



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของการเสริมไคโตซานในอาหารกึ่งต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอด การลอกคราบ
และการสนองตอบต่อภูมิคุ้มกันกึ่งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)
ที่ความเค็มน้ำ 3 ระดับ

Effect of dietary chitosan supplementation in pellet feed on growth performance,
survival rate, molting and immune response of Pacific white shrimp
(*Litopenaeus vannamei*) at 3 salinity levels

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญรัตน์ ประทุมชาติ
นายสกันธ์ แสงประดับ

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

รหัสโครงการ 2560A10802192

สัญญาเลขที่ 73/2560

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของการเสริมไคโตซานในอาหารกึ่งต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอด การลอกคราบ
และการสนองตอบต่อภูมิคุ้มกันกึ่งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)
ที่ความเค็มน้ำ 3 ระดับ

Effect of dietary chitosan supplementation in pellet feed on growth performance,
survival rate, molting and immune response of Pacific white shrimp
(*Litopenaeus vannamei*) at 3 salinity levels

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญรัตน์ ประทุมชาติ¹
นายสกนธ์ แสงประดับ²

¹ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี

²สถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดชลบุรี

มีนาคม 2561

บทคัดย่อ

ผลของการเสริมโคโตซานในอาหารร่วมกับความเค็มต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด ความถี่ของการลอกคราบ การเปลี่ยนแปลงทางสรีระเคมีและการสนองตอบต่อภูมิคุ้มกันของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ซึ่งได้วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (factorial) ตามอาหารที่มีการเสริมโคโตซาน 0.2 % และไม่เสริมโคโตซาน (ชุดควบคุม) ร่วมกับความเค็ม 3 ระดับ (10, 23 และ 36 ppt) ทำ 4 ซ้ำ โดยเลี้ยงกุ้งขาวขนาด 3.18 ± 0.08 กรัม ความยาว 7.61 ± 0.34 เซนติเมตร ให้อาหารทดลองที่มีโปรตีน 36% ให้อาหารอัตรา 5% ของน้ำหนักตัวต่อวัน แบ่งให้วันละ 4 ครั้ง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตรวจสอบพารามิเตอร์การเจริญเติบโต อัตรารอด อัตราแลกเนื้อ (FCR) ความถี่ในการลอกคราบ ระยะเวลาที่ต้านการสลบจากการทดสอบ ความเครียด (ARP) ปริมาณเม็ดเลือดรวม (THC) ระยะเวลาที่เลือดแข็งตัว (CP) ความเข้มข้นของอิออน (ion) โซเดียม (Na) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) ฟอสฟอรัส (P) แมงกานีส (Mn) ทองแดง (Cu) ซัลเฟอร์ (S) คลอไรด์ (Cl) ของพลาสมาและเปลือกกุ้ง ความเข้มข้นโปรตีนรวมในพลาสมา ปริมาณไคติน (Chitin) และโคโตซาน (Chitosan) ในเปลือก

ผลการทดลอง พบว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมโคโตซาน 0.2% มี % น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%WG) และ% ความยาวที่เพิ่มขึ้น (%LG), ARP และโปรตีนในพลาสมา และ Mg ในเปลือกสูงกว่า FCR ต่ำกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม ($p < 0.05$) ขณะที่พารามิเตอร์อื่นๆไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) เมื่อพิจารณาผลของความเค็มปัจจัยเดียวพบว่า กุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 36 ppt มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (ADG), %WG และ %LG สูงกว่าที่กุ้งเลี้ยงใน 10 ppt และ 23 ppt ($p < 0.05$) ขณะที่กุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 10 ppt มีอัตรารอดต่ำ ($p < 0.05$) และ FCR สูงกว่า ($p < 0.05$) อีก 2 ระดับความเค็ม ARP นานขึ้นเมื่อเลี้ยงกุ้งในน้ำความเค็มต่ำลง ($p < 0.05$) ความเค็มที่สูงขึ้นส่งผลให้ความเข้มข้นของโปรตีน Mg และ THC ในเลือดสูงขึ้น ($p < 0.05$) กุ้งที่เลี้ยงในความเค็ม 23 ppt พบ Ca ในเปลือกสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงใน 36 ppt และพบ Mg สูงกว่ากุ้งใน 36 ppt กับ 10 ppt ($p < 0.05$) ขณะที่พบ Mn ในเปลือกกุ้งสูง ($p < 0.05$) เมื่อเลี้ยงในน้ำความเค็ม 36 ppt

เมื่อพิจารณาผลร่วมของการเสริมโคโตซานและความเค็มในการเลี้ยงกุ้ง พบว่าอัตรารอดของกุ้งกลุ่มที่เลี้ยงในความเค็ม 23 ppt และ 36 ppt และให้อาหารที่ผสมโคโตซานมีค่าสูงกว่า ($p < 0.05$) กุ้งชุดที่เลี้ยงใน 10 ppt ทั้ง 2 กลุ่ม ARP ของกุ้งกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโคโตซานมีค่าสูงกว่าชุดที่ให้อาหารชุดควบคุม ($p < 0.05$) ทั้งในความเค็ม 10 ppt และ 23 ppt ขณะที่ไม่มีค่าแตกต่างกันที่ 10 ppt ($p > 0.05$) FCR เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มอาหารของแต่ละระดับความเค็มไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่กุ้งทุกกลุ่มที่เลี้ยงในความเค็ม 23 ppt และ 36 ppt มีค่า FCR ต่ำกว่า ($p < 0.05$) กุ้งทั้ง 2 กลุ่มที่เลี้ยงในความเค็ม 10 ppt ค่าโปรตีนในพลาสมาของกุ้งกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโคโตซานมีค่าสูงกว่า ($p < 0.05$) ชุดที่ให้อาหารควบคุม ทั้งในความเค็ม 10 ppt และ 36 ppt และ ค่า THC ของกุ้งกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโคโตซานมีค่าสูงกว่า ($p < 0.05$) ชุดที่ให้อาหารควบคุม ที่ความเค็ม 36 ppt

Abstract

Effect of dietary chitosan supplementation on growth, survival, molt frequency, physicochemical change and immune response of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) was studied. Factorial design was used for the experiment as followed two types of diets (chitosan supplementary diet at 0.2% and without chitosan supplement as control) coordinated with the three levels of salinity (10, 23 and 36 ppt). Four replications were operated. Shrimps with size of 3.18 ± 0.08 g in wet weight and 7.61 ± 0.3 cm in total length were used and fed four times daily with test diet containing 36% protein at 5% body weight for 8 weeks. Growth parameters, survival rate, food conversion ratio (FCR) molting frequency (MF), anaesthetized resistant period (ARP), total hemocyte count (THC) hemolymph clotting period (HCP), concentrations of Na, K, Ca, Mg, P, Mn, Cu, S, and Cl ions in plasma and cuticle, total protein in plasma, chitin and chitosan contents in the cuticle.

The results showed that %weight gain (%WG), %length gain (%LG), FCR, ARP, plasma protein and Mg in cuticle of shrimp fed with 0.2% chitosan supplemented diet were significantly higher than those of control diet ($p < 0.05$) while the other parameters were not different ($p > 0.05$). Consideration of salinity effect, the results found that average daily growth (ADG), %WG and %LG of shrimp culturing in 36 ppt showed higher ($p < 0.05$) than those of at 10 ppt and 23 ppt. Shrimp raising in 10 ppt showed lower %SR ($p < 0.05$) and higher FCR ($p < 0.05$) when compared to the other salinities. ARP value increased ($p < 0.05$) when raising at lower salinity. Concentrations of protein, Mg and THC increased ($p < 0.05$) when shrimp reared in higher salinity. Ca in the cuticle of shrimp reared at 23 ppt showed higher ($p < 0.05$) than that of 36 ppt and 10 ppt while shrimp reared in 36 ppt showed high content of Mn ($p < 0.05$).

Consideration of chitosan supplementation and salinity for raising shrimp, %SR of shrimp reared in 23 ppt and 36 ppt and fed on chitosan supplementary diet showed higher ($p < 0.05$) than that of the others. ARP of shrimp fed on chitosan supplementary diet showed higher ($p < 0.05$) than that of control diet both 10 ppt and 23 ppt but it was not different ($p > 0.05$) at 10 ppt. FCR values were not different ($p > 0.05$) between the two types of diet in each salinity but their values of all groups in 23 ppt and 36 ppt showed lower ($p < 0.05$) than that of 10 ppt. Plasma protein of shrimp fed on chitosan supplementary diet was higher than that of control diet both 10 ppt and 36 ppt. THC of shrimp fed with chitosan supplementary diet showed higher ($p < 0.05$) than that of control diet at 36 ppt.

t.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
สารบัญ.....	จ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ช
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
บทนำ	1
เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
วิธีดำเนินการทดลอง.....	30
ผลการทดลอง	44
อภิปรายผลการทดลอง	58
ผลผลิต	66
เอกสารอ้างอิง	67

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณสมบัติทางเคมีของโคโตซานตามน้ำหนักโมเลกุล.....	16
2	ผลของโคโตซานต่อการเจริญเติบโต (Growth) และอัตราการแลกเนื้อ (FCR).....	19
3	ผลของโคโตซานต่ออัตราการรอดตาย (%Survival Rate).....	23
4	ผลของโคโตซานต่อปริมาณโคตินและโคโตซานในเปลือก	24
5	ผลของโคโตซานต่อภูมิคุ้มกัน (Immune) และการทนต่อความเครียด (Tolerance for Stress).....	28
6	สูตรอาหารทดลองสำหรับกุ้งขาว.....	37
7	องค์ประกอบทางเคมีอย่างหยาบของอาหาร.....	38
8	ระดับพฤติกรรมกุ้งขาวที่กำหนดระดับการสลับ.....	43

สารบัญญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 โครงสร้างทางเคมีของ เซลลูโลส ไคติน ไคโตซาน.....	11
2 แอลฟา-ไคติน (α -Chitin)	11
3 เบต้า-ไคติน (β -Chitin)	11
4 แกมมา-ไคติน (γ -Chitin)	12
5 ระบบเลี้ยงกุ้งที่ความเค็ม 3 ระดับ.....	35
6-15 ผลของความเค็ม 3 ระดับต่อ ADG, %WG, SGR _w , %LG, SGR _L , SVW, SRL, MF , %SR, FCR.....	47
16 ผลของความเค็ม 3 ระดับต่อ และระยะเวลาด้านการสลบ.....	48
17-25 ผลของไคโตซานที่ 0 และ 0.2% ต่อ ADG, %WG, SGR _w และ %LG,.....	48
26-27 ผลของไคโตซานที่ 0 และ 0.2% ต่อระยะเวลาด้านการสลบ และFCR.....	49
28-33 ผลของความเค็มร่วมกับไคโตซานต่อ ADG, %WG, SGR _w , %LG, %SGR _L , %SVW	49
34 ผลของความเค็มร่วมกับไคโตซานต่อ %SRL.....	50
35-38 ผลของความเค็มร่วมกับไคโตซานในอาหารต่อ MF, %SR, FCR และระยะเวลาการ ด้านการสลบ	50
39-42 ผลของความเค็ม 3 ระดับต่อ Na, K, Ca, และ P ในพลาสมา.....	51
43-47 ผลของความเค็ม 3 ระดับต่อ Cu, Mg ระยะเวลาที่เลือดแข็งตัว โปรตีน และ THC ใน พลาสมา.....	52
48-56 ผลของไคโตซานต่อความเข้มข้นของ Na, Ca, K, P, Cu, Mg ระยะเวลาที่เลือด แข็งตัว โปรตีน และTHC ในพลาสมา.....	53
57-65 ผลของความเค็มร่วมกับไคโตซานต่อความเข้มข้น Na, Ca, K, P, Cu, Mg, ระยะเวลาที่เลือดแข็งตัว โปรตีน และTHC ในพลาสมา.....	54
66-74 ผลของความเค็ม 3 ระดับต่อปริมาณ Na, K, Ca, Mg, Mn, Cu, P, ไคตินและ ไคโตซานในเปลือกกุ้ง.....	56
75-83 ผลของไคโตซานที่ 0 และ 0.2% ต่อ Na, K, Ca, Mg, Mn, Cu, P, ไคตินและ ไคโตซานในเปลือกกุ้ง.....	57
84-92 ผลของความเค็มร่วมกับไคโตซานต่อปริมาณ Na, K, Ca, Mg, Mn, Cu, P, ไคติน และไคโตซานในเปลือกกุ้ง.....	58

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 73/2560

บทนำ

การรักษาสมดุลเกลือแร่ในวงจรการลอกคราบของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียเย็นนั้น จะมีการเพิ่มความเข้มข้นของเลือดโดยการเพิ่มปริมาณของ Ca, Mg, Na และ Cl โดยดึงมาจากคราบเก่าและจากน้ำภายนอก โดยที่การสะสมจะเริ่มต้นตั้งแต่ระยะหลังลอกคราบ (stage A) จนกระทั่งถึงระยะก่อนลอกคราบ (stage D₁) (Mantel & Farmer, 1983) ดังจะเห็นได้จากการศึกษาในสัตว์กลุ่มครัสเตเชียเย็น เช่น lobster (*Hormarus americanus*) กุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) และปู *Callinectes sapidus*, *Carcinus* และ *Scylla* ที่พบว่าปริมาณ Ca, Na, Cl, P โปรตีน กลูโคส และออสโมลาลิตี (osmolality) จะมีการเปลี่ยนแปลงสัมพันธ์กับวงจรการลอกคราบในเลือด ระยะหลังลอกคราบมักจะต่ำกว่าระยะก่อนลอกคราบ (Cameron 1985; Glynn 1968; Mercaldo-Allen, 1991; Pratoomchat et al., 2002a; Roer & Dillaman 1984; Travis, 1965) แคลเซียมนับว่าเป็นอิออนที่มีความสำคัญมากในการควบคุมกลไกในการสร้างเปลือกโดยมีทั้งการเคลื่อนย้ายจากเลือดไปสู่เปลือกและในทางกลับกัน (Mangum 1992; Pratoomchat et al., 2002a; Roer & Dillaman, 1984) สารประกอบอินทรีย์ก็มีบทบาทสำคัญเช่นเดียวกัน (Burse & Lane 1971; Glynn 1968; Hagerman & Uglow, 1983)

เหตุผลที่ต้องเพิ่มแร่ธาตุในอาหาร (โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำและระบบการเลี้ยงแบบหนาแน่น) เนื่องจากแร่ธาตุมีผลโดยตรงต่อระบบสมดุลเกลือแร่ (Osmotic balance) ภายในร่างกาย เช่น Na, K, Cl ขบวนการทางชีวเคมี (Biochemical process) เช่น Enzyme activity, Electron transfer (พลังงาน) เช่น Cu, Mn, Zn การสร้างเปลือก (Cuticle formation) การเจริญเติบโต ที่สมบูรณ์ เช่น Ca, Mg, Mn, P, S, HCO₃⁻ เป็นต้น ความเค็มน้ำต่ำส่งผลให้ในน้ำมีความเข้มข้นของแร่ธาตุต่ำลงไปด้วย เช่น Na, Cl, Ca, Mg, K, I, S และ P (100, 200, 20, 200, 200, 10, 40, 5 เท่า ตามลำดับ) ดังนั้น การเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำต่ำภายใต้ระบบการเลี้ยงแบบหนาแน่น กุ้งมีโอกาสขาดหรือมีแร่ธาตุไม่เพียงพอแน่นอนทั้งในระบบสรีระร่างกาย ขบวนการทางชีวเคมี การสร้างเนื้อและเปลือก ดังนั้นการเพิ่มแร่ธาตุลงในน้ำ อาจจะทำ

ได้บางชนิด แต่มีโอกาสสูญเสียและต้องใช้ในปริมาณมาก อาจไม่คุ้ม หรืออาจจะอยู่ในรูปที่กุ้งมี ประสิทธิภาพต่ำในการนำไปใช้ เนื่องจากเกิดการตกตะกอนจากการทำปฏิกิริยา การเสริมลงใน อาหารจึงน่าที่จะแก้ปัญหาได้ตรงประเด็น ลดการสูญเสียจากการละลาย การเสียพลังงานในการ ดูดซึม และนำไปใช้ได้อย่างรวดเร็ว

สารอินทรีย์ 45% ในโครงสร้างเปลือกกุ้งประกอบด้วยไคติน (Chitin) และโปรตีน (Pratoomchat et al., 2002) จึงสามารถนำไคโตซานที่เป็นอนุพันธ์ของไคตินเป็นสารตั้งต้นที่กุ้ง ขาวนำไปใช้ในการสร้างเนื้อเยื่อและเปลือก เมื่อกุ้งขาวได้รับไคโตซานในปริมาณที่เหมาะสม นอกจากจะมีบทบาทต่อการลอกคราบที่สมบูรณ์แล้วยังช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน (Immune enhancement) ในร่างกายจากการกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดทั้งหมด (Total haemocyte) ทำให้มี Oxyhaemocyanin เพิ่มขึ้นสามารถจับตัวกับออกซิเจนส่งผลต่อระบบไหลเวียนของเลือดได้ดี มีการผลิต Superoxide anion และกิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD) ภายใน เซลล์ให้สูงขึ้น (Lee & Shiau, 2002) สุขภาพของกุ้งขาวแวนนาไมดี ทำให้เพิ่มอัตราการรอดตาย เพิ่มขึ้น ดังรายงานพบว่าเสริมไคโตซานในอาหารกุ้งขาวแวนนาไม 0.2% ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต (Niu et al., 2011) นอกจากนี้ยังมีผลต่อภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำเมื่อได้รับอาหารที่เสริมไคโตซาน 0.1- 0.2% ช่วยสร้างสารต้านอนุมูลอิสระและภูมิคุ้มกัน (Niu et al., 2013a)

ดังนั้นเพื่อทราบผลของการเสริมไคโตซานในอาหารต่อการเจริญเติบโต ความถี่ของการ ลอกคราบ อัตราแลกเนื้อ อัตรารอดตาย การสนองตอบต่อภูมิคุ้มกัน รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงทาง สรีระเคมีกุ้งขาวแวนนาไม (*L. vannamei*) วิทยุวันที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 3 ระดับเพื่อให้ทราบถึงผล ของการเสริมไคโตซานในอาหารเพื่อเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงความเค็มน้ำต่างกันต่อการ เจริญเติบโต อัตราการรอดตาย การลอกคราบและการสนองตอบต่อภูมิคุ้มกัน ทั้งนี้จะสามารถนำ ผลที่ได้มาปรับให้เหมาะสมกับการเลี้ยงกุ้งขาวเพื่อเพิ่มผลผลิตต่อไป

เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ชีววิทยา

กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) หรือกุ้งขาวแปซิฟิก Pacific White Shrimp หรือที่เรียกกันทั่วไปว่า White Leg Shrimp ขนาดเล็กกว่ากุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย อาศัยตามแนวชายฝั่งมหาสมุทรแปซิฟิก บริเวณป่าชายเลนลักษณะพื้นโคลนจนถึงระดับความลึกประมาณ 70 เมตร (ปิยะบุตร, 2545 อ้างถึงใน บุญรัตน์ และคณะ, 2550) กุ้งชนิดนี้ กินอาหารได้ทั้งพืช สัตว์หน้าดินและซากสิ่งมีชีวิต จะว่ายน้ำเข้าจับอาหารที่จมกึ่งลอย ทั้งพืชและสัตว์บริเวณกลางน้ำ บริเวณน้ำตื้นจะเคลื่อนที่กึ่งว่ายน้ำกึ่งคลาน การเคลื่อนที่ตลอดเวลาและเร็วจึงต้องการออกซิเจนมาก จึงเน้นระบบการให้อากาศต้องเพียงพอต่อความต้องการในการเลี้ยง (Córdova & Messina, 2005) กุ้งชนิดนี้กินอาหารมากโตเร็ว การเลี้ยงแบบให้อาหารสำเร็จรูป จะพิจารณาตามอัตราการเจริญเติบโตและน้ำหนักตัวของกุ้งที่เพิ่มขึ้น พบการเลี้ยงกุ้งชนิดนี้มากในประเทศ เอกวาดอร์ เม็กซิโก เปรู ปานามา ฮอนดูรัส โคลัมเบีย บราซิล และประเทศไทย นิยมเรียกกุ้งขาวแวนนาไมว่า “กุ้งขาว” เป็นกุ้งที่เลี้ยงง่ายโตเร็ว พื้นที่เลี้ยงกุ้งขาวของประเทศไทยกระจายอยู่ทั้งเขตชายฝั่งทะเลและเขตความเค็มต่ำ เพราะสามารถปรับตัวให้เข้ากับความเค็มได้ในช่วงกว้าง การปรับตัวให้เข้ากับความเค็มหมายถึง การที่กุ้งขาวพยายามรักษาสมดุลเกลือแร่ในร่างกายให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อม เพื่อใช้ในการควบคุมระบบประสาท การเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อ และการสร้างความแข็งแรงของเปลือกซึ่งกระบวนการรักษาสมดุลเกลือแร่จะต้องใช้พลังงาน ความเค็มที่เหมาะสมกับการเลี้ยงกุ้งขาว คือ 20-25 ppt อย่างไรก็ตามมีผลจากการวิจัยชี้ให้เห็นว่าความเค็มเหมาะสม ที่กุ้งขาวไม่จำเป็นต้องปรับตัวรักษาสมดุลเกลือแร่ คือ ความเค็มประมาณ 23 ppt (บุญรัตน์ และกระสินธุ์, 2554) ดังนั้น เมื่อเลี้ยงกุ้งขาวอยู่ในความเค็มที่ต่ำกว่า 23 ppt กุ้งขาวต้องใช้พลังงานเพิ่มขึ้นในการนำเกลือแร่กลับเข้าสู่ร่างกาย เพื่อให้มีระดับที่เหมาะสมสำหรับร่างกาย ในทางตรงกันข้ามถ้าเลี้ยงกุ้งในความเค็มสูงกว่า 23 ppt กุ้งขาวจะต้องเสียพลังงานในการปรับเกลือแร่ออกจากร่างกาย ทั้งนี้เพื่อมิให้มีเกลือแร่ในร่างกายมากเกินไป

2. โครงสร้างเปลือกครัสเตเชียน

โครงสร้างเปลือกประกอบด้วยสารอินทรีย์ 55% จากแคลเซียมคาร์บอเนต รองลงมาคือแมกนีเซียม ฟอสฟอรัส โซเดียม โพแทสเซียม และสารอินทรีย์ 45% จากไคติน (Chitin)

และโปรตีน (Pratoomchat et al., 2002a) องค์ประกอบของเปลือก ประกอบด้วยเส้นใยที่มี Chitin - Protein เป็นโครงสร้างหลัก ถัดมาคือชั้น Epicuticle ส่วนมากประกอบด้วยโปรตีน รวมถึงในชั้น Exocuticle และ Endocuticle ส่วนมากพบไคติน (Travis, 1965; Vigh & Dendinger, 1982; Roer & Dillaman, 1984 อ้างถึงใน Pratoomchat et al., 2002b) สารตั้งต้นของไคตินก็คือ คาร์โบไฮเดรต ไคตินเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญของโครงสร้างเปลือกการลอกคราบ ซึ่งตาม องค์ประกอบกลุ่มโปรตีนจะเพิ่มสูงช่วงหลังลอกคราบ ซึ่งเป็นการเพิ่มความแข็งแรง ในการสร้างชั้น Epicuticle และ Exocuticle หลังจากมีการลอกคราบใหม่ๆ ซึ่ง NaOH-Protein มีความสำคัญต่อ Sclerotization และ HCl-Protein ในการสร้างเปลือก (Pratoomchat et al., 2002a) ครัสเตเซียน เจริญเติบโตด้วยการลอกคราบเปลือกเก่าทิ้งพร้อมกับสร้างเปลือกใหม่ขึ้นมาภายใต้เปลือกเก่า ซึ่ง สามารถจำแนกลักษณะโครงสร้างเปลือกที่หุ้มร่างกาย ครัสเตเซียนออกเป็นชั้นๆ ดังนี้ (Cameron, 1985; Pratoomchat et al., 2002b)

2.1 เอพิคิวติเคิล (Epicuticle) เป็นชั้นที่อยู่บนสุด ประกอบด้วยสารพวกไลโปโปรตีน (Lipoprotein) ซึ่งสร้างมาจากต่อมเทกิวเมนทัล (Tegumental Gland) ที่อยู่ในชั้นเอพิเดอร์มิส (Epidermis) ในชั้นนี้จะไม่พบไคตินเป็นองค์ประกอบ มีหน้าที่ป้องกันการซึมผ่านเข้าออกของน้ำ

2.2 โปรคิวติเคิล (Procuticle) เป็นเปลือกที่อยู่ถัดมาจากชั้นเอพิเดอร์มิส ประกอบด้วย 2 ชั้น ได้แก่

2.2.1 เอกโซคิวติเคิล (Exocuticle) เป็นชั้นที่มีการสะสมของเม็ดสี (Melamin Pigment) ทำให้เรียกชั้นนี้ว่า ชั้นเม็ดสี (Pigmented Layer) ซึ่งเป็นจุดกำเนิดสีต่างๆ ชั้นนี้มีไคติน เป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณ 40-45% และมีการสะสมเกลือแคลเซียมด้วย

2.2.2 เอนโดคิวติเคิล (Endocuticle) มีไคตินเป็นองค์ประกอบแบ่งออกเป็น 2 ชั้นย่อยคือ ก ชั้นที่มีการสะสมเกลือแคลเซียม (Calcified Layer) เป็นชั้นที่มีการสะสมเกลือ แคลเซียม มีพื้นที่กว้างกว่าชั้นอื่นๆ

ข เอพิเดอร์มิส (Epidermis) เป็นชั้นเซลล์มีขนาดใหญ่ประกอบด้วยเซลล์ที่มี ลักษณะสี่เหลี่ยมทรงสูงอัดแน่น มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (Connective Tissue) เซลล์ต่อม (Grand Cell) เม็ดสี (Pigment) และปลายประสาท ทำหน้าที่ขับสารออกไปทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเปลือก

3. วงจรการลอกคราบของกุ้งทะเล

กุ้งเจริญเติบโตโดยอาศัยกระบวนการลอกคราบ หากเกิดปัญหาในการลอกคราบขึ้น กุ้ง จะหยุดการเจริญเติบโตและตาย ระยะเวลาลอกคราบของกุ้งจะควบคุมด้วยระบบประสาทส่วนกลาง

และฮอร์โมน Ecdysone สร้างจาก Y-organ การที่กุ้งจะลอกคราบเร็วหรือช้าขึ้นขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อายุของกุ้ง อาหาร แสง และ อุณหภูมิ โดยทั่วไปกุ้งใช้ระยะเวลาในการลอกคราบนานขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น การศึกษาวงจรการลอกคราบของครัสเตเชีย สังกเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพวิภาคของรยางค์ (Setae) ได้มีการศึกษาและแบ่งระยะต่างๆ ของการลอกคราบ (Smith & Dall, 1986; บุญรัตน์, 2545 อ้างถึงใน สว่างพงษ์, 2552) ออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่ ระยะก่อนการลอกคราบ (Proecdysis หรือ Premolt stage) ระยะการลอกคราบ (Ecdysis หรือ Molting Stage) ระยะหลังการลอกคราบ (Metaecdysis หรือ Postmolt stage) โดยสามารถแบ่งออกเป็นระยะย่อยๆ ดังนี้

ระยะ A แบ่งออกเป็น 2 ระยะย่อย คือ

ระยะ A1 เริ่มขึ้นหลังจากลอกคราบเสร็จใหม่ๆ ลักษณะภายในและบริเวณฐานของรยางค์มีของเหลว (Cellular Matrix) ระยะนี้ใช้เวลา 1 ชั่วโมง

ระยะ A2 ภายในขนของรยางค์มีการหดตัวของของเหลว ระยะนี้ใช้เวลา 5-8 ชั่วโมง 7

ระยะ B บริเวณโคนของรยางค์มีการสร้าง Setal Cone ระยะนี้เริ่มต้นหลังจากสัตว์ลอกคราบได้ประมาณ 6-9 ชั่วโมง ไปจนถึงสิ้นสุดระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 2 วัน

ระยะ C คราบของสัตว์จะแข็งเต็มที่ โคนขนของรยางค์ทุกเส้นมี Setal Cone โดยมี Epidermal Cell แทรกอยู่ ระยะนี้เวลาประมาณ 1-2 วัน และจะสิ้นสุดระยะนี้เมื่อ Epidermal Cell เริ่มแยกออกจากบริเวณฐานขนของรยางค์

ระยะ D สามารถแบ่งออกได้ 5 ระยะคือ

ระยะ D₀ เริ่มเมื่อ Epidermal Cell แยกตัวออกจากฐานขนของรยางค์ โดยเรียงเป็นแนวขนานกับ Setal Node ซึ่งเรียกว่า Epidermal Line ระยะนี้ใช้เวลา 3-4 วัน

ระยะ D₁ ระยะนี้เป็นระยะการพัฒนาขนของรยางค์ชุดใหม่ ใช้เวลา 9-10 วัน เห็นแนว Epidermal Line ลักษณะคล้ายลูกคลื่น และเว้ามากขึ้นจนเป็นรอยหยักคล้ายขอบของเปลือกหอย เห็นได้ชัดเจนและสามารถมองเห็นปลายขนของรยางค์ชุดใหม่ได้รางๆ

ระยะ D₂ มีการสร้างคราบใหม่ขึ้นนอกเห็นส่วนปลายขนของรยางค์สีแดงส้มโผล่ออกจาก Epidermal Line ระยะนี้ใช้เวลา 2.5 วัน

ระยะ D₃ มี Setal Node เกิดขึ้นที่ฐานของขนในรยางค์ชุดใหม่ ระยะนี้เริ่มก่อนลอกคราบ 9 ชั่วโมง

ระยะ D₄ ระยะนี้คราบเก่าจะแยกออกจากตัวสัตว์น้ำแล้ว บริเวณรอยต่อระหว่างคราบ ส่วนหัวและลำตัวเริ่มแยกออกจากกัน ใช้เวลา 1 ชั่วโมง ก่อนลอกคราบ

ระยะ E เป็นระยะที่สัตว์ลอกคราบและปรากฏขนของรยางค์แผ่ออกมาอย่างชัดเจน (บุญรัตน์ และคณะ, 2550)

4. องค์ประกอบของสารอินทรีย์และอินทรีย์ในเลือดกุ้ง

ระบบหมุนเวียนเลือดของพวกเดคาพอด (Decapod) จัดเป็นแบบกึ่งปิดกึ่งเปิด มีระบบหมุนเวียนเลือดภายในช่องว่างของลำตัว เนื่องจากระบบหมุนเวียนเลือดดังกล่าวประกอบด้วย หัวใจ เส้นเลือด และแองเลือดดำ มีแองเลือดกระจายอยู่ทั่วไป พบอยู่ระหว่างเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ ตามช่องว่างภายในลำตัว เลือดจะมีการหมุนเวียนอยู่ภายในช่องว่าง โดยอาศัยการเคลื่อนไหวของร่างกายและกล้ามเนื้อต่างๆ การบีบและหดตัวของหัวใจ มีฮีโมไซยานิน (Hemocyanin) ซึ่งมีองค์ประกอบของทองแดง 0.17 % ลิพิด (Lipid) โปรตีน (Protein) คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) มีน้อยกว่า 4 % เนื่องจากมีองค์ประกอบของทองแดง ทำให้เลือดสัตว์เหล่านี้มีสีน้ำเงินหรือฟ้าเมื่อถูกสัมผัสกับอากาศ นอกจากนี้ยังประกอบด้วยแร่ธาตุต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบที่มีความสำคัญต่อกระบวนการควบคุมสมดุลของน้ำและอิออน (นงนุช, 2550) ประกอบด้วย กุ้งทะเลมีโครงสร้างแข็งห่อหุ้มอยู่นอกร่างกาย และมีเจริญเติบโตโดยการลอกคราบ ซึ่งของเสียและไนโตรเจนที่ขับถ่ายออกมามักจะอยู่ในรูปแอมโมเนีย และยังมีมีความสำคัญกับคุณสมบัติของเลือด โดยองค์ประกอบของเลือดมีทั้งส่วนที่เป็นสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ คือ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน (บุญรัตน์ และคณะ, 2546)

4.1 สารอินทรีย์ ได้แก่ Na, K, Ca, Mg และ Cl เมื่อพิจารณาที่ปริมาณความเข้มข้นพบว่า Na, Cl และ Mg ของสัตว์ที่อาศัยอยู่ในทะเลมีปริมาณมากกว่าสัตว์ที่อาศัยอยู่ในน้ำจืด ขณะที่ Ca ในเลือดของพวกที่อยู่ในน้ำจืดจะมากกว่าสัตว์ที่อยู่ในทะเล

4.1.1 โซเดียม (Na)

เป็นธาตุที่มีความเข้มข้นสูงมากชนิดหนึ่งในเลือดของครัสเตเชียน มีค่าต่ำกว่าน้ำภายนอกเล็กน้อย ทำหน้าที่รักษาสมดุลออสโมติก (Osmotic Balance) ร่วมกับ Cl ซึ่งมี K, Mg และ Ca เป็นตัวช่วยปรับ เพื่อรักษาสภาพความเป็นกรด-ด่างให้สมดุลภายในตัว การทำงานของกล้ามเนื้อและระบบประสาท การควบคุมสมดุลของ Na ระหว่างภายในและภายนอกเซลล์จะมีความสัมพันธ์กับการทำงานของเอนไซม์ Na^+/K^+ ATPase และ V-ATPase ภายในเยื่ออก

4.1.2 คลอไรด์ (Cl)

เป็นธาตุที่พบในของเหลวภายในและภายนอกเซลล์สัตว์ เคลื่อนย้ายเร็วเมื่อน้ำภายนอกมีการเปลี่ยนแปลง ช่วยรักษาความดันออสโมติก (Osmotic pressure) และยังคงควบคุมการเข้าออกของสารและน้ำภายนอกเซลล์ กุ้งสามารถสะสม Cl ได้มากกว่า Na และ K มีความเข้มข้นใกล้เคียงกับ Na ซึ่ง Cl เกี่ยวข้องกับการเกิดสมดุลของแคทไอออน (Cation) และแอนไอออน (Anion) เมื่ออยู่ร่วมกับ Na ถ้าอยู่ในสภาพสมดุลการแลกเปลี่ยนของ Mg และ S จะเกิดได้ดี ปริมาณของ Cl ในเลือดของครัสเตเชียนจะเท่ากับน้ำทะเลหรือใกล้เคียงกัน จึงไม่มีปัญหาการปรับสมดุลเหมือนอิกอนตัวอื่น ๆ Cl ยังมีส่วนกระตุ้นน้ำย่อยอะไมเลส (Amylase) ให้ทำงานดีขึ้น รักษาความเป็นกรด-ด่างของน้ำย่อยและเป็นส่วนประกอบในน้ำย่อยด้วย (บุญรัตน์ และกระสินธุ์, 2556)

4.1.3 แคลเซียม (Ca)

กลุ่มครัสเตเชียนมี Ca เป็นส่วนประกอบสำคัญของโครงสร้างภายนอก อยู่ในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) สะสมในตับพบในรูปของเกลือแคลเซียมฟอสเฟต (CaPO_4) มีโปรตีนเชื่อมต่อการสะสม Ca ในเลือดและที่ส่วนอื่นของร่างกาย ต้องควบคุมไม่ให้ระดับของ Ca ในเลือดสูงเกินไป จึงต้องทำการขับออกจากร่างกาย และนำไปสร้างเปลือก หรือเก็บสะสมไว้ในอวัยวะต่าง ๆ (บุญรัตน์ และคณะ, 2546) Ca จะมีน้ำกลับเข้าสู่ร่างกายในระยะหลังการลอกคราบ และไม่มีเปลี่ยนแปลงในระยะคราบแข็ง พบว่ามีการเคลื่อนที่ออกไปสู่น้ำภายนอกในระยะก่อนการลอกคราบ (Zanotto & Wheatly, 2003) เช่นเดียวกับในกุ้ง (*P. indicus*) ความเข้มข้น Ca ในเนื้อเยื่อเปลือกมีการสะสมสูงที่ระยะก่อนการลอกคราบและระยะคราบแข็ง และจะลดการสะสมที่ระยะหลังการลอกคราบ (Vijayan & Diwan, 1996)

4.1.4 โพแทสเซียม (K)

ธาตุที่พบอยู่ในเซลล์ของร่างกายและเลือด โดยความเข้มข้นของ K^+ ในเลือดอาจสูงหรือต่ำกว่าน้ำทะเลภายนอก (Burton, 1967, 1973, 1975 cited in Burton, 1995) ซึ่งถ้ามี K มากเกินไปในร่างกายต้องขับออกทางต่อมแอนเทนนัล (Antennal Gland) (บุญรัตน์ และคณะ, 2546)

4.1.5 แมกนีเซียม (Mg)

ครัสเตเชียนที่อยู่ในน้ำทะเลจะมีความเข้มข้นของ Mg ภายในร่างกายต่ำกว่าในน้ำทะเลภายนอก พบ Mg อยู่ในโครงสร้างของร่างกายประมาณ 70 % ส่วนอีก 30 % พบในเนื้อเยื่อและเลือด (Burton, 1967; 1973; 1975 cited in Burton, 1995) ในกุ้ง *P. indicus* ความเข้มข้นที่เปลี่ยนแปลงของ Mg ในเนื้อเยื่อมีลักษณะคล้ายกับ Ca คาดว่าสามารถใช้ Mg แทนที่ Ca ซึ่งเป็น

แร่ธาตุที่สำคัญในกระบวนการสร้างเปลือกของครัสเตเชียน ในขณะที่กุ้ง (*P. californiensis*) มีระดับ Mg ในเปลือกประมาณ 1.25 % (Huner et al., 1979 cited in Vijayan & Diwan, 1996)

4.1.6 ฟอสฟอรัส (P)

เป็นธาตุที่มีความสำคัญต่อการสร้างเปลือกร่วมกับ Ca โดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วงที่กุ้งมีการสร้างเปลือกใหม่ P^{+4} ยังเป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิก และสารประกอบฟอสโฟไลปิดที่สำคัญในร่างกาย เช่น Co-enzyme, NADP และ ATP เป็นต้น ซึ่งอยู่ในบริเวณสมองและระบบประสาท (บุญรัตน์ และคณะ, 2547)

4.2 สารอินทรีย์ คือ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน เป็นปัจจัยที่ทำให้ความเข้มข้นในเลือดของสัตว์มีความแตกต่างกัน

4.2.1 คาร์โบไฮเดรต

เป็นสารอินทรีย์ในกลุ่มกลูโคสทำหน้าที่ให้พลังงาน สร้างเนื้อเยื่อและสร้างเป็นไคติน เพื่อใช้เป็นโครงสร้างเปลือกระดับของกลูโคสมีการเปลี่ยนแปลงในรอบวงจรลอกคราบ และตามการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมภายนอก ระหว่างกระบวนการลอกคราบของครัสเตเชียน ส่งผลให้ระดับของกลูโคสในเลือดลดลงอย่างมาก จากการสังเคราะห์ไคตินในระยะที่คราบเริ่มแข็ง เพราะน้ำตาลในเลือดเป็นองค์ประกอบหลักในการสร้างไคติน ซึ่งระยะการลอกคราบจึงต้องใช้พลังงานค่อนข้างมาก ดังนั้น ขบวนการเมตาบอลิซึมในเลือดจึงมีความสัมพันธ์กับการลอกคราบเป็นอย่างมาก ถึงแม้ว่ากลูโคสในเลือดจะมาจากการขนส่งระหว่างตับอ่อน แต่ในกระบวนการเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในเลือดมีความสำคัญมากกว่าในตับ พบว่าการเปลี่ยนแปลงของระดับกลูโคสในตับจะทำให้ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดเปลี่ยนแปลง (Pratoomchat et al., 2002b) ปัจจัยอื่น ๆ นอกจากการเปลี่ยนแปลงในระยะลอกคราบที่สามารถทำให้ระดับกลูโคสในเลือดหรือในตับลดลงได้ เช่น ความเครียด การอดอาหาร ฤดูการ ความเค็ม น้ำ อุณหภูมิ วงจรการสืบพันธุ์ และในปูม้า (*P. pelagicus*) ความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตมีค่าสูงที่สุดที่ความเค็ม 15 และ 20 ppt และมีค่าลดลงความเค็ม 7-10 ppt และความเค็ม 25-40 ppt (บุญรัตน์ และคณะ, 2546)

4.2.2 ไขมัน

ไขมันพบน้อยมาก ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของฟอสโฟไลปิด (Phospholipids) และไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides) มีความสำคัญต่อการประหยัดการใช้พลังงาน ปริมาณของไขมันมีความสัมพันธ์กับขบวนการสันดาป (Catabolism) ของคาร์โบไฮเดรต ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงในรอบวงจรลอกคราบและตามการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมภายนอก ปกติ จะมีการเก็บสะสม

ไขมันไว้ใน Midgut Gland ในช่วงก่อนการลอกคราบ และจะขับออกมาหลังจากกึ่งมีการลอกคราบ เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานและโครงสร้างเปลือก (บุญรัตน์ และคณะ, 2546)

4.2.3 โปรตีน

ปริมาณของโปรตีนในน้ำเลือด (Plasma) ของครัสเตเชียมีปริมาณ 4% ซึ่งนับว่าเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีปริมาณสูงที่สุด เลือดประกอบด้วย ฮีโมไซยานิน (Hemocyanin) ซึ่งพบมากที่สุดประมาณ 80-95 % ของโปรตีนทั้งหมดและไฟบริโนเจน (Fibrinogen) โปรตีนมีความสำคัญต่อการจัดระเบียบโครงสร้างร่างกายเพื่อการเจริญเติบโต การพัฒนาการ ซิวพลังงาน และสรีระวิทยา เป็นองค์ประกอบของกรดนิวคลีอิก (Nucleic acid) เอนไซม์ (Enzyme) โคเอนไซม์ (Co-enzyme) โครงสร้างพันธุกรรม รวมถึงการควบคุมเมตาบอลิซึม และการถ่ายทอดพลังงาน

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมาจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะก่อนการลอกคราบ ในปูทะเล (*Scylla* sp.) พบว่า ความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมามีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดในระยะการลอกคราบตอนปลาย (Late Premolt) ซึ่งเท่ากับ 97 mg/ml และมีค่าต่ำสุดอยู่ที่ 23 mg/ml ในระยะหลังลอกคราบ (Post molt) ที่เป็นเช่นนี้ เนื่องจากในระยะก่อนการลอกคราบปูมีการดูดกลับสารอินทรีย์ต่าง ๆ จากโครงสร้างเก่าทำให้เลือดมีความเข้มข้นของโปรตีนสูงขึ้น และในระยะลอกคราบปูมีการดูดน้ำเข้าสู่ร่างกายทำให้ระดับความเข้มข้นของโปรตีนในเลือดลดลง นอกจากนี้ ยังเนื่องมาจากการนำโปรตีนไปใช้ในการสร้างโครงสร้างใหม่ด้วย (Pratoomchat et al., 2002b) ระดับความเข้มข้นของโปรตีนในเลือดจะมีการเปลี่ยนแปลงตามสภาพความเค็มในธรรมชาติ การศึกษา ในปูทะเลที่ความเค็มน้ำที่แตกต่างกัน พบว่า ความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมามีระดับต่ำสุดที่ความเค็ม 5 ppt และค่อย ๆ เพิ่มขึ้นที่ความเค็ม 10 และ 15 ppt ตามลำดับ จากนั้น มีค่าสูงสุดที่ความเค็ม 20 ppt (บุญรัตน์, 2546) และเช่นเดียวกันกับในปูม้า ความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมามีค่าต่ำที่ความเค็ม 7 ppt ก่อนที่มีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ความเค็ม 10-15 ppt แล้วมีค่าลดลง และคงที่ในช่วงที่ความเค็ม 20-40 ppt (บุญรัตน์ และคณะ, 2546)

กึ่งมีความต้องการอาหารเพื่อการเจริญเติบโตและซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของร่างกาย Lall (2002) กล่าวว่า กึ่งที่เลี้ยงในความเค็มต่ำนั้นจะใช้โปรตีนเป็นแหล่งพลังงานมากกว่าไขมัน นอกจากนี้ปริมาณโปรตีนที่มากเกินไปก็ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกึ่งขาว ปัจจุบันการเลี้ยงกึ่งใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีคุณค่าทางโภชนาการตามความต้องการของกึ่ง โดยให้มีปริมาณโปรตีนไม่ต่ำกว่าร้อยละ 30-35 คาร์โบไฮเดรตร้อยละไม่ต่ำกว่าร้อยละ 16-17 กากไม่ต่ำกว่าร้อยละ 3-4

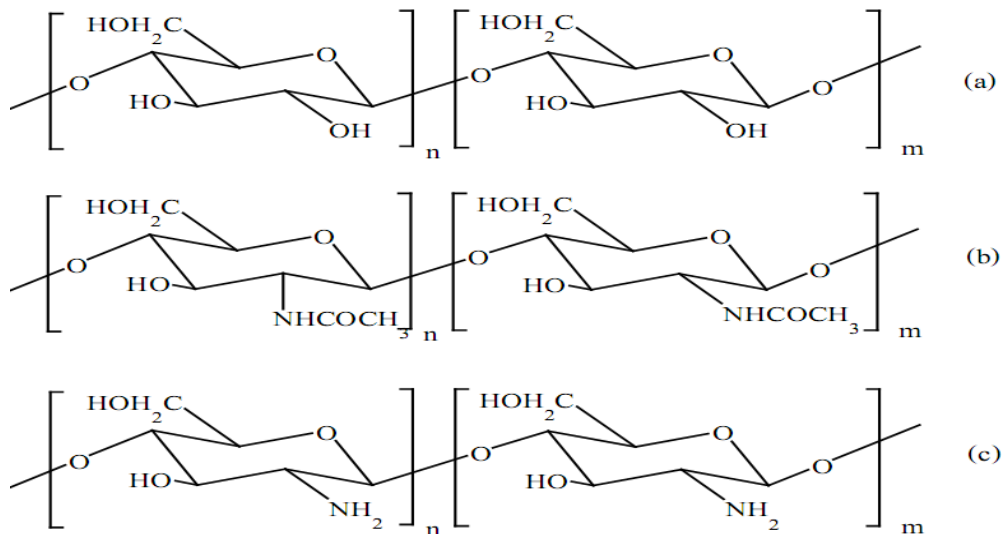
ไขมันไม่ต่ำกว่าร้อยละ 3.5-4 ความชื้นไม่มากกว่าร้อยละ 10-12 (ศูนย์พัฒนาเทคโนโลยีอาหารสัตว์น้ำ, 2554) ซึ่งมีส่วนประกอบของ ปลาป่น เปลือกกุ้งป่น เปลือกหอยป่น กากถั่วลิสง กากถั่วเหลือง ไขมันพืช ไขมันสัตว์ วิตามิน แร่ธาตุ และสารอนมคุณภาพอาหารสัตว์ สำหรับความต้องการแร่ธาตุ สำหรับน้ำที่ความเค็มต่ำลง ปริมาณของเกลือแร่จะลดลงตามความเค็มที่ลดลง ซึ่งเกลือแร่ที่มีความสำคัญในการเลี้ยงกุ้งขาว เช่น Na, K, Ca และ Mg ก็ลดลงตามไปด้วย

4.3 ระบบการแข็งตัวของเลือด (Clotting System)

ระบบการแข็งตัวของเลือดเกี่ยวเนื่องไปถึงภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิดของ crustacean คือกระบวนการซึ่งทำให้เลือดกลายเป็นลิ่มเลือด กระบวนการนี้เกิดจากส่วนของเซลล์และโปรตีน มีการกระตุ้นปฏิกิริยาอย่างเป็นลำดับ จนทำให้เกิดเส้นใยไฟบริน มาเสริมสร้างความแข็งแรงแก่ลิ่มเลือดที่จับกันอยู่ กลไกนี้จะเกิดภายในระยะเวลา 1 นาที โดยเชื่อมโยงกับการปล่อยสาร antimicrobial ที่อยู่ในเซลล์เม็ดเลือดและน้ำเลือด ลักษณะการเกิดจะป้องกันการสูญเสียเลือด พร้อมทั้งกำจัดสิ่งแปลกปลอม และเซลล์เม็ดเลือด รูปแบบการแข็งตัวของเลือด crustacean โดยกระบวนการขึ้นกับเอนไซม์ Transglutaminase (TGase) ปล่อยจาก Hemocytes ภายใต้การกระตุ้นการกำจัดสิ่งแปลกปลอมหรือเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย TGase ของกระบวนการนี้จะอยู่ในรูป ϵ -(γ -glutamyl)-lysine เชื่อมโยงระหว่าง Glutamine และ Lysine ของ Clottable Protein (CP) ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงเป็นสารโพลีเมอร์ ทำให้มีการพัฒนาโดยกลไกเหล่านี้ จะเกิดขึ้นกับ crustacean ได้โดยไม่ต้องมีการกระตุ้นจากเชื้อโรค (Kawabata et al., 1996)

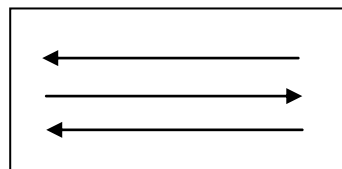
5. ไคติน (Chitin)

ในปี ค.ศ. 1811 Henri Bracannot ค้นพบสารไคตินครั้งแรกในหีต ต่อมาปี ค.ศ. 1823 Odier เรียกโพลีเมอร์ชีวภาพ (Biopolymers) ชนิดนี้ว่า "ไคติน" คำว่าไคตินมาจากคำว่า "Chiton" ในภาษากรีกมีความหมายว่า เกราะหุ้ม ไคตินเป็นพวกโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide) มีมากในโลกเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส (Cellulose) มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายเซลลูโลส (ภาพที่ 1a) แตกต่างกันที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของสารไคตินจะมีหมู่ Acetamide Group (NH-CO-CH_3) เกาะอยู่ แต่เซลลูโลสจะเป็นหมู่ Hydroxyl Group (-OH) ชื่อทางเคมีของสารไคติน คือ Poly β -(1-4) acetamido-2-deoxy-D-glucose (ภาพที่ 1b) โดยมีรูปแบบซึ่งพิจารณาจากลักษณะการเรียงตัวของสายโมเลกุล 3 แบบ



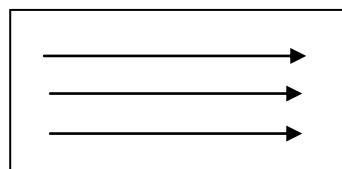
ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ (a) เซลลูโลส (b) ไคติน (c) ไคโตซาน (Chitosan)
(ที่มา : Win et al., 2007 อ้างถึงใน สุวบุญ, 2544)

แบบที่ 1 แอลฟา-ไคติน (α -Chitin) เกิดจากการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะสวนทางกัน (Anti-Parallel Chain Alignment) ทำให้มีความแข็งแรง ส่วนใหญ่พบในเปลือก (Cuticle) กุ้ง ปู และแมลง (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 (α -Chitin)

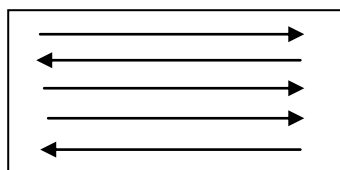
แบบที่ 2 เบต้า-ไคติน (β -Chitin) เกิดจากการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะไปในทิศทางเดียวกัน (Parallel Chain Alignment) ทำให้มีความแข็งแรงน้อยจึงจับกันได้ไม่ค่อยแข็งแรง และไวต่อปฏิกิริยาเคมีมากกว่าแบบ อัลฟา ส่วนใหญ่พบใน หอยและแกนปลาหมึก (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 (β -Chitin)

แบบที่ 3 แบบแกมมา-ไคติน (γ -Chitin) เกิดจากการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะที่ไม่แน่นอน (Non-Parallel Chain Alignment) ทำให้มีความแข็งแรงรองจากแบบอัลฟา ส่วนใหญ่

พบใน เห็ด รา และพืชชั้นต่ำ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 (Y-Chitin)

ด้วยรูปแบบที่แตกต่างกันทำให้ ไคติน ไคโตซานที่มาจากเปลือกกุ้ง กระจดองปู มีคุณสมบัติต่างจากไคติน ไคโตซานจากแกนปลาหมึกซึ่งไวต่อปฏิกิริยาเคมีมากกว่า ทำให้การผลิตไคโตซานและอนุพันธ์อื่นๆ ยากขึ้น ซึ่งสามารถเสื่อมสลายของสายโซ่โมเลกุล (Chain degradation) ก็สามารถเกิดขึ้นง่าย ไคโตซานจากแกนหมึกมีสมบัติในการดูดความชื้นและน้ำดีกว่า โมเลกุลของน้ำสามารถแทรกซึมผ่านเข้าไปในผลึกได้ง่ายกว่า และยังมีน้ำหนักมากกว่า ไคโตซานจากเปลือกกุ้ง และกระจดองปู ที่ความเข้มข้นเดียวกัน นิยมนำมาใช้เป็นสารเพิ่มความข้น (Thickener) ในผลิตภัณฑ์ทางอาหาร เครื่องสำอาง และทางการแพทย์ (ภาวดี, 2454 อ้างถึงใน เยาวภา, 2547)

6. สารไคโตซาน

ค้นพบสารไคโตซานในปี ค.ศ. 1859 โดย Rouget จากการต้มสารไคตินกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น (Shahidi et al., 1999) ไคโตซาน (Chitosan) เป็นอนุพันธ์ (Derivative) ชนิดหนึ่งของสารไคตินในรูปที่มีปริมาณหมู่อะซิทิลต่ำ ที่เกิดจากปฏิกิริยากำจัดหมู่อะซิทิล (Degree of Deacetylation, DD%) ของสารไคตินด้วยด่างเข้มข้น เมื่อมีการกำจัดหมู่อะซิทิลประมาณ 60% จะสามารถละลายในกรดอ่อนได้ การกำจัดหมู่อะซิทิลจะใช้วิธีทางเคมีทำให้โครงสร้างทางเคมีของสารไคตินเปลี่ยนไป โดยหมู่อะเซทาไมด์ (NH-CO-CH_3) เปลี่ยนเป็นหมู่อะมิโน ($-\text{NH}_2$) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ดังนั้นสารไคโตซานคือโพลิเมอร์ของ D-Glucosamine (2-Amino-Deoxy-D-Glucose) (ภาพที่ 1) (Win et al., 2007 อ้างถึงใน สุวบุญ, 2544) ประกอบด้วยสารน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Glucosamine) ลักษณะเรียงตัวกันเป็นสายยาว มีน้ำหนักโมเลกุลตามความยาวของสายไคโตซาน (ประภัสสร, 2554) มีคุณสมบัติแตกสลายได้ทางชีวภาพ (Biodegradable) ย่อยสลายได้โดยจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียในธรรมชาติ ไม่ก่อให้เกิดพิษ (Non-Phytotoxic) และอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม (สาวิกา และคณะ, 2556)

7. การผลิตสารโคโตซานสามารถผลิตได้ 2 วิธี ดังต่อไปนี้

วิธีทางชีวภาพ โดยการใช้จุลินทรีย์หรือเอนไซม์ในการผลิต (McGahren et al., 1984; Hang, 1990 อ้างถึงในมนต์สรวง, 2549) และวิธีทางเคมี โดยการล้างทำความสะอาดวัตถุดิบ จากนั้นเข้าสู่ขั้นตอนที่สำคัญ 3 ขั้นตอน

ขั้นตอนที่ 1 กำจัดโปรตีน (Deproteination) นำมาทำปฏิกิริยากับด่าง ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) หรือโซดาไฟ ความเข้มข้น 3-5 % ที่อุณหภูมิประมาณ 80-90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง มีผลให้โปรตีนส่วนใหญ่จะถูกกำจัดออกจากวัตถุดิบ พร้อมด้วยไขมันและรงควัตถุบางชนิดจะถูกกำจัดออก

ขั้นตอนที่ 2 กำจัดแร่ธาตุ (Deminerlization) นำมาทำปฏิกิริยากับกรดด้วยไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 3-5 % ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน มีผลให้แร่ธาตุโดยเฉพาะแคลเซียมคาร์บอเนต และโปรตีนหรือรงควัตถุที่ละลายในกรด ถูกกำจัดออกไป (อาจจะมีการฟอกสีในขั้นตอนนี้หรือไม่ก็ได้) ผลที่เกินที่โคตินจะได้ในขั้นตอนนี้ การกำจัดด้วยสภาวะไม่รุนแรง ก็จะได้โคตินและโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง แต่หากใช้ในสภาวะอ่อนเกินไป จะมีผลให้กำจัดแร่ธาตุและโปรตีนในวัตถุดิบไม่สมบูรณ์

ขั้นตอนที่ 3 กำจัดหมู่อะซิติลออกจากโคติน โดยผลปฏิกิริยาทางเคมีขึ้นอยู่กับปัจจัยดังต่อไปนี้

ก. ชนิดของสารละลาย

สารละลายต่างที่นิยมใช้กำจัดหมู่อะซิติลในโคติน คือ NaOH, KOH, LiOH, Ca(OH)_2 และ Na_2PO_4 ในการกำจัดหมู่อะซิติลในกระดองปูจะใช้ KOH 2 M ดีกว่า NaOH 1 M เพราะได้สารละลาย

โคโตซานที่มีความหนืดสูงกว่าการใช้สารละลาย NaOH (Roberts, 1992 อ้างถึงใน เยาวภา ไหวพริบ, 2547)

ข. ความหนืดของสารละลายต่าง

ใช้ต่างในรูปสารละลาย ความเข้มข้น 30-50 % โดยน้ำหนัก หากใช้ในความเข้มข้นสูงเกินไปทำให้ได้โคโตซานสูญเสียสภาพธรรมชาติ เนื่องจากใช้สภาวะที่รุนแรง อุณหภูมิที่สูงและเวลานานในการกำจัด หากใช้สารละลายความเข้มข้นต่ำเกินไป จะทำให้การละลายโคโตซานในกรดอ่อนละลายได้ยากขึ้นหรือไม่สามารถละลายได้ (อัษฎาวุธ, 2542; Roberts, 1992 อ้างถึงใน เยาวภา, 2547)

ค. อุณหภูมิ

โดยมากใช้อุณหภูมิที่สูง ตั้งแต่ 90-140 องศาเซลเซียส (Roberts, 1992 อ้างถึงใน เยาวภา, 2547) พบว่าที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ไคโตซานที่ได้จะมีโมเลกุลลดลง เกิดจากปฏิกิริยา Degradation ถ้าใช้ความเข้มข้นสารละลายต่างสูงขึ้น อุณหภูมิที่ใช้ควรลดลงเพื่อไม่ให้เกิดสภาวะที่กำจัดรุนแรงเกินไป

ง. เวลา

การกำจัดหมู่อะซีทิลด้วยเวลาที่นาน จะได้ไคโตซานที่มีปริมาณหมู่อะซีทิล และขนาดโมเลกุลลดลง แต่จะมี Charge Density สูงขึ้น (เยาวภา, 2547) สุดท้ายขั้นตอนการผลิตไคติน ในการกำจัดหมู่อะซีทิลโดยสารละลายต่าง ไม่สามารถกำหนดสภาวะที่เหมาะสมเป็นมาตรฐาน เพราะขั้นตอนเหล่านี้จะขึ้นกับความเข้มข้นของต่าง อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ แต่การเพิ่มเวลามีผลต่อความหนืด เนื่องจากเกิดการขาดของสายโซ่โพลีเมอร์ได้

8. สมบัติทางเคมีกายภาพไคโตซาน

8.1 การละลาย (Solubility) ไคโตซานไม่ละลายในน้ำ ต่าง และตัวทำละลายอินทรีย์ พบว่าสามารถละลายได้ในสารละลายกรดอ่อน กรดอนินทรีย์บางชนิด ได้แก่ กรดไนตริก กรดไฮโดรคลอริก กรดเปอร์คลอริก และกรดฟอสฟอริก โดยใช้อุณหภูมิสูงปานกลาง ในบางครั้งอาจมีตะกอนเจลสีขาว มีความเหนียว สีใส เป็นการแตกตัวของหมู่อะมิโน มีค่าสัมประสิทธิ์การแตกตัว (pK_a) ขึ้นกับความหนาแน่นของประจุโพลีเมอร์ มีค่าอยู่ในช่วง 6.2-6.8 เรียกว่า non-newtonia ในสารละลาย

8.2 น้ำหนักโมเลกุล (Molecular Weight) ไคโตซานมีน้ำหนักโมเลกุลช่วง 1×10^5 ถึง 1.2×10^6 ดาลตัน ขึ้นกับกระบวนการผลิต

8.3 การกำจัดหรือลดหมู่อะซีทิล (Deacetylation) เป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่ใช้ในการกำจัดหรือลดหมู่อะซีทิล (CH_3CO) ที่มีอยู่บนโมเลกุลของไคติน เพื่อให้เกิดเป็นไคโตซาน (Chitosan) ซึ่งเป็นการเพิ่มขึ้นของหมู่อะมิโน (NH_2) บนโมเลกุลของไคตินและหมู่อะมิโนนี้มีความสามารถในการรับโปรตอนจากสารละลายซึ่งช่วยให้การละลายดีขึ้น เพราะมีสมบัติเป็นประจุบวก (Cation) ส่วนใหญ่เมื่อปริมาณของหมู่อะซีทิล ถูกกำจัดไปมากกว่า 60% ขึ้นไป สารไคโตซานที่ได้สามารถละลายได้ในกรดอินทรีย์หลายชนิด การลดหมู่อะซีทิลกระทำได้โดยใช้ต่างที่เข้มข้นสูงตั้งแต่ 40% ขึ้นไป ดังนั้นพารามิเตอร์ที่สำคัญในการพิจารณาสารไคโตซานก็คือ

ค่าระดับการกำจัดหมู่อะซีติล (Degree of Deacetylation , %DD) ทำให้ทราบถึงความเป็นไคโตซาน เนื่องจากไคติน และไคโตซาน เป็น Co-Polymer ระหว่าง 2 Monomer ของ N-acetyl-D-Glucosamine และ D-Glucosamine ซึ่งลักษณะเด่นของไคติน คือ ค่าสัดส่วน Monomer แรกมากกว่ามีค่า degree of deacetylation จะต่ำ ส่วนไคโตซาน คือค่าสัดส่วน Monomer สองมากกว่ามีค่า Degree of Deacetylation จะสูง ระดับการกำจัดหมู่อะซีติลเป็นปัจจัยโครงสร้างสำคัญของไคโตซานได้แก่ การละลาย ความหนืด การจับความชื้น การจับไขมัน และความสามารถในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ ต่อการนำไปประยุกต์ใช้ (มงคล, 2544 อ้างถึงใน เยาวภา, 2547)

8.4 ความหนืด (Viscosity) เกิดจากหลายปัจจัย ได้แก่ ระดับการกำจัดหมู่อะซีติล น้ำหนักโมเลกุล ความเข้มข้น Ionic Strength ความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิ เมื่ออุณหภูมิสูง ความหนืดของสารละลาย Polymer จะลดลง แต่ชนิดกรดที่ใช้และการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง จะให้ผลความหนืดที่แตกต่างกัน เนื่องจากโมเลกุลไม่สามารถเข้าใกล้กันจะจับตัวเป็นเจลได้ ทั้งยังขึ้นกับขนาดโมเลกุล รูปร่างและประจุ สาร Polysaccharide ที่มีขนาดใหญ่จะให้โซลที่มีความหนืดสูงกว่าสาร Polysaccharide ที่มีขนาดเล็กกว่า (ถ้าเป็นสารชนิดเดียวกัน) สาร Polymer ที่มีกึ่งก้านโดยเฉพาะกึ่งก้านที่มีหลายลักษณะจะให้โซล (Sols) ที่ขึ้นหนืดและอยู่ตัว สาร Polysaccharide ที่มีโมเลกุลเป็นเส้นยาวจะให้ความหนืดสูงกว่าสารที่มีโมเลกุลกึ่งก้าน เมื่อความเข้มข้นเท่ากันหรือมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากัน โมเลกุลที่มีกึ่งก้านมาจะพองตัวได้น้อยกว่าโมเลกุลที่ไม่มีกึ่งก้านจากน้ำหนักโมเลกุลที่เท่ากัน

8.5 ความสามารถในการเกิดปฏิกิริยา ไคโตซานประกอบด้วย 3 หมู่ฟังก์ชัน ที่มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ได้แก่ หมู่อะมิโน ($-NH_2$) ที่คาร์บอน ตำแหน่งที่ 2 (C-2) หมู่ Primary Alcohol ($-CH_2OH$) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 (C-6) และหมู่ Secondary Alcohol ($-CHOH$) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 (C-3) การปรับปรุงโครงสร้างทางเคมี (Chemical modification) ของทั้งสามหมู่ฟังก์ชันนี้ ทำให้เกิดวัสดุต่างๆ ในการใช้ประโยชน์แตกต่างกัน การใช้งานจะขึ้นอยู่กับปัจจัยทางเคมีและกายภาพ ได้แก่ ระดับการกำจัดหมู่อะซีติล ความชื้น ปริมาณเถ้า ปริมาณโปรตีน ความหนืด และน้ำหนักโมเลกุล (ภาวดี และคณะ, 2543 อ้างถึงใน เยาวภา, 2547)

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางเคมีของโคโตซานตามน้ำหนักโมเลกุล

รายการ	น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน		
	ต่ำ	ปานกลาง	สูง
วัตถุดิบ (Raw material)	เปลือกกุ้งสด	เปลือกกุ้งสด	เปลือกกุ้งสด
สี (Appearance)	ขาวอมเหลือง	ขาวอมเหลือง	ขาวอมเหลือง
ความชื้น (Moisture content)	น้อยกว่า 10%	น้อยกว่า 10%	น้อยกว่า 10%
เถ้า (Ash content)	น้อยกว่า 1.0%	น้อยกว่า 1.0%	น้อยกว่า 1.0%
สารละลาย (Solution) (1% in 1% acetic acid)	ใส	ใส	ใส
การละลาย (Solubility)	มากกว่า 99%	มากกว่า 99%	มากกว่า 99%
ไม่ละลาย (Insolubility) (%)	น้อยกว่า 1.0%	น้อยกว่า 1.0%	น้อยกว่า 1.0%
ความขุ่น (Turbity)	น้อยกว่า 50 NTUs	น้อยกว่า 50 NTUs	น้อยกว่า 50 NTUs
ความหนืด (Viscosity)	น้อยกว่า 500 (mpa.S(cps))	น้อยกว่า 500 - 1,000(mpa.S(cps))	มากกว่า 1,000 (mpa.S(cps))
น้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight)	น้อยกว่า 500,000	500,000- 1,000,000	มากกว่า 1,000,000
กำจัดหมู่อะซิติล (Deacetylation)	ไม่ต่ำกว่า 95%	ไม่ต่ำกว่า 95%	ไม่ต่ำกว่า 95%
อนุภาคเม็ด (Particle size)	30 Mesh	30 Mesh	30 Mesh
โลหะหนัก (Heavy metal)	น้อยกว่า 10 PPM	น้อยกว่า 10 PPM	น้อยกว่า 10 PPM
ส่วนประกอบชีวภาพ (Microbial content)			
Total Plate count			
Yeast & Mold	น้อยกว่า 100 Cfug	น้อยกว่า 100 Cfug	น้อยกว่า 100 Cfug
E. coil	น้อยกว่า 50 Cfug	น้อยกว่า 50 Cfug	น้อยกว่า 50 Cfug
Salmonella	-	-	-
Coliform	-	-	-

(ที่มา: บริษัท bonafidesmarketing <http://bonafidesmarketing.com>)

9. ชนิดของไคโตซาน

ชนิดของไคโตซานที่ผลิตขึ้นมาจำหน่ายมี 4 ชนิด ดังนี้

1. ชนิดที่เป็นเกล็ดหรือแผ่นบางขนาดเล็ก (Flake)
2. ชนิดที่เป็นผงละเอียดคล้ายแป้ง (Micromilled Powder)
3. ชนิดสารละลายเป็นของเหลวหนืด (Solution) ความเข้มข้นขึ้นอยู่กับนำไปใช้งาน
4. ชนิดเม็ดจิ๋วขนาดประมาณ 300-500 ไมโครเมตร (Bead)

ผลิตภัณฑ์ไคโตซานที่อยู่ในรูป Flake , Powder, Bead นั้น หากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูงจะต้องมีความชื้นต่ำมากคือไม่เกิน 5-10 % หากความชื้นสูงกว่านี้ก็จะทำให้เกิดเชื้อราหรือมีสิ่งปนเปื้อนอื่นๆ เข้าไปปะปนอยู่ทำให้คุณภาพด้อยลง หรืออาจจะเกิดความเป็นพิษเนื่องจากเชื้อรา เชื้อแบคทีเรียหรือสิ่งปนเปื้อนนั้นๆ ผลิตภัณฑ์พิษออกมา ความเป็นไปได้ที่จะเกิดการปนเปื้อนของสิ่งไม่พึงประสงค์ในไคโตซานนั้นเนื่องจากวัตถุดิบที่นำมาสกัดนั่นเอง

10. การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำกับการประยุกต์ใช้ไคโตซาน

ด้วยวัตถุดิบ (เศษเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรม เปลือกกุ้ง ปู) ที่มีมากเพียงพอไม่มีปัญหาเรื่องการขาดแคลนวัตถุดิบ อีกทั้งเทคโนโลยีที่ผลิตมีไม่ยุ่งยาก ความสะอาด ทำให้ราคาไม่สูงมาก สามารถใช้ได้ทุกระดับภาคส่วน แล้วแต่ความต้องการที่จะนำไปใช้ในด้านใด การนำมาประยุกต์และพัฒนารูปแบบการใช้แก่สัตว์น้ำ เช่น เป็นวัตถุดิบผสมในอาหาร เพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกาย และการเจริญเติบโต เป็นต้น

10.1 ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตและอัตราการแลกเนื้อ

วัชรอำพล และคณะ(2546) เลี้ยงกุ้งขาว (*L. vannamei*) ระยะ P12 น้ำหนัก 0.001 กรัม ในบ่อดินที่ความเค็มน้ำ 19 ± 1.15 ppt เป็นเวลา 100 วัน ด้วยอาหารกุ้งที่ผสมสารละลายไคโตซานที่ 0%, 0.02% และ 0.04% พบว่า กุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมไคโตซาน 0.04% มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อวันที่เพิ่มขึ้นสูงสุด (0.17 กรัม/ตัว/วัน) และอัตราการแลกเนื้อต่ำที่สุด (1.24) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มอื่น ($p > 0.05$) ต่อมา Niu et al. (2011) เลี้ยงกุ้งขาว (*P.vannamei*) น้ำหนัก 0.0012 กรัม ที่ความเค็มน้ำ 30-32 ppt เป็นเวลา 60 วัน ด้วยอาหารกุ้งที่ผสมไคโตซาน (C3646, $\geq 75\%$ Deacetylation Degree) ได้มาจาก Sigma ที่ 0%, 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.3% และ 0.4% พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมไคโตซาน 0.2% มีน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นสูงสุด (13,633%) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (21.4%) ซึ่งสูงกว่ากลุ่มอื่น ($p < 0.05$) ส่วนการศึกษาในกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) Shiau & Yu (1998) พบว่าน้ำหนักเริ่มต้น 0.45 กรัม เลี้ยงที่ความเค็มน้ำ 19-21 ppt เป็นเวลา 60 วัน ด้วยอาหารกุ้งที่ผสมสารละลายไคโตซาน (Chitosan polymer of glucosamine) ที่ 0%, 20%,

50% และ 100% พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมไคโตซาน 20% มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด (23.40 กรัม) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มอื่น ($p > 0.05$) เช่นเดียวกับ ปิยะบุตร และคณะ (2544) เลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) อายุ 30 วัน ในบ่อดินที่ความเค็มน้ำ 5 ± 2 ppt เป็นเวลา 113 และ 110 วัน ด้วยอาหารที่ผสมสารละลายไคโตซานสกัดจากเปลือกกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) มีค่า Degree of Deacetylation $80.0 \pm 2\%$ ที่ 0%, 0.02%, 0.04%, 0.06%, 0.08% และ 0.1% พบว่าอาหารที่ผสมไคโตซาน 0.04% ทำให้กุ้งกุลาดำน้ำหนักเฉลี่ยต่อวันเพิ่มขึ้นสูงสุด (0.19 กรัม/ตัว/วัน) และอัตราการแลกเนื้อต่ำที่สุด (1.27 และ 1.15) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มอื่น ($p > 0.05$) สอดคล้องกับ นิวัฒน์ (2545) ผสมสารละลายไคโตซานในอาหารเพื่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) ที่ 0%, 1%, 1.5 และ 2% ที่น้ำหนักเริ่มต้น 8.81 กรัม อายุ 2 เดือน ที่ความเค็ม 3 ระดับ 5, 15 และ 30 ppt เป็นเวลา 180 วัน พบว่าในแต่ละความเค็มมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักเฉลี่ยต่อวันเพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมไคโตซาน 0%, 1% และ 2% ไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$)

การศึกษาต่อมา Niu et al. (2013a) เลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) น้ำหนัก 1.16 กรัม ที่ความเค็มน้ำ 29-30 ppt เป็นเวลา 60 วัน ด้วยอาหารที่ผสมสารละลายไคโตซาน (C3646, $\geq 75\%$ deacetylation degree) ได้มาจาก Sigma ที่ 0%, 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.3% และ 0.4% พบว่าอาหารที่ผสมไคโตซาน 0.1% มีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นสูงสุด (463%) ซึ่งสูงกว่ากลุ่มอื่น ($p < 0.05$) แต่ไม่ต่างกับการใช้อาหารที่ผสมไคโตซาน 0.2% จากนั้นในปีเดียวกัน Niu et al. (2013b) ได้ทดสอบเกี่ยวกับอนุพันธ์ไคโตซานเปรียบเทียบกับไคตินในอาหารกุ้งกุลาดำ โดยเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) Juvenile น้ำหนัก 1.49 กรัม ที่ความเค็ม 30 ppt เป็นเวลา 70 วัน ใช้สารละลายไคติน chitin (C7170) และไคโตซาน 3 อนุพันธ์ Chitosan (C3646), Chitosan Oligosac (523682) และ N-Acetyl-D-Glucosamine (A4106) ที่ 0.4% พบว่าอาหารกุ้งกุลาดำผสมไคโตซาน (C3646) มีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นสูงสุด (318%) และมีอัตราแลกเนื้อต่ำที่สุด (1.09) สอดคล้องกับ Niu et al. (2013a) ที่มีอัตราแลกเนื้อต่ำที่สุด (1.33) จากอาหารผสมไคโตซาน 0.1-0.3% ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มอื่น ($p < 0.05$) เช่นเดียวกับ นิวัฒน์ (2545) ที่ผสมสารละลายไคโตซาน 1-2% ในอาหารเพื่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) ที่ความเค็ม 5 ppt พบว่ามีอัตราแลกเนื้อต่ำที่สุด ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุม ($p < 0.05$) ซึ่งให้เห็นว่าการใช้ไคโตซานในรูปแบบและระดับเปอร์เซ็นต์ที่แตกต่างกันมีผลต่อการเจริญเติบโตทั้งในกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโต (Growth) และอัตราการแลกเนื้อ (FCR)

กุ้ง	ลำดับที่	เอกสารอ้างอิง	อายุ	ขนาด (กรัม)	ความเค็ม (ppt)	การเสริมไคโตซาน	เปลี่ยนหน่วยเป็นต่อ 1 กิโลกรัม	เวลาเลี้ยง (วัน)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%WG)	น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (ADG กรัม/ตัว/วัน)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%SGR)	อัตราการแลกเนื้อ (FCR)
กุ้งกุลาดำ (<i>P.monodon</i>)	1	Shiau & Yu 1998	-	0.45	19-21	chitosan 0%, 2%, 5%, 10% ต่อ 100 กรัม	chitosan 0%, 20%, 50%, 100%	60	-	-	-	-
กุ้งกุลาดำ (<i>P.monodon</i>)	2	ปิยะบุตร 2544	30 วัน	5±2	5±2	chitosan 0, 10, 20 ,30, 40, 50 cc	chitosan 0%, 0.02%, 0.04%, 0.06%,0.08, 0.1%	113	-	-	-	chitosan 0% (1.53), 0.02% (1.34), 0.04%(1.27), 0.06% (1.35), 0.08% (1.38), 0.1% (1.36)
						chitosan 0, 10, 20 cc	chitosan 0%, 0.02%, 0.04%	110	-	chitosan 0% (0.17), 0.02% (0.18), 0.04% (0.19)	chitosan 0% (1.50), 0.02% (1.29), 0.04% (1.15)	
กุ้งกุลาดำ (<i>P.monodon</i>)	3	นิวัฒน์ 2545	2 เดือน	8.81	5, 15, 30	chitosan 0%, 1%, 2%	-	42	5ppt chitosan 0% (15.30%), 1%(18.66%), 2%(16.03%) 15ppt chitosan 0% (19.74%),1%(24.21%), 2% (36.71) 30ppt chitosan 0% (25.88%),1%(31.47) ,2% (30.02)	5ppt chitosan 0% (0.04g),1-2% (0.07g) 15ppt chitosan 0% (0.08g), 1% (0.10g) 2%(0.13g) 30ppt chitosan 0% (0.09g),1-2% (0.11g)	5ppt chitosan 0% (0.75%), 1%(1.48%), 2% (1.30%) 15ppt chitosan 0% (1.56%), 1-2% (2.31%) 30ppt chitosan 0% (1.68%), 1-2% (2.19%)	5ppt chitosan 0% (7.53), 1% (3.82) ,2% (3.00)* 15ppt chitosan 0% (3.39), 1% (2.19), 2% (2.03) 30ppt chitosan 0% (4.89), 1%(2.44) , 2% (1.85)

หมายเหตุ เครื่องหมาย* ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

กุ้งกุลาดำ (<i>P.monodon</i>)	4	Niu et al. 2013a	1.16	29-30	chitosan 0%, 0.05%, 0.1%,0.2%, 0.3%, 0.4%	-	60	chitosan 0% (370%), 0.05% (413%) , 0.1% (463%) , 0.2%(432%) , 0.3%(410%) , 0.4% (381%)	-	-	chitosan 0-0.05% (~1.43) , 0.1- 0.3% (~1.33),0.4% (1.39)
กุ้งกุลาดำ (<i>P.monodon</i>)	5	Niu et al. 2013b	1.49	30	control, chitin or chitosan 3 อนุพันธ์ เสริมที่ 0.4% chitin (C7170) chitosan(C3646) chitosan oligosac (523682) N-acetyl-D-glucosamine (A4106)		70	control (249%), chitin (271%), chitosan(318%) chitosan oligosac (259%) N-acetyl-D-glucosamine (230%)	-	-	Control(1.28), chitin(1.18) chitosan (1.09) chitosan oligosac (1.23), N-acetyl- D-glucosamine (1.35)
กุ้งขาว (<i>P.vannamei</i>)	6	วัชรอำพล 2546	0.001	19±1	chitosan 0, 0.02%, 0.04%		100		chitosan 0% (0.14g),0.02%(0.1 6g) ,chitosan 0.04% (0.17g)		chitosan 0%(1.33), 0.02% (1.31), 0.04% (1.24)
กุ้งขาว (<i>P.vannamei</i>)	7	Niu et al. 2011	0.012	30-32	chitosan 0g, 0.5g, 1g, 2g. 4g	0%,0.05% ,0.1%,0.2 %,0.4%	60	chitosan 0-0.05%(9,797) 0.1%(10,337) ,0.2% (13,633%) ,0.4% (11,611)		chitosan0% (19%) 0.05-0.4% (~20%)	

หมายเหตุ เครื่องหมาย* ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

10.2 ผลของไคโตซานต่ออัตราการรอดตาย (%SR)

วัชรอำพล และคณะ (2546) เลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*P. vannamei*) ระยะ P12 น้ำหนัก 0.001 กรัม ในบ่อดินที่ความเค็มน้ำ 19 ± 1.15 ppt เป็นเวลา 100 วัน ด้วยอาหารกุ้งที่ผสมสารละลายไคโตซานที่ 0, 0.02% และ 0.04% พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมไคโตซาน 0.04% มีอัตราการรอดตายสูง (89%) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มอื่น ($p > 0.05$) ต่อมา Niu et al. (2011) เลี้ยงกุ้งขาว (*P. vannamei*) น้ำหนัก 0.0012 กรัม ที่ความเค็มน้ำ 30-32 ppt เป็นเวลา 60 วัน ด้วยอาหารกุ้งที่ผสมสารละลายไคโตซาน (C3646, $\geq 75\%$ Deacetylation of Degree) ได้มาจาก Sigma ที่ 0%, 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.3% และ 0.4% พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมไคโตซาน 0.1% มีอัตราการรอดตายสูงสุด (51%) ซึ่งสูงกว่ากลุ่มอื่น ($p < 0.05$)

ส่วนการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ Shiao & Yu (1998) ทดสอบเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) น้ำหนักเริ่มต้น 0.45 กรัม เลี้ยงที่ความเค็มน้ำ 19-21 ppt เป็นเวลา 60 วัน ด้วยอาหารกุ้งที่ผสมสารละลายไคโตซาน (Chitosan Polymer of Glucosamine) ที่ 0%, 20%, 50% และ 100% พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมไคโตซาน ให้อัตราการรอดไม่แตกต่างจากกลุ่มอื่น ($p > 0.05$) ทำนองเดียวกับ ปิยะบุตร และคณะ (2544) เลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) อายุ 30 วัน ในบ่อดินที่ความเค็มน้ำ 5 ± 2 ppt เป็นเวลา 113 และ 110 วัน ด้วยอาหารที่ผสมสารละลายไคโตซานสกัดจากเปลือกกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) มีค่า Degree of Deacetylation $80.0 \pm 2\%$ ที่ 0%, 0.02%, 0.04%, 0.06%, 0.08% และ 0.1% และ นิวัฒน์ (2545) ผสมสารละลายไคโตซานในอาหารเพื่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) ที่ 0%, 1% และ 2% กุ้งที่น้ำหนักเริ่มต้น 8.81 กรัม อายุ 2 เดือน ที่ความเค็ม 3 ระดับ 5, 15 และ 30 ppt เป็นเวลา 180 วัน พบว่าอาหารที่ผสมไคโตซานมีอัตราการรอดตายไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ถึงแม้ว่าจะมีอัตราการรอดตายสูง

แต่จากการศึกษาของ Niu et al. (2013a) เลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) น้ำหนัก 1.16 กรัม ที่ความเค็มน้ำ 29-30 ppt เป็นเวลา 60 วัน ด้วยอาหารที่ผสมสารละลายไคโตซาน (C3646, $\geq 75\%$ deacetylation degree) ได้มาจาก Sigma ที่ 0%, 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.3% และ 0.4% พบว่าอาหารที่ผสมไคโตซาน 0.1-0.2% มีอัตราการรอดตายสูงสุด (80%) ซึ่งสูงกว่ากลุ่มอื่น ($p < 0.05$) สอดคล้องกับ Niu et al. (2013b) เลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) Juvenile น้ำหนัก 1.49 กรัม ที่ความเค็มน้ำ 30 ppt เป็นเวลา 70 วัน ใช้สารละลายไคติน Chitin (C7170) และไคโตซาน 3 อนุพันธ์ Chitosan (C3646), Chitosan Oligosac (523682) และ N-acetyl-D-glucosamine (A4106) พบว่าอาหารที่ผสมไคโตซาน (C3646) ที่ 0.4% มีอัตราการรอดตายสูงสุด (67%) ซึ่งสูงกว่ากลุ่มอื่น ($p < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากไคติน ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการใช้ไคโตซานในรูปแบบและระดับเปอร์เซ็นต์ที่ต่างกันมีผลต่อการอัตราการรอดตายทั้งในกุ้งขาวแวนนาไมและกุ้งกุลาดำ (ตารางที่ 3)

10.3 ผลของไคโตซานต่อปริมาณไคตินและไคโตซานในเปลือก

นิวัฒน์ (2545) พบว่าปริมาณไคตินและไคโตซาน ก่อนการลอกคราบและหลังการลอกคราบไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่การศึกษาของวีราภรณ์ (2547) พบว่าอาหารที่ผสมไคโตซาน 4% มีปริมาณกลูโคซามีนในเปลือกสูงสุด (3.53 ไมโครกรัมต่อลิตร) ซึ่งสูงกว่ากลุ่มอื่น ($p < 0.05$) (ตารางที่ 4)

10.4 ผลของไคโตซานต่อระบบภูมิคุ้มกันกุ้งขาวแวนนาไม

การที่ร่างกายสามารถจดจำสิ่งแปลกปลอมและพยายามกำจัดทิ้งไป เป็นการตอบสนองทางกลไกธรรมชาติที่จำเพาะต่อแอนติเจนของสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย (สุทธิพันธ์ และคณะ, 2537) กุ้งขาวมีระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (Non-Specific Immune Response) ที่มีมาแต่กำเนิด (Innate Immune) (Bachère & Bulet., 2000) ซึ่งจะไม่มีการตอบสนองและสร้างแอนติบอดี (Antibody) (กิจการ และคณะ, 2543) เนื่องจากเลือดกุ้งเป็นระบบหมุนเวียนแบบปิด ประกอบด้วย หัวใจ แอ่งเลือด และน้ำเหลือง เลี้ยงส่วนต่างๆของร่างกายผ่านทางเลือดจากหัวใจไหลเข้าไปในแอ่งเลือด ในน้ำเลือดกุ้งมีรงควัตถุที่ทำหน้าที่ในการแลกเปลี่ยนก๊าซ คือ Hemocyanin (Ratcliffe et al., 1985) โดยมีประมาณ 60-95 % ในน้ำเลือดทั้งหมด มีการเปลี่ยนแปลงตามเพศ ขนาดของตัวกุ้ง และวงจรการลอกคราบของตัวกุ้ง (Chen & Cheng, 1993) โดยอาศัยการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดเป็นหลัก (Haemocytes) แบ่งเป็น 2 ระบบหลักคือ Cellular Immunity และ Humoral Immunity (Smith et al., 2003)

10.4.10 ระบบภูมิคุ้มกันที่อาศัยเซลล์ (Cellular Immunity) เป็นการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดด้วยกระบวนการ 3 แบบ แต่ละแบบจะทำหน้าที่โดยเซลล์เม็ดเลือดที่แตกต่างกัน

10.4.1.1 การกลืนกินสิ่งแปลกปลอม (Phagocytosis) ทำงานโดยเซลล์ไฮยาลิน (Hyaline Cells) เป็นขั้นแรกของการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดเล็ก มีจำนวนน้อย เช่น โปรโตซัว แบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส ที่ผ่านเข้ามาจากชั้นผิวปกคลุมเข้าสู่ตัวกุ้ง โดยเซลล์ไฮยาลินจะใช้ไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) ล้อมรอบสิ่งแปลกปลอมแล้ว ไลโซโซม (Lysosome) จะหลั่งสารช่วยย่อยมาสลาย และทำลายก่อนเซลล์เม็ดเลือดจะปล่อยออกสู่นอกเซลล์

10.4.1.2 การสร้าง (Nodule Formation) จะเป็นเกิดเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมมีจำนวนมาก กำจัดโดยการนำสิ่งแปลกปลอมเข้ามากลางเซลล์เม็ดเลือดหลายๆเซลล์ เหมือนเป็นกำแพงล้อมรอบและกันออกไปไม่ให้อันตรายตัวกุ้ง

ตารางที่ 3 ผลของChitosan ต่ออัตราการรอดตาย (%Survival Rate)

กุ้ง	ลำดับ ที่	เอกสารอ้างอิง	อายุ	ขนาด (กรัม)	ความเค็ม (ppt)	การเสริมโคไโตซาน	เปลี่ยนหน่วยเป็น ต่อ 1 กิโลกรัม	เวลาเลี้ยง (วัน)	อัตราการรอดตาย (%SR)
กุ้งกุลาดำ (<i>P.monodon</i>)	1	Shiau & Yu 1998	-	0.45	19-21	chitosan 0%, 2%, 5%, 10% ต่อ 100 กรัม	chitosan 0%, 20%, 50%, 100%	60	chitosan 0% (77%), 20% (68%) 50% (63%), 100% (65%)
กุ้งกุลาดำ (<i>P.monodon</i>)	2	ปิยะบุตร, 2544	30 วัน		5±2	chitosan 0, 10, 20 ,30, 40, 50 cc DD 80.0±2%	chitosan 0%, 0.02%, 0.04%, 0.06%, 0.08, 0.1%	113	-
					5±2	chitosan 0, 10, 20 cc DD 80.0±2%	chitosan 0%, 0.02%, 0.04%	110	chitosan 0% (55%), 0.02% (65%), 0.04% (79%)
กุ้งกุลาดำ (<i>P.monodon</i>)	3	นิวัฒน์, 2545	2 เดือน	8.81	5, 15, 30	chitosan 0%, 1%, 2%	-	42	5 ppt chitosan 0% (32.05%), 1% (30.77%), 2% (26.92%) 15 ppt chitosan 0% (41.03%), 1% (47.44%), 2% (46.15%) 30 ppt chitosan 0% (43.59%), 1% (41.03%), 2% (47.44%)
กุ้งกุลาดำ (<i>P.monodon</i>)	4	Niu et al., 2013a		1.16	29-30	chitosan 0%, 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.3% 0.4%	-	60	chitosan 0% (52%), 0.05% (64%), 0.1-0.2% (80%), 0.4%(63%)
กุ้งกุลาดำ (<i>P.monodon</i>)	5	Niu et al., 2013b		1.49	30	Control, chitin และ chitosan 3 derivatives 0.4%[chitin (C7170) chitosan(C3646) chitosan oligosac (523682) N-acetyl-D-glucosamine (A4106)]	-	70	control (56.93%), chitin (60.54%), chitosan (67%)* chitosan oligosac (57.59%), N-acetyl-D-glucosamine (45.64%)
กุ้งขาว (<i>P. vannamei</i>)	6	วัชรอำพล, 2546		0.001	19±1.15	chitosan 0%, 0.02%, 0.04%		100	chitosan 0% (82%), 0.02%(79%), 0.04% (89%)
กุ้งขาว (<i>P. vannamei</i>)	7	Niu et al., 2011		0.0012	30-32	chitosan 0g, 0.5g, 1g, 2g, 4g	chitosan 0%,0.05%,0.1%,0.2%,0.4%	60	chitosan 0-0.05%(36%), 0.1%(51%)*, 0.2%(45%), 0.4%(39%)

หมายเหตุ เครื่องหมาย* ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4 ผลของไคโตซานต่อปริมาณไคตินและไคโตซานในเปลือก

กุ้ง	ลำดับ ที่	เอกสารอ้างอิง	อายุ	ขนาด (กรัม)	ความเค็ม (ppt)	การเสริมไคโตซาน	เปลี่ยนหน่วยเป็น ต่อ 1 กิโลกรัม	เวลาเลี้ยง (วัน)	ก่อนเสริมไคโตซาน	หลังเสริมไคโตซาน
กุ้งกุลาดำ (<i>P.monodon</i>)	1	นิวัฒน์, 2545	2 เดือน	8.81	5, 15, 30	chitosan 0%, 1%, 2%	-	42	(Pre-Post) 15ppt 25% chitin และ chitosan cuticle >5,30 ppt 23-24%	<u>ก่อนลอกคราบ</u> 5 ppt chitin 0-1% (23.00%), 2% (24.68%) 15 ppt chitin 0,2% (23.65%),1% (24.83%) 30 ppt chitin 0,2% (22.06%),1% (24.83%) <u>หลังลอกคราบ</u> 5 ppt chitin 0-2% (~23.76%) 15 ppt chitin 0-1% (~21.48%), 2% (22.32%) 30 ppt chitin 0-2% (~22.91%) <u>ก่อนลอกคราบ</u> 5 ppt chitosan 2% (23.40%) ($p > 0.05$) 15 ppt chitosan 1% (23.40%) ($p > 0.05$) 30 ppt chitosan 1% (22.86%) ($p > 0.05$) <u>หลังลอกคราบ</u> 5 ppt chitosan 0-1% (~22.88%), 2% (23.08%) 15 ppt chitosan 0,2% (~21.17%), 1% (20.28%) 30 ppt chitosan 0-1% (~22.36%), 2% (21.91%)
กุ้งกุลาดำ (<i>P.monodon</i>)	2	วีราภรณ์, 2547	4 เดือน	15	10	chitosan 0, 200, 400 mg chitosan 0, 0.2, 0.4 g	chitosan 0%, 2%, 4%	9		Chitosan 0% glucosamine (2.35 µg/L), 2% glucosamine (2.67 µg/L), 4% glucosamine (3.53 µg/L) [†]

หมายเหตุ เครื่องหมาย* ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

10.4.1.3 การห่อหุ้มสิ่งแปลกปลอม (Encapsulation) เป็นการห่อหุ้มโดยหน้าทีของเซลล์เซมิแกรนูลา (Semigranular Cells) ทำงานเมื่อสิ่งแปลกปลอมมีขนาดใหญ่

10.4.2 ระบบภูมิคุ้มกันนำเลือด (Humoral Immunity) เป็นการทำงานประสานกับระบบเซลล์ใน Hemolymph โดยตัวหลักที่ใช้กำจัดสิ่งแปลกปลอมคือ สารต้านแบคทีเรีย (Antimicrobial Peptides, AMPs) เช่น ไลโซไซม์ (Lysozyme) และเลคติน (Lectins) สารทั้งสองชนิดนี้ถูกสร้างโดยเซลล์เม็ดเลือดชนิดแกรนูลา ซึ่งจะหลั่งสารออกมาข้างนอกเซลล์ หรือเก็บไว้ที่เซลล์ เลคตินจะทำหน้าที่ป้องกันการติดเชื้อ ส่วนไลโซไซม์เป็นเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ของแบคทีเรีย และในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจากเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (Phenoloxidase) ที่สร้างจากการกระตุ้นโปรเฟนอลออกซิเดส (Prophenoloxidase) ทำงานร่วมกับเมลานิน (Melanin)

สภาพแวดล้อมในการเลี้ยงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลทางด้านภูมิคุ้มกันในกุ้ง โดยเฉพาะคุณภาพน้ำได้แก่

ก. ความเค็มของน้ำ

ความเค็มน้ำที่มีการเปลี่ยนแปลงของระดับความเค็มส่งผลต่อความเข้มข้นของแร่ธาตุในน้ำ โดยที่มีความเค็ม 25 ppt มีค่า Osmolality ใกล้เคียงกับในตัวกุ้ง เนื่องจากกุ้งขามีค่า Isoosmotic Point (IOP) เท่ากับน้ำความเค็ม 23 ppt (บุญรัตน์ และคณะ, 2556) จึงทำให้กุ้งขาววนนาไม่ที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 23 ppt ไม่ต้องมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม ส่งผลให้พลังงานและสารอาหารที่ได้รับมาจากอาหาร สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ ซึ่งแตกต่างจากกุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำหรือสูงเกินไป กุ้งจึงต้องนำพลังงานที่ได้มาใช้ในการปรับตัวเป็นส่วนใหญ่ ส่งผลให้เหลือพลังงานที่ใช้ในการเจริญเติบโตมีไม่เพียงพอ

ข. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

สภาวะปกติปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต้องมีค่ามากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์น้ำ ซึ่งในสภาวะที่ออกซิเจนละลายในน้ำต่ำ จะส่งผลต่อการดำรงชีวิตของกุ้งและระบบภูมิคุ้มกัน กุ้งที่ลดกิจกรรมการใช้ออกซิเจนในร่างกายและว่ายน้ำวนที่ผิวน้ำบ่อยขึ้นเพื่อดึงออกซิเจนจากอากาศ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายต่ำลงส่งผลให้มีปริมาณเม็ดเลือดรวม (Total Hemocyte Count) ลดลง สอดคล้องกับ กิจการ และคณะ, 2543 พบว่ากุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) ขนาด 12-15 กรัม มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำ (0.9-1.2 มก./ลิตร) ส่งผลให้ปริมาณเม็ดเลือดรวมลดลง เมื่อเทียบกับปริมาณออกซิเจนที่ละลายในปกติ (5.0-5.8 มก./ลิตร)

ค. ความเป็นกรดเป็นด่าง

หากในรอบวันเกิดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดเป็นด่างสูงหรือต่ำเกินไป จากรายงานของ กิจการ และคณะ, 2543 พบว่า ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเม็ดเลือดรวมในกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) จากค่าพีเอชในชุดควบคุมปกติ 7.8 และชุดทดลองมีค่าพีเอช 6.0-6.1

ง. อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่เหมาะสมมีความสำคัญต่อการเลี้ยงกุ้ง เพราะเป็นสัตว์เลือดเย็น ถ้าอุณหภูมิของน้ำต่ำกว่า 25 °C จะส่งผลกระทบต่อปริมาณเม็ดเลือดรวม สอดคล้องกับรายงานของ Yu (1993) พบว่าเมื่ออุณหภูมิต่ำลงและมีการเลี้ยงกุ้ง (*P. japonicas*) ในอัตราความหนาแน่นสูง ส่งผลต่อการลดลงของค่าเฉลี่ยเม็ดเลือดรวม และกิจการ และคณะ (2543) พบว่าที่อุณหภูมิต่ำ (25°C) มีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดรวมต่ำกว่าที่อุณหภูมิสูง (30°C)

จากรายงาน Niu et al. (2013a) เลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*P.monodon*) น้ำหนัก 1.16 กรัม ที่ความเค็มน้ำ 29-30 ppt เป็นเวลา 60 วัน ด้วยอาหารกุ้งที่ผสมสารละลายไคโตซาน (C3646, $\geq 75\%$ Deacetylation of Degree) ได้มาจาก Sigma ที่ 0%, 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.3% และ 0.4% พบว่าการเสริมไคโตซานในอาหารกุ้งกุลาดำทุกระดับมีปริมาณเม็ดเลือดรวมสูงกว่าชุดควบคุม ($p < 0.05$) ในขณะที่ผลของการแข็งตัวของเลือด อาหารกุ้งที่ผสมไคโตซานที่ 0.1-0.4% มีการแข็งตัวของเลือดเร็วกว่าอาหารกุ้งที่ผสมไคโตซาน 0 % และ 0.05% ($p < 0.05$) และผลของสารก่ออนุมูลอิสระอาหารกุ้งกุลาดำที่ผสมไคโตซาน 0.05-0.4% ช่วยลดการเกิดอนุมูลอิสระกลุ่ม Malondialdehyde and Carbonyl protein contents ได้มากกว่าชุดควบคุม ($p < 0.05$)

ในขณะที่ Niu et al. (2013b) เลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*P.monodon*) Juvenile น้ำหนัก 1.49 กรัม ที่ความเค็มน้ำ 30 ppt เป็นเวลา 70 วัน ด้วยอาหารกุ้งที่ผสมสารละลายไคติน chitin (C7170) และไคโตซาน 3 อนุพันธ์ Chitosan (C3646), Chitosan Oligosaccharide (523682) และ N-Acetyl-D-Glucosamine (A4106) ที่ 0.4% พบว่าปริมาณ Chitin และ 3 Derivatives มีค่า Glutathione (GSH) และ Phenoloxidase (PO) ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) และอาหารที่ผสมไคโตซาน Chitosan (C3646) ทำให้มีค่า TAS สูงกว่า Chitin, Chitosan Oligosaccharide และ N-Acetyl-D-Glucosamine ($p < 0.05$) ส่วนค่า Superoxidate Dismutase (SOD) Activity พบว่าอาหารกุ้งกุลาดำที่ผสมไคโตซาน Chitosan (C3646) ทำให้ค่า SOD ต่ำกว่า Chitin, Chitosan Oligosaccharide และ N-Acetyl-D-Glucosamine ($p < 0.05$) และ Glutathione Peroxidase (GSH-Px) พบว่า Chitin, Chitosan (C3646) และ Chitosan Oligosaccharide ทำให้ค่า GSH-Px สูงสุด สูงกว่าชุดควบคุมและ N-Acetyl-D-Glucosamine (A4106) ($p < 0.05$) และเมื่อทดสอบ

ความเครียดจากการลดปริมาณออกซิเจนในน้ำเป็นเวลา 7 วัน พบว่าอาหารกุ้งกุลาดำผสม Chitin และ Chitosan ทำให้มีอัตราการรอดสูงสุด (73%) สูงกว่าชุดควบคุม, Chitosan Oligosaccharide และ N-Acetyl-D-Glucosamine ($p < 0.05$) แต่ช่วง 3 วันสุดท้ายของการทดสอบพบว่า Chitin Chitosan และ Chitosan Oligosaccharide ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ส่งผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในตัวกุ้งกุลาดำพบว่าอาหารกุ้งผสม Chitin, Chitosan (C3646) และ Chitosan Oligosaccharide 0.4% ทำให้ค่า GSH และ Total Antioxidant Status (TAS) สูงกว่าชุดควบคุม และ N-acetyl-D-glucosamine ($p < 0.05$) ในขณะที่ค่า SOD พบว่าอาหารกุ้งผสม Chitin และ Chitosan (C3646) ทำให้ค่า SOD ต่ำกว่าชุดควบคุม, Chitosan Oligosaccharide และ N-Acetyl-D-Glucosamine ส่วนค่า PO และ (GSH-Px) พบว่าอาหารกุ้งผสม Chitosan (C3646) ทำให้ค่า PO และ GSH-Px สูงที่สุด แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มอื่น ($p > 0.05$) สอดคล้องกับ Niu et al. (2011) เลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม น้ำหนัก 0.0012 กรัม ที่ความเค็มน้ำ 30-32 ppt เป็นเวลา 60 วัน ด้วยอาหารกุ้งที่ผสมสารละลายโคไโตซาน (C3646, $\geq 75\%$ Deacetylation of Degree) ได้มาจาก Sigma ที่ 0%, 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.3% และ 0.4% ทดสอบความเครียดจากการลดปริมาณออกซิเจนในน้ำเป็นเวลา 9 วัน พบว่าอาหารกุ้งขาวแวนนาไมผสมโคไโตซาน 0.2% ทำให้มีอัตราการรอดสูงสุด (37%) ซึ่งสูงกว่ากลุ่มอื่น ($p < 0.05$) (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลของไคโตซานต่อภูมิคุ้มกัน (Immune) และการทนต่อความเครียด (Tolerance for Stress)

กุ้ง	ลำดับ ที่	เอกสารอ้างอิง	อายุ	ขนาด (กรัม)	ความเค็ม (ppt)	การเสริมไคโตซาน	เปลี่ยนหน่วยเป็น ต่อ 1 กิโลกรัม	เวลาเลี้ยง (วัน)	จำนวนเม็ดเลือดและ การแข็งตัวของเลือด	อนุมูลอิสระ	สารต้านอนุมูลอิสระ
กุ้งกุลาดำ (<i>P.monodon</i>)	1	Niu et al., 2013a		1.16	29-30	0%, 0.05%, 0.1% 0.2%, 0.3%, 0.4%	-	60	1. THC chitosan 0% (0.8) [*] 0.05%-0.4% (~1.43) 2. coting chitosan 0.1-0.4 (506 S) [*] , 0 % (752) และ 0.05% (553)	1.MDA chitosan 0%- 0.4% (34 nmol mg ⁻¹) [*] control (49 nmol mg ¹) 2. CP chitosan 0%- 0.4% (1.27 nmol mg ⁻¹ P) [*] control (1.64)	
กุ้งกุลาดำ (<i>P.monodon</i>)	2	Niu et al., 2013b		1.49	30	control, chitin และ chitosan 3 อนุพันธ์ 0.4% chitin (C7170) chitosan(C3646) chitosan oligosac (523682) N-acetyl-D- glucosamine (A4106)]		70			การทดลองที่ 1 1.control, chitin or 3 derivatives glutathione (GSH) (~2.61nmol mg ⁻¹ protein) 2. TAS control (3.27 μmol g ⁻¹), chitin (4.59) chitosan (6.27) [*] chitosan oligosac (4.83), N-acetyl (3.25) 3. SOD control (1.91 U mg ⁻¹), chitin (1.46), chitosan (1.44) [*] chitosan oligosac (1.46), N-acetyl (1.48) 4. PO control chitin และ chitosan 3 อนุพันธ์ (~15.35 U mg ⁻¹) 5. GSH-Px chitin chitosan chitosan oligi (~2.58 U mg ⁻¹) [*] contro (1.57) และ N- acetyl(1.66

หมายเหตุ เครื่องหมาย* ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 5 (ต่อ)

กุ้ง	ลำดับ ที่	อ้างอิง	อายุ	ขนาด (กรัม)	ความเค็ม (ppt)	การเสริมโคไคซาน	เปลี่ยนหน่วยเป็น ต่อ 1 กิโลกรัม	เวลา เลี้ยง (วัน)	สารต้านอนุมูลอิสระ	การทดสอบความเครียด
กุ้งกุลาดำ (<i>P.monodon</i>)	2	Niu et al., 2013b		1.49	30	control chitin และ chitosan 3 อนุพันธ์ 0.4% (chitin (C7170) chitosan (C3646) chitosan oligosac (523682) N-acetyl-D- glucosamine (A4106)]		70	การทดลองที่ 2 1. GSH chitin, chitosan, chitosan oligi (~4.31 nmol mg ⁻¹ protein) control และ N-acetyl (3.20) 2. TAS control(1.35 μmol g ⁻¹), chitin (2.57), Chitosan (3.28) [*] , Chitosan oligi(2.56) และ N-acetyl (1.33) 3. SOD control (3.50 U mg ⁻¹), chitin (3.34), chitosan (3.25) [*] , chitosan oligi(3.53) และ N-acetyl (3.71) 4. PO control (30.08Umg ¹), chitin(34.70), chitosan(50.66)* chitosan oligi(27.65) และ N-acetyl (25.15) 5. GSH-Px control (3.89Umg ¹), chitin(5.32), chitosan (7.21)*, chitosan oligi (4.62) และ N-acetyl (3.59)	การทดลองที่ 2 ให้ DO ต่ำ เป็นเวลา 7 วัน การรอดตาย control (34%) chitin and chitosan(73%) [*] Chitosan oligi(49%) และ N-acetyl (16%)
กุ้งขาว (<i>P.vannamei</i>)	3	Niu et al., 2011		0.0012	30-32	chitosan 0g, 0.5g, 1g, 2g, 4g	0%,0.05%,0.1%,0.2%,0.4%	60		ให้ DO ต่ำ 9 วัน การรอด ตาย chitosan 0%(5%), 0.05%(11%) 0.1%(32%), 0.2% (37%) [*] ,0.4%(27%)

หมายเหตุ เครื่องหมาย* ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สถานที่ทำการทดลอง

ศึกษาผลของการเสริมโคโตซาน 0.2% ในอาหารกุ้งขาว (*L. vannamei*) ต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย ความถี่ในการลอกคราบ ที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 3 ระดับที่ 10, 23 และ 36 ppt และตรวจสอบการสนองตอบต่อภูมิคุ้มกันในเลือด ทำการทดลองที่โรงเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ส่วนการวิเคราะห์สารอนินทรีย์ ได้แก่ อีออนของโซเดียม (Na) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) ฟอสฟอรัส (P) ซัลเฟอร์ (S) คลอไรด์ (Cl) แมงกานีส (Mn) และทองแดง (Cu) ในพลาสมาและเปลือกด้วยเครื่อง ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission spectrometry) สารอินทรีย์ ได้แก่ โปรตีนในน้ำเลือด (Total haemolymph protein) ปริมาณโคตินและโคโตซานจากเปลือกกุ้ง ตรวจสอบการสนองตอบต่อภูมิคุ้มกันได้แก่ ปริมาณเม็ดเลือดรวมและระยะเวลาที่เลือดแข็งตัว ที่ห้องปฏิบัติการ ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอาหารสัตว์น้ำชลบุรี กรมประมง ตำบลบางพระ อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี

2. ระยะเวลาดำเนินการทดลอง

ระหว่างเดือนมกราคม 2560 ถึง เดือนมกราคม 2561

3. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งทดลอง

3.1.1 ถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 2,000 ลิตร จำนวน 3 ถัง

3.1.2 ถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 300 ลิตร จำนวน 24 ถัง

3.1.3 ถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 250 ลิตร จำนวน 9 ถัง

3.1.4 ชุดระบบให้อากาศ

3.1.5 ชุดเปลี่ยนถ่ายน้ำ

3.1.6 อุปกรณ์เคลื่อนย้ายกุ้ง

3.2 อุปกรณ์ผลิตและเก็บอาหาร

3.2.1 เครื่องผลิตอาหารยี่ห้อ Hobart mixer รุ่น A 200 T

3.2.2 เครื่องชั่งไฟฟ้า Satorius รุ่น Basic

3.2.3 ตู้แช่เพื่อเก็บรักษาอาหารทดลอง (อุณหภูมิ -20°C)

3.3 เครื่องมือวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

3.3.1 ความชื้นด้วยวิธี oven-drying

3.3.2 โปรตีนด้วยเครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจน (Leco, TruSpec CN Carbon/Nitrogen Determination)

3.3.3 เถ้าวิเคราะห์ด้วยเครื่อง muffle furnace

3.3.4 ไขมันวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค Supercritical Fluid Extraction (SFE)

3.3.5 เยื่อใยวิเคราะห์ด้วยเครื่องรุ่น Fibertec System

3.4 อุปกรณ์สำหรับเตรียมเลือด

3.4.1 อุปกรณ์เจาะเลือดกึ่งทดลอง ได้แก่ เข็มขนาด 27Gx1 และหลอดฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร

3.4.2 อุปกรณ์แยกพลาสมา ได้แก่ ไมโครปิเปต เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ของบริษัท Beckman รุ่น AvantiTM

3.4.3 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ของบริษัท Shimada รุ่น UV 1201 V

3.4.4 ตรวจนับจำนวนเม็ดเลือด hemocytometer

3.5 อุปกรณ์สำหรับเตรียมเปลือก

3.5.1 ตู้อบ

3.5.2 เครื่องชั่งน้ำหนัก

3.5.3 โกร่งบด

3.5.4 ตะแกรงตาถี่ขนาด 150 ไมโครเมตร

3.5.5 โถดูดความชื้น

3.6 สารเคมี

3.6.1 ไคโตซาน 85-90% deacetylation degree

3.6.2 แคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$)

3.6.3 วิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการอาหาร

ก. ซีดีทีเอ

ข. ก๊าซออกซิเจน 99.70%

ค. ก๊าซฮีเลียม 99.99%

ง. leco dry

จ. เอทานอล 80%

ฉ. กรดซัลฟูริก 95-97% (H_2SO_4)

ช. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

ซ. octhanol

ณ. cilite no.545

3.6.4 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของพลาสมาและเปลือกกุ้งทดลอง

ก. tri- sodium citrate ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

ข. dry reagent

ค. กรดไฮโดรคลอริก (HCl)

ง. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

จ. กรดอะซิติก (acetic acid)

ฉ. น้ำจืดไอออน (Deionized water)

4. วิธีดำเนินการวิจัย การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ตัวอย่าง

4.1 การวางแผนการทดลอง

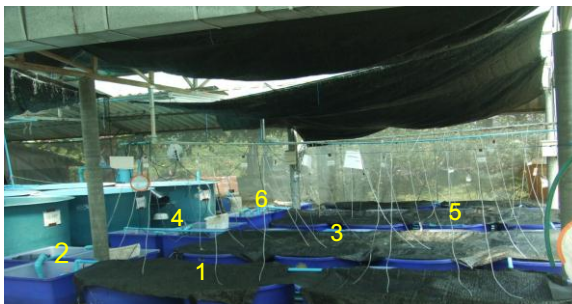
วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล (factorial) แบ่งออกเป็น 6 ชุดการทดลอง ที่ความเค็มน้ำ 10, 23 และ 36 ppt ที่มีการเสริมโคโตซาน 0.2 % และไม่เสริมโคโตซานทุกความเค็ม ทำ 4 ซ้ำต่อการทดลอง

4.2 การเตรียมถังที่ใช้เลี้ยง

ล้างและแช่ถังไฟเบอร์กลาสขนาด 300 ลิตร ด้วยแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ($\text{Ca}(\text{OCI})_2$) ระดับความเข้มข้น 50-100 ppm ทิ้งไว้ 1 คืน แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดอีกครั้ง

4.3 การเตรียมน้ำและการปรับสภาพถังทดลอง

เตรียมน้ำทะเลลงบ่อพักน้ำที่เตรียมไว้ วัดความเค็มแล้วปรับความเค็มด้วยน้ำจืดให้ได้ระดับความเค็มน้ำ 23 ppt เติมน้ำลงในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 300 ลิตร ปริมาตร 200 ลิตร นำถังทดลองมาทำการปรับความเค็มน้ำที่ระดับ 10, 23 และ 36 ppt วิธีการปรับความเค็มน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงจะค่อยๆปรับความเค็มน้ำจากความเค็ม 23 ppt ขึ้นและลงให้ได้ความเค็มที่ต้องการ 2 ppt ต่อชั่วโมง และเมื่อได้ความเค็มที่ต้องการแล้วเลี้ยงถังทดลองต่อไปอีก 5 วันก่อนเริ่มการทดลองใช้ระบบน้ำหมุนเวียนกึ่งปิด (semi-close recirculation system) แต่ละชุดแยกกันประกอบด้วย ถังตกตะกอน ถังบำบัดชีวภาพ โดยแต่ละถังมีน้ำไหลผ่านตลอดเวลาและมีอัตราการไหลของน้ำ 1 ลิตรต่อนาที (ภาพที่ 5) ซึ่งจะเติมน้ำเพิ่มหากน้ำหายไปจากระบบ อุณหภูมิระหว่างการเลี้ยงอยู่ระหว่าง 28-31 °C ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำมากกว่า 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และแอมโมเนียต่ำกว่า 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 5 ระบบเลี้ยงกุ้งที่ความเค็ม 3 ระดับ บ่อเลี้ยง (1, 3 และ 5) บ่อบำบัด (2, 4 และ 6)

4.4 การรวบรวมและการเตรียมกุ้งทดลองที่ใช้ในการทดลอง

รวบรวมกุ้งทดลองระยะโพสลาวา 15 จากสุชาติฟาร์ม ต.บางพระ อ.ศรีราชา จังหวัดชลบุรี ที่มีลักษณะแข็งแรงสมบูรณ์ ประมาณ 5,000 ตัว มาปรับสภาพแวดล้อมในบ่อพักและอนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปสูตรควบคุม (ไม่เสริมโคโคซาน) ขนาดเม็ดอาหาร 350 ไมโครเมตร ใช้กับกุ้งระยะโพสลาวา 15-30 วัน ขนาดเม็ดอาหาร 500 ไมโครเมตร ใช้กับกุ้งอายุ 1-15 วัน ขนาดเม็ดอาหาร 1.2 มิลลิเมตร ใช้กับกุ้งอายุ 16-30 วัน ตามลำดับจนมีขนาด 3.18 ± 0.08 กรัม ความยาว 7.61 ± 0.34 เซนติเมตร แล้วจึงคัดกุ้งทดลองที่แข็งแรง มีขนาดใกล้เคียงกันลงเลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 300 ลิตร จำนวน 30 ตัวต่อถัง (0.8 ตัวต่อลูกบาศก์เมตร) จำนวนทั้งสิ้น 24 ถัง ถังคลุมด้วยสแลนสีดำเพื่อลดแสงลดสิ่งรบกวนจากภายนอก และป้องกันกุ้งกระโดดออกนอกถัง

4.5 การให้อาหารและการผลิตอาหารทดลอง

อาหารกุ้งที่มีปลาป่นและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันเป็นแหล่งโปรตีนหลักโดยอาหารทั้ง 2 สูตรมีส่วนประกอบของวัตถุดิบเหมือนกัน ยกเว้นระดับของโคโคซานที่ 0 % , 0.2 % ตามลำดับ กำหนดให้มีสารอาหารในระดับที่ใกล้เคียงกันคือ โปรตีนไม่ต่ำกว่า 35 % ไขมันไม่ต่ำกว่า 5 % ความชื้นไม่มากกว่า 11 % กากไม่มากกว่า 3 % (ตารางที่ 1) โดยให้อาหาร 6% ของน้ำหนักกุ้ง วันละ 5 ครั้ง ในเวลา 06.00 น. 10.00 น. 14.00 น. 18.00 น. และ 22.00 น. โดยมีขั้นตอนการผลิตอาหารทดลองมีดังต่อไปนี้

4.5.1 วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบ ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า เยื่อใย ฟอสฟอรัส และโคโคซานและสร้างสูตรอาหารโดยคำนวณอาหารทดลองทุกสูตรให้มีระดับของโปรตีน ไขมัน และพลังงานเท่ากัน

4.5.2 ชั่งวัตถุดิบอาหารที่ผ่านการร่อนจากตะแกรง ตามอัตราส่วนที่ต้องการแยกถุงไว้ใช้ในแต่ละชุดการทดลอง

4.5.3 ละลายผงโคโคซาน ตามปริมาณที่กำหนดไว้ในแต่ละชุดการทดลอง ด้วย 1% acetic acid โดยใช้กรด 200 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 1,000 กรัม นำสารละลายโคโคซานมาคลุกกับวัตถุดิบอาหารแต่ละชุดการทดลอง (ชุดควบคุมให้เติม 1% acetic acid อย่างเดียว)

4.5.4 นำวัตถุดิบจาก (ข้อ 2) ยกเว้นน้ำมัน มาผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน ตามด้วยน้ำสะอาด หลังจากนั้นจึงนำส่วนผสมทั้งหมดอัดให้เป็นเม็ดอาหารด้วยเครื่องบดเนื้อและตัดให้ได้ขนาดตามความเหมาะสมกับขนาดกึ่งขาวแวนนาไม

4.5.5 อบอาหารที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เมื่ออาหารแห้งดีแล้วเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะเริ่มทดลอง

4.5.6 นำอาหารเม็ดวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และเยื่อใย ตามวิธีของ AOAC (2005) ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ไนโตรเจนฟรีเอ็กซ์แทรกซ์, nitrogen free extract, NFE) คำนวณได้จากสูตร Nitrogen free extract หรือ NFE = 100 - (% ความชื้น + % โปรตีน + % ไขมัน + % เถ้า + % เยื่อใย) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 6 สูตรอาหารทดลองสำหรับกุ้งขาวขนาด 3 กรัม (% dry matter)

วัตถุดิบ	% ในอาหาร (ชุดทดลอง)	% ในอาหาร (ชุดควบคุม)
Thai tuna Fish Meal	37.00	37.00
Soybean Meal	12.00	12.00
squid meal	3.00	3.00
Wheat gluten	4.00	4.00
Wheat flour	16.00	16.00
α -Starch	17.80	18.00
Tuna Oil	5.61	5.61
Choline Chloride (50%)	0.60	0.60
Vitamin mix ¹	1.00	1.00
Trace Mineral mix ²	1.00	1.00
Monocalcium phasphate	0.20	0.20
BHT	0.02	0.02
Lecithin	1.00	1.00
Vit E (50%)	0.02	0.02
Stay C 35% ³	0.10	0.10
Cholesterol	0.20	0.20
Chitosan (acetic)	0.20	0.00
Propionic acid/citric	0.20	0.20
Polymethylcarbomide	0.05	0.05

¹Vitamin mix g kg⁻¹: Thiamine – HCl 60, Riboflavin 25 , Pyridoxin – HCl 50, Nicotinic acid 40, Ca – d – Pantothenate 75, Biotin 2 % 1, Folic HF 85 % 10, Inositol 400, Vitamin B₁₂ 0.05, Vitamin E₅₀ 100, Vitamin K₃ 50 % 35, Vitamin A 5, Vitamin D₃ 1.00

²Mineral mix g kg⁻¹: Ca (H₂ PO₄)₂ H₂O 2.5, NaH₂ PO₄ 2H₂O 3.75, KH₂PO₄ 2.5, KCl 1.25 ³VitaminC : Ca – PO₄

ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางเคมีอย่างหยาบของอาหารที่ใช้ทดลอง (% dry matter)

องค์ประกอบทางเคมี	สูตรควบคุม	สูตรทดลอง
	(%ของน้ำหนักแห้ง)	
ไคโตซาน	0	0.2
ความชื้น	8.95	8.97
โปรตีน	36.93	36.95
ไขมัน	7.70	7.70
NFE	35.88	35.84
ถั่ว	10.54	10.54

4.6 การตรวจสอบคุณภาพน้ำ

ตรวจสอบคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงก่อนเริ่มและระหว่างทดลองเก็บน้ำจากถังทดลองเพื่อวิเคราะห์คุณภาพน้ำทุกสัปดาห์ โดยวิเคราะห์

4.6.1 ค่าพีเอช วัดโดย electronic pH (Meter Toledo 320 model)

4.6.2 ค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำและอุณหภูมิของน้ำ วัดโดย (YSI model 52)

4.6.3 ค่าความเค็ม วัดโดย (hand refractometer)

4.6.4 ปริมาณแอมโมเนียรวม วัดโดยชุด Test Kit

4.6.5 ปริมาณไนโตรเจน วัดโดยชุด Test Kit

4.6.6 ค่าอัลคาไลน์ วัดโดยชุด Test Kit

4.7 การเก็บข้อมูล

4.7.1 การเก็บข้อมูลของการเจริญเติบโต การลอกคราบ และการรอดตาย

ก. การเจริญเติบโต ทุกๆ 15 วัน สุ่มกึ่ง 25% ของจำนวนทั้งหมดในแต่ละซ้ำ มาชั่งน้ำหนัก (กรัม) และวัดขนาดความยาว (เซนติเมตร) เพื่อมาคำนวณหาการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เปอร์เซ็นต์การเพิ่มน้ำหนักและความยาว

ข. การลอกคราบและการรอดตาย ระหว่างการทำการทดลองทุกวัน ทำการบันทึกผลการลอกคราบของกึ่ง จำนวนกึ่งที่ตายและลักษณะที่ตาย

4.8 การวิเคราะห์ทางชีวเคมี

4.8.1 การเก็บตัวอย่างเลือดกึ่งทดลอง

ก. หลังจากเลี้ยงกึ่งจนครบ 60 วัน จึงทำการสุ่มตัวอย่างกึ่งแต่ละการทดลองมาเก็บตัวอย่างเลือด

ข. ก่อนเก็บเลือดให้งดอาหารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สุ่มตัวอย่างกึ่งระยะก่อนลอกคราบตอนต้น (early premolt stage, D0) ที่มีสภาพแข็งแรง มาจำนวนเท่าๆกัน (5 ตัวอย่าง/ซ้ำ) ในแต่ละการทดลอง

ค. ดูดเลือดกึ่งโดยใช้เข็ม เบอร์ 27 Tuberculin ขนาด 1.0 มิลลิลิตร แกลงบริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 5

ง. เก็บตัวอย่างเลือดไว้ใน Eppendorf โดยผสม 30% tri-sodium citrate เพื่อกันเลือดแข็งตัว (anticoagulant) อัตราส่วน 1:1 (ใช้เลือด 0.7 มิลลิลิตร: 30% tri-sodium citrate 0.7 มิลลิลิตร) เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปเก็บในตู้แช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C

4.8.2 การเตรียมพลาสมา

ก. นำเลือดกึ่งที่ผสม 30% tri-sodium citrate (ข้อ 4.8.1 ง) นำไปปั่นเพื่อให้ ตกตะกอน(ควรทิ้งให้เลือดใน eppendorf เป็นของเหลวก่อน) ด้วยเครื่อง microcentrifuge ด้วย แรงเหวี่ยง 10,000 g ที่ อุณหภูมิ 4°C นาน 15-20 นาที

ข. ดูดของเหลวส่วนบน (supernatant) ซึ่งก็คือพลาสมาปริมาตร 1 มิลลิลิตรเก็บ ไว้ใน Eppendorf ใหม่ เพื่อใช้เป็นตัวอย่งวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุต่างๆ และโปรตีนรวมในน้ำ เลือด ต่อไป

4.8.3 การเตรียมตัวอย่างเปลือก

ก. นำตัวอย่างกึ่งที่เก็บเลือดแล้ว มาแกะเปลือกกึ่ง (6 ตัวอย่าง/ซ้ำ) นำมาล้างให้ สะอาดด้วยน้ำบริสุทธิ์ยิ่งยวด (deionized water) 2 รอบ

ข. นำเปลือกที่ล้างแล้วไปอบ ในตู้อบด้วยอุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเปลือกที่อบและชั่งน้ำหนักรอบแรกแล้ว นำกลับไปอบต่ออีก 2 ชั่วโมง จากนั้นนำกลับมา ชั่งน้ำหนักอีกครั้ง จนได้น้ำหนักแห้งที่คงที่

ค. นำเปลือกกึ่งแต่ละตัวที่อบแห้งแล้ว มาบดในโถรงบด (ceramic mortar) ให้ ละเอียด แล้วนำไปร่อนด้วยตะแกรงตาถี่ขนาด 150 μm ให้ได้ปริมาณ 1g สำหรับการวิเคราะห์แร่ ธาตุต่างๆต่อไป โดยเก็บไว้ในโถดูดความชื้น (desiccator)

4.8.4 การวัดปริมาณแร่ธาตุในพลาสมาและเปลือก

นำพลาสมาและเปลือกกึ่งไปวัดปริมาณของแร่ธาตุ โซเดียม (Na) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) ฟอสฟอรัส (P) ซัลเฟอร์ (S) คลอไรด์ (Cl) แมงกานีส (Mn) และ ทองแดง (Cu) ด้วยเครื่อง ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission spectrometry) ดัดแปลงจากวิธีการของ AOAC (2005) จะได้ปริมาณแร่ธาตุต่างๆ ดังกล่าว ข้างต้น

4.8.5 การตรวจปริมาณโปรตีนในน้ำเลือด

การวิเคราะห์หาโปรตีนโดยวิธี Lowry (Lowry et al., 1951) จากค่าความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมา

4.8.6 การวัดปริมาณของโคติน -โคโตซานใน เปลือกกุ้งทดลอง

ก. นำเปลือกกุ้งแกะเปลือก ล้างให้สะอาด พักให้แห้งบนตะแกรง แยกเปลือกกุ้งเพื่อใช้วิเคราะห์ 2 ซ้ำ บันทึกน้ำหนักก่อนอบ นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักหลังอบ บดในโถรงบด (ceramic mortar) ให้ละเอียด ให้ได้ขนาดประมาณ 0.5 มิลลิเมตร (ดวงกมล, 2541)

ข. สกัดโคติน นำเปลือกที่ผ่านการบดมากำจัดแร่ธาตุ ด้วยสารละลาย 2N HCl ในอัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อปริมาณกรด 1:20 (w/v) ที่อุณหภูมิห้อง กวนตลอดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบ 1 ชั่วโมง นำมากรองและล้างจนเป็นมีค่าเป็นกลาง ต่อด้วยการกำจัดโปรตีนด้วยสารละลาย 2 N NaOH ในอัตราส่วนเปลือกกุ้งต่อปริมาณต่าง 1:20 (w/v) ที่อุณหภูมิ 90 °C ใช้ shaking bath กวนตลอด 2 ชั่วโมง เมื่อครบ 2 ชั่วโมง นำมากรองและล้างจนเป็นมีค่าเป็นกลาง นำโคตินที่ได้อบที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 5 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาซึ่งพร้อมบันทึกน้ำหนักโคตินที่ได้

ค. สกัดโคโตซาน นำโคตินที่มากำจัดหมู่อะซิติก (acetyl) ด้วยสารละลาย 50% (w/v) NaOH ในอัตราส่วนโคตินต่อปริมาณต่าง 1:20 (w/v) ที่อุณหภูมิ 90 °C ใช้ shaking bath กวนตลอด 3 ชั่วโมง เมื่อครบ 3 ชั่วโมง นำมากรองและล้างจนเป็นมีค่าเป็นกลาง นำโคโตซานที่ได้อบที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 5 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาซึ่งพร้อมบันทึกน้ำหนักโคโตซานที่ได้

ง. เปรียบเทียบปริมาณโคติน-โคโตซานที่ได้จากการสกัดเพื่อคำนวณ ปริมาณโคติน-โคโตซานต่อน้ำหนักแห้งของเปลือกกุ้ง และเปอร์เซ็นต์ปริมาณโคติน-โคโตซานต่อน้ำหนักแห้งของเปลือกกุ้ง แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติต่อไป

4.8.7 ภูมิคุ้มกันของกึ่งทดลอง

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มกึ่งตัวอย่าง (5 ตัว/ซ้ำ) เพื่อเก็บตัวอย่างเลือดกึ่งโดยวิเคราะห์ทันทีที่เก็บตัวอย่าง

ก. การตรวจนับปริมาณเม็ดเลือดรวม นำเลือดกึ่งที่เจือจางด้วยสารละลายป้องกันการแข็งตัวของเลือด ใช้ micropipette ดึงสารละลายเลือดกึ่งจำนวน 20 ไมโครลิตร มาตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดด้วย hemacytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คำนวณปริมาณเม็ดเลือดที่นับได้เป็นจำนวนเซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตรจากสมการด้านล่าง

$$\text{ปริมาตรของ Hemacytometer} = \text{กว้าง} \times \text{ยาว} \times \text{ลึก}$$

$$= 0.2 \text{ มม.} \times 0.2 \text{ มม.} \times 0.1 \text{ มม.}$$

$$= 0.02 \text{ ซม.} \times 0.02 \text{ ซม.} \times 0.01 \text{ ซม.}$$

$$= 0.000004 \text{ มล. } (4 \times 10^{-6})$$

ความหนาแน่นของเม็ดเลือด = ค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดรวม 5 ช่อง $\times \frac{1}{4} \times 10^6$ เซลล์/มล.

ข. การวัดระยะเวลาแข็งตัวของเลือด (Clotting) หยดเลือดกึ่งลงสไลด์หลุม จากนั้นเขย่าสไลด์หลุมพร้อมจับเวลาที่เลือดกึ่งเป็นลิ่มและเริ่มจะแข็งตัวพร้อมบันทึกการแข็งตัวของเลือดกึ่ง (นาที) ทุกตัวในแต่ละซ้ำ ทุกชุดการทดลอง

4.8.8 การทดสอบความเครียด

ก. นำกึ่งที่มีระยะลอกคราบ DO ของแต่ละชุดการทดลอง (5 ตัว/ซ้ำ) มาทำการทดสอบความเครียดในขวดโหลขนาด 20 ลิตร ที่บรรจุน้ำจืดที่อุณหภูมิห้อง

ข. ตรวจสอบระยะเวลาที่กึ่งแต่ละตัวไม่สามารถทรงตัวได้ (ระยะสลบที่ 3)

จนครบทุกตัวในแต่ละซ้ำ ทุกชุดการทดลอง

ค. บันทึกระยะเวลาที่ทำให้กึ่งทดลองสลบทั้งหมด (ชั่วโมง/นาที)

ง. หลักเกณฑ์ตรวจสอบในการสลบของกึ่งทดลองก่อนจะเข้าสู่ระยะการสลบลึก

(full anesthesia) วีณา (2549) ได้ดัดแปลงตามตารางที่ 8 จะแสดงออกของพฤติกรรม 5 ระยะ ดังนี้

ระยะที่ 1 สูญเสียการตอบสนองจากสิ่งเร้าภายนอก

ระยะที่ 2 สามารถทนต่อการสัมผัส

ระยะที่ 3 สูญเสียการสะบัดของหางตามปกติ หางส่วนที่เคยโค้งงอสะบัดได้ลดการเคลื่อนไหวลงมาวางในแนวตรงกับลำตัว

ระยะที่ 4 สูญเสียการควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อส่วนหาง

ระยะที่ 5 สูญเสียการควบคุมการทำงานของ maxilla activity

ตารางที่ 8 ระดับพฤติกรรมกึ่งขาวที่กำหนดระดับการสลบ

ระดับ	พฤติกรรม			
	การขยับขาเดินและ ขาว่ายน้ำ	การขยับหาง	การเต้นของหัวใจ	การตอบสนองต่อการกระตุ้น
5	เร็วมาก	เร็วมาก	เร็วมาก	ดีมาก
4	เร็ว	เร็ว	เร็ว	ดี
3	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง	ปานกลาง
2	ช้า	ช้า	ช้า	น้อย
1	ช้ามาก	ช้ามาก	ช้ามาก	น้อยมาก
0	ไม่ขยับ	ไม่ขยับ	หยุดเต้น	ไม่ตอบสนอง

4.9 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลแต่ละการทดลอง ตรวจสอบค่าพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต ได้แก่ การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) เปอร์เซ็นต์การเพิ่มน้ำหนัก (%WG) เปอร์เซ็นต์ความยาวที่เพิ่มขึ้น (%LG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%SRG) อัตราการรอดตาย (% SR) อัตราการแลกเนื้อ (FCR) เปอร์เซ็นต์ ความถี่ในการลอกคราบต่อวัน ค่าพารามิเตอร์เกี่ยวข้องกับองค์ประกอบทางเคมี ในพลาสมา ได้แก่ อีออนโซเดียม (Na) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) ฟอสฟอรัส (P) ซัลเฟอร์ (S) คลอไรด์ (Cl) แมงกานีส (Mn) และทองแดง (Cu) โปรตีนรวมในน้ำ เลือด (Total plasma protein) องค์ประกอบทางเคมีของเปลือก ได้แก่ อีออนโซเดียม (Na) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) ฟอสฟอรัส (P) ซัลเฟอร์ (S) คลอไรด์ (Cl) แมงกานีส (Mn) และทองแดง (Cu) รวมถึงปริมาณโคติน และโคโตซาน

ค่าพารามิเตอร์เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน ได้แก่ ปริมาณเม็ดเลือดรวม (THC) ระยะเวลา เลือดแข็งตัว (Clotting) และระยะเวลาที่กึ่งสลับจากการทดสอบความเครียด นำค่าพารามิเตอร์ ทั้งหมดที่ต้องการ มาหาความแตกต่างทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ Two-Way ANOVA และทดสอบ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยวิธี Tukey's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลอง

จากการเลี้ยงกุ้งขาวเริ่มต้นน้ำหนักเฉลี่ย 3.16 ± 0.05 กรัม ในถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 300 ลิตร ด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมโคโคซาน 0.2% และไม่เสริมโคโคซาน ที่ความเค็มน้ำ 3 ระดับ ได้แก่ 10, 23 และ 36 ppt ระยะเวลา 8 สัปดาห์ โดยมีผลการทดลองดังต่อไปนี้

1 การเจริญเติบโต อัตรารอดตาย อัตราการแลกเนื้อ ความถี่ในการลอกคราบ และการทดสอบความเครียดของกุ้งขาว

1.1 ผลของความเค็ม

ผลการศึกษาพบว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 และ 23 ppt มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (ADG) (ภาพที่ 6) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%WG) (ภาพที่ 7) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะด้านน้ำหนัก (SGR_w) (ภาพที่ 8) และเปอร์เซ็นต์ความยาวที่เพิ่มขึ้น (%LG) (ภาพที่ 9) ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่กุ้งที่เลี้ยงในน้ำทั้ง 2 ระดับความเค็ม มีค่าดังกล่าวน้อยกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 36 ppt ($p < 0.05$) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะด้านความยาว (SGR_L) (ภาพที่ 10) ความแปรปรวนของน้ำหนัก (SVW) (ภาพที่ 11) ความแปรปรวนของความยาว (SRL) (ภาพที่ 12) และความถี่ในการลอกคราบ (MF) (ภาพที่ 13) พบว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำทั้ง 3 ระดับความเค็มมีค่าดังกล่าวไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ขณะที่อัตราการรอดตาย (%SR) (ภาพที่ 14) พบว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 23 และ 36 ppt มีอัตราการรอดตายไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่มีค่าสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 ppt ($p < 0.05$)

ขณะที่อัตราแลกเนื้อ (FCR) (ภาพที่ 15) พบว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 23 และ 36 ppt มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่กุ้งที่เลี้ยงทั้ง 2 ระดับความเค็มมีค่า FCR ต่ำกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 ppt ($p < 0.05$) การทดสอบระยะเวลาที่กุ้งเสียการทรงตัวโดยนำมาแช่ในน้ำจืด พบว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 ppt ระยะเวลาที่กุ้งสลบจาก Stress test กุ้งเสียการทรงตัวเร็วกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 23 และ 36 ppt ($p < 0.05$) และกุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 23 ppt กุ้งเสียการทรงตัวเร็วกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 36 ppt ($p < 0.05$) (ภาพที่ 16)

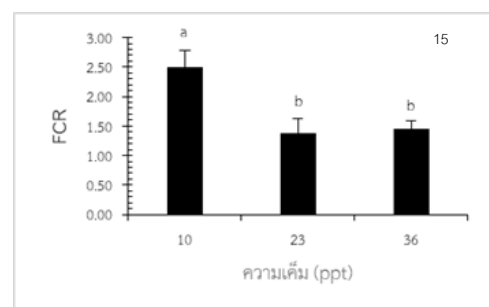
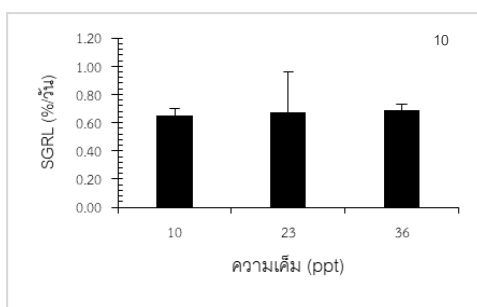
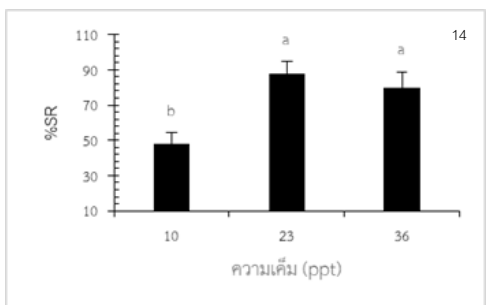
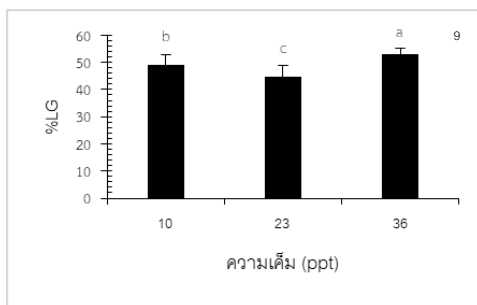
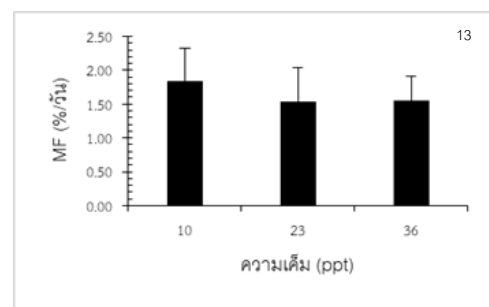
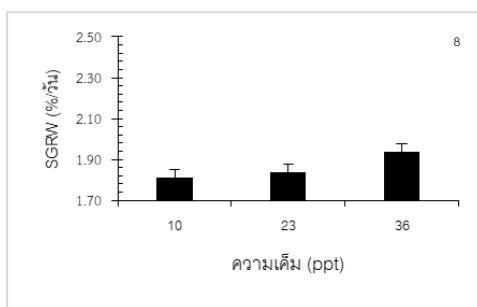
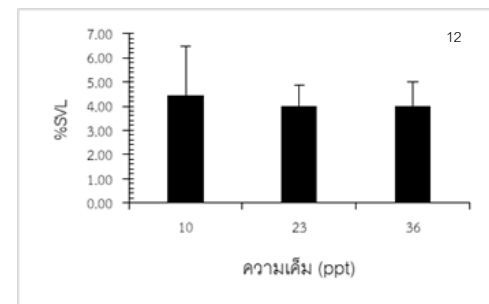
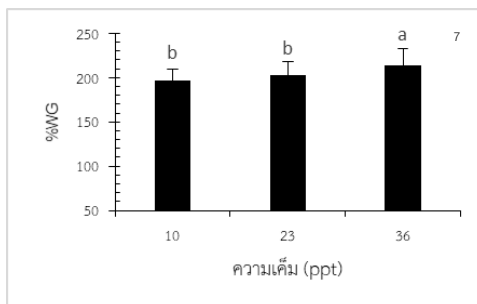
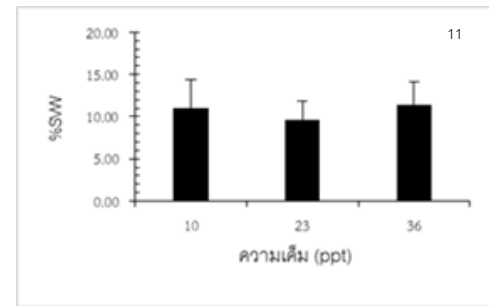
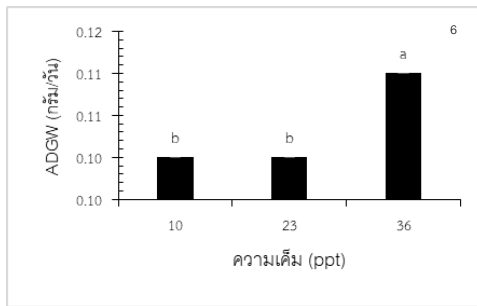
1.2 ผลของการเสริมโคโคซานในอาหาร

กุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริม (0%) และเสริมโคโคซาน 0.2% มีค่า SGR_w (ภาพที่ 17) ADG_w (ภาพที่ 18) SGR_L (ภาพที่ 19) %SR (ภาพที่ 20) SVW (ภาพที่ 21), SRL (ภาพที่ 22)

และ MF (ภาพที่ 23) ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ยกเว้นค่า %WG (ภาพที่ 24), %LG (ภาพที่ 25) กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมโคโตซาน 0.2% มีค่าสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมโคโตซาน (0%) ($p<0.05$) และระยะเวลาที่กุ้งสลบจาก Stress test (ภาพที่ 26) ของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมโคโตซาน 0.2% มีค่าสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมโคโตซาน (0%) ($p<0.05$) และค่าFCR (ภาพที่ 27) กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมโคโตซาน 0.2% มีค่าต่ำกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมโคโตซาน (0%) ($p<0.05$)

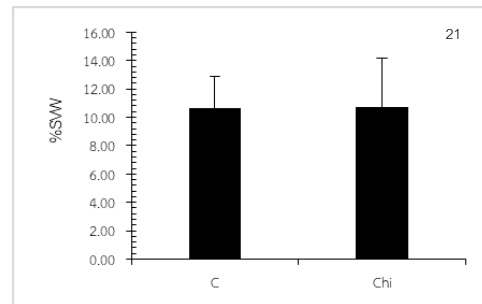
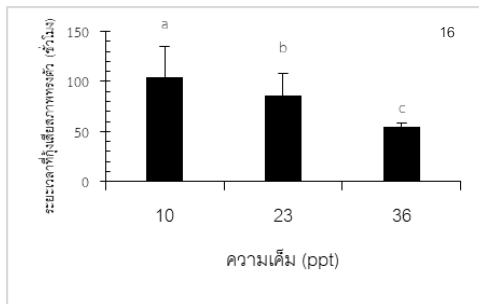
1.3 อิทธิพลร่วมของความเค็มและการเสริมโคโตซานในอาหาร

ผลการศึกษาไม่พบอิทธิพลร่วมของระดับความเค็มและการเสริมโคโตซานในอาหารต่อค่า ADG (ภาพที่ 28) %WG (ภาพที่ 29) SGR_w (ภาพที่ 30) SGR_L (ภาพที่ 32) SVW (ภาพที่ 33) SRL (ภาพที่ 34) และ MF (ภาพที่ 35) ($p>0.05$) แต่เมื่อพิจารณาผลการรวมของ 2 ปัจจัยนี้ (ชุดการทดลอง) ต่อค่า %LG (ภาพที่ 31) พบว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 36 ppt และเสริมโคโตซาน 0.2% มีค่าสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 และ 23 ppt ที่ไม่ได้เสริมโคโตซาน ($p<0.05$) %SR (ภาพที่ 36) ของกุ้งขาวที่เลี้ยงที่ความเค็ม 23 ppt และ 36 ppt ทั้งเสริมและไม่เสริมในอาหารมีค่าสูงกว่ากุ้งทั้ง 2 ชุดที่เลี้ยงในความเค็ม 10 ppt ($p<0.05$) ส่วนค่า FCR (ภาพที่ 37) ของกุ้งขาวที่เลี้ยงที่ความเค็ม 23 ppt และ 36 ppt ทั้งเสริมและไม่เสริมในอาหารมีค่าต่ำกว่ากุ้งทั้ง 2 ชุดที่เลี้ยงในความเค็ม 10 ppt ($p<0.05$) นอกจากนี้พบว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 ppt และเสริมโคโตซาน 0.2% ใช้ระยะเวลาที่กุ้งสลบจาก Stress test นานที่สุด (ภาพที่ 38) และนานกว่ากุ้งกลุ่มอื่นๆ ($p<0.05$) รองลงมาได้แก่กุ้งกลุ่มที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 23 ppt และเสริมโคโตซาน 0.2%

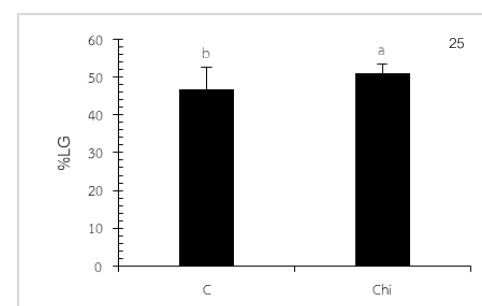
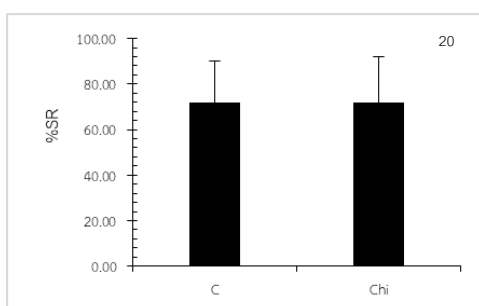
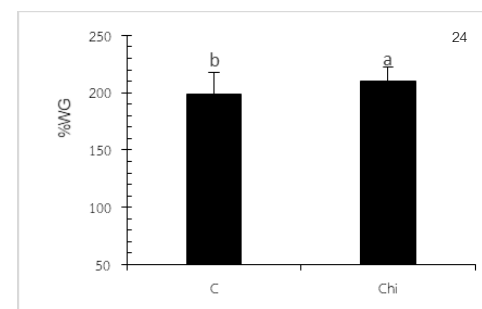
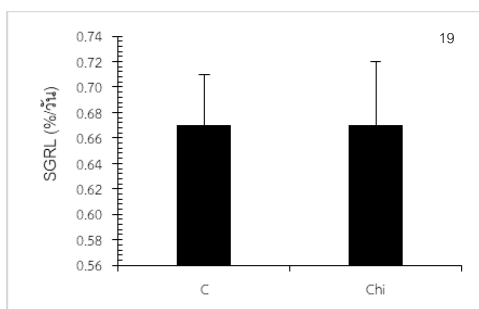
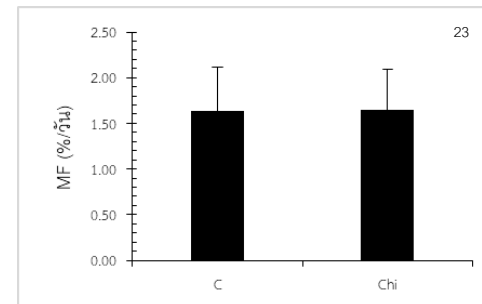
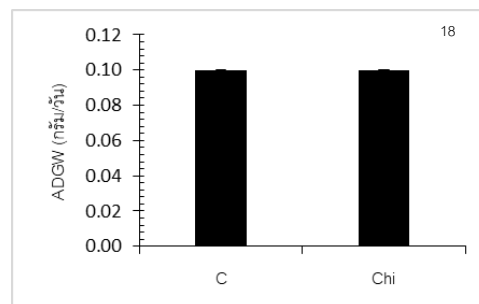
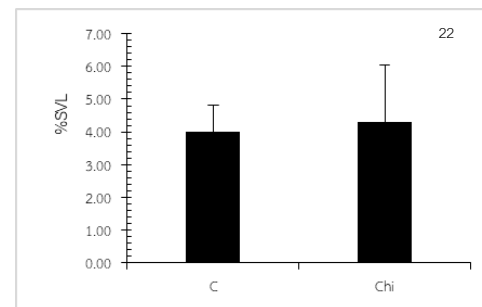
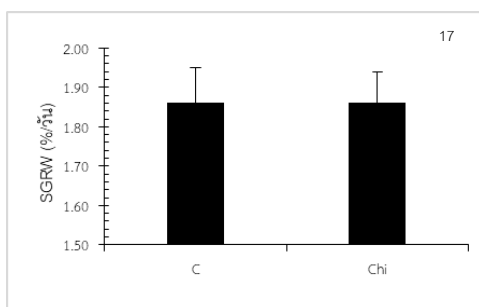


ภาพที่ 6-15 ผลของความเค็ม 3 ระดับต่อ ADG (ภาพที่ 6), %WG (ภาพที่ 7), SGR_W (ภาพที่ 8), %LG (ภาพที่ 9), SGR_L (ภาพที่ 10), SW (ภาพที่ 11), SRL (ภาพที่ 12), MF (ภาพที่ 13), %SR (ภาพที่ 14), FCR (ภาพที่ 15)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันหมายถึงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

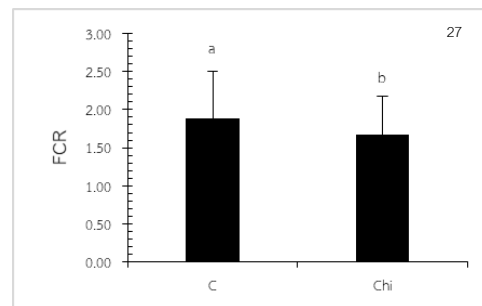
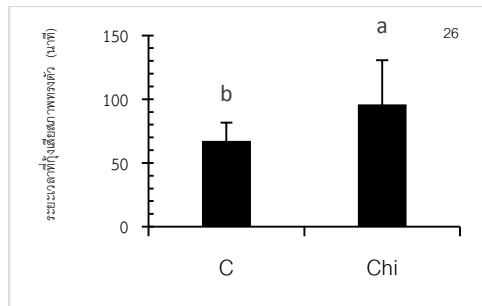


ภาพที่ 16 ผลของความเค็ม 3 ระดับต่อ ระยะเวลากการรอดตัวการทดสอบ



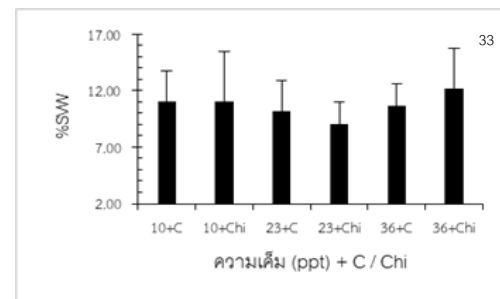
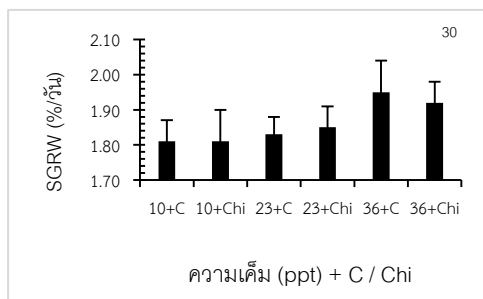
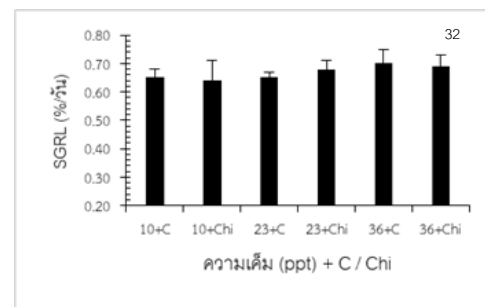
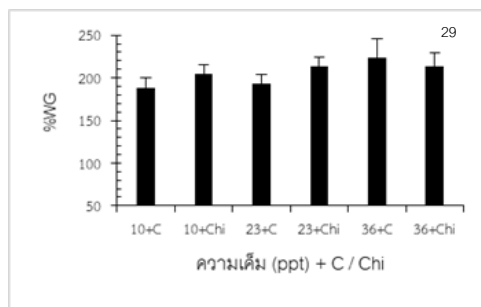
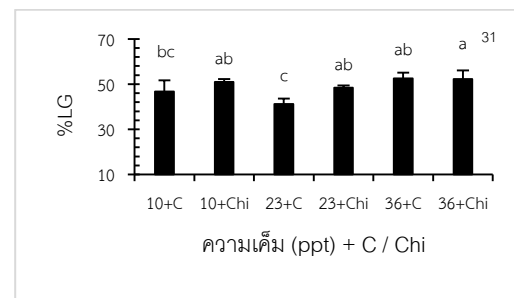
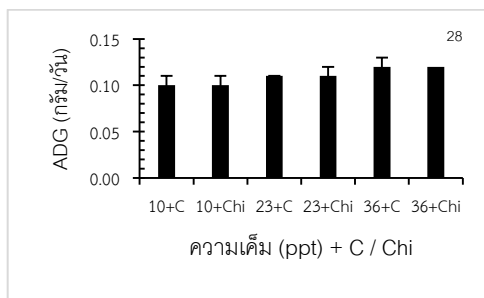
ภาพที่ 17-25 ผลของโคโคซานที่ 0 และ 0.2% ต่อ SGR_w (ภาพที่ 17), ADG_w (ภาพที่ 18), SGR_L (ภาพที่ 19), %SR (ภาพที่ 20), SWW (ภาพที่ 21), SRL (ภาพที่ 22), MF (ภาพที่ 23), %WG (ภาพที่ 24), และ %LG (ภาพที่ 25)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันหมายถึงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



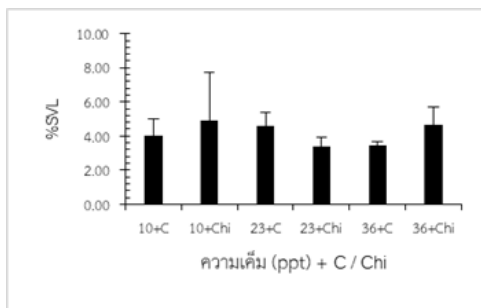
ภาพที่ 26-27 ผลของโคโคซานที่ 0 และ 0.2% ต่อระยะเวลาการดำเนินการสลับ (ภาพที่ 26) และ FCR (ภาพที่ 27)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันหมายถึงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

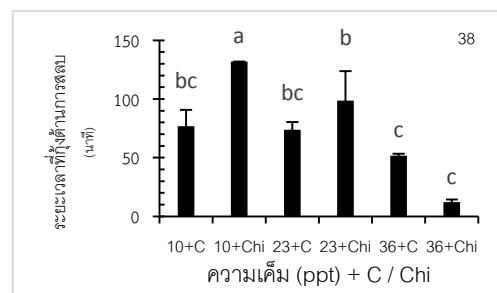
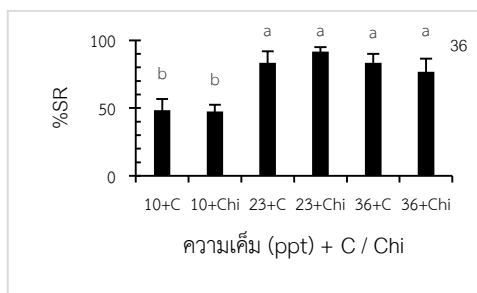
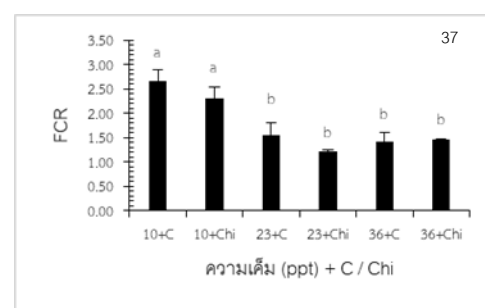
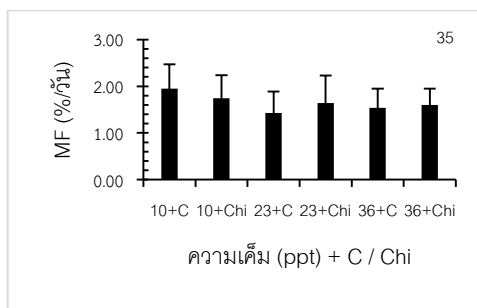


ภาพที่ 28-33 ผลของความเค็มร่วมกับโคโคซานต่อ ADG_w (ภาพที่ 28), %WG (ภาพที่ 29), SGR_w (ภาพที่ 30), %LG (ภาพที่ 31), %SGR_L (ภาพที่ 32), %SVW (ภาพที่ 33)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันหมายถึงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 34 ผลของความเค็มร่วมกับไคโตซานต่อ %SRL
อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันหมายถึงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 35-38 ผลของความเค็มร่วมกับไคโตซานในอาหารต่อ MF (ภาพที่ 35), %SR (ภาพที่ 36), FCR (ภาพที่ 37) และ
ระยะเวลาการดำเนินการสลบ (ภาพที่ 38)
อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันหมายถึงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.2 ผลของการเสริมไคโตซานและระดับความเค็มต่อปริมาณแร่ธาตุ ระยะเวลาที่เลือดแข็งตัว โปรตีนในพลาสมา และปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งขาว

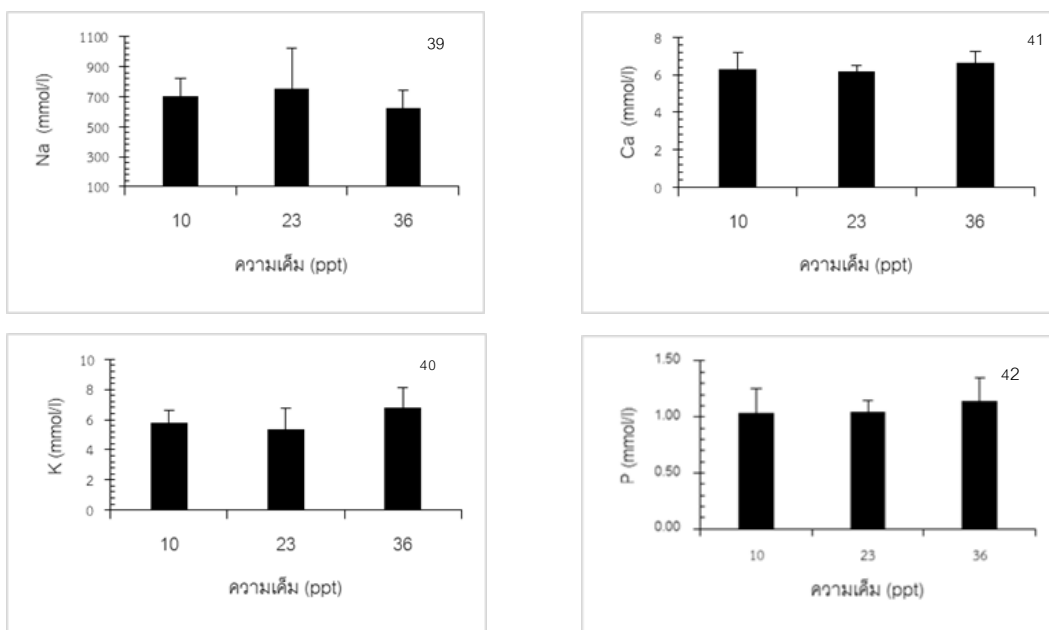
ผลของความเค็ม

ผลการศึกษาพบว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็มทั้ง 3 ระดับ พบความเข้มข้นของ Na (ภาพที่ 39) K (ภาพที่ 40) Ca (ภาพที่ 41) P (ภาพที่ 42) และ Cu (ภาพที่ 43) ในพลาสมา และ

ระยะเวลาที่เลือดแข็งตัว (ภาพที่ 45) มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) กุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 36 ppt พบค่า Mg (ภาพที่ 44) และโปรตีน (ภาพที่ 46) ในพลาสมาสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 ppt และ 23 ppt ($p<0.05$) และกุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 23 ppt มีปริมาณเม็ดเลือดรวม (ภาพที่ 47) สูงกว่าที่ความเค็ม 10 และ 36 ppt ($p<0.05$)

ผลของการเสริมโคโคซานในอาหาร

ผลการศึกษาพบว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริม (0%) และเสริมโคโคซาน 0.2% มีความเข้มข้นของ Na (ภาพที่ 48) Ca (ภาพที่ 49) K (ภาพที่ 50) P (ภาพที่ 51) Cu (ภาพที่ 52) และ Mg (ภาพที่ 53) ในพลาสมา ระยะเวลาที่เลือดแข็งตัว (ภาพที่ 54) และปริมาณเม็ดเลือดรวม (ภาพที่ 56) ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ยกเว้นค่าโปรตีนในพลาสมา (ภาพที่ 55) ที่กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมโคโคซาน 0.2% มีค่าสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมโคโคซาน (0%) ($p<0.05$)

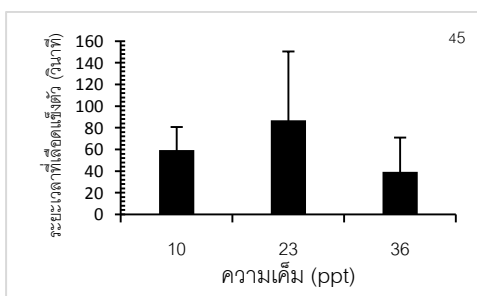
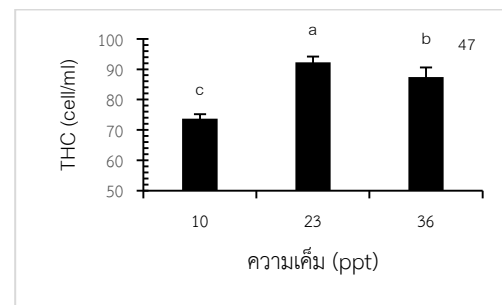
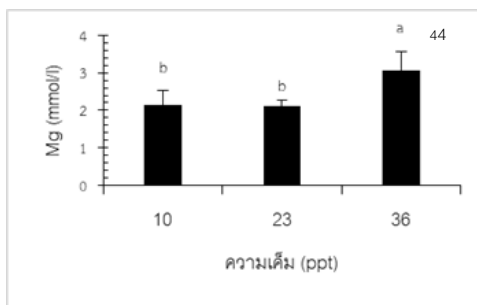
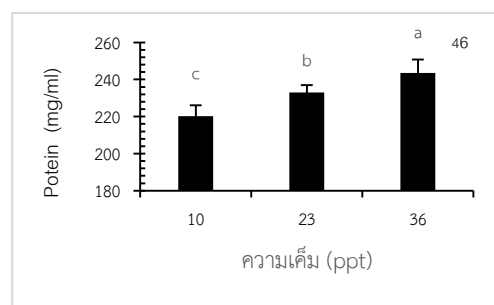
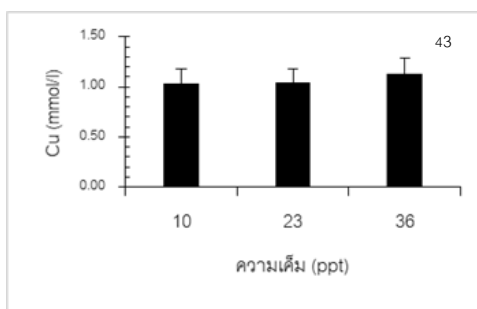


ภาพที่ 39-42 ผลของความเค็ม 3 ระดับต่อ Na (ภาพที่ 39), K (ภาพที่ 40), Ca (ภาพที่ 41), และ P (ภาพที่ 42) ในพลาสมา อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันหมายถึงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

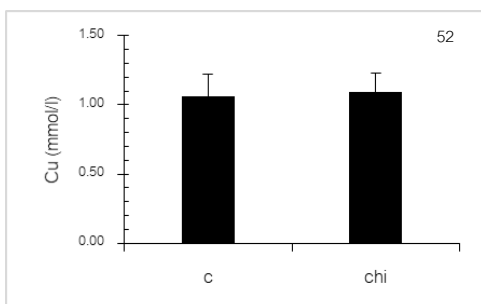
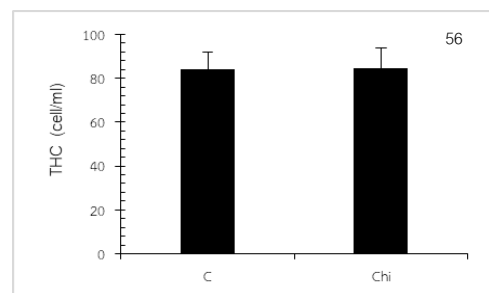
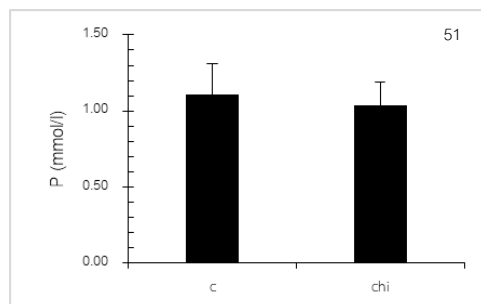
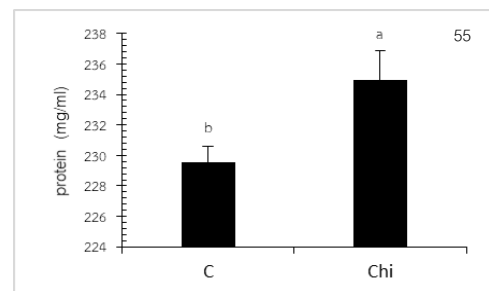
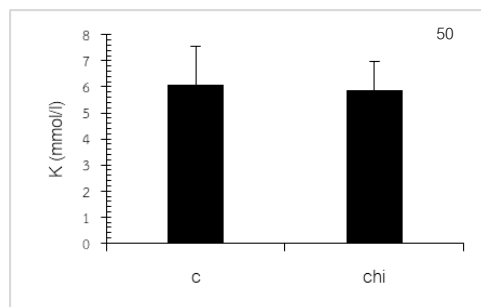
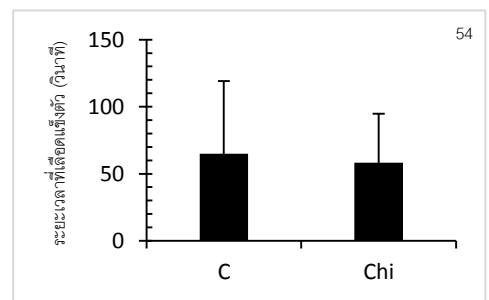
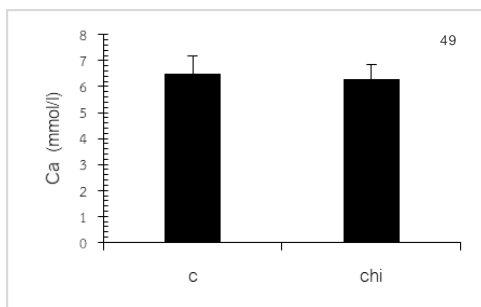
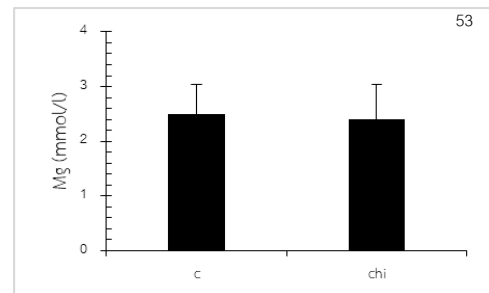
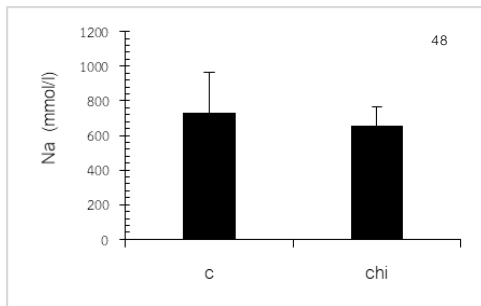
อิทธิพลร่วมของระดับความเค็มและการเสริมโคโคซานในอาหาร

อิทธิพลร่วมของระดับความเค็มและการเสริมโคโคซานในอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า Na (ภาพที่ 57) Ca (ภาพที่ 58) K (ภาพที่ 59) P (ภาพที่ 60) Cu (ภาพที่ 61) และ Mg (ภาพที่ 62) ในพลาสมา และระยะเวลาเลือดแข็งตัว (ภาพที่ 63) ($p>0.05$) แต่มีอิทธิพล

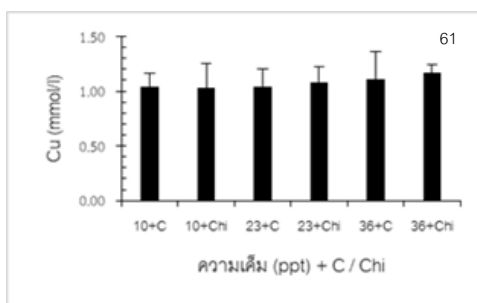
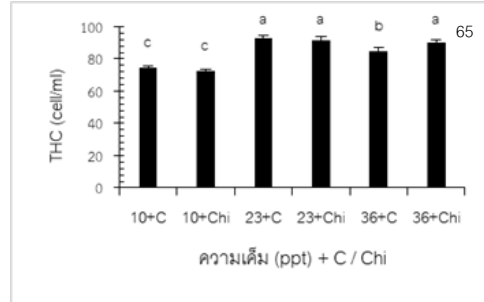
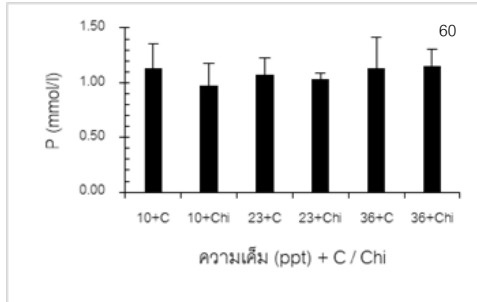
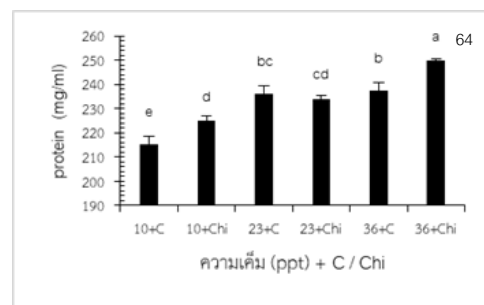
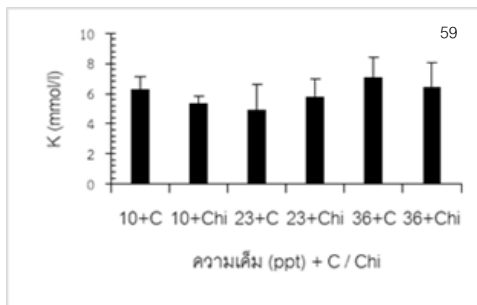
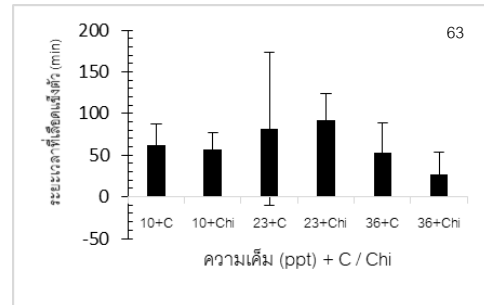
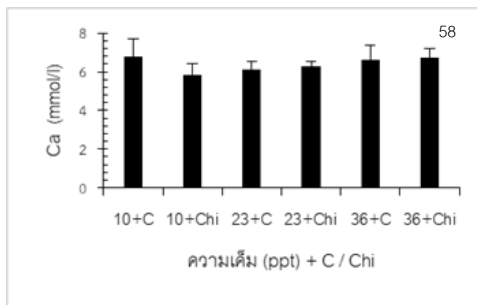
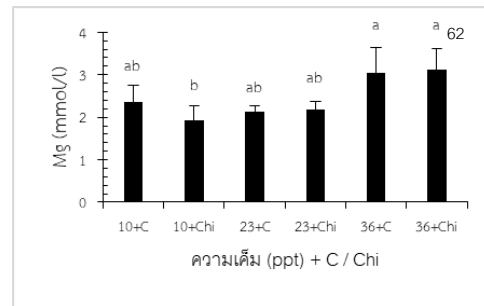
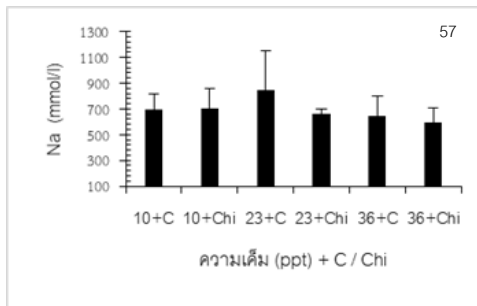
ต่อความเข้มข้นโปรตีนในพลาสมา (ภาพที่ 64) และปริมาณเม็ดเลือดรวม (ภาพที่ 65) ($p < 0.05$) กล่าวคือกึ่งที่เลี้ยงในความเค็ม 36 ppt และให้อาหารผสมโคโคซานมีค่าโปรตีนในเลือดสูงสุดโดยสูงกว่ากลุ่มอื่น ($p < 0.05$) รองลงมาได้แก่กึ่งที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 36 ppt และให้อาหารปกติ ส่วนปริมาณเม็ดเลือดรวมพบค่าสูงในกึ่งกลุ่มที่เลี้ยงในความเค็ม 23 และ 36 ppt และให้อาหารผสมโคโคซาน และกึ่งที่เลี้ยงในความเค็ม 23 ppt และให้อาหารปกติ ซึ่งทั้ง 3 กลุ่มไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่ทั้ง 3 กลุ่มนี้มีค่าปริมาณเม็ดเลือดรวมสูงกว่า ($p < 0.05$) กึ่งที่เลี้ยงในความเค็ม 10 ppt ทั้งที่กินอาหารปกติและอาหารผสมโคโคซาน



ภาพที่ 43-47 ผลของความเค็ม 3 ระดับต่อ Cu (ภาพที่ 43) , Mg (ภาพที่ 44), ระยะเวลาที่เลือดแข็งตัว (ภาพที่ 45) , โปรตีน (ภาพที่ 46) และ THC (ภาพที่ 47) ในพลาสมา
อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันหมายถึงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 48-56 ผลของโคโคซานต่อความเข้มข้นของ Na (ภาพที่ 48), Ca (ภาพที่ 49), K (ภาพที่ 50), P (ภาพที่ 51), Cu (ภาพที่ 52), Mg (ภาพที่ 53) ระยะเวลาที่เลือดแข็งตัว (ภาพที่ 54), โปรตีน (ภาพที่ 55) และ THC (ภาพที่ 56) ในพลาสมา อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันหมายถึงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 57-65 ผลของความเค็มร่วมกับไคโตซานต่อความเข้มข้น Na (ภาพที่ 57), Ca (ภาพที่ 58), K (ภาพที่ 59), P (ภาพที่ 60), Cu (ภาพที่ 61), Mg (ภาพที่ 62), ระยะเวลาที่เลือดแข็งตัว (ภาพที่ 63), โปรตีน (ภาพที่ 64) และ THC (ภาพที่ 65) ในปลาสมุท

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันหมายถึงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.3 ผลของการเสริมโคโตซานและระดับความเค็มต่อปริมาณแร่ธาตุ โคตินและโคโตซานในเปลือกกุ้งขาว

ผลของความเค็ม

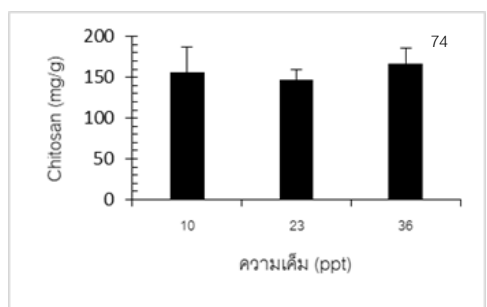
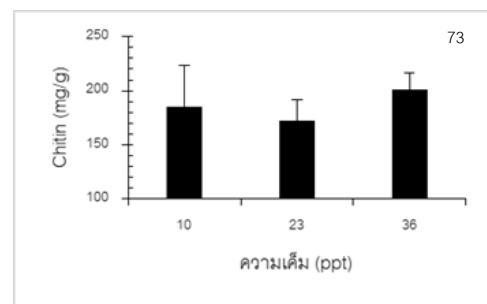
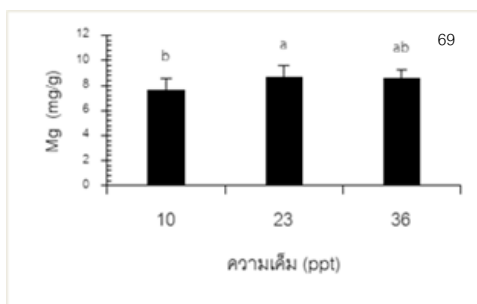
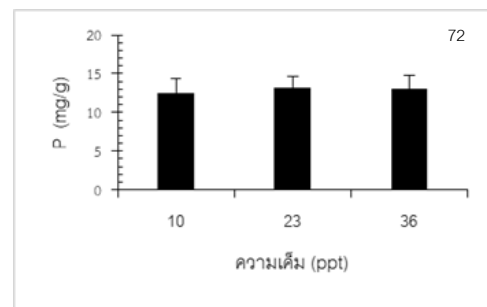
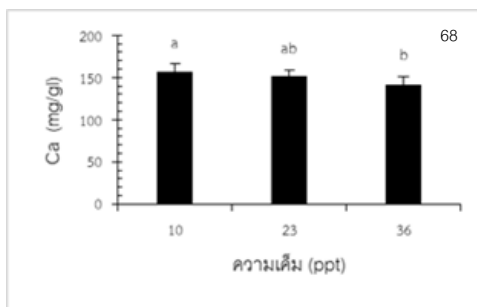
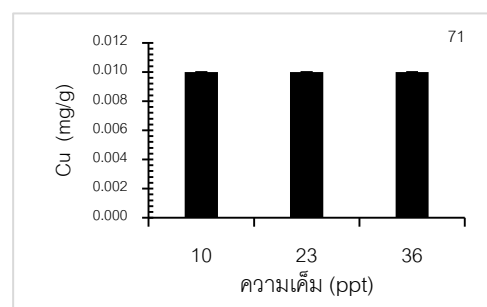
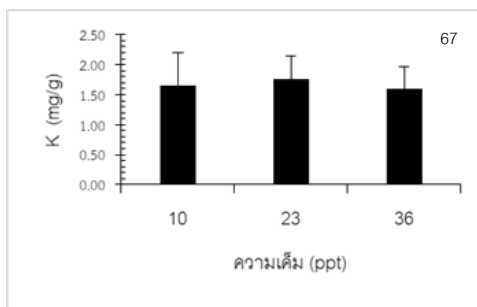
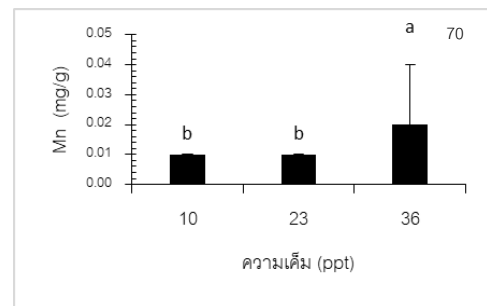
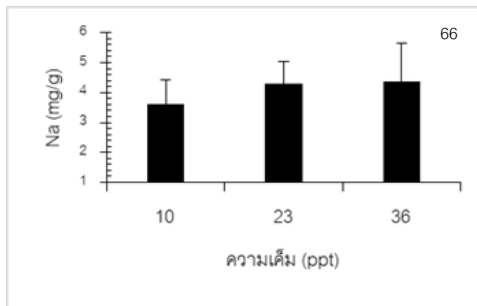
กุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็มทั้ง 3 ระดับ พบปริมาณ Na (ภาพที่ 66) K (ภาพที่ 67) P (ภาพที่ 68) Cu (ภาพที่ 71) โคติน (ภาพที่ 73) และโคโตซาน (ภาพที่ 74) ในเปลือกไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) กุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 ppt พบค่า Ca (ภาพที่ 68) ในเปลือกสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 36 ppt ($p<0.05$) แต่กุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 23 ppt มีค่า Mg (ภาพที่ 69) ในเปลือกสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 ppt ($p<0.05$) และกุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 36 ppt พบค่า Mn (ภาพที่ 70) ในเปลือกสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 และ 23 ppt ($p<0.05$) ขณะที่ไม่แตกต่างกันในความเค็ม 2 ระดับหลังนี้

ผลของการเสริมโคโตซานในอาหาร

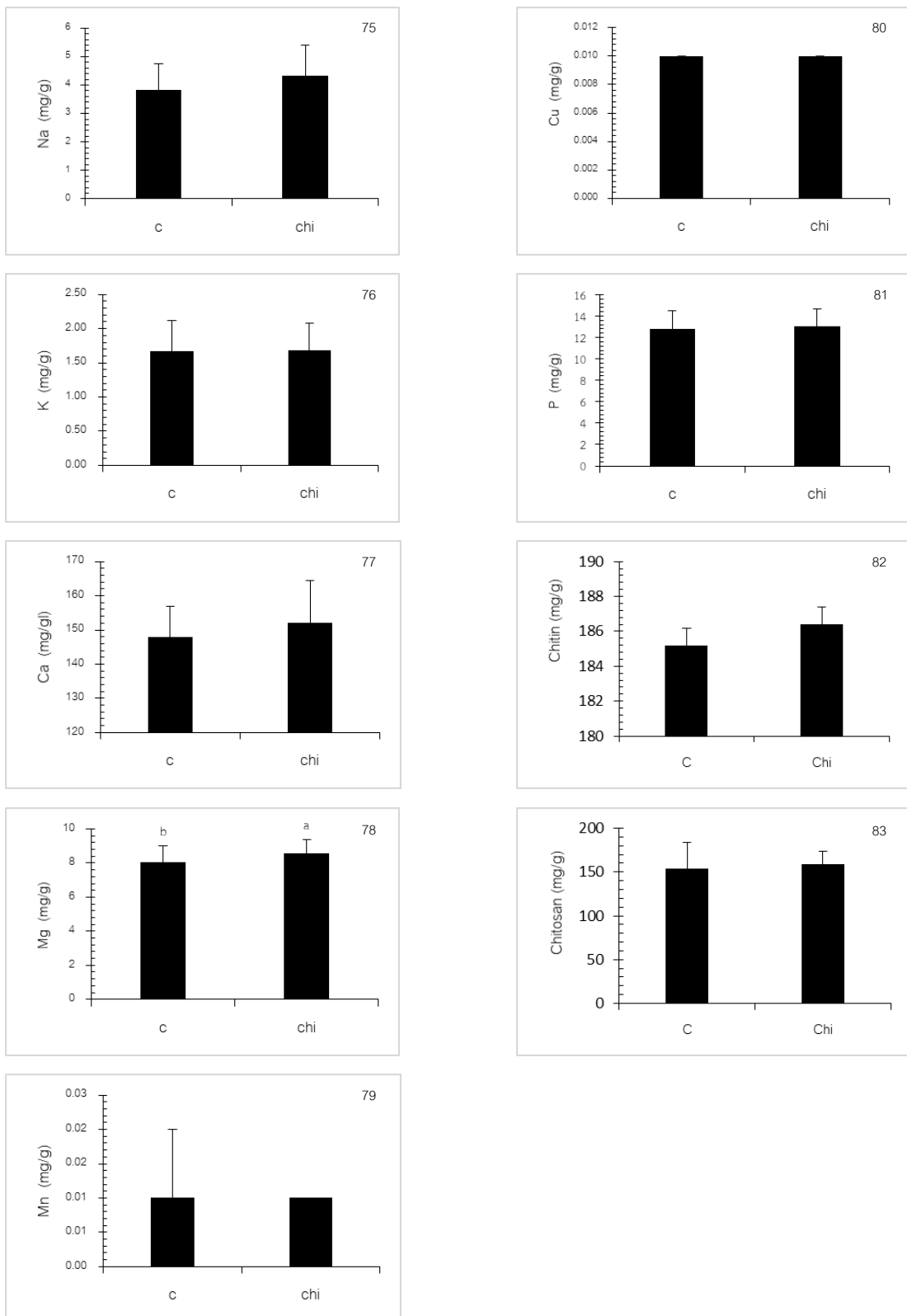
กุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริม (0%) และเสริมโคโตซาน 0.2% พบปริมาณ Na (ภาพที่ 75) K (ภาพที่ 76) Ca (ภาพที่ 77) Cu (ภาพที่ 79) Mn (ภาพที่ 80) P (ภาพที่ 81) โคติน (ภาพที่ 82) และโคโตซาน (ภาพที่ 83) ในเปลือกไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ยกเว้นกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมโคโตซาน 0.2% มีค่า Mg (ภาพที่ 78) ในเปลือกสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมโคโตซาน ($p<0.05$)

อิทธิพลร่วมของระดับความเค็มและการเสริมโคโตซานในอาหาร

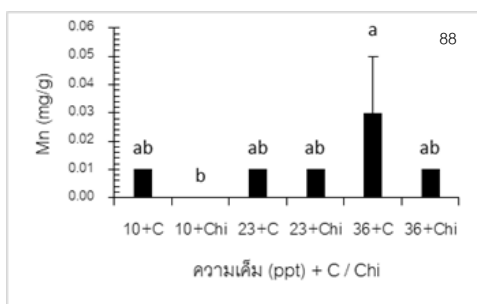
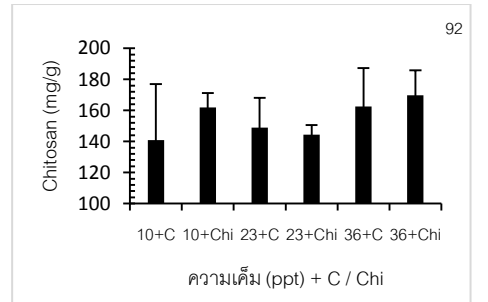
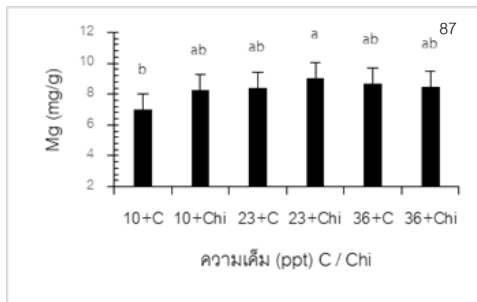
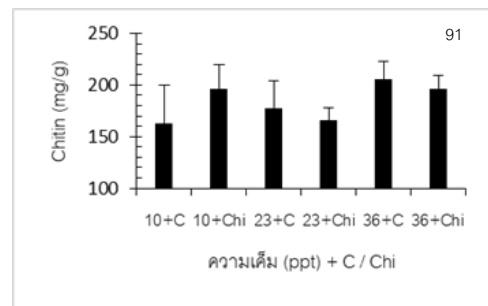
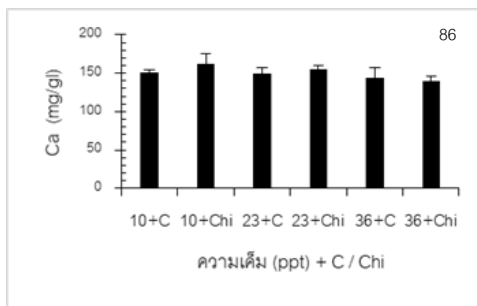
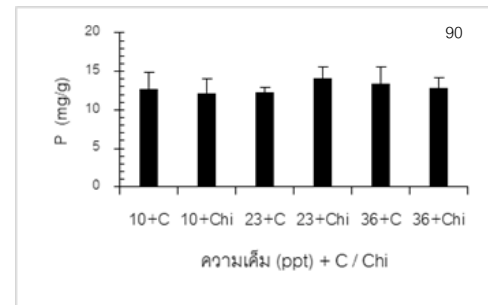
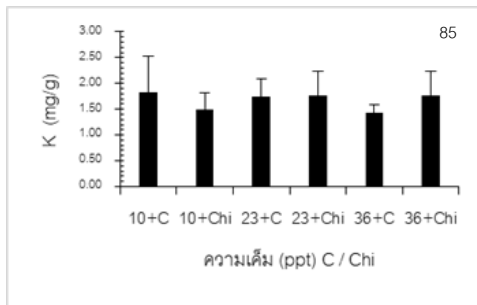
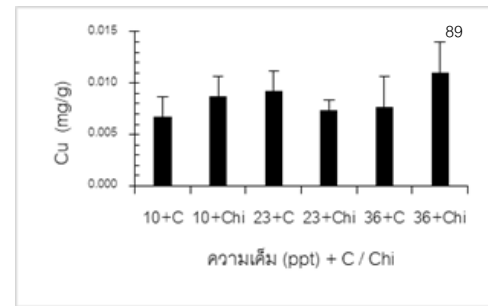
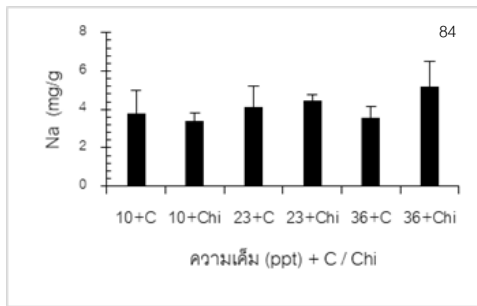
อิทธิพลร่วมของระดับความเค็มและการเสริมโคโตซานในอาหารไม่มีผลต่อปริมาณ Na (ภาพที่ 84) K (ภาพที่ 85) Ca (ภาพที่ 86) Mg (ภาพที่ 87) Cu (ภาพที่ 88) Mn (ภาพที่ 89) P (ภาพที่ 90) โคติน (ภาพที่ 91) และโคโตซาน (ภาพที่ 92) ในเปลือกไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$)



ภาพที่ 66-74 ผลของความเค็ม 3 ระดับต่อปริมาณ Na (ภาพที่ 66), K (ภาพที่ 67), Ca (ภาพที่ 68), Mg (ภาพที่ 69), Mn (ภาพที่ 70), Cu (ภาพที่ 71), P (ภาพที่ 72), Chitin (ภาพที่ 73) และ Chitosan (ภาพที่ 74) ในเปลือกกุ้ง อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันหมายถึงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 75-83 ผลของไคโตซานที่ 0 และ 0.2% ต่อ Na (ภาพที่ 75), K (ภาพที่ 76), Ca (ภาพที่ 77), Mg (ภาพที่ 78), Mn (ภาพที่ 79), Cu (ภาพที่ 80), P (ภาพที่ 81), Chitin (ภาพที่ 82) และ Chitosan (ภาพที่ 83) ในเปลือกกุ้ง อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันหมายถึงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 84-92 ผลของความเค็มร่วมกับไคโตซานต่อปริมาณ Na (ภาพที่ 84), K (ภาพที่ 85), Ca (ภาพที่ 86), Mg (ภาพที่ 87), Mn (ภาพที่ 88), Cu (ภาพที่ 89), P (ภาพที่ 90), Chitin (ภาพที่ 91) และ Chitosan (ภาพที่ 92) ในเปลือกกุ้ง อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันหมายถึงให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

อภิปรายผลการทดลอง

ผลของการเสริมโคโตซานและระดับความเค็มต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย อัตราแลกเปลี่ยน และความถี่ในการลอกคราบกุ้งขาว

ผลของความเค็ม

เมื่อพิจารณาในภาพรวมของการเจริญเติบโต อัตรารอดตายและอัตราแลกเปลี่ยนในการศึกษานี้ พบว่าความเค็ม 23 ppt เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาวที่สุด เนื่องจากเป็นความเค็มที่ร่างกายกุ้งขาวมีความสมดุลของน้ำและแร่ธาตุระหว่างร่างกายกับสิ่งแวดล้อมหรือเรียกว่า Iso-osmotic point (IOP) (บุญรัตน์ และกระสินธุ์, 2554) ขณะที่ความเค็มที่สูงหรือต่ำกว่า 23 ppt ทำให้กุ้งต้องสูญเสียพลังงานและสารอาหารในการรักษาสมดุลของและแร่ธาตุ ซึ่งส่งผลให้มีอัตราการเจริญเติบโตและอัตรารอดตายต่ำลงและมีอัตราแลกเปลี่ยนสูงขึ้น โดยการเลี้ยงกุ้งในน้ำที่มีความเค็มต่ำกว่าจุด IOP น่าจะมีผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตรารอดตายและอัตราแลกเปลี่ยนมากกว่าการเลี้ยงในน้ำที่มีความเค็มสูงกว่าจุดนี้ ซึ่งการทดลองนี้พบว่าการเลี้ยงกุ้งในน้ำที่มีความเค็ม 10 ppt ทำให้กุ้งขาวมีอัตราการเจริญเติบโตและอัตรารอดตายต่ำกว่าและมีอัตราแลกเปลี่ยนสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 36 ppt สอดคล้องกับการศึกษาของ Maicá et al. (2014) พบว่ากุ้งขาวระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 16 และ 4 ppt มีอัตราการเจริญเติบโตและอัตรารอดตายต่ำกว่าและมีอัตราแลกเปลี่ยนสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 32 ppt รวมทั้งมีผลการทดลองสอดคล้องกับการเลี้ยงกุ้งขาวระยะวัยรุ่นในน้ำที่มีความเค็ม 9, 18 และ 36 ppt (Decamp et al., 2003)

อัตราการตายที่ต่ำของกุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็มลดต่ำอาจเกิดจากภาวะความเค็มต่ำไปกระตุ้นการสร้างฮอร์โมนลอกคราบทำให้เกิดการลอกคราบเร็วขึ้น แม้ยังไม่มีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเค็มกับฮอร์โมนลอกคราบแต่การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าความเค็มที่ลดต่ำลงทำให้กุ้งมีความถี่ในการลอกคราบมากขึ้น เช่น ในกุ้งครุมา (Chen & Bian, 1994) กุ้งขาวจีนระยะวัยรุ่น (*L. chinensis*) (Mu et al., 2005) และกุ้งขาวแวนนาไมระยะวัยรุ่น (Su et al., 2010) ซึ่งการทดลองนี้ให้ผลในแนวทางเดียวกันคือกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 ppt มีความถี่ในการลอกคราบสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงที่น้ำที่มีความเค็ม 23 และ 36 ppt ซึ่งความถี่ในการลอกคราบที่มากขึ้นทำให้กุ้งหลังการลอกคราบและเปลือกยังไม่แข็งตัวถูกกินโดยกุ้งที่ไม่ลอกคราบมากขึ้นส่งผลให้อัตราการตายลดต่ำลง

สาเหตุที่ทำให้กุ้งขาวมีอัตราการรอดตายต่ำคือความเค็มที่ลดต่ำทำให้ปริมาณ Mg ในน้ำลดลง ซึ่ง บุญรัตน์ และกระสินธุ์ (2556) พบว่ากุ้งขาวระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 และ 20 ppt มีความถี่ในการลอกคราบมากขึ้นหากน้ำมีอัตราส่วน Mg:Ca ลดลง ดังนั้นความถี่ในการลอกคราบที่มากขึ้นและการขาดแคลน Mg ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของเปลือกทำให้กระบวนการสร้างเปลือกและการแข็งตัวของเปลือกผิดปกติไป ซึ่งในการทดลองนี้พบว่าการแข็งตัวของเปลือกหลังการลอกคราบของกุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 ppt ช้ากว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 23 และ 36 ppt และมีปริมาณ Mg ในเปลือกที่น้อยกว่า ดังนั้นการเพิ่มปริมาณ Mg ในน้ำอาจทางเลือกหนึ่งในการเพิ่มอัตราการรอดตายของการเลี้ยงกุ้งด้วยความเค็มต่ำ ทั้งนี้การศึกษาของ Roy et al. (2007) พบว่าอัตราการรอดตายของกุ้งขาววัยรุ่นเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมากหากน้ำมีปริมาณ Mg มากกว่า 10 มิลลิกรัม/ลิตร

ผลของการเสริมโคโตซานในอาหาร

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมโคโตซานอัตรา 0.2% ในอาหารกุ้งขาวระยะวัยรุ่นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายและความถี่การลอกคราบ แต่มีผลต่ออัตราแลกเปลี่ยนและระยะเวลาในการเสียน้ำจากการแช่น้ำจืด โดยการไม่เสริมโคโตซานในอาหารมีผลให้กุ้งมีอัตราเจริญเติบโต ความถี่ในการลอกคราบและปริมาณโคโตซานในเปลือกที่ไม่แตกต่างจากกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมโคโตซานอัตรา 0.2% แสดงให้เห็นว่ากุ้งน่าจะสามารถย่อยโคโตซานจากวัตถุดิบอื่นๆ และมีปริมาณเพียงพอต่อการเจริญเติบโต แต่การเสริมโคโตซานอัตรา 0.2% ในการศึกษาทำให้กุ้งมีอัตราแลกเปลี่ยนดีกว่าการไม่เสริม เป็นไปได้ว่าการเสริมโคโตซานอาจทำให้อาหารมีความคงตัวมากขึ้นกุ้งจะสามารถกินและใช้ประโยชน์อาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อเทียบกับอาหารที่ไม่เสริมโคโตซานที่ละลายน้ำได้เร็วกว่า ขณะที่การเลี้ยงกุ้งขาวระยะโพสลาวาในบ่อดินเป็นระยะเวลา 100 วัน พบว่าการเสริมโคโตซานอัตรา 0.02 และ 0.04% ทำให้กุ้งมีอัตราการเจริญเติบโต อัตราแลกเปลี่ยนและต้นทุนการผลิตกุ้งดีกว่าการไม่เสริม (วัชรอำพล, 2556) ผลการทดลองดังกล่าวนี้อาจเกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพการย่อยอาหารในลูกกุ้งวัยอ่อนที่ต่ำกว่ากุ้งระยะวัยรุ่นทำให้กุ้งได้รับโคโตซานจากการย่อยวัตถุดิบอาหารในปริมาณน้อย ดังนั้นเมื่อเสริมโคโตซานลงในอาหารทำให้ลูกกุ้งได้รับโคโตซานที่เพียงพอสำหรับกระบวนการการสร้างเปลือกส่งผลให้กุ้งเจริญเติบโตเป็นอย่างดี เช่นเดียวกับการทดลองของ ปิยะบุตร และคณะ (2544) ที่พบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดินและให้อาหารที่เสริมโคโตซานอัตรา 0.04% มีอัตราการเจริญเติบโต อัตราแลกเปลี่ยนและต้นทุนการผลิตกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมโคโตซาน

อิทธิพลร่วมของระดับความเค็มและการเสริมโคโตซานในอาหาร

เมื่อเปรียบเทียบผลของอิทธิพลร่วมของระดับความเค็มและการเสริมโคโตซานในอาหาร ในรูปแบบของวิธีการทดลองพบว่ากุ้งขาวระยะวัยรุ่นเจริญเติบโต อัตรารอดตายและอัตราแลกเนื้อที่ดี เมื่อเลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 23 ppt และการเสริมโคโตซานในอาหารอัตรา 0.2% รวมทั้งมีระยะเวลาก่อนการเสียชีวิตจากการแช่ในน้ำจืดนานที่สุด

ผลของการเสริมโคโตซานและระดับความเค็มต่อปริมาณแร่ธาตุและ โปรตีนในพลาสมา ปริมาณเม็ดเลือดรวม และการแข็งตัวของเลือดกุ้งขาว

ผลของความเค็ม

นอกจากผลกระทบของการใช้พลังงานในอัตราสูงเพื่อรักษาสมดุลน้ำและแร่ธาตุระหว่างร่างกายกับสิ่งแวดล้อมที่เป็นสาเหตุให้กุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็มต่ำกว่าจุด IOP เจริญเติบโตช้าลงและอัตราแลกเนื้อสูงขึ้นแล้ว การเลี้ยงในน้ำที่มีความเค็มต่ำอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้กุ้งต้องใช้กรดอะมิโนอิสระในปริมาณมากขึ้นเพื่อรักษาสมดุลความเป็นกรดต่างในเลือดและเซลล์ เนื่องจากกรดอะมิโนอิสระบางชนิดมีคุณสมบัติเป็นกรดหรือเป็นด่างที่ช่วยควบคุมความเป็นกรดต่างของเลือดและภายในเซลล์ (เวียง, 2542) ซึ่งความเป็นกรดต่างมีผลต่อการควบคุมปริมาณแร่ธาตุต่างๆ ของเลือดและภายในเซลล์ จากการศึกษาในกุ้งแช่บ๊วย (*Fenneropenaeus indicus*) พบว่าการลดความเค็มจาก 35 ppt ไปเป็นความเค็มที่ต่ำกว่า 25 ppt ทำให้ปริมาณกรดอะมิโนอิสระในเลือดเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงที่สุดที่ความเค็ม 0 ppt (Subramanian & Philip, 2012) แสดงให้เห็นว่ากุ้งต้องใช้กรดอะมิโนอิสระมากขึ้นเพื่อควบคุมสมดุลแร่ธาตุ ผลกระทบดังกล่าวอาจส่งผลให้มีการสร้างโปรตีนเพื่อการเจริญเติบโตในปริมาณที่ลดลง รวมทั้งหากเกิดภาวะขาดแคลนกรดอะมิโนอิสระ ร่างกายจำเป็นต้องสลายโปรตีนเพื่อเป็นแหล่งของกรดอะมิโนอิสระมากขึ้น ทำให้มีโปรตีนสำหรับการเจริญเติบโตน้อยลง ซึ่งในการทดลองนี้พบว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 ppt มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 23 และ 36 ppt

อัตราการรอดตายของกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 ppt อาจเกี่ยวข้องกับปัจจัยต่างๆ เช่น ผลกระทบของไนโตรเจนต่อกระบวนการต่างๆ ในร่างกาย โดยเมื่อน้ำมีความเค็มลดต่ำลงส่งผลให้น้ำมีปริมาณคลอไรด์ไอออน (Cl⁻) ลดต่ำลงไปด้วย ทำให้ร่างกายสูญเสียคลอไรด์ไอออน กุ้งจะต้องดึงคลอไรด์ไอออนเข้าสู่ร่างกายทำให้ไนโตรเจน (NO₂⁻) ในน้ำถูกดึงเข้ามาสะสมในร่างกายในปริมาณมากและไม่มีการกำจัดออก (Cheng & Chen, 2001) ไนโตรเจนที่สะสมมากขึ้นอาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการต่างๆ และส่งผลให้กุ้งเกิดความเครียด ร่างกายอ่อนแอและมีอัตราการตายมากขึ้น

ทั้งนี้การศึกษาของ นงนุช ตั้งเกริกโอฟาร์ และกฤษดา(2553) พบว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 ppt มีการสะสมไนโตรเจนในเลือดสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 20 ppt (ค่าใกล้เคียงจุด isosmotic point และ 30 ppt อย่างเห็นได้ชัด โดยการสะสมมีปริมาณสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นหรือเลี้ยงในน้ำที่มีค่าไนโตรเจนสูง

ส่วนของผลของความเค็มต่อการสะสมแร่ธาตุในเลือดกุ้งขาวของการศึกษานี้ พบว่าแม้ว่าปริมาณ Na, K, Ca, Mg, P, Cu และ Mn ในเลือดมีค่าใกล้เคียงกัน แต่แร่ธาตุเหล่านี้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเค็มในการเลี้ยงที่เพิ่มขึ้นจาก 23 เป็น 36 ppt เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองในกุ้งขาวของ สว่างพงษ์ และบุญรัตน์ (2551) ที่มีการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 20 เป็น 35 ppt พบว่าผลที่สอดคล้องกันคือ K, Mg ในเลือดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้น รวมทั้ง Mn มีค่าต่ำจนไม่สามารถวัดได้ ขณะที่ผลการทดลองที่ขัดแย้งกันคือปริมาณ Na และ Cu ในเลือดกุ้งของการทดลองนี้มีค่าลดลงเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณ Ca และ P มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งความแตกต่างนี้เกิดจากสภาพการทดลองที่ต่างกันซึ่งอาจมีผลต่อการรักษาสมดุลของน้ำและแร่ธาตุภายในร่างกายของกุ้ง โดยการทดลองของ สว่างพงษ์ และบุญรัตน์ (2551) เป็นการปรับความเค็มจากความเค็มเริ่มต้น 25 ppt ไปเป็นความเค็มที่ต้องการภายในระยะเวลา 4 วัน หลังจากนั้นเลี้ยงกุ้งต่ออีก 7 วัน โดยไม่ให้อาหารก่อนวัดค่า ขณะที่การศึกษานี้หลังจากปรับความเค็มแล้วทำเลี้ยงกุ้งต่อเป็นระยะเวลา 60 วัน และมีการให้อาหารกุ้ง ซึ่งนำทำให้กุ้งมีระยะเวลาในการปรับตัวที่นานขึ้นเพื่อให้เข้ากับสภาพความเค็มที่อาศัยอยู่รวมทั้งได้รับแร่ธาตุเหล่านี้จากอาหารอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้กลไกการรักษาสมดุลน้ำและแร่ธาตุภายในร่างกายของกุ้งมีความซับซ้อนและมีหลายปัจจัยที่มีผลกระทบ เช่น ระยะเวลาในการเลี้ยงและการให้อาหาร

ผลการศึกษานี้พบว่าปริมาณโปรตีนในเลือดกุ้งขาวเพิ่มขึ้นตามระดับความเค็มที่เพิ่มขึ้น โดยมีแนวโน้มเหมือนการทดลองของ Rosas et al. (2001) ที่พบว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 15 ppt มีปริมาณโปรตีนในเลือดต่ำกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 40 ppt ทั้งนี้เนื่องจากการให้อาหารกุ้งอย่างต่อเนื่องและมีระยะเวลาปรับตัวนาน 30 วัน ก่อนการเก็บตัวอย่างเลือด เช่นเดียวกับการทดลองนี้ที่ให้อาหารอย่างต่อเนื่องและระยะเวลาปรับตัวนาน 60 วัน แต่ผลการศึกษานี้ขัดแย้งกับการทดลองของ Saeed et al. (2015) ที่พบว่าโปรตีนในเลือดของกุ้งขาววัยรุ่นมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อลดความเค็มจาก 30 ppt เป็น 15 ppt และมีปริมาณลดลงหากเพิ่มความเค็มจาก 30 ppt ไปเป็น 45 ppt ซึ่งความแตกต่างนี้อาจเกิดกุ้งมีความเครียดเนื่องจากถูกรบกวนจากการเก็บเลือดกุ้งที่ระยะเวลา 1, 8, 21 และ 30 วัน ทำให้ส่งผลกระทบต่อการศึกษาของกุ้ง เช่นเดียวกับการทดลองในกุ้งแซบวัยที่การลดความเค็มจาก 35 ppt ไปเป็น

ความเค็มที่ต่ำกว่า 25 ppt ทำให้ปริมาณโปรตีนในเลือดเพิ่มขึ้นและมีค่ามากที่สุดที่ระดับความเค็ม 5 ppt (Subramanian & Philip, 2012) ซึ่งการทดลองดังกล่าวนี้ทำการเก็บตัวอย่างเลือดหลังการเลี้ยงเพียง 7 วัน

แม้ปริมาณเม็ดเลือดและการแข็งตัวของเลือดจะไม่สัมพันธ์กับความเค็มแต่ทั้งสองค่านี้มีแนวโน้มเหมือนกันคือมีค่าลดลงเมื่อความเค็มเพิ่มจาก 23 ppt เป็น 36 ppt และเมื่อความเค็มลดจาก 23 เหลือ 10 ppt โดยปริมาณเม็ดเลือดในการศึกษานี้มีแนวโน้มใกล้เคียงกับการทดลองในกุ้งขาวของ Saeed et al. (2015) ที่พบว่าปริมาณเม็ดเลือดของกุ้งลดลงเมื่อความเค็มเพิ่มจาก 30 ppt เป็น 45 ppt และเมื่อความเค็มลดจาก 30 เหลือ 15 ppt เช่นเดียวกันกับการศึกษาในกุ้งกุลาดำของ Joseph & Philip (2007) ที่พบว่าเมื่อความเค็มเพิ่มจาก 15 ppt เป็น 35 ppt และความเค็มลดจาก 15 ppt เหลือ 0 ppt ทำให้ปริมาณเม็ดเลือดลดลง ปรากฏการณ์ที่น่าจะเกี่ยวข้องกับปริมาณโปรตีนที่ถูกนำไปสร้างพลังงานหรือกรดอะมิโนอิสระเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็ม ทำให้มีโปรตีนสำหรับการสร้างเซลล์เม็ดเลือดน้อยลง นอกจากนี้ การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 36 ppt มีปริมาณโปรตีนในเลือดมากกว่าและระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดสั้นกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 23 ppt ทั้งนี้อาจเกิดจากกุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 36 ppt มีปริมาณไฟบริโนเจน (Fibrinogen) สูงกว่า และกุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 36 ppt มีปริมาณแคลเซียมในเลือดสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 23 ppt ซึ่งทั้งสองปัจจัยนี้ทำให้เลือดแข็งตัวในระยะเวลาที่สั้นกว่า เช่นเดียวกันกับกุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 10 ppt มีปริมาณแคลเซียมในเลือดสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 23 ppt ในขณะที่มีปริมาณโปรตีนในเลือดไม่แตกต่างกันมากนัก

ผลของการเสริมโคโตซานในอาหาร

จากผลการศึกษาอื่นๆ พบว่าการเสริมโคโตซานในอาหารไม่มีผลต่อปริมาณแร่ธาตุในเลือดและปริมาณเม็ดเลือด แต่มีผลต่อปริมาณโปรตีนในเลือดและระยะเวลาการแข็งตัวของเลือด โดยการเสริมโคโตซานในอาหารทำให้กุ้งขาวมีปริมาณโปรตีนในเลือดสูงขึ้นและมีระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดสั้นลง เป็นไปได้ว่าการเสริมโคโตซานทำให้ปริมาณไฟบริโนเจนสูงขึ้น ซึ่งโปรตีนชนิดนี้เป็นโปรตีนสังเคราะห์ที่จับกับ ชนิดไกลโคโปรตีน จากการศึกษาเปปไทด์ (Peptide) ในไฟบริโนเจนพบว่ามีส่วนประกอบของกลูโคซามีนด้วย (Mester et al., 1965) ดังนั้นการเสริมโคโตซานในอาหารทำให้กุ้งได้รับกลูโคซามีนเพิ่มขึ้นและอาจนำไปสร้างไฟบริโนเจนได้ปริมาณมากและส่งผลให้ระยะเวลาในการแข็งตัวของเลือดสั้นลง ซึ่งเมื่อเกิดบาดแผลขึ้นกุ้งจะเริ่มป้องกันการเสียเลือดจากการเกิดบาดแผล โดยเม็ดเลือดชนิดไฮยาลินเซลล์ (Hyaline cell) ประกอบด้วย กรานูล (Granule)

ภายในซึ่งมีสารเคมีทำหน้าที่เปลี่ยนแปลง coagulogen ที่เป็นสารให้เลือดจับตัวเป็นก้อน หากเลือดไม่แข็งตัววงซึ่งได้เกิดจากเม็ดเลือดไฮยาไลน์เซลล์ผิดปกติจากการติดเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้มีปริมาณเม็ดเลือดลดลงจำนวนลง (วัชรียา นกุล, 2549)

ขณะที่การศึกษาของ Niu et al. (2013) พบว่าการเสริมโคโคซานในอาหารอัตรา 0.05-0.4% มีผลให้ระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดจะลดลงตามอัตราการเสริม ทั้งๆ ที่ปริมาณโปรตีนในเลือดลดลง ขณะเดียวกันปริมาณเม็ดเลือดแดงของกึ่งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมโคโคซานมีค่าสูงกว่าการไม่เสริม ทั้งนี้ระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดที่สั้นลงอาจมีผลจากปริมาณเม็ดเลือดที่เพิ่มขึ้น เพราะกระบวนการแข็งตัวของเลือดเกิดจากการทำงานร่วมกันของเม็ดเลือดและไฟบริโนเจน โดยเม็ดเลือดเป็นตัวกระตุ้นให้ไฟบริโนเจนกลายเป็นไฟบริน (Fibrin) ที่ช่วยในการแข็งตัวของเลือด (Hall et al., 1999 cited in Maningas et al., 2008) ทั้งนี้ผลการศึกษาและการทดลองของ Niu et al. (2013) แสดงให้เห็นได้ว่าการเสริมโคโคซานมีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดและโปรตีนในเลือดของกึ่งกุลาดำและกึ่งขาวในรูปแบบแตกต่างกัน ขณะที่การเสริมโคโคซานในอาหารทำให้กึ่งสะสมแร่ธาตุ โคโคซานและโคโคซานในเปลือกไม้แตกต่างจากการไม่เสริม แสดงให้เห็นว่ากึ่งได้รับโคโคซานจากอาหารเพียงพอสำหรับการสร้างเปลือก และการเสริมโคโคซานไม่ได้ช่วยเสริมให้มีการสะสมของแร่ธาตุเพิ่มขึ้น

อิทธิพลร่วมของระดับความเค็มและการเสริมโคโคซานในอาหาร

จากการศึกษาพบว่ามอิทธิพลร่วมของระดับความเค็มและการเสริมโคโคซานในอาหารต่อระยะเวลาก่อนการเสียชีวิตจากการแช่ในน้ำจืด ปริมาณโปรตีนในเลือดและปริมาณเม็ดเลือด ซึ่งมีแนวโน้มได้รับอิทธิพลหลักจากผลของระดับความเค็มที่มีผลต่อค่าทั้งสอง ($p < 0.05$)

ผลของการเสริมโคโคซานและระดับความเค็มต่อปริมาณแร่ธาตุ โคโคซานและโคโคซานในเปลือกกึ่งขาว

ผลของความเค็ม

เมื่อพิจารณาผลกระทบของความเค็มต่อการสะสมแร่ธาตุในเปลือกกึ่งพบว่า Mg และ P ในเปลือกมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเค็มของน้ำลดลง ทั้งนี้เกิดจากเมื่อความเค็มน้ำลดลงทำให้ปริมาณแร่ธาตุเหล่านี้ลดลงไปด้วย ขณะที่ปริมาณ Ca ในเปลือกสูงขึ้นเมื่อความเค็มน้ำลดต่ำลง แสดงให้เห็นสัดส่วนของ Ca Mg และ P ในเปลือกมีค่าคงที่ เมื่อปริมาณ Mg และ P ลดต่ำลงส่งผลให้สัดส่วนของ Ca ในเปลือกสูงขึ้น นอกจากนี้ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการให้อาหารที่มี Mg

และP เป็นองค์ประกอบไม่ได้ทำให้มีสัดส่วนของแร่ธาตุเหล่านี้ในเปลือกสูงขึ้น ขณะที่การทดลองของ Roy et al. (2009) พบว่าการเสริม Mg chelate ในอาหารอัตรา 0.15, 0.3 และ 0.6% เลี้ยงกุ้งขาวในน้ำที่มีความเค็ม 5 ppt ทำให้ปริมาณ Mg ในเลือดลดลงตามระดับการเสริมและปริมาณ Mg ในตัวกุ้งไม่แตกต่างกัน ดังนั้นอาจจำเป็นต้องเสริมแร่ธาตุเหล่านี้ในน้ำ ดังเช่นการทดลองเสริมแมกนีเซียมในน้ำของ Roy et al.(2007) นอกจากนี้ การลดความเค็มจาก 23 ppt เหลือ 10 ppt และเพิ่มการความเค็มจาก 23 ppt เป็น 36 ppt ของการศึกษานี้ทำให้ปริมาณโคตินและโคโตซานในเปลือกเพิ่มขึ้นและไม่สัมพันธ์กับปริมาณ Ca Mg และP ในเปลือก

ผลของการเสริมโคโตซานในอาหาร

ผลการศึกษาพบว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริม 0% และเสริมโคโตซาน 0.2% มีปริมาณ Na, K, Mg, Ca, Mn, Cu, P และ โคตินและโคโตซานในเปลือกไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$)

อิทธิพลร่วมของระดับความเค็มและการเสริมโคโตซานในอาหาร

จากการศึกษาของอิทธิพลร่วมของระดับความเค็มและการเสริมโคโตซาน พบว่ามีแค่ส่วนของ Mg และP ในเปลือกสูงที่สุด ดังนั้นจึงเป็นยืนยันว่าความเค็ม 23 ppt เหมาะสมกับการเลี้ยงกุ้งขาวมากที่สุดรวมทั้งการเสริมโคโตซานในอาหารให้ผลดีกว่าการไม่เสริม อย่างไรก็ตามอาจจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับอัตราการเสริมโคโตซานที่เหมาะสมโดยอาจเพิ่มช่วงของการเสริมให้กว้างขึ้น เนื่องจากอัตราการเสริมโคโตซานในอาหารอัตรา 0.2% อาจจะน้อยหรือสูงเกินไปเพราะเป็นการทดสอบแค่อัตราเดียว รวมทั้งควรศึกษาในกุ้งขาวหลายช่วงอายุเพื่อให้ได้ข้อสรุปที่แน่ชัดสำหรับการใช้ประโยชน์โคโตซานให้เกิดประโยชน์มากที่สุดเนื่องจากโคโตซานมีราคาแพง และเมื่อได้อัตราการเสริมที่เหมาะสมสำหรับแต่ละช่วงอายุแล้วอาจมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการเสริมโคโตซานผ่านทางการใช้เปลือกกุ้งเนื่องจากมีราคาถูกและหาง่าย เป็นการใช้ประโยชน์เศษเหลือทิ้งจากธรรมชาติโดยผ่านกระบวนการทางเคมีน้อยที่สุด ซึ่งจากการศึกษานี้พบปริมาณโคโตซานในเปลือกมีค่าประมาณ 15% ของน้ำหนักเปลือก

ผลของการเสริมโคโตซานและระดับความเค็มต่อระยะเวลาต้านสลบและภูมิคุ้มกันในกุ้งขาว

ผลของความเค็ม

การศึกษาระยะเวลาในการเสียชีวิตของร่างกายกุ้งขาวจากการทดสอบในน้ำจืดพบว่ามี ความสัมพันธ์กับระดับความเค็ม โดยกุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็มต่ำจะมีระยะเวลาในการเสียชีวิตของร่างกายนานกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็มสูงขึ้น แม้ว่าไม่มีงานทดลองที่ใกล้เคียงกัน

แต่การทดลองของ Su et al. (2010) ซึ่งศึกษาผลของการลดความเค็มพบว่า การลดความเค็มในช่วงกว้างภายในระยะเวลาสั้นทำให้กุ้งใช้พลังงานในการหายใจและการลอกคราบมากขึ้น รวมทั้งมีอัตราการตายลดลง ทั้งนี้เกิดจากความแตกต่างของความเค็มของน้ำในช่วงกว้างทำให้เกิดภาวะ osmotic pressure shock ในกุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 23 และ 36 ppt เนื่องจากสภาวะออสโมซิสของกุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 23 และ 36 ppt ที่มีสภาพเป็น isotonic และ hypotonic pressure ได้กลายเป็นสภาพ hypertonic pressure อย่างรวดเร็วเมื่อแช่ในน้ำจืด ทำให้กุ้งต้องใช้พลังงานในอัตราสูงเพื่อปรับสมดุลของน้ำและแร่ธาตุ และเมื่อร่างกายมีพลังงานลดน้อยลงและน้ำมีปริมาณออกซิเจนน้อยซึ่งไม่เพียงพอต่อการสร้างพลังงาน ทำให้กุ้งเสี่ยงการทรงตัวภายในระยะเวลาที่สั้นกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 10 ppt ที่มีสภาพเป็น hypertonic pressure อยู่แล้ว ซึ่งใช้พลังงานในอัตราที่น้อยกว่าในการปรับสมดุล ทำให้กุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 10 ppt ทนต่อความเครียดในการแช่ในน้ำจืดได้ดีกว่า

ผลของการเสริมโคโตซานในอาหาร

การศึกษานี้ยังพบว่า การเสริมโคโตซานในอาหารอัตรา 0.2% ทำให้กุ้งขาวมีระยะเวลาก่อนการเสียชีวิตจากการแช่ในน้ำจืดสูงกว่าการไม่เสริมโคโตซาน ขณะที่ Niu et al. 2013 พบว่า กุ้งกุลาดำระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมโคโตซานอัตรา 0.4% ทนต่อความเครียดจากการขาดแคลนออกซิเจนได้ดีกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมโคโตซาน ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าการเสริมโคโตซานในอาหารทำให้กุ้งมีความแข็งแรงและทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงได้ดียิ่งขึ้น

อิทธิพลร่วมของระดับความเค็มและการเสริมโคโตซานในอาหาร

ขณะที่อิทธิพลร่วมของระดับความเค็มและเสริมโคโตซาน พบว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมโคโตซาน 0.2% ที่ความเค็ม 10 ppt และ 23 ppt มีระยะเวลาการต้านการสลบจาก Stress test นานกว่ากุ้งกลุ่มที่ให้อาหารปกติที่ไม่เสริมโคโตซาน และ กุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 36 ppt และให้อาหารเสริมโคโตซานพบจำนวนเม็ดเลือดสูงกว่าอาหารปกติที่ไม่เสริมโคโตซาน แต่ไม่มีผลในกุ้งทั้ง 2 กลุ่มที่เลี้ยงในความเค็ม 10 ppt และ 23 ppt ขณะที่การแข็งตัวของเลือดไม่แตกต่างกันของกุ้งทั้ง 2 กลุ่ม ที่เลี้ยงทั้ง 3 ระดับความเค็ม ก็พอจะชี้ได้ว่ากุ้งขาวเมื่อได้รับอาหารที่เสริมโคโตซานมีโอกาสเสริมสร้างภูมิคุ้มกันเมื่อพิจารณาจากจำนวนเม็ดเลือดแดง หากเลี้ยงกุ้งความเค็มต่ำกว่า 23 ppt

ผลผลิต

คาดว่าจะยื่นจดอนุสิทธิบัตรหรือตีพิมพ์ผลงานในวารสารระดับชาติหรือนานาชาติภายใน
เดือนธันวาคม พ.ศ. 2561

เอกสารอ้างอิง

- กิจการ ศุภมาตย์, จรีพร เรืองศรี, สุภภา ศิริรัฐนิคม และนเรศ ช้วนยุค. (2543). ระบบภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ: V. ผลของอุณหภูมิปริมาณออกซิเจนละลายน้ำและความเป็นกรด-ด่างของน้ำต่อระบบภูมิคุ้มกันโรคและองค์ประกอบเลือดในกุ้งกุลาดำ. *วารสารสงขลานครินทร์, ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี* 22 (ฉบับพิเศษ), 605-613.
- ดวงกมล มั่นประเสริฐ. (2541). *การเปรียบเทียบปริมาณโคโคแซนจากส่วนต่างๆของกุ้ง 7 ชนิด. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต, สาขาชีววาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.*
- ทิพย์ภาพร หล่อคำสิงห์คำ. (2554). *การประเมินประสิทธิภาพของสารไอโซยูจินอลเพื่อใช้เป็นยาชลบสำหรับกุ้งขาวแวนนาไม Litopenaeus vannamei* วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์การประมง, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นนุช ตั้งเกริกโอฟาร์. (2550). *ชีววิทยาของครัสเตเชียน. (พิมพ์ครั้งที่ 2).* กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พรีนติ้ง เฮาส์.
- นนุช ตั้งเกริกโอฟาร์ และ กฤษดา ทองเทียม. (2553). ผลของความเค็มและไนโตรเจนต่อค่าออกซิโมลาติตี้ของเลือด และการดูดซึมไนโตรเจนเข้าสู่กระแสเลือดของกุ้งขาวแวนนาไม. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา.* 15(2) : 20-28.
- บุญรัตน์ ประทุมชาติ, บัลลังก์ เนืองแสง และถนอมศักดิ์ บุญศักดิ์. (2546). *ผลของการเสริมเกลือแร่ในอาหารและการเปลี่ยนแปลงทางสรีระเคมีของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงระบบพัฒนา. ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.*
- บุญรัตน์ ประทุมชาติ, พิชาญ สว่างวงศ์ และจอร์จ มาซาโด. (2546). *ผลของความเค็มน้ำต่อชบวนการลอกคราบและการเปลี่ยนแปลงทางสรีระเคมีของปูทะเล (Scylla serrata).* ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- บุญรัตน์ ประทุมชาติ, อรสา สุริยาพันธุ์, กิตติยา อุปัทม์ และสว่างวงศ์ สมมาตร. (2550). *กระบวนการสะสมแร่ธาตุของกุ้งขาว (Litopenaeus vannamei) และการประยุกต์การเสริมแร่ธาตุในระบบอนุบาลและการเลี้ยงในเชิงพาณิชย์. ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.*

- บุญรัตน์ ประทุมชาติ และกระสินธุ์ หังสพฤกษ์. (2554). ผลของการเสริมธาตุทองแดงในรูปคีเลตในอาหาร ต่อการเจริญเติบโต การรอดตาย อัตราการแลกเนื้อ และการเปลี่ยนแปลงสีระเคมีของกุ้งขาวว้ายรุ่น (*Litopenaeus vannamei*). ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- บุญรัตน์ ประทุมชาติ และกระสินธุ์ หังสพฤกษ์. (2556). ผลของการเปลี่ยนแปลงความเค็มอย่างเฉียบพลันต่อการรอดตาย พฤติกรรมการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และสีระเคมีของกุ้งขาวว้ายรุ่น (*Litopenaeus vannamei*). ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- บุญรัตน์ ประทุมชาติ., กระสินธุ์ หังสพฤกษ์. (2556). การบริโภคแมกนีเซียมและแคลเซียมในน้ำ และผลของสัดส่วนแมกนีเซียมและแคลเซียมต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอด และระยะเวลาลอกคราบของกุ้งขาวว้ายรุ่น (*Litopenaeus vannamei*) ที่ความเค็ม 3 ระดับ. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- บริษัทโบนาฟิเดส มาร์เก็ตติ้ง จำกัด. ข้อมูลโคโตซานกับสัตว์น้ำ. เข้าถึงได้จาก http://bonafidesmarketing.com/wizContent.asp?wizConID=71&txtMenu_ID=7.
- ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธ์, นบชนก ธนพงศธร และสุวลี จันทร์กระจ่าง. (2544). การใช้โคตินโคโตซานเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในกุ้งกุลาดำ. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ “ครั้งที่ 39” (หน้า 30-37). สาขาประมง สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มนต์สรวง ยางทอง. (2549). ผลของโคโตซานที่ใช้เคลือบเมล็ดอาหารที่เสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสต่อการเจริญเติบโตของปลานิลแปลงเพศ. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง, 14 (1), 34-48.
- เยาวภา ไหวพริบ. (2547). สหสัมพันธ์ระหว่างสมบัติทางเคมีกายภาพและสมบัติการใช้งานของโคโตซานที่ผลิตได้จากเปลือกกุ้ง. รายงานฉบับสมบูรณ์ทุนอุดหนุนการวิจัย, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- วัชรวิภา ภูริวิโรจน์กุล. (2547). ระบบภูมิคุ้มกันของโรคกุ้ง. ใน. การฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การวินิจฉัยและการป้องกันโรคสัตว์น้ำ/ กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 46-64.
- ลีลา เรืองแป้น. (2547). ความรู้เรื่องการเพาะเลี้ยงและธรรมชาติของกุ้งทะเล. วารสารสัตว์น้ำ, 14 (162), 31-34.

- วีณา ตุงซีพ. (2549). ระยะเวลาการลดอุณหภูมิน้ำที่เหมาะสมในการสลบกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ขนาดตลาดเพื่อการลำเลียงให้มีชีวิตที่อุณหภูมิต่ำ. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต, สาขาวิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- วัชรอำพล สีระคาม. (2556). ผลของการเสริมโคโคซานในอาหารเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อดิน. วิทยานิพนธ์เกษตรศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเกษตรศาสตร์และสหกรณ์, มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.
- เวียง เชื้อโพธิ์ทัก. (2542). โภชนศาสตร์สัตว์น้ำและการให้อาหารสัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 255 หน้า.
- ศุภย์พัฒนาเทคโนโลยีอาหารสัตว์น้ำฝ่ายสนับสนุนวิชาการ คณะประมง. (2554). คู่มือการสร้างสูตรอาหารสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สว่างพงษ์ สมมาตร. (2552). ผลของความเค็มน้ำต่อสรีรเคมีและการเสริมแร่ธาตุบางชนิดในระบบการเลี้ยงกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) เชียงพาณิชย์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาวาริชศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สุวบุญ จิระกาญจน์, รักรอง ยกถ่าน และโกสุม สมัครรัตน์. (2544). ไคตินและโคโคซานจากวัตุดิบธรรมชาติสู่การประยุกต์ใช้. ใน การประชุมเชิงปฏิบัติการ. (หน้า 1-13). กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุทธิพันธ์ สารสมบัติ, วิบูลย์ศรี พิมลพันธุ์, นภทร บานชื่น, ทศนีย์ สุโกศล, ธารารักษ์ ธารากุล, ศันสนีย์ เสนะวงษ์ และสิริฤกษ์ ทรงศิริวิไล. (2537). อิมมูโนวิทยา (พิมพ์ครั้งที่ 4). กรุงเทพฯ: เค.พี.พรินติ้ง จำกัด.
- สิริรัตน์ จงฤทธิพร, พรรณทิพย์ สุวรรณสาครกุล, ปวเรศวร์ อินทุเศรษฐ และรัตดาวัลย์ บุญแต่ง. (2552). คุณสมบัติของโคโคซานที่สกัดได้จากเปลือกกุ้งขาว. วารสารการประมง. ปีที่ 62 ฉบับที่ 6 เดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม 2552.
- สาวิกา กัลปพฤกษ์, ผกายวรรณ กีกักอง และสิทธิ กุหลาบทอง. (2556). โคโคซานในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. วารสารวิชาการ Veridian e-Journal, Silpakorn University, 6(2), 984-993.

สุมาลัย ศรีกำไลทอง, ปาริชาติ หลายชูไทย, เหวดี นาคดี, พรศ วิจารย์รัฐพันธ์ และ ณรงค์เดช
 อารษา.(2540). การใช้ประโยชน์โพลีแซคคาไรด์จากของเหลือทิ้งผลิตภัณฑ์ทะเล. รายงาน
 ฉบับที่ 1 ปัจจัยของการผลิตที่มีผลต่อคุณสมบัติของไคโตซาน. เอกสารวิชาการฉบับที่ ก-
 39-01(หน้า 12). สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

สุธีวัฒน์ สมสืบ, พิสมัย สมสืบ, มะลิ บุญยรัตน์ผลิน และ อมรรัตน์ เสริมวัฒนากุล. (ม.ป.ป.). การ
 ทดสอบปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อกุ้งกุลาดำ. โครงการคลังความรู้ดิจิทัล.
 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2005). *Official Methods of Analysis*
 (18th ed.). Washington, DC: American Public Association.

Bachère, E., D. Destoumieux., & P. Bulet. (2000). Penaeidins, antimicrobial peptide of
 shrimp: a comparison with other effect of innate immunity. *Aquaculture*, 191, 71-88.

Boyd, C.E., Thunjai, T., & Boonyaratpalin, M. (2002), Dissolved Salts in Water for Inland,
 Low-Salinity Shrimp Culture. *Global Aquaculture Advocate*, 5, 40-45.

Bradford, M., (1976). Bio-Rad Protein Assay. *Analyse Biochemistry*, 72, 248.

Burton, R.F., (1995). Cation balance in crustacean haemolymph: relationship to cell
 membrane potentials and membrane surface charge. *Comparative
 Biochemistry and physiology part A*, 111, 125-131.

Chandrkrachang, S. (2002). The applications of chitin and chitosan in agriculture in
 Thailand. *Advances in Chitin Science*, 5, 458-462.

Chen, J.C., & Cheng S.Y.. (1993). Studies on hemocyanin and haemolymph protein
 levels of *Penaeus japonicas* based on sex, size and moulting cycle.
Comparative Biochemistry and Physiology, 106, 293-296

Chien, Y.H., Pan, C.H., & Hunter, B. (2003). The resistance to physical stresses by
Penaeus monodon juveniles fed diets supplemented with astaxanthin.
Aquaculture, 216, 117-191.

Chen, J.& Bian P.J. (1994). An influence of the low salinity upon tiger shrimp
Penaeus japonicus. *Journal of Zhejiang College Fishery* 13(4): 189-192

- Cheng, S.Y., & Chen, J.C., (2001). Joint action of elevated ambient and nitrite on hemolymph nitrogenous compounds and nitrogen excretion of tiger shrimp *Penaeus monodon*, *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C, 131:303-314.
- Davis, D.A., Samocha, T.M., & Boyd, C.E. (2004). Acclimating Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* to inland low salinity water. *Southern Regional Aquaculture Center*, Publication, No. 2601.
- Decamp, O., Cody, J., Conquest, L., Delanoy, G. & Tacon, A. G. J. (2003). Effect of salinity on natural community and production of *Litopenaeus vannamei* (Boone) within experimental zero-water exchange culture systems. *Aquaculture Research* 34:345-355.
- Flach, J., Pilet, P.E. & Jolles P.. (1992). What's new in chitinase research. *Experientia* 48 (8), 701-716.
- Gavhane Yogeshkumar N., Gurav Atul S., & Yadav Adhikrao V. (2013). Chitosan and Its Applications: A Review of Literature, 4 (1), 312-331.
- Gopalakannan A., & Arul V. (2006). Immunomodulatory effect of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophilia* infection in ponds. *Aquaculture*, 255, 179-187.
- Joseph, A. & Philip, R. (2007). Acute salinity stress alters the haemolymph metabolic profile of *Penaeus monodon* and reduces immunocompetence to white spot syndrome virus infection. *Aquaculture* 272: 87-97.
- Kawabata, S.-I., Muta, T., & Iwanaga, S. (1996). The clotting cascade and defense molecules found in the hemolymph of the horseshoe crab. In Soderhall, K., Iwanaga, S., Vasta, G.R. (Eds.), *Invertebrate Immunology* (pp. 255-283). Fair Haven: Sound on Sound Publications
- Kumar. P., Sahu. N. P., Saharan. N., Reddy.K.A., & Kumar. S. (2011a). Effects of dietary source and chitin on growth and survival of post-larvae *Marcrobrachium rosenbergii*. *Fish Nutrition and Biochemistry*, 363-368.

- Lall, S.P. (2002). The Minerals. In Halver, J.E., & Hard, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition* (3rd ed.) (pp. 231). New York: Academic Press.
- Lin, J., Hu, B., Chen, A., Huang, F., Tang, Y. & Li Yu-zeng. (2008). Effects of rare earth-chitosan chelate on performance of aquatic pellets. *Journal of Hydroecology* 5
- Lee, M.S., & Shiau, S.Y. (2002). Dietary copper requirement of juvenile grass shrimp *Penaeus monodon* and effects on non-specific immune responses. *Fish & Shellfish Immunology*, 13(4), 259-270.
- Maicá, P. F., Borba, M. R. D., Martins, T. G., & Junior, W. W. (2014). Effect of salinity on performance and body composition of Pacific white shrimp juveniles reared in a super-intensive system. *Revista Brasileira de Zootecnia R. Bras. Zootec.*, 43(7):343-350.
- Martínez-Córdova. L. R., & E.Pena-Messina. (2005). Biotic communities and feeding habits of *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) and *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson 1974) in monoculture and polyculture semi-intensive ponds. *Aquaculture Research*. 36 (11), 1075.
- Mary, B., Bacano M., Hidehiro, K., Ikuo, H., Tatsuo, S-T., & Takashi, A. (2008). Essential function of transglutaminase and clotting protein in shrimp immunity. *Sciencedirect in Molecular Immunology*, 45, 1269-1275.
- Mast, W.J., Keyser, P., Sritunyalucksana and Soderhall, K. (2000). Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture*. 191: 45-52
- Mu, Y. C., F. Wang, and S. L. Dong. (2005). The effects of salinity fluctuation in different ranges on the intermolt period and growth of juvenile *Fenneropenaeus chinensis*. *Acta Oceanologica Sinica* 24(3): 141-147.
- Mester L., Moczar E., Vass G., & Szabados L. (1965). Structure and role of the glucide fractions of fibrinogen. *Pathological Biology* 13:540
- Niu, J., Li, C.H., Tian, L.X., Liu, Y.J., Chen, X., Wu, K.C., Jun, W., Huang, Z., Wang, J., Huang Z., Wang, Y., & Lin, H.Z. (2013a). Suitable dietary chitosan improves the growth performance, survival and immune function of tiger shrimp, *Penaeus monodon* *Aquaculture Research* , 1-11.

- Niu, J., Lin, H.Z., Jiang, S.G., Chen, X., Wu, K.C., Liu, Y.J., Wang, S., & Tian, L.X. (2013b). Comparison of effects of chitin, chitosan, chitosan oligosaccharide and N-acetyl-D- glucosamine on growth performance, anti-oxidant defenses and oxidative stress status of *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 372-375.
- Niu, J., Liu, Y.J., Lin, H.Z., Mai, K.S., Yang, H.J., Liang, Y.G., & Tian, L.X. (2011). Effects of dietary chitosan on growth, survival and stress tolerance of postlarval shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 17, 406-412.
- Pratoomchat, B., Sawangwong, P., Guedes, R., Reis, M. D. L., & Machado, J. (2002a). Cuticle Ultrastructure changes in the crab *Scylla serrata* over the molt cycle. *Journal of Experimental Zoology*, 293(4), 414-426.
- Pratoomchat, B., Sawangwong, P., Pakkong, P., & Machado, J. (2002b). Organic and inorganic variations in haemolymph, epidermal tissue and cuticle over the molt cycle in *Scylla serrata* (Decapoda). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 131, 243-255.
- Ratcliffe, N.A., A.F. Rowley, S.W. Fitzgerald., & C.P. Rhode. (1985). Invertebrate immunity, basic concepts and recent advances. *International Review Cytology*, 97, 183-350.
- Rinaudo M. (2006). Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31. 603-632.
- Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Priol, Y. L., Pascual, C., Rossignol, J., Contreras, F., Sanchez, A., & Wormhoudt, A. V. (2001). Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 259. 1–22.
- Roy, L.A., Davis, D.A., Saoud, I. P., & Raymond P. H. (2007). Effects of varying levels of aqueous potassium and magnesium on survival, growth, and respiration of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in low salinity waters. *Aquaculture* 262(2-4): 461-469.
- Roy, L.A., Davis, D.A., & Nguyen, T.N. (2015). Waters of west alabama. *Journal of the world Aquaculture society* 40(2): 248-254.

- Saeed, K., Sima, A.S., & Babak, G. (2015). The survey effect of salinity stress on blood parameters of young *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*; 3(5): 358-363.
- Shahidi, F., J. K. V. Arachchi., & Jeon Y-J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. trends in food. *Sciences & Technology*, 10, 37-51.
- Shiau, S.Y., & Yu Y.P. (1998). Chitin but not Chitosan supplementation enhances growth of grass shrimp, *Penaeus monodon*. *Nutritional Sciences*, 908-912.
- Smith, V.J., Brown, J.H., & Houton, C. (2003). Immunostimulation in crustacean: does it really protect against infection. *Fish and Shellfish Immunology*, 15, 71-90.
- Subramanian, S. & Philip, R. (2012). Salinity induced haematological inflection in indian white shrimp, *Fenneropenaeus indicus* (H. Milne-Edwards, 1837) *Asian Fisheries Science* 25 (2012):170-179.
- Su, Y., Ma, S., & Feng, C. (2010). Effects of salinity fluctuation on the growth and energy budget of juvenile *Litopenaeus vannamei* at different temperatures. *Journal of Crustacean Biology*, 30(3): 430-434, 2010
- Toan, N. V. (2001). Effect of Improper storage of shrimp shell material on the quality of chitin and chitosan. *Biop. Tech. Fac. Asian Institute of Technology*. 66p.
- Vijayan, K.K., & Diwan, A. D. (1996). Fluctuations in Ca, Mg and P levels in the hemolymph, muscle, midgut gland and exoskeleton during the molt cycle of the Indian White Prawn *Penaeus indicus* (Decapods; Penaeidae) *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 114 (1), 91-97.
- Warner, G.F. (1977). *The biology of crabs*. Paul Elek (Scientific Books) Ltd., Great Britain. 201 pp.
- Wang S.H. & Chen J.C. (2005). The protective effect of chitin and chitosan against *Vibrio alginolyticus* in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology* 19, 191-204.
- Yew-Hu Chien., Chih-Hung Pan., & Hunter B. (2003). The resistance to physical stress by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin. *Aquaculture*, 216, 177-191.

Yu, Jianping. (1993). Hemocyte classification, density and percentage of the prawn

Penaeus japonicas. *Journal of Ocean-University Qingdao-Haiyang-Dao-xue-Xueda*, 23 (1), 107-114.

Zanotto, F.P., & Wheatly, M.G. (2003). Calcium balance in crustaceans: Nutritional

aspects of physiological regulation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*. 133, 645-660.

รายงานสรุปการเงิน

เลขที่โครงการระบบบริหารงานวิจัย (2560A10802192) สัญญาเลขที่ 73/2560

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ
พ.ศ. 2560 มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ ผลของการเสริมโคโตซานในอาหารกุ้งต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย การลอกคราบ และ
การสนองตอบต่อภูมิคุ้มกันกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ที่ความเค็มน้ำ 3 ระดับ

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญรัตน์ ประทุมชาติ

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2559 ถึงวันที่ 31 มีนาคม 2561

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี 6 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2559

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1 (50%) 364,500 บาท เมื่อวันที่ 20 มกราคม 2560

งวดที่ 2 (40%) 328,050 บาท เมื่อวันที่ -

งวดที่ 3 (10%) 36,450 บาท เมื่อวันที่ -

รวม 729,000 บาท

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/เกิน
1. ค่าตอบแทน	80,000	80,000	0
2. ค่าจ้าง	360,000	360,000	0
3. ค่าวัสดุ	289,000	290,050	-1,050
4. ค่าใช้สอย	0	0	0
5. ค่าครุภัณฑ์	0	0	0
6. ค่าใช้จ่ายอื่น ๆ ค่าสาธารณูปโภค เงินอุดหนุนสถาบัน	81,000	81,000	0
รวม	810,000	811,050	-1,050

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญรัตน์ ประทุมชาติ)

หัวหน้าโครงการวิจัย

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

(Executive Summary)

ข้าพเจ้า ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญรัตน์ ประทุมชาติ ได้รับทุนสนับสนุนโครงการวิจัยจากมหาวิทยาลัยบูรพา ประเภทงบประมาณเงินรายได้ จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) มหาวิทยาลัยบูรพา โครงการวิจัยเรื่อง (ภาษาไทย) ผลของการเสริมไคโตซานในอาหารกึ่งต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย การลอกคราบ และการสนองตอบต่อภูมิคุ้มกันกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ที่ความเค็มน้ำ 3 ระดับ (ภาษาอังกฤษ) Effect of dietary chitosan supplementation in pellet feed on growth performance, survival rate, molting and immune response of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) at 3 salinity levels รหัสโครงการ (2560A10802192) สัญญาเลขที่ 73/2560 ได้รับงบประมาณรวมทั้งสิ้น 810,000 บาท เป็นปีที่ 1 (1 ตุลาคม 2559 ถึง 31 มีนาคม 2561) ของระยะเวลาการดำเนินงาน 1 ปี 6 เดือน (1 ตุลาคม 2559 ถึง 31 มีนาคม 2561)

การเสริมไคโตซาน 0.2% ในอาหารที่เลี้ยงกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* ส่งผลให้กุ้งมีการเจริญเติบโตดีขึ้น FCR ต่ำลง เพิ่มการต้านความเครียดได้ดีขึ้น อย่างไรก็ตาม ความเค็มก็เป็นปัจจัยประกอบที่สำคัญ กุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำ (10 ppt) มีผลทำให้อัตราการรอดต่ำ FCR สูงกว่า กุ้งมีโอกาสลดลงทั้งการสร้างเปลือกและภูมิคุ้มกัน แต่การเสริมไคโตซาน 0.2% สามารถช่วยลดความเสี่ยงดังกล่าวได้จากการพิจารณาจากพารามิเตอร์บางประการที่ชี้วัด

Output/outcome

สามารถนำผลงานไปดำเนินการ 1 ใน 4 ประเด็น ดังต่อไปนี้

1. ตีพิมพ์ระดับนานาชาติอย่างน้อย 1 เรื่อง หรือ
2. นำผลงานจดทะเบียนอนุสิทธิบัตร 1 เรื่อง
3. ได้องค์ความรู้พื้นฐาน ความรู้และเทคโนโลยีใหม่ ในการพัฒนาการเรียนการสอนให้แก่นิสิต นักศึกษา ระดับปริญญาตรี โท และเอก ในวิชา Shrimp culture, Coastal Aquaculture, Crustacean Aquaculture และ Aquaculture
4. นำข้อมูลที่วิจัยได้มาถ่ายทอดสู่เกษตรกรเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในอาหารเพื่อเลี้ยงกุ้งขาวเชิงพาณิชย์ให้มีประสิทธิภาพและคุณภาพมากยิ่งขึ้น เสริมสร้างขีดความสามารถในการแข่งขันกับต่างประเทศ