ผลของอาหารเสริมฮอร์โมนซีโรโทนิน และโปรเจสเตอโรนต่อการพัฒนารังไข่ในแม่พันธุ์กุ้งขาว *Litopenaeus vannamei*

นายอนุตตร โพคะรัตน์ศิริ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2553
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF SUPPLEMENTARY DIET WITH SEROTONIN AND PROGESTERONE ON OVARIAN DEVELOPMENT IN WHITE SHRIMP *Litopenaeus vannamei*

Mr. Anuttara Pokharatsiri

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Marine Science

Department of Marine Science
Faculty of Science
Chulalongkorn University

Academic Year 2010

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของอาหารเสริมฮอร์โมนซีโรโทนิน และโปรเจสเตอโรนต่อการพัฒนารังไข่ในแม่พันธุ์กุ้งขาว *Litopenaeus vannamei*
โดย	นายอนุตตร โพคะรัตน์ศิริ
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์ทางทะเล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. เจริญ นิติธรรมยง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(อาจารย์ ดร. อรพร หมื่นพล)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อนุตตร โพคะรัตน์ศิริ : ผลของอาหารเสริมฮอร์โมนซีโรโทนิน และโปรเจสเตอโรนต่อการพัฒนารังไข่ในแม่พันธุ์กุ้งขาว *Litopenaeus vannamei*. (EFFECTS OF SUPPLEMENTARY DIET WITH SEROTONIN AND PROGESTERONE ON OVARIAN DEVELOPMENT IN WHITE SHRIMP *Litopenaeus vannamei*) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ. ดร. สมเกียรติ ปิยะธีระธิติวรกุล 47 หน้า.

ศึกษาผลของอาหารเสริมฮอร์โมนซีโรโทนินและโปรเจสเตอโรนต่อการพัฒนารังไข่ในกุ้งขาวโดยเปรียบเทียบการทดลองที่ให้อาหารสำเร็จรูปสำหรับเลี้ยงแม่พันธุ์สูตรต่างๆ ได้แก่ อาหารสำเร็จรูปปกติ อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนซีโรโทนิน อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนซีโรโทนินสลับกับอาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนอย่างละ 1 สัปดาห์ และอาหารสำเร็จรูปผสมเพรียงทรายผง อาหารแต่ละสูตรจะใช้กุ้งขาวอายุประมาณ 7 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 35.88±3.35 กรัม ความยาวประมาณ 14-16.5 ซมแบ่งเป็น 5 กลุ่มกลุ่มละ 8 ตัวเพื่อให้อาหารแต่ละสูตรเป็นเวลา 30 วัน ทำการชั่งน้ำหนักเพื่อหาค่าอัตราการเติบโตในแต่ละกลุ่มการทดลอง พบว่าอัตราการเติบโตที่ให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมีค่าสูงสุดคือ 7.59±3.64% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่นแล้วไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) หลังจากให้อาหารไป 30 วันแต่ละกลุ่มการทดลองจะแบ่งจำนวนกุ้ง 4 ตัวนำไปตัดก้านตา แล้วให้อาหารไปอีกเป็นเวลา 15 วัน ทำการชั่งน้ำหนักเพื่อหาค่าอัตราการเติบโต และทำการผ่าตัดนำรังไข่มาชั่งน้ำหนักเพื่อหาค่า gonadosomatic index พบว่าในกลุ่มที่ไม่ได้ตัดตาอัตราการเติบโตในกลุ่มที่ให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนซีโรโทนินสลับกับอาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนอย่างละ 1 สัปดาห์มีค่าสูงสุดคือ 7.02±1.33% มีความแตกต่างกันกับกลุ่มที่ให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและกลุ่มที่ให้อาหารสำเร็จรูปผสมเพรียงทราย ส่วนในกลุ่มที่ตัดตาค่าสูงที่สุดอยู่ในกลุ่มที่ให้อาหารสำเร็จรูปผสมเพรียงทรายปนคือ 3.89±2.59% แต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่า gonadosomatic index กลุ่มกุ้งที่ไม่ได้ตัดตาที่ให้อาหารสำเร็จรูปปกติ มีค่าสูงที่สุดคือ 1.827±0.670 % ส่วนกลุ่มกุ้งที่ตัดตาที่ให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนซีโรโทนินสลับกับอาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนอย่างละ 1 สัปดาห์มีค่าสูงสุดคือ 2.89±1.547% ค่า gonadosomatic index ในแต่ละกลุ่มการทดลองในส่วนที่ไม่ได้ตัดตาและส่วนที่ตัดตาไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญทางสถิติ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....วิทยาศาสตร์ทางทะเล.....ลายมือชื่อนิสิต.....อนุตตร โพคะรัตน์ศิริ.....

สาขาวิชา.....วิทยาศาสตร์ทางทะเล.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา.....2553.....

5072550023 : MAJOR MARINESCIENCE

KEYWORDS : OVARIAN DEVELOPMENT / PROGESTERONE / SEROTONIN / GONADOSOMATIC INDEX / *Litopenaeus vannamei* WHITE SHRIMP

ANUTTARA POKHARATSIRI: EFFECTS OF SUPPLEMENTARY DIET WITH SEROTONIN AND PROGESTERONE ON OVARIAN DEVELOPMENT IN WHITE SHRIMP *Litopenaeus vannamei*. ADVISOR : ASSOC. PROF. SOMKIAT PIYATIRATITIVORAKUL, Ph.D., 47 pp.

A study of ovarian development on hormonal effect was conducted with 5 formulated diets; control diet, progesterone mixed diet, serotonin mixed diet, serotonin mixed diet with progesterone mixed diet alternating weekly and dried sand worm mixed diet. Female white shrimp (weight 35.88±3.35 g) from a domestic farm were used for the experiment in a closed recirculating water system. Four replications were run in each treatment. The results showed that at 30 days of experiment, shrimp fed progesterone mixed diet gave the highest growth rate (7.59±3.64%) but not significant difference to other treatments. After feeding 30 days, half of shrimps in each treatment (n=4) were uniablated and fed for 15 days with the same diet to observe ovarian development using gonadosomatic index (GI). The results showed that in none-ablated groups serotonin mixed diet and progesterone mixed diet alternating weekly had the highest growth rate (7.02±1.33%) and significance different between progesterone mixed diet and dried sand worm mixed diet. Control diet gave the highest GI (1.827±0.670 %) but not significant difference to other treatments. In uniablated groups, dried sand worm mixed diet gave the highest growth rate (3.89±2.59%) but not significant difference to other treatments. Serotonin mixed diet with progesterone mixed diet switching weekly gave the highest GI (2.89±1.547%) but not significant difference to other treatments.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department : Marine science ..... Student's Signature .....

Field of Study : Marine science ..... Advisor's Signature .....

Academic Year : 2010 .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิตปริญญาโท ปีงบประมาณ พ.ศ. 2553

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. เจริญ นิติธรรมยง ประธานกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ กรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ และดร. อรพร หมื่นพล ที่ช่วยให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการทำข้อมูลวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ นางสาวชิดชนก รอดเรือง และ นางสาวชนัดดา เกษมโชติช่วง ที่ มีส่วนช่วยเหลือในการผลิตอาหารสำเร็จรูปให้แม่พันธุ์กุ้งขาว บุคลากรในสถาบันวิจัยสัตว์ทะเล จ.ชลบุรี และศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทุกท่านที่ให้การสนับสนุนที่พัก และอุปกรณ์อำนวยความสะดวกในการทำวิจัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ฌ

สารบัญภาพ..... ฎ

บทที่

1 บทนำ..... 1

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชีววิทยากุ้งขาว..... 3

2.2 อาหารและคุณค่าทางโภชนาการ..... 4

2.3 สภาพแวดล้อมในการเลี้ยง..... 5

2.4 ฮอร์โมน..... 6

2.5 ระยะการพัฒนารังไข่กุ้งขาว..... 8

3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สถานที่วิจัย..... 10

3.2 การเตรียมบ่อทดลอง..... 10

3.3 สัตว์ทดลอง..... 12

3.4 การเตรียมอาหารทดลอง..... 12

3.5 การออกแบบการทดลอง..... 17

3.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ..... 18

4 ผลการทดลอง..... 19

5 สรุปผลและวิจารณ์การทดลอง..... 24

ข้อเสนอแนะ..... 25

รายการอ้างอิง..... 23

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก..... 28

หน้า

ภาคผนวก ข..... 33
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 47

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	ส่วนประกอบของอาหารแม่พันธุ์กุ้งขาวแวนนาไม (basal diet).....	13
4.1	คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง…..... .	19
4.2	ประสิทธิภาพการกักเก็บฮอร์โมนโดยกระบวนการ chitosan/calcium-alginate microencapsulation.....	20
4.3	เปอร์เซ็นต์อัตราการเติบโตกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองชนิดต่างๆเป็นเวลา 30 วัน……	20
4.4	เปอร์เซ็นต์อัตราการเติบโตกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองชนิดต่างๆ ในช่วงเวลา 30-45 วัน.....	21
4.5	gonadosomatic ของกุ้งที่ตัดตาและไม่ตัดตาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองชนิดต่างๆ เป็นเวลา 45 วัน.....	22
4.6	คุณภาพน้ำทะเล.....	23

ภาคผนวก

1	น้ำหนักและความยาวลำตัวของกุ้งขาวเพศเมียก่อนการทดลอง.....	33
2.	น้ำหนักและความยาวลำตัวของกุ้งขาวเพศเมียหลังจากให้อาหารไปได้ 30 วันและแบ่งสุ่มตัดตากุ้ง.....	34
3	น้ำหนัก ความยาวลำตัว น้ำหนักรังไข่ และค่า gonadosomatic index (GI) ของกุ้งขาวเพศเมียเมื่อให้อาหารกุ้งขาวไปได้ 45 วัน.....	35
4	ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างอัตราการเติบโต ช่วงที่ให้อาหารเป็นเวลา 30 วันในอาหารแต่ละกลุ่มการทดลอง.....	36
5	ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างอัตราการเติบโต ช่วงที่ให้อาหารเป็นเวลา 30-45 วันในอาหารแต่ละกลุ่มการทดลอง.....	38
6	ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักกุ้งก่อนและให้อาหารเป็นเวลา 45 วันในแต่ละกลุ่มการทดลอง.....	39
7	ผลการวิเคราะห์ความแตกต่าง gonadosomatic index ในกุ้งที่ไม่ได้ตัดตาหลังจากให้อาหารเป็นเวลา 45 วันในแต่ละกลุ่มการทดลอง.....	42

ตารางที่ หน้า

8 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่าง gonadosomatic index ในกุ้งที่ตัดตาหลังจากให้อาหารเป็นเวลา 45 วันในแต่ละกลุ่มการทดลอง..... 43

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	**กุ้งขาวแวนนาไม ชื่อวิทยาศาสตร์** *Litopenaeus vannamei*.....	3
2.2	ระยะไข่เริ่มเจริญ early mature; vitellogenic stage.....	8
3.1	เรือนทดลองที่มีตาข่ายกั้นแสงรอบเรือน.....	11
3.2	บ่อไฟเบอร์ด้านนอกเรือนเลี้ยงเพื่อบำบัดน้ำ.....	11
3.3	ถังเก็บน้ำขนาด 1 ตันจะใช้ปั๊มน้ำสูบเข้าไปเก็บไว้ในถังแล้วปล่อยน้ำเข้าระบบ...	11
3.4	ระบบน้ำหมุนเวียนแบบปิดในบ่อทดลอง (ลูกศรแสดงถึงทิศทางน้ำที่ไหลไปตามท่อ).....	12
3.5	แผนผังการเตรียม microencapsulation ด้วยสารละลาย sodium alginate และ calcium chloride	15
4.1	รังไข่กุ้งขาวที่มีการพัฒนาระบบสืบพันธุ์เข้าสู่ระยะที่ 1.....	22
4.2	รังไข่กุ้งขาวที่มีการพัฒนาระบบสืบพันธุ์เข้าสู่ระยะที่ 2.....	23

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันผู้เลี้ยงกุ้งในประเทศไทยหันไปเลี้ยงกุ้งขาวมากขึ้นแทนการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เนื่องมาจากปัจจัยหลัก 3 อย่างคือ พันธุกรรม การจัดการในฟาร์ม และระบบการตลาด พ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในปัจจุบันยังไม่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ที่ดี ในขณะที่พ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวได้รับการพัฒนาด้านพันธุกรรมแล้ว มีอัตราเลี้ยงรอดในโรงเพาะฟักของกุ้งขาวสูงถึง 80-90% ทำให้ต้นทุนการผลิตลูกกุ้งต่ำกว่ากุ้งกุลาดำ นอกจากนี้กุ้งขาวสามารถเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ได้ในบ่อดิน ทนทานต่อสภาพการเลี้ยงแบบต่างๆ และยังให้ผลผลิตต่อพื้นที่มากกว่ากุ้งกุลาดำ ด้านการจัดการในฟาร์มพบว่าการเลี้ยงกุ้งกุลาดำไม่ค่อยได้ผลเนื่องจากผู้เลี้ยงมักปล่อยกุ้งในฟาร์มมากเกินไป ทำให้เกิดมลภาวะน้ำเน่าเสีย และมีโรคระบาดตามมาทำให้กุ้งอ่อนแอ ทางด้านระบบการตลาด กุ้งกุลาดำมีต้นทุนการเลี้ยงสูงกว่ากุ้งขาว ทำให้ราคากุ้งกุลาดำแพงกว่าประเทศอื่นที่เลี้ยงกุ้งกุลาดำได้ถูกกว่าเช่นเวียดนามและอินเดีย ทำให้ประเทศที่สนใจสั่งซื้อหันไปซื้อกุ้งกุลาดำจากประเทศอื่นมากกว่า นอกจากนี้การโฆษณาประชาสัมพันธ์ของกุ้งขาวมีสูงกว่ากุ้งกุลาดำ สามารถนำคุณลักษณะเด่นของกุ้งขาวได้ดีกว่า เช่น มีการจัดการที่ดี มีการพัฒนาสายพันธุ์ สามารถตรวจสอบได้ตลอดเวลา ทำให้เป็นที่สนใจของผู้ซื้อต่างประเทศ โดยทั่วไปอาหารที่ใช้เลี้ยงแม่พันธุ์ในการพัฒนารังไข่คือ เพรียงทรายเนื่องมาจากมีฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ เช่น โปรเจสเตอโรน โพรสตราแกลนดิน อีทู (prostaglandin E_2) (เอกชัย ดวงใจ, 2548) และ โพรสตราแกลนดิน เอฟทูแอลฟา (prostaglandin $F_2\alpha$) (Poltana, 2005) แต่เพรียงทรายนั้นต้องหามาจากธรรมชาติทำให้บางช่วงเวลาเกิดการขาดแคลน ทำให้เกิดแนวคิดว่าควรทำอาหารสำเร็จรูปที่มีฮอร์โมนผสมอยู่เพื่อช่วยการพัฒนาระบบสืบพันธุ์กุ้งขาวได้อยู่ตลอดช่วงเวลาที่ต้องการ มีข้อดีคือสามารถเก็บไว้ได้นานและสะดวกในการให้อาหารจึงทำให้ผู้วิจัยได้ออกแบบการทดลองโดยผลิตอาหารสำเร็จรูปที่ผสมฮอร์โมนซีโรโทนิน อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและอาหารสำเร็จรูปผสมเพรียงทราย เพื่อนำมาเปรียบเทียบว่าอาหารสำเร็จรูปชนิดใดมีความสามารถในการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ได้มากที่สุด และมีโภชนาการในการพัฒนาการเติบโตได้ดีที่สุด

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ศึกษาและเปรียบเทียบการพัฒนารังไข่ของแม่พันธุ์กุ้งขาวโดยใช้ฮอร์โมนซีโรโทนิน และโปรเจสเตอโรน ที่ผสมกับอาหารสำเร็จรูปแม่พันธุ์กุ้งขาว

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาอาหารเสริมฮอร์โมนที่มีผลต่อการพัฒนารังไข่แม่พันธุ์กุ้งขาว โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 5 กลุ่มการทดลอง คือ กลุ่มให้อาหารสำเร็จรูปปกติ กลุ่มให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน กลุ่มให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนซีโรโทนิน กลุ่มให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสลับกับอาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนซีโรโทนินทุกสัปดาห์ และกลุ่มให้อาหารสำเร็จรูปผสมเพรียงทราย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนที่เหมาะสมสำหรับแม่พันธุ์กุ้งขาวเพื่อเพิ่มการพัฒนารังไข่

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชีววิทยากุ้งขาว

กุ้งขาวมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Litopenaeus vannamei* จัดอยู่ในไฟลัมอาร์โทโพดา (Arthropoda) ไฟลัมย่อยครัสเตเซีย (Crustacea) ชั้นมาลาคอสตราคา (Malacostraca) อันดับเดคาโพดา (Decapoda) อันดับย่อยเดนโดรบรานคิอาตา (Dendrobranchiata) วงศ์พีเนียอิดี (Penaeidae) ลำตัวมี 8 ปล้องสีขาว ส่วนหัวมี 1 ปล้อง ปลายกรีแคบมีสีแดงอมน้ำตาล ขาเดินมีสีขาว 5 คู่เป็นลักษณะเด่นมีขาว่ายน้ำ 5 คู่ มีหนวดแดง 2 เส้น ปลายหางมีสีแดงเข้ม แพนหางมี 4 ใบและ 1 กรีหาง ขนาดตัวที่สมบูรณ์จะมีความยาวประมาณ 14-16 ซม. ในธรรมชาติอายุขัยจะมีประมาณ 36 เดือน เพศเมียมีอวัยวะเพศแบบเปิด (open thelycum) ลักษณะเป็นติ่งแบนเรียกว่าทีไลคัม (thelycum) อยู่ตรงกลางระหว่างขาว่ายน้ำคู่ที่ 1 กับขาเดินคู่ที่ 5 มีหน้าที่เก็บน้ำเชื้อของตัวผู้ พฤติกรรมการดำรงชีวิต มีความสามารถอาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงในช่วงกว้าง เช่นความเค็มตั้งแต่ 5-35 psu แต่ความเค็มที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีคือ 30-32 psu ส่วนอุณหภูมิที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีคือ 28-33 องศาเซลเซียส ระดับออกซิเจนที่ละลายน้ำควรมีค่าประมาณ 4-9 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรด -ด่างควรอยู่ระหว่าง 7.2-8.6 ค่าน้ำกระด้างที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 120-150 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ทั้งในบริเวณพื้นที่ชายฝั่ง หรือบริเวณพื้นที่ที่น้ำทะเลมีความเค็มต่ำ

รูปที่ 2.1 กุ้งขาวแวนนาไม ชื่อวิทยาศาสตร์ *Litopenaeus vannamei*

2.2 อาหารและคุณค่าทางโภชนาการ

กุ้งขาวต้องการอาหารเพื่อนำไปใช้เป็นพลังงานในการดำรงชีวิต สร้างเซลล์เนื้อเยื่อต่างๆ และพัฒนาระบบสืบพันธุ์ ถ้าให้สารอาหารที่เพียงพอ จะทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมในร่างกายดำเนินไปตามปกติ สารอาหารที่จำเป็นต่อกุ้งขาว ได้แก่ สารอาหารหลัก เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน สารอาหารรอง ได้แก่ วิตามิน แร่ธาตุ ฮอร์โมน เป็นต้น

โปรตีนมีความสำคัญต่อการเติบโต การแบ่งเซลล์สร้างอวัยวะต่างๆ สารพันธุกรรม ฮอร์โมนในช่วงที่กุ้งขาวมีการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ โปรตีนจะนำไปสร้างไข่แดง เปปไทด์ฮอร์โมน เซลล์สืบพันธุ์ (gametes) และอวัยวะสืบพันธุ์ (gonadal tissue) กุ้งขาวที่มีความสมบูรณ์เพศสูงจะมีปริมาณโปรตีนสะสมอยู่ในตับและรังไข่สูงกว่ากุ้งขาวที่มีความสมบูรณ์เพศต่ำ (Palacios *et al*., 2000)

ไขมัน เป็นสารอาหารที่ให้พลังงานสูง เป็นองค์ประกอบสำคัญในเนื้อเยื่อเซลล์ เป็นแหล่งพลังงานสำรองและเป็นสารตั้งต้นของฮอร์โมนประเภทคลอเรสเตอรอล เช่น ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progesterone) เอสตราไดออล (estradiol) เทสโทสเตอโรน (testosterone)

คาร์โบไฮเดรต เป็นสารอาหารที่นำไปใช้ได้ทันที และเก็บสะสมไว้ในรูปไกลโคเจน (glycogen) ที่บริเวณ hepatopancreas เพื่อเป็นพลังงานสำรอง

วิตามินและเกลือแร่ เป็นสิ่งจำเป็นต่อกุ้งขาว เกลือแร่เป็นสารอาหารที่ทำหน้าที่ควบคุมสมดุลในร่างกาย ควบคุมการทำงานระบบประสาท ระบบกล้ามเนื้อ ระบบลำเลียงสาร เกลือแร่ที่สำคัญ ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม แมงกานีส ทองแดง เหล็ก ส่วนวิตามินที่จำเป็น ได้แก่ วิตามิน เอ บีรวม ซี ดี เค อี กรด แพนโทธินิค ไนอาซีน ไบโอติน เป็นต้น ความต้องการเกลือแร่และวิตามินมีไม่มาก ถ้าขาดสารพวกนี้จะมีผลต่อการเติบโต การสืบพันธุ์และกระบวนการสร้างสมดุลในร่างกาย มีการทดลองเสริมวิตามินเอในอาหารเพื่อการเพิ่มประสิทธิภาพกุ้งกุลาดำให้มีการพัฒนารังไข่และปล่อยไข่ได้มากขึ้นกว่ากุ้งกุลาดำที่ไม่ได้เสริมวิตามินเอในอาหาร (Pangantihon-Kuhlmann *et al*., 1998)

อาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งขาวมีทั้งอาหารธรรมชาติและอาหารสำเร็จรูปที่เตรียมขึ้น โดยปกติอาหารธรรมชาติมาจากปลาสด หมึก กุ้งหรือสัตว์อื่นๆ ที่นำมาแช่แข็งแล้วทำการหั่นให้ละเอียดหรือบด อาจมีราคาถูกแต่จะเสียเวลาในการใช้แรงงานในการหั่นบด นอกจากนี้ยังมีปัญหาเกี่ยวกับความสมดุลทางโภชนาการ เมื่อมีการให้อาหารสดเป็นเวลานาน คุณค่าโภชนาการจะเปลี่ยนไป

ตามฤดูกาลและสูญเสียในช่วงเวลาที่แช่แข็ง อาหารธรรมชาติยังทำให้น้ำนั้นเน่าเสียอย่างรวดเร็ว เนื่องจากไม่มีแค่ส่วนประกอบของเนื้อเพียงอย่างเดียว ยังมีของเสียที่เป็นแอมโมเนีย เลือด แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในอาหารที่ตาย รวมไปถึงเศษอาหารที่สัตว์ตัวนั้นกินอยู่ บางครั้งอาจนำเชื้อโรคจากภายนอกเข้าสู่ระบบได้ หากอาหารธรรมชาตินั้นไม่ได้ทำความสะอาดอย่างเพียงพอก่อนนำไปให้กุ้งขาวกิน ทำให้มีการผลิตอาหารสำเร็จรูปที่จัดเตรียมขึ้นมาสำหรับสัตว์น้ำที่ต้องการเลี้ยงโดยเฉพาะ เพื่อเพิ่มคุณค่าโภชนาการ ผลผลิตกุ้งขาว และเพิ่มความสะดวกในการเลี้ยงในปริมาณมาก ปกติจะอยู่ในรูปอาหารผสมหรืออาหารแห้ง อาหารผสมจะมีวัตถุดิบอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการครบถ้วน มีลักษณะเป็นผง ความชื้นประมาณ 20-40% ซึ่งจะผ่านกรรมวิธีบด ฆ่าเชื้อโรคเสริมวิตามินรวม แร่ธาตุรวม และน้ำมันปลา ผสมรวมกันเป็นเนื้อเดียว ในส่วนของอาหารแห้งมีการใช้กันมากเนื่องจากการเก็บรักษาง่าย ปกติจะอัดเม็ดเพื่อให้คงรูปอยู่ในน้ำ โดยมีอาหารเม็ดแบบลอยและอาหารเม็ดแบบจม ใช้งานได้สะดวก มีคุณค่าโภชนาการที่สม่ำเสมอตลอดการเก็บรักษา มีความชื้นประมาณ 10% เพื่อป้องกันแบคทีเรียเจริญเติบโต

ปริมาณการให้อาหารมากเกินพอ (over feeding) เป็นวิธีการใช้กันโดยทั่วไปในฟาร์มเลี้ยงที่มีขนาดใหญ่ ข้อดีคือกุ้งที่เลี้ยงสามารถรับอาหารได้อย่างทั่วถึง แต่อาหารส่วนเกินจะทำให้คุณภาพเปลี่ยนแปลงและทำให้น้ำเสีย เมื่ออยู่ในน้ำสามารถเก็บออกได้ยาก ในการเลี้ยงแบบนี้ทำให้สิ้นเปลืองอาหารมากกว่าปกติ

การให้อาหารแบบให้จนอิ่ม (satiation feeding) ปริมาณการให้ขึ้นอยู่กับจำนวนอาหารที่กุ้งขาวกินเข้าไป มีข้อดีคือลดของเสียในระบบเลี้ยงที่เกิดจากอาหารส่วนเกิน ลดค่าใช้จ่ายในการให้อาหาร ข้อเสียคือต้องใช้การสังเกตพฤติกรรมบ่อยครั้งในการกินแต่ละมื้อเนื่องจากปริมาณอาหารที่ให้ในแต่ละช่วงเวลากุ้งกินได้ไม่เท่ากัน เนื่องมาจากสภาพของน้ำ แสง และอุณหภูมิแตกต่างกันในแต่ละเวลา วิธีการให้อาหารแบบนี้เหมาะสำหรับสัตว์กินเนื้อ จะทำให้สัตว์มีการย่อยและการเติบโตสูง

2.3 สภาพแวดล้อมในการเลี้ยง

เมื่อสภาพแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลง จะทำให้สิ่งมีชีวิตมีการเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย ทั้งพฤติกรรมการเคลื่อนที่ การปรับสมดุลในร่างกาย กระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) พัฒนาการของระบบสืบพันธุ์ ถ้าปรับสภาพแวดล้อมหรือควบคุมสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงกุ้งให้เหมาะสมกับบริเวณที่กุ้งนั้นพร้อมที่จะมีการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ได้ ก็จะทำให้การทดลองได้ผลตามต้องการ สภาพแวดล้อมส่วนใหญ่ที่มีอิทธิพลต่อการปรับตัวของกุ้งขาวได้แก่ ช่วง แสง ของ

กลางคืนและกลางวัน ความเค็ม อุณหภูมิ ความเป็นด่าง ปริมาณออกซิเจนละลาย เป็นต้น โดยปกติพฤติกรรมการผสมพันธุ์และการวางของกุ้งขาวในธรรมชาติจะอยู่ในน้ำทะเลลึกลงไปประมาณ 72 เมตร (กมลศิริ พันธนียะ , 2546) ซึ่งแสงส่องผ่านลงไปได้ น้อย ความเค็มมีผลต่อกระบวนการปรับสมดุลในร่างกาย ความเค็มที่เหมาะสมที่กุ้งขาวสามารถพัฒนาและตกไข่ได้อยู่ที่ประมาณ 30-32 psu (Ogle, 1992) อุณหภูมิมีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมและเอนไซม์ต่างๆ ในร่างกาย อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนารังไข่อยู่ในช่วง 28-32 องศาเซลเซียส (Aktas *et al*., 2003) ในการทดลองของผู้วิจัยจะมีการปรับสภาพเรือนเลี้ยงให้ มีแสงประมาณ 80% ในเวลากลางวันเพื่อเลียนแบบสภาพที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนารังไข่และวางไข่ และควบคุมคุณภาพน้ำให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมทั้งความเค็มและอุณหภูมิ

2.4 ฮอร์โมน

ฮอร์โมน (hormone) เป็นสารเคมีที่สร้างจากต่อมไร้ท่อ ทำหน้าที่ผลิต และควบคุมฮอร์โมน ฮอร์โมนจะหลั่งออกสู่ของเหลวที่อยู่บริเวณนอกเซลล์ (extracellular fluid) และขนส่งไปตามกระแสเลือดเพื่อออกฤทธิ์ควบคุมการทำงานที่อวัยวะเป้าหมาย (มนตรี จุฬาวัฒนทล และคณะ , 2542) ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ในครัสเตเซียนแบ่งเป็น 6 ประเภทคือ เปปไทด์ฮอร์โมน เอคไดสเตียรอยด์ เทอร์พีนอยด์ฮอร์โมน โพรสตราแกลนดิน ไบโอเจนิคเอมีน และเวอร์ทีเบรท ไทป์ สเตียรอยด์ฮอร์โมน

ฮอร์โมนซีโรโทนิน (serotonin, 5-hydroxytryptamine (5-HT)) จัดอยู่ในฮอร์โมนในกลุ่มไบโอเจนิคเอมีน อยู่ในรูปแบบการทำงานที่เป็น สารสื่อประสาท (neurotransmitter) ในครัสเตเซียน ฮอร์โมนนี้สังเคราะห์มาจาก X-organ บริเวณก้านตา มีการทดลองการใช้ฮอร์โมนซีโรโทนินในการกระตุ้นการเจริญรังไข่ในกลุ่ม decapods เช่น *Procambarus clarkia* (Kulkarni *et al*., 1992) กุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* (Wongprasert *et al*., 2006) และกุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii* (Meeratana *et al*., 2006) หน้าที่ฮอร์โมนซีโรโทนินจะไปกระตุ้นการหลั่งสารโกแนดสติมูเลติงฮอร์โมน (gonad-stimulating hormone, GSH) และไปยับยั้งการกระตุ้นการหลั่งสารโกแนดอินฮิบิติงฮอร์โมน (gonad-inhibiting hormone, GIH) ระดับฮอร์โมนซีโรโทนินจะพบมากในเนื้อเยื่อบริเวณ ออปติกแกงเกลียน (optic ganglion) ซีรีบรัลแกงเกลียน (cerebral ganglion) โซมาโตแกสตริกแกงเกลียน (somatogastic ganglion) และ โทราซิคแกงเกลีย (thoracic ganglia) (Aramant and Elofsson, 1976; Beltz *et al*.,1984) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อมีการให้ฮอร์โมนซีโรโทนินจะมีการเพิ่มความเข้มข้นของสาร vitellogenin ในกระแสเลือด hemolymph

ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน จัดอยู่ในฮอร์โมนกลุ่มเวอร์ทีเบรทไทป์ สเตียรอยด์ ฮอร์โมนสังเคราะห์จากคอเลสเตอรอล คอเลสเตอรอลจะเปลี่ยนเป็นฮอร์โมนกลุ่มนี้บริเวณรังไข่ ตับ และตับอ่อน (Shin and Liao, 1998) หน้าที่ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะไปกระตุ้นการแบ่งเซลล์ไข่ และมีการสะสมสารไวเทลลินเข้าสู่เซลล์ มีการทดลองวัดระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกุ้ง Indian spiny lobster พบว่าในช่วงระยะไข่ที่เริ่มพัฒนาสะสมสารไวเทลลิน (vitellin) ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะต่ำ และระดับจะสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อไข่สะสมสารไวเทลลินจนกระทั่งไข่สุก (Kirubagaran *et al*., 2005) ในกุ้งกุลาดำมีการทดลองบ่มเซลล์ไข่ด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนทำให้เซลล์ไข่มีการพัฒนาการสะสมไวเทลลิน (Meunpol *et al*., 2007)

โปรตีนจากไข่แดง (yolk protein) เป็นแหล่งอาหารที่สำคัญที่สุดในการพัฒนาเซลล์ไข่กุ้งและเอมบริโอ ปริมาณและคุณภาพไข่แดงมีผลต่อการอยู่รอดของตัวเอมบริโอที่กำลังพัฒนาไปเป็นลาวา (larvae) ไวเทลลิน (vitellin) เป็นโปรตีนไข่แดงที่อยู่ในเซลล์ไข่ ขณะที่มีกระบวนการสร้างไข่แดง (vitellogenesis) โดยที่รังไข่ (ovaries) เปลี่ยนแปลงสารจากไวเทลโลเจนิน (vitellogenin, Vg) ไปเป็นไวเทลลิน ไวเทลลินมีรูปร่างโมเลกุลประกอบไปด้วยสารลิโพไกลโคโปรตีนที่มีขนาดตั้งแต่ 200 ถึง 500 kDa (Meusy and Payen 1988; Chamiax-Cotton, 1985) มีไขมันถึง 30 เปอร์เซ็นต์รวมไปถึงสารแคโรทีนอยด์ที่ทำให้เซลล์ไข่ (oocytes) มีสีเฉพาะตัวในแต่ละสปีชีส์เช่น สีส้ม สีเหลือง หรือสีแดง (Quackenbush, 2001)

ในกุ้งจีนัส litopenaeus บริเวณรังไข่ (ovary) และนอกรังไข่ (extraovarian) เช่น เฮปาโทแพนเครียส (hepatopancreas) เป็นส่วนที่ผลิตสาร ไวเทลลินและไวเทลโลเจนิน โดยพบว่ามี mRNA ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารไวเทลโลเจนินในบริเวณรังไข่และเฮปาโทแพนเครียสในกุ้ง *Litopenaeus japonica* (Tsutsui *et al*., 2000) *Litopenaeus semisulcatus* (Avarre *et al*., 2003) และกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* (Quackenbush, 1992) ในกุ้ง *Macrobranchium rosenbergii* พบ Vg mRNA ในบริเวณเฮปาโทแพนเครียสในขณะที่มีการพัฒนารังไข่ทั้งในกลุ่มที่ไม่ได้ตัดตาและกลุ่มที่มีการตัดตา (Yang *et al*., 2000; Jayasankar *et al*., 2002; Jasmani *et al*., 2004) ไวเทลโลเจนินยังเป็นโปรตีนจำเพาะในกุ้งเพศเมียที่พบได้ในกระแสเลือด hemolymph ขณะที่มีการพัฒนาการสร้างเซลล์ไข่ ได้มีการสันนิษฐานว่า สารไวเทลโลเจนินได้สังเคราะห์ในอวัยวะส่วน extraovarian แล้วหลั่งสารออกมายังบริเวณ hemolymph จากนั้นเซลล์ไข่ที่กำลังพัฒนานำสารไวเทลโลเจนินเข้าสู่เซลล์แล้วทำการเปลี่ยนสารไวเทลโลเจนินให้กลายเป็นไวเทลลิน (Lee and Chang, 1999; Jasmani *et al*., 2000; Okuno *et al*., 2002)

2.4 ระยะการพัฒนารังไข่กุ้งขาว

การพัฒนาของรังไข่กุ้งขาว ใช้หลักการจำแนกเดียวกันกับกุ้งกุลาดำ แบ่งออกเป็น 4 ระยะ (ชูศักดิ์ แสงธรรม, 2541) ดังนี้

1. ระยะไข่ยังไม่พัฒนา (immature; previtellogenic stage) เป็นระยะที่รังไข่มีลักษณะแบนใส มองจากเปลือกนอกหลังลำตัวจะไม่เห็น แต่เมื่อผ่าดูจะเห็นเป็นเนื้อเยื่อแถบยาวที่ไม่มีสี มองไม่เห็นฟองไข่จากภายใน

2. ระยะไข่เริ่มเจริญ (early mature; vitellogenic stage) เริ่มมองรังไข่จากเปลือกนอกหลังลำตัวเป็นแถบยาวมีขนาดใหญ่โดยเฉพาะส่วนหัวและส่วนกลางลำตัว เมื่อผ่าหลัง จะเห็นรังไข่เป็นสีน้ำตาลหรือเขียวปนเทา (รูปที่ 2.2)

รูปที่ 2.2 ระยะไข่เริ่มเจริญ (early mature; vitellogenic stage)

3. ระยะไข่เจริญเต็มที่ (mature; vitellogenic stage) เริ่มมองเห็นรังไข่จากเปลือกนอกหลังลำตัวชัดเจนขึ้นเป็นแถบยาวสีเข้มและหนา เนื่องจากรังไข่ขยายตัวมากขึ้นตั้นแต่ส่วนหัวจนถึงส่วนท้าย บริเวณส่วนท้องปล้องแรกเห็นรังไข่ขยายออกดูคล้ายรูปเพชร หรือผีเสื้อ (แผ่โค้งเป็นแฉกออกไปทางด้านข้าง) เมื่อผ่าหลัง จะเห็นรังไข่เป็นสีเขียวและภายในรังไข่มีกลุ่มไข่อยู่เต็ม

4. ระยะไข่สุก (ripe stage; oocytes with cortical rod) สังเกตไข่บริเวณด้านหลังลำตัวเป็นลำทึบ สีเขียวแก่เกือบดำ (บริเวณส่วนท้องปล้องที่ 1-2) ขยายเต็มช่องท้อง ส่วนหลังเห็นแผ่โค้งเป็นแฉกชัดเจนและระยะนี้พบว่ากุ้งพร้อมที่จะวางไข่

เมื่อกุ้งวางไข่หมด พบว่ารังไข่กุ้งจะแบนลีบ ดูภายนอกคล้ายรังไข่ระยะแรก เพียงแต่สีขุ่นเข้ม ถ้าไข่มีความสมบูรณ์แม่กุ้งจะวางไข่หมดในครั้งเดียว แต่ถ้าไข่ไม่สมบูรณ์แม่กุ้งจะวางไข่หลายครั้ง ระยะเวลาในการเจริญรังไข่ครบ 4 ระยะจะใช้เวลาประมาณ 7-9 วัน (วัลลภ คงเพิ่มพูน, 2534; Peixoto *et al*., 2005)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สถานที่วิจัย

การเตรียมอาหารและการวิเคราะห์คุณภาพอาหารที่ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาสาสตร์ทางทะเล และทำการทดลองเลี้ยงแม่พันธุ์กุ้งขาว ที่สถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่างศิลา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ต. อ่างศิลา อ. เมือง จ. ชลบุรี ระหว่างวันที่ 16 ตุลาคม 2553 ถึงวันที่ 16 ธันวาคม 2553

3.2 การเตรียมบ่อทดลอง

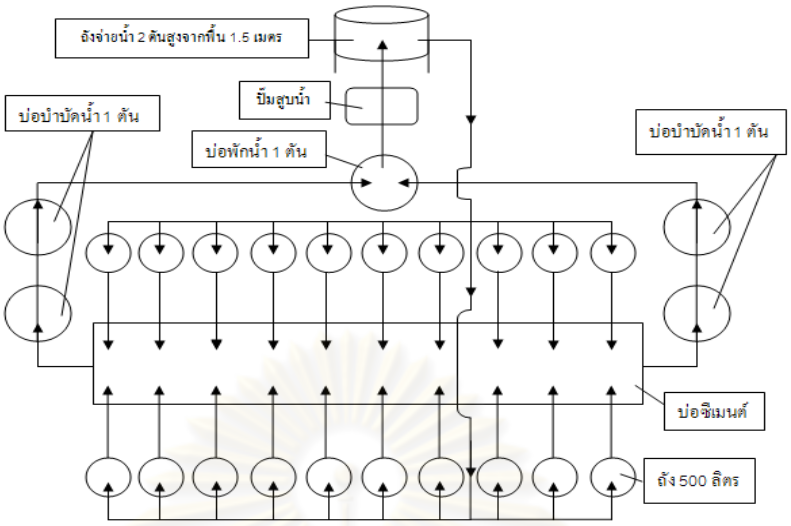
บ่อที่ใช้ในการทดลองเป็นบ่อไฟเบอร์สีดำขนาดความจุ 500 ลิตร จำนวน 20 บ่อ คลุมบ่อด้วยมุ้งสีเขียว อยู่ในเรือนทดลองที่มีตาข่ายสีดำกั้นแสงรอบด้าน (รูปที่ 3.1) แต่ละบ่อจะมีท่อส่งน้ำเข้าและระบายน้ำออกไปที่บ่อซีเมนต์ตรงกลาง (ถังตกตะกอน) น้ำในบ่อซีเมนต์ที่เป็นส่วนเกินจะระบายออกไปยังบ่อไฟเบอร์ 4 ถัง ขนาดจุน้ำ 1 ตันต่อบ่อ ด้านนอกทั้ง 2 ข้างของเรือนเลี้ยงเพื่อบำบัดน้ำ (รูปที่ 3.2) และน้ำจะไหลเวียนไปยังบ่อพักน้ำด้านหลังของเรือน จากนั้นจะใช้ปั๊มสูบน้ำขึ้นไปยังถังเก็บน้ำขนาด 1 ตันเพื่อนำน้ำเข้าสู่ระบบบ่อเลี้ยงอีกครั้ง (รูปที่ 3.3) ระบบน้ำที่ใช้เป็นระบบปิด (closed recirculating system) (รูปที่ 3.4)

น้ำทะเลที่ใช้เป็นน้ำทะเลความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน กัก เก็บประมาณ 2 สัปดาห์ในบ่อทึบขนาด 20 ตัน เพื่อตกตะกอนและกำจัดสิ่งมีชีวิตที่มากับน้ำ (เช่น ไข่และลูกปลา ตัวอ่อนแมงกะพรุน) และสูบน้ำเข้าสู่ระบบ จากนั้นทำการฆ่าเชื้อโรคโดยการใช้ผงคลอรีน เดินระบบเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จนทำให้คลอรีนระเหยออกจากระบบจึงทำการเลี้ยงกุ้ง

รูปที่ 3.1 เรือนทดลองที่มีตาข่ายกั้นแสงรอบเรือน

รูปที่ 3.2 บ่อไฟเบอร์ด้านนอกเรือนเลี้ยงเพื่อบำบัดน้ำ

รูปที่ 3.3 ถังเก็บน้ำขนาด 1 ตันจะใช้ปั๊มน้ำสูบเข้าไปเก็บไว้ในถังแล้วปล่อยน้ำเข้าระบบ



รูปที่ 3.4 ระบบนำหมุนเวียนแบบปิดในบ่อทดลอง (ลูกศรแสดงถึงทิศทางนำที่ไหลไปตามท่อ)

3.3 สัตว์ทดลอง

กุ้งขาวแวนนาไมเพศเมียจำนวน 40 ตัวจากฟาร์มเลี้ยงเอกชน จังหวัดพังงา อายุประมาณ 7 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 35.88±3.35 กรัม ความยาว 14-16.5 ซม. ปรับสภาพกุ้งให้คุ้นเคยกับบ่อทดลองและอาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นสุ่มกุ้งลงบ่อทดลองบ่อละ 2 ตัว ติดเครื่องหมายก้านตา

3.4 การเตรียมอาหารทดลอง

การคำนวณสูตรอาหารและการสร้างสูตรอาหาร

ผลิตอาหารสำเร็จรูปโดยใช้สูตรอาหารแม่พันธุ์กุ้งในตารางที่ 1 ประกอบด้วยอาหาร 4 สูตร

อาหารสูตรที่ 1 ใช้สูตรอาหารดังตาราง

อาหารสูตรที่ 2 คำนวณน้ำหนักตัวกุ้งขาวเฉลี่ยทั้งหมดในบ่อ แล้วเพิ่มปริมาณฮอร์โมน progesterone 0.3 กรัม ผ่านกระบวนการ microencapsulation ด้วยวิธี chitosan/calcium-alginate (Hari *et al.*,1996) (Bodmeier, 2006) (Quackenbush, 1992) ผสมใน basal diet

อาหารสูตรที่ 3 คำนวณน้ำหนักตัวกุ้งขาวเฉลี่ยทั้งหมดในบ่อ แล้วเพิ่มปริมาณฮอร์โมน setotonin 0.002 กรัมด้วยวิธี chitosan/calcium-alginate (Hari *et al.*, 1996) (Bodmeier, 2006) (Alfaro, 2004) ผสมใน basal diet

อาหารสูตรที่ 4 คำนวณน้ำหนักตัวกุ้งขาวเฉลี่ยทั้งหมดในบ่อ แล้วเพิ่มปริมาณเพรียงทรายที่ผ่านการทำแห้ง (freeze dry) ผสมลงใน basal diet

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบของอาหารพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวแวนนาไม สูตร basal diet ที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร 2 และ 3 (สูตรอาหารดัดแปลงจาก ชนัดดา เกษมโชติช่วง, 2550)

ชนิดของวัตถุดิบอาหาร	อาหารสูตรที่ 1 (กรัม ต่อ 100 กรัมอาหาร)	อาหารสูตรที่ 2	อาหารสูตรที่ 3	อาหารสูตรที่ 4
ปลาป่น	50	50	50	50
หมึกป่น	17	17	17	17
หัวกุ้งป่น	4	4	4	4
กากถั่วเหลืองป่น	8	8	8	8
แป้งสาลี	8	8	8	8
วีท กูลเตน	4	4	4	4
คลอเลสเตอรอล	0.5	0.5	0.5	0.5
เลซิติน	0.5	0.5	0.5	0.5
วิตามิน*/แร่ธาตุ**	2	2	2	2
วิตามินซี	0.5	0.5	0.5	0.5
น้ำมันปลา	3	3	3	3
แอสตาแซนทีน	0.5	0.5	0.5	0.5
เซลลูโลสผง	2.0	1.7	1.998	-
ฮอร์โมนซีโรโทนิน	-	-	0.002	-
ฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน	-	0.3	-	-
เพรียงทราย	-	-	-	2.0

หมายเหตุ * องค์ประกอบวิตามินรวม คือ วิตามิน A, B, AB, E, K, B, B1, B2, B6, B12, ไนอะซิน, โฟลิค, กรดเทนโทนิค, ไบโอติน, โคลีน

** องค์ประกอบแร่ธาตุรวม คือ เหล็ก, แมกนีเซียม, แมงกานีส, ไอโอดายน์, โพแทสเซียม, ซีลิเนียม, สังกะสี

ฮอร์โมนซีโรโทนินและโปรเจสเทอโรน จะผ่านกระบวนการ microencapsulation จากนั้นหา ปริมาณฮอร์โมนที่มีอยู่ในแคปซูล ก่อนนำไปคำนวณ กลับเพื่อหา ปริมาณฮอร์โมน ในอาหารกุ้งตามสูตรอาหาร สูตรอาหารที่ผลิตได้นำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ด้วยวิธีวิเคราะห์ของ AOAC (1997)

วิธีการเตรียม microencapsulation ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและซีโรโทนิน ด้วยสารละลาย sodium alginate และ calcium chloride (Hari *et al*., 1996) (Bodmeier, 2006)

กระบวนการ microencapsulation ฮอร์โมนมีขั้นตอนการผลิต โดยมีรายละเอียดดังนี้

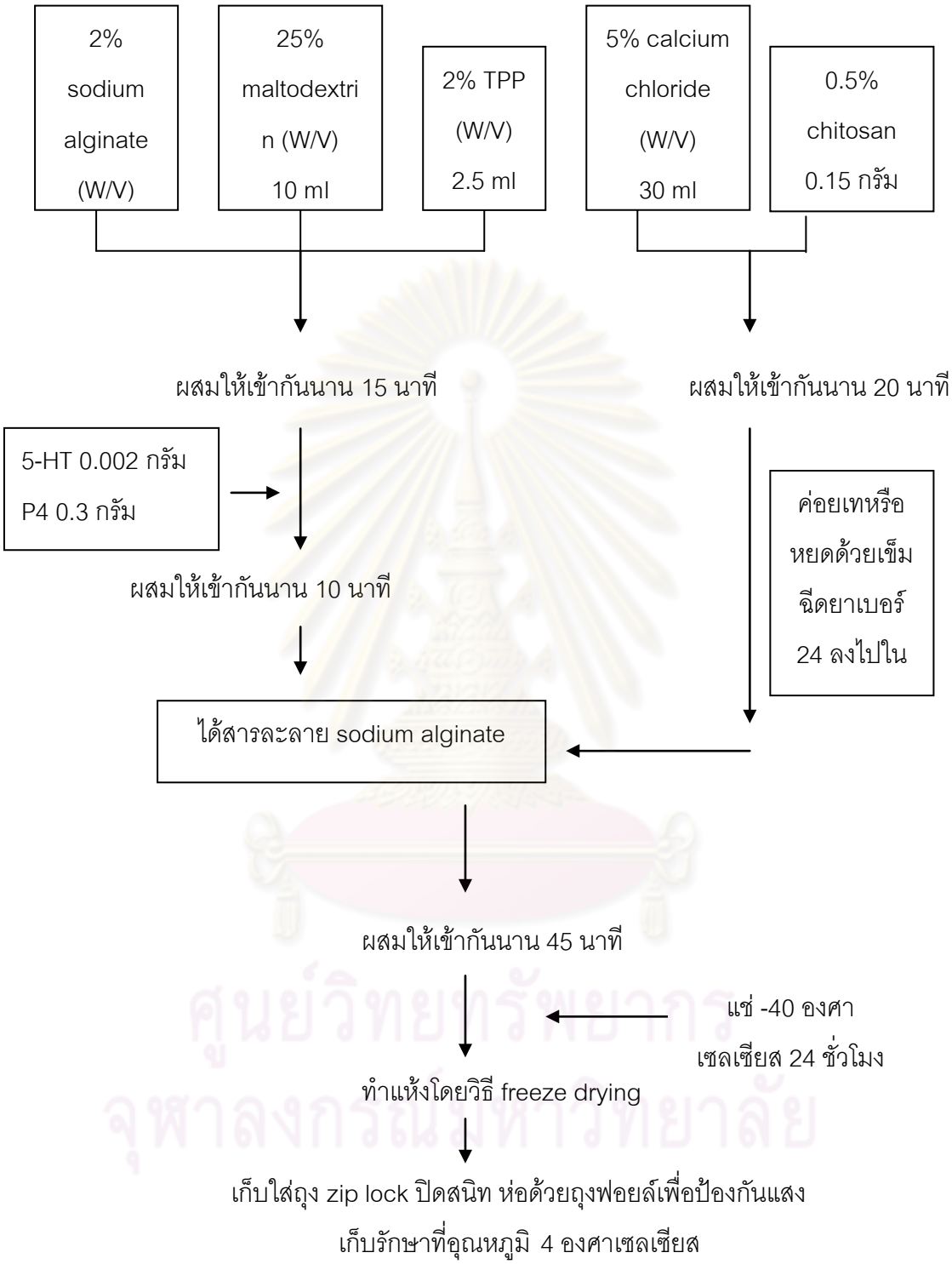
ขั้นตอนการเตรียมสารละลาย

- ละลาย sodium alginate ในน้ำกลั่น ปรับระดับความเข้มข้นที่ 2%
- ละลาย maltodextrin ในน้ำกลั่น ปรับระดับความเข้มข้นที่ 25%
- ละลาย TPP ในกรดซิตริกปริมาณเล็กน้อย เมื่อ TPP ละลายดีแล้ว นำไปผสมในน้ำกลั่น แล้วปรับความเข้มข้นที่ 2%
- คำนวณปริมาตรสารละลายในส่วนผสมทั้งหมดที่จะใช้ จากนั้นนำมาคำนวณปริมาณ calcium chloride โดยในการวิจัยครั้งนี้ใช้ความเข้มข้น 5% calcium chloride ในน้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตร
- ชั่ง chitosan ที่ความเข้มข้น 0.5% ของปริมาตรสารละลายที่ใช้ โดยในการวิจัยครั้งนี้ใช้ความเข้มข้น 0.5% chitosan ในน้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตร
- ชั่ง ฮอร์โมน progesterone (P4) (Sigma, USA) ประมาณ 0.03 กรัม ต่อสารละลาย 50 มิลลิลิตร
- ชั่งฮอรโมน serotonin (5-HT) (Sigma, USA) ประมาณ 0.002 กรัม

ขั้นตอนการผสมสารละลาย

นำสารละลาย 2% sodium alginate 10 มิลลิลิตร สารละลาย 25% maltodextrin 10 มิลลิลิตร และ 2% TPP 2.5 มิลลิลิตร ผสมเข้าด้วยกัน ด้วยเครื่อง magnetic stirrer เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำฮอร์โมน progesterone เทใส่ลงไปในสารละลาย ผสมต่อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำสารละลาย 5% calcium chloride 30 มิลลิลิตร และ สารละลาย 0.5% chitosan 0.15 กรัม ผสมเข้ากันด้วยเครื่อง magnetic stirrer เป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลานำสารผสม calcium chloride และ chitosan ค่อยๆ เทหรือหยดด้วยเข็มฉีดยาเบอร์ 24 ลงในสารละลาย sodium alginate จากนั้น ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 45 นาที

นำส่วนผสมสารละลายทั้งหมด เข้าเครื่องทำความเย็นที่ -40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำเข้าเครื่อง freeze drying (Freeze dry system/ Freezone 4.5; Labconco, USA) ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส ความดัน 133 x 10^{-3} mBAR จนกว่าจะสังเกตว่าสารละลาย นั้นแห้งแล้ว ซึ่งใช้เวลาประมาณ 1-2 วัน ชั่งน้ำหนักและบันทึกปริมาณผลผลิตที่ได้ จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในถุง zip lock เพื่อรักษาสภาพก่อนนำมาผสมอาหารต่อไป



รูปที่ 3.5 **แผนผังการเตรียม** microencapsulation **ด้วยสารละลาย** sodium alginate **และ** calcium chloride

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมนซีโรโทนินและโปรเจสเตอโรนด้วยวิธี HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

1. ชั่งตัวอย่าง capsule ที่ผลิตได้ทั้งหมดมาสกัดตัวอย่างละ 0.5 g ใส่ในขวดสีชา เติมสารคลอโรฟอร์มเพื่อละลาย capsule ปั่นในเครื่อง vortex 5 นาที จากนั้นดูดของเหลวส่วนที่ใสมาใส่หลอดทดลองที่ติดแผ่นฟอยล์ จากนั้นใส่ละลายด้วยคลอโรฟอร์มอีก 3 ครั้งและปั่นให้เข้ากันด้วย vortex 5 นาที นำหลอดทดลองไปเป่าลมเพื่อทำให้สารคลอโรฟอร์มระเหย

2. ทำการกระตุ้น Sep-Pak C_{18} Cartridge โดยการใส่ 85% methanol ลงใน cartridge ที่มีกระดาษกรอง 10 ml ดันสาร methanol ออก เติมน้ำ 3 ml ลงใน cartridge แล้วดันสารออก จากนั้นนำสารในหลอดทดลองที่ใช้คลอโรฟอร์มระเหย ใส่ลงใน cartridge เพื่อกรองตะกอนออก นำไปปั่นด้วย vortex 5 นาที เก็บใส่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3. เตรียม mobile phase 500 ml ประกอบด้วย methanol 85% น้ำกลั่น 15 % กรองผ่านกระดาษกรอง ใช้เครื่อง sonicator ปั่น 10 นาทีเพื่อไล่อากาศออก mobile phase ที่ได้นำไปใช้ในการฉีดเข้าเครื่อง HPLC

4. ปรับเครื่องมือ Liquid Chromagraph ที่ความดัน 1000 psi, injection 20 µl flow rate 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที UV detector P4 ที่ 248 nm. และ 5-HT ที่ 280 nm. ใช้ Column ขนาด 5 µm Lichrocard Lichrospher 100 RP C_{18}, 125×4 mm (Merck) ฉีดสารละลายตัวอย่าง 20 µl วัดพื้นที่ใต้กราฟ หรือความสูงของกราฟ

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณฮอร์โมน (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)} = \frac{C \times V}{10 \times W}$$

เมื่อ C = ความเข้มข้นของฮอร์โมนในตัวอย่าง (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

V = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

W= น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

การเตรียมกราฟมาตรฐาน

1. ฉีดสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น 20 µl ระยะเวลาในการแยกสารประมาณ 6 นาที วัดพื้นที่ใต้กราฟ หรือความสูงของกราฟ

2. ทำกราฟมาตรฐานโดยเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกับวัดพื้นที่ใต้กราฟ หรือความสูงของกราฟ

3.5 การออกแบบการทดลอง

แบ่งการทดลองออกเป็น 5 กลุ่มอาหารโดยใช้กลุ่มทดลองกลุ่มละ 4 บ่อ แต่ละกลุ่มจะให้อาหารทดลองดังนี้

1. กลุ่มให้อาหารสำเร็จรูปปกติ

2. กลุ่มให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

3. กลุ่มให้อาหารสำเร็จรุปผสมฮอร์โมนซีโรโทนิน

4. กลุ่มให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสลับกับอาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนซีโรโทนินโดยให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนซีโรโทนิน 1 สัปดาห์แล้วจึงให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 1 สัปดาห์หลังจากนั้นให้ให้อาหารอย่างนี้ทุกสัปดาห์

5. กลุ่มให้อาหารสำเร็จรูปผสมเพรียงทราย

ให้อาหารเวลา 9.00 น. 13.00 น. 17.00 น. และ 21.00 น. ให้อาหารประมาณ 5 กรัมในแต่ละบ่อ เมื่อให้อาหารครบ 30 วันจะมีการสุ่มตัดตากุ้งในแต่กลุ่มทดลองกลุ่มละ 2 ตัว แล้วให้อาหารต่อไปอีก 15 วัน ทำการตรวจสอบการเจริญรังไข่ทุกวัน โดยใช้ไฟฉายส่องจากด้านท้อง รังไข่ที่เจริญจะเห็นเป็นแสงทึบตามแนวหลัง

ตรวจสอบคุณภาพน้ำทุกสัปดาห์ วัดความเค็มโดยใช้เครื่องมือ salino-refractometer วัดอุณหภูมิโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ วัดปริมาณแอมโมเนีย ไนไตรท์ pH อัลคาไลน์โดยใช้ชุดตรวจสอบคุณภาพน้ำ AQUA-VBC ของคณะสัตวแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำนวณอัตราการเติบโตของกุ้งตามระยะเวลาที่เลี้ยงในช่วงก่อนตัดตา และช่วงตัดตา

$$\%\ \text{growth rate 30 วัน} = \frac{\text{น้ำหนักวันที่ 30} - \text{น้ำหนักวันแรก}}{\text{น้ำหนักวันแรก}} \times 100$$

$$\%\ \text{growth rate 30-45 วัน} = \frac{\text{น้ำหนักวันที่ 45} - \text{น้ำหนักวันที่ 30}}{\text{น้ำหนักวันที่ 30}} \times 100$$

เมื่อตัดตาไปแล้วเลี้ยงอาหารเป็นเวลา 15 วัน หลังจากนั้นทำการวางยาสลบและทำการผ่าตัดเอารังไข่ออกเพื่อตรวจสอบการพัฒนารังไข่และชั่งน้ำหนักรังไข่ เพื่อคำนวณค่า gonadosomatic index (GI)

$$\text{Gonadosomatic index} = \frac{\text{น้ำหนักรังไข่กุ้ง}}{\text{น้ำหนักตัวกุ้ง}} \times 100$$

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

การทดลองนี้วางแผนการทดลองเป็น completely randomized design (CRD) จึงนำข้อมูลน้ำหนักก่อนและหลังการทดลอง และค่า gonadosomatic index ในกลุ่มที่ตัดตาและไม่ได้ตัดตา มาทดสอบความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองคือ Duncan Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลองทั้ง 4 สูตรด้วยวิธีวิเคราะห์ของ AOAC (1997) ได้คุณค่าทางโภชนาการดังตารางที่ 4.1 โดยอาหารที่ใช้ทดลองมีโปรตีนใกล้เคียงกันที่ 50% แต่อาหารสูตร 5 (basal + แม่เพรียง) มีโปรตีนต่ำกว่าอาหารสูตรอื่นๆ ส่วนโครงสร้างโภชนาการอื่นมีค่าใกล้เคียงกันทุกสูตรอาหาร

ตารางที่ 4.1 คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ (ค่าเฉลี่ย±SD)

คุณค่าโภชนาการ	อาหารสูตรที่ 1	อาหารสูตรที่ 2	อาหารสูตรที่ 3	อาหารสูตรที่ 5
โปรตีน	50.63±0.34	51.06±0.10	51.46±0.15	50.00±0.14
ไขมัน	11.68±0.24	11.73±0.16	10.51±0.04	11.55±0.13
ใยอาหาร	2.36±0.24	2.39±0.01	2.55±0.08	2.77±0.04
เถ้า	16.22±0.26	16.41±0.2	16.82±0.08	16.20±0.06
ความชื้น	32.98±11.49	30.95±11.99	31.68±13.19	30.88±11.67

4.2 การวิเคราะห์ฮอร์โมนซีโรโทนินและโปรเจสเตอโรนในอาหารสำเร็จรูป

ฮอร์โมน serotonin และ progesterone ที่ผ่านกระบวนการ chitosan/calcium-alginate microencapsulation (Hari *et al*., 1996) (Bodmeier, 2006) จากการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนในอาหารทดลอง ด้วยวิธี HPLC พบว่าตัวอย่างแคปซูลฮอร์โมนซีโรโทนินที่ผลิตขึ้นมีประสิทธภาพการกักเก็บได้เฉลี่ย 63.15% ส่วนตัวอย่างแคปซูลฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ผลิตขึ้นมีประสิทธิภาพการกักเก็บได้ 65.51%

ตารางที่ 4.2 ประสิทธิภาพการกักเก็บฮอร์โมนโดยกระบวนการ chitosan/calcium-alginate microencapsulation

ฮอร์โมน	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3
ซีโรโทนิน	65.32%	59.48%	64.66%
โปรเจสเตอโรน	70.46%	57.20%	68.87%

4.3 อัตราการเติบโตกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองแต่ละชนิด เป็นเวลา 30 วัน

เปอร์เซ็นต์อัตราการเติบโตกุ้งขาวในกลุ่มต่างๆ ที่ให้อาหารไป 30 วันแล้วไม่นำไปตัดตา พบว่าเปอร์เซ็นต์อัตราการเติบโตในกลุ่มที่ 2 ที่ให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสูงที่สุด คือ 7.59±3.64 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์อัตราการเติบโตในแต่ละกลุ่มการทดลองนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์อัตราการเติบโตกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองชนิดต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน (n คือจำนวนกุ้งขาวทดลอง)

อาหารทดลอง	เปอร์เซ็นต์อัตราการเติบโตหลังจากเลี้ยงไปได้ 30 วัน (n=8)
กลุ่มที่1	3.90±2.82
กลุ่มที่2	7.59±3.64
กลุ่มที่3	5.83±3.90
กลุ่มที่4	6.10±5.71
กลุ่มที่5	7.02±5.04

4.4 อัตราการเติบโต (น้ำหนักที่เพิ่ม) กุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองแต่ละชนิดในช่วงเวลา 30-45 วัน

เปอร์เซ็นต์อัตราการเติบโตกุ้งขาวในกลุ่มต่างๆ ที่ให้อาหารในช่วง 30-45 วันในกลุ่มที่ไม่ได้ตัดตาพบว่าเปอร์เซ็นต์อัตราการเติบโตในกลุ่มที่ 4 ที่ให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนซีโรโทนิน 1 สัปดาห์สลับกับอาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 1 สัปดาห์สูงที่สุดคือ 7.02±1.33 เปอร์เซ็นต์ซึ่งมีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ 2 ที่ให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและกลุ่มที่ 5 ที่ให้อาหารสำเร็จรูปผสมเพรียงทราย ส่วนในกลุ่มที่ตัดตาพบว่าเปอร์เซ็นต์อัตราการเติบโตในกลุ่มที่ 5 ที่ให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสูง

ที่สุดคือ 3.89±2.59 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์อัตราการเติบโตในแต่ละกลุ่มการทดลองนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์อัตราการเติบโต (น้ำหนักที่เพิ่ม) กุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองชนิดต่างๆ ในช่วงเวลา 30-45 วัน

อาหารทดลอง	กลุ่มที่ไม่ตัดตา	กลุ่มที่ตัดตา
กลุ่มที่1	5.20±4.80^{ab}	3.78±3.20
กลุ่มที่2	2.62±2.04^{a}	3.42±0.39
กลุ่มที่3	3.35±2.09^{ab}	3.30±2.34
กลุ่มที่4	7.02±1.33^{b}	2.56±0.81
กลุ่มที่5	2.32±0.95^{a}	3.89±2.59

หมายเหตุ อักษรยกในแนวตั้งเดียวกันที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.5 gonadosomatic index ของกุ้งไม่ได้ตัดตาและตัดตาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 45 วัน

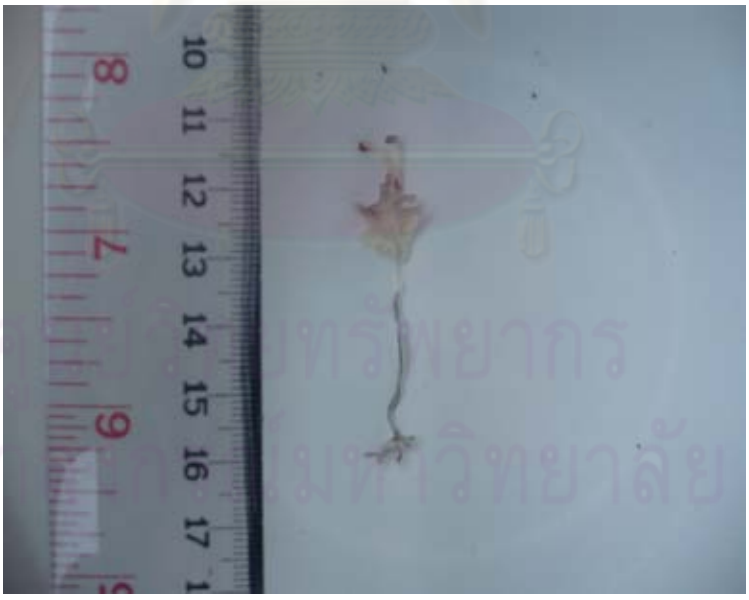
ค่า gonadosomatic index (GI)ในกลุ่มที่ไม่ได้ตัดตา กลุ่มที่ให้อาหารสำเร็จรูปปกติมีค่าสูงที่สุดคือ 1.83±0.67 เปอร์เซ็นต์และในกลุ่มที่ตัดตากลุ่มที่ 4 ที่ให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนซีโรโทนิน 1 สัปดาห์สลับกับอาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 1 สัปดาห์สูงที่สุดคือ 2.89±1.55 เปอร์เซ็นต์ ค่า gonadosomatic index ในแต่ละกลุ่มการทดลองในส่วนที่ไม่ได้ตัดตาและส่วนที่ตัดตาไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.5)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.5 gonadosomatic ของกุ้งที่ตัดตาและไม่ตัดตาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองชนิดต่างๆ เป็นเวลา 45 วัน

อาหารทดลอง	ค่า GI ของกุ้งที่ไม่ได้ตัดตา (%)	ค่า GI ของกุ้งที่ตัดตา (%)
กลุ่มที่1	1.83±0.67	1.97±1.18
กลุ่มที่2	1.17±0.63	2.26±0.92
กลุ่มที่3	1.00±0.13	2.22±1.10
กลุ่มที่4	1.39±0.16	2.89±1.55
กลุ่มที่5	1.50±0.65	2.53±2.00

การทดลองครั้งนี้หลังจากให้อาหารทดลองชนิดต่างๆ เป็นเวลา 45 วันพบว่า การเจริญรังไข่ของกุ้งขาวที่เลี้ยงจะเข้าสู่ระยะสูงสุดที่ระยะ 2 เท่านั้น การพัฒนารังไข่กุ้งที่พบแสดงในรูปที่ 4.1 และ 4.2



รูปที่ 4.1 รังไข่กุ้งขาวที่มีการพัฒนาระบบสืบพันธุ์เข้าสู่ระยะที่ 1

รูปที่ 4.2 รังไข่กุ้งขาวที่มีการพัฒนาระบบสืบพันธุ์เข้าสู่ระยะที่ 2

คุณภาพน้ำทะเลระหว่างเลี้ยงพบว่าค่าอุณหภูมิน้ำ ความเค็ม แอมโมเนีย อัลคาไลนิตี้ ไนไตรท์ ความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในค่าที่ใกล้เคียงกันตลอดการทดลอง ไม่เปลี่ยนแปลงมากเนื่องจากมีการหมุนเวียนของระบบน้ำได้ดี (ตารางที่ 4.5) และคุณภาพน้ำที่ศึกษาอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อสัตว์น้ำทะเล

ตารางที่ 4.6 คุณภาพน้ำทะเลระหว่างการทดลอง

พารามิเตอร์	**สัปดาห์ที่**						
	0	1	2	3	4	5	6
อุณหภูมิน้ำ (°C)	28	24	25.0	26.0	26.0	26.0	26.5
ความเค็ม (ppt)	29.3	29.5	30.6	30.9	31.4	31.6	32
แอมโมเนีย (mg/l)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
อัลคาไลนิตี้ (mg/l)	110	110	110	110	110	110	110
ไนไตรท์ (mg/l)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
ความเป็นกรด-ด่าง	7.26	7.28	7.28	7.33	7.31	7.26	7.26

บทที่ 5

สรุปผลและวิจารณ์การทดลอง

ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 4.3 พบว่าอาหารทดลองสูตรที่ 4 ที่มีการให้อาหารผสมฮอร์โมนซีโรโทนินและ อาหารผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสลับกันทุกสัปดาห์มีอัตราการเติบโตและค่า gonadosomatic index มากกว่ากลุ่มการทดลองอื่นแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้งในกุ้งที่ตัดตา และไม่ได้ตัดตา ในทุกกลุ่มทดลองพบว่ากุ้งที่ตัดก้านตา มีการเจริญของรังไข่มากกว่ากุ้งกลุ่มทดลองที่ไม่ได้ตัดก้านตา เนื่องการทดลองนี้จำนวนหน่วยทดลองที่เลี้ยงในแต่ละกลุ่มทดลองมีน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับศึกษาการให้อาหารเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่เคลือบด้วยกรดพอลิแลคไทด์โคไกลโคไลด์ ต่อการพัฒนารังไข่แม่พันธุ์กุ้งขาว (ชนัดดา เกษมโชติช่วง, 2550) พบว่า การให้อาหารในระดับความเข้มข้นของโปรเจสเตอโรนต่างๆ มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยใช้จำนวนกุ้งในกลุ่มการทดลอง กลุ่มละ 25 ตัว ซึ่งมีจำนวนมากกว่าการทดลองของผู้วิจัย อย่างไรก็ดีแม่กุ้งกลุ่มที่ให้อาหารผสมฮอร์โมนและแม่เพรียงทุกสูตรมีการพัฒนาของ GI สูงกว่ากุ้งกลุมที่ให้อาหารปกติเมื่อถูกกระตุ้นด้วยการตัดตาข้างหนึ่ง

การให้อาหารเสริมฮอร์โมนซีโรโทนินเป็นเวลา 1 สัปดาห์และเปลี่ยนเป็นการให้อาหารเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนอีกเป็นเวลา 1 สัปดาห์สลับไปเรื่อยๆ เพราะต้องการทดสอบเกี่ยวกับกระบวนการสะสมไข่แดง (vitellogenesis) โดยที่ฮอร์โมนซีโรโทนินเป็นสาร vitellogenesis stimulating hormone ที่จะกระตุ้นให้สร้างสาร vitellogenin จากบริเวณฟอลิเคิลเซลล์ รังไข่ และตับอ่อนมาสะสมกันในบริเวณรังไข่และฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะเปลี่ยนสาร vitellogenin ไปเป็น vitellin (yolk) และนำสารนี้เข้าสะสมสู่เซลล์ไข่ กลุ่มการทดลองที่ 4 จะอธิบายได้ว่า การให้อาหารเสริมฮอร์โมนซีโรโทนินสลับกับอาหารเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนไปกระตุ้นการสร้าง vitellogenin ให้มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ให้อาหารเสริมฮอร์โมน กลุ่มที่ให้อาหารเสริมฮอร์โมนเพียงชนิดเดียว หรือกลุ่มที่ให้อาหารเสริมเพรียงทราย แต่ผลการทดลองพบว่าไม่มีค่าความแตกต่างกันทางนัยสำคัญทางสถิติซึ่งอาจมีผลจากจำนวนหน่วยทดลองน้อยเกินไป

ระยะพัฒนารังไข่ในกุ้งที่ทำการทดลองพบว่ามีการพัฒนามากที่สุดอยู่ในระยะที่ 2 เท่านั้น อาจเป็นเพราะาสภาพแวดล้อมที่เลี้ยงยังไม่ดีพอเนื่องจากน้ำทะเลที่ใช้การทดลองมีอุณหภูมิต่ำ อยู่ในช่วง 24-28 องศาเซลเซียสซึ่งอาจมีผลทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมของกุ้งขาวต่ำ หรืออาจเป็นที่กระบวนการผลิตอาหารที่ผสมฮอร์โมนไม่พอ อาจมีการสูญเสียคุณภาพฮอร์โมนระหว่างการ

ผลิตหรือฮอร์โมนมีการกระจายได้ไม่ทั่วถึงกันทั้งหมดในอาหารทดลองเนื่องจากมีปริมาณที่ ใช้น้อย นอกจากนั้นการทดลองการทดลองครั้งนี้ดำเนินการศึกษาในระบบน้ำหมุนเวียนปิด 100% ไม่มีการถ่ายน้ำตลอดการทดลอง น้ำอาจมีปริมาณของเสียไนโตรเจนมากและมีผลต่อการพัฒนาของรังไข่

ข้อเสนอแนะ

1. ควรเพิ่มจำนวนกุ้งขาวในแต่ละกลุ่มการทดลองมากขึ้นเพื่อเพิ่มความน่าจะเป็นในทางสถิติเกี่ยวกับค่าที่วัดได้

2. คุณภาพน้ำทะเลในบริเวณศูนย์วิจัยที่สูบขึ้นมาใช้เลี้ยงไม่ค่อยดี เนื่องจากอยู่ใกล้บริเวณชุมชนที่เป็นตลาดสะพานปลา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กมลศิริ พันธนียะ. 2546. กุ้งขาวแวนนาไม. ที่มา (www.nica.com). สืบค้นวันที่ 10 พฤศจิกายน 2553.

ชนัดดา เกษมโชติช่วง. 2550. ผลของโปรเจสเตอโรนที่เคลือบด้วยกรดพอลิแลคไทด์โคไกลโคไลด์ต่อการพัฒนารังไข่กุ้งขาวแวนนาไม *Litopenaeus vannamei*. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต , ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ชูศักดิ์ แสงธรรม. 2541. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. นนทบุรี: ฐานเกษตรกรรม.

วัลลภ คงเพิ่มพูน. 2534. การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. กรุงเทพฯ: โครงการหนังสือชุมชน.

เอกชัย ดวงใจ. 2548. การสกัดฮอร์โมนโพรสตราแกลนดินจากแม่เพรียงทราย และผลของการสกัดฮอร์โมนต่อการพัฒนาของไข่แม่กุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภาษาอังกฤษ

Aktas, M., Kumlu, M., and Eroldogan, O.T. 2003. Off-season maturation and spawning of *Penaeus semisulcatus* by eyestalk ablation and/or temperature-photoperiod regimes. Aquaculture. 228: 361-370.

Alfaro, J., Zuniga, G., Komen, J. 2004. Induction of ovarian maturation and spawning by combined treatment of serotonin and a dopamine antagonist, spiperone in *Litopenaeus stylirostris* and *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture. 236: 511-522.

A.O.A.C. 1997. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 13th edition. Washington, D.C.: Association of official analytical chemists.

Aramant, R., Elofsson, R., 1976. Monoaminergic neurons in the nervous system of crustaceans. Cell Tissue. Res. 170: 231-251.

Avarre, J.C., Micelis, R., Tietz, A., Lubzens, E., 2003. Relationship between vitellogenin and vitellin in a marine shrimp *Penaeus semisulcatus* and molecular

characterization of vitellogenin complementary DNAs. Biology. 69: 355-364.

Bodmeier, R. 2006. Spherical agglomerates of water-soluble drugs. Journal of Pharmaceutical Sciences. 78(11): 964-967.

Charniaux-Cotton, H. 1985. Vitellogenesis and its control in malacostracan crustacean. American Zoology. 25: 197-206.

Fingerman, M., Nagabhushanam, R., Sarojini, R., and Redy, P.S. 1994. Biogenic amine in crustaceans: indentification, location and roles. Journal of Crustacean Biological. 14(3): 413-437.

Fingerman, M. 1997. Roles of neurotransmitters in regulating reproductive hormone release and gonadal maturation in decapod crustaceans. Invertebrate Reproduction and Development. 31: 47-54.

Hari, P.R., Chandy, T., Chandra P. 1996. Chitosan/calcium-alginate beads for oral delivery of insulin. Journal of Applied Polymer Science. 59(11): 1795-1801.

Huberman, A. 2000. Shrimp endocrinology. A review. Aquaculture. 191: 191-208.

Jasmani, S., Kawazoe, I., Shih, T.W., Suzuki, Y., Aida, K., 2000. Hemolymph vitellogenin levels during ovarian development in the kuruma prawn *Penaeus japonicus*. Fisheries Science. 66: 535-539.

Jasmani, S., Ohira, T., Jayasankar, V., Tsutsui, N., Aida, K., Wilder, M.N., 2004. Localization of vitellogenin mRNA expression and vitellogenin in uptake during ovarian maturation in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. J. Exp. Zoology. 301A: 334-343.

Jayasankar, V., Tsutsui, N., Jasmani, S. 2002. Dynamics of vitellogenin mRNA expression and changes in hemolymph vitellogenin levels during ovarian maturation in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. J. Exp. Zoology. 293: 675-682.

Kirubagaran, R., Peter, D., Dharani, G., Vinithkumar, N.V., Sreeraj, G. and Ravindran, M. 2005. Changes in vertebrate-type steroids and 5-hydroxytryptamine during ovarian recrudescence in the Indian spiny lobster, *Panulirus homarus*. New Zealand Journal of Marine and freshwater research. 39: 527-537.

Lee, F.Y., Chang, C.F., 1999. Hepatopancreas is the likely organ of vitellogenin synthesis in the freshwater prawn *Macrobranchium rosenbergii*. J. Exp. Zoology.

184: 798-806.

Meeratana, P., Withyachamnarnkul, B., Damrongphol, P., Wongprasert, K., Suseangtham, A., and Sobhon, P. 2006. Serotonin induces ovarian maturation in giant freshwater prawn broodstock, *Macrobrachium rosenbergii* de Man. Aquaculture. 260: 315-325.

Menasveta, P., Choosuwan, J., Piyatiratitivorakul, S., Fast, A.W., and Latscha, T. 1994. Effects of dietary astaxanthin on gonadal maturation and spawning of giant tiger prawn *Penaeus monodon* Fabricius. In: Proceedings of Asian Fisheries Forum. Singapore. October 1992. 713-716.

Meunpol, O., Meejing, P., and Piyatiratitivorakul, S. 2005. Maturation diet based on fatty acid content for male *Penaeus monodon* (Fabricius) broodstock. Aquaculture Research. 36: 1216-1225.

Meunpol, O., Iam-Pai, S., Suthikrai, W., and Piyatiratitivorakul, S. 2007. Indentification of progesterone and 17α-hydroxyprogesterone in polychaetes *Perinereis* sp. and the effects of hormone extracts on penaeid oocyte development in vitro. Aquaculture. 270-(1-4): 485-492.

Meusy, J. J., and G. G. Payen. 1988. Female reproduction in malacostracan Crustacea. Zoological Science. 5: 217-265.

Ogle, J.T. 1992. A review of the current state of our knowledge concerning reproduction in open thelycum penaeid shrimp with emphasis on *Penaeus vannamei*. Invertebrate Reproduction and Development. 22: 267-274.

Okuno, A., Yang, W.J. Tsutsui, N. 2002. Deduced primary structure of vitellogenin in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* and yolk processing during ovarian maturation. J. Exp. Zoology. 292: 417-429.

Palacios, E., Ibarra, A.M., Ramirez, J.L., Portillo, G., and Racotta, I.S. 1998. Biochemical composition of eggs and nauplii in white Pacific shrimp *Penaeus vannamei* (Boone), in relation to physiological condition of spawners in a commercial hatchery. Aquaculture Research. 29: 183-189.

Piyatiratitivorakul, S., K. Sripirom., P. Menasveta and Fast, A.W. 1994. Effects of steroid hormones on ovarian development and molting of pond-reared giant tiger prawn *Penaeus monodon* Fabricus. In: Proceeding of Asian Fisheries Forum,

Singapore, Ocober 1992, 928-931.

Poltana, P. 2005. Development of the Polychaete *Pernereis nuntia brevicirrus* and its prostaglandin F2 alpha content in the atokous stage. 10th International congress on invertebrate reproduction and development. Sunday 18th July 2004 to Friday 23rd July 2004, Newcastle upon Tyne, UK. Abstract.

Quackenbush, L.S. 1991. Regulation of vitellogenesis in penaeid shrimp. In: P. Deloach, W.J. Dougherty and M.J. Davidson (Eds.), Frontiers in shrimp research: 125-140. Quackenbush, L.S. 1992. Yolk synthesis in the marine shrimp, *Penaeus vannamei*. Comp. Biochem. Physiol. A 103: 711-714.

Quackenbush, L.S. 1994. Lobsters reproduction a review. Crustaceana. 67: 82-94.

Quackenbush, L.S. 2001. Yolk synthesis in the marine shrimp *Penaeus vannamei*. American Zoology. 41: 458-464.

Summavielle, T., Monteiro, P.R.R., Reis Henriques, A.M., and Coimara, J. 2003. In vitro metabolism of steroid hormone by orvary and hepatopancreas of the crustacean Penaeid shrimp *Marsupenaeus japonicus*. Scientia marina. 67(3): 299-306.

Tsutsui, N., Kawazoe, I., Ohira, T.S.J., Yang, W.J., Wilder, M., Aida, K. 2000. Molecular characterization of a cDNA encoding vitellogenin and its expression in the hepatopancreas and ovary during vitellogenesis in the kuruma prawn, Penaeus japonicus. Zoology. 17: 651-660.

Wongprasert, K., Asuvapongpatana, S., Poltana, P. Tiensuwan, M., and Withyachumnarnkul, B. 2006. Serotonin stimulates ovarian maturation and spawning in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. Aquaculture. 261: 1447-1454.

Yang, W.J., Ohira, T., Tsutsui, N., Subramoniam, T., Huong, D.T.T., Aida, K., Wilder, M.N., 2000. Determination of amino acid sequence and site of mRNA expression of four vitellins in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. J. Exp. Zoology. 287: 413-422.

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

1.การวิเคราะห์ความชื้น โดยใช้ตู้อบความร้อน (hot air oven) (ตามวิธีการของ AOAC, 1997)

1.นำขวดชั่งเข้าตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น

2.ชั่งและบันทึกน้ำหนักของขวดชั่งโดยละเอียด

3.ชั่งตัวอย่างใส่ขวดชั่งประมาณ 2 กรัม โดยบันทึกน้ำหนักอย่างละเอียด

4.นำตัวอย่างเข้าตู้อบ โดยใช้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

5.นำตัวอย่างที่อบแล้วใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น บันทึกน้ำหนักของตัวอย่าง

6.ทำซ้ำตามข้อ 1 ถึง 5 จนกระทั่งน้ำหนักที่ได้คงที่ โดยน้ำหนักที่หายไปคือน้ำหนักของความชื้น

คำนวณ % ความชื้นด้วยสมการ

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

เมื่อ a = น้ำหนักของอาหารก่อนอบแห้ง

b = น้ำหนักของอาหารหลังอบแห้ง

w = น้ำหนักของอาหารก่อนอบ

2.การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า ด้วยวิธี muffle furnace combustion (ตามวิธีการของ AOAC, 1997)

1.ชั่งตัวอย่างอาหาร 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ

2.นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนเถ้ามีสีขาว

3.นำเข้าโถอบแห้ง เพื่อให้ดูดความชื้น และเมื่อตัวอย่างอาหารเย็นดีแล้ว นำออกชั่งทันที

คำนวณ % เถ้าจากสมการ

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

เมื่อ a = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ

b = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบกับน้ำหนักของเถ้าหลังการเผา

w = น้ำหนักของอาหารก่อนเผา

3.การวิเคราะห์หาโปรตีน ด้วยวิธี kjeldahl (ตามวิธีการของ AOAC, 1997)

สารเคมี

1.กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้น 93-98 %

2.สารเร่งรวม (catalyst mixture) ชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) 7 กรัม กับโปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 100 กรัม ผสมให้เข้ากัน

3.โซเดียมไฮดรอกไซด์ 45 % (NaOH) โดยละลาย 450 กรัม ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ชนิดเกล็ด ในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

4.สารละลายกรดเกลือ 0.1 นอร์มอล ละลายกรดเกลือ 9 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

5.กรดบอริค (H_3BO_3) 4 % ต้มน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ให้ร้อนแล้วใส่ผงกรดบอริคลงไป 4 กรัม ต้มจนละลายหมด ทิ้งไว้จนสารเย็นแล้วจึงเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

6.อินดิเคเตอร์ผสมระหว่าง เมทธิลเรด และเมทธิลีนบลู ละลายเมทธิลเรด 0.2 กรัมในแอลกอฮอล์ 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร และละลายเมทธิลีนบลู 0.2 กรัมในแอลกอฮอล์ 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายเมทธิลเรด 2 ส่วน ผสมกับสารละลายเมทธิลีนบลู 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน

7.เมทิลออเรนซ์อินดิเคเตอร์ (methyl orange indicator)
ละลายเมทิลออเรนซ์ 0.1 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

8.สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 0.1 นอร์มอล อบโซเดียมคาร์บอเนตที่อุณหภูมิ 260-270 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ชั่งสารมา 1.325 กรัม เติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร

วิธีการขั้นตอนการย่อย (digestion)

1.ชั่งตัวอย่างอาหารให้ได้น้ำหนักประมาณ 0.3 กรัม โดยชั่งด้วยกระดาษกรองที่ปราศจากสารไนโตรเจน แล้วใส่ในขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีน

2.เติมสารเร่งรวม 3 กรัม เพื่อเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อย

3.เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร

4.นำไปย่อยด้วยชุดเครื่องย่อยโปรตีน ที่อุณหภูมิ 375 องศาเซลเซียส กระทั่งสารละลายในขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีนใส ทิ้งไว้ให้เย็น

ขั้นตอนการกลั่น

1.เมื่อสารละลายเย็นดีแล้ว จึงเติมน้ำกลั่นลงไปประมาณ 20 มิลลิลิตร

2.ใส่ลูกแก้ว 2 ลูก เพื่อป้องกันการกระแทกของสารละลาย

3.ต่อขวดแก้วโปรตีนเข้ากับเครื่องกลั่นที่มีขวดปากแคบวัดปริมาตร ซึ่งมีกรดบอริคอยู่ 40 มิลลิลิตร โดยให้ปลายของหลอดแก้วที่ต่อจากกระบอกแก้วควบแน่นจุ่มอยู่ในกรดบอริค เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในขวดแก้ววิเคราะห์อย่างช้าๆ จนกระทั่งสารละลายมีสีดำ

4.ใส่อินดิเคเตอร์ในกรดบอริค 2-3 หยด

5.ทำการกลั่นจนกระทั่งไม่มีแก๊สแอมโมเนียออกมาแล้วทำการกลั่นต่อไปอีก 10 นาที แล้วล้างปลายเครื่องกลั่นด้วยน้ำกลั่น นำขวดปากแคบวัดปริมาตรออกจากเครื่องกลั่น

ขั้นตอนการไตเตรท (titration)

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

2.จดปริมาตรของกรดเกลือไว้เพื่อคำนวณต่อไป

การคำนวณ

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

เมื่อ V_1 = ปริมาตของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

V_2 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบ

N = ความเข้มข้นของกรดเป็นนอร์มอล

W = น้ำหนักตัวอย่างอาหาร

การตรวจหาความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน

ดูดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 40 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เติมเมทิลออเรนซ์ อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ทำการไตเตรทด้วยสารละลายกรดเกลือ 0.1 นอร์มอล คำนวณความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือโดยใช้สูตร

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

4. **การวิเคราะห์หาไขมัน** ด้วยวิธี Ether extract (ใช้เครื่อง Sotex system HT6)

สารเคมี

1.สารละลายคลอโรฟอร์ม (chloroform)

2.เมธานอล (methanol)

วิธีการ

1.อบถ้วยพร้อมลูกแก้ว ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 8 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น

2.อบตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

3.ชั่งน้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้ว (W_1)

4.ชั่งตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ใส่กระดาษกรองประมาณ 1-2 กรัม (W_2) ห่อให้มิดชิดใส่ลงในไส้กรอง (thimble) ที่เตรียมไว้ นำไปใส่เข้าเครื่อง Sotex system HT6

5.นำถ้วยพร้อมลูกแก้วที่ชั่งน้ำหนักไว้แล้วมาเติมคลอโรฟอร์ม:เมทานอล ในอัตราส่วน 2:1 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วใส่เข้าเครื่องให้เรียบร้อย

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

7.เลื่อนปุ่มไปที่ rinsing เพื่อล้างตัวอย่าง 20 นาที

8.เปิดวาล์ว เปิดสวิทซ์อากาศ เลื่อนปุ่มไปที่ evaporation เพื่อให้สารระเหยออกไป 5 นาที

9.ปิดเครื่อง อากาศและน้ำ แล้วเลื่อนปุ่ม evaporation กลับที่เดิม นำถ้วยออกจากเครื่อง แล้วนำไปอบที่ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 คืน

10.นำถ้วยออกมาใส่โถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_3)

การคำนวณหา % ไขมัน

$$\% \text{ ไขมัน} = \frac{(W_3 - W_1) \times 100}{W_2}$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้ว

W_2 = น้ำหนักตัวอย่าง

W_3 = น้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้วและไขมันหลังอบ

5. การวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใย ด้วยวิธี acid detergent (AOAC, 1997)

1.นำตัวอย่างที่สกัดไขมันออกแล้ว (ทราบน้ำหนักอย่างละเอียด) มาใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร

2.เติม 1.25% Sulfuric acid จนถึงระดับ 200 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ ต้มให้สารละลายเดือด ตลอดเวลานาน 30 นาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.หลังจากส่วนผสมเดือดแล้ว ต้มต่อไปอีก 30 นาที (ขณะต้มให้เปิดวาล์วด้านหน้าเครื่องไปที่ตำแหน่ง close)

4.เปิดวาล์วไปที่ตำแหน่ง vacuum และกดสวิตช์ vacuum เพื่อระบาย Sulfuric acid ออก

5.กรองตัวอย่างที่ถูกย่อยด้วยกรดผ่านกรวยบุชเนอร์ที่รองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ล้างด้วยน้ำร้อนจนหมดฤทธิ์กรด

6.เติมสารละลาย 1.25% Potassium hydroxide ที่ทำให้ร้อนลงไป 200 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ ต้มให้สารละลายเดือดตลอดเวลานาน 30 นาที

7.หลังจากส่วนผสมเดือดแล้ว ต้มต่อไปอีก 30 นาที (ขณะต้มให้เปิดวาล์วด้านหน้าเครื่องไปที่ตำแหน่ง close)

8.กรองตัวอย่างที่ถูกย่อยด้วยด่างผ่านกรวยบุชเนอร์ที่รองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ล้างด้วยน้ำร้อนจนหมดฤทธิ์ด่าง

9.ละลายตัวอย่างกากที่ติดกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่นที่ร้อน แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ที่ทราบน้ำหนักแน่นนอน ล้างกากที่ได้ด้วย ethanol ปริมาตร 25 มิลลิลิตร อีก 2 ครั้ง

10.ทำให้แห้งโดยการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมงหรือจนกว่าน้ำหนักคงที่ ค่าที่ได้จะเป็นค่าน้ำหนักของเส้นใยหยาบรวมกับน้ำหนักเถ้า

11.ทิ้งให้เย็นใน desiccators เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักจะได้เป็นน้ำหนักก่อนเผา

12.นำ crucible สำหรับวิเคราะห์เยื่อใยไปเผาในเตาเผาความร้อนสูงที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ทำให้เย็นลงในโหลดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก นำตัวอย่างใส่ crucible

13.เผา crucible พร้อมตัวอย่างที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าเป็นสีขาว

14.ทิ้งให้เย็นใน desiccators เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักจะได้เป็นน้ำหนักหลังเผา

การคำนวณหาปริมาณเยื่อใย

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

เมื่อ a คือ น้ำหนัก crucible รวมกับน้ำหนักเยื่อใยและเถ้าก่อนเผา

b คือ น้ำหนัก crucible รวมกับน้ำหนักเถ้าหลังเผา

w คือ น้ำหนักของตัวอย่าง

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 1 น้ำหนักและความยาวลำตัวของกุ้งขาวเพศเมียก่อนการทดลอง

16-Oct-10	Female 1		Female 2 (กลุ่มที่จะนำไปตัดตา)	
	Length (cm)	Weight (g)	Length (cm)	Weight (g)
T1R1	15	36.84	15	41.52
T1R2	16.5	42.48	16	34.95
T1R3	15.5	35.67	14.5	34.85
T1R4	15.5	39.5	15	37.44
T2R1	15.5	33.22	16	31.96
T2R2	14.5	34.4	14.5	32.35
T2R3	16	34.11	16	35.7
T2R4	16	36.76	16	37.26
T3R1	16	34.36	15	35.44
T3R2	15.5	32.4	16	36.03
T3R3	15	31.4	15.5	29.41
T3R4	16	38.03	16	38.06
T4R1	16	34.98	15.5	32.87
T4R2	16	38.18	15.5	34.93
T4R3	15.5	36.82	16	40.12
T4R4	16	41.09	15.5	36.49
T5R1	15.5	36.65	16	38.45
T5R2	15.5	37.45	16	40.07
T5R3	16	37.03	14	31.17
T5R4	16	40.87	15	33.83

หมายเหตุ T1 = กลุ่มให้อาหารสำเร็จรูปปกติ

T2 = กลุ่มให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

T3 = กลุ่มให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนซีโรโทนิน

T4 = กลุ่มให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนซีโรโทนิน 1 สัปดาห์สลับกับให้อาหารสำเร็จรูปผสมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 1 สัปดาห์

T5 = กลุ่มให้อาหารสำเร็จรูปผสมเพรียงทราย

R = ซ้ำของการทดลอง

ตารางที่ 2 น้ำหนักและความยาวลำตัวของกุ้งขาวเพศเมียหลังจากให้อาหารไปได้ 30 วัน และแบ่งสุ่มตัดตากุ้ง

6-Nov-10	Female 1		Female 2 (Eye Ablation)	
	Length (cm)	Weight (g)	Length (cm)	Weight (g)
T1R1	15	36.96	15.5	42.88
T1R2	17	44.9	16.5	36.97
T1R3	15.5	37.4	16	37.83
T1R4	16	40.09	16	37.88
T2R1	15.5	34.68	16	33.52
T2R2	15.5	38.41	15.5	34.73
T2R3	16	35.6	16	39.78
T2R4	16	38.33	16	41.86
T3R1	16.5	34.79	16	38.71
T3R2	15.5	33.69	16	38.38
T3R3	15	35.48	15.5	31.45
T3R4	16	39.04	16	39.22
T4R1	16.5	41.71	15.5	34.85
T4R2	16	38.79	15.5	37.52
T4R3	16	38.68	16	41.09
T4R4	16.5	41.81	15.5	38.43
T5R1	16	36.86	16.5	42.4
T5R2	16	38.61	17	40.92
T5R3	16	40.78	14	35.59
T5R4	16	42.69	15.5	37.67

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 น้ำหนัก ความยาวลำตัว น้ำหนักรังไข่ และค่า gonadosomatic index (GI) ของกุ้งขาวเพศเมียเมื่อให้อาหารกุ้งไปได้ 45 วัน

30-Nov-10	Female 1				Female 2 (Eye Ablation)			
	Length (cm)	Weight (g)	Gonad (g)	GI	Length (cm)	Weight (g)	Gonad (g)	GI
T1R1	15.5	37.06	0.42	1.19	15.5	43.25	1.09	2.52
T1R2	17	47.02	1.31	2.786	16.5	38.89	0.4	1.029
T1R3	15.5	41.8	0.63	1.507	16	40.71	1.37	3.365
T1R4	16	41.7	0.76	1.823	16	38.43	0.37	0.963
T2R1	15.5	35.73	0.42	1.19	16	34.85	0.7	2.021
T2R2	16	40.38	0.82	2.031	15.5	35.83	0.43	1.2
T2R3	16	35.68	0.2	0.561	16.5	41.14	1.4	3.403
T2R4	16	39.13	0.35	0.895	16	43.17	1.05	2.432
T3R1	16.5	35.06	0.34	0.986	16	39.81	0.94	2.361
T3R2	15.5	34.86	0.29	0.838	16	38.9	1.44	3.702
T3R3	15	36.63	0.42	1.146	15.5	33.55	0.41	1.222
T3R4	16.5	41.34	0.43	1.04	16	40.12	0.64	1.595
T4R1	16.5	44.22	0.54	1.221	15.5	35.73	0.7	1.959
T4R2	16.5	41.27	0.54	1.309	15.5	38.07	0.7	1.839
T4R3	16	41.28	0.6	1.454	16.5	42.48	2.19	5.155
T4R4	16.5	45.56	0.72	1.58	15.5	39.53	1.03	2.606
T5R1	16	37.69	0.45	1.194	16.5	43.03	0.84	1.952
T5R2	16	39.1	0.42	1.178	17	41.85	0.99	2.366
T5R3	16	42.24	0.48	1.136	15	37.21	1.97	5.294
T5R4	16	43.62	1.08	2.476	15.5	40.4	0.21	0.52

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างอัตราการเติบโต ช่วงที่ให้อาหารเป็นเวลา 30 วันในอาหารแต่ละกลุ่มการทดลอง

ในกลุ่มที่ไม่ได้นำไปตัดตาหลังให้อาหารไป 30 วัน

ANOVA

growthrate

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	34.891	4	8.723	.324	.858
Within Groups	403.834	15	26.922		
Total	438.725	19			

growthrate

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1	4	3.0925
5	4	4.5625
3	4	5.2200
2	4	6.1750
4	4	6.9100
Sig.		.361

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในกลุ่มที่จะนำไปตัดตาหลังให้อาหารไป 30 วัน

ANOVA

growthrate

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	74.787	4	18.697	1.555	.237
Within Groups	180.408	15	12.027		
Total	255.194	19			

growthrate

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1	4	4.6975
4	4	5.2950
3	4	6.4350
2	4	9.0050
5	4	9.4800
Sig.		.097

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างอัตราการเติบโต ช่วงที่ให้อาหารเวลา 30-45 วันในอาหารแต่ละกลุ่มการทดลอง

ในกลุ่มที่ไม่ได้นำไปตัดตา

ANOVA

growthrate

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	62.675	4	15.669	2.289	.108
Within Groups	102.661	15	6.844		
Total	165.336	19			

growthrate

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
5	4	2.3200	
2	4	2.6200	
3	4	3.3450	3.3450
1	4	5.1950	5.1950
4	4		7.0225
Sig.		.172	.078

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในกลุ่มที่นำไปตัดตา

ANOVA

growthrate

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.397	4	1.099	.237	.913
Within Groups	69.522	15	4.635		
Total	73.918	19			

growthrate

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
4	4	2.5600
3	4	3.2950
2	4	3.4225
1	4	3.7775
5	4	3.8900
Sig.		.441

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักกุ้งก่อนและให้อาหารเป็นเวลา 45 วันในแต่ละกลุ่มการทดลอง เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan และ Turkey ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

Test of Homogeneity of Variances

Weigth

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.906	4	35	.471

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ANOVA

weigth

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.104	4	1.276	.324	.860
Within Groups	137.941	35	3.941		
Total	143.045	39			

weigth

	Treatment	N	Subset for alpha = 0.05
			1
Tukey HSD[a]	3	8	3.1425
	1	8	3.2012
	5	8	3.7025
	2	8	3.7688
	4	8	4.0825
	Sig.		.876
Duncan[a]	3	8	3.1425
	1	8	3.2012
	5	8	3.7025
	2	8	3.7688
	4	8	4.0825
	Sig.		.407

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Multiple Comparisons

Dependent Variable:weigth

	(I) Treatment	(J) Treatment	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	1	2	-.56750	.99262	.978	-3.4213	2.2863
		3	.05875	.99262	1.000	-2.7951	2.9126
		4	-.88125	.99262	.899	-3.7351	1.9726
		5	-.50125	.99262	.986	-3.3551	2.3526
	2	1	.56750	.99262	.978	-2.2863	3.4213
		3	.62625	.99262	.969	-2.2276	3.4801
		4	-.31375	.99262	.998	-3.1676	2.5401
		5	.06625	.99262	1.000	-2.7876	2.9201
	3	1	-.05875	.99262	1.000	-2.9126	2.7951
		2	-.62625	.99262	.969	-3.4801	2.2276
		4	-.94000	.99262	.876	-3.7938	1.9138
		5	-.56000	.99262	.979	-3.4138	2.2938
	4	1	.88125	.99262	.899	-1.9726	3.7351
		2	.31375	.99262	.998	-2.5401	3.1676
		3	.94000	.99262	.876	-1.9138	3.7938
		5	.38000	.99262	.995	-2.4738	3.2338
	5	1	.50125	.99262	.986	-2.3526	3.3551
		2	-.06625	.99262	1.000	-2.9201	2.7876
		3	.56000	.99262	.979	-2.2938	3.4138
		4	-.38000	.99262	.995	-3.2338	2.4738

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่าง gonadosomatic index ในกุ้งที่ไม่ได้ตัดตาหลังจากให้อาหารเป็นเวลา 45 วันในแต่ละกลุ่มการทดลอง เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

Test of Homogeneity of Variances

GSI

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.886	4	15	.165

ANOVA

GSI

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.599	4	.400	1.491	.255
Within Groups	4.023	15	.268		
Total	5.622	19			

GSI

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
3	4	1.00250
2	4	1.16925
4	4	1.39100
5	4	1.49600
1	4	1.82650
Sig.		.059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่าง gonadosomatic index ในกุ้งที่ตัดตาหลังจากให้อาหารเป็นเวลา 45 วันในแต่ละกลุ่มการทดลอง เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

Test of Homogeneity of Variances

GSI

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.555	4	15	.699

ANOVA

GSI

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.964	4	.491	.250	.905
Within Groups	29.491	15	1.966		
Total	31.454	19			

GSI

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1	4	1.96925
3	4	2.22000
2	4	2.26400
5	4	2.53300
4	4	2.88975
Sig.		.413

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายอนุตตร โพคะรัตน์ศิริ สำเร็จการศึกษาระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายที่ โรงเรียนเบญจมราชรังสฤษฎิ์ จ. ฉะเชิงเทรา ได้เข้าศึกษาต่อปริญญาตรีที่ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำเร็จการศึกษาปี พ.ศ. 2548 และเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโทที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ผลงานวิทยานิพนธ์นี้ได้นำเสนอในการประชุมวิชาการ “วิทยาศาสตร์วิจัย” ครั้งที่ 3 ในวันที่ 14-15 มีนาคม 2554 ณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย