการเส้นตรง

2.3 ทำการเปรียบเทียบความสามารถในการต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* โดยการใช้เชื้อที่มีอายุ 18 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อออกฤทธิ์รุนแรงมากที่สุด ทำการล้างเซลล์ของเชื้อตามวิธีการข้อ หลังจากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรแล้วหาจำนวนเซลล์โดยคำนวณจากสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานและทำการทดสอบดังนี้

2.4 นำถังพลาสติกขนาด 50 ลิตรใส่น้ำ 30 ลิตร นำปลาที่ทดลองเป็นเวลา 2 เดือน แยกใส่ถังโดยแบ่งเป็นชุด ชุดละ 10 ตัว ให้อากาศตลอดเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 นำเชื้อ *Aeromonas hydrophila* 0.1 มิลลิลิตร มาฉีดบริเวณกล้ามเนื้อท้องของปลาที่ความเข้มข้น 1×10^{9} cfu จากนั้นสังเกตพฤติกรรม และบันทึกอัตราการรอดชีวิต ที่เวลา 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมงหลังฉีดเชื้อ

การบันทึกข้อมูล

ทำการชั่งน้ำหนักปลา, วัดความยาวปลาทุกๆ 2 อาทิตย์ตลอดการเลี้ยง 8 สัปดาห์ เพื่อนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตรารอด อัตราแลกเนื้อ (FCR) และทำการเจาะเลือดเพื่อเก็บตัวอย่างเม็ดเลือดที่ 5 สัปดาห์ และ 10 สัปดาห์เพื่อนับเซลล์มีดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวที่พบในแต่ละกลุ่ม และหลังจากนั้นทำการทดสอบโดยการสุ่มตัวอย่างปลา 10 ตัวของแต่ละกลุ่มมาทดสอบภูมิคุ้มกันโดยการฉีดเชื้อแอโรโมแนส ไฮโดรฟิลล่า (*Aeromonas hydrophilla*) ในปลากลุ่มที่สุ่มมาโดยดูอัตราการตายเป็นระยะเวลา 4 วัน

สมการสำหรับการวิเคราะห์

$$\text{เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น} = \frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย-น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}} \times 100$$

$$\text{อัตราแลกเนื้อ(FCR)} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

$$\text{อัตรารอด} = \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือ} \times 100}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}}$$

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลอัตราการแลกเนื้อ อัตรารอด เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และค่าการเปลี่ยนแปลงสีที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าสถิติด้วยโปรแกรม SPSS 11.0 for Window และ Microsoft Excel 2007

สถานที่ทำการทดลอง

ห้อง D116 ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

ระยะเวลาในการทดลอง

เดือนพฤศจิกายน 2550 ถึงมีนาคม 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

จากการตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงของปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus*) ที่เวลา 4 สัปดาห์พบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาวในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมเบตาเลน 60 เปอร์เซ็นต์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) คือมีจำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นซึ่งมีค่า 10.33±0.66 เปอร์เซ็นต์สูงกว่ากลุ่มควบคุม(ไม่ผสมเบตาเลนในอาหาร)และกลุ่มที่ให้เบตาเลนที่ระดับ 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ คือมีจำนวนเม็ดเลือดขาว 1.66±0.32, 2.66±0.32 และ 6.33±0.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่3) และเมื่อทำการเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มการทดลองที่ได้รับอาหารผสมเบตาเลน 60 เปอร์เซ็นต์มีจำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นเป็น 13.66±0.66 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองกลุ่มอื่น กลุ่มควบคุม(ไม่ผสมเบตาเลนในอาหาร)และกลุ่มที่ให้เบตาเลนที่ระดับ 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ คือมีจำนวนเม็ดเลือดขาว 2.33±0.32, 4.66±0.32 และ 9.66±0.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่3)

