

ผลของเบทาอีนต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์โภชนาการใน
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) ทั้งนี้เกิดมาจากปัญหาการตกค้างของยาในกุ้งและการเลี้ยงที่มีอัตราการรอดต่ำได้ผลผลิตน้อย

สถานการณ์เลี้ยงกุ้งกุลาดำภายในประเทศในปัจจุบันมักประสบกับปัญหาการเลี้ยงกุ้งแล้วไม่โต หรือโตช้า ซึ่งสาเหตุหนึ่งมาจากปัญหาการใช้ประโยชน์ทางโภชนาการที่ไม่มีประสิทธิภาพของกุ้งกุลาดำเอง ซึ่งถือได้ว่าเป็นปัญหาสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการส่งออกกุ้งกุลาดำของประเทศ เนื่องจากการเลี้ยงนั้นจะได้ผลผลิตที่ต่ำมาก ดังนั้นถ้าหากสามารถแก้ปัญหาดังกล่าวได้ก็จะเป็นอีกหนึ่งหนทางที่จะช่วยแก้ไขปัญหาการส่งออกกุ้งกุลาดำของประเทศไทย

ปัญหาการใช้ประโยชน์ทางโภชนาการที่ไม่มีประสิทธิภาพของกุ้งกุลาดำ นั้นอาจเกิดมาจากการได้รับอาหารที่มีสมดุลโภชนาการไม่เหมาะสมหรือการได้รับโภชนาการมากเกินไปจนร่างกายของสัตว์ไม่สามารถปรับสมดุลของการใช้ประโยชน์โภชนาการได้ เช่น สภาพที่ร่างกายขาดกลูโคส หรือมีกลูโคสไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกายทำให้ต้องสลายโปรตีนที่ได้รับจากอาหาร หรือโปรตีนของร่างกายมาใช้เป็นแหล่งพลังงานแทน ซึ่งทำให้โปรตีนที่ใช้ในการสร้างโปรตีนของร่างกายลดลง หรืออาจเกิดจากการสะสมของไขมันในร่างกายมากเกินไป ที่เป็นสาเหตุ

ของการเกิดโรค เช่น โรคตับบวม บวมน้ำ ปัญหาที่กล่าวมานั้นเป็นสาเหตุที่ทำให้กึ่งมีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องปรับสมดุลหรือเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารให้ดีขึ้นเพื่อป้องกันปัญหาดังกล่าว ซึ่งเบทาอินเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้ในการปรับสมดุลหรือเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารนี้

เบทาอินเป็นสารประกอบของไกลซีนที่มีหมู่เมทิลเกาะอยู่ที่โมเลกุล 3 หมู่ โมเลกุลมีขนาดเล็ก น้ำหนักโมเลกุลน้อย ทนความร้อน ละลายน้ำได้ดี และมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ดังนั้นเบทาอินจึงใช้เป็นสารกระตุ้นการเข้าหา และกินอาหารได้เป็นอย่างดี อีกทั้งยังมีคุณสมบัติเป็นตัวให้หมู่เมทิล (methyl group) ซึ่งมีความสำคัญต่อขบวนการสังเคราะห์โปรตีน (protein synthesis) การสังเคราะห์คาร์นิทีน (carnitine) ครีเอทีน (creatine) และ ฟอสฟาติดีลโคลีน (phosphatidylcholine) ของร่างกาย ดังนั้นการเติมเบทาอินลงในสูตรอาหารโดยภาพรวมจะทำให้การเจริญเติบโต และการใช้ประโยชน์สารกลุ่มที่ให้พลังงานได้ดีขึ้น ซึ่งส่งผลให้ระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงลดลง อีกทั้งยังมีผลทำให้ลักษณะเนื้อของกึ่งมีคุณภาพที่ดีขึ้นอีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของเบทาอินต่อการเติบโตของกึ่งกลาดำ
2. เพื่อศึกษาผลของเบทาอินต่ออัตราการสังเคราะห์ โปรตีนของกึ่งกลาดำ
3. เพื่อศึกษาผลของเบทาอินต่อระดับไกลโคเจน ไตรกลีเซอไรด์ และฟอสโฟลิพิดของกึ่งกลาดำ
4. เพื่อศึกษาผลของเบทาอินต่อการลอกคราบและระดับของไคตินของเปลือกกึ่งกลาดำ

การตรวจเอกสาร

1. กุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งทะเลชนิดหนึ่งที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในเอเชีย มีเปลือกหุ้มเกลี้ยงไม่มีขน ฟันกรีด้านบน 7-8 ซี่ ด้านล่าง 3 ซี่ ช่องข้างกรีดทั้งสองด้านแคบและยาวไม่ถึงฟันกรีดสุดท้าย ลำตัวเป็นข้อปล้องมีทั้งหมดประมาณ 19 ปล้อง แต่ละปล้องมีระยะขาคู่ 1 คู่ ระยะขาคู่แต่ละคู่มิหน้าที่แตกต่างกันไป กุ้งชนิดนี้มีสีน้ำตาลเข้ม และมีสีจางพาดขวางตัว ลำตัวแบ่งออกเป็นสามส่วนใหญ่ คือ ส่วนหัว ส่วนอก และส่วนลำตัว ส่วนหัวมีปล้องอยู่ด้วยกัน 5 ปล้อง ส่วนอกมี 8 ปล้อง และส่วนของลำตัวมี 6 ปล้อง ถิ่นอาศัยของกุ้งกุลาดำได้แก่ น้ำจืดน้ำเค็มทางใต้ของประเทศฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย มาเลเซีย และพบมากในประเทศไทย 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 โดยใช้เซลล์รับรู้สีกทางกลิ่นจากหนวดและรยางค์มากกว่าการมองเห็น เมื่อพบอาหารจะใช้ขาเดิน 3 คู่แรก คู่ใดคู่หนึ่งหรือร่วมกันจับอาหารแล้วถือแพะ 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 ความต้องการสารอาหาร

1.1.1 ความต้องการ โปรตีนและกรดอะมิโน

กุ้งขนาดเล็กตั้งแต่ระยะโพสท์ลาเวีย (post larvae) จะมีความต้องการ โปรตีนสูง อาหารกุ้งในระยะนี้จึงควรมีโปรตีนสูงกว่า 45 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักอาหาร ส่วนกุ้งรุ่นและกุ้งขนาดใหญ่ จะมีความต้องการโปรตีนที่ต่ำลง คือ ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักอาหาร โปรตีนในอาหารกุ้งจะต้องมีกรดอะมิโนที่จำเป็นครบทั้ง 10 ชนิด คือ อาร์จินิน ฮีสติดีน ไอโซลิวซีน ลิวซีน ไลซีน เมไทโอนีน ฟีนอลอะลานีน ทรีโอนีน ทริปโตเฟน และวาเลีน

โปรตีนในอาหารกุ้งจะได้มาจาก 2 แหล่ง คือ จากปลาป่น และกากถั่วเหลือง ซึ่งจำเป็นต้องใช้โปรตีนจากทั้งสองแหล่งรวมกัน เพื่อเป็นการลดต้นทุนจากค่าปลาป่น และเป็นการป้องกันการขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นบางตัว ในกรณีที่กุ้งได้รับโปรตีนไม่เพียงพอจะทำให้กุ้งโตช้า และน้ำหนักตัวลดลง แต่ถ้ารับโปรตีนมากเกินไปความต้องการจะสามารถเปลี่ยนเป็นพลังงานและไขมันได้

1.1.2 ความต้องการไขมัน

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

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

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

1.1.3 ความต้องการคาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตถือได้ว่าเป็นแหล่งพลังงาน ซึ่งถ้ากุ้งได้รับไม่เพียงพอจะดึงโภชนะตัวอื่น เช่น โปรตีนมาเป็นแหล่งพลังงาน ทำให้เหลือโปรตีนสำหรับการเจริญเติบโตน้อยลง แต่ถ้ากุ้งได้รับมากเกินไปจะทำให้สัดส่วนของคาร์โบไฮเดรตต่อโปรตีนมีปริมาณโปรตีนลดลง ซึ่งจะทำให้กุ้งโตช้า

1.1.4 ความต้องการวิตามิน

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

ตารางที่ 1 ความต้องการ โปรตีนในอาหารของกุ้งทะเลที่ขนาดต่างๆ

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
ฮิสติดีน	2.1	0.76	0.80	0.84	0.95
ไอโซลิวซีน	3.5	1.26	1.33	1.40	1.58
ซีน	5.4	1.94	2.05	2.16	2.43
ลิวซีน	5.3	1.91	2.01	2.12	2.39
ไลซีน	2.4	0.86	0.91	0.96	1.08
เมไทโอนีน	4.0	1.44	1.52	1.60	1.80
ไอซีน	3.6	1.30	1.37	1.44	1.62
ฟีนิลอะลานีน	0.8	0.29	0.30	0.32	0.36
กลูตามีน	4.0	1.44	1.52	1.60	1.80
ทรีโอนีน					
ทริปโตแฟน					
วาเลอีน					

ที่มา : Akiyama (1991)

ตารางที่ 3 ระดับกรดไขมันที่เหมาะสมในอาหารกุ้งทะเล

กรดไขมัน	ระดับความต้องการ (%)
ไลโนลีนิก Linolenic Acid (18:3n3)	0.3
ไลโนลีนิก Linoleic Acid (18:2n6)	0.4
อีโคซาเพนตาอีนิก Eicosapentaenoic Acid (20:5n3)	0.4
ดีโคซาเฮกซาอีนิก 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
ไทอะมีน (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
กรดแพนโทเทนิค (Pantothenic acid)	75
ไนอะซิน (Niacin)	200
ไบโอติน (Biotin)	-
กรดโฟลิก (Folic acid)	10
โคลีน (Choline)	400
ไม โออินอซิทอล (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 (มากกว่าหรือเท่ากับ 3 ชั่วโมง) และต้องไม่มีกลิ่นเหม็นหืนหรือขึ้นรา

ตารางที่ 6 คุณลักษณะทางเคมีของอาหารกุ้งทะเล

รายการ ที่	คุณลักษณะ	อาหารกุ้งทะเล			
		ชนิดผงสำหรับกุ้ง ระยะ 1 และชนิด ผงสำหรับกุ้งวัย อ่อนระยะ 2	ชนิดเม็ด สำหรับ กุ้งเล็ก	ชนิดเม็ด สำหรับ กุ้งกลาง	ชนิดเม็ด สำหรับ กุ้งใหญ่
1	เปอร์เซ็นต์โปรตีนไม่น้อยกว่า	38	38	36	35
2	เปอร์เซ็นต์ไขมันไม่น้อยกว่า	5	5	4	3
3	เปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสไม่น้อย กว่า	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)

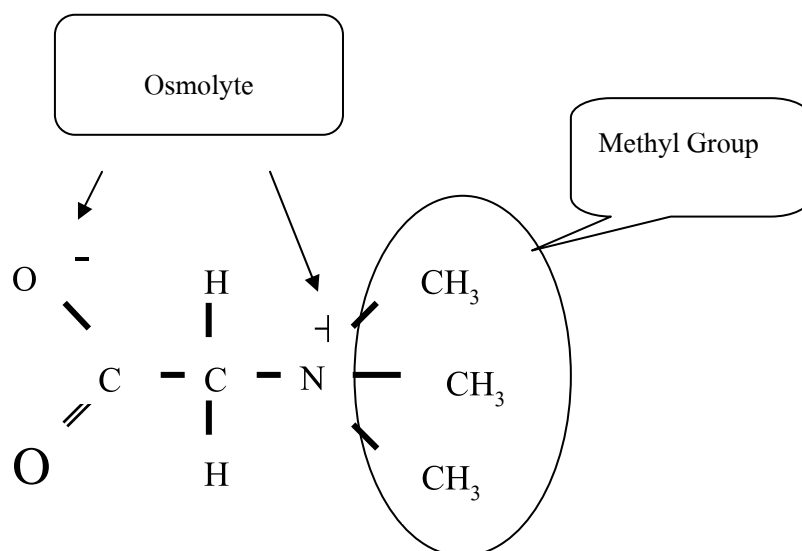
2. เบทาอิน

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

บทบาททางด้านสรีระวิทยาของเบทาอินนั้นมีอยู่ด้วยกัน 2 ประการ คือ หน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการการไหลของของเหลว (osmolyte) และ เป็นตัวให้หมู่เมทิล (transmethylation) หน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการการไหลของของเหลวนั้น เบทาอินจะทำหน้าที่ปกป้องเซลล์ โปรตีน และ เอนไซม์ จากความเครียดที่เกิดจากปัจจัยของสิ่งแวดล้อม เช่น ความเค็ม หรือ อุณหภูมิสูง ส่วนหน้าที่ในการเป็นตัวให้หมู่เมทิลนั้นเบทาอินจะเข้าไปมีส่วนร่วมในวัฏจักรของเมไทโอนีน (methionine) ในกรณีของมนุษย์จะเริ่มขึ้นในส่วนของตับและไต การได้รับอาหารที่มีหมู่เมทิลไม่เพียงพอจะทำให้เกิดสถานะที่เรียกว่าไฮโปเมทิลเลชัน (hypomethylation) ในหลายๆ กระบวนการ (pathway) สำคัญ เช่น 1) วัฏจักรเมทาโบลิซึมของโปรตีนในตับ (methionine) ซึ่งเป็นสาเหตุจากการเพิ่มระดับความเข้มข้นของโฮโมซิสเตอีน (homocysteine) ในพลาสมา (plasma) ทำให้สามารถเปลี่ยนไปเป็นเมทาไทโอนีนได้น้อยลง และ การลดระดับความเข้มข้นลงของ เอส-อะดีโนซิลเมไทโอนีน (s-adenosylmethioine) 2) วัฏจักรเมทาโบลิซึมของไขมันในตับ ซึ่งจะทำให้เกิดการสะสมของไขมัน หรือที่เรียกว่าสตีโตซิส (steatosis) การเปลี่ยนแปลงของเมทาโบลิซึมในตับนี้อาจนำไปสู่การเกิดโรคอีกมากมาย เช่น โรคเกี่ยวกับเส้นเลือดหัวใจ (coronary diseases) โรคที่เกี่ยวข้องกับสมอง (cerebral diseases) โรคที่เกี่ยวกับตับ (hepatic diseases) และ โรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินโลหิตในร่างกาย (vascular diseases) ซึ่งเบทาอินแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการปกป้องอวัยวะภายใน ลดปัจจัยเสี่ยงเกี่ยวกับโรกระบบทางเดินโลหิตในร่างกายทำให้มีผลที่ดีขึ้น

เบทาอิน มีเมทาโบลิซึม หลักอยู่ด้วยกัน 2 ประการ คือ หน้าที่เกี่ยวกับป้องกันกระบวนการการไหลของของเหลว (osmoprotectant) กับการเป็นตัวให้หมู่เมทิล (methyl donor) ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ดังนั้นจึงได้มีการเติมเบทาอิน เพื่อเป็นสารดึงดูดความสนใจ (attractant) สำหรับสัตว์

น้ำหลายชนิด ซึ่งจะมีประโยชน์อย่างมากในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์น้ำในการทำให้สัตว์น้ำมีลักษณะที่ดีขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งภายใต้สภาวะที่ไม่เหมาะสม



ภาพที่ 1 โมเลกุลของเบทาอีน

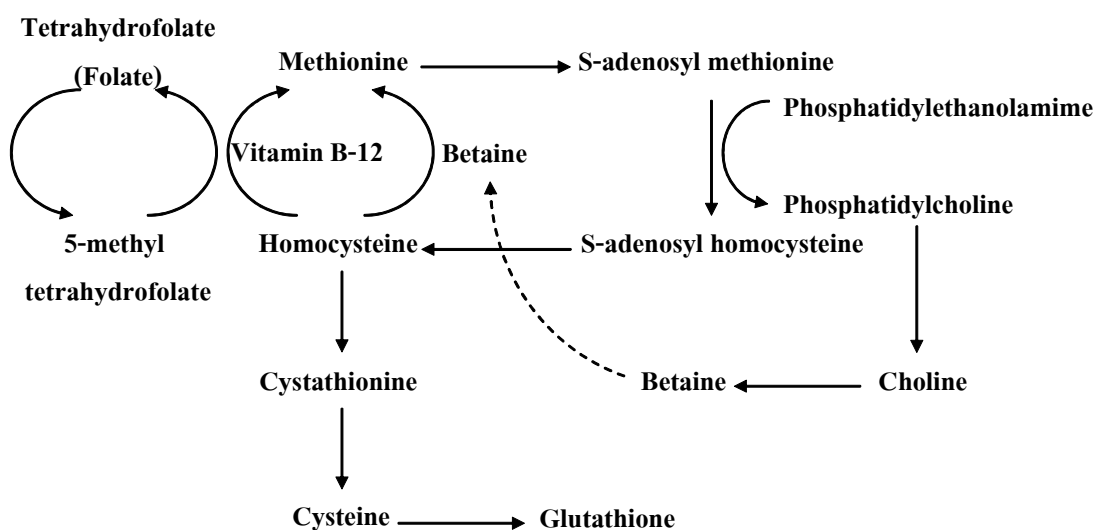
เบทาอีน นั้นเป็นสารที่ไม่มีพิษ (เป็นองค์ประกอบของกายภาพทางธรรมชาติ) จึงมักใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารและใช้เป็นยา โดยจะมีความทนทานต่อความร้อนที่มากกว่า 200 องศาเซลเซียส ได้ ดังนั้นจึงยังคงสภาพอยู่ได้ในขณะดำเนินการผลิตอาหาร (food processing)

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

2.1 ชีวเคมีของเบทาอีน

เบทาอีนถูกสร้างขึ้นในร่างกายโดยกระบวนการออกซิเดชันของโคลีน (oxidation of choline) ไตรเมทิลเลท (trimethylated) และสารประกอบที่ให้หมู่เมทิล กระบวนการสังเคราะห์มีอยู่ด้วยกัน 2 ขั้นตอน คือ 1.) เปลี่ยนจากโคลีนมาเป็นเบทาอีนแอลดีไฮด์ (betaine aldehyde) โดยเบทาอีนแอลดีไฮด์ นี้จะเป็นอินเตอร์มีเดียท (intermediate) ของปฏิกิริยา 2.) เปลี่ยนจากเบทาอีนแอลดีไฮด์ เป็นไกลซีนเบทาอีน (glycine betaine) ซึ่งจะมีเอนไซม์มาเกี่ยวข้อง โดยจะเป็นชนิดใดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด

เบทาอีนจะให้หมู่เมทิลอย่างจำกัดเพียงหนึ่งปฏิกิริยาชีวเคมีเท่านั้นของการเปลี่ยนโฮโมซิสทีน (homocystein) ไปเป็นเมไธโอนีน (methionine) หลังจากที่มีการให้หมู่เมทิลแล้ว เบทาอีนจะเปลี่ยนไปเป็นไดเมทิลไกลซีน (dimethylglycine: DMG) ในวัฏจักรเมไธโอนีนโฮโมซิสทีน (methionine-homocysteine recycling) ซัลเฟอร์ที่อยู่ในโครงสร้างโมเลกุลของเมไธโอนีนจะถูกเปลี่ยนเป็นเอส-อะดีโนซิลเมไธโอนีน (s-adenosylmethionine: SAMe) การให้หมู่เมทิลครั้งแรกสำหรับปฏิกิริยาทางชีวเคมีจะเกิดขึ้นที่ตับและถูกส่งมาที่เนื้อเยื่อ การสูญเสียหมู่เมทิลทำให้เอส-อะดีโนซิลเมไธโอนีน ถูกเปลี่ยนไปเป็นเอส-อะดีโนซิลโฮโมซิสทีน ต่อมาเอส-อะดีโนซิลโฮโมซิสทีนจะสูญเสียอะดีโนซีน (adenosine) แล้วจะถูกเปลี่ยนเป็นโฮโมซิสทีน หลังจากนั้นจะถูกเมตาบอลิซ์ไปเป็นกรดอะมิโนซิสเทอีน (cysteine) และทอรีน (taurine) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการย้ายหมู่ซัลเฟอร์ (transsulfuration) หรือเปลี่ยนกลับมาเป็นเมไธโอนีนจากการรับหมู่เมทิลในปฏิกิริยาเมทิลเลชัน การเพิ่มหมู่เมทิลในโฮโมซิสทีนมีอยู่ด้วยกันสองทาง คือ การให้หมู่เมทิลของเมทิลโคบาลามีน (methylcobalamin) หรือโคบาลามีน (วิตามิน B12) ซึ่งเป็นโคเอนไซม์ (coenzyme)



ภาพที่ 2 วัฏจักรของโฮโมซิสทีนที่มีเบทาอินและโคลิซินเกี่ยวข้อง

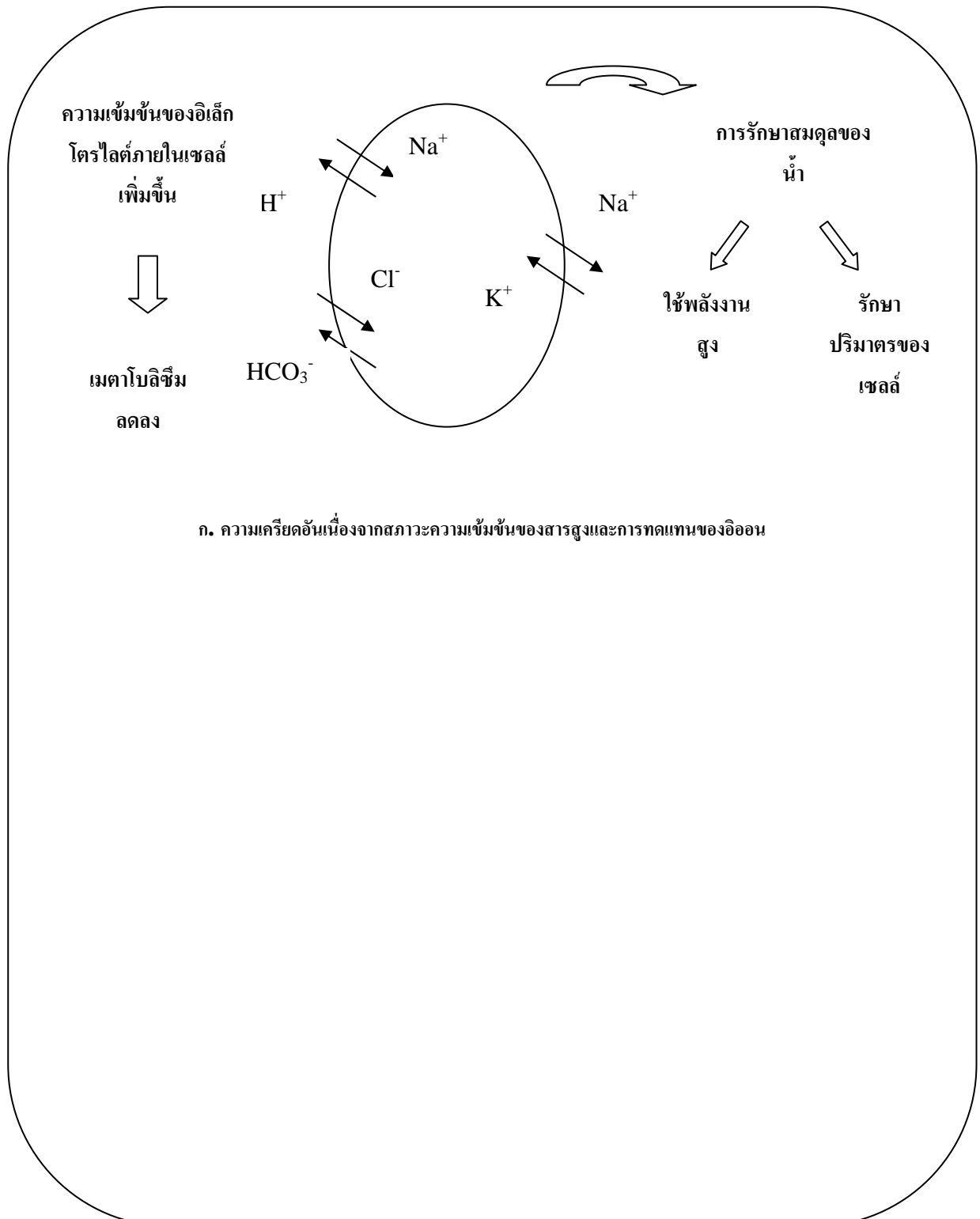
ในปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่สังเคราะห์เมไทโอนีนหรืออีกทางหนึ่งคือการให้หมู่เมทิลของเบทาอินแก่โฮโมซิสทีนโดยเอนไซม์เบทาอิน-โฮโมซิสทีน เมทิลทรานส์เฟอเรส (betaine-homocysteine methyltransferase: BHMT) (Miller, 2003)

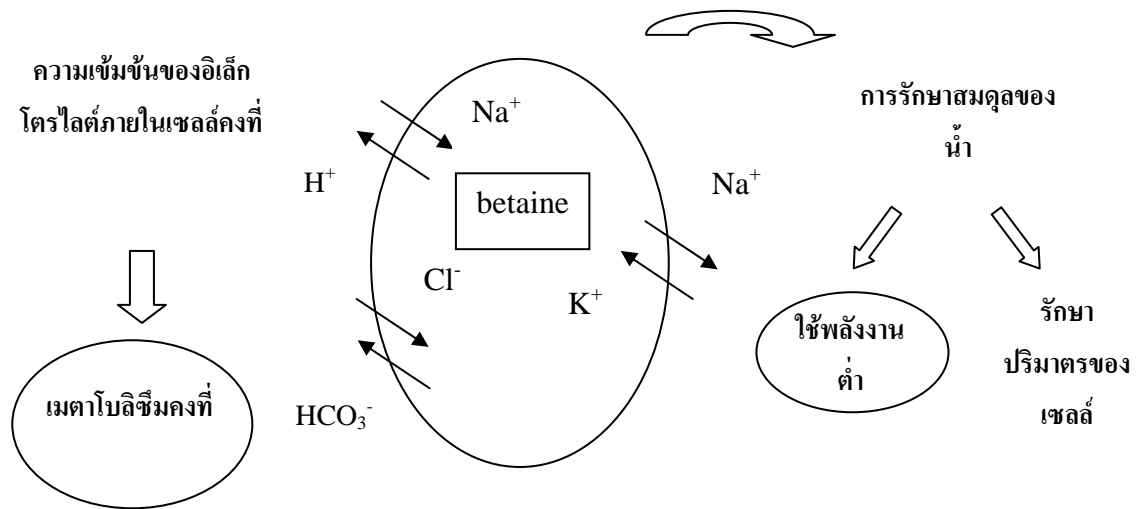
2.2 คุณสมบัติของเบทาอิน

2.2.1 คุณสมบัติช่วยรักษาสมดุลในร่างกาย

จุลินทรีย์และสัตว์นั้นจะมีความสามารถในการป้องกันเซลล์จาก osmotic inactivation จึงเป็นเหตุผลสำคัญที่ว่าทำไมเบทาอินจึงพบเป็นปริมาณมากในพืชบางชนิด ซึ่งในพืชไม่มี organism เหล่านี้ เมื่ออยู่ในสภาวะแห้งแล้งหรือสภาวะที่มีความเค็มสูงๆ จะมีการสังเคราะห์เบทาอินขึ้นในส่วนของ mitochondria ส่งผลให้เกิดการสะสมของเบทาอินขึ้นภายในเซลล์ โดยเบทาอินจะเป็นตัวที่ดึงน้ำเข้าสู่เซลล์ และขับเกลืออนินทรีย์ (inorganic salt) ออก และเป็นตัวช่วยป้องกันเอนไซม์ (intracellular enzyme) จากความเค็ม (osmotically) หรือ อุณหภูมิ (temperature) ทำให้เอนไซม์ยังอยู่ในสภาวะที่สามารถทำงานได้ (activation) (McCue and Hanson, 1990; Yancey *et. al.* 1982) ได้มีการทดลองในส่วนของไตสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเพื่อแสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติดังกล่าวของเบทาอินที่กล่าวมาข้างต้น แต่อย่างไรก็ตาม การสะสมของเบทาอินในไตนี้ โดยหลักๆ แล้ว จะได้รับมาจากแหล่งภายนอก (exogenous origin) มากกว่าการสังเคราะห์ขึ้นเองภายในไต (de novo synthesis) (Sung and Johnson, 1969; Burg, 1992) ในขณะที่บางอวัยวะสามารถเพิ่มอัตราการสังเคราะห์เบทาอินในระหว่างที่เกิดความเครียดอันเนื่องจากการเพิ่มระดับความเข้มข้นของสาร (osmotic stress) ได้ แต่อาจจะต้องได้รับเบทาอินที่มาจากแหล่งภายนอก (exogenous source) บางส่วนในการป้องกันเซลล์จากการเพิ่มความเข้มข้นของสาร ตัวอย่างเช่น ไมโทคอนเดรียในตับของปลาแซลมอน (salmon) จะได้รับผลกระทบจากความเครียดอันเนื่องจากการเพิ่มความเข้มข้นของสารทำให้การสังเคราะห์เบทาอินลดลง ส่งผลให้ไมโทคอนเดรียมีการหายใจน้อยลง แต่เมื่อเติมเบทาอินในอาหารที่ใช้ในการบ่ม (incubation medium) เห็นได้ชัดว่ามีผลทำให้เกิดการสะสมของเบทาอินในเนื้อเยื่อของปลาที่ได้รับผลกระทบจากความเครียดจากการเพิ่มความเข้มข้นของสารซึ่งเบทาอินจะ

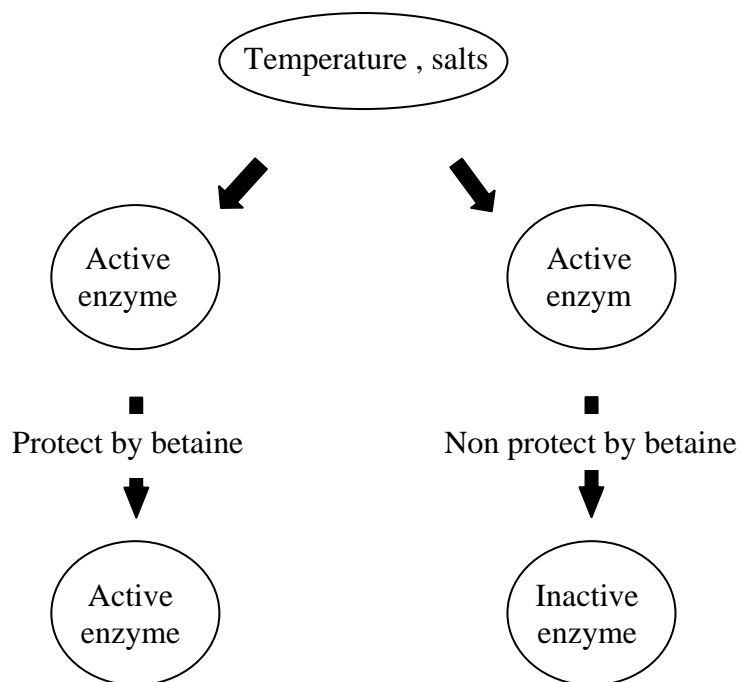
เป็นตัวช่วยในการรักษาสมดุลของไอออน และแรงดันออสโมติก และการทำงานของเมตาโบลิซึมของร่างกายดีขึ้น (Björköy, 1991)





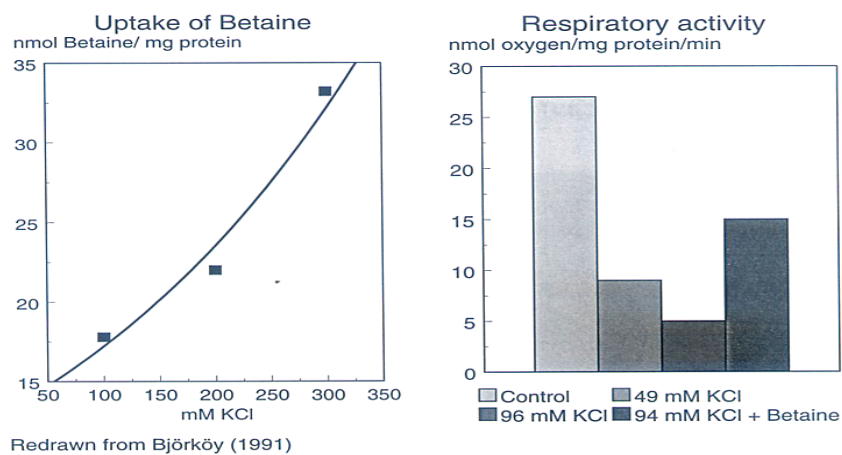
ข. ความเครียดอื่นเนื่องจากสภาวะความเข้มข้นของสารสูงกับการทดแทนของไอออน

ภาพที่ 3 หน้าที่ของเบทาอีนเกี่ยวกับกระบวนการการไหลของของเหลวภายใต้สภาวะความเข้มข้นของสารสูง



ภาพที่ 4 ป้องกันเอนไซม์ของเบทาลีนจากความเค็ม หรือ อุณหภูมิ

การสะสมของเบทาลีนในเนื้อเยื่อของปลาที่อยู่ในสภาวะที่เกิดความเครียดอันเนื่องจากการเพิ่มความเข้มข้นของสาร สามารถเป็นการช่วยให้เซลล์รักษาออสโมติก, ความสมดุลของความเข้มข้นสาร (osmotic balance) และ กิจกรรมเกี่ยวกับเมตาบอลิซึมของร่างกาย (metabolic activity) ไว้ได้



ภาพที่ 5 การเพิ่มสูงขึ้นของเบทาลีนในไมโทคอนเดรียในปลาแซลมอน

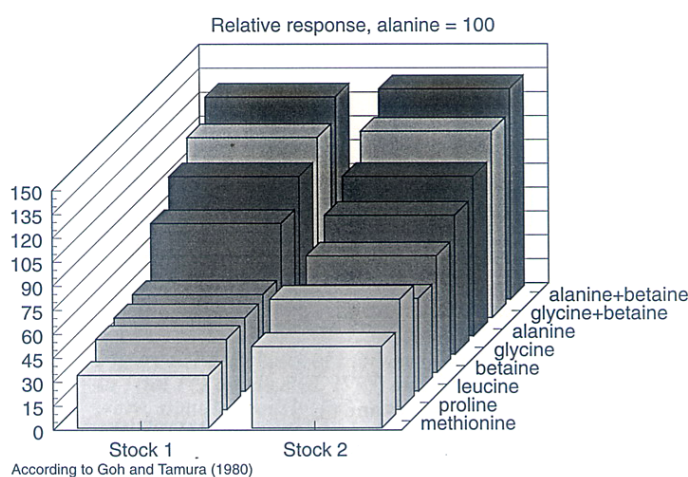
ที่มา : Björköy (1991)

2.2.2 คุณสมบัติช่วยดึงดูดการกิน

ในสัตว์น้ำที่ไม่มีกระดูกสันหลังหลายชนิดนั้นมีเบทาลีนอยู่ในระดับสูง ดังนั้นจึงไม่น่าแปลกใจที่ปลาหลายชนิดนั้นมีความไวต่อเบทาลีนซึ่งเป็นสารประกอบที่ละลายได้จากสัตว์ที่เป็นเหยื่อ ซึ่งถือได้ว่าเป็นสิ่งกระตุ้นการรับกลิ่นและรสชาติตามธรรมชาติ มีรายงานว่าเบทาลีนมีผลต่อการดึงดูดการกินอาหารของสัตว์น้ำ 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) และ สอดคล้องกับที่รายงานไว้ว่า กรดอะมิโนเบทาอินที่ใส่ลงไปให้อาหาร เมื่อมีการละลายน้ำทำให้ปลา และกุ้งบางชนิดมีการตอบสนองต่อการกินในทางที่ดี เนื่องจากเบทาอินมีกลิ่นที่สามารถดึงดูด การกินของปลาหลายชนิด (Carr, 1976; Mackie and Mitchell, 1985; Kolkovski *et al.*, 1997 and Papatryphon and Soares, 2000) อีกทั้งยังพบว่า การเสริมเบทาอินในอาหารสัตว์น้ำเพื่อเป็น chemoattractant ในกุ้งกุลาดำวัยอ่อน *Penaeus monodon* (Dy Penafiorida and Virtanen, 1996) *Penaeus indicus* (Elamparithy, 1995) มีผลทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น ส่วนการกินอาหารของ *Penaeus japonicus* (Deshimaru and Yone, 1978) และ *Penaeus monodon* (Murai *et al.*, 1983) นั้น จะถูกกระตุ้นโดยการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนไกลซีน พฤติกรรมการหาอาหารของกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) จะมีประสิทธิภาพสูงขึ้นเมื่อมีสารละลายไกลซีนเบทาอิน หรือสาร chemoattractant ชนิดอื่นละลายอยู่ในน้ำ (Harpaz, 1997)

สิ่งที่น่าสนใจอีกอย่างหนึ่งของเบทาอินและกรดอะมิโน คือเมื่อมีการใช้ร่วมกัน จะมีผลในการเสริมฤทธิ์ในการกระตุ้นการกินอาหารได้ สำหรับปลาหลายชนิด Carr (1978) และ Goh กับ Tamura (1980) ได้ทำการทดลองทำให้ทราบว่าเบทาอินและกรดอะมิโน มีผลในการ กระตุ้นในกุ้งและปลากะพงแดงมากกว่าการใช้เบทาอินเพียงอย่างเดียว

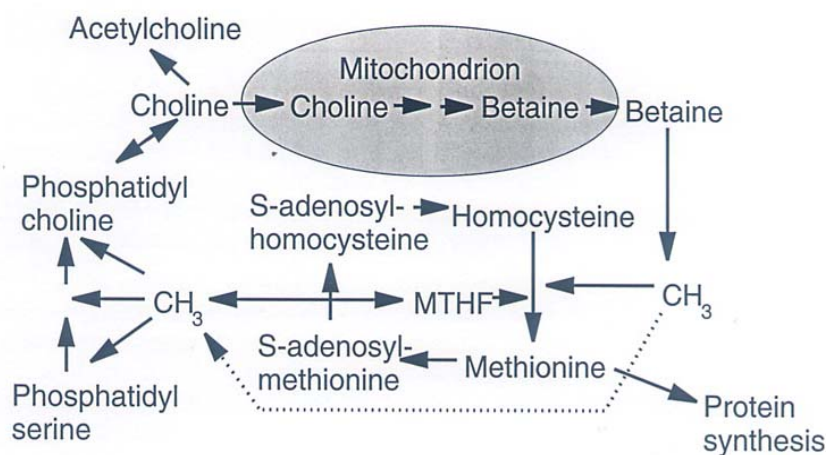


ภาพที่ 6 การตอบสนองของปลากะพงแดง ต่อเบทาอินและกรดอะมิโน

ที่มา : Goh and Tamura (1980)

2.2.3 คุณสมบัติการเป็นผู้ให้หุ้มเมทิล

เบทาอินเป็นผู้ให้หมู่เมทิลในปฏิกิริยาการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ซึ่งหลายชนิดมีความจำเป็นในการสังเคราะห์โปรตีนและการเผาผลาญพลังงาน (energy metabolism) การสังเคราะห์เมไธโอนีนจากโฮโมซิสทีน การสังเคราะห์คาร์นิทีน (carnitine) ครีเอทีน (creatine) และ ฟอสฟาติดีลโคลีน (phosphatidylcholine) เบทาอินทำหน้าที่ให้หมู่เมทิลทำให้โฮโมซิสทีนเปลี่ยนเป็นเมไธโอนีนแล้ว ยังได้ เอส-อะดีนซิลเมไธโอนีน ซึ่งเป็นตัวให้หมู่เมทิลแก่สารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารประกอบอื่นๆ ที่สำคัญในร่างกาย เช่น คาร์นิทีน (carnitine) ครีเอทีน (creatine) กรดนิวคลีอิก (nucleic acids) อาร์เอ็นเอและดีเอ็นเอ (RNA, DNA) สารที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับระบบประสาท (neurotransmitters) ฮอร์โมน (hormones) และฟอสโฟลิพิด (phospholipids)



ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ของเมทาโบลิซึมระหว่างเบทาอิน โคลีน และ เมไธโอนีน

ที่มา : Anonymous (1996)

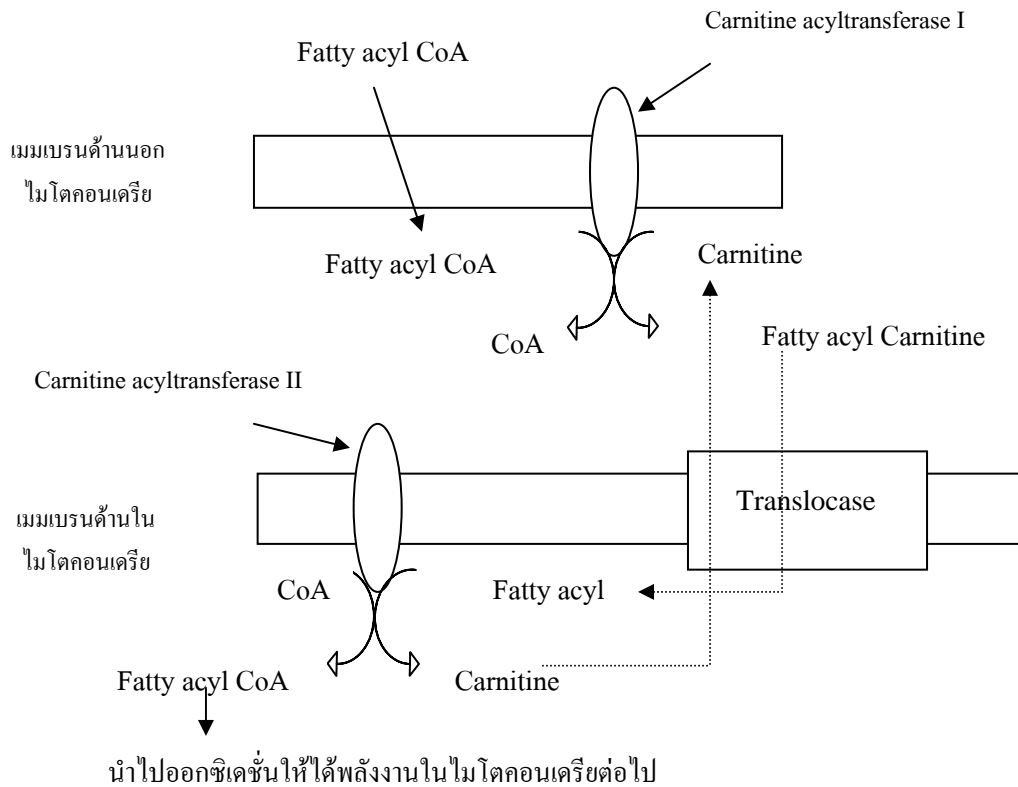
การทดลองกับปลาเทราต์ และ ลูกไก่ พบว่าเบทาอินสามารถสำรองความต้องการของ โคลีน และ เมไธโอนีนได้ (Rumsey, 1991; Virtanen and Rosi, 1995) การเป็นตัวให้หมู่เมทิลของเบทาอินในสัตว์หลายชนิด นั้นจะช่วยลดการสะสมไขมันตรงส่วนกลางของลำตัว (carcass fat) ซึ่งรวมถึงสุกร (Virtanen and Campbell, 1994) ไก่ (Saunderson and Mackinlay, 1990) และปลา (Virtanen *et al*, 1989) นอกจากนี้ยังมีการทดลองกับกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน (*Macrobrachium rosenbergii*) พบว่าไกลซีนเบทาอินที่เสริมในอาหารระดับ 5 กรัมต่อกิโลกรัม ทำให้กุ้งก้ามกรามวัย

อ่อน มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุดและระดับที่ 10 และ 15 กรัมต่อกิโลกรัมก็มีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าลูกกึ่งก้ำมกรามที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมเช่นกัน และมีอัตราการแลกเนื้อของลูกกึ่งก้ำมกรามที่ได้รับอาหารที่มีไกลซีนเบทาอินทั้ง 3 ระดับต่ำกว่าที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม (Felix and Sudharsan, 2004)

3. คาร์นิทีน

เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดในไมโทคอนเดรีย แฟตตี เอซิล โคเอ (fatty acyl CoA) จากกรดไขมันสายยาว จะผ่านเมมเบรนด้านนอกของไมโทคอนเดรียได้ แต่การผ่านเมมเบรนด้านในของไมโทคอนเดรีย จะมีขั้นตอนการส่งผ่าน คือ เข้าไปโดยไม่มีโคเอ ด้วยการนำพาของสารประกอบคาร์นิทีน (carnitine) เมื่อเข้าไปในไมโทคอนเดรียแล้ว จะเปลี่ยนกลับเป็น แฟตตี เอซิล โคเอ (fatty acyl CoA) อีกครั้ง

เริ่มจากแฟตตี เอซิล โคเอเอ็นไซม์เอ ผ่านเมมเบรนด้านนอกของไมโทคอนเดรียในระหว่างเมมเบรนด้านใน (inter mitochondrial membrane) แฟตตี เอซิล (fatty acyl) จะจับกับคาร์นิทีนได้ แฟตตี เอซิล-คาร์นิทีน (fatty acyl –carnitine) โดยเอ็นไซม์ ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่เมมเบรนด้านนอกของไมโทคอนเดรีย ดังรูป

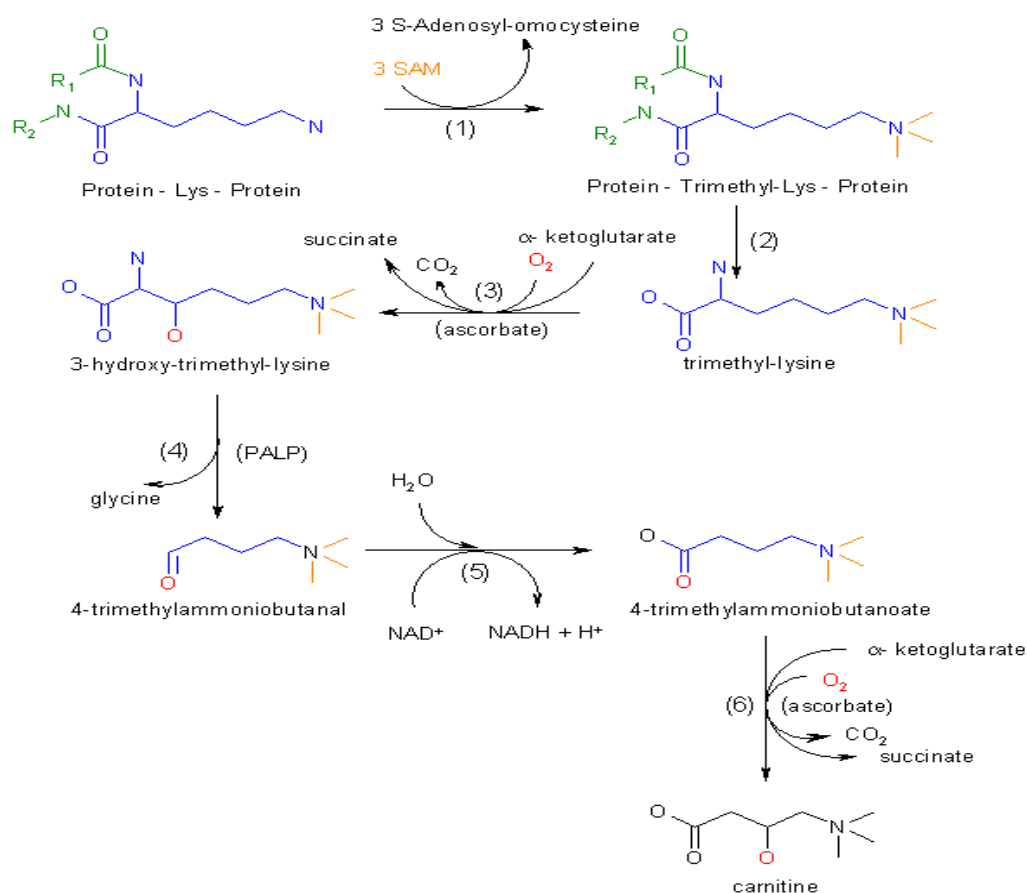


ภาพที่ 8 การขนส่งกรดไขมันหลังจากถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมันในรูป fatty acyl CoA และการเข้าเซลล์ของ fatty acyl CoA โดยการนำพาด้วยสารประกอบคาร์นิทีน

ที่มา : นัยนา (2546)

จากนั้นแฟตตี เอซิล-คาร์นิทีน จะผ่านเมมเบรนด้านในของไมโทคอนเดรีย ตรงตำแหน่งโปรตีนตัวผ่าน (translocase) ภายในไมโทคอนเดรียจะเกิด ปฏิกิริยากลับ คือ แฟตตี เอซิล-คาร์นิทีน จะเปลี่ยนเป็น แฟตตี เอซิล โคเอ และได้คาร์นิทีนอิสระโดยเอนไซม์ คาร์นิทีน เอซิลทรานเฟอร์ส (carnitine acyltransferase II) คาร์นิทีนอิสระจะผ่านเมมเบรนกลับออกไปใช้พา แฟตตี เอซิล โคเอ เข้าได้อีก

คาร์นิทีน ทำหน้าที่คล้ายโคเอนไซม์ของเอนไซม์ แฟตตี เอซิลทรานเฟอร์ส แต่ไม่ใช่วิตามินเหมือนโคเอนไซม์ทั่วไป คาร์นิทีนสังเคราะห์ได้ในร่างกายโดยใช้กรดอะมิโน ไลซีน และเมไทโอนีนเป็นสารตั้งต้น ซึ่งจะรับหมู่เมทิลจากเอส-อะดีโนซิลเมไทโอนีน ในอาหารคาร์นิทีนจะมีมากในเนื้อและนม(นมมารดา) มีน้อยในถั่วเหลือง และข้าวโพค



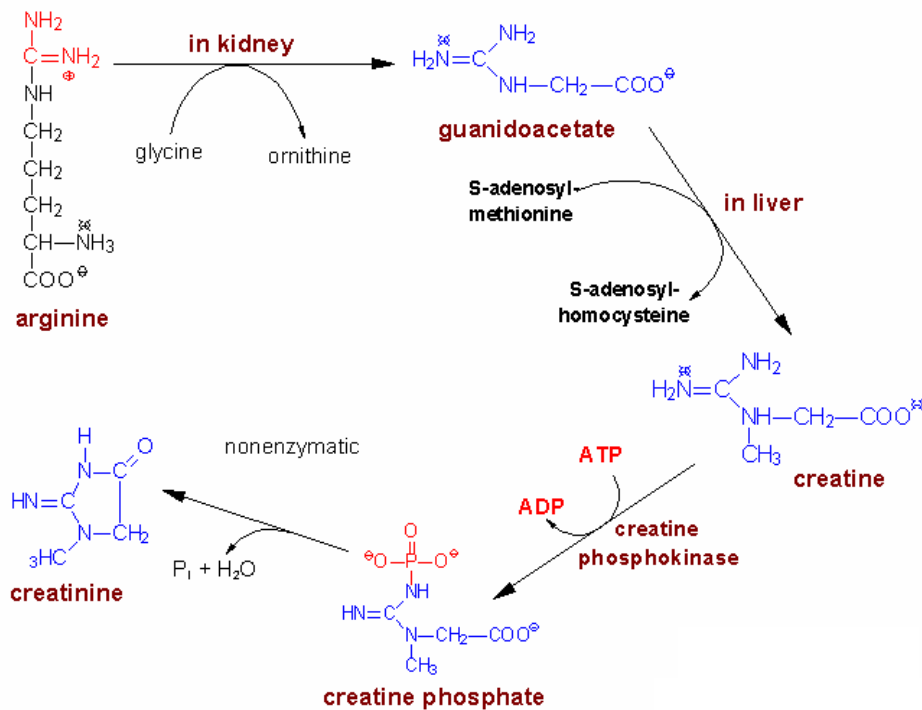
ภาพที่ 9 การสังเคราะห์คาร์นิทีน

ที่มา : Kristensen and Oehmen (2004)

4. ครีเอทีน

ครีเอทีนถูกสังเคราะห์ขึ้นภายในตับโดยขบวนการเมทิลเลชัน (methylation) ของ คัวนิโดอะซิเตต (guanidoacetate) ซึ่งจะใช้ เอส-อะดีโนซิลเมไธโอนีน (s-adenocylmethionine) เป็นตัวให้หมู่เมทิล (methyl group) คัวนิโดอะซิเตตนั้นเป็นฟอร์มที่อยู่ในไตของกรดอะมิโน อาร์จินีน และ ไกลซีน

ครีเอทีนจะเป็นฟอร์มที่ใช้เก็บสะสมของฟอสเฟตพลังงานสูง ฟอสเฟตของ ATP จะถูกเปลี่ยนไปเป็น ครีเอทีน , ครีเอทีนฟอสเฟต ผ่านทางการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ ครีเอทีน ฟอสโฟไคเนส (creatine phosphokinase) และทำปฏิกิริยาย้อนกลับเมื่อร่างกายมีความต้องการพลังงาน เนื่องจากได้รับ ATP จากวิถีไกลโคไลซิส และวิถีวงจรเครบส์ไม่เพียงพอ เช่น ในการออกกำลังกายของ



ภาพที่ 10 การสังเคราะห์ครีเอทีน และ ครีเอทีนีน

ที่มา : King (1998)

กล้ามเนื้อ หรือจากความผิดปกติด้วยสาเหตุใดก็ตาม ครีเอทีนฟอสเฟตจะเป็นตัวให้ฟอสเฟตซึ่งจะ
ได้เป็น ADP และ ATP ในที่สุด โดยครีเอทีนฟอสเฟตจะมีในเซลล์กล้ามเนื้อมากถึง 5 เท่า ของ
ATP ซึ่งสามารถสร้าง ATP ไว้สำรองใช้อย่างน้อยในช่วงเวลาหนึ่ง

ทั้ง ครีเอทีน และ ครีเอทีน ฟอสเฟต จะพบได้ในกล้ามเนื้อ สมอง และ เลือด ครีเอทีนจะ
เป็นฟอร์มของครีเอทีน ฟอสเฟตในกล้ามเนื้อ โดยขบวนการดีไฮเดรชัน (dehydration) ที่ไม่ต้อง
อาศัยเอนไซม์ และการสูญเสียฟอสเฟต ปริมาณการสร้างของครีเอทีนจะสัมพันธ์กับมวลของ
กล้ามเนื้อ ครีเอทีนจะถูกขับออกโดยผ่านทางไต ซึ่งระดับการขับออกจะเป็นค่าที่วัดได้จากการทำ
หน้าที่ของไต

5. ฟอสฟอลิปิด

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

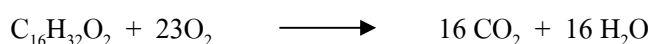
ฟอสโฟลิปิดที่มีโครงสร้างเป็น ฟอสฟาติคิก เอซิด ที่สำคัญ ได้แก่ ฟอสฟาติคิลโคลีน (phosphatidylcholine) ฟอสฟาติคิลเอทานอลามีน (phosphatidylethanolamine) ฟอสฟาติคิลเซอริน (phosphatidylserine) และ ฟอสฟาติคิลอินสิทอล (phosphatidylinositol) นอกจากนี้ยังมีฟอสโฟลิปิดที่มีโครงสร้างที่ต่างออกไป ได้แก่ สปินโกมายอีลิน (sphingomyelin) และ เซอริบรอไซด์ (cerebroside)

ฟอสโฟลิปิดมีบทบาทหน้าที่ทางสรีระวิทยาและชีวเคมีในร่างกาย คือ เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเมมเบรนของเซลล์เมมเบรนมีการเรียงตัวของฟอสโฟลิปิดเป็น 2 ชั้น โดยหันส่วนที่มีขั้วไว้ด้านนอก ส่วนที่ไม่มีขั้วเข้าหากัน เมมเบรนของเซลล์แต่ละชนิดจะมีฟอสโฟลิปิดหลายชนิดในสัดส่วนที่แตกต่างกันไป ฟอสโฟลิปิดที่มีมากที่สุดที่เมมเบรน คือ ฟอสฟาติคิลโคลีน (lecitin) ฟอสโฟลิปิดบางตัวที่มีหน้าที่ที่สำคัญ เช่น ฟอสฟาติคิลอินสิทอล อยู่ที่เมมเบรนมีบทบาทในการรับสัญญาณจากฮอร์โมนบางชนิด ให้เกิดกระบวนการทางชีวเคมี ฟอสฟาติคิลโคลีน หรือ เลซิตินเป็นส่วนประกอบของสารส่วนเซอร์แฟคแทนท์ (surfactant) ที่อยู่ที่เมมเบรนของปอด เพื่อป้องกันการแฟบติดกันของปอด ในขณะที่หายใจออก สปินโกมายอีลิน มีมากในเซลล์ประสาท และ เซอริบรอไซด์ มีมากในเซลล์สมอง

ในสัตว์น้ำพบว่าฟอสโฟลิปิดมีความสำคัญต่อพวกครัสเตเชียนเป็นอย่างมากทั้งทางด้านพัฒนาการของการเจริญเติบโตและทางด้านสุขภาพ โดยเฉพาะ phosphatidylcholine และ phosphatidylinositol ซึ่ง สอดคล้องกับการรายงานที่ว่าอาหารที่เสริมด้วยเลซิตินซึ่งเป็นฟอสโฟลิปิดชนิดหนึ่งปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ และ 4 เปอร์เซ็นต์ ทำให้กุ้งกุลาดำวัยอ่อนและวัยรุ่นมีอัตราการรอดและการเจริญเติบโตดีขึ้น (Kanasawa, 1982) ทั้งนี้เพราะพวกครัสเตเชียนส่วนใหญ่มีความสามารถในการสังเคราะห์ฟอสโฟลิปิดได้อย่างจำกัด ซึ่งจะมีความแตกต่างจากสัตว์บก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องได้รับจากอาหารด้วย เช่นเดียวกับการรายงานของ Frank and Pedley ในปี 1997 ว่า สัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียนมีความสามารถจำกัดในการสังเคราะห์ฟอสโฟลิปิด

6. ไตรเอซิลกลีเซอรอล

ในการผลิตพลังงานของเซลล์ กลูโคสจะเป็นแหล่งเชื้อเพลิงอันดับแรกที่ใช้ในการผลิตพลังงาน ส่วนลิปิดและไขมันจะถูกใช้แหล่งสะสมและสำรองเชื้อเพลิง พืชและสัตว์จะสะสมไขมันเอาไว้เป็นจำนวนมากในรูปของไตรเอซิลกลีเซอรอล (triglyceride, triglyceride) ที่เป็นกลางและไม่ละลายน้ำ ไขมันเหล่านี้พร้อมที่จะสะสมหรือสลายแล้วแต่ความต้องการพลังงานของเซลล์ ดังตัวอย่างการเผาไหม้ของกรดไขมันปาล์มติก (palmitic) จะมีการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานมาก (ΔG เป็นลบมาก) ทำให้มีการคายพลังงานออกมามาก



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

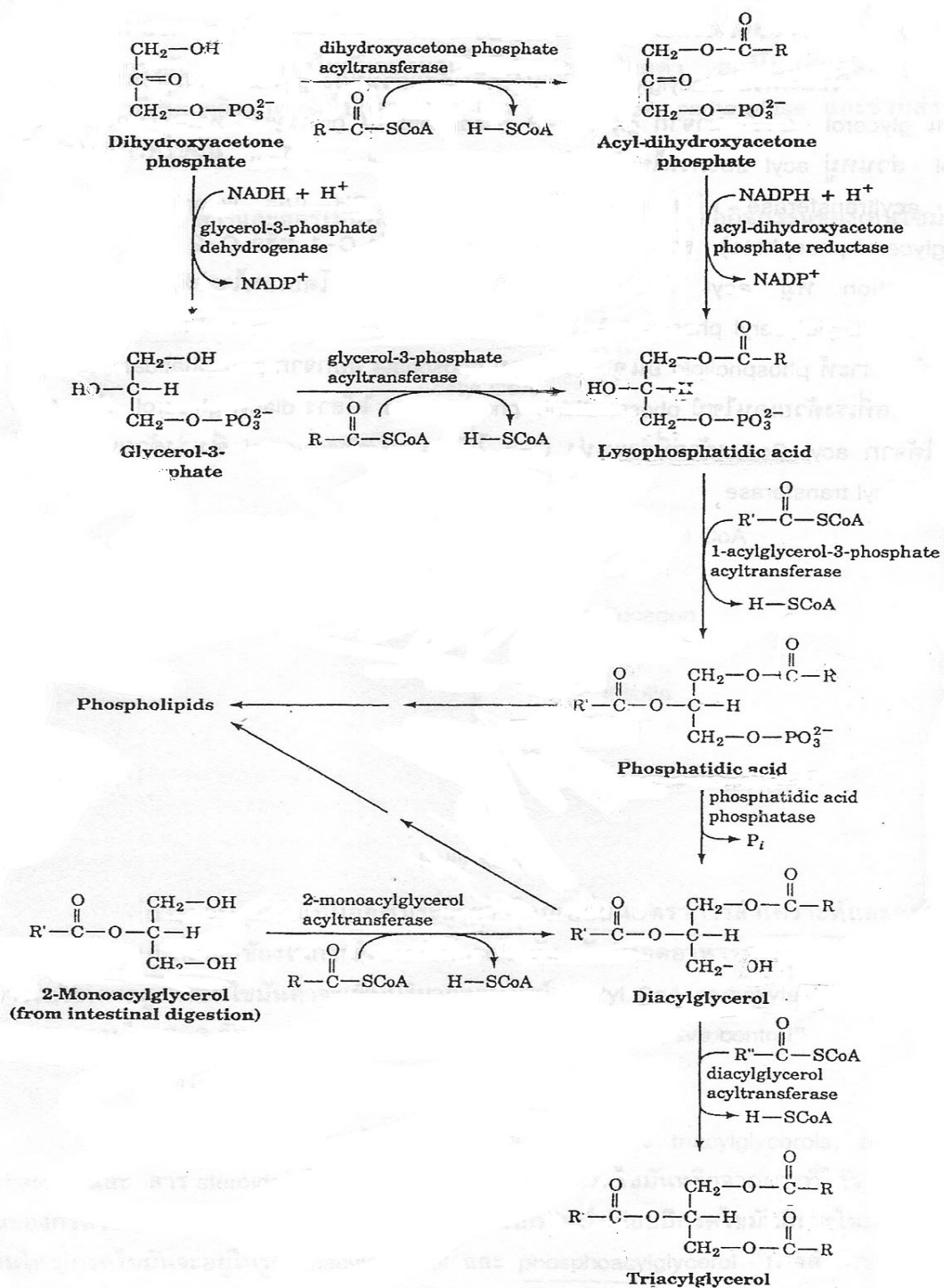
การที่ ΔG เป็นลบมากเนื่องมาจากการออกซิไดซ์โซ่ยาวของไฮโดรคาร์บอนในรูปปริวิตส์ ซึ่งต่อกับหมู่ COOH ของกรดไขมัน ในกลุ่มสารอาหารที่มีกรดไขมันที่มีโซ่ยาวของไฮโดรคาร์บอนจะเป็นแหล่งให้พลังงานจำนวนมาก โดยไขมันสามารถให้พลังงาน 9.3 kcal/g เมื่อเทียบกับคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนที่ให้พลังงานเพียง 4.1 kcal/g

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

6.1 การสังเคราะห์ไขมัน

ไขมันหรือไตรเอซิลกลีเซอรอล จะประกอบด้วยส่วนของกลีเซอรอล (glycerol) และส่วนของกรดไขมัน ส่วนของกลีเซอรอลอาจได้มาจากกลีเซอรอล-3-ฟอสเฟต (glycerol-3-phosphate) ในวิถีไกลโคไลซิส (glycolysis partway) หรือจากการสลายของเอซิลกลีเซอรอล (acylglycerol) ส่วนหมู่เอซิล (acyl) ของกรดไขมันจะย้ายถ่ายมาจากเอซิล-โคเอ (acyl-CoA) โดย

เอนไซม์ กลีเซอรอลฟอสเฟต เอซิลทรานส์เฟอเรส (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 reticulum และเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฟอสโฟลิปิดอื่นๆ การดึงหมู่ฟอสเฟตออกจาก phosphatidate โดยปฏิกิริยาไฮโดไลซิสที่เร่งด้วยเอนไซม์ฟอสฟาติเดตฟอสฟาเตส (phosphatidate phosphatase) ได้สารไดเอซิลกลีเซอรอล ส่วนหมู่เอซิลที่สามได้จากเอซิล-โคเอ เข้าที่ตำแหน่ง C-3 ได้สารไตรเอซิลกลีเซอรอล ซึ่งเร่งด้วยเอนไซม์ไดเอซิลกลีเซอรอล เอซิลทรานส์เฟอเรส (diacylglycerol acyltransferase)

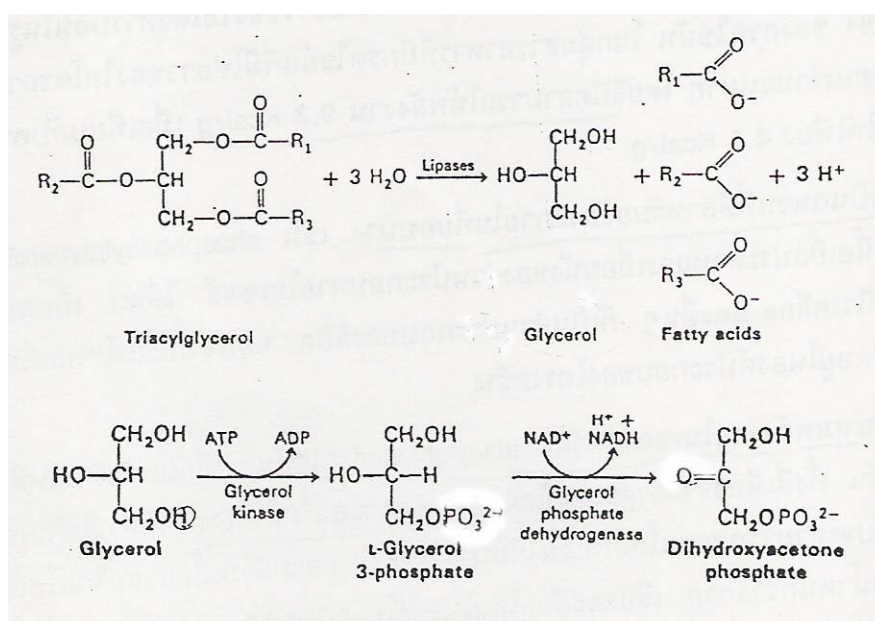


ภาพที่ 11 การสังเคราะห์ไตรเอซิลกลีเซอรอล

ที่มา : วิล (2542)

6.2 การสลายไขมัน

ไตรเอซิลกลีเซอรอลมีกรดไขมันที่เชื่อมด้วยพันธะโคเวเลนต์อยู่ พันธะระหว่างกรดไขมันและส่วนที่เหลือของไขมันจะสามารถแตกออกจากกัน โดยไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ไลเปส (lipase) ที่ส่วนไฮโดรฟอบของเซลล์ ซึ่งมีฮอร์โมนควบคุมเอนไซม์ไลเปสในเซลล์ไขมัน คือ ฮอร์โมน epinephrine, norepinephrine, glucagons และ adrenocorticotropic โดยจะกระตุ้นเอนไซม์ adenylylacyclase ทำให้เกิดการสร้าง cAMP ซึ่งจะกระตุ้นให้เอนไซม์ protein kinase ว่องไวและจะไปกระตุ้นให้เอนไซม์ไลเปสทำงานได้โดยการเติมหมู่ฟอสเฟตที่เอนไซม์ไลเปสจากการสลายไขมันจะได้กลีเซอรอล และมีการออกซิไดส์กลีเซอรอลโดยเอนไซม์ glycerol kinase ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้



ภาพที่ 12 การสลายไตรเอซิลกลีเซอรอล

ที่มา : วิล (2542)

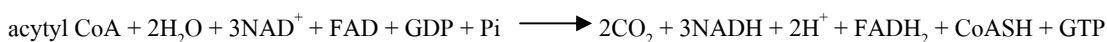
ไดไฮดรอกซีอะซิโตน ฟอสเฟต (dihydroxyacetone phosphate) จะไอโซเมอไรซ์ได้ กลีเซอรอลดีไฮด์ 3-ฟอสเฟต (glyceroldehyde 3-phosphate) ซึ่งเป็นสารมัธยันต์ (intermediate) ในวิถีไกลโคไลซิส กลีเซอรอลนี้จะเปลี่ยนเป็นไพรูเวทหรือกลูโคสได้ที่ตับซึ่งเป็นแหล่งของเอนไซม์ต่างๆ ปฏิกิริยานี้สามารถย้อนกลับทิศทางได้โดยเอนไซม์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

7. ไกลโคเจน

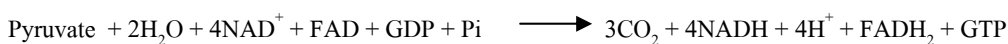
ในสภาวะที่ร่างกายต้องการพลังงาน กลูโคสจะถูกใช้เป็นแหล่งพลังงานอันดับแรกผ่านทางวิถีไกลโคไลซิส ซึ่งการสลายกลูโคสในวิถีไกลโคไลซิสเพื่อให้ได้พลังงานนี้จะเกิดขึ้นในทุกๆ เซลล์ของร่างกาย โดยพลังงานที่ได้จากการสลายกลูโคสมืออยู่ด้วยกัน 2 กรณีคือ ถ้าสารสุดท้ายเป็นแลคเตท (ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน) จะได้ ATP เพียง 2 โมเลกุล แต่ถ้าสารสุดท้ายเป็นไพรูเวท (ในสภาวะที่มีออกซิเจน) จะได้ ATP 2 โมเลกุล และ NADH อีก 2 โมเลกุล หลังจากนั้นไพรูเวทจะเข้าสู่การสลายในวงจรเครบส์ต่อไป

พลังงานที่ได้จากวิถีวงจรเครบส์นั้นจะไม่ได้ ATP โดยตรง แต่จะได้สารพลังงานสูง (guanosine triphosphate :GTP) นอกจากนี้ได้โคเอนไซม์ในรูปรีดิวซ์ คือ NADH และ FADH₂ ซึ่งมีคุณสมบัติรีดิวซ์ สาร GTP เป็นสารพลังงานสูงซึ่งให้พลังงานเท่ากับ ATP ส่วนสาร NADH และ FADH₂ จะถูกออกซิไดส์โดยระบบขนส่งอิเล็กตรอน และให้ GTP 1 โมเลกุล NADH 3 โมเลกุล และ FADH₂ 1 โมเลกุล เมื่อรวมกับการออกซิไดส์ไพรูเวทจะได้ผลผลิตเป็น CO₂ 3 โมเลกุล GTP 1 โมเลกุล NADH 4 โมเลกุล และ FADH₂ 1 โมเลกุล ดังสมการ

วงจรเครบส์



ปฏิกิริยารวม

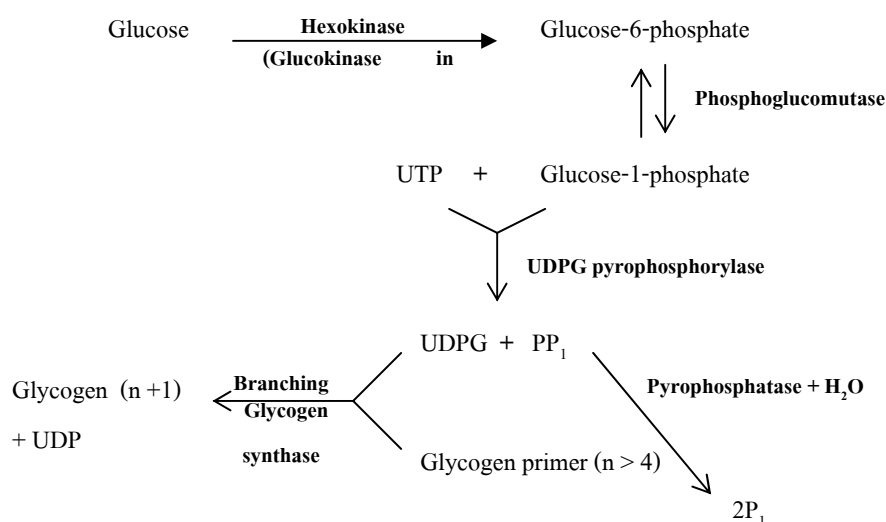


เมื่อคิดเป็นพลังงานเคมี ATP จะได้ 12 โมเลกุลต่อ 1 โมเลกุลของอะซิติก-โคเอ หรือ 15 โมเลกุลต่อ 1 โมเลกุลของไพรูเวท ดังนั้นเมื่อคิดจากการสลายกลูโคส 1 โมเลกุลในวงจรไกลโคไลซิส ได้ 2 โมเลกุลของไพรูเวท ได้ ATP 8 โมเลกุล และจาก 2 โมเลกุลของไพรูเวทเปลี่ยนเป็น 2 โมเลกุลของอะซิติก-โคเอ และสลายต่อด้วยวงจรเครบส์ จะได้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

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

7.1 การสังเคราะห์ไกลโคเจน

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 (amylose) จากนั้นสาย

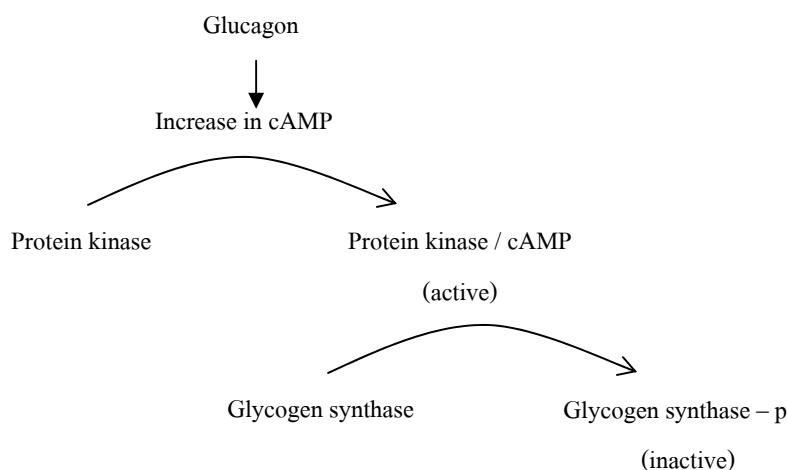


ภาพที่ 13 การสังเคราะห์ไกลโคเจนจากกลูโคส

ที่มา : นัยนา (2546)

ของกลูโคสที่มีความยาวประมาณ 7 โมเลกุลของกลูโคส จะถูกเคลื่อนย้ายไปเชื่อมต่อภายในสายเดียวกันหรือต่างสายที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 6 ด้วยพันธะแอลฟา-ไกลโคซิดิก ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 (C1) ของสายกลูโคสกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 (C6) ของสายกลูโคสเริ่มต้น ($1 \rightarrow 6$) ด้วยเอนไซม์ branching synthase หรือ amylo 1,4-1,6 trans-glycosylase ได้เป็น ไกลโคเจนในส่วนโครงสร้างอะไมโลเป็ค-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)

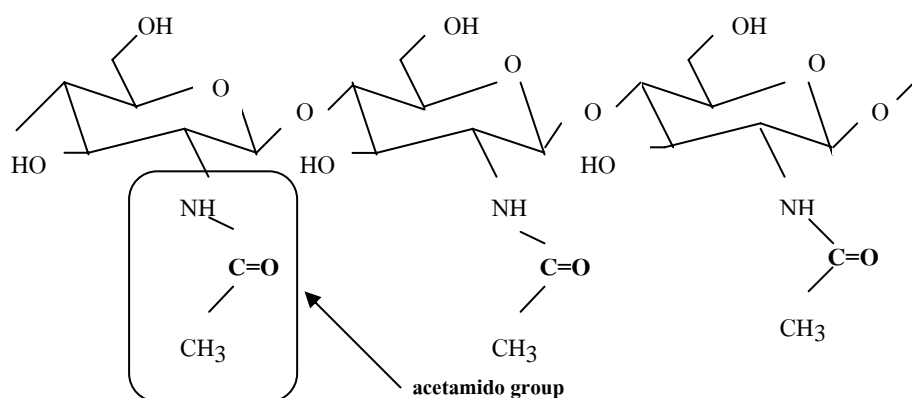
7.2 การสลายไกลโคเจน

การสลายไกลโคเจนให้ได้กลูโคส (glycogenolysis) เกิดขึ้นได้ที่เซลล์หลายชนิด แต่ส่วนใหญ่จะเกิดที่ตับและกล้ามเนื้อ โดยจะเริ่มต้นที่เอนไซม์ glycogen phosphorylase สลายสายกลูโคสที่ยาวๆ ที่เชื่อมกันด้วยพันธะแอลฟา-ไกลโคซิดิก ($1 \rightarrow 4$) ทางด้านปลายที่ไม่ถูกรีดิวส์ ได้เป็น glucose-1-phosphate จากนั้น glucose-1-phosphate จะเปลี่ยนเป็น glucose-6-phosphate โดย

8. ไคติน

ไคติน เป็นโพลิเมอร์ที่เกิดตามธรรมชาติ พบได้ในผนังเซลล์ของพืชบางชนิด สัตว์ และ จุลินทรีย์ เช่น ในยีสต์ และแบคทีเรียบางชนิดและในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังโดยเฉพาะอย่างยิ่งใน สัตว์ที่มีเปลือกและกระดอง เช่น กุ้ง ปู แคนหมึก และหอย ไคตินประกอบด้วยไนโตรเจนประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ ไคตินจะเชื่อมอยู่กับคาร์โบไฮเดรตด้วยพันธะโควาเลนต์ และอาจพบอยู่ร่วมกับเกลือ แคลเซียมคาร์บอเนตในเปลือกของสัตว์พวกกุ้ง ปู

ไคตินมีลักษณะโครงสร้างเป็นโพลิเมอร์หน่วยย่อยที่มีชื่อทางเคมีว่า $\beta(1-4)$ -2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose หรือเรียกอีกอย่างว่า N-acetyl-D-glucosamine ซึ่งมีขนาดและความยาว ของโพลิเมอร์ และปริมาณของหมู่ acetamido group ($-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_3$) ต่างกัน ด้วยคุณลักษณะของ โครงสร้างดังกล่าวทำให้ไคตินเป็นโพลิเมอร์มีลักษณะเป็นของแข็ง ละลายได้ในกรดอินทรีย์ เช่น กรดเกลือ กรดกำมะถัน กรดฟอสฟอริก และกรดฟอร์มิกที่ปราศจากน้ำ แต่ไม่ละลายในด่างเจือจาง แอลกอฮอล์ และตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ



ภาพที่ 17 โครงสร้างทางเคมีของไคติน

ที่มา : Winterowd and Sandford (1995)

โดยทั่วไปเปลือก (cuticle) ของสัตว์พวกครัสเตเชียนจะมีไคตินเป็นองค์ประกอบหลัก คือ ประมาณ 60-80 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้งของส่วนที่เป็นสารอินทรีย์ รองลงมาคือสารจำพวก แคลเซียมคาร์บอเนตที่อยู่ในรูปของแคลไซต์ และส่วนสุดท้ายคือโปรตีน ซึ่งคิวติเคิลของกุ้ง สามารถแบ่งออกได้เป็น 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. ชั้นเอนโดคิวติเคิล (endocuticle) เป็นชั้นถัดจากชั้นเอ็กโซคิวติเคิลลงมา ชั้นนี้ประกอบด้วยไคติน และแคลเซียม เช่นเดียวกับชั้นเอ็กโซคิวติเคิล แต่จะมีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบมากกว่า ชั้นเอนโดคิวติเคิลเป็นชั้นที่หนาที่สุด 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 หรือการละลายของเนื้อเยื่อชั้นในของคิวติเคิลเพื่อให้หลุดออกจากเอพิเคอมีส
2. การเจริญของคิวติเคิลใหม่ ในขณะที่เดียวกันเมื่อเกิดการลอกคราบ สัตว์จะมีการเจริญเติบโตขยายขนาดของลำตัวให้ใหญ่ขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

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

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

7. เบทาทิน
8. อาหารกุ้งกุลาดำ 3 สูตร ซึ่งเป็นอาหารเม็ด ที่ผลิตจากโรงงานผลิตอาหารสัตว์
 - อาหารที่ไม่เสริมเบทาทิน
 - อาหารที่เสริมเบทาทินชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์
 - อาหารที่เสริมเบทาทินชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์

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

ตารางที่ 8 สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหาร	เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร		
	สูตรควบคุม	เบทาอิน 1 % (ไม่เคลือบ)	เบทาอิน 2 % (เคลือบ)
ปลายข้าว	3.0	3.0	3.0
กากกึ่งป่น	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
เบทาอิน	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 กรดโฟลิก 20 กรัม/กิโลกรัม นิโคตินิค 100 กรัม/กิโลกรัม ไบโอติน 1.5 กรัม/กิโลกรัม กรดแพนโทเทนิก 100 กรัม/กิโลกรัม อินโนซิทอล 15 กรัม/กิโลกรัม โคลิคคลอไรด์ 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	อาหารเสริมเบทาอิน		
	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
- สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์โคติน
- สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์
- สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ไขมัน
- สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์อาร์เอ็นเอ
- สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

วิธีการ

1 การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของเบทาอินต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์อาหารในกิ้งกูดาคำ

1.1 แผนการทดลอง

การทดลองเป็นแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) เพื่อศึกษาผลการใช้เบทาอินในระดับต่างๆ ที่มีผลต่อการดึงดูดการเข้าหาอาหาร เจริญเติบโต และ อัตราการรอดตายของกิ้งกูดาคำ ซึ่งการทดลองได้แบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง (treatment) ชุดการทดลองละ 6 ซ้ำ (replication) ดังนี้

1. ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม ไม่มีเบทาอินเป็นส่วนประกอบ
2. ชุดการทดลองที่ 2 ใช้เบทาอินชนิดไม่เคลือบเป็นส่วนประกอบ 1.0%
3. ชุดการทดลองที่ 3 ใช้เบทาอินชนิดเคลือบเป็นส่วนประกอบ 2.0%

1.2 สภาวะการทดลอง

ปล่อยกิ้งกูดาคำหลังจากการปรับสภาพลงในถังไฟเบอร์ขนาดความจุ 1 ตัน เส้นผ่านศูนย์กลางของถังถึง 1.1 เมตร ใช้น้ำความเค็ม 20 พีพีที ปริมาตร 700 ลูกบาศก์เซนติเมตร เท่ากันทุกถัง ใช้หัวทรายให้อากาศถึงละ 4 หัว ปล่อยกิ้งกูดาคำที่อัตราความหนาแน่น 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.) อัตราการให้อาหารสำหรับกิ้งกูดาคำขนาด 2 กรัม ให้อาหารที่ 6%ของน้ำหนักตัวต่อวัน อัตราการให้อาหารสำหรับกิ้งกูดาคำขนาด 5 กรัม ให้อาหารที่ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน และ อัตราการให้อาหารสำหรับกิ้งกูดาคำขนาด 10 กรัม ให้อาหารที่ 4 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน ทำการสุ่มชั่งน้ำหนักกิ้งกูดาคำและหาอัตราการรอดตายทุก 2 สัปดาห์ บันทึกปริมาณอาหารที่กินตลอดการทดลอง (งดให้อาหารเมื่อที่สุ่มตัวอย่าง)

ทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำทุกเดือนๆละครั้ง โดยตรวจคุณภาพของน้ำที่ถ่ายออก (กรณีทำการถ่ายเปลี่ยนน้ำ) และน้ำในถังเลี้ยง (หลังทำการเปลี่ยนถ่าย) ซึ่งพารามิเตอร์ที่จะทำการตรวจมีดังต่อไปนี้

ตารางที่ 10 พารามิเตอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์น้ำระหว่างทดลอง

พารามิเตอร์	หน่วย	วิธีวิเคราะห์
Temperature	$^{\circ}\text{C}$	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°C for 5 days
NH_3	mg $\text{NH}_3\text{-N/l}$	Koroleff's Indophenol Blue Method (Graffhoff, 1976)
NO_2^-	mg $\text{NO}_2^- \text{-N/l}$	Colorimetric Method (APHA, 1992)
NO_3^-	mg $\text{NO}_3^- \text{-N/l}$	Cadmium modification colorimetric Method (APHA, 1992)
Ortho phosphate	mg/l	Ascorbic acid Method (APHA, 1992)
Total phosphorus	mg/l	Ascorbic acid Method (APHA, 1992)

1.3 การเก็บข้อมูล

ทำการบันทึกข้อมูลทุกๆ เดือน (ยกเว้นการวิเคราะห์ระดับอาร์เอ็นเอ และระดับฟอสโฟลิปิดในเนื้อเยื่อ ซึ่งจะเก็บข้อมูลเฉพาะเดือนที่ 3 เท่านั้น) เพื่อนำข้อมูลไปใช้วัดการเจริญเติบโต และการใช้ประโยชน์อาหารของกิ้งกูดดำในแต่ละชุดการทดลอง

1.3.1 ศึกษาการเจริญเติบโตของกึ่งกลาดำ

ทำการเก็บข้อมูลทุกซ้ำของแต่ละชุดการทดลอง (6 ซ้ำ) นำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยในหัวข้อต่างๆ ดังต่อไปนี้ น้ำหนักตัวเฉลี่ย การเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการแลกเปลี่ยน ประสิทธิภาพของอาหาร และอัตราการตาย

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

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

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

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

$$\text{อัตราการตาย} = \frac{\text{จำนวนกึ่งที่รอด}}{\text{จำนวนกึ่งเริ่มต้น}} \times 100$$

1.3.2 การศึกษาระดับไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) ในเลือด

ทำการสุ่มตัวอย่างจากแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 6 ตัว (1 ตัว/1 ซ้ำ) มาทำการเก็บเลือดของกึ่ง โดยจะเก็บชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (2 ตัว/1 ซ้ำ) การเก็บเลือดของกึ่ง 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 การศึกษาการสะสมของไกลโคเจน (glycogen) ในรูปกลูโคสในตับ (hepatopancreas)

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

สกัดไกลโคเจนโดย นำตับกุ้งใส่ลงในหลอดเซนตริฟิวจ์ (centrifuge tube) เดิม 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 เดิม TCA 1 มล. และ เดิม 95% เอทิลแอลกอฮอล์ (EtOH) 5 มล. เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37-40 องศาเซลเซียส นาน 3 ชม. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ทิ้งส่วนใสเอาแต่ตะกอน เดิมน้ำต้ม 0.5 มล. กรดซัลฟูริกเข้มข้น 2.5 มล. และ 5% ฟีนอล 2.5 มล. เขย่าให้เข้ากัน วัดด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

1.3.4 การศึกษาระดับการสังเคราะห์โปรตีน (protein synthesis) โดยการวัดระดับการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ (RNA synthesis)

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 การศึกษาระดับฟอสโฟลิปิด (phospholipids) ในเนื้อเยื่อ

ทำการสุ่มตัวอย่างจากแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 6 ตัว (1 ตัว/1 ซ้ำ) มาทำการแกะส่วนที่เป็นเปลือกออกทั้งหมด จากนั้นนำส่วนของเนื้อที่ได้ในชุดการทดลองเดียวกันมาทำการบดรวมกันแล้วนำไปสกัดไขมัน เมื่อทำการสกัดและแยกไขมันจนได้เป็นไขมันชนิดมีขั้ว (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 chromatography หลังจากนั้นจึงนำไปหาปริมาณฟอสโฟลิปิดด้วยเครื่องวัดความหนาแน่น (densitometer) (วิเคราะห์เฉพาะเดือนสุดท้าย)

2. การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของเบทาอินต่อระยะเวลาในการเข้ากินอาหาร และปริมาณการกินอาหารของกิ้งกูดดำ

2.1 แผนการทดลอง

การทดลองเป็นแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) เพื่อศึกษาผลการใช้เบทาอินในระดับต่างๆ ที่มีผลต่อการเข้าหาอาหาร และการกินอาหาร ซึ่งการทดลองได้แบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง (treatment) ชุดการทดลองละ 10 ซ้ำ (replication) ดังนี้

1. ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม ไม่มีเบทาอินเป็นส่วนประกอบ
2. ชุดการทดลองที่ 2 ใช้เบทาอินชนิดไม่เคลือบเป็นส่วนประกอบ 1.0%
3. ชุดการทดลองที่ 3 ใช้เบทาอินชนิดเคลือบเป็นส่วนประกอบ 2.0%

2.2 สภาวะการทดลอง

นำกุ้งจากการทดลองที่ 1 ที่ทำการเก็บข้อมูลการทดลองเสร็จแล้ว (3 เดือน) มาทำการปรับสภาพกุ้งแล้วจึงปล่อยกุ้งลงในตู้กระจกขนาดความจุ 60 ลิตร ตู้ละ 1 ตัว จำนวน 30 ตู้ โดยที่แต่ละตู้จะมีการนำวัสดุมาถ่วงตรงส่วนกลางของตู้ เพื่อแบ่งตู้ออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 เป็นส่วนที่กุ้งอยู่ โดยระยะห่างจากขอบตู้จนถึงวัสดุที่นำมาถ่วงจะเท่ากันทุกตู้ (15 ซม.) ส่วนที่ 2 เป็นส่วนที่ทำการให้อาหาร โดยระยะห่างจากขอบตู้จนถึงวัสดุที่นำมาถ่วงจะเท่ากันทุกตู้ (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 เพื่อป้องกันปัญหาที่กุ้งจะอยู่ในช่องใกล้ลอคกราบ เนื่องจากกุ้งจะมีความอยากกินอาหารลดลงทำให้ระยะเวลาการเข้ากินอาหารผิดจากความเป็นจริง

การเก็บข้อมูลปริมาณการกินอาหารจะเก็บข้อมูลจนครบ 10 ชั่วโมง โดยสุ่มเลือกกุ้งที่ลอคกราบแล้วประมาณ 1 สัปดาห์ มาทำการศึกษา โดยการใส่อาหารที่ทราบน้ำหนักแน่นอนลงในตู้กระจก จับเวลา 30 นาที แล้วจึงดูดอาหารออก นำไปอบแล้วชั่งน้ำหนักเปรียบเทียบกับอาหารที่ใส่ลงในตู้ที่ไม่มีกุ้งเพื่อหาปริมาณอาหารที่กุ้งกิน

3. การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของเบทาอินที่มีต่อการลอกคราบและระดับของไคตินของเป็ลือกุ้งกุลาดำ

3.1 แผนการทดลอง

การทดลองเป็นแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) เพื่อศึกษาผลการใช้เบทาอินในระดับต่างๆ ที่มีผลต่อการลอกคราบและระดับของไคตินของเป็ลือกุ้ง ซึ่งการทดลองได้แบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง (treatment) ชุดการทดลองละ 10 ซ้ำ (replication) ดังนี้

1. ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม ไม่มีเบทาอินเป็นส่วนประกอบ
2. ชุดการทดลองที่ 2 ใช้เบทาอินชนิดไม่เคลือบเป็นส่วนประกอบ 1.0 %
3. ชุดการทดลองที่ 3 ใช้เบทาอินชนิดเคลือบเป็นส่วนประกอบ 2.0 %

3.2 สภาพการทดลอง

นำกุ้งจากการทดลองที่ 1 ที่ทำการเก็บข้อมูลการทดลองเสร็จแล้ว (3 เดือน) มาทำการปรับสภาพ กุ้งแล้วจึงปล่อยกุ้งลงในตู้กระจกขนาดความจุ 60 ลิตร ใส่กุ้งลงไปตู้ละ 2 ตัว โดยมีที่กันตู้ออกเป็น 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 การเก็บข้อมูล

ทำการเก็บข้อมูลวงจรการลอกคราบหลังจากกุ้งลอกคราบแล้ว 1 ครั้ง หลังจากนั้นเริ่มต้นนับเวลาในการลอกคราบแต่ละครั้ง โดยจะเก็บข้อมูลตัวอย่างละ 2 ครั้ง แล้วทำการหาค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองเปรียบเทียบกัน

ทำการเก็บข้อมูลของปริมาณไคตินในเป็ลือกุ้งโดยการนำกุ้งที่อยู่ในระยะพักการลอกคราบ (intermolt) มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณของไคติน เพื่อเป็นการป้องกันไม่ให้กุ้งดูดซึมแร่ธาตุจากเป็ลือกุ้งกลับ 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 30 นาที ที่ 90-95 องศาเซลเซียส ล้างด้วยน้ำจนค้างหมด (30 นาที) แช่ใน 1.25 นอมอล ของกรดไฮโดรคลอริก (1.25 N. HCl) นาน 30 นาที ที่ 90-95 องศาเซลเซียส ล้างด้วยน้ำจนกรดหมด (30 นาที) อบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

4. วิธีวิเคราะห์ผลการทดสอบทางสถิติ

การวิเคราะห์ผล การเจริญเติบโต อัตรารอด อัตราการแลกเนื้อ ประสิทธิภาพของอาหาร การสะสมไกลโคเจนในตับ ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือด การสังเคราะห์โปรตีนในกล้ามเนื้อ ฟอสโฟลิปิดในกล้ามเนื้อ ระดับไคตินในเปลือก และระยะเวลาการเข้าหาอาหารของกึ่งกุลาดำ 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 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมิถุนายนถึงเดือนกันยายน 2548 รวมระยะเวลาทดลอง 120 วัน

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลอง

1. การศึกษาการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์โภชนาในกึ่งฤดูค่า

การทดลองผลของเบทาคือการเจริญเติบโตของกึ่งฤดูค่าที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาคือเสริมเบทาคือชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ และเสริมเบทาคือชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่มีปริมาณเบทาคือ 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า

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

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

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

การสะสมของไกลโคเจนในระดับพบว่า ในเดือนแรก และเดือนที่สอง ระดับไกลโคเจนสะสมในระดับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยของชุดที่ไม่เสริมเบทาอิน ชุดที่เสริมเบทาอินชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอินชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับดังนี้ ระดับไกลโคเจนในระดับของกึ่งกุลาคำในเดือนแรกเท่ากับ 11.16 ± 6.93 มิลลิกรัม/กรัม เนื้อเยื่อ 10.90 ± 5.89 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ และ 23.20 ± 6.46 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ ในเดือนที่สองเท่ากับ 5.69 ± 4.06 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ 8.37 ± 5.85 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ และ 9.32 ± 5.80 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ แต่สำหรับเดือนที่สามนั้น พบว่าชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอินชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอินชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ จะมีไกลโคเจนสะสมในระดับสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอิน อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีระดับไกลโคเจนสะสมในระดับเฉลี่ยเท่ากับ 6.63 ± 2.67 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ 16.48 ± 2.61 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ และ 11.94 ± 1.35 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอิน ชุดที่เสริมเบทาอินชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอินชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือด พบว่า กึ่งกุลาคำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอินกับกึ่งกุลาคำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอินมีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ในเดือนแรกของการเลี้ยง โดยมีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดเฉลี่ยเท่ากับ 80.59 ± 18.53 มิลลิกรัม/เดซิลิตร 82.42 ± 41.93 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และ 103.66 ± 30.38 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอิน ชุดที่เสริมเบทาอินชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอินชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนในเดือนที่สอง พบว่าชุดที่เสริมเบทาอินชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกว่าชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริม

เบทาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ชุดที่เสริมเบทาอื่นชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ นั้นจะมีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดที่ใกล้เคียงกับชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่ไม่เสริมเบทาอื่น โดยมีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดเฉลี่ยเท่ากับ 142.77 ± 17.05 มิลลิกรัม/เดซิลิตร 166.14 ± 18.33 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และ 211.45 ± 30.38 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอื่น ชุดที่เสริมเบทาอื่นชนิดไม่เคลือบที่ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของเดือนที่สาม พบว่าชุดที่เสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกว่าชุดที่เสริมเบทาอื่นชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดเฉลี่ยเท่ากับ 96.68 ± 5.27 มิลลิกรัม/เดซิลิตร 107.55 ± 6.84 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และ 203.02 ± 17.09 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอื่น ชุดที่เสริมเบทาอื่นชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การสังเคราะห์โปรตีนในกึ่งนั้นจะทำเฉพาะเดือนที่สาม ผลที่ได้คือ ระดับโปรตีนในกล้ามเนื้อ และอัตราส่วนระหว่างอาร์เอ็นเอต่อโปรตีนในกึ่งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอื่นกับกึ่งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอื่น ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีระดับโปรตีนในกล้ามเนื้อเฉลี่ยเท่ากับ 0.0092 ± 0.0019 มิลลิกรัมโปรตีน/มิลลิกรัมเนื้อเยื่อ 0.0072 ± 0.0019 มิลลิกรัมโปรตีน/มิลลิกรัมเนื้อเยื่อ และ 0.0089 ± 0.0035 มิลลิกรัมโปรตีน/มิลลิกรัมเนื้อเยื่อ ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอื่น ชุดที่เสริมเบทาอื่นชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และอัตราส่วนระหว่างอาร์เอ็นเอต่อโปรตีนในกล้ามเนื้อเท่ากับ 0.123 ± 0.023 0.166 ± 0.044 และ 0.157 ± 0.039 ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอื่น ชุดที่เสริมเบทาอื่นชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ในส่วนของระดับอาร์เอ็นเอในกล้ามเนื้อของกึ่งกุลาดำ พบว่ากึ่งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับอาร์เอ็นเอในกล้ามเนื้อสูงกว่าชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ชุดที่เสริมเบทาอื่นชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ นั้นจะมีระดับอาร์เอ็นเอในกล้ามเนื้อที่ใกล้เคียงกับชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอื่น โดยมีระดับอาร์เอ็นเอในกล้ามเนื้อเฉลี่ยเท่ากับ 0.0011 ± 0.0001 มิลลิกรัมอาร์เอ็นเอ/มิลลิกรัมเนื้อเยื่อ 0.0013 ± 0.0001 มิลลิกรัมอาร์เอ็นเอ/มิลลิกรัมเนื้อเยื่อ และ 0.0016 ± 0.0002 มิลลิกรัมอาร์เอ็นเอ/มิลลิกรัมเนื้อเยื่อ ในชุดที่ไม่เสริมเบทาอื่น ชุดที่เสริมเบทาอื่นชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ระดับการสะสมของฟอสโฟลิปิด (ฟอสฟาติลโคลีน) ในกุ้งกุลาดำนั้นจะเฉพาะเดือนที่สาม เท่านั้น เช่นเดียวกับการศึกษาการสังเคราะห์โปรตีนข้างต้น พบว่า ชุดที่เสริมเบทาทินชนิดเคลื่อน 2 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาทินชนิดไม่เคลื่อน 1 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการสะสมของฟอสฟาติลโคลีนในเนื้อเยื่อสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาทินอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีระดับการสะสมของฟอสฟาติลโคลีนในเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำเฉลี่ยเท่ากับ 1.855 ± 0.088 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ 2.675 ± 0.392 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ และ 2.417 ± 0.202 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อเยื่อ ในชุดที่ไม่เสริมเบทาทิน ชุดที่เสริมเบทาทินชนิดไม่เคลื่อน 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาทินชนิดเคลื่อน 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

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

พารามิเตอร์	ระดับเบทาทินในอาหาร			P-value
	0%	1% (ไม่เคลื่อน)	2% (เคลื่อน)	
น้ำหนักเฉลี่ย (g) เดือนที่ 1	7.23 ± 0.33	7.27 ± 0.79	6.96 ± 0.73	0.677
น้ำหนักเฉลี่ย (g) เดือนที่ 2	7.98 ± 0.82	8.20 ± 1.45	8.19 ± 1.02	0.931
น้ำหนักเฉลี่ย (g) เดือนที่ 3	10.17 ± 1.50	10.72 ± 1.94	11.21 ± 1.34	0.549

ตารางที่ 11 การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอินระดับต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย \pm SD) (ต่อ)

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

ตารางที่ 11 การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอินระดับต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย \pm SD) (ต่อ)

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

ตารางที่ 12 ระดับการสะสมไกลโคเจนในตับของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอินระดับต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย \pm SD)

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

ตารางที่ 13 ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอินระดับต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย \pm SD)

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

ตารางที่ 14 การสังเคราะห์โปรตีนของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอินระดับต่างๆ กันที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอินระดับต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย \pm SD)

พารามิเตอร์	ระดับเบทาอินในอาหาร			P-value
	0%	1% (ไม่เคลือบ)	2% (เคลือบ)	
	0.0011 \pm 0.0	0.0013 \pm 0.00	0.0016 \pm 0.0	
ความเข้มข้นอาร์เอ็นเอ (mg RNA/mg tissue)	001 ^b	01 ^{ab}	002 ^a	0.0202
ความเข้มข้นโปรตีน (mg protein/mg tissue)	0.0092 \pm 0.0019	0.0072 \pm 0.0019	0.0089 \pm 0.0035	0.6624
อัตราส่วน อาร์เอ็นเอ / โปรตีน	0.123 \pm 0.023	0.166 \pm 0.049	0.157 \pm 0.039	0.5306

ตารางที่ 15 ระดับการสะสมฟอสโฟลิปิดในเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอินระดับต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย \pm SD)

พารามิเตอร์	ระดับเบทาอินในอาหาร			P-value
	0%	1%	2%	
		(ไม่เคลือบ)	(เคลือบ)	
ฟอสฟาติดิลโคลีนในเนื้อเยื่อ (mg / g tissue)	1.855 \pm 0.088 ^b	2.675 \pm 0.392 ^a	2.417 \pm 0.202 ^a	0.021

2. การศึกษาระยะเวลาการเข้ากินอาหารและปริมาณการกินอาหารในกุ้งกุลาดำ

การศึกษาระยะเวลาการเข้ากินอาหารและปริมาณการกินอาหารในกุ้งกุลาดำโดยการให้อาหารชุดที่ไม่เสริมเบทาอิน ชุดอาหารที่เสริมเบทาอินชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดอาหารที่เสริมเบทาอินชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่มีปริมาณเบทาอิน 1 เปอร์เซ็นต์ แก่กุ้งกุลาดำที่นำมาทดลองในตู้กระจกพบว่า ชุดอาหารที่เสริมเบทาอินชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาอินชนิดไม่เคลือบที่ 1 เปอร์เซ็นต์ จะใช้เวลาในการเข้ากินอาหารน้อยกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอินอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยของระยะเวลาการเข้ากินอาหารน้อยที่สุดในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอินชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลาการเข้ากินอาหารมากขึ้นในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอินชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และใช้เวลาการเข้ากินอาหารมากที่สุดในชุดที่ไม่เสริมเบทาอิน ซึ่งมีค่าเฉลี่ยดังนี้ 2.77 \pm 1.29 นาที 3.57 \pm 1.86 นาที และ 5.69 \pm 2.45 นาที ตามลำดับ ส่วนปริมาณอาหารที่กินเข้าไปนั้นพบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอินกับกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอิน โดยมีปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดที่ไม่เสริมเบทาอิน ชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอินชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และ ชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอินชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ดังนี้ 0.26 \pm 0.058 กรัม/ตัว/มื้อ 0.266 \pm 0.088 กรัม/ตัว/มื้อ และ 0.271 \pm 0.063 กรัม/ตัว/มื้อ ตามลำดับ

ตารางที่ 16 เวลาการเข้าหาอาหารและปริมาณของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบตาอินระดับต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย \pm SD)

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

3. การศึกษาระดับไคตินในเปลือกกุ้ง และวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ

การศึกษาระดับไคตินในเปลือกกุ้งกุลาดำ และระยะเวลาวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ โดยการให้อาหารชุดที่ไม่เสริมเบตาอิน ชุดอาหารที่เสริมเบตาอินชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดอาหารที่เสริมเบตาอินชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่มีปริมาณเบตาอิน 1 เปอร์เซ็นต์ แก่กุ้งกุลาดำที่นำมาทดลองในตู้กระจก พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบตาอินกับกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบตาอิน โดยมีค่าเฉลี่ยของระดับไคตินในเปลือกกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดที่ไม่เสริมเบตาอิน ชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบตาอินชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และ ชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบตาอินชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 0.0654 \pm 0.005 กรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง 0.0628 \pm 0.013 กรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง และ 0.0647 \pm 0.006 กรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนค่าเฉลี่ยระยะเวลาของวงจรการลอกคราบของกุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดที่ไม่เสริมเบตาอิน ชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบตาอินชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบตาอินชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 17.5 \pm 3.24 วัน 16.2 \pm 3.39 วัน และ 15.3 \pm 3.53 วัน ตามลำดับ

ตารางที่ 17 ระดับไคตินในเปลือก และระยะเวลาการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*)
ที่ได้รับอาหารที่เสริมเบทาอินระดับต่างๆ กัน(ค่าเฉลี่ย \pm SD)

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

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์โภชนาในกึ่งฤดูค่า

การศึกษาการเจริญเติบโตของกึ่งฤดูค่าโดยการใช้อาหารที่ไม่เสริมเบทาอื่น อาหารที่เสริมเบทาอื่นชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ และอาหารที่เสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า น้ำหนักตัวเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตรารอดตาย อัตราแลกเนื้อ และประสิทธิภาพของอาหาร เดือนแรก เดือนที่สอง และเดือนที่สาม ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่จะพบว่าระดับการสะสมของไกลโคเจนในตับของเดือนที่สาม นั้นสูงที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอื่นทั้งชนิดไม่เคลือบ และชนิดเคลือบ จะมีการสะสมของไกลโคเจนในตับสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่ากึ่งฤดูค่าในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอื่น นั้นมีการเจริญเติบโตและสุขภาพที่ดีกว่ากึ่งฤดูค่าในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอื่น เนื่องจากเบทาอื่นมีคุณสมบัติในการดึงไขมันมาใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ดี โดยผ่านทางการทำงานของคาร์นิทีนในไมโทคอนเดรีย ซึ่งคาร์นิทีนในไมโทคอนเดรียนี้จะทำหน้าที่เป็นตัวพาไขมันเข้าไปในไมโทคอนเดรียเพื่อสลายให้ได้พลังงานได้ดีขึ้น จึงมีผลให้ร่างกายดึงกลูโคสมาใช้เป็นพลังงานน้อยลง ทำให้มีกลูโคสเหลือมาเก็บไว้ใช้เป็นพลังงานสำรองในรูปของไกลโคเจนในตับ ได้มากขึ้น การสังเคราะห์คาร์นิทีนนั้นต้องอาศัย เอส-อดิโนซิลเมโทโอนิน ที่เกิดจากวัฏจักรโฮโมซิสทีนเป็นตัวให้หมู่เมทิล แก่กรดอะมิโนไลซีนที่เป็นสารตั้งต้น ซึ่งในวัฏจักรโฮโมซิสทีนนี้จะมีเบทาอื่นเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ส่วนระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของเดือนที่สอง พบว่ากึ่งฤดูค่าในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนเดือนที่สาม พบว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบ มีระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกว่าชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอื่นชนิดไม่เคลือบ และชุดที่ไม่เสริมเบทาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่ากึ่งฤดูค่าที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบ จะมีการลำเลียงไขมันเข้าสู่กระแสเลือดได้ดีกว่า ทำให้อวัยวะสามารถดูดซึมไปใช้ในขบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกายได้ดีกว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอื่นชนิดไม่เคลือบ และชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่ได้เสริมเบทาอื่น

เป็นที่น่าสังเกตว่าในช่วงเดือนที่สองของการเลี้ยง ทั้ง 3 ชุดการทดลอง จะมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในอัตราที่ลดลง เมื่อเทียบกับเดือนแรก และเดือนที่สาม การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันลดลง อัตราแลกเนื้อเพิ่มขึ้น ระดับไกลโคเจนในระดับลดลง 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 พิเศษของเลือดจึงลดลง นอกจากนี้แอมโมเนียยังทำให้กุ้งมีอาการระคายเคือง อักเสบ ก่อให้เกิดโรคที่เหงือกได้ง่าย (Colt and Tchobanoblous, 1976) ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้กุ้งเกิดการเครียด กินอาหารลดลงทำให้ค่าอัตราแลกเนื้อสูงขึ้น มีการสลายไกลโคเจน และไตรกลีเซอไรด์มาใช้เป็นแหล่งพลังงานมากขึ้นทำให้ระดับไกลโคเจนในระดับลดลง และระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดเพิ่มสูงขึ้น และจะเห็นได้ว่าระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดในช่วงนี้ กุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบตาอินชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าเฉลี่ยสูงสุดซึ่งจะมีความแตกต่างทางสถิติกับการทดลองชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบตาอิน แต่จะไม่แตกต่างทางสถิติกับการทดลองชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบตาอินชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเบตาอินจะมีผลต่อการสังเคราะห์คาร์นิทีน ซึ่งเป็นตัวพาเฟตตีเอซิลโคเอ (fatty acyl CoA) ที่ได้กรดไขมันที่มาจากกรสลายไตรกลีเซอไรด์ของเซลล์ไขมันผ่านผนังเซลล์ของไมโทคอนเดรียเพื่อใช้ในขบวนการสลายให้ได้พลังงาน จึงส่งผลให้กุ้งกุลาดำในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบตาอินมีการสลายและใช้ประโยชน์ไขมันได้ดีกว่ากุ้งกุลาดำในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบตาอิน ซึ่งเป็นการยืนยันได้ว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับเบตาอินจะมีความสามารถในการดึงไขมันมาใช้ประโยชน์ (เป็นแหล่งพลังงาน) ได้ดีขึ้น ไม่ว่าจะเป็นในสภาวะปกติหรือในสภาวะที่เกิดความเครียดจากปัจจัยสิ่งแวดล้อม

ระดับการสังเคราะห์โปรตีนในกึ่งนั้นจะทำเฉพาะเดือนที่สาม ผลที่ได้คือ ระดับโปรตีนในกล้ามเนื้อ และอัตราส่วนระหว่างอาร์เอ็นเอต่อโปรตีนในกึ่งฤดูดำทั้ง 3 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนระดับอาร์เอ็นเอในกล้ามเนื้อนั้นในชุดของการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอินชนิดเคลื่อน 2 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มข้นของอาร์เอ็นเอมากกว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมเบทาอินอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สัตว์ที่มีระดับอาร์เอ็นเอในกล้ามเนื้อที่มีความเข้มข้นต่ำจะมีอัตราการสลายแล้วนำมาสร้างใหม่ของโปรตีน (protein turnover rate) สูง และมีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของโปรตีน (protein growth efficiency) ต่ำ (Rungrangsak Torrisen *et al.*, 1999; Rungrangsak Torrisen and Male, 2000) แสดงให้เห็นว่ากึ่งฤดูดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอินชนิดเคลื่อนที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ นั้นมีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของโปรตีนที่ดีกว่ากึ่งฤดูดำที่ไม่ได้เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอิน เนื่องจากเบทาอิน (ไทรเมทิลไกลซีน) มีความสัมพันธ์กับการสังเคราะห์ ดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ ผ่านทางการสังเคราะห์สารประกอบพิวรีน (purine) ได้แก่ อดีนีน (adenine) และ กัวนีน (guanine) ที่เป็นส่วนประกอบของดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ ซึ่งสารประกอบพิวรีนจะสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโน ไกลซีน และจะได้รับหมู่อะมิโนจาก กลูตามีน (glutamine) และแอสปาร์เตต (aspartate) จึงเป็นสาเหตุให้กึ่งฤดูดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอินชนิดเคลื่อนที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ มีการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอได้ดีกว่ากึ่งฤดูดำที่ไม่ได้เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอิน

ระดับการสะสมของฟอสโฟลิปิด (ฟอสฟาติดีลโคลีน) ในกึ่งฤดูดำนั้นทำเฉพาะเดือนที่สาม เช่นเดียวกับการศึกษาการสังเคราะห์โปรตีนข้างต้น พบว่า กึ่งฤดูดำของชุดของการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอินชนิดไม่เคลื่อน และชนิดเคลื่อน มีระดับการสะสมของฟอสฟาติดีลโคลีนใน เนื้อเยื่อสูงกว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมเบทาอินอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่าเบทาอินจะมีความสัมพันธ์กับการสังเคราะห์ฟอสฟาติดีลโคลีนของร่างกาย ซึ่งเป็นฟอสโฟลิปิดที่มีมากที่สุดและเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยผ่านทางการทำงานของเอส-อะดีโนซิลเมโทโอนีน (ที่เกิดขึ้นในวัฏจักรของโฮโมซิส-ทีนที่มีเบทาอินเป็นตัวให้หมู่เมทิล) เป็นตัวให้หมู่เมทิลแก่ฟอสฟาติดีลเซอร์อิน ให้เปลี่ยนเป็นฟอสฟาติดีลโคลีน หรือได้รับหมู่เมทิลโดยตรงจากเบทาอินในการเปลี่ยนฟอสฟาติดีลเซอร์อินให้เป็นฟอสฟาติดีลโคลีน

การมีฟอสฟาติดีลโคลีน (lecithin) ในร่างกายสูงจะส่งผลให้การขนส่งโคเลสเตอรอลของร่างกายดีขึ้น โดยผ่านขบวนการส่งถ่ายโคเลสเตอรอลจากเซลล์ที่มีโคเลสเตอรอลมากเกินไปให้กับลิโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นสูง (high density lipoprotein, HDL) โดยเริ่มจากเมมเบรนของเซลล์

ซึ่งมีโคเลสเตอรอล และฟอสโฟลิปิด กรดไขมันจากฟอสโฟลิปิดชนิดเลซิทิน จะถูกถ่ายให้กับโคเลสเตอรอลอิสระ เปลี่ยนเป็นโคเลสเตอรอลเอสเทอร์โดยเอนไซม์ lecithin : cholesterol acyltransferase จากนั้น HDL จะส่งถ่ายโคเลสเตอรอลให้กับ VLDL (very low density lipoprotein) เปลี่ยนเป็น LDL (low density lipoprotein) จะเป็นตัวที่ขนส่งโคเลสเตอรอลให้กับเซลล์ที่มีความต้องการโคเลสเตอรอล เพื่อใช้ในการสังเคราะห์สารต่างๆ ในร่างกาย เช่น กรดน้ำดี สารสเตอรอล ฮอโมน เป็นต้น

2. การศึกษาระยะเวลาการเข้ากินอาหารและปริมาณการกินอาหารในกึ่งกลางค่ำ

การทดลองหาระยะเวลาการเข้ากินอาหารและปริมาณการกินอาหารในกึ่งกลางค่ำ ด้วยอาหารชุดที่ไม่เสริมเบตาอิน ชุดที่เสริมเบตาอินชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบตาอินชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ระยะเวลาการเข้ากินอาหารของกึ่งกลางค่ำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบตาอินชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบตาอินชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลาในการเข้ากินอาหารน้อยกว่าชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ได้เสริมเบตาอินอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนปริมาณการกินอาหารของกึ่งกลางค่ำ พบว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบตาอิน ชุดที่เสริมเบตาอินชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบตาอินชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$)

การที่กึ่งกลางค่ำในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบตาอินชนิดไม่เคลือบ ใช้ระยะเวลาในการเข้ากินอาหารได้เร็วกว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงอาหารที่ไม่เสริมเบตาอินนั้น เป็นผลมาจากคุณสมบัติการละลายน้ำได้เป็นอย่างดี อีกทั้งมีน้ำหนักโมเลกุลน้อย ทำให้เบตาอินสามารถแพร่กระจายไปในน้ำได้รวดเร็ว อีกทั้งคุณสมบัติของการเป็น chemoattractat ของกรดอะมิโนที่มีอยู่แล้วในอาหาร โดยเฉพาะกรดอะมิโนไกลซีนที่มีมากในปลาป่น กึ่งกลางค่ำจึงรับรู้ได้ว่ามีอาหารอยู่ในบริเวณนั้น โดยผ่านทางอวัยวะรับสัมผัสทางกลิ่นที่อยู่บริเวณหนวดได้เร็วขึ้น เนื่องจากเบตาอินเมื่อมีการใช้ร่วมกับกรดอะมิโนชนิดอื่น จะมีผลในการกระตุ้นการเข้าหาอาหารของกึ่งกลางค่ำมากกว่าการใช้เบตาอิน หรือกรดอะมิโนเพียงอย่าง (Goh and Tamura, 1980) ส่วนในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบตาอินชนิดเคลือบ ใช้ระยะเวลาในการเข้ากินอาหารได้เร็วกว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงอาหารที่ไม่เสริมเบตาอินนั้น เป็นอิทธิพลของสารที่ใช้เคลือบเม็ดอาหารไว้ เนื่องจากเบตาอินในเม็ดอาหารชนิดเคลือบจะละลายน้ำออกมาได้น้อยลง แต่ส่วนที่จะละลายน้ำออกมาก่อนคือสารที่ใช้เคลือบเม็ดอาหารนั้น (ไขมัน) ซึ่งสารดังกล่าวอาจมีคุณสมบัติเป็น

chemoattractant สำหรับกึ่งกลาดำได้เช่นกัน กึ่งกลาดำในชุดการทดลองนี้จึงสามารถเข้ากินอาหารได้รวดเร็วและไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกึ่งกลาดำในชุดการทดลองที่เสริมเบทาทินชนิดไม่เคลือบ

3. การศึกษาระดับไคตินในเปลือกกุ้ง และระยะเวลาการลอกคราบของกึ่งกลาดำ

การทดลองหาระดับไคตินในเปลือกกุ้ง และการลอกคราบของกึ่งกลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดที่ไม่เสริมเบทาทิน ชุดที่เสริมเบทาทินชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาทินชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ทั้งระดับไคตินในเปลือกกุ้ง และระยะเวลาการลอกคราบของกึ่งกลาดำ ในชุดที่ไม่เสริมเบทาทิน ชุดที่เสริมเบทาทินชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาทินชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าการเสริมเบทาทินในอาหารไม่ได้มีผลต่อระยะเวลาของวงจรการลอกคราบ และระดับไคตินในเปลือกกุ้งกลาดำ

โดยปกติแล้วในระยะก่อนการลอกคราบของกึ่งกลาดำจะมีการสะสมธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการลอกคราบ ซึ่งจะเก็บสะสมไว้ในตับ (hepatopancreas) ได้แก่ ไขมัน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน แคลเซียม ฟอสเฟต และแมกนีเซียม เมื่อมีการสะสมธาตุอาหารอย่างเพียงพอจะมีผลไปกระตุ้นการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง ซึ่งจะทำให้เกิดการลอกคราบเร็วขึ้น (Passano, 1960) แต่ในการทดลองครั้งนี้จะพบว่า แม้ระดับการสะสมของไกลโคเจนในตับของชุดที่เสริมเบทาทินชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เสริมเบทาทินชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ ของเดือนที่สามจะมากกว่าในที่ไม่เสริมเบทาทินอย่างมีนัยสำคัญ แต่จะไม่มีผลทำให้กึ่งกลาดำในชุดการทดลองที่เสริมเบทาทินใช้เวลาในการลอกคราบเร็วกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาทิน เนื่องจากในการลอกคราบของกุ้งนอกจากการสะสมโภชนาเพื่อเป็นพลังงานและสารตั้งต้นของการสังเคราะห์เปลือกแล้วยังมีปัจจัยภายนอก เช่น แสง และอุณหภูมิ เป็นตัวกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนเพื่อให้เกิดการลอกคราบซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ไม่มีการควบคุมปัจจัยภายนอกเหล่านี้จึงทำให้ไม่เห็นผลของระยะเวลาวงจรการลอกคราบชัดเจนนัก ส่วนระดับไคตินในเปลือกกุ้งกลาดำที่ไม่มีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองที่เสริมเบทาทินกับชุดที่ไม่เสริมเบทาทินถึงแม้ว่าในโครงสร้างของไคตินจะมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบก็ตาม ทั้งนี้อาจเป็นผลจากระดับไคตินในเปลือกกุ้งมีปริมาณจำกัด คือประมาณ 15-20 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง (รัตน และจินตนา, 2544) จึงทำให้กลูโคสสามารถเปลี่ยนเป็นไคตินได้ในระดับหนึ่ง ทั้งนี้อาจมี

ปัจจัยอื่น เช่น เอนไซม์ เข้ามาเกี่ยวข้องด้วย หรืออาจเป็นผลจากการดูดซึมแร่ธาตุจากเปลือกกลับคืนสู่ร่างกายของกุ้งเองก่อนการลอกคราบ จึงทำให้ระดับโคตินที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษามผลของเบทาอินที่มีต่อกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ในหัวข้อต่างๆ ได้ข้อสรุปดังต่อไปนี้

1. ผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ

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

2. ผลต่อระยะเวลาการเข้ากินอาหารของกุ้งกุลาดำ

การศึกษาระยะเวลาการเข้ากินอาหารของกุ้งกุลาดำ พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ระหว่างกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอินกับกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมเบทาอิน โดยที่กุ้งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอินชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ จะใช้เวลาในการเข้ากินอาหารน้อยที่สุด และใช้เวลาในการเข้ากินอาหารมากที่สุดในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอิน

3. ผลต่อปริมาณกินอาหารที่กินของกุ้งกุลาดำ

การศึกษาปริมาณอาหารที่กินในแต่ละมื้อของกึ่งกุลาดำนั้น พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างกึ่งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอื่นกับกึ่งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมเบทาอื่น

4. ผลต่อการใช้ประโยชน์โภชนะของกึ่งกุลาดำ

การศึกษาผลของเบทาอื่นต่อใช้ประโยชน์โภชนะ (คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน) ของกึ่งกุลาดำโดยการเสริมเบทาอื่นในอาหารนั้นจะแสดงออกมาในรูปของการสะสมของไกลโคเจน การสังเคราะห์โปรตีน ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือด และฟอสฟาติลโคลีนในเนื้อเยื่อ ซึ่งได้ผลดังต่อไปนี้

4.1 ระดับการสะสมไกลโคเจนในตับกึ่งกุลาดำในเดือนแรก และเดือนที่สอง ทั้ง 3 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่ในเดือนที่สามนั้น พบว่า ชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอื่นชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ จะมีการสะสมของไกลโคเจนในตับสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีการสะสมของไกลโคเจนในตับสูงที่สุดในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอื่นชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และต่ำที่สุดในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอื่น

4.2 ระดับความเข้มข้นของอาร์เอ็นเอในกล้ามเนื้อของกึ่งกุลาดำนั้น พบว่า กึ่งกุลาดำชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับความเข้มข้นของอาร์เอ็นเอในกล้ามเนื้อมากกว่าชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีระดับความเข้มข้นของอาร์เอ็นเอในกล้ามเนื้อสูงที่สุดในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ และต่ำสุดในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอื่น

4.3 ระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือด พบว่าในเดือนแรกไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ทั้ง 3 ชุดการทดลอง ส่วนในเดือนที่สอง พบว่าชุดที่เสริมเบทาอื่นชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์

มีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอินอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดที่เสริมเบทาอินชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในเดือนที่สาม พบว่าชุดที่เสริมเบทาอินชนิดเคลือบที่ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกว่าชุดที่เสริมเบทาอินชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอินอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.2 ระดับการสะสมของฟอสฟาติลโคลีนในเนื้อเยื่อ พบว่า ชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอินชนิดไม่เคลือบ 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบทาอินชนิดเคลือบ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการสะสมของฟอสฟาติลโคลีนในเนื้อเยื่อสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมเบทาอินอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีระดับการสะสมของฟอสฟาติลโคลีนในเนื้อเยื่อสูงที่สุดในกึ่งกลางค่าชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอินชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ และมีระดับการสะสมของฟอสฟาติลโคลีนในเนื้อเยื่อน้อยที่สุดในกึ่งกลางค่าชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเบทาอิน

5. ผลต่อระดับโคตินในเปลือกกึ่งกลางค่า

การศึกษาระดับโคตินในเปลือกกึ่งกลางค่านั้น พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างกึ่งกลางค่าที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอินกับกึ่งกลางค่าที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมเบทาอิน

6. ผลต่อระยะเวลาของวงจรการลอกคราบของกึ่งกลางค่า

การศึกษาระยะเวลาของวงจรการลอกคราบของกึ่งกลางค่านั้น พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างกึ่งกลางค่าที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบทาอินกับกึ่งกลางค่าที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมเบทาอิน

การใช้อาหารเสริมเบทาอินชนิดเคลือบที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ และชนิดไม่เคลือบที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ของสูตรอาหาร มีผลทำให้ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของโปรตีนสูงขึ้น การสะสมฟอสโฟลิปิดในเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้น การใช้ประโยชน์จากไขมันดีขึ้น ทำให้มีพลังงานเหลือสะสมในรูปไกลโคเจนในตับมากขึ้น อีกทั้งยังทำให้กุ้งเข้าหาอาหารได้เร็วขึ้น ซึ่งจะช่วยลดการสูญเสียคุณค่า

ทางโภชนาการไปกับน้ำด้วย ดังนั้นการเสริม เบตาอินลงในอาหารจึงมีแนวโน้มทำให้การเจริญเติบโตของกิ้งกูดาคิดว่าอาหารที่ไม่เสริมเบตาอิน

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการทดลองครั้งนี้อาจจะไม่เห็นผลของเบตาอินต่อการเจริญเติบโตอย่างเด่นชัดนัก ถ้าผู้ที่สนใจจะศึกษาผลของเบตาอินที่มีความชัดเจนมากกว่านี้ ควรปฏิบัติดังต่อไปนี้

1. ควรรักษาระดับของคุณภาพน้ำให้อยู่ในเกณฑ์ที่ดี และมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำให้น้อยที่สุดตลอดการทดลอง
2. ควรใช้ระดับความเข้มข้นของ mRNA ในกล้ามเนื้อ เป็นตัวชี้วัดระดับการสังเคราะห์โปรตีน แทน RNA รวม

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

นัยนา บุญทวีวัฒน์. 2546. *ชีวเคมีทางโภชนาการ*. ชิกม่า ดีไซน์กราฟฟิค, กรุงเทพฯ. 424 น.

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

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

อนันต์ชัย เชื้อนธรรม. 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* (Fabricius) 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, Department 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 Association, 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. Llobrera, 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 crystalline 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 Penafiorida, 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*. **Aquaculture 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. Olfactory and gustatory responses to amino acid in two marine teleosts - red sea bream and 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. Liewers, 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 hyperhomocysteinemia 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*. **Aquaculture**. 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. Reconstitution 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 juveniles *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

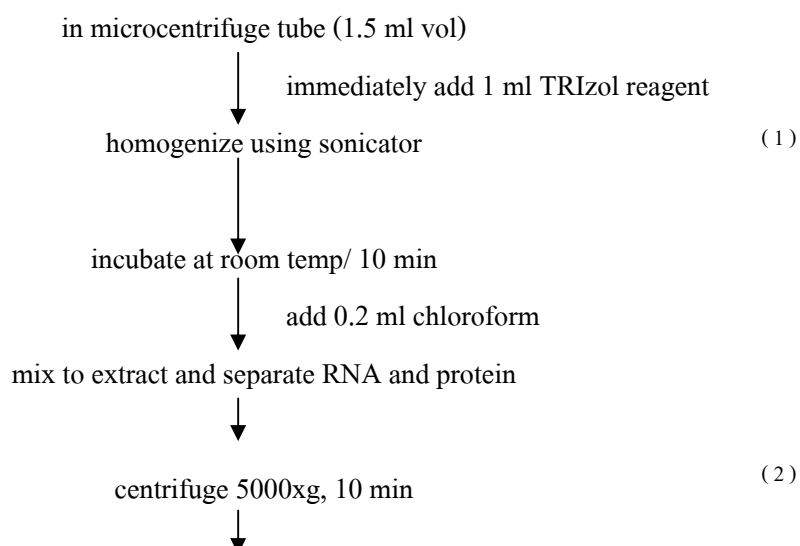
1. sonicator
2. centrifuge
3. microcentrifuge tube

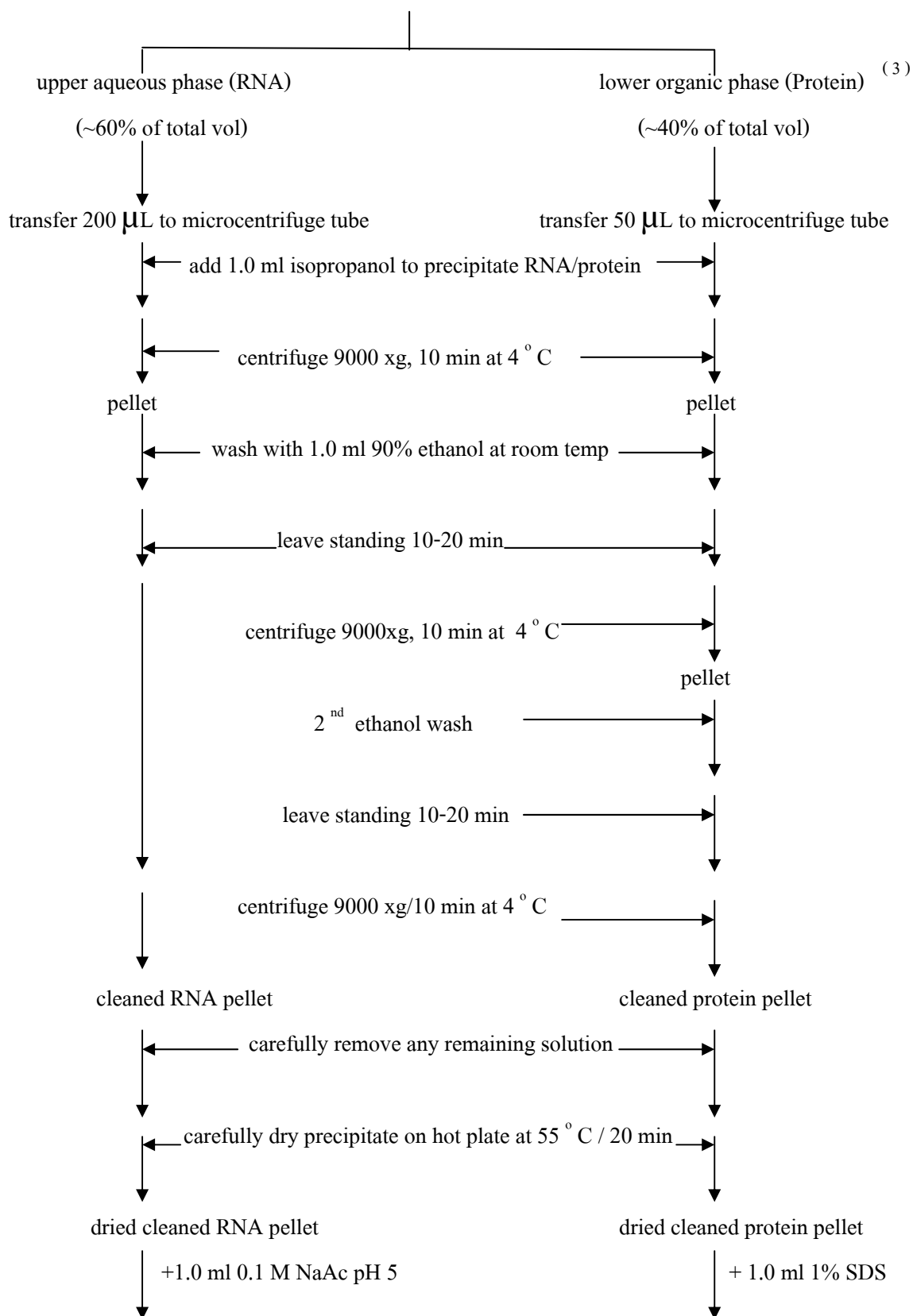
สารเคมี

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° C) (...mg)





heating 55° C~10 min to dissolve RNA pellet

dil 1:10 with 0.1 M NaAc pH 5

measure A_{260} to determine [RNA]

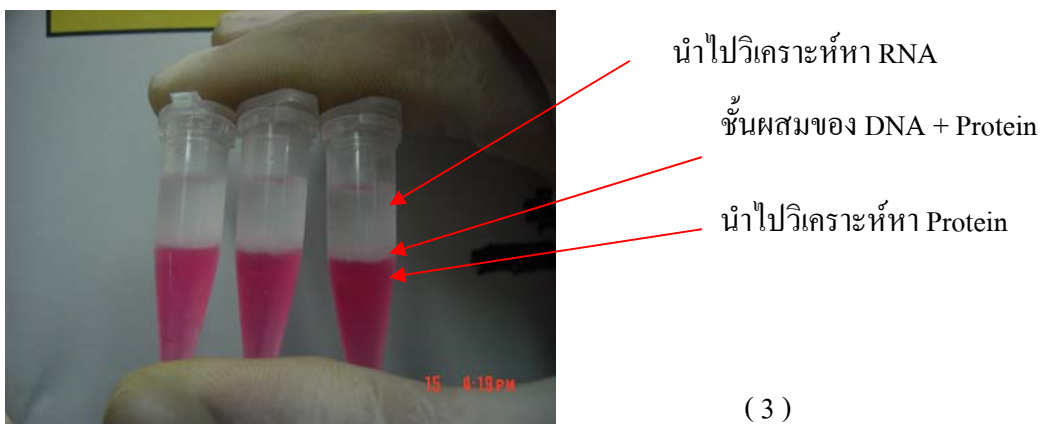
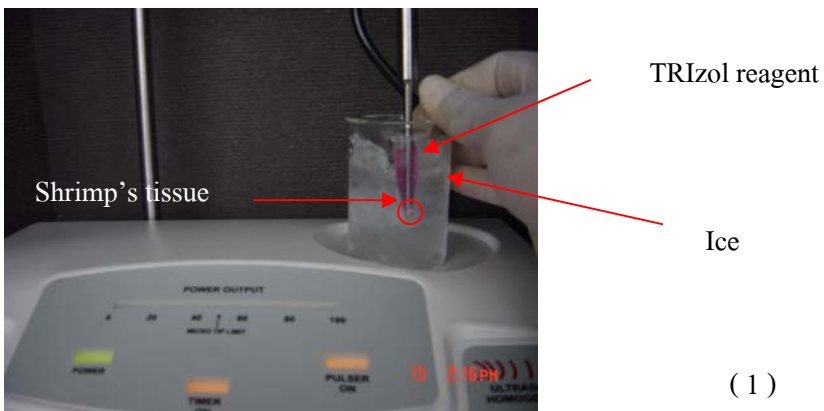
heating 55° C~100 min to dissolve
protein pellet (mix every 20 min)

dil 1:3 with 1% SDS

measure A_{280} to determine [protein]

การคำนวณ

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



ภาพผนวกที่ 1 แสดงการสกัดอาร์เอ็นเอและโปรตีนจากกล้ามเนื้อ

การวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟาติดิล โคลีน

ขั้นตอนที่ 1 การสกัดไขมัน (Bligh and Dryer, 1959)

อุปกรณ์

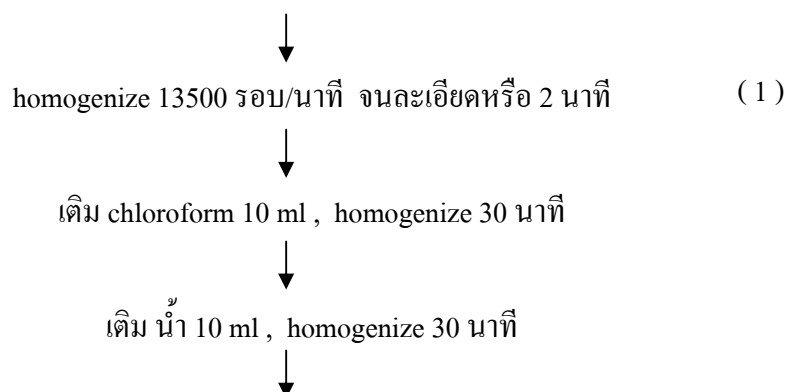
1. homogenizer
2. filter paper no. 1
3. glass wear : pear flask, tube , beaker
4. rotary evaporation

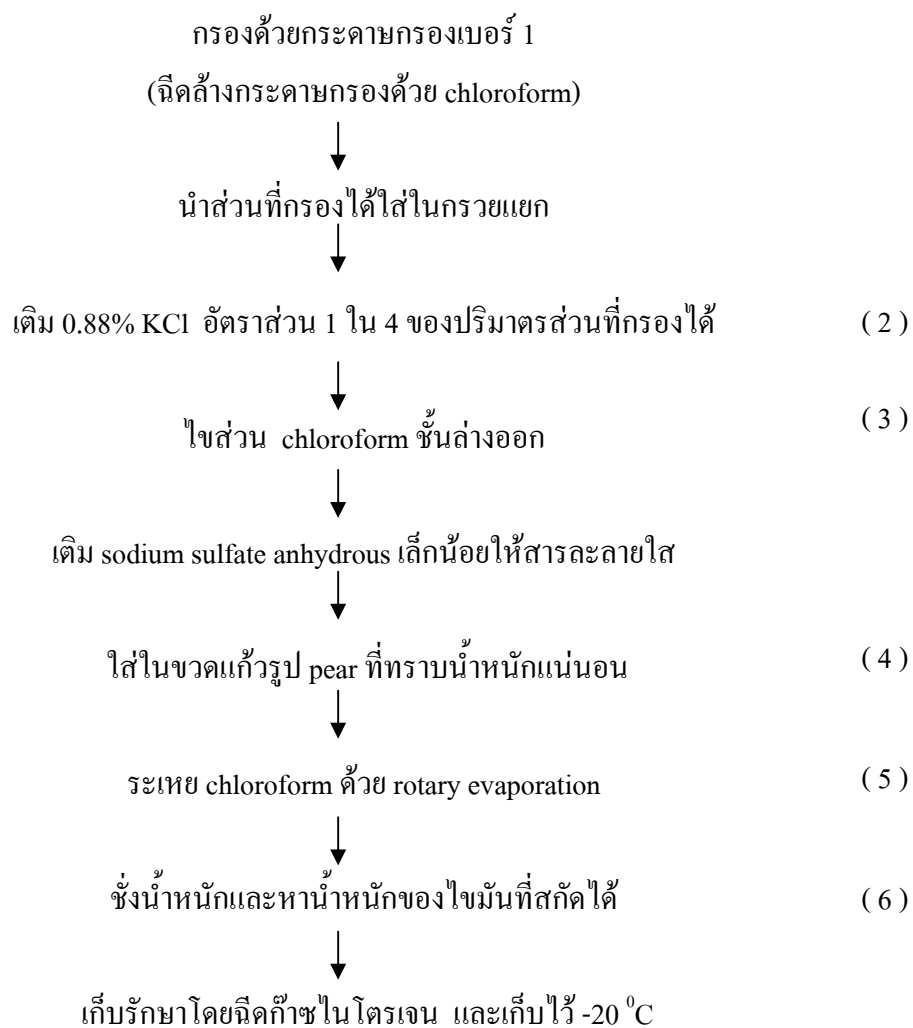
สารเคมี

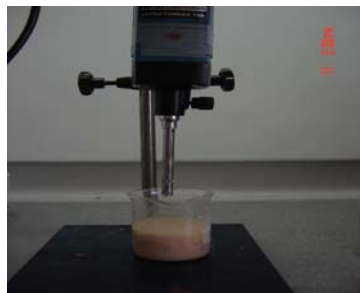
1. chloroform
2. methanol
3. KCl 0.88%
4. sodium sulfate anhydrous
5. น้ำกลั่น
6. ก๊าซไนโตรเจน

วิธีการ

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







(1)



(4)



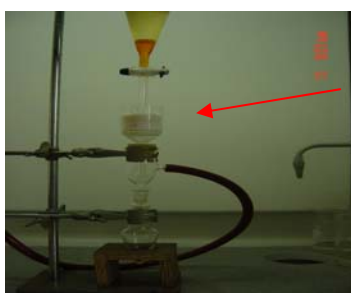
lipid

Non lipid

(2)



(5)



sodium sulfate
anhydrous

(3)



(6)

ภาพผนวกที่ 2 แสดงการสกัดไขมัน

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

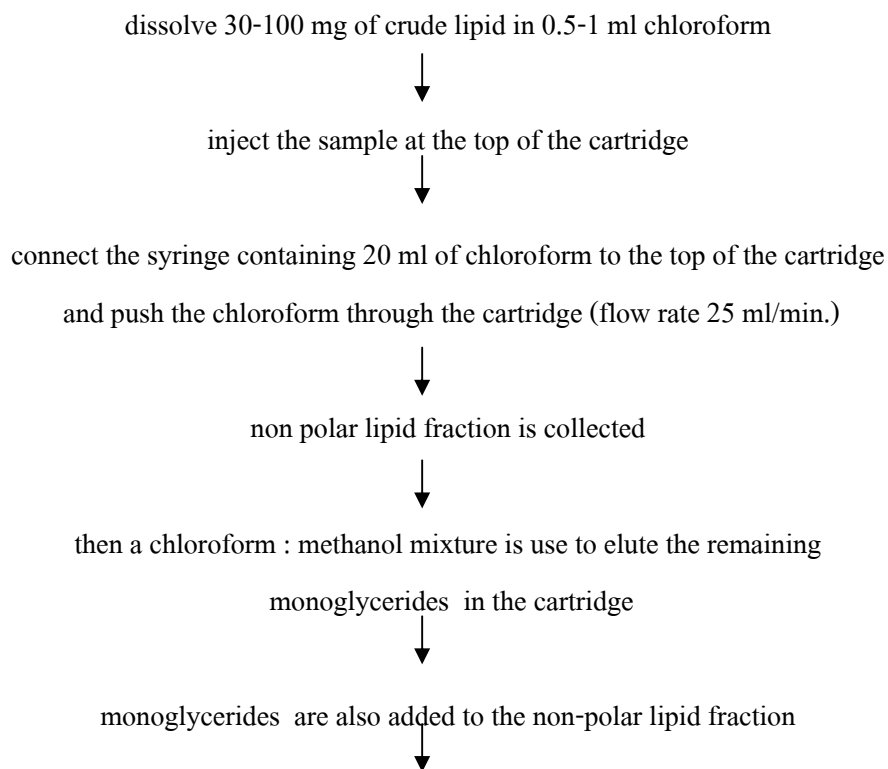
อุปกรณ์

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

สารเคมี

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

วิธีการ



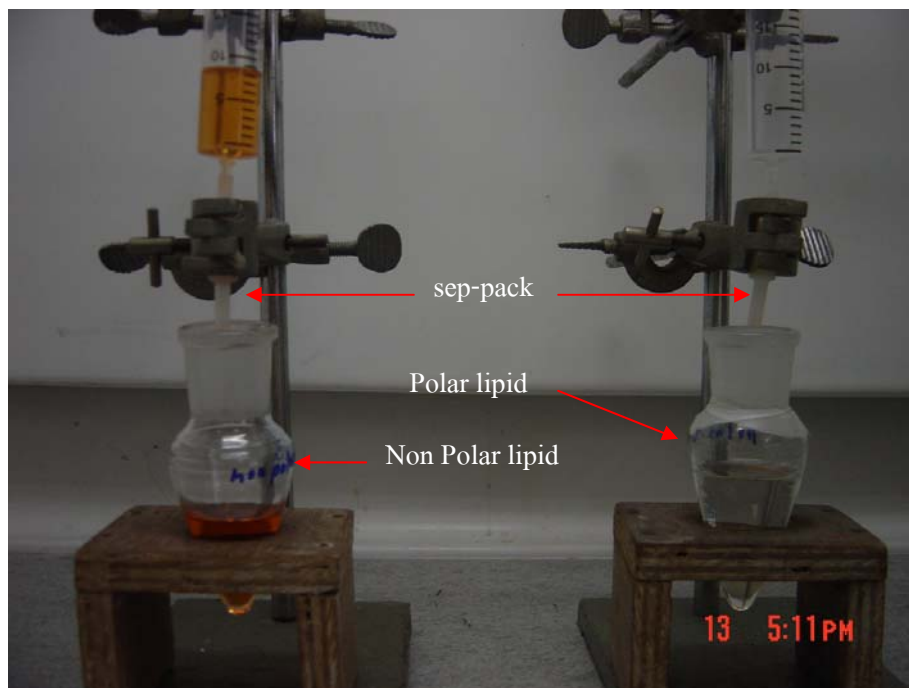
30 ml of methanol are use to elute the polar lipids



polar lipid fraction is collected



non-polar lipid and polar lipid are evaporated



ภาพผนวกที่ 3 การแยกไขมันชนิดมีขี้และไม่มีขี้

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

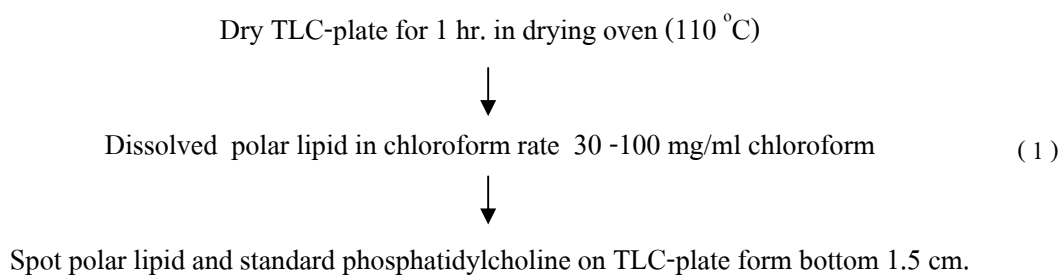
อุปกรณ์

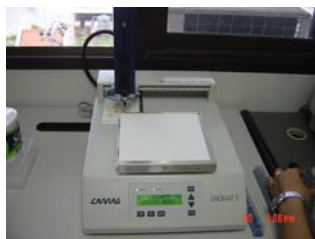
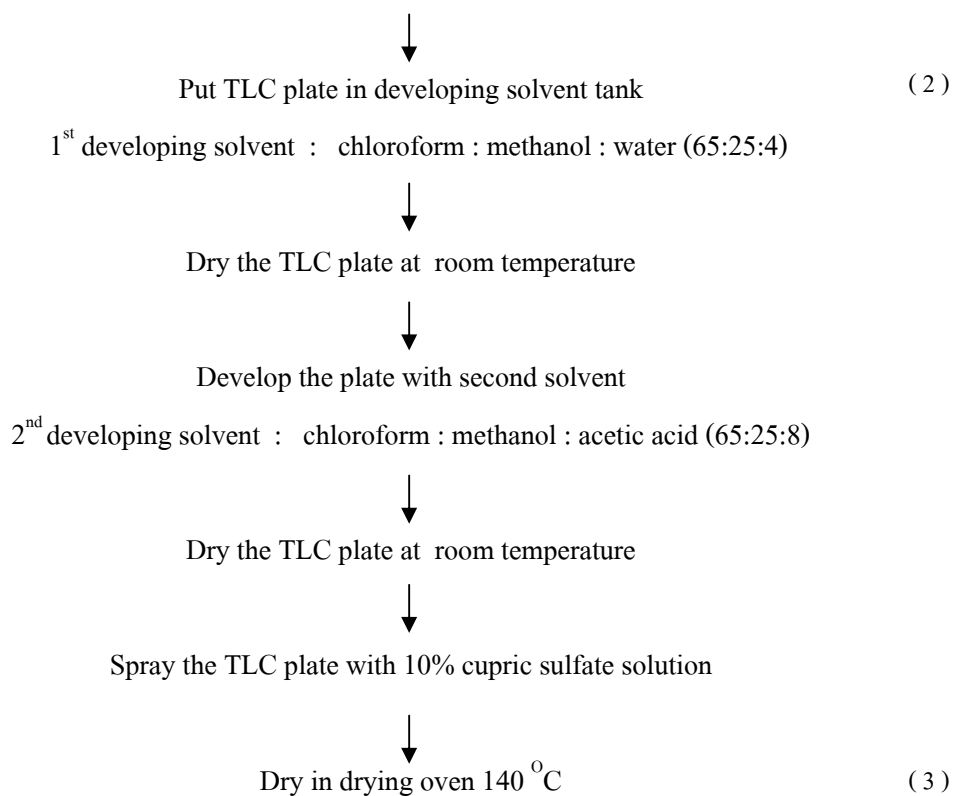
1. TLC plate (Kieselgel G60) 20x10 cm 0.25 prekote
2. developing tank
3. microcaps 1-5 μ l / Auto spotting
4. drying oven : set 110, 140 $^{\circ}$ C
5. sprayer
6. micropipette
7. grass wear : tube

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

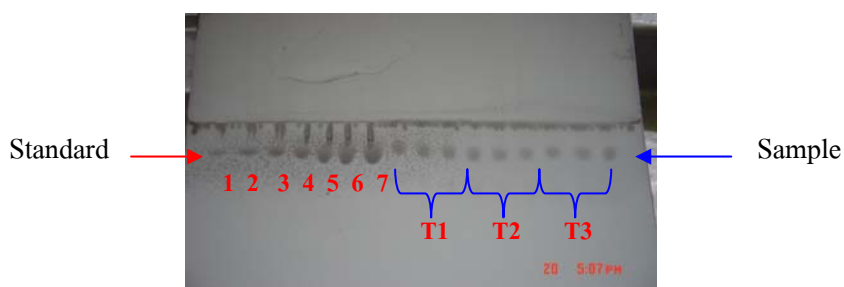




(1)



(2)



(3)

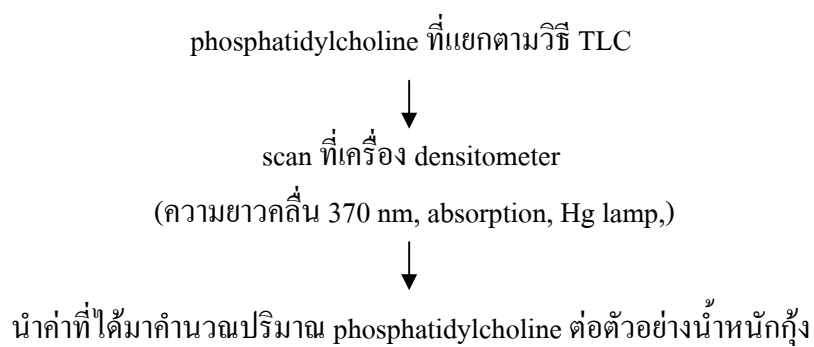
ภาพผนวกที่ 4 แสดงการแยกฟอสฟาติดิลโคลีนออกจากไขมันชนิดมีขี้

ขั้นตอนที่ 4 การวิเคราะห์หาปริมาณ phosphatidylcholine

อุปกรณ์

1. เครื่อง Densitometer

วิธีการ



การวิเคราะห์ไกลโคเจนในเนื้อเยื่อ
(Dubois *et al.*,1965)

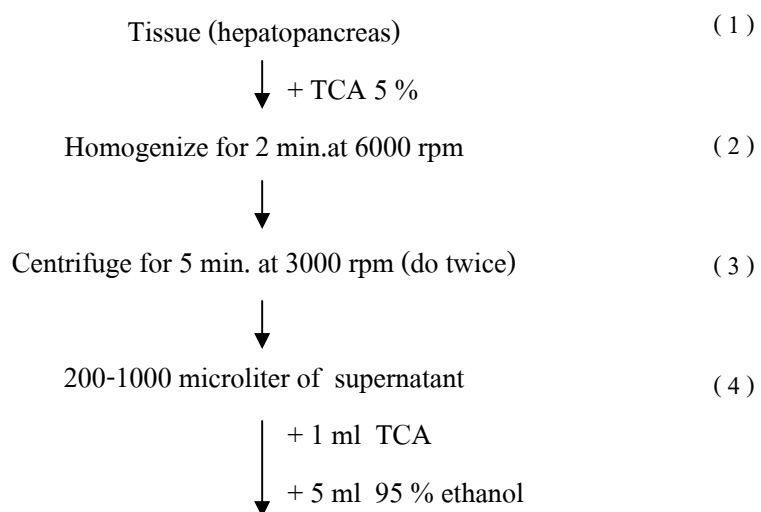
อุปกรณ์

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

สารเคมี

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

วิธีการ



การหาปริมาณโคตินในเปลือกกุ้ง

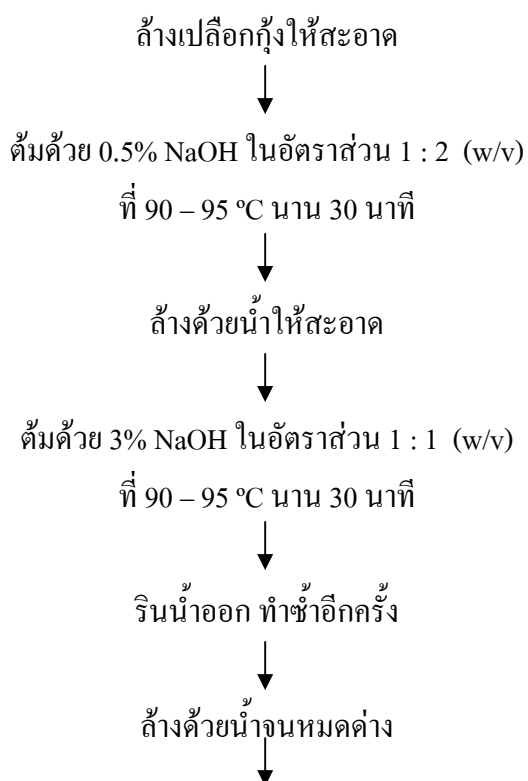
อุปกรณ์

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

สารเคมี

1. sodiumhydroxide
2. hydrochloric acid

วิธีการ



แช่ใน 1.25 N HCl ในอัตราส่วน 2 : 3 ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง



ล้างด้วยน้ำจนหมดกรด



อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60°C นาน 3 ชั่วโมง

การหาปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในเลือด
(GPO-PAP method)

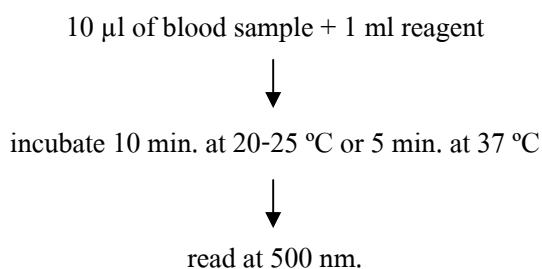
อุปกรณ์

1. eppendorf
2. micropipette

สารเคมี

1. test kit (triglyceride reagent)

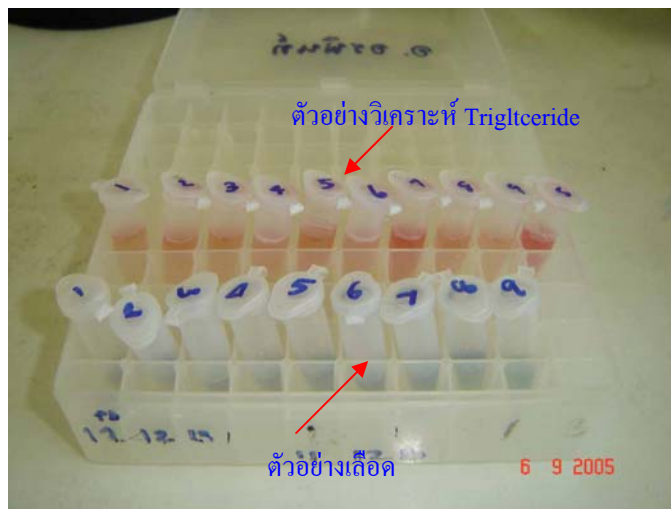
วิธีการ



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



ภาพผนวกที่ 6 แสดงการวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ในเลือด

ตารางผนวกที่ 1 คุณภาพน้ำระหว่างการทดลอง

พารามิเตอร์	หน่วย	เดือนที่ 1		เดือนที่ 2		เดือนที่ 3	
		สัปดาห์ 2	สัปดาห์ 4	สัปดาห์ 2	สัปดาห์ 4	สัปดาห์ 2	สัปดาห์ 4
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)