รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของบีเทน ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด, การปรับตัวต่อความเค็ม และสุขภาพใน กุ้งขาว(*Penaeus vannamai*)

Effect of Betaine on growth performance, survival, salinity adaptation and health in white shrimp (*Penaeus vannamai*)

ผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. กิจการ ศุภมาตย์

รายงานการวิจัยฉบับนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงบประมาณ

ประจำปีงบประมาณ 2550

รายงานโครงการวิจัย

ผลของบีเทน ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด, การปรับตัวต่อความเค็ม และสุขภาพใน กุ้งขาว(*Penaeus vannamai*)

Effect of Betaine on growth performance, survival, salinity adaptation and health in white shrimp (*Penaeus vannamai*)

ผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. กิจการ ศุภมาตย์

รายงานการวิจัยฉบับนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงบประมาณ

ประจำปีงบประมาณ 2550

ผลของบีเทน ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด, การปรับตัวต่อความเค็ม และสุขภาพในกุ้งขาว (*Penaeus vannamai*)

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของบีเทนต่อการเจริญเติบโต ความต้านทานโรค และสมดุลของเหลวในกุ้งขาว ซึ่งประกอบด้วย 2 การทดลอง โดยการทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาผลของบีเทนต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาว ความต้านทานต่อเชื้อโรคแบคทีเรีย และความต้านทานความเครียดจากการเปลี่ยนแปลงความเค็มซึ่ง แบ่งการทดลองเป็น 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ จำนวนกุ้ง 50 ตัวต่อซ้ำ วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด โดยให้อาหารทดลองที่ไม่เสริมบีเทน สูตรที่ 1 เป็นชุดควบคุม และอาหารที่เสริมบีเทน 1, 2, 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เป็นสูตรที่ 2-5 ตามลำดับ ทำการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวภายในกระชังที่แขวนในบ่อดิน เมื่อสิ้นสุดการทดลองในเวลา 6 สัปดาห์พบว่า อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และปริมาณอาหารที่กุ้งกินในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) ส่วนน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งที่ได้รับอาหารเสริมบีเทนมีค่าสูงกว่าชุดควบคุม โดยกุ้งที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด ส่วนผลความต้านทานโรคของกุ้งที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 3และ4 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีแนวโน้มที่จะต้านทานโรคได้ดีกว่าสูตรอาหารกลุ่มอื่น และความสามารถในการกำจัดเชื้อ *Vibrio harveyi* ในน้ำเลือดของกุ้งพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 3 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการกำจัดเชื้อ ได้ดีกว่ากุ้งในชุดควบคุม มีค่า 0.04±0.01 และ 1.33±0.26 ($\times 10^4$ โคโลนี/มิลิลิตร) ตามลำดับ

จากการศึกษาความต้านทานความเครียดจากการปรับตัวต่อความเค็มที่เปลี่ยน โดยการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำเลี้ยง พบว่าปริมาณออสโมลาริตี้ โซเดียม และคลอไรด์ในพลาสมาของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทนไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) กับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารชุดควบคุม

การทดลองที่ 2 การศึกษาการเจริญเติบโตของกุ้งขาวที่เลี้ยงที่ความเค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีทีในตู้ทดลอง โดยกุ้งขาวได้รับอาหาร 3 สูตรที่เสริมบีเทนในระดับต่างๆ คือ 0, 4 และ 8 เปอร์เซ็นต์ มีแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล 2×3 ปัจจัย เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 6 สัปดาห์พบว่าการเสริมบีเทนในอาหารไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต แต่ความเค็มของน้ำที่เลี้ยงมีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งทดลอง โดยกุ้งขาวที่เลี้ยงน้ำความเค็ม 25 พีพีที มีน้ำหนักตัวสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่ากุ้งขาวที่

เลี้ยงในน้ำทะเลความเค็ม 2 พีพีที และไม่พบความแตกต่างของปริมาณเม็ดเลือดรวม กลูโคสในน้ำเลือด และปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดที่เลี้ยงในสภาพเค็มปกติ

ผลการศึกษาความต้านทานความเครียดโดยการเปลี่ยนแปลงความเค็ม พบว่าเมื่อเปลี่ยนแปลงความเค็มจากความเค็มสูงมายังความเค็มต่ำ ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันของระดับของบีเทนในอาหารและเวลา ต่อองค์ประกอบเลือด แต่พบว่ามีผลต่อปริมาณโซเดียมของกุ้งขาว แต่ในส่วนของการเปลี่ยนแปลงความเค็มจากความเค็มต่ำไปยังความเค็มสูง พบว่ามีปฏิสัมพันธ์กันของระดับของบีเทนในอาหารและเวลาต่อปริมาณเม็ดเลือดรวม ออสโมลาริตี้ และโซเดียม โดยกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง มีปริมาณเม็ดเลือดรวม ออสโมลาริตี้ และโซเดียมสูงกว่าชุดการทดลองอื่น ผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเสริมบีเทนในอาหารสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงกุ้ง เพื่อให้กุ้งมีการเจริญเติบโตที่ดี และมีความต้านทานโรคเพิ่มขึ้น รวมถึงการรักษาสมดุลของเหลวในร่างกายกุ้งซึ่งจะช่วยลดความเครียดจากการเปลี่ยนแปลงความเค็มในระหว่างการเลี้ยงได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้การเลี้ยงกุ้งมีผลผลิตที่สูงขึ้นและยั่งยืนต่อไป

Effect of Betaine on growth performance, survival, salinity adaptation and health in white shrimp (*Penaeus vannamai*)

Abstract

The effects of betaine on growth performance, disease resistance and osmoregulation in white shrimp (*Penaeus vannamei*) were studied. The experiment composed of 2 trials : Trial 1 studied on growth performance, disease and stress resistance. This trial was conducted in cages which installed in the earthen pond. Five treatments with 4 replications were performed, 50 shrimps were stocked in each cages. The experimental feeds were basal which was served as control and basal diet supplemented with 1, 2, 3 and 4% betaine were served as treatments. After 6 weeks, the results showed non significantly difference among test group on survival, feed conversion ratio and feed consumption ($p>0.05$). Significant different were found on weight gain, specific growth rate which highest in the group fed 4% betaine supplemented diet. The result from disease resistance showed similar trend that 4% feeding group tend to increase the resistance to bacterial infection.

The ability of shrimp hemocyte to remove bacterial pathogen showed better results in shrimp fed 3% betaine supplemented diet than the control group, 0.04+0.01 and 1.33+0.26 cfu/ml, respectively. The results from salinity adaptation showed that no significant different on osmolarity, Na and Cl ion in shrimp fed betaine and control diet.

The trial 2 was conducted in glass aquarium and studied combination factors of betaine supplementation and salinity. Shrimp were fed with test diet included basal diet and basal diet supplemented with 4 and 8% betaine. Shrimp were reared in 2 salinity conditions: 2 ppt and 25 ppt. After 6 weeks, the results showed that water salinity has affected on growth. Better growth performance was recorded in shrimp reared in 25 ppt than 2 ppt. Blood parameters including total hemocyte, blood glucose and serum protein showed no different among group reared in normal salinity (25 ppt).

The results from salinity stress showed non significantly difference relation between the level of betaine in the feed and stressing time on blood parameters. On the other hands, changing salinity from low (2 ppt) to high (40 ppt) showed the relation of the betaine level in the feed and

blood parameters. Shrimp fed 4% betaine supplemented diet at 12h after stress showed higher blood parameters than others group.

In conclusion, the results from present study convince that using of betaine as feed supplement for better growth performance and health condition of shrimp during culture period.

สารบัญ

สารบัญ	**หน้า**
รายการตาราง	(6)
รายการภาพประกอบ	(9)
บทที่	
1.บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	20
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	21
วัสดุ	21
อุปกรณ์	21
วิธีการ	24
3.ผลการทดลอง	34
4.วิจารณ์ผลการทดลอง	58
5. สรุปผลการทดลอง	64
เอกสารอ้างอิง	65

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1 สารประกอบในกลุ่ม Zwitterionic solutes	8
2 สารประกอบในกลุ่ม Noncharged solutes	9
3 สารประกอบในกลุ่ม Organic anions	10
4 ปริมาณของบีเทนจากอาหารที่แตกต่างกัน (ไมโครกรัมต่อกรัม)	14
5 การเตรียมบีเทนในอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ	25
6 ส่วนประกอบและปริมาณวัตถุดิบในอาหารแต่ละสูตรของการทดลอง	26
7 ส่วนประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลองในการทดลองที่ 1 ที่มีบีเทนระดับต่าง ๆ โดยการวิเคราะห์	28
8 การเตรียมบีเทนในอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ	31
9 ส่วนประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลองในการทดลองที่ 2 ที่มีบีเทนระดับต่าง ๆ โดยการวิเคราะห์	32
10 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และปริมาณอาหารที่กุ้งกิน ของกุ้งทดลองที่ได้รับอาหารผสมบีเทนระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์	36
11 อัตราการรอดตายจากการฉีดเชื้อ *V. harveyi* และ การกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือดกุ้ง	36
12 ปริมาณของออสโมลาริตี้ โซเดียม และคลอไรด์ที่เลี้ยงในความเค็มปกติ (15 พีพีที) ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน	38
13 ปริมาณของออสโมลาริตี้ โซเดียม และคลอไรด์ที่ทำการเปลี่ยนแปลงความเค็มเป็น 40 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน	39
14 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และปริมาณอาหารที่กุ้งกินเมื่อได้รับบีเทนที่ระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์	46
15 ปริมาณของเม็ดเลือดรวม กลูโคส และโปรตีนในน้ำเลือด ในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีที	47
16 ปริมาณออสโมลาริตี้ โซเดียมและโพแทสเซียมในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงในความ เค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีที	49

รายการตาราง(ต่อ)

ตารางที่	**หน้า**
17 ปริมาณเม็ดเลือดรวม กลูโคส และโปรตีนในน้ำเลือดของการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 2 พีพีที เป็น 40 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน	51
18 ปริมาณเม็ดเลือดรวม กลูโคสและโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาวหลังเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 25 พีพีที เป็น 2 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน	53
19 ปริมาณออสโมลาริตี้ โพแทสเซียม และโซเดียมในน้ำเลือดของกุ้งขาวหลังเปลี่ยนแปลง ความเค็มจาก 2 พีพีที เป็น 40 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน	55
20 ปริมาณออสโมลาริตี้ โพแทสเซียม และโซเดียมในน้ำเลือดของกุ้งขาวหลังเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 25 พีพีที เป็น 2 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน	57

รายการภาพประกอบ

ภาพที่	หน้า
1 โครงสร้างของบีเทน	12
2 เมทาบอลิซึมของบีเทน	13
3 กลไกการขนส่งสารประกอบเข้าสู่เซลล์	15
4 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของกุ้งขาวระยะเวลา 0 ถึง 6 สัปดาห์	34
5 ปริมาณออสโมลาริตี้ในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 2 สูตร คือ อาหารชุดควบคุม และเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ในน้ำทะเลความเค็มปกติ (15 พีพีที)	40
6 ปริมาณออสโมลาริตี้ในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 2 สูตร คือ อาหาชุดควบคุม และเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ในน้ำทะเลที่เปลี่ยนแปลงความเค็ม เป็น 40 พีพีที	40
7 ปริมาณโซเดียมในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 2 สูตร คือ อาหาชุดควบคุม และเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ในน้ำทะเลความเค็มปกติ (15 พีพีที)	41
8 ปริมาณโซเดียมในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 2 สูตร คือ อาหาชุดควบคุม และเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ในน้ำทะเลที่เปลี่ยนแปลงความเค็ม เป็น 40 พีพีที	41
9 ปริมาณคลอไรด์ในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 2 สูตร คือ อาหาชุดควบคุม และเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ในน้ำทะเลความเค็มปกติ (15 พีพีที)	42
10 ปริมาณคลอไรด์ในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 2 สูตร คือ อาหารชุดควบคุม และเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ในน้ำทะเลที่เปลี่ยนแปลงความเค็ม เป็น 40 พีพีที	42

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

กุ้งขาวเป็นกุ้งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีการเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะแถบละตินอเมริกา อเมริกาและบางประเทศในทวีปเอเชีย สำหรับในประเทศไทยเริ่มมีการนำกุ้งขาวเข้ามาเลี้ยงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2541 แต่การนำเข้ากุ้งขาวซึ่งมิใช่สัตว์น้ำในท้องถิ่นของไทยมาทำการเลี้ยงนั้นอาจประสบปัญหาการเลี้ยงในแง่ของการปรับตัวเพื่อให้เข้ากับสภาพแวดล้อม เนื่องจากประเทศไทยมีสภาพแวดล้อมที่แตกต่างไปจากสภาพแวดล้อมของแหล่งต้นกำเนิดของกุ้งขาวสายพันธุ์ดังกล่าวได้ ซึ่งการปรับตัวนั้นอาจมีผลต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดรวมไปถึงสุขภาพของกุ้งขาวที่นำมาเลี้ยง ซึ่งในปัจจุบันมีการเลี้ยงกุ้งที่ความหนาแน่นสูงซึ่งมักส่งผลกระทบกับกุ้งขาวไม่ว่าจะเป็นการเจริญเติบโตที่ลดลง เนื่องจากกุ้งเกิดความเครียดและอ่อนแอลง สามารถที่จะติดโรคได้ง่าย ทำให้เกษตรกรมีการนำยาปฏิชีวนะและสารเคมีต่างๆ มาใช้ในระบบการเลี้ยง ซึ่งทำให้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและเกิดปัญหาการตกค้างในสัตว์รวมถึงแหล่งน้ำได้ในที่สุด ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพื่อหาสารอาหารเสริมบางชนิดที่มีประสิทธิภาพในการทำให้เกิดการเพิ่มผลผลิตและลดปัญหาการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีในระบบการเลี้ยงได้ และการนำสารอาหารเสริมดังกล่าวมาใช้นั้นมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด

บีเทนเป็นเป็นสารประกอบชีวภาพ เป็นสารตัวกลางในกระบวนการเมทาบอลิซึมของโคลีน (Choline)(สุทธวัฒน์, 2548) และยังทำหน้าที่เป็นสารที่สะสมในเซลล์เพื่อลดความเข้มข้นของเกลือแร่ที่เกิดขึ้นภายในตัวปลาโดยการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมภายนอก (Virtanen *et al*., 1989; Clarke *et al*., 1994; Castrol *et al*., 1998) นอกจากนี้ยังมีส่วนช่วยในการกระตุ้นความอยากอาหารของสัตว์น้ำ (Virtanen *et al*., 1994; Coman *et al*., 1996; Knights, 1996; Harpaz, 1997; and Soares, 2000) จึงมีการนำมาผสมในอาหารสัตว์ เพื่อให้สัตว์บกและสัตว์น้ำให้มีการเจริญเติบโตที่ดียิ่งขึ้น มีรายงานว่าบีเทนมีส่วนช่วยในการดึงดูดความต้องการอาหารของสัตว์น้ำจำพวกครัสเตเชีย โดยเฉพาะการมีส่วนช่วยในการรักษาสมดุลของเหลวในร่างกายของสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงได้ (Virtanen *et al*., 1994) Virtanen และคณะ (1989) พบว่าบีเทนสามารถใช้ในการลดความเครียดอันเนื่องมาจากการเคลื่อนย้ายปลาแซลมอนจากแหล่งน้ำจืดไปยังน้ำเค็มได้ เนื่องจากบีเทนสามารถช่วยในการปรับสมดุลแรงดันออสโมติกที่เกิดขึ้นภายในตัวปลาให้เข้ากับสภาพแวดล้อมภายนอกได้ดีขึ้น และมีรายงานพบว่าปลาแซลมอนที่ได้รับ

การเสริมบีเทนลงในอาหารมีผลทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงสูงขึ้นกว่าชุดควบคุมที่ไม้ได้รับการเสริมบีเทน (Marja และ Erkki, 1993)

โครงการวิจัยนี้จะมุ่งเน้นการศึกษาคุณสมบัติของบีเทน ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดของกุ้งขาว นอกจากนี้ยังต้องการทราบถึงผลของสารดังกล่าวต่อการปรับตัวของกุ้งขาวเข้ากับความเค็มที่เปลี่ยนไป รวมถึงการตอบสนองต่อการต้านทานความเครียดจากมีสภาพแวดล้อม ทำให้ทราบถึงคุณสมบัติของบีเทน ในแง่ที่เป็นการช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต หรือช่วยลดความเครียดในกุ้งขาว เพิ่มการรอดตายในช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงความเค็มและสามารถที่จะนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยเฉพาะกุ้งขาว รวมไปถึงการพัฒนาทางด้านอุตสาหกรรมอาหารสัตว์น้ำให้มีคุณภาพเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเลี้ยงและยกระดับผลผลิตกุ้งเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นการช่วยให้การเลี้ยงกุ้งในประเทศไทยมีการพัฒนาสู่ความยั่งยืนต่อไปในอนาคต

ตรวจเอกสาร

1. การจัดลำดับอนุกรมวิธานของกุ้งขาว

อนุกรมวิธานของกุ้งขาววานาไมจัดจำแนกโดย Perez Farfante และ Kensley (1997) ดังนี้

Phylum Arthropoda

Class Crustacea

Subclass Malacostraca

Order Decapoda

Suborder Dendrobrachiata

Intraorder Penaeidea

Superfamily Penaeoidea

Family Penaeidae

Litopenaeus vannamei (Boone, 1931)

2. ชีววิทยาทั่วไปของกุ้งขาว

กุ้งขาววานาไม (*Litopenaeus vannamei*) เป็นกุ้งสายพันธุ์หลักของทวีปอเมริกา ค้นพบโดย Boone ในปี ค.ศ. 1931 มีชื่อเรียกหลายภาษาเช่นภาษาสเปนเรียก Camaron Patiblance ภาษาอังกฤษเรียก White leg Shrimp ภาษาฝรั่งเศสเรียก Coevette Pattes Blanches นอกจากนี้ยังมีชื่อทางการค้าที่เรียกตามแหล่งที่พบหรือลักษณะรูปร่างที่ปรากฏ เช่น ในประเทศอเมริกาเรียก West Coast White Shrimp หรือ White leg Shrimp ในประเทศโคลัมเบียเรียก Camaron Caf หรือ Camaron Blanco ในประเทศเม็กซิโกเรียก Camaron Blance ในประเทศอินโดนีเซียเรียก วานามี่ ในมาเลเซียเรียก อูดัง ปูเต (udang puteh) สำหรับชื่อภาษาอังกฤษโดยทั่วไปจะเรียก White leg, Pacific White, Mexican White, Ecuadoran White เป็นต้น ในธรรมชาติจะพบกุ้งขาววานาไมได้ตั้งแต่ชายฝั่งทะเลของประเทศเม็กซิโกจนถึงชายฝั่งทะเลของประเทศเปรู

2.1 ถิ่นที่อยู่อาศัยและการแพร่กระจาย

กุ้งขาววานาไมเป็นกุ้งพื้นเมืองที่กระจายอยู่ในทะเลของประเทศกลุ่มแปซิฟิกจากนอกชายฝั่งทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ถึงชายฝั่งแปซิฟิกของทวีปอเมริกาเหนือถึงทวีปอเมริกาใต้ โดยปกติแล้วจะพบมากในแถบประเทศปานามาและพบการกระจายทั่วไปตามชายฝั่งตะวันออกของมหาสมุทรแปซิฟิกจากเม็กซิโกไปถึงตอนเหนือของประเทศเปรู มีรายงานว่าพ่อแม่พันธุ์ที่นำมา

เพาะเลี้ยงพบได้ตั้งแต่ไหล่ทวีปจนถึงความลึก 72 เมตร ซึ่งเป็นเขตที่มีอุณหภูมิของน้ำประมาณ 26-28 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิเฉลี่ยทั้งปีสูงกว่า 20 องศาเซลเซียส) และมีความเค็มประมาณ 35 พีพีที

2.2 ลักษณะของกุ้งขาววานาไม

ลักษณะโครงสร้างโดยทั่วไปของกุ้งขาววานาไมจะคล้ายกับกุ้งกุลาดำซึ่งอยู่ในตระกูล Penaeidae เหมือนกันโดยกุ้งขาวจะมีลำตัว 6 ปล้อง ส่วนหัว 1 ปล้อง ส่วนหาง 1 ปล้อง หน้าอกใหญ่ลักษณะลำตัวขาวใส ขาสีขาว หางมีสีแดง โดยเฉพาะบริเวณปลายหางจะมีสีแดงเข้ม กรีจะมีแนวตรงปลายงุ้มลงเล็กน้อย เมื่อโตขึ้นฟันกรีด้านบนจะมี 8 ซี่ และด้านล่าง 2 ซี่ ความยาวของกรีจะยาวกว่าลูกตาไม่มาก มีเมือกมาก ซึ่งไม่เหมือนกับกุ้งขาวบางชนิด ที่สามารถสังเกตเห็นได้ว่ามีเมือกน้อย ลำตัวค่อนข้างแห้งเร็วเมื่อนำขึ้นมาจากน้ำและที่สังเกตได้เด่นชัดที่สุดคือลำไส้ของกุ้งชนิดนี้จะโตเห็นได้ชัดกว่ากุ้งชนิดอื่น (ภิญโญ, 2545) กุ้งขาวขนาดตัวที่โตสมบูรณ์เต็มที่จะมีขนาดเล็กกว่ากุ้งกุลาดำ โดยความยาวจากปลายกรีหัวจนถึงแพนหางประมาณ 230 มิลลิเมตร น้ำหนักตัวเฉลี่ยประมาณ 120 กรัม และกุ้งขาวเป็นกุ้งที่มีการปรับตัวต่อสิ่งแวดล้อมได้ดี

โดยสามารถปรับตัวในช่วงความเค็มกว้างตั้งแต่ 0-50 พีพีที ความเค็มที่เหมาะสมคือ 10-30 พีพีที ปรับตัวอยู่ในอุณหภูมิตั้งแต่ 24-32 องศาเซลเซียส แต่จะเหมาะสมที่สุดที่ 28-30 องศาเซลเซียส มีการเจริญเติบโตดี ลอกคราบบ่อย จึงต้องการแร่ธาตุสูง โดยเฉพาะแมกนีเซียมและแคลเซียม กุ้งขาวเคลื่อนตัวได้เร็ว ว่ายน้ำอยู่ตลอดเวลา จึงต้องการออกซิเจนค่อนข้างสูง และทำร้ายกุ้งตัวอื่น กินอาหารได้หลายชนิดที่มีอยู่ในธรรมชาติในทุกระดับความลึก ชอบว่ายน้ำและไม่หมกตัว

2.3 อุปนิสัยการกินอาหาร

โดยปกติแล้วกุ้งตระกูล Penaeidae เป็นสัตว์ที่หากินตอนกลางคืนและกินซากพืชซากสัตว์เป็นอาหาร แต่ตามธรรมชาติแล้วกุ้งเป็นสัตว์กินเนื้อซึ่งกินสัตว์ในกลุ่มครัสตาเชียขนาดเล็ก แอมพิปอด และโพลีชีดเป็นอาหาร กุ้งจะกินอาหารได้ดีตั้งแต่เวลา 08.00 ถึง 20.00 น. กุ้งขาวสามารถหากินอาหารธรรมชาติภายในบ่อได้ แต่ในระบบการเลี้ยงแบบพัฒนาแล้วอาหารในธรรมชาติที่มีในบ่อไม่เพียงพอต่อปริมาณกุ้งที่หนาแน่นดังนั้นจึงต้องมีการให้อาหารเพิ่ม ซึ่งกุ้งขาววานาไมต้องการอาหารที่มีโปรตีนประมาณ 30-35 เปอร์เซ็นต์

2.4 การเจริญเติบโตและการลอกคราบ

อัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขึ้นอยู่กับปัจจัย 2 ปัจจัยคือ ความถี่ในการลอกคราบและขนาดที่เพิ่มขึ้น เพราะตัวกุ้งจะถูกห่อหุ้มด้วยเปลือกที่มีโครงสร้างแข็งแรง ดังนั้นจึงต้องลอกคราบเก่าออกและสร้างคราบใหม่ที่ใหญ่ขึ้นเพื่อรองรับการขยายขนาดที่เพิ่มขึ้น ในช่วงก่อนการลอก

คราบ กุ้งจะสร้างคราบใหม่ที่ยังนิ่มอยู่ไว้ภายในชั้น cuticle และ intercalary sclerite เมื่อถึงเวลาลอกคราบ กุ้งจะสลัดตัวหลุดออกจากคราบเก่าโดยใช้หาง คราบใหม่ที่ยังนิ่มอยู่ในช่วงแรกก็จะแข็งขึ้นเรื่อย ๆ พร้อมกับขนาดของกุ้งที่มีขนาดใหญ่ขึ้น การลอกคราบยังขึ้นอยู่กับอายุของสัตว์ อุณหภูมิของน้ำ ความอุดมสมบูรณ์ของอาหาร (ประจวบ, 2527)

2.5 วงจรชีวิตและการสืบพันธุ์

ในธรรมชาติกุ้งขาวจะมีอายุประมาณเกือบ 36 เดือน โดยจะวางไข่ที่ระดับน้ำลึกประมาณ 30-60 เมตรใกล้พื้นทราย เริ่มตั้งแต่ตัวผู้และตัวเมียมีอายุ 9 เดือนขึ้นไป และควรมีน้ำหนักตัวเริ่มต้นของตัวผู้ 35 กรัม ตัวเมีย 40 กรัมขึ้นไป (ภิญโญ, 2545) ปกติแล้วแม่กุ้งขนาด 60-120 กรัม จะวางไข่ประมาณ 150,000-250,000 ฟอง (ปิยะบุตร, 2545) ส่วนแม่กุ้งขนาด 35-45 กรัมจะวางไข่ประมาณ 100,000-200,000 ฟอง (ภิญโญ, 2545) โดยจะวางไข่ในตอนกลางคืนบนพื้น แม่กุ้งจะว่ายน้ำอย่างรวดเร็วอยู่ประมาณ 45-60 วินาที แล้วจึงเริ่มวางไข่ขณะที่ลดความเร็วลงอย่างช้า ๆ เนื่องจากลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียของกุ้งขาว นี้จะมีลักษณะเป็นแบบเปิด (open thelycum) ซึ่งแตกต่างจากลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียของกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย ซึ่งมีลักษณะเป็นแบบปิด (closed thelycum) ดังนั้นรูปแบบของการสืบพันธุ์และพฤติกรรมในการผสมพันธุ์จึงแตกต่างกับกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย (ปิยะบุตร, 2545; ภิญโญ, 2545) เมื่อผสมพันธุ์ตัวผู้จะสลัดถุงน้ำเชื้อเข้าไปเก็บไว้ในอวัยวะเพศของตัวเมีย ถุงน้ำเชื้อจะมีปีกบาง ๆ และมีสารเหนียว ๆ ติดมาด้วย จะปิดอวัยวะเพศของเพศเมีย โดยสารเหนียวที่ปีกบาง ๆ เป็นตัวทำให้เกาะติด การผสมพันธุ์ของกุ้งขาวนี้สามารถผสมพันธุ์โดยไม่ต้องรอให้ตัวเมียลอกคราบ

ระบบสืบพันธุ์และการผสมพันธุ์ ในการผสมพันธุ์ ปกติแล้วกุ้งขาวจะผสมพันธุ์ในเวลากลางคืน หลังจากมีการลอกคราบของตัวเมียจะมีการเกี้ยวพาราสีและผสมพันธุ์กันที่ความลึก 10-15 เมตร ถึง 30-50 เมตร ในธรรมชาติ แม่กุ้งที่มีไข่แก่พร้อมที่จะวางไข่นั้นจะสังเกตได้จากรังไข่เป็นลำทึบมีสีเขียวเกือบดำอยู่บนแถบหลังของลำตัว ตั้งแต่บริเวณหลัง ไปจรดหางและตรงบริเวณด้านข้างของลำตัว ตรงปล้องที่ 1-2 จะเห็นรังไข่แผ่ออกไปเป็นหยัก ๆ โค้งลงมาทางด้านข้างของลำตัวทั้งสองข้าง โดยมีพฤติกรรมในการผสมพันธุ์แบ่งได้เป็น 3 ระยะ คือ ระยะที่หนึ่ง ตัวเมียจะว่ายน้ำขนานไปกับตัวผู้ ตัวเมียจะว่ายน้ำสูงกว่าประมาณ 30-40 เซนติเมตร แล้วว่ายน้ำวกกลับมาสลับกับการหยุดพักที่พื้นเป็นระยะ ๆ มักจะมีตัวผู้ว่ายไล่ตามหลายตัว แต่จะมีเพียงตัวเดียวที่สามารถว่ายน้ำเข้ามาขนานซ้อนอยู่ด้านล่างของตัวเมียพอดีแล้วตัวเมียจะค่อย ๆ ใช้ขาเดินโอบรัดที่ส่วนหัวของตัวผู้ ใช้เวลาประมาณ 15-20 นาที ถ้าตัวผู้สามารถจัดตำแหน่งได้เหมาะสมถ้ายังจัดตำแหน่งไม่เหมาะสมหรือมีการหยุดพักนาน ใช้เวลานานมากกว่าหนึ่งชั่วโมง ระยะที่สอง ตัวผู้จะพลิกตัวค่อย ๆ หงายขึ้นมาติดตัวเมีย พอทั้งคู่ประกบกันได้ตัวผู้จะแนบส่วนต่อของอกกับท้องเข้ากับส่วนอก

ด้านล่างของตัวเมีย ซึ่งจะทำให้ตัวผู้ตัวอื่น ๆ หมดโอกาสในการเข้าทำการผสมพันธุ์กับตัวเมียในจังหวะนี้ แต่ถ้าในระยะนี้ตัวผู้ยังเข้าทำได้ไม่สำเร็จ ตัวผู้จะกลับมาอยู่ในท่าคว่ำ แล้วจะพยายามว่ายน้ำขนานกับตัวเมียเพื่อสร้างโอกาสใหม่อีกครั้ง และระยะที่สาม ตัวผู้จะทำตัวเกือบตั้งฉากกับตัวเมีย หลังจากจังหวะที่ประกบตัวได้แล้ว ตัวผู้จะใช้ขาเดินคู่ที่ 5 เขี่ยอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (พีแทสมา) ซึ่งเห็นง่าย มีลักษณะเป็นตะขอคู่อยู่ที่ขาว่ายน้ำคู่ที่ 1 ซึ่งเป็นอวัยวะที่ช่วยในการปล่อยน้ำเชื้อแล้วจับพีแทสมาสอดเข้าไปที่ทีไลคัมของตัวเมียซึ่งลักษณะเป็นแผ่นรูปคล้ายผีเสื้อกางปีก มีรูเปิดอยู่ตรงกลางยาวลงไปเป็นร่องเหมือนรังกระดุมเสื้อเชิ้ต อยู่ตรงกลางระหว่างขาว่ายน้ำคู่ที่ 1 กับขาเดินคู่ที่ 5 ซึ่งเป็นอวัยวะที่มีไว้สำหรับเก็บน้ำเชื้อของกุ้งตัวผู้ ภายหลังการเกาะติดแน่น ตัวผู้จะโค้งรอบตัวเมียแล้วกระตุกหัวและหางเป็นจังหวะอย่างต่อเนื่องเพื่อบีบให้น้ำเชื้อออกมา ตัวเมียจะเก็บน้ำเชื้อเข้าไปแล้วปล่อยไข่เลยซึ่งในกุ้งขาวนี้ไข่ของตัวเมียจะอยู่ข้างใน ส่วนของน้ำเชื้อที่เข้าไปจะอยู่ด้านนอก ซึ่งช่องเปิดของทีไลคัมต้องเปิดก่อนถึงจะเก็บน้ำเชื้อที่ได้รับมา ทำให้ปริมาณของเชื้อตัวผู้ที่เข้าปฏิสนธิกับไข่เป็นไปอย่างไม่สมบูรณ์ จึงทำให้โอกาสในการได้ไข่ที่ได้รับการผสมแล้วเจริญต่อไปเป็นตัวอ่อนน้อยกว่ากรณีของกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย หลังจากนั้นจึงค่อยแยกตัวออกจากกันแล้วว่ายน้ำออกไปในเวลา 2-3 วินาที ซึ่งรวมเวลาทั้งสิ้นในการผสมพันธุ์ทั้งหมดประมาณ 1-3 ชั่วโมง แล้วแม่กุ้งทำการปล่อยไข่ขณะที่ลดความเร็วการว่ายน้ำลงอย่างช้า ๆ ออกทางช่องเปิดบริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 3 ประมาณ 45-60 วินาที การวางไข่นี้จะใช้เวลา 3-5 นาที ถ้ากุ้งวางไข่จะสามารถสังเกตเห็นคราบไขมันลอยอยู่บริเวณใกล้เคียง

3. กระบวนการปรับสมดุลเกลือและน้ำ (osmoregulation)

3.1 สมดุลของเกลือและน้ำ

ของเหลวภายในร่างกายของกุ้งประกอบด้วยอนุภาคเล็ก ๆ ของสารทั้งหมดที่แตกต่างกับสภาพแวดล้อมภายนอกที่สัตว์อาศัย (น้ำ) แร่ธาตุที่สำคัญและเกี่ยวข้องกับการดำรงชีพของกุ้งได้แก่ โพแตสเซียม (K^+) แมกนีเซียม (Mg^{++}) โซเดียม (Na^+) คลอไรด์ (Cl^-) และแคลเซียม (Ca^{++}) (ประจวบ, 2537) แร่ธาตุเหล่านี้มีความสำคัญในการรักษาสมดุลของเกลือแร่ สมดุลกรด-ด่าง และช่วยในการผลิตประจุที่ผนังเซลล์ (วุฒิพร, 2541) โดยเฉพาะ โซเดียม และคลอไรด์เป็นแร่ธาตุที่ที่สำคัญในกระบวนการOsmoregulation ของต่อมน้ำเหลือง(hemolymph) (Pan *et al*., 2007) กระบวนการออสโมติก เรกิวเลชัน(osmotic regulation) เป็นกระบวนการปรับสมดุลความเข้มข้นของอนุภาคทั้งหมดของสารเหลวที่ต่างจากสภาพแวดล้อมภายนอก โดยปกติแล้วครัสตาเชียที่อาศัยอยู่ในน้ำจืดจะอยู่ในภาวะไฮเปอร์ออสโมติก ซึ่งความเข้มข้นของเกลือในเลือดจะสูงกว่าน้ำที่อาศัยอยู่ ส่วนครัสตาเชียที่อาศัยอยู่ในทะเลและทะเลสาบน้ำเค็มจะเป็นไฮโปออสโมติก ซึ่งความเข้มข้นของเกลือในเลือดจะต่ำกว่าน้ำที่อาศัยอยู่ ดังนั้นกุ้งจึงต้องมีการปรับสมดุลซึ่งจำเป็นต้องมีการใช้

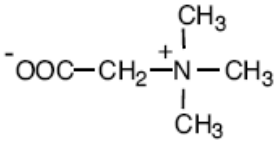
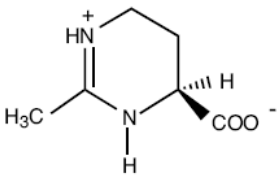
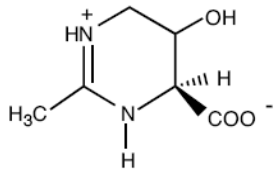
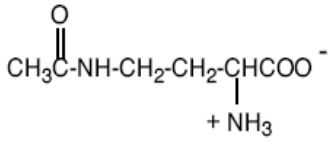
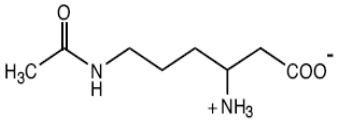
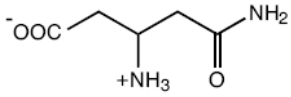
พลังงานในกระบวนการปรับสมดุล อวัยวะที่ช่วยในการปรับสมดุลที่สำคัญคือ แอนเทนนอลแกลนด์ (antennal gland) โดยที่เหงือกจะเป็นจุดแรกที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการดูดซึมของของเหลว (ประจวบ, 2527) และมีการดูดซึมไอออนของสัตว์น้ำ อย่างไรก็ตามอัตราการดูดซึมแร่ธาตุของสัตว์น้ำยังขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์น้ำ ขนาดของสัตว์น้ำ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณแร่ธาตุในน้ำ (วีรพงศ์, 2536) ซึ่งวัดได้จากความเข้มข้นของเลือด โดยกลไกการปรับสมดุล การสูญเสียน้ำและเกลือแร่นั้น แอนเทนนอลแกลนด์จะเป็นตัวการสำคัญในการขับแร่ธาตุออกภายนอกและดูดซึมแร่ธาตุจากภายนอกที่แพร่เข้ามาเหงือกและผิวหนังเพื่อให้ได้สภาพสมดุลกับเลือดของสัตว์น้ำ

3.2 กลไกการป้องกันตัวจากแรงดันออสโมติก

กลไกอย่างหนึ่งในสิ่งมีชีวิตหลาย ๆ ประเภทที่ใช้ในการปรับสมดุลแรงดันออสโมติก ได้แก่การสร้างและสะสมสารประกอบที่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ ซึ่งเราเรียกสารประกอบเหล่านี้เป็นคอมแพททิเบิล หรือ ออสโมโปรแทคแทนท์โซลูท (Incharoensakdi, 1998) โดยเมื่อเซลล์เกิดการสะสมของไอออนต่าง ๆ ภายในเซลล์ที่มากเกินความจำเป็น ไอออนเหล่านี้ก็จะไปรบกวนหน้าที่ การทำงาน และโครงสร้างต่าง ๆ ของโปรตีน (Yancey, 2005) นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของไอออนที่ผนังเซลล์จะส่งผลกับตัวที่ทำหน้าที่ขนส่ง โดยเมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เซลล์จะสร้างสารประกอบซึ่งเรียกว่า ออสโมไลต์ (osmolytes) ที่ไม่มีอันตรายต่อการทำงานของเซลล์ (Dragolovich, 1994) และพบได้ทั้งในเซลล์โปรคาริโอต พืช และสัตว์ (Yancey *et al*., 1982) นอกจากนี้สามารถแยกออสโมไลต์เหล่านี้ได้จากสายพันธุ์ของแบคทีเรีย (Roberts, 2005) โดยวิธี NMR-spectroscopy และในปี 1970 มีการใช้วิธี NMR- spectroscopy ในการแยกชนิดของสารประกอบอินทรีย์ที่มีการสะสมในสิ่งมีชีวิตทนความเค็มและชอบความเค็ม ต่อมามีการพัฒนาวิธีการแยกชนิดของออสโมไลท์โดยการใช้ ^{13}C-NMR โดยการศึกษาของ Romano และคณะ (2001) ได้ศึกษาการสะสมตัวของออสโมโพรแทคแทนส์ (osmoprotectant) และการเปลี่ยนโครงสร้างของไขมันในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันของแบคทีเรียชนิด *Halomonas pantelleriense* โดยใช้ความเค็ม อุณหภูมิ และ พีเอช เพื่อดูการสะสมตัวของสารละลายอินทรีย์ภายในเซลล์ โดยวิธีการ ^{13}C-NMR พบการสะสมตัวของ glycine betaine, ectoine, hydroxyectoine และ glutamate นอกจากนี้ยังแยกชนิดของ ectoine, β-amino acid และ di-*myo*-inositol-1,1'-phosphate (DIP) และในแบคทีเรียกลุ่ม hyperthermophiles อีกด้วย นอกจากนี้วิธีการ ^{1}H-NMR และ two-dimensional experiments ซึ่งมีความจำเพาะกับสารประกอบ โดยในวิธีการนี้จะสามารถตรวจพบและบอกปริมาณของตัวออสโมไลต์ได้ ตลอดจนวิธีการวิเคราะห์โดยใช้ HPLC และ NIR (Harbeck *et al*., 2004) ก็นำมาตรวจหาออสโมไลต์ ได้เช่นเดียวกัน โดยสามารถที่จะตรวจหาตัวออสโมไลต์ได้ง่าย และในปัจจุบัน

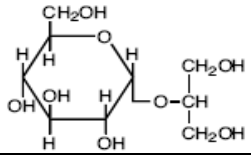
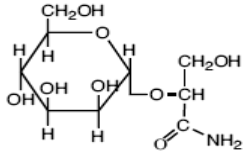
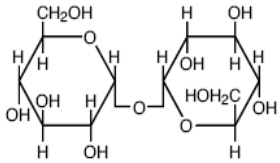
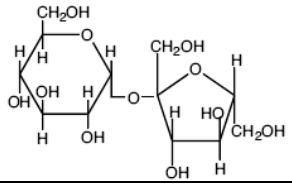
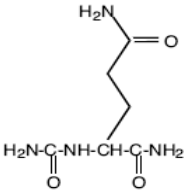
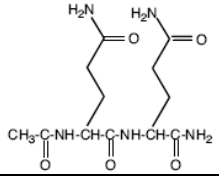
ได้มีการปรับปรุงการวิเคราะห์ให้มีความแม่นยำมากขึ้น ซึ่งสามารถแบ่งสารประกอบเหล่านี้ออกได้เป็น 3 กลุ่มได้ดังตารางที่ 1-3

ตารางที่ 1 สารประกอบในกลุ่ม Zwitterionic solutes

1. Zwitterionic solutes:	**ชนิดของแบคทีเรียที่พบ**
betaine 	Halotolerant: *Thioalkalivibrio versutus*; *Actinopolyspora* sp. Halophilic: *Actinopolyspora halophila*; *Halorhodospira halochloris* *Methanohalophilus portulcalensis* FDF1; *Methanosarcina thermophila* *Synechococcus* sp. DUN 52
ectoine 	Halotolerant: *Sporosarcina pasteurii*; *Brevibacterium epidermidis*; *Thioalkalimicrobium aerophilum*; *Vibrio cholerae* and *Vibrio costociola* Halophilic: *Chromohalobacter israelensis*; *Chromohalobacter salexigens*; *Halorhodospira halochloris*; *Halomonas elongate*; *Halomonas variabilis*; *Methylarcula marina*; *Methylarcula terricola*; *Methylophaga alcalica*; *Methylophaga natronic*
hydroxyectoine 	Halophilic: *Halomonas elongate*; *Nocardiopsis halophila*
N –acetyldiaminobutyrate 	Halotolerant: *Halomonas elongate CHR63*
N –acetyl- -lysine 	Halotolerant: *Methanosarcina thermophila*; *Methanothermococcus* *Thermolithotrophicus*; *Methanosarcina mazei* Gö1 Halophilic: *Methanohalophilus portucalensis* FDF1; *Methanohalophilus* Z7302
β-glutamine 	Halophilic: *Methanohalophilus portucalensis* FDF1

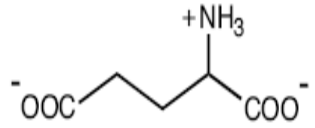
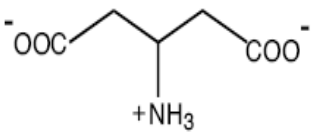
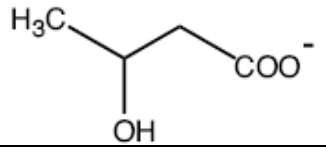
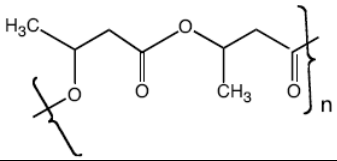
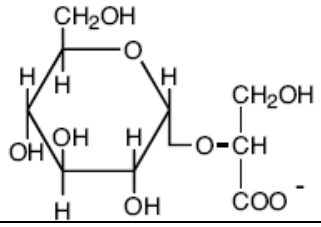
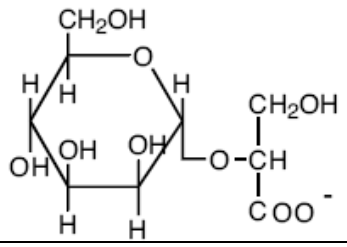
ที่มา : Roberts (2005)

ตารางที่ 2 สารประกอบในกลุ่ม Noncharged solutes

2. Noncharged solutes:	**ชนิดของแบคทีเรียที่พบ**
α-glucosylglycerol 	Halotolerant: *Synechocystis* sp.; *Microcystis firma*; *Rhodovulum sulfidophilum*; *Pseudomonas mendocina*; *Pseudomonas pseudoalcaligenes* *Stenotrophomonas*
α-mannosylglyceraminde 	Halotolerant: *Rhodothermus marinus*; *Rhodothermus obamensis*
trehalose 	Halotolerant: *Pyrobaculum aerophilum*; *Sulfolobus solfataricus*; *Sulfolobus ambivalens*; *Thermoproteus tenax*; *Thermoplasma acidophilum* Halophilic: *Actinopolyspora halophila*; *Chromohalobacter israelensis*; *Desulfovibrio halophilus*; *Rhodothermus obamensis*; *Natrialba magadii*
sucrose 	Halotolerant: *Synechocystis* sp. Strain PCC 6803; Anabaena spp.; proteobacteria
N -α-carbamoyl-L-glutamine l-amide 	Halophilic: *Ectothiorhodospira mobilis*
N-acetylglutaminylglutamine amide 	Halotolerant: *Sinorhozobium meliloti*; *Rhizobium leguminosarum* *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 Halophilic: purple sulfur bacteria

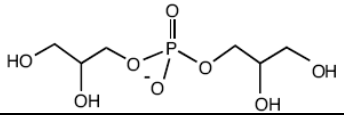
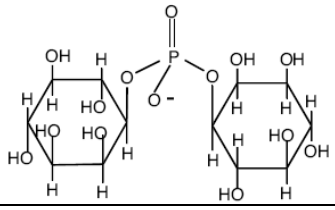
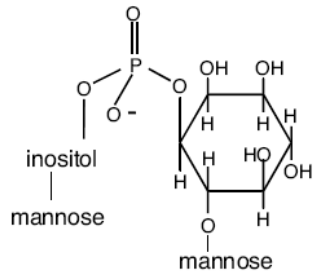
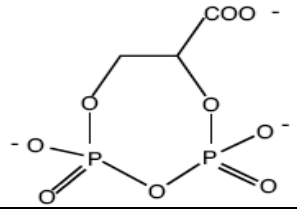
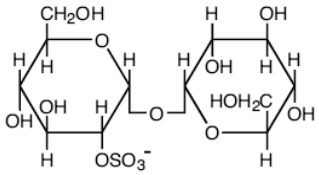
ที่มา : Roberts (2005)

ตารางที่ 3 สารประกอบในกลุ่ม Organic anions

3. Anionic solutes (carboxylates):	**ชนิดของแบคทีเรียที่พบ**
L-α-glutamate 	Halotolerant: many halotolerant bacteria and methanogens Halophilic: *Halomonas elongate*; *Methanohalophilus portucalensis* FDF1; *Halobacterium* sp. NRC-1; *Halobacterium salinarum*
β-glutamate 	Halotolerant: *Methanothermococcus thermolithotrophicus*; *Methanocaldococcus jannaschii*; *Methanotorris igneus* Halophilic: *Nocardiopsis halophila*
hydroxybutyrate 	Halotolerant: *Photobacterium profundum*
poly-β- hydroxybutyrate 	Halotolerant: *Photobacterium profundum*; Halophilic: *Methylarcula marina*; *Methylarcula terricola*
α-glucosylglycerate 	Halotolerant: *Agmenellum quadruplicatum*; *Stenotrophomonas maltophilia* Halophilic: *Methanohalophilus portucalensid* FDF1
α-mannosylglycerate 	Halotolerant: *Methanothermus fervidus*; *Pyrococcus furiosus*; *Rhodothermus marinus* (*Rhodothermus obamensis*)

ที่มา : Roberts (2005)

ตารางที่ 3(ต่อ)

Anionic solutes (phosphate, sulfate):	**ชนิดของแบคทีเรียที่พบ**
α-diglycerol phosphate 	Halotolerant: *Archaeoglobus fulgidus*
di-*myo*-inositol-1,1'-phosphate 	Halotolerant: Archaeoglobus fulgidus; *Methanotorris igneus*; *Pyrococcus furiosus*; *Pyrococcus woesei*; *Pyrodictium occultum*; *Thermotoga maritime*
mannosyl-DIP 	Halotolerant: *Thermotoga maritime* and *Thermotoga neapolitana*
cyclic-2,3-diphosphoglycerate 	Halotolerant: *Methanothermobacter thermoautotrophicus*; *Methanopyrus kandleri*; *Methanothermus fervidus*
sulfotrehalose 	Halophilic: *Natronococcus occultus*; *Natronobacterium* spp.

ที่มา : Roberts (2005)

4. บีเทน (Betaine)

บีเทนเป็นสารประกอบชีวภาพที่ไม่เป็นอันตรายกับสิ่งมีชีวิต (Kettunen *et al*., 2001) พบครั้งแรกในหัวบีท (sugar beet) พันธุ์ *Beta vulgaris* ในศตวรรษที่ 19 แต่ก็พบได้ในสัตว์และจุลินทรีย์ (Rhodes and Hanson, 1993; Zeisel *et al.*, 2003) รวมทั้งในพืชบางชนิด (Blunden *et al*., 1996; Blunden *et al*., 1999; Adrian-Romero and Blunden, 2001; Blunden *et al*., 2001; Blunden *et al*., 2003; Blunden *et al*., 2005) โดยมีชื่อเรียกได้หลากหลายเช่น trimethylglycine, *N*-trimethylglycine, glycine betaine, glycocoll betaine, oxyneurine และ lycine บีเทนเมื่อมีการนำมาสกัดแล้วจะมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว โดยบีเทนมีคุณสมบัติ 3 ประการได้แก่ เป็นสารที่สำคัญที่ให้หมู่เมทธิลในกระบวนการเมทาบอลิซึม (Scott, 1986) รวมทั้งทำหน้าที่เป็นสารที่ควบคุมสมดุลเกลือแร่ที่เกิดขึ้นภายในตัวปลาจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมภายนอก (Virtanen *et al*., 1989; Clarke *et al*., 1994; Castrol *et al*., 1998) นอกจากนี้ยังมีส่วนช่วยในการกระตุ้นความอยากอาหารของสัตว์น้ำ (Virtanen *et al*., 1994; Coman *et al*., 1996; Knights, 1996; Harpaz, 1997; Papatryphon and Soares, 2000) คุณสมบัติทางเคมีดังนี้คือ

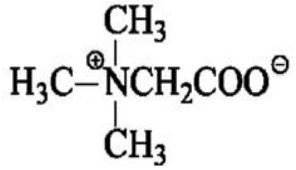
ชื่อทางเคมี 1-carboxy-N,N,N-trimethylmethanaminium

สูตรโมเลกุล $C_5H_{11}NO_2$

สูตรเคมี $(CH_3)_3N^+$-CH_2COO

มวลโมเลกุลเท่ากับ 117.15 ดาลตัน

จุดหลอมเหลว 200-250 องศาเซลเซียส



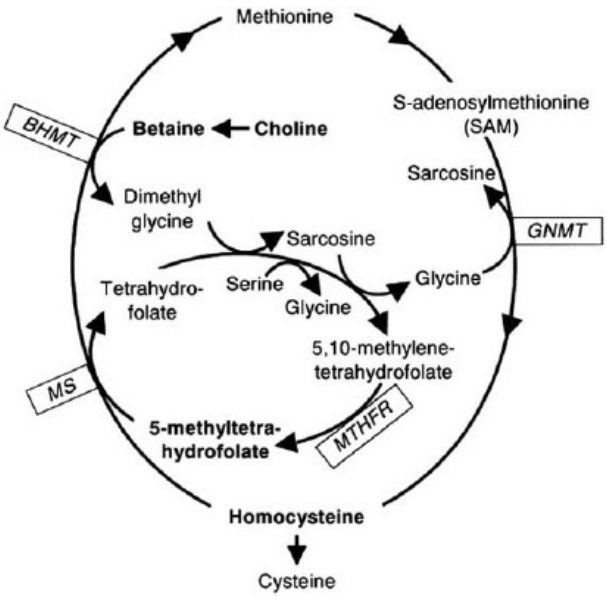
ภาพที่ 1 โครงสร้างของบีเทน

ที่มา : Slow และคณะ (2005)

4.1 เมทาบอลิซึมของบีเทน

บีเทนเป็นสารตัวกลางในกระบวนการเมทาบอลิซึมของโคลีน (Choline) ในสิ่งมีชีวิต (สุทธวัฒน์, 2548) โดยต่างจากโคลีนตรงที่บีเทนจะมีกลุ่มเมทธิลอยู่ 3 กลุ่ม การเปลี่ยนจากโคลีนเป็นบีเทนนี้จะถูกเปลี่ยนโดยเอนไซม์ โคลีนดีไฮโดรจีเนส (choline dehydrogenase) ไปเป็นบีเทนอัลดีไฮด์ (betaine aldehyde) ก่อน ซึ่งจะพบที่บริเวณไมโทคอนเดรียและต่อมาจะเปลี่ยนเป็น

บีเทนโดยเอนไซม์ NAD^+-dependent enzyme betaine dehydrogenase ในบริเวณไมโทคอนเดรียเช่นเดียวกัน ขณะที่โคลีนจะมีกลุ่มเมทธิล 4 กลุ่มแต่ถ้าหากมีกลุ่มเมทธิลอยู่ 2 กลุ่มจะเรียกว่าไดเมทธิลไกลซีน (dimethylglycine) โดยเอนไซม์บีเทนโฮโมซีสเทอีนเมทิลทรานเฟอเรส (betaine homocysteine methyl transferarase; BHMT) เป็นตัวเปลี่ยนจากไตรเมทธิลไกลซีนเป็นไดเมทธิลไกลซีน ซึ่งพบว่าทั้งเมทไธโอนีล โคลีน และบีเทน มีความสัมพันธ์กัน โดยสามารถที่จะเก็บสะสมในกระบวนการสร้างเมทไธโอนีลในร่างกายของปลาได้ (Wu and Davis, 2005)(ภาพที่ 2) หน้าที่ทั่วๆไปของบีเทนจะมีส่วนช่วยในการป้องกันเซลล์จากความเครียดและกระบวนการป้องกันตัวเองของบีเทนในพืชและจุลินทรีย์จากแรงดันออสโมซีสในสภาวะความแห้งแล้ง ความเค็มสูงหรือจากอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไป โดยไมโทคอนเดรียจะสังเคราะห์บีเทนออกมา และจะเข้าไปสะสมที่เซลล์และสามารถแทนที่เกลืออนินทรีย์ รวมทั้งป้องกันเอนไซม์ภายในเซลล์จากแรงดันออสโมซีสหรือจากอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไปได้ (Craig, 2004) ในการศึกษาของ De Zwart และคณะ (2003) พบว่าสามารถพบได้ทั้งในพืช เนื้อสัตว์ อาหารทะเลและจากแหล่งอื่น ๆ (ตารางที่ 9) สอดคล้องกับการศึกษาของ Sakamoto และคณะ (2002) ได้ศึกษาปริมาณของ betaine และ homocysteine (โฮโมซีสเทอีน) ในอาหารทั้งหมด 58 ชนิด โดยวิธีการ HPLC พบว่า อาหารที่ประกอบไปด้วยแป้งมีปริมาณของบีเทนในระดับที่สูง แต่ปริมาณของโฮโมซีสเทอีนจะมีอยู่น้อยในผัก อย่างไรก็ตามพบปริมาณของโฮโมซีสเทอีนในต้นถั่วงอกและเมล็ดของ alfalfa ในปริมาณที่มาก (ตารางที่ 4)



ภาพที่ 2 เมทาบอลิซึมของบีเทน

ที่มา : Olthof และ Verhoef (2005)

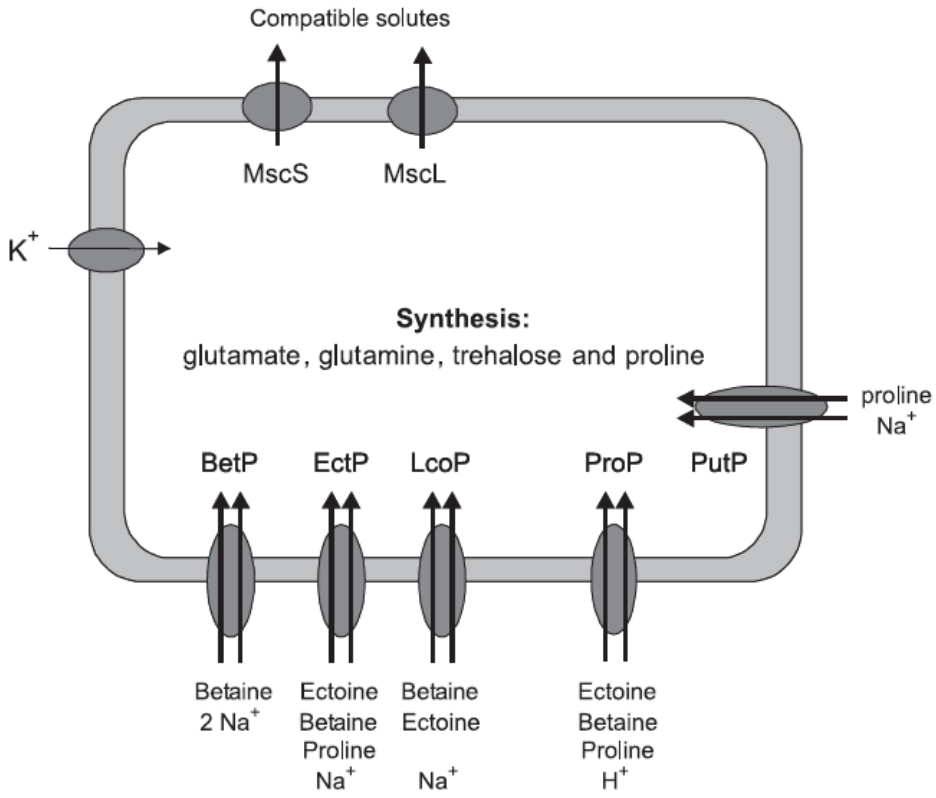
ตารางที่ 4 ปริมาณของบีเทนจากอาหารที่แตกต่างกัน (ไมโครกรัมต่อกรัม)

Food	Glycine betaine	Proline betaine	Trigonelline
Fruit&Vegetable			
Beetroot	750	<5	<5
Silverbeet	910	50	<5
Spinach	740	-	100
Meat			
Chicken	200	-	<5
Seafood			
Clams	2500	15	<10
Monkfish	500	40	10
Mussel	1630	26	83
Other foods			
Flour	730	-	-
Pasta	820	-	-

ที่มา : De Zwart และคณะ (2003)

4.2 กลไกการปรับสมดุลของบีเทน

ในสภาวะแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลงไป สิ่งมีชีวิตจำเป็นต้องมีการรักษาสมดุลของเหลวในร่างกายให้คงที่ โดยสร้างและสะสมสารประกอบที่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ ซึ่งเรียกว่า ออสโมไลต์ เมื่อปริมาณของสารละลายเพิ่มสูงขึ้นก็จะเข้าไปกระตุ้นการทำงานของระบบขนส่งออสโมไลต์ภายในระยะเวลาอันสั้น และทำหน้าที่ในการขนส่งออสโมไลต์ต่อไป (Chambers *et al*., 1999) โดย Na^+-coupled transporter (Lang *et al*., 1998) มีหน้าที่ช่วยในการขนส่งโซเดียมออกสู่เซลล์ ในขณะเดียวกันก็จะมีการสังเคราะห์ตัวคอมแพททิเบิลโซลูทออกมา แล้วจึงมีการขนส่งสารประกอบเหล่านี้เข้าสู่เซลล์โดยโปรตีน ProP, BetP, EctP, LcoP และ PutP โดยโปรตีนกลุ่มนี้จะช่วยในการขนส่งโพรลีน (proline) บีเทน (betaine) และอิคโทอีน (ectoine) เข้าสู่ภายในเซลล์ (ภาพที่ 3) ควบคู่กับการทำงานของ Na^+-coupled transporter



ภาพที่ 3 กลไกการขนส่งสารประกอบเข้าสู่เซลล์
ที่มา : Kramer และ Morbach (2004)

เมื่อเซลล์มีการสังเคราะห์บีเทนในครั้งแรกแล้วก็จะมีการนำบีเทนเข้าสู่เซลล์โดยโปรตีน ProP, BetP, EctP, LcoP และ PutP ซึ่งโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการขนส่งบีเทนเข้าสู่เซลล์คือ ProP และ BetP แต่พบว่า BetP จะมีความสำคัญที่สุดในการขนส่งบีเทนเข้าสู่ภายในเซลล์ (Kramer and Morbach, 2004) โดย BetP จะมีปฏิกิริยาเมื่อปริมาณของโพแทสเซียมไอออนสูงขึ้น (Morbach, 2003) แต่จะไม่ขึ้นอยู่กับชนิดของไอออนที่กระตุ้น (Rubenhagen *et al*., 2001) หลังจากนั้นจะมีการนำบีเทนเข้าสู่เซลล์ต่อไป นอกจากนั้นบีเทนมีความสามารถในการเข้ากันได้ดีกับเซลล์มากกว่าโพแทสเซียมไอออน ทำให้ช่วยในการป้องกันอันตรายกับเซลล์ได้เป็นอย่างดี (Bowlus and Somero, 1979)

4.2 การใช้บีเทนในการเพิ่มการเจริญเติบโตในสัตว์น้ำ

ในการเลี้ยงสัตว์น้ำมีการใช้บีเทนกันอย่างกว้างขวางเนื่องจากนำมาเป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์น้ำเพื่อให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตที่ดียิ่งขึ้น โดยบีเทนมีคุณสมบัติเป็นสารดึงดูดการกินอาหาร (attractants) โดยสารดึงดูดการกินอาหารมีบทบาทสำคัญในการเสริมการรับรู้แหล่ง

อาหารและกระตุ้นการกินอาหารของกุ้ง ดังนั้นการใช้บีเทนในการผสมอาหารจึงมีความสำคัญอย่างมากต่อการกินอาหาร การเจริญเติบโต และลดการสูญเสียอาหารในน้ำ เนื่องจากอาหารกุ้งนิยมใช้วัตถุดิบจากพืชเป็นส่วนประกอบจำนวนมากส่งผลให้ความน่ากินของอาหารลดลง โดยทั่วไปแล้วการเติมสารดึงดูดการกินอาหารมักมีส่วนผสมของวัตถุดิบที่มีคุณสมบัติในการดึงดูดการหาอาหารทั้งที่เป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารละลาย (Solubles) ที่ผลิตจากสัตว์ทะเลหรือสารสังเคราะห์ที่ระดับ 1-5 เปอร์เซ็นต์ (ชุติมา และคณะ, 2546) นอกจากนี้ Coman และคณะ (1996) ได้ทำการศึกษาระดับความเข้มข้นของกรดอะมิโนผสมและกรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ (ทอรีน, เซอรีน, ไอโซลูซีน, ไกลซีน, กลูตามีน, อาร์จีนีน, อะลานีน), บีเทน และ อะดิโนซีนโมโนฟอสเฟส (Adenosinemonophosphase) พบว่าระดับความเข้มข้นของบีเทนและกรดอะมิโนผสมที่ระดับสูงกว่า 10^{-2} โมลา ทำให้กุ้งกุลาดำมีความต้องการอาหารได้มากกว่ากลุ่มอื่นส่งผลให้กุ้งมีการเจริญเติบโตสูงขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Felix และ Sudharsan (2004) ซึ่งนำบีเทนมาผสมในอาหารเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกุ้งก้ามกรามพบว่าอาหารที่มีส่วนผสมของบีเทนทำให้กุ้งก้ามกรามมีอัตราการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมเช่นเดียวกันกับการทดลองของ Harpaz (1997) ที่มีการนำบีเทนมาผสมในอาหารเพื่อศึกษาพฤติกรรมการหาอาหารของกุ้งก้ามกรามพบว่าอาหารที่มีส่วนผสมของบีเทนสามารถดึงดูดความสนใจในการหาอาหารของกุ้งก้ามกรามได้ดี ทำให้กุ้งก้ามกรามมีการเจริญเติบโตที่สูงขึ้นกว่ากลุ่มควบคุม นอกจากนี้มีการทดลองในปลานิลโดยใช้บีเทนและโคลีนผสมในอาหารที่มีสัดส่วนแตกต่างกันเพื่อดูว่าบีเทนสามารถที่จะนำมาใช้ทดแทนโคลีนได้หรือไม่โดยที่ไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของอาหารและความเข้มข้นของไขมันในตับปลานิล พบว่าบีเทนที่ระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าช่วยให้ปลามีน้ำหนักเพิ่มมากขึ้นกว่าการใช้โคลีนที่ระดับความเข้มข้นสูงทำให้มีการนำมาใช้ทดแทนกันได้ (Kasper *et al*., 2002)

4.3 ประโยชน์ของบีเทนในสัตว์น้ำ

ในสภาวะแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลงไป เช่นการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิความเค็ม ซึ่งจะไปส่งผลในการจำกัดอัตรารอดของสิ่งมีชีวิต สิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมเหล่านี้จำเป็นต้องมีการพัฒนาระบบเพื่อปรับตัวในสภาพแวดล้อมนั้น ๆ เช่นมีการสะสมสารประกอบที่ไม่เป็นอันตรายกับเซลล์จากความเครียดที่เกิดขึ้น ซึ่งเรียกว่า organic solutes ไม่ว่าจะเป็น polyhydric alcohols, free amino acids, quaternary ammonium หรือ tertiary sulphonium โดยเฉพาะอย่างยิ่งบีเทนซึ่งจะพบได้มากที่สุดในสัตว์ที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงความเค็มในช่วงกว้าง (Pierce *et al*., 1995) และสารประกอบที่ไม่เป็นอันตรายเหล่านี้จะถูกกระตุ้นโดยความเครียดที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงแรงดันของเหลวในร่างกาย ซึ่งทั้งสัตว์มีกระดูกสันหลังและ

ไม่มีกระดูกสันหลังก็สามารถใช้สารประกอบเหล่านี้ในการปรับตัว เช่น มีการวิวัฒนาการเพื่อที่จะปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ (Rathinasabapathi, 2000) ในสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลังออสโมไลต์มีบทบาทที่สำคัญในกระบวนการสมดุลของเหลว โดย Petty และ Lucero (1999) รายงานว่าในปลาหมึกพันธุ์ *Lolliguncula brevis* พบว่าจากการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมจะไปมีผลกับระดับของบีเทนและระบบประสาทภายในตัวสัตว์

Deaton (2001) ได้ศึกษาการควบคุมระดับของไฮเปอร์ออสโมติก ในเหงือกของหอยพันธุ์ *Geukensia demissa* โดยดูการสะสมตัวของบีเทนและอะลานีน พบว่าเมื่อนำเนื้อเยื่อของหอยที่อยู่ในความเข้มข้นของน้ำทะเลจาก 250 มิลลิออสโมล มาเปลี่ยนเป็นความเข้มข้น 1000 มิลลิ-ออสโมล พบว่าทำให้เกิดการเพิ่มของกรดอะมิโนชนิด อะลานีน, โพรลีน และไกลซีน รวมทั้งพบการสะสมตัวของบีเทน โดยมีการสะสมของบีเทนถึง 45 ไมโครโมลของน้ำหนักเปียก จนถึง 150 ไมโครโมลของน้ำหนักเปียก ภายในระยะเวลา 12 ชั่วโมงด้วย ซึ่งในหอยสองฝาพบการสังเคราะห์บีเทนและกรดอะมิโนจากสภาวะไฮเปอร์ออสโมติก จากไมโทคอนเดรีย (Dragolovich, 1994) สอดคล้องกับการศึกษาของ Pierce และ คณะ (1995) พบว่ามีการสังเคราะห์ บีเทนเกิดขึ้นที่ไมโท-คอนเดรียโดยเปลี่ยนแปลงจากโคลีนภายในเหงือกของหอยนางรมพันธุ์ *Crassostrea virginica*

Jahn และคณะ (2006) ได้ศึกษาผลของความเครียดต่อโคลีน และบีเทนภายในเหงือก รวมทั้งตับอ่อนของปูพันธุ์ *Chasmagnathus granulate* โดยใช้วิธี ^{14}C-choline ในการตรวจสอบที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบการลดลงของโคลีนในชุดที่ทำความเครียด และในระหว่างการทดสอบความเครียดพบว่าโคลีนที่อยู่บริเวณตับอ่อนมีการเปลี่ยนแปลงที่สูงกว่าชุดควบคุมในระยะเวลา 2 ช่วง รวมทั้งพบการสังเคราะห์บีเทนสูงกว่าชุดควบคุมเช่นเดียวกัน

Bedford และคณะ (1998) ได้ศึกษาความสำคัญของบีเทนในการทำให้เกิดสมดุลของเหลวในเนื้อเยื่อของปลาพันธุ์ *Callorhincus millii* โดยใช้วิธี HPLC และ NMR-spectroscopy ในการตรวจวัดค่า พบว่ามีปริมาณของ trimethylamine oxide (TMAO) ในปริมาณน้อยในทุกเนื้อเยื่อ แต่พบปริมาณของบีเทนใน กล้ามเนื้อในปริมาณที่มากประมาณ 50-70 มิลลิโมลต่อกิโลกรัมน้ำหนักเปียก รวมทั้งพบทอรีนบริเวณกล้ามเนื้อหัวใจในปริมาณที่สูง ประมาณ 39 มิลลิ-โมลต่อกิโลกรัมน้ำหนักเปียก ตลอดจนพบเซอรีนบริเวณหัวใจและสมองของปลาที่ทำการศึกษา

4.4 ผลของบีเทนต่อการปรับสมดุลของของเหลวในสัตว์น้ำ

ที่ผ่านมาการประยุกต์ใช้บีเทนในสัตว์น้ำกลุ่มครัสตาเชียน โดยเฉพาะในกุ้งยังทำกันค่อนข้างน้อยในแง่ของการปรับสมดุลของของเหลว แต่จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าบีเทนจะช่วยในการรักษาปริมาตรของเหลวภายในเซลล์ให้คงที่ ซึ่งสารชนิดนี้สามารถทำงานคล้ายคลึงกับ

การทำงานของโพแทสเซียมไอออนภายในเซลล์ นอกจากนี้ยังสามารถช่วยการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการปรับแรงดันออสโมติกและระบบสมดุลของของเหลวให้มีความคงตัวมากขึ้น โดยในการรายงานของ Castro และคณะ (1998) ได้ใช้บีเทนผสมอาหาร 1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อวัดการเจริญเติบโตของปลาแซลมอนรวมทั้งวัดปริมาณของโพแทสเซียมไอออนในตับเมื่อได้รับการกระตุ้นให้เกิดความเครียดโดยใช้โพแทสซียมคลอไรด์ พบว่าบีเทนสามารถที่จะเป็นตัวป้องกันความเครียดที่มาจากโพแทสซียมคลอไรด์รวมทั้งป้องกันแรงดันออสโมติกจากภายนอกที่เปลี่ยนแปลงไปได้ สอดคล้องกับ Bjorkoy (1991) ที่ได้สกัดไมโทรคอนเดรียจากเซลล์ตับของปลาแซลมอนพบว่าเซลล์มีความต้องการบีเทนเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่ได้รับความเครียดจากโพแทสเซียมคลอไรด์และในการทดลองของ Virtanen และคณะ (1989) ได้ศึกษาพบว่าการใช้บีเทนในการปรับสมดุลของของเหลวในสัตว์น้ำ เช่นการขนส่งปลาแซลมอนจากแหล่งน้ำจืดไปยังน้ำเค็มได้ เนื่องจากบีเทนเป็นตัวช่วยในการปรับสมดุลแรงดันออสโมติกที่เกิดขึ้นภายในปลาแซลมอนที่ทำการศึกษา สำหรับ Clarke และคณะ (1994) ได้รายงานว่าการผสมบีเทนในอาหาร 1 เปอร์เซ็นต์ให้กับปลาแซลมอน โดยเลี้ยงในน้ำจืด 6 สัปดาห์ และน้ำเค็ม 8 สัปดาห์ พบว่าเมื่อมีการทดสอบความเครียดโดยการเปลี่ยนแปลงความเค็มไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายตลอดจนเมื่อเสร็จสิ้นการทดลองไม่พบความแตกต่างของพลาสมาโซเดียมในระหว่างเลี้ยง แต่ในระหว่างที่เลี้ยงในน้ำเค็ม พบว่าปลาแซลมอนที่ได้รับบีเทนมีอัตราการเจริญเติบโตสูงและมีความเข้มข้นของพลาสมาโซเดียมต่ำกว่าชุดการทดลองอื่น

4.5 การใช้บีเทนในการกระตุ้นความต้านทานโรคในสัตว์น้ำ

ในการศึกษาที่ผ่านมาบีเทนมีบทบาทภายในเซลล์ได้หลายหน้าที่ ไม่ว่าจะเป็นการกระตุ้นความอยากอาหาร ช่วยในการปรับสมดุลของของเหลวภายในเซลล์ นอกจากนี้ในบางกรณีบีเทนยังสามารถทำหน้าที่เป็นวิตามินกึ่งจำเพาะ (Quasi-vitamins) เนื่องจาก บีเทนมีหน้าที่คล้ายคลึงกับการทำงานของวิตามินบางชนิดเช่น วิตามินบี 12 และบี 6 กรดโฟเลท รวมไปถึงการทำหน้าที่เป็นสารโมเลกุลขนส่ง (Transfer molecule) ซึ่งทำงานคล้ายกับ S-Adenosyl-Methionine (SAMe) โดยช่วยในการขนส่งหมู่ Methyl group ไปยังเซลล์ตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย นอกจากนี้ยังช่วยในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียได้ เนื่องจากบีเทนไปกระตุ้นการทำงานของเซลล์ให้มีการปลดปล่อยไนโตรเจนออกไซด์ และกระตุ้นการจับกินของเม็ดเลือดขาวขนาดใหญ่ (Warskulat *et al*, 1998) โดยในการศึกษาของ Cosquer และคณะ 2004 ได้ทดลองใช้บีเทนในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 15 สายพันธุ์และแบคทีเรียแกรมลบ โดยเปรียบเทียบส่วนประกอบของบีเทน 4 ส่วนประกอบ พบว่ามี 2 ส่วนประกอบที่สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียลงได้โดยวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และในการทดลองของ Marja และ Erkki (1993) ได้

ศึกษาการใช้ไดเมทธิลไกลซีนและไตรเมทธิลไกลซีน (betaine) เพื่อเปรียบเทียบการกระตุ้นการตอบสนองระบบภูมิคุ้มกันของปลาแซลมอน โดยฉีดเชื้อ *V. anguillarum* เข้าตัวปลาและตรวจหาระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงในร่างกายของปลาแซลมอน พบว่าระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะสูงขึ้นกว่าชุดควบคุม

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของบีเทนต่อการเจริญเติบโต และความต้านทานโรคในกุ้งขาว
2. เพื่อศึกษาผลของบีเทน ต่อการปรับตัวของกุ้งขาวกับความเค็ม และระบบสมดุลของเหลวในกุ้ง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

จากการศึกษาวิจัยระดับของบีเทนที่เหมาะสมที่จะเสริมลงในอาหารเพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต ความต้านทานต่อเชื้อโรค รวมถึงผลต่อการปรับสมดุลของของเหลวในการปรับตัวของกุ้งขาวเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงความเค็ม ทั้งนี้ผลการศึกษาที่จะนำไปสู่การเพิ่มคุณภาพ และปริมาณผลผลิตกุ้งขาวของประเทศไทย รวมถึงลดการใช้ยาปฏิชีวนะในการป้องกันและรักษาโรคเพื่อการเพาะเลี้ยงกุ้งที่ยังยืนต่อไป

ทฤษฎี สมมติฐานหรือกรอบแนวความคิด ของโครงการวิจัย

จากข้อมูลในบทตรวจเอกสารแสดงให้เห็นว่าบีเทนเป็นสารสกัดที่สามารถเสริมลงในอาหารกุ้งแล้วมีแนวโน้มช่วยลดความเครียดจากการเปลี่ยนแปลงความเค็ม ซึ่งถือเป็นสภาวะที่มักจะเกิดได้บ่อยในการเพาะเลี้ยงกุ้งและเป็นผลทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตที่ไม่ดี หรืออาจส่งผลต่อสุขภาพรวมถึงทำให้เกิดอัตรารอดลดลง และการเสริมบีเทนในอาหารที่ระดับที่เหมาะสมยังอาจมีผลเพิ่มประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งได้ ซึ่งจะเป็นการดีต่อการเลี้ยงกุ้งในปัจจุบันที่กำลังพัฒนารูปแบบการผลิตที่ต้องการลดการใช้ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยง และยังมีผลทำให้ผลผลิตที่เพิ่มขึ้นโดยไม่ส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม และต้นทุนในการผลิต ซึ่งจะนำไปสู่ระบบการเพาะเลี้ยงที่ยังยืนต่อไปในอนาคต

ขอบเขตของโครงการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ต้องการศึกษาระดับของบีเทนที่เหมาะสมที่เสริมลงในอาหารของกุ้งขาวเพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต และลดความเครียดจากการเปลี่ยนแปลงความเค็ม และผลต่อระบบสมดุลของของเหลวภายในตัวของกุ้งขาว รวมถึงผลต่อระบบภูมิคุ้มกันและความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในกุ้งขาว เพื่อให้สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพและเหมาะสมต่อไป

บทที่ 2

1.วัสดุ

1.1 กุ้งทดลองในการทดลอง

กุ้งขาววานาไมที่ปราศจากเชื้อไวรัสและแบคทีเรียก่อโรค โดยนำมาจากฟาร์มที่ไม่มีประวัติของการเกิดโรค และนำมาตรวจหาเชื้อไวรัสและแบคทีเรียโดยใช้เทคนิคชีวโมเลกุล ซึ่งการทดลองที่ 1 ใช้กุ้งขาววานาไมอายุ 35-45 วัน (น้ำหนักประมาณ 2.24 ± 0.02 กรัม) จำนวน 3,000 ตัว การทดลองที่ 2 ใช้กุ้งขาววานาไมน้ำหนักตัวเริ่มต้นประมาณ 10.00 ± 0.01 กรัม

1.2 สารเคมี

1.2.1 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลอง (ภาคผนวก ก)

1.2.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์คุณภาพน้ำ (ภาคผนวก ก)

1.3.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบเลือดของกุ้งขาว (ภาคผนวก ก)

1.3 อาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งขาว

การทดลองนี้จะใช้สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งทดลองทั้งหมด 5 สูตร แตกต่างกันตามระดับความเข้มข้นของบีเทน โดยคำนวณสูตรอาหารให้มีระดับคุณค่าทางโภชนาการเท่ากันทุกชุดการทดลอง แต่ละสูตรมีระดับโปรตีนประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ ไขมันประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ พลังงานประมาณ 370 กิโลแคลอรี่ต่อ 100 กรัม

2.อุปกรณ์

2.1 อุปกรณ์เลี้ยงกุ้งขาวในบ่อ

2.1.1 กระชังขนาด 1×1×1.5 เมตร

2.1.2. อุปกรณ์ระบบให้อากาศ ประกอบด้วยเครื่องให้อากาศ ท่อลม สายยาง หัวทราย

2.1.3. อุปกรณ์ขนย้ายกุ้ง ได้แก่ สวิงช้อนกุ้งและถังพลาสติก

2.1.4. ตาข่ายสำหรับหลบซ่อนตัวกุ้ง

2.2. อุปกรณ์เลี้ยงกุ้งขาวในตู้

2.2.1. ตู้กระจกขนาด 20×48×20 นิ้ว ความจุน้ำ 200 ลิตร

2.2.2. อุปกรณ์ระบบให้อากาศ ประกอบด้วยเครื่องให้อากาศ ท่อลม สายยาง หัวทราย

2.2.3. อุปกรณ์ขนย้ายกุ้ง ได้แก่ สวิงช้อนกุ้งและถังพลาสติก

2.2.4. อุปกรณ์การเปลี่ยนถ่ายน้ำ ได้แก่ สายยางดูดน้ำ และเครื่องปั๊มน้ำชนิดจุ่ม (submersible pump)

2.3 อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพน้ำ

2.3.1 อุปกรณ์วัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) คือ เครื่อง pH meter ของ Mettler Delta รุ่น 340

2.3.2 อุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับวิเคราะห์ค่าความเป็นด่าง (alkalinity) ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ บีกเกอร์ กระบอกตวง บิวเรต ปิเปต ลูกยาง และขวดเก็บตัวอย่างน้ำ

2.3.3 อุปกรณ์วัดอุณหภูมิน้ำ ได้แก่ เทอร์โมมิเตอร์

2.4 อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

2.4.1 อุปกรณ์วิเคราะห์ความชื้น ได้แก่ ขวดชั่ง (weighing bottle) ตู้อบ (hot air oven) ของ Memmert โถดูดความชื้น (desiccators) เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

2.4.2 อุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน ได้แก่ เครื่องย่อย (digestion apparatus) ของ Gerhardt รุ่นKjeldatherm เครื่องกลั่น (distillation apparatus) ของ Gerhardt รุ่น Vapodest I หลอดย่อยโปรตีน (digestion tube) บีกเกอร์ กระบอกตวง ขวดรูปชมพู่ และบิวเรต

2.4.3 อุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน ได้แก่ ชุดเครื่องมือวิเคราะห์ไขมัน รุ่น Soxtec System HT6 ไส้กรองสาร ถ้วยสกัดสาร ตู้อบ โถอบแห้ง เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

2.4.4 อุปกรณ์วิเคราะห์เถ้า ได้แก่ ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (crucible) เตาเผา (muffle furnace) ของ Gallenkamp โถดูดความชื้น (desiccators) เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

2.5 อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบการเจริญเติบโตของกุ้ง

ประกอบด้วย เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ถังพลาสติกขนาด 5 ลิตร กะละมังพลาสติก สวิงช้อนกุ้ง กล่องพลาสติก ผ้าขนหนูซับตัวกุ้ง

2.6 อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบเลือด

2.6.1 อุปกรณ์เก็บเลือดกุ้ง ได้แก่ เข็มขนาด 25G ยาว 1 นิ้ว และกระบอกฉีดยาพลาสติกขนาด 1 มิลลิลิตร หลอดพลาสติก (micro tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

2.6.2 เครื่องสำหรับแยกซีรัม ได้แก่ เครื่องหมุนเหวี่ยงที่ควบคุมอุณหภูมิได้ (Beckman, Avanti^{TM} 30 centrifuge) สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

2.6.3 อุปกรณ์สำหรับนับเม็ดเลือด คือ ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemacytometer) กล้องจุลทรรศน์

2.6.4 อุปกรณ์สำหรับเจือจางเลือด คือ หลอดพลาสติกขนาด 1 มิลลิลิตร ไมโครปิ-เปต ทิป เครื่องเขย่าผสม (Vortex mixer)

2.6.5 อุปกรณ์สำหรับย้อมสีเม็ดเลือด ได้แก่ เข็มขนาด 25G ยาว 1 นิ้ว และกระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร หลอดพลาสติก 1.5 มิลลิลิตร สไลด์ (slide) แผ่นปิดสไลด์ (cover glass) เครื่องเขย่าผสม กล้องจุลทรรศน์

3. วิธีการทดลอง

การทดลองแบ่งเป็น 2 การทดลอง โดยการทดลองที่ 1 ศึกษาผลของบีเทนต่อการเจริญเติบโต และความต้านทานโรคในกุ้งขาว ส่วนการทดลองที่ 2 ศึกษาผลของบีเทนต่อระบบสมดุลของของเหลวในร่างกายของกุ้งขาว โดยทำการศึกษาการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน อัตราการรอดตาย อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มเฉลี่ยต่อตัว ความต้านทานโรคแบคทีเรีย ความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียของน้ำเลือด องค์ประกอบเลือด และไอออนต่าง ๆ ในน้ำเลือด โดยการทดลองทั้ง 2 การทดลองใช้สูตรอาหารทดลองเหมือนกัน คือสร้างสูตรอาหารให้มีระดับคุณค่าทางโภชนาการเท่ากันทุกชุดการทดลอง แต่มีบีเทนที่ระดับต่าง ๆ แตกต่างกัน ระบบการเลี้ยงและการวางแผนการทดลองมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

3.1 การทดลองที่ 1: ผลของบีเทนต่อการเจริญเติบโตและความต้านทานโรคในกุ้งขาว

3.1.1 การเตรียมอุปกรณ์การทดลอง

ใช้กระชังขนาด 1×1×1.5 เมตร โดยแขวนกระชังในบ่อดินที่มีความลึกประมาณ 1.7 เมตร เลี้ยงที่ความเค็ม 10 พีพีที แบ่งชุดการทดลองเป็น 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ โดยแต่ละซ้ำ ใช้กุ้งจำนวน 50 ตัว โดยเฉลี่ยน้ำหนักของกุ้งต่อกระชังให้มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวใกล้เคียงกันทุกกระชัง และมีการให้อากาศโดยใช้ใบพัดตีน้ำในบ่อตลอดระยะเวลาการเลี้ยงพร้อมกับให้อาหารวันละ 4 ครั้ง เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

3.1.2 การเตรียมกุ้งทดลอง

เตรียมกุ้งทดลองที่ปราศจากเชื้อไวรัสและแบคทีเรียก่อโรค โดยใช้กุ้งขาววานาไมอายุ 35 ถึง 45 วัน (น้ำหนักประมาณ 2.24±0.02 กรัม) จำนวน 3,000 ตัว นำมาพักในกระชังก่อนที่จะนำมาคัดขนาดและทำการชั่งน้ำหนักกุ้งเริ่มต้นให้มีน้ำหนักกุ้งเริ่มต้น 2.24±0.02 กรัม จำนวน 50 ตัวต่อกระชัง จำนวน 20 กระชัง เลี้ยงในกระชังทดลองและให้อาหารในชุดควบคุมเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อให้สัตว์ทดลองคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อม คุณภาพน้ำในบ่อที่ใช้มีค่าความเป็นด่าง (alkalinity) เท่ากับ 80-120 พีพีเอ็ม และพีเอชอยู่ในช่วง 7.5-8.5

3.1.3 การเตรียมสารบีเทน

คำนวณปริมาณสารบีเทนที่ใช้เพื่อให้ได้ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ ได้แก่ 1, 2, 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ โดยเริ่มจากนำสารบีเทนนำมาเจือจางกับแป้งสาลีเพื่อให้อาหารแต่ละสูตรมีระดับ

ความเข้มข้นตามที่คำนวณไว้ จากนั้นจึงผสมแร่ธาตุรวม วิตามินรวม และแป้งข้าวเจ้า ตามที่คำนวณไว้ในแต่ละสูตร รายละเอียดของการเตรียมสารบีเทนในอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การเตรียมบีเทนในอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

อาหารสูตรที่	ความเข้มข้นบีเทน (เปอร์เซ็นต์)	บีเทน (กรัม/อาหาร 4 กก.)	ปริมาณแป้งสาลีที่ใช้เจือจาง (กรัม/อาหาร 4 กก.)
1	0 เปอร์เซ็นต์	0	1,540
2	1 เปอร์เซ็นต์	40	1,500
3	2 เปอร์เซ็นต์	80	1,460
4	3 เปอร์เซ็นต์	120	1,420
5	4 เปอร์เซ็นต์	160	1,380

3.1.4 การเตรียมอาหารทดลอง

ในการทดลองนี้จะใช้สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งทดลองทั้งหมด 5 สูตร ดังตารางที่ 9 แตกต่างกันตามระดับความเข้มข้นของบีเทน โดยคำนวณสูตรอาหารให้มีระดับคุณค่าทางโภชนาการเท่ากันทุกชุดการทดลอง แต่ละสูตรมีระดับโปรตีนประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ ไขมันประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 12 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นระหว่าง 6-8 เปอร์เซ็นต์ พลังงานประมาณ 370 กิโลแคลอรี่ต่ออาหาร 100 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างของบีเทน 4 ระดับคือ 1, 2, 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ และรวมชุดควบคุมที่ไม่ได้ผสมบีเทน เริ่มต้นการทำอาหารทดลองโดยการนำบีเทนในแต่ละสูตรตามที่คำนวณไว้ผสมกับวัตถุดิบอาหารอื่น ๆ ในเครื่องผสมอาหารจนวัตถุดิบเข้ากันดี จึงนำมาอัดเม็ด และนำมานึ่งเป็นระยะเวลา 5 นาที และนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนแห้งดี บรรจุลงถุงพลาสติกเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 6 ส่วนประกอบและปริมาณวัตถุดิบในอาหารแต่ละสูตรของการทดลอง

ส่วนประกอบ	สูตรอาหาร				
(กรัม/100 กรัม)	1	2	3	4	5
ปลาป่น	15	15	15	15	15
หมึกป่น	5	5	5	5	5
วีทกลูแตน	3	3	3	3	3
กากถั่วเหลือง	26	26	26	26	26
แป้งสาลี	38.5	37.45	36.42	35.37	34.33
น้ำมันปลา	2	2	2	2	2
น้ำมันถั่วเหลือง	2	2	2	2	2
เลซิติน	1	1	1	1	1
วิตามินและแร่ธาตุผสม[1]	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
แป้งข้าวเจ้า	5	5	5	5	5
บีเทน[*]	0	1.04	2.08	3.13	4.17
รวม	100	100	100	100	100
ความเข้มข้นของบีเทน (%)	0	1	2	3	4

[1]Vitamin and mineral mixture supplemented per kilogram feed: Thiamine (B_1) 10 mg; Riboflavin (B_2) 20 mg; Pyridoxine (B_6) 10 mg; Cyanocobalamin (B_{12}) 2 mg; Retinal (A) 4,000 IU, Cholecalciferol (D_3) 2,000 IU; Menadione sodium bisulfite (K_3) 80 mg; Folic acid 5 mg; Calcium pantothenate 40 mg; Inositol 400 mg; Niacin 150 mg; DL-alpha-tocopherol (E) 50 IU; Choline chloride 6,000 mg; Ascorbic acid (C) 500 mg; Biotin 1 mg; NaCI 0.25 g; $MgCO_3$ 3.75 g; $FeSO_4$ 0.72 g; $(CH_3COO)_2$ $Ca.5H_2O$ 0.88 g; $ZnSO_4.7H_2O$ 0.088 g; $MnSO_4.4H_2O$ 0.040 g; $CuSO_4.5H_2O$ 0.008 g; $CoCl_2.6H_2O$ 0.00025 g; $KIO_3.6H_2O$ 0.00075 g

[*]Betaine 96%

ขั้นตอนในการเตรียมอาหารมีดังต่อไปนี้

3.1.4.1 ชั่งแป้งสาลี และบีเทน ตามที่คำนวณไว้ในแต่ละสูตรอาหาร ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าที่มีความละเอียด 4 ตำแหน่ง ผสมให้เข้ากันอย่างทั่วถึงในถุงพลาสติกใส

3.1.4.2 ชั่งปลาป่น หมึกป่น วีทกลูแตน และกากถั่วเหลืองป่นแร่ธาตุรวม วิตามินรวมและแป้งข้าวเจ้าตามที่คำนวณไว้ในแต่ละสูตรอาหาร ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าที่มีความละเอียด 2 ตำแหน่ง ผสมให้เข้ากันอย่างทั่วถึงในถุงพลาสติกใส

3.1.4.3 ชั่งเลซิตินและน้ำมันพืช ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าที่มีความละเอียด 2 ตำแหน่ง ผสมกันให้ทั่วถึงในบีกเกอร์

3.1.4.5 นำวัตถุดิบอาหารตามที่ชั่งไว้แล้ว เข้าเครื่องผสมอาหาร ผสมจนเข้ากันดีเป็นเวลา 15 นาที แล้ว จึงนำวัตถุดิบในข้อ 3.1.3.4 ผสมลงไปเป็นเวลา 5 นาที และเติมน้ำ 35 % ของน้ำหนักอาหาร ผสมจนวัตถุดิบอาหารเข้ากันดีเป็นเวลา 15 นาที

3.1.4.6 หลังจากวัตถุดิบผสมเข้ากันดี ทำการอัดเม็ดอาหารขนาดที่เหมาะสมกับขนาดที่กุ้งกินตลอดการทดลอง

3.1.4.7 นำอาหารที่อัดเม็ดแล้วนำมานึ่งในที่นึ่งอาหารระยะเวลา 5 นาที หลังจากนึ่งอาหารเรียบร้อยแล้วจึงนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนแห้งพอดี บรรจุในถุงพลาสติกแล้วเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (วุฒิพร และคณะ, 2540) นำอาหารทดลองไปตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการของสูตรอาหาร (โปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้า) ด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่เตรียมตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990) ก่อนนำไปเลี้ยงทดลอง ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารในชุดการทดลองที่ 1 แสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ส่วนประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลองในการทดลองที่ 1 ที่มีบีเทนระดับต่าง ๆ โดยการวิเคราะห์[1]

อาหาร	บีเทน	ส่วนประกอบ (%)					
สูตรที่	%	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	NFE
1	0	7.56 ± 0.02	34.23 ± 0.21	8.43 ± 0.21	6.43 ± 0.03	0.063 ± 0.002	43.29±0.67
2	1	7.75 ± 0.01	34.44 ± 0.33	8.34 ± 0.11	6.33 ± 0.01	0.062 ± 0.005	43.08±0.66
3	2	7.52 ± 0.04	34.33 ± 0.13	8.76 ± 0.17	6.76 ± 0.05	0.061 ± 0.004	42.57±0.56
4	3	7.85 ± 0.07	34.42 ± 0.54	8.12 ± 0.65	6.23 ± 0.02	0.061 ± 0.003	43.32±1.81
5	4	8.02 ±0.02	34.74 ± 0.66	8.67 ± 0.43	6.78 ± 0.07	0.060 ± 0.006	41.73±1.68

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 2 ซ้ำ)

3.1.5 แผนการทดลอง

ในการศึกษาการเจริญเติบโตจะวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design, CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองมี 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 ตัว โดยแต่ละชุดการทดลองแบ่งมา 3 ซ้ำ เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและองค์ประกอบเลือด และอีก 1 ซ้ำนำไปทดสอบความต้านทานโรคและความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือด โดยชุดการทดลองแต่ละชุดมีระดับความเข้มข้นของบีเทนแตกต่างกัน 4 ระดับ (1, 2, 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์) และรวมถึงชุดควบคุม (0 เปอร์เซ็นต์) เริ่มต้นการทดลองโดยทำการคัดเลือกกุ้งที่มีขนาด 2.1-2.2 กรัม และทำการชั่งน้ำหนักเริ่มต้นก่อนปล่อยลงเลี้ยงในกระชัง กระชังละ 50 ตัว ให้อาหารวันละ 4 มื้อ เวลา 7.00 น., 12.00 น., 17.00 น. และ 22.00 น. สังเกตปริมาณอาหารที่กุ้งกินเพื่อนำไปปรับอาหารในมื้อต่อไป ชั่งและบันทึกน้ำหนักอาหารที่ให้ในทุกวัน ชั่งน้ำหนักกุ้งทุก 2 สัปดาห์ บันทึกผลตลอดการทดลอง

สำหรับการศึกษาความต้านทานความเครียดโดยการเปลี่ยนแปลงความเค็ม วางแผนการทดลองแฟคทอเรียลแบบ 4×4 ปัจจัย ซึ่งประกอบด้วย 16 หน่วยทดลอง โดยศึกษาปัจจัย 2 ปัจจัย คือ ชุดการทดลอง และเวลา

3.1.6 การเก็บรวบรวมข้อมูล

การตรวจสอบการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาว

ชั่งน้ำหนักกุ้งขาวทุก 2 สัปดาห์โดยชั่งน้ำหนักรวมของกุ้งแต่ละซ้ำด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง นับจำนวนกุ้งที่เหลืออยู่ จนสิ้นสุดการทดลอง สังเกตพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งตลอดการทดลอง พร้อมทั้งจดบันทึกข้อมูลไว้จนสิ้นสุดการทดลอง 6 สัปดาห์ นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าต่าง ๆ ดังนี้

- น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (average weight) (ภาคผนวก ก)
- น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (% weight gain) ตามวิธีการของ Tapia-Salazar และคณะ (2004) (ภาคผนวก ก)
- อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) ตามวิธีการของ Ziaei-Nejad และคณะ (2006) (ภาคผนวก ก)
- อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate, FCR) (ภาคผนวก ก) ตามวิธีการของ Felix และ Sudharsan (2004)
- ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน (feed consumption) (ภาคผนวก ก)
- อัตราการรอดตาย (survival rate) ตามวิธีการของ Felix และ Sudharsan (2004) (ภาคผนวก ก)

3.1.7 การศึกษาความต้านทานโรคแบคทีเรียเรืองแสง (Vibriosis)

ใช้ตัวอย่างกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเป็นเวลา 6 สัปดาห์ จำนวน 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 ตัว มาทำการทดสอบความต้านทานโรคแบคทีเรียเรืองแสงตามวิธีการของมะลิ และคณะ (2543) โดยการฉีดเชื้อ *V. harveyi* บริสุทธิ์ที่มีอายุ 24 ชั่วโมง ซึ่งสารละลายมีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร เข้าตัวกุ้งทดลองตัวละ 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นบันทึกการตายของกุ้งในแต่ละชุดการทดลองภายหลังจากฉีดเชื้อเป็นระยะเวลา 10 วัน

3.1.8 การศึกษาความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียของน้ำเลือด (Clearance ability of bacteria)

ใช้ตัวอย่างกุ้งในสัปดาห์ที่ 6 จำนวน 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 5 ซ้ำ ๆ ละ 5 ตัว มาทำการศึกษาความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย โดยเตรียมสารละลายเชื้อ *V. harveyi* ที่แยกบริสุทธิ์นำมาเลี้ยงบนอาหารบนอาหาร Tryptic soy agar (TSA) ผสมเกลือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง นำเชื้อที่เจริญเป็นกลุ่มเดี่ยวมาละลายในน้ำเกลือปลอดเชื้อ 1.5 เปอร์เซ็นต์ และวัดความทึบแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืน

แสงประมาณ 0.07-0.09 และนำไปเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ผสมเกลือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธีการ drop plating เพื่อนับจำนวนเซลล์เริ่มต้น แล้วนำสารละลายที่เตรียมได้ฉีดเข้ากุ้งทดลองที่บริเวณกล้ามเนื้อปล้องที่ 6 ตัวละ 0.1 มิลลิลิตร หลังจากฉีดเชื้อเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำการดูดเลือดบริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 3 จากกุ้งทดลองตัวละประมาณ 0.2 มิลลิลิตร และทำการเจือจางเลือดกุ้งแต่ละตัวในสารละลายเกลือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ เป็น 1/2 1/4 และ 1/8 เท่าแล้วนำสารละลายแต่ละความเข้มข้นไปเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ผสมเกลือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี drop plating เพื่อนับปริมาณเชื้อที่มีอยู่ในน้ำเลือด จากนั้นนำจานอาหารดังกล่าวไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วนับปริมาณเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อเทียบกับชุดควบคุมและปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่นับได้ ตามวิธีการของกิจการและคณะ (2543 ก)

3.1.9 การศึกษาการตอบสนองความเครียดในกุ้งขาวต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็ม

เก็บตัวอย่างกุ้งในสัปดาห์ที่ 6 โดยสุ่มกุ้งจากทุกชุดการทดลอง ๆ ละ 40 ตัว มาเปรียบเทียบในแต่ละระดับความเค็ม ในช่วงเวลาที่ 0, 1, 3 และ 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำมาเก็บองค์ประกอบเลือดได้แก่

- การวิเคราะห์ค่าออสโมลาริตี้ และปริมาณอิเลคโทรไลท์ต่าง ๆ ในเลือด ตามวิธีการของกิจการ และคณะ (2543 ข.)

3.1.10 การวิเคราะห์ข้อมูล

การเจริญเติบโต ความต้านทานโรค และประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อแบคทีเรียใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA (Steel and Torrie, 1980) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan' Multiple Range Test (Duncan, 1955) ส่วนการทดสอบความต้านทานความเครียดโดยการเปลี่ยนแปลงความเค็ม จะทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และทำการวิเคราะห์หาปฏิสัมพันธ์ของแต่ละปัจจัย คือ ชุดการทดลอง และเวลา นอกจากนั้นวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ของแต่ละปัจจัยด้วยวิธีของ Pearson correlation

3.2 การทดลองที่ 2: ผลของบีเทนต่อระบบสมดุลของเหลวในร่างกายของกุ้งขาว

3.2.1 การเตรียมอุปกรณ์การทดลอง

ศึกษาผลของบีเทนต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงความเค็มต่อระบบสมดุลของเหลวในร่างกายของกุ้งขาว โดยใช้ตู้กระจกขนาด 20×48×20 นิ้ว ปริมาณน้ำเท่ากับ 250 ลิตร

3.2.2 การเตรียมกุ้งทดลอง คุณภาพน้ำในตู้ทดลอง และการให้อาหาร

เตรียมกุ้งทดลองที่ปราศจากเชื้อไวรัสและแบคทีเรียก่อโรค โดยใช้กุ้งขาววานาไม จำนวน 1,000 ตัว โดยนำมาพักในบ่อซีเมนต์ก่อนที่จะนำมาคัดขนาดและทำการชั่งน้ำหนักกุ้งเริ่มต้น ให้มีน้ำหนักกุ้งเริ่มต้น 10 กรัม จำนวน 15 ตัวต่อตู้ จำนวน 30 ตู้ เลี้ยงในตู้ทดลองและให้อาหารในชุดควบคุมเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อให้สัตว์ทดลองคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมและอาหารทดลอง สังเกตการยอมรับอาหารของกุ้งก่อนเริ่มการทดลอง คุณภาพน้ำในตู้ที่ใช้เลี้ยงมีค่าความเป็นด่าง (alkalinity) เท่ากับ 80-120 พีพีเอ็ม และพีเอชอยู่ในช่วง 7.5-8.5 ให้อาหารวันละ 4 มื้อ เวลา 7.00 น., 11.00 น., 17.00 น. และ 22.00 น. และทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำและดูดตะกอนทุกๆวัน

3.2.3 การเตรียมสารบีเทน

ความเข้มข้นของสารบีเทนที่ใช้ในการทดลองนี้ จะเป็นระดับความเข้มข้นที่ทำให้ผลการเจริญเติบโตของกุ้งขาวดีที่สุดในชุดการทดลองที่ 1 และมีวิธีการเตรียมสารบีเทนเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 (3.1.4) แสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 การเตรียมบีเทนในอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นบีเทน (เปอร์เซ็นต์)	บีเทน (กรัม/อาหาร 4 กก.)	ปริมาณแป้งสาลีที่ใช้เจือจาง (กรัม/อาหาร 4 กก.)
1	0 เปอร์เซ็นต์	0	385
2	4 เปอร์เซ็นต์	160	345
3	8 เปอร์เซ็นต์	320	305

3.2.4 การเตรียมอาหารทดลอง

ส่วนประกอบและปริมาณวัตถุดิบในอาหารแต่ละสูตรของการทดลอง มีสูตรที่เหมือนกันกับการทดลองที่ 1 และผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารในชุดการทดลองที่ 1 แสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ส่วนประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลองในการทดลองที่ 2 ที่มีบีเทนระดับต่าง ๆ โดยการวิเคราะห์[1]

อาหาร	บีเทน	ส่วนประกอบ (เปอร์เซ็นต์)					
สูตรที่	(%)	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	NFE
1	0	8.65 ± 0.01	34.27 ± 0.49	8.25 ± 1.05	6.35 ± 0.03	0.063 ± 0.002	42.42±2.24
2	4	7.47 ± 0.03	34.14 ±0.61	8.54 ± 0.29	6.44 ± 0.11	0.060 ± 0.006	43.35±1.48
3	8	6.65 ± 0.09	34.62 ± 1.32	8.21 ± 0.27	6.53 ± 0.11	0.057 ± 0.003	43.93±2.54

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 2 ซ้ำ)

3.2.5 แผนการทดลอง

การทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาเปรียบเทียบระดับของบีเทน 3 ระดับ ระหว่างความเค็มที่ 2 พีพีที และ 25 พีพีที โดยศึกษาการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด ปริมาณออสโมลาริตี้และไอออนในน้ำเลือด โดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial design) มีปัจจัย 2×3 ปัจจัย คือความเค็มของน้ำที่ 2 พีพีที และ 25 พีพีที และระดับของบีเทน 0, 4 และ 8 เปอร์เซ็นต์ มีชุดการทดลองทั้งหมด 6 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองมี 5 ซ้ำ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Test (Steel and Torrie, 1980) สังเกตปริมาณอาหารที่กุ้งกินเพื่อนำไปปรับอาหารในมื้อต่อไป รายละเอียดอื่น ๆ ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

สำหรับการศึกษาความต้านทานความเครียดโดยการเปลี่ยนแปลงความเค็ม จะวางแผนการทดลองแฟคทอเรียลแบบ 3×4 ปัจจัย โดยศึกษาปัจจัย 3 ปัจจัย คือ ระดับบีเทน 3 ระดับ และเวลาที่ใช้ในการทดลอง มีชุดการทดลองทั้งหมด 12 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองมี 4 ซ้ำ

3.2.6 การเก็บรวบรวมข้อมูล

3.2.6.1 การตรวจสอบการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาว

ชั่งน้ำหนักกุ้งขาวทุก 2 สัปดาห์โดยชั่งน้ำหนักรวมของกุ้งแต่ละซ้ำด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง นับจำนวนกุ้งที่เหลืออยู่ จนสิ้นสุดการทดลอง สังเกตพฤติกรรมการกิน

อาหารของกุ้งตลอดการทดลอง พร้อมทั้งจดบันทึกข้อมูลไว้จนสิ้นสุดการทดลอง 6 สัปดาห์ นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 แสดงในภาคผนวก ก

3.2.6.2 ศึกษาองค์ประกอบเลือด

เก็บตัวอย่างกุ้งในสัปดาห์ที่ 6 โดยทำการสุ่มกุ้งจากทุกชุดการทดลอง ๆ ละ 80 ตัว เพื่อทำการเก็บตัวอย่างองค์ประกอบเลือดก่อนทำการเปลี่ยนแปลงความเค็ม ได้แก่

- การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเซลล์เม็ดเลือดและซีรัม (ดัดแปลงจาก Lowry และคณะ (1951)
- ปริมาณเม็ดเลือดรวมทั้งหมด (Total hemocytes count) ตามวิธีการของกิจการ และสิทธิ (2538)
- การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในเลือด (Blood glucose) ตามวิธีของ Hyvarinen และ Nikkila, (1962)
- การวิเคราะห์ค่าออสโมลาริตี้ และปริมาณอิเลคโทรไลท์ต่าง ๆ ในเลือด (กิจการ และคณะ, 2543 ข)

3.2.6.3 ศึกษาการตอบสนองในกุ้งขาวต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มแบบฉับพลัน

- การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเซลล์เม็ดเลือดและซีรัม ตามวิธีดัดแปลงจาก Lowry และคณะ (1951)
- ปริมาณเม็ดเลือดรวมทั้งหมด (Total hemocytes count) ตามวิธีการของกิจการ และสิทธิ (2538)
- การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในเลือด (Blood glucose) ตามวิธีดัดแปลงจาก Hyvarinen และ Nikkila (1962)
- การวิเคราะห์ค่าออสโมลาริตี้ และปริมาณอิเลคโทรไลท์ต่าง ๆ ในเลือด ตามวิธีการของกิจการ และคณะ (2543 ข)

3.2.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์หาความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's multiple range test โดยโปรแกรม SPSS version 11. และวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยด้วยวิธีของ Pearson correlation

บทที่ 3

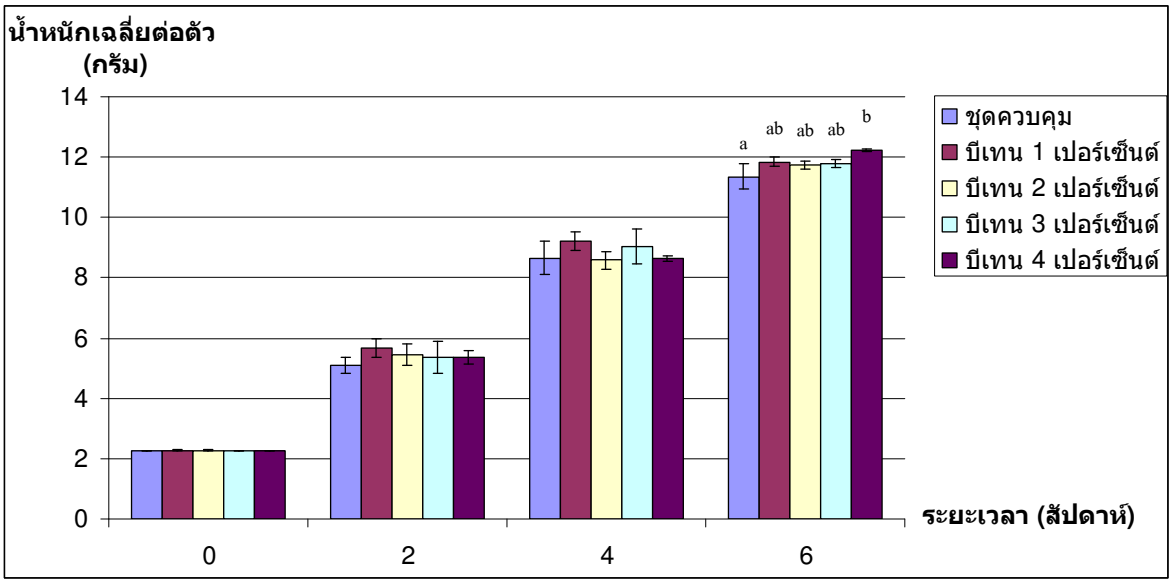
ผลการทดลอง

1. การทดลองที่ 1: ผลของบีเทนต่อการเจริญเติบโต และความต้านทานโรคในกุ้งขาว

1.1 ผลการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาว

1.1.1. น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมบีเทนทั้ง 5 สูตร ตลอดระยะเวลาการทดลอง 6 สัปดาห์ พบว่ากุ้งขาวมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการทดลอง ดังแสดงในภาพที่ 4 และเมื่อเริ่มทำการทดลองกุ้งมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวอยู่ในช่วง 2.24±0.01-2.26±0.01 กรัม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 6 พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงที่สุด (12.23±0.14 กรัม)



ภาพที่ 4 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของกุ้งขาวระยะเวลา 0 ถึง 6 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ)

1.1.2 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และปริมาณอาหารที่กุ้งขาวกินอาหารในแต่ละวันทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 10 พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารทั้ง 5 สูตรมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 404.00±17.52-440.33±9.07 เปอร์เซ็นต์ โดยกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด (p<0.05)

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะพบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมบีเทน มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่ากุ้งขาวที่ไม่ได้รับอาหารผสมบีเทน (p<0.05) โดยชุดที่ได้รับบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโต 4.01±0.06 เปอร์เซ็นต์ สูงที่สุดเมื่อเทียบกับระดับอื่นๆ

อัตราการรอดตายของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทั้ง 5 สูตร ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 94.67±7.57-99.33±1.15 เปอร์เซ็นต์

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทั้ง 5 สูตร ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.75±0.09-1.85±0.18

สำหรับปริมาณอาหารที่กุ้งกินต่อตัวต่อวันทั้ง 5 สูตร ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.39±0.02-0.43±0.01 กรัมต่อตัวต่อวัน

1.1.3. ผลของบีเทนต่อความต้านทานโรค Vibriosis และความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือด (Clearance ability of bacteria)

ผลของบีเทนต่อความต้านทานโรคแบคทีเรียเรืองแสง (Vibriosis) กับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่แตกต่างกัน 5 สูตร ที่ทดลองเชื้อเป็นระยะเวลา 10 วัน แสดงในตารางที่ 11 พบว่าอัตราการรอดตายของกุ้งขาวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) อยู่ในช่วง 23.33±15.27-56.67±11.55 เปอร์เซ็นต์ โดยอัตราการรอดตายของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่ผสมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มที่จะมีความต้านทานโรคได้ดีกว่าชุดการทดลองอื่น ส่วนความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่แตกต่างกัน 5 สูตร ภายในระยะเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ฉีดเข้าตัวกุ้งลดลงแตกต่างกันในกุ้งขาวที่ได้รับบีเทนที่ระดับแตกต่างกัน ภายในเวลา 3 ชั่วโมง โดยทำการเปรียบเทียบกับเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นที่มีค่าเท่ากับ 6.1×10^6 โคโลนี/มิลลิลิตร แสดงในตารางที่ 11 ซึ่งพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารผสมบีเทน 3 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียดีกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารชุดควบคุม คือ $0.04\pm0.01 \times 10^4$ โคโลนี/มิลลิลิตร และ $1.33\pm0.26 \times 10^4$ โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 10 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และปริมาณอาหารที่กุ้งกิน ของกุ้งทดลองที่ได้รับอาหารผสมบีเทนระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์[1]

ชุดการทดลอง	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน (กรัมต่อตัวต่อวัน)
ชุดควบคุม	404.00 ± 17.52^{a}	3.85 ± 0.08^{a}	98.67 ± 1.15	1.79 ± 0.09	0.39 ± 0.02
บีเทน 1 %	420.00 ± 5.29^{ab}	3.92 ± 0.03^{ab}	94.67 ± 7.57	1.85 ± 0.18	0.42 ± 0.04
บีเทน 2 %	420.00 ± 2.65^{ab}	3.91 ± 0.02^{ab}	99.33 ± 1.15	1.75 ± 0.09	0.39 ± 0.02
บีเทน 3 %	425.00 ± 24.02^{ab}	3.94 ± 0.11^{ab}	98.00 ± 2.00	1.77 ± 0.14	0.40 ± 0.03
บีเทน 4 %	440.33 ± 9.07^{b}	4.01 ± 0.06^{b}	98.00 ± 3.46	1.83 ± 0.08	0.43 ± 0.01

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ

ตัวเลขในสดมภ์ที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p<0.05)

ตารางที่ 11 อัตราการรอดตายจากการฉีดเชื้อ *V. harveyi* และ การกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือดกุ้ง[1]

ชุดการทดลอง	อัตราการรอดตายจากการฉีดเชื้อ *V. harveyi*(เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณของเชื้อ *V. harveyi* ที่พบในน้ำเลือดหลังจากฉีดเชื้อปริมาณ ×10^{7} โคโลนี/มิลลิลิตร (×10^{4} โคโลนี/มิลลิลิตร)
ชุดควบคุม	23.33 ± 15.27^{a}	1.33 ± 0.26^{b}
บีเทน 1 เปอร์เซ็นต์	36.67 ± 20.81^{a}	2.70 ± 1.40^{c}
บีเทน 2 เปอร์เซ็นต์	50.00 ± 10.00^{a}	0.37 ± 0.35^{ab}
บีเทน 3 เปอร์เซ็นต์	43.33 ± 30.55^{a}	0.04 ± 0.01^{a}
บีเทน 4 เปอร์เซ็นต์	56.67 ± 11.55^{a}	0.23 ± 0.19^{ab}

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ (ยกเว้นการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือดกุ้งมีข้อมูล 5 ซ้ำ)

ตัวเลขในสดมภ์ที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p<0.05)

1.1.4. ปริมาณอิเล็คโตรไลต์ในน้ำเลือดของกุ้งขาวจากการทดสอบความต้านทานความเครียดโดยการเปลี่ยนแปลงความเค็ม

ปริมาณของออสโมลาริตี้ในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 2 สูตร คือ อาหารในชุดควบคุม และชุดบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อนำมาแช่ในน้ำทะเลความเค็ม 15 พีพีที และ 40 พีพีที เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าปริมาณออสโมลาริตี้ของกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 15 พีพีที ในอาหารทดลองทั้ง 2 สูตร ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณออสโมลาริตี้ตลอดระยะเวลา 6 ชั่วโมง (p>0.05) (ตารางที่ 12 และภาพที่ 5)

เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มเป็น 40 พีพีที พบว่าปริมาณออสโมลาริตี้มีค่าเพิ่มสูงขึ้นในแต่ละช่วงเวลา และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบ (6 ชั่วโมง)ไม่พบความแตกต่างของปริมาณออสโมลาริตี้ในกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทั้ง 2 สูตร (p>0.05) โดยปริมาณออสโมลาริตี้ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีปริมาณต่ำสุดคือ 965.00±42.43 มิลลิออสโมลต่อลิตร และปริมาณออสโมลาริตี้ของกุ้งขาวที่ได้รับบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณสูงสุดคือ 999.00±8.49 มิลลิออสโมลต่อลิตร และเมื่อนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณออสโมลาริตี้ (p<0.01) โดยเมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้นก็จะทำให้ค่าออสโมลาริตี้เพิ่มสูงขึ้น (ตารางที่ 13 และภาพที่ 6)

ปริมาณโซเดียมของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลอง 2 สูตร ในน้ำทะเลความเค็ม 15 พีพีที และ 40 พีพีที ระยะเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าปริมาณของโซเดียมในกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 15 พีพีที ไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลา 6 ชั่วโมง (p>0.05) (ตารางที่ 12 และภาพที่ 7)

เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มแล้วพบว่าปริมาณของโซเดียมมีค่าเพิ่มสูงขึ้นในแต่ละช่วงเวลา และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบไม่พบความแตกต่างของปริมาณโซเดียม (p>0.05) โดยปริมาณโซเดียมของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีค่าต่ำสุดคือ 417.00±9.89 มิลลิโมลต่อลิตร และปริมาณโซเดียมของกุ้งขาวที่ได้รับบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณสูงสุดคือ 435.00±4.24 มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณโซเดียม (p<0.01) โดยเมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้นก็จะทำให้ค่าโซเดียมเพิ่มสูงขึ้น (ตารางที่ 13 และภาพที่ 8)

ปริมาณคลอไรด์ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลอง 2 สูตร ในน้ำทะเลความเค็ม 15 พีพีที และ 40 พีพีที ระยะเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าปริมาณของคลอไรด์ในกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 15 พีพีที ไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลา 6 ชั่วโมง (p>0.05) ตารางที่ 15 และภาพที่ 9)

เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มแล้วพบว่าปริมาณของคลอไรด์มีค่าเพิ่มสูงขึ้นในแต่ละช่วงเวลา และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอไรด์ (p>0.05) โดยปริมาณคลอไรด์ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีค่าต่ำสุดคือ

418.50±13.44 มิลลิโมลต่อลิตร และปริมาณคลอไรด์ของกุ้งขาวที่ได้รับบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณสูงสุดคือ 432.50±4.95 มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณคลอไรด์ (p<0.01) โดยเมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้นก็จะทำให้ค่าคลอไรด์เพิ่มสูงขึ้น ตารางที่ 13 และภาพที่ 10)

ตารางที่ 12 ปริมาณของออสโมลาริตี้ โซเดียม และคลอไรด์ที่เลี้ยงในความเค็มปกติ (15 พีพีที) ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ชุดการทดลอง	เวลา (ชั่วโมง)	ออสโมลาริตี้ (มิลลิออสโมลต่อลิตร)	โซเดียม (มิลลิโมลต่อลิตร)	คลอไรด์ (มิลลิโมลต่อลิตร)
ชุดควบคุม	0	655.50 ± 4.95[a]	274.00 ± 0.00[a]	289.00 ± 1.41[a]
	1	675.00 ± 1.41[a]	286.00 ± 0.00[a]	297.50 ± 2.12[a]
	3	628.00 ± 7.07[a]	273.00 ± 4.24[a]	286.50 ± 3.54[a]
	6	644.00 ± 1.41[a]	265.00 ± 4.24[a]	278.50 ± 4.95[a]
บีเทน 4 เปอร์เซ็นต์	0	651.00 ± 0.00[a]	274.00 ± 0.00[a]	283.00 ± 4.24[a]
	1	669.50 ± 2.12[a]	283.50 ± 2.12[a]	296.50 ± 7.78[a]
	3	682.00 ± 18.38[a]	281.50 ± 0.71[a]	299.00 ± 1.41[a]
	6	658.50 ± 16.26[a]	268.50 ± 2.12[a]	280.50 ± 4.95[a]
ชุดการทดลอง		ns	ns	ns
เวลา		ns	ns	ns
ชุดการทดลอง×เวลา		ns	ns	ns

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากตัวอย่างเลือดกุ้ง 2 ตัวอย่างต่อชุดการทดลอง

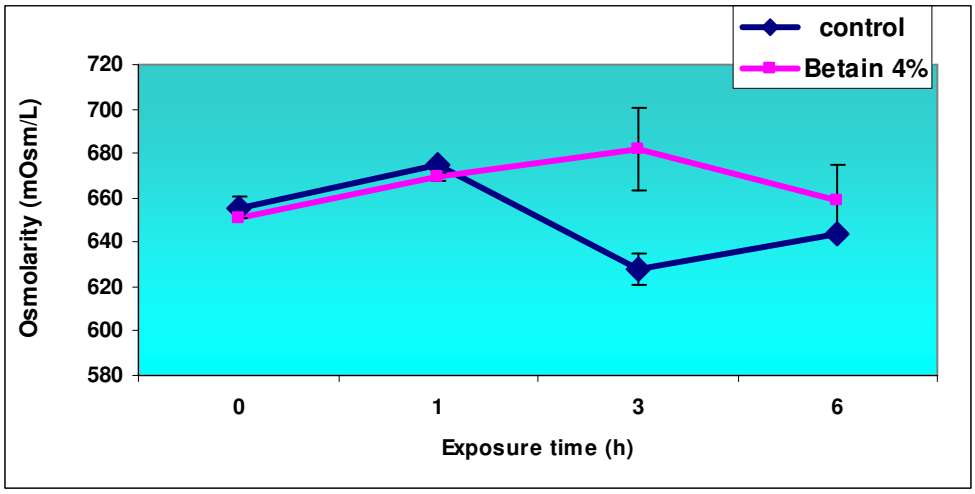
ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p<0.05)

ตารางที่ 13 ปริมาณของออสโมลาริตี้ โซเดียม และคลอไรด์ที่ทำการเปลี่ยนแปลงความเค็มเป็น 40 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

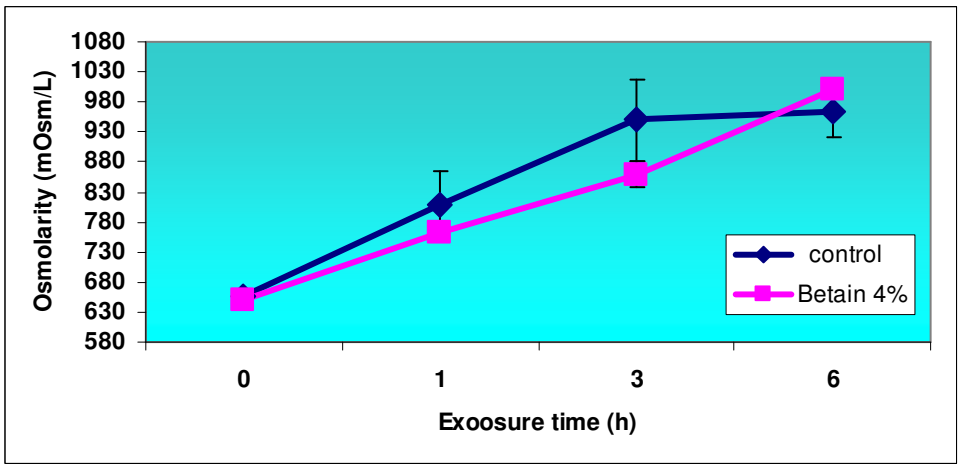
ชุดการทดลอง	เวลา (ชั่วโมง)	ออสโมลาริตี้ (มิลลิออสโมลต่อลิตร)	โซเดียม (มิลลิโมลต่อลิตร)	คลอไรด์ (มิลลิโมลต่อลิตร)
ชุดควบคุม	0	655.50 ± 4.95^{a}	274.00 ± 0.00^{a}	289.00 ± 1.41^{a}
	1	808.50 ± 57.28^{bc}	347.00 ± 66.47^{bc}	376.00 ± 19.79^{b}
	3	949.50 ± 67.18^{d}	408.00 ± 14.14^{de}	420.00 ± 25.46^{c}
	6	965.00 ± 42.43^{d}	417.00 ± 9.89^{e}	418.50 ± 13.44^{c}
บีเทน 4 เปอร์เซ็นต์	0	651.00 ± 0.00^{a}	274.00 ± 0.00^{a}	283.00 ± 4.24^{a}
	1	761.50 ± 3.54^{b}	333.50 ± 6.36^{b}	360.50 ± 13.44^{b}
	3	859.50 ± 20.51^{c}	377.00 ± 7.07^{cd}	375.00 ± 7.07^{b}
	6	999.00 ± 8.49^{d}	435.00 ± 4.24^{e}	432.50 ± 4.95^{c}
ชุดการทดลอง		$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$
เวลา		$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$
ชุดการทดลอง×เวลา		$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากตัวอย่าง-เลือดกุ้ง 2 ตัวอย่างต่อชุดการทดลอง

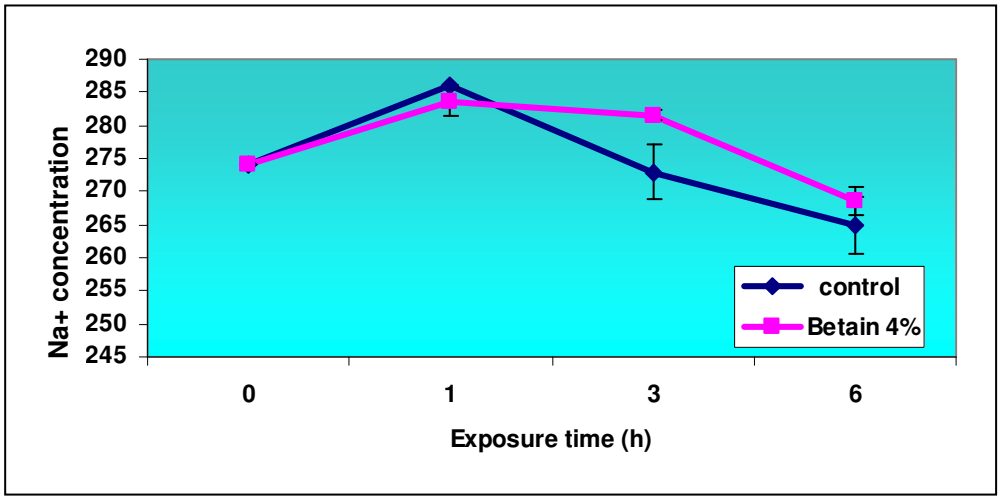
ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)



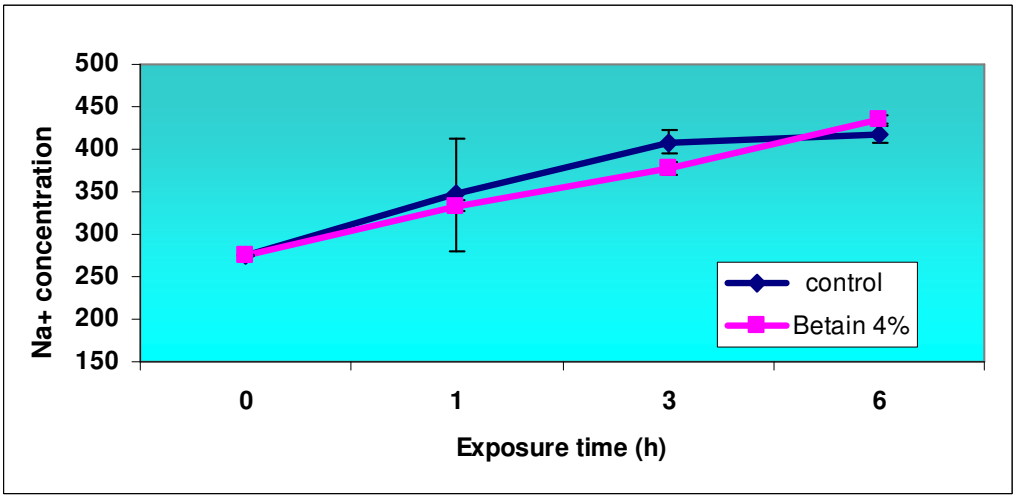
ภาพที่ 5 ปริมาณออสโมลาริตี้ในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 2 สูตร คือ อาหารชุดควบคุม และเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ในน้ำทะเลความเค็มปกติ (15 พีพีที)



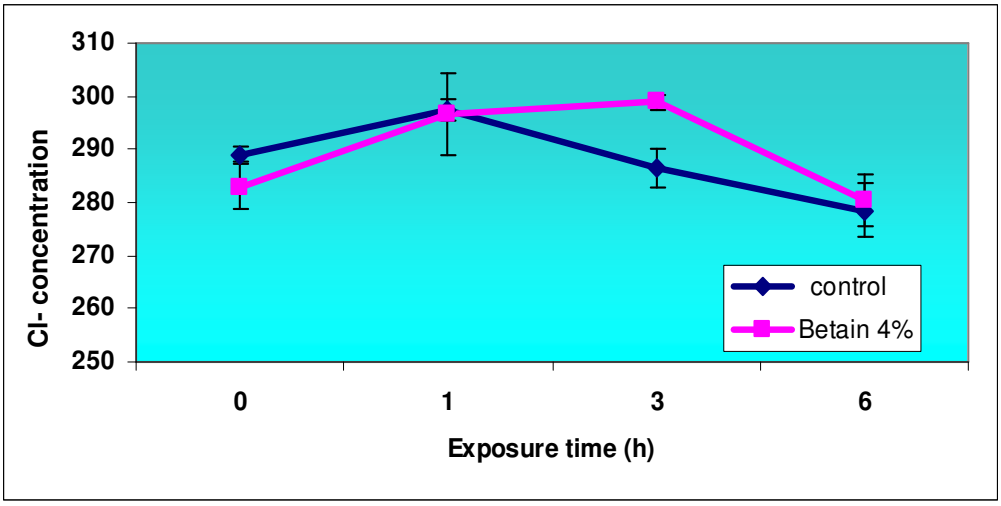
ภาพที่ 6 ปริมาณออสโมลาริตี้ในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 2 สูตร คือ อาหาชุดควบคุม และเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ในน้ำทะเลที่เปลี่ยนแปลงความเค็มเป็น 40 พีพีที



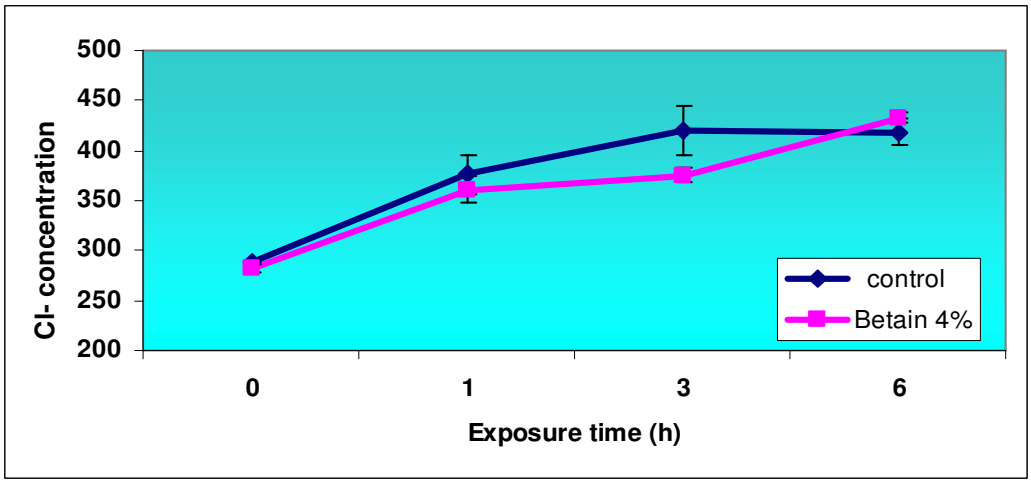
ภาพที่ 7 ปริมาณโซเดียมในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 2 สูตร คือ อาหาชุดควบคุม และเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ในน้ำทะเลความเค็มปกติ (15 พีพีที)



ภาพที่ 8 ปริมาณโซเดียมในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 2 สูตร คือ อาหาชุดควบคุม และเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ในน้ำทะเลที่เปลี่ยนแปลงความเค็ม เป็น 40 พีพีที



ภาพที่ 9 ปริมาณคลอไรด์ในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 2 สูตร คือ อาหาชุดควบคุม และเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ในน้ำทะเลความเค็มปกติ (15 พีพีที)



ภาพที่ 10 ปริมาณคลอไรด์ในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 2 สูตร คือ อาหาชุดควบคุม และเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ในน้ำทะเลที่เปลี่ยนแปลงความเค็มเป็น 40 พีพีที

2. การทดลองที่ 2: ผลของบีเทนต่อสมดุลของเหลวในกุ้งขาว

2.1 การเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาว

2.1.1 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมบีเทนทั้ง 3 สูตร ในน้ำทะเลความเค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีที ตลอดระยะเวลาการทดลอง 6 สัปดาห์ พบว่ากุ้งขาวมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 14 โดยเมื่อเริ่มทำการทดลองน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว อยู่ในช่วง 10.22±0.12 กรัม ถึง 10.27±0.10 กรัม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 6 พบว่าความเค็มของน้ำมีผลต่อกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 25 พีพีที และมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 2 พีพีที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเท่ากับ 15.41±0.55-15.64±0.49 กรัม และ 14.27±0.65-14.32±0.31 กรัม ตามลำดับ

2.1.2 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และปริมาณอาหารที่กุ้งกิน

ค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และปริมาณอาหารที่กุ้งขาวกินอาหารทั้ง 3 สูตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 14 พบว่าความเค็มของน้ำที่ใช้เลี้ยงมีผลต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำทะเลความเค็ม 25 พีพีที มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำทะเลที่ความเค็ม 2 พีพีที อยู่ในช่วง 51.16±5.58-51.89±1.79 เปอร์เซ็นต์ และ 39.11±2.71-40.47±6.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าความเค็มของน้ำที่ใช้เลี้ยงมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำทะเลที่ความเค็ม 25 พีพีที และพบว่ามีความแตกต่างทางสถิติ (p<0.05) โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 2 พีพีที ซึ่งอยู่ในช่วง 0.98±0.10-0.99±0.08 เปอร์เซ็นต์ และ 0.78±0.05-0.81±0.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

อัตราการรอดตายของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทั้ง 3 สูตร ที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 25 พีพีที และ 2 พีพีที ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 94.75±5.25-100.00±0.00 เปอร์เซ็นต์ และ 95.00±5.00-96.75±3.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกุ้งขาว พบว่าความเค็มของน้ำที่ใช้เลี้ยงมีผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกุ้งขาว และมีความแตกต่างทางสถิติ (p<0.05) โดยกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 25 พีพีที มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่ต่ำกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 2 พี

พีที โดยกุ้งขาวที่ได้รับบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในความเค็ม 25 พีพีที มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่ต่ำที่สุดคือ 2.17±0.16

สำหรับปริมาณอาหารที่กุ้งกินต่อตัวต่อวันทั้ง 3 สูตร ที่เลี้ยงในน้ำทะเลความเค็ม 25 พีพีที และ 2 พีพีที ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.27±0.01-0.29±0.01 กรัมต่อตัวต่อวัน และ 0.28±0.01-0.28±0.02 กรัมต่อตัวต่อวัน ตามลำดับ

2.2.3 ปริมาณของเม็ดเลือดรวม กลูโคสและโปรตีน ในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีที

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเลือดของกุ้งขาว ที่ได้รับอาหารทดลอง 3 สูตร ระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) ของปริมาณเม็ดเลือดรวมในทุกชุดการทดลอง แสดงในตารางที่ 15 โดยกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 2 พีพีที มีปริมาณของเม็ดเลือดรวมอยู่ระหว่าง 65.18±9.78-70.25±13.42 ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) และกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 25 พีพีที มีปริมาณเม็ดเลือดรวมอยู่ระหว่าง 73.44±13.14-83.07±25.66 ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

ปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดของกุ้งขาว พบว่าไม่มีความแตกต่างของปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดในทุกชุดการทดลอง (p>0.05) (ตารางที่ 15) โดยกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 2 พีพีที มีปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดอยู่ระหว่าง 17.49±2.25-19.67±6.11 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ และกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 25 พีพีที มีปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดอยู่ระหว่าง 18.22±2.19-20.44±3.39 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์

ปริมาณของโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาว พบว่าไม่มีความแตกต่างของปริมาณของโปรตีนในน้ำเลือดในทุกชุดการทดลอง (p>0.05) (ตารางที่ 15) โดยกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 2 พีพีที มีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่าง 163.65±18.27-175.79±14.91 มิลลิกรัมต่อลิตร และกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 25 พีพีที มีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่าง 170.00±8.10-172.50±15.63 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 14 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และปริมาณอาหารที่กุ้งกินเมื่อได้รับบีเทนที่ระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์[1]

ความเค็ม (พีพีที)	ระดับบีเทน (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ตัว)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม/ตัว)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน (กรัมต่อตัวต่อวัน)
2	0	10.22 ± 0.12	14.30 ± 0.69^{a}	40.47 ± 6.32^{a}	0.81 ± 0.11^{a}	95.00 ± 5.00	3.50 ± 0.84^{b}	0.28 ± 0.02
	4	10.25 ± 0.14	14.27 ± 0.65^{a}	39.44 ± 6.40^{a}	0.79 ± 0.11^{a}	96.50 ± 3.50	3.23 ± 0.31^{b}	0.28 ± 0.01
	8	10.27 ± 0.10	14.32 ± 0.31^{a}	39.11 ± 2.71^{a}	0.78 ± 0.05^{a}	96.75 ± 3.25	3.34 ± 1.04^{b}	0.28 ± 0.02
25	0	10.27 ± 0.10	15.64 ± 0.49^{b}	51.86 ± 5.14^{b}	0.99 ± 0.08^{b}	94.75 ± 5.25	2.54 ± 0.39^{ab}	0.29 ± 0.01
	4	10.23 ± 0.10	15.41 ± 0.55^{b}	51.16 ± 5.58^{b}	0.98 ± 0.10^{b}	100.00 ± 00	2.17 ± 0.16^{a}	0.27 ± 0.01
	8	10.24 ± 0.12	15.51 ± 0.22^{b}	51.89 ± 1.79^{b}	0.99 ± 0.03^{b}	95.00 ± 5.00	2.60 ± 0.62^{ab}	0.28 ± 0.01
ความเค็ม		ns	p<0.05	p<0.05	p<0.05	ns	p<0.05	ns
ระดับบีเทน		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ความเค็ม× ระดับบีเทน		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากตัวอย่าง 5 ซ้ำ

ตัวเลขในสดมภ์ที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p<0.05)

ตารางที่ 15 ปริมาณของเม็ดเลือดรวม กลูโคส และโปรตีนในน้ำเลือด ในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีที[1]

ความเค็ม (พีพีที)	ระดับบีเทน (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณเม็ดเลือดรวม ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	กลูโคสในน้ำเลือด (มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์)	โปรตีนในน้ำเลือด (มิลลิกรัมต่อลิตร)
2	0	65.18 ± 9.78	17.49 ± 2.25	164.08 ± 13.58
	4	70.25 ± 13.42	19.67 ± 6.11	175.79 ± 14.92
	8	67.88 ± 17.63	19.32 ± 11.81	163.65 ± 18.27
25	0	73.30 ± 16.46	20.44 ± 3.39	170.92 ± 18.99
	4	73.44 ± 13.14	18.22 ± 2.19	172.50 ± 15.63
	8	83.07 ± 25.66	19.73 ± 5.38	170.00 ± 8.10
ความเค็ม		ns	ns	ns
ระดับบีเทน		ns	ns	ns
ความเค็ม×ระดับบีเทน		ns	ns	ns

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากตัวอย่าง 5 ซ้ำ
ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)

2.3.4 ออสโมลาริตี้ โซเดียม และโพแทสเซียมในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีที

ออสโมลาริตี้ของกุ้งขาว พบว่าความเค็มของน้ำมีผลต่อปริมาณออสโมลาริตี้ของกุ้งขาว (ตารางที่ 16) และมีความแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) แต่ไม่พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างการเสริม บีเทนที่ระดับต่าง ๆ โดยกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 25 พีพีที มีปริมาณออสโมลาริตี้สูงกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 2 พีพีที ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 734.50±13.44 -757.00±0.00 มิลลิ-ออสโมลต่อลิตร และ 633.50±31.82-654.50±10.61 มิลลิออสโมลต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์แล้วพบว่าความเค็มของน้ำมีผลต่อปริมาณของออสโมลาริตี้ (p<0.01) โดยน้ำความเค็มที่สูงขึ้นมีผลให้ค่าออสโมลาริตี้เพิ่มสูงขึ้น

โซเดียมของกุ้งขาว พบว่ามีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างความเค็มของน้ำและระดับของบีเทน (ตารางที่ 16) แต่เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์แล้วพบว่าความเค็มของน้ำมีผลต่อปริมาณโซเดียม (p<0.01) โดยน้ำความเค็มที่สูงขึ้นมีผลให้ค่าโซเดียมสูงขึ้นตามด้วย โดยกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 25 พีพีที มีปริมาณของโซเดียมสูงกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 2 พีพีที และมีความแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) ซึ่งกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 25 พีพีที มีปริมาณโซเดียมสูงกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 2 พีพีที โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 327.50±2.12-332.00±2.83 มิลลิโมลต่อลิตร และ 254.50±10.611-290.00±8.49 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ

โพแทสเซียมของกุ้งขาว พบว่าความเค็มของน้ำมีผลต่อปริมาณโพแทสเซียมของกุ้งขาว และมีความแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) (ตารางที่ 18) แต่ไม่พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างการเสริมบีเทนที่ระดับต่าง ๆ โดยกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 25 พีพีที มีปริมาณโพแทสเซียมสูงกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 2 พีพีที โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 8.64±0.61-8.78±0.04 มิลลิออสโมลต่อลิตร และ 7.39±0.47-7.92±0.51 มิลลิออสโมลต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์แล้วพบว่าความเค็มของน้ำมีผลต่อปริมาณโพแทสเซียม (p<0.01) โดยความเค็มของน้ำที่สูงขึ้นมีผลให้ค่าโพแทสเซียมเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย

ตารางที่ 16 ปริมาณออสโมลาริตี้ โซเดียมและโพแทสเซียมในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีที[1]

ความเค็ม (พีพีที)	ระดับบีเทน (เปอร์เซ็นต์)	ออสโมลาริตี้ (มิลลิออสโมต่อลิตร)	โซเดียม (มิลลิโมลต่อลิตร)	โพแทสเซียม (มิลลิโมลต่อลิตร)
2	0	633.50 ± 31.82^{a}	284.50 ± 7.78^{b}	7.92 ± 0.51^{abc}
	4	649.50 ± 13.44^{a}	290.00 ± 8.49^{b}	7.39 ± 0.47^{a}
	8	654.50 ± 10.61^{a}	254.50 ± 10.61^{a}	7.64 ± 0.39^{ab}
25	0	757.00 ± 0.00^{b}	332.00 ± 2.83^{c}	8.78 ± 0.04^{c}
	4	734.50 ± 13.44^{b}	328.00 ± 8.49^{c}	8.64 ± 0.61^{bc}
	8	735.00 ± 0.00^{b}	327.50 ± 2.12^{c}	8.76 ± 0.37^{bc}
ความเค็ม		p<0.05	p<0.05	p<0.05
ระดับบีเทน		ns	p<0.05	ns
ความเค็ม× ระดับบีเทน		ns	p<0.05	ns

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากตัวอย่าง 2 ซ้ำ
ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p<0.05)

หมายเหตุ ค่าออสโมลาริตี้ของน้ำ 2 พีพีที เท่ากับ 67 มิลลิออสโมลต่อลิตร
25 พีพีที เท่ากับ 745 มิลลิออสโมลต่อลิตร
ค่าโพแทสเซียมของน้ำ 2 พีพีที เท่ากับ < 2 มิลลิโมลต่อลิตร
25 พีพีที เท่ากับ 8.2 มิลลิโมลต่อลิตร
ค่าโซเดียมของน้ำ 2 พีพีที เท่ากับ < 10 มิลลิโมลต่อลิตร
25 พีพีที เท่ากับ 306 มิลลิโมลต่อลิตร

2.2.5 ปริมาณเม็ดเลือดรวม กลูโคสและโปรตีนในน้ำเลือด ในน้ำเลือดของกุ้งขาวจากการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 2 พีพีที เป็น 40 พีพีที ที่ระยะเวลา 3, 6 และ 12 ชั่วโมง

ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งขาว พบว่ามีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างระดับของบีเทนและเวลา (p<0.05) (ตารางที่ 17) โดยปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารชุดควบคุม ที่เวลา 12 ชั่วโมง มีปริมาณต่ำสุดคือ 45.57±13.68 ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) แต่พบว่าปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 12 ชั่วโมง มีปริมาณสูงสุดคือ 90.00±15.61 ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

ปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดของกุ้งขาว พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณกลูโคสของกุ้งขาว (p<0.05) (ตารางที่ 17) แต่ไม่พบว่าการเสริมบีเทนที่ระดับต่าง ๆ กันมีผลต่อปริมาณกลูโคสหลังจากเปลี่ยนแปลงความเค็ม เมื่อนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณกลูโคส (p<0.01) ซึ่งเวลาเพิ่มสูงขึ้นก็จะทำให้ปริมาณกลูโคสเพิ่มสูงขึ้น โดยที่ 12 ชั่วโมงพบว่าปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดของกุ้งขาวชุดที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีปริมาณกลูโคสสูงสุดคือ 32.82±8.29 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ แต่กุ้งขาวที่ได้รับบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณกลูโคสต่ำสุดคือ 26.63±7.47 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์

ปริมาณของโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาว พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณโปรตีนของกุ้งขาว (p<0.05) (ตารางที่ 17) แต่ไม่พบว่าการเสริมบีเทนที่ระดับต่าง ๆ กันมีผลต่อปริมาณโปรตีนหลังจากมีการเปลี่ยนแปลงความเค็ม เมื่อนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณโปรตีน (p<0.01) โดยเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นก็จะทำให้ปริมาณของโปรตีนลดลง โดยที่ 12 ชั่วโมงพบว่าปริมาณของโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารในสูตรควบคุมมีปริมาณโปรตีนต่ำสุดคือ 104.64±15.03 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 8 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดสูงสุดคือ 111.53±20.38 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 17 ปริมาณเม็ดเลือดรวม กลูโคส และโปรตีนในน้ำเลือดของการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 2 พีพีที เป็น 40 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน[1]

ระดับบีเทน (เปอร์เซ็นต์)	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเม็ดเลือดรวม ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	กลูโคสในน้ำเลือด (มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์)	โปรตีนในน้ำเลือด (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0	0	65.19 ± 9.78^{b}	17.49 ± 2.25^{a}	164.08 ± 13.58^{b}
	3	88.20 ± 13.47^{c}	29.43 ± 7.15^{bc}	100.18 ± 13.29^{a}
	6	76.75 ± 17.09^{bc}	25.41 ± 4.95^{abc}	103.98 ± 8.55^{a}
	12	45.57 ± 13.68^{a}	32.82 ± 8.29^{c}	104.64 ± 15.03^{a}
4	0	70.25 ± 13.42^{bc}	19.67 ± 6.11^{ab}	175.79 ± 14.92^{b}
	3	88.64 ± 21.32^{c}	28.83 ± 11.67^{abc}	114.69 ± 11.28^{a}
	6	80.08 ± 19.06^{bc}	28.26 ± 6.95^{abc}	108.34 ± 16.38^{a}
	12	90.00 ± 15.61^{c}	26.63 ± 7.47^{abc}	108.47 ± 19.31^{a}
8	0	67.88 ± 17.63^{bc}	19.32 ± 11.81^{ab}	163.65 ± 18.27^{b}
	3	89.64 ± 29.64^{c}	28.74 ± 6.54^{abc}	100.31 ± 8.97^{a}
	6	68.30 ± 10.16^{bc}	31.70 ± 5.38^{c}	106.88 ± 18.09^{a}
	12	72.33 ± 17.85^{bc}	29.08 ± 9.89^{bc}	111.53 ± 20.38^{a}
ระดับบีเทน		$p<0.05$	ns	ns
เวลา		$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$
ระดับบีเทน× เวลา		$p<0.05$	ns	ns

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากตัวอย่าง 5 ซ้ำ
ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$)

2.2.6 ปริมาณเม็ดเลือดรวม กลูโคสและโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาวหลังเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 25 พีพีที เป็น 2 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งขาว พบว่าเวลาและระดับของบีเทนมีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดรวม (p<0.05) (ตารางที่ 18) โดยที่เวลา 12 ชั่วโมง ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม มีปริมาณเม็ดเลือดรวมต่ำสุดคือ 71.67±16.36 ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) แต่กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 8 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเม็ดเลือดรวมสูงสุดคือ 100.00±21.29 ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) และเมื่อนำค่ามาวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่า ระดับของบีเทนมีผลต่อปริมาณของเม็ดเลือดรวมของกุ้งขาว (p<0.01) โดยเมื่อระดับบีเทนที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลให้ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวเพิ่มสูงขึ้น

ปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดของกุ้งขาว พบว่าเวลาและระดับของบีเทนมีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดรวม (p<0.05) (ตารางที่ 18) โดยที่เวลา 12 ชั่วโมง ปริมาณกลูโคสของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีปริมาณสูงสุดคือ 37.76±7.62 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ แต่กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณกลูโคสต่ำสุดคือ 31.53±6.77 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่า เวลามีผลต่อปริมาณกลูโคส (p<0.01) โดยเมื่อเวลาเพิ่มสูงขึ้นมีผลให้ปริมาณกลูโคสเพิ่มสูงขึ้น

ปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาว พบว่าเวลาและระดับของบีเทนในอาหารมีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดรวม (p<0.05) (ตารางที่ 18) โดยที่เวลา 12 ชั่วโมง ปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีปริมาณสูงสุดคือ 209.57±15.19 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 8 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณของโปรตีนต่ำสุดคือ 187.57±12.00 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่าระดับของบีเทนในอาหารมีผลต่อปริมาณโปรตีนในน้ำเลือด (p<0.05) โดยระดับของบีเทนในอาหารที่สูงขึ้นมีผลให้ปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดลดลง รวมทั้งเวลามีผลต่อปริมาณโปรตีนในน้ำเลือด (p<0.01) โดยเมื่อเวลาเพิ่มสูงขึ้นทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่ม

ตารางที่ 18 ปริมาณเม็ดเลือดรวม กลูโคสและโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาวหลังเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 25 พีพีที เป็น 2 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน[1]

ระดับบีเทน (เปอร์เซ็นต์)	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเม็ดเลือดรวม ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	กลูโคสในน้ำเลือด (มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์)	โปรตีนในน้ำเลือด (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0	0	74.30 ± 16.46^{ab}	20.44 ± 3.39^{ab}	170.92 ± 18.99^{a}
	3	76.33 ± 20.39^{ab}	38.29 ± 13.41^{c}	209.00 ± 9.48^{bc}
	6	61.00 ± 8.19^{a}	34.69 ± 0.00^{c}	215.95 ± 10.53^{c}
	12	71.67 ± 16.36^{ab}	37.76 ± 7.62^{c}	209.57 ± 15.19^{bc}
4	0	73.44 ± 13.14^{ab}	18.22 ± 2.19^{a}	172.50 ± 15.63^{a}
	3	128.88 ± 9.89^{d}	19.14 ± 3.77^{a}	208.69 ± 22.14^{bc}
	6	86.90 ± 31.17^{abc}	26.53 ± 0.00^{abc}	209.18 ± 21.85^{bc}
	12	72.67 ± 11.09^{ab}	31.53 ± 6.77^{bc}	191.31 ± 25.89^{ab}
8	0	83.07 ± 25.66^{abc}	19.73 ± 5.38^{ab}	170.00 ± 8.10^{a}
	3	139.38 ± 17.86^{d}	27.55 ± 0.00^{abc}	196.31 ± 25.47^{bc}
	6	111.50 ± 35.51^{cd}	35.71 ± 15.56^{c}	192.86 ± 12.37^{abc}
	12	100.00 ± 21.29^{bc}	35.71 ± 13.81^{c}	187.57 ± 12.00^{ab}
ระดับบีเทน		$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$
เวลา		$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$
ระดับบีเทน× เวลา		ns	ns	ns

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากตัวอย่าง 5 ซ้ำ
ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$)

2.2.7 ปริมาณออสโมลาริตี้ โพแทสเซียม และโซเดียมในน้ำเลือดของกุ้งขาวหลังเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 2 พีพีที เป็น 40 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ปริมาณออสโมลาริตี้ของกุ้งขาว พบว่าระดับของบีเทนในอาหารและเวลามีปฏิสัมพันธ์กัน (p<0.05) (ตารางที่ 19) โดยที่ 12 ชั่วโมง ปริมาณออสโมลาริตี้ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 8 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณต่ำสุดคือ 1,095.50±54.45 มิลลิออสโมลต่อลิตร และปริมาณออสโมลาริตี้ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสูงสุดคือ 1,216.00±28.28 มิลลิออสโมต่อลิตร และเมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณของออสโมลาริตี้ (p<0.01) โดยเมื่อเวลาเพิ่มสูงขึ้นมีผลให้ปริมาณออสโมลาริตี้เพิ่มสูงขึ้น เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 2 พีพีที เป็น 40 พีพีที

ปริมาณโพแทสเซียมของกุ้งขาว พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณโพแทสเซียม (p<0.05) (ตารางที่ 19) โดยที่ 12 ชั่วโมง ปริมาณโพแทสเซียมของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารในชุดควบคุมมีปริมาณโพแทสเซียมต่ำสุดคือ 8.12±0.19 มิลลิโมลต่อลิตร และกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณโพแทสเซียมสูงสุดคือ 9.63±0.99 มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณโพแทสเซียม (p<0.01) โดยเมื่อเวลาเพิ่มสูงขึ้นมีผลให้ปริมาณโพแทสเซียมเพิ่มสูงขึ้น เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 2 พีพีที เป็น 40 พีพีที

ปริมาณโซเดียมของกุ้งขาว พบว่าระดับของบีเทนและเวลามีปฏิสัมพันธ์กัน (p<0.05) (ตารางที่ 19) โดยที่ 12 ชั่วโมง ปริมาณโซเดียมของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 8 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณโซเดียมต่ำสุดคือ 520.00±33.94 มิลลิโมลต่อลิตร และกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณโซเดียมสูงสุดคือ 573.00±29.69 มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณโซเดียม (p<0.01) โดยเมื่อเวลาเพิ่มสูงขึ้นมีผลให้ปริมาณโซเดียมเพิ่มสูงขึ้น เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 2 พีพีที เป็น 40 พีพีที

ตารางที่ 19 ปริมาณออสโมลาริตี้ โพแทสเซียม และโซเดียมในน้ำเลือดของกุ้งขาวหลังเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 2 พีพีที เป็น 40 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน[1]

ระดับบีเทน (เปอร์เซ็นต์)	เวลา (ชั่วโมง)	ออสโมลาริตี้ (มิลลิออสโมต่อลิตร)	โพแทสเซียม (มิลลิโมลต่อลิตร)	โซเดียม (มิลลิโมลต่อลิตร)
0	0	633.50 ± 31.82^{a}	7.92 ± 0.51^{ab}	284.50 ± 7.78^{a}
	3	998.50 ± 19.09^{bc}	7.83 ± 0.05^{ab}	481.00 ± 15.56^{cd}
	6	1026.50 ± 23.33^{cd}	8.49 ± 0.08^{abc}	495.00 ± 15.56^{cd}
	12	1144.00 ± 15.56^{f}	8.12 ± 0.19^{ab}	538.00 ± 5.66^{de}
4	0	649.50 ± 13.44^{a}	7.39 ± 0.47^{a}	290.00 ± 8.49^{a}
	3	946.00 ± 11.31^{b}	8.47 ± 0.21^{abc}	412.00 ± 59.39^{b}
	6	1073.50 ± 37.48^{de}	8.65 ± 0.41^{bc}	524.00 ± 16.97^{cde}
	12	1216.00 ± 28.28^{g}	9.63 ± 0.99^{c}	573.00 ± 29.69^{e}
8	0	654.50 ± 10.61^{a}	7.64 ± 0.39^{ab}	254.50 ± 10.61^{a}
	3	1011.50 ± 21.92^{cd}	7.89 ± 0.59^{ab}	480.00 ± 11.31^{c}
	6	1025.00 ± 25.46^{cd}	8.25 ± 0.84^{ab}	485.00 ± 7.07^{cd}
	12	1095.50 ± 54.45^{ef}	8.34 ± 0.09^{ab}	520.00 ± 33.94^{cde}
ระดับบีเทน		ns	ns	ns
เวลา		p<0.05	p<0.05	p<0.05
ระดับบีเทน× เวลา		p<0.05	ns	p<0.05

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากตัวอย่าง 2 ซ้ำ
ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$)

หมายเหตุ ค่าออสโมลาริตี้ของน้ำ 40 พีพีที เท่ากับ 1,230 มิลลิออสโมลต่อลิตร
ค่าโพแทสเซียมของน้ำ 40 พีพีที เท่ากับ 7.85 มิลลิโมลต่อลิตร
ค่าโซเดียมของน้ำ 40 พีพีที เท่ากับ 554 มิลลิโมลต่อลิตร

2.2.8 ปริมาณออสโมลาริตี้ โพแทสเซียม และโซเดียมในน้ำเลือดของกุ้งขาวหลังเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 25 พีพีที เป็น 2 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ปริมาณออสโมลาริตี้ของกุ้งขาว พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณของออสโมลาริตี้ (p<0.05) (ตารางที่ 20) โดยที่ 12 ชั่วโมง ปริมาณของออสโมลาริตี้ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 8 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณต่ำสุดคือ 527.00±14.14 มิลลิออสโมลต่อลิตร และปริมาณของออสโมลาริตี้ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีปริมาณออสโมลาริตี้สูงสุดคือ 554.50±0.71 มิลลิออสโมลต่อลิตร และเมื่อนำค่ามาวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณออสโมลาริตี้ (p<0.01) โดยเมื่อเวลาเพิ่มสูงขึ้นมีผลให้ปริมาณออสโมลาริตี้ลดลง

ปริมาณโพแทสเซียมของกุ้งขาว พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณโพแทสเซียม (p<0.05) (ตารางที่ 20) โดยที่ 12 ชั่วโมง ปริมาณโพแทสเซียมของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณต่ำสุดคือ 4.59±0.12 มิลลิโมลต่อลิตร และปริมาณโพแทสเซียมของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 8 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณโพแทสเซียมสูงสุดคือ 5.29±0.41 มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อนำค่ามาวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณโพแทสเซียม (p<0.01) โดยเมื่อเวลาเพิ่มสูงขึ้นมีผลให้ปริมาณโพแทสเซียมลดลง

ปริมาณโซเดียมของกุ้งขาว พบว่าระดับของบีเทนในอาหารและเวลามีปฏิสัมพันธ์กัน (p<0.05) (ตารางที่ 20) โดยที่ 12 ชั่วโมง ปริมาณโซเดียมของกุ้งขาวที่ได้รับบีเทน 8 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณต่ำสุดคือ 232.00±2.83 มิลลิโมลต่อลิตร และปริมาณโซเดียมของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์และอาหารสูตรควบคุมมีปริมาณสูงสุดคือ 245.00±1.41 มิลลิโมลต่อลิตร และเมื่อนำค่ามาวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณโซเดียม (p<0.01) โดยเมื่อเวลาเพิ่มสูงขึ้นมีผลให้ปริมาณโซเดียมลดลง

ตารางที่ 20 ปริมาณออสโมลาริตี้ โพแทสเซียม และโซเดียมในน้ำเลือดของกุ้งขาวหลังเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 25 พีพีที เป็น 2 พีพีที ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน[1]

ระดับบีเทน (เปอร์เซ็นต์)	เวลา (ชั่วโมง)	ออสโมลาริตี้ (มิลลิออสโมต่อลิตร)	โพแทสเซียม (มิลลิโมลต่อลิตร)	โซเดียม (มิลลิโมลต่อลิตร)
0	0	757.00 ± 0.00^{e}	8.78 ± 0.04^{b}	332.00 ± 2.83^{e}
	3	624.00 ± 14.14^{d}	5.19 ± 0.02^{a}	259.50 ± 9.19^{cd}
	6	560.00 ± 2.83^{abc}	4.39 ± 0.35^{a}	219.00 ± 8.49^{a}
	12	554.50 ± 0.71^{abc}	4.82 ± 0.05^{a}	245.00 ± 1.41^{bc}
4	0	734.50 ± 13.44^{e}	8.64 ± 0.61^{b}	328.00 ± 8.49^{e}
	3	621.00 ± 21.21^{d}	5.52 ± 0.47^{a}	267.00 ± 5.66^{d}
	6	574.50 ± 30.41^{bc}	6.18 ± 2.44^{a}	228.50 ± 3.54^{a}
	12	547.00 ± 1.41^{ab}	4.59 ± 0.12^{a}	245.00 ± 1.41^{bc}
8	0	735.00 ± 0.00^{e}	8.76 ± 0.34^{b}	327.50 ± 2.12^{e}
	3	614.50 ± 31.82^{d}	5.44 ± 0.76^{a}	263.50 ± 13.44^{d}
	6	590.00 ± 7.07^{cd}	4.71 ± 0.27^{a}	254.00 ± 8.49^{cd}
	12	527.00 ± 14.14^{a}	5.29 ± 0.41^{a}	232.00 ± 2.83^{ab}
ระดับบีเทน		ns	ns	ns
เวลา		$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$
ระดับบีเทน× เวลา		ns	ns	$p<0.05$

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากตัวอย่าง 2 ซ้ำ
ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$)

หมายเหตุ ค่าออสโมลาริตี้ของน้ำ 2 พีพีที เท่ากับ 67 มิลลิออสโมลต่อลิตร
ค่าโพแทสเซียมของน้ำ 2 พีพีที เท่ากับ < 2 มิลลิโมลต่อลิตร
ค่าโซเดียมของน้ำ 2 พีพีที เท่ากับ < 10 มิลลิโมลต่อลิตร

บทที่ 4
วิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลของบีเทนต่อการเจริญเติบโต

ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของกุ้งขาวในการทดลองที่ 1ที่ทำการทดลองในกระชังโดยใช้อาหารที่เสริมบีเทน 0 1 2 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มเฉลี่ยต่อตัว ของกุ้งขาวที่กินอาหารผสมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด ส่วนปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและอัตราการรอดตายของกุ้งขาวที่กินอาหารทั้ง 5 สูตรไม่มีความแตกต่างกัน และผลการทดลองที่ 2 ซึ่งทำการทดลองในตู้กระจกพบว่า การเจริญเติบโตของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมบีเทนในระดับ0 4 และ 8 เปอร์เซ็นต์ ที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่างกันคือ 2 พีพีที และ 25 พีพีที พบว่า ระดับของบีเทนในอาหารไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตรารอด แต่พบว่าระดับของความเค็มของน้ำมีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาว โดยกุ้งขาวที่เลี้ยงที่น้ำความเค็ม 25 พีพีที มีน้ำหนักต่อตัว เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่สูงกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงที่ความเค็ม 2 พีพีที รวมทั้งอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 25 พีพีที ดีกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 2 พีพีที จากการทดลองของ Felix และ Sudharsan (2004) รายงานว่ากุ้งก้ามกรามที่ได้รับอาหารผสมบีเทนที่ระดับ 0.5 กรัมต่อกิโลกรัม เป็นเวลา 60 วัน มีน้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ปริมาณอาหารที่กิน อัตรารอดตายสูงที่สุด (80 เปอร์เซ็นต์) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำกว่าชุดควบคุม Dy Penaflorida และ Virtanen (1996) ได้ทำการทดลองในกุ้งกุลาดำโดยการเสริมบีเทนในอาหารเพื่อศึกษาการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ จากการเสริมบีเทน 0 ถึง 2 เปอร์เซ็นต์จะทำให้กุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารที่ผสมบีเทนระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่าชุดการทดลองอื่น และUng และ Junilla (1988) ศึกษาในกุ้งกุลาดำโดยใช้บีเทนร่วมกับกรดอะมิโน 0, 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 60 วัน เพื่อดูการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตายพบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับบีเทนร่วมกับกรดอะมิโน 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อตัวสูงกว่าชุดควบคุม และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่ต่ำกว่าชุดควบคุมด้วย แต่พบว่าที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์มีอัตราการรอดตายที่สูงกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ ทั้งนี้เนื่องจากบีเทนสามารถให้หมู่เมธิล (methyl donor) (Jacob *et al*., 1998)ซึ่งเป็นการเพิ่มเติมกรดอะมิโนตัวสำคัญเช่น เมทไทโอนีนและไลซีน ที่ซึ่งมีแนวโน้มว่าจะขาดแคลนในอาหารที่มีการใช่วัตถุดิบจากพืชเสริมลงไปในปริมาณสูง ดังนั้นการเสริมบีเทนอาจมีผลต่อการสำรองกรดอะมิโนเมทไทโอนีนในอาหารให้เพียงพอ

เพิ่มขึ้น(methionine sparing)(Petronini *et al*., 2004) อักทั้งบีเทนยังมีผลต่อการปรับสมดุลเกลือแร่ในตัวกุ้ง ซึ่งถ้าปริมาณโซเดียมหรือเกลือต่าง ๆ ไม่เพียงพอหรือน้อยเกินไปจะทำให้การใช้ประโยชน์จากโปรตีนลดลงส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลงด้วย (Roy *et al*., 2006; Gomez-Jimenez *et al*., 2004) ส่วนการทดลองที่2 พบว่าการเสริมบีเทนในอาหารกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม2 และ 25 พีพีทีมีอัตราการเจริญเติบโต และอัตรารอดไม่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Saoud และ Savis(2005); Chuaychuwong และคณะ (1998) Ponce-Palafox และคณะ (1997); Gomez-Jimenez และคณะ (2004) ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากกุ้งขาวจะเจริญเติบโตได้ดีที่ความเค็มประมาณ 33-40 พีพีที และอุณหภูมิที่ 28-30 องศาเซลเซียส (Ponce-Palafox *et al*., 1997) อย่างไรก็ตามกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็มสูงมีการเจริญเติบโตที่สูงกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็มต่ำ โดยการเสริมบีเทนไม่มีผลแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แสดงให้เห็นว่าเกลือแร่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง ซึ่งการที่กุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำที่มีระดับความเค็มสูงมีการเจริญเติบโต และมีประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหารได้ดี (Yano *et al*., 1998) Roy และคณะ (2006) ศึกษาพบว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำจะมีการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าปกติ แต่เมื่อมีการเพิ่มโพแทสเซียมลงไปแล้ว มีผลให้น้ำหนักตัว เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเพิ่มสูงขึ้นกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับโพแทสเซียม ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าการนำกุ้งขาวมาเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงจากสภาพเดิมมาก กุ้งต้องใช้พลังงานในการปรับตัวให้เข้าสภาพแวดล้อมใหม่มากกว่านำพลังงานมาใช้สำหรับการเจริญเติบโต สอดคล้องกับการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำที่มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่สูงกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงน้ำความเค็มสูง เนื่องจากกุ้งขาวมีการกินอาหารในปริมาณที่มากเพื่อนำไปเปลี่ยนแปลงเป็นพลังงานเพื่อใช้ในการปรับตัวในเรื่องของการรักษาสมดุลเกลือแร่ในร่างกาย โดย Gomez-Jimenez และคณะ (2004) กล่าวว่าความเค็มมีผลต่ออัตราการเผาผลาญอาหารให้เป็นพลังงาน (metabolic rate) ของกุ้งขาวโดยเมื่ออยู่ในน้ำที่ความเค็มต่ำจะมีความต้องการออกซิเจนและมีเมตาบอลิซึมมากกว่าที่ความเค็มสูง (Gaudy and Sloane, 1981) เช่นเดียวกันกับการทดลองของ Spanopoulos-Hernandez และคณะ (2005) ในกุ้งขาว *L. stylirostris* เพื่อศึกษาความต้องการออกซิเจนจากความเค็มและอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไป พบว่าทั้งอุณหภูมิและความเค็มมีผลต่อความต้องการใช้ออกซิเจนของกุ้ง โดยระดับความเค็มที่เหมาะสมอยู่ที่ 30 พีพีที และถือเป็นจุดสมดุลของกุ้งที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ ความต้องการออกซิเจนและอัตราการใช้ออกซิเจนนี้มีความผันแปรตามปัจจัยภายนอกที่เกิดขึ้น ไม่ว่าจะเป็นอุณหภูมิ ความเค็ม น้ำหนักตัว และอาหาร ถ้าหากว่ามีปริมาณออกซิเจนต่ำเกินไปก็อาจจะส่งผลต่อการกินอาหาร การเจริญเติบโต และการสืบพันธุ์ได้ในขณะที่ Diaz และคณะ (2001) อ้างโดย Gomez-Jimenez *et al*., (2004) พบว่ากุ้งลอปสเตอร์และกุ้งขาวระยะวัยรุ่นที่อาศัยในน้ำที่มีความเค็มต่ำจะมีอัตราการสลายโปรตีนและขับถ่ายแอมโมเนียสูงขึ้นเพื่อนำ

พลังงานมาใช้ในกระบวนการปรับความดันออสโมติกในตัวให้เหมาะสมอาจส่งผลให้กุ้งต้องสูญเสียพลังงานที่ได้รับจากอาหาร ดังนั้นการเสริมบีเทนลงในอาหารจึงอาจช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของกุ้งขาวได้

4.2 ความต้านทานโรคในกุ้งขาว

การศึกษาผลของบีเทนต่อความต้านทานโรควิบริโอในกุ้งขาวพบว่ากุ้งขาวที่กินอาหารที่ผสมบีเทนมีแนวโน้มของอัตราการรอดตายและมีความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือดสูงกว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม เช่นเดียวกับการทดลองของ Marja และ Erkki (1993) ได้ศึกษาการใช้ไดเมทธิลไกลซีนและไตรเมทธิลไกลซีน (betaine) เพื่อเปรียบเทียบการกระตุ้นการตอบสนองระบบภูมิคุ้มกันของปลาแซลมอนโดยฉีดเชื้อ *V. anguillarum* เข้าไปพบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมบีเทนมีระบบภูมิคุ้มกันที่ไม่จำเพาะเจาะจงสูงขึ้นกว่าชุดควบคุม ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของบีเทนที่เสริมลงในอาหารต่อการต้านเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งในกุ้งระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเป็นระบบภูมคุ้มกันที่สำคัญในป้องกันและกำจัดเชื้อโรค และจากการทดลองของ Cosquer และคณะ (2004) ได้ทดลองใช้บีเทนในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 15 สายพันธุ์และแบคทีเรียแกรมลบ โดยเปรียบเทียบองค์โครงสร้างของบีเทน 4 โครงสร้าง พบว่ามี 2 โครงสร้างที่สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียลงได้ ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าเซลล์มีการปลดปล่อยสารจำพวก ไนโตรเบนซิล อัลดีไฮน์ (nitrobenzyl aldehyde) จากกระบวนการเมทาบอลิ-ซึม นอกจากนี้ยังพบว่าการเสริมบีเทนร่วมกับสารชนิดอื่นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้อีกด้วย โดย Liu และคณะ (2004) ทดลองนำบีเทนและไคโตซานมาใช้ในการยับยั้งแบคทีเรีย 5 ชนิดพบว่าการใช้ บีเทนร่วมกับไคโตซานมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามการใช้ไคโตซานเพียงชนิดเดียวไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชนิด *Candida albicans* ได้ และการใช้บีเทนเพียงชนิดเดียวไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชนิด *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ได้เช่นกัน ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเกิดมาจากการเพิ่มขึ้นของอะตอมคาร์บอนในโครงสร้างของผนังเซลล์ ซึ่งบีเทนเข้าไปช่วยเพิ่มส่วนที่ไม่ชอบน้ำของผนังเซลล์แบคทีเรียให้มีจำนวนคาร์บอนมากขึ้นจึงทำให้การทำงานของสารลดแรงตึงผิวทำงานได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้ในการทดลองของ Lindstedt และคณะ (1990) ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและอัตราการสังเคราะห์ระหว่างน้ำกับสารประกอบที่ละลายน้ำของบีเทนและสารประกอบแอมโมเนีย พบว่าเมื่อมีการเพิ่มพีเอชให้สูงขึ้นจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและอัตราการสังเคราะห์ระหว่างน้ำกับ

สารประกอบที่ละลายในน้ำเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย โดยที่พีเอช 6 สารบีเทน ที่ระดับความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในระยะเวลา 3 นาที สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้สูงสุด

4.3 ผลของบีเทนต่อระบบสมดุลของเหลวในกุ้งขาว

เมื่อพิจารณาค่าของออสโมลาริตี้ รวมทั้งค่าโซเดียมและคลอไรด์ในน้ำเลือดของกุ้งขาว ที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 15 พีพีที ทั้งชุดควบคุมและชุดที่ได้รับอาหารเสริมบีเทนไม่มีความแตกต่างกันกันทางสถิติ แต่เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มสูงขึ้น พบว่าค่าออสโมลาริตี้ โซเดียม และคลอไรด์ มีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้น แต่ไม่พบว่าค่าออสโมลาริตี้ โซเดียมและคลอไรด์ของกุ้งที่ได้รับอาหารในชุดควบคุมและชุดที่ได้รับบีเทนมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่กุ้งขาวเป็นสัตว์ที่อาศัยอยู่ในความความเค็มช่วงกว้าง (euryhaline) ทำให้สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปได้โดยง่าย (poikilosmotic) (ประจวบ, 2537) สอดคล้องกับการศึกษาของ Jahn และคณะ (2006) ที่ศึกษาการปรับตัวของปูพันธุ์ *C. granulata* โดยทำการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 20 พีพีที เป็น 35 พีพีที พบว่าปูสายพันธุ์นี้มีการสร้างและสะสมบีเทนจากโคลีน โดยสารทั้งสองชนิดนี้มีส่วนช่วยในการปรับสมดุลของของเหลวในร่างกายขอ ดังนั้นการเสริมบีเทนลงในอาหารจึงอาจช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของกุ้งขาวได้ให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ โดยทำการสังเคราะห์บีเทนจากโคลีนโดยใช้โคลีนเป็นสารตั้งต้น หลังจากนั้นก็จะปล่อยไปในกระแสเลือดเพื่อนำไปเก็บไว้ในเซลล์ ซึ่งเซลล์จะนำไปใช้ในกระบวนการต่าง ๆ ของร่างกายที่เกี่ยวข้อง นอกจากนี้ Saoud และคณะ (2005) ได้ทำการทดลองเสริมบีเทนในอาหารเพื่อเลี้ยงกุ้งขาวในน้ำความเค็ม 2 ระดับ คือ 0.5 พีพีที และ 40 พีพีที พบว่าบีเทนในอาหารไม่มีผลต่ออัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตของกุ้งขาว ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่ามีการเลี้ยงกุ้งในความเค็มคงที่คือ 0.5 และ40 พีพีที ตั้งแต่เริ่มต้นทำให้กุ้งมีการปรับตัวในช่วงแรกเท่านั้น จึงไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ซึ่งทำให้บีเทนที่เสริมเข้าไปถูกขับออกในรูปของ ยูเรีย หรือนำไปใช้ในกระบวนการอื่น ๆ ภายในเซลล์ นอกจากนี้จากการศึกษาของ Ferraris และคณะ (1986) พบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในความเค็มปกติ และเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มก็สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปได้ โดยค่าของออสโมลาริตี้และคลอไรด์จะกลับเข้าสู่สภาวะปกติเมื่อเวลาผ่านไป 1 ถึง 2 วัน และระบบต่าง ๆ ภายในร่างกายจะเข้าสู่สภาวะปกติเมื่อเวลาผ่านไป 7 ถึง 10 วัน

การศึกษาปริมาณออสโมลาริตี้ โซเดียม และโพแทสเซียมของกุ้งขาวพบว่า ความเค็มมีผลต่อปริมาณของออสโมลาริตี้ โซเดียม และโพแทสเซียมของกุ้งขาว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sowers และคณะ (2006) ที่พบว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 2 พีพีที มีปริมาณออสโมลาริตี้ 545±51.7 มิลลิออสโมลต่อกิโลกรัม ซึ่งแตกต่างจากกุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 25 พีพีที ซึ่งจะมีค่า 748-817 มิลลิออสโมลต่อกิโลกรัม (Cheng และคณะ, 2002) นอกจากนี้ยังพบว่าความเค็ม

ของน้ำมีผลต่อปริมาณโซเดียมของกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีที โดยกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 2 พีพีที มีปริมาณโซเดียมต่ำกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็มใน 25 พีพีที สอดคล้องกับการศึกษาของ Sowers และคณะ (2006) ที่พบว่าปริมาณไอออนในน้ำทะเลและน้ำทะเลเทียมที่ความเค็ม 2 พีพีที มีปริมาณของออสโมลาลิตี้ โซเดียม และแคลเซียม ไม่มีความแตกต่างกัน โดยน้ำความเค็มต่ำจะส่งผลให้ปริมาณไอออนที่อยู่ในน้ำลดน้อยตามไปด้วย

ในแง่ของการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็ม พบว่ากุ้งขาวมีการปรับตัวอย่างรวดเร็วตามความเค็มของน้ำที่เปลี่ยนแปลงไป โดยในการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำจาก 25 พีพีที เป็น 2 พีพีที ไม่พบว่าทั้งระดับของบีเทนในอาหารและเวลามีผลต่อปริมาณออสโมลาริตี้ โพแทสเซียม แต่พบว่าระดับของบีเทนและเวลามีผลต่ปริมาณโซเดียม สอดคล้องกับการศึกษาของ Ferraris และคณะ (1986) ที่ศึกษาในกุ้งกุลาดำ โดยเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำจาก 32 พีพีที เป็น 8, 16, 24 และ 40 พีพีที จะมีการเพิ่มหรือลดปริมาณออสโมลาริตี้ และไอออนในน้ำเลือดอย่างรวดเร็ว จากนั้นกุ้งกุลาดำจึงจะมีการปรับตัวให้เข้าสู่สภาวะปกติเมื่อระยะเวลาผ่านไปแล้ว 2-3 วัน นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำจาก 2 พีพีที เป็น 40 พีพีที พบว่าปริมาณออสโมลาริตี้ และโพแทสเซียมของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่ผสม บีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณออสโมลาริตี้สูงสุด เนื่องมาจากความสามารถของบีเทนในการเข้ากันได้ดีกับเซลล์ของมากกว่าโพแทสเซียม ทำให้มีการผลักโพแทสเซียมออกมาสู่กระแสเลือด (Virtanen *et al*., 1989) สอดคล้องกับการทดลองของ Castro และคณะ (1998) พบว่าปลาแซลมอนที่เลี้ยงในน้ำจืด ไม่มีความแตกต่างของปริมาณของโพแทสเซียมในกลุ่มที่ได้รับบีเทน แต่เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มโดยย้ายปลาแซลมอนลงสู่น้ำเค็ม พบว่าปริมาณของโพแทสเซียมในน้ำเลือดมีสูงกว่าโพแทสเซียมในกล้ามเนื้อของปลาแซลมอน แสดงให้เห็นว่าบีเทนมีความสามารถในการเข้ากันได้ดีกว่าโพแทสเซียม (Bowlus และ Somero, 1979) รวมทั้งในการศึกษาของ Clarke และคณะ (1994) รายงานว่าปลาแซลมอนที่เลี้ยงในน้ำจืด เมื่อมีการย้ายปลาลงสู่แหล่งเลี้ยงที่มีความเค็มสูงกว่า พบว่าปริมาณของโซเดียมจะลดลงในช่วงแรกของกลุ่มที่ได้รับบีเทน หลังจากนั้น 2 เดือน ปริมาณของโซเดียมจึงจะสูงกว่ากลุ่มควบคุม

4.4 ผลของบีเทนต่อองค์ประกอบเลือด

เมื่อพิจารณาองค์ประกอบเลือดของกุ้งขาวจากการเสริมบีเทนและไม่เสริมบีเทนลงในอาหาร ทั้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 2 ระดับ พบว่าความเค็มของน้ำไม่มีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดรวม กลูโคสและโปรตีนในน้ำเลือด ซึ่งปริมาณเม็ดเลือดรวมและองค์ประกอบเลือดกุ้งเหล่านี้สามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของน้ำ ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิของน้ำในตู้ทดลองค่อนข้างต่ำคือ 24-26 องศาเซลเซียส แต่ในสภาพการเลี้ยงจริงมีค่าค่อนข้างสูง คือ 28-30 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงทำให้องค์ประกอบที่ทำการศึกษามีอิทธิพลของ

อุณหภูมิเข้ามาเกี่ยวข้อง (กิจการ และคณะ, 2543ข.) นอกจากนี้คุณภาพน้ำ วงจรการลอกคราบตลอดจนปัจจัยของตัวกุ้งเองไม่ว่าจะเป็นเพศ อายุ และสายพันธุ์ อย่างไรก็ตามปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งจะเปลี่ยนแปลงไปได้ในกรณีที่เกิดการติดเชื้อ หรืออาศัยอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (Yu, 1993) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Hepper (1978) อ้างโดย Ferraris (1986) ที่พบว่าความเค็มของน้ำไม่เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อปริมาณโปรตีน เมื่อเลี้ยงกุ้งในความเค็มปกติ และไม่มีการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำในขณะที่ทำการเลี้ยงมากเกินไป

จากการศึกษาการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำต่อองค์ประกอบเลือด พบว่าการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำมีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดรวม ปริมาณกลูโคส และปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาว โดยปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมและไม่ได้เสริมบีเทน มีการเปลี่ยนแปลงในช่วงกว้าง และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Yu (1993) ที่รายงานว่าปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งมีการเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากการติดเชื้อและอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ส่วนปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดของกุ้งขาวมีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้นทั้งในส่วนของกุ้งที่เสริมและไม่ได้เสริมบีเทน เมื่อทำการเปลี่ยนแปลงความเค็ม ซึ่งปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดนี้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสภาวะความเครียดของกุ้งได้เป็นอย่างดี (กิจการ และคณะ, 2543ข.) แต่ในบางสภาวะพบว่าความเครียดมีผลทำให้น้ำตาลในเลือดลดลงต่ำได้ โดย Santos และ Nery (1987) ศึกษาพบว่าปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดของปู *C. granulata* จะลดต่ำลงอย่างรวดเร็วเมื่อถูกย้ายจากน้ำทะเลความเค็ม 30 พีพีที มาเลี้ยงในน้ำจืด และเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มจากความเค็มต่ำไปยังความเค็มสูง พบว่าปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาวมีแนวโน้มที่จะลดลง ซึ่งสอดคล้องกับ Vargas-Albors และคณะ (1998) ซึ่งพบว่ากุ้ง *P. californiensis* ที่อาศัยอยู่ในสภาพของอุณหภูมิและความเค็มของน้ำที่สูงและต่ำกว่าปกติจะมีผลให้ปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดลดต่ำลงได้ เช่นเดียวกับ Rodriguez (1981) รายงานว่าความเค็มของน้ำที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาว *L. vannamei* และกุ้งน้ำเงิน *P. stylirostris* ลดต่ำลงได้ และเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มจากความเค็มสูงไปยังความเค็มต่ำ พบว่ามีผลให้ปริมาณโปรตีนมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดย Rosas และคณะ (2002) รายงานว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็มต่ำมีผลทำให้โปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาวสูงได้ เนื่องมาจากกุ้งต้องใช้เป็นแหล่งพลังงานในการปรับสมดุลหรือเก็บไว้ในฮีโมไซยานิน เพื่อเป็นแหล่งพลังงานและเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต จึงส่งผลให้ปริมาณโปรตีนที่ขับออกมาในรูปของของเสียเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Lima และคณะ (1997) รายงานว่าการที่โปรตีนมีปริมาณลดลง เป็นผลมาจากการที่ต้องนำไปเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนอิสระเพื่อช่วยในการรักษาสภาพของเซลล์ให้คงที่อยู่ได้

5. สรุปผลการทดลอง

1. กุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของบีเทนเป็นระยะเวลานาน 6 สัปดาห์ พบการเจริญเติบโตมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในสูตรอาหารที่ผสมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวจำเพาะ และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ในขณะที่อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และปริมาณอาหารที่กินต่อวันไม่มีความแตกต่างกัน

2. กุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของบีเทน 3-4 เปอร์เซ็นต์มีแนวโน้มที่จะมีความสามารถในการต้านทานโรคได้ดี และความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือดได้เพิ่มสูงขึ้น

3. การทดสอบความต้านทานความเครียด พบว่าบีเทนในอาหารไม่มีผลต่อการปรับสมดุลของของเหลวในกุ้งขาวอย่างมีนัยสำคัญ แต่มีแนวโน้มว่าว่าจะมีผลต่อการปรับสมดุลของของเหลวดีกว่าชุดควบคุม

4. กุ้งขาวที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ และ 8 เปอร์เซ็นต์ ที่เลี้ยงในน้ำทะเลความเค็ม 2 พีพีที และ 25 พีพีที พบว่าระดับของบีเทนที่เสริมลงในอาหารไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต แต่พบว่าความเค็มของน้ำมีผลต่อการเจริญเติบโต ของกุ้งขาว

5. ปริมาณของออสโมลาริตี้ โพแทสเซียม และโซเดียมในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์หลังจากการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำจาก 2 พีพีที เป็น 40 พีพีที มีแนวโน้มที่สูงกว่าชุดการทดลองอื่น แต่ไม่พบความแตกต่างในการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำจาก 25 พีพีที เป็น 2 พีพีที

เอกสารอ้างอิง

กิจการ ศุภมาตย์ และ สิทธิ บุณยรัตผลิน. 2538. การศึกษาภูมิคุ้มกันโรคและแนวทางการใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อแบคทีเรียและไวรัสในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*). รายงานการวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ หน้า 1-17.

กิจการ ศุภมาตย์, อุษณีย์ เอกปณิธานพงศ์, Toshiaki Itami และ จิราพร เกษรจันทร์. 2543ก. ระบบภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ: I. เทคนิคในการศึกษาระบบภูมิคุ้มกันโรคและองค์ประกอบเลือดในกุ้งกุลาดำ. ว. สงขลานครินทร์ 22: 567-580.

กิจการ ศุภมาตย์, จรีพร เรืองศรี, สุภฎา คีรีรัฐนิคม และ นรินทร์ สงสีจันทร์. 2543ข. ระบบภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ: IV. การศึกษาค่าปกติของระบบภูมิคุ้มกันและองค์ประกอบเลือดในกุ้งกุลาดำ. ว. สงขลานครินทร์ 22: 597-603.

ชุติมา ตันติกิตติ, มะลิ บุณยรัตผลิน และ อัตรา ไชยมงคล. 2546. การศึกษาสถานภาพการวิจัยและพัฒนาอาหารสำหรับกุ้งกุลาดำ. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2541. จุลชีววิทยาทั่วไป. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 735 หน้า.

ประจวบ หลำอุบล. 2527. กุ้ง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ประจวบ หลำอุบล. 2537. สรีรวิทยาของกุ้ง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. 2545. ศาสตร์ของกุ้งขาว ลิโทพีเนียส แวนนาไม (ตอนที่ 2). ว. สัตว์น้ำ 14 (159): 113-116.

ภิญโญ เกียรติภิญโญ. 2545. วิธีปฏิบัติสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาว แอล.วานาไม (Practical Technology for *Litopenaeus vannamei* Culture). สมุทรปราการ : สำนักพิมพ์เมืองเกษตรแม็กกาซีน. 120 หน้า.

มะลิ บุณยรัตผลิน, กิจการ ศุภมาตย์, และ ชูศักดิ์ บริสุทธิ์. 2543. ระบบภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ : VIII. ผลของสารสี (astaxanthine) ต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด ระบบภูมิคุ้มกันโรคและความต้านทานโรคในกุ้งกุลาดำ. ว. สงขลานครินทร์. 22: 633-639.

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 336 หน้า.

วุฒิพร พรหมขุนทอง. 2541. โภชนาศาสตร์สัตว์น้ำ. เอกสารคำสอนวิชา 530-433. ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วุฒิพร พรหมขุนทอง, วิมล จันทรโรทัย, นรินทร์ สงสีจันทร์ และ นพพร มานะจิตต์. 2540. ระดับโปรตีนในอาหารที่เหมาะสมต่อปลากดเหลืองขนาดปลานิ้ว. ว. สงขลานครินทร์ 19: 327-335.

สิริ เอกมหาราช. 2548. การเพาะเลี้ยงกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) ในกลุ่มประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และประเทศจีน. ว. การประมง 58: 107-111.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2548. เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 344 หน้า.

Adrian-Romero, M. and Blunden, G. 2001. Betaine distribution in the Bromeliaceae. Biochem. Syst. Ecol. 29: 305-311.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. Washington, D.C. : AOAC.

Augustine, P. C. and Danforth, H. D. 1999. Influences of betaine and salinomycin on intestinal absorption of methionine and glucose and on the ultrastructure of the intestinal cells and parasite developmental stage in chicks infected with *Eimeria acervulina*. Avian. Dis. 43: 89-97.

Balkan, J., Oztezcan, S., Kucuk, M., Cevikbas, U., Kocak-Toker, N. and Uysal, M. 2004. The effect of betaine treatment on triglyceride levels and oxidative stress in the liver of ethanol-treated guinea pigs. Exp. Toxicol. Pathol. 55: 505-509.

Barak, A. J., Beckenhauer, H. C. and Tuma, D. J. 1996. Betaine, ethanol, and the liver: A Review. Alcohol 13: 395-398.

Bedford, J. J., Harper, J. L., Leader, J. P., Yancey, P. H. and Smith, R. A. J. 1998. Betaine is the principal counteracting osmolyte in tissues of the elephant fish, *Callorhincus millii* (Elasmobranchii, Holocephali). Comp. Biochem. Physiol 119: 521-526.

Bjorkoy, G., 1991. Synthesis and accumulation of glycine betaine in salmon *Salmo salar* and in mussel *Modiolus modiolus*. MSc Thesis. The College of Fisheries. Department of Marine Biochemistry. University of Tromso, 94

Blunden G., Patel A.V., Armstrong N. J. and Gorham J. 2001. Betaine distribution in the Malvaceae. Phytochemistry 58: 451-454.

Blunden, G., Patel, A. V. and Armstrong, N. 2003. Betaine distribution in the Scrophulariaceae and some previously included families. Biochem. Syst. Ecol. 31: 359-365.

Blunden, G., Patel, A. V., Armstrong, N., Romero, M. A. and Melendez, P. 2005. Betaine distribution in angiosperms. Biochem. Syst. Ecol. 33: 904-920.

Blunden, G., Yang, M., Janicsak, G., Mathe, I. and Carabot-Cuervo, A. 1999. Betaine distribution in the Amaranthaceae. Biochem. Syst. Ecol. 27: 87-92.

Blunden, G., Yang, M., Yuan, Z., Smith, B. E., Patel, A., Cegarra, J. A., Mathe, I. and Janicsak, G. 1996. Betaine distribution in the Labiatae. Biochem. Syst. Ecol. 24: 71-81

Bowlus, R. D. and Somero, G. N. 1979. Solute compatibility with enzyme function and structure: rationales for the selection of osmotic agent and end products metabolism in marine invertebrates. Journal Experimental Zoology 208: 137-152.

Bray, W. A., Lawrence, A. L., Leung-Trujillo, J. R. 1994. The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observations on the interaction of IHHNV virus and salinity. Aquaculture 122: 133-146.

Brock, J.A. and Main, K.L. 1994. A guide to the common problems and diseases of cultured *Penaeus vannamei*. The Oceanic Institute Makapuu Point, Honolulu, Hawaii 242 pp.

Castro, H., Battaglia, J. and Virtanen, E. 1998. Effect of finnstim on growth and sea water adaptation of *Coho salmon*. Aquaculture 168: 423-429.

Chambers, S. T., Peddie, B. A., Randall, K. and Lever, M. 1999. Inhibitors of bacterial growth in urine: what is the role of betaines. Int. J. Antimicrob. Agents. 11: 293-296.

Chen, J.C and Chia, P. G. 1997. Oxyhemocyanin, protein, osmolality and electrolyte levels in the hemolymph of *Scylla serrata* in relation to size and molt cycle. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 217: 93-105.

Cheng, W., Liu, C., Yan, D. and Chen, J. 2002. Hemolymph oxyhemocyanin, protein, osmolality and electrolyte levels of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* in relation to size and molt stage. Aquaculture 211: 325-339.

Chuaychuwong, P., Viyakarn, V., Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta, P. 1998. Effect of betaine on growth and survival rates of the giant tiger shrimp (*Penaeus monodon*) *In* The fifth asian fisheries forum international conference on fisheries

and food security beyond the year 2000. Chiangmai, Thailand, November, 11-14, 1998: 326 p.

Clarke, W. C., Virtanen, E., Blackburn, J. and Higgs, D. A. 1994. Effects of a dietary betaine/amino acid additive on growth and seawater adaptation in yearling Chinook salmon. Aquaculture 121: 137-145.

Coman, G. J., Sarac, H. Z., Fielder, D. and Thorne, M. 1996. Evaluation of crystalline amino acid, betaine and AMP as food attractants of the giant tiger prawn (*Penaeus monodon*). Comp. Biochem. Physiol. 3: 247-253.

Cosquer, A., Ficamos, M., Jebbar, M., Corbel, J.-C., Choquet, G., Fontenelle, C., Uriac, P. and Bernard, T. 2004. Antibacterial activity of glycine betaine analogues: involvement of osmoporters. Bioorg. Med. Chem. Lett. 14: 2061-2065.

Craig, S. A. S. 2004. Betaine in human nutrition. Am. Soc. Nutrition 80: 539-549.

De Zwart, F. J., Slow, S., Payne, R. J., Lever, M., George, P. M., Gerrard, J. A. and Chamber, S. T. 2003. Glycine betaine and glycine betaine analogues in commond foods. Food Chem. 83: 197-204.

Deaton, L. E. 2001. Hrperosmotic volume regulation in the gills of the ribbeb mussel, *Geukensia demissa*: rapid accumulation of the betaine and alanine. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 260: 185-197.

Dragolovich, J. 1994. Dealing with salt stress in animal cells: the role and regulation of glycine betaine concentration. J. Exp. Zoo. 268: 139-144.

Duncan, D.B. 1955. Multiple-rage and multiple F tests. Biometrics 11: 1– 42.

Dupree, H.K. and Sneed, K.P. 1966. Response of channel catfish fingerling to different levels of major nutrients in purified diets. U.S. Bureau of Sports Fish and Wildlifte Tech. Pap. No. 9.

Dy Penaflorida, V. and Virtanen, E. 1996. Growth, survival and feed conversion of juvenile shrimp (*Penaeus monodon*) fed a betaine/amino acid additive. The Israeli Journal of Aquaculture 48: 3-9.

Felix, N. and Sudharsan, M. 2004. Effect of glycine betaine, a feed attractant affecting growth and feed conversion of juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquacul. Nutr. 10: 193-197.

Fernandez-Figares, I., Wray-Cahen, D., Steele, N. C., Campbell, R. G., Hall, D. D., Virtanen, E. and Caperna, T. J. 2002. Effect of dietary betaine on nutrient utilization and partitioning in the young growing feed-restricted pig. Am. Soc. Animal. Sci. 80: 421-428.

Ferraris, R. P., Parado-Estepa, F. D., Ladja, J. M. and De Jesus, E. G. 1986. Effect of salinity on the osmotic, chloride, total protein and calcium concentrations in the hemolymph of the prawn *Penaeus monodon* (Fabricius). Comp. Biochem. Physiol. 83: 701-708.

Fetterer, R. H., Augustine, P. C., Allen P. C. and Barfield, R. C. 2003. The effect of dietary betaine on intestinal and plasma levels of betaine in uninfected and coccidian-infected broiler chicks. Parasitol. Res. 90: 343-348.

Gaudy, R., Sloane, L. 1981. Effect of salinity on oxygen consumption in postlarvae of the penaeid shrimps *Penaeus monodon* and *P. stylirostris* without and with acclimation. Mar. Biol. 65: 297-301.

Gomez-Jimenez, S., Urias-Reyes, A. A., Vazquez-Ortiz,F. and Hermandez-Watanabe, G. 2004. Ammonia efflux rate and free amino acid levels in *Litopenaeus vannamei* postlarvae during sudden salinity changes. Aquaculture 233: 573-581.

Harbeck, C., Faurie, R. and Scheper, T. 2004. Application of near-infrared spectroscopy in the sugar industry for the detection of betaine. Anal. Chim. Acta 501: 249-253.

Harpaz, S. 1997. Enhancement of growth in juvenile freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*, through the use of a chemoattractant. Aquaculture 156: 221-227.

Holliday, C.W. 1985. Salinity-induced changes in gill Na+/K+ ATPase activity in the mud fiddler crab, *Uca pugnax*. J. Exp. Zool. 233:199-208.

Hyvarinen, A. and Nikkila, E. 1962. Specific determination of blood glucose with o-toluidine . Clin. Chim. Acta 7: 140-143.

Incharoensakdi, A. 1998. Osmoregulation in a halophilic cyanobacterium, *Aphanothece halophytica* : Biosynthesis of a compatible solute, glycinebetaine, Department of Biochemistry Faculty of Science Chulalongkorn University. 67 p.

Jahn, M. P., Cavagni, G. M., Kaiser, D. and Kucharski, L. C. 2006. Osmotic effect of choline and glycine betaine on the gills and hepatopancreas of the *Chasmagnathus granulate* crab submitted to hyperosmotic stress. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 334: 1-9.

Jacob D., J. Timothy and A. Timothy. 1998. An assay for betaine-homocysteine methyltransferase activity base on the microbiolohycal detection of methionine . J. Nutr. Biochem. 9:351-354

Kasper C. S., White M. R., and Brown P.B. 2002. Betaine can replace choline in diets for juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture 205: 119-126.

Kettunen, H., Peuranen, S., Tiihonen, K. and Saarinen, M. 2001. Intestinal uptake of betaine in vitro and the distribution of methyl groups from betaine, Choline and methionine in the body of broiler chicks. Comp. Biochem. Physiol. 128: 269-278.

Klasing, K. C., Adler, K. L., Remus, J. C. and Calvert, C. C. 2002. Dietary betaine increases intraepithelial lymphocytes in the duodenum of coccidia-infected chicks and increases functional properties of phagocytes. J. Nutr. 132: 2274-2282.

Knights, B. 1996. Studies of feeding stimulation in young eels, *Anguilla anguilla* L., before and after first-feeding using a novel rapid-screening method. Aquac. Res. 27: 379-385.

Kramer, R. and Morbach, S. 2004. BetP of *Corynebacterium glutamicum*, a transporter with three different functions: betaine transport, osmosensing and osmoregulation. Biochim. Biophys. Acta 16598: 31-36.

Lang, F., Busch, G. L., Ritter, M., Volkl, H., Waldegger, S., Gulbins, E. and Haussinger, D. 1998. Functional significance of cell volume regulation mechanisms. Physiol. Rev. 78: 247-306.

Lima, A. G., Mcnamara, J. C. and Terra, W. R. 1997. Regulation of hemolymph osmolytes and gill Na^+/K^+-ATPase activities during acclimation to saline media in the freshwater shrimp *Macrobranchium olfersii* (Wiegmann, 1836) (Decapoda, Palaemonidae). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 215: 81-91.

Lindstedt, M., Allenmark, S., Thompson, R. A. and Edebo, L. 1990. Antimicrobial activity of betaine esters, quaternary ammonium amphiphiles which spontaneously hydrolyze into nontoxic components. Antimicrob. Agents Chemother. 34: 1949-1954.

Liu, H., Du, Y., Yang, J. and Zhu, H. 2004. Structural characterization and antimicrobial activity of chitosan/betaine derivative complex. Carbohydrate Polymers 55: 291-297.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J. Farr, A. L. and Randell, R. J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.

Marja, M. and Erkki, V. 1993. Effect of dimethylglycine and trimethylglycine (betaine) on the response of atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts to experimental *Vibrio anguillarum* infection. Fish Shellfish Immunol. 3: 439-449.

Morbach, S. and Kramer, R. 2003. Impact of transport processes in the osmotic response of *Corynebacterium glutamicum*. J. Biotechnol. 104: 69-75.

Olthof, M. R. and Verhoef, P. 2005. Effects of betaine intake on plasma homocysteine concentrations and consequences for health. Curr. Drug Metab. 6: 15-22.

Pan, L.Q., Zhang, L.J. and Liu, H.Y. 2007. Effects of salinity and pH on ion-transport enzyme activities, survival and growth of *Litopenaeus vannamei* postlarvae. Aquaculture 273: 711-720.

Papatryphon, E. and Soares, J. H. 2000. Identification of feeding stimulants for striped bass, *Morone saxatilis*. Aquaculture 185: 339-352.

Perez Farfante, I and Kensley, B. 1997. Penaeoid and sergestoid shrimps and prawns of the world. keys and diagnoses for the families and genera. Memories du museum national D' historie naturelle, Paris, France. 233 p.

Petronini, P. G., De Angelis, E. M., Borghetti, P. and Borghetti, A. F. 1992. Modulation by betaine of cellular responses to osmotic stress. Biochem. J. 282: 69-73.

Petty, C. N. and Lucero, M. T. 1999. Characterization of a Na^{+}-dependent betaine transporter with Cl^{-} channel properties in squid motor neurons. News Physiol. Sci. 81: 1567-1574.

Pierce, S. K., Rowland-faux, L. M. and Crombie, B. N. 1995. The mechanism of glycine betaine regulation in response to hyperosmotic stress in oyster mitochondria: A comparative study of Atlantic and Chesapeake Bay oysters. J. Exp. Zool. 271: 161-170.

Pillay, T. V. R. 1990. Aquaculture principles and practies. Aquaculture development and corordination programme food and agriculture organization of the United Nation. Rome, Italy.

Ponce-Palafox, J., Martinez-Palacios C. A. and Ross, L. G. 1997. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. Aquaculture 157: 107-115.

Rathinasabapathi, B. 2000. Metabolic engineering for stress tolerance: installing osmoprotectant synthesis pathways. Ann. Bot. 86: 709-716.

Rhodes, D. and Hanson A. D. 1993. Quaternary ammonium and tertiary sulphonium compounds in higher plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 44: 357-384.

Roberts, M. F. 2005. Organic compatible solutes of halotolerant and halophilic microorganisms : Review. Saline system 1: 1-30.

Rodriguez, G. A. 1981. Osmoregulation and total serum protein of two species of penaeidean shrimps from the Pacific coast of Mexico. J. Crust. Biol. 1: 392-400.

Romano, I., Nicolaus, B., Lama, L., Trabasso, D., Caracciolo, G. and Gambacorta, A. 2001. Accumulation of osmoprotectants and lipid pattern modulation in response to growth conditions by *Halomonas pantelleriense*. Syst. Appl. Microbiol. 24: 343-352.

Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Pascual, C., Taboada, G., Arena, L. and Wormhoudt, A. V. 2002. An energetic and conceptual model of the physiological role of dietary carbohydrates and salinity on *Litopenaeus vannamei* juveniles. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 268: 47-67.

Roy, L. A., Davis, D. A., Saoud, I. P. and Henry, R. P. 2007. Effects of varying levels of aqueous potassium and magnesium on survival, growth, and respiration of the pacific white shrimps, *Litopenaeus vannamei*, reared in low salinity waters. Aquaculture 262: 461-469.

Rubenhagen, R., Morbach, S. and Kramer, R. 2001. The osmoreactive betaine carrier BetP from *Corynebacterium glutamicum* is a sensor for cytoplasmic K^+. EMBO rep. 20: 5412-5420.

Sakamoto, A., Nishimura, Y., Ono, H. and Sakura, N. 2002. Betaine and homocysteine concentrations in foods. Pediatr. Int. 44: 409-413.

Santos, E. A. and Nary, L. E. M. 1987. Blood glucose regulation in and estuarine crab, *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851) exposed to different salinities. Comp. Biochem. Physiol. 87: 1033-1035.

Saoud, I. P. and Davis, D. A. 2005. Effects of betaine supplementation to feeds of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared at extreme salinities. North American Journal of Aquaculture. 67: 351-353.

Scott, M. L. 1986. Nutrition of humans and selected animal species. New York. John Wiley and Sons.

Slow, S., Donaggio, M., Cressey P. J., Lever, M., George, P. M. and Chamber, S. T. 2005. The betaine content of new zealand foods and estimated intake in the new zealand diet. J. Food Compost Anal. 18: 473-485.

Smith, D. M., Tabrett, S. J., Barclay, M. C. and Irvin, S. J. 2005. The efficacy of ingredients included in shrimp feeds to stimulate intake. Aquacul. Nutr. 11: 263-272.

Soderhall, K., Rogener, W., Newton, R. P. and Ratcliffe, N. A. 1988. The propertiesd purification of a *Blaberus craniifer* plasma protein which enhances the activation of haemocyte prophenoloxidase by β-1, 3- glucan. Insect. Biochem. 18: 322-330.

Sowers, A. D., Young, S. P., Grosell, M., Browdy, C. L. and Tomasso, J. R. 2006. Hemolymph osmolality and cation concentrations in *Litopenaeus vannamei* during exposure to artificial to artificial sea salt or a mixed-ion solution: Relationship to potassium flux. Comparative Biochemistry and Physiology 145: 176-180.

Spanopoulos-Hernandez, M., Martinez-Palacios, C. A., Vanegas-Perez, R. C., Rosas, C. and Ross, L. G. 2005. The combined effects of salinity and temperature on the oxygen consumption of juvenile shrimps *Litopenaeus stylirostrris* (Stimpson, 1874). Aquaculture 244: 341-348.

Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. Principle and Procedures of Statistics. 2nd edition. New York : McGraw Hill. 633 pp.

Tapia-Salazar, M., Cruz-Suarez, L. E., Ricque-Marie, D., Pike, I. H., Smith, T. K., Harris, A., Nygard, E. and Opstvedt, J. 2004. Effect of fishmeal made from stale versus fresh herring and of added crystalline biogenic amines on growth and survival of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* fed practical diets. Aquaculture 242: 437-453.

Ung, E. H. and Junilla, M. 1988. Preliminary observations on the nutritional effects of a betaine/amino acid mixture: survival, growth and food conversion of juvenile *Penaeus monodon* fed with *FINNSTIM*. *In* Report on the workshop on shrimp and finfish feed development. pp. 71-83. ASEAN/UNDP/FAO Regional Small-Scale Coastal Fisheries Development Project, Johore Bahru, Malaysia.

Vargas-Albores, F., Hinojosa-Baltazar, P., Portillo-Clark, G. and Magallon-Barajas, F. 1998. Influence of temperature and salinity on the yellow-leg shrimp. *Penaeus californiensis* Holmes, phenoloxidase system. Aquac. Res. 29: 549-553.

Vilmaz, E. 2005. The effects of two chemo-attractants and different first feeds on the growth performances of african catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) at different larval stages. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 29: 309-314.

Vilmaz, E. 2005. The effects of two chemo-attractants and different first feeds on the growth performances of african catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) at different larval stages. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 29: 309-314.

Virtanen, E., Hole, R., Resink, R., Slinning, J. W. and Junnila, M. 1994. Betaine/amino acid additive enhances seawater performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed standard fishmeal- based diets. Aquaculture 124: 220-231.

Virtanen, E., Junnila, M., Soivio, A. 1989. Effect of food containing betaine/amino acid additive on the osmotic adaptation of young Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Aquaculture 83: 109-122.

Warskulat U., Schliess F., Haeussinger, D. 1998. Compatible organic osmolytes and osmotic modulation inducible nitric oxide syntheases in RAW 264 7 mouse macrophages. Biol. Chem. 379: 867-874.

Wu, Guangbing and Davis D. A. 2005. Interrelationship among methionine, choline and betaine in Channel Catfish *Ictalurus punctatus*. Journal of the World Aquaculture Society 36: 337-345.

Yancey, P. H. 2005. Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. J. Exp. Biol. 208: 2819-2830.

Yancey, P. H., Clark, M. E., Hand, S. C., Bowlus, R. D. and Somero, G. N. 1982. Living with water stress: Evolution of osmolyte systems. Science 217: 1214-1222.

Yano., I., Kanna, R.A., Oyama, R.N., and Wyban, J.A. 1998. Mating behavior in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. Mar. Biol. 97: 171-175.

Yu, J. 1993. Hemocyte classification, density and percentage of the prawn *Penaeus japonicus*. J. Ocean-Oniv. 23: 107-114.

Zeisel, S. H., Mar, M. H., Howe, J. C. and Holden, J. M. 2003. Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods. Am. Soc. Nutrition. 1302-1307.

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

ภาคผนวก ก

สารเคมีและวิธีการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง

1.1 การวิเคราะห์ความชื้น (ตามวิธีการของ AOAC, 1990)

1. นำขวดชั่งเข้าตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น

2. ชั่งและบันทึกน้ำหนักของขวดชั่งโดยละเอียด

3. ชั่งตัวอย่างใส่ขวดชั่งประมาณ 5 กรัม โดยบันทึกน้ำหนักอย่างละเอียด

4. นำตัวอย่างเข้าตู้อบ โดยใช้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

5. นำตัวอย่างที่อบแล้วใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น บันทึกน้ำหนักของตัวอย่าง

6. ทำซ้ำตามข้อ 1 ถึง 5 จนกระทั่งน้ำหนักที่ได้คงที่ โดยน้ำหนักที่หายไปคือน้ำหนักของความชื้น

คำนวณ % ความชื้นด้วยสมการ

$$\% \text{ ความชื้น} = \frac{(a - b) \times 100}{w}$$

เมื่อ a = น้ำหนักของอาหารและขวดชั่งก่อนอบแห้ง (กรัม)

b = น้ำหนักของอาหารและขวดชั่งหลังอบแห้ง (กรัม)

w = น้ำหนักของอาหารก่อนอบ (กรัม)

1.2 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (ตามวิธีการของ AOAC, 1990)

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ

2. นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนเถ้าเป็นสีขาว

3. นำเข้าโถอบแห้ง เพื่อให้ดูดความชื้น และเมื่อตัวอย่างอาหารเย็นดีแล้ว นำออก

ชั่งทันที

คำนวณ % เถ้าด้วยสมการ

$$\% \text{เถ้า} = \frac{(b - a) \times 100}{w}$$

เมื่อ a = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ

b = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบกับน้ำนักของเถ้าภายหลังการเผา

w = น้ำหนักของอาหารก่อนเผา

1.3 การวิเคราะห์หาโปรตีน (ตามวิธีการของ AOAC, 1990)

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก (sulfuric acid, H_2SO_4) เข้มข้น 93 - 98 %

2. สารเร่งรวม (catalyst mixture): เตรียมโดย ชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulfate, $CuSO_4$) 7 กรัม กับโพแตสเซียมซัลเฟต (potassium sulfate, K_2SO_4) 100 กรัม ผสมให้เข้ากัน

3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 45% (sodium hydroxide, NaOH): เตรียมโดย ละลาย 450 กรัมของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ชนิดเกล็ดลงในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

4. สารละลายกรดเกลือ (hydrochloric acid, HCl) 0.1 นอร์มอล: เตรียมโดย ละลายกรดเกลือ 9 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

5. กรดบอริค (boric acid, H_3BO_3) 4%: เตรียมโดย ต้มน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ให้ร้อนแล้วใส่ผงกรดบอริคลงไป 40 กรัม ต้มจนละลายหมด ทิ้งไว้จนสารละลายเย็นลงแล้วจึงเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

6. อินดิเคเตอร์รวม (mixed indicator): เตรียมโดยละลายเมทธิลเรด (methyl red) 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร และละลายเมทธิลีนบลู (methylene blue) 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายเมทธิลเรด 2 ส่วน ผสมกับสารละลายเมทธิลีนบลู 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน

7. เมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์ (methyl orange indicator): เตรียมโดยละลายเมทิลออเรนจ์ 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

8. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate, Na_2CO_3) 0.1 นอร์มอล : เตรียมโดย อบโซเดียมคาร์บอเนตที่อุณหภูมิ 260 - 270 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ชั่งสารมา 1.325 กรัม เติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร

วิธีการ

ก. ขั้นตอนการย่อย (digestion)

1. ชั่งตัวอย่างอาหารให้ได้น้ำหนักประมาณ 1 กรัม โดยชั่งด้วยกระดาษกรองที่ปราศจากสารไนโตรเจนแล้วใส่ในขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีน

2. เติมสารเร่งรวม 10 กรัม เพื่อเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อย

3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร

4. นำไปย่อยด้วยชุดเครื่องย่อยโปรตีน ที่อุณหภูมิ 375 องศาเซลเซียส กระทั่งสารละลายในขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีนใส ทิ้งไว้ให้เย็น

ข. ขั้นตอนการกลั่น (distillation)

1. เมื่อสารละลายเย็นดีแล้ว จึงเติมน้ำกลั่นลงไปให้ได้ปริมาตรประมาณ 300 มิลลิลิตร

2. ใส่ลูกแก้ว 2 ลูก เพื่อป้องกันการกระแทกของสารละลาย

3. ต่อขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีนเข้ากับเครื่องกลั่นที่มีขวดปากแคบวัดปริมาตร ซึ่งมีกรดบอริค 40 มิลลิลิตรอยู่ โดยให้ปลายของหลอดแก้วที่ต่อจากกระบอกแก้วควบแน่นจุ่มอยู่ในกรดบอริค เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในขวดแก้ววิเคราะห์ช้าๆ จนกระทั่งสารละลายมีสีดำ

4. ใส่อินดิเคเตอร์ในกรดบอริค 2 - 3 หยด

5. ทำการกลั่นจนกระทั่งไม่มีแก๊สแอมโมเนียออกมาแล้วทำการกลั่นต่อไปอีก 10 นาที แล้วล้างปลายเครื่องกลั่นด้วยน้ำกลั่น นำขวดปากแคบวัดปริมาตรออกจากเครื่องกลั่น

ค. ขั้นตอนการไตเตรท (titration)

1. นำไปไตเตรทด้วยกรดเกลือมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น (0.1 นอร์มอล) จนถึงจุดยุติ (end point) โดยใช้อินดิเคเตอร์รวม สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินอ่อน

2. จดปริมาตรของกรดเกลือไว้เพื่อคำนวณต่อไป

การคำนวณ

$$\% \text{ โปรตีน} = \frac{1.4 \times (V_1 - V_2) \times N \times 6.25}{W}$$

เมื่อ V_1 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

V_2 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบ

N = เป็นความเข้มข้นของกรดเกลือเป็นนอร์มอล

W = น้ำหนักตัวอย่างอาหาร

การตรวจหาความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน

ดูดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 40 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เติมเมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์ 2 - 3 หยด ทำการไตเตรทด้วยสารละลายกรดเกลือ 0.1 นอร์มอล คำนวณความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือโดยใช้สูตร

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายที่จะปรับค่า N_2= ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ

V_1 = ปริมาตรของสารละลายที่จะปรับค่า V_2= ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการ

1.4 การวิเคราะห์หาไขมัน (ใช้เครื่อง Soxtec System HT6)

สารเคมี

1.ไตรคลอโรเอททิลีน (Trichloroethylene)

วิธีการ

1. อบถ้วยพร้อมลูกแก้ว ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 8 ชั่วโมงทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น

2. อบตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

3. ชั่งน้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้ว (w_1)

4. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ใส่กระดาษกรองประมาณ 1 - 2 กรัม (w_2) ห่อให้มิดชิด ใส่ลงในไส้กรอง (thimble) ที่เตรียมไว้ นำไปใส่เข้าเครื่อง Soxtec System HT6

5. นำถ้วยพร้อมลูกแก้วที่ชั่งน้ำหนักไว้แล้วมาเติมไตรคลอโรเอททิลีน ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วใส่เข้าเครื่องให้เรียบร้อย

6. เปิดเครื่อง ปรับอุณหภูมิไปที่ 160 องศาเซลเซียส เปิดน้ำเข้าเครื่อง เปิดวาล์ว เลื่อนปุ่มไปที่ boiling ต้มให้เดือด 30 นาที

7. เลื่อนปุ่มไปที่ rinsing เพื่อล้างตัวอย่าง 20 นาที

8. ปิดวาล์ว เปิดสวิทช์อากาศ เลื่อนปุ่มไปที่ evaporation เพื่อให้สารระเหยออกไป 5 นาที

9. ปิดเครื่อง อากาศและน้ำ แล้วเลื่อนปุ่ม evaporation กลับที่เดิม นำถ้วยออกจากเครื่อง แล้วนำไปอบที่ 100 องศาเซลเซียสจนแห้ง

10. นำถ้วยออกมาใส่โถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (w_3)

การคำนวณหา % ไขมัน

$$\% \text{ ไขมัน} = \frac{w_3 - w_1}{w_2} \times 100$$

เมื่อ w_1 = น้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้ว

w_2 = น้ำหนักตัวอย่าง

w_3 = น้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้วและไขมันหลังอบ

2. การคำนวณหาค่าอัตราการรอดตายและการเจริญเติบโต

2.1 ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน (กรัมต่อตัวต่อ)

= น้ำหนักอาหารที่กุ้งกินทั้งหมด / จำนวนกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

เวลา (วัน)

2.2 อัตรารอด (%) ตามวิธีการของ Felix และ Sudharsan (2004)

= จำนวนกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง X 100

จำนวนกุ้งที่เริ่มทดลอง

2.3 อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Food conversion rate: FCR) ตามวิธีการของ Felix และ Sudharsan (2004)

= จำนวนอาหารที่ให้ไปทั้งหมด (กรัม)

น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้น (กรัม)

2.4 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate: SGR) ตามวิธีการของ Ziaei-Nejad และคณะ (2006)

$$= \frac{(\ln \text{น้ำหนักสุดท้าย} - \ln \text{น้ำหนักเริ่มต้น})}{\text{เวลา (วัน)}} \times 100$$

2.5 น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มเฉลี่ยต่อตัว (เปอร์เซ็นต์ weight gain) ตามวิธีการของ Tapia-Salazar และคณะ (2004)

$$= \frac{(\text{น้ำหนักกุ้งสุดท้าย} - \text{น้ำหนักกุ้งเริ่มต้น})}{\text{น้ำหนักกุ้งเริ่มต้น}} \times 100$$

3. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ตามวิธีการของ Boyd และ Tucker (1992)

3.1 การวิเคราะห์ค่าความเป็นด่างของน้ำ

สารเคมี

1. ฟีนอล์ฟทาลีน อินดิเคเตอร์ (phenolphthalein indicator) : เตรียมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein 0.5 (กรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ 95 % จนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2. เมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์: เตรียมโดยสารละลายเมทิลออเรนจ์ 0.5 กรัม ในน้ำกลั่นที่ปราศจากอิออน ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3. เมทิลเรด อินดิเคเตอร์ : เตรียมโดยสารละลายเมทิลเรด 0.5 กรัม ในน้ำกลั่นที่ปราศจากอิออน ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

4. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.2 นอร์มอล : เตรียมโดยค่อยๆ เทกรดซัลฟูริกเข้มข้น 6 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น) ที่ต้มเดือดใหม่ๆ แล้วปิดฝาทิ้งไว้ให้เย็น (ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

5. สารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนต 0.2 นอร์มอล : เตรียมโดยชั่งโซเดียมคาร์บอเนตซึ่งอบแห้งจำนวน 10.6 กรัม โดยอบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที แล้วทำให้เย็นในโถอบแห้ง จากนั้นละลายในน้ำกลั่นที่ต้มเดือดใหม่ๆ วางไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

การตรวจหาความเข้มข้นของสารละลาย

1. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.2 นอร์มอล ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. หยดเมทิลเรด อินดิเคเตอร์ 5 หยด เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายสีเหลือง

3. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู

4. นำส่วนผสมทั้งหมดไปต้มจนเดือดเป็นเวลาประมาณ 5-3 นาที เพื่อไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้หมดสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอีกครั้ง

5. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกต่อไป จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอีกครั้งหนึ่ง

6. บันทึกปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกทั้งหมดที่ใช้ไป

การคำนวณความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก (นอร์มอล)

$$\text{ความเข้มข้น(นอร์มอล)} = \frac{0.2 \times 25}{\text{ปริมาตร (มิลลิลิตร) ของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้}}$$

หลังจากนั้นทำการปรับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.02 นอร์มอล โดยใช้สูตร

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายที่จะปรับค่า

N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ

V_1 = ปริมาตรของสารละลายที่จะปรับค่า

V_2 = ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการ

วิธีการ

1. นำตัวอย่างน้ำ 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. หยดฟีนอลฟ์ทาลีนอินดิเคเตอร์ 10 หยด เขย่าให้เข้ากัน

2.1 ถ้าสารละลายใส ให้ทำข้อ 3 ต่อไป

2.2 ถ้าสารละลายสีชมพูจะต้องไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกจนกระทั่งสารละลายสีชมพูนั้นหายไปบันทึกปริมาตรที่ใช้ไป (นำไปรวมกับปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ไปในข้อ 4) ทำต่อไปในข้อ 3.

3. หยดเมทิลออเรนจ์ 3-2 หยด เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายสีเหลือง

4. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.02 นอร์มอล จนกระทั่งสารละลายปลี่ยนเป็นสีส้ม จนปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ไปทั้งหมด

การคำนวณค่าความเป็นด่างของน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

$$\text{ค่าความเป็นด่าง} = \frac{\text{ปริมาตรของกรดซัลฟูริกที่ใช้ x นอร์มอลิตี้ของกรดซัลฟูริก x 50 x 1,000}}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง}}$$

4. การศึกษาองค์ประกอบเลือด

4.1 การนับปริมาณเลือดทั้งหมด (Total haemocyte count)

สารเคมี

trypan blue 0.15 เปอร์เซ็นต์ : ละลาย trypan blue 0.15 กรัม ในสารละลาย NACl 2.5 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร คนให้ละลายโดยวางบน magnetic stirrer นาน 6-12 ชั่วโมง และกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 แบ่งใส่หลอดพลาสติกหลอดละ 0.45 มิลลิลิตร

วิธีการ

ใช้กระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร และเข็มฉีดยาขนาด 24 G ความยาว 12 มิลลิเมตร เจาะเลือดกุ้งบริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 3 ปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร ใช้ปิเปตอัตโนมัติดูดเลือด 50 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย trypan blue 0.45 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันในหลอดพลาสติกนับเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมดโดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemacytometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แล้วคำนวณเป็นเซลล์ต่อมิลลิลิตรจากสูตร

ปริมาตรของฮีมาไซโตมิเตอร์ = กว้าง x ยาว x สูง

= 1mm x 1 mm x 0.1 mm

=0.1ลูกบาศก์มิลลิเมตร (mm^3)

จำนวนเซลล์เม็ดเลือด/ลูกบาศก์มิลลิเมตร = เซลล์เม็ดเลือดที่นับได้

จำนวนเซลล์เม็ดเลือด/มิลลิลิตร = เซลล์เม็ดเลือดที่นับได้ x 10^4

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในซีรัม ดัดแปลงจาก Lowry และคณะ (1951)

สารเคมี

1. สารละลาย BSA มาตรฐาน

ละลาย bovine serum albumin 1.0 มิลลิกรัม ในน้ำ deionized 10 มิลลิลิตร และเจือจางสารละลายข้างต้นด้วยน้ำ deionized ในหลอดทดลองให้มีความเข้มข้น 10-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. 1 N Folin-Phenol reagent (dilute 1:10)

3. Working alkaline copper reagent

3.1 2 เปอร์เซ็นต์ Na_2CO_3 ใน 0.1 N NaOH (เตรียมโดยต้มน้ำให้เดือดก่อนเติม) และต้องให้เย็นสนิทก่อน ส่วน NaOH 0.4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ร่วมกับ $NaCO_3$ 2 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรโดย Volummetric flask และเก็บในขวดพลาสติก

3.2 0.5 เปอร์เซ็นต์ $CuSO_4$ $5H_2O$ ใน 1 เปอร์เซ็นต์ Na หรือ K-tartrate โดยให้ละลายสารแต่ละตัวก่อน จากนั้นนำ $CuSO_4$ 5H2O

วิธีการ

เติมสารละลายส่วนใส (hemocyte lysate: HLS) ที่ได้จากการทำให้เซลล์เม็ดเลือดแตกปริมาตร 40 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตรที่มีน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน (deionized) 0.36 มิลลิลิตร เติม alkaline copper solution 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งให้เกิดปฏิกิริยานาน 10 นาที แล้วเติมสารละลาย folin reagent 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งให้เกิดปฏิกิริยานาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ตัวเทียบใช้น้ำที่ปราศจากไอออน (deionized) 0.4 มิลลิลิตร แทนตัวอย่าง แล้วคำนวณปริมาณโปรตีนโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานโบวีนซีรัมอัลบูมิน (Bovine serum albumin; BSA) สำหรับซีรัมเตรียมโดยใช้กระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร และเข็มฉีดยาขนาด 24 G ความยาว 12 มิลลิเมตรที่ไม่บรรจุสารป้องกันเลือดแข็งตัวเจาะเลือดกุ้งที่โคนขาเดินคู่ที่ 3 ให้ได้ประมาณ 0.2-0.3 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง บดเลือดที่แข็งตัวด้วยแท่งบดพลาสติก แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 10000

รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที ทำการแยกส่วนใสเพื่อนำไปวิเคราะห์โปรตีน จำนวน 5 ไมโครลิตร ลงในน้ำกลั่น deionized ปริมาตร 995 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลาย alkaline copper ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเติม folin reagent 3 มิลลิลิตร ทิ้งไว้อีก 10 นาทีแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 640 นาโนเมตร และคำนวณปริมาณโปรตีนโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน BSA

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในเลือด ดัดแปลงจาก Hyvarinen และ Nikkila, (1962)

สารเคมี

1. 3 เปอร์เซ็นต์ Trichloroacetic acid

ชั่ง 3 กรัม Trichloroacetic acid ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

2. Color reagent

ชั่ง 1.5 กรัม Thiourea ละลายใน 940 มิลลิลิตร Glacial acetic acid แล้วเติม 60 มิลลิลิตร O-toluidine เก็บไว้ในตู้เย็น ระวังอย่าให้ถูกแสง

3. Benzoic acid solution

ชั่ง 0.2 กรัม Benzoic ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 1000 มิลลิลิตร

4. Standard glucose

ชั่ง 100 มิลลิกรัม Glucose ละลายใน 100 มิลลิลิตร Benzoic acid solution เก็บไว้ในตู้เย็น

วิธีการ

ใช้กระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร และเข็มฉีดยาขนาด 24 G ความยาว 12 มิลลิเมตร ที่ไม่บรรจุสารป้องกันเลือดแข็งตัว เจาะเลือดกุ้งที่โคนขาเดินคู่ที่ 3 ให้ได้ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ถ่ายในหลอดพลาสติกและทำการวิเคราะห์ทันที โดยเติมเลือด 0.1 มิลลิลิตร ในหลอดพลาสติกที่มีสารละลาย trichloro acetic acid (TCA) 3 เปอร์เซ็นต์ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทันที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 3,590x*g* อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที แยกส่วนใส 0.5 มิลลิลิตร เติมในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร ที่มี color reagent 4.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปแช่ในน้ำเดือด 8 นาที ตั้งไว้ให้เย็นและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร ตัวเทียบใช้

สารละลาย trichloro acetic acid (TCA) 3 เปอร์เซ็นต์ 0.5 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่างแล้วคำนวณปริมาณกลูโคสในเลือดโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส

4.4 การวิเคราะห์ค่าออสโมลาริตี้ และปริมาณอิเลคโทรไลต์ต่าง ๆ ในเลือด ตามวิธีการของ กิจการ และคณะ (2543)

วิธีการ

นำเลือดกุ้งขาวแต่ละตัวไปแยกเอาซีรัม โดยหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3590 g เพื่อนำซีรัมไปวิเคราะห์หาค่าออสโมลาริตี้ ด้วยเครื่อง Osmomat 030-D (Germany) หาค่าอิเลคโตรไลท์ (serum electrolyte) คือ Na^+ Cl^- K^+ และ Mg^{2+} โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ EAA ของ Beckman

ภาคผนวก ข

ตารางภาคผนวกที่ ข. 1 การเตรียมบีเทนในอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นบีเทน (เปอร์เซ็นต์)	บีเทน (กรัม/อาหาร 4 กก.)	ปริมาณแป้งสาลีที่ใช้เจือจาง (กรัม/อาหาร 4 กก.)
1	0 เปอร์เซ็นต์	0	1,540
2	1 เปอร์เซ็นต์	40	1,500
3	2 เปอร์เซ็นต์	80	1,460
4	3 เปอร์เซ็นต์	120	1,420
5	4 เปอร์เซ็นต์	160	1,380

ตารางภาคผนวกที่ ข. 2 ส่วนประกอบและปริมาณวัตถุดิบในอาหารแต่ละสูตรของการทดลอง

ส่วนประกอบ	สูตรอาหาร				
(กรัม/1000 กรัม)	1	2	3	4	5
ปลาป่น	150	150	150	150	150
หมึกป่น	50	50	50	50	50
วีทกลูแตน	30	30	30	30	30
กากถั่วเหลือง	260	260	260	260	260
แป้งสาลี	385	375	365	355	345
น้ำมันปลา : น้ำมันถั่วเหลือง (1:1)	40	40	40	40	40
เลซิติน	10	10	10	10	10
วิตามินและแร่ธาตุผสม[1]	25	25	25	25	25
แป้งข้าวเจ้า	50	50	50	50	50
บีเทน	0	10	20	30	40
รวม	1000	1000	1000	1000	1000
ความเข้มข้นของบีเทน	0 เปอร์เซ็นต์	1 เปอร์เซ็นต์	2 เปอร์เซ็นต์	3 เปอร์เซ็นต์	4 เปอร์เซ็นต์

[1]Vitamin and mineral mixture supplemented per kilogram feed: Thiamine (B_1) 10 mg; Riboflavin (B_2) 20 mg; Pyridoxine (B_6) 10 mg; Cyanocobalamin (B_{12}) 2 mg; Retinal (A) 4,000 IU, Cholecalciferol (D_3) 2,000 IU; Menadione sodium bisulfite (K_3) 80 mg; Folic acid 5 mg; Calcium pantothenate 40 mg; Inositol 400 mg; Niacin 150 mg; DL-alpha-tocopherol (E) 50 IU; Choline chloride 6,000 mg; Ascorbic acid (C) 500 mg; Biotin 1 mg; NaCI 0.25 g; $MgCO_3$ 3.75 g; $FeSO_4$ 0.72 g; $(CH_3COO)_2$ $Ca.5H_2O$ 0.88 g; $ZnSO_4.7H_2O$ 0.088 g; $MnSO_4.4H_2O$ 0.040 g; $CuSO_4.5H_2O$ 0.008 g; $CoCl_2.6H_2O$ 0.00025 g; $KIO_3.6H_2O$ 0.00075 g

ตารางภาคผนวกที่ ข. 3 ส่วนประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลองในการทดลองที่ 1 ที่มีบีเทนระดับต่าง ๆ โดยการวิเคราะห์[1]

บีเทน (เปอร์เซ็นต์)	ส่วนประกอบ (เปอร์เซ็นต์)			
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า
0	7.56±0.02	34.23±0.21	8.43±0.21	6.43±0.03
1	7.75±0.01	34.44±0.33	8.34±0.11	6.33±0.01
2	7.52±0.04	34.33±0.13	8.76±0.17	6.76±0.05
3	7.85±0.07	34.42±0.54	8.12±0.65	6.23±0.02
4	8.02±0.02	34.74±0.66	8.67±0.43	6.78±0.07

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 2 ซ้ำ)

ตารางภาคผนวกที่ ข. 4 ส่วนประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลองในการทดลองที่ 2 ที่มีบีเทนระดับต่าง ๆ โดยการวิเคราะห์[1]

บีเทน (เปอร์เซ็นต์)	ส่วนประกอบ (เปอร์เซ็นต์)			
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า
0	8.65±0.01	34.27±0.49	8.25±1.05	6.35±0.03
4	7.47±0.03	34.14±0.61	8.54±0.29	6.44±0.11
8	6.65±0.09	34.62±1.32	8.21±0.27	6.53±0.11

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 2 ซ้ำ)

ตารางภาคผนวกที่ ข. 5 อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) ของน้ำในบ่อทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ระยะเวลา	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)					
	เช้า (7.00 น.)		เที่ยง (12.00 น.)		กลางคืน (22.00 น.)	
	ต่ำสุด	สูงสุด	ต่ำสุด	สูงสุด	ต่ำสุด	สูงสุด
15 มกราคม – 29 มกราคม 2549	29	30	30	31	29	30
30 มกราคม – 6 กุมภาพันธ์ 2549	28	30	30	31	29	31
7 กุมภาพันธ์ – 21 กุมภาพันธ์ 2549	29	30	30	31	30	31

ตารางภาคผนวกที่ ข. 6 อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) ของน้ำในตู้ทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ระยะเวลา	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)					
	เช้า (7.00 น.)		เที่ยง (12.00 น.)		กลางคืน (22.00 น.)	
	ต่ำสุด	สูงสุด	ต่ำสุด	สูงสุด	ต่ำสุด	สูงสุด
15 พฤษภาคม – 31 พฤษภาคม 2549	26	27	27	28	26	27
1 มิถุนายน – 15 มิถุนายน 2549	26	27	27	28	26	28
16 มิถุนายน – 24 มิถุนายน 2549	26	27	27	29	26	27

ตารางภาคผนวกที่ ข. 7 คุณภาพน้ำในตู้ทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์[1]

วันที่	DO		pH		อัลคาไลน์นิตี้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)		แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ไนเตรท (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	2 พีพีที	25 พีพีที	2 พีพีที	25 พีพีที	2 พีพีที	25 พีพีที	2 พีพีที	25 พีพีที	2 พีพีที	25 พีพีที	2 พีพีที	25 พีพีที
17 เมษายน 2549	8.2	8.6	7.91	8.00	66	86	0.03	0.02	0	0	-	-
9 พฤษภาคม 2549	7.9	8.1	8.68	8.04	60	104	0.14	0.03	0	0	-	-
1 มิถุนายน 2549	8.3	7.8	7.8	7.9	68	98	0.06	0.03	0.01	0.02	-	-
8 มิถุนายน 2549	7.8	7.6	8.24	8.18	78	108	0.06	0.02	0.01	0.05	0.02	0.08
ค่าที่เหมาะสม (กุ้งทะเล)	4-7	4-7	7.8-8.5	7.8-8.5	80-150	80-150	ไม่เกิน 1.00	ไม่เกิน 1.00	ไม่เกิน 0.10	ไม่เกิน 0.10	ไม่เกิน 60.00	ไม่เกิน 60.00

[1] วิเคราะห์ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสตูล

ตารางภาคผนวกที่ ข. 8 คุณภาพน้ำในบ่อทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์[1]

วันที่	DO	pH	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาไลน์นิตี้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไนเตรท (มิลลิกรัมต่อลิตร)
15 มกราคม – 29 มกราคม 2549	6.4	7.91	10	103	0	0	0
30 มกราคม – 6 กุมภาพันธ์ 2549	8	8.3	12	146	0.02	0.01	0.01
7 กุมภาพันธ์ – 21 กุมภาพันธ์ 2549	10	8.8	14	164	0.04	0.02	0.02

[1] วิเคราะห์ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสตูล