บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชีววิทยาของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*)

กุ้งกุลาดำมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Penaeus monodon fabricius* และมีชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า Black Tiger Prawn (Motoh, 1985) ซึ่งมีลำดับอนุกรมวิธานดังต่อไปนี้

Class Crustacea

Subclass Malacostraca

Order Decapoda

Suborder Natantia

Section Penaeidea

Family Penaeid

Genus *Penaeus*

Specie *monodon* (ลิลา เรืองแป้น, 2542 ก)

รูปร่างและลักษณะทั่วไปของกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งทะเลที่มีขนาดใหญ่ลำตัวมีสีแดงอมน้ำตาล หรือน้ำตาลเข้ม มีลายพาดขวางประมาณ 9 ลาย กรีด้านบนมี 6-8 ซี่ พบได้ทั่วไปในทะเลแถบเอเชีย ชอบอาศัยในพื้นที่ที่เป็นดินทรายปนโคลน ปรับตัวได้ดีในสภาพน้ำกร่อยจนเกือบจืดได้ และสามารถเลี้ยงในบ่อได้ดี (เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน, 2543) ชอบกินอาหารตามพื้นทะเล เศษซากสัตว์หน้าดิน กินได้ทั้งพืช และสัตว์แต่ชอบเนื้อสัตว์ที่มีกลิ่นคาวมากกว่า เมื่อลอกคราบจะกินอาหารน้อยลง

1. วงจรชีวิตของกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำมีวิวัฒนาการของตัวอ่อนแบบมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นระยะ (Metamorphosis) โดยแบ่งเป็นระยะต่าง ๆ ดังนี้ ไข่ (Eggs) ฟักออกมาเป็นนอร์เพลียส (Nauplius) เจริญเข้าสู่ระยะไมซีส (Mysis) ซึ่งเป็นระยะที่มีรูปร่างเหมือนพ่อแม่ แล้วเปลี่ยนแปลงร่างกายเข้าสู่ระยะโพสลาวาร์ (Post larvar) แล้วเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย (Adult) มีรูปร่างเหมือนพ่อแม่ และมีอวัยวะ เพศที่เจริญเต็มที่พร้อมที่จะผสมพันธุ์ แพร่ขยายพันธุ์ต่อไป (ลิลา เรืองแป้น, 2542 ก)

2. ทางเดินอาหารและระบบย่อยอาหาร

เมื่ออาหารผ่านเข้าไปในปาก (Mouth Part) อาหารจะถูกบดหรือฉีกให้มีขนาดเล็กลงมาก โดยขากรรไกร (Maxillipeds) แล้วผ่านเข้าสู่คอหอย (Esophagus) แล้วจึงเคลื่อนเข้าไปสู่ช่อง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ย่อยอาหารส่วนแรก (Anterior Chamber) และช่องย่อยอาหารส่วนหลัง (Posterior Chamber) ซึ่งในส่วนย่อยอาหารทั้งสองส่วนนี้จะมีน้ำย่อย (Enzyme) หลั่งออกมาย่อยอาหารจนทำให้อาหารที่เป็นชิ้นเล็ก ๆ กลายเป็นอาหารเหลว แล้วจะถูกดูดซึมไปเลี้ยงร่างกายส่วนอาหารที่ย่อยไม่หมดจะถูกส่งไปยังร่องเล็ก ๆ ในตอนต้นของลำไส้ (Ventral Groove) ซึ่งจะช่วยย่อยอีกต่อหนึ่ง หากยังมีอาหารที่เหลือจาก Ventral Groove อยู่อีก จะมีอวัยวะคัดเศษอาหารแล้วแยกผ่านไปสู่ส่วนของลำไส้ที่มีต่อมน้ำย่อย (Digestive Gland) อยู่ในลำไส้ส่วนกลาง (Mid Gut) นี้ อาหารที่ยังไม่สามารถถูกย่อยได้ก็จะ ถูกย่อยโดยน้ำย่อยที่เรียกว่า Gastric Juice อีกครั้งหนึ่งจนกลายเป็นสารละลายแล้วจึงถูกดูดซึมไป เลี้ยงร่างกาย ประสิทธิภาพในการย่อยอาหารที่บริเวณลำไส้ส่วนกลางนี้ จะเกิดขึ้นรวดเร็วมากในกุ้งกุลาดำที่มีสุขภาพดี แต่ถ้ากุ้งกุลาดำอยู่ในสภาวะป่วยหรือเครียด การทำงานของอวัยวะต่าง ๆ รวมทั้งอวัยวะในระบบย่อยอาหารก็จะแปรปรวนไปด้วย ทำให้ย่อยอาหารได้ช้า กุ้งกุลาดำจะกินอาหารได้น้อยลง ทำให้เจริญเติบโตช้า และอาหารเหลือตกค้างเป็นสาเหตุให้พื้นบ่อเน่าเสียได้

นอกจากนี้ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารของกุ้งกุลาดำยังขึ้นอยู่กับน้ำย่อย หรือเอนไซม์ (Enzyme) ซึ่งส่วนใหญ่จะมีอยู่ในลำไส้ส่วนกลาง และน้ำย่อยตัวที่สำคัญมาก ๆ ได้แก่ โปรติเอส (Proteinase) เป็นน้ำย่อยอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ และพืชที่เป็นโปรตีน, ไลเปส (Lipase) เป็นน้ำย่อยอาหารจำพวกที่เป็นไขมัน, คาร์โบไฮเดรส (Carbohydrase) เป็นน้ำย่อยอาหารจำพวกที่เป็นแป้ง และน้ำย่อยอื่น ๆ อีกหลายชนิด ซึ่งต้องอยู่ในสภาพที่มีความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมด้วย (ลิลา เรืองแป้น, 2542 ข)

