ผลของไลโคพีนต่อการเกิดสี การเติบโตและอัตราการรอดในกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon*

นางสาวสิริลดา จันทรทิณ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF LYCOPENE ON COLORATION, GROWTH AND SURVIVAL RATE IN BLACK TIGER SHRIMP *Penaeus monodon*

Miss Sirilada Jantarathin

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2009

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของไลโคพีนต่อการเกิดสี การเติบโตและอัตราการรอด ในกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon*
โดย	นางสาวสิริลดา จันทรทิณ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิติธรรมยง)

.... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล)

.... กรรมการ
(ดร.ศิราวุธ กลิ่นบุหงา)

.... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร.มะลิ บุณยรัตผลิน)

สิริลดา จันทรทิณ : ผลของไลโคพีนต่อการเกิดสี การเติบโตและอัตราการรอดในกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon*. (EFFECTS OF LYCOPENE ON COLORATION, GROWTH AND SURVIVAL RATE IN BLACK TIGER SHRIMP *Penaeus monodon*) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ.ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล, 104 หน้า.

ศึกษาผลของไลโคพีนที่ความเข้มข้น 0, 50, 100, 200 มก./กก. ในอาหารทดลองต่อการเกิดสี การเจริญเติบโตและอัตราการรอดในกุ้งกุลาดำ โดยทำการทดลองเลี้ยงในถังพลาสติกความจุ 56 ลิตร ถังละ 30 ตัว ให้อาหารวันละ 3 มื้อ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทำการทดลอง 5 ซ้ำต่อชุดการทดลอง เมื่อนำไปทดสอบการเกิดสีพบว่ากุ้งกุลาดำสดกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมไลโคพีนที่ระดับ 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีสีเข้มกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมที่ไม่ผสมไลโคพีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และเมื่อนำกุ้งไปผ่านการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 5 นาที พบว่าสีของกุ้งที่ได้รับอาหารผสมไลโคพีนมีความเข้มของสีส้มอมแดงมากขึ้น จากการทดลองพบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองผสมไลโคพีนที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มก./กก.มีการเจริญเติบโตสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ผสมไลโคพีนอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติของอัตราการรอดและเมื่อนำไปทดสอบความต้านทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มและอุณหภูมิอย่างฉับพลันเป็นเวลา 24 - 72 ชั่วโมง พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร มีอัตรารอดเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต สิริลดา จันทรทิณ
ปีการศึกษา 2552 ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

4972529523 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEYWORDS : Lycopene / *Penaeus monodon* / Coloraion / Survival rate / Growth

SIRILADA JANTARATHIN : EFFECTS OF LYCOPENE ON COLORATION, GROWTH AND SURVIVAL RATE IN BLACK TIGER SHRIMP *Penaeus monodon*. ADVISOR : ASSOC.PROF.SOMKIAT PIYATIRATITIVORAKUL, 104 pp.

Diets supplemented with 0, 50, 100, 200 mg lycopene/kg were fed 3 times daily to black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) for 12 weeks to determine effects of lycopene on coloration, growth and stress tolerance. The experiment was run in 5 replications per treatment with 30 juvenile shrimps per experimental unit. The results showed that shrimp fed lycopene supplemented diets had significantly higher growth than those of the control (0 mg/kg) ($p>0.05$) but no significant effect on survival. There was an improvement on coloration of live and streamed shrimp in all groups of shrimp fed with lycopene supplemented diets. The experiment of low salinity and high temperature stress test of shrimp fed experimental diets for 4 weeks, indicated a lower survival rate of shrimp fed lycopene supplemented diet than those shrimp fed the control.

Field of Study : Biotechnology
Academic Year : 2009

Student's Signature
Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ลงได้โดยได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล ที่ได้สั่งสอน ชี้แนะ ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิติธรรมยง ที่กรุณาเป็นประธานในการสอบวิทยานิพนธ์ ดร.ศิราวุธ กลิ่นบุหงา และ ดร. มะลิ บุณยรัตผลิน ที่กรุณาเป็นกรรมการในการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

กราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุจิตรา สื่อประสาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางภาพถ่ายฯ ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่อง Spectroradiometer CS-1000 และ ดร.จรรยา ชัยเจริญพงศ์ จากสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์สารละลายมาตรฐานแอสตาแซนทิน

ขอขอบพระคุณทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ที่ให้ความอนุเคราะห์เงินทุนสำหรับการทำวิจัย บริษัทโรวิไทย จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์สารไลโคพีน บรรจงฟาร์ม ที่ให้ความอนุเคราะห์ลูกกุ้งกุลาดำวัยอ่อน และ ไพศาลฟาร์ม ที่ให้ความอนุเคราะห์กุ้งกุลาดำขนาดใหญ่สำหรับใช้ในการทดลอง

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทุกท่าน และคุณเสรี ดอนเหนือ พี่ๆ เพื่อนๆ และ น้องๆในภาควิชาทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และเป็นกำลังใจให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อปรัชญา และ คุณแม่พิมล จันทรทิณ ขอบคุณ คุณกันต์กมลและคุณรุจิรัตน์ จันทรทิณ ที่ได้ให้กำลังใจ ช่วยเหลือและสนับสนุนตั้งแต่ต้นจนวิทยานิพนธ์เสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.. ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.. จ
กิตติกรรมประกาศ.. ฉ
สารบัญ.. ช
สารบัญตาราง.. ฌ
สารบัญภาพ.. ฎ

บทที่

1. บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.. 1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.. 2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.. 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.. 3

2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชีววิทยาของกุ้งกุลาดำ.. 4
2.2 ลักษณะที่สำคัญของกุ้งกุลาดำ.. 5
2.3 ปัญหาที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ.. 7
2.4 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.. 11
2.5 แคโรทีนอยด์.. 15
2.6 ไลโคพีน.. 20

3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สถานที่ดำเนินการทดลอง.. 27
3.2 อาหารทดลอง.. 27
3.3 ขั้นตอนการทำอาหาร.. 27
3.4 การเตรียมสัตว์ทดลอง.. 29
3.5 วางแผนการทดลอง.. 29

หน้า

3.6 คุณภาพน้ำ.. 33
3.7 การวิเคราะห์ผลการทดลอง... 33

4. ผลการทดลอง

4.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพของอาหาร…………………………………… 35
4.2 ผลการทดลองที่ 1 ผลของไลโคพีนต่อการเกิดสี การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ…………………………………………………………………. 36
4.3 ผลการทดลองที่ 2 ผลของไลโคพีนต่ออัตรารอดด้วยการทดสอบความต้านทานความเครียดของกุ้งกุลาดำ…………………………………………. 49
4.4 คุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการทดลอง…………………………………… 52

5. อภิปรายผลการวิจัย

5.1 อาหารทดลอง……………………………………………………………….. 53
5.2 ผลของไลโคพีนต่อการเกิดสี……………………………………………………… 53
5.3 ผลของไลโคพีนต่อการเติบโต…………………………………………………….. 54
5.4 ผลของไลโคพีนต่ออัตรารอด…………………………………………………... 55
5.5 คุณภาพน้ำ…………………………………………………………………….. 57

6. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการวิจัย………………………………………………………………… 58
6.2 ข้อเสนอแนะ………………………………………………………………… 58
รายการอ้างอิง……………………………………………………………………………… 60
ภาคผนวก………………………………………………………………………………...... 67
ภาคผนวก ก……………………………………………………………………… 68
ภาคผนวก ข……………………………………………………………………… 74
ภาคผนวก ค……………………………………………………………………… 75
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์……………………………………………………………….. 104

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 การดูดซึมไลโคพีนจากมะเขือเทศสดและมะเขือเทศที่ผ่านการให้ความร้อนแล้ว 23

2 ปริมาณไลโคพีนในอาหารและผลไม้ชนิดต่างๆ…………………………………. 25

3 ส่วนประกอบของอาหารทดลองแต่ละสูตรสำหรับเลี้ยงกุ้งกุลาดำ……………… 28

4 องค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารกุ้งกุลาดำที่ใช้ในการทดลอง………….. 35

5 ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมของอาหารกุ้งกุลาดำที่ใช้ในการทดลอง……………... 35

6 ค่าการสะท้อนแสงของกุ้งกุลาดำสดเมื่อวัดด้วยเครื่อง Spectroradiometer หลังจากได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์……………… 37

7 ค่าการสะท้อนแสงของกุ้งกุลาดำเมื่อวัดด้วยเครื่อง Spectroradiometer หลังจากได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์……………... 37

8 ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในตัวกุ้งกุลาดำที่ได้รับจากอาหารทดลองสูตรต่างๆ………………………………………………………………………... 41

9 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์……………………………………………………….... 42

10 ความยาวเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์……………………………………………………….... 43

11 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์……………………………………………………….... 44

12 ความยาวที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์……………………………………………………….... 45

13 อัตราการเติบโตจำเพาะของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์…………………………………………………........... 46

14 อัตรารอดของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์……………………………………………………….... 47

15 อัตรารอดของกุ้งกุลาดำเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์……………………………………………………......................... 48

ตารางที่ หน้า

16 น้ำหนักเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ความยาวเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์ความยาวที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำหลังจากทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์………………. 49

17 คุณภาพน้ำโดยเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำ………………. 52

18 คุณภาพน้ำที่สัตว์น้ำสามารถดำรงอยู่ได้อย่างปกติ…………………………….... 74

19 ผลวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอาหารแต่ละสูตร………………………. 75

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะทั่วไปของกุ้งกุลาดำ	5
2	โครงสร้างทางเคมีของ hydrogenated carotenoid derivatives	16
3	โครงสร้างทางเคมีของ Oxygenated carotenoid derivatives	17
4	ขบวนการแมทาบอลิซึมและการเปลี่ยนแปลงแคโรทีนอยด์ในกุ้งทะเล	19
5	โครงสร้างทางเคมีของไลโคพีน	21
6	โครงสร้างทางเคมีแบบ trans และ cis isomeric ของไลโคพีน	22
7	ระบบและสถานที่ดำเนินการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำ	30
8	ลักษณะและสีของอาหารทดลองสูตรที่ 1 – 4	36
9	ค่า Spectral power ของกุ้งกุลาดำ (สด) หลังจากให้อาหารทดลอง 4 สัปดาห์ ด้วยเครื่อง Spectroradiometer	38
10	ค่า Spectral power ของกุ้งกุลาดำ (สุก) หลังจากให้อาหารทดลอง 4 สัปดาห์ ด้วยเครื่อง Spectroradiometer	38
11	สีของกุ้งกุลาดำ (สด) หลังจากให้อาหารทดลอง 12 สัปดาห์	39
12	สีของกุ้งกุลาดำ (สุก) หลังจากให้อาหารทดลอง 12 สัปดาห์	39
13	ค่า Spectral power ของกุ้งกุลาดำ (สด) หลังจากให้อาหารทดลอง 12 สัปดาห์ ด้วยเครื่อง Spectroradiometer	40
14	ค่า Spectral power ของกุ้งกุลาดำ (สุก) หลังจากให้อาหารทดลอง 12 สัปดาห์ ด้วยเครื่อง Spectroradiometer	40
15	น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ	42
16	ความยาวเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ	43
17	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ	44
18	ความยาวที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ	45
19	อัตราการเติบโตจำเพาะของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ	46
20	อัตรารอดเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์	47

ภาพที่ หน้า

21 อัตรารอดเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์…………………………………................................... 48
22 อัตรารอด (%) จากการทดลองเปลี่ยนแปลงความเค็มอย่างฉับพลันของกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง…………………….. 50
23 อัตรารอด (%) จากการทดลองเปลี่ยนแปลงความเค็มอย่างฉับพลันของกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 72 ชั่วโมง…………………….. 50
24 อัตรารอด (%) จากการทดลองเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างฉับพลันของกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง…………………….. 51
25 อัตรารอด (%) จากการทดลองเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างฉับพลันของกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 72 ชั่วโมง…………………….. 51

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การผลิตกุ้งของไทยหลายปีที่ผ่านมาได้ค่อยๆปรับเปลี่ยนเป็นกุ้งขาว และการแข่งขันในเวทีระดับโลกทุกวันนี้หลายประเทศ เช่น เวียดนาม อินเดีย บังกลาเทศ และประเทศผู้ผลิตกุ้งกุลาดำรายใหญ่ของโลกหันมาให้ความสำคัญกับการผลิตกุ้งขาวและมีการเพาะเลี้ยงอย่างกว้างขวางเนื่องจากเลี้ยงง่ายและโตเร็ว ซึ่งส่งผลให้ผลผลิตมากกว่าความต้องการซื้อ (Over Supply) เกิดปัญหาสินค้าล้นตลาด จากเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้เกษตรกรกลับมาเพาะเลี้ยงและส่งออกกุ้งกุลาดำเพิ่มมากขึ้น เพราะความต้องการกุ้งกุลาดำในตลาดโลกก็ยังมีอยู่จำนวนไม่น้อย และอาจทำให้กุ้งกุลาดำกลับมาเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่ทำรายได้เป็นอันดับต้นๆ ของประเทศไทยได้อีกครั้ง แต่เนื่องจากปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นกับการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ทั้งจากสภาพแวดล้อม การเลี้ยงที่มีความหนาแน่นมากเกินไป คุณภาพน้ำไม่เหมาะสม อาหารไม่มีคุณภาพ มีการใช้ยาปฏิชีวนะมากเกินไป ส่งผลให้กุ้งกุลาดำโตไม่ได้ขนาดและคุณภาพตามที่ตลาดต้องการ อีกทั้งปัญหาทางการค้าอันเนื่องมาจากการขยายตัวของธุรกิจเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลในหลายประเทศทั่วโลก ส่งผลให้ประเทศไทยมีคู่แข่งทางการค้าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และพัฒนาการแข่งขันโดยผลิตกุ้งที่มีลักษณะตรงกับความต้องการของตลาด เช่น กุ้งที่มีสีแดงเข้มเป็นที่ต้องการของตลาดและขายได้ราคาดีกว่ากุ้งที่มีสีอ่อน เป็นต้น (Yamada et al., 1990)

ปัจจุบันมีการใช้สารสีแคโรทีนอยด์ (carotenoid pigment) เสริมในอาหารสัตว์น้ำเพื่อให้ผลผลิตมีคุณภาพด้านสีของเนื้อเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค (Halver, 1989 ; Menasveta et al., 1993) จากการศึกษาแคโรทีนอยด์ ชนิดเบต้า-แคโรทีนและแอสตาแซนทิน พบว่ามีส่วนเกี่ยวข้องโดยตรงกับการสะสมแอสตาแซนทินของกุ้ง เมื่อกุ้งกินอาหารที่มีแคโรทีนอยด์เข้าไปจะเกิดสะสมในร่างกาย ทำให้สีของตัวกุ้งเข้มขึ้น และเมื่อผ่านการต้มในกระบวนการแปรรูปจะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีแดงส้มที่ตรงกับความต้องการของผู้บริโภค (Lascha, 1991) ไลโคพีนเป็นสารอนุพันธุ์ชนิดหนึ่งในกลุ่มสารสีแคโรทีนอยด์ที่มีประสิทธิภาพมากในการต้านสารอนุมูลอิสระ (antioxidant) เพราะโครงสร้างทางเคมีของไลโคพีนประกอบด้วยพันธะคู่จำนวนมากทำให้สามารถจับกับออกซิเจนและป้องกันการเกิดออกซิเดชั่น ไลโคพีนมีโครงสร้างโมเลกุลที่ยาวกว่าแคโรทีนอยด์ชนิดอื่นๆ ทำให้ไลโคพีนเป็นแคโรทีนอยด์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด จากงานวิจัยพบว่าไลโคพีนเป็นสารที่ช่วยต่อต้านการเกิดหรือยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง อีกทั้งช่วยลดความเสี่ยง

ต่อการเกิดโรคหัวใจอันเนื่องมาจากคลอเรสเตอรอลในหลอดเลือดสูง มีงานวิจัยสนับสนุนว่า ผู้ชายที่รับประทานมะเขือเทศสุกประมาณ 10 ครั้งต่อสัปดาห์ จะช่วยลดการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมากได้ถึง 45% ส่วนผู้หญิงนั้นพบว่า มะเขือเทศช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งมดลูก นอกจากสรรพคุณในการเป็นสารต่อต้านมะเร็ง (Rao et al., 2006) แต่ยังไม่มีรายงานวิจัยในการนำไลโคพีนมาใช้ทางด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาเพื่อหาบทบาทของไลโคพีนต่อการปรับปรุงสี การเจริญเติบโตและอัตราการรอดในกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon*

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาผลของไลโคพีนต่อการเกิดสีในกุ้งกุลาดำ
2. ศึกษาผลของไลโคพีนต่อการเติบโตในกุ้งกุลาดำ
3. ศึกษาผลของไลโคพีนต่ออัตรารอดด้วยการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและความเค็มอย่างฉับพลันในกุ้งกุลาดำ

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. ทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารสำเร็จรูป 4 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 ไม่ผสมไลโคพีน สูตรที่ 2 ผสมไลโคพีน 50 มก./กก. สูตรที่ 3 ผสมไลโคพีน 100 มก./กก.และ สูตรที่ 4 ผสมไลโคพีน 200 มก./กก.

2. ทดสอบผลของไลโคพีนต่อการเกิดสี การเติบโตและอัตราการรอดในกุ้งกุลาดำ

3. ทดสอบความต้านทานความเครียดโดยการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและความเค็มอย่างฉับพลันของกุ้งกุลาดำเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

4. วิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ในอาหารและในตัวกุ้งกุลาดำ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เพื่อประโยชน์ในการเพิ่มสี การเติบโตและอัตราการรอดในกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* และเผยแพร่องค์ความรู้ เพื่อสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำให้มีคุณภาพดี และให้ผลผลิตเพิ่มมากขึ้น

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

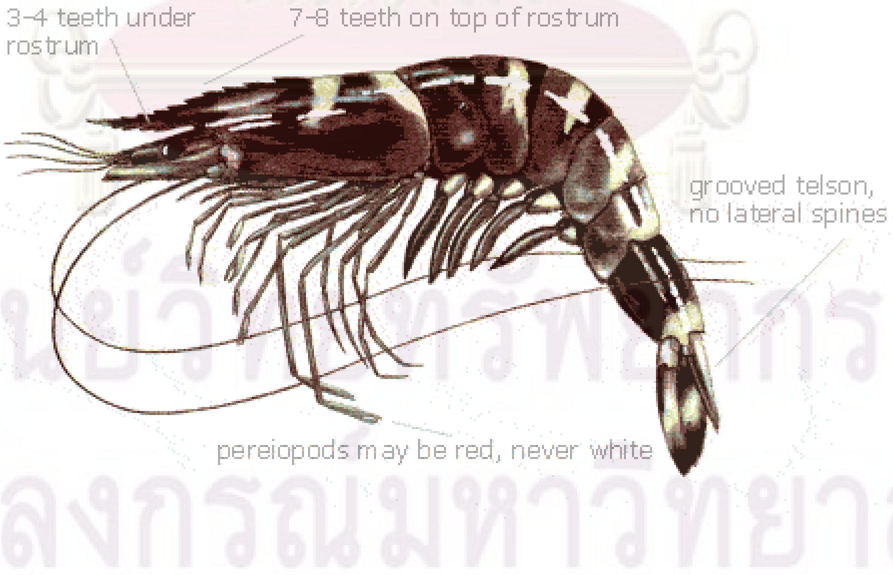
2.1 ชีววิทยาของกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำ หรือ กุ้งกุลา หรือ กุ้งม้าลาย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Penaeus monodon* และมีชื่อเป็นภาษาอังกฤษว่า Tiger prawn หรือ Jumbo tiger prawn กุ้งชนิดนี้อยู่ในวงศ์ Penaeidae ในขณะที่ยังมีชีวิตอยู่ลำตัวจะเป็นสีม่วงแดง มีแถบสีน้ำตาลหรือดำพาดขวาง ลำตัวเป็นปล้องๆ โคนขาว่ายน้ำมีแถบสีเหลืองเป็นปล้องๆ เปลือกหัวเกลี้ยงไม่มีขน หนวดมีสีดำ ไม่มีลาย พันกรีด้านบนมี 7– 8 ซี่ ด้านล่างมี 3 ซี่ ร่องข้างกรีทั้งสองด้านมีลักษณะแคบและยาวไม่ถึงฟันกรีอันสุดท้าย ที่ขาเดินคู่ที่ 5 ไม่มีระยางค์อันนอก (รูปที่ 1)

กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในวงศ์ Penaeidae ถิ่นอาศัยของกุ้งกุลาดำ ได้แก่ น่านน้ำแถบไต้หวัน เวียดนาม ไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ออสเตรเลียและอินเดีย กุ้งชนิดนี้อยู่ในเขตร้อนชอบอาศัยอยู่ในบริเวณน้ำลึก ห่างออกจากฝั่งและชอบพื้นทะเลที่เป็นดินทราย สามารถทนอยู่ในน้ำที่มีอุณหภูมิสูงและความเค็มต่ำ เช่น บริเวณป่าชายเลน เป็นกุ้งที่มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว กุ้งกุลาดำวางไข่ในทะเล กุ้งที่มีอายุประมาณ 12 –18 เดือนจะวางไข่ในทะเลลึกที่ระดับน้ำประมาณ 15 – 30 เมตร ใกล้กับพื้นท้องทะเลกุ้งขนาด 100 – 250 กรัม จะวางไข่ครั้งละประมาณ 1,000,000 – 1,200,000 ฟอง กุ้งชนิดนี้ส่วนมากจะผสมพันธุ์กันในเวลากลางคืน โดยตัวผู้จะสอดอวัยวะเพศที่เรียกว่า พีเทสมา (Petesma) เข้าไปในอวัยวะเพศเมียที่เรียกว่า ทีไรคัม (Thelycum) พร้อมกับปล่อยน้ำเชื้อเข้าไปเก็บไว้ในถุงเก็บน้ำเชื้อเพื่อรอโอกาสที่จะผสมกับไข่ในระยะหลัง เมื่อไข่แก่และสุกเต็มที่ก็จะถูกขับออกมาทางช่องเพศไข่ตรงโคนขาเดินคู่ที่3 และจะได้รับการผสมกับน้ำเชื้อตัวผู้ซึ่งจะไหลออกจากถุงเก็บน้ำเชื้อทางรูปเปิดเล็กๆ ที่บริเวณขาเดินคู่ที่ 4 ของตัวเมีย แม่กุ้งจะใช้เวลาวางไข่ครั้งหนึ่งๆ ประมาณ 3 – 5 นาที ไข่ที่ผสมแล้วขณะที่ปล่อยสู่น้ำทะเลใหม่ๆ จะมีลักษณะกลม ไข่จะค่อยๆ พัฒนาจนฟักเป็นตัว ภายในเวลาประมาณ 15 ชั่วโมง กุ้งวัยอ่อนจะวิวัฒนาการและเปลี่ยนรูปร่างไปตามขั้นตอน และเมื่อถึงบริเวณชายฝั่งก็จะเลี้ยงตัวอยู่ในบริเวณนี้จนกระทั่งโตเต็มวัยจึงอพยพกลับสู่ทะเลและผสมพันธุ์วางไข่ต่อไป

2.2 ลักษณะที่สำคัญของกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำเป็นสัตว์ที่มีเปลือกหุ้มหัวและตัว มีลักษณะเป็นแผ่นบางและค่อนข้างแข็ง มี 2 ชั้น ซ้อนกันอยู่ ประกอบด้วยสารไคติน โปรตีน และเกลือแคลเซียมคาร์บอเนตรวมอยู่กับไคตินค่อนข้างสูง เปลือกกุ้งกุลาดำจะแบ่งออกเป็นปล้องๆ แต่ละปล้องจะเชื่อมติดกัน เพื่อให้สะดวกในการเคลื่อนไหวของลำตัวและระยางค์ เปลือกกุ้งกุลาดำมีส่วนที่ยึดติดกับโครงร่างภายในด้วย กุ้งกุลาดำเจริญเติบโตโดยการเพิ่มจำนวนเซลล์ และขนาดเซลล์ของกล้ามเนื้อ กับการลอกคราบอย่างสัมพันธ์กันและต่อเนื่องกัน ก่อนลอกคราบกุ้งจะกินอาหารเต็มที่ เพื่อเตรียมสะสมอาหารและแร่ธาตุสำหรับสร้างเปลือกใหม่ เพราะในกระบวนการลอกคราบ กุ้งกุลาดำต้องการใช้แร่ธาตุจำนวนมาก เมื่อมีการลอกคราบ เปลือกเก่าจะถูกสลัดทิ้งเมื่อเปลือกใหม่ภายในถูกสร้างเสร็จ โดยเปลือกใหม่จะมีขนาดใหญ่กว่าเดิม เพื่อให้ตัวกุ้งกุลาดำเจริญเติบโตขึ้นหรือมีขนาดใหญ่ขึ้น เปลือกใหม่จะมีการแข็งตัวขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีการสะสมแคลเซียมไว้ หลังจากตัวกุ้งกุลาดำมีเปลือกใหม่ที่ขนาดใหญ่กว่าเดิม ก็จะเป็นช่วงที่กุ้งกุลาดำเจริญเติบโตสร้างเนื้อจนเต็ม ก็จะเริ่มสะสมอาหารและแร่ธาตุเพื่อลอกคราบใหม่


3-4 teeth under rostrum
7-8 teeth on top of rostrum
grooved telson, no lateral spines
pereiopods may be red, never white

รูปที่ 1 ลักษณะทั่วไปของกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำหายใจทางเหงือกและผิวหนัง เนื่องจากออกซิเจนสามารถซึมผ่านผิวหนังเข้าไป เพื่อใช้ในการหายใจได้ แต่หลักๆแล้วกุ้งกุลาดำต้องใช้เหงือกในการหายใจ การหายใจเป็นสิ่งสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิด เหงือกที่กุ้งกุลาดำใช้หายใจจึงมีความสำคัญมาก เหงือกของกุ้งกุลาดำนั้นบอบบาง ถ้ากระทำรุนแรงกับมัน เช่น ใส่สารเคมีที่มีฤทธิ์กัดกร่อนในปริมาณมากเกินไป สามารถทำให้เหงือกบอบช้ำและเปื่อยยุ่ยได้ นอกจากนี้ เหงือกกุ้งกุลาดำมีลักษณะเป็นซี่ๆ ง่ายต่อการเกาะติดของตะกอยต่างๆ หรือโปรโตซัวที่เป็นโทษต่อกุ้งกุลาดำ เช่น ซูโอแทมเนียม ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพในการหายใจลดลง และส่งผลให้เกิดการอ่อนแอได้

การกินอาหารของกุ้งกุลาดำจะใช้หนวดคู่ที่ 2 และคู่ที่ 3 คอยจับอาหารเม็ดหรือเหยื่อที่มีขนาดพอจะจับได้ส่งเข้าปาก การให้อาหารเม็ดควรให้ขนาดพอเหมาะกับระยางค์ดังกล่าวที่คอยจับอาหาร จะช่วยให้กุ้งกินอาหารได้ดี ส่งผลที่ดีต่อการเติบโต และสุขภาพของตัวกุ้งกุลาดำ สำหรับการหาอาหารของกุ้งกุลาดำ จะมีเส้นประสาทรับความรู้สึกทางกลิ่นที่หนวด บริเวณปาก ขาเดิน หัว เหงือก ลำตัว และแพนหาง เพราะฉะนั้น ถ้าอาหารที่ให้มีกลิ่นดึงดูดดี จะทำให้กุ้งกุลาดำสามารถหาอาหารได้เร็วขึ้น

ระบบการย่อยอาหารภายในของตัวกุ้งกุลาดำ มีปากทำหน้าที่บดหรือฉีกอาหารให้มีขนาดเล็กลง แล้วลงสู่การย่อยโดยเอนไซม์ ส่วนที่ย่อยไม่หมดก็จะผ่านลงไปถึงต่อมน้ำย่อยและถูกย่อยอีกครั้ง แต่เนื่องจากกุ้งกุลาดำมีลำไส้ตรงและสั้น อาหารที่ให้จึงควรย่อยง่าย และหากสารอาหารที่ย่อยเป็นสารละลาย ควรอยู่ในรูปที่สามารถดูดซึมเข้าไปเลี้ยงร่างกายได้ดี

ระบบการหมุนเวียนเลือดของกุ้งกุลาดำเป็นระบบเปิด ประกอบด้วย หัวใจ แอ่งเลือด และน้ำเหลือง เลือดจากหัวใจจะไหลเข้าไปในแอ่งเลือด แล้วไหลไปเลี้ยงเนื้อเยื่อของเซลล์ในร่างกาย องค์ประกอบของเลือดกุ้งกุลาดำประกอบด้วยแร่ธาตุสำคัญ คือ C, N, H, S และ Cu เลือดของกุ้งกุลาดำที่เป็นสีน้ำเงิน เนื่องจากมีธาตุ Cu เป็นองค์ประกอบอยู่

การขับถ่ายของเสียของกุ้งกุลาดำ อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการขับถ่าย ได้แก่ เปลือก ต่อม โคนขา และบริเวณเหงือก สำหรับของเสียที่เป็นกากอาหาร จะถูกขับถ่ายออกมาทางรูทวาร ของเสียที่ถูกขับออกมาจะอยู่ในรูปแอมโมเนีย กรดยูริค และมียูเรียกับของเสียในรูปไนโตรเจนเล็กน้อย

2.3 ปัญหาที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ มีดังนี้

2.3.1. ปัญหากุ้งโตช้า อาจเนื่องจากวิธีการเลี้ยง โดยแบ่งสาเหตุได้ดังนี้

1) ลูกกุ้งมีขนาดเล็กเกินไป ในช่วงที่ลูกกุ้งขาดตลาด เกษตรกรมักจะปล่อยลูกกุ้งขนาดเล็กกว่าปกติ ซึ่งอาจจะมีความยาวไม่ถึง 1 เซนติเมตร ดังนั้นหากการเตรียมบ่อไม่เหมาะสม มีอาหารธรรมชาติน้อย ลูกกุ้งซึ่งมีขนาดเล็กไม่สามารถหาอาหารเองได้ จึงทำให้โตช้ากว่ากุ้งที่มีขนาดใหญ่กว่า

