วิทยานิพนธ์

ผลของเบทาอีนต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์โภชนะใน กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*, Fabricius)

EFFECT OF BETAINE ON GROWTH PERFORMANCE AND NUTRIENT UTILIZATION IN JUVENILE BLACK TIGER SHRIMP (*Penaeus monodon*, Fabricius)

นายเกษฎา มณีรอด

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2549

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

ปริญญา

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ	เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง ผลของเบทาอีนต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์โภชนะในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*, Fabricius)

Effect of Betaine on Growth Performance and Nutrient Utilization in Juvenile Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*, Fabricius)

นามผู้วิจัย นายเกษฎา มณีรอด

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรพินท์ จินตสถาพร, วท.ด.)

กรรมการ .....

(รองศาสตราจารย์ประทักษ์ ตาบทิพย์วรรณ, Doctorat de 3 cycle)

กรรมการ .....

(รองศาสตราจารย์ส่งศรี มหาสวัสดิ์, วท.ม.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วราห์ เทพาหุดี, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์วินัย อาจคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของเบทาอีนต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์โภชนะใน กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*, Fabricius)

Effect of Betaine on Growth Performance and Nutrient Utilization in Juvenile Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*, Fabricius)

โดย

นายเกษฎา มณีรอด

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)
พ.ศ. 2549

ISBN 974-16-2902-8

เกษฎา มณีรอด 2549: ผลของเบทาอีนต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์โภชนะในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*, Fabricius) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ประธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรพินท์ จินตสถาพร, วท.ด. 92 หน้า
ISBN 974-16-2902-8

การศึกษาผลของเบทาอีนต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์โภชนะในกุ้งกุลาดำ โดยเสริมเบทา-อีน 3 ระดับ คือ ชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีเบทาอีนเท่ากับชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ โดยในอาหารที่ใช้ทดลองมีระดับโปรตีน 38 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 6 เปอร์เซ็นต์ และ พลังงานที่ย่อยได้ 2,830 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม ในระยะเวลา 3 เดือน พบว่า กุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนมีการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์โภชนะในส่วนของน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อตัวต่อวัน อัตราแลกเนื้อ และอัตรารอดตาย ใกล้เคียงกับกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน ส่วนการสะสมไกลโคเจนในตับพบว่าชุดที่เสริมเบทาอีน 1 เปอร์เซ็นต์ และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 6.63 ± 2.67, 16.48 ± 2.61 และ 11.94 ± 1.35 มก./ก. เนื้อเยื่อ ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีน 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดพบว่าชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่าชุดที่เสริมเบทาอีน 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 96.68 ± 5.27, 107.55 ± 6.84 และ 203.02 ± 17.09 มก./ดล. ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีน 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ กุ้งกุลาดำชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับของอาร์เอนเอในกล้ามเนื้อสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 0.0011 ± 0.0001, 0.0013 ± 0.0001 และ 0.0016 ± 0.0002 มก. อาร์เอนเอ/มก. เนื้อเยื่อ ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีน 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ระดับการสะสมของฟอสฟาติดิลโคลีนในเนื้อเยื่อของกุ้งกุลาดำชุดที่เสริมเบทาอีน 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) โดยที่มีค่าเท่ากับ 1.855 ± 0.088, 2.675 ± 0.392 และ 2.417 ± 0.202 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีน 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระยะเวลาการเข้ากินอาหารของกุ้งกุลาดำชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลาน้อยกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 5.69 ± 2.45, 3.57 ± 1.86 และ 2.77 ± 1.29 นาที ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นการเสริมเบทาอีนในอาหารกุ้งกุลาดำจะมีผลให้การใช้ประโยชน์โภชนะดีขึ้นและกุ้งเข้ากินอาหารได้เร็วขึ้น

_____ _____ ___/___/___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ

Ketsada Maneerod 2006: Effect of Betaine on Growth Performance and Nutrient Utilization in Juvenile Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*, Fabricius) Master of Science (Aquaculture), Major Field: Aquaculture, Department of Aquaculture.
Thesis Advisor: Assistant Professor Orapint Jintasataporn, Ph.D. 92 pages.
ISBN 974-16-2902-8

The experiment was conducted to evaluate effect of betaine on growth performance and nutrient utilization in juvenile black tiger shrimp (*Penaeus monodon*)**.** Three type of isonitrogeneous and isocaloric diet of 38% protein, 6% lipid and digestible energy of 2,830 kcal/kg were prepared with an unsupplemented control along with incorporation of non coated betaine at 1% and 2% coated betaine which was equal to 1% non coated betaine. In three month studied, growth performances and nutrient utilization on weight gain, average daily growth, feed conversion ratio (FCR) and survival rate in group of 1%, 2% betaine were in the same range as 0% betaine($p>0.05$). Glycogen in hepatopancreas of shrimp fed 1% and 2% betaine were higher than 0% betaine ($p\leq0.05$). There were 6.63$\pm$2.67 mg/g tissue 16.48$\pm$2.61 mg/g tissue and 11.94$\pm$1.35 mg/g tissue in group of 0% 1% and 2% betaine, respectively. Triglyceride in hemolymp of shrimp fed 2% betaine were higher than 1% and 0% betaine ($p\leq0.05$). There were 96.68$\pm$5.27 mg/dl 107.55$\pm$6.84 mg/dl and 203.02$\pm$17.09 mg/dl in group of 0%, 1% and 2% betaine, respectively. White muscle RNA in shrimp fed 2% betaine were higher than 0% betaine ($p\leq0.05$). There were 0.0011$\pm$0.0001 mg RNA/mg tissue, 0.0013$\pm$0.0001 mg RNA/mg tissue and 0.0016$\pm$0.0002 mg RNA/mg tissue in group of 0%, 1% and 2% betaine, respectively. Phosphatidylcholine in tissue of shrimp fed 1% and 2% betaine were higher than 0% betaine ($p\leq0.05$). There were 1.855$\pm$0.088 mg/g tissue 2.675$\pm$0.392 mg/g tissue and 2.417$\pm$0.202 mg/g tissue in group of 0%, 1% and 2% betaine, respectively. Shrimp fed 1% and 2% betaine demonstrated better responsibility on feed attraction period than 0% betaine ($p\leq0.05$). There were 5.69$\pm$2.45 min. 3.57$\pm$1.86 min. and 2.77$\pm$1.29 min. in group of 0%, 1% and 2% betaine, respectively. There fore, supplemental betaine in shrimp diet showed responsibility on promoting feed utilization and feed attraction.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผศ. ดร.อรพินท์ จินตสถาพร ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ให้คำปรึกษาในการวางแผนงานวิจัย และข้อแนะนำต่างๆ ตลอดจนการตรวจแก้ไขข้อบกพร่อง ในการวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบพระคุณ รศ. ดร. ประทักษ์ ตาบทิพย์วรรณ กรรมการสาขาวิชาเอก รศ. ส่งศรี มหาสวัสดิ์ กรรมการสาขาวิชารอง และ ผศ. ดร.แสงเทียน อัจจิมางกูร ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำและช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง (ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง) บางเขน ที่อนุเคราะห์ให้ใช้เครื่องมือ ขอขอบคุณ คุณสิทธิพร ชมภูรัตน์ ที่ให้คำแนะนำต่างๆ ในส่วนของการวิเคราะห์หาปริมาณฟอส-โฟลิปิด

ขอขอบคุณ คนในครอบครัวทุกท่านที่สนับสนุน ส่งเสริม และให้กำลังใจในการเรียนและการทำงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบคุณ คุณปรียานุช องค์ประเสริฐ คุณสุทิน สมบูรณ์ คุณจริยา สนิทชน คุณอดิษฐ์ ศุภไพบูลย์ ตลอดจนพี่ๆ น้องๆ ในสาขาอาหารสัตว์น้ำทุกท่าน ที่คอยให้ความช่วยเหลือ แนะนำ และให้กำลังใจมากตลอดเวลาที่ทำการวิจัย

เกษฎา มณีรอด

กันยายน 2549

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
กุ้งกุลาดำ	4
เบทาอีน	11
คาร์นิทีน	20
ครีเอทีน	22
ฟอสโฟลิปิด	23
ไตรเอซิลกลีเซอรอล	24
ไกลโคเจน	28
ไคติน	32
อุปกรณ์และวิธีการ	34
อุปกรณ์	34
วิธีการ	37
ผลและวิจารณ์	45
ผลการทดลอง	45
วิจารณ์ผลการทดลอง	55
สรุปและข้อเสนอแนะ	60
สรุป	60
ข้อเสนอแนะ	63
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	64
ภาคผนวก	73

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ความต้องการโปรตีนในอาหารของกุ้งทะเลที่ขนาดต่างๆ	6
2	ความต้องการกรดอะมิโนของกุ้งทะเล	7
3	ระดับกรดไขมันที่เหมาะสมในอาหารกุ้งทะเล	7
4	ระดับวิตามินที่เหมาะสมในอาหารกุ้งทะเล	8
5	ความต้องการแร่ธาตุของกุ้งสกุล *Penaeus*	9
6	คุณลักษณะทางเคมีของอาหารกุ้งทะเล	10
7	ขนาดเม็ดอาหารกุ้งสำหรับกุ้งระยะต่างๆ	10
8	สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง	35
9	ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง	36
10	พารามิเตอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์น้ำระหว่างทดลอง	38
11	การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน	48
12	อัตราส่วนอาร์เอนเอต่อโปรตีนของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน	50
13	ระดับการสะสมฟอสโฟลิปิดในเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน	51
14	ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน	51
15	ระดับการสะสมไกลโคเจนในตับของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน	52
16	เวลาการเข้าหาอาหารและปริมาณของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน	53
17	ระดับไคตินในเปลือกกุ้งและการลอกคราบของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน	54

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
1	คุณภาพน้ำระหว่างการทดลอง	92

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โมเลกุลของเบทาอีน	12
2	วัฏจักรของโฮโมซีสทีนที่มีเบทาอีนและโคลีนเกี่ยวข้อง	13
3	หน้าที่ของเบทาอีนเกี่ยวกับกระบวนการการไหลของของเหลวภายใต้สภาวะความเข้มข้นของสารสูง	15
4	ป้องกันเอนไซม์ของเบทาอีนจากความเค็ม หรือ อุณหภูมิ	16
5	การเพิ่มสูงขึ้นของเบทาอีนในไมโตคอนเดรียในปลาแซลมอน	17
6	การตอบสนองของปลากะพงแดง ต่อเบทาอีนและกรดอะมิโน	18
7	ความสัมพันธ์ของเมทาโบลิซึมระหว่างเบทาอีน โคลีน และ เมไธโอนีน	19
8	การขนส่งกรดไขมันหลังจากถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมันในรูป fatty acyl CoA และการเข้าเซลล์ของ fatty acyl CoA โดยการนำพาด้วยสารประกอบคาร์นิทีน	20
9	การสังเคราะห์คาร์นิทีน	21
10	การสังเคราะห์ครีเอทีน และ ครีเอทีนีน	22
11	การสังเคราะห์ไตรเอซิลกลีเซอรอล	26
12	การสลายไตรเอซิลกลีเซอรอล	27
13	การสังเคราะห์ไกลโคเจนจากกลูโคส	29
14	การยับยั้งการสังเคราะห์ไกลโคเจนโดยฮอร์โมนกลูคากอน	30
15	การสลายไกลโคเจนที่ตับ	31
16	ฮอร์โมนกลูคากอนเพิ่มการสลายไกลโคเจน ผ่านกลไก cAMP	31
17	โครงสร้างทางเคมีของไคติน	32
ภาพผนวกที่		
1	การสกัดอาร์เอนเอและโปรตีนจากกล้ามเนื้อ	77
2	การสกัดไขมัน	80
3	การแยกไขมันชนิดมีขั้วและไม่มีขั้ว	82
4	การแยกฟอสฟาติดิลโคลีนออกจากไขมันชนิดมีขั้ว	84
5	การวิเคราะห์ไกลโคเจนในตับ	87

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
6	การวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ในเลือด	91

ผลของเบทาอีนต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์โภชนะใน กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*, Fabricius)

Effect of Betaine on Growth Performance and Nutrient Utilization in Juvenile Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*, Fabricius)

คำนำ

ประเทศไทยเป็นผู้นำในการส่งออกกุ้งกุลาดำเป็นอันดับหนึ่งของโลกในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา โดยมีผลผลิตส่งออกได้ถึงปีละ 250,000 ตัน และมีมูลค่าการส่งออกสูงถึง 100,000 ล้านบาท ในปี 2543 แต่ในปี พ.ศ. 2544 ธุรกิจอุตสาหกรรมกุ้งกุลาดำได้ประสบกับปัญหา ซึ่งส่งผลให้ผู้เลี้ยงกุ้งทุกพื้นที่ทั่วประเทศจำนวนประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ของฟาร์มกุ้งทั้งหมดต่างประสบปัญหาการขาดทุนอย่างรุนแรง ทำให้ผู้เลี้ยงหลายรายต้องเลิกกิจการไป ทำให้มูลค่าการส่งออกลดลงเหลือ 73,973.95 ล้านบาท ปี พ.ศ. 2545 71,870.01 ล้านบาท ปี พ.ศ. 2546 และ 67,784.38 ล้านบาท ปี พ.ศ. 2547 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร: 2548) ทั้งนี้เกิดมาจากปัญหาการตกค้างของยาในกุ้ง และการเลี้ยงที่มีอัตรารอดต่ำได้ผลผลิตน้อย

สภาวะการเลี้ยงกุ้งกุลาดำภายในประเทศในปัจจุบันมักประสบกับปัญหาการเลี้ยงกุ้งแล้วไม่โต หรือโตช้า ซึ่งสาเหตุหนึ่งมาจากปัญหาการใช้ประโยชน์ทางโภชนาการที่ไม่มีประสิทธิภาพของกุ้งกุลาดำเอง ซึ่งถือได้ว่าเป็นปัญหาสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการส่งออกกุ้งกุลาดำของประเทศ เนื่องจากการเลี้ยงนั้นจะได้ผลผลิตที่ต่ำมาก ดังนั้นถ้าหากสามารถแก้ปัญหาดังกล่าวได้ก็จะเป็นอีกหนึ่งหนทางที่จะช่วยแก้ไขปัญหาการส่งออกกุ้งกุลาดำของประเทศไทย

ปัญหาการใช้ประโยชน์ทางโภชนาการที่ไม่มีประสิทธิภาพของกุ้งกุลาดำ นั้นอาจเกิดมาจากการได้รับอาหารที่มีสมดุลโภชนะไม่เหมาะสมหรือการได้รับโภชนะมากเกินความจำเป็นจนร่างกายของสัตว์ไม่สามารถปรับสมดุลของการใช้ประโยชน์โภชนะได้ เช่น สภาวะที่ร่างกายขาดกลูโคส หรือมีกลูโคสไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกายทำให้ต้องสลายโปรตีนที่ได้รับจากอาหาร หรือโปรตีนของร่างกายมาใช้เป็นแหล่งพลังงานแทน ซึ่งทำให้โปรตีนที่ใช้ในการสร้างโปรตีนของร่างกายลดลง หรืออาจเกิดจากการสะสมของไขมันในร่างกายมากเกินไป ที่เป็นสาเหตุ

ของการเกิดโรค เช่น โรคตับบวม บวมน้ำ ปัญหาที่กล่าวมานั้นเป็นสาเหตุที่ทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องปรับสมดุลหรือเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารให้ดีขึ้นเพื่อป้องกันปัญหาดังกล่าว ซึ่งเบทาอีนเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้ในการปรับสมดุลหรือเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารนี้

เบทาอีนเป็นสารประกอบของไกลซีนที่มีหมู่เมทิลเกาะอยู่ที่โมเลกุล 3 หมู่ โมเลกุลมีขนาดเล็ก น้ำหนักโมเลกุลน้อย ทนความร้อน ละลายน้ำได้ดี และมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ดังนั้นเบทาอีนจึงใช้เป็นสารกระตุ้นการเข้าหา และกินอาหารได้เป็นอย่างดี อีกทั้งยังมีคุณสมบัติเป็นตัวให้หมู่เมทิล (methyl group) ซึ่งมีความสำคัญต่อขบวนการสังเคราะห์โปรตีน (protein synthesis) การสังเคราะห์คาร์นิทีน (carnitine) ครีเอทีน (creatine) และ ฟอสฟาติดิลโคลีน (phosphatidylcholine) ของร่างกาย ดังนั้นการเติมเบทาอีนลงในสูตรอาหารโดยภาพรวมจะทำให้การเจริญเติบโต และการใช้ประโยชน์สารกลุ่มที่ให้พลังงานได้ดีขึ้น ซึ่งส่งผลให้ระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงลดลง อีกทั้งยังมีผลทำให้ลักษณะเนื้อของกุ้งมีคุณภาพที่ดีขึ้นอีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของเบทาอีนต่อการเติบโตของกุ้งกุลาดำ

2. เพื่อศึกษาผลของเบทาอีนต่ออัตราการสังเคราะห์ โปรตีนของกุ้งกุลาดำ

3. เพื่อศึกษาผลของเบทาอีนต่อระดับไกลโคเจน ไตรกลีเซอไรด์ และฟอสโฟลิปิดของกุ้งกุลาดำ

4. เพื่อศึกษาผลของเบทาอีนต่อการลอกคราบและระดับของไคตินของเปลือกกุ้งกุลาดำ

การตรวจเอกสาร

1. กุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งทะเลชนิดหนึ่งที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในเอเชีย มีเปลือกหัวเกลี้ยงไม่มีขน ฟันกรีด้านบน 7-8 ซี่ ด้านล่าง 3 ซี่ ช่องข้างกรีทั้งสองด้านแคบและยาวไม่ถึงฟันกรีสุดท้าย ลำตัวเป็นข้อปล้องมีทั้งหมดประมาณ 19 ปล้อง แต่ละปล้องมีระยางค์ 1 คู่ ระยางค์แต่ละคู่มีหน้าที่แตกต่างกันไป กุ้งชนิดนี้มีสีน้ำตาลเข้ม และมีสีจางพาดขวางตัว ลำตัวแบ่งออกเป็นสามส่วนใหญ่ คือ ส่วนหัว ส่วนอก และส่วนลำตัว ส่วนหัวมีปล้องอยู่ด้วยกัน 5 ปล้อง ส่วนอกมี 8 ปล้อง และส่วนของลำตัวมี 6 ปล้อง ถิ่นอาศัยของกุ้งกุลาดำ ได้แก่ น่านน้ำแถบทางใต้ของประเทศฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย มาเลเซีย และพบมากใน ประเทศไทย ออสเตรเลีย และอินเดีย กุ้งชนิดนี้อาศัยอยู่ในเขตร้อน จึงสามารถทนอยู่ได้ในน้ำที่อุณหภูมิสูงและความเค็มสูง ชอบอยู่ในบริเวณที่เป็นดินโคลน กินอาหารทั้งพืชและสัตว์

เนื่องจากกุ้งกุลาดำมีลำตัวค่อนข้างใหญ่ จึงมีชื่อเรียกโดยทั่วไปว่า “Giant Tiger Prawn” และมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Penaeus monodon* Fabricius กุ้งเป็นสัตว์ที่ต้องลอกคราบเพื่อการเจริญเติบโตและอยู่รอด หากเกิดปัญหาในการลอกคราบขึ้นเมื่อโตแสดงว่าจะหยุดการเจริญเติบโตและจะตายในที่สุด การลอกคราบของกุ้งจะช้าหรือเร็วนั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ อายุ อาหาร แสง และอุณหภูมิ

กุ้งกุลาดำมีพฤติกรรมการกินอาหารตามพื้นผิวดิน ซึ่งในการหาอาหารนั้น กุ้งกุลาดำจะใช้การสัมผัสอาหาร โดยใช้เซลล์รับความรู้สึกทางกลิ่นจากหนวดและรยางค์มากกว่าการมองเห็น เมื่อพบอาหารจะใช้ขาเดิน 3 คู่แรก คู่ใดคู่หนึ่งหรือร่วมกันจับอาหารแล้วถือแทะ อาหารจะถูกเคี้ยวให้ละเอียดอยู่ในปากก่อนถูกกลืนเข้าสู่กระบวนการย่อยอาหารในร่างกายของกุ้งต่อไป

อาหารของกุ้งกุลาดำแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ 1) อาหารธรรมชาติ กุ้งกุลาดำระยะโตเต็มวัยกินทั้งสัตว์และพืชแต่ชอบสัตว์มากกว่าพืช อาหารที่กินส่วนใหญ่ประกอบด้วย กุ้ง หอย ปู ปลา และหนอนขนาดเล็ก อาหารธรรมชาติในบ่อเลี้ยงของกุ้งกุลาดำคือ สาหร่าย หนอนขนาดเล็กทั้งมีชีวิตและตายเน่าเปื่อยตามพื้นบ่อและแบคทีเรีย ซึ่งสามารถยืนยันได้จากการตรวจปริมาณของ

อนินทรีย์คาร์บอนในกระเพาะอาหารของกุ้งกุลาดำว่ามาจากแบคทีเรีย 2) อาหารสำเร็จรูป เป็นอาหารที่ปรุงแต่งขึ้นมาจากวัตถุดิบหลายๆ ชนิดมารวมกัน เช่น ปลาป่น กากถั่ว วิตามิน แร่ธาตุ และอื่นๆ

1.1 <u>ความต้องการสารอาหาร</u>

1.1.1 <u>ความต้องการโปรตีนและกรดอะมิโน</u>

กุ้งขนาดเล็กตั้งแต่ระยะโพสท์ลาวี (post larvae) จะมีความต้องการโปรตีนสูง อาหารกุ้งในระยะนี้จึงควรมีโปรตีนสูงกว่า 45 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักอาหาร ส่วนกุ้งรุ่นและกุ้งขนาดใหญ่ จะมีความต้องการโปรตีนที่ต่ำลง คือ ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักอาหาร โปรตีนในอาหารกุ้งจะต้องมีกรดอะมิโนที่จำเป็นครบทั้ง 10 ชนิด คือ อาร์จินิน ฮีสติดีน ไอโซลิวซีน ลิวซีน ไลซีน เมไธโอนีน ฟีนิลอะลานีน ทรีโอนีน ทริปโตเฟน และวาลีน

โปรตีนในอาหารกุ้งจะได้มาจาก 2 แหล่ง คือ จากปลาป่น และกากถั่วเหลือง ซึ่งจำเป็นต้องใช้โปรตีนจากทั้งสองแหล่งรวมกัน เพื่อเป็นการลดต้นทุนจากค่าปลาป่น และเป็นการป้องกันการขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นบางตัว ในกรณีที่กุ้งได้รับโปรตีนไม่เพียงพอจะทำให้กุ้งโตช้าและน้ำหนักตัวลดลง แต่ถ้ารับโปรตีนมากเกินความต้องการจะสามารถเปลี่ยนเป็นพลังงานและไขมันได้

1.1.2 <u>ความต้องการไขมัน</u>

ไขมันถือว่าเป็นแหล่งพลังงาน และเป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็นที่กุ้งใช้ในการเจริญเติบโต และอยู่รอด นอกจากนี้ไขมันยังเป็นแหล่งของวิตามินชนิดที่ละลายได้ในไขมัน ฟอสโฟลิปิด (phospholipid) และสเตอรอยด์ (steroid) ซึ่งมีความสำคัญต่อขบวนการเมตาบอลิซึม และใช้เป็นส่วนประกอบของเซลล์ และใช้ในการสังเคราะห์ฮอร์โมน

อาหารกุ้งควรมีไขมันอยู่ประมาณ 6 – 8 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักอาหาร ส่วนในกุ้งที่มีขนาดเล็กจะมีความต้องการไขมันมากว่ากุ้งที่มีขนาดใหญ่ ดังนั้นไขมันในอาหารจึงควรมีประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ และลดลงจนถึง 6 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเต็มวัย กุ้งที่เข้าระยะสืบพันธุ์จะมี

ความต้องการไขมันสูงกว่าปกติช่วงหนึ่งนำไปใช้ในการเจริญพันธุ์ ดังนั้นจึงควรเพิ่มไขมันเป็น 10 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตามในอาหารไม่ควรมีไขมันสูงเกินกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากจะมีไขมันสะสมในร่างกายมากเกินไป ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคที่เกิดจากภาวะโภชนาการที่ไม่สมดุล เช่น ตับบวม บวมน้ำ

1.1.3 ความต้องการคาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตถือได้ว่าเป็นแหล่งพลังงาน ซึ่งถ้ากุ้งได้รับไม่เพียงพอกุ้งจะดึงโภชนะตัวอื่น เช่น โปรตีนมาเป็นแหล่งพลังงาน ทำให้เหลือโปรตีนสำหรับการเจริญเติบโตน้อยลง แต่ถ้ากุ้งได้รับมากเกินไปจะทำให้สัดส่วนของคาร์โบไฮเดรตต่อโปรตีนมีปริมาณโปรตีนลดลง ซึ่งจะทำให้กุ้งโตช้า

1.1.4 ความต้องการวิตามิน

ผลการศึกษาความต้องการวิตามินในกุ้งกุลาดำยังไม่มีข้อสรุปชัดเจน แต่มีแนวโน้มว่าวิตามินละลายน้ำบางชนิดไม่จำเป็นต้องเติมในอาหารกุ้งกุลาดำวัยรุ่น (Catacutan and Kanazawa, 1985) การขาดวิตามินซีอาจทำให้กุ้งเปลี่ยนเป็นสีฟ้า อาการเช่นนี้แก้ไขให้เป็นปกติได้โดยการใส่สารสี (astaxanthin) ในอาหารสารสีดังกล่าวเป็นแหล่งของวิตามินเอ จึงทำหน้าที่ต้านการเติมออกซิเจนในไขมัน และสำรองวิตามินซีไว้ให้กุ้งได้ใช้อย่างเพียงพอ (Menasveta *et al.,* 1990)

ตารางที่ 1 ความต้องการโปรตีนในอาหารของกุ้งทะเลที่ขนาดต่างๆ

ขนาดของกุ้ง (กรัม)	ระดับโปรตีน (%)
0.002 – 0.25	50
0.25 – 1.0	45
1.0 – 3.0	40
> 3.0	35

ที่มา : Akiyama (1991)

ตารางที่ 2 ความต้องการกรดอะมิโนของกุ้งทะเล

กรดอะมิโน	โปรตีน (%)	โปรตีนในอาหาร (%)			
		36 %	38%	40%	45%
อาร์จินิน	5.8	2.09	2.20	2.32	2.61
ฮีสติดีน	2.1	0.76	0.80	0.84	0.95
ไอโซลิวซีน	3.5	1.26	1.33	1.40	1.58
ลิวซีน	5.4	1.94	2.05	2.16	2.43
ไลซีน	5.3	1.91	2.01	2.12	2.39
เมไธโอนีน	2.4	0.86	0.91	0.96	1.08
ฟีนิลอะลานีน	4.0	1.44	1.52	1.60	1.80
ทรีโอนีน	3.6	1.30	1.37	1.44	1.62
ทริปโตเฟน	0.8	0.29	0.30	0.32	0.36
วาลีน	4.0	1.44	1.52	1.60	1.80

ที่มา : Akiyama (1991)

ตารางที่ 3 ระดับกรดไขมันที่เหมาะสมในอาหารกุ้งทะเล

กรดไขมัน	ระดับความต้องการ (%)
ไลโนลีนิก Linolenic Acid (18:3n3)	0.3
ไลโนลีอิก Linoleic Acid (18:2n6)	0.4
อีโคซาเพนตาอีโนอิก Eicosapentaenoic Acid (20:5n3)	0.4
ดีโคซาเฮกซาอีโนอิก Decosahexaenoic Acid (22:6n3)	0.4

ที่มา : Akiyama (1991)

ตารางที่ 4 ระดับวิตามินที่เหมาะสมในอาหารกุ้งทะเล

วิตามิน	ระดับความต้องการ
วิตามิน เอ (Vitamin A) IU/kg	10,000
วิตามิน ดี (Vitamin D) IU/kg	5,000
วิตามิน อี (Vitamin E) mg/kg	300
วิตามิน เค (Vitamin K) mg/kg	5
ไธอะมีน (Thiamin,vitamin B1) mg/kg	50
ไรโบเฟลวิน (Riboflavin,vitamin B2) mg/kg	40
ไพริดอกซีน (Pyridoxine,vitamin B6) mg/kg	50
โคบาลามีน (Cobalamine,vitamin B12) mg/kg	0.1
กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid,vitamin C) mg/kg	1,000
กรดแพนโทเธนิก (Pantothenic acid)	75
ไนอะซีน (Niacin)	200
ไบโอติน (Biotin)	-
กรดโฟลิก (Folic acid)	10
โคลีน (Choline)	400
ไมโออินอซิตอล (Myo-Inositol)	300

ที่มา : Akiyama *et al.(*1991)

ตารางที่ 5 ความต้องการแร่ธาตุของกุ้งสกุล *Penaeus*

แร่ธาตุ	ระดับความต้องการ mg/kg อาหาร
แคลเซียม (calcium,Ca)	23,000
ฟอสฟอรัสรวม (total phosphorus)	15,000
ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available phosphorus)	8,000
แมกนีเซียม (magnesium,Mg)	2,000
โซเดียม (sodium,Na)	6,000
โพแทสเซียม (potassium,K)	9,000
เหล็ก (iron,Fe)	300
ทองแดง (copper,Cu)	35
สังกะสี (zinc,Zn)	110
แมงกานีส (manganese,Mn)	20
ซีลีเนียม (selenium,Se)	1
โคบอล (cobolt,Co)	10

ที่มา : Akiyama *et al.(*1991)

1.2 อาหารสำเร็จรูป

ลักษณะอาหารกุ้งที่ดี คือ กลิ่น รสที่ดี ดึงดูดให้กุ้งวิ่งเข้าหาอาหารและกินอาหารได้เร็ว มีคุณค่าทางโภชนาการครบตรงตามความต้องการของกุ้ง เมื่อกินแล้วกุ้งสามารถย่อย ดูดซึม นำไปใช้ประโยชน์ได้มาก เม็ดอาหารจมน้ำเร็ว และคงสภาพได้นานในน้ำ (มากว่าหรือเท่ากับ 3 ชั่วโมง) และต้องไม่มีกลิ่นเหม็นหืนหรือขึ้นรา

ตารางที่ 6 คุณลักษณะทางเคมีของอาหารกุ้งทะเล

รายการที่	คุณลักษณะ	อาหารกุ้งทะเล			
		ชนิดผงสำหรับกุ้งระยะ 1 และชนิดผงสำหรับกุ้งวัยอ่อนระยะ 2	ชนิดเม็ดสำหรับกุ้งเล็ก	ชนิดเม็ดสำหรับกุ้งกลาง	ชนิดเม็ดสำหรับกุ้งใหญ่
1	เปอร์เซ็นต์โปรตีนไม่น้อยกว่า	38	38	36	35
2	เปอร์เซ็นต์ไขมันไม่น้อยกว่า	5	5	4	3
3	เปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสไม่น้อยกว่า	1.5	1.5	1.5	1.5
4	เปอร์เซ็นต์กากไม่เกิน	3	3	4	4
5	เปอร์เซ็นต์ความชื้นไม่เกิน	11	11	12	12

ที่มา : อมรรัตน์ (2548)

ตารางที่ 7 ขนาดเม็ดอาหารกุ้งสำหรับกุ้งระยะต่างๆ

ขนาดกุ้ง (g)	ขนาดเม็ดอาหาร
0.002 – 0.02	400 – 600 μm
0.02 – 0.08	600 – 850 μm
0.05 – 0.25	850 – 1200 μm
0.25 – 1.0	1200 – 1800 μm
1.0 – 2.5	3/32″ pellet (2.4 mm)
>2.5	1/8″ pellet (3.2 mm)

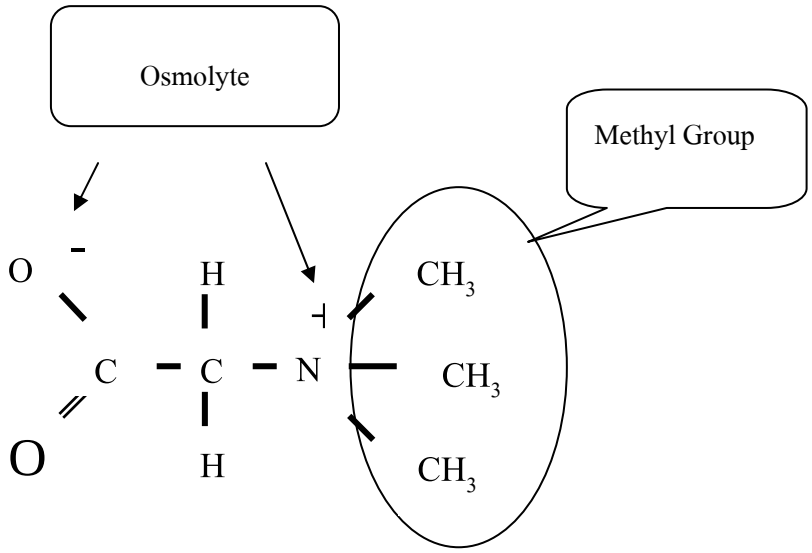
ที่มา : Akiyama *et al.(*1991)

2. <u>เบทาอีน</u>

เบทาอีน (betaine) มีอยู่ทั่วไปในสัตว์ พืช และสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก และจะมีมากในอาหารประเภทอาหารทะเล โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลัง (ประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์) เมล็ดหรือ รำของข้าวสาลี (ประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์) และ ในผักโขม (ประมาณ 0.7 เปอร์เซ็นต์)

บทบาททางด้านสรีระวิทยาของเบทาอีนนั้นมีอยู่ด้วยกัน 2 ประการ คือ หน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการการไหลของของเหลว (osmolyte) และ เป็นตัวให้หมู่เมทิล (transmethylation) หน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการการไหลของของเหลวนั้น เบทาอีนจะทำหน้าที่ปกป้องเซลล์ โปรตีน และเอนไซม์ จากความเครียดที่เกิดจากปัจจัยของสิ่งแวดล้อม เช่น ความเค็ม หรือ อุณหภูมิสูง ส่วนหน้าที่ในการเป็นตัวให้หมู่เมทิลนั้นเบทาอีนจะเข้าไปมีส่วนร่วมในวัฏจักรของเมไธโอนีน (methionine) ในกรณีของมนุษย์จะเริ่มขึ้นในส่วนของตับและไต การได้รับอาหารที่มีหมู่เมทิลไม่เพียงพอนั้นจะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่าไฮโปเมทิเลชั่น (hypomethylation) ในหลายๆ กระบวนการ (pathway) สำคัญ เช่น 1) รบกวนเมทาโบลิซึมของโปรตีนในตับ (methionine) ซึ่งเป็นสาเหตุจากการเพิ่มระดับความเข้มข้นของโฮโมซีสเตอีน (homocysteine) ในพลาสมา (plasma) ทำให้สามารถเปลี่ยนไปเป็นเมทไทโอนีนได้น้อยลง และ การลดระดับความเข้มข้นลงของ เอส-อดีโนซิลเมไธ-โอนีน (s-adenosylmethioine) 2) รบกวนเมทาโบลิซึมของไขมันในตับ ซึ่งจะทำให้เกิดการสะสมของไขมัน หรือที่เรียกว่าสเตียโตซีส (steatosis) การเปลี่ยนแปลงของเมทาโบลิซึมในตับนี้อาจนำไปสู่การเกิดโรคอีกมากมาย เช่น โรคเกี่ยวกับเส้นเลือดหล่อเลี้ยงหัวใจ (coronary diseases) โรคที่เกี่ยวกับสมอง (cerebral diseases) โรคที่เกี่ยวกับตับ (hepatic diseases) และโรคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินโลหิตในร่างกาย (vascular diseases) ซึ่งเบทาอีนแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการปกป้องอวัยวะภายใน ลดปัจจัยเสี่ยงเกี่ยวกับโรคระบบทางเดินโลหิตในร่างกายทำให้มีผลที่ดีขึ้น

เบทาอีน มีเมทาโบลิซึม หลักอยู่ด้วยกัน 2 ประการ คือ หน้าที่เกี่ยวกับป้องกันกระบวนการการไหลของของเหลว (osmoprotectant) กับการเป็นตัวให้หมู่เมทิล (methyldonor) ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ดังนั้นจึงได้มีการเติมเบทาอีน เพื่อเป็นสารดึงดูดความสนใจ (attractant) สำหรับสัตว์น้ำหลายชนิด ซึ่งจะมีประโยชน์อย่างมากในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์น้ำในการทำให้สัตว์น้ำมีลักษณะที่ดีขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งภายใต้สภาวะที่ไม่เหมาะสม



ภาพที่ 1 โมเลกุลของเบทาอีน

เบทาอีน นั้นเป็นสารที่ไม่มีพิษ (เป็นองค์ประกอบของกายภาพทางธรรมชาติ) จึงมักใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารและใช้เป็นยา โดยจะมีความทนทานต่อความร้อนที่มากกว่า 200 องศาเซลเซียส ได้ ดังนั้นจึงยังคงสภาพอยู่ได้ในขณะดำเนินการผลิตอาหาร (food processing)

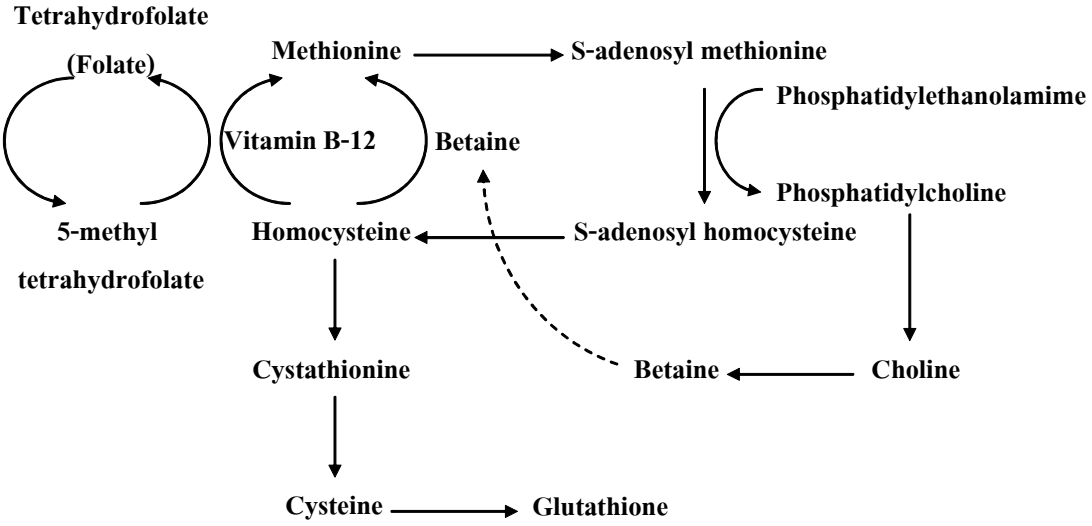
เบทาอีน ที่อยู่ในระดับสูงๆ สามารถพบได้ในสัตว์น้ำที่เป็นเหยื่อตามธรรมชาติ โดยเฉพาะในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในทะเล (Meyers, 1989) แต่ในวัตถุดิบหลักที่ใช้สำหรับทำอาหารในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนั้นจะมีเบทาอีนอยู่ในปริมาณน้อย ดังนั้น สัตว์น้ำที่เลี้ยงในฟาร์มโดยทั่วไปจึงได้รับเบทาอีนในระดับที่ต่ำกว่าสัตว์น้ำตามธรรมชาติ

2.1 ชีวเคมีของเบทาอีน

เบทาอีนถูกสร้างขึ้นในร่างกายโดยกระบวนการออกซิเดชันของโคลีน (oxidation of choline) ไตรเมทิลเลท (trimethylated) และสารประกอบที่ให้หมู่เมทิล กระบวนการสังเคราะห์มีอยู่ด้วยกัน 2 ขั้นตอน คือ 1.) เปลี่ยนจากโคลีนมาเป็นเบทาอีนแอลดีไฮด์ (betaine aldehyde) โดย

เบทาอีนแอลดีไฮด์ นี้จะเป็นอินเตอร์มิเดียท (intermediate) ของปฏิกิริยา 2.) เปลี่ยนจากเบทาอีนแอลดีไฮด์ เป็นไกลซีนเบทาอีน (glycine betaine) ซึ่งจะมีเอนไซม์มาเกี่ยวข้องโดยจะเป็นชนิดใดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด

เบทาอีนจะให้หมู่เมทิลอย่างจำกัดเพียงหนึ่งปฏิกิริยาชีวเคมีเท่านั้นของการเปลี่ยนโฮโมซีส-ทีน (homocystein) ไปเป็นเมไธโอนีน (methionine) หลังจากที่มีการให้หมู่เมทิลแล้ว เบทาอีนจะเปลี่ยนไปเป็นไดเมทิลไกลซีน (dimethylglycine: DMG) ในวัฏจักรเมไธโอนีนโฮโมซีสทีน (methionine-homocysteine recycling) ซัลเฟอร์ที่อยู่ในโครงสร้างโมเลกุลของเมไธโอนีนจะถูกเปลี่ยนเป็นเอส-อดีโนซิลเมไธโอนีน (s-adenosylmethionine: SAMe) การให้หมู่เมทิลครั้งแรกสำหรับปฏิกิริยาทางชีวเคมีจะเกิดขึ้นที่ตับและถูกส่งมาที่เนื้อเยื่อ การสูญเสียหมู่เมธิลทำให้เอส-อะดีโนซิลเมไธโอนีน ถูกเปลี่ยนไปเป็นเอส-อดีโนซิลโฮโมซิสทีน ต่อมาเอส-อะดีโนซิลโฮโมซิสทีนจะสูญเสียอะดีโนซีน (adenosine) แล้วจะถูกเปลี่ยนเป็นโฮโมซีสทีน หลังจากนั้นจะถูกเมตาบอไลซ์ไปเป็นกรดอะมิโนซีสเธอีน (cysteine) และทอรีน (taurine) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการย้ายหมู่ซัลเฟอร์ (transsulfuration) หรือเปลี่ยนกลับมาเป็นเมไธโอนีนจากการรับหมู่เมทิลในปฏิกิริยาเมทิลเลชัน การเพิ่มหมู่เมทิลในโฮโมซิสทีนมีอยู่ด้วยกันสองทาง คือ การให้หมู่เมทิลของเมทิลโม-คาบาลามีน (methylmocabalamin) หรือโคบาลามีน (วิตามิน B12) ซึ่งเป็นโคเอนไซม์ (coenzyme)



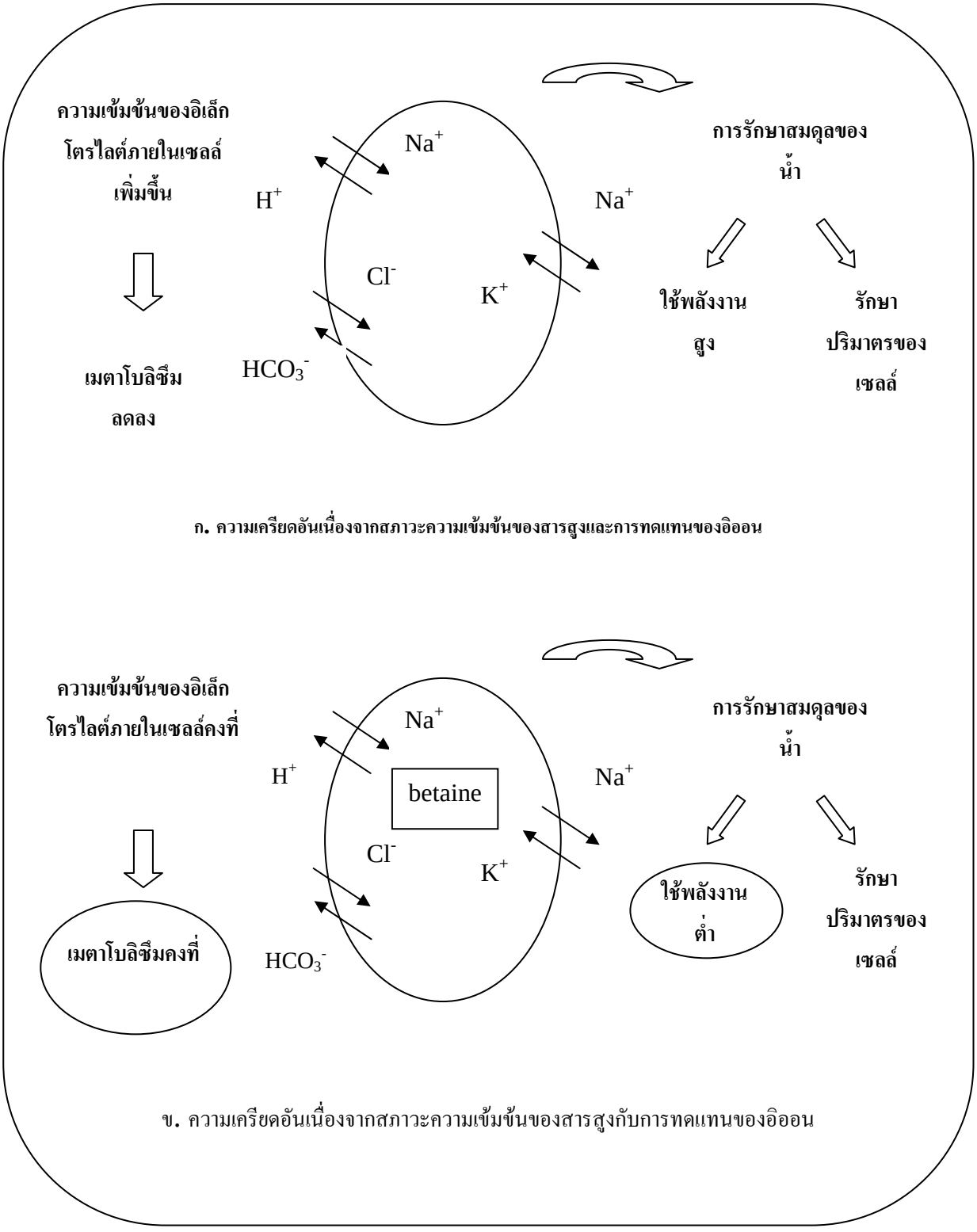
ภาพที่ 2 วัฏจักรของโฮโมซีสทีนที่มีเบทาอีนและโคลีนเกี่ยวข้อง

ในปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่สังเคราะห์เมไธโอนีนหรืออีกทางหนึ่งคือการให้หมู่เมทิลของเบทาอีนแก่โฮโมซีสทีนโดยเอนไซม์เบทาอีน-โฮโมซิสทีน เมธิลทรานซ์เฟอเรส (betaine-homocysteine methyltransferase: BHMT) (Miller, 2003)

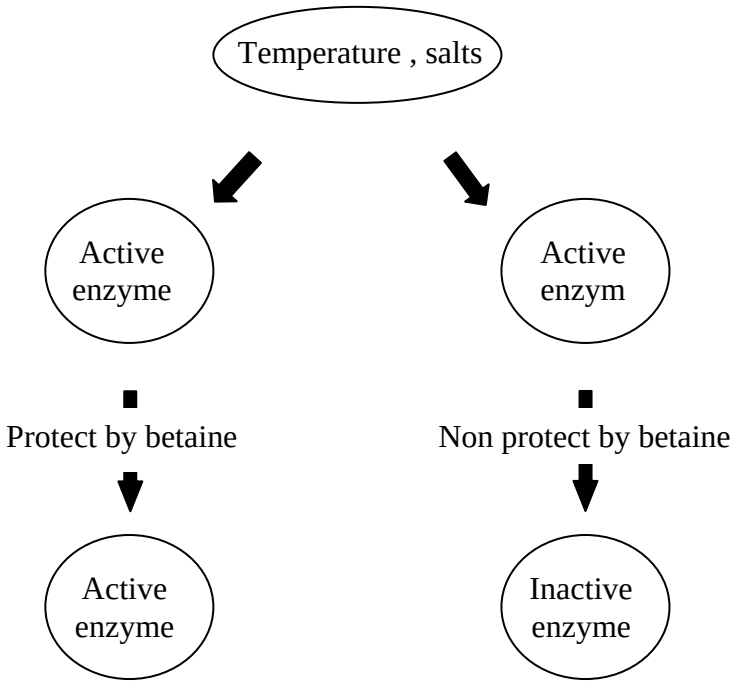
2.2 <u>คุณสมบัติของเบทาอีน</u>

2.2.1 <u>คุณสมบัติช่วยรักษาสมดุลในร่างกาย</u>

จุลินทรีย์และสัตว์นั้นจะมีความสามารถในการป้องกันเซลล์จาก osmotic inactivation จึงเป็นเหตุผลสำคัญที่ว่าทำไมเบทาอีนจึงพบเป็นปริมาณมากในพืชบางชนิด ซึ่งในพืชไม่มี organism เหล่านี้ เมื่ออยู่ในสภาวะแห้งแล้งหรือสภาวะที่มีความเค็มสูงๆ จะมีการสังเคราะห์เบทาอีนขึ้นในส่วนของ mitochondria ส่งผลให้เกิดการสะสมของเบทาอีนขึ้นภายในเซลล์ โดยเบทาอีนจะเป็นตัวที่ดึงน้ำเข้าสู่เซลล์ และขับเกลืออนินทรีย์ (inorganic salt) ออก และเป็นตัวช่วยป้องกันเอนไซม์ (intracellular enzyme) จากความเค็ม (osmotically) หรือ อุณหภูมิ (temperature) ทำให้เอนไซม์ยังอยู่ในสภาวะที่สามารถทำงานได้ (activation) (McCue and Hanson, 1990; Yancey *et. al*. 1982) ได้มีการทดลองในส่วนของไตสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเพื่อแสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติดังกล่าวของเบทาอีนที่กล่าวมาข้างต้น แต่อย่างไรก็ตาม การสะสมของเบทาอีนในไตนี้ โดยหลักๆ แล้ว จะได้รับมาจากแหล่งภายนอก (exogenous origin) มากกว่าการสังเคราะห์ขึ้นเองภายในไต (de novo synthesis) (Sung and Johnson, 1969; Burg, 1992) ในขณะที่บางอวัยวะสามารถเพิ่มอัตราการสังเคราะห์เบทาอีนในระหว่างที่เกิดความเครียดอันเนื่องจากการเพิ่มระดับความเข้มข้นของสาร (osmotic stress) ได้ แต่อาจจะต้องได้รับเบทาอีนที่มาจากแหล่งภายนอก (exogenous source) บ้างบางส่วนในการป้องกันเซลล์จากการเพิ่มความเข้มข้นของสาร ตัวอย่างเช่น ไมโตคอนเดรียในตับของปลาแซลมอน (salmon) จะได้รับผลกระทบจาก ความเครียดอันเนื่องจากการเพิ่มความเข้มข้นของสารทำให้การสังเคราะห์เบทาอีนลดลง ส่งผลให้ไมโตคอนเดรียมีการหายใจน้อยลง แต่เมื่อเติมเบทาอีนในอาหารที่ใช้ในการบ่ม (incubation medium) เห็นได้ชัดว่ามีผลทำให้เกิดการสะสมของเบทาอีนในเนื้อเยื่อของปลาที่ได้รับความเครียดจากการเพิ่มความเข้มข้นของสารซึ่งเบทาอีนจะเป็นตัวช่วยในการรักษาสมดุลของไอออน และแรงดันออสโมติค และการทำงานของเมทาโบลิซึมของร่างกายดีขึ้น (Björköy, 1991)

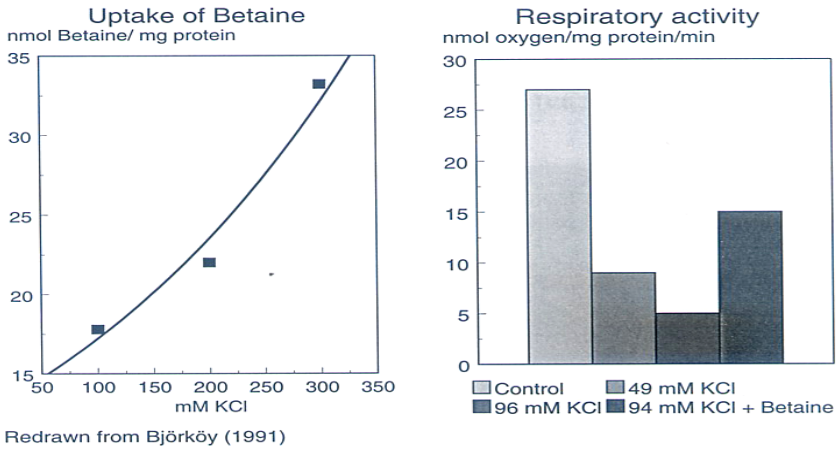


ภาพที่ 3 หน้าที่ของเบทาอีนเกี่ยวกับกระบวนการการไหลของของเหลวภายใต้สภาวะความเข้มข้นของสารสูง



ภาพที่ 4 ป้องกันเอนไซม์ของเบทาอีนจากความเค็ม หรือ อุณหภูมิ

การสะสมของเบทาอีนในเนื้อเยื่อของปลาที่อยู่ในสภาวะที่เกิดความเครียดอันเนื่องจากการเพิ่มความเข้มข้นของสาร สามารถเป็นการช่วยให้เซลล์รักษาสารอนินทรีย์, ความสมดุลของความเข้มข้นสาร (osmotic balance) และ กิจกรรมเกี่ยวกับเมทาโบลิซึมของร่างกาย (metabolic activity) ไว้ได้

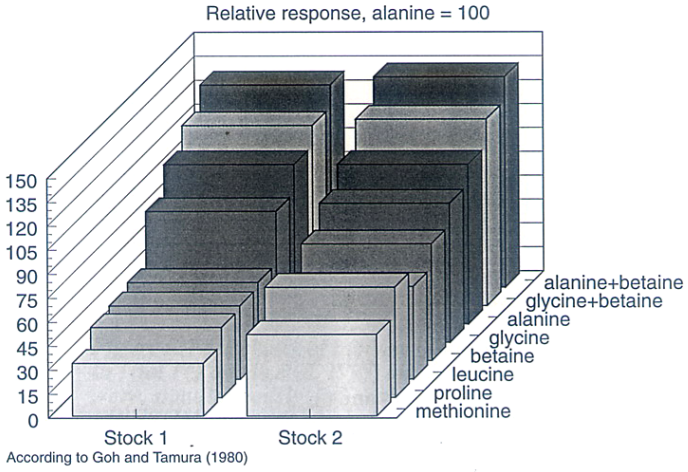


<u>ภาพที่ 5</u> การเพิ่มสูงขึ้นของเบทาอีนในไมโตคอนเดรียในปลาแซลมอน
ที่มา : Björköy (1991)

2.2.2 <u>คุณสมบัติช่วยดึงดูดการกิน</u>

ในสัตว์น้ำที่ไม่มีกระดูกสันหลังหลายชนิดนั้นมีเบทาอีนอยู่ในระดับสูง ดังนั้นจึงไม่น่าแปลกใจที่ปลาหลายชนิดนั้นมีความไวต่อเบทาอีนซึ่งเป็นสารประกอบที่ละลายได้จากสัตว์ที่เป็นเหยื่อ ซึ่งถือได้ว่าเป็นสิ่งกระตุ้นการรับกลิ่นและรสชาติตามธรรมชาติ มีรายงานว่าเบทาอีนมีผลต่อการดึงดูดการกินอาหารของสัตว์น้ำ เช่น ปลากลุ่มซัลโมนิด (salmonids) (Marui *et al*., 1983) ซีบรีม (sea bream) (Goh and Tamura, 1980) โดเวอร์โซล (dover sole) (Mackie *et al.*, 1980, Mackie and Mitchell, 1982) ปลาไหล (Mackie and Mitchell, 1983) และกุ้ง (Carr, 1978) และสอดคล้องกับที่รายงานว่า กรดอะมิโนเบทาอีนที่ใส่ลงไปในอาหาร เมื่อมีการละลายน้ำทำให้ปลาและกุ้งบางชนิดมีการตอบสนองต่อการกินในทางที่ดี เนื่องมาจากเบทาอีนมีกลิ่นที่สามารถดึงดูดการกินของปลาหลายชนิด (Carr, 1976; Mackie and Mitchell, 1985; Kolkovski *et al.,* 1997 and Papatryphon and Soares, 2000) อีกทั้งยังพบว่าการเสริมเบทาอีนในอาหารสัตว์น้ำเพื่อเป็น chemoattractant ในกุ้งกุลาดำวัยอ่อน *Penaeus monodon* (Dy Penaflorida and Virtanen, 1996) *Penaeus indicus* (Elamparithy, 1995) มีผลทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น ส่วนการกินอาหารของ *Penaeus japonicus* (Deshimaru and Yone, 1978) และ *Penaeus monodon* (Murai *et al*, 1983) นั้นจะถูกกระตุ้นโดยการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนไกลซีน พฤติกรรมการหาอาหารของกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) จะมีประสิทธิภาพสูงขึ้นเมื่อมีสารละลายไกลซีนเบทาอีน หรือสาร chemoattractant ชนิดอื่นละลายอยู่ในน้ำ (Harpaz, 1997)

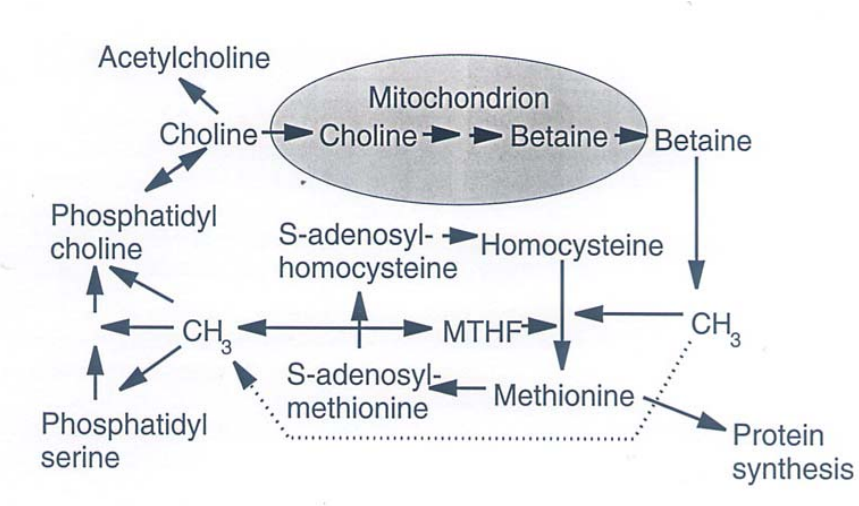
สิ่งที่น่าสนใจอีกอย่างหนึ่งของเบทาอีนและกรดอะมิโน คือเมื่อมีการใช้ร่วมกันจะมีผลในการเสริมฤทธิ์ในการกระตุ้นการกินอาหารได้ สำหรับปลาหลายชนิด Carr (1978) และ Goh กับ Tamura (1980) ได้ทำการทดลองทำให้ทราบว่าเบทาอีนและกรดอะมิโน มีผลในการกระตุ้นในกุ้งและปลากะพงแดงมากกว่าการใช้เบทาอีนเพียงอย่างเดียว



ภาพที่ 6 การตอบสนองของปลากะพงแดง ต่อเบทาอีนและกรดอะมิโน
ที่มา : Goh and Tamura (1980)

2.2.3 คุณสมบัติการเป็นผู้ให้หมู่เมทิล

เบทาอีนเป็นผู้ให้หมู่เมทิลในปฏิกิริยาการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ซึ่งหลายชนิดมีความจำเป็นในการสังเคราะห์โปรตีนและการเผาผลาญพลังงาน (energy metabolism) การสังเคราะห์เมไธโอนีนจากโฮโมซีสทีน การสังเคราะห์คาร์นิทีน (carnitine) ครีเอทีน (creatine) และ ฟอสฟาติดิลโคลีน (phosphatidylcholine) เบทาอีนทำหน้าที่ให้หมู่เมทิลทำให้โฮโมซีสทีนเปลี่ยนเป็นเมไธโอนีนแล้ว ยังได้ เอส-อะดีดนซิลเมไธโอนีน ซึ่งเป็นตัวให้หมู่เมธิลแก่สารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารประกอบอื่นๆ ที่สำคัญในร่างกาย เช่น คาร์นิทีน (carnitine) ครีเอทีน (creatine) กรดนิวคลีอิก (nucleic acids) อาร์เอ็นเอและดีเอ็นเอ (RNA,DNA) สารที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับระบบประสาท (neurotransmitters) ฮอร์โมน (hormones) และฟอสโฟลิปิด (phospholipids)



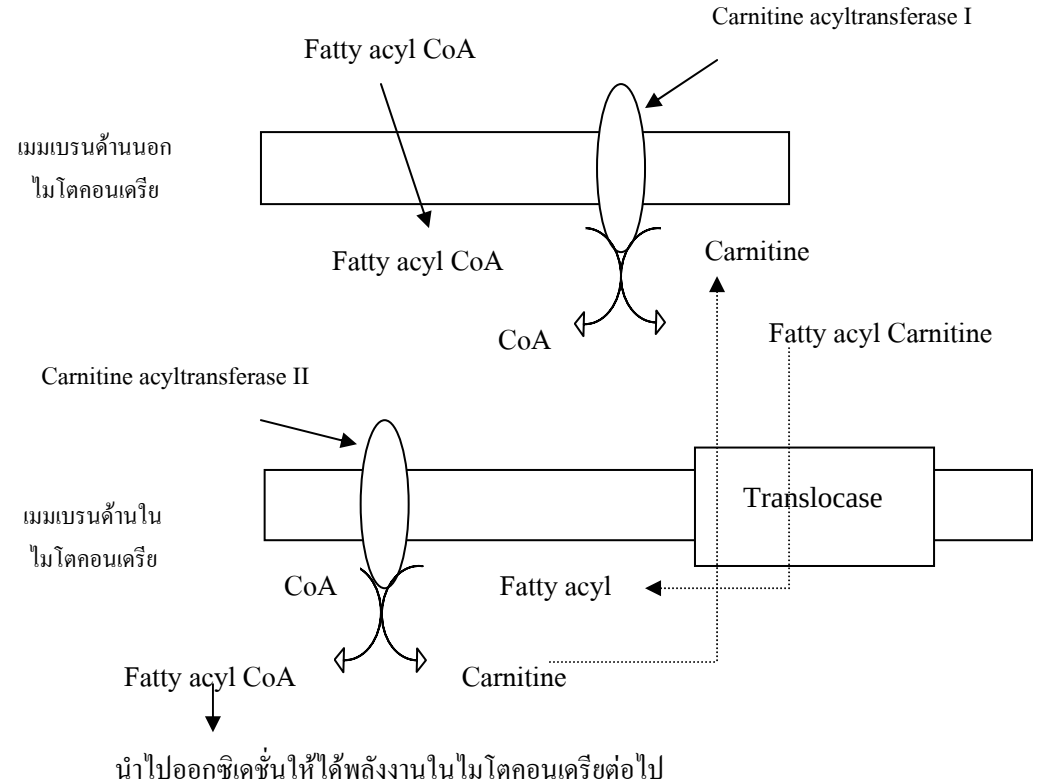
<u>ภาพที่ 7</u> ความสัมพันธ์ของเมทาโบลิซึมระหว่างเบทาอีน โคลีน และ เมไธโอนีน
ที่มา : Anonymous (1996)

การทดลองกับปลาเทร้าต์ และ ลูกไก่ พบว่าเบทาอีนสามารถสำรองความต้องการของ โคลีน และ เมไธโอนีนได้ (Rumsey, 1991; Virtanen and Rosi, 1995) การเป็นตัวให้หมู่เมทิลของเบทาอีนในสัตว์หลายชนิด นั้นจะช่วยลดการสะสมไขมันตรงส่วนกลางของลำตัว (carcass fat) ซึ่งรวมถึงสุกร (Virtanen and Campbell, 1994) ไก่ (Saunderson and Mackinlay, 1990) และปลา (Virtanen *et al*, 1989) นอกจากนี้ยังมีการทดลองกับกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน (*Macrobrachium rosenbergii*) พบว่าไกลซีนเบทาอีนที่เสริมในอาหารระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม ทำให้กุ้งก้ามกรามวัยอ่อน มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุดและระดับที่ 10 และ 15 กรัมต่อกิโลกรัมก็มีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าลูกกุ้งก้ามกรามที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมเช่นกัน และมีอัตราการแลกเนื้อของลูกกุ้งก้ามกรามที่ได้รับอาหารที่มีไกลซีนเบทาอีนทั้ง 3 ระดับต่ำกว่าที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม (Felix and Sudharsan, 2004)

3. <u>คาร์นิทีน</u>

เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดในไมโตคอนเดรีย แฟตตี เอซิล โคเอ (fatty acyl CoA) จากกรดไขมันสายยาว จะผ่านเมมเบรนด้านนอกของไมโตคอนเดรียได้ แต่การผ่านเมมเบรนด้านในของไมโตคอนเดรีย จะมีขั้นตอนการส่งผ่าน คือ เข้าไปโดยไม่มีโคเอ ด้วยการนำพาของสารประกอบคาร์นิทีน (carnitine) เมื่อเข้าไปในไมโตคอนเดรียแล้ว จะเปลี่ยนกลับเป็น แฟตตี เอซิล โคเอ (fatty acyl CoA) อีกครั้ง

เริ่มจากแฟตตี เอซิล โคเอนไซม์เอ ผ่านเมมเบรนด้านนอกของไมโตคอนเดรียในระหว่างเมมเบรนด้านใน (inter mitochondrial membrane) แฟตตี เอซิล (fatty acyl) จะจับกับคาร์นิทีนได้ แฟตตี เอซิล-คาร์นิทีน (fatty acyl –carnitine) โดยเอนไซม์ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เมมเบรนด้านนอกของไมโตคอนเดรีย ดังรูป

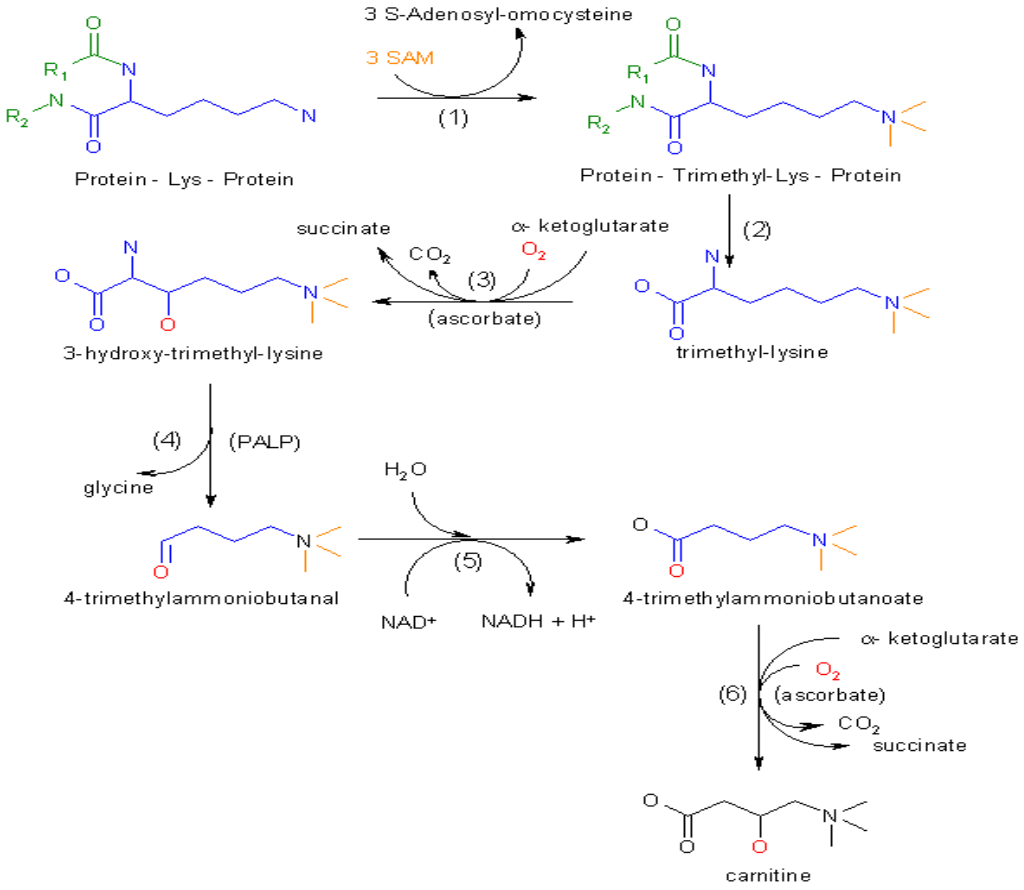


<u>ภาพที่ 8</u> การขนส่งกรดไขมันหลังจากถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมันในรูป fatty acyl CoA และการเข้าเซลล์ของ fatty acyl CoA โดยการนำพาด้วยสารประกอบคาร์นิทีน

ที่มา : นัยนา (2546)

จากนั้นแฟตตี เอซิล-คาร์นิทีน จะผ่านเมมเบรนด้านในของไมโตคอนเดรีย ตรงตำแหน่งโปรตีนตัวผ่าน (translocase) ภายในไมโตคอนเดรียจะเกิด ปฏิกิริยากลับ คือ แฟตตี เอซิล-คาร์นิทีน จะเปลี่ยนเป็น แฟตตี เอซิล โคเอ และได้คาร์นิทีนอิสระโดยเอนไซม์ คาร์นิทีน เอซิลทรานเฟอเรส (carnitine acyltransferase II) คาร์นิทีนอิสระจะผ่านเมมเบรนกลับออกไปใช้พา แฟตตี เอซิล โคเอ เข้าได้อีก

คาร์นิทีน ทำหน้าที่คล้ายโคเอนไซม์ของเอนไซม์ แฟตตี เอซิลทรานเฟอเรส แต่ไม่ใช่วิตามินเหมือนโคเอนไซม์ทั่วไป คาร์นิทีนสังเคราะห์ได้ในร่างกายโดยใช้กรดอะมิโน ไลซีน และเมไธโอนีนเป็นสารตั้งต้น ซึ่งจะรับหมู่เมทิลจากเอส-อะดีโนซิลเมไธโอนีน ในอาหารคาร์นิทีนจะมีมากในเนื้อและนม(นมมารดา) มีน้อยในถั่วเหลือง และธัญพืช



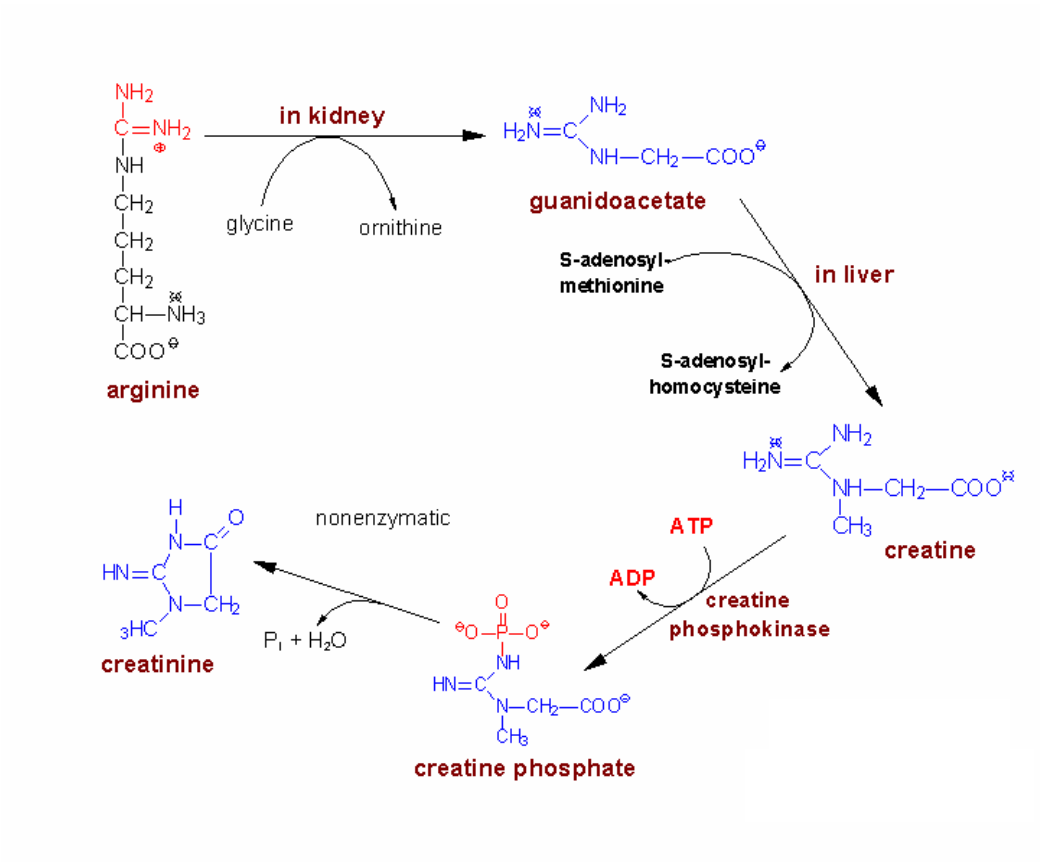
ภาพที่ 9 การสังเคราะห์คาร์นิทีน

ที่มา : Kristensen and Oehmen (2004)

4. <u>ครีเอทีน</u>

ครีเอทีนถูกสังเคราะห์ขึ้นภายในตับโดยขบวนการเมทิเลชัน (methylation) ของ คัวนิโด-อะซิเตต (guanidoacetate) ซึ่งจะใช้ เอส-อะดีโนซิลเมไธโอนีน (s-adenocylmethionine) เป็นตัวให้หมู่เมทิล (methyl group) คัวนิโดเอซิเตตนั้นเป็นฟอร์มที่อยู่ในไตของกรดอะมิโน อาร์จินีน และไกลซีน

ครีเอทีนจะเป็นฟอร์มที่ใช้เก็บสะสมของฟอสเฟตพลังงานสูง ฟอสเฟตของ ATP จะถูกเปลี่ยนไปเป็น ครีเอทีน , ครีเอทีนฟอสเฟต ผ่านทางการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ ครีเอทีน ฟอสโฟไคเนส (creatine phosphokinase) และทำปฏิกิริยาย้อนกลับเมื่อร่างกายมีความต้องพลังงาน เนื่องจากได้รับ ATP จากวิถีไกลโคลัยซิส และวิถีวงจรเครบส์ไม่เพียงพอ เช่น ในการออกกำลังของ



<u>ภาพที่ 10</u> การสังเคราะห์ครีเอทีน และ ครีเอทีนีน

ที่มา : King (1998)

กล้ามเนื้อ หรือจากความผิดปกติด้วยสาเหตุใดก็ตาม ครีเอทีนฟอสเฟตจะเป็นตัวให้ฟอสเฟตซึ่งจะได้เป็น ADP และ ATP ในที่สุด โดยครีเอทีนฟอสเฟตจะมีในเซลล์กล้ามเนื้อมากเป็น 5 เท่า ของ ATP ซึ่งสามารถสร้าง ATP ไว้สำรองใช้อย่างน้อยในช่วงเวลาหนึ่ง

ทั้ง ครีเอทีน และ ครีเอทีน ฟอสเฟต จะพบได้ในกล้ามเนื้อ สมอง และ เลือด ครีเอทีนจะเป็นฟอร์มของครีเอทีน ฟอสเฟตในกล้ามเนื้อ โดยขบวนการดีไฮเดรชั่น (dehydration) ที่ไม่ต้องอาศัยเอนไซม์ และการสูญเสียฟอสเฟต ปริมาณการสร้างของครีเอทีนจะสัมพันธ์กับมวลของกล้ามเนื้อ ครีเอทีนจะถูกขับออกโดยผ่านทางไต ซึ่งระดับการขับออกจะเป็นค่าที่วัดได้จากการทำหน้าที่ของไต

5. <u>ฟอสฟอลิปิด</u>

เป็นไขมันที่มีฟอสเฟตอยู่ในโมเลกุล มีโครงสร้างเป็นฟอสฟาติดิค เอซิด (phosphatidic acid) ซึ่งคล้ายกับไตรกลีเซอไรด์ (TG) แต่ที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 3 ของกลีเซอรอล แทนที่จะเป็นกรดไขมัน จะเป็นหมู่ฟอสเฟต ทำให้เป็นไขมันชนิดที่มีขั้ว และที่หมู่ฟอสเฟตจะจับกับสารอื่นๆ ได้มากมาย

ฟอสฟอลิปิดที่มีโครงสร้างเป็น ฟอสฟาติดิค เอซิด ที่สำคัญ ได้แก่ ฟอสฟาติดิลโคลีน (phophatidylcholine) ฟอสฟาติดิลเอทาโนลามีน (phophatidylethanolamine) ฟอสฟาติดิลเซอรีน (phophatidylserine) และ ฟอสฟาติดิลอิโนสิทอล (phophatidylinositol) นอกจากนี้ยังมีฟอสฟอลิปิดที่มีโครงสร้างที่ต่างออกไป ได้แก่ สปินโกมายอีลิน (sphingomyelin) และ เซอรีบรอไสด์ (cerebroside)

ฟอสฟอลิปิดมีบทบาทหน้าที่ทางสรีระวิทยาและชีวเคมีในร่างกาย คือ เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเมมเบรนของเซลล์เมมเบรนมีการเรียงตัวของฟอสฟอลิปิดเป็น 2 ชั้น โดยหันส่วนที่มีขั้วไว้ด้านนอก ส่วนที่ไม่มีขั้วเข้าหากัน เมมเบรนของเซลล์แต่ละชนิดจะมีฟอสฟอลิปิดหลายชนิดในสัดส่วนที่แตกต่างกันไป ฟอสฟอลิปิดที่มีมากที่สุดที่เมมเบรน คือ ฟอสฟาติดิลโคลีน (lecitin) ฟอสฟอลิปิดบางตัวที่มีหน้าที่ที่สำคัญ เช่น ฟอสฟาติดิลอิโนสิทอล อยู่ที่เมมเบรนมีบทบาทในการรับสัญญาณจากฮอร์โมนบางชนิด ให้เกิดกระบวนการทางชีวเคมี ฟอสฟาติดิลโคลีน หรือ เลซิติน

เป็นส่วนประกอบของสารส่วนเซอร์แฟคแตนท์ (surfactant) ที่อยู่ที่เมมเบรนของปอด เพื่อป้องกันการแฟบติดกันของปอด ในขณะที่หายใจออก สปินโกมายอีลิน มีมากในเซลล์ประสาท และเซอรีบรอไสด์ มีมากในเซลล์สมอง

ในสัตว์น้ำพบว่าฟอสโฟลิปิดมีความสำคัญต่อพวกครัสเตเซียนเป็นอย่างมากทั้งทางด้านพัฒนาการของการเจริญ เติบโตและทางด้านสุขภาพ โดยเฉพาะ phosphatidylcholine และ phosphatidylinositol ซึ่ง สอดคล้องกับการรายงานที่ว่าอาหารที่เสริมด้วยเลซิตินซึ่งเป็นฟอสโฟ-ลิปิดชนิดหนึ่งปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ และ 4 เปอร์เซ็นต์ ทำให้กุ้งกุลาดำวัยอ่อนและวัยรุ่นมีอัตรารอดและการเจริญเติบโตดีขึ้น (Kanasawa ,1982) ทั้งนี้เพราะพวกครัสเตเซียนส่วนใหญ่มีความสามารถในการสังเคราะห์ฟอสโฟลิปิดได้อย่างจำกัด ซึ่งจะมีความแตกต่างจากสัตว์บก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องได้รับจากอาหารด้วย เช่นเดียวกับการรายงานของ Frank and Pedley ในปี 1997 ว่าสัตว์ในกลุ่มครัสเตเซียนมีความสามารถจำกัดในการสังเคราะห์ฟอสโฟลิปิด

6. <u>ไตรเอซิลกลีเซอรอล</u>

ในการผลิตพลังงานของเซลล์ กลูโคสจะเป็นแหล่งเชื้อเพลิงอันดับแรกที่ใช้ในการผลิตพลังงาน ส่วนลิปิดและไขมันจะถูกใช้เป็นแหล่งสะสมและสำรองเชื้อเพลิง พืชและสัตว์จะสะสมไขมันเอาไว้เป็นจำนวนมากในรูปของไตรเอซิลกลีเซอรอล (triglyceride,triglyceride) ที่เป็นกลางและไม่ละลายน้ำ ไขมันเหล่านี้พร้อมที่จะสะสมหรือสลายแล้วแต่ความต้องการพลังงานของเซลล์ ดังตัวอย่างการเผาไหม้ของกรดไขมันปาลมิติก (palmitic) จะมีการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานมาก (ΔG เป็นลบมาก) ทำให้มีการคายพลังงานออกมามาก

$$C_{16}H_{32}O_2 + 23O_2 \longrightarrow 16\,CO_2 + 16\,H_2O$$

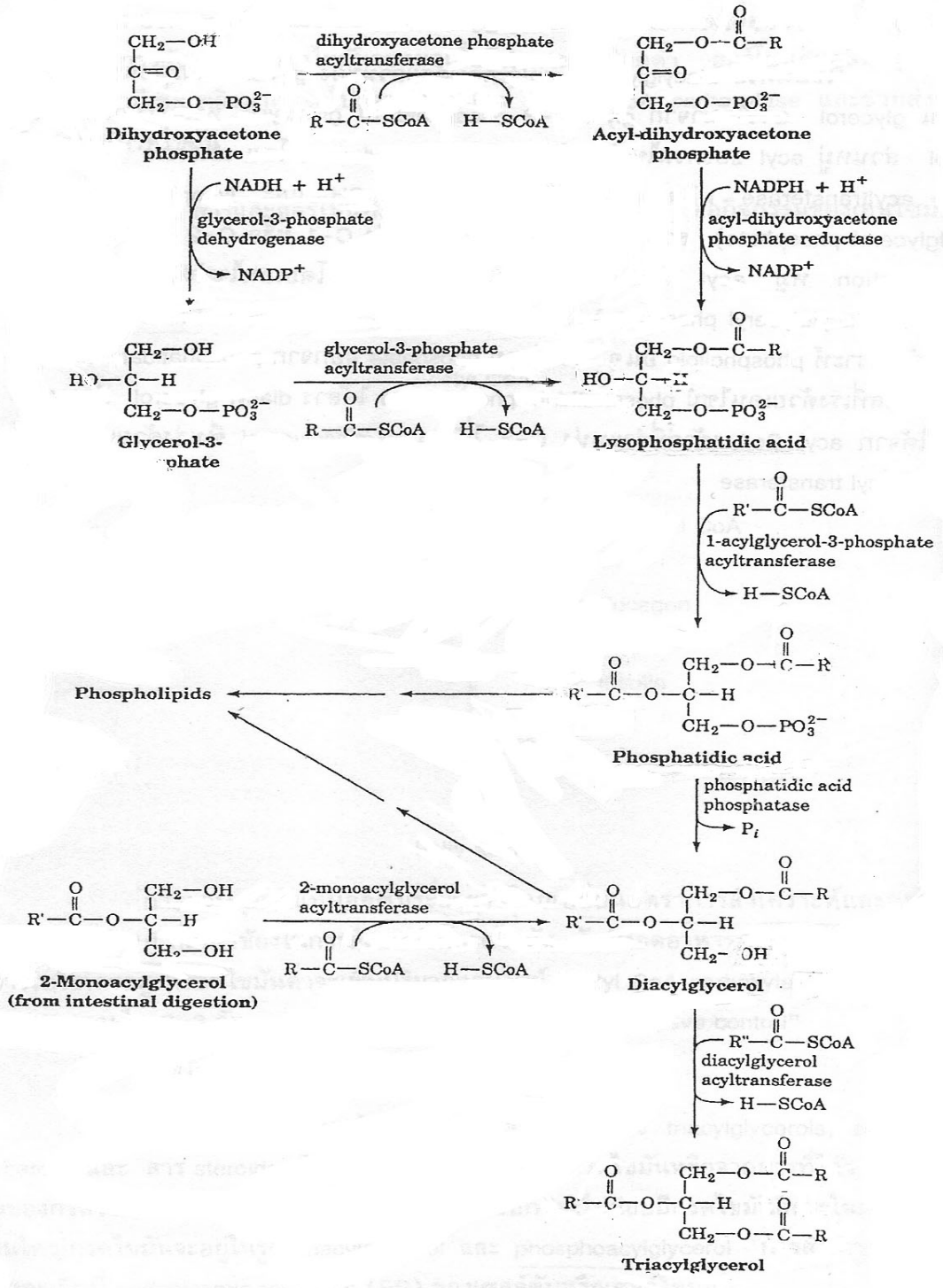
$$\Delta G = -2{,}340 \text{ kcal/mole}$$

การที่ ΔG เป็นลบมากเนื่องมาจากการออกซิไดซ์โซ่ยาวของไฮโดรคาร์บอนในรูปรีดิวส์ซึ่งต่อกับหมู่ COOH ของกรดไขมัน ในกลุ่มสารอาหารที่มีกรดไขมันที่มีโซ่ยาวของไฮโดรคาร์บอนจะเป็นแหล่งให้พลังงานจำนวนมาก โดยไขมันสามารถให้พลังงาน 9.3 kcal/g เมื่อเทียบกับคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนที่ให้พลังงานเพียง 4.1 kcal/g

สารสะสมพลังงานในเซลล์ของสัตว์คือไตรเอซิลกลีเซอรอล (ไขมัน) เมื่อมีพลังงานเหลือใช้ก็จะสะสมในรูปของไขมัน ทั้งนี้เนื่องจากร่างกายมีขีดความสามารถในการสะสมไกลโคเจนจากคาร์โบไฮเดรตที่เหลือใช้ ตามปกติตับสามารถเก็บสะสมไกลโคเจนได้เพียง 5-6 เปอร์เซ็นต์ และกล้ามเนื้อจะสะสมได้เพียง 0.4-0.6 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว ดังนั้นเมื่อร่างกายมีพลังงานมากเกินพอ ก็จะมีการสังเคราะห์กรดไขมันและเก็บเอาไว้ในเซลล์ไขมัน (adipose cell) และเมื่อร่างกายต้องการพลังงาน ก็จะมีการสลายกรดไขมันนั้นมาใช้เป็นแหล่งพลังงาน

6.1 <u>การสังเคราะห์ไขมัน</u>

ไขมันหรือไตรเอซิลกลีเซอรอล จะประกอบด้วยส่วนของกลีเซอรอล (glycerol) และส่วนของกรดไขมัน ส่วนของกลีเซอรอลอาจได้มาจากกลีเซอรอล-3-ฟอสเฟต (glycerol-3-phosphate) ในวิถีไกลโคไลซิส (glycolysis partway) หรือจากการสลายของเอซิลกลีเซอรอล (acylglycerol) ส่วนหมู่เอซิล (acyl) ของกรดไขมันจะย้ายถ่ายมาจากเอซิล-โคเอ (acyl-CoA) โดยเอนไซม์ กลีเซอรอลฟอสเฟต เอซิลทรานซ์เฟอเรส (glycerolphosphate acyltransferase) ผลิตผลของปฏิกิริยานี้คือ CoA-SH และ lysophosphatidate (monoacylglycerol phosphate) ส่วนหมู่เอซิลจะเข้าที่ตำแหน่ง C-1 และ C-2 ของกลีเซอรอล โดยขบวนการเอสเทอริฟิเคชัน (esterification) หมู่เอซิลที่สองจะเข้าที่คาร์บอนอีกตัวซึ่งถูกเร่งโดยเอนไซม์เดียวกันได้สาร phosphatidate (diacylglycerol phosphate) ซึ่งสาร phosphatidate เกิดที่ผนังของ endoplasmic recticulum และเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฟอสโฟลิปิดอื่นๆ การดึงหมู่ฟอสเฟตออกจาก phosphatidate โดยปฏิกิริยาไฮโดไลซิสที่เร่งด้วยเอนไซม์ฟอสฟาติเดตฟอสฟาเตส (phophatidate phosphatase) ได้สารไดเอซิลกลีเซอรอล ส่วนหมู่เอซิลที่สามได้จากเอซิล-โคเอ เข้าที่ตำแหน่ง C-3 ได้สารไตรเอซิลกลีเซอรอล ซึ่งเร่งด้วยเอนไซม์ไดเอซิลกลีเซอรอล เอซิลทรานส์เฟอเรส (diacylglycerol acyltransferase)

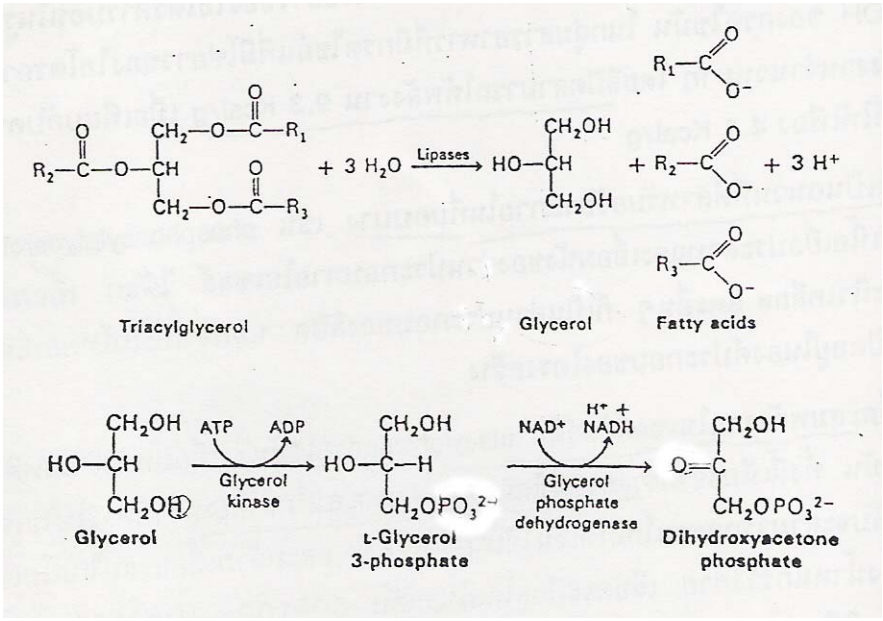


<u>ภาพที่ 11</u> การสังเคราะห์ไตรเอซิลกลีเซอรอล

ที่มา : วิไล (2542)

6.2 <u>การสลายไขมัน</u>

ไตรเอซิลกลีเซอรอลมีกรดไขมันที่เชื่อมด้วยพันธะโควาเลนท์อยู่ พันธะระหว่างกรดไขมันและส่วนที่เหลือของไขมันจะสามารถแตกออกจากกันโดยไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ไลเปส (lipase) ที่ส่วนไซโทซอลของเซลล์ ซึ่งมีฮอร์โมนควบคุมเอนไซม์ไลเปสในเซลล์ไขมัน คือ ฮอร์โมน epinephrine, norepinephrine, glucagons และ adrenocorticotropic โดยจะกระตุ้นเอนไซม์ adenylatecyclase ทำให้เกิดการสร้าง cAMP ซึ่งจะกระตุ้นให้เอนไซม์ protein kinase ว่องไวและจะไปกระตุ้นให้เอนไซม์ไลเปสทำงานได้โดยการเติมหมู่ฟอสเฟตที่เอนไซม์ไลเปสจากการสลายไขมันจะได้กลีเซอรอล และมีการออกซิไดส์กลีเซอรอลโดยเอนไซม์ glycerol kinase ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้



<u>ภาพที่ 12</u> การสลายไตรเอซิลกลีเซอรอล
ที่มา : วิไล (2542)

ไดไฮดรอกซีอะซิโตน ฟอสเฟต (dihydroxyacetone phosphate) จะไอโซเมอไรซ์ได้กลีเซอรอลดีไฮด์ 3-ฟอสเฟต (glyceroldehyde 3-phosphate) ซึ่งเป็นสารมัธยันต์ (intermediate) ในวิถีไกลโคไลซิส กลีเซอรอลนี้จะเปลี่ยนเป็นไพรูเวทหรือกลูโคสได้ที่ตับซึ่งเป็นแหล่งของเอนไซม์ต่างๆ ปฏิกิริยานี้สามารถย้อนกลับทิศทางได้โดยเอนไซม์ phosphatase ทำให้สังเคราะห์กลีเซอรอลขึ้นใหม่ได้

7. <u>ไกลโคเจน</u>

ในสภาวะที่ร่างกายต้องการพลังงาน กลูโคสจะถูกใช้เป็นแหล่งพลังงานอันดับแรกผ่านทางวิถีไกลโคไลซิส ซึ่งการสลายกลูโคสในวิถีไกลโคไลซิสเพื่อให้ได้พลังงานนี้จะเกิดขึ้นในทุกๆเซลล์ของร่างกาย โดยพลังงานที่ได้จากการสลายกลูโคสมีอยู่ด้วยกัน 2 กรณีคือ ถ้าสารสุดท้ายเป็นแลค-เตท (ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน) จะได้ ATP เพียง 2 โมเลกุล แต่ถ้าสารสุดท้ายเป็นไพรูเวท (ในสภาวะที่มีออกซิเจน) จะได้ ATP 2 โมเลกุล และ NADH อีก 2 โมเลกุล หลังจากนั้นไพรูเวทจะเข้าสู่การสลายในวงจรเครบส์ต่อไป

พลังงานที่ได้จากวิถีวงจรเครบนั้นจะไม่ได้ ATP โดยตรง แต่จะได้สารพลังงานสูง (guanosine triphosphate :GTP) นอกจากนี้ได้โคเอนไซม์ในรูปรีดิวซ์ คือ NADH และ $FADH_2$ ซึ่งมีคุณสมบัติรีดิวซ์ สาร GTP เป็นสารพลังงานสูงซึ่งให้พลังงานเท่ากับ ATP ส่วนสาร NADH และ $FADH_2$ จะถูกออกซิไดส์โดยระบบขนส่งอิเล็กตรอน และให้ GTP 1 โมเลกุล NADH 3 โมเลกุล และ $FADH_2$ 1 โมเลกุล เมื่อรวมกับการออกซิไดส์ไพรูเวทจะได้ผลผลิตเป็น CO_2 3 โมเลกุล GTP 1 โมเลกุล NADH 4 โมเลกุล และ $FADH_2$ 1 โมเลกุล ดังสมการ

<u>วงจรเครบส์</u>

$$\text{acytyl CoA} + 2H_2O + 3NAD^+ + FAD + GDP + Pi \longrightarrow 2CO_2 + 3NADH + 2H^+ + FADH_2 + CoASH + GTP$$

<u>ปฏิกิริยารวม</u>

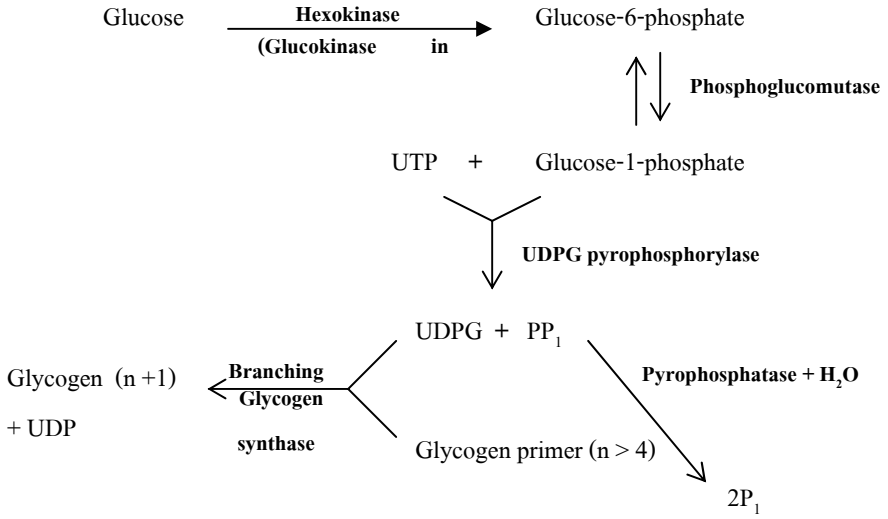
$$\text{Pyruvate} + 2H_2O + 4NAD^+ + FAD + GDP + Pi \longrightarrow 3CO_2 + 4NADH + 4H^+ + FADH_2 + GTP$$

เมื่อคิดเป็นพลังงานเคมี ATP จะได้ 12 โมเลกุลต่อ 1 โมเลกุลของอะซิติล-โคเอ หรือ 15 โมเลกุลต่อ 1 โมเลกุลของไพรูเวท ดังนั้นเมื่อคิดจากการสลายกลูโคส 1 โมเลกุลในวงจรไกลโคไลซิส ได้ 2 โมเลกุลของไพรูเวท ได้ ATP 8 โมเลกุล และจาก 2 โมเลกุลของไพรูเวทเปลี่ยนเป็น 2 โมเลกุลของอะซิติล-โคเอ และสลายต่อด้วยวงจรเครบส์ จะได้ ATP 30 โมเลกุล รวมทั้งหมดจะได้ ATP 38 โมเลกุลต่อ 1 โมเลกุลของกลูโคส

ในสภาวะที่ร่างกายมีพลังงานเพียงพอ กลูโคสจะถูกเปลี่ยนมาเก็บไว้ในรูปของไกลโคเจนที่ตับและกล้ามเนื้อ โดยที่ตับนั้นกลูโคสจากกระแสเลือดจะเข้าสู่เซลล์ตับแบบไม่ใช้พลังงานและไม่เกี่ยวข้องกับการควบคุมของฮอร์โมนอินซูลิน ซึ่งต่างจากกล้ามเนื้อที่ต้องมีฮอร์โมนอินซูลินเป็นตัวกระตุ้น กลูโคสในตับจะถูกเก็บไว้ในรูปไกลโคเจนโดยกระบวนการสร้างไกลโคเจน (glycolysis) เพื่อเก็บไว้ใช้ในช่วงที่ไม่ได้กินอาหาร เช่น ช่วงระหว่างมื้ออาหารและสภาวะการอดอาหาร ซึ่งต่างจากไกลโคเจนที่สะสมในกล้ามเนื้อที่จะสลายมาเพื่อใช้เป็นพลังงานในการทำงานของกล้ามเนื้อ

7.1 <u>การสังเคราะห์ไกลโคเจน</u>

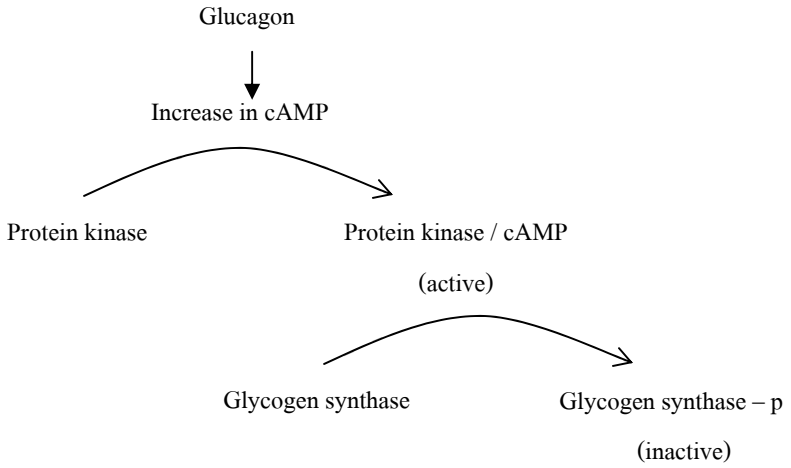
การสังเคราะห์ไกลโคเจนจะเกิดขึ้นในเกือบทุกเซลล์ แต่จะมีการสร้างมากที่กล้ามเนื้อและตับ โดยที่ในกล้ามเนื้อจะมีไกลโคเจนประมาณร้อยละ 1- 2 โดยน้ำหนัก ส่วนในตับจะมีประมาณร้อยละ 5 - 10 โดยน้ำหนัก การสังเคราะห์ไกลโคเจนในวิถี glycogenesis (ดังภาพที่ 13) จะเริ่มต้นการสังเคราะห์ไกลโคเจนด้วยการเชื่อมต่อกลูโคสกับสายกลูโคสเริ่มต้นด้วยพันธะแอลฟา-ไกลโคซิดิก ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 (C1) ของสายกลูโคสกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 (C4) ของสายกลูโคสเริ่มต้น (1→4) ด้วยเอนไซม์ glycogen synthase ทำให้สายของกลูโคสมีความยาวของกลูโคสมากกว่า 11 โมเลกุล ได้เป็นไกลโคเจนในส่วนโครงสร้างอะไมโลส (amylase) จากนั้นสาย



<u>ภาพที่ 13</u> การสังเคราะห์ไกลโคเจนจากกลูโคส
ที่มา : นัยนา (2546)

ของกลูโคสที่มีความยาวประมาณ 7 โมเลกุลของกลูโคส จะถูกเคลื่อนย้ายไปเชื่อมต่อภายในสายเดียวกันหรือต่างสายที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 6 ด้วยพันธะแอลฟา-ไกลโคซิดิก ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 (C1) ของสายกลูโคสกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 (C6) ของสายกลูโคสเริ่มต้น (1→ 6) ด้วยเอนไซม์ branching synthase หรือ amylo 1,4-1,6 trans-glycosylase ได้เป็นไกลโคเจนในส่วนโครงสร้างอะไมโลเป็ค-ติน (amylopectin)

การสร้างไกลโคเจนจะถูกควบคุมด้วยฮอร์โมนอินซูลินและฮอร์โมนกลูคากอน โดยที่ฮอร์โมนอินซูลินจะเป็นตัวควบคุมการสร้างไกลโคเจน โดยการเพิ่มการสร้างเอนไซม์ glycogen synthase ส่วนฮอร์โมนกลูคากอนจะเป็นตัวควบคุมการยับยั้งการสร้างไกลโคเจน โดยทำให้เอนไซม์ glycogen synthase เป็น inactive glycogen synthase ผ่านทางกลไกของ cAMP (cyclic adenosine monophosphate) ดังภาพที่ 14

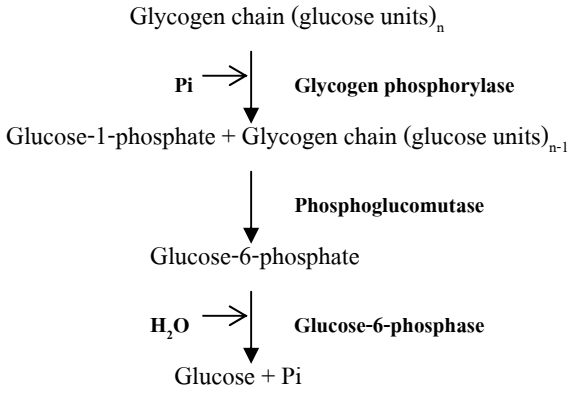


ภาพที่ 14 การยับยั้งการสังเคราะห์ไกลโคเจนโดยฮอร์โมนกลูคากอน
ที่มา : นัยนา (2546)

7.2 การสลายไกลโคเจน

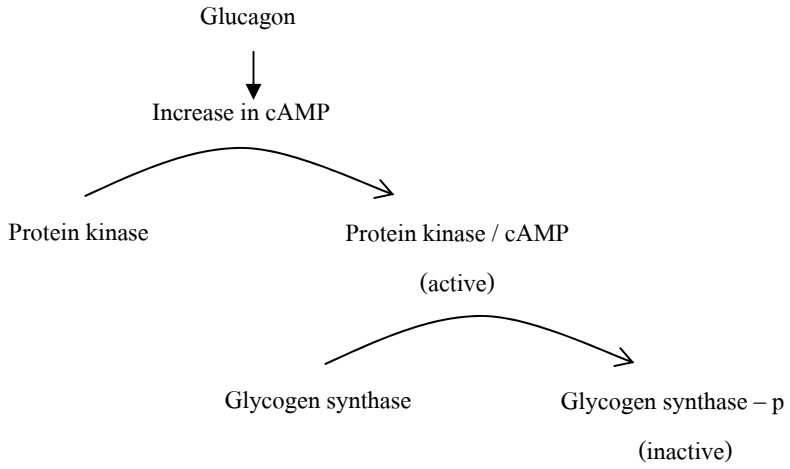
การสลายไกลโคเจนให้ได้กลูโคส (glycogenolysis) เกิดขึ้นได้ที่เซลล์หลายชนิด แต่ส่วนใหญ่จะเกิดที่ตับและกล้ามเนื้อ โดยจะเริ่มต้นที่เอนไซม์ glycogen phosphorylase สลายสายกลูโคสที่ยาวๆ ที่เชื่อมกันด้วยพันธะแอลฟา-ไกลโคซิดิก (1→ 4) ทางด้านปลายที่ไม่ถูกรีดิวส์ ได้เป็นglucose-1-phosphate จากนั้น glucose-1-phosphate จะเปลี่ยนเป็น glucose-6-phosphate โดย

เอนไซม์ phosphoglucomutase (ดังภาพที่ 15) ที่ตับ glucose-6-phosphate จะสลายได้เป็นกลูโคสส่งเข้ากระแสเลือด ส่วนในกล้ามเนื้อนั้นไม่มีเอนไซม์ glucose-6-phosphatase ดังนั้นจึงไม่ได้กลูโคสอิสระ glucose-6-phosphat ที่ได้จะถูกส่งเข้าไปสลายในวิถีไกลโคไลซิสต่อไป



ภาพที่ 15 การสลายไกลโคเจนที่ตับ
ที่มา : นัยนา (2546)

กระบวนการสลายไกลโคเจนที่ตับจะถูกควบคุมด้วยฮอร์โมนกลูคากอน โดยผ่านกลไกของ cAMP ทำให้เกิดการสลายไกลโคเจนเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นกระบวนการเช่นเดียวกับการสลายไกลโคเจนในกล้ามเนื้อ แต่ต่างกันที่ในกล้ามเนื้อจะถูกควบคุมด้วยฮอร์โมนเอพิเนฟฟิน

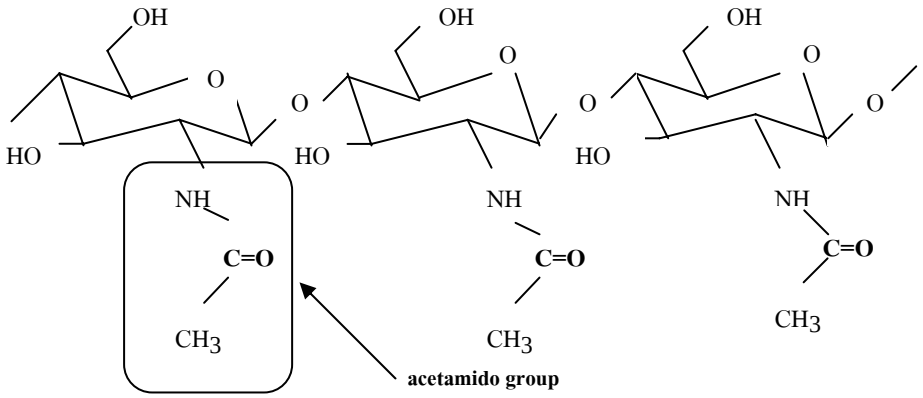


ภาพที่ 16 ฮอร์โมนกลูคากอนเพิ่มการสลายไกลโคเจน ผ่านกลไก cAMP
ที่มา : นัยนา (2546)

8. <u>ไคติน</u>

ไคติน เป็นโพลิเมอร์ที่เกิดตามธรรมชาติ พบได้ในผนังเซลล์ของพืชบางชนิด สัตว์ และจุลินทรีย์ เช่น ในยีสต์ และแบคทีเรียบางชนิดและในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังโดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์ที่มีเปลือกและกระดอง เช่น กุ้ง ปู แกนหมึก และหอย ไคตินประกอบด้วยไนโตรเจนประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ ไคตินจะเชื่อมอยู่กับคาร์โบไฮเดรตด้วยพันธะโควาเลนต์ และอาจพบอยู่รวมกับเกลือแคลเซียมคาร์บอเนตในเปลือกของสัตว์พวกกุ้ง ปู

ไคตินมีลักษณะโครงสร้างเป็นโพลิเมอร์หน่วยย่อยที่มีชื่อทางเคมีว่า β(1-4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose หรือเรียกอีกอย่างว่า N-acetyl-D-glucosamine ซึ่งมีขนาดและความยาวของโพลิเมอร์ และปริมาณของหมู่ acetamido group (-NH-CO-CH_3) ต่างกัน ด้วยคุณลักษณะของโครงสร้างดังกล่าวทำให้ไคตินเป็นโพลิเมอร์มีลักษณะเป็นของแข็ง ละลายได้ในกรดอินทรีย์ เช่น กรดเกลือ กรดกำมะถัน กรดฟอสฟอริค และกรดฟอร์มิคที่ปราศจากน้ำ แต่ไม่ละลายในด่างเจือจาง แอลกอฮอล์ และตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ



<u>ภาพที่ 17</u> โครงสร้างทางเคมีของไคติน
ที่มา : Winterowd and Sandford (1995)

โดยทั่วไปเปลือก (cuticle) ของสัตว์พวกครัสเตเซียนจะมีไคตินเป็นองค์ประกอบหลัก คือประมาณ 60-80 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้งของส่วนที่เป็นสารอินทรีย์ รองลงมาคือสารจำพวกแคลเซียมคาร์บอเนตที่อยู่ในรูปของแคลไซท์ และส่วนสุดท้ายคือโปรตีน ซึ่งคิวติเคิลของกุ้งสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ชั้น (Bell and Lightner, 1988) ได้แก่

1. ชั้นเอพิคิวติเคิล (epicuticle) เป็นชั้นนอกสุดของคิวติเคิล และเป็นชั้นที่ไม่มีไคตินเป็นองค์ประกอบ แต่จะมีปริมาณของแคลเซียมมาก

2. ชั้นเอ็กโซคิวติเคิล (exocuticle) เป็นชั้นถัดจากชั้นเอพิคิวติเคิลลงไป ชั้นนี้ประกอบด้วยไคติน และแคลเซียม นอกจากนี้ยังมีรงควัตถุคล้ายเมลานิน (melanin like pigment) กระจายอยู่ทั่วไป จึงเรียกชั้นนี้ว่า pigment layer

3. ชั้นเอ็นโดคิวติเคิล (endocuticle) เป็นชั้นถัดจากชั้นเอ็กโซคิวติเคิลลงมา ชั้นนี้ประกอบด้วยไคติน และแคลเซียม เช่นเดียวกับชั้นเอ็กโซคิวติเคิล แต่จะมีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบมากกว่า ชั้นเอ็นโดคิวติเคิลเป็นชั้นที่หนาที่สุด ในสัตว์พวกกุ้ง และปู จะมีรงควัตถุสีม่วงเงิน (blue pigment) แพร่กระจายในชั้นนี้

4. ชั้นเมมเบรนัส หรือ อันแคลซิฟายด์ เลเยอร์ (membranous, uncalcified lafer) เป็นชั้นในสุดของคิวติเคิล องค์ประกอบหลักของชั้นนี้คือ ไคติน ซึ่งอยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนกับโปรตีน (chitin-protien complex)

การเปลี่ยนแปลงของคิวติเคิลในกระบวนการลอกคราบ มีด้วยกัน 2 กระบวนการสำคัญ คือ

1. การทำให้คิวติเคิลนิ่ม หรือการละลายของเนื้อเยื่อชั้นในของคิวติเคิลเก่าให้หลุดออกจากเอพิเดอมิส

2. การเจริญของคิวติเคิลใหม่ ในขณะเดียวกันเมื่อเกิดการลอกคราบ สัตว์จะมีการเจริญเติบโตขยายขนาดของลำตัวให้ใหญ่ขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ตู้กระจกขนาด 24x18x18 นิ้ว จำนวน 33 ตู้
2. ถังไฟเบอร์ขนาดความจุ 1 ตัน จำนวน 18 ใบ
3. หัวทราย
4. พลาสติกทึบสำหรับคลุมถังไฟเบอร์
5. บ่อซีเมนต์สำหรับเตรียมน้ำเค็ม 20 พีพีที
6. สัตว์ทดลอง

- กุ้งกุลาดำขนาด 2-3 กรัม จากบ่อดินฟาร์มเอกชนที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป (commercial feeds) หลังจากนั้นนำมาทำการปรับสภาพเป็นเวลา 1 สัปดาห์ก่อนดำเนินการทดลอง โดยนำกุ้งมาพักไว้ในถังไฟเบอร์ขนาดความจุ 1 ตัน (80 ตัว/ถัง)

7. เบทาอีน
8. อาหารกุ้งกุลาดำ 3 สูตร ซึ่งเป็นอาหารเม็ด ที่ผลิตจากโรงงานผลิตอาหารสัตว์
   - อาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน
   - อาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์
   - อาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์

อาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารกุ้งกุลาดำที่ผลิตจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตอาหารกุ้ง (เบอร์ 3p, เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 มม.) โดยอาหารแต่ละชุดการทดลองจะใช้วัตถุดิบชนิดเดียวกันทั้งหมด ต่างกันที่ระดับของเบทาอีนที่เติมลงในอาหารเท่านั้น สูตรอาหารดังกล่าวมีส่วนผสมดังต่อไปนี้

ตารางที่ 8 สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหาร	เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร		
	สูตรควบคุม	เบทาอีน 1 % (ไม่เคลือบ)	เบทาอีน 2 % (เคลือบ)
ปลายข้าว	3.0	3.0	3.0
กากกุ้งป่น	10.0	10.0	10.0
ปลาป่น	33.0	33.0	33.0
กากถั่วเหลือง	20.0	20.0	20.0
แป้งสาลี	30.0	30.0	30.0
โมโนแคลเซียมฟอสเฟต	0.5	0.5	0.5
เลซิทิน	1.0	1.0	1.0
สารเหนียว	0.2	0.2	0.2
สารกันหืน	0.015	0.015	0.015
สารกันเชื้อรา	0.1	0.1	0.1
วิตามินและพรีมิกซ์รวม*	2.0	2.0	2.0
เบทาอีน	0	1	2

หมายเหตุ * วิตามินและแร่ธาตุรวม 1 กิโลกรัม ประกอบด้วย วิตามินเอ 12 กรัม/กิโลกรัม วิตามินบี 300 กรัม/กิโลกรัม วิตามินเค 80 กรัม/กิโลกรัม วิตามินบี1 100 กรัม/กิโลกรัม วิตามินบี 2 80 กรัม/กิโลกรัม วิตามินบี 6 100 กรัม/กิโลกรัม วิตามินบี12 0.05 กรัม/กิโลกรัม กรดโฟลิค 20 กรัม/กิโลกรัม นิโคตินิค 100 กรัม/กิโลกรัม ไบโอทิน 1.5 กรัม/กิโลกรัม กรดแพนโทเธนิค 100 กรัม/กิโลกรัม อินโนซิทอล 15 กรัม/กิโลกรัม โคลีนคลอไรด์ 30 กรัม/กิโลกรัม วิตามินซี 500 กรัม/กิโลกรัม แมงกานีสซัลเฟต 0.02 กรัม/กิโลกรัม คอปเปอร์ซัลเฟต 0.035 กรัม /กิโลกรัม ซีลีเนียม 0.0002 กรัม/กิโลกรัม

ตารางที่ 9 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

องค์ประกอบในอาหาร	อาหารเสริมเบทาอีน		
	0 %	1 % (ไม่เคลือบ)	2 % (เคลือบ)
โปรตีน (%)	38.0	38.0	38.0
ไขมัน (%)	6.0	6.0	6.0
เยื่อใย (%)	3.0	3.0	3.0
ความชื้น (%)	9.0	9.0	9.0
พลังงาน (kcal/kg)	2,830	2,830	2,830

9. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง
   - สารเคมีใช้วิเคราะห์น้ำ
   - สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ไกลโคเจน
   - สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ไคติน
   - สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์
   - สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ไขมัน
   - สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์อาร์เอนเอ
   - สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

วิธีการ

1 การทดลองที่1 การศึกษาผลของเบทาอีนต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์อาหารในกุ้งกุลาดำ

1.1 แผนการทดลอง

การทดลองเป็นแบบสุ่มตลอด (Completely Randommized Design) เพื่อศึกษาผลการใช้เบทาอีนในระดับต่างๆ ที่มีผลต่อการดึงดูดการเข้าหาอาหาร เจริญเติบโต และ อัตรารอดตายของกุ้งกุลาดำ ซึ่งการทดลองได้แบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง (treatment)
ชุดการทดลองละ 6 ซ้ำ (replication) ดังนี้

1. ชุดการการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม ไม่มีเบทาอีนเป็นส่วนประกอบ
2. ชุดการการทดลองที่ 2 ใช้เบทาอีนชนิดไม่เคลือบเป็นส่วนประกอบ 1.0%
3. ชุดการการทดลองที่ 3 ใช้เบทาอีนชนิดเคลือบเป็นส่วนประกอบ 2.0%

1.2 สภาวะการทดลอง

ปล่อยกุ้งหลังจากการปรับสภาพลงในถังไฟเบอร์ขนาดความจุ 1 ตัน เส้นผ่านศูนย์กลางของก้นถัง 1.1 เมตร ใช้น้ำความเค็ม 20 พีพีที ปริมาตร 700 ลูกบาศก์เซนติเมตร เท่ากันทุกถัง ใช้หัวทรายให้อากาศถังละ 4 หัว ปล่อยกุ้งที่อัตราความหนาแน่น 70 ตัว/ตารางเมตร (80 ตัว/ถัง) ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 1-2 สัปดาห์

ทำการให้อาหาร 4 ครั้ง/วัน เป็นเวลา 3 เดือน (7.00 น. 12.00 น. 17.00 น. และ 21.00 น.) อัตราการให้อาหารสำหรับกุ้งขนาด 2 กรัม ให้อาหารที่ 6%ของน้ำหนักตัวต่อวัน อัตราการให้อาหารสำหรับกุ้งขนาด 5 กรัม ให้อาหารที่ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน และ อัตราการให้อาหารสำหรับกุ้งขนาด 10 กรัม ให้อาหารที่ 4 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน ทำการสุ่มชั่งน้ำหนักกุ้งและหาอัตรารอดตายทุก 2 สัปดาห์ บันทึกปริมาณอาหารที่กินตลอดการทดลอง (งดให้อาหารมื้อที่สุ่มตัวอย่าง)

ทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำทุกเดือนๆละครั้ง โดยตรวจคุณภาพของน้ำที่ถ่ายออก (กรณีทำการถ่ายเปลี่ยนน้ำ) และน้ำในถังเลี้ยง (หลังทำการเปลี่ยนถ่าย) ซึ่งพารามิเตอร์ที่จะทำการตรวจมีดังต่อไปนี้

ตารางที่ 10 พารามิเตอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์น้ำระหว่างทดลอง

พารามิเตอร์	หน่วย	วิธีวิเคราะห์
Temperature	^{O}C	Thermometer
pH	-	pH Meter
Alkalinity	mg/l as $CaCO_3$	Titration Method (APHA, 1992)
Salinity	ppt	Salinometer
DO	mg/l	Oxyguard
BOD	mg/l	Azide modification at 20 $^{\circ}C$ for 5 days
NH_3	mg NH_3-N/l	Koroleff's Indophenol Blue Method (Graffholf, 1976)
NO_2^-	mg NO^-_2-N/l	Colorimetric Method (APHA, 1992)
NO_3^-	mg NO^-_3-N/l	Cadmium modification colorimetric Method (APHA, 1992)
Ortho phosphate	mg/l	Ascobic acid Method (APHA, 1992)
Total phosphorus	mg/l	Ascobic acid Method (APHA, 1992)

1.3 การเก็บข้อมูล

ทำการบันทึกข้อมูลทุกๆ เดือน (ยกเว้นการวิเคราะห์ระดับอาร์เอนเอ และระดับฟอสโฟลิปิดในเนื้อเยื่อ ซึ่งจะเก็บข้อมูลเฉพาะเดือนที่ 3 เท่านั้น) เพื่อนำข้อมูลไปใช้วัดการเจริญเติบโต และการใช้ประโยชน์อาหารของกุ้งกุลาดำในแต่ละชุดการทดลอง

1.3.1 ศึกษาการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ

ทำการเก็บข้อมูลทุกซ้ำของแต่ละชุดการทดลอง (6 ซ้ำ) นำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยในหัวข้อต่างๆ ดังต่อไปนี้ น้ำหนักตัวเฉลี่ย การเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการแลกเนื้อ ประสิทธิภาพของอาหาร และอัตรารอดตาย

$$\text{น้ำหนักตัวเฉลี่ย} = \frac{\text{น้ำหนักตัวทั้งหมด}}{\text{จำนวนตัว}}$$

$$\text{การเจริญเติบโตต่อวัน} = \frac{\text{น้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น}}{\text{จำนวนวัน}}$$

$$\text{ประสิทธิภาพของอาหาร} = \frac{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น}}{\text{น้ำหนักอาหารที่กิน}} \times 100$$

$$\text{อัตราการแลกเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}}$$

$$\text{อัตรารอดตาย} = \frac{\text{จำนวนกุ้งที่รอด}}{\text{จำนวนกุ้งเริ่มต้น}} \times 100$$

1.3.2 การศึกษาระดับไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) ในเลือด

ทำการสุ่มตัวอย่างจากแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 6 ตัว (1 ตัว/1 ซ้ำ) มาทำการเก็บเลือดของกุ้ง โดยจะเก็บชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (2 ตัว/1 ซ้ำ) การเก็บเลือดของกุ้ง ทำโดยการใช้เข็มฉีดยาเจาะลงไปบริเวณแอ่งเลือดตรงระหว่างขาเดินคู่สุดท้ายแล้วจึงดูดเลือดขึ้นมา นำเลือดที่ได้ไปวิเคราะห์หาระดับไตรกลีเซอไรด์ด้วยวิธี GPO-PAP method ของบริษัท Human Gesellschaft für. Biochemica und Diagnostica mbH.

ผสมตัวอย่างเลือด 10 ไมโครกรัม กับสารเคมีวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride commercial kit) 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนคลื่นแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

1.3.3 <u>การศึกษาการสะสมของไกลโคเจน (glycogen) ในรูปกลูโคสในตับ (hepatopancreas)</u>

ทำการสุ่มตัวอย่างจากแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 6 ตัว (ใช้กุ้งตัวเดียวกับที่ใช้วิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์) มาทำการผ่าเพื่อเก็บตับของกุ้ง โดยจะเก็บชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (2 ตัว/1 ซ้ำ) นำไปวิเคราะห์หาไกลโคเจนตามวิธีของ Dubois *et al*. (1965)

สกัดไกลโคเจนโดย นำตับกุ้งใส่ลงในหลอดเซนตริฟิวจ์ (centrifuge tube) เติม 5% trichloroacetic acid (TCA) นำไปปั่นละเอียดด้วยเครื่องปั่น (homogenizer) ที่ความเร็ว 16000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที (ทำ 2 ครั้ง) นำส่วนใสที่อยู่ชั้นบนจำนวน 200-1000 ไมโครลิตร เติม TCA 1 มล. และ เติม 95% เอททิแอลกอฮอล์ (EtOH) 5 มล. เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37-40 องศาเซลเซียส นาน 3 ชม. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ทิ้งส่วนใสเอาแต่ตะกอน เติมน้ำต้ม 0.5 มล. กรดซัลฟูริคเข้มข้น 2.5 มล. และ 5% ฟีนอล 2.5 มล. เขย่าให้เข้ากัน วัดด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

1.3.4 <u>การศึกษาระดับการสังเคราะห์โปรตีน (protein synthesis) โดยการวัดระดับการสังเคราะห์อาร์เอนเอ (RNA synthesis)</u>

ทำการสุ่มตัวอย่างจากแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 6 ตัว (1 ตัว/1 ซ้ำ) มาทำการเก็บชิ้นเนื้อ โดยจะเก็บชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (2 ตัว/1 ซ้ำ) การเก็บชิ้นเนื้อนั้นจะเก็บตรงบริเวณปล้องแรกนับจากรอยต่อระหว่างส่วนหัวกับลำตัว (ทำเช่นเดียวกันทุกตัว) นำชิ้นเนื้อที่ได้ไปวิเคราะห์ตามวิธีของ Sunde *et al.* (2001)

นำตัวอย่างกล้ามเนื้อขาวแช่แข็ง (-80 °C) 50-100 มก. ใส่ลงในหลอดขนาด 1.5 มล. เติม TRIzol reagent 1 มล. นำไปโฮโมจีไนซ์ (homogenize) ด้วยเครื่องปั่นละเอียดด้วยคลื่นเสียง (sonicator) บ่มที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที เติม คลอโรฟอร์ม (chloroform) 2 มล. ผสมให้เข้ากันแล้วนำเข้าเครื่องเหวี่ยงที่ 5000 รอบ/นาที นาน 10 นาที นำของเหลวด้านบนไปวิเคราะห์ RNA (วิเคราะห์เฉพาะเดือนสุดท้าย)

1.3.5 <u>การศึกษาระดับฟอสโฟลิปิด (phospholipids)ในเนื้อเยื่อ</u>

ทำการสุ่มตัวอย่างจากแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 6 ตัว (1 ตัว/1 ซ้ำ) มาทำการแกะส่วนที่เป็นเปลือกออกทั้งหมด จากนั้นนำส่วนของเนื้อที่ได้ในชุดการทดลองเดียวกันมาทำการบดรวมกันแล้วนำไปสกัดไขมัน เมื่อทำการสกัดและแยกไขมันจนได้เป็นไขมันชิดมีขั้ว (polar lipid) จึงทำการแยกไขมันของแต่ละชุดการทดลองออกเป็น 3 ซ้ำ

ทำการสกัดไขมันด้วยวิธีของ Bright and Dryer หลังจากนั้นนำไขมันที่ได้ไปผ่าน sep-pak เพื่อทำการแยกหาปริมาณ polar lipid และ nonpolar lipid หลังจากนั้นนำส่วนของ polar lipid ไปพ่นด้วยเครื่อง auto spot แล้วทำการแยกฟอสโฟลิปิดด้วยวิธี thinlayer chomatography หลังจากนั้นจึงนำไปหาปริมาณฟอสโฟลิปิดด้วยเครื่องวัดความหนาแน่น (densitometer) (วิเคราะห์เฉพาะเดือนสุดท้าย)

2. <u>การทดลองที่ 2</u> การศึกษาผลของเบทาอีนต่อระยะเวลาในการเข้ากินอาหาร และปริมาณการกินอาหารของกุ้งกุลาดำ

2.1 <u>แผนการทดลอง</u>

การทดลองเป็นแบบสุ่มตลอด (Completely Randommized Design) เพื่อศึกษาผลการใช้เบทาอีนในระดับต่างๆ ที่มีผลต่อการเข้าหาอาหาร และ การกินอาหาร ซึ่งการทดลองได้แบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง (treatment) ชุดการทดลองละ 10 ซ้ำ (replication) ดังนี้

1. ชุดการการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม ไม่มีเบทาอีนเป็นส่วนประกอบ
2. ชุดการการทดลองที่ 2 ใช้เบทาอีนชนิดไม่เคลือบเป็นส่วนประกอบ 1.0%
3. ชุดการการทดลองที่ 3 ใช้เบทาอีนชนิดเคลือบเป็นส่วนประกอบ 2.0%

2.2 สภาวะการทดลอง

นำกุ้งจากการทดลองที่ 1 ที่ทำการเก็บข้อมูลการทดลองเสร็จแล้ว (3 เดือน) มาทำการการปรับสภาพกุ้งแล้วจึงปล่อยกุ้งลงในตู้กระจกขนาดความจุ 60 ลิตร ตู้ละ 1 ตัว จำนวน 30 ตู้โดยที่แต่ละตู้จะมีการนำวัสดุมากั้นตรงส่วนกลางของตู้ เพื่อแบ่งตู้ออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 เป็นส่วนที่กุ้งอยู่ โดยระยะห่างจากขอบตู้จนถึงวัสดุที่นำมากั้นจะเท่ากันทุกตู้ (15 ซม.) ส่วนที่ 2 เป็นส่วนที่ทำการให้อาหาร โดยระยะห่างจากขอบตู้จนถึงวัสดุที่นำมากั้นจะเท่ากันทุกตู้ (45 ซม.) ให้อาหารวันละ 4 มื้อ (7.00 น. 12.00 น. 17.00 น. และ 21.00 น.) จนกุ้งคุ้นเคยกับการเลี้ยงในตู้กระจก จึงจะทำการเก็บข้อมูลการเข้าหาและกินอาหารหลังจากใส่อาหารลงไปจะทำการยกวัสดุที่ใช้กั้นออก แล้วทำการจับเวลาการเข้าหาอาหารของกุ้งแต่ละตู้

2.3 การเก็บข้อมูล

การเก็บข้อมูลระยะเวลาการเข้าหาอาหารนั้นจะเก็บข้อมูล 2 ครั้ง ซึ่งแต่ละครั้งห่างกัน 2 สัปดาห์ แล้วนำข้อมูลมาหาค่าเฉลี่ย โดยการเก็บข้อมูลจะใช้เกณฑ์การจับเวลา 10 นาที ถ้ากุ้งตัวใดใช้เวลาการเข้าหาอาหารเกินเวลาที่กำหนด จะไม่นำข้อมูลของกุ้งตัวนั้นมาวิเคราะห์ เพื่อป้องกันปัญหาที่กุ้งจะอยู่ในช่องใกล้ลอกคราบ เนื่องจากกุ้งจะมีความอยากกินอาหารลดลงทำให้ระยะเวลาการเข้ากินอาหารผิดจากความเป็นจริง

การเก็บข้อมูลปริมาณการกินอาหารจะเก็บข้อมูลจนครบ 10 ซ้ำ โดยสุ่มเลือกกุ้งที่ลอกคราบแล้วประมาณ 1 สัปดาห์ มาทำการศึกษา โดยการใส่อาหารที่ทราบน้ำหนักแน่นอนลงในตู้กระจก จับเวลา 30 นาที แล้วจึงดูดอาหารออก นำไปอบแล้วชั่งน้ำหนักเปรียบเทียบกับอาหารที่ใส่ลงในตู้ที่ไม่มีกุ้งเพื่อหาปริมาณอาหารที่กุ้งกิน

3. <u>การทดลองที่ 3</u> การศึกษาผลของเบทาอีนที่มีต่อการลอกคราบและระดับของไคติน ของเปลือกกุ้งกุลาดำ

3.1 <u>แผนการทดลอง</u>

การทดลองเป็นแบบสุ่มตลอด (Completely Randommized Design) เพื่อศึกษาผลการใช้เบทาอีนในระดับต่างๆ ที่มีผลต่อการลอกคราบและระดับของไคติน ของเปลือกกุ้ง ซึ่งการทดลองได้แบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง (treatment) ชุดการทดลองละ 10 ซ้ำ (replication) ดังนี้

1. ชุดการการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม ไม่มีเบทาอีนเป็นส่วนประกอบ
2. ชุดการการทดลองที่ 2 ใช้เบทาอีนชนิดไม่เคลือบเป็นส่วนประกอบ 1.0 %
3. ชุดการการทดลองที่ 3 ใช้เบทาอีนชนิดเคลือบเป็นส่วนประกอบ 2.0 %

3.2 <u>สภาวะการทดลอง</u>

นำกุ้งจากการทดลองที่ 1 ที่ทำการเก็บข้อมูลการทดลองเสร็จแล้ว (3 เดือน) มาทำการปรับสภาพ กุ้งแล้วจึงปล่อยกุ้งลงในตู้กระจกขนาดความจุ 60 ลิตร ใส่กุ้งลงไปตู้ละ 2 ตัว โดยมีที่กั้นตู้ออกเป็น 2 ส่วน จำนวน 15 ตู้ (5 ตู้/ ชุดการทดลอง) มีหัวทรายให้อากาศ 1 หัวต่อ 1 ตัวให้อาหารวันละ 4 มื้อ (7.00 น. 12.00 น. 17.00 น. และ 21.00 น.)

3.3 <u>การเก็บข้อมูล</u>

ทำการเก็บข้อมูลวงจรการลอกคราบหลังจากกุ้งลอกคราบแล้ว 1 ครั้ง หลังจากนั้นเริ่มต้นนับเวลาในการลอกคราบแต่ละครั้ง โดยจะเก็บข้อมูลตัวอย่างละ 2 ครั้ง แล้วทำการหาค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองเปรียบเทียบกัน

ทำการเก็บข้อมูลของปริมาณไคตินในเปลือกกุ้งโดยการนำกุ้งที่อยู่ในระยะพักการลอกคราบ (intermolt) มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณของไคติน เพื่อเป็นการป้องกันไม่ให้กุ้งดูดซึมแร่ธาตุจากเปลือกกลับ ซึ่งจะได้ระดับไคตินที่แท้จริง การสังเกตระยะการลอกคราบจะทำโดยการส่องดูด้วยกล้องขยายตรงบริเวณส่วนหาง

3.3.1 การศึกษาระดับของไคติน (Chitin)

สกัดไคตินจากเปลือกกุ้งโดยนำเปลือกกุ้งมาล้างน้ำให้สะอาด (30 นาที) เติม 0.5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (0.5% NaOH) ทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่ 90-95 องศาเซลเซียส รินน้ำออก เติม 3 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (3% NaOH) ทิ้งไว้เป็นเวลา 30นาที ที่ 90-95 องศาเซลเซียส ล้างด้วยน้ำจนด่างหมด (30นาที) แช่ใน 1.25 นอมอล ของกรดไฮโดรคลอริค (1.25 N. HCl) นาน 30 นาที ที่ 90-95 องศาเซลเซียส ล้างด้วยน้ำจนกรดหมด (30นาที) อบแห้งที่ 60 องศา-เซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

4. วิธีวิเคราะห์ผลการทดสอบทางสถิติ

การวิเคราะห์ผล การเจริญเติบโต อัตรารอด อัตราการแลกเนื้อ ประสิทธิภาพของอาหาร การสะสมไกลโคเจนในตับ ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือด การสังเคราะห์โปรตีนในกล้ามเนื้อ ฟอสโฟลิปิดในกล้ามเนื้อ ระดับไคตินในเปลือก และระยะเวลาการเข้าหาอาหารของกุ้งกุลาดำ ในการทดลองอาหารทั้ง 3 สูตร โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance : ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan' New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (อนันต์ชัย, 2542)

5. สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง

ทำการทดลอง ณ ศูนย์พัฒนาเทคโนโลยีอาหารสัตว์น้ำ และภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมิถุนายนถึงเดือน กันยายน 2548 รวมระยะเวลาทดลอง 120 วัน

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลอง

1. การศึกษาการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์โภชนะในกุ้งกุลาดำ

การทดลองผลของเบทาอีนต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ และเสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่มีปริมาณเบทาอีน 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า

ในเดือนแรกกุ้งกุลาดำทั้ง 3 ชุดการทดลองมี น้ำหนักเฉลี่ย การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อตัวต่อวัน อัตรารอดตาย อัตราแลกเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ไม่แตกต่างกันทางสถิติ($p > 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยของชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังต่อไปนี้ น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเท่ากับ 7.23$\pm$0.33 กรัม 7.27$\pm$0.79 กรัม และ 6.96$\pm$0.73 กรัม การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อตัวต่อวันเท่ากับ 0.090$\pm$0.01 กรัม 0.100$\pm$0.04 กรัม และ 0.100$\pm$0.03 กรัม อัตรารอดตายเท่ากับ 74.58$\pm$7.23 เปอร์เซ็นต์ 77.08$\pm$4.84 เปอร์เซ็นต์ และ 78.13$\pm$7.15 เปอร์เซ็นต์ อัตราแลกเนื้อเท่ากับ 1.860$\pm$0.81 1.902$\pm$1.03 และ 1.865$\pm$1.11 ประสิทธิภาพการใช้อาหารเท่ากับ 54.54$\pm$6.99 เปอร์เซ็นต์ 51.53$\pm$17.50 เปอร์เซ็นต์ และ 54.71$\pm$8.60 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่สองกุ้งกุลาดำทั้ง 3 ชุดการทดลองมี น้ำหนักเฉลี่ย การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อตัวต่อวัน อัตรารอดตาย อัตราแลกเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ไม่แตกต่างกันทางสถิติ($p > 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยของชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังต่อไปนี้ น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเท่ากับ 7.98$\pm$0.82 กรัม 8.20$\pm$1.45 กรัม และ 8.19$\pm$1.02 กรัม การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อตัวต่อวันเท่ากับ 0.057$\pm$0.01 กรัม 0.067$\pm$0.03 กรัม และ 0.068$\pm$0.02 กรัม อัตรารอดตายเท่ากับ 68.33$\pm$7.99 เปอร์เซ็นต์ 68.96$\pm$2.93 เปอร์เซ็นต์ และ 72.92$\pm$7.61 เปอร์เซ็นต์ อัตราแลกเนื้อเท่ากับ 3.585$\pm$1.48 3.557$\pm$2.57 และ 3.058$\pm$1.26 ประสิทธิภาพการใช้อาหารเท่ากับ 28.757$\pm$5.21 เปอร์เซ็นต์ 34.912$\pm$17.38 เปอร์เซ็นต์ และ 33.577$\pm$5.47 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่สามกุ้งกุลาดำทั้ง 3 ชุดการทดลองมี น้ำหนักเฉลี่ย การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อตัวต่อวัน อัตรารอดตาย อัตราแลกเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ไม่แตกต่างกันทางสถิติ($p > 0.05$) เช่นเดียวกับเดือนแรก และเดือนที่สอง โดยมีค่าเฉลี่ยของชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับดังต่อไปนี้ น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเท่ากับ 10.17$\pm$1.50 กรัม 10.72$\pm$1.94 กรัม และ 11.21$\pm$1.34 กรัม การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อตัวต่อวันเท่ากับ 0.063$\pm$0.02 กรัม 0.073$\pm$0.03 กรัม และ 0.080$\pm$0.02 กรัม อัตรารอดตายเท่ากับ 60.00$\pm$5.06 เปอร์เซ็นต์ 61.67$\pm$4.97 เปอร์เซ็นต์ และ 65.00$\pm$5.76 เปอร์เซ็นต์ อัตราแลกเนื้อเท่ากับ 3.488$\pm$0.93 3.120$\pm$1.12 และ 2.913$\pm$0.57 ประสิทธิภาพการใช้อาหารเท่ากับ 29.185$\pm$4.46 เปอร์เซ็นต์ 34.182$\pm$9.34 เปอร์เซ็นต์ และ 34.802$\pm$4.65 เปอร์เซ็นต์

การสะสมของไกลโคเจนในตับพบว่า ในเดือนแรก และเดือนที่สอง ระดับไกลโคเจนสะสมในตับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยของชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับดังนี้ ระดับไกลโคเจนในตับของกุ้งกุลาดำในเดือนแรกเท่ากับ 11.16$\pm$6.93 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ 10.90$\pm$5.89 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ และ 23.20$\pm$6.46 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ ในเดือนที่สองเท่ากับ 5.69$\pm$4.06 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ 8.37$\pm$5.85 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ และ 9.32$\pm$5.80 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ แต่สำหรับเดือนที่สามนั้น พบว่าชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ จะมีไกลโคเจนสะสมในตับสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีระดับไกลโคเจนสะสมในตับเฉลี่ยเท่ากับ 6.63$\pm$2.67 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ 16.48$\pm$2.61 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ และ11.94$\pm$1.35 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือด พบว่า กุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนกับกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีนมีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ในเดือนแรกของการเลี้ยง โดยมีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดเฉลี่ยเท่ากับ 80.59$\pm$18.53 มิลลิกรัม/เดซิลิตร 82.42$\pm$41.93 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และ 103.66$\pm$30.38 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนในเดือนที่สอง พบว่าชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกว่าชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริม

เบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ นั้นจะมีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดที่ใกล้เคียงกับชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน โดยมีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดเฉลี่ยเท่ากับ 142.77±17.05 มิลลิกรัม/เดซิลิตร 166.14±18.33 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และ 211.45±30.38 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบที่ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของเดือนที่สาม พบว่าชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกว่าชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดเฉลี่ยเท่ากับ 96.68±5.27 มิลลิกรัม/เดซิลิตร 107.55±6.84 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และ 203.02±17.09 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การสังเคราะห์โปรตีนในกุ้งนั้นจะทำเฉพาะเดือนที่สาม ผลที่ได้คือ ระดับโปรตีนในกล้ามเนื้อ และอัตราส่วนระหว่างอาร์เอนเอต่อโปรตีนในกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนกับกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีนไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีระดับโปรตีนในกล้ามเนื้อเฉลี่ยเท่ากับ 0.0092±0.0019 มิลลิกรัมโปรตีน/มิลลิกรัมเนื้อเยื่อ 0.0072±0.0019 มิลลิกรัมโปรตีน/มิลลิกรัมเนื้อเยื่อ และ 0.0089±0.0035 มิลลิกรัมโปรตีน/มิลลิกรัมเนื้อเยื่อ ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และอัตราส่วนระหว่างอาร์เอนเอต่อโปรตีนในกล้ามเนื้อเท่ากับ 0.123±0.023 0.166±0.044 และ0.157±0.039 ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ในส่วนของระดับอาร์เอนเอในกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำ พบว่ากุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับอาร์เอนเอในกล้ามเนื้อสูงกว่าชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ นั้นจะมีระดับอาร์เอนเอในกล้ามเนื้อที่ใกล้เคียงกับชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน โดยมีระดับอาร์เอนเอในกล้ามเนื้อเฉลี่ยเท่ากับ 0.0011±0.0001 มิลลิกรัมอาร์เอนเอ/มิลลิกรัมเนื้อเยื่อ 0.0013±0.0001 มิลลิกรัมอาร์เอนเอ/มิลลิกรัมเนื้อเยื่อ และ0.0016±0.0002 มิลลิกรัมอาร์เอนเอ/มิลลิกรัมเนื้อเยื่อ ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ระดับการสะสมของฟอสโฟลิปิด (ฟอสฟาติดิลโคลีน) ในกุ้งกุลาดำนั้นจะทำเฉพาะเดือนที่สาม เท่านั้น เช่นเดียวกับการศึกษาการสังเคราะห์โปรตีนข้างต้น พบว่า ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการสะสมของฟอสฟาติดิลโคลีนในเนื้อเยื่อสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีระดับการสะสมของฟอสฟาติดิลโคลีนในเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำเฉลี่ยเท่ากับ 1.855$\pm$0.088 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ 2.675$\pm$0.392 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ และ 2.417$\pm$0.202 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 11 การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD)

พารามิเตอร์	ระดับเบทาอีนในอาหาร			P-value
	0%	1% (ไม่เคลือบ)	2% (เคลือบ)	
น้ำหนักเฉลี่ย (g) เดือนที่ 1	7.23 $\pm$ 0.33	7.27 $\pm$ 0.79	6.96 $\pm$ 0.73	0.677
น้ำหนักเฉลี่ย (g) เดือนที่ 2	7.98 $\pm$ 0.82	8.20 $\pm$ 1.45	8.19 $\pm$ 1.02	0.931
น้ำหนักเฉลี่ย (g) เดือนที่ 3	10.17 $\pm$ 1.50	10.72 $\pm$ 1.94	11.21 $\pm$ 1.34	0.549

ตารางที่ 11 การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย ± SD) (ต่อ)

พารามิเตอร์	ระดับเบทาอีนในอาหาร			P-value
	0%	1% (ไม่เคลือบ)	2% (เคลือบ)	
การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (g/ind./day), เดือนที่ 1	0.090 ± 0.01	0.100 ± 0.04	0.100 ± 0.03	0.757
การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (g/ind./day), เดือนที่ 2	0.057 ± 0.01	0.067 ± 0.03	0.068 ± 0.02	0.58
การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (g/ind./day), เดือนที่ 3	0.063 ± 0.02	0.073 ± 0.03	0.080 ± 0.02	0.376
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ เดือนที่ 1	1.860 ± 0.81	1.902 ± 1.03	1.865 ± 1.11	0.989
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ เดือนที่ 2	3.585 ± 1.48	3.557 ± 2.57	3.058 ± 1.26	0.695
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ เดือนที่ 3	3.488 ± 0.93	3.120 ± 1.12	2.913 ± 0.57	0.291
อัตรารอดตาย (%) เดือนที่ 1	74.58 ± 7.23	77.08 ± 4.84	78.13 ± 7.15	0.744
อัตรารอดตาย (%) เดือนที่ 2	68.33 ± 7.99	68.96 ± 2.93	72.92 ± 7.61	0.59
อัตรารอดตาย (%) เดือนที่ 3	60.00 ± 5.06	61.67 ± 4.97	65.00 ± 5.76	0.429

ตารางที่ 11 การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย ± SD) (ต่อ)

พารามิเตอร์	ระดับเบทาอีนในอาหาร			P-value
	0%	1% (ไม่เคลือบ)	2% (เคลือบ)	
ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (%), เดือนที่ 1	54.537 ± 6.99	51.527 ± 17.50	54.708 ± 8.60	0.880
ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (%), เดือนที่ 2	28.757 ± 5.21	34.912 ± 17.38	33.577 ± 5.47	0.602
ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (%), เดือนที่ 3	29.185 ± 4.46	34.182 ± 9.34	34.802 ± 4.65	0.295

ตารางที่ 12 ระดับการสะสมไกลโคเจนในตับของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย ± SD)

พารามิเตอร์	ระดับเบทาอีนในอาหาร			P-value
	0%	1% (ไม่เคลือบ)	2% (เคลือบ)	
ไกลโคเจนในตับ (mg / g tissue),เดือนที่ 1	11.16 ± 6.93	10.90 ± 5.89	23.20 ± 6.46	0.1.62
ไกลโคเจนในตับ (mg / g tissue),เดือนที่ 2	5.69 ± 4.06	8.37 ± 5.85	9.32 ± 5.80	0.700
ไกลโคเจนในตับ (mg / g tissue),เดือนที่ 3	6.63 ± 2.67^{b}	16.481 ± 2.61^{a}	11.937 ± 1.35^{a}	0.006

ตารางที่ 13 ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย ± SD)

พารามิเตอร์	ระดับเบทาอีนในอาหาร			P-value
	0%	1% (ไม่เคลือบ)	2% (เคลือบ)	
ไตรกลีเซอไรด์ในเลือด (mg / dl), เดือนที่ 1	80.59 ± 18.53	82.42 ± 41.93	103.66 ± 30.38	0.635
ไตรกลีเซอไรด์ในเลือด (mg / dl), เดือนที่ 2	142.77±17.05[b]	166.14±18.33[ab]	211.45 ± 30.38[a]	0.026
ไตรกลีเซอไรด์ในเลือด (mg / dl), เดือนที่ 3	96.68 ± 5.27[b]	107.55 ± 6.84[b]	203.02 ± 17.09 [a]	0.001

ตารางที่ 14 การสังเคราะห์โปรตีนของกุ้งกุลาดำ(*Penaeus monodon*) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กันที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย ± SD)

พารามิเตอร์	ระดับเบทาอีนในอาหาร			P-value
	0%	1% (ไม่เคลือบ)	2% (เคลือบ)	
ความเข้มข้นอาร์เอนเอ (mg RNA/mg tissue)	0.0011±0.0001[b]	0.0013±0.0001[ab]	0.0016±0.0002[a]	0.0202
ความเข้มข้นโปรตีน (mg protein/mg tissue)	0.0092±0.0019	0.0072±0.0019	0.0089±0.0035	0.6624
อัตราส่วน อาร์เอนเอ / โปรตีน	0.123±0.023	0.166±0.049	0.157±0.039	0.5306

ตารางที่ 15 ระดับการสะสมฟอสโฟลิปิดในเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย ± SD)

พารามิเตอร์	ระดับเบทาอีนในอาหาร			P-value
	0%	1% (ไม่เคลือบ)	2% (เคลือบ)	
ฟอสฟาติดิลโคลีนในเนื้อเยื่อ (mg / g tissue)	1.855±0.088[b]	2.675±0.392[a]	2.417±0.202[a]	0.021

2. การศึกษาระยะเวลาการเข้ากินอาหารและปริมาณการกินอาหารในกุ้งกุลาดำ

การศึกษาระยะเวลาการเข้ากินอาหารและปริมาณการกินอาหารในกุ้งกุลาดำโดยการให้อาหารชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่มีปริมาณเบทาอีน 1 เปอร์เซ็นต์ แก่กุ้งกุลาดำที่นำมาทดลองในตู้กระจกพบว่า ชุดอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบที่ 1 เปอร์เซ็นต์ จะใช้เวลาในการเข้ากินอาหารน้อยกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยของระยะเวลาการเข้ากินอาหารน้อยที่สุดในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลาการเข้ากินอาหารมากขึ้นในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และใช้เวลาการเข้ากินอาหารมากที่สุดในชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ซึ่งมีค่าเฉลี่ยดังนี้ 2.77±1.29 นาที 3.57±1.86 นาที และ5.69±2.45 นาที ตามลำดับ ส่วนปริมาณอาหารที่กุ้งกินเข้าไปนั้นพบว่าไม่แตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนกับกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน โดยมีปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และ ชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ดังนี้ 0.26±0.058 กรัม/ตัว/มื้อ 0.266±0.088 กรัม/ตัว/มื้อ และ 0.271±0.063 กรัม/ตัว/มื้อ ตามลำดับ

ตารางที่ 16 เวลาการเข้าหาอาหารและปริมาณของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*)ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย ± SD)

พารามิเตอร์	ระดับเบทาอีนในอาหาร			P-value
	0%	1% (ไม่เคลือบ)	2% (เคลือบ)	
ระยะเวลาเข้ากินอาหาร (minute)	5.69 ± 2.45[a]	3.57 ± 1.86[b]	2.77 ± 1.29[b]	0.002
ปริมาณอาหารที่กิน (g/ind./meal)	0.260 ± 0.058	0.266 ± 0.088	0.271 ± 0.063	0.946

3. การศึกษาระดับไคตินในเปลือกกุ้ง และวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ

การศึกษาระดับไคตินในเปลือกกุ้งกุลาดำ และระยะเวลาวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ โดยการให้อาหารชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่มีปริมาณเบทาอีน 1 เปอร์เซ็นต์ แก่กุ้งกุลาดำที่นำมาทดลองในตู้กระจก พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนกับกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน โดยมีค่าเฉลี่ยของระดับไคตินในเปลือกกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และ ชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 0.0654±0.005 กรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง 0.0628±0.013 กรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง และ 0.0647±0.006 กรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนค่าเฉลี่ยระยะเวลาของวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 17.5±3.24 วัน 16.2±3.39 วัน และ 15.3±3.53 วัน ตามลำดับ

ตารางที่ 17 ระดับไคตินในเปลือก และระยะเวลาการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอีนระดับต่างๆ กัน(ค่าเฉลี่ย ± SD)

พารามิเตอร์	ระดับเบทาอีนในอาหาร			P-value
	0%	1% (ไม่เคลือบ)	2% (เคลือบ)	
ไคติน (g/ g dry weight)	0.0654 ± 0.005	0.0628 ± 0.013	0.0647 ± 0.006	0.939
การลอกคราบ (day)	17.50 ± 3.24	16.20 ± 3.39	15.30 ± 3.53	0.359

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์โภชนะในกุ้งกุลาดำ

การศึกษาการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำโดยการใช้อาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน อาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ และอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า น้ำหนักตัวเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตรารอดตาย อัตราแลกเนื้อ และประสิทธิภาพของอาหาร เดือนแรก เดือนที่สอง และเดือนที่สาม ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่จะพบว่าระดับการสะสมของไกลโคเจนในตับของเดือนที่สาม นั้นชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนทั้งชนิดไม่เคลือบ และชนิดเคลือบ จะมีการสะสมของไกลโคเจนในตับสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่ากุ้งกุลาดำในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีน นั้นมีการเจริญเติบโตและสุขภาพที่ดีกว่ากุ้งกุลาดำในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน เนื่องจากเบทาอีนมีคุณสมบัติในการดึงไขมันมาใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ดี โดยผ่านทางการทำงานของคาร์นิทีนในไมโตคอนเดรีย ซึ่งคาร์นิทีนในไมโตคอนเดรียนี้จะทำหน้าที่เป็นตัวพาไขมันเข้าในไมโตคอนเดรียเพื่อสลายให้ได้พลังงานได้ดีขึ้น จึงมีผลให้ร่างกายดึงกลูโคสมาใช้เป็นพลังงานน้อยลง ทำให้มีกลูโคสเหลือมาเก็บไว้ใช้เป็นพลังงานสำรองในรูปของไกลโคเจนในตับได้มากขึ้น การสังเคราะห์คาร์นิทีนนั้นต้องอาศัย เอส-อดีโนซิลเมไธโอนีน ที่เกิดจากวัฏจักรโฮโมซีสทีนเป็นตัวให้หมู่เมทิล แก่กรดอะมิโนไลซีนที่เป็นสารตั้งต้น ซึ่งในวัฏจักรโฮโมซีสทีนนี้จะมีเบทาอีนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ส่วนระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของเดือนที่สอง พบว่ากุ้งกุลาดำในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนเดือนที่สาม พบว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ มีระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกว่าชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ และชุดที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ จะมีการลำเลียงไขมันเข้าสู่กระแสเลือดได้ดีกว่า ทำให้ร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้ในขบวนเมตาบอลิซึมของร่างกายได้ดีกว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ และชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่ได้เสริมเบทาอีน

เป็นที่น่าสังเกตว่าในช่วงเดือนที่สองของการเลี้ยง ทั้ง 3 ชุดการทดลอง จะมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในอัตราที่ลดลง เมื่อเทียบกับเดือนแรก และเดือนที่สาม การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันลดลง อัตราแลกเนื้อเพิ่มขึ้น ระดับไกลโคเจนในตับลดลง ระดับไตรกลีเซอไรด์เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นถึงสภาวะการเลี้ยงที่มีความผิดปกติ ทั้งนี้เป็นผลมาจากปริมาณของแอมโมเนียที่เพิ่มสูงขึ้น เพราะในช่วงเวลาดังกล่าวจำเป็นต้องเปลี่ยนมาใช้เครื่องให้อากาศที่มีกำลังแรงม้าลดลงเป็นเวลากว่า 2 สัปดาห์ เนื่องจากเครื่องให้อากาศเดิมเสียต้องนำไปซ่อม ซึ่งมีผลให้ระดับออกซิเจนในน้ำลดลงจากระดับปกติ (ดูในตารางผนวกที่ 1) และแอมโมเนียเพิ่มขึ้นเป็น 0.286 มก./ล. ในบ่อเลี้ยงกุ้งควรมีแอมโมเนียไม่เกิน 0.1 มก./ล. (Boyd, 1982) เพราะผลของแอมโมเนียในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำในปริมาณ 0.21 มก./ล. จะทำให้กุ้งกุลาดำมีการเจริญเติบโตที่ลดลง (Allan *et al*., 1900) เนื่องจากแอมโมเนียจะมีผลทำให้ความเข้มข้นของออกซิเจนในเลือดลดลง ซึ่งมีผลต่อการขนส่งออกซิเจนทำให้เลือดไม่สามารถกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ พีเอชของเลือดจึงลดลง นอกจากนี้แอมโมเนียยังทำให้กุ้งมีอาการระคายเคือง อักเสบ ก่อให้เกิดโรคที่เหงือกได้ง่าย (Colt and Tchobanoblous, 1976) ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้กุ้งเกิดอาการเครียด กินอาหารลดลงทำให้ค่าอัตราแลกเนื้อสูงขึ้น มีการสลายไกลโคเจน และไตรกลีเซอไรด์มาใช้เป็นแหล่งพลังงานมากขึ้นทำให้ระดับไกลโคเจนในตับลดลง และระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดเพิ่มสูงขึ้น และจะเห็นได้ว่าระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดในช่วงนี้ กุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดซึ่งจะมีความแตกต่างทางสถิติกับการทดลองชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน แต่จะไม่แตกต่างทางสถิติกับการทดลองชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเบทาอีนจะมีผลต่อการสังเคราะห์คาร์นิทีน ซึ่งเป็นตัวพาแฟตตีเอซิลโคเอ (fatty acyl CoA) ที่ได้กรดไขมันที่มาจากการสลายไตรกลีเซอไรด์ของเซลล์ไขมันผ่านผนังเซลล์ของไมโตคอนเดรียเพื่อใช้ในขบวนการสลายให้ได้พลังงาน จึงส่งผลให้กุ้งกุลาดำในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนมีการสลายและใช้ประโยชน์ไขมันได้ดีกว่ากุ้งกุลาดำในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน ซึ่งเป็นการยืนยันได้ว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับเบทาอีนจะมีความสามารถในการดึงไขมันมาใช้ประโยชน์ (เป็นแหล่งพลังงาน) ได้ดีขึ้น ไม่ว่าจะเป็นในสภาวะปกติหรือในสภาวะที่เกิดความเครียดจากปัจจัยสิ่งแวดล้อม

ระดับการสังเคราะห์โปรตีนในกุ้งนั้นจะทำเฉพาะเดือนที่สาม ผลที่ได้คือ ระดับโปรตีนในกล้ามเนื้อ และอัตราส่วนระหว่างอาร์เอนเอต่อโปรตีนในกุ้งกุลาดำทั้ง 3 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนระดับอาร์เอนเอในกล้ามเนื้อนั้นในชุดของการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มข้นของอาร์เอนเอมากกว่าชุดการทดลองที่

เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สัตว์ที่มีระดับอาร์เอนเอในกล้ามเนื้อที่มีความเข้มข้นต่ำจะมีอัตราการสลายแล้วนำมาสร้างใหม่ของโปรตีน (protein turnover rate) สูง และมีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของโปรตีน (protein growth efficiency) ต่ำ (Rungrangsak Torrissen *et al*., 1999; Rungrangsak Torrissen and Male, 2000) แสดงให้เห็นว่ากุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ นั้นมีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของโปรตีนที่ดีกว่ากุ้งกุลาดำที่ไม่ได้เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีน เนื่องจากเบทาอีน (ไตรเมทิลไกลซีน) มีความสำพันธ์กับการสังเคราะห์ ดีเอนเอ และอาร์เอนเอ ผ่านทางการสังเคราะห์สารประกอบพิวรีน (purine) ได้แก่ อดีนีน (adenine) และ กัวนีน (guanine) ที่เป็นส่วนประกอบของดีเอนเอ และอาร์เอนเอ ซึ่งสารประกอบพิวรีนจะสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโนไกลซีน และจะได้รับหมู่อะมิโนจากกลูตามีน (glutamine) และแอสปาร์เตต (aspartate) จึงเป็นสาเหตุให้กุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ มีการสังเคราะห์อาร์เอนเอได้ดีกว่ากุ้งกุลาดำที่ไม่ได้เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีน

ระดับการสะสมของฟอสโฟลิปิด (ฟอสฟาติดิลโคลีน) ในกุ้งกุลาดำนั้นทำเฉพาะเดือนที่สาม เช่นเดียวกับการศึกษาการสังเคราะห์โปรตีนข้างต้น พบว่า กุ้งกุลาดำของชุดของการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ และชนิดเคลือบ มีระดับการสะสมของฟอสฟาติดิล-โคลีนใน เนื้อเยื่อสูงกว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่าเบทาอีนจะมีความสัมพันธ์กับการสังเคราะห์ฟอสฟาติดิลโคลีนของร่างกาย ซึ่งเป็นฟอสโฟลิปิดที่มีมากที่สุดและเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยผ่านทางการทำงานของเอส-อะดีโนซิลเมไธโอนีน (ที่เกิดขึ้นในวัฏจักรของโฮโมซีส-ทีนที่มีเบทาอีนเป็นตัวให้หมู่เมทิล) เป็นตัวให้หมู่เมทิลแก่ฟอสฟาติดิลเซอรีน ให้เปลี่ยนเป็นฟอสฟาติดิลโคลีน หรือได้รับหมู่เมทิลโดยตรงจากเบทาอีนในการเปลี่ยนฟอสฟาติดิลเซอรีนให้เป็นฟอสฟาติดิลโคลีน

การมีฟอสฟาติดิลโคลีน (lecithin) ในร่างกายสูงจะส่งผลให้การขนส่งโคเลสเตอรอลของร่างกายดีขึ้น โดยผ่านขบวนการส่งถ่ายโคเลสเตอรอลจากเซลล์ที่มีโคเลสเตอรอลมากเกินพอให้กับลิโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นสูง (high density lipoprotein, HDL) โดยเริ่มจากเมมเบรนของเซลล์ซึ่งมีโคเลสเตอรอล และฟอสโฟลิปิด กรดไขมันจากฟอสโฟลิปิดชนิดเลซิติน จะถูกถ่ายให้กับโคเลสเตอรอลอิสระ เปลี่ยนเป็นโคเลสเตอรอลเอสเทอร์โดยเอนไซม์ lecithin : cholesterol acyltransferase จากนั้น HDL จะส่งถ่ายโคเลสเตอรอลให้กับ VLDL (very low density lipoprotein) เปลี่ยนเป็น LDL (low density lipoprotein) จะเป็นตัวที่ขนส่งโคเลสเตอรอลให้กับเซลล์ที่มีความ

ต้องการโคเลสเตอรอล เพื่อใช้ในการสังเคราะห์สารต่างๆ ในร่างกาย เช่น กรดน้ำดี สารสเตอรอล ฮอร์โมน เป็นต้น

2. <u>การศึกษาระยะเวลาการเข้ากินอาหารและปริมาณการกินอาหารในกุ้งกุลาดำ</u>

การทดลองหาระยะเวลาการเข้ากินอาหารและปริมาณการกินอาหารในกุ้งกุลาดำ ด้วยอาหารชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ระยะเวลาการเข้ากินอาหารของกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลาในการเข้ากินอาหารน้อยกว่าชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ได้เสริมเบทา-อีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนปริมาณการกินอาหารของกุ้งกุลาดำ พบว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$)

การที่กุ้งกุลาดำในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ ใช้ระยะเวลาในการเข้ากินอาหารได้เร็วกว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีนนั้น เป็นผลมาจากคุณสมบัติการละลายน้ำได้เป็นอย่างดี อีกทั้งมีน้ำหนักโมเลกุลน้อย ทำให้เบทาอีนสามารถแพร่กระจายไปในน้ำได้รวดเร็ว อีกทั้งคุณสมบัติของการเป็น chemoattractrat ของกรดอะมิโนที่มีอยู่แล้วในอาหาร โดยเฉพาะกรดอะมิโนไกลซีนที่มีมากในปลาป่น กุ้งกุลาดำจึงรับรู้ได้ว่ามีอาหารอยู่ในบริเวณนั้น โดยผ่านทางอวัยวะรับสัมผัสทางกลิ่นที่อยู่บริเวณหนวดได้เร็วขึ้น เนื่องจากเบทาอีนเมื่อมีการใช้ร่วมกับกรดอะมิโนชนิดอื่น จะมีผลในการกระตุ้นการเข้าหาอาหารของกุ้งมากกว่าการใช้เบทาอีน หรือกรดอะมิโนเพียงอย่าง (Goh and Tamura, 1980) ส่วนในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ ใช้ระยะเวลาในการเข้ากินอาหารได้เร็วกว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีนนั้น เป็นอิทธิพลของสารที่ใช้เคลือบเม็ดอาหารไว้ เนื่องจากเบทาอีนในเม็ดอาหารชนิดเคลือบจะละลายน้ำออกมาได้น้อยลง แต่ส่วนที่จะละลายน้ำออกมาก่อนคือสารที่ใช้เคลือบเม็ดอาหารนั้น (ไขมัน) ซึ่งสารดังกล่าวอาจมีคุณสมบัติเป็น chemoattractant สำหรับกุ้งกุลาดำได้เช่นกัน กุ้งกุลาดำในชุดการทดลองนี้จึงสามารถเข้ากินอาหารได้รวดเร็วและไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกุ้งกุลาดำในชุดการทดลองที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ

3. <u>การศึกษาระดับไคตินในเปลือกกุ้ง และระยะเวลาการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ</u>

การทดลองหาระดับไคตินในเปลือกกุ้ง และการลอกคราบของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ทั้งระดับไคตินในเปลือกกุ้ง และระยะเวลาการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน ชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าการเสริมเบทาอีนในอาหารไม่ได้มีผลต่อระยะเวลาของวงจรการลอกคราบ และระดับไคตินในเปลือกกุ้งกุลาดำ

โดยปกติแล้วในระยะก่อนการลอกคราบของกุ้งกุลาดำจะมีการสะสมธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการลอกคราบ ซึ่งจะเก็บสะสมไว้ในตับ (hepatopancreas) ได้แก่ ไขมัน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน แคลเซียม ฟอสเฟต และแมกนีเซียม เมื่อมีการสะสมธาตุอาหารอย่างเพียงพอจะมีผลไปกระตุ้นการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง ซึ่งจะทำให้เกิดการลอกคราบเร็วขึ้น (Passano, 1960) แต่ในการทดลองครั้งนี้จะพบว่า แม้ระดับการสะสมของไกลโคเจนในตับของชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ของเดือนที่สามจะมากกว่าในที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ แต่จะไม่มีผลทำให้กุ้งกุลาดำในชุดการทดลองที่เสริมเบทาอีนใช้เวลาในการลอกคราบเร็วกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอีน เนื่องจากในการลอกคราบของกุ้งนอกจากการสะสมโภชนะเพื่อเป็นพลังงานและสารตั้งต้นของการสังเคราะห์เปลือกแล้วยังมีปัจจัยภายนอก เช่น แสง และอุณหภูมิ เป็นตัวกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนเพื่อให้เกิดการลอกคราบซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ไม่มีการควบคุมปัจจัยภายนอกเหล่านี้จึงทำให้ไม่เห็นผลของระยะเวลาวงจรการลอกคราบชัดเจนนัก ส่วนระดับไคตินในเปลือกกุ้งกุลาดำที่ไม่มีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองที่เสริมเบทาอีนกับชุดที่ไม่เสริมเบทาอีนถึงแม้ว่าในโครงสร้างของไคตินจะมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบก็ตาม ทั้งนี้อาจเป็นผลจากระดับไคตินในเปลือกกุ้งมีปริมาณจำกัด คือประมาณ 15-20 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง (รัตนา และจินตนา, 2544) จึงทำให้กลูโคสสามารถเปลี่ยนเป็นไคตินได้ในระดับหนึ่ง ทั้งนี้อาจมีปัจจัยอื่น เช่น เอนไซม์ เข้ามาเกี่ยวข้องด้วย หรืออาจเป็นผลจากการดูดซึมแร่ธาตุจากเปลือกกลับคืนสู่ร่างกายของกุ้งเองก่อนการลอกคราบ จึงทำให้ระดับไคตินที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาผลของเบทาอีนที่มีต่อกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*)ในหัวข้อต่างๆ ได้ข้อสรุปดังต่อไปนี้

1. ผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ

น้ำหนักเฉลี่ย การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อตัวต่อวัน อัตรารอดตาย อัตราแลกเนื้อ ทั้ง 3 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$)

2. ผลต่อระยะเวลาการเข้ากินอาหารของกุ้งกุลาดำ

การศึกษาระยะเวลาการเข้ากินอาหารของกุ้งกุลาดำ พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ระหว่างกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนกับกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมเบทาอีน โดยที่กุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์จะใช้เวลาในการเข้ากินอาหารน้อยที่สุด และใช้เวลาในการเข้ากินอาหารมากที่สุดในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน

3. ผลต่อปริมาณกินอาหารที่กินของกุ้งกุลาดำ

การศึกษาปริมาณอาหารที่กินในแต่ละมื้อของกุ้งกุลาดำนั้น พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนกับกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมเบทาอีน

4. ผลต่อการใช้ประโยชน์โภชนะของกุ้งกุลาดำ

การศึกษาผลของเบทาอีนต่อใช้ประโยชน์โภชนะ (คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน) ของกุ้งกุลาดำโดยการเสริมเบทาอีนในอาหารนั้นจะแสดงออกมาในรูปของการสะสมของไกลโคเจน การสังเคราะห์โปรตีน ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือด และฟอสฟาติดิลโคลีนในเนื้อเยื่อ ซึ่งได้ผลดังต่อไปนี้

4.1 ระดับการสะสมไกลโคเจนในตับกุ้งกุลาดำในเดือนแรก และเดือนที่สอง ทั้ง 3 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่ในเดือนที่สามนั้น พบว่า ชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ จะมีการสะสมของไกลโคเจนในตับสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีการสะสมของไกลโคเจนในตับสูงที่สุดในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และต่ำที่สุดในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน

4.2 ระดับความเข้มข้นของอาร์เอนเอในกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำนั้น พบว่า กุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับความเข้มข้นของอาร์เอนเอในกล้ามเนื้อมากกว่าชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีระดับความเข้มข้นของอาร์เอนเอในกล้ามเนื้อสูงที่สุดในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ และต่ำสุดในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน

4.3 ระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือด พบว่าในเดือนแรกไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ทั้ง 3 ชุดการทดลอง ส่วนในเดือนที่สอง พบว่าชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในเดือนที่สาม พบว่าชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกว่าชุดที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.2 ระดับการสะสมของฟอสฟาติดิลโคลีนในเนื้อเยื่อ พบว่า ชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอีนชนิดเคลือบ 2 เปอร์-เซ็นต์ มีระดับการสะสมของฟอสฟาติดิลโคลีนในเนื้อเยื่อสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีระดับการสะสมของฟอสฟาติดิลโคลีนในเนื้อเยื่อสูงที่สุดในกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ และมีระดับการสะสมของฟอสฟาติดิลโคลีนในเนื้อเยื่อน้อยที่สุดในกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน

5. <u>ผลต่อระดับไคตินในเปลือกกุ้งกุลาดำ</u>

การศึกษาระดับไคตินในเปลือกกุ้งกุลาดำนั้น พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนกับกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมเบทาอีน

6. <u>ผลต่อระยะเวลาของวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ</u>

การศึกษาระยะเวลาของวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำนั้น พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอีนกับกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมเบทาอีน

การใช้อาหารเสริมเบทาอีนชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ และชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ของสูตรอาหาร มีผลทำให้ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของโปรตีนสูงขึ้น การสะสมฟอสโฟลิปิดในเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้น การใช้ประโยชน์จากไขมันดีขึ้น ทำให้มีพลังงานเหลือสะสมในรูปไกลโคเจนในตับมากขึ้น อีกทั้งยังทำให้กุ้งเข้าหาอาหารได้เร็วขึ้น ซึ่งจะช่วยลดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนะไปกับน้ำด้วย ดังนั้นการเสริม เบทาอีนลงในอาหารจึงมีแนวโน้มทำให้การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำดีกว่าอาหารที่ไม่เสริมเบทาอีน

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการทดลองครั้งนี้อาจจะไม่เห็นผลของเบทาอีนต่อการเจริญเติบโตอย่างเด่นชัดนัก ถ้าผู้ที่สนใจจะศึกษาผลของเบทาอีนที่มีความชัดเจนมากกว่านี้ ควรปฏิบัติดังต่อไปนี้

1. ควรรักษาระดับของคุณภาพน้ำให้อยู่ในเกณฑ์ที่ดี และมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำให้น้อยที่สุดตลอดการทดลอง

2. ควรใช้ระดับความเข้มข้นของ mRNA ในกล้ามเนื้อ เป็นตัวชี้วัดระดับการสังเคราะห์โปรตีน แทน RNA รวม

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

นัยนา บุญทวียุวัฒน์. 2546. **ชีวเคมีทางโภชนาการ**. ซิกม่า ดีไซน์กราฟฟิก, กรุงเทพฯ. 424 น.

มะลิ บุณยรัตผลิน. 2530. **อาหารและการให้อาหารกุ้งกุลาดำ**. ช่อนนทรี, กรุงเทพฯ. 65 น.

วิไล สันติโสภาศรี. 2542. **ชีวเคมี**. ม.ป.ท. 173 น.

อนันต์ชัย เขื่อนธรรม. 2542. **หลักการวางแผนการทดลอง**. ภาควิชาสถิติ, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อมรรัตน์ เสริมวัฒนากุล. 2548. **การผลิตอาหารสัตว์น้ำเพื่อจำหน่าย**. กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 110 น.

Allan, G.L., G.B. Magurire and S.J. Hopkins. 1990. Acute and chronic toxicity of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved oxygen levels. **Aquaculture**. 91: 265-280.

Akiyama, D.M. 1991. **Proceedings of the squaculture feed processing and and nutrition work shop,Thailand and Indonesia,September 19-25.** American Soybean Association, Singapore, 241 p.

Angelidis, A.S. *et al*. 2002. Elevated carnitine accumulation by *Listeria monocytogenes* impaired in glycine betaine transport is insufficient to restore wild-type cryotolerance in milk whey**. International Journal of Food Microbiology**. 75:1-9.

Anonymous. 1996. The finstim briefing. **Finsugar bioproducts**. 64 p.

_____. 2003. Betaine. **Alternative Medicine Review.** 8: 193-196.

_____. 2004. Betaine in human nutrition. **American Journal of Clinical Nutrition**. 80: 539-549.

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

Bages, M. and L. Sloanes. 1981. Effect of dietary protein and starch levels on growth and survival of *Penaeus monodon* (Febricius) postlarvae. **Aquaculture**. 30: 53-61.

Barak, A.J., H.C. Beckenhauer and D.J. Tuma. 1996. Betaine effects on hepatic metabolism elicited by short-term ethanol feeding**. Alcohol**. 13:483-486.

Bligh, E.G. and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and Purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**. 37: 991-917.

Björköy, G. 1991**.** Synthesis and accumulation of glycine betaine in salmon (Salmo salar) and mussel (Modiolus modiolus). **MSc Thesis**, University of Troms., The College of Fisheries, Depertment of Marine Biochemistry. 94 p.

Boyd, C.E. 1982. **Water quality management for pond fish culture**. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, Netherlands. 318 p.

Burg R. V. 1992. Methyl tertiary butyl ether. Toxicology Update. **Journal of Applied Toxicology**. 12:73-74.

Cadongan, D.J., R.G. Campbell, D. Harrison and A.C. Edwards. 1993. The effects of betaine on growth performance and carcass characteristics of female pigs. *In* Batterham, E.S. (ed.), **Manipulating Pig Production IV**. Australasian Pig Science Assocation, Attwood, Victoria, Australia, 219 p.

Carr, W.E.S. 1976. Chemoreception and feeding behavior in the pigfish, *Orthopristis chrysopterus*: characterization and identification of stimulatory substances in a shrimp extract. **Comparative Biochemistry and Physiology**. 55: 153–157.

_____. 1978. Chemoreception in the shrimp, *Palaemonetes pugio*: the role of amino acids and betaine in elicitation of a feeding response by extracts. **Comp.Biochem.Physiol**. 61A:127–131.

Catacutan, M. and A. Kanazawa. 1985. Effect of some water soluble vitamins on the Growth of *Penaeus monodon* juvenile, p.182. *In* Taki**,** J.H. Primavera and J.A. LIobrera, eds. **Proceedings of the First International Conference on the Culture of Penaeid Prawns/shrimps**, October 1985, Iloilo, Philippines.

Chern, M.K., D.A. Gage and R. Pietruszko. 2000. Betaine aldehyde, betaine, and choline levels in rat liver during ethanol metabolism. **Biochemical Pharmacology**. 60:1629-1637.

Coman, G.J., H.Z. Sarac, D. Fielder and M. Thorne. 1996. Evaluation of crytalline amino acid, betaine and AMP as food attractant of the giant tiger prawn (*Penaeus monodon*). **Comparative Biochemistry and Physiology**. 113: 247-253.

Deshimaru O. and Y. Yone. 1978. Requirement of prawn for dietary minerals. **Bulletin of the Japan Society of Science Fish**. 44: 907-910.

Dubois, M.K., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substance. **Analytical Chemistry**. 28: 350-356.

Dy Penaflorida, V. and E. Vertanen. 1996. Effects of finnStim on growth and sea water adaptation of coho salmon. **Aquaculture**. 168: 423-429.

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

Elamparithy, R. 1995. Influence of selected additives on pellet quality and biogrowth parameters of Penaeid shrimp juveniles. **MFSc thesis**, Tanuvas, 75 p.

Fernández, C., A. López-Saez, L. Gallego and J.M. de la Fuente. 2000. Effect of source of betaine on growth performance and carcass traits in lambs. **Animal Feed Science and technology**. 86: 71-82.

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

Frank, D.G. and P. B. Fred. 1997. **Lipid technologies and applications** . Marcel Dekker, Inc.

Garcia-Delgado, M., M.J. Peral, M. Cano, M.L. Calonge and A.A. Ilundain. 2001. Creatine transport in brush-border membrane vesicles isolated from rat kidney cortex. **Journal of the American Society Nephrology**. 12:1819-1825.

Goh Y. and T. Tamura. 1980. Olfactoryand gustatory responses to amino acid in two marine teleosts - red sea breamand mullet. **Comparative Biochemistry and Physiology**. 66: 217-224.

Gregory S.Killy. 1998. L-Carnitine: Therapeutic applications of a conditionally-essential amino acid**. Alternative Medicine Review**. 3: 345-356.

Guillaume, J.C., S. Kaushik, P. Bergot and R. Metailler. 2001. **Nutrition and feeding of fish and crustaceans**. Springer-Verly Chishester, UK.

Halver, J.E. 1972. **Fish Nutrition**. Academic Press, New York. 731 p.

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

Heil, S.G., K.J. Lievers, G.H. Boers, P. Verhoef, M.D. Heijer, F.J. Trijbels and H.J. Blom. 2000. Betaine-homocysteine methyltransferase (BHMT): Genomic sequencing and relevance to hyperhomocyteinemia and vascular disease in humans. **Molecular Genetics and Metabolism**. 71: 511-519.

Hertrampf W. Joachim. 1992. Feeding aquatic animals with phospholipids II**. Fishes.** Lucas Meyer. Publication No. 11. Lucas Meyer.

Hilda C., J. Battaglia and E. Virtanen. 1998. Effects of finnstim on growth and sea water adaptation of *Coho salmom*. **Aquacuture**. 168: 423-429.

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

Jebbar, M., C. Champion, C. Blanco and S. Bonnassie. 1998. Carnitine acts as a compatible solute in *Brevibacterium linens*. **Res. Microbiology**. 149: 211-219.

Kim, S.K., K.H. Choi and Y.C. Kim. 2003. Effect of acute betaine administration on hepatic metabolism of *S*-amino acid in rats and mice. **Biochemical Pharmacology**. 65: 1565-1574.

King M.W. 1998. Available Source: http://www. dentistry.leeds.ac.uk/biochem/thcme aminoacidderivatives.html, September 22, 2005.

Kolkovski, S., A. Arieli and A. Tandler. 1997. Visual and olfactory stimuli are determining factors in the stimulation of microdiet ingestion in Gilthead seabream larvae. **Aquaculture Int**.

Kristensen S.E. and M. Oehmen. 2004. Available Source: http://www.med.unibs.it/~marchsi/carnitine_biosynth.html, September 22, 2005.

Lever, M., P.M. George , W.J. Dellow , R.S. Scott and S.T. Chambers. 2005. Homocysteine, glycine betaine, and *N,N*-dimethylglycine in patients attending a lipid clinic. **Metabolism Clinical and Experimental**. 54: 1-14.

Lee, D.L. 1971. Studies on the protein utilization related to growth in *Penaeus monodon* Fabricius. **Aquaculture**, 1: 1-3.

Lin, X. and J. Odle. 2003. Changes in kinetics of carnitine palmitoyltransferase in liver and skeletal muscle of dogs (*Canis familiaris*) throughout growth and development. **Journal of Nutrition**. 133: 1113-1119.

Mackie, A.M. and A.I. Mitchell. 1982. Further studies on the chemical control of the feeding behaviour in the Dover sole, *Solea solea*. **Comparative Biochemistry and Physiology**. 73(1): 89-93.

_____, _____. 1983. Studies on the chemical nature of feeding stimulants for the juvenile European eel, *Anguilla anguilla* (L.). **Journal of Fish. Biology**. 22: 425-430.

_____, _____. 1985**.** Identification of gustatory feedingstimulants for fish – application in aquaculture. **Nutrition and Feeding in Fish**. 177–189.

Marui, T., R.E. Evans, B.S. Zielinski and T.J. Hara. 1983. Gustatory responses of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) palate to amino acids and derivatives. **Journal of Comparative Physiology**. 153**:** 423–433.

McCue and Hanson. 1990. **Practical handbook of agricultural science.** Boca Raten, Fla. : CRC Press.

Menasveta, P. and S. Piyatiratitivorakul. 1990. Effect of finnstim [R] on growth , food conversion and survival of giant tiger prawn (*Penaeus monodon*). **Proceedings the third Symposium on Living Aquatic Resources**, Chulalongkorn Univ. (in press).

Metillo ,E.B. and D.A. Ritz. 2003. Differential chemosensory feeding behaviour by three co-occurring mysids (Crustacea, Mysidacea) from southeastern Tasmania. **Comparative Biochemistry and Physiology,** part A. 134 : 399-408.

Miller, A.L. 2003. The methionine – homocysteine cycle and its effects on cognitive diseases. **Alternative Medicine Review**. 8: 7–19.

Mulligan, J.D., T.J. Laurie and T.A. Garrow. 1998. An assay for betaine-homocysteine methyltransferase activity based on the microbiological detection of methionine. **Journal of Nutrition and Biochemistry**. 9: 351-354.

Murai, T., A. Sumalangcay and F. Piedad-Pascual. 1983. Supplement of various attractants to a practical feed for juvenile *Penaeus monodon* Fabricius. **Fisheries Research Journal of the Philippines**. 8: 61–67.

Papatryphon, E. and Soares JR., J.H. 2000. The effect of dietary stimulants on growth performance of striped bass, *Morone saxatilis*, fed-a-plant feedstuff-based diet. **Aquaculture.** 185: 329-338

Passano, L.M. 1960. Molting and it's control, pp. 473-534. In T. Waterman (ed.). **The Biology of Crustacea**. Vol. 9 Academic Press, New York.

Pochini, L., F. Oppedisano and C. Indiveri. 2004. Reconstitition into liposomes and functional characterization of the carnitine transporter from renal cell plasma membrane. **Biochimica et Biophysica Acta**. 1661: 78-86.

Rosas, C., G. Cuzon, G. Gaxiola, L. Arena, P. Lemaire, C. Soyez and A.V. Wormhoudt. 2000. Influence of dietary carbohydrate on the metabolism of juneniles *Litopenaeus stylirostris*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. 249:181-198.

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

Rumsey, G.L. 1991. Choline-betaine requirements of rainbow trout. **Aquaculture**. 95: 107-116.

Saunderson, D.L. and J. Mackinlay. 1990. Changes in body-weight, composition and hepatic enzyme activities in response to dietary methionine, betaine and choline levels in growing chicks. **The British journal of nutrition**. 63: 339-349**.**

Shiau S.Y. 1998. Nutrition requirement of penaeid shrimps. **Aquaculture**. 164: 77-93.

Sunde, J., G. L. Taranger and K. Rungruangsak-Torrissen. 2000. Digestive protease activities and free amino acids in white muscle as indicators for feed conversion efficiency and growth rate in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Fish Physiology and Biochemistry**. 25: 335-345.

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

_____ and R. G. Campbell. 1994. Reduction of backfat thickness through betaine supplementation of diets for fattening pigs. **Handb. Tierische Veredlung**. 19:145-150.

_____ and L. Rosi. 1995. Effects of betaine on methionine requirement of broilers under Various environmental condition. Proc. of the Austral. **The Australian Poultry Science Symposium**. 88-92.

Xue, M. and Y. Cui. 2001. Effect of several feeding stimulants on diet preference by juvenile gibel carp (*Carassius auratusgibelio*), fed diets with or without partial replacement of fish meal by meat and bone meal. **Aquaculture**. 198: 281-292.

Watanabe, T. 1988. Extraction of glycogen and hydrolysis. **Fish Nutrition and Mariculture**. 188-189.

Wray-Cahen, D., I. Fernandez-Figares, E. Virtanen, N.C. Steele and T.J. Caperna,. 2004. Betaine improves growth, but does not induce whole body or hepatic palmitate oxidation in swine (*Sus scrofa domestica*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**. 137:131-140.

Zhao, C.R. L. Shang, W. Wang and D.O. Jacobs. 2002. Myocellular creatine and creatine transporter serine phosphorylation after starvation. **Journal of Surgical Research**. 105: 10-16.

ภาคผนวก

การวิเคราะห์อัตราส่วนการสังเคราะห์ RNA ต่อโปรตีนในกล้ามเนื้อ

(Sunde *et al.*, 2001)

อุปกรณ์

1. sonicator
2. centrifuge
3. microcentrifuge tube

สารเคมี

1. TRIzol reagent
2. chloroform
3. isopropanol
4. ethanol
5. sodium acetate (NaAc) 0.1 M ที่ pH 5
6. sodium dodecyl sulfate (SDS) 1%

วิธีการ

50-100 mg frozen white muscle sample (-80^{o} C) (….mg)

in microcentrifuge tube (1.5 ml vol)

↓ immediately add 1 ml TRIzol reagent

homogenize using sonicator (1)

↓

incubate at room temp/ 10 min

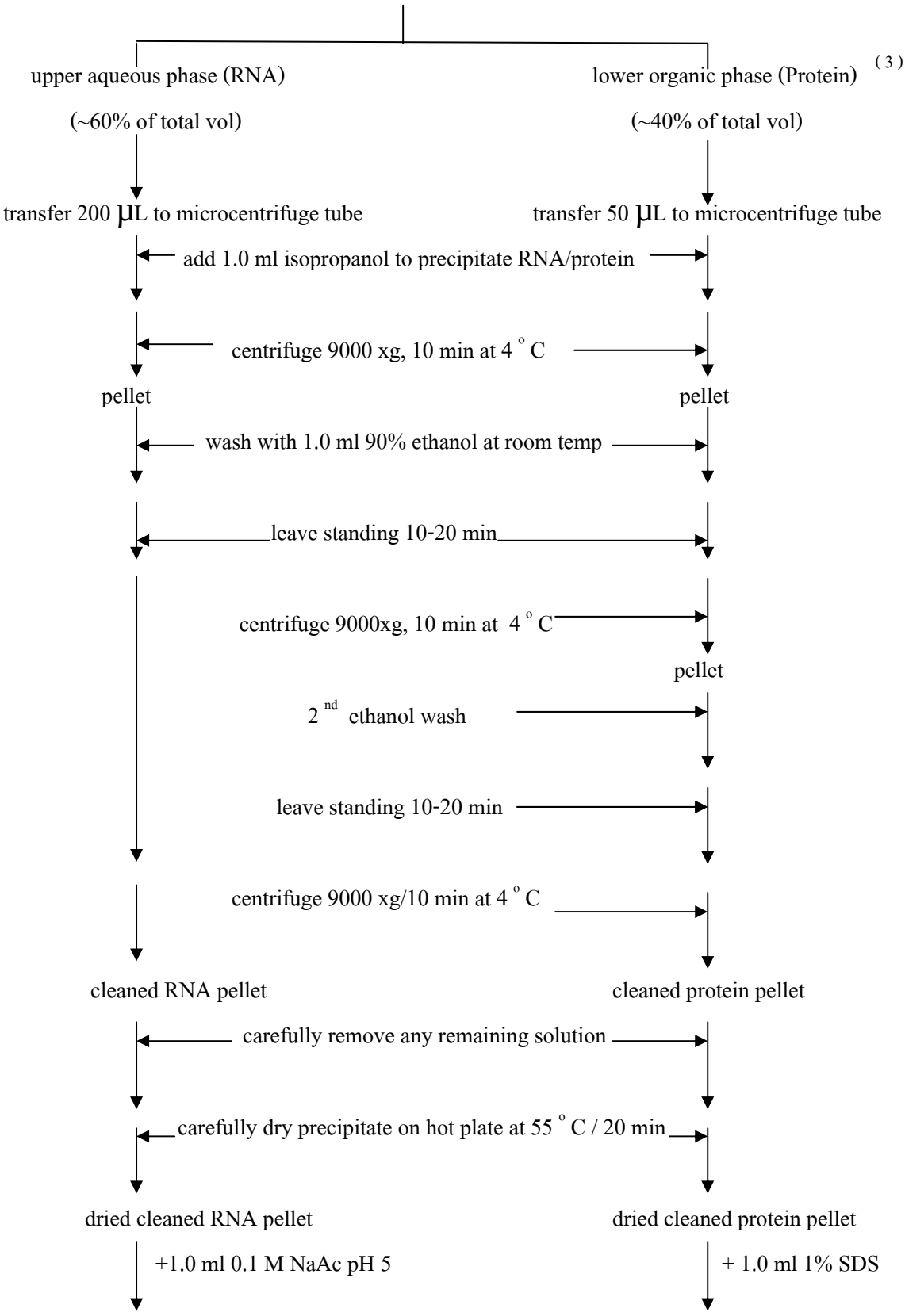
↓ add 0.2 ml chloroform

mix to extract and separate RNA and protein

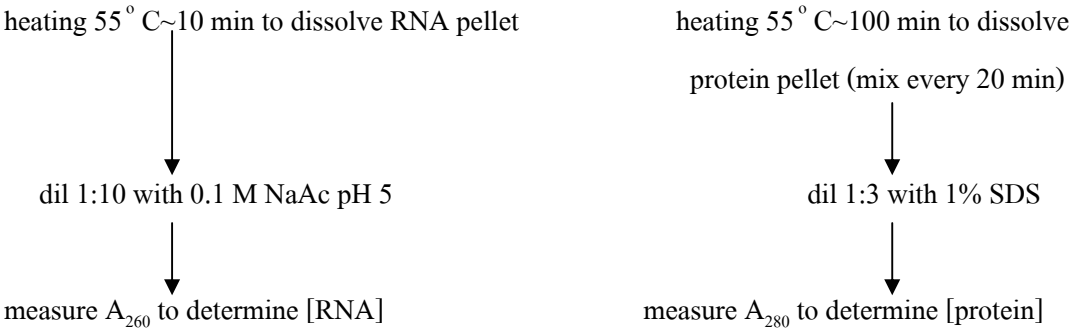
↓

centrifuge 5000xg, 10 min (2)

↓

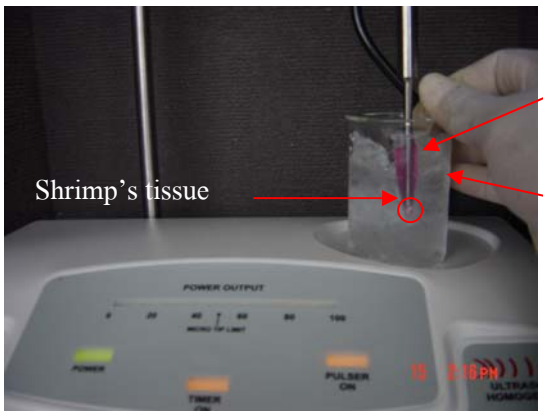

upper aqueous phase (RNA)
(~60% of total vol)
lower organic phase (Protein)
(~40% of total vol)
transfer 200 µL to microcentrifuge tube
transfer 50 µL to microcentrifuge tube
add 1.0 ml isopropanol to precipitate RNA/protein
centrifuge 9000 xg, 10 min at 4 ° C
pellet
pellet
wash with 1.0 ml 90% ethanol at room temp
leave standing 10-20 min
centrifuge 9000xg, 10 min at 4 ° C
pellet
2 nd ethanol wash
leave standing 10-20 min
centrifuge 9000 xg/10 min at 4 ° C
cleaned RNA pellet
cleaned protein pellet
carefully remove any remaining solution
carefully dry precipitate on hot plate at 55 ° C / 20 min
dried cleaned RNA pellet
dried cleaned protein pellet
+1.0 ml 0.1 M NaAc pH 5
+ 1.0 ml 1% SDS

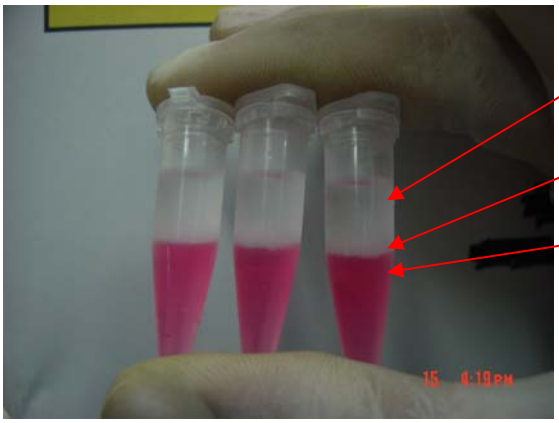
(3)



<u>การคำนวณ</u>

1. Calculate [RNA] using E_{260} = 40 μg RNA ml^{-1}
2. Calculate [protein] using E_{280} = 2.1 mg protein ml^{-1}
3. Calculate the protein synthesis capacity of the white muscle as the ratio of RNA /protein μg mg^{-1}





ภาพผนวกที่ 1 แสดงการสกัดอาร์เอนเอและโปรตีนจากกล้ามเนื้อ

การวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟาติดิลโคลีน

ขั้นตอนที่ 1 การสกัดไขมัน (Bligh and Dryer, 1959)

อุปกรณ์

1. homogenizer
2. filter paper no. 1
3. grass wear : pear flask, tube , beaker
4. rotary evaporation

สารเคมี

1. chloroform
2. methanol
3. KCl 0.88%
4. sodium sulfate anhydrous
5. น้ำกลั่น
6. ก๊าซไนโตรเจน

วิธีการ

น้ำหนักตัวอย่าง 1 ส่วน + อัตราส่วน chloroform : methanol : น้ำ (1:2:0.8)
(น้ำหนักตัวอย่าง 50 g + chloroform 50 ml : methanol 100 ml : น้ำ 4 ml)

↓

homogenize 13500 รอบ/นาที จนละเอียดหรือ 2 นาที (1)

↓

เติม chloroform 10 ml , homogenize 30 นาที

↓

เติม น้ำ 10 ml , homogenize 30 นาที

↓

กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1
(ฉีดล้างกระดาษกรองด้วย chloroform)

↓

นำส่วนที่กรองได้ใส่ในกรวยแยก

↓

เติม 0.88% KCl อัตราส่วน 1 ใน 4 ของปริมาตรส่วนที่กรองได้ (2)

↓

ไขส่วน chloroform ชั้นล่างออก (3)

↓

เติม sodium sulfate anhydrous เล็กน้อยให้สารละลายใส

↓

ใส่ในขวดแก้วรูป pear ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (4)

↓

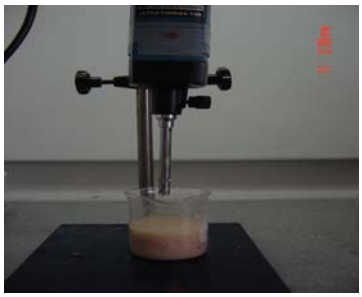
ระเหย chloroform ด้วย rotary evaporation (5)

↓

ชั่งน้ำหนักและหาน้ำหนักของไขมันที่สกัดได้ (6)

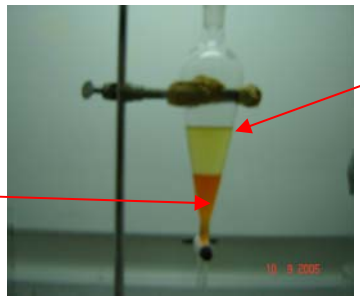
↓

เก็บรักษาโดยฉีดก๊าซไนโตรเจน และเก็บไว้ -20 ^{0}C



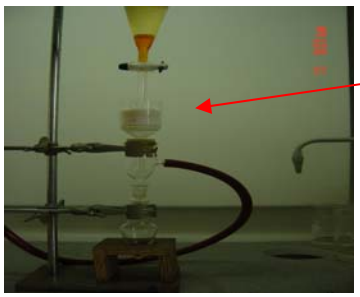
(1)

(4)



(2)

(5)



(3)

(6)

ภาพผนวกที่ 2 แสดงการสกัดไขมัน

ขั้นตอนที่ 2 การแยกไขมัน polar lipid และ non-polar lipid (Watanabe, nd.)

อุปกรณ์

1. syringe : 20 ml
2. sep-pack silica cartridge
3. grass wear : pear flask

สารเคมี

1. chloroform
2. methanol
3. chloroform : methanol mixture : 49:1 (V/V)

วิธีการ

dissolve 30-100 mg of crude lipid in 0.5-1 ml chloroform

↓

inject the sample at the top of the cartridge

↓

connect the syringe containing 20 ml of chloroform to the top of the cartridge and push the chloroform through the cartridge (flow rate 25 ml/min.)

↓

non polar lipid fraction is collected

↓

then a chloroform : methanol mixture is use to elute the remaining monoglycerides in the cartridge

↓

monoglycerides are also added to the non-polar lipid fraction

↓

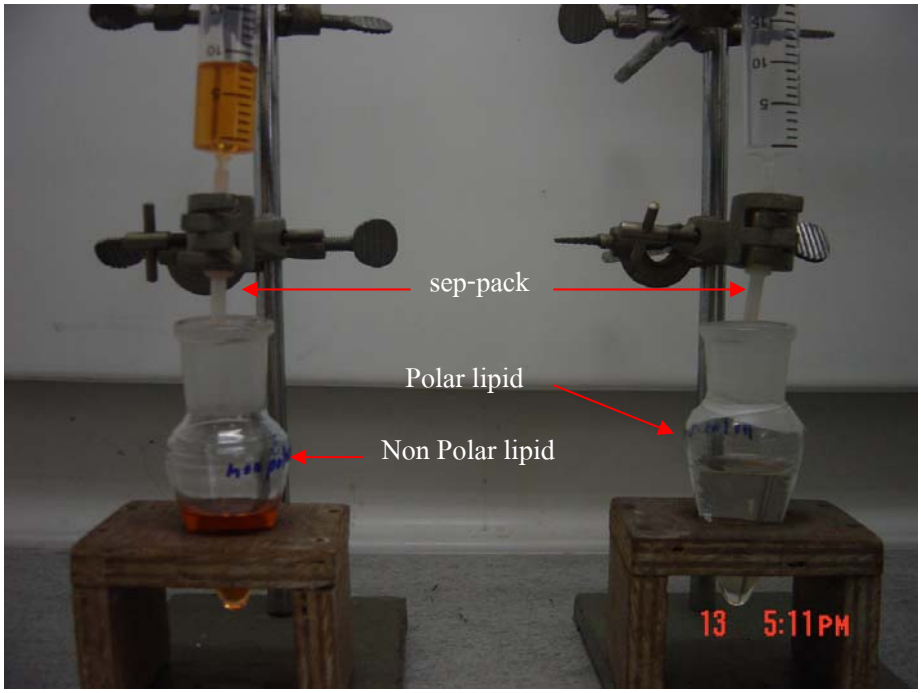
30 ml of methanol are use to elute the polar lipids

↓

polar lipid fraction is collected

↓

non-polar lipid and polar lipid are evaporated



ภาพผนวกที่ 3 การแยกไขมันชนิดมีขั้วและไม่มีขั้ว

ขั้นตอนที่ 3 การแยก phophatidylcholine จาก polar lipid โดยวิธี thin layer chromatography (Schineck, Fried and Sherma, 2003 and Kornena *et al*, 2003)

อุปกรณ์

1. TLC plate (Kieselgel G60) 20x10 cm 0.25 prekote
2. developing tank
3. microcaps 1-5 µl / Auto spotting
4. drying oven : set 110, 140 ^{O}C
5. sprayer
6. micropipette
7. grass wear : tube

สารเคมี

1. chloroform
2. developing solvent
   - chloroform : methanol : water (65:25:4)
   - chloroform : methanol : acetic acid (65:25:8)
3. 10% cupric sulfate solution (dissolving 100 g $CuSO_4$ and 100 ml phosphoric acid in water and making up to 1 L)
4. phosphatidylcholine standard (dissolve in chloroform 0.5, 5, 10, 15, 20,25 mg/ml)

วิธีการ

Dry TLC-plate for 1 hr. in drying oven (110 ^{o}C)

↓

Dissolved polar lipid in chloroform rate 30 -100 mg/ml chloroform (1)

↓

Spot polar lipid and standard phosphatidylcholine on TLC-plate form bottom 1.5 cm.

↓

Put TLC plate in developing solvent tank (2)

1st developing solvent : chloroform : methanol : water (65:25:4)

↓

Dry the TLC plate at room temperature

↓

Develop the plate with second solvent

2nd developing solvent : chloroform : methanol : acetic acid (65:25:8)

↓

Dry the TLC plate at room temperature

↓

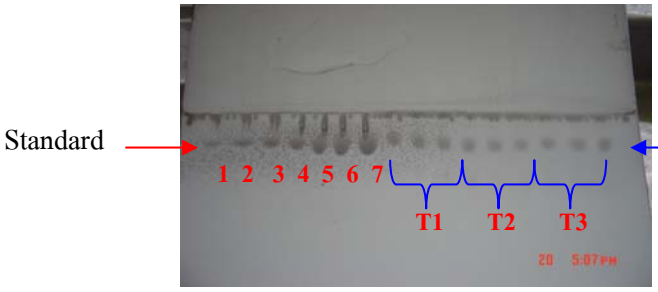
Spray the TLC plate with 10% cupric sulfate solution

↓

Dry in drying oven 140 ^{O}C (3)

(1)

(2)



(3)

ภาพผนวกที่ 4 แสดงการแยกฟอสฟาติดิลโคลีนออกจากไขมันชนิดมีขั้ว

ขั้นตอนที่ 4 การวิเคราะห์หาปริมาณ phosphatidylcholine

อุปกรณ์

1. เครื่อง Densitometer

วิธีการ

phosphatidylcholine ที่แยกตามวิธี TLC

↓

scan ที่เครื่อง densitometer

(ความยาวคลื่น 370 nm, absorption, Hg lamp,)

↓

นำค่าที่ได้มาคำนวณปริมาณ phosphatidylcholine ต่อตัวอย่างน้ำหนักกุ้ง

การวิเคราะห์ไกลโคเจนในเนื้อเยื่อ

(Dubois *et al*.,1965)

อุปกรณ์

1. homogenizer
2. centrifuge
3. micropipette
4. hot air oven
5. spectophotometer

สารเคมี

1. trichloroacetic acid (TCA)
2. ethanol
3. distilled water
4. sulfuric acid
5. phenol

วิธีการ

Tissue (hepatopancreas) (1)

↓ + TCA 5 %

Homogenize for 2 min.at 6000 rpm (2)

↓

Centrifuge for 5 min. at 3000 rpm (do twice) (3)

↓

200-1000 microliter of supernatant (4)

↓ + 1 ml TCA

↓ + 5 ml 95 % ethanol

incubate at 37-40 ºC for 3 h. (4)

↓

centrifuge for 15 min. at 3000 rpm (5)

↓ carefully remove any remaining solution

addition 0.5 ml of boiling water and then 5 ml of conc. Sulfuric acid (6)

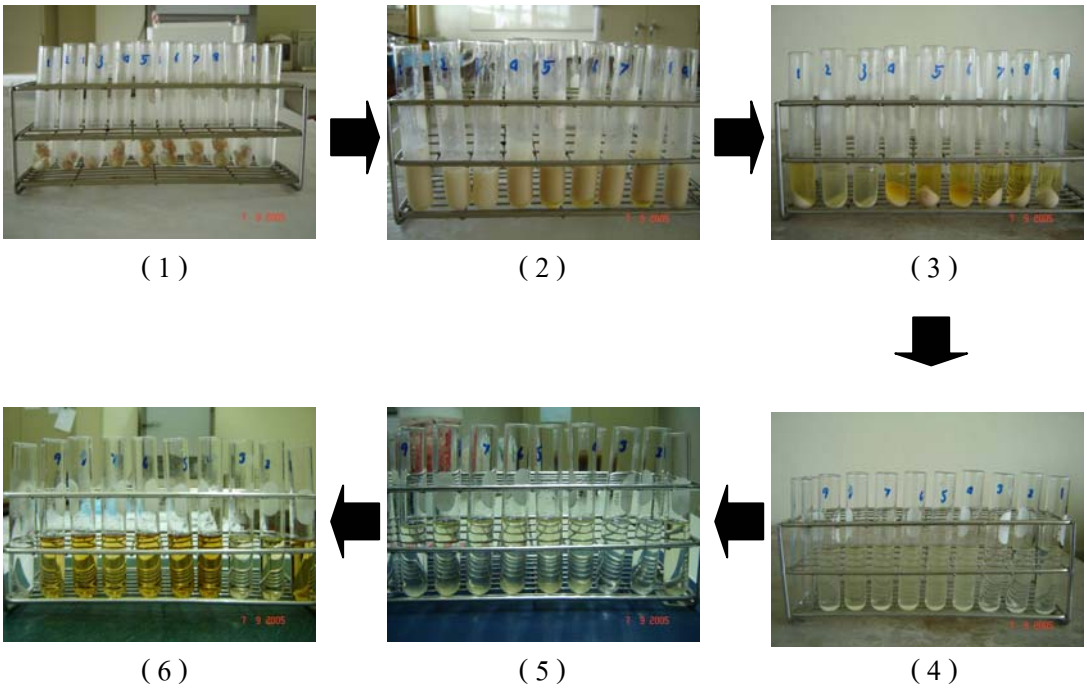
and 5 % phenol were added

↓

read at 490 nm.

การคำนวณ

นำค่าที่อ่านได้จากเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) มาแทนในสมการที่ได้จากการทำ standart curve เพื่อประมาณค่าไกลโคเจนในตัวอย่าง



(1) (2) (3)

(6) (5) (4)

ภาพผนวกที่ 5 แสดงการวิเคราะห์ไกลโคเจนในตับ

การหาปริมาณไคตินในเปลือกกุ้ง

อุปกรณ์

1. beaker
2. hot plate
3. thermometer
4. hot air oven

สารเคมี

1. sodiumhydroxcide
2. hydrochloric acid

วิธีการ

ล้างเปลือกกุ้งให้สะอาด

↓

ต้มด้วย 0.5% NaOH ในอัตราส่วน 1 : 2 (w/v)
ที่ 90 – 95 ºC นาน 30 นาที

↓

ล้างด้วยน้ำให้สะอาด

↓

ต้มด้วย 3% NaOH ในอัตราส่วน 1 : 1 (w/v)
ที่ 90 – 95 ºC นาน 30 นาที

↓

รินน้ำออก ทำซ้ำอีกครั้ง

↓

ล้างด้วยน้ำจนหมดด่าง

↓

แช่ใน 1.25 N HCl ในอัตราส่วน 2 : 3 ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง

↓

ล้างด้วยน้ำจนหมดกรด

↓

อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60ºC นาน 3 ชั่วโมง

การหาปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในเลือด

(GPO-PAP method)

อุปกรณ์

1. eppendrof
2. micropipette

สารเคมี

1. test kit (triglyceride reagent)

วิธีการ

10 µl of blood sample + 1 ml reagent

↓

incubate 10 min. at 20-25 ºC or 5 min. at 37 ºC

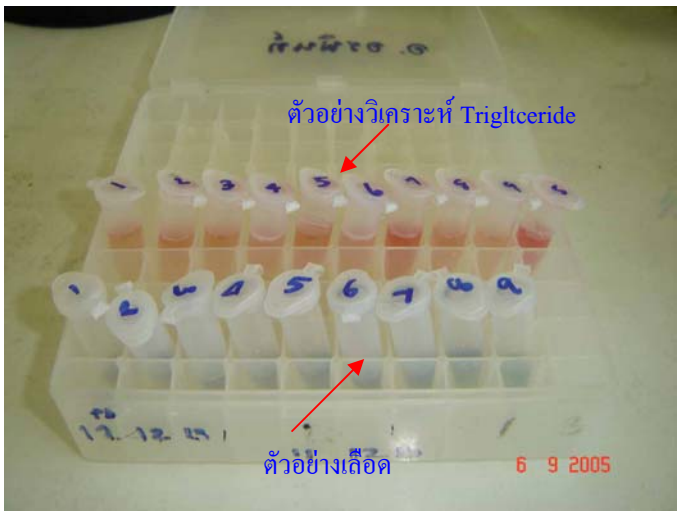
↓

read at 500 nm.

การคำนวณ

$$C = 200 \times \frac{\Delta A \text{ sample (mg/dl)}}{\Delta A \text{ STD}} \quad \text{or} \quad C = 200 \times \frac{\Delta A \text{ sample (mmol/l)}}{\Delta A \text{ STD}}$$

หมายเหตุ ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกว่า 1000 mg/dl หรือ 11.4 mmol/l ให้ทำการเจือจางด้วยน้ำเกลือ 0.9% ในอัตราส่วน 1: 4 (v/v) แล้วจึงทำการซ้ำใหม่อีกครั้ง ค่าที่คำนวณได้คูณด้วย 5



<u>ภาพผนวกที่</u> 6 แสดงการวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ในเลือด

ตารางผนวกที่ 1 คุณภาพน้ำระหว่างการทดลอง

พารามิเตอร์	หน่วย	เดือนที่ 1		เดือนที่ 2		เดือนที่ 3	
		สัปดาห์2	สัปดาห์4	สัปดาห์2	สัปดาห์4	สัปดาห์2	สัปดาห์4
NH_3	mg NH_3-N/l	0.066	0.120	0.085	0.286	0.069	0.059
NO_2^-	mg NO^-_2-N/l	0.312	0.657	0.658	0.785	0.634	0.645
NO_3^-	mg NO^-_3-N/l	0.270	0.159	0.123	0.031	0.133	0.199
DO	mg/l	3.9	4	3.9	3.2	3.8	3.8
pH		7.03	7.29	7.22	6.8	7.31	7.28
Alk	mg/l as $CaCO_3$	140	146	139	112	138	140
Sal	ppt	20	20	20	20	20	20
Ortho PO^-_4	mg/l	0.137	0.135	0.128	0.152	0.137	0.139
Total PO^-_4	mg/l	0.141	0.149	0.135	0.167	0.139	0.0154
BOD	mg/l	7.85	12.53	10.06	17.86	10.25	10.28

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายเกษฎา มณีรอด
วัน เดือน ปี ที่เกิด	26 มีนาคม พ.ศ.2525
สถานที่เกิด	ชัยนาท
ประวัติการศึกษา	วท.บ.(ประมง) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (2546)