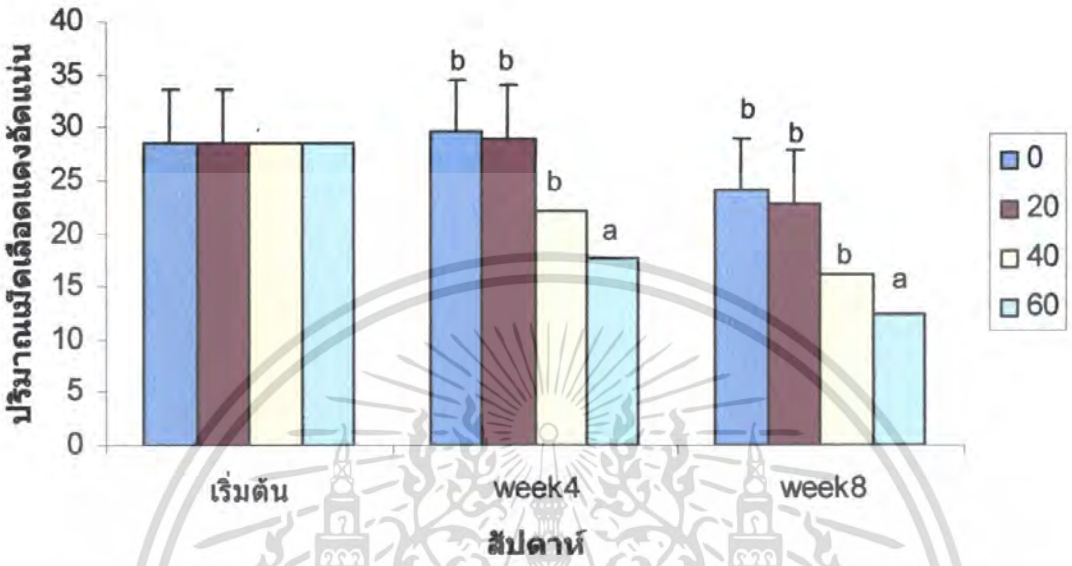
ตารางที่ 3 จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวของปลานิลแดง *Oreochromis niloticus* เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และ 8 สัปดาห์

อาหารผสมเบตาเลน (%)	4สัปดาห์		8สัปดาห์	
	จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดง	จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว	จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดง	จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว
0	98.33±0.32^{c}	1.66±0.32^{a}	97.66±0.32^{d}	2.33±0.32^{a}
20	97.33±0.32^{c}	2.66±0.32^{a}	95.33±0.32^{c}	4.66±0.32^{b}
40	93.66±0.66^{b}	6.33±0.66^{b}	90.33±0.66^{b}	9.66±0.66^{c}
60	89.66±0.66^{a}	10.33±0.66^{c}	86.33±0.66^{a}	13.66±0.66^{d}

และจากการหาค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลานิลแดงในแต่ละกลุ่มการทดลอง พบว่า กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมเบตาเลนที่ระดับ 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ($P<0.05$) แต่กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมเบตาเลน 60 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 4 สัปดาห์มีปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นลดลงและที่ 8 สัปดาห์กลุ่มการทดลองที่ได้รับa

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารผสมเบตาเลน 60 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นลดลงมากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองกลุ่มอื่น (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลานิลแดงเป็นเวลา 4 สัปดาห์และ 8 สัปดาห์

การเจริญเติบโตของปลานิลแดง *Oreochromis niloticus* ในทุกกลุ่มการทดลองพบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4)โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยหลังสิ้นสุดการทดลองดังนี้ กลุ่มควบคุม 36.42±5.09 กรัม กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมเบตาเลน 20, 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ 38.11±3.93, 34.48±3.41, 37.55±1.27 ตามลำดับ อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักในทุกกลุ่มการทดลองพบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4) โดยมีอัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักดังนี้ กลุ่มควบคุม 2.97±0.23 กรัม กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมเบตาเลน 20, 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ 3.42±0.28, 4.40±0.32, 2.04±1.02 ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์อัตรารอดในทุกกลุ่มการทดลองพบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4) โดยมีเปอร์เซ็นต์อัตรารอดดังนี้ กลุ่มควบคุม 56.66±16.68 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมเบตาเลน 20, 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ 53.33±16.43, 76.66±10.14, 76.33±1.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

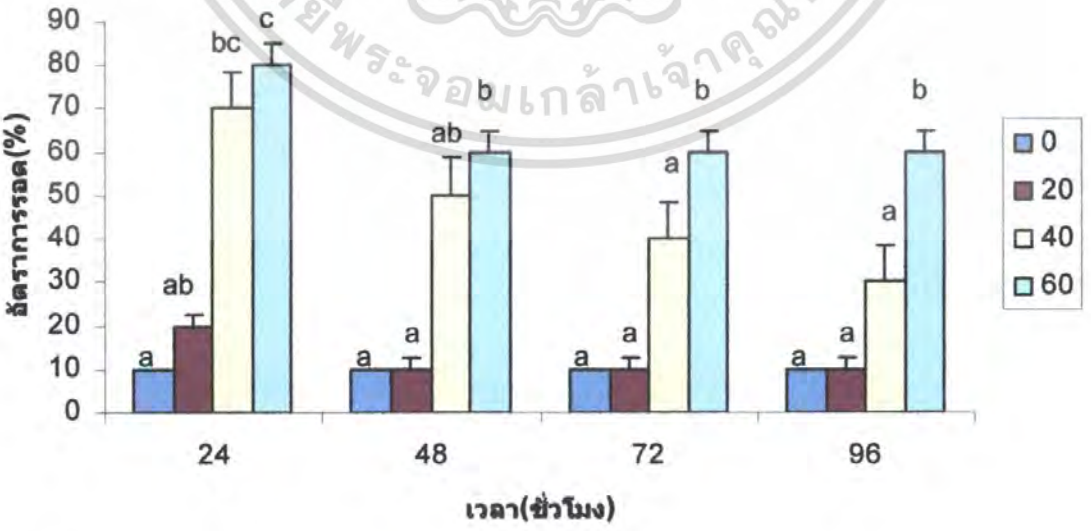
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตารางที่ 4 การเจริญเติบโตของปลานิลแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