2) ปล่อยลูกกุ้งความหนาแน่นสูงเกินไป ถ้าเกษตรกรปล่อยลูกกุ้งความหนาแน่นสูงก็จะมีการให้อาหารในอัตราที่สูงตามไปด้วย หากมีอาหารเหลือสะสมที่พื้นบ่อหรือเกิดการเน่าเสียของพื้นบ่อขึ้นในบางจุด ก็จะทำให้กุ้งไม่สามารถหาอาหารกินได้ในบริเวณดังกล่าว ทำให้ลูกกุ้งที่อ่อนแอมีการเจริญเติบโตช้ากว่ากุ้งที่แข็งแรงที่อาศัยอยู่บริเวณที่สะอาด

3) ปัญหาการเตรียมอาหารธรรมชาติไม่ได้ หากเกษตรกรมีการใช้เคมีภัณฑ์เพื่อฆ่าเชื้อและพาหะในการเตรียมน้ำ ซึ่งจะทำให้สิ่งมีชีวิตต่างๆในน้ำถูกทำลายไปจนเกือบหมดในช่วง 1 – 2 สัปดาห์แรก ดังนั้นการเพิ่มอาหารธรรมชาติในบ่อดังกล่าวจะทำได้ยาก ต้องใช้เวลานาน เกษตรกรบางรายปล่อยลูกกุ้งในขณะที่อาหารธรรมชาติยังมีน้อย จึงทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตช้า

4) ปัญหากุ้งโตช้าในระยะปลายของการเลี้ยง เป็นปัญหาที่สัมพันธ์กับสภาพของพื้นบ่อและคุณภาพน้ำ ทำให้ระยะเวลาการเลี้ยงนานขึ้น ประกอบกับในปัจจุบันนี้มีการเลี้ยงแบบระบบปิด ซึ่งในระยะปลายการเลี้ยงถ้าหากมีสารอินทรีย์สะสมในบ่อมากเกินไป จะทำให้เกิดปัญหาคุณภาพน้ำเสื่อมโทรม กุ้งกินอาหารน้อยลง อ่อนแอ และทยอยตายได้

2.3.2. ปัญหากุ้งมีอัตรารอดตายต่ำ อัตรารอดของกุ้งในขณะจับขายจะมีแนวโน้มลดลงมาก ซึ่งอาจแบ่งได้เป็น 2 กรณี คือ

1) อัตรารอดตายต่ำตั้งแต่ระยะ 2 เดือนแรก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสาเหตุหลัก 2 ประการ คือ ปัญหาคุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงคือ ความเค็มและค่าอัลคาไลน์ (ความเป็นด่าง) ต่ำเกินไป โดยเกษตรกรยังมีความเชื่อว่ากุ้งกุลาดำสามารถเลี้ยงในน้ำจืดได้ จึงไม่ได้ให้ความสำคัญกับความเค็มของน้ำมากนัก และอีกปัญหาหนึ่ง คือ คุณภาพน้ำในคอกที่ปล่อยกุ้งและน้ำที่อยู่ภายในบ่อแตกต่างกันมากทำให้ลูกกุ้งไม่สามารถปรับตัวได้หากใช้เวลาในการผสมน้ำในคอกและในบ่อสั้นเกินไป แต่ถ้าอนุบาลลูกกุ้งในคอกนานเกินไปน้ำอาจเน่าเสียได้เช่นกัน นอกจากนี้ในพื้นที่

ความเค็มต่ำอาจพบปัญหาตัวอ่อนของแมลงน้ำต่าง ๆ เกิดขึ้นในบ่อเป็นจำนวนมาก ซึ่งจะกินลูกกุ้งในระยะที่เพิ่งปล่อยใหม่ๆ ดังนั้นก่อนการปล่อยลูกกุ้งควรตรวจสอบดูว่ามีตัวอ่อนของแมลงต่าง ๆ อยู่หรือไม่ โดยเฉพาะตัวอ่อนของแมลงปอ หากพบควรจะใช้อวนลากออกก่อนที่จะปล่อยลูกกุ้ง

2) อัตรารอดต่ำในระยะปลายของการเลี้ยง ในบ่อที่มีการปล่อยลูกกุ้งในอัตราความหนาแน่นสูงในระบบปิดที่ไม่มีการถ่ายน้ำ หรือถ่ายน้ำได้น้อย สภาพแวดล้อมภายในบ่อจะเสื่อมโทรมได้เร็วมาก ซึ่งจะสังเกตได้ว่าการกินอาหารของกุ้งและการเจริญเติบโตในช่วงหลังจากเลี้ยงกุ้งประมาณ 60 - 70 วัน จะต่ำลงเรื่อย ๆ และพบกุ้งป่วยที่มีลำตัวสกปรกเกาะตามขอบบ่ออยู่เสมอ ๆ ซึ่งกุ้งบางส่วนก็จะทยอยตายไปเรื่อย ๆ จนทำให้ผลผลิตต่ำและเลี้ยงกุ้งไม่ได้ขนาดดังกล่าวมาแล้วข้างต้น การแก้ปัญหาในระยะปลายการเลี้ยงจะทำได้ยากมาก ดังนั้นเกษตรกรควรจะต้องมีการเตรียมการและวางแผนการเลี้ยงกุ้งให้เหมาะสมกับฤดูกาลด้วย

2.3.3. **ปัญหาสารตกค้าง** เกิดขึ้นในช่วงปลายปี พ.ศ. 2545 ซึ่งได้ส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมกุ้งของไทยรุนแรงที่สุด สาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดปัญหายาตกค้างในกุ้งกุลาดำนั้น เป็นปัญหาที่ต่อเนื่องมาจากสองปัญหาแรกที่กล่าวมาแล้วคือ เกษตรกรประสบกับปัญหากุ้งโตช้า อัตรารอดตายต่ำจากสาเหตุต่างๆ ทำให้มีการใช้อาหารเสริม ยา และเคมีภัณฑ์ต่างๆ มากขึ้น เช่น มีการเติมสารต้านจุลชีพในกลุ่มไนโตรฟูแรนส์ และคลอแรมเฟนิคอล ซึ่งเป็นยาต้องห้ามในการใช้กับสัตว์เพื่อบริโภคในกลุ่มประเทศผู้นำเข้า จึงทำให้เกิดปัญหารุนแรงมากเมื่อมีการตรวจพบยาตกค้างในผลิตภัณฑ์กุ้ง ทำให้ต้องมีการสร้างระบบในการควบคุมและตรวจสอบคุณภาพสินค้ารวมทั้งระบบการรับรองคุณภาพของแหล่งผลิตกุ้งทุกขั้นตอน

2.3.4. **การจัดการคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ** การเลี้ยงกุ้งกุลาดำในทุกระบบไม่ว่าจะเป็นการเลี้ยงด้วยน้ำความเค็มปกติ ความเค็มต่ำ การเลี้ยงโดยใช้ระบบน้ำหมุนเวียนหรือระบบปิดก็ตาม การจัดการเรื่องคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงมีความสำคัญมาก ผู้เลี้ยงกุ้งต้องมีความรู้และเข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น เพื่อหาแนวทางในการป้องกันและแก้ไขเพื่อลดปัญหาต่าง ๆ ที่อาจจะมีผลต่อสุขภาพของกุ้งและการเจริญเติบโตทำให้ผลผลิตต่ำ คุณสมบัติของน้ำที่มีความสำคัญในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีดังนี้

1) ความเค็ม (Salinity) กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งทะเลที่มีความสามารถทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของความเค็มได้ในช่วงกว้าง และถ้าความเค็มเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างช้าๆ สามารถปรับตัวอยู่ที่ความเค็มเป็นศูนย์เป็นเวลานานประมาณ 30 วัน หรือความเค็มที่เพิ่มขึ้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จนถึง 45 พีพีที (ส่วนในพันส่วน) แต่ความเค็มที่เหมาะสมและเติบโตดีที่สุดถ้าไม่มีปัญหาเรื่องโรค คืออยู่ระหว่าง 15-20 พีพีที แต่ในปัจจุบันพบว่าการเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่ความเค็ม 3-10 พีพีทีจะง่ายกว่าการเลี้ยงด้วยน้ำทะเลความเค็มปกติ คือ ความเค็มระหว่าง 30-35 พีพีที เนื่องจากน้ำที่มีความเค็มต่ำมีปัญหาจากโรคน้อย โดยเฉพาะปัญหาจากโรคแบคทีเรียเรืองแสงและแพลงก์ตอนในกลุ่มไดโนแฟลกเจลเลต เกษตรกรหลายรายจึงได้หันมาเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยน้ำความเค็มต่ำมากขึ้น

2) ความเป็นกรดเป็นด่างหรือพีเอช (pH) พีเอชของน้ำมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของกุ้งกุลาดำมาก เนื่องจากพีเอชมีผลต่อคุณสมบัติของน้ำตัวอื่น ๆ เช่น มีผลต่อความเป็นพิษของแอมโมเนีย ไนไตรท์ และไฮโดรเจนซัลไฟด์ เป็นต้น พีเอชของน้ำที่เหมาะสมแก่การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ควรอยู่ระหว่าง 7.5 - 8.5 และความแตกต่างของพีเอชในรอบวันไม่ควรมากกว่า 0.5 การเปลี่ยนแปลงของพีเอชในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น คุณสมบัติของดิน ค่าความเป็นด่าง (อัลคาไลน์นิตี้) การผลิตและการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำซึ่งส่วนใหญ่จะขึ้นอยู่กับปริมาณแพลงก์ตอนพืช การเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำในรอบวันมากเกินไปจะมีผลทำให้กุ้งเครียดมีผลต่อการเจริญเติบโตด้วย การแก้ปัญหาโดยการลดปริมาณแพลงก์ตอนหรือถ่ายน้ำมากขึ้นเพื่อลดความเข้มของสีน้ำ หรือในกรณีที่ค่าอัลคาไลน์ในน้ำต่ำจำเป็นต้องมีการเติมวัสดุปูน เพื่อเพิ่มระดับค่าอัลคาไลน์จะทำให้พีเอชของน้ำตอนเช้า และตอนบ่ายเปลี่ยนแปลงน้อยลง ส่วนในกรณีที่พีเอชตอนบ่ายสูงมากในบ่อที่มีสีน้ำเข้มจัดเนื่องจากมีการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ไปในการสังเคราะห์แสงมากการเปิดเครื่องให้อากาศแบบเคล้าน้ำแทนการใช้เครื่องให้อากาศแบบใบพัดตีน้ำจะทำให้การเพิ่มจำนวนของแพลงก์ตอนไม่มากนักซึ่งมีผลให้พีเอชของน้ำตอนบ่ายไม่สูงจนเกินไป

3) ค่าอัลคาไลน์ในน้ำหรืออัลคาไลนิตี้ (Alkalinity) ค่าความเป็นด่างหรือที่เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งนิยมเรียกกันว่า ค่าอัลคาไลน์ มีความสำคัญมากในการเพาะเลี้ยงกุ้ง ซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับอัตรารอดและการเติบโตของกุ้งกุลาดำและกุ้งทะเลทุกชนิด ค่าอัลคาไลน์ที่เหมาะสมกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำอยู่ระหว่าง 80-150 พีพีเอ็ม (มิลลิกรัม/ลิตร) โดยทั่วไปการรักษาระดับอัลคาไลน์ให้คงที่นั้นจะใช้วัสดุปูนในกลุ่มคาร์บอเนต ส่วนการเพิ่มอัลคาไลน์อาจใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตหรือโซเดียมคาร์บอเนตแล้วแต่ระดับพีเอชของน้ำ น้ำที่มีค่าอัลคาไลน์ต่ำส่วนมากจะพบในบริเวณที่ดินเป็นกรดจัด ลูกกุ้งระยะที่เพิ่งปล่อยลงในบ่อจะลอกคราบไม่สำเร็จในลักษณะคราบติดหัวและตาย ทำให้มีอัตรารอดต่ำ ระดับต่ำสุดที่พบว่าลูกกุ้งไม่ตาย แต่การเจริญเติบโตช้ามาก คือ ค่าอัลคาไลน์ 40 พีพีเอ็ม แต่พีเอชตอนเช้ามืดต้องไม่ต่ำกว่า 7.5 ถ้าอัล

คาไลน์เพียง 40 พีพีเอ็มและพีเอชต่ำกว่า 7.5 ลูกกุ้งจะลอกคราบไม่ออกและตาย ในบ่อที่มีสาหร่ายหรือพันธุ์ไม้น้ำขนาดใหญ่จำนวนมากมีผลทำให้ค่าอัลคาไลน์ลดลงได้เช่นเดียวกัน ในบ่อที่น้ำความเค็มต่ำควรนำสาหร่ายเหล่านี้ขึ้นจากบ่อให้มากที่สุด เพื่อป้องกันการลดลงของค่าอัลคาไลน์และการมีสาหร่ายมากจะทำให้น้ำใส กุ้งจะกินอาหารไม่ดี

4) ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolved oxygen) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีผลต่อการกินอาหาร การเจริญเติบโตและสุขภาพกุ้ง ถ้าปริมาณออกซิเจนต่ำเกินไปอาจมีผลทำให้กุ้งตายได้ ความสามารถในการละลายของออกซิเจนในน้ำขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความเค็ม น้ำที่มีความเค็มและอุณหภูมิเพิ่มขึ้น ออกซิเจนละลายได้น้อยลง ปัญหาการขาดออกซิเจนในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำจะพบในบ่อเลี้ยงกุ้งที่ปล่อยกุ้งไปในปริมาณมากหรือกุ้งมีอัตรารอดสูงมาก แต่มีเครื่องให้อากาศไม่เพียงพอ โดยเฉพาะในช่วงเดือนสุดท้าย ในบ่อที่มีกุ้งหนาแน่น เมื่อมีการให้อาหารในปริมาณที่มากในแต่ละวัน อาหารที่เหลือและของเสียที่กุ้งขับถ่ายออกมามากนั้นจะมีการดึงออกซิเจนไปใช้ในการย่อยสลายสิ่งเหล่านี้ รวมทั้งการหายใจของแพลงก์ตอนที่มีหนาแน่นและการหายใจของกุ้งที่มีขนาดใหญ่ขึ้นในบ่อจะมีผลทำให้ออกซิเจนในตอนเช้าลดต่ำลงมามาก ถ้าออกซิเจนต่ำกว่า 3.0 พีพีเอ็ม กุ้งจะไม่แข็งแรง การกินอาหารจะลดต่ำลงกว่าปกติ ในช่วงที่กุ้งกำลังลอกคราบ ถ้าระดับออกซิเจนต่ำกุ้งอาจจะลอกคราบแล้วตายได้ ดังนั้นควรจะวัดค่าออกซิเจนอย่างสม่ำเสมอเป็นประจำวันอย่างน้อยวันละครั้งในช่วงเช้า หรือวันละหลาย ๆ ครั้งสำหรับบ่อที่มีการเลี้ยงกุ้งอย่างหนาแน่น เพื่อเป็นข้อมูลในการเลี้ยง และเป็นแนวทางในการเลี้ยงกุ้งในรุ่นต่อ ๆ ไป การแก้ปัญหาเรื่องการขาดออกซิเจนในบ่อที่มีกุ้งอย่างหนาแน่นและกุ้งมีขนาดใหญ่ ต้องมีเครื่องให้อากาศและการเปลี่ยนถ่ายน้ำอย่างพอเพียง

5) สารประกอบไนโตรเจน (แอมโมเนีย และไนไตรท์) แอมโมเนียเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษต่อกุ้งและสัตว์น้ำอื่นๆ ยกเว้นแพลงก์ตอนพืชและแบคทีเรียที่ใช้แอมโมเนียเป็นอาหาร แอมโมเนียที่พบอยู่ในน้ำจะอยู่ใน 2 รูปแบบ คือ แอมโมเนีย (NH_3) ซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ และแอมโมเนียมอิออน (NH_4^+) ซึ่งไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ในการวัดแอมโมเนียโดยทั่วไปจะวัดรวมทั้งสองรูปแบบ แอมโมเนียทั้งสองรูปแบบนี้จะเปลี่ยนกลับไปกลับมาตามพีเอชของน้ำและอุณหภูมิของน้ำ โดยเฉพาะพีเอชของน้ำที่สูงขึ้นอัตราส่วนของแอมโมเนีย (NH_3) จะสูงขึ้น ทำให้ความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำมีมากขึ้น แต่ถ้าพีเอชของน้ำลดลง แอมโมเนียในรูปแอมโมเนียมอิออนจะมีในอัตราส่วนที่มากขึ้น ทำให้ความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำลดลง การป้องกันหรือแก้ปัญหาเรื่องความเป็นพิษของแอมโมเนียและไนไตรท์สูง โดยการควบคุมปริมาณอาหารไม่ให้เหลือ กับ

การควบคุมค่าของพีเอชในบ่อให้อยู่ระหว่าง 7.5 - 8.5 อีกทั้งมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำและการให้อากาศที่พอเพียง ปัญหาความเป็นพิษจากสารประกอบไนโตรเจนทั้งสองตัวนี้จะหมดไป

2.3.5. **ต้นทุนการผลิตกุ้งกุลาดำ** การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีต้นทุนการผลิตที่สูงกว่ากุ้งชนิดอื่นๆ ในเรื่องของระยะเวลาในการเลี้ยงและค่าอาหาร แต่ปัจจุบันนี้พืชผลการเกษตรอื่น ๆ ต่างประสบปัญหาราคาตกต่ำ ในขณะที่กุ้งกุลาดำราคากลับสูงขึ้นมากเนื่องจากผลผลิตจากประเทศอื่น ๆ ลดลง เกษตรกรบางรายอาจมีปัญหาเลี้ยงแล้วเกิดการขาดทุนเนื่องจากการดูแลจัดการฟาร์มกุ้งไม่ดีเท่าที่ควร การแก้ปัญหาต่าง ๆ ที่รัฐบาลควรจะช่วยส่งเสริม เช่น

1) ลดต้นทุนในการผลิต โดยใช้ความรู้และวิชาการต่าง ๆ มาพัฒนาการเลี้ยงให้สามารถแข่งขันกับต่างประเทศ ในอนาคตลดการใช้ยาเคมีต่าง ๆ หันมาใส่ใจกับสิ่งแวดล้อมและผลกระทบระยะยาวในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

2) พัฒนาระบบการเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่ไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม หรือมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด เพราะทางประเทศทางสหภาพยุโรปและสหรัฐอเมริกาจะใช้เป็นข้ออ้างที่จะกีดกันทางการค้า โดยอ้างว่ามีผลกระทบสิ่งแวดล้อม

3) การผลิตกุ้งกุลาดำมีคุณภาพดี ปลอดสารพิษ ไม่ใช้ยาฆ่าเชื้อ กำหนดมาตรฐานคุณภาพสินค้า ตั้งแต่การเลี้ยงในฟาร์มกระทั่งจับขายและขั้นตอนต่าง ๆ ในโรงงานที่ผลิตสินค้าเพื่อให้แน่ใจว่ามีคุณภาพดีปลอดภัยต่อผู้บริโภค

เมื่อกุ้งมีการเติบโตที่ดี อัตราการรอดสูงขึ้น ไม่มีการใช้ยาหรือสารปฏิชีวนะในขั้นตอนการเพาะเลี้ยง ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตลดลง ผู้เลี้ยงกุ้งมีรายได้มากขึ้นและทำให้ผลผลิตโดยรวมกุ้งของประเทศไทยมีคุณภาพสูงขึ้น ไม่มีการตกค้างหรือปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะ ทำให้ประเทศคู่ค้าที่ซื้อกุ้งจากประเทศไทยไม่สามารถยกประเด็นการตกค้างของยามากีดกันหรือใช้เป็นข้ออ้างเพื่อกดราคา หรือไม่ซื้อกุ้งจากประเทศไทย อันนำมาซึ่งความมั่นคงของธุรกิจการเลี้ยงกุ้งของและผลผลิตกุ้งของประเทศไทยในตลาดโลกอย่างแท้จริง

2.4 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัญหาสำคัญอย่างหนึ่งของการเลี้ยงกุ้งกุลาดำคือ อาหาร ซึ่งเป็นปัจจัยการผลิตที่มีผลกระทบต่อต้นทุนมากกว่า 50 % การเลี้ยงกุ้งกุลาดำจำเป็นต้องใช้อาหารและอาหารที่กุ้งกินไปนั้นควรเป็นอาหารที่มีคุณภาพดี มีรูปแบบ ขนาด และปริมาณที่เหมาะสมตามความต้องการของกุ้ง

แต่ละระยะ เพราะอาหารจะถูกเปลี่ยนแปลงเป็นเนื้อของกุ้งเอง วิธีการกินและการเปลี่ยนแปลงอาหารของกุ้งกุลาดำมีกระบวนการที่เกิดขึ้นอย่างมีระบบแต่สลับซับซ้อนและเชื่อมโยงเกี่ยวพันกับปัจจัยภายในตัวและภายนอกหลาย ๆ ด้าน ผู้ผลิตจึงจำเป็นต้องทราบถึงความต้องการสารอาหารของกุ้งกุลาดำ การคัดเลือกชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่นำมาใช้ผลิต วิธีคำนวณสูตรอาหารให้มีคุณภาพดี มีสัดส่วนของสารอาหารต่างๆ ครบทั้งคุณภาพและปริมาณที่เหมาะสมตามความต้องการของกุ้งในระยะนั้นๆ ไม่เพียงแต่ช่วยเพิ่มการเติบโต เพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร ทั้งยังช่วยป้องกันหรือยืดอายุของน้ำและดินก้นบ่อให้ไม่เสียหรือเสียช้าลง (มะลิ บุณยรัตผลิน, 2530) ส่งผลให้บ่อเพาะเลี้ยงกุ้งไม่เน่าเสียและไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

2.4.1 **อาหารสำเร็จรูปสำหรับกุ้งกุลาดำ**

อาหารที่ใช้ในการอนุบาลกุ้งกุลาดำวัยอ่อนแบ่งเป็นอาหารมีชีวิต และอาหารไม่มีชีวิต อาหารมีชีวิต ได้แก่ แพลงก์ตอนพืช เช่น คีโตเซอรอส สเกลลีโตนีมา และแพลงก์ตอนสัตว์ เช่น โรติเฟอร์ อาร์ทีเมีย เป็นต้น อาหารไม่มีชีวิตได้แก่ ยีสต์ สไปรูลินาผง ไข่ตุ๋น และอาหารสำเร็จรูป ปัจจุบันมีการใช้อาหารสำเร็จรูปเป็นจำนวนมาก เนื่องจากการขยายพันธุ์แพลงก์ตอนพืชมีขั้นตอนยุ่งยาก และประสบปัญหาหลายประการ เช่น อุณหภูมิไม่เหมาะสม แสงไม่เพียงพอ ผลผลิตไม่แน่นอน มีการปนเปื้อนเชื้อรา แบคทีเรีย และโปรโตซัว เป็นต้น นอกจากนี้ไข่อาร์ทีเมียมีราคาแพงทำให้ต้นทุนการผลิตกุ้งสูงขึ้น (อดุลย์ แมเร๊าะ, 2542) พบว่าการอนุบาลกุ้งกุลาดำโดยใช้อาร์ทีเมียเพียงอย่างเดียวมีต้นทุนค่าอาหารสูงกว่าการอนุบาลด้วยอาร์ทีเมียร่วมกับไข่ตุ๋นหรืออาหารผงถึง 3 เท่า โดยผลผลิตไม่แตกต่างกัน ด้วยเหตุนี้อาหารผงสำเร็จรูปจึงเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เนื่องจากอาหารสำเร็จรูปสามารถควบคุมโภชนาการได้ง่าย เก็บรักษาได้นาน มีขนาดสม่ำเสมอและคุณค่าทางอาหารค่อนข้างแน่นอนครบถ้วนตามความต้องการของกุ้ง สามารถนำไปใช้ในการเลี้ยงกุ้งระยะต่างๆ ตามความเหมาะสม องค์ประกอบทางโภชนาการที่สำคัญในการเพิ่มการเจริญเติบโตแก่กุ้งกุลาดำวัยอ่อน ได้แก่ โปรตีน กรดอะมิโน ไขมัน กรดไขมัน คาร์โบไฮเดรต เกลือแร่ และวิตามิน เป็นต้น นอกจากนี้การเสริมอาหารจำเป็นบางชนิดในอาหารสำเร็จรูปยังช่วยเพิ่มอัตราการรอด และการเติบโตของกุ้งกุลาดำได้ สารอาหารดังกล่าวได้แก่ เลซิทิน คลอเรสเทอรอล (Paibulkichakul et al., 1998) และรงควัตถุแคโรทีนอยด์

การให้อาหารที่มีคุณภาพดีทำให้กุ้งโตเร็วในระยะเวลาเลี้ยงที่สั้นลง อัตราแลกเนื้อต่ำเป็นการลดต้นทุนการผลิตด้านค่าอาหาร อัตรารอดสูงขึ้นเนื่องจากกุ้งไม่กินกันเองและมีความแข็งแรงทนทานต่อโรค ทำให้ผลผลิตกุ้งสูงขึ้น ดังนั้นจึงมีการทดลองอาหารเพื่อให้กุ้งกุลาดำกินและใช้ประโยชน์จากอาหารได้เต็มที่ เป็นการลดต้นทุนค่าอาหารและเพิ่มผลผลิต จากการศึกษาผลของแอสตาแซนทินต่อการเกิดสีของกุ้งกุลาดำพบว่ากุ้งกุลาดำวัยรุ่นที่เลี้ยงในถังจุน้ำ 200 ลิตรด้วยอาหารที่เสริมแอสตาแซนทินในอัตรา 50 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม และแคนตาแซนติน 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม แก้ปัญหาการเกิดสีฟ้าในกุ้งได้ (จารึก ชูสุวรรณ์, 2534) และมีการศึกษาผลของแคนตาแซนตินและแอสตาแซนทินที่ระดับต่าง ๆ ต่อสีของกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ปรากฏว่าทั้งแคนตาแซนตินและแอสตาแซนทินมีส่วนช่วยปรับปรุงสีของกุ้งกุลาดำและช่วยให้กุ้งสีฟ้าลดจำนวนลง แอสตาแซนทินมีประสิทธิภาพสูงกว่าแคนตาแซนตินประมาณ 2.8 เท่า กุ้งสะสมสารรงควัตถุในเนื้อเยื่อในรูปของแอสตาแซนทินเป็นส่วนใหญ่ การเสริมแอสตาแซนทิน 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 4 สัปดาห์เพียงพอที่จะช่วยให้กุ้งมีสีได้มาตรฐานตามที่ตลาดต้องการ แต่การเสริมสารรงควัตถุทั้ง 2 ชนิด ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของกุ้ง ในสภาพการเลี้ยงในโรงเรือน (มะลิ บุณยรัตผลิน และคณะ, 2537)

จากการทดลองของนิติ ชูเชิด (2538) ศึกษาถึงผลของแอสตาแซนทินต่ออัตราการเจริญเติบโต การรอดตาย และความทนทานต่อเชื้อแบคทีเรียของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในสภาพความเค็มต่ำ พบว่ากุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา15 ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมแอสตาแซนทินอัตรา 0.625 กรัม/กิโลกรัม ในบ่อดินที่น้ำที่มีความเค็มต่ำ นาน 112 วัน โตดีกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมแอสตาแซนทิน แต่อัตรารอดของกุ้งทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน อัตรารอดของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมแอสตาแซนทินในอัตราและในน้ำที่มีความเค็มดังกล่าวนาน 7 วัน ก่อนฉีดด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio alginolyticus* และ *V. parahaemolyticus* ไม่แตกต่างจากกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมแอสตาแซนทินในบ่อดินที่น้ำมีความเค็ม 0-5 ส่วนในพัน อาหารเสริมแอสตาแซนทินในอัตรา 625 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ทำให้กุ้งระยะโพสต์ลาวา 15 โตดีกว่าแต่ไม่ช่วยต้านทานเชื้อแบคทีเรียเมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมแอสตาแซนทิน รวมทั้งมีการศึกษาผลระหว่างการเสริมแอสตาแซนทินจากสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* และแอสตาแซนทินสังเคราะห์ต่อกุ้งกุลาดำวัยอ่อน พบว่าอาหารเสริมแอสตาแซนทินจากสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ทำให้กุ้งกุลาดำระยะซูเอีย ไมซิส และโพสต์ลาวา ที่อนุบาลในตู้กระจกจุน้ำ 4 ลิตร นาน 15 วัน มีความยาวมากกว่ากุ้งที่อนุบาลด้วยอาหารทดลองอื่น อาหารเสริมแอสตาแซนทินจากสาหร่ายและ

อาหารมีชีวิต ทำให้กุ้งระยะไมซิสมีอัตรารอดไม่แตกต่างกัน แต่สูงกว่าอาหารไม่เสริมแอสตาแซนทินและอาหารเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ อาหารเสริมแอสตาแซนทินจากสาหร่ายทำให้กุ้งระยะโพสต์ลาวามีอัตรารอดสูงสุด แต่ไม่ดีกว่ากุ้งที่อนุบาลด้วยอาหารอื่น กุ้งระยะซูเอีย ไมซิส และโพสต์ลาวา ที่อนุบาลด้วยอาหารเสริมแอสตาแซนทินจากสาหร่ายมีความสามารถในการต้านความเค็มลดลงแบบฉับพลันจาก 30 ส่วนในพัน ลดเหลือ 2 ส่วนในพัน ดีกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองอื่น (Darachai *et al.,* 1998) จากการศึกษาผลของแอสตาแซนทินจากยีสต์ *Phaffia rhodozyma* ต่อสี การเจริญเติบโต อัตรารอด ความต้านทานโรคและความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มของกุ้งกุลาดำ โดยผสมแอสตาแซนทินจากยีสต์ลงในอาหารในอัตรา 0.39, 78.65 และ 161.60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองในเวลา 90 วัน กุ้งมีน้ำหนักเฉลี่ย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตรารอดไม่แตกต่างกัน กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมแอสตาแซนทินทุกระดับมีสีส้มอมแดงเข้มขึ้นตามระดับของแอสตาแซนทินในอาหารและเข้มกว่าสีในกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมแอสตาแซนทิน กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมแอสตาแซนทินเป็นเวลา 60 วัน หลังจากถูกฉีดเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* เข้ากล้ามเนื้อลำตัวเป็นเวลา 7 วัน มีอัตรารอดสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมแอสตาแซนทิน กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหรือไม่ผสมแอสตาแซนทินมีอัตรารอดไม่แตกต่างกันหลังจากอยู่ในน้ำที่มีการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 20 ส่วนในพัน เหลือ 0 ส่วนในพัน นาน 40 วัน แอสตาแซนทินจากยีสต์ *Phaffia rhodozyma* ช่วยเพิ่มความเข้มของสีบนลำตัวและความต้านทานเชื้อแบคทีเรียในกุ้งกุลาดำหนักเฉลี่ย 2.5 กรัมเมื่อผสมในอาหาร 39 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม แต่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด และความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มแบบฉับพลันของกุ้ง (ดวงใจ กิตติปรีชากุล, 2545) และจากการทดลองผลของแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ต่อการเจริญเติบโต ความต้านทานโรคและความเครียดในกุ้งกุลาดำ โดยให้กุ้งได้รับอาหารทดลองผสมแอสตาแซนทิน, เบตาแคโรทีน, แคโรทีนอยด์สกัดจาก *Dunaliella* และสาหร่ายสไปรูลินาแห้ง 3 % เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับแคโรทีนอยด์ทุกแหล่งมีสีตัวเข้มขึ้น แต่การเจริญเติบโต ความต้านทานโรคและความเครียดของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารทดลองเสริมแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดมีแนวโน้มดีขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Supamattaya et al., 2005)

