บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

คุณภาพน้ำในการทดลองนี้อยู่ในช่วงใกล้เคียงกันและอยู่ในมาตรฐานที่ยอมรับกันในการเลี้ยงกุ้งเมื่อเปรียบเทียบกับตารางคุณภาพน้ำทะเลที่สัตว์น้ำสามารถดำรงอยู่ได้อย่างปกติ (ภาคผนวก) ดังนั้นผลของการเจริญเติบโตและการรอดจึงขึ้นอยู่กับคุณภาพอาหารเป็นปัจจัยหลัก

การวิเคราะห์คุณภาพอาหารตามวิธี AOAC (1980) องค์ประกอบหลักทางโภชนาการของอาหารกุ้งกุลาดำวัยอ่อนได้แก่ โปรตีนและไขมัน พบว่าโปรตีนมีค่าต่ำกว่าที่กำหนดไว้ (ประมาณ 52%) เนื่องจากการบดวัตถุดิบแห้งให้มีขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอนด้วยเครื่อง Ultracentrifugal mill จะมีความร้อนเกิดขึ้น วัตถุดิบที่มีความชื้นมากอย่างปลาป่นจะอุดตันที่ตะแกรงของเครื่องและเกิดการไหม้ได้ นอกจากนี้อุณหภูมิที่ใช้ในการรวมสารเชื่อม (carrageenan) และวัตถุดิบอาหารให้เป็นเนื้อเดียวกันอาจทำให้โปรตีนบางส่วนเสียสภาพไป (Protein denaturation) สำหรับปริมาณไขมันที่วิเคราะห์ได้มีค่าสูงเนื่องจากการใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลักแทนเคซีนที่มีราคาแพงทำให้อาหารมีไขมันสูง Borrer & Lawrence (1989) พบว่าเมื่อลูกกุ้ง *P. aztecus* ได้รับอาหารที่มีไขมันในปริมาณสูงเกินไปจะทำให้ค่า Apparent protein digestibility (APD) ต่ำลง ประสิทธิภาพของการย่อยและการดูดซึมโปรตีนในลำไส้ลดลง มีผลต่อการเจริญเติบโตและการรอดของกุ้งวัยอ่อน นอกจากนี้อาหารที่มีไขมันมากไขมันจะลอยตัวเป็นฟิล์มบางๆ บนผิวน้ำทำให้ออกซิเจนในอากาศแทรกซึมลงน้ำได้น้อยลูกกุ้งได้รับออกซิเจนไม่เพียงพอและยังทำให้น้ำเสียง่ายอีกด้วย Kanazawa (1984) อธิบายไว้ว่าความต้องการโปรตีนของลูกกุ้งจะแปรไปตามปริมาณคาร์โบไฮเดรตในอาหารแต่จะไม่แปรตามปริมาณไขมัน และพบว่าปริมาณโปรตีนที่เหมาะสมสำหรับลูกกุ้งคือ 45%, 45-55% และ 55% หรือมากกว่าในอาหารที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรต 25%, 15% และ 5% ตามลำดับเมื่อมีไขมันในอาหาร 6.5% จากการ

วิเคราะห์คุณภาพอาหารในการทดลองครั้งนี้พบปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต สอดคล้องกับคำอธิบายที่กล่าวมา

ถึงแม้ปริมาณ Ascorbic acid (AA) ในอาหารที่กำหนดไว้เท่ากันคือ 200 ppm ในสูตรที่มีการผสมวิตามินซีแต่ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ต่างกันเนื่องจากอาจเกิดการสลายตัวในระหว่างกระบวนการผลิตอาหาร 2 ขั้นตอนคือ การให้ความร้อนและการทำแห้ง (Desrosier, 1970) จากการทดลองซึ่งทำอาหารด้วยวิธี Microparticulation ที่ผ่านการทำแห้งด้วย Freeze dryer นั้นก็สามารถทำให้เกิดการสูญเสียวิตามินซีได้เช่นกันแต่น้อยกว่าการทำแห้งด้วยตู้อบแบบมีลมเป่าผ่านและตู้อบแบบสูญญากาศ (วรรณา ธรรมรุจิกุล, 2533) นอกจากนี้การทำอาหารมีลักษณะเป็นผงละเอียดซึ่งมีพื้นที่ผิวมากประกอบกับการกินอาหารอย่างช้าๆ ของกุ้งทำให้ปริมาณ AA ในอาหารสูญเสียไปกับน้ำประมาณ 10% ในเวลา 10 วินาทีระหว่างการให้อาหารลูกกุ้งแต่ละครั้ง (Goldblatt et al., 1979 ; Slinger et al., 1979) ดังนั้นจึงต้องเติมวิตามินซีลงในอาหารในปริมาณที่มากเกินพอเพื่อให้กุ้งได้รับส่วนที่เหลือจากการสูญเสียเพียงพอกับความต้องการของร่างกายโดยเฉพาะช่วงการอนุบาลกุ้งกุลาดำวัยอ่อนที่มีความบอบบางต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม

Maugle et al (1993) ศึกษาความเสถียรของวิตามินซี 2 รูปที่ใช้ในการผลิตอาหารแบบ extruded feed สำหรับปลาเทร้าและปลาแซลมอนคือ ethyl cellulose coated L-ascorbic acid (C) 2200 ppm และ dipotassium ascorbate-2-sulfate dihydrate (S) 350 ppm พบว่า อาหารปลาที่ใช้ C มีปริมาณ AA คงเหลือในอาหารน้อยมากขณะที่อาหารปลาที่ใช้ S มีปริมาณ AA คงเหลือในอาหารมากกว่า 95% และมีปริมาณ AA ที่สูญเสียไปในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 เดือนไม่เกิน 20% Hilton et al (1977) ทดลองใช้วิตามินซี 2 รูปแบบเติมลงในอาหารแบบ pratical diet สำหรับปลาเทร้าพบว่า 70% ของ AA จะสูญเสียไประหว่างการผลิตและสลายตัวหมดภายใน 7 สัปดาห์ของการเก็บรักษาในอาหารที่ใช้ L-ascorbic acid แต่อาหารที่ใช้ ethyl cellulose coated L-ascorbic acid จะสูญเสียปริมาณ AA ประมาณ 30% ขณะผลิต Grant et al (1989) ทดสอบความเสถียรของวิตามินซี 2 รูปแบบคือ L-ascorbic acid และ Ascorbate-2-polyphosphate ในอาหารแบบ steam-pelleted feed สำหรับปลาเทร้าพบว่าอาหารที่ใช้ Ascorbate-2-

polyphosphate จะสูญเสียปริมาณ AA 15% ภายหลังการผลิตและเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5-7 วัน (จาก 153 ppm ลดลงเหลือ 128 ppm และเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60-90 วันจะเหลือ 100 ppm) และที่อุณหภูมิ 25 หรือ 40 องศาเซลเซียสจะมีความเสถียรมากกว่า L-ascorbic acid ถึง 83 และ 45 เท่าตามลำดับ แต่ถ้าเก็บรักษาอาหารโดยการแช่แข็งปริมาณ AA 46% ในอาหารที่ใช้ L-ascorbic acid จะสูญเสียไปในขณะที่ AA ในอาหารที่ใช้ Ascorbate-2-polyphosphate จะไม่เกิดการสูญเสียเลย

นอกจากการพิจารณาความเสถียรของวิตามินซีที่ใช้ในการผลิตอาหารซึ่งมีความสำคัญต่อปริมาณที่สัตว์น้ำจะได้รับแล้ว ยังต้องคำนึงว่าสัตว์น้ำสามารถนำวิตามินซีไปใช้ได้ด้วย (Bioavailability) ซึ่งการวิเคราะห์ปริมาณ AA ในเนื้อเยื่อจะเป็นวิธีที่ง่ายที่สุดในการตัดสิน ปลาเทร้าและปลาแซลมอนมีเอนไซม์ sulfatase จึงสามารถใช้ ascorbate-2-sulfate ได้ดี Tucker & Halver (1986) พบว่าปลาบางชนิดมีเอนไซม์ ascorbic acid sulfotransferase สามารถเปลี่ยนรูปแบบวิตามินซีจาก Ascorbic acid เป็น Ascorbate-2-sulfate (Sulfonation) เก็บสะสมไว้ได้จนกว่าร่างกายจะต้องการใช้ จึงพบ Ascorbate-2-sulfate ในเนื้อเยื่อปลาได้ กุ้งกุลาดำสามารถเปลี่ยนรูปแบบวิตามินซีจาก Ascorbate-2-monophosphate และ Ascorbate-2-sulfate ให้เป็น Ascorbic acid (AA) ได้โดยเอนไซม์ acid phosphatase และ ascorbic acid sulfohydrolase ตามลำดับ ปริมาณ AA ที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้ (enzyme activity) สามารถวัดได้ด้วยวิธี Colorimetry (Kittakoop et al., 1996a) ซึ่งเป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยาก สะดวก และรวดเร็ว โดยทำการวัดการทำงานของเอนไซม์ acid phosphatase (APT) และ ascorbic acid sulfohydrolase (ASH) ใน hepatopancreas ของกุ้งกุลาดำวัยรุ่นพบว่า APT มี activity มากกว่า ASH จึงน่าจะมีการเปลี่ยนวิตามินซีอนุพันธ์ของฟอสเฟตเป็น Ascorbic acid ได้มากกว่าวิตามินซีในรูปของอนุพันธ์ซัลเฟต ดังนั้นกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร P และ M จึงมีน้ำหนักเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยมากกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร S

เนื่องจาก phosphatase เป็นเอนไซม์ที่พบในสัตว์ทุกชนิดและมีบทบาทสำคัญในหลายกระบวนการเช่น การหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อ เมตาบอลิซึมของ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คาร์โบไฮเดรตและการแบ่งเซลล์ ตลอดจนการแยกหมู่ฟอสเฟตออกจาก phosphoproteins, phosphomonoesters และ pyrophosphate esters ดังนั้นสัตว์ที่มี acid phosphatase activity มากจึงสามารถใช้ Ascorbate-2-monophosphate และ Ascorbate-2-polyphosphate เป็น substrate ได้ดีKittakoop et al (1996b) ทำการศึกษาโดยใช้เทคนิค Polyacrylamide gel ได้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าเอนไซม์ phosphatase ซึ่งมีอยู่ 2 ชนิดคือ alkaline และ acid phosphatase สามารถเร่งปฏิกิริยา phosphohydrolysis ของ Ascorbate-2-phosphate ให้เป็น AA ซึ่งเป็นการยืนยันว่ากุ้งสามารถใช้ Ascorbate-2-phosphate เป็นแหล่งของ AA ได้

อัตรารอดระยะ Zoea ของกุ้งค่อนข้างสูงอาจเป็นเพราะกุ้งมีความแข็งแรงและยังใช้อาหารที่สะสมในตัวไม่หมด การเปลี่ยนถ่ายน้ำเพียงบางส่วนจึงยังมีอาหารธรรมชาติ *Chaetoceros calcitrans* ที่ให้กุ้งกินเป็นอาหารมื้อแรกเหลืออยู่ในน้ำได้อัตรารอดของทุกการทดลองจึงไม่ต่ำมากนัก ในระยะ Mysis อัตรารอดของทุกการทดลองค่อนข้างต่ำ (<50%) เนื่องจากระยะนี้เป็นช่วงเวลาสั้นๆ เพียง 3-4 วันที่ลูกกุ้งต้องปรับตัวเพื่อกินอาหารสำเร็จรูป มีการเปลี่ยนแปลงขนาดอนุภาคอาหารให้เหมาะสมกับกุ้ง ลูกกุ้งยังมีการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการกินอาหารจากระยะ Zoea ซึ่งจะพัดโบกอาหารเข้าปากเป็นการใช้ก้ามจับอาหารกินในระยะ Mysis และอาหารจมตัวเร็วลูกกุ้งระยะนี้ยังไม่ลงเกาะพื้นกินอาหารไม่ทันอัตรารอดจึงต่ำ การทดลองเลี้ยงกุ้งระยะ Postlarva ใช้เวลานานที่สุดคือ 20 วัน ผลของอัตรารอดของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้วิตามินซีรูปแบบต่างๆ จึงแตกต่างกันอย่างชัดเจนและมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร P มีอัตรารอดดีที่สุดเนื่องจากมีปริมาณ AA ในเนื้อเยื่อสูงแสดงว่าสามารถนำวิตามินซีรูปแบบนี้ไปใช้ได้มาก กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร C และ A มีอัตรารอดต่ำเนื่องจากวิตามินซี 2 รูปแบบนี้มีความเสถียรต่ำจึงมีปริมาณ AA ในอาหารไม่เพียงพอกับความต้องการของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนและมีการสะสมในเนื้อกุ้งน้อย วิตามินซีมีหน้าที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์ steroid hormone ในการลอกคราบ (Latscha, 1992) มีความสำคัญต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเติมหมู่ไฮดรอกซี (hydroxylation) ของคอลลาเจน, ไลซีน (lysine) และโปรลีน (proline) (Tucker & Halver, 1984) ช่วยในการเผาผลาญอาหารและนำสารอาหารที่

ย่อยแล้วไปสร้างส่วนต่างๆ ของร่างกาย ถ้าขาดวิตามินซีจะทำให้ร่างกายไม่แข็งแรง มีความต้านทานโรคลดลง เป็นโรคติดเชื้อง่ายและตายได้ ดังนั้นกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ไม่มีวิตามินซีจึงมีอัตรารอดต่ำที่สุด Guary et at (1976) พบว่ากุ้ง *P.japonicus* วัยรุ่นมีการเติบโตลดลงถ้าพบปริมาณ AA สะสมใน hepatopancreas เพียง 50 ppm

ภายในชั่วโมงแรกของการทดสอบความทนทานต่อสภาวะเครียดอันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงความเค็มอย่างฉับพลัน พบว่ากุ้งมีอัตราการตายสูงมากและค่อยๆ ลดลงในเวลาต่อมา จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย probit analysis เพื่อหาช่วงเวลาที่เกิดการตาย 50% (LT_{50}) ของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้วิตามินซีรูปแบบต่างกัน 6 สูตรพบว่า กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร P ทนต่อสภาวะเครียดจากการทดสอบได้ดีกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร M, S, C, A และ N และกุ้งกินอาหารเสริมวิตามินซีทุกรูปแบบจะมีความทนทานมากกว่ากุ้งที่กินอาหารควบคุมเนื่องจาก Ascorbic acid ช่วยลดความเครียดในการเพาะเลี้ยง (Latscha, 1992) และยังเป็น co-factor ในการสังเคราะห์ carnitine สะสมในกล้ามเนื้อของปลาซึ่งสามารถนำออกมาใช้ในยามจำเป็นกรณีที่ร่างกายต้องการพลังงานสูง ถ้าร่างกายใช้ carnitine หมดลงจะเกิดอาการอ่อนเพลียไม่สามารถประคองตัวให้มีชีวิตอยู่ได้ (Hilton, 1984 ; Lovell, 1984 ; Sandnes, 1984) เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงอย่างฉับพลันจากความเค็ม 30 ppt เป็น 0 ppt ลูกกุ้งย่อมเกิดความเครียดและต้องใช้พลังงานมากในการปรับสมดุลย์เกลือแร่ในร่างกาย ถึงแม้ว่าไม่สามารถอธิบายกระบวนการที่วิตามินซีมีบทบาทต่อความทนสภาวะเครียดได้ แต่ผลการศึกษาพบว่า Ascorbate-2-polyphosphate เป็นวิตามินซีรูปแบบที่เสถียรซึ่งกุ้งกุลาดำวัยอ่อนสามารถนำไปใช้และสะสมในเนื้อเยื่อได้มากกว่าวิตามินซีรูปแบบอื่น จึงมีผลให้ลูกกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เติม Ascorbate-2-polyphosphate มีการเจริญเติบโต การรอดและความทนทานต่อสภาวะเครียดได้ดีกว่าลูกกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เติมวิตามินซีรูปแบบอื่นและอาหารที่ไม่มีวิตามินซี