เนื่องจากกุ้งกุลาดำมีความต้องการสารอาหารประเภทโปรตีนในอัตราที่สูงกว่าสัตว์น้ำอื่น ๆ หลายชนิดเพราะกุ้งกุลาดำจะใช้โปรตีนเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญมากกว่าการใช้คาร์โบไฮเดรต และไขมัน (ลิลา เรืองแป้น, 2542 ค) ดังนั้นของเสียส่วนใหญ่ที่ถูกขับถ่ายออกจากตัวกุ้งกุลาดำจะอยู่ ในรูปของสารประกอบประเภทไนโตรเจน ซึ่งมีปริมาณแตกต่างกันไปตามปริมาณอาหารที่กุ้งกุลาดำกินเข้าไป และเนื่องจากกุ้งกุลาดำที่เราเลี้ยงด้วยระบบพัฒนาในปัจจุบันนี้ มีการให้อาหารโปรตีนเป็นหลัก (ลิลา เรืองแป้น, 2542 ง) ซึ่งมีการกำหนดให้สูตรอาหารของกุ้งกุลาดำมีองค์ประกอบของโปรตีนอยู่ในระดับ 40% ขึ้นไป (ลิลา เรืองแป้น, 2542 ค) จะพบว่าสารประเภทไนโตรเจนที่ถูกขับออกมาเป็นปริมาณไม่ต่ำกว่า 80% ของอาหารที่กินเข้าไป ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของแอมโมเนีย ส่วนของเสียที่เหลือจากส่วนที่เป็นแอมโมเนียจะเป็นของเสียที่อยู่ในรูปของกรดยูริก (Uric acid), ยูเรีย (Urea), อะมิโนไนโตรเจน (Aminonitrogen) และพิวรีนไนโตรเจน (Purine Nitrogen) (ลิลา เรืองแป้น, 2542 ง)

จากรายละเอียดที่กล่าวมานี้จะเห็นได้ว่า คุณภาพน้ำก็เป็นส่วนสำคัญยิ่งต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ดังที่ เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน (2543) ได้กำหนดค่าของคุณภาพน้ำที่เหมาะสม คือต้องมีปริมาณ ออกซิเจนในน้ำที่ 5-8 ส่วนในล้านส่วน, ความโปร่งใส 50-60 เซนติเมตร, ความเป็นกรดเป็นด่าง ของน้ำ 6.5-9, ความเค็มของน้ำ 15-25 ส่วนในพันส่วน, อุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส, ไฮโดรเจนซัลไฟล์ ไม่เกิน 1.3 ส่วนในล้านส่วน และค่าแอมโมเนียไม่เกิน 1.6 ส่วนในล้านส่วน เป็นต้น

3. โรคกุ้งกุลาดำ (กลุ่มวิจัยโรคและพยาธิสัตว์น้ำ, 2541)

สิ่งที่ควบคู่กันมาเสมอในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำคือ โรค ในกุ้งกุลาดำก็เช่นกัน โรคกุ้งกุลาดำได้พัฒนามาเป็นลำดับ และปัจจุบันโรคที่สร้างความเสียหายอย่างมาก 3 อันดับแรกคือ โรคตัวแดงดวงขาว, โรคหัวเหลือง และโรคเรืองแสง ซึ่งเกิดมาจากไวรัส และแบคทีเรีย โดยในที่นี้จะกล่าวถึงโรคที่เกิดมาจากแบคทีเรียดังนี้

3.1 โรควิบริโอ (Vibriosis) เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในสกุลวิบริโอ (*Vibrio* spp.) เช่น *Vibrio parahaemolyticus, Vibrio alginolyticus* เป็นโรคที่พบบ่อยในการเพาะเลี้ยงกุ้ง กุลาดำ ซึ่งพบทั้งในระยะวัยอ่อน, วัยรุ่น และตัวเต็มวัย โดยกุ้งกุลาดำที่ติดเชื้อจะว่ายน้ำเชื่องช้า และ มักเข้ามาเกาะบริเวณขอบบ่อ มีอาการอ่อนเพลีย ไม่กินอาหาร ลำตัวมักจะมีสีแดงเรื่อ ๆ เมื่อเครียด และหรือติดเชื้อรุนแรง กุ้งกุลาดำจะตายอย่างรวดเร็ว แต่ถ้ายังไม่ตาย แบคทีเรียอาจถูกกำจัดออกไป และกลายเป็นการติดเชื้อแบบเรื้อรัง กุ้งกุลาดำที่ติดเชื้อแล้วแต่ยังอยู่ได้เป็นเวลานาน มักจะมีรอยดำ ๆ เกิดขึ้นในเนื้อ

นอกจากนี้การติดเชื้อวิบริโอ อาจทำให้เกิดโรคอื่น ๆ เช่น โรคตายเดือน (One Month Mortality Syndrome) โรคนี้จะเกิดขึ้นในบ่อที่มีสภาพพื้นบ่อไม่ค่อยดี เช่น มีสาหร่ายพื้นบ่อมากในระยะแรก ๆ ของการเลี้ยง เมื่อสาหร่ายตายทำให้เกิดการเน่า เมื่อกุ้งกุลาดำในระยะหลังลอกคราบที่กำลังอ่อนแอเกิดการติดเชื้อ เปลือกมักเกิดบาดแผลเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่กล้ามเนื้อ และแพร่เข้าสู่ระบบเลือดในที่สุด

เนื่องจากวิบริโอเป็นแบคทีเรียที่มีอยู่ทั่วไปในน้ำกร่อย และน้ำทะเล ดังนั้นโรควิบริโอมักจะพบพร้อมกับโรคอื่น ๆ เสมอ เช่น ในกรณีที่น้ำในบ่อเกิดการเน่าเสีย หรือพื้นบ่อเน่า เนื่องจากมีการสะสมของสารอินทรีย์สูง กุ้งกุลาดำมักจะติดเชื้อวิบริโอ

3.2 โรคเรืองแสง เป็นโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Vibrio harveyi* เป็นโรคที่ทำความเสียหายให้แก่ลูกกุ้งกุลาดำในบ่อเพาะฟัก ตลอดจนในบ่อเลี้ยง ในลูกกุ้งกุลาดำจะมีอาการอ่อนแอ ไม่ค่อยว่ายน้ำ ตัวขุ่นขาว ถ้าเป็นโรคในระยะไมซีส ในกรณีที่ติดเชื้อมาก ๆ ลูกกุ้งกุลาดำจะจมลงสู่ก้นบ่อ และตายภายในระยะเวลา 1-2 วัน โดยอัตราการตายจะขึ้นอยู่กับอายุของลูกกุ้งกุลาดำ กล่าวคือ

ในระยะโพสลาวาร์จะมีความทนทานต่อแบคทีเรียเรืองแสงได้ดีกว่า ในระยะนอร์เพลียส สำหรับกุ้งกุลาดำที่ติดเชื้อแบคทีเรียเรืองแสงจะกินอาหารลดลง ว่ายวนบนผิวน้ำข้าง ๆ บ่อ พบอัตรา การตายประมาณ 10-20% ภายใน 5 วัน และมักพบกุ้งกุลาดำตายบริเวณใต้ใบพัด สามารถสังเกตการเรืองแสงของกุ้งกุลาดำที่ติดเชื้อได้ในเวลากลางคืน นอกจากตัวกุ้งกุลาดำจะเรืองแสงแล้ว น้ำในบ่อก็จะเรืองแสงด้วย ซึ่งการเกิดการเรืองแสงนี้จะมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารอินทรีย์ในบ่อ

3.3 โรคเหงือกสีชา (Tea-Brown Gill Syndrome) ลักษณะอาการที่พบคือ กุ้งกุลาดำจะมีการเรืองแสง บริเวณเหงือกมีสีน้ำตาลอ่อน หรือสีชา กุ้งกุลาดำจะตายอย่างรวดเร็วภายใน 3-4 วัน เมื่อตรวจสอบเนื้อเยื่อเฮปพาโตแพนเคลียส พบว่าถูกทำลาย และมีเชื้อแบคทีเรียแทรกอยู่เป็นจำนวนมาก แบคทีเรียดังกล่าวเป็นกลุ่มแบคทีเรียเรืองแสง (Luminous Bacteria) และยังตรวจพบแบคเทอริโอฟาจ (Bacteriophage) ในเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งชี้ให้เห็นว่าเชื้อ *V. harveyi* ที่มีแบคเทอริโอฟาจ อยู่ด้วยนั้นเป็นสาเหตุที่ทำให้กุ้งกุลาดำเป็นโรคเหงือกสีชา ซึ่งแบคเทอริโอฟาจจะกระตุ้นให้เชื้อแบคทีเรียมีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้น

โปรตีนและเอนไซม์

โปรตีน (Protein)

โปรตีนเป็นส่วนสำคัญของโครงสร้างร่างกาย โปรตีนบางส่วนใช้เพื่อให้เกิดพลังงาน แต่โปรตีนส่วนมากถูกนำไปใช้ในการสร้างเนื้อเยื่อ โปรตีนมีหลายชนิด เช่น ไฟเบอรัสโปรตีน (Fiberous Protein) คอนจูเกเต็ดโปรตีน (Conjugated Protein) มิวโคโปรตีน (Mucoprotein) ไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) รวมถึงเอนไซม์ (Enzyme) ซึ่งโปรตีนมีหน้าที่สำคัญหลายอย่างในร่างกาย ทั้งยังช่วยรักษาสมดุลย์ในร่างกายอีกด้วย (อิทธิพร จันทร์เพ็ญ, 2532)

โปรตีนเป็นสารอินทรีย์วัตถุที่มีจำนวนมากที่สุดในร่างกาย ซึ่งมีกรดอะมิโนที่มาเรียงและเชื่อมต่อกัน โดยโปรตีนที่ได้จากพืช และสัตว์มีความสามารถแตกต่างกัน เนื่องมาจากกรดอะมิโนที่มาประกอบเป็นโมเลกุลของโปรตีนด้วยพันธะเปปไทด์ (Peptide Bond) กรดอะมิโนในโปรตีน แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดใหญ่ ๆ คือ

1. กรดอะมิโนที่จำเป็น คือ กรดอะมิโนที่สัตว์ไม่สามารถสร้างขึ้นได้ ต้องได้จากอาหารที่สัตว์กินเข้าไปเท่านั้น

2. กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น คือ กรดอะมิโนที่สัตว์สามารถที่จะสร้างขึ้นเองได้ โดยเปลี่ยนจากกรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ มา (สมรรถชัย สารถวัลย์แพศย์, 2544)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การย่อยโปรตีน

โปรตีนที่สัตว์กิน ถ้าผ่านกระบวนการต่าง ๆ อย่างถูกต้องจะช่วยให้ย่อยได้ง่ายขึ้น การย่อยโปรตีนจะเริ่มต้นที่กระเพาะอาหาร โดยใช้น้ำย่อยที่ชื่อ เปปซิน (Pepsin) ซึ่งเปลี่ยนแปลงมาจากเปปซิโนเจน (Pepsinogen) ด้วยกรดเกลือ เปปซินจะย่อยโปรตีนให้เปลี่ยนไป โดยพันธะเปปไทด์จะแตกออก สั้นบ้างยาวบ้าง เรียกสายต่าง ๆ นั้นว่า โปรตีโอส (Proteose) ซึ่งจะเคลื่อนที่ลงต่อไปในลำไส้ ซึ่งมีเอนไซม์ที่ชื่อว่า ทริปซิน (Trypsin) ซึ่งเปลี่ยนมาจาก ทริปซิโนเจน (Trypsinogen) ซึ่ง สร้างโดยตับอ่อน ทริปซินจะย่อยโปรตีโอสให้มีขนาดที่สั้นลงจนเป็น เปปโตน (Peptone) หรือ โพลีเปปไทด์ (Polypeptide) จากนั้นก็จะมีน้ำย่อยจากผนังลำไส้เล็กในกลุ่ม อะมิโนเปปติเดส (Aminopeptidase) ย่อยเปปโตน และโพลีเปปไทด์ให้เป็น ไตรเปปไทด์ (Tripeptide) ไดเปปไทด์ (Dipeptide) จนในที่สุดเป็นกรดอะมิโน ซึ่งเป็นอนุภาคที่เล็กที่สุดของโปรตีนที่ร่างกายสามารถดูด ซึมไปใช้ได้ (อิทธิพร จันทร์เพ็ญ, 2532)

เอนไซม์

เอนไซม์ คือ กลุ่มโปรตีนที่มีหน้าที่พิเศษต่างจากโปรตีน และมหชีวโมเลกุลทั่วไป กล่าวคือ มีความสามารถเร่งปฏิกิริยาในสิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงกว่าตัวเร่งสังเคราะห์ทั้งหลายเท่าด้วยปริมาณเอนไซม์เพียงระดับไมโครโมลาร์ นอกจากนี้เอนไซม์ยังสามารถเร่งปฏิกิริยาได้ภายใต้สภาวะไม่รุนแรง ซึ่งเหมาะสมอย่างยิ่งกับภาวะภายในเซลล์และเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตทั่วไป เอนไซม์มีความจำเพาะต่อสารที่ทำปฏิกิริยา ซึ่งเรียกว่า สับสเทรต (Substate) และสามารถเร่งปฏิกิริยาโดยไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่น รวมถึงสามารถเพิ่มอัตราเร็วของปฏิกิริยาโดยลดพลังงานกระตุ้นของปฏิกิริยาได้ สิ่งมีชีวิตทุกชนิดจะมีกระบวนการของสิ่งมีชีวิตที่มีเอนไซม์เป็นส่วนประกอบทั้งสิ้น เช่น กระบวนการสังเคราะห์อาหาร ย่อยสลายสารอาหาร และกระบวนการสร้างพลังงาน เป็นต้น (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543)

เอนไซม์ย่อยโปรตีน (Proteolytic Enzyme, Pancreatic Protease, Pancreatic Proteinase, Pancreatic Peptidase) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยโปรตีน ซึ่งเป็นผลที่ได้มาจากการย่อยด้วยเปปซินในกระเพาะอาหาร คือ โปรตีเอส, เปปโตน, โพลีเปไทด์ และโปรตีนชนิดอื่นที่ไม่ได้ถูกย่อยด้วยเปปซิน เอนไซม์เหล่านี้สร้างขึ้นมาในสภาพที่เป็นตัวตั้งต้นของเอนไซม์ หรือ ไซโมเจน (Zymogen) ที่ไม่มีฤทธิ์ก่อน เมื่อถูกกระตุ้นแล้วจึงเปลี่ยนเป็นเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ในการย่อยโปรตีนได้ เอนไซม์เหล่านี้ได้แก่

1. ทริปซิน ถูกสร้างขึ้นในสภาพของ ทริปซิโนเจน
2. ไคโมทริปซิน ถูกสร้างขึ้นในสภาพของ ไคโมทริปซิโนเจน (Chymotrypsinogen)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3. อีลาสเตส (Elastase (Pancreatopeptidase E)) ถูกสร้างขึ้นในสภาพของ โปรอีลาสเตส (Proelastase)

4. คาร์บอกซีเปปติเดส เอ และบี (Carboxypeptidase A & B) (บุญยืน สาริกะภูติ, 2542)

โพรไบโอติก (Probiotics)

สารเสริมชีวนะ หรือโพรไบโอติก (Probiotics) เป็นจุลินทรีย์ขนาดเล็กที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์และสัตว์ เนื่องจากจุลินทรีย์ที่มีกระจายอยู่ทั่วไปตามธรรมชาติ มีทั้งที่เป็นพิษซึ่งทำให้มนุษย์และสัตว์เจ็บป่วย และทำให้อาหารบูดเสีย แล้วยังมีจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารเสริมชีวนะ ซึ่งมีผลทางอ้อมต่อสุขภาพและผลผลิตสัตว์ในด้านต่าง ๆ มากมาย

1. คำจำกัดความของสารเสริมชีวนะ (คนึงนิจ ก่อธรรมฤทธิ์, 2540)

ปี 1978 Paker เป็นคนแรกที่ใช้คำว่าโพรไบโอติก โดยให้คำจำกัดความว่า "จุลินทรีย์หรือ สสาร ซึ่งเป็นตัวทำให้จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารอยู่ในสมดุลย์"

ปี 1989 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ประเทศสหรัฐอเมริกา (AAFCO, 1992) ให้คำจำกัดความว่า "โพรไบโอติกเป็นผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ซึ่งเป็นอาหารที่ให้กินโดยตรง"

ปี 1989 Fuller ทบทวนคำจำกัดความและกล่าวว่า "โพรไบโอติก คืออาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตและเป็นประโยชน์ต่อร่างกายสัตว์ โดยปรับปรุงจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารสัตว์ให้สมดุลย์"

ปี 1989 Stark and Wilkinson จากสหราชอาณาจักรอังกฤษให้คำจำกัดความว่า "เป็นผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งไม่ก่อให้เกิดโรค สามารถให้สัตว์กินเพื่อปรับปรุงการ เจริญเติบโต และเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร ทำให้สุขภาพดีขึ้น"

นอกจากนี้ Moriarty (1998, cited in Verschuere et al., 2000) ได้ให้ความหมายของโพรไบโอติกว่า "เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่เติมลงในน้ำ (Water Additives) แล้วสามารถเข้าไปปรับสภาพของสิ่งแวดล้อมในบ่อให้ดีขึ้น"

ต่อมา Gatesoupe (1999) เสนอว่า "โพรไบโอติก ควรหมายถึงเซลล์ของจุลินทรีย์มีชีวิตที่เติมเข้าไปด้วยวิธีใด ๆ แล้วสามารถเข้าไปอยู่ในส่วนทางเดินอาหาร (Gastrointestinal Tract) ของเจ้าบ้าน และมีชีวิตอยู่ได้เพื่อปรับปรุงสุขภาพของเจ้าบ้านให้ดีขึ้น"

และ Gram et al. (1999, cited in Bruno et al., 2000) ได้ให้คำจำกัดความกว้าง ๆ ว่า "เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งเสริมประโยชน์ต่อสัตว์ที่เป็นผู้ให้อาศัย โดยทำให้สมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ดีขึ้น"

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ส่วนนักวิจัยในประเทศไทยนั้น ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ (2539) กล่าวว่า "ปกติในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ทุกชนิดมีจุลินทรีย์ในปริมาณหนึ่งซึ่งทำหน้าที่ช่วยย่อยสลายอาหาร และเพิ่มการดูดซึมของอาหารให้ดีขึ้น ถ้าจุลินทรีย์นี้เป็นจุลินทรีย์ประเภทที่ให้ประโยชน์แก่ผู้ให้อาศัย (Host) จะส่งผลให้ระบบทางเดินอาหารเกิดความสมดุลย์ ผู้ให้อาศัยมีโอกาสเสี่ยงต่อการติดโรคในทางเดินอาหารลดลง และทำให้สุขภาพดี"

จากคำจำกัดความที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ จะเห็นได้ว่าการคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อนำมาเป็นโพรไบโอติกนั้น จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทราบ และเข้าใจถึงกลไกของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้เป็นโพรไบโอติก หลักเกณฑ์ในการเลือกทั่ว ๆ ไปคือ การพิจารณาโดยคำนึงถึงหลักความปลอดภัยทางชีวภาพ (Biosafety), วิธีการผลิตและกระบวนการผลิต, วิธีการบริหารจัดการของโพรไบโอติกไปจนถึงส่วนของร่างกายที่ซึ่งจุลินทรีย์จะสามารถทำงานได้ดี (Huis in't Veld, Havenaar & Marteau, 1994 cited in Gomez-Gil, Roque, & Turnbull, 2000)

1.1 ลักษณะของสารเสริมชีวนะที่ดี (คนึงนิจ ก่อธรรมฤทธิ์, 2540)

1.1.1 เป็นสายพันธุ์ที่ให้ประโยชน์ทำให้สัตว์มีการเจริญเติบโตมากขึ้น

1.1.2 ไม่ทำให้เกิดโรค และไม่เป็นพิษ (Non-Pathogenic, Non-Toxic) (Lansing, John & Donald, 2002)

1.1.3 เป็นเซลล์ที่มีชีวิตและมีจำนวนมากพอควรที่จะเดินทางไปจนถึงทางเดินอาหารส่วนท้ายได้

1.1.4 ทนต่อสภาพกรดในกระเพาะและน้ำดีในลำไส้ แต่สามารถย่อยสลายในลำไส้ได้ดี (Lansing, John, & Donald, 2002)

1.1.5 มีความคงตัวและมีชีวิตอยู่ได้นานในการเก็บรักษา และการใช้จริงในฟาร์ม

1.1.6 มีความคงตัวและมีชีวิตอยู่ได้นานในการผสมอาหาร เนื่องจากการผลิตอาหารสัตว์บางชนิด ต้องผ่านกระบวนการความร้อน, แรงอัด เพื่อการอัดเม็ด และสภาพเป็นกรดหรือการเติมวัตถุในอาหารบางชนิดเพื่อช่วยในการถนอมคุณภาพอาหารสัตว์

1.1.7 ไม่ตกค้างในซากสัตว์

1.1.8 ราคาไม่แพง

1.1.9 ไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร

1.1.10 ไม่เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรม

1.1.11 ไม่ทำให้เกิดอาการแพ้

1.1.12 เป็นสายพันธุ์ที่ใช้ในการผลิตจำนวนมากในระดับอุตสาหกรรมได้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.2 หลักการทำงานของสารเสริมชีวนะที่ดี (คนึงนิจ ก่อธรรมฤทธิ์, 2540)

1.2.1 ลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค โดย

1.2.1.1 สร้างสารต้านทานแบคทีเรีย (Antibacterial Substance)

1.2.1.2 ขัดขวางเมทาบอลิซึม (Metabolism) ของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรด

1.2.1.3 สามารถจับกับผนังของลำไส้ทำให้จุลินทรีย์ที่ก่อโรคไม่สามารถเกาะและก่อตัวในทางเดินอาหาร

1.2.2 ช่วยระบบย่อยอาหาร โดย

1.2.2.1 สร้างกรดแลคติก (Lactic Acid) ทำให้กระเพาะมีสภาพเป็นกรดมากขึ้น การย่อยอาหารดีขึ้น

1.2.2.2 สร้างแบต้ากาแลคโตซิเดส (Beta-Galactosidase) ทำให้การใช้น้ำตาลกาแลคโตส ในน้ำนมดีขึ้น

1.2.2.3 สร้างน้ำย่อย เช่นเพคติเนส (Pectinase), เซลลูเลส (Cellulase)

1.2.2.4 ลดพิษของเอมีน และแอมโมเนีย

1.2.3 กระตุ้นภูมิคุ้มกันโรค โดย

1.2.3.1 มีการสร้างแอนติบอดี้ (Antibody) มากขึ้น

1.2.3.2 เพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของแมคโครฟาจ (Macrophage) ซึ่งเป็นเซลล์ชนิดหนึ่งทำหน้าที่กินจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค หรือสารแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย (Lansing, John & Donald, 2002)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. โพรไบโอติก

Phinphak, Rengpipat, Piyatiratitivorakul, and Menasveta (1999) ได้ทำการศึกษาเพื่อใช้ *Lactobacillus* spp. เป็นโพรไบโอติกในกุ้งกุลาดำ โดยผสมลงในสูตรอาหารที่อัตราส่วน 1: 3 ให้มีค่าประมาณ 10^{10} CFU/g เทียบกับกลุ่มควบคุมโดยให้อาหาร 3 มื้อ/ วัน เลี้ยงกุ้งจากระยะ PL-30 เป็นระยะเวลานาน 100 วัน แล้วนำไปเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดย *V. harveyi* พบว่าการใช้ *Lactobacillus* spp. เป็นโพรไบโอติกช่วยให้อัตราการเจริญและอัตรารอดของกุ้งกุลาดำสูงและสามารถควบคุม *V. harveyi* ในส่วน Gastrointestinal Tract ทำให้กุ้งมีสุขภาพดี ป้องกันเกิดโรคได้

Rengpipat et al. (2000) ทำการคัดแยก *Bacillus* S11 จากส่วนทางเดินอาหาร (Gastrointestinal Tract) ของกุ้งกุลาดำที่จับได้จากอ่าวไทย ผสมกับอาหารทางการค้าในอัตราส่วน 1: 3 โดยทำการศึกษาทดลองแยกเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ใช้กุ้งกุลาดำจากจังหวัดจันทบุรีอายุ 60 วัน เลี้ยงในระบบหมุนเวียนน้ำแบบกรองในถังพลาสติกก้นกลม แบ่งเป็นชุดควบคุม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

กับชุดทดลองผสม *Bacillus* S11ทำชุดละ 8 ซ้ำ ให้อาหาร 3 มื้อ/ วัน ที่ 6% ของน้ำหนักตัว/ วัน การทดลองที่ 2 ใช้กุ้งกุลาดำจากจังหวัดฉะเชิงเทราอายุ 10 วัน เลี้ยงในระบบเดียวกันในถังก้นเรียบ แบ่งเป็นชุดควบคุมกับชุดทดลอง ทำชุดละ 3 ซ้ำ ให้อาหาร 3 มื้อ/ วัน ที่ 10% ของน้ำหนักตัว/ วัน เลี้ยงจนครบ 90 วันโดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำทุกสัปดาห์ แล้วทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* D331 และ *V. harveyi* 1526 ผลการศึกษาพบว่า คุณภาพน้ำไม่มีความแตกต่างกันมากนัก และที่การทดลองที่ 1 การเจริญเติบโตและอัตราการรอดในกุ้งกุลาดำทั้ง 2 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่าง ส่วนการทดลองที่ 2 การเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกัน แต่อัตราการรอดในชุดทดลองสูงกว่าชุดควบคุม

Verschuere, Rombaut, Songeloos, and Verstraete (2000) ได้ทำการรวบรวมงานวิจัยเกี่ยวกับพวกครัสตาเชียนว่า Maeda and Liao (1992 & 1994) cited in Verschuere et al. (2000) รายงานถึงการใช้สายพันธุ์ของแบคทีเรียในดิน PM-4 และ NS-110 สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำในระยะนอร์เพลียส และแสดงถึงการต่อต้านการติดเชื้อจาก *Vibrio anguillarum* และเมื่อเติมลงในถังเลี้ยงไดอะตอม และโรติเฟอร์ มีผลทำให้มีอัตราการรอดในระยะลาวาร์ สูงถึง 57%

Rengpipat and Rukpratanporn (1998 b, cited in Verschuere et al., 2000) รายงานว่า ใช้ *Bacillus* S11 เป็นโพรไบโอติก โดยให้อาร์ทีเมียกินแล้วนำไปเลี้ยงกุ้งกุลาดำในระยะลาวาร์ พบว่ากุ้งกุลาดำมีการพัฒนาที่ดี หลังจากเลี้ยงได้ 100 วัน ก็ทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคในกุ้งกุลาดำในระยะโพสลาวาร์ด้วย *V. harveyi* D331 พบว่ากลุ่มที่เติม *Bacillus* S11 มีอัตรารอด 100% โดยที่กลุ่มควบคุมมีอัตรารอดเพียง 26%

Moriarty (1998, cited in Verschuere et al., 2000) รายงานการใช้ *Bacillus* หลากหลายสายพันธุ์ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบ่อเลี้ยงในฟาร์ม และทำการเลี้ยงมากกว่า 160 วัน โดยปราศจากปัญหา ในขณะที่ฟาร์มที่ไม่ได้ใช้ *Bacillus* เกือบทั้งหมดล้มเหลวในการเลี้ยงอย่างสมบูรณ์ด้วยโรคเรืองแสงจาก *Vibrio* spp.

Rengpipat, Phianphak, Piyatiratitivorakul, and Menasveta (1998 a) ใช้ *Bacillus* S11 เป็นโพรไบโอติกผสมอาหารให้กุ้งกุลาดำกิน ใน 3 รูปแบบ คือ แบบเซลล์สด, แบบเซลล์สดในน้ำเกลือมาตรฐาน และแบบไลโอฟิไลซ์ เทียบกับกลุ่มควบคุม ทำการทดลองในกุ้งกุลาดำอายุ 30 วัน เป็นระยะเวลา 100 วัน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันในด้านการเจริญเติบโต ทั้ง 3 กลุ่ม และกลุ่มควบคุม หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* พบว่าอัตรารอดของทั้ง 3 กลุ่มคือ 100% ขณะที่กลุ่มควบคุมมีอัตรารอดเพียง 26% และเห็นได้ชัดว่า กุ้งกุลาดำสุขภาพไม่ดี รูปร่างและสีของเฮปพาโตแพนเคลียส และลำไส้เปลี่ยนไป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Meunpol, Lopinyosiri, and Menasveta (2003) ใช้โอโซนร่วมกับโพรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่ระยะจูวิไนน์ 3 กลุ่มทดลอง 1 กลุ่มควบคุม คือ ก) ให้อาหารไม่มีโอโซน, ข) ให้อาหารมี โอโซน, ค) ให้อาหารผสมโพรไบโอติก *Bacillus* S11 ไม่มีโอโซน และง) ให้อาหารผสมโพรไบโอติก *Bacillus* S11 มีโอโซน โดยให้อาหาร 3 มื้อ/ วัน ที่ประมาณ 5% ของน้ำหนักตัวรวม/ วัน เมื่อครบ 1 เดือนทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* ปริมาณ 10^7 CFU/ มิลลิลิตร/ ถัง พบว่า กลุ่ม ง) มีอัตรารอดสูงสุดที่ 75% ตามด้วยกลุ่ม ข) 67% กลุ่ม ค) 43% และกลุ่ม ก) พบอัตรารอดเพียง 18%

Gomez-Gil, Tron-Mayen, Roque, Turnbull, Inglis and Guerra-Flores (1998) ทำการคัดแยก *Vibrio* spp. จากกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) ในระยะจูวิไนน์ที่แข็งแรง พบว่า ในทั้ง 3 ส่วนของทางเดินอาหารมีประชากร *Vibrio* spp. เฉลี่ย $2x10^2$ - $3x10^3$ CFU/g โดยในส่วนของลำไส้และกระเพาะมีจำนวนมากกว่าในเฮปพาโตแพนเคลียส จึงบอกได้ว่ามี *Vibrio* spp. หลายสายพันธุ์ในส่วนของทางเดินอาหารของกุ้งขาวที่สุขภาพดีแต่ไม่ได้ก่อโรคแก่กุ้ง

Chythanya, and Iddya (2002) คัดแยกแบคทีเรียในทะเลสายพันธุ์ *Pseudomonas* I-2 จากตัวอย่างน้ำปากแม่น้ำในอินเดีย และคัดแยก *V. harveyi* จากกุ้งกุลาดำในระยะลาวาร์ ทำการศึกษาการยับยั้ง 3 วิธี คือ Well Diffusion, Disc Diffusion และCross-Streak พบว่า PI-2 แสดงการยับยั้ง *V. harveyi* ได้ดีทั้งแบบ Well และDisc และสามารถยับยั้ง วิบริโอสายพันธุ์อื่นอีก 5 ชนิดตามการทดสอบวิธี Cross-Streak

Moriarty (1998) ทำการทดลองในอินโดนีเซีย โดยใช้ *Bacillus* sp. ร่วมกับการใช้ ระบบการจัดการสารอินทรีย์ ทางเทคโนโลยีชีวภาพ (Detritus Management System Biotechnology) โดยใช้น้ำจากแหล่งเดียวกัน พบว่า ได้ผลผลิต 5-11 ตัน/ เฮกเตอร์ และอัตรารอดสูงถึง 90% และในปี 1999 ใช้ *Bacillus* sp. เป็นโพรไบโอติก เติมลงในบ่อและถังเพาะฟักที่พบปัญหาการระบาดอย่างรุนแรงจากวิบริโอเรืองแสง ทั้ง ๆ ที่มีการใช้แอนตี้ไบโอติกในปริมาณโดสที่สูงมากในฟิลิปปินส์ ซึ่งการทดลองพบว่า การใช้ *Bacillus* sp. ช่วยให้กุ้งมีอัตรารอด 80-100%

2. การย่อยอาหารและกิจกรรมของเอนไซม์

พรชัย นุชา (2544) ทำการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ทริปซินในกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) ที่อุณหภูมิต่างกัน พบว่าการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน ในกุ้งก้ามกราม มีการทำงานเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่สูงขึ้นตั้งแต่ 25-50 องศาเซลเซียส แต่จะมีการทำงานลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส

อิสราพร เภรินทวงศ์ (2544) ศึกษาถึงกิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซินในกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) ที่ความเค็มต่างกัน พบว่าอุณหภูมิและความเค็มมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ โดยที่ระดับความเค็มของน้ำ 5 ppt การทำงานของไคโมทริปซินจะทำงานได้ดีที่สุดที่ 50 องศาเซลเซียส ที่

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ระดับความเค็มของน้ำ 10 ppt การทำงานของไคโมทริปซินจะทำงานได้ดีที่สุดที่ 60 องศาเซลเซียส และที่ระดับความเค็มของน้ำ20 ppt การทำงานของไคโมทริปซินจะทำงานได้ดีที่สุด เมื่ออยู่ภายใต้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

Chuntapa, Piyatiratitivorakul, Nitithamyong, Viyakarn, and Menasveta (1999) ทำการศึกษาหาอัตราส่วนระหว่าง ไขมัน: คาร์โบไฮเดรต และ โปรตีน: พลังงาน ในอาหาร Semi-Purified ที่เหมาะสมในกุ้งกุลาดำระยะจูวิไนน์ ทำการทดลองโดย ให้อาหาร 4 มื้อ/ วัน ที่ 5% ของน้ำหนักรวม อัตราปล่อยกุ้ง 80 ตัว/ ตารางเมตร ในตู้กระจก ควบคุมแสงมืดและสว่างเป็น 12 : 12 ชั่วโมง และทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำทุกสัปดาห์ พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมของ ไขมัน: คาร์โบไฮเดรต คือ 7: 32 (7% ไขมัน กับ 32% คาร์โบไฮเดรต) และ อัตราส่วนที่เหมาะสมของ โปรตีน: พลังงาน คือ 33-44 โปรตีน กับ 223-371 กิโลแคลอรี่/ 100 กรัม

Lemos, Ezquerra, & Garcia-Carreno (2000) กล่าวว่าโปรตีนเป็นส่วนผสมที่สำคัญที่สุดทั้งในธรรมชาติ และการเตรียมอาหารของกุ้งพวกพีเนียด การประเมินค่าการย่อยสลายโปรตีนทำโดย 1) การตรวจวัด และคุณลักษณะของกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส และตัวยับยั้งเอนไซม์โปรติเอส (Proteinaceous Proteinase Inhibitors) โดยวิธี Substrate-SDS-PAGE 2) หาปริมาณของกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส โดยใช้ *Nα-p*-Toluenesulphonyl-L-Arg Mtthyl Ester (TAME) หรือ *Nα*-Benzoyl-GL-Arg-*p*-Nitroanilide (BAPNA) สำหรับตรวจวัดกิจกรรมของทริปซิน และใช้ *N*-Succinyl-L-Ala-L-Ala-L-Pro-L-Phe-*p*-Nitroanilide (SAPFNA) ในการตรวจวัดกิจกรรมของไคโมทริปซิน และ 3) ทำการประเมินค่าของการย่อยสลายอาหาร โปรตีนโดยเอนโซม์ย่อยโปรตีนของกุ้งในหลอดทดลอง

Kuzmina (1996) ทำการทดสอบอิทธิพลของอายุ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร ในปลากระดูกแข็งน้ำจืดบางชนิด พบว่า ระดับของความหลากหลายของอายุในกิจกรรม ของเอนไซม์มีความสัมพันธ์กับการชอบกินอาหารของปลา เช่น กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ในปลาไพก์ และปลาบรีมจะไม่เป็นผลมาจากอายุ ขณะที่มีการลดลงอย่างเล็กน้อยในปลาเพิร์ท วัยรุ่น และเพิ่มขึ้นตามอายุในปลาโรช

Lemieux, Blier, and Dutil (1999) ได้ตั้งคำถามว่า เอนไซม์ย่อยอาหารเป็นตัวจำกัดทางกายภาพของการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการเปลี่ยนแปลงอาหารในปลาคอดแอทแลนติก หรือไม่ ซึ่งพบว่า มวลของกระเพาะ, ไพโรริก ซีก้า (Pyrolic Caeca) และลำไส้มีการเพิ่มขึ้นตามอัตราการเจริญเติบโต กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินมีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญ, การกินอาหาร และประสิทธิภาพการเปลี่ยนแปลงอาหาร เมื่อกิจกรรมเป็นหน่วย ยูนิต/ กรัมเนื้อเยื่อ และกิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซินแสดงให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญและการกินอาหาร แต่ไม่สัมพันธ์กับประสิทธิภาพของการเปลี่ยนแปลงอาหาร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Vega-Villasante, Nolasco, & Civera (1995) ทำการศึกษาเอนไซม์ย่อยอาหารของกุ้งแปซิฟิกสีน้ำตาล (*Penaeus californiensis*) และคุณสมบัติของกิจกรรมของโปรติเอสในทางเดินอาหารทั้งหมด โดยหาค่ากิจกรรมของโปรติเอสใน Crude Extract ของส่วนย่อยอาหารทั้งหมด พบว่ามีคุณสมบัติดังนี้ 1) ทนต่อความเค็มสูง โดยมีค่ากิจกรรมสูงสุดระหว่าง 0 และ0.5 โมลาร์เกลือโซเดียมคลอไรด์ แต่ค่ามีลดลงครึ่งหนึ่งของกิจกรรมสูงสุดเมื่อมีความเค็มที่ 2 โมลาร์เกลือโซเดียมคลอไรด์ 2) ค่าที่เหมาะสมที่สุดต่อกิจกรรมคือ 50 องศาเซลเซียส และไม่ปรากฏการทำงานของเอนไซม์ที่ 60 องศาเซลเซียส และ 3) กิจกรรมที่เกิดขึ้นระหว่างค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 6 และ 10 พบค่าของกิจกรรมสูงสุดที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 8 และในการสกัดทั้งหมดพบกิจกรรมของทริปซินไลค์ (Trypsin-Llike), ไคโมทริปซินไลค์ (Chymotrypsin-Like), คาร์บอกซีเปปติเดส เอ และ บีไลค์ (Carboxypeptidase A & B-Like) รวมถึงลิวซีนอะมิโนเปปติเดสไลค์ (Leucine-Aminopeptidase-Like)

Fernandez, Oliva, Carrillo, and Wormhoudt (1997) รายงานการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารของกุ้งสีชมพู (*Penaeus notialis*) ตัวเมียในช่วงระหว่างการลอกคราบ โดยทำการศึกษาอะไมเลส, ทริปซิน, ไคโมทริปซิน, คาร์บอกซีเปปติเดส เอ และ บีไลค์ รวมถึง ลิวซีนอะมิโนเปปติเดสไลค์ ในเฮปพาโตแพนเคลียส และกระเพาะ กำหนดที่ระยะต่าง ๆ ของการลอกคราบ พบว่ากิจกรรมของโปรติโอไลติกทั้งหมดใน เฮปพาโตแพนเคลียสสูงสุดในระยะหลังการลอกคราบ (B_2) จนถึงช่วงระหว่างการลอกคราบ (C_3-C_4) และในกระเพาะสูงสุดในระยะก่อนการลอกคราบ (D_1) และกิจกรรมของทริปซินในกระเพาะ มีค่าสูงสุดที่ระยะก่อนการลอกคราบ (D_1) ซึ่งใช้ BAPNA (Benzoyl-L-Asginine-p-Nitroanilide) เป็นสาร ตั้งต้น และในเฮปพาโตแพนเคลียสค่าสูงสุดอยู่ที่ เตรียมก่อนการลอกคราบ (D_0) ส่วนกิจกรรมของ ไคโมทริปซินพบในเฮปพาโตแพนเคลียส สูงกว่า ในกระเพาะซึ่งอยู่ในระยะช่วงระหว่างการลอก คราบ (C_1-C_2) และช่วงสุดท้ายก่อนการลอกคราบ (D_2-D_3)

Cordova-Murueta, Garcia-Carreno, and Navarrete-del-Toro (2004) ศึกษาผลกระทบของการเปลี่ยนอาหาร และการควบคุมทางกายภาพต่อระบบการย่อยอาหารของกุ้งขาว (*P. vannamei*) แล้วหาค่าของเอนไซม์ย่อยอาหารจากมูลกุ้ง และจากเฮปพาโตแพนเคลียส โดยทำการทดลอง 3 กลุ่มคือ 1) กลุ่มควบคุม 2) ชั่งน้ำหนักทุกสัปดาห์ และไม่เปลี่ยนอาหาร 3) เปลี่ยนอาหารจาก 45%โปรตีนรวม เป็น 35%โปรตีนรวม ไม่ชั่งน้ำหนัก และ 4) ชั่งน้ำหนักทุกสัปดาห์ และเปลี่ยนอาหารจาก 45%โปรตีนรวม เป็น 35%โปรตีนรวม พบว่าผลกระทบทางกายภาพโดย การชั่งน้ำหนักกุ้งทุกสัปดาห์ มีผลต่อกิจกรรมของทริปซิน และไคโมทริปซินมากกว่าการ เปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหาร

Fang and Lee (1992) ทำการศึกษากิจกรรมของทริปซิน โดยทำการวัดค่า Specific Activity โดยประยุกต์ Benzoyl-Arg-NA เป็นสารตั้งต้นในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ 7.4 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และศึกษากิจกรรมของไคโมทริปซิน โดยใช้ SAPNA (Succinyl-Ala-Ala-Pro-Phe-NA) เป็นสารตั้งต้นในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ 7.4 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งได้ผลว่ากิจกรรมของทั้งทริปซินและไคโมทริปซินมีค่าสูงมากในระยะ ไมซีส โดยกิจกรรมทริปซินไม่มีความแตกต่างมากนักกับระยะอื่น ๆ ส่วนไคโมทริปซินมีค่าสูงในระยะ จูวิไนน์ และวัยรุ่นเมื่อเปรียบเทียบกับระยะนอร์เพลียส และระยะซูเอี้ย (Zoea)

ศิวพล กางกั้น (2536) ศึกษาการหาปริมาณโปรตีน และการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ระยะต่าง ๆ ซึ่งศึกษาปัจจัยต่าง ๆ 3 ประการ คือ เปรียบเทียบตามอายุ ขนาด และ ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส พบว่า ช่วงอายุของกุ้ง และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส โดยในกุ้งอายุ 2 เดือน มีการทำงานของโปรติเอสดีที่สุด ส่วนในกุ้ง PL-15 มีการทำงานของโปรติเอสต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบตามขนาดเมื่ออายุกุ้งเท่ากัน กุ้งขนาดกลางจะมีการทำงานของโปรติเอสดีที่สุด และระดับค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่โปรติเอสจะทำงานได้ดีที่สุดอยู่ที่ประมาณ 6-6.5

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University