กลุ่มการทดลอง	น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น(กรัม)	น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย(กรัม)	อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก	อัตรารอด (%)
ควบคุม	15.11±0.02[a]	36.42±5.09[a]	2.97±0.23[ab]	56.66±16.68[a]
เบตาเลน 20%	15.13±0.01[a]	38.11±3.93[a]	3.42±0.28[ab]	53.33±16.43[a]
เบตาเลน 40%	15.06±0.01[a]	34.48±3.41[a]	4.40±0.32[b]	76.66±10.14[a]
เบตาเลน 60%	15.13±0.01[a]	37.55±1.27[a]	2.04±1.02[a]	71.66±10.41[a]

จากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ฉีดเข้าตัวปลานิลแดง *Oreochromis niloticus* บริเวณกล้ามเนื้อท้อง ประมาณ 0.1 มิลลิลิตร พบว่า กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมเบตาเลน 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 24 ชั่วโมงมีอัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมเบตาเลน 60เปอร์เซ็นต์มีการแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ภาพที่ 5) คือมีอัตรารอดสูงที่สุดที่ 58%



ภาพที่ 5 ความสามารถในการต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophilla*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

104612

สรุป

จากการตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดของปลานิลแดงและจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ที่ฉีดบริเวณท้องปลา พบว่า ปลานิลแดงในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร 60 เปอร์เซ็นต์มีจำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวมากที่สุด และมีอัตราการรอดตายสูงที่สุดหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรค ส่วนการเจริญเติบโตของปลานิลแดงในแต่ละชุดการทดลองมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง จึงสามารถกล่าวได้ว่าสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร 60 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้ปลานิลแดงมีภูมิคุ้มกัน สูงขึ้นมากที่สุด โดยทำให้ปลานิลแดงมีความสามารถในการต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ดีที่สุด และสามารถทำให้เพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวให้มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น

ข้อเสนอแนะ

ควรทดลองเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเบตาเลนให้มีความเข้มข้นสูงกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ของเปลือกผลแก้วมังกร ซึ่งอาจทำให้ภูมิคุ้มกันของปลานิลแดงดีขึ้น และควรมีการศึกษาการงดให้อาหารที่มีส่วนผสมของสารสกัดเบตาเลนว่าภูมิคุ้มกันลดลงหรือไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เพิ่มพูน ศักดิ์เกษม. 2531. การเลี้ยงปลานิล.ส่งเสริมการเกษตรและสหกรณ์.ประเทศไทย.กรุงเทพฯ

Cai, Y., M. Sun and H. Corke. 1998. Colorant Properties and stability of *Amaranthus* Betacyanin pigment J. Agric. Food Chem. 46:4491-4495

Cai, Y-Z., M. Sun and H. Corke. 2005. Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae. 16:370-376

Manuel G-P. I., S. Anne, G-J.Fabiola, C-S.Josefina, H-C.Marcela, P-S.Jorge, T.Akiro, Z. Galina. 2007. Immunotoxicity and hepatic function evaluation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to diazinon.23:760-769

Pavlidis, M., W.C. Futter, P.Katharios and P. Divanach. 2007. Blood cell profile of six Mediterranean mariculture fish species.23:70-73

Prabakaran M., C. Binuramesh, D.Steinhagen, R.D.Michael. 2007. Immune response in the tilapia, *Oreochromis mossambicus* on exposure to tannery effluent.68:372-378

http://www.coursewares.mju.ac.th/section2/pt331/pdf/6.pdf

http://www./ndoae.doae.go.th.19/12/50

http://www.unil.ch/lpc/docs/bu.htm *Oreochromis*

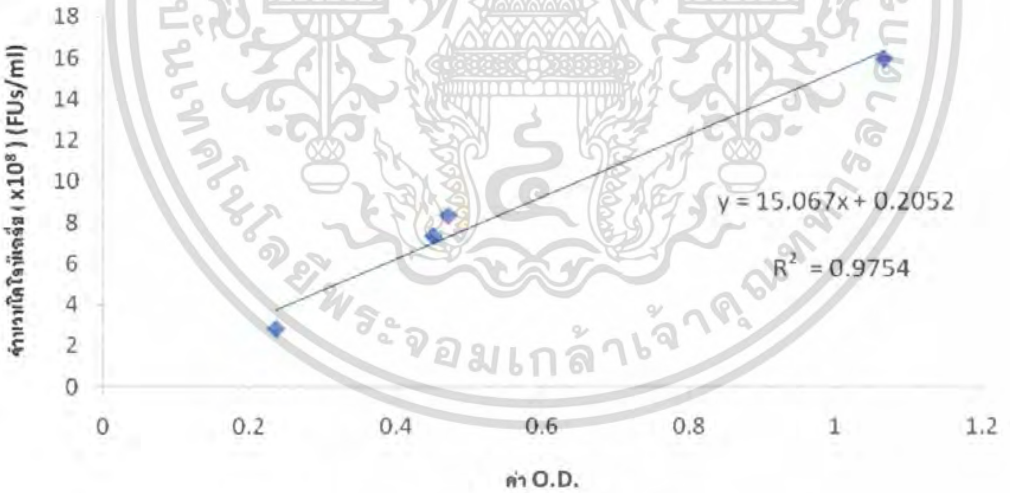
www.nstlearning.com/.../2007/05/blood_cells2.jpg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ค่า O.D.ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และจำนวนโคโลนีเฉลี่ยที่ความเข้มข้นต่างๆกัน

ค่า O.D.	จำนวนโคโลนีเฉลี่ย ($x10^8$)
0.236	2.8
0.45	7.3
0.47	8.3
1.066	15.9



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานระหว่างค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรและจำนวนโคโลนีเฉลี่ยของเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 น้ำหนักการเจริญเติบโตของปลานิลแดง

treatment	0week	2week	4week	6week	8week
0	15.15	23.4	27.75	31	34.6
0	15.05	22.8	24.6	28.65	28.66
0	15.15	25.4	32.2	42.3	46
20	15.1	21.8	26.4	29.65	30.33
20	15.15	25.4	34	39	43
20	15.15	25.4	34	39.65	41
40	15.1	22.8	27.3	27.33	27.8
40	15.05	22.8	31.6	35.66	36.65
40	15.05	24.4	36.8	39	39
60	15.15	21.6	22.65	26.2	35
60	15.15	27.4	30	34.2	38.66
60	15.1	23.4	34.6	37.33	39

ตารางผนวกที่ 3 ความยาวของปลานิลแดง

treatment	0week	2week	4week	6week	8week
0	9	11.3	11.5	12.3	12.8
0	8	11.1	11.25	11.7	11.83
0	9	11.5	12.25	13	13.7
20	9.5	11	11.5	11.9	12.7
20	9	11	11.75	13.1	13.26
20	8.5	11.3	12.5	12.9	13.4
40	9	11	11.75	11.8	11.9
40	8	10.5	11.5	12.6	12.8
40	9	11	12.25	12.9	12.9
60	9.5	11	11.15	11.5	13
60	10	10.85	12	11.8	13.6
60	8.5	10.5	11.75	12.9	13.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 4 เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว 4 สัปดาห์

treatment	จำนวนเม็ดเลือดแดง	จำนวนเม็ดเลือดขาว
0	98	2
0	98	2
0	99	1
20	98	2
20	97	3
20	97	3
40	93	7
40	95	5
40	93	7
60	89	11
60	89	11
60	91	9

ตารางผนวกที่ 5 เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว 8 สัปดาห์

treatment	จำนวนเม็ดเลือดแดง	จำนวนเม็ดเลือดขาว
0	97	3
0	98	2
0	98	2
20	96	4
20	95	5
20	95	5
40	91	9
40	91	9
40	89	11
60	87	13
60	85	15
60	87	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 6 ค่าวัดสีของปลานิลแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

treatment	light	A*	B*
0	57.01	3.71	3.08
0	56.44	4.32	1.72
0	55.88	4.93	0.36
20	57.56	2.15	-0.48
20	61.66	5.36	-0.95
20	58.11	2.58	-2.05
40	57.13	5.45	0.41
40	63.06	-0.55	-1.48
40	59.06	2.23	-1.03
60	60.91	1.78	4.68
60	58.58	2.51	-4.66
60	61.1	2.23	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้