จากหลายๆ การทดลอง ทำให้ทราบว่าการเสริมแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ลงไปในอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ส่งผลดีต่อการปรับปรุงสีของกุ้งให้เป็นตามความต้องการของผู้บริโภค รวมทั้งยังเพิ่มความต้านทานต่อโรคต่างๆ ทำให้กุ้งมีอัตรารอดสูงขึ้น การเจริญเติบโตดีขึ้น

ลดปัญหาการใช้ยาปฏิชีวนะที่ก่อให้เกิดสารตกค้างในกุ้ง สร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรและได้รับการยอมรับในระดับสากล

2.5 แคโรทีนอยด์ (Carotenoids)

แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่พบทั่วไปในธรรมชาติ ทั้งในพืช ผัก ผลไม้ จุลชีพที่สังเคราะห์แสงได้ และสาหร่าย เช่น สีเหลืองของเมล็ดข้าวโพดและดอกดาวเรือง สีแดงของมะเขือเทศ พริก และกุ้งต้มสุก เป็นต้น แคโรทีนอยด์ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์เพราะประกอบด้วย aliphatic chain ซึ่งไม่ชอบน้ำ เมื่ออยู่ในรูปอิสระจะไม่จับกับโปรตีน แคโรทีนอยด์ในพืชจะดูดกลืนพลังงานแสง เพื่อส่งต่อให้คลอโรฟิลล์ในกระบวนการสังเคราะห์แสง และเป็นตัวจับรังสีอัลตราไวโอเลต จึงปกป้องพืชจากปฏิกิริยาออกซิเดชันอันเนื่องจากแสง (photo oxidation) และยังป้องกันการทำลายเซลล์จากอนุมูลอิสระ (free radical) แคโรทีนอยด์ปกป้องพืชในสภาวะที่ไม่เหมาะสม เกิดบาดแผล หรือกระทบกับแสงแดดอย่างรุนแรงเพื่อป้องกันการติดเชื้อและการทำลายจากแสงแดด (Britton, 1995)

2.5.1 โครงสร้างทางเคมีและชนิดของแคโรทีนอยด์

โครงสร้างโมเลกุลของแคโรทีนอยด์ประกอบด้วยหน่วยไอโซพรีน (isoprene unit) จำนวน 8 หน่วย ที่เกิดพันธะโควาเลนต์กัน และทำให้เกิดคอนจูเกชันของพันธะคู่เป็นสายยาว (extensive conjugated double bond) เนื่องจากระบบคอนจูเกชันที่ทำให้แคโรทีนอยด์สามารถดูดกลืนพลังงานแสงอัลตราไวโอเลต และแสงสีขาว ทำให้แคโรทีนอยด์เป็นสารที่มีสีและมีคุณสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Agarwal and Rao, 2000) โมเลกุลของแคโรทีนอยด์อาจเป็นเส้นตรงดังที่พบในไลโคพีน (lycopene) หรือเป็นวงแหวนที่ปลายโซ่ของโมเลกุลดังที่พบในเบตาแคโรทีน (β-carotene) นอกจากนี้แคโรทีนอยด์ยังสามารถเกิดการรวมตัวกันเป็นวง (cyclization) ได้เป็นแอลฟาและเบต้าแคโรทีน (alpha และ beta-carotene) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ xanthophylls (Oxocarotenoids) ได้เช่นกัน แคโรทีนอยด์สามารถจำแนกเป็น 2 กลุ่ม คือ

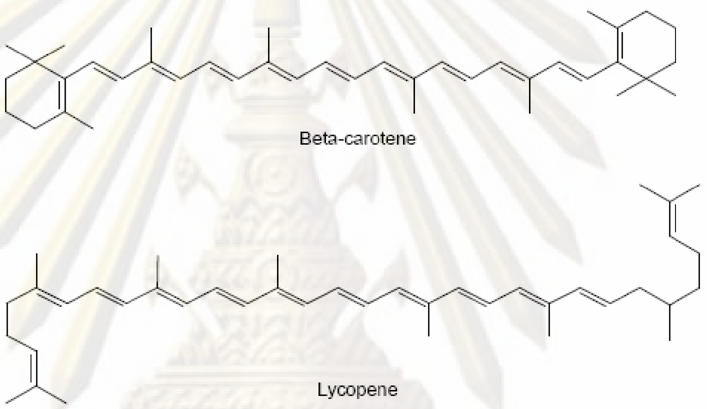
1. Hydrogenated carotenoid derivatives หรือกลุ่มแคโรทีน (Carotene)

เป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยสายไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว ประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอนเชื่อมต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะเดี่ยวสลับกับพันธะคู่ และที่ปลายข้างใดข้างหนึ่ง

หรือทั้งสองปลายจะมีอะตอมของคาร์บอนเกาะกันเป็นวงเรียกว่า ไอโอโนนริง ทำให้เป็นสารไม่มีขั้วและละลายได้ในไขมัน ตัวอย่างแคโรทีนอยด์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ เบตาแคโรทีน และ ไลโคพีน เป็นต้น (รูปที่ 2)

2. Oxygenated carotenoid derivatives หรือกลุ่มแซนโทฟิล (Xanthophyll)

เกิดจากการออกซิเดชั่นของคาโรทีน มีอะตอมของออกซิเจนอยู่ในโมเลกุลจึงมีขั้วมากกว่าและละลายในไขมันได้น้อยกว่าแคโรทีนอยด์กลุ่มแรก ตัวอย่างแคโรทีนอยด์ในกลุ่มนี้ได้แก่ ลูทีน (lutein) ซีแซนทิน (zeaxanthin) และแอสตาแซนทิน (astaxanthin) เป็นต้น (รูปที่ 3)

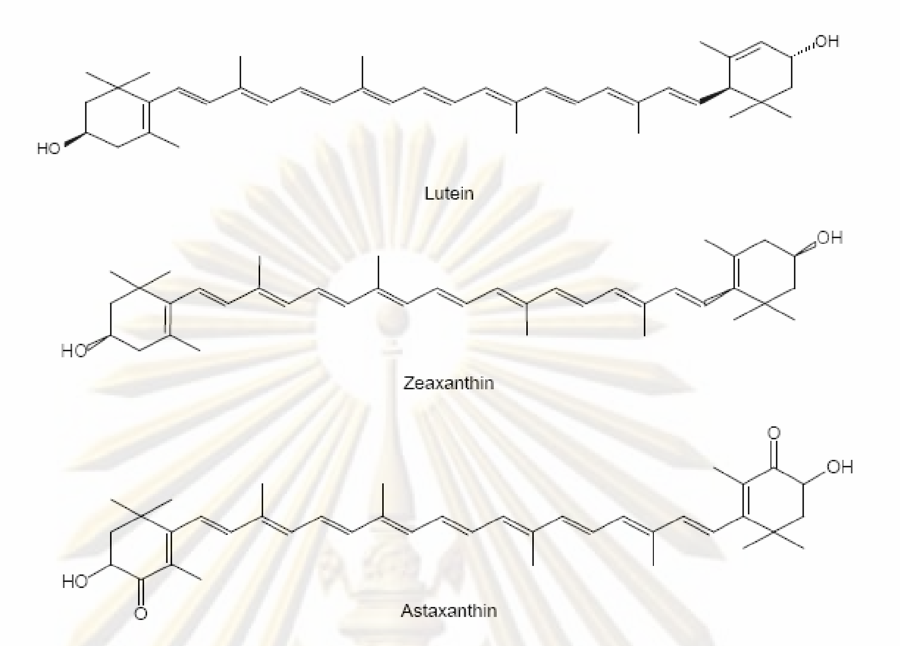


รูปที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของ hydrogenated carotenoid derivatives

2.5.2 แคโรทีนอยด์ที่พบในสัตว์จำพวกครัสตาเชียน

สัตว์จำพวกครัสตาเชียนไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ขึ้นเองได้ จึงต้องรับจากอาหารเท่านั้น เมื่อผ่านขบวนการย่อยแล้วแคโรทีนอยด์จะถูกดูดซึมผ่านผนังทางเดินอาหารร่วมกับไขมันอื่นๆ ในรูปที่แตกต่างกันไป ขึ้นกับสภาพภายในทางเดินอาหารของสัตว์น้ำแต่ละชนิดส่งผ่านไปสะสมในส่วนต่างๆของร่างกาย ทำให้เกิดสีที่ ตา เลือด ไข่ เปลือก ตับ รังไข่ และอวัยวะสืบพันธุ์แคโรทีนอยด์เหล่านี้จะสะสมอยู่ภายในร่างกายเป็นผลให้เกิดสีขึ้นในส่วนต่างๆ

แคโรทีนอยด์ที่อยู่ในเกล็ดปลาและกุ้งสดจะมีสีดำคล้ำเพราะอยู่รวมกับโปรตีนในรูปของ carotenoprotein แต่ถ้าทำให้โปรตีนเสียสภาพแคโรทีนอยด์ในรูปอิสระจะดูดกลืนแสงทำให้มีสีเหลืองถึงส้มแดงซึ่งสีที่เกิดขึ้นเนื่องจากพันธะคู่ในโมเลกุลของแคโรทีนอยด์ดูดกลืนแสงในช่วงที่ตามองเห็น (visible wavelength)



รูปที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของ Oxygenated carotenoid derivatives

ชนิดของแคโรทีนอยด์ที่พบมากในครัสตาเชียนมี 3 ชนิด ได้แก่

1) แอสตาแซนทิน เป็นองค์ประกอบของ α-crustacycanin ซึ่งอยู่ในรูป carotenoprotein ทำให้เปลือกกุ้งมีสี เป็นแคโรทีนอยด์ที่พบในครัสตาเชียนเกือบทุกชนิด โดยเฉพาะกุ้งทะเล พบแอสตาแซนทินสูงถึง 65 - 98 % ของปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (Latscha, 1990)

2) เบตาแคโรทีน เป็นแคโรทีนอยด์ที่สำคัญชนิดหนึ่ง และพบในครัสตาเชียนในปริมาณน้อยกว่าแอสตาแซนทิน โดยจะแพร่กระจายอยู่ทั่วร่างกาย พบเบตาแคโรทีนที่เปลือกกุ้งกุลาดำประมาณ 3.6 % ของแคโรทีนอยด์รวม

3) แซนโทฟิลชนิดอื่นๆ ที่ไม่ใช่แอสตาแซนทิน เช่น คริปโตแซนทิน (cryptoxanthin) พบในปริมาณน้อย และสะสมใน hepatopancreas เลือด ไข่ และที่ตา

2.5.3 การสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ในกุ้งทะเล

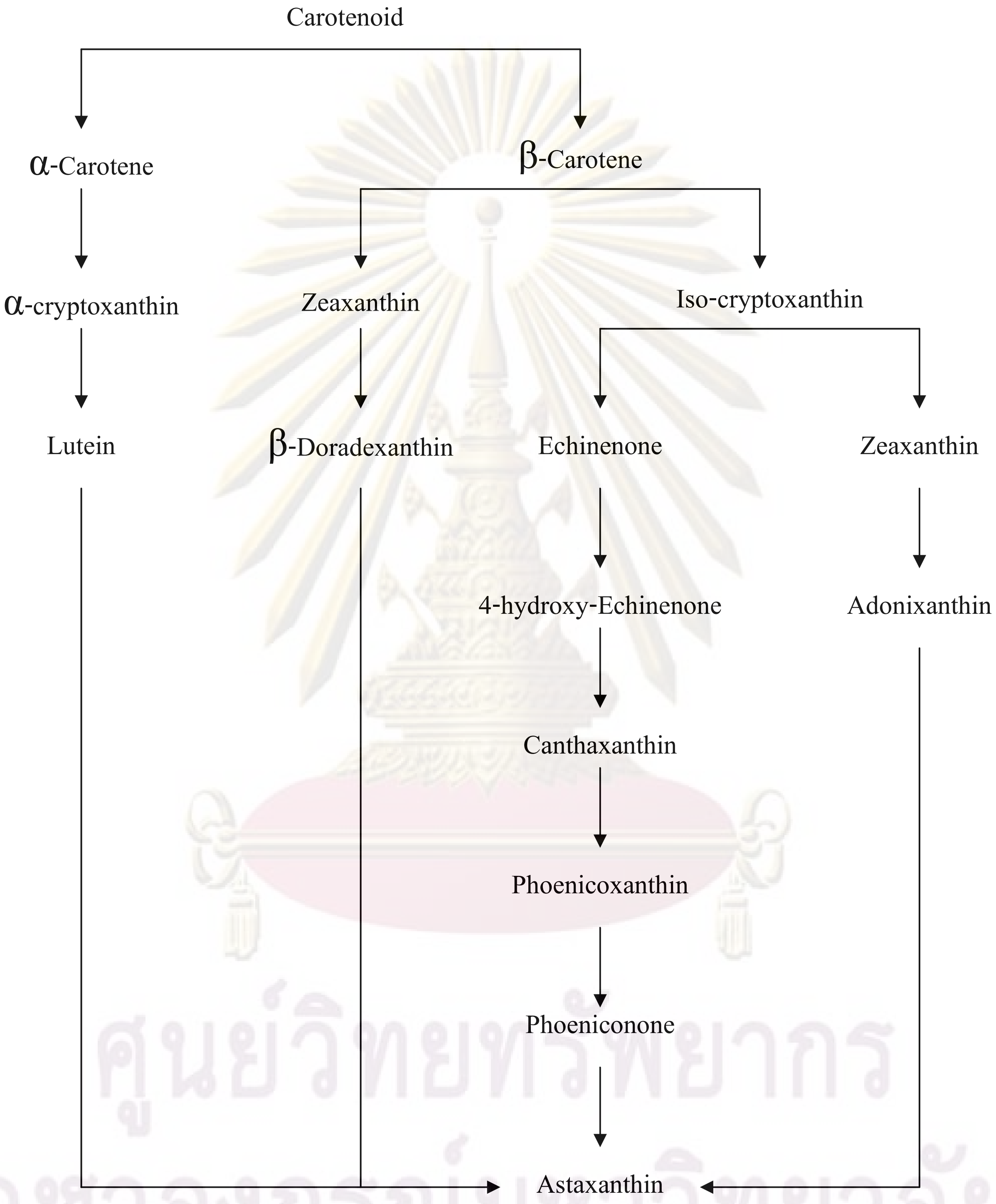
แคโรทีนอยด์ในอาหารจะมี keto-group 1 หรือ 2 group ที่ C-4 หรือ C-4’ และมี hydroxyl group (OH-group) เกาะที่ C-3 หรือ C-3’ เรียกว่า “keto-carotenoid” กุ้งจะ

สังเคราะห์คีโตแคโรทีนอยด์ในทั้งแบบที่มีและไม่มี OH-group ซึ่งก็คือ แซนโทฟิลและคาโรทีน ดังนั้น กุ้งจึงสามารถเปลี่ยนแคโรทีนอยด์ในอาหารให้เป็นรงควัตถุที่ต้องการได้ (Goodwin, 1984) โดยการออกซิไดซ์ปลาย 3,3’ และปลาย 4,4’ ของไอโอโนนริง (ionone ring) ของคาโรทีน 1 หรือ 2 ตำแหน่ง ทำให้กุ้งสามารถเปลี่ยนเบตาแคโรทีน, ซีแซนทิน, แคนตาแซนทิน และคาโรทีนอื่นๆ ให้อยู่ในรูปของแอสตาแซนทินได้ ดังแสดงในรูปที่ 4 ซึ่งการเปลี่ยนแปลงแคโรทีนอยด์เป็นแอสตาแซนทิน จะเกิดที่อวัยวะภายในของกุ้ง (Katayama et al., 1971)

2.5.4 แหล่งของแคโรทีนอยด์สำหรับการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล

แคโรทีนอยด์เป็นสารอาหารปริมาณน้อยที่มีความจำเป็นต่อกุ้งทะเล เนื่องจากมีบทบาทสำคัญต่อระบบชีวภาพ ได้แก่ การทำงานของเซลล์ โดยช่วยให้ผนังเซลล์มีความคงตัว ป้องกันเซลล์จากอุณหภูมิสูง รังสีที่เป็นอันตราย และการเกิดอนุมูลอิสระ มีความสำคัญต่อการเกิดสีและการมองเห็น (Goodwin and Jamikorn, 1954; Latscha, 1990) ถ้ากุ้งขาดแคโรทีนอยด์เป็นเวลานานจะทำให้กุ้งมีสีซีดจาง หรือที่เรียกว่า “ โรคตัวฟ้า “ เมื่อนำกุ้งเหล่านี้ไปต้มจะมีสีเหลืองส้ม ซึ่งไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค สามารถป้องกันได้โดยการเพิ่มสารแคโรทีนอยด์ในอาหาร (Choosuwan, 1991; Hunter, 1996) เนื่องจากสารประกอบแคโรทีนอยด์มีส่วนประกอบเกี่ยวข้องโดยตรงกับการสะสมแอสตาแซนทินของกุ้ง เมื่อกุ้งกินอาหารที่มีแคโรทีนอยด์เข้าไปจะเกิดการสะสมในร่างกายเป็นเหตุให้สีของตัวกุ้งเข้มขึ้น

แหล่งของแคโรทีนอยด์ที่สำคัญ คือ รงควัตถุสังเคราะห์ เบตาแคโรทีน ซีแซนทิน แคนตาแซนทิน และแอสตาแซนทิน ซึ่งแอสตาแซนทินสังเคราะห์ให้ผลดีที่สุดเนื่องจากกุ้งสามารถดูดซึมไปใช้ได้ทันที (Yamada et al., 1990; Choosuwan, 1991; Chieng and Jeng, 1992) การเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ในปริมาณ 50 – 100 ppm ให้กุ้งกิน 4 สัปดาห์ก่อนจับทำให้เนื้อกุ้งต้มมีสีแดงสดเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค (Chien and Jeng, 1992) จากการทดลองของ มะลิ บุณยรัตผลิน และคณะ (2537) พบว่าการเสริมรงควัตถุแคนตาแซนติน 50 และ 100 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม และเสริมรงควัตถุแอสตาแซนทิน 25, 50 และ 75 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ปรากฏว่าทั้งแคนตาแซนตินและแอสตาแซนทินมีส่วนช่วยปรับปรุงสีของกุ้งกุลาดำและช่วยให้กุ้งสีฟ้าลดจำนวนลง รวมถึงมีการนำแคโรทีนอยด์จากแหล่งธรรมชาติมาทดลอง เช่น แอสตาแซนทินจากสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* และแอสตาแซนทินจากยีสต์ *Phaffia rhodozyma* พบว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมแอสตาแซนทินทุกระดับมีสีส้มอมแดงเข้มขึ้น


Carotenoid
α-Carotene
β-Carotene
α-cryptoxanthin
Zeaxanthin
Iso-cryptoxanthin
Lutein
β-Doradexanthin
Echinenone
Zeaxanthin
4-hydroxy-Echinenone
Adonixanthin
Canthaxanthin
Phoenicoxanthin
Phoeniconone
Astaxanthin

ที่มา : Katayama, Hirata and Chichester, 1971; Latscha, 1980; Tanaka et al., 1975

รูปที่ 4 ขบวนการแมทาบอลิซึมและการเปลี่ยนแปลงแคโรทีนอยด์ในกุ้งทะเล

ตามระดับของแอสตาแซนทินในอาหาร และเข้มกว่าสีในกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมแอสตาแซนทิน (Darachai et al., 1998; ดวงใจ กิตติปรีชากุล, 2545) นอกจากนี้ยังพบว่าการเสริมแคโรทีนอยด์ส่งผลดีต่ออัตรารอด (นิตยา ไชยเนตร, 2538; Pan and Chien, 2004) การเติบโต (นิติ ชูเชิด, 2538; Supamattaya et al., 2005) และช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันโรค โดยรงควัตถุอาจเป็นตัวช่วยป้องกันไม่ให้เม็ดเลือดกุ้งถูกทำลายจากอนุมูลอิสระหรืออาจช่วยในการสร้างเม็ดเลือดกุ้ง (มะลิ บุณยรัตผลิน และคณะ, 2543) (Tanmark et al., 2005) นอกจากนี้ยังช่วยให้กุ้งลดความเครียดเนื่องจากเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม (Chien et al., 2003) ในปัจจุบันมีรายงานการใช้แคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ เช่น เบตาแคโรทีน แอสตาแซนทิน แคนตาแซนทิน เป็นต้น ในการนำมาเสริมในอาหารสัตว์น้ำเป็นจำนวนมาก ดังนั้น ไลโคพีนซึ่งเป็นอนุพันธุ์แคโรทีนอยด์อีกชนิดหนึ่งที่มีประสิทธิภาพมาก เนื่องจากโครงสร้างโมเลกุลที่มีพันธะคู่มาก ทำให้ง่ายต่อการเกิดปฏิกริยากับสารอนุมูลอิสระ หรือ free radical ที่เป็นสารอนุพันธ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ทำให้ไลโคพีนเป็นแคโรทีนอยด์ที่มีประสิทธิภาพสูง มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งจะช่วยลดความผิดปกติ และความเสื่อมของเซลล์อันเนื่องมาจากการทำลายของอนุมูล แต่ยังไม่มีรายงานวิจัยการใช้ไลโคพีนเกี่ยวกับทางด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำถึงประสิทธิภาพการทำงานของไลโคพีน

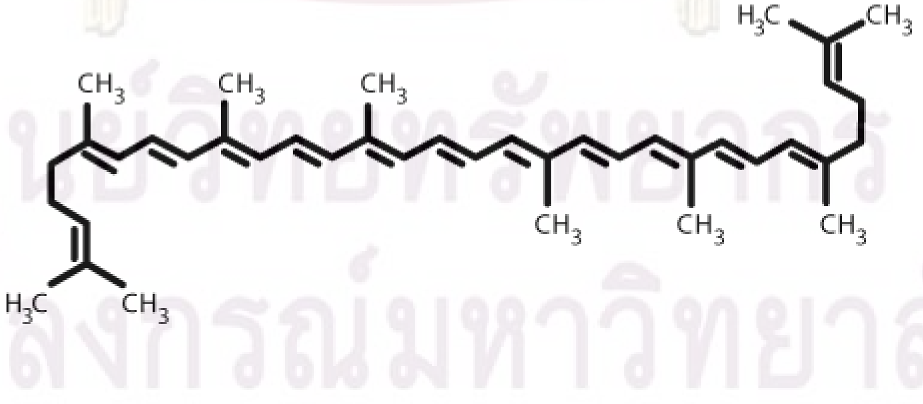
2.6 **ไลโคพีน** (Lycopene)

ไลโคพีนจัดเป็นสารอนุพันธุ์ในกลุ่มแคโรทีนอยด์ เป็นตระกูลเดียวกันกับเบต้าแคโรทีน สารไลโคพีนเป็นสารที่มีสีแดงส้ม พบมากในมะเขือเทศ และพบได้ในแตงโม องุ่นแดง มะละกอ และฝรั่งสีแดง ชื่อของไลโคพีนมาจากชื่อวิทยาศาสตร์ของมะเขือเทศ *(Solanum lycopersicum)* ในน้ำเลือดของมนุษย์เรามีสารจำพวกคาโรทีนอยส์เป็นองค์ประกอบอยู่หลายชนิด ซึ่ง 50 % ของทั้งหมดนี้เป็นไลโคพีน นอกจากนี้ยังพบไลโคพีนสะสมอยู่ในส่วนต่างๆของร่างกาย โดยพบมากที่อัณฑะ ต่อมหมวกไต และต่อมลูกหมาก ไลโคพีนจัดเป็นสารประกอบที่ละลายในไขมัน หลังจากการรวมตัวกับน้ำดีแล้วไลโคพีนจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายที่ลำไส้เล็กไปพร้อมๆกับอาหารจำพวกไขมัน และด้วยความสามารถอย่างสูงสุดในการกำจัดออกซิเจนโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นสาเหตุของการทำลายเซลล์ในร่างกาย (Agarwal and Rao, 2000) และการเกิดโรคเสื่อมสภาพต่างๆ ทำให้ไลโคพีนจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพมาก

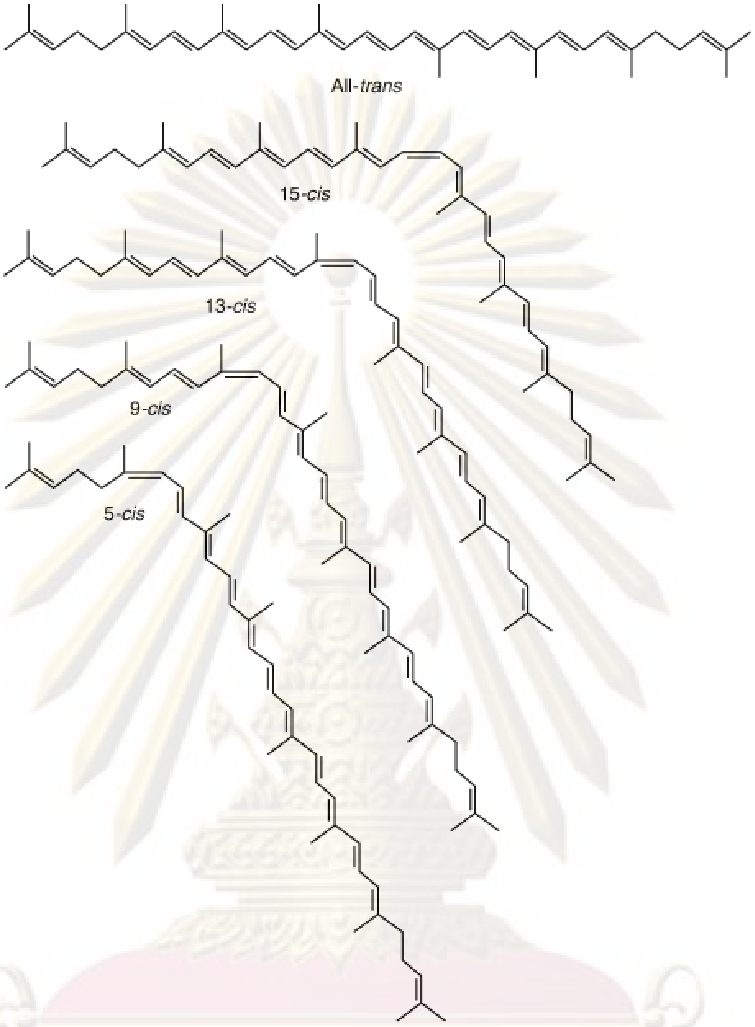
2.6.1 โครงสร้างทางเคมีของไลโคพีน

ไลโคพีนมีโครงสร้างโมเลกุลเป็น $C_{40}H_{56}$ มีโครงสร้างทางเคมีแบบ unsaturated hydrocarbon หรือเรียกว่า noncyclic carotenoid ประกอบด้วย พันธะคู่แบบ conjugated 11 คู่ และ unconjugated 2 คู่ ดังแสดงในรูปที่ 5 น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 536.85 ดาลตัน ไลโคพีนเป็นสาร lipophylic สามารถละลายได้ดีในไขมัน และเป็นรงควัตถุสีแดงที่มองเห็นได้ในช่วงคลื่น 472 นาโนเมตร (Rao and Agarwal, 1999) ปกติในธรรมชาติไลโคพีนจะอยู่ในรูป *trans* - isomer แต่สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็น *cis*-isomer ได้ (รูปที่ 6) เนื่องจากการประกอบอาหารด้วยความร้อนจะทำให้ไลโคพีนที่อยู่ในรูป *trans* – lycopene เปลี่ยนเป็น *cis* - lycopene ซึ่งโครงสร้างที่อยู่ในรูป *cis* - lycopene จะดูดซึมได้ดีกว่าโครงสร้างแบบ *trans* – lycopene (ตารางที่ 1) (Gartner C, 1997)

โครงสร้างทางเคมีของไลโคพีนประกอบด้วยพันธะคู่จำนวนมากทำให้สามารถยับยั้งออกซิเจนพลังงานสูง (singlet state) ได้มากที่สุดในบรรดาสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ด้วยกัน และยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าทั้งแอลฟาแคโรทีนและเบตาแคโรทีน และคาดว่าไลโคพีนสามารถยับยั้งการเกิดโรคหัวใจและโรคมะเร็งโดยการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันบนเมมเบรน DNA รวมทั้ง LDL และโมเลกุลอื่น ๆ ที่ถูกทำลายได้ด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยไลโคพีนจะจับอนุมูลอิสระและทำให้ความไวในการเกิดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระเหล่านั้นลดลง (Di Mascio et al., 1989)

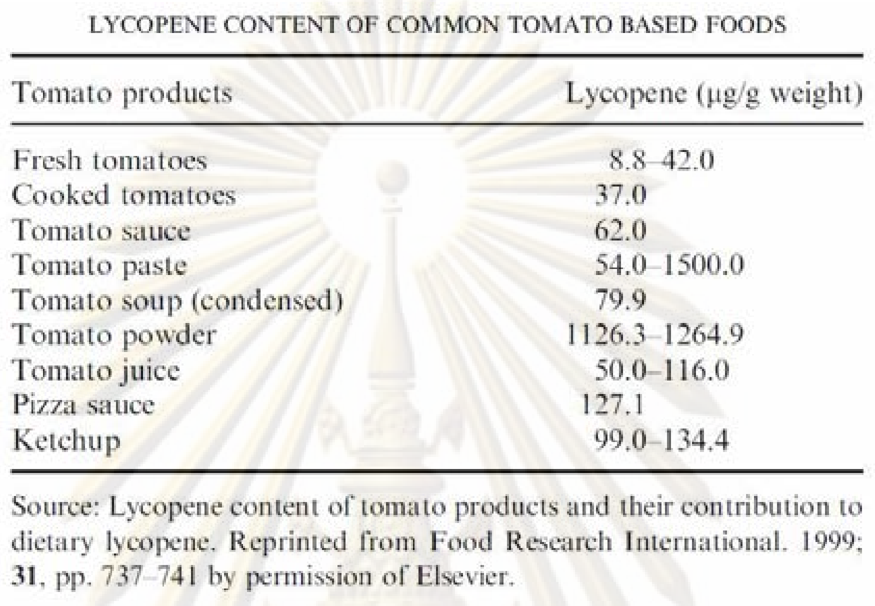


รูปที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของไลโคพีน


All-*trans*
15-*cis*
13-*cis*
9-*cis*
5-*cis*

รูปที่ 6 โครงสร้างทางเคมีแบบ trans และ cis isomeric ของไลโคพีน

ตารางที่ 1 การดูดซึมไลโคพีนจากมะเขือเทศสดและมะเขือเทศที่ผ่านการให้ความร้อนแล้ว



LYCOPENE CONTENT OF COMMON TOMATO BASED FOODS

Tomato products	Lycopene (μg/g weight)
Fresh tomatoes	8.8–42.0
Cooked tomatoes	37.0
Tomato sauce	62.0
Tomato paste	54.0–1500.0
Tomato soup (condensed)	79.9
Tomato powder	1126.3–1264.9
Tomato juice	50.0–116.0
Pizza sauce	127.1
Ketchup	99.0–134.4

Source: Lycopene content of tomato products and their contribution to dietary lycopene. Reprinted from Food Research International. 1999; **31**, pp. 737–741 by permission of Elsevier.

2.6.2 บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free Radicle) คือ โมเลกุลที่มีธาตุที่ไม่มั่นคงเนื่องจากขาดอิเลคตรอนไป 1 ตัว ปกติแร่ธาตุทั้งหลายในร่างกายของเราจะมีอิเลคตรอนอยู่วงรอบเป็นจำนวนคู่ ซึ่งทำให้โมเลกุลนั้นคงตัว ในกรณีที่มีการสูญเสียอิเลคตรอนหรือรับอิเลคตรอน มาอีกเพียง 1 ตัว จะทำให้โมเลกุลนั้นไม่มั่นคงกลายเป็นตัวอันตราย เพราะจะไปแย่งอิเลคตรอนจากโมเลกุลอื่นมา 1 ตัว โมเลกุลที่ถูกแย่งอิเลคตรอนก็กลายเป็นตัวอันตรายแทนเพราะกลายเป็นโมเลกุลที่ไม่มั่นคงเนื่องจากขาด อิเลคตรอนไป 1 ตัว ต้องไปแย่งโมเลกุลอื่นเป็นทอดๆ เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือ สารประกอบที่สามารถป้องกันหรือชะลอกระบวนการเกิดออกซิเดชั่น กระบวนการออกซิเดชั่นมีได้หลายรูปแบบ เช่น กระบวนการออกซิเดชั่นที่ทำให้เหล็กกลายเป็นสนิม ทำให้แอปเปิ้ลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือทำให้น้ำมันพืชเหม็นหืน หรือกระบวนการออกซิเดชั่นที่เกิดในร่างกาย เช่น การย่อยสลายโปรตีนและไขมันจากอาหารที่กินเข้าไป มลพิษทางอากาศ การหายใจ ควันบุหรี่ รังสียูวี ล้วนทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายสร้างความเสียหายต่อร่างกายได้ ในความเป็นจริงไม่มีสารประกอบสารใดสารหนึ่งสามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นได้ทั้งหมด แต่ละกลไกอาจต้องใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่

แตกต่างกันในการหยุดกระบวนการออกซิเดชั่น ในอีกทางหนึ่งกระบวนการออกซิเดชั่นเป็นกระบวนการที่สำคัญต่อร่างกาย เช่น เราใช้ออกซิเจนจากอากาศที่หายใจเข้าไปไปเผาผลาญอาหารที่ร่างกายได้รับให้เป็นพลังงานสำหรับการทำงานของเซลล์ต่างๆ แต่ก็ทำให้เกิดอนุมูลอิสระเป็นผลพลอยได้ อนุมูลอิสระต่างๆ ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่สำคัญในร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน ดีเอ็นเอ ทำให้เกิดความเสียหายต่อโมเลกุลดังกล่าว ตัวอย่างเช่น เมื่ออนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับแอลดีแอล (LDL : low - density lipoprotein) ซึ่งเป็นโคเลสเตอรอลที่ก่อให้เกิดผลเสียต่อร่างกาย ทำให้เกิดออกซิไดซ์แอลดีแอล (oxidized LDL) ซึ่งมีหลักฐานยืนยันว่า ออกซิไดซ์แอลดีแอล เป็นสาเหตุของการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง ทำให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือดและเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคหัวใจ อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายเนื่องจากมีมูลเหตุจากออกซิเจน จึงมีชื่อเรียกเป็นภาษาอังกฤษว่า reactive oxygen species (ROS)

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถลดความเสี่ยงต่อโรคโดยเฉพาะโรคเรื้อรังที่สัมพันธ์กับอาหาร เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคสมอง (เช่น อัลไซเมอร์) เป็นต้น รวมทั้งช่วยชะลอกระบวนการบางขั้นตอนที่ทำให้เกิดความแก่ โดยปกติร่างกายสามารถกำจัดอนุมูลอิสระก่อนที่มันจะทำอันตราย แต่ถ้ามีการสร้างอนุมูลอิสระเร็ว หรือมากเกินกว่าร่างกายจะกำจัดทัน อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะสร้างความเสียหายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อได้ และส่งผลกระทบต่อสุขภาพ

2.6.3 **แหล่งที่พบไลโคพีน**

แหล่งของไลโคพีนจากอาหาร คือ มะเขือเทศและผลิตภัณฑ์จากมะเขือเทศ เช่น มะเขือเทศกระป๋อง ซอสมะเขือเทศ และมะเขือเทศสกัด เป็นต้น มีรายงานผลการวิจัยสารไลโคพีนในมะเขือเทศพบว่า ผลิตภัณฑ์แปรรูปจากมะเขือเทศและผลิตภัณฑ์อื่นที่มีมะเขือเทศเป็นองค์ประกอบหลักจะมีสารไลโคพีนเป็นองค์ประกอบอยู่มากกว่าในผลมะเขือเทศสด และผลไม้ชนิดอื่น ๆ ที่พบไลโคพีนได้ คือ แตงโม เกรฟฟรุต ฝรั่ง และมะละกอ เป็นต้น (Helmenstine, 2006) นอกจากนี้ก็ยังพบไลโคพีนในรูปของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารขายตามท้องตลาดทั่วไป ในผลไม้และอาหารจะมีปริมาณไลโคพีนที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณไลโคพีนในอาหารและผลไม้ชนิดต่างๆ

อาหารและผลไม้	**ปริมาณไลโคพีน (มิลลิกรัม / 100 กรัม)**
มะเขือเทศ	8.8 – 42.0
แตงโม	23.0–72.0
ฝรั่งขี้นก (Pink guava)	54.0
เกรฟฟรุต (Pink grapefruit)	33.6
มะละกอ	20.0–53.0
แอพริคอต	<0.1
Tomato sauce	6.20
Tomato paste	5.40-150.0
Tomato soup (condensed)	7.99
Tomato powder	112.63-126.49
Tomato juice	5.00-11.60
Sun-dried tomato in oil	46.50
Water melon fresh	2.30-7.20

ที่มา : Clinton, (1988); Food Research International, (1999)

2.6.4 ประโยชน์ของไลโคพีน

ไลโคพีนช่วยยับยั้งการเกิดออกซิเดชั่นของไขมันชนิด Low density lipoprotein (LDL) จึงสามารถป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัว (Atherosclerosis) และเป็นสารที่สามารถป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังได้หลายชนิด โดยเฉพาะโรคมะเร็งต่างๆ เนื่องจากไลโคพีนมีโครงสร้างโมเลกุลที่เป็นพันธะคู่มาก สามารถจับกับอนุมูลอิสระในร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญหนึ่งในการทำลายสายดีเอ็นเอและนำไปสู่โรคมะเร็ง จากการศึกษาในสัตว์ทดลองมีรายงานว่าไลโคพีนสามารถยับยั้งการเกิดมะเร็งเต้านมและยับยั้งการเจริญแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งเยื่อบุมดลูก รวมทั้งมีผลยับยั้ง insulin-like growth factor-I ซึ่งเป็นตัวควบคุมการเจริญแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งเต้านมและเยื่อบุมดลูกดังกล่าว (Agarwal and Rao, 2000; Wertz et al.,2004)

จากรายงานวิจัยของ Rao A.V. และ Agarwal S. (1999) พบว่าการลดลงของอัตราเสี่ยงในการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งปอด และมะเร็งกระเพาะอาหาร มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับการรับประทานมะเขือเทศ และมีรายงานวิจัยการป้องกันโรคหัวใจ พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีไลโคพีนสะสมในเนื้อเยื่อไขมันในปริมาณสูงจะมีอัตราเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจที่ต่ำลง (Arab L., Steck S.,2000) ไลโคพีนยังช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชันอันเนื่องจากการกระตุ้นของแสงบนผิวหนัง และให้ผลดีกว่าเบตาแคโรทีน (Clinton S.K.,1998)

จากการทดลองให้ผู้ชายที่เป็นมะเร็งต่อมลูกหมากทานซอสมะเขือเทศที่มีไลโคพีน 30 มก.ต่อวัน เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าเซลล์จากบริเวณต่อมลูกหมากถูกทำลายลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (Bowen et al., 2002) ดังนั้นไลโคพีนจึงเป็นสารที่ช่วยลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างได้หลายชนิด รวมทั้งโรคมะเร็งต่างๆ ได้แก่ มะเร็งต่อมลูกหมาก (Prostate cancer), มะเร็งในระบบทางเดินอาหาร (Digestive tract cancer), มะเร็งถุงน้ำดี (Bladder cancer), มะเร็งผิวหนัง (Skin cancer), มะเร็งเต้านม (Breast cancer), มะเร็งปากมดลูก (Cervical cancer), และโรคหลอดเลือดหัวใจ (Cardiovascular disease) เป็นต้น

แม้ว่าไลโคพีนเป็นสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพสูงต่อการป้องกันการเกิดโรคมะเร็งได้หลายชนิด เนื่องจากมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นในการศึกษาวิจัยเพิ่มเติม เพื่อยืนยันความชัดเจนถึงประสิทธิภาพและกลไกการออกฤทธิ์ต่อไป

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สถานที่ดำเนินการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ใช้สถานที่เพื่อการเตรียมอาหาร ณ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย วิเคราะห์คุณภาพอาหารที่ห้องปฏิบัติการโภชนาการอาหารสัตว์น้ำ และดำเนินการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 อาหารทดลอง

อาหารทดลองเป็นอาหารเตรียมจากวัตถุดิบธรรมชาติเป็นหลัก (practical diet) โดยดัดแปลงจากสูตรของ Boonyaratpalin et al. (2000) ให้มีโปรตีน 40 % และไขมัน 8 % มีส่วนประกอบดังนี้ คือ ปลาป่น ข้าวสาลี กากถั่วเหลือง หัวกุ้งป่น น้ำมันปลา lecithin wheat gluten เป็นสารเหนียวในเม็ดอาหาร ใช้วิตามินซีในรูป L-Ascorbylpoly phosphate และ ใช้เกลือแร่ในปริมาณน้อยและวิตามินอื่นๆในรูป premixture อาหารทดลองมีทั้งหมด 4 สูตร มีส่วนประกอบอาหารตามตารางที่ 2 คือ สูตร 1 อาหารควบคุม ไม่เติมไลโคพีน, สูตร 2 อาหารเสริมไลโคพีน 50 ppm, สูตร 3 อาหารเสริมไลโคพีน 100 ppm, สูตร 4 อาหารเสริมไลโคพีน 200 ppm โดยได้รับไลโคพีน จากบริษัทโรวิไทย จำกัด

3.3 ขั้นตอนการทำอาหาร

เตรียมวัตถุดิบอาหารกุ้งกุลาดำดังรายละเอียดในตารางที่ 3 บดวัตถุดิบแต่ละชนิดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 200 ไมครอน นำวัตถุดิบทั้งหมดมาผสมตามสัดส่วนให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียวในเครื่องผสมอาหาร แล้วนำอัดเม็ดด้วยเครื่องอัดเม็ด หลังจากได้เป็นอาหารเม็ดแล้ว นำไปอบในตู้อบไอน้ำที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และอบในตู้อบแห้งที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำออกมาจากตู้อบแห้งและตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำมาคัดขนาดอาหาร

อัดเม็ดผ่านตะแกรงคัดขนาด ตามความเหมาะสมของกุ้งแต่ละระยะ จากนั้นจึงเก็บใส่ถุงพลาสติกแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทดลองต่อไปและสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารของแต่ละชุดการทดลองประมาณ 200 กรัม เพื่อนำไปวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และเส้นใย

ตารางที่ 3 ส่วนประกอบของอาหารทดลองแต่ละสูตรสำหรับเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ส่วนประกอบอาหาร (กรัม/100 กรัม)	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
Fish meal	45	45	45	45
Soybean meal	15	15	15	15
Shrimp head meal	3	3	3	3
Wheat flour	20	20	20	20
Wheat gluten	6	6	6	6
Fish oil	5	5	5	5
Lecithin	1	1	1	1
Cholesterol	0.5	0.5	0.5	0.5
Vitamin mix[1]	2	2	2	2
Mineral mix[2]	2	2	2	2
Cellulose	0.5	0.45	0.4	0.3
Lycopene[3]	0	0.05	0.1	0.2
รวม	100	100	100	100

[1] คอมพลีทดีวี บริษัทโคเดล (ประเทศไทย) จำกัด ประกอบด้วย วิตามินเอ 10,000,000 IU วิตามินดี3 1,000,000 IU วิตามินอี1,000 IU วิตามินเค 1,000 มิลลิกรัม วิตามินบี1 500 มิลลิกรัม วิตามินบี2 1,500 มิลลิกรัม วิตามินซี 10,000 มิลลลิกรัม โฟเลท 1,000 มิลลิกรัม และดีเมทไธโอนีน 16,038 มิลลิกรัมในปริมาณ 1 กิโลกรัม

[2] แคลพลัส บริษัทโคเดล (ประเทศไทย) จำกัด ประกอบด้วย แคลเซียม 147 กรัม ฟอสฟอรัส 147 กรัม เหล็ก 2,010 มิลลิกรัม ทองแดง 3,621 มิลลิกรัม สังกะสี 6,424 มิลลิกรัม แมงกานีส 10,062 มิลลิกรัม โคบอลด์ 105 มิลลิกรัม ไอโอดีน 1,000 มิลลิกรัม และซีลีเนียม 60 มิลลิกรัม ในปริมาณ 1 กิโลกรัม

[3] บริษัทโรวิไทย จำกัด มหาชน (5% lycopene)

3.4 การเตรียมสัตว์ทดลอง โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ส่วน คือ

1) การทดลองที่ 1 เลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อน ระยะโพสต์ลาวา 30 น้ำหนักเฉลี่ย 0.01 กรัม โดยกุ้งกุลาดำที่ใช้ในการทดลองได้มาจากบรรจงฟาร์ม อำเภอแปดริ้ว จังหวัดฉะเชิงเทรา ทำการขนส่งมายังศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยวิธีบรรจุกุ้งในถุงพลาสติก 2 ชั้น อัดก๊าซออกซิเจน วางถุงบรรจุกุ้งในถังโฟมเพื่อป้องกันการกระทบกระเทือนและควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 20 - 25 องศาเซลเซียส เมื่อขนส่งถึงศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางฯ ค่อยๆ ปรับอุณหภูมิของน้ำในถุงที่บรรจุกุ้งให้เข้ากับอุณหภูมิของน้ำในถังที่เตรียมไว้สำหรับอนุบาลลูกกุ้ง โดยนำถุงแช่ในบ่อประมาณ 30 นาที จึงปล่อยกุ้งลงบ่ออนุบาลขนาด 1000 ลิตร ที่ความเค็ม 25 พีพีที เลี้ยงกุ้งด้วยอาหารสำเร็จรูปเพื่อให้ปรับตัวเข้ากับสภาพการเลี้ยงก่อนเริ่มการทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ และคัดกุ้งที่มีน้ำหนักประมาณ 0.01 กรัม เพื่อนำไปใช้ในการทดลอง

2) การทดลองที่ 2 ทดลองในกุ้งกุลาดำน้ำหนักเฉลี่ย 7 กรัมโดยกุ้งกุลาดำที่ใช้ในการทดลองได้มาจากไพศาลฟาร์ม อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี ทำการขนส่งมายังศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยวิธีบรรจุกุ้งในถังพลาสติก ถังละ 50 ตัว มีการให้อากาศด้วยเครื่องให้อากาศแบบพกพาและควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 20 - 25 องศาเซลเซียส เมื่อขนส่งถึงศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางฯ ค่อยๆ เติมน้ำเค็มที่เตรียมไว้เพื่อปรับอุณหภูมิและความเค็มของน้ำในถังพลาสติกที่ลำเลียงกุ้งมาให้ใกล้เคียงกับบ่อที่เตรียมไว้ หลังจากนั้น 1 ชั่วโมงนำกุ้งปล่อยลงบ่อที่เตรียมไว้ ความเค็ม 25 พีพีที แล้วเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารสำเร็จรูปเพื่อให้ปรับตัวเข้ากับสภาพการเลี้ยงก่อนเริ่มการทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อนำไปใช้ในการทดลอง

3.5 วางแผนการทดลอง

3.5.1 การทดลองที่ 1 : ผลของไลโคพีนต่อการเกิดสี การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD, Completely Randomized Design) โดยมี 4 ชุดการทดลอง คือ สูตรที่ 1 ไม่ผสมไลโคพีน, สูตรที่ 2 ผสมไลโคพีน 50 มก./กก, สูตรที่ 3 ผสมไลโคพีน 100 มก./กก. และ สูตรที่ 4 ผสมไลโคพีน 200 มก./กก. แต่ละชุดการทดลองทำ 5 ซ้ำ ทำการคัดลูกกุ้งกุลาดำที่มีน้ำหนักประมาณ 0.01 กรัม นำไปปรับสภาพด้วย

อาหารสำเร็จรูปเป็นเวลา 1 สัปดาห์ และนำมาเลี้ยงในถังพลาสติกขนาด 55×36×30 ซม. ความจุ 56 ลิตร ถังละ 30 ตัว มีระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิดและมีตัวกรองชีวภาพ (รูปที่ 7) ให้อาหารวันละ 3 มื้อ (เวลา 09:00 น., 13:00 น. และ 17:00 น.) โดยปริมาณอาหารที่ให้จะให้เกินพอและดูดตะกอนก่อนให้อาหารมื้อต่อไป ปรับอาหารที่ให้ทุกๆ 15 วัน และภายในถังที่ใช้ทดลองมีการให้อากาศผ่านหัวทรายตลอดเวลา ควบคุมอุณหภูมิที่ 28 – 30 องศาเซลเซียส เปลี่ยนถ่ายน้ำปริมาณ 30 - 50 % ของบ่อทุกวัน โดยใช้น้ำทะเลความเค็ม 25 พีพีที ตลอดระยะเวลาการทดลองเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ในระหว่างการทดลองสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของกุ้งกุลาดำตลอดการทดลองและเมื่อทดลองครบทุก 30 วัน นำกุ้งจากแต่ละชุดการทดลองมาชั่งน้ำหนักและวัดความยาวเพื่อคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารแต่ละสูตร และบันทึกจำนวนกุ้งที่เหลือรอดในแต่ละชุดการทดลองเพื่อนำไปคำนวณอัตราการรอด (survival rate) เมื่อทำการทดลองผ่านไป 4 สัปดาห์และเมื่อสิ้นสุดการทดลองนำกุ้งกุลาดำไปวัดผลการเกิดสีด้วยเครื่อง Spectroradiometer CS-1000 โดยวัดค่าการสะท้อนแสงที่ความยาวคลื่น 470 – 700 นาโนเมตร และวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในกุ้งกุลาดำและอาหารทดลองด้วย Spectrophotometric method

รูปที่ 7 ระบบและสถานที่ดำเนินการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

3.5.2 การทดลองที่ 2 : ผลของไลโคพีนต่ออัตราการรอดของกุ้งกุลาดำ

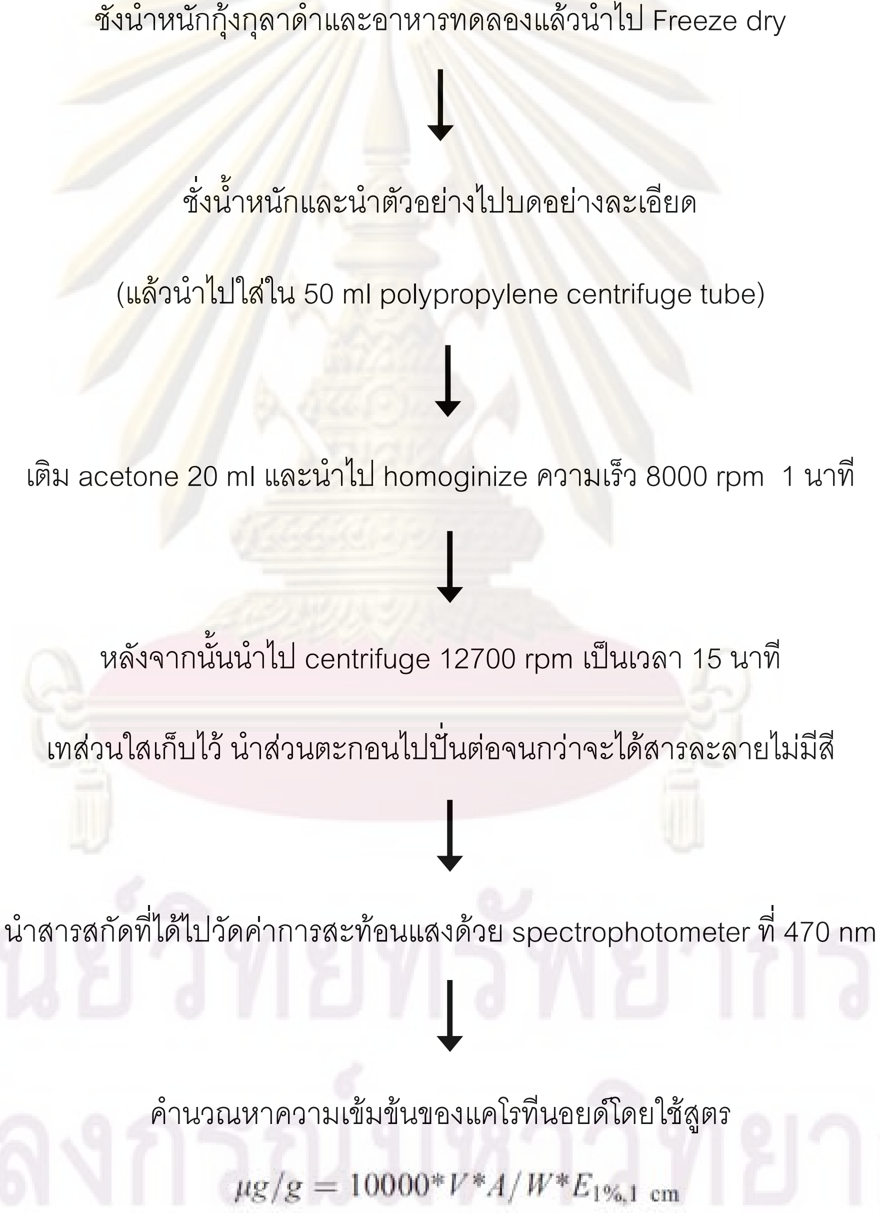
วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด โดยแบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองทำ 5 ซ้ำ ทำการทดลองโดยใช้กุ้งกุลาดำที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 7 กรัม นำไปปรับสภาพด้วยอาหารสำเร็จรูปเป็นเวลา 1 สัปดาห์ และนำมาเลี้ยงในถังพลาสติกขนาด 55×36×30 ซม. ความจุ 56 ลิตร ถังละ 10 ตัว และใช้ระบบการการเลี้ยงเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำกุ้งกุลาดำจากแต่ละชุดการทดลองมาชั่งน้ำหนักและวัดความยาวเพื่อคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโต บันทึกจำนวนกุ้งที่เหลือรอดในแต่ละชุดการทดลองเพื่อนำไปคำนวณอัตราการรอดและนำไปทดสอบอัตราการรอดจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมโดยการเปลี่ยนแปลงความเค็มและอุณหภูมิอย่างฉับพลัน โดยสุ่มกุ้งกุลาดำจากแต่ละชุดการทดลอง ลงเลี้ยงในตู้ทดสอบความเครียด จำนวน 3 ตู้ต่อชุดการทดลอง ทดสอบโดยเปลี่ยนระดับความเค็มจาก 25 พีพีที เป็น 2 พีพีที และทดลองเปลี่ยนอุณหภูมิจาก 28 องศาเซลเซียสเป็น 35 องศาเซลเซียส โดยทดลองเป็นเวลา 24 - 72 ชั่วโมง จากนั้นบันทึกจำนวนกุ้งที่เหลือรอดในแต่ละชุดการทดลองเพื่อนำไปคำนวณเปอร์เซ็นอัตราการรอดเฉลี่ย

3.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในกุ้งกุลาดำและอาหารทดลอง

การวิเคราะห์การเกิดสีในตัวกุ้งกุลาดำ ด้วยเครื่อง Spectroradiometer CS-1000 โดยวัดค่าการสะท้อนแสงที่ความยาวคลื่น 470 – 700 นาโนเมตร โดยสุ่มเลือกกุ้งกุลาดำมาทรีทเม้นท์ละ 3 ตัว ชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอนและนำแต่ละตัวไปวาง ณ จุดกำเนิดแสง จากนั้นใช้เครื่อง Spectroradiometer CS-1000 วัดค่าการสะท้อนแสงของตัวกุ้งกุลาดำ บันทึกข้อมูลที่ได้ซึ่งเป็นค่าการสะท้อนแสง (Spectral power) เนื่องจากสีของกุ้งกุลาดำก่อนนำไปลวกเป็นสีน้ำเงินเข้มแกมดำ จึงได้เลือกช่วงความยาวคลื่น 490 และ 500 นาโนเมตร จากนั้นนำกุ้งกุลาดำที่ผ่านการวัดสีแล้ว นำไปทำให้สุกด้วยไอน้ำ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 5 นาที เพื่อทดสอบสีที่เกิดขึ้นหลังจากผ่านการให้ความร้อน แล้วนำมาวัดสีด้วยเครื่อง Spectroradiometer CS -1000 อีกครั้ง ตามวิธีที่กล่าวมาแล้วข้างต้น และเนื่องจากสีของกุ้งกุลาดำสีเมื่อนำไปผ่านการให้ความร้อนจะเป็นสีส้มแกมแดง จึงได้เลือกช่วงความยาวคลื่น 610 และ 620 นาโนเมตร มาพิจารณาความแตกต่างของอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร การวัดสีกุ้งด้วยเครื่อง Spectroradiometer เป็นการ

วัดค่าการสะท้อนแสงจากตัวกุ้ง ถ้าเครื่องอ่านค่าการสะท้อนแสงจากตัวกุ้งได้น้อย แสดงว่าสีของกุ้งจะมีสีเข้มมาก เพราะดูดกลืนแสงไว้มาก

การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในตัวกุ้งกุลาดำและในอาหารทดลอง โดยใช้ Spectrophotometric method ตามวิธีของ Chih-Hung Pan และ Yew-Hu Chien (2004) วิธีวิเคราะห์แสดงในแผนผังรูปที่ 8



ชั่งน้ำหนักกุ้งกุลาดำและอาหารทดลองแล้วนำไป Freeze dry

ชั่งน้ำหนักและนำตัวอย่างไปบดอย่างละเอียด

(แล้วนำไปใส่ใน 50 ml polypropylene centrifuge tube)

เติม acetone 20 ml และนำไป homoginize ความเร็ว 8000 rpm 1 นาที

หลังจากนั้นนำไป centrifuge 12700 rpm เป็นเวลา 15 นาที

เทส่วนใสเก็บไว้ นำส่วนตะกอนไปปั่นต่อจนกว่าจะได้สารละลายไม่มีสี

นำสารสกัดที่ได้ไปวัดค่าการสะท้อนแสงด้วย spectrophotometer ที่ 470 nm

คำนวณหาความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์โดยใช้สูตร

$$\mu g/g = 10000*V*A/W*E_{1\%,1\ \mathrm{cm}}$$

รูปที่ 8 แผนผังวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในกุ้งกุลาดำและอาหารทดลอง

3.6 คุณภาพน้ำ

ทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำของทุกหน่วยทดลองทุกวัน ได้แก่

- อุณหภูมิ (Temperature) : วัดโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์
- ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) : วัดโดยใช้ pH meter
- ความเค็ม (Salinity) : วัดโดยใช้ Reflectometer
- แอมโมเนีย (Ammonium) : วัดโดยใช้ VBC Test kit
- ไนไตรท์ (Nitrite) : วัดโดยใช้ VBC Test kit

3.7 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ผลของอาหารทดลองแต่ละสูตรต่อการเติบโตและอัตรารอดโดยคำนวณจากสูตรการประเมินการเติบโตดังนี้

- **น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำ** (Average weight)

$$= \frac{\text{น้ำหนักกุ้งกุลาดำรวม}}{\text{จำนวนกุ้งกุลาดำที่เหลือทั้งหมด}}$$

- **น้ำหนักเพิ่ม** (Weight gain : Wg)

= น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง (กรัม) – น้ำหนักปลาเริ่มต้น (กรัม)

