ผลของการใช้ C-phycocyanin จากสาหร่ายอาร์โธรสไปร่า ต่อการเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ในลูกปลานิลที่อนุบาลในระบบไบโอฟลอค

ภัคธีมา ยาวิชัย

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2565

ผลของการใช้ C-phycocyanin จากสาหร่ายอาร์โธรสไปร่า ต่อการเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ในลูกปลานิลที่อนุบาลในระบบไบโอฟลอค

ภัคธีมา ยาวิชัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

ผลของการใช้ C-phycocyanin จากสาหร่ายอาร์โธรสไปร่า
ต่อการเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ
ในลูกปลานิลที่อนุบาลในระบบไบโอฟลอค

ภัคธีมา ยาวิชัย

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.จงกล พรมยะ)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชนกันต์ จิตมนัส)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิสรา กิจเจริญ)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุดมลักษณ์ สมพงษ์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)
รองอธิการบดี
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ชื่อเรื่อง ผลของการใช้ C-phycocyanin จากสาหร่ายอาร์โธรสไปร่า ต่อการเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ในลูกปลานิลที่อนุบาลในระบบไบโอฟลอค

ชื่อผู้เขียน นางสาวภัคธีมา ยาวิชัย

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก รองศาสตราจารย์ ดร.จงกล พรมยะ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อประเมินผลของการใช้ C-phycocyanin ในการอนุบาลลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ต่อการเจริญเติบโต การสร้างภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ และต้นทุนการผลิตลูกปลา แบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลอง การทดลองแรกเป็นการทดลองระดับห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาปริมาณของ C-phycocyanin ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และกิจกรรมไลโซไซม์ ด้วยอาหารผสม C-phycocyanin ในระดับที่แตกต่างกัน โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ได้แก่ อาหารสำเร็จรูป (ชุดควบคุม) และอาหารสำเร็จรูปผสม C-phycocyanin 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ใช้ลูกปลานิลน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 0.41±0.01 กรัมต่อตัว อนุบาลในตู้กระจก ปริมาตรน้ำ 50 ลิตร อัตราการปล่อย 400 ตัวต่อตารางเมตร ให้ออกซิเจนตลอดเวลา อนุบาลระยะเวลา 90 วัน พบว่า ลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน มากกว่าชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของอัตรารอดลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ต้นทุนในการผลิตลูกปลา พบว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่าชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กิจกรรมไลโซไซม์มีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อปริมาณ C-phycocyanin เพิ่มขึ้น และคุณภาพน้ำทั้ง 5 ชุดการทดลองอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ส่วนการทดลองที่ 2 เป็นการทดลองระดับอุตสาหกรรมขนาดย่อม ศึกษาการเจริญเติบโต ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ปริมาณโลหะหนักในเนื้อปลา คุณภาพน้ำ และต้นทุนการผลิต โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ได้แก่ อาหารสำเร็จรูป (ชุดควบคุม) และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยปล่อยลูกปลานิลน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 0.35±0.00 กรัมต่อตัว ในบ่อปูนซีเมนต์ บรรจุน้ำ

2 ลูกบาศก์เมตร อัตราการปล่อย 50 ตัวต่อตารางเมตร ให้ออกซิเจนตลอดเวลา อนุบาลระยะเวลา 90 วัน พบว่า ลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้การเจริญเติบโต (น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และประสิทธิภาพการใช้อาหาร) ดีที่สุด และมีแนวโน้มอัตรารอดดีที่สุด เมื่อเทียบกับลูกปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุมค่ากิจกรรมไลโซไซม์ การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว และกระบวนการผลิตซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออนเฉลี่ยของลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับลูกปลานิลที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม พบปริมาณของปรอทในเนื้อปลาทุกชุดการทดลอง ซึ่งยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ปัจจัยคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีทั้ง 3 ชุดการทดลองอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

คำสำคัญ : ลูกปลานิล, ระบบไบโอฟลอค, C-phycocyanin, การเจริญเติบโต, ภูมิคุ้มกัน

Title EFFECTS OF C-PHYCOCYANIN FROM *Arthrospira* ON GROWTH PERFORMANCE AND NON-SPECIFIC IMMUNE IN NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) FINGERLINGS UNDER BIOFLOC TECHNOLOGY

Author Miss Pukteema Yawichai

Degree Master of Science in Fisheries Technology and Aquatic Resources

Advisory Committee Chairperson Associate Professor Dr. Jongkon Promya

ABSTRACT

This research aimed to determine the effects of C-phycocyanin on growth performances, non-specific immune and cost in tilapia fingerlings nursing. The experiment was divided into 2 experiments. The first experiment was set up in a laboratory scale to study the suitable amount of C-phycocyanin for growth performances and lysozyme activity. Five treatments with three replication each were applied including a basal diet (control), 0.1, 0.3, 0.5 and 1 percent C-phycocyanin supplementary feeds, respectively. The average weight of tilapia fingerlings was 0.41±0.01 g/fish. Fish were stocked 400 fish/m^2 in a glass tank; water volume was 50 liters, providing oxygen all the time for 90 days. It was found that the tilapia larvae fed with 0.5 percent C-phycocyanin diet showed significantly higher weight gain, average daily growth, protein efficiency ratio than that of other treatments ($P<0.05$). But there was not significantly different with 0.3 percent C-phycocyanin supplementary feed. Survival rates were significantly different when compared with control. The tilapia fingerlings fed with 1 percent C-phycocyanin diet showed significantly higher cost than that of other treatments. Lysozyme activity tended to be higher with increased C-phycocyanin content. The water quality of the 5 experimental sets was within the standard. The second experiment was a pilot-scale to study growth performance, non-specific immune, heavy metal content in

fish flesh, water quality and cost. Three treatments with three replication each were applied including control, 0.3 and 0.5 percent C-phycocyanin, respectively. Tilapia fingerlings (0.35g/fish, 50 fish/m^3) were stocked in the cement tank, water was continuously aerated using air pump and reared for 90 days. It was found that the tilapia fingerlings fed with 0.5 percent C-phycocyanin showed significantly higher weight gain, average daily growth, feed conversion ratio, protein efficiency ratio and food conversion efficiency than that of other treatments. Survival rates were significantly different when compared with control. The tilapia larvae fed with C-phycocyanin 0.5 percent showed a highly significant difference in non-specific immune when compared with control group. Mercury was found in all three treatments. however, it was within the safety standards for consumers. The water quality within the pond was in range of the standard of aquaculture.

Keywords : Tilapia fingerlings, Biofloc system, C-phycocyanin, Growth performance, Immune response

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.จงกล พรมยะ ประธานกรรมการที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.ชนกันต์ จิตมนัส และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิสรา กิจเจริญ ที่ช่วยเหลือสนับสนุนและให้คำแนะนำวิธีการดำเนินงานวิจัยมาโดยตลอด และการตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ไพบูลย์ ปะนาเส สาขาวิชาการประมง คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา ที่ได้สละเวลามาเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์และแก้ไขวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) และนายเทวินทร์ รัตนัง (เทวินทร์ฟาร์ม) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยทั้งด้านการเรียน และอุปกรณ์เพื่อใช้ในการวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณคณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้ถ่ายทอดองค์ความรู้ คำแนะนำ สนับสนุนอนุเคราะห์สถานที่ห้องปฏิบัติการ และอุปกรณ์ต่าง ๆ รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยจนสำเร็จ

ภัคธีมา ยาวิชัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ช
สารบัญ ..... ซ
สารบัญตาราง ..... ญ
สารบัญภาพ ..... ฎ
บทที่ 1 บทนำ 1
วัตถุประสงค์ของการศึกษา 2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร 3
ปลานิล 3
เทคโนโลยีไบโอฟลอค (Biofloc technology) 5
คุณภาพน้ำที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลานิล 7
โลหะหนักในเนื้อปลา 9
ระบบภูมิคุ้มกันในปลา 10
สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน 13
สาหร่ายอาร์โธรสไปร่า 14
ต้นทุนการผลิต 17
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 18
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการ 22
วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมี 22

วิธีการศึกษา 26
บทที่ 4 ผลการศึกษาและวิจารณ์ 34
การทดลองที่ 1 ระดับห้องปฏิบัติการ (ตู้กระจก) 34
การทดลองที่ 2 ทดลองในบ่อซีเมนต์ 48
วิจารณ์ผลการศึกษา 62
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ 68
บรรณานุกรม 69
ประวัติผู้วิจัย 79

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของการเตรียมหัวเชื้อไบโอฟลอค 28

ตารางที่ 2 ปัจจัยและวิธีการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหาร 29

ตารางที่ 3 คุณค่าทางโภชนาการของอาหารแต่ละชุดการทดลอง 29

ตารางที่ 4 ปัจจัยและวิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำ 31

ตารางที่ 5 การเจริญเติบโต ต้นทุนของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน 39

ตารางที่ 6 กิจกรรมไลโซไซม์ระยะเวลา 60 และ 90 วัน ของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน 42

ตารางที่ 7 คุณภาพน้ำเฉลี่ยในบ่ออนุบาลลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyaninที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน 48

ตารางที่ 8 การเจริญเติบโต และต้นทุนเฉลี่ยของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน 53

ตารางที่ 9 การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาว กิจกรรมไลโซไซม์ และกิจกรรมการผลิตซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออนของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 60 และ 90 วัน 58

ตารางที่ 10 ค่าโลหะหนักในเนื้อปลาปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน 59

ตารางที่ 11 คุณภาพน้ำเฉลี่ยในบ่ออนุบาลลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน 62

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ตำแหน่งการเกิดพันธะระหว่างบิลินกับอะโพโปรตีนของไฟโคไซยานิน 15

ภาพที่ 2 การจัดเรียงตัวของไฟโคบิลิโซม (บน) และการจัดเรียงตัวขององค์ประกอบหลักในไฟโคบิลิโซม (ล่าง) 16

ภาพที่ 3 น้ำหนักเฉลี่ยของลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตั้งแต่ 0 วัน ถึง 90 วัน 34

ภาพที่ 4 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน 35

ภาพที่ 5 อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน 37

ภาพที่ 6 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตราการรอดของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน 38

ภาพที่ 7 ต้นทุนการผลิตลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน 39

ภาพที่ 8 การสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในเนื้อปลา ระยะเวลา 60 และ 90 วัน 40

ภาพที่ 9 การสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในลำไส้ ระยะเวลา 60 และ 90 วัน 41

ภาพที่ 10 กิจกรรมไลโซไซม์เฉลี่ยของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ระยะเวลา 60 และ 90 วัน 42

ภาพที่ 11 อุณหภูมิอากาศ อุณหภูมิน้ำ ออกซิเจนละลายน้ำ และความเป็นกรด-เป็นด่างเฉลี่ยในบ่ออนุบาลของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน 46

ภาพที่ 12 แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ไนไตรท์-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน ออร์โธฟอสเฟตฟอสฟอรัส เฉลี่ย ในบ่ออนุบาลของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน 47

ภาพที่ 13 น้ำหนักเฉลี่ยของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และ อาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน 49

ภาพที่ 14 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดการอนุบาล 90 วัน 50

ภาพที่ 15 อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหาร เป็นเนื้อของลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดการ อนุบาล 90 วัน 51

ภาพที่ 16 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร อัตราการรอด และ ต้นทุนในการ ผลิตลูกปลาของลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดการอนุบาล 90 วัน 52

ภาพที่ 17 ค่าการสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในเนื้อปลา ระยะเวลา 60 วัน และ 90 วัน 54

ภาพที่ 18 ค่าการสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในลำไส้ ระยะเวลา 60 วัน และ 90 วัน 55

ภาพที่ 19 กิจกรรมไลโซไซม์ของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอคที่ได้รับอาหารชุดควบคุมและ อาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ตลอดระยะเวลา 60 และ 90 วัน 56

ภาพที่ 20 กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาวเฉลี่ยของลูกปลานิลในระบบ ไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตลอดระยะเวลา 60 และ 90 วัน 57

ภาพที่ 21 กิจกรรมกระบวนการผลิตซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออนเฉลี่ยของลูกปลานิลในระบบ ไบโอฟลอคที่ได้รับอาหารชุดควบคุมและอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตลอดระยะเวลา 60 และ 90 วัน 57

ภาพที่ 22 อุณหภูมิน้ำ อุณหภูมิอากาศ ออกซิเจนละลายน้ำ และความเป็นกรด-เป็นด่างเฉลี่ยในบ่อ อนุบาลลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอคได้รับอาหารชุดควบคุมและอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลาอนุบาล 90 วัน 60

ภาพที่ 23 แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ไนไตรท์-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน ออร์โธฟอสเฟต-ฟอสฟอรัสเฉลี่ยในบ่ออนุบาลลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ได้รับอาหารชุดควบคุมและอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอนุบาล 90 วัน..... 61

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY

บทที่ 1
บทนำ

ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่งอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลานิลได้รับความนิยมอย่างมากในประเทศไทย อย่างไรก็ตามผลผลิตปลานิลจากการเพาะเลี้ยงในปี 2562 พบว่า ผลผลิตลดลง เนื่องจากเกษตรกรประสบภัยแล้ง ส่งผลให้ปริมาณน้ำในแหล่งน้ำมีน้อยไม่เพียงพอต่อการเลี้ยง (เกวลิน, 2560) นอกจากปัญหาปริมาณน้ำไม่เพียงพอแล้ว การเลี้ยงปลานิลส่วนใหญ่จะเลี้ยงในระบบบ่อดิน และในกระชังตามแม่น้ำ ซึ่งเกษตรกรที่เลี้ยงต้องการลูกพันธุ์ปลานิลขนาดใหญ่ เพื่อลดการตายและระยะเวลาการเลี้ยง เกษตรกรจะนิยมอนุบาลลูกปลานิลในระบบบ่อดินก่อน จากขนาดใบมะขามให้ได้ขนาด 20-30 กรัม แล้วนำไปเลี้ยงต่อ การอนุบาลของเกษตรกรนั้นเกิดปัญหาคือ ได้ลูกพันธุ์ที่อ่อนแอ อัตรารอดต่ำ เมื่อขนย้ายลูกพันธุ์เกิดการบอบช้ำ ปลาเป็นโรค ทำให้เกษตรกรสูญเสียรายได้ เทคโนโลยีไบโอฟลอค (Biofloc Technology) เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้แก้ปัญหาการเพาะเลี้ยง เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มากขึ้น เป็นระบบการเพาะเลี้ยงที่ใช้พื้นที่น้อยแต่ได้ผลผลิตมาก เมื่อลูกพันธุ์โตสามารถขนย้ายได้ง่าย ลดปัญหาปลาบอบช้ำ ช่วยแก้ปัญหาคุณภาพน้ำ และเป็นการจัดการให้ของเสียที่เกิดจากสัตว์น้ำ สามารถกลับไปเป็นอาหารของสัตว์น้ำเหล่านั้นอีก (Ekasari et al., 2015) อีกทั้งเทคโนโลยีไบโอฟลอคยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและเป็นระบบการเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ (Avnimelech, 2015; Azim and Little, 2008; Crab et al., 2012) เหมาะสมกับสถานการณ์ในปัจจุบัน การเพาะเลี้ยงในปัจจุบันเกษตรกรยังคงมีการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมี ซึ่งยังไม่เป็นที่ยอมรับ เนื่องจากเกิดปัญหาความไม่ปลอดภัยทางด้านอาหาร ปัจจุบันมีสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันหลายชนิดที่มีประสิทธิภาพสูงและมีการประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ทั้งที่เป็นสารธรรมชาติและสารสังเคราะห์ จากงานวิจัยเกี่ยวกับการอนุบาลลูกปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ นิยมใช้สาหร่ายอาร์โธรสไปร่าทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ เพื่อเพิ่มการเจริญเติบโต พิ่มอัตรารอด และเสริมภูมิคุ้มกันให้กับสัตว์น้ำ เนื่องจากสาหร่ายอาร์โธรสไปร่ามีโปรตีนสูงถึง 50%-70% ของน้ำหนักแห้ง และมีสารสำคัญคือ C-phycocyanin, allophycocyanin, beta-carotene, chlorophyll-a และกรดไขมันจำเป็นไม่อิ่มตัว (จงกล และคณะ, 2555) สาหร่ายอาร์โธรสไปร่า มีผลต่อการเจริญเติบโต การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในปลาสเตอร์เจียน (Adel et al, 2016) ทำให้ลูกปลานิลแดงมีระบบภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้น (จงกล และคณะ, 2555) ซึ่งเกี่ยวข้องกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่ายอาร์โธรสไปร่า เช่น C-phycocyanin (Abdel-Tawwab and Ahmad, 2009) เป็นรงควัตถุพบในสาหร่ายอาร์โธรสไปร่า โดยมีประมาณ 14-16% ของน้ำหนักแห้ง ประกอบด้วยธาตุเหล็กและแมกนีเซียม เป็นสารสร้าง

ภูมิคุ้มกันให้กับสิ่งมีชีวิต (Nakamura, 1982; Venkataraman, 1983) สารต้านอนุมูลอิสระ (Patel et al., 2005) ต้านการอักเสบ (Romay et al., 1998) เป็นสารช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน (Vonshak, 1997) อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานผลการใช้ C-phycocyanin ในสัตว์น้ำอย่างแน่ชัด สารสกัด C-phycocyanin จากสาหร่ายอาร์โธรสไปร่า จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสัตว์น้ำ

ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงได้มีแนวคิดศึกษาการใช้ C-phycocyanin ซึ่งเป็นสารธรรมชาติ สกัดได้จากสาหร่ายอาร์โธรสไปร่ามาเสริมอาหาร เพื่อหาแนวทางการอนุบาลลูกปลานิลที่อนุบาลในระบบไบโอฟลอค และเป็นการเพิ่มมูลค่าของทรัพยากรทางน้ำ ทำให้เกิดการพัฒนาอย่างยั่งยืนต่อไป

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. ประเมินผลของสารสกัด C-phycocyanin ต่อการเจริญเติบโต
2. ประเมินผลของสารสกัด C-phycocyanin ต่อประสิทธิภาพการใช้อาหาร
3. ประเมินผลของสารสกัด C-phycocyanin ต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในลูกปลานิล
4. ประเมินคุณภาพน้ำ และโลหะหนักในเนื้อปลา
5. ต้นทุนการผลิตลูกปลา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถนำสาหร่ายอาร์โธรสไปร่าไปใช้ให้เกิดประโยชน์มากที่สุด
2. ลดความสูญเสียของปลาที่ตายจากการติดเชื้อโรค
3. สร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้อนุบาลลูกปลานิล
4. เกิดองค์ความรู้ใหม่ ระดับของการใช้ C-phycocyanin ที่เหมาะสมต่อการอนุบาลลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสัตว์น้ำ

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

ปลานิล

อนุกรมวิธานของปลานิล

ปลานิล *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) จัดอยู่ในวงศ์ Cichlidae ซึ่งมีหลายสกุล ทั้งนี้ปลานิลจัดอยู่ในสกุล *Oreochromis* spp. และมีชื่อสามัญคือ Nile Tilapia (Nelson, 1994) ลำดับอนุกรมวิธานของปลานิลถูกจัดอันดับทางอนุกรมวิธานไว้ดังนี้

Knindom Animalia
Phylum Chordata
Superclass Actinoptertgii
Class Teleostei
Order Perciformes
Family Cichlidae
Genus *Oreochromis*
Species *Oreochromis niloticus*

รูปร่างและลักษณะ

มีลักษณะคล้ายกับปลาหมอเทศ แต่จะมีสีจางกว่าปลาหมอเทศเล็กน้อย หัวจะมีลักษณะเล็กลาดเรียบ บริเวณริมฝีปากล่างกับริมฝีปากบนจะเสมอกัน มีซี่เหงือกประมาณ 19-28 ซี่ ขอบตามีสีแดง ที่กระดูกแก้มจะมีจุดสีเข้มอยู่หนึ่งจุด ที่แก้มจะมีเกล็ดอยู่ด้วย 4 แถว ลำตัวป้อมมีสีเขียวปนน้ำตาล และมีลายพาดขวางประมาณ 9-10 แถว ระยะห่างระหว่างแถวขวางแต่ละอันจะกว้างกว่าความกว้างของแถวเล็กน้อย ลักษณะของลายจะพาดขวางจากส่วนหลังมายังส่วนท้อง ด้านหลังหนาที่บริเวณส่วนอ่อนของครีบหลัง ครีบก้น และครีบหางจะมีลายจุดสีขาวและเส้นสีดำตัดขวาง ปลานิลจะแตกต่างจากปลาหมอเทศตรงที่ปลานิลมีเกล็ด 3 แถว ที่บริเวณแก้ม และอีก1 แถว ตรงบริเวณเหนือเส้นข้างตัวเล็กน้อย ครีบหลัง มีครีบเดียว ประกอบไปด้วยก้านครีบแข็ง 15-18 อัน และก้านครีบอ่อน 12-14 อัน ครีบก้นจะประกอบไปด้วยก้านครีบแข็ง 3 อัน และก้านครีบอ่อน 9-10 อัน บนแถบเส้นข้างตัวจะมีเกล็ดอยู่ 33 เกล็ด ทางด้านข้างมีเกล็ดตามแนวเดี่ยวจากด้านบนของครีบหลังลงมา

จนถึงเส้นข้างลำตัว จำนวน 5 เกล็ด และเกล็ดจากเส้นข้างลำตัวลงมาถึงส่วนหน้าของครีบก้น จำนวน 13 เกล็ด (สันต์, 2548)

อุปนิสัยและคุณสมบัติบางประการ

ตามปกติจะชอบอาศัยอยู่รวมกันเป็นฝูงตามแม่น้ำลำคลอง หนองบึง และทะเลสาบ ที่เป็นแหล่งน้ำจืด แต่สามารถนำไปเลี้ยงยังน้ำกร่อยได้ เนื่องจากมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดี สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในช่วงการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิกว้าง คือตั้งแต่ 11-24 องศาเซลเซียส นอกจากนี้แล้วยังมีความทนทานต่อความเค็มของน้ำอีกด้วย

ปลานิลเป็นปลาที่กินทั้งเนื้อและพืช แต่จะชอบกินสาหร่าย แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ ตัวอ่อนของแมลง อินทรียวัตถุที่สลายตัวแล้วบริเวณก้นบ่อ เมื่อมีขนาดโตขึ้นจะกินพืชพวกสาหร่าย จอก แหน และส่วนอ่อนของใบพืช อาหารธรรมชาติได้แก่ ไรน้ำ ตะไคร่น้ำ และตัวอ่อนของแมลง ส่วนอาหารเสริมได้แก่รำ ปลายข้าว กากถั่วลิสง และปลาป่น เป็นปลาที่กินอาหารในเวลากลางวันและหยุดกินอาหารในเวลากลางคืน กินอาหารได้ทั้งที่ผิวน้ำ กลางน้ำ และก้นบ่อ (สันต์, 2548)

การแพร่ขยายพันธุ์

ปลานิลสามารถผสมพันธุ์ได้ตลอดปี โดยใช้ระยะเวลา 2–3 เดือนต่อครั้ง แต่ถ้าได้รับอาหารเพียงพอและเหมาะสม ในระยะเวลา 1 ปี จะสามารถผสมพันธุ์ได้ 5–6 ครั้ง ขนาดอายุและช่วงการสืบพันธุ์ของปลาแต่ละตัวจะแตกต่างกันไปตามสภาพแวดล้อม และสภาพทางสรีรวิทยาของปลาเอง โดยพบว่าปลานิลจะเริ่มมีพัฒนาการของไข่และน้ำเชื้อเมื่อมีความยาวประมาณ 6.5 เซนติเมตร ในช่วงผสมพันธุ์วางไข่ ปลานิลเพศผู้จะแยกออกจากฝูงไปสร้างรัง โดยปลาจะเลือกบริเวณเชิงลาดหรือก้นบ่อที่มีระดับน้ำลึกระหว่าง 0.5–1.0 เมตร วิธีการสร้างรังนั้นปลาจะปักหัวลงลำตัวตั้งฉากกับพื้นดินแล้วใช้ปากพร้อมกับเคลื่อนไหวลำตัวเขี่ยดินตะกอนออก จากนั้นจะอมดินตะกอนและงับเศษสิ่งของต่างๆ ออกไปทิ้งนอกรัง ทำเช่นนี้จนกว่าจะได้รังที่มีลักษณะค่อนข้างกลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 20–35 เซนติเมตร ลึกประมาณ 3–6 เซนติเมตร หลังจากสร้างรังเสร็จเรียบร้อยแล้ว พ่อปลาจะหวงอาณาเขตโดยจะไล่ปลาอื่นให้ออกจากบริเวณนั้น และแสดงพฤติกรรมเกี้ยวปลาเพศเมีย เมื่อเลือกปลาเพศเมียได้ถูกใจแล้ว จะแสดงอาการจับคู่กัน โดยใช้หางดีดและกัดกันเบา ๆ และเริ่มการผสมพันธุ์วางไข่โดยปลาเพศผู้ใช้บริเวณหน้าผากดุนที่ใต้ท้องปลาเพศเมียเพื่อกระตุ้นให้วางไข่ ปลาจะวางไข่ครั้งละ 10–15 ฟอง ปริมาณไข่ที่วางรวมกันแต่ละครั้งมีประมาณ 50–600 ฟอง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขนาดของแม่ปลา เมื่อแม่ปลาวางไข่แต่ละครั้งพ่อปลาจะว่ายน้ำไปเหนือไข่พร้อมกับปล่อยน้ำเชื้อลงไปผสมกับไข่ จากนั้นแม่ปลาจะเก็บไข่ที่ได้รับการผสมแล้วไว้ในปาก โดยจะทำเช่นนี้จนกว่าการผสมพันธุ์แล้ว

เสร็จ ใช้เวลาประมาณ 1–2 ชั่วโมง แม่ปลาจะว่ายออกจากรังและพ่อปลาจะคอยหาโอกาสเลือกปลาเพศเมียตัวอื่นต่อไป (กองวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ, ม.ป.ป)

การอนุบาลลูกปลา

การอนุบาลลูกปลาที่ได้จากการเพาะฟักหรือซื้อมาจากแหล่งเพาะพันธุ์ปลา มีจุดประสงค์เพื่อให้ลูกปลามีขนาดใหญ่พอที่จะนำไปเลี้ยงได้ หลักใหญ่ของการอนุบาลคือทำให้ปลาเติบโตและมีอัตราการรอดสูงสุด อาจจะทำการอนุบาลในบ่อที่ใช้อนุบาลลูกปลาโดยตรง หรืออนุบาลในกระชังก็ได้

1. การอนุบาลในบ่อ บ่อขนาด 200 ตารางเมตร สามารถอนุบาลปลาขนาด 2 เซนติเมตร ได้ประมาณ 50,000 ตัว ใช้เวลาในการอนุบาล 5-6 สัปดาห์ บ่ออนุบาลควรผ่านการเตรียมเหมือนกับการเตรียมบ่อทั่ว ๆ ไป คือ การทำการกำจัดวัชพืชในบ่อ ตากบ่อ ใส่ปูนขาว แล้วเปิดน้ำเข้าบ่อ ทำการปล่อยลูกปลาลงบ่ออนุบาลในตอนเช้าหรือเย็น คอยเปลี่ยนน้ำและให้อาหารชนิดผง ให้กินวันละ 3 ครั้ง จำนวน 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปลา หรือบ่อขนาด 200 ตารางเมตร ให้กินวันละ 1 กิโลกรัม ปรับปริมาณอาหารให้ทุกอาทิตย์ สูตรอาหารที่ให้ในช่วงนี้ประกอบด้วย ปลาป่นอัดน้ำมัน 30 เปอร์เซ็นต์ รำละเอียด 45 เปอร์เซ็นต์ กากถั่วป่น 25 เปอร์เซ็นต์ วิตามิน และเกลือแร่ 1 เปอร์เซ็นต์ หลังจากที่ได้อนุบาลลูกปลาผ่านไป 1 เดือนครึ่ง ก็จะได้ลูกปลาขนาด 5 เซนติเมตร ซึ่งเป็นขนาดที่สามารถนำไปเลี้ยงในบ่อได้ (ปัญญา, 2545)

2. การอนุบาลในกระชัง ในท้องที่บางแห่งสภาพลักษณะต่าง ๆ ทางธรรมชาติเหมาะที่จะอนุบาลโดยดัดแปลงธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ในบริเวณที่มีแม่น้ำลำคลองไหลผ่าน หรือในที่มีน้ำถ่ายเทดี สามารถดัดแปลงมาอนุบาลอนุบาลลูกปลาวัยอ่อนได้ โดยทำเป็นกระชังขนาดเล็ก กระชังทำด้วยผ้าไนล่อน ขึงกับขอบไม้ไปตรึงอยู่กับบวบ กระชังขนาด 45×45 เซนติเมตร จมน้ำ 30 เซนติเมตร ปล่อยลูกปลานิลลงไปจำนวน 5,000 ตัว ลูกปลาที่ปล่อยอนุบาลขนาด 2-3 เซนติเมตรน้ำหนัก 0.2 กรัม ให้อาหารลำละเอียด 42 เปอร์เซ็นต์ กากถั่ว 21 เปอร์เซ็นต์ อาหารไก่ 6.1 เปอร์เซ็นต์ แป้งมันสำปะหลัง 10.6 เปอร์เซ็นต์ ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เช้า 9.30-10.00 น. และบ่าย 15.00-16.00 น. อาหารให้ปริมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว หลังจากอนุบาลไปได้ 33 วัน จะได้ลูกปลานิลขนาด 3-5 เซนติเมตร น้ำหนัก 1-2 กรัม อัตรารอด 90 เปอร์เซ็นต์ (ปัญญา, 2545)

เทคโนโลยีไบโอฟลอค (Biofloc technology)

เทคโนโลยีไบโอฟลอค (Biofloc technology) คือ การใช้ตะกอนจุลินทรีย์ (Biofloc) มาช่วยในการย่อยสลายซากของเสีย (แอมโมเนีย) เปลี่ยนของเสียให้กลายเป็นของดีเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ ไบโอฟลอคสามารถเกิดได้เองตามธรรมชาติ แต่ถ้าน้ำไม่หมุนเวียนหรือเคลื่อนไหวฟลอคนั้น

ก็จะตกตะกอนสะสมที่พื้นก้นบ่อกลายเป็นของเสียเช่นเดิม ไบโอฟลอคจะเกิดเมื่อเกิดความสมดุลของอัตราส่วนของคาร์บอนและไนโตรเจนในน้ำ ถ้ามีการปล่อยของเสียจำพวกสารอินทรีย์ซึ่งมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบได้แก่ กรดอะมิโน (Amino acid) โปรตีน (Protein) ซึ่งจะกลายไปเป็นแอมโมเนียม ($NH4^+$) และสารอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต (แหล่งคาร์บอน) ได้แก่ แป้ง (Starch) น้ำตาล (Sugar) เซลลูโลส (Cellulose) และพวกกากใย (Fiber) ลงไปในน้ำของเสียจะถูกเปลี่ยนไปเป็นตะกอนจุลินทรีย์ ตะกอนจุลินทรีย์นี้จะเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์จำพวกเฮทเทอโรโทรฟิค (Heterotrophic bacteria) ที่มารวมตัวกันเป็นตะกอนแขวนลอย ขนาดของกลุ่มฟลอคอยู่ที่ 0.2-2.0 มิลลิเมตร ถ้ามีการเติมสารอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตลงไปอีกมันจะไปกระตุ้นให้ไบโอฟลอคดึงไนโตรเจน (แอมโมเนีย) มาใช้ในการสร้างเซลล์ใหม่มากขึ้น จำนวนจุลินทรีย์ก็จะเพิ่มมากขึ้น ปริมาณแอมโมเนียในน้ำก็จะลดลง ซึ่งเนื้อเซลล์ใหม่ที่ว่านี้ก็คือสารพวกโปรตีน เมื่อสัตว์น้ำกินจุลินทรีย์ที่รวมตัวเป็นฟลอค เข้าไปก็เท่ากับว่าสัตว์น้ำได้กินอาหารที่มีโปรตีนนั่นเอง การใช้กลุ่มฟลอคในการกำจัดแอมโมเนียนี้จะเร็วกว่าการเกิดกระบวนการไนตริฟิคเคชัน (Nitrification) เนื่องจาก Heterotropic bacteria จะเจริญเติบโตเร็วกว่า Nitrifying bacteria ประมาณ 10 เท่า ทำให้น้ำที่ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำมีคุณภาพดี การเปลี่ยนถ่ายน้ำน้อยลง และส่งผลให้สัตว์มีสุขภาพดีตามไปด้วย (Crab et al., 2012)

ประโยชน์จากการใช้ไบโอฟลอค (Biofloc) กับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (อนุสรา, 2555)

1. ต่อตัวสัตว์น้ำ: เนื่องจาก Biofloc เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่นำมาใช้เพื่อบำบัดน้ำให้มีคุณภาพที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ดั้งนั้นสัตว์น้ำย่อมมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น เนื่องจากสัตว์น้ำสามารถกินไบโอฟลอคเป็นอาหารได้อีกทางหนึ่งด้วย

2. ความถี่ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำ: หากมีการนำ Biofloc มาใช้กับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจุลินทรีย์ก็จะเป็นตัวที่คอยควบคุมคุณภาพน้ำภายในบ่อโดยอัตโนมัติ เพราะช่วยในเรื่องของการบำบัดไนโตรเจน ฉะนั้นจึงไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนถ่ายน้ำบ่อย ๆ ทำให้ประหยัดการใช้น้ำในการเพาะเลี้ยง

3. ผลผลิตที่ได้: เมื่อกลไกการบำบัดน้ำเสียภายในบ่อเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ อัตราการตายของสัตว์น้ำย่อมต่ำ ส่งผลให้ผลผลิตที่ได้มีความคุ้มค่ากับการลงทุน

4. ค่าใช้จ่าย: Biofloc เป็นกลไกการรักษาสมดุลภายในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ จึงสามารถช่วยลดต้นทุนแก่ผู้ประกอบการในแง่ของการซื้อพวกจุลินทรีย์ผงมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อีกทั้งการที่ไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายน้ำบ่อย ๆ ยังเป็นการช่วยลดค่าพลังงานจากการสูบน้ำออกจากบ่อได้อีกทางหนึ่ง และที่สำคัญผลพลอยได้อีกอย่างหนึ่งก็คือ ถือได้ว่าช่วยลดค่าใช้จ่ายในเรื่องของอาหารสัตว์น้ำเป็นอย่างดี

คุณภาพน้ำที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลานิล

คุณภาพน้ำนับว่ามีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงปลา เนื่องจากน้ำเป็นปัจจัยในการดำรงชีวิตของปลา หากปลาอาศัยอยู่ในน้ำที่มีความเหมาะสมก็จะทำให้ปลาดำรงชีวิตได้เป็นปกติ ดังนั้นเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีประสิทธิภาพสูงนั้น ควรคำนึงถึงการจัดการให้น้ำในบ่อมีคุณสมบัติที่ดีและมีความเหมาะสม

1. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) คือ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน ที่มีอยู่ในน้ำในบ่อเลี้ยง น้ำที่เหมาะต่อการเลี้ยงปลาไม่ควรมีการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรดเป็นด่าง เกินกว่า 2 หน่วยในรอบวัน และน้ำมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ระหว่าง 6.5-8.5 ก่อน ส่วนในช่วงความเป็นกรดเป็นด่าง 4-6 และ 9-11 ปลาจะเจริญเติบโตช้าและอ่อนแอ เพราะในน้ำที่เป็นด่างมากปลาจะตาย และถ้าเป็นกรดปลาจะไม่อยากกินอาหาร ทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโตลดลงและความต้านทานต่อโรคต่ำ อ่อนแอและเป็นโรคได้ง่าย แต่โดยทั่วไปปลานิลสามารถอาศัยอยู่ได้ในน้ำที่มีระดับความเป็นกรดเป็นด่าง ตั้งแต่ 7.2-8.3 หรือในช่วงเช้าความเป็นกรดเป็นด่าง 7 และช่วงบ่ายความเป็นกรดเป็นด่าง 10 ก็สามารถอาศัยอยู่ได้ น้ำที่เป็นกรดสามารถแก้ได้ด้วยการใส่ปูนขาว หรือปุ๋ยที่มีสภาพเป็นด่าง เช่น ปุ๋ยไนเตรท ส่วนน้ำที่เป็นด่างจะเติมปุ๋ยกรด เช่น แอมโมเนียซัลเฟต โดยปกติน้ำที่เป็นด่างจะพบได้น้อยกว่าน้ำที่เป็นกรด (กรมประมง, ม.ป.ป.)

2. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ปลาต้องการออกซิเจนในการหายใจ เมื่อออกซิเจนในน้ำลดลง ปลาจะโผล่มาหายใจที่ผิวน้ำ ปริมาณของออกซิเจนที่ละลายในน้ำจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับ

2.1 อุณหภูมิ ออกซิเจนจะละลายในน้ำได้ดี และมากเมื่ออุณหภูมิของน้ำลดต่ำลงและถ้าอุณหภูมิของน้ำสูงขึ้น จะทำให้ออกซิเจนละลายน้ำได้น้อยลง อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลานิลควรอยู่ในช่วง 25-32 องศาเซลเซียส

2.2 ความเค็ม น้ำที่มีความเค็มต่ำออกซิเจนจะละลายได้ดี ถ้าน้ำมีความเค็มสูงออกซิเจนจะละลายน้ำได้น้อยลง

2.3 การสังเคราะห์แสง ถ้าพืชน้ำและแพลงก์ตอนพืชมีการสังเคราะห์แสงมาก ปริมาณออกซิเจนในน้ำจะเพิ่มมากขึ้น

2.4 การหายใจ ถ้าสัตว์น้ำ พืชน้ำ และพรรณไม้น้ำมีปริมาณหนาแน่นมาก จะทำให้มีการใช้ออกซิเจนเพิ่มมากขึ้น อาจทำให้เกิดภาวะขาดออกซิเจนและทำให้ปลาตายได้

ปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลานิล ไม่ควรต่ำกว่า 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งควรต้องระมัดระวังมากในช่วงเช้า ซึ่งมักจะพบปรากฏการณ์ของปลาลอยหัวในตอนเช้า ซึ่งแสดงให้เห็นว่า

ปริมาณออกซิเจนในบ่อเลี้ยงกำลังลดลง ดังนั้น จึงต้องมีการเปิดเครื่องตีน้ำเพื่อเพิ่มออกซิเจนในน้ำ (กรมประมง, ม.ป.ป.)

3. คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ถ้าระดับของคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำมีค่าสูง จะทำให้ปลาตาย ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการสังเคราะห์แสงของพืชน้ำ และแพลงก์ตอนพืชในน้ำ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จะเพิ่มมากขึ้นในเวลากลางคืน ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลานิล ไม่ควรสูงเกิน 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรมประมง, ม.ป.ป.)

4. อุณหภูมิ (Temperature) ปลานิลเป็นสัตว์เลือดเย็น ไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิในร่างกายให้คงที่ได้ เมื่อน้ำมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างกะทันหัน จะทำให้ปลาช็อคตายได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลานิลจะอยู่ในช่วง 25-32 องศาเซลเซียส (กรมประมง, ม.ป.ป.)

5. ความกระด้างของน้ำ (Hardness) เกิดจากปริมาณของเกลือแคลเซียมที่ละลายอยู่ในน้ำทั้งหมด ซึ่งปริมาณเกลือเหล่านี้มีผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ เป็นส่วนประกอบของกระดูก เปลือก กุ้ง ปู หอย และมีผลต่อการฟัก และการเจริญของตัวอ่อน เป็นต้น น้ำในบ่อปลานิลควรมีความกระด้างอยู่ที่ 15-300 มิลลิกรัมต่อลิตร และถ้าในบ่อเลี้ยงปลามีค่าความกระด้างต่ำกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้ปลาเจริญเติบโตช้า เครียด และตายได้ (กรมประมง, ม.ป.ป.)

6. ความเป็นด่าง (Alkalinity) หมายถึง คุณภาพน้ำที่ทำให้กรดเป็นกลาง ความเป็นด่างของน้ำประกอบด้วย คารีบอเนต ไบคาร์บอเนต และไฮดรอกไซด์ เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งไม่มีพิษต่อปลา แต่เป็นตัวช่วยควบคุมไม่ให้น้ำมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง อย่างรวดเร็ว ค่าที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 25-500 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรมประมง, ม.ป.ป.)

7. ความเค็ม (Salinity) หมายถึง ปริมาณของเกลือแร่ต่าง ๆ โดยเฉพาะโซเดียมคลอไรด์ที่ละลายอยู่ในน้ำ ความเค็มของน้ำมีผลต่อระบบควบคุมปริมาณน้ำภายในร่างกายของปลา การเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำอย่างกะทันหันทำให้ปลาตายได้ ปลานิลเป็นปลาที่สามารถทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของความเค็มได้ในช่วงกว้าง และทนทาน สามารถเพาะเลี้ยงได้ในน้ำที่มีความเค็ม 0-25 ppt (กรมประมง, ม.ป.ป.)

8. สารประกอบไนโตรเจน (แอมโมเนีย และไนไตรท์) เป็นสารประกอบที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ แหล่งของสารประกอบไนไตรท์ในน้ำส่วนใหญ่มาจากสารอินทรีย์ ซึ่งเกิดจากขบวนการเน่าสลายของเศษอาหารที่เหลือ แพลงก์ตอนที่ตาย เศษซากพืชซากสัตว์ สารอินทรีย์อื่น ๆ โดยจุลินทรีย์ และปล่อยแอมโมเนีย ไนไตรท์สู่น้ำในบ่อเลี้ยงซึ่งความเป็นพิษของแอมโมเนีย จะรบกวนทำให้สัตว์น้ำสูญเสียพลังงานในการกำจัดแอมโมเนียออกนอกร่างกายมากกว่าปกติ ส่วนไนไตรท์จะไปรบกวนการแลกเปลี่ยนออกซิเจนของเม็ดเลือด ทำให้สัตว์น้ำขาดออกซิเจนได้ ถ้ามีปริมาณมากทำให้สัตว์น้ำอ่อนแอ ภูมิต้านทานโรคต่ำ และติดเชื้อได้ง่าย ปริมาณแอมโมเนียรวมในบ่อปลานิลไม่ควรเกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไนไตรท์ไม่ควรเกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรมประมง, ม.ป.ป.)

9. ฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อพืช ทำให้พืชน้ำเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว หากมีปริมาณมากเกินไปจะทำให้ออกซิเจนในน้ำมากเกินไป เกิดภาวะขาดออกซิเจนได้ ดังนั้นในบ่อปลานิลไม่ควรมีปริมาณของฟอสฟอรัสมากกว่า 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรมประมง, ม.ป.ป.)

10. ความโปร่งแสง (Transparency) ความโปร่งแสงของบ่อปลา สามารถบ่งบอกถึงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงได้ น้ำที่มีความอุดมสมบูรณ์จะมีความโปรงแสงน้อย ในบ่อปลานิลควรอยู่ในช่วง 30-60 เซนติเมตร (กรมประมง, ม.ป.ป.)

11. ความขุ่น (Turbidity) เกิดจากตะกอนแพลงก์ตอน โคลนตม ฝุ่นละออง และสารอินทรีย์ต่าง ๆ ในบ่อปลา ทำให้แสงส่องผ่านลงไปในน้ำได้น้อย ทำให้พืชน้ำสังเคราะห์แสงได้น้อย และยังเข้าไปอุดตันที่ซี่เหงือกของปลา ขัดขวางการแลกเปลี่ยนออกซิเจนที่เหงือกปลา โดยความขุ่นที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงปลานิลควรอยู่ในช่วง 30-60 เซนติเมตร (กรมประมง, ม.ป.ป.)

โลหะหนักในเนื้อปลา

โลหะหนักเป็นสารที่คงตัว ไม่สามารถสลายตัวได้ในกระบวนการธรรมชาติจึงมีบางส่วนตกตะกอนสะสมอยู่ในดิน ดินตะกอนที่อยู่ในน้ำ ดังนั้น การปนเปื้อนของโลหะหนักในสัตว์น้ำ จึงเป็นสิ่งหลีกเลี่ยงไม่ได้ สารพิษที่เกิดขึ้นในบ่อเลี้ยงปลาย่อมมีผลกระทบต่อการเลี้ยงปลาโดยตรง เนื่องจากสารพิษบางชนิดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของปลาหรืออาจทำให้ปลาตายได้ สำหรับสารพิษที่มีผลกระทบต่อสัตว์น้ำโดยตรงคือ โลหะหนัก (Heavy metal) ซึ่งส่วนใหญ่มาจากการปลดปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น ปรอท (Hg) ทองแดง (Cu) แคดเมียม (Cd) ตะกั่ว (Pb) สังกะสี (Zn) และโครเมียม (Cr) สารพิษเหล่านี้สามารถทำอันตรายต่อสัตว์น้ำในระดับความเข้มข้นต่ำ สามารถสะสมในร่างกายสัตว์และถ่ายทอดมายังผู้บริโภคได้ (นฤมล, 2545)

โลหะหนักเป็นสารที่คงตัว เมื่ออยู่ในแหล่งน้ำสามารถตกตะกอนสะสมอยู่ในดิน พืช รวมถึงสะสมอยู่ในสัตว์น้ำ เมื่อโลหะหนักเหล่านี้รวมตัวกับสารอื่น ๆ เป็นสารประกอบอินทรีย์โลหะ ซึ่งเป็นพิษและสามารถ ถ่ายทอดเข้าสู่สิ่งมีชีวิตได้โดยผ่านไปตามห่วงโซ่อาหาร ถ้ามีปริมาณความเข้มข้นสูงมากจะทำให้เกิดอันตรายต่อสัตว์น้ำและผู้ที่นำสัตว์น้ำมาบริโภคตามการจัดอันดับผลกระทบของโลหะหนักที่มีต่อสุขภาพและคุณภาพชีวิตของ The Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) พบว่า ตะกั่ว ปรอท แคดเมียม โครเมียม เป็นโลหะหนักที่มีอันตรายใน 20 อันดับแรก ในขณะที่สังกะสี แมงกานีส ทองแดง ซีลีเนียม และเหล็ก ถูกจัดอันดับความอันตรายในลำดับท้าย ๆ และโลหะหนักทั้ง 5 ชนิดหลังนี้เป็นธาตุอาหารรองที่มีความสำคัญกับการดำรงชีวิตปลาและมนุษย์ คือ มีความต้องการในปริมาณที่น้อยแต่ขาดไม่ได้ หากได้รับในปริมาณที่มากเกินก็เป็นอันตราย

ต่อสุขภาพเช่นกัน โลหะหนักแต่ละชนิดมีผลกระทบต่อสุขภาพและคุณภาพชีวิต ชนิดของโลหะหนักที่ถูกกำหนดไว้ในมาตรฐานอาหารส่วนใหญ่จะมี 3 ชนิด ได้แก่ ตะกั่ว ปรอท และแคดเมียม ดังนี้

ตะกั่วเป็นโลหะหนักอันตรายในลำดับที่ 2 ของ ATSDR ส่วนใหญ่ใช้ในแบตเตอรี่ ส่วนผสมในน้ำมันเชื้อเพลิง และยาฆ่าแมลง ตะกั่วที่สะสมอยู่ในร่างกายมนุษย์จะมีผลต่อ กระดูก ไต ต่อมไทรอยด์ และทำให้สมองทำงานบกพร่องและสติปัญญาเสื่อมถอย ในเด็กที่ได้รับสารตะกั่วมากเกินไปสมองไม่พัฒนา ร่างกายไม่เจริญเติบโต

ปรอทเป็นโลหะหนักอันตรายในลำดับที่ 3 ของ ATSDR เป็นโลหะที่อยู่ในสถานะของเหลว สามารถระเหยเป็นไอเข้าสู่ร่างกายทางระบบหายใจ และเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิตยึดกับเม็ดเลือดแดงและกระจายไปยังสมองและส่วนอื่นๆ ของร่างกาย โรคที่มีสาเหตุมาจากปรอทสะสมในร่างกาย คือ โรคมินามาตะ (Minamata)

แคดเมียมเป็นโลหะหนักอันตรายในลำดับที่ 7 ของ ATSDR มีการใช้ในยาฆ่าแมลง และยาฆ่าเชื้อรา แคดเมียมที่เข้าสู่ร่างกายทำความเสียหายต่อระบบต่าง ๆ ภายในร่างกายได้แก่ ไต กระดูก ปอด หัวใจ และการทำงานของเอนไซม์ โรคที่ได้รับพิษจากแคดเมียมเรื้อรังคือ โรคอิไตอิต (Itai-itai)

มีการศึกษาการสะสมของโลหะหนักในเนื้อปลานิลที่เลี้ยงในบ่อบำบัดน้ำเสียของเทศบาลเมืองเพชรบุร โดยทำการทดลองเลี้ยงปลานิลในกระชังในบ่อบำบัดน้ำเสีย วิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในเนื้อปลานิลก่อนปล่อย และหลังเลี้ยง โดยตรวจหาโลหะหนัก 6 ชนิด ได้แก่ ปรอท ตะกั่ว แคดเมียม นิกเกิล โครเมียม และอาร์เซนิก ผลการศึกษาพบว่าปริมาณของปรอท มีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ น้อยกว่า 0.02 ppm ส่วนนิกเกิลมีค่ามากที่สุดคือ 1.75 ppm รองลงมาคือ โครเมียม ตะกั่ว แคดเมียม และ อาร์เซนิกซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.17 น้อยกว่า 0.05, 0.47 และ 0.25 ppm ตามลำดับ อัตราการสะสม ของปรอทและตะกั่วในเนื้อปลานิลเป็นไปในอัตราเดียวกับการเจริญเติบโตของปลา จึงทำให้มีค่าเฉลี่ยคงที่ตลอดการทดลอง ส่วนแคดเมียม นิกเกิล โครเมียม และอาร์เซนิก พบว่าอัตราการสะสมของโลหะ ทั้ง 4 ชนิด มีอัตราสูงกว่าอัตราการเจริญเติบโตของปลานิล ทำให้พบโลหะหนักเหล่านี้ในปริมาณมากขึ้นในปลานิลที่โตขึ้น โดยการสะสมของโครเมียมและนิกเกิลมีแนวโน้มที่สะสมในอัตราที่สูงกว่าแคดเมียมและอาร์เซนิก ปริมาณของโลหะหนักทั้ง 6 ชนิด ที่ตรวจพบในปลานิลที่เลี้ยงในบ่อบำบัดน้ำเสียมีค่าไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานของกระทรวงสาธารณะสุข (จารวี, 2541)

ระบบภูมิคุ้มกันในปลา

ระบบภูมิคุ้มกัน (immune system) เป็นระบบที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับภูมิต้านทานของร่างกาย ของปลาคล้ายกับระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งประกอบด้วยเซลล์หลายชนิดทำหน้าที่ร่วมกันในการป้องกัน กำจัดสิ่งแปลกปลอม เช่น ลิมโฟไซท์ (lymphocyte) และฟาโกไซท์

(phagocyte) ในสภาวะปกติเซลล์เหล่านี้ส่วนใหญ่จะอยู่ในเนื้อเยื่อ เลือด น้ำเหลือง และไขกระดูก ยกเว้น plasma cells (สุทธิพันธ์ และคณะ, 2537) ระบบภูมิคุ้มกันของปลา ซึ่งประกอบด้วยระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (non-specific immunity) และระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (specific immunity) ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะถือเป็นด่านแรกในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคต่าง ๆ มีการตอบสนองอย่างรวดเร็วเพื่อป้องกันการบุกรุกของเชื้อโรค ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการป้องกันการระบาดของโรคติดเชื้อในลูกปลาวัยอ่อน ปลามีการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกัน โดยมีการสร้างลิมโฟไซท์ที่ตับในระยะตัวอ่อน ซึ่งลิมโฟไซท์เหล่านี้แพร่กระจายไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย โดยเฉพาะที่ม้ามและต่อมน้ำเหลือง แต่เมื่อปลาโตขึ้นกระดูกสันหลังจะเป็นแหล่งกำเนิดลิมโฟไซท์ ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันของปลาส่วนใหญ่เป็นแบบไม่จำเพาะ ระบบภูมิคุ้มกันนี้จะถูกสร้างขึ้นมาโดยธรรมชาติไม่ต้องอาศัยการกระตุ้นจากแอนติเจนหรือเชื้อโรค (Vadstein, 1997) ปลามีระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะและไม่จำเพาะ องค์ประกอบทั้งสองระบบ สามารถแบ่งออกได้เป็นภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ (cell-mediated immunity) และ ภูมิคุ้มกันแบบสารน้ำหรือสารที่อยู่ในเลือด (humoral-mediated immunity)

ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (non-specific immunity)

ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะหรือภูมิคุ้มกันโดยกำเนิดมีความสำคัญมากในการป้องกันการติดเชื้อของปลา เป็นกลไกที่ร่างกายสร้างขึ้นเองสามารถต่อต้านสิ่งแปลกปลอมได้หลายชนิด มีการตอบสนองอย่างรวดเร็วอีกทั้งยังมีการป้องกันการบุกรุกของเชื้อโรคจากภายนอก ประกอบด้วย กลไกของภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ ได้แก่ ผิวหนัง เซลล์เนื้อเยื่อบริเวณผิว เหงือก ชั้นของเมือก เซลล์ที่มีลักษณะพิเศษ เช่น มาโครฟาจ (macrophage) แกรนูโลไซต์ (granulocyte) และเซลล์พิฆาตตามธรรมชาติ (natural killer cell) (Takashi et al., 2008)

1. สารน้ำที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน

สารน้ำ (innate humoral immune response) ซึ่งเป็นของเหลวที่อยู่ในน้ำเลือด เป็นเอนไซม์หรือกลุ่มซีรั่มโปรตีนหลากชนิด ทำหน้าที่ควบคุมหรือทำลายเชื้อก่อโรคไม่ให้แพร่กระจายไปได้กว้างขึ้น และป้องกันการรุกรานของสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย (โสมทัต, 2538) ประกอบด้วย ไลโซไซม์ (lysozyme) สารที่เกี่ยวกับปฏิกิริยาจับกลุ่มหรือแอ็กกลูตินิน (agglutinin) สารที่เกี่ยวกับปฏิกิริยาการตกตะกอน (precipitin) เอนไซม์ในการย่อยสลายแบคทีเรีย (antibacterial lytic enzymes) ทรานส์เฟอร์ริน (transferrin) (Yousif et al., 1995) คอมพลีเมนต์ และอินเตอร์เฟอรอน (interferon) (Alexander and Ingram, 1992)

ไลโซไซม์ (lysozyme) เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งในกลุ่ม hydrolase มีคุณสมบัติในการตัดพันธะ β-1, 4 ไกลโคซิดิกระหว่าง N-acetylglucosamine และ N-acetylmuramic acid ซึ่งโพลิเมอร์เหล่านี้เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียทำให้ผนังเซลล์เกิดรอยแยกได้ ไลโซไซม์จึงเป็นเอนไซม์ที่ในการป้องกันเชื้อโรค ซึ่งเกี่ยวข้องกับการกำจัดแบคทีเรียที่สำคัญของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ โดยสามารถทำลายมิวโคพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกทำให้เซลล์เกิดรอยแยก ส่วนผนังเซลล์ชั้นนอกสุดของแบคทีเรียแกรมลบเป็นพวกลิโพโปรตีน แต่ถ้ามีแอนติบอดีกับคอมพลีเมนต์เข้าช่วยทำลายชั้นลิโพโปรตีนก่อน ไลโซไซม์ผลิตมาจากเซลล์ที่ทำหน้าที่จับสิ่งแปลกปลอม แล้วปล่อยมาในกระแสเลือดซึ่งจะอยู่ในส่วนของน้ำเลือด (Dalmo et al., 1997) กิจกรรมของไลโซไซม์จะขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของร่างกายหรือตัวปลา ความเครียด และปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ

2. เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน

เซลล์ (innate cellular immune response) ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน แบ่งเป็นเซลล์กลุ่มที่ทำาหน้าที่เก็บกินสิ่งแปลกปลอม (phagocytic cells) ได้แก่ macrophages และ neutrophils การทำลายสิ่งแปลกปลอมอาศัยสารในกลุ่ม reactive oxygen species และการทำงานของเอนไซม์ที่ออกฤทธิ์ย่อยทำลายเซลล์เชื้อโรค เซลล์อีกชนิดที่พบในปลา คือ กลุ่ม non-specific cytotoxic cells ซึ่งทำหน้าที่คล้ายกับ natural killer cells คือทำลายเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสและเซลล์มะเร็ง (Esteban et al., 2008)

ฟาโกไซติกเซลล์ (phagocytic cell) ทำหน้าที่จับกินเชื้อโรค สิ่งแปลกปลอมหรือกำจัดเซลล์ที่ตายแล้ว โดยถูกการทำงานได้จากสารหรือชิ้นส่วนของแบคทีเรีย C5a และสารขับหลั่งจากเซลล์ (cytokines) ขั้นตอนแรกของการจับเซลล์เชื้อโรคจะจับเข้ากับผิวเซลล์ฟาโกไซต์ ในการจับกันจะต้องการอนุภาคประจุบวก เช่น Ca^{2+} หรือ Mg^{2+} และการจับกินจะดีขึ้นเมื่อมีออพโซนิน (opsonin) เป็นสารช่วยให้เกิดฟาโกไซโตซิส หลังจากนั้นเซลล์ฟาโกไซท์จะยื่นเท้าเทียม (pseudopod) ออกไปล้อมเชื้อโรคเมื่อเยื่อหุ้มเซลล์ของฟาโกไซท์มาเชื่อมกัน จะทำให้เซลล์เชื้อโรคหลุดเข้ามาภายในกลายเป็นฟาโกโซม์ (phagosome) ต่อมาไลโซโซม หรือแกรนูล (granule) ของฟาโกไซต์จะจะเคลื่อนมารวมกับฟาโกโซมกลายเป็นฟาโกไลโซโซม (phagolysosome) แล้วปล่อยเอนไซม์ออกมาย่อยเชื้อโรค หลังจากนั้นจะปล่อยส่วนที่ทำลายแล้วออกนอกเซลล์ (โสมทัต, 2538) ในกระบวนการย่อยเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอม ฟาโกไซติกเซลล์จะมีการใช้ออกซิเจนอย่างมากเรียกว่าเรสพิราโทรี-เบริท์ส (respiratory burst) หรือออกซิเดทีฟ-เบริท์ส (oxidative burst) โดยการทำงานของเอนไซม์ NADPH oxidase และออกซิเจนจะถูกเปลี่ยนไปเป็นซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion, O_2^-) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียสูง อีกทั้งเซลล์

เม็ดเลือดขาวที่มีแกรนูล จะปล่อยเอนไซม์ myeloperoxidase ออกมาเพื่อไปกระตุ้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้เปลี่ยนรูปเป็นโคโลราไมด์ (choloramines) และซิงค์เลทออกซิเจน (singlet oxygen) ซึ่งมีศักยภาพในการทำลายเชื้อแบคทีเรียและไวรัส (Verlhac et al., 1996)

สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immunostimulants) เพื่อช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้ปลามีสุขภาพที่ดี แข็งแรง มีความต้านทานต่อโรค การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันนิยมทำโดยผสมอาหารให้ปลากินและฉีดเข้าสู่ตัวปลา เพื่อสามารถกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดขาวและการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเป็นหลัก สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่นิยมใช้กับสัตว์น้ำ เช่น พืชสมุนไพร สารสีไคติน ไคโตซาน วิตามิน กลูแคน (จากยีสต์) โพรไบโอติก เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้จะเพิ่มการทำงานของเซลล์ ที่ทำหน้าที่กลืนกินสิ่งแปลกปลอม กระตุ้นการตอบสนองของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน ทำให้มีการเพิ่มไลโซไซม์และปริมาณของแอนติบอดี และเพิ่มการยับยั้งการเกิดโรคแบคทีเรียในปลา (ชนกันต์, 2545)

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

อนุมูลอิสระ (free radicals) คือ สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอมหรือโมเลกุล พบได้ทุกแห่งในสิ่งมีชีวิตและในเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์ หรือจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจน ทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุล กลายเป็นอนุมูลอิสระและว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามากและสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุล อื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียรซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา นอกจากนี้อนุมูลอิสระสามารถทำลายชีวโมเลกุลทุกประเภท ทั้งในเซลล์และส่วนประกอบของเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น ลิพิด (lipid) โปรตีน (protein) เอนไซม์ (enzyme) ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) เซลล์เมมเบรน (cell membrane) คอลลาเจน (collagen) ไมโตคอนเดรีย (mitocondria) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissues) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เซลล์ตาย การเกิดการกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอในเซลล์และก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ อนุมูลอิสระนอกจากจะเกิดภายในสิ่งมีชีวิตแล้วอนุมูลอิสระสามารถเกิดจากภายนอกสิ่งมีชีวิตหรือในสิ่งแวดล้อม ได้แก่ การได้รับเชื้อโรค เช่น การติดเชื้อโรคไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (immune diseases) (Ames et al., 1993)

ในสภาวะที่ร่างกายเกิดการออกซิเดชันเกินสมดุลอาจเป็นสาเหตุให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมา โดยการเกิดสภาวะออกซิเดชันเกินสมดุลอาจเป็นผลมาจากสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารควบคุมสมดุลอนุมูลอิสระมีปริมาณลดน้อยลง ซึ่งอาจเกิดจากการกลายพันธุ์ของยีนที่ผลิตเอนไซม์คาตาเลส เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส และเอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส ส่งผลให้เอนไซม์เหล่านี้ ทำงานผิดปกติหรืออาจเกิดจากการเพิ่มขึ้นของสารอนุมูลอิสระภายในร่างกาย ซึ่งเป็นผลมาจากการที่ร่างกายถูกกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระมากเกินไป โดยสารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้จาก พืช ผัก และผลไม้ซึ่งมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น แคโรทีนอยด์ (carotenoids) เบตา-แคโรทีน (β-carotene) ฟลาโวนอยด์ (flavoniods) และฟีนิลโปรพานอยด์ (phenylpropanoids) เป็นต้น หรือเซลล์ของสิ่งมีชีวิตบางชนิด เช่น ไซยาโนแบคทีเรีย ซึ่งมีรงควัตถุที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและช่วยลดสภาวะออกซิเดชันเกินสมดุล เช่น ซี-ไฟโคไซยานิน และ ซี-อัลโลไฟโคไซยานิน เป็นต้น (สิชล, 2559)

สาหร่ายอาร์โธรสไปร่า

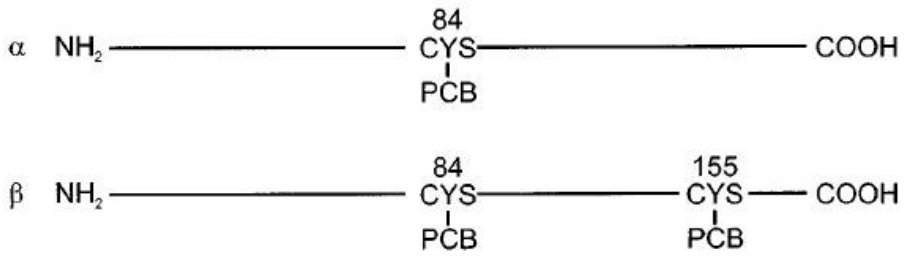
สาหร่ายอาร์โธรสไปร่า หรือสไปรูลินา หรือสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina plantensis*) มีความหมายว่า “เกลียว” เนื่องจากมีเส้นสาย (filament) ที่ขดบิดกันเป็นเกลียว สาหร่ายชนิดนี้จัดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae หรือ Cyanobacterium) เป็นสิ่งมีชีวิตประเภทโปรแคริโอต (prokaryote) คือ ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (ยุวดี, 2546) สามารถจัดจำแนกหมวดหมู่ตามหลักอนุกรมวิธาน ดังนี้ (Bold and Wynne, 1978; Venkataraman, 1983)

Kingdom Monera
Division Cyanophyta
Class Cyanophyceae
Order Oscillatoriales
Family Oscillatoriaceae
Genus *Spirulina* (*Arthrospira*)
Species *Spirulina platensis*

สาหร่ายอาร์โธรสไปร่ามีลักษณะเป็นเซลล์ทรงกระบอกหลายเซลล์เรียงต่อกันเป็นเส้นสายตรงหรือขดเป็นเกลียว หรือเป็นวง ไม่มีกิ่งก้าน เรียกว่า ไตรโคม (trichome) เซลล์สาหร่ายอาร์โธรสไปร่ามีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-12 ไมโครเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางของเกลียว (Helix) ตั้งแต่ 35-50 ไมโครเมตร เซลล์สาหร่ายยังมีลักษณะที่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (Prokaryote) กรดนิวคลิอิค

กระจายอยู่ทั่วไปในเซลล์ ไม่มีพลาสติกหรือโครมาโตเฟอร์ ทำให้รงควัตถุกระจายอยู่ทั่วไปในไซโตพลาสซึม ผนังเซลล์เป็นผนังหลายชั้น มีองค์ประกอบของสารมิวโคโปรตีน (Mucoprotein) และเพคติน (Pectin) โดยผนังเซลล์ประกอบด้วยเยื่อหุ้มชั้นนอก (Outer membrane) และเยื่อพลาสมา (Plasma membrane) ที่มีชั้นของเปปติโดไกลแคน (Peptidoglycan) แทรกอยู่ระหว่างเยื่อทั้งสอง และมีเยื่อไทลาคอยด์ (Thylakoid membrane) ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสง และเป็นแหล่งที่พบสารสี หรือรงควัตถุสังเคราะห์แสงต่าง ๆ เช่น คลอโรฟิลล์-เอ (chlorophyll-a), คาโรทีนอยด์ (carotenoids), ไฟโคไซยานิน (phycocyanin) และอัลโลไฟโคไซยานิน (allophycocyanin) มี Gas vacuole ขนาดใหญ่อยู่ภายในไซโตพลาสซึม ทำให้สาหร่ายสามารถลอยตัวได้ดี (จงกล และขจรเกียรติ, 2548) มีการรายงานเกี่ยวกับการเสริมสาหร่ายสไปรูลินาในอาหารเพื่อการเจริญเติบโต อัตรารอดที่เพิ่มขึ้น และรายงานเกี่ยวกับการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน Watanuki et al. (2006) กล่าวว่าสาหร่ายสไปรูลินาได้รับพิจารณาในเรื่องของการปรับตัวของโฮสต์ในระบบภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่ายสไปรูลินาเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ช่วยยับยั้งการพัฒนาของมะเร็งและการติดเชื้อไวรัสในคน (Hirahashi et al., 2002) กระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในปลาหนัง (Duncan and Klesius, 1996) ปลาไน (Watanuki et al., 2006) ปลานิล (Ragap et al., 2012) ปลาสเตอร์เจียน (Adel et al., 2016) ปลาทอง (ธัชศึก และคณะ, 2554) และปลาดุกรัสเซีย (จงกล และคณะ, 2552)

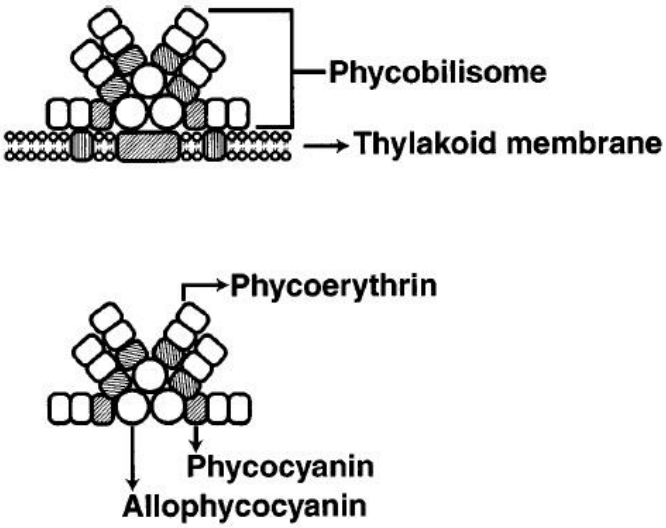
สาหร่ายอาร์โธรสไปร่าจะประกอบไปด้วยโครงสร้างของโปรตีนที่เรียกว่า ไฟโคบิลิโซม ซึ่งมีหน้าที่เก็บเกี่ยวพลังงานจากแสงแดดแล้วถ่ายเทพลังงานดังกล่าวผ่านเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ (Thylakoid membrane) แล้วเข้าสู่ระบบการสังเคราะห์แสงของเซลล์ ประกอบด้วย 2 หน่วยย่อย คือ ไฟโคบิลิโปรตีนและสายพอลิเพปไทด์ที่เป็นตัวเชื่อมโยง โดยไฟโคบิลิโปรตีนประกอบด้วย2 ส่วนย่อย คือ อะโพโปรตีนและไบลิน ซึ่งทั้งสองส่วนนี้จะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไทโออีเทอร์ (มณชัย, 2555)



ภาพที่ 1 ตำแหน่งการเกิดพันธะระหว่างบิลินกับอะโพโปรตีนของไฟโคไซยานิน

ที่มา: MacColl (1998)

ไฟโคบิลิโปรตีนซึ่งยึดอยู่บริเวณผนังด้านนอกของไทลาคอยด์ ไฟโคบิลิโปรตีนเป็นโมเลกุลที่ละลายน้ำได้ดี เกิดจากการรวมกันของซี-ไฟโคไซยานิน (C-phycocyanin) แอลโลไฟโคไซยานิน (Allophycocyanin) ซี-ไฟโคอิริทริน (C-phycoerythrin) และไฟโคอิริโทรไซยานิน (Phycoerythocyanin) (วันเพ็ญ, 2549)



ภาพที่ 2 การจัดเรียงตัวของไฟโคบิลิโซม (บน) และการจัดเรียงตัวขององค์ประกอบหลักในไฟโคบิลิโซม (ล่าง)

ที่มา: MacColl (1998)

ซี-ไฟโคไซยานิน (C-phycocyanin)

C-phycocyanin เป็นรงควัตถุสีน้ำเงินซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของไฟโคบิลิโปรตีนที่ผลิตจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ประกอบด้วยธาตุแมกนีเซียมกับธาตุเหล็ก จึงทำให้สาหร่ายสไปรูลินาแลดูเป็นสีน้ำเงินเข้ม เมื่อรวมกับคลอโรฟิลล์ซึ่งเป็นสีเขียว จึงทำให้สาหร่ายสไปรูลินาเห็นเป็นสีน้ำเงินเขียว และ C-phycocyanin ในสาหร่ายเป็นโปรตีน สาหร่ายจึงเป็นแหล่งผลิตเอนไซม์ที่สำคัญส่วนใหญ่จะทำหน้าที่ต้านหรือทำลายอนุมูลอิสระ (สมศักดิ์, 2547) จากการศึกษาพบว่า phycocyanin มีประโยชน์อย่างมากในทางอุตสาหกรรมและเภสัชกรรม ด้วยคุณสมบัติของรงควัตถุที่ทำให้เกิดสีในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (วันเพ็ญ, 2549) มีการนำรงควัตถุที่สาหร่ายผลิตไปใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม เพื่อเป็นสารแต่งสีจากธรรมชาติแทนการใช้สารแต่งสีสังเคราะห์มากมาย โดยใช้ผสมในยา เครื่องสำอางค์ ลิปสติก อายไลเนอร์ และอาหารบางชนิด (Mary Leema et al., 2010)

นอกจากคุณสมบัติที่ให้สีแล้ว ยังมีคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Patel et al., 2005) มีการศึกษาพบว่า C-phycocyanin มีคุณสมบัติที่สามารถกำจัดสารอนุมูลอิสระได้ โดยการสร้างพันธะหรือให้อิเล็กตรอนกับโมเลกุลที่เป็นอนุมูลอิสระ เช่น อนุมูลอิสระแอลคอกซี (alkoxy radical) นุมูลอิสระไฮดรอกซี (hydroxyl radical) อนุมูลอิสระเปอร์ออกซี (peroxyl radical) อนุมูลอิสระเปอร์ออกซีไนไตรท (peroxinitrite) อนุมูลอิสระ DPPH และอนุมูลอิสระ ABTS เป็นต้น ส่งผลให้เกิดความเสถียรของอิเล็กตรอนช่วยปกป้อง และลดความรุนแรงจากการทำปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระภายในเซลล์ได้ ช่วยป้องกันเซลล์สมองถูกทำลาย (neuroprotective) (Romay et al., 2003) และเป็นสารต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) (Bhat and Madyastha, 2001; Reddy et al., 2003; Romay et al., 1998)

ปริมาณ C-phycocyanin ตามธรรมชาติของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินแต่ละชนิดมีปริมาณไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ อายุของสาหร่าย ความเข้มแสง คุณภาพแสง และเงื่อนไขการเจริญเติบโต (Ajayan et al., 2012) การสกัดไฟโคไซยานินในปัจจุบันอาศัยหลักการทำลายผนังเซลล์เพื่อให้ไฟโคไซยานินซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของเยื่อไทลาคอยด์จะถูกปลดปล่อยออกสู่ภายนอกเซลล์ โดยสามารถทำได้หลายวิธี แต่สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ (1) การใช้แรงกล เช่น เครื่องบดคลื่นอัลตราโซนิก และการใช้แรงดันสูง (2) การทำลายทางกายภาพ เช่นความร้อน หรือการแช่เยือกแข็งสลับกับการละลาย และ (3) การย่อยด้วยเอนไซม์หรือสารเคมี อย่างไรก็ตาม วิธีที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดไฟโคไซยานินในสาหร่ายแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกัน (ราเชนทร์, 2552)

ต้นทุนการผลิต

ต้นทุนการผลิต หมายถึง รายจ่ายที่เกิดขึ้นในองค์กรเนื่องจากการดำเนินกิจการหนึ่ง เพื่อให้ได้สินค้าหรือบริการชนิดใดชนิดหนึ่ง การจัดประเภทต้นทุนที่แยกตามพฤติกรรมของต้นทุนมี 2 ประเภท (ซัลมา และเสาวลักษณ์, 2564)

1. ต้นทุนคงที่ (Fixed Cost) หรือค่าใช้จ่ายสำหรับปัจจัยคงที่ทุกชนิดที่หน่วยธุรกิจใช้อยู่ในการผลิต ต้นทุนโดยรวมที่เกิดขึ้นจะคงที่ไม่เปลี่ยนแปลงไปตามกิจกรรมหรือตามจำนวนสินค้าที่ผลิต เช่น ค่าเสื่อมราคากระชัง ค่าเสื่อมราคาเครื่องบดอาหาร ค่าเสื่อมราคาอาคารหรือโรงเรือน

2. ต้นทุนผันแปร (Variable Cost) คือ ค่าใช้จ่ายสำหรับปัจจัยผันแปรทุกชนิดที่หน่วยธุรกิจใช้ในการผลิต โดยต้นทุนชนิดนี้เป็นต้นทุนที่เปลี่ยนแปลงไปตามปริมาณการผลิต คือ ถ้าผลิตสินค้าจำนวนมากต้นทุนผันแปรก็จะมากขึ้น ผลิตน้อยต้นทุนผันแปรก็จะน้อย หากไม่ผลิตเลยต้นทุนผันแปรก็จะไม่เกิดขึ้น เช่น ค่าลูกพันธุ์ปลา ค่าอาหารปลา ค่าเวชภัณฑ์ ค่าแรงงาน และค่าไฟฟ้า สามารถแยกต้นทุนผันแปรที่เป็นเงินสด และต้นทุนผันแปรที่ไม่เป็นเงินสด คือ

2.1 ต้นทุนผันแปรที่เป็นเงินสด เป็นค่าใช้จ่ายที่ผู้ผลิตจ่ายออกไปเป็นตัวเงินในการซื้อปัจจัยการผลิต เช่น ค่าลูกพันธุ์ปลา ค่าอาหารปลา ค่าเวชภัณฑ์ ค่าแรงงาน ค่าไฟฟ้า

2.2 ต้นทุนผันแปรที่ไม่เป็นเงินสด เป็นค่าใช้จ่ายที่ผู้ผลิตไม่ได้จ่ายออกไปเป็นตัวเงิน เนื่องจากใช้ปัจจัยการผลิตของตนเองหรือครอบครัว เช่น ค่าแรงงาน

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Ragap et al. (2012) ศึกษาพารามิเตอร์การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ได้แก่ ขบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอม (Phagocytosis activity) กิจกรรมไลโซไซม์ (Lysozyme activity) ความต้านทานเชื้อแบคทีเรีย และตรวจสอบระดับแอนติบอดีในปลานิลเมื่อได้รับสาหร่ายสไปรูลินา พบว่าปลานิลที่ได้รับสาหร่ายสไปรูลินา 10 มิลลิกรัม เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ช่วยเพิ่มการตอบสนองระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและไม่จำเพาะ ปลานิลที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสไปรูลินาเมื่อได้รับวัคซีนเชื้อสามารถต้านทานเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ได้ 80 เปอร์เซ็นต์ และอัตรารอด 70 เปอร์เซ็นต์ ชี้ให้เห็นว่าสาหร่ายสไปรูลินามีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของปลานิล

Ibrahem et al. (2013) ศึกษาผลของสาหร่ายสไปรูลินาแห้งที่ใช้ผสมอาหารในระดับต่าง ๆ คือ 0, 5, 7.5, 10, 15, 20 กรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม ต่อการเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ และความต้านทานต่อเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* ในปลานิล เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าที่ปริมาณสาหร่ายสไปรูลินา 10 กรัมต่อกิโลกรัม มีอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายดีที่สุด ค่า hematocrit, nitroblue tetrazolium and lysozyme activity มีค่าเพิ่มขึ้น และเมื่อทดสอบความต้านทานเชื้อพบว่ามีอัตราการตายลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

Satyantini et al. (2014) ศึกษาผลของ phycocyanin จากสาหร่ายสไปรูลินาต่อจำนวนเม็ดเลือด กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม และการเจริญเติบโตของปลากะรังหน้างอน *Cromileptes altivelis* ที่ได้รับอาหารผสม phycocyanin ที่ระดับ 0, 150, 250, 350, 450 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัมเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าปลากะรังหน้างอนที่ได้รับอาหารที่มี phycocyanin 250 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ช่วยเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดขาว กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม และการเจริญเติบโตดีที่สุด

Adel et al. (2016) ศึกษาการเสริมสาหร่าย *Spirulina platensis* ในระดับต่าง ๆ (0%, 2.5%, 5% และ 10%) ต่อการเจริญเติบโต กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร สารน้ำและเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ และความต้านทานโรคในปลาสเตอร์เจียน พบว่าพารามิเตอร์การเจริญเติบโต จำนวนแบคทีเรียผลิตกรดแลคติค กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสและไลเปส มีค่าสูงในอาหารทดลองที่เสริมสาหร่ายสไปรูลินาที่ 10 เปอร์เซ็นต์ ในทำนองเดียวกัน respiratory burst

activity ของเซลล์เม็ดเลือดขาว และโปรตีนรวมมีค่าสูงด้วย นอกจากนี้การเสริมสาหร่ายสไปรูลินาที่ 5 และ10 เปอร์เซ็นต์ มีค่า IgM และไลโซไซม์ มีค่ามากกว่าการทดลองอื่น ในทางตรงกันข้าม ไตรกลีเซอไรด์และจำนวนเม็ดเลือดขาวมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม โปรตีนรวม ไลโซไซม์ เอนไซม์โปรติเอส และเอสเทอร์เรส ตลอดจน การต้านทานโรคแบคทีเรีย (*Streptococcus iniae, Yersinia ruckeri, Aeromonas hydrophila* and *Lactococcus garviea*) มีค่าสูงในเมือกบริเวณผิวปลาที่ได้รับสาหร่ายสไปรูลินา 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ค่า alkaline phosphatase มีค่าสูงในปลาที่ได้รับสาหร่ายสไปรูลินาที่ 10 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ปลาที่ได้รับเชื้อ *Streptococcus iniae* มีอัตราการรอดตายที่สูงขึ้นเมื่อได้รับสาหร่ายสไปรูลินา ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมสาหร่ายสไปรูลินา 10 เปอร์เซ็นต์ อาจเป็นประโยชน์ในการรักษาสุขภาพของปลาได้

Sayed et al. (2017) ศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายสไปรูลินาต่อสภาวะเครียดออกซิเดชันและสารก่อมะเร็ง พบว่าการเสริมสาหร่ายสไปรูลินา 0.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถป้องกันตับอักเสบของปลาดุกรัสเซียที่เกิดจากสารตะกั่วได้ โดยปริมาณ ROS มีค่าลดลง ลดการทำลายชีวโมเลกุลภายในร่างกาย คือ ดีเอ็นเอ สาหร่ายสไปรูลินาสามารถใช้ต้านโรคที่เกิดจากสภาวะเครียดออกซิเดชันและสารพิษได้

Biabani Asrami et al. (2019) ศึกษาการใช้ C-phycocyanin ที่สกัดจากสาหร่ายสไปรูลินาต่อการเจริญเติบโต สี เอนไซม์ย่อยอาหาร และคุณค่าทางโภชนาการ ของปลาหางนกยูง (*Poecilia reticulata*) พบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม C-phycocyanin 0.15 เปอร์เซ็นต์ กระตุ้นการเจริญเติบโต และเอนไซม์ย่อยอาหารได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม C-phycocyanin 0.05, 0.10 และ 0 เปอร์เซ็นต์ และปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม C-phycocyanin เพิ่มเม็ดสีในปลาได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับชุดควบคุม 0 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Hassaan et al. (2021) เปรียบเทียบผลของ β-carotene และ phycocyanin ที่สกัดจากสาหร่ายสไปรูลินา ต่อ immune-oxidative stress biomarkers, genes expression and intestinal enzymes และserum biochemical ในปลานิล พบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสม phycocyanin 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำให้น้ำหนักเพิ่มขึ้น อัตราการแลกเนื้อดีที่สุด และมีอัตรารอดสูงที่สุด ทั้ง β-carotene และ phycocyanin ช่วยเพิ่มเอนไซม์ย่อยอาหารในลำไส้ เมื่อเทียบกับอาหารควบคุม โดย chymotrypsin, trypsin, lipase และ amylase มีค่าสูงสุดในปลาที่เลี้ยงด้วย phycocyanin ค่าโลหิตวิทยามีค่าสูงสุดเมื่อเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารควบคุม และปลานิลที่ได้รับ phycocyanin ส่งผลให้ phagocytic, lysozyme, immunoglobulin M (IgM), superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GPx) and total antioxidant capacity (T-AOC) มีค่าสูงที่สุด

จงกล และคณะ (2550) ศึกษาการเจริญเติบโต คุณค่าทางโภชนาการ และคาโรทีนอยด์ ของปลานิลแดง พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของสาหร่ายสไปรูนาสด 55เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตาย และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนดีที่สุด และทำให้คุณค่าทางโภชนาการ และปริมาณของคาโรทีนอยด์รวมในเนื้อปลาเพิ่มขึ้น

จงกล และคณะ (2553) ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ในน้ำทิ้งจากโรงอาหาร เพื่อเป็นอาหารในการอนุบาล และเลี้ยงปลาแฟนซีคราฟ แบบยั่งยืน มีการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ในสูตรอาหาร Modified Zarrouk's medium (MZm) และใช้น้ำทิ้งจากโรงอาหาร (cafeteria water; Cw) ความเข้มข้น 10% ถึง 100% (10%Cw-100%Cw) เพาะเลี้ยงสาหร่ายในตู้กระจก พบว่า ผลผลิตของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงด้วย MZm และ 100%Cw มีผลผลิตสาหร่ายแห้งสูงสุด สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงใน 100%Cw และ MZm มีปริมาณ beta-carotene 0.27-0.28 mg/g, C-phycocyanin 8.27-17.77 mg/g, Linoleic acid 0.19-0.30 mg/g และโปรตีน 36.31-55.44% โดยน้ำหนักแห้ง น้ำทิ้ง 100%Cw และ 90%Cw มีค่า BOD, NH_3-N, NO_3-N, TKN, TN และ TP ลดลงมากกว่า MZm

ศึกษาผลของสไปรูลิน่าสด และผง (raw and powder *Spirulina*; RS and PS) ต่อการเจริญเติบโตและสารสีในรูปแคโรทีนอยด์ ในลูกปลาแฟนซีคร๊าฟ อนุบาลในบ่อซีเมนต์กลม นำลูกปลาน้ำหนัก 0.005กรัม/ตัว อัตราการปล่อย 500 ตัว/ตารางเมตร พบว่า ลูกปลาที่อนุบาลด้วย 10%PF/น้ำหนักตัวปลา/วัน และ10%PS/น้ำหนักตัวปลา/วัน มีค่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว อัตราการเจริญเติบโต อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการรอด มากกว่าลูกปลาที่อนุบาลด้วย 100%RS หลังการทดลองลูกปลาที่ได้รับอาหาร 100%RS และ 10%PS มีค่าแคโรทีนอยด์มากกว่าปลาที่ได้รับอาหาร 10%PF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ศึกษาผลของการใช้สไปรูลิน่าสด (raw *Spirulina*; RS) และผง (powder *Spirulina*; PS) ต่อการเติบโต ดัชนีการเจริญพันธุ์ สารสีแคโรทีนอยด์ และการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันในปลาแฟนซีคร๊าฟ ในกระชังทดลองขนาด 2 x 2 x 1 เมตร น้ำหนัก เฉลี่ย 10.33±1.53 - 11.33±1.16 กรัม/ตัว อัตราการปล่อย 30 ตัว/ตารางเมตร แบ่งการทดลองดังนี้ อาหารปลาทั่วไปโปรตีน 30% (Basal diets; BD), อาหารปลาทั่วไปโปรตีน 30% ผสมสไปรูลินาสด (BD+RS), อาหารปลาทั่วไปโปรตีน 30% ผสมสไปรูลินาผง (BD+PS) และให้อาหาร 5-10%/น้ำหนักตัวปลา/วัน และให้ออกซิเจนในเวลากลางคืน ระยะเวลา 12 เดือน พบว่าปลาแฟนซีคร๊าฟที่เลี้ยงด้วย BD+RS และ BD+PS มีอัตราการเจริญเติบโต น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ดัชนีการเจริญพันธุ์ สารสีแคโรทีนอยด์ และภูมิคุ้มกันมากกว่าปลาที่เลี้ยงด้วย BD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ธัชศึก และคณะ (2554) ศึกษาการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันและการปรับปรุงสีของปลาทอง โดยใช้อาหารที่ผสมด้วยสาหร่าย 2 ชนิด แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ 1 อาหารสำเร็จรูปหรือชุดควบคุม ชุดการทดลองที่ 2 และ3 อาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่ายสไปรูลินาผงร้อยละ 6 และร้อยละ12 ชุดการทดลองที่ 4 อาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่ายไกผงร้อยละ 6 เลี้ยงปลาทองน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น13.9 กรัม พบว่าการเติบโตของปลาในทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกัน ส่วนค่าเฉลี่ย Haematocrit ของปลาในชุดการทดลองที่ 2 มีค่าสูงสุดเท่ากับ ร้อยละ 44.0 และค่าเฉลี่ย Phagocytosis ของปลาในชุดการทดลองที่ 3 มีค่าสูงสุดเท่ากับร้อยละ 62.7

จงกล และคณะ (2550) ศึกษาผลของการใช้สไปรูลินาสด (raw *Spirulina*; RS) ต่อการเติบโต และการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันในลูกปลานิลแดง พบว่า ลูกปลาที่อนุบาลด้วย 100%RS มีอัตราการรอด และภูมิคุ้มกันมากกว่าลูกปลาที่อนุบาลด้วย 80%RS, 60%RS และ 10%PF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% สรุปได้ว่าการใช้สไปรูลินาสดเป็นอาหารอนุบาลลูกปลานิลแดงมีผลทำให้อัตรารอด ภูมิคุ้มกัน จำนวนเม็ดเลือดแดง และจำนวนเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น

แก้วตา และคณะ (2559) ศึกษาผลของสาหร่ายสไปรูลินาผงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลาอีกง เลี้ยงปลาน้ำหนักเริ่มต้น 0.66±0.03 กรัม ปล่อยในอัตราความหนาแน่น 30 ตัวต่อบ่อ บ่อปูนซีเมนต์ขนาด 300 ลิตร ให้อาหารสาหร่ายสไปรูลินา 4 ระดับ คือ 0, 5, 10 และ 15% ตามลำดับ พบว่าลูกปลาอีกงที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลินา 0, 5, 10 และ 15% ตามลำดับ มีน้ำหนักปลาเฉลี่ยเพิ่ม 1.10±0.03, 1.11±0.11, 1.16±0.07 และ 1.17±0.12 กรัมต่อตัว และมีอัตราการรอดตาย 100% ในทุกชุดการทดลอง และลูกปลาอีกงที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลินา 10% มีอัตราการเจริญเติบโตที่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการ

วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมี

1. การสกัด C-phycocyanin

1.1 เครื่องปั่นเหวี่ยง
1.2 หลอดปั่นเหวี่ยง (Centrifugal tube)
1.3 เครื่องชั่ง
1.4 ปิเปต
1.5 เครื่อง Spectrophotometer
1.6 ขวด Duran
1.7 ช้อนตักสาร
1.8 กระดาษชั่งสาร
1.9 เครื่อง Freeze drying
1.10 บีกเกอร์
1.11 ขวดวัดปริมาตร
1.12 แท่งแก้วคนสาร
1.13 ตู้แช่แข็ง
1.14 ตู้เย็น
1.15 Sodium dihydrogen orthophosphate dihydrate
1.16 di-Sodium hydrogen phosphate anhydrous

2. การอนุบาลลูกปลา

2.1 ลูกปลานิล
2.2 กระชัง
2.3 บ่อซีเมนต์
2.4 ถังไฟเบอร์
2.5 ตู้กระจก
2.6 เครื่องให้อากาศ

2.7 สายอากาศพร้อมหัวทราย

2.8 อาหารสำเร็จรูป

2.9 ส่วนประกอบทำฟลอค ได้แก่ โดโลไมด์ รำละเอียด อาหารปลาบดละเอียด กากน้ำตาล และตะกอนดิน

3. การวัดการเจริญเติบโต

3.1 กะละมัง

3.2 เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้า

3.3 ไม้บรรทัด

3.4 สวิง

4. การประเมินระบบภูมิคุ้มกัน

4.1 หลอดฉีดยา พร้อมเข็ม

4.2 ผ้า

4.3 ตะแกรงลวด

4.4 Conical tubes

4.5 Lithium heparin vacuum tube

4.6 Microplate reader

4.7 Micro tips

4.8 กล้องจุลทรรศ์

4.9 เครื่องปั่นเหวี่ยง

4.10 กล่องโฟม

4.11 สไลด์ และแผ่นปิดสไลด์

4.12 Autoclave

4.13 shaker

4.14 Petri dish

4.15 96-well plate

4.16 Micro pipette

4.17 Eppendorf tubes

4.18 สารละลาย RPMI 1640

4.19 น้ำกลั่น

4.20 Pen/step solution

4.21 Latex beads

4.22 Diff-Quick staining

4.23 Sodium phosphate buffer saline (PBS)

4.24 *Micrococcus lysodeikticus* (sigma, USA)

4.25 NBT (Sigma Aldrich)

4.26 Methanol 100%

4.27 Methanol 100%

4.28 2N KOH

4.29 Dimethyl sulfoxide (DMSO)

4.30 ถาด/กะบะ

5. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

5.1 เครื่อง pH meter

5.2 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) และ Cuvette

5.3 เทอร์โมมิเตอร์

5.4 กระดาษกรอง ยี่ห้อ WhatmanTM, UK ขนาด 125 mm.

5.5 กระดาษกรอง GF/C TM ยี่ห้อ WhatmanTM, UK ขนาด 47 mm.

5.6 ชุดกรองน้ำพร้องปั้มสุญญากาศ (Vacuum pump)

5.7 Imhoft cone

5.8 ตู้อบความร้อน

5.9 เครื่องวัด DO แบบอิเล็คโทรนิค (DO meter)

5.10 ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ

5.11 ขวดรูปชมพู่

5.12 ปิเปต

5.13 ลูกยางสามทาง

5.14 กรวยกรอง

5.15 กระบอกตวง

5.16 หลอดหยด (Dropper)

5.17 ขวดปรับปริมาตร

5.18 หลอดทดลอง

5.19 Oxidizing solution

5.20 Rochelle salt solution (Sodium potassium tartrate tetrahydrate

5.21 Phenate solution

5.22 Diazotizing reagent

5.23 Coupling reagent

5.24 Copper sulfate

5.25 ฟีนอล

5.26 ไฮดราซีนซัลเฟต

5.27 Ammonia molybdate solution

5.28 Stannous chloride Solution

5.29 Sulfuric acid

5.30 Ammonium persulfate

5.31 NaOH

5.32 Acetone90%

5.33 บีกเกอร์

6. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

6.1 หลอดย่อยโปรตีน Kjeldahl flask

6.2 ขาตั้ง (Stand) และบิวเรท (Burette)

6.3 Erlenmeyer flask

6.4 เครื่องย่อย (Digestion apparatus)

6.5 เครื่องกลั่น (Distillation apparatus)

6.6 น้ำกลั่น

6.7 กระบอกตวง (Cylinder)

6.8 ลูกแก้ว

6.9 อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (Soxtherm)

6.10 หลอดใส่ตัวอย่าง (Thimble)

6.11 สำลี

6.12 ตู้อบไฟฟ้า (Hot Air Oven)

6.13 โถดูดความชื้น (Desiccator)

6.14 Acetone

6.15 เครื่องสกัดเยื่อใย

6.16 เตาให้ความร้อน

6.17 เครื่องชั่ง

6.18 Glass crucible

6.19 ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Porcelain crucible)

6.20 Hot plate

6.21 เตาเผา (Muffle furnace)

6.22 ตู้ดูดควันพิษ (Hood)

6.23 หลอดทดลอง

6.24 คีมคีบ

6.25 สารเร่งปฏิกิริยา Sodium sulfate : copper sulfate อัตรา 20 : 1 หรือ

6.26 Potassium sulfate : copper sulfate อัตรา 15 : 1

6.27 Screened methyl red indicator

6.28 NaOH (45%)

6.29 H_2SO_4 เข้มข้น

6.30 Hexane

วิธีการศึกษา

1. การวางแผนการทดลอง

การวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 ระดับห้องปฏิบัติการ (ตู้กระจก) เพื่อศึกษาปริมาณของ C-phycocyanin ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ด้วยอาหารผสม C-phycocyanin ในระดับที่แตกต่างกัน โดยแบ่งออกเป็น 5 ชุดการทดลอง (Treatment) แต่ละชุดการทดลองแบ่งออกเป็น 3 ซ้ำ (Replication) ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารสำเร็จรูป (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 อาหารสำเร็จรูป + สารสกัดC-phycocyanin 0.1 %

ชุดการทดลองที่ 3 อาหารสำเร็จรูป + สารสกัดC-phycocyanin 0.3 %

ชุดการทดลองที่ 4 อาหารสำเร็จรูป + สารสกัดC-phycocyanin 0.5 %

ชุดการทดลองที่ 5 อาหารสำเร็จรูป + สารสกัดC-phycocyanin 1 %

การทดลองที่ 2 ระดับอุตสาหกรรมขนาดย่อม (ทดลองในบ่อซีเมนต์) โดยจะเลือกชุดที่ดีที่สุดของการทดลองที่ 1 มาศึกษาเพิ่มเติม ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารสำเร็จรูป (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 อาหารสำเร็จรูป + สารสกัด C-phycocyanin 0.3 %

ชุดการทดลองที่ 3 อาหารสำเร็จรูป + สารสกัด C-phycocyanin 0.5 %

2. การเตรียมสารสกัด C-phycocyanin

สกัด C-phycocyanin โดยดัดแปลงจากวิธีของ Patel et al. (2005) และทิพาพร และคณะ (2559) ชั่งสาหร่ายอาร์โธรสไปร่าสดผสมกับสารละลาย sodium phosphate buffer (pH 7.0) ความเข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร ในอัตราส่วน 1:5 น้ำหนัก/ปริมาตร ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยง (Centrifugal tube) ขนาด 45 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส สลับกับการละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง (ทำการแช่เยือกแข็งสลับการละลาย 3-6 รอบ) นำสารแขวนลอยที่ได้มาปั่นแยกเซลล์ที่ 13,500 รอบต่อนาที นาน 20 นาที แล้วนำของเหลวใสสีฟ้าที่ได้มาปั่นเหวี่ยงอีก2 รอบ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280, 620 และ 652 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาคำนวณตามสูตรของ Patel et al. (2005)

2.1 ค่าความเข้มข้นของC-phycocyanin (Concentration of phycocyanin: C-PC) คำนวณด้วยสมการ

ความเข้มข้นของC-phycocyanin (มิลลิกรัม./มิลลิลิตร.) = $[OD_{620} - 0.474 (OD_{652})] / 5.34$

2.2 ค่าความบริสุทธิ์ของสารไฟโคไซยานิน (Extract Purity: EP) คำนวณด้วยสมการ

$$EP = OD_{620} / OD_{280}$$

2.3 ค่าปริมาณของสารไฟโคไซยานิน (Extraction Yield: Y) คำนวณด้วยสมการ

$$Y\ (mg/g) = (C\text{-}PC)\ V/\ DB$$

เมื่อ OD_{280} คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 nm

OD_{620} คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 nm

OD_{652} คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 652 nm

C-PC คือ ค่าความเข้มข้นของไฟโคไซยานิน (mg/ml)

V คือ ปริมาตรของบัฟเฟอร์ (ml)

DB คือ มวลของตัวอย่าง (g)

3. การเตรียมไบโอฟลอค

เติมหัวเชื้อไบโอฟลอค (ตะกอนดินจากบ่อปลานิล) โดโลไมท์ รำละเอียด อาหารปลาบดละเอียด และกากน้ำตาล ผสมทุกอย่างลงในน้ำที่เตรียมไว้ โดยควบคุมสัดส่วน C:N $\geq$ 15 พร้อมทำการเติมอากาศตลอดเวลา (ดัดแปลงจาก Avnimelech, 2015)

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของการเตรียมหัวเชื้อไบโอฟลอค

ส่วนประกอบของหัวเชื้อไบโอฟลอค	อัตราส่วน (กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร)
ตะกอนดิน	0.1
รำละเอียด	0.2
อาหารเม็ดบด	0.2
กากน้ำตาล	0.4
โดโลไมท์	0.1

4. สัตว์ทดลอง

นำลูกปลานิลที่ได้รับการแปลงเพศ (ฟาร์มเอกชน) ขนาดใบมะขาม ประมาณ 0.1 กรัม มาพักในถังไฟเบอร์ อัตราปล่อย 200-400 ตัว/ตารางเมตร ให้อาหารด้วยอาหารอนุบาลลูกปลาสำเร็จรูป เป็นเวลา 15 วัน เพื่อให้ลูกปลาปรับสภาพ ก่อนสุ่มนับและชั่งน้ำหนักรวมของปลาในแต่ละกระชัง เพื่อหาค่าเฉลี่ยน้ำหนักของลูกปลาเริ่มต้นเพื่อปล่อยลงเลี้ยงในบ่อทดลอง

การทดลองที่ 1 ใช้ลูกปลานิลขนาด 0.41±0.01 กรัมต่อตัว มาอนุบาลในตู้กระจกที่บรรจุน้ำ 50 ลิตร อัตราการปล่อยลูกปลานิล 400 ตัวต่อตารางเมตร ให้อากาศตลอดการทดลอง

การทดลองที่ 2 ใช้ลูกปลานิลขนาด 0.35±0.01 กรัมต่อตัว มาอนุบาลในบ่อซีเมนต์ อัตราการปล่อยลูกปลานิล 50 ตัวต่อตารางเมตร (เปรียบเทียบกับบ่อดินเชิงพาณิชย์ทั่วไป) ให้อากาศตลอดการทดลอง

5. อาหารทดลองและการให้อาหาร (ทั้ง 2 การทดลอง)

นำสารสกัด C-phycocyanin ตามอัตราส่วนที่กำหนดต่อปริมาณอาหารผสมกับอาหารเม็ดสำเร็จรูป โดยผสมสารสกัด C-phycocyanin กับน้ำกลั่น นำไปสเปรย์ลงในอาหารผสมให้ทั่ว จากนั้นนำอาหารทดลองมาผึ่งลมให้แห้งในที่ร่ม และมีอากาศถ่ายเทได้สะดวก เก็บอาหารทดลองไว้ในภาชนะที่ทึบแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น เพื่อเป็นอาหารในการอนุบาลลูกปลานิลต่อไป โดยให้อาหาร 7% ของน้ำหนักตัวต่อวัน วันละ 3 ครั้ง พร้อมปรับปริมาณอาหารที่ให้ทุก 15 วัน ตลอดระยะเวลาอนุบาล

90 วัน และวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารที่ใช้ทดลอง ตามวิธีมาตรฐาน AOAC (1984) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปัจจัยและวิธีการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหาร

ปัจจัยที่วิเคราะห์	วิธีการ/เครื่องมือ
ความชื้น (Moisture)	โดยการอบแห้งที่ 105 องศาเซลเซียสนาน 2 ชั่วโมง
เถ้า (Ash)	โดยการเผาใน muffle furnace 600 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง
โปรตีน (Protein)	โดย micro-Kjeldahl
ไขมัน (Lipid)	โดยวิธี dichloromethane extraction ตาม Soxlhet method
เยื่อใย (Fiber)	โดยวิธี fritted glass crucible
ไฟโคไซยานิน (Phycocyanin)	ดัดแปลงจาก ทิพาพร (2559)

ตารางที่ 3 คุณค่าทางโภชนาการของอาหารแต่ละชุดการทดลอง

คุณค่าทางโภชนาการ	ระดับC-phycocyaninที่ผสมในอาหาร (PFCP)				
	ควบคุม (PF)	0.1%	0.3%	0.5%	1%
ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	9.07±0.03	9.10±0.00	9.13±0.03	9.06±0.06	9.07±0.07
เถ้า (เปอร์เซ็นต์)	12.34±0.00	12.36±0.0	12.39±0.00	12.40±0.00	12.42±0.00
โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	31.55±0.00^{a}	32.04±0.04^{b}	32.09±0.03^{b}	32.17±0.01^{b}	32.25±0.07^{b}
ไขมัน (เปอร์เซ็นต์)	6.27±0.00^{a}	6.33±0.01^{a}	6.53±0.00^{b}	6.60±0.00^{c}	6.69±0.02^{c}
เยื่อใย (เปอร์เซ็นต์)	6.30±0.01^{a}	6.43±0.04^{b}	6.43±0.03^{b}	6.41±0.02^{b}	6.42±0.04^{b}
ไฟโคไซยานิน (มิลลิกรัมต่อกรัม)	0.07±0.00^{a}	0.22±0.00^{b}	0.24±0.03^{b}	0.32±0.00^{c}	0.35±0.00^{c}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

6. การวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโตและต้นทุนในการผลิตลูกปลา (ทั้ง 2 การทดลอง)

ชั่งน้ำหนักปลา ทุก ๆ 15 วัน (สุ่มปลา 30 เปอร์เซ็นต์ของปลาแต่ละชุดการทดลอง) เพื่อทำการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต นำข้อมูลที่ได้หาค่าต่าง ๆ ดังนี้

6.1 น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (weight gain, WG; กรัมต่อตัว)

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น = น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มทดลอง

6.2 อัตราการเจริญเติบโต (Average daily growth; ADG; กรัมต่อตัวต่อวัน)

$$ADG = \frac{\text{น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง - น้ำหนักเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}}{\text{ระยะเวลาทดลอง}}$$

6.3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate, SGR; เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)

$$SGR = \frac{\ln\text{น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง - }\ln\text{น้ำหนักเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}}{\text{ระยะเวลาทดลอง}} \times 100$$

6.4 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate; FCR)

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

6.5 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Protein Efficiency Ratio; PER)

$$PER = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{ปริมาณโปรตีนที่กิน}}$$

6.6 ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Food conversion efficiency; FCE; เปอร์เซ็นต์)

$$FCE = \frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}}{\text{ปริมาณอาหารที่กิน}} \times 100$$

6.7 อัตราการรอดตาย (survival rate; เปอร์เซ็นต์)

$$\text{อัตราการรอดตาย} = \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}} \times 100$$

6.8 ต้นทุนในการผลิตลูกปลา = ราคาอาหารปลา + ต้นทุนพันธุ์ปลา

7. วิเคราะห์คุณภาพน้ำ (ทั้ง 2 การทดลอง)

ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำทุก 15 วัน จนสิ้นสุดการทดลองเพื่อหาค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ปัจจัยและวิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ปัจจัยที่วิเคราะห์	วิธีการ/เครื่องมือ
ไนไตรท์ ไนโตรเจน	โดยวิธีการเทียบสี
ไนเตรท ไนโตรเจน	โดยวิธีการไฮดราซีน
แอมโมเนีย ไนโตรเจน	โดยวิธีการ Indophenol method
ออร์โธฟอสเฟต ฟอสฟอรัส	โดยวิธีการ Stannous Chloride
อุณหภูมิน้ำและอากาศ	โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์
ความเป็นกรด-ด่าง	โดยใช้เครื่องวัด pH meter
ออกซิเจนที่ละลายน้ำ	โดยวิธี Azide modification

8. ตรวจสอบการสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในเนื้อเยื่อปลานิล (ทั้ง 2 การทดลอง)

เมื่อลูกปลาอายุครบ 60 และ 90 วัน สุ่มปลาในบ่อทดลอง นำลูกปลาที่สุ่มได้มาน๊อคด้วยน้ำเย็น โดยใช้ส่วนของเนื้อและลำไส้ มาตรวจสอบเพื่อหาปริมาณของสารสกัด C-phycocyanin ในเนื้อและลำไส้ ด้วยวิธีการเดียวกับการสกัด C-phycocyanin จากสาหร่ายอาร์โธรสไปร่า

9. ประเมินการตอบสนองภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ

เมื่อลูกปลาอายุครบ 60 และ 90 วัน สุ่มตัวอย่างปลาที่เลี้ยงในแต่ละชุดการทดลอง และเจาะเลือดบริเวณ Caudal vein เจาะตำแหน่ง 1/3 ห่างจากครีบทวารถึงหาง โดยเก็บตัวอย่างเลือด 0.5 มิลลิลิตร นำเลือดมาวิเคราะห์ความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ

9.1 ทดสอบการทำงานของ (lysozyme activity) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Puangkaew et al. (2004) โดยการแยกซีรัมจากตัวอย่างเลือด นำเลือดปลา 0.5 มิลลิลิตร ใส่ microtube ทิ้งให้เลือดแข็งตัว 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างเลือดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ด้วยเวลา 10 นาทีดูดซีรัมส่วนใสด้านบนเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส การวิเคราะห์กิจกรรมไลโซไซม์จะดูดซีรัม 25 ไมโครลิตรลงใน 96-well plate ตัวอย่างละ 2 ซ้ำแล้วเติมสารละลายแบคทีเรีย *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma) ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.05 โมลลาร์, pH 6.8) จำนวน 100 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่า

ดูดกลืนแสงทุก 5 นาทีที่ความยาวคลื่นแสง 450 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Microplate Reader หน่วยเป็นยูนิตต่อนาที (หนึ่งยูนิตเท่ากับปริมาณซีรัมที่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลง 0.001 ต่อนาที)

9.2 กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว (phagocytic activity) ใช้วิธีการดัดแปลงของ Diana et al. (2014) และ Yoshida and Kitao (1991) เจาะเลือดปลา 0.5-1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Heparin tube (DK medical service) ผสมกับ RPMI-1640 1 มิลลิลิตรนำเลือดมาค่อย ๆหยดในหลอด Polyethylene (conical tube) ที่มีสารแยกชั้น (Histopaque, Sigma) 3 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ 400x g เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แยกเม็ดเลือดขาวที่แยกชั้นอยู่ตรงกลางออกมาใส่ใน conical tube หลอดใหม่เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 3 มิลลิลิตร pH 7.4 แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 200x g เป็นเวลา 15 นาทีเทส่วนใสทิ้งทำซ้ำอีกครั้งเพื่อทำความสะอาดเซลล์ นำเม็ดเลือดขาวที่ได้ปรับความเข้มข้น $2x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นสไลด์ 200 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ล้างเซลล์เม็ดเลือดขาวออกด้วย RPMI-1640 แล้วเติม latex beads ความเข้มข้น $2x10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร จำนวน 200 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นสไลด์บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดกระบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว แล้วเทของเหลวที่อยู่ด้านบนสไลด์ออกแล้วล้างด้วย RPMI-1640 2 ครั้งตรึงเซลล์ด้วยเมธานอล แล้วนำไปย้อมด้วยวิธี Diff-Quick staining dye เป็นเวลา 10 วินาที แล้วล้างสไลด์ด้วย PBS (pH 7.4)

$$\text{Phagocytic activity} = \left(\frac{\text{จำนวนเซลล์ที่จับกิน beads}}{\text{จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมดที่นับได้}} \right) \times 100$$

9.3 กระบวนการผลิตซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (Respiratory burst activity) ใช้วิธีของ Diana et al. (2014) ที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Secombes (1990) นำเม็ดเลือดขาวจากวิธีการเดียวกับการจับกินสิ่งแปลกปลอม จำนวน 175 ไมโครลิตรปรับความเข้มข้น 6x106 เซลล์ต่อมิลลิลิตรในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ใส่ลงใน 96-well plate เติม Nitro Blue Tetrazolium (NBT) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรปริมาณ 25 ไมโครลิตรแล้วบ่มเป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ดูดส่วนใสด้านบนออก ด้วยไมโครปิเปตออกให้หมด แล้วล้างด้วยเมทานอล 100 เปอร์เซ็นต์ปริมาณ 125 ไมโครลิตรต่อหลุม ดูดส่วนใสออกแล้วล้างด้วยเมทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ปริมาณ 125 ไมโครลิตรต่อหลุมทำวิธีการเดิมซ้ำ จำนวน 2 ครั้ง แล้วดูดส่วนใสด้านบนออกให้มากที่สุดแล้วปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาทีหลังจากนั้นเติม 2 นอร์มอลโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (2N KOH) ปริมาณ 125 ไมโครลิตร แล้วเติมไดเมธิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) ปริมาณ 150 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 655 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ แบลงค์น้ำกลั่นแสดงผลเป็นการผลิต

O_2^- = (ค่าดูดกลืนแสงของแบลงค์ – ค่าดูดกลืนแสงที่ลดลงของ NBT ในตัวอย่างที่วิเคราะห์)

10. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวน One way ANOVA เพื่อศึกษาความแตกต่างระหว่าง Treatment ด้วยวิธี Duncan's Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

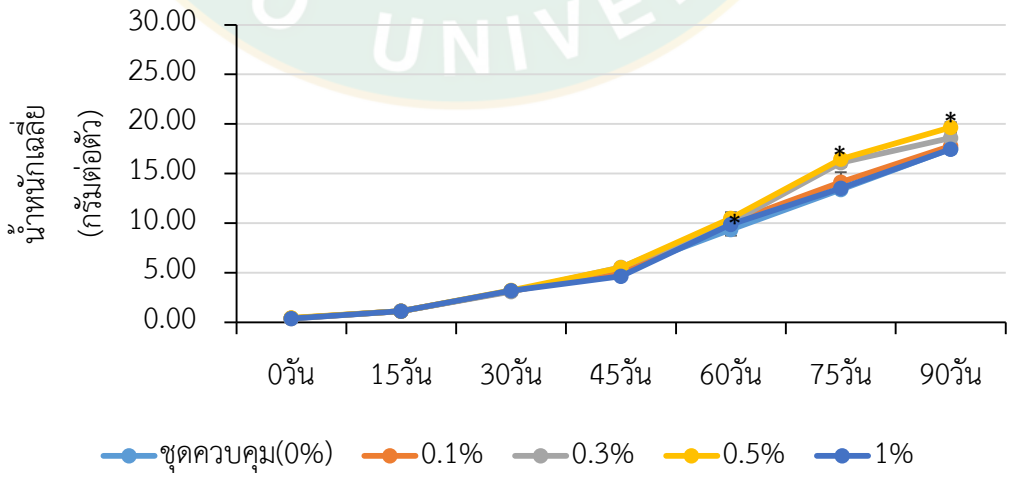
บทที่ 4
ผลการศึกษาและวิจารณ์

การทดลองใช้ C-phycocyanin จากสาหร่ายอาร์โธรสไปร่าผสมในอาหารต่อการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในลูกปลานิลที่อนุบาลในระบบไบโอฟลอค ได้แบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 ระดับห้องปฏิบัติการ (ตู้กระจก)

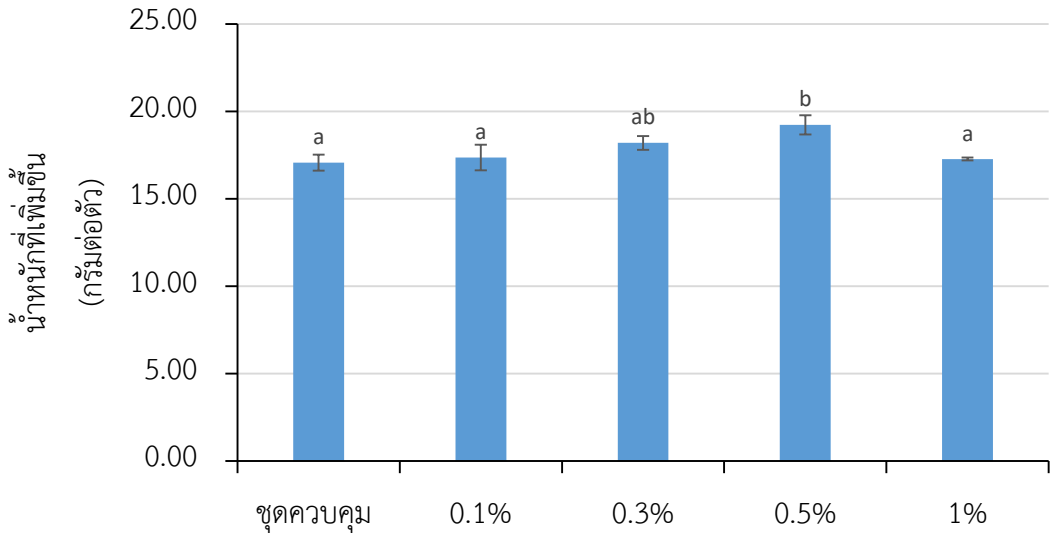
1. การเจริญเติบโต (Growth)

เริ่มต้นลูกปลามีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 0.4±0.01 กรัมต่อตัว จากการศึกษาพบว่า น้ำหนักเฉลี่ย (Average weight) ในแต่ละชุดการทดลองของลูกปลานิลที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นตามเวลาที่อนุบาล ตั้งแต่ในช่วง 15 วัน ถึง 45 วัน แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และเริ่มมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) ตั้งแต่ในช่วง 60 วันของการอนุบาลเป็นต้นไป เมื่อครบ 90 วัน ลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสมC-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 19.67±0.5 กรัม มากกว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1, 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 17.78±0.69, 17.49±0.45 และ 17.45±0.23 กรัม ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 น้ำหนักเฉลี่ยของลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตั้งแต่ 0 วัน ถึง 90 วัน

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain) พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 19.2±0.55 กรัม มากกว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1, 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 17.4±0.74, 17.3±0.08 และ 17.1±0.46 กรัม ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ลูกปลาที่ได้รับอาหารที่ผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4 และตารางที่ 5)



ภาพที่ 4 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน

อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (Average daily growth; ADG) ทั้ง 5 ชุดการทดลอง พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.21±0.01 กรัมต่อวัน มีค่ามากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1, 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.19±0.01, 0.19±0.00 และ 0.19±0.01 กรัมต่อวัน ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$) แต่ลูกปลาที่ได้รับอาหารที่ผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 5 และตารางที่ 5)

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate) พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.33±0.06 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน และลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารผสม C-phycocyanin 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.26±0.08 และ 4.26±0.07 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน และลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.17±0.12 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน และ

4.14±0.07 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน และทั้ง 5 ชุดการทดลองนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 5 และตารางที่ 5)

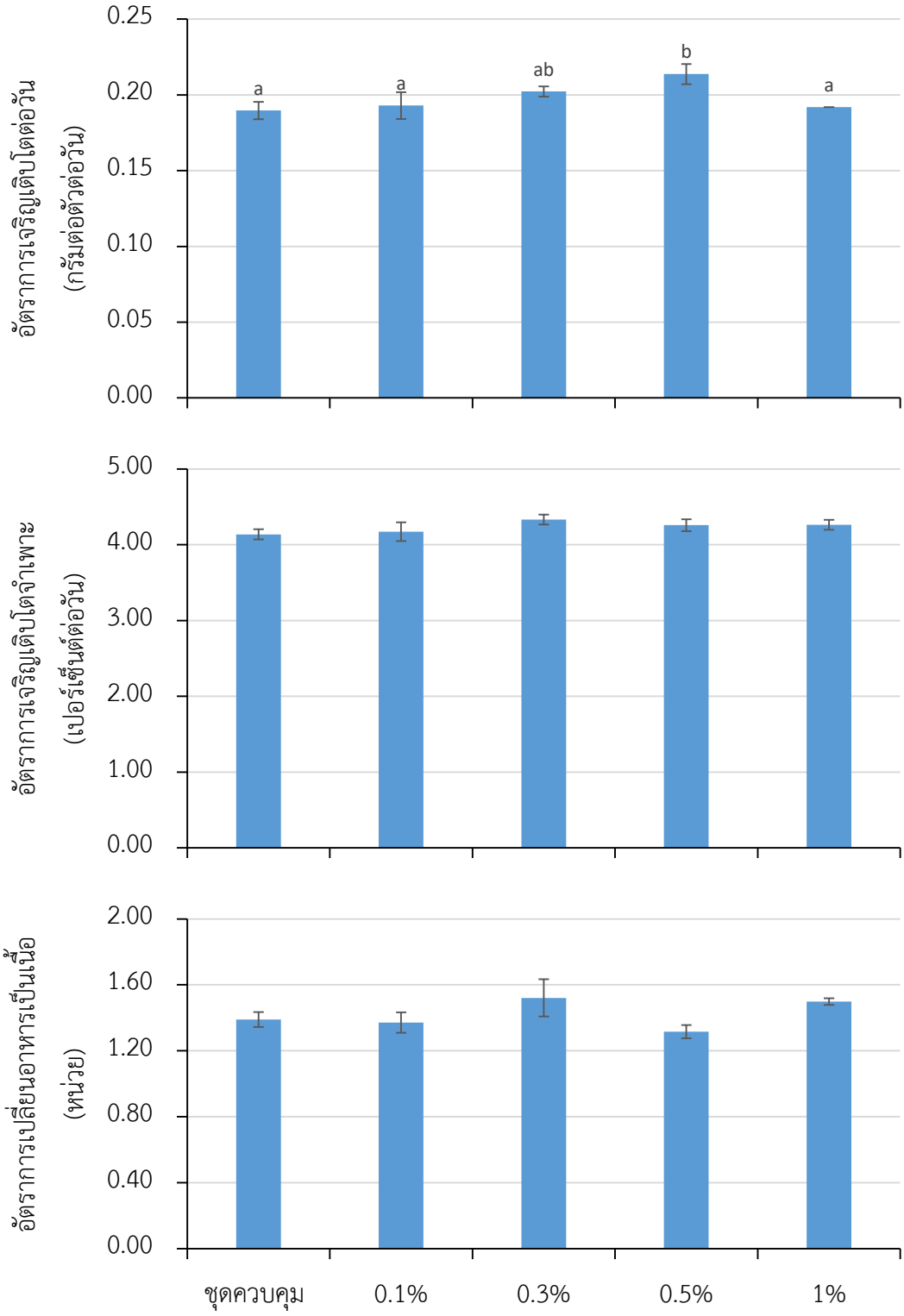
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion rate) ทั้ง 5 ชุดการทดลอง พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.32±0.04 หน่วย ดีกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1, 0.3, 1 เปอร์เซ็นต์ และลูกปลานิลที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.37±0.06, 1.52±0.10, 1.50.±0.10 และ 1.±0.05 หน่วย ตามลำดับ และเมื่อนำค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมาเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าทั้ง 5 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 5 และตารางที่ 5)

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Protein efficiency ratio) ทั้ง 5 ชุดการทดลอง พบว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.6±0.02 หน่วย มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1 เปอร์เซ็นต์ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.54±0.02, 0.54±0.00 และ 0.54±0.02 หน่วย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ลูกปลาที่ได้รับอาหารที่ผสมC-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 6 และตารางที่ 5)

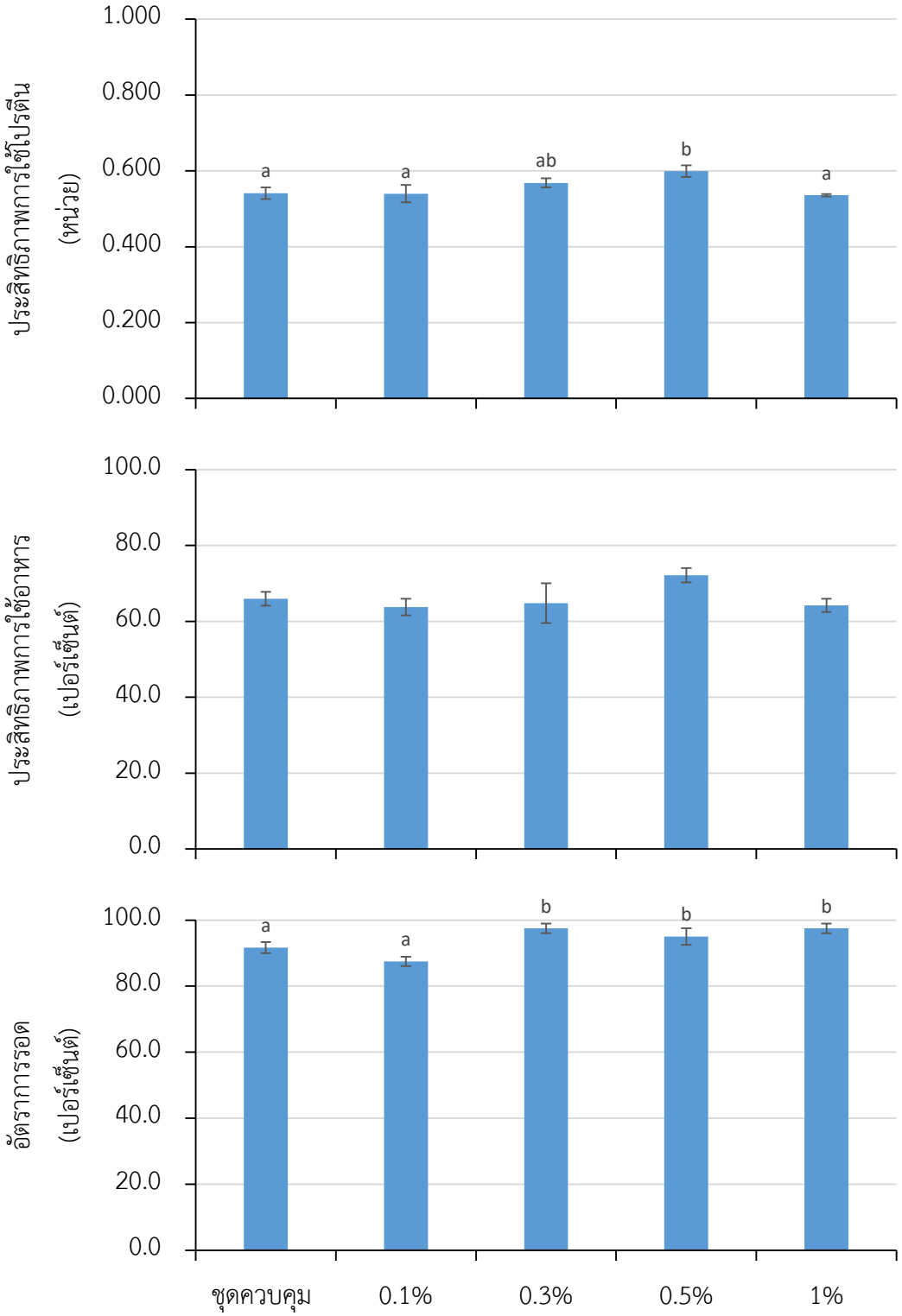
ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Food conversion efficiency) พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 72.2±1.92 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ๆ (ภาพที่ 6 และตารางที่ 5)

อัตราการรอด (Survival rate) พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 97.5±1.4, 95.0±2.9 และ 97.5±1.4 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุมและลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าฉลี่ยเท่ากับ 91.7±1.7 และ 87.5±1.4 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพที่ 6 และตารางที่ 5

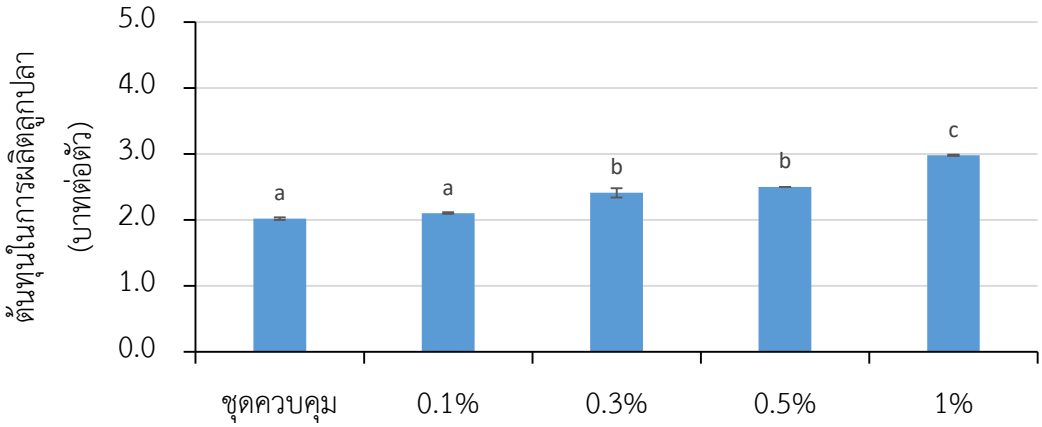
ต้นทุนในการผลิตลูกปลาเฉลี่ยตลอดการทดลองทั้ง 5 ชุดการทดลอง พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0 เปอร์เซ็นต์ หรือชุดควบคุม มีต้นทุนในการผลิตลูกปลาเท่ากับ 2.02±0.02 บาทต่อตัว มีต้นทุนในการผลิตต่ำกว่าทั้ง 4 ชุดการทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$) ภาพที่ 7 และตารางที่ 5



ภาพที่ 5 อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน



ภาพที่ 6 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตราการรอดของลูกปลานิล ในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน



ภาพที่ 7 ต้นทุนการผลิตลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน

ตารางที่ 5 การเจริญเติบโต ต้นทุนของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน

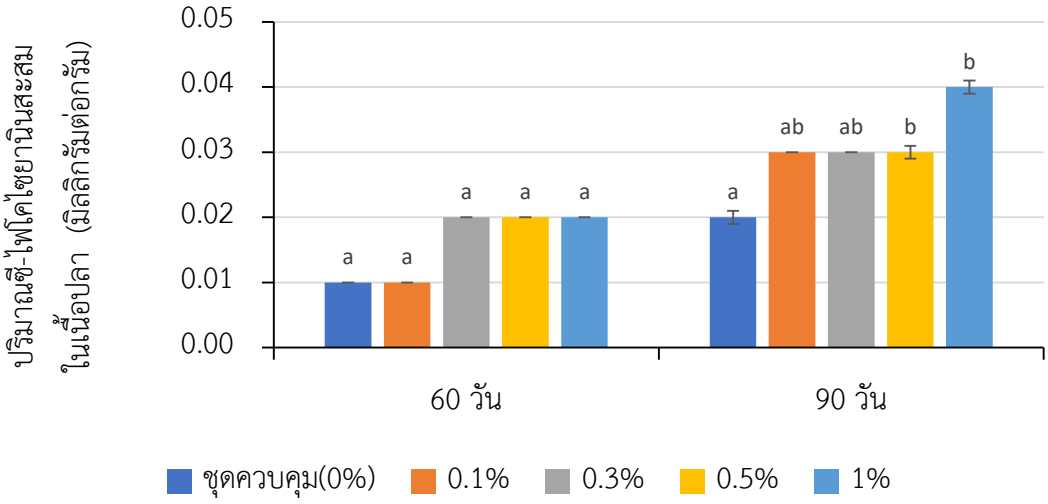
การเจริญเติบโต	ระดับ C-phycocyanin ที่ผสมในอาหาร (เปอร์เซ็นต์)				
	ชุดควบคุม	0.1	0.3	0.5	1
น้ำหนักเริ่มต้น (กรัมต่อตัว)	0.42±0.01^{ns}	0.43±0.02^{ns}	0.41±0.02^{ns}	0.42±0.02^{ns}	0.41±0.02^{ns}
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อตัว)	17.1±0.46^{a}	17.4±0.74^{a}	18.2±0.39^{ab}	19.2±0.55^{b}	17.3±0.08^{a}
อัตราการเจริญเติบโต (กรัมต่อตัวต่อวัน)	0.19±0.01^{a}	0.19±0.01^{a}	0.20±0.00^{ab}	0.21±0.01^{b}	0.19±0.00^{a}
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)	4.14±0.07^{ns}	4.17±0.12^{ns}	4.33±0.06^{ns}	4.26±0.08^{ns}	4.26±0.07^{ns}
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (หน่วย)	1.39±0.05^{ns}	1.37±0.06^{ns}	1.52±0.10^{ns}	1.32±0.04^{ns}	1.50±0.02^{ns}
ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (หน่วย)	0.54±0.02^{a}	0.54±0.02^{a}	0.57±0.01^{ab}	0.6±0.02^{b}	0.54±0.00^{a}
ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (เปอร์เซ็นต์)	65.9±1.83^{ns}	63.8±2.17^{ns}	64.8±5.24^{ns}	72.2±1.92^{ns}	64.2±0.13^{ns}
อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)	91.7±1.7^{ab}	87.5±1.4^{a}	97.5±1.4^{b}	95.0±2.9^{b}	97.5±1.4^{b}
ต้นทุนการผลิตลูกปลา (บาทต่อตัว)	1.17±0.02^{a}	1.25±0.01^{a}	1.56±0.07^{b}	1.65±0.00^{b}	2.13±0.01^{c}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)

2. การสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในเนื้อปลาและลำไส้

2.1 การสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในเนื้อปลา

เมื่อลูกปลาอายุครบ 60 วัน พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม พบการสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในเนื้อปลา มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.01±0.00, 0.02±0.00, 0.02±0.00, 0.02±0.00 และ 0.01±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัม และทั้ง 5 ชุดการทดลอง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อลูกปลาอายุครบ 90 วัน ลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.03±0.00, 0.03±0.00, 0.03±0.00 และ 0.04±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ และลูกปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.02±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยมากกว่าลูกปลานิลชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1, 0.3, 0.5, 1 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 8 และตารางที่ 6)



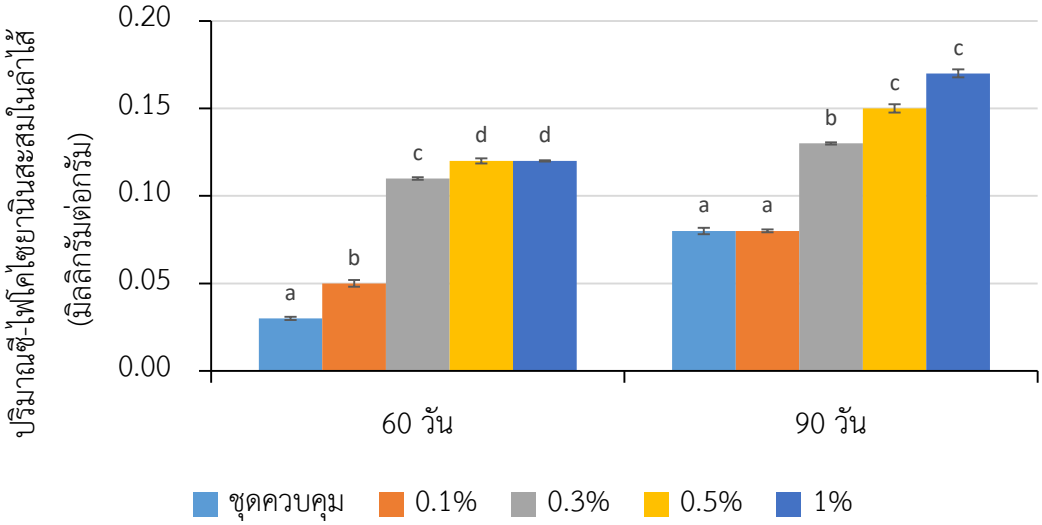
ภาพที่ 8 การสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในเนื้อปลา ระยะเวลา 60 และ 90 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)

2.2 การสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในลำไส้

เมื่ออนุบาลครบ 60 วันลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีการสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในลำไส้ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.12±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัม มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างกับลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.12±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัม และเมื่ออนุบาลครบ 90 วัน พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.15±0.00 และ 0.17±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัม มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.13±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัม และมากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.08±0.00 และ 0.08±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ภาพที่ 9)



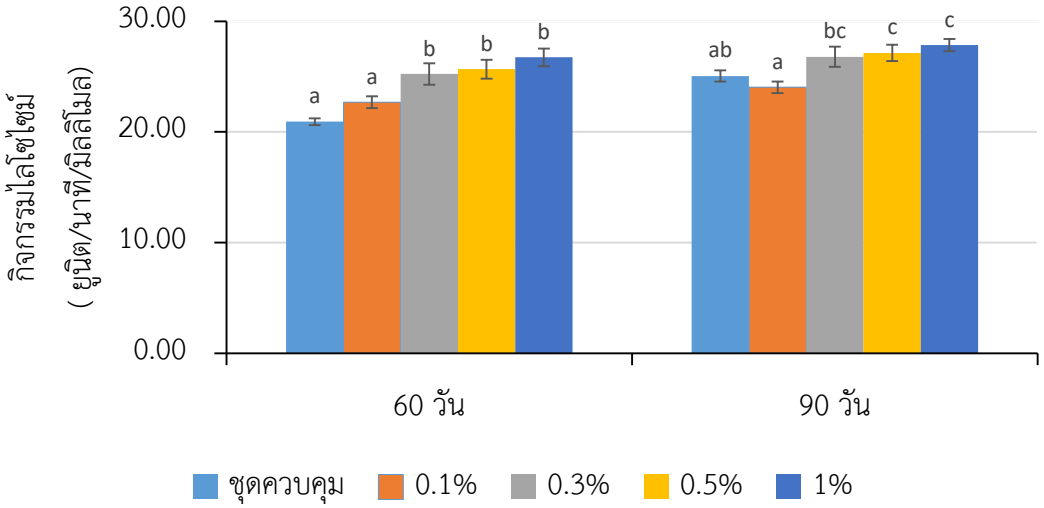
ภาพที่ 9 การสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในลำไส้ ระยะเวลา 60 และ 90 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)

3. การกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (Lysozyme activity)

การศึกษาภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (Lysozyme activity) ในแต่ละชุดการทดลองช่วงระยะเวลา 60 วัน พบว่า ลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 1, 0.5 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 26.75±0.80, 25.68±0.85 และ 25.23±0.97 ยูนิตต่อนาทีต่อมิลลิโมล ตามลำดับ มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม มีค่าเท่ากับ 22.68±0.54 และ 20.93±0.31 ยูนิตต่อนาทีต่อมิลลิโมล อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($p<0.05$) และค่ากิจกรรมไลโซไซม์ช่วงระยะเวลา 90 วัน พบว่า ลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 1 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 27.84±0.55 และ 27.13±0.74 ยูนิตต่อนาทีต่อ

มิลลิโมล มีค่ากิจกรรมไลโซไซม์มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม มีค่าเท่ากับ 24.03±0.53 และ 25.06±0.51 ยูนิตต่อนาทีต่อมิลลิโมล ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 26.79±0.92 ยูนิตต่อนาทีต่อมิลลิโมลภาพที่ 10 และตารางที่ 6



ภาพที่ 10 กิจกรรมไลโซไซม์เฉลี่ยของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ระยะเวลา 60 และ 90 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)

ตารางที่ 6 กิจกรรมไลโซไซม์ระยะเวลา 60 และ 90 วัน ของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ระดับ C-phycocyanin ที่ผสมในอาหาร (PFCP) (เปอร์เซ็นต์)				
	ชุดควบคุม	0.1	0.3	0.5	1
60	20.93±0.31^{a}	22.68±0.54^{a}	25.23±0.97^{b}	25.68±0.85^{b}	26.75±0.80^{b}
90	25.06±0.51^{ab}	24.03±0.53^{a}	26.79±0.92^{bc}	27.13±0.74^{c}	27.84±0.55^{c}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างนทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)

4. คุณภาพน้ำ (Water quality)

จากการทดลอง พบว่า อุณหภูมิอากาศ (Air temperature) ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอค มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 27.5±0.00 ถึง 34.0±0.00 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิอากาศที่สูงที่สุดอยู่ในช่วง 75 วัน และต่ำที่สุดอยู่ในช่วง 60 วัน (ภาพที่ 11) อุณหภูมิอากาศในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอคตลอดการทดลองทั้ง 5 ชุดการทดลอง พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin0.1, 0.3, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 31.3±0.00, 31.3±0.00, 31.3±0.00, 31.3±0.00 และ 31.3±0.00 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิอากาศไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 7)

อุณหภูมิของน้ำ (Water temperature) ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอค ตั้งแต่ช่วง 15 วัน ถึง 90 วัน พบว่ามีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 26.0±0.00 ถึง 29.9±0.00 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิน้ำสูงที่สุดอยู่ในช่วง 75 วัน และต่ำที่สุดอยู่ในช่วง 60 วัน (ภาพที่ 11) อุณหภูมิของน้ำเฉลี่ยตลอดการทดลองทั้ง 5 ชุดการทดลอง พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 27.8±0.17, 27.8±0.44, 27.6±0.05, 27.8±0.30 และ 27.6±0.21 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เมื่อนำค่าอุณหภูมิของน้ำทั้ง 5 ชุดการทดลองมาเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 7)

ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved oxygen) ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอค พบว่า ในช่วง 15 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.00±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วง 30 วัน มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 6.80±0.10-7.23±0.40 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วง 45 วัน มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 7.70±0.05-7.80±0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วง 60 วัน มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 7.90±0.05-8.00±0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วง 75 วัน มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 7.77±0.03-7.83±0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วง 90 วัน มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 7.93±0.06-8.03±0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 11) ออกซิเจนที่ละลายน้ำเฉลี่ยตลอดการทดลองทั้ง 5 ชุดการทดลอง พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.61±0.05, 7.55±0.03, 7.56±0.06, 7.62±0.08 และ 7.59±0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อนำค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำทั้ง 5 ชุดการทดลองมาเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 7)

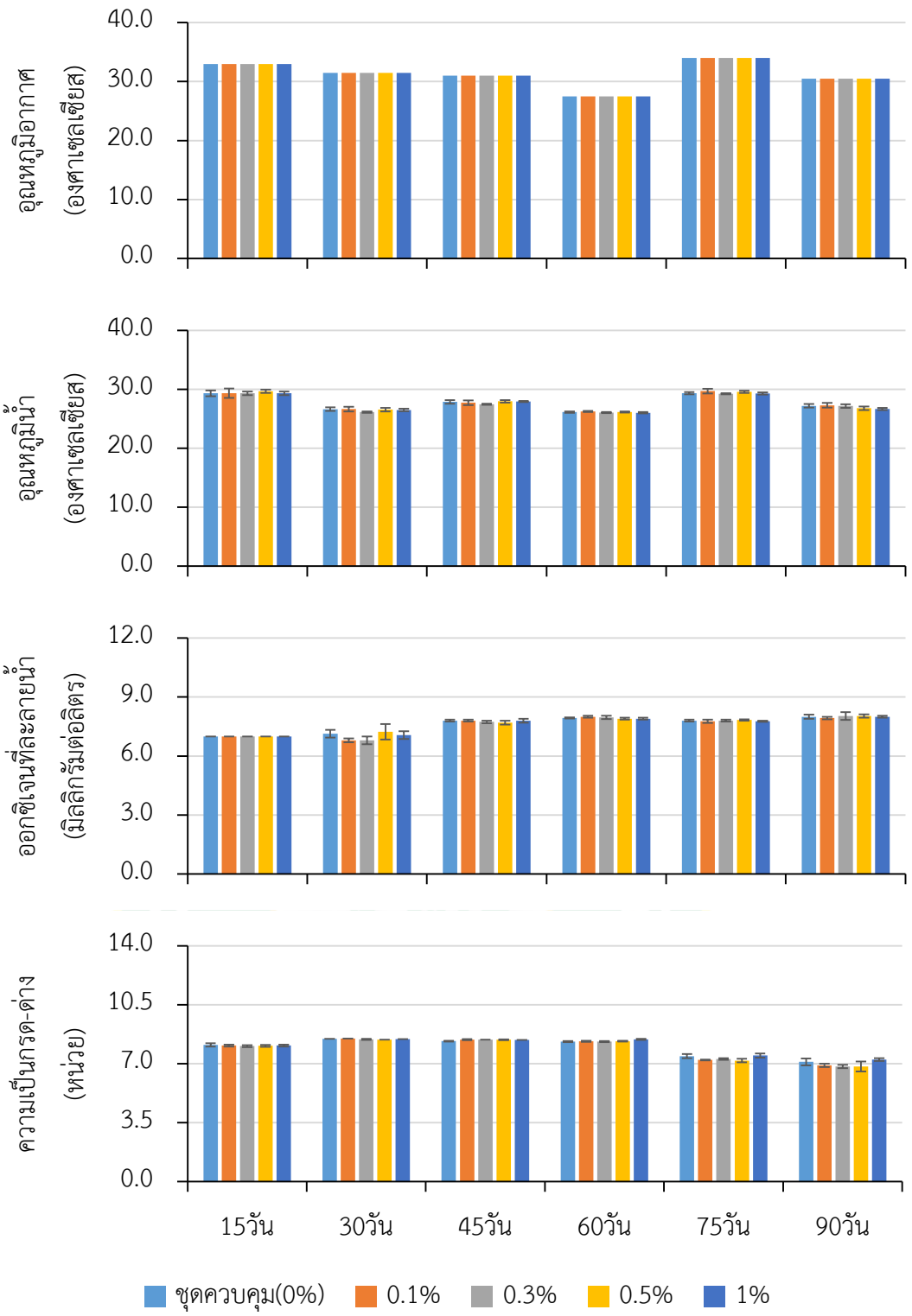
ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอค พบว่า ลูกปลานิลที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.97±0.08, 7.91±0.00, 7.89±0.05, 7.88±0.10 และ 8.02±0.03 หน่วย เมื่อนำค่าความเป็นกรด-ด่างทั้ง 5 ชุดการทดลองมาเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 7) โดยความเป็นกรด-ด่างสูงที่สุดอยู่ในช่วง 30วัน และต่ำที่สุดอยู่ในช่วง 90 วัน (ภาพที่ 11)

แอมโมเนีย ไนโตรเจน (Ammonia nitrogen) ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอค พบว่า ในช่วง 15 วัน มีค่าเฉลี่ยอยู่ในระหว่างช่วง 0.12±0.00 ถึง 0.13±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วง 30 วัน มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.14±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วง 45 วัน มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.12±0.00ถึง0.13±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วง 60 วัน มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.10±0.00ถึง 0.11±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วง 75 วัน มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.09±0.00 ถึง 0.10±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร และในช่วง 90 วัน มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.09±0.00 ถึง 0.10±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 12) แอมโมเนีย ไนโตรเจน ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอค ทั้ง 5 ชุดการทดลอง พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.12±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าบ่อที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.10±0.00, 0.11±0.00, 0.11±0.00 และ 0.11±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตารางที่ 7

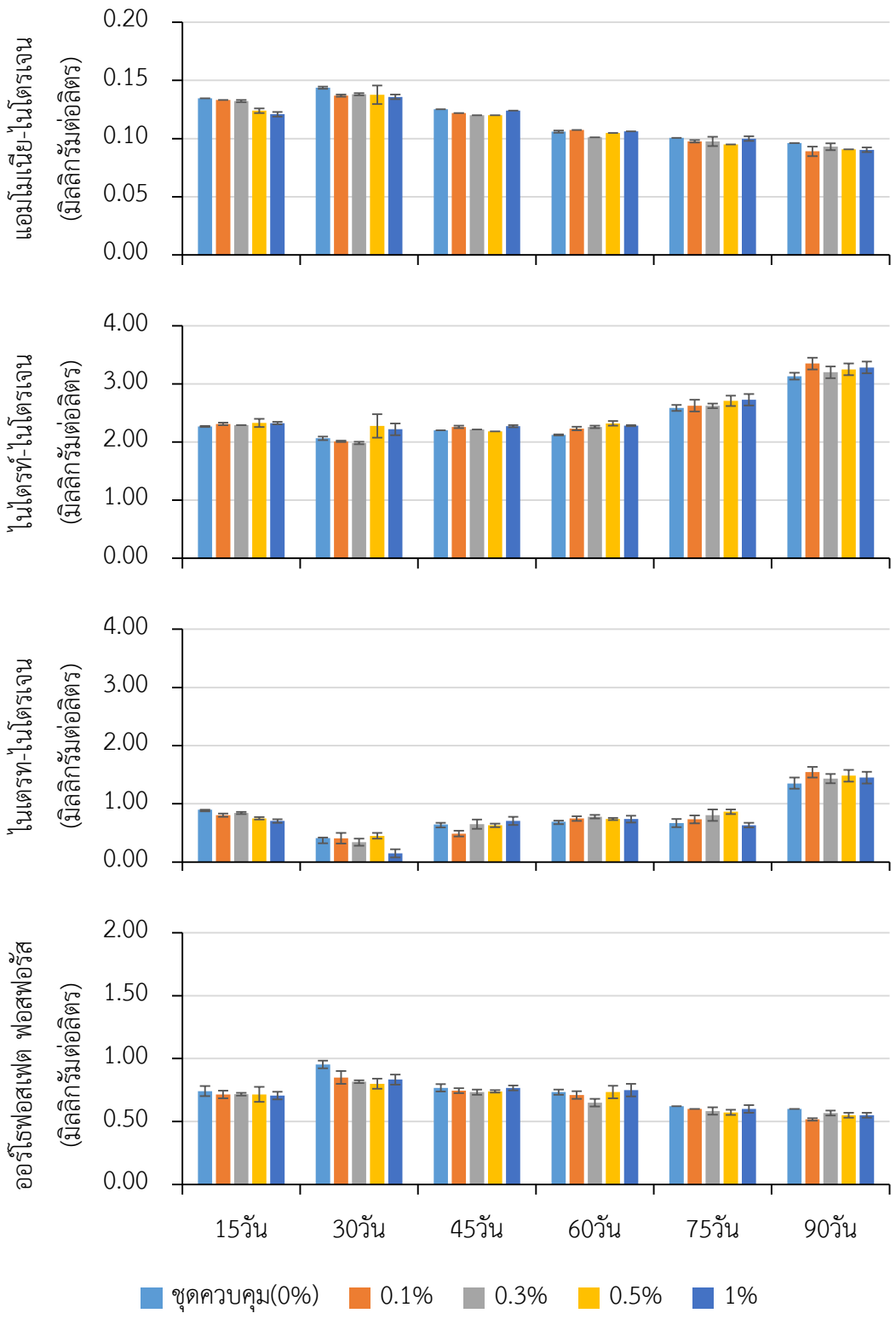
ไนไตรท์ ไนโตรเจน (Nitrite nitrogen) ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอค 5 ชุดการทดลอง ทำการวิเคราะห์ ทุก ๆ 15 วัน ของการอนุบาล เป็นระยะเวลา 90 วัน (ภาพที่ 8) พบว่าไนไตรท์ ไนโตรเจน ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอคที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.05±0.01, 2.11±0.03, 2.08±0.02, 2.15±0.07 และ 2.16±0.04 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อนำค่าไนไตรท์ ไนโตรเจนทั้ง 5 ชุดการทดลองมาเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าปริมาณไนไตรท์ ไนโตรเจน ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอค ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 7)

ไนเตรท ไนโตรเจน (Nitrate nitrogen) ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอค 5 ชุดการทดลอง ทำการวิเคราะห์ทุก ๆ 15 วัน ของการอนุบาล เป็นระยะเวลา 90 วัน (ภาพที่ 8) พบว่าไนเตรท ไนโตรเจน ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอคที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.67±0.01, 0.67±0.01, 0.69±0.02, 0.70±0.02 และ0.63±0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อนำค่าไนเตรท ไนโตรเจนทั้ง 5 ชุดการทดลองมาเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าปริมาณไนเตรท ไนโตรเจน ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอค ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 7)

ออร์โธฟอสเฟต ฟอสฟอรัส (Orthophosphate phosphorus) ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอค 5 ชุดการทดลอง ทำการวิเคราะห์ ทุก ๆ 15 วัน ของการอนุบาล เป็นระยะเวลา 90 วัน (ภาพที่ 8) พบว่าออร์โธฟอสเฟต ฟอสฟอรัส ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอคที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.63±0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าในบ่ออนุบาลลูกปลานิลระบบไบโอฟลอคที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.59±0.01, 0.58±0.01, 0.59±0.01 และ 0.60±0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($p<0.05$) ตารางที่ 7



ภาพที่ 11 อุณหภูมิอากาศ อุณหภูมิน้ำ ออกซิเจนละลายน้ำ และความเป็นกรด-เป็นด่างเฉลี่ยในบ่ออนุบาลของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน



ภาพที่ 12 แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ไนไตรท์-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน ออร์โธฟอสเฟตฟอสฟอรัส เฉลี่ย ในบ่ออนุบาลของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน

ตารางที่ 7 คุณภาพน้ำเฉลี่ยในบ่ออนุบาลลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyaninที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน

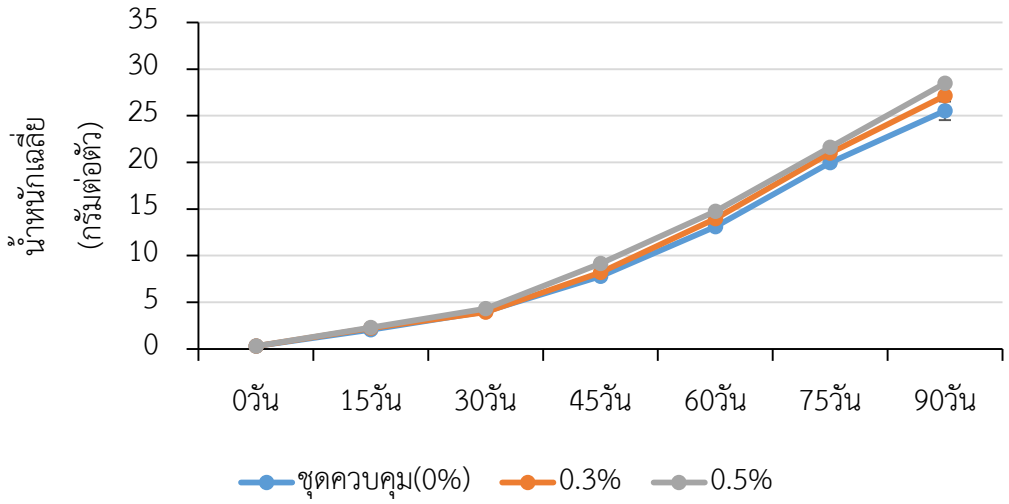
พารามิเตอร์	ระดับซี ไฟโคไซยานินที่ผสมในอาหาร (PFCP) (เปอร์เซ็นต์)				
	ชุดควบคุม	0.1	0.3	0.5	1
อุณหภูมิอากาศ (องศาเซลเซียส)	31.0±0.00^{ns}	31.0±0.00^{ns}	31.0±0.00^{ns}	31.0±0.00^{ns}	31.0±0.00^{ns}
อุณหภูมิของน้ำ (องศาเซลเซียส)	27.8±0.17^{ns}	27.8±0.44^{ns}	27.6±0.05^{ns}	27.8±0.30^{ns}	27.6±0.21^{ns}
ออกซิเจนละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	7.61±0.05^{ns}	7.55±0.03^{ns}	7.56±0.06^{ns}	7.62±0.08^{ns}	7.59±0.05^{ns}
ความเป็นกรด-เป็นด่าง (หน่วย)	7.97±0.08^{ns}	7.91±0.00^{ns}	7.89±0.05^{ns}	7.88±0.10^{ns}	8.02±0.03^{ns}
แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.12±0.00^{b}	0.10±0.00^{ab}	0.11±0.00^{a}	0.11±0.00^{a}	0.11±0.00^{a}
ไนไตรท์-ไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	2.05±0.01^{ns}	2.11±0.03^{ns}	2.08±0.02^{ns}	2.15±0.07^{ns}	2.16±0.04^{ns}
ไนเตรท-ไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.67±0.01^{ns}	0.67±0.01^{ns}	0.69±0.02^{ns}	0.70±0.02^{ns}	0.63±0.01^{ns}
ออร์โธฟอสเฟต ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.63±0.01^{b}	0.59±0.01^{a}	0.58±0.01^{a}	0.59±0.01^{a}	0.60±0.01^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

การทดลองที่ 2 ทดลองในบ่อซีเมนต์

1. การเจริญเติบโต (Growth)

จากการศึกษา พบว่าน้ำหนักเฉลี่ย (Average weight) ในแต่ละชุดการทดลองของลูกปลานิลที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม อาหารผสมC-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ และอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นตามเวลา และเริ่มมีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตั้งแต่ 45 วัน ของการอนุบาล เป็นต้นไป เมื่อครบ 90 วัน ลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 28.49±0.10 กรัม มากกว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 27.14±0.30 กรัม และชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 25.54±1.00 กรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพที่ 13



ภาพที่ 13 น้ำหนักเฉลี่ยของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น พบว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 28.04±0.11 กรัมต่อตัว มากกว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ และอาหารชุดควบคุม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 27.37±0.20 และ 26.20±0.08 กรัมต่อตัว ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพที่ 14 และ ตารางที่ 8

อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 0.31±0.00 กรัมต่อตัว มากกว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์มีค่าเท่ากับ 0.30±0.00 กรัมต่อตัว และอาหารชุดควบคุม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.29±0.00 กรัมต่อตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพที่ 15 และตารางที่ 8

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 4.88±0.01 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน และ 4.85±0.01 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 4.80±0.01 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\geq0.05$) ภาพที่ 15 และตารางที่ 8

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์มีค่าเท่ากับ 1.36±0.02 หน่วย มากกว่าลูกปลานิลที่รับอาหารผสม C-phycocyanin

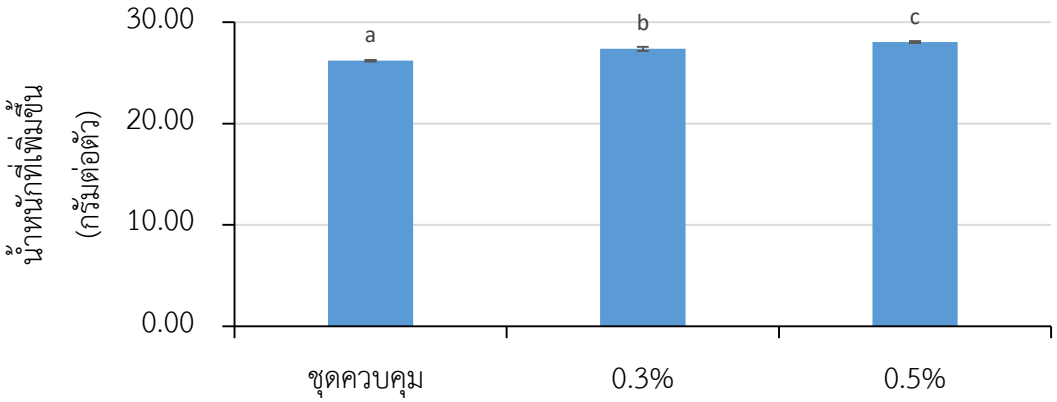
0.3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 1.43±0.01 หน่วย และลูกปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม มีค่าเท่ากับ 1.58±0.02 หน่วย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพที่ 15 และตารางที่ 8

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์มีค่าเท่ากับ 0.88±0.00 หน่วย มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 0.85±0.01 หน่วย และลูกปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม มีค่าเท่ากับ 0.83±0.00 หน่วย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพที่ 16 และตารางที่ 8

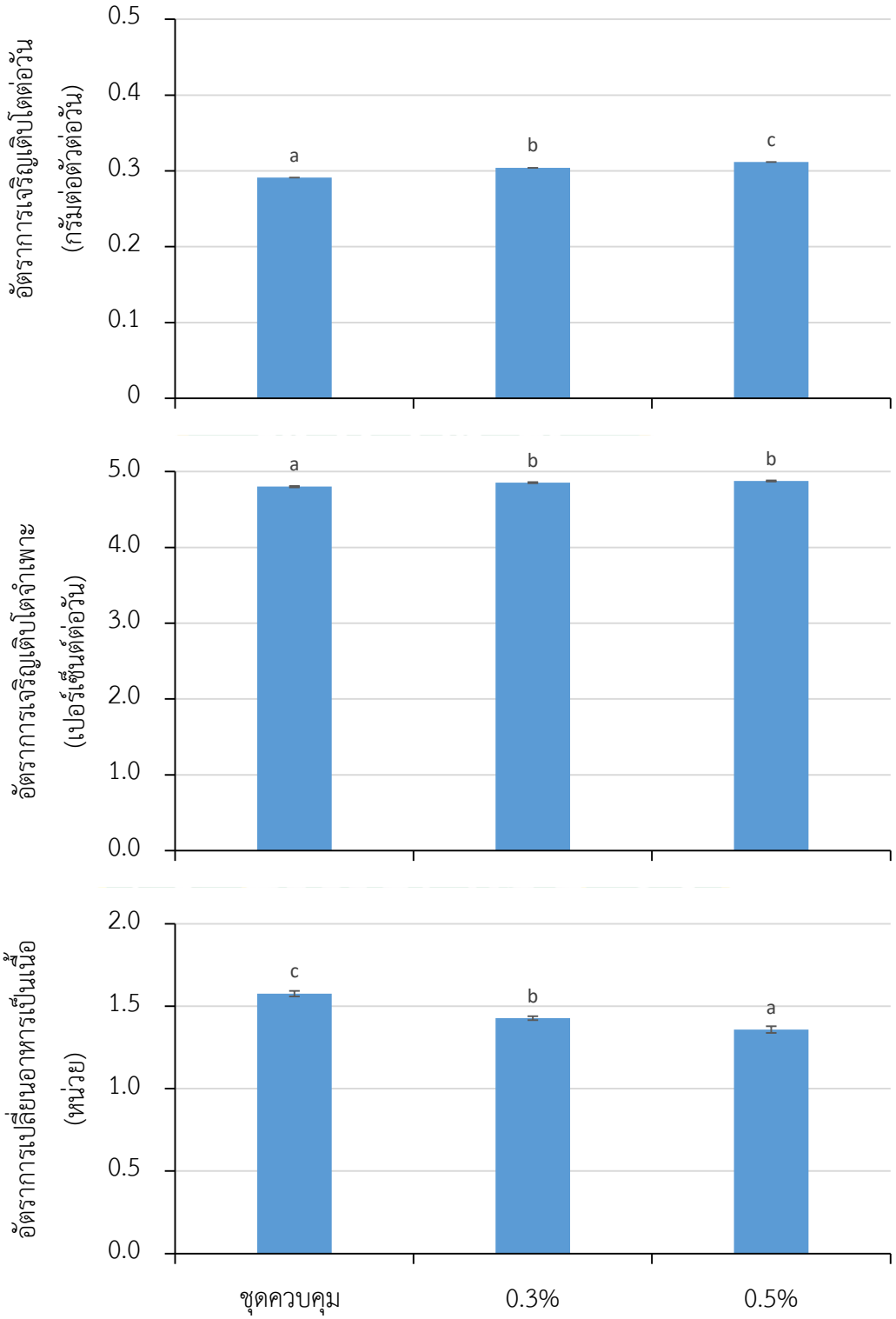
ประสิทธิภาพการใช้อาหาร พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 73.61±1.39 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 70.05±0.61 เปอร์เซ็นต์ และลูกปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม มีค่าเท่ากับ 63.45±0.87 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพที่ 16 และตารางที่ 8

อัตรารอด ตลอดการทดลองพบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์มีค่าเท่ากับ 97.00±0.00 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 89.00±0.58 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 96.00±0.58 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 16และตารางที่ 8)

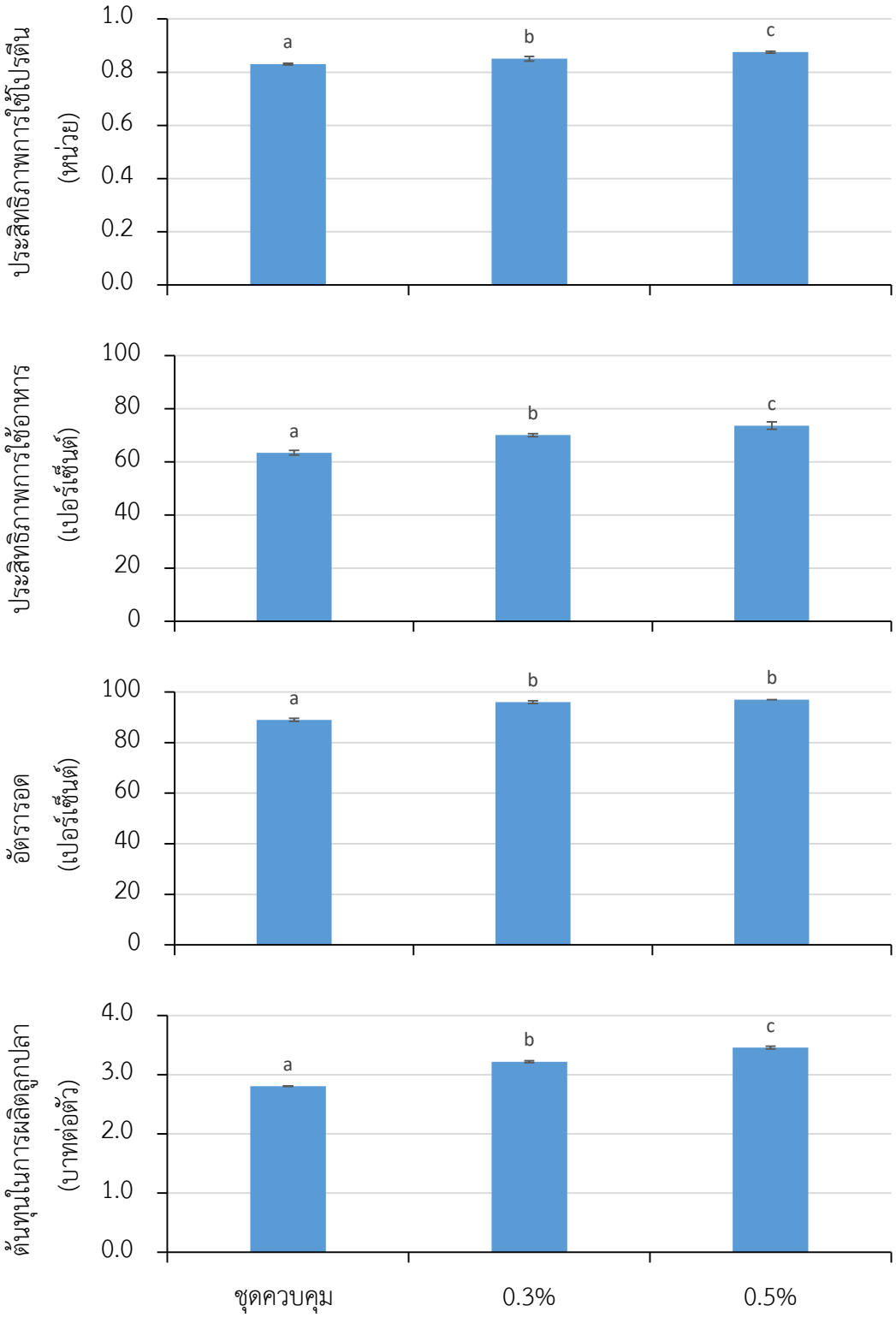
ต้นทุนในการผลิตลูกปลา พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 3.46±0.02 บาทต่อตัว มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 3.22±0.02 บาทต่อตัว และลูกปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุม มีค่าเท่ากับ 2.80±0.00 บาทต่อตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$) ภาพที่ 16 และตารางที่ 8



ภาพที่ 14 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกันตลอดการอนุบาล 90 วัน



ภาพที่ 15 อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกันตลอดการอนุบาล 90 วัน



ภาพที่ 16 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร อัตราการรอด และต้นทุนในการผลิตลูกปลาของลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่แตกต่างกัน ตลอดการอนุบาล 90 วัน

ตารางที่ 8 การเจริญเติบโต และต้นทุนเฉลี่ยของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน

การเจริญเติบโต	ระดับ C-phycocyanin ที่ผสมในอาหาร (PFCP)		
	ชุดควบคุม(0%)	0.3%	0.5%
น้ำหนักเริ่มต้น (กรัมต่อตัว)	0.35±0.00	0.35±0.00	0.35±0.00
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อตัว)	26.20±0.08^{a}	27.37±0.20^{b}	28.04±0.11^{c}
อัตราการเจริญเติบโต (กรัมต่อตัวต่อวัน)	0.29±0.00^{a}	0.30±0.00^{b}	0.31±0.00^{c}
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)	4.80±0.01^{a}	4.85±0.01^{b}	4.88±0.01^{b}
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (หน่วย)	1.58±0.02^{c}	1.43±0.01^{b}	1.36±0.02^{a}
ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (หน่วย)	0.83±0.00^{a}	0.85±0.01^{b}	0.88±0.00^{c}
ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (เปอร์เซ็นต์)	63.78±0.17^{a}	70.05±0.03^{b}	73.28±0.18^{c}
อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์)	89.00±0.58^{a}	96.00±0.58^{b}	97.00±0.00^{b}
ต้นทุนผลผลิต (บาทต่อตัว)	2.80±0.00^{a}	3.22±0.02^{b}	3.46±0.02^{c}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

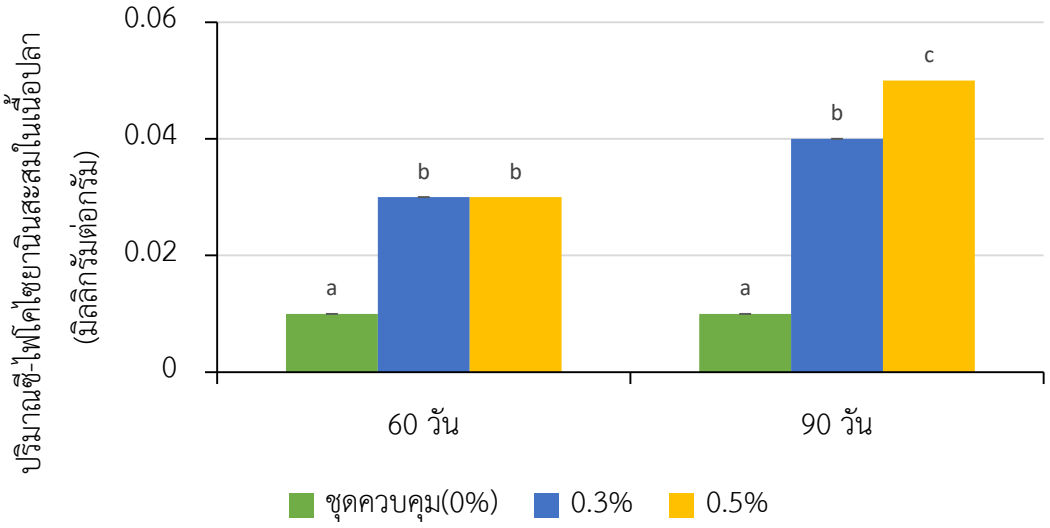
2. การสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในเนื้อปลาและลำไส้

2.1 การสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในเนื้อปลา

จากการศึกษาพบว่าระยะเวลา 60 วัน ลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบการสะสม C-phycocyanin ในเนื้อปลา มีค่าเท่ากับ 0.03±0.00 และ 0.03±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัม และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$) และเมื่อลูกปลาอายุครบ 90 วัน พบการสะสม C-phycocyanin ในเนื้อปลาของลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.05±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัม มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม มีค่าเท่ากับ 0.03±0.00 และ 0.01±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพที่ 17

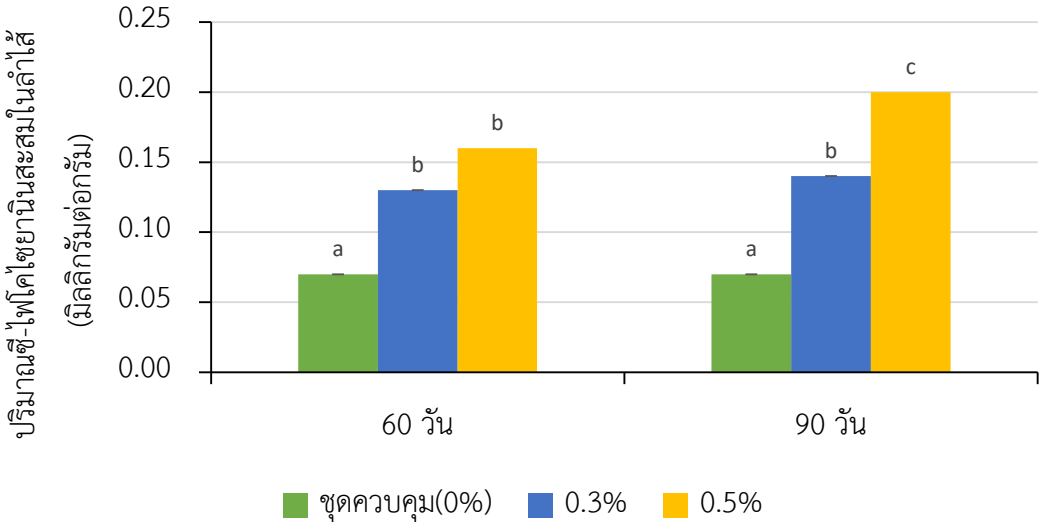
2.2 การสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในลำไส้

เมื่ออนุบาลระยะเวลา 60 วัน พบการสะสม C-phycocyanin ในลำไส้ของลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 0.16±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งมีค่ามากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ และลูกปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.13±0.00 และ 0.07±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อลูกปลาอายุครบ 90 วัน ลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบการสะสม C-phycocyanin ในลำไส้ มีค่าเท่ากับ 0.20±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัม มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ และอาหารชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.14±0.00 และ 0.07±0.00 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพที่ 18



ภาพที่ 17 ค่าการสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในเนื้อปลา ระยะเวลา 60 วัน และ 90 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)



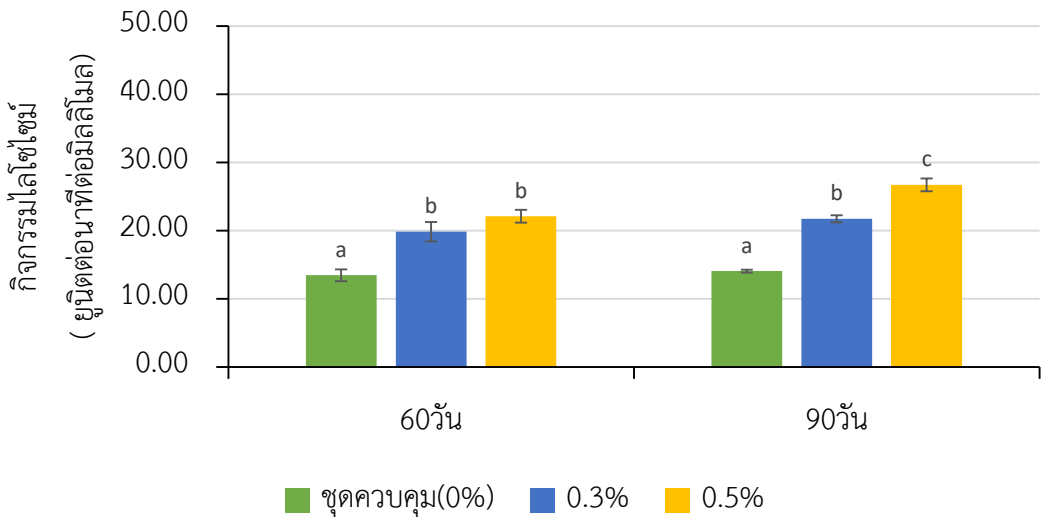
ภาพที่ 18 ค่าการสะสมสารสกัด C-phycocyanin ในลำไส้ ระยะเวลา 60 วัน และ 90 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)

3. การกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ

3.1 กิจกรรมไลโซไซม์ (Lysozyme activity)

ค่ากิจกรรมไลโซไซม์เฉลี่ยในช่วง 60 วัน พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมไลโซไซม์เฉลี่ยเท่ากับ 19.85±1.43 และ 22.12±0.93 ยูนิตต่อนาทีต่อมิลลิโมล มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 13.46±0.87 ยูนิตต่อนาทีต่อมิลลิโมล อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมไลโซไซม์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 19 และตารางที่ 9) และในช่วง 90 วัน พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมไลโซไซม์เฉลี่ยเท่ากับ 26.74±0.94 ยูนิตต่อนาทีต่อมิลลิโมล มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ และอาหารในชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 21.74±0.53 และ 14.07±0.22 ยูนิตต่อนาทีต่อมิลลิโมล อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพที่ 19 และตารางที่ 9

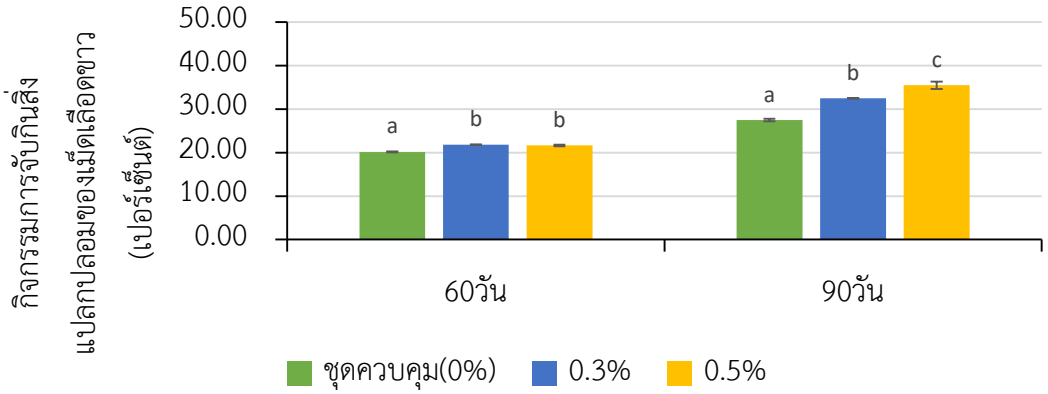


ภาพที่ 19 กิจกรรมไลโซไซม์ของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอคที่ได้รับอาหารชุดควบคุมและอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ตลอดระยะเวลา 60 และ 90 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)

3.2 การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาว (Phagocytic activity)

การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาวเฉลี่ยของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ในช่วง 60 วัน ลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 21.84 ±0.10 และ 21.67±0.19 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีค่าเฉลี่ยมากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 20.17±0.10 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวเฉลี่ยในแต่ละหน่วยการทดลองช่วง 90 วัน พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากที่สุด ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการกินอาหาร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 35.50±0.87 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวของลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ และอาหารในชุดควบคุม ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 32.50±0.10 และ 27.50±0.29 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$) ภาพที่ 20 และตารางที่ 9

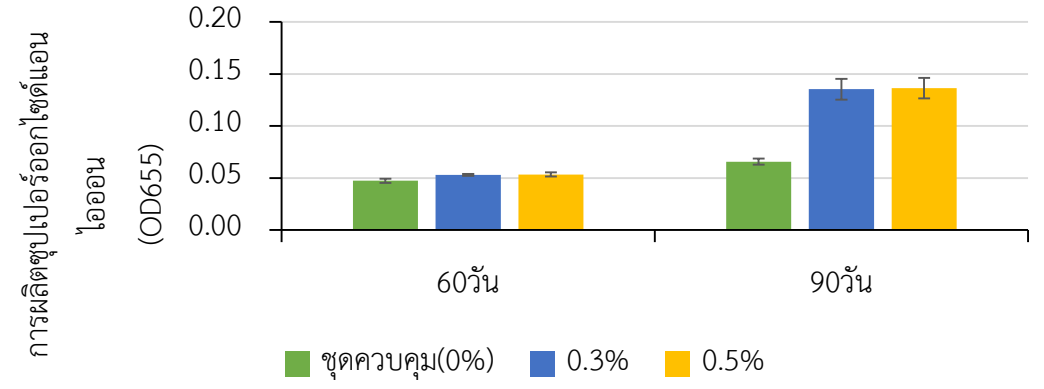


ภาพที่ 20 กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาวเฉลี่ยของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตลอดระยะเวลา 60 และ 90 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)

3.3 กระบวนการผลิตซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (Respiratory burst activity)

จากผลการทดลองพบว่า ตลอดระยะเวลา 60 และ 90 วัน ลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอคที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากระบวนการผลิตซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อช่วงระยะเวลา 90 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพที่ 21 และตารางที่ 9



ภาพที่ 21 กิจกรรมกระบวนการผลิตซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออนเฉลี่ยของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอคที่ได้รับอาหารชุดควบคุมและอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตลอดระยะเวลา 60 และ 90 วัน

ตารางที่ 9 การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาว กิจกรรมไลโซไซม์ และกิจกรรมการผลิตซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออนของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 60 และ 90 วัน

ปัจจัยที่ศึกษา	ระดับ C-phycocyanin ที่ผสมในอาหาร (PFCP)		
	ชุดควบคุม0%	0.3%	0.5%
การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาว ระยะเวลา 60วัน (เปอร์เซ็นต์)	20.17±0.10[a]	21.84±0.10[b]	21.67±0.19[b]
การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาว ระยะเวลา 90 วน (เปอร์เซ็นต์)	27.50±0.29[a]	32.50±0.10[b]	35.50±0.87[c]
กิจกรรมไลโซไซม์ ระยะเวลา 60วัน (ยูนิตต่อนาทีต่อมิลลิโมล)	13.46±0.87[a]	19.85±1.43[b]	22.12±0.93[b]
กิจกรรมไลโซไซม์ ระยะเวลา 90วัน (ยูนิตต่อนาทีต่อมิลลิโมล)	14.07±0.22[a]	21.74±0.53[b]	26.74±0.94[c]
การผลิตซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (Respiratory burst activity) ระยะเวลา 60วัน	0.047±0.00[a]	0.053±0.00[b]	0.053±0.00[b]
กระบวนการผลิตซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (Respiratory burst activity) ระยะเวลา 90วัน	0.066±0.00[a]	0.135±0.01[b]	0.136±0.01[b]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)

4. โลหะหนักในเนื้อปลา (Heavy metals)

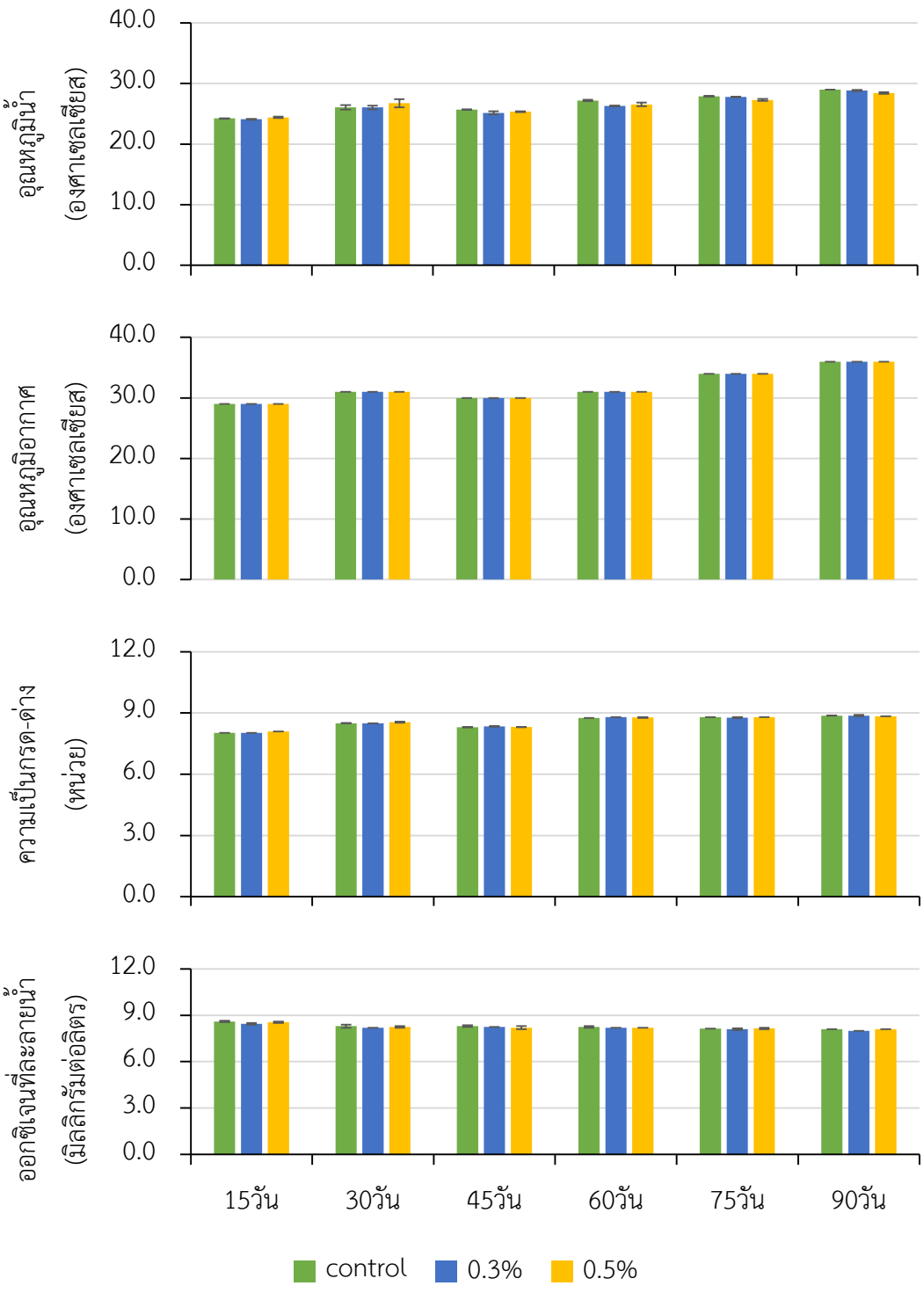
จากการทดลองพบว่า ไม่พบตะกั่ว (Lead) ในเนื้อลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารชุดควบคุม ส่วนปรอท (Mercury) ในเนื้อลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารชุดควบคุม พบว่ามีค่าน้อยกว่า 0.018 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ค่าโลหะหนักในเนื้อปลาปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน

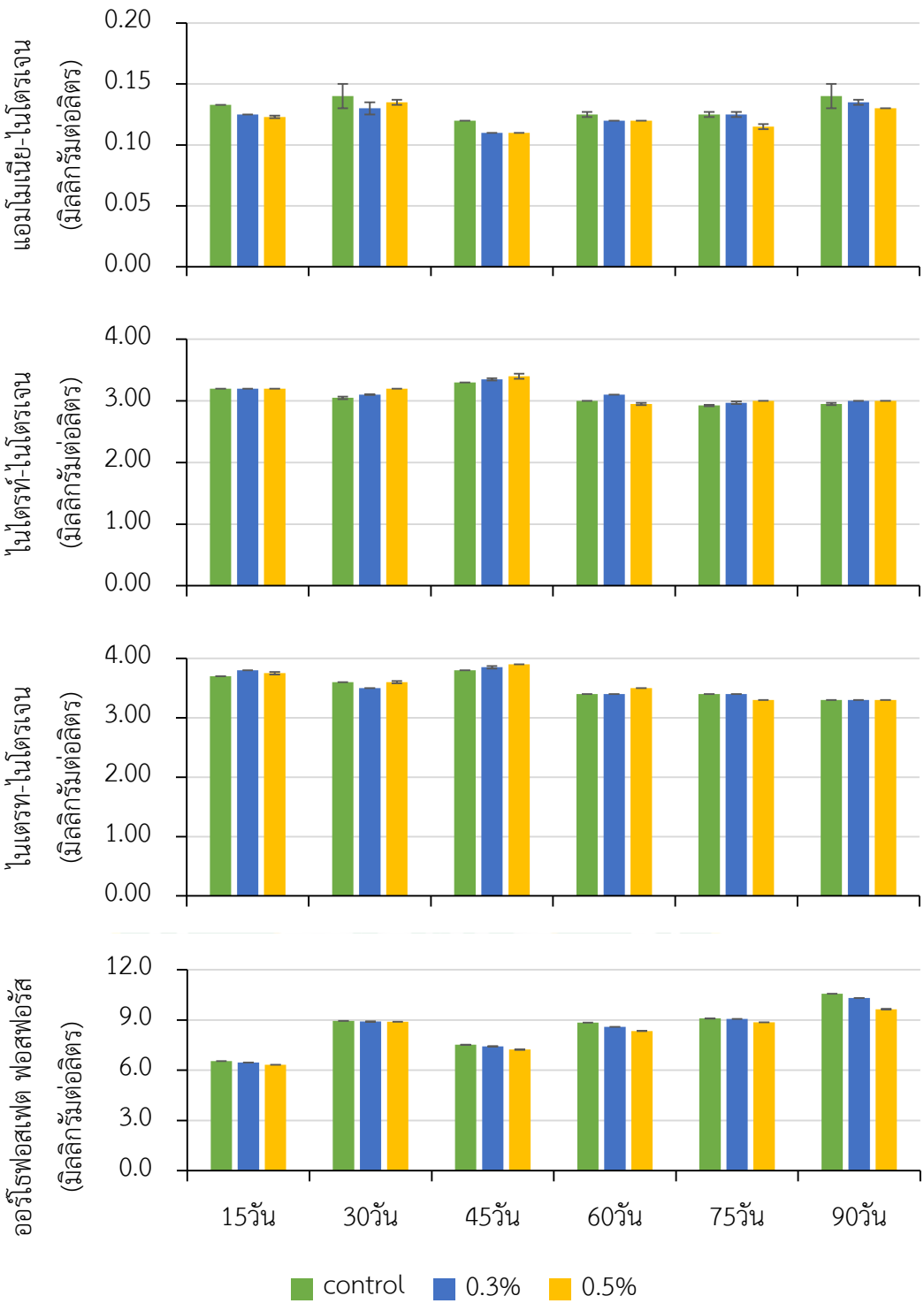
ผลการทดสอบ	ระดับ C-phycocyanin ที่ผสมในอาหาร (PFCP)			LOD
	ชุดควบคุม 0%	0.3%	0.5%	
Lead (Pb) ตะกั่ว	Not Detected	Not Detected	Not Detected	0.010
Mercury (Hg) ปรอท	<0.018	<0.018	<0.018	-

5. คุณภาพน้ำ (Water quality)

จากการศึกษาปัจจัยด้านคุณภาพน้ำเฉลี่ยในบ่ออนุบาลลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตลอดระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน พบว่า ทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีค่าเฉลี่ยอุณหภูมิอากาศเท่ากับ 31.8±0.00 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 22 และตารางที่ 11) อุณหภูมิน้ำทั้ง 3 ชุดการทดลองมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 26.4±0.09 ถึง 26.7±0.07 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 22 และตารางที่ 11) ค่าความเป็นกรด-ด่าง มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 8.54±0.01 ถึง 8.56±0.01 (ภาพที่ 22 และตารางที่ 11) ค่าเฉลี่ยออกซิเจนละลายน้ำ อยู่ในช่วง 8.20±0.02 ถึง 8.28±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้ง 3 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ค่าไนไตรท์-ไนโตรเจน พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.12±0.00 และ 3.13±0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีค่ามากกว่าบ่อที่ได้รับอาหารชุดควบคุม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.07±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ภาพที่ 23 และตารางที่ 11) ค่าไนเตรท ไนโตรเจนในบ่ออนุบาลลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.56±0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่ามากกว่าบ่อที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.35±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และปริมาณออร์โธฟอสเฟตฟอสฟอรัสในบ่ออนุบาลลูกปลานิลที่ได้รับอาหารในชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.58±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่ามากกว่าบ่อที่ลูกปลานิลได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.45±0.01 และ 8.21±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพที่ 23 และตารางที่ 11



ภาพที่ 22 อุณหภูมิน้ำ อุณหภูมิอากาศ ออกซิเจนละลายน้ำ และความเป็นกรด-เป็นด่างเฉลี่ยในบ่ออนุบาลลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอคได้รับอาหารชุดควบคุมและอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลาอนุบาล 90 วัน



ภาพที่ 23 แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ไนไตรท์-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน ออร์โธฟอสเฟต-ฟอสฟอรัสเฉลี่ยในบ่ออนุบาลลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ได้รับอาหารชุดควบคุมและอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาอนุบาล 90 วัน

ตารางที่ 11 คุณภาพน้ำเฉลี่ยในบ่ออนุบาลลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาการอนุบาล 90 วัน

พารามิเตอร์	ระดับ C-phycocyanin ที่ผสมในอาหาร		
	ชุดควบคุม0%	0.3%	0.5%
อุณหภูมิอากาศ (องศาเซลเซียส)	31.8±0.00^{ns}	31.8±0.00^{ns}	31.8±0.00^{ns}
อุณหภูมิของน้ำ (องศาเซลเซียส)	26.7±0.07^{ns}	26.4±0.09^{ns}	26.5±0.14^{ns}
ออกซิเจนละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	8.28±0.00^{ns}	8.20±0.02^{ns}	8.24±0.0^{ns}
ความเป็นกรด-เป็นด่าง (หน่วย)	8.54±0.01^{ns}	8.55±0.00^{ns}	8.56±0.01^{ns}
แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.13±0.01^{ns}	0.12±0.00^{ns}	0.12±0.00^{ns}
ไนไตรท์-ไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	3.07±0.00^{a}	3.12±0.00^{b}	3.13±0.01^{b}
ไนเตรท-ไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	3.53±0.00^{a}	3.54±0.01^{ab}	3.56±0.01^{b}
ออร์โธฟอสเฟต ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัมต่อลิตร)	8.58±0.00^{c}	8.45±0.01^{b}	8.21±0.00^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

วิจารณ์ผลการศึกษา

การทดลองที่ 1 ระดับห้องปฏิบัติการ (ตู้กระจก)

ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอคที่ได้รับอาหารเสริม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และอัตรารอดดีที่สุด สอดคล้องกับการศึกษาของ (Biabani Asrami et al., 2019) พบว่าปลาหางนกยูงที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่เพิ่มมากขึ้น (0.15 เปอร์เซ็นต์) มีน้ำหนักเฉลี่ย ความยาว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และอัตราการเจริญเติบโต ดีที่สุด เมื่อเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.05, 0.10 เปอร์เซ็นต์ และอาหารที่ไม่ได้ผสม C-phycocyanin อาจเป็นเพราะปริมาณ C-phycocyanin ที่สูงและฤทธิ์กระตุ้นการเจริญเติบโตของ C-phycocyanin ในอาหาร ซึ่งสาหร่ายสไปรูลินาเป็นแหล่งโปรตีนที่มีศักยภาพในอาหารสัตว์ เนื่องจากมีโปรตีนที่สูง มีกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิด มีเม็ดสีเบต้า แคโรทีนและไฟโคไซยานิน มีวิตามินและแร่ธาตุในปริมาณมาก (Duncan and Klesius, 1996) และลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอคที่ได้รับอาหารเสริม C-phycocyanin

1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการเจริญเติบโตที่ลดลง สอดคล้องกับ El-Araby et al. (2022) พบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่สูงขึ้นจาก 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (1.5 และ 2 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) ส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลงตาม อาจเกิดจากสายพันธุ์ของปลา ความสามารถในการดูดซึมของตัวปลา สภาวะ ประเภทของอาหาร หรือปริมาณสารเติมแต่ง (Amer, 2016; Hassaan et al., 2021; Zeinab et al., 2015) อีกทั้งซึ่งอาจเกิดจากรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ของไฟโคไซยานิน (Camacho et al., 2019) และอาจเกิดจากกลิ่นของอาหารไม่เป็นที่ยอมรับของลูกปลานิล (อรุณี และคณะ, 2562)

ค่ากิจกรรมไลโซไซม์เมื่อลูกปลานิลได้รับอาหารเป็นระยะเวลา 60 และ 90 วัน ลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม เช่นเดียวกับงานวิจัยของจงกล และคณะ (2555) พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของค่ากิจกรรมไลโซไซม์ในลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายอาร์โธรสไปร่า และ Adel et al (2016) พบว่าสาหร่ายอาร์โธรสไปร่า มีผลต่อการเจริญเติบโต การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันเกี่ยวข้องกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของอาร์โธสไปร่า เช่น ไฟโคไซยานิน (Abdel-Tawwab and Ahmad, 2009) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Patel et al., 2005) ซึ่งเป็นสารสร้างภูมิคุ้มกันให้กับสิ่งมีชีวิต (Venkataraman, 1983)

คุณภาพน้ำในบ่ออนุบาลลูกปลาทั้ง 5 ชุดการทดลอง พบว่า อุณหภูมิอากาศ และอุณหภูมิของน้ำ อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (กรมประมง, 2555) ค่า pH ในการทดลอง มีค่าระหว่าง 7.78±0.10 - 7.93±0.08 หน่วย เป็นค่าที่สัตว์น้ำจะอาศัยอยู่ได้ ซึ่งค่า pH ที่เหมาะสมต่อสัตว์น้ำอยู่ระหว่าง 6.5 - 9.0 หากสูงหรือต่ำกว่านี้จะเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ (ชาญยุทธ, 2533) ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำทั้ง 5 ชุดการทดลอง อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำที่สัตว์น้ำสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ ซึ่งมีค่าไม่น้อยกว่า 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Boyd and Tucker, 1998; El-sayed, 2004) ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (กรมประมง, 2555) ค่าไนไตรท์-ไนโตรเจน มีค่าสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐาน คือต้องไม่เกิน 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรมประมง, 2555) เนื่องจากปริมาณโปรตีนในอาหารที่ปลากินหลงเหลือ ประกอบกับปริมาณสารอาหารที่เกิดการสะสมในน้ำ เมื่อปริมาณสารอาหารหรือโปรตีนสูง ส่งผลให้ค่าไนโตรเจนสูงขึ้นตาม การเลี้ยงปลาที่เน้นให้อาหารที่มีโปรตีนสูงอาจพบว่าค่าไนไตรท์สูงจนทำให้เกิดปัญหาต่อสัตว์น้ำได้แต่เป็นปัญหาที่พบได้ไม่บ่อยนัก (มินตรา และภัทรพล, ม.ป.ป.) ในงานวิจัยของ Eduardo et al. (2018) พบว่า ปริมาณไนไตรท์ไนโตรเจนในระบบไบโอฟลอคที่มีการเติมกากน้ำตาลลงไปในระบบ ไนไตรท์-ไนโตรเจนมีค่าอยู่ที่ 1.49, 0.82, 0.74 และ 2.30 มิลลิกรัมต่อลิตร แม้จะมีค่าสูงแต่ลูกปลานิลสามารถปรับตัวและดำรงชีวิตอยู่ได้ ส่วนค่าไนเตรท-ไนโตรเจน และออร์โธฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส ในการทดลองมีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (กรมประมง, 2555)

การทดลองที่ 2 ทดลองในบ่อซีเมนต์

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้การเจริญเติบโต (น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร) ดีที่สุด และมีแนวโน้มอัตรารอดดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับลูกปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุม คล้ายกับการทดลอง Hassaana et al. (2021) พบว่า น้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตรารอด ดีที่สุดเมื่อเทียบกับปลานิลที่ไม่ได้รับ C-phycocyanin และการศึกษาของ Biabani Asrami et al. (2019) พบว่าปลาหางนกยูงที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin เพิ่มมากขึ้น (0.15 เปอร์เซ็นต์) มีน้ำหนักสุดท้าย ความยาว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และอัตราการเจริญเติบโต ดีที่สุดเมื่อเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin ที่ต่ำกว่า 0.15 เปอร์เซ็นต์ และอาหารที่ไม่ได้ผสม C-phycocyanin อาจเป็นเพราะปริมาณ C-phycocyanin ที่สูงและฤทธิ์กระตุ้นการเจริญเติบโตของ C-phycocyanin ในอาหาร จากการศึกษาของ จงกล และคณะ (2555) ศึกษาผลของสไปรูลิน่าสด (raw *Spirulina*; RS) ต่อการเติบโต และการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันในการอนุบาลปลานิลแดง (*Oreochromis* sp.) พบว่าลูกปลาที่อนุบาลด้วย 100%RS และ 10%PF (Power feed; PF อาหารผง) มีอัตราการรอดตายสูงกว่าลูกปลาที่อนุบาลด้วย 80%RS, 60%RS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การเพิ่มสไปรูลินาในอาหารปลานิลยังช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและอัตรารอดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับสาหร่ายสไปรูลินา (Abu-Elala et al., 2016; Belal et al., 2012) ซึ่งสาหร่ายสไปรูลินาเป็นแหล่งโปรตีนที่มีศักยภาพในอาหารสัตว์ เนื่องจากมีโปรตีนสูง มีกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิด มีเม็ดสีเบต้าแคโรทีนและไฟโคไซยานิน มีวิตามินและแร่ธาตุในปริมาณมาก (Duncan and Klesius, 1996)

ค่ากิจกรรมไลโซไซม์เป็นตัวบ่งชี้ของการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน โดยค่ากิจกรรมไลโซไซม์เฉลี่ยของลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมไลโซไซม์เฉลี่ยสูงกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ และอาหารในชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงถึงการตอบสนองของภูมิคุ้มกันของสารน้ำว่ามีประสิทธิภาพในการทำลายผนังเซลล์แบคทีเรียที่แปลกปลอมเข้าสู่ร่างกายให้เซลล์แตก (สุดาพร และคณะ, 2564) เช่นเดียวกับ Hassaana et al. (2021) ศึกษาการเสริมอาหารด้วยเบต้า-แคโรทีน และไฟโคไซยานิน ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายสไปรูลินา พบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสมด้วยไฟโคไซยานินส่งผลให้กิจกรรมไลโซไซม์เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับอาหารชุดควบคุม สอดคล้องกับการศึกษาในปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลินา 10 มิลลิกรัม ส่งผลให้มีค่ากิจกรรมไลโซไซม์เพิ่มมากขึ้น (Ragap et al., 2012) และยังสอดคล้องกับจงกล และคณะ (2555) พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของจำนวนเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และค่ากิจกรรมไลโซไซม์ใน

ลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลินา การเพิ่มขึ้นของความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันอาจเกิดจาก C-phycocyanin ที่อยู่ในสาหร่ายสไปรูลินา ซึ่งไฟโคไซยานินเป็นส่วนหนึ่งของไฟโคบิลิโปรตีนของสาหร่ายสไปรูลินาที่มีศักยภาพมากกว่ากรดแอล-แอสคอร์บิกที่มีคุณสมบัติต้านการอักเสบ ป้องกันตับ และไต คุณสมบัติส่วนหนึ่งมาจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (de Jesus Raposo et al., 2013; Sitohy et al., 2015) และช่วยลดสภาวะออกซิเดชันเกินสมดุล (สิชล, 2559) สามารถช่วยสร้างภูมิคุ้มกันได้ (Vonshak, 1997)

การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการกินอาหาร ซึ่งการให้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่าง ๆ กับปลาทำให้การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Hassaana et al. (2021) ที่พบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารที่ผสม C-phycocyanin จากสาหร่ายสไปรูลินา ส่งผลให้มีเปอร์เซ็นต์การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาว (Phagocytic activity) เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin เช่นเดียวกับการทดลองของ ธัชศึก และคณะ (2554) พบว่าปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลินา 12 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมสูงกว่าปลาทองในชุดควบคุม และมีรายงานการศึกษาการจับกินสิ่งแปลกปลอมมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อได้รับอาหารผสมสไปรูลินาในปลาดุก (Duncan and Klesius, 1996) กุ้งแชบ๊วย (Lee et al., 2003) เป็นต้น

กระบวนการผลิตซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (Respiratory burst activity) ของเม็ดเลือดขาวเป็นกระบวนการที่เซลล์สร้างออกซิเจน (reactive oxygen) ซึ่งมีคุณสมบัติในการทำลายแบคทีเรีย การวัดการทำงานของ respiratory burst สามารถบ่งชี้ภาวะระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (Pulsford et al., 1994) จากผลการทดลองพบว่า ตลอดระยะเวลา 60 และ 90 วัน ลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากระบวนการผลิตซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน มากกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อช่วงระยะเวลา 90 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงว่า C-phycocyanin มีส่วนช่วยกระตุ้นการทำงานของเซลล์ฟาโกไซต์ จึงทำให้มีค่ากระบวนการผลิตซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่สามารถสร้างออกซิเจน บ่งบอกได้ว่ามีประสิทธิภาพในการทำลายแบคทีเรีย และในขณะเกิดกระบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอม มีการใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้นจึงมีการผลิตซุปเปอร์ออกไซด์เพิ่มมากขึ้น (Chung and Secombes, 1988) เช่นเดียวกับในกุ้งขาวที่ได้รับสารสกัดจากสไปรูลินา มีค่าไลโซไซม์ ค่าRespiratory burst activity เพิ่มขึ้น สามารถช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะได้ (Tayag et al., 2010)

โลหะหนัก เป็นอันตรายในอาหาร จึงเกิดการสะสมโลหะหนักในเนื้อเยื่อสัตว์ และเนื้อเยื่อพืช เมื่อรับประทานเข้าไปจะทำให้สะสมในร่างกายได้ การศึกษาการปนเปื้อนของโลหะหนักในงานวิจัยนี้ พบปริมาณของปรอทในเนื้อปลาทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีค่าน้อยกว่า 0.018 ซึ่งมาตรฐานปรอทที่พบใน

เนื้อปลาต้องไม่เกิน 0.222 (IAEA, 2003) และยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับ ที่ 412 (พ.ศ. 2562) เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน ค่าสูงสุดปริมาณโลหะหนักในปลาและ ผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำของประเทศต่าง ๆ ที่อนุญาตให้มีได้ (รัชดา, 2557) ปรอทสามารถปนเปื้อนมากับดินที่นำมาทำตะกอนไบโอฟลอค มีรายงานว่าโดยทั่วไป การแพร่กระจายของปรอทในดินจะมีไม่มากนัก พบว่ามีความเข้มข้นในระดับที่ค่อนข้างต่ำ โดยเฉลี่ย ประมาณ 70 นาโนกรัม/กรัม (กรมควบคุมมลพิษ, 2554)

คุณภาพน้ำที่ใช้ในการอนุบาลหรือเลี้ยงปลานับว่ามีความสำคัญมาก เพราะน้ำเป็นปัจจัยใน การดำรงชีวิตของปลา หากปลาได้อาศัยอยู่ในน้ำที่มีคุณภาพน้ำที่เหมาะสมก็จะทำให้ปลาดำรงชีวิตได้ ปกติ จากการศึกษาปัจจัยด้านคุณภาพน้ำเฉลี่ยในบ่ออนุบาลลูกปลานิลในระบบไบโอฟลอค ที่ได้รับ อาหารชุดควบคุม และอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตลอดระยะเวลาการ อนุบาล 90 วัน พบว่า ทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีค่าเฉลี่ยอุณหภูมิอากาศเท่ากับ 31.8±0.00 องศาเซลเซียส อุณหภูมิน้ำทั้ง 3 ชุดการทดลองมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 26.4±0.09 ถึง 26.7±0.07 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 8.54±0.01 ถึง 8.56±0.01 หน่วย ค่าเฉลี่ย ออกซิเจนละลายน้ำ อยู่ในช่วง 8.20±0.02 ถึง 8.28±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้ง 3 ชุดการทดลองไม่มี ความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม สอดคล้องกับ El-Sayed (2004) พบว่าอุณหภูมิของน้ำที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลานิล ซึ่งที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส จะทำให้ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลานิลดีที่สุด Boyd and Tucker (1998) รายงานว่า คุณสมบัติของน้ำที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลานิล อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง ระหว่าง 19-32 องศาเซลเซียส และ วิรัช (2544) รายงานว่า ออกซิเจนที่ละลายน้ำมากกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระดับปกติสำหรับสัตว์น้ำทั่วไป ความเป็นกรด-ด่าง 6.5-9 เป็นช่วงที่เหมาะสม สำหรับสัตว์น้ำ แต่ถ้าค่ามีค่าต่ำมากหรือสูงมากจะส่งผลต่อสัตว์น้ำถึงตาย คือระดับ pH 4 ก็จะทำให้ ตาย pH 4-5 จะทำให้ไม่สืบพันธุ์ pH 9-11 ก็จะทำให้โตช้า และ pH มากกว่า 11 ก็ส่งผลให้ตาย เช่นกัน (มั่นสิน, 2540) ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน พบว่า มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.12±0.00 ถึง 0.13±0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร อยู่ในเกณฑ์ที่ไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ สำหรับเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ไม่ เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร (วิรัช, 2544) ค่าไนไตรท์-ไนโตรเจน ทั้ง 3 ชุดการทดลอง พบว่า มีค่ามากกว่าเกณฑ์มาตรฐาน เช่นเดียวกับ เมรานี (2563.) เลี้ยงปลานิลในระบบไบโอฟลอค พบว่าค่า ไนไตรท์-ไนโตรเจน ในชุดการทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 2.0-9.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ปลานิลสามารถดำรง อยู่ได้ ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากกว่าบ่อที่ได้รับอาหารชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) มีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 3.56±0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่อยู่ในระดับที่ปลอดภัยสำหรับสัตว์น้ำอยู่ที่ไม่เกิน 5 มิลลิกรัม ต่อลิตร (เปี่ยมศักดิ์, 2543) ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ในบ่อที่อนุบาลลูกปลานิลในระบบ

ไบโอฟลอค มีค่าต่ำ และมีค่าไนไตรท์-ไนโตรเจนสูง เนื่องจากกระบวนการไนตริฟิเคชั่นเปลี่ยนรูปสารประกอบแอมโมเนียเป็นไนไตรท์-ไนโตรเจน จึงทำให้ปริมาณไนไตรท์-ไนโตรเจนสูงขึ้น ซึ่งไนไตรท์จะถูกเปลี่ยนเป็นไนเตรท-ไนโตรเจน ในที่สุด (มะลิวัลย์ และคณะ, 2559) การเติมแหล่งคาร์บอนลงไปในบ่อเช่น แป้ง หรือน้ำตาล เมื่อเติมคาร์บอนลงไปจุลินทรีย์ก็จะดึงคาร์บอนมาเป็นแหล่งพลังงานแล้วก็จะดึงเอาไนโตรเจนซึ่งเป็นสารประกอบของแอมโมเนียที่มีอยู่ในน้ำมาเป็นตัวสร้างเซลล์เพื่อการเจริญเติบโต ดังนั้นถ้ามีการเติมคาร์บอนในสัดส่วนที่เหมาะสมจะเป็น การส่งเสริมให้จุลินทรีย์มีการดึงไนโตรเจนมาใช้มากขึ้นตามไปด้วย ผลก็คือปริมาณแอมโมเนียในน้ำก็จะลดลง ขณะเดียวกันปริมาณของจุลินทรีย์ก็จะเพิ่มมากขึ้นด้วยเท่ากับว่าประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำในบ่อก็ย่อมจะดีขึ้นตามลำดับ (อนุสรา, 2555) ปริมาณออร์โธฟอสเฟต ฟอสฟอรัส ในบ่ออนุบาลลูกปลานิลที่ได้รับอาหารในชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.58±0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่ามากกว่าบ่อที่ลูกปลานิลได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เนื่องจากปริมาณแพลงก์ตอนและแบคทีเรียที่อยู่ในตะกอนไบโอฟลอคมีจำนวนมาก (Avnimelech, 2015)

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการศึกษา

การทดลองที่ 1 ระดับห้องปฏิบัติการ (ตู้กระจก)

สามารถใช้ C-phycocyanin สกัดจากสาหร่ายอาร์โธรสไปร่าเป็นแนวทางในการเพิ่มการเจริญเติบโต อัตรารอด และระบบภูมิคุ้มกันของลูกปลานิลที่อนุบาลในระบบไบโอฟลอคได้ จากการทดลองจึงเลือกลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มาทดลองต่อในบ่อซีเมนต์ เนื่องจากมีแนวโน้มการเจริญเติบโต และเพิ่มการกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีที่สุด แม้ลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าสูงกว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 เปอร์เซ็นต์ก็ตาม แต่ในทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน

การทดลองที่ 2 ทดลองในบ่อซีเมนต์

โดยเลือกลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม C-phycocyanin 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มาทดลองต่อในบ่อซีเมนต์ สามารถสรุปได้ว่า การใช้ C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์ ผสมในอาหารลูกปลานิลที่อนุบาลในระบบไบโอฟลอค ส่งผลให้ลูกปลานิลมีการเจริญเติบโตดีที่สุด สามารถช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในลูกปลานิลได้ ปัจจัยคุณภาพน้ำอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม ส่วนปริมาณโลหะหนักพบปรอทในเนื้อปลาแต่ยังอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัย และต้นทุนการผลิตเท่ากับ 3.46±0.02 บาทต่อตัว โดยต้นทุนหลักจะอยู่ที่ค่าสารสกัด C-phycocyanin และวัสดุในการทำตะกอนไบโอฟลอค

ข้อเสนอแนะ

1. ถ้าเกษตรกรนำไปใช้ ควรให้เสริมสารสกัด C-phycocyanin 0.5 เปอร์เซ็นต์
2. เพื่อความคุ้มทุนในการผลิตลูกปลาในระบบไบโอฟลอค สามารถเพิ่มความหนาแน่นในการผลิตลูกปลาให้มากกว่า 50 ตัวต่อตารางเมตร การเลี้ยงที่ระดับความหนาแน่นสูง จึงจะทำให้ต้นทุนลดลงได้
3. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในสัตว์น้ำที่มีมูลค่าสูง เช่นปลาสวยงาม
4. ระบบไบโอฟลอค ต้องมีการควบคุมตะกอนอย่างสม่ำเสมอเพื่อไม่ให้เกิดของเสียภายในบ่อ

บรรณานุกรม

กรมควบคุมมลพิษ. 2554. **ปรอท**. กรุงเทพฯ: กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม.

กรมประมง. 2555. **เกณฑ์คุณภาพน้ำเพื่อคุ้มครองทรัพยากรสัตว์น้ำจืด เอกสารเผยแพร่ลำดับที่ 75/2530**. กรุงเทพฯ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

_____. ม.ป.ป. **คุณภาพน้ำที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงปลานิล**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.fisheries.go.th/if-ubon_amnat/web2/images/downloads/21081.pdf (19 กันยายน 2560).

กองวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ. ม.ป.ป. **ปลานิลจิตรลดา**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.fisheries.go.th/genetic/index.php/2013-11-15-01-35-24/85-2013-11-25-08-28-46/101-2014-02-06-01-52-39?showall=&limitstart= (25 กันยายน 2560).

เกวลิน หนูฤทธิ์. 2560. **สถานการณ์การผลิตและการค้าปลานิลและผลิตภัณฑ์ในช่วง 6 เดือนแรก ปี 2560**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.fisheries.go.th/strategy/UserFiles/files/tilapia%206-60(1).pdf (19 กันยายน 2560).

แก้วตา ลิ้มเฮง, บุษกร ล้วนศิริ, ปรางทิพย์ หอศิวาลัย, วศิน วุฒิวิชญานันต์ และ คุณาดล ศิลาฤดี. 2559. ผลของสาหร่ายสไปรูลิน่า (*Spirulina platensis*) ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลาอีกง (*Mystus gulio*). **แก่นเกษตร**, 44(1), 656-661.

จงกล พรมยะ และ ขจรเกียรติ แซ่ตัน. 2548. **การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาเพื่อสุขภาพ**. เชียงใหม่: ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

จงกล พรมยะ, ขจรเกียรติ ศรีนวลสม และ ชนกันต์ จิตมนัส. 2552. ผลของสาหร่ายสไปรูลินา และสาหร่ายไกต่อการเติบโต คุณภาพเนื้อ และการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันในปลาดุกรัสเซีย. **วารสารการประมง**, 62(6).

จงกล พรมยะ, ขจรเกียรติ์ ศรีนวลสม และ อนุภาพ วรรณคนาพล. 2553. **การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ในน้ำทิ้งจากโรงอาหาร เพื่อเป็นอาหารในการอนุบาล และเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์ฟ แบบยั่งยืน**. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.).

จงกล พรมยะ, เทพรัตน์ อึ้งเศรษฐพันธ์ และ ขจรเกียรติ์ แซ่ตัน. 2550. ผลของสาหร่ายสไปรูลิน่าสดต่อการเจริญเติบโต คุณค่าทางโภชนาการ และคาโรทีนอยด์ ของปลานิลแดง (*Oreochromis* sp.). **วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง**, 1(1), 30-41.

จงกล พรมยะ, ศิริเพ็ญ ตรัยไชยาพร และ ชนกันต์ จิตมนัส. 2555. ผลของสาหร่ายสไปรูลิน่าสดต่อการเจริญเติบโต และการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันในการอนุบาลปลานิลแดง (*Oreochromis* sp.). **วารสารวิทยาศาสตร์. มข.**, 40(1), 218-227.

จารวี เอียดสุย. 2541. **การสะสมของโลหะหนักในเนื้อปลาปลานิล (*Oreochromis niloticus (Linnaeus))* ที่เลี้ยงในบ่อบำบัดน้ำเสียของเทศบาลเมืองเพชรบุรี**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชนกันต์ จิตมนัส. 2545. สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันปลา. **สงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**, 24(4), 739-747.

ชาญยุทธ คงภิรมย์ชื่น. 2533. **คู่มือปฏิบัติการคุณภาพน้ำทางการประมง**. ชลบุรี: คณะเกษตรศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคลภาคตะวันออก.

ซัลมา หนุ้ยโดด และ เสาวลักษณ์ จันทร์ประสิทธิ์. 2564. ศึกษาต้นทุนและผลตอบแทนการเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชัง กรณีศึกษา : ตำบลเกาะยอ อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา. **วารสารเศรษฐศาสตร์และบริหารธุรกิจ มหาวิทยาลัยทักษิณ**, 13(1), 163-175.

ทิพาพร เรืองยศ, สมเกียรติ จตุรงค์ล้ำเลิศ, ชนวัฒน์ นิทัศน์วิจิตร และ จตุรภัทร วาฤทธิ์. 2559. ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูลิน่า โดยวิธีแช่แข็งสลับกับการละลายร่วมกับคลื่นอัลตร้าโซนิค. **วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง**, 10(2), 78-87.

ธัชศึก คุ้มพร้อม, จงกล พรมยะ, เกรียงศักดิ เม่งอำพัน, นิวุฒิ หวังชัย และ ชนกันต์ จิตมนัส. 2554. ผลของสาหร่ายสไปรูลินาและสาหร่ายไกต่อการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันและการปรับปรุงสีของปลาทอง. **KKU Research Journal**, 16(6), 612-621.

นฤมล อัศวเกศมณี. 2545. **บทความในหนังสือการเลี้ยงปลาน้ำจืด เรื่องคุณภาพน้ำที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลาน้ำจืด**. สงขลา: สำนักวิทยาบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

ปัญญา สุวรรณสมุทร. 2545. **คู่มือการเลี้ยง ปลาในกระชัง**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โครงการหนังสือเกษตรชุมชน.

เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต. 2543. **แหล่งน้ำกับปัญหามลพิษ**. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มณชัย เดชสังกรานนท์. 2555. **ไฟโคไซยานิน:สารสีจากสไปรูลิน่า**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://thaifranchisedownload.com/dl/group7320120906151304.pdf (25 กันยายน 2560).

มะลิวัลย์ คุตะโค, อิทธิพล บางเพชร, ภควรรค เศรษฐมงคล, นิสาชล เทศศรี, ปวีณา ตปนียวรวงศ์ และ สรวิศ เผ่าทองศุข. 2559. อัตราการบำบัดแอมโมเนียของไบโอฟลอกที่สร้างจากกลุ่ม

จุลินทรีย์น้ำเค็ม. **แก่นเกษตร**, 44(ฉบับพิเศษ 1), 731-737.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. 2540. **คู่มือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มินตรา ลักขณา และ ภัทรพล เปี่ยมสมบูรณ์. ม.ป.ป. **สารประกอบไนโตรเจน**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.pcf-farm.com/index.php?lay=show&ac=article&Id=540048833&Ntype=17 (1 มกราคม 2565).

เมรานี อิ่นคำ. 2563. **การเสริมโอเมก้า-3 เพื่อเพิ่มมูลค่าปลานิลอินทรีย์ในระบบไบโอฟลอค**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2546. **สาหร่ายสไปรูลินา**. พิมพ์ครั้งที่ 2. เชียงใหม่ สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

รัชดา อิทธพงษ์. 2557. **การปนเปื้อนโลหะหนักในสัตว์น้ำจากสะพานปลาท่าเทียบเรือ**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.fisheries.go.th/industry/files/archives/F32557.pdf (1 มกราคม 2564).

ราเชนทร์ ดวงศรี. 2552. **การสกัดและความคงตัวของไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูไลนา**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

วันเพ็ญ ภูติจันทร์. 2549. **วิทยาสาหร่าย**. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

วิรัช จิ๋วแหยม. 2544. **ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับคุณภาพน้ำและการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ**. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมศักดิ์ วรคามิน. 2547. **สาหร่ายอาหารของอนาคต**. กรุงเทพฯ: สามเจริญพาณิชย์.

สันต์ นาตะสุวรรณ. 2548. **คู่มือปลาน้ำจืด**. กรุงเทพฯ: เพ็ท-แพล้น พับลิชชิ่ง.

สิชล ฮวดรักษาสัตย์. 2559. **การโคลน การผลิต และการทำโปรตีนซี-ไฟโคไซยานินหน่วยย่อยแอลฟาและเบตาจากไซยาโนแบคทีเรียน้ำพุร้อนให้บริสุทธิ์และการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

สุดาพร ตงศิริ, กาญจนา กาญจนมยูร, กิตติกร กาญจนมยูร และ ปิยนารถ ศรชัย. 2564. การเจริญเติบโตและการตอบสนองภูมิคุ้มกันของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม TS TWIN ที่ระดับแตกต่างกัน. **แก่นเกษตร**, 1(596-601.

สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ, วิบูลย์ศรี พิมลพันธุ์, นภาธร งานชื่น, ทัศนัย สุโกศล, ธารารัชต์ ธารากุล, ศันสนีย์ เสนะวงษ์ และ สิริฤกษ์ ทรงวิไล. 2537. **อิมมูโนวิทยา**. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: เค.พี.พริ้นติ้ง.

โสมทัต วงศ์สว่าง. 2538. **วิทยาภูมิคุ้มกันทางสัตว์แพทย์**. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อนุสรา แก่นทอง. 2555. **ไบโอฟลอค (Biofloc) กับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.nicaonline.com/index.php?option=com_content&view=article&id=642:--biofloc-&catid=42:2012-02-20-03-00-29&Itemid=124 (1 กันยายน 2563).

อรุณี รอดลอย, ณรัฐพัฒน์ อินวิเชียร, กฤษณา เตบสัน, อรพินท์ จินตสถาพร และ รีนา โพธิ์สา. 2562. ผลของสาหร่ายสไปรูลิน่าและแอสตาแซนทินต่อสี และการเจริญเติบโตของปลาหมอสีครอสบรีด (*Cichlasoma* sp.). **วารสารการประมงอิเล็กทรอนิกส์**, 12(2), 4.

Abdel-Tawwab, M. & Ahmad, M. H. 2009. Live *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) as a growth and immunity promoter for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), challenged with pathogenic *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture Research**, 40(9), 1037-1046.

Abu-Elala, N., Galal, M. K., Abd-Elsalam, R., Mohey-Elsaeed, O. & Ragaa, N. M. 2016. Effects of dietary supplementation of *Spirulina platensis* and garlic on the growth performance and expression levels of Immune-related Genes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal Aquacult. Research Development**, 7(7), 433–442.

Adel, M., Yeganeh, S., Dadar, M., Sakai, M. & Dawood, M. A. O. 2016. Effects of dietary *Spirulina platensis* on growth performance, humoral and mucosal immune responses and disease resistance in juvenile great sturgeon *(Huso huso* Linnaeus, 1754). **Fish & Shellfish Immunology**, 56(Supplement C), 436-444.

Ajayan, K. V., Selvaraju, M. & Thirugnanamoorthy, K. 2012. Enrichment of chlorophyll and phycobiliproteins in *Spirulina platensis* by the use of reflector light and nitrogen sources: An in-vitro study. **Biomass and Bioenergy**, 47(Supplement C), 436-441.

Alexander, J. B. & Ingram, G. A. 1992. Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish. **Annual Review of Fish Diseases**, 2(Supplement C), 249-279.

Amer, S. 2016. Effect of Spirulina platensis as feed supplement on growth performance, immune response and antioxidant status of mono-sex Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Benha Veterinary Medical Journal**, 30(1), 1-10.

Ames, B. N., Shigenaga, M. K. & Hagen, T. M. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, 90(17), 7915–7922.

AOAC. 1984. **Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists**. 14th ed. Arlington,Virginia: AOAC.

Avnimelech, Y. 2015. **Biofloc Technology-A Practical Guidebook**. 3rd ed. Baton Rouge, Louisiana, USA: The World Aquaculture Society.

Azim, M. E. & Little, D. C. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, 283(1), 29-35.

Belal, E., Khalafalla, M. & El-hais, A. M. A. 2012. Use of *spirulina (Arthrospira fusiformis)* for promoting growth of Nile Tilapia fingerlings. **African journal of microbiology research**, 6(35), 6423-6431.

Bhat, V. B. & Madyastha, K. M. 2001. Scavenging of peroxynitrite by phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis:* protection against oxidative damage to DNA. **Biochem Biophys Res Commun**, 285(2), 262-266.

Biabani Asrami, M., Sudagar, M., Shahraki, N. & Vahdat, S. 2019. Effect of extracted phycocyanin from *Spirulina platensison* growth parameters, colorations, digestive enzymes and body chemical compositions of Guppy fish (*Poecilia reticulata*). **Survey in Fisheries Sciences**, 6(1), 1-8.

Bold, H. C. & Wynne, M. J. 1978. **Introduction to the algae : structure and reproduction**. Englewood Cliffs, N.J.: Prentice-Hall.

Boyd, C. E. & Tucker, C. S. 1998. **Pond Aquaculture Water Quality Management**. Boston, MA: Springer.

Camacho, F., Macedo, A. & Malcata, F. 2019. Potential Industrial Applications and Commercialization of Microalgae in the Functional Food and Feed Industries: A Short Review. **Mar Drugs**, 17(6), 312.

Chung, S. & Secombes, C. J. 1988. Analysis of events occurring within teleost macrophages during the respiratory burst. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry**, 89(3), 539-544.

Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P. & Verstraete, W. 2012. Biofloc technology in

aquaculture: Beneficial effects and future challenges. **Aquaculture**, 351-356.

Dalmo, R. A., Ingebrigtsen, K. & Bøgwald, J. 1997. Non-specific defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). **Journal of Fish Diseases**, 20(4), 241-273.

de Jesus Raposo, M. F., de Morais, R. M. & de Morais, A. M. 2013. Health applications of bioactive compounds from marine microalgae. **Life Science**, 93(15), 479-486.

Diana, M., Quílez, J. & Rafecas, M. 2014. Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: a review. **Journal of Functional Foods**, 10(407-420.

Duncan, P. L. & Klesius, P. H. 1996. Effects of Feeding *Spirulina* on Specific and Nonspecific Immune Responses of Channel Catfish. **Journal of Aquatic Animal Health**, 8(4), 308-313.

Eduardo, C. R. L., Rafael, L. S., Pamela, J. M. G., Ítalo, F. M. B. & Eudes, d. S. C. 2018. Culture of Nile tilapia in a biofloc system with different sources of Carbon. **Ciência Agronômica**, 49(3), 458-466.

Ekasari, J., Rivandi, D. R., Firdausi, A. P., Surawidjaja, E. H., Zairin, M., Bossier, P. & De Schryver, P. 2015. Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. **Aquaculture**, 441, 72-77.

El-Araby, D. A., Amer, S. A., Attia, G. A., Osman, A., Fahmy, E. M., Altohamy, D. E., Alkafafy, M., Elakkad, H. A. & Tolba, S. A. 2022. Dietary *Spirulina platensis* phycocyanin improves growth, tissue histoarchitecture, and immune responses, with modulating immunoexpression of CD3 and CD20 in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, 546, 737413.

El-sayed, A. 2004. Protein nutrition of farmed Tilapia: searching for unconventional sources. p. 364-378. In **New dimensions in farmed tilapia: proceedings of the Sixth International Symposium on Tilapia Aquaculture**. September 12-16, 2004, Manila, Philippines.

Esteban, M. A., Meseguer, J., Tafalla, C. & Cuesta, A. 2008. NK-like and oxidative burst activities are the main early cellular innate immune responses activated after virus inoculation in reservoir fish. **Fish Shellfish Immunol**, 25(4), 433-438.

Hassaan, M. S., Mohammady, E. Y., Soaudy, M. R., Sabae, S. A., Mahmoud, A. M. A. & El-Haroun, E. R. 2021. Comparative study on the effect of dietary β-carotene and phycocyanin extracted from *Spirulina platensis* on immune-oxidative stress biomarkers, genes expression and intestinal enzymes, serum biochemical in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Fish Shellfish Immunol**, 108, 63-72.

Hirahashi, T., Matsumoto, M., Hazeki, K., Saeki, Y., Ui, M. & Seya, T. 2002. Activation of the human innate immune system by *Spirulina*: augmentation of interferon production and NK cytotoxicity by oral administration of hot water extract of *Spirulina platensis*. **International Immunopharmacol**, 2(4), 423-434.

IAEA. 2003. **Trace Elements and Methylmercury in Fish Tissue. Reference sheet, Reference material IAEA-407. International Atomic Energy Agency, Analytical Quality Control Services. Vienna, Austria.** [Online]. Available http://nucleus.iaea.org/rpst/Documents/rs_iaea-407.pdf (1 January 2022).

Ibrahem, M. D., Mohamed, M. F. & Ibrahim, M. A. 2013. The Role of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) in Growth and Immunity of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Its Resistance to Bacterial Infection. **Journal of Agricultural Science**, 5(6), 109-117.

Lee, Y.-K., Chew, P.-F., Soh, B. S. & Tham, L. 2003. Enhancing phagocytic activity of hemocytes and disease resistance in the prawn *Penaeus merguiensis* by feeding *Spirulina platensis*. **Journal of Applied Phycology**, 15(4), 279-287.

MacColl, R. 1998. Cyanobacterial Phycobilisomes. **Journal of Structural Biology**, 124(2), 311-334.

Mary Leema, J. T., Kirubagaran, R., Vinithkumar, N. V., Dheenan, P. S. & Karthikayulu, S. 2010. High value pigment production from *Arthrospira (Spirulina) platensis* cultured in seawater. **Bioresource Technology**, 101(23), 9221-9227.

Nakamura, H. 1982. ***Spirulina*: Food for Hungrt World**. California: University of the Tress Press.

Nelson, J. S. 1994. **Fishes of the world.** 3rd ed. New York: John Wiley & Sons.

Patel, A., Mishra, S., Pawar, R. & Ghosh, P. K. 2005. Purification and characterization of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat.

Protein Expression and Purification, 40(2), 248-255.

Puangkaew, J., Kiron, V., Somamoto, T., Okamoto, N., Satoh, S., Takeuchi, T. & 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(1), 25-39.

Pulsford, A. L., Lemaire-Gony, S. & Farley, S. (1994). Effects of stress on the immune system of fish. pp. 111-123. In David W. Sutcliffe (Ed.), **Water quality and stress indicators in marine and freshwater ecosystems: linking levels of organisation (individual. populations, communities) editor**. Ambleside, England: Freshwater Biological Association.

Ragap, H. M., Khalil, R. H. & Mutawie, H. H. 2012. Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on tilapia *Oreochromis niloticus*. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, 2(2), 26-31.

Reddy, M. C., Subhashini, J., Mahipal, S. V., Bhat, V. B., Srinivas Reddy, P., Kiranmai, G., Madyastha, K. M. & Reddanna, P. 2003. C-Phycocyanin, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, induces apoptosis in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. **Biochem Biophys Res Commun**, 304(2), 385-392.

Romay, C., Armesto, J., Remirez, D., Gonzalez, R., Ledon, N. & Garcia, I. 1998. Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycocyanin from blue-green algae. **Inflammation Research**, 47(1), 36-41.

Romay, C., Gonzalez, R., Ledon, N., Remirez, D. & Rimbau, V. 2003. C-phycocyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. **Current Protein and Peptide Science**, 4(3), 207-216.

Satyantini, W. H., Sukenda, Harris, E. & Utomo, N. B. P. 2014. Administration of *Spirulina* phycocyanin enhances blood cells, phagocytic activity and growth in humpback grouper juvenile. **Jurnal Veteriner**, 15(1), 46-56.

Sayed, A. E.-D. H., El-Sayed, Y. S. & El-Far, A. H. 2017. Hepatoprotective efficacy of *Spirulina platensis* against lead-induced oxidative stress and genotoxicity in catfish; *Clarias gariepinus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 143(Supplement C), 344-350.

Secombes, C. J. 1990. Isolation of salmoid macrophages and analysis of their killing activity. **Techniques in Fish Immunology**, 1(137-155.

Sitohy, M., Osman, A., Ghany, A. G. A. & Salama, A. 2015. Antibacterial phycocyanin from *Anabaena oryzae* SOS13. **International Journal of Applied Research in Natural Products**, 8(4), 27–36.

Takashi, A., Tomokazu, T., Mudjekeewis, D. S., Hidehiro, K. & Ikuo, H. 2008. Molecular Innate Immunity in Teleost Fish:Review and Future Perspectives. **Fisheries for Global Welfare and Environment, 5th World Fisheries Congress 2008**, 263-276.

Tayag, C. M., Lin, Y. C., Li, C. C., Liou, C. H. & Chen, J. C. 2010. Administration of the hot-water extract of *Spirulina platensis* enhanced the immune response of white shrimp Litopenaeus vannamei and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. **Fish Shellfish Immunol**, 28(5-6), 764-773.

Vadstein, O. 1997. The use of immunostimulation in marine larviculture: possibilities and challenges. **Aquaculture**, 155(1), 401-417.

Venkataraman, L. V. 1983. **A Monograph on Spirulina Platensis: Biotechnology and Application**. Mysore: Central Food Technological Research Institute.

Verlhac, V., Gaudan, J. O. A., Schuep, W. & Hole, R. 1996. Influence of dietary Glucan and vitamin c on non-specific and specific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, 143(1), 123-133.

Vonshak, A. 1997. ***Spirulina platensis (Arthospira)*: Physiology, Cell Biology and Biotechnology**. London: Taylor and Francis.

Watanuki, H., Ota, K., Tassakka, A. C. M. A. R., Kato, T. & Sakai, M. 2006. Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on carp, *Cyprinus carpio*. **Aquaculture**, 258(1), 157-163.

Yoshida, T. & Kitao, T. 1991. The Opsonic Effect of Specific Immune Serum on the Phagocytic and Chemiluminescent Response in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* Phagocytes. **Fish Pathology**, 26(1), 29-33.

Yousif, A., Albright, L. & Evelyn, T. P. T. 1995. Immunological evidence for the presence of an IgM-like immunoglobulin in the eggs of coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. **Diseases of Aquatic Organisms**, 23(2), 109-114.

Zeinab, A., Aly, M., Faiza, A. & Fatma, E. 2015. Effect of *Spirulina platensis* and *lactobacillus rhamnosus* on growth and biochemical performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Intern. **Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, 4(4), 747–763.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวภัคธีมา ยาวิชัย

เกิดเมื่อ 14 มกราคม 2537

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2551 มัธยมศึกษาตอนต้น
โรงเรียนดำรงราษฎร์สงเคราะห์ จังหวัดเชียงราย

พ.ศ. 2555 มัธยมศึกษาตอนปลาย
โรงเรียนดำรงราษฎร์สงเคราะห์ จังหวัดเชียงราย

พ.ศ. 2559 ปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิตการประมง (การประมง)
มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่