- **% น้ำหนักเพิ่ม** (% Weight gain)

$$= \frac{[\text{ (น้ำหนักกุ้งกุลาดำเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง - น้ำหนักกุ้งกุลาดำเริ่มต้น)}] \times 100}{\text{น้ำหนักกุ้งกุลาดำเริ่มต้น}}$$

- **ความยาวเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำ** (Length average)

$$= \frac{\text{ความยาวกุ้งกุลาดำรวม (เซนติเมตร)}}{\text{จำนวนกุ้งกุลาดำที่เหลือทั้งหมด}}$$

- **ความยาวเพิ่มเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำ** (Length gain , Lg)

$L_g = L_1 - L_0$

เมื่อ L_1 = ความยาวเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง

L_0 = ความยาวเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำเมื่อเริ่มต้น

- **อัตราการเติบโตจำเพาะ** (Specific growth rate; SGR)

$$= \frac{[(\text{ln น้ำหนักกุ้งกุลาดำเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง} - \text{ln น้ำหนักกุ้งกุลาดำเริ่มต้น})]}{\text{ระยะเวลาการเลี้ยง (วัน)}} \times 100$$

- **% อัตรารอด** (% Survival rate)

$$= \frac{\text{จำนวนกุ้งกุลาดำที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนกุ้งกุลาดำที่เริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

- **อัตราการแลกเนื้อ** (Feed conversion ratio, FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหาร (แห้ง) ที่กุ้งกุลาดำกิน}}{\text{น้ำหนักกุ้งกุลาดำที่เพิ่มขึ้น}} \times 100$$

วิเคราะห์ความแปรปรวนของอาหารแต่ละสูตรต่อการเติบโต อัตรารอด และการเกิดสี ในกุ้งกุลาดำ โดยการประเมินผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS ด้วยวิธีวิเคราะห์ Analysis of variance และวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพของอาหาร

ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ไขมัน เส้นใย ความชื้น และเถ้า แสดงในตารางที่ 4 โดยทุกสูตรมีโภชนาการหลักใกล้เคียงกับที่กำหนดไว้ แต่ปริมาณแคโรทีนอยด์ในอาหารแตกต่างจากที่กำหนดไว้ (ตารางที่ 5) อาหารทดลองมีลักษณะสี ขนาดและรูปร่างดังรูปที่ 8

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารกุ้งกุลาดำที่ใช้ในการทดลอง

สูตรอาหาร	**องค์ประกอบหลักทางโภชนาการ (%)**				
	โปรตีน	**ไขมัน**	**ความชื้น**	**เถ้า**	**เยื่อใย**
สูตร 1	40.20±0.03	6.24±1.50	8.13±0.03	6.25±0.33	5.31±0.28
สูตร 2	40.15±0.05	6.19±1.23	8.16±0.15	6.30±0.30	5.27±0.55
สูตร 3	40.22±0.05	6.28±1.03	8.09±0.08	6.24±0.20	5.29±0.33
สูตร 4	40.18±0.06	6.23±1.27	8.20±0.10	6.26±0.27	5.30±0.17

ตารางที่ 5 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของอาหารกุ้งกุลาดำที่ใช้ในการทดลอง

สูตรอาหาร	**ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม (ppm)**
สูตร 1	2.73 ± 1.91
สูตร 2	25.38 ± 1.59
สูตร 3	37.81 ± 1.16
สูตร 4	44.90 ± 1.73

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สูตร 1 สูตร 2 สูตร 3 สูตร 4

รูปที่ 8 ลักษณะและสีของอาหารทดลองสูตรที่ 1 – 4

4.2 ผลการทดลองที่ 1 ผลของไลโคพีนต่อการเกิดสี การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ

4.2.1 วัดสีด้วยเครื่อง Spectroradiometer

หลังจากกุ้งกุลาดำได้รับอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ นำกุ้งกุลาดำไปวัดสีด้วยเครื่อง Spectroradiometer พบว่าสีของกุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองผสมไลโคพีนมีสีเข้มกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุม (ไม่เติมไลโคพีน) โดยการวัดสีกุ้งกุลาดำสดและหลังจากผ่านการให้ความร้อนแล้ว พบว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองผสมไลโคพีนทั้ง 3 สูตร คือ 50, 100 และ 200 มก./กก. จะมีสีเข้มมากกว่าและมีค่าการสะท้อนแสงน้อยกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังผลแสดงในตารางที่ 6 และรูปที่ 9 และเมื่อนำกุ้งกุลาดำสดไปผ่านการให้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 5 นาที พบว่าค่าการสะท้อนแสงของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทั้ง 4 สูตรเมื่อวัดด้วยเครื่อง Spectroradiometer ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังผลแสดงในตารางที่ 6 และรูปที่ 10

เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ นำกุ้งกุลาดำสด (รูปที่ 11) ไปวัดสีด้วยเครื่อง Spectroradiometer พบว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองผสมไลโคพีน 100 และ 200 มก./กก. จะมีสีเข้มมากกว่าและมีค่าการสะท้อนแสงน้อยกว่ากุ้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ผสมไลโคพีน 50 มก./กก. อย่างมีนัยสำคัญ ดังผลแสดงในตารางที่ 7 และรูปที่ 13 เมื่อนำกุ้ง

กุลาดำไปผ่านการให้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 5 นาที (รูปที่ 12) พบว่าค่าการสะท้อนแสงของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทั้ง 4 สูตรเมื่อวัดด้วยเครื่อง Spectroradiometer ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังผลแสดงในตารางที่ 7 และรูปที่ 14 แต่จากสีที่ปรากฏหลังจากนำกุ้งกุลาดำไปทำให้สุก พบว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองผสมไลโคพีนทั้ง 3 สูตร จะมีความเข้มของสีส้มอมแดงมากกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 6 ค่าการสะท้อนแสงของกุ้งกุลาดำเมื่อวัดด้วยเครื่อง Spectroradiometer หลังจากได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

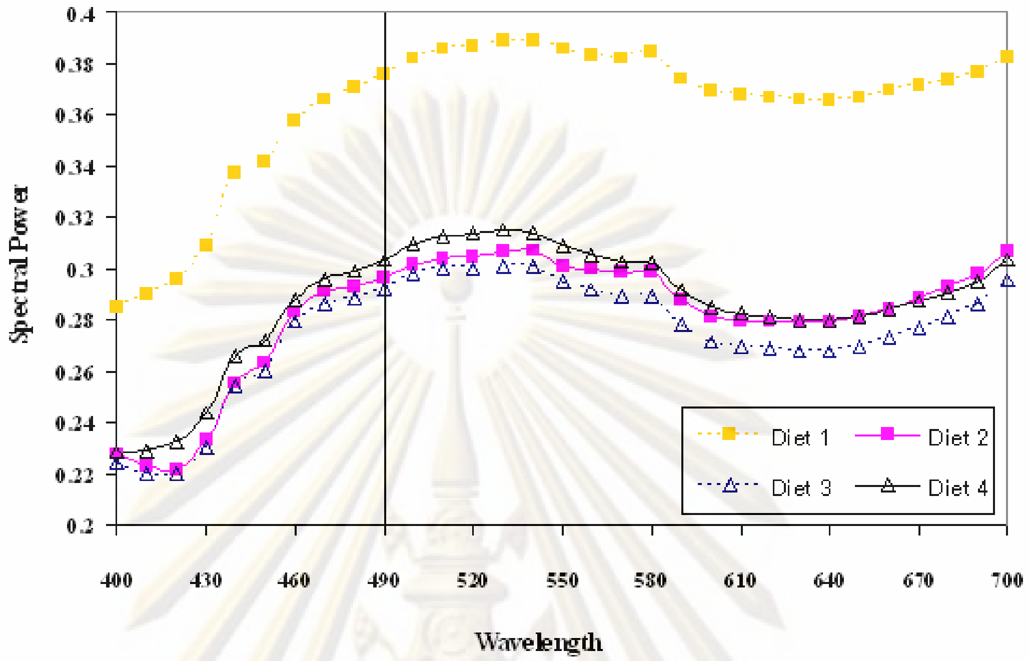
สูตรอาหาร	กุ้งกุลาดำสด		กุ้งกุลาดำผ่านการให้ความร้อน	
	490 nm	500 nm	610 nm	620 nm
สูตร 1	0.376±0.03^{a}	0.382±0.02^{a}	0.536±0.04	0.541±0.03
สูตร 2	0.297±0.05^{b}	0.300±0.03^{b}	0.499±0.03	0.504±0.02
สูตร 3	0.292±0.03^{b}	0.298±0.02^{b}	0.498±0.04	0.506±0.03
สูตร 4	0.303±0.06^{b}	0.310±0.06^{b}	0.512±0.06	0.519±0.06

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวยกซ้ำกัน ในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 95%

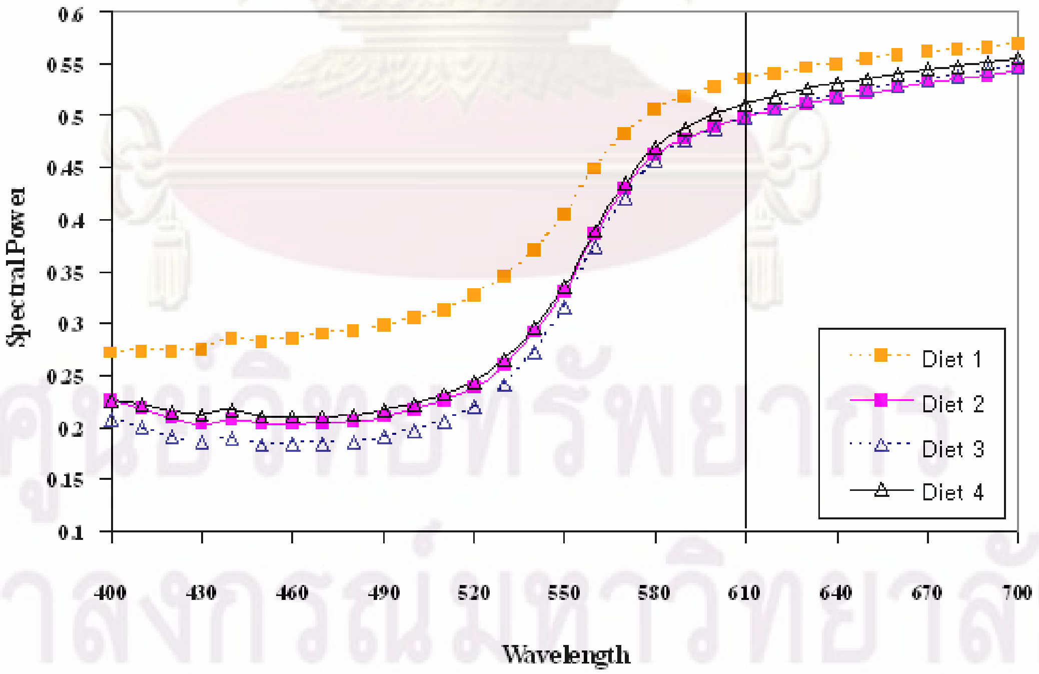
ตารางที่ 7 ค่าการสะท้อนแสงของกุ้งกุลาดำเมื่อวัดด้วยเครื่อง Spectroradiometer หลังจากได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

สูตรอาหาร	กุ้งกุลาดำสด		กุ้งกุลาดำผ่านการให้ความร้อน	
	490 nm	500 nm	610 nm	620 nm
สูตร 1	0.230±0.01^{a}	0.229±0.01 ^{a}	0.538±0.05	0.502±0.05
สูตร 2	0.207±0.01^{a}	0.208±0.01 ^{ab}	0.495±0.03	0.533±0.03
สูตร 3	0.168±0.02^{b}	0.179±0.03 ^{b}	0.482±0.03	0.513±0.03
สูตร 4	0.175±0.03^{b}	0.214±0.03 ^{ab}	0.494±0.03	0.538±0.03

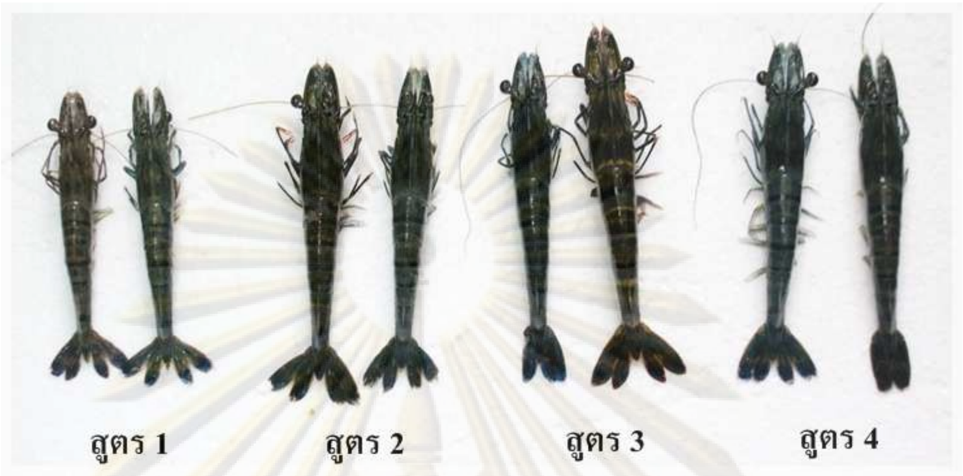
ค่าเฉลี่ยที่มีตัวยกซ้ำกัน ในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 95%



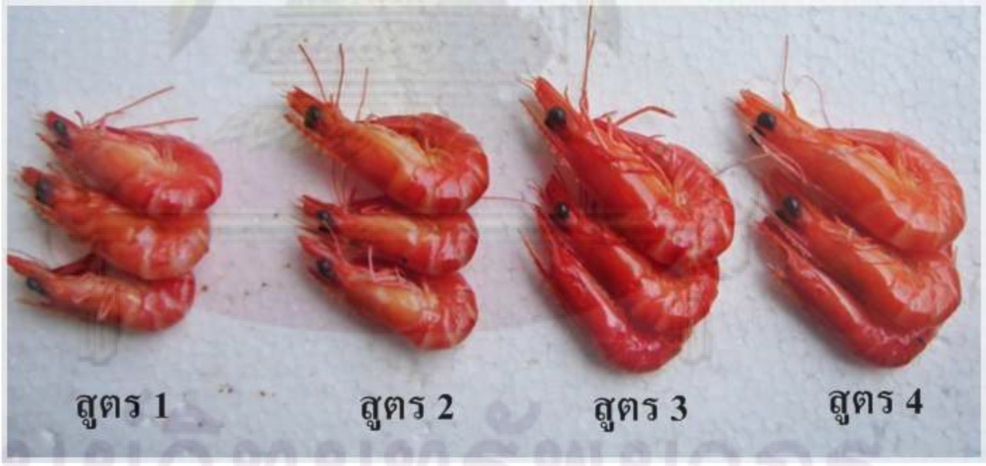
รูปที่ 9 ค่า Spectral power ของกุ้งกุลาดำ หลังจากให้อาหารทดลอง 4 สัปดาห์ (สด) ด้วยเครื่อง Spectroradiometer ช่วงความยาวคลื่น 400 – 700 นาโนเมตร



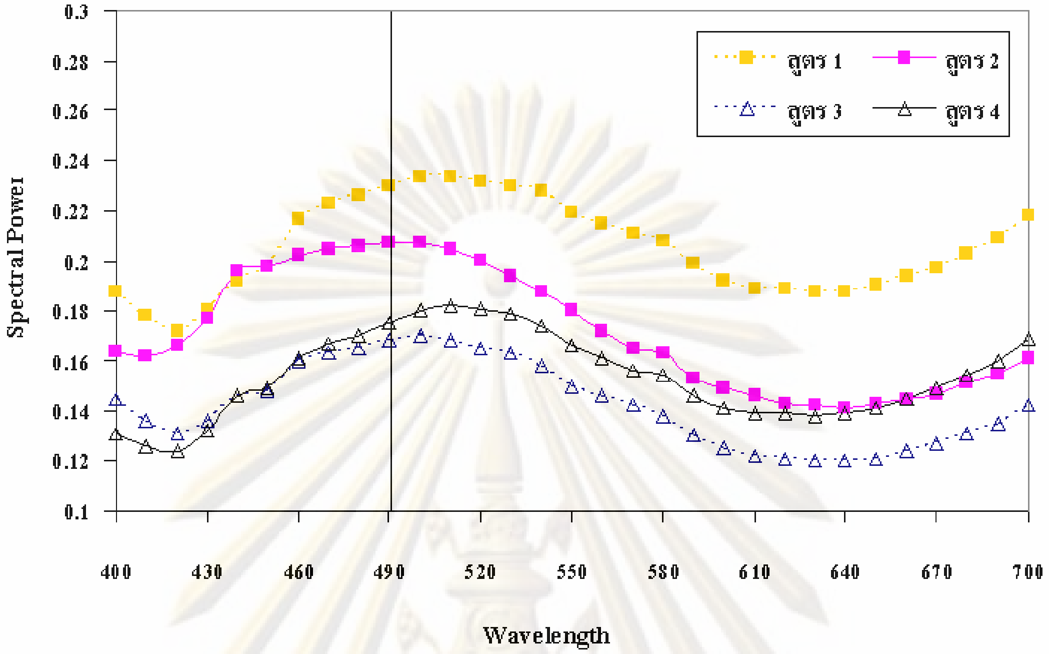
รูปที่ 10 ค่า Spectral power ของกุ้งกุลาดำ หลังจากให้อาหารทดลอง 4 สัปดาห์ (ทำให้สุกแล้ว) ด้วยเครื่อง Spectroradiometer ช่วงความยาวคลื่น 400 – 700 นาโนเมตร


สูตร 1
สูตร 2
สูตร 3
สูตร 4

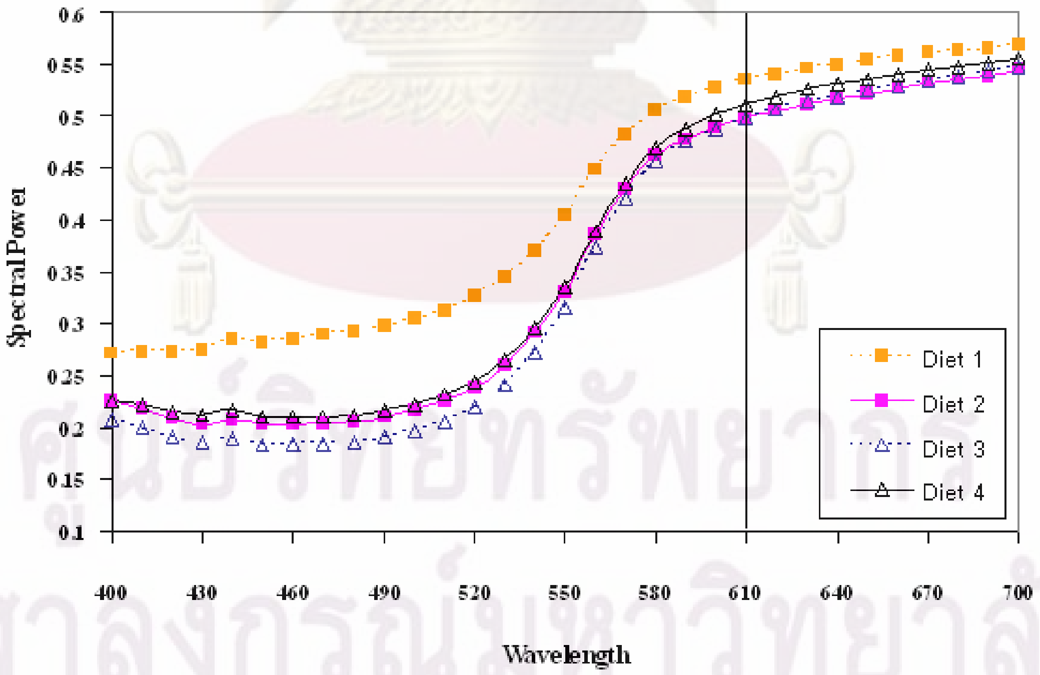
รูปที่ 11 สีของกุ้งกุลาดำหลังจากให้อาหารทดลอง 12 สัปดาห์ (สด)


สูตร 1
สูตร 2
สูตร 3
สูตร 4

รูปที่ 12 สีของกุ้งกุลาดำหลังจากให้อาหารทดลอง 12 สัปดาห์ (ทำให้สุกแล้ว)



รูปที่ 13 ค่า Spectral power ของกุ้งกุลาดำ หลังจากให้อาหารทดลอง 12 สัปดาห์ (สด) ด้วยเครื่อง Spectroradiometer ช่วงความยาวคลื่น 400 – 700 นาโนเมตร



รูปที่ 14 ค่า Spectral power ของกุ้งกุลาดำ หลังจากให้อาหารทดลอง 12 สัปดาห์ (ทำให้สุกแล้ว) ด้วยเครื่อง Spectroradiometer ช่วงความยาวคลื่น 400 – 700 นาโนเมตร

4.2.2 ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในตัวกุ้งกุลาดำ

ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในตัวกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร พบว่ากุ้งกุลาดำมีปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในตัวกุ้งกุลาดำที่ได้รับจากอาหารทดลองสูตรต่างๆ

สูตรอาหาร	**ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม (ไมโครกรัม/กรัม)**
สูตร 1	29.72 ± 2.98 ^{a}
สูตร 2	49.44 ± 3.22 ^{b}
สูตร 3	53.25 ± 4.43 ^{b}
สูตร 4	74.80 ± 5.60 ^{c}

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวยกซ้ำกัน ในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 95%

4.2.3 ผลของไลโคพีนต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ

น้ำหนักและความยาวของกุ้งกุลาดำทั้ง 4 สูตรการทดลอง แสดงผลในตารางที่ 9 และ 10 จากการทดลองเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองผสมไลโคพีน 50, 100 และ 200 มก./กก. มีน้ำหนักเฉลี่ย (รูปที่ 15), ความยาวเฉลี่ย (รูปที่ 16), น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (รูปที่ 17), และความยาวที่เพิ่มขึ้น (รูปที่ 18) สูงกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

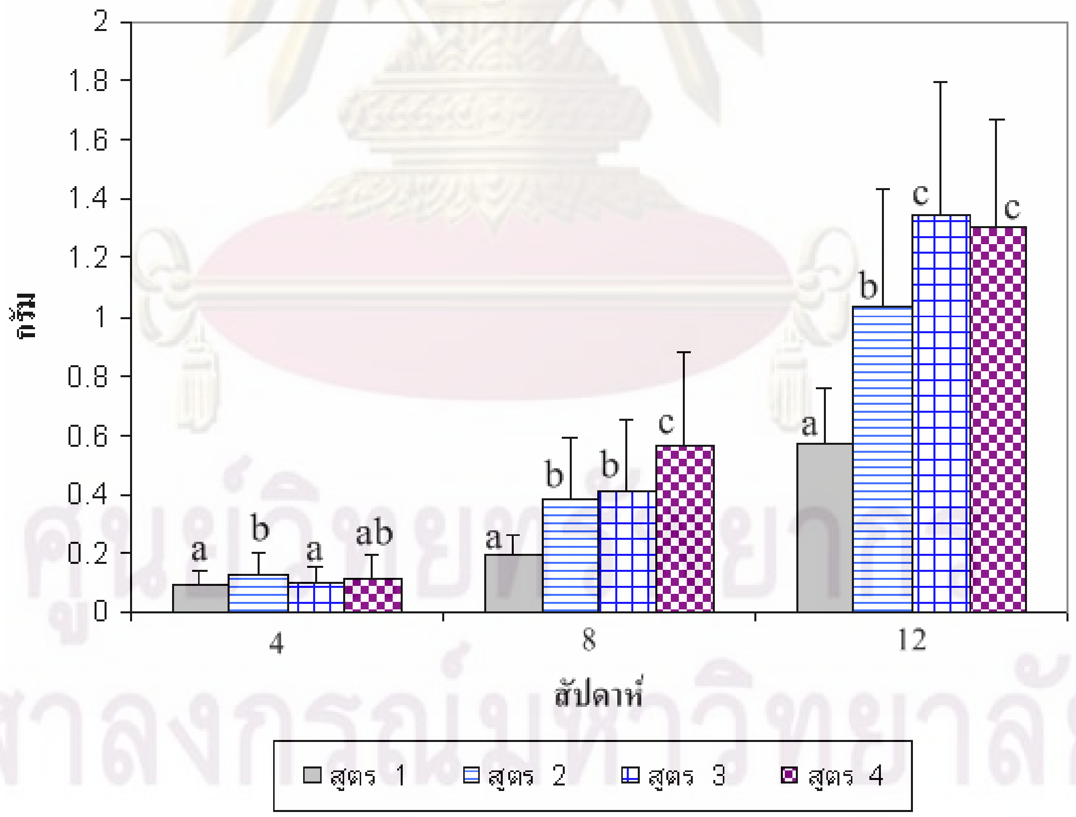
จากการทดลองกุ้งกุลาดำวัยอ่อน หลังจากได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า กุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองผสมไลโคพีน 50 มก./กก. มีน้ำหนักเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยมากกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มอื่นๆ แต่ยังไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อทำการทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเริ่มเห็นความแตกต่างกันของกุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองผสมไลโคพีนทั้ง 3 สูตรกับกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุม โดยกุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหาร

ทดลองผสมไลโคพีน 200 มก./กก. มีน้ำหนักเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยสูงกว่ากุ้งกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ดังผลแสดงในตารางที่ 9 – 10 และรูปที่ 15 - 16

ตารางที่ 9 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

สูตรอาหารทดลอง	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	12 สัปดาห์
สูตร 1	0.089 ± 0.05^{a}	0.193 ± 0.07^{a}	0.572 ± 0.19^{a}
สูตร 2	0.127 ± 0.07^{b}	0.381 ± 0.21^{b}	1.039 ± 0.39^{b}
สูตร 3	0.100 ± 0.06^{a}	0.414 ± 0.24^{b}	1.343 ± 0.45^{c}
สูตร 4	0.114 ± 0.08^{ab}	0.560 ± 0.32^{c}	1.304 ± 0.36^{c}

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวยกซ้ำกัน ในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 95%

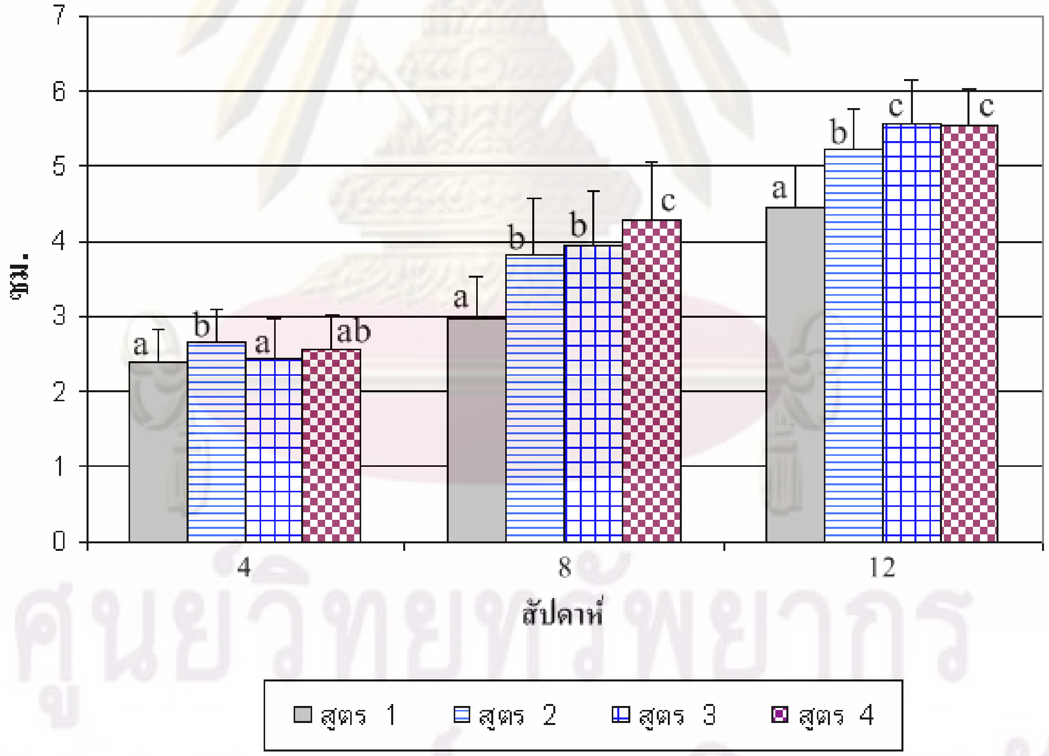


รูปที่ 15 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ

ตารางที่ 10 ความยาวเฉลี่ย (ซม.) ของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

สูตรอาหารทดลอง	**4 สัปดาห์**	**8 สัปดาห์**	**12 สัปดาห์**
สูตร 1	2.394±0.43^{a}	2.970±0.57^{a}	4.458±0.53^{a}
สูตร 2	2.672±0.42^{b}	3.816±0.76^{b}	5.242±0.52^{b}
สูตร 3	2.437±0.54^{a}	3.942±0.72^{b}	5.564± 0.60^{c}
สูตร 4	2.556±0.48^{ab}	4.282±0.77^{c}	5.528±0.50^{c}

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวยกซ้ำกัน ในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 95%



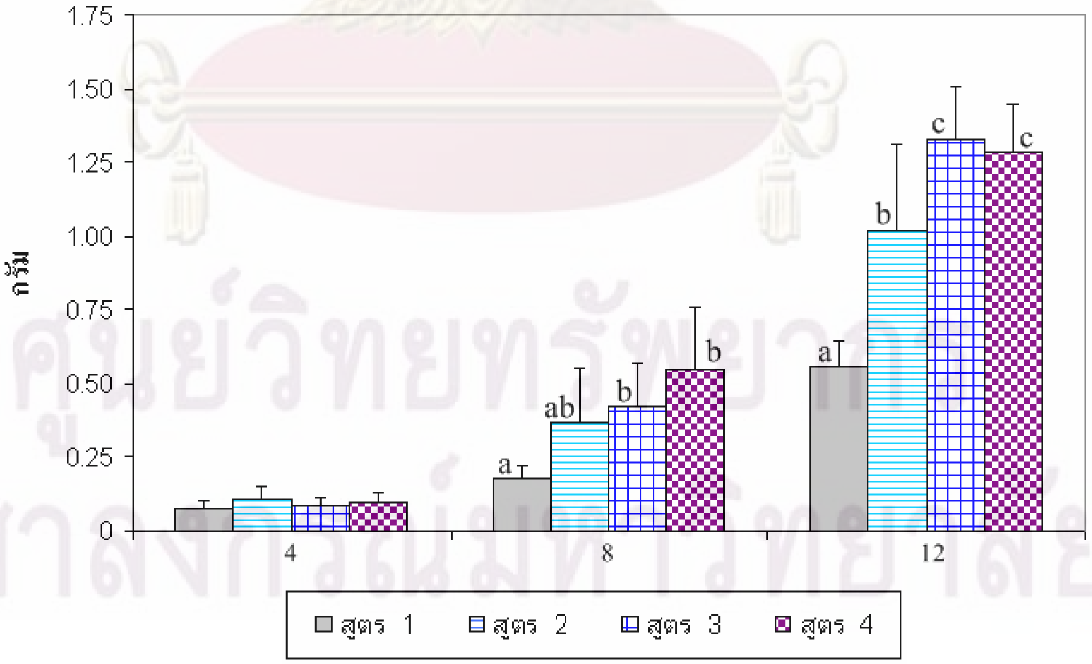
รูปที่ 16 ความยาวเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและความยาวที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำที่ได้รับจากอาหารทดลองแต่ละสูตร จะเริ่มเห็นความแตกต่างเมื่อทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ และเมื่อทดลองเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองผสมไลโคพีน 50, 100 และ 200 มก./กก. มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงกว่ากุ้งกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังผลแสดงในตารางที่ 11 – 12 และ รูปที่ 17 - 18

ตารางที่ 11 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

สูตรอาหารทดลอง	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	12 สัปดาห์
สูตร 1	0.073±0.03	0.177 ± 0.05^{a}	0.556 ± 0.08^{a}
สูตร 2	0.111±0.04	0.365 ± 0.19^{ab}	1.023 ± 0.29^{b}
สูตร 3	0.084±0.03	0.425 ± 0.14^{b}	1.327 ± 0.18^{c}
สูตร 4	0.098±0.04	0.544 ± 0.21^{b}	1.288 ± 0.16^{c}

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวยกซ้ำกัน ในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 95%

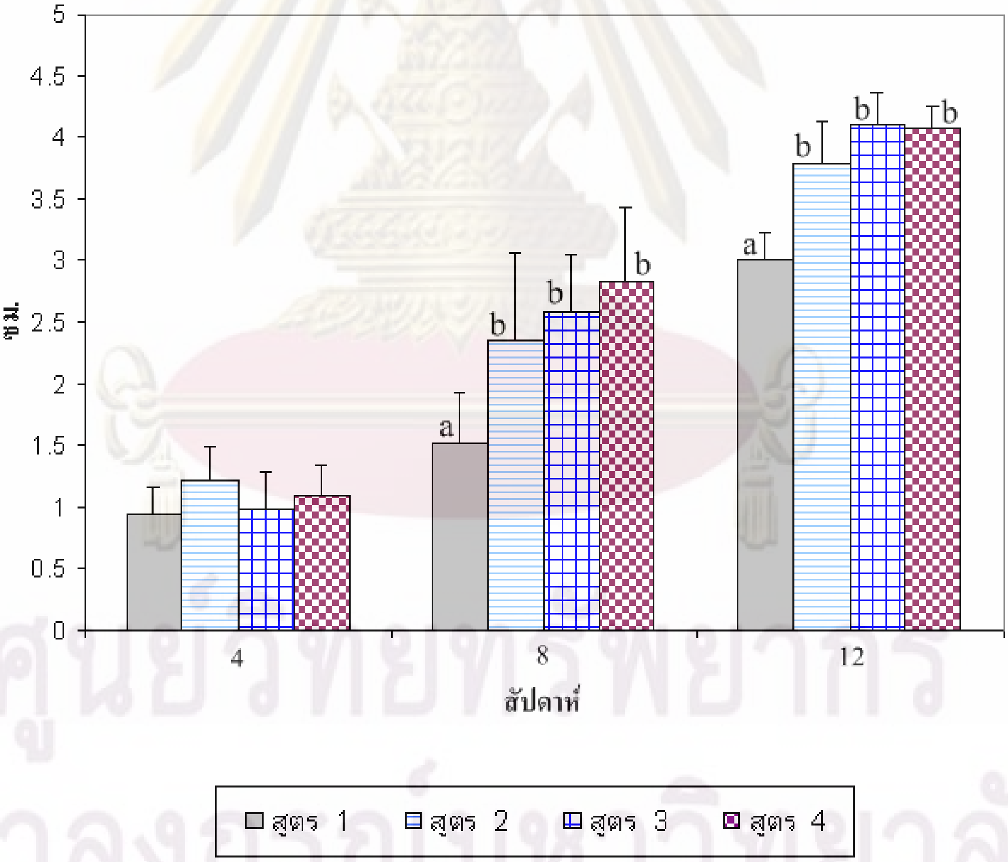


รูปที่ 17 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ

ตารางที่ 12 ความยาวที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

สูตรอาหารทดลอง	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์	12 สัปดาห์
สูตร 1	0.939±0.21	1.515±0.41 ^{a}	3.003±0.21 ^{a}
สูตร 2	1.217±0.28	2.361±0.70 ^{b}	3.787±0.35 ^{b}
สูตร 3	0.982±0.31	2.585±0.47 ^{b}	4.109±0.26 ^{b}
สูตร 4	1.101±0.24	2.827±0.61 ^{b}	4.073±0.17 ^{b}

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวยกซ้ำกัน ในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 95%



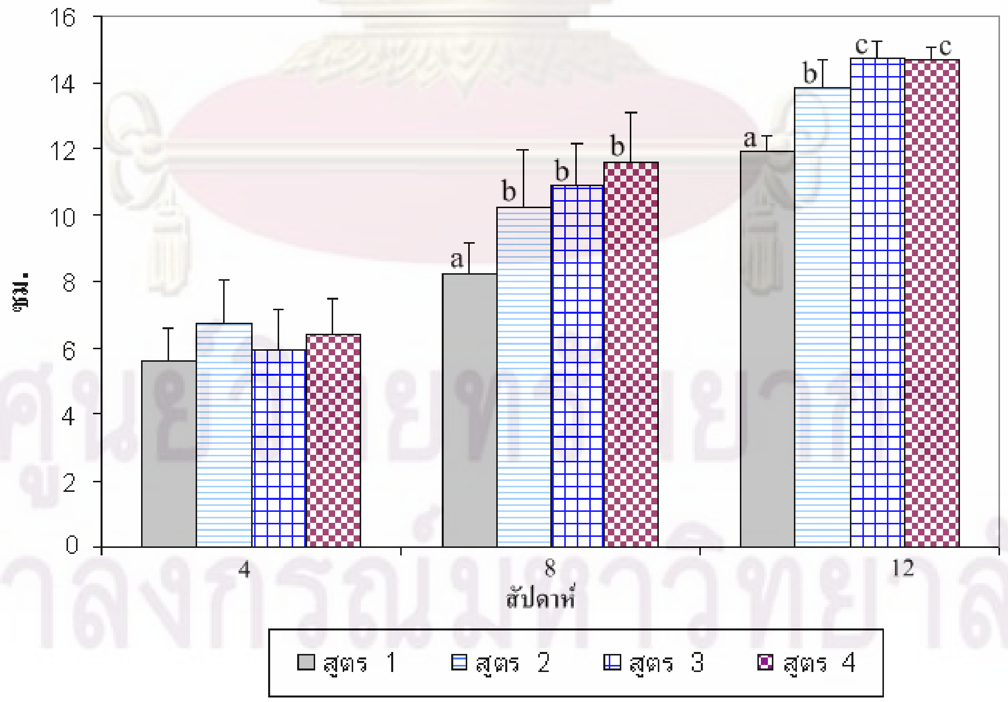
รูปที่ 18 ความยาวที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ

อัตราการเติบโตจำเพาะของกุ้งกุลาดำวัยอ่อน เริ่มเห็นความแตกต่างของอาหารทดลองแต่ละสูตร เมื่อได้รับทำการทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองผสมไลโคพีนมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงกว่ากุ้งกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังผลแสดงในตารางที่ 13 และรูปที่ 19

ตารางที่ 13 อัตราการเติบโตจำเพาะของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (%)

สูตรอาหารทดลอง	**4 สัปดาห์**	**8 สัปดาห์**	**12 สัปดาห์**
สูตร 1	5.587±1.00	8.204±0.92 ^{a}	11.894±0.48 ^{a}
สูตร 2	6.730±1.34	10.219±1.74 ^{b}	13.816±0.87 ^{b}
สูตร 3	5.937±1.21	10.878±1.29 ^{b}	14.740±0.46 ^{c}
สูตร 4	6.397±1.06	11.618±1.47 ^{b}	14.645±0.43 ^{c}

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวยกซ้ำกัน ในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 95%



รูปที่ 19 อัตราการเติบโตจำเพาะของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ

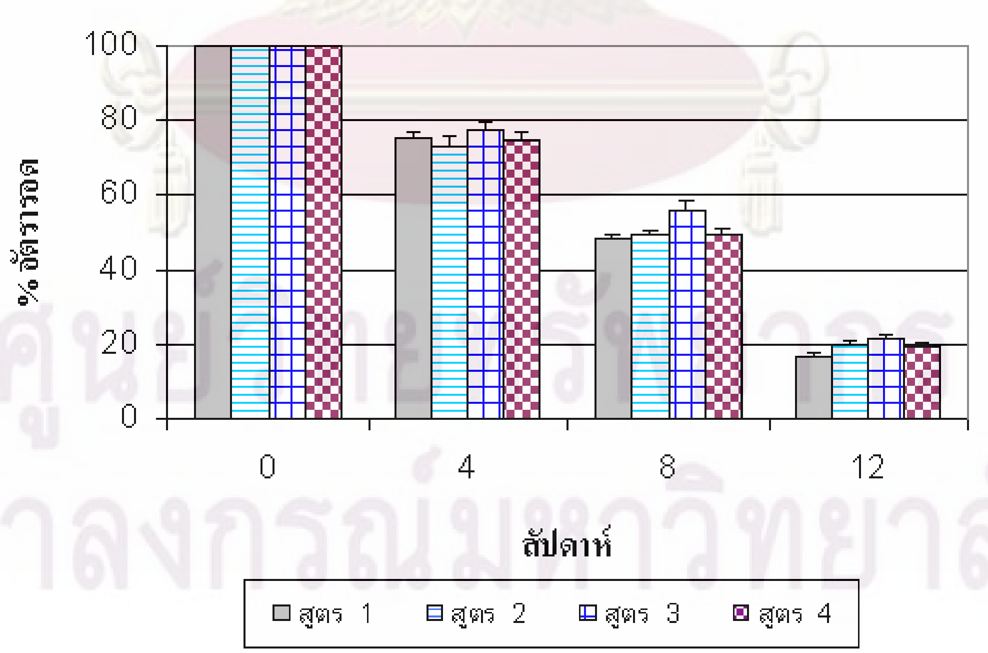
4.2.4 ผลของไลโคพีนต่ออัตรารอดของกุ้งกุลาดำ

จากการทดลองที่ 1 เลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 30 เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง บันทึกจำนวนกุ้งที่เหลือรอดในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าอัตรารอดตายเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 สูตรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังผลในตารางที่ 14 และรูปที่ 20

ตารางที่ 14 อัตรารอดของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (%)

สูตรอาหารทดลอง	**4 สัปดาห์**	**8 สัปดาห์**	**12 สัปดาห์**
สูตร 1	75.00±1.58	48.33±1.14	16.67±0.71
สูตร 2	73.33±2.51	49.17±1.64	20.00±1.30
สูตร 3	77.50±2.30	55.83±2.61	21.67±1.10
สูตร 4	74.17±2.68	49.17±2.05	19.17±1.14

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวยกซ้ำกัน ในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 95%



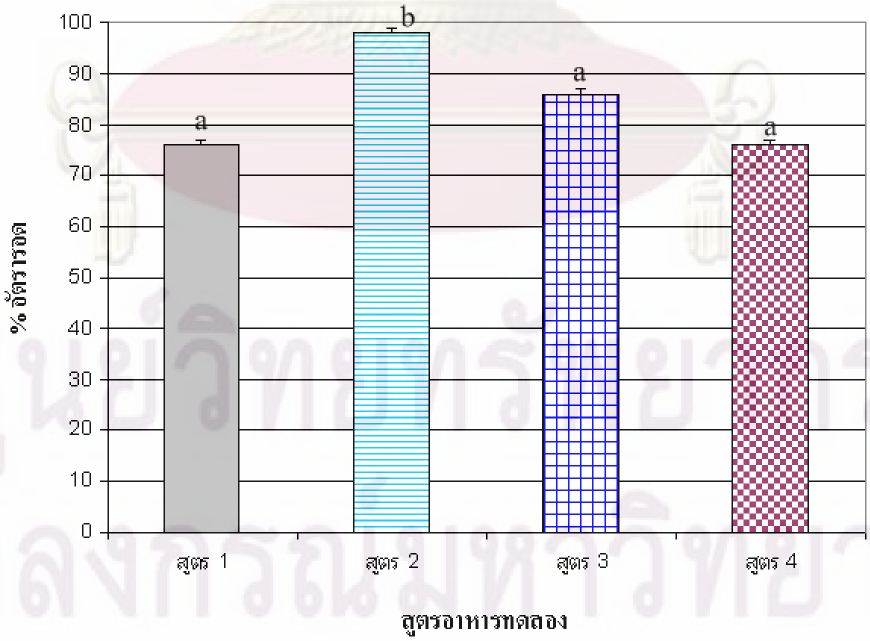
รูปที่ 20 อัตรารอดเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ

จากการทดลองที่ 2 โดยเลี้ยงกุ้งกุลาดำน้ำหนักเฉลี่ย 7 กรัม เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมไลโคพีน 50 มก./กก มีเปอร์เซ็นอัตรารอดเฉลี่ยสูงกว่ากุ้งกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมไลโคพีน 100 และ 200 มก./กกและกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังผลในตารางที่ 15 และรูปที่ 21

ตารางที่ 15 อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังได้รับอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (%)

สูตรอาหารทดลอง	อัตรารอด (%)
สูตร 1	76 ± 0.55 ^{a}
สูตร 2	98 ± 0.45 ^{b}
สูตร 3	86 ± 0.89 ^{a}
สูตร 4	76 ± 1.14 ^{a}

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวยกซ้ำกัน ในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 95%



รูปที่ 21 อัตรารอดเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำเมื่อได้รับอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

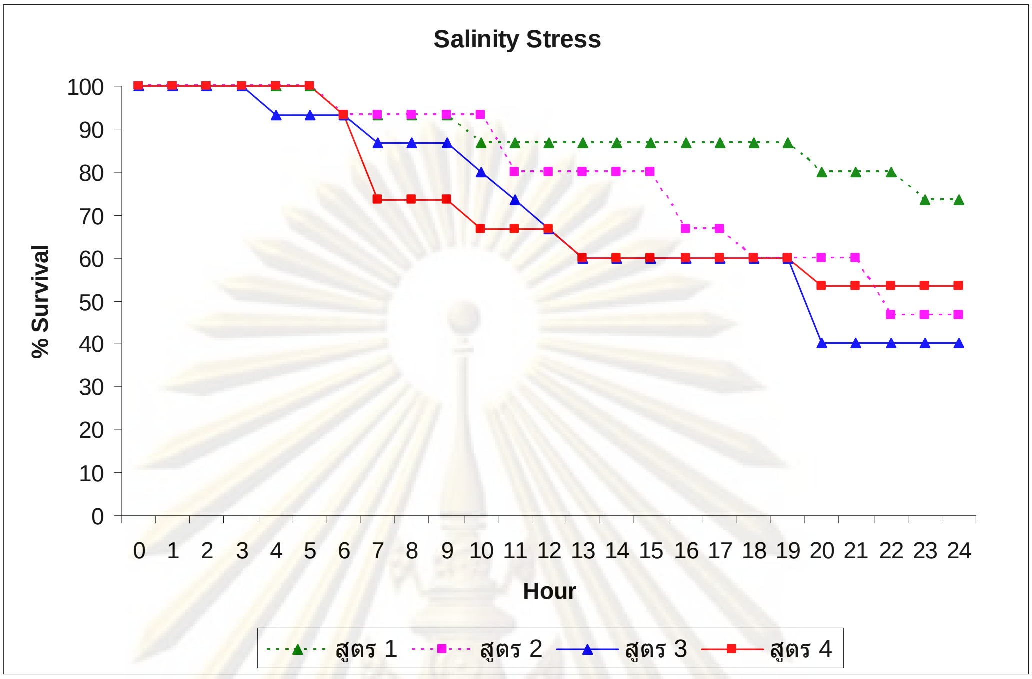
4.3 ผลการทดลองที่ 2 ผลของไลโคพีนต่ออัตรารอดจากการทดสอบความต้านทานความเครียดของกุ้งกุลาดำ

ผลการเติบโตของกุ้งกุลาดำขนาดใหญ่ แสดงในตารางที่ 16 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร จากนั้นนำมาทดสอบอัตรารอดของกุ้งกุลาดำที่ได้รับการเปลี่ยนแปลงความเค็มและอุณหภูมิอย่างเฉียบพลัน โดยจากการเปลี่ยนแปลงความเค็มและอุณหภูมิ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ากุ้งกุลาดำในแต่ละชุดการทดลองมีอัตรารอดตายเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่กุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมจะมีอัตรารอดเฉลี่ยสูงกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมไลโคพีน (รูปที่ 22 และ 24) และเมื่อทำการทดลองต่อไปเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (รูปที่ 23 และ 25) พบว่ากุ้งกุลาดำในแต่ละชุดการทดลองมีอัตรารอดตายเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน แต่กุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมจะมีอัตรารอดเฉลี่ยต่ำลงเรื่อยๆ ในขณะที่กุ้งกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมไลโคพีนยังคงมีอัตรารอดเฉลี่ยคงที่

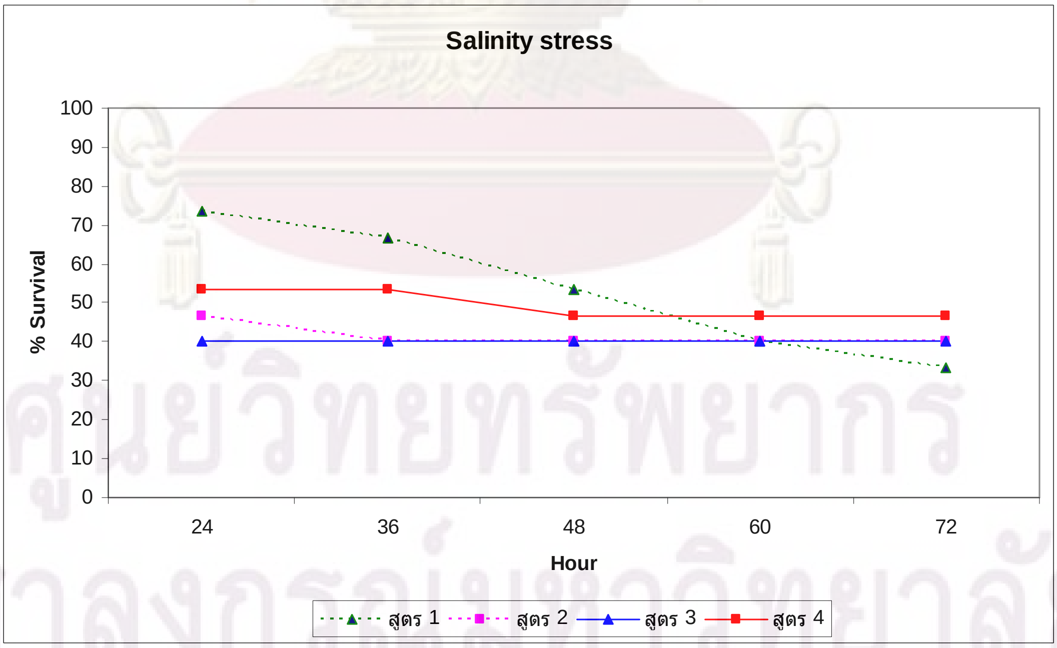
ตารางที่ 16 น้ำหนักเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ความยาวเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์ความยาวที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำขนาดใหญ่หลังจากทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหารทดลอง	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น	ความยาวเฉลี่ย (ซม.)	ความยาวที่เพิ่มขึ้น
สูตร 1	7.247±1.14	0.605±0.10	9.777±0.59	0.450±0.54
สูตร 2	9.252±1.83	0.972±0.20	10.697±0.83	0.997±0.83
สูตร 3	8.678±1.16	0.877±0.50	10.487±0.50	0.554±0.50
สูตร 4	8.496±1.72	0.887±0.55	10.334±0.78	0.694±0.78

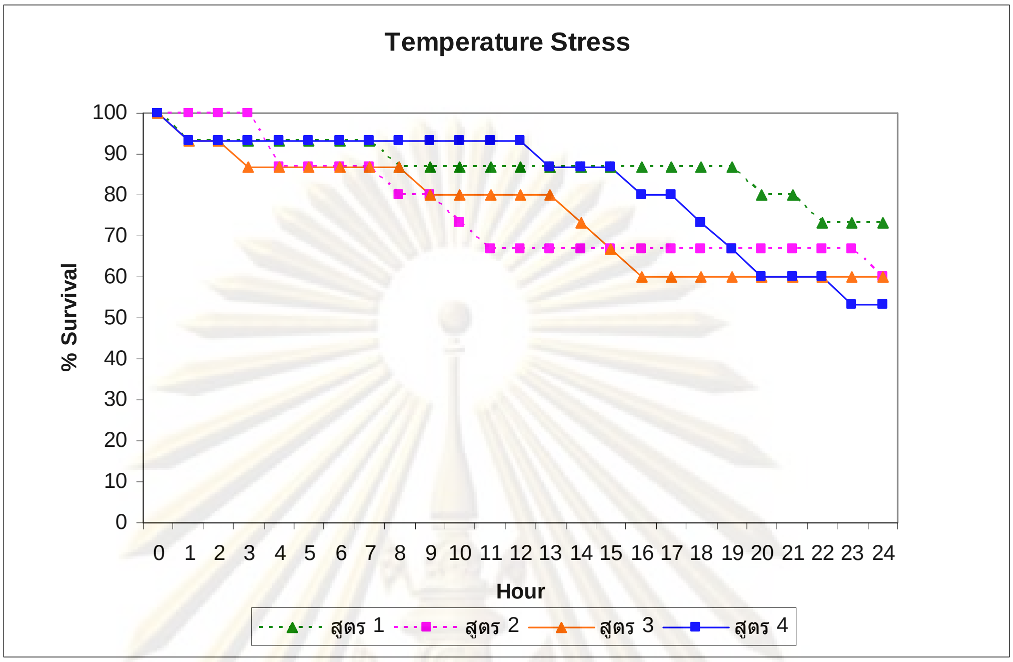
ค่าเฉลี่ยที่มีตัวยกซ้ำกัน ในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 95%



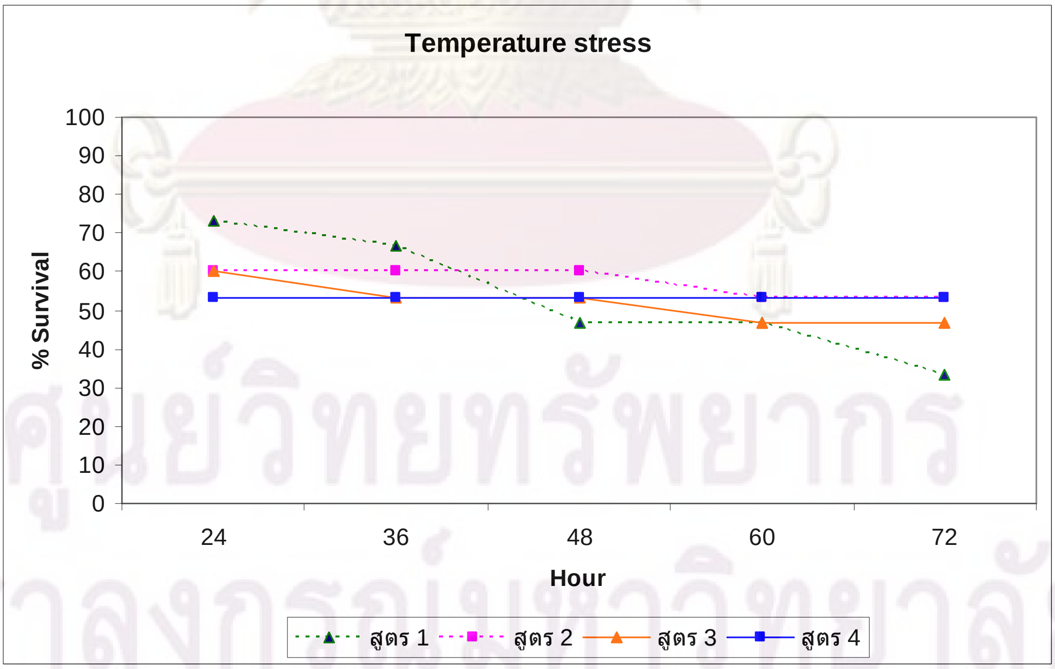
รูปที่ 22 อัตรารอด (%) จากการทดลองเปลี่ยนแปลงความเค็มอย่างฉับพลันของกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



รูปที่ 23 อัตรารอด (%) จากการทดลองเปลี่ยนแปลงความเค็มอย่างฉับพลันของกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 72 ชั่วโมง



รูปที่ 24 อัตรารอด (%) จากการทดลองเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างฉับพลันของกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



รูปที่ 25 อัตรารอด (%) จากการทดลองเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างฉับพลันของกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

4.4 คุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการทดลอง

เก็บข้อมูลโดยการสุ่มวัดอุณหภูมิ (Temperature), ความเค็ม (Salinity), ความเป็นกรดด่าง (pH), ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity), ปริมาณแอมโมเนีย (Ammonium) และไนไตรท์ (Nitrite) ได้ผลดังตารางที่ 17 คุณภาพน้ำของแต่ละชุดการทดลองมีค่าใกล้เคียงกันและอยู่ในช่วงปกติตลอดระยะเวลาการทดลอง ยกเว้นไนไตรท์และแอมโมเนียม จากการวัดพบว่ามีค่าสูงในบางช่วงการทดลองและแก้ไขโดยการเปลี่ยนน้ำในระบบเลี้ยง เพื่อให้ค่าอยู่ในแกนที่ไม่เป็นพิษต่อกุ้ง

ตารางที่ 17 คุณภาพน้ำโดยเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

สูตรอาหารทดลอง	**คุณภาพน้ำระหว่างการทดลอง**					
	อุณหภูมิ (˚C)	ความเค็ม (ppt)	ความเป็นกรด-ด่าง	ค่าความเป็นด่าง	ปริมาณแอมโมเนีย (mg/l)	ไนไตรท์ (mg/l)
สูตร 1	27 - 29	25 - 27	7.6 – 8.0	90 - 120	0 - 0.5	0 – 0.1
สูตร 2	25 – 28	25 - 27	7.0 – 8.0	80 - 100	0.25 - 0.5	0.05 – 0.25
สูตร 3	26 – 29	25 - 27	7.6 – 8.0	110 - 120	0.25 - 0.5	0.025 – 0.5
สูตร 4	25 – 30	25 - 27	7.0 – 8.0	100 - 120	0.25 – 0.5	0 – 0.5

บทที่ 5
อภิปรายผลการวิจัย

5.1 อาหารทดลอง

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการในอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร พบว่ามีคุณค่าทางโภชนาการใกล้เคียงกัน แต่ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมมีปริมาณลดลงมากจากที่กำหนดไว้ ซึ่งอาจเกิดมาจากการสูญเสียแคโรทีนอยด์ในระหว่างการเก็บรักษา แคโรทีนอยด์ในอาหารจึงลดลง

5.2 ผลของไลโคพีนต่อการเกิดสี

การวัดสีกุ้งด้วยเครื่อง Spectroradiometer เป็นการวัดค่าการสะท้อนแสงจากตัวกุ้ง ถ้าค่าการสะท้อนแสงน้อยแสดงว่าสีของกุ้งจะมีสีเข้มและดูดกลืนแสงไว้มาก จากการทดลอง อาหารทดลองสูตร 3 คือ ผสมไลโคพีน 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าการสะท้อนแสงเฉลี่ยน้อยที่สุด จึงมีสีเข้มที่สุด รองลงมาเป็นอาหารทดลองสูตร 2 และ 4 คือ ผสมไลโคพีน 50 และ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารตามลำดับ อาหารทดลองสูตรที่ 1 ซึ่งไม่ผสมไลโคพีนมีค่าการสะท้อนแสงเฉลี่ยสูงที่สุด จึงมีสีอ่อนที่สุด และนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยพิจารณาในช่วงความยาวคลื่น 490 และ 500 นาโนเมตร เนื่องจากสีของกุ้งกุลาดำสดเป็นสีน้ำเงินเข้มแกมดำ และสีของกุ้งกุลาดำเมื่อนำไปผ่านการให้ความร้อนเป็นสีส้มแกมแดง จึงได้เลือกช่วงความยาวคลื่น 600 และ 610 นาโนเมตร มาพิจารณาความแตกต่างของอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร พบว่าสีของกุ้งกุลาดำสดกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองผสมไลโคพีนทั้ง 3 สูตร คือ 50, 100 และ 200 มก./กก. จะมีสีเข้มมากกว่าและมีค่าการสะท้อนแสงน้อยกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และหลังจากนำกุ้งไปผ่านการให้ความร้อน พบว่าค่าการสะท้อนแสงของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทั้ง 4 สูตรเมื่อวัดด้วยเครื่อง Spectroradiometer ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อาจเนื่องมาจากการให้ความร้อนอาจทำให้รงควัตถุของกุ้งสลายตัวไป จึงทำให้สีของกุ้งที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่กุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองผสมไลโคพีนทั้ง 3 สูตร มีความเข้มของสีส้มอมแดงมากกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุม มีรายงานวิจัยการเสริมแอสตาแซนทินในอาหารปริมาณ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารหรือแคนทาแซนทิน 100

มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ก็เพียงพอที่จะช่วยปรับปรุงสีกุ้งให้ได้ตามมาตรฐานที่ตลาดต้องการ (มะลิ และคณะ, 2537) และในทำนองเดียวกันกับ ดวงใจ กิตติปรีชากุล (2544) พบว่าความเข้มของสีกุ้งที่ยังไม่แกะเปลือกและแกะเปลือก หลังการต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมแอสตาแซนทินจากยีสต์ *Phaffia rhodozyma* ทุกระดับมีสีส้มอมแดงเข้มกว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่ผสมแอสตาแซนทิน โดยมีความเข้มของสีเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนตามระดับของแอสตาแซนทินที่ผสมในอาหาร การทดลองของ Darachai (1996) พบว่ากุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 15 ที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทิน 200 ppm จากสาหร่าย *H. pluvialis* มีปริมาณแคโรทีนอยด์สะสมในตัวมากกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ 200 ppm อย่างมีนัยสำคัญ การทดลองของ Tanaka et al.(1976) พบว่ากุ้ง *P.japonicus* ที่ได้รับอาหารเริมแคโรทีนอยด์จากสไปรูลินา 10% มีปริมาณแอสตาแซนทินสะสมในตัวสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับแคนทาแซนทินสังเคราะห์ 3% ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากุ้งสามารถเปลี่ยนแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสไปรูลินา เช่น เบตาแคโรทีนและซีแซนทิน เป็นต้น ให้อยู่ในรูปแอสตาแซนทินสะสมในร่างกายได้ ซึ่งจะเห็นว่าแซนโทฟิลที่พบในสาหร่ายสไปรูลินา ได้แก่ คริปโตแซนทิน เอคไคนีโนน ซีแซนทิน ลูทินและยูกลีนาโนน ไม่พบสะสมในกุ้ง แสดงว่ากุ้งสามารถเปลี่ยนแซนโทฟิลเหล่านี้ให้อยู่ในรูปของแอสตาแซนทินได้ มีรายงานการใช้สาหร่ายสไปรูลินาเพื่อเป็นแหล่งแคโรทีนอยด์ในอาหารกุ้งทะเลวัยรุ่นที่ระดับต่างๆ พบว่าการเสริมสาหร่ายสไปรูลินาที่ระดับ 8 – 10% ให้ผลดีต่อการสร้างเม็ดสีบนตัวกุ้งและปริมาณแคโรทีนอยด์สะสม (Cuzon et al.,1981) และจากการศึกษาผลของแอสตาแซนทินจากยีสต์ *Phaffia rhodozyma* พบว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมแอสตาแซนทินทุกระดับมีสีส้มอมแดงเข้มขึ้นตามระดับของแอสตาแซนทินในอาหารและเข้มกว่าสีในกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมแอสตาแซนทิน (Supamattaya et al., 2005) การนำไลโคพีนมาใช้เพื่อปรับปรุงสีของกุ้งกุลาดำให้มีความเข้มมากขึ้น จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเลือกมาใช้ตามความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5.3 ผลของไลโคพีนต่อการเติบโต

จากการทดลองนี้กุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมไลโคพีน 50, 100 และ 200 มก./กก มีอัตราการเติบโตดีกว่ากุ้งกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญเพียงแต่ต้องใช้เวลา โดยจากการทดลองใน 4 สัปดาห์แรก น้ำหนักและความยาวของกุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลอง 50 มก./กก มีค่าสูงกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ และหลังจากการทดลอง 8 สัปดาห์กุ้ง

กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมไลโคพีน 100 และ 200 มก./กก มีน้ำหนักตัวและความยาวที่เพิ่มขึ้นสูงกว่ากุ้งกลุ่มได้รับอาหารที่ไม่ผสมไลโคพีนอย่างมีนัยสำคัญ จากการทดลองที่ 2 ทดลองเลี้ยงกุ้งขนาดใหญ่เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากรายงานการวิจัยพบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ 200 ppm 1 เดือน มีการเติบโตที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม (นิตยา ไชยเนตร, 2538) และในทำนองเดียวกันกับการทดลองของนิติ ชูเชิด (2538) ศึกษาถึงผลของแอสตาแซนทินต่ออัตราการเจริญเติบโต การรอดตาย พบว่ากุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 15 ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมแอสตาแซนทินอัตรา 0.625 กรัม/กิโลกรัม โตดีกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมแอสตาแซนทิน แต่อัตรารอดของกุ้งทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน รวมทั้งมีการศึกษาผลระหว่างการเสริมแอสตาแซนทินจากสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* และแอสตาแซนทินสังเคราะห์ ต่อกุ้งกุลาดำวัยอ่อน พบว่าอาหารเสริมแอสตาแซนทินจากสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ทำให้กุ้งกุลาดำระยะซูเอีย ไมซิส และโพสต์ลาวา มีความยาวมากกว่ากุ้งที่อนุบาลด้วยอาหารทดลองอื่นที่ไม่ผสมรงควัตถุ (Darachai *et al.*, 1998) จากการทดลองพบว่าการให้อาหารเสริมไลโคพีนแก่กุ้งกุลาดำขนาดเล็กส่งผลให้มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นได้ดีกว่ากุ้งกุลาดำขนาดใหญ่ อาจเนื่องมาจากระยะเวลาการทดลองของกุ้งกุลาดำขนาดใหญ่ ได้ทดลองเป็นระยะเวลาสั้นเพียง 4 สัปดาห์ หากทำการทดลองเป็นระยะเวลานานขึ้นเช่นเดียวกับการทดลองในกุ้งกุลาดำวัยอ่อน การเติบโตของกุ้งกุลาดำขนาดใหญ่ที่ได้รับอาหารทดลองผสมไลโคพีน อาจทำให้เห็นผลความแตกต่างระหว่างอาหารทดลองแต่สูตรได้

5.4 ผลของไลโคพีนต่ออัตรารอด

จากการทดลองที่ 1 เลี้ยงกุ้งกุลาดำขนาดเล็กเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย พบว่าอัตรารอดของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 สูตรไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งต่างจากการทดลองที่ 2 โดยเลี้ยงกุ้งกุลาดำขนาดใหญ่เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมไลโคพีน 50 มก./กก มีเปอร์เซ็นอัตรารอดสูงกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมไลโคพีน 100 และ 200 มก./กกและกุ้งกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ จากการทดลองของ Darachai (1996) พบว่าแคโรทีนอยด์ไม่มีผลต่อการรอดของกุ้งกุลาดำวัยอ่อน และในทำนองเดียวกันกับการทดลองของนิติ ชูเชิด (2538) ในกุ้งทะเลระยะวัยรุ่น พบว่าอาหารเสริมแคโรทีนอยด์ไม่มีผลชัดเจนต่อการรอด จากการทดลองของ

Yamada et al. (1990) พบว่าอาหารเสริมเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 ppm ในอาหารไม่มีผลต่อการรอดของกุ้ง *Penaeus japonicus* เช่นกัน จากการทดลองนี้ไลโคพีนไม่มีผลต่ออัตรารอดของกุ้งกุลาดำขนาดเล็ก อาจเนื่องมาจากระยะเวลาที่ทำการทดลองที่นานเกินไป และกุ้งกุลาดำก็เกิดการกินกันเอง จึงทำให้ไม่สามารถระบุได้ชัดเจนว่าตายเพราะสาเหตุอะไร และสถานที่ที่ใช้ทดลองไม่เหมาะสม ซึ่งถังที่ใช้ทดลองมีขนาดเล็กเกินไปเมื่อได้ทำการทดลองจนถึงสัปดาห์ที่ 12 จึงอาจทำให้กุ้งกุลาดำเกิดการกินกันเองได้เช่นเดียวกัน รวมถึงคุณภาพน้ำของระบบเลี้ยงที่พบว่ามีค่าสูงเกินเกณฑ์มาตรฐานในบางช่วงการทดลอง จึงทำให้ส่งผลต่ออัตรารอดของกุ้งกุลาดำขนาดเล็กเช่นกัน หรืออาจเป็นเพราะเป็นไลโคพีนสังเคราะห์ซึ่งมีโครงสร้างโมเลกุลในรูป all – trans ที่ไม่พบในธรรมชาติ จึงยากต่อการนำไปใช้ของกุ้งกุลาดำวัยอ่อน แต่จะพบว่าในการทดลองกุ้งกุลาดำขนาดใหญ่จะสามารถนำแคโรทีนอยด์ไปใช้ได้ดีกว่า เห็นได้จากกุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองผสมไลโคพีน 50 มก./กก มีอัตรารอดดีกว่ากลุ่มอื่นๆ

จากการทดลองนำกุ้งกุลาดำไปทดสอบการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมอย่างเฉียบพลันเพื่อดูอัตราการรอดเฉลี่ย โดยการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 25 พีพีที เป็น 2 พีพีที และเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจาก 28 องศาเซลเซียส เป็น 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ากุ้งกุลาดำในแต่ละชุดการทดลองมีอัตรารอดตายเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน โดยกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมจะมีอัตรารอดเฉลี่ยสูงกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมไลโคพีน และเมื่อทำการทดลองต่อไปเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบว่ากุ้งกุลาดำในแต่ละชุดการทดลองมีอัตรารอดตายเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน แต่กุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมจะมีอัตรารอดเฉลี่ยต่ำลงเรื่อยๆ ในขณะที่กุ้งกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมไลโคพีนยังคงมีอัตรารอดเฉลี่ยคงที่ เช่นเดียวกันกับการทดลองผลของแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ต่อการเจริญเติบโต ความต้านทานโรคและความเครียดในกุ้งกุลาดำ โดยให้กุ้งได้รับอาหารทดลองผสมแอสตาแซนทิน, เบตาแคโรทีน, แคโรทีนอยด์สกัดจาก *Dunaliella* และสาหร่ายสไปรูลินาแห้ง 3 % เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับแคโรทีนอยด์ทุกแหล่งมีสีตัวเข้มขึ้น แต่การเจริญเติบโต ความต้านทานโรคและความเครียดของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารทดลองเสริมแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดมีแนวโน้มดีขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Supamattaya et al., 2005) และจากการศึกษาผลของแอสตาแซนทินจากยีสต์ *Phaffia rhodozyma* ต่อความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มของกุ้งกุลาดำอย่างฉับพลันของ Supamatta (2005) พบว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหรือไม่ผสมแอสตาแซนทินมีอัตรารอดไม่แตกต่างกันหลังจากอยู่ในน้ำที่มีการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 20 ส่วนในพัน เหลือ 0 ส่วนในพัน นาน 40 วัน ดังนั้นการนำไลโคพีน

มาใช้เพื่อต้านทานการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมอย่างฉับพลัน เช่น การลดความเค็มของน้ำหรือการเพิ่มอุณหภูมิอาจไม่มีผลให้กุ้งมีอัตรารอดเฉลี่ยสูงขึ้น

5.5 คุณภาพน้ำ

คุณภาพน้ำในการทดลองนี้แต่ละชุดการทดลองมีค่าใกล้เคียงกันและอยู่ในช่วงปกติตลอดระยะเวลาการทดลอง ยกเว้นแอมโมเนียมและไนไตรท์ ที่พบว่าบางครั้งมีค่าสูงเกินเกณฑ์มาตรฐานปลอดภัยสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำซึ่งอาจทำให้เกิดภาวะเป็นพิษแก่กุ้งกุลาดำและทำให้น้ำเสียได้ง่าย ส่งผลต่ออัตรารอดของกุ้งกุลาดำได้

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองพบว่าการเสริมไลโคพีน ช่วยให้ปรับปรุงสีของกุ้งกุลาดำให้เข้มขึ้นและเมื่อไปผ่านการให้ความร้อนก็ทำให้กุ้งกุลาดำมีสีส้มอมแดงมากขึ้นกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารไม่ผสมไลโคพีน

การเสริมไลโคพีนที่ระดับ 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ลงในอาหารกุ้งส่งผลให้อัตราการเติบโตของกุ้งกุลาดำ คือ น้ำหนักเฉลี่ย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ความยาวเฉลี่ย ความยาวที่เพิ่มขึ้น เพิ่มขึ้นมากกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุม และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่กุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมไลโคพีนที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการเติบโตมากที่สุดเมื่อทำการทดลองเสร็จสิ้นเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

กุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 สูตรมีอัตรารอดเฉลี่ยใกล้เคียงกันและเมื่อนำไปทดสอบความต้านทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มและอุณหภูมิอย่างฉับพลันเป็นเวลา 24 - 72 ชั่วโมง พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร มีอัตรารอดเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน

6.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำในสภาพใกล้เคียงกับสภาพแวดล้อมจริง เพื่อให้เห็นผลที่เกิดขึ้นอย่างชัดเจนและสามารถนำไปใช้ได้จริง เนื่องจากในการทดลองใช้ถังขนาดเล็กอาจก่อให้เกิดปัญหาหนาแน่นเกินไปหรือมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำอย่างรวดเร็ว เช่น อุณหภูมิ สารอินทรีย์ แอมโมเนีย ไนไตรท์ เป็นต้น

2. อาหารทดลองและรงควัตถุสังเคราะห์ที่นำมาใช้ทดลองมีความไวต่อแสงแดด ความร้อน ออกซิเจน ความชื้น ดังนั้นควรมีการป้องกันการถูกทำลายและเติมสารป้องกันการเกิดออกซิเดชั่น รวมทั้งควรระมัดระวังในทุกขั้นตอน

3. อาหารทดลองไม่ควรเก็บไว้นานเกินไปหรือควรทำใหม่ทุกๆ 2 เดือนเพื่อป้องกันการสูญเสียแคโรทีนอยด์

4. นอกจากใช้วิธี Spectrophotometric method ในการปริมาณแอสตาแซนทินสะสมในตัวกุ้งและอาหารทดลองแล้วควรมีการวิเคราะห์ด้วย HPLC method ด้วยเพื่อความแม่นยำของข้อมูล

5. ควรมีการสังเคราะห์ไลโคพีนจากธรรมชาติ เช่น มะเขือเทศ มาใช้ทดลองเปรียบเทียบว่าสารจากธรรมชาติจะให้ผลดีกว่ารงควัตถุสังเคราะห์หรือไม่ เนื่องจากมะเขือเทศเป็นพืชเศรษฐกิจในประเทศ หากสามารถนำสารไลโคพีนที่มีอยู่ในมะเขือเทศมาใช้แล้วได้ผลการทดลองที่ดี ก็จะเป็นทางเลือกหนึ่งให้กับเกษตรกรและทำให้ลดต้นทุนได้

รายการอ้างอิง

จารึก ชูสุวรรณ์. 2534. ผลของแอสตาแซนตินต่อการเกิดสีของกุ้งกุลาดำและการเจริญพันธุ์ของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ดวงใจ กิตติปรีชากุล. 2545. ผลของแอสตาแซนทินจากยีสต์ *Phaffia rhodozyma* ต่อสี การเจริญเติบโต อัตรารอด ความต้านทานโรคและความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิตยา ไชยเนตร. 2538. การเสริมแอสตาแซนทิน, วิตามินซี และน้ำมันปลา ในอาหารเพื่อเพิ่มความต้านทานโรคหัวเหลืองในกุ้งกุลาดำวัยรุ่น. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นิติ ชูเชิด. 2538. ผลของสารแอสตาแซนทินต่ออัตราการเจริญเติบโต การรอดตาย และความทนทานต่อเชื้อแบคทีเรียของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในสภาพความเค็มต่ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มะลิ บุณยรัตผลิน, จารุรัตน์ วรรณโกวัฒน์, ชูศักดิ์ บริสุทธิ์ และ สุจินต์ บุญช่วย. 2537. ผลของแคนตาแซนทินและแอสตาแซนทินที่ระดับต่าง ๆ ต่อสีของกุ้งกุลาดำ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 18. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง. 11 น.

มะลิ บุณยรัตผลิน, กิจการ ศุภมาตย์ และ ชูศักดิ์ บริสุทธิ์. 2543. ระบบภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ : VIII. ผลของสารสี (astaxanthin) ต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด ระบบภูมิคุ้มกันโรคและความต้านทานโรคในกุ้งกุลาดำ. วารสารสงขลานครินทร์ วทท. 22 (ฉบับพิเศษ) : 633-639

วีระศักดิ์ สามี. 2549. แคโรทีนอยด์ : โครงสร้างทางเคมีและกลไกที่มีผลต่อการทำหน้าที่ของร่างกาย. Srinakharinwirot Journal of Pharmaceutical Sciences. Vol. 10 No. 1 : 58-66.

Agarwal, A., Shen, H., Agarwal, S., and Rao, A.V. 2001. Lycopene content of tomato products: Its stability, bioavailability and in vivo antioxidant properties. Medical Food 4 : 9–15.

Anderson, S.M., Krinsky, N.I., Stone, M.J., and Clagett, D.C. 1974. Effect of singlet oxygen quenchers on oxidative damage to liposomes initiated by photosensitization or by radiofrequency discharge. Photochemistry and Photobiology. 20 : 65–69.

Boonyaratpalin M, Wannagowat J, Borisut C, and Boonchuay S. 1994. Effect of various dietary canthaxanthin and astaxanthin levels on pigmentation of giant tiger shrimp. Technical paper 18. National Institute of Coastal Aquaculture, Songkhla.

Boonyaratpalin, M., Supamattaya, K. and Borisuth, C. 2000. The immune system in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius: VIII. Effect of astaxanthin on blood parameters, immune system and disease resistance in black tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). Songklanakarin Journal Science Technology. 22: 633-639.

Boyd, C.E. and Tucker, C.S. 1992. Water Quality and Pond Soil Analyses for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Alabama, 183 pp.

Bramley, PM. 2000. Is lycopene beneficient to human health? Phytochem 54 : 233-236.

Chien, Y. H. 1992. Water quality requirements and management for marine shrimp culture. In : Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA.

Chen, H. Y. and Chen, Y.L.L. 1999. Temperature preferendum of postlarval black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Marine Freshwater Research. 50 : 67-70.

Chien, Y. H., Chen, I. M., Pan, C. H.C., and Kurmaly, K. 1999. Oxygen depletion stress on mortality and lethal course of juvenile tiger prawn *Penaeus monodon* fed high level of dietary astaxanthin. Journal of Fish Social Taiwan. 26 : 85-93.

Chien, Y. H., Pan, C. H.and B. Hunter. 2003. The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin. Aquaculture. 216 : 177-191.

Chien, Y. H., Pan, C. H., and Hunter, B. 2003. The resistance to ammonia stress of *Penaeus monodon* Fabricius juvenile fed diets supplemented with astaxanthin. Journal of Experimental Marine Biology Ecology. 297 : 107-118.

Chien, Y. H., Pan, C. H., and J. H. Cheng. 2001. Effects of light regime, algae in the water, and dietary astaxanthin on pigmentation, growth, and survival of black tiger prawn *Penaeus monodon* post-larvae. Journal of Zoology. 40 : 371-382.

Chien, Y. H. and S. C. Jeng. 1992. Pigmentation of kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate, by various pigment sources and levels and feeding regimes. Aquaculture. 102 : 333-346.

Chien Yew-Hu., and Wen-Chung Shiau. 2005. The effects of dietary supplementation of algae and synthetic astaxanthin on body astaxanthin, survival, growth, and low dissolved oxygen stress resistance of kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus* Bate. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 318 : 201–211.

Chih-Hung Pan and Yew-Hu Chien. 2004. Effects of Dietary Astaxanthin on Body Astaxanthin, Growth, and Survival of *Penaeus monodon* Postlarvae. Journal of the Fisheries Society of Taiwan., 31(4) : 269-280.

Darachai, J. 1996. Effect of astaxanthin on coloration and maturation of giant tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabicius). Thesis of Master Degree Department of Biotechnology Chulalongkorn University.

Darachai, J., S. Piyatiratitivorakul, P. Kittakoop,C. Nitithamyong and P. Menasveta. 1998. Effects of astaxanthin on Larval growth and survival of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*. In: Advances in Shrimp Biotechnology National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (T.W. Flegel ed.), Bangkok : 117-121.

Database, U. N. C. 1998. USDA-NCC Carotenoid Database for US Foods. Available from:<www.nal.usdea.gov/fnic/foodcomp/Data/car98/car98.html>.

Di, M. P., Kaiser, S. and Seis, H. 1989. Lycopene as the most efficient biological Archives of Biochemistry and Biophysics. 274 : 532-538.

Estermann, R. 1994. Biological functions of carotenoids. Aquaculture. 124 : 219-222.

Halver, J.E. 1989. Fish Nutrition (2nd edition). Acadamic Press. New York : 798.

Heber, D. and Q. Y. Lu. 2002. Overview of Mechanisms of Action of Lycopene. Journal of Biology and Medicine. 227 : 920–923.

Hewitt, D. R. and P. F. Duncan. 2001. Effect of high water temperature on the survival, moulting and food consumption of *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus* (Bate, 1888). Aquaculture Research. 32 : 305-313.

Higuera-Ciapara, I., Fe'lix -valenzuela, L. and F. M. GOYCOOLEA. 2006. Astaxanthin: A Review of its Chemistry and Applications. Reviews in Food Science and Nutrition., 46:185-196.

Kalinowski, C. T., Izquierdo, M. S., Schuchardt, D., and Robaina, L. E. 2007. Dietary supplementation time with shrimp shell meal on red porgy (*Pagrus pagrus*) skin colour and carotenoid concentration. Aquaculture. 272 : 451–457.

Kidchakan Supamattaya, Suphada Kiriratnikom, Mali Boonyaratpalin and Lesley Borowitzka. 2005. Effect of a Dunaliella extract on growth performance, health condition, immune response and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Aquaculture. 248 : 207– 216.

Krinsky, N.I., Mayne, S.T., and Sies, H. (Eds.). Carotenoids in Health and Disease. Marcel Dekker, New York : 31–52.

Latscha, T. 1989. The role of astaxanthin in shrimp pigmentation. Aquaculture : 319-325.

Lascha, T. 1991. Carotenoids in aquatic animal nutrition. In: Proceeding of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop, Bangkok, Thailand, (September): 68-78.

Liao, W. L., S. A. Nur- E- Borham, S. Okada, T. Matsui and K. Yamaguchi. 1993. Pigmentation of cultured black tiger prawn by feeding with a spirulina supplemented diet. Journal of Social Science Fish. 59: 165-169.

Mckay, C. 1987. The effectiveness of a dietary astaxanthin supplement in respect to the pigmentation and growth response in the American lobster, *Homarus americanus*. Crustacean Nutrition Newsletter, 4 : 5-6.

Melba, G., Bondad-Reantaso., Rohana, P., Subasinghe, J., Richard Arthur., Kazuo Ogawa., Supranee Chinabut., Adlard, R., Tan, Z., and Shariff, M. 2005. Disease and health management in Asian aquaculture. Journal of Veterinary Parasitology. 132 : 249–272.

Menasveta, P., W. Worawattanamateekul, T. Latscha and J.S. Clark. 1993. Correction of black tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricius) coloration by astaxanthin. Aquaculture Engineering., 12 : 203-213.

Mendes-Pinto, M. M., Raposo, M. F. J., Bowen1, J. , Young, A.J. and Morais, R. 2001. Evaluation of different cell disruption processes on encysted cells of *Haematococcus pluvialis:* effects on astaxanthin recovery and implications for bio-availability. Journal of Applied Phycology. 13 : 19–24

Merchie, G., Kontara, G., Lavens, P., Robles, R., Kurmaly, K. and Sorgeloos, P. 1998. Effect of vitamin C and astaxanthin on stress and disease resistance of postlarval tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius). Aquaculture Research. 29: 579-585.

Ni Hui, He Guo-qing, Ruan Hui, Chen Qi-he and Chen Feng. 2005. Application of derivative ratio spectrophotometry for determination of β-carotene and astaxanthin from Phaffia rhodozyma extract. Journal of Zhejiang University SCIENCE 6B(6) : 514-522.

Petit, H., Negre-Sadargues, G., Castillo, R.,Valin, S., and Trilles, J. 1998. The effects of dietary astaxanthin on the carotenoid pattern of the prawn *Penaeus japonicus*, during postlarval development. Comparative Biochemistry and Physiology. 119 : 523-527.

Rao, A.V. and Agarwal S. 1998. Bioavailability and in vivo antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer. Nutrition and Cancer., 31 : 199–203.

Rao, A.V. and Agarwal, S. 1999. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: A review. Nutrition. Research. 19, 305–323.

Rao, A.V. and Rao, L. G. 2004. Lycopene and human health. Nutrition. Research., 2 : 127–136.

Rao, A.V. and Rao, L. G. 2007. Carotenoids and human health. Pharmacological Research.

Rao, A.V., Ray, M. R., and Rao, L. G. 2006. Lycopene. In: Advances in Food and Nutrition Research 51 : 99-150.

Sarada, R., Vidhyavathi, R., Usha, D. AND G. A. Ravishankr. 2006. An Efficient Method for Extraction of Astaxanthin from Green Alga *Haematococcus pluvialis*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54 : 7585-7588

Sesso, H.D., Liu, S., Gaziano, J.M., and Buring, J.E. 2003. Dietary lycopene, tomato-based food products and cardiovascular disease in women. Nutrition 133 : 2336–2341.

Simpson, K.L., Kitayama, T. and Chichester, C.O. 1981. Carotenoids in fish feeds. In: Carotenoids as Food Colorants and Vitamin A Precursors.Academic Press, New York., 463-538.

Snieszko, S. F. 1974. The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. Journal of Fish Biology., 6 : 197-208.

Supamattaya, K., Kiriratnikom, S., Rungsombat, P., Boonyaratpalin, M. and Kliangpradit, A. 2005. Effects of carotenoid sources on growth performance, blood parameters, disease resistance and stress tolerance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). Songklanakarin Journal Science Technology., 27 (Suppl.1) : 71-82.

Yamada S., Tanaka, Y., Sameshima, M., and Ito, M. 1990. Pigmentation of prawn (*Penaeus japonicus*) with carotenoids. I. Effect of dietary astaxanthin, β-carotene and canthaxanthin on pigmentation. Aquaculture. 87 : 323-330.

Yi-Juan Wang, Yew-Hu Chien, Chih-Hung Pan. 2006. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. Aquaculture. 261 : 641–648.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์อาหารแบบ Proximate analysis (AOAC, 1980)

1. **การวิเคราะห์ไขมันในอาหารสัตว์**

อุปกรณ์

1. เครื่องสกัดไขมัน Soxtherm automatic S-11, Gerhardt
2. โหลดูดความชื้น (Desicator)

วิธีวิเคราะห์

1. นำบีกเกอร์ปากกลมสำหรับเครื่องสกัดไขมันมาอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น และนำออกมาชั่งให้ได้น้ำหนักคงที่
2. ชั่งตัวอย่างอาหารประมาณ 2 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
3. ใส่ตัวอย่างที่ห่อแล้วลงใน thimble แล้วใส่ thimble ลงในขวดสกัดไขมัน เติม petroleum ether ประมาณ 75 มิลลิลิตร ลงไปในขวดสกัด (ระวังอย่าให้ thimble แช่อยู่ใน petroleum ether)
4. นำขวดสกัดไขมันจากข้อ 3 ไปประกอบกับเครื่อง soxtherm automatic โดยเปิดเครื่องสกัดไขมัน เปิดสวิทซ์ของ oil bate ตั้งอุณหภูมิที่ 150 องศาเซลเซียส เปิดสวิทซ์ของ pressure control pump เปิด cooler ให้น้ำไหลเวียนเข้า condenser ของเครื่อง soxtherm automatic
5. เลื่อนคันโยกที่เครื่อง soxtherm automatic มายังตำแหน่งที่จะให้เกิดการ reflex กลับของ petroleum ether ปล่อยให้เกิดการสกัดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง
6. หลังจากนั้นทำการระเหย petroleum ether ออกจากไขมันที่สกัดได้แล้ว อบขวดสกัดไขมันในตู้อบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น
7. เมื่อขวดสกัดไขมันเย็นแล้ว นำไปชั่งน้ำหนักละเอียดเพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นไขมันในอาหารตามสูตรต่อไปนี้

เปอร์เซ็นไขมัน = (b - a) / w x 100

a = น้ำหนักบีกเกอร์ก่อนการสกัดไขมัน (กรัม)

b = น้ำหนักบีกเกอร์หลังการสกัดไขมัน (กรัม)

w = น้ำหนักอาหาร (กรัม)

2. การวิเคราะห์ความชื้นในอาหารสัตว์

อุปกรณ์

1. ตู้อบแห้ง (hot air oven)
2. โหลดูดความชื้น
3. ถ้วยกระเบื้อง

วิธีวิเคราะห์

1. อบถ้วยกระเบื้องที่ 120 องศาเซลเซียส ในตู้อบแห้งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักอย่างละเอียด
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างใส่ในถ้วยกระเบื้องประมาณ 1 – 2 กรัม
3. นำถ้วยกระเบื้องจากข้อ 2 ไปอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
4. นำถ้วยกระเบื้องออกจากตู้อบ ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนักอย่างละเอียด
5. ทำซ้ำกับข้อ 3 จนได้น้ำหนักที่คงที่ แสดงว่าน้ำระเหยออกจากตัวอย่างหมดแล้ว
6. คำนวณหาเปอร์เซ็นความชื้นในอาหารตามสูตรต่อไปนี้

เปอร์เซ็นความชื้น = (a - b) / w x 100

เมื่อ	a = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องและตัวอย่างก่อนอบ

b = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องและตัวอย่างหลังอบ

w = น้ำหนักตัวอย่างอาหารที่ใช้วิเคราะห์

3. การวิเคราะห์โปรตีนในอาหารสัตว์

อุปกรณ์

1. VELP digestion unit
2. VLEP vapodest 1

สารเคมี

1. สารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 98%
2. สารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 0.5 N
3. สารละลายกรด NaOH เข้มข้น 50%
4. สารละลายกรด Boric เข้มข้น 4%
5. indicator ประกอบด้วย methyl red 0.625 กรัม และ methyllene blue 0.480 กรัม ละลายใน ethyl alcohol (50 ml, 95% v/v)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างอาหารแห้งมา 2 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อยและเติม catalyst 2 เม็ด
2. เติมสารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 98% 25 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดย่อย
3. นำหลอดย่อยไปใส่ในเครื่อง VELP digestion unit พร้อมทั้งประกอบท่อดูดควันระบบสูญญากาศ ตั้งเวลาและอุณหภูมิโดยการย่อยครั้งแรกที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส 15 นาที, 250 องศาเซลเซียส 30 นาที, 380 องศาเซลเซียส 60 นาที และ 420 องศาเซลเซียส 15 นาที
4. จนได้สารละลายสีเหลืองใส แล้วทิ้งให้หลอดย่อยเย็นที่อุณหภูมิห้อง
5. กลั่นตัวอย่างที่ย่อยแล้วด้วยเครื่อง VELP vapodest 1 โดยใส่หลอดย่อยที่ช่องใส่ เติมน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย NaOH เข้มข้น 50% ประมาณ 50 มิลลิลิตร หรือจนกว่าจะได้สารละลายสีดำ ที่ปลายหลอดนำก๊าซใส่ฟลาสขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายกรดบอริก 4 เปอร์เซ็น 75 มิลลิลิตรและหยดด้วย indicator 2 - 3 หยด จะได้สารละลายสีชมพู เมื่อทำการกลั่นจะได้สารละลายสีเขียวใส กลั่นจนมีสารละลายเพิ่มเป็น 300 มิลลิลิตร
6. ไตเตรทสารละลายที่ได้ด้วยสารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 0.5 N จนได้สารละลายสีชมพู บันทึกปริมาณกรดที่ใช้

7. คำนวณหาเปอร์เซ็นโปรตีนในอาหารตามสูตรต่อไปนี้

    เปอร์เซ็นโปรตีน = (a x b x 6.25 x 1.4) / w

    เมื่อ a = ความเข้มข้นของกรด H_2SO_4 ในกรณีนี้ คือ 0.5 N b = ปริมาณกรดที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

    w = น้ำหนักตัวอย่างเป็นกรัม

4. การวิเคราะห์เถ้าในอาหารสัตว์

อุปกรณ์

1. เตาเผาความร้อนสูง (Carbolite, model EML 11/2 serial no. 11/86/1468, Bandford, Sheffield, England)
2. โหลดูดความชื้น (Desicator)

วิธีวิเคราะห์

1. เผาถ้วยกระเบื้อง (porcelain crucible) ในเตาเผาความร้อนสูงที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นย้ายถ้วยกระเบื้องจากเตาเผาไปไว้ที่โหลดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น นำไปชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างอาหารแห้งประมาณ 2-3 กรัม ใส่ลงในถ้วยกระเบื้องที่ทราบน้ำหนักแล้ว นำไปเผาในตู้ดูดควันบน hot plate จนหมดควันก่อนแล้วจึงนำไปเผาในเตาเผาความร้อนสูงที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง
3. นำถ้วยกระเบื้องออกจากเตาเผาทิ้งไว้ให้เย็นในโหลดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนักของถ้วยกระเบื้องโดยละเอียด
4. วิธีคำนวณ

    เปอร์เซ็นเถ้าทั้งหมดในอาหาร = (b-a) / w x 100

    a = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้อง (กรัม)

    b = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องรวมกับน้ำหนักของเถ้าหลังการเผา (กรัม)

    w = น้ำหนักของตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการวิเคราะห์ (กรัม)

5. การวิเคราะห์เยื่อใยในอาหารสัตว์

อุปกรณ์

1. Crude fiber digestion apparatus ประกอบด้วย digestion beaker, condensor
2. กระดาษกรอง Ashless (Whatman no.41)
3. ถ้วยกระเบื้อง
4. โหลดูดความชื้น
5. เตาเผาความร้อนสูง (muffle furnace)
6. กรวยกรอง (funnel)
7. กระดาษลิตมัส

สารเคมี

1. สารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 0.255 N
2. สารละลายกรด NaOH เข้มข้น 0.313 N
3. 95% ethyl alcohol

วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างที่สกัดไขมันแล้วประมาณ 1 – 2 กรัม (ทราบน้ำหนักอย่างละเอียด) ใส่ในบีกเกอร์ปากเรียบขนาด 600 มิลลิลิตร (digestion beaker) เติมสารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 0.255 N 200 มิลลิลิตร ต่อ condenser เข้ากับบีกเกอร์เพื่อรักษาความเข้มข้นของกรดให้คงที่ เปิดฮีทเตอร์ให้ความร้อนจนกรดเดือด ทิ้งไว้ 30 นาที
2. อบกระดาษกรองและถ้วยกระเบื้อง ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น แล้วชั่งหาน้ำหนักคงที่
3. กรองสารละลายที่ได้จากข้อ 1 ด้วยกระดาษกรองจากข้อ 2 จนหมด ใช้น้ำกลั่นล้างตะกอนจนตะกอนมีสภาพเป็นกลาง ทดสอบด้วยกระดาษลิตมัส
4. นำตะกอนไปใส่ในบีกเกอร์เช่นเดียวกับข้อ 1 แต่เปลี่ยนสารละลายเป็น NaOH เข้มข้น 0.313 N 200 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดทิ้งไว้ 30 นาที
5. กรองตะกอนจากข้อ 4 ด้วยกระดาษกรองแผ่นเดิม ล้างตัวอย่างจนเป็นกลางแล้วล้างด้วย 95% ethyl alcohol 15 มิลลิลิตร นำตัวอย่างที่ได้พร้อมกระดาษกรองไปอบแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส เพื่อหาน้ำหนักตะกอน

6. นำตะกอนพร้อมกระดาษกรองไปเผาในเตาเผาที่ 600 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง เพื่อหาน้ำหนักเถ้า แล้วนำไปคำนวณ
7. คำนวณหาเปอร์เซ็นเยื่อใยในอาหารตามสูตรต่อไปนี้

เปอร์เซ็นเยื่อใย = [(a + b) – (b - c)] / w x 100

เมื่อ a = น้ำหนักตะกอน (กรัม)

b = น้ำหนักกระดาษกรอง

c = น้ำหนักเถ้า

w = น้ำหนักของตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการวิเคราะห์ (กรัม)

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 18 คุณภาพน้ำที่สัตว์น้ำสามารถดำรงอยู่ได้อย่างปกติ

ค่าคุณภาพน้ำ	**ช่วงที่เหมาะสม**	**แหล่งที่มา**
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	25 - 30	Boyd and Tucker (1992)
ความเค็ม (ppt)	15 - 30	Boyd and Tucker (1992)
ความเป็นกรดด่าง	7 – 9	Boyd and Tucker (1992)
ออกซิเจนละลายน้ำ (ppm)	> 3.5 - อิ่มตัว	Boyd and Tucker (1992)
แอมโมเนีย (mg/l)	0.4 – 2.0	Boyd and Tucker (1992)
ไนไตรท์ (ppm)	0.1 – 1.0	Chen and Chin (1988)

ภาคผนวก ค

ตารางที่ 19 ผลวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอาหารแต่ละสูตรต่อการเติบโต อัตราการรอด และการเกิดสี ในกุ้งกุลาดำ

- ค่า Spectral power ของกุ้งกุลาดำหลังจากให้อาหารทดลอง 4 สัปดาห์ (ก่อนลวก)

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Uncook490nm	สูตร 1	5	.376208	.0251930	.0112666	.344927	.407490	.3443	.4133
	สูตร 2	5	.299067	.0335488	.0150035	.257410	.340723	.2450	.3363
	สูตร 3	5	.292208	.0234779	.0104997	.263057	.321360	.2620	.3263
	สูตร 4	5	.303400	.0588517	.0263193	.230326	.376474	.1990	.3383
Uncook500nm	สูตร 1	5	.382333	.0248339	.0111061	.351498	.413169	.3503	.4183
	สูตร 2	5	.300356	.0338646	.0151447	.258307	.342404	.2485	.3417
	สูตร 3	5	.297750	.0238623	.0106715	.268121	.327379	.2667	.3320
	สูตร 4	5	.309733	.0590082	.0263893	.236465	.383002	.2050	.3433

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Uncook490nm	Between Groups	.023	3	.008	5.339	.010
	Within Groups	.023	16	.001		
	Total	.046	19			
Uncook500nm	Between Groups	.024	3	.008	5.556	.008
	Within Groups	.023	16	.001		
	Total	.047	19			

ตาราง Duncan's New Multiple Range Test

Uncook490nm

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
3	5	.292208	
2	5	.299067	
4	5	.303400	
1	5		.376208
Sig.		.666	1.000

Uncook500nm

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
3	5	.297750	
2	5	.300356	
4	5	.309733	
1	5		.382333
Sig.		.645	1.000

- ค่า Spectral power ของกุ้งกุลาดำหลังจากให้อาหารทดลอง 4 สัปดาห์ (หลังลวก)

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Cook610nm	สูตร 1	5	.536042	.0322917	.0144413	.495946	.576137	.4870	.5720
	สูตร 2	5	.494800	.0237549	.0106235	.465304	.524296	.4703	.5325
	สูตร 3	5	.498458	.0325584	.0145605	.458032	.538885	.4430	.5233
	สูตร 4	5	.511800	.0576910	.0258002	.440167	.583433	.4227	.5710
Cook620nm	สูตร 1	5	.541083	.0300524	.0134398	.503768	.578398	.4950	.5745
	สูตร 2	5	.504178	.0218372	.0097659	.477063	.531292	.4790	.5390
	สูตร 3	5	.506208	.0334671	.0149669	.464653	.547763	.4490	.5303
	สูตร 4	5	.519167	.0565039	.0252693	.449008	.589326	.4313	.5750

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Cook610nm	Between Groups	.005	3	.002	1.162	.355
	Within Groups	.024	16	.001		
	Total	.029	19			
Cook620nm	Between Groups	.004	3	.001	1.012	.413
	Within Groups	.023	16	.001		
	Total	.027	19			

- Descriptive ค่า Spectral power ของกุ้งกุลาดำหลังจากให้อาหารทดลอง 12 สัปดาห์ (ก่อนลวก)

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Uncook490nm	สูตร 1	3	.230000	.0043589	.0025166	.219172	.240828	.2250	.2330
	สูตร 2	3	.207333	.0125033	.0072188	.176273	.238393	.1950	.2200
	สูตร 3	3	.168000	.0242693	.0140119	.107712	.228288	.1530	.1960
	สูตร 4	3	.176667	.0160728	.0092796	.136740	.216594	.1650	.1950

Uncook500nm	สูตร 1	3	.22933	.008083	.004667	.20925	.24941	.220	.234
	สูตร 2	3	.20800	.001000	.000577	.20552	.21048	.207	.209
	สูตร 3	3	.17900	.025710	.014844	.11513	.24287	.159	.208
	สูตร 4	3	.21400	.032187	.018583	.13404	.29396	.180	.244

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Uncook490nm	Between Groups	.007	3	.002	9.548	.005
	Within Groups	.002	8	.000		
	Total	.009	11			
Uncook500nm	Between Groups	.004	3	.001	3.020	.094
	Within Groups	.004	8	.000		
	Total	.008	11			

ตาราง Duncan’s New Multiple Range Test

Uncook490nm

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
3	3	.168000	
4	3	.176667	
2	3		.207333
1	3		.230000
Sig.		.525	.121

Uncook500nm

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
3	3	.17900	
2	3	.20800	.20800
4	3	.21400	.21400
1	3		.22933
Sig.		.086	.267

- ค่า Spectral power ของกุ้งกุลาดำหลังจากให้อาหารทดลอง 12 สัปดาห์ (หลังลวก)

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Cook610nm	1	3	.539333	.0051316	.0029627	.526586	.552081	.5350	.5450
	2	3	.485000	.0370270	.0213776	.393020	.576980	.4440	.5160
	3	3	.467667	.0245017	.0141461	.406801	.528532	.4430	.4920
	4	3	.495000	.0615061	.0355106	.342210	.647790	.4340	.5570
Cook620nm	1	3	.5020	.05214	.03011	.3725	.6315	.44	.54
	2	3	.5330	.03404	.01966	.4484	.6176	.50	.57
	3	3	.5133	.02950	.01703	.4400	.5866	.49	.55
	4	3	.5377	.03164	.01827	.4591	.6163	.50	.56

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Cook610nm	Between Groups	.008	3	.003	1.938	.202
	Within Groups	.012	8	.001		
	Total	.020	11			
Cook620nm	Between Groups	.003	3	.001	.585	.642
	Within Groups	.011	8	.001		
	Total	.014	11			

- น้ำหนักเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Weight1month	สูตร 1	50	.08884	.050415	.007130	.07451	.10317	.005	.180
	สูตร 2	50	.12740	.069099	.009772	.10776	.14704	.020	.330
	สูตร 3	50	.09958	.059035	.008349	.08280	.11636	.009	.340
	สูตร 4	50	.11358	.080580	.011396	.09068	.13648	.009	.550
Weight2months	สูตร 1	50	.19300	.072682	.010279	.17234	.21366	.080	.380
	สูตร 2	50	.38080	.207353	.029324	.32187	.43973	.090	1.110
	สูตร 3	50	.41400	.242445	.034287	.34510	.48290	.130	1.140
	สูตร 4	50	.56000	.316744	.044794	.46998	.65002	.210	1.640
Weight3months	สูตร 1	50	.57240	.188036	.026592	.51896	.62584	.200	1.200
	สูตร 2	50	1.03940	.391670	.055391	.92809	1.15071	.490	2.690
	สูตร 3	50	1.34280	.452963	.064059	1.21407	1.47153	.630	3.150
	สูตร 4	50	1.30400	.359200	.050799	1.20192	1.40608	.810	2.690

Lenght1month	สูตร 1	50	2.3940	.42734	.06043	2.2726	2.5154	1.20	3.00
	สูตร 2	50	2.6720	.42380	.05993	2.5516	2.7924	1.80	3.80
	สูตร 3	50	2.4370	.53651	.07587	2.2845	2.5895	.15	3.60
	สูตร 4	50	2.5560	.47516	.06720	2.4210	2.6910	1.20	4.20
Lenght2months	สูตร 1	50	2.9700	.56614	.08006	2.8091	3.1309	1.20	3.80
	สูตร 2	50	3.8160	.75791	.10719	3.6006	4.0314	2.40	5.60
	สูตร 3	50	3.9420	.72142	.10202	3.7370	4.1470	2.80	5.70
	สูตร 4	50	4.2820	.77267	.10927	4.0624	4.5016	3.00	6.20
Lenght3months	สูตร 1	50	4.4580	.53456	.07560	4.3061	4.6099	3.20	5.80
	สูตร 2	50	5.2420	.52063	.07363	5.0940	5.3900	4.10	7.00
	สูตร 3	50	5.5640	.60128	.08503	5.3931	5.7349	4.70	7.50
	สูตร 4	50	5.5280	.50185	.07097	5.3854	5.6706	4.90	7.00

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Weight1month	Between Groups	.042	3	.014	3.253	.023
	Within Groups	.847	196	.004		
	Total	.890	199			
Weight2months	Between Groups	3.417	3	1.139	21.966	.000
	Within Groups	10.162	196	.052		
	Total	13.578	199			
Weight3months	Between Groups	18.880	3	6.293	48.136	.000
	Within Groups	25.625	196	.131		
	Total	44.505	199			
Lenght1month	Between Groups	2.353	3	.784	3.582	.015
	Within Groups	42.916	196	.219		
	Total	45.269	199			
Lenght2months	Between Groups	46.631	3	15.544	30.896	.000
	Within Groups	98.608	196	.503		
	Total	145.239	199			
Lenght3months	Between Groups	39.620	3	13.207	45.143	.000
	Within Groups	57.340	196	.293		
	Total	96.959	199			

ตาราง Duncan’s New Multiple Range Test

Weight1month

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1	50	.08884	
3	50	.09958	
4	50	.11358	.11358
2	50		.12740
Sig.		.076	.295

Weight2months

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1	50	.19300		
2	50		.38080	
3	50		.41400	
4	50			.56000
Sig.		1.000	.467	1.000

Weight3months

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1	50	.57240		
2	50		1.03940	
4	50			1.30400
3	50			1.34280
Sig.		1.000	1.000	.592

Lenght1month

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1	50	2.3940	
3	50	2.4370	
4	50	2.5560	2.5560
2	50		2.6720
Sig.		.103	.217

Lenght2months

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1	50	2.9700		
2	50		3.8160	
3	50		3.9420	
4	50			4.2820
Sig.		1.000	.376	1.000

Lenght3months

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1	50	4.4580		
2	50		5.2420	
4	50			5.5280
3	50			5.5640
Sig.		1.000	1.000	.740

- น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและความยาวที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Wg1month	สูตร 1	5	.07280	.028279	.012647	.03769	.10791	.047	.116
	สูตร 2	5	.11140	.040327	.018035	.06133	.16147	.044	.149
	สูตร 3	5	.08360	.030336	.013567	.04593	.12127	.036	.114
	สูตร 4	5	.09760	.036177	.016179	.05268	.14252	.057	.151
Wg2months	สูตร 1	5	.17700	.048166	.021541	.11719	.23681	.106	.227
	สูตร 2	5	.36480	.185881	.083128	.13400	.59560	.152	.608
	สูตร 3	5	.42520	.143083	.063989	.24754	.60286	.203	.595
	สูตร 4	5	.54400	.210745	.094248	.28233	.80567	.242	.809
Wg3months	สูตร 1	5	.55640	.083886	.037515	.45224	.66056	.458	.672
	สูตร 2	5	1.02340	.288580	.129057	.66508	1.38172	.766	1.478
	สูตร 3	5	1.32680	.180026	.080510	1.10327	1.55033	1.108	1.481
	สูตร 4	5	1.28800	.160580	.071814	1.08861	1.48739	1.032	1.470

Lg1month	สูตร 1	5	.93900	.210666	.094213	.67742	1.20058	.785	1.225
	สูตร 2	5	1.21700	.277975	.124314	.87185	1.56215	.745	1.445
	สูตร 3	5	.98200	.310516	.138867	.59644	1.36756	.480	1.225
	สูตร 4	5	1.10100	.238076	.106471	.80539	1.39661	.845	1.365
Lg2months	สูตร 1	5	1.51500	.408718	.182784	1.00751	2.02249	.835	1.835
	สูตร 2	5	2.36100	.702161	.314016	1.48915	3.23285	1.465	3.185
	สูตร 3	5	2.58500	.465940	.208375	2.00646	3.16354	1.855	3.115
	สูตร 4	5	2.82700	.613123	.274197	2.06571	3.58829	1.845	3.405
Lg3months	สูตร 1	5	3.00300	.213354	.095415	2.73809	3.26791	2.725	3.225
	สูตร 2	5	3.78700	.352661	.157715	3.34911	4.22489	3.495	4.375
	สูตร 3	5	4.10900	.259095	.115871	3.78729	4.43071	3.815	4.365
	สูตร 4	5	4.07300	.168731	.075459	3.86349	4.28251	3.885	4.245

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Wg1month	Between Groups	.004	3	.001	1.210	.338
	Within Groups	.019	16	.001		
	Total	.023	19			
Wg2months	Between Groups	.352	3	.117	4.610	.017
	Within Groups	.407	16	.025		
	Total	.759	19			
Wg3months	Between Groups	1.888	3	.629	16.951	.000
	Within Groups	.594	16	.037		
	Total	2.482	19			
Lg1month	Between Groups	.235	3	.078	1.142	.362
	Within Groups	1.099	16	.069		
	Total	1.334	19			
Lg2months	Between Groups	4.885	3	1.628	5.198	.011
	Within Groups	5.012	16	.313		
	Total	9.897	19			
Lg3months	Between Groups	3.962	3	1.321	19.898	.000
	Within Groups	1.062	16	.066		
	Total	5.024	19			

ตาราง Duncan's New Multiple Range Test

Wg1month

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1	5	.07280
3	5	.08360
4	5	.09760
2	5	.11140
Sig.		.118

Wg2months

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1	5	.17700	
2	5	.36480	.36480
3	5		.42520
4	5		.54400
Sig.		.081	.111

Wg3months

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1	5	.55640		
2	5		1.02340	
4	5			1.28800
3	5			1.32680
Sig.		1.000	1.000	.754

Lg1month

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1	5	.93900
3	5	.98200
4	5	1.10100
2	5	1.21700
Sig.		.141

Lg2months

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1	5	1.51500	
2	5		2.36100
3	5		2.58500
4	5		2.82700
Sig.		1.000	.230

Lg3months

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1	5	3.00300	
2	5		3.78700
4	5		4.07300
3	5		4.10900
Sig.		1.000	.078

- อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
SGR1m	สูตร 1	5	5.586987E0	1.0047095	.4493197	4.339476	6.834499	4.5563	7.0324
	สูตร 2	5	6.730207E0	1.3420256	.6001721	5.063862	8.396552	4.4042	7.7762
	สูตร 3	5	5.937259E0	1.2086857	.5405407	4.436478	7.438041	3.9272	6.9815
	สูตร 4	5	6.396740E0	1.0607331	.4743743	5.079666	7.713814	5.0580	7.8164
SGR2m	สูตร 1	5	8.204112E0	.9181946	.4106291	7.064023	9.344201	6.7698	9.0666
	สูตร 2	5	1.021946E1	1.7355531	.7761629	8.064487	12.374435	7.8363	12.2103
	สูตร 3	5	1.087815E1	1.2906104	.5771785	9.275650	12.480659	8.7200	12.1401
	สูตร 4	5	1.161780E1	1.4713352	.6580011	9.790895	13.444703	9.2663	13.1410
SGR3m	สูตร 1	5	1.189425E1	.4843551	.2166102	11.292841	12.495654	11.2938	12.5357
	สูตร 2	5	1.381607E1	.8728271	.3903401	12.732316	14.899832	12.9626	15.1205
	สูตร 3	5	1.473987E1	.4600049	.2057205	14.168701	15.311044	14.1719	15.1271
	สูตร 4	5	1.464544E1	.4318767	.1931411	14.109193	15.181685	13.9386	15.1026

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
SGR1m	Between Groups	3.796	3	1.265	.938	.445
	Within Groups	21.586	16	1.349		
	Total	25.382	19			
SGR2m	Between Groups	32.252	3	10.751	5.595	.008
	Within Groups	30.743	16	1.921		
	Total	62.995	19			
SGR3m	Between Groups	26.138	3	8.713	24.990	.000
	Within Groups	5.578	16	.349		
	Total	31.716	19			

ตาราง Duncan's New Multiple Range Test

SGR1m

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1	5	5.586987
3	5	5.937259
4	5	6.396740
2	5	6.730207
Sig.		.171

SGR2m

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1	5	8.204112	
2	5		1.021946E1
3	5		1.087815E1
4	5		1.161780E1
Sig.		1.000	.149

SGR3m

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1	5	1.189425E1		
2	5		1.381607E1	
4	5			1.464544E1
3	5			1.473987E1
Sig.		1.000	1.000	.804

- อัตราการแลกเนื้อของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
FCR1m	สูตร 1	5	1.456645E1	5.6506389	2.5270425E0	7.550253	21.582643	9.3584	23.1984
	สูตร 2	5	2.227845E1	8.0654820	3.6069932E0	12.263830	32.293067	8.7984	29.7984
	สูตร 3	5	1.671445E1	6.0662410	2.7129055E0	9.182215	24.246681	7.1984	22.7984
	สูตร 4	5	1.951445E1	7.2388728	3.2373224E0	10.526200	28.502696	11.3984	30.1984
FCR2m	สูตร 1	5	1.769922E1	4.8166378	2.1540659E0	11.718578	23.679870	10.5992	22.6992
	สูตร 2	5	3.647922E1	18.5880876	8.3128455E0	13.399065	59.559383	15.1992	60.7992
	สูตร 3	5	4.251922E1	14.3082843	6.3988593E0	24.753143	60.285306	20.2992	59.4992
	สูตร 4	5	5.439922E1	21.0745107	9.4248077E0	28.231763	80.566685	24.1992	80.8992
FCR3m	สูตร 1	5	3.709282E1	5.5923758	2.5009865E0	30.148964	44.036668	30.5328	44.7995
	สูตร 2	5	6.822615E1	19.2386532	8.6037873E0	44.338206	92.114092	51.0661	98.5328
	สูตร 3	5	8.845282E1	12.0017036	5.3673250E0	73.550733	103.354899	73.8661	98.7328
	สูตร 4	5	8.586615E1	10.7053465	4.7875765E0	72.573706	99.158593	68.7995	97.9995

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
FCR1m	Between Groups	168.762	3	56.254	1.209	.339
	Within Groups	744.729	16	46.546		
	Total	913.491	19			
FCR2m	Between Groups	3517.942	3	1172.647	4.610	.017
	Within Groups	4070.316	16	254.395		
	Total	7588.258	19			
FCR3m	Between Groups	8391.188	3	2797.063	16.951	.000
	Within Groups	2640.183	16	165.011		
	Total	11031.371	19			

ตาราง Duncan's New Multiple Range Test

FCR1m

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1	5	14.566448
3	5	16.714448
4	5	19.514448
2	5	22.278448
Sig.		.118

FCR2m

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1	5	1.769922E1	
2	5	3.647922E1	3.647922E1
3	5		4.251922E1
4	5		5.439922E1
Sig.		.081	.111

FCR3m

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1	5	3.709282E1		
2	5		6.822615E1	
4	5			8.586615E1
3	5			8.845282E1
Sig.		1.000	1.000	.754

- อัตราการรอดของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Survival1m	สูตร 1	5	18.00	1.581	.707	16.04	19.96	16	20
	สูตร 2	5	17.60	2.510	1.122	14.48	20.72	14	20
	สูตร 3	5	18.60	2.302	1.030	15.74	21.46	15	21
	สูตร 4	5	17.80	2.683	1.200	14.47	21.13	15	22
Survival2m	สูตร 1	5	11.60	1.140	.510	10.18	13.02	10	13
	สูตร 2	5	11.80	1.643	.735	9.76	13.84	10	14
	สูตร 3	5	13.40	2.608	1.166	10.16	16.64	11	17
	สูตร 4	5	11.80	2.049	.917	9.26	14.34	10	15
Survival3m	สูตร 1	5	4.00	.707	.316	3.12	4.88	3	5
	สูตร 2	5	4.80	1.304	.583	3.18	6.42	3	6
	สูตร 3	5	5.20	1.095	.490	3.84	6.56	4	7
	สูตร 4	5	4.60	1.140	.510	3.18	6.02	3	6

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Survival1m	Between Groups	2.800	3	.933	.175	.912
	Within Groups	85.200	16	5.325		
	Total	88.000	19			
Survival2m	Between Groups	10.550	3	3.517	.938	.445
	Within Groups	60.000	16	3.750		
	Total	70.550	19			
Survival3m	Between Groups	3.750	3	1.250	1.064	.392
	Within Groups	18.800	16	1.175		
	Total	22.550	19			

- น้ำหนักเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ความยาวเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์ความยาวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการรอดของกุ้งกุลาดำหลังจากทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Weight	สูตร 1	5	7.246952E0	1.1437257	.5114897	5.826829	8.667075	6.3711	8.7800
	สูตร 2	5	9.252289E0	1.8331228	.8197974	6.976166	11.528411	7.1920	11.4210
	สูตร 3	5	8.677989E0	1.1629313	.5200787	7.234019	10.121959	7.6775	10.5775
	สูตร 4	5	8.495611E0	1.7231902	.7706341	6.355988	10.635234	6.9400	11.0275
Length	สูตร 1	5	9.776548E0	.5913893	.2644773	9.042241	10.510854	9.2143	10.5333
	สูตร 2	5	1.069711E1	.8331339	.3725888	9.662639	11.731583	9.8000	11.6667
	สูตร 3	5	1.048706E1	.4984273	.2229035	9.868176	11.105935	10.0200	11.3375
	สูตร 4	5	1.033357E1	.7754105	.3467741	9.370772	11.296371	9.6667	11.3125
Weightgain	สูตร 1	5	.604895	.1027424	.0459478	.477324	.732467	.4242	.6700
	สูตร 2	5	.972489	.2037273	.0911096	.719528	1.225450	.6640	1.1820
	สูตร 3	5	.876789	.4953121	.2215103	.261778	1.491800	.0804	1.3900
	สูตร 4	5	.887011	.5518731	.2468052	.201770	1.572252	.4026	1.8350

Lengthgain	สูตร 1	5	.449690	.5377375	.2404835	-.217999	1.117380	.0343	1.1533
	สูตร 2	5	.997111	.8331339	.3725888	-.037361	2.031583	.1000	1.9667
	สูตร 3	5	.553722	.4984273	.2229035	-.065157	1.172601	.0867	1.4042
	สูตร 4	5	.693571	.7754105	.3467741	-.269228	1.656371	.0267	1.6725
Survival	สูตร 1	5	7.60	.548	.245	6.92	8.28	7	8
	สูตร 2	5	9.80	.447	.200	9.24	10.36	9	10
	สูตร 3	5	8.60	.894	.400	7.49	9.71	8	10
	สูตร 4	5	7.60	1.140	.510	6.18	9.02	6	9

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Weight	Between Groups	10.705	3	3.568	1.588	.231
	Within Groups	35.961	16	2.248		
	Total	46.666	19			
Length	Between Groups	2.328	3	.776	1.639	.220
	Within Groups	7.574	16	.473		
	Total	9.902	19			
Weightgain	Between Groups	.382	3	.127	.845	.489
	Within Groups	2.408	16	.150		
	Total	2.789	19			
Lengthgain	Between Groups	.848	3	.283	.617	.614
	Within Groups	7.332	16	.458		
	Total	8.180	19			
survival	Between Groups	16.400	3	5.467	8.410	.001
	Within Groups	10.400	16	.650		
	Total	26.800	19			

ตาราง Duncan's New Multiple Range Test

survival

Duncan

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1	5	7.60	
4	5	7.60	
3	5	8.60	
2	5		9.80
Sig.		.080	1.000

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสิริลดา จันทรทิณ เกิดเมื่อวันที่ 27 สิงหาคม 2526 ที่โรงพยาบาลรวมแพทย์ จังหวัดพัทลุง จบการศึกษาชั้นมัธยมปลายสายวิทย์ - คณิต จากโรงเรียนพัทลุง จังหวัดพัทลุง จบการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาการจัดการอุตสาหกรรมชีวภาพ (วทบ.) ในปี 2548 จากคณะเทคโนโลยีและการจัดการ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี เริ่มศึกษาระดับปริญญาโทในปี พ.ศ. 2549 ในสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และได้นำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการ ระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยบูรพา ครั้งที่ 4 แบบโปสเตอร์ ในหัวข้อเรื่อง ผลของไลโคพีนต่อการเกิดสี การเติบโตและอัตราการรอดของกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* และในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 35 แบบนำเสนอปากเปล่า ในหัวข้อเรื่อง ผลของไลโคพีนต่อการเกิดสี การเจริญเติบโตและความต้านทานความเครียดของกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon*